4. วิจารณ์

4.1 การศึกษาสภาวะ pH และอุณหภูมิ ที่มีผลต่ออัตราการเจริญของ *V. harveyi*

เมื่อก่อนที่การเลี้ยงกุ้งยังไม่หนาแน่นผู้เลี้ยงกุ้งสามารถใช้น้ำที่ได้จากชายฝั่งมาเพาะเลี้ยงได้โดยไม่ต้องบำบัดน้ำก่อนใช้ แต่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในปัจจุบันใช้ระบบการเลี้ยงแบบหนาแน่น (intensive) โดยมีการปล่อยลูกกุ้งจำนวนมากทำให้ต้องใช้เทคนิคในการเลี้ยงต่างๆ มากขึ้น เช่น การจัดการคุณภาพน้ำ การควบคุมการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ควบคุมการเพิ่มออกซิเจน รวมทั้งการจัดการเรื่องอาหาร ในด้านการจัดการน้ำที่จะนำมาสู่การเพาะเลี้ยงกุ้งที่ประสบผลสำเร็จได้ต้องอาศัยปัจจัยหลายอย่าง เช่น pH ที่เหมาะสมของน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งควรอยู่ในช่วง pH 7.5-8.5 ความเค็ม (salinity) 10-30 ppt การละลายของออกซิเจนในน้ำ (dissolved oxygen) 5-6 ppm ค่าอัลคาไลน์ (alkalinity) ควรมากกว่า 80 ppm ค่าความขุ่นใสของน้ำ (secchi disc) 30-40 cm ค่าไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ควรน้อยกว่า 0.03 ppm ค่าแอมโมเนียรวม (unionised anmonia) ควรน้อยกว่า 0.1 ppm โดยค่าที่ควรวัดเป็นประจำอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง คือ pH และการละลายของออกซิเจนในน้ำเพราะสามารถบ่งชี้ถึงสุขภาพของกุ้งได้ (Chanratchakool *et al.*, 1994) นอกจากนี้ pH ยังมีผลต่อคุณสมบัติของน้ำตัวอื่นๆ อีก เช่น ผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย และไฮโดรเจนซัลไฟด์

จากข้อมูลที่กล่าวมาทำให้การศึกษาสภาวะและอัตราการเจริญของ *V. harveyi* ในการทดลองครั้งนี้ จึงศึกษาโดยเลี้ยง *V. harveyi* ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้ง คือในอาหารเหลว TSB (เติม 1.5%NaCl) ที่สภาวะ pH 7.0 – 9.0 ซึ่งพบว่า *V. harveyi* มีการเจริญอย่างรวดเร็วแบบทวีคูณ และเจริญได้สูงสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *V. harveyi* ที่ใช้ในการทดลองนี้ จึงเลี้ยงเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อเจริญเติบโตได้เต็มที่ ส่วนรูปแบบการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. harveyi* ที่ pH 7.0, 8.0 และ 9.0 สามารถเจริญเติบโตได้ดีใกล้เคียงกัน ส่วนอุณหภูมิและความเค็มที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของเชื้อสายพันธุ์นี้อยู่ในช่วง 25-37°C และ 5–50 ppt ตามลำดับ ซึ่งตรงกันกับรายงานของ Lavilla Pitogo *et al.* (1998) คือ *V. harveyi* สามารถเจริญได้ดีในที่ pH 6.0-9.0 มีชีวิตอยู่ได้ในช่วงอุณหภูมิ 14-37°C และความเค็ม 5-50 ppt ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าในสภาวะ

ที่กุ้งสามารถเจริญได้ดี *V. harveyi* ก็เจริญได้ดีเช่นกัน ในสภาพบ่อเลี้ยงกุ้งจริงการเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำที่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของดิน ค่าความเป็นด่างของน้ำ การผลิตและการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำซึ่งส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับแพลงค์ตอนพืช การใส่ปูนขาวมากเกินไป หรือเกิดจากอินทรีย์วัตถุที่มีการสลายตัวมาก (ยอดยิ่ง เทพธรานนท์, 2541) ดังนั้นอัตราการเจริญของ *V. harveyi* อาจมีรูปแบบการเจริญที่เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพของน้ำ และปัจจัยอื่นๆ ซึ่งอาจแตกต่างจากในห้องปฏิบัติการก็เป็นได้

4.2 การทดสอบความรุนแรงของเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 046

เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้ต้องมีการคัดเลือก *B. subtilis* สายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการยับยั้ง *V. harveyi* ดังนั้นจึงต้องรู้ปริมาณของ *V. harveyi* ที่ทำให้กุ้งป่วยเป็นโรค โดยปริมาณเชื้อดังกล่าวสามารถหาได้โดยการหาค่าความรุนแรงของเชื้อ (LD_{50}) จากการฉีดเชื้อ *V. harveyi* 046 ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ได้เตรียมไว้ เข้ากล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง แล้วบันทึกจำนวนกุ้งกุลาดำที่ตายทั้งหมดภายในระยะเวลา 14 วัน แล้วนำผลมาคำนวณหาค่า LD_{50} ตามวิธีของ Reed และ Muench (1938) พบว่า เชื้อ *V. harveyi* 046 มีค่า $LD_{50} = 2.12 \times 10^8$ CFU/ml ซึ่งปริมาณค่อนข้างสูง เช่นเดียวกับรายงานของ ดารุณี แซ่อุย และคณะ (2530) ที่ทดสอบการทำให้เกิดโรค พบว่าลูกกุ้งแชบ๊วยระยะนอเพลียสมี ความไวต่อ *V. harveyi* มากที่สุดที่ 10^7 CFU/ml คือ มีอัตราการตาย 100 % ระยะไมซิส และโพสต์ลาวามีความไวน้อยลงตามลำดับ และงานวิจัยของสาวิตรี ศิลาเกษ (2541) ทำการทดสอบความรุนแรงของเชื้อ *V. harveyi* โดยการหาค่า LD_{50} พบว่ามีค่าเท่ากับ 7.33×10^7 CFU/ml

นอกจากนี้มีรายงานเกี่ยวกับการระบาดของโรคเรืองแสงที่เกิดจากเชื้อ *V. harveyi* ในประเทศอินโดนิเซีย ในปี ค.ศ. 1990 โดยทำการทดสอบการทำให้เกิดโรคในกุ้งระยะต่างๆพบว่า *V. harveyi* BP04 ค่าความเข้มข้นที่ 10^3 CFU/ml ทำตัวอ่อนของกุ้งกุลาดำระยะซูเอี้ยตาย 75 %, ระยะไมซิสตาย 53 % และ ระยะโพสต์ลาวาตาย 49 % ภายในเวลา 48 ชั่วโมง (Prayitno and Latchford, 1995) และที่ประเทศฟิลิปปินส์ Lavilla–Pitogo *et al.* (1998) รายงานว่า กุ้งกุลาดำในระยะโพสต์ลาวาในบ่อเลี้ยงแสดงการตายอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อได้รับเชื้อ *V. harveyi* 10^2 CFU/ml ภายในเวลา 24 ชั่วโมง จึงกล่าวได้ว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ที่

ก่อโรคเรืองแสงในอินโดนิเซียและฟิลิปปินส์มีค่าความรุนแรงสูงกว่า *V. harveyi* 046 มาก ซึ่งผลของค่าความรุนแรงของเชื้อที่แตกต่างกันมากนี้อาจเนื่องมาจากว่าเป็นเชื้อคนละสายพันธุ์กัน หรือการหาความรุนแรงของเชื้อ *V. harveyi* ในประเทศฟิลิปปินส์ ทำการทดสอบในสภาพบ่อเลี้ยงจริง ได้รับผลกระทบจากสภาวะแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง เพราะโรคที่เกิดจากเชื้อ *Vibrio* นั้นเป็นการติดเชื้อระยะที่สอง (secondary infection) คือ กุ้งที่อ่อนแอกับสภาวะแวดล้อมหรือปัจจัยอื่น ๆ ที่มีอยู่ก่อน เช่น กุ้งอยู่ในสภาพเครียด เนื่องจากน้ำสกปรก หรือ pH ที่เปลี่ยนแปลงสูงขึ้นหรือต่ำลงอย่างรวดเร็ว มีผลให้กุ้งมีโอกาสติดเชื้อง่ายขึ้น แม้ว่าปริมาณเชื้อจะมีเพียงเล็กน้อยก็ตาม ส่วนกุ้งที่นำมาใช้ในการทดลองหาค่าความรุนแรงของเชื้อ *V. harveyi* 046 เป็นกุ้งที่อยู่ในน้ำที่มีสิ่งแวมล้อมดี กุ้งมีอายุมากกว่า และสุขภาพแข็งแรง จึงต้องใช้เชื้อในปริมาณมากกว่า ดังนั้นกุ้งมีสุขภาพดีมีการตอบสนองที่ต่างกัน

4.3 การคัดเลือก *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ที่แสดงศักยภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

B. subtilis. ที่ใช้ทดสอบจำนวน 27 สายพันธุ์ กับ *V. harveyi* 046 พบว่า มีวงใสที่เกิดจากการยับยั้งขึ้นบริเวณเชื้อ ABS-D10, ABS-D18, ABS-D19, ABS-D24 และ ABS-D28 โดยเฉพาะเชื้อ ABS-D10 เห็นได้ชัดเจน แสดงให้เห็นถึงความสามารถของเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์เหล่านี้ในการปลดปล่อยสารบางอย่างที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *V. harveyi* ออกมา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิจัยส่วนใหญ่ที่พบว่า กระบวนการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ เป็นกลไกหลักของ *Bacillus* sp. ที่สามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรียได้ (Gatesoupe,1999) นอกจากนี้ Katz และ Demain (1977) พบว่า *Bacillus* sp. มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะได้ไม่น้อยกว่า 167 ชนิด และเป็นสารปฏิชีวนะเปปไทด์ ที่ผลิตจาก *B. subtilis* 66 ชนิด สารปฏิชีวนะที่ผลิตโดยเชื้อ *Bacillus* sp. และปล่อยออกมากับอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อนำมาทดสอบพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย กระบวนการหลั่งสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการแพร่หรือรุกรานของเชื้อแบคทีเรีย อาจเป็นวิธีหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคในสัตว์น้ำ ดังเช่นรายงานของ Moriarty (1998) พบว่า อัตราการรอดของกุ้งเพิ่มขึ้นในบ่อที่มีการใส่แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ซึ่งการบำบัดนำแบบชีววิธีนี้ ทำให้สัดส่วนของแบคทีเรียก่อโรคเรืองแสงในตะกอนดินลดลง เป็นผลให้แบคทีเรียก่อโรคแพร่กระจายในน้ำน้อยลงด้วย

4.4 การศึกษาสภาวะและอัตราการเจริญของ *B. subtilis* ABS-D10 ในสภาวะการเพาะเลี้ยงกุ้ง

โดยทั่วไป *Bacillus* spp. เจริญได้ดีที่ pH 7.0-8.5 อุณหภูมิ 25-37°C ในการทดลองนี้ทำการเพาะเลี้ยง *B. subtilis* ABS-D10 ในอาหาร TSB ที่เติม 1.5%NaCl ในสภาพ pH 7.0-9.0 พบว่า *B. subtilis* ABS-D10 สามารถเจริญได้ดีที่ pH 7.0-8.0 ได้ดีกว่าที่ pH 9.0 แสดงให้เห็นว่า *B. subtilis* ABS-D10 ไม่ทนต่อสภาพที่เป็นด่างสูงเกินไปได้ ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการยับยั้ง *V. harveyi* หรือการดำรงชีพของ *B. subtilis* ABS-D10 Suntinanalert *et al.*(1996) รายงานว่าแบคทีเรียทนด่าง *Bacillus* PS304 ที่แยกได้จากดินในภาคใต้ของประเทศไทย เป็นแบคทีเรียที่เติบโตได้ดีที่ pH 8.0 อุณหภูมิ 35°C

จากการทดลองนี้พบว่า *B. subtilis* ABS-D10 เจริญเติบโตสูงสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยจากการศึกษาที่ผ่านมา มีการค้นพบจำนวนมากที่แสดงถึงการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะเปปไทด์ว่าเริ่มมีการสังเคราะห์ภายหลังจุลินทรีย์เจริญเติบโตผ่านช่วงที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (ระยะปลายของ logarithmic phase) เช่น Granmicidin S (Tomino *et al.*, 1967), Tyrocidine (Fujikava *et al.*, 1968 ; Lee *et al.*, 1975), Polymyxin (Paulus and Gray., 1964), Edinine (Kurylo-Borowska., 1967), Bacitracin (Bernlohra and Nivelli., 1963), Mycobacillin (Banerjee and Bose., 1964) และ Bacilysin (Roger *et al.*, 1965 ; Roscoe and Abraham, 1966) ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เซลล์ของจุลินทรีย์เริ่มเข้าสู่กระบวนการสร้างสปอร์ และเป็นสภาวะที่เซลล์เริ่มขาดแคลนอาหารในการดำรงชีวิตแต่ก็มีสารปฏิชีวนะบางชนิดเริ่มสร้างในระยะ exponential phase เป็นต้นไป เช่น surfactin (Cooper *et al*, 1981) เชื้อ *B. subtilis* โดยทั่วไปเริ่มสร้างสปอร์เมื่ออายุ 18 ชั่วโมง (นภาพร รัตนสมบูรณ์, 2535) ดังนั้น จึงใช้ *B. subtilis* ABS-D10 ทดสอบเมื่อเพาะเลี้ยงไว้นาน 18-24 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับหลักการที่กล่าวมา และในการทดลองนี้เลือกใช้อาหาร TSB (เติม 1.5%NaCl) เนื่องจากต้องการให้เป็นอาหารชนิดเดียวกันกับที่ใช้เลี้ยง *V. harveyi* 046 ในสภาวะที่มีความเค็มอยู่ด้วย เพราะในการทดลองหัวข้อต่อไปมีการนำเชื้อทั้งสองชนิดมาผสมและเพาะเลี้ยงร่วมกัน เพื่อทดสอบปฏิกิริยาระหว่างเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 กับเชื้อ *V. harveyi* 046

4.5 ฤทธิ์จากน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 รูปแบบต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของ *V. harveyi*

จากการทดลองฤทธิ์ของน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว TSB+1.5%NaCl เปรียบเทียบระหว่างสารที่ได้จากในเซลล์และนอกเซลล์ พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 จะมีสารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ได้ ใกล้เคียงกัน แสดงว่าสารออกฤทธิ์จากน้ำเลี้ยง *B. subtilis* ABS-D10 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ได้ ถึงแม้ว่าไม่มีตัวเซลล์อยู่ก็ตาม ดังนั้น *B. subtilis* ABS-D10 มีการผลิตปล่อยสารออกนอกเซลล์สู่อาหารที่เพาะเลี้ยง นอกจากนี้ผลของสารออกฤทธิ์ของน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการทำให้เซลล์แตกกรองแยก และทำให้เข้มข้นเพิ่มขึ้น 10 เท่า พบว่าฤทธิ์ของสารมีประสิทธิภาพมากขึ้น แสดงว่ามีสารออกฤทธิ์ในน้ำเลี้ยงเชื้ออยู่จริง และผลการยับยั้งแปรผันตามค่าความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ที่ใช้ ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานอื่นๆ ที่เคยมีผู้ทดลองมาเช่น *B. subtilis* (ATCC6051) สามารถผลิตสาร *N* – acetylmuramic acid L- alanine amide ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Herbold *et al.*, 1975)

สารปฏิชีวนะที่ผลิตโดย *B. subtilis* ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถูกนำมาทดสอบในรูปสารสกัดหยาบ พบว่าสามารถต้านทานเชื้อรา (*Monilinia fructicola*) ที่ก่อโรคบนผลพลิช (Mckeen, et al., 1986) *B. subtilis* จะยับยั้งการงอกของแอสโคสปอร์ (ascospore) ของเชื้อโรคได้ เช่น การยับยั้งการงอกของแอสโคสปอร์ของเชื้อ *Eutypa lata* ที่เป็นสาเหตุของโรคองุ่นได้ถึงร้อยละ 100 โดยแอสโคสปอร์จะบวมและมีแวคิวโอล ในขณะที่แอสโคสปอร์ไม่ได้อยู่กับ *B. subtilis* จะงอกตามปกติและไม่มีแวคิวโอล *B. subtilis* ยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ถึงร้อยละ 91.4 โดยที่ปลายของเส้นใย *Eutypa lata* จะบวมและสร้างผนังหนา ทั้งนี้เป็นผลจากการที่ *B. subtilis* ผลิตสารปฏิชีวนะออกมานั่นเอง (Ferreira, *et al.*, 1991)

แบคทีเรียทนด่าง *Bacillus* PS304 สามารถผลิตเอนไซม์ไซโคลเด็กซ์ตริน ไกลโคซิสทรานสเปอเรส (CGTase) ออกสู่นอกเซลล์โดยสารตัวนี้สามารถสลายพันธะในสารไซโคเด็กซ์ตริน (CDs) ที่มีลักษณะเป็นวงแหวนให้ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลมอลโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Suntinanalert *et al.*, 1996) เอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตจาก *B. subtilis* Y- 108 สามารถใช้สำหรับการนำโปรตีนออกจากของเสียที่ได้จากสัตว์ทะเลพวก ปู และกุ้ง โดยนำมาใช้ในการเตรียมสารไคติน (chitin) (Yang *et al.*, 2000) *B. subtilis* สามารถสังเคราะห์สารพวก

ไลโปโปรตีนที่เป็นสารปฏิชีวนะและมีคุณสมบัติในการกระตุ้นบริเวณผิวพวก Iturin A และ Surfactin ออกสู่ภายนอกเซลล์ (Ahimou *et al.*, 2000)

4.6 ความเสถียรของสารออกฤทธิ์จากน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* ABS- D10 ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. harveyi* 046

จากการศึกษาถึงความเสถียรของสารออกฤทธิ์จากน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 โดยนำส่วนใสที่ได้ไปนึ่งที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 5 นาที แล้วจานำไปทดสอบสารออกฤทธิ์การยับยั้ง *V. harveyi* พบว่าสารออกฤทธิ์จากน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 เสียประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* แสดงว่าสารออกฤทธิ์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 มีความเสถียรน้อยเนื่องจากไม่สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิสูงได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ สมใจ เอี่ยมพรรัตน์ (2531) รายงานว่า สารปฏิชีวนะที่ผลิตจาก *Bacillus* KUBA 8601-2 และ *Bacillus* 8612 ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์ สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิสูงได้แค่ 90°C นาน 60 นาที แต่ผลการทดลองแตกต่างจากความเสถียรของสารออกฤทธิ์ของ *B. subtilis* ในการยับยั้งเชื้อรา ซึ่งส่วนใหญ่สามารถทนความร้อนสูงได้ ดังเช่นการทดลองของสุชล แก้วพรหม (2539) ที่รายงานว่าเชื้อ *B. subtilis* NSRS89-24 สามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pyricularia grisea* และ *Rhynchosporium oryzea* มีคุณสมบัติเสถียรและทนความร้อนได้สูง เช่นเดียวกับการศึกษาของวาสนา มู่สา (2542) ในเชื้อ *B. subtilis* NSRS89-24 และ *Bacillus sp.* LN 007 มีคุณสมบัติในการทดความร้อนสูงที่อุณหภูมิ 121° C นาน 15 นาทีได้ Mckeen *et al.* (1986) ทำการผลิตสารปฏิชีวนะจาก *B. subtilis* B3 เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Monilinia fructicola* และทดลองนำสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้มาผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ผลปรากฏว่าสารปฏิชีวนะยังคงออกฤทธิ์ได้ และยังมีการทดลองสารปฏิชีวนะที่ผลิตจาก *B. subtilis* APPL-1 ซึ่งมีผลต่อการเจริญของโรคราสนิมถั่วสามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาทีได้ (Barker *et al.*, 1983) นอกจากนี้ยังพบว่าสารปฏิชีวนะ Subtilysin จาก *B. subtilis* สามารถออกฤทธิ์ได้ถึงแม้จะผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C นาน 15 นาที (Bernheimer and Avigad. 1970)

จากที่กล่าวมาอาจเป็นไปได้ว่าสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดย *B. subtilis* ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย กับเชื้อรา เป็นสารต่างชนิดกันเนื่องจากมีคุณสมบัติในการทนความร้อนได้ต่างกัน

4.7 ปริมาณของ *B. subtilis* ABS-D10 ที่สามารถยับยั้ง *V. harveyi* บนอาหารวุ้น TSA (เติม 1.5%NaCl)

จากการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 กับ *V. harveyi* 046 ที่ปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 ช่วง 10 - 10^5 CFU/ml พบว่า *B. subtilis* ABS-D10 ปริมาณ 10^4-10^5 CFU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ V. harveyi ที่ 10^3 CFU/ml ได้ จากข้อมูลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า *B. subtilis* ABS-D10 มีฤทธิ์ยับยั้ง *V. harveyi 046* ที่ก่อโรคในกุ้งได้ที่ปริมาณที่พบในการระบาดของ *V. harveyi* ในน้ำเพาะเลี้ยงกุ้งซึ่งมักอยู่ในช่วง 10^3-10^4 CFU/ml กล่าวได้ว่า *B. subtilis* ABS-D10 มีแนวโน้มที่ดีที่จะใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. harveyi* ที่ก่อโรคในกุ้ง ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับที่ Moriarty (1998) ได้ทำการทดลองจริงในฟาร์มที่มีการเพาะเลี้ยงกุ้งโดยทำการเติม *Bacillus* ลงในน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงกุ้ง ปรากฏว่า ฟาร์มที่ไม่เติม *Bacillus* ประสบความล้มเหลวในการเลี้ยงกุ้งเกือบทุกบ่อเนื่องจากกุ้งตายจากการติดเชื้อเรืองแสงในช่วงการเลี้ยงก่อนถึง 80 วัน ต่างจากฟาร์มที่ใช้ *Bacillus* เติมลงในบ่อพบว่าสามารถเลี้ยงกุ้งได้นานเกิน 160 วันโดยไม่มีปัญหาการติดเชื้อเรืองแสง โดยปริมาณเชื้อ *Bacillus* ที่ใช้อยู่ในช่วงประมาณ 1 x 10^4 - 1 x 10^5 CFU/ml ปริมาณเชื้อ *Vibrio* โดยเฉพาะ *Vibrio* ชนิดเรืองแสงจะตรวจพบในปริมาณต่ำในน้ำที่มีเชื้อ *Bacillus* ผสมอยู่ในน้ำในปริมาณมาก และพบว่าปริมาณเชื้อ *Vibrio* รวมในตะกอนดินมีปริมาณน้อยลงด้วยและไม่มี *Vibrio* เรืองแสงเกิดขึ้นในตะกอนดินของบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีการใช้ *Bacillus* เป็นโปรไบโอติก

4.8 ผลการหาค่า MIC และ MBC ของสารปฏิชีวนะที่ได้จาก *B. subtilis* ABS-D10 ต่อการยับยั้ง *V. harveyi* 046

สารปฏิชีวนะที่สกัดได้จากเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 มีค่า MIC และ MBC ต่อการเจริญของ *V. harveyi* 046 ได้มากที่สุดที่ 10^4 CFU/ml โดยพบว่า ค่า MIC คือ 0.25 mg/ml และ MBC คือ 0.5 mg/ml ข้อมูลนี้สามารถใช้พื้นฐานในการวิจัยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ที่ผลิตจาก *B. subtilis* เช่น ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเร่งการผลิตสาร

ปฏิชีวนะจากเชื้อ *B. subtilis* เพื่อให้ได้ปริมาณที่มากขึ้น ขณะเดียวกันก็นำไปศึกษาในภาคสนามโดยนำไปเติมลงในน้ำที่ใช้เพาะฟักลูกกุ้ง เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารปฏิชีวนะต่อการควบคุมเชื้อ *V. harveyi* ซึ่งมักพบว่าเป็นปัญหาสำคัญอันหนึ่ง ที่ทำให้ผลผลิตลูกกุ้งลดลง หรือตายทั้งหมดได้