บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

ผลของ *Bacillus* S11 ต่อการเจริญและการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ

Bacillus S11 เป็นแบคทีเรียที่ได้ทดสอบว่ามีสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่ดี ถูกคัดแยกจากลำไส้กุ้งกุลาดำสุขภาพดีจากอ่าวไทย โดยวรรณิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) เมื่อทำการทดลองในระดับขยายส่วนเพื่อเลี้ยงกุ้งในระดับในบ่อดิน การเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 1 ใช้กุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 24 จากจังหวัดฉะเชิงเทรา โดยใช้ระบบปิด (closed system) แบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุม (control) ให้อาหารกุ้งกุลาดำสำเร็จรูปไม่ผสมเซลล์สด *Bacillus* S11 และกลุ่มโพรไบโอติก (probiotic) ให้อาหารกุ้งกุลาดำสำเร็จรูปผสมเซลล์สด *Bacillus* S11 หนึ่งมื้อทุกวัน พบว่าน้ำหนักตัวของกุ้งกุลาดำกลุ่มโพรไบโอติกมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่วันที่ 15 ของการเลี้ยง (รูปที่ 1) สอดคล้องกับการทดลองของ Rengpipat (1998a) ที่รายงานว่าเมื่อใช้โพรไบโอติก *Bacillus* S11 ผสมอาหารแล้วนำไปเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 30 ในระดับห้องทดลอง พบว่ากุ้งมีน้ำหนักและการรอดชีวิตมากกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในวันที่ 60 ของการเลี้ยง กุ้งในบ่อควบคุมเริ่มทยอยตายด้วยโรคตัวแดงดวงขาวที่เกิดจากไวรัสที่กำลังมีการแพร่ระบาดอย่างหนักในปัจจุบัน โดยเป็นสาเหตุทำให้กุ้งตายปริมาณมากจนถึงหมดบ่อในระยะเวลาอันสั้น (Spaargaren, 1996; Lightner และ Redman, 1998; Rajan และคณะ, 2000) ส่วนกุ้งในกลุ่มโพรไบโอติกพบการตายด้วยโรคตัวแดงดวงขาวในวันที่ 70 ของการเลี้ยงเช่นกันและทยอยตายเป็นระยะๆจนหมดบ่อภายในวันที่ 75 ของการเลี้ยง ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า การเสริม *Bacillus* S11 ให้แก่กุ้งกุลาดำจะทำให้กุ้งมีความแข็งแรงและต้านทานต่อโรคได้ดีกว่า โดยมีผลทำให้กุ้งมีภูมิต้านทานที่สูงขึ้น (Rengpipat และคณะ, 2000) และเนื่องจากการทดลองในครั้งนี้ กุ้งในทั้ง 2 กลุ่มการทดลองตายหมดจึงทำให้ไม่สามารถทราบการรอดชีวิตของกุ้งในการทดลองครั้งนี้ได้ แต่พบว่าโพรไบโอติก *Bacillus* S11 ให้ผลการทดลองเบื้องต้นในเชิงบวกต่อน้ำหนักตัวของกุ้งและความต้านทานต่อโรคได้นานกว่า

การเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 2 ใช้กุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 25 จากจังหวัดฉะเชิงเทรา โดยใช้บ่อดินเดียวกับการเลี้ยงกุ้งครั้งแรกและให้อาหารกุ้งผสมโพรไบโอติกทั้ง 2 บ่อวันละ 1 มื้อเท่ากัน พบว่ากุ้งกุลาดำในบ่อโพรไบโอติกบ่อที่ 2 ซึ่งเป็นบ่อโพรไบโอติกเดิมของการเลี้ยงครั้งแรกมีน้ำหนักและความยาวมากกว่ากลุ่มโพรไบโอติกในบ่อที่ 1 อย่างไม่มีนัยสำคัญ (รูปที่ 5) ซึ่งเป็นไปได้ว่าอาจเกิด

จากระบบนิเวศน์ที่ต่างกันในแต่ละบ่อทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตที่ต่างกัน (Ritvo และคณะ, 1998) ผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลองของ Moriarty (1998) ที่ใช้ *Bacillus* spp. ในการเลี้ยงกุ้งพีเนียดโดยหลังจากการเลี้ยงพบว่าในกลุ่มทดลองเดียวกันแต่ละบ่อจะให้ผลผลิตและการรอดที่ต่างกัน ภายหลังจากการเลี้ยงครบ 100 วัน พบว่ากุ้งทั้ง 2 กลุ่มการทดลองมีการรอดเพียง 8% เท่านั้น ทั้งนี้สืบเนื่องมาจากกุ้งที่นำมาเลี้ยงนั้นมีการตายสูงตั้งแต่ระยะแรกก่อนนำมาเลี้ยงจึงทำให้ปริมาณของกุ้งที่เลี้ยงรอดอยู่ในเกณฑ์ที่ต่ำ (Rothlisberg, 1998)

การเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 3 โดยใช้กุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 24 จากจังหวัดชลบุรี ใช้บ่อดินเดียวกันกับการทดลองเลี้ยงกุ้งครั้งแรก และแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มโพรไบโอติกและให้อาหารเหมือนกับการทดลองเลี้ยงกุ้งครั้งแรก ผลการทดลองพบว่า ทั้งความยาวและน้ำหนักของกุ้งกุลาดำกลุ่มโพรไบโอติกมีค่ามากกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P<0.05$ ตั้งแต่วันที่ 20 ของการเลี้ยง (รูปที่ 12) ซึ่งสอดคล้องกับการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 1 ในวันที่ 50 ของการเลี้ยงพบว่ากุ้งในบ่อโพรไบโอติกมีอาการของโรคตัวแดงดวงขาวปรากฏและเริ่มทยอยตายเป็นจำนวนมากและได้ทำการจับกุ้งทั้งหมดขึ้น จึงมีผลการทดลองเพียง 40 วันของการเพาะเลี้ยงเท่านั้นสำหรับกุ้งกลุ่มโพรไบโอติก ส่วนกลุ่มควบคุมพบว่ากุ้งเริ่มป่วยในวันที่ 50 ของการเลี้ยงเช่นกัน แต่มิได้เกิดจากโรคตัวแดงดวงขาวและได้ทยอยตายไปบางส่วนจึงทำการเก็บตัวที่ตายออกและทำลายเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของโรคไปยังบ่อข้างเคียง ส่วนที่เหลือทำการเลี้ยงต่อจนครบ 100 วัน สำหรับสาเหตุการตายด้วยโรคตัวแดงดวงขาวของกุ้งในบ่อโพรไบโอติกนั้นทราบภายหลังจากโรงเพาะเลี้ยงว่ากุ้งที่นำมาเลี้ยงในทั้ง 2 กลุ่มการทดลองนั้นมาจากแม่พันธุ์ต่างตัวกันและไข่มีขนาดที่แตกต่างกันตั้งแต่ระยะแรกของการฟักตัวและลูกกุ้งชุดเดียวกันนี้ได้มีเกษตรกรรายอื่นนำไปเลี้ยงเช่นเดียวกันและได้ประสบปัญหาโรคตัวแดงดวงขาวตั้งแต่ 2 สัปดาห์แรกของการเลี้ยง ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าการเสริมโพรไบโอติกไม่สามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคได้แต่จะช่วยยืดระยะเวลาการแสดงอาการของโรค (Gildberg และ Mikkelsen, 1998) ซึ่งควรมีการศึกษากันอย่างละเอียดในระดับ *in vivo* ต่อไป และอาจเป็นผลดีหากมีการนำโพรไบโอติกมาเป็นตัวช่วยเพื่อเสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่ไข่และตัวอ่อนของสัตว์น้ำ โดยให้มีการสัมผัสกับโพรไบโอติกเพื่อการเจริญอย่างมีประสิทธิผลของโพรไบโอติกในลำไส้ เนื่องจากสิ่งแวดล้อมหรือน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงจะมีอิทธิพลต่อชนิดของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Skjermo และ Vadstein, 1999; Cahill, 1990) ทำให้เป็นการลดปัญหาการก่อโรคของจุลินทรีย์ฉวยโอกาสที่ปะปนมาในน้ำเลี้ยง ดังนั้นหากโรงเพาะฟักมีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงลูกกุ้งก็จะทำให้เกษตรกรได้ลูกกุ้งที่มีสุขภาพดีและแข็งแรงไปใช้ในการเพาะเลี้ยง หรือนำโพรไบโอติกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงลูกกุ้งและใช้อย่างต่อเนื่องจนถึงขั้นสิ้น

สุดการเลี้ยงเพื่อจับขาย เพื่อประโยชน์ในด้านการเพิ่มผลผลิตและยังเป็นการลดปัญหาความสูญเสียทางเศรษฐกิจได้อีกแนวทางหนึ่ง

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งที่ 4 ใช้กุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 25 จากจังหวัดชลบุรีในกระชังในบ่อดินเดียวกัน (ภาคผนวก ฉ) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่มเหมือนเช่นเดิม คือกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติก พบว่าน้ำหนักและความยาวของกุ้งกุลาดำกลุ่มโพรไบโอติกมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P<0.05$ ตั้งแต่วันที่ 20 ของการเลี้ยง (รูปที่ 16) และได้ทำการทดลองเลี้ยงในกระชังซ้ำในการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 5 โดยใช้กุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 จากจังหวัดชลบุรีและพบว่าให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกันคือ ความยาวและน้ำหนักของกุ้งกลุ่มควบคุมมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุม โดยเฉพาะน้ำหนักแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ส่วนการรอดชีวิตของกุ้งหลังจากทำการเลี้ยงครบ 100 วัน พบว่าในการเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 4 และ 5 กุ้งกลุ่มโพรไบโอติกมีการรอดชีวิต 76.6 และ 80.8% ตามลำดับ สูงกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมที่มีการรอดชีวิต 65.0 และ 62.5% ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (รูปที่ 17 และ 25) จากการทดลองทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกให้ผลดีในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ

ก่อนเริ่มเลี้ยงกุ้งได้ทำการตรวจสอบแบคทีเรียทั้งหมดในอาหารกุ้งกุลาดำพบว่ามีจำนวนแบคทีเรีย $1.5x10^2$ CFU/g โดยตรวจไม่พบโพรไบโอติก *Bacillus* S11 และ *Vibrio* spp. ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของโรคในกุ้ง ส่วนในอาหารกุ้งกุลาดำที่ผสม *Bacillus* S11 สามารถตรวจพบ *Bacillus* S11 ในปริมาณ $9.8x10^9$ CFU/g และลดลงไม่ถึง 1 log cycle ภายใน 21 วัน (อาหารใช้หมดภายใน 7 วัน) และตรวจไม่พบว่ามีการสร้างสปอร์ในเซลล์ *Bacillus* S11 เกิดขึ้นตลอดระยะเวลา 1 เดือนที่ทำการเก็บรักษา ทำให้เชื่อมั่นได้ว่า *Bacillus* S11 ที่กุ้งได้รับในแต่ละครั้งนั้นมีปริมาณที่ใกล้เคียงกันและอยู่ในรูปของเซลล์ที่มีชีวิตที่พร้อมจะทำงานเมื่อนำไปใช้ในการเลี้ยงกุ้ง ซึ่งการให้โพรไบโอติก *Bacillus* S11 ในปริมาณมากและต่อเนื่องจะส่งผลให้โพรไบโอติกทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Gournier-Chateau และคณะ 1994 อ้างถึงโดย Gatesoupe, 1999)

ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งทั้ง 5 ครั้ง พบว่าในน้ำเลี้ยงกุ้งตรวจพบปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง $1.23x10^3$-$1.03x10^5$ CFU/ml และพบปริมาณ *Vibrio* spp. 1.0-$2.25x10^3$ CFU/ml (รูปที่ 2, 6, 13, 18 และ 26) ในดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งตรวจพบปริมาณแบคทีเรีย $3.0x10^4$-$7.87x10^7$ CFU/g และ *Vibrio* spp. $7.5x10^1$-$1.83x10^5$ CFU/g (รูปที่ 3, 7, 14, 19 และ 27) ส่วนในลำไส้กุ้งพบปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง $5.6x10^5$-$2.52x10^9$ CFU/g และ *Vibrio* spp. $1.05x10^3$-$3.32x10^7$

CFU/g (รูปที่ 4, 8, 15, 20 และ 28) สอดคล้องกับ Lavilla-Pitogo, Leano และ Paner (1998) ที่รายงานว่ามีจุลินทรีย์ในน้ำอยู่ในช่วง 10^2-10^4 CFU/ml และ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง 10^1-10^3 CFU/ml ส่วนดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้งพบปริมาณแบคทีเรีย $4.3x10^4$-$3.7x10^5$ CFU/g และ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $5.0x10^2$-$9.5x10^3$ CFU/g นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ Rengpipat (2000) ที่ตรวจพบว่าแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงกุ้งมีปริมาณ $1.6x10^4$-$2.5x10^5$ CFU/ml และพบ *Vibrio* spp. อยู่ในช่วง $1.0x10^2$-$1.39x10^4$ CFU/ml ส่วนในลำไส้กุ้งแบคทีเรียที่ตรวจพบมีปริมาณ $3.3x10^6$-$1.7x10^8$ CFU/g และมี *Vibrio* spp. $4.6x10^5$-$1.6x10^8$ CFU/g และรายงานของ วรรณิภา เพี้ยนภักตร์ (2539) ที่ตรวจพบว่า ในลำไส้กุ้งกุลาดำมีแบคทีเรียในปริมาณ $1.2x10^6$-$3.4x10^7$ CFU/g

จากการทดลองสามารถตรวจพบโพรไบโอติก *Bacillus* S11 ได้ทั้งในน้ำเลี้ยงและดินตะกอนจากบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยพบในปริมาณ $3.16x10^2$-$7.7x10^3$ CFU/ml และ $1.4x10^4$-$3.25x10^6$ CFU/g ตามลำดับ สอดคล้องกับ Rengpipat (2000) ที่รายงานว่าสามารถตรวจพบ *Bacillus* S11 ในน้ำเลี้ยงของกุ้งกลุ่มที่ให้อาหารผสม *Bacillus* S11 ได้ในปริมาณ $7.5x10^2$-$9.2x10^4$ CFU/ml โดย *Bacillus* S11ที่ตรวจพบนี้สามารถพบทั้งในรูปของเซลล์มีที่ชีวิตและในรูปของสปอร์ แต่ส่วนใหญ่จะพบในรูปของเซลล์ที่มีชีวิต แสดงว่าโพรไบโอติก *Bacillus* S11 สามารถดำรงชีวิตและอาศัยอยู่รอดในสภาพแวดล้อมในบ่อเลี้ยงกุ้งได้ทั้งในน้ำและในดินตะกอน นอกจากนี้ยังได้ทำการตรวจสอบดินแห้งจากบ่อโพรไบโอติกหลังจากทำการเลี้ยงกุ้งและทำการตากบ่อทิ้งไว้เพื่อรอการเลี้ยงกุ้งในครั้งต่อไป พบว่าสามารถตรวจพบ *Bacillus* S11 ในรูปของสปอร์ในปริมาณ $1.05x10^2$-$2.3x10^3$ CFU/g แสดงว่า *Bacillus* S11 สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยการสร้างสปอร์ซึ่งถือเป็นรูปแบบหนึ่งของกลไกการรอดชีวิต (Roszak และ Colwell, 1987; Nicholson และคณะ, 2000) สอดคล้องกับการศึกษาของ Lavilla-Pitogo และคณะ (1998) ที่รายงานว่าดินแห้งจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะพบปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง $5.3x10^2$-$7.0x10^3$ CFU/g โดยแบคทีเรียที่พบจะเป็นพวกที่สร้างสปอร์ซึ่งสามารถทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่มีความชื้นได้ ดังนั้นเมื่อทำการเลี้ยงกุ้งในบ่อเดิมที่เคยมีการใช้โพรไบโอติก *Bacillus* S11 ในการเลี้ยง จึงสามารถตรวจพบ *Bacillus* S11 ได้ทั้งในน้ำเลี้ยงกุ้งและในดินตะกอนได้ ณ เวลาเริ่มต้นการเลี้ยงครั้งใหม่ทั้งในบ่อควบคุมและบ่อโพรไบโอติก (รูปที่ 13 และ 14) แต่ในกลุ่มควบคุมจะพบในปริมาณน้อยตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งครั้งใหม่เนื่องจากไม่ได้ทำการเสริม *Bacillus* S11ให้กุ้งเพราะเป็นบ่อควบคุม แต่ในบ่อโพรไบโอติกพบว่าปริมาณ *Bacillus* S11 เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยงกุ้งเนื่องจากทำการเสริมโพรไบโอติกให้กุ้งอย่างต่อเนื่อง สอดคล้องกับ สมบัติ รักประทานพร (2542) ที่รายงานว่าปริมาณ *Bacillus* S11 จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งเมื่อทำการให้อาหารกุ้งผสม *Bacillus* S11 อย่างต่อเนื่อง ในลำไส้กุ้งกุลาดำสามารถตรวจพบ *Bacillus* S11 ได้ในปริมาณ $1.02x10^4$-

$1.69x10^9$ CFU/g โดยพบว่าปริมาณ *Bacillus* S11 ในลำไส้จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งเช่นกันซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด แสดงว่า *Bacillus* S11 สามารถตั้งรกรากและมีชีวิตรอดอยู่ได้ในลำไส้กุ้งกุลาดำ ซึ่งนับได้ว่าเป็นข้อดีข้อหนึ่งของโพรไบโอติก โดยโพรไบโอติกจะทำงานในลำไส้ได้อย่างมีประสิทธิภาพหากมีการให้เซลล์โพรไบโอติกในปริมาณที่สูงอย่างต่อเนื่อง (Gournier-Chateau และคณะ 1994 อ้างถึงโดย Gatesoupe, 1999)

ผลของ *Bacillus* S11 ต่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

การตรวจสอบคุณภาพน้ำบางประการในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำทั้ง 5 ครั้ง (ตารางที่ 4, 5, 7, 8 และ 10) คือ แอมโมเนียม ไนไตรท์ ฟอสเฟต อุณหภูมิ พีเอช ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และค่าความเป็นด่าง พบว่าคุณภาพน้ำของทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มโพรไบโอติกมีค่าไม่แตกต่างกันและอยู่ในเกณฑ์ปกติที่ปลอดภัยสำหรับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ สอดคล้องกับ Rengpipat และคณะ (1998a, 2000) ที่รายงานว่าไม่พบความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ในด้านคุณภาพน้ำระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มโพรไบโอติกจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าโพรไบโอติก *Bacillus* S11 ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ไม่ได้ส่งผลในด้านลบต่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

การทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค

หลังจากทำการเลี้ยงกุ้งในครั้งที่ 2, 3 และ 4 ได้ทำการรวบรวมกุ้งบางส่วนจากแต่ละกลุ่มการทดลองมาทำการทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค โดยใช้ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 1526 ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเรืองแสง (Lavilla-Pitogo, Baticados และคณะ 1990; Lavilla-Pitogo และคณะ 1998) มีความรุนแรงในการติดเชื้อสูง โดยใช้ในปริมาณ 10^7 CFU/ml ด้วยวิธีการแช่ พบว่ากุ้งในกลุ่มโพรไบโอติกมีการตายสะสมน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 9, 21 และ 29 และยังพบว่าการตายสะสมต่อเวลาของกุ้งกลุ่มโพรไบโอติกช้ากว่ากุ้งกลุ่มควบคุม แสดงว่ากุ้งที่เสริมโพรไบโอติก *Bacillus* S11 มีความต้านทานต่อโรคเรืองแสงได้ดีกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก *Bacillus* S11 และยังช่วยยืดระยะเวลาการตายด้วยโรคเรืองแสงออกไปได้นานกว่า สอดคล้องกับ Gildberg และ Mikkelsen (1998) ที่พบว่าเมื่อทำการทดสอบการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในระดับ *in vivo* โพรไบโอติกสามารถช่วยทำให้การตายช้าลงเท่านั้น จากการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียสามารถตรวจพบ *Bacillus* S11 ได้ทั้งในน้ำเลี้ยงและในลำไส้กุ้งของกุ้งกลุ่มโพรไบโอติกตลอดระยะเวลาการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคและตรวจไม่พบในกลุ่มควบคุม ส่วน *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ตรวจพบทั้งในน้ำเลี้ยงและในลำไส้กุ้ง โดยพบว่ามี

ปริมาณที่ลดลงนับจากวันที่เริ่มทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคจนอยู่ในปริมาณที่น้อยกว่าจนถึงใกล้เคียงกับปริมาณ *Bacillus* S11

อย่างไรก็ตามการตายสะสมของกุ้งกลุ่มโพรไบโอติกนั้นต่างจากการรายงานของ Rengpipat และคณะ (1998a) ที่พบว่าภายหลังจากทดสอบการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยใช้ *V. harveyi* D331 กุ้งของทั้ง 2 กลุ่มการทดลองมีการตายสะสมที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยกุ้งกลุ่มโพรไบโอติกมีการตายสะสม 0% (รอด 100%) ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีการตายสะสมสูงถึง 74% (รอด26%) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก *V. harveyi* D331 เป็นเชื้อที่ทำการ subculture ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อหลายครั้งทำให้ความรุนแรงในการติดเชื้อต่ำกว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ที่มีความรุนแรงในการติดเชื้อสูง (สมบัติ รักประทานพร, 2542) และปริมาณ *Bacillus* S11 ในลำไส้และในน้ำเลี้ยงมีปริมาณมากกว่าปริมาณของ *V. harveyi* D331 ประมาณ 3-4 log cycle การที่มีโพรไบโอติกมากอยู่ภายในลำไส้จะทำให้การทำงานของโพรไบโอติกมีประสิทธิภาพมาก (Gournier-Chateau และคณะ 1994 อ้างถึงโดย Gatesoupe, 1999) ทำให้เห็นผลการทดลองอย่างชัดเจนที่แสดงให้เห็นว่า *Bacillus* S11 ในลำไส้สร้างสารยับยั้งและแย่งจับเกาะผนังลำไส้ แต่จากการวิจัยครั้งนี้พบ *Bacillus* S11 ในลำไส้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคมากทำให้เห็นผลการทดลองที่ไม่ชัดเจน นอกจากนี้ผลการทดลองยังต่างกับ Rengpipat และคณะ (2000) ที่รายงานว่าหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 กุ้งกลุ่มโพรไบโอติกมีการตายสะสม 45.7%น้อยกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมที่มีค่า 64.5% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 มีการ subculture บ่อยตลอดระยะเวลาการเก็บ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้สมบัติของเชื้อลดลง (Austin และคณะ, 1999) แต่ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ผ่านการ subculture น้อยมากเพราะเตรียมโดยตรงจาก stock culture ทำให้ความรุนแรงในการติดเชื้อสูง นอกจากนี้แล้วยังมีองค์ประกอบต่างๆซึ่งอาจมีอิทธิพลต่อความไวของสัตว์ต่อเชื้อโรคและประสิทธิภาพการปกป้องของโพรไบโอติก (Gatesoupe, 1999) ดังนั้นการทดสอบการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในงานวิจัยครั้งนี้จึงปรากฏผลออกมาไม่ชัดเจน นำเฮปพาโทแพนเครียส (hepatopancreas) และลำไส้ของกุ้งที่ตายมาเพาะแยกเชื้อสาเหตุการเกิดโรคไปทดสอบลักษณะทางชีวเคมี พบว่าให้ผลการตรวจสอบที่เหมือนกันกับ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ที่ทำเทียบกันเป็นตัวควบคุม แสดงว่าเชื้อที่เป็นสาเหตุการตายของกุ้งเป็นเชื้อเดียวกับ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ที่ใช้ในการเหนี่ยวนำในการเกิดโรค

โดยสรุปโพรไบโอติก *Bacillus* S11 มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่ดีเหมาะสำหรับที่จะนำมาเลี้ยงกุ้งกุลาดำในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่ให้ประโยชน์ต่อกุ้งกุลาดำในการเพิ่มการเจริญเติบโตและการรอดชีวิต ช่วยเพิ่มความต้านทานต่อโรคเรืองแสง ช่วยยืดระยะเวลาการตายเมื่อกุ้งเกิดโรค ไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคในกุ้งและคน อยู่ในสภาพของเซลล์ที่มีชีวิตและมีปริมาณมากในอาหาร สามารถอาศัยและดำรงชีวิตรอดในสภาพแวดล้อมและลำไส้ของเจ้าบ้านมีชีวิตตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาและผลิตได้ง่าย ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะที่ดีของโพรไบโอติกที่รายงานโดย Fuller (1989) และ Harvenaar และ Huis in't Veld (1992)