บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผล

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมที่เติมลงในอาหาร และนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตามวิธีการของ Nimrat et al. (2008) พบว่าปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม เมื่อเก็บรักษาอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับช่วงเริ่มต้นการเก็บรักษาแสดงให้เห็นว่า ซึ่งผลการศึกษามีความคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Rengpipat et al. (2003) ที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกคือ *Bacillus* สายพันธุ์ BP11 (*Bacillus* BP 11) ลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ จากนั้นทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง และนำมาเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือนพบว่า *Bacillus* สายพันธุ์ BP11 ในอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีปริมาณไม่เปลี่ยนแปลงจากวันเริ่มต้นการเก็บรักษา

ต่อมาจึงทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas ลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas ของกุ้งขาวแวนนาไม ในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติก (T1, T2 และ T3) มีค่าอยู่ในช่วง $1.91 \pm 0.23 \times 10^{6}$ – $1.07 \pm 0.08 \times 10^{7}$ CFU/g และในชุดควบคุมมีค่าอยู่ในช่วง $1.23 \pm 0.31 \times 10^{6}$ – $1.06 \pm 0.08 \times 10^{7}$ CFU/g ส่วนปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติก มีค่าอยู่ในช่วง $1.02 \pm 0.09 \times 10^{8}$ – $3.08 \pm 0.44 \times 10^{8}$ CFU/g และในชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ $1.27 \pm 0.58 \times 10^{8}$ – $2.81 \pm 0.61 \times 10^{8}$ CFU/g

ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Rengpipat et al. (1998) ที่พบว่ากุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 30 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดเป็นเวลา 100 วัน ในประเทศไทย มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งในทางเดินอาหารประมาณ 10^{7} - 10^{8} CFU/g ใกล้เคียงกับกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 60 ที่เพาะเลี้ยงในประเทศไทย เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกและไม่ได้รับโพรไบโอติกมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในลำไส้เท่ากับ 3.3×10^{6} – 8.2×10^{7} และ 1.1×10^{7} – 1.7×10^{8} CFU/g ตามลำดับ (Rengpipat et al., 2000) และการศึกษาของ Ziaei-Nejad et al. (2006) ที่พบว่ากุ้งขาวอินเดีย (*Fenneropenaeus indicus*) ระยะโพสต์ลาวา 86 - 120 ที่เพาะเลี้ยงในบ่อดิน ในประเทศอิหร่าน โดยใช้ *Bacillus* เป็นโพรไบโอติกมีปริมาณแบคทีเรีย

ทั้งหมดในทางเดินอาหารเท่ากับ $3.8 \pm 0.0 \times 10^6 - 4.2 \pm 0.0 \times 10^7$ CFU/g ซึ่งจากการศึกษาพบว่าโดยปกติแล้วแบคทีเรียทั้งหมดในทางเดินอาหารของกุ้งที่ได้รับโพรไบโอติกจะมีปริมาณระหว่าง 3.9×10^6- 7.5×10^9 CFU/g (Castex et al., 2008; Li et al., 2007)

ส่วนปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดที่เติมโพรไบโอติก และชุดควบคุม มีค่าอยู่ในช่วง $1.62 \pm 0.18 - 5.12 \pm 0.13 \times 10^4$ CFU/ml และ $1.71 \pm 0.11 - 5.05 \pm 0.25 \times 10^4$ CFU/ml ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Devaraja, Yusoff, and Shariff (2002) ที่ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 15 ในบ่อดินในรัฐสลังงอร์ (Selangor) ประเทศมาเลเซีย เป็นระยะเวลา 120 วัน ด้วยผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกทางการค้าพบว่ามีปริมาณแบคทีเรียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งเท่ากับ 1.78 ± 0.54 - $6.82 \pm 2.48 \times 10^4$ CFU/ml และสอดคล้องกับการศึกษาของ Rengpipat et al. (2000) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 60 ที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วันพบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำทั้งบ่อที่เติมโพรไบโอติกและไม่ได้รับโพรไบโอติกมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำเท่ากับ $4.1 \times 10^4 - 1.8 \times 10^5$ และ $6.4 \times 10^4 - 1.0 \times 10^5$ CFU/ml ตามลำดับ รวมทั้งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shariff, Yusoff, Devaraja, and Srinivasa Rao (2001) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 15 ในบ่อดินที่รัฐสลังงอร์ เป็นระยะเวลา 75 วัน ด้วยโพรไบโอติกทางการค้าพบว่าแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อที่เติมโพรไบโอติกและบ่อควบคุมมีค่าเท่ากับ $1.24 \times 0.40 \times 10^4$ และ $1.49 \pm 0.80 \times 10^4$ CFU/ml ตามลำดับ จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในการศึกษาครั้งนี้ที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 (ชุดการทดลอง T1, T2 และ T3) เป็นระยะเวลา 120 วัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ดีใน Hepatopancreas ลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

ต่อมาทำการศึกษาถึงผลของประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าปริมาณ *Bacillus* ซึ่งเป็นตัวแทนแบคทีเรียโพรไบโอติกพบว่าใน Hepatopancreas ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T1 และ T2 มีค่าเท่ากับ $1.02 \pm 0.15 \times 10^7$ CFU/g และในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T1 และ T2 มีปริมาณ *Bacillus* เท่ากับ $2.16 \pm 0.36 \times 10^8$ CFU/g ในวันสุดท้ายของการศึกษา (120 วัน)

และจากการศึกษาของ Boonthai et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 60 ในบ่อดินจำลอง ในประเทศไทย เป็นระยะเวลา 120 วัน ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g ซึ่งเป็น *Bacillus* โพรไบโอติกผสมกลุ่มเดียวกับชุดการทดลอง T1 ของการศึกษาครั้งนี้ พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพร-ไบโอติกมีปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas เท่ากับ 3.80×10^6 CFU/g และในลำไส้มีปริมาณเท่ากับ 3.55×10^6 CFU/g ในวันที่ 120 ของการทดลองเช่นกัน อีกทั้งการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึง โพสต์ลาวา 21 ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งซึ่งเป็น *Bacillus* โพรไบโอติกผสมชุดเดียวกับชุดการทดลอง T1 ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้โดยทำการเติม *Bacillus* โพรไบโอติกลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม วันละ 1 ครั้ง ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml พบว่า *Bacillus* ในทางเดินอาหารกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกมีค่าเท่ากับ $7.30 \pm 0.80 \times 10^6$ CFU/g ในวันสุดท้ายของการศึกษา แสดงให้เห็นว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมกลุ่มนี้สามารถเจริญได้ใน Hepatopancreas ลำไส้ และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 60 และกุ้งขาวแวนนาไมทั้งระยะโพสต์ลาวา 60 และ ระยะซูเอีย 3 ถึง ระยะโพสต์ลาวา 21 ดังนั้น แสดงให้เห็นว่า *Bacillus* โพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้สามารถรอดชีวิตและเพิ่มจำนวนในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมได้ดีกว่ากุ้งกุลาดำที่มีขนาดและอายุใกล้เคียงกันนอกจากนั้นจากการศึกษาของ Rengpipat et al. (2000) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 60 ในประเทศไทย ด้วยอาหารที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติก สายพันธุ์ S11ในรูปแบบ lyophilized ที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^{10} CFU/g เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีปริมาณ *Bacillus* ในทางเดินอาหารเท่ากับ 10^6 CFU/g

ส่วนปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T1 ซึ่งเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม และ T2 ซึ่งเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมในวันสุดท้ายของการศึกษาพบว่ามีปริมาณเท่ากับ $4.32 \pm 1.01 \times 10^4$ และ $4.83 \pm 1.08 \times 10^4$ CFU/ml ตามลำดับ รวมทั้งพบว่าเมื่อ Nimrat et al. (2011) นำ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ซึ่งเป็นโพรไบโอติกกลุ่มเดียวกับชุด T1 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มาเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึง โพสต์ลาวา 21 โดยเติม *Bacillus* โพรไบโอติกลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม วันละ 1 ครั้ง ให้ได้ความเข้มข้น 10^9 CFU/ml พบว่า *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของชุดการทดลองที่ได้รับโพรไบโอติกมีค่าเท่ากับ $3.11 \pm 0.57 \times 10^7$ CFU/ml และ $2.93 \pm 0.70 \times 10^7$ CFU/ml ตามลำดับ ในวันสุดท้ายของการศึกษา

ดังนั้นจากการศึกษาที่ผ่านมาสามารถสรุปได้เพิ่มเติมว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้สามารถรอดชีวิตและเจริญในน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมขนาดเล็ก (ซูเอีย 3 ถึงโพสต์ลาวา 21) ในกุ้งขาวขนาดโพสต์ลาวา 60 ได้เช่นกันโดยถึงแม้จะมีปริมาณที่น้อยกว่าปริมาณที่รอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ziaei-Nejad et al. (2006) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวอินเดียระยะโพสต์ลาวา 86 – 120 ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมทางการค้าในประเทศอิหร่าน พบว่าในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวอินเดียของชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีปริมาณ *Bacillus* เท่ากับ $5.8 \pm 0.0 \times 10^4 - 9.8 \pm 0.0 \times 10^4$ CFU/ml และจากการศึกษาของ Rengpipat et al. (1998) พบว่าปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 30 ด้วย *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในรูปแบบ Lyophilized เซลล์ เป็นระยะเวลา 100 วัน จะมีค่าตั้งแต่ $10^1 - 10^{10}$ CFU/ml

เมื่อคำนวณอัตราส่วนของปริมาณ *Bacillus* ต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมพบว่าในชุดการทดลอง T1 ซึ่งเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม และ T2 ซึ่งเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม มีอัตราส่วนของ *Bacillus* เพิ่มขึ้นมากกว่า 80 % ส่วนในชุดการทดลอง T3 ซึ่งเติมยีสต์โพรไบโอติกผสม และชุดควบคุมมีอัตราส่วนของ *Bacillus* ต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในลำไส้ และ Hepatopancreas ของกุ้งขาวแวนนาไม และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมค่อนข้างคงที่

ซึ่งการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึงโพสต์ลาวา 21 ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม ซึ่งเหมือนกับชุดการทดลอง T1 และ T2 ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ โดยเติม *Bacillus* โพรไบโอติกลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมวันละ 1 ครั้ง ให้ได้ความเข้มข้น 10^9 CFU/ml พบว่า *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น 51.72 ± 8.79 % และ 50.03 ± 9.38 % ตามลำดับ และการศึกษาของ Nimrat et al. (2012) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึง โพสต์ลาวา 22 ในประเทศไทยด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เหมือนกับการศึกษาในชุด T1 ในการศึกษาครั้งนี้เช่นกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปริมาณ *Bacillus* ในกุ้งขาวแวนนาไมและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น 50.80 ± 1.20 % อีกทั้งการศึกษา Boonthai et al. (2011) ที่ใช้ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เช่นเดียวกับของ Nimrat et al. (2011) และเช่นเดียวกับชุดการทดลอง T1 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 60 ในบ่อดินจำลอง ในประเทศไทย เป็นระยะเวลา 120 วันพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีปริมาณ

Bacillus ใน Hepatopancreas และลำไส้ เพิ่มขึ้นสูงที่สุดในวันสุดท้ายของการทดลองโดยมีค่าเท่ากับ 103.69 % และ 115.65 % ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Rengpipat et al. (1998) ที่พบว่าทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 30 ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วยโพรไบโอติก *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในรูปแบบ lyophilized เซลล์ เป็นระยะเวลา 100 วัน ในประเทศไทย มีปริมาณ *Bacillus* สายพันธุ์ S 11 เพิ่มขึ้นจากวันเริ่มต้นการทดลองมากกว่า 50 %

จากการที่พบ *Bacillus* โพรไบโอติกในการศึกษาครั้งนี้มีความในการสามารถรอดชีวิตและเพิ่มจำนวนในระบบทางเดินอาหาร (Hepatopancreas และลำไส้) ของกุ้งขาวแวนนาไมเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม มีสารอาหารและบริเวณยึดเกาะ และ *Bacillus* มีความสามารถในการดำรงชีวิต ยึดเกาะและครอบครองพื้นที่ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมแทนที่แบคทีเรียประจำถิ่นรวมทั้งวิบริโอในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม ส่วนการที่พบ*Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเพิ่มมากขึ้นนั้นเนื่องมาจากในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีสารอาหาร และแร่ธาตุจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง รวมทั้งอาจมี *Bacillus* โพรไบโอติกบางส่วนหลุดออกมาจากที่เติมลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม จึงส่งผลให้พบ *Bacillus* ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในระบบทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมได้ และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเพิ่มขึ้นได้ (Fuller, 1992; Gatcsoupe, 1999; Moriarty, 1998; Ziaei-Nejad et al., 2006)

ต่อมาจึงทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบ-โอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณยีสต์ใน Hepatopnacreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าจากการศึกษาปริมาณยีสต์ในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในครั้งนี้พบว่า ชุดการทดลอง T1 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง) และชุดควบคุม (ไม่มีการเติม *Bacillus* โพรไบ-โอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง) ตรวจไม่พบยีสต์โพรไบโอติกและยีสต์ชนิดอื่นในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 2 ชุดการทดลอง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในการศึกษาครั้งนี้ไม่มียีสต์เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ในขณะที่การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมด้วยชุดการทดลอง T2 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง) และ T3 (เติมยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง) จะพบปริมาณยีสต์ทั้งหมดในทางเดินอาหารกุ้งขาวแวนนาไมใน Hepatopancreas ของกุ้งขาวแวนนาไมในวันสุดท้ายของการทดลอง (120 วัน) เท่ากับ $6.54 \pm 0.80 \times 10^4$ CFU/g และ $7.01 \pm 0.98 \times 10^4$ CFU/g ตามลำดับ และในลำไส้มี

ค่าเท่ากับ $4.85 \pm 1.01 \times 10^5$ CFU/g และ $5.04 \pm 0.90 \times 10^5$ CFU/g ตามลำดับ ส่วนในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม มีค่าเท่ากับ $3.19 \pm 0.48 \times 10^4$ CFU/ml และ $3.50 \pm 0.75 \times 10^4$ CFU/ml ตามลำดับ

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่ายีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถรอดชีวิต และเพิ่มจำนวนได้ในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ในชุดการทดลองที่มีการเติมยีสต์โพรไบโอติกในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (ชุดการทดลอง T2 และ T3) นอกจากนี้ยังพบว่าการรอดชีวิตของยีสต์โพรไบโอติกเมื่อเปรียบเทียบกับ *Bacillus* โพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษานี้พบว่า ยีสต์โพรไบโอติกสามารถรอดชีวิตในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 น้อยกว่า *Bacillus* โพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังเห็นได้จากการเติมยีสต์โพรไบโอติกผสมลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมความเข้มข้น 10^8 CFU/g เมื่อเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 120 วัน ปริมาณยีสต์ในทางเดินอาหารกุ้งขาวแวนนาไมใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมเหลือเพียง $10^4 - 10^5$ CFU/g

จากผลการศึกษาข้างต้นมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึงโพสต์ลาวา 21 ในประเทศไทย ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเช่นเดียวกับที่ใช้ในชุดการทดลอง T2 ในการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพร-ไบโอติกผสมลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม วันละ 1 ครั้ง ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml พบว่าปริมาณยีสต์ในกุ้งขาวแวนนาไมและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงในวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าเท่ากับ $7.51 \pm 0.83 \times 10^4$ CFU/larva และ $6.91 \pm 0.55 \times 10^4$ CFU/ml ตามลำดับ และตรวจไม่พบยีสต์ในชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมยีสต์โพรไบโอติกเป็นส่วนประกอบและชุดควบคุมทั้งในกุ้งขาวแวนนาไมและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง

จากผลการศึกษาที่พบว่ายีสต์โพรไบโอติกสามารถรอดชีวิตในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมมีสาเหตุมาจาก ยีสต์โพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีความสามารถแข่งขันในการยึดเกาะ และครอบครองผนังทางเดินอาหารได้ดีกว่าแบคทีเรียประจำถิ่นในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมได้ จึงส่งผลให้พบยีสต์ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมได้ ส่วนการพบยีสต์โพรไบโอติกในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมนั้นเนื่องมาจากในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวน-นาไมมีสารอาหาร และแร่ธาตุจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง รวมทั้งอาจมียีสต์โพรไบโอติกบางส่วนหลุดออกมาจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาว

แวนนาไม จึงส่งผลให้พบยีสต์โพรไบโอติกในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเพิ่มขึ้นได้เช่นเดียวกับการพบ *Bacillus* ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง

จากการศึกษาปริมาณยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 ใน Hepatopancreas ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม) และชุดการทดลอง T3 (เติมยีสต์โพรไบโอติกผสม) ในวันสิ้นสุดการทดลอง (120 วัน) พบว่ามีค่าเท่ากับ $5.30 \pm 0.89 \times 10^4$ และ $5.72 \pm 0.77 \times 10^4$ CFU/g และปริมาณยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม ในชุดการทดลอง T2 และ ชุดการทดลอง T3 มีค่าเท่ากับ $3.95 \pm 0.99 \times 10^5$ และ $3.95 \pm 0.73 \times 10^5$ CFU/g ตามลำดับ ส่วนยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 และ T3 มีค่าเท่ากับ $2.53 \pm 0.25 \times 10^4$ และ $2.80 \pm 0.81 \times 10^4$ CFU/ml ส่วนปริมาณยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 02 ใน Hepato-pancreas ของกุ้งขาวแวนนาไมชุดการทดลอง T2 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม) และชุดการทดลอง T3 (เติมยีสต์โพรไบโอติกผสม) ในวันสิ้นสุดการทดลอง (120 วัน) พบว่ามีค่าเท่ากับ $1.24 \pm 0.59 \times 10^4$ CFU/g และ $1.29 \pm 0.45 \times 10^4$ CFU/g ตามลำดับ และปริมาณยีสต์ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 และชุดการทดลอง T3 มีค่าเท่ากับ $9.00 \pm 6.22 \times 10^4$ CFU/g และ $1.09 \pm 0.49 \times 10^5$ CFU/g ตามลำดับ ส่วนปริมาณยีสต์โพร-ไบโอติกสายพันธุ์ BUU 02 ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 และชุดการทดลอง T3 มีค่าเท่ากับ $6.55 \pm 3.32 \times 10^3$ CFU/ml และ $7.00 \pm 3.87 \times 10^3$ CFU/ml ตามลำดับ

แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ตรวจไม่พบยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 และสายพันธุ์ BUU 02 ใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T1 และชุดควบคุม ตลอดระยะเวลาการทดลอง สอดคล้องกับการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึงโพสต์ลาวา 21 ในประเทศไทย ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม (*Debaromyces hanseii* และ *Rhodotorula* sp.) ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเช่นเดียวกับที่ใช้ในชุดการทดลอง T2 ในการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบ-โอติกผสมลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม วันละ 1 ครั้ง ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml พบว่าในวันสิ้นสุดการทดลองปริมาณยีสต์ *D. hansenii* ในกุ้งขาวแวนนาไมและในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงมีค่าเท่ากับ $7.50 \pm 0.83 \times 10^4$ CFU/larva และ $4.74 \pm 0.55 \times 10^4$ CFU/ml ตามลำดับ ส่วนปริมาณยีสต์ *Rhodotorula* sp. ในกุ้งขาวแวนนาไมและในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงมีค่าเท่ากับ $2.17 \pm 0.49 \times 10^4$ CFU/larva และ $1.57 \pm 0.57 \times 10^1$ CFU/ml ตามลำดับ และตรวจไม่พบยีสต์โพรไบโอติก *D. hansenii* และ *Rhodotoruda* sp. ในกุ้งขาวแวนนาไมและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง

ที่ไม่มียีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์เป็นองค์ประกอบในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมและชุดควบคุม ซึ่ง *D. hansenii* และ *Rhodotoruda* sp. ในรายงานฉบับดังกล่าวเป็นยีสต์ชนิดเดียวกับยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 และ BUU 02 ที่ใช้เติมลงอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 และชุดการทดลอง T3 ในการศึกษาครั้งนี้

จากการทดลองที่ผ่านมาสามารถสรุปได้ว่ายีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 และยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 02 สามารถรอดชีวิต และเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ขนาดคือ กุ้งขาวแวนนาไมขนาดเล็ก (ซูเอีย 3 ถึง โพสต์ลาวา 21) ในกุ้งขาวขนาดโพสต์ลาวา 60 ได้เช่นเดียวกัน อีกทั้งยังสามารถแข่งขันในการจับกับบริเวณยึดเกาะ และแย่งสารอาหารกับแบคทีเรียประจำถิ่น รวมทั้งยังสร้างสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียประจำถิ่น เช่น Killer toxin ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมได้ (Zhenming et al., 2006) เมื่อคำนวณอัตราส่วนของยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 และ BUU 02 ต่อปริมาณยีสต์ทั้งหมดใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าในวันสิ้นสุดการทดลอง อัตราส่วนของยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 ใน Hepatopancreas ในชุดการทดลอง T2 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม) และชุดการทดลอง T3 (เติมยีสต์โพรไบโอติกผสม) มีค่าเพิ่มขึ้นเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 80.91 ± 8.47 % และ 81.91 ± 5.37 % ตามลำดับ และอัตราส่วนของยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 81.57 ± 10.76 % และ 78.55 ± 7.25 % ตามลำดับ และอัตราส่วนของยีสต์สายพันธุ์ BUU 01 น้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 80.13 ± 7.22 % และ 79.51 ± 10.70 % ตามลำดับ

แต่ในทางตรงกันข้าม อัตราส่วนยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 02 ต่อปริมาณยีสต์ทั้งหมดใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมรวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 และ T3 มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการทดลอง โดยอัตราส่วนของยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 02 ในวันสิ้นสุดการทดลอง ใน Hepatopancreas ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีค่าเท่ากับ 19.09 ± 8.47 % และ 18.17 ± 5.37 % ตามลำดับ และในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 18.42 ± 10.76 % และ 21.44 ± 7.24 % ตามลำดับ และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 19.87 ± 7.22 % และ 20.49 ± 10.70 % ตามลำดับ

ซึ่งการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึง โพสต์ลาวา 21 ในประเทศไทย ด้วยยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเช่นเดียวกับที่ใช้ในชุดการทดลอง T2 ในการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม

ร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม วันละ 1 ครั้ง ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml พบว่า อัตราส่วนของยีสต์ *D. hansenii* ซึ่งเป็นยีสต์โพรไบโอติกชนิดเดียวกับยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 ที่ใช้ชุดการทดลอง T2 และชุดการทดลอง T3 ในการศึกษาครั้งนี้ ในกุ้งขาวแวนนาไม และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการทดลอง และในวันสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 99.98 ± 0.01 % และ 68.67 ± 6.22 % ตามลำดับ แต่อัตราส่วนของยีสต์ *Rhodotorula* sp. ซึ่งเป็นยีสต์โพรไบโอติกชนิดเดียวกับยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 02 ที่ใช้ชุดการทดลอง T2 และชุดการทดลอง T3 ในการศึกษาครั้งนี้ในกุ้งขาวแวนนาไม และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลองดังกล่าวมีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการทดลอง และในวันสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.021 ± 0.008 % และ 31.30 ± 6.22 % ตามลำดับ สำหรับอัตราส่วนของยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 มีค่าเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการทดลอง แต่ในขณะที่อัตราส่วนของยีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 02 มีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการทดลอง แสดงให้เห็นว่ายีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 01 มีประสิทธิภาพในการแข่งขัน และยึดเกาะในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งรอดชีวิตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงได้ดีกว่ายีสต์โพรไบโอติกสายพันธุ์ BUU 02

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณยีสต์โพรไบโอติกในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม) กับชุดการทดลอง T3 (เติมยีสต์โพรไบโอติกผสม) พบว่าปริมาณยีสต์โพรไบโอติกในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ *Bacillus* ในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม) กับชุดการทดลอง T1 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม) พบว่าปริมาณ *Bacillus*ในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกผสมทั้ง 2 กลุ่ม (*Bacillus* โพรไบโอติก และยีสต์โพรไบโอติก) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ร่วมกันได้โดยไม่เป็นปฏิปักษ์หรือไม่ต่อต้านซึ่งกันและกัน

แต่อย่างไรก็ตามนอกจากการอยู่ร่วมกันได้ของยีสต์และ *Bacillus* (ดังผลในการศึกษาครั้งนี้) ยังมีรายงานที่ผ่านมาซึ่งได้ผลการทดลองแตกต่างกับการศึกษาในครั้งนี้ ยกตัวอย่างเช่นการทดลองของ Kerr (1999) ที่พบว่า *Bacillus* หลายชนิดมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของยีสต์เช่น *Bacillus cereus*, *B. licheniformis*, *B. polymyxa*, *B. mycoides* และ *B. subtilis* เป็นต้น นอกจากนั้น

Reynald, Giust, and Alippi (2004) ได้รายงาน *Bacillus* สายพันธุ์อื่นได้แก่ *B. subtilis*, *B. circulans* และ *B. megaterium* มีคุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์ต่อยีสต์ ซึ่งการยับยั้งการเจริญของยีสต์นั้นเป็นผลมาจากการที่ *Bacillus* ผลิตสารปฏิชีวนะ ซิเดอโรฟอร์ เอนไซม์ และสารอื่น ๆ ที่เป็นพิษต่อเซลล์ยีสต์ เช่น Azoxybacilin, Bacereutin, Cispentacin, Iturins, Sutilins, Mycosutilins, Megacins และ Circulins เป็นต้น (Kerr, 1999; Reynald, De Giusti, & Alippi, 2004)

นอกจากนั้นยังมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่ายีสต์มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียได้เช่นเดียวกัน โดยจากการศึกษาของ Meneghin, Reis, and Ceccato-antonini (2010) ที่พบว่ายีสต์มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* และ *B. subtilis* อีกทั้งจากการศึกษาของ Mendoza, Nadra, and Farias (2010) ยังพบว่ายีสต์สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้แก่ *Oenococcus oeni* และ *L. hilgardii* ซึ่งการที่ยีสต์สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เป็นผลมาจากยีสต์สร้างสาร Killer toxin ออกมายับยั้งการสร้างผนังเซลล์และการสังเคราะห์ DNA ของแบคทีเรียได้ (Buzzini, Corazzi Turchetti, Buratta, & Martini, 2004; Izgu & Altinbay, 2004) และจากการศึกษาปริมาณที่ผ่านมาพบว่า แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด *Bacillus* และยีสต์ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีปริมาณน้อยกว่าใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมนั้นเนื่องจากในโครงสร้างทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมมีบริเวณที่ยึดเกาะ (Receptor) และมีธาตุอาหาร สำหรับจุลินทรีย์มากกว่าในน้ำ ดังนั้นแบคทีเรียและยีสต์ที่สามารถยึดเกาะบริเวณดังกล่าวได้และจะสามารถดำรงชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมได้ (Rengpipat et al., 2000) ส่วนในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมนั้นมีวัตถุที่แบคทีเรียสามารถยึดเกาะ และธาตุอาหารน้อยกว่าในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม ด้วยเหตุนี้จึงทำให้พบแบคทีเรียในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมมากกว่าอยู่ในสภาพลอยตัวอิสระในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (Peulen, Deloyer, Grandfils, Loret &, Dandrifosse, 2000)

ต่อมาทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 พบว่าจากผลการศึกษาปริมาณ *Bacillus* และยีสต์ที่รอดชีวิตในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยเปรียบเทียบปริมาณ *Bacillus* ในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของชุดการทดลอง T1 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์) พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกับชุดการทดลอง T2 (เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม 2 สายพันธุ์) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณยีสต์ในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของชุดการทดลอง T2 พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกับชุดการทดลอง T3 (เติมยีสต์โพรไบโอติก

ผสม 2 สายพันธุ์) เช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่มที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ร่วมกันได้โดยไม่ต่อต้านกันและกัน

แต่เมื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่มมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมโดยกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารที่เติมโพรไบโอติกผสมทั้ง 3 ชุดการทดลอง (ชุดการทดลอง T1, ชุดการทดลอง T2 และชุดการทดลอง T3 ซึ่งเติมยีสต์โพรไบโอติกผสม 2 สายพันธุ์) เป็นระยะเวลา 120 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง น้ำหนักที่เฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ สูงกว่าชุดควบคุม และมีอัตราแลกเนื้อต่ำกว่าชุดควบคุม โดยกุ้งขาวแวนนาไมที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติก (T1) เป็นระยะเวลา 120 วัน มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด รองลงมาคือกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T3 และ T2 ตามลำดับ

การที่กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติก 2 กลุ่ม (*Bacillus* โพรไบโอติกติกผสม และยีสต์โพรไบโอติกผสม) มีน้ำหนักมากกว่าชุดควบคุม เนื่องมาจาก *Bacillus* โพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถยึดเกาะในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม และหลั่งเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ได้หลายชนิด เช่น เอนไซม์อะไมเลสที่สามารถย่อยคาร์โบไฮเดรต เอนไซม์ไลเปสที่สามารถย่อยสลายไขมัน และเอนไซม์โปรติเอสที่สามารถย่อยสลายโปรตีน ซึ่งเอนไซม์ดังที่กล่าวมาช่วยในการย่อยสลายสารอาหารที่มีโมเลกุลใหญ่ให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง ส่งผลให้การดูดซึมสารอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมดีขึ้น รวมทั้ง *Bacillus* โพรไบโอติก (*Bacillus* และยีสต์) สามารถสังเคราะห์วิตามินบี 12 กรดไขมัน และกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต ส่งผลให้กุ้งขาวแวนนาไมมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Farzanfar, 2006; Irianto & Austin, 2002; Lara-Flores, Olvera-Novoa, Guzman-Mendez, & Lopez-Madrid, 2003) อีกทั้งยีสต์โพรไบโอติกผสมที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถเข้าไปยึดเกาะในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมได้ (Boonthai et al., 2011, Nimrat et al., 2011) และสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compound) ได้หลายชนิด เช่น กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก วิตามิน กรดไขมัน ฟอสโฟลิปิด และเซลล์ยีสต์ยังมีโปรตีนในปริมาณสูง (Tovar et al., 2002; Zhenming et al., 2006) อีกทั้งสามารถหลั่งโพลีเอมีน (Polyamine) ซึ่งมีผลช่วยเซลล์เยื่อบุในทางเดินอาหารทำงานได้อย่างสมบูรณ์จึงทำให้ทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมดูดซึมอาหารได้ดีขึ้น จึงทำให้กุ้งขาวมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นได้เช่นเดียวกัน (Chi, Liu, Ji, & Meng, 2003; Chi et al., 2006; Chong, Hashim, Yang, & Ali, 2002; Tovar et al., 2002)

ซึ่งการศึกษาของ Boonthai et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 60 ในบ่อดินจำลอง ในประเทศไทย เป็นระยะเวลา 120 วัน ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g ซึ่งเป็น *Bacillus* โพรไบโอติกผสมกลุ่มเดียวกับชุดการทดลอง T1 ของการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองกุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีที่เฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และมีประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Feed efficiency) สูงกว่าชุดควบคุม และการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึงโพสต์ลาวา 21 ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งซึ่งเป็น *Bacillus* โพรไบโอติกผสมชุดเดียวกับชุดการทดลอง T1 และ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเช่นเดียวกับชุดการทดลอง T2 ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้โดยทำการเติม *Bacillus* โพรไบโอติกลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม วันละ 1 ครั้ง ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกมีน้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวัน สูงกว่าชุดควบคุม รวมทั้งการศึกษาของ Nimrat et al. (2012) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึง โพสต์ลาวา 22 ในประเทศไทย ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เหมือนกับการศึกษาในชุด T1 ในการศึกษาครั้งนี้เช่นกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกมีน้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวัน สูงกว่าชุดควบคุม

จากรายงานหลายฉบับที่ผ่านมาข้างต้นและจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งได้ 2 ชนิดได้แก่ กุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 60 กุ้งขาวแวนนาไมวัยอ่อน (ระยะซูเอีย 3 ถึงโพสต์ลาวา 22) และกุ้งขาวแวนนาไมวัยรุ่น (ระยะโพสต์ลาวา 60) ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rengpipat et al. (1998) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 30 ในประเทศไทย ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกสายพันธุ์ S 11 ในรูปแบบ Lyophilized เซลล์ เป็นระยะเวลา 100 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่ได้รับโพรไบโอติกมีน้ำหนักสูงกว่าชุดควบคุม และสอดคล้องกับการศึกษาของ Kongkrajang and Laohavisuit (2011) ที่ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 15 ด้วยผลิตภัณฑ์ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมทางการค้าในรูปแบบผง เป็นระยะเวลา 28 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกมีน้ำหนักมากกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุม และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gomez-Gill, Geovanny, and Ma (2008) ที่ทำการศึกษาผลของโพรไบโอติกสกุล *Bacillus* ต่อ

กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และอะไมเลส และการเจริญเติบโตของกุ้งขาว พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมมีกิจกรรมการย่อยสายสารของเอนไซม์โปรติเอสและอะไมเลส และการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลองที่ได้รับโพรไบโอติกมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม

แต่อย่างไรตามการทดลองในครั้งนี้พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 (ซึ่งเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม) มีการเจริญเติบโตน้อยกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T1 (ซึ่งเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในชุดการทดลอง T2 ซึ่งเติม *Bacillus* โพรไบโอติก 5 สายพันธุ์ ลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ความเข้มข้น 10^8 CFU/g และเติมยีสต์โพรไบโอติก 2 สายพันธุ์ ลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ความเข้มข้น 10^8 CFU/g เช่นเดียวกัน จึงส่งผลให้อาหารเพาะเลี้ยงกุ้งในชุดการทดลอง T2 มีปริมาณและชนิดของโพรไบโอติกมากกว่าชุดการทดลอง T1 และชุดการทดลอง T3 ซึ่งตามการที่โพรไบโอติกรอดชีวิตและอาศัยอยู่ในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมในปริมาณที่มากเกินไปอาจส่งผลให้จุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 2 อาจใช้สารอาหารจากทางเดินกุ้งขาวแวนนาไมสำหรับการเจริญ ส่งผลให้ลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมดูดซึมสารอาหารได้น้อยลง (Lara-Flores, 2011) อีกทั้งจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่มอาจสร้างเอนไซม์ และสารปฏิชีวนะออกมาในปริมาณมาก ซึ่งอาจส่งผลให้ระบบการดูดซึมอาหารของลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมผิดปกติอีกด้วย จากเหตุผลที่กล่าวอาจทำให้กุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T2 มีอัตราการเจริญเติบโตน้อยกว่าชุดการทดลอง T1

ส่วนกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T3 มีการเจริญเติบโตน้อยกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง T1 อาจเกิดขึ้นจากยีสต์โพรไบโอติกที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีกรดนิวคลิอิคในปริมาณสูงส่งผลให้การดูดซึมสารอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมลดลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่ผ่านมาของ Rumsey et al. (1992) ที่พบว่าการเติมอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีส่วนประกอบของกรดนิวคลิอิคในปริมาณสูงส่งผลให้ทางเดินอาหารของสัตว์น้ำมีการดูดซึมสารอาหารลดลง รวมทั้งการศึกษาของ Tovar-Ramirez et. al. (2004) ที่พบว่าการเติมยีสต์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงปลากะพงยุโรปวัยอ่อนปริมาณมากจะทำให้การเจริญเติบโตของปลากะพงยุโรปวัยอ่อนลดลงเนื่องจากยีสต์จะสร้างสารในกลุ่มโพลิเอมีนที่มีผลให้การดูดซึมสารอาหารของปลากะพงยุโรปวัยอ่อนลดลง

ต่อมาจึงทำการศึกษาถึง ประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อคุณภาพน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 เป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าปริมาณแอมโมเนีย ณ เวลา 05.00 น. และ 14.00 น. ในชุดที่เติมโพรไบโอติกและชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 0.14 ± 0.01 - 0.96 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.30 ± 0.06 – 1.23 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปริมาณแอมโมเนียทั้ง

2 ช่วงเวลา เพิ่มสูงที่สุดภายในระยะเวลา 15 วันของการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (120 วัน) พบว่าปริมาณแอมโมเนียในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการทดลอง

โดยการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระยะซูเอีย 3 ถึงระยะโพสต์ลาวา 21 ในประเทศไทย ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเช่นเดียวกับที่ใช้ในชุดการทดลอง T2 ในการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม วันละ 1 ครั้ง ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml พบว่าปริมาณแอมโมเนียในน้ำเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม เช่นเดียวกับการศึกษาของ Nimrat et al. (2012) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึง โพสต์ลาวา 22 ในประเทศไทย ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เหมือนกับการศึกษาในชุด T1 ในการศึกษาครั้งนี้เช่นกันพบว่าปริมาณแอมโมเนียในน้ำเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเช่นเดียวกัน รวมทั้งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jueliang, Limsuwan, Chuchird, Purivirojkol, and Chanratchakool (2011) ที่ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมน้ำหนักประมาณ 7-8 กรัม ด้วยโพรไบโอติกผสมทางการค้าที่ประกอบไปด้วย *Bacillus* 5 สายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการในประเทศไทยเป็นระยะเวลา 60 วัน ผลการศึกษาพบว่าปริมาณแอมโมเนียในชุดควบคุม (มีค่าเท่ากับ 0.833 ± 0.139 - 2.772 ± 0.135 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีค่าสูงกว่าชุดที่ให้อาหารผสมโพรไบโอติก (0.493 ± 2.286 – 2.286 ± 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร)

จากรายงานหลายฉบับที่ผ่านมาข้างต้นและจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีความสามารถในการควบคุมปริมาณแอมโมเนียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้งระยะวัยอ่อน (ซูเอีย 2 ถึงโพสต์ลาวา 22) และระยะวัยรุ่น (โพสต์ลาวา 60) ได้ นอกจากนี้ในการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าปริมาณแอมโมเนียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 4 ชุดการทดลองมีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐาน อาจเนื่องมาจากเกิดการสะสมและกระบวนการย่อยสลายของเศษอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เหลือจากการกินของกุ้งขาวแวนนาไมซึ่งมีส่วนประกอบของโปรตีนสูง รวมทั้งอาจเกิดจากกุ้งขาวแวนนาไมที่เพาะเลี้ยงในครั้งนี้เกิดการตายและถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์และเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียในที่สุด โดยทั่วไปปริมาณแอมโมเนียในน้ำที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลในประเทศไทยที่กำหนดโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติควรมีค่าไม่เกิน 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2009) แต่กุ้งขาวแวนนาไมในการศึกษาครั้งนี้สามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ

อาจเนื่องมาจากกุ้งขาวแวนนาไมสามารถปรับตัวให้เข้ากับปริมาณแอมโมเนียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม อีกทั้งปริมาณแอมโมเนียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมอาจมีความเข้มข้นไม่เพียงพอต่อการเกิดความเป็นพิษในกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Frias-Espericuete, Harfush-Melendez, and Paez-Osuna (2000) ที่พบว่าปริมาณแอมโมเนียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังไม่มีความเป็นพิษต่อกุ้งขาวแวนนาไม และรายงานของ Chen and Lin (1992) รายงานว่าแอมโมเนียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ถือว่าเป็นระดับความเข้มข้นสูงที่สุดที่ยังไม่มีความเป็นพิษต่อกุ้งกลุ่มพีเนียส

การที่ปริมาณแอมโมเนียในชุดการทดลอง T1, T2 และ T3 ในการศึกษาครั้งนี้น้อยว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการทดลองนั้น เนื่องมาจากโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 กลุ่มที่ผสมลงในอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ บางส่วนหลุดจากเม็ดอาหารออกมาสู่น้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงรวมทั้งโพรไบโอติกบางส่วนที่ไม่ได้ยึดเกาะใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมหลุดออกมาพร้อมกับสิ่งขับถ่ายของกุ้งขาวแวนนาไมออกมาอยู่ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง โพรไบโอติกผสมทั้ง 2 กลุ่มนี้สามารถสร้างเอนไซม์ (Extracellular enzyme) ย่อยสลายสารอินทรีย์และของเสียในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ส่งผลให้แอมโมเนียในบ่อลดลง อีกทั้ง *Bacillus* โพรไบโอติกผสมที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีความสามารถในการเปลี่ยนแอมโมเนียโดยผ่านปฏิกิริยาไนทริฟิเคชัน (Burrell, Keller, & Blackhall, 1999; Moriarty et al., 2005; Rao, Karunasagar, Otta, & Karunasagar, 2000; Zhenming et al., 2010) นอกจากนี้ยังพบว่าชุดการทดลองที่เติมยีสต์โพรไบโอติกผสมมีปริมาณแอมโมเนียน้อยกว่าชุดควบคุมอาจเนื่องมาจากยีสต์โพรไบโอติกผสมที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้แอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจนได้เพื่อใช้ในการเจริญได้ (Conway, 1939) แต่ในชุดควบคุมซึ่งไม่มีปริมาณ *Bacillus* โพรไบโอติกและยีสต์โพรไบโอติก ส่งผลให้มีจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายของเสียในบ่อไม่เพียงพอปริมาณแอมโมเนียจึงสูงกว่า

แอมโมเนียที่พบอยู่ในระบบการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมส่วนใหญ่มาจากอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีโปรตีนสูงที่เหลือตกค้างในบ่อ และการย่อยสลายสารประกอบไนโตรเจน เช่น ซากสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้แอมโมเนียที่พบยังมีแหล่งที่มาจากการขับถ่ายของกุ้ง การที่ระบบเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีแอมโมเนียสะสมในปริมาณสูง เป็นสาเหตุสำคัญสาเหตุหนึ่งที่ทำให้กุ้งเกิดความเครียด อีกทั้งยังทำให้ระบบการทำงานของเหงือกถูกทำลาย การเจริญเติบโตช้า ส่งผลให้กุ้งมีอัตราการตายที่สูงขึ้น (Burford & Longmore, 2001; Frias-Espericueta et al., 2000) ถ้าในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ค่อนข้างสูง (8.4-9) สามารถทำให้แอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) แตกตัวเป็นแอมโมเนีย (NH_3) มากขึ้น ซึ่งมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำโดยตรง

(Hargreaves, 1998; Wahab, Bergheim, & Braaten, 2003) อีกทั้งอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลให้แอมโมเนียอิสระอยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษสูงขึ้น นอกจากนี้ยังส่งผลให้แคลเซียมและแมกนีเซียมละลายน้ำได้ลดลง เมื่อปริมาณแร่ธาตุในน้ำน้อยทำให้กุ้งเกิดปัญหาการลอกคราบไม่ได้ (Allan & Maguire, 1991; Hargreaves, 1998)

สำหรับการศึกษาปริมาณไนไทรต์ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ในช่วงเวลา 05.00 น. และ 14.00 น. เป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าปริมาณไนไทรต์ ในชุดควบคุม และชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติก มีค่าอยู่ในช่วง 0.16 ± 0.06 – 0.49 ± 0.01มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.149 ± 0.003 - 0.20 ± 0.01 – 0.34 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปริมาณไนไทรต์ในชุดควบคุมมีปริมาณสูงกว่าชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติก ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ปริมาณไนไทรต์ในทุกชุดการทดลองเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 15 ของการทดลอง เป็นผลมาจากปริมาณของเสียในบ่อเลี้ยงกุ้งเริ่มสะสมเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยังมีกุ้งที่ตายเป็นจำนวนมากในช่วงเวลาดังกล่าว และอาจเกิดมาจากปฏิกิริยาไนตริฟิเคชั่นที่กำลังเกิดขึ้น จึงได้ไนไทรต์เป็นสารตัวกลาง ส่วนการที่ไนไทรต์ทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นอีกครั้งในวันที่ 75 ของการทดลอง เป็นผลมาจาก ในวันที่ 75 ของการทดลองในครั้งนี้ อุณหภูมิของอากาศและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งลดต่ำลงถึง 20 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลองไม่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายของเสียได้เท่าที่ควร จึงส่งผลให้ไนไทรต์มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น โดยทั่วไปปริมาณไนไทรต์ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งไม่ควรมีค่าเกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2009) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ปริมาณไนไทรต์ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานตลอดการทดลองเป็นระยะเวลา 120 วัน

โดยการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึงโพสต์ลาวา 21 ในประเทศไทย ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเช่นเดียวกับที่ใช้ในชุดการทดลอง T2 ในการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการเติม*Bacillus* โพรไบโอติกผสมร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสมลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม วันละ 1 ครั้ง ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10^9 CFU/ml พบว่าปริมาณไนไทรต์ในน้ำเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม

รวมทั้งการศึกษาของ Nimrat et al. (2012) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึงโพสต์ลาวา 22 ในประเทศไทย ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เหมือนกับการศึกษาในชุด T1 ในการศึกษาครั้งนี้เช่นกันพบว่าปริมาณไนไทรต์ในน้ำเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเช่นเดียวกัน ซึ่งสอดคล้อง

กับการศึกษาของ Jueliang et al. (2011) ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมน้ำหนักประมาณ 7-8 กรัม ในห้องปฏิบัติการในประเทศไทยเป็นระยะเวลา 60 วันด้วยโพรไบโอติกทางการค้าพบว่าปริมาณไนไทรต์ในชุดควบคุม (มีค่าระหว่าง 0.149 ± 0.026 – 1.853 ± 0.066 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีค่าสูงกว่าชุดที่ให้อาหารผสมโพรไบโอติก (0.128 ± 0.032 – 1.146 ± 0.058 มิลลิกรัมต่อลิตร) ตลอดระยะเวลาทดลอง ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 กลุ่มในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถควบคุมปริมาณแอมโมเนียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้งระยะวัยอ่อน (ซูเอีย 2 ถึงโพสต์ลาวา 22) และระยะวัยรุ่น (โพสต์ลาวา 60) ได้

การที่ปริมาณไนไทรต์ในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเนื่องมาจากโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 กลุ่มที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถเปลี่ยนไนไทรต์เป็นไนเทรตโดยปฏิกิริยาไนทริฟิเคชัน (Nitrification; Hargreaves, 1998; Tsai & Chen, 2002) ซึ่งไนไทรต์ที่เพิ่มขึ้นในช่วงแรกอาจเกิดจากปฏิกิริยา Ammonia oxidation ซึ่งแอมโมเนียจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไทรต์ และหลังจากนั้นไนไทรต์จะถูกเปลี่ยนเป็นไนเทรต โดยปฏิกิริยา Nitrite oxidation และอาจเปลี่ยนเป็นก๊าซไนโตรเจนได้โดยปฏิกิริยา Denitrification (Kim et al., 2005; Lakshmanan & Soundarapandian, 2008; Nimrat et al., 2011; Nimrat et al., 2012; Wang et al., 2005) ซึ่งไนไทรต์เป็นสารตัวกลางที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาไนทริฟิเคชัน (Hargreaves, 1998; Pierce, Weeks, & Prappas, 1993; Tsai & Chen, 2002) ซึ่งมีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมากที่สุดชนิดหนึ่ง เนื่องจากไนไทรต์เป็นสารที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (Chen, Liu, & Lei, 1990; Chen & Lin, 1991; Tsai & Chen, 2002) หากในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีไนไทรต์สะสมอยู่ปริมาณสูงจะส่งผลให้กุ้งเกิดความเครียด ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งลดลง (Lin & Chen, 2003) และยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระบบการทำงานของเลือดกุ้งโดยทำให้ฮีโมโกลบินเปลี่ยนเป็นเมทฮีโมโกลบิน (Methemoglobin) ที่ไม่สามารถขนถ่ายออกซิเจนในเลือดได้ ส่งผลให้ระบบหายใจของกุ้งผิดปกติ ส่งผลให้กุ้งขาวแวนนาไมมีอัตราการตายที่สูงขึ้น (Hargreaves, 1998; Lin & Chen, 2003; Tsai & Chen, 2002)

สำหรับการศึกษาถึงปริมาณไนเทรตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์-ลาวา 60 ในช่วงเวลา 05.00 น. และ 14.00 น. ในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกและชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 0.45 ± 0.11 – 0.53 ± 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.61 ± 0.18 – 4.67 ± 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (120 วัน) ปริมาณไนเทรตชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการทดลอง โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Somboon, Limsuwan, Chuchird, and Chanratchakool (2009) ที่ทำการศึกษาถึงการใช้โพรไบโอติกทางการค้าจำนวน 3 ยี่ห้อที่มี *Bacillus* เป็นองค์ประกอบ สำหรับการอนุบาลลูกกุ้ง

ขาวแวนนาไมตั้งแต่ระยะนอเพลียสจนถึงระยะโพสต์ลาวา 8 โดยการเติมโพรไบโอติก (ความเข้มข้น 2 ส่วนในล้านส่วน) ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าปริมาณไนเทรตในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกทางการค้ามีปริมาณต่ำกว่าชุดควบคุมซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 1.208 ± 0.014 – 3.896 ± 0.108 มิลลิกรัมต่อลิตร และ1.388 ± 0.013 – 4.044 ± 0.082 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่าในการศึกษาครั้งนี้ไนเทรตในทุกชุดการทดลองมีปริมาณเพิ่มขึ้นในวันที่ 30 ของการทดลอง อาจเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาไนทริฟิเคชันโดยจุลินทรีย์ในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยจุลินทรีย์ทำการเปลี่ยนแอมโมเนีย ให้เป็นสารตัวกลางคือไนไทรต์ จากนั้นจึงทำการเปลี่ยนไนไทรต์เป็นไนเทรตซึ่งเกิดขึ้นได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเพียงพอซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการไนทริฟิเคชันในน้ำและทำให้คุณภาพน้ำดีขึ้น (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552; Thompson, Abreu, & Wilson, 2002) ส่วนปริมาณไนเทรตที่ลดลงในวันที่ 75 ของการทดลองนั้นพบว่า อาจเกิดจากในระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงเวลาดังกล่าวมีอุณหภูมิของน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมลดลงจาก 26 องศาเซลเซียสเหลือ 20 องศาเซลเซียส (จำลอง แสงส่ง, 2556) ซึ่งในช่วงดังกล่าวปฏิกิริยาแอมโมเนียออกซิเดชันสามารถเกิดขึ้นได้ตามปกติ ส่งผลให้ในการศึกษาในครั้งนี้มีปริมาณลดลง แต่ปฏิกิริยาไนไทรต์ออกซิเดชันเกิดขึ้นลดลงคือไนไทรต์ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นไนเทรตได้ ทำให้เกิดการสะสมของไนไทรต์ในน้ำที่ในที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ดังสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าปริมาณไนไทรต์ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในทุกชุดการทดลองมีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลาเดียวกัน ซึ่งรายงานของ Yang et al. (2007) พบว่าในน้ำเสียชุมชนที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส ปฏิกิริยาแอมโมเนียออกซิเดชันสามารถเกิดขึ้นได้ตามปกติ และรายงานของ Isaka, Date, Kimura, Sumino, and Tsuneda (2008) พบว่าในน้ำเสียที่อุณหภูมิต่ำกว่า 22 องศาเซลเซียส ปฏิกิริยาไนไทรต์ออกซิเดชันจะเกิดขึ้นได้ช้าลงและเกิดการสะสมของไนไทรต์ในน้ำปริมาณมากขึ้น

โดยทั่วไปปริมาณไนเทรตที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งไม่ควรมีค่าเกิน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร(National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2009) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาครั้งนี้พบว่าตลอดระยะเวลาการทดลองปริมาณไนเทรตทั้ง 4 ชุดการทดลองมีค่าไม่เกินค่ามาตรฐาน และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปริมาณไนเทรตในชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่ม (*Bacillus* 5 สายพันธุ์ และยีสต์ 2 สายพันธุ์) มีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าในปริมาณของแอมโมเนีย ไนไทรต์และไนเทรตที่เท่ากัน ไนเทรตจะส่งผลกระทบต่อกุ้งน้อยกว่าไนไทรต์และแอมโมเนีย (Picrce et al., 1993; Hamlin, 2006) แสดงให้เห็นว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมที่

ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีความสามารถในการควบคุมปริมาณไนเทรตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ได้

สำหรับการศึกษาปริมาณฟอสเฟตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ในช่วงเวลา 05.00 น. และ 14.00 น. พบว่าในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติก และชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 0.012 ± 0.001 – 0.035 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.013 ± 0.001 – 0.031 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (120 วัน) ปริมาณฟอสเฟตในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกมีปริมาณต่ำกว่าชุดควบคุม โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Wang et al. (2005) ที่ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะวัยรุ่น (Juvenile) ในบ่อดินประเทศจีน ด้วยโพรไบโอติกทางการค้า ที่มี *Bacillus* เป็นองค์ประกอบ เป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีปริมาณฟอสเฟตในชุดการทดลองที่เติมโพร-ไบโอติกทางการค้ามีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมโดยมีค่าเท่ากับ 0.01 – 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.01 – 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีมาตรฐานกำหนดปริมาณฟอสเฟตสำหรับเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลในประเทศไทย (National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2009)

และจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปริมาณฟอสเฟตที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนในวันที่ 15 ของการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 0.031 ± 0.001 เนื่องมาจากในช่วงเวลา 15 วันของการทดลองมีการตายของกุ้งขาวแวนนาไมเป็นจำนวนมาก และกุ้งขาวแวนนาไมที่รอดชีวิตกินอาหารลดลง ทำให้อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเหลืออยู่ในยอเป็นจำนวนมาก (ไม่แสดงข้อมูล) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าปริมาณแอมโมเนีย และไนไทรต์มีปริมาณสูงในวันที่ 15 ของการทดลองเช่นเดียวกัน รวมทั้งการย่อยสลายของเปลือกกุ้งที่เกิดจากการลอกคราบของกุ้งขาวแวนนาไมอาจส่งให้ฟอสเฟตสะสมอยู่ในน้ำเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งการมีฟอสเฟตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีความสำคัญคือช่วยในการสร้างเปลือกของกุ้งขาวแวนนาไมหลังจากการลอกคราบและการเจริญเติบโตของสาหร่าย แต่หากในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีปริมาณฟอสเฟตมากกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร อาจก่อให้เกิดปัญหาการเจริญของสาหร่ายอย่างไร้ขอบเขต (Eutrophi-cation; Boyd, 1990; Thakur & Lin, 2003) ซึ่งอาจก่อให้เกิดปัญหาต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้

ดังนั้นการศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepato-pancreas ลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 วัน จึงมีความสอดคล้องกับสถานการณ์ในปัจจุบันซึ่งมีความต้องการใช้โพรไบโอติกในการเพาะ

เลี้ยงกุ้งเพิ่มมากขึ้นซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะทำให้การเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมทั้งในด้านการ การส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้ง และควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไม (Gatesoupe, 1999; Wang et al., 2005)

ต่อมาเป็นการทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อการต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมขนาดโพสต์ลาวา 60 ที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ในบ่อเพาะเลี้ยงจำลอง จากการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมต่อการต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 โดยเหนี่ยวนำกุ้งขาวแวนนาไมให้เกิดโรคด้วยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้ได้ความเข้มข้น 10^5 และ 10^7 CFU/ml ซึ่งหลังจากทดสอบความต้านทานโรคเป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมไม่ตายและไม่เกิดโรคเรืองแสง แต่เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตพบว่ากุ้งขาวแวนนาไมมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับช่วง 30 วันก่อนการทดสอบความต้านทานโรค ซึ่งอาจเกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่เติมลงในน้ำสามารถแทนที่แบคทีเรียใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม ทำให้ Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไม อักเสบ ส่งผลให้ระบบการย่อยอาหารผิดปกติ และอาหารที่สะสมไว้ใน Hepatopancreas น้อยลง อีกทั้งยังสามารถผลิตสารฮีโมไลซิน (Hemolysin) ที่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือด ส่งผลให้กระบวนการเมตาบอลิสมของกุ้งผิดปกติ (Montero et al., 1999) กุ้งจึงเกิดอาการเครียด ส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งเริ่มลดลง กุ้งจึงเริ่มอ่อนแอ และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้าลง (Kongkrajang & Laohavisuti, 2011)

แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลองที่ได้รับ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมมีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดควบคุมเนื่องมาจาก *Bacillus* สามารถแข่งขันในการแย่งบริเวณยึดเกาะในทางเดินอาหาร รวมทั้งแย่งสารอาหาร ตลอดจนสร้างเอนไซม์ วิตามิน โคเอนไซม์ กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ Antimicrobial peptide, สารปฏิชีวนะต่าง ๆ เช่น เบซิทราซิน พอลิมิซิน กรามิซิดิน และไตโรไตรซิดิน (Balcazar et al., 2007; Moriarty, 1998; Wang, 2007; Wang et al., 2005; Verschuere et al., 2000) เพื่อยับยั้งการเจริญของ *V.harveyi* และแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ผนังเซลล์ของ *Bacillus* ยังมีเปปติโดไกลแคนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีคุณสมบัติกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไม ส่งผลให้มีภูมิต้านทานต่อโรคและกำจัดแบคทีเรียก่อโรคได้ดี (Ziaei-Nejad et al., 2006)

โดยรายงาน Rengpipat et al. (2000) ที่ทำการศึกษาผลของ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำระยะโพสต์ลาวา 60 พบว่า *Bacillus* โพรไบโอติกสายพันธุ์ S11 ที่ถูกใช้เป็นโพรไบโอติกสามารถกระตุ้นให้เม็ดเลือดของกุ้งกุลาดำกำจัดสิ่งแปลกปลอมด้วยวิธี

ฟาโกไซโทซิส และเพิ่มปริมาณเอนไซม์ Phenoloxidase ในเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำได้มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำอยู่ในสภาวะพร้อมทำงาน (Active form) เมื่อมีแบคทีเรียก่อโรค รวมทั้งแบคทีเรียชนิดอื่นบุกรุกเข้าเซลล์จะส่งผลให้เกิดการกำจัดแบคทีเรียดังกล่าวอย่างมีประสิทธิภาพ

ส่วนยีสต์โพรไบโอติกมีความสามารถในการยึดเกาะกับเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้และเจริญได้ (Andlid, Vazquez-Juarez, & Gustafsson, 1998; Buts, Keyser, & Raedemaeker, 1994; Tovar et al., 2002; Vazquez-Juarez, Andlid, & Gustafsson, 1997) เช่นเดียวกัน และผนังเซลล์ของยีสต์ประกอบด้วยกลูแคน แมนโนโปรตีน และไคติน (Scholz et al., 1999) ซึ่งจะมีฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ รวมทั้งกุ้งขาวแวนนาไมและกุ้งกุลาดำ (Chang, Su, Chen, & Liao, 2003; Sakai, 1999; Scholz et al., 1999) ซึ่งกลูแคนจะทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นให้เซลล์ดักจับเชื้อโรคแบบ Phagocytosis ได้อย่างมีประสิทธิภาพและเพิ่มการหลั่งสารหรือเอนไซม์ที่มีหน้าที่ในการทำลายเชื้อโรค (Chang et al., 2003; Kumari & Schoo, 2006; Misra, Das, Mukherjee, & Pattnaik, 2006; Palic, Andreasen, Herolt, Menzel, & Roth, 2006) อีกทั้งพบว่าแมนโนโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีอยู่บนผนังเซลล์ยีสต์มีคุณสมบัติจับกับโปรตีนอยู่ที่ผิวเซลล์ของแบคทีเรียก่อโรค จึงทำให้เชื้อก่อโรคเหล่านี้ไม่สามารถจับที่ผนังลำไส้ของกุ้งได้ จึงทำให้กุ้งมีภูมิคุ้มกันที่สูงขึ้น

ซึ่ง Tipsemongkol, Purivirojkolm, Chuchird, and Limsuwan (2009) ทำการศึกษาผลของเบต้ากลูแคนต่อการเจริญเติบโต การรอดชีวิต และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของกุ้งขาวแวนนาไม ขนาด 8-11 กรัม พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับสารเบต้ากลูแคน สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต การรอดชีวิต และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของกุ้งขาวแวนนาไมได้มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่เติมเบต้ากลูแคนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ส่วนผลการศึกษาการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด ปริมาณ *Bacillus* และปริมาณยีสต์ ในช่วง 30 วัน ก่อนการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค พบว่ามีผลการทดลองที่เหมือนกับการทดลองที่ 1 "การศึกษาถึงประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas ลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 120 วัน" คือกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่ม (*Bacillus* โพรไบโอติก 5 สายพันธุ์และยีสต์โพรไบโอติก 2 สายพันธุ์) มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดควบคุม แต่พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างการทดลองที่ 1 และ 2 คือกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์วาลา 60 ในการทดลองที่ 2 ที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกทั้ง 3 ชุดการทดลอง (ชุดการทดลอง T1 เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์, ชุดการทดลอง T2 เติม

Bacillus โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ร่วมกับยีสต์โพรไบโอติก 2 สายพันธุ์ และชุดการทดลอง T3 เติมยีสต์โพรไบโอติกผสม 2 สายพันธุ์) เป็นระยะเวลา 30 วัน มีอัตราการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) แต่ในการทดลองที่ 1 พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติดทั้ง 3 ชุดการทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ซึ่งการศึกษาของ Balcazar et al. (2007) พบว่าการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมขนาด 1.6 ± 0.1 กรัม ด้วยอาหารผสมแบคทีเรียโพรไบโอติก 4 สายพันธุ์ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง คือชุดการทดลองที่ 1 เติม *Vibrio alginolyticus* UTM 102, ชุดการทดองที่ 2 เติม *Bacillus subtilis* UTM 126, ชุดการทดลองที่ 3 เติม *Roseobacter gallaeciensis* SLV 03 และชุดการทดลองที่ 4 เติม *Pseudomonas aestumarina* SLV 22 และชุดควบคุม เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกมีอัตราการเจริญเติบสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) แต่กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกทั้ง 4 ชุดการทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

สำหรับผลการทดลองในการทดลองที่ 2 ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 เป็นระยะเวลา 30 วัน มีความแตกต่างกับการทดลองที่ 1 ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 เป็นระยะเวลา 120 วัน แต่กุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 การทดลองได้รับอาหารที่เติมโพรไบโอติกผสมทั้ง 3 ชุดการทดลอง เช่นเดียวกันพบว่า กุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 การทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 การทดลองได้รับอาหารที่ผสมโพรไบโอติกเป็นระยะเวลาแตกต่างกัน คือกุ้งขาวแวนนาไมในการทดลองที่ 2 ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกเป็นระยะเวลาสั้นกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในการทดลองที่ 1 จึงส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน แต่ในการทดลองที่ 1 กุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลองได้รับอาหารที่เติมโพรไบโอติกผสมเป็นระยะเวลาถึง 120 วันจึงอาจส่งผลให้กุ้งขาวแวนนาไมมีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน

และยังพบว่าในช่วงการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้ได้ความเข้มข้น 10^5 และ 10^7 CFU/ml ส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในวันที่เติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ทั้ง 4 ชุดการทดลองเพิ่มปริมาณขึ้น ซึ่งปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่เติมลงไปดังแสดงในผลการทดลองของ จำลอง แสงส่ง (2556) นอกจากนั้นยังพบว่าการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำให้ได้ความเข้มข้น 10^7 CFU/ml ส่งผลให้ปริมาณและอัตราส่วนของ *Bacillus* และยีสต์ใน Hepato-

pancreas ลำไส้ ลดลงซึ่งเกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่เติมลงไปสามารถแทนที่จุลินทรีย์ใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ได้ แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 โดยการเติม*V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำให้ได้ความเข้มข้น 10^5 CFU/ml ไม่ส่งผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมอาจเนื่องมาจากการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ในปริมาณดังกล่าวมีปริมาณต่ำเกินไปในการยึดเกาะและแทนที่จุลินทรีย์ประจำถิ่นในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ได้ ซึ่งการศึกษาของ Reangpipat et al. (2003) ที่พบว่าการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งกุลาดำโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้ได้ความเข้มข้น 10^7 CFU/ml ส่งผลให้ให้ปริมาณ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งกุลาดำลดลงเกือบ 2 logs CFU/g การที่ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 สามารถเพิ่มจำนวนใน Hepatopancreas และลำไส้ของกุ้งได้เนื่องจาก *V.harveyi* มีกลไกในการเข้าไปยึดเกาะบริเวณ Receptor ในทางเดินอาหารของเจ้าบ้าน

สำหรับคุณภาพน้ำทางเคมีพบว่าการเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมความเข้มข้น 10^5 และ 10^7 CFU/ml พบว่าไม่มีผลต่อปริมาณแอมโมเนีย ไนไทรต์ ไนเทรต และฟอสเฟตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ และตลอดระยะเวลาการทดลองพบว่าปริมาณแอมโมเนีย ไนไทรต์ ไนเทรต และฟอสเฟตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 3 ชุดการทดลอง (ชุดการทดลอง T1 เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์, ชุดการทดลอง T2 เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ร่วมกับยีสต์โพรไบโอติกผสม 2 สายพันธุ์ และชุดการทดลอง T3 เติมยีสต์โพรไบโอติกผสม 2 สายพันธุ์) มีปริมาณน้อยกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ต่อมาจึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เติมลงในอาหารต่อการต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 30 ในบ่อเพาะเลี้ยงจำลอง จากการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมต่อการต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมที่เกิดจาก *V.harveyi* สายพันธุ์ 002 โดยเหนี่ยวนำกุ้งขาวแวนนาไมให้เกิดโรคด้วยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ให้ได้ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml ซึ่งหลังจากทดสอบความต้านทานโรคเป็นเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 30 เกิดโรคเรืองแสง และเกิดการตาย ซึ่งเกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่เติมลงในน้ำสามารถแทนที่แบคทีเรียในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม และผลิตสาร Hemolysin ที่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือด ส่งผล

ให้กระบวนการเมตาบอลิสมของกุ้งขาวแวนนาไมผิดปกติ (Montero et al., 1999) อีกทั้งเซลล์ภายในตับทั้งหมดถูกทำลาย มีการสลายของท่อตับอย่างรุนแรง ส่งผลให้กุ้งขาวแวนนาไมทยอยตายอย่างต่อเนื่อง (Kongkrajang & Laohavisuti, 2011) ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้ต่างจากการทดลองที่ 2 ที่ศึกษาการต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมขนาดโพสต์ลาวา 60 ซึ่งพบว่าเมื่อเหนี่ยวนำกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 แต่ผลการทดลองพบว่ากุ้งขาวแวนนาไมไม่เป็นโรคและไม่เกิดการตาย อาจเนื่องมาจากในการศึกษาครั้งนี้ใช้กุ้งขาวแวนนาไมขนาดโพสต์ลาวา 30 ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าจึงทำให้มีภูมิคุ้มกันต่ำกว่ากุ้งขาวแวนนาไมขนาดใหญ่ (Yankomut, Walla, Privirojkul, Chuchird, & Limsuwan, 2010) ส่งผลให้กุ้งขาวแวนนาไมขนาดเล็กมีความสามารถในการต้านทานโรคต่ำกว่ากุ้งขาวแวนนาไมขนาดใหญ่

การที่ *Bacillus* โพรไบโอติก และยีสต์โพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถส่งเสริมอัตราการรอดชีวิต รวมทั้งการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมหลังจากการเหนี่ยวนำเกิดโรค อาจเนื่องมาจากผนังเซลล์ของ *Bacillus* เป็นองค์ประกอบของเปปติโดไกลแคน และผนังเซลล์ของยีสต์เป็นองค์ประกอบของเบต้ากลูแคน ซึ่งองค์ประกอบทั้งสองอาจเป็นสารกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันแบบ Innate immune system ในกุ้งขาวแวนนาไมได้ (จารุวรรณ ชินกร, 2550) โดยเมื่อเซลล์ของ *Bacillus* และ ยีสต์เข้าสู่ร่างกายกุ้งขาวแวนนาไมจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์โพรฟีนอลออกซิเดส แอกติเวติง (Prophenoloxidase-activating enzyme) จากนั้นเอนไซม์จะไปกระตุ้นให้เซลล์เม็ดเลือดชนิดเซมิกรานูลาร์ (Semi-granule) และเซลล์กรานูลาร์ (Cell-granule) ให้ปล่อยส่วนของกรานูล (Degranulation) ภายในเซลล์เม็ดเลือด จากนั้นจะมีการปล่อยสารเพอรอกซิเนคติน (Peroxinectin) ซึ่งมีการสร้างและเก็บไว้ภายในกรานูลออกมานอกเซลล์ ซึ่งจะทำหน้าไปกระตุ้นกระบวนการ Prophenoloxidase-activating system ให้เกิดขึ้นต่อไป (Chiu et al., 2007) ในระหว่างกระบวนการจะมีการสังเคราะห์สารควิโนน (Quinone) ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติที่มีความเป็นพิษต่อสิ่งแปลกปลอม (Mavrouli et al., 2005) รวมทั้งมีการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการฟาโกไซโทซิสโดยเซลล์เม็ดเลือดชนิดไฮยาลินในการกำจัดสิ่งแปลกปลอม รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมที่รอดชีวิตพบว่ากุ้งขาวแวนนาไมมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับช่วง 30 วันก่อนการทดสอบความต้านทานโรคเช่นเดียวกับการศึกษาในกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ซึ่งกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 30 ที่รอดชีวิตนั้นอาจมีอาการทางเดินอาหาร อักเสบ ระบบการย่อยอาหารผิดปกติ กุ้งจึงเกิดอาการเครียด ส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งเริ่มลดลง กุ้งจึงเริ่มอ่อนแอ ทำให้กินอาหารน้อยลง และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้าลงด้วย (Kongkrajang & Laohavisuti, 2011) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากุ้งขาวแวนนา

ไมระยะโพสต์ลาวา 30 ในชุดการทดลองที่ได้รับ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมมีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดควบคุมเช่นเดียวกันกับการศึกษาในกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 รวมทั้งในช่วงการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมพบว่าไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไม แต่มีผลต่อแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงโดยส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในวันที่เติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ทั้ง 4 กลุ่มเพิ่มขึ้น รวมทั้งยังส่งผลให้ปริมาณและสัดส่วนของ *Bacillus* และยีสต์ใน Hepatopancreas-Intestine และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีปริมาณลดลงลดลง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

ส่วนการศึกษาผลการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด *Bacillus* และยีสต์ ในช่วง 30 วันก่อนการเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรค พบว่า *Bacillus* พบว่ามีผลการทดลองที่เหมือนกับการทดลองที่ 2 ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อการต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมขนาดโพสต์ลาวา 60 ที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ในบ่อเพาะเลี้ยงจำลอง คือกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่ม (*Bacillus* โพรไบโอติก 5 สายพันธุ์ และยีสต์โพรไบโอติก 2 สายพันธุ์) มีอัตราการเจริญสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมของชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นเดียวกัน

สำหรับการศึกษาคุณภาพน้ำทางเคมี (แอมโมเนีย ไนไทรต์ ไนเทรต และฟอสเฟต) ในช่วงเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 30 เกิดโรคในครั้งนี้พบว่า มีความแตกต่างจากการทดลองที่ 2 คือ เมื่อเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 30 พบว่าปริมาณไนเทรตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีปริมาณลดลงในช่วงวันที่ 2 ถึงวันที่ 5 ของการเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรค อาจเนื่องมาจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ในครั้งนี้สามารถรอดชีวิตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ตั้งแต่วันที่เหนี่ยวนำให้เกิดจนถึงวันที่ 10 ของการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 โดยมีปริมาณระหว่าง 10^6 CFU/ml – 10^2 CFU/ml และสามารถสร้างเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทส (Nitrate reductase) สามารถเปลี่ยนไนเทรตให้เห็นไนไทรต์ในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ ซึ่งการศึกษาของ Macfarlane and Herbert (1982) พบว่า *Vibrio* สายพันธุ์ V48 ที่แยกได้จากดินตะกอนชายฝั่งสามารถสร้างเอนไซม์ไนเทรตรีดักเทสในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองในครั้งที่ 2 คือเมื่อเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา

60 ให้เกิดโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำให้ได้ความเข้มข้น 10^5 CFU/ml พบว่าในวันที่ 7 ของการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคตรวจไม่พบ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 และเมื่อเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 เกิดโรคอีกครั้ง โดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำให้ได้ความเข้มข้น 10^7 CFU/ml พบว่าในวันที่ 21 ของการทดลอง *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 รอดชีวิตในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงมีปริมาณเพียง 10^1 CFU/ml

เมื่อศึกษาคุณภาพน้ำทางเคมีในช่วง 30 วันก่อนเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมพบว่ามีความแตกต่างจากการทดลองที่ 1 และ 2 ที่ทำการทดลองโดยใช้กุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 คือปริมาณแอมโมเนีย ไนไทรต์ และฟอสเฟตในการศึกษาในครั้งนี้ไม่เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 14 วันแรกของการทดลอง อาจเนื่องมาจากในการทดลองที่ 1 และ 2 ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมขนาดโพสต์ลาวา 60 ซึ่งเป็นกุ้งขนาดใหญ่ ซึ่งกินอาหาร และขับถ่ายของเสียออกมาในปริมาณมากกว่ากุ้งขาวแวนนาไมขนาดโพสต์ลาวา 30 ซึ่งใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ส่งผลให้ปริมาณแอมโมเนีย ไนเทรต์ และไนเทรตสูงขึ้นในช่วงเวลาดังกล่าว อีกทั้งกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ที่ใช้ในการทดลองที่ 1 และ 2 ยังเกิดการตายในช่วง 7 วันแรกของการทดลอง อาจเนื่องมาจากกุ้งขาวแวนนาไมแย่งขันเพื่อแก่งแย่งที่อยู่อาศัย และแย่งอาหาร จึงทำให้กุ้งขาวแวนนาไมกินเอง และตายเป็นจำนวนมากจึงอาจเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ส่งผลให้แอมโมเนีย ไนไทรต์ และฟอสเฟต เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเริ่มต้นการทดลอง

ดังนั้นการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบชีวภาพได้ (Moriarty, 1999) ซึ่งสามารถลดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมและยังส่งผลดีต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในระยะยาวอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามการใช้โพรไบโอติกให้ได้ผลสำเร็จนั้น ผู้ใช้ควรศึกษาถึงคุณสมบัติของโพรไบโอติกเหล่านั้น รวมทั้งวิธีการใช้และวิธีการเก็บรักษาให้ถูกต้อง เพื่อให้การใช้โพรไบโอติกเกิดประสิทธิภาพสูงสุด

สรุปผล

1. *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถรอดชีวิตและคงทนอยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยมีปริมาณไม่แตกต่างกับปริมาณที่พบในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา

2. *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมสามารถรอดชีวิตและเพิ่มจำนวนใน Hepatopancreas ลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้

3. โพรไบโอติกผสมทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโร-โทรปทั้งหมด ในทางเดินอาหาร ส่วน Hepatopancreas ลำไส้ และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงของกุ้งขาวแวนนาไม และสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 รวมทั้งควบคุมปริมาณแอมโมเนีย ไนไทรต์ ไนเทรต และฟอสเฟต ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยชุดการทดลอง T1 ซึ่งเป็นชุดการทดลองเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และควบคุมปริมาณแอมโมเนีย ไนไทรต์ ไนเทรต และฟอสเฟต ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ได้ดีที่สุด

4. จากการศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 กลุ่ม ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 พบว่า การเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมด้วยความเข้มข้น 10^5 และ 10^7 CFU/ml ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมในระยะโพสต์ลาวา 60 เกิดโรคและตายได้ รวมทั้งพบว่าโพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่มไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด ในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas ลำไส้ และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ และอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 ในช่วงการทดสอบความต้านโรคลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับในช่วง 30 วัน ก่อนการเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรค นอกจากนั้นโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งทั้ง 2 กลุ่ม ยังคงสามารถรอดชีวิตและเพิ่มจำนวนใน Hepatopancreas ลำไส้ และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมคุณภาพน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ดีไม่แตกต่างกันในกลุ่มชุดการทดลองที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 3 ชุด (T1, T2 และ T3) แต่ดีกว่าชุดควบคุม

5. ส่วนประสิทธิภาพของโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 ชุดในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อการต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 30 พบว่าการเติม *V.harveyi* สายพันธ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้ได้ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในกุ้งขาวแวนนาไมขนาดเล็ก (โพสต์ลาวา 30) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะโพสต์ลาวา 60 ส่วนผลการศึกษาในพารามิเตอร์อื่น ๆ มีผลคล้ายคลึงกับการศึกษาถึงประสิทธิภาพต่อความต้านโรคของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 คือโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 กลุ่มไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปใน Hepatopnacreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม และยังสามารถรอดชีวิตและเพิ่มจำนวนใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งส่งเสริมการเจริญเติบโต และควบคุมคุณภาพน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ดีกว่าชุดควบคุม เช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามในช่วงการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค ปริมาณไนเทรตในชุดควบคุมมีปริมาณลดต่ำกว่าในชุดที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 2 กลุ่ม

ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมและยีสต์โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถรอดชีวิตและคงทนอยู่ในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม และสามารถเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas และลำไส้ รวมทั้งน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในทางเดินอาหารส่วน Hepatopancreas ลำไส้ และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม นอกจากนี้ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมทั้งระยะโพสต์ลาวา 30 (ภายในระยะเวลา 30 วันของการทดลอง) และระยะโพสต์ลาวา 60 (30 วัน และ 120 วันของการทดลอง) ได้ และควบคุมคุณภาพน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ ส่วนการศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 กลุ่มต่อการต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ขนาด (ระยะโพสต์ลาวา 30 และ 60) พบว่า กุ้งขาวแวนนาไมในระยะโพสต์ลาวา 30 สามารถถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคและตายได้ด้วยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ให้ได้ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml แต่ในขณะที่การเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ให้ได้ความเข้มข้น 10^5 และ 10^7 CFU/ml ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสต์ลาวา 60 เกิดโรคและตายได้

แต่เมื่อศึกษาถึงอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นรายวันของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ขนาด ในช่วงก่อนและหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค พบว่า กุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ขนาดภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรค มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นรายวันลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับในช่วงก่อนการเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรค แต่อย่างไรก็ตามกุ้งขาวแวนนาไมในชุดที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 3 ชุดการทดลอง (T1, T2 และ T3) พบว่า มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นรายวันสูงกว่าชุดควบคุม