

## 1. บทนำ

### บทนำต้นเรื่อง

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภคโดยทั่วไปเนื่องจากมีรสชาติดีประกอบอาหารได้หลายชนิดราคาดีเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและภายนอกประเทศ ในภาวะเศรษฐกิจของประเทศกำลังชะลอตัวการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะช่วยทำให้เกิดงานและอาชีพที่เกี่ยวข้องมากมายอีกทั้งยังเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญเพราะมีราคาค่อนข้างสูง สามารถนำเงินตราจากต่างประเทศเข้ามาฟื้นฟูเศรษฐกิจของประเทศ แต่ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้ซบเซาลงมากเนื่องจากราคาของกุ้งกุลาดำตกต่ำลง เนื่องจากในต้นปี 2545 สหภาพยุโรปตรวจพบสารตกค้างของยาปฏิชีวนะในสินค้ากุ้งสดแช่เย็นจากประเทศไทยซึ่งได้สร้างความเสียหายต่อธุรกิจการส่งออกกุ้งไทยอย่างมาก ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับกุ้งกุลาดำเพื่อต้องการเพิ่มผลผลิตของกุ้งกุลาดำในรูปแบบต่าง ๆ โดยการศึกษาในครั้งนี้มุ่งเน้นเฉพาะทางชีวภาพ เช่น การเสริมจุลินทรีย์ลงในอาหารกุ้งเพื่อส่งเสริมให้กุ้งมีสุขภาพดีแข็งแรงและมีความสามารถในการต้านทานโรคสูงเพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะ การศึกษาแบคทีเรียแลคติกในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำในกุ้งที่แข็งแรงจะมีจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ครองพื้นที่ในระบบทางเดินอาหารเสมอในขณะที่กุ้งอ่อนแอหรือป่วยจะไม่มีจุลินทรีย์ดังกล่าวหรือมีน้อยมากทั้งนี้ การยึดครองพื้นที่จะช่วยป้องกันการติดเชื้อได้ดียิ่งขึ้น (สุรศักดิ์, 2544) บทบาทของแบคทีเรียแลคติกจากข้อมูลมีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียแลคติกเป็นกลุ่มที่มีความสำคัญที่มีคุณสมบัติดังกล่าวแบคทีเรียแลคติกจัดอยู่ใน Family *Lactobacillaceae* แบคทีเรียแลคติกแต่ละชนิด สามารถปรับตัวเพื่อการเจริญภายใต้สภาวะแวดล้อมที่แตกต่างได้อย่างกว้างขวางจึงทำให้สามารถพบเชื้อกลุ่มนี้ทั้งในคนและสัตว์โดยเฉพาะบริเวณช่องปาก ถ้าใส่ rumen vagina และพบได้ในแมลง พืชผลิตภัณฑ์จากพืช รวมทั้งเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (สมบุญ, 2538) บทบาทของแบคทีเรียแลคติกต่อการเลี้ยงกุ้ง คือ ช่วยรักษาสมดุลภายในระบบทางเดินอาหารโดยไปครอบครอง

พื้นที่ในระบบทางเดินอาหารกันไม่ให้จุลินทรีย์ที่ก่อโรคมารุกรานได้โดยการสร้างสภาวะที่เป็นกรดในระบบทางเดินอาหารทั้งยังกระตุ้นให้เกิดหรือเพิ่มภูมิคุ้มกันบางชนิดภายในซึ่งเป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจง (สมชาย, 2542) และยังสามารถสร้างสารประเภทแบคทีริโอซิน (Bacteriocin) ที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มอื่น นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกยังมีคุณสมบัติในการเป็นโปรไบโอติก (Probiotic) ซึ่ง Verschuere *et al.*, 2000 ได้ให้ความหมายของคำว่าโปรไบโอติกที่เหมาะสมกับสัตว์น้ำ คือ กลุ่มจุลินทรีย์มีชีวิตที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสัตว์เจ้าบ้าน (host) โดยมีความสัมพันธ์กับสัตว์เจ้าบ้านหรือกลุ่มจุลินทรีย์อื่น ๆ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพอาหารหรือกระตุ้นให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงขึ้น ช่วยเสริมให้สัตว์เจ้าบ้านมีความสามารถในการต้านทานโรคและช่วยปรับสภาพสิ่งแวดล้อมของสัตว์เจ้าบ้าน ในปัจจุบันได้มีการนำโปรไบโอติกมาใช้ในการแก้ปัญหาโรคสัตว์น้ำซึ่งได้รับความนิยมอย่างมากในอดีตมักจะใช้วัคซีนและยาปฏิชีวนะซึ่งจะได้ผลดีในระยะแรกเท่านั้น และมีผลเสียในเรื่องของสารตกค้างทั้งในสัตว์เลี้ยงและสิ่งแวดล้อม

การวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาแบคทีเรียแลคติกในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งคาดว่าแบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้จะช่วยส่งเสริมสุขภาพของกุ้ง ป้องกันการเป็นโรคและสามารถลดการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีที่มีการใช้อยู่ในปัจจุบัน

## การตรวจเอกสาร

### กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) มีชื่อสามัญว่า Black tiger prawn หรือ Giant tiger prawn หรือ Live grass prawn ชื่อไทยว่า กุ้งกุลาดำ กุ้งกุลากุ้งทะเล กุ้งเสือดำ กุ้งเสื่อ กุ้งลาย

### อนุกรมวิธานของกุ้งกุลาดำ

Phylum Arthropoda

Class Crustacia

Subclass Malacostraca

Order Decapoda

Suborder Dendrobranchiaie

Superfamily Penaeoidea

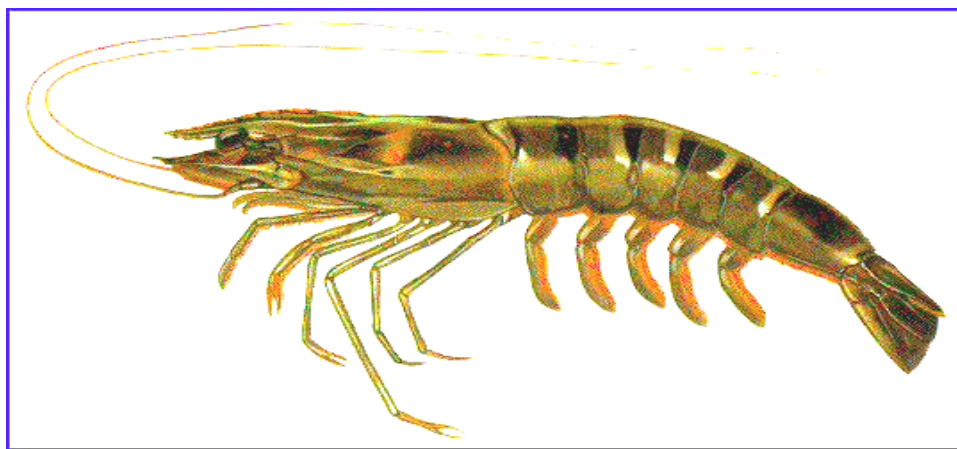
Family Penaeidae

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งที่มีขนาดใหญ่โดยมีถิ่นอาศัยอยู่ในน่านน้ำแถบประเทศไต้หวัน ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย และ อินเดีย

### ลักษณะทั่วไป

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลที่มีขนาดใหญ่ ตัวเต็มวัยมีขนาดยาว 15 - 18 เซนติเมตรหนัก 60 – 130 กรัม โดยมีเวลาในการเติบโตทั้งหมด 6 - 7 เดือน กุ้งกุลาดำที่โตเต็มวัยจะมีการลอกคราบทุก ๆ 12-21 วัน ใช้เวลาในการลอกคราบแต่ละครั้งประมาณ 5 วัน จะมีสีส้มสดใส ผิวเป็นมัน เปลือกหุ้มเกลี้ยง ลำตัวสีแดงอมน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้มมีลายพาดขวางสีขาวสลับดำที่หลังประมาณ 9 ลาย หงวดยาวมีสีเทาปนเขียวหรือน้ำตาล ไม่มีลายชัดเจน ส่วนของระยางค์มักจะมีสีน้ำตาลและมีขนอ่อน (fringing setae) สีแดงอยู่โดยรอบขาเดินมีสีแดงปนดำ ขาวายน้ำมีสีน้ำตาลปนน้ำเงินโคนสีขาว (รูปที่ 1) อย่างไรก็ตาม

ตามสีของกุ้งสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพแวดล้อมและการปรับตัวเช่น มักจะพบว่ากุ้งกุลาดำในเขตนํ้ากร่อยที่ไม่ลึกนักมักจะมีสีน้ำตาลเข้มหรือกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อมักจะมีสีจางซีดนอกจากนี้ พบว่าสีของกุ้งจะเปลี่ยนแปลงตามระยะการลอกคราบเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและสรีระจึงทำให้กระบวนการสร้างและสะสมเม็ดสีเปลี่ยนแปลงไป จะเห็นว่ากุ้งที่ลอกคราบใหม่ ๆ สีจะซีดไม่สดหรือกุ้งที่กำลังลอกคราบสีจะจางลงกว่าปกติ กุ้งกุลาดำสามารถเลี้ยงได้ดีในบ่อทุกสภาพสามารถปรับเข้ากับการเปลี่ยนแปลงสภาพของนํ้าบ่อได้เร็วสามารถทนอยู่ได้ในนํ้าที่มีความเค็มค่อนข้างกว้างตั้งแต่ 0.2 - 70 ส่วนในพัน (ppt) แต่จะโตเร็วในบ่อที่มีช่วงความเค็มระหว่าง 15 - 30 ppt หากกินตามพื้นบ่อกินอาหารได้ทุกเวลา กินอาหารจำพวกพืชและสัตว์ทั้งที่ตายแล้ว และยังมีชีวิตชอบหมกตัวและชอบอยู่ตามหน้าดิน สามารถเพาะเลี้ยงและแพร่พันธุ์ได้โดยอาศัยพ่อแม่พันธุ์จากทะเลหรือบ่อ (วัลลพ, 2532)



### รูปที่ 1 ลักษณะของกุ้งกุลาดำ

#### ระบบการกินและการย่อยอาหาร

การทำงานของระบบนี้เริ่มต้นจากการที่เครื่องรับสารเคมี (chemoreceptor) ซึ่งอยู่บริเวณหนวดทำงานโดยอวัยวะนี้จะไวต่อกลิ่นโปรตีน โดยเฉพาะกรดอะมิโนมากที่สุด การใช้อวัยวะรับสารเคมีนี้มีความสำคัญยิ่งกว่าการเห็น การสัมผัส หรือการใช้ความรู้สึกอื่น ๆ จากการทดสอบพบว่ามีความไวต่อกรดอะมิโนพวก taurine มากที่สุด รองลงมา

ได้แก่ โปรตีน แป้ง และกรดไขมัน ดังนั้นสารที่สกัดจากเนื้อปลาทะเล ปลาหมึก และกุ้ง จะกระตุ้นเครื่องรับสารเคมีได้ดีกว่าสารอื่น ๆ การกระดิกหนวดมักแสดงให้เห็นว่ามีกลิ่นอาหารมากระทบเครื่องรับการกระดิกนั้นเพื่อช่วยเตรียมเครื่องรับและเสริมการทำงานของเซลล์รับสารเคมี ซึ่งพบเซลล์เหล่านี้ได้ตามบริเวณก้ามและส่วนปากเมื่อมีการสัมผัสสารเคมีจะมีการเคลื่อนไหวและจับอาหารไว้ได้ อาหารจะถูกนำเข้าปากโดยใช้ก้ามเล็กคู่ที่ 1 และ 2 และอวัยวะบริเวณปากกับขาจะทำงานร่วมกันเพื่อนำอาหารไปยังช่องปากแล้วใช้เขี้ยวหรือสำเภากุ้งฉีกบดให้เล็กลงแล้วส่งเข้าสู่หลอดอาหารต่อไป และกากอาหารจะออกทางทวารหนักในที่สุด

### ระบบการย่อยอาหารในกุ้งแบ่งออกเป็น 3 ตอน (ศิริเพ็ญ, 2528)

1. ทางเดินอาหารตอนต้น (Stomodaeum หรือ Fore gut) เริ่มตั้งแต่ปากถึงกระเพาะ ด้านในบุด้วยสารไคติน เกิดจากชั้นเอกโตเดิร์มทางเดินอาหารตอนต้นนี้ประกอบด้วย

1.1 ปากอยู่ระหว่างเขี้ยว (mandible) ทั้ง 2 มีริมฝีปากบนนุ่ม ๆ (labrum) และริมฝีปากกลาง (labium) ล้อมรอบไว้

1.2 หลอดอาหารสั้น ๆ มีผนังหนา มีเยื่อบุเซลล์เป็นทรงกระบอก ประกอบด้วยกระเพาะ (stomach หรือ proventriculus) มีกระเพาะขนาดใหญ่ผนังบางและแบ่งเป็น 2 ตอน กระพุ้งใหญ่ตอนหน้าเรียก คาร์ดิแอก แคมเบอร์ (cardiac chamber) ซึ่งเป็นทางเดินอาหารตอนต้น ผนังล่างของกระเพาะตอนนี้มีโครงแข็งภายในเห็นเป็นกล้ามเนื้อแข็งเป็นสันขึ้นมาทำหน้าที่ช่วยบดอาหารคล้ายฟันเรียก แกสตริกมิล หรือ ไคตินัส ทีช (gastric mill or chitinous teeth) ทำหน้าที่ในการบดเคี้ยวอาหารคลุกเคล้า และแยกส่วนย่อยของอาหาร กระเพาะอาหารตอนต้นมีผนังที่มีไคตินมากกระพุ้งเล็กตอนหลังเรียก ไพโลริกแคมเบอร์ (pyloric chamber) เป็นส่วนที่เจริญมาจากชั้นเอนโตเดิร์ม

2. ทางเดินอาหารตอนกลาง (Mesenteron หรือ Midgut) คือ ไพโลริก แคมเบอร์ นั่นเองกระเพาะตอนนี้อยู่ในมังกุ้ง

3. ทางเดินอาหารตอนปลาย (Proctodaeum หรือ Hind gut) คือลำไส้ซึ่งต่อจากไพโลริกแคมเบอร์ ลงไปเป็นท่อเล็ก ๆ บูดด้วยเอกโทเดิร์ม ลำไส้ตอนต้นฝังอยู่ในมังกุ้ง

แล้ววิ่งพาดอยู่เหนือกล้ามเนื้อเฟลเซอร์ (fensor) ทางด้านหลังของลำไส้มีเส้นเลือดคอร์ซัลแอบโดมินัล อาร์เทอร์รี่ (dorsal abdominal artery) วิ่งขนานไปถึงหาง ปลายลำไส้เปิดสู่ทวารหนักซึ่งอยู่กลางทางด้านท้อง ลำไส้กุ้งชาวบ้านมักเรียกกันว่า จี๋กุ้ง เพราะมักมีกากอาหารดำ ๆ ติดอยู่ ตับอ่อน (hepatopancreas) หรือเรามักเรียกว่า มันกุ้ง จะมีลักษณะสีเหลืองปนแสด อ่อนนุ่ม ขนาดใหญ่อยู่ส่วนนอกเกือบเต็มหมด มีหลอดเล็ก ๆ มากมายทำหน้าที่สร้างน้ำย่อย น้ำที่อีกอย่างคือเก็บอาหาร ดูดซึมอาหารที่ย่อยแล้วหลังจากร่างกายเหลือใช้แล้วเก็บไว้

**สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ (วัลลภ, 2532)**

**1. อุณหภูมิ (Temperature)** กุ้งกุลาดำต้องการอุณหภูมิสำหรับการเจริญเติบโตระหว่าง 25 - 30 °C กุ้งเป็นสัตว์เลือดเย็นจึงไม่สามารถรักษาอุณหภูมิให้คงที่ได้เหมือนสัตว์เลือดอุ่น ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิตามธรรมชาติจะไม่มีผลต่อการดำรงชีวิตของกุ้ง แต่ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นหรือลดมากเกินไปจะทำให้การกินอาหารและเจริญเติบโตของกุ้งลดลง

**2. ความเค็มของน้ำ (Salinity)** ความเค็ม หมายถึงปริมาณของโซเดียมคลอไรด์ที่ละลายในน้ำ ความเค็มที่กุ้งกุลาดำเจริญเติบโตได้ดีจะอยู่ในช่วง 15 - 30 ppt ในกรณีที่น้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งมีความเค็มสูงกว่าความเค็มของเลือดในตัวกุ้งน้ำภายในตัวกุ้งจะซึมออกจากตัวกุ้งตลอดเวลาทำให้กุ้งสูญเสียน้ำจนกุ้งตาย แต่กุ้งจะแก้ปัญหานี้ได้โดยดื่มน้ำเค็มเข้าทางปาก น้ำจืดส่วนหนึ่งจะถูกดึงกลับเข้าไปทดแทนน้ำในร่างกายทำให้กุ้งมีชีวิตรอดอยู่ได้ ส่วนในกรณีที่น้ำในนาุ้งมีความเค็มต่ำกว่าความเค็มในเลือดกุ้ง น้ำภายนอกจะไหลเข้าตัวกุ้งทำให้เลือดในตัวกุ้งจางลงและตายในที่สุด กุ้งจะมีชีวิตรอดอยู่ได้โดยการขับน้ำส่วนเกินออกจากร่างกายเพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของเลือดให้คงที่ทำให้กุ้งมีชีวิตรอดอยู่ได้ การปรับความเค็มจะต้องปรับแบบค่อยเป็นค่อยไปและกุ้งจะโตช้าลงเมื่อความเค็มสูงกว่า 25 ppt และถ้าความเค็มเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วจะทำให้กุ้งตายได้

**3. ออกซิเจน (Oxygen)** เป็นปัจจัยสำคัญที่สุดในการเลี้ยงกุ้งเพราะกุ้งจะใช้ ออกซิเจนเพื่อการหายใจและออกซิเจนยังช่วยในการย่อยสลายเศษอาหารและสิ่งขับถ่ายต่าง ๆ ของกุ้งด้วย ปริมาณออกซิเจนในน้ำมีความสำคัญต่อกุ้งโดยที่กุ้งต้องการปริมาณ

ออกซิเจนในน้ำไม่น้อยกว่า 3 - 5 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งขนาดเล็กต้องการออกซิเจนมากกว่ากุ้งขนาดใหญ่ กุ้งที่มีขนาด 0.1 - 0.5 กรัม จะใช้ออกซิเจนชั่วโมงละประมาณ 1 - 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนกุ้งขนาด 10 - 20 กรัม ใช้ออกซิเจนประมาณ 0.3 มิลลิกรัมต่อ ชั่วโมง และกุ้งจะใช้ออกซิเจนสูงในระยะที่ลอกคราบ Boyd (1989) อ้างโดย จันทร์จิรา (2544) ถ้าในน้ำมีออกซิเจนน้อยกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งจะไม่กินอาหารลดการเคลื่อนไหวลง กล้ามเนื้อในส่วนหางของกุ้งจะเป็นสีขาวและอาจตายได้

4. **ความเป็นกรด-ด่าง (pH)** พืเชที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งมีค่าระหว่าง 7.5 - 8.5 ซึ่งเป็นระดับพีเอชของน้ำทะเลทั่วไปและเหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของกุ้ง โดยปกติพีเอชจะไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แต่พีเอชจะเปลี่ยนแปลงได้เมื่อเกิดการเน่าสลายของอาหารที่ตกค้าง หรือมีการเกิดของแพลงก์ตอนพืชมาก เพราะถ้ามีแพลงก์ตอนพืชมากจะทำให้พีเอชสูงตามไปด้วย ความเป็นกรด - ด่างจะมีการเปลี่ยนแปลงมากในช่วงวันซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตและการลอกคราบของกุ้ง

5. **ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ( $H_2S$ )** เป็นก๊าซที่เกิดขึ้นในบ่อกุ้งโดยแบคทีเรีย ได้แก่ *Thiobacillus chromatin*, *Sulfolobus thermothrix*, *Clostridium nitrificans*, *Bacillus megaterium* (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544) เป็นตัวกลางดึงเอาออกซิเจนออกไปทำให้เกิดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ก๊าซนี้จะมีกลิ่นเหมือนไข่เน่าเกิดจากการสะสมของมูลสัตว์น้ำและเศษอาหารที่เหลือตามพื้นบ่อ ถ้ามีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์มีมากเกินไปเกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร จะพิษต่อสัตว์น้ำทำให้กุ้งเสียการทรงตัวและตายในที่สุด

6. **แอมโมเนีย ( $NH_3$ )** เกิดจากการขับถ่ายของเสียจากสัตว์และการเน่าสลายของเศษอาหารที่ตกค้างในบ่อ แอมโมเนียในบ่อกุ้งมีอยู่ในรูปของก๊าซแอมโมเนียและในรูปของแอมโมเนียมไอออน แอมโมเนียที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำคือก๊าซแอมโมเนียจะเพิ่มเมื่อพีเอชของน้ำสูง ความเป็นพิษของแอมโมเนียจะสูงตามไปด้วย ปริมาณของแอมโมเนียในบ่อกุ้งไม่ควรสูงกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำที่มีปริมาณแอมโมเนียจะแสดงถึงความไม่สมดุลของแอมโมเนียในน้ำ และขาดระบบการกรองน้ำที่ดีหรือการให้อาหารแก่สัตว์น้ำมากเกินไป หรือการปล่อยสัตว์น้ำในอัตราที่หนาแน่นทำให้กระบวนกรกำจัดสารอินทรีย์แอมโมเนียเป็นไปได้ยากทำให้เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนียต่อคุณภาพน้ำ (ตารางที่ 1)

### ตารางที่ 1 ปริมาณแอมโมเนียที่มีผลต่อคุณภาพน้ำ

ระดับแอมโมเนีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	คุณภาพน้ำ
0	ดีมาก
0.25	อาจเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำได้
1.5	เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ
3.0	ทำให้สัตว์น้ำบางชนิดตายทันที
5.0	ทำให้สัตว์น้ำตายทันที

7. ไนไตรท์ ( $\text{NO}_2^-$ ) เป็นสารกึ่งกลางที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในการเปลี่ยนแอมโมเนียที่เป็นพิษเป็นไนเตรทที่ไม่เป็นพิษ ถ้าปริมาณไนไตรท์ในน้ำมากเกินไปจะทำอันตรายต่อสัตว์น้ำทั้งทางตรงและทางอ้อม คือ ทำให้สัตว์น้ำมีสีซีดลงและติดเชื้อง่าย ปริมาณไนไตรท์ในบ่อเลี้ยงไม่ควรเกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ้าอยู่ในระดับ 0.1 - 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่าการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำไม่เร็วพอคือ เกิดจากการเลี้ยงที่หนาแน่นการให้อาหารมากเกินไป หรือมีระบบการกรองน้ำไม่ดีทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำได้

8. ไนเตรท ( $\text{NO}_3^-$ ) เป็นสารที่ได้จากการสลายสารอินทรีย์เป็นสารอนินทรีย์ที่เป็นสารประกอบไนโตรเจนโดยใช้ออกซิเจน ขั้นตอนของปฏิกิริยาการสลายตัวของสารประกอบไนโตรเจนเป็นดังนี้

โปรตีน, กรดอะมิโน



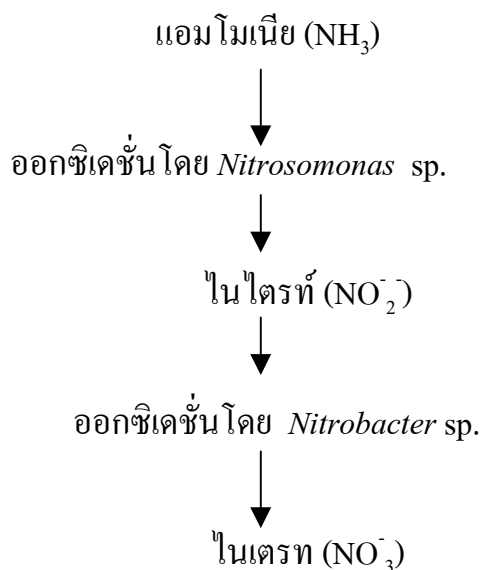
ย่อยสลายโดยแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ *Clostridium*

*histolyticum* , *C. porogenes*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* และ *Actinomyces*

(นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2545)







ในสภาพปกติของปฏิกิริยานี้แอมโมเนียและไนไตรท์จะมีปริมาณน้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่จะมีปริมาณไนเตรทสะสมอยู่ กระบวนการที่ทำให้ไนเตรทเพิ่มขึ้นคือ มีการสลายตัวของสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์เพิ่มขึ้น มีการให้อาหารมากเกินไป มีการใส่ปุ๋ยที่มีไนโตรเจน ไนเตรทจะไม่เกิดอันตรายกับสัตว์น้ำมากเมื่อเทียบกับแอมโมเนียและไนไตรท์แต่ไนเตรทจะทำให้สุขภาพสัตว์น้ำไม่ดี ปริมาณไนเตรทที่มีผลต่อคุณภาพน้ำ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณไนเตรทที่มีผลต่อคุณภาพน้ำ

ระดับไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	คุณภาพน้ำ
0.0 – 12.5	ดีมาก
12.5 – 25.0	ปานกลาง ควรเปลี่ยนน้ำบ้าง
25.0 – 50.0	ไม่ดีเริ่มมีมลภาวะต้องเปลี่ยนน้ำ
มากกว่า 50	จำเป็นต้องเปลี่ยนน้ำ

9. ธาตุอาหารในน้ำ ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและพวกซิลิกา ธาตุอาหารเหล่านี้จะเป็นตัวเร่งให้แพลงก์ตอนต่าง ๆ ขยายพันธุ์ได้รวดเร็วและช่วยปรับสภาพน้ำให้อยู่ในคุณภาพดี

10. ความขุ่นใสของน้ำ ในบ่อเลี้ยงไม่ควรมีความขุ่นเกิน 25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพราะถ้ามีความขุ่นมากทำให้การเจริญเติบโตของกุ้งลดลง

11. สภาพพื้นบ่อ เมื่อเลี้ยงกุ้งนาน ๆ จะมีเศษอาหารที่เหลือและสิ่งปฏิกูลต่าง ๆ จะหมักหมมตามพื้นบ่อ ถ้าทิ้งไว้จะมีกลิ่นเหม็นและเป็นพิษต่อกุ้ง ควรแก้ไขโดยการดูแลควบคุมการให้อาหารไม่ให้ในปริมาณที่มากเกินไป

### โรคติดเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในบ่อกุ้ง

#### สาเหตุที่เกิดจากแบคทีเรีย

1. โรคเสียนดำ ลักษณะอาการคล้ายเสียนดำที่มแทงในกล้ามเนื้อ สาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Vibrio vulnificus* ที่มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติและพบตามปกติในตัวกุ้ง จะทำอันตรายต่อกุ้งเมื่อสภาวะแวดล้อมเสื่อมโทรมและกุ้งเกิดบาดแผลขึ้นโดยเชื้อเข้าสู่ตัวกุ้งแล้วถูกกระบวนกรป้องกันตัวกุ้งเอามาห่อหุ้มไว้จนเป็นเสียนดำ

การป้องกัน ตรวจสอบดูว่ากุ้งเริ่มมีจุดดำหรือเสียนดำอยู่ตามเปลือกหรือไม่ ในช่วงแรกที่พบหากมีการกระตุ้นให้กุ้งลอกคราบเสียนดำจะหลุดออกไปพร้อมคราบหรือใช้สารปฏิชีวนะในการรักษาด้วย แต่ถ้าปล่อยไว้เสียนดำฝังลึกเข้าไปในเนื้อกุ้งแล้วจะไม่สามารถแก้ไขได้ ส่วนแนวทางป้องกัน คือ รักษาความเค็มให้มากกว่า 20 ppt และหลีกเลี่ยงการเลี้ยงอย่างหนาแน่น (วัลลภ, 2532)

2. โรคเหงือกกร่อน หางเปื่อย ขาเปื่อยดำ หรือเปลือกเปื่อยดำ สาเหตุเกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* sp. อาการของโรคพบว่าบริเวณที่ติดแบคทีเรียจะมีสีน้ำตาลและสีเข้มขึ้นเรื่อย ๆ จนเป็นสีดำเปลือกกุ้งบริเวณนั้นจะเปื่อยกร่อนเป็นบริเวณกว้างขึ้นถ้าเป็นระยะหาง ขา หรือ หนวดจะเปื่อยหลุดทีละน้อย ๆ ถ้าเป็นมาก ๆ จะตายได้

การป้องกัน ปรับปรุงคุณภาพน้ำและใช้สารปฏิชีวนะในการรักษาด้วย (วัลลภ, 2532)

3. โรคตายเดือน โรคนี้มักเกิดขึ้นในกรณีสภาพบ่อไม่ดี มีสาหร่ายตามก้นบ่อมากในระยะแรก ๆ ของการเลี้ยงกุ้ง ต่อมาสาหร่ายจะตายและเน่าสลายหากุ้งอยู่บริเวณนั้นนาน ๆ โดยเฉพาะหลังการลอกคราบจะทำให้กุ้งติดแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* sp. ได้ เมื่อกุ้งติดแบคทีเรียจะทำให้เปลือกเกิดเป็นแผล และแบคทีเรียจะผ่านเข้าไปถึงกล้ามเนื้อ ต่อมาจะเข้าไปในระบบเลือด ทำให้กุ้งตายได้

**การป้องกัน** ควรปรับปรุงคุณภาพน้ำให้ดี และอาจต้องใช้สารปฏิชีวนะช่วยในการกำจัดโรค (พรเลิศ และคณะ, 2537)

4. โรคเรืองแสง อาการของโรคนี้คือ ลูกกุ้งอ่อนแอไม่ค่อยว่ายน้ำ ลอยขอบบ่อ ไม่กินอาหาร ตัวหลวม สีลำตัวขุ่น ซึ่งเหืองมีสีดำ ตับอักเสบ ตับอ่อนสีซีดลง ระยะแรก ๆ สัตว์เริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดง แล้วจะขุ่นขาว ถ้าเป็นในระยะ Mysis ลำตัวจะหักงอ ในกรณีที่กุ้งติดเชื้อมาก ๆ ลูกกุ้งจะจมลงไปอยู่ก้นบ่อและตายภายในระยะเวลา 1 - 2 วัน ช่วงที่มีการระบาดมากโดยเฉพาะในขณะที่มีน้ำเค็มสูง 20 - 30 ppt ([www.Nicaonline.com/disease.htm](http://www.Nicaonline.com/disease.htm)) สาเหตุเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* สังเกตดูลูกกุ้งที่ป่วยหรือตายในเวลากลางคืน ขณะที่ปิดไฟฟ้าและทำให้สาวยตาขึ้นกับความมืด แล้วมองลงไปใบบ่อกุ้งที่มีแสงสว่างจะเห็นจุดสีเขียวเล็ก ๆ ละเอียดระยิบระยับคล้ายแสงหิ่งห้อยลอยขึ้นลงตามการเคลื่อนไหวของลูกกุ้ง เมื่อนำกุ้งที่เรืองแสงมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร TCBS จะมี *Vibrio harveyi* เจริญและเรืองแสงสีเขียวเจริญบนอาหาร TCBS

**การป้องกัน** ทำลายแบคทีเรียในน้ำที่ต้องการใช้เลี้ยงกุ้งโดยใช้คลอรีนฟอร์มาลิน ถ้ากุ้งที่ติดเชื้อมากเกษตรกรมักใช้คลอแรมฟินิคอลในการรักษา ซึ่งปัจจุบันเป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้มีการกีดกันทางการค้า (ลีลา, 2530)

### สาเหตุเกิดจากไวรัส

1. โมโนดอน แบคคิลโลไวรัส หรือ MBV (Monodon Baculovirus or MBV) พบครั้งแรกที่ประเทศไต้หวันในปี 2524 และระบาดในหลายประเทศทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย ([www.Kungthai.com/virus.html](http://www.Kungthai.com/virus.html)) ไวรัสเอ็มบีวีจะพบได้ทุกระยะของการเลี้ยงกุ้ง แต่พบมากในกุ้งระยะ PL20 จนถึงอายุ 3 เดือน ระยะที่มีผลกระทบมากที่สุด

สุดคือกึ่งในระยะวัยอ่อน กึ่งในบ่อเลี้ยงที่มีเชื้อเอ็มบีวีอยู่อาจไม่แสดงอาการป่วยให้เห็นชัดเจนจะเกิดร่วมกับการติดเชื้ออื่น ๆ จะพบลูกกึ่งมีสีเข้มมากกว่าปกติกินอาหารน้อย แคระแกรน แต่เมื่อสภาพแวดล้อมเกิดการเปลี่ยนแปลงกึ่งเกิดความเครียด กึ่งจะตายได้ และถ้ามีการติดเชื้อแบคทีเรียด้วยจะทำให้เกิด ความเสียหายมาก โรคที่เกิดจากไวรัสชนิดนี้สามารถติดต่อได้ทางขี้กึ่ง หรือกินซากกึ่งที่เป็นโรค

**การป้องกันและการแก้ไข** วิธีที่ดีที่สุดคือ ควรมีการคัดเลือกกึ่งก่อนนำมาเลี้ยง (จิราพร, 2537)

**2. เฮปาทอแพนครีเอติก พาโว-ไลค์ไวรัส หรือ HPV (Hepatopancreatic Parvo-like virus)** ไวรัสชนิดนี้พบว่าระบาดในกึ่งกุลาคำในช่วงต้นปี 2537 และพบการติดเชื้อชนิดนี้ในกึ่งที่มีอายุเดือนครึ่งขึ้นไป กึ่งที่ติดเชื้อจะกินอาหารลดลง ตับอ่อนจะบวมโต กึ่งไม่โตและจะตายไป มักจะพบแบคทีเรียเส้นสาย (Filamentous bacteria) เกาะตามระยางค์ ทำให้กึ่งตายมากขึ้น

**การแก้ไขและการป้องกัน** ยังไม่มียาหรือสารเคมีใด ๆ ที่รักษาโรคที่เกิดจากไวรัส ได้มีการศึกษาเพื่อผลิตวัคซีนให้กึ่งเกิดภูมิคุ้มกันโรค อย่างไรก็ตามวิธีป้องกันที่ดีที่สุดคือ มีการจัดการบ่อที่ดี ควบคุมคุณภาพน้ำ ป้องกันให้กึ่งเครียดน้อยที่สุด คัดเลือกพันธุ์กึ่งที่ปลอดโรคมีสุภาพดีและแข็งแรง (จิราพร, 2537)

**3. ไวรัสหัวเหลือง (Yellow-head Baculovirus หรือ YBV)** เป็นไวรัสที่มีความรุนแรงมาก สามารถติดเชื้อได้ทั้งบริเวณเหงือก ต่อม้ำเหลือง อวัยวะสร้างเม็ดเลือด และเม็ดเลือด ก่อให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงกึ่งอย่างมาก ในประเทศไทยพบการระบาดตั้งแต่ปี 2535 ในภาคใต้และแพร่กระจายไปในหลายจังหวัด ([www..Kungthai.com/virus.html](http://www.Kungthai.com/virus.html)) จะพบไวรัส YBV ได้ในกึ่งตั้งแต่ปล่อยลงเลี้ยงจนถึงจับขาย ลักษณะอาการ คือ กึ่งจะกินอาหารมากขึ้นอย่างผิดปกติในระยะแรก และค่อย ๆ ลดลง กึ่งจะลอยอยู่ผิวน้ำ ไม่มีแรงติดตัว บริเวณส่วนหัวจะมีสีเหลือง โดยเฉพาะ ตับและ ตับอ่อนจะบวมและมีสีเหลือง เหงือกจะเป็นสีเหลือง และสุดท้ายกึ่งจะตายอย่างรวดเร็ว โดยจะมีอัตราการตายสูงมากภายใน 3 - 4 วันและตายหมดภายใน 5 วัน หลังการตรวจพบอาการครั้งแรก ([www..Kungthai.com/virus.html](http://www..Kungthai.com/virus.html)) พบมากในกึ่งที่มีอายุ 50 - 70 วัน

**การป้องกันและการแก้ไข** ไม่มียาหรือสารเคมีที่จะรักษาโรคกึ่งหัวเหลืองได้ ดังนั้นการป้องกันที่ดีคือ มีการจัดการบ่อที่ดี คัดเลือกพันธุ์กึ่งที่มีความแข็งแรง และให้อาหารที่มีคุณภาพดี (จิราพร, 2537) กำจัดพาหะของโรค เช่น กุ้ง ปู และน้ำที่ใช้ควรผ่านการฆ่าเชื้อ ([www.Kungthai.com/virus.html](http://www.Kungthai.com/virus.html))

**4. วิเซฟไวรัส หรือ VV (V shaped virus)** พบไวรัสชนิดนี้ในช่วงต้นปี 2537 มีขนาดเล็กกว่าไวรัสวายบีวี ลักษณะอาการคือกึ่งจะทยอยกันขึ้นมาตาย และพบแบคทีเรียบริเวณกล้ามเนื้อ คับและคับอ่อนร่วมด้วย

**การป้องกันและการแก้ไข** ไม่มียาหรือสารเคมีที่ใช้รักษาโรคที่เกิดจากไวรัสได้ การป้องกันเน้นการจัดการบ่อที่ดี เลี้ยงพันธุ์กึ่งที่แข็งแรงให้อาหารที่มีคุณภาพจะเป็นวิธีที่ดีที่สุด (จิราพร, 2537)

**5. ไวรัสตัวแดงดวงขาว (Systemic Ectodermal and Mesodermal Baculovirus หรือ SEMBV)** พบไวรัสชนิดนี้ระบาดอย่างกว้างขวางในทวีปเอเชีย เช่น ฟิลิปปินส์ เคยมีการรายงานการเกิดโรคดังกล่าวในช่วงปี 2528 - 2529 และยังพบต่อเนื่องมาเรื่อย ๆ แต่อาการของโรคไม่รุนแรง ประเทศที่พบว่ากึ่งป่วยเป็นโรคตัวแดงดวงขาว และมีอาการรุนแรงมากได้แก่ประเทศญี่ปุ่น อินโดนีเซีย จีน และอินเดีย (พรเลิศ, 2534) ในประเทศไทยในช่วงปลายปี 2537 ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือจังหวัดจันทบุรี และตราด ภาคใต้ฝั่งตะวันออก จังหวัดนครศรีธรรมราช และ ปัตตานี ภาคใต้ฝั่งตะวันตก ได้แก่ จังหวัดตรัง ([www.Kungthai.com/virus.html](http://www.Kungthai.com/virus.html)) ลักษณะอาการ คือ กึ่งที่ติดเชื้อไวรัสจะมีอาการจุดขาว ในเนื้อเยื่อได้ชั้นเปลือกที่บริเวณส่วนหัว กึ่งบางตัวอาจมีสีแดง แต่ส่วนใหญ่จะมีสีปกติ จะว่ายอยู่ผิวน้ำ เกยขอบบ่อ อ่อนแอ กินอาหารน้อยลง ลอกคราบไม่ออก ตัวนึ่ม ([www.Kungthai.com/virus.html](http://www.Kungthai.com/virus.html)) จะพบไวรัสชนิดนี้ได้ในกลุ่มทุกระยะ กึ่งที่ติดเชื้อไวรัสนี้มีอัตราการตาย 80 - 100% จะตายหมดบ่อภายใน 7 - 10 วัน

**การป้องกันและการแก้ไข** ป้องกันไม่ให้ตัวพาหะ เช่น ปูชนิดต่าง ๆ นก แมลง นำไวรัสตัวแดงดวงขาวปะปนเข้ามาในระบบการเพาะเลี้ยง ควรจะมีการจัดการสภาพแวดล้อมในบ่อให้เหมาะสม (เปี่ยมศักดิ์, 2539)

### แบคทีเรียประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ

Dempse และ Kitting (1987) ศึกษาแบคทีเรียบริเวณทางเดินอาหารจากตัวกุ้งสีน้ำตาล (*Penaeus aztecus*) พบว่ามี 7 สกุล คือ *Vibrio* sp., *Chromobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp., *Photobacterium* sp., *Cytophage* sp. และ *Flavobacterium* sp.

Dempsey, Kitting และ Rosson (1989) ศึกษาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากตัวอย่างกุ้งสีน้ำตาล (*Penaeus aztecus*) บริเวณทางเดินอาหาร มีจำนวน  $7.5 \times 10^6 - 2.6 \times 10^7$  CFU/g และสามารถจำแนกได้ 5 สกุล คือ *Vibrio* sp., *Alcaligenes* sp., *Aeromonas* sp., *Chromobacterium* sp., และ *Pseudomonas* sp.,

ภัทรพร และคณะ (2533) ตรวจสอบแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากตัวอย่างกุ้งกุลาดำ (*Panaeus monodon*) บริเวณทางเดินอาหารพบจำนวนแบคทีเรีย  $7.5 \times 10^6 - 1.3 \times 10^7$  CFU/g และแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จำแนกได้ 9 สกุลคือ *Aeromonas* sp., *Arizona* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Plesiomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Vibrio* sp., และ *Yersinia* sp.

รัตน์ชัย และ วิวัฒน์ (2531) ศึกษาแบคทีเรียในทางเดินอาหารกุ้งกุลาดำพบว่าจัดอยู่ในสกุล *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp.,

เศรษฐเกียรติ และคณะ (2533) ศึกษาแบคทีเรียในทางเดินอาหารกุ้งกุลาดำพ่อ - แม่พันธุ์จากทะเลอันดามัน พบว่าแบคทีเรียที่ติดสีแกรมลบจัดอยู่ในสกุล *Vibrio* sp., ได้แก่ *Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholera* และ *V. vulnificus*

วรรณิกา (2539) ศึกษาแบคทีเรียที่แยกได้จากบริเวณทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำและน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งพบว่ามีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในทางเดินอาหารกุ้งได้  $1.2 \times 10^6 - 3.4 \times 10^7$  CFU/g และในน้ำมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด  $1.0 \times 10^4 - 4.4 \times 10^5$  CFU/ml และพบว่าสามารถจำแนกแบคทีเรียประจำถิ่นในทางเดินอาหารได้ 6 สกุล คือ *Bacillus* sp., *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp., และ *Staphylococcus* sp.

ลิลลา (2540) ศึกษาแบคทีเรียในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่ามียุทธศาสตร์แบคทีเรียรวมอยู่ในน้ำ  $10^2 - 10^4$  CFU/ml และพบว่ากลุ่มแบคทีเรียที่พบในน้ำทะเลและพบในบ่อเลี้ยงกุ้ง

กุลาจำได้แก่ *Vibrio* sp., *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Flavobacterium* sp., *Moraxela* sp., *Plesiomonas* sp. พบว่า *Vibrio* sp. มีปริมาณสูงสุด คือ  $10^2 - 10^3$  cell/ml โดยพบ *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae* มากในน้ำทะเลและนอกจากนี้ยังพบ *V. damsela*, *V. fluvialis* และ *V. vulnificus* ในปริมาณที่ไม่สูงนัก

Cahill (1990) พบว่าแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อมในน้ำมีอิทธิพลต่อองค์ประกอบของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ซึ่งจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มาจากสิ่งแวดล้อมและอาหาร ซึ่งจุลินทรีย์สามารถอยู่รอดและเพิ่มจำนวนได้ในลำไส้

## โปรไบโอติก (probiotic)

### นิยามโปรไบโอติก

โปรไบโอติก ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในงานวิจัยของทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell (1965) กล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมาและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิดและมีผู้ให้คำนิยามอื่น ๆ อีกคือ

Parker (1974) ได้ให้คำนิยาม คือ สิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้

Fuller (1989) ให้คำนิยาม คือ อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ สามารถปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย

Havenaar และ Huis (1992) ให้ความหมายของโปรไบโอติกว่าหมายถึงจุลินทรีย์ทั้งชนิดใดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิดที่ให้กับสัตว์แล้วส่งผลดีต่อตัวสัตว์เอง

Verschuere *et al.* (2000) ได้ให้ความหมายของคำว่าโปรไบโอติกที่เหมาะสมกับสัตว์น้ำ คือ กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสัตว์เจ้าเรือนโดยมีความสัมพันธ์กับสัตว์เจ้าเรือนหรือกลุ่มจุลินทรีย์อื่น ๆ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพอาหารหรือ

กระตุ้นให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงขึ้น ช่วยเสริมให้สัตว์เจ้าเรือนมีความสามารถในการต้านทานโรคและช่วยปรับสภาพสิ่งแวดล้อมของสัตว์เจ้าเรือน

บทบาทของโปรไบโอติกเมื่ออยู่ในร่างกายคนหรือสัตว์ (นวลจันทร์, 2533; เกรียงศักดิ์, 2535 ; ธนาการ และจิรศักดิ์, 2536; Fuller, 1989 และ Gibson and Roberfroid, 1995 อ้างโดย กิจการ, 2544 )

1. เพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ และมีผลลดปริมาณจุลินทรีย์ที่มีโทษ
2. สร้างสารปฏิชีวนะซึ่งควบคุมกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นโรคได้
3. การสร้างกรดแลคติกทำให้กระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรดจึงเกิดการย่อยและการใช้ประโยชน์จากสารอาหารต่าง ๆ ได้ดีขึ้น (กิจการ, 2544) และปรับสภาพของระบบทางเดินอาหารให้อยู่ในสภาพที่แบคทีเรียโคลิฟอร์มเจริญได้ยาก
4. แย่งจับกับเยื่อลำไส้ ทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อโรคมารับกับเยื่อลำไส้ไม่ได้จึงทำให้ไม่แสดงอาการของโรค
5. ลดการสังเคราะห์เอมีนในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งโดยปกติสารพวกเอมีนจะเป็นพิษ คือทำให้การนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง แต่ถ้าสารเอมีนถูกยับยั้งการสังเคราะห์ จะทำให้สามารถนำอาหารไปใช้ได้มากขึ้น
6. สร้างเอนไซม์หลายชนิดที่ร่างกายสร้างไม่ได้ เช่น เบต้า-กาแลคโตซิเดส เพคตินเอส และ เซลลูเลส
7. กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคในระบบทางเดินอาหารให้สูงขึ้น
8. สามารถสร้างสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายสัตว์ เช่น กรดไขมัน กรดอะมิโน และวิตามิน
9. กระตุ้นให้มีเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์หรือแมโครฟาจมารวมตัวกันซึ่งแมโครฟาจจะเป็นตัวทำลายเชื้อโรค

โปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหมายถึง การเติมจุลินทรีย์ ลงสู่ถังหรือบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ จุลินทรีย์ที่ดีหรือโปรไบโอติกจะไปเปลี่ยนแปลงชนิด หรือแทนที่แบคทีเรียก่อให้เกิดโรคในน้ำและในตะกอนดิน เพิ่มความหลากหลายของจำนวนจุลินทรีย์ และ



ทำให้สัตว์น้ำมีสุขภาพดีขึ้น Moriaty *et al.* (1997) อ้างโดย กิจการ (2544) รวมทั้งสามารถเจริญในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำได้ (Cahill, 1990; Gastoupe, 1999 และ Gram *et al.*, 1999) การทำงานของโปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีดังนี้

1. เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ
2. ลดความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส
3. ส่งเสริมการเจริญของสาหร่ายที่มีประโยชน์และยับยั้งการเจริญของสาหร่ายที่เป็นพิษ เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน
4. ช่วยเพิ่มความเข้มข้นของออกซิเจน
5. ควบคุมความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนไตรท์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์โดยการสร้างเอนไซม์บางชนิด (exoenzyme) ที่ทำให้ความเป็นพิษของสารดังกล่าวลดลง
6. ทนต่อเชื้อโรคและมีอัตราการอยู่รอดสูง
7. เพิ่มปริมาณอาหารมีชีวิต เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ (Zooplankton)
8. ช่วยส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้น
9. ปรับปรุงคุณภาพน้ำทำให้น้ำที่ปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมมีการปนเปื้อนน้อยลงอาจมีการสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค
10. โปรไบโอติกบางชนิด เช่น *Bacillus* sp. สร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ เช่น พอลิเมอร์ ทำให้สามารถเจริญในน้ำได้ดีกว่าเชื้อโรค เช่น *Vibrio* sp. ที่ไม่สร้างเอนไซม์

แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการเป็นโปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้แก่ *Bifidobacterium* sp., *Bacillus* sp. (Moriaty and Body, 1998) *Pseudomonas*, *Lactobacillus* sp. ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* บางสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก เช่น *V. alginolyticus* (Austin *et al.*, 1995) *V. pelagius* (Ringo and Gastoupe, 1998)

ตารางที่ 3 แบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เป็นโปรไบโอติก

ชนิดแบคทีเรีย	สายพันธุ์ที่นิยมใช้
แบคทีเรีย	
<i>Bacillus</i> sp.	<i>B. coagulan</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. toysi</i> , <i>B. stearothermophilus</i> ,
<i>Bacteroides</i> sp.	<i>B. amylophilus</i> , <i>B. capillousus</i> , <i>B. ruminocola</i> , <i>B. suis</i>
<i>Bifidobacterium</i> sp.	<i>B. thermophilum</i> , <i>B. adolescentis</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. longum</i>
<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. bifidus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. reuterii</i> , <i>L. ellobiosus</i> , <i>L. colinoides</i> , <i>L. corvatus</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. ruminis</i> , <i>L. vitulinus</i>
<i>Leuconostoc</i> sp.	<i>L. cromoris</i> , <i>L. dextranicum</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. mesenteroides</i>
<i>Pediococcus</i> sp.	<i>P. acidophilus</i> , <i>P. halophilus</i> , <i>P. pentosaecus</i> , <i>P. cereisiae</i> , <i>P. acidilacticii</i>
<i>Propionibacterium</i> sp.	<i>P. freudenreichii</i> , <i>P. shermanii</i>
<i>Streptococcus</i> sp.	<i>S. cremoris</i> , <i>S. diacetyl</i> , <i>S. faecium</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. lactis</i> , <i>S. thermophilus</i>
<i>Clostridium</i> sp.	<i>C. butyridium</i>
<i>Enterococcus</i> sp.	<i>Enterococcus</i> sp.
<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i>

### ตารางที่ 3 (ต่อ)

#### ยีสต์

<i>Sacharomyces</i> sp.	<i>Sacharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida</i> sp.	<i>Candida pentoiepessi</i> ( <i>Torulopsis bovina</i> )

#### รา

<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus oryzae</i>
	<i>Aspergillus niger</i>

ที่มา : คัดแปลงจาก วรณี (2535)

#### โปรไบโอติกที่ดีควรมีลักษณะดังนี้

1. ควรเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสัตว์ที่ได้รับโปรไบโอติก เช่น เพิ่มการเจริญเติบโตของสัตว์ หรือ ต้านทานการเกิดโรคในสัตว์ (Fuller , 1989)
2. ไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค (Fuller , 1989 และ เกรียงศักดิ์, 2535)
3. เป็นเซลล์ที่มีชีวิต และเพิ่มจำนวนได้มาก (Fuller , 1989)
4. สามารถมีชีวิตอยู่รอดและทำงานได้ในกระเพาะอาหาร (Fuller , 1989)
5. มีความคงทนและสามารถรอดชีวิตได้ในสภาพการเก็บรักษาและในขณะทำการทดลอง (Fuller , 1989 และ เกรียงศักดิ์, 2535)
6. ทนต่อกรดโดยเฉพาะกรดจากน้ำย่อยหรือจากกระเพาะอาหาร (เกรียงศักดิ์, 2535)
7. สร้างกรดแลกติกได้ (เกรียงศักดิ์, 2535)
8. มีการเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิกว้างคือ 20-60°C (เกรียงศักดิ์, 2535)

9. มีคุณสมบัติในการเจริญเติบโตรวดเร็ว คือ ต้องใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนน้อย (generation time) ต่ำและมีความสามารถในการมีชีวิตอยู่ได้ในลำไส้สัตว์ (เกรียงศักดิ์, 2535)
10. ทนต่อยาปฏิชีวนะได้หลายชนิดซึ่งมักพบหรือใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ (เกรียงศักดิ์, 2535)
11. ต้องไม่มีคุณสมบัติในการถ่ายทอดกรรมพันธุ์การต้านยา (เกรียงศักดิ์, 2535)
12. ไม่ก่อให้เกิดหรือสร้างสารพิษซึ่งสามารถตกค้างในเนื้อสัตว์ (เกรียงศักดิ์, 2535)
13. สามารถสร้าง Bacteriocin (เกรียงศักดิ์, 2535)
14. ช่วยย่อยสลายกากอาหารแล้วให้ผลผลิตเป็นกรดอะมิโน กรดไขมัน และวิตามิน (เกรียงศักดิ์, 2535)

### กลไกการทำงานของโปรไบโอติก

ความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร จะทำให้เกิดการพัฒนาในลำไส้เล็ก ทำให้คนและสัตว์มีความสามารถในการต้านทานโรค โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับทางเดินอาหาร โดยปกติในสัตว์มักมีการเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารซึ่งเกิดมาจากสภาพแวดล้อมและอาหารที่กินเข้าไป ดังนั้นปัจจัยสำคัญที่เข้ามาเกี่ยวข้องต่อการเกิดของเชื้อจุลินทรีย์นั้น ได้แก่ การสุขาภิบาล การใช้สารปฏิชีวนะและความเครียด ซึ่งความเครียดของสัตว์เกิดขึ้นได้เสมอ เช่น ความเครียดเกิดจากการเปลี่ยนอาหาร การขนย้าย อากาศและสภาพแวดล้อม จากการวิจัยพบว่าขณะที่สัตว์เกิดความเครียดจะมีผลทำให้เกิดการสูญเสียสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ จะมีผลทำให้แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะ โคลิฟอร์ม แต่การเจริญของ *Lactobacillus* spp. ลดลงซึ่งมีผลทำให้สัตว์เกิดอาการท้องร่วงหรือโรคซึ่ไหล ดังนั้นการใช้โปรไบโอติกจึงสามารถลดการสูญเสียเนื่องจากสามารถควบคุมปริมาณของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ (เกรียงศักดิ์, 2535)

กลไกการทำงานของโปรไบโอติกรายงานว่าเมื่อให้สัตว์กินเข้าไปแล้วโปรไบโอติกจะผ่านกระเพาะเข้าไปเจริญเติบโตหรือเกาะติดกับผนังลำไส้เล็กทุกส่วน

โดยเฉพาะการแทรกตัวอยู่ที่ร่องผนัง (villi) ของลำไส้มีการย่อยสลายของกากอาหารแล้วสร้างกรดแลคติก ซึ่งกรดแลคติกจะทำลายหรือยับยั้งตัวก่อโรค การเกาะติดของแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกจะแพร่กระจายทุกพื้นที่ที่ทำให้ปิดกั้นการเกาะติดของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น แบคทีเรียและไวรัส การที่มันแปลกปลอมจะดึงดูดให้แมคโครฟาจเดินทางมามากจึงเป็นการกระตุ้นให้มีระบบภูมิคุ้มกันเฉพาะแห่งได้ดีขึ้น และนอกจากนี้โปรไบโอติกยังมีความสามารถในการผลิตสารซึ่งจำเป็นต่อสัตว์ เช่น กรดอะมิโน กรดแลคติก และวิตามิน และยังสามารสร้างสารปฏิชีวนะอ่อน ๆ ในการทำลายจุลินทรีย์ตัวก่อโรคได้ดีอีกด้วย (เกรียงศักดิ์, 2535)

### การผลิตสารยับยั้ง

โดยปกติการยับยั้งเชื้อก่อโรคอาจเกิดจากปัจจัยเดียวหรือ หรือเกิดจากการทำงานร่วมกัน เช่น antibiotic, bacteriocin, siderophores, lysozymes, protease, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> และการเปลี่ยนแปลง pH โดยกรดแลคติกที่ผลิตโดยกรดอินทรีย์ (Sugita *et al.*, 1997) โดยจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* และ *Streptococcus* เป็นปัจจัยหนึ่งในหลาย ๆ ปัจจัยที่เป็นประโยชน์ในการทำงานของจุลินทรีย์เหล่านี้โดยการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารของกุ้งให้คงที่ (มนตรี และ เกศินี , 2546) จากรายงานฤทธิ์การยับยั้งของแบคทีเรียแลคติก โดยแบคทีเรียโอซินจะไม่จำเพาะแต่แบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้นยังสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในสัตว์น้ำจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำแบคทีเรียแลคติกมาใช้เป็นโปรไบโอติกในสัตว์น้ำ (Verschuere *et al.*, 2000) จากการรายงานของ Nair *et al.* (1985) เสนอว่า marine bacteria สามารถผลิต bacteriolytic enzyme ต่อด้าน *V. parahaemolyticus* และต่อมา Imada *et al.* (1985) ได้แยกและศึกษาสมบัติของ *Alteromonas* sp. สายพันธุ์ B-10-31 ที่แยกจากน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งของญี่ปุ่น ซึ่งสามารถผลิตสารยับยั้ง alkaline protease ที่เรียกว่า Monastatin และเมื่อนำมาทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการโดยการทำบริสุทธิ์และทำให้เข้มข้นขึ้นพบว่า Monastatin แสดงการยับยั้ง protease จาก *Aeromonas hydrophila* และ thiol protease จาก *V. anguillarum* ซึ่งทั้งคู่เป็นเชื้อก่อโรคในปลา จากการรายงานของ Westerdahl *et al.*(1991) ได้แยกแบคทีเรียที่มีความสามารถยับยั้ง *V. anguillarum* ได้จาก

ลำไส้ของปลา turbot (*Scophthalmus maximus*) และ จากการรายงานของ Sugita *et al.* (1997) พบว่าแบคทีเรียที่พบได้ในลำไส้ปลาสามารถผลิตสารยับยั้งการบุกรุกของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ปลาได้จึงได้แยก *Vibrio* sp. NM 10 จากลำไส้ของปลา spotnape ponyfish (*Leiognathus nuchalis*) ซึ่ง *Vibrio* sp. NM 10 มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pasteurella* K-III ก่อโรค Pasteurellosis ในปลา ซึ่ง *Vibrio* sp. NM 10 สามารถผลิตสารยับยั้ง *Pasteurella* K-III ได้ดีเมื่อเจริญที่ 20°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารแข็ง 1/5 PYBG โดยเตรียมกับ 50% น้ำทะเลที่ pH 7.5-9 และสารยับยั้งนี้ไม่ถูกทำลายด้วยความร้อน และเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 5 kDa

#### การแย่งกันเกาะบริเวณทางเดินอาหาร

การแย่งเกาะบริเวณลำไส้เป็นกลไกหนึ่งที่สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อก่อโรคบริเวณลำไส้หรือบริเวณเนื้อเยื่ออื่น ๆ ซึ่งเป็นที่รู้ดีว่าความสามารถในการเกาะที่บริเวณด้านในของเนื้อเยื่อหรือบริเวณผิวเป็นคุณสมบัติที่มีความจำเป็นของแบคทีเรียในลำไส้ของปลา (Olsson *et al.*, 1992; Onarheim *et al.*, 1990 และ Westerdahl *et al.*, 1991) ดังนั้นแบคทีเรียจะอยู่ในลำไส้ได้ชั่วคราวและจะหายไปจากลำไส้ทันทีเมื่อถูกบุกรุกจะยังคงเหลือแบคทีเรียอยู่จำนวนเพียงเล็กน้อยที่สามารถอยู่ได้เนื่องจากมีความสัมพันธ์เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นซึ่งจะมีความจำเพาะกับสัตว์เจ้าเรือนั้น ๆ (Sugita *et al.*, 1997) ซึ่งโปรไบโอติกจะมีบทบาทในการขัดขวางเชื้อก่อโรคจากการเกาะติดหรือรวมตัวกันในบริเวณทางเดินอาหารหรือมีบทบาทในการป้องกันการเกาะติดโดยตรงของเชื้อก่อโรคกับผนังของระบบทางเดินอาหาร

#### เสริมภูมิคุ้มกัน

กึ่งกลาดำมีระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง คือ ไม่สามารถจดจำสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายได้ และจะตอบสนองช้ากว่าการสร้างแอนติบอดีในสัตว์ชั้นสูง โดยพบว่าการตอบสนองของเซลล์และสารน้ำ (Cellular and humoral responses) เช่น ไลโซไซม์ (lysozyme) จากการรายงานของ Pouwels *et al.* (1996) พบว่าแบคทีเรียแลคติกช่วยกระตุ้น specific antibody หลังจากติดเชื้อโดยจากการรายงานของ

Rengpipat, 2000 พบว่า การอยู่รอดของกึ่งกลุ่ดดำที่ได้รับ *Bacillus* S11 เป็นระยะเวลา 90 วันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับ *Bacillus* S11 พบว่ากลุ่มที่ได้รับ *Bacillus* S11 มีประสิทธิภาพ phagocytic activity เพิ่มขึ้นโดยวัดจากค่า % phagocytosis และ phagocytosis index (PI) ซึ่งพบว่า ค่า PI จะสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและจากการรายงานผลของโปรไบโอติกต่อระบบภูมิคุ้มกันของกึ่งกลุ่ดดำโดย [www.Kungthai.com/aps11.html](http://www.Kungthai.com/aps11.html) พบว่าในกึ่งกลุ่ดดำที่ได้รับโปรไบโอติกจะมีจำนวน เม็ดเลือด และค่า % phagocytosis phagocytosis index สูงกว่ากึ่งกลุ่ดควบคุมและพบว่าค่า ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase) และ ค่า Antibacterial activity ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ฟีนอลออกซิเดส คือ เอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดกระบวนการเมลาไนซ์เซชัน (melanization) ตอบสนองต่อปรสิตที่เข้ามาในร่างกาย (กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2546)

### การใช้จุลินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นโปรไบโอติกเสริมในอาหารสัตว์แทนการใช้สารปฏิชีวนะ

Parker (1974) และ Fuller (1989) ได้รวบรวมทำการศึกษาค่าการใช้โปรไบโอติกแทนสารปฏิชีวนะและได้รวบรวมความแตกต่างของสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและสารปฏิชีวนะ (ตารางที่ 4) ซึ่งในการเพาะเลี้ยงกึ่งกลุ่ดดำปัญหาใหญ่ที่ทำให้เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงประสบความล้มเหลวหรือล้มเหลวคือการป้องกันและควบคุมโรคที่ทำให้เกิดปัญหาได้แก่โรคที่เกิดจากเชื้อ *Vibrio* (Vibriosis) จะใช้ยาหรือสารปฏิชีวนะซึ่งเมื่อใช้ไปได้ระยะหนึ่งจะประสบปัญหาการคือยา ทำให้การรักษาทำได้ยากมากขึ้นจำเป็นต้องมีการเพิ่มปริมาณการใช้ยามากขึ้นกว่าที่เคยใช้ในระยะเวลาแรกของการเลี้ยง การใช้ยาไม่สามารถรักษาอาการป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียได้เลย ปัญหาอุบัติการณ์คือยาของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคโดยเชื้อแบคทีเรียจะปรับตัวให้สามารถทนต่อยาหรือสารปฏิชีวนะได้มากขึ้นซึ่งสาเหตุของการเกิดอุบัติการณ์คือยามาจากการใช้ยาหรือสารปฏิชีวนะไม่ถูกต้องในการป้องกันและรักษาโรค มีการใช้ยาเพื่อป้องกันในระยะที่กึ่งยังไม่ป่วยทำให้มีการใช้ยาบ่อยเกินไป การใช้ยามากเกินไปซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะดังกล่าวจะส่งผลให้เกิดความเสียหายกับตับและตับอ่อนซึ่งทำหน้าที่กำจัดสารแปลกปลอม

ออกจากร่างกายของกิ้ง การใช้ยาหรือสารปฏิชีวนะมากเกินไปทำให้เกิดการฟุ้งของดัก ทำให้หน้าที่ยื่น ๆ ของดักเช่น การสร้างน้ำย่อย การสะสมสารอาหารเพื่อการดำรงชีวิต ค่อยลงไปด้วย สารปฏิชีวนะที่ใช้ในการเลี้ยงกิ้งกุลาคำ เป็นสารที่ออกฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในการเลี้ยงกิ้งกุลาคำจะไม่ใช้สารปฏิชีวนะผสมในอาหารกิ้ง แต่จะให้กิ้งกินโดยตรง หรือ ละลายน้ำแช่ลูกกิ้งเพื่อการรักษาโรคที่ติดเชื้อแบคทีเรีย สารปฏิชีวนะที่ใช้ในการเลี้ยงกิ้งกุลาคำและเกิดสารตกค้างได้แก่ Oxytetracycline, Chloramphenicol, Nitrofurantoin และ Sulfa drug เป็นต้น การใช้ยาไม่ถูกวิธีนอกจากจะเป็นการสิ้นเปลืองและไม่ได้ผลในการรักษาแล้วยังก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาของแบคทีเรียและปัญหาสารตกค้างในเนื้อกิ้งซึ่งเป็นปัญหาในการส่งออกกิ้งไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ([www.Kungthai.com/aps11.html](http://www.Kungthai.com/aps11.html))

ในปัจจุบันได้มีการนำโปรไบโอติกมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์เช่น หมู ไก่ และในสัตว์น้ำส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาในปลา (Joborn *et al.*, 1997; Gildberg and Mikkelsen, 1998; Robertson *et al.*, 2000 และ Nikoskelainen *et al.*, 2001) และหอย (Douillet and Lagdon, 1994; Riquelme *et al.*, 1997 และ Gibson *et al.*, 1998) ขณะที่การศึกษาในกิ้งกุลาคำยังมีการรายงานอยู่น้อย (Rengpipat *et al.*, 1998 และ Moriaty, 1998) เนื่องจากการใช้สารปฏิชีวนะได้ก่อให้เกิดผลเสียดังที่กล่าวมาข้างต้น จุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้เสริมในอาหารสัตว์ควรใช้จุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Normal flora) ของสัตว์ชนิดนั้น (Kenworthy, 1973) ซึ่งจะช่วยให้แบคทีเรียโปรไบโอติกสามารถปรับตัวได้ดีและจะต้องมีสมบัติการเป็นโปรไบโอติกที่ดี ซึ่งจะทำให้สัตว์ที่ได้รับโปรไบโอติกมีสุขภาพดี มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและสามารถต้านทานการเกิดโรคติดเชื้อได้



#### รางที่ 4 สมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและสารปฏิชีวนะ

โปรไบโอติก	สารปฏิชีวนะ
<p><b>สมบัติ</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. เป็นสิ่งมีชีวิต</li> <li>2. ไม่ดูดซึมในทางเดินอาหาร</li> <li>3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร</li> <li>4. ไม่มีการหลงเหลือในเนื้อเยื่อ</li> <li>5. ไม่ก่อให้เกิดเชื้อกลายพันธุ์หรือดื้อยา</li> </ol> <p><b>กลไกการออกฤทธิ์</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ให้ฤทธิ์ต้านเชื้อเฉพาะที่</li> <li>2. เจริญได้ในทางเดินอาหารและแข่งการเจริญกับเชื้อก่อโรคได้</li> </ol>	<p><b>สมบัติ</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. เป็นสารเคมีบริสุทธิ์</li> <li>2. ดูดซึมได้ในทางเดินอาหาร</li> <li>3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร</li> <li>4. หลงเหลือได้ในเนื้อเยื่อ</li> <li>5. อาจทำให้เชื้ออื่นเกิดการกลายพันธุ์และดื้อยา</li> </ol> <p><b>กลไกการออกฤทธิ์</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ทั่วร่างกายและออกฤทธิ์ต่อเชื้อต่าง ๆ ได้มากขึ้น</li> <li>2. ขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ DNA RNA และ โปรตีน</li> </ol>

#### แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria)

##### ลักษณะทั่วไป

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม หรือรูปท่อน ไม่สร้างเอนไซม์อะคะเตเลส ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ (Axelsson, 1993) จัดอยู่ใน family *Lactobacillaceae* ซึ่งมี 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือกลุ่ม homofermentative และกลุ่ม heterofermentative โดยกลุ่มแรกสามารถสร้างกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัวชนิดอื่น ๆ ให้ได้กรดแลคติกประมาณ 95% ที่เหลือเป็นกรดอะซิติกและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อีกเล็กน้อย จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ได้แก่

*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Enterococcus* และ *Vagococcus* ส่วนแบคทีเรียกลุ่มหลังสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัวได้กรดแลกติกประมาณ 50% และได้กรดอะซิติกรวมทั้งเอทานอลประมาณ 20 – 50% ได้แก่ *Leuconostoc*, *Carnobacterium* และ *Lactobacillus* สามารถเจริญได้ในบริเวณที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนแบคทีเรียแลกติกส่วนใหญ่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophile) บางชนิดเป็นพวกไม่ต้องการอากาศอย่างยิ่ง (strictly anaerobe) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ได้รับพลังงานจากการหมักโดยไม่ใช้ออกซิเจน (Frazier and Westhoff, 1997) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 30-40 °C ช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 5.58-6.20 แต่โดยทั่วไปเจริญได้ที่ pH ≤ 5 อัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกลาง หรือด่าง (Salminen and Wright, 1993)

### แหล่งที่พบ

เนื่องจากแบคทีเรียแลกติกแต่ละ species สามารถปรับตัวเพื่อเจริญเติบโตภายใต้สภาวะแวดล้อมได้แตกต่างกันจึงทำให้พบเชื้อกลุ่มนี้กระจายทั่วไปทั้งในคนและสัตว์ โดยเฉพาะบริเวณช่องปาก ลำไส้ rumen vagina และพบในแมลง พืชและผลิตภัณฑ์ของพืช เช่น ผัก ฝัก ผลไม้ รากต้นไม้ ธัญพืชและหญ้าหมัก (Salminen and Wright, 1993 และ สมบูรณ์, 2538) รวมทั้งพบในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม อาหารหมักคองต่าง ๆ และเครื่องคัมที่มีแอลกอฮอล์ (นภา, 2522)

### ความต้องการสารอาหาร

ความต้องการสารอาหารของแบคทีเรียแลกติกซึ่งแบคทีเรียแลกติกต้องการอาหารพิเศษหรือเฉพาะในการเจริญเติบโต (fastidious microorganism) เช่น กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจน จะเจริญได้น้อยมากหากไม่มีแหล่งไนโตรเจนซึ่งแบคทีเรียแลกติกต้องการ serine และ arginine และยังต้องการ yeast extract เป็นแหล่งวิตามิน (ไบโอติน และ ไโรโบฟลาวิน) (Tittsler et al., 1952) และวิตามินที่แบคทีเรียแลกติกใช้ในการเจริญเติบโตได้แก่ thiamine (B1), riboflavine (B2), pyridoxin (B6), folic acid

(B9), cyanocobalamine (B12) และ nicotinic acid (Salminen and Wright, 1993) รวมทั้งต้องการ peptone, magnesium, manganese, acetate และ Tween 80 การแยก *Lactobacillus*, *Pediococci* และ *Leuconostoc* อาหารเลี้ยงเชื้อที่นิยมใช้ได้แก่อาหารแข็ง de Mon Rogosa Sharpe (MRS) ที่มีองค์ประกอบของอาหารที่สมบูรณ์ (สมบูรณ์, 2538) แต่อย่างไรก็ตามได้มีผู้ใช้อาหารแข็งอื่น ๆ ด้วยเช่นอาหารแข็ง GYP (glucose yeast peptone) โดยอรนุช (2530) ได้ใช้อาหารชนิดนี้ในการแยกแบคทีเรียแลคติกจาก แหนม

### การจัดจำแนก

แบคทีเรียแลคติกสามารถจัดจำแนกเป็นสกุลต่าง ๆ ได้ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะ รูปแบบการหมักกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ การสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จากกลูโคส การเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ การผลิตกรดแลคติก การเจริญที่มีเกลือความเข้มข้นสูงและการทนต่อเกลือหรือต่าง (Axelsson, 1993)

Stiles and Holzapfel (1997) ได้แบ่งแบคทีเรียแลคติกโดยการพิสูจน์เอกลักษณ์ จากคุณสมบัติต่าง ๆ ได้ 11 สกุลได้แก่ *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oneococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* และ *Weissella*

### การผลิตสารยับยั้งของแบคทีเรียแลคติก

#### กรดแลคติก (Lactic acid)

แบคทีเรียแลคติกทุกสายพันธุ์สามารถสร้างกรดแลคติกได้โดยการเปลี่ยนน้ำตาล ในอาหารให้เป็นกรดแลคติก ทำให้ pH ของอาหารลดลง มีผลยับยั้งการเจริญเติบโต ของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ซึ่งแบคทีเรียแลคติกสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวก และแกรมลบ (Helander *et al.*, 1997)

#### ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogenperoxide)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) เป็นสารที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมในระหว่างการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกทุกสายพันธุ์ (Helander *et al.*, 1997) และจะสะสมเพิ่มขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเนื่องจากแบคทีเรียแลคติกไม่มีเอนไซม์คะตะเลส แบคทีเรียแลคติกจึงสามารถสร้าง  $H_2O_2$  ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

### ไดอะซีทิล (Diacetyl)

เป็นผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมของ *Lactococcus* spp. ไดอะซีทิลเป็นสารที่ให้กลิ่นเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมหมัก และมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิดที่ความเข้มข้น 300 - 1,000 ppm (Helander *et al.*, 1997) ที่ความเข้มข้น 200  $\mu\text{g/ml}$  ยับยั้งการเจริญของยีสต์และแบคทีเรียแกรมลบที่ความเข้มข้น 300  $\mu\text{g/ml}$  สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ใช่แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก ส่วนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจะถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นสูงกว่า 350  $\mu\text{g/ml}$

### แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)

แบคเทอริโอซิน คือ สารเปปไทด์ หรือสารประกอบโปรตีนโมเลกุลใหญ่ที่สร้างจากแบคทีเรีย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอื่นที่มีสายพันธุ์ใกล้เคียงกับแบคทีเรียที่ผลิตแบคเทอริโอซิน หรือสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอื่นที่มีความไวต่อแบคเทอริโอซิน แบคทีเรียแลคติกที่สามารถผลิตแบคเทอริโอซินได้แก่ *Lactobacillus fermentum*, *L. heveticus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *Pediococcus acidilactici* และ *P. pentosaceus* สำหรับแบคเทอริโอซินที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางคือ Nisin ซึ่งผลิตโดย *Lactococcus lactis* ซึ่งปัจจุบันใช้เป็น preservative มากกว่า 50 ประเทศ เนื่องจาก Nisin มีประสิทธิภาพในการต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้หลายชนิด แต่ไม่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์และเชื้อรา อาหารที่มีการนำ Nisin ไปใช้ได้แก่ เนยแข็ง นม โยเกิร์ต เครื่องดื่มที่หมัก ผลิตภัณฑ์เนื้อ ปลา และผักบรรจุกระป๋อง (Helander *et al.*, 1997) แบคทีเรียแลคติกบางสายพันธุ์สามารถต่อต้านแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida* และ *Proteus vulgaris* (Strom, 1993 และ Ringo and Gastesoupe, 1988) และพบว่า Carnocin ที่ผลิตจาก

*Carnobacterium piscicola* มีประสิทธิภาพในการต่อต้าน *Aeromonas hydrophila* (Lewis *et al.*, 1991)

### รูทีรีน (Reuterin)

รูทีรีนเป็นสารที่ไม่ใช่โปรตีนแต่เป็น  $\beta$ -hydroxy propionaldehyde ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ละลายน้ำได้ดีปานกลาง ได้จากแบคทีเรียพวก *Lactobacillus reuteri* (Helander *et al.*, 1997) รูทีรีนสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ ยีสต์ รา โปรโตซัว และจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Listeria* และ *Clostridium*

### บทบาทของแบคทีเรียแลคติกที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก

#### 1. การเข้าครองพื้นที่

Conway (1996) อ้างโดย Ringo และ Gastesoupe (1998) พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารสามารถ colonise ได้ในลำไส้ได้นานและมีอัตราในการเพิ่มจำนวนสูงกว่าอัตราที่ปล่อย จุลินทรีย์ออกนอกตัว และพบว่าแบคทีเรียแลคติกจะ colonise ที่บริเวณลำไส้ของสัตว์บก (terrestrial animal) และเป็น normal flora ที่สำคัญ จากการรายงานของ Gildberg และ Mikkelsen (1998) พบว่าในส่วนท้ายของกระเพาะอาหารของ Atlantic cod ระยะ juveniles จะพบ *C. divergen* ในปริมาณที่สูงกว่าในลำไส้ นอกจากนี้ Strom และ Ringo (1993) และ Joborn *et al.* (1997) พบว่าแบคทีเรียแลคติกสามารถอยู่รอดได้ในลำไส้ของปลาทั้งในระยะตัวอ่อนและระยะ juveniles

#### 2. การยึดเกาะเมื่อกบผนังลำไส้

*Lactobacilli* สามารถเกาะที่ผนังลำไส้ได้และพบว่าแบคทีเรียแลคติกในสัตว์เลือดเย็น (endothermic animal) จะมีความจำเพาะเจาะจงต่อทางเดินอาหารของ host ซึ่งแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากสัตว์ฟันแทะไม่สามารถเกาะได้ในทางเดินอาหารของไก่ (Fuller, 1989) Spencer และ Chesson (1994) อ้างโดย Ringo และ Gastesoupe

(1998) เสนอว่า *Lactobacillus* spp. สามารถยับยั้งการเกาะของ *E. coli* ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับ Jin *et al.* (1996) ที่พบว่า การลดลงของ *Salmonella* spp. ในลำไส้ของไก่สามารถลดลงได้โดย *Lactobacillus* spp. และ Owehand และ Conway (1996) แยกเชื้อและศึกษาคุณสมบัติของสารที่ผลิตโดย *L. fermentum* ที่สามารถยับยั้งการเกาะของ *E. coli* ที่เยื่อเมือกบริเวณลำไส้เล็ก ต่อมา Olsson, (1995) และ Joborn *et al.* (1997) พบว่าแบคทีเรียแลคติกสามารถเกาะได้ที่เนื้อเยื่อของทางเดินอาหารของปลาและจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการชี้ให้เห็นว่า *Carnobacterium* sp. สามารถเกาะได้ที่เยื่อบริเวณลำไส้ของ rainbow trout แต่กลไกในการเกาะไม่มีความจำเพาะและถือว่าการแย่งกันเกาะที่บริเวณ receptors บนเยื่อบริเวณลำไส้กับเชื้อก่อโรคเป็นผลมาจากคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก (Montes and Pugh, 1993)

### 3. ฤทธิ์การต่อต้าน

แบคทีเรียที่ colonise ในทางเดินอาหารของปลาสามารถผลิตกรดแลคติกซึ่งสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้นจึงเป็นการป้องกัน host จากโรคที่มีสาเหตุมาจาก toxin ที่ผลิตมาจาก proteolytic bacteria ซึ่งแบคทีเรียแลคติกสามารถผลิตสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของของเชื้อก่อโรคได้เช่น bacteriocin,  $H_2O_2$  และ lactic acid และจากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียโอซิน สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้แก่ *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* และ *Staphylococcus aureus* (Lewis *et al.*, 1991) จากการรายงานของ Pilet *et al.* (1995) พบว่าแบคทีเรียโอซินที่แยกจาก *C. piscicola* และ *C. divergens* สามารถยับยั้งการเจริญ *L. monocytogenes* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Strom (1988) อ้างโดย Ringo และ Gastesoupe (1998) ที่แยก *C. divergens* จากปลา salmon ในระยะตัวอ่อน ซึ่งพบว่า *C. divergens* สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในปลา เช่น *V. anguillarum*, *V. salmonicida* และ *Proteus vulgaris* และมีการรายงานไว้หลายรายงานเกี่ยวกับแบคทีเรียแลคติกที่สามารถเชื้อก่อโรคในปลาที่เป็นแกรมบวกและยังรวมไปถึงเชื้อจุลินทรีย์แกรมลบด้วยจากการศึกษาของ Lewis *et al.* (1991) พบว่า Carnocin จาก *C. piscicola* มีประสิทธิภาพสามารถยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* ได้น้อยกว่ายับยั้ง *L. monocytogenes*

#### 4. การเหนี่ยวนำในสิ่งมีชีวิต

Gastisoupe, 1993 พบว่า *Lactobacillus* และ *Carnobacterium* สายพันธุ์ที่แยกได้จากโรติเฟอร์สามารถเพิ่มความต้านทานให้แก่ตัวอ่อนของปลา turbot ต่อเชื้อก่อโรคซึ่งได้แก่ *Vibrio* sp. ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Gilberg *et al.* (1995) พบว่าการเติม freeze-dried ของ *C. divergens* ที่มีความเข้มข้น  $10^5$  CFU ลงไปผสมในอาหารไม่สามารถต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *Aeromonas hydrophila* ในลูกปลา salmon แต่สามารถลดอัตราการตายของลูกปลา Atlantic cod เมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *V. anguillarum*

#### จุลินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นโปรไบโอติกกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สินธิ และ ลีลา (2541) ศึกษาประสิทธิภาพของโปรไบโอติกที่ผลิตจาก *Bacillus* ที่แยกได้จากผิวดินและพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง นำไปใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่ากุ้งที่ได้รับโปรไบโอติกจะมีอัตราการรอดตาย น้ำหนัก ความยาวและอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก

Nogami and Maeda (1992) ได้คัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Thalassobacter utilis* PM-4 จากน้ำทะเลเติมลงในบ่อเลี้ยงปูสีน้ำเงิน (blue crab) ในความเข้มข้น  $10^6$  เซลล์/มิลลิลิตร พบว่าปูสีน้ำเงินมีอัตราการรอดตาย 27.2 % เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีอัตราการรอดตายเพียง 6.8% และพบว่า PM-4 สามารถยับยั้งการเจริญของ *V. anguillarum* ได้

Gatesoupe (1991) เติมแบคทีเรียแลคติกในการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์พบว่า *Lactobacillus* 2 สายพันธุ์คือ *L. plantarum* และ *L. helveticus* ให้ผลในการเพิ่มจำนวนความหนาแน่นของโรติเฟอร์อย่างมีนัยสำคัญและพบว่า *L. plantarum* มีประสิทธิภาพดีกว่า *L. helveticus* ในขณะที่ *Streptococcus thermophilus* ให้ผลในการเพิ่มจำนวนความหนาแน่นของโรติเฟอร์อย่างไม่มีนัยสำคัญและพบว่าจำนวนของ aerobic bacteria ในการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเติม *L. plantarum* และพบว่าการเจริญของ *Aeromonas salmonicida* ในการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์สามารถถูกยับยั้งโดย *L. plantarum*

Garcia-de-la-Banda *et al.* (1992) อ้างโดย Bruno *et al.* (2000) มีการใช้ *Streptococcus lactis* และ *Lactobacillus bulgaricus* เป็นอาหารเลี้ยงโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียเพื่อให้เกิด Bioencapsulation เพื่อใช้เลี้ยงตัวอ่อนของปลา turbot พบว่าตัวอ่อนของปลา turbot มีอัตราการรอดสูงกว่ากลุ่มควบคุมถึง 6 เท่า

Maeda และ Liao (1992) รายงานว่าเมื่อเติมแบคทีเรียที่แยกได้จากดินจำนวน  $10^7$  เซลล์/มิลลิลิตร ลงในบ่ออนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ พบว่าทำให้มีอัตราการรอดและการลอกคราบดีกว่าชุดควบคุม

Garriques และ Wyban (1993) ทดลองเติมโปรไบโอติกแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้มีขนาดใหญ่และไม่พบแบคทีเรียสะท้อนแสง (*V. harveyi*)

Garriques และ Arevalo (1995) อ้างโดย Bruno *et al.* (2000) คัดเลือก *Vibrio alginolyticus* จากน้ำทะเลเพื่อนำไปใช้ในการเพาะฟักตัวอ่อนของกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) พบว่าไม่มีการตายของกุ้งขาวเมื่อมีการทดสอบโดยวิธี challenge pathogenicity test พบว่ามีอัตราการรอดตายสูงถึง 90.1% กลุ่มที่ได้รับ antimicrobial มีอัตราการรอดตาย 83.8% ส่วนกลุ่มควบคุมมีอัตราการรอดตาย 74.5% ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกันกับการทดลอง Austin *et al.* (1995) และ Garriques และ Arevalo (1995) เสนอว่า *V. alginolyticus* อาจจะมีคุณสมบัติในการป้องกันการก่อโรคในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ



Austin *et al.* (1995) รายงานว่า *V. alginolyticus* ที่แยกได้จากส่วนท้องของกุ้ง เป็นโปรไบโอติกแบคทีเรียที่สามารถลดการก่อโรคที่เกิดจาก *Aeromonas salmonicida*, *V. anguillarum* และ *V. ordalii* ในปลาแซลมอน พบว่ากลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติก มีอัตราการรอดตายเพิ่มขึ้นจาก 10% เป็น 20% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก

Zherdmant *et al.* (1997) รายงานว่าโปรไบโอติกแบคทีเรียที่ความเข้มข้น  $10^3$  CFU / ml สามารถป้องกันการติดเชื้อในกุ้งขาวได้

Maeda (1988) พบว่าการเติม “soil extract” ให้แก่โคอะตอมเพื่อนำไปเพาะเลี้ยง กุ้งกุลาดำเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เติม “soil extract” พบว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มที่ได้รับ “soil extract” มีอัตราการรอดตายสูงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Haryanii และ Tsumura (1998) อ้างโดย กิจการ และคณะ (2544) พบว่าเมื่อใช้ แบคทีเรียสายพันธุ์ BY-9 ที่มีเชื้อเริ่มต้น  $10^6$  CFU / ml เติมลงในถังเลี้ยงกุ้งกุลาดำเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับ BY-9 พบว่าทำให้จำนวนของ *Vibrio* ลดลง และกุ้งมีอัตราการรอดตายถึง 46.11% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่อัตราการรอดตายเพียง 10.57%

Gibson *et al.* (1998) รายงานว่าเมื่อใช้ *Aeromonas media* สายพันธุ์ 199 ซึ่งสามารถผลิตแบคเทอริโอซินได้ จำนวน  $10^4$  cell/ml สามารถป้องกันการตายจากการติดเชื้อ *V. tubiashi* ในหอยนางรม (*Crassostrea gigas*)

Gildberg *et al.* (1998) ศึกษาอัตราการรอดตายและการเจริญของปลาโคดที่ได้รับอาหารที่ได้มีการผสมกับแบคทีเรียแลคติกคือ *Carnobacterium divergens* ที่แยกได้จากเครื่องในปลาโคด สามารถยับยั้งการเจริญของ *V. anguillarum*

Gram *et al.* (1999) บันทึกว่า *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ AH 2 สามารถลดอัตราการตายของปลา rainbow trout ที่ติดเชื้อโดย *V. anguillarum* พบว่ามีอัตราการตาย 32% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีอัตราการตายถึง 47%

Rengpipat *et al.* (1998) พบว่า *Bacillus* S11 สามารถใช้เพื่อป้องกันการเกิดโรคเรืองแสงที่ระบาดในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำซึ่งเกิดจากแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio harveyi* และ Rengpipat *et al.* (2000) ได้ศึกษาการอยู่รอดและการเจริญของกุ้งกุลาดำที่ได้รับ

*Bacillus* S11 เป็นเวลา 90 วันซึ่งช่วยเพิ่มการเจริญและการอยู่รอดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ *Bacillus* S11

ดังนั้นการนำแบคทีเรียแลคติกมาประยุกต์ใช้เป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงสัตว์น้ำจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่ควรให้ความสนใจอย่างแท้จริง ในการศึกษาครั้งนี้มุ่งคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกจากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกเพื่อนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

### วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความแตกต่างของแบคทีเรียแลคติกในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำปกติและเป็นโรคทั้งในเชิงปริมาณและชนิดของแบคทีเรียแลคติก
2. คัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก
3. ศึกษาการเจริญและอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำเมื่อผสมแบคทีเรียแลคติกชนิดต่าง ๆ ที่คัดเลือกได้ลงในอาหารกุ้ง

### ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการแยกเชื้อแบคทีเรียแลกดติกจากระบบทางเดินอาหารของกิ้งกูดาค่า เทียบเคียงชนิดของแบคทีเรียแลกดติก ทดสอบคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกของแบคทีเรียแลกดติกในห้องปฏิบัติการ เช่นความสามารถในการทนต่อกรด ความสามารถในการย่อยโปรตีน ไขมัน แป้ง การเจริญในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคต่าง ๆ รวมถึงศึกษาความสัมพันธ์ของการเจริญของแบคทีเรียแลกดติกและสภาวะที่เหมาะสมในการสร้างสารยับยั้งของแบคทีเรียแลกดติก การหาค่า MIC และ MBC และการนำโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกดติกไปใช้ในการเพาะเลี้ยงกิ้งกูดาค่า

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้คาดว่าจะได้แบบที่เรียลแลกติกที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในฟาร์มเลี้ยงกุ้งของเกษตรกรทั้งในแง่ของการเพิ่มผลผลิตและรายได้แก่เกษตรกรเนื่องจากโปรไบโอติกช่วยส่งเสริมสุขภาพของกุ้งป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ก่อโรคจับกับเชื้อแบคทีเรียได้ลดการเป็นโรค ซึ่งจะช่วยให้ช่วยเพิ่มผลผลิตและรายได้แก่เกษตรกร