ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*) ในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

Effect of Extract of *Lumnitzera racemosa* on *Vibrio harveyi* in the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)

ชื่อนักศึกษา นางสาวศรีสุภาพ พูนลาภเดชา **รหัส** 41044246

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....นงนุช เลาหะวิสุทธิ์.....
(ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สมชาย หวังวิบูลย์กิจ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ ๒๒ เดือน มี.ค. พ.ศ. 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18708

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*) ในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

Effect of Extract of *Lumnitzera racemosa* on *Vibrio harveyi* in the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)

T099233

โดย

นางสาวศรีสุภาพ พูนลาภเดชา รหัส 41044246

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

พ.ศ. 2545

ปก.
ศ๒๗๙
2545

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน.เดือน.ปี.....

ลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*) ในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

Effect of Extract of *Lumnitzera racemosa* on *Vibrio harveyi* in the Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)

ปัจจุบันการเกิดโรคติดเชื้อแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำ ยังคงมีความรุนแรงและระบาดในบางพื้นที่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคเรืองแสงซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อ *Vibrio harveyi* ที่มีอยู่หลายสายพันธุ์ จากการทดลองเหนี่ยวนำกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 ให้เกิดโรคเรืองแสงด้วยเชื้อ *V. harveyi* โดยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ (Reisolate) พบว่าเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 มีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคมากกว่าสายพันธุ์ 046 โดยที่เวลา 48 ชั่วโมง ลูกกุ้งมีอัตรารอด 7.75 $\pm$ 0.81 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของเชื้อ *V. harveyi* ที่ใช้ในการเหนี่ยวนำ พบว่าที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL มีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคมากกว่าที่ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL โดยที่เวลา 48 ชั่วโมง ลูกกุ้งมีอัตรารอด 17.46 $\pm$ 0.61 เปอร์เซ็นต์ แต่พบว่าจำนวนครั้งในการแยกเชื้อซ้ำ 1, 2, 3 ครั้ง และการไม่แยกเชื้อซ้ำ ไม่ทำให้อัตรารอดของลูกกุ้งแตกต่างกัน มีการทดลองใช้สมุนไพรฝาดดอกขาวในการยับยั้งการเกิดโรคเรืองแสง

จากการทดลองใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 พบว่าลูกกุ้งที่ได้รับฝาดดอกขาวอย่างเดียว มีอัตรารอดสูงกว่าทุกชุดการทดลอง และความเข้มข้นของฝาดดอกขาวที่ใช้ พบว่าที่ความเข้มข้น 200 ส่วนในล้าน ลูกกุ้งมีอัตรารอดสูงที่สุด อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของฝาดดอกขาวที่ 200, 300 และ 400 ส่วนในล้าน ไม่ทำให้อัตรารอดของลูกกุ้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังนั้นหากมีการนำฝาดดอกขาวไปใช้ในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ควรใช้ฝาดดอกขาวที่ความเข้มข้น 200 ส่วนในล้าน เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่ต่ำสุดที่สามารถใช้ยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ซึ่งไม่ทำให้อัตรารอดของลูกกุ้งมีความแตกต่างกับความเข้มข้นอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทั้งนี้เป็นเพราะคำแนะนำของบุคคลหลายฝ่าย ขอกราบขอบพระคุณ ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาให้โอกาสและประสบการณ์ที่ดีมากมาย รวมทั้งความช่วยเหลือและคำแนะนำที่ดียิ่งตลอดการทำปัญหาพิเศษ ขอบพระคุณ ดร. พิกุล จิรวาณิชไพศาล ที่กรุณาถ่ายทอดเทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง รวมทั้งโอกาสและคำแนะนำที่ดีที่กรุณามอบให้ ขอบพระคุณ อ. อิสริยา ทองงาม สำหรับสารสกัดฝาดดอกขาวที่กรุณาสกัดให้ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอบพระคุณ ผศ.สมชาย หวังวิบูลย์กิจ สำหรับความรู้ในการเลี้ยงกุ้งต่างๆ ที่กรุณาแนะนำสำหรับการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอบพระคุณ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ สำหรับความรู้เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเชื้อ และคำแนะนำที่ดียิ่ง และขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่กรุณามอบความรู้ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

ขอบคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการทำปัญหาพิเศษ

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ นายรัฐพล เอนกผลิน สำหรับความช่วยเหลืออย่างจริงใจ ความอดทนที่มอบให้ รวมทั้งกำลังใจที่มีให้โดยตลอด

คุณความดีใดๆ ที่ข้าพเจ้าได้รับในครั้งนี้ ขอมอบให้กับบุพการี และอาจารย์ที่เคารพรักของข้าพเจ้า

นางสาวศรีสุภาพ พูนลาภเดชา

เมษายน 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	VI
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลการทดลองและวิจารณ์	14
สรุปและข้อเสนอแนะ	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรค	15
2	ปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรค	17
3	อัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำหลังจากใช้ฝาดดอกขาว	20
4	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่ผสมฝาดดอกขาว	25

ตารางผนวกที่

1	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. harveyi* 1526 ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ที่ 24 ชั่วโมง	30
2	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ V. harveyi 046 ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ที่ 24 ชั่วโมง	30
3	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ที่ 24 ชั่วโมง	30
4	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. harveyi* 046 ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ที่ 24 ชั่วโมง	31
5	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. harveyi* 1526 ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ที่ 48 ชั่วโมง	31
6	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. harveyi* 046 ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ที่ 48 ชั่วโมง	31
7	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. harveyi* 1526 ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ที่ 48 ชั่วโมง	31
8	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วยเชื้อ *V. harveyi* 046 ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ที่ 48 ชั่วโมง	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
9	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 1526 ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่ 24 ชั่วโมง	32
10	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 046 ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่ 24 ชั่วโมง	33
11	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 1526 ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่ 24 ชั่วโมง	33
12	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 046 ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่ 24 ชั่วโมง	33
13	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 1526 ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่ 48 ชั่วโมง	34
14	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 046 ความเข้มข้น 104^4CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่ 48 ชั่วโมง	34
15	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 1526 ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่ 48 ชั่วโมง	34
16	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 046 ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่ 48 ชั่วโมง	35
17	อัตรารอดของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำผสมฝาดดอกขาว ที่ 24 ชั่วโมง	35
18	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* พร้อมกับฝาดดอกขาว ที่ 24 ชั่วโมง	35
19	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 6 ชั่วโมง ก่อนใส่ฝาดดอกขาว ที่ 24 ชั่วโมง	36
20	อัตรารอดของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำผสมฝาดดอกขาว ที่ 48 ชั่วโมง	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
21	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* พร้อมกับฝาดดอกขาว ที่ 48 ชั่วโมง	36
22	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 6 ชั่วโมง ก่อนใส่ฝาดดอกขาว ที่ 48 ชั่วโมง	37
23	อัตรารอดของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำผสมฝาดดอกขาว ที่ 72 ชั่วโมง	37
24	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* พร้อมกับฝาดดอกขาว ที่ 72 ชั่วโมง	37
25	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 6 ชั่วโมงก่อนใส่ฝาดดอกขาว ที่ 72 ชั่วโมง	38
26	อัตรารอดของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำผสมฝาดดอกขาว ที่ 96 ชั่วโมง	38
27	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* พร้อมกับฝาดดอกขาว ที่ 96 ชั่วโมง	38
28	อัตรารอดของกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 6 ชั่วโมงก่อนใส่ฝาดดอกขาว ที่ 96 ชั่วโมง	39
29	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งผสมฝาดดอกขาว ที่ 24 ชั่วโมง	39
30	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่เหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 พร้อมกับฝาดดอกขาว ที่ 24 ชั่วโมง	39
31	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่เหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 6 ชั่วโมง ก่อนใส่ฝาดดอกขาว ที่ 24 ชั่วโมง	40
32	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งผสมฝาดดอกขาว ที่ 48 ชั่วโมง	40
33	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่เหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 พร้อมกับฝาดดอกขาว ที่ 48 ชั่วโมง	40
34	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่เหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 6 ชั่วโมง ก่อนใส่ฝาดดอกขาว ที่ 48 ชั่วโมง	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
35	ปริมาณเชื้อ V. harveyi (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งผสมฝาดดอกขาว ที่ 72 ชั่วโมง	41
36	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่เหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 พร้อมกับฝาดดอกขาว ที่ 72 ชั่วโมง	41
37	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่เหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 6 ชั่วโมง ก่อนใส่ฝาดดอกขาว ที่ 72 ชั่วโมง	42
38	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งผสมฝาดดอกขาว ที่ 96 ชั่วโมง	42
39	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่เหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 พร้อมกับฝาดดอกขาว ที่ 96 ชั่วโมง	42
40	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่เหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 6 ชั่วโมง ก่อนใส่ฝาดดอกขาว ที่ 96 ชั่วโมง	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนภาพการทดลองที่ 1 แบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment in CRD)	9
2	แผนภาพการทดลองที่ 2 แบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment in CRD)	10
3	อัตราการรอดตายของลูกกุ้งหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรค ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง	16
4	ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง	18
5	อัตราการรอดตายของลูกกุ้งหลังจากใช้ฝาดดอกขาว ที่ 24 ชั่วโมง	21
6	อัตราการรอดตายของลูกกุ้งหลังจากใช้ฝาดดอกขาว ที่ 48 ชั่วโมง	21
7	อัตราการรอดตายของลูกกุ้งหลังจากใช้ฝาดดอกขาว ที่ 72 ชั่วโมง	22
8	อัตราการรอดตายของลูกกุ้งหลังจากใช้ฝาดดอกขาว ที่ 96 ชั่วโมง	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปัจจุบันปัญหาการเกิดโรคในกุ้งกุลาดำ นับว่าเป็นเรื่องสำคัญที่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งกำลังประสบอยู่เป็นจำนวนมาก โดยยังคงมีความรุนแรงและกำลังระบาดอยู่ในบางพื้นที่ ซึ่งด้วยเหตุนี้จึงทำให้มีผู้เลี้ยงกุ้งหลายรายประสบปัญหาการขาดทุน และบางรายถึงกับต้องเลิกกิจการ การเกิดโรคในกุ้งกุลาดำที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียนั้นมีจำนวนมากมายหลายชนิด แต่ที่พบมากได้แก่ การเกิดโรคแบคทีเรียในสกุลวิบริโอ ซึ่งมีหลายชนิดที่พบคือ *V. fisheri* *V. orientalis* *V. splendidus* *V. logei* *V. mediterranei* *V. albensis* โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *V. harveyi* ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำที่มีการเพาะเลี้ยงในน้ำทะเล โดยจะเข้าไปทำลายระบบทางเดินอาหารแล้วแพร่ไปตามกระแสเลือด ทำให้กุ้งอ่อนแอและตายในที่สุด จากนั้นเชื้อก็จะแพร่ลงน้ำและเข้าสู่กุ้งตัวอื่นๆ ในบ่อ หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมก็จะยิ่งทำให้เชื้อมีความรุนแรงมากขึ้น

ดังนั้นจึงมีการคิดค้นหาวิธีป้องกันและควบคุมโรคนี้ ซึ่งผู้เลี้ยงกุ้งโดยทั่วไปจะใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคแบคทีเรียเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ ซึ่งพบว่ามีการตกค้างของยาปฏิชีวนะเป็นจำนวนมาก ทำให้การส่งออกกุ้งกุลาดำของไทยลดลง ดังนั้นแนวทางในการรักษาโรคแบคทีเรียเรืองแสงด้วยการใช้สมุนไพรไทยนั้น จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีผู้ให้ความสนใจกันมาก เนื่องจากมีราคาถูกเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะ ทั้งยังปลอดภัย และไม่มีการตกค้างของสารเคมีหรือยาปฏิชีวนะที่เป็นพิษกับกุ้งกุลาดำและผู้บริโภคอีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 046 และ 1526 ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ (Reisolate)

2. เพื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*) ในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ในกุ้งกุลาดำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ชีววิทยาของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในกลุ่มครัสตาเซีย (Crustacea) มีเปลือกหุ้มลำตัวและรยางค์ต่อกันเป็นปล้อง เปลือกหุ้มเป็นสารไคติน แต่ละปล้องมีลักษณะคล้ายวงแหวนต่อเชื่อมกันด้วยเยื่อบางๆ ทำให้สามารถขยับตัวได้ ส่วนหัวมีก้านตาและตา 1 คู่ที่เคลื่อนไหวได้ดี มีหนวด 2 คู่ (สุภาพร, 2538) มีชื่อสามัญว่า Giant Tiger Prawn หรือ Giant Black Tiger Shrimp ในขณะที่มีชีวิตอยู่ลำตัวจะเป็นสีม่วงแดง มีแถบสีน้ำตาลหรือดำพาดขวางลำตัวเป็นปล้องๆ โดยขาว่ายน้ำมีแถบสีเหลืองเป็นปล้องๆ เปลือกหัวเกลี้ยงไม่มีขน หนวดมีสีดำ ไม่มีลาย ฟันกรีด้านบนมี 7-8 ซี่ ร่องข้างกรีทั้งสองด้านมีลักษณะแคบและยาวไม่ถึงฟันกรีอันสุดท้าย ที่ขาเดินคู่ที่ 5 ไม่มีรยางค์อันนอก (ปัญญา, 2535) โดยกุ้งกุลาดำตามธรรมชาติตัวเมียจะวางไข่ในทะเลที่มีความลึกตั้งแต่ 10 เมตรขึ้นไป ไข่ของกุ้งเป็นประเภทไข่จม ใช้เวลาตั้งแต่ฟักออกเป็นตัวจนกระทั่งเป็นวัยรุ่นประมาณ 2 สัปดาห์ ใช้ชีวิตในสภาพแพลงก์ตอนจนกระทั่งเข้ามาใกล้ฝั่ง เมื่อเป็นวัยอ่อนขั้นสุดท้ายจะปรับตัวเปลี่ยนการอยู่อาศัยแบบแพลงก์ตอนเป็นพวกที่อาศัยบริเวณหน้าดิน ตามปากแม่น้ำ ป่าชายเลน และริมคลองใกล้ทะเล (ประจวบ, 2531) สามารถทนอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิสูง และมีความเค็มต่ำได้ โดยมีการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน ดังนี้

Phyllum Arthropoda
Subphyllum Mandibulata
Class Crustacean
Subclass Malacostraca
Order Decapoda
Suborder Natantia
Family Penaeidae
Genus Penaeus
Species monodon

Vibrio harveyi

1. ลักษณะทางกายภาพ

Vibrio harveyi เป็นแบคทีเรียน้ำเค็มประเภทแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนสั้นๆ ขนาดเซลล์ 1.5-4.0 ไมโครเมตร พบทั่วไปในน้ำและในสัตว์ทะเล รวมทั้งในน้ำกร่อย เดิมมีชื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกุลเป็น *Lucibacterium* ซึ่งมีอยู่เพียงชนิดเดียวคือ *harveyi* ต่อมาจึงเปลี่ยนไปเป็นสกุล *Beneckea* (ยอดยิ่ง, 2540) เพราะมีหนวดหรือแฟลกเจลลั่ม (Flagellum) ซึ่งใช้ในการเคลื่อนที่ โดยเปลี่ยนแปลงไปมาได้ ไม่สร้างสปอร์ และไม่สร้างซีสต์ (ฝ่ายวิชาการและพัฒนาผลิตภัณฑ์ บ. เกรทเทอร์ เวท จก., 2542)

2. ลักษณะทางชีวเคมี

ลักษณะทางชีวเคมีของแบคทีเรียชนิดนี้จะคล้ายกับ *V. parahaemolyticus* ต้องการสารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน เจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน (aerobic bacteria) และไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobic bacteria) เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถให้แสงสีเขียวแกมเหลืองออกมา โดยปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดจากเอนไซม์ลูซิเฟอเรส (Luciferase) ซึ่งทำให้เรืองแสงได้ในที่มืด (ยอดยิ่ง, 2540)

โดยเชื้อ *V. harveyi* เป็นแบคทีเรียชนิดที่ต้องการความเค็มจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) (Halophilic : salt loving) จะสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในน้ำที่มีความเค็มระหว่าง 10-40 ส่วนในพัน (ppt) ที่อุณหภูมิสูงประมาณ 25-35 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของน้ำที่เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เจริญเติบโตได้ดีคือ 7-9 (ชลอ, 2543)

3. ผลกระทบของวิบริโอต่อกุ้งกุลาดำ

เชื้อวิบริโอสามารถเจาะผ่านพุ่มเหงือกของกุ้งเข้าไปอยู่ภายในเหงือกและในน้ำเลือดได้ เมื่ออยู่ในเหงือกจะทำให้เหงือกเป็นสีชา และจะพบว่าเป็นสีส้มในตอนกลางคืน เนื่องจากความสามารถในการเรืองแสง โรคนี้เรียกกันว่า โรคเหงือกสีชา นอกจากเซลล์ของวิบริโอชนิดนี้จะถูกทำลายโดยไวรัส (bacteriophage) ซึ่งจะทำให้เซลล์แตก (cell lysis) และกุ้งตายยกบ่อ เนื่องจาก endotoxin ที่ร้ายแรงมากของวิบริโอซึ่งอยู่ภายในไซโตพลาสซึ่ม (cytoplasm) ของเซลล์ละลายปนไปกับน้ำเลือด (hemolymph) นอกจากนี้ *V. harveyi* ยังทำให้เกิดโรคเรืองแสงคล้ายเพชรเมื่อเกาะ (adhere) ติดอยู่ทั่วบริเวณเปลือกที่หุ้มลำตัว (ยอดยิ่ง, 2540) และมักพบเฉพาะในกุ้งวัยอ่อนแรกฟักเป็นตัวจนถึงระยะก่อนเข้าไมซีส (ไม่ปรากฏผู้แต่ง, 2539)

ระบิล และวีณา (2536) กล่าวไว้ว่าวิบริโอเป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปเป็นปกติในกุ้งกุลาดำ (normal bacteria flora) และเป็นได้ทั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic bacteria) โดยจะพบมากในลำไส้ช่วงปล้องที่ 6 จนถึงช่องทวาร (พิกุล, 2543) ซึ่งวิบริโอเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นภายในลำไส้กุ้งในขณะที่กุ้งแข็งแรงดี เมื่อใดก็ตามที่กุ้งมีความเครียดหรืออ่อนแอ วิบริโออาจมีการเพิ่มจำนวน และความรุนแรงจนสามารถก่อให้เกิดโรคขึ้นได้ หรืออาจมีส่วนช่วยในการกระตุ้นการทำงานของวิบริโออื่นๆ ที่ก่อโรคให้มีความรุนแรงยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ลักษณะอาการของกุ้งกุลาดำเมื่อเกิดโรค

กุ้งป่วยจะมีอาการตัวขุ่นขาว อ่อนแอ และขึ้นมาเกยตามขอบบ่อ หรือว่ายอยู่ที่ผิวน้ำ ถ้ากุ้งติดเชื้อมากๆ จะสังเกตได้ว่าบริเวณหลังจะหักงอ และจมลงไปอยู่ก้นบ่อ ซึ่งกุ้งป่วยเหล่านี้จะเห็นการเรืองแสงที่ส่วนหัวได้อย่างชัดเจนในเวลากลางคืน (ชลอ, 2543)

5. การวินิจฉัยโรค

นำกุ้งป่วยมาตรวจสอบโดยการนำส่วนของตับและตับอ่อน หรือนำเลือดกุ้งมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบเชื้อแบคทีเรียลักษณะรูปร่างเป็นท่อนสั้นๆ ที่สามารถเคลื่อนที่ได้เป็นจำนวนมาก และเมื่อทำการเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS agar (Thiosulphate-citrate-bile salt-sucrose agar) จะได้โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียเป็นชนิดสีเขียว (ชลอ, 2543) เมื่อตรวจสอบทางเนื้อเยื่อในกุ้งป่วย พบว่าส่วนของตับและตับอ่อนนั้นถูกทำลายอย่างรุนแรง ทำให้การย่อยอาหารไม่เป็นปกติ และอาหารที่สะสมไว้ในตับก็จะน้อยลง กุ้งเริ่มอ่อนแอ และตายในที่สุด นอกจากจะพบว่าตับและตับอ่อนถูกทำลายแล้ว ยังพบว่าลำไส้เกิดเซลล์ตาย และมีอาการอักเสบอย่างชัดเจนเช่นกัน (ยอดยิ่ง, 2540)

6. การป้องกันโรค

ในช่วงที่มีการระบาดของโรคเรืองแสง เช่น ในฤดูร้อน ผู้เลี้ยงกุ้งควรหาน้ำที่มีความเค็มต่ำหรือน้ำจืดมาเติมในบ่อ ให้ปรับความเค็มของน้ำในบ่อให้เหลือประมาณ 5-7 ส่วนในพัน ปัญหาของโรคเรืองแสงจะลดลง นอกจากนี้ พบว่าหากปล่อยให้ปริมาณแบคทีเรียรวมในน้ำอยู่ในระดับสูง 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลาติดต่อกันนาน 10 วันขึ้นไป กุ้งในบ่อจะเริ่มมีปัญหาเกิดขึ้น จึงควรนำน้ำไปตรวจหาปริมาณเชื้อในน้ำอยู่เสมอ เมื่อพบว่าในน้ำมีเชื้อมากควรลดปริมาณเชื้อในบ่อ และให้กุ้งกินยาป้องกัน นอกจากนั้นเชื้อแบคทีเรียเรืองแสงในกลุ่มนี้ต้องการคาร์บอน (C) และไนโตรเจน (N) เพื่อการเจริญเติบโต ดังนั้น หากต้องการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียเรืองแสงในบ่อ นอกจากการลดความเค็มแล้ว วิธีที่ง่ายและได้ผลที่สุดคือการลดปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในน้ำลง ซึ่งนั่นก็หมายถึง การควบคุมปริมาณอาหารให้อยู่ในระดับที่กุ้งกินได้หมดพอดี (ชลอ, 2543) แต่อย่างไรก็ตามโรคเรืองแสงสามารถกลับมาระบาดได้อีก การให้กุ้งกินยาปฏิชีวนะ เพื่อป้องกันการติดเชื้อในระยะที่มีการแพร่ระบาดของโรค ต้องขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค (ไม่ปรากฏผู้แต่ง, 2539)

การศึกษาผลของสารสกัดลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus*) ต่อเชื้อ *Vibrio* spp. สายพันธุ์ NICA 1039 ในกุ้งกุลาดำ โดยทำการทดลองป้อนและฉีดสารสกัดลูกใต้ใบเข้ากล้ามเนื้อปล้องที่ 6 ของกุ้งกุลาดำ หลังจากนั้น 1 และ 6 ชั่วโมง ทำการดูดน้ำเลือดกุ้ง (hemolymph) เพื่อนำมาหาค่าฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (bactericidin) พบว่าค่าในการต้านฤทธิ์แบคทีเรียของสารที่ผลิตในตัวกุ้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเปอร์เซ็นต์การต้านแบคทีเรียที่เกิดขึ้น ในทุกชุดการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงว่าสารสกัดลูกใต้ใบที่ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีผลไปขัดขวางการทำงานของสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติในน้ำเลือดกุ้งกุลาดำ (ภัสสร และคณะ, 2540) นอกจากนั้น มีการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งกับเชื้อวิบริโอที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำที่เป็นโรค จำนวน 23 สายพันธุ์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ทุกสายพันธุ์ (สถาพร และคณะ, 2535)

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพร 16 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* 10 สายพันธุ์ ที่ก่อโรคในกุ้งกุลาดำ พบว่ามีสมุนไพรอยู่ 11 ชนิดที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่แตกต่างกัน ตามความเข้มข้นที่ไม่เท่ากัน โดยที่ใบฝรั่ง และมะระขี้นกสามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้นต่ำเพียง 0.625 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่มีข้อแตกต่างกันคือ ใบฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อด้วยความเข้มข้นต่ำกว่ามะระขี้นก ในขณะที่มะระขี้นกยับยั้งเชื้อได้เปอร์เซ็นต์สูงกว่าใบฝรั่งที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (สถาพร และคณะ, 2539)

การศึกษาค่าต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดพืชสมุนไพร 2 ชนิด คือ ฝิ่นต้น (*Jatropha multifida*) และขันทองพยาบาท (*Suregada multiflorum*) ต่อเชื้อ *Vibrio* spp. จำนวน 80 ไอโซเลต พบว่ามีค่าอยู่ในช่วงความเข้มข้น 60,000-มากกว่า 120,000 และ มากกว่า 120,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ธรรมนูญ และวชิราพรรณ, 2543) นอกจากนั้น มีการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) ของสมุนไพรป่าชายเลน 2 ชนิด คือ เสม็ดขาว (*Melaleuca leucadendra*) และผักบุ้งทะเล (*Ipomoea pes-caprae*) ต่อเชื้อ *Vibrio* spp. จำนวน 80 ไอโซเลต โดยแยกเชื้อจากตัวกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในฟาร์มเขต อำเภอสิเกา จังหวัดตรัง จำนวน 10 ฟาร์ม พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ในช่วง 20,000-120,000 และ 60,000-120,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (อำนาจ, 2543)

ฝาดดอกขาว

ฝาดดอกขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Lumnitzera racemosa* Willd. จัดอยู่ในวงศ์ Combretaceae ซึ่งมีสรรพคุณในการรักษาโรค คือ น้ำที่ได้จากการสับลำต้นของฝาดดอกขาว สามารถนำมาใช้ทาแก้เริม หรืองูสวัด และโรคหิดได้ (ก่องกานดา, 2528)

การทดลองอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 12 โดยใช้อาหารผสมสิ่งสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*) เพื่อศึกษาผลของสิ่งสกัดต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย โดยใช้สิ่งสกัดผสมในอาหารที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 ส่วนในพัน ให้กุ้งกินเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง กุ้งที่ได้รับอาหารผสมสิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน มีน้ำหนักแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสิ่งสกัดที่ระดับ 20 ส่วนในพัน มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ส่วนความยาวและอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (กมลทิพย์ และประกอบ, 2544) นอกจากนั้น มีการศึกษาค่าต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ (MIC) ของพืชสมุนไพรป่าชายเลน 2 ชนิด ได้แก่ ฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*) และแสมดำ (*Avicennia officinalis*) ต่อเชื้อ *Vibrio* spp. 80 ไอโซเลต จากการทดลองพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 100,000-120,000 และ 60,000 ถึงมากกว่า 120,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (อภิชัย และอิสมาแอ, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*)
2. เชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 046 และ 1526
3. กุ้งกุลาดำขนาด 2-4 กรัม
4. กุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Marine agar (MA), Marine broth (MB), Nutrient agar (NA), Nutrient broth (NB) และ Thiosulphate-citrate-bile salt-sucrose agar (TCBS)
6. ขวดพลาสติกขนาดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
7. หัวทรายและสายลม
8. อาร์ทีเมีย (*Artemia salina*)
9. เข็มฉีดยา (Syringe)
10. เครื่องวัดความเค็ม (Salinometer)
11. เครื่องแก้วสำหรับเลี้ยงเชื้อ
12. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette)
13. เครื่องแก้วปรับปริมาตร
14. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Flow)
15. ตู้บ่มเชื้อ (Incubater)
16. เครื่องวัดความเข้มของแสง (Spectrophotometer)
17. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนความเร็วสูง (Centrifuge)
18. หม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave)
19. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
20. เครื่องกวนสาร (Magnetic Stirrer)

วิธีการ

แผนการทดลอง

การทดลองที่ 1 การเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ *V. harveyi* 2 สายพันธุ์

วางแผนการทดลองเป็นแบบ Factorial 2x4x2 โดยปัจจัยที่ 1 คือเชื้อ *V. harveyi* ซึ่งมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *V. harveyi* 1526 และ *V. harveyi* 046 ปัจจัยที่ 2 คือการแยกเชื้อซ้ำ (Reisolate)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งมี 4 ระดับ ได้แก่ การไม่แยกเชื้อซ้ำ, การแยกเชื้อซ้ำครั้งที่ 1, 2 และ 3 และปัจจัยที่ 3 คือ ความเข้มข้น ซึ่งมี 2 ระดับ ได้แก่ 10^4 และ 10^5 CFUs/mL โดยแต่ละปัจจัยแบ่งการทดลองเป็น 3 ซ้ำ

การทดลองที่ 2 การใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวยับยั้ง *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ

วางแผนการทดลองเป็นแบบ Factorial Experiment 3x3 โดยปัจจัยที่ 1 คือการใส่เชื้อ *V. harveyi* (สายพันธุ์ที่มีความรุนแรงมากที่สุดจากการทดลองที่ 1) ซึ่งมี 3 วิธี ได้แก่ การไม่ใส่เชื้อ *V. harveyi* การใส่เชื้อ *V. harveyi* พร้อมกับสารละลายฝาดดอกขาว และการใส่เชื้อ *V. harveyi* เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนการใส่สารละลายฝาดดอกขาว และปัจจัยที่ 2 คือ ความเข้มข้นของฝาดดอกขาว ซึ่งมี 3 ระดับ ได้แก่ 200, 300 และ 400 ส่วนในล้าน โดยแต่ละปัจจัยแบ่งการทดลองเป็น 3 ซ้ำ

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ *V. harveyi* 2 สายพันธุ์ ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ (Reisolate) 4 ครั้ง แล้วนำเชื้อจากการแยกเชื้อซ้ำ ที่ความเข้มข้น 2 ระดับไปเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ แล้วเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์

1. สัตว์ทดลองที่ใช้ คือ กุ้งกุลาดำน้ำหนัก 2-4 กรัม จำนวน 12 ตัว และลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 จำนวน 100 ตัวต่อโหล ในปริมาตรน้ำ 500 มิลลิลิตรต่อโหล (จำนวน 51 โหล)

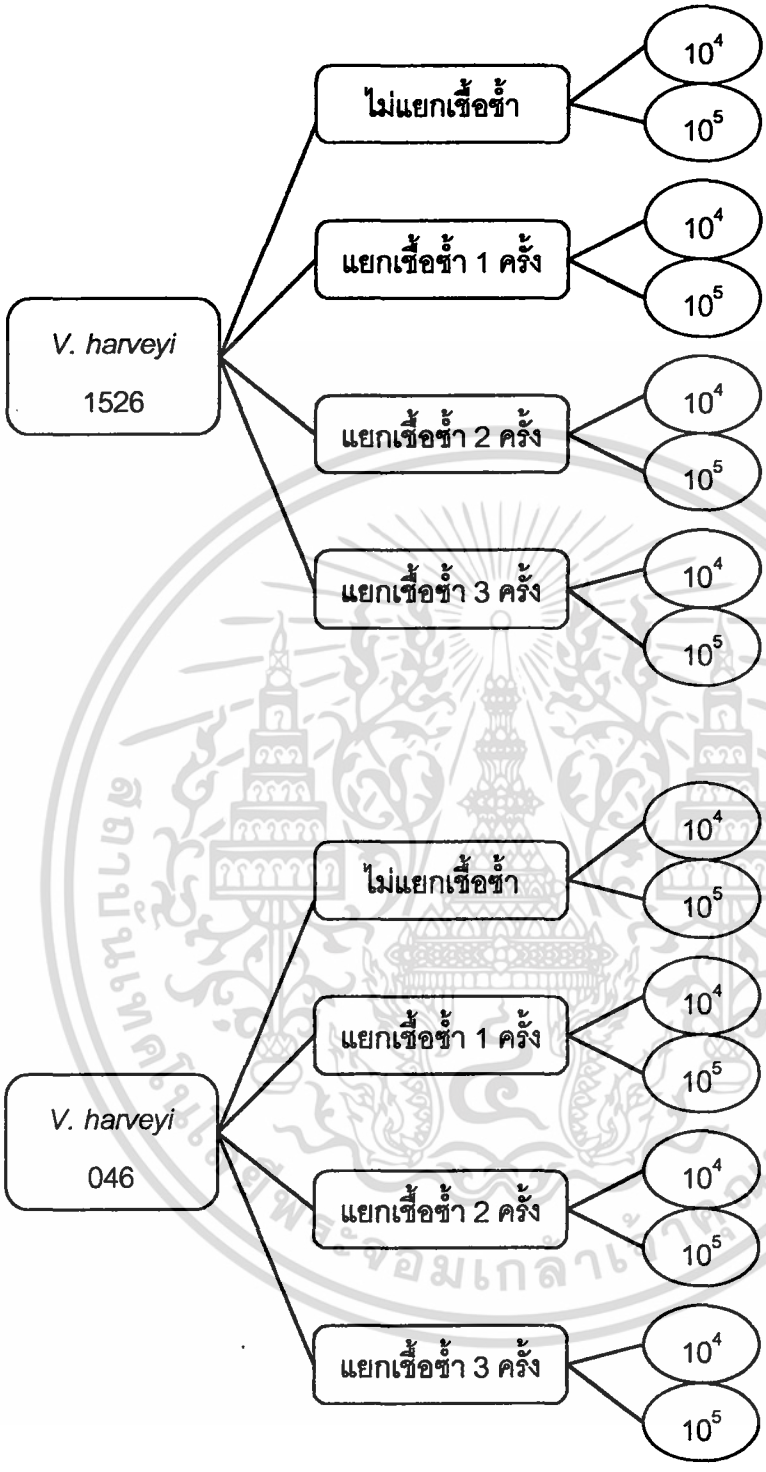
2. การเตรียมน้ำ โดยเตรียมน้ำทะเลให้มีความเค็ม 30 ส่วนในพัน และให้อากาศตลอดเวลา

3. การเตรียมอาหารกุ้ง โดยใช้อาร์ทีเมีย (*Artemia salina*) เตรียมโดยนำไข่อาร์ทีเมียไปแช่น้ำจืดประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการฆ่าเชื้อโรคที่ติดมากับเปลือกไข่ ด้วยการใช้คลอรีนผงระดับความเข้มข้น 100 ส่วนในล้าน (ppm) ประมาณ 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำจืดจนสะอาด จึงนำไปฟักต่อไป โดยใช้เวลาในการฟักประมาณ 24 ชั่วโมง เมื่อไข่ฟักเป็นตัวแล้วจึงแยกตัวอาร์ทีเมียวัยอ่อนออกมา

4. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียเรืองแสง (*V. harveyi* 046 และ 1526) จากหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเลมาทดสอบความรุนแรงของเชื้อด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ โดยมีขั้นตอนดังนี้

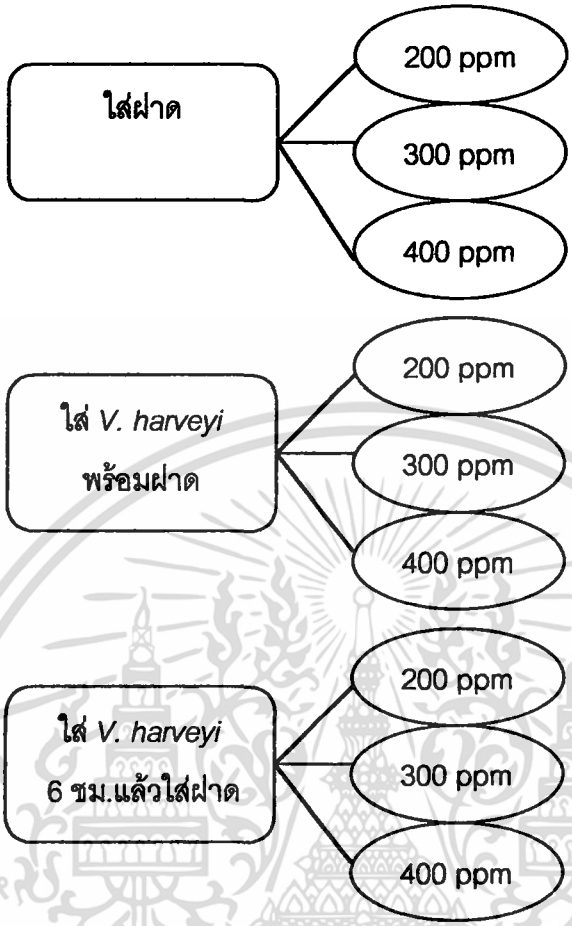
4.1 นำเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์มาเลี้ยงในอาหาร Marine Broth (MB) จนเชื้อขึ้น (ประมาณ 16-18 ชั่วโมง) หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 3,000 รอบต่อนาที แล้วนำมาวัดค่าดูด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แผนภาพการทดลองที่ 1 แบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment in CRD)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แผนภาพการทดลองที่ 2 แบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment in CRD)

กลีนคลื่นแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาปรับให้เท่ากับ 1 โดยนำเชื้อมาเจือจางกับสารละลาย 2 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในอัตราส่วนที่ได้จากการคำนวณ

4.2 นำเชื้อที่ได้มาฉีดเข้าตัวกุ้งกุลาดำน้ำหนัก 2-4 กรัม ชนิดละ 1 ตัว ในปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แล้วรอจนกุ้งใกล้ตายหรือภายใน 3 ชั่วโมง จึงดูดเลือดกุ้งออกมานำไปเขี่ยเชื้อ (Streak Plate) เพื่อให้เป็นโคโลนีเดี่ยว (Single Colony) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MA และ TCBS

4.3 หลังจากที่เชื้อขึ้น (ประมาณ 16-18 ชั่วโมง) นำเชื้อที่ขึ้นเป็นโคโลนีเดี่ยวมาเลี้ยงลงอาหาร MA ที่เป็น Slant ก็จะได้เชื้อที่ได้จากการแยกเชื้อซ้ำครั้งที่ 1 (1) เมื่อเชื้อขึ้น (ประมาณ 16-18 ชั่วโมง) นำเชื้อมาเลี้ยงลงในอาหาร MB พร้อมกับนำเชื้อใน Stock ที่ยังไม่ได้ฉีดลงไปในกุ้งไปเลี้ยงในอาหาร MB เพื่อให้ได้เชื้อที่ยังไม่ได้ฉีดลงในกุ้ง (0) เตรียมไว้แยกเชื้อซ้ำให้ได้ครั้งที่ 1 (1) ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 นำเชื้อที่ได้จากการแยกเชื้อซ้ำครั้งที่ 1 (1) และเชื้อที่ยังไม่ได้ฉีดลงกุ้ง (0) มาทำซ้ำขั้นตอนที่ 4.1 - 4.3 จะได้เชื้อที่ได้จากการแยกเชื้อซ้ำเป็นครั้งที่ 2 (2) และครั้งที่ 1 (1) ตามลำดับ พร้อมกับนำเชื้อใน stock ที่ยังไม่ได้ฉีดลงในกุ้ง (0) เตรียมไว้เพื่อแยกเชื้อซ้ำให้ได้ครั้งที่ 1 (1) ต่อไป

4.5 นำเชื้อที่ได้จากการแยกเชื้อซ้ำครั้งที่ 2 (2), 1 (1) และเชื้อที่ยังไม่ได้ฉีดลงกุ้ง (0) มาทำซ้ำขั้นตอนที่ 4.1 - 4.3 จะได้เชื้อที่ได้จากการแยกเชื้อซ้ำเป็นครั้งที่ 3 (3), 2 (2) และครั้งที่ 1 (1) ตามลำดับ

4.6 นำเชื้อในอาหาร MA ที่เป็น slant ที่ได้จากการแยกเชื้อซ้ำ (ครั้งที่ 3, 2 และ 1) รวมทั้งเชื้อที่ยังไม่ได้แยกเชื้อซ้ำ (0) นำมาเลี้ยงลงอาหาร MA เพื่อให้ได้เชื้อมาทำการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 ต่อไป

5. การตรวจสอบความรุนแรงของเชื้อ *Vibrio harveyi* 046 และ 1526 ที่ได้จากการแยกเชื้อซ้ำ โดยดูผลได้จากอัตราการรอดตายของลูกกุ้ง ในชุดการทดลองทั้ง 3 ชุด โดยจัดการทดลองในโหลปริมาตรน้ำ 500 มิลลิลิตร ที่มีความเค็ม 30 ส่วนในพัน และนับจำนวนลูกกุ้งใส่โหลละ 100 ตัว พร้อมกับให้อาหารเป็นอาร์ทีเมีย 3 ครั้งต่อวัน และให้อากาศตลอดเวลา โดยทำการทดลองเหมือนกัน 3 ซ้ำ นับจำนวนลูกกุ้งที่รอดตายที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง พร้อมกับคัดลูกกุ้งที่ตายออก และทำการกรองสิ่งสกปรกออก

6. การตรวจนับเชื้อ *Vibrio harveyi* 046 และ 1526 ในน้ำ ด้วยวิธีการ plate dilution ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างน้ำมาโหลละ 1 มิลลิลิตร (หลังจากใส่เชื้อ) นำมาการเจือจางใน 2 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ แล้วนำมาหยด (Drop) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS โดยใช้ไมโครปิเปตต์ เมื่อเชื้อขึ้น (ประมาณ 16-18 ชั่วโมง) จึงตรวจนับจำนวนโคโลนีเรืองแสง

การทดลองที่ 2 การใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้ง *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ แล้วเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของฝาดดอกขาวในการยับยั้งเชื้อ

1. สัตว์ทดลองที่ใช้ คือ กุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 จำนวน 3,300 ตัว

2. การเตรียมน้ำทะเลให้มีความเค็ม 30 ส่วนในพัน พร้อมกับฆ่าเชื้อในน้ำด้วยการใส่คลอรีนผง และให้อากาศตลอดเวลา

3. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย โดยนำเชื้อ *V. harveyi* 1526 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MB ประมาณ 16-18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 3,000 รอบต่อนาที แล้ววัดค่าดูดกลืนคลื่นแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาปรับค่าดูดกลืนคลื่นแสงให้เท่ากับ 1.3×10^5 CFUs/mL โดยนำเชื้อมาเจือจางใน 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ ในอัตราส่วนที่ได้จากการคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การเตรียมสารสกัดฝาดดอกขาว

4.1 ชั่งสารสกัดฝาดดอกขาว (ที่ได้จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตตรัง) ในอัตราส่วน 1 กรัมต่อน้ำทะเลที่ความเค็ม 30 ส่วนในพัน ในปริมาตร 1 ลิตร พร้อมกับให้อากาศประมาณ 6 ชั่วโมง

4.2 นำสารละลายมากรองด้วยผ้ากรองตาละเอียด แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 6 ชั่วโมง จึงนำส่วนที่ใสมาใช้โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 ส่วนในล้าน

4.3 เจือจางสารสกัดฝาดดอกขาวด้วยน้ำทะเล 30 ส่วนในพัน ให้ได้ความเข้มข้น 200, 300 และ 400 ส่วนในล้าน

5. การทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายฝาดดอกขาว แบ่งการทดลองเป็น 3 ชุด โดยจัดการทดลองในโหลเลี้ยงกุ้ง ใส่น้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่มีความเค็ม 30 ส่วนในพัน โดยทดลองเหมือนกัน 3 ซ้ำ โดยในแต่ละชุดจะให้อาหารเป็นอาร์ทีเมีย 3 ครั้งต่อวัน และเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ทุกวัน พร้อมกับนับจำนวนลูกกุ้งที่มีชีวิตทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 วัน โดยคัดตัวที่ตายออก

6. การตรวจนับเชื้อในน้ำวิธี Plate Dilution โดยเก็บน้ำตัวอย่างมาโหลละ 1 มิลลิลิตร นำไปเจือจางใน 2 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ หลังจากนั้นนำมาหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS โดยใช้ไมโครปิเปตต์ เมื่อเชื้อขึ้น (ประมาณ 16-18 ชั่วโมง) จึงตรวจนับจำนวนโคโลนีเรืองแสง ทำการตรวจนับเชื้อในน้ำทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 วัน

การบันทึกข้อมูล

การทดลองที่ 1 การเหนี่ยวนำกุ้งกุลาดำให้เกิดโรคเรืองแสงด้วยเชื้อ *V. harveyi*

1. บันทึกอัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน
2. บันทึกปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน

การทดลองที่ 2 การใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวยับยั้ง *V. harveyi* ในกุ้งกุลาดำ

1. บันทึกอัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 วัน
2. บันทึกปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 4 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากแต่ละชุดการทดลองมาวิเคราะห์ และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ Statgraphic version 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่ทำการทดลอง

หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีทางชีวภาพแห่งชาติ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตพญาไท กรุงเทพฯ 10330 และภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

ระยะเวลาในการทดลอง

ระยะเวลาในการทดลอง 1 เดือน ตั้งแต่เดือนตุลาคม – พฤศจิกายน 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การเปรียบเทียบความรุนแรงของเชื้อ *V. harveyi* 2 สายพันธุ์

1. อัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำ

จากการทดสอบความรุนแรงของเชื้อ ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 และ 046 มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดย *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 มีความรุนแรงในการก่อโรคมากกว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 046 นอกจากนี้ จำนวนครั้งของการแยกเชื้อซ้ำ มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้ง โดยการแยกเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับจำนวนครั้งของการแยกเชื้อซ้ำอื่นๆ และระดับความเข้มข้นของเชื้อ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ 10^5 CFUs/mL มีความรุนแรงในการก่อโรคมากกว่าความเข้มข้นเชื้อ 10^4 CFUs/mL (ตารางที่ 1 และภาพที่ 3(a)) ซึ่งสอดคล้องกับ Rengpipat (1998) ที่ทดลองเหนี่ยวนำลูกกุ้งกุลาดำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ D331 ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL พบว่ามีอัตรารอดเพียง 26 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้น พบว่าสายพันธุ์มีอิทธิพลร่วมกับระดับความเข้มข้นของ *V. harveyi* ($P<0.05$)

จากการทดสอบความรุนแรงของเชื้อ ที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 และ 046 มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดย *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 มีความรุนแรงในการก่อโรคมากกว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 046 อย่างไรก็ตาม จำนวนครั้งของการแยกเชื้อซ้ำ มีผลต่ออัตราการรอดตายของลูกกุ้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และระดับความเข้มข้นของเชื้อ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ 10^5 CFUs/mL มีความรุนแรงในการก่อโรคมากกว่าความเข้มข้นเชื้อ 10^4 CFUs/mL (ตารางที่ 1 และภาพที่ 3(b)) ซึ่งสอดคล้องกับ Rengpipat (1998) ที่ทดลองเหนี่ยวนำลูกกุ้งกุลาดำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ D331 ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL พบว่ามีอัตรารอดเพียง 26 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้น พบว่าสายพันธุ์มีอิทธิพลร่วมกับระดับความเข้มข้นของ *V. harveyi* ($P<0.05$)

2. ปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง

จากการทดสอบความรุนแรงของเชื้อ ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 และ 046 มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดย *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อในน้ำได้มากกว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 046 แต่จำนวนครั้งของการแยกเชื้อซ้ำ มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

harveyi ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และระดับความเข้มข้นของเชื้อ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) โดยระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ 10^5 CFUs/mL มีความรุนแรงในการเพิ่มปริมาณเชื้อในน้ำได้มากกว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 046 (ตารางที่ 2 และภาพที่ 4(a)) ซึ่งสอดคล้องกับ Rengpipat (1998) ที่ทดลองเหนี่ยวนำลูกกุ้งกุลาดำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ D331 ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL พบว่ามีอัตราการรอดเพียง 26 เปอร์เซ็นต์

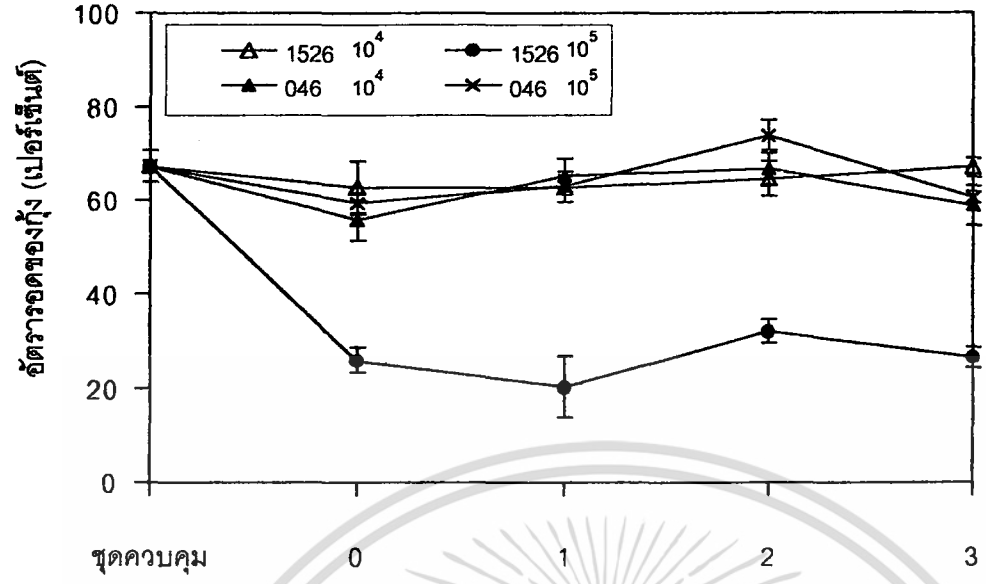
จากการทดสอบความรุนแรงของเชื้อ ที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 และ 046 มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) โดย *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 สามารถเพิ่มปริมาณเชื้อในน้ำได้มากกว่า *V. harveyi* สายพันธุ์ 046 แต่จำนวนครั้งของการแยกเชื้อซ้ำ มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และระดับความเข้มข้นของเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 2 และภาพที่ 4(b))

ตารางที่ 1 อัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำ (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi*

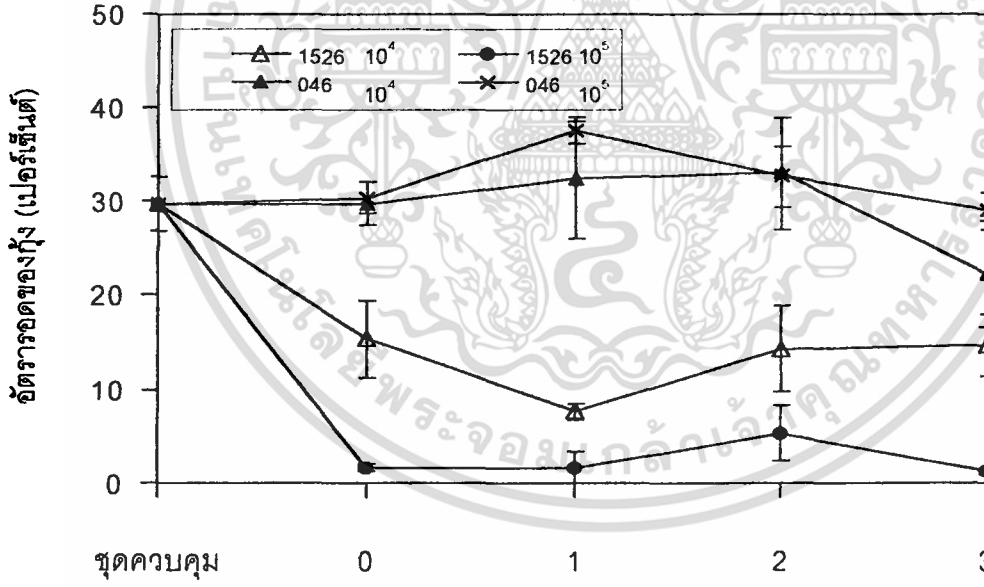
ปัจจัยการทดลอง		24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
สายพันธุ์			
	สายพันธุ์ 1526	45.21 ± 1.24 [a]	7.75 ± 0.81 [a]
	สายพันธุ์ 046	62.92 ± 1.12 [b]	30.88 ± 1.27 [b]
แยกเชื้อซ้ำ			
	ไม่แยกเชื้อซ้ำ	50.92 ± 1.85 [a]	19.25 ± 1.05 [a]
	แยกเชื้อซ้ำ 1 ครั้ง	52.83 ± 2.00 [a]	19.84 ± 1.30 [a]
	แยกเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง	59.34 ± 1.61 [b]	21.33 ± 2.11 [a]
	แยกเชื้อซ้ำ 3 ครั้ง	53.17 ± 1.22 [a]	16.83 ± 1.41 [a]
ความเข้มข้น			
	ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL	62.92 ± 1.32 [a]	21.17 ± 1.47 [a]
	ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL	45.21 ± 1.04 [b]	17.46 ± 0.61 [b]

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละปัจจัย หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(a)



(b)

ภาพที่ 3 อัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำ (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* (a) ที่เวลา 24 ชั่วโมง และ (b) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง (CFUs/mL) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi*

ปัจจัยการทดลอง		24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
สายพันธุ์			
	สายพันธุ์ 1526	$9.92x10^4 \pm 5.39x10^3$ a	$3.16x10^5 \pm 5.39x10^3$ a
	สายพันธุ์ 046	$1.76x10^4 \pm 2.18x10^3$ b	$4.60x10^4 \pm 2.44x10^3$ b
แยกเชื้อซ้ำ			
	ไม่แยกเชื้อซ้ำ	$6.53x10^4 \pm 4.93x10^3$ a	$1.29x10^5 \pm 2.30x10^4$ a
	แยกเชื้อซ้ำ 1 ครั้ง	$6.67x10^4 \pm 7.18x10^3$ a	$1.79x10^5 \pm 1.53x10^4$ a
	แยกเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง	$5.22x10^4 \pm 1.93x10^3$ a	$1.90x10^5 \pm 1.59x10^4$ a
	แยกเชื้อซ้ำ 3 ครั้ง	$4.94x10^4 \pm 7.39x10^3$ a	$2.25x10^5 \pm 1.34x10^4$ a
ความเข้มข้น			
	ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL	$9.74x10^3 \pm 1.31x10^3$ a	$1.26x10^4 \pm 8.54x10^2$ a
	ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL	$1.07x10^5 \pm 6.27x10^3$ b	$3.49x10^5 \pm 2.31x10^4$ a

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละปัจจัย หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

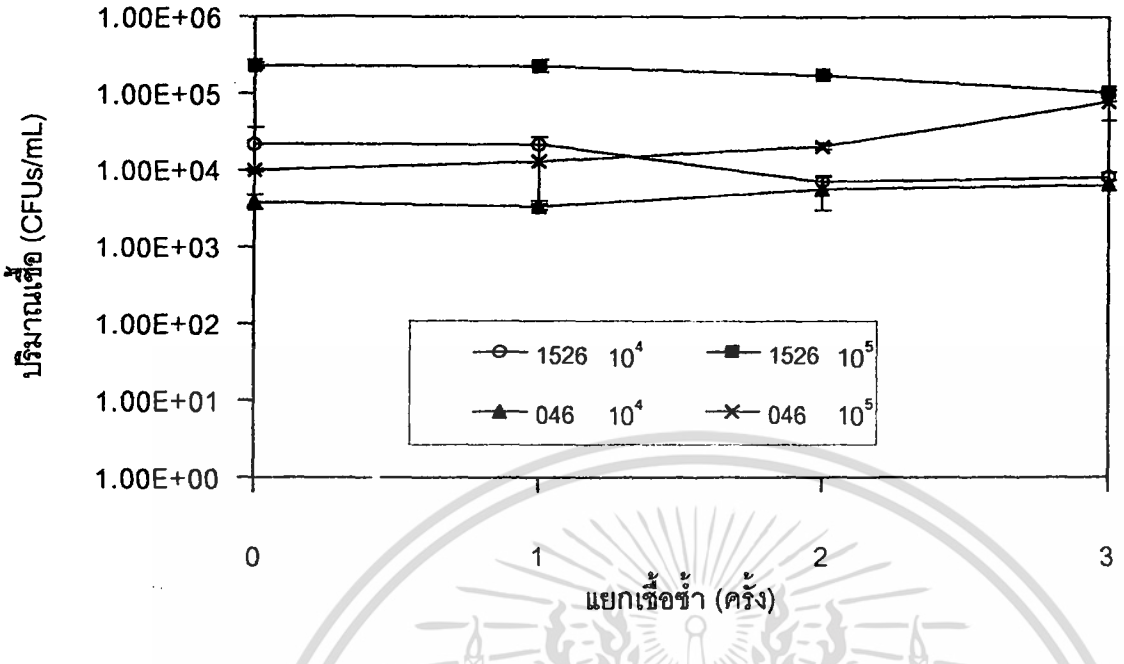
การทดลองที่ 2 การใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้ง *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ

1. อัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำ

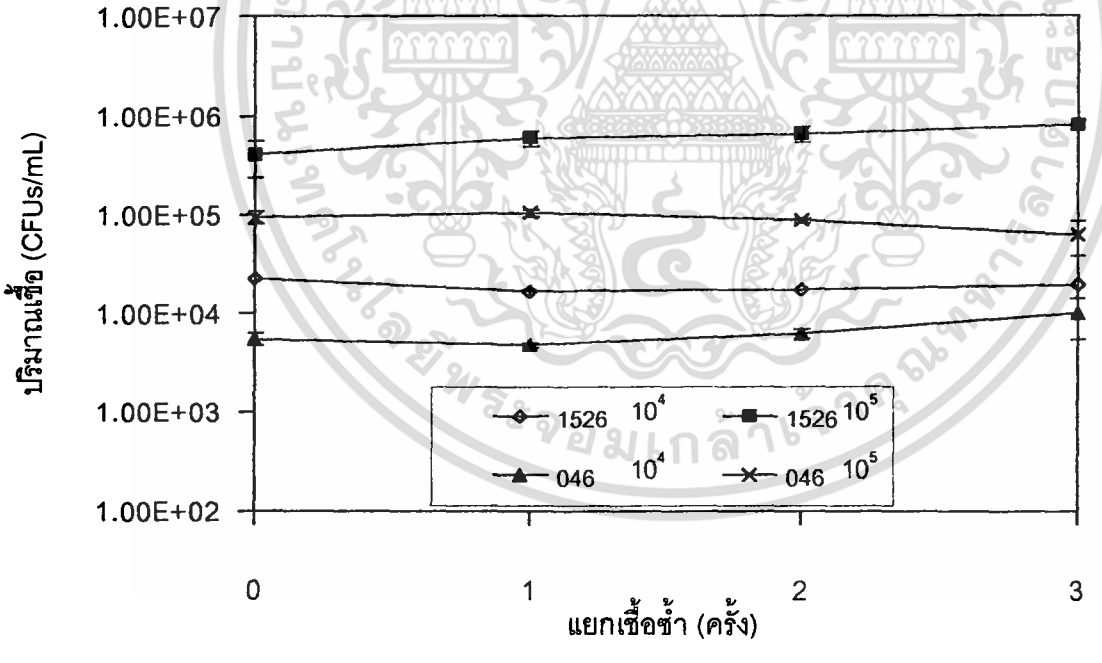
จากการการใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้ง *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าวิธีการใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ โดยวิธีการที่ใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวอย่างเดียว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับวิธีการอื่นๆ ซึ่งวิธีการนี้ทำให้ลูกกุ้งมีอัตรารอดสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับกมลทิพย์ และประกอบ (2544) ที่ทดลองอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ โดยใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวผสมในอาหาร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าลูกกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวมีอัตราการรอดตายสูงที่สุด และจากผลการทดลองพบว่าระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3 และภาพที่ 5) ซึ่งสอดคล้องกับอภิชัย และอิสมาแอ (2543) ที่สามารถใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวยับยั้ง *Vibrio* spp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

99283



(a)



(b)

ภาพที่ 4 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้ง (a) ที่เวลา 24 ชั่วโมง และ (b) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการการใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้ง *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่าวิธีการใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ โดยวิธีการที่ใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวอย่างเดียว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับวิธีการอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับกมลทิพย์ และประกอบ (2544) ที่ทดลองอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ โดยใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวผสมในอาหาร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าลูกกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวมีอัตรารอดสูงที่สุด และจากผลการทดลอง พบว่าระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3 และภาพที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับอภิชัย และอิสมาแอ (2543) ที่สามารถใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้ง *Vibrio* spp.

จากการการใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้ง *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ ที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่าวิธีการใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ โดยวิธีการที่ใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวอย่างเดียว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับวิธีการอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับกมลทิพย์ และประกอบ (2544) ที่ทดลองอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ โดยใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวผสมในอาหาร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าลูกกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวมีอัตรารอดสูงที่สุด และระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3 และภาพที่ 7)

จากการการใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้ง *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ ที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าวิธีการใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ โดยวิธีการที่ใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวอย่างเดียว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวิธีการอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับกมลทิพย์ และประกอบ (2544) ที่ทดลองอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ โดยใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวผสมในอาหารเป็นเวลา 30 วัน พบว่าลูกกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวมีอัตรารอดสูงที่สุด และระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่ออัตรารอดของลูกกุ้งกุลาดำ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3 และภาพที่ 8)

2. ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง

จากการการใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้ง *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าวิธีการใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่อ

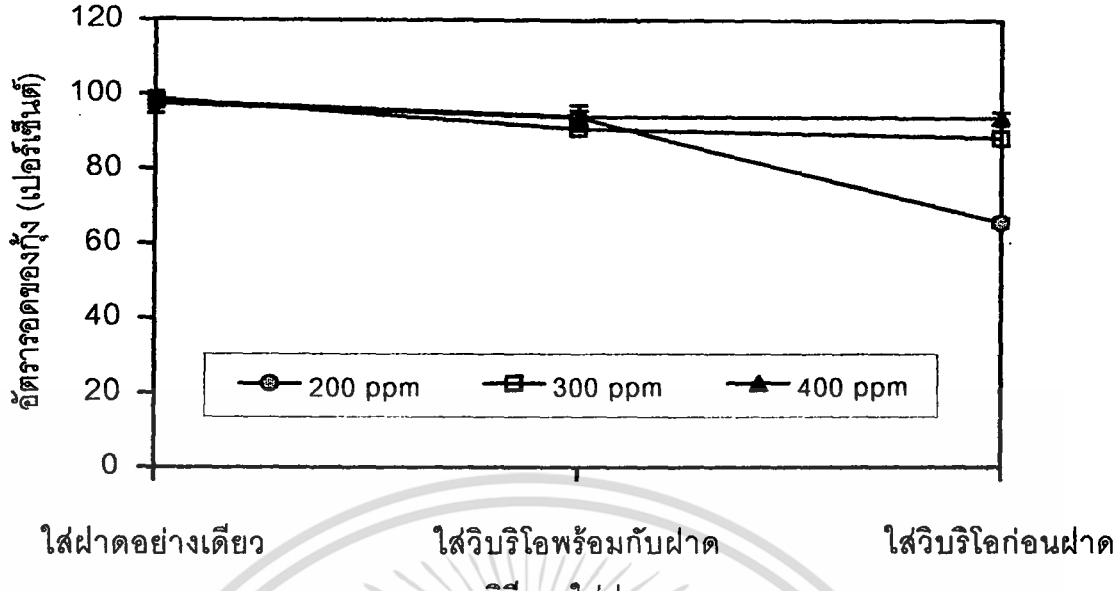
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 อัตราการรอดตายของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi*

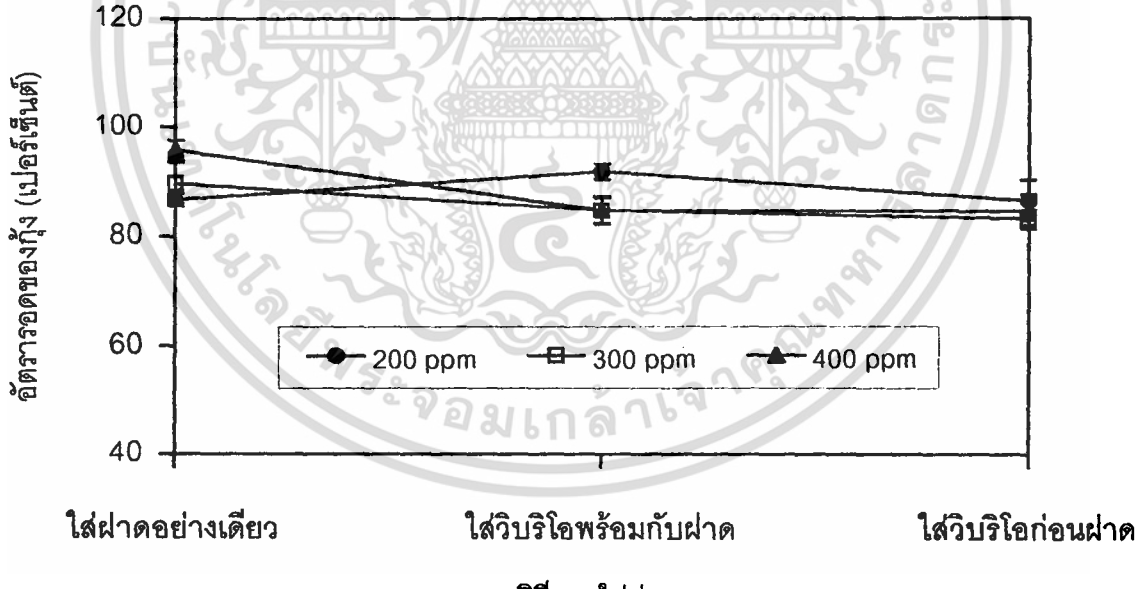
	ปัจจัยการทดลอง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
การใส่ฝาด	ใส่ฝาดอย่างเดียว	98.00 ± 1.06 [a]	90.67 ± 1.29 [a]	88.89 ± 2.72 [a]	85.00 ± 2.95 [a]
	ใส่ *V. harveyi* กับฝาดพร้อมกัน	92.78 ± 1.00 [b]	87.00 ± 1.23 [b]	79.22 ± 1.62 [b]	71.33 ± 1.43 [b]
	ใส่ *V. harveyi* 6 ชม. ก่อนใส่ฝาด	92.56 ± 0.91 [b]	84.56 ± 1.61 [b]	79.33 ± 1.70 [b]	73.44 ± 1.87 [b]
ความเข้มข้น	ความเข้มข้น 200 ส่วนในล้าน	95.56 ± 1.10 [a]	88.22 ± 1.22 [a]	80.89 ± 2.02 [a]	74.11 ± 1.39 [a]
	ความเข้มข้น 300 ส่วนในล้าน	92.56 ± 0.68 [a]	85.78 ± 1.52 [a]	74.89 ± 2.09 [a]	68.22 ± 2.34 [a]
	ความเข้มข้น 400 ส่วนในล้าน	95.22 ± 1.19 [a]	88.22 ± 1.40 [a]	81.67 ± 1.92 [a]	73.44 ± 2.52 [a]

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละปัจจัย หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

18758



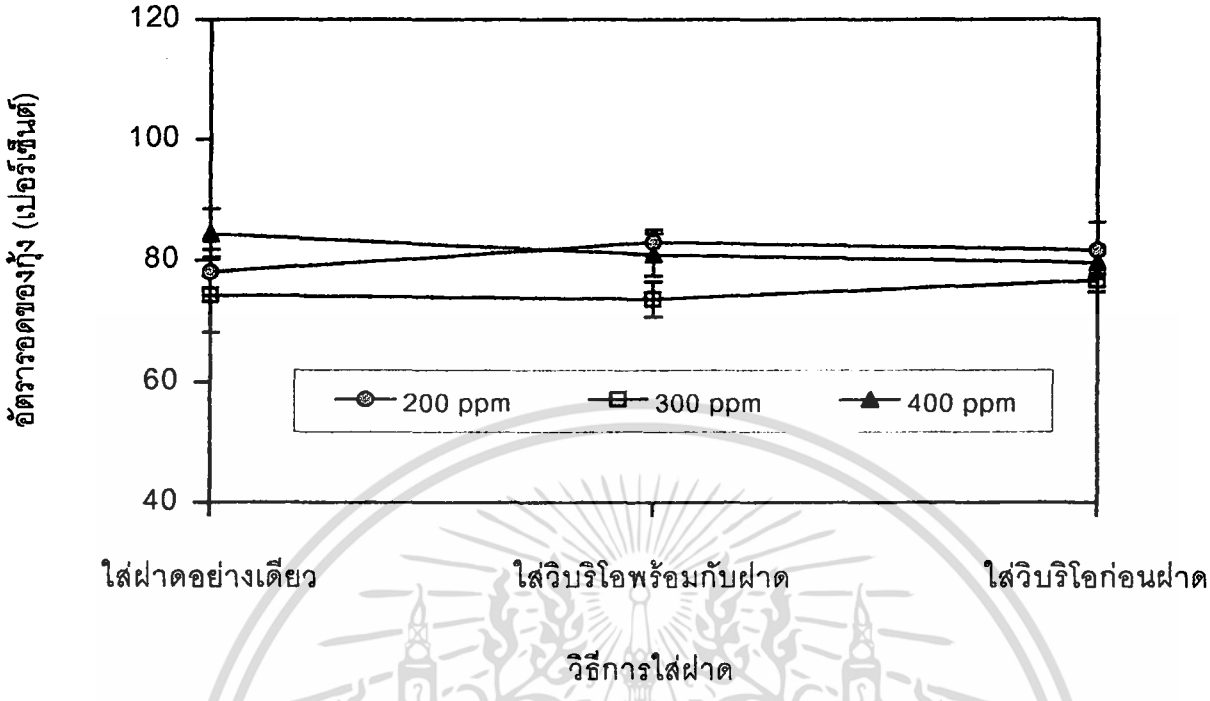
ภาพที่ 5 อัตราการรอดตายของลูกกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว ที่เวลา 24 ชั่วโมง



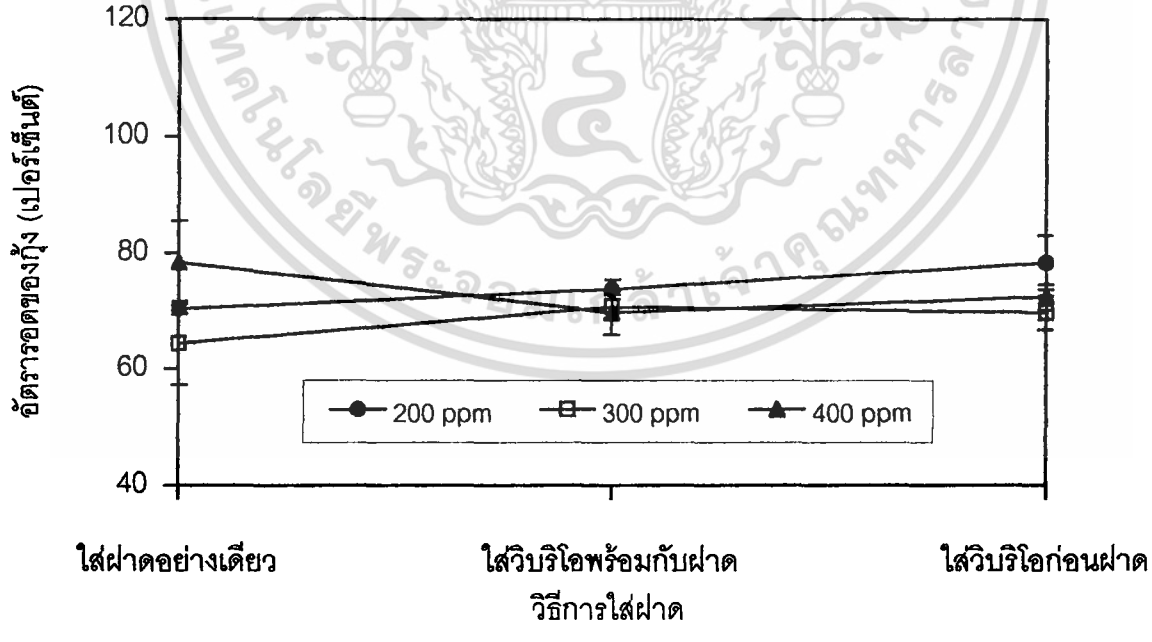
ภาพที่ 6 อัตราการรอดตายของลูกกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว ที่เวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
จุฬาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ



ภาพที่ 7 อัตราการรอดตายของลูกกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว ที่เวลา 72 ชั่วโมง



ภาพที่ 8 อัตราการรอดตายของลูกกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว ที่เวลา 96 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำ โดยวิธีการใส่ *V. harveyi* เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับวิธีการอื่นๆ โดยวิธีการนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *V. harveyi* ต่ำที่สุด จึงทำให้มีปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำมากที่สุด และระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำ โดยระดับความเข้มข้นที่ 200 ส่วนในล้าน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับระดับความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 4 และภาพที่ 9) โดยที่ความเข้มข้นนี้มีผลในการยับยั้ง *V. harveyi* สูงที่สุด จึงทำให้มีปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำน้อยที่สุด

จากการการใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้ง *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่าวิธีการใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำ อย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำ โดยระดับความเข้มข้นที่ 200 ส่วนในล้าน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับระดับความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 4 และภาพที่ 10) โดยที่ความเข้มข้นนี้มีผลในการยับยั้ง *V. harveyi* ต่ำที่สุด จึงทำให้มีปริมาณ *V. harveyi* ในน้ำมากที่สุด นอกจากนี้ พบว่าวิธีการใส่มีอิทธิพลร่วมกับระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว ($P<0.05$)

จากการการใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ ที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่าวิธีการใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำ โดยวิธีการที่ใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว โดยไม่ใส่ *V. harveyi* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับวิธีการอื่นๆ ซึ่งวิธีการนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *V. harveyi* ต่ำที่สุด จึงทำให้ในน้ำเลี้ยงกุ้งมีปริมาณเชื้อ *V. harveyi* น้อยที่สุด และระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำ โดยระดับความเข้มข้นที่ 400 ส่วนในล้าน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นนี้มีผลในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* สูงที่สุด จึงทำให้มีปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำน้อยที่สุด (ตารางที่ 4 และภาพที่ 11)

จากการใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำ ที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าวิธีการใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำ โดยวิธีการที่ใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว โดยไม่ใส่ *V. harveyi* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับวิธีการอื่นๆ ซึ่งวิธีการนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *V. harveyi* สูงที่สุด จึงทำให้ในน้ำเลี้ยงกุ้งมีปริมาณเชื้อ *V. harveyi* มากที่สุด และระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว มีผลต่อปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำ โดยระดับความเข้มข้นที่ 200 ส่วนในล้าน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) **ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นนี้มีผลในการยับยั้งเชื้อ** *V. harveyi* **ในน้ำได้น้อยที่สุด จึงทำให้มีปริมาณเชื้อ** *V. harveyi* **ในน้ำมากที่สุด (ตารางที่ 4 และภาพที่ 12) นอกจากนี้ พบว่า วิธีการใส่มีอิทธิพลร่วมกับระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว** ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่ผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว

	ปัจจัยการทดลอง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
การใส่ฝาด	ใส่ฝาดอย่างเดียว	$3.20\times10^{4} \pm 6.51\times10^{3}$ [a]	$4.78\times10^{3} \pm 2.47\times10^{3}$ [a]	$2.02\times10^{4} \pm 3.61\times10^{3}$ [a]	$8.00\times10^{4} \pm 4.97\times10^{3}$ [a]
	ใส่ *V. harveyi* กับฝาดพร้อมกัน	$1.80\times10^{5} \pm 3.28\times10^{4}$ [a]	$1.35\times10^{4} \pm 5.62\times10^{3}$ [a]	$5.81\times10^{4} \pm 6.51\times10^{3}$ [b]	$3.75\times10^{4} \pm 3.50\times10^{3}$ [b]
	ใส่ *V. harveyi* 6 ชม. ก่อนใส่ฝาด	$1.71\times10^{6} \pm 2.40\times10^{5}$ [b]	$1.21\times10^{5} \pm 3.36\times10^{4}$ [a]	$4.94\times10^{4} \pm 8.87\times10^{3}$ [b]	$2.73\times10^{4} \pm 1.16\times10^{4}$ [b]
ความเข้มข้น	ความเข้มข้น 200 ส่วนในล้าน	$1.32\times10^{5} \pm 3.28\times10^{4}$ [a]	$1.35\times10^{5} \pm 4.09\times10^{4}$ [a]	$5.50\times10^{4} \pm 1.16\times10^{4}$ [a]	$8.16\times10^{4} \pm 1.18\times10^{4}$ [a]
	ความเข้มข้น 300 ส่วนในล้าน	$4.36\times10^{5} \pm 1.43\times10^{5}$ [b]	$3.29\times10^{3} \pm 5.02\times10^{2}$ [b]	$5.79\times10^{4} \pm 4.33\times10^{3}$ [a]	$3.16\times10^{4} \pm 4.41\times10^{3}$ [b]
	ความเข้มข้น 400 ส่วนในล้าน	$1.35\times10^{6} \pm 1.04\times10^{5}$ [b]	$1.40\times10^{3} \pm 1.98\times10^{2}$ [b]	$1.51\times10^{4} \pm 2.36\times10^{3}$ [b]	$3.16\times10^{4} \pm 3.84\times10^{3}$ [b]

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละปัจจัย หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)

สรุป

จากผลการทดลองเหนี่ยวนำลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 ให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* พบว่าลูกกุ้งที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ที่ระดับความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL มีปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งสูงที่สุด และลูกกุ้งมีอัตรารอดต่ำที่สุดเช่นกัน จึงสรุปได้ว่าเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 มีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคมากกว่าสายพันธุ์ 046 และที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณเชื้อได้มากกว่าที่ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ในสายพันธุ์เดียวกัน อย่างไรก็ตาม จำนวนครั้งในการแยกเชื้อซ้ำไม่ทำให้ปริมาณเชื้อในน้ำเลี้ยงกุ้ง และอัตรารอดของลูกกุ้งแตกต่างกัน

จากผลการทดลองใช้สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 1526 ในลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 พบว่าการใส่ฝาดเพียงอย่างเดียวทำให้ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้งน้อยที่สุด และลูกกุ้งมีอัตรารอดสูงที่สุดเช่นกัน จึงสรุปได้ว่า วิธีการใส่ฝาดเพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ได้สูงที่สุด และที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว พบว่าไม่ทำให้ลูกกุ้งมีอัตรารอดแตกต่างกันในทุกระดับความเข้มข้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทดลองใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว ที่มากกว่า 400 ส่วนในล้าน ซึ่งอาจให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ที่ดีขึ้น

2. ควรศึกษาถึงสายพันธุ์ของเชื้อ *V. harveyi* ที่พบทั่วไปในบ่อเลี้ยงกุ้ง เพื่อสามารถนำสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวไปใช้ในบ่อกุ้งได้ในความเข้มข้นที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ สรรหาธรรม และประกอบ ไชสะ. 2544. การศึกษาผลของสิ่งสกัดหยาบจากฝ่าดดอกขาวต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งกุลาดำวัยอ่อน. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. ตรัง. 31 หน้า

ก่องกานดา ชยามฤค. 2528. สมุนไพรไทย ตอนที่ 4. กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ. 145 หน้า

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2543. กุ้งไทย 2000. กรุงเทพฯ : เจริญรัฐการพิมพ์. 260 หน้า

ชุติมา เทพฤทธิ์. 2540. ความสามารถของ *Lactobacillus acidophilus* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio* spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำ *Peneaus monodon*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 24 หน้า

ธรรมนูญ แสงแก้ว และวชิราพรรณ ช่วยเพชร. 2543. การทดสอบค่าต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของ Oxolinic acid และสารสกัดหยาบจากฝิ่นต้น (*Jatropha multifida*) และขันทองพยาบาท (*Suregada multiflorum*) ต่อเชื้อ *Vibrio* spp. ในพื้นที่ อ.สิเกา จ.ตรัง. ปัญหาพิเศษ. ปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. ตรัง. 35 หน้า

ปัญญา สุวรรณสมุทร. 2535. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 150 หน้า

ประจวบ หลำอุบล. 2531. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. หน้า 51-57. ใน ความรู้เรื่องการเลี้ยงกุ้ง 2531. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ฝ่ายวิชาการและพัฒนาผลิตภัณฑ์ บริษัท เกรทเทอร์ เวท จำกัด. 2542. แบคทีเรียเรืองแสงกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วารสารเพื่อนชาวกุ้ง. 1(4) : 20-21.

พิกุล จิรวาณิชไพศาล. 2543. โพรไบโอติกคืออะไร ทำไมต้องเป็นโพรไบโอติกด้วย. วารสารข่าวสารริมบ่อ. (พฤษภาคม) : 21-24.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภัสสร สวาทะสุข, เครือวัลย์ อ่อนทอง และสถาพร ดิเรกบุษราคม. 2540. ผลของสารสกัดลูกใต้ใบต่อสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำ. หน้า 11-15. ใน การประชุมทางวิชาการ 2540. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ยอดยิ่ง เทพธรานนท์. 2540. วัคซีนสำหรับกุ้งกุลาดำ และกุ้งอื่นๆ ในสกุล Peneaus:หลักการ, รายละเอียดของวัคซีนที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันและกำจัดโรค และผลของการใช้วัคซีนกับกุ้งกุลาดำ (Peneaus monodon. Fabricus). บางแคการพิมพ์. 570 หน้า

ไม่ปรากฏผู้แต่ง. 2539. การเลี้ยงกุ้งทะเลแบบพัฒนา (กุ้งกุลาดำ). นครปฐม : โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาสาธารณสุขอาเซียน 63 หน้า

ระบิล รัตนพานี และวีณา เคยพุดซา. 2536. จุลกายวิภาคของโรคที่เกิดจากเชื้อวิบริโอในกุ้งกุลาดำ. วารสารโรคสัตว์น้ำ 14 (1) : 32-37.

สถาพร ดิเรกบุษราคม, สมพร รุ่งกำเนิดวงศ์, อังคณา หิรัญสาลี และลิลา เรืองแป้น. 2539. ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยบางชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 7/2539, สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา. 7 หน้า

สถาพร ดิเรกบุษราคม และอุษณีย์ เอกปณิธานพงศ์. 2535. ผลของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งต่อเชื้อวิบริโอที่แยกจากกุ้งกุลาดำที่เป็นโรค, หน้า 259-262. ใน รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2535. สถาบันวิจัยกรมประมงน้ำจืด. บางเขน. กรุงเทพฯ.

สุภาพร สุกสีเหลือง. 2538. การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ : ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ. 291 หน้า

อภิชัย นิลภักดิ์ และอิสมาแอ หะยีสาและ, 2543. การทดสอบค่าต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อของ Oxytetracycline และสิ่งสกัดจากฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*) และแสมดำ (*Avicenia officinalis*) ต่อเชื้อ *Vibrio* spp. ในพื้นที่ อ.สิเกา จ.ตรัง. ปัญหาพิเศษ. ปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. ตรัง. 43 หน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อำนาจ สกุลทอง. 2543. การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสิ่งสกัดหยาบจากเสม็ดขาว, ผักบุ้งทะเล, Oxolinic acid และ Oxytetracyclin ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio* spp. ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำ ในพื้นที่ อ.สิเกา จ.ตรัง. ปัญหาพิเศษ. ปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. ตรัง. 28 หน้า

อิสริยา ทองงาม. 2541. การสำรวจชนิด สรรพคุณทางยา และวิธีการใช้พืชสมุนไพรบางชนิดบริเวณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง จังหวัดตรัง. เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการ ครั้งที่ 15. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. 405-424.

Itami, T., Y. Takahashi and Y. Nakamura. 1989. Efficacy of Vaccination against Vibriosis in Culturred Kurama Prawns *Penaeus japonicus*. Aquatic Animal Health 1 : 238-242.

Rengpipat, S., W. Phianphak, S. Piyatiratitivorakul and P. Menasveta. 1998. Effects of a Probiotic Bacterium on Black Tiger Shrimp *Peneaus monodon* Survival and Growth. Aquaculture 167 : 301-313.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* 1526 ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	74	65	63	67.33	3.38
1526-0	73	53	62	62.67	5.79
1526-1	66	57	65	62.67	2.85
1526-2	71	65	58	64.67	3.76
1526-3	64	66	71	67.00	2.08

ตารางผนวกที่ 2 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* 046 ที่ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	74	65	63	67.33	3.38
046-0	47	60	60	55.67	4.34
046-1	66	59	71	65.33	3.48
046-2	71	60	69	66.67	3.38
046-3	51	59	66	58.67	4.34

ตารางผนวกที่ 3 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* 1526 ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	74	65	63	67.33	3.38
1526-0	21	29	28	26.00	2.52
1526-1	16	33	12	20.33	6.44
1526-2	29	30	37	32.00	2.52
1526-3	22	28	29	26.33	2.19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* 046 ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	74	65	63	67.33	3.38
046-0	55	61	62	59.33	2.19
046-1	62	58	69	63.00	3.22
046-2	69	80	73	74.00	3.22
046-3	59	63	60	60.67	1.20

ตารางผนวกที่ 5 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* 1526 ที่ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	32	24	33	29.67	2.85
1526-0	23	14	9	15.33	4.09
1526-1	8	6	9	7.67	0.88
1526-2	22	15	6	14.33	4.63
1526-3	8	18	18	14.67	3.33

ตารางผนวกที่ 6 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* 046 ที่ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	32	24	33	29.67	2.85
046-0	29	34	26	29.67	2.33
046-1	33	21	43	32.33	6.36
046-2	39	21	39	33.00	6.00
046-3	20	14	33	22.33	5.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* 1526 ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	32	24	33	29.67	2.85
1526-0	1	2	2	1.67	0.33
1526-1	0	5	0	1.67	1.67
1526-2	1	4	11	5.33	2.96
1526-3	1	1	2	1.33	0.33

ตารางผนวกที่ 8 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* 046 ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ด้วยวิธีการแยกเชื้อซ้ำ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	32	24	33	29.67	2.85
046-0	32	32	27	30.33	1.67
046-1	40	35	38	37.67	1.45
046-2	31	28	39	32.67	3.29
046-3	33	27	27	29.00	2.00

ตารางผนวกที่ 9 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 1526 (CFUs/mL) ที่ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
1526-0	5.20×10^4	8.00×10^3	4.40×10^3	2.15×10^4	1.53×10^4
1526-1	8.60×10^3	3.00×10^4	2.60×10^4	2.15×10^4	6.57×10^3
1526-2	5.00×10^3	8.60×10^3	7.80×10^3	7.13×10^3	1.09×10^3
1526-3	5.80×10^3	7.80×10^3	1.10×10^4	8.20×10^3	1.51×10^3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 10 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 046 (CFUs/mL) ที่ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
O46-0	$3.80x10^3$	$2.40x10^3$	$5.40x10^3$	$3.87x10^3$	$8.67x10^2$
O46-1	$2.60x10^3$	$3.80x10^3$	$3.60x10^3$	$3.33x10^3$	$3.71x10^2$
O46-2	$3.20x10^3$	$2.80x10^3$	$1.16x10^4$	$5.87x10^3$	$2.87x10^3$
O46-3	$7.80x10^3$	$7.20x10^3$	$4.60x10^3$	$6.53x10^3$	$9.82x10^2$

ตารางผนวกที่ 11 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 1526 (CFUs/mL) ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
1526-0	$2.06x10^5$	$2.72x10^5$	$2.02x10^5$	$2.27x10^5$	$2.27x10^4$
1526-1	$2.54x10^5$	$1.48x10^5$	$2.86x10^5$	$2.29x10^5$	$4.17x10^4$
1526-2	$1.56x10^5$	$1.84x10^5$	$1.86x10^5$	$1.75x10^5$	$9.68x10^3$
1526-3	$1.40x10^5$	$1.12x10^5$	$6.00x10^4$	$1.04x10^5$	$2.34x10^4$

ตารางผนวกที่ 12 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 046 (CFUs/mL) ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
O46-0	$1.02x10^4$	$8.03x10^3$	$1.00x10^4$	$9.02x10^3$	$5.66x10^2$
O46-1	$3.00x10^4$	$6.00x10^2$	$8.00x10^3$	$1.29x10^4$	$8.83x10^3$
O46-2	$2.00x10^4$	$1.80x10^4$	$2.40x10^4$	$2.07x10^4$	$1.76x10^3$
O46-3	$9.80x10^4$	$1.40x10^4$	$1.24x10^5$	$7.87x10^4$	$3.32x10^4$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 13 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 1526 (CFUs/mL) ที่ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
1526-0	$3.80x10^4$	$1.18x10^4$	$1.80x10^4$	$2.26x10^4$	$7.91x10^3$
1526-1	$1.46x10^4$	$1.36x10^4$	$2.12x10^4$	$1.65x10^4$	$2.38x10^3$
1526-2	$1.64x10^4$	$1.62x10^4$	$1.78x10^4$	$1.68x10^4$	$5.03x10^2$
1526-3	$1.84x10^4$	$1.46x10^4$	$2.38x10^4$	$1.89x10^4$	$2.67x10^3$

ตารางผนวกที่ 14 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 046 (CFUs/mL) ที่ความเข้มข้น 10^4 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
O46-0	$4.00x10^3$	$6.00x10^3$	$6.40x10^3$	$5.47x10^3$	$7.42x10^2$
O46-1	$5.20x10^3$	$4.40x10^3$	$4.40x10^3$	$4.67x10^3$	$2.67x10^2$
O46-2	$7.08x10^3$	$6.28x10^3$	$5.04x10^3$	$6.13x10^3$	$5.93x10^2$
O46-3	$1.80x10^4$	$4.80x10^3$	$5.70x10^3$	$9.50x10^3$	$4.26x10^3$

ตารางผนวกที่ 15 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 1526 (CFUs/mL) ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
1526-0	$5.22x10^5$	$7.40x10^4$	$5.90x10^5$	$3.95x10^5$	$1.62x10^5$
1526-1	$7.08x10^5$	$6.98x10^5$	$3.70x10^5$	$5.92x10^5$	$1.11x10^5$
1526-2	$7.74x10^5$	$4.08x10^5$	$7.78x10^5$	$6.53x10^5$	$1.23x10^5$
1526-3	$9.60x10^5$	$7.00x10^5$	$7.74x10^5$	$8.11x10^5$	$7.73x10^4$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 16 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* 046 (CFUs/mL) ที่ความเข้มข้น 10^5 CFUs/mL ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ครั้งที่	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
O46-0	$1.08x10^5$	$6.60x10^4$	$1.06x10^5$	$9.33x10^4$	$1.37x10^4$
O46-1	$1.20x10^5$	$9.00x10^4$	$1.00x10^5$	$1.03x10^5$	$8.82x10^3$
O46-2	$8.80x10^4$	$7.80x10^4$	$9.00x10^4$	$8.53x10^4$	$3.71x10^3$
O46-3	$1.02x10^5$	$5.80x10^4$	$2.20x10^4$	6.07x104	$2.31x10^4$

ตารางผนวกที่ 17 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) ที่เลี้ยงในน้ำผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	100	100	100	100.00	0
200	100	92	100	97.33	2.67
300	100	100	96	98.67	1.33
400	99	95	100	98.00	1.53

ตารางผนวกที่ 18 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* พร้อมกับสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	84	81	85	83.33	1.20
200	96	90	95	93.67	1.85
300	91	91	90	90.67	0.33
400	91	91	100	94.00	3.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 19 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	84	81	85	83.33	1.20
200	95	98	94	95.67	1.20
300	92	87	86	88.33	1.85
400	97	92	92	93.67	1.67

ตารางผนวกที่ 20 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) ที่เลี้ยงในน้ำผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	92	94	93	93.00	0.58
200	89	86	85	86.67	1.20
300	83	90	96	89.67	3.76
400	93	95	99	95.67	1.77

ตารางผนวกที่ 21 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* พร้อมกับสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	73	64	65	67.33	2.85
200	94	89	92	91.67	1.45
300	89	80	85	84.67	2.60
400	87	80	87	84.67	2.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 22 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากการเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	73	64	65	67.33	2.85
200	90	90	79	86.33	3.67
300	85	84	80	83.00	1.53
400	88	78	87	84.33	3.18

ตารางผนวกที่ 23 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) ที่เลี้ยงในน้ำผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	92	90	79	87.00	4.04
200	77	72	85	78.00	3.79
300	65	72	86	74.33	6.17
400	88	76	89	84.33	4.17

ตารางผนวกที่ 24 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* พร้อมกับสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	70	51	49	56.67	6.69
200	87	82	80	83.00	2.08
300	76	77	68	73.67	2.85
400	81	87	75	81.00	3.46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 25 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	70	51	49	56.67	6.69
200	90	74	81	81.67	4.63
300	79	78	73	76.67	1.85
400	75	82	82	79.67	2.33

ตารางผนวกที่ 26 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) ที่เลี้ยงในน้ำผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	87	87	73	82.33	4.66
200	72	69	70	70.33	0.88
300	51	66	76	64.33	7.26
400	85	64	86	78.33	7.17

ตารางผนวกที่ 27 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* พร้อมกับสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	56	37	39	44.00	6.03
200	72	72	77	73.67	1.67
300	71	74	67	70.67	2.03
400	76	63	70	69.67	3.76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 28 อัตรารอดของกุ้ง (เปอร์เซ็นต์) หลังจากเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	56	37	39	44.00	6.03
200	87	71	77	78.33	4.66
300	73	64	72	69.67	2.85
400	68	75	74	72.33	2.19

ตารางผนวกที่ 29 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	$3.60x10^{2}$	$5.20x10^{2}$	$6.80x10^{2}$	$5.20x10^{2}$	$9.23x10^{1}$
200	$7.80x10^{4}$	$7.00x10^{3}$	$1.24x10^{4}$	$3.25x10^{4}$	$2.28x10^{4}$
300	$1.92x10^{4}$	$2.84x10^{4}$	$4.88x10^{4}$	$3.21x10^{4}$	$8.75x10^{3}$
400	$2.96x10^{4}$	$3.60x10^{4}$	$2.90x10^{4}$	$3.15x10^{4}$	$2.24x10^{3}$

ตารางผนวกที่ 30 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มีการเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 พร้อมกับสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	$3.10Ex10^{4}$	$3.30x10^{4}$	$3.10x10^{4}$	$3.17x10^{4}$	$6.67x10^{2}$
200	$2.40x10^{4}$	$3.80x10^{4}$	$5.00x10^{4}$	$3.73x10^{4}$	$7.51x10^{3}$
300	$7.00x10^{5}$	$2.72x10^{5}$	$2.72x10^{5}$	$4.15x10^{5}$	$1.43x10^{5}$
400	$1.23x10^{5}$	$8.32x10^{4}$	$5.40x10^{4}$	$8.68x10^{4}$	$2.01x10^{4}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 31 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มีการเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาว ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	$3.10Ex10^{4}$	$3.30x10^{4}$	$3.10x10^{4}$	$3.17x10^{4}$	$6.67x10^{2}$
200	$4.50x10^{5}$	$4.50x10^{4}$	$4.80x10^{5}$	$3.25x10^{5}$	$1.40x10^{5}$
300	$3.00x10^{5}$	$2.04x10^{6}$	$2.40x10^{5}$	$8.60x10^{5}$	$5.90x10^{5}$
400	$2.90x10^{6}$	$4.50x10^{6}$	$4.40x10^{6}$	$3.93x10^{6}$	$5.17x10^{5}$

ตารางผนวกที่ 32 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	$2.00x10^{3}$	$7.67x10^{3}$	$7.67x10^{3}$	$5.78x10^{3}$	$1.89x10^{3}$
200	$8.67x10^{2}$	$1.00x10^{3}$	$3.60x10^{4}$	$1.26x10^{4}$	$1.17x10^{4}$
300	$7.00x10^{2}$	$3.67x10^{3}$	$2.00x10^{2}$	$1.52x10^{3}$	$1.08x10^{3}$
400	$1.33x10^{2}$	$1.67x10^{2}$	$3.00x10^{2}$	$2.00x10^{2}$	$5.0x10^{1}$

ตารางผนวกที่ 33 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มีการเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 พร้อมกับสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	$1.33x10^{4}$	$7.67x10^{4}$	$1.33x10^{4}$	$3.45x10^{4}$	$2.11x10^{4}$
200	$6.67x10^{3}$	$7.33x10^{3}$	$9.00x10^{4}$	$3.47x10^{4}$	$2.77x10^{4}$
300	$4.33x10^{3}$	$6.33x10^{3}$	$3.00x10^{3}$	$4.56x10^{3}$	$9.69x10^{2}$
400	$1.33x10^{3}$	$2.33x10^{3}$	$3.33x10^{2}$	$1.33x10^{3}$	$5.77x10^{2}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 34 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มีการเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	$1.33x10^4$	$7.67x10^4$	$1.33x10^4$	$3.45x10^4$	$2.11x10^4$
200	$7.00x10^5$	$2.27x10^5$	$1.43x10^5$	$3.57x10^5$	$1.73x10^5$
300	$4.33x10^3$	$4.33x10^3$	$2.67x10^3$	$3.78x10^3$	$5.56x10^2$
400	$3.67x10^3$	$3.33x10^3$	$2.33x10^3$	$2.66x10^3$	$4.01x10^2$

ตารางผนวกที่ 35 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	$3.03x10^3$	$2.33x10^4$	$3.27x10^4$	$1.97x10^4$	$8.75x10^3$
200	$5.47x10^4$	$1.47x10^4$	$2.57x10^4$	$3.17x10^4$	$1.19x10^4$
300	$2.43x10^4$	$3.00x10^4$	$1.67x10^4$	$2.37x10^4$	$3.86x10^3$
400	$1.33x10^3$	$3.00x10^3$	$1.10x10^4$	$5.11x10^3$	$2.98x10^3$

ตารางผนวกที่ 36 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มีการเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 พร้อมกับสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	$1.07x10^5$	$1.53x10^5$	$1.10x10^5$	$1.23x10^5$	$1.50x10^4$
200	$2.73x10^4$	$4.43x10^4$	$5.13x10^4$	$4.78x10^4$	$7.13x10^3$
300	$1.27x10^5$	$1.03x10^5$	$7.33x10^4$	$1.01x10^5$	$1.54x10^4$
400	$1.30x10^4$	$2.37x10^4$	$3.97x10^4$	$2.54x10^4$	$7.75x10^3$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 37 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มีการเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	$1.07x10^5$	$1.53x10^5$	$1.10x10^5$	$1.23x10^5$	$1.50x10^4$
200	$6.67x10^3$	$1.03x10^5$	$1.47x10^5$	$8.56x10^4$	$4.14x10^4$
300	$4.87x10^4$	$4.33x10^4$	$5.43x10^4$	$4.88x10^4$	$3.18x10^3$
400	$1.73x10^4$	$1.20x10^4$	$1.50x10^4$	$1.48x10^4$	$1.54x10^3$

ตารางผนวกที่ 38 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งผสมสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	$5.23x10^5$	$2.60x10^5$	$3.27x10^5$	$3.70x10^5$	$7.91x10^4$
200	$1.50x10^5$	$1.50x10^5$	$1.93x10^5$	$1.64x10^5$	$1.44x10^4$
300	$4.97x10^4$	$2.37x10^4$	$3.93x10^4$	$3.76x10^4$	$7.56x10^3$
400	$3.03x10^4$	$4.10x10^4$	$4.23x10^4$	$3.79x10^4$	$3.80x10^3$

ตารางผนวกที่ 39 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มีการเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 พร้อมกับสารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	$2.50x10^5$	$2.50x10^5$	$1.93x10^5$	$2.31x10^5$	$1.89x10^4$
200	$5.30x10^4$	$3.87x10^4$	$4.57x10^4$	$4.58x10^4$	$4.14x10^3$
300	$2.90x10^4$	$3.20x10^4$	$5.63x10^4$	$3.05x10^4$	$8.66x10^3$
400	$3.90x10^4$	$2.57x10^4$	$4.37x10^4$	$3.61x10^4$	$5.39x10^3$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 40 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้งที่มีการเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* 1526 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนใส่สารสกัดหยาบจากฝาดดอกขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ 96 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
VH	$2.50x10^5$	$2.50x10^5$	$1.93x10^5$	$2.31x10^5$	$1.89x10^4$
200	$3.57x10^4$	$3.33x10^4$	$1.63x10^5$	$3.45x10^4$	$4.30x10^4$
300	$3.90x10^4$	$1.60x10^4$	$2.50x10^4$	$2.67x10^4$	$6.69x10^3$
400	$7.67x10^3$	$1.23x10^4$	$4.20x10^4$	$2.07x10^4$	$1.08x10^4$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้