

ภาคผนวก ก

สารเคมี

1. การเตรียมอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับเทคนิค FISH

1.1 การเตรียมสารเคมีสำหรับเทคนิค FISH

1.1.1 5 M NaCl

ชั่ง NaCl 58 กรัม ใส่ลงในน้ำ Milli-Q ปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร กวนจนละลายซึ่งอาจต้องใช้เวลานาน แล้วจึงนำไป Autoclave

1.1.2 1 M TRIS-HCl

ชั่ง TRIS-HCl 31.5 กรัม ใส่ลงในน้ำ Milli-Q ปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร ทำให้ละลาย และปรับค่า pH 7.2 ด้วย 2M NaOH แล้วจึงนำไป Autoclave (ไม่ควรใช้ TRIS แต่ควรใช้ TRIS-HCl ในการเตรียมสาร)

1.1.3 10% SDS

ละลาย SDS 10 กรัม ใส่ลงในน้ำ Milli-Q ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร รอจนกว่าละลายประมาณ 20 นาที เก็บในขวด stock ไม่ต้อง Autoclave (ควรเตรียมสารใน fume hood เพราะว่า SDS ทำให้เกิดอาการระคายเคือง)

1.1.4 0.5 M EDTA

ชั่ง EDTA disodium hydrate 18.6 กรัม ใส่ลงในน้ำ Milli-Q ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ปรับค่า pH 7.2 ด้วย NaOH ชนิดเม็ด ซึ่งอาจใช้จำนวนมาก หลังจากนั้นจึงนำไป Autoclave

1.1.5 Formamide

แบ่งใส่หลอด appendoff 2 มิลลิลิตร และเก็บในที่เย็น

1.1.6 Mounting fluid (Anti-fading solution)

ละลาย *p*-phenylenediamine (toxic) 100 มิลลิกรัม ใน 0.5 M NaCO₃ (pH 9.0) 10 มิลลิลิตร ค่อยๆ เติม glycerol 100 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 90 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน แบ่งใส่หลอด appendoff ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.2 การเตรียมสไลด์

ล้างสไลด์ (Teflon-coated slides) ด้วยการต้มน้ำที่ใส่น้ำยา Teepol ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด ทิ้งให้แห้ง จุ่มในสารละลาย gelatin 0.1 เปอร์เซ็นต์ และ chromium potassium sulfate 0.01 เปอร์เซ็นต์ ที่ต้มในน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส ทิ้งให้แห้ง เก็บสไลด์ในกล่องที่มิดชิดเพื่อพร้อมใช้งาน

1.3 การเตรียม Hybridization buffer

เตรียมในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 2 มิลลิลิตร โดยเติม

5 M NaCl 360 μl

1 M Tris-HCl 40 μl

Formamide a μl (ขึ้นอยู่กับโพรบ)

น้ำ Milli-Q b μl (ขึ้นอยู่กับ Formamide)

10% SDS 2 μl เติมสุดท้ายเพื่อป้องกันการตกตะกอน โดย

หยดลงบนฝาด้านในของหลอด จากนั้นคว่ำ-หงายหลอดให้เข้ากัน ห้ามเขย่าจะทำให้เกิดฟองได้

หมายเหตุ วัสดุทุกอย่างที่สัมผัส Formamide ให้ทิ้งรวมใส่ถุงไว้แยกไปกำจัดด้วยวิธีการเผา

1.4 การเตรียม Washing buffer

เตรียมในหลอดฝาเกลียว ขนาด 50 มิลลิลิตร โดยมีส่วนประกอบ ดังนี้

5 M NaCl	ขึ้นอยู่กับ %Formamide-ดูตารางภาคผนวก ก ที่ 2
1 M Tris-HCl	1 ml
น้ำ Milli-Q	ขึ้นอยู่กับปริมาณ NaCl โดยทำการเติมให้ครบ 50 ml
10% SDS	50 μ l (เติมสุดท้าย)

ตารางภาคผนวก ก ที่ 1 การเตรียม Hybridization buffer

Table (Appendix) A1 Preparation of hybridization buffer

ปริมาณ Formamide (μ l) = a	% Formamide	ปริมาณน้ำ Milli-Q (μ l) = b
0	0	1,598
100	5	1,498
200	10	1,398
300	15	1,298
400	20	1,198
500	25	1,098
600	30	998
700	35	898
800	40	798
900	45	698
1000	50	598

ที่มา : Amann *et al.*, (1995)

ตารางภาคผนวก ก ที่ 2 การเตรียม Washing buffer

Table (Appendix) A2 Preparation of washing buffer

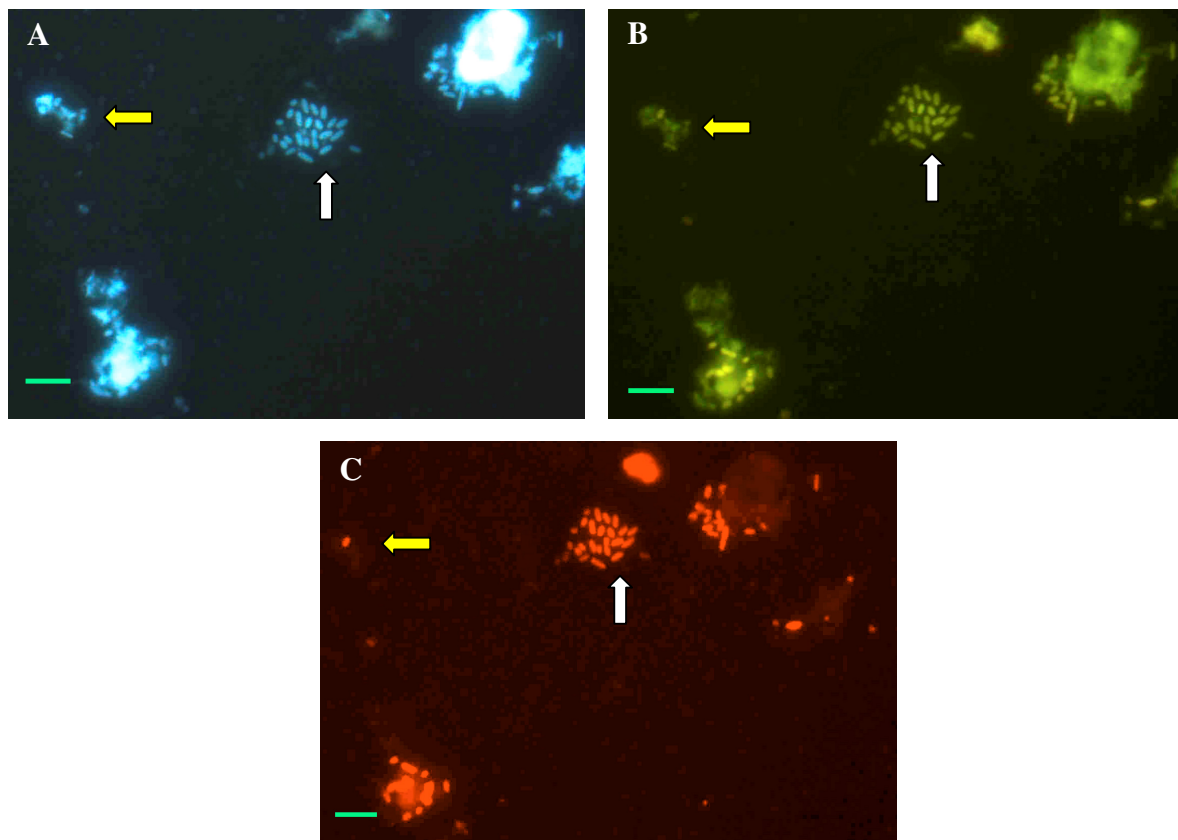
% Formamide	NaCl (M)	c μ l 5 M NaCl	μ l 5 M EDTA
0	0.900	9,000	-
5	0.636	6,360	-
10	0.450	4,500	-
15	0.318	3,180	-
20	0.225	2,250	500
25	0.159	1,590	500
30	0.112	1,120	500
35	0.080	800	500
40	0.056	560	500
45	0.040	400	500
50	0.028	280	500

ที่มา : Amann *et al.*, (1995)

2. วิธีการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์สัดส่วนแบคทีเรียด้วยเทคนิค FISH

จากการศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์สัดส่วนแบคทีเรียที่ต้องการศึกษา โดยการเปรียบเทียบการเรืองแสงของเซลล์แบคทีเรีย จากการตรวจสอบด้วยเทคนิค FISH โดยใช้โพรบในการตรวจสอบพร้อมกัน 2 ชนิด คือ โพรบที่จำเพาะต่อกลุ่มแบคทีเรียที่ต้องการตรวจสอบซึ่งจะทำให้แบคทีเรียในกลุ่มที่ต้องการตรวจสอบเท่านั้นที่สามารถเรืองแสงได้ และโพรบ EUB 338 mix ซึ่งจะทำให้เซลล์แบคทีเรียทุกชนิดเรืองแสง โดยในการทดลองจะเลือกโพรบ EUB 338 mix ซึ่งติดฉลากด้วยสารเรืองแสงที่ให้สีที่ต่างจากโพรบที่จำเพาะต่อกลุ่มแบคทีเรียที่ต้องการตรวจสอบ โดยในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการติดฉลาก โพรบ EUB 338 mix ด้วยสารเรืองแสง 2 ชนิด คือ Rhodamein ซึ่งจะให้สีแดง และ Fluorescein ซึ่งจะเรืองแสงสีเขียว อีกทั้งยังทำการยืนยันการเป็นเซลล์ของสิ่งมีชีวิตของแบคทีเรียที่ทำการตรวจสอบอีกครั้งหนึ่ง ด้วยการย้อมสีเรืองแสง DAPI ซึ่งจะติด DNA ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด โดยทำให้เกิดการเรืองแสงสีฟ้าเมื่อมีการกระตุ้นด้วยรังสี UV ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นอกจากนี้จากการเปรียบเทียบการเรืองแสงของเซลล์จาก โพรบ

EUB338 mixed กับสารย้อมเรืองแสง DAPI ก็จะสามารถอธิบายถึงสัดส่วนของเซลล์แบคทีเรียต่อเซลล์จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆในตัวอย่างได้ ซึ่งตัวอย่างผลการตรวจสอบแสดงในภาพประกอบภาคผนวกที่ 1



ภาพประกอบภาคผนวกที่ ก. 1 ภาพการเรืองแสงของแบคทีเรียที่ทำการศึกษาตรวจสอบด้วยเทคนิค FISH A-C คือภาพของเนื้อเยื่อตับและตับอ่อนของกุ้งขาวที่ติดเชื้อไวรัสทอราซินโดรมที่ถ่ายในพื้นที่เดียวกัน โดย A ย้อมด้วย DAPI, B ตรวจสอบด้วยโพรบ EUB338 mixed, C ตรวจสอบด้วยโพรบ GV ซึ่งเป็นโพรบที่จำเพาะต่อเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. โดย \Rightarrow แสดงแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ซึ่งติดสารเรืองแสง DAPI และ โพรบทั้ง 2 ชนิด, \Rightarrow แสดงกลุ่มแบคทีเรียอื่นๆซึ่งติดเฉพาะสารเรืองแสง DAPI และ โพรบ EUB338 mixed เท่านั้น Bar, 5 μ m

3. การศึกษาองค์ประกอบเลือด

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณ Oxyhemocyanin (ดัดแปลงจาก Chen, *et al.*, 1993)

1. ใช้กระบอกฉีดขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตรเจาะเลือดกึ่งที่โคนขาเดือที่ 3 ให้ได้ประมาณ 10 ไมโครลิตรเจือจางด้วยน้ำกลั่น 990 ไมโครลิตร

2. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงมีความยาวคลื่น 335 นาโนเมตร

การคำนวณค่าปริมาณ Oxyhemocyanin โดย $ELC=Abs.$, $\epsilon=17.26$

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในเลือด (blood glucose) (ดัดแปลงจาก

Wedemeyer, *et al.*, 1977)

1 ใช้กระบอกฉีดขนาด 1 มิลลิลิตร และเข็มฉีดขนาด 24 G ความยาว 12 มิลลิเมตร ที่ไม่บรรจุสารป้องกันเลือดแข็งตัว

2 เจาะเลือดกึ่งที่โคนขาเดือที่ 3 ให้ได้ประมาณ 0.2 มิลลิลิตร ถ่ายในหลอดพลาสติกและทำการวิเคราะห์ทันที โดยเติมเลือด 0.1 มิลลิลิตร ในหลอดพลาสติกที่มีสารละลาย TCA 3 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันที

3 นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,590xg อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที

4 แยกส่วนใส 0.5 มิลลิลิตรเติมในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร ที่มี color reagent 4.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

5 นำไปแช่ในน้ำเดือด 8 นาที ตั้งไว้ให้เย็น

6 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตรเทียบกับสารละลาย Trichloro acetic acid (TCA) 3 เปอร์เซ็นต์ 0.5 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่างที่ใช้เป็นสารละลายมาตรฐาน แล้วคำนวณปริมาณกลูโคสในเลือด โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

3.3 การนับปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมด (total heamocyte count) ตามวิธีการของกิจการ (2538)

สารเคมี

Trypan blue 0.15% : ละลาย Trypan blue 0.15 กรัมในสารละลาย NaCl 2.5% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คนให้ละลายโดยใช้ magnetic stirrer นาน 6-12 ชั่วโมง แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

วิธีการ

ใช้กระบอกฉีดขนาด 1 มิลลิลิตร ที่มีหัวเข็มขนาด 25 G ฉีดเลือดบริเวณโคนขาเดือที่ 3 ของกึ่งปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรแล้วผสมกับสารละลาย 0.15% Trypan blue ปริมาณ 900 มิลลิลิตรในหลอดพลาสติกขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการนับปริมาณเม็ดเลือดโดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemocytometer) โดยการนับจำนวนเม็ดเลือดผ่านกล้องจุลทรรศน์ แล้วคำนวณเป็นปริมาตรเม็ดเลือดต่อลิตร

$$\begin{aligned}\text{ปริมาตรของฮีมาไซโตมิเตอร์} &= \text{กว้าง} \times \text{ยาว} \times \text{สูง} \\ &= 1 \times 1 \times 0.1 \text{ mm} \\ &= 0.1 \text{ mm}^3\end{aligned}$$

$$\text{จำนวนเม็ดเลือด/ลูกบาศก์มิลลิลิตร} = \text{เซลล์เม็ดเลือดที่นับได้}$$

$$\text{จำนวนเม็ดเลือด/มิลลิลิตร} = \text{เซลล์เม็ดเลือดที่นับได้} \times 10^4$$

ภาคผนวก ข

ตารางข้อมูลจากการทดลอง

1. ข้อมูลโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในทางเดินอาหารของกึ่งชาวสุภาพปกติในปอดินที่ทำการศึกษาด้วยเทคนิค FISH

1.1 ตารางข้อมูลโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในตับและตับอ่อนของกึ่งชาวปกติในปอดินที่ทำการศึกษาด้วยเทคนิค FISH

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1 สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในตับและตับอ่อนของกึ่งชาวปกติที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ EUB338 mix⁽¹⁾

Population	Stain/probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
α -Proteobacteria group	ALF1B	1.30 \pm 1.14 ⁵	1.25 \pm 1.27 ⁵	1.39 \pm 0.54 ³	1.31 \pm 0.90 ⁵
β -Proteobacteria group	BET42a	29.88 \pm 5.84 ¹	27.96 \pm 4.09 ^{1,2}	28.74 \pm 6.23 ¹	28.86 \pm 4.81 ¹
γ -Proteobacteria group	GAM42a	26.36 \pm 5.56 ^{1,2}	29.77 \pm 10.81 ¹	22.40 \pm 0.91 ¹	26.18 \pm 6.88 ¹
LGC group	LGC354mix	20.28 \pm 6.39 ^{2,3}	18.53 \pm 3.81 ^{2,3}	26.11 \pm 2.10 ¹	21.64 \pm 5.17 ²
HGC group	HGC69a	2.41 \pm 0.88 ⁵	2.11 \pm 0.27 ⁵	2.11 \pm 0.89 ³	2.22 \pm 0.66 ⁵
CFB group	CFB560	6.86 \pm 1.23 ^{4,5}	6.98 \pm 1.67 ^{4,5}	6.47 \pm 1.65 ^{2,3}	6.77 \pm 1.35 ⁴
Other bacteria groups		12.91 \pm 4.95 ^{3,4}	13.37 \pm 10.21 ^{3,4}	12.76 \pm 8.67 ³	13.01 \pm 7.14 ³

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลขเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากตับและตับอ่อนของกุ้งขาว
ปกติที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ GAM42a⁽¹⁾

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Vibrio</i> spp.	G V	0.39±0.68 ³	1.09±1.88 ³	1.08±1.88 ³	0.86±1.42 ³
<i>Pseudomonas</i> spp.	Pseumonas	16.79±6.13 ²	10.46±0.70 ²	8.92±2.65 ²	15.39±5.81 ²
Other bacteria groups		82.81±6.01 ¹	88.45±4.68 ¹	80.00±1.92 ¹	83.75±0.42 ¹

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลข
เหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากตับและตับอ่อนของกุ้งขาวปกติที่ทำการ
วิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ LGC mix⁽¹⁾

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Bacillus</i> spp.	LGC354B	43.88±4.87 ¹	41.97±3.08 ¹	47.47±4.14 ¹	44.44±4.29 ¹
<i>Lactobacillus</i> spp.	LAB158	15.94±5.15 ^{2,3}	17.48±7.03 ^{2,3}	24.3±1.31 ²	19.26±5.87 ²
<i>Streptococcus</i> spp.	LGC354C	6.61±6.01 ³	4.22±3.83 ⁴	6.35±0.55 ⁴	5.73±3.75 ³
<i>Enterococcus</i> spp.	Enc131	7.24±0.28 ³	9.74±3.61 ^{3,4}	13.79±1.29 ³	10.26±3.45 ³
Other bacteria groups		26.34±15.00 ²	26.59±8.89 ²	8.03±2.14 ⁴	20.31±12.73 ²

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลข
เหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

1.2 ตารางข้อมูลโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในลำไส้ส่วนต้นของกุ้งขาวปกติในบ่อ ดินที่ทำการศึกษาด้วยเทคนิค FISH

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4 สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ส่วนต้นของกุ้งขาวปกติที่ทำการ
วิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ EUB338 mix⁽¹⁾

Population	Stain/probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
α -Proteobacteria group	ALF1B	3.00±0.48 ⁴	2.92±0.76 ³	3.19±0.51 ⁴	3.04±0.53 ⁴
β -Proteobacteria group	BET42a	7.55±1.56 ⁴	7.16±0.57 ³	7.14±1.94 ^{2,3,4}	7.28±1.29 ⁴
γ -Proteobacteria group	GAM42a	28.77±2.57 ²	28.39±2.70 ¹	20.53±4.11 ²	25.90±4.89 ²
LGC group	LGC354mix	34.77±1.34 ¹	34.5±3.56 ¹	39.93±2.69 ¹	36.40±3.52 ¹
HGC group	HGC69a	4.40±3.05 ⁴	2.19±0.51 ³	2.52±0.36 ⁴	3.04±1.87 ⁴
CFB group	CFB560	5.53±0.81 ⁴	5.01±0.28 ³	4.80±0.66 ^{3,4}	5.11±0.63 ⁴
Other bacteria groups		17.98±1.97 ³	19.74±5.04 ²	18.57±12.61 ^{2,3}	18.76±6.90 ³

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลข
เหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 5 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากลำไส้ส่วนต้นของกุ้งขาว
ปกติที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ GAM42a⁽¹⁾

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Vibrio</i> spp.	G V	47.41±15.76 ¹	49.15±8.56 ¹	47.08±11.04 ¹	47.88±10.52 ¹
<i>Pseudomonas</i> spp.	Pseumonas	2.56±2.71 ²	4.32±3.78 ²	5.81±5.06 ²	4.23±3.71 ²
Other bacteria groups		50.03±17.03 ¹	46.53±4.96 ¹	47.11±15.92 ¹	47.89±12.03 ¹

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลข
เหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 6 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC group จากลำไส้ส่วนต้นของกุ้งขาวปกติที่
ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ LGC mix⁽¹⁾

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Bacillus</i> spp.	LGC354B	42.15±2.34 ¹	40.53±8.98 ¹	43.32±1.90 ¹	42.00±4.89 ¹
<i>Lactobacillus</i> spp.	LAB158	22.44±2.68 ²	19.52±2.65 ²	25.87±2.53 ²	22.61±3.57 ²
<i>Streptococcus</i> spp.	LGC354C	6.64±1.34 ⁴	5.88±0.94 ²	7.88±0.47 ⁴	6.80±1.22 ⁴
<i>Enterococcus</i> spp.	Enc131	14.00±2.04 ³	13.31±0.33 ²	16.12±0.84 ³	14.48±1.69 ³
Other bacteria groups		14.76±1.25 ³	20.75±11.46 ²	6.80±2.02 ⁴	14.10±8.42 ³

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลข
เหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

1.3 ตารางข้อมูลโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวสุขภาพปกติในบ่อดินที่ทำการศึกษาด้วยเทคนิค FISH

ตารางภาคผนวก ข ที่ 7 สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวปกติที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ EUB338 mix⁽¹⁾

Population	Stain/probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
α -Proteobacteria group	ALF1B	3.17 ± 1.00^3	$3.43 \pm 0.65^{2,3}$	$3.15 \pm 0.67^{3,4}$	$3.25 \pm 0.70^{4,5}$
β -Proteobacteria group	BET42a	$4.46 \pm 0.41^{2,3}$	$4.76 \pm 0.67^{2,3}$	$4.68 \pm 0.64^{3,4}$	$4.63 \pm 0.52^{3,4}$
γ -Proteobacteria group	GAM42a	27.92 ± 1.33^1	26.65 ± 3.30^1	21.96 ± 1.58^2	25.51 ± 3.34^2
LGC group	LGC354mix	26.56 ± 2.83^1	28.84 ± 2.79^1	35.53 ± 2.05^1	30.34 ± 4.66^1
HGC group	HGC69a	0.97 ± 0.84^3	1.64 ± 0.27^3	0.56 ± 0.52^4	1.06 ± 0.70^5
CFB group	CFB560	7.75 ± 1.15^2	7.11 ± 1.33^2	7.84 ± 1.11^3	7.57 ± 1.10^3
Other bacteria groups		29.18 ± 0.94^1	27.58 ± 1.36^1	26.23 ± 3.74^2	$27.66 \pm 2.41^{1,2}$

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลขเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 8 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวปกติที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบGAM42a⁽¹⁾

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Vibrio</i> spp.	G V	65.38±5.96 ¹	65.04±12.84 ¹	60.38±2.77 ¹	63.60±7.01 ¹
<i>Pseudomonas</i> spp.	Pseumonas	9.17±3.12 ³	10.16±2.43 ²	10.28±10.44 ²	9.87±5.61 ³
Other bacteria groups		25.45±8.01 ²	40.28±39.90 ²	29.34±8.57 ²	31.69±12.84 ²

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลขเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 9 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC group จากลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวปกติที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบLGC mix⁽¹⁾

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Bacillus</i> spp.	LGC354B	62.70±9.20 ¹	59.83±12.40 ¹	66.20±5.05 ¹	62.91±8.58 ¹
<i>Lactobacillus</i> spp.	LAB158	7.51±1.13 ²	7.05±0.61 ²	7.06±0.94 ²	7.21±0.83 ²
<i>Streptococcus</i> spp.	LGC354C	12.28±2.95 ²	11.17±4.05 ²	9.09±2.37 ²	10.83±3.10 ²
<i>Enterococcus</i> spp.	Enc131	2.35±2.67 ²	2.27±2.20 ²	4.30±0.57 ²	2.98±2.02 ²
Other bacteria groups		15.15±10.18 ²	19.74±14.90 ²	13.35±7.98 ²	16.08±10.27 ²

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลขเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

2. ข้อมูลโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในทางเดินอาหารของกุ้งขาวที่ติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดินที่ทำการศึกษาด้วยเทคนิค FISH

2.1 ตารางข้อมูลโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในตับและตับอ่อนของกุ้งขาวที่ติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดินที่ทำการศึกษาด้วยเทคนิค FISH

ตารางภาคผนวก ข ที่ 10 สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในในตับและตับอ่อนของกุ้งขาวติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ EUB338 mix⁽¹⁾

Population	Stain/probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
α -Proteobacteria group	ALF1B	0.46 \pm 0.80 ²	1.44 \pm 1.81 ³	5.12 \pm 2.30 ²	2.34 \pm 2.61 ³
β -Proteobacteria group	BET42a	1.06 \pm 1.83 ²	0.68 \pm 0.62 ³	3.78 \pm 3.32 ²	1.84 \pm 2.42 ³
γ -Proteobacteria group	GAM42a	80.03 \pm 12.36 ¹	79.24 \pm 6.06 ¹	61.02 \pm 9.30 ¹	73.52 \pm 12.53 ¹
LGC group	LGC354mix	7.43 \pm 2.21 ²	9.94 \pm 1.54 ²	7.74 \pm 2.59 ²	8.37 \pm 2.21 ²
HGC group	HGC69a	1.27 \pm 2.21 ²	3.52 \pm 1.13 ³	3.23 \pm 2.51 ²	2.67 \pm 2.06 ³
CFB group	CFB560	3.91 \pm 3.44 ²	0.70 \pm 1.21 ³	7.90 \pm 2.39 ²	4.17 \pm 3.81 ^{2,3}
Other bacteria groups		5.57 \pm 4.30 ²	4.49 \pm 3.78 ³	11.20 \pm 2.73 ²	7.09 \pm 4.46 ^{2,3}

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลขเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 11 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากในตับและตับและตับอ่อนของกุ้งขาวติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ GAM42a⁽¹⁾

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Vibrio</i> spp.	G V	86.79±2.23 ¹	86.14±5.69 ¹	85.85±5.33 ¹	86.26±4.07 ¹
<i>Pseudomonas</i> spp.	Pseumonas	2.43±2.31 ³	5.09±1.64 ²	4.57±2.93 ²	4.04±2.37 ³
Other bacteria groups		10.75±0.08 ²	8.77±5.84 ²	9.58±6.57 ²	9.70±4.48 ²

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลขเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 12 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากในตับและตับและตับอ่อนของกุ้งขาวติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ LGC mix⁽¹⁾

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Bacillus</i> spp.	LGC354B	51.22±5.44 ¹	39.92±8.72 ¹	52.34±11.96 ¹	49.83±9.89 ¹
<i>Lactobacillus</i> spp.	LAB158	16.70±9.52 ²	12.75±11.84 ²	23.23±6.10 ²	17.56±4.42 ²
<i>Streptococcus</i> spp.	LGC354C	15.91±6.17 ²	16.37±5.57 ²	13.18±0.25 ^{2,3}	15.16±4.42 ²
<i>Enterococcus</i> spp.	Enc131	3.66±6.35 ²	9.19±1.45 ²	1.29±2.24 ³	4.72±4.92 ³
Other bacteria groups		12.50±14.47 ²	21.77±3.00 ²	9.96±6.47 ³	14.74±9.70 ²

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวเลขเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

2.2 ตารางข้อมูลโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในลำไส้ส่วนต้นของกุ้งขาวที่ติดเชื้อไวรัส ร็อตทราในปอดินที่ทำการศึกษาด้วยเทคนิค FISH

ตารางภาคผนวก ข ที่ 13 สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในในลำไส้ส่วนต้นของกุ้งขาวติดเชื้อไวรัส
ร็อตทราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบEUB338 mix⁽¹⁾

Population	Stain/probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
α -Proteobacteria group	ALF1B	2.55±0.97 ³	1.95±0.31 ³	2.17±0.38 ^{3,4}	2.22±0.60 ⁴
β -Proteobacteria group	BET42a	3.13±0.51 ³	3.32±0.78 ³	3.18±0.80 ^{3,4}	3.21±0.62 ⁴
γ -Proteobacteria group	GAM42a	49.06±4.28 ¹	48.28±2.24 ¹	56.68±3.17 ¹	51.34±4.95 ¹
LGC group	LGC354mix	23.71±4.06 ²	24.31±3.60 ²	22.66±5.34 ²	23.56±3.88 ²
HGC group	HGC69a	1.08±1.02 ³	0.11±0.20 ³	1.28±0.36 ⁴	0.82±0.77 ⁴
CFB group	CFB560	2.39±0.74 ³	2.43±0.68 ³	2.40±0.28 ^{3,4}	2.41±0.52 ⁴
Other bacteria groups		18.90±3.48 ²	19.44±4.71 ²	12.38±8.38 ^{2,3}	15.35±8.12 ³

⁽¹⁾ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัว
อักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 14 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากในลำไส้ส่วนต้นของกุ้ง
ขาวติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ GAM42a¹

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Vibrio</i> spp.	G V	82.79±11.11 ¹	89.09±4.35 ¹	73.39±8.48 ¹	81.76±10.01 ¹
<i>Pseudomonas</i> spp.	Pseumonas	5.81±1.51 ²	6.50±2.00 ²	5.76±1.97 ²	6.02±1.64 ²
Other bacteria groups		11.40±11.74 ²	4.41±3.87 ²	20.84±8.78 ²	12.21±10.41 ²

¹ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษร
เหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 15 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC จากในลำไส้ส่วนต้นของกุ้งขาวติดเชื้อไว
รัส ทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ LGC mix¹

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Bacillus</i> spp.	LGC354B	63.37±19.81 ¹	54.38±11.06 ¹	51.17±7.03 ¹	56.31±13.08 ¹
<i>Lactobacillus</i> spp.	LAB158	11.79±3.93 ²	13.66±6.72 ^{2,3}	18.04±7.83 ^{2,3}	14.50±6.18 ^{2,3}
<i>Streptococcus</i> spp.	LGC354C	1.92±2.04 ²	0.29±0.50 ³	1.13±1.08 ³	1.11±1.37 ⁴
<i>Enterococcus</i> spp.	Enc131	4.23±4.09 ²	0.44±0.76 ³	5.71±1.59 ^{2,3}	3.46±1.59 ^{3,4}
Other bacteria groups		18.69±17.89 ²	31.24±16.45 ^{1,2}	23.95±14.51 ²	24.62±15.17 ²

¹ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษร
เหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

2.3 ตารางข้อมูลโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวที่ติดเชื้อไวรัสทอราในบ่อดินที่ทำการศึกษด้วยเทคนิค FISH

ตารางภาคผนวก ข ที่ 16 สัดส่วนของกลุ่มแบคทีเรียในในลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับโพรบ EUB338 mix¹

Population	Stain/probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
α -Proteobacteria group	ALF1B	2.46±1.03 ⁴	2.64±0.17 ⁴	3.04±1.98 ³	2.71±1.15 ^{4,5}
β -Proteobacteria group	BET42a	5.80±1.42 ⁴	5.79±1.11 ⁴	3.96±2.18 ³	5.18±1.69 ^{4,5}
γ -Proteobacteria group	GAM42a	46.2±5.32 ¹	45.07±5.44 ¹	47.86±6.94 ¹	46.38±5.29 ¹
LGC group	LGC354mix	12.36±2.95 ³	14.35±2.71 ³	13.71±2.80 ^{2,3}	13.47±2.60 ³
HGC group	HGC69a	1.39±1.79 ⁴	1.07±0.56 ⁴	1.40±0.74 ³	1.28±1.02 ⁵
CFB group	CFB560	8.88±1.86 ^{3,4}	8.48±1.17 ^{3,4}	6.55±1.47 ³	7.97±1.70 ⁴
Other bacteria groups		22.92±1.76 ²	22.60±7.76 ²	23.47±7.94 ²	23.00±5.63 ²

¹ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 17 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม γ -proteobacteria จากในลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ GAM42a¹

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Vibrio</i> spp.	G V	78.40±11.22 ¹	82.04±10.04 ¹	47.77±12.51 ¹	78.40±10.28 ¹
<i>Pseudomonas</i> spp.	Pseumonas	7.94±2.13 ²	7.52±2.18 ²	7.17±2.86 ²	7.54±2.12 ²
Other bacteria groups		13.66±11.30 ²	10.43±7.86 ²	18.06±15.38 ²	14.05±10.84 ²

¹ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 18 สัดส่วนแบคทีเรียในกลุ่ม LGC group จากในลำไส้ส่วนปลายของกุ้งขาวติดเชื้อไวรัสทอราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FISH โดยการเปรียบเทียบกับ โพรบ LGC mix¹

Population	probe	mean of percentages			
		Eastern coast	Songkhla lake	Western coast	Average
<i>Bacillus</i> spp.	LGC354B	55.24±15.32 ¹	54.98±4.14 ¹	54.50±5.01 ¹	54.91±9.71 ¹
<i>Lactobacillus</i> spp.	LAB158	12.29±6.93 ²	4.25±4.08 ²	7.21±6.88 ³	7.92±6.36 ³
<i>Streptococcus</i> spp.	LGC354C	3.13±4.14 ²	2.72±2.65 ²	3.42±2.06 ³	3.09±2.68 ³
<i>Enterococcus</i> spp.	Enc131	4.06±4.11 ²	3.31±4.52 ²	1.11±1.92 ³	2.83±3.47 ³
Other bacteria groups		25.28±12.87 ²	34.73±13.70 ¹	33.76±11.69 ²	31.26±11.95 ²

¹ ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

ข้อมูลโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในทางเดินอาหารกุ้งในห้องปฏิบัติการที่ทำการศึกษาด้วยเทคนิค

FISH

Population/ treatment	Mean of major group composition percentages in hepatopancrease						
	γ -Proteobac	β -Proteobac	α -Proteobac	LGC	HGC	CFB	Unident
T1	21.04±3.02	33.20±3.39	1.55±0.77	23.20±3.99	1.33±0.88	5.84±1.78	13.84±6.68
T2	20.23±3.02	35.08±4.06	1.49±0.68	24.55±2.59	1.04±0.60	5.21±2.04	12.40±4.25
T3	22.46±2.50	34.24±3.40	1.32±0.35	23.02±3.37	1.08±0.31	4.71±1.42	13.17±3.48
T4	18.53±2.07	30.71±3.36	1.16±0.40	31.87±2.77	1.89±0.39	4.45±1.23	11.39±3.24
T5	22.83±3.38	32.40±4.02	1.83±0.80	23.16±3.57	2.42±0.76	5.20±1.70	12.16±3.28
T6	18.51±2.16	30.22±3.40	2.28±0.48	30.85±2.12	1.84±0.37	4.13±1.37	12.18±3.08

Population/ treatment	Mean of γ -Proteobacteria group composition percentages in hepatopancrease		
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	Unidentify group
T1	1.09±1.21	9.16±2.22	89.75±1.76
T2	0.99±1.38	8.26±3.43	90.7±3.80
T3	1.37±2.16	5.96±3.07	92.68±4.60
T4	1.31±1.73	6.13±4.13	92.56±4.18
T5	1.14±1.82	5.15±1.35	93.71±2.16
T6	0.49±1.03	6.36±0.79	93.15±1.13

Population/ treatment	Mean of LGC group composition percentages in hepatopancrease				
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	Unidentify group
T1	51.37±9.45	6.34±2.56	20.27±5.16	4.57±1.67	17.44±10.11
T2	55.14±7.70	7.22±2.34	16.98±3.59	4.78±3.87	15.98±3.01
T3	52.75±8.81	6.09±1.77	16.54±4.81	5.35±2.30	19.28±7.21
T4	34.88±6.57	2.77±0.92	47.19±8.70	3.49±1.09	11.67±2.69
T5	43.94±6.92	3.78±0.81	21.11±5.79	5.14±2.98	26.03±7.18
T6	29.32±3.93	3.68±0.94	50.72±6.01	3.75±1.24	12.54±4.19

ตารางภาคผนวก ข ที่ 19 แสดงโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในตับและตับอ่อนกุ้งก่อนฉีดเชื้อ

Population/ treatment	Mean of major group composition percentages in hepatopancrease						
	γ -Proteobac	β -Proteobac	α -Proteobac	LGC	HGC	CFB	Unident
T1	22.07±2.73	31.20±4.23	1.92±0.40	22.54±4.19	1.75±0.40	4.64±1.08	15.88±5.93
T2	23.72±3.17	30.09±4.82	1.48±0.37	20.71±3.06	1.57±0.35	5.99±4.82	16.41±5.93
T3	30.31±4.74	26.27±4.67	1.64±0.41	20.85±2.80	1.47±0.64	3.55±1.02	16.07±6.63
T4	17.99±3.45	28.88±6.39	2.11±0.89	32.64±5.95	1.28±0.38	4.81±1.20	12.28±4.91
T5	24.20±3.71	31.33±5.65	1.44±0.30	23.09±5.08	1.22±0.32	6.48±1.88	12.23±5.97
T6	19.04±2.95	37.11±4.83	0.89±0.54	33.17±3.98	1.35±0.62	3.58±1.51	10.85±4.10

Population/ treatment	Mean of γ -Proteobacteria group composition percentages in hepatopancrease		
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	Unidentify group
T1	1.01±1.37	6.59±2.35	92.39±2.31
T2	18.96±12.05	9.76±3.10	71.27±13.83
T3	36.92±14.79	5.36±1.35	57.71±15.12
T4	12.11±8.04	10.14±4.31	77.75±10.84
T5	12.40±4.78	5.30±1.98	82.10±5.34
T6	1.83±2.17	6.32±2.50	91.85±2.76

Population/ treatment	Mean of LGC group composition percentages in hepatopancrease				
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	Unidentify group
T1	46.15±6.46	6.04±2.69	21.40±8.84	3.95±0.90	22.46±7.21
T2	53.16±8.05	5.65±1.49	16.06±6.79	7.20±3.21	17.93±9.24
T3	52.18±7.27	4.93±1.19	12.43±3.00	5.04±1.37	25.42±8.21
T4	24.28±5.37	2.62±1.70	50.74±6.94	3.14±1.30	19.21±5.20
T5	50.18±7.81	5.04±2.78	16.89±7.58	5.93±3.19	21.95±8.01
T6	28.15±7.11	3.36±2.43	43.60±7.80	4.97±4.43	16.92±8.66

ตารางภาคผนวก ข ที่ 20 โครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในตับและตับอ่อนกุ้งหลังฉีดเชื้อ 1 วัน

Population/ treatment	Mean of major group composition percentages in hepatopancrease						
	γ -Proteobac	β -Proteobac	α -Proteobac	LGC	HGC	CFB	Unident
T1	24.98±4.61	33.34±2.99	1.08±0.36	22.85±4.23	1.11±0.36	4.10±1.71	12.54±5.68
T2	44.32±4.56	21.90±5.90	0.98±0.39	13.44±2.97	1.00±0.47	9.84±2.57	8.51±3.44
T3	52.27±5.62	9.65±3.83	1.50±0.62	8.93±2.20	0.69±0.55	9.65±3.83	11.81±3.81
T4	24.30±4.83	27.58±5.19	0.54±0.0	30.69±4.55	1.29±0.60	5.53±2.88	10.07±4.15
T5	49.33±5.24	12.81±2.11	1.04±0.44	9.64±3.31	0.90±0.52	13.79±2.31	12.49±6.22
T6	22.17±3.39	30.22±4.18	0.96±0.28	30.79±4.45	1.04±0.38	4.94±2.27	9.86±3.46

Population/ treatment	Mean of γ -Proteobacteria group composition percentages in hepatopancrease		
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	Unidentify group
T1	255±3.19	9.16±2.41	88.30±4.87
T2	50.53±8.66	7.16±1.43	42.30±8.49
T3	60.69±9.10	6.12±2.34	33.18±9.99
T4	10.95±4.87	6.59±1.49	82.46±5.13
T5	50.32±2.53	10.56±2.34	39.13±3.88
T6	11.61±3.96	12.71±3.18	75.68±5.64

Population/ treatment	Mean of LGC group composition percentages in hepatopancrease				
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	Unidentify group
T1	45.89±9.46	5.64±2.41	27.15±6.16	4.10±1.55	11.22±8.68
T2	49.42±8.88	7.70±3.35	20.73±6.60	7.73±2.02	14.41±9.41
T3	45.29±7.39	8.08±5.40	21.92±6.46	5.21±2.79	19.49±8.01
T4	17.71±5.08	4.45±1.13	32.80±3.74	7.99±2.49	37.05±8.09
T5	46.25±8.51	4.56±3.62	25.81±7.28	4.29±4.50	19.09±12.75
T6	14.91±2.38	4.66±1.91	25.83±4.96	11.46±4.76	23.15±8.60

ตารางภาคผนวก ข ที่ 21 โครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในตับและตับอ่อนกุ้งหลังฉีดเชื้อ 3 วัน

Population/ treatment	Mean of major group composition percentages in hepatopancrease						
	γ -Proteobac	β -Proteobac	α -Proteobac	LGC	HGC	CFB	Unident
T1	22.20±6.02	29.21±5.17	1.00±0.21	21.92±4.94	1.94±0.61	11.39±2.13	12.33±4.48
T2	56.18±8.68	10.83±2.28	1.22±0.37	12.67±4.58	1.41±0.53	5.99±1.78	11.70±4.42
T3	7.10±9.09	2.54±1.46	1.07±0.64	5.59±2.20	0.27±0.35	5.65±5.13	4.78±2.21
T4	34.05±10.37	19.41±7.00	2.00±1.56	3.41±6.05	1.04±0.97	7.46±3.49	12.61±6.66
T5	75.08±8.29	1.41±0.54	0.09±0.18	6.19±2.87	1.01±0.56	4.06±0.54	12.15±4.22
T6	32.44±5.18	14.95±3.14	1.28±0.48	24.07±4.81	0.61±0.55	10.17±4.3	16.48±8.52

Population/ treatment	Mean of γ -Proteobacteria group composition percentages in hepatopancrease		
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	Unidentify group
T1	18.39±9.44	6.52±2.48	75.08±10.61
T2	92.35±2.42	1.47±1.49	6.18±1.86
T3	94.18±4.15	0.84±1.45	4.98±3.41
T4	46.07±5.06	4.20±2.05	49.72±5.44
T5	91.51±3.67	3.03±2.12	5.46±2.78
T6	38.33±7.71	5.80±2.05	55.87±6.92

Population/ treatment	Mean of LGC group composition percentages in hepatopancrease				
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	Unidentify group
T1	47.37±12.52	5.47±1.25	17.86±5.47	4.11±1.27	29.15±10.54
T2	45.99±6.41	7.47±5.51	17.25±6.93	1.64±4.37	27.65±6.29
T3	39.78±6.92	5.28±9.79	24.08±10.35	4.77±9.06	26.09±11.96
T4	40.23±6.96	5.57±5.67	24.95±7.10	6.64±2.27	22.60±9.03
T5	35.86±10.74	7.02±11.44	19.45±8.74	4.90±8.74	32.77±14.29
T6	34.40±14.45	7.18±6.01	28.70±9.66	4.44±1.84	25.27±6.68

ตารางภาคผนวก ข ที่ 22 โครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในตับและตับอ่อนกุ้งหลังฉีดเชื้อ 5 วัน

Population/ treatment	Mean of major group composition percentages in hepatopancrease						
	γ -Proteobac	β -Proteobac	α -Proteobac	LGC	HGC	CFB	Unident
T1	20.19±7.38	2.39±1.14	6.17±3.47	32.04±4.35	2.26±1.26	9.32±3.41	27.63±6.27
T2	24.23±5.44	3.14±0.93	5.58±2.46	35.25±6.72	1.72±1.02	8.74±2.25	21.34±5.92
T3	21.46±6.32	3.76±1.56	7.49±3.29	36.11±9.21	1.09±1.14	10.23±4.43	19.86±10.13
T4	14.78±4.92	1.92±0.78	3.44±2.13	60.33±4.61	2.42±1.52	4.82±3.83	12.29±3.21
T5	25.11±5.27	3.78±1.35	4.61±1.92	32.35±5.52	1.21±0.97	7.21±3.02	25.73±7.74
T6	17.63±6.75	1.23±1.44	3.84±2.42	56.66±5.30	3.22±2.13	3.62±4.78	12.9±4.36

Population/ treatment	Mean of γ -Proteobacteria group composition percentages in intestine		
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	Unidentify group
T1	43.23±7.32	6.32±1.58	50.45±4.28
T2	40.551±6.53	7.17±1.76	52.32±3.79
T3	45.63±5.71	5.21±0.92	49.16±4.46
T4	32.21±3.21	6.49±1.55	61.30±4.32
T5	43.47±6.62	8.23±2.01	48.30±3.51
T6	34.59±4.11	7.49±1.23	57.92±3.12

Population/ treatment	Mean of LGC group composition percentages in intestine				
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	Unidentify group
T1	53.29±5.23	8.21±2.12	15.34±4.71	7.33±2.57	15.83±5.26
T2	50.61±6.15	9.65±1.49	17.62±4.25	9.17±2.23	12.95±3.13
T3	56.53±4.42	8.43±.98	13.54±3.79	8.61±2.54	12.89±2.45
T4	35.44±6.27	4.15±1.53	37.36±6.79	5.94±2.72	17.11±5.73
T5	59.72±5.76	8.64±2.11	16.39±4.12	7.72±3.25	7.53±4.21
T6	32.28±5.81	3.52±1.04	40.21±5.53	3.16±2.59	20.83±7.93

ตารางภาคผนวก ข ที่ 23 แสดงโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียลำไส้กึ่งก่อนนิคเชื้อ

Population/ treatment	Mean of major group composition percentages in intestine						
	γ -Proteobac	β -Proteobac	α -Proteobac	LGC	HGC	CFB	Unidentify group
T1	23.29±5.12	2.43±1.23	2.92±1.23	31.78±5.42	2.54±0.92	8.22±3.62	28.82±5.53
T2	27.14±4.42	1.79±0.72	4.78±1.56	34.25±6.31	3.12±1.23	7.95±2.95	20.97±3.62
T3	29.52±5.56	2.16±1.13	6.13±2.43	30.11±9.95	2.96±0.78	9.23±5.71	19.89±4.45
T4	13.54±5.32	1.47±0.59	4.14±1.39	63.2±7.24	2.14±1.11	3.26±2.28	12.20±4.51
T5	26.38±5.73	2.29±0.82	5.28±1.87	33.63±8.62	2.62±0.76	8.61±5.26	21.19±5.70
T6	15.17±4.18	1.53±0.97	3.91±1.68	61.77±5.91	3.29±1.35	3.79±2.41	10.54±3.26

Population/ treatment	Mean of γ -Proteobacteria group composition percentages in intestine		
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	Unidentify group
T1	41.23±9.53	8.26±1.23	50.51±4.23
T2	43.56±6.22	9.53±1.76	46.91±3.25
T3	47.11±7.61	7.64±2.02	45.25±3.74
T4	30.23±8.82	8.81±1.54	60.96±4.55
T5	45.26±6.59	7.34±1.7	47.40±3.12
T6	31.19±5.40	9.92±1.63	58.89±4.43

Population/ treatment	Mean of LGC group composition percentages in intestine				
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	Unidentify group
T1	55.46±6.23	7.81±1.01	18.21±3.70	9.54±2.17	8.98±3.23
T2	53.38±5.41	8.53±1.23	15.53±4.21	9.11±1.96	13.45±2.41
T3	54.17±4.67	8.12±1.42	16.47±3.5	8.72±2.53	12.52±3.12
T4	31.23±4.01	3.55±.78	42.03±6.21	4.16±0.79	19.03±3.46
T5	59.48±5.96	7.23±1.72	14.76±4.13	9.32±2.10	9.21±1.17
T6	33.77±3.21	3.92±0.54	44.12±5.45	2.23±1.03	15.96±2.26

ตารางภาคผนวก ข ที่ 24 แสดงโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในลำไส้กึ่งหลังฉีด

Population/ treatment	Mean of major group composition percentages in intestine						
	γ -Proteobac	β -Proteobac	α -Proteobac	LGC	HGC	CFB	Unident
T1	24.64±6.95	5.15±0.76	8.26±2.25	34.18±5.61	1.86±1.42	8.53±2.53	17.38±3.24
T2	45.37±4.21	1.96±0.54	4.88±1.62	24.63±4.24	1.81±1.10	4.18±3.22	17.17±3.56
T3	54.21±3.79	3.21±0.83	3.19±2.03	19.51±3.62	2.32±0.73	3.44±2.17	14.12±2.53
T4	19.52±2.20	6.29±1.04	3.32±1.05	47.23±5.76	2.91±1.46	5.54±1.76	15.19±2.12
T5	51.74±3.86	2.14±0.78	4.12±2.02	23.75±4.47	1.24±0.83	3.58±2.94	13.43±2.47
T6	17.26±2.14	5.53±1.13	4.78±1.04	45.16±4.13	2.62±1.26	7.33±2.21	17.32±3.05

Population/ treatment	Mean of γ -Proteobacteria group composition percentages in intestine		
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	Unidentify group
T1	47.23±6.23	8.53±1.35	44.24±.42
T2	65.44±5.24	5.21±0.76	29.35±3.14
T3	72.59±4.78	3.78±0.42	23.63±2.26
T4	40.12±5.54	9.59±1.55	50.29±4.73
T5	68.38±4.21	4.62±0.47	27.00±3.21
T6	43.66±4.47	8.23±1.26	48.11±4.52

Population/ treatment	Mean of LGC group composition percentages in intestine				
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	Unidentify group
T1	49.18±4.23	6.67±4.76	15.57±3.62	4.23±1.64	24.35±3.15
T2	50.14±4.76	4.57±1.86	18.23±4.21	3.57±0.93	23.49±4.21
T3	58.23±5.12	2.12±1.10	16.14±3.14	3.11±1.23	20.4±3.07
T4	40.66±4.01	8.23±3.52	28.29±5.36	8.21±2.01	14.61±2.14
T5	53.23±4.78	3.16±1.03	15.83±3.48	4.32±0.76	23.46±3.28
T6	37.58±3.25	7.15±3.77	30.32±4.43	8.84±1.75	16.11±2.49

ตารางภาคผนวก ข ที่ 25 แสดงโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในลำไส้กุ้งหลังฉีด

Population/ treatment	Mean of major group composition percentages in intestine						
	γ -Proteobac	β -Proteobac	α -Proteobac	LGC	HGC	CFB	Unident
T1	22.35±4.13	4.26±1.93	7.32±1.45	31.78±3.22	2.20±0.93	6.14±1.23	25.95±4.62
T2	51.58±7.21	1.43±0.72	2.94±1.04	20.31±5.41	0.78±0.62	3.72±1.56	19.24±3.23
T3	62.74±5.43	0.92±1.05	1.14±0.96	14.85±3.54	1.26±0.76	4.19±1.02	14.9±1.62
T4	27.52±3.62	5.38±1.78	4.74±0.72	39.73±3.16	1.87±1.13	5.54±1.37	15.22±3.56
T5	63.49±7.18	0.86±1.23	2.41±0.83	12.58±2.63	1.49±0.64	2.23±0.63	16.94±2.35
T6	28.29±3.25	4.62±1.61	5.17±1.16	38.97±5.44	2.41±1.03	6.22±2.11	14.32±2.52

Population/ treatment	Mean of γ -Proteobacteria group composition percentages in intestine		
	<i>Vibrio</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	Unidentify group
T1	51.76±8.21	5.37±1.23	42.87±4.21
T2	92.31±5.32	1.63±0.62	6.06±0.73
T3	90.42±5.71	2.24±0.72	7.34±0.56
T4	43.41±10.46	7.83±2.56	48.76±3.23
T5	89.91±3.23	4.13±1.04	5.96±0.23
T6	45.36±8.5	6.85±2.10	47.79±5.11

Population/ treatment	Mean of LGC group composition percentages in intestine				
	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	Unidentify group
T1	52.43±4.17	8.78±1.25	17.21±2.23	5.52±1.42	16.06±5.14
T2	57.51±5.23	2.21±0.54	13.46±3.66	2.71±0.76	24.11±5.67
T3	60.26±5.75	0.94±1.12	15.14±2.58	3.11±1.01	20.55±6.15
T4	45.57±4.11	6.32±2.79	20.87±8.23	7.21±1.56	17.95±7.25
T5	56.64±5.26	1.42±2.13	11.42±3.12	2.36±0.79	28.16±6.48
T6	47.72±4.97	5.74±1.25	22.25±7.64	7.03±2.23	14.71±5.32

ตารางภาคผนวก ข ที่ 26 แสดงโครงสร้างชุมชนแบคทีเรียในลำไส้กุ้ง