

การเสริม *Bacillus* S11 ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระดับทดลองภาคสนาม



นายอรุณ ธีบุญนันท์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-03-0407-9

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 20604555

SUPPLEMENTATION OF *Bacillus* S11 IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon*  
CULTURE AT FIELD TRIAL LEVEL

Mr. Aroon Tanyanan

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

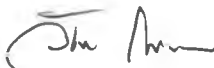
Academic Year 2001

ISBN 974-03-0407-9


หัวข้อวิทยานิพนธ์      การเสริม *Bacillus* S11 ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระดับทดลองภาคสนาม  
โดย                              นายอรุณ ธัญญนันท์  
สาขาวิชา                      จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม  
อาจารย์ที่ปรึกษา              รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม        รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิตีวรกุล


---


คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทมหาบัณฑิต


  
..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย ไพธิพิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตต์สิน สีहनนท์)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิตีวรกุล )

  
..... กรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต)

อรุณ ธีรณัฐ : การเสริม *Bacillus* S11 ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระดับทดลองภาคสนาม.  
(SUPPLEMENTATION OF *Bacillus* S11 IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon* CULTURE AT FIELD TRIAL LEVEL อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร. ศิริรัตน์  
เร่งพิพัฒน์, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรจิตวิโรกุล 123 หน้า. ISBN  
974-03-0407-9.

การเสริมโพรไบโอติก *Bacillus* S11 ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* ในระดับ  
ทดลองภาคสนาม ในบ่อดินขนาด 1,000 ตารางเมตร พบว่า *Bacillus* S11 สามารถกระตุ้น  
การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำระยะโพลลวาท โดยมึผลในการเพิ่มน้ำหนักตัวมากกว่ากุ้งกุลาดำ  
กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และไม่พบความแตกต่าง  
ระหว่างกลุ่มการทดลองเดียวกัน ผลที่ได้ดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองที่ทำซ้ำสองครั้งเมื่อทำ  
การเลี้ยงกุ้งในกระชังขนาด 2 ตารางเมตร ในบ่อดินเดียวกันเป็นระยะเวลา 100 วัน โดยทั้งน้ำหนัก  
ตัวและการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำกลุ่มที่ให้อาหารผสมโพรไบโอติกมีค่าสูงกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม  
อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ภายหลังจากทำการทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิด  
โรคด้วย *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในกระชังโดยการเสริม  
*Bacillus* S11 ในอาหารมีเปอร์เซ็นต์การตายสะสมต่ำกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัย  
สำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) และมีการตายที่ช้ากว่ากุ้งกลุ่มควบคุม

ภาควิชา.....จุลชีววิทยา.....ลายมือชื่อนิสิต.....อรุณ ธีรณัฐ  
สาขาวิชา.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์  
ปีการศึกษา.....2544.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....สมเกียรติ ปิยะธีรจิตวิโรกุล

##4172562423 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: PROBIOTIC/ *Penaeus monodon*

AROON TANYANAN : SUPPLEMENTATION OF *Bacillus* S11 IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon* CULTURE AT FIELD TRIAL LEVEL. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT, Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D. 123 pp. ISBN 974-03-0407-9.

Black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, cultivation at field trial in earthen pond, a size of 1,000 m<sup>2</sup> were supplemented with *Bacillus* S11 probiont and commercial feed, to find out its influence on shrimp growth and survival. Live weights of probiotic shrimp were significantly higher (p<0.05) than those of the control group, but non significantly different results among the same group was observed. These results corresponded with the live weights and survival of shrimp after 100 days of culture in duplicated trials in net cages, a size of 2 m<sup>2</sup>, located in the same pond. Challenge test on shrimp after cultivation for certain time with *Vibrio harveyi* strain 1526 for 8 days revealed that cumulative mortality of shrimp fed *Bacillus* S11 was lower in control group non significantly but mortality in probiotic treatment was gradually delayed.

Department.....Microbiology.....Student's signature..... *Aroon Tanyanan*

Field of study...Industrial Microbiology .....Advisor's signature..... *Sirirat Rengpipat*

Academic year.....2001.....Co-advisor's signature..... *Somkiat Piyatiratitivorakul*

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้โดยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. ประกิตติสิน สีहनนท์ ศ.ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต รศ.ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิตวิรุฬห์ ที่กรุณาเป็นกรรมการในการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ศ.ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เรื่องสถานที่ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้ง ที่ตำบลบึงบอน อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี

ขอขอบคุณภาคีวิชาจุลชีววิทยา ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ และเครื่องมือในการทำงานวิจัยบางส่วน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาคีวิชาจุลชีววิทยา รวมทั้งเพื่อนๆผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณสมบัติ รักประทานพร ที่ช่วยให้ความรู้ทางวิชาการและสอนเทคนิคต่างๆ ในการทำงานวิจัย คุณสำราญ แดงจำ คุณจำรักร์ ฉาบทอง และคุณพรชัย เกียรติสัมพันธ์ ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล แห่ง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ทำงานวิจัยบางส่วน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของหน่วยปฏิบัติการฯ ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณโครงการเมธีวิจัยอาวุโส สกว. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ให้ทุนอุดหนุนการศึกษาและการวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และพี่ๆ ที่ได้ให้กำลังใจ ช่วยเหลือ สนับสนุน ตั้งแต่เริ่มต้นจนเสร็จสมบูรณ์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูป.....	ฉ
สัญลักษณ์และคำย่อ.....	ญ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. วารสารปริทัศน์.....	3
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	22
4. ผลการทดลอง.....	31
5. อภิปรายผลการทดลอง.....	80
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	87
รายการอ้างอิง.....	89
ภาคผนวก.....	98
ภาคผนวก ก.....	99
ภาคผนวก ข.....	103
ภาคผนวก ค.....	106
ภาคผนวก ง.....	107
ภาคผนวก จ.....	108
ภาคผนวก ฉ.....	109
ภาคผนวก ช.....	111
ประวัติผู้เขียน.....	123

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. จุลินทรีย์ที่มีการใช้เป็นโพรไบโอติก.....	15
2. การใช้โพรไบโอติกเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.....	19
3. จำนวน <i>Bacillus</i> S11 ในอาหารกุ้งกุลาดำระหว่างการเก็บที่ 4 <sup>0</sup> ซ. เป็นระยะเวลา 28 วัน.....	33
4. คุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 1 เป็นระยะเวลา 60 วัน.....	33
5. คุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 2 เป็นระยะเวลา 100 วัน.....	40
6. ลักษณะการเจริญและการทดสอบทางชีวเคมีของ <i>Vibrio harveyi</i> ที่แยกได้ระหว่างการทดสอบการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เทียบกับ <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526.....	48
7. คุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 3 เป็นระยะเวลา 100 วัน.....	52
8. คุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 4 เป็นระยะเวลา 100 วัน.....	58
9. ลักษณะการเจริญและการทดสอบทางชีวเคมีของ <i>Vibrio harveyi</i> ที่แยกได้ระหว่างการทดสอบการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เทียบกับ <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526.....	66
10. คุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 4 เป็นระยะเวลา 100 วัน.....	70
11. ลักษณะการเจริญและการทดสอบทางชีวเคมีของ <i>Vibrio harveyi</i> ที่แยกได้ระหว่างการทดสอบการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เทียบกับ <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526.....	78



## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.    นำหนักตัวของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 1.....	34
2.    จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 1.....	35
3.    จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในตะกอนดินในบ่อกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 1.....	36
4.    จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 1.....	37
5.    ความยาวและนำหนักตัวของกุ้งกุลาดำกลุ่มโพรไบโอติกบ่อที่ 1 และกลุ่มโพรไบโอติกบ่อที่ 2 ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 2.....	39
6.    จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 2.....	41
7.    จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในตะกอนดินในบ่อกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 2.....	42
8.    จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 2.....	43
9.    การตายสะสมของกุ้งกุลาดำระหว่างการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน.....	45
10.   จำนวน <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 และ <i>Bacillus</i> S11 ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำระหว่างการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>V. harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน.....	46
11.   จำนวน <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 และ <i>Bacillus</i> S11 ในลำไส้กุ้งกุลาดำระหว่างการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>V. harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน.....	47
12.   ความยาวและนำหนักตัวของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติกระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 3.....	51
13.   จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 3.....	53

## สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
14. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในตะกอนดินในบ่อกึ่ง กุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 3.....	54
15. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำ ระ หว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 3.....	55
16. ความยาวและน้ำหนักตัวของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติกระหว่าง การเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 4.....	57
17. การรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกระหว่างการเลี้ยงกุ้ง กุลาดำครั้งที่ 4.....	58
18. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 4.....	59
19. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในตะกอนดินในบ่อกึ่ง กุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 4.....	60
20. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำ ระ หว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 4.....	61
21. การตายสะสมของกุ้งกุลาดำระหว่างการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน.....	63
22. จำนวน <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 และ <i>Bacillus</i> S11 ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>V. harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน.....	64
23. จำนวน <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 และ <i>Bacillus</i> S11 ในลำไส้กุ้งกุลาดำ ระหว่างการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>V. harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน.....	65
24. ความยาวและน้ำหนักตัวของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติกระหว่าง การเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 5.....	69
25. การรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกระหว่างการเลี้ยงกุ้ง กุลาดำครั้งที่ 5.....	70
26. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 5.....	71
27. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในตะกอนดินในบ่อกึ่ง กุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 5.....	72

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
28. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด <i>Bacillus</i> S11 และ <i>Vibrio</i> spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำ ระหว่างการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 5.....	73
29. การตายสะสมของกุ้งกุลาดำระหว่างการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน.....	75
30. จำนวน <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 และ <i>Bacillus</i> S11 ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ระหว่างการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>V. harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน.....	76
31. จำนวน <i>Vibrio harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 และ <i>Bacillus</i> S11 ในลำไส้กุ้งกุลาดำ ระหว่างการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย <i>V. harveyi</i> สายพันธุ์ 1526 เป็นเวลา 8 วัน.....	77

## สัญลักษณ์และคำย่อ

ชม.	=	ชั่วโมง
ซ.ม.	=	เซนติเมตร
ตร.ม.	=	ตารางเมตร
$^{\circ}\text{ซ}$	=	องศาเซลเซียส
มล.	=	มิลลิลิตร
มก.	=	มิลลิกรัม
CFU/g	=	โคโลนีต่อกรัม
CFU/ml	=	โคโลนีต่อมิลลิลิตร