ผลของการใช้แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ต่อ *Vibrio* spp. การเจริญเติบโตและอัตรารอดของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในฟาร์มเลี้ยงกุ้ง

Effect of Spore-forming Bacteria on *Vibrio* spp., Growth and Survival of*Litopenaeus vannamei* in Shrimp Farm

ปาจรีย์ จือเหลียง*[1] ชลอ ลิ้มสุวรรณ[1] นิติ ชูเชิด[1] และ วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล[2]

Pajaree Jueliang*[1] Chalor Limsuwan[1] Niti Chuchird[1]and Watchariya Purivirojkul[2]

[1]ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ 10900

[2]ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพ 10900

*Corresponding author e-mail: g.5417200051@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ (*Bacillus*spp.) ต่อปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. อัตรารอดและการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ทำการศึกษาที่ฟาร์มเลี้ยงกุ้งเอกชน จังหวัดจันทบุรี โดยใช้บ่อทดลอง 6 บ่อ แบ่งเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 (3 บ่อ) ให้แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์คลุกผสมอาหารในอัตราส่วน 2 กรัมต่ออาหารกุ้ง 1 กิโลกรัม (ชุดทดลอง) และชุดการทดลองที่ 2 (3 บ่อ) ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปปกติ (ชุดควบคุม) หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าในเลือดของกุ้งชุดทดลองมีปริมาณ *Vibrio* spp. เฉลี่ย $0.05\pm0.02\times10^4$ CFU/มิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมที่มีปริมาณแบคทีเรีย $0.96\pm0.83\times10^4$CFU/มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดทดลองมีค่าเท่ากับ 16.14±1.58 กรัม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุมที่มีน้ำหนัก 15.41±0.80 กรัม และอัตรารอดตายของกุ้งขาวในชุดทดลองมีค่าเท่ากับ 81.73± 3.39 เปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างทางสถิติ กับชุดควบคุมที่มีอัตรารอด 80.40± 2.35 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) ผลผลิตรวมเฉลี่ยในบ่อทดลองพบว่ามีค่าเท่ากับ 2,475.89 ± 205.31กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสูงกว่าในบ่อควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 2,336.34 ± 76.33กิโลกรัมต่อไร่แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

คำสำคัญ: แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์,*Vibrio* spp., กุ้งขาวแวนนาไม

Abstract

Effect of spore-forming bacteria (*Bacillus* spp.)on *Vibrio* spp., survival and growth of *Litopenaeus vannamei* was studied at a commercial shrimp farm in Chanthaburi province. Six ponds were selected and divided into 2 groups including treatment group (3 ponds) was fed with pelleted feed mixed with spore-forming bacteriaat rate in 2 g/kg of feed and the control group (3 ponds) was fed with the pelleted feed (no spore-forming bacteria). At the end of 90-day culture period, the average *Vibrio* spp. count in shrimp haemolymph of treatment group was$0.05\pm0.02\times10^4$

CFU/ml, significantly lower than that in the control group ($0.96\pm0.83\times10^{4}$CFU/ml) ($P<0.05$). The average weight of shrimp in treatment group was 16.14 ± 1.58 g and control group was 15.41 ± 0.80 g with no significantly different ($P>0.05$). There was no significant difference in survival rate of shrimp in treatment (81.73 %) and control group (80.40%). The average of total production in treatment group was 2,475.89 ± 205.31 kg/rai higher than control group of 2,336.34 ± 76.33kg/rai but no significant difference ($P>0.05$).

Keywords: Spore-forming bacteria, *Vibrio* spp., *Litopenaeus vannamei*

คำนำ

การเพาะเลี้ยงกุ้งของประเทศไทยโดยส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบพัฒนาที่เกษตรกรจะปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นสูง มีการให้อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนสูงจึงทำให้มีของเสียสะสมในบ่อเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการเลี้ยง ส่งผลทำให้คุณภาพน้ำแย่ลงและกุ้งบางส่วนจะอ่อนแอและป่วยตายทำให้ผลผลิตต่ำกว่าเป้าหมายและโรคที่สำคัญซึ่งมีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมในบ่อไม่เหมาะสมส่วนใหญ่เกิดจากโรคติดเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียวิบริโอ (*Vibrio* spp.) (Nash *et al*.,1992; Lightner, 1996) เมื่อกุ้งมีการติดเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวจะไม่สามารถจะรักษาได้ด้วยการใช้ยาปฏิชีวนะเนื่องจากกุ้งมีอาการป่วยเรื้อรังจนถึงระยะที่กุ้งไม่กินอาหารการรักษาจึงไม่ได้ผลอีกทั้งการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษามีผลต่อกุ้งขาวโดยทางตรงคือ การที่ได้รับสารปฏิชีวนะเป็นเวลานานส่งผลให้แบคทีเรียก่อโรคเกิดการดื้อยาและการให้สารปฏิชีวนะเป็นเวลานานโดยไม่มีระยะหยุดอาจก่อให้เกิดสารตกค้างในเนื้อกุ้งขาวได้ เมื่อผู้บริโภคบริโภคกุ้งเหล่านี้เข้าไปจะมีการสะสมสารปฏิชีวนะเหล่านี้ในระยะยาวในร่างกาย (Timboontum, 2001)นอกจากนี้ยังทำให้ผลผลิตกุ้งที่มีสารตกค้างไม่เป็นที่ต้องการของผู้ซื้อหรือทำให้ประเทศผู้ซื้อนำมาเป็นเงื่อนไขในการกีดกันทางการค้าได้ จากสาเหตุดังกล่าวข้างต้นจึงมีการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมด้วยความพยายามลดการใช้สารปฏิชีวนะและสารเคมีในการเลี้ยงเช่น การนำเอาจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียมาใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งเพื่อควบคุมคุณภาพสิ่งแวดล้อมในบ่อกุ้งและใช้จุลินทรีย์เป็นโพรไบโอติก (probiotic) โดยแบคทีเรียที่เลือกมานั้นต้องไม่เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในกุ้ง (non pathogenic) หรือมีโอกาสก่อให้เกิดโรคมีความสามารถยับยั้งการเจริญของสิ่งมีชีวิตที่ก่อให้เกิดโรคได้อาจทำโดยการแย่งอาหารและที่อยู่หรือยับยั้งโดยการหลั่งสารประเภทเอนไซม์ออกมานอกเซลล์และควรที่จะมีความสามารถในการเปลี่ยนสารพิษให้เป็นสารที่มีพิษน้อยลงหรือไม่มีพิษ (Timboontum, 2001) การนำแบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างสปอร์มาใช้เป็นโพรไบโอติกนั้นมีข้อได้เปรียบจากการใช้แบคทีเรียกลุ่มอื่นเนื่องจากสามารถเก็บรักษาได้นานขึ้นและสะดวกในการใช้งานจุลินทรีย์ ซึ่งโดยทั่วไปการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกมักใช้วิธีการทดสอบในห้องทดลอง(*in vitro)* และทำการทดสอบขั้นต่อไปในตัวสัตว์ทดลองจริง (*in vivo*) ที่สามารถยืนยันว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกสามารถเพิ่มจำนวนได้เมื่อ

ผ่านจากปากเข้าสู่ภายในระบบทางเดินอาหารของร่างกายซึ่งแบคทีเรียจะต้องรอดชีวิตและสามารถยึดเกาะกับเยื่อบุผิวภายในอวัยวะต่างๆตามบริเวณหรือจุดที่จำเพาะเจาะจงที่ได้ (Verschuere *et al*., 2000)

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการศึกษาผลของแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ต่อการลดปริมาณเชื้อ*Vibrio*spp.ในเลือดกุ้งขาวแวนนาไมและผลต่ออัตรารอด การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเลี้ยง ซึ่งการศึกษานี้เป็นการทดลองต่อเนื่องจากในห้องปฏิบัติที่ทำทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นพบว่าแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ 5 สายพันธุ์ ที่สามารถสร้างสารต้านจุลชีพต่อต้านเชื้อ *Vibrio* ได้ (Jueliang *et al.,* 2011) ซึ่งการทดลองนี้เป็นการนำผลการศึกษามาขยายต่อในแง่ของการใช้ผลลิตภัณฑ์โพรไบโอติกจริงในฟาร์มเลี้ยงกุ้งของเกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเตรียมแบคทีเรียสร้างสปอร์

แบคทีเรียสร้างสปอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้รับการสนับสุนนจากบริษัท Novozymes Biological, Inc. ซึ่งเป็นแบคทีเรียสร้างสปอร์ที่ถูกเก็บรักษาในรูปเกลือผงละเอียด ซึ่งนับปริมาณแบคทีเรียโดยการทำ ten fold dilution seriesและแยกชนิดของแบคทีเรียสร้างสปอร์อีกครั้งเพื่อเช็คย้อนกลับชนิดแบคทีเรียโดยใช้ API 50 CHB และลักษณะภายของเซลล์โดยวิธีย้อมแกรม (Department of microbiology,Kasetsart University, 1990)

2.แผนการทดลอง

ทำการศึกษาที่ฟาร์มเอกชน อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรีโดยเลือกบ่อที่ทำการศึกษาทั้งหมด 6 บ่อที่มีขนาดและสภาพแวดล้อมใกล้เคียงกัน มีอัตราการปล่อยลูกกุ้งเท่ากัน แต่ละบ่อมีพื้นที่ประมาณ 4 ไร่ แบ่งเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ในบ่อทดลองจำนวน 3 บ่อ จะให้แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์คลุกผสมอาหารในอัตราส่วน 2 กรัมต่ออาหารกุ้ง 1 กิโลกรัม และบ่อควบคุมจำนวน 3 บ่อ จะให้อาหารปกติ เริ่มให้อาหารผสมแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์หลังจากปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยงไปแล้ว 20 วันและในกลุ่มทดลองนั้นจะให้อาหารผสมแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์โดยให้ติดต่อกัน 5 วันและหยุด 5 วันไปจนสิ้นสุดการทดลอง

3. ผลของแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ต่ออัตรารอด การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเลี้ยง

เก็บข้อมูลน้ำหนักทุก 30, 60 และ 90 วัน โดยในแต่ละบ่อทดลองและบ่อควบคุมสุ่มกุ้งขึ้นมาชั่ง บ่อละ 50 ตัว โดยใช้ตาชั่งดิจิตอล 2 ตำแหน่ง แล้วทำการบันทึกผลเพื่อวัดการเจริญเติบโต ส่วนอัตรารอดจะคำนวณกลับตามวิธีการของLimsuwanand Chanratchakool (2004) จากปริมาณกุ้งที่จับได้เทียบกับจำนวนลูกกุ้งที่ปล่อยลงบ่อเลี้ยงดังนี้

$$\% \text{ อัตรารอด} = \frac{\text{จำนวนกุ้งที่จับได้} \times 100}{\text{จำนวนกุ้งที่ปล่อยเลี้ยงทั้งหมด}}$$

4.ผลของแบคทีเรียสร้างสปอร์ต่อปริมาณ *Vibrio* spp. และปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเลี้ยง

การวัดปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. และปริมาณแบคทีเรียรวมในเลือดกุ้งขาวแวนนาไมจะเก็บข้อมูลทุก 30, 60 และ 90 วัน ในแต่ละบ่อทดลองและบ่อควบคุมโดยการสุ่มกุ้งบ่อละ 50 ตัว ซึ่งกุ้ง 1 ตัวอย่างจะวัดทั้งปริมาณเชื้อ*Vibrio* spp. และเชื้อแบคทีเรียรวม โดยดูดเลือดกุ้งขาวต่อสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดกุ้ง (10% $NaHCO_3$,2.6% NaCl) ในอัตราส่วน 1:1 ดูดให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำมาเจือจางลำดับส่วนที่ 10 เท่า จากนั้นนำมา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose) เพื่อตรวจนับจำนวนเชื้อ *Vibrio* spp. ส่วนปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวมนำมา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar ที่เติมเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ นำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมงแล้วบันทึกผลในแต่ละช่วงที่เก็บข้อมูล

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลแบคทีเรีย น้ำหนักเฉลี่ย และผลผลิตกุ้งเมื่อครบ 90 วัน มาคำนวณค่าและวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตรารอดและอัตราการเจริญเติบโตระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม โดยใช้วิธี Independent –Samples T Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Khuantham, 1999) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS version 13.0

ผลและวิจารณ์

1.แบคทีเรียสร้างสปอร์

จากตรวจสอบชนิดแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ได้ในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก โดยใช้วิธีการเจือจางลำดับส่วนและ spread บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่เติมเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีจำนวนของแบคทีเรีย 14.33 ±3.78x 10^{10} CFU/กรัมและสามารถจำแนกความแตกต่างของโคโลนีได้ 5 ลักษณะ เมื่อนำแต่ละโคโลนีมาย้อมแกรม พบว่ามีแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ สามารถสร้างสปอร์ได้ เมื่อแยกชนิดแบคทีเรียโดยใช้ชุด API 50 CBH สามารถจำแนกได้ คือ*Brevibacillus parabrevis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus amyloliquifaciens*, *Bacillus subtilis, Bacillus megaterium*

2. ผลของแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ต่อปริมาณเชื้อ *Vibrio*spp.ในเลือดกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเลี้ยง

ผลของการศึกษาปริมาณเชื้อ *Vibrio*spp.ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างกลุ่มที่ใช้แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์และกลุ่มที่ไม่ให้แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ระหว่างการเลี้ยงในบ่อเลี้ยง พบว่าในช่วงอายุกุ้ง 30 วัน ปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. เฉลี่ยที่พบในเลือดกุ้งขาวจากตัวอย่างที่สุ่มมาจำนวน 50 ตัว ปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวมและ*Vibrio* spp. เฉลี่ยในกลุ่มทดลองและในกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยกลุ่มทดลองมีค่าแบคทีเรียรวมและ*Vibrio* spp. เฉลี่ยเท่ากับ 15.18±2.82×10^4CFU/มิลลิลิตร และ1.72±1.88×10^4CFU/

มิลลิลิตรตามลำดับ และกลุ่มควบคุมมีค่าแบคทีเรียรวมและ*Vibrio* spp. เฉลี่ยเท่ากับ 36.71±25.28×10^4CFU/มิลลิลิตร และ 3.97±0.74×10^4CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 60 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียรวมในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติแต่พบว่า*Vibrio* spp. เฉลี่ยในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่าในกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยมีค่าเท่ากับ 0.99±1.49×10^4CFU/มิลลิลิตร และ 0.06 ± 0.02×10^4 CFU/มิลลิลิตร ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับที่เวลาผ่านไป 90 วัน พบว่า*Vibrio* spp. เฉลี่ยในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 0.96±0.83×10^4CFU/มิลลิลิตร และ 0.05±0.02×10^4 CFU/มิลลิลิตร (Table 1, Figure 1, Figure 2)

Table 1 Total bacteria and *Vibrio* spp. in haemolymph of *Litopeneaus vannamei* in control ponds and treatment ponds

Ages		Bacteria (×10^4CFU/ml)					
		30 days		60 days		90 days	
Group	Pond	Total bacteria	*Vibrio* spp.	Total bacteria	*Vibrio* spp.	Total bacteria	*Vibrio* spp.
Treatment (T1)	R1	18.18±6.99	0.50±0.48	3.07±1.24	0.1±0.07	0.75±0.49	0.06±0.05
	R2	12.20±6.56	0.78±0.65	4.60±1.80	0.06±0.05	2.05±1.20	0.05±0.04
	R3	15.15±5.75	3.90±2.90	0.80±0.50	0.03±0.02	1.34±0.64	0.03±0.02
Average		15.18±2.82[a]	1.72±1.88[a]	2.82±1.91[a]	0.06±0.03[a]	1.38±0.65[a]	0.05±0.02[a]
Control (T2)	R1	64.92±23.72	4.58±3.79	6.52±2.46	0.06±0.05	1.22±0.90	0.04±0.03
	R2	29.13±14.50	3.14±2.53	10.13±3.82	2.71±1.03	3.65±2.53	1.17±0.80
	R3	16.08±7.68	4.19±3.83	1.79±1.15	0.20±0.16	8.70±2.86	1.17±0.80
Average		36.71±25.28[a]	3.97±0.74[a]	6.15±4.18[a]	0.99±1.49[b]	4.25±3.81[a]	0.96±0.83[b]

Mean values with different superscripts are significantly different (P<0.05)

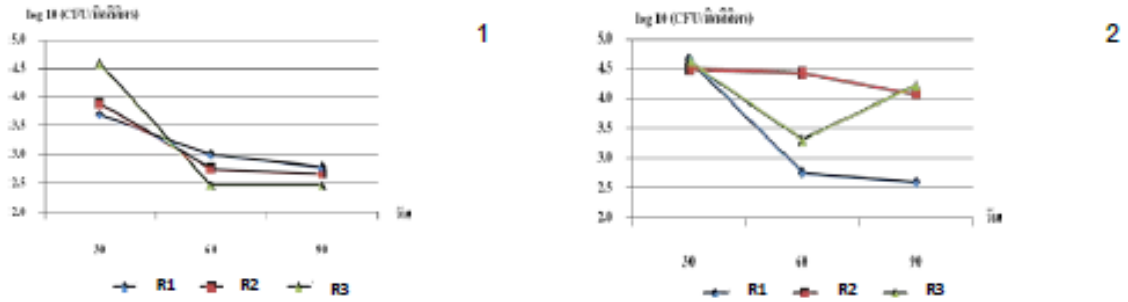

Figure 1 *Vibrio* spp. in haemolymph of *Litopeneaus vannamei* in control ponds and treatment ponds

1= *Vibrio* spp. in haemolymph of *Litopeneaus vannamei* in treatment ponds

2= *Vibrio* spp. in haemolymph of *Litopeneaus vannamei* in control ponds

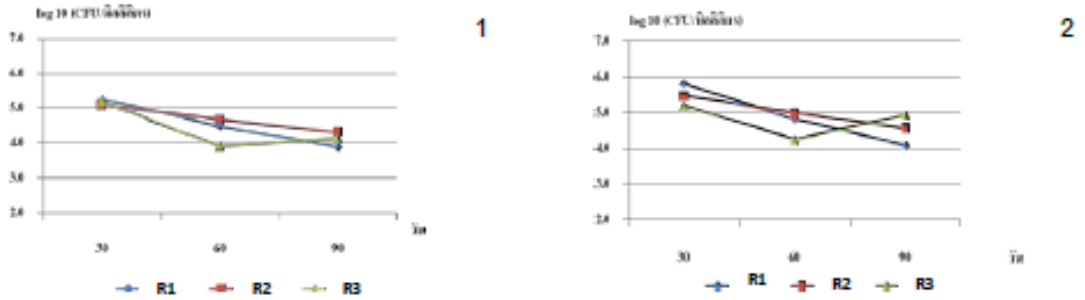

Figure 2 Total bacteria in haemolymph of *Litopeneaus vannamei* in control ponds and treatment ponds

1= Total bacteria in haemolymph of *Litopeneaus vannamei* in treatment ponds

2= Total bacteria in haemolymph of *Litopeneaus vannamei* in control ponds

2. ผลของแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ต่ออัตรารอด การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

การศึกษาผลของแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเลี้ยงที่ 90 วัน ซึ่งพบว่ากุ้งขาวแวนนาไมบ่อกลุ่มทดลองและบ่อควบคุมมีน้ำหนักเฉลี่ยไม่แตกต่างกันตลอดการเลี้ยง โดยกุ้งบ่อทดลองเท่ากับ 16.14±1.58 กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05)กับบ่อควบคุมที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 15.41±0.80 กรัม (Table2)

Table2 Average weight of *Litopenaeus vannamei* in treatment ponds and control ponds

Group		Average weight (g)		
	pond	30	60	90
	R1	3.85±0.88	9.98±1.25	15.13±2.57
ทดลอง (T1)	R2	5.15±0.67	10.37±1.31	15.34±3.64
	R3	4.29±0.55	10.08±1.85	17.96±2.15
Average weight (g)		4.29±0.66 [a]	10.14±0.20 [a]	16.14±1.58 [a]
	R1	4.35±1.04	10.20±0.95	15.34±2.67
ควบคุม (T2)	R2	5.45±1.36	11.14±1.56	16.06±3.00
	R3	4.16±0.64	9.28±1.21	16.66±1.93
Average weight (g)		4.65±0.69 [a]	10.20±0.92 [a]	15.41±0.80 [a]

Mean values with different superscripts are significantly different (P<0.05)

การศึกษาผลของแบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ผลต่ออัตรารอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเลี้ยงพบว่า เมื่อครบ 90 วัน อัตรารอดตายเฉลี่ยในบ่อทดลองมีค่าเท่ากับ 81.73± 3.39 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกับอัตรารอดตายเฉลี่ยของบ่อควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 80.40± 2.35 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคำนวณค่าผลผลิตรวมเฉลี่ยในบ่อทดลองพบว่ามีค่าเท่ากับ 2,475.89 ± 205.31กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสูงกว่าในบ่อควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 2,336.34 ± 76.33กิโลกรัมต่อไร่(ตารางที่ 3) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ถึงแม้ผลผลิตรวมเฉลี่ยในบ่อทดลองที่มีค่าสูงกว่าบ่อควบคุม เท่ากับ 139.55 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่เมื่อนำผลผลิตรวมในบ่อทดลองที่เพิ่มขึ้น มาคำนวณมูลค่าจะได้เท่ากับ 18,141.50 บาทต่อไร่ ซึ่งทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับผลผลิตของกุ้งกลุ่มควบคุม และราคากุ้งขาวซื้อขายในขณะนั้นที่ขนาด 50-60 ตัวต่อกิโลกรัมอยู่ที่ 130 บาท โดยผลผลิตรวมเฉลี่ยต่อไร่ของบ่อควบคุมเมื่อคำนวณเป็นเงินเท่ากับ 303,724.20 บาทต่อไร่ ในขณะที่บ่อทดลองเท่ากับ 321,865.70 บาทต่อไร่

ตารางที่ 3 Survival rate and total production shrimp after culture 90 days

Group	บ่อ	Survival (%)	Total production (กิโลกรัมต่อไร่)
Treatmentpond	T1	78.51	2677.29
	T2	84.35	2266.86
	T3	84.44	2483.50
Average		81.73± 3.39 [a]	2,475.89 ± 205.31[a]
Control pond	C1	78.10	2421.01
	C2	82.11	2315.20
	C3	82.24	2272.80
Average		80.40± 2.35 [a]	2,336.34 ± 76.33[a]

Mean values with different superscripts are significantly different (P<0.05)

อย่างไรก็ตามผลของแบคทีเรียโพรไบโอติกต่ออัตรารอดของกุ้งขาวในบ่อควบคุมและบ่อทดลองไม่แตกต่างกัน เนื่องจากเกษตรกรมีการใช้โพรไบโอติกในบ่อควบคุมตั้งแต่วันที่ 50 จนสิ้นสุดการทดลองเนื่องจากพบว่ามีกุ้งป่วยนั้นก็น่าจะมีผลทำให้อัตรารอดและการเจริญเติบโตของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก แต่พบว่าปริมาณ *Vibrio* spp. ในกลุ่มทดลองมีค่าต่ำกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)ตั้งแต่วันที่ 60 จนสิ้นสุดการทดลองซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้แบคทีเรียสร้างสปอร์ในกลุ่ม *Bacillus* spp. ให้กุ้งกินสามารถช่วยควบคุมปริมาณ *Vibrio* spp. ในกุ้งได้ระดับหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับ Moriarty (1998) ที่ศึกษา *Bacillus* spp. ที่เป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ใช้ในบ่อเลี้ยงกุ้งเพื่อควบคุมปริมาณ *Vibrio* spp. โดยทำการเปรียบเทียบในฟาร์มที่ประเทศอินโดนีเซียซึ่งการเลี้ยงกุ้งมีปัญหาเกี่ยวกับ *Vibrio*เรืองแสง ถึงแม้บางฟาร์มมีการใช้ *Bacillus* spp. เป็นแบคทีเรียโพรไบโอติก กุ้งยังคงมีอัตราการตายสูง เนื่องจากฟาร์มไม่มีประสบการณ์การใช้โพรไบโอติกและมีการใช้เพียงแค่ 80 วันเท่านั้น แต่ในทางตรงกันข้ามฟาร์มที่ใช้โพรไบโอติกมากกว่า 160 วัน จะช่วยลดปัญหา *Vibrio*เรืองแสงได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ โพรไบโอติกต่ออัตรารอดตายและการเจริญเติบโตของกุ้งในฟาร์มเลี้ยงประเทศอินเดียโดยใช้ผสมอาหารในอัตราส่วน 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมและอัตราส่วน 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม อัตรารอดตายของกุ้งในกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกในปริมาณที่สูงกว่าจะมีอัตรารอดตายสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกในปริมาณต่ำและกลุ่มควบคุม น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองที่ 130 วัน

น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งในกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุม 15เปอร์เซ็นต์และน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งในกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกทั้งในปริมาณสูงและต่ำนั้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนคุณภาพน้ำนั้นได้รับความช่วยเหลือจากทางฟาร์มในการตรวจวัดคุณภาพน้ำเพราะในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้มุ่งเน้นคุณภาพน้ำเป็นหลักเพราะเป็นการผสมไพรไบโอติกกับอาหารให้กุ้งกินประกอบกับการศึกษาทดลองในฟาร์มนั้นเป็นพื้นที่เลี้ยงขนาดใหญ่กว่าในห้องปฏิบัติการมากจึงทำให้คุณภาพน้ำทั้งบ่อควบคุมและบ่อทดลองไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งการศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์ที่ต้องการทราบถึงผลต่อการควบคุมเชื้อ *Vibrio* spp. ในบ่อเลี้ยงและผลต่ออัตรารอดและการเจริญเติบโตของกุ้ง (Lakshmanan and Soundarapandian, 2008; Rajinikanth *et al.,* 2010)

สรุปผล

ผลของการใช้แบคทีเรียสร้างสปอร์ (*Bacillus* spp.) ในการควบคุมเชื้อ *Vibrio* spp. และผลต่ออัตรารอดและการเจริญของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเลี้ยง พบว่าในบ่อทดลองปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. ที่ตรวจพบในเลือดกุ้งขาวที่อายุ 60 วันและ 90 วัน มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)แต่อย่างไรก็ตามพบว่า อัตรารอดและน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งในบ่อทดลองและบ่อควบคุมที่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากบริษัท Novozymes Biological, Asia Pacific และ คุณวิชิต สุรเนตร (วิชิตฟาร์ม) ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Ananchai Khuantham. 1999. Experiment Design. Department of Statistics, Faculty of Scienc Kasetsart University. (In Thai)

Department of Microbiology.1990. Microbiology : Laboratory.Faculty of Science Kasetsart University, Bangkok.(In Thai)

Jueliang, P., C. Limsuwan, N.i Chuchird, W. Purivirojkul and P.Chanratchakool. 2011.Effect of Bacillus Blend (*Bacillus* spp.) for Control *Vibrio harveyi* in *Litopenaeus vannamei* Culturein Laboratory Condition. *In* The Proceeding of 49th Kasetsart University Annual Conference, Subject: Fisheries. Bangkok. (In Thai)

Lakshmanan, R and P. Soundarapandian. 2008. Effect of commercial probiotics on large scale culture of black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius). Res. J. Microbiol. 3(3):198-203.

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society.

Limsuwan, C. and P.Chanratchakool. 2004. Shrimp aquaculture industry in Thailand. Office of theNational Research Council.The Magic Public Co., Ltd. Bangkok. (In Thai)

Moriarty, D.J.1998. Control of luminous Vibrio species in penaeid aquaculture ponds. Aquaculture 164:351–358.

Nash, G., C. Nithimathachock, C. Tungmandi, A. Arkarjamorn, P. Prathanpipat and P. Ruamthaveesub. 1992. Vibriosis and its control in pond-reared *Penaeus monodon* in Thailand, pp. 143-155. *In* M., Shariff, Diseases in Asian Aquaculture. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila.

Rajinikanth, T., P. Ramasamy and V. Ravi. 2010. Efficacy of probiotics, growth promotors and disinfectants in shrimp grow out farms. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 7 (3): 347- 354.

Timboontum, W. 2001. Screening of Microorganisms as Probiotic for feeding Giant Freshwater Prawn (*Microbranchium rosenbergii*). Master's thesis.Kasetsart University. (In Thai)

Verschuere, L., G. Rombaut, P. Sorgeloos and W. Verstraete. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiol.Mol. Biol. Rev. 64: 655-669.