ว.วิทย. มข. 40(4) 1165-1176 (2555) KKU Sci. J. 40(4) 1165-1176 (2012)

ผลของการเสริมส่าเบียร์ในอาหารต่อการเติบโต อัตราการรอดตาย และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) วัยรุ่น

Effects of Brewer's Yeast Supplementation on Growth, Survival and Immune Response in Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) Juvenile

สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล[1] *และ สุรัตนา เจนธนานันท์*[1*]

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของอาหารสำเร็จรูปที่เสริมส่าเบียร์ระดับ 0 0.2 0.5 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารกุ้งก้ามกรามที่มีระดับโปรตีน 38 เปอร์เซ็นต์ และระดับไขมัน 8 เปอร์เซ็นต์เท่ากันทุกสูตร โดยศึกษาผลของส่าเบียร์ต่อการเติบโต อัตราการรอด และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในกุ้งก้ามกราม เริ่มเลี้ยงกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 4.29±0.22 กรัม ความยาวเริ่มต้นเฉลี่ย 6.54±0.25 เซนติเมตร เลี้ยงในตู้กระจกขนาด 32×52×30 ลูกบาศก์เซนติเมตร อัตราความหนาแน่น 6 ตัวต่อตู้ ให้อาหารวันละ 3 ครั้งระบบหมุนเวียนน้ำตลอดเวลา เป็นเวลา 16 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าการเติบโตของกุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารทดลองสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) การตอบสนองภูมิคุ้มกันในกุ้งก้ามกรามก่อนและหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639 เป็นเวลา 4 วัน พบว่า อาหารเสริมส่าเบียร์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเม็ดเลือดรวมและแอคติวิตีของฟีนอลออกซิเดสสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารทดลองสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และอาหารเสริมส่าเบียร์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอัตราการตายสะสมน้อยสุด เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารทดลองสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังนั้นจากการทดลองนี้สรุปได้ว่าการเสริมส่าเบียร์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเป็นระดับเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในกุ้งก้ามกราม

[1]ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล และภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

[*]Corresponding Author, E-mail: surattana_pook@hotmail.com

ABSTRACT

Main purpose of this study effects of supplemented Brewer's yeast (0%, 0.2%, 0.5%, 1% and 2%) on growth, survival and immune responses of Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). All diets were isonitrogenous with protein of 38% and lipid of 8%. Prawns with initial body weight (4.29±0.20 g.) and total length (6.54±0.25 cm.) were randomly sampled to rear in 32×52×30 cm^3 glass aquaria (with close recirculation water system) at the stocking rate of 6 prawns per aquarium. They were fed to apparent satiation three times for 16 weeks. The results showed that growth of prawn fed with 1% Brewer's yeast supplemented diet were significantly ($p<0.05$) higher than those of other treatments. Immune response before and after challenging the prawn with *Vibrio harveyi* strain 639 for 4 day showed that total hemocyte count and phenoloxidase activity of the prawn fed with 1% Brewer's yeast were significantly ($p<0.05$) higher than those of other treatments. Cumulative mortality of prawn fed with 1% Brewer's yeast were significantly ($p<0.05$) lower than those of other treatments. The study concluded that Brewer's yeast supplemented for 1% in diet was optimum for promoting growth, survival and immune responses in Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium* rosenbergii).

คำสำคัญ: กุ้งก้ามกราม ส่าเบียร์ การเติบโต การรอดตาย ระบบภูมิคุ้มกัน

Keywords: *Macrobrachium rosenbergii*, *Saccharomyces cerevisiae*, Growth, Survival, Immune response

บทนำ

กุ้งก้ามกราม เป็นกุ้งน้ำจืดขนาดใหญ่ เนื้อแน่น รสชาติดี มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ มีการเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลายในประเทศไทย มีผลผลิตกว่า 10,000 ตันในปี 2547 ปัจจุบันพบปัญหาการเติบโตช้าและสารตกค้างไนโตรฟูแลน ทำให้การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามไม่ขยายตลาดมากนัก ในปัจจุบันผลผลิตกุ้งก้ามกรามที่จับได้จากธรรมชาติมีปริมาณลดลง กุ้งที่เลี้ยงโตไม่เท่ากัน ขนาดกุ้งเล็กลง กุ้งกินกันเอง ราคากุ้งไม่แน่นอน และกุ้งเป็นโรค ซึ่งปัญหาจากการที่กุ้งเป็นโรคนั้นเป็นอุปสรรคสำคัญ ส่งผลกระทบต่อการเลี้ยงกุ้ง โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ต้องใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาทำให้เกิดสารเคมีตกค้าง ซึ่งแนวทางในการป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นสามารถทำได้คือ การจัดการให้กุ้งมีสุขภาพแข็งแรงและมีระบบภูมิคุ้มกันที่ดี โดยการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการเสริมสารอาหารบางชนิด ที่เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และยังสามารถเพิ่มความต้านทานการติดเชื้อโรค (Raa, 1996) เชื้อแบคทีเรียนั้นเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีโครงสร้างแบบง่ายๆ เป็นเซลล์โปรคาริโอต มีลักษณะโครงสร้างและสมบัติต่างๆ คล้ายพืช เชื้อแบคทีเรียที่มีบทบาทมากในโรคกุ้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแบคทีเรียสกุลวิบริโอ (*Vibrio* sp.) ซึ่งมักจะเป็นแบคทีเรียเคลื่อนไหวได้ รูปร่างทรงกระบอกหรือท่อนโค้ง มักย้อมติดแกรมลบ

เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้จะมีบทบาทเข้ามาทำลายเม็ดเลือด และการกระจายตัวไปตามระบบทางเดินโลหิต เคลื่อนตัวเข้าสู่ระบบของต่อมสร้างน้ำย่อยหรือตับอ่อน เมื่อเนื้อเยื่อเหล่านี้ถูกทำลาย การทำงานของต่อมน้ำย่อยก็จะเสียไป ทำให้กุ้งไม่กินอาหารและตายในที่สุด และเป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อที่ทำความเสียหายแก่ผู้เลี้ยงกุ้งทั่วโลก (Austin and Zhang, 2006) การศึกษาครั้งนี้ใช้เชื้อแบคทีเรียชนิด *Vibrio harveyi* เป็นเชื้อเป้าหมายสำหรับการตรวจวัดความสามารถของกุ้งก้ามกรามวัยรุ่นในการเพิ่มความต้านทานโรค การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเน้นการพัฒนาการป้องกันโรค ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญที่สามารถลดความสูญเสียจากปัญหาการติดเชื้อโรคและการใช้สารเคมี โดยจัดให้กุ้งมีสุขภาพแข็งแรงและมีระบบภูมิคุ้มกันที่ดี โดยใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันและสารเสริมอาหารประเภทต่างๆในอาหารเช่น วิตามิน กรดอะมิโน โปรไบโอติก และพรีไบโอติก ซึ่งส่าเบียร์เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติในอุตสาหกรรมการหมักเบียร์ ประกอบด้วยสารที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันหลายชนิด เช่น β-glucan, nucleic acid รวมทั้ง mannan oligosaccharide จึงช่วยเสริมระบบภูมิคุ้มกันและทำให้สัตว์น้ำต้านทานโรคได้ดีขึ้น ด้วยเหตุนี้ยีสต์หลายชนิดถูกนำมาใช้ในการเลี้ยงสัตว์ เพื่อพัฒนาอาหารเสริมส่าเบียร์ ในการแก้ปัญหาการเลี้ยงกุ้ง เพื่อประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยง

วิธีการดำเนินงาน

1 การทดลอง

ออกแบบการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) โดยแต่ละชุดการทดลองเสริมจากส่า-เบียร์ในอาหารสำเร็จรูป (ตารางที่ 1) ประกอบด้วยอาหาร 5 ชุด การทดลองละ 4 ซ้ำ แต่ละชุดการทดลองมีระดับโปรตีนในอาหาร 38 เปอร์เซ็นต์ และระดับไขมัน 8 เปอร์เซ็นต์ เท่ากันทุกสูตร วิเคราะห์คุณภาพอาหาร โดยหาค่า proximate composition ตามวิธีของ AOAC (1990) ทดลองเลี้ยงระหว่าง วันที่ 2 กันยายน 2554 ถึงวันที่ 29 ธันวาคม 2554 เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์

2 สัตว์ทดลองและการดูแล

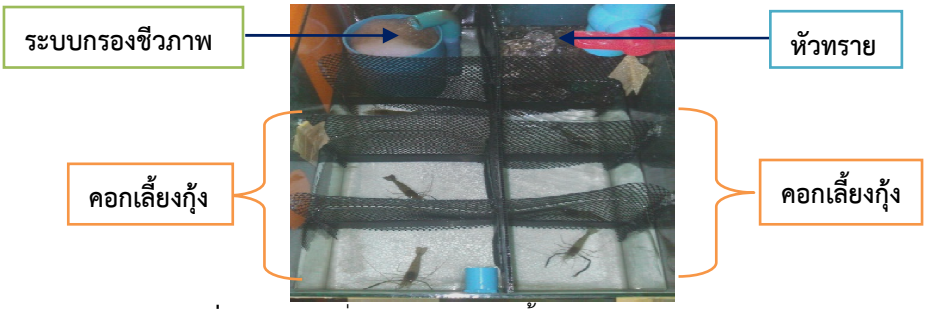
ใช้กุ้งก้ามกรามวัยรุ่น จำนวน 600 ตัว จากฟาร์มเอกชน จังหวัดราชบุรี ปรับสภาพกุ้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์ สุ่มคัดขนาดกุ้งที่แข็งแรงสมบูรณ์ลงในหน่วยทดลอง ชั่งน้ำหนัก วัดความยาว โดยมีน้ำหนักและความยาวเริ่มต้นเฉลี่ย 4.29±0.22 กรัม และ 6.54±0.25 เซนติเมตร ตามลำดับ นำมาเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 32×52×30 ลูกบาศก์เซนติเมตร แบบแยกเลี้ยงเดี่ยว อัตราความหนาแน่น 6 ตัวต่อตู้ (รูปที่ 1) มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิดประกอบด้วยตัวกรองชีวภาพ และหัวทรายที่ให้ออกซิเจนตลอดเวลา

3 การเลี้ยงสัตว์ทดลอง

โดยให้อาหารสูตรทดลองตามที่ได้สุ่มไว้แต่ละตู้ ให้อาหารวันละ 3 เวลา บันทึกปริมาณอาหารที่ให้ทุกสัปดาห์ ทำความสะอาดโดยดูดตะกอนทุกวัน เปลี่ยนถ่ายน้ำวันเว้นวัน เก็บข้อมูล การเติบโตและจำนวนรอดในแต่ละตู้ทุก 4 สัปดาห์ จนครบ 16 สัปดาห์ โดยชั่งและวัดกุ้งทุกตัว บันทึกอัตราการรอด ระหว่างเลี้ยงบันทึกผลคุณภาพน้ำทุก 7 วัน ค่าที่ตรวจวัดได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ อัคคาไลนิตี้ ปริมาณไนไตรท์ และปริมาณแอมโมเนียม

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของอาหารทดลองทั้ง 5 ชุดการทดลอง

วัตถุดิบ	อาหารสำเร็จรูปเสริมส่าเบียร์ (กรัมต่อ 100 กรัม)				
	0%	0.2%	0.5%	1%	2%
ปลาป่น	24	24	24	24	24
หัวกุ้งป่น	10	10	10	10	10
กากถั่วเหลืองป่น	21	21	21	21	21
แป้งสาลี	27	27	27	27	27
สารเหนียว	5	5	5	5	5
น้ำมันปลา	3	3	3	3	3
น้ำมันข้าวโพด	3	3	3	3	3
เลซิติน	1	1	1	1	1
วิตามินรวม	2	2	2	2	2
แร่ธาตุรวม	2	2	2	2	2
เซลลูโลส	2	1.8	1.5	1	0
ส่าเบียร์	0	0.2	0.5	1	2
ปริมาณรวม	100	100	100	100	100



รูปที่ 1 ตู้กระจกที่มีระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิด และสัตว์ทดลอง

4. การศึกษาระบบภูมิคุ้มกันก่อนการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639

หลังการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารทดลองเป็นเวลา 16 สัปดาห์ สุ่มกุ้ง 3 ตัวจากแต่ละชุดการทดลองเพื่อตรวจวัดค่าต่างๆ ดังนี้ ตรวจนับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม วิเคราะห์หากิจกรรมของฟีนอลออกซิเดส ทุกสัปดาห์ ตรวจวัดวันที่ 7 14 21 และ 28 และหาปริมาณโปรตีนรวม

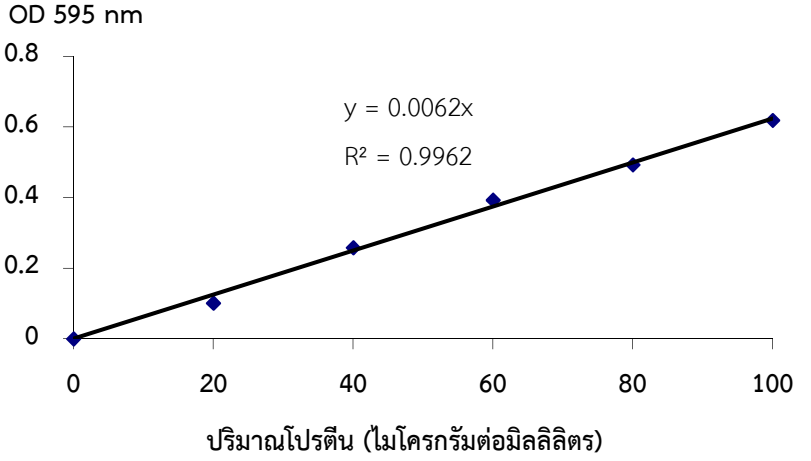
4.1 ตรวจนับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม โดยเก็บตัวอย่างเลือดกุ้งจากการเจาะบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 ผสมกับสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด หยดเลือดลงบนสไลด์ haemacytometer นับจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดด้วยกล้องจุลทรรศน์ คำนวณปริมาณเม็ดเลือดที่นับได้ มีหน่วยเป็นเซลล์ต่อมิลลิตร

4.2 วิเคราะห์หากิจกรรมของฟีนอลออกซิเดสด้วยวิธี MBTH Assay โดยเก็บตัวอย่างเลือดกุ้งจากการ

เจาะบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 ผสมกับสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,600 นำตะกอนเซลล์เม็ดเลือดที่ได้มาละลายในสารละลายคาโคดีเลทบัฟเฟอร์ (cacodylate buffer, CAC buffer) pH 7.4 แล้วทำให้เซลล์เม็ดเลือดแตกโดยนำไปแช่เข็งแล้วทำให้ละลายทันที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ มาหมุนเหวี่ยงที่ 15,900 g แยกส่วนใสซึ่งเป็น HLS (hemocyte lysate supernatant) นำมาวิเคราะห์ระดับแอคทิวิตีของฟีนอลออกซิเดส และปริมาณโปรตีนทันที โดยนำ HLS บ่มในสารละลาย CAC buffer ในไมโครไตเตอร์เพลทแบบ 96 หลุม เติมสารละลายทริปซิน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลาย 3-Methyl-2-Benzothaizolinone Hydrazone สารละลาย CAC buffer และสารละลาย L-dihydroxyphenylalanine ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมกรดเปอร์คลอริก เพื่อหยุดปฏิกิริยา นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปต่อนาทีต่อมิลลิกรัมของโปรตีน (Smith and Soderhall, 1991)

4.3 วิเคราะห์โปรตีนรวม (total protein assay)

การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี dye-binding assay ปิเปต HLS ลงในไมโครเพลทแบบ 96 หลุม เติมน้ำยาทดสอบโปรตีนสำเร็จรูป ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm โดยใช้สารละลาย CAC buffer แทน HLS ตามขั้นตอนขั้นต้นเป็น blank (Bradford, 1976) และคำนวณโปรตีนเป็น มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบกับเส้นกราฟโปรตีนมาตรฐาน BSA (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานโปรตีน (bovine serum albumin)

5 การศึกษาระบบภูมิคุ้มกันหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639

5.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

เตรียม *V. harveyi* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวทริปติกซอย ที่เตรียมโซเดียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที หลังจากนั้นปั่นเหวี่ยงเซลล์ด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เก็บเซลล์สด และหาจำนวน *V. harveyi* ในเซลล์สด ด้วยวิธี Total plate count โดยใช้อาหารแข็งไทโอซัลเฟต-ซิเตรทบายซอลท์ซูโครส เพื่อใช้คำนวณ *V. harveyi* ที่

ต้องการเติมในน้ำเลี้ยงกุ้ง โดยปรับ *V. harveyi* ให้มีความเข้มข้น 10^7 CFU/ml (ความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 96 ชั่วโมง)

5.2 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (50% lethal concentration; LC_{50})

กุ้งก้ามกรามจำนวน 90 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 10.24 กรัม แบ่งเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 38×45×28 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้อากาศตลอดเวลา ถังละ 5 ตัว จำนวน 18 ถัง แยกเป็น 6 กลุ่มๆละ 3 ซ้ำ เติม *V. harveyi* ที่เตรียมจากหัวข้อ 5.1 ลงในน้ำเลี้ยงกุ้งปรับให้มีความเข้มข้นต่างกัน 5 ระดับใน 5 กลุ่มการทดลอง และอีก 1 กลุ่มเป็นกลุ่มควบคุม ไม่มีการเติม *V. harveyi* เก็บตัวอย่างน้ำจากทุกถังหลังการเติม *V. harveyi* เพื่อหาจำนวน *V. harveyi* ที่แน่นอนในน้ำด้วยวิธี Total plate count โดยใช้อาหารแข็งไทโอซัลเฟตซิเตรทบายซอลท์ซูโครส (Chen et al., 1996) ตลอดการทดลองกุ้งทุกกลุ่มได้รับอาหารสำเร็จรูปชนิดเดียวกันโดยให้อาหารที่ไม่ได้เสริมส่าเบียร์ วันละ 3 เวลา บันทึกจำนวนกุ้งที่ตายในแต่ละกลุ่ม ที่เวลา 0 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง

5.3 การศึกษาระบบภูมิคุ้มกันหลังการชักนำให้เกิดโรค

นำกุ้งที่เหลือจากตู้กระจกมาชักนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ 639 ที่ปรับความเข้มข้น 1×10^7 CFU/ml ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ถังขนาด 38×45×28 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นทำการตรวจนับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม และวิเคราะห์หากิจกรรมของฟีนอลออกซิเดสทุกวัน ระยะเวลา 4 วัน ตรวจวัดที่ 24 48 72 และ96 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดอาหารที่ไม่ได้เสริมส่าเบียร์

5.4 การทดสอบหลังการชักนำให้เกิดโรค โดยการสุ่มตัวอย่างกุ้งที่ตาย มาทดสอบยืนยันผลว่ากุ้งตายเนื่องจาก *V. harveyi* โดยการแยกเชื้อจากเฮปพาโทแพนเครียส ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งไทโอซัลเฟตซิเตรทบายซอลท์ซูโครส บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นการยืนยันว่ากุ้งตายโดยแบคทีเรียชนิดนี้จริง

6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

รวบรวมและนำข้อมูลที่ได้จากการวัดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ทำการประเมินผลทางสถิติโดยวิธี analysis of variance และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย

1 คุณภาพอาหารทดลอง

คุณค่าทางโภชนาการอาหารทดลองวิเคราะห์โดยใช้วิธี proximate analysis โดยมีค่าโปรตีน 38.85-38.95 ไขมัน 8.07-8.58 เถ้า 10.44-11.36 เส้นใย 2.35-2.57 และความชื้น 7.44-8.31 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งระดับต่าง ๆ มีค่าใกล้เคียงสูตรอาหารที่กำหนด

2 คุณสมบัติน้ำ

วิเคราะห์ข้อมูลคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงกุ้ง เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ปกติ

3 อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย

ตารางที่ 2 ผลการทดลองของกุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 0 0.2 0.5 1 และ2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ประเมินผลการเลี้ยง	สูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ (เปอร์เซ็นต์)				
	0	0.2	0.5	1	2
น้ำหนักตัวสุดท้ายเฉลี่ย	8.82±0.37[a]	9.67±0.19[ab]	9.69±0.20[ab]	12.53±0.91[c]	10.46±0.15[b]
ความยาวสุดท้ายเฉลี่ย	9.09±0.26	9.21±0.36	9.23±0.38	10.17±0.68	9.92±0.45
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	4.53±0.34[a]	5.38±0.16[ab]	5.40±0.17[ab]	8.24±0.88[c]	6.17±0.12[b]
อัตราการเติบโตสัมพัทธ์	0.0088±0.006[a]	0.0105±0.003[ab]	0.0105±0.005[ab]	0.016±0.01[c]	0.012±0.002[b]
ปริมาณอาหารที่กิน	8.9±0.52[a]	10.16±0.83[ab]	10.18±0.85[ab]	12.87±1.25[c]	11.01±0.65[b]
อัตราการแลกเนื้อ	2.08±0.19[b]	1.96±0.16[b]	1.98±0.17[b]	1.62±0.08[a]	1.86±0.15[ab]
อัตราการรอด	86.02±1.99[a]	88.69±2.30[a]	88.71±2.31[a]	87.35±4.15[a]	86.00±6.42[a]

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a b และ c) ในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ ก่อนการชักนำให้เกิดโรค

สูตรอาหาร	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม ($\times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)			
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
สูตรควบคุม	5.72±3.41[b]	3.40±2.18[b]	4.01±2.57[b]	4.05±2.25[b]
0.2% ส่าเบียร์	6.65±3.27[b]	4.93±4.47[b]	5.42±2.16[b]	5.97±2.05[b]
0.5% ส่าเบียร์	7.66±3.28[b]	5.94±4.48[b]	6.43±2.17[b]	6.98±2.06[b]
1.0% ส่าเบียร์	16.22±9.39[a]	9.00±4.94[a]	8.88±3.97[a]	10.94±4.48[a]
2.0% ส่าเบียร์	7.67±3.29[b]	5.95±4.49[b]	6.44±2.18[b]	6.99±2.07[b]

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a,b และc) ในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4 ระบบภูมิคุ้มกันก่อนการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639

4.1 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม

ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 1 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเม็ดเลือดรวมสูงสุดแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 3) กับกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่นในทุกสัปดาห์

4.2 แอคทิวิตีของฟีนอลออกซิเดส

แอคทิวิตีของฟีนอลออกซิเดส ของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 1 แต่ในสัปดาห์ที่ 2 พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 1 เปอร์เซ็นต์ มีแอคทิวิตี้ของฟีนอลออกซิเดสแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) จากกุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ไม่ได้เสริมส่าเบียร์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 0.2 0.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ สัปดาห์ที่ 3 พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 0.2 0.5 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีแอคทิวิตี้ของฟีนอลออกซิเดสแตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหารที่ไม่ได้เสริมส่าเบียร์ ($p<0.05$) สัปดาห์ที่ 4 พบว่ากุ้งที่เลี้ยง

ด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 1 เปอร์เซ็นต์ มีแอคทิวิตี้ของฟีนอลออกซิเดสสูงสุดแตกต่างทางสถิติ (*p<0.05*) (ตารางที่ 4) กับอาหารทดลองชุดอื่น

ตารางที่ 4 แอคทิวิตีของฟีนอลออกซิเดส (unit/min/mg protein) ของกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ ก่อนการชักนำให้เกิดโรค

สูตรอาหาร	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
สูตรควบคุม	2834.71±535.12[a]	3757.94±1710.53[b]	3347.82±1068.21[b]	3944.54±1180.63[b]
0.2% ส่าเบียร์	5904.22±2274.4[a]	8778.46±4308.39[ab]	5510.62±1024.69[a]	5008.98±942.25[b]
0.5% ส่าเบียร์	5905.23±2275.5[a]	8779.47±4309.40[ab]	5511.63±1025.70[a]	5009.99±943.26[b]
1% ส่าเบียร์	6889.79±3917.44[a]	10386.78±3810.36[a]	6899.22±1509.35[a]	7078.01±941.69[a]
2% ส่าเบียร์	5905.24±2275.6[a]	8779.48±4309.41[ab]	5511.64±1025.71[a]	5009.10±943.27[b]

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a b และ c) ในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

5 ระบบภูมิคุ้มกันหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 639

5.1 การหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50})

กุ้งที่ใช้ทดลองนี้มีน้ำหนักเฉลี่ย 10.24 กรัม ตรวจนับจำนวนกุ้งที่ตายในแต่ละกลุ่ม ความเข้มข้นของ *V. harveyi* นำไปวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ได้เท่ากับ 2.14×10^4 9.73×10^5 3.85×10^6 4.30×10^7 CFU/ml ที่ 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ

5.2 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม

หลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 639 พบว่า ในชั่วโมง ที่ 24 กับ ชั่วโมงที่ 72 กุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 1 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเม็ดเลือดรวมที่สูงสุดและแตกต่างทางสถิติ (*p<0.05*) กับกุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารทดลองชุดอื่น ทั้งนี้ในชั่วโมงที่ 96 พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 1 เปอร์เซ็นต์ มีปริมารเม็ดเลือดรวมสูงสุดแตกต่างทางสถิติ (*p<0.05*) จากกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองชุดอื่น และกุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 0.2, 0.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเม็ดเลือดรวมที่สูงแตกต่างทางสถิติ (*p<0.05*) (ตารางที่ 5) กับกุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ไม่ได้เสริมส่าเบียร์

5.3 แอคทิวิตีของฟีนอลออกซิเดส

ในชั่วโมงที่ 24 กุ้งที่เลี้ยงอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร มีแอคทิวิตี้ของฟีนอลออกซิเดสไม่แตกต่างทางสถิติ (*p<0.05*) ชั่วโมงที่ 48 พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 1 เปอร์เซ็นต์ มีแอคทิวิตี้ของฟีนอลออกซิเดสแตกต่างทางสถิติ (*p<0.05*) กับสูตรอาหารที่ไม่ได้เสริมส่าเบียร์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 0.2 0.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ (*p<0.05*) และชั่วโมงที่ 72 กับชั่วโมงที่ 96 พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 1 เปอร์เซ็นต์ มีแอคทิวิตี้ของฟีนอลออกซิเดสสูงสุดแตกต่างทางสถิติ (*p<0.05*) กับอาหารทดลองชุดอื่น และสูตรอาหารเสริมส่าเบียร์ 0.2 0.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีแอคทิวิตี้ของฟีนอลออกซิเดสที่สูงแตกต่างทางสถิติ (*p<0.05*) (ตารางที่ 6) กับกุ้งที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ไม่ได้เสริมส่าเบียร์

ตารางที่ 5 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ หลังการชักนำให้เกิดโรค

สูตรอาหาร	ปริมาณเม็ดเลือดรวม (× 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)			
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
สูตรควบคุม	2.48±1.47^b	2.09±1.72^b	2.1±1.21^b	1.93±1.34^c
0.2% ส่าเบียร์	3.55±1.53^b	4.95±2.13^b	3.33±1.51^b	4.10±1.51^b
0.5% ส่าเบียร์	4.56±1.54^b	5.96±2.14^b	4.34±1.52^b	5.11±1.52^b
1.0% ส่าเบียร์	6.12±1.91^a	7. 09±2.19^a	6.96±2.75^a	7.12±1.92^a
2.0% ส่าเบียร์	4.57±1.55^b	5.97±2.15^b	4.35±1.53^b	5.12±1.53^b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a,b และc) ในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6 แอคทิวิตีของฟีนอลออกซิเดส (unit/min/mg protein) ของกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ หลังการชักนำให้เกิดโรค

สูตรอาหาร	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
สูตรควบคุม	2460.71±972.71^a	1848.66±1251.10^b	2050.92±492.57^c	2152.25±251.94^c
0.2% ส่าเบียร์	3914.05±845.21^a	4067.46±422.60^{ab}	3348.76±335.63^b	3761.44±543.82^b
0.5% ส่าเบียร์	3915.06±846.22^a	4068.47±423.61^{ab}	3349.77±336.64^b	3762.45±544.83^b
1% ส่าเบียร์	5138.15±432.93^a	5066.85±304.89^a	5111.57±342.20^a	5646.66±336.41^a
2% ส่าเบียร์	3915.07±846.23^a	4068.48±423.62^{ab}	3349.78±336.65^b	3762.46±544.84^b

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน (a,b และc) ในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

5.4 การทดสอบหลังการชักนำให้เกิดโรค

สุ่มกุ้งตัวอย่างที่ตาย มาทดสอบยืนยันผลว่ากุ้งตายเนื่องจาก *V. harveyi* สายพันธุ์ 639 โดยการแยกเชื้อจากเฮปพาโท-แพนเครียส ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งไทโอซัลเฟตซิเตรทบายซอลท์ซูโครส (TCBS) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส พบว่าเกิดโคโลนีสีเขียวของ *V. harveyi* สายพันธุ์ 639 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นการยืนยันว่ากุ้งตายด้วยแบคทีเรียชนิดนี้จริง

บทสรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

1 อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตาย

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งก้ามกรามด้วยอาหารเสริมส่าเบียร์ต่างกัน 5 ระดับคือ 0 (สูตรอาหารที่ไม่ได้เสริมส่าเบียร์) 0.2 0.5 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เวลา 16 สัปดาห์ พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเสริมส่าเบียร์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการเจริญเติบโตดีที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนอัตราการรอดพบว่ากุ้งทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) รวมทั้งมีแนวโน้มการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นตามระดับส่าเบียร์ที่เพิ่มขึ้นในอาหาร แต่ลดลงที่อาหารเสริมส่าเบียร์ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอาจเป็นผลจากปริมาณอาหารที่กินต่อตัว โดยกุ้งที่ได้รับอาหารที่เสริมส่าเบียร์ 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามากที่สุด และปริมาณอาหารที่กินต่อ

ตัวมีค่าต่ำสุดในกุ้งชุดที่ได้รับสูตรอาหารที่ไม่ได้เสริมส่าเบียร์ Akiyama et al. (1991) กล่าวว่าส่าเบียร์ มีข้อจำกัดที่ส่งผลต่อความน่ากิน อันเนื่องจากมีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว รวมไปถึงรสชาติของส่าเบียร์ที่มีรสขม ซึ่งเห็นได้ว่าปัจจัยจากรสชาติอาหารมีความสำคัญมากในอาหารสำหรับกุ้ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการใช้ส่าเบียร์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารกุ้งก้ามกรามใช้อาหารเสริมส่าเบียร์ 0 2 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมส่าเบียร์ 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าดีที่สุดทั้งในด้านการเจริญเติบโตและอัตราการรอด (สุพัตร์ และคณะ, 2551) จากการทดลองครั้งนี้และงานวิจัยฉบับดังกล่าวสามารถบอกถึงการเสริมส่าเบียร์ในระดับที่เหมาะสม สามารถกระตุ้นให้เกิดการเติบโตที่สูงขึ้น แต่ถ้าใช้ในระดับที่มากเกินไปก็จะส่งผลเสียต่อการเติบโตของสัตว์ทดลองได้เช่นกัน ในงานวิจัยนี้พบว่าการให้อาหารเสริมส่าเบียร์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการทดลองมีค่าดีกว่ากุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงด้วยสูตรอื่นด้านการเจริญเติบโตอาจเนื่องจากองค์ประกอบของส่าเบียร์ เป็นแหล่งของวิตามินโดยเฉพาะวิตามินบี 1 วิตามินบี 2 และไนอาซิน และยังประกอบไปด้วยกรดอะมิโนในปริมาณที่สูง (ธีรวุฒิ, 2544) ส่วนด้านอัตราการรอดเป็นการใช้เซลล์ของยีสต์ทั้งเซลล์ที่ยังมีส่วนประกอบของผนังเซลล์อยู่ ซึ่งมีสารเบต้ากลูแคนประมาณ 55-65 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักทั้งหมด (Klis et al., 2002) จึงเป็นที่มาของการนำส่าเบียร์มาใช้เป็นตัวกระตุ้นการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของกุ้งก้ามกรามวัยรุ่น

2 ระบบภูมิคุ้มกันก่อนการชักนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 639

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งก้ามกรามด้วยอาหารเสริมส่าเบียร์ต่างกัน 5 ระดับ พบว่าปริมาณเม็ดเลือดแดงรวมของกุ้งก้ามกรามมีแนวโน้มสูงขึ้น เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเสริมส่าเบียร์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับอาหารทดลองสูตรอื่น ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยในกุ้งก้ามกรามโดยศึกษาผลการใช้ส่าเบียร์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารกุ้ง ที่ระดับอาหารเสริมส่าเบียร์ 0 2 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณเม็ดเลือดแดงรวมของกุ้งก้ามกรามมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมส่าเบียร์ และกุ้งที่ได้รับอาหารที่เสริมส่าเบียร์ 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกุ้งชุดที่ได้รับอาหารเสริมส่าเบียร์ 0 และ 2 เปอร์เซ็นต์ (สุพัตร์ และคณะ, 2551) รวมไปถึงการที่มลฤดี และคณะ (2543) ระบุว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมที่มากขึ้นแสดงให้เห็นว่ากุ้งมีภูมิคุ้มกันโรคที่สูงขึ้น การที่กุ้งมีปริมาณเม็ดเลือดที่สูงนั้นส่งผลให้กุ้งสามารถกำจัดเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ตัวกุ้งได้ และมีประสิทธิภาพโดยอาศัยเซลล์เม็ดเลือด ซึ่งจะทำหน้าที่กำจัดเซลล์สิ่งแปลกปลอมออกจากร่างกาย โดยอาศัยกระบวนการกลืนทำลาย กระบวนการกักล้อม และระบบโปรพีโอในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมซึ่งเข้าสู่ร่างกายของกุ้ง (Smith and Ratcliffe, 1980) Le Moullac et al. (1997) รายงานว่าเซลล์เม็ดเลือดกุ้งมี 3 แบบ ได้แก่ ไฮยาลินเซลล์ เซมิแกรนูลาร์เซลล์ และแกรนูลาร์เซลล์ ซึ่งเม็ดเลือดแต่ละชนิดทำหน้าที่แตกต่างกัน การตอบสนองของเซลล์ที่สำคัญในกุ้ง ได้แก่ การทำงานของเอนไซม์ฟีนอล-ออกซิเดส เป็นอนุมูลอิสระที่สามารถทำลายเชื้อโรคได้ ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสที่เกิดขึ้นในตัวกุ้งจะพบในเม็ดเลือด 90 เปอร์เซ็นต์ และในน้ำเลือด 10 เปอร์เซ็นต์ (กิจการ และคณะ, 2543) จึงเป็นเหตุผลให้ปริมาณเม็ดเลือดมีความสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส กุ้งที่มีค่าการทำงานของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสสูง เป็นกุ้งที่มีปริมาณเม็ดเลือดสูงด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากกิจกรรม

ของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสเกิดขึ้นโดยการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดเป็นหลัก (Johansson et al., 2000; Sritunyalucksana and Soderhall, 2000; Adachi et al., 2003) จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่าแอคทิวิตีของฟีนอลออกซิเดส ของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมส่าเบียร์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ มีแอคทิวิตี้ของฟีนอลออกซิเดสสูงที่สุดแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับอาหารทดลองสูตรอื่น ดังนั้นการเสริมส่าเบียร์ในอาหารสำเร็จรูปกุ้งก้ามกรามครั้งนี้ส่งผลต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันด้านเซลล์เม็ดเลือด และยังเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสอีกด้วย

3 ระบบภูมิคุ้มกันหลังการชักนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* สายพันธุ์ 639

ปริมาณเม็ดเลือดรวมและแอคทิวิตีของฟีนอลออกซิเดสของกุ้งก่อนการชักนำให้เกิดโรคมีปริมาณที่สูงกว่าหลังการชักนำให้เกิดโรค และพบว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมและแอคทิวิตีของฟีนอลออกซิเดสของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมส่าเบียร์ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสูงสุดแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับอาหารทดลองสูตรอื่น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าแบคทีเรีย *V. Harveyi* สามารถผลิตสารย่อยสลายเม็ดเลือดทำให้ปริมาณเม็ดเลือดลดลง และเป็นไปได้ว่าเมื่อกุ้งได้รับสิ่งแปลกปลอมเข้าไปในร่างกายทำให้เซลล์เม็ดเลือดในระบบไหลเวียนของร่างกายลดลงเนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดจะเข้ามาล้อมจับสิ่งแปลกปลอม (Lee et al., 1995) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Smith and Soderhall (1983) ได้รายงานว่า กุ้งน้ำจืด *Astacus astacus* มีจำนวนเม็ดเลือดรวมลดลงเมื่อฉีดสิ่งแปลกปลอมเข้าไปในตัวสัตว์ ซึ่งผลทั้งหมดแสดงถึงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอมในตัวกุ้ง เนื่องจากผนังเซลล์ของยีสต์ประกอบด้วยโพลิแซคคาไรด์ อยู่ 2 ใน 3 ของผนังเซลล์ส่วนที่เหลือเป็นโปรตีน ไขมัน เถ้า กลูโคซามีน และเอนไซม์ ชนิดของโพลิแซค-คาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบได้แก่สารเบต้า-กลูแคนและอัลฟาแมนแนน (Manners et al., 1973) ยีสต์ (ส่าเบียร์) ชนิด *S. Cerevisiae* เป็นยีสต์ที่มีสารเบต้ากลูแคนเป็นองค์ประกอบประมาณ 29 เปอร์เซ็นต์ของผนังเซลล์ ซึ่งสารเบต้ากลูแคนนำไปใช้ประโยชน์ในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำได้ (มลฤดีและคณะ, 2543)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ ที่สนับสนุนทุนการศึกษาเป็นระยะเวลา 2 ปี

เอกสารอ้างอิง

กิจการ ศุภมาตย์, จูอะดีพงศ์ พงศ์มณีรัตน์ และ ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง. (2543). สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการใช้วัคซีนในกุ้งกุลาดำ : III ผลของบีต้ากลูแคน (Macrogard®) ต่อการเจริญเติบโตภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในกุ้งกุลาดำ. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 22(ฉบับพิเศษ): 677-687.

ธีรวุฒิ ฤทธิ์เดชา. (2544). การเลียนแบบกลิ่นรสเนื้อโดยใช้ยีสต์ออโตไลเสทเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารมังสวิรัติ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มลฤดี สิทธิพันธ์, อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และ กิจการ ศุภมาตย์. (2543). สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการใช้วัคซีนในกุ้งกุลาดำ: I การสกัดสารบีต้ากลูแคนจากยีสต์ และการประยุกต์ใช้ในกุลาดำ *Penaeus monodon*. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 22(ฉบับพิเศษ): 653-662.

สุพัตร์ ศรีพัฒน์, อนุวัติ อุปนันไชย, เอกพจน์ เจริญศิริวงศ์ธนา, สุจิตรา สรสิทธิ์ และ พิสมัย สมสืบ. (2551). การใช้

ยีสต์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารกุ้งก้ามกราม. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด. (ฉบับที่ 10): 1-20.

Adachi, K., T. Hirata, T. Nishioka and M. Sakaguchi. (2003). Hemocyte components in crustaceans convert hemocyanin into a phenoloxidase-like enzyme. Comparative Biochemistry and Physiology B 134: 135-141.

Akiyama D.M., W. G. Dominy and A. L. Lawrence. (1991). Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry: revised. In: A. M. Akiyama and R. K. H. Tan. Proc. Of The Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop. Thailand and Indonesia, 19-25 September 1991. 80-98.

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Verginia. 1141 pp.

Austin, B. and X. H. Zhang. (2006). *Vibrio harveyi*: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. Letters in Applied Microbiology 43: 119-124.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantitives of protein utilizing the principle of dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Chen, J.C., Chen, K.W. and Chen, J.M. (1996). Effects of saponin on survival, growth, molting and feeding of *Penaeus japonicas* juveniles. Aquaculture 144: 165-175.

Jonanssoon, M. W., P. Keyser, K. Sritunyalucksana and K. Soderhall. (2000). Crustacean hemocytes and haematopoiesis. Aquaculture 191: 45-52.

Klis, F.M., Mol, P., Hellingwerf, K., and Brul, S. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Microbiology Reviews 26: 239-256.

Le Moullac, G., M. Le Groumellwc, D. Ansquer, S. Forissard, P. Levy amd P. Aquacop. (1997). Hawmatological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. *Fish and Shellfish Immunology* 7: 227-234.

Lee, K. K., Chen F.R. and Lui, P.C. (1995). A haemocytolytic assay for tiger prawn, *Penaeus monodon*. Fish Shellfish Immunology 5(5): 385-387.

Manners, D.J., A.J. Masson, and J.C. Patterson. (1973). The structure of a β-1,3-D glucan from yeast cell walls. Biochemical Journal 135: 19-30.

Raa, J. (1996). The Use of Immunostimulatory Substances in Fish and Shellfish Farming. Reviews in Fisheries Science 4(3): 229-288.

Smith, V. J. and Ratcliffe, N.A. (1980). Cellular defense reactions the shore crab. Carinus maenas. Journal Invertebrates. Pathol 35: 65-75.

Smith, V. J. and Soderhall, K. (1983). Separation of the haemocyte populations of *Carcinus maenas* and other marine decapods and phenoloxidase distribution. Devolution Competition Immunology 7: 229-239.

Smith, V. J. and Soderhall, K. (1991). A comparison of phenoloxidase activity in the blood of Marine invertebrates. Devolution Competition Immunology 15: 251-261.

Sritunyalucksana, K. and K. Soderhall. (2000). The proPO and clotting system in crustaceans. Aquaculture 191: 53-69.

❑❑❑❑❑