ผลของสารสกัดลูกใต้ใบต่อสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในกุ้งกุลาดำ

Effect of the Extract of *Phyllanthus amarus* Linn. on Bactericidin in the Black Tiger Prawn, *Penaeus monodon*

ภัสสร สวาทะสุข เครือวัลย์ อ่อนทอง และ สถาพร ดิเรกบุษราคม

Patsorn Sawatasuk, Kruewan Onthong, and Sataporn Direkbusarakom

บทคัดย่อ

ในการศึกษาผลของสารสกัดลูกใต้ใบ *Phyllanthus amarus* Linn. ต่อสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (bactericidin) ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) โดยทำการทดลองป้อนและฉีดสารสกัดลูกใต้ใบเข้ากล้ามเนื้อปล้องที่ 6 ของกุ้งกุลาดำ การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ชุดตามความเข้มข้นดังนี้ คือ 0 , 0.1 และ 1 มก/มล หลังจากฉีด 1 และ 6 ชั่วโมง ทำการดูดน้ำเลือดกุ้ง (hemolymph) เพื่อนำมาหาค่าฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธีของกัลยาณ์ (2538) เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Analysis of Variance พบว่าค่าในการต้านแบคทีเรียของสารที่ผลิตในตัวกุ้ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเปอร์เซ็นต์การต้านแบคทีเรียที่เกิดขึ้น ในทุกชุดการทดลอง แสดงว่าสารสกัดลูกใต้ใบที่ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 1 มก/มล ไม่มีผลไปขัดขวางการทำงานของสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติในเลือดของกุ้งกุลาดำ

ABSTRACT

Effect of the extract of *Phyllanthus amarus* Linn. on bactericidin in the black tiger prawn (*Penaeus monodon)* was studied by muscular injection at the 6 th segment. Three concentrations of the extract were given to *P. monodon* as following 0, 0.1 and 1.0 mg/ml. After injection for 1 and 6 hour, 11-12 prawns from each group were sampling for bactericidal activity according to the method described by Kallaya (1995). The analysis of data by ANOVA showed non-significant in every groups. From all the results indicated no effect of the extract of *P. amarus* Linn. on bactericidin in the black tiger prawn.

สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง อ.เมือง จ.สงขลา

National Institute of Coastal Aquaculture. Kaoseng soi 1, Muang District, Songkhla 90000

คำนำ

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเฉพาะการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ นับเป็นธุรกิจที่ให้ผลตอบแทนแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงสูง อีกทั้งทำรายได้เข้าประเทศเป็นมูลค่ามหาศาล ในปี 2537 ผลผลิตกุ้งกุลาดำของประเทศไทยเท่ากับ 190,650 เมตริกตัน คิดเป็นมูลค่า 48,109 ล้านบาท และปี พ.ศ. 2538 ผลผลิตของกุ้งกุลาดำสูงถึง 202,000 เมตริกตัน คิดเป็นมูลค่า 50,600 บาท (พายัพ,2538) แต่ในขณะที่ธุรกิจการเลี้ยงกุ้งของประเทศไทยกำลังรุดหน้าไปอย่างรวดเร็ว ปัญหาสิ่งแวดล้อมและปัญหาโรคระบาดในกุ้งก็เริ่มปรากฏขึ้นมาครั้งแล้วครั้งเล่า จนทำให้เกษตรกรหลายรายต้องปิดฟาร์มลงไป การเกิดปัญหาเกี่ยวกับโรคในกุ้งกุลาดำโดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ทำให้ผู้เลี้ยงได้ใช้วิธีการต่างๆ เพื่อป้องกันและรักษาโรคที่เกิดขึ้น เช่น การใช้สารเคมี การใช้ยาปฏิชีวนะ ซึ่งวิธีการดังกล่าว นอกจากจะเกิดผลเสียต่อสภาพแวดล้อมและการตกค้างของสารเคมีแล้ว รัฐบาลยังเสียดุลการค้ากับต่างประเทศ เพื่อสั่งซื้อยาและสารเคมีเป็นจำนวนมากมาใช้ในการรักษาโรค สมุนไพรเป็นยาพื้นบ้านที่ได้จากธรรมชาติที่มีราคาถูก และไม่ก่อให้เกิดปัญหาการตกค้างของยา จึงน่าที่จะนำสมุนไพรมาศึกษาเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อไวรัสในกุ้งกุลาดำ

ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสมุนไพรเป็นพืชที่หาได้ง่าย ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Linn.) เป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่ควรนำมาศึกษาว่ามีผลข้างเคียงต่อ bactericidin ในตัวกุ้งหรือไม่ เนื่องจากมีการศึกษา พบว่าลูกใต้ใบ *(Phyllanthus amarus)* มีผลในการออกฤทธิ์ต่อไวรัส YHV ที่เป็นสาเหตุของโรคหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำ (Direkbusarakom *et al.*,1996) สารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Bactericidin) ทำหน้าที่ช่วยลดการติดเชื้อแบคทีเรียในตัวกุ้ง จากการศึกษาของกัลยาณ์ (2538) พบว่าสารต้านแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ต่อ *Vibrio parahaemolyticus* เป็นสารที่พบอยู่ในเลือดกุ้งตามธรรมชาติ และจะพบสารชนิดนี้สูงมากในน้ำเลือดซึ่งรวมอยู่กับเซลล์เม็ดเลือดที่แตก

จากรายงานของ Stewart และ Zwicker(1972) พบว่า สารต้านฤทธิ์แบคทีเรียไม่มีผลต่อต้านเชื้อในกุ้งมังกร (*Homarus americanus*)นอกจากนี้ มีหลักฐานบางประการที่แสดงว่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียสามารถถูกกระตุ้นได้โดยระบบภูมิคุ้มกัน (immunization) ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาวัคซีนสำหรับสัตว์ทะเลทางเศรษฐกิจได้(กัลยาณ์,2538) แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถรู้ถึงขบวนการทำงานของสารต้านฤทธิ์แบคทีเรีย,แหล่งที่มา,คุณสมบัติทางชีวเคมี และบทบาทในการป้องกัน host ของสารต้านฤทธิ์แบคทีเรีย

Evans และคณะ (1968; 1969 a,b) และ Weinheimer และคณะ(1968) รายงานว่า ในอดีต นักวิจัยได้ตั้งสมมติฐานว่า สารต้านฤทธิ์แบคทีเรียอาจจะแสดงบทบาทเป็น primordial immunoglobulins (Igs) และสรุปว่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรีย หรือสารที่คล้าย immunoglobulins นั้นจะถูกชักนำโดย antigen ที่สัตว์ได้รับในระดับสูงขึ้น ในระหว่างการตอบสนองครั้งที่ 2 (secondary response) และนำไปสู่การกำจัด antigen ได้เร็วมากขึ้น

ความแตกต่างระหว่างสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียและIgs คือ การขาดความจำเพาะเจาะจง (specificity) และการไม่สามารถจับตัวและตกตะกอน (agglutination) กับสารแปลกปลอม (antigen) ที่ถูกชักนำ เมื่อเปรียบเทียบกับระบบ complement ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง พบว่า สารต้านฤทธิ์แบคทีเรียจะทนต่อความร้อน (heat-stable) ในขณะที่ complement จะไม่ทนต่อความร้อน (heat-labile) ที่ 56องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นอกจากนี้ EDTA และ CARAGENIN ซึ่งเป็นสารที่ใช้ยับยั้งการทำงานของ complementในสัตว์มีกระดูกสันหลังยังไม่สามารถยับยั้งการทำงานของสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียอีกด้วย (Cornick และ Stewart ,1968; Weinheimer และคณะ,1968;Evans ,1969; Evans และคณะ,1969 a , b; Mckay และ Jenkin,1970 ; Stewart และ Zwicker ,1972 ; Adams ,1991)

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของลูกใต้ใบต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งโดยประเมินจากค่าสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (bactericidin) ที่มีอยู่ในน้ำเลือดกุ้งตามธรรมชาติเป็นเกณฑ์ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำ

เอาลูกใต้ใบไปใช้ในกุ้งกุลาดำ โดยไม่ก่อให้เกิดผลต่อระบบภูมิคุ้มกันในกุ้ง

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมความเข้มข้นของลูกใต้ใบ

ชั่งสารสกัดลูกใต้ใบหนัก 0.0003 กรัมและ 0.003 กรัม ละลายในน้ำทะเลเทียม (Artificial Sea Water ,ASW) 3 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของลูกใต้ใบ 0.1 และ 1 มก/มล ตามลำดับ

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นเชื้อ *Vibrio* sp. สายพันธุ์ NICA 1039 ที่แยกมาจากกุ้งที่เป็นโรคใน อ.ระโนด จ.สงขลา นำเชื้อดังกล่าวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BTB Teepol agar ก่อนทำการทดลอง 24 ชั่วโมง

เมื่อเริ่มการทดลอง นำเชื้อ NICA1039 ผสมกับน้ำทะเลเทียม และปรับปริมาณแบคทีเรียให้ได้ประมาณ 1×10^4 เซลล์/มิลลิลิตร

การหา bactericidin ในน้ำเลือดกุ้งกุลาดำ

ประยุกต์จากวิธีการของกัลยาณ์ (2538) โดยสรุปได้ดังนี้

1. ให้สารสกัดลูกใต้ใบเข้มข้น 0 ,0.1 และ 1 มก/มล โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อปล้องที่ 6 ของกุ้งกุลาดำขนาดประมาณ 20-25 กรัม ในชุดควบคุม(ความเข้มข้นของลูกใต้ใบเท่ากับ 0 มก/มล)ใช้น้ำทะเลเทียมฉีด แทนสารสกัดลูกใต้ใบ (Control) และการให้โดยวิธีป้อนสารสกัดลูกใต้ใบเข้มข้น 0 ,0.1 และ 1 มก/มล เข้าปากกุ้ง ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกันกับวิธีฉีดลูกใต้ใบทดลองชุดละ 2 ซ้ำ ซ้ำละ 12 ตัว

2. เมื่อครบ 1 และ 6 ชั่วโมง หลังจากการฉีดและป้อน ใช้เข็มฉีดยาที่มีน้ำทะเลเทียม ผสมสาร L-cysteine ซึ่งใช้เป็นสารยับยั้งการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) 0.2 มล. ดูดน้ำเลือดกุ้งให้มีปริมาตร 0.5 มล. จากนั้นนำน้ำเลือดกุ้งไปเหวี่ยงให้ตกตะกอน ที่ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที

3. ใช้ปิเปตดูดน้ำเลือดกุ้งที่อยู่ส่วนบน (supernatant) 0.5 มิลลิลิตรผสมกับเชื้อ NICA 1039 ในอัตราส่วน 1: 1 ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง สำหรับชุดควบคุมใช้ ASW ที่ผสมสารละลาย L-cysteine แทนน้ำเลือดกุ้ง

4. ดูดสารละลายในข้อ 3 จำนวน 0.1 มล. นำมานับปริมาณเชื้อ โดยการกระจายเชื้อ (spread plate) บนอาหาร BTB Teepol agar ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

5. คำนวนหาค่า Bactericidin unit ของกุ้งแต่ละตัว จากสูตร

$$\text{Bactericidin unit} = 100-(I/A \times 100)$$

A = ค่าเฉลี่ยของแบคทีเรียที่เจริญใน ASW ที่มี L-cysteine

I = ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในกุ้งแต่ละตัว

ผล

ตารางที่ 1 แสดงค่าของสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียหลังจากฉีดลูกใต้ใบเข้าไปในตัวกุ้ง 1 ชั่วโมง พบว่าค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียในกุ้งทุกชุดการทดลอง คือ ชุดที่ฉีดกุ้งด้วยสารสกัดลูกใต้ใบเข้มข้น 0 ,0.1 และ 1 มก/มล ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และปริมาณสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียเฉลี่ยในการทดลองซ้ำที่ 1และ 2 มีค่าเท่ากับ 81.32-89.56% และ 35.62-43.68 % ตามลำดับ

ค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียหลังจากฉีดลูกใต้ใบ 6 ชั่วโมงเข้าไปในตัวกุ้ง พบว่าค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียในทุกชุดการทดลอง คือ ชุดที่ฉีดกุ้งด้วยสารสกัดลูกใต้ใบเข้มข้น 0,0.1 และ 1 มก/มล ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยมีค่าปริมาณสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียเฉลี่ยในการทดลองซ้ำที่ 1และ 2 เท่ากับ 93.60-96.96% และ 89.26-90.86 %ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

สำหรับค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียหลังจากป้อนลูกใต้ใบ 1 และ 6 ชั่วโมง พบว่าค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียในทุกชุดการทดลองคือชุดที่ป้อนกุ้งด้วยสารสกัดลูกใต้ใบเข้มข้น

0,0.1 และ 1 มก/มล เช่นกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียในการทดลองซ้ำที่ 1 และ 2 เท่ากับ 11.5-28.90% และ 28.91-39.76% ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ส่วนค่าเฉลี่ยของสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียหลังจากป้อนลูกใต้ใบ 6 ชั่วโมง ในชุดการทดลองทั้ง 2 ซ้ำ มีค่าเฉลี่ยระหว่าง 70.31-82.48% และ 85.36-88.66 %ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

Table 1 Effect of bactericidin 1 hr after injection with *Phyllanthus amarus*

ความเข้มข้น *P. amarus* (mg/ml)	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
0.0	81.32 ± 15.6	35.62 ± 33.4
0.1	89.59 ± 4.9	39.98 ± 28.3
1	87.52 ± 7.8	43.68 ± 24.3
*Anova test	N.S.	N.S.

N.S. = non significantly different

Table 2 Effect of bactericidin 6 hr after injection with *Phyllanthus amarus*

ความเข้มข้น *P. amarus* (mg/ml)	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
0.0	93.6 ± 10.5	90.86 ± 2.3
0.1	93.62 ± 7.7	89.34 ± 5.9
1	96.96 ± 4.0	89.26 ± 5.1
*Anova test	N.S.	N.S.

N.S. = non significantly different

Table 3 Effect of bactericidin 1 hr after fed with *Phyllanthus amarus*

ความเข้มข้น *P. amarus* (mg/ml)	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
0.0	28.90 ± 48.8	28.91 ± 47.3
0.1	28.16 ± 59.8	30.09 ± 48.7
1	11.5 ± 67.1	39.76 ± 30.2
*Anova test	N.S.	N.S.

N.S. = non significantly different

Table 4 Effect of bactericidin 6 hr after fed with *Phyllanthus amarus*

ความเข้มข้น *P. amarus* (mg/ml)	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2
0.0	82.48 ± 11.1	88.66 ± 14.2
0.1	74.87 ± 19.8	85.36 ± 13.8
1	70.31 ± 24.4	86.07 ± 20.1
*Anova test	N.S.	N.S.

N.S. = non significantly different

สรุปและวิจารณ์

ค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียหลังจากฉีดและป้อนลูกใต้ใบ 1 และ 6 ชั่วโมง ในชุดควบคุม,ชุดที่ฉีดกุ้งกุลาดำด้วยลูกใต้ใบเข้มข้น 0.1 และ 1 มก/มล มีค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรีย ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %) นั่นคือการฉีดหรือป้อนกุ้งด้วยลูกใต้ใบทั้ง 2 ระดับ ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าของสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียที่มีอยู่ตามธรรมชาติในตัวของกุ้ง อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียที่เกิดขึ้นระหว่างชุดที่ฉีดกุ้งด้วยลูกใต้ใบ 1 และ 6 ชั่วโมง พบว่า ค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียหลังจากฉีดกุ้งด้วยลูกใต้ใบ 6 ชั่วโมง มีค่าสูงกว่าค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียหลังจากฉีดหรือป้อนกุ้งด้วยลูกใต้ใบ 1 ชั่วโมงในทุกชุดการทดลอง ทั้งนี้เนื่องจากกุ้งอาจเกิดความเครียด (stress) ในระหว่างการฉีดหรือป้อน จึงทำให้ค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียในตัวลดลงกว่าปกติ แต่เมื่อกุ้งเริ่มปรับสภาพตัวเองได้แล้ว ความเครียดจึงลดลงด้วย ทำให้ค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียค่อยๆสูงขึ้นจนเกือบปกติ

อย่างไรก็ตาม จากตารางที่ 1 พบว่าในการทดลองซ้ำที่ 2 กุ้งมีค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียต่ำกว่าซ้ำที่ 1 ในทุกชุดการทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ กุ้งที่นำมาใช้ในการทดลองในซ้ำที่ 2 เป็นกุ้งที่นำมาจากแหล่งที่ต่างกัน ซึ่งกุ้งที่นำมาทดลองในซ้ำที่ 2 ได้รับความเครียดมากกว่ากุ้งที่นำมาทดลองในซ้ำที่ 1 จึงมีค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียต่ำกว่าอีกประการหนึ่งกุ้งแต่ละตัวมีค่าความต้านทานต่อเชื้อต่างๆ และมีภูมิคุ้มกัน (immunity) แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของกุ้งแต่ละตัว แม้ว่าจะนำกุ้งมาเลี้ยงในสภาวะเดียวกันก็ตาม ค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียที่ได้จึงอยู่ในช่วงที่ค่อนข้างกว้าง และอาจมีค่าแตกต่างกันได้มาก แม้ว่าจะอยู่ในชุดการทดลองเดียวกันก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของกัลยาณ์ (2538) ที่ได้ทำการทดลองหาค่าสารต้านแบคทีเรียกับกุ้งปกติ และพบว่าค่าสารต้านแบคทีเรียของกุ้งแต่ละตัวอยู่ในช่วงที่กว้างและค่าของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งแบคทีเรียในกุ้งปกติมีค่าอยู่ระหว่าง 38.9-80.0

เมื่อเปรียบเทียบค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียหลังจากฉีดลูกใต้ใบ 1 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมง และป้อนลูกใต้ใบ 1 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมง (ตารางที่ 1 และ 3 และตารางที่ 2 และ 4) พบว่า ค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียที่เกิดขึ้นหลังจากป้อนลูกใต้ใบมีค่าต่ำกว่าค่าสารต้านฤทธิ์แบคทีเรียที่เกิดขึ้นหลังจากฉีดลูกใต้ใบ ทั้งนี้เนื่องจากการป้อนลูกใต้ใบให้กุ้ง ทำให้กุ้งได้รับความเครียดมากกว่าการฉีดเนื่องจากการป้อนต้องรอให้กุ้งเปิดปาก จึงค่อยๆปล่อยสารสกัดลูกใต้ใบให้ไหลตามสายยางที่ต่อจากเข็มฉีดยา ซึ่งใช้เวลาในการป้อนนานกว่าฉีด เพราะบางครั้งกุ้งพ่นสารสกัดลูกใต้ใบออกมา ดังนั้นโอกาสที่กุ้งจะได้รับความเครียดเนื่องจากการจับป้อนมีค่อนข้างสูง

การทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า สารสกัดลูกใต้ใบที่ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 1 มก./มล ไม่มีผลต่อสารต้านฤทธิ์แบคทีเรีย ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในน้ำเลือดของกุ้งกุลาดำ ไม่ว่าจะโดยวิธีการฉีดหรือการป้อน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.อังคณา หิรัญสาลี ฝ่ายเคมีสังเคราะห์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สารสกัดลูกใต้ใบในการทดลองครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กัลยาณ์ ศรีธัญญลักษณา. 2538. การศึกษาสารน้ำในระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยมหิดล,กรุงเทพฯ

พายัพ ชูมณี. 2538. ผลของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่ง (*Psidium guajava*)ต่อการติดเชื้อไวรัส YBV และ SEMBV ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

Adams,A. 1991. Response of penaeid shrimp to exposure to *Vibrio* species. Fish and Shellfish Immunology. 1:59-70.

Cornick J.W. and J.E. Stewart.1968. Interaction of the pathogen,*Gaffkya homari* with natural defense mechanisms of *Homarus americanus*. J. Fish. Res. Bd. Can. 25:695-709.

Direkbusarakom, S., A. Herunsalee, S. Boonyaratpalin, Y. Danayadol and U. Aekpanithanpong. 1996. Effect of *Phyllanthus* spp. against yellow-head baculovirus infection in black tiger shrimp ,*Penaeus monodon*.Diseases in Asian Aquaculture II ,p81-88.

Evans, E. E., B. Painter, M. L. Evans, P. Weinheimer, and R. T. Acton.1968a. An induced bactericidin in the spiny lobster,*Panulirus argus*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.128:394-397.

Evans, E. E., J. E. Cushing,S. Sawyer, P. F. Weinheimer, R.T. Acton and J. L. McNeely .1968b. Induced bactericidal response in the california spiny lobster,*Panulirus interruptus*. Proc. Soc. Exp. Bio. Med.132:111-114.

Evans, E. E., P. F. Weinheimer, B. Painter, and R. T. Acton, 1969. Secondary and tertiary response of the induced bactericidin from the west indian spiny lobster,*Panulirus argus*. Bacteriol.98:943-946.

Mckay, D. and C.R. Jenkin.1970. Immunity in the invertebrate: The role of serum factors in phagocytosis of erythrocytes by haemocytes of the freshwater crayfish (*Parachaeraps bicarinatus*). Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 48:139-150.

Stewart, J.E. and B.M. Zwicker.1972. Natural and induced bactericidal activities in the hemolymph of the lobster, *Homarus americanus*:products of hemocyte-plasma interaction. Can. Microbiol.18:1499-1509

Weinheimer, P. F., R. T Acton, S. Sawyer, and E .E. Evans, (1968) Specificity of the induced bactericidin of the West spiny lobster, *Panulirus argus*. Bacteriol. 98:947-948.