

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการตารางผนวก ข	(8)
รายการตารางผนวก ค	(9)
รายการภาพประกอบ	(11)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(13)
บทที่	
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	24
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	25
วัสดุ	25
อุปกรณ์	29
วิธีวิเคราะห์	31
วิธีการทดลอง	34
3. ผลการทดลอง	43
4. วิเคราะห์ผลการทดลอง	75
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	90
บรรณานุกรม	92
ภาคผนวก ก	108
ภาคผนวก ข	113
ภาคผนวก ค	120
ประวัติผู้เขียน	129

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ผลผลิตกุ้งกุลาดำเลี้ยงในประเทศไทย	4
2. โรคติดเชื้อในกุ้งทะเล	5
3. โรคติดเชื้อไวรัสในกุ้งทะเล	6
4. ชุดการทดลองสำหรับทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อไวรัสของกุ้งรอดตายที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ WSSV	38
5. ชุดการทดลองสำหรับทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อไวรัสของกุ้งรอดตายที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ YHV	39
6. ชุดการทดลองสำหรับทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อไวรัสของกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อ MBV/HPV	40
7. ชุดการทดลองสำหรับทดสอบปฏิกิริยาการลบล้างฤทธิ์เชื้อไวรัสของน้ำเลือดกุ้งกุลาดำ	41
8. การคงอยู่ของเชื้อ WSSV ในตัวกุ้งกุลาดำหลังจากเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อในห้องปฏิบัติการนานต่างๆ กัน (ชุดการทดลองที่ 2)	45
9. การคงอยู่ของเชื้อ WSSV ในตัวกุ้งกุลาดำหลังจากเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อในห้องปฏิบัติการนานต่างๆ กัน (ชุดการทดลองที่ 3)	46
10. การคงอยู่ของเชื้อ YHV ในตัวกุ้งกุลาดำหลังจากเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อในห้องปฏิบัติการนานต่างๆ กัน	47
11. ผลการติดเชื้อ MBV/HPV บริเวณตับและตับอ่อนกุ้งกุลาดำจากพื้นที่ต่างๆ	48
12. ประสิทธิภาพการต้านทานต่อเชื้อ WSSV และ YHV ของกุ้งรอดตายที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ WSSV ในห้องปฏิบัติการ	52
13. ประสิทธิภาพการต้านทานต่อเชื้อ WSSV และ YHV ของกุ้งรอดตายที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ YHV ในห้องปฏิบัติการ	56
14. องค์ประกอบเลือดกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งที่ติดเชื้อ WSSV ในห้องปฏิบัติการ (ชุดการทดลองที่ 1)	64
15. องค์ประกอบเลือดกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ WSSV นานต่างกัน (ชุดการทดลองที่ 2)	65
16. องค์ประกอบเลือดกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ WSSV นานต่างกัน (ชุดการทดลองที่ 3)	66

17. องค์ประกอบเลือดกึ่งกลาดำปกติและกึ่งรอดตายที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ YHV นานต่างกัน 68

รายการตารางผนวก ข

ตารางผนวก ข ที่	หน้า
1. ส่วนผสมของสารสำหรับสังเคราะห์ดีเอ็นเอของเชื้อ WSSV ในหลอดทดลอง	114
2. โปรแกรมอุณหภูมิสำหรับเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อ WSSV ในหลอดทดลอง	115
3. ส่วนผสมของสารสำหรับสังเคราะห์ cDNA ของเชื้อ YHV ในหลอดทดลอง	116
4. โปรแกรมอุณหภูมิสำหรับสังเคราะห์ cDNA ของเชื้อ YHV ในหลอดทดลอง	116
5. ส่วนผสมของสารสำหรับเพิ่มปริมาณเชื้อ YHV ในหลอดทดลองจากต้นแบบ cDNA	116
6. โปรแกรมอุณหภูมิสำหรับเพิ่มปริมาณเชื้อ YHV ในหลอดทดลองจากต้นแบบ cDNA	117
7. ขั้นตอนการขจัดน้ำและนำพาราฟินเข้าตัวอย่างสำหรับการศึกษาทางเนื้อเยื่อ	118
8. ขั้นตอนการย้อมสีฮีมาท็อกไซลิน และอีโอซิน (H&E) ตัวอย่าง paraffin section	119

รายการตารางผนวก ก

ตารางผนวก ก ที่	หน้า
1. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 25 วัน (ชุดการทดลองที่ 2)	120
2. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 45 วัน (ชุดการทดลองที่ 2)	120
3. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 29 วัน (ชุดการทดลองที่ 3)	121
4. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 43 วัน (ชุดการทดลองที่ 3)	121
5. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 57 วัน (ชุดการทดลองที่ 3)	122
6. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 26 วัน	122
7. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 32 วัน	123
8. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 46 วัน	123
9. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 60 วัน	124
10. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตาย ที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 73 วัน	124
11. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งติดเชื้อ MBV/HPV จากจังหวัดสงขลา	125
12. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งติดเชื้อ MBV/HPV จากจังหวัดปัตตานี	125
13. จำนวนรอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ซ้ำ ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งติดเชื้อ MBV/HPV จากจังหวัดสตูล	126
14. จำนวนรอดตายของกุ้งกุลาดำปกติหลังฉีดเชื้อ WSSV ที่ทดสอบการลบล้างฤทธิ์ด้วย น้ำเลือดกุ้งปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 45 วัน (ชุดการทดลองที่ 2)	126

รายการตารางผนวก ก (ต่อ)

ตารางผนวก ก ที่	หน้า
15. จำนวนรอดตายของกุ้งกุลาดำปกติหลังฉีดเชื้อ WSSV และ YHV ที่ทดสอบการหลบเลี่ยงฤทธิ์ด้วยน้ำเลือดกุ้งปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการฉีดเชื้อ WSSV 43 วัน (ชุดการทดลองที่ 3)	127
16. จำนวนรอดตายของกุ้งกุลาดำปกติหลังฉีดเชื้อ WSSV และ YHV ที่ทดสอบการหลบเลี่ยงฤทธิ์ด้วยน้ำเลือดกุ้งปกติ และกุ้งรอดตายที่ผ่านการฉีดเชื้อ YHV 46 วัน	127
17. ความสามารถในการต้านทานต่อการติดเชื้อไวรัสซ้ำของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการฉีดเชื้อ WSSV ในห้องปฏิบัติการนาน 29 43 และ 57 วัน	128
18. ความสามารถในการต้านทานต่อการติดเชื้อไวรัสซ้ำของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการฉีดเชื้อ YHV ในห้องปฏิบัติการนาน 26 32 46 60 และ 73 วัน	128

รายการภาพประกอบ

ภาพที่	หน้า
1. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 25 วัน (ชุดการทดลองที่ 2)	49
2. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 45 วัน (ชุดการทดลองที่ 2)	50
3. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 29 วัน (ชุดการทดลองที่ 3)	50
4. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 43 วัน (ชุดการทดลองที่ 3)	51
5. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ WSSV 57 วัน (ชุดการทดลองที่ 3)	51
6. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 26 วัน	53
7. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 32 วัน	54
8. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติ และกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 46 วัน	54
9. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 60 วัน	55
10. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการติดเชื้อ YHV 73 วัน	55
11. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งติดเชื้อ MBV/HPV จากจังหวัดสงขลา	57
12. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งติดเชื้อ MBV/HPV จากจังหวัดปัตตานี	58
13. อัตรารอดตายหลังการติดเชื้อ WSSV และ YHV ฆ่า ของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งติดเชื้อ MBV/HPV จากจังหวัดสตูล	58

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
14. อัตรารอดตายของกุ้งกุลาดำปกติหลังฉีดเชื้อ WSSV ที่ทดสอบการลบล้างฤทธิ์ด้วยน้ำเกลือกุ้งปกติ และกุ้งรอดตายที่ผ่านการฉีดเชื้อ WSSV 45 วัน (ชุดการทดลองที่ 2)	59
15. อัตรารอดตายของกุ้งกุลาดำปกติหลังฉีดเชื้อ WSSV และ YHV ที่ทดสอบการลบล้างฤทธิ์ด้วยน้ำเกลือกุ้งปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการฉีดเชื้อ WSSV 43 วัน (ชุดการทดลองที่ 3)	60
16. อัตรารอดตายของกุ้งกุลาดำปกติหลังฉีดเชื้อ WSSV และ YHV ที่ทดสอบการลบล้างฤทธิ์ด้วยน้ำเกลือกุ้งปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการฉีดเชื้อ YHV 46 วัน	61
17. ความสามารถในการต้านทานต่อการติดเชื้อไวรัสซ้าของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการฉีดเชื้อ WSSV ในห้องปฏิบัติการ	62
18. ความสามารถในการต้านทานต่อการติดเชื้อไวรัสซ้าของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งรอดตายที่ผ่านการฉีดเชื้อ YHV ในห้องปฏิบัติการ	63
19. เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองของกุ้งกุลาดำปกติ ท่อน้ำเหลืองมี lumen ตรงกลางท่อ (LO, lymphoid organ tube; Lum, lumen; H&E; Davidson's fixative, bar = 50 µm)	70
20. เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองของกุ้งกุลาดำผ่านการฉีดสารละลายฟอสเฟตบับเฟอร์ 32 วัน พบท่อน้ำเหลืองส่วนใหญ่ปกติ (LO, lymphoid organ tube; LOS, lymphoid organ spheroid; Lum, lumen; H&E; Davidson's fixative, bar = 50 µm)	70
21. เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ YHV 32 วัน พบท่อน้ำเหลืองแบบ spheroid ขนาดต่างๆ รอบท่อน้ำเหลืองปกติ (LO, lymphoid organ tube; LOS, lymphoid organ spheroid; Lum, lumen; H&E; Davidson's fixative, bar = 50 µm)	71
22. เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ WSSV 43 วัน มีท่อน้ำเหลืองส่วนใหญ่แบบ spheroid หลายขนาดและหลายรูปแบบ (LO, lymphoid organ tube; LOS, lymphoid organ spheroid; Lum, lumen; H&E; Davidson's fixative, bar = 50 µm)	71
23. เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองของกุ้งกุลาดำที่ผ่านการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ WSSV 57 วัน พบท่อน้ำเหลืองแบบ spheroid มากกว่าท่อปกติ บางท่อพบเซลล์ล้อมไม่ติดสี (ครีซี) บริเวณ spheroid (LO, lymphoid organ tube; LOS, lymphoid organ spheroid; Lum, lumen; H&E; Davidson's fixative, bar = 50 µm)	72

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
24. เนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลืองของกึ่งกลาดำติดเชื้อ MBV/HPV ท่อน้ำเหลืองที่กลายเป็น spheroid มีรูปแบบและขนาดไม่แตกต่างกัน (LO, lymphoid organ tube; LOS, lymphoid organ spheroid, Lum, lumen; H&E; Davidson's fixative, bar = 100 μ m)	72
25. เนื้อเยื่อตับของกึ่งกลาดำปกติพบ reserve cell (R-cell) (สรชี้) จำนวนมากช่องว่างกลางเซลล์ เป็นรูปดาว (Lum, lumen; H&E; Davidson's fixative, bar = 100 μ m)	73
26. เนื้อเยื่อตับของกึ่งกลาดำติดเชื้อ MBV ที่มีก้อนโปรตีนของไวรัส (occlusion bodies) (สรชี้) พบช่องว่างภายในท่อตับกว้างขึ้น เซลล์ตับสืบ ภายในท่อตับพบเซลล์แวกคิวโอล และ R-cell จำนวนน้อย (Lum, lumen; H&E; Davidson's fixative, bar = 100 μ m)	73
27. เนื้อเยื่อตับของกึ่งกลาดำติดเชื้อ HPV มีก้อนไวรัส (inclusion bodies) (สรชี้) พบช่องว่าง ภายในท่อตับกว้างขึ้น เซลล์ตับสืบ ภายในท่อตับไม่พบเซลล์แวกคิวโอล และ R-cell (Lum, lumen; H&E; Davidson's fixative, bar = 100 μ m)	74

ตัวย่อและสัญลักษณ์

%	= Percent
BMNV	= Baculovirus mid-gut grand necrosis virus
BP	= Baculovirus penaeid
BPSV	= Bay of Pyran shrimp virus
BSA	= bovine serum albumin
GAV	= Gill associate virus
<i>g</i>	= acceleration (cm/sec ²)
CP	= Clotting protein
cDNA	= Complementary deoxyribonucleic acid
DNA	= Deoxyribonucleic acid
EDTA	= Ethylene diamine tetra acetic acid
EGTA	= Ethylene glycol tetra acetic acid
HPV	= Hepatopancreatic parvo-like virus
IHHNV	= Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus
kDa	= Kilo Dalton
LD ₅₀	= Lethal dose of estimating fifty percent end point
LPV	= Lymphoid organ parvo-like virus
LPS	= Lipopolysaccharide
LOVV	= Lymphoid organ vacuolization virus
Baculovirus	
min	= minute
mg	= milligram
M	= Molar
N	= Normal
nm	= nanometer
PAV	= Penaeid acute viremia
PBS	= Phosphate buffer saline

ตัวย่อและสัญลักษณ์ (ต่อ)

PCR	= Polymerase chain reaction
PG	= Peptidoglycan
pH	= -Log hydrogen ion concentration
PO	= Phenoloxidase
PRDV	= Penaeid rod shaped DNA virus
ProPO	= Prophenoloxidase
R-cell	= Reserve cell
REO	= Reo-like virus
RNA	= Ribonucleic acid
RPS	= Relative percent survival
RPS	= Rhabdo virus of penaeid shrimp
RT-PCR	= Reverse transcription polymerase chain reaction
sec	= second
SMV	= Spawner isolated mortality virus
TGase	= Transglutaminase
Tris-HCl	= Tris-(hydroxymethyl)-aminoethane hydrochloride acid
TSV	= Taura Syndrome virus
VHDL	= Very high density lipoprotein
WSSV	= White spot syndrome virus
YHDBV	= Yellow head disease baculovirus
YHV	= Yellow head virus