



รายงานการวิจัย

จุลินทรีย์ท้องถิ่นในพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
ตามหลักเกษตรธรรมชาติ กรณีศึกษา : ฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

**Indigenous Microorganism in Aquaculture Area Based on Natural
Farming Principles Case Study: Freshwater Aquaculture Farm**

**Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of
Technology Srivijaya, Trang Campus**

วรวุฒิ เกิดปราง Worawut Koedprang

ชาคริยา ฉลาด Chakhriya Chalad

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณเงินรายได้ ประจำปีพุทธศักราช 2556

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณเงินรายได้ประจำปีพุทธศักราช 2556

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในการสนับสนุนทุนวิจัย รวมทั้งอุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณ คุณสดศรี อู่ยงิม เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ผู้ช่วยการวิจัย และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิสาหกิจศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง ที่ให้การสนับสนุนต่าง ๆ จนกระทั่งการวิจัยสำเร็จลุล่วง

วรวิภา เกิดปราง

ชาคริษา ฉลาด

มกราคม 2557

จุลินทรีย์ท้องถิ่นในพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามหลักเกษตร
ธรรมชาติ กรณีศึกษา : ฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการ
ประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

วรวิมล เกิดปราง¹ และ ชาศรียา นลาด²

บทคัดย่อ

การศึกษานิคจุลินทรีย์ท้องถิ่นในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำครั้งนี้ เพื่อเป็นแนวทางในการนำ
จุลินทรีย์เหล่านั้นมาใช้ประโยชน์ในทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามหลักเกษตรธรรมชาติ ทำการเก็บ
ตัวอย่างจุลินทรีย์บริเวณฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
จำนวน 6 จุด โดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งสุกประมาณ 100 กรัม ใส่ในภาชนะปิดด้วยกระดาษเนื้อหยาบที่
อากาศสามารถผ่านเข้าออกได้ วางบริเวณที่มีวัชพืชหรือใบไม้ในแต่ละจุด ใช้เวลาประมาณ 5 วัน
จุลินทรีย์จะเจริญเต็มผิวหน้าของข้าวเหนียว เมื่อทำการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์พบ แบคทีเรีย 3
สายพันธุ์ คือ *Bacillus* sp. 2 สายพันธุ์ และ *Enterobactor* sp. ๖ สายพันธุ์ คือ *Aspergillus*
niger, *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp. และ *Neurospora crassa*
และยีสต์ *Pichia* sp. ซึ่งการศึกษานี้ไม่พบจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุในการเกิดโรคสัตว์น้ำ

คำสำคัญ: จุลินทรีย์ท้องถิ่น

¹สาขาเทคโนโลยีการประมง ²สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Indigenous Microorganism in Aquaculture Area Based on Natural Farming Principles Case Study: Freshwater Aquaculture Farm, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus

Worawut Koedprang¹ and Chakhriya Chalad²

Abstract

The kind of indigenous microorganism in aquaculture farm was studied in order to use for aquaculture based on Natural Farming Principles. Microorganism was collected from freshwater aquaculture farm of Faculty of Science and Fisheries Technology by divided into 6 points. The steamed sticky rice about 100 g put in container covered with paper which allow through of the air. The containers were placed under weed or fallen leaves in each point. After 5 days, sticky rice was covered with microorganism. The microorganisms were identified. There were 3 kinds of bacteria, *Enterobactor* sp. and 2 species of *Bacillus* sp. and 6 kinds of mold, *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp. and *Neurospora crassa* and a kind of yeast, *Pichia* sp. The aquatic animal pathogen was not found in this study.

Keywords: indigenous microorganism

¹ Department of Fisheries Technology ²Department of Biological Science, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(ก)
สารบัญตาราง	(ข)
สารบัญภาพ	(ค)
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	3
วิธีดำเนินการวิจัย	4
ผลการวิจัย	6
วิจารณ์ผลการวิจัย	14
สรุปผลการวิจัย	17
ข้อเสนอแนะ	18
เอกสารอ้างอิง	19
ภาคผนวก	22

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของจุลินทรีย์ <i>Bacillus</i> spp. (B I and B II) และ <i>Enterobacter</i> sp. (Ent.) ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	7

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. I ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	7
2	แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> sp. I ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	8
3	แบคทีเรีย <i>Enterobacter</i> sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	8
4	รา <i>Aspergillus niger</i> ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	10
5	รา <i>Aspergillus</i> sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	10
6	รา <i>Rhizopus</i> sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	11
7	รา <i>Penicillium</i> sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	11
8	รา <i>Mucor</i> sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	12
9	รา <i>Neurospora crassa</i> ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	13
10	ยีสต์ <i>Pichia</i> sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง	13

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
1 จุลินทรีย์ท้องถิ่นที่เจริญเติบโตบนผิวหน้าข้าวเหนียวนี้ง	23

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

บทนำ

จุลินทรีย์ (microorganisms) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กชนิดแรกที่เกิดขึ้นบนโลก และจัดเป็นองค์ประกอบหลักในระบบนิเวศน์ ซึ่งปัจจุบันชนิดของจุลินทรีย์ที่ศึกษาและเป็นที่รู้จักมีจำนวนเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์ทั้งหมด ซึ่งประกอบด้วย สาหร่ายขนาดเล็ก (microalgae) แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส (Zhou *et al.*, 2009) และยังคงศึกษากันอย่างต่อเนื่องเพื่อนำมาใช้ในการเกษตรและอุตสาหกรรมอย่างเหมาะสม ได้แก่ ปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer) การกระตุ้นการเจริญเติบโตในสัตว์ (growth promoters) การย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradation) สารชีวภาพกำจัดแมลง (biopesticides) การบำบัดทางชีวภาพ (bioremediation) ตัวชี้วัดทางชีวภาพ (bioindicators) และการแปรรูปอาหาร (food processing) เป็นต้น (Dilip *et al.*, 2005)

ปัจจุบันแนวโน้มของการทำการเกษตรจะมุ่งไปสู่กระบวนการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และการเกษตรที่ยั่งยืน โดยทำการเกษตรด้วยสารอินทรีย์ต่าง ๆ แทนการใช้สารเคมีที่เรียกว่า เกษตรอินทรีย์ ซึ่งรวมถึงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีการนำเอาสารอินทรีย์ต่าง ๆ เช่น ปุ๋ยอินทรีย์ ได้แก่ มูลสัตว์ ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสด ในการสร้างอาหารธรรมชาติสำหรับสัตว์น้ำ รวมทั้งการใช้ปุ๋ยน้ำชีวภาพ หรือน้ำหมักชีวภาพที่กำลังได้รับความนิยม ผลผลิตจากการหมักเศษพืชและสัตว์ ในการเพิ่มธาตุอาหาร ช่วยย่อยอินทรีย์สาร และควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งน้ำหมักชีวภาพที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำส่วนใหญ่ เกษตรกรนิยมใช้น้ำหมักชีวภาพสำเร็จรูปที่จำหน่ายในท้องตลาด หรือหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เรียกว่า EM (effective microorganisms) มาผลิตน้ำหมักชีวภาพ โดย Diver (2001) cited in Zakaria *et.al.* (2010) รายงานว่า EM ประกอบด้วยจุลินทรีย์มากกว่า 80 สายพันธุ์ แบ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (photosynthetic bacteria) ได้แก่ *Rhodospseudomonas palustris* และ *Rhodobacter spnaeroides* กลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ได้แก่ *Lactobacillus plantarum*, *L. casei* และ *Streptococcus lactis* กลุ่มยีสต์ (yeast) ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* กลุ่มแอคติโนมัยเซส

(actinomycetes) ได้แก่ *Streptomyces albus* และ *S. griseus* และกลุ่มราที่ก่อให้เกิดการหมัก (fermenting fungi) ได้แก่ *Aspergillus oryzae*, *Penicillium sp.* และ *Mucor hiemalis* เป็นต้น จุลินทรีย์เหล่านี้เป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ ไม่มีพิษภัย มีแต่ประโยชน์ถ้าสามารถนำไปใช้ได้ อย่างถูกต้อง ซึ่งการกระทำลักษณะดังกล่าวนี้จัดเป็นการทำเกษตรอินทรีย์โดยทั่วไปที่มีการนำ จุลินทรีย์จากภายนอกพื้นที่มาใช้ในการทำการเกษตร ซึ่งมีข้อแตกต่างจากการทำเกษตรธรรมชาติ

Tancho (2004) กล่าวว่า ปรัชญาพื้นฐานของเกษตรธรรมชาติคือ การใช้ศักยภาพของ สิ่งมีชีวิตดั้งเดิมให้เกิดประโยชน์มากที่สุด โดยมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง ไปเสมอทำให้พืชและสัตว์เลี้ยงมีการเจริญเติบโตที่ดี สามารถต่อสู้กับโรคต่าง ๆ ได้ เกิดความสมดุล ของสิ่งแวดล้อม และการหมุนเวียนวงจรของธาตุอาหารตามธรรมชาติที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต ในช่วงต่าง ๆ ของพืชและสัตว์ และการทำเกษตรแบบธรรมชาติไม่ยอมรับการนำจุลินทรีย์จากต่าง พื้นที่เข้ามาใช้ในกระบวนการผลิต ทั้งนี้จะรวมถึงจุลินทรีย์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงและคัดแยกจนเป็น สายพันธุ์บริสุทธิ์ ซึ่งมีจำหน่ายตามท้องตลาด เนื่องจากจุลินทรีย์ดังกล่าวจะไม่แข็งแรงและไม่มี ประสิทธิภาพเมื่อนำไปสู่ธรรมชาติอีกครั้ง ไม่เหมือนกับจุลินทรีย์ดั้งเดิมในท้องถิ่น ที่อาศัยอยู่เป็น เวลานาน จนสามารถปรับตัวและมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ภายในพื้นที่ ดังนั้น การเกษตรธรรมชาติจึงมุ่งเน้นการใช้จุลินทรีย์ที่เกษตรกรผลิตขึ้นเองจากจุลินทรีย์ในท้องถิ่น ซึ่ง ปลอดภัย ผลิตและใช้ง่าย ราคาถูก มีประสิทธิภาพสูง และทำให้เกิดความสมดุลของระบบนิเวศใน พื้นที่นั้น ๆ

ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ท้องถิ่นในพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดของคณะ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้จุลินทรีย์ท้องถิ่นใน การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามหลักเกษตรธรรมชาติต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อเก็บรวบรวม และจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ท้องถิ่น บริเวณฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์
น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยา
เขตตรัง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บรวบรวมจุลินทรีย์ท้องถิ่นบริเวณพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ดัดแปลงวิธีการของ Tancho (2004) โดยกำหนดจุดการเก็บตัวอย่างโดยรอบพื้นที่เลี้ยงสัตว์น้ำจืด ของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง ซึ่งมีพื้นที่ประมาณ 9,000 ตารางเมตร จำนวน 6 จุด นำข้าวเหนียวหนึ่งสุกประมาณ 100 กรัม ใส่ในภาชนะ ปิดด้วยกระดาษเนื้อหยาบที่อากาศสามารถผ่านเข้าออกได้ ฟังกล่องใส่ข้าวหนึ่งบริเวณที่มีวัชพืชหรือใบไม้เน่าเปื่อยจากเขื่อนราในแต่ละจุด ใช้เวลาประมาณ 5 วัน จุลินทรีย์ท้องถิ่นจะเจริญเติบโตเต็มผิวหน้าข้าวเหนียวหนึ่ง (ภาพผนวกที่ 1) นำจุลินทรีย์ที่เก็บรวบรวมได้จากแต่ละจุดไปจำแนกชนิดและเปรียบเทียบความแตกต่างของชนิดจุลินทรีย์ ตามวิธีการดังนี้

1. การบ่งชี้สกุลของแบคทีเรียโดยการทดสอบทางชีวเคมีตาม Buchanan and Gibbon (1974) โดยการนำเชื้อบริสุทธิ์มาทดสอบทางกายภาพและทางชีวเคมี ได้แก่ การทดสอบการย้อมสีแกรม การสร้างสปอร์ การเคลื่อนที่ การสร้างเอนไซม์ catalase การสร้างเอนไซม์ oxidase การเจริญในสภาพไม่มีอากาศ การเจริญในอาหาร MacConkey Agar (MCA), Indole, Methyl Red (MR), Voges Proskauer (VP), Simmon Citrate, Urea, Lysine decarboxylation, Triple sugar iron (TSI) ความสามารถในการหมักน้ำตาลกลูโคส ซูโครส แลคโตส ฟรุคโตส มอลโตส และแมนนิทอล

2. การบ่งชี้สกุลของเชื้อรา โดยการทดสอบทางสัณฐานวิทยาทางราตาม Rose (1979) และ Webster (1970) โดยศึกษาลักษณะโคโลนี ลักษณะเส้นใยเกาะแน่นหรือฟูกระจายเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของเส้นใย สีของสปอร์ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อราแตะลงบน lactophenol cotton blue ที่อยู่บนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ สังเกตเส้นใยว่ามีผนังกันหรือไม่ เส้นใยทึบหรือใส ลักษณะสปอร์แบบไม่อาศัยเพศเป็นแบบ conidia หรือ sporangiospore รวมทั้งลักษณะก้านชู (sporangioophore)

3. การบ่งชี้สกุลของเชื้อยีสต์ โดยการทดสอบทางชีววิทยาตาม Kreger-van Rij (1969) โดยศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อยีสต์ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ สังเกตขนาด และสีโคโลนี ศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยดูลักษณะรูปร่างของยีสต์ การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ การสร้างเส้นใยเป็นแบบ true mycelium และ pseudomycelium การสร้างฝ้า ความสามารถในการหมักน้ำตาล ความสามารถในการใช้เกลือไนเตรท

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ผลการวิจัย

การศึกษานิคจุลินทรีย์ท้องถิ่นบริเวณฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง พบเชื้อจุลินทรีย์รวมจำนวน 10 สายพันธุ์ จำแนกเป็น แบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์ ได้ดังนี้

กลุ่มแบคทีเรีย (Bacteria) พบจำนวน 2 สกุล 3 สายพันธุ์ คือ *Bacillus* sp. 2 สายพันธุ์ และ *Enterobacter* sp. โดยแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะดังนี้

Bacillus sp. I (ไอโซเลทที่ 1)

แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน สร้างสปอร์ สามารถเคลื่อนที่ได้ การทดสอบ catalase และ oxidase เป็นบวก การทดสอบ IMViC ให้ผล I (Indole) และ M (Methyl Red) เป็นลบ VP (Voges Proskauer) เป็นบวก และ C (Citrate) เป็นลบ (- - + -) การทดสอบ Triple Sugar Iron (TSI) ให้ผล Acid/Acid, H₂S สามารถหมักน้ำตาล glucose, maltose และ sucrose แต่ไม่สามารถหมักน้ำตาล fructose ดังตารางที่ 1 และภาพที่ 1

Bacillus sp. II (ไอโซเลทที่ 2)

แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน สร้างสปอร์ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ การทดสอบ catalase เป็นบวก แต่ oxidase เป็นลบ การทดสอบ IMViC ให้ผล I และ M เป็นลบ VP เป็นบวก และ C เป็นลบ (- - + -) การทดสอบ Triple Sugar Iron (TSI) ให้ผล Acid/Alkaline สามารถหมักน้ำตาล glucose, maltose, sucrose และ fructose ดังตารางที่ 1 และภาพที่ 2

Enterobacter sp.

แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ สามารถเคลื่อนที่ได้ การทดสอบ catalase เป็นบวก แต่ oxidase เป็นลบ การทดสอบ IMViC ให้ผล I และ M เป็นลบ VP และ C เป็นบวก (- - + +) การทดสอบ Triple Sugar Iron (TSI) ให้ผล Acid/Acid สามารถหมักน้ำตาล glucose ได้ แต่ไม่สามารถหมักน้ำตาล maltose, sucrose และ fructose ดังตารางที่ 1 และภาพที่

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของจุลินทรีย์ *Bacillus* spp. (B I and B II) และ *Enterobacter* sp. (Ent.) ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Type	Shape	Spore	Gram	Motility	Catalase	Oxidase	IMViC				TSI	Sugar fermentation			
							I	M	VP	C		Glu	Mal	Suc	Fru
B I	rod	+	+	+	+	+	-	-	+	-	A/A, H ₂ S	+	+	+	-
B II	rod	+	+	-	+	-	-	-	+	-	A/K	+	+	+	+
Ent.	rod	-	-	+	+	-	-	-	+	+	A/A	+	-	-	-

หมายเหตุ : I=Indole, M= Methyl Red, VP= Voges Proskauer, C=Citrate, A=Acid, K=Alkaline, H₂S=hydrogensulfide, Glu=Glucose, Mal=Maltose, Suc=Sucose, Fru=Fructose



ภาพที่ 1 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. I ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง



ภาพที่ 2 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. II ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง



ภาพที่ 3 แบคทีเรีย *Enterobacter* sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

กลุ่มรา (Mold) พบจำนวน 5 สกุล 6 สายพันธุ์ คือ *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp.*, *Rhizopus sp.*, *Penicillium sp.*, *Mucor sp.* และ *Neurospora crassa* โดยแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะดังนี้

Aspergillus niger

โคโลนีเส้นใยสีขาว ก่อนข้างฟู ด้านหลังโคโลนีไม่มีสี สปอร์สีดำขนาดใหญ่อยู่บนผิว เป็นพวก septate hypha (ราพวกที่มี hypha ชนิดที่มีผนังกั้นตามขวาง (septum) ทำให้เห็นเป็นแต่ละเซลล์) ส่วน vesicle มีลักษณะกลม มี sterigma 1 ชั้น ส่วนปลายของ sterigma มี conidia ติดกันอยู่เป็นสาย ซึ่ง conidia มีรูปร่างกลม ผิวขรุขระ ดังภาพที่ 4

Aspergillus sp.

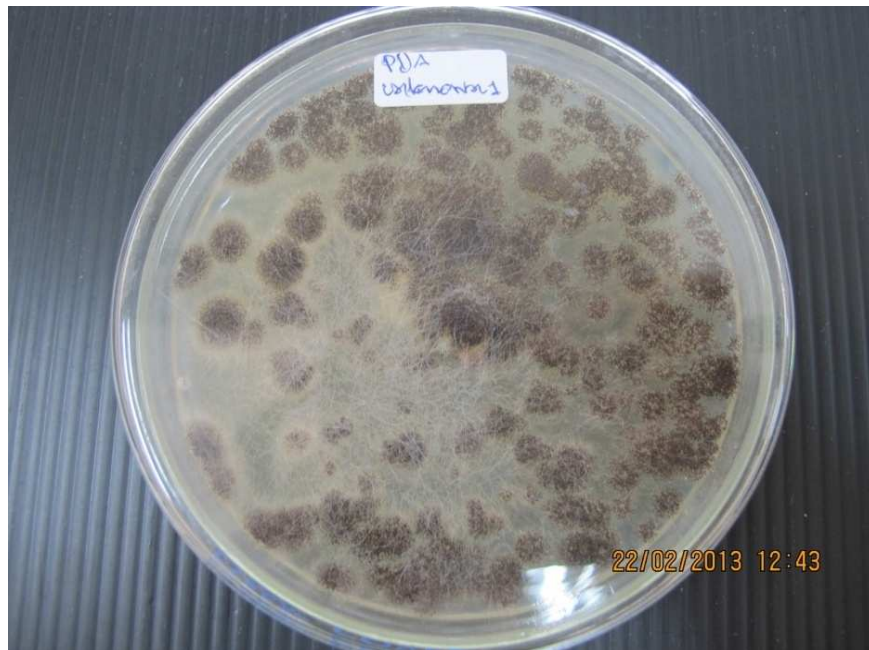
โคโลนีมีสีเขียว ด้านหลังโคโลนีมีสีเหลืองอ่อน สปอร์สีเขียวเข้มขนาดเล็ก ก่อนข้างละเอียด เป็นพวก septate hypha ส่วน vesicle มีลักษณะกลม มี sterigma 1 ชั้น ส่วนปลายของ sterigma conidia ติดกันอยู่เป็นสาย ซึ่ง conidia มีรูปร่างกลม ผิวเรียบ ดังภาพที่ 5

Rhizopus sp.

โคโลนีขนาดใหญ่ เส้นใยฟูกระจายสีขาวปนเทา สปอร์รูปร่างกลม สีดำขนาดใหญ่ อยู่บนผิวด้านนอกโคโลนี เป็นพวก non septate hypha (ราพวกที่มี hypha ลักษณะเป็นท่อยาวไม่มีผนังกั้นตามขวาง และจะมีนิวเคลียสหลายอันกระจายไปตลอดความยาวของ hypha) ส่วนปลายสุดของ sporangiophores โป่งออก เรียกว่า columella ซึ่งจะเป็นส่วนที่อยู่ของ sporangium ซึ่งภายใน sporangium บรรจุสปอร์จำนวนมากมีลักษณะกลมสีดำ และเชื้อรานี้มีลักษณะเด่น คือ hypha มีลักษณะคล้ายรากของต้นไม้ หรือเรียกว่า rhizoid ดังภาพที่ 6

Penicillium sp.

โคโลนีนูน เส้นใยอัดแน่นสีฟ้าอมเทา เป็นพวก septate hypha เส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์มีลักษณะคล้ายไม้กวาด ซึ่งเป็นลักษณะของ conidiophore ที่แตกแขนง มี conidia ติดกันเป็นสาย แต่ละเซลล์ของ conidia มีลักษณะกลมรี ผิวเรียบ ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 4 ภา *Aspergillus niger* ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง



ภาพที่ 5 ภา *Aspergillus* sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง



ภาพที่ 6 รา *Rhizopus* sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง



ภาพที่ 7 รา *Penicillium* sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Mucor sp.

โคโลนีขนาดใหญ่ เส้นใยฟูกระจายสีขาวคล้ายสำลี เป็นพวก non septate hypha ส่วนของ sporangiophore แยกออกจาก non septate hypha เป็นสายเดี่ยวๆ ที่ปลายของ sporangiophore มี sporangium และ sporangiospores ลักษณะเดียวกับ *R. sp.* แต่ไม่มี rhizoid ดังภาพที่ 8

Neurospora crassa

โคโลนีเป็นเส้นใยฟู เริ่มต้นมีเส้นใยสีขาวและเปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้ม เป็นพวก septate hypha และมีสปอร์ชนิด ascospore ดังภาพที่ 9

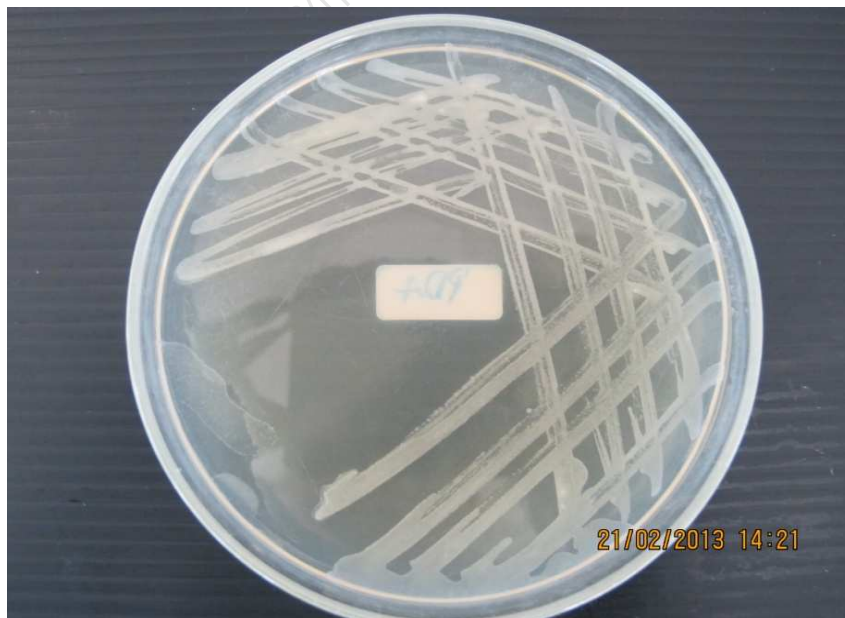
กลุ่มยีสต์ (Yeast) พบจำนวน 1 สายพันธุ์ คือ *Pichia* sp. โดยมีลักษณะดังนี้ คือ โคโลนีสีขาว ขอบเรียบ เซลล์รูปร่างทรงกลม มีการสืบพันธุ์แบบ budding สามารถหมักน้ำตาล glucose และ galactose ได้ แต่ไม่สามารถหมักน้ำตาล sucrose และ maltose ดังภาพที่ 10



ภาพที่ 8 ภา *Mucor* sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง



ภาพที่ 9 รา *Neurospora crassa* ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง



ภาพที่ 10 ยีสต์ *Pichia* sp. ที่แยกจากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

วิจารณ์ผลการวิจัย

การเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์ในพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดครั้งนี้พบจุลินทรีย์จำนวน 10 สายพันธุ์ แบ่งเป็น แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *Bacillus* sp. I, *Bacillus* sp. II และ *Enterobacter* sp. 6 สายพันธุ์ คือ *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp, *Penicillium* sp., *Mucor* sp. และ *Neurospora crassa* และยีสต์ 1 สายพันธุ์ คือ *Pichia* sp. ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถพบได้โดยทั่วไปในสภาพแวดล้อมทั้งบนบกและในน้ำ และมีบทบาทในการย่อยสลายอินทรีย์สาร (Zhou et al., 2009) โดยแบคทีเรีย *Bacillus* สามารถพบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมธรรมชาติ ส่วนใหญ่มีความสามารถในการย่อยโปรตีน และมีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม (Al-Allaf, 2011) และมีการศึกษาเพื่อใช้ผลิตเอนไซม์โปรติเอส (protease) ดังเช่น Jongjeen and Aoki (2010) คัดแยกแบคทีเรีย *Bacillus* จากดินบริเวณที่ทิ้งขยะ พบว่า *Bacillus* spp. จำนวน 8 สายพันธุ์ สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอส และปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ได้ ส่วน *Enterobacter* สามารถพบได้ในสภาพแวดล้อม เช่น สิ่งปฏิกูล พืชผัก ดินและน้ำ (Grimont and Grimont, 2006) นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในระบบทางเดินอาหารของคน และสัตว์ทั่วไป

เชื่อกันนอกจากมีบทบาทในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ Nimrat and Vuthiphandchai (2009) กล่าวว่า เชื้อรายังสามารถใช้ในการบริโภคและอุตสาหกรรมอาหารอีกด้วย โดยราสกุล *Aspergillus* พบได้ทั่วไปในดิน ชากพืชและไม้ ทั้งสภาพกลางแจ้งและในร่ม บางสายพันธุ์มีความสำคัญในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เคมีและชีวภาพ เช่น *A. niger* ใช้ในการผลิตกรดซิตริกที่ใช้ในการถนอมอาหารและสารซักล้าง นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ซอสถั่วเหลือง ซีอิ๊วโกแลต ชาดำ น้ำผลไม้ ผ่านกระบวนการหมักด้วยราสกุลนี้ ราสกุล *Rhizopus* พบในอินทรีย์วัตถุ ได้แก่ ผักและผลไม้สุก อุจจาระ ขนมันปัง หนังกุ้ง ถั่ว และยาสูบ (Wikipedia A, 2013 : online) เป็นราที่พบในลูกแป้ง สำหรับใช้ในการทำข้าวหมาก (Wikipedia B, 2013 : online) ราสกุล *Penicillium* มีบทบาททำให้เกิดการเน่าเสียของผักและผลไม้ เช่น *P. italicum* และ *P. digitatum* มักพบทำให้เกิด

การเน่าของผลส้ม และ *P. expansum* พบในแอปเปิล *Penicillium* บางสายพันธุ์ก็มีประโยชน์ เช่น *P. roquefortii* ใช้ผลิตบลูชีส (blue chees) และ *P. camembertii* ใช้ผลิตชีสเช่นกัน ส่วน *P. chrysogenum* สามารถผลิต glucose oxidase ซึ่งสามารถป้องกันการย่อยสลายของเชื้อราอื่นๆ ในผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ และที่สำคัญ *P. notatum* และ *P. chrysogenum* สามารถใช้ผลิตยาเพนนิซิลิน (MicrobeWiki A, 2013 : online) ราสกุล *Mucor* ทำให้เกิดการเน่าเสียของนม เนื้อสัตว์ ไข่ ผักและผลไม้ แต่บางชนิดใช้ในกระบวนการหมักเพื่อให้เกิดกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟูมาริก และกรดแลคติก การหมักอาหารพื้นเมือง การหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ *M. miechei* ใช้ในการผลิตเอนไซม์เรนเนท (rennet) เพื่อใช้ในการผลิตเนยแข็ง (Pornchaloempong and Rattanapanone, 2003) ส่วนเชื้อรา *Neurospora crassa* เป็นราสร้างเส้นใยที่ไม่ก่อให้เกิดโรค และเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาทางด้านชีววิทยา พันธุศาสตร์ และวิถีเมแทบอลิซึม (metabolic pathways) ของเชื้อรา (Rahim et al., 2009) และยีสต์ในสกุล *Pichia* เช่น *P. guilliermondii* มีการนำมาใช้ป้องกันการเน่าเสียของผลไม้และธัญพืชและถั่วเหลืองเนื่องจากเชื้อรา (Phaff, 2001)

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีการนำจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมคุณภาพน้ำและย่อยสลายอินทรีย์สาร เช่น น้ำหมักชีวภาพผลิตโดยการใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์หรือ EM ซึ่งมีส่วนผสมของกลุ่มจุลินทรีย์บางกลุ่มเช่นเดียวกับที่พบในการศึกษานี้ ได้แก่ *Bacillus* spp., *A. oryzae*, *Penicillium* sp. และ *M. hiemalis* เป็นต้น และยังมีการใช้จุลินทรีย์เหล่านี้เพื่อเป็นโปรไบโอติก (probiotic) ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำด้วย ดังเช่น Dalmin et al. (2001) รายงานว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ช่วยในการปรับปรุงคุณภาพน้ำ อัตราการเจริญเติบโตและการรอดตายและสุขภาพของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และลดปริมาณเชื้อไวรัส (Vibrios) ในน้ำ Zhou et al. (2009) กล่าวว่า *B. subtilis* ช่วยลดปริมาณแอมโมเนียและไนโตรทในการอนุบาลและเลี้ยงสัตว์น้ำ Liu et al. (2006) รายงานว่า การใช้ *B. licheniformis* ปริมาณ 200-300 มิลลิกรัม ผสมอาหาร 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มปฏิกิริยาของเอนไซม์ช่วยย่อยอาหารและเพิ่มการเจริญเติบโตของปลา Crucian carp Kim et.al. (2009) รายงานว่า ปลานกแก้ว (*Oplegnathus fasciatus*) ที่ได้รับ

อาหารผสมกากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* และอาหารผสมเชื้อราโดยตรง มีผลทำให้ปลามีการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร จำนวนเม็ดเลือดแดง ปฏิบัติการต้านอนุมูลอิสระ(antioxidant activity) สูงกว่ากลุ่มควบคุม ขณะที่ Wang (2006) กล่าวว่า ยีสต์สามารถย่อยสลายสารแซคคาไรด์ (saccharide) และลดการใช้ออกซิเจนในน้ำ นอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นโปรตีนเซลล์เดียว (mono-cell protein) ที่มีสารอาหาร วิตามินบี และกรดอะมิโน ซึ่งสามารถใช้เป็นอาหารเสริมให้แก่สัตว์น้ำ และพบว่ายีสต์ช่วยเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนตอบสนองต่อความร้อน (heat stress protein) ในลำไส้ของปลา และจากการศึกษาครั้งนี้จุลินทรีย์ท้องถิ่นที่พบบริเวณพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง จัดอยู่ในกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาจก่อให้เกิดประโยชน์ในทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำดังที่กล่าวแล้วข้างต้น แต่อย่างไรก็ตามการนำจุลินทรีย์เหล่านี้มาใช้ ควรศึกษาประสิทธิภาพ รวมทั้งการก่อโรคของจุลินทรีย์ต่อสัตว์น้ำ เพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามหลักเกษตรกรรมอย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อไป

สรุปผลการวิจัย

1. พื้นที่ฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง พบเชื้อจุลินทรีย์รวมจำนวน 10 สายพันธุ์ แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *Bacillus* sp. 2 สายพันธุ์ และ *Enterobacter* sp. ๖ สายพันธุ์ คือ *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp. และ *Neurospora crassa* และยีสต์ *Pichia* sp.
2. การศึกษาครั้งนี้ไม่พบจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุในการเกิดโรคสัตว์น้ำ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ในแต่ละช่วงฤดูกาล เพราะอาจมีจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม
2. ควรศึกษาการใช้ประโยชน์และผลกระทบของจุลินทรีย์ท้องถิ่นที่พบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อนำไปสู่การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามหลักเกษตรธรรมชาติต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

เอกสารอ้างอิง

- Al-Allaf, M.A.A. 2011. Isolation of *Bacillus* spp. from some sources and study of its proteolytic activity. *Tikrit Journal of Pure Science* 16 (4) : 59-62.
- Buchanan, R. E. and Gibbon, N.E. 1974. *Bergey ' Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. The William & Wilkins Co., Baltimore. 1246 p.
- Dalmin, G., Kathiresan, K. and Purushothaman, A. 2001. Effect of probiotics on bacterial population and health status of shrimp in culture pond ecosystem. *Indian J. Exp. Biol* 39 : 939–942.
- Dilip, K.A., Saikia, R., Dwivedi, R., and Smith, D. 2005. Current status, strategy and future prospects of microbial resource collections. *Current Science* 89 (3): 488-495.
- Diver, S. 2001. Nature Farming and Effective Microorganisms, Rhizosphere II. cited in Zakaria, Z., Gairola, S., and Shariff, M.N. 2010. Effective microorganisms (EM) technology for water quality restoration and potential for sustainable water resources and management. *Proceedings of the International congress on Environmental Modelling and Software*. Canada, July 5-8, 2010. [Online] Available from <http://www.iemss.org/iemss2010/proceedings.html> [2013 October 2]
- Grimont, F. and Grimont, P.A.D. 2006. The Genus *Enterobacter*. *Prokaryotes* 6 : 197-214.
- Jongjeen, J. and Aoki, S.K. 2010. Screening of Proteolytic and Chitinolytic *Bacillus* spp. Isolated from Soil. *Agricultural Sci. J.* 41(3/1)(Suppl.): 317-320. [In Thai]

- Kim, S.S., Galaz, G. B., Pham, M. A., Jang, J. W., Oh, D. H., Yeo, I. K., and Lee, K. J. 2009. Effects of Dietary Supplementation of a Meju, Fermented Soybean Meal, and *Aspergillus oryzae* for Juvenile Parrot Fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 22 (6) : 849 – 856.
- Kreger-van Rij, N.J.W. 1969. Classification of Yeasts. *In* Rose, A. H. and Harrison, J.S. (Editors). *The Yeasts Vol.1: Biology of Yeast.* Academic Press, London. pp. 5-65.
- Liu, B., Xie, J., Liu, W., Wang, T., Wang, H. and Du, w. 2006. Effects of *Bacillus licheniformis* on digestive performance and growth of Allogynogenetic crucian carp. *J. Dalian Fisheries Univ.* 21 : 336–340.
- MicrobeWiki A. Penicillium. [Online] Available from <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Penicillium> [2013 October 25].
- Nimrut, S. and Vuthiphandchai, V. 2009. *Aquacultural Sustainability : Role of Microorganisms and The Application.* Chulalongkorn University Press, Bangkok. 308 p. [In Thai]
- Phaff, H. J. 2001. Yeasts. *Encyclopedia of Life Sciences.* 10 p. [Online] Available from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/npg.els.0000380/figures> [2013 November 6].
- Pornchaloempong, P. and Rattanapanone, N. 2003. Mucor. *Food Wiki.* [Online] Available from <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1618/mucor> [2013 October 25].

- Rahim, T., Ray, A. L., Beauty, S. P. and Gomes, D. J. 2009. Induction of mutation in *Neurospora crassa* with ultraviolet radiation and evaluation of cellulose and xylanase activities. *Bangladesh J. Bot.* 38 (2): 201-203.
- Rose, I. K. 1979. *Biology of Fungi*. McGraw – Hill Inc., New York.
- Tancho, A. 2004. *Natural Farming*. 3rd ed. National Science and Technology Development Agency. 146 p. [in Thai]
- Wang, Y. 2006. Different functions of probiotics and its application in animal production. *J. Feed Nutr.* 3 : 2006.
- Webster, J. 1970. *Introduction of Fungi*. Cambridge University Press, Oxford. 424 p.
- Wikipedia A. Rhizopus. [Online] Available from <http://en.wikipedia.org/wiki/Rhizopus> [2013 October 25].
- Wikipedia B. Rhizopus. [Online] Available from <http://th.wikipedia.org/wiki/Rhizopus> [2013 October 25]. [In Thai]
- Zhou, Q., Li, R., Jun, X. and Bo, L. 2009. Role and functions of beneficial microorganisms in sustainable aquaculture. *Bioresource Technology* 100: 3780–3786.

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย



ภาพผนวกที่ 1 จุลินทรีย์ที่งอกขึ้นที่เจริญเติบโตบนผิวหน้าข้าวเหนียวนี้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี