การประยุกต์ใช้ *Tetraselmis* sp. เพื่อการเลี้ยงกุ้งในระบบน้ำเขียว และการใช้โปรไบโอติกในอาหารกุ้งสำหรับต่อต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

Application of *Tetraselmis* sp. to Green Water Technique for Shrimp Cultivation and Utilization of Probiotics in Feed on Resistance to *Vibrio parahaemolyticus*

วรรณิษา แสงแก้ว

Wannisa Saengkaew

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Fishery Science and Technology

Prince of Songkla University

2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การประยุกต์ใช้ *Tetraselmis* sp. เพื่อการเลี้ยงกุ้งในระบบน้ำเขียว และการใช้โปรไบโอติกในอาหารกุ้งสำหรับต่อต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

Application of *Tetraselmis* sp. to Green Water Technique for Shrimp Cultivation and Utilization of Probiotics in Feed on Resistance to *Vibrio parahaemolyticus*

วรรณิษา แสงแก้ว

Wannisa Saengkaew

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Fishery Science and Technology
Prince of Songkla University

2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การประยุกต์ใช้ *Tetraselmis* sp. เพื่อการเลี้ยงกุ้งในระบบน้ำเขียว และการใช้โปรไบโอติกในอาหารกุ้งสำหรับต่อต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

ผู้เขียน นางสาววรรณิษา แสงแก้ว

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ดร.นิรัติศัย เพชรสุภา)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภฎา คีรีรัฐนิคม)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นเรศ ช่วนยุก)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)

.....กรรมการ

(ดร.นิรัติศัย เพชรสุภา)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลธี ชีวะเศรษฐธรรม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เฉกิง วงศ์ศิริโชติ)

รักษาการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....
(นางสาววรรณิษา แสงแก้ว)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาววรรณิษา แสงแก้ว)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การประยุกต์ใช้ *Tetraselmis* sp. เพื่อการเลี้ยงกุ้งในระบบน้ำเขียว และการใช้โปรไบโอติกในอาหารกุ้งสำหรับต่อต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

ผู้เขียน นางสาววรรณิษา แสงแก้ว

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง

ปีการศึกษา 2565

บทคัดย่อ

การประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดเล็ก *Tetraselmis* sp. ในระบบน้ำเขียว และการใช้โปรไบโอติกผสมอาหารกุ้งในการเพาะเลี้ยงกุ้งได้ดำเนินการโดยคาดหวังว่าจะสามารถต่อต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่ก่อโรคกุ้งได้ ซึ่งอาจเป็นแนวทางหนึ่งในการป้องกันการสูญเสียผลผลิตกุ้งจากเชื้อดังกล่าวในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้ง โดยการทดลองแบ่งเป็น 3 ส่วน คือส่วนแรกเป็นศึกษาการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. และ แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthesis Bacteria, PSB) ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน ส่วนที่สอง เป็นการศึกษาผลของการให้อาหารผสม โยเกิร์ต และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (PSB) ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. และส่วนสุดท้ายเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ โยเกิร์ต และ PSB ผสมในอาหารกุ้งให้กุ้งกินเพื่อทดสอบการต้านทานเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

ผลส่วนแรกในการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. และ PSB โดยการเพาะเลี้ยง *Tetraselmis* sp. และ PSB ในขวดโหลขนาด 10 ลิตร บริเวณกลางแจ้งเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ โดยใช้นมอินทรีย์ที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานผลิตนม บริษัทแดรี่โฮม จำกัด เป็นอาหารในปริมาณที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดลองเลี้ยง *Tetraselmis* sp. ส่วนการทดลองเลี้ยง PSB มี 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ศึกษาการเจริญเติบโต โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร (OD_{680}) สำหรับ *Tetraselmis* sp. และความยาวคลื่น 970 นาโนเมตร (OD_{970}) สำหรับ PSB ผลการศึกษาพบว่า ในการทดลองเลี้ยง *Tetraselmis* sp. ในวันที่ 3 ของการทดลองที่ระดับอาหาร 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่า OD_{680} สูงสุด คือ

0.094 นาโนเมตร รองลงมาคือที่ระดับอาหาร 1.00, 0.50 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ คือมีค่า OD_{680} เป็น 0.092, 0.078 และ 0.046 นาโนเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ในค่า OD ของสาหร่ายชนิดนี้ที่เลี้ยงในนมอินทรีย์ที่ระดับ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของการเลี้ยง PSB พบว่าในวันที่ 3 ของการทดลอง ที่ระดับอาหาร 40 เปอร์เซ็นต์ PSB มีค่า OD_{970} สูงสุด มีค่าเท่ากับ 0.328 นาโนเมตร รองลงมา คือ 30, 20 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.315, 0.268 และ 0.265 ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ การเจริญเติบโตของ PSB ที่เลี้ยงในอาหารระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ ที่วัดจากค่า OD_{970} มีความแตกต่างกับ PSB ที่อาหารระดับ 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) แต่การเจริญเติบโตของ PSB ที่ระดับอาหาร 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การวิจัยส่วนที่ 2 เป็นการศึกษาผลของการให้อาหารกุ้งผสมโปรไบโอติกคือ โยเกิร์ต (yogurt) และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า กุ้งที่มีการนำ *Tetraselmis* sp. มาประยุกต์ใช้ในระบบร่วมกับการใช้โปรไบโอติก 2 ชนิดที่แตกต่างกันคือ โยเกิร์ต และ PSB ผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และพบว่าการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งในทุกชุดการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) แต่อัตราการรอดตายของกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้งโยเกิร์ตและ PSB มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม โดยชุดที่ได้รับอาหารที่ผสม PSB มีค่าสูงสุด คือ ร้อยละ 95.00 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และได้ทดลองเลี้ยงกุ้งในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. อีกหนึ่งชุดการทดลองเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน การเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายของกุ้งในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

การวิจัยส่วนที่ 3 เป็นการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และกุ้งขาวที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. เพื่อเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของการใช้โปรไบโอติกโยเกิร์ต และ PSB ในการต้านทานเชื้อ *V. parahaemolyticus* โดยการทดสอบการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของกุ้งที่เลี้ยงโดยแช่กุ้งในเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร นาน 2 ชั่วโมง ทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. ในชุดที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้งสองชนิดมีอัตราการรอดตายสูงสุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเทียบกับชุดที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียง

อย่างเดียว (ควบคุม) ส่วนกุ้งที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. ในชุดควบคุมปรากฏว่าเมื่อครบ 36 ชั่วโมงพบอัตราการรอดตายต่ำที่สุดเพียงร้อยละ 13 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก และได้แบ่งกุ้งส่วนหนึ่งจากการเลี้ยงมาวัดค่าสีของกุ้งหลังจากผ่านการต้ม โดยใช้เครื่องวัดสีระบบ CIE L* a* b* (L* ค่าความสว่าง, a* ค่าสีแดง และ b* ค่าสีเหลือง) พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. ด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกมีค่า a* และ b* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (p<0.05) ในส่วนของกุ้งที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่า ค่า a* ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ในกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ สรุปได้ว่า *Tetraselmis* sp. มีผลในการต่อต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของกุ้งขาวเมื่อเลี้ยงกุ้งขาวในระบบที่มีสาหร่ายชนิดนี้ นอกจากนี้โปรไบโอติกทั้งโยเกิร์ต และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ยังให้ผลในการต่อต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของกุ้งขาวเมื่อผสมในอาหารกุ้ง ดังนั้นสรุปได้ว่า ทั้งสาหร่ายขนาดเล็ก *Tetraselmis* sp. และ โปรไบโอติกทั้ง yogurt และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง เมื่อนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกันในการเลี้ยงกุ้งขาวสามารถส่งเสริมให้กุ้งมีภูมิต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เพิ่มโอกาสในการรอดตาย เพิ่มผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงกุ้ง และเพิ่มสีกุ้งให้เข้มขึ้น

Thesis Title Application of *Tetraselmis* sp. to Green Water Technique for Shrimp Cultivation and Utilization of Probiotics in Feed on Resistance to *Vibrio parahaemolyticus*

Author Ms. Wannisa Saengkaew

Major Program Fishery Science and Technology

Academic Year 2022

ABSTRACT

Application of microalgae, *Tetraselmis* sp., in green water system cooperating with utilization of probiotics mixed feed in shrimp culture was performed for the purpose that this may be resistance to *Vibrio parahaemolyticus*, causing the shrimp disease. It may be one of the ways to protect the shrimp production lost from this pathogen in the shrimp culture industry. The experiments were divided into 3 parts, which the first was to study the growth of *Tetraselmis* sp. and photosynthesis bacteria (PSB) at the different concentration levels of organic milk. The second was to study the effect of yogurt and PSB mixed feed for the shrimp culture to grow and survival rate of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in the culture system with and without *Tetraselmis* sp. in the system. The last experiment was to study efficacy of yogurt และ PSB utilization by mixing in the shrimp feed for testing the resistance to *V. parahaemolyticus* in the shrimp culture in the system with and without *Tetraselmis* sp.

The first study on the growth of *Tetraselmis* sp. and PSB by culturing in the outdoor in a 10-liter jar for 1 week using organic waste milk from a dairy factory (Dairy Home Co., Ltd.). In *Tetraselmis sp*. culture, 4 different concentrations of the organic waste milk were set as 0.25, 0.50, 1.00 and 2.00 percent. While in PSB culture, 4 different concentrations of the organic waste milk were set as 10, 20, 30 and 40 percent. The growth was studied by measurement of absorbance (optical density, OD) with Spectrophotometer at 680 nm wavelength (OD_{680}) for *Tetraselmis* sp. and 970

nm wavelength (OD_{970}) for PSB. The result on *Tetraselmis sp*. growth was that on the 3rd day, *Tetraselmis* sp. cultured in 2% organic milk showed the highest optical density (OD_{680}) at 0.094 nm. The second highest ones were cultured in 1.00, 0.50 and 0.25 % organic milk, which the values at OD_{680} were 0.092, 0.078 และ 0.046 nm, respectively. Moreover, there was no statistically difference on the ones which were cultured in 1 and 2 % organic milk ($p>0.05$). In PSB culture, the result was that PSB cultured with 40% organic milk showed the highest OD (OD_{970}), which was 0.328 nm following with PSB cultures with 30, 20 and 10% (0.315, 0.268 and 0.265 nm), respectively. When the result was statistically analyzed at 95% confidence, the growth of PSB cultured with 40% organic milk showed the statistically significant difference with those cultured with 10, 20 and 30% organic milk ($p<0.05$). However, there is no statistically significant difference with those cultured with 10 and 20% organic milk.

The second experiment on introduction of *Tetraselmis* sp. for applying in the Pacific white shrimp culture system cooperating with conducting of probiotics, yogurt and PSB, mixed in feed for the shrimp culture for 5 weeks. The result was that no statistically significant difference in the weight gain, specific growth rate, growth rate per day and feed conversion ratio (FCR) was found in all treatments and the control ($p>0.05$). However, the survival rates of the shrimp cultured with probiotics mixed feed was higher than those in the control. The treatment cultured with PSB mixed feed showed the highest survival rate at 95.00 % which was statistically significant difference compared with the control ($p<0.05$). In the shrimp culture treatments without *Tetraselmis* sp. in the system for 5 weeks, no statistically significant difference in the weight gain, specific growth rate, growth rate per day, FCR and survival rate of the shrimp ($p>0.05$).

The third part of the research was to study the efficacy of the probiotics, yogurt and PSB against *V. parahaemolyticus*. In the shrimp cultured in a system with *Tetraselmis* sp. and those without *Tetraselmis* sp., the resistance against *V. parahaemolyticus* was tested by immersing the shrimp in *V. parahaemolyticus* at a concentration of 1×10^7 CFU/ml for 2 hours and then were cultured for 1 week. The result

was that the shrimp cultured in a system with *Tetraselmis* sp. in the set fed with probiotics showed the significantly difference in the highest survival rates ($p<0.05$) compared with the control. In the shrimp cultured in the system without *Tetraselmis* sp., the lowest survival rate at 36 hours was only 13 %, which was a statistically significant difference ($p<0.05$) compared to those fed with the probiotic supplemented feed. At the end of the experiment, the color of shrimp after boiling was measured using a CIE L* a* b* colorimeter (L* brightness value, a* red value and b* yellow value). The result was that the shrimp raised in the systems containing *Tetraselmis* sp. with probiotic supplemented feed showed significantly different a* and b* values compared to the control ($p<0.05$). In the shrimp cultured in the system without *Tetraselmis* sp., there was not significant difference in the a* values of the shrimp fed both types of probiotics ($p>0.05$). However, there was a statistically significant difference ($p<0.05$) in the shrimp fed with yogurt and PSB supplemented feed compared to the control.

From the results, it can be concluded that *Tetraselmis* sp. is effective against *V. parahaemolyticus* when the white leg shrimp were cultured in the system containing this algae. In addition, the probiotics, both yogurt and photosynthetic bacteria, were effective against *V. parahaemolyticus* when the shrimp were fed with the probiotic supplemented feed. Therefore, both *Tetraselmis* sp. and the probiotics, yogurt and photosynthetic bacteria, were applied together in the white leg shrimp culture can enhance shrimp immunity to *V. parahaemolyticus*, add the survival chance, increase the shrimp productivity and improve the color of the shrimp.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จขึ้นได้ด้วยความกรุณาจากบุคคลหลายๆท่าน ทั้งที่ได้เอ่ยนามและไม่เอ่ยนาม ล้วนมีความช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ชลธี ชีวะเศรษฐธรรม อดีตอาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้คำแนะนำในการศึกษาวิจัย การค้นคว้า สนับสนุนทุก ๆ ด้านเกี่ยวกับการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ระพีพร เรืองช่วย อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้คำแนะนำ และช่วยชี้แนะแนวทางในการแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ ดร.นิรัติศัย เพชรสุภา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ให้คำแนะนำ แก้ไขและตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้อง และสมบูรณ์ ขอขอบคุณ ผศ.ดร.สุภฎา คีรีรัฐนิคม ประธานกรรมการสอบ และผศ.ดร.นเรศ ซ่วนยุก กรรมการสอบ ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์และตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้อง และสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณทุนการศึกษาสาขาความเป็นเลิศการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน (Discipline of Excellence in Sustainable Aquaculture, DOE) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และทุนอุดหนุนวิจัยวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบคุณบุคลากรฝ่ายสนับสนุน แผนกวิทยาการเกษตรและประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนเครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณคณาจารย์ เพื่อนๆ และครอบครัวที่คอยผลักดัน ให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

วรรณิษา แสงแก้ว

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(8)
กิตติกรรมประกาศ	(11)
สารบัญ	(12)
รายการตาราง	(16)
รายการภาพ	(17)
บทที่ 1 บทนำ	1
บทนำเรื่อง	1
วัตถุประสงค์	3
บทที่ 2 บทตรวจเอกสาร	4
2.1 กุ้งขาวแวนนาไม	4
2.1.1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม	4
2.1.2 วงจรชีวิต และการสืบพันธุ์	5
2.1.3 การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม	7
2.1.4 ปัญหาในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม	8
2.1.5 เชื้อกลุ่ม *Vibrio* ที่ก่อให้เกิดโรคในกุ้ง	8
2.2 สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae)	10
2.2.1 *Tetraselmis* sp.	11
2.2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก	12
2.2.3 ความสำคัญของ *Tetraselmis* sp. ในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	14
2.3 โปรไบติก (Probiotic)	15
2.3.1 โปรไบโอติกจากโยเกิร์ต (Yogurt)	15
2.3.2 แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria, PSB)	16
3.3.3 การใช้โปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	18

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	**หน้า**
2.4 นมอินทรีย์ (Organic milk)	19
บทที่ 3 วิธีการศึกษา	20
3.1 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ	20
3.1.1 ศึกษาการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (PSB) ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน	20
3.1.2 ศึกษาผลของการให้อาหารผสมโยเกิร์ต (Yogurt) และ PSB ต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม	
3.1.3 ศึกษาคุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม	21
3.1.4 ศึกษาการต้านทานเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.	21
3.2 วิธีการวิจัย	23
3.2.1 ศึกษาการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (PSB) ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน	23
3.2.2 ศึกษาผลของการให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp.	23
3.2.3 ศึกษาผลของการให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.	25
3.2.4 การตรวจสอบการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม	26
3.2.5 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ	27
3.2.6 การทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. ให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB เพื่อทดสอบการต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (Challenge test) ของกุ้งขาวแวนนาไม	27

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

3.2.7 การทดสอบการต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (Challenge test) ของกุ้งขาวแวนนาไมเลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. 27

3.2.8 การศึกษาการวัดค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไม 29

3.3 การวิเคราะห์ค่าสีทางสถิติ 29

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 30

4.1 ผลการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. และ PSB ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน 30

4.1.1 ผลการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน 30

4.1.2 ผลการเจริญเติบโตของ PSB ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน 32

4.2 ผลของการให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. 33

4.2.1 ผลของการทดลองให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. 33

4.2.2 คุณภาพน้ำของการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. 37

4.2.3 ผลของการทดลองให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. 38

4.2.4 คุณภาพน้ำของการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. 41

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

4.3 ผลของการทดสอบการต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (Challenge test) ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และไม่มี *Tetraselmis* sp. 43

4.4 ผลการศึกษาค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไม 49

4.4.1 ค่าสีของเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และไม่มี *Tetraselmis* sp. 49

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 53

ข้อเสนอแนะ 54

เอกสารอ้างอิง

ภาคผนวก

รายการตาราง

ตาราง **หน้า**

1. คุณค่าทางอาหารของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสกุล *Rhodopseudomonas sphaeroides* 17
2. องค์ประกอบวิตามินในแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *R. sphaeroides* 17
3. องค์ประกอบทางเคมีของนมโคทั่วไป และนมโคอินทรีย์ 19
4. ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และการอยู่รอดของ *Litopenaeus vannamei* (n=90) สำหรับการทดลองโดยให้อาหารผสมโยเกิร์ต ผสม PSB และผสมโยเกิร์ตกับ PSB เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ไม่มีโปรไบโอติก) ในระบบการเลี้ยงที่มี *Tetraselmis s*p. 36
5. พารามิเตอร์คุณภาพน้ำในช่วงระยะเวลาของการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. 38
6. ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และการอยู่รอดของ *Litopenaeus vannamei* (n=90) สำหรับการทดลองโดยให้อาหารผสมโยเกิร์ต ผสม PSB และผสมโยเกิร์ตกับ PSB เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ไม่มีโปรไบโอติก) ในระบบการเลี้ยงที่ไม่มี *Tetraselmis s*p. 40
7. พารามิเตอร์คุณภาพน้ำในช่วงระยะเวลาของการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มีไม่ *Tetraselmis* sp. 42
8. พื้นที่สีของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. ด้วยอาหารผสมโปรไบโอติก เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ไม่มีโปรไบโอติก) หลังจาก 35 วัน ของการให้อาหาร 52

รายการภาพ

ภาพ	หน้า
1. ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม	5
2. วงจรชีวิตกุ้งขาวแวนนาไม	6
3. *Tetraselmis* sp.	12
4. ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของ *Tetraselmis sp.* ที่เพาะเลี้ยงด้วยนมอินทรีย์ที่ระดับแตกต่างกัน ในระยะเวลา 1 สัปดาห์	31
5. ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของ Photosynthetic bacteria ที่เพาะเลี้ยงด้วยนมอินทรีย์ที่ระดับแตกต่างกัน ในระยะเวลา 1 สัปดาห์	32
6. ลักษณะกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis s*p. ทั้ง 4 ชุดการทดลอง ลำตัว และตับมีสีเข้ม	37
7. ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis s*p. ทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีลำตัวสีขาว และตับสีน้ำตาลอ่อน	41
8. อัตราการรอดตายของ *Litopenaeus vannamei* ที่ทดสอบการต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*	46
9. จำนวนโคโลนีสีเขียวของเชื้อ *Vibrio* sp. ในตับ และกระเพาะอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต อาหารผสม PSB และอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	46
10. ลักษณะตับและตับอ่อนของกุ้งขาวแวนนาไมหลังทดสอบการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* โดยวิธีแช่ที่ความเข้มข้นของเชื้อ 10^7 CFU/ml	47
11. ลักษณะตับของกุ้งขาวแวนนาไมที่ปกติมีเม็ดไขมันมากผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10x40	48
12. ลักษณะตับของกุ้งขาวแวนนาไมที่ผิดปกติ ท่อตับคอดกิ่วผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10x40	48
13. ค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต อาหารผสม PSB และอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.	51
14. ลักษณะสีของกุ้งขาวแวนนาไมที่ผ่านการต้มในแต่ละชุดการทดลอง	52

ตัวย่อและสัญลักษณ์

PSB = Photosynthetic bacteria

O.D. = Optical Density

TCBS = Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar

TSB = Trypticase Soy Broth

AHPND= Acute hepatopancreatic necrosis disease

BFT = Biofloc Technology

WHO = World Health Organization (องค์การอนามัยโลก)

FAO = Food and Agriculture Organization of the United Nations (องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ)

บทที่ 1
บทนำ

1.1 บทนำเรื่อง

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นกุ้งที่นิยมเพาะเลี้ยงกันทั่วโลก (Jiang et al., 2019) เป็นสินค้าด้านการประมงที่สร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง (Suwoyo et al., 2014) ปัญหาที่พบมากที่สุดในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาว คือ การเกิดโรค ซึ่งก่อให้เกิดความสูญเสียในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นอย่างมาก (Su et al., 2020) โรคที่พบว่าก่อให้เกิดความเสียหายมากในระบบการเลี้ยงกุ้งโรคหนึ่งคือ Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) เดิมเรียกว่า Early Mortality Syndrome (EMS) ที่เกิดจากเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ทำให้กุ้งตายสูง และรวดเร็วในระยะเริ่มต้นของการเลี้ยงหลังจากปล่อยลงบ่อมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (Yu et al., 2020) ที่ผ่านมาได้มีการแก้ปัญหาโดยการใช้ยาปฏิชีวนะ และสารเคมีเพื่อป้องกันการติดโรคของกุ้ง แต่การรักษาด้วยวิธีเหล่านี้จะส่งผลเสียต่อสัตว์น้ำ และผู้บริโภค รวมทั้งระบบนิเวศ ในขณะเดียวกันมีบางส่วนได้แก้ปัญหาโดยการหันมาใช้วิธีทางชีวภาพกันมากขึ้น เช่น การประยุกต์ใช้สาหร่ายเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์น้ำหรือใช้เลี้ยงร่วมกับสัตว์น้ำ เนื่องจากสาหร่ายบางชนิดมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ และกิจกรรมทางชีวภาพอื่นๆ โดยเฉพาะสาหร่ายขนาดเล็กสกุล *Tetraselmis* sp. ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีการใช้ *Tetraselmis* sp. อย่างแพร่หลายเนื่องจากมีโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และกรดไขมันในปริมาณที่เพียงพอ ยังอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลและเทอร์พีน ในการต้านอนุมูลอิสระ และมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ (Rahman et al., 2017) มีการรายงานว่ากรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิดรวมทั้ง *Tetraselmis* sp. สามารถผลิตสารชีวโมเลกุลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio* (Kuo et al., 2015) ยังช่วยสร้างสีน้ำในระบบการเลี้ยงกุ้ง ทำให้ลดความโปร่งใสของน้ำ เพื่อลดปัญหาการกินกันเอง สามารถสร้างระบบนิเวศในบ่อกุ้งให้เกิดอาหารธรรมชาติสำหรับเป็นอาหารให้แก่ลูกกุ้งในบ่อ และช่วยในการบำบัดของเสียที่เกิดขึ้นภายในบ่อเลี้ยงกุ้ง (สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย, 2550) วิธีทางชีวภาพอีกทางเลือกหนึ่งคือการใช้แบคทีเรียกลุ่มโปรไบโอติก ซึ่งเป็นแนวทางใหม่ในการผลิตกุ้งสามารถช่วยประหยัดต้นทุน เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ลดการเจริญเติบโตของเชื้อโรค และเพิ่มการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ส่งผลดีต่อสุขภาพของกุ้งได้ (Lukwambe et al., 2015) สาหร่ายขนาดเล็ก และโปรไบโอติกแบคทีเรีย เป็นสิ่งที่น่าสนใจเป็นอย่างมากในการนำมาประยุกต์ใช้ในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากเป็นแหล่งผลิตสารธรรมชาติที่มีประโยชน์ และมีความเป็นไปได้ที่จะได้รับความสนใจ ในการรับมือกับการติดโรคของกุ้ง (Cadenas et al., 2014: Kuo et al., 2015) ซึ่งการที่จะให้มีสาหร่ายขนาดเล็ก หรือแบคทีเรีย

สังเคราะห์แสงให้มีปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการนั้นต้องมีการเพาะเลี้ยงให้มีปริมาณมากโดยปกติแล้วอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจะเป็นอาหารสูตร f/2 ที่มีสารเคมีเป็นองค์ประกอบ อาจเกิดการตกค้างได้หากนำมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ ดังนั้นผู้วิจัยได้เห็นความสำคัญของนมโค ซึ่งในนมโคมีองค์ประกอบของไนโตรเจน และฟอสฟอรัส โปรตีน ที่เรียกว่า เคซีน โกลบูลิน อัลบูมิน และมีกรดอะมิโน 19 ชนิด เหมาะแก่การเจริญเติบโตทางชีวภาพ (Marupat, 2020: Swain et al., 2020) ในทางกลับกันคือเป็นการช่วยฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมเนื่องจากปัจจุบันมีโรงงานอุตสาหกรรมนมจำนวนมากเป็นแหล่งที่ก่อให้เกิดของเสียที่หลีกเลี่ยงไม่ได้เนื่องจากมี COD สูงถึง (80-95,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) BOD (40-48,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) (Swain et al., 2020) มีกลิ่น และสีที่ไม่พึงประสงค์ การแก้ไขของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมนมเป็นสิ่งสำคัญ ดังนั้นการนำนมที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานมาใช้ให้เกิดประโยชน์เป็นสิ่งที่น่าสนใจเป็นอย่างมาก การศึกษานี้จึงได้นำนมที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานผลิตนมมาใช้เป็นแหล่งอาหารให้กับ *Tetraselmis* sp. และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria, PSB) อีกทั้งนำมาเสริมอาหารในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในรูปของโยเกิร์ต เพื่อเป็นการเพิ่มเชื้อจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของกุ้ง

ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของการประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดเล็ก *Tetraselmis* sp. และโปรไบโอติก กลุ่มแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และโยเกิร์ต (นมอินทรีย์ที่เติมเชื้อจุลินทรีย์) ที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ก่อให้เกิดโรค AHPND ในกุ้งขาวแวนนาไม เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญที่จะนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สามารถลดการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมี ช่วยเพิ่มโอกาสในการรอดตาย ลดความเสี่ยงในการเกิดโรค และเพิ่มผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงกุ้ง

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. และ แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (PSB) ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการให้อาหารผสม โยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ โยเกิร์ต และ PSB ในการต้านทานเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

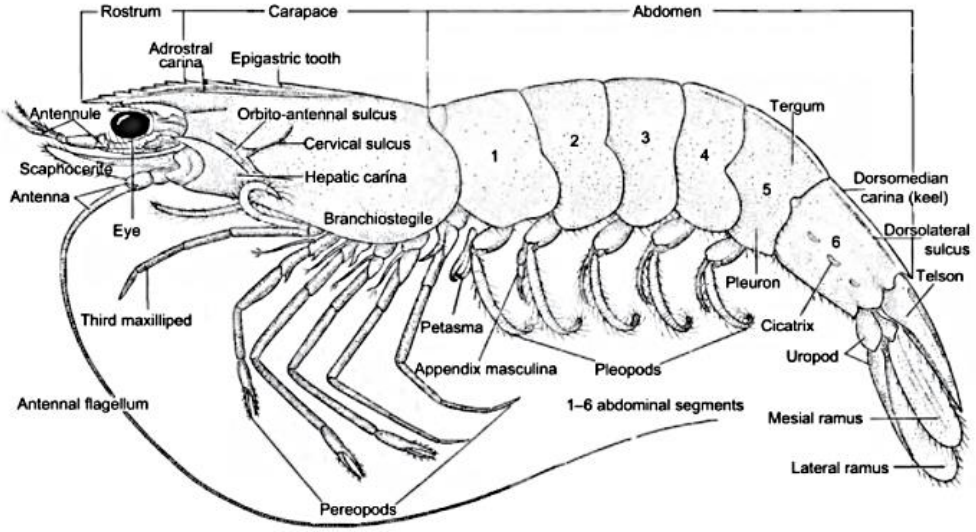
2.1 กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมมีชื่อสามัญว่า White leg shrimp และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* จัดอยู่ในครอบครัว Penaeidae และอยู่ในสกุลย่อย *Litopenaeus* มีถิ่นกำเนิดทางชายฝั่งแปซิฟิกตะวันตกตั้งแต่ตอนใต้ของเม็กซิโกจนถึงเปรูตอนใต้พบมากบริเวณชายฝั่งเอกวาดอร์ (Liao and Chien, 2011) มีการจัดลำดับอนุกรมวิธาน ดังนี้ (Bauer, 1998)

Phylum Arthropoda
Class Crustacea
Subclass Malacostraca
Order Decapoda
Suborder Natantia
Family Penaeidae
Genus *Litopenaeus*
Species *Litopenaeus vannamei*

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม

ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวตัวกุ้งจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนหัว และส่วนท้อง ประกอบด้วย 13 ปล้อง ส่วนหัวมี 5 ปล้อง ส่วนอกจะมี 8 ปล้อง ส่วนท้องมี 6 ปล้อง ส่วนหัวมีเปลือกแข็งปกคลุมเรียกว่า คาราเปส (พิมพ์ชนก, 2566) ส่วนของกรีมีความยาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือกหัว ปลายกรีแคบแต่สันกรีจะสูง กรีด้านบนมี 8 อันด้านล่างมี 2 อัน สามารถมองเห็นร่องบนกรีได้ชัด หนวดของกุ้งขาวแวนนาไมจะมีสีแดง 2 เส้นยาว ตามีสีแดงเข้ม เปลือกตัวมีลักษณะบางสีขาวโปร่งใสอมชมพูถึงแดง ขาว่ายน้ำมีสีขาวส่วนปลายมีสีแดงจำนวน 5 คู่ ส่วนหางมี 1 ปล้อง แพนหางมี 4 ใบ และ 1 กรีหาง ส่วนปลายหางมีสีแดงเข้ม ขนาดของกุ้งขาวแวนนาไมจะมีขนาดที่เล็กกว่ากุ้งกุลาดำ สามารถหากินได้ทุกระดับความลึกของน้ำ มีการลอกคราบทุกสัปดาห์ (กมลศิริ, 2562)



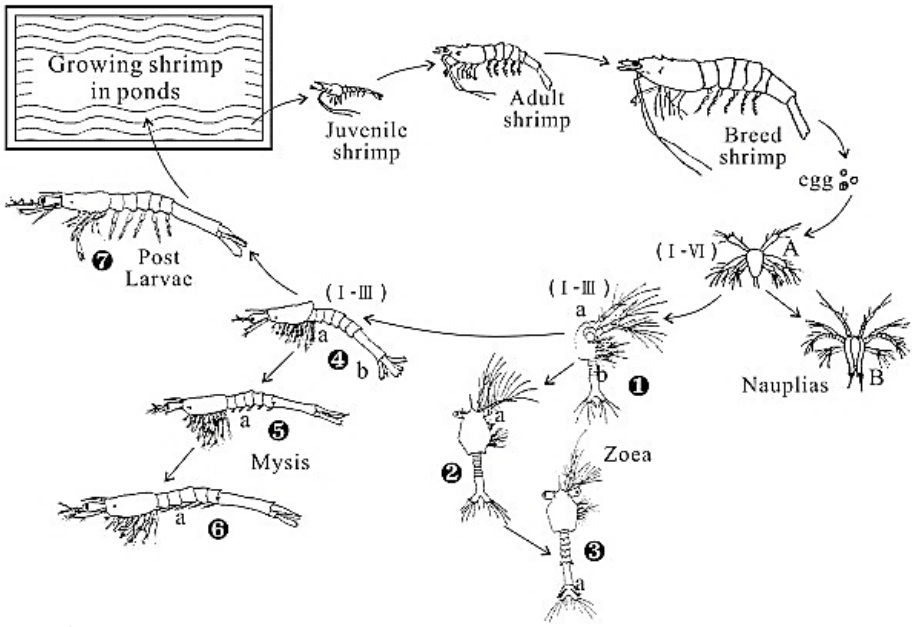
ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาวแวนนาไม

ที่มา: Prangnell et al., (2019)

กุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งทะเลที่เพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก กัวเตมาลา นิคารากัว คอสตาริกา ปานามา โคลัมเบีย อิควาดอร์ เปรู เป็นสายพันธุ์ที่มีความแข็งแรง และทนทานจึงสามารถขยายพันธุ์ได้กว้างไกลตามธรรมชาติในแถบแนวชายฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิก ตั้งแต่เม็กซิโกถึงเปรู เนื่องจากภูมิภาคแถบนี้มีระดับความลึกจากเส้นแนวชายฝั่งลงไปประมาณ 72 เมตร หรือ 235 ฟุต พื้นท้องทะเลเป็นเหมือนโคลนเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม และเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์ ประเทศอิควาดอร์ยังเป็นประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ที่มีฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้ง ลูกกุ้ง และพ่อแม่พันธุ์ (กมลศิริ, 2562)

2.1.2 วงจรชีวิต และการสืบพันธุ์

ในธรรมชาติของกุ้งสายพันธุ์นี้จะมีอายุประมาณ 36 เดือน ในธรรมชาติกุ้งจะวางไข่ที่ระดับความลึกประมาณ 30-60 เมตร ปริมาณไข่จะขึ้นอยู่กับขนาดของแม่พันธุ์ แม่กุ้งขนาด 30-45 กรัม วางไข่ครั้งละประมาณ 100,000 ถึง 250,000 ฟอง ไข่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.22 มิลลิเมตร ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้วมีการแบ่งเซลล์ และพัฒนาไปเป็นตัวอ่อนระยะนอเพลียส (Nauplius) ภายในเวลา 14 ชั่วโมง ตัวอ่อนของกุ้งขาวจะแบ่งออกเป็นระยะต่างๆ คือ ระยะนอเพลียส 6 ระยะ ระยะซูเอีย (Zoea) 3 ระยะ ระยะไมซีส (Mysis) (Munoz et al., 2003) แม่กุ้งจะวางไข่ในตอนกลางคืนจะว่ายน้ำอย่างรวดเร็วอยู่ประมาณ 45-60 วินาที แล้วจึงเริ่มออกไข่ขณะที่ลดความเร็วลงอย่างช้าๆ เนื่องจากลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของกุ้งขาวแวนนาไม นี้จะมีลักษณะเป็นแบบเปิด (Opened thelycum) แตกต่างจากลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบปิด (Closed thelycum) (กมลศิริ, 2562)



ภาพที่ 2 วงจรชีวิตกุ้งขาวแวนนาไม

ที่มา: Genchem biotech (2023)

ระบบสืบพันธุ์ และการผสมพันธุ์ของกุ้งขาวแวนนาไมมีการผสมพันธุ์ในเวลากลางคืนหลังจากตัวเมียลอกคราบ มีการเกี้ยวพาราสี และผสมพันธุ์กันที่ความลึก 10-15 เมตร ถึง 30-50 เมตร ในธรรมชาติแม่กุ้งที่พร้อมจะวางไข่ จะเห็นรังไข่เป็นลำทึบมีสีเขียวเกือบดำบนแถบหลังของลำตัว ตั้งแต่บริเวณหลังจรดหาง และจะเห็นรังไข่แผ่ออกเป็นหยักๆ ตรงบริเวณด้านข้างของลำตัว ตรงปล้องที่ 1-2 โค้งลงมาทางด้านข้างของลำตัวทั้งสองข้าง พฤติกรรมในการผสมพันธุ์แบ่งได้เป็น 3 ระยะ คือ ระยะที่หนึ่ง ตัวเมียจะว่ายน้ำขนานไปกับตัวผู้ ตัวเมียว่ายน้ำสูงกว่าประมาณ 30-40 เซนติเมตร แล้วว่ายน้ำวกกลับมาสลับกลับการหยุดพักที่พื้นเป็นระยะ มีตัวผู้ว่ายไล่ตามหลายตัว แต่มีเพียงตัวเดียวที่สามารถว่ายน้ำเข้ามาขนานซ้อนอยู่ด้านล่างของตัวเมียพอดี ตัวเมีย ใช้ขาเดิน โอบรัดที่ส่วนหัว (Carapace) ของตัวผู้ ใช้เวลาประมาณ 15-20 นาที ถ้ายังจัดตำแหน่งไม่เหมาะสมหรือมีการหยุดพักนาน อาจใช้เวลานานมากกว่าหนึ่งชั่วโมง ระยะที่สองตัวผู้จะพลิกตัว หงายขึ้นมาติดตัวเมีย พอทั้งคู่ประกบกันได้ตัวผู้จะแนบส่วนของอกกับท้องเข้ากับส่วนอกด้านล่างของตัวเมีย จังหวะนี้จะทำให้ตัวผู้ตัวอื่นหมดโอกาสในการเข้าทำการผสมพันธุ์กับตัวเมีย แต่ถ้าในระยะนี้ตัวผู้ยังเข้าทำได้ไม่สำเร็จ ตัวผู้จะกลับมาอยู่ในท่าคว่ำ แล้วจะพยายามว่ายน้ำขนานกับตัวเมียเพื่อสร้างโอกาสใหม่อีกครั้ง และระยะที่สามตัวผู้จะทำตัวเกือบตั้งฉากกับตัวเมีย หลังจากจังหวะที่ประกบตัวได้แล้ว ตัวผู้จะใช้ขาเดินคู่ที่ 5 เขี่ยอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (Petasma) มีลักษณะคล้ายตะขออยู่ที่ขาว่ายน้ำ คู่ที่ 1 เป็นอวัยวะที่ช่วยในการปล่อยน้ำเชื้อโดยจับ Petasma เข้าไปที่ Thelycum ของตัวเมีย อยู่ตรงกลางระหว่างขาว่ายน้ำคู่ที่ 1 กับขาเดินคู่ที่ 5 ซึ่งเป็นอวัยวะที่มีไว้สำหรับเก็บน้ำเชื้อของกุ้งตัวผู้ ภายหลังการเกาะติดแน่นมาก

เหมือนทากาว ตัวผู้จะโค้งรอบตัวเมีย แล้วกระตุกหัวและหางเป็นจังหวะอย่างต่อเนื่องเพื่อบีบให้น้ำเชื้อออกมา ตัวเมียจะเก็บน้ำเชื้อเข้าไปแล้วปล่อยไข่เลย ซึ่งในกุ้งขาวไข่ของตัวเมียจะอยู่ข้างใน ส่วนของน้ำเชื้อที่เข้าไปจะอยู่ด้านนอก ซึ่งปากรูของ Thelycum ต้องเปิดก่อนถึงจะเก็บน้ำเชื้อที่ได้รับมาทำให้ปริมาณของเชื้อตัวผู้ที่เข้าปฏิสนธิกับไข่เป็นไปอย่างไม่สมบูรณ์ ทำให้มีโอกาสในการได้ไข่ที่ได้รับการผสมแล้วเจริญต่อไปเป็นตัวอ่อนน้อยกว่ากรณีของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย หลังจากนั้นจึงค่อยแยกตัวออกจากกันแล้วว่ายน้ำออกไปในเวลา 2-3 วินาที ซึ่งใช้เวลารวมทั้งสิ้นในการผสมพันธุ์ทั้งหมดประมาณ 1-3 ชั่วโมง แม่กุ้งทำการปล่อยไข่ออกทางช่องเปิดบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 ประมาณ 45-60 วินาที การวางไข่นี้จะใช้เวลา 3-5 นาที จะสามารถสังเกตเห็นคราบไขมันลอยอยู่บริเวณใกล้เคียง หรือติดกับขอบบ่อที่ทำการเพาะฟัก (กมลศิริ, 2562) ปกติแม่กุ้งขนาด 60-120 กิโลกรัม จะวางไข่ประมาณ 150,000-250,000 ฟอง ไข่กุ้งจะฟักเป็นตัวจากนั้นจะเริ่มมีการพัฒนาตัวอ่อนโดยการลอกคราบ ระยะที่ 1 เป็นระยะนอเพลียส (Nauplius) คือนอเพลียส 1 และนอเพลียส 2 ไม่กินอาหารเนื่องจากมีถุงรังไข่ (Yolk sac) จากนั้นเริ่มพัฒนาเป็นระยะ ซูเอีย (Zoea) มีทั้งหมด 3 ระยะ คือ ซูเอีย 1 ซูเอีย 2 และซูเอีย 3 เริ่มกินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร เริ่มเข้าสู่ระยะไมซิส (Mysis) มีทั้งหมด 3 ระยะ คือ ไมซิส 1 ไมซิส 2 และไมซิส 3 จะเริ่มกินแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น อาร์ทีเมียระยะ Early nauplii จากนั้นจะพัฒนาเข้าสู่ระยะโพสลาวา (Post larva) โดยระยะโพสลาว่า 1- 11 ให้อาร์ทีเมียเป็นอาหาร จากนั้นค่อยเริ่มให้อาหารสำเร็จรูป กุ้งขาวจะเข้าสู่ระยะวัยรุ่น (Juvenile) แล้วเข้าสู่ตัวเต็มวัย (Adult) (แสดงดังภาพที่ 2)

2.1.3 การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมสามารถเลี้ยงได้ทั้งระบบธรรมชาติ และระบบกึ่งหนาแน่น กุ้งสายพันธุ์นี้จะมีลักษณะพิเศษคือ สามารถปรับลักษณะนิสัยภายใต้ระบบการเพาะเลี้ยงได้ เช่น สามารถเพาะเลี้ยงได้ตั้งแต่น้ำที่มีระดับความเค็ม 5 - 35 ส่วนในพันส่วน และระดับความเค็มต่ำ 0-5 ส่วนในพันส่วน แต่ระดับความเค็มที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีคือ 10-22 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีคือ 26-29 องศาเซลเซียส แต่สามารถเพาะเลี้ยงได้ที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ระดับออกซิเจนที่ละลายในน้ำควรมีค่า 4-9 มิลลิกรัมต่อลิตร และสำหรับค่าความเป็นกรด และด่างควรอยู่ระหว่าง 7.2-8.6 สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในบริเวณพื้นที่ชายฝั่ง หรือบริเวณพื้นที่ที่มีความเค็มต่ำ กุ้งชนิดนี้ชอบน้ำที่มีความกระด้างรวม 120 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าอัลคาไลน์ในช่วง 80-150 มิลลิกรัมต่อลิตร มีนิสัยที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง เป็นสัตว์ที่ตื่นตกใจง่าย (ชลอ, 2545)

2.1.4 ปัญหาในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

รูปแบบการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบระบบถ่ายน้ำ และเติมน้ำใหม่กลับเข้ามาซึ่งน้ำที่ถ่ายออกมาเป็นน้ำที่มีธาตุอาหารสูง และอาจมีก๊าซพิษบางชนิดปนอยู่ด้วย จะส่งผลต่อสภาพแวดล้อม ทำให้น้ำที่สูบกลับเข้ามามีคุณภาพไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และก่อให้เกิดปัญหาในการเลี้ยงกุ้งทะเลคือ พื้นเกิดการสะสมของอินทรีย์วัตถุต่างๆ ในตะกอนเลน แล้วมีกระบวนการย่อยสลายโดยแบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic) ทำให้มีการสะสมของก๊าซไข่เน่า ทำให้พื้นบ่อเสีย ปัญหานี้เกิดได้จากหลายสาเหตุในด้านการจัดการ เช่น การเตรียมบ่อก่อนการเลี้ยงไม่ดี การให้อาหารมากเกินความต้องการของกุ้ง ระบบการให้อากาศในบ่อกุ้งมีประสิทธิภาพไม่เพียงพอทำให้น้ำมีออกซิเจนต่ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่บริเวณพื้นบ่อเป็นผลให้กุ้งที่เลี้ยงอ่อนแอ ป่วย และตายในที่สุด (ปกป้อง และคณะ, 2556) อย่างไรก็ตาม การระบาดของโรคที่เกิดขึ้นในกุ้งที่เพาะเลี้ยง โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากไวรัส และแบคทีเรีย สิ่งเหล่านี้ส่งผลให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งในเชื้อ *Vibrio* sp.ที่มีอยู่ในกุ้ง และในน้ำเลี้ยงกุ้ง บางชนิดเป็นเชื้อฉวยโอกาสเมื่อสภาพแวดล้อมของฟาร์มเสียหายอย่างรุนแรงอาจทำให้เชื้อ *Vibrio* เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วก่อให้กุ้งตายเป็นจำนวนมาก (Xiao et al., 2016)

2.1.5 เชื้อกลุ่ม *Vibrio* ที่ก่อให้เกิดโรคในกุ้ง

2.1.5.1 *Vibrio parahaemolyticus*

เชื้อ *V. parahaemolyticus* เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค Early Mortality Syndrome (EMS) พบเชื้อนี้ได้มากในกระเพาะอาหาร ระบบทางเดินอาหาร เชื้อมีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว เมื่อมีปัจจัยแวดล้อมมาสนับสนุน ไม่ว่าจะเป็น pH ที่สูง ความเค็มสูง อุณหภูมิที่สูง การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมฉับพลัน เช่น การแกว่งของ pH ในรอบวันสูง การตายของแพลงก์ตอนปริมาณมากอย่างรวดเร็ว ทำให้กุ้งเกิดความเครียด ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันของกุ้งลดลง จากการตายของแพลงก์ตอนหรือการหายใจของสิ่งมีชีวิตในบ่อ การย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในบ่อ ทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลง จึงมีผลทำให้การต้านทานเชื้อของกุ้งลดลงตามไปด้วย (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, 2557) กุ้งสามารถติดเชื้อ *Vibrio* ในทุกช่วงชีวิต และส่งผลให้กุ้งตายได้มากที่สุดถึง 100% (Ge et al., 2017)

- ลักษณะทั่วไป

ลักษณะทั่วไป *V. parahaemolyticus* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ อยู่ในวงศ์ Vibrionaceae ไม่สร้างสปอร์ รูปร่างเป็นแท่งขนาดกว้าง 0.5-0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.4-2.4 ไมโครเมตร มีการสร้างเอนไซม์ออกซิเดส สามารถเคลื่อนไหวด้วยฟลาเจลลา อาศัยอยู่ในน้ำกร่อยและน้ำทะเล พบได้ทั่วไปในสัตว์ทะเลหลายชนิด เช่น หอยนางรม หอยแครง โดยเฉพาะกุ้งขาวแวนนาไม เป็นแหล่งสะสมเชื้อที่สำคัญที่อาจนำไปสู่การเจ็บป่วยของผู้ที่บริโภค เชื้อสามารถมีชีวิตอยู่ในน้ำที่มี

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ตั้งแต่ 1-8 เปอร์เซ็นต์ ถ้ามากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ เชื้อจะตาย สามารถอยู่ได้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น ในเนื้อปู 1-15 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน กุ้งลอกคราบ 3-18 องศาเซลเซียส นาน 6 วัน หอยนางรมแช่แข็งนาน 40-130 วัน เชื้อสามารถถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, 2557) เชื้อ *V. parahaemolyticus* จะฉวยโอกาสในขณะที่สัตว์น้ำอยู่ในสภาวะเครียดหรือภูมิคุ้มกันลดลง โดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างหนาแน่นหรือเลี้ยงในที่กักขัง รวมถึงการสะสมของเสียพวกสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ที่ก้นบ่อก็เป็นสาเหตุเพิ่มโอกาสให้เชื้อแบคทีเรีย (ภัทราวดี และคณะ, 2560)

- อาการ

เมื่อกุ้งติดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ส่วนใหญ่กุ้งจะมี ลักษณะเปลือกนิ่ม ตับ และตับอ่อน ฝ่อ ลีบ บางครั้งมีสีซีดขาว หรือเหลืองอ่อน อาจพบจุดดำหรือรอยขีด เมื่อบี้ตับ และตับอ่อนด้วยนิ้วมือจะรู้สึกค่อนข้างเหนียว และแข็งกว่าปกติ อาหารไม่เต็มลำไส้ขาดเป็นช่วงๆ และพบการตายของกุ้งจำนวนมากบริเวณพื้นก้นบ่อ (ชัยวุฒิ, 2560)

- แนวทางการแก้ไข

ควรเลือกใช้พ่อแม่พันธุ์กุ้งที่ปลอดเชื้อ โดยมีการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อในพ่อแม่พันธุ์ และในระบบโรงเพาะฟัก (ตรวจเชื้อได้จากขี้กุ้ง) จนถึงโรงอนุบาล ด้วยเทคนิค PCR กรณีที่พบการปนเปื้อนเชื้อในพ่อแม่พันธุ์ทำการฆ่าเชื้อในน้ำ และในระบบกำจัดเชื้อในพ่อแม่พันธุ์โดยใช้ยาหรือสารเคมีที่ได้รับการอนุญาตหรือการใช้โปรไบโอติกเพื่อควบคุมเชื้อก่อโรค โดยทำการเสริมโปรไบโอติกในอาหารลูกกุ้งเพื่อควบคุมเชื้อก่อโรค ทำการควบคุมบำบัดสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงให้ย่อยสลายสมบูรณ์ โดยการเติมปูนขาวเพื่อปรับสภาพ pH ดินให้เหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่จะใช้บำบัด เช่น ปม.1 pH ประมาณ 7-8 มีการสร้างอาหารธรรมชาติ เพื่อควบคุมเชื้อก่อโรค ในช่วงฤดูร้อนน้ำจะมีอุณหภูมิสูงเชื้อจะมีความรุนแรงขึ้นให้ใช้โปรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพควบคุมอย่างต่อเนื่องควบคู่กับการจัดการบำบัดสารอินทรีย์ในบ่อ และควบคุมคุณภาพน้ำให้คงที่และไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* และสร้างสมดุลของจุลินทรีย์ภายในบ่อ (ชัยวุฒิ, 2560)

2.1.5.2 *Vibrio harveyi*

- ลักษณะทั่วไป

เชื้อ *V. harveyi* ก่อให้เกิดโรคเรืองแสง เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยฟลาเจลลา เป็นเชื้อที่ต้องการสารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงาน สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะมีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน สามารถให้แสงสีเขียวแกมเหลืองออกมา โดยเกิดปฏิกิริยาทางเคมีจากเอนไซม์ลูซิเฟอเรส (Luciferase) ที่ทำให้เรืองแสงได้ในที่มืด เชื้อนี้จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในน้ำที่มีความเค็มระหว่าง 10-40 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิน้ำสูงประมาณ 25-35 องศาเซลเซียส และมีค่าพีเอชน้ำที่เชื้อนี้

เจริญเติบโตดีคือ 7-9 การเกิดโรคเรืองแสงของกุ้งในบ่อเลี้ยงพบได้ตั้งแต่ปล่อยลูกกุ้งในบ่อ 2 สัปดาห์จนถึง กุ้งใหญ่ขึ้นกับการจัดการบ่อ และสภาพของพื้นบ่อ แต่จะพบได้มากในกุ้งมีอายุประมาณ 30-60 วัน (สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เขต 6 สงขลา, 2562)

- อาการ

กุ้งที่มีอาการป่วยจากการติดเชื้อจะขึ้นมาเกยตามขอบบ่อ หรือว่ายอยู่ที่ผิวน้ำซึ่งจะเห็นการเรืองแสงที่ส่วนหัวได้อย่างชัดเจนในเวลากลางคืน เมื่อนำกุ้งป่วยมาตรวจสอบโดยนำส่วนของตับ และตับอ่อนหรือนำเลือดกุ้งมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบแบคทีเรียท่อนสั้นเคลื่อนที่ได้เป็นจำนวนมาก และเมื่อเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS agar) จะได้โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียเป็นชนิดสีเขียวเมื่อตรวจสอบทางเนื้อเยื่อในกุ้งป่วยพบว่า ส่วนตับ และตับอ่อนนั้นถูกทำลายอย่างรุนแรงทำให้กุ้งย่อยอาหารไม่เป็นปกติ และอาหารที่สะสมไว้ในตับก็มีจำนวนน้อยลง ส่งผลให้กุ้งเริ่มอ่อนแอ และตายในที่สุด ยังพบว่าบริเวณลำไส้เกิดการตายของเซลล์ และมีอาการอักเสบอย่างชัดเจน (สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เขต 6 สงขลา, 2562)

- แนวทางการแก้ไข

ช่วงที่มีการเกิดโรคเรืองแสง ผู้เลี้ยงกุ้งควรนำน้ำที่มีความเค็มต่ำ หรือน้ำจืดมาเติมในบ่อให้ปรับความเค็มน้ำในบ่อเหลือประมาณ 5-7 ส่วนในพันส่วน ปัญหาของโรคเรืองแสงจะน้อยลงมาก หากปล่อยให้ปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำอยู่ในระดับสูง 10^4 เซลล์/มิลลิลิตร เป็นเวลาติดต่อกันนาน 10 วันขึ้นไป กุ้งในบ่อจะเริ่มมีปัญหาเกิดขึ้น ควรนำน้ำไปตรวจหาปริมาณเชื้อในน้ำอยู่เสมอ เมื่อพบว่าในน้ำมีเชื้อมากก็ควรลดปริมาณเชื้อในบ่อ ไม่แนะนำให้มีการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันโรค สำหรับบ่อที่ให้กุ้งกินแบคทีเรียที่เป็นชนิดโปรไบโอติกถ้าจะใช้ยาต้องงดการให้กินโปรไบโอติก ห้ามให้กินพร้อมกันนอกจากนี้แบคทีเรียเรืองแสงกลุ่มนี้ต้องการคาร์บอน (C) และไนโตรเจน (N) เพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้นหากต้องการลดปริมาณแบคทีเรียเรืองแสงในบ่อ นอกจากการลดความเค็มแล้ววิธีที่ได้ผลที่สุดคือการลดปริมาณคาร์บอน และไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำลงคือ การควบคุมปริมาณอาหารให้อยู่ในระดับที่กุ้งกินได้หมดพอดี (สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เขต 6 สงขลา, 2562)

2.2 สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae)

สาหร่ายขนาดเล็กเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวขนาดเล็กที่สามารถเปลี่ยนพลังงานแสงอาทิตย์เป็นพลังงานเคมีผ่านการสังเคราะห์ด้วยแสง (Devi et al., 2018) สาหร่ายขนาดเล็กมีหลากหลายสายพันธุ์ แบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้ 2 กลุ่ม คือ โปรคาริโอต (Prokaryote) ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae หรือ Cyanobacteria) และยูคาริโอต (Eukaryote) ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว (Green algae หรือ Chlorophyta) สาหร่ายสีแดง (Red algae หรือ Rhodophyta) และไดอะตอม

(Diatoms หรือ Bacillariophyta) การใช้ประโยชน์ของสาหร่ายขนาดเล็ก มี 2 รูปแบบ คือ ใช้ผลิตเป็นอาหาร และใช้ในเชิงพาณิชย์ โดยสาหร่ายขนาดเล็กที่นำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อการบริโภค ได้แก่ สาหร่ายสีเขียวในสกุล *Chlorella*, *Scenedesmus* สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในสกุล *Spirulina* เป็นต้น สำหรับสาหร่ายขนาดเล็กที่เป็นที่สนใจในการนำ มาใช้ในทางการค้า โดยเฉพาะการนำมาผลิตเป็น ผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว ในตระกูล *Dunaliella* สาหร่ายสีแดงในสกุล *Porphyridium* และสาหร่ายสีเขียวในสกุล *Botryococcus* (นุชนาถ, 2557)

ปัจจุบันเกษตรกรได้เห็นความสำคัญของสาหร่ายขนาดเล็กเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณค่า เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน และ โพลีฟีนอล (Polyphenols) ซึ่งมีส่วนช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และกิจกรรมทางชีวภาพอื่นๆ โดยเฉพาะสาหร่ายขนาดเล็กของสกุล *Tetraselmis* (Chlorophyta) และ *Skeletonema* (Diatom) (Swain et al., 2020) มีการนำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์หรือใช้เลี้ยงร่วมกับสัตว์น้ำ เพื่อช่วยเสริมสร้างระบบนิเวศทางการเลี้ยงในบ่อกุ้งซึ่งสาหร่ายจะเพิ่มอาหารธรรมชาติสำหรับเป็นอาหารให้แก่ลูกกุ้งในบ่อ และพบว่าสาหร่ายยังช่วยในการบำบัดของเสียที่เกิดขึ้นภายในบ่อเลี้ยงกุ้ง (สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย, 2550)

2.2.1 *Tetraselmis* sp.

2.2.1.1 ลักษณะทั่วไปของ *Tetraselmis* sp.

เป็นสาหร่ายสีเขียวกลุ่ม แพลงก์ตอนพืชจัดอยู่ในลำดับ Chlorodendrales มีคลอโรพลาสต์สีเขียว พบได้ทั้งในระบบนิเวศน้ำจืด และน้ำทะเลทั่วโลก มักอาศัยอยู่บริเวณที่มีสภาพแวดล้อมหลากหลายมีอาหาร และแสงเพียงพอสำหรับใช้ในการสังเคราะห์แสง *Tetraselmis* มีลำดับทางอนุกรมวิธานดังนี้ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี, 2547)

Division Chlorophyta

Class Prasinophyceae

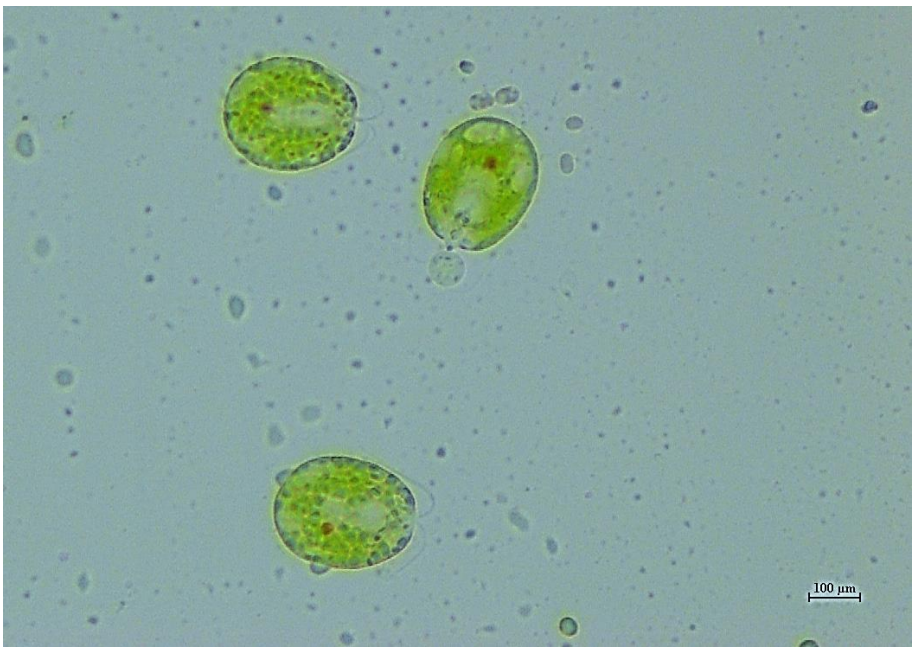
Order Chlorodendrales

Family Chlorodendraceae

Genus *Tetraselmis*

Species *Tetraselmis* sp.

Tetraselmis sp. มีลักษณะแบบเซลล์เดียว มีรูปร่างเป็นวงรีหรือเกือบวงกลมแบนเล็กน้อยมี flagella 2 คู่ เท่ากัน อยู่บริเวณส่วนเว้าของเซลล์สำหรับเคลื่อนที่ มีนิวเคลียสอยู่ตรงกลางขนานกับ flagella การสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศ มีการเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งตัวเป็น 4 เซลล์ (Borowitzka, 2018)



ภาพที่ 3 *Tetraselmis* sp.
ที่มา: โดยผู้เขียน

2.2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

รูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กมี 2 รูปแบบ ได้แก่ การเพาะเลี้ยงในบ่อเปิดและการเพาะเลี้ยงโดยใช้ถังปฏิกรณ์ มีหลายลักษณะ เช่น แนวตั้ง แนวราบ และทรงกระบอก เป็นต้น โดยมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกันตามลักษณะ จึงต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ในการเพาะเลี้ยง ชนิดของสาหร่าย และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ รวมทั้งสภาพแวดล้อมของพื้นที่ที่จะใช้ในการเพาะเลี้ยง

1) ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายขนาดเล็ก

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตหรือการเพิ่มผลผลิตของสาหร่าย เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการเพาะเลี้ยงระดับใหญ่ขึ้นซึ่งจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของสาหร่ายชนิดต่างๆ (นุชนาถ, 2557) ปัจจัยที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ แสง ธาตุอาหาร คาร์บอนไดออกไซด์ ค่าความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ และออกซิเจน

- แสง (light) ความเข้มแสง ความยาวคลื่น และความถี่ของแสง มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง และการเพิ่มผลผลิตชีวมวลของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยความสามารถในการดูดซับแสงในช่วงความยาวคลื่นสูงสุดของสาหร่าย (680 นาโนเมตร หรือ 700 นาโนเมตร) จะแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ของสาหร่ายแต่ละชนิด ทั่วไปการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กจะใช้แสงจากธรรมชาติเพราะ

มีประโยชน์ต่อสาหร่ายมากกว่าแสงประดิษฐ์ แต่แสงจากธรรมชาติควบคุมยาก ในการเลี้ยงจึงมักใช้แสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ควบคู่กับแสงธรรมชาติ (นุชนาถ, 2557)

- ธาตุอาหาร (nutrients) ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้มีอัตราการเติบโตที่เหมาะสม ต้องใช้อาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารที่จำเป็นในปริมาณเพียงพอ ธาตุอาหาร ประกอบด้วย 1.) ธาตุอาหารหลัก สาหร่ายต้องการในปริมาณมาก ได้แก่ C, H, O, N, P, Mg, Cu, Mn, Zn, Mo, S, K และ Ca 2.) ธาตุอาหารรอง สาหร่ายต้องการในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ เนื่องจากเป็นองค์ประกอบของโมเลกุลหรือเอนไซม์ต่างๆ ได้แก่ Na, Co, V, Se, Si, Cl, B และ I 3.) Vitamin และ 4.) Growth hormone (ระพีพร, 2561) ธาตุอาหารที่มีผลต่ออัตราการ เติบโตและการผลิตไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก คือ ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ดังนั้น สัดส่วนของ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส จึงถูกใช้เป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะเลี้ยง (นุชนาถ, 2557)

- คาร์บอนไดออกไซด์ สาหร่ายขนาดเล็กใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์แสง เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิต การเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก นอกจากใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเร่งปริมาณผลผลิตแล้ว ยังเป็นการช่วยควบคุมค่าความเป็นกรดด่างด้วย (นุชนาถ, 2557)

- ค่าความเป็นกรดด่าง ค่าความเป็นกรดด่างเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก เนื่องจากมีอิทธิพลต่อความหลากหลายของสารอนินทรีย์คาร์บอน (inorganic carbon) ในรูปต่างๆ การ ควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง จึงมีความสำคัญในการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้เพื่อให้สาหร่ายขนาดเล็กสามารถดูดซึมและนำ CO_2 มาใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้น (นุชนาถ, 2557)

- อุณหภูมิ สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์สามารถทนอุณหภูมิได้ในช่วงที่ แตกต่างกัน โดยสาหร่ายน้ำจืด เช่น *Chlorella* และ *Scenedesmus* มีความสามารถในการปรับตัวได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างตั้งแต่ 5-35 องศาเซลเซียส แต่ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 25-30 องศาเซลเซียส (นุชนาถ, 2557)

- ออกซิเจน (oxygen) เกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย ละลายสะสมอยู่ในอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย จะทำให้มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่สูงเกินไปที่อาจทำอันตรายและส่งผลต่อการอยู่รอดของสาหร่ายขนาดเล็กได้ (นุชนาถ, 2557)

2.2.3 ความสำคัญของ *Tetraselmis* sp. ในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สายพันธุ์ *Tetraselmis* sp. มีความสำคัญในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอย่างมาก เป็นชนิดที่สามารถเติบโตได้ในช่วงความเค็มกว้าง ทนต่อความเป็นกรด อุณหภูมิ และสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว ปริมาณไขมันสูง และมีกรดอะมิโนในการกระตุ้นการกินอาหารของสัตว์น้ำ ที่สำคัญมีขนาดเล็กเหมาะที่ใช้เป็นอาหารในการเพาะอนุบาลสัตว์น้ำ และยังมีแนวโน้มสำหรับเทคโนโลยีชีวภาพเป็นแหล่งในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ (Stein, 1878) นอกจากนี้สาหร่ายขนาดเล็กสามารถผลิตสาร ได้แก่ คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ลูทีน แอสตาแซนทิน นีโอแซนทีน วิโอลาแซนทีน เบต้าแคโรทีน และซีแซนทิน ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระ (ดวงกมล , 2560) สอดคล้องกับ Guedes et al. (2011) ระบุว่า *Tetraselmis* สามารถสร้าง และผลิตแคโรทีนอยด์ได้ด้วยกระบวนการภายในเซลล์ ซึ่ง Lin et al. (2017) ก็ได้ระบุว่าสารสกัด *Tetraselmis* sp. มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคหลายชนิด สอดคล้องกับ Salvesen et al. (2000) ศึกษาผลกระทบของอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายต่อปริมาณแบคทีเรียในสาหร่าย พบว่า สภาวะการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. ไม่มีปริมาณ *Vibrio* spp. ในทุกสภาวะ ยังมีการรายงานว่ากรดไขมันของสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิดรวมทั้ง *Tetraselmis* sp. มีความสามารถในการผลิตสารชีวโมเลกุลในการยับยั้งความสามารถการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio* (Kuo et al., 2015) สอดคล้องกับ Austin & Day (1990) รายงานว่าฤทธิ์ต้านเชื้อ *Vibrio* ของ *Tetraselmis suecica* สามารถยับยั้งเชื้อได้ทำให้เกิดข้อได้เปรียบเพิ่มเติมสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ดังนั้นการขยายพันธุ์สาหร่ายจึงมีความจำเป็น เพื่อให้ได้ปริมาณผลผลิตที่เพียงพอสำหรับใช้ร่วมกับระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

- ระบบน้ำเขียว

น้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมักจะเกิดสีของน้ำโดยกลุ่มประชากรของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่หนาแน่น ซึ่งในระบบน้ำเขียวส่วนใหญ่เกิดจากกลุ่มแพลงก์ตอนพืช หรือสาหร่ายขนาดเล็ก เพิ่มจำนวนโดยการสังเคราะห์ด้วยแสง (Neori, 2010) ในการเลี้ยงกุ้งการทำให้เกิดสีน้ำเป็นเรื่องที่สำคัญ เนื่องจากสีของน้ำจะทำให้ลดการโปร่งใสของน้ำ ลดอาการตกใจของกุ้ง ทำให้กุ้งกินอาหารได้ดีขึ้น ลดปัญหาการกินกันเอง แพลงก์ตอนยังช่วยคงสภาพของน้ำในบ่อ ช่วยลดปริมาณแอมโมเนีย และสารอื่นๆที่อยู่ในน้ำได้ และยังเพิ่มอาหารธรรมชาติช่วยลดต้นทุนในการเลี้ยง ในระยะแรกของการลงกุ้ง กุ้งมีการเจริญเติบโตดีกว่าบ่อที่เป็นน้ำใส อีกทั้งแพลงก์ตอนหลายชนิดมีคุณสมบัติทางชีวภาพให้กับกุ้งได้ (สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 6 สงขลา, 2564) เช่น สาหร่ายขนาดเล็กของสกุล *Tetraselmis* มีการใช้เลี้ยงร่วมกับสัตว์น้ำ เพื่อช่วยเสริมสร้างระบบนิเวศทางการเลี้ยงในบ่อกุ้งซึ่ง

สาหร่ายจะเพิ่มอาหารธรรมชาติสำหรับเป็นอาหารให้แก่ลูกกุ้งในบ่อ และพบว่าสาหร่ายยังช่วยในการบำบัดของเสียที่เกิดขึ้นภายในบ่อเลี้ยงกุ้ง (สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย, 2550)

2.3 โปรไบโอติก (Probiotics)

โปรไบโอติก คือ อาหารเสริมที่เป็นจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตเมื่อรับประทานไปแล้วทำให้ร่างกายมีสุขภาพที่ดีขึ้น ช่วยป้องกันการเกิดโรคได้ (อุทัย, 2549) สำหรับโปรไบโอติกที่นิยมนำมาใช้กันมาก ได้แก่ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เนื่องจากแบคทีเรียทั้งสองสกุลมีลักษณะเด่นที่อาศัยอยู่ในลำไส้ โดยที่ *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้เล็กส่วน *Bifidobacterium* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ อาหารที่มีโปรไบโอติกมากที่สุด คืออาหารเสริมโปรไบโอติกที่ผลิตภัณฑ์จากนม ได้แก่ นมพาสเจอร์ไรส์ นมหมัก ชีส เครื่องดื่มนม ไอศกรีม และขนมจากนมอื่น ๆ (Xiao et al., 2014) มีการกำหนดประโยชน์ของแบคทีเรียพวกกรดแลคติกในโยเกิร์ตช่วยป้องกันกลไกต่อต้านแบคทีเรียที่เป็นอันตราย ได้รับการบันทึกการใช้ประโยชน์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในสัตว์บางชนิด ได้แก่ มนุษย์ หมู วัว และสัตว์ปีก (Metchnikoff, 1907) (อ้างโดย Perumal et al., 2015) แต่ในทางกลับกันการใช้โปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นแนวคิดที่ค่อนข้างใหม่

2.3.1 โปรไบโอติกจากโยเกิร์ต (Yogurt)

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีมาตั้งแต่โบราณ ต้นกำเนิดมาจากประเทศบัลแกเรีย เรียกว่า ยาเกิร์ต นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในทวีปยุโรปกลาง และยุโรปตะวันออก โยเกิร์ตเกิดจากการหมักนมโดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ (สุรัตน์ และคณะ, 2558) นมที่ใช้ผลิตโยเกิร์ตเป็นนมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่หาได้ทั่วไป เช่น วัว แกะ แพะ แม้กระทั่ง ม้า กระทิง อูฐ และ จามรี เป็นต้น (Moreno et al., 2013 อ้างโดย Kaur et al., 2017) ซึ่งโยเกิร์ตจัดเป็นเปรี้ยวชนิดหนึ่ง (Fermented milk) ที่ผ่านกระบวนการทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคแล้ว โดยการหมักจากจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น สามารถเติมแต่งรส กลิ่น สี หรือส่วนประกอบอื่นๆที่นอกเหนือจากนม เช่น ผลไม้ การผลิตโยเกิร์ตส่วนใหญ่นิยมใช้นมวัวหมักด้วยแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria: LAB) ทำให้ pH ลดลงโปรตีนเสียสภาพจับตัวเป็นตะกอนส่งผลให้โยเกิร์ตมีลักษณะข้น และมีรสเปรี้ยว (สุนัดดา, 2014)

2.3.1.1 กระบวนการผลิตโยเกิร์ต

การผลิตโยเกิร์ตโดยทั่วไปเริ่มจากการทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ส่งผลดีในน้ำนมด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization) มี 2 วิธี คือที่อุณหภูมิ 62.8 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และที่อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ซึ่งเป็นช่วงอุณภูมิที่สามารถทำลายเชื้อส่วนใหญ่ในน้ำนมได้ เช่น ยีสต์ รา และแบคทีเรียที่ไม่ทนความร้อน แต่ไม่ทำลายกลุ่มที่ทนความร้อนสูงได้ (Thermophilic bacteria) เมื่อครบเวลาพาสเจอร์ไรซ์แล้ว ลดอุณหภูมิลงมาที่ 45 องศาเซลเซียส

จากนั้นใส่หัวเชื้อ (Starter culture) ใช้แบคทีเรียกลุ่ม LAB 2 ชนิด คือ *Lactobacillus delbrueckii* Supsp. *Bulgaricus* และ *Steptococcus thermophilus* บ่มที่อุณหภูมิ 42-45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-7 ชั่วโมงเพื่อให้แบคทีเรียเจริญเติบโต การที่ใช้แบคทีเรีย 2 ชนิดรวมกันช่วยให้มีรสชาติ และกลิ่นดีกว่าใช้เพียงชนิดเดียว และยังช่วยให้ผลิตโยเกิร์ตได้เร็วขึ้น อย่างไรก็ตามสายพันธุ์ที่คัดเลือกมาเป็นหัวเชื้อ รวมถึงอัตราส่วนในการใช้ จะส่งผลต่อรสชาติ กลิ่น และเนื้อสัมผัส ที่แตกต่างกัน โยเกิร์ตที่ขายทั่วไปมี 2 ชนิด คือ ชนิดกวน (Stirred yogurt) และชนิดคงตัว (Set yogurt) มีกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน โยเกิร์ตชนิดกวน เกิดจากกระบวนการหมักในถัง โดยเติมหัวเชื้อลงในนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หมักในถังจนได้เป็นโยเกิร์ต กวนเพื่อให้เข้ากันหยุดกระบวนการหมักโดยการทำให้เย็น โยเกิร์ตที่ได้ผิวหน้าจะไม่เรียบ ส่วนโยเกิร์ตชนิดคงตัว เกิดจากกระบวนการหมักในบรรจุภัณฑ์ เติมหัวเชื้อในนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส โยเกิร์ตที่ได้จับตัวเป็นก้อนกึ่งแข็งกึ่งเหลวผิวหน้าเรียบ ทำให้เย็นเพื่อหยุดการหมัก (สุนัดดา, 2014)

2.3.1.2 ประโยชน์ของโยเกิร์ต

ในโยเกิร์ตมีเชื้อกลุ่ม *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium* spp. เป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายที่เรียกว่า โปรไบโอติก (Probiotics) ที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพที่ดีให้กับผู้บริโภค โปรไบโอติกจะอาศัยในระบบทางเดินอาหารช่วยป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย ที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆได้ เช่น โรคท้องร่วง แต่ต้องรับประทานในปริมาณที่พอเหมาะ และยังเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่ไม่ดื่มนม ถ้าหากดื่มนมเข้าไปทำให้ท้องอืดเนื่องจากแบคทีเรียที่อยู่ในทางเดินอาหารหมักเอนไซม์แลกโทสเป็นกรดแลกติก และแก๊ส ทำให้มีการเคลื่อนตัวของลำไส้เร็วขึ้นทำให้เกิดอาการท้องร่วง คนกลุ่มนี้สามารถทานโยเกิร์ตได้ เนื่องจากแลกโทสถูกย่อยได้เป็นกลูโคส และกาแลกโทสก่อนเปลี่ยนไปเป็นแลกติก ทำให้ไม่เหลือแลกโทสในนม (สุนัดดา, 2014) โยเกิร์ตมีประโยชน์ในการช่วยย่อยอาหาร ลดกรดในกระเพาะอาหาร ช่วยขับถ่าย ยังช่วยให้คอเรสเตอรอลในเลือดลดลง หากบริโภคเป็นประจำช่วยลดการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ (สุรัตน์ และคณะ, 2558)

2.3.2 แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria, PSB)

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงาน เป็นพวก Anaerobic bacteria ดำรงชีวิตแบบ Photolithotroph มีรงควัตถุแคทีนอยด์ที่ไม่ละลายน้ำ พบได้ในแหล่งน้ำทั่วไปที่มีสารอินทรีย์ปริมาณมาก สามารถแบ่งกลุ่มตามรงควัตถุได้ 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียสีม่วง (Purple bacteria) และแบคทีเรียสีเขียว (Green bacteria) สามารถตรึงไนโตรเจนได้หากอยู่ในสภาพที่เป็น anaerobic และมีแสงส่องถึง หากอยู่ในสภาวะไม่มีแสงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจะทำหน้าที่เป็น chemoheterotroph ที่มีสารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน แบคทีเรียสังเคราะห์แสงยังมีคุณค่าทางอาหารต่างๆ (ตารางที่ 1) สูงกว่าในสาหร่าย ยีสต์ และรา (มัสธูรา และคณะ, 2562)

นอกจากนี้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงยังมีปริมาณวิตามินสูงกว่าจุลินทรีย์ตัวอื่นๆ (ตารางที่ 2) (ศิริลักษณ์, 2531)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสกุล *Rhodopseudomonas sphaeroides*

องค์ประกอบ	ร้อยละต่อน้ำหนักแห้ง
ความชื้น	82.29
โปรตีน	62.72
ไขมัน	3.07
เยื่อใย	2.95
เถ้า	3.62
คาร์โบไฮเดรต	27.63

ที่มา: ดัดแปลงจาก ศิริลักษณ์ (2531)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบวิตามินในแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *R. sphaeroides*

วิตามิน	มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง
B2	13.0
B6	6.3
B12	72.7
E	210.7
Folic acid	1.0

ที่มา: ดัดแปลงจาก ศิริลักษณ์ (2531)

2.3.2.1 แบคทีเรียสังเคราะห์แสงกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงได้รับความสนใจในด้านของโปรตีนทดแทนในอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งสอดคล้องกับ ศิริลักษณ์ (2531) ที่พบว่าแบคทีเรียสังเคราะห์แสงมีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 62.72 (ตารางที่ 1) และที่สำคัญมีกรดอะมิโนที่จำเป็นในการเจริญเติบโต คือ วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 วิตามินบี 12 วิตามินอี และกรดโฟลิค (ตารางที่ 2) เมื่อนำไปใช้ในการเลี้ยงกุ้ง พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการรอดของกุ้งวัยอ่อน (Post larvae) ได้ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ และยังสามารถต้านทานการเกิดโรคได้ (Cao et al., 2014) มีการรายงานว่าการใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงเป็นอาหารเสริมสำหรับกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ระยะวัยรุ่น (Juvenile) ทำให้กุ้งลอกคราบและสร้างไข่ได้เร็วขึ้น นอกจากใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงยังสามารถช่วยในการบำบัดน้ำได้ด้วย เนื่องจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสงเป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่ม Heterotrophic เมื่อ

เจริญในสภาวะที่มีอากาศจะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายแต่เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไร้อากาศ จะเกิดกระบวนการหายใจโดยไม่ใช้ออกซิเจนมีไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย (มัสธูรา และคณะ, 2562) การเพิ่มแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสามารถกำจัดสารอินทรีย์ และปรับปรุงคุณภาพน้ำ (Ying et al., 2020) Zhang et al. (2014) รายงานว่าการเพิ่มแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำสามารถลดปริมาณไนไตรท์ได้อย่างมีนัยสำคัญ แบคทีเรียสังเคราะห์แสงจึงเป็นหนึ่งในจุลินทรีย์ที่สำคัญที่ถูกนำมาใช้กับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบัน

2.3.3 การใช้โปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และ องค์การอนามัยโลก (WHO) กำหนดโปรไบโอติกเป็น“อาหารเสริมจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งส่งผลดีต่อสัตว์เลี้ยงโดยการปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้” จุลินทรีย์นี้จำเป็นต่อการป้องกันโรคโดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันได้คำนึงถึงเป็นหลักสำหรับการจัดการสัตว์น้ำก่อนการเก็บเกี่ยวเพื่อที่จะเพิ่มการผลิต ปัจจุบันได้มีการรายงานรูปแบบของโปรไบโอติกและการประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มีโปรไบโอติกหลายชนิดที่ใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ กลุ่ม *Lactobacillus* มีการนำมาใช้มากที่สุด (Perumal et al., 2015) มีการนำโปรไบโอติกมาใช้กับอาหารสัตว์ (Parker, 1974) เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ให้ประโยชน์แก่เจ้าบ้าน (Host) สามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของอาหารสัตว์น้ำ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันหรือแม้กระทั่งปรับปรุงคุณภาพน้ำให้ดีขึ้น (Jamili et al., 2015) Wang et al. (2020) ศึกษาผลของโปรไบโอติก 5 ชนิดต่อพัฒนาการของกุ้งขาว (*L. Vannamei*) วัยอ่อน ต่อชุมชนแบคทีเรีย และคุณภาพน้ำ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่ากลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่ากลุ่มควบคุมได้รับการยืนยันว่าโปรไบโอติกสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของกุ้งวัยอ่อน และป้องกันการลอกคราบที่ไม่สมบูรณ์ กลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงของเชื้อ *Vibrio* อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับ Villasenor et al., (2012). รายงานว่าเชื้อ *Bacillus* ปรับการเหนี่ยวนำของ Microbiome ในลำไส้กุ้งขาวเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้น การเติมแบคทีเรียที่มีประโยชน์สามารถลดสารอินทรีย์ที่มีผลเสียต่อการเจริญเติบโตของกุ้งได้ นอกจากกลุ่ม *Bacillus* แล้วแบคทีเรียสังเคราะห์แสงยังมีสมบัติเป็นโปรไบโอติกจากธรรมชาติที่มีประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

2.4 นมอินทรีย์ (Organic milk)

นมอินทรีย์หมายถึง น้ำนมที่ได้จากผู้เลี้ยงโคนมจัดการการเลี้ยงโคด้วยความใส่ใจสิ่งแวดล้อม เกื้อหนุนต่อระบบนิเวศ โดยไม่มีการปนเปื้อนของสารเคมี ยาปฏิชีวนะ และสารสังเคราะห์ในทุกกระบวนการผลิต และจัดสวัสดิภาพสัตว์ ให้มีความเครียดน้อยที่สุด เช่น การปล่อยให้วัวออกไปแทะเล็มหญ้าภายในฟาร์มอย่างอิสระ ให้มีกระบวนการย่อยตามธรรมชาติ เพื่อสุขภาพที่แข็งแรง มีภูมิต้านทานโรค ผลผลิตที่ได้คือ น้ำนมมีความปลอดภัย มีคุณค่าทางอาหารสูง เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัว Conjugated linoleic acid (CLA) Omega-3,6 total CLA เป็นต้น การผลิตนมอินทรีย์ยังส่งผลดีต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้ไม่เกิดสารตกค้างในธรรมชาติ ช่วยเพิ่มรายได้ลดรายจ่ายช่วยให้การผลิตสินค้ามีคุณภาพเพิ่มขึ้น

องค์ประกอบหลักของเกษตรอินทรีย์ คือ การผลิตนมอินทรีย์ เริ่มจากการทำฟาร์มโคนมออร์แกนิค หมายถึงการเลี้ยงสัตว์ด้วยอาหารออร์แกนิค หญ้าที่ใช้เลี้ยงไม่มีการปนเปื้อนยาฆ่าแมลง หรือใส่ปุ๋ย เน้นการรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน หลีกเลี่ยงมลพิษ ลดการใช้ทรัพยากรที่ไม่หมุนเวียน ผลิตอาหารที่มีคุณภาพและโภชนาการที่เหมาะสม ภาคส่วนผลิตนมออร์แกนิคเติบโตอย่างรวดเร็ว เนื่องจากนมออร์แกนิคให้ความรู้สึกปลอดภัย (Mahesh, 2013) และยังมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงกว่านมทั่วไป (กอปรทิพย์, 2014) ซึ่งนมโคมีองค์ประกอบหลัก คือ น้ำ ไขมัน โปรตีน น้ำตาลแลคโตส แร่ธาตุ และวิตามิน ซึ่งสัดส่วนในองค์ประกอบมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และความสามารถของสัตว์ในแต่ละตัวในสายพันธุ์เดียวกันอีกด้วย

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของนมโคทั่วไป และนมโคอินทรีย์

องค์ประกอบ	นมโคทั่วไป	นมโคอินทรีย์
ไขมัน	3.91	3.75
โปรตีน	3.37	3.25
น้ำตาลแลคโตส	4.83	4.81
แคลเซียม	1,170	1,161
ฟอสฟอรัส	928	921
วิตามิน E ,มิลลิกรัม/ลิตร	1.80	1.88

ที่มา: ดัดแปลงจาก (Manuelian et al., 2022)

บทที่ 3
วิธีการศึกษา

3.1 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.1.1 ศึกษาการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. และ แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (PSB) ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน

1) วัสดุที่ใช้ในการทดลอง

- พันธุ์ *Tetraselmis* sp. คัดแยกได้จากนาเกลือ จังหวัดสมุทรสงคราม
- PSB (ใช้หัวเชื้อที่มีอยู่แล้ว) คัดแยกได้จากน้ำทะเลบริเวณป่าชายเลน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี
- นมอินทรีย์เศษเหลือจากโรงงานผลิตนม ได้รับความอนุเคราะห์จาก โรงงานผลิตนม บริษัท แดรี่โฮม จำกัด จังหวัดนครราชสีมา
- โยเกิร์ต (Yogurt) ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานผลิตนม บริษัท แดรี่ โฮม จำกัด จังหวัดนครราชสีมา

2) อุปกรณ์

- ขวดโหลขนาด 10 ลิตร
- น้ำทะเลความเค็ม 30 ppt
- กล้องจุลทรรศน์ compound microscope
- Hemacytometers (สำหรับนับจำนวนเซลล์)
- Cuvette
- เครื่อง Spectrophotometer

3.1.2 ศึกษาผลของการให้อาหารผสมโยเกิร์ต (Yogurt) และ PSB ต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

1) สัตว์ทดลอง

- กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ระยะ Post larva (PL12) ได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) ฟาร์มกุ้งระโนด

2) วัสดุและอุปกรณ์

- อาหารสำเร็จรูป ยี่ห้อซีพี 9702
- ถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 2,000 ลิตร จำนวน 2 ถัง สำหรับเตรียมน้ำเค็ม
- ถังไฟเบอร์กลาส ขนาด 1,000 ลิตร จำนวน 1 ถัง สำหรับพักกุ้ง
- ตู้กระจกขนาด 30x60x30 เซนติเมตร จำนวน 12 ตู้
- อุปกรณ์ระบบให้อากาศ ได้แก่ เครื่องให้อากาศ สายยาง หัวทราย
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- ไม้บรรทัด
- กะละมังพลาสติก
- สวิงช้อนปลา
- เครื่องวัดสี ยี่ห้อ HunterLab รุ่น Miniscan EZ

3.1.3 ศึกษาคุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

เก็บตัวอย่างน้ำในแต่ละตู้มาวิเคราะห์ทุก 1 สัปดาห์ โดยค่าที่ศึกษาได้แก่ ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ความเป็นด่าง และปริมาณแอมโมเนียรวม ด้วยวิธีการดังนี้

- ความเค็ม (Salinity) วัดค่าโดย Salinometer
- ความเป็นกรด-ด่าง (pH) วัดค่าโดยเครื่อง pH meter รุ่น ST3100-F
- อุณหภูมิ (Temperature) วัดค่าโดยเครื่อง pH meter รุ่น ST3100-F
- ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen) วัดค่าโดยการไตเตรท (นิคม, 2562)
- ความเป็นด่าง (Total alkalinity) วัดค่าโดยชุดทดสอบของ PARA TEST
- แอมโมเนียรวม (Total ammonia-nitrogen) วัดค่าโดยชุดทดสอบของ PARA TEST

3.1.4 ศึกษาการต้านทานเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

1) สัตว์ทดลอง

- กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ระยะ Post larva (PL12) ได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน)

2) เชื้อก่อโรค

- *Vibrio parahaemolyticus* เป็นเชื้อก่อโรค AHPND ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา จังหวัดสงขลา (กรมประมง)

3) อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS)
- Trypticase Soy Broth (TSB)
- Agar Agar
- Sodium chloride
- D-glucose

4) อุปกรณ์

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- สำหรับต้มอาหาร ได้แก่ เหยือก, ไม้พาย
- บีกเกอร์
- หลอดทดลองขนาด 10 15 และ 50 มิลลิลิตร
- เพลตใส่อาหาร
- แท่งแก้วสามเหลี่ยม
- ปิเปตขนาด 1, 5 และ10 มิลลิลิตร
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- ขวดแก้วขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ (Autoclave)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
- เครื่องเขย่าผสมสาร (vortex mixer)
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow cabinet)

3.2 วิธีการวิจัย

การทดลองที่ 1

3.2.1 ศึกษาการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. และ แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (PSB) ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน

3.2.1.1 การขยายพันธุ์ *Tetraselmis* sp. ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน

เตรียมขวดโหลขนาด 10 ลิตร เติมน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 8 ลิตร เติมหัวเชื้อ *Tetraselmis* sp. 2 ลิตร จากนั้นเติมนมอินทรีย์ที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานผลิตนม บริษัท แดรี่โฮม จำกัด เป็นอาหารที่ระดับแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0.25, 0.50, 1.00, และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองอย่างละ 2 ซ้ำ เติมอาหาร ทุก 3 วัน ศึกษาช่วงที่สาหร่ายโตดีที่สุด โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) ทำกราฟการเจริญเติบโตต่อวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำ *Tetraselmis* sp. ที่ได้มาใช้ในการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

3.2.1.2 การขยาย PSB ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน

เตรียมขวดโหลขนาด 10 ลิตร เติมน้ำทะเลความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาตรน้ำ 8 ลิตร หัวเชื้อ 2 ลิตร จากนั้นเติมนมอินทรีย์ที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานผลิตนม บริษัท แดรี่โฮม จำกัด เป็นอาหารที่ระดับแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองอย่างละ 2 ซ้ำ เติมอาหาร ทุก 2 วัน ศึกษาช่วงที่ PSB โตดีที่สุด โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD_{970}) ทำกราฟการเจริญเติบโตต่อวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำ PSB มาใช้ในการผสมอาหารเลี้ยงกุ้ง

การทดลองที่ 2

3.2.2 ศึกษาผลของการให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp.

3.2.2.1 การเตรียมน้ำทะเล และการเตรียมตู้สำหรับทดลองเลี้ยงกุ้ง

เตรียมน้ำทะเลโดยสูบน้ำทะเลไว้ในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 2 ตัน จำนวน 2 ถัง ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน (ไม่ใช้คลอรีนในการฆ่าเชื้อ) เพื่อไม่ให้มีสารเคมีในระบบการเลี้ยง จากนั้นสูบน้ำเข้ามาพักไว้ในโรงเรือนเพื่อสะดวกในการเตรียมน้ำ โดยใช้ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1 ตัน จำนวน 2 ถัง จะใช้สำหรับพักลูกกุ้ง 1 ถัง สำหรับเตรียมน้ำเข้าตู้ 1 ถัง จากนั้นเจือจางให้ได้ความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน เตรียมตู้กระจกขนาด

30 x 60 x 30 เซนติเมตร ทั้งหมด 12 ตู้ เติมน้ำที่เจือจางแล้วใส่ในตู้พร้อมให้อากาศตลอดเวลาโดยการใส่หัวทราย 1 หัว ทุกตู้ ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำได้แก่ ความเค็ม และอุณหภูมิ แล้วเติม *Tetraselmis* sp. ที่ได้จากการขยายพันธุ์ในการทดลองที่ 1 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จำนวน 12 ตู้

3.2.2.2 การเตรียมกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) สำหรับทดลอง

นำกุ้งขาวแวนนาไมระยะ Post larvae 12 น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.09 กรัม จากฟาร์มเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) จำนวน 2,000 ตัว พักไว้ในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 1 ตัน ที่เตรียมไว้ ให้อากาศโดยใช้หัวทรายจำนวน 2 หัว เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ให้อาหารสำเร็จรูป เพื่อเป็นการปรับสภาพกุ้งขาวแวนนาไมให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ก่อนนำมาทดลองจากนั้นสุ่มกุ้งขาวแวนนาไมที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกัน จำนวน 20 ตัวต่อตู้ โดยซับน้ำที่ตัวกุ้งให้แห้ง แล้วทำการชั่งน้ำหนักกุ้งโดยวิธีการแทนน้ำ นำกุ้งไปใส่ในตู้จำนวน 12 ตู้ พักกุ้งไว้ 4 ชั่วโมง แล้วให้อาหารสำเร็จรูป (ซีพี 9702) แล้วจึงให้อาหารผสมโปรไบโอติกเมื่อครบ 24 ชั่วโมง เพื่อให้กุ้งปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในตู้

3.2.2.3 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้ง อาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งเป็นอาหารสำเร็จรูปยี่ห้อซีพี 9702 ขนาดของอาหารที่ใช้ขึ้นอยู่กับอายุของกุ้งโดยจะนำอาหารสำเร็จรูปมาผสมกับโยเกิร์ตและ PSB และเคลือบด้วยน้ำมันปลา 1 เปอร์เซ็นต์ อาหารที่ใช้ทดลองจะทำการเตรียมวันต่อวัน โดยจะแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ขั้นตอนการเตรียมอาหารมีดังนี้

ชุดการทดลอง	รูปแบบอาหาร
ชุดการทดลองที่ 1	กุ้งขาวที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเคลือบด้วยน้ำมันปลา (ไม่ผสมโปรไบโอติก)
ชุดการทดลองที่ 2	กุ้งขาวที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปผสมกับโยเกิร์ต 1:1 ส่วน คลุกเคล้าให้เข้ากัน เคลือบอาหารด้วยน้ำมันปลา ผึ่งให้แห้ง
ชุดการทดลองที่ 3	กุ้งขาวที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปผสมกับ PSB 1:1 ส่วน คลุกเคล้าให้เข้ากัน เคลือบอาหารด้วยน้ำมันปลา ผึ่งให้แห้ง
ชุดการทดลองที่ 4	กุ้งขาวที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปผสมกับโยเกิร์ต และ PSB 1:0.5:0.5 ส่วน คลุกเคล้าให้เข้ากันเคลือบด้วยอาหารด้วยน้ำมันปลา ผึ่งให้แห้ง

3.2.2.4 การทดลองให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp.

ศึกษาผลของการให้อาหารเสริมโปรไบโอติกร่วมกับ *Tetraselmis* sp. ต่อการเจริญเติบโต และการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม โดยเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. โดยให้กุ้งขาวแวนนาไมกินอาหารผสมโปรไบโอติกในกลุ่มต่างๆ โดยจะแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (Replication) รวมเป็น 12 หน่วยการทดลอง (Experimental unit) ได้แก่ ชุดที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) ชุดที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต ชุดที่ได้รับอาหารผสม PSB และชุดที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB ทำการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจำนวน 20 ตัว ในตู้กระจกขนาด 30 x 60 x 30 เซนติเมตร ให้อาหารกุ้งขาวแวนนาไม 6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ให้อาหารวันละ 4 มื้อคือ เวลา 09.00 13.00 17.00 และ 24.00 น. เป็นเวลา 5 สัปดาห์ ดูดตะกอนทิ้งทุก 1 วัน มีการตรวจสอบคุณภาพน้ำ ได้แก่ ความเค็ม พีเอช อุณหภูมิในระหว่างการเลี้ยง และเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำในตู้ ทุก 1 สัปดาห์ สัปดาห์ที่ 5 จะนำกุ้งขาวแต่ละตัวมาชั่งน้ำหนักต่อตัว และวัดความยาวอีกครั้ง นำค่าที่ได้มาคำนวณการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม

3.2.3 ศึกษาผลของการให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

โดยทำการเตรียมน้ำทะเล เตรียมตู้กระจกสำหรับทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมใช้วิธีเดียวกับหัวข้อ 3.2.2.1 แต่ไม่เติม *Tetraselmis* sp. จากนั้นเตรียมกุ้งขาวแวนนาไมโดยกุ้งขาวที่นำมาเลี้ยงเป็นคนละชุดกับการทดลอง 3.2.2 และเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ใช้วิธีเดียวกับหัวข้อ 3.2.2.2 และ 3.2.2.3

3.2.3.1 การทดลองให้อาหารผสมโยเกิร์ตและ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

ศึกษาผลของโปรไบโอติกต่อการเจริญเติบโต และการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม โดยเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. ให้กุ้งขาวแวนนาไมกินอาหารผสมโปรไบโอติกในกลุ่มต่างๆ โดยจะแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (Replication) รวมเป็น 12 หน่วยการทดลอง (Experimental unit) ได้แก่ ชุดที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป ชุดที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต ชุดที่ได้รับอาหารผสม PSB และชุดที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB ทดลองด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.2.2.4 นำค่าที่ได้มาคำนวณการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม ดังต่อไปนี้

3.2.4 การตรวจสอบการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม

การตรวจสอบการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมโดยการชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวของกุ้งขาวแวนนาไมต่อตัว และนับจำนวนกุ้งขาวแวนนาไมที่รอดตายจากการทดลอง 3.2.2.4 และ 3.2.3.1 เมื่อเริ่มต้นการทดลอง เมื่อครบ 1 สัปดาห์ และสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง และนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์หาน้ำหนักเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการรอดตาย และอัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ โดยนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่าดังนี้ (Brett, 1979 ; Kongnum and Hongpattarakere, 2012)

- น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)

$$= \frac{\text{น้ำหนักรวมทั้งหมดของกุ้ง}}{\text{จำนวนกุ้งทั้งหมด}}$$

- อัตราการเจริญเติบโต โดยพิจารณาจากน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain %)

$$= \frac{\text{น้ำหนักกุ้งสุดท้าย - น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น} \times 100}{\text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น}}$$

- อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, SGR %/Day)

$$= \frac{\ln(\text{น้ำหนักสุดท้าย}) - \ln(\text{น้ำหนักเริ่มต้น}) \times 100}{\text{ระยะเวลา (วัน)}}$$

- อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average Daily Gain, ADG)

$$= \frac{\text{น้ำหนักกุ้งสุดท้าย – น้ำหนักกุ้งเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวัน}}$$

- การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กุ้งกิน}}{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น}}$$

- อัตราการรอดตาย (Survival rate %)

$$= \frac{\text{จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งเริ่มต้นการทดลอง}}$$

3.2.5 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำในการเลี้ยงกุ้งขาวทุกชุดการทดลอง ได้แก่ ความเค็ม pH อุณหภูมิ ออกซิเจนละลายน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง ความเป็นด่าง และแอมโมเนียรวม ทุก 1 สัปดาห์ และมีการดูดตะกอนที่เป็นเศษเหลือของอาหาร ทุก 1 วัน เปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำในตู้ ทุก 1 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์

การทดลองที่ 3

3.2.6 การทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. ให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB เพื่อทดสอบการต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (Challenge test) ของกุ้งขาวแวนนาไม

เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในตู้กระจกโดยใช้วิธีเดียวกับการทดลองการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม โดยทดลองเลี้ยงกุ้งในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง และระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. แบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลองได้แก่ ชุดที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป (ชุดควบคุม) ชุดที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต ชุดที่ได้รับอาหารผสม PSB และชุดที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB อย่างละ 3 ซ้ำ รวมเป็น 24 หน่วยการทดลอง เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์

3.2.7 การทดสอบการต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (Challenge test) ของกุ้งขาวแวนนาไมเลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

3.2.7.1 เตรียมการทดลองสำหรับการทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ของกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

เมื่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมครบ 5 สัปดาห์ นำกุ้งขาวแวนนาไมมาทดสอบการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* ชุดการทดลองละ 15 ตัว โดยเตรียมเชื้อความเข้มข้น $1x10^7$ CFU ต่อมิลลิลิตร ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร จำนวน 8 หลอด จากนั้นนำเชื้อ *V. parahaemolyticus* เลี้ยงในอาหาร Modified shrimp medium ที่ประกอบด้วย น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร น้ำตาลกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ อาหารกุ้งบดละเอียด 1 เปอร์เซ็นต์ และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ ลงในขวดแก้วขนาด 1,000 มิลลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยเติมเชื้อ *V. parahaemolyticus* 1 หลอดต่ออาหาร 1 ขวด จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เติมน้ำทะเลลงในตู้กระจกความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 5 ลิตร จำนวน 8 ตู้ สำหรับใช้ทดลองโดยแบ่งเป็น

- การทดลองที่ 1 กุ้งที่เลี้ยงร่วมกับ *Tetraselmis* sp. ประกอบด้วยตู้ที่ 1 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูป ตู้ที่ 2 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโยเกิร์ต ตู้ที่ 3 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม PSB และตู้ที่ 4 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB

- การทดลองที่ 2 กุ้งที่ไม่ได้เลี้ยงร่วมกับ *Tetraselmis* sp. ประกอบด้วยตู้ที่ 1 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูป ตู้ที่ 2 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโยเกิร์ต ตู้ที่ 3 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม PSB และตู้ที่ 4 กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB

จากนั้นเติมเชื้อในขวดที่เตรียมไว้ 1 ขวดต่อ 1 ตู้ทดลอง แล้วนำกุ้งทุกกลุ่มการทดลองมาใส่ในตู้โดยใช้กุ้งขาวแวนนาไม 15 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง ทำการแช่เชื้อเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำกุ้งไปทดลองเลี้ยง ขั้นตอนการเลี้ยงใช้วิธีเดียวกันกับหัวข้อ 3.2.3 จากนั้นบันทึกอัตราการรอดตายทุก 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ แล้วนำกุ้งมาศึกษาปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ด้วยวิธี Spread plate และนำกุ้งส่วนที่ไม่ได้ทดสอบการต้านมาวัดค่าสีของกุ้ง เพื่อใช้เป็นเกณฑ์บ่งชี้ประสิทธิภาพทางโภชนาการที่เหมาะสม

3.2.7.2 การศึกษาปริมาณเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในตับ ตับอ่อน และกระเพาะอาหารกุ้งขาวแวนนาไม

การศึกษาปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตับ ตับอ่อน และกระเพาะอาหารกุ้งขาวแวนนาไมโดยอ้างอิงวิธีการของ ศูนย์วิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม นำตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมชุดการทดลองละ 7 ตัว ล้างผ่านน้ำแล้วฉีดฆ่าเชื้อภายนอกด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ซับให้แห้ง ใช้ forceps คีบตับ และตับอ่อนและกระเพาะอาหาร ลงบนเพลทที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วตัดให้ละเอียด นำมาชั่งให้ได้ 1 กรัม ในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางจนได้ที่ระดับ 10^{-1} 10^{-2} และ 10^{-3} ปั่นด้วย Vortex mixer จากนั้นนำมาตรวจนับเชื้อ *Vibrio* sp. ด้วยวิธีการ Spread plate โดยดูดตัวอย่างจากหลอดทดลอง 1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar จากนั้นใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยจุ่มแอลกอฮอล์แล้วลนไฟทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหาร คว่ำเพลทแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นสังเกตลักษณะของโคโลนี นับจำนวนโคโลนีสีเขียวแบ่งตามกลุ่ม แล้วนำมาคำนวณ

3.2.8 การศึกษาการวัดค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไม

การศึกษาการวัดค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไมโดยการนำกุ้งขาวแวนนาไมส่วนที่ไม่ได้ทดสอบการต้านเชื้อจากการทดลองที่ 3.2.6 จำนวน 3 ตัวต่อชุดการทดลอง ทำการน็อคกุ้งด้วยน้ำเย็นจัดแล้วนำมาต้มในน้ำเดือด ประมาณ 5 นาที ตักขึ้นแล้วแช่กุ้งในน้ำเย็นจัดอีกครั้ง จากนั้นนำกุ้งขาวแวนนาไมที่ต้มแล้วมาวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab ค่าพารามิเตอร์ที่บ่งบอกความสว่างของสี (ค่า L*) มีค่า 0–100 ค่า L* มาก แสดงว่า มีความ สว่างมาก และหากค่า L* เท่ากับ 0 จะเป็นสีดำ ส่วนค่า a* คือค่าแสดงระดับสีแดง–เขียว เมื่อค่า a* มีค่าบวก จะแสดงลักษณะสีแดง และเมื่อค่า a* เป็นลบ จะแสดงลักษณะสีเขียว ขณะที่ค่า b* คือค่าแสดงระดับสีเหลือง–น้ำเงิน เมื่อค่า b* มีค่าบวก จะแสดงลักษณะสีเหลือง และเมื่อค่าเป็นลบจะแสดงลักษณะสีน้ำเงิน โดยเมื่อค่าห่างจาก 0 มาก จะแสดงถึงค่าสีเหลืองหรือน้ำเงิน นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบแต่ละชุดการทดลอง

3.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

เปรียบเทียบการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตาย รวมทั้งค่าคุณภาพน้ำของการทดลอง โดยใช้แผนแบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) วิเคราะห์วาเรียนซ์แบบแจกแจงทางเดียว (Analysis of Variance with one way layout) สถิติที่ใช้ในการทดสอบคือ F (f- test) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของผลดังกล่าวด้วยวิธีการเปรียบเทียบพหุคูณของดันคัน (Duncan’s multiple range test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เปรียบเทียบอัตราการรอดตาย ปริมาณโคโลนี และค่าสีของกุ้งขาว โดยใช้วิธีการทดลองแบบ Factorial design

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. และ PSB ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน

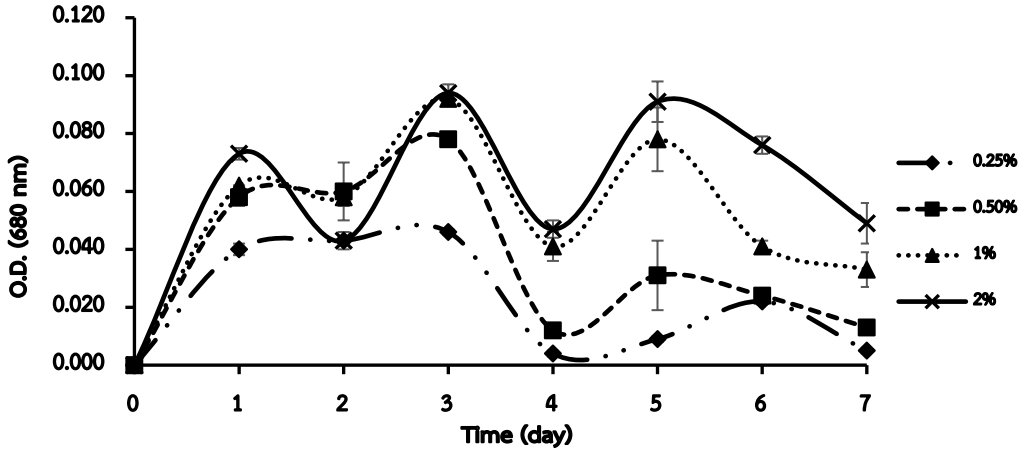
จากการนำพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก *Tetraselmis* sp. และ PSB มาขยายเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ให้ได้ปริมาณเพียงพอในการนำมาใช้สำหรับการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาปริมาณของนมอินทรีย์ที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานผลิตนมแดรี่ โฮม สำหรับเป็นอาหารในการเพาะเลี้ยง *Tetraselmis* sp. และ PSB เนื่องจากองค์ประกอบในนมมีธาตุอาหารของพืชที่ช่วยในการเจริญเติบโต ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม และเป็นการนำนมที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานมาใช้ให้เกิดประโยชน์

4.1.1 ผลการเจริญเติบโตของ *Tetraselmis* sp. ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน

จากการขยายพันธุ์ *Tetraselmis* sp. ที่ระดับอาหารแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0.25, 0.50, 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้ความเค็ม 30 ส่วนในพันส่วน จำนวนเซลล์เริ่มต้น 3×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยทำกราฟการเจริญเติบโตวัดค่าการดูดกลืนแสงต่อวัน เป็นระยะเวลา 7 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าในวันที่ 3 ของการทดลอง ที่ระดับอาหาร 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการดูดกลืนแสง (OD_{680}) สูงสุด รองลงมามาคือ 0.50 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.094, 0.092, 0.078 และ 0.046 ตามลำดับ (ภาพที่ 4) เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นอาหาร 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ที่ระดับความเข้มข้นอาหาร 0.25 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกับทุกระดับความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากผลการทดลองขยายพันธุ์ *Tetraselmis* sp. จะเห็นได้ที่อาหารระดับต่ำสุด 0.25 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายเจริญเติบโตได้ช้าสุด และเมื่ออาหารเริ่มหมดสาหร่ายค่อยๆลดลง และจะเพิ่มหลังจากเติมอาหารอีกครั้ง สอดคล้องกับ เบญจา (2529) ได้รายงานว่า *Tetraselmis* sp. สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี แต่ในการเพาะเลี้ยงในพื้นที่จำกัดต้องการให้ได้สาหร่ายในปริมาณมากนั้น สาหร่ายควรได้รับอาหารในปริมาณเพียงพอเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ในการทดลองจะเห็นได้ว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในระดับอาหารที่สูงนั้นมีการเจริญเติบโตดีกว่าที่ระดับต่ำ

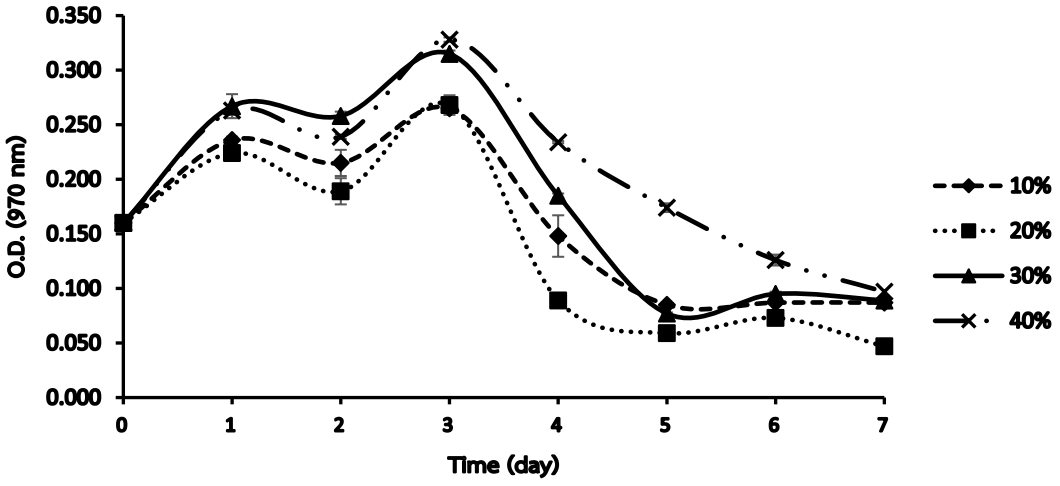
สอดคล้องกับ Shekarabi & Mehrgan (2021) ได้ทดลองเพาะเลี้ยง *Tetraselmis suecica* ด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานปลาป่นแทนการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน (F/2) ที่มีอัตราส่วนแตกต่างกัน คือ 0, 10, 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ 75 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตสูงสุด และสามารถกำจัด NO_3^- 92 เปอร์เซ็นต์ และ PO_4^{3-} 73 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองขยายพันธุ์ *Tetraselmis* sp. จะเห็นได้ว่าการที่นำมอินทรีย์มาใช้เป็นอาหารในการเลี้ยงสามารถเพิ่มจำนวนของสาหร่ายได้สอดคล้องกับ Wang et al. (2016) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำเสียจากนมเพื่อปรับปรุงศักยภาพในการกำจัดสารอาหาร พบว่าสามารถกำจัดฟอสฟอรัสทั้งหมดสูงสุด 91.16-95.96 เปอร์เซ็นต์ มีผลผลิตของชีวมวลสูงสุด 730.4-773.2 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน *Tetraselmis* sp. มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากมีโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และกรดไขมันในปริมาณที่เพียงพอ ยังอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอล และเทอร์พีน ในการต้านอนุมูลอิสระ และมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ (Rahman et al., 2017) จึงเหมาะแก่การนำมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ในการทดลองนี้เกิดอุปสรรคเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ไม่สามารถควบคุมได้ของระบบการเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง ความเค็มเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อระบบการผลิตสาหร่ายขนาดเล็ก เมื่อฝนตกทำให้ความเค็มลดลงอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้สาหร่ายปรับสภาพไม่ทันและตายลงในที่สุด Pugkaew et al. (2021) รายงานว่า ความเค็มที่เหมาะสมในการเลี้ยง *T. suecica* อยู่ในช่วง 20-60 ส่วนในพันส่วน ที่ความเค็มต่ำกว่า 10 ส่วนในพันส่วน ทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโต สัณฐานวิทยาของเซลล์เปลี่ยนแปลง และมีการสังเคราะห์แสงลดลง ลักษณะของการเจริญเติบโตในอาหารน้ำนมอินทรีย์มีรูปแบบที่ใกล้เคียงกัน คือมีลักษณะเป็นรูประฆังคว่ำ หรือ S-curve ในทุก 2 วัน สอดคล้องตามรอบจังหวะของการให้อาหารไปตลอดการทดลองเป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 4 ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของ *Tetraselmis sp.* ที่เพาะเลี้ยงด้วยนมอินทรีย์ที่ระดับแตกต่างกัน ในระยะเวลา 1 สัปดาห์

4.1.2 ผลการเจริญเติบโตของ PSB ที่ระดับความเข้มข้นของนมอินทรีย์แตกต่างกัน

จากการขยายพันธุ์ PSB ที่ระดับอาหารแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในวันที่ 3 ของการทดลองเลี้ยง PSB ที่ระดับอาหาร 40 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการดูดกลืนแสง (OD_{970}) สูงสุด รองลงมาคือ 30, 20 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.328, 0.315, 0.268 และ 0.265 ตามลำดับ (ภาพที่ 5) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นอาหาร 40 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างกับทุกระดับความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) จะเห็นได้ว่าที่อาหารระดับสูงสุด PSB สามารถเพิ่มจำนวนได้เร็วที่สุด อย่างไรก็ตาม การเจริญเติบโตของ PSB ในนมอินทรีย์มีความคล้ายคลึงกับ การเจริญเติบโตของ*Tetraselmis* sp. ตามการทดลองที่ผ่านมา ถึงแม้ว่าสาหร่าย *Tetraselmis* และ แบคทีเรียสังเคราะห์แสง จะมีโครงสร้างต่างกัน และอยู่ต่างอาณาจักรกัน คือลักษณะของการเจริญเติบโตของ PSB ที่เลี้ยงด้วยน้ำนมอินทรีย์มีเป็นรูประฆังคว่ำ หรือ S-curve เช่นเดียวกันแต่เป็นการเจริญในช่วงแรก ส่วนหลังวันที่ 4 การเจริญเติบโตลดลงต่ำ จากการทดลองครั้งนี้การเพาะ *Tetraselmis* sp. และ PSB มักเกิดการปนเปื้อนจากสาหร่ายกลุ่มอื่น ต้องเสียเวลาในการเริ่มทดลองใหม่หลายๆครั้ง จะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงบริเวณกลางแจ้งยากต่อการเพิ่มผลผลิตให้ได้ปริมาณที่เข้มข้น



ภาพที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของ Photosynthetic bacteria ที่เพาะเลี้ยงด้วยนมอินทรีย์ที่ระดับแตกต่างกัน ในระยะเวลา 1 สัปดาห์

4.2 ผลการศึกษาการให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp.

4.2.1 ผลของการทดลองให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp.

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมโปรไบโอติก ได้แก่ ผสมโยเกิร์ต ผสม PSB และผสมโยเกิร์ตกับ PSB รวมทั้งชุดควบคุมที่ให้อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว เลี้ยงร่วมกับ *Tetraselmis* sp. เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวเฉลี่ยต่อตัว พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 2.39±0.22, 2.35±0.19, 2.35±0.16 และ 2.18±0.21 กรัม ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 4 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ด้านความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB มีความยาวเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาเป็นกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด ตามด้วยกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป ตามลำดับ โดยมีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 6.62±0.47, 6.50±0.29, 6.44±0.32 และ 6.13±0.40 ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติ พบว่าความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB มีความแตกต่างกับกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และอาหารผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง (p>0.05) (ตารางที่ 3)

อัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน ของกุ้งขาวแวนนาไมหลังจากสิ้นสุดการทดลอง พบว่า อัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเฉลี่ยกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 1,386±77, 1,338±15, 1,285±26 และ 1,283±87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05) ด้านอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.07±0.01, 0.07±0.00, 0.06±0.01 และ

0.06±0.01 กรัมต่อวัน ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวันไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05) ด้านอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.71±0.15, 7.61±0.25, 7.50±0.23 และ 7.50±0.18 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ด้านอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเมื่อนำมาคำนวณ พบว่าค่า FCR ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสม PSB ผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด ผสมโยเกิร์ต และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.53±0.09, 1.52±0.13, 1.44±0.02 และ 1.32±0.14 ตามลำดับ (p>0.05) และด้านอัตราการอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ 95.00±5.00, 91.67±2.89, 91.67±2.89 และ 85.00±5.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB มีความแตกต่างกันกับกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และพบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง (p>0.05) (ตารางที่ 3)

จากการศึกษาการประยุกต์ใช้โปรไบโอติกร่วมกับ *Tetraselmis* sp. เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต และการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกในด้านการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันแต่อัตราการรอดตายสูงกว่าชุดควบคุมเนื่องจากโปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน ช่วยส่งเสริมภูมิคุ้มกันในทางเดินอาหารของกุ้ง และ *Tetraselmis* sp. มีคุณสมบัติที่หลากหลายมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน และ Polyphenols ซึ่งมีส่วนช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ และกิจกรรมทางชีวภาพอื่นๆ (Swain et al., 2020) การใช้โปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งสามารถปรับปรุงคุณภาพ และสุขภาพกุ้งได้ (Cao et al., 2014) จากการศึกษาของ Zhaoxing et al. (1993 อ้างตาม มัสธูรา, 2562) รายงานว่า PSB ผสมกับอาหารสำเร็จรูปในการอนุบาลลูกกุ้งทำให้ลูกกุ้งมีการเจริญเติบโตและพัฒนาดีกว่าชุดควบคุม เนื่องจากมีการรายงานว่าแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วง มีโปรตีนร้อยละ 62 และยังมีกรดอะมิโนจำเป็นต่อการเจริญเติบโต และเมื่อนำไปใช้สำหรับทดลองเลี้ยงกุ้งพบว่าสามารถเพิ่มอัตราการรอดของลูกกุ้งวัยอ่อนได้ (Li et al., 1993) การเสริมโปรไบโอติกร่วมกับสาหร่ายในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นการส่งเสริมปัจจัยในการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายให้ดีขึ้น สอดคล้องกับ Cao et al. (2014) ศึกษาผล

ของสาหร่ายขนาดเล็ก (*Chlorella* sp.) และปริมาณแบคทีเรียต่อการผลิตกุ้งโดยมีการใช้โปรไบโอติก ได้แก่ *Bacillus* sp., PSB, และ *Bacillus* sp. ร่วมกับ PSB พบว่าการใช้โปรไบโอติก 2 ชนิดส่งผลให้ผลผลิตและอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด จากการทดลองที่มี *Tetraselmis* sp. ในระบบการเลี้ยงเห็นได้ชัดว่ากุ้งมีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายดีกว่าการเสริมโปรไบโอติกเพียงอย่างเดียว ยังมีสีที่เข้มขึ้นอีกด้วย เนื่องจากมีการระบุว่าแคโรทีนอยด์ที่อยู่ใน *Tetraselmis* สามารถเพิ่มสีในสัตว์น้ำได้ (Guedes et al., 2011) (ภาพที่ 6) สอดคล้องกับ Charoonnart et al., (2018) รายงานว่าสารประกอบต่างๆ ในสาหร่ายขนาดเล็ก ทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่เจาะจง จึงช่วยเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อก่อโรคได้

จากการทดลองเห็นได้ว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสม PSB มีอัตราการรอดตายสูงสุดซึ่งสอดคล้องกับ มัสธูรา (2562) ได้ศึกษาอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่อนุบาลด้วย *Chlorella* sp. ร่วมกับแบคทีเรียสังเคราะห์แสงมีอัตราการรอดตายสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ Rahman et al. (2017) ศึกษาการเสริม *Tetraselmis chuii* ในอาหารกุ้งขาวแวนนาไมเพื่อใช้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ และเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันความเครียดของกุ้ง พบว่าการเสริมอาหารด้วย *T. chuii* 50 เปอร์เซ็นต์ กุ้งขาวแวนนาไมมีอัตราการรอดสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญที่ 97.60 เปอร์เซ็นต์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น 2.4 เท่า เมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่มีการเติม *T. chuii* สอดคล้องกับ Barri et al. (2014) ได้ศึกษาการเสริมโปรตีนในอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก 5 ระดับ ได้แก่ 0 (ควบคุม) 10 20 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์พบว่า การเสริมโปรตีนด้วยสาหร่าย มีอัตราการรอดสูงกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ในทุกทรีทเมนต์ การทดลองที่มีการเสริมโปรไบโอติกร่วมกับสาหร่ายขนาดเล็กคล้ายคลึงกับการเลี้ยงกุ้งในระบบ Biofloc (BFT) เนื่องด้วยในระบบ BFT เกิดจากการรวมตัวของสารต่างๆ เช่น จุลินทรีย์ สาหร่ายขนาดเล็ก แพลงก์ตอนสัตว์ และอนุภาคจากอินทรีย์ หรืออาหารที่กุ้งไม่ได้กิน เมื่อมีการควบแน่นรวมกันกลายเป็นมวลชีวภาพทำหน้าที่เป็นสารอาหาร เป็นแหล่งโปรตีนเสริมภูมิตุ้มกัน และรักษาคุณภาพน้ำสำหรับการเลี้ยงกุ้งได้ (Lee, 2017) Ju et al. (2008) กล่าวว่า BFT เป็นแหล่งที่อุดมด้วยสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น Carotenoid, Chlorophylls, Phytosterols, Bromophenols และ Amino sugar รวมถึงโปรไบโอติก เช่น *Lactobacillus* spp. ซึ่ง Lee (2017) ทดลองเสริม Biofloc ในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และการตอบสนองภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงพบว่าการเสริม Biofloc 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต FCR และมีอัตราการรอดสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และการอยู่รอดของ *Litopenaeus vannamei* (n=90) สำหรับการทดลองโดยให้อาหารผสมโยเกิร์ต ผสม PSB และผสมโยเกิร์ตกับ PSB เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ไม่มีโปรไบโอติก) ในระบบการเลี้ยงที่มี *Tetraselmis sp.*

Mean values	Feed Treatments			
	Control	Yogurt	PSB	Mixed
Initial length (cm/shrimp)	2.96±0.07[a]	2.98±0.10[a]	2.96±0.04[a]	3.00±0.14[a]
Final length (cm/shrimp	6.13±0.40[a]	6.44±0.32[ab]	6.62±0.47[b]	6.50±0.29[ab]
Initial weight (g/shrimp)	0.17±0.17[a]	0.17±0.11[a]	0.17±0.11[a]	0.18±0.01[a]
Final weight (g/shrimp)	2.18±0.21[a]	2.35±0.16[a]	2.39±0.22[a]	2.35±0.19[a]
Weight gain (%)	1,285±12[a]	1,338±13[a]	1,386±76[a]	1,283±87[a]
SGR (%/day)	7.50±0.23[a]	7.61±0.25[a]	7.71±0.15[a]	7.50±0.18[a]
ADG (g/day)	0.06±0.01[a]	0.07±0.00[a]	0.07±0.01[a]	0.06±0.01[a]
FCR	1.32±0.14[a]	1.44±0.02[a]	1.53±0.09[a]	1.52±0.13[a]
Survival (%)	85.00±5.00[a]	91.67±2.89[ab]	95.00±5.00[b]	91.67±2.89[ab]

ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SD. ข้อมูลที่ระบุด้วยตัวอักษรต่างกันคือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05). (a<b)

ภาพที่ 6 ลักษณะกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. ทั้ง 4 ชุดการทดลอง ลำตัวและตับมีสีเข้ม

4.2.2 คุณภาพน้ำของการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp.

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบน้ำเขียวเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ได้ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงทุก 1 สัปดาห์ พบว่าค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ อุณหภูมิ (Temperature) ออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ความเค็ม (Salinity) และแอมโมเนีย (Ammonia) ของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก และได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB และผสมโยเกิร์ตกับ PSB ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) แต่จะแตกต่างจากกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวมีค่าเท่ากับ 119.00±0.00, 102.00±0.00, 98.67±0.47 และ 89.33±9.81 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในทุกกลุ่มการทดลองแต่กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB กับกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป (p<0.05) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 5 พารามิเตอร์คุณภาพน้ำในช่วงระยะเวลาของการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่มี *Tetraselmis* sp.

Mean values	Feed Treatments			
	Control	Yogurt	PSB	Mixed
Temperature (C°)	27.90±0.06[a]	27.63±0.05[a]	27.70±0.14[a]	27.60±0.04[a]
pH	7.78±0.69[a]	7.72±0.15[a]	8.14±0.17[b]	8.09±0.00[b]
DO (mg/L)	5.67±0.05[a]	5.76±0.05[a]	5.67±1.57[a]	5.81±0.38[a]
Alkalinity (mg/L)	89.33±9.81[a]	102.00±0.00[b]	98.67±0.47[b]	119.00±0.00[c]
Salinity (ppt)	30.00±0.00[a]	30.00±0.00[a]	30.00±0.00[a]	30.00±0.00[a]
Ammonia (mg/L)	0.04±0.03[a]	0.06±0.03[a]	0.06±0.00[a]	0.05±0.00[a]

ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SD. ข้อมูลที่ระบุด้วยตัวอักษรต่างกันคือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05). (a<b)

4.2.3 ผลของการทดลองให้อาหารผสมโยเกิร์ต และ PSB ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

การทดลองนี้เป็นที่การทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมโปรไบโอติก ได้แก่ ผสมโยเกิร์ต ผสม PSB และผสมโยเกิร์ตกับ PSB รวมทั้งชุดควบคุมที่ให้อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว โดยไม่มี *Tetraselmis* sp. ในระบบการเลี้ยง ทดลองเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวเฉลี่ยต่อตัว พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาเป็นกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB ตามด้วยกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.44±0.11, 2.25±0.20, 2.21±0.11, และ 2.06±0.11 กรัม เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) กับทุกชุดการทดลอง ด้านความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีความยาวเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาเป็นกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB ตามด้วยกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป ตามลำดับ โดยมีความยาว

เฉลี่ยเท่ากับ 6.39±0.29, 6.37±0.38, 6.18±0.19 และ 5.97±0.31 ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความยาวเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 4 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) (ตารางที่ 5)

อัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน ของกุ้งขาวแวนนาไมหลังจากสิ้นสุดการทดลอง พบว่า อัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเฉลี่ยกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด มีค่าเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาเป็นกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB ตามด้วยกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1,312±107, 1,209±223, 1,200±11 และ 1,117±114 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) แต่กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตไม่มีความแตกต่างกับกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด และกลุ่มควบคุม (p>0.05) ด้านอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม Yogurt กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหาร PSB และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม ผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีค่าเฉลี่ยเท่ากัน ส่วนกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปมีค่าเฉลี่ยต่ำสุด ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.06±0.00, 0.06±0.01, 0.06±0.01 และ 0.05±0.01 กรัมต่อวัน ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติ พบว่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวันไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05) ด้านอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.56±0.31, 7.33±0.03, 7.32±0.51 และ 7.13±0.26 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ด้านอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเมื่อนำมาคำนวณ พบว่าค่า FCR ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสม PSB กุ้งที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าเท่ากับ 1.32±0.02, 1.29±0.19, 1.22±0.03 และ 1.21±0.03 ตามลำดับ (p>0.05) และด้านอัตราการอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 88.33±2.89, 86.67±2.46, 86.67±2.89 และ 85.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาทดสอบ

ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง (p>0.05) (ตารางที่ 5)

จากการศึกษาการประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในอาหารกุ้งโดยไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกมีค่าการเจริญเติบโตได้แก่ Final length, SGR, ADG, FCR และอัตราการรอดตาย ไม่แตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม อาจเกิดจากโปรไบโอติกที่ผสมกับอาหารกุ้งมีไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้ง แต่จะไปส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน สอดคล้องกับ He et al. (2023) ทดลองใช้ *Lactobacillus subtilis* ต่อการเลี้ยงกุ้งขาวในระบบ Biofloc พบว่าไม่ได้มีผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของกุ้ง แต่จะส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตามอาจขึ้นอยู่กับวิธีการนำไปใช้ และสังเกตว่าการประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในอาหารกุ้งโดยไม่มี *Tetraselmis* sp. สีของกุ้งมีลักษณะสีขาว บริเวณตับมีสีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 7)

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และการอยู่รอดของ *Litopenaeus vannamei* (n=90) สำหรับการทดลองโดยให้อาหารผสมโยเกิร์ตเพียงอย่างเดียว ผสม Photosynthetic bacteria และผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิด เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ไม่มีโปรไบโอติก) ในระบบการเลี้ยงที่ไม่มี *Tetraselmis s*p.

Mean values	Feed Treatments			
	Control	Yogurt	PSB	Mixed
Initial length (cm/shrimp)	2.93±0.03^{a}	2.93±0.09^{a}	2.94±0.06^{a}	2.93±0.03^{a}
Final length (cm/shrimp	5.97±0.31^{a}	6.18±0.19^{a}	6.37±0.38^{a}	6.39±0.29^{a}
Initial weight (g/shrimp)	0.17±0.01^{a}	0.17±0.01^{a}	0.17±0.02^{a}	0.17±0.01^{a}
Final weight (g/shrimp)	2.06±0.11^{a}	2.21±0.11^{a}	2.25±0.20^{a}	2.44±0.11^{b}
Weight gain (%)	1,117±114^{a}	1,200±11^{ab}	1,209±223^{ab}	1,312±107^{b}
SGR (%/day)	7.13±0.26^{a}	7.33±0.03^{a}	7.32±0.51^{a}	7.56±0.31^{a}
ADG (g/day)	0.05±0.01^{a}	0.06±0.00^{a}	0.06±0.01^{a}	0.06±0.01^{a}
FCR	1.22±0.03^{a}	1.21±0.03^{a}	1.32±0.02^{a}	1.29±0.19^{a}
Survival (%)	86.67±2.89^{a}	85.00±0.00^{a}	88.33±2.89^{a}	86.67±2.46^{a}

ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SD. ข้อมูลที่ระบุด้วยตัวอักษรต่างกันคือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05). (a<b)

ภาพที่ 7 ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis s*p. ทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีลำตัวสีขาว และตับสีน้ำตาลอ่อน

4.2.4 คุณภาพน้ำของการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่าค่าพารามิเตอร์ ได้แก่ อุณหภูมิ (Temperature) ความเค็ม (Salinity) และแอมโมเนีย (Ammonia) ของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก และได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสม PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต มีค่าเท่ากับ 8.36±0.06, 8.33±0.03, 8.12±0.19 และ 7.33±1.73 ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) แต่จะแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนค่าออกซิเจนละลายในน้ำ (DO) ของกุ้งขาวแวนนาไมกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป มีค่าเท่ากับ 5.30±0.46, 5.04±0.27, 4.83±0.07 และ 4.66±0.20 มิลลิกรัมต่อ

ลิตร ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB (p>0.05) แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มที่ได้รับสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) ของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกลุ่มที่ได้รับสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 119.00±0.00, 107.67±9.81, 102.00±0.00 และ 96.33±9.81 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB (p>0.05) แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกลุ่มที่ได้รับสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 7 พารามิเตอร์คุณภาพน้ำในช่วงระยะเวลาของการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

Mean values	Feed Treatments			
	Control	Yogurt	PSB	Mixed
Temperature (C˚)	27.10±0.17[a]	27.17±0.15[a]	27.27±0.12[a]	27.23±0.18[a]
pH	8.12±0.19[a]	7.33±1.73[a]	8.33±0.03[ab]	8.36±0.06[b]
DO (mg/L)	4.66±0.20[a]	4.83±0.07[ab]	5.04±0.27[ab]	5.30±0.46[b]
Alkalinity (mg/L)	96.33±9.81[a]	102.00±0.00[a]	107.67±9.81[ab]	119.00±0.00[b]
Salinity (ppt)	30.00±00[a]	30.00±00[a]	30.00±00[a]	30.00±00[a]
Ammonia (mg/L)	0.06±0.00[a]	0.06±0.03[a]	0.06 ±0.00[a]	0.05±0.00[a]

ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SD. ข้อมูลที่ระบุด้วยตัวอักษรต่างกันคือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05). (a<b)

ซึ่งในการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 27.10-27.90 องศาเซลเซียส pH ของน้ำอยู่ในช่วง 7.33-8.36 ค่าออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 4.66-5.81 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นด่างอยู่ในช่วง 89.33-119 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเค็มอยู่ที่ 30 ส่วนในพันส่วน ยังอยู่ในเกณฑ์ที่ดีไม่ส่งผลให้กุ้งกินอาหารลดลง ส่วนค่าแอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.04-0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการทดลองจะเห็นว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกมีค่าความเป็นด่างสูงกว่ากลุ่มควบคุมเนื่องจากมีรายงานว่าโปรไบโอติกสามารถ

สามารถกำจัดสารอินทรีย์ ปรับคุณภาพน้ำให้เหมาะสมได้ (Ying et al., 2020; Jamili et al., 2015) ค่าที่ได้ไม่ส่งผลต่อการรอดตายของกุ้งเนื่องจากจากการได้มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ทุก 1 สัปดาห์ และดูดตะกอนของเสียทุก 1 วัน ทำให้ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ยังอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม ไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ และอุณหภูมิเป็นสองปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการส่งผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง โดยช่วงที่กุ้งขาวแวนนาไมกินอาหารและย่อยอาหารได้เหมาะสมอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียส ถ้าหากอุณหภูมิต่ำกว่า 26 องศาเซลเซียสจะทำให้กุ้งกินอาหารลดลง และย่อยอาหารได้ช้าลง ออกซิเจนละลายน้ำต้องมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชลอ และคณะ, 2552) pH ของน้ำที่มีความเหมาะสมในการเจริญเติบโตของกุ้งขาว คือ 7.4-8.9 ส่วนค่าความเป็นด่างที่เป็นมาตราฐานคือมากกว่า 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของกุ้งอยู่ในช่วง 90-150 มิลลิกรัมต่อลิตร ยิ่งมีความเข้มข้นมากน้ำก็ยิ่งดีสำหรับการเลี้ยงกุ้ง ส่วนของความเค็มกุ้งขาวสามารถอยู่ได้ที่ความเค็มตั้งแต่ 0.5-45 ส่วนในพันส่วน ความเค็มที่เหมาะสมในการเลี้ยงกุ้งขาวคือ 15-30 ส่วนในพันส่วน สำหรับค่าแอมโมเนียช่วงที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของกุ้งขาวต้องน้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Suwoyo & Hendrajat, 2021)

4.3 ผลของการทดสอบการต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (Challenge test) ของกุ้งขาวแวนนาไมเลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

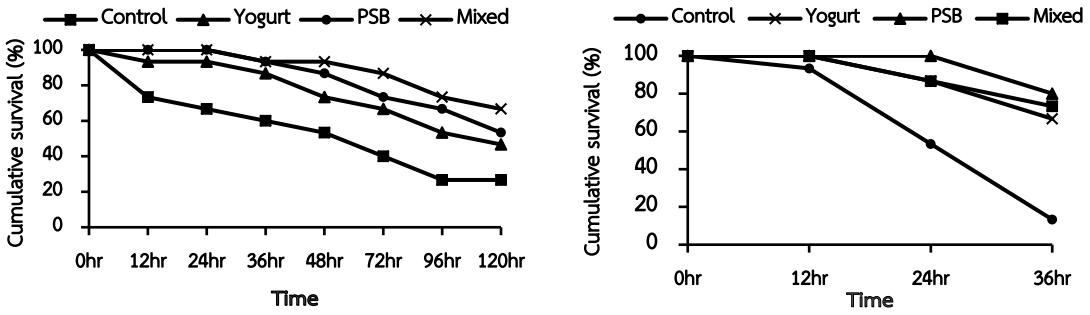
เมื่อสิ้นสุดการทดลองข้อ 4.2 นำกุ้งขาวแวนนาไมชุดการทดลองละ 15 ตัว แช่ในตู้ที่มีเชื้อ *V. parahaemolyticus* ความเข้มข้น $1x10^7$ CFU ต่อมิลลิลิตร ในน้ำทะเลปริมาตร 5 ลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำกุ้งขาวแวนนาไมมาเลี้ยงในตู้ทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ทำการสังเกตและบันทึกอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมทุก ๆ 12 ชั่วโมง พบว่าเมื่อครบ 12 ชั่วโมง กุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. กุ้งขาวชุดควบคุม และชุดที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 73.33 และ 93.33 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่พบอัตราการตายของกุ้งที่ได้รับอาหารผสม PSB และผสมโปรไบโอติก 2 ชนิด เมื่อครบ 24 ชั่วโมง พบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งขาวชุดควบคุมอยู่ที่ 66.67 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบอัตราการตายของกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กุ้งที่ได้รับอาหารผสม PSB และกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB เมื่อครบ 36 ชั่วโมง เริ่มพบอัตราการตายของกุ้งขาวชุดที่ได้รับอาหารผสม PSB และกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีอัตราการรอดตายเท่ากัน 93.33 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าจำนวนกุ้งขาวชุดควบคุมค่อยๆ ลดลง เมื่อครบ 120 ชั่วโมง กุ้งขาวชุดควบคุมมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 26.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตผสม PSB และกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 46.67 53.33

และ 66.67 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8 (ก)) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารโปรไบโอติกมีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดควบคุมที่ได้รับเชื้อ *V. parahaemolyticus* อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) และผลการทดสอบความต้านทานเชื้อของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่าเมื่อครบ 12 ชั่วโมง กุ้งขาวชุดควบคุมมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 93.33 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่พบอัตราการตายของกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก เมื่อครบ 24 ชั่วโมง พบอัตราการรอดตายของกุ้งขาวชุดควบคุมต่ำสุดอยู่ที่ 53.33 เปอร์เซ็นต์ โดยกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีอัตราการรอดตายเท่ากัน คือ 86.67 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบอัตราการตายของกุ้งที่ได้รับอาหารผสม PSB เมื่อครบ 36 ชั่วโมง พบว่ากุ้งขาวชุดควบคุมทยอยตายเป็นจำนวนมาก มีอัตราการรอดตายต่ำสุดเพียง 13.33 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต ตามด้วยกุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB ซึ่งมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 66.67 และ 73.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่ากุ้งขาวชุดที่ได้รับอาหารผสม PSB มีอัตราการรอดตายสูงสุด คือ 80.00 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8 (ข)) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก มีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดควบคุมที่ได้รับเชื้อ *V. parahaemolyticus* อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) จึงได้สิ้นสุดการทดลองที่ 36 ชั่วโมง เนื่องจากกุ้งขาวในชุดควบคุมมีอัตราการรอดตายต่ำกว่า 50.00 เปอร์เซ็นต์

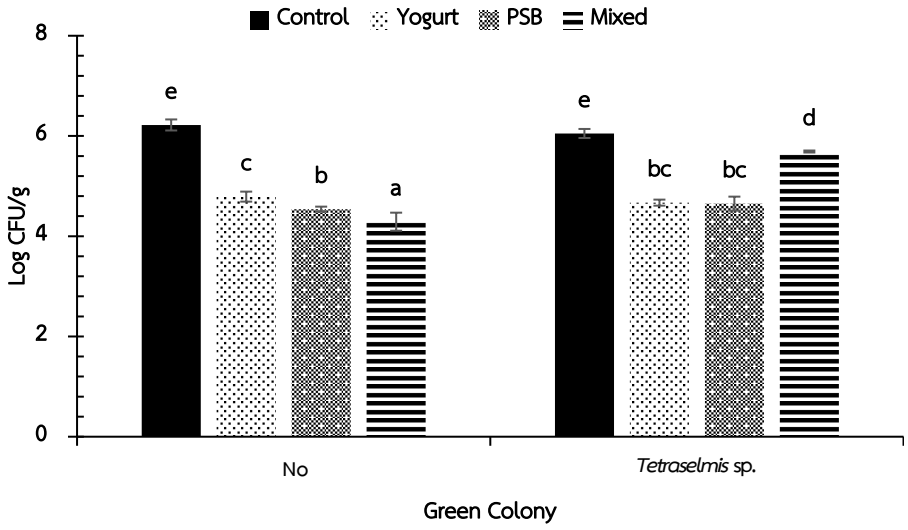
เมื่อสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานเชื้อจากนั้นนำกุ้งขาวแวนนาไมมาตรวจนับจำนวน *V. parahaemolyticus* โดยนับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะสีเขียวบนผิวหน้าอาหาร TCBS พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.05±0.09, 4.67±0.06, 4.65±0.14 และ 5.69±0.02 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และจากการนับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะสีเขียวของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB มีค่าเท่ากับ 6.22±0.11 4.79±0.10 4.54±0.05 และ 4.29±0.18 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมกลุ่มควบคุมทั้ง 2 ระบบ มีจำนวนโคโลนีสีเขียวของเชื้อ *V. parahaemolyticus* มากกว่าชุดที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (ภาพที่ 9) และเมื่อสังเกตลักษณะตับและตับอ่อนของกุ้งขาวแวนนาไมหลังทดสอบการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. ตับมีลักษณะลีบฝ่อ มีสีซีด (ภาพที่ 10 (ก)) เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10x40 พบว่าลักษณะตับของกุ้งขาวแวนนาไมผิดปกติท่อตับคอดกิ่ว (ภาพที่

11) ส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. ตับมีลักษณะปกติ มีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 10 (ข)) เมื่อส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10x40 พบว่าลักษณะตับของกุ้งขาวแวนนาไมปลายท่อตับมีลักษณะโค้งมนมีเม็ดไขมันมาก (ภาพที่ 12)

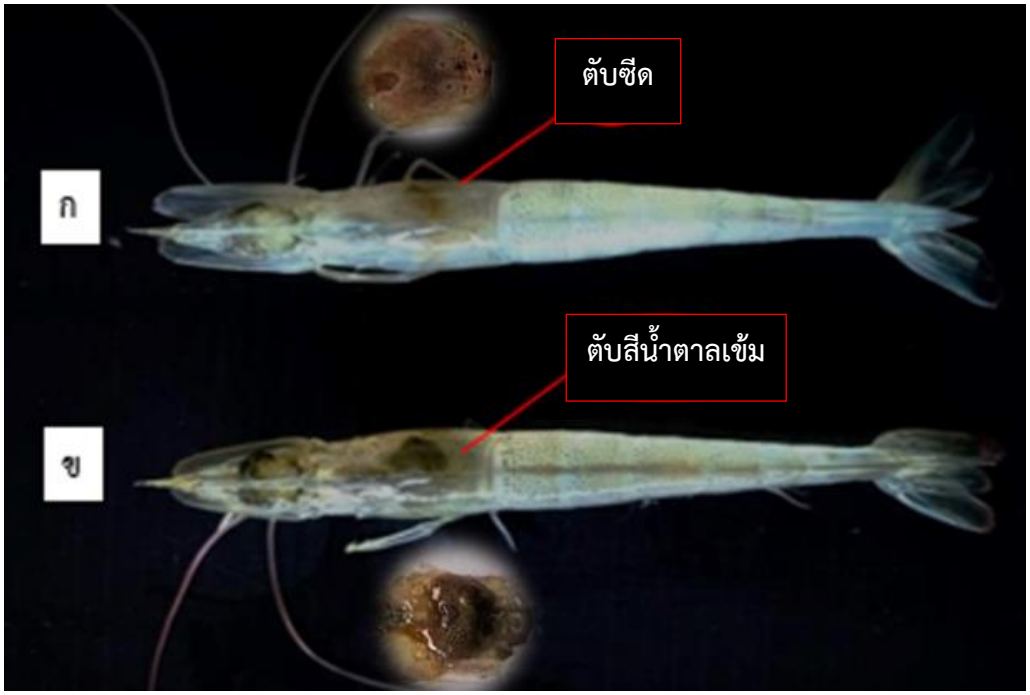
จากการทดสอบการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับในกลุ่มควบคุมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. อัตราการตายของกุ้งตายฉับพลันอย่างเห็นได้ชัด สรุปได้ว่าโปรไบโอติกที่ผสมในอาหารมีส่วนช่วยในการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ สอดคล้องกับ Pinoargote et al. (2018) ได้ทำการทดลองการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* ด้วยจุลินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Rhodopseudomonas palustris* โดยทดสอบการแพร่กระจายบนแผ่นดิสก์ พบว่าหลังจาก 48 ชั่วโมง มีเส้นผ่าศูนย์กลางการยับยั้งสูงสุดถึง 11 มิลลิเมตร ยังมีการรายงานว่าโปรไบโอติกที่รวมจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด มีศักยภาพในการยับยั้ง AHPND ในการเพาะเลี้ยงกุ้งได้ สอดคล้องกับ อภิสิทธิ์ (2564) ได้ทำการทดลองเสริมโปรไบโอติกในอาหารกุ้งขาวแวนนาไมเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกมีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แต่จากการทดลองที่ให้กุ้งได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกร่วมกับมี *Tetraselmis* sp. ในระบบการเลี้ยงซึ่งสามารถช่วยส่งเสริมความต้านทานการติดเชื้อได้ดีกว่ากุ้งที่ไม่ได้เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. เห็นได้ว่ากลุ่มควบคุมของชุดที่มีสาหร่ายอัตราการตายสูงกว่ากลุ่มควบคุมของชุดที่มีสาหร่าย เนื่องจากมีรายงานว่าสารประกอบต่าง ๆ ในสาหร่ายขนาดเล็ก ทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่เจาะจง ปรับปรุงกลไกการป้องกันในสัตว์น้ำ รวมทั้งกรดไขมันของ *Tetraselmis* sp. ที่มีความสามารถในการผลิตสารชีวโมเลกุลในการยับยั้งความสามารถการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio* (Charoonnart et al., 2018; Kuo et al., 2015) สอดคล้องกับ (Lee et al., 2017) ทดลองเสริม Biofloc ในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต การตอบสนองของภูมิคุ้มกัน และความไวต่อการติดเชื้อ *V. harveyi* ในกุ้งขาวแวนนาไมพบว่า การเสริม Bf 4 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิตสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่ง He et al. (2023) กล่าวว่าการเติมโปรไบโอติกส่งผลต่อกิจกรรมของ Catalase และความสามารถในการกระตุ้นอนุมูลอิสระทั้งหมดใน Hepatopancreas และมีการสรุปว่าการใช้โปรไบโอติกกับระบบ Biofloc สามารถเพิ่มระดับ Pepsin ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม



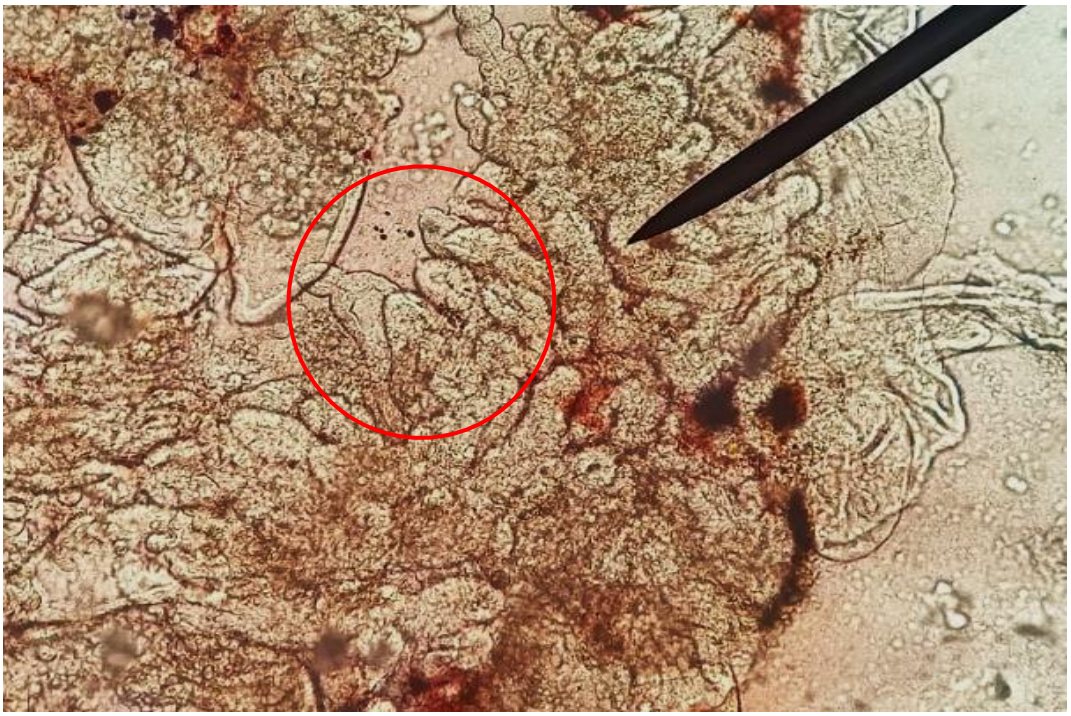
ภาพที่ 8 อัตราการรอดตายของ *Litopenaeus vannamei* ที่ทดสอบการต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (ก) ในระบบการเลี้ยงที่มี *Tetraselmis* sp. (ข) ระบบการเลี้ยงไม่มี *Tetraselmis* sp.



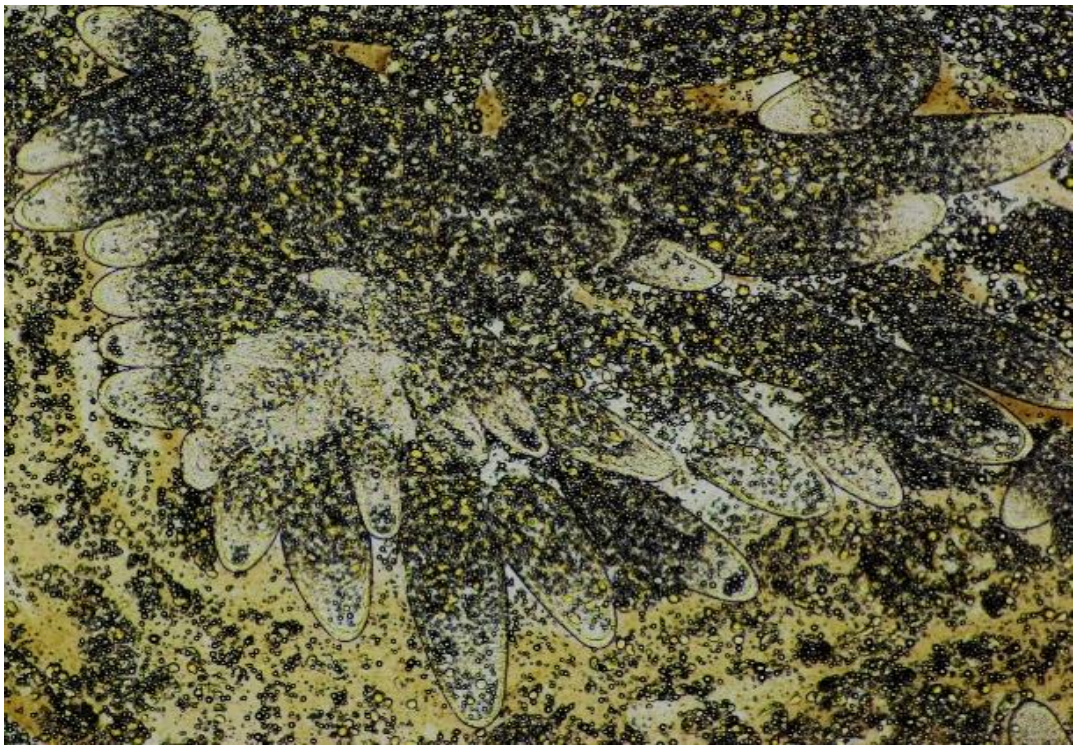
ภาพที่ 9 จำนวนโคโลนีสีเขียวของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตับ และกระเพาะอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต อาหารผสม PSB และอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. โดยข้อมูลหมายถึง ± SD (n = 3), อักษรตัวพิมพ์เล็กต่างกันบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$). (a<b)



ภาพที่ 10 ลักษณะตับและตับอ่อนของกุ้งขาวแวนนาไมหลังทดสอบการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* โดยวิธีแช่ที่ความเข้มข้นของเชื้อ 10^7 CFU/ml. (ก) กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. (ข) กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกในระบบที่มี *Tetraselmis* sp.



ภาพที่ 11 ลักษณะตับของกุ้งขาวแวนนาไมที่ผิดปกติ ท่อตับคอดกิ่ว ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10x40



ภาพที่ 12 ลักษณะตับของกุ้งขาวแวนนาไมที่ปกติ ปลายท่อตับโค้งมน มีเม็ดไขมันมาก ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10x40

4.4 ผลการศึกษาค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไม

4.4.1 ค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และไม่มี *Tetraselmis* sp.

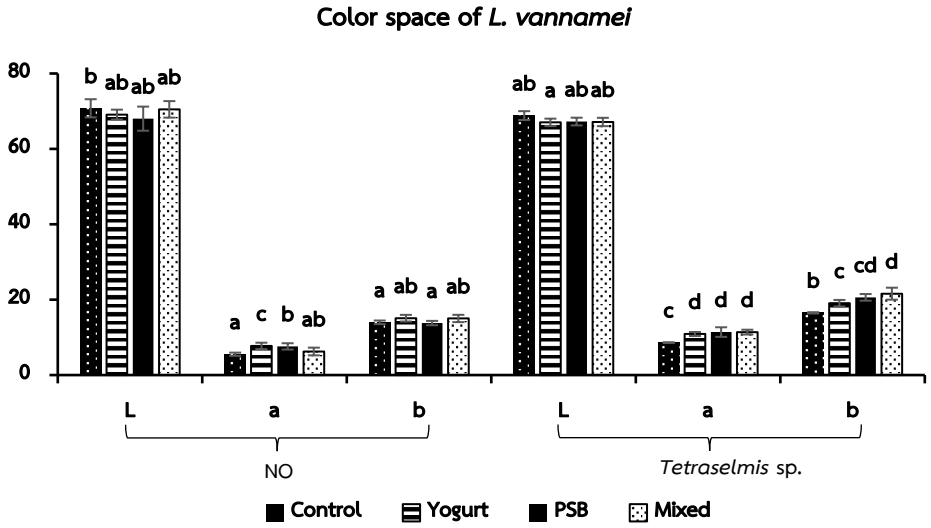
จากการศึกษาการวัดค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไมที่ผ่านการต้มเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง ด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab พบว่าค่าพารามิเตอร์ที่บ่งบอกความสว่างของสี (ค่า L*) ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. ในกลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต มีค่าเท่ากับ 68.84±1.17, 67.26±1.02, 67.14±1.11 และ 67.04±0.99 ตามลำดับ และค่า L* ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB มีค่าเท่ากับ 70.77±2.41, 70.49±2.19, 69.10±1.31 และ 68.02±3.20 ตามลำดับ เมื่อนำทั้ง 2 ระบบการเลี้ยงมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากลุ่มควบคุมชุดที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. แตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตในชุดที่มี *Tetraselmis* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนค่า a* มีค่าบวกแสดงลักษณะสีแดง พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. ค่าสีแดงของกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป มีค่าเท่ากับ 11.40±1.27, 11.39±0.64, 10.89±0.53 และ 8.60±0.10 ตามลำดับ และค่า a* ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB และกลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวมีค่าเท่ากับ 7.73±0.43, 7.60±0.84, 6.25±1.02 และ 5.52±0.43 ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าค่า a* ในกลุ่มทดลองของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. แตกต่างกับชุดที่มี *Tetraselmis* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และค่า b* มีค่าบวกจะแสดงลักษณะสีเหลือง พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. ค่าสีของกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต และกลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวมีค่าเท่ากับ 21.59±1.59, 20.61±0.88, 19.06±0.87 และ 16.50±0.17 ตามลำดับ และค่า b* ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB กลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม PSB มีค่าเท่ากับ 15.90±0.85, 15.01±0.97, 13.99±0.48 และ 13.79±0.58 ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่า b* ในกลุ่มทดลองของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. แตกต่างกับชุดที่มี *Tetraselmis* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) (ตารางที่ 5 และภาพที่ 13)

จากการศึกษาค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ระบบการทดลอง กลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกกุ้งขาวจะมีค่า a* มากกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว ถ้าหากค่า a* มีค่ามากบ่งบอกได้ว่ากุ้งมีสีแดงเข้ม พนารัตน์ (2549) รายงานว่าในจุลินทรีย์ และสาหร่ายขนาดเล็ก มีแคโรทีนอยด์ ซึ่งแคโรทีนอยด์มีบทบาทสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพราะมีวิตามินเอเป็นสารตั้งต้นมีผลในการมองเห็น เพิ่มสีของสัตว์น้ำ เร่งการเจริญเติบโต และเพิ่มอัตราการรอดตายของสัตว์น้ำได้ สอดคล้องกับการศึกษาของจันทร์จิรา (2544) ได้ทดลองนำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่แยกได้จากน้ำและดินในบ่อเลี้ยงกุ้งผสมในอาหาร 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันและสีของกุ้งได้ Pradal (1994 อ้างตาม มัสธุรา, 2562) ได้ทดลองเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์ (*Oncorhynchus mykiss*) โดยการผสมแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในอาหารปริมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีการเกิดสีเพิ่มขึ้น และมีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุม และจากการทดลองครั้งนี้กุ้งขาวที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. มีค่า a* มากกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. แม้กระทั่งกลุ่มควบคุมของระบบที่มี *Tetraselmis* sp. ก็มีค่ามากกว่าทุกกลุ่มการทดลองในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. เนื่องจากมีการระบุว่า *Tetraselmis* สามารถสร้างและผลิตแคโรทีนอยด์ได้ด้วยกระบวนการภายในเซลล์ (Guedes et al., 2011) สอดคล้องกับ Barri et al. (2014) ได้ทดลองใช้สาหร่ายป่นเป็นส่วนประกอบในอาหารกุ้ง พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ 72 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้กุ้งมีสีส้มเข้มกว่าชุดควบคุม เช่นเดียวกับ Zhang et al. (2022) ได้เสริมอาหารด้วยสาหร่ายขนาดเล็กที่มีสาร Astaxanthin ปริมาณ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เพื่อเสริมการสร้างเม็ดสีในกุ้ง ดังนั้นการวิเคราะห์สีในการเลี้ยงกุ้งเป็นสิ่งสำคัญอย่างหนึ่งสำหรับผู้บริโภคเพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการเลือกกุ้งมารับประทาน ซึ่งสีแดงถือเป็นการบ่งชี้ประสิทธิภาพ และโภชนาการที่เหมาะสม ยังส่งเสริมมูลค่าทางการค้าอีกด้วย (Silva et al., 2020)

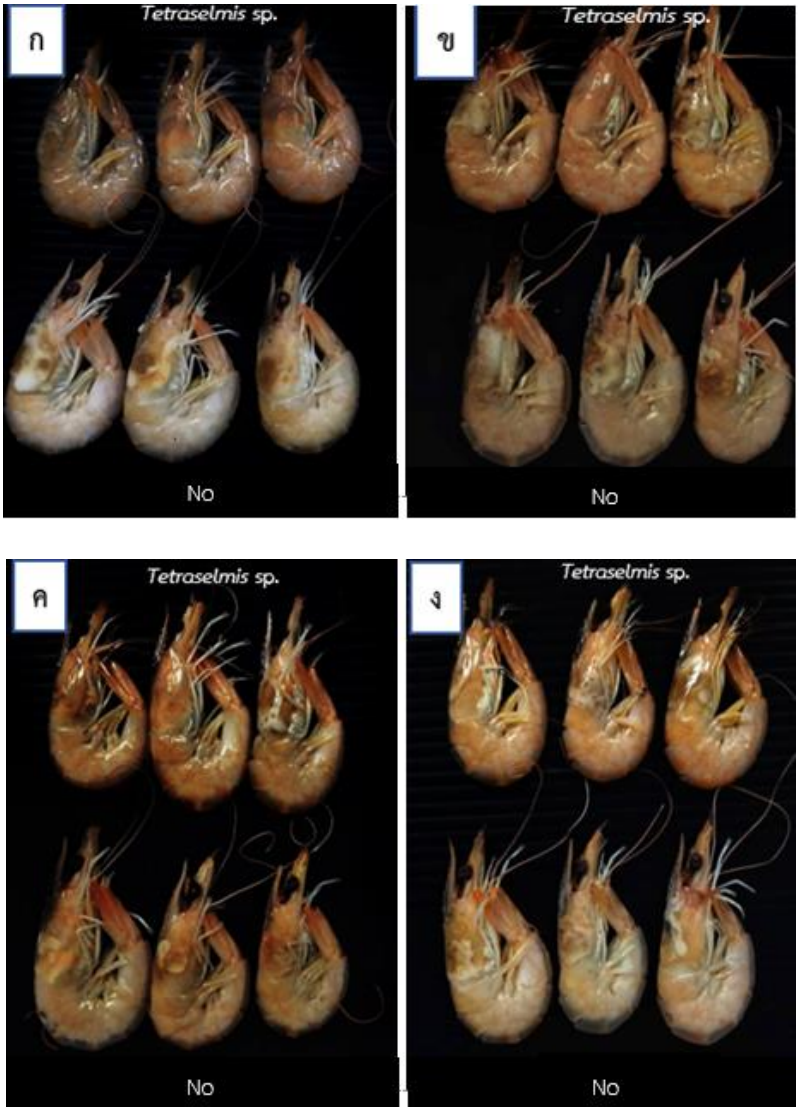
ตารางที่ 8 พื้นที่สีของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. ด้วยอาหารผสมโปรไบโอติก เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ไม่มีโปรไบโอติก) หลังจาก 35 วัน ของการให้อาหาร

System	Color space	Control	Yogurt	PSB	Mixed
Tetraselmis sp.	L*	68.84±1.32^{b}	67.04±1.94^{ab}	67.27±1.30^{ab}	67.15±1.47^{ab}
	a*	8.60±0.80^{a}	10.57±0.33^{c}	11.17±1.26^{b}	11.74±1.05^{ab}
	b*	16.50±1.56^{a}	19.07±0.27^{ab}	20.62±1.42^{a}	21.59±1.29^{ab}
NO	L*	70.78±2.41^{ab}	69.11±1.31^{a}	68.02±3.20^{ab}	70.43±2.20^{ab}
	a*	5.52±0.43^{c}	7.66±0.87^{d}	7.58±0.85^{d}	6.58±0.75^{d}
	b*	13.99±0.49^{b}	15.90±0.88^{c}	13.79±0.59^{cd}	15.01±0.97^{d}

ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SD. ข้อมูลที่ระบุด้วยตัวอักษรต่างกันคือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05). (a<b)



ภาพที่ 13 ค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต อาหารผสม PSB และอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. โดยข้อมูลหมายถึง ± SD (n = 3), อักษรตัวพิมพ์เล็กต่างกันบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05). (a<b)



ภาพที่ 14 ลักษณะสีของกุ้งขาวแวนนาไมที่ผ่านการต้มในแต่ละชุดการทดลอง

(ก) กุ้งขาวกลุ่มควบคุมในชุดที่มีและไม่มี *Tetraselmis* sp.

(ข) กุ้งขาวได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตในชุดที่มีและไม่มี *Tetraselmis* sp.

(ค) กุ้งขาวได้รับอาหารผสม PSB ในชุดที่มีและไม่มี *Tetraselmis* sp.

(ง) กุ้งขาวที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB ในชุดที่มีและไม่มี *Tetraselmis* sp.

บทที่ 5
สรุปผลการศึกษา

จากการทดลองประยุกต์ใช้ *Tetraselmis* sp. ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบน้ำเขียว และการใช้โปรไบโอติกในอาหารกุ้งสำหรับต่อต้านเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ซึ่งเริ่มจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Tetraselmis* sp. และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (PSB) โดยให้นมอินทรีย์ที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานเป็นอาหารในการเลี้ยงสาหร่ายที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ จากผลการทดลอง พบว่าค่า O.D. ที่อาหารรระดับ 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยระดับความเข้มข้นของอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Tetraselmis* sp. คือที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ และจากการขยายพันธุ์ PSB พบว่า PSB ที่ได้รับอาหารความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ PSB สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมพบว่าในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. กุ้งขาวมีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่มีความแตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลอง แต่อัตราการรอดตายของกุ้งขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทุกชุดการทดลองมีอัตราการรอดสูงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ส่วนกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง รวมถึงค่าสีของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. จะมีค่าสีแดง (a*) สูงกว่าทุกชุดการทดลองในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

จากการทดสอบการต้านเชื้อ *V. parahaemolyticus* ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. เมื่อครบระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าชุดควบคุม ส่วนกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp. เมื่อครบระยะเวลา 36 ชั่วโมง พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมมีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติก ดังนั้นสรุปได้ว่าการเสริมโปรไบโอติกร่วมกับ *Tetraselmis* sp. ในการเลี้ยงกุ้งขาวไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการเจริญเติมโตมากนัก แต่จะส่งผลต่ออัตราการรอดตายได้ดีกว่าการเลี้ยงด้วยการเสริมโปรไบโอติกเพียงอย่างเดียว

ดังนั้นการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. สามารถส่งเสริมให้กุ้งมีภูมิต้านทานต่อเชื้อ *V. parahaemolyticus* ช่วยเพิ่มโอกาสในการรอดตาย เพิ่มผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงกุ้ง และยังช่วยเพิ่มสีกุ้งให้เข้มขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรเพาะเลี้ยง *Tetraselmis* sp. ในห้องปฏิบัติการเพื่อง่ายต่อการควบคุมปัจจัยในการเจริญเติบโต ลดปัญหาการปนเปื้อนจากสาหร่ายชนิดอื่น
2. ควรต่อยอดความรู้จากงานวิจัยไปใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กมลศิริ พันธนียะ. (2557). *กุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม - ชีววิทยากุ้งขาว*. http://shrimpcenter.com/t-shrimp051.html.

กอปรทิพย์ อัจฉริยโส. (2557). *ทำไมต้องออร์แกนิค*. http://salforest.com/blog/why-organic.

จันทร์จิรา จอมสวัสดิ์. (2544). *การคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและการประยุกต์ใช้ในกุ้งกุลาดำ*. [วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต] มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ชัยวุฒิ สุดทองคง. (2560). *EMS ตายเพราะปาก*. https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20170106150644_file.pdf.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. (2545). คิดอย่างด็อกเตอร์ชะลอคนเลี้ยงกุ้งขาวระวังโดนหลอกอีก. *วารสารสัตว์น้ำเศรษฐกิจ*, *1*(4), 35.

นิคม ละอองศิริวงศ์. (2562). *คู่มือการวิเคราะห์น้ำ เพื่อการเลี้ยงสัตว์น้ำและการตรวจรับรองมาตรฐานฟาร์ม.* วนิดาการพิมพ์.

นุชนาถ แช่มช้อย. (2557). สาหร่ายขนาดเล็ก: การเพาะเลี้ยงและการนำมาใช้ประโยชน์. *วารสารมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*, *17*(34), 169-187.

เบญจา เจริญเตีย. (2529). การศึกษาเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยง *Tetraselmis* sp. ด้วยอาหารสูตรต่างๆ [ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต] มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ปกป้อง อุ่มอยู่, วิเชียร วรสายัณห์, และเนตรดาว วิเศษโส. (2556). *รายงานวิจัยการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (Litopenaeus vannamei Boone, 1931) ในระบบน้ำหมุนเวียนเปรียบเทียบกับระบบปิดที่มีการบำบัดเลนพื้นบ่อ*. สำนักงานวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง ฉะเชิงเทรา กรมประมง.

พนารัตน์ วิระษร. (2549). *ประสิทธิภาพของแคโรทีนอยด์ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย การเพิ่มและสะสมสารสี ภูมิคุ้มกัน และการต้านทานความเครียดในกุ้งขาวแปซิฟิก* (*Penaeus vannamei*). [วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต] มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พิมพ์ชนก พริกบุญจันทร์. (2566). *เทคโนโลยีผลิตประมงประเภทโครงสร้าง และองค์ประกอบของสัตว์น้ำที่นิยมบริโภค.* http://elearning.psru.ac.th.

ภัทราวดี ศรีมีเทียน, จิติมา สุวรรณมาลา, และสุริยัน ธัญกิจจานุกิจ. (2560). การทดสอบความรุนแรงของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในปูทะเล (*Scylla* sp.). *สัตวแพทย์มหานครสาร*, *12*(1), 19-27.

มรุพัฒน์. (2563). *เกษตร: ฮอร์โมนนมสด เร่งการเจริญเติบโตของพืช*. https://marupatnote.home.blog/2020/09/23

มัสธุรา ละใบเด็น, ธวัฒน์ชัย งามศิริ, และทินวุฒ ล่องพริก. (2562). *ผลของการใช้ไร*

แดงเสริมแบคทีเรียสังเคราะห์แสงต่อการอนุบาลลูกกุ้งขาวแวนนาไม [วิทยานิพนธ์ดุษฎีบัณฑิต]. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

ระพีพร เรืองช่วย. (2561). *เอกสารประกอบการเรียนการสอน วิชา 730-411 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล* [จุลสาร]. แผนกเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี.

ศิริลักษณ์ จารุสมบัติ. (2531). *การใช้เซลล์แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในอาหารเพื่อเร่งสีผิวปลาแฟนซีคาร์ฟ (Cyprinus carpio)*. [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี. (2547). *การขยายแพลงก์ตอนสีเขียวกลางแจ้ง.* https://www.fisheries.go.th/cf-chan/plankton/phyto-outdoor/green-page.htm

สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 6 สงขลา. (2562). *โรคกุ้งเรืองแสง*. http://www.nicaonline.com.

สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 6 สงขลา. (2564). *สีน้ำกับแพลงก์ตอนในบ่อกุ้ง*. http://www.nicaonline.com.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. (2557). *Vibrio parahaemolyticus.* http://nih.dmsc.moph.go.th/data/data/fact_sheet/4_58.pdf.

สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย. (2550). *ฟาร์มกุ้งอินทรีย์แห่งแรกแก้วิกฤตราคาต่ำ*. http://www.tei.or.th/hotnewa/07090-other5-manager.html.

สุรัตน์ วังพิกุล, สมพร มูลมั่งมี, วิรัชนี แก่นแสนดี และปริภรณ์ อิสรานุวัฒน์. (2558). *การพัฒนาและเพิ่มศักยภาพผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดด้วยโปรไบโอติกแลคติกแอสิดแบคทีเรีย*. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

สุนัดดา โยมญาติ. (2557). *โยเกิร์ต (YOGURT)*. http:// biology.ipst.ac.th.

อภิสิทธิ์ กิ้มตั้น. (2564). *การประยุกต์ใช้แบคทีเรียแลคติกที่คัดแยกจากทางเดินอาหารกุ้งทะเลเป็นอาหารโพรไบโอติกร่วมกับยีสต์ในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม* [วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อุทัย เก้าเอี้ยน. (2549). โปรไบโอทิกค์. *สงขลานครินทร์เวชสาร*, *24*(4), 315-323.

Ahmedna, M., Ipek, G. & Vijay, K.J. (2006). *Probiotics in food safety and human health*. CRC Press Florida.

Austin, B. and Day, J. G. (1990). Inhibition of prawn pathogenic *Vibrio* spp. by a commercial spray-dried preparation. *Aquaculture*, 90, 389-392.

Basri, N. A., Shaleh, S. R. M., Matanjun, P., Noor, N. M., & Shapawi, R. (2014). The potentialof microalgae meal as an ingredient in the diets of early juvenile Pacific

white shrimp, *Litopenaeus vannamei. Journal of Applied Phycology,* https://doi.org/10.1007/s10811-014-0383-6

Bauer, R. (1998). Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world. *Bulletin of Marine Science*, *62*(1) 299-301.

Borowitzka, M. A. (2018). Biology of Microalgae. *Microalgae in Health and Disease Prevention*, 23-72.

Brett, J. R. (1979). factors affecting fish growth. *Journal of Fish Physiology*, 8, 599-675.

Cadenas, C. A. M., Saavedra, M. D. P. S., & Partida, M. L. L. (2014). Inhibition of Pathogenic *Vibrio* by the microalgae *Isochrysis galbana*. *Journal of Applied Phycology*, *26*(6), 2347-2355.

Cao, Y. C., Wen, G. L., Liu, X. Z., Hu, X. J., Zhang, J. S., & He, J. G., (2014). Effects of Dominant microalgae species and bacterial quantity on shrimp production in the final culture seasons. *Journal of Applied Phycology*, 26, 1749-1757.

Devi, A. S., Santhanam, P., Jeyanthi, S., & Krishnaveni, N. (2018). Isolation, culture, and application of marine microalgae *Dunaliella salina* (Volvocales, Chlorophyceae) as an aqua feed additive. *Basic and Applied Phytoplankton Biology*, 123-161.

Ge, H., Li, J., Chen P., Chang, Z., Shen, M., & Zhao, F. (2017). Cultivation of green algae *Platymonas helgolandica* in rearing water enhances the growth, performance and resistance of *Litopenaeus vannamei* against *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Aquaculture International*, 25, 1279–1290.

Genchembiotech. (2023). Commentary on the breeding techniques of shrimp larvae. https://www.genchembiotech.com/index.php/news/11-lifecycleofshrimp.

Guedes, A. C., Amaro, H. M., & Malcata, F. X. (2011). Microalgae as Sources of Carotenoids. *Marine Drug,* 9, 625-644.

He, X., Abakari, G., Tan, H, Liu, W., & Luo, G. (2023). Effects of different probiotic (Bacillus subtilis) addition strategies on a culture of *Litopenaeus vannamei* in Biofloc technology (BFT) aquaculture system. *Aquaculture Nutrition,* 556. 2-10.

Jamali, H., Imani, A., Abdollahi, D., Roozbehfar, R. and Isari, A., (2015). Use of Probiotic *Bacillus* spp. in rotifer (*Brachionus plicatilis*) and artemia (*Artemia urmiana*) enrichment: effects on growth and survival of Pacific White

Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Larvae. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. *7*(2), 118–125.

Jiang, L., Feng, J., Ying, R., Yin, F., Pei, S., Lu, J., Cao, Y., Guo, J., & Li, Z. (2019). Individual and combined effects of ammonia-N and sulfide on the immune function and intestinal microbiota of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 92, 230-240.

Ju, Z. Y., Forster, I. P., Conquest, L., & Dominy, W. (2008). Enhanced growth effects on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from inclusions of whole shrimp floc or floc fractions to a formulated diet. *Aquaculture Nutrition*, *14*(6), 533-543.

Kaur, R., Mishra, S. K., Panwar, H., & Mishra, K. K. (2017). Yogurt: A nature's wonder for mankind. *International Journal of Fermented Foods. 6*(1). 57-69.

Kongnum, K., & Hongpattarakere, T. (2012). Effect of Lactobacillus plantarum isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi.* Journal of Fish and Shellfish Immunology, *32*(1) 170-177.

Kuo, J. C., Chang, Y. H., Chen, T. Y., & Chen, Y. M. (2015). Elucidation of anti-*Vibrio* factors associated with green alga *Picochlorum* sp. strain S1b**.** *Journal of Applied Phycology*. 27, 257-265.

Lee, C., Kim, S., Lim, S. J., & Lee, K. J. (2017). Supplemental effects of Biofloc powder on growth performance, innate immunity, and disease resistance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fisheries and Aquatic Science,* https://doi.org/ 10.1186/s41240-017-0059-7.

Li, G., Yu, Y., Jiang, Y., & Ding, M. (1993). The test of photosynthetic bacteria used in prawn's breeding as additive. *Journal of Marine Science*, 1, 52-54.

Liao, I. C., & Chien, Y. H. (2011). The Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Asia. The World's Most Widely Cultured Alien Crustacean: In the Wrong Place - Alien Marine Crustaceans: Distribution. *Biology and Impacts*, 489-519.

Lin, L., Jun, W., Guanpin, Y., Baohua, Z., & Kehou, P. (2017). Biomass and nutrient productivities of *Tetraselmis chuii* under mixotrophic culture conditions with various C:N ratios. *Journal of Oceanology and Limnology*, 35, 303-

312.

Luis-Villasenor, I. E., Cervantes, T. C., Gil, B. G., Garcia, A. E. C., Cordova, A. I. C., & Ascencio.F.(2012). Probiotics in the intestinal tract of juvenile white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*: modulation of the bacterial community. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *29*(2), 257–265.

Lukwambe, B., Qiuqian, Wu, J., Zhang, D., Wang, K., & Zheng, Z. (2015). The effects of commercial microbial agents (probiotics) on phytoplankton community. Structure in intensive white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) aquaculture ponds. *Aquaculture International*, 23, 1443-1445.

Mahesh, M.S. (2013). Integrated organic farming and organic milk production: Opportunities and challenges in India. *Dairy Industry*. *65*(5). 92.

Mannuelian, C. L., Vigolo, V., Burbi, S., Righi, F., Simoni, M., & Marchi, M. De. (2022). Detailed comparison between organic and conventional milk from Holstein dairy herds in Itary. *Journal of Dairy Science.* 105. 5561-5572.

Munoz, M., Vandenduluke, F., Gueguen, Y., & Bachere, E. (2003). Experssion of penaeidin antimicrobial peptides in early larval stages of the shimp *Penaeus vannamei*. *Developmental & Comparative Immunology*, 27, 283-289.

Neori, A. (2011). Green Water Microalgae: the leading sector in world aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 23, 143-149.

Parker, R. B. (1974). Probiotics the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition* and *Health,* 29, 4–8.

Perumal, S., Thirunavukkarasu, A. R., & Perumal, P. (2015). Probiotics: Live Boon to Aquaculture. *Marine and Brackishwater Aquaculture*, 6, 51-61.

Prangnell, D. I., Lupatsch, I., Treece, G. D., & Samocha, T. M. (2019). *Sustainable Biofloc Systems for Marine Shrimp,* Elsevier.

Pugkaew, W., Meetam, M., Yokthongwattana, K., Leeratsuwan, N., & Pokethitiyook, P. (2018). Effects of salinity changes on growth, photosynthetic activity, biochemical composition, and lipid productivity of marine microalga *Tetraselmis suecica*. *Journal of Applied Phycology,* https://doi.org/10.1007/s10811-018-1619-7.

Rahman, N. A., Khatoon, H., Yusuf, N., Banerjee, S., Haris, N.A., Lananan, F., & Tomoyo, K. (2017). *Tetraselmis chuii* biomass as a potential feed additive to improve survival and oxidative stress status of Pacific white-leg shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae. *International Aquaculture*, 9, 235-247.

Salvesen, I., Reiten, K. I., SKjermo, J., & Oie, G. (2000). Microbial environments in marine larviculture: Impacts of algal growth rates on the bacterial load in six microalgae. *Aquaculture International*, 8, 275-287.

Shekarabi, S. P. H., & Mehrgan, M. S. (2021). Cultivation of *Tetraselmis suecica* using a fishmeal factory effluent: effect on the growth, biochemical composition, and nutrient removal. *Journal of Applied Phycology,* https://doi.org/10.1007/s10811-021-0247-0.

Silva, S. M., Ramos, P. B., Buitrago, J. R., Silva, T. V. N., Simiao, C. S., Colombo, G. M., Sehmitz, M., Tesser, M. B., Prentice, C., Jr, W. W., & Monserat, T. M. (2020). Zootechnical performance, biochemical response and chromaticity in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) after the inclusion of lyophilized acai (*Euterpe oleracea*) in the diet. *Aquaculture international*, 28, 1563-1577.

Steel, R. G. D., & Torie, J. H. (1980). *Principles and Procedures of Statistics* (2nd ed). Mc Graw-Hill Book.

Su, C., Fan, D., Pan, L., Lu, Y., Wang, Y., & Zang, M. (2020). Effects of Yu-Ping-Feng polysaccharides (YPS) on the immune response: intestinal microbiota, disease resistance and growth performance of *Litopenaeus vannamei. Fish and Shellfish Immunology*, 105, 104-116.

Suwoyo, H. S., Makmur, T., & he S., (2014). *Diversity of white leg shrimp harvest (Litopenaeus vannamei) in super intensive pond* [Paper presentation]. The 11th Annual Seminar of Fisheries and Marine, Gajah Mada University, Indonesian.

Suwoyo, H. S., & Hendrajat, E. A. (2021). High density aquaculture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in controlled tank. *Earth and Environmental Science*, 777, 1-10.

Swain, P., Tiwari, A., & Pandey, A. (2020). Enhanced lipid production in *Tetraselmis* sp. By two stage proves optimization using simulated dairy wastewater as feedstock. *Biomass and Bioenergy*, 139, 1-7.

Ying, C., Chang, M. J., Chang, Y. T., Chao, W. L., Yeh S. L., & Hsu, J. T., (2020). Photosynthetic bacteria enhanced water quality and integrity of microbial community composition of integrated multitrophic aquaculture system of milkfish *Chanos chanos* coastal farming. *Fisheries Science*, 86, 329-338.

Yu, L. H., The, C. S. J., Yap K. P., & Thong, K. l. (2020). Diagnostic approaches and contribution of next-generation sequencing technologies in genomic, investigation of *Vibrio parahaemolyticus* that caused acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture International*, 28, 2547-2559.

Wang, R., Gao, Z., Tang, Y., Kuang, J., Duan, Y., Lin, H., Jiang, S., Hu, S., & Huang, J. (2020). Effects on development and microbial community of shrimp *Litopenaeus vannamei* larvae with probiotics treatment. *Annals of Microbiology*, 10, 109.

Xiao, J. Z., Zhang, Y., & Yang, Z. (2014). Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. *Lactic Acid Bacteria*, 303-374.

Zhang, X., Shu, M., Wang, Y., Fu, L., Li, W., Deng, B., Liang, Q., & Shen, W. (2014). Effect of photosynthetic bacteria on water quality and microbiota in grass carp culture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 2523-2531.

Zhang, S., Chang, Z., Wang, W., Zheng, Y., & Li, J. (2022). Dietary supplement of Microalgal astaxanthin extraction improved shell pigmentation and nutritional value of *Litopenaeus vannamei* in an industrial aquaculture system. *Aquaculture Nutrition*, 22, 7.

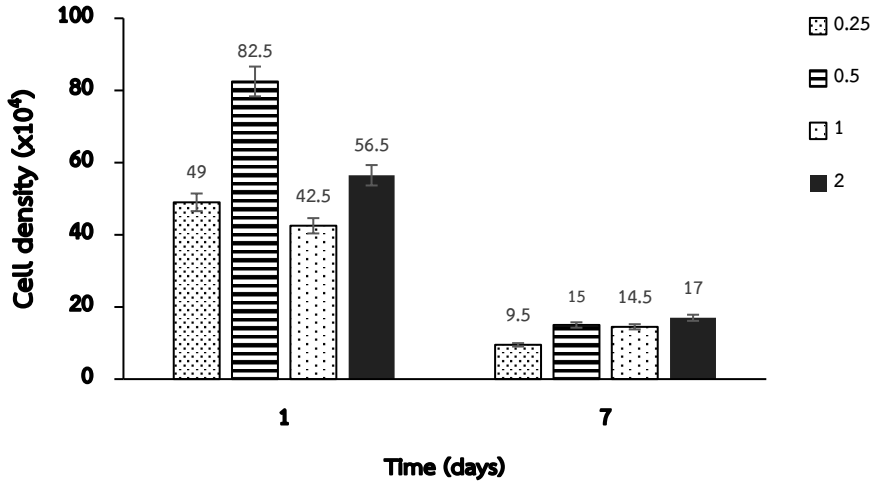
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Vibrio* sp. ในตับ และกระเพาะอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโยเกิร์ต อาหารผสม PSB และอาหารผสมโยเกิร์ตกับ PSB เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในระบบที่มี *Tetraselmis* sp. และไม่มี *Tetraselmis* sp.

System	Feed Treatments	*Vibrio* sp. (Yellow)	*Vibrio* sp. (Green)
Tetraselmis sp.	Control	5.94±0.11	6.05±0.09
	Yogurt	4.71±0.11	4.67±0.06
	PSB	5.09±0.13	4.65±0.14
	Mixed	5.09±0.09	5.69±0.02
No	Control	5.45±0.01	6.22±0.11
	Yogurt	5.02±0.40	4.80±0.10
	PSB	4.97±0.10	4.30±0.05
	Mixed	4.71±0.45	4.97±0.18



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของ *Tetraselmis* sp. วันแรก และวันสุดท้ายของการทดลอง

ภาคผนวก ข

ภาพการทดลอง

ภาพที่ 1 ชุดการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่มี *Tetraselmis* sp.

ภาพที่ 2 ชุดการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

ภาพที่ 3 ถังพักน้ำ

ภาพที่ 4 ปรับสภาพกุ้งขาวแวนนาไมก่อนทดลอง

ภาพที่ 5 ส่วนประกอบของอาหารที่ให้กุ้งกินต่อมื้อ

ภาพที่ 6 การเปลี่ยนถ่ายน้ำระหว่างการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

ภาพที่ 7 อุปกรณ์ในการชั่งวัดกุ้งขาวแวนนาไม

ภาพที่ 8 การวัดขนาดความยาวของกุ้งขาวแวนนาไม

ภาพที่ 9 การชั่งน้ำหนักของกุ้งขาวแวนนาไมด้วยการแทนน้ำ

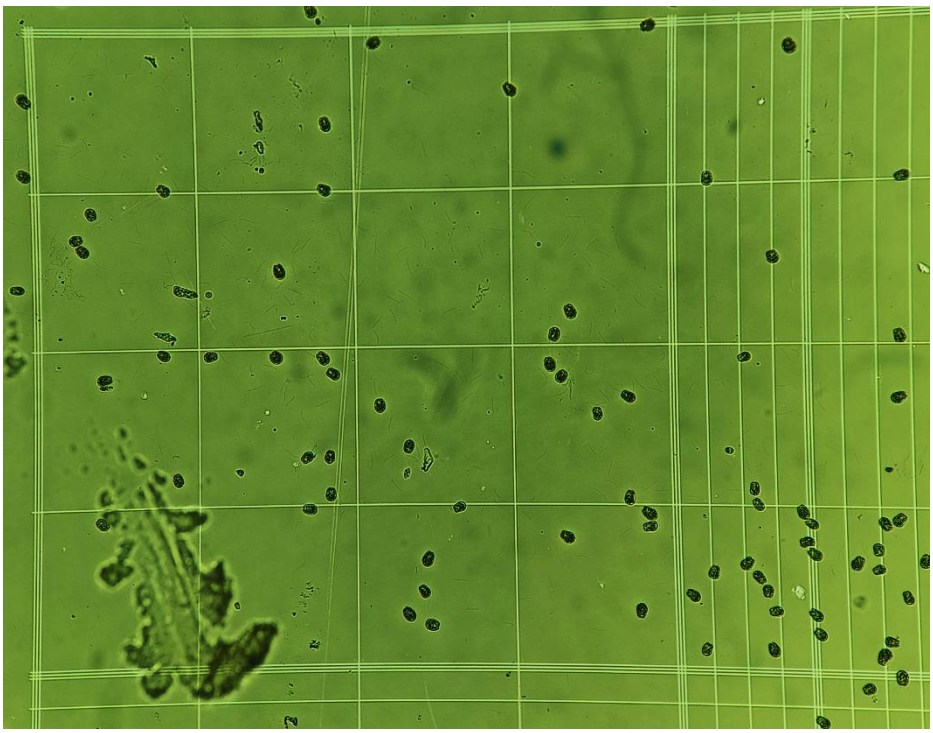
ภาพที่ 10 เชื้อสำหรับใช้ในการทดลอง Challenge test

ภาพที่ 11 กุ้งขาวแวนนาไมในการทดสอบ Challenge test หลังจากที่ได้รับเชื้อ *V. parahaemolyticus* เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

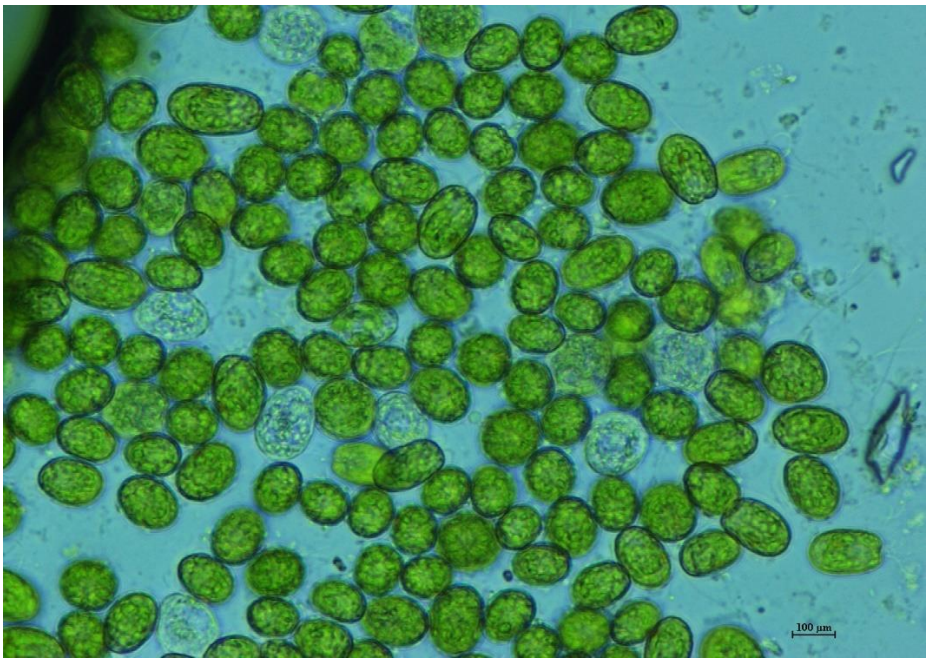
ภาพที่ 12 กุ้งขาวแวนนาไมที่ตายจากการทดสอบ Challenge test ในชุดควบคุมที่ไม่มี *Tetraselmis* sp.

ภาพที่ 13 อุปกรณ์สำหรับทดสอบปริมาณเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในตับ ตับอ่อน และกระเพาะอาหารกุ้งขาวแวนนาไม

ภาพที่ 14 Photosynthesis Bacteria



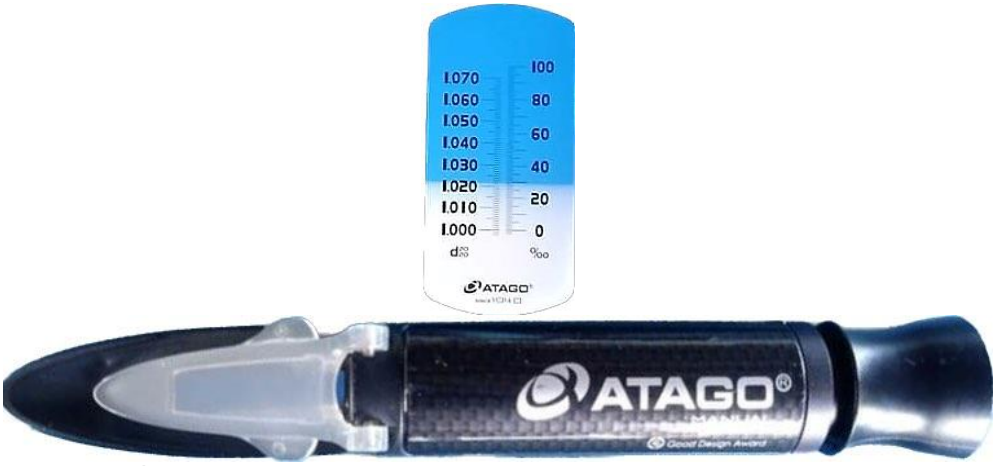
ภาพที่ 15 นับเซลล์ *Tetraselmis* sp. ด้วย Hemacytometers ผ่านกล้องจุลทรรศน์



ภาพที่ 16 *Tetraselmis* sp. ที่ใช้สำหรับการทดลอง

ภาพที่ 17 ชุดวัดค่าแอมโมเนีย

ภาพที่ 18 ชุดวัดค่าอัลคาไลน์



ภาพที่ 19 Salinometer

ภาพที่ 20 เครื่อง Spectrophotometer

ภาพที่ 21 เครื่องวัดสี ยี่ห้อ HunterLab รุ่น Miniscan EZ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาววรรณิษา แสงแก้ว

รหัสประจำตัวนักศึกษา 6120320609

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง (การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี	2561

ทุนการศึกษา

ทุนการศึกษาสาขาความเป็นเลิศการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน (Discipline of Excellence in Sustainable Aquaculture, DOE) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และทุนอุดหนุนวิจัยวิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยพร่ผลงาน

วรรณิษา แสงแก้ว, ชลธี ชีวะเศรษฐีธรรม, ระพีพร เรืองช่วย, และนิรัติศัย เพชรสุภา. (2564). การประยุกต์ใช้โปรไบติกในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ที่เลี้ยงในระบบน้ำเขียวที่ใช้ *Tetraselmis* sp. การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 59 : เกษตรศาสตร์วิถีใหม่เพื่อเป้าหมายการพัฒนาอย่างยั่งยืน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ, 10-12 มีนาคม 2564, 545-552.