บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. การใช้เทคนิค FISH เพื่อศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) สามารถเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจสอบได้ 2 วิธี คือ เตรียมลำไส้บดรักษาสภาพในน้ำยาบัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วจึงเปลี่ยนเป็น เอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ได้นานหลายเดือน และเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้โดยผ่านกระบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยา แล้วนำไปตรวจสอบด้วยเทคนิค FISH โดยใช้โพรบ EUB338 ที่จำเพาะกับแบคทีเรียทุกชนิด (domain bacteria) (Amann, 1995) ที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสงสีเขียว (Fluorescein)

2. การคัดเลือกโปรไบโอติกแบคทีเรียเพื่อประยุกต์ใช้ในกุ้งขาว พบว่า เชื้อ *L. plantarum* สามารถทนความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับ 0.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* และ *V. parahaemolyticus* ได้ทั้งวิธี agar well diffusion และ co-culture

3. การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกที่คัดเลือกคือ *L. plantarum* ด้วยการนำเซลล์สดผสมกับอาหารกุ้งขาวโดยให้อาหารผสม *L. plantarum* 3 วัน และให้อาหารปกติ 4 วันสลับกัน เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าชั่วโมงที่ 0, 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 และ 72 ของชุดทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นชุดควบคุมไม่พบเชื้อ *L. plantarum* ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งขาว สำหรับชุดทดลองที่ 2, 3 และ 4 สามารถนับเชื้อ *L. plantarum* ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งขาวหลังจากหยุดให้อาหารที่ผสมโปรไบโอติกในชั่วโมงที่ 12, 24, 48 และ 72 ซึ่งติดตาม *L. plantarum* ในลำไส้กุ้งบดโดยใช้เทคนิค FISH และสามารถยืนยันการคงอยู่ของ *L. plantarum* ในเนื้อเยื่อลำไส้กุ้งขาวโดยใช้เทคนิค FISH ตรวจสอบด้วย กล้องอิพิฟลูออเรสเซนต์ (epifluorescence microscope) และกล้องคอนโฟคอลเลเซอร์ สแกนนิง (confocal laser scanning microscope) เมื่อนำทดสอบความต้านทานต่อการติดเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคจากเชื้อ *V. harveyi* โดยวิธีการแช่ (immersion challenge) พบว่า ชุดการทดลองที่ 4 (เติมเชื้อ *L. plantarum* ที่ระดับความเข้มข้น 10^9 CFU/g) มีอัตราการตายเพียง 30 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น เมื่อเปรียบกับชุดควบคุมซึ่งมีอัตราการตายถึง 60 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จะเห็นได้ว่าการใช้โปรไบโอติกสามารถลดอัตราการตายของกุ้งขาวลงได้ 50 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาด้วยเทคนิค FISH จำเป็นต้องเลือกน้ำยาการรักษาตัวอย่างและอุณหภูมิในการเก็บรักษา เพื่อรักษา rRNA ของเป้าหมายที่จะศึกษา ดังนั้นยังต้องศึกษาเพิ่มเติมถึงการเลือกน้ำยารักษาสภาพตัวอย่าง และอุณหภูมิในการเก็บรักษาให้มีความเหมาะสมกับตัวอย่างที่จะศึกษา

2. การศึกษาเกี่ยวกับการใช้โปรไปโอติกในสัตว์น้ำยังมีรายงานน้อยดังนั้นควรมีการศึกษากันอย่างลึกซึ้งมากกว่านี้ถึงกระบวนการต้านต่อเชื้อก่อโรค รวมถึงการรักษาความสมดุลของเชื้อในระบบทางเดินอาหารในตัวสัตว์น้ำ

3. การคัดเลือกโปรไบโอติกที่แยกได้จากทางเดินอาหารของกุ้งโดยตรง บางครั้งอาจได้แบคทีเรียที่ไม่ปลอดภัยต่อการใช้สำหรับมนุษย์ ดังนั้นในการคัดเลือกเชื้อโปรไบโอติกที่ใช้กับมนุษย์ และมีรายงานที่แน่นอนแล้วว่าปลอดภัยต่อมนุษย์นำมาทดลองให้สัตว์น้ำกินน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่ง สำหรับอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งต่อไป

4. จากผลการศึกษาครั้งนี้อาจจะเป็นแนวทางในการนำไปใช้จริงในระบบการเพาะเลี้ยงเชิงอุตสาหกรรมต่อไป