การเสริมภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* โดย *Clostridium butyricum*

นางสาว จันทนา นิธิเมธาโชค

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2539

ISBN 974-634-378-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 16862116

IMMUNOENHANCEMENT IN GIANT TIGER SHRIMP *Penaeus monodon* BY *Clostridium butyricum*

MISS CHANTANA NITHIMATHACHOKE

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement
for the Degree of Master of Science

Department of Microbiology
Graduate School
Chulalongkorn University

1996

ISBN 974-634-378-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเสริมภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* โดย *Clostridium butyricum*
โดย	นางสาว จันทนา นิธิเมธาโชค
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. นพ. บุญเสริม วิทยชำนาญกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปียะธีรธิติวรกุล)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

จันทนา นิธิเมธาโชค : การเสริมภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* โดย *Clostridium butyricum* (IMMUNOENHANCEMENT IN GIANT TIGER PRAWN *Penaeus monodon* BY *Clostridium butyricum*) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิทักษ์, 123 หน้า. ISBN 974-634-378-5.

การศึกษาการใช้สารกระตุ้นในกุ้งกุลาดำโดยใช้สารกระตุ้นทางการค้า IE-04 และเซลล์ยีสต์ *Clostridium butyricum* ที่ทำให้ตายด้วยฟอร์มาลินเสริมลงในอาหารและตรวจสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (challenge test) ด้วย *Vibrio parahaemolyticus* โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ *Vibrio harveyi* และไวรัสหัวเหลือง (Yellow Head Virus, YHV) โดยการแช่ รวมทั้งตรวจสอบการตอบสนองโดยเซลล์ คือ การเกิด phagocytosis และ phagocytic index การตอบสนองโดยสารน้ำ คือ bactericidin พบว่าการเสริมด้วยสารกระตุ้น IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm และการเสริมด้วยเซลล์ยีสต์ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm ติดต่อกัน 30 วัน จะช่วยเพิ่มความต้านทานต่อ *V. harveyi* โดยมีค่า RPS (Relative Percent Survival) เท่ากับ 37.93% และ 27.59% ตามลำดับ และความต้านทานต่อ *V. harveyi* จะหมดไปหลังหยุดให้ 7 วัน ความต้านทานต่อ YHV จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยโดยพบว่ามีการตายช้ากว่ากลุ่มควบคุม (RPS เท่ากับ 16% และ 20% ตามลำดับ) และคงอยู่หลังหยุดให้ 7 วัน (RPS เท่ากับ 46.18% และ 15.37% ตามลำดับ) และพบ bactericidin สูงกว่ากลุ่มควบคุม 4 เท่า และคงอยู่หลังหยุดให้ 7 วัน ในกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ยีสต์ *C. butyricum* มีการเกิด phagocytosis และ phagocytic index เพิ่มขึ้นหลังหยุดให้การเสริม 7 วัน

ส่วนการเสริมด้วยสารกระตุ้น IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm เซลล์ยีสต์ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm และสารผสมระหว่างสารกระตุ้น IE-04 และเซลล์ยีสต์ *C. butyricum* ในอัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm เป็นเวลา 7 วัน พบว่าในกลุ่มที่เสริมด้วยสารกระตุ้น IE-04 จะมีความต้านทานต่อ YHV เพิ่มขึ้นหลังหยุดให้ 7 และ 14 วัน (RPS เท่ากับ 38.46% และ 27.27% ตามลำดับ) และพบ bactericidin สูงกว่ากลุ่มควบคุม 4 เท่า หลังหยุดให้ 7 วัน กลุ่มที่ได้รับการเสริมด้วยเซลล์ยีสต์ *C. butyricum* มีความต้านทานต่อ YHV สูงขึ้นและคงอยู่หลังหยุดให้ 7 วัน (RPS เท่ากับ 20.0% และ 53.85% ตามลำดับ) โดยไม่พบการเพิ่มของ bactericidin แต่พบการเพิ่มขึ้นของ % phagocytosis ส่วนในกลุ่มที่ได้รับสารผสมระหว่าง IE-04 และเซลล์ยีสต์ *C. byturicum* ความเข้มข้น 100 ppm มีความต้านทานต่อ *V. harveyi* และ YHV เล็กน้อย (RPS เท่ากับ 26.32 และ 25.0% ตามลำดับ) โดยไม่พบการเพิ่มขึ้นของระดับ bactericidin และ % phagocytosis ส่วนความเข้มข้น 200 ppm มีความต้านทานต่อ *V. harveyi* สูงขึ้นหลังหยุดให้ 7 วัน (RPS 46.67%) โดยไม่พบการเพิ่มของ bactericidin, % phagocytosis และความต้านทานต่อ YHV

การศึกษานี้พบว่าการเพิ่มความต้านทานต่อ YHV และ *V. harveyi* ไม่มีความสัมพันธ์กับการเพิ่ม bactericidin และ % phagocytosis การเสริมด้วยเซลล์ยีสต์ของ *C. butyricum* น่าจะมีแนวโน้มในการเพิ่มความต้านทานต่อการเกิดโรคในกุ้งกุลาดำได้

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต จันทนา นิธิเมธาโชค

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศิริรัตน์ เร่งพิทักษ์

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม —

C626200 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEY WORD: IMMUNOENHANCEMENT / *Penaeus monodon* / *Clostridium butyricum* / BACTERICIDIN / PHAGOCYTOSIS

CHANTANA NITHIMATHACHOKE : IMMUNOENHANECMENT IN *Penaeus monodon* BY *Clostridium butyricum*. THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT, Ph.D., 123pp. ISBN 974-634-378-5.

The study of immunostimulants in *Penaeus monodon* was carried out by using the commercial product, IE-04, and formalin-killed cells of *Clostridium butyricum* supplemented into the feed. Following experimental infection of the shrimp by *Vibrio parahaemolyticus* via intramuscular injection and *Vibrio harveyi* and Yellow Head Virus (YHV) via immersion (challenge test), the shrimp's resistance to infection was investigated by determing the cellular immune response, including phagocytosis and the phagocytic index; and the humoral immune response, including bactericidin. The results indicated that feed supplemented with either IE-04 or *C. butyricum* at a concentration of 100 ppm, and with a 30 days feeding program, the shrimp's resistance to *V. harveyi* infection was increased, with the relative percent survival (RPS) of 37.93% and 27.59%, respectively; with both immunostimulants the duration of resistance was 7 days. IE-04 or *C. butyricum* mixed in the feed at 100 ppm and fed for 30 days led to a slight increase the resistance to YHV infection, with the RPS of 16% and 20%, respectively. The bactericidin in both groups was 4 times higher than that of the control and also lasted for 7 days. Interestingly, in the group fed with *C. butyricum*, the phagocytosis and phagocytic index increased only 7 days after the end of the feeding regimen.

Another experiments fed supplement of IE-04 @ 100 ppm, *C. butyricum* @ 100 ppm or the mixture of IE-04 and *C. butyricum* in the ratio 1:1, @ 100 and @ 200 ppm, for 7 days. Results indicated that the resistance to YHV infection 7 and 14 days after the end of feeding increased in the group fed with IE-04; the RPS was 38.46% and 27.27%, respectively. In addition, the bactericidin was 4 times higher than that of the control 7 days after stop feeding. In the group fed with *C. butyricum* the resistance to YHV infection increased and lasted for 7 days, and RPS was 20.0% after feeding for 7 days and 53.85%, 7 days after ending the feeding program. No increase of bactericidin but an increase in % phagocytosis was found. In the group fed with IE-o4 and *C. butyricum* mixture @ 100 ppm, the resistance to *V. harveyi* and YHV infection slightly increased, with the RPS of 26.32% and 25.0%, respectively. Whereas both bactericidin and % phagocytosis did not increase. At 200 ppm of the mixture, the bactericidin, % phagocytosis and resistance to YHV infection did not increase. However, the increase in the resistance to *V. harveyi* infection 7 days after the end of the feeding regimen with the RPS of 46.67% was found.

This study did not find the increasing relationship between the resistance to YHV and *V. harveyi* infection and bactericidin or % phagocytosis. The feed supplemented with *C. butyricum* might increase the resistance to infection in *Penaeus monodon*.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต ชัญทนา นิธิมาโถค

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา S. Rengpipat

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้ โดยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นและช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นพ. บุญเสริม วิทยชำนาญกุล ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและเป็นกรรมการในการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล ประธานกรรมการและผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล กรรมการ ที่กรุณามาเป็นคณะกรรมการในการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ Dr. Sadahiro Ohmomo, National Grassland Research Institute, Japan ที่ให้ความอนุเคราะห์โดยมอบเชื้อ *Clostridium butyricum* เพื่อใช้ในการศึกษาและวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหารสัตว์ (มหาชน) จำกัด ที่ให้โอกาสและสนับสนุนทุนในการศึกษามาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ Dr. Gary Nash นายสัตวแพทย์ภูษิต ประธานพิพัฒน์ คุณประสิทธิ์ สมรักษ์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของศูนย์ค้นคว้าวิจัยการเลี้ยงกุ้ง เครือเจริญโภคภัณฑ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนในการวิจัยบางส่วน

ขอขอบคุณน้องๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือตลอดมา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ซ
สารบัญรูป.....ญ
คำย่อ.....ฑ
บทที่
1. บทนำ.....1
2. การตรวจเอกสาร.....4
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย.....25
4. ผลการทดลอง.....38
5. อภิปรายผลการทดลอง.....89
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....97
รายการอ้างอิง.....100
ภาคผนวก ก.....110
ภาคผนวก ข.....113
ภาคผนวก ค.....115
ภาคผนวก ง.....117
ภาคผนวก จ.....118
ภาคผนวก ฉ.....122
ประวัติผู้เขียน.....123

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. เซลล์และเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง.....7
2. การตอบสนองโดยสารน้ำ (Humoral factor) ที่พบในครัสเตเชียนและในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังบางชนิด.....10
3. สารที่มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ (antibacterial, antiviral และ fungicidal factor) ที่พบในน้ำเลือดครัสเตเชียน.....17
4. สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Immunostimulant) ที่มีการใช้ในปลาและสัตว์อื่น.....22
5. แสดงผล Relative Percent Survival (หลังเหนี่ยวนำด้วย *V. parahaemolyticus* และYHV), bactericidin titer, % phagocytosis และ phagocytic index ของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ทางการค้า IE-04 ความเข้มข้น 100, 500, 1000, และ 5000 ppm ติดต่อกัน 7 วัน และหลังหยุดการเสริม 7 วัน 42
6. น้ำหนักเฉลี่ยและอัตรารอดของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยสารกระตุ้น IE-04 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ติดต่อกัน 30 60 และ 90 วัน.....44
7. แสดงผลคุณภาพน้ำตลอดการเลี้ยงด้วยอาหารผสมสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน IE-04 ติดต่อกัน 90 วัน.....45
8. แสดงผล Relative Percent Survival (หลังเหนี่ยวนำด้วย *V. parahaemolyticus* และ YHV) , bactericidin titer, % phagocytosis และ phagocytic index ของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ติดต่อกัน 30, 60 และ 90 วัน.....54
9. แสดงผล Relative Percent Survival หลังเหนี่ยวนำด้วย (*V. parahaemolyticus* และ YHV), bactericidin titer, % phagocytosis และ phagocytic index ของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100, 200 และ 500 ppm ติดต่อกัน 7 วัน และหลังหยุดการเสริมเป็นเวลา 7 และ 14 วัน.....62

ตารางที่ หน้า

10. แสดงผล Relative Percent Survival (หลังเหนี่ยวนำด้วย *V. harveyi* และYHV), bactericidin titer, % phagocytosis และ phagocytic index ของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ทางการค้า IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm และเซลล์ของ *C. butyricum* 100 ppm ติดต่อกัน 30 วัน และหลังหยุดการเสริม 7 วัน.....70
11. แสดงผลคุณภาพน้ำตลอดการเลี้ยงด้วยอาหารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน IE-04 และเซลล์ของ *C. butyricum* ติดต่อกัน 30 วัน.....71
12. แสดงผล Relative Percent survival หลังเหนี่ยวนำด้วย (*V. harveyi* และ YHV), Bactericidin titer, % phagocytosis และ phagocytic index ของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ทางการค้า IE-04 100 ppm, *C. butyricum* 100 ppm , IE-04 ผสมกับ *C. butyricum* 100 ppm และ 200 ppm ติดต่อกัน 7 วัน และหลังหยุดการเสริม 7 และ 14 วัน.....81
13. สมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ.....82
14. สรุปผลการทดสอบการเสริมภูมิคุ้มกันจาก IE-04 และเซลล์ของ *C. butyricum*.....99

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. กลไกการป้องกันของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง.....5
2. กลไกการทำงานของเซลล์ในการป้องกันโรค.....9
3. ความสัมพันธ์ของเจ้าบ้าน เชื้อก่อโรคและสิ่งแวดล้อมต่อการเกิดโรค.....21
4. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำด้วยการฉีด *V. parahaemolyticus* เข้ากล้ามเนื้อ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100, 500, 1000 และ 5000 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน.....40
5. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100, 500, 1000 และ 5000 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน.....41
6. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำด้วยการฉีด *V. parahaemolyticus* เข้ากล้ามเนื้อ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 30 วัน.....48
7. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำด้วยการฉีด *V. parahaemolyticus* เข้ากล้ามเนื้อ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 60 วัน.....49
8. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำด้วยการฉีด *V. parahaemolyticus* เข้ากล้ามเนื้อ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 90 วัน.....50
9. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 30 วัน.....51
10. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 60 วัน.....52

รูปที่ หน้า

11. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 90 วัน.....53
12. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำด้วยการฉีด *V. parahaemolyticus* เข้ากล้ามเนื้อ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100, 200 และ 500 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน และหยุดการเสริม 7 วัน.....58
13. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำด้วยการฉีด *V. parahaemolyticus* เข้ากล้ามเนื้อ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100, 200 และ 500 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน และหยุดการเสริม 14 วัน.....59
14. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100, 200 และ 500 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน.....60
15. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100, 200 และ 500 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน และหยุดการเสริม 14 วัน.....61
16. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วย *V. harveyi* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 30 วัน.....66
17. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วย *V. harveyi* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 30 วัน และหยุดการเสริม 7 วัน.....67

รูปที่ หน้า

18. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 30 วัน.....68

19. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 30 วัน และหยุดการเสริม 7 วัน.....69

20. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วย *V. harveyi* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm กลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยสารผสมระหว่างผลิตภัณฑ์ IE-04 และเซลล์ของ *C. butyricum* ในอัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน.....75

21. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วย *V. harveyi* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm กลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยสารผสมระหว่างผลิตภัณฑ์ IE-04 และเซลล์ของ *C. butyricum* ในอัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมในอาหารติดต่อกัน 7 วัน และหยุดการเสริม 7 วัน.....76

22. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วย *V. harveyi* เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm กลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยสารผสมระหว่างผลิตภัณฑ์ IE-04 และเซลล์ของ *C. butyricum* ในอัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน และหยุดการเสริม 14 วัน.....77

รูปที่ หน้า

23. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm กลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยสารผสมระหว่างผลิตภัณฑ์ IE-04 และเซลล์ของ *C. butyricum* ในอัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน....78

24. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm กลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยสารผสมระหว่างผลิตภัณฑ์ IE-04 และเซลล์ของ *C. butyricum* ในอัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน และหยุดการเสริม 7 วัน....79

25. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำโดยการแช่ด้วยเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์ IE-04 ความเข้มข้น 100 ppm กลุ่มที่เสริมด้วยเซลล์ของ *C. butyricum* ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มที่เสริมด้วยสารผสมระหว่างผลิตภัณฑ์ IE-04 และเซลล์ของ *C. butyricum* ในอัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm ผสมอาหารติดต่อกัน 7 วัน และหยุดการเสริม 14 วัน....80

26. ลักษณะเซลล์เม็ดเลือดที่ไม่เกิด phagocytosis....84

27. ลักษณะเซลล์เม็ดเลือดที่เกิด phagocytosis....85

28. ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำด้วยการแช่ *V. harveyi*....87

29. ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อกุ้งกุลาดำหลังเหนี่ยวนำด้วยการแช่ไวรัสหัวเหลือง (YHV)....88

สัญลักษณ์และคำย่อ

น.	=	นาฬิกา
°C	=	องศาเซลเซียล
µl	=	ไมโครลิตร
h	=	ชั่วโมง
ml	=	มิลลิลิตร
CFU	=	Colony Forming Unit
ND	=	Not Determine
ppm	=	ส่วนในล้านส่วน
ppt	=	ส่วนในพันส่วน
%	=	Pencentage
RPS	=	Relative Percent Survival
proPO	=	Prophenol oxidase
pc.	=	piece
FCR	=	Feed Conversion Ratio
LPS	=	Lipopolysaccharide
PG	=	Peptidoglycan

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย