# บทที่ 4

## ผลการทดลอง

**4.1 การทดลองครั้งที่ 1 และ 2 เปรียบเทียบสูตรอาหารผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11) อัตราส่วนต่างๆ กับ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางการค้า (BG)**

การทดลองครั้งที่ 1 และ 2 แบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 5 กลุ่มการทดลอง โดยกลุ่มที่ 1 ให้อาหารกุ้งปกติ (ควบคุม) กลุ่มที่ 2 อาหารกุ้งผสมบีตากลูแคน (BG) 2 กรัม/กิโลกรัม กลุ่มที่ 3 อาหารกุ้งผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11-1) อัตราส่วน 2 ต่อ 1 (น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักเปียก) กลุ่มที่ 4 อาหารกุ้งผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11-2) อัตราส่วน 3 ต่อ 1 (น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักเปียก) กลุ่มที่ 5 อาหารกุ้งผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11-3) อัตราส่วน 6 ต่อ 1 (น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักเปียก) ปล่อยกุ้งจำนวน 80 ตัวต่อบ่อ ให้อากาศตลอดเวลา กรองน้ำโดยใช้ระบบหมุนเวียนแบบปิด ให้อาหาร 3 มื้อต่อวัน เลี้ยงปรับสภาพให้กุ้งคุ้นเคยกับบ่อด้วยอาหารปกติ และเริ่มทำการทดลองเมื่อกุ้งกุลาดำระยะ Postlarva 25 (PL25) ในบ่อเลี้ยงขนาด 0.8 ลูกบาศก์เมตร บรรจุน้ำซึ่งมีความเค็ม 20 ส่วนในพันส่วน (กรัม/กิโลกรัม) ระหว่างทำการทดลองควบคุมคุณภาพน้ำ และปริมาณแบคทีเรียให้อยู่ในช่วงมาตรฐาน และใกล้เคียงกันในแต่ละกลุ่มทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3 4 5 และ6

ตารางที่ 3 คุณภาพน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 1

| คุณภาพน้ำ | ช่วงคุณภาพน้ำ (ต่ำสุด-สูงสุด) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ควบคุม | BG | F-BS11-1 | F-BS11-2 | F-BS11-3 |
| แอมโมเนีย (mg/l) | 0.00-0.50 | 0.00-0.50 | 0.00-0.50 | 0.00-0.50 | 0.00-0.50 |
| ไนไตรท์ (mg/l) | 0.30-1.60 | 0.30 | 0.30-1.00 | 0.30-1.00 | 0.30-0.50 |
| ฟอสเฟต(mg/l) | 0.50-4.00 | 0.25-4.00 | 0.25-4.00 | 0.25-4.00 | 0.25-2.00 |
| อุณหภูมิ(°C) | 25.3-28.1 | 24.3-28.2 | 24.5-27.9 | 24.4-27.9 | 24.3-28.0 |
| พีเอช (pH) | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ(mg/l) | 4.20-7.49 | 4.36-7.56 | 4.80-7.81 | 4.32-7.59 | 4.90-7.56 |
| ความเค็ม(ppt) | 19.6-24.3 | 18.6-24.5 | 18.2-23.9 | 19.7-22.8 | 20.1-22.7 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 คุณภาพน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 2

| คุณภาพน้ำ | ช่วงคุณภาพน้ำ (ต่ำสุด-สูงสุด) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ควบคุม | BG | F-BS11-1 | F-BS11-2 | F-BS11-3 |
| แอมโมเนีย (mg/l) | 0.00-0.50 | 0.00-0.50 | 0.00-0.50 | 0.00-0.50 | 0.00-0.50 |
| ไนไตรท์ (mg/l) | 0.30-1.60 | 0.30-1.60 | 0.30-1.60 | 0.30-1.60 | 0.30-1.60 |
| ฟอสเฟต(mg/l) | 0.50-2.00 | 0.50-2.00 | 0.50-2.00 | 0.50-2.00 | 0.50-2.00 |
| อุณหภูมิ(°C) | 24.3-29.8 | 24.3-29.3 | 24.5-29.5 | 24.4-29.5 | 24.3-29.3 |
| พีเอช (pH) | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ(mg/l) | 4.52-7.54 | 4.48-7.64 | 4.36-7.63 | 4.81-7.47 | 4.32-7.85 |
| ความเค็ม(ppt) | 19.6-22.4 | 20.2-21.1 | 20.2-22.4 | 20.5-22.7 | 20.3-22.7 |

ตารางที่ 5 ปริมาณแบคทีเรียน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 1

| ชนิดแบคทีเรีย | ปริมาณแบคทีเรีย (ต่ำสุด-สูงสุด) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ควบคุม | BG | F-BS11-1 | F-BS11-2 | F-BS11-3 |
| ปริมาณแบคทีเรียรวม (Log CFU/ml) | 2.96-4.33 | 2.18-4.01 | 3.16-4.77 | 3.24-4.25 | 3.23-4.05 |
| *E.coli* (Log CFU/ml) | ND-3.34 | ND-3.21 | ND-3.37 | ND-3.26 | ND-3.31 |
| *Vibrio* spp.(Log CFU/ml) | 1.40-3.40 | 1.48-2.98 | ND-3.42 | 1.85-3.19 | 1.85-3.09 |

หมายเหตุ: ND หมายถึง ตรวจไม่พบ

ตารางที่ 6 ปริมาณแบคทีเรียน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 2

| ชนิดแบคทีเรีย | ปริมาณแบคทีเรีย (ต่ำสุด-สูงสุด) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ควบคุม | BG | F-BS11-1 | F-BS11-2 | F-BS11-3 |
| ปริมาณแบคทีเรียรวม (Log CFU/ml) | 3.36-4.98 | 2.64-4.97 | 2.15-4.87 | 2.28-5.31 | 2.59-5.42 |
| *E.coli* (Log CFU/ml) | ND-2.43 | ND-2.26 | ND-2.37 | ND-2.50 | ND-2.51 |
| *Vibrio* spp.(Log CFU/ml) | ND-3.49 | ND-3.38 | ND-3.69 | ND-3.44 | ND-3.37 |

หมายเหตุ: ND หมายถึง ตรวจไม่พบ

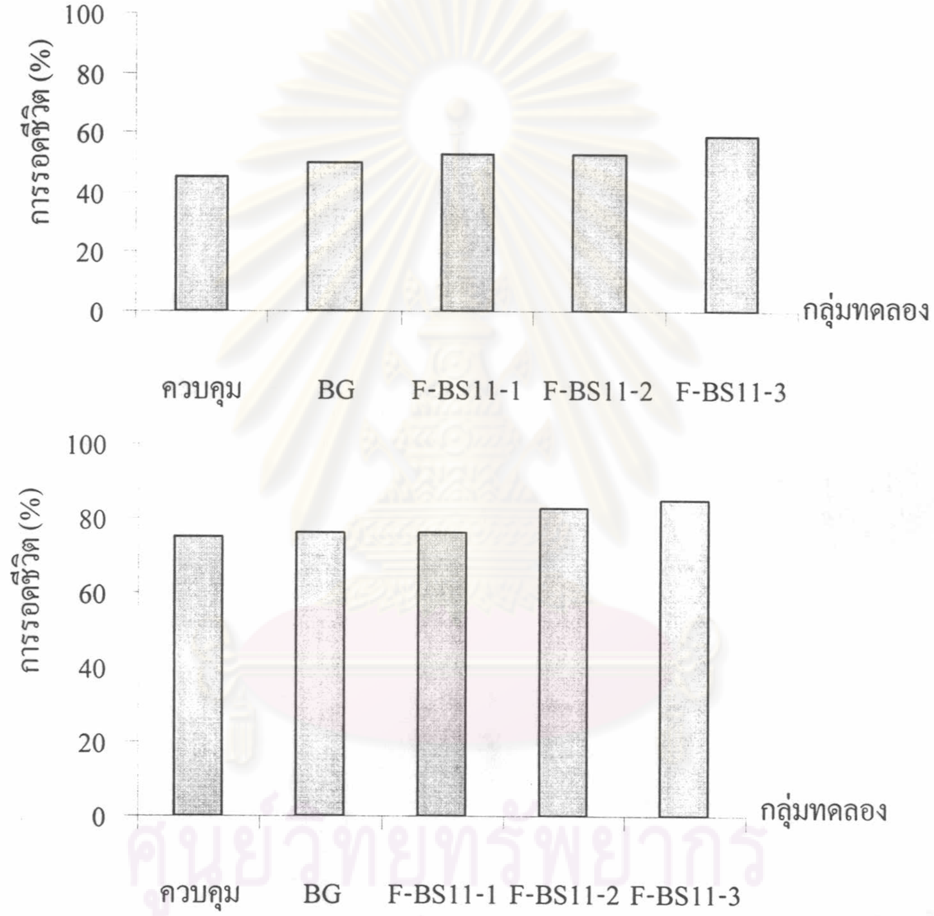
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**4.1.1 ผลของสูตรอาหารผสมเซลล์โพรไบโอติก แบคทีเรีย (BS11) อัตราส่วนต่างๆ กับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางการค้า (BG) ต่อการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำหลังการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน**

หลังจากการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าการทดลองครั้งที่ 1 (ก) และครั้งที่ 2 (ข) การรอดชีวิตของกุ้งในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันโดยการทดลองครั้งที่ 1 แต่ละกลุ่มทดลองมีการรอดชีวิตประมาณ 53 เปอร์เซ็นต์ การทดลองครั้งที่ 2 แต่ละกลุ่มทดลองมีการรอดชีวิตประมาณ 79 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าการทดลองครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 กลุ่มF-BS11-3 มีการรอดชีวิตสูงที่สุด คือ 58.75 และ 85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงรูปที่ 13

(ก)

(ข)



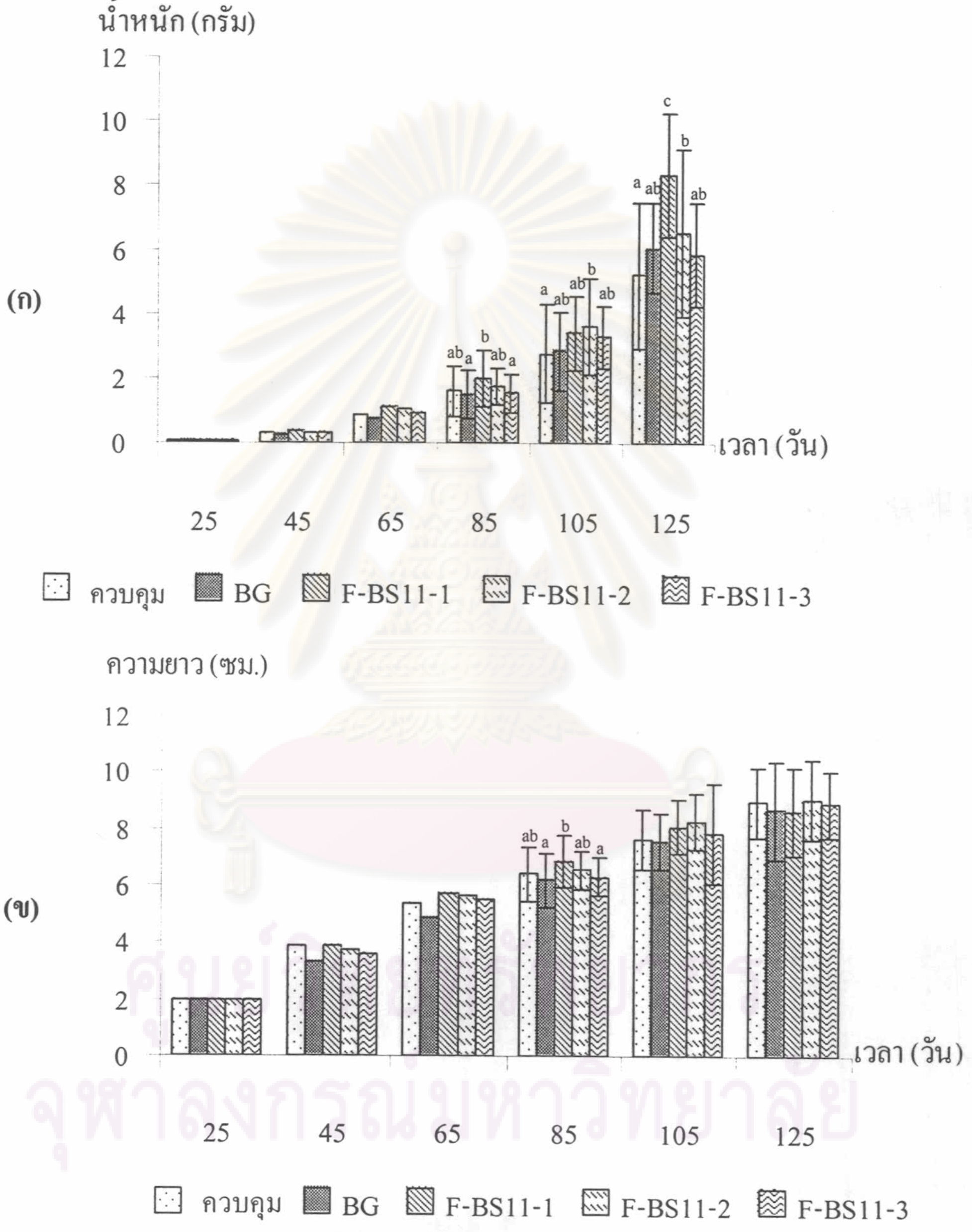

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 13 การรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำหลังจากเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 90 วัน จากการทดลองครั้งที่ 1 (ก) และ 2 (ข)

**4.1.2 ผลของสูตรอาหารผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11) อัตราส่วนต่างๆ กับ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางการค้า (BG) ต่อน้ำหนัก และความยาวของกุ้งกุลาดำ**

ระหว่างทำการทดลองให้อาหารกุ้งแต่ละกลุ่มทดลองตามสูตรที่เตรียมไว้ โดยให้อาหารวันละ 3 มื้อ คือ เช้า กลางวัน และ เย็น ตลอดการทดลองเปรียบเทียบการเจริญเติบโต ของกุ้งแต่ละกลุ่มทดลอง โดยวัดน้ำหนัก และความยาวทุก 20 วัน จากการทดลองครั้งที่ 1 เริ่มทดลองเมื่อกุ้งมีน้ำหนัก

0.04 กรัม และมีความยาว 1.95 ซม.(เซนติเมตร) เมื่อกุ้งมีอายุ 85 วัน พบว่ากลุ่ม F-BS11-1 มีน้ำหนักและความยาวมากที่สุดโดยมีน้ำหนัก 1.98 กรัม และมีความยาว 6.86 ซม. และที่อายุ 125 วัน กลุ่ม F-BS11-1 มีน้ำหนักมากที่สุด คือ 8.36 กรัม รองลงมาคือ กลุ่มF-BS11-2 และกลุ่ม BG ตามลำดับ โดยมีน้ำหนัก 6.54 กรัม และ 6.06 กรัม ตามลำดับ แต่ความยาวของกุ้งแต่ละกลุ่มทดลองที่อายุ 125 วัน ไม่แตกต่างกัน ดังแสดงรูปที่ 14




หมายเหตุ: ├──┤ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มประชากร (SD)

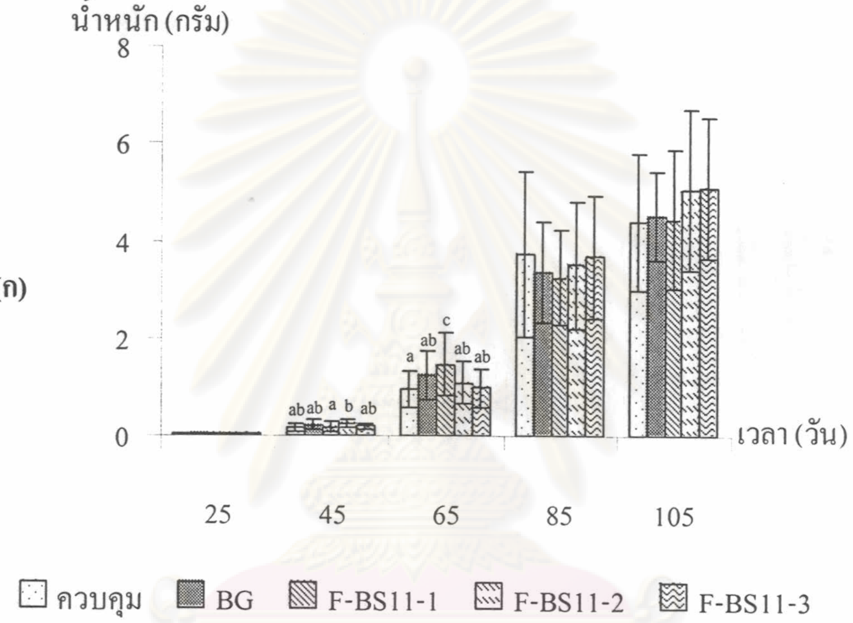
a, b, c, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองในแต่ละช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

รูปที่ 14 ผลของน้ำหนัก (ก) และความยาว (ข) โดยเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำจากการเลี้ยงครั้งที่ 1

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากการทดลองครั้งที่ 2 เริ่มทดลองเมื่อกุ้งอายุ 25 วัน มีน้ำหนัก 0.03 กรัม และมีความยาว 1.89 ซม. หลังการเลี้ยงกุ้งอายุ 45 วัน พบว่ากุ้งกลุ่ม F-BS11-2 มีน้ำหนักและความยาวมากที่สุด คือ 0.25 กรัม และ 3.47 ซม. เมื่อกุ้งอายุ 65 วัน กุ้งกลุ่ม F-BS11-1 มีน้ำหนักและความยาวมากที่สุด คือ 1.47 กรัม และ 5.99 ซม. รองลงมาคือ กลุ่ม BG และกลุ่ม F-BS11-2 ตามลำดับ โดยมีน้ำหนัก 1.23 กรัม และ 1.08 กรัม ตามลำดับ และมีความยาว 5.64 ซม. และ 5.42 ซม. ตามลำดับ แต่เมื่อกุ้งอายุ 85-125 วัน พบกุ้งในแต่ละกลุ่มทดลองมีน้ำหนัก และความยาวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงรูปที่ 15

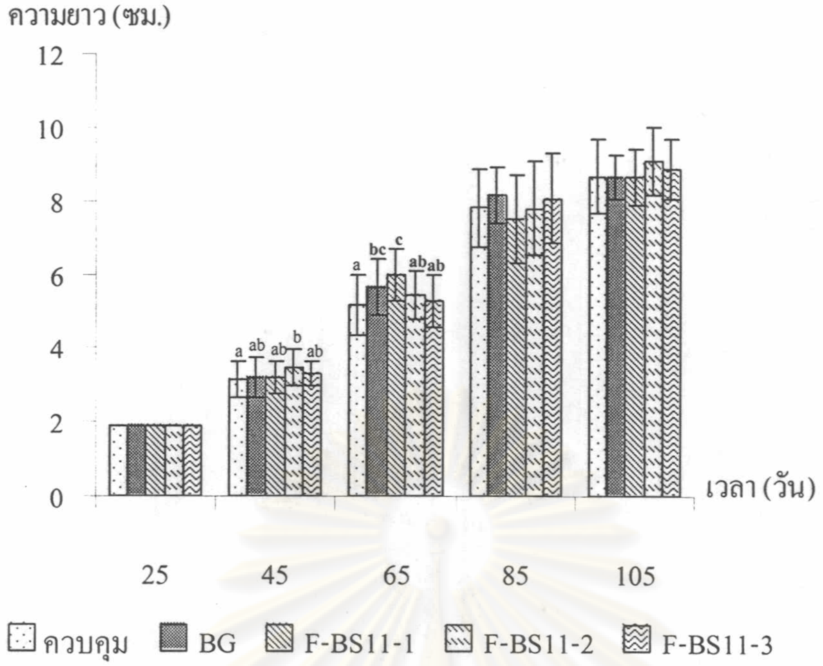
(ก)




หมายเหตุ: ├──┤ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มประชากร (SD)

a, b, c, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองในแต่ละช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

รูปที่ 15 ผลของน้ำหนัก (ก) และความยาว (ข) โดยเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำจากการเลี้ยงครั้งที่ 2




(ข)

หมายเหตุ: ├──┤ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มประชากร (SD)

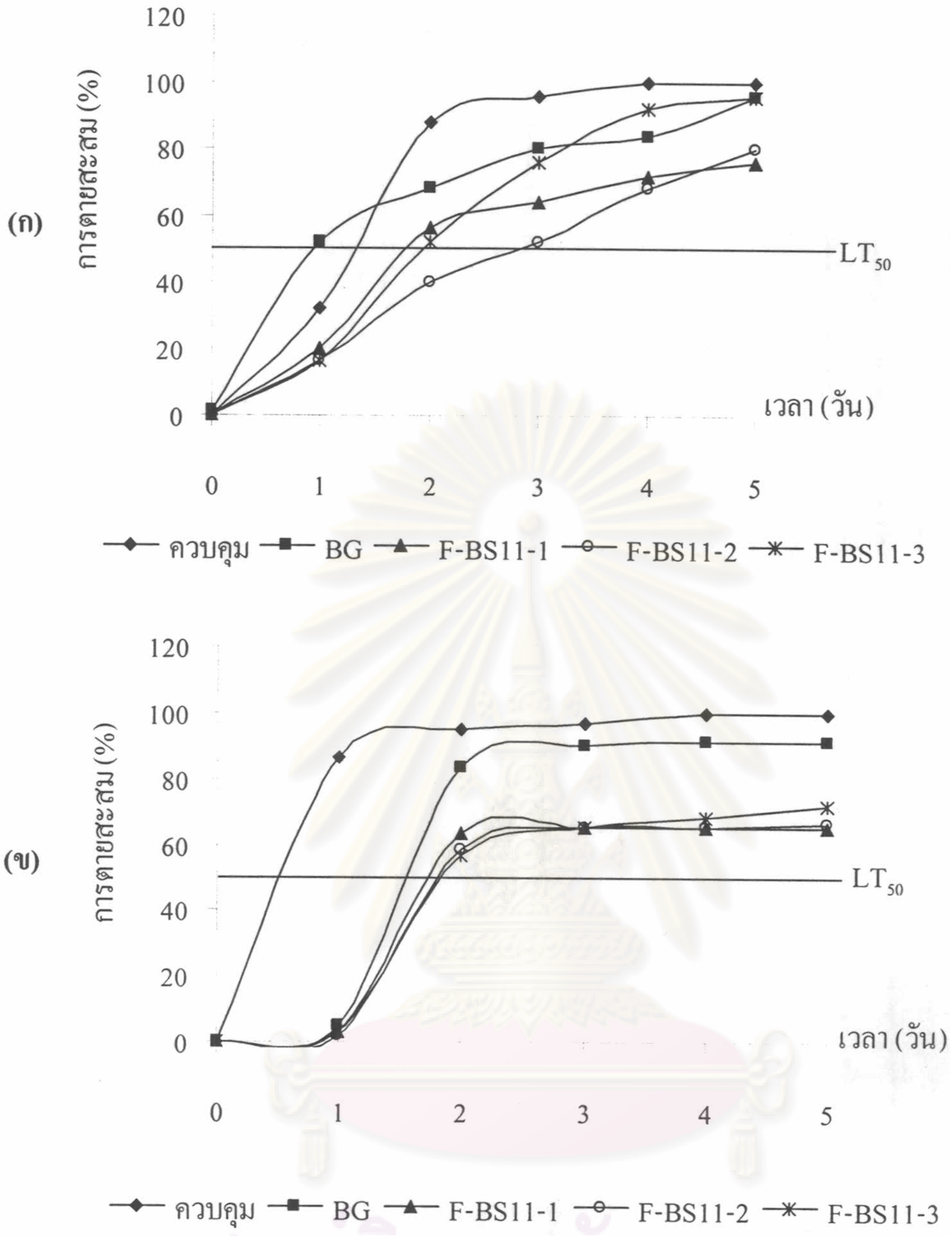
a, b, c, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองในแต่ละช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

รูปที่ 15 (ต่อ) ผลของน้ำหนัก (ก) และความยาว (ข) โดยเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำจากการเลี้ยงครั้งที่ 2

**4.1.3 ผลของสูตรอาหารผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11) อัตราส่วนต่างๆ กับ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางการค้า (BG) ต่อความสามารถในการต้านทานต่อการเกิดโรคของกุ้งกุลาดำ หลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรคโดยการแช่ พร้อมทั้งตรวจสอบปัจจัยทางภูมิคุ้มกัน**

4.1.3.1 การตายสะสม (cumulative mortality)

การทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อการเกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 จากการทดลองครั้งที่ 1 หลังจากการเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 137 วัน ทำการชักนำให้เกิดโรค โดยการแช่กุ้งในแต่ละกลุ่ม กลุ่มละ 25 ตัว ในน้ำที่มี *Vibrio harveyi* 639 ความเข้มข้น $10^7$ CFU/ml การทดลองครั้งที่ 2 ชักนำให้เกิดโรค เมื่อกุ้งอายุ 116 วัน โดยการแช่กุ้งในแต่ละกลุ่ม กลุ่มละ 40 ตัว ในน้ำที่มี *Vibrio harveyi* 639 ความเข้มข้น $10^7$ CFU/ml พบว่า การทดลองครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 กุ้งกลุ่มควบคุมมีการตายสะสมสูงที่สุด หลังการชักนำให้เกิดโรคตั้งแต่วันที่ 2 จนถึงวันที่ 5 โดยในวันที่ 4 มีการตายสะสม 100 เปอร์เซ็นต์ และหลังการชักนำให้เกิดโรค 5 วัน กลุ่ม F-BS11-1 มีการตายสะสมต่ำที่สุด ในการทดลองครั้งที่ 1และ2 คือ 76 และ 65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งใกล้เคียงกับกลุ่ม F-BS11-2 ซึ่งมีการตายสะสม 80 และ 66.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับดังแสดงรูปที่ 16



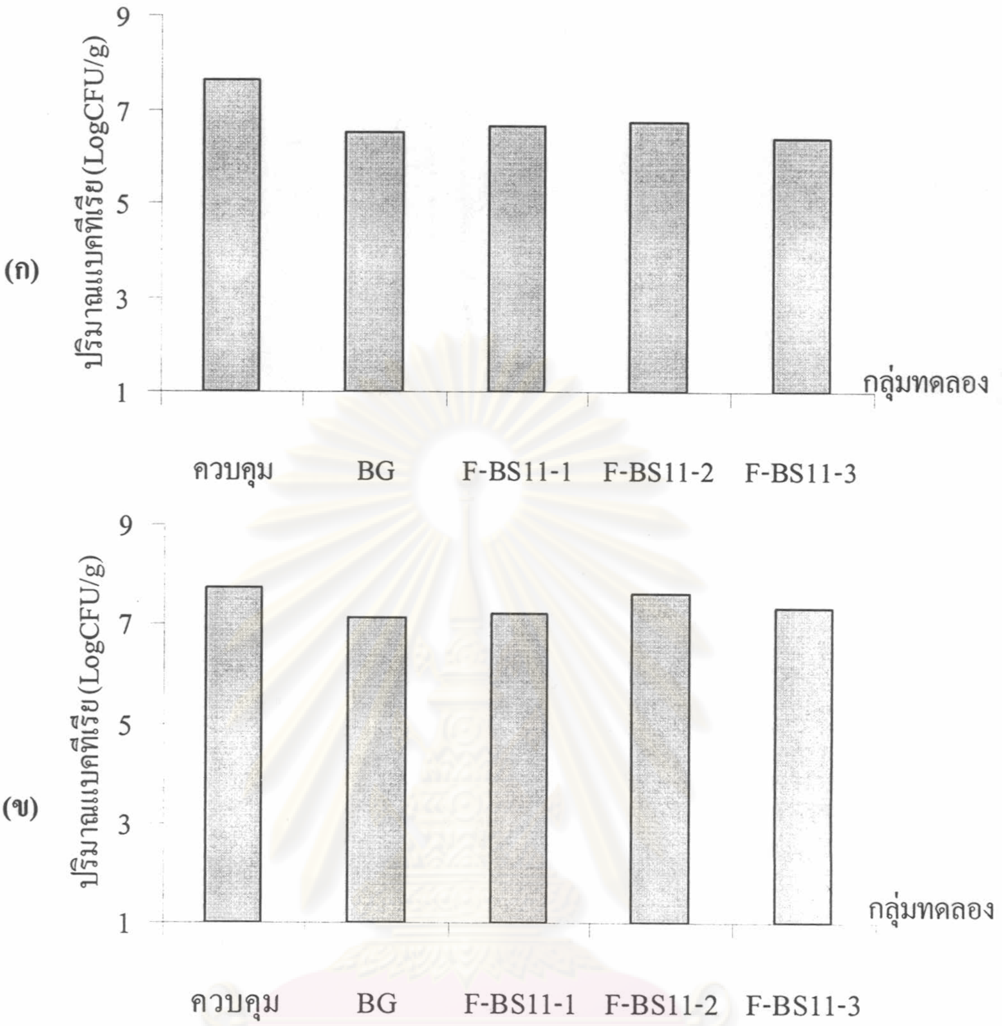

หมายเหตุ: $LT_{50}$ เวลาที่ทำให้กุ้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 16 การตายสะสมของกุ้งกุลาดำ จากการทดลองครั้งที่ 1 (ก) และ 2 (ข) หลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639

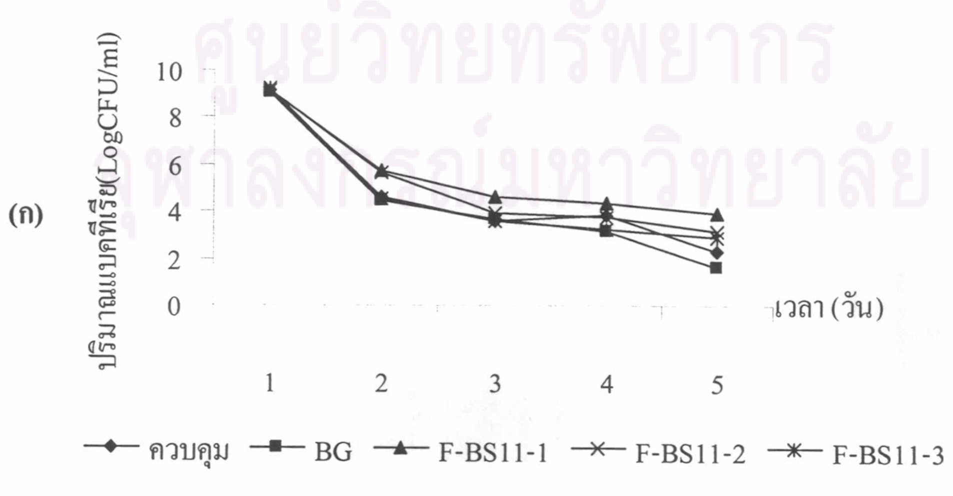
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.1.3.2 ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ กุ้ง และในน้ำหลังการชักนำให้เกิดโรค

หลังการชักนำให้เกิดโรค 2 วัน ในการทดลองครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตรวจปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. ในลำไส้กุ้งที่ตายทุกกลุ่มทดลอง พบปริมาณเชื้อ ~7.10 Log CFU/ml และในน้ำแช่กุ้งหลังการชักนำให้เกิดโรค วันที่ 1 มีปริมาณเชื้อ~9 Log CFU/ml และในวันที่ 5 ปริมาณเชื้อลดลงเหลือ ~3 Log CFU/ml ดังแสดงรูปที่ 17 และ 18



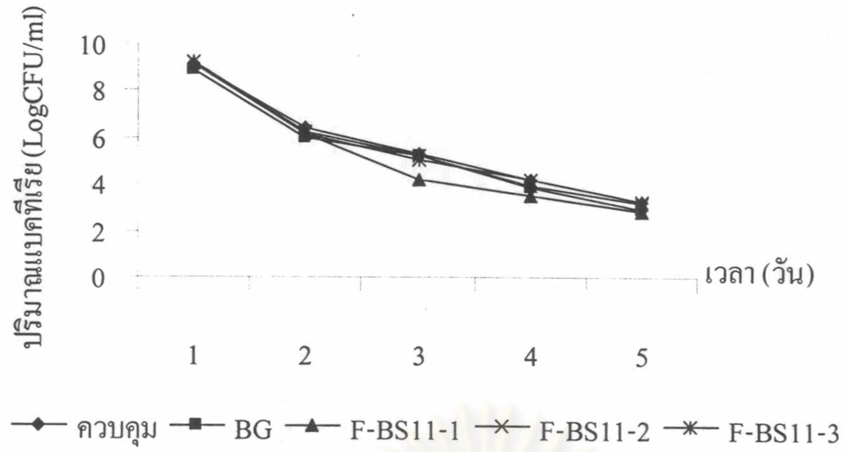

รูปที่ 17 ปริมาณ *Vibrio* spp.ในลำไส้กุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค เป็นเวลา 2 วันจากการทดลองครั้งที่ 1(ก) และ 2 (ข)




รูปที่ 18 ปริมาณ *Vibrio* spp.ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค เป็นเวลา 5 วันจากการทดลองครั้งที่ 1(ก) และ 2 (ข)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ข)



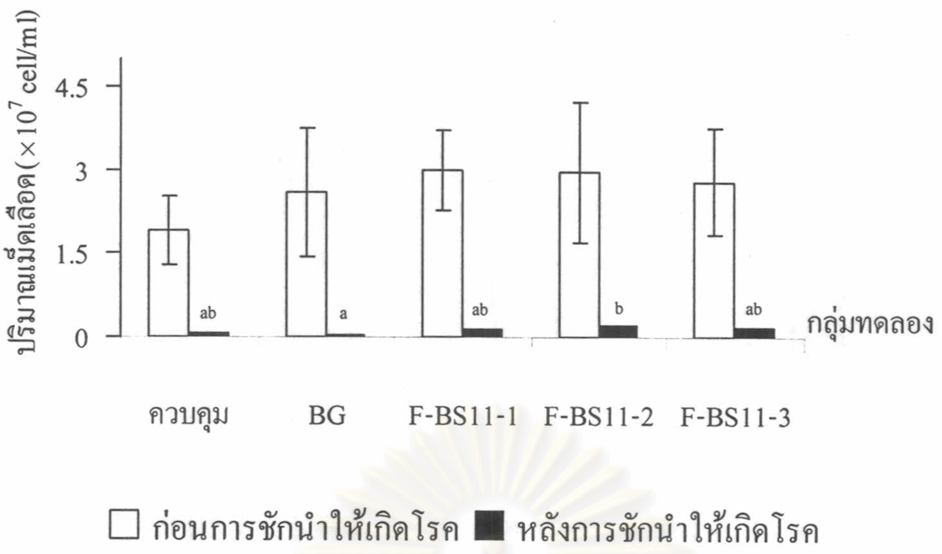

รูปที่ 18 (ต่อ) ปริมาณ *Vibrio* spp.ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค เป็นเวลา 5 วันจากการทดลองครั้งที่ 1(ก) และ 2 (ข)

4.2.3.3 ความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์

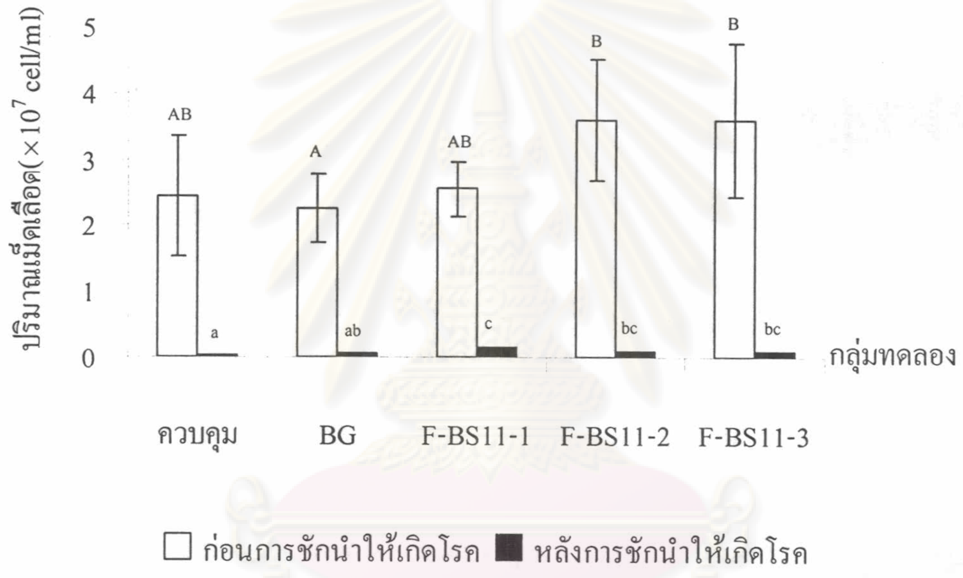
จากการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์จากปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งแต่ละกลุ่มทดลอง หลังการเลี้ยงกุ้งอายุ 90 วัน และหลังจากการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 เป็นเวลา 2 วัน จากการทดลองครั้งที่ 1 หลังการเลี้ยงกุ้งอายุ 90 วัน ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งในแต่ละกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณเม็ดเลือดรวม~$2.64 \times 10^7$ cell/ml และหลังการชักนำให้เกิดโรคลดลงเหลือ~$12.33 \times 10^5$ cell/ml และ จากการทดลองครั้งที่ 2 หลังการเลี้ยงกุ้งอายุ 90 วัน ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งในกลุ่ม F-BS11-3 และกลุ่ม F-BS11-2 มีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่ม F-BS11-3 มีมากที่สุด รองลงมาคือ กลุ่ม F-BS11-2 โดยมีปริมาณ $3.67 \times 10^7$ cell/ml และ $3.60 \times 10^7$ cell/ml ตามลำดับ และหลังการชักนำให้เกิดโรค กลุ่ม F-BS11-3 และกลุ่ม F-BS11-2 มีปริมาณเม็ดเลือดรวมลดลงเหลือ $10.25 \times 10^5$ cell/ml และ$10.17 \times 10^5$ cell/ml ตามลำดับ ดังแสดงรูปที่ 19

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ก)




(ข)




หมายเหตุ: ├──┤ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มประชากร (SD)

a, b, c, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A, B, C, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

รูปที่ 19 (ต่อ) ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้ง (total hemocyte count) ก่อนและหลังการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 1 (ก) และ 2 (ข) หลังจากเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 90 วัน

**4.2 การทดลองครั้งที่ 3 เปรียบเทียบสูตรอาหารผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11) สูตรอาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย (BS11) และ สูตรอาหารผสมบีตากลูแคน (BG) ที่ใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 และ 120 วัน**

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลา 90 วัน ในการทดลองครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 เปรียบเทียบ การรอดชีวิต การเจริญเติบโต การตายสะสมของกุ้งหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ความเข้มข้น $10^7$ CFU/ml และความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์ โดยเปรียบเทียบจากปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้ง ระหว่างกลุ่มทดลองที่ให้อาหารแตกต่างกัน โดยสูตรอาหารผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11) แต่ละกลุ่มให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกัน ในการทดลองครั้งที่ 3 เลือกกลุ่มทดลองที่ให้อาหารผสมเซลล์ โพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11) สูตร F-BS11-2 ซึ่งมีอัตราส่วนอาหารต่อเซลล์ BS11 ซึ่งฆ่าด้วยฟอร์มาลีน 2 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 3 ต่อ1 (น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักเปียก) เพื่อเปรียบเทียบกับสูตรปกติ (กลุ่มควบคุม) กลุ่มอาหารกุ้งผสมบีตากลูแคน (BG) 2 กรัม/กิโลกรัม และกลุ่มที่ให้อาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย (BS11) ซึ่งมีอัตราส่วนอาหารต่อ BS11 3 ต่อ1 (น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักเปียก) โดยการทดลองแบ่งกุ้งออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 กลุ่ม BG กลุ่มที่ 3 กลุ่ม F-BS11-2 และกลุ่มที่ 4 กลุ่ม BS11 กลุ่มทดลองละ 3 บ่อ โดยใส่กุ้งระยะ PL15 บ่อละ 25 ตัว เลี้ยงเพื่อให้กุ้งคุ้นเคยกับสภาพบ่อ 10 วัน เริ่มทำการทดลองเมื่อกุ้งอายุ 25 วัน ควบคุมสภาวะแวดล้อมในการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 โดยระหว่างทำการทดลองควบคุมคุณภาพน้ำ และปริมาณแบคทีเรียให้อยู่ในช่วงมาตรฐาน และใกล้เคียงกันในแต่ละกลุ่มทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 7 และ 8

ตารางที่ 7 คุณภาพน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 3

| คุณภาพน้ำ | ช่วงคุณภาพน้ำ (ต่ำสุด-สูงสุด) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ควบคุม | BG | F-BS11-1 | BS11 |
| แอมโมเนีย (mg/l) | 0.00-1.00 | 0.00-0.83 | 0.00-0.67 | 0.00-0.67 |
| ไนไตรท์ (mg/l) | 0.00-0.40 | 0.00-0.90 | 0.00-0.60 | 0.00-0.90 |
| ฟอสเฟต(mg/l) | 0.33-2.00 | 0.42-2.00 | 0.50-2.00 | 0.83-2.00 |
| อุณหภูมิ(ºC) | 27.63-28.20 | 27.40-28.50 | 27.70-28.13 | 27.40-28.30 |
| พีเอช (pH) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ(mg/l) | 6.64-9.39 | 6.51-9.54 | 6.47-9.47 | 6.87-10.03 |
| ความเค็ม(ppt) | 19.9-20.60 | 20.30-20.77 | 19.97-20.70 | 19.87-20.67 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

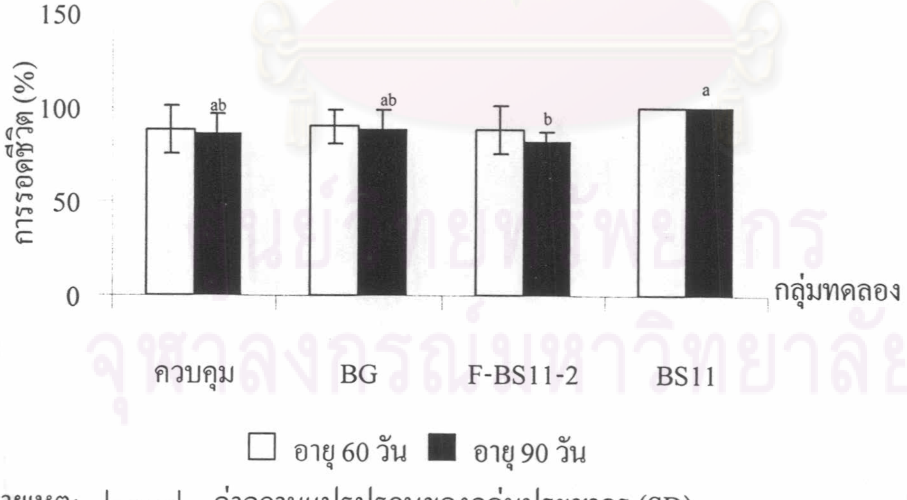
ตารางที่ 8 ปริมาณแบคทีเรียระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 3

| ชนิดแบคทีเรีย | ปริมาณแบคทีเรีย (ต่ำสุด-สูงสุด) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ควบคุม | BG | F-BS11-1 | BS11 |
| ปริมาณแบคทีเรียรวม (Log CFU/ml) | 3.05-4.54 | 3.04-3.91 | 2.96-4.82 | 3.21-4.98 |
| *E.coli* (Log CFU/ml) | ND-3.22 | ND-2.14 | ND-2.58 | ND-2.68 |
| *Vibrio* spp.(Log CFU/ml) | ND-1.73 | ND-1.35 | ND-1.55 | ND-1.48 |
| *Bacillus* สายพันธุ์ S11 (Log CFU/ml) | ND | ND | ND | 3.09-4.79 |

หมายเหตุ: ND หมายถึง ตรวจไม่พบ

**4.2.1 เปรียบเทียบสูตรอาหารผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11) สูตรอาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย (BS11) และ สูตรอาหารผสมบีตากลูแคน (BG) ต่อการรอดชีวิตเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน**

จากการทดลองเพาะเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 3 สำรวจผลการรอดชีวิตของกุ้ง 2 ช่วง คือ ช่วงอายุ 60 วัน และอายุ 90 วัน พบว่ากุ้งในกลุ่ม BS11 ช่วงอายุ 60 วัน และ 90 วัน มีการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ช่วงอายุ 60 วัน กุ้งในแต่ละกลุ่มทดลองมีการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีการรอดชีวิต ~91.67 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน พบว่ากุ้งกลุ่ม BS11 มีการรอดชีวิตสูงที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กลุ่ม BG มีการรอดชีวิต 88.33 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงรูปที่ 20



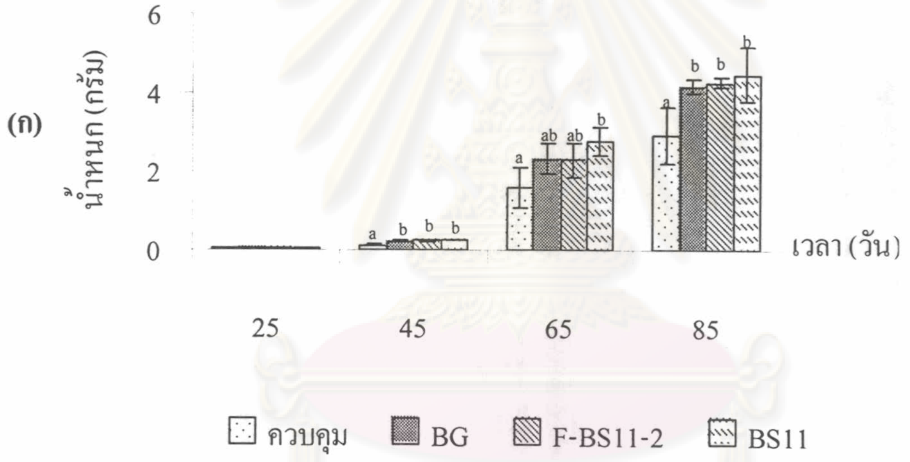

หมายเหตุ: ├──┤ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มประชากร (SD)

a, b, c, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

รูปที่ 20 การรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 60 และ90 วันจากการทดลองครั้งที่ 3

**4.2.2 การทดลองครั้งที่ 3 เปรียบเทียบสูตรอาหารผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11) สูตรอาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย (BS11) และ สูตรอาหารผสมบีตากลูแคน (BG) ต่อน้ำหนัก และความยาว**

ระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 3 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ จากน้ำหนักและความยาวของกุ้งทุกกลุ่มทดลอง ทุก 20 วัน เป็นระยะเวลา 85 วัน ก่อนเริ่มทำการทดลอง ชั่งน้ำหนัก และวัดความยาวของกุ้งโดยเฉลี่ยมีน้ำหนัก 0.03 กรัม และ ความยาว 1.76 ซม. หลังจากเพาะเลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่ากุ้งกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักและความยาวน้อยที่สุด คือ 0.12 กรัม และ 3.13 ซม. แต่กุ้งในกลุ่ม BS11 กลุ่มF-BS11-2 และกลุ่ม BG มีน้ำหนักและความยาวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีน้ำหนัก 0.26 กรัม 0.24 กรัม 0.22 กรัม ตามลำดับ และมีความยาว 3.80 ซม. 3.33 ซม. และ 3.33 ซม. ตามลำดับ เมื่อกุ้งอายุ 85 วัน กลุ่ม BS11 มีน้ำหนักและความยาวมากที่สุด คือ มีน้ำหนัก 4.48 กรัม และ มีความยาว 8.26 ซม. แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งมีน้ำหนัก 2.94 กรัม และมีความยาว 7.24 ซม. ดังแสดงในรูปที่ 21

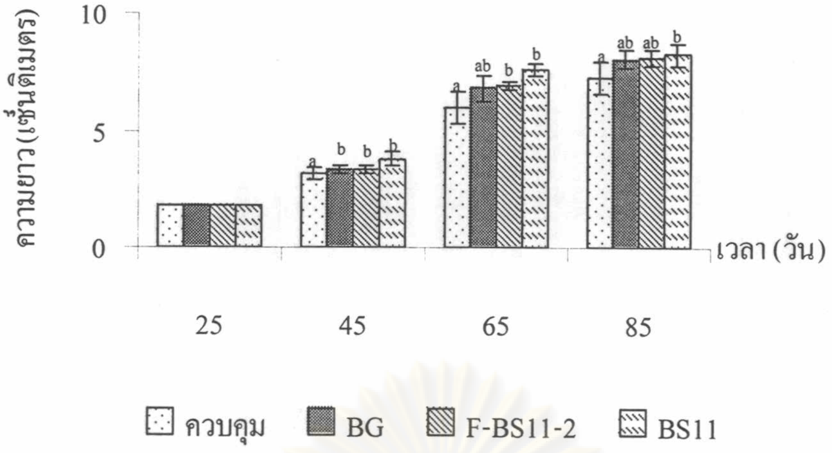



หมายเหตุ: ├──┤ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มประชากร (SD)

a, b, c, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองในแต่ละช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

รูปที่ 21 ผลของน้ำหนัก (ก) และความยาว (ข) โดยเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำจากการเลี้ยงครั้งที่ 3

(ข)




หมายเหตุ: ├──┤ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มประชากร (SD)

a, b, c, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองในแต่ละช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p < 0.05$)

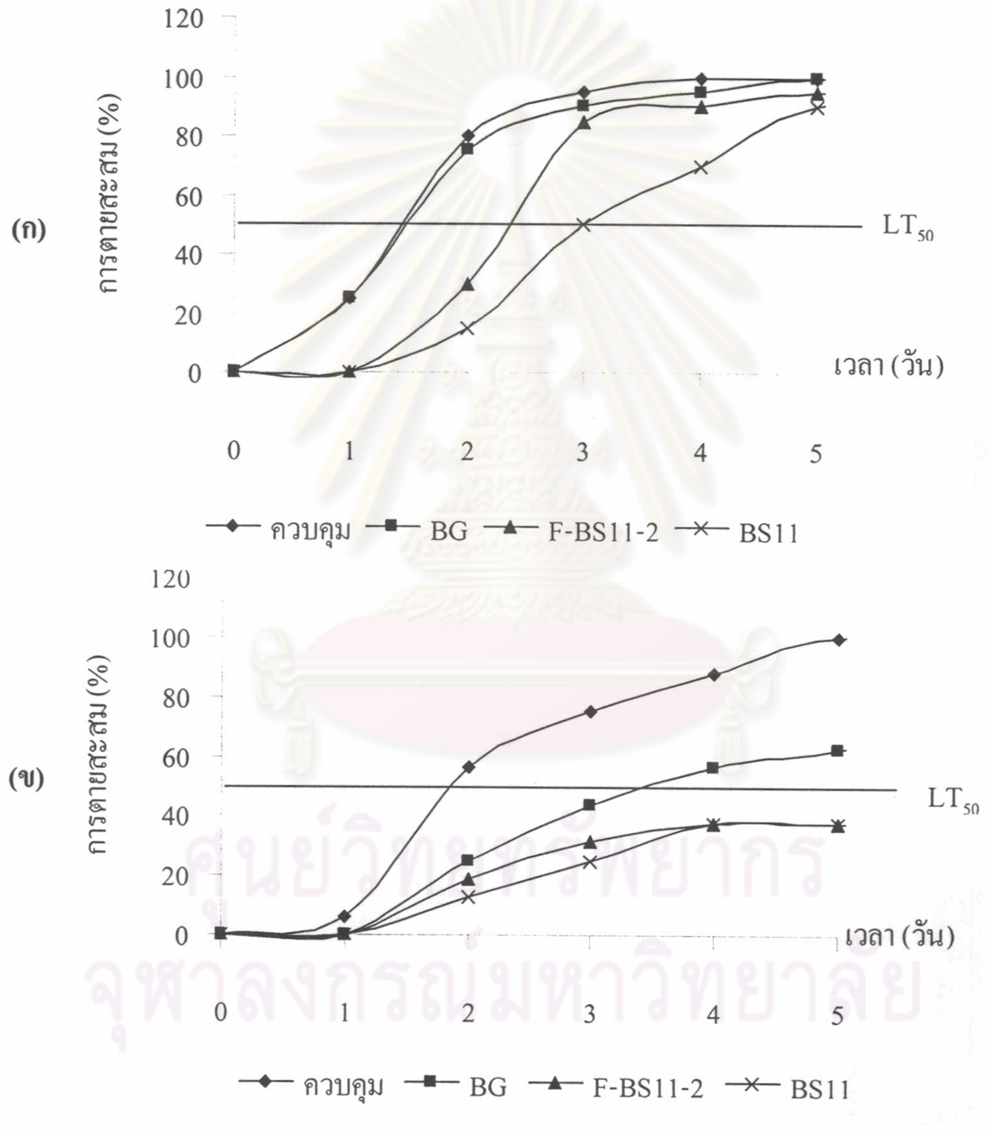
รูปที่ 21 (ต่อ) ผลของน้ำหนัก (ก) และความยาว (ข) โดยเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำจากการเลี้ยงครั้งที่ 3

**4.2.3 ผลของสูตรอาหารผสมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติก (BS11) อัตราส่วนต่างๆ กับ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางการค้า (BG) ต่อความสามารถในการต้านทานต่อการเกิดโรคของกุ้งกุลาดำอายุ90 และ 120 วัน หลังการทดสอบชักนำให้เกิดโรคโดยการแช่ *Vibrio harveyi* 639 พร้อมทั้งตรวจสอบปัจจัยทางภูมิคุ้มกัน**

4.2.3.1 การตายสะสม

หลังการทดลองเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90 และ 120 วัน ทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อการเกิดโรคด้วยการแช่กุ้งในแต่ละกลุ่มในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มี *Vibrio harveyi* 639 ความเข้มข้น $10^7$ CFU/ml การชักนำให้เกิดโรคเมื่อกุ้งอายุ 90 วัน แบ่งกุ้งเป็น 8 กลุ่มทดลอง โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่ไม่ชักนำให้เกิดโรค 4 กลุ่ม และกลุ่มที่ชักนำให้เกิดโรค 4 กลุ่ม กลุ่มทดลองละ 2 บ่อ บ่อละ 10 ตัว โดยที่กุ้งในกลุ่มควบคุม กลุ่ม BG และกลุ่ม F-BS11-2 ทำการทดลองในบ่อปูนซีเมนต์ กลุ่ม BS11 ทดลองในบ่อพลาสติกกลม แต่ละบ่อบรรจุน้ำความเค็ม 20 กรัม/กิโลกรัม บ่อละ 0.2 ลูกบาศก์เมตร กลุ่มที่ชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณ *Vibrio harveyi* 639 ในน้ำ $10^7$ CFU/ml จากการทดลองไม่พบการตายของกุ้งในกลุ่มที่ไม่ชักนำให้เกิดโรคตลอดระยะเวลาการทดลอง 7 วัน ขณะที่กุ้งกลุ่มควบคุมที่ชักนำให้เกิดโรคมีการตายสะสมสูงที่สุด โดยในวันที่ 4 มีการตายสะสม 100 เปอร์เซ็นต์ แต่กุ้งกลุ่ม BS11ที่ชักนำให้เกิดโรคมีการตายสะสมต่ำที่สุดในช่วงวันที่ 1-6 และในวันที่ 7 ทุกกลุ่มการทดลองที่ชักนำให้เกิดโรคมีการตายสะสม 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำกุ้งกลุ่มที่ไม่ชักนำให้เกิดโรคที่อายุ 90 วัน มาทำการทดลองชักนำให้เกิดโรคเมื่อกุ้งอายุ 120 วัน โดยแบ่งการทดลอง

ออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง เลี้ยงในบ่อปูนซีเมนต์ กลุ่มทดลองละ 2 บ่อ แต่ละบ่อบรรจุน้ำความเค็ม 20 กรัม/กิโลกรัม มีความเข้มข้นของ *Vibrio harveyi* 639 $10^7$ CFU/ml บ่อละ 0.2 ลูกบาศก์เมตร ทดลองโดยใช้กุ้งกลุ่มละ 10 ตัว จากการทดลองพบว่าให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองชักนำให้เกิดโรคเมื่อกุ้งอายุ 90 วัน คือ ตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 7 กุ้งในกลุ่ม BS11 มีการตายสะสมต่ำที่สุด รองลงมา คือ กลุ่มF-BS11-2 กลุ่มBG และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมมีการตายสะสม 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 ดังแสดงรูปที่ 22



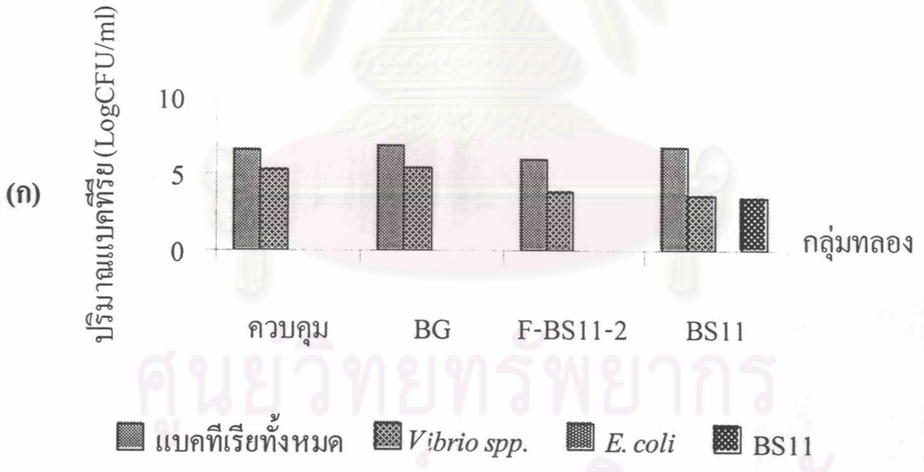

หมายเหตุ: $LT_{50}$ เวลาที่ทำให้กุ้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 22 การตายสะสมของกุ้งหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน (ก) และ 120 วัน (ข)

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

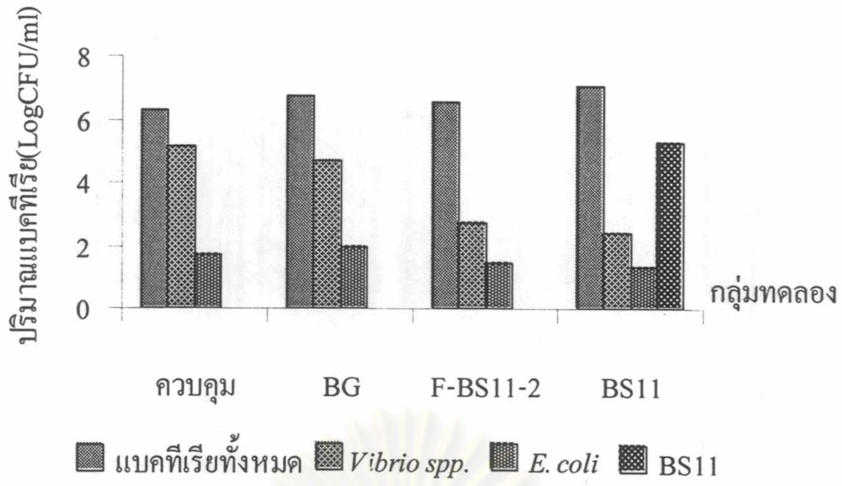
4.2.3.2 ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ กุ้ง และในน้ำหลังการชักนำให้เกิดโรค

หลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 การทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน และ 120 วัน เก็บตัวอย่างลำไส้จากกุ้งที่ตายในวันที่ 2 หลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* มาตรวจสอบ ปริมาณแบคทีเรียรวม *Vibrio* spp., *E. coli* และ BS11 จากกุ้งทุกกลุ่มทดลอง จากการตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียเมื่อกุ้งอายุ 90 วัน พบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียรวม ~6.51 Log CFU/ml ปริมาณ *Vibrio* spp. ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มBG มี ~5.32 Log CFU/ml กลุ่มF-BS11-2 และกลุ่มBS11 มี ~3.71 Log CFU/ml ไม่พบ *E. coli* ทุกกลุ่มการทดลอง และพบเชื้อ BS11 เฉพาะในกลุ่มBS11เท่านั้นซึ่งมีปริมาณเชื้อ 3.44 Log CFU/ml การตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังการชักนำโรคเมื่อกุ้งอายุ 120 วัน พบปริมาณแบคทีเรียรวมในกลุ่มควบคุม กลุ่มBG และกลุ่มF-BS11-2 ~6.53 Log CFU/ml กลุ่มBS11 มีปริมาณแบคทีเรียรวม 7.06 Log CFU/ml กลุ่มควบคุมมีปริมาณ *Vibrio* spp.5.15 Log CFU/ml และกลุ่มBG มีปริมาณ *Vibrio* spp.4.69 Log CFU/ml ซึ่งมากกว่ากลุ่มF-BS11-2 และกลุ่มBS11 ซึ่งมี *Vibrio* spp.2.71 และ 2.44 Log CFU/ml ตามลำดับ ในทุกกลุ่มการทดลองพบปริมาณ *E. coli* ใกล้เคียงกันคือ ~1.61 Log CFU/ml และสามารถตรวจพบเชื้อBS11 เฉพาะในกลุ่ม BS11เท่านั้นซึ่งมีปริมาณเชื้อ 5.28 Log CFU/ml ดังแสดงรูปที่23




รูปที่ 23 ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้กุ้งหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน (ก) และ 120 วัน (ข)

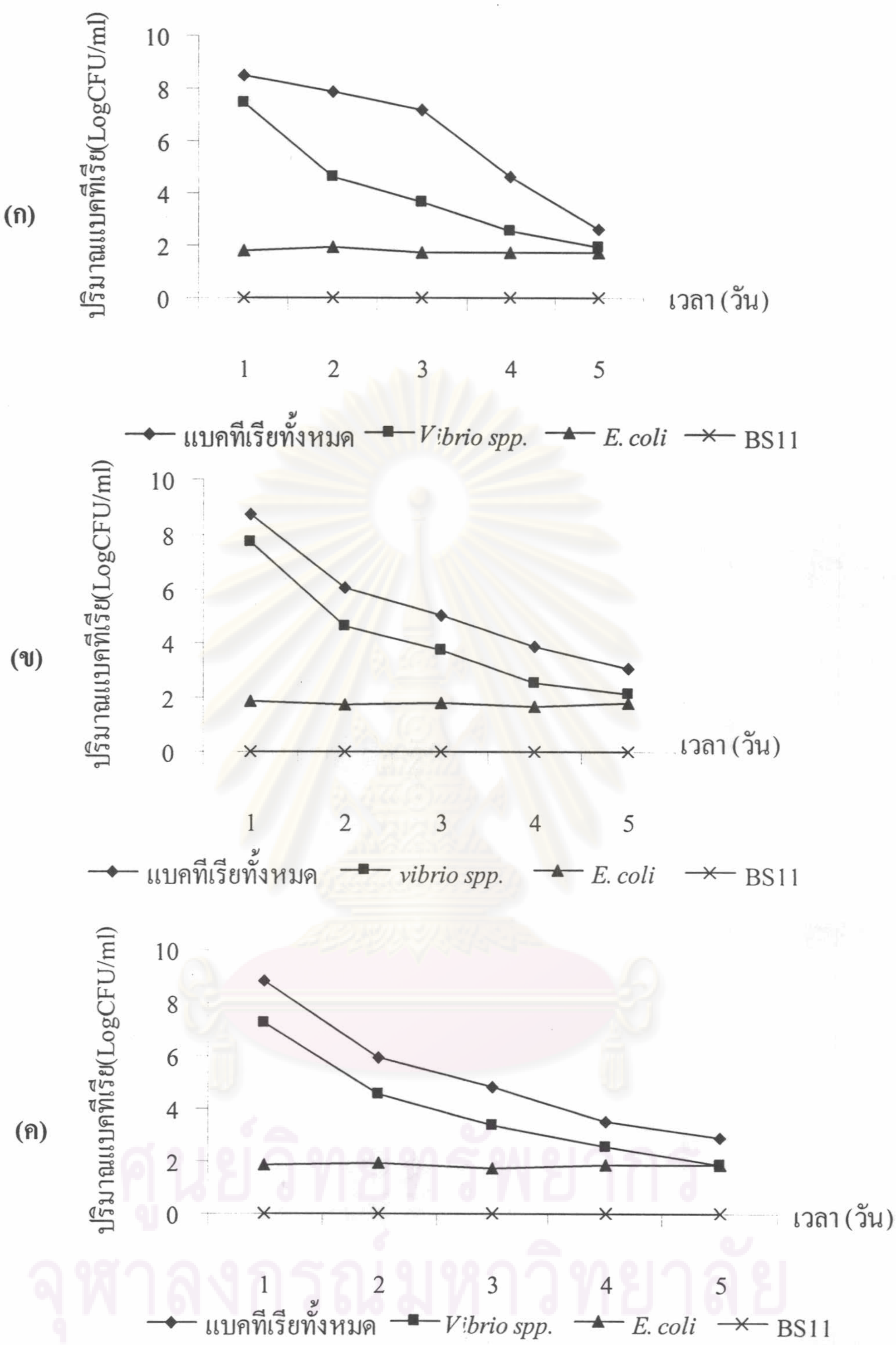
(ข)




รูปที่ 23 (ต่อ)ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้กุ้งหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน (ก) และ 120 วัน (ข)

จากการเก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน มาตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียรวม *Vibrio* spp., *E.coli* และ BS11 พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวมจากกุ้งกลุ่มควบคุม กลุ่มBG และ กลุ่มF-BS11-2 ในวันแรกหลังการชักนำให้เกิดโรคมีแบคทีเรียรวม ~8.68 Log CFU/ml และลดลงเหลือ ~2.87 Log CFU/ml ในวันที่ 5 หลังการชักนำให้เกิดโรค ขณะที่กลุ่มBS11 ในวันที่ 1 มีปริมาณแบคทีเรียรวม 12.74 Log CFU/ml และ ลดลงในวันที่ 5 เหลือ 4.71 Log CFU/ml ปริมาณ *Vibrio* spp. หลังการชักนำให้เกิดโรควันที่ 1 ทุกกลุ่มทดลอง ~7.49 Log CFU/ml และลดลงในวันที่ 5 เหลือประมาณ 1.8 Log CFU/ml ปริมาณ *E. coli* ในทุกกลุ่มการทดลองพบ ~1.79 Log CFU/ml ตลอดการทดลองชักนำให้เกิดโรค และตรวจพบเชื้อ BS11 เฉพาะในกลุ่มBS11 โดยมีปริมาณเชื้อในวันแรกหลังการชักนำให้เกิดโรค 3.53 Log CFU/ml และลดลงเหลือ 2.35 Log CFU/ml ในวันที่ 5 ดังแสดงรูปที่ 2

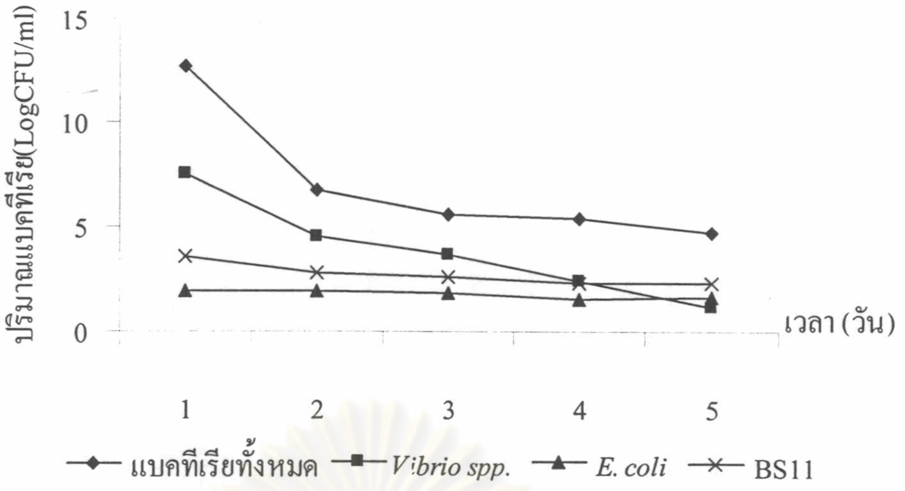
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 24 ปริมาณแบคทีเรียในน้ำหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน กลุ่มควบคุม (ก) กลุ่มBG (ข) กลุ่ม F-BS11-2 (ค) และ กลุ่มBS11 (ง)

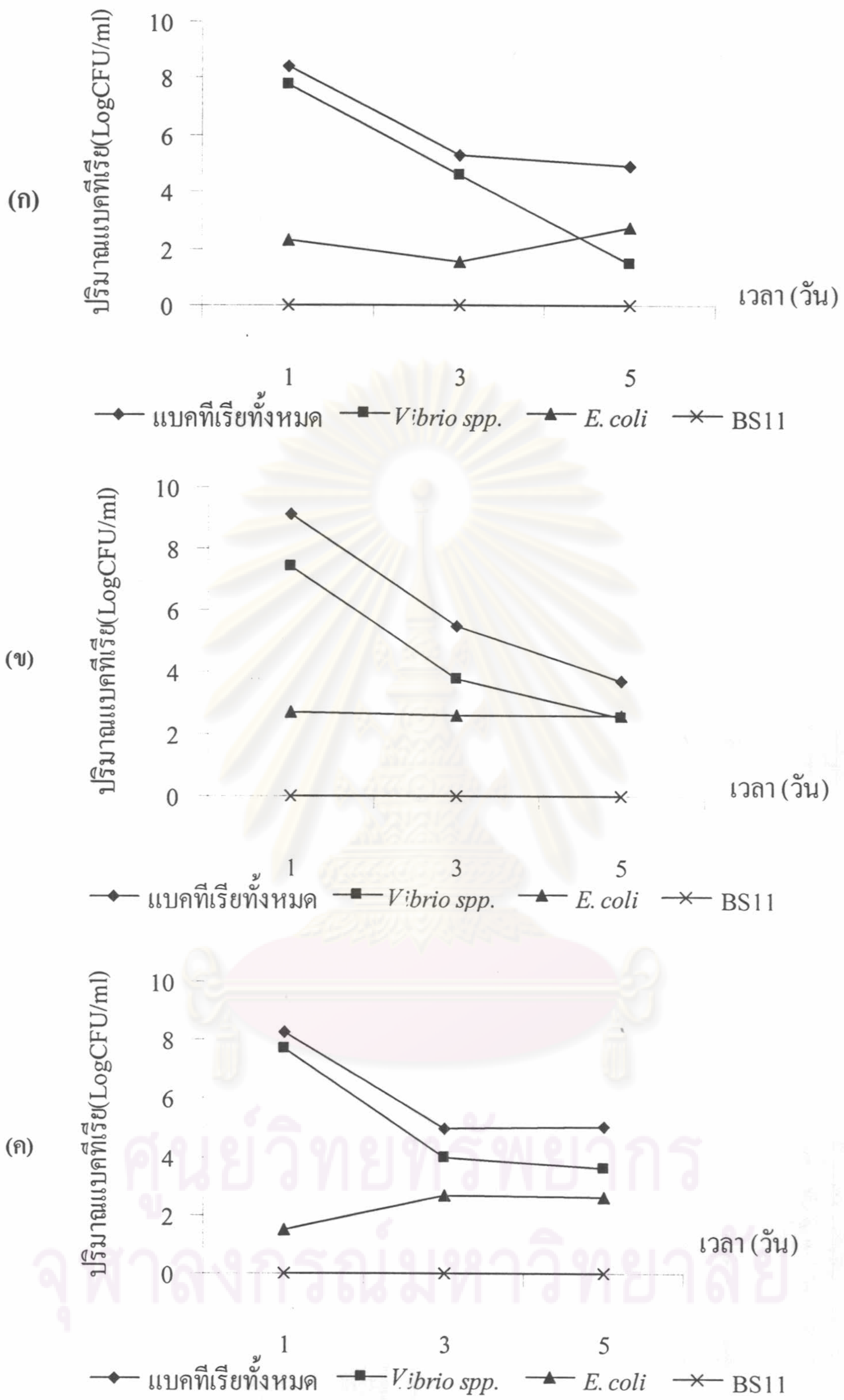
(ง)




รูปที่ 24 (ต่อ) ปริมาณแบคทีเรียในน้ำหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน กลุ่มควบคุม (ก) กลุ่มBG (ข) กลุ่ม F-BS11-2 (ค) และ กลุ่มBS11(ง)

หลังการชักนำให้เกิดโรคเมื่อกุ้งอายุ 120 วัน ปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำเลี้ยงกุ้งกลุ่มควบคุม กลุ่มBG และ กลุ่มF-BS11-2 พบว่าวันแรกหลังการชักนำให้เกิดโรคมีแบคทีเรียรวม ~8.53 Log CFU/ml และในวันที่ 5 ลดลงเหลือ ~4.55 Log CFU/ml ขณะที่ในวันที่ 1 กลุ่มBS11 มีปริมาณแบคทีเรียรวม 11.95 Log CFU/ml และในวันที่ 5 ลดลงเหลือ 6.36 Log CFU/ml ตรวจพบปริมาณ *Vibrio* spp.หลังการชักนำให้เกิดโรควันที่1 ทุกกลุ่มทดลองมีปริมาณ ~7.51 Log CFU/ml และในวันที่ 5 ลดลงเหลือ ~2.47 Log CFU/ml มีปริมาณ *E. coli* ~2.22 Log CFU/ml ในทุกกลุ่มการทดลองและตลอดระยะเวลาทำการทดลองชักนำให้เกิดโรค 5 วัน ตรวจพบเชื้อBS11 เฉพาะในกลุ่มBS11 โดยมีปริมาณ ~3.44 Log CFU/ml ตลอดช่วงการชักนำให้เกิดโรค ดังแสดงรูปที่ 25

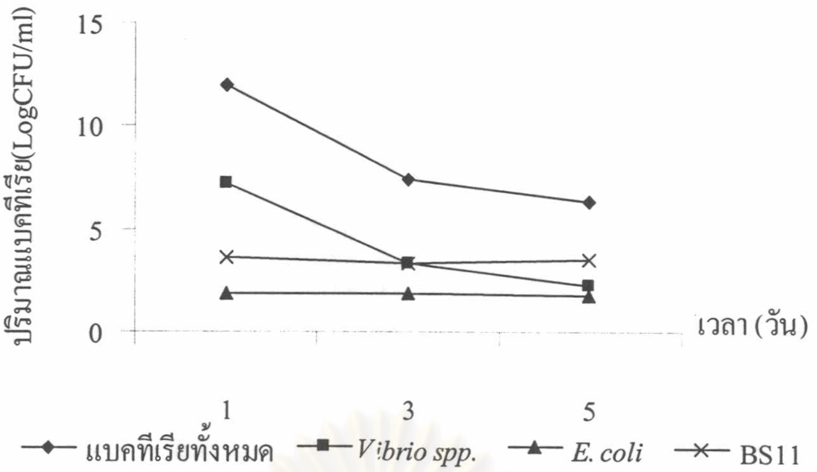
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 25 ปริมาณแบคทีเรียในน้ำหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ความเข้มข้น $10^7$ CFU/ml จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 120 วัน กลุ่มควบคุม (ก) กลุ่มBG (ข) กลุ่ม F-BS11-2 (ค) และ กลุ่มBS11 (ง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

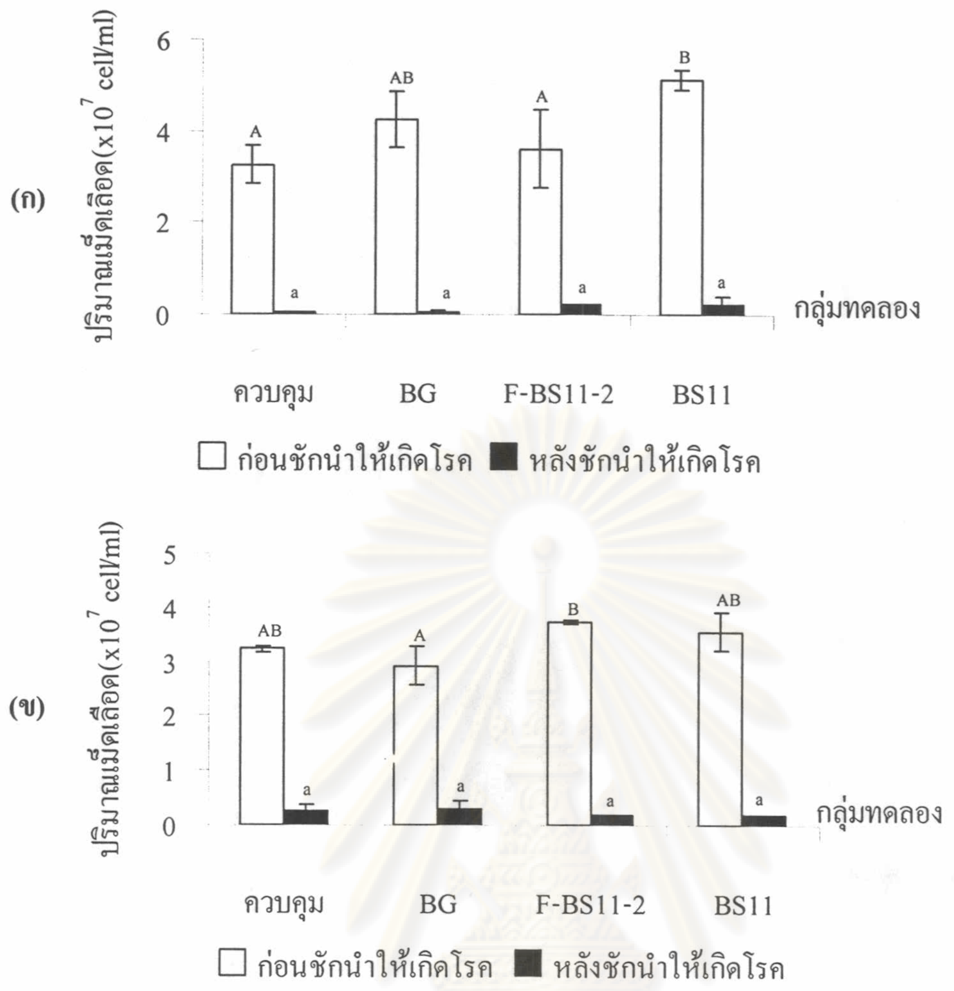
(ง)




รูปที่ 25 (ต่อ) ปริมาณแบคทีเรียในน้ำหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ความเข้มข้น $10^7$ CFU/ml จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 120 วัน กลุ่มควบคุม (ก) กลุ่มBG (ข) กลุ่ม F-BS11-2 (ค) และ กลุ่มBS11 (ง)

4.2.3.2 ความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์

จากการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์ โดยเปรียบเทียบจากปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งแต่ละกลุ่มทดลอง หลังการเลี้ยงกุ้งอายุ 90 และ 120 วัน และหลังจากการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 เป็นเวลา 2 วัน เมื่อกุ้งอายุ 90 และ 120 วัน จากการทดลองเมื่อกุ้งอายุ 90 วัน ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งในกลุ่มBS11 มีมากที่สุดคือ 5.12 x $10^7$ cell/ml ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมซึ่งมีเม็ดเลือดรวมน้อยที่สุดคือ 3.26 x $10^7$ cell/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และหลังการชักนำให้เกิดโรค ปริมาณเม็ดเลือดรวมของทุกกลุ่มการทดลองลดลงเหลือ ~1.38 x $10^6$ cell/ml และ เมื่อกุ้งอายุ 120 วัน ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งในกลุ่มควบคุม กลุ่มF-BS11-2 และกลุ่มBS11 มีปริมาณเม็ดเลือดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีเม็ดเลือดรวม ~3.51x $10^7$ cell/ml หลังการชักนำให้เกิดโรคปริมาณเม็ดเลือดรวมในทุกกลุ่มทดลองลดลงเหลือ ~2.30 x $10^6$ cell/ml ดังแสดงรูปที่ 26




หมายเหตุ: ├──┤ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มประชากร (SD)

a, b, c, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A, B, C, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

รูปที่ 26 แสดงปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้ง ก่อนและหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90วัน (ก) และ 120วัน (ข)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

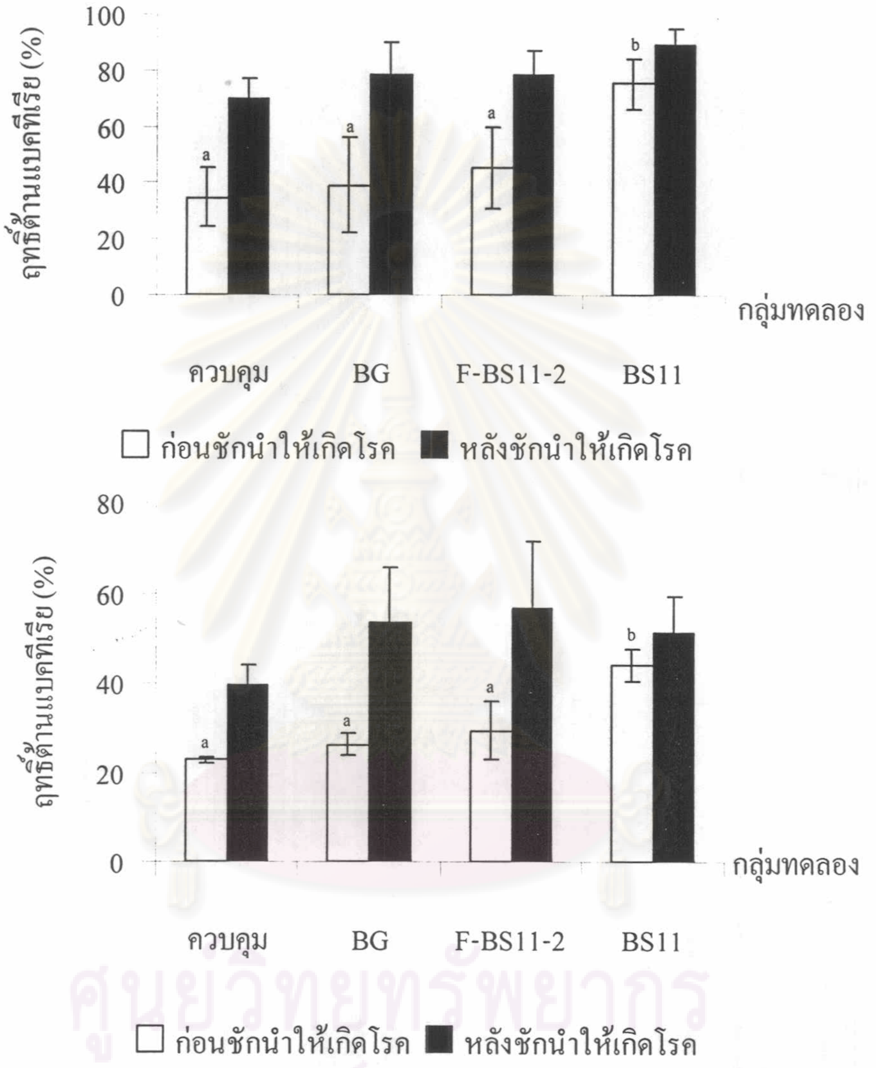
4.2.3.3 ความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยสารน้ำ

จากการทดลองเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยสารน้ำ โดยเปรียบเทียบจากความสามารถในการต้านทานเชื้อก่อโรค จากการสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดกุ้งก่อนและหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 เมื่อกุ้งอายุ 90 และ120 วัน ก่อนการชักนำให้เกิดโรค พบว่ากุ้งกลุ่มBS11 สร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดมากที่สุด คือ 75.31 และ43.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยแตกต่างจากกลุ่มควบคุม กลุ่มBG และ

กลุ่มF-BS11-2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดกุ้งประมาณ 39.78 และ26.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และหลังการชักนำให้เกิดโรคพบว่า กุ้งที่อายุ 90 และ120วัน ในทุกกลุ่มการทดลองสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดมากขึ้นและไม่แตกต่างกัน โดยสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดกุ้งประมาณ 79.05 และ50.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงรูปที่ 27

(ก)

(ข)



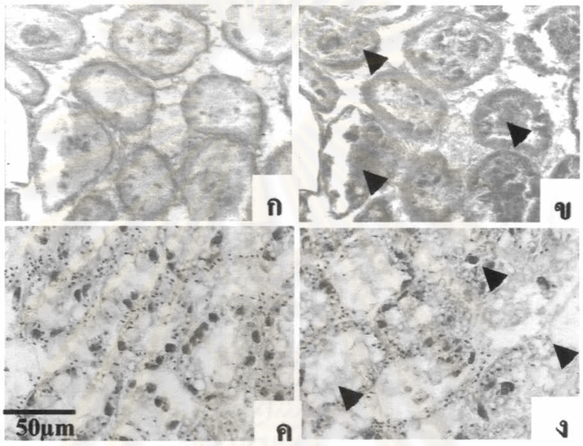

หมายเหตุ: ├──┤ ค่าความแปรปรวนของกลุ่มประชากร (SD)

a, b, c, อักษรต่างกันแสดงค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p < 0.05$)

รูปที่ 27 ความสามารถในการต้านทานเชื้อก่อโรค จากการสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดกุ้งก่อนและหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ในการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90วัน (ก) และ 120วัน (ข)

### 4.3 การตรวจพยาธิสภาพต่อการเกิดโรค หลังชักนำให้เกิดโรค ด้วย Immunohistochemistry

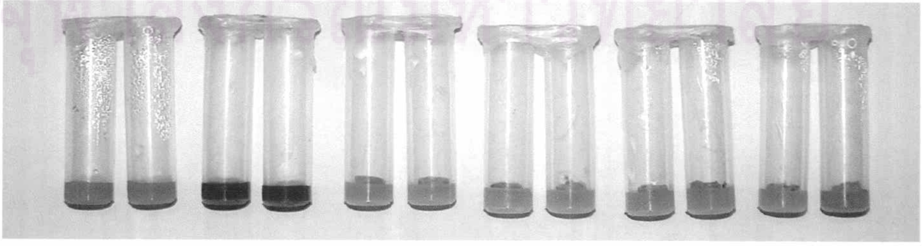
หลังจากทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อการเกิดโรคของกุ้งทุกกลุ่มทดลอง จากการทดลองทั้ง 3 ครั้ง จากการศึกษาพยาธิสภาพของการเกิดโรคจาก *Vibrio harveyi* ภายนอกสังเกตพบการเรืองแสงของกุ้งบริเวณหัวหลังการชักนำให้เกิดโรคในระยะที่กุ้งยังมีชีวิตอยู่ ตรวจสอบพยาธิสภาพต่อการเกิดโรคของกุ้งโดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี VH3-3H ที่มีความ จำเพาะต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* 639 จากการตรวจสอบพบการติดเชื้อทั้งบริเวณตับ อวัยวะสร้างเม็ดเลือด และหัวใจ ซึ่งสังเกตได้จากเนื้อเยื่อหลังผ่านการทดสอบมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาลภายในเนื้อเยื่อ ซึ่งพบทุกกลุ่มการทดลองที่ชักนำให้เกิดโรค ดังแสดงรูปที่ 28




รูปที่ 28 พยาธิสภาพต่อการเกิดโรคจากการติดเชื้อ *Vibrio harveyi* 639 บริเวณตับโดยสังเกตจากตำแหน่งลูกศรชี้เป็นบริเวณที่เกิดการติดเชื้อ(ข, ง) เปรียบ เทียบกับเนื้อเยื่อตำแหน่งเดียวกัน(ก, ค)(ภาพ ก, ข ย้อมด้วยสีอิโอซิน และภาพ ค, ง ย้อมด้วยสี ฮีมาทอกไซลีน)

### 4.4 การตรวจหาสารปฏิชีวนะเบื้องต้นในเนื้อกุ้งกุลาดำโดยชุดตรวจสอบ CM-Test

จากการตรวจหาสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อเยื่อกุ้งในการทดลองครั้งที่ 3 โดยใช้ชุดตรวจสอบสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อสัตว์ (CM-Test) จากการตรวจสอบไม่พบสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้งทุกกลุ่มทดลอง ดังแสดงรูปที่ 29



**N-Control P-Control Control BG BS11 F-BS11-2**

รูปที่ 29 ผลการตรวจหาสารปฏิชีวนะในเนื้อเยื่อกุ้ง จากการทดลองครั้งที่ 3