

1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

การนำจุลินทรีย์มาช่วยทำความสะอาดบ่อกุ้งและเสริมสร้างให้กุ้งมีความแข็งแรงเป็นแนวทางที่พิจารณาเพื่อป้องกันความล้มเหลวในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีสาเหตุหลักจากการเสียมูลของจุลินทรีย์ในระบบนิเวศน์ และในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำทำให้เกิดภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ ส่งผลให้จุลินทรีย์ที่ก่อโรคสามารถเข้าไปแทนที่และเจริญได้ในระบบดังกล่าว ทำให้รบกวนการดูดซึมอาหารและการย่อยอาหารทำให้กุ้งป่วย การใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เพื่อลดปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้สารเคมีและสารปฏิชีวนะที่ตกค้างและปนเปื้อนอยู่ในน้ำและสิ่งแวดล้อม ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคมีความต้านทานหรือดื้อยาและสารเคมีสูงขึ้น จนไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ (ศิริรัตน์, 2539) นอกจากนี้การสะสมของยาและสารเคมียังเป็นปัญหากระทบ ถึงคุณภาพของสินค้าสัตว์น้ำที่ส่งออกอีกด้วย (สิทธิ, 2541) ดังนั้นเพื่อเป็นการแก้ปัญหาดังกล่าว จึงมีการหันมาใช้วิธีชีวภาพบำบัด โดยอาจจะใช้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์บางชนิดไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค เช่น การใช้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก ซึ่ง Verchuere *et al.* (2000) ได้ให้ความหมายของโปรไบโอติกที่เหมาะสมกับสัตว์น้ำคือกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสัตว์เจ้าเรือน โดยมีความสัมพันธ์กับสัตว์เจ้าเรือนหรือกลุ่มจุลินทรีย์อื่น ๆ เพิ่มประสิทธิภาพอาหาร หรือ กระตุ้นให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงขึ้น และช่วยเสริมให้สัตว์เจ้าเรือนมีความสามารถในการต้านทานโรค และช่วยปรับสภาพสิ่งแวดล้อม ซึ่งจากรายงานการวิจัยจุลินทรีย์ที่ได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงกุ้ง ได้แก่ *Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Streptococcus sp.* และ yeast เป็นต้น (ศิริรัตน์, 2539)

โดยทั่วไปนั้นองค์ประกอบของอาหารและลักษณะการให้อาหารมีผลต่อการเจริญเติบโต การต้านทานโรคและอัตราการรอดของกุ้งเป็นอย่างมาก ยีสต์ได้รับความ

สนใจในการนำมาทำเป็น โปรีไบโอติกและผสมอาหารในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เพราะเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีสมบัติหลายประการที่สามารถนำมาทำเป็นอาหารเสริมได้ดีในการเลี้ยงกุ้งเช่น ยีสต์อุดมไปด้วยวิตามินและกรดอะมิโนหลายชนิดซึ่งทำให้เพิ่มผลผลิตและกำไรให้กับเกษตรกรดังนั้นถ้าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารก็สามารถลดต้นทุนในส่วนนี้ลง ทำให้เราสามารถผลิตกุ้งคุณภาพสูงได้ด้วยต้นทุนต่ำ ทำให้คุณภาพกุ้งไทยสามารถแข่งขันในตลาดโลกได้ (มะลิ, 2531)

มีวิตามินหลายชนิดที่สามารถพบได้มากในยีสต์ เช่น วิตามินบี 2 (Riboflavin) ซึ่งช่วยในการเจริญเติบโตและบำรุงการมองเห็น วิตามินบี 3 (Nicotinamide) มีหน้าที่ช่วยในการย่อยและดูดซึมอาหารซึ่งมีประโยชน์ในกุ้งมากเนื่องจากกุ้งมีลำไส้ตรงและสั้น ดังนั้นถ้ากุ้งสามารถย่อยและดูดซึมอาหารได้เร็ว ก็จะทำให้กุ้งสามารถดูดซึมอาหารไปใช้ได้มาก (มะลิ, 2531) วิตามินบี 6 (Pyridoxine) ช่วยในการเจริญเติบโต และวิตามินบี 7 (Biotin) มีบทบาทในการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ในร่างกาย นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์สามารถผลิต กรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) หลายชนิด เช่น อาจีนิน ไอโซลูซีน ฟีนิวอาลานีน ฮิสทีดีน ไลซีน ลูซีน เมทไธโอนีน ทรีโอนีน ทริพโตเฟน และวาเลอีน (มะลิ, 2531) ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้สามารถช่วยในการเจริญของกุ้งได้โดยตรง นอกจากนี้ยีสต์ยังผลิตกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ อีก และพบว่ากรดอะมิโนบางชนิดจากยีสต์มีกลิ่นรสที่ช่วยดึงดูดให้กุ้งเข้าไปกินอาหารได้มากและเร็วขึ้น ได้แก่ บีเทน กลูตามีน ไลซีน และลูซีน และนอกจากนี้มียางานว่าการผสมเซลล์ยีสต์ในอาหารจะช่วยให้การเก็บกลิ่นของอาหารได้ดี (flavor binding) เช่นพบว่าเซลล์ของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* มีความสำคัญในการเกาะตัวของอาหารกุ้ง (Aguirre – Guzman *et al.*, 2002)

การวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อคัดเลือกยีสต์จากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ ที่มีคุณสมบัติเป็น โปรีไบโอติก หรือ เป็นอาหารเสริม เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ และคาดว่ายีสต์ที่คัดเลือกได้สามารถส่งเสริมสุขภาพของกุ้งสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยป้องกันการเป็นโรค และสามารถทดแทนการใช้สารปฏิชีวนะหรือสารเคมีที่ก่อให้เกิดการตกค้างในกุ้งกุลาดำ และสิ่งแวดล้อม

ตรวจเอกสาร

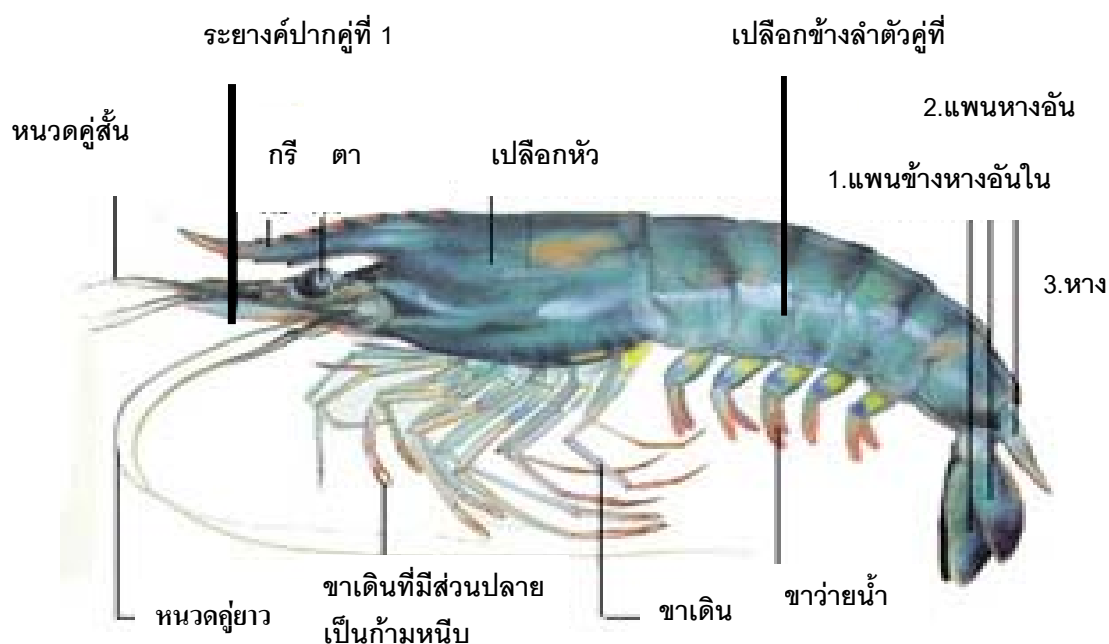
กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) มีชื่อสามัญว่า Black tiger shrimp หรือ Giant tiger prawn หรือ Live grass prawn ชื่อไทยว่า กุ้งกุลาดำ กุ้งกุลากุ้ง กุ้งทะเล กุ้งเสือดำนกกุ้งเสือดำนกกุ้งลาย มีการจัดหมวดหมู่ของกุ้งทางอนุกรมวิธาน (Farfanate และ Kensley, 1997) โดยกุ้งอยู่ใน Phylum Arthropoda Class Crustacea Subclass Malacostraca Order Decapoda Suborder Dendrobranchiae Superfamily Penaeoidea Family Penaeidae

ลักษณะทั่วไป

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งทะเลที่มีขนาดใหญ่ ลำตัวมีลักษณะเป็นข้อปล้อง แต่ละปล้องมีระยางค์หนึ่งคู่ ระยางค์แต่ละคู่มีหน้าที่แตกต่างกัน ลำตัวของกุ้งแบ่งออกได้สามส่วนใหญ่ ๆ คือ หัว อก และลำตัว ส่วนหัวมีห้าปล้องแต่รวมเป็นปล้องเดียว มีเปลือกคลุมเปลือกหุ้มตัวตอนหน้าสุดของปล้องที่หนึ่ง จะยื่นเป็นฟินแหลมไปข้างหน้าเรียกว่า กริไต้กริมิตาหนึ่งคู่ ปากกุ้งอยู่ระหว่างขากรรไกร ส่วนหัวมีระยางค์ห้าคู่ สองคู่แรกเป็นหนวดใช้ในการสัมผัส ระยางค์คู่ที่สามได้แก่ขากรรไกรล่างมีหน้าที่ในการขบเคี้ยวอาหาร ส่วนคู่ที่สี่และคู่ที่ห้าเป็นขากรรไกรบน มีหน้าที่เช่นเดียวกับขากรรไกรล่าง ส่วนอกมีแปดปล้อง ได้แก่ ปล้องที่ 6-13 ระยางค์สามคู่ กรืออยู่บนอกเรียกว่า maxillipods มีหน้าที่ช่วยในการกินอาหาร ระยางค์คู่ที่ 9, 10 และ 11 มีลักษณะเป็นก้าม ก้ามแต่ละคู่จะมีขนาดและความยาวใกล้เคียงกัน อันเป็นลักษณะเฉพาะของกุ้งทะเล ระยางค์คู่ที่สาม มีหน้าที่ช่วยในการจับฉวยอาหารเข้าปาก หรือ ป้องกันตัวเมื่อมีภัย ส่วนระยางค์คู่ที่ 12 และคู่ที่ 13 เป็นขาใช้สำหรับเดิน เคลื่อนไหว และทำความสะอาดลำตัว ลำตัวมีหกปล้อง เปลือกปล้องท้องอันที่สองไม่ทับปล้องแรก ระยางค์คู่ที่ 14, 15, 16, 17 และ 18 มีลักษณะคล้ายใบพาย ใช้สำหรับว่ายน้ำ ส่วนระยางค์คู่ที่ 19 หรือหางประกอบด้วยแพนหางและหางรูปพัดยกขึ้นลงได้ตามประสงค์ (รูปที่ 1) กุ้งมีน้ำหนักปกติ 60-130 กรัม ตัวเต็มวัยมีขนาดยาว 15 – 18 เซนติเมตร โดยมีเวลาในการเติบโต

ทั้งหมด 6 – 7 เดือนและจะมีการลอกคราบทุก ๆ 12 - 21 วัน มีลักษณะสีสันสดใส ผิวเป็นมัน เปลือกหุ้มเกลี้ยง ลำตัวสีแดงอมน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้มมีลายพาดขวางสีขาวสลับดำที่หลังประมาณ 9 ลาย หนวดยาวมีสีเทาปนเขียวหรือน้ำตาลไม่มีลายชัดเจน ส่วนของระยางค์มักจะมีสีน้ำตาลและมีขนอ่อนสีแดงอยู่โดยรอบ ขาเดินมีสีแดงปนดำขาว่ายน้ำมีสีน้ำตาลปนน้ำเงินโคนสีขาว (วัลลพ, 2532)



รูปที่ 1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งกุลาดำ

ระบบการกินและการย่อยอาหาร

กุ้งกุลาดำมีกระเพาะอาหาร ลำไส้สั้นและตรง ปากเป็นแบบกัดแทะ ชอบกินอาหารที่พื้นผิวดิน (Apud *et al.*, 1980 : อ้างโดย เวียง, 2530) ยึดครองพื้นที่ขณะกินอาหาร สัมผัสอาหารโดยใช้เซลล์รับความรู้สึกทางกลื่นจากหนวดและระยางค์มากกว่าการมองเห็น เมื่อพบอาหารจะใช้ขาเดิน 3 คู่แรก คู่ใดคู่หนึ่งหรือร่วมกันจับอาหารแล้ว

ถือแพะอาหารจะถูกเคี้ยวให้ละเอียดต่อไปในปากก่อนจะถูกกลืนเข้าสู่กระบวนการใช้ประโยชน์ในขั้นต่อไป

ในธรรมชาติกิ้งกูดำกินทั้งพืชและสัตว์ ทั้งมีชีวิต ตายและเน่าเปื่อย พฤติกรรมในการกินอาหารและชนิดของอาหารที่กินแตกต่างกันไปตามขนาดของกิ้ง กิ้งวัยอ่อนระยะชูเอีย (การเจริญเติบโตของลูกกิ้งในระยะที่ 2 ถัดมาจากระยะนอเพลิส (ระยะที่ 1 เป็นลูกกิ้งที่ฟักออกจากไข่ใหม่ ๆ) โดยลูกกิ้งจะมีลำตัวยาวขึ้น ส่วนหัวโตเห็นได้ชัด ลูกกิ้งจะค่อย ๆ ลอยตัวขึ้นสู่น้ำ และเริ่มกินอาหาร อาหารของลูกกิ้งในระยะนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกแพลงก์ตอนพืช ขนาดเล็ก ลูกกิ้งจะเริ่มเดินเข้าหาฝั่ง โดยในระยะนี้มีการลอกคราบทั้งหมด 3 ครั้ง) และระยะไมซิส (การเจริญเติบโตของลูกกิ้งระยะที่ 3 พบว่าลูกกิ้งในระยะนี้มีลักษณะคล้ายพ่อแม่มากขึ้น สามารถมองเห็นได้ชัด โดยพบว่าในระยะนี้มีการเปลี่ยนแปลง 3 ระยะ) (<http://encyclopedia.learn.in.th>, 22/05/2548) จะหากินบริเวณล่างลงมาจากผิวน้ำ และกิ้งวัยอ่อนในระยะชูเอียจะกินแพลงก์ตอนพืชและลูกกิ้งวัยอ่อนระยะไมซิสจะกินแพลงก์ตอนสัตว์ ตามลำดับ (Villaluz *et al.*, 1969 : อ้างโดย เวียง, 2530) หรืออาจให้อาหารเสริม หรือทดแทนด้วยพวกยีสต์ขนมปัง ยีสต์ทะเล เต้าหู้อ่อน กากถั่วเหลือง หรือไข่แดงต้ม เป็นต้น (ชิตา, 2521) หลังจากคว่ำตัวแล้ว (ระยะโพสลาวา เป็นระยะที่ 4 หรือระยะตัวอ่อนขั้นสุดท้าย ระยะนี้ลูกกิ้งจะมีระยางค์ครบเหมือนกิ้งเต็มวัย ลูกกิ้งจะวิวัฒนาการไปเรื่อย ๆ จนมีอายุประมาณ 3 – 4 เดือนถึงเข้าสู่กิ้งวัยรุ่น) จะหากินตามพื้นท้องน้ำ กิ้งวัยรุ่นระยะแรกกินทั้งพืชและสัตว์ ระยะหลังเปลี่ยนไปกินสัตว์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่เคลื่อนไหวช้า (Marte, 1980 : อ้างโดย เวียง, 2530) กิ้งโตเต็มวัยกินทั้งสัตว์และพืชแต่ชอบสัตว์มากกว่าพืช โดยอาหารที่กินส่วนใหญ่ประกอบด้วย กิ้ง หอย ปู ปลา และหนอนขนาดเล็ก อาหารขนาดเล็กของกิ้งกูดำ คือ สาหร่าย แบคทีเรีย และหนอนขนาดเล็กทั้งมีชีวิตและตายเน่าเปื่อยตามพื้นบ่อ จากการตรวจปริมาณของ อนินทรีย์คาร์บอนในกระเพาะอาหารของกิ้งกูดำพบว่ามาจากแบคทีเรีย 10 – 20% (เวียง, 2530)

การทำงานของระบบการกินอาหารของกิ้งกูดำ เริ่มต้นจากการที่เครื่องรับสารเคมี (Chemoreceptor) ซึ่งอยู่บริเวณหนวดทำงาน (พบได้ในระยะไมซิสซึ่งเป็น

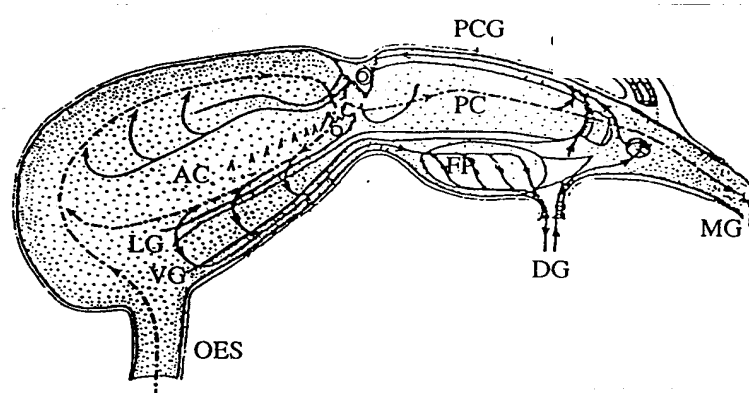
ระยะที่ 3 ของกึ่งกุลาค่า) โดยอวัยวะนี้จะไวต่อกลืนโปรตีนโดยเฉพาะกรดอะมิโนมากที่สุด การใช้วัชวะรับสารเคมีนี้มีความสำคัญยิ่งกว่าการใช้การเห็น การสัมผัส หรือความรู้สึกอื่น ๆ เครื่องรับสารเคมีสำหรับระยะไกลจะอยู่ที่หมวดตรงเส้นฝอยของหมวดเล็กและหมวดใหญ่จากการทดสอบพบว่ามีความไวต่อกรดอะมิโนพวก Taurine มากที่สุด รองลงมา มีสารโปรตีน แป้ง และกรดไขมัน ตามลำดับ ดังนั้นสารที่สกัดจากเนื้อปลาทะเล ปลาหมึก และกุ้ง จะกระตุ้นเครื่องรับสารเคมีได้ดีกว่าสารอื่น ๆ

การกระดิกหมวดเล็ก มักแสดงให้เห็นว่ามีกลิ่นอาหารมากระทบเครื่องรับการกระดิกนั้น เพื่อช่วยเตรียมเครื่องรับและเสริมการทำงานของเซลล์รับสารเคมี ซึ่งพบเซลล์เหล่านี้ได้ตามบริเวณก้ามและส่วนปาก เมื่อมีการสัมผัสสารเคมีจะมีการเคลื่อนไหวและจับอาหารไว้ได้ อาหารจะถูกนำเข้าไปปากโดยกรามจะจับอาหารไว้ และอวัยวะบริเวณปากกับขาจะทำงานร่วมกันเพื่อนำอาหารไปยังช่องปาก

เมื่ออาหารถูกนำเข้าไปปากแล้ว จะผ่านไปยังท่อทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นท่อค่อนข้างตรงแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนหน้า ส่วนกลาง และส่วนท้าย ในส่วนหน้าและส่วนท้ายจะบุด้วยสารไคตินที่ปลอดแคลเซียม และจะลอกหลุดออกพร้อมกับการลอกคราบ หลอดอาหารส่วนหน้าประกอบด้วย ปาก หลอดอาหารส่วนคอและกระเพาะอาหาร ท่อของหลอดอาหารส่วนคอจะสั้นมีผนังหนาโดยนับจากปากไปยังกระเพาะอาหารส่วนต้น มีเยื่อเป็นเซลล์ทรงกระบอก ซึ่งมีไคตินบุอยู่ และมีต่อมเมือกจำนวนมากอยู่บริเวณรอบปากและส่วนต้นของหลอดอาหารคอ ต่อมนี้อาจผลิตเมือกซึ่งเป็น Mucopolysaccharide เพื่อทำหน้าที่หล่อลื่นอาหารให้เคลื่อนเข้าสู่กระเพาะได้สะดวก ตรงบริเวณช่องต่อระหว่างหลอดอาหารกับกระเพาะอาหาร จะมีลักษณะเป็นลิ้นปิดกั้นไม่ให้อาหารไหลย้อนกลับหลังจากเข้าสู่กระเพาะอาหารแล้ว (เวียง, 2530)

กระเพาะอาหารของกุ้ง (รูปที่ 2) แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนต้นและส่วนปลาย กระเพาะอาหารส่วนต้นมีผนังที่มีไคตินหนา และบางส่วนจะมีแคลเซียมเกาะอยู่ กระเพาะอาหาร ส่วนนี้จะทำหน้าที่ในการบดเคี้ยว คลุกเคล้าและแยกส่วนย่อยของอาหารโดยใช้ฟันบดขนาดใหญ่ 3 ซี่ ซึ่งอยู่ด้านบน 1 ซี่ และด้านข้างด้านบนแต่ละข้าง 2 ซี่ กล้ามเนื้อของกระเพาะจะทำหน้าที่ทำให้เกิดแรงการบดเคี้ยวอาหาร ในกุ้งกระเพาะ

อาหารส่วนปลาย ประกอบด้วย ส่วนบนซึ่งมีท่อเดียวต่อไปยังลำไส้ส่วนล่าง กระเพาะอาหารส่วนนี้แบ่งออกเป็นอีก 2 ส่วน แยกไปทางด้านข้างและด้านเฉียงออกนอกของแต่ละข้าง อาจเรียกว่า กระเพาะกรอง ซึ่งจะทำหน้าที่ในการกรองอาหารที่ถูกบดแล้ว ตามขนาดอนุภาคของอาหาร ให้ละเอียดแล้วผ่านไป แล้วนำส่วนที่ไม่ผ่านการกรองกลับมาทำการบดเคี้ยวใหม่อีกครั้งหนึ่ง ส่วนที่ย่อยละเอียดแล้วจะถูกส่งต่อไปยังลำไส้และตับอ่อนต่อไป ท่อทางเดินอาหารนี้มีสภาพเป็นกรด (pH ประมาณ 5.5 – 6)



รูปที่ 2 ลักษณะทางเดินอาหารของกิ้งก่าสกุลฟีเนียส (เส้นประเป็นทางเดินของอาหารแข็ง เส้นทึบเป็นทางเดินอาหารเหลว) ประกอบด้วย anterior chamber (AC), digestive gland opening (DG), filter press (FP), lateral grooves (LG), midgut (MG), oesophagus (OES), posterior chamber (PC), dorsolateral grooves (PCG), ventral grooves (VG)

ที่มา : Mantel (1983)

ตับอ่อน (Hepatopancreas) เป็นอวัยวะคู่มีสีเขียวปนเหลืองอยู่ตรงด้านบนและด้านข้างของกระเพาะอาหารและส่วนต้นของลำไส้ ท่อของตับ-ตับอ่อนจะเปิดเข้าสู่กระเพาะอาหารตรงประมาณรอยต่อของกระเพาะอาหารส่วนปลายกับลำไส้ ตับมีหน้าที่ในการสร้างเอนไซม์ส่งมาคลุกเคล้ากับอาหารในกระเพาะโดยใช้การเคลื่อนไหวบีบตัวของกระเพาะช่วยในการผสมอนุภาคอาหารกับเอนไซม์ เมื่ออาหารย่อยเสร็จแล้วจะ

ถูกส่งกลับมายังตับ-ตับอ่อนเพื่อทำหน้าที่ในการดูดซึมอาหารส่วนใหญ่ บางส่วนจะถูกส่งต่อไปดูดซึมในลำไส้เล็ก ซึ่งเป็นท่อทางเดินอาหาร ส่วนที่ไม่มีไคตินคลุมเซลล์เยื่อบุลำไส้เล็กเป็นเซลล์ทรงกระบอกสูงมีขนเล็ก ผนังจะมีกล้ามเนื้อที่จัดเรียงตัวจนรอบท่อตลอดความยาวของท่อ การบีบตัวเป็นจังหวะของกล้ามเนื้อลำไส้จะช่วยขับอาหารไปสู่ทางเดินอาหารส่วนท้าย

ทางเดินอาหารส่วนท้ายเป็นท่อทางเดินอาหารช่วงสั้นด้านปลาย มีกล้ามเนื้อตามความยาวของท่อ เช่นเดียวกับทางเดินอาหารส่วนกลาง แต่กล้ามเนื้อจะหนากว่า มีต่อมเมือก Tegumental gland ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าต่อมเมือก ซึ่งพบตรงส่วนต้นของหลอดอาหาร คือ มีต่อมนี้มากในช่วงต้น ๆ ของท่ออาหารส่วนปลาย ท่อนี้จะไปสิ้นสุดและเปิดออกตรงทวารหนัก ซึ่งมีช่องเป็นรูปรี่ตามความยาวของตัวกิ้ง ให้อาหารที่ถูกบีบได้มาออกสู่ภายนอกได้จากรูได้หาง ซึ่งมีกล้ามเนื้อบังคับอยู่เพื่อขับกากอาหารที่เหลือออก (นันทริกา, 2540)

นิสัยการกินอาหาร

การทราบถึงนิสัยการกินอาหารของกิ้งกูดาค่าเพื่อจะได้ทราบว่าอาหารที่มีรูปร่างเหมาะสมต่อกิ่งที่จะหยิบขึ้นแทะ และมีกลิ่นรสถูกนิสัยและความต้องการของกิ่ง นิสัยการกินอาหารของกิ่ง (มะลิ, 2531) มีดังนี้ คือ

1. ลักษณะจับกิน คือกิ่งจะใช้ขาเดินคู่ที่ 1 หรือ 2 จับอาหารแล้วถือแทะเพราะปาก เป็นปากแบบกัดแทะ ดังนั้น อาหารจึงต้องมีลักษณะเป็นเม็ดเล็กยาว และไม่แตกตัวง่ายเมื่อจับถือ
2. กินอาหารทุกอย่างแต่ชอบเนื้อสัตว์ กิ่งเป็นสัตว์ที่กินอาหารได้ทุกชนิดทั้งสัตว์และพืช และชอบทางเนื้อสัตว์ที่มีกลิ่นคาวมาก เพราะกิ่งรับความรู้สึกหรือหาอาหารโดยมีประสาทรับความรู้สึกทางกลิ่นที่หนวด บริเวณปาก ที่ขาเดิน ที่หัว เหงือก ลำตัว และแพนหาง ดังนั้น อาหารกิ่งจึงจำเป็นต้องมีสารดึงดูดให้กิ่งวิ่งเข้าหาอาหารเป็นกลุ่มของกรดอะมิโน เช่น ไกลซีน ทูรีน กลูตามีน และบีเทน ซึ่งแตกต่างจากอาหารปลาที่เป็นกรดไขมัน

3. กินอาหารที่อยู่บริเวณหน้าดิน หลังกึ่งคว่ำตัวและมีสภาพเหมือนพ่อแม่แล้ว (กึ่งในระยะโพสลาวา) จะกินอาหารส่วนใหญ่บริเวณผิวหน้าดิน ดังนั้น อาหารที่ให้อาจจำเป็นต้องเป็นอาหารจม

4. กินอาหารเวลากลางคืน โดยธรรมชาติกึ่งเป็นสัตว์ที่กินอาหารเวลากลางคืน เพราะหากินโดยหมวดและระยางค์ แต่กึ่งเลี้ยงเราสามารถฝึกให้กินอาหารในเวลาอื่น ๆ ได้ ดังนั้น เราจึงมักฝึกให้กึ่งกินอาหารวันละ 3 – 4 มื้อ คือ เช้า กลางวัน และเย็น เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุด

5. กึ่งไม่ใช่สัตว์สังคม จะอยู่แยกกัน กินแยกกัน และมีลักษณะยึดครอง ดังนั้น การให้อาหารจึงต้องหว่านให้ทั่วบ่อ กึ่งทุกตัวที่กระจายอยู่กันบ่อจะได้มีโอกาสกินอาหารเท่ากัน

6. มีลำไส้ตรง และสั้น ดังนั้นวัสดุอาหารที่ใช้เลี้ยงกึ่งควรจะบดให้ละเอียดมาก ๆ จะได้ง่าย และดูดซึมไปใช้ได้มาก

7. จะกินมากหลังลอกคราบ ใหม่ ๆ แต่ไม่กินอาหารขณะลอกคราบ

ลักษณะของอาหารกึ่งที่ดี (มะลิ, 2531)

1. กลิ่น รส ดี ดึงดูดให้กึ่งวิ่ง เข้าหยิบอาหารกิน พร้อมทั้งกินเร็วและมากด้วย
2. คุณค่าทางโภชนาการครบสมดุลตามที่กึ่งต้องการเพื่อการเจริญเติบโต และลอกคราบ
3. ความสามารถในการย่อยสูง ประสิทธิภาพสูง
4. ไม่เหม็นหืน และขึ้นรา
5. อาหารจมน้ำเร็ว มีขนาดพอเหมาะกับขนาดกึ่ง และคงทนอยู่ในน้ำได้ 3 ชั่วโมง หรือมากกว่า โดย Lim and Persyn (1989) ได้แนะนำให้ใช้อาหารที่มีขนาดต่าง ๆ ตามขนาดของกึ่งดังนี้ กึ่งที่มีน้ำหนัก (กรัม) 0.5 - 2.0, 2.0 - 5.0, 5.0 - 10.0 ควรมีเส้นผ่าศูนย์กลางของอาหารประมาณ 1 - 2, 2 และ 2 - 3 มิลลิเมตร ตามลำดับ

กระบวนการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ตัวกิ้ง

กระบวนการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมของกิ้งเมื่อมีสิ่งแปลกปลอม เช่น เชื้อแบคทีเรีย ปรสิต และเชื้อไวรัสเข้าสู่ตัวกิ้ง จะเกิดการตอบสนองเป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-specific defense mechanism) ทั้งนี้เนื่องจากกิ้งและสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนมีระบบภูมิคุ้มกันที่แตกต่างจากสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง คือ ไม่มีการสร้างแอนติบอดี (antibody) หรือ CMIR แต่กลไกการป้องกันของกิ้งจะอาศัยเซลล์เม็ดเลือดเป็นหลัก โดยกระบวนการดังกล่าวมีดังนี้

1. การกลืนทำลาย หรือ ฟาโกไซโทซิส (phagocytosis) เป็นกระบวนการที่สำคัญ อย่างหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันเพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อโรคผ่านเข้ามาภายในร่างกาย ภายหลังจากที่เชื้อผ่านผิวหนังชั้นนอกเข้ามาแล้ว โดยทั่วไปพบว่ากิ้งจะมีอัตราการเกิดฟาโกไซโทซิส 1-2% จนถึง 28% (Paterson *et al.*, 1976) กระบวนการฟาโกไซโทซิสมีขั้นตอนต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น ดังนี้ (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2537)

1.1 Adherence คือ การที่สิ่งแปลกปลอมหรือจุลชีพและฟาโกไซต์เข้ามาประชิดกันเป็นขั้นตอนแรกก่อนที่จะสิ่งแปลกปลอมจะถูกกลืนเข้าสู่ไซโตพลาสซึมของเซลล์ฟาโกไซต์และถูกทำลายต่อไป ขั้นตอนนี้อาจเกิดขึ้นได้เอง หรืออาจจะอาศัยความช่วยเหลือของออปโซนิน (opsonin) ซึ่งมีบทบาทต่อฟาโกไซโทซิส โดยทำหน้าที่เชื่อมโยงสิ่งแปลกปลอมหรือจุลชีพกับฟาโกไซต์ ซึ่งฟาโกไซต์ที่มีที่รับสำหรับออปโซนินอยู่บนผิว ทำให้เกิด adherence และ ingestion ต่อไป

1.2 Ingestion เมื่อฟาโกไซต์ได้สัมผัสกับสิ่งแปลกปลอม จะเกิด pseudopod ซึ่งยื่นออกไปเพื่อโอบล้อมสิ่งแปลกปลอม แล้วปลาย pseudopod ทั้งสองข้างที่ยื่นออกไปจะประสานกัน เกิดเป็นถุงที่ภายในมีสิ่งแปลกปลอมอยู่ ถุงนี้เรียกว่า ฟาโกโซม (phagosome)

1.3 Degranulation เมื่อมีฟาโกโซม เกิดขึ้นในไซโตพลาสซึมแล้วไลโซโซม (lysosome) หรือ แกรนูล (granule) ของฟาโกไซต์จะเคลื่อนมาอยู่รอบฟาโกโซม แล้วมีการเชื่อมต่อกันระหว่าง ฟาโกโซม และไลโซโซมเหล่านั้นกลายเป็นฟาโกไลโซโซม (phagolysosome)

1.4 **Intracellular killing** จุลชีพหรือสิ่งแปลกปลอมภายในฟาโกโซม และฟาโกไลโซโซมถูกทำลายโดยกลไก 2 จำพวก คือ oxidative mechanism ซึ่งใช้ออกซิเจน และ non oxidative mechanism ซึ่งไม่ใช้ออกซิเจน

กลไกที่ใช้ออกซิเจน เมื่อเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของฟาโกไซท์ได้สัมผัสกับสิ่งแปลกปลอมหรือจุลชีพ (ในระยะ adherence) จะมีการเปลี่ยนแปลงใน oxidation metabolism ของเซลล์เป็นอย่างมาก การเปลี่ยนแปลงนี้เรียกว่า เรสไปราทอรีเบิร์สต์ (respiratory burst) ซึ่งประกอบไปด้วย การใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น การเพิ่มขึ้นของกลูโคสออกซิเดชัน (glucose oxidation) ซึ่งผ่านทาง Hexose Monophosphate Shunt (HMS) การสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น การสร้างซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และอาจมีความหมายรวมไปถึงการเพิ่มรีดักชัน (reduction) ของเตตราโซเลียม (tetrazolium) และการเกิดปรากฏการณ์ chemiluminescence

Song and Hsieh (1994) รายงานการเกิด respiratory burst ในเซลล์เม็ดเลือดกึ่งกลูคาตา และพบว่า β -glucan มีผลต่อการกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดในการผลิตซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กึ่งกลูคาตาที่ได้รับการฉีดวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อ *Vibrio harveyi* ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 0.25% (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีปริมาณการผลิตซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนเพิ่มขึ้น (สาวิตรี, 2541)

2. **โนดูลฟอร์มเมชัน (nodule formation)** เมื่อมีจุลชีพจำนวนมากเข้าสู่ร่างกาย กระบวนการฟาโกไซโทซิสไม่สามารถที่จะกำจัดจุลชีพนั้นได้หมดดังนั้นจะมีกระบวนการสร้างโนดูล (nodule) ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ที่รวมตัวกันรอบสิ่งแปลกปลอม สามารถพบกระบวนการนี้ได้ในตัวไม่มีกระดูกสันหลังทั่วไป โดยรวมถึงกลุ่มครัสเตเชียนด้วย ผลจากการเกิดโนดูลคือ พวกจุลชีพจะติดอยู่ที่บริเวณผิวชั้นต่าง ๆ ของเม็ดเลือด และต่อมากลุ่มโนดูลนั้นจะเปลี่ยนกลายเป็นสีดำ (melanized) เนื่องจากกระบวนการของเอนไซม์ phenoloxidase ในตัวกึ่งแบคทีเรียจะมีการเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วจากระบบหมุนเวียนโลหิต และบริเวณที่เกิดการรวมตัวของเม็ดเลือดไปยังบริเวณเหงือก หรือบางครั้งไปยังบริเวณท่อตับ (Smith and Ratcliffe, 1980) โดยเชื่อว่าเหงือกและตับจะเป็น

บริเวณหลักที่เชื้อโรคเข้าไปอาศัยอยู่ แต่ก็อาจเกิดขึ้นในบริเวณอื่นด้วยเช่นกัน กิจกรรมและคณะ (2543) ทดลองฉีดเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เข้าสู่กึ่งกลูตาดำ และพบลักษณะของโนคูโลฟอร์เมชัน กระจายอยู่ทั่วไปตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ เช่น ต่อม้ำเหลืองดำ และตับอ่อน หัวใจ เหนือก และกระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมจะมีเซลล์เม็ดเลือดในระบบไหลเวียน และเซลล์จับกินกับที่ (fixed phagocyte) เข้ามาเกี่ยวข้องเป็นหลัก

3. กระบวนการกักล้อม (encapsulation) เมื่อมีสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดใหญ่ เช่น ปรสิตต่าง ๆ บุกรุกเข้ามาในร่างกาย ซึ่งไม่สามารถกำจัดได้ด้วยกระบวนการฟาโกไซโทซิส ร่างกายจะกำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้นด้วยกระบวนการกักล้อม โดยทีอีโมไซท์หลายชนิดจะเข้ามาช่วยกัน

4. ไซโทท็อกซิกซิตี (cytotoxicity) เป็นกลไกการกำจัดสิ่งแปลกปลอมภายในเซลล์โดย T lymphocyte สามารถทำให้เซลล์ในร่างกายที่ติดเชื้อแตกสลายได้ โดยเข้าไปสัมผัสกับเซลล์ติดเชืื่อนั้น มีการศึกษาถึงเซลล์ที่ทำให้เกิดไซโทท็อกซิกซิตีของสัตว์กลุ่มครัสเตเชียนจำนวนไม่มากนัก พบว่า กุ้งน้ำจืดในประเทศออสเตรเลียสามารถทำให้เกิดกระบวนการนี้ได้ (Tyson and Jenkin, 1973 อ้างโดย Soderhall and Cerenius, 1992)

5. กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับเลกติน (lectin) เลกตินเป็นสารจำพวกโปรตีนหรือ glycoprotein ที่มีคุณสมบัติในการจับกับคาร์โบไฮเดรตได้อย่างจำเพาะเจาะจง เลกตินแต่ละชนิดจะมีการจับจำเพาะเจาะจงกับน้ำตาลได้แตกต่างกันออกไปโดยเลกตินมีหน้าที่อย่างน้อย 2 อย่าง คือ ช่วยกำจัดเซลล์ที่ไม่ต้องการในระหว่างกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) และทำหน้าที่ในการป้องกันการติดเชื้อต่าง ๆ (Takahashi *et al.*, 1986) ในสัตว์จำพวกกุ้ง เลกตินอาจเป็นตัวการสำคัญในระบบการรับรู้ถึงการแทรกแซงของสิ่งแปลกปลอม (recognition system) (Ratcliffe *et al.*, 1973 อ้างโดย Soderhall and Cerenius, 1992) เหตุผลสนับสนุนประการแรกคือ เลกตินทำให้จุลชีพเกาะกันเป็นก้อนได้ และประการที่สองสามารถที่จะช่วยเหลือในกระบวนการเชื่อมต่อ

ระหว่างเม็ดเลือดกับสิ่งแปลกปลอมได้ คือ ทำหน้าที่เป็นออปโซนินนั่นเอง การแยก เลกตินบริสุทธิ์ในปัจจุบันสามารถแยกได้จากซีรัมของกิ้งกูดาคำ โดยเลกตินที่แยกได้จาก กิ้งกูดาคำ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า โมโนดิน (monodin) (Jomori *et al.*, 1990)

6. Prophenoloxidase activating system (proPO) เป็นระบบที่ประกอบด้วย โปรตีนหลายชนิด ได้แก่ proteinases, proteinase inhibition และ recognition molecules ซึ่งจะจดจำโครงสร้างของแบคทีเรียและรา หน้าที่ของ proPO activating system คือ การสร้างออปโซนิน (สารที่จัดให้เป็น opsonin ได้แก่ C3b, แอนติบอดีที่จำเพาะต่อจุลชีพ ชนิด IgG และแอนติบอดีชนิด natural IgG) ก่อให้เกิดแคปซูล หรือ โนคูล เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด ช่วยในการทำลายจุลชีพและมีส่วนช่วยในการติดต่อกันระหว่างเซลล์เม็ดเลือด

Prophenoloxidase เป็นเอนไซม์ซึ่งมีหน้าที่สำคัญ ส่งผลให้เกิดกระบวนการ เมลาไนซ์เซชัน (melanization) ซึ่งพบได้บ่อยในปฏิกิริยาการตอบสนองของร่างกายต่อ สิ่งแปลกปลอมหรือพยาธิสภาพต่าง ๆ prophenoloxidase (proPO) จะถูกสร้างในเซลล์ เม็ดเลือด (Aspan *et al.*, 1995 อ้างโดย Soderhall and Cerenius, 1998) ระบบนี้จะถูก กระตุ้นโดย β -1,3-glucan ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของผนังเซลล์ของราและแบคทีเรีย รวมทั้ง พวก microbial polysaccharides ต่าง ๆ เช่น lipopolysaccharide และ peptidoglycan ดังนั้น prophenoloxidase activating system ทำหน้าที่เหมือนเป็นระบบความจำทั้งในการรับรู้และการป้องกันตัว สิ่งที่กำลังเป็นที่น่าสนใจในขณะนี้คือ หน้าที่ของระบบ proPO system ในการติดต่อกันระหว่างเซลล์ในร่างกายสัตว์ (สาวิตรี, 2541)

6.1 ชีวิตเคมีของระบบ proPO system

ในสัตว์จำพวกกิ้งระบบ proPO สามารถที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็น รูปที่ active ได้เลย เมื่อระดับแคลเซียมไอออนในเลือดต่ำโดยปราศจาก microbial polysaccharide มากระตุ้น ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นประโยชน์เมื่อมีการเกิดบาดแผลและเกิดการ แข็งตัวของเลือดขึ้น

6.2 กระบวนการกระตุ้นระบบ proPO

เริ่มต้นโดยการเกิดการกระตุ้นระบบให้อยู่ในรูปแอคทีฟโดย microbial polysaccharide เช่น lipopolysaccharide peptidoglycan และ β -1,3-glucan โดยสารคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้จะกระตุ้นที่ฮีโมลิมป์ (hemolymph) จึงเกิดการเชื่อมต่อกับ β -1,3-glucan และ β -1,3-glucan binding protein เกิดเป็น complex ไปกระตุ้นที่ membrane receptor ของเคมีแกรนูลาร์ เซลล์ ทำให้เกิดการหลั่งสารออกมาหลายชนิด รวมทั้ง proPO ซึ่ง proPO จะออกซิไดส์สารจำพวกฟีนอล (phenol) ให้เป็นควิโนน (quinone) แล้วจึงเกิด polymerization ไปเป็นเมลานิน (melanin) ในที่สุดเมลานินจะทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อโรค นอกจากนี้สารที่หลั่งมาจากเคมีแกรนูลาร์อีกชนิดหนึ่ง คือ pro-adhesion and degranulating factor (pro-ADGF) จะเปลี่ยนเป็น adhesion and degranulating factor (ADGF) ซึ่งจะทำหน้าที่กระตุ้นเคมีแกรนูลาร์ (เป็นกลุ่มเม็ดเลือดที่มีขนาดใหญ่กว่ากลุ่มที่ไม่มีแกรนูล ประกอบด้วย แกรนูลขนาดเล็ก ๆ ภายในไซโทพลาสซึมมี lysosomal enzyme และ prophenoloxidase (PPO) ชักนำให้เกิด recognition) และแกรนูลาร์ (เป็นกลุ่มเม็ดเลือดที่มีแกรนูลขนาดใหญ่) ให้มีการหลั่งสารในระบบ proPO system อย่างต่อเนื่อง

6.3 การควบคุม proPO activating system

Prophenoloxidase ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูป zymogen อยู่ใน vesicles ในเซลล์เม็ดเลือด และ proteinase inhibitors จะควบคุม proPO activating system ตัวอย่างของ proteinase inhibitors ที่พบในกลุ่มอาร์โทพอด ได้แก่ serpins, kazai inhibitor และ macroglobulins รวมทั้ง pacifastin ที่พบใน crayfish (กุ้งก้ามกรามเป็น กุ้งสกุลเดียวกับกุ้งก้ามกราม ลำตัวเรียวยาวจาก หัวไปหาง กริทางด้านหน้าแหลมและหยักเป็น ฟันเลื้อย ความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ขาดินคู่แรกเป็นก้าม หนีบขนาดใหญ่กว่าคู่อื่น ใช้สำหรับจับเหยื่อ และตัวผู้ใช้จับตัวเมียขณะผสมพันธุ์ ฟันผิว ลำตัวสีน้ำตาลอ่อน ก้ามและขาเดินมี ลายสีเหลืองแก่) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 155 KD (Liang *et al.*, 1995 อ้างโดย thornqvist and Soderhall, 1997) จะเป็นตัวยับยั้งการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ

6.4 แอนติไมโครเบียล คอมพาวด์ (antimicrobial compound)

ขั้นตอนสุดท้ายของระบบ proPO system คือการหลั่งเอนไซม์ phenoloxidase โดยเอนไซม์นี้จะออกซิไดส์ สารจำพวกฟีนอลให้เป็นควิโนนซึ่งเป็นรูปแบบหนึ่งของเมลานินที่จะไม่ได้รับการกระตุ้นจากเอนไซม์ใด ๆ อีก เมเลนินและสารตัวกลาง (intermediates) ของมัน เป็นสารประกอบที่เกิดปฏิกิริยาได้ (Soderhall, 1982 อ้างโดย Soderhall and Cerenius, 1992) เช่น ชักนำให้เกิดการป้องกันการเจริญของจุลชีพโดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่หลั่งออกมาจากจุลชีพ เช่น โปรทีเนส และ ไคติเนส (Kuo and Alexander, 1967 อ้างโดย Soderhall and Cerenius, 1992)

7. การแข็งตัวของเลือดและการสมานแผล (Clotting and wound healing)

7.1 การแข็งตัวของเลือด

การแข็งตัวของเลือด นับเป็นระบบการป้องกันตัวที่มีความจำเป็นสำหรับสัตว์กลุ่มครัสเตเชียน เนื่องจากสามารถป้องกันการสูญเสียจากรอยเปิดของบาดแผลที่เปลือก และป้องกันเชื้อโรคต่าง ๆ ไม่ให้แบคทีเรียสามารถผ่านเข้ามาได้ (Martin *et al.*, 1993) กระบวนการแข็งตัวของเลือดกึ่งพอสรุปว่าแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของ plasma clot และส่วนของ clotting protein โดยในส่วนของ plasma clot จะมีสารคล้ายไฟบริโนเจน อยู่ในพลาสมา ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นไฟбрิน และมีทรานส์กลูตามิเนส (transglutaminase) ที่ได้จากไฮยาลินเซลล์ และแคลเซียมไอออนเป็นส่วนสำคัญในการก่อให้เกิดการแข็งตัวของเลือด (Vargas-Albores *et al.*, 1998)

7.2 การสมานแผล

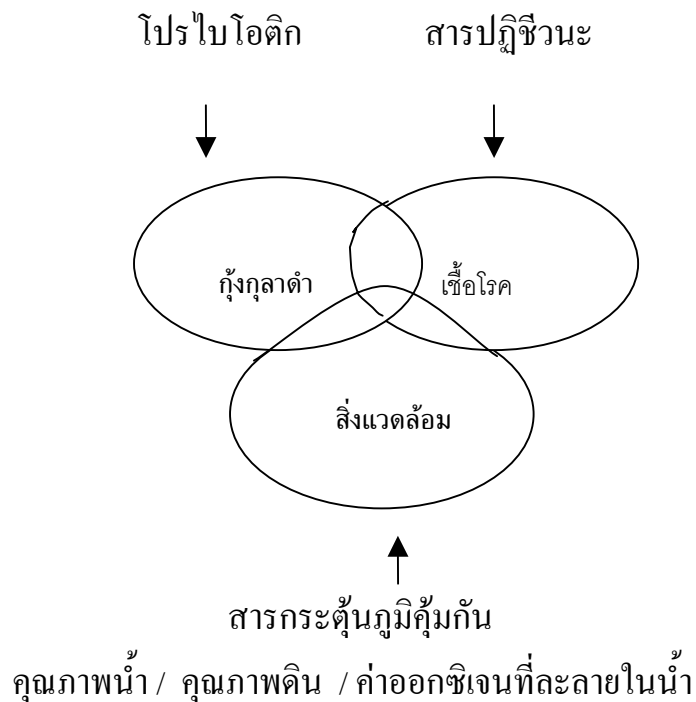
กระบวนการนี้เริ่มจากแกรนูลาร์ ฮีโมไซท์ (granular haemocyte) เป็นเซลล์ที่รับรู้ถึงการถูกทำลายเนื้อเยื่อและมีการหลั่งสารเพื่อกระตุ้นเซลล์ชนิดอื่นให้ทำหน้าที่ในการสมานบาดแผล ระบบการควบคุมและกระบวนการทางชีวเคมียังไม่แน่ชัดนัก แต่มีการชักนำ coagulogen คือ plasma coagulogen หลั่งจาก fat body และ haemocyte coagulogen ที่หลั่งจาก ไฮยาลินและเคมีแกรนูลาร์เซลล์ ในการเพิ่มการปิดบาดแผลมีการขนย้ายไขมัน คือ ไลโปฟอริน โมเลกุล (lipophorine molecule) ซึ่ง

ประกอบด้วยโปรตีนที่สร้างจากไกลโคเปปไทด์ 2 ชนิด และมี lipid moiety ล้อมรอบ (Ghidalia *et al.*, 1981 อ้างโดย Vargas-Albores *et al.*, 1998) การสमानปิดบาดแผลเกิดขึ้นโดยมีการเพิ่มของการหลั่ง proPO อย่างต่อเนื่อง เกิด PO ซึ่งมีส่วนในการสร้างสารเมลานินมาปิดบาดแผล ดังนั้นจะพบเซลล์เม็ดเลือดกลุ่มแกรนูลาร์ในบริเวณที่มีการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุก่อโรคในกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เป็นสินค้าติดอันดับการส่งออกของไทยโดยมีมูลค่าการส่งออกหลายหมื่นล้านบาท แต่พบว่ามีปริมาณลดลงในปี 2539 อย่างชัดเจน เนื่องจากการระบาดของโรคหัวเหลือง โรคตัวแดงดวงขาว โรคเรืองแสง และโรคอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีสาเหตุอื่นที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทย ได้แก่ ความภัยพิบัติทางธรรมชาติ มลพิษจากอุตสาหกรรม และของเสียที่เกิดจากมนุษย์

ความสัมพันธ์ระหว่างกุ้งกุลาดำ สิ่งแวดล้อมในบ่อกุ้ง และเชื้อโรค เป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (รูปที่ 4) ความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นไปในเชิงขนาน คือ ถ้ามีการจัดการคุณภาพน้ำ คุณภาพดิน และออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen) ที่เหมาะสม และไม่มีเชื้อก่อโรคในบ่อกุ้งที่มีปริมาณสูง ทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตและสุขภาพดี ในทางตรงกันข้าม ถ้าการจัดการสิ่งแวดล้อมไม่ดีพอประกอบกับมีเชื้อก่อโรคในปริมาณสูง กุ้งก็จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคสูงและตายในที่สุด วิธีการที่สามารถจะนำมาใช้ในการจัดการแต่ละปัจจัย ได้แก่ การใช้โปรไบโอติกหรือสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อให้กุ้งแข็งแรง การจัดการคุณภาพน้ำ คุณภาพดิน ตลอดจนค่าออกซิเจนละลายน้ำ ให้เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้ง และสำหรับเชื้อที่ก่อโรคนั้นก็อาจยังมีความจำเป็นในการใช้สารปฏิชีวนะหรือสารเคมีในปริมาณพอเหมาะแบบไม่เกินความจำเป็น เพื่อลดปัญหาการคื้อยา หรือการเกิดมลภาวะบนผิวดิน ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการยับยั้งจุลินทรีย์รวมทั้งสิ่งมีชีวิตบริเวณหน้าดิน และในน้ำ (ศิริรัตน์, 2539)



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างกึ่งกุลาดำ สิ่งแวดล้อมในบ่อเลี้ยงกุ้ง และเชื้อโรค และวิธีการที่ใช้ในการจัดการของแต่ละปัจจัย

ที่มา : (ศิริรัตน์, 2539)

โรคติดเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในบ่อเลี้ยงกุ้ง

โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย

1. โรคเสียน้ำ ลักษณะอาการคล้ายเสียน้ำที่มึนแฉงในกล้ามเนื้อในลักษณะต่าง ๆ กัน สาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Vibrio vulnificus* ที่มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติและพบตามปกติในตัวกุ้งจะทำอันตรายต่อกุ้งเมื่อสภาวะแวดล้อมเสื่อมโทรม และกุ้งเกิดบาดแผลขึ้นโดยเชื้อเข้าสู่ตัวกุ้ง และถูกกระบวนการป้องกันตัวกุ้งมาห่อหุ้มไว้ จนเป็นเสียน้ำ
2. โรคเหงือกกร่อน หางเปื่อย ขาเปื่อยดำหรือเปลือกหางเปื่อยดำ เกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* sp. อาการของโรคพบว่าบริเวณที่ติดเชื้อแบคทีเรียจะมีสีน้ำตาลเข้มขึ้นเรื่อย ๆ จนเป็นสีดำ เปลือกกุ้งบริเวณนั้นจะเปื่อยกร่อน เป็นบริเวณกว้างขึ้น ถ้าเป็นระยะค้ำหาง ขา หรือหนวดจะเปื่อย กุดทีละน้อย ถ้าเป็นมากจะตายได้

3. โรคตายเดือน โรคนี้มักเกิดจากสภาพบ่อไม่ดี มีสาหร่ายตามก้นบ่อมากในระยะแรก ๆ ของการเลี้ยงกุ้ง ต่อมาสาหร่ายจะตายและเน่าสลาย หากกุ้งอยู่บริเวณนั้นนาน ๆ โดยเฉพาะหลังการลอกคราบจะทำให้กุ้งติดเชื้อแบคทีเรียได้ เมื่อกุ้งติดเชื้อแบคทีเรียจะทำให้เปลือกเกิดเป็นแผล และแบคทีเรียจะผ่านเข้าไปในกล้ามเนื้อ ต่อมาจะเข้าสู่ระบบเลือด ทำให้กุ้งตายได้

4. โรคเรืองแสง อาการคือ ลูกกุ้งอ่อนแอ ไม่ค่อยว่ายน้ำ ระยะแรก ๆ สัตว์เริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดงแล้วจะขุ่นขาว ถ้าเป็นระยะ Mysis ถ้าตัวจะหักงอ ในกรณีที่กุ้งติดเชื้อมาก ๆ ลูกกุ้งจะจมลงไปอยู่ก้นบ่อ และจะตายภายใน 1 – 2 วัน สาเหตุเกิดจากการติดเชื้อ *Vibrio harveyi* สังเกตดูลูกกุ้งที่ป่วยตายในเวลากลางคืน ขณะที่ปิดไฟฟ้าและทำให้สายตาชินกับความมืด แล้วมองลงไปใบบ่อกุ้งที่มีแสงสว่างจะเห็นจุดสีเขียวเล็ก ๆ ระเบียบระยะบับคล้ายหางหึ่งห้อยลอยขึ้นลงตามการเคลื่อนไหวของลูกกุ้ง เมื่อนำกุ้งที่เรืองแสงมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหาร TCBS จะมีแบคทีเรียที่เรืองแสงสีเขียวขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ (วรรณนิภา, 2539)

โปรไบโอติก (Probiotic)

probiotic ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ค.ศ. 1965 กล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมาและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์ทุกประเภท (ธารารัตน์, 2542)

Parker (1974) ได้ให้คำนิยามไว้ คือ สิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้

Fuller (1989) ให้คำนิยาม คือ อาหารเสริมซึ่งจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ สามารถปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย

Hammes and Hertel (1997) ให้ความหมายของ probiotic คือการเลี้ยงจุลินทรีย์เพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดในสัตว์หรือมนุษย์ แล้วส่งผลให้เกิดประโยชน์ต่อ host

โดยจุลินทรีย์ probiotic จะเข้าไปทำให้จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในระบบลำไส้เกิดความสมดุล

Verchuere *et al.* (2000) ได้ให้ความหมายของคำว่าโปรไบโอติกที่เหมาะสมกับสัตว์น้ำ คือ กลุ่มจุลินทรีย์มีชีวิตที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อเจ้าเรือน โดยมีความสัมพันธ์กับสัตว์เจ้าเรือนหรือกลุ่มจุลินทรีย์อื่น ๆ เพิ่มประสิทธิภาพอาหาร หรือ กระตุ้นให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงขึ้น ช่วยเสริมให้เจ้าเรือนมีความสามารถในการต้านทานโรค และช่วยปรับสภาพสิ่งแวดล้อมรอบ ๆ

โปรไบโอติกที่ดีควรมีลักษณะดังนี้

1. ควรเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสัตว์ที่ได้รับโปรไบโอติก เช่น การเพิ่มการเจริญเติบโตของสัตว์ หรือ ต้านทานการเกิดโรคในสัตว์
2. ไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค
3. เป็นเซลล์ที่มีชีวิต และเพิ่มจำนวนได้มาก
4. สามารถมีชีวิตอยู่รอดและทำงานได้ในกระเพาะอาหาร
5. มีความคงทนและสามารถรอดชีวิตได้ในสภาพการเก็บรักษาและในขณะที่ทำการทดลอง (Fuller, 1989)
6. ควรมีคุณสมบัติที่คงตัวไม่ถูกทำลายได้ง่ายโดยความชื้น
7. ควรจะสามารถผสมผสานกับจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้ว ในระบบทางเดินอาหาร และสามารถออกฤทธิ์ได้ดีในระบบทางเดินอาหารทุกส่วน
8. แบคทีเรียที่เป็นองค์ประกอบของโปรไบโอติก ควรจะมีความสามารถออกฤทธิ์ได้คงที่ไม่เปลี่ยนแปลง (นวลจันทร์, 2533)

ตารางที่ 1 สมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและสารปฏิชีวนะ

โปรไบโอติก	สารปฏิชีวนะ
<p>สมบัติ</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. เป็นสิ่งมีชีวิต 2. ไม่ดูดซึมในทางเดินอาหาร 3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร 4. ไม่มีการหลงเหลือในเนื้อเยื่อ 5. ไม่ก่อให้เกิดเชื้อกลายพันธุ์หรือดื้อยา <p>กลไกการออกฤทธิ์</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อเฉพาะที่ 2. เจริญได้ในทางเดินอาหารและแข่งการเจริญกับเชื้อโรคได้ 	<p>สมบัติ</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. เป็นสารเคมีบริสุทธิ์ 1. ดูดซึมได้ในทางเดินอาหาร 2. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร 3. หลงเหลือได้ในเนื้อเยื่อ 4. อาจทำให้เชื้ออื่นเกิดการกลายพันธุ์และดื้อยา <p>กลไกการออกฤทธิ์</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ทั่วร่างกายและออกฤทธิ์ต่อเชื้อต่าง ๆ ได้มากชนิด 2. ไม่มีการเพิ่มปริมาณ และสูญเสียสภาพได้ง่าย

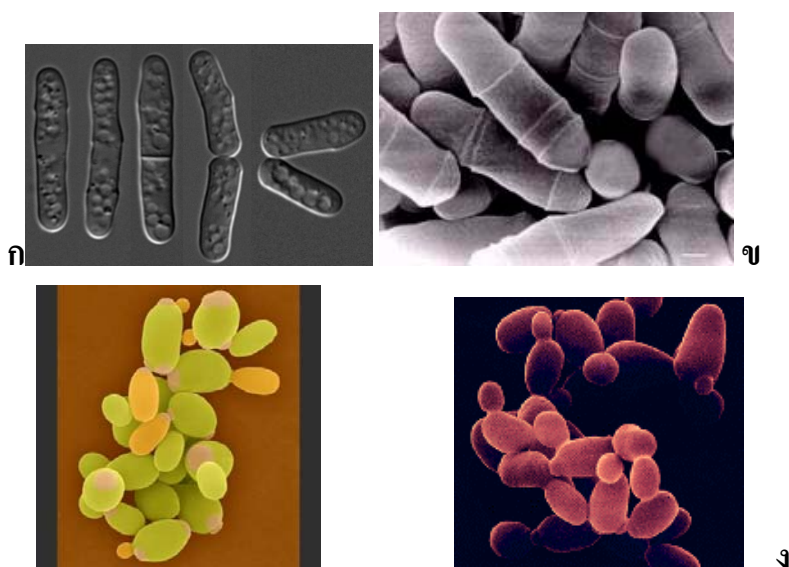
ที่มา : ดัดแปลงจากศิริรัตน์ (2539)

ยีสต์

สัณฐานวิทยาของยีสต์

ยีสต์เป็นรากลุ่มหนึ่งที่ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว (unicellular) มีการเพิ่มจำนวนส่วนมากเกิดโดยการแตกหน่อ (budding) และส่วนน้อยที่เกิดโดยการแบ่งแยกเซลล์ (fission) โดยยีสต์มีรูปร่างหลายแบบ คือ กลม (round) รี (oval) สามเหลี่ยม (triangular) ยาวปลายด้านแหลมหนึ่งด้าน (ogival or boat) รูปร่างแบบมะนาวฝรัง (apiculate) คนโท (flask) ยาว (elongated) และเป็นสาย (filamentous) (สาวิตรี, 2540) ยีสต์โดยทั่วไปมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจนจากเชื้อราอื่นในแง่ของสัณฐานของ

โคโลนี (colony morphology) โคโลนีของยีสต์บนอาหารวุ้นจะมีลักษณะคล้ายแบคทีเรีย แต่มีขนาดโคโลนีที่ใหญ่กว่าและทึบแสงกว่า ขนาดของยีสต์แตกต่างกันตั้งแต่ ความกว้าง 1 – 5 ไมโครเมตร และความยาว 5 – 30 ไมโครเมตร หรือมากกว่า มักมีรูปไข่ บางชนิดมีรูปร่างยาว และบางชนิดเป็นทรงกลม (รูปที่ 3) โดยยีสต์แต่ละชนิดจะมีรูปร่างที่เฉพาะ ยีสต์เป็น heterotroph ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน และแหล่งคาร์บอน มีทั้งพวกที่เป็น saprophy และ parasite



รูปที่ 4 ความแตกต่างของสัณฐานวิทยาของยีสต์

ก การแบ่งตัวแบบ fission ของเชื้อ *Schizosaccharomyces pombe*

ข การแบ่งตัวแบบ fission ของเชื้อ *Schizosaccharomyces pombe*

ค การแบ่งตัวแบบ budding ของเชื้อ *Candida* sp.

ง การแบ่งตัวแบบ budding ของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : ก. <http://www.steve.gb.com/science/model-organisms.html&h>., 22/5/05

ข. <http://radium.weblisher.no/boye/images/yeast.jpg&imgrefurl>., 22/5/05

ค. www.astrographics.com/GalleryPrints/Display/GP2115.jpg&imgrefurl., 22/5/05

ง. www.oligos.molgen.mpg.de/yeast.gif&imgrefurl., 22/5/05

นิเวศน์วิทยาของยีสต์

พบได้โดยทั่วไปในธรรมชาติ และแพร่กระจาย โดยอาศัยแมลงพาไป และโดย กระแสลม เช่น พบอยู่อาศัยในส่วนต่าง ๆ ของพืช ตามผล ลำต้น ใบ แม้กระทั่งยางไม้ พบ ในน้ำทิ้ง น้ำจืด น้ำทะเล ในดิน ชนิดของยีสต์ในดินสัมพันธ์กับแหล่งที่อยู่ของเชื้อ ความสามารถที่จะอยู่รอดในธรรมชาติ องค์ประกอบของดิน อุณหภูมิ แสงแดด ความชื้น และปัจจัยอื่น ๆ นอกจากนี้ยังสามารถพบยีสต์ได้ในดินที่ว่างเปล่าหรือดินที่มีการเพาะปลูก เช่น ป่า สวน พุ่มหญ้าเป็นต้น ยีสต์ส่วนใหญ่เป็นเซโรโทรฟต์ อาศัยอยู่บนสารอินทรีย์ ที่ตายแล้ว บางชนิดเป็นปรสิต อาศัยโฮสต์ที่มีชีวิต เช่น อาจพบอยู่กับแมลง และ ภาวะเพาะของสัตว์บางชนิด เช่น กระจ่าย ซึ่งจากการสำรวจยีสต์สามารถพบ อยู่ในสภาพแวดล้อมทุกชนิด โดยแหล่งที่พบมากที่สุดคือที่ชายฝั่งเนื่องจากมีสารอาหาร สะสมมาก อย่างไรก็ตามก็ยังพบยีสต์ในกลางมหาสมุทรที่มีความลึก 4,000 เมตร ใน ทะเลดำ จำนวนยีสต์มีมากที่ระดับ 1,000 เมตรแรกของระดับน้ำ แต่ยิ่งลึกลงไปจะพบ ยีสต์เพียง 25% ซึ่งอาจเนื่องจากความเข้มข้นของออกซิเจนลดลง และมีความเข้มข้นของ ไฮโดรเจนซัลไฟด์มาก ในทะเลสาบ ออนตาริโอ พบยีสต์ได้ในน้ำและในตะกอนดิน จำนวนยีสต์จะแตกต่างกันไปตามความลึกของน้ำในทะเลสาบ อาจเนื่องจากมีปริมาณสาร อินทรีย์ในโตรเจนและไนเตรตในระดับความลึกของน้ำในปริมาณที่ต่างกัน (นงลักษณ์ และปรีชา, 2544)

การจัดจำแนกยีสต์

การจัดจำแนกยีสต์ในระดับชั้น (class) สามารถแยกออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ ยีสต์ที่มีการสร้างแอสโคสปอร์ (ascosporogenous หรือ ascomycetous yeast) สปอร์เกิด จากการรวมตัวของนิวเคลียส (karyogamy) แล้วแบ่งไมโอซิสภายในแอสกัส ยีสต์ที่มีการสร้างเบสิดิโอสปอร์ (basidiomycetous yeast) สปอร์เกิดจากการรวมตัวกันของ นิวเคลียสแล้วแบ่งไมโอซิสบนเบสิดิเทียม และ ยีสต์ที่ไม่มีการสร้างสปอร์แบบมีเพศ จัด อยู่ในพวกฟังไจอิมเพอร์เฟกไท (Fungi Imperfecti, Deuteromycetes) อนุกรมวิธานของ ยีสต์เริ่มในปี ค.ศ. 1838 เมื่อ Mayers ได้กำหนดชื่อจีนัส *Saccharomyces* จากคำภาษา

กรีกว่า sakehar ซึ่งแปลว่าน้ำตาล และ mykes ซึ่งหมายถึงเชื้อรา โดยหนังสือที่นิยมใช้เป็นคู่มือในการจัดหมวดหมู่และจำแนกประเภทของยีสต์ คือ The Yeast, A Taxonomic Study ซึ่งทำการตีพิมพ์มาแล้วทั้งหมด 4 ฉบับ โดยการตีพิมพ์ครั้งที่ 4 ในปี ค.ศ. 1998 มี Krutzman และ Fell เป็นบรรณาธิการ โดยทำการแบ่งยีสต์ออกเป็น 2 phylum คือ Phylum Ascomycota ยีสต์ในกลุ่มนี้เรียกว่า ascomycetous yeasts ซึ่งแบ่งออกเป็น teleomorphic ascomycetous yeasts และ anamorphic ascomycetous yeasts และ Phylum Basidiomycota หรือที่เรียกว่า basidiomycetous yeasts ซึ่งแบ่งออกเป็น teleomorphic basidiomycetous yeasts และ anamorphic basidiomycetous yeasts โดยมียีสต์ใน 2 Phylum รวม 94 จินัส และ 689 สปีชีส์ (ศศิธร, 2543)

สรีรวิทยาของยีสต์

ในพวกยีสต์พบว่ามีปฏิกิริยาทางสรีรวิทยาแตกต่างกัน เช่นเดียวกับสัณฐานวิทยา และกลไกการสืบพันธุ์ การย่อยสลายน้ำตาล เช่น กลูโคสอาจเกิดในลักษณะไม่ใช้ออกซิเจน (กระบวนการหมัก) หรือแบบใช้ออกซิเจน (การหายใจ) กระบวนการที่เป็นแบบฉบับมากที่สุด คือ การย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน หรือกระบวนการหมัก แอลกอฮอล์ ซึ่งผลผลิตสุดท้ายจะได้เอทิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยีสต์ได้รับไนโตรเจนจากสารอินทรีย์และสารอินทรีย์ในโตรเจน เพื่อนำไปสร้างโปรตีนและยีสต์ส่วนใหญ่สามารถใช้แอมโมเนียมไอออนได้ ความสามารถในการใช้ในเตรตและไนไตรต์และสามารถดึงหมู่อะมิโนออกจากกรดอะมิโน ช่วยแยกความแตกต่างของยีสต์แต่ละสายพันธุ์หรือแต่ละสปีชีส์ได้ และอาจต้องการซัลเฟอร์ซึ่งอาจอยู่ในรูปของซัลเฟต หรือสารอินทรีย์ซัลเฟต เช่น ซีสเทอีน หรือ เมทไอนีน แร่ธาตุอื่น ๆ ที่ยีสต์ต้องการเพื่อการเจริญ ได้แก่ โพแทสเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และแคลเซียม สารที่ต้องการในปริมาณเล็กน้อย (trace element) คือ โบรอน ทองแดง สังกะสี แมงกานีส เหล็ก ไอโอดีน และ โมลิบดีนัม เพื่อให้ยีสต์เจริญเติบโตมากที่สุด นอกจากนี้ยีสต์สามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 0 ถึง 47 องศาเซลเซียส บางชนิดจะไม่เจริญที่

อุณหภูมิสูงกว่า 15 องศาเซลเซียส ในขณะที่บางชนิดจะไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่านี้ อุณหภูมิเหมาะสมสำหรับยีสต์ส่วนใหญ่อยู่ที่ 20 – 30 องศาเซลเซียส

แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria)

ลักษณะทั่วไป

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม หรือรูปท่อน ไม่สร้างเอนไซม์อะคะเลส ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ (Axelsson, 1993) จัดอยู่ใน family *Lactobacillaceae* ซึ่งมี 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ กลุ่ม homofermentative และกลุ่ม heterofermentative โดยกลุ่มแรกสามารถสร้างกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัวชนิดอื่น ๆ ให้ได้กรดแลคติกประมาณ 95% ที่เหลือเป็นกรดอะซิติกและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เล็กน้อยจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ได้แก่ *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Enterococcus* และ *Vagococcus* ส่วนแบคทีเรียกลุ่มหลัง สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว ได้กรดแลคติกประมาณ 50% และได้กรดอะซิติกรวมทั้งเอทานอลประมาณ 20 – 50% ได้แก่ *Leuconostoc*, *Carnobacterium* และ *Lactobacillus* สามารถเจริญได้ในบริเวณที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียแลคติกส่วนใหญ่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophile) บางชนิดเป็นพวกไม่ต้องการอากาศอย่างยิ่ง (strictly anaerobe) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ได้รับพลังงานจากการหมักโดยไม่ใช้ออกซิเจน (Frazier and Westhoff, 1997) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 30-40 °C ช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 5.58-6.20 แต่โดยทั่วไปเจริญได้ที่ $pH \leq 5$ อัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกลาง หรือด่าง (Salminen and Wright, 1993)

Leuconostoc (วิลาวณย์ เจริญจิระตระกูล, 2536)

เซลล์อาจเป็นรูปกลม แต่โดยมากเป็นรูปรี โดยเฉพาะเมื่อเติบโตในอาหารแข็ง การเรียงตัวมักเป็นคู่หรือเป็นสาย เป็นพวกที่สามารถเติบโตได้ทั้งบริเวณที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) เมื่อเติบโตในอาหารแข็งโคโลนีมีขนาดเล็ก

มาก โดยมากเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมักน้อยกว่า 1 มม. มักต้องการกรดอะมิโน และสารเร่งการเจริญเติบโต ทุกชนิดต้องการ nicotinic acid, thiamine, biotin และ pentotinic acid หมักให้น้ำตาลกลูโคสให้ lactic acid, ethanol และ carbondioxide

Leuconostoc dextranicum

เซลล์เป็นรูปกลมหรือรีมีขนาด 0.5 - 0.7 x 0.7 - 1.2 ไมโครเมตร มักเรียงตัวเป็นคู่หรือสายสั้น ๆ สามารถสร้างเมือกเด็กซ์แทรนจากน้ำตาลซูโครสได้เช่นกัน แต่ไม่ดี โดย Leuconostoc dextranicum มักพบในผักผลไม้ นม และผลิตภัณฑ์นม

สาเหตุของการใช้โปรไบโอติกในเชิงอาหารสัตว์

การเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทยในปัจจุบัน ได้มีการพัฒนาเป็นอย่างมาก ทั้งในพันธุ์สัตว์ การจัดการเลี้ยงดู และการให้อาหาร สัตว์ที่เลี้ยงยุคใหม่มักจะได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้มีผลผลิตสูง เช่น มีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีปริมาณเนื้อแดงมาก ไขมันน้อย ฯลฯ จนสัตว์ต่าง ๆ เหล่านี้มีสถานะผิดไปจากธรรมชาติเดิมที่เป็นอยู่ และสิ่งที่ผู้เลี้ยงทุกคนประสบคือ สัตว์เหล่านี้เมื่อให้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น มักจะมีความต้านทานโรค รวมทั้งความแข็งแรงลดลง ความทนทานต่อความเครียดต่าง ๆ (เช่น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ สภาพแวดล้อม การติดเชื้อโรค) ในระดับต่ำ ทำให้สัตว์เป็นโรคได้ง่าย ดังนั้นสัตว์ที่เลี้ยงในสมัยนี้ จึงมักจะต้องผสมยาปฏิชีวนะ หรือสารเคมีสังเคราะห์ในระดับต่ำ สำหรับการควบคุมเชื้อโรคลงไปให้อาหารตลอดเวลา เพื่อช่วยลดความเครียดให้กับสัตว์ แต่การใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีสังเคราะห์ เพื่อจุดประสงค์เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตนั้น อาจก่อให้เกิดผลเสียในระยะยาว ได้หลายประการคือ

1. การใช้ยาปฏิชีวนะชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นระยะยาวในฟาร์ม อาจจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคในฟาร์มนั้นเกิดการดื้อยา ทำให้การรักษาโรคนั้นอาจยากมากขึ้น

2. หากไม่มีการหยุดใช้ยาก่อนส่งสัตว์ออกจำหน่ายเป็นระยะเวลาเพียงพอ จะทำให้มียาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อหรือในผลิตภัณฑ์ของสัตว์ ซึ่งจะถ่ายทอดไปยังผู้บริโภคด้วย และเป็นสาเหตุให้เกิดการกีดกันทางการค้าได้

3. ยาปฏิชีวนะอาจมีผลทำให้เชื้อโรคคน คือ ยาทาตามไปด้วย ในปัจจุบันทำให้นิยมหันมาใช้โปรไบโอติกกันมากขึ้น (อุทัย, 2535) ซึ่งจากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้การใช้โปรไบโอติกเป็นทางเลือกที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน โดยมีการนำจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ต่อการเติบโตของสัตว์มาใช้ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับสัตว์มานานกว่า 50 ปี

ความสำคัญของจุลินทรีย์ที่ให้ประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของกึ่ง

ปกติในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ทุกชนิด มีจุลินทรีย์ในปริมาณหนึ่งซึ่งทำหน้าที่ช่วยย่อยสลายอาหารและเพิ่มการดูดซึมของอาหารได้ดีขึ้น ถ้าจุลินทรีย์นี้เป็นจุลินทรีย์ประเภทที่ให้ประโยชน์แก่ตัวผู้ให้อาศัย (host) จะส่งผลให้ระบบทางเดินอาหารเกิดความสมดุล ผู้ให้อาศัยมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคในทางเดินอาหารลดลง และทำให้มีสุขภาพดี รัตน์ชัย และวิวัฒน์ (2531) และ Yuthachit *et al.*, (1990) ได้ศึกษาชนิดและปริมาณของแบคทีเรียในทางเดินอาหารของกึ่งกุลาดำ และพบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นจำพวกแกรมลบ อย่างไรก็ตาม วรณนิภา (2540) พบแบคทีเรียทั้งกลุ่มแกรมบวกและแกรมลบในทางเดินอาหารของกึ่งกุลาดำ โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวจัดเป็น โปรไบโอติก ซึ่งหมายถึงจุลินทรีย์ที่เสริมในอาหารสัตว์ แล้วมีผลทำให้เกิดสมดุลในระบบทางเดินอาหาร (intestinal balance) ของสัตว์ชนิดนั้น (Fuller, 1989) กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นโปรไบโอติกได้แก่ *Bacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Clostridium butylicum*, *Enterococcus* sp., *Escherichia coli*., *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp., ยีสต์ และจุลินทรีย์ผสม (ศิริรัตน์, 2539) ซึ่งยีสต์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก เช่น *Candida pintolopesii*, *C. saitoana* and *Saccharomyces cerevisiae* (Bovil *et al.*, 2001) *S. boulardii* (Lourens-Hattingh, 2001) นอกจากนี้ยังมีพวกยีสต์ที่มีสีแดงด้วย (Gomez-Gil, 2000) โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นโปรไบโอติกที่ใส่ในบ่อ โดยผสมลงไปในอาหาร

กุ้ง เพื่อช่วยการย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหาร และใส่ลงไปนบ่อเพื่อการย่อยสารอินทรีย์จากอาหารที่เหลือ รวมทั้งของเสียจากการจับถ่ายของกุ้งตามพื้นบ่อ เพื่อลดการเน่าเสียของพื้นบ่อ อย่างไรก็ตาม การเติมจุลินทรีย์ลงในน้ำต้องแน่ใจว่าบ่อนั้นมีปริมาณออกซิเจนบริเวณพื้นบ่อที่เพียงพอต่อการทำงานย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ (กรมประมง, 2545)

มีการนำยีสต์ที่มีคุณสมบัติโปรไบโอติก มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น Tovar – Ramirez *et al.* (2004) ได้นำยีสต์ (*Debaryomyces hansenii* CBS 8339) ไปใช้เลี้ยง sea bass โดยผสมยีสต์ลงไปในการอาหารปริมาณ 0%, 1.1% และ 5.7% โดยทำการเลี้ยงเป็นเวลา 37 วัน โดยพบว่าอัตราการอยู่รอดเพิ่มขึ้น 10% และมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อให้อาหารที่ผสมยีสต์ 1.1% ลงไปในการอาหาร

Lara-flores *et al.* (2003) ได้ศึกษาผลของยีสต์ที่มีคุณสมบัติโปรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตของปลาหมอเทศ โดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 0.1% เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมยีสต์ โดยให้อาหารวันละ 4 ครั้ง เป็นเวลา 9 สัปดาห์ โดยปรากฏว่าอาหารที่ผสมโปรไบโอติกจะให้การเจริญเติบโตที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม โดยพบว่าอาหารที่ผสมยีสต์ 40% ของอาหาร จะให้การเจริญเติบโตและเพิ่มประสิทธิภาพการกินอาหาร

Vazquez-Juarez *et al.* (1993) ได้ทำการคัดเลือกยีสต์ *Rhodotorula rubra*, *R. glutinis* และ *Candida zeylanoides* จากลำไส้ของปลา rainbow trout พันธุ์พื้นเมืองของประเทศแคนาดา และนำกลับไปเลี้ยงปลา rainbow trout ซึ่งพบว่าอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยีสต์

Noh *et al.* (1994) ได้นำยีสต์มาเลี้ยงปู โดยศึกษาใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการผสมกับอาหาร ทำให้น้ำหนักสุทธิมีการเพิ่มขึ้น 10%

Storebakken *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษา astaxanthin จากยีสต์สีแดง (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) โดยศึกษาปริมาณยีสต์ที่ผสมในอาหาร 3 ระดับ คือ 45% 70% และ 97% เปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่ได้ผสมด้วยยีสต์ แล้วนำไปเลี้ยงปลา trout เป็นเวลา 92 วัน โดยมีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 0.8 – 0.9 (เมื่อให้อาหารในอัตรา

ส่วน 0.8 – 0.9 กิโลกรัม ทำให้ได้น้ำหนักของปลาเพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม) ซึ่งทำให้สามารถเพิ่มน้ำหนักของกล้ามเนื้อ จาก 3.7% เป็น 17.4%

นอกจากนี้ พบว่ายังมีการนำยีสต์มาประยุกต์ใช้กับกุ้งด้วย เช่น Nakano *et al.*, 1999 ได้ศึกษายีสต์ที่มีลักษณะสีแดง *Phaffia rhodozyma* โดยผสมในอาหาร 10.87% เปรียบเทียบกับไม่ได้ผสมยีสต์ในอาหารพบว่ามียีสต์เพิ่มน้ำหนักเพิ่มขึ้น 138.7% และ 125.8% ตามลำดับ และอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งต่อวัน มีค่าเท่ากับ 1.56% สำหรับไม่มียีสต์มี 1.35% ตามลำดับ

Pan *et al.* (2003) ได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณของ astaxanthin ในอาหารสำหรับกุ้งกุลาดำ โดยใช้ความเข้มข้น 0 และ 71.5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพื่อดูความต้านทานของกุ้งต่อแอมโมเนียในน้ำ ที่มีความเข้มข้น 0.02, 0.2, 2 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ากุ้งกุลาดำที่ให้อาหารที่ผสม astaxanthin มีอัตราการอยู่รอดสูงกว่ากลุ่มควบคุม

Chien *et al.* (2003) ยังพบว่าเมื่อได้รับอาหารที่ผสม astaxanthin ปริมาณ 0 และ 80 มิลลิกรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยมีประโยชน์ทำให้กุ้งสามารถต้านทานต่อความเค็มที่ระดับความเข้มข้นสูงได้อีกด้วย

พรเลิศ และคณะ (2541) ได้ทดลองใช้ β -glucan ซึ่งเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดหนึ่ง ผสมอาหารให้กุ้งกินในอัตรา 5 และ 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 3 วันติดต่อกันและทำการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อหาปริมาณแอนไซม์ ฟีนอลออกซิเดส ความสามารถในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยการกลืน และความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่า ตลอดระยะเวลาในการให้อาหารผสม β -glucan ในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ไม่มีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่เด่นชัด ในขณะที่กุ้งที่ได้รับ β -glucan ในอัตรา 10 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีปริมาณแอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ความสามารถในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยการกลืน และความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียเพิ่มขึ้นต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากได้รับ β -glucan นานติดต่อกัน 3 วัน

Scholz *et al.* (1999) พบว่า ความสามารถของกุ้งในการกำจัด *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ BPO5 ออกจากเลือดของกุ้ง โดยให้กินอาหารที่ผสมยีสต์สายพันธุ์

S. cerevisiae, *Phaffia rhodozyma* HPPR1 และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับยีสต์ ผลปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

จากการศึกษาข้างต้น ดังที่กล่าวมาจะเห็นได้การนำยีสต์ที่มีประโยชน์มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากยีสต์เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (อุดมไปด้วยวิตามินและกรดอะมิโน) ซึ่งจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต การสร้างภูมิคุ้มกันให้สัตว์น้ำ รวมถึงการเพิ่มอัตราการรอดตายอีกด้วย ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อคัดเลือกยีสต์จากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก หรือ เป็นอาหารเสริม เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำต่อไป

วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกยีสต์จากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ
2. ศึกษาสมบัติเบื้องต้นของการเป็นโปรไบโอติกและการเป็นอาหารของยีสต์
3. ทดสอบผลของยีสต์ที่คัดเลือกได้ต่อการเจริญและการต้านทานโรคของกุ้งกุลาดำในระดับห้องปฏิบัติการ

ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

1. ได้ยีสต์จากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ ที่มีประสิทธิภาพในการเป็นโปรไบโอติกและการเป็นอาหารของกุ้งกุลาดำ
2. สามารถปรับปรุงเพื่อเพิ่มปริมาณยีสต์ที่มีคุณภาพได้ในราคาถูกลง
3. ได้แนวทางในการนำยีสต์ไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในอนาคต
4. เป็นแนวทางในการศึกษาการลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ลดความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งในสิ่งแวดล้อมได้

