

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง.....	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
การตรวจเอกสาร.....	4
อุปกรณ์และวิธีการ	38
ผลการทดลอง.....	51
วิจารณ์ผลการทดลอง	103
สรุปผลการทดลอง	112
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	115

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาที/มก. โปรตีน) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	52
2	ปริมาณ superoxide anion (หน่วย) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	53
3	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	54
4	ปริมาณแบคทีเรีย <i>Vibrio harveyi</i> (CFU/มิลลิลิตร) ในเลือดกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน หลังจากฉีดเชื้อ <i>V. harveyi</i> เข้าไปในระบบเลือดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง	55
5	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาที/มก. โปรตีน) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนปริมาณ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และให้กินอาหารผสมสารเบต้ากลูแคนปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	57
6	ปริมาณการผลิต superoxide anion (หน่วย) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนปริมาณ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และให้กินอาหารผสมสารเบต้ากลูแคนปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	59
7	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนปริมาณ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และให้กินอาหารผสมสารเบต้ากลูแคนความเข้มข้นเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	61
8	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาที/มก. โปรตีน) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	63
9	ปริมาณการผลิต superoxide anion (หน่วย) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	64

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
10	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคน ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	65
11	ปริมาณ <i>Vibrio harveyi</i> (CFU/มิลลิลิตร) ในเลือดกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน หลังจากฉีดเชื้อ <i>V. harveyi</i> เข้าไปในระบบเลือดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง	66
12	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาทีก. โปรตีน) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนปริมาณ 0.18 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วันต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนในปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	68
13	ปริมาณการผลิต superoxide anion ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนปริมาณ 0.18 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน, 3 วัน, 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนในปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	70
14	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคน ปริมาณ 0.18 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนในปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	72
15	ผลการนับจำนวนแบคทีเรียในลำไส้กุ้งกุลาดำก่อนและหลังทำการ heat shock	74
16	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 3 ชนิดที่แยกได้จากลำไส้ กุ้งกุลาดำ โดยเครื่อง VITEK 32	75
17	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 3 ชนิดที่แยกได้จากลำไส้ กุ้งกุลาดำ โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป API50CHB	76
18	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 3 ชนิดที่แยกได้จากลำไส้ กุ้งกุลาดำ โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป API20E	78

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
19	ผลการทดสอบคุณสมบัติบางประการของแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 3 ชนิด ที่แยกได้จากลำไส้กุ้งกุลาดำ เปรียบเทียบกับคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ <i>Bacillus</i>	79
20	ปริมาณของเชื้อ <i>Bacillus</i> WP1, <i>Bacillus</i> WP2, <i>Bacillus</i> WP3 และ <i>Vibrio harveyi</i> เมื่อเลี้ยงเดี่ยว และเลี้ยงเชื้อ <i>Bacillus</i> แต่ละชนิดร่วมกับ <i>V. harveyi</i> (CFU/มิลลิลิตร)	82
21	เปอร์เซ็นต์ของเชื้อ <i>Bacillus</i> WP1, <i>Bacillus</i> WP2, <i>Bacillus</i> WP3 ที่ลดลง เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Bacillus</i> แต่ละชนิดร่วมกับ <i>Vibrio harveyi</i> เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	82
22	เปอร์เซ็นต์ของเชื้อ <i>Vibrio harveyi</i> ที่ลดลง เมื่อเลี้ยงร่วมกับ <i>Bacillus</i> WP1, <i>Bacillus</i> WP2 และ <i>Bacillus</i> WP3 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม	83
23	จำนวนเซลล์ของแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> ทั้งเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม 7 ชนิดเฉลี่ย (CFU/กรัม) หลังจากผสมกับ clay เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 6 และ 12 เดือน	86
24	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> ทั้ง 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	88
25	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> ทั้ง 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	90
26	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาที่/มก. โปรตีน) เฉลี่ยของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	91
27	ปริมาณ superoxide anion เฉลี่ย (หน่วย) ของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	93
28	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	94
29	ปริมาณแบคทีเรีย <i>Vibrio harveyi</i> (CFU/มิลลิลิตร) ในเลือดกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน หลังจากฉีดเชื้อ <i>V. harveyi</i> เข้าไปในระบบเลือดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง	95

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
30	จำนวนแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> เฉลี่ย (CFU/กรัม) ในลำไส้กึ่งกลาดำก่อน heat shock, หลัง heat shock และเปอร์เซ็นต์ของ <i>Bacillus</i> ที่อยู่ในรูปสปอร์ ในลำไส้หลังจากได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	97
31	จำนวนแบคทีเรียสกุล <i>Vibrio</i> เฉลี่ย (CFU/กรัม) ในลำไส้กึ่งกลาดำหลังจากได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	99
32	ผลของการใช้อาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เลี้ยงกึ่งกลาดำเป็นระยะเวลา 1 เดือนต่อองค์ประกอบทางระบบภูมิคุ้มกันต่าง ๆ	114

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาที/มก. โปรตีน) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	52
2	ปริมาณ superoxide anion (หน่วย) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	53
3	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	54
4	ปริมาณแบคทีเรีย <i>Vibrio harveyi</i> (CFU/มิลลิลิตร) ในเลือดกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน หลังจากฉีดเชื้อ <i>V. harveyi</i> เข้าไปในระบบเลือดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง	56
5	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาที/มก. โปรตีน) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนปริมาณ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และให้กินอาหารผสมสารเบต้ากลูแคนปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	58
6	ปริมาณการผลิต superoxide anion (หน่วย) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนปริมาณ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์และให้กินอาหารผสมสารเบต้ากลูแคนปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	60
7	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเบต้ากลูแคนปริมาณ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และให้กินอาหารผสมสารเบต้ากลูแคนความเข้มข้นเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	62
8	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาที/มก. โปรตีน) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	63
9	ปริมาณการผลิต superoxide anion (หน่วย) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
10	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคน ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน	66
11	ปริมาณ <i>Vibrio harveyi</i> (CFU/มิลลิลิตร) ในเลือดกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสม เปปติโดกลัยแคนความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน หลังจากฉีดเชื้อ <i>V. harveyi</i> เข้าไปในระบบเลือดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง	67
12	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาทีก. โปรตีน) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับ อาหารผสมเปปติโดกลัยแคน ปริมาณ 0.18 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลา ต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	69
13	ปริมาณการผลิต superoxide anion ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสม เปปติโดกลัยแคนปริมาณ 0.18 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนในปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	71
14	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดกลัยแคนปริมาณ 0.18 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 0 วัน 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน ต่อสัปดาห์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ อาหารปกติ 4 สัปดาห์ และอาหารผสม เปปติโดกลัยแคนในปริมาณเท่าเดิมอีก 2 สัปดาห์	73
15	เชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ทั้ง 3 ชนิด	80
16	ปริมาณเชื้อ <i>Bacillus</i> WP1 และ <i>Vibrio harveyi</i> (CFU/มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง	83
17	ปริมาณเชื้อ <i>Bacillus</i> WP2 และ <i>Vibrio harveyi</i> (CFU/มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง	84
18	ปริมาณเชื้อ <i>Bacillus</i> WP3 และ <i>Vibrio harveyi</i> (CFU/ml) ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง	84

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
19	ภาพจากกล้อง Transmission Electron Microscope แสดงลักษณะเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Vibrio harveyi</i> ที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> ทั้ง 3 ชนิด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	85
20	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์แบคทีเรีย (CFU/กรัม) ของแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> แต่ละชนิด หลังจากผสมกับ clay เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 6 และ 12 เดือน	87
21	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> ทั้ง 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	89
22	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของความยาวที่เพิ่มขึ้นของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> ทั้ง 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	90
23	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase (หน่วย/นาทิมิลลิกรัม โปรตีน) ของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	92
24	ปริมาณ superoxide anion เฉลี่ย (หน่วย) ของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	93
25	ค่า bactericidal activity ของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	94
26	ปริมาณแบคทีเรีย <i>Vibrio harveyi</i> (CFU/มิลลิลิตร) ในเลือดกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน หลังจากฉีดเชื้อ <i>V. harveyi</i> เข้าไปในระบบเลือดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง	96
27	จำนวนแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> เฉลี่ย (CFU/กรัม) ในลำไส้กุ้งกุลาดำหลังจากได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	98
28	เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> ซึ่งอยู่ในรูปของสปอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> ทั้งหมดในลำไส้กุ้งกุลาดำหลังจากได้รับอาหาร 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	98
29	จำนวนแบคทีเรียสกุล <i>Vibrio</i> เฉลี่ย (CFU/กรัม) ในลำไส้กุ้งกุลาดำหลังจากได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i> 7 ชนิด เป็นระยะเวลา 1 เดือน	100

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
30	ภาพจากกล้อง Scanning Electron Microscope แสดงแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้กุ้ง ที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียสกุล <i>Bacillus</i>	100
31	ปริมาณเชื้อ <i>Bacillus</i> WP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ก่อนและหลัง heat shock	101
32	ปริมาณเชื้อ <i>Bacillus</i> WP2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ก่อนและหลัง heat shock	101
33	ปริมาณเชื้อ <i>Bacillus</i> WP3 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ก่อนและหลัง heat shock	102