บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาจำแนกได้เป็น 7 หัวข้อ ได้แก่

1. กุ้งขาวแวนนาไม
2. โพรไบโอติก
3. คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในด้านต่าง ๆ
4. *Bacillus*
5. ยีสต์
6. *Vibrio harveyi* และโรคเรืองแสง
7. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. กุ้งขาวแวนนาไม

1.1 ประวัติของกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นกุ้งทะเลที่มีสายพันธุ์อยู่ในกลุ่มกุ้งขาวแปซิฟิก (Pacific white shrimp) มีชื่อเรียกอื่น ๆ อาทิเช่น กุ้งขาวแวนนาไม กุ้งขาวแปซิฟิก และกุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม เป็นต้น สำหรับชื่อสามัญที่ F.A.O. รับรองและใช้เรียกกันทั่วโลกคือ Whiteleg Shrimp ดังแสดงในภาพที่ 1 กุ้งขาวแวนนาไมมีถิ่นกำเนิดอยู่ในมหาสมุทรแปซิฟิกตั้งแต่ชายฝั่งของประเทศเม็กซิโกจนถึงทางตอนใต้ของประเทศเปรู (Rosenberry, 2002; Wyban & Sweeny, 1991) กุ้งขาวแวนนาไมเป็นที่นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในอีกหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา กัวเตมาลา นิคารากัว คอสตาริกา ปานามา โคลัมเบีย และเอกวาดอร์ เป็นต้น ในปัจจุบันสามารถแบ่งกุ้งขาวแวนนาไมออกเป็น 2 กลุ่มตามสภาพภูมิศาสตร์ของโลก คือ 1. กุ้งขาวตะวันตก ได้แก่ กุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม และกุ้งสีน้ำเงิน และ 2. กุ้งขาวตะวันออก ได้แก่ กุ้งแชบ๊วย กุ้งขาวจีน และกุ้งขาวอินเดีย (ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธ์, 2545ก) ซึ่งจากการศึกษาอนุกรมวิธานของกุ้งขาวแวนนาไมมีดังนี้

บูรพาวิทยาลัย Burapha University

Phylum Artropoda

Class Crustacea

Order Decapoda

Suborder Natantia

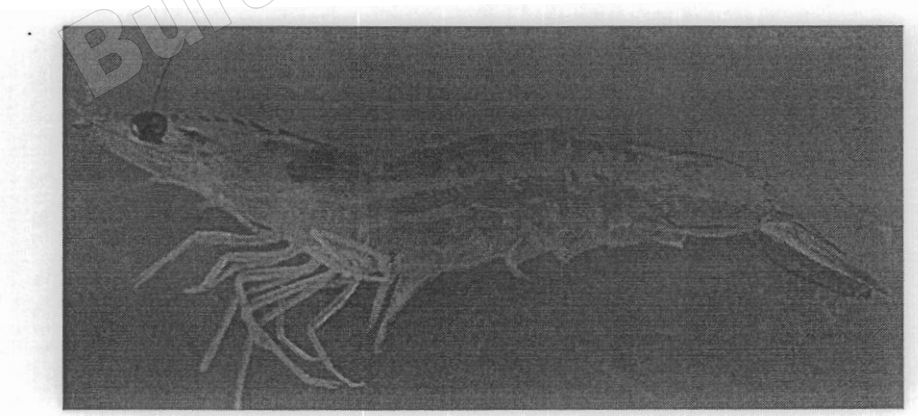
Tribe Penaeidea

Family Penaeidae

Genus *Litopenaeus*

Species *vannamei*

กุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งที่มีความแข็งแรงและทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีกว่ากุ้งสายพันธุ์อื่น ๆ (Laokiatsophon, Limsuwan, Teparhudee, & Chuchird, 2006) มีการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติได้กว้างไกล ประเทศไทยเริ่มมีการนำกุ้งขาวแวนนาไมมาทดลองเลี้ยงในปี พ.ศ. 2541 กุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลของประเทศและจัดเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีคุณค่าอีกชนิดหนึ่ง อีกทั้งยังสามารถเพาะฟักให้วางไข่และอนุบาลในบ่อคอนกรีตได้เช่นเดียวกันกับกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย เนื่องจากขณะนั้นการเลี้ยงกุ้งกุลาดำประสบปัญหา โรคระบาด ขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์กุ้งคุณภาพดี และปัญหาที่สำคัญคือ กุ้งกุลาดำแคระแกรนเลี้ยงไม่โต แต่ราคาลูกกุ้งกลับปรับตัวสูงขึ้น ผู้เลี้ยงกุ้งจึงหันมาเลี้ยงกุ้งขาวกันมากขึ้น ส่งผลให้กุ้งขาวแวนนาไมเป็นที่นิยมเพาะเลี้ยงในประเทศไทย (ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธ์, 2545ก)



ภาพที่ 1 ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไม (ภาพโดย จำลอง แสงส่ง)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2 ลักษณะเฉพาะตัวของกุ้งขาวแวนนาไม

ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม ลำตัวมีสีขาวและมี 8 ปล้อง หน้าอกมีขนาดใหญ่ เคลื่อนไหวได้รวดเร็ว ส่วนหัวมี 1 ปล้อง กรียาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือกหัว สันกรีสูง และมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีแดงอมน้ำตาล ปลายกรีแคบ กรีด้านบนมี 8 ฟัน กรีด้านล่างมี 2 ฟัน ร่องบนกรีสามารถมองเห็นได้ชัดเจน หัวมีสีขาวอมชมพูถึงแดง ขาเดินมีสีขาว หนวดมีสีแดง 2 เส้น และมีตาแดงเข้ม ส่วนตัวมี 6 ปล้อง เปลือกตัวมีสีขาวอมชมพูถึงแดง เปลือกบาง ขาว่ายน้ำมี 5 คู่ มีสีขาวปลายมีสีแดง ส่วนหางมี 1 ปล้อง ปลายหางมีสีแดงเข้ม แพนหางมี 4 ใบและหางมี 1 กรี ถ้ากุ้งสายพันธุ์นี้โตเต็มที่จะมีขนาดเล็กกว่ากุ้งกุลาดำ และมีการลอกคราบเร็วโดยลอกคราบทุก ๆ สัปดาห์ (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, อรสา สุริยาพันธุ์, กิตติยา อุปถัมภ์ และสว่างพงศ์ สมมาตร, 2550; ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์, 2546; Perez & Kensley, 1997) ซึ่งอวัยวะต่าง ๆ ของกุ้งขาวแวนนาไม ดังแสดงในตารางที่ 1

1.3 วงจรชีวิต การสืบพันธุ์ และการพัฒนาของกุ้งขาวแวนนาไม (ปิยะบุตร วานิชพงษ์-พันธุ์, 2545ข)

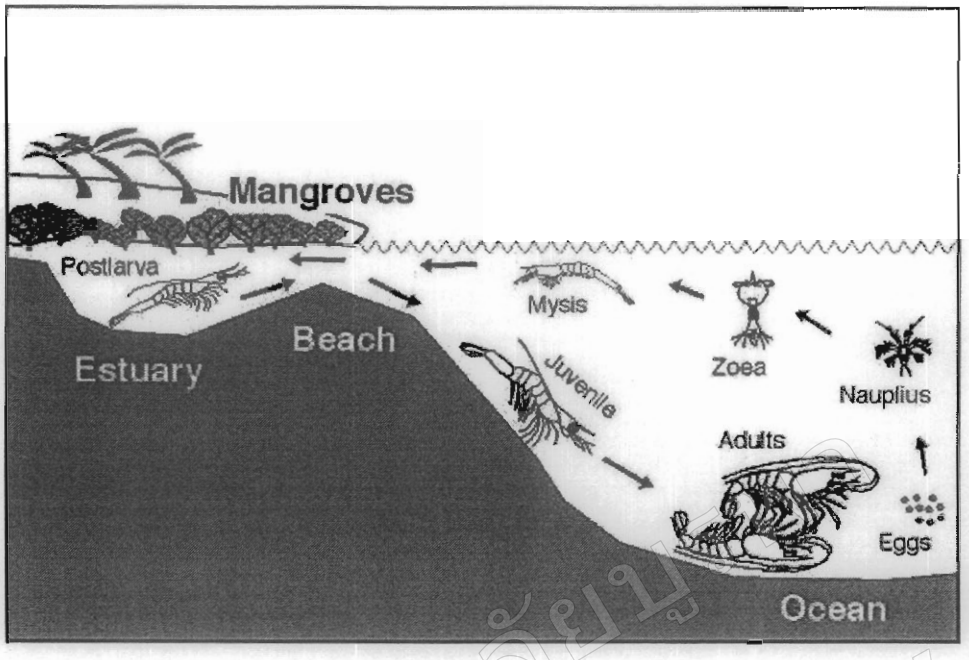
โดยทั่วไปกุ้งขาวแวนนาไมจะมีอายุขัยประมาณ 36 เดือน แม่กุ้งจะวางไข่ครั้งละประมาณ 100,000 ถึง 250,000 ฟอง ซึ่งมักวางไข่ในตอนกลางคืนใกล้พื้นทรายที่ระดับน้ำลึก 30-60 มิลลิเมตร โดยแม่กุ้งจะว่ายน้ำอย่างรวดเร็วอยู่ประมาณ 45-60 วินาที จากนั้นจะเริ่มออกไข่ และลดความเร็วลงอย่างช้า ๆ เนื่องจากลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์กุ้งขาวแวนนาไมเพศเมียมีลักษณะเป็นแบบเปิด (Opened thelycum) ซึ่งแตกต่างจากลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียที่พบในกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบปิด (Closed thelycum) ดังนั้นรูปแบบของการสืบพันธุ์และพฤติกรรมในการผสมพันธุ์ของกุ้งขาวแวนนาไมจึงแตกต่างจากกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย

เมื่อไข่ของกุ้งขาวแวนนาไมได้รับการปฏิสนธิจะมีลักษณะกลม และมีเมือกห่อหุ้มมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.22 มิลลิเมตร ไข่จะจมลงสู่พื้น เนื่องจากน้ำหนักมากกว่าน้ำทะเล ไข่กุ้งขาวแวนนาไมจะฟักเป็นตัวบริเวณที่แม่กุ้งขาวแวนนาไมวางไข่ จากนั้นลูกกุ้งวัยอ่อนจะเคลื่อนย้ายไปยังบริเวณชายฝั่งซึ่งเป็นบริเวณที่มีน้ำกร่อยซึ่งอาหารตามธรรมชาติที่สมบูรณ์ จากนั้นลูกกุ้งดำรงชีวิตอยู่บริเวณนี้จนถึงในระยะโตเต็มวัยหรือสามารถเป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ จากนั้นจะอพยพสู่ทะเลลึกเพื่อทำการสืบพันธุ์และวางไข่ต่อไป จากการศึกษาวงจรชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไม ดังแสดงในภาพที่ 2

ตารางที่ 1 อวัยวะและโครงสร้างและหน้าที่ของกุ้งขาวแวนนาไม (ธนพงศ์ แสงซื่อ และคณะ, 2547)

อวัยวะ	หน้าที่การทำงาน
กล้ามเนื้อส่วนท้อง	ใช้ในการว่ายถอยหลังสำหรับหนีศัตรู
หนวดคู่ที่ 1	รับประสาทสัมผัสเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมี
หนวดคู่ที่ 2	รับประสาทสัมผัสเกี่ยวกับการป้องกันภัยและศัตรู
อวัยวะรับสัมผัสที่โคนหนวด	ปรับสมดุลของแร่ธาตุในร่างกาย
เปลือก	เป็นโครงร่างค้ำจุนร่างกายและป้องกันอันตราย
ทางเดินอาหารส่วนต้น (ปาก, คอหอย, กระเพาะอาหาร)	กิน, บด เคี้ยวและกักเก็บอาหารชั่วคราว
เหงือก	หายใจ ขับถ่ายของเสีย ปรับสมดุลของแร่ธาตุในร่างกาย และดักจับเชื้อโรค
ตับและตับอ่อน	ย่อยอาหาร ดูดซึม และสะสมอาหาร
อวัยวะระบบน้ำเหลือง	ควบคุมการกำจัดสิ่งแปลกปลอมและดักจับเชื้อโรค
ลำไส้ส่วนกลาง	ดูดซึมสารอาหารและขับถ่าย
ขาเดินและขาว่ายน้ำ	เคลื่อนที่ และรับประสาทสัมผัสเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมี
Mandibles, Mandibular palps, Gill balers	รับประสาทสัมผัส นำอาหารเข้าปาก และพัดโบกน้ำผ่านเหงือก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของกุ้ง Penaeid (ดัดแปลงจาก Rosenberry, 2005)

การพัฒนาตัวอ่อนของกุ้งขาวแวนนาไม หลังจากที่ไข่ได้รับการปฏิสนธิแล้วภายใน 12 - 14 ชั่วโมง จะเริ่มฟักเป็นตัวอ่อนในระยะนอเพลียส (Nauplius) ลูกกุ้งที่ฟักออกมาในระยะนี้จะมีการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปจนเหมือนตัวโตเต็มวัย ซึ่งการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงของกุ้งขาวแวนนาไมจะเป็นไปตามช่วงระยะที่มีการลอกคราบ (กมลศิริ พันธนียะ, 2555) โดยสามารถแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ดังนี้

1. ระยะนอเพลียส (Nauplius Stage) ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะนี้เป็นลูกกุ้งขาวแวนนาไมที่ฟักออกมาจากไข่ใหม่ ๆ จะมีขนาดเล็กมาก ลักษณะคล้ายแมงมุม รูปร่างค่อนข้างกลมมีรยางค์ 3 คู่ โดยคู่แรกจะเจริญเป็นหนวดคู่สั้น (1st Antenna) อยู่ด้านหัวสุด รยางค์คู่ที่ 2 จะเจริญเป็นหนวดคู่ยาว (2nd Antenna) และคู่ที่ 3 จะเจริญเป็นขากรรไกร (Mandible) อยู่ต่ำลงมาเป็นลำดับ ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะนี้จะไม่กินอาหารเนื่องจากได้รับอาหารจากไข่แดง (Yolk Sac) ที่ติดอยู่กับลำตัวลูกกุ้งระยะนี้จะลอกคราบ 5-6 ครั้ง ภายในระยะเวลา 36-48 ชั่วโมง และจะพัฒนาเข้าสู่ระยะซูเอียต่อไป (บุญรัตน์ ประทุมชาติ และคณะ, 2550)

2. ระยะซูเอีย (Zoea Stage) ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะนี้จะมีส่วนหัวโตและลำตัวแยกออกจากกันอย่างชัดเจน ลูกกุ้งจะค่อย ๆ ลอยตัวสู่ผิวน้ำและจากนั้นจะเริ่มกินอาหารซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลุ่มแพลงก์ตอนพืชที่มีขนาด 50 - 100 ไมโครเมตร ลูกกุ้งขาวแวนนาไมจะอยู่ในระยะนี้ประมาณ

4-7 วัน ผ่านการลอกคราบ 3 ครั้ง (ธนพงศ์ แสงซื่อ และคณะ, 2547) โดยแต่ละครั้งจะมีรูปร่างและเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ดังนี้

2.1 ซูเอียระยะที่ 1 เมื่อมีการลอกคราบครั้งที่ 1 ตาของลูกกุ้งขาวแวนนาไมยังอยู่ภายในเปลือกซึ่งจะมองเห็นเป็นจุดสีดำ เปลือกคลุมหัวเรียบและยังไม่มีหนาม ด้านหน้าค่อนข้างกลม ส่วนด้านหลังป้านเกือบเป็นเส้นตรง รยางค์คู่แรกตรงปลายไม่มีแฉก รยางค์คู่ที่ 2 มีแฉกตรงปลายและยาวกว่ารยางค์คู่ที่ 1 ขากรรไกรมีลักษณะเป็นแผ่นแบน ๆ และมีหยักตามขอบแมกซิลลิเปด (Maxcilliped) อันที่ 1 และ 2 จะปรากฏชัดตรงปลายเป็นแฉกทั้งคู่ โดยแมกซิลลิเปดอันที่ 2 จะมีขนาดเล็กกว่าอันที่ 1 ส่วนหางเป็นแฉกมีหนามแหลมข้างละ 7 อัน ลูกกุ้งขาวแวนนาไมในระยะนี้จะมีลำตัวยาวประมาณ 0.85 มิลลิเมตร

2.2 ซูเอียระยะที่ 2 ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะนี้ ตาจะเริ่มโผล่พ้นเปลือกคลุมหัวมีก้านตายาว กรีแหลมยื่นออกไปด้านหน้าและงุ้มลงด้านล่างเล็กน้อย ส่วนหัวมีเปลือกคลุมแมกซิลลิเปดอันที่ 1 และอันที่ 2 ซึ่งสามารถมองเห็นได้ชัดเจน ลำตัวของลูกกุ้งขาวแวนนาไมมีความยาวจากปลายกรีถึงปลายหางประมาณ 1.77 มิลลิเมตร

2.3 ซูเอียระยะที่ 3 แมกซิลลิเปดอันที่ 30 จะปรากฏเห็นได้ชัดเจน ขาเดินของลูกกุ้งขาวแวนนาไม (Pereiopods) ระยะนี้ตอนปลายยังเป็นฉากแต่ไม่มีขน ปล้องนอกของรยางค์อันนี้จะยาวกว่าปล้องใน ลำตัวมีความยาวประมาณ 1.80 มิลลิเมตร รยางค์คู่ที่ 6 เริ่มปรากฏในระยะนี้ และที่หางจะมีขนข้างละ 6 เส้น

3. ระยะไมซิส (Mysis Stage) ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะนี้สามารถมองเห็นส่วนหัวและส่วนท้องได้อย่างชัดเจน ส่วนอกยังรวมอยู่กับส่วนหัวและมีเปลือกคลุม สามารถมองเห็นกรีได้ชัดเจน ส่วนท้องมี 6 ปล้อง ซึ่งปล้องที่ 1 ถึงปล้องที่ 5 มีขนาดเท่ากัน ส่วนปล้องที่ 6 จะมีความยาวกว่าปล้องอื่น ๆ และมีแพนหางมีความยาวประมาณ 2.56 มิลลิเมตร ขาเดินเริ่มมีข้อปล้องเห็นได้ชัดเจนขึ้น โดย 3 คู่แรกจะมีลักษณะเป็นก้ามและมีความยาวขึ้นเรื่อย ๆ เริ่มมีขาว่ายน้ำ ปล้องท้องอันที่ 6 จะมีความยาวมากกว่าลูกกุ้งที่อยู่ในระยะซูเอีย เปลือกคลุมปล้องต่าง ๆ ของส่วนอกทั้งหมดความยาวประมาณ 1.0 มิลลิเมตร รยางค์คู่ที่ 6 (Uropod) เจริญมากขึ้น หางแคบและมีขนข้างละ 7 เส้น ลูกกุ้งขาวแวนนาไมจะอยู่ในระยะนี้ประมาณ 3 - 5 วัน และลอกคราบ 3 ครั้ง จากนั้นจึงจะพัฒนาเข้าสู่ระยะโพสต์ลาวา (บุญรัตน์ ประทุมชาติ และคณะ, 2550)

4. ระยะโพสต์ลาวา (Post-larva Stage) ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะนี้จะมีลักษณะใกล้เคียงลูกกุ้งวัยรุ่นมากขึ้น และมีอวัยวะต่าง ๆ ครบเกือบทุกส่วน ซึ่งขาเดิน 3 คู่แรกมีลักษณะเป็นก้าม สามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน โดยคู่แรกสั้นและคู่ที่ 3 ยาวที่สุด หางแคบเข้าจนแหลม ลูกกุ้งขาวแวนนาไมในระยะนี้จะเริ่มมีรยางค์ครบเหมือนกุ้งโตเต็มวัย ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะนี้จะมีการลอก

คราบและพัฒนาการไปเรื่อย ๆ จนเข้าสู่กุ้งระยะวัยรุ่น ลูกกุ้งขาวแวนนาไมจะอยู่ในระยะโพสต์ลาวา ประมาณ 30 วัน สำหรับการนำไปเพาะเลี้ยงในบ่อดินนั้นนิยมอนุบาลลูกกุ้งจนถึงระยะโพสต์ลาวา 15 (PL-15) เป็นต้นไป (ปิยะบุตร วานิชพงศ์พันธุ์, 2545ก)

5. กุ้งระยะวัยรุ่น (Juvenile) กุ้งในระยะนี้จะมีขนาดตัวโตขึ้น โดยเหงือกจะมีพัฒนาการที่สมบูรณ์ กุ้งระยะนี้จะมีการพัฒนาการของกรีอย่างเต็มที่ และสามารถมองเห็นกรีด้านบนซึ่งจะมี 8-9 ฟัน ค่าเฉลี่ยที่พบโดยทั่วไปจะมีประมาณ 8 ฟัน และกรีด้านล่างมีประมาณ 1-2 ฟัน ค่าเฉลี่ยที่พบจะประมาณ 2 ฟัน ซึ่งความยาวกรีจะสั้นกว่า Exopodite ของหนวด ปลายเกลียวเรียวตรง และการเคลื่อนที่จะเหมือนกับกุ้งที่โตเต็มที่แล้ว คือใช้ขาเดินและขาว่ายน้ำ

ลูกกุ้งชำ (Adolescent) ลูกกุ้งระยะนี้จะมีอวัยวะครบสมบูรณ์เช่นเดียวกับพ่อแม่ทุกอย่าง สามารถแยกเพศได้ เนื่องจากอวัยวะสืบพันธุ์มีพัฒนาที่สมบูรณ์ โดยในกุ้งตัวผู้จะมี Petasma สมบูรณ์ และในกุ้งตัวเมียจะมี Thelycum สมบูรณ์

ลูกกุ้งวัยเจริญพันธุ์ (Subadult) ลูกกุ้งในระยะนี้จะมีความสมบูรณ์ทางเพศ กุ้งตัวผู้จะมีการผลิตน้ำเชื้อและเก็บเอาไว้ที่ถุงน้ำเชื้อ (Terminal Ampules) และถ้ามีการผสมพันธุ์ตัวเมียสามารถเก็บน้ำเชื้อไว้ใน Thelycum การผสมพันธุ์ครั้งแรกมักจะเริ่มจากกุ้งตัวผู้มีความยาวของปล้องหัวตั้งแต่ประมาณ 30 มิลลิเมตร และตัวเมียมีความยาวปล้องหัวประมาณ 40 มิลลิเมตร ขึ้นไป

กุ้งโตเต็มวัย (Adult) กุ้งระยะนี้จะมีการสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์เพศ มักจะผสมพันธุ์กันที่ความลึก 10-15 เมตร ถึง 30-50 เมตร ปกติและกุ้งจะสามารถผสมพันธุ์ได้หลายครั้ง และกุ้งตัวเมียจะมีการลอกคราบทุก 7-10 วัน และตัวผู้จะลอกคราบทุก 14-21 วัน และกุ้งตัวเมียสามารถวางไข่ได้ทั้งในน้ำตื้นและน้ำลึก

จากการศึกษาการพัฒนาในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกุ้งขาวแวนนาไมจากระยะนอเพลียสจนกระทั่งถึงระยะโตเต็มวัย แสดงดังภาพที่ 3

ภาพที่ 3 โครงสร้างของกุ้งขาวแวนนาไมระยะนอเพลียสถึงระยะโตเต็มวัย
(http://www.fao.org/docrep/X5625E/x5625e02.gif)

1.4 ลักษณะการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม (ปิยะบุตร วานิชพงพันธุ์, 2546) สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ระยะดังนี้

ระยะที่ 1 ระยะนี้จะใช้อาหารจากถุงไข่แดง (Resorption of the york sac) เป็นระยะที่ลูกกุ้งขาวแวนนาไมเริ่มฟักออกจากไข่เป็นตัว และยังไม่กินอาหาร และจะใช้อาหารจากถุงไข่แดงจนกว่าจะหมด จึงจะเริ่มกินอาหาร

ระยะที่ 2 ระยะวัยอ่อน (Fry stage) เป็นระยะที่ลูกกุ้งขาวแวนนาไมเริ่มกินอาหารขนาดเล็ก เช่น ไรน้ำ แพลงก์ตอนต่าง ๆ สาหร่ายขนาดเล็ก และหนอนแดง เป็นต้น

ระยะที่ 3 (Adult stage) กุ้งขาวแวนนาไมในระยะนี้จะเลือกกินอาหารตามอุปนิสัย และความต้องการในสภาพธรรมชาติ

1.5 ข้อดีของกุ้งขาวแวนนาไมเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำ (กมลศิริ พันธนียะ, 2554)

1.5.1 สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำที่ความเค็มตั้งแต่ 0.5 ถึง 45 ส่วนในพันส่วน

1.5.2 สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำที่มีอุณหภูมิตั้งแต่ 24-32 องศาเซลเซียส

1.5.3 สามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำได้ดี

1.5.4 สามารถทนสภาวะแวดล้อมที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างได้ในช่วงกว้าง และบางครั้งสามารถอาศัยอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงถึง 10

1.5.5 สามารถกินอาหารได้หลากหลายชนิด ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตอาหารถูกลง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.5.6 มีอัตราแลกเนื้อต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำ

1.5.7 ให้เปอร์เซ็นต์เนื้อสูงถึง 66-68% ซึ่งสูงกว่ากุ้งกุลาดำที่ให้เปอร์เซ็นต์เนื้อเพียง 62 %

1.5.8 เป็นที่ต้องการของตลาด

2. โพรไบโอติก

โพรไบโอติกหมายถึง อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่สามารถปรับปรุงความสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของเจ้าบ้านให้อยู่ระดับที่เหมาะสมได้ (Fuller, 1989) คำจำกัดความของโพรไบโอติกนั้นแรกเริ่มใช้แสดงถึงจุลินทรีย์ที่ช่วยส่งเสริมให้สิ่งมีชีวิตอื่นมีสุขภาพดีขึ้น (Lilley & Stillwell, 1965) ซึ่งมุ่งเน้นที่จะอธิบายถึงสารที่หลั่งออกจากจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งแล้วสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตอื่นได้ ในปี ค.ศ. 2001 องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization) ได้แถลงถึงคำจำกัดความของโพรไบโอติกไว้ว่าจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งถ้าได้รับในปริมาณที่เพียงพอสามารถช่วยให้เจ้าบ้านมีสุขภาพที่ดีขึ้นได้ นอกจากคำจำกัดความของโพรไบโอติกดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นยังมีผู้ให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกไว้หลายความหมาย ยกตัวอย่างดังต่อไปนี้

Fuller (1992) กล่าวว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่มีสามารถปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ของเจ้าบ้าน (Host) ได้

Maeda, Nogami, Kanematsu, and Hirayama (1997) กล่าวว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตโดยเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพในสิ่งแวดล้อม (Biological control)

Moriarty (1998) กล่าวว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ชนิดเดียวกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่เติมลงในอาหาร และสามารถปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหารของเจ้าบ้านได้

Gram, Melchiorsen, Spangggaard, Huber, and Nielsen (1999) กล่าวว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตโดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย

Salminen, Ouwehand, Benno, and Lee (1999) กล่าวว่า โพรไบโอติกเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ซึ่งไม่จำเป็นต้องมีชีวิตและมีประโยชน์ต่อเจ้าบ้านที่รับโพรไบโอติกเข้าไป

Verschuere et al. (2000) กล่าวว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน ซึ่งจะเพิ่มคุณค่าทางอาหาร รวมทั้งเพิ่มภูมิต้านทานต่อโรคและปรับปรุงคุณภาพสิ่งแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง

การใช้โพรไบโอติกสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนั้นอาจใช้จุลินทรีย์เพียงชนิดเดียวหรือใช้เป็นผสมของจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถช่วยในการปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์นั้น โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น รูปแบบของเซลล์แห้งจากกระบวนการระเหิดแห้งหรืออยู่ในรูปผลิตภัณฑ์หมัก เป็นต้น นอกจากจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตแล้วยังทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น (นนทวิทย์ อารีย์ชน และคณะ, 2549) นอกจากนี้โพรไบโอติกที่นำมาใช้ต้องไม่ทำอันตรายต่อเจ้าบ้าน (Salminen et al., 1999) สำหรับวิธีการให้โพรไบโอติกอาจนำมาผสมอาหาร แช่ หรือฉีดเข้าไป ซึ่งโพรไบโอติกจะต้องเป็นประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตที่ได้รับเข้าไป รวมทั้งสามารถที่จะมีชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้

2.1 คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่เป็นโพรไบโอติก (ทรงศักดิ์ ฤกษ์หริ่ง, 2549; สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552; Verschuere et al., 2000)

หลักการของโพรไบโอติก คือ การนำจุลินทรีย์มาเสริมในอาหารสัตว์เพื่อส่งทำให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งโดยปกติแล้วจุลินทรีย์ประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารจะประกอบไปด้วยจุลินทรีย์ที่ดีและไม่ดี เมื่อเกิดการเสียสมดุลและมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ไม่ดีมากกว่าจุลินทรีย์จะทำให้เกิดโรคในสัตว์ได้จึงได้มีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งประโยชน์ของโพรไบโอติกสามารถสรุปได้ดังนี้

1. สามารถเจริญเติบโตได้ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เจ้าบ้านในระยะเวลาที่นานหรือสามารถอยู่แบบถาวร

2. สามารถแข่งขันในการเจริญกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นประโยชน์หรือจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค รวมทั้งยังผลิตสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้

3. สามารถส่งเสริมการเจริญของสัตว์เจ้าบ้านได้อีกทั้งสามารถช่วยให้สัตว์เหล่านั้นมีความทนต่อการติดเชื้อและมีอาการของโรคได้

4. สามารถช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์เจ้าบ้าน

5. สามารถช่วยกำจัดของเสียต่าง ๆ หรือทำให้สภาพแวดล้อมภายในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีคุณภาพดีขึ้น

2.2 ลักษณะที่ดีของโพรไบโอติก (ทะเนตร อูฤทธิ์, 2545)

1. เป็นสายพันธุ์ที่ให้ประโยชน์ ทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตและมีความต้านทานโรคดีขึ้น

2. ไม่เป็นสาเหตุของการก่อนให้เกิดโรคและไม่เป็นพิษ

3. เป็นเซลล์ที่มีชีวิตและมีจำนวนมากพอที่จะเดินทางไปจนถึงทางเดินอาหารส่วนท้ายของเจ้าบ้านได้

4. สามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมในกระเพาะอาหารและน้ำดีในลำไส้ แต่สามารถย่อยสลายในลำไส้ได้ดี

5. ไม่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม

6. สามารถขยายการผลิตสู่ระดับการค้าได้

7. มีความคงตัวและเก็บไว้ได้นาน

8. สามารถรอดชีวิตได้ในระบบทางเดินของคนและสัตว์ได้

9. ไม่ตกค้างในซากสัตว์

ปัจจุบันการนำโพรไบโอติกมาใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนั้นมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้น โดยมีสาเหตุหลักคือการคำนึงถึงผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม รวมทั้งยังส่งผลดีในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในระยะยาว หรืออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย การใช้โพรไบโอติกสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่เกษตรกรสามารถใช้เป็นระบบการเพาะเลี้ยงกุ้งแบบชีวภาพได้ (ทรงศักดิ์ ฤกษ์หริ่ง, 2549) สำหรับจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่พบได้ทั่วไปในปัจจุบันและเป็นที่นิยม ได้แก่ *Bacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Clostridium botyricum*, *Enterococcus* sp., *E.coli*, *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp. (ภวัต สังขะวัฒนะ, 2544; สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552; Balcazar et al., 2006; FAO/WHO, 2001; Lilley & Stillwell, 1965)

3. คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในด้านต่าง ๆ

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจในหลาย ๆ ประเทศทั่วโลก แต่ปัจจุบันการแข่งขันในตลาดโลกเพิ่มสูงขึ้นผู้ประกอบการจึงจำเป็นต้องปรับปรุงและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้ได้คุณภาพที่ดียิ่งขึ้น ปัจจุบันมีการปรับปรุงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้ได้ผลผลิตสูงสุดภายในระยะเวลาที่สั้นลง ผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจึงมีการผสมสารปฏิชีวนะหรือสารเคมีสังเคราะห์สำหรับควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคและเร่งการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ซึ่งการใช้สารปฏิชีวนะในโรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นที่แพร่หลายในประเทศแถบลาตินอเมริกาและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เมื่อไม่นานมานี้เองมีการใช้จุลินทรีย์เป็นโพรไบโอติกและวัคซีนเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ (Gomez-Gil, Roque, & Turnbull, 2000) แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารเหล่านี้เป็นระยะเวลานานจะส่งผลให้จุลินทรีย์ก่อโรคในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเกิดการดื้อยา (Weston, 1996) ทำให้การรักษาโรคยากยิ่งขึ้นโดยยีนดื้อยาสามารถถ่ายทอดสู่แบคทีเรียสายพันธุ์อื่นได้โดย

ผ่านพลาสมิดหรือแบคเทอริโอฟาจทำให้เกิดการแพร่กระจายยีนดื้อยาสู่แบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม (Towner, 1995) นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำด้วยวิธีดังกล่าวยังประสบปัญหาในเรื่องสารตกค้างในสัตว์น้ำอันส่งผลกระทบต่อการส่งออกเป็นอย่างมากโดยเฉพาะการกีดกันทางการค้า

ดังนั้นการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ขยายตัวเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเป็นการเพาะเลี้ยงที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Gatesoupe, 1999) จึงทำให้การใช้โพรไบโอติกจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกใหม่สำหรับใช้ทดแทนสารปฏิชีวนะต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Bairagi, Sakar, Sen, & Ray, 2002) โพรไบโอติกที่ได้รับความนิยมนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาทิเช่น *Bacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Clostridium botyricum*, *Enterococcus* sp., *E. coli*, *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp. *Vibrio* sp., และ *Pseudomonas* sp. เป็นต้น (ภวัต สังขะวัฒนะ, 2544; Gomez-Gil et al., 2000)

โดยโพรไบโอติกที่ดีนั้นจะต้องเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดโรค เป็นเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่เพิ่มจำนวนได้มาก สามารถเจริญได้ดีในระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งมีความคงทนต่อการเก็บรักษา (ภวัต สังขะวัฒนะ, 2544) นอกจากนี้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลายประเภท ได้แก่ 1. ใช้บำบัดคุณภาพน้ำและพื้นบ่อ และ 2. ให้สัตว์กินเข้าไปในร่างกาย อาจใช้แบบผสมอาหารหรือวิธีการอื่น ซึ่งต้องอยู่ภายใต้การควบคุม ต้องจดทะเบียนกับกรมปศุสัตว์เป็นประเภทอาหารเสริมชีวนะ ซึ่งคุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในด้านต่าง ๆ เช่น

3.1 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโต

ปัจจุบันกลไกการทำงานของโพรไบโอติกยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าโพร-ไบโอติกเข้าไปจับกับบริเวณยึดเกาะ (Receptor) เพื่อแย่งพื้นที่สำหรับการยึดเกาะของจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรค และยับยั้งการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ส่งผลให้สัตว์น้ำมีอัตราการเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้โพรไบโอติกยังช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยการสังเคราะห์วิตามิน โคแฟคเตอร์ และเอนไซม์ต่าง ๆ มาช่วยย่อยอาหารทำให้อาหารที่เติมลงไปถูกดูดซึมและนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้มากขึ้น จึงส่งผลให้น้ำหนักของสัตว์น้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Gullian et al., 2004) ซึ่งรายงานของ Ramirez and Dixon (2003) พบว่าแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Acrobic bacteria) ที่อาศัยอยู่ระบบทางเดินอาหารของปลาน้ำจืด 9 ชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารทำให้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานระบบการย่อยอาหารของปลาน้ำจืด

นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ (Anaerobic bacteria) ซึ่งสามารถแยกได้จากลำไส้เล็กของปลา 3 ชนิดซึ่งสามารถเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อย

อาหารได้เช่นเดียวโดยต่อมาได้รับการพิสูจน์ว่าเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกอีกด้วย ซึ่งรายงานของ Bairagi, Sarkar Ghosh, Sen, and Ray (2004) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของการเติมแบคทีเรียโพร-ไบโอติกในปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกสามารถรอดชีวิตและเจริญได้ในทางเดินอาหารของปลายี่สกเทศ ยังพบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้งสองชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ภายนอกเซลล์ คือ เอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลส (Cellulolytic enzyme) และเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายอะไมโลส (Amylolytic enzyme) และช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต เพิ่มประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลายี่สกได้ดียิ่งขึ้น และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้อีกด้วย

นอกจากนี้รายงานของ Tovar-Ramirez et al. (2002) ได้ศึกษากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสและทริปซินของปลากะพงยุโรปวัยอ่อนโดยนำยีสต์ *Debaryomyces hansenii* ที่แยกได้จากลำไส้ปลา และ *Saccharomyces cerevisiae* มาใช้เป็นโพรไบโอติก จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ากิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสในทางเดินอาหารของกะพงยุโรปวัยอ่อนในกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติก *D. hansenii* และ *S. cerevisiae* มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) รวมทั้งรายงานของ Yanbo and Zirong (2006) ได้ศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตของปลาไน (*Cyprinus carpio*) หลังจากเลี้ยงปลาไนด้วยโพรไบโอติกเป็นเวลา 60 วัน พบว่าโพรไบโอติกช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและกิจกรรมของเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร และยังช่วยลดอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้อีกด้วย

3.2 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

ระบบภูมิคุ้มกัน คือ กลไกของสัตว์ในการป้องกันตัวเองและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สัตว์เกิดอาการเจ็บป่วยและตาย โดยระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งนั้นจะมีเซลล์เม็ดเลือดเป็นจุดศูนย์กลาง สำหรับเซลล์เม็ดเลือดกุ้งนั้นจะทำหน้าที่ทั้งกำจัดทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าไปทำอันตรายต่อกุ้ง และน้ำเลือดของกุ้งที่มีสีน้ำเงินซึ่งเป็นสีของฮีโมไซยานินที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบทำหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนและขนส่งออกซิเจนไปหล่อเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อ ซึ่งแตกต่างจากสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังซึ่งเซลล์เม็ดเลือดอยู่ 2 ชนิด คือ เซลล์เม็ดเลือดแดงทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย และเซลล์เม็ดเลือดขาวทำหน้าที่ในการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค เซลล์เม็ดเลือดของกุ้งจะถูกสร้างจากเนื้อเยื่อ Hematopoietic Tissue (HPT) ซึ่งพบในบริเวณฐานกรีและโคนขาเดินส่วนอก เมื่อเซลล์เม็ดเลือดถูกสร้างแล้วจะถูกส่งไปใช้ในระบบหมุนเวียนเลือดและถูกหัวใจบีบส่งไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (กิจการ ศุภมาตย์ วุฒิพร พรหมขุนทอง ชุติมา ตันติกิตติ และ Hoffmann, 2543) โดยปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขึ้นอยู่กับระยะการลอกคราบ พบว่าปริมาณเซลล์เม็ด

เลือดเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในระยะก่อนการลอกคราบ เซลล์เม็ดเลือดกุ้งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

1. ไฮยาลิน (Hyalin Cell) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีรูปร่างแบน กลม ผิวเรียบ บางครั้งพบว่ามีลักษณะคล้ายกระสวย ในเซลล์เม็ดเลือดมีนิวเคลียสขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์ มีไซโทพลาสซึมน้อย และไม่มีกรานูล ภายในเซลล์ รวมทั้งเป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดเล็กที่สุด (Supamattaya, Kiattaptew, & Hoffman, 2000)

2. เซมิกรานูลลาร์ (Semigranular Hemocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีเม็ดแกรนูลขนาดเล็กอยู่ในเซลล์ไม่มาก เซลล์มีความยาวประมาณ 9.0 – 14.2 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 4.2 – 6.8 ไมโครเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7.0 – 10.0 ไมโครเมตร (Supamattaya et al., 2000)

3. แกรนูลลาร์ (Large Granular Hemocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและมีแกรนูลขนาดใหญ่เป็นจำนวนมากอยู่ภายในไซโทพลาสซึม เซลล์มีความยาวประมาณ 12.2 – 14.6 ไมโครเมตร กว้างประมาณ 7.2 – 7.8 ไมโครเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 8.0 – 10.0 ไมโครเมตร (Le moullac et al., 1997) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 หน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือดกุ้ง (ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์, 2543)

การทำงาน	ชนิดของเม็ดเลือด		
	ไฮยาลิน	เซมิกรานูลลาร์	กรานูลลาร์
การจับกิน (Phagocytosis)	ทำงาน	ทำงานน้อย	ไม่ทำงาน
การห่อหุ้ม (Encapsulation)	ไม่ทำงาน	ทำงาน	ทำงานน้อยมาก
การแข็งตัวของเลือด (Clotting)	ทำงาน	ไม่ทำงาน	ไม่ทำงาน
Cytotoxicity	ยังศึกษาน้อย	ทำงาน	ทำงาน
Prophenoloxidase System	ไม่ทำงาน	ทำงาน	ทำงาน

กระบวนการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายนั้น มีทั้งที่เกิดขึ้นจากการตอบสนองของเซลล์และสารน้ำ (Cellular and Humoral Response) ซึ่งมีหลายแบบ คือ โปรตีนชนิดต่าง ๆ ในซีรัม เช่น แอกกลูตินิน (Agglutinin) ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ไลโซ-ไซม์ (Lysozyme) และโปรตีนที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือด (Clotting Protein) ซึ่งจะก่อให้เกิดกระบวนการเกาะกลุ่ม (Adhesion) การจับกิน (Phagocytosis) การห่อหุ้ม (Encapsulation) และการสร้างเม็ดสี (Melanization; Supamattaya et al., 2000) และระบบอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น การแข็งตัวของ

เลือดและสมานแผล ระบบ Prophenoloxidase Activating ในระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องในกระบวนการต่อต้านสิ่งแปลกปลอม คือเซลล์เม็ดเลือดและเซลล์จับกินอยู่กับที่ (Fixed Phagocyte) ที่กระจายอยู่ตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ (Soderhall & Ceremius, 1992) โดยกระบวนการแต่ละชนิดทำงานดังนี้

1. กระบวนการแข็งตัวของเลือดและการสมานบาดแผล (Clotting and Wound Healing) เป็นกระบวนการที่ยับยั้งหรือลดการสูญเสียเลือดเมื่อกุ้งเกิดบาดแผลรวมทั้งป้องกันการติดเชื้อ การแข็งตัวของเลือดจะเกิดจากการทำงานของเม็ดเลือดไฮยาลินและโคแอคกลูโลเจน (Supamattaya et al., 2000)

2. การจับกิน (Phagocytosis) จะเกิดขึ้นเมื่อเม็ดเลือดเซมิกรานูลลาร์พบสิ่งแปลกปลอม โดยจะยื่นไซโทพลาสซึมไปล้อมรอบสิ่งแปลกปลอมแล้วกลืนเข้าสู่ภายในเซลล์ จากนั้นจึงนำออกซิเจนเข้าสู่เซลล์และออกซิเจนจะถูกรีดิวส์เป็นซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนและจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และไฮดรอกซิลเรดิคอล ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้จะเป็นตัวทำให้สิ่งแปลกปลอมที่ถูกกลืนกินเข้าไปในเซลล์ถูกทำลาย (Bauchau, 1981)

3. การสร้างโนดูล (Nodule Formation) จะเกิดขึ้นเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากจนเกินความสามารถของการจับกินได้ทัน ดังนั้นเซลล์เม็ดเลือดจะมารวมกันมากขึ้นเพื่อล้อมรอบไม่ให้สิ่งแปลกปลอมนั้นแพร่กระจายไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้ (Soderhall & Ceremius, 1992)

4. การห่อหุ้ม (Encapsulation) เกิดขึ้นเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมขนาดใหญ่เข้าสู่ร่างกายหรือเชื้อที่ทำอันตรายต่อร่างกายเพิ่มจำนวนจนการสร้างโนดูลไม่สามารถควบคุมได้ทัน ดังนั้นเซลล์เม็ดเลือดจำนวนมากจะทำการเข้าล้อมรอบและมีการทำงานของระบบ Prophenoloxidase Activating เข้ามาร่วมทำงานด้วย (Soderhall & Ceremius, 1992)

5. ระบบ Prophenoloxidase Activating เป็นระบบการสร้างเม็ดสีสีดำที่เรียกว่า เมลานิน (Melanin Pigment) ซึ่งทำหน้าที่ทำลายสิ่งแปลกปลอม ระบบนี้ทำงานโดยอาศัยองค์ประกอบของเอนไซม์โพรฟีนอลออกซิเดส (Prophenoloxidase) ซึ่งจะพบได้ในเม็ดกรานูลในไซโทพลาสซึมของเม็ดเลือดชนิดเซมิกรานูลลาร์และกรานูลลาร์ การทำงานจะเริ่มต้นขึ้นเมื่อเซลล์เม็ดเลือดที่มีกรานูลถูกกระตุ้นด้วยผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีองค์ประกอบของไลโปพอลิแซคคาไรด์ ชนิดเบต้ากลูแคนและผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้คือเมลานินซึ่งมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ (Supamattaya et al., 2000)

3.3 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค

วัตถุประสงค์ของการนำโพรไบโอติกมาประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ เพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อก่อโรค ซึ่งเป็นการควบคุมทางชีวภาพโดยอาศัยศัตรูทางธรรมชาติ

ในการเข้าทำลายหรือควบคุมเชื้อก่อโรคไม่ให้เพิ่มจำนวนขึ้นจนเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำที่เพาะเลี้ยง (Debach & Rosen, 1991) โดยกลไกในการยับยั้งเชื้อก่อโรค ขึ้นอยู่กับชนิดของโพรไบโอติก (Balcazar et al., 2006) เมื่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกรอดชีวิตและเจริญอยู่ภายในลำไส้ของสัตว์น้ำจะมีบทบาทในการยับยั้งเชื้อโรคที่จะมาเกาะยึดผนังลำไส้ โดยไปแย่งบริเวณยึดเกาะ (Receptor sites) ที่เซลล์ผนังลำไส้กับตัวเชื้อโรค หรือเกิดการแข่งขันในการแย่งอาหารและครอบครองพื้นที่บริเวณเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารระหว่างโพรไบโอติกและจุลินทรีย์ก่อโรค (Gatesoupe, 1999)

ดังนั้นจุลินทรีย์ที่สามารถแย่งจุดยึดเกาะได้ก็จะสามารถรอดชีวิตและดำรงชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้ส่วนจุลินทรีย์ที่ล่องลอยอยู่ในระบบทางเดินอาหารก็จะถูกกำจัดออกไปทางอุจจาระ นอกจากนั้นโพรไบโอติกยังมีความสามารถในการกระตุ้นให้เซลล์เยื่อบุที่หลุดออกแล้วให้สร้างเซลล์ใหม่ทดแทนร่วมกับกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ได้อีกด้วย (Verschuere et al., 2000) นอกจากนี้โพรไบโอติกอาจสร้างสารมายับยั้งแบคทีเรียอื่น ๆ ที่แปลกปลอมเข้ามา เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารปฏิชีวนะ เป็นต้น นอกจากนี้ยังหลั่งเอนไซม์ที่สามารถย่อยเมือก (Slime layer หรือ Biofilm) ที่ล้อมรอบเซลล์แบคทีเรียก่อโรค ทำให้สารปฏิชีวนะที่โพรไบโอติกสร้างขึ้นสามารถเข้าทำลายองค์ประกอบของเซลล์ ส่งผลให้แบคทีเรียก่อโรคหยุดการเจริญและถูกทำลายในที่สุด (Moriarty, 1998)

นอกจากนี้โพรไบโอติกยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคด้วยการสร้างซิเดอร์-โรฟอร์ (Siderophore) ซึ่งซิเดอร์โรฟอร์เป็นโมเลกุลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำประมาณ 500 - 1,500 ดาลตัน โดยปกติแบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถสร้างและหลั่งสารซิเดอร์โรฟอร์เพื่อมาจับกับเหล็ก ซึ่งซิเดอร์โรฟอร์มีอยู่ 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ไม่ละลายน้ำ (Phenolate) และกลุ่มที่ละลายน้ำ (Hydroamate) โดยซิเดอร์โรฟอร์ทั้งสองชนิดสามารถแตกตัวและให้ประจุลบจึงทำให้สามารถจับกับเหล็กซึ่งมีประจุบวกได้ดี เมื่อเหล็กถูกซิเดอร์โรฟอร์ที่สร้างจากโพรไบโอติกจับส่งผลทำให้แบคทีเรียก่อโรคขาดแร่ธาตุเหล็กที่จะนำไปใช้ในการเจริญจึงตายได้ (Verschuere et al., 2000)

3.4 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้ง

ปัจจุบันการใช้โพรไบโอติกในการบำบัดของเสียหรือควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้กันมาก โดยโพรไบโอติกที่ใช้กันมาก และในการเพาะเลี้ยงกุ้งโดยทั่วไปต้องมีการตระหนักทางด้านสิ่งแวดล้อมและคุณภาพของบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งซึ่งปัจจัยต่าง ๆ จะส่งผลกระทบโดยตรงต่อระบบการเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตของกุ้ง ปัจจัยที่มีความสำคัญ ได้แก่ ความเค็ม (Salinity) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved oxigen) อุณหภูมิของน้ำ (Water temperature) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณแอมโมเนีย (NH_3) และก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

(H_2S) ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อมจะเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาในระหว่างที่มีการเพาะเลี้ยงกุ้ง รายละเอียดของปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

3.4.1 ความขุ่น (Turbidity) หมายถึง สมบัติทางแสงของสารแขวนลอยซึ่งทำให้แสงกระจาย และถูกดูดกลืนมากกว่าที่จะยอมให้แสงผ่านเป็นเส้นตรง ความขุ่นของน้ำเป็นค่าที่แสดงให้เห็นว่าน้ำมีสารแขวนลอย (Suspened and colloidal matter) อยู่มากน้อยเพียงใด ซึ่งสิ่งที่ทำให้เกิดความขุ่นได้แก่ สารอินทรีย์ สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีขนาดระหว่าง 1-10 ไมครอน เช่น แพลงค์ตอน แบคทีเรีย หรือลักษณะของสารแขวนลอย เช่น อนุภาคของดิน ทราย ตลอดจนแร่ธาตุต่าง ๆ เป็นต้น (ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมสิริ, 2528) ความขุ่นรวมทั้งสารแขวนลอยจะมีผลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ เนื่องจากทำให้แสงสว่างส่องไปไม่ถึงจึงไปขัดขวางขบวนการสังเคราะห์แสงของแพลงก์-ตอนพืชซึ่งเป็นผู้ผลิตขั้นต้น (Primary productivity) ให้เกิดได้ลดลงหรือตายลงได้ตลอดเวลา ส่งผลให้ปริมาณอาหารตามธรรมชาติของสัตว์น้ำลดลง เกิดตะกอนซากแพลงก์ตอนและเลนที่พื้นบ่อมากขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้เกิดกิจกรรมการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์มากขึ้นจึงมีการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณมากขึ้นด้วยทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ความขุ่นทำให้อุณหภูมิของน้ำเปลี่ยนแปลงโดยเฉพาะน้ำผิวบนจะดูดซับความร้อนทำให้น้ำมีอุณหภูมิสูงกว่าปกติ และน้ำที่มีสารแขวน-ลอยอยู่มากจะสามารถรับออกซิเจนได้น้อยกว่าน้ำที่ใสกว่า (O' Neill, 1993)

3.4.2. อุณหภูมิ (Temperature) คือความร้อน-เย็นของน้ำ อุณหภูมิของน้ำจะสูงกว่าอุณหภูมิของบรรยากาศและเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ การเจริญเติบโตของสัตว์ พืชน้ำ และมีผลต่อการละลายของออกซิเจนในน้ำ โดยออกซิเจนละลายน้ำได้ 7.54 - 9.08 มิลลิกรัมต่อลิตรที่อุณหภูมิบรรยากาศ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งในบ่อเลี้ยงคือ 25 – 30 องศาเซลเซียส (Boyd & Fast, 1992) แต่ถ้าอุณหภูมิของน้ำสูงเกินไปกุ้งจะมีการงอตัวเนื่องจากการเกร็งของกล้ามเนื้อ และเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียส กุ้งจะไม่ว่ายน้ำและหยุดการกินอาหาร และหากอุณหภูมิต่ำกว่า 14 องศาเซลเซียส จะทำให้กุ้งตาย (วิภูษิต มัณฑะจิตร, วรวิทย์ ชีวาพร และสมถวิล จริตควร, 2534) นอกจากนี้จากการรายงานของ สะไบทิพย์ อมรจารุชิต, พัชริดา เหมมัน, สิริ ทุกข์วินาศ และรังสิไชย ทับแก้ว (2543) กล่าวว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะส่งผลให้แอมโมเนียแตกตัว (Ionized ammonia: NH_3) อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงในแต่ละฤดูกาลนั้นมีผลต่อความแตกต่างของจุลินทรีย์ที่มีการใช้ประโยชน์จากไนเทรตด้วย (Ogilvie, Rutter, & Nedwell, 1997)

3.4.3 ความเค็ม (Salinity) กุ้งเป็นสัตว์ทะเลที่มีความสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของความเค็มได้ในช่วงกว้างและหากความเค็มเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างช้า ๆ กุ้งจะสามารถปรับตัวอยู่ที่ความเค็มเป็นศูนย์เป็นเวลานานประมาณ 30 วัน หรือเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นจนถึง 45

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

พีพีที (ส่วนในพันส่วน) แต่ความเค็มที่เหมาะสมและการเจริญเติบโตของกุ้ง คืออยู่ระหว่าง 15-20 พีพีที แต่ในปัจจุบันพบว่าการเลี้ยงกุ้งที่มีความเค็ม 3-10 พีพีที จะง่ายกว่าการเลี้ยงด้วยน้ำทะเลความเค็มปกติคือความเค็มระหว่าง 30-35 พีพีที เนื่องจากน้ำที่มีความเค็มต่ำจะทำให้มีปัญหาจากโรคน้อยมาก โดยเฉพาะปัญหาจากโรคแบคทีเรียเรืองแสง เป็นต้น (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2543)

3.4.4 ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved Oxygen; DO) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำโดยความสามารถในการละลายน้ำของออกซิเจนขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ และความเค็มของน้ำ น้ำที่มีความเค็มและอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ออกซิเจนละลายน้ำได้ลดลง สัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียน เช่น กุ้ง กั้ง ปู จะมีความไวต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Rosas, Martinez, Gaxiola, Sanchez, & Soto, 1999) เนื่องจากการขาดแก๊สออกซิเจนอย่างฉับพลันจะทำให้การหายใจแบบใช้ออกซิเจนปกติทำให้เกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจน (Singlet oxygen) ที่เป็นพิษต่อเซลล์ (Ranby & Rabek, 1978) กุ้งน้ำหนักระหว่าง 2 - 130 กรัม จะมีอัตราการบริโภคออกซิเจนเพิ่มขึ้นตามน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น แต่หากพิจารณาต่อหน่วยน้ำหนักแล้วกุ้งที่มีขนาดใหญ่จะมีการบริโภคออกซิเจนน้อยกว่ากุ้งที่มีขนาดเล็ก (วิภูษิต มัณฑะจิตร และคณะ, 2534) การเพิ่มออกซิเจนโดยการติดตั้งเครื่องตีน้ำ (Paddle wheel) ทำให้เกิดการหมุนเวียนออกซิเจนลงสู่บ่อเลี้ยงได้ดีขึ้นมีการเจริญของแพลงก์ตอนพืชซึ่งมีผลต่อปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเป็นสำคัญจากการสังเคราะห์แสง แต่ถ้ามีปริมาณแพลงก์ตอนพืชมากเกินไปจะทำให้ช่วงเวลากลางคืนถึงเช้ามืดมีปริมาณออกซิเจนไม่เพียงพอต่อการหายใจของของกุ้ง ทำให้กุ้งเกิดภาวะเครียด และกินอาหารลดลงส่งผลให้เจริญเติบโตช้า (สะไบทิพย์ อมรจารุชิต และคณะ, 2543)

3.4.5 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) การวัดค่าค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเป็นการวัดปริมาณความเข้มของไฮโดรเจนอิออนที่มีอยู่ในน้ำ ช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งควรมีค่าอยู่ในช่วง 7 - 9 ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างต่ำ (6.4 - 7.4) จะส่งผลต่อแบคทีเรียกลุ่มไนโตรแบคเตอร์ (Nitrobacter bacteria) ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายไนไทรต์ เพราะในภาวะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำไนไทรต์จะเปลี่ยนเป็นกรดไนตรัส ซึ่งมีความเป็นพิษต่อไนโตรแบคเตอร์ทำให้ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันหยุดไปด้วย (Hargreaves, 1998) การที่ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการผลิตหรือสะสมของกรดอินทรีย์ (Menasveta et al., 2001) สำหรับค่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เพิ่มขึ้นหรือค่อนข้างสูง (8.4 - 9) จะมีผลต่อการแตกตัวของแอมโมเนีย (NH_3) ในรูปที่เป็นพิษมากขึ้นด้วยในขณะที่แอมโมเนียมอิออน (NH_4^+) จะลดลง (สะไบทิพย์ อมรจารุชิต และคณะ, 2543)

3.4.6 ธาตุอาหาร ธาตุอาหารที่มีผลต่อกุ้งโดยตรง คือไนไทรต์ และแอมโมเนีย โดยวิภูษิต มัณฑะจิตร และคณะ (2534) รายงานว่าปริมาณไนไทรต์และแอมโมเนียที่เหมาะสมต่อการ

329282

อนุบาลกุ้งไม่ควรเกิน 0.3599 มิลลิกรัมไนไทรต์-ไนโตรเจนต่อลิตร และ 0.0396 มิลลิกรัมแอมโมเนีย-ไนโตรเจนต่อลิตรตามลำดับ โดยแอมโมเนียที่พบในน้ำจะมี 2 รูป คือแก๊สแอมโมเนีย (NH_3^+) ที่ไม่เป็นพิษจะพบมากเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 8.5 ซึ่งในบ่อเลี้ยงกุ้งนั้นควรมีแอมโมเนียไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไนโตรเจนเกือบทั้งหมด (97 %) ที่เข้าสู่บ่อกุ้งมาจากอาหารที่กุ้งกิน ซึ่งกุ้งสามารถเก็บไนโตรเจนไว้ในเนื้อกุ้งได้ประมาณ 21.8 % ไนโตรเจนอีกประมาณเกือบ 80 % จะตกค้างอยู่ในบ่อในรูปของเศษอาหารและขี้กุ้งที่บริเวณก้นบ่อประมาณ 70 % และในรูปของสิ่งขับถ่ายที่ละลายน้ำได้ เช่น สารอินทรีย์ไนโตรเจน แอมโมเนีย ไนไทรต์ และไนเทรต ประมาณ 9 % (พุทธ ส่องแสงจินดา และสำรอง อินเอก, 2546) ในการเลี้ยงกุ้งที่มีการให้อาหารมากเกินไปจะทำให้มีปริมาณสารอินทรีย์ในบ่อเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้จะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียแล้วจะมีการนำออกซิเจนไปใช้ คือค่าบีโอดี (Biochemical Oxygen Demand; BOD; สะไบทิพย์ อมรจารุชิต และคณะ, 2543)

ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมคุณภาพน้ำไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงมากเกินไปเพราะอาจทำให้กุ้งไม่เจริญเติบโตเท่าที่ควรหรืออาจจะตายได้ การควบคุมคุณภาพในบ่อเพาะเลี้ยงควรปฏิบัติดังนี้

1. ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทุกวันถ้าพบความผิดปกติให้รีบเปลี่ยนน้ำ

2. ถ้าเลี้ยงกุ้งหนาแน่นต้องติดตั้งเครื่องกังหันน้ำให้มากพอ เพื่อแก้ปัญหาการขาดออกซิเจน

3. เปลี่ยนถ่ายน้ำออกจากก้นบ่อเลี้ยงกุ้งบ่อย ๆ แต่ระยะแรกที่ปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยงไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำ

4. การให้อาหารกุ้ง ต้องไม่ให้อาหารเหลือและตกค้างในบ่อ ควรให้อาหารครั้งละน้อย ๆ แต่ให้บ่อยครั้ง

นอกจากการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยต่าง ๆ ของน้ำภายในบ่อเพาะเลี้ยงการเกิดของเสียในระบบเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดมลพิษทางน้ำ ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากไม่มีการจัดการระบบเพาะเลี้ยงที่ดีและมีการปล่อยของเสียลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติจนเกินกว่าอัตราการย่อยสลายได้ตามธรรมชาติทำให้คุณภาพของแหล่งน้ำเสื่อมลง จากรายงานที่ผ่านมาของ Hargeaves (1998) ได้จัดแบ่งของเสียที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงกุ้งออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้

1. ของเสียที่อยู่ในรูปของแข็ง (Solid matter) ได้แก่ อนุภาคที่แขวนลอยอยู่ในน้ำและที่ตกลงไปทับถมกับดินตะกอนก้นบ่อ เช่น เศษอาหารกุ้งที่เหลือ สิ่งขับถ่ายกุ้ง แพลงก์ตอนพืช และแบคทีเรีย เป็นต้น

2. ของเสียที่ละลายน้ำได้ (Dissolved matter) ได้แก่ แอมโมเนีย ยูเรีย คาร์บอนไดออกไซด์ ฟอสฟอรัส กรดอะมิโน ไนโตรเจน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น

โดยของเสียที่เกิดขึ้นภายในบ่อเพาะเลี้ยงนั้นมีสาเหตุมาจากหลายประการ ได้แก่

1. เศษอาหาร

โดยทั่วไปอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งนั้นจะมีทั้งในลักษณะของอาหารสด และอาหารแห้งหรืออาหารเม็ด โดยมีส่วนประกอบของสารอินทรีย์สูงถึง 90 % และยังมีส่วนประกอบของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสอยู่ในปริมาณสูงถึง 77.5 % และ 86 % ตามลำดับ (Bratvold & Browdy, 2001) โดยมีการศึกษาว่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในอาหารกุ้งนั้น กุ้งจะมีการนำไปใช้ได้เพียง 21.08 ± 2.63 % และ 5.18 ± 0.76 % ตามลำดับ ถ้ามีการให้อาหารกุ้งมากเกินไปแล้วกุ้งไม่ได้กินส่วนที่เหลือ จะเกิดการตกค้างอยู่ในนากุ้งทำให้น้ำเกิดการเน่าเสียขึ้น เนื่องจากอาหารกุ้งที่สามารถสะลายน้ำได้ทันที เช่น อาหารสด จะมีส่วนทำให้แบคทีเรียมีการเจริญอย่างรวดเร็ว ส่วนอาหารเม็ดที่มีน้ำหนักมากกว่าส่วนหนึ่งจะตกลงมาและจมตัวอยู่ในดินตะกอน ทำให้เกิดการตกค้างของอาหารส่งผลให้แพลงก์ตอนพืชและแบคทีเรียมีการเจริญอย่างมาก ซึ่งจะส่งผลให้ออกซิเจนละลายน้ำลดลงแล้วเกิดสภาวะน้ำเน่าเสียในที่สุด (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552) ซึ่งจุลินทรีย์จะมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารต่าง ๆ ดังนี้

1.1 การย่อยสลายโปรตีนโดยจุลินทรีย์

โปรตีนเป็นสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน โมเลกุลของโปรตีน ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน และไนโตรเจน ซึ่งหน่วยย่อยของโปรตีนคือ กรดอะมิโน ซึ่งมีหลายชนิด กรดอะมิโนเหล่านี้จะเชื่อมโยงกันเป็นสายยาวโดยพันธะเปปไทด์ (Peptide bond) โดยปกติโปรตีนมักมีจำนวนกรดอะมิโนประมาณ 100 - 300 หน่วยหรือโมเลกุล (เรืองลักขณา จามิกรณ์, 2535) จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายโปรตีนต้องมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2535) การย่อยโปรตีนโดยจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายโปรตีนในสภาวะมีออกซิเจน ได้แก่ *Bacillus, Pseudomonas, Proteus, Staphylococcus, Micrococcus*

ส่วนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายโปรตีนในสภาวะไม่มีออกซิเจน ได้แก่ *Clostridium* ซึ่งการย่อยสลายโปรตีนในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะได้สารประกอบที่มีกลิ่นเหม็นหลายชนิด เช่น ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์, Idole, Skatol และ Mercaptans เป็นต้น นอกจากแบคทีเรียแล้วยังพบว่ามีราบางชนิดสามารถย่อยโปรตีนได้เช่น *Aspergillus* และ *Monilia* เป็นต้น ซึ่งมีรายงานที่ผ่านมาของ Olajuyigbe and Ajele (2005) ได้ศึกษาความสามารถของ *Bacillus* sp. ที่คัดแยกจากตัวอย่างดินในประเทศไนจีเรียในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่มีความสามารถในการย่อยสลาย

โปรตีน พบว่าแบคทีเรียทั้งหมด 18 ไอโซเลท ที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Skim Milk Agar ซึ่งมีเพียง 15 ไอโซเลทที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่ทดสอบด้วยอาหารเหลว จากนั้นเลือกเพียง 3 ไอโซเลทมาศึกษาการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ได้แก่ *B. macerans* IKBM-11, *B. licheniformis* IKBL-17 และ *B. subtilis* IKBS-10 โดยมีค่าความเป็นกรด- ด่างที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เท่ากับ 8.0 และอุณหภูมิที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้เท่ากับ 37 องศาเซลเซียส

1.2 การย่อยสลายไขมันโดยจุลินทรีย์

ไขมันเป็นสารชีวโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในตัวทำละลาย ได้แก่ อีเทอร์ และคลอโรฟอร์ม เป็นต้น (เรืองลักขณา จามิกรณ์, 2535) ไขมันจะประกอบด้วยเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ เช่น กลีเซอรอล (สุรีย์ ฟูตระกูล, 2533) กลไกการย่อยสลายไขมันของจุลินทรีย์จะนำไขมันเข้าเซลล์ได้นั้นต้องมีการย่อยสลายให้เป็นหน่วยย่อยก่อน โดยใช้เอนไซม์ไลเปส เพื่อไฮโดรไลส์พันธะเอสเทอร์ของกลีเซอรอล (ขจีนาฏ โพธิเวชกูล, สุมาลีเหลืองสกุล, และสมใจ ศิริโภค, 2540) ตัวอย่างแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไขมันได้แก่ *Chromobacterium* sp., *Bacillus licheniformis* และรา เช่น *Rhizopus delemar* เป็นต้น (สุรีย์ ฟูตระกูล, 2533)

1.3 การย่อยสลายแป้งโดยจุลินทรีย์

แป้งเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบขึ้นจากน้ำตาลชนิดเดียว คือ D-glucose การย่อยสลายแป้งจะได้อะไมโลส (Amylose) และอะไมโลเพคติน (Amylopectin) ซึ่งอะไมโลส ประกอบด้วย D-glucopyranose มาต่อกันเป็นเส้นตรง โดยพันธะ α (1,4) Glycosidic ส่วนอะไมโลเพคตินจะประกอบด้วย D-glucopyranose แต่ต่อกันด้วยพันธะ α (1,4) และ α(1,6) Glycosidic (เรืองลักขณา จามิกรณ์, 2535) โมเลกุลของแป้งจะถูกย่อยโดยเอนไซม์อะไมเลสซึ่งเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะ α (1,4) Glycosidic จะพบได้ในจุลินทรีย์พวกรา ยีสต์ และแบคทีเรีย เป็นต้น แบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส ส่วนใหญ่อยู่ในจีนัส *Bacillus* เช่น *B. subtilis, B. licheniformis* และ *B. stearothermophilus* เป็นต้น (ขจีนาฏ โพธิเวชกุล และคณะ, 2540) ซึ่งจากรายงานที่ผ่านมาของ Lealem and Gashe (1994) ได้ทำการศึกษา *Bacillus* sp. A-001 ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสโดยคัดแยกจาก Fermenting Tef (*Eragroatis tef*) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone Soya Agar ที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ 1 % พบว่า *Bacillus* sp. A-001 สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ และสามารถเจริญได้ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 4.5 - 10.5 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 7.0 - 7.5 และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 20 - 50 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 35 - 40 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 และอุณหภูมิเท่ากับ 35 องศาเซลเซียส จะให้ผลผลิตของเอนไซม์อะไมเลสสูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 9.6 Units/mL

1.4 การย่อยสลายเซลลูโลสโดยจุลินทรีย์

เซลลูโลสเป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งที่พบมากในผนังเซลล์พืชและวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคสหลาย ๆ หน่วยเรียงต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะ β-(1,4) Glycosidic เซลลูโลสมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่จะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์และสารละลายกรดหรือด่างแก่ เมื่อเกิดการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลกลูโคส แต่ถ้าเกิดการย่อยสลายที่ไม่สมบูรณ์จะเกิดผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า เซลโลไบโอส ในขบวนการย่อยสลายเซลลูโลสจะมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องคือ เซลลูเลส ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ Endoglucanase Exoglucanase และ β-glucosidase การย่อยสลายเซลลูโลสในพืชจะเกิดขึ้นเมื่อพืชตายหรือมีบาดแผล แต่เมื่ออยู่ในสภาพที่สมบูรณ์พืชจะสามารถสร้างสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

2. ดินตะกอน

ดินตะกอนในบ่อกุ้งจะเกิดจากการทับถมกันของสิ่งขับถ่ายกุ้ง ซากแพลงก์ตอนพืชและแบคทีเรีย เศษอาหารที่เหลือทำให้บ่อกุ้งเกิดการตื้นเขิน เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดขี้แดดขึ้น ขี้แดดคือสาหร่ายที่เกิดขึ้นบริเวณกลางบ่อที่ตื้นซึ่งแดดสามารถส่องลงไปถึงพื้นก้นบ่อทำให้สาหร่ายมีการเจริญอย่างรวดเร็วและมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ จนเป็นแผ่นหนา โดยในช่วงเวลากลางวันแสงแดดส่องถึงทำให้มีการสร้างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งจะมีบางส่วนที่ละลายน้ำได้แล้วออกไปในอากาศทันที และจะมีบางส่วนที่จะรวมตัวกันเป็นฟองอากาศซึ่งจะช่วยยกแผ่นสาหร่ายให้หลุดลอยขึ้นไปสู่ผิวน้ำเมื่อถูกคลื่นซัดเข้ากระแทกกับชายฝั่งสาหร่ายจะแตกออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ และจมลงสู่ก้นบ่อ ในบริเวณที่ลึกแสงแดดส่องไม่ถึงจะเกิดการเน่าสลายเป็นสาเหตุของการเกิดแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ แอมโมเนีย ไนเทรต ไนไทรต์ และการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ (ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ, 2531)

ดินตะกอนจากการเพาะเลี้ยงกุ้งนั้นจะเป็นแหล่งสะสมของซากแพลงก์ตอนพืช ซากแพลงก์ตอนสัตว์ เศษอาหารกุ้ง แอมโมเนีย ไนเทรตและไนไทรต์ ทำให้ดินตะกอนสามารถที่จะปลดปล่อยหรือดูดซับธาตุอาหารรวมถึงการถ่ายเทแร่ธาตุและแก๊สต่าง ๆ กับน้ำอยู่ตลอดเวลา โดยเฉพาะสารประกอบไนโตรเจนซึ่งการแลกเปลี่ยนสารประกอบไนโตรเจน เกิดขึ้นบริเวณผิวสัมผัสน้ำกับดินตะกอน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแอมโมเนีย ไนไทรต์และไนเทรตในมวลน้ำกับดินตะกอนส่งผลให้เกิดการลดลงของออกซิเจนโดยที่บริเวณสัมผัสระหว่างน้ำกับดินตะกอนจะมีการปลดปล่อยแก๊สแอมโมเนีย ไนไทรต์อยู่ตลอดเวลา (พุทธ ส่องแสงจินดา และวลีรัตน์ มูสิกะสังข์, 2549) ดังนั้นเมื่อตะกอนเข้าเหงือกจะส่งผลให้เหงือกเกิดการแลกเปลี่ยนแก๊ส

พิษเข้าสู่กุ้งและตะกอนที่เกาะจับกับเหงือกกุ้งจะขัดขวางการแลกเปลี่ยนแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับการเจริญ (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

3. สาหร่าย

การเจริญเติบโตของสาหร่ายในสภาวะที่ผิดปกติจะสังเกตได้จากสภาพน้ำที่มีสีเขียวจัดและขุ่นข้น สาหร่ายจะเกิดการสังเคราะห์และในเวลากลางวัน แต่ในช่วงเวลากลางคืนนั้น สาหร่ายจะดึงเอาออกซิเจนที่ละลายน้ำไปใช้ในการหายใจ ทำให้ปริมาณของออกซิเจนที่ละลายน้ำลดต่ำลง นอกจากนี้ยังอาจเกิดกลิ่นและสารพิษอันเนื่องมาจากการตายและจมลงก้นบ่อของสาหร่ายทำให้เกิดสภาพไร้อากาศขึ้น ทำให้เป็นสาเหตุหนึ่งของการเน่าเสียของน้ำ (รตีวรรณ อ่อนรัศมี, ถิรพงษ์ ภิรมนัส, คนัย บวรเกียรติกุล และรจฤดี โชติกาวินทร์, 2541)

4. สิ่งขับถ่ายจากกุ้ง

สิ่งขับถ่ายจากกุ้งส่วนใหญ่จะเป็นสารอาหารจำพวกโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไฟเบอร์ ที่สามารถจะเกิดการย่อยสลายไปเป็นอาหารของจุลินทรีย์ในน้ำทำให้เกิด การเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์แล้วไปแย่งการใช้ออกซิเจนจากกุ้ง (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552) ดังนั้นจากปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงกุ้งหรือสัตว์น้ำทั่วไปดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งโพรไบโอติก ซึ่งจะมีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดกระบวนการต่าง ๆ ในการช่วยลดปัญหาในการเพาะเลี้ยงกุ้งหรือสัตว์น้ำ จึงสามารถสรุปข้อดีของการใช้โพรไบโอติกดังนี้

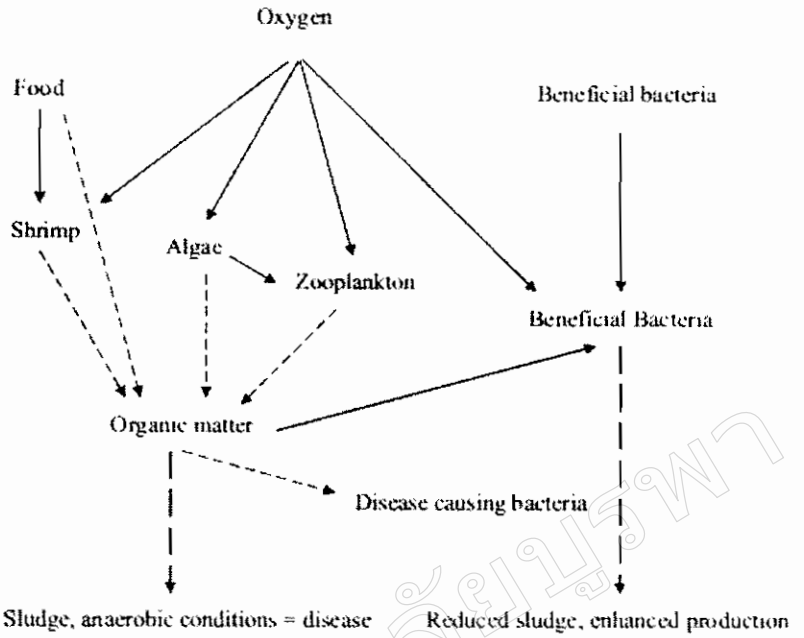
1. สามารถกำจัดเศษอาหารของเสียที่พื้นบ่อ รวมทั้งตะกอนสารอินทรีย์แขวนลอยในน้ำให้เป็นสารอนินทรีย์ที่สามารถละลายน้ำได้

2. สามารถเปลี่ยนสารพิษบางอย่างให้อยู่ในรูปที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ เช่น การเปลี่ยนแอมโมเนียให้เป็นไนเทรต การเปลี่ยนก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ให้เป็นซัลเฟต ทำให้แพลงก์ตอนพืชได้รับแร่ธาตุหรือปุ๋ย เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย ไนเทรตและธาตุอาหารอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต

3. ทำให้ระบบนิเวศของบ่อกุ้งดีขึ้นและสามารถลดปริมาณขี้เลน

4. เป็นการใช้วิธีทางธรรมชาติมาช่วยลดและควบคุมปริมาณแบคทีเรียก่อโรคภายในบ่อกุ้ง เช่น *Vibrio* sp. โดยที่ไม่ต้องใช้สารเคมี สารปฏิชีวนะในการเลี้ยง ทำให้ผลผลิตที่ได้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมักมีความซับซ้อนมากแต่อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์จะมีบทบาทสำคัญดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นไม่ว่าจะเป็นการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค การปรับปรุงคุณภาพน้ำ การย่อยสลายสารต่าง ๆ ภายในบ่อเพาะเลี้ยงดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Sahu et al., 2008)

การประยุกต์ใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ โดยจากคุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในด้านต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ยกตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 3

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3 การประยุกต์ใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ดัดแปลงมาจาก Cruz, Ibanez, Hermosillo, & Saad, 2012)

การประยุกต์	ชนิดของโพรไบโอติก	ชนิดการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
ส่งเสริมการเจริญ (Growth promotor)	*Bacillus* sp. S11	*Penaeus monodon*
	Bacillus sp.	Catfish
	Carnobacterium divergens	*Gadus morhua*
	Alteromonas CA2	*Crassostrea gigas*
	Lactobacillus helveticus	*Scophthalmus maximus*
	Lactobacillus lactis AR21	*Brachionus plicatilis*
	Streptococcus thermophilus	*Scophthalmus maximus*
	Streptomyces	*Xiphophorus helleri*
	L. casei	*Poeciliopsis gracilis*
	Bacillus NL110, *Vibrio* NE17	*Macrobrachium rosenbergii*
	Bacillus coagulans	*Cyprinus carpio koi*
การย่อยสลายสารอาหาร (Nutrient digestibility)	*L. helveticus*	*Scophthalmus maximus*
	Bacillus NL 110, *Vibrio* NE 17	*Macrobrachium rosenbergii*
	Carnobacterium sp. Hg4-03	*Hepialus gonggaensis* larvae
	Lactobacillus acidophilus	*Clarias gariepinus*
	Shewanella putrefaciens Pdp11	*Solea senegalensis*
การยับยั้งเชื้อก่อโรค (Pathogen inhibition)	*Bacillus* sp.	Penaeids
	Enterococcus faecium SF68	*Anguilla anguilla*
	L. rhamnosus ATCC53103	*Oncorhynchus mykiss*
	Micrococcus luteus A1-6	*Oncorhynchus mykiss*
	Pseudomonas fluorescens	*Oncorhynchus mykiss*
	P. fluorescens AH2	*Oncorhynchus mykiss*
	*Pseudomonas*sp.	*Oncorhynchus mykiss*
	Roseobacter sp. BS. 107	Scallop larvae

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 3 (ต่อ)

	Saccharomyces cerevisiae, S. exiguous, Phaffia rhodozyma	*Litopenaeus vannamei*
การยับยั้งเชื้อก่อโรค (Pathogen inhibition)	*Vibrio alginolyticus*	Salmonids
	V. fluvialis	*Oncorhynchus mykiss*
	Tetraselmis suecica	*Salmo salar*
	Carnobacterium sp. Hg4-03	*Hepialus gonggaensis* larvae
	Lactobacillus acidophilus	*Clarias gariepinus*
	Bacillus spp., *Enterococcus*sp.	*Farfantepenaeus brasiliensis*
	Lactococcus lactis	*Epinephelus coioides*
ปรับปรุงคุณภาพน้ำ (Water quality)	*Bacillus* sp. 48	*Penaeus monodon*
	Bacillus NL 110, *Vibrio* sp. NE 17	*Macrobrachium rosenbergii*
	Lactobacillus acidophilus	*Clarias gariepinus*
	B. coagulans SC8168	*Pennaeus vannamei*
	Bacillus sp., *Saccharomyces* sp.	*Penaeus monodon*
การทนต่อสภาวะเครียด (Stress tolerance)	*Lactobacillus delbrueckii*	*Dicentrarchus labrax*
	Alteromonas sp.	*Sparus auratus*
	B. subtilis, L. acidophilus, S. cerevisiae	*Paralichthys olivaceus*
	L. casei	*Poecilopsis gracilis*
	Pediococcus acidilactici	*Litopenaeus stylirostris*
	Shewanella putrefaciens Pdp11	Makimaki
การปรับปรุงผลผลิต (Reproduction improvement)	*Bacillus subtilis*	*Poecilia reticulata, Xiphophorus maculatus*
	L. rhamnosus	*Danio rerio*
	L. acidophilus, L. casei, Enterococcus faecium, Bifidobacterium thermophilum	*Xiphophorus helleri*

4. *Bacillus*

Bacillus sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) รูปท่อนทรงกระบอก (Rod-shape) อาจเป็นท่อนเดียวหรือต่อกันเป็นสาย มีขนาด 0.5-2.5×1.2-10 ไมโครเมตร ต้องการออกซิเจน (Aerobe) หรือบางชนิดต้องการออกซิเจนหรือไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Facultative anaerobe) สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (Endospore forming) สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี (Hong, Duc, & Cutting, 2005; Murillo & Villamil, 2011) เจริญได้ในอาหารหลายชนิดเจริญได้ดีในอุณหภูมิปกติ และความเป็นกรดด่างเป็นกลาง สามารถผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น โปรติเอส และ อะไมเลส เป็นต้น เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน ดินตะกอน น้ำ อากาศ รวมทั้งสามารถคัดแยกได้จากส่วนต่างต่าง ๆ เช่น เหงือก ผิวหนัง และลำไส้ ของปลาและสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน (กุ้ง และหอย; Hong et al., 2005)

Bacillus sp. มีความหลากหลายทางลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยา ลักษณะโคโลนีมีความแปรปรวนมากขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ นอกจากนี้อายุโคโลนี และจำนวนโคโลนีต่อจานอาหารที่เลี้ยงมีผลต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะแยกชนิดด้วยลักษณะโคโลนี อย่างไรก็ตามในสภาพแวดล้อมเดียวกันลักษณะโคโลนีสามารถใช้ในการจำแนกชนิดได้ (พรพรรณ อู่สุวรรณ, 2550) องค์ประกอบของเซลล์ของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ประกอบด้วย Cytoplasmic membrane และผนังเซลล์ ในบางสายพันธุ์เซลล์ของ *Bacillus* sp. ไม่มีชั้นเยื่อหุ้มนอกเซลล์ ซึ่งต่างจากแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนผนังเซลล์ประกอบด้วย Peptidoglycan หลายชั้น Anionic polymers ทำให้ผนังเซลล์มีความเหนียว บริเวณผิวหน้าของผนังเซลล์เป็นชั้นของ Paracrystalline cell wall surface layers (S layers) ประกอบด้วยโปรตีนหรือไกลโคโปรตีน นอกจากนี้ *Bacillus* sp. หลายชนิดสามารถสร้างแคปซูลประเภทคาร์โบไฮเดรต เช่น Poly-D-glutamic acid capsule สร้างโดย *B. anthracis* ทั้งในห้องปฏิบัติการและในสภาพธรรมชาติ ซึ่งเป็นการแสดงออกของปัจจัยความรุนแรงของ *Bacillus* sp.

แบคทีเรียสกุล *Bacillus* สร้างสปอร์ภายในเซลล์เมื่อมีอาหารจำกัด เซลล์เข้าสู่ระยะทุติยภูมิและอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ทำให้สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ เช่น ความร้อน แสงอัลตราไวโอเลต และสารเคมีต่าง ๆ บางเซลล์อาจมีแวคิลโอล บางชนิดอาจพบผลึกโปรตีน เช่น *B. thuringiensis* รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์และตำแหน่งการสร้างสปอร์ภายในเซลล์ สามารถจำแนกแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ได้เป็น 3 กลุ่ม (พรพรรณ อู่สุวรรณ, 2550) คือ

กลุ่มที่ 1 เซลล์ไม่โป่งพอง สปอร์เป็นรูปวงรีหรือรูปทรงกระบอก ตำแหน่งสปอร์อยู่หรือค่อนไปทางปลายเซลล์ กลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มที่ 1A เซลล์มีขนาดใหญ่ กว้างมากกว่า 1 ไมโครเมตร ภายใน Protoplasm จะมีแกรนูลที่ไม่ติดสีแกรม ทำให้เห็นเซลล์ไม่ติดสีเป็นช่วง ๆ ได้แก่ *B. megaterium*, *B. cereus*, *B. cereus* var. *mycoides*, *B. thuringiensis* และ *B. anthracis* กลุ่มที่ 1B ขนาดเซลล์กว้างน้อยกว่า 1 ไมโครเมตร เช่น *B. subtilis*, *B. pumilis*, *B. licheniformis*, *B. firmus* และ *B. coagulans* เป็นต้น

กลุ่มที่ 2 เซลล์โป่งพอง สปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ ตำแหน่งอยู่ตรงกลางหรืออยู่ปลายเซลล์ ได้แก่ *B. circulans*, *B. macerans*, *B. polymyxa*, *B. alvei*, *B. laterosporus*, *B. brevis*, *B. popilliae*, *B. larvae*, *B. stearothermophilus* และ *B. lentimorbus*

กลุ่มที่ 3 สปอร์ทำให้เซลล์โป่งออก หรือบางครั้งไม่โป่ง สปอร์รูปร่างกลม ตำแหน่งอยู่ปลายหรือค่อนไปทางปลายเซลล์ เช่น *B. sphaericus*

แบคทีเรียชนิดนี้มีความสำคัญต่อเทคโนโลยีชีวภาพค่อนข้างมากเนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่นำมาใช้ผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ทั้งนี้เป็นเพราะ *Bacillus* sp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างและหลั่งสารประกอบต่าง ๆ ออกสู่ภายนอกเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งการใช้เอนไซม์ที่ได้จาก *Bacillus* มีข้อดีหลายประการ เช่น มีความจำเพาะสูง เกิดได้ภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง มีคุณสมบัติจำเพาะต่างกัน และสามารถแยกได้จากธรรมชาติทั่วไป เป็นต้น แบคทีเรียนี้มีเพียงไม่กี่ชนิดที่เป็นเชื้อก่อโรค ส่วนใหญ่มีความปลอดภัยต่อการใช้งาน แบคทีเรียชนิดนี้พบได้ทั่วไปในดิน น้ำ และอากาศ เจริญได้โดยใช้สารอาหารที่ได้จากการย่อยสลายของซากพืชและซากสัตว์ แบคทีเรียจำพวกนี้สร้างและหลั่งเอนไซม์จำพวกคาร์โบไฮเดรตและโปรติเอสออกนอกเซลล์ได้หลายชนิด ซึ่งการประยุกต์ใช้เอนไซม์ของ *Bacillus* ในอุตสาหกรรม เช่น การผลิตสารทำความสะอาด อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์จากแป้ง อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ อุตสาหกรรมกระดาษ ผ้าและหนัง อุตสาหกรรมน้ำผลไม้ และการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ด้านอื่น ๆ เช่น ทางการแพทย์ (มานะฉันท์ ขันบุญ, 2536)

สำหรับในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนั้นมีรายงานว่านิยมนำมาใช้เป็นโพรไบโอติก เนื่องจากแบคทีเรียในสกุลนี้สามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิดที่มีความจำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น อะไมเลส ไลเปส และโปรติเอส เป็นต้น (จันทร์จิรา จอมสวัสดิ์, 2544) รวมทั้งกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งได้ (Rengpipat, Rukpratanporn, Piyatiratitivorakul, & Menasaveta, 2000) และสาเหตุหนึ่งที่ใช้ *Bacillus* ในการเลี้ยงสัตว์น้ำเนื่องมาจาก *Bacillus* มีการเจริญเร็ว มีลักษณะทางสรีรวิทยาที่คงที่ มีการใช้อาหารได้มาก และใช้อย่างมีประสิทธิภาพ ไม่ต้องการสารเหนี่ยวนำในการผลิตเอนไซม์ ไม่สร้างสารที่ไม่ต้องการ ผลผลิตที่ได้สามารถแยกได้ง่าย (มานะ-

ฉันท์ ขันบุญ, 2536) และเป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในเหงือก ผิวหนัง และทางเดินอาหารของกุ้ง (Sharmila, Abhraham, & Sundararaj, 1996) รวมทั้ง *Bacillus* ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมทั้งมนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภค (Ochoa-Solano & Olmos-Soto, 2006)

นอกจากนี้แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่มีความสามารถในการสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ยกตัวอย่างเช่น *B. subtilis* ที่สามารถสร้างแบคเทอริโอซินที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเปปทิโดไกลเคน (Peptidoglycan) ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ได้ ซึ่งแบคเทอริโอซินเป็นโปรตีนที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นในกลุ่มที่มีพันธุกรรมใกล้เคียงกันกับสายพันธุ์ที่ผลิตสารนี้ รวมทั้งรายงานการศึกษาของ Bairagi, Sarkar Ghosh, Sen, and Sen (2004) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของการเติมแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *B. circulans* เป็นโพรไบโอติกในปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) ซึ่งในการศึกษาทดลองในครั้งนี้ได้นำใบไม้มาทดแทนเนื้อปลาที่ใช้เป็นอาหารสำหรับปลายี่สกเทศ ผลการทดลองพบว่า *B. subtilis* และ *B. circulans* สามารถเจริญในทางเดินอาหารของปลายี่สกเทศและช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ลดอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและเพิ่มประสิทธิภาพการใช้โปรตีนได้ดียิ่งขึ้น

จากการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้งสองชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ภายนอกเซลล์ คือ เอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลส (Cellulolytic enzyme) และเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายอะไมโลส (Amylolytic enzyme) รวมทั้งการศึกษาที่ผ่านมาของ Ziaei-Nejad et al. (2006) ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Bacillus* ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ อัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของกุ้งขาวอินเดีย (*Fenneropanaeus indicus*) 3 ระยะ คือ 1) ระยะนอเพลียสถึงซูเอีย 3 ให้โพรไบโอติกโดยการเติมลงน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวอินเดีย 2) ระยะไมซิสถึงโพสลาวา 14 ให้โพรไบโอติกโดยการลงน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวอินเดียและเติมลงในอาร์ทีเมียที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวอินเดีย และ 3) ระยะโพสต์ลาวา 30 - 120 ให้โพรไบโอติกโดยการเติมลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวอินเดียและอาร์ทีเมียเช่นเดียวกัน จากนั้นการตรวจนับจำนวน *Bacillus* ในทางเดินอาหารพบว่ากุ้งขาวอินเดียที่ได้รับอาร์ทีเมียที่ผสมด้วยโพรไบโอติกมีปริมาณ *Bacillus* มากกว่าการเติมโพรไบโอติกลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวอินเดีย รวมทั้งมีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส และไลเปส พร้อมทั้งมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่ากุ้งขาวอินเดียที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กุ้งขาวอินเดียที่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่ากุ้งขาวอินเดียที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกอีกด้วย

5. ยีสต์

5.1 เซลล์ยีสต์ที่มีชีวิต

ยีสต์ที่มีชีวิตหรือ Live yeast ถือเป็นโพรไบโอติกชนิดหนึ่ง ทั้งนี้ตามประกาศของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ปี พ.ศ. 2531 ข้อความระบุและอนุญาตให้ใช้เซลล์ยีสต์ที่ยังมีชีวิตอยู่เพื่อเป็นโพรไบโอติก โดยเป็นสารที่ช่วยในการสนับสนุนจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ของสัตว์ อีกทั้งใช้เป็นตัวขัดขวางการเจริญและการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอีกด้วย

ยีสต์ที่ยังมีชีวิตอยู่จะมีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของสัตว์มากกว่ายีสต์ที่ตายแล้วเนื่องจากยีสต์ที่มีชีวิตจะมีคุณสมบัติเป็นเสมือนสารปรุงแต่งรสชาติตามธรรมชาติให้กับอาหารสัตว์ส่งผลให้สัตว์มีการกินอาหารได้มากขึ้น อีกทั้งยังเป็นแหล่งของวิตามินบีรวม นอกจากนี้ยังสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์โดยอาศัยองค์ประกอบของผนังเซลล์ยีสต์ (สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2549) เซลล์ของยีสต์มีโปรตีน 47 - 50 % ของน้ำหนักแห้ง โดยมีปริมาณโปรตีนที่แท้จริงซึ่งคำนวณจากกรดอะมิโนทั้งหมดเท่ากับ 36.4 - 43.6 %

นอกจากนั้นเซลล์ของยีสต์ยังประกอบด้วยเกลือแร่หลายชนิดที่เป็น Trace element สำหรับคนและสัตว์ เช่น โครเมียม ซีลีเนียม โมลิบดีนัมและสังกะสี นอกจากจะมีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วนแล้วยังพบว่ามีกรดอะมิโนไลซีนในเซลล์ปริมาณสูงกว่าจุลินทรีย์อื่น ๆ การใช้ยีสต์เป็นแหล่งไลซีนนั้นน่าจะมีความเหมาะสมในแง่เศรษฐศาสตร์ เนื่องจากไม่ต้องมีขั้นตอนการแยกและการทำให้ไลซีนบริสุทธิ์ก่อนทำให้ต้นทุนของอาหารสัตว์ลดต่ำลง (Ohsumi, Sato, Yoshida, & Iked, 1994) นอกจากนั้นยีสต์ยังมีรสชาติที่ดีช่วยเพิ่มความน่ารับประทานของอาหาร ดังนั้นยีสต์จึงถูกใช้เป็นส่วนหนึ่งของอาหารสัตว์และใช้เป็นแหล่งธาตุอาหารเสริมหรือเพิ่มรสชาติของอาหารคนและสัตว์มาเป็นเวลานาน (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2549)

5.2 กลไกการออกฤทธิ์ของยีสต์ (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และมานพ กาญจนบุรางกูร, 2548)

1. ยีสต์มีสารปรุงแต่งรสธรรมชาติ (Glutamic acid) ทำให้อาหารสัตว์น่ากินมากยิ่งขึ้น

2. ยีสต์มีวิตามินบีรวมและปัจจัยการเจริญเติบโตที่ยังไม่ทราบ ซึ่งทั้งสองอย่างนี้เป็นสิ่งที่มีประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารและกระบวนการเมตาบอลิซึมของสัตว์

3. ยีสต์ดูดซึมโปรตีนจำนวนมากและขับกรดอะมิโนที่จำเป็นออกมามากเช่นกัน

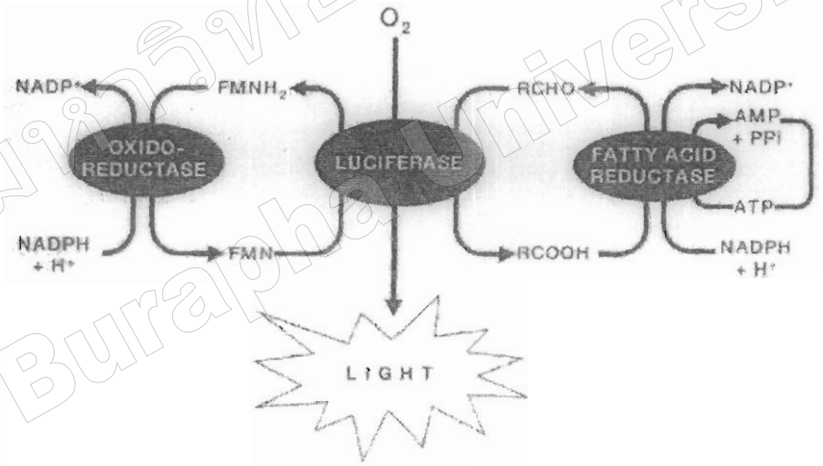
4. ยีสต์ขับเอนไซม์ช่วยย่อยเช่น อะไมเลส ไลเปส โปรติเอส และเอนไซม์อื่น ๆ เป็นต้น

ในสภาวการณ์ปัจจุบันโพรไบโอติกได้เข้ามามีบทบาทสำคัญต่ออุตสาหกรรมต่าง ๆ อย่างมากมายไม่ว่าจะเป็นอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อุตสาหกรรมอาหาร ฯลฯ ซึ่งมี

วัตถุประสงค์หลักคือความต้องการความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อมนุษยชาติและสิ่งแวดล้อมในโลกต่อไป

6. *Vibrio harveyi* และโรคเรืองแสงในกุ้ง

Vibrio harveyi เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Vibrionaceae และจากการตรวจสอบลักษณะสัณฐานของแบคทีเรียชนิดนี้พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนโค้ง เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่ปลายเซลล์ (Polar flagella) และต้องการสารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเรืองแสงสีเขียวแกมเหลือง โดยเป็นปฏิกิริยาทางเคมีเกิดจากเอนไซม์ลูซิเฟอเรส (Luciferase; ภาพที่ 5) และเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในน้ำที่มีความเค็มระหว่าง 10 - 40 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิประมาณ 25 - 35 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 7 - 9 พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทางทะเล เช่น น้ำทะเล ดินตะกอน และระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เป็นต้น



ภาพที่ 5 ปฏิกิริยาทางเคมีของเอนไซม์ลูซิเฟอเรส (Luciferase; สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2551)

V. harveyi เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรควิบริโอซิส (Vibriosis) หรือโรคติดเชื้อแบคทีเรียเรืองแสง ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้ได้สร้างปัญหาและอุปสรรคในการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2530 และในปี พ.ศ. 2540 - 2541 โรคเรืองแสงได้กลับมามีบทบาทอีกครั้งและพบว่าก่อให้เกิดการสูญเสียต่อผลผลิตกุ้งมากกว่าเกิด (ลิลา เรืองแป้น, 2541) และในปี พ.ศ. 2542 ซึ่งมีสภาวะแห้งแล้งในช่วงต้นปี ความเค็มของน้ำสูงกว่า 35 ส่วนในพันส่วน จึงพบปัญหาโรคที่ทวีความรุนแรงมาก

ขึ้นกว่าในปี พ.ศ. 2541 นอกจากนี้ยังมีรายงานการก่อโรคของ *V. harveyi* ในหลายประเทศ ยกตัวอย่างเช่น ประเทศออสเตรเลีย ที่พบว่า *V. harveyi* เป็นสาเหตุของการตายถึง 80 – 100 % ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำซึ่งเกิดจากการปล่อยสารพิษ Exotoxin ของแบคทีเรียชนิดนี้ รวมทั้งในประเทศอินเดียก็มีรายงานการระบาดของโรคที่เกิดจากแบคทีเรียเรืองแสงกลุ่ม Vibrio ในกุ้งระยะโพสต์ลาวา เป็นต้น (Swain, Singh, & Arul, 2009)

ปัญหาการเกิดโรควิบริโอซิสของกุ้งพบได้ตั้งแต่การปล่อยลูกกุ้งลงบ่อ 2 สัปดาห์จนกุ้งเจริญเติบโตเต็มที่ขึ้นอยู่กับการจัดการบ่อและสภาพของพื้นบ่อ โดยมากมักพบการระบาดในกุ้งที่มีอายุประมาณ 30 - 60 วัน โดยมีลักษณะอาการของโรควิบริโอซิส คือ กุ้งป่วยจะขึ้นมาเกยบริเวณขอบบ่อหรือว่ายอยู่ที่ผิวน้ำและเห็นการเรืองแสงอย่างชัดเจนในเวลากลางคืน เมื่อนำเนื้อเยื่อ ตับ และตับอ่อนมาเพาะเชื้อจะพบแบคทีเรียที่มีโคโลนีสีเขียวเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar เมื่อนำเนื้อเยื่อ ตับ และตับอ่อน มาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศ์จะพบว่าอวัยวะต่าง ๆ ถูกทำลายอย่างรุนแรง ส่งผลให้กุ้งกินอาหารน้อยลงและตายในที่สุด (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552)

7. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประดิษฐ์ ชมชื่นชอบ และวราภรณ์ หนูดี (2544) ได้ทำการตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา จำนวน 6 ฟาร์ม ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2539 พบว่าทุกฟาร์มมีการเลี้ยงกุ้งในระบบกึ่งปิดหรือระบบเปลี่ยนถ่ายน้ำน้อย มีคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ควรมีความโปร่งใสอยู่ระหว่าง 35 - 70 เซนติเมตร อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 29 - 30 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ระหว่าง 8 - 29 พีพีที ความเป็นกรด-ด่างอยู่ระหว่าง 7.8 - 8.4 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่า 5.4 - 6.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดีอยู่ระหว่าง 3.2 - 6.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าไนเทรต-ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.005 - 0.065 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนไทรต์-ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.001 - 0.050 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 0.004 - 0.082 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัสอยู่ระหว่าง 0.019 - 0.030 มิลลิกรัมต่อลิตร

ดุสิต ตันวิไลย, คณิต ไชยาคำ, ยงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร และเชาว์ ศรีวิชัย (2537) ได้ทำการตรวจสอบ และติดตามคุณภาพน้ำจากฟาร์มเลี้ยงกุ้ง 3 อำเภอในจังหวัด ปัตตานีจำนวน 5 ฟาร์ม ทั้งหมด 26 บ่อเลี้ยง ในช่วงเดือนมกราคม ถึงเดือนสิงหาคม 2536 ผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง ส่วนใหญ่มีค่าที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้ง แต่ค่าสูงสุดของฟอสฟอรัสรวม และไนโตรเจนรวมในบางฟาร์มมีค่าสูงกว่าค่ามาตรฐาน คือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งได้แก่

ความเค็ม ไนไตรท์ - ไนโตรเจน และแอมโมเนีย - ไนโตรเจน มีค่าในช่วง 11.4 - 27.8 ส่วนในพันส่วน, 0.010 - 0.069 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.075 - 1.463 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นคุณภาพน้ำที่สามารถเลี้ยงกุ้งได้ดี ส่วนคุณภาพน้ำในบ่อน้ำทิ้งบางฟาร์มมีค่าบีโอดีสูงเกินค่ามาตรฐานน้ำทิ้ง (10 มิลลิกรัมต่อลิตร) ค่าคลอโรฟิลล์เอ มีค่าค่อนข้างสูงคือ 61.2 - 126.2 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาณมวลสารที่ปล่อยจากฟาร์มมีค่าไนโตรเจนรวม ฟอสฟอรัสรวม บีโอดีและ ซีโอดี อยู่ในช่วง 0.070 – 0.35, 0.007 - 0.022, 0.690 - 1.75 และ 2.49 - 6.03 กิโลกรัมต่อไร่ต่อวัน ตามลำดับ ความสัมพันธ์ของมวลสารได้แก่ แอมโมเนีย-ไนโตรเจน อนินทรีย์ไนโตรเจนที่ละลายน้ำ ไนโตรเจนรวม ออร์โธ-ฟอสเฟต สารแขวนลอย คลอโรฟิลล์เอ บีโอดี และซีโอดี มีความสัมพันธ์ กับระยะเวลาการเลี้ยงและปริมาณน้ำที่ถ่ายออก อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p<0.01) ตะกอนดินหลังจากจับกุ้งได้แก ค่าความเป็นกรด-ด่างไฮโดรเจนซัลไฟด์ แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนไตรท์-ไนโตรเจน ไนเตรต – ไนโตรเจน และออร์โธฟอสเฟต มีค่าในช่วง 7.1 - 7.8, 4.2 - 48.7, 19.35 -50.10, 0.12 - 0.21 และ 1.24 - 6.04 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

ชนินทร์ แสงรุ่งเรือง และสิริ ทุกข์วินาศ (2541) ทำการศึกษาวิจัยบำบัดน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาด้วยระบบ Bio-filter โดยวิธีใช้แบคทีเรียระบบใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ ช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา ได้ดำเนินการทดลองต้นแบบในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาของเกษตรกรที่จังหวัดจันทบุรี ในปี พ.ศ. 2539 ในระยะการเลี้ยงกุ้ง 1 รุ่น ปรากฏว่าสามารถลดสารอินทรีย์ในรูปของแอมโมเนียและค่าความสกปรก (BOD) ลงได้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ภายในระยะเวลา (Residence time) 7 ชั่วโมง ซึ่งระบบย่อยสลายโดยใช้ออกซิเจนสามารถดำเนินการได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ระบบการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยต่อไป

พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และจรรยารัตน์ พ่วงฟู (2545) ได้ทำการศึกษาการนำแบคทีเรียไนตริไฟอิงจากน้ำและตะกอนของนากุ้งและจากหัวเชื้อทางการค้ามาเพิ่มจำนวนในระบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor, SBR) เพื่อกำจัดแอมโมเนียจากน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีความเค็ม 25 พีพีที และความเข้มข้นแอมโมเนีย 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจำนวนแบคทีเรียไนตริไฟอิงทั้ง 2 กลุ่ม เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง เมื่อได้ทำการตรวจติดตามจำนวนแบคทีเรียที่กำจัดแอมโมเนียโดยการออกแบบตัวติดตาม (Probe) จำเพาะสำหรับเทคนิค Fluorescence In Situ Hybridisation (FISH) พบแบคทีเรียที่กำจัดแอมโมเนียของตัวอย่างจากนากุ้งและหัวเชื้อทางการค้ามีปริมาณ 44.4 % และ 61.4 % เทียบกับแบคทีเรียทั้งหมด ตามลำดับ

Balcazar, Rojas-Luna, and Cunningham (2007) ได้คัดแยก *Vibrio alginolyticus* UTM 102, *Bacillus subtilis* UTM 126, *Roseobacter gallaeciensis* SL V03 และ *Pseudomonas*

aestumarina SL V22 จากทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม จากนั้นนำมาผสมกับอาหารเพื่อใช้เป็นโพรไบโอติกสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับ *R. gallaeciensis* SL V03 เป็นโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 96.00 ± 1.98 % และ 4.08 ± 0.12 ตามลำดับ และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 0.74 ± 0.10 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับแบคทีเรียโพรไบโอติกชนิดอื่นแต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกลุ่มควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 89.75 ± 1.96 %, 3.46 ± 0.22 % และ 0.98 ± 0.11 % ตามลำดับ สรุปได้ว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกทางการค้าและจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่คัดแยกได้จากทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมสามารถช่วยให้การเจริญเติบโตการรอดชีวิตเพิ่มสูงขึ้น และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลง

Balcazar, and Rojas Luma (2009) นำ *Bacillus subtilis* UTM 16 โดยการนำไปผสมกับอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ติดเชื้อ *Vibrio harveyi* เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่เติมโพรไบโอติก) พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยโพรไบโอติกมีอัตราการตายเท่ากับ 18.25% ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุม (51.75 %) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) นอกจากนั้นการเติมโพรไบโอติกยังสามารถเพิ่มปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas ของกุ้งขาวให้มีค่าเท่ากับ 2.7 ± 0.41×10^5 CFU/g ในขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณ *Bacillus* น้อยกว่า 42 CFU/g ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าการใช้ *B. subtilis* UTM 126 ในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลสามารถลดอัตราการตายของกุ้งทะเลที่ติดเชื้อ *V. harveyi* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Boonthai et al. (2011) ทำการศึกษาโดยใช้แบคทีเรียโพรไบโอติกผสม 2 รูปแบบ คือ โพรไบโอติกรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์แห้งแบบแช่เยือกแข็งเติมลงในอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำ จากนั้นนำมาเลี้ยงกุ้งกุลาดำอายุ 1 เดือนเป็นเวลา 120 วัน โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติก จากการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำชุดการทดลองที่ได้รับโพรไบโอติกรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณ *Vibrio* ในตับลดลง 46.13 % และ 34.86 % ตามลำดับ และปริมาณ *Vibrio* ในลำไส้ลดลง 62.21 % และ 34.89 % ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามปริมาณ *Vibrio* ใน Hepatopacreas และลำไส้กุ้งกุลาดำของชุดควบคุมมีปริมาณเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกที่เติมในอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ *Vibrio* ในกุ้งกุลาดำ สำหรับปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกใน Hepatopacreas ของกุ้งกุลาดำชุดที่ได้รับโพรไบโอติกรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์แห้งแบบแช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้น 103.33 % และ 103.69 % ตามลำดับ และปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในลำไส้กุ้งกุลาดำเพิ่มขึ้น 95.47 % และ 115.65 % ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกสามารถเพิ่มจำนวนและมีชีวิตอยู่ใน

ระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำได้ ดังนั้นแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมที่ใช้ในการทดลองมีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ดี เนื่องจากสามารถลดปริมาณแบคทีเรียก่อโรค

Burford, Thompson, McIntosh, Bauman, and Pearson (2003) ศึกษาการเลี้ยงกุ้งขาว (*L. vannamei*) แบบหนาแน่นในระบบปิดแทนวิธีการเลี้ยงแบบดั้งเดิม (Convention) พบว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งจะเกิดการย่อยสลายเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ไนโตรเจนที่ละลายน้ำ ซึ่งจะส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียแพลงก์ตอนพืชและโพรโตซัวมีการใช้ออกซิเจนไปมากกว่า 22 % เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันทำให้ Total Ammonia Nitrogen (TAN) ลดลง แต่มีความเข้มข้นของไนไทรต์และไนเทรตเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเลี้ยงในรูปแบบนี้จะมีอนุภาคแขวนลอย (Flocculated matter) ในปริมาณสูงซึ่งจะเป็นแหล่งสับสเตรทที่ดีสำหรับ แบคทีเรียกลุ่มไนตริไฟอิง ทำให้ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันเกิดได้มากกว่าการเลี้ยงแบบดั้งเดิม

Chythanya, Karunasagar, and Karunasagar (2002) ทำการศึกษาถึงผลของ *Pseudomonas* สายพันธุ์ I-2 ในการยับยั้งโรค Vibrios ที่เกิดจากเชื้อ *V. harveyi*, *V. fluvalis*, *V. parahaemolyticus*, *V. damsela* และ *V. vulnificus* ในกุ้งกุลาดำพบว่า *Pseudomonas* สายพันธุ์ I-2 สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อเหล่านี้ได้ โดยที่สารนี้มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ทนความร้อน ละลายในคลอโรฟอร์มและต้านทานเอนไซม์โพรไบโอติก

Gatesoupe (1999) ศึกษาการใช้โพรไบโอติก (Probiotic) กับสัตว์ในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ (Biocontrol) ยับยั้งการก่อโรคของเชื้อก่อโรค และช่วยบำบัดคุณภาพน้ำ โดยสายพันธุ์ของโพรไบโอติกที่คัดแยกได้นี้ได้แก่แบคทีเรียไนตริไฟอิง และแบคทีเรียในกลุ่ม Vibrionaceae, Pseudomonads, Lactic acid bacteria, *Bacillus* spp. และยีสต์ พบว่า *Bacillus subtilis* นั้นสามารถช่วยลดจำนวนเชื้อก่อโรคพวก *Vibrio* spp. ในดินตะกอน และ *Bacillus* sp. ที่พบในแหล่งน้ำยังเป็น Antagonism ต่อ *Vibrio vulnificus* ซึ่งอาจจะเกิดจากการขับเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ของแบคทีเรีย และการแข่งขันในการใช้สร้างอาหาร เพราะโพรไบโอติกที่ใช้นั้นมีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่า

Gross et al. (2003) ศึกษาการใช้ตัวกรองชีวภาพ (Biofilter) โดยการใช้จุลินทรีย์จากดินบริเวณที่มีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ที่ไม่เป็นเชื้อก่อโรค และมีช่วง Lag phase ในระยะเวลาที่สั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน ผลการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวสามารถทำให้ความเข้มข้นของแอมโนเนียในชุดทดลองลดลงเหลือ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ชุดควบคุมความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึง 18 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียไปเป็นไนไทรต์โดย Ammonia Oxidizing Bacteria (AOB) และการเปลี่ยนแปลงไนไทรต์ไปเป็นไนเทรตโดย Nitrite Oxidizing Bacteria (NOB) แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มจัดเป็น Obligate autotrophs ที่มีการเจริญช้า และ

ไวต่อการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อม เช่น ความเค็ม แสงและค่าความเป็นกรด-ด่าง อันจะส่งผลต่อความไม่สมดุลในการเกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน เกิดการสะสมสารพิษอย่างแอมโมเนียและไนไทรต์ สำหรับการศึกษานี้พบจุลินทรีย์ในกลุ่ม AOB ที่โดดเด่น และสามารถทนเค็มได้ 12 - 24 กรัมต่อลิตร คือ *Nitrosospira* sp.

Gullian et al. (2004) ทำการคัดเลือกแบคทีเรีย 80 สายพันธุ์ที่แยกได้จาก Hepatopancreas ของกุ้งที่มีสุขภาพดีจากฟาร์มในประเทศเอกวาดอร์ โดยใช้วิธี Agar Diffusion Technique และ Monoclonal Antibody พบว่า *Vibrio* P62, *Vibrio* P63 และ *Bacillus* P64 สามารถยับยั้ง *V. harveyi* (S2) ได้เป็นอย่างดี โดยสามารถยับยั้งได้ 54 % 19 % และ 34 % ตามลำดับ จากนั้นนำแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์นี้ไปทดลองกับกุ้งขาวแวนนาไม โดยทำการทดสอบความเป็นเชื้อก่อโรคและการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเซลล์ผู้ให้อาศัย ซึ่งใช้ *V. alginolyticus* (Ili) เป็นชุดควบคุมผลบวก และกุ้งที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกเป็นกลุ่มควบคุมผลลบ จากการทดลองพบว่า *Bacillus* P64 สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีใกล้เคียงกับ *V. alginolyticus* ขณะที่ *Vibrio* P62 กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ในระดับต่ำ และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ มีน้ำหนักตัวมากกว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก

Jueliang, Limsuwan, Chuchird, Purivirojkul, and Chanratchakool (2012) ทำการศึกษาถึงผลของการใช้ *Bacillus* spp. ต่อปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp.อัตรารอดและการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในฟาร์มเลี้ยงกุ้งเอกชน จังหวัดจันทบุรี โดยใช้บ่อทดลอง 6 บ่อ และแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 ให้ *Bacillus* spp. ผสมอาหารในอัตราส่วน 2 กรัมต่ออาหารกุ้ง 1 กิโลกรัม (ชุดทดลอง) และชุดการทดลองที่ 2 ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปปกติ (ชุดควบคุม) ทำการทดลองบ่อละ 3 ซ้ำ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดทดลองที่ 1 มีปริมาณ *Vibrio* spp. เฉลี่ย $0.05 \pm 0.02 \times 10^4$ CFU/ml ซึ่งมีค่าน้อยกว่าชุดควบคุมที่มีปริมาณ *Vibrio* spp. $0.96 \pm 0.83 \times 10^4$CFU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 16.14 ± 1.58 กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดควบคุมที่มีน้ำหนัก 15.41 ± 0.80 กรัม และอัตรารอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 81.73 ± 3.39 % ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดควบคุมที่มีอัตรารอดชีวิตเท่ากับ 80.40 ± 2.35 % ($p>0.05$) และผลผลิตรวมเฉลี่ยในบ่อของชุดการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 2,475.89 ± 205.31 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีค่ามากกว่าในบ่อควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 2,336.34 ± 76.33 กิโลกรัมต่อไร่แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกัน ($p>0.05$)

Li et al. (2007) ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *B. licheniformis* ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดและปริมาณ *Vibrio* ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับ *B. licheniformis* เป็นโพรไบโอติกมีปริมาณของแบคทีเรียทั้งหมดค่อนข้างคงที่แต่ปริมาณของ *Vibrio* ในทางเดินอาหารลดลงและปริมาณ Haemocyte เพิ่มมากสูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *B. licheniformis* สามารถเจริญและมีชีวิตรอดในทางเดินอาหารและกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไมได้

Moriarty (1998) ได้ทำการศึกษาถึงผลของ *Bacillus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ใช้ในบ่อเลี้ยงเพื่อควบคุมเชื้อก่อโรค *Vibrio* ในฟาร์มกุ้งประเทศอินโดนีเซีย โดยเปรียบเทียบฟาร์มเลี้ยงกุ้งที่ใช้ *Bacillus* เป็นโพรไบโอติกและไม่ใช้ *Bacillus* เป็นโพรไบโอติก พบว่ากุ้งที่ได้รับ *Bacillus* โพรไบโอติกความเข้มข้น $10^4 - 10^5$ CFU/ml เป็นระยะเวลา 80 วัน มีอัตราการตายสูงจาก *Vibrio* ที่ก่อให้เกิดโรคเรืองแสง แต่อย่างไรก็ตามกุ้งที่ได้รับ *Bacillus* เป็นโพรไบโอติกความเข้มข้น $10^4 - 10^5$ CFU/ml เป็นระยะเวลา 160 วัน สามารถรอดชีวิตจาก *Vibrio* ที่ก่อให้เกิดโรคเรืองแสงและอีกทั้งยังสามารถลดปริมาณ *Vibrio* ในบ่อเลี้ยงกุ้งได้ อีกทั้งปริมาณ *Bacillus* ในบ่อเลี้ยงสามารถเพิ่มปริมาณมากขึ้น ส่วนปริมาณของ *Vibrio* ในดินตะกอนนั้นมีปริมาณลดลงเช่นเดียวกับในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง

Ochoa-Solano and Olmos-Soto (2006) ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่สามารถแยกได้จากดินตะกอนน้ำเค็ม จากนั้นนำมาศึกษาความสามารถในการเจริญและย่อยสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาไม่แพง (Soybean Mineral Medium) จากการศึกษาพบว่า *Bacillus* ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* และ *B. megaterium* ที่สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสารประเภทคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดี ดังนั้น *Bacillus* สายพันธุ์ดังกล่าวจึงน่าจะนำมาประยุกต์ในใช้เป็นโพรไบโอติกที่ในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล เพื่อส่งเสริมประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอาหารและเพิ่มการดูดซึมสารอาหารของกุ้ง

Ogilvie et al. (1997) พบว่าอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงมีผลต่อความแตกต่างของกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ในเทรต โดยที่อุณหภูมิต่ำ (5 องศาเซลเซียส) จะพบจุลินทรีย์ในกลุ่ม ดีไนทริ-ไฟเออร์เป็นส่วนใหญ่ แต่ที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง (5-20 องศาเซลเซียส) จะพบจุลินทรีย์ในกลุ่ม Fermentative nitrate-ammonifiers เช่น *Enterobacter* spp. ที่มีความสามารถในการใช้ไนเทรตได้ดี ส่วนที่อุณหภูมิมากกว่า 20 องศาเซลเซียส จะพบกลุ่มจุลินทรีย์กลุ่ม Obligately fermentative metabolism ได้แก่ *Kiebsiella oxytoca*

Rengpipat, Phianphak, Piyatiratitivorakul, and Menasaveta (1998) ศึกษาผลของ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอด

ชีวิตของกุ้งกุลาดำ โดยเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อคอนกรีตขนาด 80 × 74 × 87 เซนติเมตร ที่มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดเป็นเวลา 100 วัน แบ่งการให้อาหารที่เติมโพรไบโอติกออกเป็น 3 รูปแบบ คือ เซลล์มีชีวิต (Fresh Cells) เซลล์มีชีวิตในสารละลาย Normal Saline (Fresh Cells in Normal Saline Solution) และเซลล์แห้งในรูปแช่เยือกแข็ง (Lyophilized Cells) จากการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตและน้ำหนักสูงกว่าชุดควบคุมซึ่งไม่ได้รับโพรไบโอติก แต่พบว่ากุลาดำในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกในรูปแบบที่แตกต่างกันมีอัตราการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) หลังจากเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลา 100 วัน จึงทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ D331 ลงในน้ำที่ใช้เลี้ยงให้ได้ความเข้มข้น 10^5 CFU/ml เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิต 100 % ขณะที่กุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตเพียง 26 % ซึ่งกุ้งกุลาดำที่รอดชีวิตในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีลักษณะสมบูรณ์ สุขภาพดี ส่วนกุ้งที่รอดชีวิตในชุดการทดลองที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกนั้นมีสุขภาพไม่สมบูรณ์โดยลักษณะภายนอก และลักษณะของทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้มีลักษณะที่ผิดปกติ

Rengpipat et al. (2000) ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกสายพันธุ์ S11 ต่อภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ โดยทำการเพาะเลี้ยงในถังพลาสติกที่มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดเป็นระยะเวลา 90 วัน ผลการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตและน้ำหนักสูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก จากนั้นเมื่อทำการทดลองครบ 90 วัน ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลาระยะเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกนั้นมีอัตราการรอดชีวิต 54.3 % ซึ่งสูงกว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกซึ่งมีอัตราการชีวิตเพียง 35.5 % แสดงให้เห็นว่า *Bacillus* สายพันธุ์ S11 สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำได้

Thakur and Lin (2003) ได้ศึกษาความเป็นไป (Fate) ของสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจากบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในระบบปิดซึ่งไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำจึงเป็นการรักษาคุณภาพน้ำและลดการปลดปล่อยสารอาหารออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่าอาหารที่ให้กุ้งกุลาดำจะมีสารประกอบไนโตรเจน 76 – 92 % และฟอสฟอรัส 70 – 91 % แต่มีสารอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสที่กุ้งกุลาดำสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้เพียง 23 – 31 % และ 10 - 31 % ตามลำดับ ส่วนไนโตรเจน และฟอสฟอรัสอาหารที่เหลือจะมีการสะสมอยู่บริเวณดินตะกอน 14 – 53 % และ 12 – 29 % ตามลำดับ ซึ่งฟอสฟอรัสจะดูดซับกับโคลนในบ่อเพราะมีความสามารถในการจับ (Affinity) ที่แข็งแรง ส่วนไนโตรเจนจะมีการสูญเสียออกจากระบบเพาะเลี้ยงด้วยการ

ระเหยของแก๊สแอมโนเนียจากการเพิ่มออกซิเจน และค่าความเป็นกรด-ด่างที่สูง หรือจากการเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันบริเวณดินตะกอน

Vaseeharan and Ramasamy (2003) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเซลล์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BT23 ในการต้านการเจริญของ *V. harveyi* ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำ โดยทำการศึกษาระดับห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus* ที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียโพร-ไบโอติก รวมทั้งในระดับสัตว์ทดลองโดยนำ *B. subtilis* BT23 ที่ความเข้มข้น 10^6 - 10^8 CFU/ml เลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 6 วัน ก่อนที่จะกระตุ้นให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* ที่ความเข้มข้น 10^3 - 10^4 CFU/ml เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วย *B. subtilis* BT23 สามารถลดอัตราการตายสะสมได้ร้อยละ 90 และพบว่า *B. subtilis* BT23 สามารถควบคุมการเจริญของ Vibrios ได้ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและระดับสัตว์ทดลอง

Wang, Zu, and Xia (2005) ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของโพรไบโอติกทางการค้าต่อการรอดชีวิตและผลผลิตของกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งทำการศึกษาเป็นเวลา 109 วัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมด้วยโพรไบโอติกทางการค้ามีผลผลิต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 8,215 ± 265 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์ 1.13 ± 0.05 และ 81.00 ± 6.25% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับกลุ่มควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 4,985 ± 503 กิโลกรัมต่อเฮคเตอร์ 1.35 ± 0.05 และ 48.67 ± 3.51% ตามลำดับ

Wang (2007) ได้ทำการศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมของเอนไซม์ในกุ้งขาวแวนนาไม *(Penaeus vannamei)* โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง โดยชุดการทดลอง T-1 ชุดการทดลองนี้เติม Lyophilized photosynthetic bacteria cells (PSB) และ Lyophilized *Bacillus* sp. (BS) ลงในอาหารกุ้งอย่างละ 1 g/kg ชุดการทดลอง T-2 ชุดการทดลองนี้เติม PSB และ BS ลงในอาหารกุ้งอย่างละ 5 g/kg ชุดการทดลอง T-3 ชุดการทดลองนี้เติม PSB และ BS ลงในอาหารกุ้งอย่างละ 10 g/kg และชุดควบคุมที่ไม่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติก หลังจากการศึกษาเป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารที่ผสมด้วยโพรไบโอติกมีการเจริญเติบโตและกิจกรรมเอนไซม์สูงกว่ากุ้งขาวที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสมด้วยโพรไบโอติก (กลุ่มควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เช่นเดียวกัน โดยกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ของชุดการทดลอง T2 และ T3 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) และสูงกว่าชุดการทดลอง T1 และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส ของชุดการทดลอง T2 มีค่าสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ชุดควบคุมและชุดการทดลอง T1 และกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสและเอนไซม์เซลลูเลสของชุดการทดลอง T-2 และ T-3 มีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน

Yimjaroen, Areechon, Srithong, and Chuchird (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติก 2 ชนิดคือ *Bacillus subtilis* และ *B. licheniformis* ซึ่งคัดแยกได้จากลำไส้กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และผสมอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำจากนั้นจึงนำไปทำการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าการใช้ *B. subtilis* ร่วมกับ *B. licheniformis* เป็นโพรไบโอติกในอัตราส่วน 1:1 (โพรไบโอติก 3 กรัม/อาหารกุ้ง 1 กิโลกรัม) มีผลทำให้ระดับภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำสูงขึ้นกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อีกทั้งกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโพรไบโอติกทุกชุดการทดลองมีจำนวน *Vibrio* spp. ในลำไส้น้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของการให้โพรไบโอติกพบว่า กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสม *B. subtilis* และ *B. licheniformis* เป็นโพรไบโอติกที่ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ทุกวันเป็นระยะเวลา 1 เดือน มีระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกแบบวันเว้นวัน และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และพบว่าระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้นหลังจากหยุดให้อาหาร 1 สัปดาห์แล้วค่อย ๆ ลดลงเท่ากับชุดควบคุมในสัปดาห์ที่ 2 และเมื่อให้อาหารผสมโพรไบโอติกอีกครั้งพบว่ากุ้งกุลาดำมีระดับภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และจำนวน *Vibrio* spp. ในลำไส้มีจำนวนลดลง จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* เป็นโพรไบโอติกความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำได้ และควรให้อาหารผสมโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำอย่างต่อเนื่อง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University