1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ในปัจจุบันเกษตรกรในประเทศไทยได้ปรับเปลี่ยนการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมาเป็นกุ้งขาว เนื่องมาจากกุ้งขาววานาไมสามารถเลี้ยงได้ในน้ำที่มีระดับความเค็มอยู่ในช่วงกว้าง คือ 1 กรัมต่อลิตร (ppt) ถึง 40 กรัมต่อลิตร คือทนต่อน้ำที่มีระดับความเค็มต่ำได้ (Davis *et al.,* 2004) ซึ่งการเลี้ยงในช่วงเดือนแรกอาจจะมีการแตกไซด์บ้าง (ขนาดแตกต่างกัน) แต่หลังจาก 2 เดือนไปแล้วจะมีขนาดที่ใกล้เคียงกัน (http:// www.nicaonline.com/articles2, 8/03/2006) ประเทศไทยยังเป็นผู้ส่งออกกุ้งในอันดับต้นๆของโลกโดยส่งออกในรูปแบบต่างๆ เช่น กุ้งแช่แข็ง กุ้งสด เป็นต้น ให้แก่สหรัฐอเมริกา เป็นอันดับ 1 คิดเป็นส่วนแบ่งตลาดการนำเข้าร้อยละ 27 ในปี 2003 (http:// www.depthai.go.th/go/content/drowload/attach, 8/03/2006) แต่ทั้งนี้การทำนากุ้งด้วยวิธีการที่ไม่เป็นมิตรกับสิ่งแวดลอมมีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติ ตลอดจนก่อให้เกิดมลพิษขึ้นกับดิน ทำให้เกิดดินเค็มซึ่งเป็นการทำลายสภาพธรรมชาติโดยรอบบริเวณบ่อเลี้ยงกุ้ง ดังนั้นเพื่อการผลิตกุ้งที่มีคุณภาพสูง โดยไม่กระทบกระเทือนต่อสิ่งแวดล้อม (environmental friendly) และลดปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ในการทำลายเชื้อก่อโรคในกุ้งจึงมีการศึกษาวิจัยมากมาย ซึ่งแนวทางการแก้ปัญหาดังกล่าวทางหนึ่งคือ การบำบัดน้ำทิ้งในบ่อก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม การบำบัดน้ำทิ้งที่ได้ผลดีและนิยมคือการบำบัดน้ำทางชีวภาพ นอกจากนี้ระหว่างการเลี้ยงการรักษาคุณภาพน้ำให้ดีเหมาะสมต่อการเจริญของกุ้งก็เป็นสิ่งจำเป็น ซึ่งเท่าที่ผ่านมาก็มีการใช้จุลินทรีย์ช่วยเพื่อวัตถุประสงค์ที่กล่าวมา และการทำให้กุ้งแข็งแรงเป็นการป้องกันโรคที่ดี แต่อย่างไรก็ตามการป้องกันการติดเชื้อโรคของกุ้งยังสามารถใช้จุลินทรีย์ควบคุมเชื้อโรคกุ้ง โดยใช้แบคทีเรียซึ่งสามารถผลิตสารที่ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เป็นเชื้อโรค (antibacterial substance) ในการควบคุมเชื้อก่อโรคในกุ้งแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งเชื้อก่อโรคที่สำคัญสำหรับสัตว์น้ำโดยเฉพาะกุ้งคือ *Vibrio* spp. โดยเชื้อดังกล่าวเป็นสาเหตุ

สำคัญทำให้เกิดการตายของกุ้ง (Lightner, 1983) เรียกโรคที่เกิดจากเชื้อ *Vibrio* sp. ว่า Vibriosis โรคที่เกิดจากเชื้อนี้ได้แก่ โรคเรืองแสง โรคตายรายเดือน โรคตับโต ตับอักเสบ และตับฝ่อ เป็นต้น ซึ่งเชื้อ *Vibrio harveyi* เป็นสาเหตุใหญ่ที่ทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Than *et al*., 2004; Nash *et al*., 1992 ; Owens *et al*., 1992)

การบำบัดน้ำทางชีวภาพ คือ การใช้สิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ สาหร่าย ปลากินพืช หรือหอยสองฝาช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำให้ดีขึ้น (Macintosh and Phillips, 1992) การเข้าใจระบบนิเวศวิทยาของบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยเฉพาะวัฏจักรไนโตรเจนเป็นสิ่งจำเป็น เพราะการย่อยสลายสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งส่วนใหญ่ซึ่งได้แก่ เศษอาหาร และสิ่งขับถ่าย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นโปรตีน ต้องอาศัยแบคทีเรียในกลุ่มที่สามารถย่อยโปรตีน (proteolytic bacteria) ให้เป็นกรดอะมิโนและปล่อยแอมโมเนีย (NH_3^+) ซึ่งเรียกแบคทีเรียพวกนี้ว่า ammonifying bacteria และเรียกกระบวนการเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์ไนโตรเจนให้เป็นแอมโมเนียว่ากระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (ammonification) การลดปริมาณแอมโมเนีย (NH_3^+) โดยการออกซิไดซ์เป็นไนไตรท์ (NO_2^-) แล้วออกซิไดซ์ต่อเป็นไนเตรท (NO_3^-) เรียกว่ากระบวนการ nitrification (ดวงพร, 2545) กระบวนการเหล่านี้มีประโยชน์ต่อกุ้งหรือสัตว์น้ำที่เลี้ยง เนื่องจากการมีปริมาณไนเตรท (NO_3^-) ที่สูงในน้ำไม่เป็นพิษต่อกุ้ง (เบญจมินทร์, 2544)

การศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ การผลิต และการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนในกลุ่มของ proteolytic bacteria และ ammonifying bacteria ซึ่งเป็นขั้นตอนแรกในการย่อยสลายสารอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นอนินทรีย์ไนโตรเจน เพื่อแก้ปัญหาสภาพที่มีสารอินทรีย์มากในบ่อเลี้ยงกุ้ง ปัญหาน้ำทิ้งที่มีสารอินทรีย์ตกค้างอาหารกุ้ง ขี้กุ้ง ให้ลดน้อยลงและอาศัยการทำงานร่วมกับกลุ่มแบคทีเรียชนิดอื่นๆในวัฏจักรไนโตรเจนรวมทั้งการใช้แบคทีเรียที่สร้างสารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในการควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้ง ย่อมเป็นแนวทางการแก้ไขปัญหาการเลี้ยงกุ้งได้ในระดับหนึ่ง

การวิจัยในครั้งนี้มุ้งเน้นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีนและสามารถผลิตสารต้านการเจริญของเชื้อ *Vibrio harveyi* ซึ่งเป็น

แบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในสัตว์น้ำโดยเฉพาะกุ้ง เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการปรับคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงและลดการใช้ยาปฏิชีวนะ เพื่อให้การเลี้ยงกุ้งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

ตรวจเอกสาร

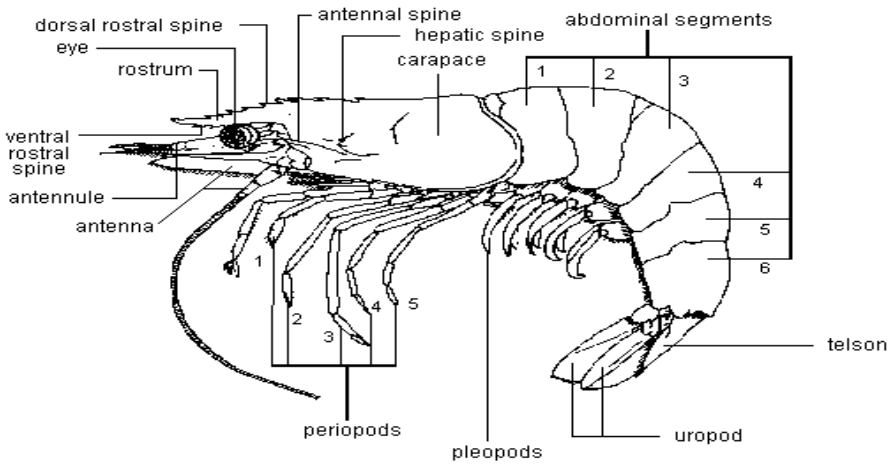
1. กุ้งขาวและการเลี้ยงกุ้ง

กุ้งขาวเป็นสายพันธุ์กุ้งทะเลในกลุ่มกุ้งขาวแปซิฟิก (Pacific white shrimp) ค้นพบโดย Boone ในปี ค.ศ. 1931 มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Litopenaeus vannamei* มีการจัดอนุกรมวิธานของกุ้งสายพันธุ์นี้ ไว้ใน Kingdom Animalia Phylum Arthopoda Class Crustacean Subclass Malacostraca Superorder Eucarida Order Decapoda Suborder Natantia Section Penacidea Family Penaeidae Genus *Penaeus litopenaeus* Subgenus *Penaeus litopenaeus* และ Species *vannamei* ทั้งนี้ สามารถจัดแบ่งกลุ่มของกุ้งขาวในสายพันธุ์ *Penaeus* ออกเป็น 2 กลุ่มหลักๆตามถิ่นที่อยู่อาศัยของซีกโลก คือ โลกตะวันตก (Western coast white shrimp) ได้แก่ กุ้งขาวลิโทพีเนียสวานาไม (*Litopenaeus vannamei*) กุ้งน้ำเงิน (*Penaeus stylirostenis*) และกุ้งโลกตะวันออก (Eastern coast white shrimp) ได้แก่ กุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*) กุ้งขาวอินเดีย (*Penaeus indicus*) และกุ้งขาวจีน (*Penaeus Chinensis*) (http://www.nicaonline.com/articles2, 8/03/2006)

1.1 ลักษณะของกุ้งขาว

ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวลิโทพีเนียสวานาไม ลำตัวมี 8 ปล้องและมีสีขาว หน้าอกใหญ่การเคลื่อนไหวเร็ว ส่วนหัวมี 1 ปล้อง มีกรีอยู่ในระดับยาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือกหัวสัน กรีสูง ปลายกรีแคบ ส่วนของกรีมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีแดงอมน้ำตาล กรีด้านบนมี 8 ฟัน กรีด้านล่างมี 2 ฟัน ร่องบนกรีมองเห็นชัดเจน เปลือกหัวสีขาวอมชมพูถึงแดง ขาเดินมีสีขาวเป็นลักษณะที่โดดเด่น หนวดแดง 2 เส้นยาว ตาแดงเข้ม ส่วนตัวมี 6 ปล้อง เปลือกตัวสีขาวอมชมพูถึงแดง เปลือกบาง ขาว่ายน้ำ 5 คู่ มีสีขาวข้างในที่ปลายมีสีแดง ส่วนหางมี 1 ปล้อง ปลายหางมีสีแดงเข้ม แพนหางมี 4 ใบและ

1 กรีหาง (http://www.shrimpcenter.com/t-shrimp051.html, 12/03/2006) ขนาดตัวโตที่สมบูรณ์เต็มที่ของกุ้งสายพันธุ์นี้จะมีขนาดที่เล็กกว่ากุ้งกุลาดำ โดยความยาวจากกรีหัวถึงปลายกรีหาง 230 มิลลิเมตร ความยาวจากโคนหัวถึงปลายกรีหัว 65 มิลลิเมตร ความยาวจากโคนหัวถึงปลายกรีหาง 165 มิลลิเมตร เส้นรอบวงหัว 94 มิลลิเมตร เส้นรอบวงตัว 98 มิลลิเมตร แพนหางยาว 35 มิลลิเมตร ตาห่างกัน 20 มิลลิเมตร น้ำหนักตัวเฉลี่ย 120 กรัม หากินทุกระดับความลึกของน้ำ ชอบว่ายน้ำล่องน้ำเก่ง ลอกคราบเร็วทุกๆสัปดาห์ ไม่ฝังตัวอยู่กับตะกอน ดังรูปที่ 1 และ รูปที่ 2



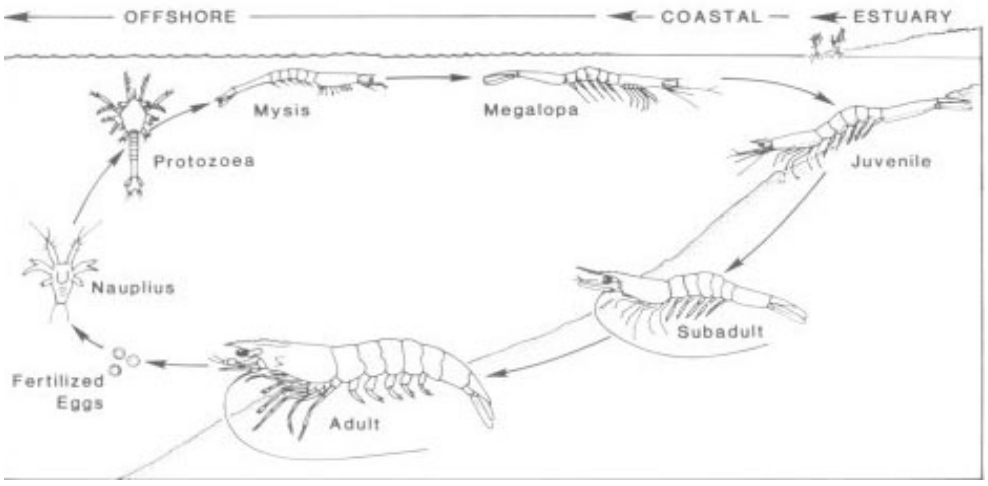
Penaeid prawn showing all the parts of the body

รูปที่ 1 ส่วนประกอบของกุ้งขาว (http://www.indian-ocean.org/___/anatomy/entire~1.htm, 11/03/2006)

รูปที่ 2 กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) (http://www.aquakulturtechnik.de/Lexikon/l/litopenaeu..., 16/03/2006)

1.2 วงจรชีวิตและการสืบพันธุ์

ในธรรมชาติของกุ้งสายพันธุ์นี้จะมีอายุขัยประมาณ 36 เดือน โดยจะวางไข่ที่ระดับความลึกประมาณ 30-60 มิลลิเมตรใกล้พื้นทราย ปกติแล้วแม่กุ้งขนาด 60-120 กรัม จะวางไข่ประมาณ 150,000-250,000 ฟอง ส่วนแม่กุ้งขนาด 30-40 กรัม จะวางไข่ประมาณไม่เกิน 100,000 ฟอง โดยจะวางไข่ตอนกลางคืนบนพื้น ภาพวงจรชีวิตกุ้งแสดงไว้ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 วงจรชีวิตรของกุ้ง (Bailey-Brock and Moss, 1992)

1.3 สภาพแวดล้อมในการเลี้ยง

กุ้งขาวแปซิฟิกเป็นกุ้งที่เลี้ยงได้ทั้งระบบธรรมชาติ ระบบกึ่งหนาแน่นและระบบหนาแน่น ลักษณะพิเศษของกุ้งสายพันธุ์นี้ คือ สามารถสร้างความคุ้นเคยหรือปรับลักษณะนิสัยภายใต้ระบบการเพาะเลี้ยงได้เช่น สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในน้ำที่มีระดับความเค็มที่ 5-35 กรัมต่อลิตร แต่ระดับความเค็มที่เจริญเติบโตได้ดี คือ 10-22 กรัมต่อลิตร เจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิกว้างคือ 24-32 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิของน้ำที่เจริญเติบโตได้ดี คือ 28-30 องศาเซลเซียส (http://www.shrimpcenter.com/T-shrimp051.html, 12/03/2006) ระดับออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ควรมีค่า 4-9 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ควรอยู่ระหว่าง 7.2-8.6 และค่า อัลคาไลน์อยู่ในช่วง 80-150 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอาจจะทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในบริเวณพื้นที่ชายฝั่งหรือบริเวณพื้นที่ในแผ่นดินซึ่งเป็นเขตพื้นที่ที่มีความเค็มต่ำก็ตาม (http://www.nicaonline.com/articles2/site/ view_article., 8/03/2006) และยังมีนิสัยที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง ตื่นตกใจง่าย (http://www.shrimpcenter.com/T-shrimp051.html, 12/03/2006) สำหรับข้อมูลของบริษัทที่ดำเนินการเกี่ยวกับธุรกิจกุ้งสายพันธุ์นี้ รายงานว่า สามารถทำการเพาะเลี้ยงกุ้งชนิดนี้ในน้ำกร่อยที่มีระดับความเค็มที่ 3 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 180 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความกระด้างรวม 130 มิลลิกรัมต่อลิตร ระดับออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ที่ 6-8 มิลลิกรัมต่อลิตร ระดับความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่ 7.5-8.0 และถ้าหากมีระบบเติมอากาศที่ดี ระบบบำบัดน้ำเสียที่ดีสามารถเลี้ยงในระบบความหนาแน่นสูงที่ 156 ตัวต่อตารางเมตร (http://www.nicaonline.com/articles2/site/view_article., 8/03/2006)

สำหรับค่า pH เป็นสมบัติทางเคมีที่มีความสำคัญต่อการละลายของแร่ธาตุ ซึ่ง pH กับการละลายของแร่ธาตุจะมีความสัมพันธ์กันแบบตรงข้ามคือ ถ้า pH ลดลงการละลายของแร่ธาตุในดินจะสูงขึ้นแต่การเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตจะลดลงตาม pH ที่ลดลง นอกจากนี้ pH ยังมีผลต่อรูปแบบของกลุ่มสารที่ละลายในน้ำ เช่น สารกลุ่มของแอมโมเนีย ถ้า pH สูงสารกลุ่มนี้จะอยู่ในรูป NH_3 เป็นส่วนใหญ่และมีพิษสูงต่อกุ้ง แต่ถ้า

pH ต่ำลงมา NH_3 ก็จะเปลี่ยนอยู่ในรูป NH_4^+ ซึ่งไม่มีพิษต่อกุ้ง (สิริ, 2546) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเป็นไปตามสมการ

$$NH_4^+ \rightleftharpoons NH_3 + H^+$$

pH ต่ำ (ไม่เป็นพิษ) pH สูง (เป็นพิษ)

1.4 การให้อาหาร

ในช่วงวันที่ 1-40 ให้อาหารที่มีโปรตีนสูง 40% สามารถใช้อาหารของกุ้งกุลาดำได้ อาจจะใช้อาหารที่มีโปรตีนต่ำ (30%) แต่มีกรดอะมิโนที่จำเป็นอย่างเป็นครบด้วยก็ได้ สำหรับในช่วงวันที่ 41 จนถึงวันที่จับขาย (วันที่ 100 ของการเลี้ยง) (http://www.shrimpcenter.com/t-shrimp047.html, 29/03/2006) ให้อาหารที่มีโปรตีนต่ำลงมา 30-35% สามารถใช้อาหารของกุ้งก้ามกรามได้ จำนวนมื้อควรจำกัดอยู่ที่ 3 มื้อ เมื่อต้องการตรวจสภาพการให้อาหารสามารถวัดได้จากค่าแอมโมเนีย ควรวัดอย่างน้อย 2 ครั้งต่อสัปดาห์ หากค่าแอมโนเนียเพิ่มแสดงว่าอาจมีอาหารเหลือเนื่องจากให้อาหารมากเกินไป ดังนั้นควรลดปริมาณอาหาร และหากแอมโมเนียลดลง ให้รักษาระดับการให้อาหารในปริมาณนี้ไว้ก่อน หลังจากนั้นจึงค่อยๆปรับการให้อาหารเพิ่มขึ้น

1.5 ยาปฏิชีวนะและสารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง

การเลี้ยงกุ้งที่เป็นการเลี้ยงแบบหนาแน่น ทำให้สภาพอาจไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตปกติของกุ้ง ประกอบกับสภาพเลี้ยงที่เอื้ออำนวยให้เกิดการระบาดของโรคได้ง่าย เช่น มีสารอินทรีย์ตกค้าง การใช้ยาและเคมีภัณฑ์จึงยังมีความจำเป็น ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ให้เลือกใช้จำนวนมาก มีความหลากหลายในด้านคุณภาพ แม้กระทั่งเกิดมีการปลอมปนในสินค้าหลาย ๆ ประเภท ซึ่งกลุ่มเคมีภัณฑ์ในการเลี้ยงกุ้ง ได้แก่ ยาฆ่าเชื้อ ยาต้านจุลชีพ วิตามิน สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน สารประกอบจุลินทรีย์ และสารควบคุมแพลงก์ตอน (http://www.shrimpcenter.com/t-shrimp003.html 15/03/2006)

1.5.1 กลุ่มยาฆ่าเชื้อ (disinfectants) เป็นกลุ่มสารเคมีที่อยู่ในรูปต่างๆ เช่น ของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซซึ่งมีฤทธิ์ในการทำลายสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น กลุ่มโปรโตซัว เชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส ยาในกลุ่มนี้ได้แก่

- ฟอร์มาลิน (formalin) มีคุณสมบัติเป็น strong reducing agent ถูกออกซิไดซ์ ได้กรด formic acid สารละลายใสไม่มีกลิ่นฉุน ความเข้มข้นที่ใช้ 25-50 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้เป็นสารทดสอบความแข็งแรงของลูกกุ้ง 150 -200 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 15-30 นาที แต่มีข้อควรระวัง คือ ทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลง พีเอชลดลงเล็กน้อย ระหว่างการใช้จึงควรเปิดเครื่องเพิ่มออกซิเจนเพื่อให้อากาศตลอดเวลา

- เบนซัลโคเนี่ยมคลอไรด์ (benzalkonium chloride) (บีเคซี) มีชื่อเต็มว่า alkyl dimethyl benzyl ammonium-chloride เป็นสารละลายใส ไม่มีกลิ่น ใช้เพื่อการทำความสะอาดอุปกรณ์ในอุตสาหกรรมกระป๋อง ส่วนในการเลี้ยงกุ้งใช้เพื่อรักษาการติดเชื้อภายนอกโดยเฉพาะโปรโตซัว และแบคทีเรีย ความเข้มข้นที่ใช้ คือ 0.6-1 มิลลิกรัมต่อลิตร

- คลอรีน (chlorine) อยู่ในรูปของก๊าซ ของเหลว และเป็นผง ซึ่งเมื่ออยู่ในรูปผงจะอยู่ในรูปของสารประกอบที่เป็นแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ ($Ca(OCl)^-_2$) และโซเดียม-ไฮโปคลอไรด์ (NaClO) เป็นสารออกซิไดซ์ จับตัวกับสารอินทรีย์ช่วยในการลดตะกอนและ BOD ความเข้มข้นที่ใช้ คือ 30-50 มิลลิกรัมต่อลิตร

- โพวิโดน ไอโอดีน (povidone iodine) เป็นสารประกอบระหว่าง polyvinylpyrrolidone กับ iodine (10-20 %) มีคุณสมบัติเป็นยาฆ่าเชื้อทั้งแบคทีเรียและไวรัส ต่างประเทศใช้สำหรับแช่ไข่สัตว์น้ำ เพื่อฆ่าเชื้อไวรัส แบคทีเรีย และโปรโตซัว ความเข้มข้นที่ใช้คือ 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับใช้กำจัด *Vibrio harveyi* (4.5×10^6 CFU/ml) ใช้ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร 30 นาที แต่ถ้าค่า pH ของน้ำเพิ่มจาก 6 เป็น 8.6 ต้องใช้ความเข้มข้นเพิ่มเป็น 4 เท่า

- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) เป็นสารละลายใส มีคุณสมบัติเป็นด่างอ่อน และ oxidizing agent ใช้ที่ความเข้มข้น 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้ป้องกันและรักษาโรคที่เกิดจากโปรโตซัว และแบคทีเรียในนากุ้ง

1.5.2 สารกำจัดแพลงก์ตอน (algicide) สารในกลุ่มนี้ได้แก่

- คอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulphate; $CuSO_4.5H_2O$) หรือเรียกว่าจุนสี เป็นเกล็ดสีฟ้าละลายน้ำได้ดี ความเข้มข้นที่ใช้อยู่ระหว่าง 0.5-1 มิลลิกรัมต่อลิตร จุนสีจะเข้าไป

รบกวนการทำงานของแพลงก์ตอน หรือรวมตัวกับบางส่วนของแพลงก์ตอนแล้วเกิดการตกตะกอน

- คีเลทคอปเปอร์ (chelated copper) เป็นการรวมกันของ chelating agent กับ copper ใช้ลดปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และสาหร่ายอื่นที่ไม่ต้องการ

1.5.3 สารประกอบจากจุลินทรีย์ (microbial compounds) สารซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ในรูปของสปอร์ หรือเซลล์จุลินทรีย์ เช่นใช้ *Bacillus* sp. และ/หรือ *Thiobacillus* sp. ในการควบคุมสารอินทรีย์ โดยเติมในบ่อดินตลอดการเลี้ยง การใช้ *Lactobacillus* ผสมในอาหารเพื่อเป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้ง แหล่งที่มาของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้แก่ lipopolysaccharide จากผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ peptidoglycan จากผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก β-glucan จากผนังเซลล์ของยีสต์ และยังมีการวิจัยพบว่าเชื้อ *Pseudomonas* sp. I-2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. harveyi* ได้ในลูกกุ้งอายุ 15 วัน (P-15) (Chythanya *et al*.,2002)

1.5.4 ยาต้านจุลชีพ (antimicrobial agents) เป็นสารประกอบทางเคมีที่ได้จากสิ่งมีชีวิต หรือจากการสังเคราะห์ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้ง หรือเกิดการตายของจุลินทรีย์ ซึ่งแหล่งของยาต้านจุลินทรีย์ได้แก่ จากจุลินทรีย์ เช่น เชื้อราใช้ในการผลิตออกซิเตทตร้าซัยคลิน (oxytetracycline) และคลอแรมเฟนนิคอล (chloramphenical) จากการสังเคราะห์ เช่น กลุ่มยาซัลฟา และกลุ่มยาควิโนโลน และจากการกึ่งสังเคราะห์ เช่น แอมพิซิลิน (ampicillin) และอามอกซี่-ซิลิน (amoxicillin) สำหรับกลุ่มยาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้แก่

- กลุ่มเตทต้าซัยคลิน เช่น ออกซิเตทต้าซัยคลิน (oxytetracycline)
- กลุ่มซัลฟา เช่น ซัลฟาโมโนเมททอกซิน (sulfamonomethoxcin) และซัลฟาไดเมททอกซิน (sulfadimethoxcin)
- กลุ่มซัลฟาเสริมฤทธิ์ เช่น กลุ่มซัลฟารวมกับไตรเมทโทพริม (trimethoprim-sulfamethoxazole)
- คลอแรมฟีนิคอล (chloramphenical)
- กลุ่มไนโตร เช่น ฟูราเนส (furanase) ไนเฟอร์ไพรินอล (nifurpirinol) และฟูราโซลิโดน (furazolidone)

- กลุ่มควิโนโลน ยาในกลุ่มนี้ เช่น ออกโซลินิคแอซิค (oxolinic acid) นอร์ฟอกซาซิน (norfloxacin) ซาราฟ๊อกซาซิน (sarafloxacin) ไซโปรฟ๊อกซาซิน (siprofloxacin) และฟีฟ๊อกซาซิน (fefloxacin)

ยาปฏิชีวนะทั้งหลายซึ่งใช้ในการทำนากุ้งตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมและสามารถแพร่กระจายไปยังบริเวณแหล่งน้ำรอบพื้นที่เลี้ยงโดยปนไปกับน้ำทิ้งและตะกอนที่ปล่อยทิ้ง ซึ่งในธรรมชาติยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนสามารถเปลี่ยนระบบนิเวศวิทยาโดยไปเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียซึ่งเป็นผู้ย่อยสลายที่มีอยู่ในบริเวณนั้น และยังเป็นพิษกับสัตว์น้ำและพืช การใช้ยาปฏิชีวนะเมื่อต้องการรักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียเท่านั้น ไม่สามารถรักษาโรคที่เกิดจากไวรัสได้ เช่น White spot หรือ Yellow head ส่วนอาการที่เกิดจากการติดเชื้อ *V. harveyi* นั้น พบว่าเชื้อดังกล่าวมีความไวต่อยาคลอแรมฟีนิคอล (chloramphenical) และโนโวไบโอซิน (novobiocin) แต่จะไม่ไวต่อยาสเตรปโตรมัยซิน (streptomycin) (Sae-oui *et al*., 1987)

สำหรับยาที่ห้ามใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทยได้แก่ คลอแรมฟีนิคอล (chloramphenical) และไนโตรฟูเรนส์ (nitrofurans) เช่น ฟูราโซลิโดน (furazolidone) ไนโตรฟูราโซน (nitrofurazone) ไนโตรฟูเรนชัน (nitrofurantoin) ไนโตรคลิน (nitroquine) และไนโตรฟูราทอล (nitrofuratel) เป็นต้น (Gräslund *et al*., 2002) เพราะก่อให้เกิดอาการโลหิตจางและมะเร็งได้ (http://www.shrimpcenter.com/tshrimp003.html., 15/03/2006) แต่การนำเข้ากุ้งของประเทศสหรัฐอเมริกายินยอมให้มีปริมาณของยาออกซิเตทต้าซัยคลิน (oxytetracycline) ตกค้างในกุ้งได้ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะตรวจสอบโดย United States Food and Drug Administration (USFDA) (Sermwatanakul, 1994)

2. เอนไซม์ย่อยโปรตีน

เอนไซม์ย่อยโปรตีน (proteolytic enzyme) เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่พบได้ในสิ่งมีชีวิตทั่วไปเพื่อเร่งปฏิกิริยาการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) ของพันธะเปปไทด์ (peptide bond) ภายในโมเลกุลโปรตีนให้เป็นสายเปปไทด์สายสั้นๆและกรดอะมิโนตามลำดับ (Wong, 1995) เอนไซม์ย่อยโปรตีน (EC.3.4) เรียกทั่วไปว่า เปปทิเดส

(peptidase) โปรติเนส (protenase) โปรตีนเอส (protease) และโปรติโอไลติกเอนไซม์ (proteolytic enzyme) (IUBMB, 1992) เอนไซม์ย่อยโปรตีนสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

- เอนโดเปปติเนส (endopeptinase) เป็นโปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสายโปรตีน ทั้งนี้ต้องจำเพาะตรงต่อ R_1 และ R_2 ด้วย ซึ่ง R_1 และ R_2 เป็นอนุมูลของกรดอะมิโน 2 ชนิดที่มาทำให้เกิดพันธะเปปไทด์หรืออีกนัยหนึ่ง คือ side chain ของโปรตีน ดังนั้นโปรติเอส (protease) จำเพาะต่อ R_1 แสดงว่าเอนไซม์นั้นเข้าตัดพันธะเปปไทด์โดยเข้าทางปลายอะมิโน (N-terminal) แต่ถ้าเอนไซม์จำเพาะต่อ R_2 แสดงว่าเข้าตัดทางปลายคาร์บอกซิล (C-terminal) ถ้าเอนไซม์มีความจำเพาะต่อ R_1 และ R_2 จึงจะตัดพันธะเปปไทด์ได้ และจะให้แอคติวิตี (activity) สูงสุด ถ้าหมู่ X และ Y ไม่เป็นอนุพันธ์ของ H^+ และ OH^- กล่าวคือ X อาจเป็น acyl group และ Y เป็น amide

- เอกซ์โซเปปติเดส (exopeptidases) เป็นโปรติเอสที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากสายของโปรตีน จะเป็นสายด้านไหนก็ต้องสอดคล้องต่อความจำเพาะของเอนไซม์ต่อ R_1 และ R_2 กล่าวคือ

ถ้าจำเพาะต่อ R_1 X=H^+ Y= อะไรก็ได้ เรียก N-terminal splitting

ถ้าจำเพาะต่อ R_2 X= อะไรก็ได้ Y= OH^- เรียก C-terminal splitting

ดังนั้นจึงแบ่งเอนไซม์ตามทิศทางการตัดปลายสายได้ 2 ประเภท คือ N-terminal splitting และ C-terminal splitting (ปราณี, 2543)

2.1 แหล่งของเอนไซม์ย่อยโปรตีน

เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ผลิตเป็นการค้าสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั่วไปไม่ว่าจะเป็นสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ซึ่งเอนไซม์ที่ได้จากพืชได้แก่ papain (EC.3.4.22.2) และ chymopapain (EC.3.4.22.2) จากยางมะละกอ ส่วนในสัตว์ได้แก่ rennin (EC.3.4.23.4) และ pepsin (EC.3.4.23.1) (http://www.sigmaaldrich.com/Areaof Interest/Biochemicals/ Enzyme Explorer/Key Resources/Proteolytic Enzymes IV.html, 8/07/2005) และในกรณีจากจุลินทรีย์นั้นสามารถแยกเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ทำงานได้ดีที่สภาวะต่างๆเช่น เอนไซม์ย่อยโปรตีนจาก *Bacillus cereus* KCTC 3674 ทำงานได้ดีที่ pH 8 และอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส (Kim *et al*., 2001) *Pseudomonas*

fluorescens ทำงานได้ดีที่ pH 5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Whaley *et al*., 1982) และยังพบได้ในพวกรา เช่น *Fusarium solani* *Aureobasidium pullulands* และ *Cladosporium* sp. (Howard and Blake, 1998)

2.2 เอนไซม์ย่อยโปรตีนที่ผลิตจากจุลินทรีย์

เอนไซม์ย่อยโปรตีนของแบคทีเรียมักเป็นเอนไซม์ที่ผลิตออกนอกเซลล์เพื่อใช้ย่อยโปรตีนชนิดต่างๆที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมภายนอกเซลล์ ให้ได้กรดอะมิโนสำหรับดูดซึมเข้าสู่เซลล์เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Ward, 1983) เอนไซม์เหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์เปปติเดส ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ตามกลไกการทำงาน คือ

2.2.1 โปรติเอสเซรีน (serine protease, alkaline protease, pH 6.7-9) เอนไซม์ในกลุ่มนี้ถูกยับยั้งโดย DFP (diisopropyl-phosphofluoridate) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่ ไฮดรอกซิล (OH^-) ของหมู่เซริลในบริเวณเร่งของเอนไซม์ เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีหมู่ imidazole อยู่ที่บริเวณเร่งและเป็นเอนโดเปปทิเดส เอนไซม์ในกลุ่มนี้ประกอบด้วยสกุลที่แตกต่างกัน 2 สกุล คือ chymotrpsin family ซึ่งรวมถึงเอนไซม์ที่ได้จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammalian enzyme) ได้แก่ chymotrypsin trypsin thrombin และ substilisin family ซึ่งรวมถึงเอนไซม์ที่ได้จากแบคทีเรีย ได้แก่ subtilisin โครงสร้างทาง 3 มิติของเอนไซม์ทั้ง 2 สกุลมีลักษณะที่แตกต่างกัน แต่บริเวณของแอคทีฟไซต์ (active site) ที่เหมือนกันและมี mechanism ที่เหมือนกัน (http://www.delphi.phys.univ-tours.fr/Prolysis/introprotease.html, 13/03/2006)

2.2.2 โปรติเอสซัลไฟดิล (sulfhydryl protease) เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน เป็นเอนโดเปปทิเดส และถูกยับยั้งโดยสารที่เรียกว่า sulfhydryl reagent หรือ sulfhydryl group หรือ กลุ่มไธออล ทำให้หมู่อนุมูลซัลไฟดริลที่บริเวณเร่งได้รับความกระทบกระเทือนอาจสูญเสียแอคติวิตีไปในที่สุด เอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ papain ficin และ streptococcus protease เป็นต้น

2.2.3 โปรติเอสโลหะ (metal-containing proteases) หมายถึงโปรติเอสที่มีอิออนและโลหะรวมในโมเลกุลเอนไซม์ หรือร่วมในปฏิกิริยาการย่อยสลาย กล่าวคือ อยู่ในลักษณะของโคแฟกเตอร์ ตัวอย่างของเอนไซม์ เช่น carboxypeptidase A glycyl-glycine

dipeptidase carnosinase และ prolidase เป็นต้น มีสมบัติ คือ เป็น exopeptidase เกือบทั้งหมด เป็นเอนไซม์ที่มีช่วง pH เป็นกลาง (pH 6.5-7.5)

2.2.4 โปรติเอสกรด (acid proteases) หมายถึง โปรติเอสที่มีช่วง pH ของการทำปฏิกิริยาการย่อยสลายอยู่ในช่วง pH เป็นกรด (pH ต่ำกว่า 7) โดยทั่วไปเอนไซม์เหล่านี้มีช่วง pH ที่เหมาะสมระหว่าง pH 2-4 และบทบาทของอนุมูลของกรดอะมิโนในบริเวณเร่งมีไม่ชัดเจน อย่างไรก็ตามเอนไซม์ในกลุ่มนี้มีกลุ่มคาร์บอกซิลมากกว่า 1 หมู่ เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ renin และ pepsin (ปราณี, 2543)

ดังนั้นแบคทีเรียย่อยโปรตีนในบ่อเลี้ยงกุ้งมีความน่าจะเป็นแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีนชนิด โปรติเอสเซรีน โปรติเอสซัลไฟดิล และโปรติเอสมีโลหะ เนื่องจากสภาวะในบ่อเลี้ยงกุ้งมักเป็นกลางถึงเป็นด่างเล็กน้อย

2.3 การวิเคราะห์กิจกรรมของโปรติเอส

แบ่งการวิเคราะห์ตามชนิดของสับสเตรท คือ

2.3.1 โปรตีนเป็นซับสเตรท มีวิธีวิเคราะห์ 2 วิธี คือ

2.3.1.1 ประเมินจากผลผลิตของการทำปฏิกิริยา เช่น ปริมาณเปปไทด์ที่ละลายได้ในตัวทำละลายต่างๆ เช่น trichloroacetic acid (TCA) perchloric acid เป็นต้น ส่วนโปรตีนที่ใช้ได้แก่ เคซีน (casein) วัดปริมาณ TCA-soluble peptides คือ ส่วนของ aromatic compound ที่ OD 280 นาโนเมตร แล้วประเมินค่าด้วยกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) ปริมาณไทโรซีนแปรผันตามแอคติวิตีของเอนไซม์

2.3.1.2 ประเมินจากพันธะเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ ปริมาณของหมู่อะมิโนอิสระที่เป็นผลผลิต จะแปรผันตรงกับจำนวนเปปไทด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ โดยที่กรดอะมิโนอิสระจะทำปฏิกิริยากับ ninhydrin reagent ให้สีที่ OD 570 นาโนเมตร เทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนลิวซีน (leucine)

2.3.2 สับสเตรทสังเคราะห์ ได้แก่ สับสเตรทที่มีพันธะ ester amide และ peptide ในตำแหน่งพันธะเปปไทด์เดิม ใช้เพื่อพิจารณาความจำเพาะและกลไกทำปฏิกิริยาของเอนไซม์

2.3.2.1 ใช้สับสเตรทเป็น nitrophenyl ester ซึ่งเป็นสารให้สีสามารถติดตามปฏิกิริยาได้โดยวัด OD 400 นาโนเมตร ถ้า pH มากกว่า 7 และ OD 340 นาโนเมตร ถ้า pH น้อยกว่า 7

2.3.2.2 ใช้สับสเตรทพวก ester เช่น ∞-N-benzoyl-L-arginine ethyl ester หรือ amide ทำให้ผลผลิตเป็นหมู่คาร์บอกซิลที่สามารถตามปฏิกิริยาได้ที่ OD 253

2.4 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

ตัวยับยั้ง คือ สารใดก็ตามที่มีผลให้ความเร็วของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งมีปฏิกิริยาลดลง (ปราณี, 2543) ตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบ่งได้หลายลักษณะจำเพาะของปฏิกิริยายับยั้งที่มีผลต่อหมู่ต่างๆของเอนไซม์ ได้แก่

2.4.1 ตัวยับยั้งที่รวมตัวกับ cations ที่จำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์พวกโลหะเป็นองค์ประกอบ ซึ่งสารพวกนี้ได้แก่ EDTA และ 1,10-Phenanthroline ซึ่งสารทั้ง 2 ตัวนี้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ย่อยโปรตีน (protease) จาก *Pseudomonads* ได้ดี (Vazquez *et al*., 2004) แต่เมื่อเติม cations กลับคืนไปในเอนไซม์อีกครั้งก็จะช่วยให้เอนไซม์มีแอคติวิตีเหมือนดังเดิม

2.4.2 ตัวยับยั้งที่ทำหน้าที่ทำปฏิกิริยากับหมู่ไธออลของเอนไซม์ (reaction with thiol group) การยับยั้งจะเกิดขึ้นเมื่อตัวยับยั้งไปทำปฏิกิริยากับหมู่ซัลไฟดริลที่จำเป็นในบริเวณเร่ง หรือการทำให้เสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน เช่น การทำปฏิกิริยาแล้วได้สารเมอร์แคบไทด์ (mercaptide) ได้แก่ สารพวก $HgCl_2$ และ $ZnCl_2$ รวมทั้งสารพวกโลหะหนักต่างๆได้แก่ Cu^{2+} Pb^{2+} และ Ni^{2+} ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสถานะของออกซิเดชันของสารที่จะสร้างสารประกอบเมอร์แคบไทด์ และความเข้มข้นของตัวยับยั้งปฏิกิริยา

2.4.3 ตัวยับยั้งประเภทคล้ายหรือเหมือนกับซับสเตรท (substrate analog) ซึ่งสารเหล่านี้สามารถจับกับเอนไซม์ที่บริเวณเร่งได้เช่นเดียวกับซับสเตรท แต่ไม่สามารถให้ผลผลิตได้

2.4.4 ตัวยับยั้งประเภทคล้ายหรือเหมือนกับโคแฟคเตอร์ (cofactor analog) การศึกษาด้าน cofactor analog พบว่า ตัวยับยั้งประเภทนี้จะขึ้นอยู่กับค่าคงที่ของการเชื่อมกันระหว่างเอนไซม์กับโคแฟกเตอร์ ถ้าค่าคงที่นี้ต่ำ ก็จะมีผลให้สาร cofactor

analog สามารถแย่งกับโคแฟกเตอร์แล้วไปจับกับ apoenzyme ได้ก่อน หรือในทางกลับกัน ถ้าโคแฟกเตอร์จับกับ apoenzyme ได้แน่น สารยับยั้งก็ไม่สามารถจับกับเอนไซม์ได้ กรณีหลังนี้ คือ โคแฟกเตอร์ประเภท prosthetic group ของเอนไซม์ ซึ่งก็จะไม่พบ cofactor inhibition ในลักษณะ in vitro (ปราณี, 2543)

3. บทบาทของจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้ง

จุลินทรีย์เข้ามามีบทบาทที่สำคัญในการบำบัดน้ำเสียในบ่อกุ้งโดยการย่อยสลายสารอินทรีย์ตกค้างในระบบการเลี้ยง ทำหน้าที่เป็นโปรไบโอติก (probiotics) และเป็นตัวแข่งและข่มจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคกับกุ้งที่สำคัญๆ จุลินทรีย์สามารถพบได้ทั้งในธรรมชาติ ทั้งในอากาศ น้ำ และดิน โดยเฉพาะในดินมีปริมาณมากที่สุด และที่สำคัญๆ เช่น แบคทีเรียซึ่งมีบทบาทมากในบ่อเลี้ยงกุ้ง (http://www.thaifarmzone.com/shrimp/modules.php?name=News&file= article&sid=302, 14/03/2006)

บ่อเลี้ยงกุ้งมีสิ่งมีชีวิตหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับระบบนิเวศภายในบ่อเลี้ยง เช่น จุลินทรีย์ แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ ลูกปลา หอย และ ปู เป็นต้น ความสัมพันธ์นี้ต่อเนื่องกันเป็นวงจร เมื่อสิ่งมีชีวิตภายในบ่อเลี้ยงตายหรืออาหารที่เหลือจากการกินของกุ้ง ซึ่งจุลินทรีย์จะทำหน้าที่ย่อยสลายซากเกิดเป็นกิจกรรมของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในแต่ละวัฏจักรโดยเฉพาะไนโตรเจนและซัลเฟอร์ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียหลายชนิด ส่งผลให้วัฏจักรเกิดความสมบูรณ์และสมดุล (ศิริรัตน์, 2539)

$$\text{สารอินทรีย์ไนโตรเจน} + O_2 + \text{แบคทีเรียย่อยโปรตีน} \longrightarrow NH_4^+ + NH_3$$

3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ได้แก่ คุณสมบัติทางเคมี-กายภาพ (physico-chemical property) และสารอาหาร (nutrient content) โดยสภาวะแวดล้อมที่ต้องคำถึงคือ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออน (pH) ความชื้น (moisture requirement) ออกซิเจน (oxidation-reduclion potential) และอุณหภูมิ (temperature) ส่วนอาหาร (nutrient content) ประกอบด้วยอาหารที่เป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอน ได้แก่ พวก

คาร์โบไฮเดรต เช่น กากน้ำตาล และแบคทีเรียยังต้องการแหล่งไนโตรเจนและสารอาหารอื่นๆอีก (http://www.thaifarmzone.com/shrimp/modules.php?name=News&file=article&sid=302, 14/03/2006) อัตราการเจริญและการตายของจุลินทรีย์ได้รับอิทธิพลโดยตรงของสิ่งแวดล้อม ประเภทของจุลินทรีย์แตกต่างกันไปขึ้นกับสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นในห้องปฏิบัติการหรือในธรรมชาติต่างก็มีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่ควบคุมอัตราการเจริญหรือการตายของจุลินทรีย์ ในสภาวะธรรมชาติที่สามารถควบคุมปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมได้ แต่ในห้องปฏิบัติการมีความเป็นไปได้ที่จะควบคุมปัจัยเหล่านั้น ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ปัจจัยที่มีผลต่อจุลินทรีย์ในบ่อเลี้ยงกุ้งมีดังต่อไปนี้

1. อุณหภูมิ เป็นปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญที่สุดอย่างหนึ่งต่ออัตราการเจริญและการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ เพราะอุณหภูมิมีผลต่อปฏิกิริยาชีวเคมีภายในเซลล์และรูปแบบโครงสร้างสามมิติของโปรตีนจึงมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ กิจกรรมของเอนไซม์ต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อได้กิจกรรมสูงสุด อุณหภูมิที่เหมาะสมแตกต่างกันไปสำหรับเอนไซม์แต่ละชนิด หรือแม้แต่ชนิดเดียวกัน แต่จากสิ่งมีชีวิตที่ต่างกัน และเมื่ออุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้โปรตีนเสียสภาพ ในที่สุดจุลินทรีย์ตายเพราะเมตาบอลิซึมหยุด สำหรับความต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป จึงแบ่งกลุ่มแบคทีเรียตามอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเป็น 3 ชนิด คือ

1.1 psychrophilic bacteria เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส บางชนิดเจริญได้ดีที่ 5 องศาเซลเซียส ซึ่งแบคทีเรียพวกนี้เป็นตัวการที่สำคัญที่ทำให้อาหารในตู้เย็นเน่าเสีย ตัวอย่างได้แก่ *Pseudomonas*, *Achromobacteria* และ *Flavobacterium*

1.2 mesophilic bacteria เป็นแบคทีเรียที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ประมาณ 25-40 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นพวกที่มีบทบาทในบ่อเลี้ยงกุ้ง

1.3 thermophilic bacteria เป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Bacillus circulan*, *Bacillus coagulans* และ *Lactobacillus delbruckii* (บัญญัติ, 2525)

2. ก๊าซ ภายในบรรยากาศประกอบไปด้วยก๊าซต่างๆในปริมาณมากน้อยแตกต่างกันไปขึ้นกับสภาพสิ่งแวดล้อม ก๊าซเหล่านี้ได้แก่ O_2 CO_2 N_2 NH_3 H_2S และ H_2 ก๊าซที่มีผลต่อการเติบโตของแบคทีเรียส่วนใหญ่ คือ ก๊าซออกซิเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (ดวงพร, 2545) เมื่อแบ่งแบคทีเรียเรียงตามความต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตสามารถแบ่งได้ 4 พวก คือ

2.1 แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจน (aerobic bacteria) แบคทีเรียกลุ่มนี้เติบโตได้ดีในสภาพอากาศที่มีออกซิเจน 21%

2.2 แบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobic bacteria) แบคทีเรียพวกนี้จะตายเมื่อถูกกับอากาศ

2.3 พวกที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต พวกนี้ไม่ถูกยับยั้งโดยออกซิเจน สามารถเติบโตได้ดีทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน คือ เป็น facultative anaerobes

2.4 แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนปริมาณเล็กน้อยในการเจริญเติบโต (microaerophilic bacteria) แต่แบคทีเรียพวกนี้ไม่สามารถทนต่อออกซิเจนในสภาวะปกติ

3. pH อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นกับ pH มากเช่นกัน เพราะ pH มีผลต่อธรรมชาติของโปรตีน ประจุของกรดอะมิโนในสาย polypeptide มีอิทธิพลต่อโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีน ซึ่งโดยปกติเอนไซม์จะหมดกิจกรรมที่ค่า pH ต่ำมากหรือสูงมาก ผลของ pH ต่ออัตราการเจริญและการตายของจุลินทรีย์ พบว่าโดยทั่วไปจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงได้น้อยกว่าที่ค่า pH ต่ำเมื่อเทียบกับ pH เป็นกลาง

บทบาทของ pH ต่ออัตราการเจริญของจุลินทรีย์ จุดที่สำคัญจุดแรก คือ pH ที่จุดเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งต้องปรับให้เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ และติดตามการเปลี่ยนแปลงของ pH เพื่อที่จะได้มีการควบคุม pH ให้เชื้อเจริญจนถึงจุดสูงสุดและใช้สารอาหารได้หมด การควบคุม pH หรือการป้องกันการเปลี่ยนแปลงของ pH ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยได้สามารถทำได้โดยเติมสารจำพวก buffer ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ (ดวงพร, 2545)

4. ความชื้น น้ำเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตทั่วไป และถือว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยน้ำเป็นองค์ประกอบของเซลล์ประมาณ 75% การควบคุมปริมาณน้ำภายในเซลล์จุลินทรีย์นั้นขึ้นกับปริมาณของน้ำในสิ่งแวดล้อมที่เซลล์อยู่ น้ำและไอออนของน้ำมีบทบาทสำคัญมากในกิจกรรมของเซลล์ เป็นตัวนำความร้อนที่ดีและช่วยระบายความร้อนจากกิจกรรมของเซลล์ มีความร้อนจำเพาะสูง จึงช่วยยับยั้งการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ และความต้องการน้ำของจุลินทรีย์ (water activity หรือ Aw) จะแตกต่างกันไป โดยแบคทีเรียและยีสต์ต้องการน้ำมากในการเจริญ ส่วนราต้องการน้ำน้อยในการเจริญ สำหรับ Aw เป็นดัชนีที่บอกว่าน้ำนั้นเป็นน้ำที่นำไปใช้ได้โดยจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่ของจุลินทรีย์ต้องการ Aw มากกว่า 0.9 จุลินทรีย์บางชนิดเรียกว่าพวก xerotolerant คือสามารถเจริญเติบโตได้ที่ค่า Aw ต่ำได้ (ดวงพร, 2545) เมื่อต้องการลดกิจกรรมของเซลล์โดยการกำจัดน้ำออกอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิต่ำภายใต้สภาวะสุญญากาศ จะทำให้เก็บเซลล์ของแบคทีเรียได้เป็นเวลานาน โดยมีการเติมสาร stabilizer ซึ่งเป็นสารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ เช่น นม จะทำให้แบคทีเรียรอดชีวิตได้มาก

5. แรงดันออสโมซิสของเซลล์ โดยที่แรงดันออสโมซิสของสารละลายขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลาย การทนแรงดันออสโมซิสของเซลล์ขึ้นกับชนิดของแบคทีเรีย เช่น เซลล์แบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* จะทนต่อสารละลายเกลือเข้มข้น 10-15% เป็นต้น โดยทั่วไปแบ่งเป็น 3 สภาพระหว่างเซลล์กับสิ่งแวดล้อม isotonic solution หมายถึงความ เข้มข้นของสารภายในเซลล์เท่ากับสิ่งแวดล้อมที่เซลล์อยู่ ในสิ่งแวดล้อมพบสภาพนี้น้อยมาก ส่วน hypotonic solution ความเข้มข้นของสารในสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าภายในเซลล์ โดยปกติเซลล์ทั่วไปอยู่ในสภาพนี้คือ สิ่งแวดล้อมที่เซลล์อยู่มีความเข้มข้นของสารน้อยกว่าภายในเซลล์ประมาณ 10 mM และอีกสภาพ คือ hypertonic solution ความเข้มข้นของสารในสิ่งแวดล้อมมีมากกว่าภายในเซลล์ เช่น ในที่มีเกลือสูง น้ำตาลสูง (ดวงพร, 2545) เนื่องจากผลของแรงดันออสโมซิสต่อจุลินทรีย์ ทำให้แบ่งจุลินทรีย์ได้เป็นหลายชนิด คือ

1. osmophile microorganisms เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถปรับตัวให้เหมาะสมกับสภาพที่มีแรงดันออสโมซิสสูงๆ ได้แก่ ยีสต์ที่เจริญในน้ำตาลที่มีความเข้มข้นสูง

2. osmoduric microorganisms เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถทนต่อแรงดันออสโมซิสสูงได้แต่ไม่เพิ่มจำนวน

3. halophilic microorganisms เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ดีในที่มีความเข้มข้นของเกลือที่สูงๆ เป็นจุลินทรีย์ในน้ำทะเล เช่น *Micrococus halodenitrification Vibrio costicolus* และ *Pediococus halophilus* เป็นต้น ได้มีการทดลองนำแบคทีเรียจากน้ำทะเลเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีเกลือพบว่า แบคทีเรียเหล่านี้จะสามารถดำรงชีวิตและเพิ่มจำนวนได้ไม่เกิน 10% แต่ถ้าหากนำมาเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือลดน้อยลงตามลำดับไปเรื่อยๆจนในอาหารไม่มีเกลือจะทำให้รอดตายได้ 75% นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรียที่มีอายุน้อยจะถูกทำลายได้ง่ายกว่าแบคทีเรียที่มีอายุมาก

4. haloduric microorganisms เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง ในลักษณะที่ทนความเข้มข้นที่สูงแต่ไม่ชอบ

5. xerophilic Mold เป็นราที่สามารถเจริญในที่แห้งได้ดีซึ่งมีตัวถูกละลายอยู่สูง เช่น น้ำตาล เป็นต้น (บัญญัติ, 2525)

3.2 จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุก่อโรคในกุ้ง

การเลี้ยงกุ้งขาวในไทยเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกร นอกเหนือจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย หรือกุ้งก้ามกราม ซึ่งกุ้งขาวมีคุณสมบัติเด่นหลายประการที่พึ่งส่งเสริมให้เลี้ยงได้ในเงื่อนไขหนึ่งๆ ทำให้เกิดความหลากหลายในผลิตภัณฑ์กุ้งไทย (http://www.fisheries.go.th/fpo-suphunburi/van.htm, 15/03/2006)

ความสัมพันธ์ระหว่างกุ้ง สิ่งแวดล้อม และเชื้อโรค เป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงกุ้ง ความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นในเชิงขนาน คือ ถ้ามีการจัดการคุณภาพน้ำ คุณภาพดิน และออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen) ที่เหมาะสม และไม่มีเชื้อก่อโรคในปริมาณสูง ทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตและสุขภาพดี ในทางตรงข้าม ถ้าการจัดการสิ่งแวดล้อมภายในบ่อเลี้ยงไม่ดีและมีเชื้อก่อโรคในปริมาณสูง จะทำให้กุ้งเกิดโรคและตาย ซึ่งวิธีการที่จะนำมาใช้ในการจัดการแต่ละปัจจัย คือ การจัดการคุณภาพน้ำ คุณภาพดิน และการจัดการเกี่ยวกับเชื้อก่อโรคในกุ้ง (ศิริรัตน์, 2539)

โรคกุ้งทั่วไปทุกโรคที่เกิดกับกุ้งกุลาดำได้ก็สามารถเกิดกับกุ้งขาวลิโทพีเนียสวา-นาไมได้เช่นกัน เช่น โรคเงือกดำจากเชื้อรา (http://www.nicaonline.com/articles2/site/view_ article.asp?idarticle=135, 8/03/2006) โรคทอราซินโดม (Taura Sydome Virus; TSV) โรครันด์ฟอร์มิตี้ซินโดม (Runt Deformity Syndrome; RDS) โรคไวรัสหัวเหลือง (Yellow-heat virus disease) เป็นต้น (http://www.shrimpcenter.com/t-shrimp051.html, 12/03/2006) แต่ในที่นี้จะกล่าวถึงโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียเท่านั้น

3.2.1 โรคที่เกิดจากติดเชื้อแบคทีเรียที่พบในบ่อเลี้ยงกุ้ง

3.2.1.1 โรคเรืองแสง เป็นโรคที่สร้างความเสียหายสูงมากต่อโรงเพาะฟัก และบ่อดิน พบแพร่กระจาย ทั่วไปทั้งตามชายฝั่งและพื้นที่ความเค็มต่ำ ซึ่งสาเหตุเกิดจากการที่คุณภาพน้ำไม่ดี ทำให้เชื้อ *Vibrio harveyi* ที่ปกติพบอยู่แล้วในน้ำเข้าทำอันตรายกุ้ง เมื่อกุ้งไม่แข็งแรง กุ้งที่ติดเชื้อนี้จะมีอาการ คือ กุ้งลอยขอบบ่อ ไม่กินอาหาร ตัวหลวม สีลำตัวจะขุ่น ซี่เหงือกมีสีดำ ตับอักเสบ ตับอ่อน สีซีดลง และจะมีการเรืองแสงเกิดขึ้นในเวลากลางคืน (http://www.kungthai.com/KungThai/con_detail.php?id=28, 15/03/2006) สังเกตได้โดยปิดไฟฟ้าและทำสายตาให้ชินกับความมืด จากนั้นมองในบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีแสงสลัวจะเห็นจุดสีเขียวเล็กๆ ตามการเคลื่อนไหวของกุ้ง และเมื่อนำกุ้งที่เรืองแสงสีเขียวมาเพาะเลี้ยงในอาหาร TCBS จะมีแบคทีเรียที่เรืองแสงสีเขียวขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ (วรรณนิภา, 2539)

3.2.1.2 โรคตับโต ตับอักเสบ ตับฝ่อ ตับอักเสบ เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* sp. เข้าทำลายตับโดยตรง และเกิดจากการจัดการภายในบ่อไม่ดีพอ กุ้งเครียด อ่อนแอ ภูมิคุ้มกันโรคต่ำ เชื้อแบคทีเรียเข้าแทรกซ้อน และทำลายตับได้ ซึ่งอาการที่พบ คือ กุ้งจะอ่อนแอ กินอาหารลดลง เมื่อหักหัวกุ้งดูจะมีลักษณะตับโต หรือฝ่อ และเปลี่ยนเป็นสีขาวซีด หรือเป็นสีดำคล้ำ กล้ามเนื้อมีสีขาวขุ่น ถ้าไม่ทำการรักษา กุ้งลอยหัว มีการตายประปราย และตายมากขึ้นทุกวันเรื่อยๆ จนหมดบ่อ (http://www.nicaonline.com/articles7/site/ view_article.asp?idarticle=99, 16/03/2006)

3.2.1.3 โรคเดือนตายหรือโรคตายเดือน มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียพวก *Vibrio* sp. สาเหตุการเกิดโรคจะคล้ายกับโรคเรืองแสง (http://www.shrimpcenter.com/t-

shrimp014.html, 29/03/2006) ซึ่งมักพบในการเลี้ยงกุ้งอายุประมาณ 25-30 วัน โดยพบกุ้งตายตามขอบบ่อพบบ่อยที่สุดไม่ว่าจะเลี้ยงในบริเวณใดก็ตาม ประมาณ 60% จะเป็นกุ้งตายในระยะนี้ลักษณะกุ้งที่ตายไม่พบสิ่งผิดปกติบนลำตัวและเหงือก ไม่มีปรสิตและสาหร่ายเกาะตามลำตัว แต่หนวดมักจะขาดเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ติดต่อกันเป็นเวลานาน ทำให้เกิดความเสียหายมากในรายที่มีการตายจากโรคตายเดือนอย่างรุนแรง เมื่อกุ้งเริ่มป่วยจะเข้ามาในยอเป็นจำนวนมาก สีลำตัวเข้มขึ้น

3.2.1.4 โรคหางบวมน้ำ สาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียมีลักษณะอาการ คือ บริเวณปลายแพนหางจะบวมน้ำ พบได้ตั้งแต่กุ้งอายุ 1 เดือนครึ่ง จนถึงกุ้งมีขนาดโตหางบวมน้ำเมื่อเขี่ยเชื้อและเอาหางส่วนที่บวมไปทำการศึกษาพบว่า มีแบคทีเรียอยู่ภายในส่วนที่บวมเป็นจำนวนมาก แต่แบคทีเรียไม่แพร่กระจายไปในอวัยวะภายในส่วนอื่นที่สำคัญ เช่น หัวใจ ตับและตับอ่อน ทำให้กุ้งไม่ตาย ถ้าสังเกตไปเรื่อยๆจะพบว่าในระยะต่อมาหางส่วนที่บวมจะเริ่มกร่อนแหว่งทีละน้อยและเริ่มมีขอบสีดำ

3.2.1.5 โรคเหงือกดำ เหงือกแดง เหงือกอักเสบ สาเหตุการเกิดโรคมีด้วยกันหลายสาเหตุ คือ เมื่อมีปัญหาเรื่องตะกอนเข้าเหงือก จะทำให้เหงือกมีอาการระคายเคืองเป็นแผล และเมื่อมีเชื้อแบคทีเรียเข้าแทรกซ้อนจะทำให้อาการป่วยรุนแรงมากขึ้นเหงือกจะมีอาการเน่า และกุ้งจะตายในที่สุด หรืออาจเกิดจากการปล่อยกุ้งลงเลี้ยงหนาแน่นและควบคุมการจัดการไม่ดีพอ ส่วนใหญ่โรคเหงือกจะพบในช่วงกุ้ง 2-3 เดือนขึ้นไป โดยเฉพาะในบ่อที่มีปริมาณของเสียมากๆ การตั้งเครื่องเพิ่มออกซิเจนไม่ดีกุ้งป่วย พร้อมกันเป็นจำนวนมากลักษณะเหงือกจะมีสีดำ เมื่อกุ้งเกิดโรคนี้จะมีอาการ คือ เหงือกจะมีสีต่างๆ ตามสาเหตุ และถ้ามีเชื้อแบคทีเรียเข้าแทรกซ้อนจะทำให้เหงือกเน่าเสีย รูปทรง กุ้งจะลอยหัวเนื่องจากหายใจไม่สะดวกเพราะขาดออกซิเจน กินอาหารลดลง กุ้งจะมีอาการอ่อนแอลงทำให้โรคอื่นเข้าแทรกซ้อนได้ง่าย (http://www.nicaonline.com/articles7/site/view_article.asp?idarticle=99, 16/03/2006)

3.3 จุลินทรีย์กับการเพาะเลี้ยงกุ้ง

เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งได้มีการนำผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ในรูปแบบต่างๆมาใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายอินทรีย์สาร เพื่อปรับสภาพน้ำ

ในบ่อเลี้ยง เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีในการบำบัดน้ำ นอกจากการใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมรักษาสมดุลของน้ำในบ่อเลี้ยงแล้ว ยังมีผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในรูปแบบอื่นที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์ใช้ในบ่อเลี้ยงกุ้ง (http://www.nicaonline.com/article2/site/view_article.asp?idarticle=131, 21/03/2006) ในปัจจุบันมีด้วยกัน 5 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มโปรไบโอติก (probiotics group) หรือ direct fed microorganisms (DFM) ซึ่งในระยะแรกเป็นการนำมาใช้เพื่อต้องการสร้างปรากฏการณ์ competitive exclusion (CE) ซึ่ง Nurmi และ Ratala (1973) ได้เสนอนิยามคำนี้ขึ้นจากการทดลองให้ลูกไก่กินกากอุจาระของแม่ไก่ทำให้สามารถป้องกันการติดเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella* ได้ จึงได้มีการนำมาประยุกต์ใช้โดยคลุกกับอาหารกุ้ง ในช่วงที่กลุ่มแบคทีเรีย *V. harveyi* เกิดการระบาด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศ ผลิตภัณฑ์หลายชนิดจะมีจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Lactobacillus Enterococcus* และ *Saccharomyces* สำหรับแบคทีเรียในตระกูล *Bacillus* spp. น่าจะเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเป็น probiotic (Rengpipat *et al*., 2000, Vaseccharam and Ramasamy, 2003)

2. กลุ่มจุลินทรีย์ควบคุมและบำบัดน้ำเสีย (waste water treatment microorganism) เป็นแบคทีเรียกลุ่มแรกที่ได้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อ ในการควบคุมบำบัดและรักษาคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง ซึ่งผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่นำเข้ามาจากต่างประเทศและบางชนิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำในโรงงานบำบัดน้ำเสีย (waste water treatment Plant) ของชุมชนหรือเมืองใหญ่ สำหรับในประเทศไทยมีการนำเอาจุลินทรีย์ที่หมักในรูปน้ำ (จุลินทรีย์ EM) มาใช้กันอย่างแพร่หลายหรือในรูปเป็นผง ส่วนใหญ่แล้วผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้จะเป็นแบคทีเรียใน *Bacillus* spp. ซึ่งที่เด่น คือ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* นอกจากนี้อาจจะมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นประกอบด้วย เช่น *Saccharomyces Enterococcus* (*Streptococcus*) *Lactobacillus* และ *Nitrobacter* เป็นต้น

3. fermented product หรือ น้ำหมักชีวภาพ ซึ่งเกิดจากกระบวนการ hydrolysis ของสารอินทรีย์ เช่น เศษเนื้อ ปลา เศษผัก และผลไม้มาหมักรวมกัน โดยวิธีการเฉพาะของแต่ละผลิตภัณฑ์ ปล่อยให้เกิดกระบวนการย่อยตัวเอง (autolysis) และเร่งปฏิกิริยา

ย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ในปัจจุบันเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย จากการศึกษาของ Adachi *et al.* (1990) และ Ameyama *et al.* (1985) พบว่าในบ่อที่เลี้ยงด้วยน้ำหมักที่มีคุณภาพ กุ้งจะมีการเจริญเติบโตที่ดี ปัญหาน้ำเสียก็จะพบได้น้อย

4. ของเหลือใช้ (by Product) ของเหลือใช้จากโรงงานการหมักเหล้า เบียร์ เช่น yeast powder และเศษของเหลวเหลือใช้จากการทำผงชูรส ของเหลือใช้เหล่านี้เป็นที่ทราบกันดีว่าอุดมไปด้วย กรดอะมิโน วิตามิน และแร่ธาตุ เช่นเดียวกับกลุ่มน้ำหมักชีวภาพ

5. สารสกัดจากจุลินทรีย์ (microbial extraction) นอกจากจะนำมาใช้โดยตรง (whole cell) แล้วส่วนประกอบอื่นๆของตัวเซลล์จุลินทรีย์ก็สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้เช่นกัน

- ผลิตภัณฑ์จากกระบวนการสันดาป (metabolic product) ได้แก่ เอนไซม์ (enzyme) ชนิดต่างๆ วิตามิน โดยเฉพาะกลุ่ม B-vitamins เป็นที่ทราบกันดีว่า *Saccharomyces* spp. สามารถผลิตวิตามินได้หลายชนิด และสารสกัด (extraction) เช่น สารพวก polysaccharides และ oligo-saccharides เป็นสารที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ของพวก *Saccharomyces* spp. ซึ่งมีความจำเพาะในการจับจุลินทรีย์ก่อโรคของระบบทางเดินอาหารในมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Lactobacillus* ยังมีสารประกอบพวก peptidoglycan ซึ่งสามารถที่จะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้งได้ (http://www.nicaonline.com/article2/site/view_article.asp?idarticle=131, 21/03/2006)

3.4 ผลเสียจากการใช้ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ในการผลิตกุ้ง

พบผลิตภัณฑ์เพียงหนึ่งชนิดเท่านั้น คือ ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มที่ใช้สำหรับการควบคุมและบำบัดน้ำเสียที่ก่อให้เกิดผลเสีย ซึ่งมีอยู่ 3 กรณี คือ

1. ในบ่อเลี้ยงที่มีการตกค้างของสารอินทรีย์มาก และในบ่อที่มีการให้อาหารเกินเมื่อมีการเติมจุลินทรีย์ลงไปในปริมาณมาก จุลินทรีย์จะมีการแบ่งตัวเป็นจำนวนมาก ซึ่ง

จะไปแย่งใช้ออกซิเจน โดยเฉพาะในเวลากลางคืนที่มีออกซิเจนไม่พอจะทำให้กุ้งเครียด ซึ่งหากแก้ไขไม่ทันจะพบว่ามีกุ้งตายได้

2. ในกรณีที่อากาศร้อน ซึ่งอุณหภูมิของน้ำสูงกว่า 28 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตและแบ่งตัวได้ดี ยิ่งในกรณีที่ให้อาหารเกิน ก็จะประสบปัญหาการขาดออกซิเจนในบ่อเลี้ยง (http://www.nicaonline.com/articles2/site/view_article.asp?idarticle=135, 21/03/2006)

สำหรับประเทศไทยในช่วง 4 ถึง 5 ปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยง โรคและการเกิดโรคของกุ้ง รวมทั้งงานวิจัยที่ศึกษาการนำจุลินทรีย์มาใช้ในการเพาะเลี้ยง เพื่อปรับสภาพน้ำ ควบคุมคุณภาพน้ำ และควบคุมเชื้อก่อโรคในบ่อเลี้ยงกุ้ง (http://www.nicaonline.com/articles2/site/view_article.asp?idarticle=135, 8/03/2006) สำหรับเชื้อก่อโรคมีการใช้ยาปฏิชีวนะในการกำจัดและแก้ปัญหาแต่เมื่อใช้เป็นเวลานานๆเชื้อโรคสามารถเกิดการดื้อต่อยาที่ใช้ (Gräslund, 2002) และยังเกิดการตกค้างในบ่อเลี้ยงและภายในตัวกุ้งอีกด้วย เช่น การศึกษาการตกค้างของออกโซลินิคแอซิดในกุ้งกุลาดำของกาญจนาและคณะ (2536) พบว่าถ้าใช้ยาในอัตรา 30 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักกุ้ง 1 กิโลกรัม ยาจะตกค้างใน hepatopancreas และกล้ามเนื้อ เป็นเวลานาน 50 วัน และ 27 วันตามลำดับ ดังนั้นการใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการควบคุมคุณภาพน้ำและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรคเป็นอีกทางหนึ่งที่จะทำให้ได้กุ้งที่มีคุณภาพและมีความปลอดภัย ทั้งนี้เพื่อลดปัญหาเกี่ยวกับการส่งออกกุ้งไปยังประเทศต่างๆที่มีการตรวจสารพิษ ยาฆ่าเชื้อโรค หรือยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในกุ้ง

วัตถุประสงค์

1.คัดเลือกแบคทีเรียที่แยกได้จากน้ำและเลนในบ่อเลี้ยงกุ้งซึ่งมีความสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้ดีและสามารถควบคุม *Vibrio harveyi* ได้

2.หาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อที่คัดเลือกได้

3.บทบาทของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งในสภาวะจำลองบ่อเลี้ยงกุ้ง

ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนำไปสู่แนวทางการพิจารณาการใช้จุลินทรีย์เพื่อการปรับปรุงคุณภาพน้ำและบำบัดน้ำทิ้ง ลดตะกอนของน้ำทิ้งจากนากุ้ง และควบคุมเชื้อก่อโรคกุ้งที่เกิดจาก *V. harveyi*