

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพประกอบ	(13)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	30
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	31
วัสดุ	31
อุปกรณ์	35
วิธีการและวิธีวิเคราะห์	36
3. ผลการทดลอง	50
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	109
6. สรุปผลการทดลอง	118
5. ข้อเสนอแนะ	119
เอกสารอ้างอิง	120
ภาคผนวก	129
ประวัติผู้เขียน	157

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1 จุลินทรีย์ที่นำมาใช้เป็น โปรไบโอติกในมนุษย์และสัตว์	14
2 แสดงเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาโครงสร้างประชากรแบคทีเรียและข้อจำกัดต่าง ๆ	27
3 โพรบที่ใช้ในการทดลอง	39
4 สัดส่วนแบคทีเรีย <i>L. plantarum</i> TISTR 050 ในชุมชนแบคทีเรียของตับและตับอ่อนจากกึ่งทดลอง	99
5 สัดส่วนแบคทีเรีย <i>L. plantarum</i> TISTR 050 ในชุมชนแบคทีเรียของลำไส้จากกึ่งทดลอง	105

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่	หน้า	
ก. 1	การเตรียม hybridization buffer	132
ก. 2	การเตรียม washing buffer	133
ข. 1	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในตับและตับอ่อนของกึ่งขาวสุภาพดีที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ EUB338 mixed	137
ข. 2	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากตับและตับอ่อนของกึ่งขาวสุภาพดีที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ GAM42a	138
ข. 3	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากตับและตับอ่อนของกึ่งขาวสุภาพดีที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ LGC mixed	138
ข. 4	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ส่วนต้นของกึ่งขาวสุภาพดีที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ EUB338 mixed	139
ข. 5	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากลำไส้ส่วนต้นของกึ่งขาวสุภาพดีที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ GAM42a	140
ข. 6	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากลำไส้ส่วนต้นของกึ่งขาวสุภาพดีที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ LGC mixed	140
ข. 7	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ส่วนปลายของกึ่งขาวสุภาพดีที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ EUB338 mixed	141
ข. 8	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากลำไส้ส่วนปลายของกึ่งขาวสุภาพดีที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ GAM42a	142
ข. 9	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากลำไส้ส่วนปลายของกึ่งขาวสุภาพดีที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ LGC mixed	142

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ข. 10	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในตับและตับอ่อนของกึ่งขาวที่ติดเชื้อไวรัส ทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ EUB338 mixed	143
ข. 11	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากตับและตับอ่อนของกึ่งขาว ที่ติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบ เทียบกับ โพรบ GAM42a	144
ข. 12	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากตับและตับอ่อนของกึ่งขาวที่ติดเชื้อไว รัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพร บ LGC mixed	144
ข. 13	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ส่วนต้นของกึ่งขาวที่ติดเชื้อไวรัส ทอราวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ EUB338 mixed	145
ข. 14	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากลำไส้ส่วนต้นของกึ่งขาว ที่ติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบ เทียบกับ โพรบ GAM42a	146
ข. 15	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากลำไส้ส่วนต้นของกึ่งขาวที่ติดเชื้อไว รัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพร บ LGC mixed	146
ข. 16	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ส่วนปลายของกึ่งขาวที่ติดเชื้อไวรัส ทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ EUB338 mixed	147
ข. 17	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากลำไส้ส่วนปลายของกึ่ง ขาวที่ติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการ เปรียบเทียบกับ โพรบ GAM42a	148
ข. 18	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากลำไส้ส่วนปลายของกึ่งขาว ที่ติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบ เทียบกับ โพรบ LGC mixed	148

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่	หน้า
ข. 19 แสดงโครงสร้างชุมชนแบบที่เรียในดับและดับอ่อนกึ่งก่อนนิตเชื้อ	149
ข. 21 โครงสร้างชุมชนแบบที่เรียในดับและดับอ่อนกึ่งหลังนิตเชื้อ 1 วัน	150
ข. 21 โครงสร้างชุมชนแบบที่เรียในดับและดับอ่อนกึ่งหลังนิตเชื้อ 3 วัน	151
ข. 22 โครงสร้างชุมชนแบบที่เรียในดับและดับอ่อนกึ่งหลังนิตเชื้อ 5 วัน	152
ข. 23 โครงสร้างชุมชนแบบที่เรียในลำไส้กึ่งก่อนนิตเชื้อ	153
ข. 24 โครงสร้างชุมชนแบบที่เรียในลำไส้กึ่งหลังนิตเชื้อ 1 วัน	154
ข. 25 โครงสร้างชุมชนแบบที่เรียในลำไส้กึ่งหลังนิตเชื้อ 3 วัน	155
ข. 26 โครงสร้างชุมชนแบบที่เรียในลำไส้กึ่งหลังนิตเชื้อ 5 วัน	156

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะภายนอกโดยทั่วไปของกุ้งขาวตัวเต็มวัย	3
2	ระบบทางเดินอาหารของกุ้งขาว	5
3	อวัยวะที่ช่วยในการย่อยอาหาร	6
4	ปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร อวัยวะบดอาหาร (gastric mill) และต่อมสร้างน้ำย่อย (digestive gland/hepatopancreas) ของกุ้งในกลุ่ม Penaeid	8
5	กุ้งที่ติดเชื้อไวรัสทอรา	10
6	แสดงไฟลัมแบคทีเรียที่ทำการจำแนกใน The Second Edition of Bergey's Manual of Systematic Bacteriology	21
7	แสดงตัวอย่างแบคทีเรียที่เป็นสมาชิกในไฟลัมสำคัญ	22
8	แสดงแนวทางในการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในการศึกษาโครงสร้างประชากรแบคทีเรีย	28
9	แผนผังการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสทอราจากบ่อดิน	39
10	แผนผังการจัดจำแนกกลุ่มแบคทีเรียที่ทำการศึกษา	42
11	แผนผังการให้อาหาร การเหนี่ยวนำโรคและการเก็บตัวอย่างในการทดลองที่ 2	47
12	ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสในบ่อดิน	52
13	ปริมาณ Oxyhemocyanin ในน้ำเลือดของกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสในบ่อดิน	53
14	ปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสในบ่อดิน	53
15	ปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียกลุ่ม <i>Vibrio</i> spp. ในตับและตับอ่อนของกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสในบ่อดิน	55
16	ปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียกลุ่ม <i>Vibrio</i> spp. ในลำไส้ส่วนต้นของกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสในบ่อดิน	56
17	ปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียกลุ่ม <i>Vibrio</i> spp. ในลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสในบ่อดิน	57
18	ภาพการเรืองแสงของกลุ่มจุลินทรีย์ตรวจสอบด้วยเทคนิค FISH	59
19	แสดงสัดส่วนของทางเดินอาหารกุ้งที่ทำการศึกษา	60

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
20	สัดส่วนแบคทีเรียทั้งหมด (total <i>Eubacteria</i>) ในตับและตับอ่อนของกึ่งชาวปกติเมื่อทำการตรวจสอบด้วยโพรบ EUB338 mixed ในการทำ FISH เทียบกับการใช้สีย้อม DAPI	62
21	สัดส่วนแบคทีเรียทั้งหมด (total <i>Eubacteria</i>) ในลำไส้ส่วนต้นของกึ่งชาวปกติเมื่อทำการตรวจสอบด้วยโพรบ EUB338 mixed ในการทำ FISH เทียบกับการใช้สีย้อม DAPI	63
22	สัดส่วนแบคทีเรียทั้งหมด (total <i>Eubacteria</i>) ในลำไส้ส่วนปลายของกึ่งชาวปกติเมื่อทำการตรวจสอบด้วยโพรบ EUB338 mixed ในการทำ FISH เทียบกับการใช้สีย้อม DAPI	64
23	แสดงโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียกลุ่มหลักของทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วน ได้แก่ ตับและตับอ่อน ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนปลายที่ได้จากการศึกษาในกึ่งชาวที่มีสุขภาพปกติในบ่อดิน	67
24	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria ของทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วนของกึ่งชาวสุขภาพปกติในบ่อดินที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ GAM42a	68
25	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC ของทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วนของกึ่งชาวสุขภาพปกติในบ่อดินที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ LGC mixed	68
26	สัดส่วนแบคทีเรียทั้งหมด (total <i>Eubacteria</i>) ในตับและตับอ่อนของกึ่งชาวติดเชื้อไวรัสทอราเมื่อทำการตรวจสอบด้วยโพรบ EUB338 mixed ในการทำ FISH เทียบกับการใช้สีย้อม DAPI	70
27	สัดส่วนแบคทีเรียทั้งหมด (total <i>Eubacteria</i>) ในลำไส้ส่วนต้นของกึ่งชาวติดเชื้อไวรัสทอราเมื่อทำการตรวจสอบด้วยโพรบ EUB338 mixed ในการทำ FISH เทียบกับการใช้สีย้อม DAPI	71

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
28	สัดส่วนแบคทีเรียทั้งหมด (total <i>Eubacteria</i>) ในลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาว ติดเชื้อไวรัสทอราเมื่อทำการตรวจสอบด้วยโพรบ EUB338 mixed ในการทำ FISH เทียบกับการใช้สีย้อม DAPI	72
29	แสดงโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียกลุ่มหลักของทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วนได้ แก่ ดับและดับอ่อน ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลายที่ได้จากการศึกษาของ กุ้งขาวที่ติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	75
30	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria ของทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วนของ กุ้งขาวติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดินที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดย การเปรียบเทียบกับโพรบ GAM42a	76
31	สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC ของทางเดินอาหารทั้ง 3 ส่วนของกุ้งขาวติด เชื้อไวรัสทอราในบ่อดินที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบ เทียบกับโพรบ LGC mixed	76
32	การเปรียบเทียบสัดส่วนกลุ่มแบคทีเรียในดับและดับอ่อนกุ้งขาวปกติและติด เชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	78
33	การเปรียบเทียบสัดส่วนกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม γ -Proteobacteria จากดับและ ดับอ่อนกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	78
34	การเปรียบเทียบสัดส่วนกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากดับและดับอ่อนกุ้ง ขาวปกติและติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	79
35	การเปรียบเทียบสัดส่วนกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ส่วนต้นของกุ้งขาวปกติและ ติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	80
36	การเปรียบเทียบสัดส่วนกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม γ -Proteobacteria จากลำไส้ ส่วนต้นของกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	81
37	การเปรียบเทียบสัดส่วนกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากลำไส้ส่วนต้นกุ้งขาว ปกติและติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	81
38	การเปรียบเทียบสัดส่วนกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวปกติ และติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	83

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
39	การเปรียบเทียบสัดส่วนกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม γ -Proteobacteria จากลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	83
40	การเปรียบเทียบสัดส่วนกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวปกติและติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดิน	84
41	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งทดลอง	86
42	ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งทดลองในวันที่ 5 หลังเหนี่ยวนำด้วยเชื้อก่อโรค	87
43	ปริมาณ Oxyhemocyanin ในน้ำเลือดกุ้งทดลอง	88
44	ปริมาณโปรตีนรวมในน้ำเลือดกุ้งทดลอง	88
45	สัดส่วนปริมาณ Oxyhemocyanin ต่อปริมาณโปรตีนรวมในน้ำเลือดของกุ้งทดลอง	89
46	แสดงปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งทดลอง	90
47	ปริมาณแบคทีเรียรวมในตับและตับอ่อนของกุ้งทดลองที่ทำการตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่เติมเกลือ 1.5%	91
48	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม <i>Vibrio</i> spp. ในตับและตับอ่อนของกุ้งทดลองที่ทำการตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS	92
49	ปริมาณแบคทีเรีย <i>L. plantarum</i> ในตับและตับอ่อนของกุ้งทดลองที่ทำการตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เติมเกลือ 1.5%	93
50	ปริมาณแบคทีเรียรวมในลำไส้ของกุ้งทดลองที่ทำการตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่เติมเกลือ 1.5%	94
51	ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม <i>Vibrio</i> spp. ในลำไส้ของกุ้งทดลองที่ทำการตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS	95
52	ปริมาณแบคทีเรีย <i>L. plantarum</i> ในลำไส้ของกุ้งทดลองที่ทำการตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เติมเกลือ 1.5%	95
53	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในตับและตับอ่อนของกุ้งทดลองที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ EUB338 mixed	100

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
54	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม γ -Proteobacteria จากตับและตับอ่อนของ กุ้งทดลองที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ GAM42a	101
55	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากตับและตับอ่อนของกุ้งทดลองที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ LGC mixed	102
56	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ของกุ้งทดลองที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ EUB338 mixed	106
57	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม γ -Proteobacteria จากลำไส้ของกุ้งทดลองที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ GAM42a	107
58	สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากลำไส้ของกุ้งทดลองที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ LGC mixed	108

รายการภาพประกอบภาคผนวก

ภาพที่		หน้า
ก. 1	ภาพการเรืองแสงของแบคทีเรียที่ทำการตรวจสอบด้วยเทคนิค FISH	134