บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งพื้นเมืองในทวีปอเมริกาใต้และพบได้ทั่วไปบริเวณชายฝั่งของมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันออก จากตอนเหนือของประเทศเม็กซิโกจนถึงทางตอนเหนือของประเทศเปรู รวมทั้งยังมีการเลี้ยงกันอย่างมากในประเทศเอกวาดอร์ เม็กซิโก เปรู ปานามา ฮอนดูรัส โคลัมเบีย และบราซิล ฯลฯ (FAO, 1994) กุ้งขาวเป็นกุ้งที่มีความสามารถในการปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว โดยสามารถอาศัยอยู่ในน้ำที่มีความเค็มตั้งแต่ 0.5 - 45 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิ 15 - 33 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมที่มีการเจริญเติบโตได้ดี คือ 23 - 30 องศาเซลเซียส นอกจากนี้กุ้งขาวแวนนาไมยังต้องการอาหารที่มีโปรตีนต่ำและสามารถใช้อาหารตามธรรมชาติที่มีอยู่ในบ่อเพาะเลี้ยงได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งมีอัตราแลกเนื้อต่ำทำให้มีเปอร์เซ็นต์เนื้อสูงซึ่งช่วยให้เกษตรกรประหยัดต้นทุนในการเพาะเลี้ยง (FAO, 2004)

ประเทศไทยได้มีการนำกุ้งขาวแวนนาไมเข้ามาเลี้ยงครั้งแรกในปี พ.ศ. 2541 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยกำลังประสบกับปัญหากุ้งโตช้าและการระบาดของโรคกุ้ง ทำให้ขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์คุณภาพดี (Wyban, 2007) เกษตรกรจึงเปลี่ยนมาเลี้ยงกุ้งขาวกันมากขึ้น เนื่องจากกุ้งขาวมีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว อัตราการรอดชีวิตสูง และมีความทนทานต่อการเกิดโรคได้ดี (Rosenberry, 2002) เนื่องจากการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นแบบพัฒนา มีการอนุบาลลูกกุ้งในระดับความหนาแน่นสูงและมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำน้อย จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้กุ้งอ่อนแอ เป็นโรคได้ง่าย และมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ หากเกษตรกรมีการจัดการด้านการเลี้ยงไม่ดีพอก็จะประสบกับปัญหากุ้งเป็นโรคและตายได้ สาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่ง คือ การเกิดโรคจากแบคทีเรียโดยเฉพาะแบคทีเรียสกุลวิบริโอ (Lavilla-Pitago, Leano, & Paner, 1998; Vandenberghe et al., 1998) ดังนั้นเพื่อเป็นการรักษาและป้องกันการระบาดของโรคกุ้งเกษตรกรมักใช้ยาปฏิชีวนะในการกำจัดแบคทีเรียเหล่านี้ (Karunasagar, Pai, & Malathi, 1994) ซึ่งหากใช้ยาดังกล่าวไม่ถูกวิธีอาจนำไปสู่การดื้อต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียก่อโรค (Skjermo & Vadstein, 1999) และยังก่อเกิดการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะในเนื้อกุ้งและสิ่งแวดล้อมอีกด้วย (Holmstrom, Graslund, & Wahstrom, 2003) ดังนั้นในหลาย ๆ ประเทศจึงได้มีการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น คลอแรมเฟนิคอล (FAO, 2002) ซึ่งตรวจพบว่ามีการปนเปื้อนในกุ้งจากประเทศพม่า อินเดีย ปากีสถาน เวียดนาม รวมทั้งประเทศไทย (Heckman, 2004)

ปัจจุบันการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง (Gomez-Gil, Roque, & Turnbull, 2000; Irianto & Austin, 2002; Sharma & Bhukhar, 2000; Verschure, Rombaut, Sorgeloos, & Verstraete, 2000; Vine, Leukes, & Kaiser, 2006; Wang & Xu, 2006; Wang, 2007) ซึ่งโพรไบโอติกที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการย่อยอาหาร ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ช่วยยับยั้งเชื้อก่อโรค ส่งผลให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตและรอดชีวิตเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำและบำบัดขี้เลนในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอีกด้วย (Balcazar et al., 2006; Cerezuela, Meseguer, & Esteban, 2011; Nimrat, Suksawat, Maleeweach, & Vuthiphandchai, 2008; Nimrat, Boonthai, & Vuthiphandchai 2011; Nimrat, Suksawat, Boonthai, & Vuthiphandchai, 2012; Utiswannakul, Sangchai, & Rengpipat, 2011) จากการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งพบว่าสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้อาหารของกุ้ง ส่งเสริมการเจริญเติบโต ทำให้มีความสามารถต้านทานโรคเพิ่มขึ้น และช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร จึงช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตของกุ้ง รวมทั้งลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงกุ้งทำให้การเพาะเลี้ยงกุ้งมีความยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Balcazar et al., 2006; Boonthai, Vuthiphandchai, & Nimrat, 2011; Far, Saad, Daud, Harmin, & Shakibazadeh, 2008; Nimrat et al., 2011; 2012; Sahu, Swarnakumar, Sivakumar, Thangaradjou, & Kannan, 2008; Tseng et al., 2009)

แบคทีเรียโพรไบโอติกที่นำมาใช้มากในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คือ แบคทีเรียสกุล *Bacillus* sp. (Keysami, Saad, Sijam, Daud, & Alimon, 2007; Moriarty, 1998; 1999; Rengpipat, Phianphak,Piyatiratitivorakul, & Menasvetam, 1998; Ziaei-Nejad et al., 2006) เนื่องจากสามารถหลั่งเอนไซม์หลายชนิดออกมาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและการดูดซึมสารอาหาร กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ยับยั้งเชื้อก่อโรค และช่วยในการปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง (Boonthai et al., 2011; Liu, Chiu, Lin, & Wang, 2009; Moriarty, 1998: Nimrat et al., 2011; 2012; Ochoa-Solano & Olmos-Soto, 2006; Rengpipat, Rukpratanporn, Piyatiratitivorakul, & Menasaveta, 2000) นอกจากนั้นยังมีการนำยีสต์มาใช้เป็นโพรไบโอติกอีกชนิดหนึ่งเนื่องจากยีสต์สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและมีคุณสมบัติในการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง (Abdel & El-Moghaz; 2010; Gummadi, Kuma, & Ancesh, 2007; Sathyanarayana & Sawan, 2008) ยีสต์จึงมีความเหมาะสมในการนำมาใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทางทะเลซึ่งยีสต์สามารถเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ในสัตว์น้ำ (Tovar-Ramirez, Infante, Cahu, Gatesoupe, Vazquez-Juarez, & Lesel, 2002; Tovar-Ramirez, Infante, Cahu, Gatesoupe, & Vazquez-Juarez, 2004) นอกจากนี้ผนังเซลล์ยีสต์ยังประกอบด้วยกลูแคน (Glucan) ซึ่งมีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

ของสัตว์น้ำทำให้สัตว์น้ำมีความต้านทานต่อแบคทีเรียและไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคในสัตว์น้ำเพิ่มมากขึ้น (Chang et al., 1999; Chang, Chen, Su, & Liao, 2000; Itami, Takahashi, Tsuchihira, lgusa, & Kondo, 1994; Liao, Su, Chang, Her, & Kojima, 1996; Sung, Ken, & Song, 1994) ส่งผลให้สัตว์น้ำมีอัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโตและผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น (Chang, Su, Chen, & Liao, 2003)

อย่างไรก็ตามการศึกษาเกี่ยวกับการใช้โพรไบโอติกในกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทยนั้นมีเพียงเล็กน้อย จึงมีความสนใจที่จะศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและ/หรือยีสต์โพรไบโอติกผสมที่อยู่ในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae และ *Vibrio harveyi* รวมทั้งอัตราการรอดชีวิต ความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค และคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทยและในประเทศอื่น ๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae และอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 60 รวมทั้งคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำในระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อดินจำลอง

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* ของกุ้งขาวแวนนาไม 2 ขนาด คือ ระยะโพสลาวา 60 และระยะโพสลาวา 30

สมมติฐานของการวิจัย

แบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและ/หรือยีสต์โพรไบโอติกผสมสามารถลดปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae และเพิ่มอัตราการรอดชีวิตรวมทั้งความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม แต่ไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในระบบทางเดินอาหารและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงคุณสมบัติของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทางทะเล การควบคุมการเจริญของแบคทีเรียวงศ์

Vibrionaceae และการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งการควบคุมคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำในบ่อดินจำลอง

2. ทำให้ทราบถึงคุณสมบัติของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมต่อความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเพาะเลี้ยงจำลอง

3. ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการพัฒนาโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งภายใต้สภาวะแวดล้อมของประเทศไทยซึ่งน่าจะทำให้เป็นผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทยส่งผลให้การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวมีความยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยประกอบไปด้วย 3 การทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 60 ในบ่อดินจำลองด้วยอาหารที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปแบบต่าง ๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมเป็นเวลา 120 วัน โดยในระหว่างทดลองทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas ลำไส้ และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง รวมทั้งอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมตลอดระยะเวลา 120 วัน สำหรับการทดลองที่ 2 ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 60 ด้วยอาหารที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปแบบต่าง ๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมเป็นเวลา 30 วัน จากนั้นทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไมด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง 30 ก่อนทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคทำการตรวจปริมาณแบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae และ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas ลำไส้ และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง รวมทั้งอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง ส่วนการทดลองที่ 3 นั้นทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ด้วยอาหารที่เติมโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมรูปแบบต่าง ๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ในระหว่างการเพาะเลี้ยง 30 วัน ก่อนทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคทำการตรวจนับปริมาณแบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียกลุ่มวงศ์ Vibrionaceae และ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง รวมทั้งอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทั้งในช่วงก่อนและหลังทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค