

รายงานการวิจัย  
เรื่อง

ระบบการต่อต้านการเกิดโรคของกุ้งกุลาดำ  
(Body Defence System of *Peneaus monodon* Fabricius)

ไข่นิพนธ์ห้องศูนย์ข้อมูล  
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ปภาศิริ ศรีโสภณภรณ์

- 3 ม.ค. 2544

143196

ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยบูรพา

พ.ศ. 2543

งานวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2540

หมายเหตุ รายงานนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยเพียงหนึ่งปี จากการของบประมาณตามปี  
จึงเป็นงานการวิเคราะห์ระบบภูมิคุ้มกันขั้นพื้นฐานระดับเซลล์

## ประกาศกิตติคุณ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนวิจัยประจำปีจากมหาวิทยาลัยบูรพา และภาควิชา วาริชศาสตร์  
อเพื่อสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือ ขอขอบคุณบุคคลที่มีรายชื่อ ต่อไปนี้ที่ช่วยเหลืองาน  
ให้สำเร็จลุล่วง คุณรัตนพรที่เชื่อเพื่อแบคทีเรีย คุณรานี พสุจิรจรัส และคุณเทิดศักดิ์ สุข  
ม ทั้งสองท่านที่ช่วยเหลือตลอดการทดลองและงาน อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ

ปภาศิริ ศรีโสภารณ์

## บทคัดย่อ

การศึกษาระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำจะใช้แบคทีเรียที่จำแนกได้ว่าเป็นชนิด *Vibrio alginolyticus* สามารถเจริญบนอาหารร่วน TCBS มีโคไลนีสีเหลืองเป็นชนิด non pathogenic bacteria ระบบเม็ดเลือดพื้นฐานสามารถจำแนกชนิดของเม็ดเลือด กุ้งกุลาดำออกเป็นสามชนิดได้ดังนี้ Hyaline cell (HY), Small granule hemocyte (SGH), และ Large granule hemocyte (LGH) โดยการย้อมสีเม็ดเลือดและจากการส่องเลือดกึ่งสดด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีดเลือดกุ้งกุลาดำทั้งสามชนิดมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างหลังการทำให้เกิดติดเชื้อ *Vibrio alginolyticus* รวมทั้งการแตกตัวของ แกรนูลของเม็ดเลือด SGH ปริมาณเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำหนึ่งวงจรรวการลอกคราบ ถูกศึกษาสัมพันธ์ปริมาณเม็ดเลือดโดยใช้ค่าปริมาณ Total hemocyte counts (THC) เป็นตัวเปรียบเทียบ ซึ่งพบว่าหนึ่งวงจรรวการลอกคราบ THC มีค่าเฉลี่ย  $26.6 \pm 11.2$  ล้านเซลล์ต่อมิลลิเมตร จากกุ้งตัวอย่าง 77 ตัว ปริมาณ THC มีค่าผันแปรแตกต่างกันไป ในแต่ละระยะคราบของกุ้ง ระยะก่อนลอกคราบจนถึงหลังลอกคราบ (Stage 4, E และ Stage A) ค่า THC จะต่ำ และจะสูงขึ้นในระยะหลังลอกคราบ (Stage B1) และจะลดลงใน ระยะ Stage C และ Stage D0 ซึ่งใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของหนึ่งวงจรรวการลอกคราบ และสูงที่สุดใน Stage D1 และ Stage D3 ปริมาณเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำมีความผันแปร เมื่อทำการติดเชื้อ *Vibrio alginolyticus* โดยพบว่าที่ 6 ชั่วโมง หลังการฉีดแบคทีเรียเข้าร่างกาย ปริมาณค่า THC ลดลง 16 % และปริมาณเม็ดเลือดจะกลับสู่สภาพปกติในวันที่สอง จากนั้นจะเพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม 50 % ในระหว่างวันที่สาม และวันที่หก ในที่สุดปริมาณเม็ดเลือดจะลดต่ำสุด (52%) ในวันที่เจ็ดของการทดลอง ชนิดเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำมีความผันแปรเมื่อทำการติดเชื้อ *Vibrio alginolyticus* โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างค่า HY ต่อ Granulocyte (SGH+LGH) เมื่อนับชนิดของเม็ดเลือดจำนวน 200 เซลล์ ซึ่งพบว่าค่าปริมาณ HY มีแนวโน้มลดลง และค่าปริมาณ Granulocyte มีแนวโน้มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการทดลอง 1-7 วัน และชนิดของ Granulocyte ที่พบมาก คือ SGH และมีการแตกตัวของแกรนูลเป็นส่วนใหญ่ การศึกษาระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำในครั้งนี้ ปริมาณและชนิดของเม็ดเลือดมีความใกล้เคียงกับกุ้งอื่นและเมื่อทำให้กุ้งกุลาดำติดเชื้อ *V. alginolyticus* ปริมาณและชนิดของเม็ดเลือดมีการ

เปลี่ยนแปลงแตกต่างจากกึ่งปกติและช่วงระหว่างก่อนจนถึงหลังการลอกคราบเป็นระยะที่กึ่ง  
กดำมีระบบภูมิคุ้มกันระดับเซลล์อ่อนแอมากที่สุด

# สารบัญ

ประกาศิตติคุณ

บทคัดย่อ

สารบัญ

สารบัญตาราง

บทที่ 1 บทนำ

- ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย
- วัตถุประสงค์ของโครงการปีหนึ่ง
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับในการศึกษาเบื้องต้นในปีหนึ่ง

บทที่ 2 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

- ระบบภูมิคุ้มกันของ Crustacean
- ชนิดเม็ดเลือดของกุ้ง
- หน้าที่ของเซลล์เม็ดเลือด
- ปริมาณของเม็ดเลือดในกระแสเลือดกับระยะเวลาการลอกคราบของกุ้ง
- ปริมาณและชนิดของเม็ดเลือดหลังการติดเชื้อหรือสิ่งกระตุ้นกับระยะเวลาการลอกคราบของกุ้ง
- เม็ดเลือดกุ้งกับสารเพิ่มภูมิคุ้มกันและวัคซีน
- การผลิตเม็ดเลือดของกุ้ง (Hemopoiesis)

	หน้า
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการศึกษา	13
- น้ำยาและสารเคมี	13
- แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง	13
- กุ้งกุลาดำและแผนการทดลอง	14
- การเก็บตัวอย่างและบันทึกผลทดลอง	15
- การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ	15
- การศึกษาด้านเลือดกุ้ง	15
บทที่ 4 ผลการทดลอง	16
- คุณสมบัติของแบคทีเรีย <i>Vibrio alginolyticus</i>	16
- การจำแนกชนิดเม็ดเลือด	17
- ปริมาณเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำในวงจรการลอกคราบ	19
- ปริมาณเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำกับการติดเชื้อ <i>Vibrio alginolyticus</i>	21
- ชนิดของเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำกับการติดเชื้อ <i>Vibrio alginolyticus</i>	24
- ภาพถ่ายผลการทดลอง	26
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผล	31
- อภิปรายผล	31
- สรุปผล	35
เอกสารอ้างอิง	37

## สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 1	คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย <i>Vibrio alginolyticus</i>	16
ตารางที่ 2	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดกึ่งปกติ (THC) เซลล์/มิลลิลิตร ตามระยะคราบ	20
ตารางที่ 3	ปริมาณเฉลี่ย Total hemocyte counts, THC (ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร) $\pm$ ค่าเบี่ยงเบน ในกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อ <i>V. alginolyticus</i> ด้วยวิธีต่าง ๆ กัน ในเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง และ 1, 2, 3, 6 และ 7 วัน	22
ตารางที่ 4	อัตราส่วนของ The Hyaline hemocyte cells (HY) ต่อ Granulocytes (G, คือ SGH+LGH) จากปริมาณเม็ดเลือด 200 เซลล์ ในเลือดกึ่งที่ติดเชื้อ <i>V. alginolyticus</i> ด้วยวิธีต่าง ๆ กันในเวลา 1, 2, 3, และ 7 วัน	25

---