การเสริม *Bacillus subtilis* P11 ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* ในภาคสนาม

นายพลพิสิฐ อุทิศวรรณกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-2223-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงการณ์มหาวิทยาลัย

SUPPLEMENTATION OF *Bacillus subtilis* P11 IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon* CULTURING IN FIELD TRIAL

Mr. Ponpisit Utivannakul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2005

ISBN 974-14-2223-7

481585

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเสริม *Bacillus subtilis* P11 ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* ในภาคสนาม
โดย	นายพลพิสิฐ อุทิศวรรณกุล
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....รองคณบดีฝ่ายบริหารรักษาราชการการแทน
.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธราพงษ์ วิทิตศานต์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน)

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

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

พลพิสิฐ อุทิศวรรณกุล: การเสริม *Bacillus subtilis* P11 ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* ในภาคสนาม (SUPPLEMENTATION OF *Bacillus subtilis* P11 IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon* CULTURING IN FIELD TRIAL)
อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ หน้า. 134 ISBN 974-14-2223-7

การเสริมโพรไบโอติก *Bacillus subtilis* P11 ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* ระดับทดลองภาคสนาม 2 ครั้ง ในกระชังขนาด 2.25 ตารางเมตร ในบ่อดินขนาด 1,000 ตารางเมตร พบว่า *B. subtilis* P11 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำในการเพาะเลี้ยงกุ้งทั้ง 2 ครั้ง โดยกุ้งกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยมากกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของการรอดชีวิตของกุ้งระหว่างกลุ่มทดลอง จากการทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 หลังการเพาะเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 1 กุ้งกลุ่มโพรไบโอติกที่เลี้ยงในกระชังบ่อดินเป็นเวลา 120 วัน พบอัตราการตายสะสมของกุ้งกลุ่มโพรไบโอติกต่ำกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่กุ้งกลุ่มโพรไบโอติกที่เลี้ยงในกระชังบ่อดินเป็นเวลา 80 วันของการเพาะเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 2 มีอัตราการตายสะสมต่ำกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีการตายช้ากว่ากุ้งกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์และสารน้ำ ของทั้ง 2 กลุ่มการทดลองก่อนและหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค พบว่าก่อนเหนี่ยวนำให้เกิดโรค กุ้งกลุ่มโพรไบโอติกมีปริมาณเม็ดเลือดรวมและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดสูงกว่ากุ้งกลุ่มควบคุม ส่วนหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค พบว่ากุ้งทั้ง 2 กลุ่มทดลองปริมาณเม็ดเลือดรวมลดลงจาก ~10^7 เซลล์/มิลลิลิตร เป็น ~10^6 เซลล์/มิลลิลิตร และมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดสูงขึ้น

ภาควิชา จุลชีววิทยา..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา 2548

KEY WORDS: BACILLUS/PROBIOTICS/BLACK TIGER SHRIMP/FEED SUPPLEMENT / *Vibrio harveyi* 639

PONPISIT UTIVANNAKUL : SUPPLEMENTATION OF *Bacillus subtilis* P11 IN BLACK TIGER SHRIMP *Penaeus monodon* CULTURING IN FIELD TRIAL : ASSOC. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT, Ph.D.,pp. 134 ISBN 974-14-2223-7

Black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, cultivated in 2 field trials in a 2.25 m^2 net cages located in 1,000 m^2 earthen pond, were fed with commercial feed supplemented with *B. subtilis* P11 in order to find out its influence on shrimp growth and survival. In both trials, growth rate of probiotic shrimp were significantly higher ($P<0.05$) than those of the control groups, but the survival were not significant between the two groups. Challenge tests on shrimp after being tainted with *Vibrio harveyi* strain 639 revealed that cumulative mortality of the probiotic feeds shrimps cultivated after 120 days (first cultivation) were significantly lower ($p<0.05$) than those of the control group while those cultivated after 80 days (secondary cultivation) were non significant ($p>0.05$) as compare to those of the control group. However, the mortality rate of probiotic treatment of the 2nd trial was slower. Immunity testing of total hemocyte and antibacterial activity on shrimp before and after 2 days of challenge test was conducted. Interestingly, the total hemocyte count and antibacterial activity of the probiotic shrimps before the challenge test were higher than those of the control. Decrease in total hemocyte from ~10^7 cell ml^{-1} to ~10^6 cell ml^{-1} and increase in antibacterial activity after challenge tests among shrimps in two treatments were observed.

Department Microbiology	Student's signature.....
Field of study Industrial Microbiology	Advisor's signature.....
Academic year 2005	Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลงได้โดยได้รับความกรุณาจาก รศ.ดร. ศิริรัตน์ เรืองพิพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ รวมทั้งได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ศิษย์ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุเทพ ธนียวัน ที่กรุณารับเป็นประธานในการสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล ที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ ที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณภาควิชาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือและสารเคมีในการทำวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆและน้องๆ ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกคน ที่ได้ให้กำลังใจ และช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงด้วยดี

ขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือและสารเคมีในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณ คุณเสรี ดอนเหนือ และเจ้าหน้าที่หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเลทุกๆท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงด้วยดี

ขอขอบคุณ รศ.ดร.ไพศาล สิทธิกรกุล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ ประสานมิตร ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย ขอขอบคุณ คุณสมบัติ รักประทานพร รวมทั้งพี่ทุกๆคนในห้องปฏิบัติการ ที่ให้ความรู้เรื่อง immunohistochemistry และให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำวิจัย ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และญาติพี่น้องทุกท่าน ที่ได้ให้กำลังใจช่วยเหลือและสนับสนุน ตั้งแต่เริ่มต้นจนเสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญ.....ช

สารบัญตาราง.....ซ

สารบัญรูป.....ฎ

บทที่

1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....3

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

2 วารสารปริทัศน์

2.1 กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*).....4

2.2 โรคของกุ้งกุลาดำและการป้องกันรักษา.....14

2.3 โพรไบโอติก (Probiotics).....21

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....26

3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์ที่สำคัญ.....30

3.2 เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....30

3.3 สารเคมีสำหรับ Immunohistochemistry.....31

3.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย.....31

3.5 วิธีดำเนินการวิจัย.....32

4 ผลการทดลอง.....40

5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....64

รายการอ้างอิง.....69

ภาคผนวก.....75

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....134

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การส่งออกกุ้งของไทย เดือนมกราคม – ธันวาคม ปี 2547 และ ปี 2548	2
2	แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำและทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรค	25
3	คุณภาพน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 1	44
4	ปริมาณแบคทีเรียในน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 1	44
5	ปริมาณแบคทีเรียในตะกอนดินระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 1	44
6	ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้กุ้งระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 1	45
7	คุณภาพน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 2	53
8	ปริมาณแบคทีเรียในน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 2	53
9	ปริมาณแบคทีเรียในตะกอนดินระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 2	53
10	ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้กุ้งระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 2	54
11	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA+ 1% NaCl	84
12	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA+ 2% NaCl	86
13	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA+ 3% NaCl	88
14	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA+ 4% NaCl	90
15	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA ที่ 35 องศาเซลเซียส	92
16	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA ที่ 40 องศาเซลเซียส	94
17	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA ที่ 45 องศาเซลเซียส	96
18	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA ที่ 50 องศาเซลเซียส	98
19	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA ที่ pH 6	100
20	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA ที่ pH 6.5	102
21	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA ที่ pH 7	104
22	ค่า OD 660 กับ เวลา (ชม.) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA ที่ pH 8	106
23	ค่า specific growth rate (μ) ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร TSA ที่ % NaCl ต่างๆ	108

ตารางที่ หน้า

24 ค่า specific growth rate (μ) ของ *B.subtilis* P11 ที่อุณหภูมิ ต่างๆ.....108
25 ค่า specific growth rate (μ) ของ *B.subtilis* P11 ที่ค่า pH ต่างๆ.....108
26 ผลน้ำหนักกุ้งกุลาดำ การทดลองครั้งที่ 1.....109
27 ผลน้ำหนักกุ้งกุลาดำ การทดลองครั้งที่ 2.....109
28 การรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำหลังจากการทดลองเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 1 และ 2.....110
29 การตายสะสมหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 1.....110
30 การตายสะสมหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 2.....111
31 ปริมาณเชื้อในลำไส้กุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค เป็นเวลา 2 วัน จาก การทดลองครั้งที่ 1 และ 2.....111
32 ปริมาณเชื้อในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 1.....111
33 ปริมาณเชื้อในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 2.....112
34 ปริมาณเม็ดเลือด ในการทดลองครั้งที่ 1.....112
35 ปริมาณเม็ดเลือด ในการทดลองครั้งที่ 2.....112
36 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)ในพลาสมากุ้งกุลาดำ ในการทดลองครั้งที่ 1.....112
37 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)ในพลาสมากุ้งกุลาดำ ในการ ในการทดลองครั้งที่ 2.....113
38 การวิเคราะห์ทางสถิติ อัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง ในการทดลองครั้งที่ 1.....114
39 การวิเคราะห์ทางสถิติ การรอดชีวิตของกุ้ง ในการทดลองครั้งที่ 1.....119
40 การวิเคราะห์ทางสถิติ การตายสะสมของกุ้งหลังทดสอบชักนำให้เกิดโรค ด้วย *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 1.....120
41 การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดก่อนการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 1.....125
42 การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดหลังการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 1.....125

ตารางที่ หน้า

43 การวิเคราะห์ทางสถิติ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง) ในพลาสม่ากุ้ง ก่อนการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 1.....126
44 การวิเคราะห์ทางสถิติ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง) ในพลาสม่ากุ้ง หลังการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 1.....126
45 การวิเคราะห์ทางสถิติ อัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง ในการทดลองครั้งที่ 2.....127
46 การวิเคราะห์ทางสถิติ การรอดชีวิตของกุ้ง ในการทดลองครั้งที่ 2.....129
47 การวิเคราะห์ทางสถิติ การตายสะสมของกุ้งหลังทดสอบชักนำให้เกิดโรค ด้วย *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 2.....130
48 การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดก่อนการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 2.....132
49 การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดหลังการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 2.....132
50 การวิเคราะห์ทางสถิติ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง) ในพลาสม่ากุ้ง ก่อนการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 2.....133
51 การวิเคราะห์ทางสถิติ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง) ในพลาสม่ากุ้ง หลังการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 2.....133

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะภายนอกทั่วไปของกุ้งกุลาดำ	5
2	วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ	9
3	ความสัมพันธ์ระหว่างกุ้งกุลาดำ สิ่งแวดล้อมในบ่อเลี้ยงกุ้ง และเชื้อโรค รวมทั้งวิธีการที่ใช้ในการจัดการของแต่ละปัจจัย	21
4	ความสัมพันธ์ระหว่างค่า specific growth rate ของ *B.subtilis* P11 กับอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ % NaCl ต่างๆ	41
5	ความสัมพันธ์ระหว่างค่า specific growth rate ของ *B.subtilis* P11 ที่อุณหภูมิต่างๆ	41
6	ความสัมพันธ์ระหว่างค่า specific growth rate ของ *B.subtilis* P11 ที่ค่า pH ต่างๆ	42
7	น้ำหนักตัวของกุ้งกุลาดำ กลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติก ระหว่างการทดลองครั้งที่ 1	46
8	อัตราการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ กลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติก ระหว่างการทดลองครั้งที่ 1	46
9	การตายสะสมของกุ้งกุลาดำ จากการทดลองครั้งที่1 หลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639	48
10	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ หลังจากชักนำให้เกิดโรคเป็นเวลา 10 วันจากการทดลองครั้งที่ 1	48
11	จำนวนแบคทีเรียในลำไส้กุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรคเป็นเวลา 2 วัน จากการทดลองครั้งที่ 1	49
12	ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้ง ก่อนและหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 1	51
13	ความสามารถในการต้านทานเชื้อก่อโรค จากการสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดกุ้งก่อนและหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 1	51
14	น้ำหนักตัวของกุ้งกุลาดำ กลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติก ระหว่างการทดลองครั้งที่ 2	55

รูปที่ หน้า

15 อัตราการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ กลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติก ระหว่างการทดลองครั้งที่ 2.....55

16 การตายละสมของกุ้งกุลาดำ จากการทดลองครั้งที่ 2 หลังการชักนำให้เกิดโรค ด้วย *Vibrio harveyi* 639.....57

17 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดและ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ หลังจากชักนำ ให้เกิดโรคเป็นเวลา 10 วัน จากการทดลองครั้งที่ 2.....58

18 จำนวนแบคทีเรียในลำไส้กุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรคเป็นเวลา 2 วัน จากการทดลองครั้งที่ 2.....59

19 ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้ง ก่อนและหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค ด้วย *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 2.....61

20 ความสามารถในการต้านทานเชื้อก่อโรค จากการสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ในเลือดกุ้งก่อนและหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 2.....61

21 พยาธิสภาพต่อการเกิดโรคจากการติดเชื้อ *Vibrio harveyi* 639 บริเวณตับ.....62

22 พยาธิสภาพต่อการเกิดโรคจากการติดเชื้อ *Vibrio harveyi* 639 บริเวณกล้ามเนื้อ.....62

23 แสดงเนื้อเยื่อลำไส้ของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *B.subtilis* P11 เป็นเวลานาน 120 วัน โดยสังเกตเห็นเซลล์แบคทีเรียที่ยึดเกาะกับผนังลำไส้ เปรียบเทียบกับลำไส้ของกุ้งในกลุ่มควบคุมซึ่งไม่พบเซลล์แบคทีเรียที่ผนังลำไส้.....63

24 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร เลี้ยงเชื้อ TSB ที่ 1% NaCl.....84

25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร เลี้ยงเชื้อ TSB ที่ 2% NaCl.....86

26 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร เลี้ยงเชื้อ TSB ที่ 3% NaCl.....88

27 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ในอาหาร เลี้ยงเชื้อ TSB ที่ 4% NaCl.....90

28 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส.....92

29 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส.....94

รูปที่ หน้า

30 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.....96

31 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส.....98

32 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ที่ค่า pH 6.....100

33 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ที่ค่า pH 6.5.....102

34 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ที่ค่า pH 7.....104

35 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า OD 660 กับเวลา ของ *B.subtilis* P11 ที่ค่า pH 8.....106