

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การใช้วิตามินซีเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ

(*Penaeus monodon* Fabricius)

Application of Vitamin C as Immunostimulant in Black Tiger Shrimp

(*Penaeus monodon* Fabricius)

โดย

นางสาวพรวิดี เลาหะมงคลรักษ์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1577-9

Patcharawadee Laohamongkolruk 2006: Application of Vitamin C as Immunostimulant in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Master of Science (Aquaculture) Major Field : Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Assistant Professor Nontawith Areechon, Ph.D. 73 pages. ISBN 974-16-1577-9

The objectives of this study were to determine the optimum concentration and time of vitamin C application that could effectively enhance the immune system of black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). Shrimp with average weight of 10.0 ± 2.1 gm were raised with feed containing four different concentrations of vitamin C (Na,Ca-ascorbyl-2-monophosphate) at 0, 1, 3 and 5 gm/kg of feed. They were fed four times a day for 14 days and immune parameters were statistically compared at $p = 0.05$. It was found that shrimp fed with 3 and 5 gm/kg vitamin C developed significantly higher level of total hemocyte count, phenoloxidase activity, bactericidal activity, phagocytic activity and phagocytic index than 1 gm/kg and the control ($p < 0.05$). The optimum time for the application of vitamin C at 3 gm/kg was also conducted within the one-month period. There were significant differences amongst the immune parameters of the shrimps fed with vitamin C at 10, 20 and 30 days and the control ($p < 0.05$) in which the 30-day application developed the highest level. After the application of vitamin C was stopped for 10 days, the immune levels of all treated shrimp declined drastically and were not significantly different from the control ($p > 0.05$). Based on the result from this study, it may be necessary to use vitamin C daily to ensure the elevated level of immunity throughout the crop. To reduce the cost of the application, farmers may apply vitamin C only when disease outbreak is expected.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

___ / ___ / ___

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ นนทวิทย์ อารีชัน, Ph.D. ประธาน
กรรมการ อาจารย์สุนทรภรณ์ ลิ้มสกุล, M.S. กรรมการวิชาเอก อาจารย์สุริยัน ัญญกิจจานุกิจ,
Ph.D. กรรมการวิชาการ และอาจารย์วัฒน์ทัต ดุลยพฤษ, Ph.D. ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้
ความกรุณาแนะนำตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณ
อาจารย์ประพันธ์ศักดิ์ ศีระะภูมิ, Pl.D. และ อาจารย์วัชรียา ภูรีวิโรจน์กุล, วท.ม. ที่กรุณาให้คำ
ปรึกษาและความรู้เกี่ยวกับการทำงานวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างดี พร้อมทั้งคำแนะนำที่ดีในเรื่องอื่น ๆ
นอกเหนือจากเรื่องงานวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนทุนในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้า ตลอดจนเพื่อน ๆ และพี่ ๆ
ห้องปฏิบัติการสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทุกคนที่
ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ จนวิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

พชรวิดี เลาหะมงคลรักษ์

มีนาคม 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	25
อุปกรณ์	25
สารเคมี	25
อาหารเลี้ยงเชื้อ	26
สถานที่ทำการทดลอง	33
ระยะเวลาในการทดลอง	33
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	34
แหล่งสนับสนุนเงินทุน	34
ผลการทดลอง	35
วิจารณ์ผลการทดลอง	51
สรุปผลการทดลอง	58
ข้อเสนอแนะ	59
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	60
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดและสารเคมี	69
ภาคผนวก ข ความเข้มข้นของโปรตีนมาตรฐาน	72

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	บทบาทของวิตามินซีต่อระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ	20
2	ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน	36
3	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase ในเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน	37
4	กิจกรรมในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้งของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน	39
5	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis (% Phagocytosis) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน	40
6	ประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือด (Phagocytic index) กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน	41
7	ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน	43
8	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase ในเม็ดเลือดของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน	45
9	กิจกรรมในการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้งของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน	47
10	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis (% Phagocytosis) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน	48

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
11	ประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือด (Phagocytic index) ของกึ่งกลางดำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน	49
ตารางผนวกที่		
ข 1	ค่าความเข้มข้นของโปรตีนมาตรฐาน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	73

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เซลล์เม็ดเลือดของกิ้งกูดาคำ H = hyaline cell, S = semigranular hemocyte, L = large granular hemocyte เมื่อย้อมด้วย Geimsa's stained	9
2	ภาพแสดงการถูกออกซิไดซ์ของ Ascorbic acid ไปเป็น Dehydroascorbic acid และ Diketogulonic acid	15
3	ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกิ้งกูดาคำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน	36
4	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase ในเม็ดเลือดกิ้งกูดาคำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน	38
5	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis (% Phagocytosis) ของกิ้งกูดาคำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน	40
6	ประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือด (Phagocytic index) กิ้งกูดาคำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นระยะเวลา 14 วัน	41
7	ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกิ้งกูดาคำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน	44
8	ปริมาณเอนไซม์ phenoloxidase ในเม็ดเลือดของกิ้งกูดาคำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน	46
9	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis (% Phagocytosis) ของกิ้งกูดาคำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน	49
10	ประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือด (Phagocytic index) ของกิ้งกูดาคำที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีที่ระดับความเข้มข้น 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นาน 10, 20 และ 30 วัน/เดือน เป็นเวลา 1 เดือน	50

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ข1 กราฟความเข้มข้นของโปรตีนมาตรฐาน (bovine serum albumin) (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	73