รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกรูปแบบใหม่เพื่อการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม

(Development of novel commercial probiotic product for controlling pathogenic microorganisms and enhancing growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*))

นางสุบัณฑิต นิ่มรัตน์
นายวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย
นายปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560
มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2560A10802093
สัญญาเลขที่ 80/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกรูปแบบใหม่เพื่อการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม
(Development of novel commercial probiotic product for controlling pathogenic microorganisms and enhancing growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*))

นางสุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1]
นายวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[2]
นายปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร[3]

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[2]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[3]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

กันยายน 2560

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 80/2560

บทคัดย่อ

งานวิจัยเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกรูปแบบใหม่เพื่อการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม ปีที่ 1 ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของโพรไบโอติกในรูปแบบไมโครแคปซูลเปรียบเทียบกับรูปแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในการต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม โดยศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด *Bacillus* แบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae และ *Vibrio harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง รวมทั้งศึกษาอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค ผลการศึกษาพบว่าใน Hepatopancreas-Intestine ชุดที่มีการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) มีปริมาณ *Bacillus* สูงกว่าชุดที่มีการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปแบบไมโครแคปซูล (MB) ทั้งในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 แต่ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงพบว่าชุด MB มีปริมาณ *Bacillus* สูงกว่าชุด FB ทั้งในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 นอกจากนั้นพบว่าในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ชุด FB และ MB ไม่มีผลต่อปริมาณของแบคทีเรียทางทะเลทั้งใน Hepatopancreas-Intestine และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง ส่วนการควบคุมปริมาณ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าชุด FB และ ชุด MB สามารถลดปริมาณ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 และ *Vibrio* กลุ่มอื่นใน Hepatopancreas-Intestine และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูป FB และ รูป MB สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของทั้งกุ้งขาวแวนนาไมก่อนการทดสอบการต้านทานโรค และกุ้งขาวแวนนาไมที่รอดชีวิตหลังจากการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ได้ รวมทั้งเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมที่มีการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 และรูปแบบของการใช้โพรไบโอติกไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมหลังการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ดังนั้นจากผลการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 2 รูปแบบมีความสามารถเจริญใน Hepatopancreas-Intestine และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง และไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลชนิดอื่น ๆ ซึ่งน่าจะเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่เกื้อกูลระบบนิเวศในบ่อเพาะเลี้ยงนั่นเอง และสามารถควบคุมการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 และ *Vibrio* ชนิดอื่น ๆ ทั้งใน Hepatopancreas-Intestine และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง จึงทำให้แบคทีเรียโพรไบโอติกกลุ่มนี้ทั้ง 2 รูปแบบน่าจะเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่สามารถทำให้การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมและกุ้งทะเลเศรษฐกิจในประเทศไทยยั่งยืนและแข่งขันกับนานาชาติได้อย่างเข้มแข็งต่อไป

คำสำคัญ: โพรไบโอติก, แบคทีเรียก่อโรค, กุ้งขาวแวนนาไม, ไมโครแคปซูล

ABSTRACT

This research work entitle “Development of novel commercial probiotic product for controlling pathogenic microorganisms and enhancing growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)” in the first year was to compare the efficiency of microcapsulated and freeze-dried probiotic forms against white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) pathogen. Changes in terms of total heterotrophic bacteria, *Bacillus*, marine bacteria, Vibrionaceae number and *Vibrio harveyi* in Hepatopancreas-Intestine and culture water, as well as growth rate and survival rate of white shrimp before and after pathogenic bacterial resistance test were monitored. Results showed that *Bacillus* in Hepatopancreas-Intestine in mixed freeze-dried bacterial probiotic treatment (FB) were higher than those in microcapsulated *Bacillus* probiotic treatment (MB) before and after *V. harveyi* strain 002 resistance test. However, MB treatment showed the higher number of *Bacillus* than those in the FB treatment in water culture before and after *V. harveyi* strain 002 resistance test in culture water. Moreover, FB and MB treatments showed no effect on the amount of marine bacteria in Hepatopancreas-Intestine and culture water before and after *V. harveyi* strain 002 resistance test in culture water. For controlling the loads of *V. harveyi* strain 002, FB and MB treatments can reduce the numbers of *V. harveyi* strain 002 and the other *Vibrio* in Hepatopancreas-Intestine and culture water, compared to the controls. In conclusion, mixed *Bacillus* probiotic in forms of FB and MB can enhance growth of both white shrimp before added pathogenic bacteria and the survived white shrimp after *V. harveyi* strain 002 resistance test as well as increase the survival rate of white shrimp treated with *V. harveyi* strain 002. Forms of mixed *Bacillus* probiotics represented no effect on growth of white shrimp after *V. harveyi* strain 002 resistance test. Therefore, the obtained results gave the conclusion that mixed *Bacillus* probiotics in two forms can grow in hepatopancreas-Intestine and in culture water but did not affect to the numbers of marine bacteria which were the beneficial bacteria for ecology in culture pond. These mixed *Bacillus* probiotics in two forms can control growth of the important bacterial pathogen *V. harveyi* strain 002 and the other *Vibrio* in Hepatopancreas-Intestine and culture water. The results provide that two forms of mixed *Bacillus* probiotics could be the promising probiotics for white shrimp and economic marine shrimp cultivation in Thailand sustainably and strengtheningly competing with the other countries.

Keywords: Probiotics, Pathogenic bacteria, Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), Microcapsule

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ..... I
บทคัดย่อ..... II
Abstract..... III
สารบัญ..... IV
สารบัญตาราง..... V
สารบัญภาพ..... VIII
บทที่
1 บทนำ..... 1
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 7
3 วิธีดำเนินงานวิจัย..... 23
4 ผลการทดลอง..... 32
5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง..... 90
เอกสารอ้างอิง..... 96
ผลผลิต (Output)..... 103
ประวัติคณะผู้วิจัย..... 104

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อวัยวะและโครงสร้างและหน้าที่ของกุ้งขาว.....	8
2	ผลกระทบของค่าความเป็นกรด-ด่างต่อกุ้ง.....	12
3	ร้อยละของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกันที่อุณหภูมิ 25 องศา-เซลเซียส.....	13
4	หน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือดกุ้ง.....	17
5	จำนวนตายสะสมของกุ้งขาวแวนนาไมหลังเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	32
6	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม.....	34
7	ปริมาณ *Bacillus* spp. ในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม.....	34
8	ปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ในไมโครแคปซูล.....	36
9	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไมโครแคปซูลของแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิด.....	37
10	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002.....	42
11	ปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002.....	44
12	สรุปปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002.....	46
13	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002.....	50
14	ปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002.....	52
15	สรุปปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002.....	54
16	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002.....	57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
17	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002	59
18	สรุปปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค*V. harveyi* สายพันธุ์ 002	61
19	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002	64
20	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002	66
21	สรุปรวมปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ก่อนการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค*V. harveyi* สายพันธุ์ 002	68
22	ปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002	71
23	ปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002	73
24	สรุปรวมปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002	75
25	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002	78
26	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002	80

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
27	สรุปปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002.....	82
28	ผลของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน.....	85
29	ผลของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 หลังการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 เป็นระยะเวลา 10 วัน.....	87
30	อัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมก่อนทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002.....	88

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไม.....	7
2	การใช้ประโยชน์จากโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.....	15
3	ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 001.....	37
4	ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 002.....	38
5	ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 003.....	38
6	ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 004.....	39
7	ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 005.....	39
8	อัตราการตายสะสมของกุ้งขาวแวนนาไมหลังทดสอบความสามารถในการต้านทานแบคทีเรียก่อโรคเป็นเวลา 10 วัน.....	89

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในประเทศไทยสินค้าส่งออกที่สำคัญชนิดหนึ่ง ได้แก่ กุ้งทะเล ซึ่งในช่วง 5-10 ปีที่ผ่านมาพบว่ากุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เป็นสินค้าส่งออกอันดับหนึ่ง (Boonthai et al., 2011) แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นกับการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำคือ ประสบปัญหาโรคระบาดที่เกิดจากไวรัสและแบคทีเรีย (Austin and Zhang, 2006; Flegel, 2006) ดังนั้นในปัจจุบันกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) จึงเป็นกุ้งทะเลที่นิยมเพาะเลี้ยงเพื่อมาทดแทนกุ้งกุลาดำ เนื่องจากกุ้งขาวแวนนาไมเจริญเติบโตได้เร็ว ปรับตัวให้เข้ากับสภาพการเลี้ยงแบบหนาแน่นได้ดี และทนทานต่อการเกิดโรคได้ดีกว่ากุ้งกุลาดำ (Wyban, 2007) นอกจากนี้กุ้งขาวแวนนาไมยังต้องการอาหารที่มีโปรตีนต่ำและสามารถใช้อาหารตามธรรมชาติที่มีอยู่ในบ่อเพาะเลี้ยงได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งมีอัตราแลกเนื้อต่ำทำให้มีเปอร์เซ็นต์เนื้อสูงซึ่งช่วยให้เกษตรกรประหยัดต้นทุนในการเพาะเลี้ยง (FAO, 2004)

เนื่องจากการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทยนิยมเลี้ยงแบบระบบหนาแน่น (Rosenberry, 1996) ซึ่งทำให้ได้ผลผลิตของกุ้งขาวแวนนาไมในปริมาณมาก และสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งได้เป็นอย่างดี แต่จุดด้อยของการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระบบดังกล่าว คือไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง ดังนั้นอาจทำให้เกิดการสะสมของอาหารที่เหลือจากการกินของกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งของเสียที่กุ้งขับถ่ายออกมา และเกิดการสะสมอยู่ภายในบ่อเลี้ยง (Jackson et al., 2003; Trott and Alongi, 2000; Ziemann et al., 1992) ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ทำให้คุณภาพน้ำเสื่อมโทรมลงตามระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้กุ้งขาวแวนนาไมเจริญเติบโตได้ไม่ดี ระบบภูมิต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมลดลง กุ้งขาวแวนนาไมจึงอ่อนแอเป็นโรคได้ง่าย และมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ หากเกษตรกรมีการจัดการด้านการเลี้ยงไม่ดีพอก็จะประสบกับปัญหากุ้งเป็นโรคและตายได้ สาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่ง คือ การเกิดโรคจากแบคทีเรียโดยเฉพาะแบคทีเรียสกุลวิบริโอ (Lavilla-Pitago et al., 1998; Vandenberghe et al., 1998) ซึ่งจำเป็นที่จะต้องมีการวิจัยแบบบูรณาการเพื่อศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคติดเชื้อที่ทำให้ลูกกุ้งขาวแวนนาไมตายอย่างเฉียบพลัน

ด้วยเหตุดังกล่าวเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจึงนิยมแก้ปัญหาโดยการใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งหากใช้ยาดังกล่าวไม่ถูกวิธีอาจนำไปสู่การดื้อต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียก่อโรค (Skjermo and Vadstein, 1999) และยังก่อให้เกิดการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะในเนื้อกุ้งและสิ่งแวดล้อมอีกด้วย (Holmstrom et al., 2003) โดยแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะอาจแพร่กระจายโดยตรงไปยังตัวกุ้งขาวแวนนาไม และทำให้ผู้ที่บริโภคกุ้งขาวแวนนาไมได้รับแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ อาจส่งผลให้เกิดอุบัติการณ์ของแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะในประชากรมนุษย์ รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคที่มียีนดื้อยาปฏิชีวนะ ยังสามารถถ่ายทอดยีนดื้อยาไปยังแบคทีเรียชนิดอื่นในระบบเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (Caprioli et al., 2000; Gatesoupe, 1999; Gullian et al., 2004; Itami et al., 1998; Kautsky et al., 2000; Verschuere et al., 2000)

ดังนั้นในหลาย ๆ ประเทศจึงได้มีการห้ามใช้ยาปฏิชีวนะ เช่น คลอแรมเฟนิคอล (FAO, 2002) ซึ่งตรวจพบว่ามีการปนเปื้อนในกุ้งจากประเทศพม่า อินเดีย ปากีสถาน เวียดนาม รวมทั้งประเทศไทย โดยกลุ่มสหภาพยุโรปซึ่งเป็นตลาดที่รับซื้อกุ้งขาวแวนนาไมจากประเทศไทยที่ใหญ่ที่สุดแห่งหนึ่ง ห้ามนำเข้ากุ้งขาวแวนนาไมที่ปนเปื้อนยาปฏิชีวนะ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์กุ้งขาวแวนนาไมจากหลายประเทศไม่สามารถส่งออกได้ จากข้อกำหนดที่เข้มงวดดังกล่าว ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งขาว-แวนนาไมในประเทศไทยตระหนักถึงผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นกับการส่งออกกุ้งขาวแวนนาไมของประเทศไทย จากสาเหตุข้างต้นทำให้เกษตรกรที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมหันมาสนใจการใช้โพรไบโอติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโต กระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไม และต่อต้านแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งขาวแวนนาไมได้ (Balcazar et al., 2006)

ปัจจุบันการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง (Gomez-Gil et al., 2000; Irianto and Austin, 2002; Sharma and Bhukhar, 2000) ซึ่งโพรไบโอติกที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการย่อยอาหาร ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ช่วยยับยั้งเชื้อก่อโรค ส่งผลให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำและบำบัดขี้เลนในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอีกด้วย (Balcazar et al., 2006; Nimrat et al., 2008; 2011; 2012; Utiswannakul et al., 2011) จากการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งพบว่าสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้ง ทำให้กุ้งมีความต้านทานโรคเพิ่มมากขึ้น และช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร จึงช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตของกุ้ง รวมทั้งช่วยลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงกุ้งทำให้การเพาะเลี้ยงกุ้งมีความยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Balcazar et al., 2006; Boonthai et al., 2011; Far et al., 2009; Nimrat 2011; 2012; Sahu et al., 2008; Tseng et al., 2009) ซึ่งแนวทางการใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทยมีการใช้อย่างแพร่หลาย แต่ประสิทธิภาพหรือความสำเร็จในการใช้ก็แตกต่างกันไปในหลายพื้นที่ เนื่องจากมีสภาพแวดล้อมหลายปัจจัยมีความเกี่ยวข้องกัน ซึ่งการวิจัยเชิงลึกแบบบูรณาการของรูปแบบการใช้โพรไบโอติกที่เหมาะสมจะช่วยให้ทราบแนวทางที่ชัดเจนของการใช้โพรไบโอติก ซึ่งสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวเชิงพาณิชย์ได้ต่อไป

แบคทีเรียโพรไบโอติกที่นำมาใช้มากในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คือ แบคทีเรียสกุล *Bacillus* sp. (Keysami et al., 2007; Moriarty, 1998; 1999; Rengpipat et al., 1998; Ziaei-Nejad et al., 2006) เนื่องจากสามารถหลั่งเอนไซม์หลายชนิดออกมาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและการดูดซึมสารอาหาร กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ยับยั้งเชื้อก่อโรคและช่วยในการปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง (Boonthai et al., 2011; Liu et al., 2009; Moriarty, 1998: Nimrat et al., 2011; 2012; Ochoa-Solano and Olmos-Soto, 2006; Rengpipat et al., 2000) ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเฉพาะกุ้งทะเลในประเทศไทยมักเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบน้ำ ซึ่งมักมีข้อจำกัดของอายุในการเก็บรักษาที่ค่อนข้างสั้น และรูปแบบผง ซึ่งมีราคาสูง รวมทั้งมีปริมาณและองค์ประกอบของโพรไบโอติกไม่ตรงตามฉลากที่ระบุไว้ในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงทำให้การใช้โพรไบโอติกไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร (Nimrat and Vuthiphandchai, 2011) ซึ่งในการศึกษาก่อนหน้านี้ของสุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และคณะ พบว่าโพรไบโอติกในรูปแบบ Living cell นั้นมี

อายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น จึงมีการพัฒนาโพรไบโอติกในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-dried) โดยมีองค์ประกอบของโพรไบโอติกแตกต่างกัน คือ 1) แบคทีเรียโพรไบโอติกผสมซึ่งเป็น *Bacillus* 5 สายพันธุ์ 2) แบคทีเรียโพรไบโอติกซึ่งเป็น *Bacillus* 5 สายพันธุ์ ร่วมกับยีสต์โพรไบโอติก 2 สายพันธุ์ และ 3) ยีสต์โพรไบโอติก 2 สายพันธุ์ นอกจากนี้ยังพบว่าโพรไบโอติกในรูปแบบดังกล่าวสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม ปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ (Nimrat et al., 2008; 2011; 2012) คณะผู้วิจัยจึงมุ่งมั่นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกรูปแบบใหม่เพื่อการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม ซึ่งสามารถพัฒนาไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์และมีราคาที่ถูก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ ยับยั้งเชื้อก่อโรค ส่งผลให้สัตว์น้ำมีอัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโตและให้ผลผลิตที่เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้ยังช่วยในการปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงได้ โดยคณะผู้วิจัยได้เริ่มการศึกษาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549 ภายใต้โครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติในการควบคุมคุณภาพน้ำ ย่อยสลายของเสีย บำบัดขี้เลนและควบคุมแบคทีเรียก่อโรคในการเลี้ยงกุ้งทะเลเศรษฐกิจ” ที่ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สำหรับเมธีวิจัยระดับกลาง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2549-2551 และโครงการวิจัยที่ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553-2554) และได้ค้นพบองค์ความรู้หลากหลายด้านเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีผลงานในเชิงประจักษ์ คือ บทความวิจัยระดับนานาชาติจำนวน 4 ฉบับ บทความวิจัยระดับชาติจำนวน 4 ฉบับ รวมทั้งการนำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการที่เกี่ยวกับโพรไบโอติกจำนวน 20 ฉบับ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าโพรไบโอติกในรูปของแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งซึ่งมีอายุการใช้งานที่ยืนยาวกว่าแบบเซลล์มีชีวิต แต่ในปัจจุบันพบว่ารูปแบบไมโครแคปซูลเป็นวิธีที่ทันสมัยและสามารถเก็บรักษาอายุของโพรไบโอติกได้ยืนยาวกว่าทั้งรูปแบบเซลล์มีชีวิตและแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องจากการวิจัยที่ได้กล่าวมาแล้ว เพื่อให้ถึงจุดมุ่งหมายในการผลิตผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกในรูปแบบใหม่ที่สามารถเก็บรักษาอายุของผลิตภัณฑ์ได้ยาวนานและมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมคุณภาพสิ่งแวดล้อมและการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยจะทำการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบที่มีการพัฒนาโพรไบโอติกในรูปแบบใหม่ คือ ในรูปแบบไมโครแคปซูลในด้าน (1) การควบคุมแบคทีเรียก่อโรค รวมทั้ง (2) ผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในระบบนิเวศของระบบเพาะเลี้ยงกุ้ง คือแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโร-โทรปทั้งหมด (Total Heterotrophic Bacteria) และแบคทีเรียทางทะเล (3) ความสามารถของโพรไบโอติกซึ่งได้แก่ แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ในการเจริญในระบบทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวน-นาไมขนาดต่าง ๆ และในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง (4) รวมทั้งการเจริญเติบโต อัตราการรอดชีวิต และความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปแบบใหม่คือ รูปไมโครแคปซูลในการควบคุมแบคทีเรียก่อโรค การเพิ่มต้านทานแบคทีเรียก่อโรคและการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเพาะเลี้ยงจำลอง
2. เพื่อพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมโดยการใช้วิธีทางชีวภาพ คือ การใช้ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลทดแทนการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะเพื่อให้การเพาะเลี้ยงกุ้งมีความยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องจากงานวิจัยเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติในการควบคุมคุณภาพน้ำ ย่อยสลายของเสีย บำบัดขี้เลนและควบคุมแบคทีเรียก่อโรคในการเลี้ยงกุ้งทะเลเศรษฐกิจ ทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สำหรับเมธีวิจัยระดับกลาง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2549-2551 และทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553-2554 และจากทุนอุดหนุนการวิจัยของนิสิตระดับบัณฑิตศึกษาจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม พิษวิทยาและการบริหารจัดการสารเคมี ในการทำวิทยานิพนธ์ “เรื่องการประยุกต์ใช้แบคทีเรียและยีสต์โพรไบโอติกในการเพิ่มความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)” และเรื่อง “การประเมินประสิทธิภาพของโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)” ที่ประสบความสำเร็จอย่างดีตลอดมา ซึ่งเป็นฐานองค์ความรู้เพื่อการนำมาใช้ในการศึกษาวิจัยต่อเนื่อง โดยการศึกษาครั้งนี้มีขอบเขตของดังนี้ คือ

ทำการศึกษาการประยุกต์ใช้แบคทีเรียโพรไบโอติกผสมใน 2 รูปแบบ คือ รูปแบบทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลซึ่งเป็นรูปแบบใหม่มาผสมในอาหารที่ใช้เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม เพื่อศึกษาความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียก่อโรคและผลกระทบต่อแบคทีเรียทั่วไป โดยการตรวจสอบจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด แบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae, *V. harveyi*, *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม รวมทั้งอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไม

วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุปทฤษฎีและ/หรือแนวทางความคิดที่นำมาใช้ในงานวิจัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปไมโครแคปซูลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและชนิดของแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด แบคทีเรียทางทะเล *Bacillus* และการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae

2. ทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปไมโครแคปซูลในการเพิ่มการเจริญเติบโต อัตราการรอดชีวิต และเพิ่มความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม

3. ทำให้สามารถพัฒนาโพรไบโอติกให้อยู่ในรูปแบบใหม่คือ รูปไมโครแคปซูลที่ประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยสามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิต ลดปริมาณแบคทีเรียก่อโรค และเพิ่มความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งเป็นองค์ความรู้ใหม่ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ซึ่งการพัฒนาโพรไบโอติกในรูปเซลล์แช่แข็งและรูปไมโครแคปซูลในครั้งนี้ น่าจะสามารถทำให้เป็นผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกชนิดใหม่ที่มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในประเทศไทย ส่งผลให้การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีความยั่งยืนและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

1. กุ้งขาวแวนนาไม
2. คุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้ง
3. การก่อโรคของแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ในกุ้งทะเล
4. โพรไบโอติก
5. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

1. กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* และมีชื่อสามัญว่า Whiteleg Shrimp, White Pacific Shrimp กุ้งขาวแวนนาไมและกุ้งขาวแปซิฟิค โดยกุ้งขาวแวน-นาไมเป็นสายพันธุ์กุ้งทะเลในกลุ่มกุ้งขาวแปซิฟิก กุ้งขาวที่ทำการเพาะเลี้ยงกันอยู่ในปัจจุบันนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มตามสภาพภูมิศาสตร์ของโลก ได้แก่ กุ้งขาวตะวันตก ได้แก่ กุ้งขาวลิโทพีเนีย แวนนาไม กุ้งสีน้ำเงิน กุ้งขาวตะวันออก ได้แก่ กุ้งแชบ๊วย กุ้งขาวจีน กุ้งขาวอินเดีย (ปิยะบุตรวานิชพงษ์พันธ์, 2545ก)

ภาพที่ 1 ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไม (Wakida-Kusunoki et al., 2011)

ประเทศไทยเริ่มนำกุ้งขาวแวนนาไมมาเลี้ยงในปี พ.ศ. 2541 ซึ่งเป็นช่วงแรกของการทดลองเลี้ยงจึงไม่ค่อยได้รับความสนใจเท่าที่ควรประกอบกับการจัดหาพันธุ์กุ้งขณะนั้นมีความยากลำบากและมีราคาแพง ปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งกุลาดำประสบปัญหาโรคระบาด ขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์กุ้งคุณภาพดี และปัญหาที่สำคัญคือ กุ้งกุลาดำแคระแกรนเลี้ยงไม่โต แต่ราคาลูกกุ้งกลับปรับตัวสูงขึ้น ผู้เลี้ยงกุ้งจึงหันมาเลี้ยงกุ้งขาวกันมากขึ้น กุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งทางเลือกใหม่อีกสายพันธุ์ของอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงของประเทศ จัดเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่มีคุณค่าอีกชนิดหนึ่งที่สามารถ

เพาะฟักให้วางไข่และอนุบาลในบ่อคอนกรีตได้เช่นเดียวกันกับกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย (ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธ์, 2545ก)

ธรรมชาติของกุ้งขาวแวนนาไมจะมีอายุขัยประมาณ 36 เดือน โดยจะวางไข่ที่ระดับน้ำลึกประมาณ 30-60 มิลลิเมตร ใกล้พื้นทรายปกติแล้วแม่กุ้งขนาด 60-120 กรัม จะวางไข่ประมาณ 150,000 ถึง 250,000 ฟอง ส่วนแม่กุ้งขนาด 30-45 กรัม จะวางไข่ประมาณไม่เกิน 100,000 ฟอง โดยจะวางไข่ในตอนกลางคืนบนพื้น รูปร่างและโครงสร้างต่างๆ ของกุ้งขาวแวนนาไม แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 อวัยวะและโครงสร้างและหน้าที่ของกุ้งขาว (ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธ์, 2547ก)

อวัยวะและโครงสร้าง	หน้าที่
กล้ามเนื้อโคนขา (Abdominal Striated Muscle)	ช่วยในการเคลื่อนที่และหลบหนีศัตรู
รยางค์คู่ที่ 2 (Antennae)	ทำหน้าที่รับความรู้สึก
ต่อมโคนหนวด (Antennal Gland Complex)	ทำหน้าที่ในการขับถ่ายและรักษาแรงดันภายในร่างกาย
รยางค์คู่แรก (Antennules)	ทำหน้าที่รับความรู้สึกและตอบสนองต่อสารเคมี
เปลือกหุ้ม (Exoskeleton)	ปกป้องอวัยวะภายใน
ส่วนหัว : ปาก หลอดอาหาร และกระเพาะ (Foregut: Mount, Esophagut and Stomach)	ทำหน้าที่ในการกิน เคี้ยว และกักเก็บอาหาร
เหงือก (Gills)	ทำหน้าที่หายใจ ขับถ่าย รักษาแรงดันภายในร่างกายและช่วยในการกรองกินเซลล์
ตับและตับอ่อน (Hepatopancreas)	ช่วยในการย่อยอาหาร ดูดซับ และกักเก็บอาหาร
ต่อมน้ำเหลือง (Lymphoid Organ)	ทำหน้าที่ในการดักจับสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย
ขากรรไกร ระหัดเหงือก เยื่อปิดเหงือก (Mandibles, Mandibular Palps, Gill Barriers)	ทำหน้าที่รับสัมผัส ดักเศษอาหารในน้ำที่ไหลผ่านเหงือก
ส่วนอก (Midgut)	ทำหน้าที่ในการดูดซึมทางผิวหนังและช่วยในการขับถ่าย
ขาเดินและขาว่ายน้ำ (Perelopods and Pleopods)	ช่วยในการเคลื่อนที่และตอบสนองทางสารเคมี

1.1 อนุกรมวิธาน

กุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งที่มีขนาดใหญ่ในวงศ์พีนีไอดี้ (Penaeidae) ถูกค้นพบโดย Boome ในปี ค.ศ. 1931 มีชื่อสามัญที่ F.A.O. รับรองและใช้เรียกกันทั่วโลกคือ Whiteleg Shrimp และอนุกรมวิธานของกุ้งขาวแวนนาไมเป็นดังนี้

Phylum Artropoda
Class Crustacea
Order Decapoda
Suborder Natantia
Tribe Penaeidea
Family Penaeidae
Genus *Litopenaeus*
Species *vannamei*

1.2 การพัฒนาการของกุ้งขาวแวนนาไม สามารถแบ่งออกเป็นระยะต่าง ๆ ดังนี้

1) ระยะนอเพลียส (Nauplius stage)

ตัวอ่อนที่ฟักออกมาจากไข่ จะมีขนาดเล็ก รูปร่างค่อนข้างกลมมีรยางค์ 3 คู่ คู่แรกอยู่ด้านหัวสุดซึ่งจะเจริญเป็นหนวดคู่สั้น (1^{st} Antenna) รยางค์คู่ที่ 2 และคู่ที่ 3 จะเจริญเป็นหนวดคู่ยาว (2^{nd} Antenna) และขากรรไกร (Mandible) ซึ่งอยู่ต่ำลงมาเป็นลำดับ ลูกกุ้งในระยะนี้จะไม่กินอาหารเนื่องจากได้อาหารจากถุงไข่แดง (Yolk sac) มีการลอกคราบ 6 ครั้ง ภายในเวลาประมาณ 45-50 ชั่วโมง จึงพัฒนาเข้าสู่ระยะซูเอีย (บุญรัตน์ ประทุมชาติ และคณะ, 2550)

2) ระยะซูเอีย (Zoea stage)

ตัวอ่อนในระยะนี้จะเริ่มมีช่องอก (Thoracic) ช่องท้อง (Abdomen) และตาเกิดขึ้น ลูกกุ้งจะมีขนาดใหญ่และยาวขึ้น ตัวอ่อนจะค่อย ๆ ลอยตัวขึ้นสู่ผิวน้ำและเริ่มหาอาหารเอง เนื่องจากไข่แดงหมด อาหารของตัวอ่อนในระยะนี้ส่วนใหญ่เป็นแพลงก์ตอนพืชที่มีขนาด 50 - 100 ไมโครเมตร จะมีการลอกคราบ 3 ครั้ง แต่ละครั้งในการลอกคราบจะมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากเดิม ใช้ระยะประมาณ 3-5 วัน จึงเข้าสู่ระยะไมซิส (ธนพงศ์ แสงซื่อ และคณะ, 2547)

3) ระยะไมซิส (Mysis stage)

ลูกกุ้งในระยะนี้สามารถมองเห็นส่วนหัว ส่วนท้อง และกรีได้ชัดเจน ส่วนอกยังรวมอยู่กับส่วนหัว ส่วนท้องแบ่งออกเป็น 6 ปล้อง ปล้องที่ 1 ถึงปล้องที่ 5 มีขนาดเท่ากัน ส่วนปล้องที่ 6 มีขนาดยาวกว่าปล้องอื่น ๆ และมีแพนหาง ขาเดินเริ่มมีข้อปล้องมองเห็นได้ชัดเจน 3 คู่แรกจะมีลักษณะเป็นก้ามและพัฒนาขึ้นเรื่อย ๆ ขาว่ายน้ำเริ่มเกิด รยางค์คู่ที่ 6 มีการเจริญมากขึ้น หางจะแคบเข้าและมีขนข้างละ 7 เส้น ลูกกุ้งในระยะนี้จะลอกคราบ 3 ครั้ง ในเวลาประมาณ 3-5 วัน และพัฒนาเข้าสู่ระยะโพสลาวา (บุญรัตน์ ประทุมชาติ และคณะ, 2550)

4) ระยะโพสลาวา (Post-larva stage)

ระยะนี้ลูกกุ้งจะมีลำตัวยาวประมาณ 5.56 มิลลิเมตร เปลือกคลุมส่วนหัวยาวประมาณ 1.57 มิลลิเมตร ขาเดิน 3 คู่ มีลักษณะเป็นก้าม มองเห็นชัด คู่แรกสั้นและคู่ที่ 3 ยาวที่สุด หางจะแคบเข้าจนแหลม ลูกกุ้งในระยะนี้เริ่มมีรยางค์คราบเหมือนกุ้งเต็มวัย ลูกกุ้งจะพัฒนาการไปเรื่อย ๆ จนเข้าสู่กุ้งวัยรุ่น กุ้งจะอยู่ในระยะนี้ประมาณ 30 วัน มีความยาวประมาณ 1.5-2.0 เซนติเมตร หนักประมาณ 1.01-1.02 กรัม (บุญรัตน์ ประทุมชาติ, 2546)

2. คุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้ง

2.1 ความขุ่น

ความขุ่นของน้ำเป็นค่าที่แสดงให้เห็นว่าน้ำมีสารแขวนลอยอยู่มากน้อยเพียงใด ความขุ่นของน้ำอาจเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ เช่น ปริมาณสารอินทรีย์ สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น แพลงก์ตอน แบคทีเรีย รวมทั้งสารแขวนลอยต่าง ๆ เช่น อนุภาคของดิน ทราย ตลอดจนแร่ธาตุต่าง ๆ เป็นต้น (ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมสิริ, 2528) ความขุ่นรวมทั้งสารแขวนลอยจะมีผลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยมีผลทำให้การสังเคราะห์แสงของพืชน้ำลดลง เนื่องจากความขุ่นจะไปบดบังแสงแดดซึ่งจำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำ ทำให้พืชน้ำที่อยู่บริเวณก้นบ่อไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้และตายในที่สุด และตะกอนจากความขุ่นจะเข้าไปขัดขวางการหายใจของสัตว์น้ำ ส่งผลให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ นอกจากนี้น้ำที่มีความขุ่นมาก ๆ จะทำให้การฟักไข่และการเจริญเติบโตของตัวอ่อนช้าลง และความขุ่นยังทำให้อุณหภูมิในน้ำมีความแตกต่างระหว่างชั้นน้ำ เนื่องจากผิวน้ำด้านบนสามารถดูดซึมแสงแดดได้มากกว่าด้านล่าง ทำให้น้ำด้านบนมีอุณหภูมิสูงกว่าด้านล่าง หากสัตว์น้ำมีการเคลื่อนที่ตามแนวดิ่ง จะทำให้ปรับตัวไม่ทัน และอาจทำให้ตายได้ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วน้ำที่มีความขุ่นมากจะสามารถรับออกซิเจนได้น้อยกว่าน้ำใส ทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลงด้วย (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา, 2539)

2.2 อุณหภูมิ

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำอย่างกะทันหันอาจทำให้สัตว์น้ำช็อกถึงตายได้ เนื่องจากสัตว์น้ำเป็นสัตว์เลือดเย็นไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิของร่างกายให้คงที่ได้ โดยเฉพาะสัตว์น้ำที่อยู่ในวัยอนุบาล รวมทั้งอุณหภูมิยังมีผลต่อการฟักไข่ของสัตว์น้ำหลายชนิด (สุภาพร สุกสีเหลือง, 2550) โดยกุ้งขาวแวนนาไมสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 26 - 29 องศาเซลเซียส แต่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ที่อุณหภูมิ 25 - 35 องศาเซลเซียส (ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์, 2545ข) หากน้ำมีอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้กุ้งเกิดการงอตัว เนื่องจากการเกร็งของกล้ามเนื้อ และอุณหภูมิของน้ำที่ต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียส กุ้งจะไม่ว่ายน้ำและหยุดการกินอาหาร ถ้าอุณหภูมิของน้ำมีค่าต่ำกว่า 14 องศาเซลเซียส จะทำให้กุ้งตาย (วิภูษิต มัณฑะจิตร และคณะ, 2534)

2.3 ความเค็ม

ความเค็มของน้ำมีผลต่อการควบคุมปริมาณน้ำภายในร่างกายของสัตว์น้ำ หากภายในเวลา 2-3 นาที ความเค็มของน้ำมีการเปลี่ยนแปลงมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ สัตว์น้ำจะไม่สามารถปรับตัวได้ทัน และอาจทำให้สัตว์น้ำตายได้ (Lawson, 1995) และความเค็มยังมีผลต่อการละลายน้ำของออกซิเจน โดยพบว่าเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นจะทำให้ออกซิเจนละลายน้ำได้น้อยลง (สไบทิพย์ อมร-จารุชิต และคณะ, 2543) นอกจากนี้มีเชื้อก่อโรคบางชนิด เช่น *Vibrio* sp. เจริญได้ดีที่ความเค็มตั้งแต่ 20 ส่วนในพันส่วนขึ้นไป และ *Pseudomonas* sp. จะเจริญที่ความเค็มต่ำประมาณ 10 ส่วนในพันส่วน ซึ่งอาจส่งผลให้กุ้งติดโรคจากแบคทีเรียดังกล่าวได้ แต่ในปัจจุบันพบว่าการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มของน้ำเท่ากับ 3 - 10 ส่วนในพันส่วน จะง่ายกว่าการเลี้ยงด้วยน้ำทะเลความเค็มปกติ เนื่องจากน้ำที่มีความเค็มต่ำมีปัญหาจากโรคน้อยมาก โดยเฉพาะปัญหาจากโรคแบคทีเรียเรืองแสง เป็นต้น (ชลอ ลิ้ม-สุวรรณ, 2543)

2.4 ออกซิเจนที่ละลายน้ำ

ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่อาศัยอยู่ในน้ำ (นฤมล อัศวเกศมณี, 2549) น้ำที่มีความเค็มและอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ออกซิเจนละลายน้ำได้ลดลง ซึ่งพบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำจะมีค่าต่ำสุดในตอนเช้ามืด เนื่องจากออกซิเจนถูกใช้ในกระบวนการย่อยสลายของเสีย โดยแบคทีเรียและการหายใจของสิ่งมีชีวิตในบ่อ ส่วนในช่วงตอนกลางวันจะมีค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำสูงสุด เพราะแพลงก์ตอนพืชเริ่มมีการสังเคราะห์แสงทำให้ปริมาณออกซิเจนมากขึ้น (พุทธ ส่องแสงจินดา, 2544) ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งควรมีค่าเฉลี่ยประมาณ 4 - 9 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะทำให้กุ้งเจริญเติบโตได้ดี ย่อยสลายสารอินทรีย์ได้เร็ว แต่ถ้าหากในน้ำมีปริมาณออกซิเจนน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งผลทำให้กุ้งตายได้ (ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์, 2547ข; 2548)

2.5 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของกุ้งเป็นอย่างมาก เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างมีผลต่อคุณสมบัติอื่น ๆ ของน้ำ เช่น มีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย ไนไทรต์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่มีความเหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกุ้งควรอยู่ระหว่าง 7.5-8.5 และความแตกต่างของค่าความเป็นกรด-ด่างในรอบวันไม่ควรมากกว่า 0.5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำในรอบวันมากเกินไปจะมีผลทำให้กุ้งเครียด มีผลต่อการเจริญเติบโตด้วย การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างในบ่อเลี้ยงกุ้งขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของดิน ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) การผลิตและการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับปริมาณแพลงก์ตอนพืช ผลของการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างต่อกุ้งมีการศึกษาไม่มากแต่น่าจะคล้ายกับปลาที่สามารถสรุปคร่าว ๆ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลกระทบของค่าความเป็นกรด-ด่างต่อกุ้ง (Boyd, 1982)

ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ผลกระทบ
น้อยกว่า 4	เป็นกรด กุ้งจะตาย
มากกว่า 4-6	การเจริญเติบโตช้า
มากกว่า 6-9	การเจริญเติบโตดีที่สุด
มากกว่า 9-11	การเจริญเติบโตช้า
มากกว่า 11	เป็นด่าง กุ้งจะตาย

2.6 สารอินทรีย์ไนโตรเจน

รูปแบบที่สำคัญของไนโตรเจนในแหล่งน้ำมี 3 รูปแบบ ได้แก่ แอมโมเนีย (NH_3) ไนไทรต์ (NO_2^-) และไนเทรต (NO_3^-) แอมโมเนียเป็นสารที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำแม้อยู่ในระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ วิภูษิต มัณฑะจิตร และคณะ (2534) รายงานว่าค่าแอมโมเนียที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งไม่ควรเกิน 0.0396 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนไนไทรต์เป็นสารที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำเช่นกัน เนื่องจากเมื่อไนไทรต์เข้าไปในเลือดสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับฮีโมโกลบินในเลือดเป็นผลให้ฮีโมโกลบินเปลี่ยนเป็นเมทฮีโมโกลบิน ทำให้ความสามารถในการแลกเปลี่ยนออกซิเจนลดลง เลือดจึงมีออกซิเจนต่ำกว่าปกติ (สุภาพร สุกสีเหลือง, 2550) ส่งผลให้ระบบหายใจของกุ้งผิดปกติ กุ้งลอกคราบไม่ออก เปลือกนิ่ม และมีการกินกันเองในขณะลอกคราบ นอกจากนี้ไนไทรต์ยังทำให้ระดับโปรตีนและความเป็นกรด-ด่างของเลือดกุ้งลดลง ซึ่งมีผลต่อชีวเคมีในเลือดของกุ้ง และขบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกายมีประสิทธิภาพลดลงทำให้การเจริญเติบโตของกุ้งลดลง เกิดการสะสมของยูเรียในเลือดกุ้ง และมีการดูดซึมน้ำมากทำให้สมดุลเกลือแร่เปลี่ยนแปลงไป (พุทธ ส่องแสงจินดา, 2546)

2.7 ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen sulfide; H_2S)

ในสภาพที่ขาดออกซิเจนแบคทีเรียบางชนิดสามารถใช้กำมะถันในรูปซัลเฟตและสารประกอบกำมะถันตัวอื่น ๆ ที่อยู่ในรูปออกซิไดซ์และเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของซัลไฟด์ ซึ่งจะอยู่ใน 3 รูปแบบคือ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ไฮโดรเจนซัลไฟด์ไอออน (HS^-) และไบซัลไฟด์ไอออน (S^{2-}) สัดส่วนของแต่ละชนิดที่พบจะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ น้ำที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำจะมีเปอร์เซ็นต์ของ H_2S สูง แต่เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์ของ H_2S จะลดลง และ S^{2-} มากขึ้นทำให้ความเป็นพิษของสัตว์น้ำลดลงด้วย ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ร้อยละของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Boyd and Tucker, 1998)

ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ร้อยละ
5.0	99.0
5.5	97.0
6.0	91.1
6.5	76.4
7.0	50.6
7.5	24.4
8.0	9.3
8.5	3.1
9.0	1.0

ความเป็นพิษของไฮโดรเจนซัลไฟด์จะคล้ายคลึงกับการขาดออกซิเจน เนื่องจากไปขัดขวางออกซิเจนภายในเซลล์ทำให้ปริมาณแลคเตท (Lactate) ในเลือดสูงขึ้น ความเป็นพิษของไฮโดรเจน-ซัลไฟด์จะรุนแรงกว่าการขาดออกซิเจน ระดับความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์สูงสุดที่ไม่เป็นอันตรายต่อกุ้งคือ 0.033 พีพีเอ็ม ไฮโดรเจนซัลไฟด์สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) เข้าไปในร่างกายของสัตว์ได้ การเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในบ่อเลี้ยงกุ้งส่วนใหญ่เกิดมาจากการให้อาหารมากเกินไปหรือแพลงก์ตอนตายเป็นจำนวนมากแล้วเกิดการเน่าสลาย พื้นบ่อมีสีดำและมีกลิ่นคล้ายไข่เน่า

3. การก่อโรคของแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ในกุ้งทะเล

3.1 โรคจากวิบริโอ โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกุ้ง ส่วนมากจะเกิดจากเชื้อแบคทีเรียสกุลวิบริโอ ซึ่งโดยธรรมชาติแล้ว เชื้อวิบริโอนี้จะเป็นเชื้อปรกติที่พบตามตัวกุ้ง เหงือก และทางเดินอาหารอยู่แล้วแต่จะทำให้เกิดโรคได้เมื่อสภาวะแวดล้อมต่างๆ ไม่เหมาะสม เช่น ขาดสารอาหาร สภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม กุ้งเครียด อ่อนแอ หรือแสดงอาการร่วมกับไวรัสชนิดอื่น สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus, V. harveyi* และ *V. alginilyticus* อาการของกุ้งที่ติดโรค กุ้งกินอาหารน้อยลง ลำไส้ขาว ตับ ตับอ่อนผิดปรกติ สีเนื้อจะขุ่น ขึ้นมาเกาะขอบบ่อ ตัวสกปรก มีตะกอนเกาะตามผิว ตัวหลวม เมื่อนำตับและตับอ่อน มาเพาะเชื้อจะพบเชื้อเป็นจำนวนมาก หากปล่อยไว้นานอาการจะรุนแรงรักษายาก

3.2 โรคเรืองแสง เป็นโรคที่สร้างความเสียหายให้อย่างมากต่อโรงเพาะฟักและบ่อดิน พบการแพร่กระจายทั่วไปทั้งตามชายฝั่งและพื้นที่ความเค็มต่ำ สาเหตุเกิดได้จากหลายประการทั้งคุณภาพน้ำที่ไม่ดี ทำให้ *V. harveyi* ที่ปกติพบอยู่แล้วในน้ำเข้าทำอันตรายต่อกุ้ง เมื่อกุ้งไม่แข็งแรง อาการของกุ้งที่ติดโรค กุ้งลอยขอบบ่อ ไม่กินอาหาร ตัวหลวม สีลำตัวจะขุ่น ซี่เหงือกมีสีดำ ตับอักเสบ

ตับอ่อน สีซีดลง และจะมีการเรืองแสงเกิดขึ้นในเวลากลางคืน การรักษาจะใช้ยาปฏิชีวนะและฆ่าเชื้อในน้ำด้วยไอโอดีนหรือบีเคซี

3.3 โรคตัวแดง กุ้งที่เป็นโรคนี้ตามปล้องจะสังเกตเห็นเป็นจุดสีแดง พบได้ในกุ้งขนาดต่าง ๆ สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* sp. (*V. paraheamolyticus, V. anguillarum*) มีลักษณะอาการคือ เมื่อกุ้งเป็นโรคนี้แล้วมักจะไม่กินอาหาร ว่ายน้ำเชื่องช้า ชอบมาเกยขอบบ่อ

3.4 โรคเสี้ยนดำ มีสาเหตุมาจาก *Vibrio vulnificus* ซึ่งจะเข้าแทรกซ้อนเมื่อลูกกุ้งอ่อนแอ อาการของกุ้งที่ติดโรค ตามเปลือกกุ้งจะมี จุดสีดำและมีก้านต่อแทงเข้าไปในกล้ามเนื้อกุ้ง โดยเฉพาะบริเวณรอยต่อระหว่างปล้อง เมื่อนำกุ้งไปต้มจะพบก้านที่แทงเข้าไปในกล้ามเนื้อ จะมีสีดำคล้ายเสี้ยนค่อนข้างชัดเจน

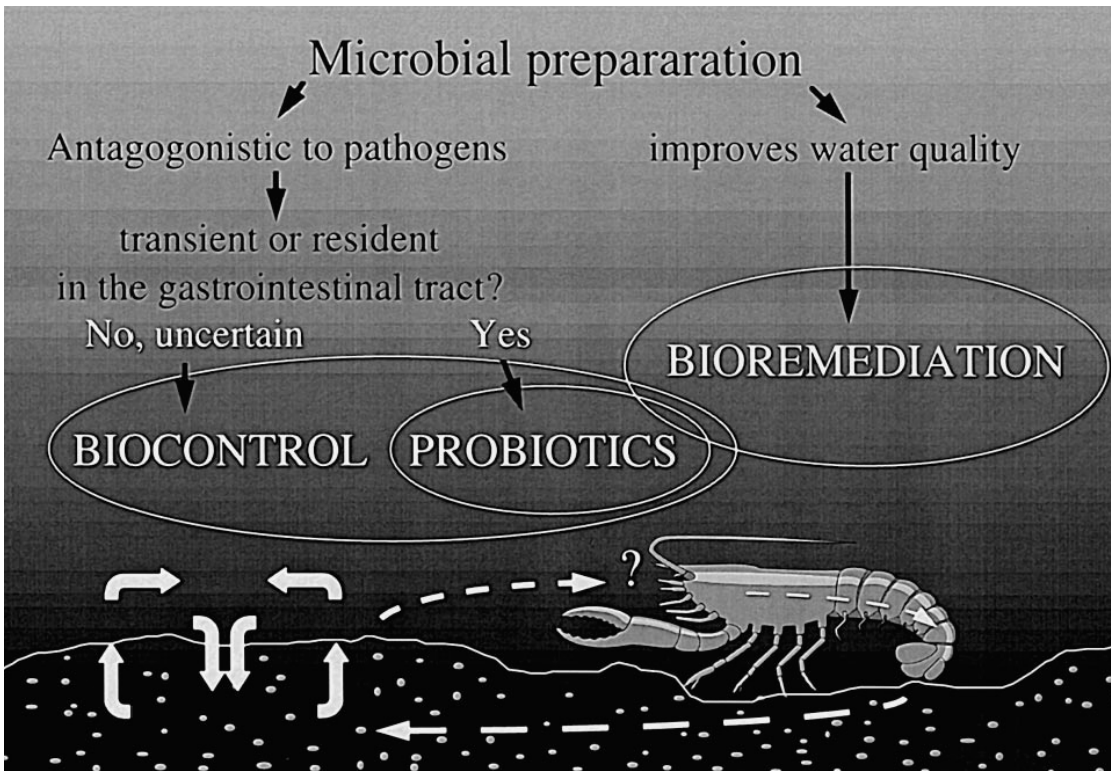
3.5 โรคตับอักเสบ พบมากในเขตน้ำกร่อยและเค็ม โดยจะออกฤทธิ์ที่ตับและตับอ่อน ซึ่งเป็นแหล่งสะสมอาหารและสร้างน้ำย่อย สะสมเกลือแร่และสารพิษต่างๆ ทำให้มีโอกาสติดเชื้อได้ง่าย โดยเชื้อจะเข้าสู่ตัวกุ้งทางการกินอาหารและบาดแผล สาเหตุเกิดจากการจัดการภายในบ่อที่ไม่ดี ทำให้เชื้อในสกุล *Vibrio* sp. ที่มีอยู่ในน้ำเข้าทำอันตรายต่อกุ้ง โดยเฉพาะตับและตับอ่อน อาการของกุ้งที่ติดโรค กุ้งอ่อนแอกินอาหารได้น้อยลง ตับจะมีขนาดโตหรือฝ่อ เปลี่ยนเป็นสีขาว ซีดหรือดำคล้ำ กล้ามเนื้อมีสีขาวขุ่น ถ้าไม่ทำการรักษากุ้งจะลอยหัวและเริ่มตายมากขึ้น

3.6 โรคกุ้งขี้ขาว มีสาเหตุมาจากอาการลำไส้ตอนบนของกุ้งอักเสบ เนื่องจากอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อราหรืออาหารมีคุณภาพต่ำ เช่นปลาป่นที่มีคุณภาพต่ำและปนเปื้อนแคปซูลของแบคทีเรีย การติดเชื้อแบคทีเรียสกุลวิบริโอ มีลักษณะอาการคือ ลำไส้ตอนต้นของกุ้งอักเสบ ขุ่นขาว ขี้กุ้งจะเป็นสีขาว ในกรณีที่กุ้งเป็นขี้ขาวจำนวนมากจะพบขี้กุ้งลอยตามน้ำอยู่บริเวณริมขอบบ่อด้านปลายลม การป้องกันรักษา จะให้กุ้งกินยาซัลฟา+ไตรเมทโธปริม 3-5 กรัม/อาหาร 1 กก. ทุกมื้อ 5-7 วัน

4. โพรไบโอติก

ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจำเป็นต้องมีการควบคุมแบคทีเรียก่อโรค ในอดีตการควบคุมแบคทีเรียก่อโรคนิยมใช้สารเคมีและสารปฏิชีวนะ สารปฏิชีวนะนี้เองทำให้แบคทีเรียเกิดการดื้อยา (Weston, 1996) ยีนดื้อยาสามารถถ่ายทอดสู่แบคทีเรียสายพันธุ์อื่นได้โดยผ่านพลาสมิดหรือแบค-เทอริโอฟาจทำให้เกิดการแพร่กระจายยีนดื้อยาสู่แบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม (Towner, 1995) การใช้สารปฏิชีวนะในโรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นที่แพร่หลายในประเทศแถบลาตินอเมริกาและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เมื่อไม่นานมานี้เองมีการใช้จุลินทรีย์เป็นโพรไบโอติกและวัคซีนเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ (Gomez-Gil et al., 2000)

แบคทีเรียที่ได้รับความนิยมนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงกุ้ง ปู หอยและปลา ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Bacillus* และแบคทีเรียแลกติก (Gomez-Gil et al., 2000) ปัจจุบันการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ขยายตัวเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเป็นการเพาะเลี้ยงที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Gatesoupe, 1999) โดยการใช้ประโยชน์จากโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ 1) จุลินทรีย์ที่ใช้บำบัดคุณภาพน้ำและพื้นบ่อ และ 2) จุลินทรีย์สำหรับให้สัตว์กินเข้าไปในร่างกาย อาจใช้แบบผสมอาหารหรือวิธีการอื่น อยู่ภายใต้การควบคุมต้องจดทะเบียนกับกรมปศุสัตว์เป็นประเภทอาหารเสริมชีวนะ (ดังภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การใช้ประโยชน์จากโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Gatesoupe, 1999)

จากรูปจะเห็นได้ว่าการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มหนึ่งเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการปรับปรุงคุณภาพน้ำซึ่งถือเป็นการฟื้นฟูทางชีวภาพ อีกกลุ่มหนึ่งคือการใช้จุลินทรีย์เพื่อต่อต้านเชื้อก่อโรคซึ่งอาจแบ่งย่อยออกเป็นตัวควบคุมทางชีวภาพมีหน้าที่ในการต่อต้านเชื้อก่อโรค และโพรไบโอติกมีหน้าที่ในการต่อต้านเชื้อก่อโรคและมีความสามารถในการดำรงอยู่ในระบบทางเดินอาหารของผู้รับได้ ซึ่งไม่ว่าจะนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านใดล้วนก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมทั้งสิ้น (Gatesoupe, 1999)

ในสากลจุลินทรีย์ที่ให้สัตว์กินจะแยกส่วนออกมาและใช้คำว่า Direct Fed Microbial (D.F.M.) ส่วนคำว่าโพรไบโอติกโดยทั่วไปถือว่าเป็นสรรพคุณไม่ใช่ตัวสาร ทั้งจุลินทรีย์ที่ใส่น้ำและให้กิน สามารถให้สรรพคุณที่เป็นโพรไบโอติก เอฟเฟคได้ (Probiotic Effect) คือ การมีชีวิตและเพิ่มจำนวนรวมถึงเจริญขึ้นมาข่มจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ (Compettitive Exclusion) และสร้างสารที่มีประโยชน์ เช่น สารปฏิชีวนะ เอนไซม์ กรดอ่อน กรดแลคติก เป็นต้น (วิชัย ลาภจตุพร, 2546)

โพรไบโอติกเป็นการใช้จุลินทรีย์เพื่อเสริมการเจริญเติบโตและสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่กุ้งด้วยจุลินทรีย์ ซึ่งหลักการของโพรไบโอติกนั้นคือ การใช้จุลินทรีย์เสริมในอาหารสัตว์เพื่อส่งผลให้เกิดสมดุลในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งโดยปกติจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้จะมีทั้งประเภทที่ดีและไม่ดีต่อตัวกุ้ง เมื่อมีการเสียสมดุลและมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ไม่ดีจำนวนมากกว่าจะทำให้เกิดโรคในตัวกุ้ง จึงมีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการเลี้ยงตัวอ่อนกุ้ง ผลที่ได้รับคือได้กุ้งที่เจริญเติบโตในบ่อเป็นที่น่าพอใจ (Rengpipat et al., 1998)

4.1 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค

การใช้โพรไบโอติกเป็นการควบคุมทางชีวภาพโดยอาศัยศัตรูทางธรรมชาติเข้าทำลายหรือควบคุมเชื้อก่อโรคไม่ให้ทวีจำนวนจนเป็นอันตราย (Debach and Rosen, 1991) การทำงานของโพรไบโอติกเกิดจากการข่มและแข่งขันกันในการแย่งอาหารและครอบครองพื้นที่บริเวณเซลล์เยื่อบุท่อทางเดินอาหารระหว่างจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และจุลินทรีย์ก่อโรค โดยโครงสร้างของทางเดินอาหารจะมีจุดสำหรับจุลินทรีย์ยึดเกาะ ดังนั้นจุลินทรีย์ที่สามารถแย่งจุดยึดเกาะได้ก็จะสามารถดำรงชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้ ส่วนจุลินทรีย์ที่ล่องลอยอยู่ในระบบทางเดินอาหารก็จะถูกกำจัดออกไปทางอุจจาระ โพรไบโอติกยังมีความสามารถในการกระตุ้นให้เซลล์เยื่อบุหลุดออกแล้วกระตุ้นให้สร้างเซลล์ใหม่ทดแทนร่วมกับกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ได้อีกด้วย (Verschuere et al., 2000) นอกจากนี้โพรไบโอติกยังสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สารปฏิชีวนะ เป็นต้น โพรไบโอติกที่ดีนั้นจะต้องเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ก่อประโยชน์โดยการเพิ่มการเจริญเติบโตต่อกุ้ง ไม่ก่อให้เกิดโรค เป็นเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่เพิ่มจำนวนได้มาก สามารถเจริญและทำงานได้ดีในระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งมีความคงทนต่อการเก็บรักษา จุลินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นโพรไบโอติกได้แก่ *Bacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Clostridium botyricum*, *Enterococcus* sp., *E. coli*, *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp. (ภวัต สังขะวัฒนะ, 2544)

4.2 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้ง

ปัจจุบันกลไกการทำงานของโพรไบโอติกยังไม่ทราบแน่ชัด ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าโพรไบโอติกเข้าไปจับกับบริเวณยึดเกาะ (Receptor) แทนที่จุลินทรีย์ที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของกุ้ง ทำให้กุ้งมีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว นอกจากนี้โพรไบโอติกจะช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานได้ดีขึ้นโดยการสังเคราะห์วิตามิน โคแฟคเตอร์ และเอนไซม์ต่างๆ มาช่วยย่อยอาหาร ทำให้อาหารที่เติมลงไปถูกดูดซึมและนำไปใช้ในการเจริญเติบโตมากขึ้นจึงส่งผลให้น้ำหนักกุ้งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Gullian et al., 2004)

4.3 คุณสมบัติของโพรไบโอติกต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้ง

ระบบภูมิคุ้มกันคือ กลไกของสัตว์ในการป้องกันตัวเองและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สัตว์เกิดอาการเจ็บป่วยและตาย โดยระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งนั้นจะมีเซลล์เม็ดเลือดเป็นจุดศูนย์กลาง แตกต่างจากสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังที่มีเซลล์เม็ดเลือดอยู่ 2 ชนิด คือ เซลล์เม็ดเลือดแดงทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกาย และเซลล์เม็ดเลือดขาวทำหน้าที่ในการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค แต่สำหรับเซลล์เม็ดเลือดกุ้งนั้นจะทำหน้าที่ทั้งกำจัดทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าไปทำอันตรายต่อกุ้ง หน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือดกุ้งแสดงดังตารางที่ 4 และน้ำเลือดของกุ้งที่มีสีน้ำเงินซึ่งเป็นสีของฮีโมไซยานินที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบทำหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนและขนส่งออกซิเจนไปหล่อเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อ เซลล์เม็ดเลือดถูกสร้างจากเนื้อเยื่อที่เรียกว่า Hematopoietic Tissue (HPT) ซึ่งพบในบริเวณฐานกรีและโคนขาเดินในส่วนอก เมื่อเซลล์เม็ดเลือดถูกสร้างขึ้นมาแล้วจะถูกส่งไปใช้ในระบบหมุนเวียนเลือดและถูกหัวใจบีบส่งไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกาย (กิจการ ศุภมาตย์ และคณะ,

2543) โดยปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขึ้นอยู่กับระยะการลอกคราบ พบว่าปริมาณเซลล์เม็ดเลือดเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในระยะก่อนการลอกคราบ เซลล์เม็ดเลือดกุ้งสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

4.3.1 ไฮยาลิน (Hyalin Cell) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีรูปร่างแบน กลม ผิวเรียบ บางครั้งจะพบมีลักษณะคล้ายกระสวย มีนิวเคลียสขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์ มีไซโทพลาสซึมน้อย ไม่มีกรานูล ภายในเซลล์ เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดเล็กที่สุด

4.3.2 เซมิกรานูลลาร์ (Semigranular Hemocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีเม็ดกรานูลขนาดเล็กอยู่ในเซลล์ไม่มากนัก เซลล์มีความยาว 9.0-14.2 ไมโครเมตร กว้าง 4.2-6.8 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 7-10 ไมโครเมตร

4.3.3 กรานูลลาร์ (Large Granular Hemocyte) เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดและมีกรานูลขนาดใหญ่เป็นจำนวนมากภายในไซโทพลาสซึม เซลล์มีความยาว 12.2-14.6 ไมโครเมตร กว้าง 7.2-7.8 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 8-10 ไมโครเมตร (ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์, 2543)

ตารางที่ 4 หน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือดกุ้ง (ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์, 2543)

การทำงาน	ชนิดของเม็ดเลือด		
	ไฮยาลิน	เซมิกรานูลลาร์	กรานูลลาร์
การจับกิน (Phagocytosis)	ทำงาน	ทำงานน้อย	ไม่ทำงาน
การห่อหุ้ม (Encapsulation)	ไม่ทำงาน	ทำงาน	ทำงานน้อยมาก
การแข็งตัวของเลือด (Clotting)	ทำงาน	ไม่ทำงาน	ไม่ทำงาน
Cytotoxicity	ยังศึกษาน้อย	ทำงาน	ทำงาน
Prophenoloxidase System	ไม่ทำงาน	ทำงาน	ทำงาน

กระบวนการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายของกุ้งมีทั้งกิจกรรมที่เกิดขึ้นโดยการตอบสนองของเซลล์และสารน้ำ (Cellular and Humoral Response) ซึ่งกิจกรรมที่เกิดขึ้นมีหลายแบบ คือ โปรตีนชนิดต่างๆ ในซีรัม เช่น แอกกลูตินิน (Agglutinin) ฮีโมไลซิน (Hemolysin) ไลโซไซม์ (Lysozyme) และโปรตีนที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือด (Clotting Protein) ซึ่งจะก่อให้เกิดกระบวนการเกาะกลุ่ม (Adhesion) การจับกิน (Phagocytosis) การห่อหุ้ม (Encapsulation) และการสร้างเม็ดสี (Melanization) และระบบอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น การแข็งตัวของเลือดและสมานแผล ระบบ Prophenoloxidase Activating ในระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องในกระบวนการต่อต้านสิ่งแปลกปลอม คือเซลล์เม็ดเลือดและเซลล์จับกินอยู่กับที่ (Fixed Phagocyte) ที่กระจายอยู่ตามเนื้อเยื่อต่างๆ โดยกระบวนการแต่ละชนิดทำงานดังนี้

1) กระบวนการแข็งตัวของเลือดและสมานบาดแผล (Clotting and Wound Healing) เป็นกระบวนการที่ยับยั้งการสูญเสียเลือดเมื่อเกิดบาดแผลและป้องกันการติดเชื้อ การแข็งตัวของเลือดจะเกิดจากการทำงานของเม็ดเลือดไฮยาลินและโคแอคกลูโลเจน (Coagologen)

2) การจับกิน (Phagocytosis) เกิดขึ้นเมื่อเม็ดเลือดเซมิกรานูลลาร์พบสิ่งแปลกปลอมโดยจะยื่นไซโทพลาสซึมไปล้อมรอบสิ่งแปลกปลอมแล้วกลืนเข้าสู่ภายในเซลล์ จากนั้นจะนำออกซิเจนเข้าสู่เซลล์และออกซิเจนจะถูกรีดิวส์เป็นซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนและจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และไฮดรอกซิลเรดิคอล ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้จะเป็นตัวทำให้สิ่งแปลกปลอมที่ถูกกลืนกินเข้าไปในเซลล์ถูกทำลาย

3) การสร้างโนดูล (Nodule Formation) เมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากจนเกินความสามารถของการจับกินที่จะทำลายได้ทัน ดังนั้นเซลล์เม็ดเลือดจะมารวมกันมากขึ้นเพื่อล้อมรอบไม่ให้สิ่งแปลกปลอมนั้นแพร่กระจายไปได้

4) การห่อหุ้ม (Encapsulation) เกิดขึ้นเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมขนาดใหญ่เข้าสู่ร่างกายหรือเชื้อที่ทำอันตรายต่อร่างกายเพิ่มจำนวนจนการสร้างโนดูลไม่สามารถควบคุมได้ ดังนั้นเซลล์เม็ดเลือดจำนวนมากจะเข้าล้อมรอบและมีการทำงานของระบบ Prophenoloxidase Activating เข้ามาทำงานร่วมด้วย

5) ระบบ Prophenoloxidase Activating เป็นระบบการสร้างเม็ดสีดำที่เรียกว่าเมลานิน (Melanin Pigment) ซึ่งเป็นตัวทำลายสิ่งแปลกปลอม ระบบนี้ทำงานโดยอาศัยองค์ประกอบของเอนไซม์โพรฟีนอลออกซิเดส (Prophenoloxidase) ซึ่งจะพบได้ในเม็ดกรานูลในไซโทพลาสซึมของเม็ดเลือดชนิดเซมิกรานูลลาร์และกรานูลลาร์ การทำงานจะเริ่มต้นเมื่อเซลล์เม็ดเลือดที่มีกรานูลถูกกระตุ้นด้วยผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีองค์ประกอบจำพวกไลโปพอลิแซคคาไรด์ เบต้า-1,3 กลูแคน และผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะได้เป็นเมลานินซึ่งเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ (กิจการ ศุภมาตย์ และคณะ, 2543)

การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของโพรไบโอติกเกิดจากองค์ประกอบของผนังเซลล์จำพวกเบต้า-1,3 กลูแคน ไลโปพอลิแซคคาไรด์ เปปติโดไกลแคนและมูรามิลไดเปปไทด์ (Anderson, 1992; Vargas-Albores et al., 1998) โดยสารประกอบเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคกลุ่ม Vibrios และไวรัสตัวแดงจุดขาว (White Spot Syndrome Virus; Itami et al., 1998)

5. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

ปาจรีย์ จือเหลียง และคณะ (2555) ได้ทำการศึกษาผลของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุม *V. harveyi* และอัตราการรอดชีวิตในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยทำการคัดแยกแบคทีเรียจากผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก ซึ่งคัดแยกได้ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Brevibacillus parabrevis*, *Bacillus velezensis*, *B. amyloliquifaciens*, *B. subtilis* และ *B. megaterium* จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* ด้วยวิธี Agar wells plate ผลการทดสอบพบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 5 สายพันธุ์ มีความสามารถในการยับยั้ง *V. harveyi* ได้ดีภายในเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการศึกษาผลของโพรไบโอติกต่ออัตราการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมขนาดน้ำหนัก 7 - 8 กรัม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม (เลี้ยงด้วยอาหารปกติ) และชุดทดลอง ซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่ผสมผลิตภัณฑ์โพรไบโอ-ติกในอัตราส่วนโพรไบโอติก 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน ผลการทดลองพบว่าอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดทดลอง (75.00 ± 1.92%) มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม (63.33 ± 2.72%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) แต่

น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งในกลุ่มทดลอง (21.55 ± 1.98 กรัม) มีค่าไม่แตกต่างกับชุดควบคุม (23.70 ± 1.57 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

Rengpipat et al. (2000) ได้ศึกษาผลของ *Bacillus* S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกต่อการเสริมภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์ (Cellular defenses) ได้แก่ กระบวนการกลืนทำลาย (Phagocytosis) และฟีนอลออกซิเดส (Phenoloxidase) และภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยสารน้ำ (Humoral defenses) ได้แก่ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial activity) ในกุ้งกุลาดำ โดยเลี้ยงกุ้งกุลาดำในถังพลาสติกกลมที่มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดเป็นเวลา 90 วัน พบว่ากลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตและน้ำหนักสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก อีกทั้งมีปริมาณเม็ดเลือดรวม การกลืนทำลายและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก เมื่อครบ 90 วันของการทดลองได้เหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ที่มีความรุนแรงกว่าสายพันธุ์ D331 เป็นเวลา 10 วัน ซึ่งกุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 54.3 สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกคือมีค่าเท่ากับร้อยละ 35.5 ซึ่งเป็นผลมาจาก *Bacillus* S11 กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยสารน้ำและระบบภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์ รวมทั้งการแข่งขันแย่งชิงอาหารในท่อทางเดินอาหารทำให้เชื้อก่อโรคไม่สามารถเจริญได้

Vaseeharan and Ramasamy (2003) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus* ในการต่อต้านเชื้อ *Vibrio* โดยทำการศึกษาทั้งในระดับสัตว์ทดลองและระดับห้องปฏิบัติการ โดยในระดับห้องปฏิบัติการได้ใช้สารสกัดจากเซลล์ *B. subtilis* สายพันธุ์ BT23 ในการต้านการเจริญของ *V. harveyi* ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำ เพื่อดูประสิทธิภาพของ *Bacillus* ที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติก ขณะที่การศึกษาในระดับสัตว์ทดลองได้นำ *B. subtilis* BT23 ที่ความเข้มข้น 10^6-10^8 CFU/ml เลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 6 วัน ก่อนที่จะกระตุ้นให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* ที่ความเข้มข้น 10^3-10^4 CFU/ml เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วย *B. subtilis* BT23 สามารถลดอัตราการตายสะสมได้ร้อยละ 90 และพบว่า *B. subtilis* BT23 สามารถควบคุมการเจริญของ Vibrios ได้ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและระดับสัตว์ทดลอง

Gullian et al. (2004) ทำการคัดเลือกแบคทีเรีย 80 สายพันธุ์ ที่แยกได้จาก Hepatopancreas ของกุ้งที่มีสุขภาพดีจากฟาร์มในประเทศเอกวาดอร์ โดยใช้วิธี Agar Diffusion Technique และ Monoclonal Antibody พบว่า *Vibrio* P62, *Vibrio* P63 และ *Bacillus* P64 สามารถยับยั้ง *V. harveyi* (S2) ได้เป็นอย่างดี โดยสามารถยับยั้งได้ 54 %, 19 % และ 34 % ตามลำดับ จากนั้นนำแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์นี้ ไปทดลองกับกุ้งขาวแวนนาไม โดยทำการทดสอบความเป็นเชื้อก่อโรคและการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเซลล์ผู้ให้อาศัย ซึ่งใช้ *V. alginolyticus* (Ili) เป็นชุดควบคุมผลบวก และกุ้งที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกเป็นกลุ่มควบคุมผลลบ จากการทดลองพบว่า *Bacillus* P64 สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีใกล้เคียงกับ *V. alginolyticus* ขณะที่ *Vibrio* P62 กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ในระดับต่ำ และกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ มีน้ำหนักตัวมากกว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก

Ochoa-Solano and Olmos-Soto (2006) ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่สามารถแยกได้จากดินตะกอนน้ำเค็ม จากนั้นนำมาศึกษาความสามารถในการเจริญและย่อยสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาไม่แพง (Soybean Mineral Medium) จากการศึกษาพบว่า

Bacillus ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* และ *B. megaterium* ที่สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสารประเภทคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดี ดังนั้น *Bacillus* สายพันธุ์ดังกล่าวจึงน่าจะนำมาประยุกต์ใช้เป็นโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล เพื่อส่งเสริมประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอาหารและเพิ่มการดูดซึมสารอาหารของกุ้ง

Ziaei-Nejad et al. (2006) ได้ทำการศึกษาผลของ *Bacillus* ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ อัตราการรอดชีวิตและอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวอินเดีย (*Fenneropenaeus indicus*) ใน 3 ระยะ ได้แก่ ระยะนอร์เพลียสถึงซูเอีย ซึ่งให้โพรไบโอติกด้วยการเติมลงในน้ำที่เพาะเลี้ยง ระยะไมซิสถึงโพสลาวา 14 ให้โพรไบโอติกด้วยการเติมลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงและอาหาร (อาร์ทีเมีย) และระยะสุดท้าย คือ ระยะโพสลาวา 30-120 ให้โพรไบโอติกด้วยการเติมลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเช่นเดียวกัน จากการทดลองได้ทำการนับจำนวน *Bacillus* ในท่อทางเดินอาหาร เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณ *Bacillus* ในท่อทางเดินอาหารที่เลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียที่เติมโพรไบโอติกมีมากกว่าการเติมโพรไบโอติกลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอสและไลเปสของกุ้งขาวอินเดียที่เติมโพรไบโอติกมีระดับที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับโพรไบโอติกอย่างชัดเจน นอกจากนี้อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดชีวิตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งที่ได้รับโพรไบโอติกยังมีค่าที่ดีกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกอีกด้วย ดังนั้นการเลี้ยงกุ้งด้วยโพรไบโอติกตั้งแต่ยังเพาะเลี้ยงอยู่ในโรงเพาะเลี้ยงจนถึงเพาะเลี้ยงอยู่ในฟาร์มจะช่วยพัฒนาการเจริญเติบโตของกุ้งขาวอินเดียได้เป็นอย่างดี

Balcazar et al. (2007) ได้คัดแยก *Vibrio alginolyticus* UTM 102, *Bacillus subtilis* UTM 126, *Roseobacter gallaeciensis* SL V03 และ *Pseudomonas aestumarina* SL V22 จากทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม จากนั้นนำมาผสมกับอาหารเพื่อใช้เป็นโพรไบโอติกสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นเวลา 28 วัน พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับ *R. gallaeciensis* SL V03 เป็นโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 96.00 ± 1.98 % และ 4.08 ± 0.12 ตามลำดับ และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 0.74 ± 0.10 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับแบคทีเรียโพรไบโอติกชนิดอื่น แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกลุ่มควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 89.75 ± 1.96 %, 3.46 ± 0.22 % และ 0.98 ± 0.11 % ตามลำดับ สรุปได้ว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกทางการค้าและจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่คัดแยกได้จากทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมสามารถช่วยให้การเจริญเติบโต การรอดชีวิตเพิ่มสูงขึ้น และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลง

Nimrat (2007) ได้ศึกษาถึงผลของโพรไบโอติกที่สามารถผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสารอาหารในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในบ่อเพาะเลี้ยง โดยใช้แบคทีเรีย 6 ชนิด คือ *Bacillus* spp. 5 ชนิด และอีก 1 ชนิด คือ *Oceanisphaera* sp. จากการศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์พบว่า *Bacillus* ทุกไอโซเลท สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส และไลเปสได้ ในขณะที่ *Oceanisphaera* sp. สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้เพียงชนิดเดียว จากนั้นได้ทำการทดลองนำแบคทีเรียผสมทั้ง 6 ชนิด ใส่ในน้ำและดินตะกอนจากบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแอมโมเนียมไอออน ไนไทรต์และไนเทรตสูงกว่าชุดที่ไม่ได้เติม

แบคทีเรียผสม แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ได้ทำการคัดเลือกมาใช้ในการทดลองทั้ง 6 ชนิด มีประสิทธิภาพในการควบคุมระดับของปริมาณแอมโมเนียมไอออน ไนไทรต์ และไนเทรตได้

Balcazar and Rojas Luma (2009) นำ *Bacillus subtilis* UTM 16 โดยการนำไปผสมกับอาหารเพาะเลี้ยงกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ติดเชื้อ *Vibrio harveyi* เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่เติมโพรไบโอติก) พบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงด้วยโพรไบโอติกมีอัตราการตายเท่ากับ 18.25% ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุม (51.75 %) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001) นอกจากนั้นการเติมโพรไบโอติกยังสามารถเพิ่มปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas ของกุ้งขาวให้มีค่าเท่ากับ $2.7\pm0.41\times10^5$ CFU/g ในขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณ *Bacillus* น้อยกว่า 42 CFU/g ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าการใช้ *B. subtilis* UTM 126 ในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลสามารถลดอัตราการตายของกุ้งทะเลที่ติดเชื้อ *V. harveyi* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Boonthai et al. (2011) ทำการศึกษาโดยใช้แบคทีเรียโพรไบโอติกผสม 2 รูปแบบ คือ โพร-ไบโอติก รูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์แห้งแบบแช่เยือกแข็งเติมลงในอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำจากนั้นนำมาเลี้ยงกุ้งกุลาดำอายุ 1 เดือน เป็นเวลา 120 วัน โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติก จากการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำชุดการทดลองที่ได้รับโพรไบโอติกรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณ *Vibrio* ในตับลดลง 46.13 % และ 34.86 % ตามลำดับ และปริมาณ *Vibrio* ในลำไส้ลดลง 62.21 % และ 34.89 % ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามปริมาณ *Vibrio* ใน Hepatopacreas และลำไส้กุ้งกุลาดำของชุดควบคุมมีปริมาณเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกที่เติมในอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ *Vibrio* ในกุ้งกุลาดำ สำหรับปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกใน Hepatopacreas ของกุ้งกุลาดำชุดที่ได้รับโพรไบโอติกรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์แห้งแบบแช่เยือกแข็งเพิ่มขึ้น 103.33 % และ 103.69 % ตามลำดับ และปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในลำไส้กุ้งกุลาดำเพิ่มขึ้น 95.47 % และ 115.65 % ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกสามารถเพิ่มจำนวนและมีชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำได้ ดังนั้นแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมที่ใช้ในการทดลองมีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ดี เนื่องจากสามารถลดปริมาณแบคทีเรียก่อโรค

ต่อมาพบว่ามีรูปแบบใหม่ของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีความสามารถทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปแบบผงหรือแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจากรายงานของ

Kailasapathy (2002) ได้รายงานถึงข้อดีของแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปแบบใหม่นั่นคือในรูปแบบไมโครแคปซูล (Microcapsule) เหนือกว่าในรูปแบบผงหรือแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ได้แก่ ความสามารถในการทนต่อสภาวะการเก็บรักษาทำให้เก็บรักษาได้นานกว่า, ทนต่อสภาวะในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรมทำให้มีปริมาณของผลิตภัณฑ์เหลือจากกระบวนการผลิตมากกว่า, ทนต่อระบบทางเดินอาหารที่มีสภาวะเป็นกรด, ทนทานต่อการย่อยของเอนไซม์ รวมทั้งยังทนต่อเกลือน้ำดีในลำไส้เล็กของสิ่งมีชีวิตจึงทำให้มีปริมาณของแบคทีเรียโพรไบโอติกในสิ่งมีชีวิตมากกว่ารูปแบบอื่น

Kanmani et al. (2011) ได้ทำการทดสอบแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปแบบไมโครแคปซูลในระบบทางเดินอาหารจำลองของหนู ผลการศึกษาพบว่าถุงไมโครแคปซูลมีปริมาณคงที่เมื่อผ่านทางเดินอาหารในส่วนกระเพาะอาหารและส่วนลำไส้เล็กจำลองและจะแตกตัวรวมทั้งปลดปล่อยแบคทีเรียโพรไบโอติกในส่วนของระบบทางเดินอาหารโดยตรง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลเป็นรูปแบบที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดโดยสามารถป้องกันแบคทีเรียโพรไบโอติกได้นานขึ้น รวมทั้งจะทำการปลดปล่อยแบคทีเรียโพรไบโอติกในระบบทางเดินอาหารได้โดยตรงโดยไม่มีการตายในช่วงการเคลื่อนที่มาสู่ระบบทางเดินอาหารของหนูนั่นเอง

Luzardo-Alvarez et al. (2010) ได้รายงานถึงการพัฒนาอาหารสัตว์น้ำทดแทนอาหารสดที่มีราคาแพงและมีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรค และได้ทำการพัฒนาอาหารเคลือบด้วยไมโคร-แคปซูลซึ่งสามารถพัฒนาอาหารที่ไม่มีการปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์ก่อโรครวมทั้งมีราคาถูกเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสด

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

ลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 15

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 Marine Agar (MA; Lab-Scan, Bangkok, Thailand)
2.2 Plate Count Agar (PCA; Difco, Spark, USA)
2.3 Thiosulphate Citrate Bile salt Sucrose (TCBS) agar (Difco, Spark, USA)
2.4 Tryptic Soy Agar (TSA; Difco, Spark, USA)
2.5 Tryptic Soy Broth (TSB; Difco, Spark, USA)
2.6 *Vibrio harveyi* Agar (VHA)
2.7 peptone (Bacto, Spark, USA)

3. สารเคมี

3.1 Chloramphenicol (Sigma, Germany)
3.2 Hydrochloric acid (J.T. Baker, USA)
3.3 Sodium chloride (Ajax, Auckland, New Zealand)
3.4 Sodium hydroxide (Merk, Darmstadt, Germany)

4. อุปกรณ์

4.1 กระบอกตวง (Cylinder)
4.2 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
4.3 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
4.4 คิวเวต (Cuvette)
4.5 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
4.6 แท่งแก้วกระจายเชื้อ (Spreader)
4.7 แท่งแม่เหล็ก (Magnetic bar)
4.8 หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube)
4.9 ตู้กระจกขนาด 0.2 × 0.4 × 0.25 เมตร
4.10 บ่อเลี้ยงกุ้งจำลองขนาด 100 ลิตร

5. เครื่องมือ

5.1 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope; Olympus, CH30RF200, Japan)

5.2 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker; Innova, 4340, USA)

5.3 เครื่องชั่งแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง (A&D, HR-200, Greifensee, Japan)

5.4 เครื่องชั่งแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, AT200, Switzerland)

5.5 เครื่องแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer; Heto, lyoLab 3000, Allerod, Denmark)

5.6 เครื่องปั่นผสม (Vortex mixer; Vortex-2 Genie, 2-101915, USA)

5.7 เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge; Eppendoff, Cectrifuge 5804R, Germany)

5.8 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer; Cintra 400 Double beam, Melbourne, Australia)

5.9 ออโตปิเปต (Autopipette; Gilson, NEO, Villiers-le-Bel, France)

5.10 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath; Memmert, GmbH + Co KG 8540, Schwabach, Germany)

5.11 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave; Wisd Laboratory Instrument, Seoul, Korea)

5.12 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow; Super clean VC 150, Bangkok, Thailand)

5.13 เครื่องให้ความร้อน (Hot plate; Heidolph, 3001, Germany)

5.14 ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Incubator; Memmert, BE 400, Schwabach, Germany)

5.15 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven; WTB Binder, Germany)

6. แบคทีเรีย

6.1 แบคทีเรียโพรไบโอติก สายพันธุ์ BUU 001, BUU 002, BUU 003, BUU 004 และ BUU 005 จากห้องปฏิบัติการของ รศ.ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์

6.2 *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บรวบรวมพันธุ์กุ้งขาวแวนนาไม

ซื้อลูกกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 15 (Post-larva 15 หรือ P15) จากไบโอเทคฟาร์ม ตำบลอ่างศิลา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี โดยนำลูกกุ้งลงปรับสภาพในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร และเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป (โปรตีน 38%, ไขมัน 5%, กาก 3% และความชื้น 11%; ซีพี 9001, เจริญโภคภัณฑ์อาหารสัตว์ จำกัด, สมุทรสาคร, ประเทศไทย) โดยให้อาหารวันละ 3 มื้อ และเปลี่ยนถ่ายน้ำวันละ 10% ทุก ๆ เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง เพื่อให้ลูกกุ้งขาวเข้าสู่ระยะโพสลาวา 30 (P30)

2. การทดสอบหาความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งตาย 50% ของ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ต่อลูกกุ้งขาวระยะโพสลาวา 30 (P30) (Greenberg et al., 1992)

เตรียมตู้กระจกขนาด 0.2×0.4×0.25 เมตร จำนวน 12 บ่อ ที่บรรจุน้ำความเค็ม 20 ส่วนในพันส่วน ใส่กุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ลงในบ่อ ๆ ละ 50 ตัว เตรียมหัวเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 โดยเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเซลล์ของ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ไปทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ล้างเซลล์ด้วยสารละลาย 2 % (w/v) Saline water 3 ครั้ง นำสารแขวนลอยเซลล์ของ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.5 AU (10^{10} CFU/ml) จากนั้นเติมลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงและปรับให้มีความเข้มข้นต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 10^5, 10^6 และ 10^7 CFU/ml ความเข้มข้นละ 3 บ่อ ส่วนอีก 3 บ่อ ใช้เป็นชุดควบคุม (ไม่เติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002) เก็บตัวอย่างน้ำในแต่ละบ่อมาตรวจนับจำนวน *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ในน้ำหลังจากเติมด้วยเทคนิค Spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ *Vibrio harveyi* agar (VHA) (Harris et al., 1996) และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อยืนยันปริมาณ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่เติมแต่ละชุดการทดลอง บันทึกจำนวนกุ้งที่ตายในแต่ละชุดการทดลองที่เวลา 0, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง และนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่า LC_{50} โดยใช้การวิเคราะห์แบบโปรบิท (Probit analysis)

3. การเตรียมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสำหรับใช้เพาะเลี้ยงกุ้งเพื่อศึกษาความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม

3.1 การเตรียมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

เตรียมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติก BUU 001, BUU 002, BUU 003, BUU 004 และ BUU 005 ในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งตามวิธีการของ Boonthai et al. (2011) และ Nimrat et al. (2011) โดยนำแบคทีเรียโพรไบโอติก สายพันธุ์ BUU 001, BUU 002, BUU 003, BUU 004 และ BUU 005 เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศา-

เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ได้แต่ละชนิดไปทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และเทส่วนใสทิ้ง เติม 0.1% Peptone water ให้ได้ปริมาตรเท่าเดิม นำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนอีกครั้งทำจนครบ 3 รอบ เพื่อเป็นการล้างเซลล์ ต่อมานำ Cell Suspension ของแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.5 AU ซึ่งจะมีปริมาณเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกเท่ากับ 10^{10} CFU/ml และนำ Cell Suspension ของแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิดที่มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.5 AU มาเติม 20% (w/v) Skim milk solution ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10% (w/v) Skim milk solution จากนั้นแช่แข็งในตู้แช่ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาแช่ในเครื่อง Freeze dryer เป็นเวลา 60 ชั่วโมง จากนั้นนำผงเซลล์ของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ได้มานับปริมาณเซลล์เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับเติมลงในอาหารเลี้ยงกุ้งต่อไป

3.2 การศึกษาปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งก่อนผสมอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

นำผงเซลล์ของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่เตรียมไว้มาศึกษาปริมาณเซลล์ เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับเติมลงในอาหารเลี้ยงกุ้ง โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียโพรไบโอติกและนำมาคำนวณหาปริมาณแบคทีเรีย

3.3 การศึกษาปริมาณแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมหลังผสมโพรไบโอติกในรูปแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

นำอาหารเลี้ยงกุ้งหลังผสมโพรไบโอติกในรูปแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เตรียมไว้มาตรวจนับปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด และปริมาณ *Bacillus* spp. โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีและนำมาคำนวณหาปริมาณแบคทีเรีย

4. การเตรียมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลและวัดขนาดของไมโครแคปซูลสำหรับใช้เพาะเลี้ยงกุ้งเพื่อศึกษาความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม

4.1 การเตรียมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูล

การเตรียมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติก BUU 001, BUU 002, BUU 003, BUU 004 และ BUU 005 ในรูปไมโครแคปซูลตามวิธีการของ Nimrat et al. (2011) โดยนำ Cell suspension ของแบคทีเรียปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย 3% (w/v) Sodium alginate ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วย Vortex หยดสารละลาย Alginate-cell mixture ด้วย Dropper อย่างช้า ๆ ที่ด้านข้างบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำมันข้าวโพดปริมาตร 600 มิลลิลิตร ที่ผสม 0.2% (v/v) Tween 80 เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าแบบมีแม่เหล็ก (Magnetic stirrer) ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เติมสารละลาย Calcium chloride ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ด้านข้าง

บีกเกอร์ ซึ่งไมโครแคปซูลจะเกิดขึ้นภายใน 5 นาที นำสารละลายมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที กรองไมโครแคปซูลด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ในสภาวะสุญญากาศ และชะไมโครแคปซูลที่อยู่บนกระดาษกรองด้วย 0.1% (w/v) Peptone water กรองไมโครแคปซูลด้วยตาข่าย (Plankton net) ขนาด 55 ไมโครเมตร แล้วล้างไมโครแคปซูลด้วย 0.1% (w/v) Peptone water และเก็บไมโครแคปซูลในอาหารเลี้ยงเชื้อ 0.1% Peptone water ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปใช้ในการทดลอง

4.2 การศึกษาปริมาณหัวเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกสำหรับทำไมโครแคปซูล

นำหัวเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกก่อนนำไปทำไมโครแคปซูลมาศึกษาปริมาณแบคทีเรีย โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียโพรไบโอติกและนำมาคำนวณหาปริมาณแบคทีเรีย

4.3 การศึกษาปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

นำไมโครแคปซูลของแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิดมาตรวจนับปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิดในไมโครแคปซูล โดยนำไมโครแคปซูลของแบคทีเรียโพรไบโอติกปริมาณ 1 กรัม ละลายใน 0.85% (w/v) Saline water จากนั้นเจือจางให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ปิเปตสารละลายตัวอย่างไมโครแคปซูลปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar จากนั้นเกลี่ยเชื้อด้วยเทคนิค Spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิดและนำมาคำนวณหาปริมาณแบคทีเรีย

4.4 การวัดขนาดของไมโครแคปซูลสำหรับใช้เพาะเลี้ยงกุ้ง

นำไมโครแคปซูลของแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิดมาวัดขนาดจำนวน 120 ซ้ำ ตามวิธีการของ Krasaekoopt et al., 2004

5. การเตรียมบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งจำลองเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกในรูปแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเปรียบเทียบกับรูปแบบไมโครแคปซูลในการต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม

เตรียมบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งจำลอง โดยแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่

ชุดที่ 1 เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml จำนวน 3 บ่อ

ชุดที่ 2 เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml จำนวน 3 บ่อ

ชุดที่ 3 ไม่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติก (ควบคุม) จำนวน 3 บ่อ

เติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งจำลอง (ค่าความเค็มของน้ำเท่ากับ 20 ส่วนในพันส่วน; ppt) จากนั้นปล่อยกุ้งขาวแวนนาไมลงในบ่อทั้ง 9 บ่อ ๆ ละ 50 ตัว ให้อาหารในช่วงเวลา 7.00 น. 15.00 น. และ 23.00 น. ตามลำดับ โดยในขั้นตอนการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจะทำการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^6 CFU/ml

6. การศึกษาผลของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเปรียบเทียบกับรูปไมโครแคปซูลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด *Bacillus* แบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae และ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค

เก็บตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมจากแต่ละบ่อทดลอง (บ่อละ 3 ตัว) พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงในแต่ละบ่อทดลองด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ โดยในช่วงก่อนทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจะทำการตรวจในช่วงเริ่มต้นการทดลองและวันที่ 30 ของการทดลอง และเมื่อทำการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจะทำการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงเริ่มต้นการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจนถึงวันที่ 5 ของการทดสอบและเก็บอีกครั้งในวันที่ 7 และ 10 ของการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค โดยนำตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมแช่ในสารละลายฟอร์มาลินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 1 นาที ผ่า Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ และนำ Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งในบ่อเดียวกันปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันในสารละลาย 0.85% Normal saline ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสม จากนั้นเจือจางตัวอย่างจากอวัยวะกุ้งและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วยสารละลาย 0.85% Normal saline ปิเปตสารละลายจากตัวอย่างอวัยวะกุ้งและน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 % เพื่อตรวจนับปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (Nimrat et al., 2012) อาหารเลี้ยงเชื้อ Marine Agar เพื่อนับปริมาณแบคทีเรียทางทะเล (Gullian et al., 2004) อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate Citrate Bile salt Sucrose agar เพื่อนับปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae (Nimrat et al., 2008) อาหารเลี้ยงเชื้อ *Vibrio harveyi* Agar เพื่อตรวจนับปริมาณ *V. harveyi* (Harris et al., 1996) จากนั้นเกลี่ยเชื้อด้วยเทคนิค Spread plate และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อและนำมาคำนวณปริมาณแบคทีเรีย

โดยมีการศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้ ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค

1) การศึกษาในส่วน Hepatopancreas-Intestine
    1.1) ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด
    1.2) *Bacillus*
    1.3) ปริมาณแบคทีเรียทางทะเล

1.4) ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate Citrate Bile salt Sucrose agar

1.5) ปริมาณ *V. harveyi* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ *Vibrio harveyi* Agar

1.6) ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ *Vibrio harveyi* Agar

2) การศึกษาในส่วนของน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

2.1) ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด

2.2) *Bacillus*

2.3) ปริมาณแบคทีเรียทางทะเล

2.4) ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate Citrate Bile salt Sucrose agar

2.5) ปริมาณ *V. harveyi* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ *Vibrio harveyi* Agar

2.6) ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ *Vibrio harveyi* Agar

7. การศึกษาผลของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปไมโครแคปซูลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ตามวิธีการของ Boonthai et al. (2011)

เก็บตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมในแต่ละชุดการทดลองในช่วงเริ่มต้นการทดลองและหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ก่อนทำการทดสอบความต้านโรคของกุ้งขาวแวนนาไม และหลังทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 10 วัน มาทำการวัดการเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นรายวัน โดยทำการวัดการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมก่อนและหลังการทดลอง ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นการทดลอง} = \frac{\text{น้ำหนักกุ้งเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{จำนวนเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}$$

$$\text{น้ำหนักเฉลี่ยสิ้นสุดการทดลอง} = \frac{\text{น้ำหนักกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}$$

น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (Weight Gain; %) =

$$\frac{\text{น้ำหนักกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักกุ้งเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{น้ำหนักกุ้งเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; %ต่อวัน) =

$$\frac{\ln \text{ น้ำหนักกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{ น้ำหนักกุ้งเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{ระยะเวลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นรายวัน (ADG; กรัมต่อวัน) =

$$\frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยกุ้งเมื่อเริ่มการทดลอง}}{\text{จำนวนวัน}}$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) = $\dfrac{\text{น้ำหนักอาหารที่กุ้งกิน}}{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น}}$

8. การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปไมโครแคปซูลต่ออัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค

นับจำนวนกุ้งขาวแวนนาไมในแต่ละชุดการทดลองหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ในช่วงก่อนทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค และนับจำนวนกุ้งขาวแวนนาไมที่ตายของแต่ละชุดการทดลองในแต่ละวันในช่วงระยะเวลาการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคเป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำมาประเมินอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมตามสมการ

% อัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไม = $\dfrac{\text{จำนวนกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนกุ้งเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$

10. การวิเคราะห์ข้อมูลสถิติ

นำข้อมูลที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วย Duncan’s multiple rang test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

บทที่ 4
ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกในรูปแบบไมโครแคปซูลเปรียบเทียบกับรูปแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในการต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม โดยศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด *Bacillus* แบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae และ *Vibrio harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง รวมทั้งอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดชีวิต ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค ผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

1. ความเข้มข้นของ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่ทำให้กุ้งตาย 50% (LC50)

จากการศึกษาความเข้มข้นของ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่ทำให้กุ้งตาย 50% ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าเมื่อทำการตรวจนับจำนวนกุ้งที่ตายในแต่ละความเข้มข้นได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5 เมื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปวิเคราะห์ค่า LC50 โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบโพรบิทอะนาลิซิส ได้ค่าความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งตาย 50% ของ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เท่ากับ $1.49 \pm 0.15 \times 10^{7}$, $4.67 \pm 0.51 \times 10^{6}$, $6.13 \pm 1.06 \times 10^{5}$ และ $3.60 \pm 0.53 \times 10^{5}$ CFU/ml ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งตาย 50% ที่เวลา 48 ชั่วโมง ในการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในการทดลองครั้งนี้

ตารางที่ 5 จำนวนตายสะสมของกุ้งขาวแวนนาไมหลังเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (CFU/ml)	จำนวนกุ้งตายสะสม (ตัว)				
	0 ชม.	24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.	96 ชม.
0 (ชุดควบคุม)	0	0	0	0	0
$2.04 \pm 0.37 \times 10^{5}$	0	0	8	20	24
$1.41 \pm 0.27 \times 10^{6}$	0	11	21	27	28
$1.79 \pm 0.49 \times 10^{7}$	0	13	31	37	41

2. ปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมและแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้ง

2.1 ปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งก่อนผสมอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกจำนวน 5 สายพันธุ์ ในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งก่อนนำมาผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าปริมาณแบคทีเรียโพร-ไบโอติกทั้ง 5 สายพันธุ์ มีปริมาณเท่ากับ $6.07 \pm 0.51 \times 10^9$ - $7.83 \pm 0.30 \times 10^9$ CFU/g

2.2 ปริมาณแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมหลังผสมโพรไบโอติกในรูปแบบการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้ง

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมหลังผสมโพรไบโอ-ติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในอาหารกุ้งขาวแวนนาไมของชุดควบคุมในช่วงเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ $2.67 \pm 0.35 \times 10^3$ CFU/g ซึ่งมีค่าแตกต่างกับชุดที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB; $7.53 \pm 0.45 \times 10^8$ CFU/g) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศา-เซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างจากช่วงเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของชุดควบคุมมีปริมาณลดลงและแตกต่างจากช่วงเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนในชุด FB พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมีค่าไม่แตกต่างจากเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 6

สรุปได้ว่าอาหารกุ้งขาวแวนนาไมที่ไม่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกจะมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดลดลงเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ในขณะที่อาหารกุ้งขาวแวนนาไมที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกจะมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปคงที่

ส่วนปริมาณ *Bacillus* spp. ในอาหารกุ้งขาวแวนนาไมก่อนเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศา-เซลเซียส พบว่าอาหารกุ้งขาวแวนนาไมในชุด FB ($7.53 \pm 0.45 \times 10^8$ CFU/g) มีปริมาณ *Bacillus* spp. สูงกว่าชุดควบคุม ($4.67 \pm 1.53 \times 10^3$ CFU/g) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่าปริมาณ *Bacillus* spp. ของทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีปริมาณไม่แตกต่างจากช่วงเริ่มต้นการทดลอง แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า ปริมาณ *Bacillus* spp. ในชุดควบคุมมีปริมาณลดลงและแตกต่างจากช่วงเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 7

สรุปได้ว่าการเก็บอาหารเลี้ยงกุ้งที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน ไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมซึ่งยังคงมีปริมาณไม่แตกต่างจากวันเริ่มต้นและมีความเหมาะสมสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมต่อไป

ตารางที่ 6 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (CFU/g)		
	1 วัน	15 วัน	30 วัน
C	$2.67 \pm 0.35 \times 10^{3\ (b,1)}$	$1.27 \pm 0.25 \times 10^{3\ (b,1)}$	$5.67 \pm 1.15 \times 10^{2\ (b,2)}$
FB	$7.53 \pm 0.45 \times 10^{8\ (a,1)}$	$6.23 \pm 0.81 \times 10^{8\ (a,1)}$	$4.87 \pm 0.35 \times 10^{8\ (a,1)}$

ตารางที่ 7 ปริมาณ *Bacillus* spp. ในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม

ชุดการทดลอง	ปริมาณ *Bacillus* spp. (CFU/g)		
	1 วัน	15 วัน	30 วัน
C	$4.67 \pm 1.53 \times 10^{2\ (b,1)}$	$1.67 \pm 0.57 \times 10^{2\ (b,1)}$	$< 10^{2\ (b,2)}$
FB	$7.53 \pm 0.45 \times 10^{8\ (a,1)}$	$6.23 \pm 0.81 \times 10^{8\ (a,1)}$	$6.03 \pm 0.91 \times 10^{8\ (a,1)}$

<u>หมายเหตุ</u> ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

3. ปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปแบบไมโครแคปซูลและขนาดของไมโครแคปซูล

3.1 ปริมาณหัวเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกสำหรับผลิตโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูล

จากการศึกษาปริมาณหัวเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 5 สายพันธุ์ ก่อนนำมาผลิตไมโครแคปซูล พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ $5.77 \pm 0.47 \times 10^{10}$ - $7.53 \pm 0.45 \times 10^{10}$ CFU/ml

3.2 ปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 5 สายพันธุ์ ในรูปไมโครแคปซูลสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าในช่วงเริ่มต้นการทดลองปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลทั้ง 5 สายพันธุ์ มีค่าเท่ากับ $5.50 \pm 0.43 \times 10^9$ - $7.63 \pm 0.71 \times 10^9$ CFU/g เมื่อ

นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 5 สายพันธุ์ ในรูปไมโครแคปซูลมีปริมาณไม่แตกต่างจากวันเริ่มต้นการทดลอง ($5.20 \pm 0.20 \times 10^9$ - $6.87 \pm 0.15 \times 10^9$ CFU/g) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ในไมโครแคปซูล

ระยะเวลาทดลอง (วัน)	ปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกในไมโครแคปซูล (CFU/g)				
	Bacillus BUU 001	*Bacillus* BUU 002	*Bacillus* BUU 003	*Bacillus* BUU 004	*Bacillus* BUU 005
0	$6.23 \pm 1.12 \times 10^{9\ (a,1)}$	$7.47 \pm 0.45 \times 10^{9\ (a,1)}$	$5.50 \pm 0.43 \times 10^{9\ (a,1)}$	$7.63 \pm 0.71 \times 10^{9\ (a,1)}$	$6.83 \pm 0.47 \times 10^{9\ (a,1)}$
15	$4.63 \pm 0.57 \times 10^{9\ (a,1)}$	$6.60 \pm 0.36 \times 10^{9\ (a,1)}$	$4.33 \pm 0.30 \times 10^{9\ (a,1)}$	$6.77 \pm 0.70 \times 10^{9\ (a,1)}$	$7.00 \pm 0.30 \times 10^{9\ (a,1)}$
30	$6.23 \pm 0.93 \times 10^{9\ (a,1)}$	$6.80 \pm 0.26 \times 10^{9\ (a,1)}$	$5.20 \pm 0.20 \times 10^{9\ (a,1)}$	$5.93 \pm 0.65 \times 10^{9\ (a,1)}$	$6.87 \pm 0.15 \times 10^{9\ (a,1)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)
ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

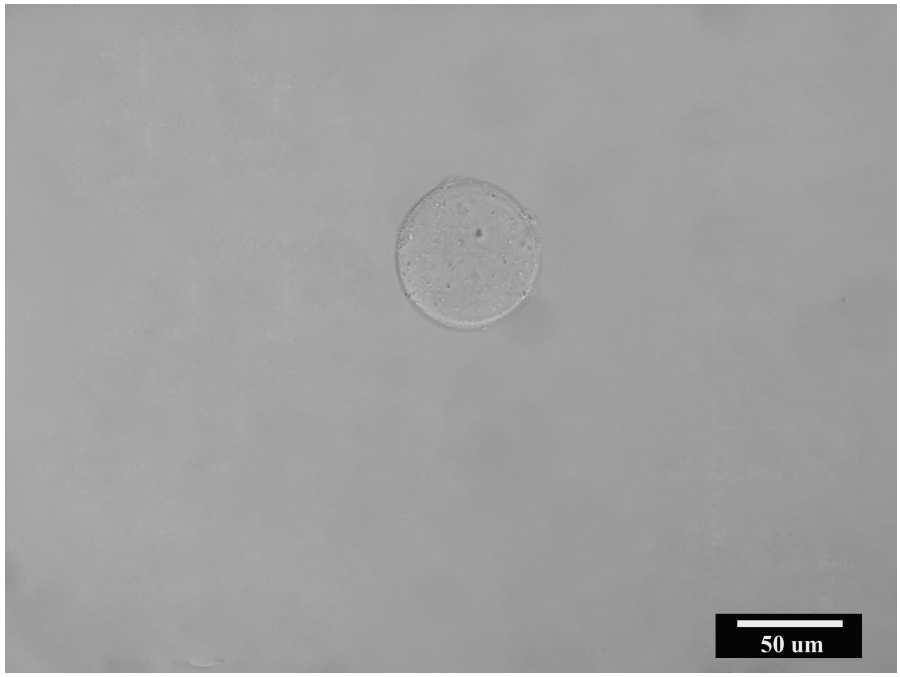
3.3 ขนาดของไมโครแคปซูลสำหรับใช้ในการเลี้ยงกุ้ง

จากการศึกษาขนาดของไมโครแคปซูลของแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิดพบว่า ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครแคปซูลของแบคทีเรียโพรไบโอติก BUU 001 (ภาพที่ 3), BUU 002 (ภาพที่ 4), BUU 003 (ภาพที่ 5), BUU 004 (ภาพที่ 6) และ BUU 005 (ภาพที่ 7) มีค่าเท่ากับ 50.11 ± 8.71, 54.09 ± 7.49, 47.48 ± 10.49, 52.97 ± 8.14 และ 49.98 ± 10.84 ไมโครเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 9

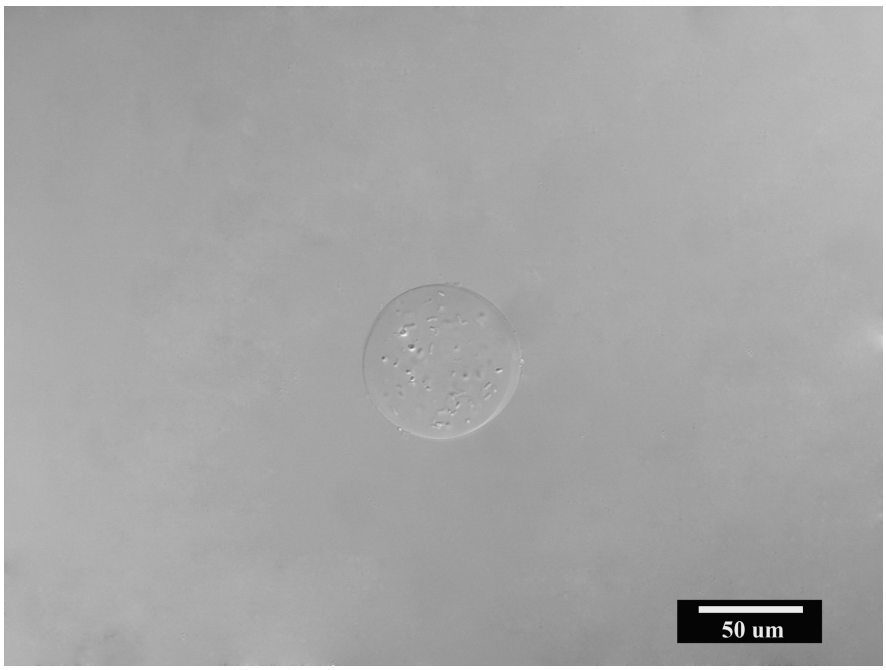
ตารางที่ 9 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไมโครแคปซูลของแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิด

แบคทีเรียโพรไบโอติก	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (μm)
Bacillus BUU 001	50.11 ± 8.71
Bacillus BUU 002	54.09 ± 7.49
Bacillus BUU 003	47.48 ± 10.49
Bacillus BUU 004	52.97 ± 8.14
Bacillus BUU 005	49.98 ± 10.84

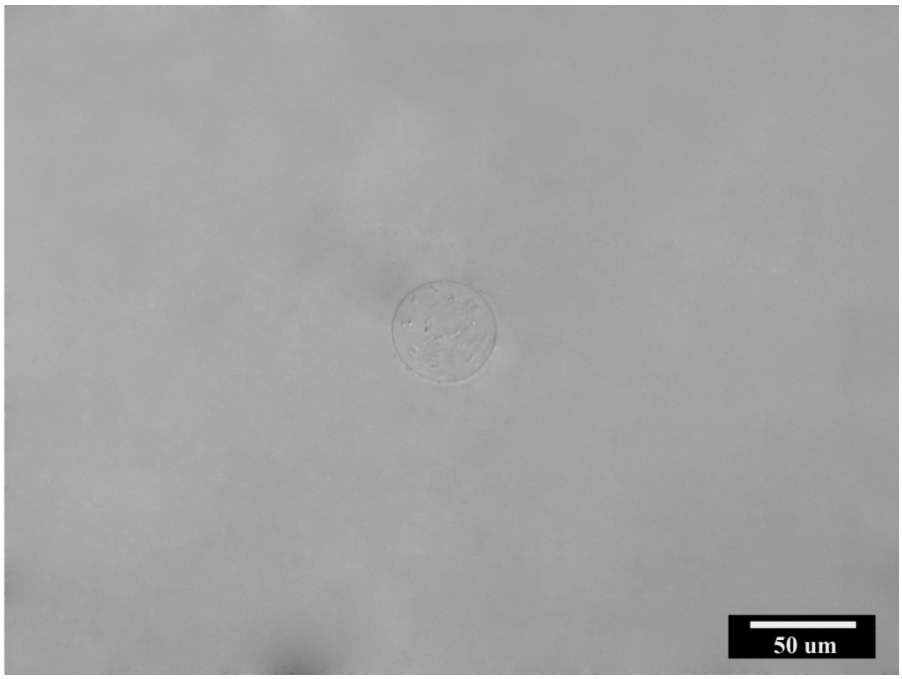
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



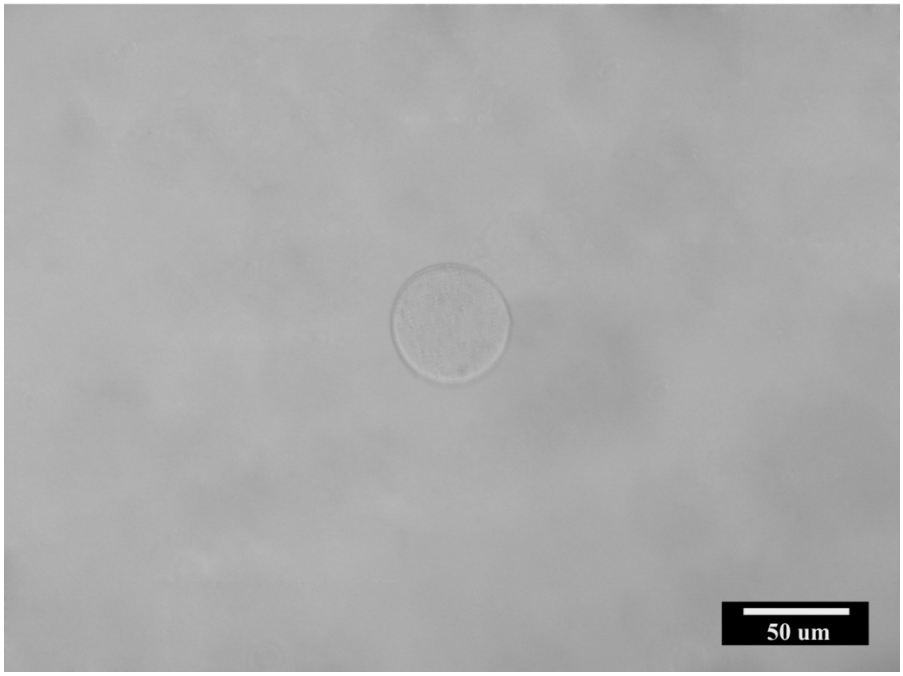
ภาพที่ 3 ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 001



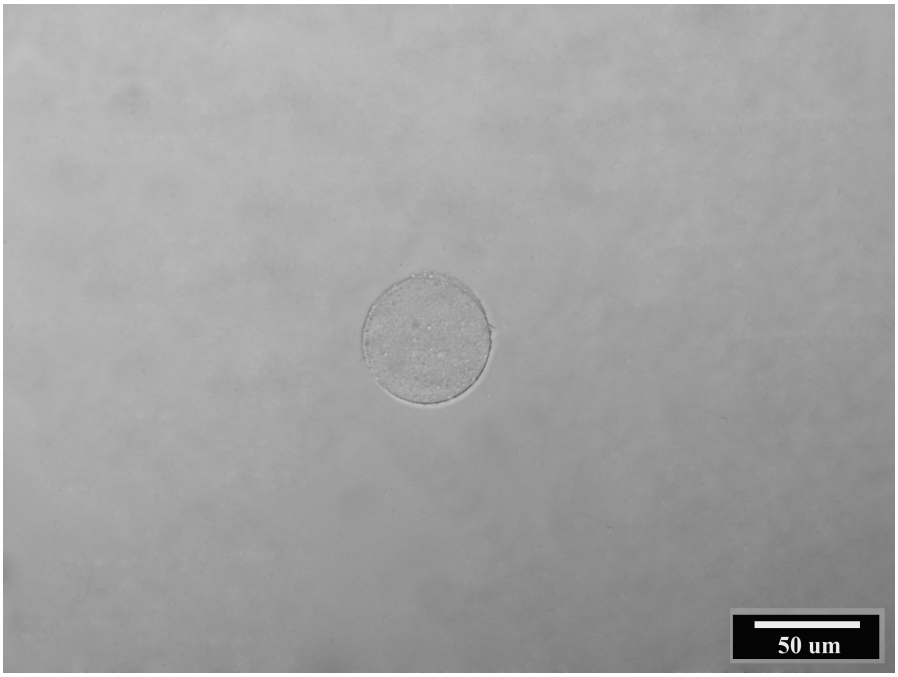
ภาพที่ 4 ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 002



ภาพที่ 5 ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 003



ภาพที่ 6 ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 004



ภาพที่ 7 ขนาดไมโครแคปซูลของ *Bacillus* BUU 005

4. ผลของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเปรียบเทียบกับรูปไมโครแคปซูลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด *Bacillus* แบคทีเรียทางทะเล แบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae และ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค

4.1 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด และ *Bacillus* ใน Hepato-pancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

จากการศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 หลังจากเพาะเลี้ยงด้วยโพรไบโอติกผสมในรูปแบบทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูล เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ในชุดควบคุม ($3.10 \pm 0.95 \times 10^7$ CFU/g) ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB; $4.16 \pm 2.81 \times 10^7$ CFU/g) และชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ ในรูปแบบไมโครแคปซูล (MB; $3.40 \pm 2.59 \times 10^7$ CFU/g) ซึ่ง 3 ชุดการทดลอง มีปริมาณที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไม ทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีปริมาณไม่แตกต่างจากวันเริ่มต้นทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยในชุดการทดลอง FB, MB และชุดควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปเท่ากับ $3.70 \pm 2.71 \times 10^7$, $2.23 \pm 1.19 \times 10^7$ และ $3.26 \pm 0.30 \times 10^7$ CFU/g ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

เมื่อทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในกุ้งขาวแวนนาไมด้วยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงไปในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10^6 CFU/ml (ค่า LD_{50} ณ 48 ชั่วโมง ที่ได้จากการทดลองก่อนหน้านี้) เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่าแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างจากช่วงก่อนเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 10 และ 12 ดังนั้นสรุปได้ว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูล ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมในระยะ 30 วัน ในช่วงก่อนเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรคและหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml เป็นระยะเวลา 10 วัน

สำหรับปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB หลังจากเลี้ยงด้วยโพรไบโอติกเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง มีปริมาณเท่ากับ $7.47 \pm 1.67 \times 10^5$ CFU/g ซึ่งมากกว่าชุดการทดลอง MB ซึ่งมีค่าเท่ากับ $8.87 \pm 1.00 \times 10^3$ CFU/g และชุดควบคุม ($3.40 \pm 0.62 \times 10^3$ CFU/g) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อทำการทดลองเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณ *Bacillus* ในชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB เพิ่มขึ้น

ประมาณ 100 เท่า และ 1,000 เท่า ตามลำดับ โดยปริมาณ *Bacillus* ในชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB มีค่าเท่ากับ 3.70± 2.71 × 10^7 CFU/g และ 9.87 ± 0.06 × 10^6 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ระหว่างกันแต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับชุดควบคุมซึ่งมีปริมาณ *Bacillus* เท่ากับ 3.37 ± 0.81 × 10^3 CFU/g (ตารางที่ 11)

จากนั้นทำการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมด้วยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้ได้ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml พบว่าหลังจากเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรคเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของชุดการทดลอง FB และ MB มีปริมาณลดลง 10 เท่า โดยมีค่าเท่ากับ 2.80 ± 1.38 × 10^6 CFU/g และ 2.67 ± 1.36 × 10^6 CFU/g ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณ *Bacillus* ทั้ง 2 ชุดการทดลองลดลงอีก 10 เท่าในวันที่ 1 ไปจนถึงวันที่ 3 และวันที่ 4 ของการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไม ตามลำดับ โดยในชุดการทดลอง FB และ MB มีปริมาณ *Bacillus* เท่ากับ 4.87 ± 1.34 × 10^5 CFU/g และ 3.73 ± 0.95 × 10^4 CFU/g ตามลำดับ ส่วนในชุดควบคุมไม่สามารถตรวจพบ *Bacillus* หลังจากเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง จนถึงวันที่ 3 ของการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมและตั้งแต่วันที่ 4 ของการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าปริมาณ *Bacillus* ในชุดการทดลอง FB และ MB มีปริมาณเพิ่มขึ้น รวมทั้งสามารถตรวจพบ *Bacillus* ในชุดควบคุมไปจนถึงวันสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไม เมื่อสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่า *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ในชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB มีปริมาณเท่ากับ 4.20 ± 3.03 × 10^7 CFU/g และ 8.87 ± 0.31 × 10^7CFU/g ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ระหว่างกัน แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับชุดควบคุมซึ่งมี *Bacillus* เท่ากับ 5.20 ± 1.00 × 10^3 CFU/g ดังแสดงในตารางที่ 11 และ 12 ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปเซลล์แห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลสามารถรอดชีวิตและเจริญใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมได้ ส่งผลให้ปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลองเพิ่มขึ้น และการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้ได้ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml มีผลต่อปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง โดยในชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB ลดลงประมาณ 100 เท่า ส่วนในชุดควบคุมลดลงประมาณ 1,000 เท่า

ตารางที่ 10 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
ชุดการทดลอง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$3.10 \pm 0.95 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.26 \pm 0.30 \times 10^{7\,(a,1)}$	$4.29 \pm 3.62 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.42 \pm 0.80 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.67 \pm 0.87 \times 10^{7\,(a,1)}$
FB	$4.16 \pm 2.81 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.70 \pm 2.71 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.42 \pm 1.79 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.81 \pm 0.09 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.53 \pm 0.15 \times 10^{7\,(a,1)}$
MB	$3.40 \pm 2.59 \times 10^{7\,(a,1)}$	$2.23 \pm 1.19 \times 10^{7\,(a,1)}$	$4.56 \pm 3.62 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.15 \pm 0.53 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.63 \pm 0.45 \times 10^{7\,(a,1)}$

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 10 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
ชุดการทดลอง	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$4.80 \pm 1.74 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.27 \pm 0.61 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.07 \pm 0.15 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.06 \pm 2.65 \times 10^{7\,(a,1)}$	$5.73 \pm 3.29 \times 10^{7\,(a,1)}$
FB	$3.67 \pm 1.50 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.27 \pm 0.48 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.43 \pm 1.18 \times 10^{7\,(a,1)}$	$4.90 \pm 3.45 \times 10^{7\,(a,1)}$	$4.90 \pm 3.18 \times 10^{7\,(a,1)}$
MB	$3.10 \pm 0.36 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.60 \pm 0.40 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.27 \pm 0.35 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.10 \pm 1.65 \times 10^{7\,(a,1)}$	$3.60 \pm 0.61 \times 10^{7\,(a,1)}$

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 11 ปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
ชุดการทดลอง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$3.40 \pm 0.62 \times 10^{3\ (b.12)}$	$3.37 \pm 0.81 \times 10^{3\ (b,12)}$	$0^{(b,3)}$	$0^{(c,3)}$	$0^{(c,3)}$
FB	$7.47 \pm 1.67 \times 10^{5\ (a,2)}$	$3.70 \pm 2.71 \times 10^{7\ (a,1)}$	$2.80 \pm 1.38 \times 10^{6\ (a,2)}$	$3.57 \pm 1.02 \times 10^{5\ (a,2)}$	$4.47 \pm 1.14 \times 10^{5\ (a,2)}$
MB	$8.87 \pm 1.00 \times 10^{3\ (b,4)}$	$9.87 \pm 0.06 \times 10^{6\ (a,1)}$	$2.67 \pm 1.36 \times 10^{5\ (a,4)}$	$4.33 \pm 0.61 \times 10^{4\ (b,4)}$	$3.93 \pm 0.76 \times 10^{4\ (b,4)}$

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 11 ปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
ชุดการทดลอง	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$0^{(c,3)}$	$2.63 \pm 0.67 \times 10^{3\ (b.12)}$	$4.27 \pm 1.69 \times 10^{3\ (c,12)}$	$4.30 \pm 2.26 \times 10^{3\ (c,12)}$	$5.20 \pm 1.00 \times 10^{3\ (b,1)}$
FB	$4.87 \pm 1.34 \times 10^{5\ (a,2)}$	$4.27 \pm 0.64 \times 10^{6\ (a,2)}$	$2.13 \pm 0.25 \times 10^{7\ (a,12)}$	$2.83 \pm 2.67 \times 10^{7\ (a,1)}$	$4.20 \pm 3.03 \times 10^{7\ (a,1)}$
MB	$3.30 \pm 0.76 \times 10^{4\ (b,4)}$	$3.73 \pm 0.95 \times 10^{4\ (b,4)}$	$5.43 \pm 2.25 \times 10^{5\ (b,4)}$	$2.23 \pm 1.14 \times 10^{6\ (a,3)}$	$8.87 \pm 0.31 \times 10^{6\ (a,2)}$

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 12 สรุปปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง	ชุดการทดลอง	Hepatopancreas-Intestine	
		แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (CFU/g)	*Bacillus* (CFU/g)
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	C	$3.10 \pm 0.95 \times 10^{7}$	$3.40 \pm 0.62 \times 10^{3}$
	FB	$4.16 \pm 2.81 \times 10^{7}$	$7.47 \pm 1.67 \times 10^{5}$
	MB	$3.40 \pm 2.59 \times 10^{7}$	$8.87 \pm 1.00 \times 10^{3}$
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	C	$3.26 \pm 0.30 \times 10^{7}$	$3.37 \pm 0.81 \times 10^{3}$
	FB	$3.70 \pm 2.71 \times 10^{7}$	$3.70 \pm 2.71 \times 10^{7}$
	MB	$2.23 \pm 1.19 \times 10^{7}$	$9.87 \pm 0.06 \times 10^{6}$
เติม *V. harveyi* 2 ชั่วโมง	C	$4.29 \pm 3.62 \times 10^{7}$	0
	FB	$3.42 \pm 1.79 \times 10^{7}$	$2.80 \pm 1.38 \times 10^{6}$
	MB	$4.56 \pm 3.62 \times 10^{7}$	$2.67 \pm 1.36 \times 10^{5}$
เติม *V. harveyi* 1 วัน	C	$3.42 \pm 0.80 \times 10^{7}$	0
	FB	$3.81 \pm 0.09 \times 10^{7}$	$3.57 \pm 1.02 \times 10^{5}$
	MB	$3.15 \pm 0.53 \times 10^{7}$	$4.33 \pm 0.61 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* 2 วัน	C	$3.67 \pm 0.87 \times 10^{7}$	0
	FB	$3.53 \pm 0.15 \times 10^{7}$	$4.47 \pm 1.14 \times 10^{5}$
	MB	$3.63 \pm 0.45 \times 10^{7}$	$3.93 \pm 0.76 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* 3 วัน	C	$4.80 \pm 1.74 \times 10^{7}$	0
	FB	$3.67 \pm 1.50 \times 10^{7}$	$4.87 \pm 1.34 \times 10^{5}$
	MB	$3.10 \pm 0.36 \times 10^{7}$	$3.30 \pm 0.76 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* 4 วัน	C	$3.27 \pm 0.61 \times 10^{7}$	$2.63 \pm 0.67 \times 10^{3}$
	FB	$3.27 \pm 0.48 \times 10^{7}$	$4.27 \pm 0.64 \times 10^{6}$
	MB	$3.60 \pm 0.40 \times 10^{7}$	$3.73 \pm 0.95 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* 5 วัน	C	$3.07 \pm 0.15 \times 10^{7}$	$4.27 \pm 1.69 \times 10^{3}$
	FB	$3.43 \pm 1.18 \times 10^{7}$	$2.13 \pm 0.25 \times 10^{7}$
	MB	$3.27 \pm 0.35 \times 10^{7}$	$5.43 \pm 2.25 \times 10^{5}$

ตารางที่ 12 สรุปปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง	ชุดการทดลอง	Hepatopancreas-Intestine	
		แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (CFU/g)	*Bacillus* (CFU/g)
เติม *V. harveyi* 7 วัน	C	$3.06 \pm 2.65 \times 10^{7}$	$4.30 \pm 2.26 \times 10^{3}$
	FB	$4.90 \pm 3.45 \times 10^{7}$	$2.83 \pm 2.67 \times 10^{7}$
	MB	$3.10 \pm 1.65 \times 10^{7}$	$2.23 \pm 1.14 \times 10^{6}$
เติม *V. harveyi* 10 วัน	C	$5.73 \pm 3.29 \times 10^{7}$	$5.20 \pm 1.00 \times 10^{3}$
	FB	$4.90 \pm 3.18 \times 10^{7}$	$4.20 \pm 3.03 \times 10^{7}$
	MB	$3.60 \pm 0.61 \times 10^{7}$	$8.87 \pm 0.31 \times 10^{6}$

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม
FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง
MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล
ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.2 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

จากการศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะเวลาโพสลาวา 30 พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงด้วยโพรไบโอติกผสมเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโคร-แคปซูล (MB) มีค่าสูงที่สุด ($5.40 \pm 0.04 \times 10^{6}$ CFU/ml) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB; $2.50 \pm 0.20 \times 10^{4}$ CFU/ml) และชุดควบคุม (C; $1.70 \pm 0.10 \times 10^{4}$ CFU/ml) แต่ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปในชุดการทดลอง FB และชุดควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีปริมาณไม่แตกต่างจากวันเริ่มต้นทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 13)

เมื่อทำการเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรคด้วยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงไปในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้มีความเข้มข้น 10^6 CFU/ml พบว่าแบคทีเรียกลุ่มเฮท-เทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB และชุดควบคุมมีปริมาณเพิ่มขึ้น 100 เท่าและมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับปริมาณที่พบในวันที่ 30 ก่อนเหนี่ยวนำให้เกิดโรค โดยในชุด FB และชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 4.40 ± 1.82 × 10^6 CFU/ml และ 3.93 ± 0.84 × 10^6 CFU/ml ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 2 ของการทดลอง และมีปริมาณไม่แตกต่างกันจนถึงสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค โดยเมื่อสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานโรค พบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของชุดการทดลอง FB และชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 6.70 ± 0.21 × 10^4 และ 6.80 ± 2.65 × 10^4 CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ส่วนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในชุดการทดลอง MB มีปริมาณค่อนข้างคงที่ตลอดการทดลอง และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดระหว่าง 3 ชุดการทดลองพบว่าปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในชุดการทดลอง MB มีค่าสูงกว่าชุดการทดลอง FB และชุดควบคุมอย่างมีสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ตลอดระยะเวลาการทดลองดังแสดงในตารางที่ 13 และ 15

ดังนั้นสรุปได้ว่าการเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารกุ้งขาวแวนนาไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในระยะ 30 วันในช่วงก่อนการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค แต่การเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำเพิ่มขึ้น 100 เท่า และเมื่อเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ให้มีความเข้มข้น 10^6 CFU/ml พบว่ามีผลต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB และชุดควบคุม โดยทำให้มีปริมาณกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดเพิ่มขึ้น 100 เท่า แต่การเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรคด้วยวิธีดังกล่าวไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอ-โรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง MB

สำหรับปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมวันเริ่มต้นการทดลอง พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และรูปแบบไมโครแคปซูลเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของชุดการทดลอง MB มีค่าสูงที่สุด (7.77 ± 0.57 × 10^4 CFU/ml) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับชุดการทดลอง FB (8.27 ± 1.60 × 10^2 CFU/ml) และชุดควบคุม (1.53 ± 0.06 × 10^2 CFU/ml) ซึ่งชุดการทดลอง FB และชุดควบคุมมีปริมาณ *Bacillus* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) เมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 30 วัน พบว่า *Bacillus* ในชุดการทดลอง MB และชุดการทดลอง FB มีปริมาณเพิ่มขึ้น 100 เท่า โดยมีค่าเท่ากับ 7.10 ± 0.69 × 10^6 CFU/ml และ 6.73 ± 0.64 × 10^4CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณมากกว่าวันเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และพบว่าปริมาณ *Bacillus* ในชุดการทดลอง MB มีค่าสูงกว่าชุดการทดลอง FB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วน *Bacillus* ในชุดควบคุมมี

ปริมาณค่อนข้างคงที่และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับวันเริ่มต้นการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ $1.63 \pm 0.23 \times 10^2$ CFU/ml และพบว่าปริมาณ *Bacillus* ในชุดควบคุมมีค่าน้อยกว่าชุดการทดลอง MB และชุดการทดลอง FB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อทำการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมด้วยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้ได้ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml พบว่าปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีปริมาณลดลง 100 เท่า หลังจากเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยชุดการทดลอง MB และชุดการทดลอง FB มีปริมาณ *Bacillus* เท่ากับ $4.00 \pm 2.29 \times 10^4$ CFU/ml และ $9.83 \pm 0.12 \times 10^2$ CFU/ml ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณ *Bacillus* ทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีปริมาณคงที่ไปจนถึงวันที่ 7 ของการทดลอง และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงวันสิ้นสุดการทดลอง ส่วนในชุดควบคุมพบว่าหลังจากเหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรคไม่สามารถตรวจพบ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจนถึงวันที่ 5 ของการทดสอบความต้านทานโรค หลังจากนั้น *Bacillus* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 7 ของการทดสอบความต้านทานโรค และมีปริมาณคงที่ไปจนถึงวันสิ้นสุดการทดลอง โดยในวันสิ้นสุดการทดลองพบว่าปริมาณ *Bacillus* ในชุดการทดลอง MB มีค่าเท่ากับ $5.80 \pm 1.39 \times 10^6$ CFU/ml ซึ่งมีค่าสูงกว่าชุดการทดลอง FB ($5.70 \pm 1.14 \times 10^3$ CFU/ml) และชุดควบคุม ($8.33 \pm 1.16 \times 10^1$ CFU/ml) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 14 และ 15

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลสามารถรอดชีวิตและเจริญในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ ส่งผลให้ปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลองเพิ่มขึ้น และการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมให้ได้ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml มีผลต่อปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง โดยมีปริมาณลดลงประมาณ 100 เท่า

ตารางที่ 13 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/ml)				
ชุดการทดลอง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$1.70 \pm 0.10 \times 10^{4\ (b,2)}$	$1.77 \pm 0.08 \times 10^{4\ (b,2)}$	$3.93 \pm 0.84 \times 10^{6\ (a,1)}$	$2.84 \pm 0.57 \times 10^{5\ (b,5)}$	$4.23 \pm 1.55 \times 10^{4\ (b,2)}$
FB	$2.50 \pm 0.20 \times 10^{4\ (b,2)}$	$7.73 \pm 1.36 \times 10^{4\ (b,2)}$	$4.40 \pm 1.82 \times 10^{6\ (a,1)}$	$2.97 \pm 0.86 \times 10^{5\ (b,5)}$	$5.00 \pm 0.82 \times 10^{4\ (b,2)}$
MB	$5.40 \pm 0.04 \times 10^{6\ (a,1)}$	$7.70 \pm 1.04 \times 10^{6\ (a,1)}$	$4.83 \pm 0.85 \times 10^{6\ (a,2)}$	$8.37 \pm 0.80 \times 10^{6\ (a,1)}$	$8.23 \pm 0.55 \times 10^{6\ (a,1)}$

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 13 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/ml)				
ชุดการทดลอง	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$2.93 \pm 0.45 \times 10^{4\ (b,2)}$	$4.07 \pm 1.91 \times 10^{4\ (b,2)}$	$3.30 \pm 0.20 \times 10^{4\ (b,2)}$	$3.64 \pm 0.67 \times 10^{4\ (b,2)}$	$6.80 \pm 2.65 \times 10^{4\ (b,2)}$
FB	$2.63 \pm 0.51 \times 10^{4\ (b,2)}$	$2.81 \pm 0.34 \times 10^{4\ (b,2)}$	$2.37 \pm 1.19 \times 10^{4\ (b,2)}$	$4.63 \pm 1.76 \times 10^{4\ (b,2)}$	$6.70 \pm 0.21 \times 10^{4\ (b,2)}$
MB	$7.20 \pm 1.85 \times 10^{6\ (a,1)}$	$8.00 \pm 1.42 \times 10^{6\ (a,1)}$	$7.67 \pm 1.20 \times 10^{6\ (a,1)}$	$8.40 \pm 1.01 \times 10^{6\ (a,1)}$	$8.07 \pm 1.04 \times 10^{6\ (a,1)}$

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 14 ปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/ml)				
ชุดการทดลอง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$1.53 \pm 0.06 \times 10^{2\ (b,1)}$	$1.63 \pm 0.23 \times 10^{2\ (c,1)}$	$0^{(c,3)}$	$0^{(c,3)}$	$0^{(c,3)}$
FB	$8.27 \pm 1.60 \times 10^{2\ (a,3)}$	$6.73 \pm 0.64 \times 10^{4\ (b,1)}$	$9.83 \pm 0.12 \times 10^{2\ (b,3)}$	$2.60 \pm 0.10 \times 10^{2\ (b,3)}$	$4.37 \pm 1.85 \times 10^{2\ (b,3)}$
MB	$7.77 \pm 0.57 \times 10^{4\ (a,3)}$	$7.10 \pm 0.69 \times 10^{6\ (a,1)}$	$4.00 \pm 2.29 \times 10^{4\ (a,3)}$	$7.87 \pm 1.03 \times 10^{4\ (a,3)}$	$7.52 \pm 0.50 \times 10^{5\ (a,3)}$

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 14 ปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (CFU/ml)				
ชุดการทดลอง	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$0^{(c,3)}$	$0^{(c,3)}$	$0^{(c,3)}$	$7.33 \pm 2.01 \times 10^{1\ (c,3)}$	$8.33 \pm 1.16 \times 10^{1\ (c,23)}$
FB	$2.60 \pm 0.10 \times 10^{2\ (b,3)}$	$2.57 \pm 0.12 \times 10^{2\ (b,3)}$	$1.53 \pm 0.40 \times 10^{2\ (b,3)}$	$4.10 \pm 1.73 \times 10^{3\ (b,23)}$	$5.70 \pm 1.14 \times 10^{3\ (b,2)}$
MB	$6.77 \pm 1.87 \times 10^{5\ (a,3)}$	$7.47 \pm 1.75 \times 10^{5\ (a,3)}$	$7.13 \pm 0.81 \times 10^{5\ (a,3)}$	$3.60 \pm 0.61 \times 10^{6\ (a,3)}$	$5.80 \pm 1.39 \times 10^{6\ (a,2)}$

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 15 สรุปปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง	ชุดการทดลอง	น้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม	
		แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (CFU/ml)	*Bacillus* (CFU/ml)
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	C	$1.70 \pm 0.10 \times 10^{4}$	$1.53 \pm 0.06 \times 10^{2}$
	FB	$2.50 \pm 0.20 \times 10^{4}$	$8.27 \pm 1.60 \times 10^{2}$
	MB	$5.40 \pm 0.04 \times 10^{6}$	$7.77 \pm 0.57 \times 10^{4}$
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	C	$1.77 \pm 0.08 \times 10^{4}$	$7.97 \pm 1.36 \times 10^{2}$
	FB	$7.73 \pm 1.36 \times 10^{4}$	$6.73 \pm 0.64 \times 10^{4}$
	MB	$7.70 \pm 1.04 \times 10^{6}$	$7.10 \pm 0.69 \times 10^{6}$
เติม *V. harveyi* 2 ชั่วโมง	C	$3.93 \pm 0.84 \times 10^{6}$	0
	FB	$4.40 \pm 1.82 \times 10^{6}$	$9.83 \pm 0.12 \times 10^{2}$
	MB	$4.83 \pm 0.85 \times 10^{6}$	$8.67 \pm 0.29 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* 1 วัน	C	$2.84 \pm 0.57 \times 10^{5}$	0
	FB	$2.97 \pm 0.86 \times 10^{5}$	$2.60 \pm 0.10 \times 10^{2}$
	MB	$8.37 \pm 0.80 \times 10^{6}$	$7.87 \pm 1.03 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* 2 วัน	C	$4.23 \pm 1.55 \times 10^{4}$	0
	FB	$5.00 \pm 0.82 \times 10^{4}$	$4.37 \pm 1.85 \times 10^{2}$
	MB	$8.23 \pm 0.55 \times 10^{6}$	$7.52 \pm 0.50 \times 10^{5}$
เติม *V. harveyi* 3 วัน	C	$2.93 \pm 0.45 \times 10^{4}$	0
	FB	$2.63 \pm 0.51 \times 10^{4}$	$2.60 \pm 0.10 \times 10^{2}$
	MB	$7.20 \pm 1.85 \times 10^{6}$	$6.77 \pm 1.87 \times 10^{5}$
เติม *V. harveyi* 4 วัน	C	$4.07 \pm 1.91 \times 10^{4}$	0
	FB	$2.81 \pm 0.34 \times 10^{4}$	$2.57 \pm 0.12 \times 10^{2}$
	MB	$8.00 \pm 1.42 \times 10^{6}$	$7.47 \pm 1.75 \times 10^{5}$
เติม *V. harveyi* 5 วัน	C	$3.30 \pm 0.20 \times 10^{4}$	0
	FB	$2.37 \pm 1.19 \times 10^{4}$	$1.53 \pm 0.40 \times 10^{2}$
	MB	$7.67 \pm 1.20 \times 10^{6}$	$7.13 \pm 0.81 \times 10^{5}$

ตารางที่ 15 สรุปปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง	ชุดการทดลอง	น้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม	
		แบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด (CFU/ml)	*Bacillus* (CFU/ml)
เติม *V. harveyi* 7 วัน	C	$3.64 \pm 0.67 \times 10^4$	0.21 ± 0.09
	FB	$4.63 \pm 1.76 \times 10^4$	8.71 ± 0.56
	MB	$8.40 \pm 1.01 \times 10^6$	43.71 ± 11.38
เติม *V. harveyi* 10 วัน	C	$6.80 \pm 2.65 \times 10^4$	0.16 ± 0.07
	FB	$6.70 \pm 0.21 \times 10^4$	8.72 ± 1.10
	MB	$8.07 \pm 1.04 \times 10^6$	71.22 ± 9.58

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม
FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง
MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล
ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.3 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

จากการศึกษาผลของแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเปรียบเทียบกับรูปไมโครแคปซูลต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine ของชุดควบคุม ชุดที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และชุดที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูล (MB) มีค่าเท่ากับ $4.95 \pm 0.92 \times 10^6$, $2.03 \pm 0.60 \times 10^6$ และ $2.09 \pm 0.77 \times 10^6$ CFU/g ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกับช่วงเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ที่ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml พบว่าไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคเป็นเวลา 10 วัน ดังแสดงในตารางที่ 16

สำหรับปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของชุดควบคุม ชุดที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และชุดที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูล (MB) มีค่าเท่ากับ $3.63 \pm 0.55 \times 10^4$, $2.80 \pm 0.75 \times 10^4$ และ $3.16 \pm 0.91 \times 10^4$ CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างจากช่วงเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ $7.33\pm0.86\times10^4$, $5.86\pm1.19\times10^4$ และ $5.20\pm0.82\times10^4$ CFU/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 17 และ 18)

เมื่อทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคพบว่าการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำมีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งโดยทำให้ปริมาณแบคทีเรียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณ 100 เท่า หลังจากนั้นปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีปริมาณลดลงหลังจากเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 เป็นเวลา 1 วัน และเมื่อสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคพบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีปริมาณไม่แตกต่างจากช่วงเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 16 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$4.95 \pm 0.92 \times 10^{6\ (a,12)}$	$7.33 \pm 1.36 \times 10^{6\ (a,1)}$	$6.83 \pm 1.14 \times 10^{6\ (a,1)}$	$7.27 \pm 0.87 \times 10^{6\ (a,1)}$	$8.06 \pm 0.80 \times 10^{6\ (a,1)}$
FB	$2.03 \pm 0.60 \times 10^{6\ (a,12)}$	$4.10 \pm 0.49 \times 10^{6\ (a,1)}$	$5.27 \pm 0.64 \times 10^{6\ (a,1)}$	$5.36 \pm 1.06 \times 10^{6\ (a,1)}$	$4.97 \pm 1.20 \times 10^{6\ (a,1)}$
MB	$2.09 \pm 0.77 \times 10^{6\ (a,12)}$	$5.26 \pm 1.12 \times 10^{6\ (a,1)}$	$5.93 \pm 0.90 \times 10^{6\ (a,1)}$	$6.53 \pm 0.91 \times 10^{6\ (a,1)}$	$6.30 \pm 0.75 \times 10^{6\ (a,1)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 16 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$6.23 \pm 1.22 \times 10^{6\ (a,1)}$	$7.06 \pm 0.70 \times 10^{6\ (a,1)}$	$5.43 \pm 0.70 \times 10^{6\ (a,12)}$	$6.57 \pm 0.59 \times 10^{6\ (a,1)}$	$5.33 \pm 1.16 \times 10^{6\ (a,12)}$
FB	$3.73 \pm 0.91 \times 10^{6\ (a,1)}$	$4.63 \pm 1.13 \times 10^{6\ (a,1)}$	$3.86 \pm 0.63 \times 10^{6\ (a,1)}$	$4.77 \pm 0.85 \times 10^{6\ (a,1)}$	$2.96 \pm 0.71 \times 10^{6\ (a,12)}$
MB	$5.40 \pm 0.79 \times 10^{6\ (a,1)}$	$5.86 \pm 1.00 \times 10^{6\ (a,1)}$	$4.57 \pm 0.71 \times 10^{6\ (a,1)}$	$5.93 \pm 1.01 \times 10^{6\ (a,1)}$	$4.53 \pm 0.80 \times 10^{6\ (a,1)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 17 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำ (CFU/ml)				
	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$3.63 \pm 0.55 \times 10^{4\ (a,3)}$	$6.47 \pm 0.81 \times 10^{4\ (a,23)}$	$8.26 \pm 0.74 \times 10^{6\ (a,1)}$	$1.78 \pm 0.74 \times 10^{5\ (a,2)}$	$8.27 \pm 1.07 \times 10^{4\ (a,2)}$
FB	$2.80 \pm 0.75 \times 10^{4\ (a,3)}$	$5.86 \pm 1.19 \times 10^{4\ (a,23)}$	$7.80 \pm 0.79 \times 10^{6\ (a,1)}$	$9.37 \pm 1.11 \times 10^{4\ (a,2)}$	$7.50 \pm 0.85 \times 10^{4\ (a,2)}$
MB	$3.16 \pm 0.91 \times 10^{4\ (a,3)}$	$5.20 \pm 0.82 \times 10^{4\ (a,23)}$	$7.23 \pm 0.97 \times 10^{6\ (a,1)}$	$7.83 \pm 0.85 \times 10^{4\ (a,2)}$	$5.93 \pm 1.16 \times 10^{4\ (a,2)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 17 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำ (CFU/ml)				
	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$7.46 \pm 0.95 \times 10^{4\ (a,2)}$	$8.33 \pm 0.80 \times 10^{4\ (a,2)}$	$6.36 \pm 0.51 \times 10^{4\ (a,23)}$	$8.20 \pm 1.11 \times 10^{4\ (a,2)}$	$8.03 \pm 1.08 \times 10^{4\ (a,2)}$
FB	$6.80 \pm 0.79 \times 10^{4\ (a,2)}$	$6.40 \pm 0.66 \times 10^{4\ (a,2)}$	$5.43 \pm 0.75 \times 10^{4\ (a,23)}$	$6.60 \pm 0.86 \times 10^{4\ (a,2)}$	$7.37 \pm 0.80 \times 10^{4\ (a,2)}$
MB	$6.23 \pm 0.55 \times 10^{4\ (a,2)}$	$5.93 \pm 1.10 \times 10^{4\ (a,2)}$	$3.83 \pm 1.20 \times 10^{4\ (a,3)}$	$5.83 \pm 0.83 \times 10^{4\ (a,2)}$	$5.97 \pm 0.96 \times 10^{4\ (a,2)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 18 สรุปปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง (วัน)	ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเล	
		Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)	น้ำ (CFU/ml)
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	C	$4.95 \pm 0.92 \times 10^{6}$	$3.63 \pm 0.55 \times 10^{4}$
	FB	$2.03 \pm 0.60 \times 10^{6}$	$2.80 \pm 0.75 \times 10^{4}$
	MB	$2.09 \pm 0.77 \times 10^{6}$	$3.16 \pm 0.91 \times 10^{4}$
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	C	$7.33 \pm 1.36 \times 10^{6}$	$7.33 \pm 0.86 \times 10^{4}$
	FB	$4.10 \pm 0.49 \times 10^{6}$	$5.86 \pm 1.19 \times 10^{4}$
	MB	$5.26 \pm 1.12 \times 10^{6}$	$5.20 \pm 0.82 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* (10^{6} CFU/ml) 2 ชั่วโมง	C	$6.83 \pm 1.14 \times 10^{6}$	$8.26 \pm 0.74 \times 10^{6}$
	FB	$5.27 \pm 0.64 \times 10^{6}$	$7.80 \pm 0.79 \times 10^{6}$
	MB	$5.93 \pm 0.90 \times 10^{6}$	$7.23 \pm 0.97 \times 10^{6}$
เติม *V. harveyi* 1 วัน	C	$7.27 \pm 0.87 \times 10^{6}$	$1.78 \pm 0.74 \times 10^{5}$
	FB	$5.36 \pm 1.06 \times 10^{6}$	$9.37 \pm 1.11 \times 10^{4}$
	MB	$6.53 \pm 0.91 \times 10^{6}$	$7.83 \pm 0.85 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* 2 วัน	C	$8.06 \pm 0.80 \times 10^{6}$	$8.27 \pm 1.07 \times 10^{4}$
	FB	$4.97 \pm 1.20 \times 10^{6}$	$7.50 \pm 0.85 \times 10^{4}$
	MB	$6.30 \pm 0.75 \times 10^{6}$	$5.93 \pm 1.16 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* 3 วัน	C	$6.23 \pm 1.22 \times 10^{6}$	$7.46 \pm 0.95 \times 10^{4}$
	FB	$3.73 \pm 0.91 \times 10^{6}$	$6.80 \pm 0.79 \times 10^{4}$
	MB	$5.40 \pm 0.79 \times 10^{6}$	$6.23 \pm 0.55 \times 10^{4}$
เติม *V. harveyi* 4 วัน	C	$7.06 \pm 0.70 \times 10^{6}$	$8.33 \pm 0.80 \times 10^{4}$
	FB	$4.63 \pm 1.13 \times 10^{6}$	$6.40 \pm 0.66 \times 10^{4}$
	MB	$5.86 \pm 1.00 \times 10^{6}$	$5.93 \pm 1.10 \times 10^{4}$

ตารางที่ 18 สรุปปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง (วัน)	ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเล	
		Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)	น้ำ (CFU/ml)
เติม *V. harveyi* 5 วัน	C	$5.43 \pm 0.70 \times 10^6$	$6.36 \pm 0.51 \times 10^4$
	FB	$3.86 \pm 0.63 \times 10^6$	$5.43 \pm 0.75 \times 10^4$
	MB	$4.57 \pm 0.71 \times 10^6$	$3.83 \pm 1.20 \times 10^4$
เติม *V. harveyi* 7 วัน	C	$6.57 \pm 0.59 \times 10^6$	$8.20 \pm 1.11 \times 10^4$
	FB	$4.77 \pm 0.85 \times 10^6$	$6.60 \pm 0.86 \times 10^4$
	MB	$5.93 \pm 1.01 \times 10^6$	$5.83 \pm 0.83 \times 10^4$
เติม *V. harveyi* 10 วัน	C	$5.33 \pm 1.16 \times 10^6$	$8.03 \pm 1.08 \times 10^4$
	FB	$2.96 \pm 0.71 \times 10^6$	$7.37 \pm 0.80 \times 10^4$
	MB	$4.53 \pm 0.80 \times 10^6$	$5.97 \pm 0.96 \times 10^4$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

4.4 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เจริญบนอาหาร TCBS agar ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

จากการศึกษาผลของแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเปรียบเทียบกับรูปไมโครแคปซูล พบว่าแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมของชุดควบคุม ($3.27 \pm 0.86 \times 10^5$CFU/g) ชุดที่เติมโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB; $3.73 \pm 1.07 \times 10^5$ CFU/g) และรูปไมโครแคปซูล (MB; $4.17 \pm 0.76 \times 10^5$ CFU/g) ในช่วงเริ่มต้นการทดลองมีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) เมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีปริมาณลดลงประมาณ 10 เท่า โดยในชุดการทดลอง FB ($1.77 \pm 0.25 \times 10^4$ CFU/g) สามารถลดปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ได้ดีที่สุดแต่มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) กับชุด

การทดลอง MB ($6.25 \pm 0.92 \times 10^4$ CFU/g) แต่แตกต่างกับชุดควบคุม ($5.16 \pm 0.85 \times 10^5$ CFU/g) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไมโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้มีความเข้มข้น 10^6 CFU/ml พบว่าไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมแต่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในชุดการทดลอง FB และ MB โดยทำให้ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในชุดที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีปริมาณลดลงตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลองหลังจากเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 โดยลดลงจนถึงวันที่ 10 ของการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค และมีค่าแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 19 และ 21

สำหรับปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของชุดควบคุม ชุดการทดลอง FB และ MB ในช่วงเริ่มต้นการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำของชุดการทดลองที่ได้รับโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุดการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ลดลงและมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae น้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคพบว่าการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลอง โดยทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังจากที่มีการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ดังแสดงในตารางที่ 20

ตารางที่ 19 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$3.27\pm0.86\times10^{5\ (a,1)}$	$5.16\pm0.85\times10^{5\ (a,1)}$	$4.27\pm1.25\times10^{5\ (a,1)}$	$5.23\pm0.78\times10^{5\ (a,1)}$	$7.47\pm1.10\times10^{5\ (a,1)}$
FB	$3.73\pm1.07\times10^{5\ (a,1)}$	$1.77\pm0.25\times10^{4\ (b,2)}$	$1.86\pm0.81\times10^{5\ (a,1)}$	$2.77\pm0.92\times10^{5\ (a,1)}$	$1.02\pm0.56\times10^{5\ (b,1)}$
MB	$4.17\pm0.76\times10^{5\ (a,1)}$	$6.25\pm0.92\times10^{4\ (b,2)}$	$2.43\pm0.70\times10^{5\ (a,1)}$	$1.97\pm0.32\times10^{5\ (a,1)}$	$3.63\pm0.67\times10^{5\ (b,1)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 19 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceaeใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$5.23 \pm 0.68 \times 10^{5\ (a,1)}$	$3.33 \pm 0.80 \times 10^{5\ (a,1)}$	$5.27 \pm 0.74 \times 10^{5\ (a,1)}$	$3.47 \pm 0.65 \times 10^{5\ (a,1)}$	$4.43 \pm 1.17 \times 10^{5\ (a,1)}$
FB	$8.33 \pm 0.86 \times 10^{4\ (b,12)}$	$6.77 \pm 0.75 \times 10^{4\ (b,2)}$	$4.30 \pm 0.26 \times 10^{4\ (b,2)}$	$2.57 \pm 0.29 \times 10^{4\ (b,2)}$	$2.83 \pm 0.85 \times 10^{4\ (b,2)}$
MB	$1.04 \pm 0.85 \times 10^{5\ (b,12)}$	$8.33 \pm 0.67 \times 10^{4\ (b,2)}$	$9.17 \pm 1.06 \times 10^{4\ (b,12)}$	$6.67 \pm 0.61 \times 10^{4\ (b,2)}$	$7.27 \pm 0.57 \times 10^{4\ (b,2)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 20 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำ (CFU/ml)				
	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$4.46\pm0.81\times10^{3\ (a,3)}$	$2.36\pm0.70\times10^{4\ (a,2)}$	$5.53\pm0.64\times10^{6\ (a,1)}$	$5.17\pm0.72\times10^{4\ (a,2)}$	$3.11\pm0.39\times10^{4\ (a,2)}$
FB	$3.86\pm0.90\times10^{3\ (a,4)}$	$7.20\pm1.11\times10^{2\ (b,5)}$	$6.27\pm0.85\times10^{6\ (a,1)}$	$3.87\pm0.53\times10^{4\ (a,2)}$	$6.29\pm0.28\times10^{3\ (b,3)}$
MB	$5.13\pm0.71\times10^{3\ (a,23)}$	$2.37\pm0.32\times10^{2\ (b,5)}$	$5.80\pm0.62\times10^{6\ (a,1)}$	$9.03\pm0.93\times10^{3\ (a,2)}$	$2.49\pm0.17\times10^{3\ (b,3)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 20 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำ (CFU/ml)				
	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$1.16\pm0.22\times10^{4\ (a,23)}$	$1.23\pm0.71\times10^{4\ (a,23)}$	$9.67\pm1.11\times10^{3\ (a,3)}$	$8.80\pm1.38\times10^{3\ (a,3)}$	$9.03\pm1.25\times10^{3\ (a,3)}$
FB	$6.41\pm0.11\times10^{3\ (b,3)}$	$5.39\pm0.08\times10^{3\ (b,3)}$	$4.47\pm0.31\times10^{3\ (b,3)}$	$9.33\pm0.55\times10^{2\ (b,4)}$	$1.02\pm0.09\times10^{3\ (b,4)}$
MB	$2.63\pm0.39\times10^{3\ (b,3)}$	$1.57\pm0.20\times10^{3\ (b,4)}$	$1.17\pm0.22\times10^{3\ (b,4)}$	$5.77\pm0.15\times10^{2\ (b,5)}$	$5.30\pm0.61\times10^{2\ (b,5)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 21 สรุปรวมปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมก่อนการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง (วัน)	ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae	
		Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)	น้ำ (CFU/ml)
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	C	$3.27 \pm 0.86 \times 10^{5}$	$4.46 \pm 0.81 \times 10^{3}$
	FB	$3.73 \pm 1.07 \times 10^{5}$	$3.86 \pm 0.90 \times 10^{3}$
	MB	$4.17 \pm 0.76 \times 10^{5}$	$5.13 \pm 0.71 \times 10^{3}$
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	C	$5.16 \pm 0.85 \times 10^{5}$	$2.36 \pm 0.70 \times 10^{4}$
	FB	$1.77 \pm 0.25 \times 10^{4}$	$7.20 \pm 1.11 \times 10^{2}$
	MB	$6.25 \pm 0.92 \times 10^{4}$	$2.37 \pm 0.32 \times 10^{2}$
เติม *V. harveyi* (10^{6} CFU/ml) 2 ชั่วโมง	C	$4.27 \pm 1.25 \times 10^{5}$	$5.53 \pm 0.64 \times 10^{6}$
	FB	$1.86 \pm 0.81 \times 10^{5}$	$6.27 \pm 0.85 \times 10^{6}$
	MB	$2.43 \pm 0.70 \times 10^{5}$	$5.80 \pm 0.62 \times 10^{6}$
เติม *V. harveyi* 1 วัน	C	$5.23 \pm 0.78 \times 10^{5}$	$5.17 \pm 0.72 \times 10^{4}$
	FB	$2.77 \pm 0.92 \times 10^{5}$	$3.87 \pm 0.53 \times 10^{4}$
	MB	$1.97 \pm 0.32 \times 10^{5}$	$9.03 \pm 0.93 \times 10^{3}$
เติม *V. harveyi* 2 วัน	C	$7.47 \pm 1.10 \times 10^{5}$	$3.11 \pm 0.39 \times 10^{4}$
	FB	$1.02 \pm 0.56 \times 10^{4}$	$5.22 \pm 0.69 \times 10^{3}$
	MB	$3.63 \pm 0.67 \times 10^{5}$	$6.29 \pm 0.28 \times 10^{3}$
เติม *V. harveyi* 3 วัน	C	$5.23 \pm 0.68 \times 10^{5}$	$2.49 \pm 0.17 \times 10^{4}$
	FB	$8.33 \pm 0.86 \times 10^{4}$	$6.41 \pm 0.11 \times 10^{3}$
	MB	$1.04 \pm 0.85 \times 10^{5}$	$2.63 \pm 0.39 \times 10^{3}$
เติม *V. harveyi* 4 วัน	C	$3.33 \pm 0.80 \times 10^{5}$	$1.23 \pm 0.71 \times 10^{4}$
	FB	$6.77 \pm 0.75 \times 10^{4}$	$5.39 \pm 0.08 \times 10^{3}$
	MB	$8.33 \pm 0.67 \times 10^{4}$	$1.57 \pm 0.20 \times 10^{3}$

ตารางที่ 21 สรุปรวมปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมก่อนการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง (วัน)	ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae	
		Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)	น้ำ (CFU/ml)
เติม *V. harveyi* 5 วัน	C	$5.27 \pm 0.74 \times 10^5$	$9.67 \pm 1.11 \times 10^3$
	FB	$4.30 \pm 0.26 \times 10^4$	$4.47 \pm 0.39 \times 10^3$
	MB	$9.17 \pm 1.06 \times 10^4$	$1.17 \pm 0.22 \times 10^3$
เติม *V. harveyi* 7 วัน	C	$3.47 \pm 0.65 \times 10^5$	$8.80 \pm 1.38 \times 10^3$
	FB	$2.57 \pm 0.29 \times 10^4$	$9.33 \pm 0.55 \times 10^2$
	MB	$6.67 \pm 0.61 \times 10^4$	$5.77 \pm 0.15 \times 10^2$
เติม *V. harveyi* 10 วัน	C	$4.43 \pm 1.17 \times 10^5$	$9.03 \pm 1.25 \times 10^3$
	FB	$2.83 \pm 0.85 \times 10^4$	$1.02 \pm 0.09 \times 10^3$
	MB	$7.27 \pm 0.57 \times 10^4$	$5.30 \pm 0.61 \times 10^2$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

4.5 ปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เจริญบนอาหาร *V. harveyi* Agar (VHA) ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

จากการศึกษาปริมาณโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อปริมาณ *V. harveyi* พบว่าไม่สามารถตรวจพบ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุม ชุดที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และชุดที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูล (MB) ตลอดระยะเวลาทดลอง 30 วัน ในช่วงก่อนการทดสอบความสามารถในการต้านทานแบคทีเรียก่อโรคด้วยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

เมื่อทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไมโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง พบว่าหลังจากเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 เป็นเวลา 2

ชั่วโมง ปริมาณ *V. harveyi* ที่พบใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุม ($4.27 \pm 0.94 \times 10^5$ CFU/g) ชุด FB ($1.82 \pm 0.84 \times 10^5$ CFU/g) และชุด MB ($2.35 \pm 0.86 \times 10^5$ CFU/g) มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) หลังจากนั้นปริมาณ *V. harveyi* ในชุดที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีค่าลดลงตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคไปจนถึงวันสิ้นสุดการทดสอบ โดยเมื่อสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคพบว่าปริมาณ *V. harveyi* ในชุดที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุด (FB และ MB) มีค่าเท่ากับ $3.73 \pm 0.66 \times 10^3$ CFU/g และ $8.00 \pm 1.00 \times 10^3$ CFU/g ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่าง 2 ชุดการทดลองนี้ แต่มีค่าแตกต่างกับชุดควบคุม ($8.67 \pm 1.15 \times 10^4$ CFU/g) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 22 และ 24

สำหรับปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในช่วง 30 วัน ก่อนการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* พบว่าไม่สามารถตรวจพบ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งของทั้ง 3 ชุดการทดลอง

เมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมหลังจากเติมเป็นเวลา 2 ชั่วโมงของชุดควบคุม ชุด FB และชุด MB มีค่าเท่ากับ $8.27 \pm 1.07 \times 10^6$, $8.47 \pm 0.60 \times 10^6$ และ $7.73 \pm 0.96 \times 10^6$ CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) หลังจากนั้นปริมาณ *V. harveyi* ทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีแนวโน้มลดลงจนถึงวันสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองปริมาณ *V. harveyi* ที่พบในชุดการทดลองที่ได้รับโพรไบโอติก (FB และ MB) มีค่าลดลงเหลือ $1.03 \pm 0.15 \times 10^3$ และ $8.50 \pm 0.71 \times 10^2$ CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีความแตกต่างกับชุดควบคุมซึ่งมีค่าเท่ากับ $9.57 \pm 1.10 \times 10^3$ CFU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 23

ตารางที่ 22 ปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ชุดการทดลอง	ปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$< 10^2$	$< 10^2$	$4.27 \pm 0.94 \times 10^{5\ (a,1)}$	$6.17 \pm 1.02 \times 10^{5\ (a,1)}$	$7.50 \pm 0.56 \times 10^{5\ (a,1)}$
FB	$< 10^2$	$< 10^2$	$1.82 \pm 0.84 \times 10^{5\ (a,1)}$	$2.13 \pm 0.71 \times 10^{5\ (a,1)}$	$1.67 \pm 0.30 \times 10^{5\ (a,1)}$
MB	$< 10^2$	$< 10^2$	$2.35 \pm 0.86 \times 10^{5\ (a,1)}$	$3.26 \pm 0.25 \times 10^{5\ (a,1)}$	$3.17 \pm 0.30 \times 10^{5\ (a,1)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 22 ปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	ปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$6.10 \pm 0.40 \times 10^{5\ (a,1)}$	$3.17 \pm 0.35 \times 10^{5\ (a,12)}$	$9.67 \pm 1.15 \times 10^{4\ (a,2)}$	$7.67 \pm 0.58 \times 10^{4\ (a,2)}$	$8.67 \pm 1.15 \times 10^{4\ (a,2)}$
FB	$7.07 \pm 1.15 \times 10^{4\ (b,2)}$	$5.46 \pm 0.85 \times 10^{4\ (b,2)}$	$1.83 \pm 0.94 \times 10^{4\ (b,3)}$	$6.67 \pm 1.15 \times 10^{3\ (b,3)}$	$3.73 \pm 0.66 \times 10^{3\ (b,3)}$
MB	$9.27 \pm 0.78 \times 10^{4\ (b,12)}$	$8.27 \pm 0.23 \times 10^{4\ (b,2)}$	$4.43 \pm 0.51 \times 10^{4\ (b,2)}$	$1.07 \pm 0.51 \times 10^{4\ (b,3)}$	$8.00 \pm 1.00 \times 10^{3\ (b,3)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 23 ปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ชุดการทดลอง	ปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำ (CFU/ml)				
	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	< 10	< 10	$8.27 \pm 1.07 \times 10^{6\ (a,1)}$	$8.57 \pm 0.86 \times 10^{4\ (a,2)}$	$5.27 \pm 1.07 \times 10^{4\ (a,2)}$
FB	< 10	< 10	$8.47 \pm 0.60 \times 10^{6\ (a,1)}$	$5.33 \pm 0.58 \times 10^{4\ (a,2)}$	$7.57 \pm 0.70 \times 10^{3\ (b,3)}$
MB	< 10	< 10	$7.73 \pm 0.96 \times 10^{6\ (a,1)}$	$2.43 \pm 0.29 \times 10^{4\ (a,2)}$	$4.10 \pm 0.40 \times 10^{3\ (b,3)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางที่ 23 ปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	ปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำ (CFU/ml)				
	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$2.43 \pm 0.71\times10^{4\ (a,23)}$	$9.33 \pm 1.53\times10^{3\ (a,3)}$	$8.67 \pm 0.58\times10^{3\ (a,3)}$	$7.00 \pm 1.00\times10^{3\ (a,3)}$	$9.57 \pm 1.10\times10^{3\ (a,3)}$
FB	$6.17 \pm 0.96\times10^{3\ (b,3)}$	$6.17 \pm 0.66\times10^{3\ (b,3)}$	$3.37 \pm 1.30\times10^{3\ (b,34)}$	$9.00 \pm 1.00\times10^{2\ (b,4)}$	$1.03 \pm 0.15\times10^{3\ (b,4)}$
MB	$2.50 \pm 0.46\times10^{3\ (b,3)}$	$2.60 \pm 0.46\times10^{3\ (b,3)}$	$8.67 \pm 0.57\times10^{2\ (b,34)}$	$6.83 \pm 0.76\times10^{2\ (b,4)}$	$5.15 \pm 0.63\times10^{2\ (b,4)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 24 สรุปรวมปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง (วัน)	ชุดการทดลอง	ปริมาณ *V. harveyi*	
		Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)	น้ำ (CFU/ml)
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	C	$< 10^2$	< 10
	FB	$< 10^2$	< 10
	MB	$< 10^2$	< 10
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	C	$< 10^2$	< 10
	FB	$< 10^2$	< 10
	MB	$< 10^2$	< 10
เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	C	$4.27 \pm 0.94 \times 10^5$	$8.27 \pm 1.07 \times 10^6$
	FB	$1.82 \pm 0.84 \times 10^5$	$8.47 \pm 0.60 \times 10^6$
	MB	$2.35 \pm 0.86 \times 10^5$	$7.73 \pm 0.96 \times 10^6$
เติม *V. harveyi* 1 วัน	C	$6.17 \pm 1.02 \times 10^5$	$8.57 \pm 0.86 \times 10^4$
	FB	$2.13 \pm 0.71 \times 10^5$	$5.33 \pm 0.58 \times 10^4$
	MB	$3.26 \pm 0.25 \times 10^5$	$5.10 \pm 0.50 \times 10^4$
เติม *V. harveyi* 2 วัน	C	$7.50 \pm 0.56 \times 10^5$	$5.27 \pm 1.07 \times 10^4$
	FB	$1.67 \pm 0.30 \times 10^5$	$7.57 \pm 0.70 \times 10^3$
	MB	$3.17 \pm 0.30 \times 10^5$	$4.10 \pm 0.40 \times 10^3$
เติม *V. harveyi* 3 วัน	C	$6.10 \pm 0.40 \times 10^5$	$2.43 \pm 0.71 \times 10^4$
	FB	$7.07 \pm 1.15 \times 10^4$	$6.17 \pm 0.96 \times 10^3$
	MB	$9.27 \pm 0.78 \times 10^4$	$2.50 \pm 0.46 \times 10^3$
เติม *V. harveyi* 4 วัน	C	$3.17 \pm 0.35 \times 10^5$	$9.33 \pm 1.53 \times 10^3$
	FB	$5.46 \pm 0.85 \times 10^4$	$6.17 \pm 0.66 \times 10^3$
	MB	$8.27 \pm 0.23 \times 10^4$	$2.60 \pm 0.46 \times 10^3$

ตารางที่ 24 สรุปรวมปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง (วัน)	ชุดการทดลอง	ปริมาณ *V. harveyi*	
		Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)	น้ำ (CFU/ml)
เติม *V. harveyi* 5 วัน	C	$9.67 \pm 1.15 \times 10^4$	$8.67 \pm 0.58 \times 10^3$
	FB	$1.83 \pm 0.94 \times 10^4$	$3.37 \pm 1.30 \times 10^3$
	MB	$4.43 \pm 0.51 \times 10^4$	$8.67 \pm 0.57 \times 10^2$
เติม *V. harveyi* 7 วัน	C	$7.67 \pm 1.15 \times 10^4$	$7.00 \pm 1.00 \times 10^3$
	FB	$6.67 \pm 1.53 \times 10^3$	$9.00 \pm 1.00 \times 10^2$
	MB	$1.07 \pm 0.51 \times 10^4$	$6.83 \pm 0.76 \times 10^2$
เติม *V. harveyi* 10 วัน	C	$8.67 \pm 1.15 \times 10^4$	$9.57 \pm 1.10 \times 10^3$
	FB	$3.73 \pm 0.66 \times 10^3$	$1.03 \pm 0.15 \times 10^3$
	MB	$8.00 \pm 1.00 \times 10^3$	$5.15 \pm 0.63 \times 10^2$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

4.6 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

จากการศึกษาผลของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae บนอาหาร VHA พบว่าปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมของชุดควบคุม ชุดที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และชุดที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปไมโครแคปซูล (MB) มีปริมาณในช่วงเริ่มต้นการทดลองเท่ากับ $3.73 \pm 0.86 \times 10^5$, $4.26 \pm 0.75 \times 10^5$ และ $4.83 \pm 0.91 \times 10^5$ CFU/g ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา

30 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของชุด FB ($3.77 \pm 0.71 \times 10^4$ CFU/g) และ MB ($2.46 \pm 0.46 \times 10^4$ CFU/g) มีปริมาณลดลงและแตกต่างกับชุดควบคุม ($5.73 \pm 0.80 \times 10^5$ CFU/g) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 มีผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่เจริญบนอาหาร VHA ของทั้ง 3 ชุดการทดลอง ไม่สามารถตรวจพบได้หลังจากเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และสามารถตรวจพบอีกครั้งหลังจากเติม *V. harveyi* เป็นเวลา 1 วัน และปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมมีปริมาณค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค โดยในชุดที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae น้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 25 และ 27

ส่วนปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ในน้ำที่เจริญบนอาหาร VHA ของชุดควบคุมและชุดที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุด มีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในช่วงเริ่มต้นการทดลอง ($4.57 \pm 1.01 \times 10^3$, $4.26 \pm 0.86 \times 10^3$ และ $5.26 \pm 0.71 \times 10^3$ CFU/ml) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของชุด FB ($7.80 \pm 0.98 \times 10^2$ CFU/ml) และชุด MB ($2.46 \pm 0.46 \times 10^2$ CFU/ml) มีปริมาณลดลงจากวันเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีค่าไม่แตกต่างกันระหว่าง 2 ชุดการทดลองนี้ แต่มีค่าแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าหลังจากเติม *V. harveyi* ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลองได้ แต่สามารถตรวจพบอีกครั้งหลังจากทำการทดสอบเป็นเวลา 1 วัน และสามารถตรวจพบได้ไปจนถึงวันสิ้นสุดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 26

ตารางที่ 25 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$3.73 \pm 0.86 \times 10^{5\ (a,1)}$	$5.73 \pm 0.80 \times 10^{5\ (a,1)}$	$< 10^2$	$1.10 \pm 0.53 \times 10^{5\ (a,1)}$	$1.57 \pm 0.31 \times 10^{5\ (a,1)}$
FB	$4.26 \pm 0.75 \times 10^{5\ (a,1)}$	$1.17 \pm 0.13 \times 10^{4\ (b,2)}$	$< 10^2$	$1.20 \pm 0.36 \times 10^{4\ (b,2)}$	$1.10 \pm 0.56 \times 10^{4\ (b,2)}$
MB	$4.83 \pm 0.91 \times 10^{5\ (a,1)}$	$5.13 \pm 0.81 \times 10^{4\ (b,2)}$	$< 10^2$	$2.07 \pm 0.15 \times 10^{4\ (b,2)}$	$3.07 \pm 0.74 \times 10^{4\ (b,2)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 25 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceaeชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่*V. harveyi*ใน Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)				
	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$1.77 \pm 0.92 \times 10^{5\ (a,1)}$	$1.63 \pm 0.40 \times 10^{5\ (a,1)}$	$2.50 \pm 0.78 \times 10^{5\ (a,1)}$	$3.07 \pm 0.35 \times 10^{5\ (a,1)}$	$4.30 \pm 0.87 \times 10^{5\ (a,1)}$
FB	$1.47 \pm 0.11 \times 10^{4\ (b,2)}$	$1.96 \pm 0.31 \times 10^{4\ (b,2)}$	$1.43 \pm 0.38 \times 10^{4\ (b,2)}$	$1.53 \pm 0.35 \times 10^{4\ (b,2)}$	$1.67 \pm 0.76 \times 10^{4\ (b,2)}$
MB	$4.27 \pm 0.50 \times 10^{4\ (b,2)}$	$6.13 \pm 0.40 \times 10^{4\ (b,2)}$	$4.03 \pm 0.50 \times 10^{4\ (b,2)}$	$4.03 \pm 0.45 \times 10^{4\ (b,2)}$	$5.30 \pm 0.96 \times 10^{4\ (b,2)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 26 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceaeชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่*V. harveyi*ในน้ำ (CFU/ml)				
	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	เติม *V. harveyi* 1 วัน	เติม *V. harveyi* 2 วัน
C	$4.57 \pm 1.01 \times 10^{3\ (a,1)}$	$1.83 \pm 0.77 \times 10^{4\ (a,1)}$	<10	$1.97 \pm 1.07 \times 10^{4\ (a,1)}$	$2.30 \pm 0.72 \times 10^{4\ (a,1)}$
FB	$4.26 \pm 0.86 \times 10^{3\ (a,1)}$	$7.80 \pm 0.98 \times 10^{2\ (b,2)}$	<10	$5.33 \pm 0.41 \times 10^{2\ (b,2)}$	$4.56 \pm 0.35 \times 10^{2\ (b,2)}$
MB	$5.26 \pm 0.71 \times 10^{3\ (a,1)}$	$2.46 \pm 0.46 \times 10^{2\ (b,2)}$	<10	$1.87 \pm 0.57 \times 10^{2\ (b,2)}$	$1.43 \pm 0.15 \times 10^{2\ (b,2)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางที่ 26 ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ในน้ำ (CFU/ml)				
	เติม *V. harveyi* 3 วัน	เติม *V. harveyi* 4 วัน	เติม *V. harveyi* 5 วัน	เติม *V. harveyi* 7 วัน	เติม *V. harveyi* 10 วัน
C	$2.73\pm0.89\times10^{4\ (a,1)}$	$1.80\pm0.90\times10^{4\ (a,1)}$	$1.33\pm0.68\times10^{4\ (a,1)}$	$8.00\pm1.00\times10^{3\ (a,12)}$	$9.17\pm1.01\times10^{3\ (a,12)}$
FB	$3.33\pm0.45\times10^{2\ (b,2)}$	$5.23\pm0.25\times10^{2\ (b,2)}$	$5.10\pm0.60\times10^{2\ (b,2)}$	$6.03\pm0.25\times10^{2\ (b,2)}$	$6.27\pm0.66\times10^{2\ (b,2)}$
MB	$1.87\pm0.96\times10^{2\ (b,2)}$	$2.60\pm0.66\times10^{2\ (b,2)}$	$2.23\pm0.99\times10^{2\ (b,2)}$	$2.10\pm0.40\times10^{2\ (b,2)}$	$1.26\pm1.70\times10^{2\ (b,2)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวเลขที่เหมือนในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 27 สรุปปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ระยะเวลาทดลอง	ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi*	
		Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)	น้ำ (CFU/ml)
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 2 ชั่วโมง	C	$3.73 \pm 0.86 \times 10^5$	$4.57 \pm 1.01 \times 10^3$
	FB	$4.26 \pm 0.75 \times 10^5$	$4.26 \pm 0.86 \times 10^3$
	MB	$4.83 \pm 0.91 \times 10^5$	$5.26 \pm 0.71 \times 10^3$
เลี้ยงด้วยโพรไบโอติก 30 วัน	C	$5.73 \pm 0.80 \times 10^5$	$1.83 \pm 0.77 \times 10^4$
	FB	$1.17 \pm 0.13 \times 10^4$	$7.80 \pm 0.98 \times 10^2$
	MB	$5.13 \pm 0.81 \times 10^4$	$2.46 \pm 0.46 \times 10^2$
เติม *V. harveyi* (10^6 CFU/ml) 2 ชั่วโมง	C	$<10^2$	<10
	FB	$< 10^2$	<10
	MB	$<10^2$	<10
เติม *V. harveyi* 1 วัน	C	$1.10 \pm 0.53 \times 10^5$	$1.97 \pm 1.07 \times 10^4$
	FB	$1.20 \pm 0.36 \times 10^4$	$5.33 \pm 0.41 \times 10^2$
	MB	$2.07 \pm 0.15 \times 10^4$	$1.87 \pm 0.57 \times 10^2$
เติม *V. harveyi* 2 วัน	C	$1.57 \pm 0.31 \times 10^5$	$2.30 \pm 0.72 \times 10^4$
	FB	$1.10 \pm 0.56 \times 10^4$	$4.56 \pm 0.35 \times 10^2$
	MB	$3.07 \pm 0.74 \times 10^4$	$1.43 \pm 0.15 \times 10^2$
เติม *V. harveyi* 3 วัน	C	$1.77 \pm 0.92 \times 10^5$	$2.73 \pm 0.89 \times 10^4$
	FB	$1.47 \pm 0.11 \times 10^4$	$3.33 \pm 0.45 \times 10^2$
	MB	$4.27 \pm 0.50 \times 10^4$	$1.87 \pm 0.96 \times 10^2$
เติม *V. harveyi* 4 วัน	C	$1.63 \pm 0.40 \times 10^5$	$1.80 \pm 0.90 \times 10^4$
	FB	$1.96 \pm 0.31 \times 10^4$	$5.23 \pm 0.25 \times 10^2$
	MB	$6.13 \pm 0.40 \times 10^4$	$2.60 \pm 0.66 \times 10^2$

ตารางที่ 27 สรุปปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 (ต่อ)

ระยะเวลาทดลอง	ชุดการทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi*	
		Hepatopancreas-Intestine (CFU/g)	น้ำ (CFU/ml)
เติม *V. harveyi* 5 วัน	C	$2.50 \pm 0.78 \times 10^5$	$1.33 \pm 0.68 \times 10^4$
	T1	$1.43 \pm 0.38 \times 10^4$	$5.10 \pm 0.60 \times 10^2$
	T2	$4.03 \pm 0.50 \times 10^4$	$2.23 \pm 0.99 \times 10^2$
เติม *V. harveyi* 7 วัน	C	$3.07 \pm 0.35 \times 10^5$	$8.00 \pm 1.00 \times 10^3$
	T1	$1.53 \pm 0.35 \times 10^4$	$6.03 \pm 0.25 \times 10^2$
	T2	$4.03 \pm 0.45 \times 10^4$	$2.10 \pm 0.40 \times 10^2$
เติม *V. harveyi* 10 วัน	C	$4.30 \pm 0.87 \times 10^5$	$9.17 \pm 1.01 \times 10^3$
	T1	$1.67 \pm 0.76 \times 10^4$	$6.27 \pm 0.66 \times 10^2$
	T2	$5.30 \pm 0.96 \times 10^4$	$1.26 \pm 1.70 \times 10^2$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

5. ผลของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปไมโครแคปซูลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

5.1 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปไมโครแคปซูลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 หลังจากเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 30 วัน

จากการศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนนาไม พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB (2,167.58 ± 25.17 มิลลิกรัม) มีน้ำเฉลี่ยสิ้นสุดการทดลองสูงที่สุด รองลงมาคือชุดการทดลอง MB (2,126.67 ± 241.63 มิลลิกรัม) ซึ่งทั้ง 2 ชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับชุดควบคุม (983.33 ± 173.88 มิลลิกรัม) ดังแสดงในตารางที่ 28 ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (%) ของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมอย่างแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เช่นเดียวกับน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง กล่าวคือ กุ้งขาวแวนนาไมในชุด FB มีน้ำเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ 1,232.58 ± 429.69 % รองลงมาคือ กุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง MB (1,183.84 ± 299.98 %) และชุดควบคุม (458.41 ± 56.75 %) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 28 และน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่เพิ่มขึ้นต่อวันทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวันสูงกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวันมากที่สุดคือ 66.44 ± 2.22 มิลลิกรัมต่อวัน รองลงมาคือกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB (65.11 ± 1.07 มิลลิกรัมต่อวัน) และชุดควบคุม (26.89 ± 4.95 มิลลิกรัมต่อวัน) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวันของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 28

อัตราเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาวแวนนาไม ทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดคือ 8.52 ± 1.05 % รองลงมาคือกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง MB (8.44 ± 0.85%) และชุดควบคุม (5.72 ± 0.34 %) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 28 ส่วนอัตราการแลกเนื้อของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีอัตราแลกเนื้อต่ำกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB มีอัตราแลกเนื้อต่ำที่สุดคือ 1.17 ± 0.02 รองลงมาคือ กุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง MB (1.18 ± 0.01) และชุดควบคุม (1.53 ± 0.11) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบอัตราแลกเนื้อของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 28

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และรูปแบบไมโครแคปซูลสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม และรูปแบบของการใช้โพรไบโอติกไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม

ตารางที่ 28 ผลของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน

ชุดการทดลอง / พารามิเตอร์	C	FB	MB
น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นการทดลอง (มิลลิกรัม)	176.67 ± 30.55 (1)	173.33 ± 50.33 (1)	173.33 ± 49.33 (1)
น้ำหนักเฉลี่ยสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัม)	983.33 ± 173.88 (2)	2,167.58 ± 25.17 (1)	2,126.67 ± 241.63 (1)
น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (%)	458.41 ± 56.75 (2)	1,232.58 ± 429.69 (1)	1,183.84 ± 299.98 (1)
น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวัน (มิลลิกรัมต่อวัน)	26.89 ± 4.95 (2)	66.44 ± 2.22 (1)	65.11 ± 1.07 (1)
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%)	5.72 ± 0.34 (2)	8.52 ± 1.05 (1)	8.44 ± 0.85 (1)
อัตราแลกเนื้อ	1.53 ± 0.11 (1)	1.17 ± 0.02 (2)	1.18 ± 0.01 (2)

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

MB= ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล

ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

5.2 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 หลังจากทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 10 วัน

จากการศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมหลังจากทดสอบความต้านทานโรคเป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB (2,343.333 ± 50.33 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีน้ำเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองสูงที่สุด รองลงมาคือ ชุดการทดลอง MB (2,298.33 ± 79.11 มิลลิกรัม) และชุดควบคุม (1,011.67 ± 165.40 มิลลิกรัม) และพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 29 ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (%) ของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นมากกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เช่นเดียวกับน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง กล่าวคือ กุ้งขาวแวนนาไมในชุด FB มีน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ 8.15 ± 1.73 % รองลงมาคือ กุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง MB (8.05 ± 2.07 %) และชุดควบคุม (3.04 ± 1.53 %) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดการทดลอง FB และ MB พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 29 ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาวแวนนาไมที่เพิ่มขึ้นต่อวันของทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง กุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวันสูงกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวันมากที่สุดคือ 17.67 ± 3.79 มิลลิกรัมต่อวัน รองลงมาคือกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง MB (17.17 ± 4.65 มิลลิกรัมต่อวัน) และชุดควบคุม (2.83 ± 1.04 มิลลิกรัมต่อวัน) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวันของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 29

อัตราเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดคือ 0.78 ± 0.16 % รองลงมาคือกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง MB (0.77 ± 0.19%) และชุดควบคุม (0.30 ± 0.15 %) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 29 ส่วนอัตราแลกเนื้อของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกผสมทั้ง 2 ชุดการทดลองมีอัตราแลกเนื้อต่ำกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB มีอัตราแลกเนื้อต่ำที่สุดคือ 1.52 ± 0.03

รองลงมาคือกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง MB (1.53 ± 0.01) และชุดควบคุม (1.89 ± 0.04) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบอัตราแลกเนื้อของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 29

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และรูปแบบไมโครแคปซูลสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมที่รอดชีวิตจากการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ได้ และรูปแบบของการใช้โพรไบโอติกไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมหลังการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ตารางที่ 29 ผลของ *Bacillus* โพรไบโอติกผสม 5 สายพันธุ์ ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 หลังการทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 เป็นระยะเวลา 10 วัน

ชุดการทดลอง / พารามิเตอร์	C	T1	T2
น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นการทดลอง (มิลลิกรัม)	983.33 ± 173.88 (2)	2,167.58 ± 25.17 (1)	2,126.67 ± 241.63 (1)
น้ำหนักเฉลี่ยสิ้นสุดการทดลอง (มิลลิกรัม)	1,011.67 ± 165.40 (2)	2,343.333 ± 50.33 (1)	2,298.33 ± 79.11 (1)
น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (%)	3.04 ± 1.53 (2)	8.15 ± 1.73 (1)	8.05 ± 2.07 (1)
น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวัน (มิลลิกรัมต่อวัน)	2.83 ± 1.04 (2)	17.67 ± 3.79 (1)	17.17 ± 4.65 (1)
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%)	0.30 ± 0.15 (2)	0.78 ± 0.16 (1)	0.77 ± 0.19 (1)
อัตราแลกเนื้อ	1.89 ± 0.04 (1)	1.52 ± 0.03 (2)	1.53 ± 0.01 (2)

หมายเหตุ C = ชุดควบคุม
FB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง
MB = ชุดการทดลองที่เติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูล
ตัวเลขที่เหมือนกันในแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

6. ประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปไมโครแคปซูลต่ออัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค

6.1 อัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมก่อนทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

จากผลการทดลองพบว่า อัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดที่ได้รับโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และรูปไมโครแคปซูล (MB) มีค่าเท่ากับ 96.00 ± 2.00% และ 95.33 ± 1.15% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ระหว่าง 2 ชุดนี้ แต่มีค่าแตกต่างกับกลุ่มควบคุม (86.67 ± 0.31%) อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 30

ตารางที่ 30 อัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมก่อนทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

ชุดการทดลอง	อัตราการรอดชีวิต (%)
C	86.67 ± 1.15 $^{(b)}$
FB	96.00 ± 2.00 $^{(a)}$
MB	95.33 ± 1.15 $^{(a)}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

C = ชุดควบคุม

FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

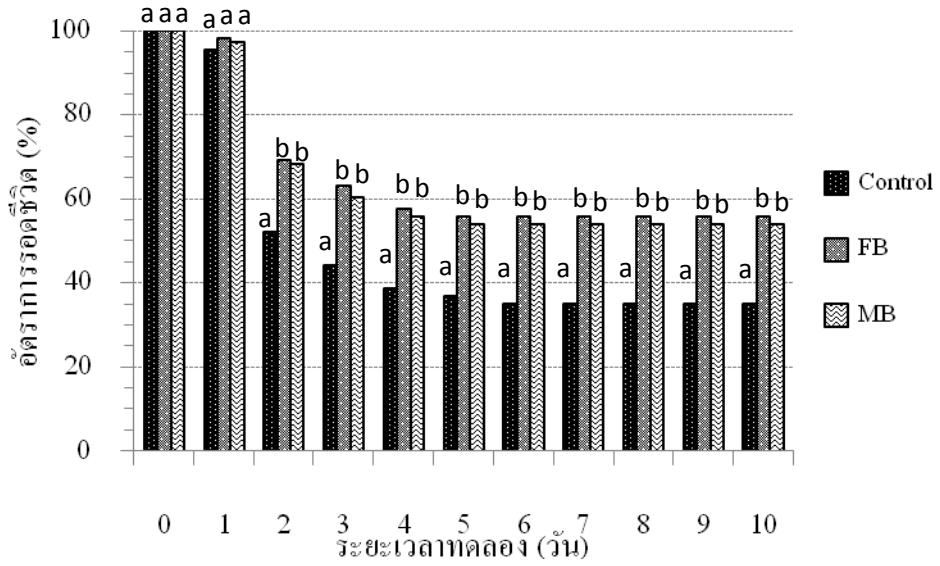
MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

6.2 อัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมหลังทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

จากการทดลองพบว่าเมื่อเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงไป กุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง เริ่มมีการตายตั้งแต่วันที่ 1 ของการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคและมีกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุด มีการตายสูงที่สุดในวันที่ 2 ของการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค จากนั้นเริ่มมีการตายลดลง โดยในชุดควบคุมมีการตายของกุ้งขาวแวนนาไมจนถึงวันที่ 6 ของการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค ส่วนชุดที่เติมโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และรูปไมโครแคปซูล (MB) มีการตายจนถึงวันที่ 5 ของการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค เมื่อสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าอัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมในชุด FB และ MB มีค่าเท่ากับ 56.76 ± 2.70% และ 54.95 ± 1.56%

ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) แต่มีค่าแตกต่างกับชุดควบคุม 36.94 ± 1.56% อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 อัตราการตายสะสมของกุ้งขาวแวนนาไมหลังทดสอบความสามารถในการต้านทานแบคทีเรียก่อโรคเป็นเวลา 10 วัน

หมายเหตุ FB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g

MB = ชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปไมโครแคปซูลลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

7. ผลของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปไมโครแคปซูลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมีของน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเพาะเลี้ยงจำลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกชนิดต่าง ๆ ต่อคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม โดยทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพ ได้แก่ ความขุ่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อุณหภูมิ ความเค็ม แอมโมเนีย ไนไทรต์ ไนเทรตและฟอสเฟต โดยเก็บตัวอย่างน้ำ 2 ช่วงเวลา คือ 5:00 และ 14:00 น. โดยคณะผู้วิจัยกำลังดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลและวิเคราะห์ทางสถิติ คณะผู้วิจัยจะรายงานผลการศึกษาในรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ปีที่ 2 ต่อไป

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

สรุปผลการทดลอง

1. การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และรูปไมโครแคปซูล (MB) ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 หลังจากเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 30 วัน สามารถสรุปได้ว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และรูปแบบไมโครแคปซูลสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม และรูปแบบของการใช้โพรไบโอติกไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม ส่วนการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 หลังจากทดสอบความต้านทานโรคของกุ้งขาวแวนนาไมเป็นระยะเวลา 10 วัน สามารถสรุปได้ว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และรูปแบบไมโครแคปซูลสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมที่รอดชีวิตจากการทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ได้ และรูปแบบของการใช้โพรไบโอติกไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม

2. อัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมก่อนทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ในชุดที่ได้รับโพรไบโอติกในรูปการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และรูปไมโครแคปซูล (MB) มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) อัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมหลังทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าในชุด FB และ MB มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าชุดควบคุม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ระหว่าง 2 ชุดการทดลอง แต่มีค่าแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

3. ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดและ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ในช่วงก่อนและหลังทดสอบความต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 สามารถสรุปได้ว่าการเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูล ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด แต่พบว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปเซลล์แห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลสามารถรอดชีวิตและเจริญใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมได้ ส่งผลให้ปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 2 ชุดการทดลองเพิ่มขึ้น และเมื่อมีการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ส่งผลให้ปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมในชุดการทดลอง FB และชุดการทดลอง MB ลดลงประมาณ 100 เท่า ส่วนการศึกษาปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมพบว่าการเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบเยือกแข็งไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในระยะ 30 วันในช่วงก่อนการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค แต่การเติม *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูลส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดในน้ำเพิ่มขึ้น 100 เท่า และเมื่อ

เหนี่ยวนำให้กุ้งขาวแวนนาไมเกิดโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ทำให้ปริมาณกลุ่มเฮท-เทอโรโทรปทั้งหมดในชุดการทดลอง FB เพิ่มขึ้น 100 เท่า แต่ไม่ส่งผลต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮท-เทอโทรปทั้งหมดในชุดการทดลอง MB ส่วนการศึกษาปริมาณ *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมพบว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและรูปแบบไมโครแคปซูลสามารถรอดชีวิตและเจริญในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ ส่งผลให้มีปริมาณเพิ่มขึ้น และเมื่อเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมส่งผลให้ปริมาณ *Bacillus* ของทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีปริมาณลดลงประมาณ 100 เท่า

4. ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกับช่วงเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคโดยการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมทั้ง 3 ชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคเป็นเวลา 10 วัน ส่วนปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบว่ามีค่าไม่แตกต่างจากช่วงเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคพบว่าการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 ลงในน้ำมีผลต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งโดยทำให้ปริมาณแบคทีเรียในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณ 100 เท่า และเมื่อสิ้นสุดการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคพบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีปริมาณไม่แตกต่างจากช่วงเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

5. ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เจริญบนอาหาร TCBS agar ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าเมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีปริมาณลดลงประมาณ 10 เท่า โดยในชุดการทดลอง FB สามารถลดปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ได้ดีที่สุดแต่มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลอง MB แต่แตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค พบว่ามีผลต่อปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในชุดการทดลอง FB และ MB โดยทำให้ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae เพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณลดลงตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลองหลังจากเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 โดยลดจนถึงวันที่ 10 ของการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค และมีค่าแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ได้รับโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุดการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ลดลงและมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคพบว่าการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 มี

ผลต่อปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลอง โดยทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นในหลังจากที่มีการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002

6. ปริมาณ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เจริญบนอาหาร *V. harveyi* Agar (VHA) ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าไม่สามารถตรวจพบ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของกุ้งขาวแวนนาไม ตลอดระยะเวลาทดลอง 30 วัน และเมื่อทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองปริมาณ *V. harveyi* ในชุดที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุด (FB และ MB) มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีค่าแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในช่วง 30 วัน ก่อนการทดสอบความต้านทานแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* พบว่าไม่สามารถตรวจพบ *V. harveyi* ในน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งของทั้ง 3 ชุดการทดลอง แต่เมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งขาวแวนนาไม พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองปริมาณ *V. harveyi* ที่พบในชุดการทดลองที่ได้รับโพรไบโอติก (FB และ MB) มีค่าลดลงจากเริ่มต้นการทดลอง ซึ่งทั้ง 2 ชุดการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีความแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

7. ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่เจริญบนอาหาร VHA ในช่วงก่อนและหลังการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ใน Hepatopancreas-Intestine ของชุด FB และ MB มีปริมาณลดลงและแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค พบว่าการเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 มีผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่เจริญบนอาหาร VHA ของทั้ง 3 ชุดการทดลอง ไม่สามารถตรวจพบได้หลังจากเติม *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และสามารถตรวจพบอีกครั้งหลังจากเติม *V. harveyi* เป็นเวลา 1 วัน และมีปริมาณค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค โดยในชุดที่เติมโพรไบโอติกทั้ง 2 ชุดการทดลอง มีปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae น้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *V. harveyi* ในน้ำที่เจริญบนอาหาร VHA เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน พบว่าชุด FB และชุด MB มีปริมาณลดลงจากวันเริ่มต้นการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีค่าไม่แตกต่างกันระหว่าง 2 ชุดการทดลองนี้ แต่มีค่าแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อทดสอบความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* สายพันธุ์ 002 พบว่าหลังจากเติม *V. harveyi* ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียวงศ์ Vibrionaceae ชนิดอื่น ๆ ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของทั้ง 3 ชุดการทดลองได้ แต่สามารถตรวจพบอีกครั้งหลังจากทำการทดสอบเป็นเวลา 1 วัน และสามารถตรวจพบได้ไปจนถึงวันสิ้นสุดการทดลอง

อภิปรายผลการทดลอง

1. แบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และรูปไมโครแคปซูล (MB) ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมและการเจริญของโพรไบโอติกในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม

การเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และรูปไมโครแคปซูล (MB) มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 30 ได้อย่างไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าการพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกรูปแบบใหม่ที่อยู่ในรูปไมโครแคปซูลประสบผลสำเร็จมีประสิทธิภาพเทียบเท่าผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกรูปแบบก่อนหน้าที่นี้ที่นิยมใช้ในทางการค้า ทั้งนี้การศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้หลายฉบับที่มุ่งเน้นการเพิ่มการเจริญเติบโตของกุ้งทะเล ยกตัวอย่างเช่น Boonthai et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 60 ในบ่อดินจำลอง เป็นระยะเวลา 120 วัน ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เติมลงในอาหารเลี้ยงกุ้งให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/g ซึ่งเป็น *Bacillus* โพรไบโอติกผสมกลุ่มเดียวกับที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และมีประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Feed efficiency) สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนั้น Nimrat et al. (2011) รายงานว่าเมื่อนำแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมกลุ่มเดียวกันนี้มาเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึงโพสลาวา 21 สามารถเพิ่มน้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม Kongkrajiang and Laohavisuti (2011) ได้พิสูจน์ให้เห็นว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ *Bacillus* โพรไบโอติกผสมทางการค้ารูปแบบผงในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะโพสลาวา 15 สามารถเพิ่มน้ำหนักของกุ้งขาวแวนนาไมมากกว่ากุ้งขาวแวนนาไมในชุดควบคุม และ Gomez-Gill et al. (2008) พบว่าโพรไบโอติกสกุล *Bacillus* มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส และอะไมเลส และการเจริญเติบโตของกุ้งขาวเช่นเดียวกัน การเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นของกุ้งขาวแวนนาไมในการศึกษาในครั้งนี้อาจเป็นเพราะ *Bacillus* โพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถยึดเกาะในทางเดินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม และหลั่งเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ได้หลายชนิด เช่น เอนไซม์อะไมเลสที่สามารถย่อยคาร์โบไฮเดรต เอนไซม์ไลเปสที่สามารถย่อยสลายไขมัน และเอนไซม์โปรติเอสที่สามารถย่อยสลายโปรตีน ซึ่งเอนไซม์ดังที่กล่าวมาช่วยในการย่อยสลายสารอาหารที่มีโมเลกุลใหญ่ให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงส่งผลให้การดูดซึมสารอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมดีขึ้น รวมทั้ง *Bacillus* โพรไบโอติกสามารถสังเคราะห์วิตามินบี 12 กรดไขมัน และกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต (Farzanfar, 2006; Irianto and Austin, 2002)

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมทั้งที่อยู่ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และรูปไมโครแคปซูล (MB) สามารถเจริญและรอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารและในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมได้ จากการศึกษาของ Boonthai et al. (2011) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 60 ในบ่อดินจำลองด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสม พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีปริมาณ *Bacillus* ใน Hepatopancreas เท่ากับ 3.80×10^6 CFU/g และในลำไส้มีปริมาณเท่ากับ 3.55×10^6 CFU/g ในวันที่ 120 ของการทดลอง อีกทั้งการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่

เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระยะซูเอีย 3 ถึง โพสลาวา 21 ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสม พบว่า *Bacillus* ในทางเดินอาหารกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกมีค่าเท่ากับ 7.30 ± 0.80 x 10^6 CFU/g ในวันสุดท้ายของการศึกษา แสดงให้เห็นว่า *Bacillus* โพรไบโอติกผสมกลุ่มนี้สามารถเจริญได้ใน Hepatopancreas ลำไส้ และน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 60 และกุ้งขาวแวนนาไมทั้งระยะโพสลาวา 60 และระยะซูเอีย 3 ถึงระยะโพสลาวา 21 ดังนั้นแสดงให้เห็นว่า *Bacillus* โพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้สามารถรอดชีวิตและเพิ่มจำนวนในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมได้ดีกว่ากุ้งกุลาดำที่มีขนาดและอายุใกล้เคียงกัน และจากการศึกษาของ Nimrat et al. (2011) ที่ทำการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึงโพสลาวา 21 ด้วย *Bacillus* โพรไบโอติกผสมพบว่า *Bacillus* ในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในวันสุดท้ายของการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น 51.72 ± 8.79 % และการศึกษาของ Nimrat et al. (2012) ที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมระยะซูเอีย 3 ถึงโพสลาวา 22 ด้วยแบคทีเรียโพรไบโอติกกลุ่มเดียวกัน พบว่าปริมาณ *Bacillus* ในกุ้งขาวแวนนาไมและน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น 50.80 ± 1.20 % อีกทั้ง Rengpipat et al. (1998) ได้รายงานถึงการเพิ่มขึ้นของปริมาณ *Bacillus* มากกว่า 50% เมื่อเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยโพรไบโอติก *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในรูปแบบ lyophilized เซลล์เป็นระยะเวลา 100 วัน

2. ประสิทธิภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมต่อการต้านทานโรคที่เกิดจาก *V. harveyi* ระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

การเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FB) และรูปไมโครแคปซูล (MB) สามารถลดการตายของกุ้งขาวแวนนาไมที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคจาก *V. harveyi* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แสดงให้เห็นถึงแบคทีเรียผสมรูปแบบใหม่ที่พัฒนาขึ้นในการศึกษาในครั้งนี้ คือ แบคทีเรียโพรไบโอติกรูปไมโครแคปซูลมีประสิทธิภาพเทียบเท่าการใช้แบคทีเรียโพรไบโอติกแบบเซลล์แช่เยือกแข็ง Balcazar and Rojas-Luna (2009) ใช้โพรไบโอติก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. alginolyticus* UTM 102, *B. subtilis* UTM 126, *Roseobacter gallaeciensis* SLV03 และ *Pseudomonas aestumarina* SLV22 ผสมในอาหารเลี้ยงกุ้ง (10^5 CFU/g) และเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นเวลา 28 วัน จากนั้นเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. parahaemolyticus* PS-017 ความเข้มข้น 10^6 CFU/ml เป็นเวลา 14 วัน ผลการทดลองพบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกทั้ง 4 ชุด มีอัตราการตายสะสม (17-22%) น้อยกว่าชุดควบคุม (33%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) นอกจากนั้น Tseng et al. (2009) ใช้แบคทีเรียโพรไบโอติก *Bacillus* sp. E20 ผสมอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในอัตราส่วน 10^6, 10^7 และ 10^8 CFU/kg และนำไปเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเป็นเวลา 98 วัน จากนั้นทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยการฉีด *V. alginolyticus* เข้าในตัวกุ้งที่ความเข้มข้น 10^5 CFU/shrimp พบว่ากุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับโพรไบโอติกทั้ง 3 ชุดมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) Nimrat et al. (2013) ได้ศึกษาแบคทีเรียโพรไบโอติกชนิด *B. subtilis* F6 และ *Enterococcus* sp. S2 ผสมกับอาหารให้กุ้งกุลาดำกินในอัตราส่วน 3 ml/kg เป็นเวลา 84 วัน จากนั้นเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *V. harveyi* ความเข้มข้น 10^5 CFU/ml เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการตายสะสม (46.67 ± 1.44%) น้อยกว่าชุดควบคุม (61.67 ± 6.29%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และ Rengpipat et al. (1998) ใช้

แบคทีเรียโพรไบโอติก *Bacillus* S11 ผสมกับอาหารเลี้ยงกุ้งโดยแบ่งออกเป็น 3 รูปแบบ ได้แก่ เซลล์ที่มีชีวิต (Fresh cell) เซลล์ที่มีชีวิตในสารละลาย Normal saline (Fresh cells in normal saline) และเซลล์ระเหิดแห้ง (Lyophilized cells) และนำไปเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 100 วัน จากนั้นทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ D331 ความเข้มข้น 10^5 CFU/ml เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิต 100% ในขณะที่ชุดควบคุมมีอัตราการรอดชีวิตเพียง 26% เท่านั้น

การเพิ่มการรอดชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไมที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* ในการศึกษาในครั้งนี้อาจเกิดจาก *Bacillus* มีความสามารถในการแข่งขันในการแย่งพื้นที่ในการยึดเกาะในทางเดินอาหาร การแย่งสารอาหารกับแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ตลอดจนสร้างสารปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ที่สามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายแบคทีเรียที่ก่อโรค (Moriarty, 1998; 1999; Verschuere et al., 2000) เช่น เบซิตราซิน (Bacitracin) กรามิซิน (Gramicidin) พอลิมิซิน (Polymyxin) และไทโรไตรซิดิน (Tyrotricidin) (Balcazar et al., 2006; Rengpipat et al., 1998) นอกจากนี้ผนังเซลล์ของ *Bacillus* ซึ่งมีเปปติโดไกลแคนเป็นองค์ประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และส่งผลให้มีความสามารถของ host กำจัดแบคทีเรียก่อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ziaei-Nejad et al., 2006) ดังรายงานการศึกษาของ Rengpipat et al. (2000) ที่ได้ทำการศึกษาผลของ *Bacillus* S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกต่อการเสริมภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ พบว่า *Bacillus* S11 มีผลกระตุ้นประสิทธิภาพการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมโดยวิธี Phagocytosis และเพิ่มปริมาณ Phenoloxidase ในเม็ดเลือดกุ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับ *Bacillus* S11 เสริมในอาหาร ส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไมอยู่ในสภาวะพร้อมทำงาน (Active form) ดังนั้นเมื่อแบคทีเรียก่อโรคบุกรุกเข้าเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันจะทำงานและกำจัดแบคทีเรียก่อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Ziaei-Nejad et al., 2006)

แบคทีเรียโพรไบโอติกผสมในรูปแบบไมโครแคปซูลเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมที่สามารถช่วยเกษตรกรลดการใช้สารเคมี และยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยง ทำให้ผลผลิตที่ได้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยแบคทีเรียโพรไบโอติกผสมที่อยู่ในรูปไมโครแคปซูลสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต อัตราการรอดชีวิต และความต้านทานต่อการเกิดโรคของกุ้งขาวแวนนาไม อย่างไรก็ตามการใช้โพรไบโอติกให้ประสบความสำเร็จได้นั้น ผู้ใช้ต้องมีความรู้ความเข้าใจถึงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ รวมทั้งวิธีการใช้และการเก็บรักษาที่ถูกวิธี เพื่อให้การนำผลิตภัณฑ์เหล่านี้ไปใช้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดและมีความยั่งยืนในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

กิจการ ศุภมาตย์, วุฒิพร พรหมขุนทอง, ชุติมา ตันติกิตติ และ Rudolf Hoffmann. (2543). ระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ. *วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 22* (ฉบับพิเศษ), 582-586.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. (2543). *กุ้งไทย 2000*. กรุงเทพฯ: เจริญรัฐการพิมพ์.

ธนพงศ์ แสงซื่อ, สุรีรัตน์ เงินดวง, เชิดชัย เฉวียงหงส์, บงกช สโรชวิกสัต, ศรีสุคล ปานเจริญ, ปรีชา เอกธรรมสุทธิ์, อนุชิต เกตุรวม, กัญญา คงเขียว และวิชัย ลาภจตุพร. (2547). กุ้งขาว อินเทคค์. *วารสารริมบ่อ, ฉบับพิเศษ*, ISBN 0859-8762.

นฤมล อัศวเกศมณี. (2549). *การเลี้ยงปลาน้ำจืด*. คณะเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

บุญรัตน์ ประทุมชาติ. (2546). *เอกสารประกอบการสอนวิชาการ 309473 การเพาะเลี้ยงชายฝั่ง*. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

บุญรัตน์ ประทุมชาติ, อรสา สุริยาพันธุ์, กิตติยา อุปถัมป์ และสว่างพงศ์ สมมาตร. (2550). *กระบวนการสะสมแร่ธาตุของกุ้งขาว (Litopenaeus vannamei) และประยุกต์การเสริมแร่ธาตุในระบบอนุบาลและการเลี้ยงในเชิงพาณิชย์*. กรุงเทพฯ: รายงานการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน.

ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์. (2543). *รายงานการวิจัยเรื่องระบบการต่อต้านการเกิดโรคของกุ้งกุลาดำ*. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

ปาจรีย์ จือเหลียง, ชลอ ลิ้มสุวรรณ, นิติ ชูเชิด, วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล และพรเลิศ จันทร์รัชชกูล. (2555). ผลของการใช้แบคทีเรียกลุ่มสร้างสปอร์ต่อ *Vibrio* spp. การเจริญเติบโต และอัตราการรอดของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในฟาร์มเลี้ยงกุ้ง. *เทคโนโลยีการประมง*, *6*(1), 65 - 74.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธ์. (2545ก). *ศาสตร์ของกุ้งขาวลิโทพีเนียสแวนนาไม*. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. (2545ข). ศาสตร์ของกุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม (ตอนที่ 1). *วารสารสัตว์น้ำ*, *14*(158), 87 - 90.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธ์. (2547ก). ศาสตร์ของกุ้งขาว ลิโทพีเนียส แวนนาไม. *วารสารสัตว์น้ำ*, *15*(173), 69-72.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. (2547ข). ศาสตร์ของกุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม. *วารสารสัตว์น้ำ, 15*(180), 63-67.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. (2548). ศาสตร์ของกุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม (ตอนที่ 13). *วารสารสัตว์น้ำ, 17*(196), 109 - 112.

พุทธ ส่องแสงจินดา. (2544). *การจัดการสารประกอบไนโตรเจนและออกซิเจนในฟาร์มเลี้ยงกุ้งระบบปิด*. กลุ่มวิจัยวิศวกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อม, ศูนย์วิจัยการพัฒนาและเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลฝั่งอ่าวไทย, กรมประมง, สงขลา.

พุทธ ส่องแสงจินดา. (2546). *พิษจากการสะสมของไนไตรท์*. เข้าถึงได้จาก http://www.thaishrimp.net

ภวัต สังขะวัฒนะ. (2544). *การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ และไพพรรณ พรประภา. (2539). *การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ*. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ. (2528). *คุณสมบัติของน้ำและวิธีวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางการประมง*. กรุงเทพฯ: เจริญรัฐการพิมพ์.

วิชัย ลาภจตุพร. (2546) จุลินทรีย์และโปรไบโอติก. *วารสารสัตว์น้ำ*, *14*(161), 151-153.

วิภูษิต มัณฑะจิตร, วรวิทย์ ชีวาพร และสมถวิล จริตควร. (2534). *ปัจจัยทางนิเวศวิทยาที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ, Penaeus monodon Fabricius (ปัจจัยทางชีวภาพ)*. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สไบทิพย์ อมรจารุชิต, พัชริดา เหมมัน, สิริ ทุกข์วินาศ และรังสิไชย ทับแก้ว. (2543). *การศึกษาความผันแปรของคุณภาพน้ำและดินตะกอนในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon) ในเขตพื้นที่น้ำจืด จังหวัดราชบุรี*. กรุงเทพฯ: กรมประมง.

สุภาพร สุกสีเหลือง. (2550). *การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.* กรุงเทพฯ: ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพฯ.

Anderson, D. P. (1992). Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annu. Rev. Fish Dis*., *2*, 281-307.

Austin, B. and Zhang, X. H. (2006). *Vibrio harveyi*: A significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. *Letters in Applied Microbiology*, *43*, 119-124.

Balcazar, J. L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D. and Muzquiz, J. L. (2006). The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*, *114*, 173-186.

Balcazar, J. L., Rojas-Luna, T., and Cunningham, D. P. (2007). Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge with *Vibrio parahaemolyticus*. *Invertebrate Pathology*, *96*, 147–150.

Balcazar, J. L. and Rojas-Luna, T. (2009). Inhibitory activity of probiotic *Bacillus subtilis* UTM 126 against *vibrio* species confers protection against vibriosis in juvenile shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Current Microbiology*, *55*, 409-412.

Boonthai, T., Vuthiphandchai, V. and Nimrat, S. (2011). Probiotic bacteria effects on growth and bacterial composition of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture Nutrition*, *17*, 634–644.

Boyd, C. E. (1982). *Water quality management for pond fish culture.* Amsterdam: Elsevier Sci. Pulb.

Boyd, C. E. and Tucker, C. S. (1998). *Pond aquaculture water quality management*. Boston:. Kluwer Academic Publishers.

Caprioli, A., Busani, L., Martel, J. L. and Helmuth, R. (2000). Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: Epidemiological and microbiological methodologies. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *14*, 295-301.

Debach, P. and Rosen, D. (1991). *Biological control by natural enemies*. Cambridge: Cambridge University Press.

FAO. (2002). *The state of world fisheries and aquaculture*. Rome: FAO.

FAO. (2004). *Introductions and movement of Penaeus vannamei and Penaeus stylirostris in Asia and the Pacific*. Bangkok: Food and agriculture organization of the united nations regional office for Asia and the Pacific.

Far, H. Z., Saad, C. R. B, Daud, H. M., Harmin, S. A. and Shakibazadeh, S. (2009) Effect of *Bacillus subtilis* on the growth and survival rate of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *African Journal of Biotechnology*, *8*, 3369 - 3376.

Farzanfar, A. (2006). The use of probiotics in shrimp aquaculture. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 48, 149-158.

Flegel, T. W. (2006). Detection of major penaeid shrimp viruses in Asia, a historical perspective with emphasis on Thailand: Review. *Aquaculture*, *258*, 1-33.

Gatesoupe, F. J. (1999). The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, *180*, 147-165.

Gomez-Gil, B., Roque, A., and Turnbull, J. F. (2000). The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, *191*, 259 - 270.

Gomez, R., Geovanny, D. and Ma, S. (2008). Influence of probiotic on the growth and digestive enzyme activity of white pacific shrimp (*Litoenaeusvannamei*). *Journal of Ocean University of China*, *2*, 215-218.

Greenberg, A. E., Clesceri, L. S. and Eaton, A. D. (1992). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. (18th ed)., part 8000 toxicity. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation.

Gullian, M., Thompson, F. and Rodriguea, J. (2004). Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, *233*, 1-14.

Harris, L., Owens, L. and Smith, S. (1996). A selective and differential medium for *V. harveyi*. *Applied and Environmental Microbiology*, *62*, 3548 - 3550.

Holmstrom, K., Graslund, S. Wahlstrom, A., Poungshompoo, S., Bengtsson, B-E. and Kautsky, N. (2003). Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. *International Journal of Food Science & Technology*, *38*, 255 - 266.

Irianto, A. and Austin, B. (2002). Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Disease*, *25*, 333 - 342.

Itami, T., Kubono, K., Asano, M., Tokushige, K., Takeno, N., Nishimura, H., Kondo, M. and Takahashi, Y. (1998). Enhancement of disease resistance of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *Aquaculture*, *164*, 277–288.

Jackson, C., Preston, N., Thompson, P. and Burford, M. (2003). Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. *Aquaculture*, *218*, 397-411.

Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: Technology and potential applications. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, *3*, 39-48.

Kanmani, P., Kumar, R. S., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V. and Arul, V. (2011). Effect of cryopreservation and microencapsulation of lactic acid bacterium *Enterococcus faecium* MC13 for long-term storage. *Biochemical Engineering Juornal*, *58-59*, 140-147.

Kautsky, N., Ronnback, P., Tedengren, M. and Troell, M. (2000). Ecosystem perspectives on mangement of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture*, *191*, 145-161.

Keysami, M. A., Saad, C. R., Sijam, K., Daud, H. M. and Alimon, A. R. (2007). Effect of *Bacillus subtilis* on growth development and survival of postlarvae *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Nutrition*, *13*, 131 - 136.

Kongkrajiang, Y. and Laohavisuti, N. (2011). Effect of *Bacillus* spp. as probiotic on growth, survival and *Vibrio* count in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). In *Proceedings of 49th Kasetsart University Annual Conference: Fisheries*, *February 1-4*, *2011* (p. 400-407). Bangkok: Kasetsart University.

Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, H. (2004). The influence of coating on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, *14*(8), 737-743.

Lavilla-Pitago, C. R., Leano, E. M. and Paner, M. G. (1998). Mortalities of pond culture juvenile shrimp *Penaeus monodon* associated with dominance of luminescent vibrios in the rearing environment. *Aquaculture*, *164*, 337 - 349.

Lawson, T. B. (1995). *Fundamentals of Aquaculture engineering*. New York: Chapman & Hall.

Liu, C. H., Chiu, C. S., Lin, P. L. and Wang, S. W. (2009). Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20 from natto. *Journal of Applied Microbiology*, *107*, 1031 - 1041.

Luzardo-Alvarez, A., Otero-Espinar, F. J. and Blanco-Mendez, J. (2010). Microencapsulation of diets and vaccines for cultures fishes, crustaceans and bivalve mollusks. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *4*, 277-288.

Moriarty, D. J. W. (1998). Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, *164*, 351 - 358.

Moriarty, D. J. W. (1999). Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. In: *Proceedings of the 8th international symposium on microbial ecology*, *Atlantic Canada society for microbial ecology* (pp. 237 - 243). Canada: Halifax.

Nimrat S (2007) Characteristics and nutrient removal of six candidate probiotic bacteria in batch and simulated shrimp ponds. The 7th Young researchers meet midcareer researchers, The Thailand Research Fund, Ambassador City Jomtien Hotel, Pattaya, Chon Buri, Thailand, October 11-13.

Nimrat, S., Suksawat, S., Maleeweach, P. and Vuthiphandchai, V. (2008). Effect of different shrimp pond bottom soil treatments on the change of physical characteristics and pathogenic bacteria in pond bottom soil. *Aquaculture*, *285*, 123 - 129.

Nimrat, S., Boonthai, T. and Vuthiphandchai, V. (2011). Effects of probiotic forms, compositions of and mode of probiotic administration on rearing of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae and postlarvae. *Animal Feed Science and Technology*, *169*, 244 - 258.

Nimrat, S., Suksawat, S., Boonthai, T. and Vuthiphandchai, V. (2012). Potential *Bacillus* probiotics enhance bacterial numbers, water quality and growth during early development of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Veterinary Microbiology*, *159*, 443 - 450.

Nimrat, S. and Vuthiphandchai, V. (2011). *In vitro* evaluation of commercial probiotic products used for marine shrimp cultivation in Thailand. *African Journal of Biotechnology*, *10*(22), 4643-4650.

Nimrat, S., Tanutpongpalin. P., Sritunyalucksana, K., Boonthai, T. and Vuthiphandchai, V. (2013). Enhancement of growth performance, digestive enzyme activities and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by potential probiotics. *Aquaculture International*, *21*, 655-666.

Ochoa Solano, J. L. and Olmos Soto, J. (2006). The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. *Food Microbiology*, *23*, 519 - 525.

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasveta, P. (1998). Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, *169*, 301 - 313.

Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S. and Menasaveta, P. (2000). Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). *Aquaculture*, *191*, 271 – 288

Rosenberry, B. (1996). *World shrimp farming, an annual report*. San Diego: Shrimp News International.

Sahu, M. K, Swarnakumar, N. S., Sivakumar, K., Thangaradjou, T. and Kannan, L. (2008). Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. *Indian Journal of Microbiology*, *48*, 299 - 308.

Sharma, O. P. and Bhukhar, S. K. S. (2000). Effect of Aquazyn-TM-1000, a probiotic on the water quality and growth of *Cyprinus carpio* var. communis (L.). *Indian Journal of Fisheries*, *47*, 209 - 213.

Skjermo, J. and Vadstein, O. (1999). Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae. *Aquaculture*, *177*, 333 - 343.

Towner, K. J. (1995). The genetics of resistance. In Greenwood, D. (Ed.), *Antimicrobial Chemotherapy* (pp. 159-167). Oxford: Oxford University Press.

Trott, L. A. and Alongi, D. M. (2000). The impact of shrimp pond effluent on water quality and phytoplankton biomass in a tropical mangrove estuary. *Marine Pollution Bulletin*, *40*, 947-951.

Tseng, D. Y., Ho, P. L., Huang, S. Y., Cheng, S. C., Shiu, Y. L., Chiu, C. S. and Liu, C. H. (2009). Enhancement of immunity and disease resistance in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by the probiotic, *Bacillus subtilis* E20. *Fish and Shellfish Immunology*, *26*, 339 - 344.

Utiswannakul, P., Sangchai, S. and Rengpipat, S. (2011). Enhanced growth of black tiger shrimp *Penaeus monodon* by dietary supplementation with *Bacillus* (BP11) as a probiotic. *Journal of Aquaculture Research & Development*, http:// dx.doi.org/10.4172/2155-9546.S1-006.

Vandenberghe, J., Li, Y., Verdonck, L., Li, J., Sorgeloos, P., Xu, H. S. and Swings, J. (1998). Vibrios associated with *Penaeus chinensis* (Crustacea: Decapoda) larvae in Chinese shrimp hatcheries. *Aquaculture, 169*, 121 - 132.

Vargas-Albores, F., Hernandez, L. J., Gollas, G. T., Montano, P. K., Jimenez, V. F. and Yepiz, P.G. (1998). Activation of shrimp cellular defense functions by microbial products. In T. W. Flegel (Ed.), *Advances in shrimp biotechnology* (pp. 161-166). Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology.

Vaseeharan, B. and Ramasamy, P. (2003). Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Letters in Applied Microbiology, 36*, 83–87.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. and Verstraete, W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *64*, 655-671.

Wakida-Kusunoki, A. T., Angel, L. E. A. D., Alejandro, P. C. and Brahms, C. Q. (2011). Presence of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) in the Southern Gulf of Mexico, *Aquaculture Invasions Records*, *6*, 139 - 142.

Weston, D. P. (1996). *Environmental considerations in the use of antibacterial drugs in aquaculture*. In: Baird, D., Beveridge, M. V. M., Kelly, L. A., and Muir, J. F. (Eds.), Aquaculture and Water Resource Management. Oxford: Blackwell, pp. 140–165.

Wyban, J. (2007). Thailand's shrimp revolution. *AQUA Culture Asia Pacific Magazine*, 16-18.

Ziaei-Nejad , S., Rezaei, M. H., Takami, G. A., Lovett, D. L., Mirvaghefi, A. and Shakouri, M. (2006). The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival & growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, *252*, 516 - 524.

Ziemann, D. A., Walsh, W. A., Saphore, E. G. and Fulton-Bennet, K. (1992). A survey of water quality characteristics of effluent from Hawaiian aquaculture facilities. *Journal of Aquaculture Society*, *23*, 180-191.