การศึกษาเปรียบเทียบผลของโพรไบโอติกจากแบคทีเรียกับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเชิงพาณิชย์ต่อระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ

นางสาวพิศมัย โพธิ์เวชกุล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาตรมหาบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2547

ISBN : 974-53-1094-8

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

COMPARATIVE STUDY OF BACTERIAL PROBIOTIC AND COMMERCIAL IMMUNOSTIMULANT ON BLACK TIGER SHRIMP IMMUNE SYSTEM

Miss Pissamai Powedchagun

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2004

ISBN : 974-53-1094-8

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบผลของโพรไบโอติกจากแบคทีเรียกับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเชิงพาณิชย์ต่อระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ
โดย	นางสาวพิศมัย โพธิ์เวชกุล
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิศมัย โพธิ์เวชกุล: การศึกษาเปรียบเทียบผลของโพรไบโอติกจากแบคทีเรียกับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเชิงพาณิชย์ต่อระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ (COMPARATIVE STUDY OF BACTERIAL PROBIOTIC AND COMMERCIAL IMMUNOSTIMULANT ON BLACK TIGER SHRIMP IMMUNE SYSTEM) อ.ที่ปรึกษา: รศ. ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ 132 หน้า ISBN: 974-53-1094-8

เปรียบเทียบสูตรอาหารต่อระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำจากการทดลองครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ซึ่ง แบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 5 กลุ่มการทดลอง โดยกลุ่มที่ 1 ให้อาหารกุ้งปกติ (ควบคุม) กลุ่มที่ 2 อาหารกุ้งผสมบีตากลูแคน (BG) 2 กรัม/กิโลกรัม กลุ่มที่ 3 อาหารกุ้งผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11-1) อัตราส่วน 2 ต่อ 1 (น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักเปียก) กลุ่มที่ 4 อาหารกุ้งผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11-2) อัตราส่วน 3 ต่อ1 (น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักเปียก) กลุ่มที่ 5 อาหารกุ้งผสมเซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย (F-BS11-3) อัตราส่วน 6 ต่อ1(น้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักเปียก) พบว่ากุ้งกลุ่ม F-BS11 มีน้ำหนัก และความยาวสูงที่สุด หลังจากเลี้ยงกุ้ง 90 วัน และการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันในระหว่าง 5 กลุ่มการทดลอง ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณ $\sim 10^7$ เซลล์/มล. และหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งลดลงเหลือ $\sim 10^5$ เซลล์/มล. และกุ้งกลุ่มควบคุมมีการตายสะสมสูงที่สุด ในการทดลองครั้งที่ 3 เลือกกลุ่มทดลองF-BS11-2 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม กลุ่ม BG และกลุ่ม BS11(อาหารผสมโพรไบโอติกแบคทีเรีย BS11) หลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่ากุ้งกลุ่ม BS11 มีการเจริญเติบโต การรอดชีวิตสูงที่สุด ปริมาณเม็ดเลือดรวม และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งแบคทีเรียโดยสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในเลือดกุ้งสูงที่สุดและหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ที่ความเข้มข้น $\sim 10^7$ CFU/ml ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งในทุกกลุ่มทดลองลดลงเหลือ $\sim 10^5$-10^6 เซลล์/มล. เปอร์เซ็นต์การยับยั้งแบคทีเรียในทุกกลุ่มทดลองมีเปอร์เซ็นต์สูงขึ้น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และกุ้งกลุ่มBS11 มีการตายสะสมต่ำที่สุด การศึกษาพยาธิสภาพต่อการเกิดโรคพบมีการติดเชื้อทั้งบริเวณตับ อวัยวะสร้างเม็ดเลือด และหัวใจของกุ้งทุกกลุ่มการทดลอง และไม่พบสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้งทุกกลุ่มทดลอง

สาขาวิชา .....เทคโนโลยีชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต.....พิศมัย โพธิ์เวชกุล.....

ปีการศึกษา....2547..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

4572423223: BIOTECHNOLOGY

KEY WORDS: IMMUNOSTIMULANT/ PROBIOTIC/ BLACK TIGER SHRIMP/ β-GLUCAN/

PISSAMAI POWEDCHAGUN: COMPARATIVE STUDY OF BACTERIAL PROBIOTIC AND COMMERCIAL IMMUNOSTIMULANT ON BLACK TIGER SHRIMP IMMUNE SYSTEM. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT, Ph.D., 132 pp. ISBN: 974-53-1094-8

Comparative study of five different diets on black tiger shrimp immune system: Control (regular shrimp feed); BG (regular shrimp feed with 2 g/kg β-glucan); F-BS11-1 (regular shrimp feed: formalin-fixed probiotic bacterium BS11; 2:1 dry weight/wet weight (dw/ww); F-BS11-2 (regular shrimp feed: formalin-fixed probiotic bacterium BS11; 3:1 dw/ww); and F-BS11-3 (regular shrimp feed: formalin-fixed probiotic bacterium BS11; 6: 1 dw/ww) were tested. Results from two experiments indicated that average shrimp weights and lengths, after 90 day-culture fed F-BS11, were higher than those of the other groups. Survival was not different among all treatments. Means of total hemocyte count of all shrimps after 90 days were $\sim 10^7$ cell ml^{-1}. After challenge test by *Vibrio harveyi* 639 for 5 days, mean of total hemocyte count from all shrimps decreased to $\sim 10^5$ cell ml^{-1}. Moreover, cumulative mortality of control shrimps were the most pronounced among all treatments.

In experiment III, four different diets: Control (regular shrimp feed); BG (regular shrimp feed with 2 g/kg β-glucan); BS11 (regular shrimp feed: *Bacillus* S11; 3: 1 dw/ww); and F-BS11-2, were tested on shrimps. Interestingly, growth and survival including total hemocyte count and antibacterial activity of shrimps feed BS11 after 90 day-culture were higher than those of the other groups. Decrease in total hemocyte count from $\sim 10^7$ cell ml^{-1} to $\sim 10^5 - 10^6$ cell ml^{-1}, after challenging by *V. harveyi*, among shimps in four treatments was detected. However, antibacterial activities increase were not significantly detected. Cumulative mortality of BS11 shrimps was the least among all treatments after 7 days of challenge test. Pathogenesis using immunohistochemistry technique was detected on hepatopancreas, hematopoietic tissue and heart of infected shrimps. No antibiotics in shrimp tissues from all treatments was detected by CM-test.

Field of study	Biotechnology	Student's signature	Pissamai Powedchagun
Academic year	2004	Advisor's signature	Sirirat Rengpipat

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลงได้ ต้องขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ รวมทั้งได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และได้ให้ข้อคิดเห็น ข้อแนะนำ การแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และได้ให้ข้อคิดเห็น ข้อแนะนำ แก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และได้ให้ข้อคิดเห็น ข้อแนะนำ แก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพศาล สิทธิกรกุล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ ประสานมิตร และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณเพื่อน และพี่น้องทุกคน ที่ให้คำปรึกษา และช่วยเหลือในทุกๆ เรื่อง

และ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้า ซึ่งทำให้ข้าพเจ้าได้มีวันนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		จ
กิตติกรรมประกาศ		ฉ
สารบัญ		ช
สารบัญตาราง		ฌ
สารบัญรูป		ฑ
บทที่		
1	บทนำ	1
2	การตรวจเอกสาร	4
	2.1 ชีววิทยาของกุ้งกุลาดำ	4
	2.2 วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ	6
	2.3 การเลี้ยงกุ้งกุลาดำ	7
	2.4 โรคระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ	13
	2.5 ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์กลุ่มครัสเตเซียน	16
	2.6 การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้ง	26
3	อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย	30
	3.1 อุปกรณ์ที่สำคัญ	30
	3.2 เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในงานวิจัย	30
	3.3 สารเคมีสำหรับ Immunohistochemistry	31
	3.4 วิธีดำเนินการวิจัย	32
	3.5 การวางแผนการทดลอง	39
4	ผลการทดลอง	40
5	วิจารณ์ผลการทดลอง	64
6	สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	70
รายการอ้างอิง		72

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก..... 79

ภาคผนวก ก..... 80

ภาคผนวก ข..... 84

ภาคผนวก ค..... 86

ภาคผนวก ง..... 87

ภาคผนวก จ..... 112

ภาคผนวก ฉ..... 131

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 132

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การทำงานของเซลล์แต่ละชนิดในระบบภูมิคุ้มกัน	3
2	ชนิดของเม็ดเลือดแบ่งตามลักษณะรูปร่าง	26
3	คุณภาพน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 1	40
4	คุณภาพน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 2	41
5	ปริมาณแบคทีเรียน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 1	41
6	ปริมาณแบคทีเรียน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 2	41
7	คุณภาพน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 3	50
8	ปริมาณแบคทีเรียน้ำระหว่างการเพาะเลี้ยงกุ้งในการทดลองครั้งที่ 3	51
9	ข้อมูลทางโภชนาการอาหารกุ้ง	87
10	ผลน้ำหนัก การทดลองครั้งที่ 1	87
11	ผลความยาว การทดลองครั้งที่ 1	88
12	ผลน้ำหนัก การทดลองครั้งที่ 2	88
13	ผลความยาว การทดลองครั้งที่ 2	89
14	ผลน้ำหนัก การทดลองครั้งที่ 3	89
15	ผลความยาว การทดลองครั้งที่ 3	90
16	ปริมาณเม็ดเลือดก่อนการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2	90
17	ปริมาณเม็ดเลือดก่อนการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 3	91
18	ปริมาณเม็ดเลือดหลังการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2	91
19	ปริมาณเม็ดเลือดหลังการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 3	92
20	ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)ในพลาสมากุ้งกุลาดำ ใน การทดลองครั้งที่ 3	92
21	การรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำหลังจากเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 90 วัน จากการ ทดลองครั้งที่ 1 และ2	93
22	การรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำหลังจากเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 60 และ90 วัน จากการทดลองครั้งที่ 3	93
23	การตายสะสมหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่ 1	93

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
24	การตายสะสมหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่ 2	94
25	การตายสะสมหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 90 วัน	94
26	การตายสะสมหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 120 วัน	95
27	ปริมาณ *Vibrio* spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค เป็น เวลา 2 วันจากการทดลองครั้งที่ 1 และ 2	95
28	ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้กุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรคจากการทดลองครั้งที่3กุ้งอายุ 90 วัน	96
29	ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้กุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค เป็นเวลา 2วัน จากการทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 120 วัน	96
30	ปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค จากการทดลองครั้งที่ 1	97
31	ปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค จากการทดลองครั้งที่ 2	97
32	ปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค จากการทดลองครั้งที่ 3 อายุ 90 วัน	97
33	ปริมาณ *Vibrio* spp. ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค จากการทดลองครั้งที่ 3 อายุ 120 วัน	98
34	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค จากการทดลอง ครั้งที่ 3 อายุ 90 วัน	98
35	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค จากการทดลอง ครั้งที่ 3 อายุ 120 วัน	98
36	ปริมาณ *E. coli* ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค จากการทดลองครั้งที่ 3 อายุ 90 วัน	99

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
37	ปริมาณ *E. coli* ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค จากการทดลองครั้งที่ 3 อายุ 120 วัน	99
38	ปริมาณ BS11 ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรคจากการทดลอง ครั้งที่ 3 อายุ 90 วัน	99
39	ปริมาณ BS11 ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรค จากการทดลองครั้งที่ 3 อายุ 120 วัน	100
40	ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงกุ้ง การทดลองครั้งที่ 1	101
41	ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงกุ้ง การทดลองครั้งที่ 2	102
42	ปริมาณแบคทีเรียในน้ำเลี้ยงกุ้ง การทดลองครั้งที่ 3	103
43	คุณภาพน้ำเลี้ยงกุ้งครั้งที่1	104
44	คุณภาพน้ำเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 2	108
45	คุณภาพน้ำเลี้ยงกุ้งครั้งที่ 3	111
46	การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลน้ำหนัก การทดลองครั้งที่ 1	112
47	การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลความยาว การทดลองครั้งที่ 1	113
48	การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลน้ำหนัก การทดลองครั้งที่ 2	114
49	การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลความยาว การทดลองครั้งที่ 2	115
50	การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลน้ำหนัก การทดลองครั้งที่ 3	116
51	การวิเคราะห์ทางสถิติ ผลความยาว การทดลองครั้งที่ 3	117
52	การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดก่อนการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 1	118
53	การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดหลังการชักนำให้เกิดโรค การ ทดลองครั้งที่ 1	119
54	การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดก่อนการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 2	119
55	การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดหลังการชักนำให้เกิดโรค การ ทดลองครั้งที่ 2	120
56	การวิเคราะห์ทางสถิติ การรอดชีวิต การทดลองครั้งที่ 3 หลังเลี้ยงเป็นระยะเวลา 60 วัน	120
57	การวิเคราะห์ทางสถิติ การรอดชีวิต การทดลองครั้งที่ 3 หลังเลี้ยงเป็นระยะเวลา120 วัน	121

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
58	การวิเคราะห์ทางสถิติ การตายสะสมหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค(challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 90 วัน จำนวน 20 ตัว.....	121
59	การวิเคราะห์ทางสถิติ การตายสะสมหลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค(challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 120 วัน จำนวน 10 ตัว.....	123
60	การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดก่อนการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 90วัน.....	126
61	การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดก่อนการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 120วัน.....	126
62	การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดหลังการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 90วัน.....	127
63	การวิเคราะห์ทางสถิติ ปริมาณเม็ดเลือดหลังการชักนำให้เกิดโรค การทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 120 วัน.....	127
64	การวิเคราะห์ทางสถิติ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)ใน พลาสมากุ้งกุลาดำ ในการทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 90วัน.....	128
65	การวิเคราะห์ทางสถิติ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)ใน พลาสมากุ้งกุลาดำ ก่อนทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่3 กุ้งอายุ 90 วัน.....	128
66	การวิเคราะห์ทางสถิติ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)ใน พลาสมากุ้งกุลาดำ ก่อนทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่(immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 120 วัน.....	129
67	การวิเคราะห์ทางสถิติ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)ในพลาสมากุ้งกุลาดำ หลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 9 วัน.....	129

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
68	การวิเคราะห์ทางสถิติ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)ในพลาสมากุ้งกุลาดำ หลังทดสอบการชักนำให้เกิดโรค (challenge test) โดยการแช่ (immersion) *Vibrio harveyi* ในการทดลองครั้งที่ 3 กุ้งอายุ 120 วัน.....	130
69	ความสามารถของชุดตรวจสอบ CM-test.....	131

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	การจัดอนุกรมวิธานของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*, Fabricius, 1798.....	4
2	ลักษณะภายนอกทั่วไปของกุ้งกุลาดำ.....	5
3	วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ.....	7
4	(ก) ระบบการจดจำสิ่งแปลก ปลอมของโปรตีนซึ่งมีผลให้เกิดการหลั่งสารในเม็ดเลือด (ข) ลักษณะการทำงานของโปรตีนซึ่งมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน.....	19
5	ภาพรวมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์กลุ่มครัสเตเซียน.....	22
6	ลักษณะภายในของกุ้งกุลาดำ.....	23
7	ต่อมน้ำเหลืองของกุ้งกุลาดำ.....	23
8	การกระจายของเม็ดเลือด(จุดสีขาว)รอบต่อมแอนเทนนอล (antennal gland: A) และบริเวณท้อง (stomach: S).....	24
9	เม็ดเลือดชนิดไฮยาลินเซลล์ (hyaline cell)ของกุ้งกุลาดำ.....	24
10	เม็ดเลือดชนิดเซมิแกรนูลาเซลล์ (semigranular cell) ของกุ้งกุลาดำ.....	25
11	เม็ดเลือดชนิดแกรนูลาเซลล์ (granular cell) ของกุ้งกุลาดำ.....	25
12	ชนิดของเม็ดเลือดแบ่งตามลักษณะรูปร่าง.....	25
13	การรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำหลังจากเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 90 วัน จากการทดลองครั้งที่ 1(ก) และ 2 (ข).....	42
14	ผลของน้ำหนัก (ก) และความยาว (ข) โดยเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำจากการเลี้ยงครั้งที่ 1.....	43
15	ผลของน้ำหนัก (ก) และความยาว (ข) โดยเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำจากการเลี้ยงครั้งที่ 2.....	44
16	การตายสะสมของกุ้งกุลาดำ จากการทดลองครั้งที่ 1(ก) และ 2 (ข) หลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639.....	46
17	ปริมาณ *Vibrio* spp.ในลำไส้กุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรคเป็นเวลา 2 วันจากการทดลองครั้งที่ 1(ก) และ 2 (ข).....	47

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
18	ปริมาณ *Vibrio* spp.ในน้ำเลี้ยงกุ้งกุลาดำหลังจากชักนำให้เกิดโรคเป็นเวลา 5 วันจากการทดลองครั้งที่ 1(ก) และ 2 (ข).....	47
19	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้ง (total hemocyte count) ก่อนและหลังการชักนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 1 (ก) และ 2(ข) หลังจากเลี้ยงกุ้ง เป็นเวลา 90 วัน.....	49
20	การรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 90 วัน จากการทดลองครั้งที่ 3.....	51
21	ผลของน้ำหนัก (ก) และความยาว (ข) โดยเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำจากการเลี้ยงครั้งที่ 3.....	52
22	การตายสะสมของกุ้งหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน (ก) และ 120 วัน(ข).....	54
23	ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้กุ้งหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90 วัน(ก) และ 120 วัน(ข).....	55
24	ปริมาณแบคทีเรียในน้ำหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90วันกลุ่มควบคุม (ก) กลุ่มBG (ข) กลุ่ม F-BS11-2 (ค) และ กลุ่มBS11(ง).....	57
25	ปริมาณแบคทีเรียในน้ำหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639 ความเข้มข้น 10^7 CFU/ml จากการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 120 วัน กลุ่มควบคุม (ก) กลุ่มBG (ข) กลุ่ม F-BS11-2 (ค) และ กลุ่มBS11(ง).....	59
26	ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้ง (total hemocyte count) ก่อนและหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค ในการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90วัน (ก) และ 120วัน(ข).....	61
27	ความสามารถในการต้านทานเชื้อก่อโรค จากการสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย(ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)ในเลือดกุ้งก่อนและหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* 639ในการทดลองครั้งที่ 3 เมื่อกุ้งอายุ 90วัน (ก) และ 120วัน(ข).....	62

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
28	พยาธิสภาพต่อการเกิดโรคบริเวณตับ (Hepatopancreas).....	63
29	ผลการตรวจหาสารปฏิชีวนะในเนื้อเยื่อกุ้ง จาก การทดลองครั้งที่ 3	63
30	ความสัมพันธ์ ระหว่างปริมาณเชื้อ (Log CFU/ml) กับเวลา และค่า OD 660 nm ของ *Vibrio harveyi* 639.....	82
31	ผลการการพิสูจน์เอกลักษณ์ของเชื้อ *Vibrio harveyi* 639 ด้วยวิธี Dot blot.....	83

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย