ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การหาสาเหตุ การตายของหอยหวาน (*Babylonia areolata*) ที่เลี้ยงในระบบน้ำนิ่ง
Investigation into a mortality of *Babylonia areolata* cultured in static system

ชื่อนักศึกษา นาย อนนท์ ช่วยการ

ชื่ออาจารย์ที่ปรึก

ชื่ออาจารย์ที่ปรึก

ได้พิจารณาเห็นชอ

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาร

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 21 เดือน ก.ค. พ.ศ. 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง 2328

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การหาสาเหตุ การตายของหอยหวาน (*Babylonia areolata*) ที่เลี้ยงในระบบน้ำนิ่ง

Investigation into a mortality of *Babylonia areolata* cultured in static system

T099448

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2ร
@11
25

เลขทะเบียน 99448

b 11883396

i

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520
ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การหาสาเหตุการตายของหอยหวาน (*Babylonia areolata*) ที่เลี้ยงในระบบน้ำนิ่ง

Investigation into a mortality of *Babylonia areolata* cultured in static system

จากการทดลองเลี้ยงหอยหวาน(*Babylonia areolata*) ในระบบน้ำนิ่ง ช่วงระหว่างเดือนตุลาคม – ธันวาคม พ.ศ.2549 ที่ระดับความเค็ม 30 พีพีที พบว่า หอยที่เลี้ยงเกิดอาการผิดปกติช่วงปลายเดือนธันวาคมซึ่งเป็นช่วงที่อุณหภูมิลดต่ำลง จากเดิมอุณหภูมิเฉลี่ย 27.5 องศาเซลเซียส เหลือ 21.1 องศาเซลเซีย ความเป็นกรด-ด่าง 7.92 ออกซิเจ 5 ตัว มาศึกษา ลักษณะอาการภาย ย ไม่กินอาหาร และพบปรสิต 2 ชนิ รถระบุชนิดได้) จากนั้นได้ทำการเขี่ ลักษณะอาการผิดปกติทางเนื้อเยื่อ อบวมติดสีจางกว่าปกติ มัดกล้ามเ ถูกทำลายเกิดการตายเป็นบางบริ บริเวณเนื้อเยื่อเหงือก(ctenidium) ดเชื้อกลับเข้าสู่เท้าหอยปริมาณคว เวน 20 ตัว เฝ้าสังเกตุเป็นระยะเวล กับหอยที่แสดงอาการผิดปกติในระ ะพบว่าหอยจะแสดงอาการผิดปกติ อร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ในการทำปัญหาพิเศษเรื่อง การหาสาเหตุ การตายของหอยหวาน (*Babylonia areolata*) ที่เลี้ยงในระบบน้ำนิ่ง สำเร็จลุล่วงลงได้ กระผมขอขอบพระคุณ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาคอยติดตามให้คำแนะนำ, ความรู้ต่างๆในการศึกษาทดลอง, ตรวจทานข้อมูล ตลอดจนข้อคิดต่างๆ และขอบพระคุณ ดร. มณฑล แก่นมณี ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่เป็นธุระจัดหาอุปกรณ์การทดลอง และคอยให้คำปรึกษา รวมไปถึง ดร. นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ จากสถาบันวิจัยคุณภาพน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการทดลองเริ่มต้น ขอกราบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่ได้ให้วิชาความรู้ อบรมสั่งสอน และให้คำปรึก

ขอขอบคุณ ายาศาสตร์การ
ประมงทุกท่านที่ให้

ขอขอบคุณ สาว ปิยพรรณ
กลอนกลาง และรุ่น

ขอขอบคุณ วามช่วยเหลือ
และ ให้กำลังใจมาโ เมทรงจำที่ดีให้
จดจำ มิตรภาพยิ่งใ

สุดท้ายขอ นกำลังใจและ
ช่วยเหลือในทุกๆด้า

นท์ ช่วยการ

เมษายน 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลการทดลองและวิจารณ์	18
สรุปและข้อเสนอแน	29
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	โรคติดเชื้อจากแบคที่เรียในหอยและหมึก	7
2	การแพร่กระจายของเชื้อ *Perkinsus marinus* บริเวณน้ำตื้น ณ เมืองต่างๆ ในปีคศ. 1997	9
3	การแพร่กระจายของเชื้อ *Perkinsus marinus* บริเวณน้ำลึก ณ เมืองต่างๆ ในปีคศ. 1997	9
4	โปรโตซัวที่ส่งผลกระทบต่อธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเลบางชนิด	10
5	อาการของหอยเมื่อคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลง	11
6	ลักษณะอา	19
7	ผลการทดส	22
8	ผลการวิเคร	26

ตารางผนวกที่

1	คุณสมบัติข	32
2	อัตราส่วนข	33
3	จำนวนของ	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ระบบสืบพันธุ์หอยหวานเพศผู้	4
2	ระบบสืบพันธุ์หอยหวานเพศเมีย	4
3	เนื้อเยื่อแมนเทิลชั้น epithelial ของหอยนางรม (*Crassostrea virginica*) ที่ถูกทำลายจาก เชื้อโปรโตซัวและแบคทีเรีย	6
4	โปรโตซัว และ แบคทีเรีย ที่ฝังตัวในเนื้อเยื่อชั้น epithelial ของหอยนางรม (*Crassostrea virginica*)	6
5	เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ *Perkinsus marinus* ในหอยนางรม(*Crassostrea virginica*) ที่ระดับควา	12
6	เปอร์เซ็นต์	12
	การติดเชื้อ	
7	เปอร์เซ็นต์	13
	ที่ได้รับเชื้อ	
	ต่างกัน 4 ร	
8	ลักษณะกา	18
9	ลักษณะอา	18
	หอยหวานพ	
10	*Uronema* s	20
11	Unknown s	20
12	ปริมาณปรส	21
13	เปรียบเทีย	21
	เลี้ยงเชื้อจำเพาะ (TCBS) ในหอยปกติ (ก) และหอยที่แสดงอาการผิดปกติ (ข)	
14	บริเวณเนื้อเยื่อที่ผิดปกติ จากการสุ่มตรวจหอยจำนวน 15 ตัว	23
15	ลักษณะเนื้อเยื่อเท้าหอยปกติ	24
16	เนื้อเยื่อเท้าที่ผิดปกติเส้นใยกล้ามเนื้อจะบวม และกล้ามเนื้อจะอยู่กันอย่างหลวมๆ	24
17	กล้ามเนื้อเท้าบางส่วนถูกทำลายและเกิดการรวมตัวกันของแบคทีเรีย	24
18	บริเวณที่มีการฝังตัวของปรสิตภายในเนื้อเยื่อเท้า	24
19	ลักษณะเนื้อเยื่อท่ออาหาร(proboscis)ที่ผิดปกติ มัดกล้ามเนื้อจะเรียงตัว กันหลวมๆกล้ามเนื้อบริเวณขอบนอกจะมีลักษณะบวมติดสีจาง	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
20	ลักษณะเนื้อเยื่อท่ออาหาร(proboscis)ที่ผิดปกติ ซึ่งถูกทำลาย(*) และเกิดการรวมตัวกันของแบคทีเรีย	25
21	ลักษณะเหงือก(ctenidium) ปกติ แผงเหงือกจะติดสีชัดเจน	25
22	ลักษณะเหงือก(ctenidium) ผิดปกติ ต่อมเมือก(mucus gland) เพิ่มจำนวนมากกว่าปกติ(ลูกศร) และ ติดสีย้อมจางลง	25
23	แสดงปริมาณหอยที่แสดงอาการผิดปกติ(คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สะสม) หลังจากได้รับเชื้อเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์	27
24	ปริมาณปร ที่สุ่มตรวจ	28
25	กล้ามเนื้อเ	28
26	เนื้อเยื่อเกี่ย	28

ภาพผนวกที่

1	ขั้นตอนการ	35
2	ขั้นตอนการ	36
3	ขั้นตอนการ	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

หอยหวาน (*Babylonia areolata*) เป็นหอยฝาเดียวที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจของประเทศไทย มีราคาจำหน่ายค่อนข้างสูงคือขนาดของหอยที่ 80-120 ตัวต่อกิโลกรัม มีราคาประมาณ 280-310 บาท หอยหวานเป็นหอยที่มีความต้องการจากตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ ในประเทศไทยนั้นหอยหวานที่นำมาบริโภคส่วนใหญ่เป็นหอยที่จับมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติเกือบทั้งหมด (ลือชัย และเกียรติ ศักดิ์, 2547) ในระยะเวลา 3-5 ปีที่ผ่านมา ปริมาณหอยหวานในธรรมชาติลดลงอย่างน่าวิตก และหอยหวานที่จับได้มีขนาดเล็กลง เนื่องจากความต้องการของตลาดและราคาสูง จึงทำให้เกิดการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรชนิดนี้อย่างต่อเนื่อง (นิลนาจ, 2548) ซึ่งทำให้หน่วยงานของรัฐบาลและเอกชนพยายามปรับปรุงและพัฒนาการเพาะเลี้ยงให้ได้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น เพียงพอกับความต้องการของตลาดของผู้บริโภค เ

ในการเลี้ยง ยคือ อาการตัว
เกร็ง เปลือกฝุกร่อน ารเกิดโรคหอย
อาจมาจากการจัดก องตัวหอยเอง
หากพบว่าหอยที่เลี้ย เกิดอาการตัว
เกร็ง สิ่งที่ควรปฏิบัติ ปกติได้ด้วยตา
เปล่าและหอยที่ตาย ะอาด และนำ
หอยที่เป็นโรคส่งให้

ปัญหาพิเศ ลักษณะการ
เปลี่ยนแปลงทางพย หวานที่เลี้ยงใน
ระบบน้ำนิ่ง เพื่อเป็น วานต่อไป

ภาควิชาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์หาสาเหตุการตาย อาการผิดปกติและลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพเนื้อเยื่อของหอยหวาน(ระยะหอยเซนต์) ที่เลี้ยงในระบบน้ำนิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

1. ชีววิทยาหอยหวาน

1.1 การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน

หอยหวานมีชื่อสามัญว่า หอยตุ๊กแก หรือ หอยเทพรส และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Babylonia areolata* Link 1807 หอยหวานถูกจัดจำแนกตามหลักอนุกรมวิธานดังนี้

Phylum Mollusca

Class Gastropoda

Order Neogastropoda

Family Buccinidae

นอกจากนี้ย

างวิทยาศาสตร์

ว่า *Babylonia spir*

ามันที่พบมาก

คือ จังหวัด ระนอง ร

ชนิดแรกคือ จะ

ตัดตรงและเว้าเข้าด้

:, 2546)

1.2 ลักษณ

หอยหวาน

างหนา ทรงไข่

(ovate) ผิวเรียบ เปลื

าว 3 แถวบนวง

ลำตัว (body whor

แกลียว (spire)

และมีร่องที่ไม่ลึกมา

ัวได้สนิท หอย

หวานมีหนวด 1 คู่แ

สำหรับหอย

องเปลือกมีสีเข้ม

กว่า และมีแต้มสีน้ำตาลจำนวนมากกว่า ส่วนหัวที่เป็นเกลียวจะมีร่องลึกกว่าและหอยหมากมีขนาดเล็กกว่าหอยหวาน

1.3 การแพร่กระจาย

หอยหวาน (*Babylonia areolata*) อาศัยอยู่บริเวณพื้นทะเลที่เป็นทรายหรือทรายปนโคลนที่ระดับความลึกประมาณ 5 – 20 เมตร หอยหวานแพร่กระจายอยู่ทั่วไปบริเวณชายฝั่งทะเลของอ่าวไทยและทะเลอันดามัน ได้แก่ จังหวัดระยอง จันทบุรี ตราด เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ ระนอง และสตูล

สำหรับหอยหมาก (*Babylonia spirata*) ส่วนใหญ่พบแพร่กระจายอยู่บริเวณชายฝั่งทะเลของจังหวัดสตูล และระนอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

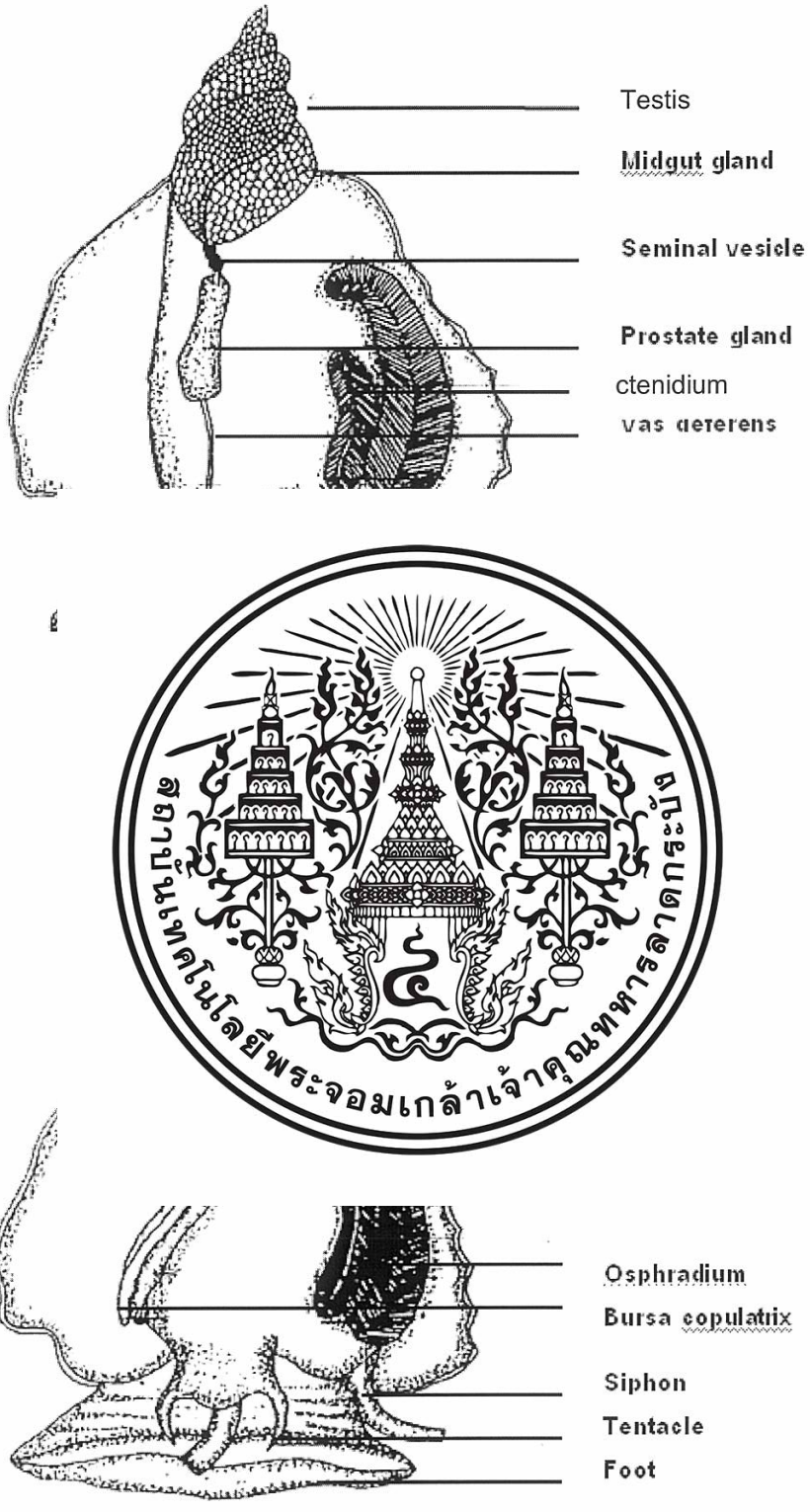
1.4 อาหารและการกินอาหาร

พฤติกรรมการกินอาหารของหอยหวานสามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ ตามช่วงชีวิตคือลูกหอยหวานระยะวัยอ่อนเป็นสัตว์ที่มีการดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนล่องลอยอยู่ในมวลน้ำและกินอาหารด้วยการกรอง (filter feeding) โดยลูกหอยมีอวัยวะคล้ายแปรงเป็นวงที่เรียกว่า velum สำหรับโบกพัดน้ำทะเลเข้าสู่ช่องปากและกรองกินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร สำหรับลูกหอยหวานระยะลงพื้นจนถึงระยะตัวเต็มวัยเป็นสัตว์ที่มีการดำรงชีวิตบนพื้นทะเลและกินเนื้อเป็นอาหาร โดยหอยหวานกินซากสัตว์ที่ตายแล้วเป็นอาหารทั้งในสภาพสดและไม่สด หอยหวานมีการกินอาหารแบบกลุ่มก้อน โดยหอยหวานมีต่อมน้ำลายสำหรับสร้างน้ำย่อยและส่งออกมาทางงวงยาวที่เรียกว่า proboscis เพื่อย่อยอาหารภายนอกร่างกายแล้วจึงดูดเข้าไปในร่างกาย โดยงวงสามารถยืดยาวได้ประมาณ 8 – 10 เซนติเมตร ดังนั้นหอยหวานจึงไม่มีปัญหาในการกินอาหารแบบกลุ่มก้อนเพราะหอยที่อยู่ด้านหลังสามารถยืดงวงผ่านตัวอื่นๆเข้าไปกิ ากเหยื่อและฝังตัวอยู่ใต้ชั้นทรายทำ าหาร กระเพาะลำไส้ และทวารหนัก

1.5 การสืบ

หอยหวาน ตัวเดียวกันและไม่สามารถจำแนกเพ งานสามารถทำได้เมื่อหอยยืดตัวออ ว่า Penis ซึ่งมีรูปร่างคล้ายติ่งรูปใ บเพศเมียจะไม่พบอวัยวะใดๆ ในตำ ไข่ (ovary) อยู่บริเวณปลายสุดของ ลือก (capsule gland) (ภาพที่ 2)สำ นเปลือกเช่นกัน ต่อมสร้างฮอร์โมนเพ อและเปิดออกทาง penis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ระบบสืบพันธุ์หอยหวานเพศเมีย

ที่มา : Thirumvalavan (1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6 **วงจรชีวิต**

วงจรชีวิตของหอยหวานเริ่มจากไข่ที่ปฏิสนธิแล้ว (fertilized eggs) พัฒนาเป็นลูกหอยหวานระยะที่เรียกว่า trocophore ภายในเวลา 24 ชั่วโมงหลังการวางไข่ ลูกหอยระยะนี้จะเจริญอยู่ภายในฝักไข่เป็นเวลาประมาณ 4 – 5 วันหลังการวางไข่ จากนั้นลูกหอยระยะวัยอ่อนที่เรียกว่า veliger จึงฝักออกจากฝักไข่และดำรงชีพแบบแพลงก์ตอนและล่องลอยอยู่ในมวลน้ำ โดยลูกหอยระยะวัยอ่อนสามารถเจริญเข้าสู่ลูกหอยระยะลงพื้น (settled juveniels) ภายในเวลาประมาณ 14 – 16 วัน ลูกหอยระยะนี้มีเปลือกและรูปร่างสมบูรณ์เหมือนพ่อแม่ทุกประการและดำรงชีพด้วยการคืบคลานบนพื้นทะเล โดยหอยหวานสามารถเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ (frist maturity) ได้ที่ความยาวเปลือกประมาณ 3.6 เซนติเมตร หรืออายุประมาณ 6 เดือนหลังจากวางไข่

2. โรคของหอย

การเลี้ยงหอ ารณ์ที่เกิดโรค
โดยทั่วไปโรคหอยที่ บเปิดทำให้ไม่
สามารถให้ยารักษา นโรคไวรัสบาง
โรค ที่ทำให้วีลัมลูกน โดไวรัส (irido-
virus) โรคบางโรคเ เอก (Gibbons
and Blogoslawsk กับหอยในโรง
เพาะเลี้ยง และการเ ลาและกุ้ง โรค
ของหอยที่มีการศึกษ เกิดขึ้นกับหอย
นางรมหรือหอยตะโ

ลิลา (2529) ตะวันออกของ
ประเทศไทยแถบจัง ลอร์เซนต์ และ
ตรวจพบปรสิตพวกโปรโตซัวในหอย Nematopsis ในหอยนางรมที่ตาย และยังพบอีกว่า หอยแครงที่เลี้ยงบริเวณจังหวัดภูเก็ต เกิดปัญหาบริเวณ Mantle ฉีกขาดและเปื่อยตรงบริเวณเท้า เมื่อทำการศึกษาพบว่ามีปรสิตและแบคทีเรียเกาะอยู่

Perkins (2000) กล่าวว่า โรคติดเชื้อที่สำคัญในหอยมีดังนี้

2.1 **ไวรัส** (Virus) โรคที่เกิดจากไวรัสในหอยนั้น ไม่ค่อยมีใครกล่าวถึงมากนัก เนื่องจากต้องใช้เวลาและความชำนาญในการพิสูจน์โรค แต่ Sindermann (1970) ได้พูดถึงความสำคัญของไวรัส ในหอยว่ามีถึง 20 ชนิด แต่ที่สำคัญคือ

RNA virus (Birnavirus) มีขนาด 55 – 60 นาโนเมตร ซึ่งจะทำให้เกิดการบวมน้ำ (edema) ที่บริเวณเนื้อเยื่อรอบกระเพาะอาหาร หอยมีอัตราการตายสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Retrovirus-like particle มีขนาด 120 นาโนเมตร ทำให้หอยเกิดเนื้องอก (hemic neoplasia หรือ disseminated sarcoma) ซึ่งทำให้หอยตายได้อีกสาเหตุหนึ่ง

Iridovirus-like particle มีขนาด 350นาโนเมตรพบในเหงือกของหอย ทำให้หอยตายจำนวนมาก เมื่อต้นปี 1970 ที่ประเทศฝรั่งเศส

Herpes-like virus มีขนาด 70 – 90 นาโนเมตร พบที่แอ่งเลือด (hemolymph sinuses) ไวรัสชนิดนี้ทำให้หอยตาย 18 – 50 %

Oyster velar virus disease (OVVD) มีขนาด 218 นาโนเมตร ไวรัสชนิดนี้พบที่ปากและหลอดอาหาร โดยทำให้บริเวณที่ติดเชื้อบวม (swelling) และบริเวณผิวลอกหลุด (detachment) ซึ่งทำให้หอยตายได้มากถึง 50 %

2.2 **แบคทีเรีย** (Bacteria) โรคที่เกิดจากแบคทีเรียนั้นส่วนใหญ่จะเกิดจากแบคทีเรียแกรมลบ (gram-negative) เ จทีเรียแกรมลบ ที่สำคัญ คือ แบคทีเ 1) รายงานว่า แบคทีเรียในกลุ่มนี้ค *shii* ทำให้เกิด จุดเนื้อตาย (focal r act) Ford and Borrero (2001) ไ ที่เกิดจากการ ทำลายของเชื้อโปรโ 2)

ภาพที่ 3 เนื้อเยื่อแมนเทิลชั้น epithelial ของหอยนางรม (*Crassostrea virginica*) ที่ถูกทำลายจากเชื้อโปรโตซัวและแบคทีเรีย(*). ขีดสเกล = 100 ไมโครเมตร

ภาพที่ 4 โปรโตซัว(P) และ แบคทีเรีย(ลูกศร) ที่ฝังตัวในเนื้อเยื่อชั้น epithelial ของหอยนางรม (*Crassostrea virginica*). ขีดสเกล = 10 ไมโครเมตร

ที่มา : Ford and Borrero (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Khardori and Fainstein (1988) รายงานเกี่ยวกับชนิดของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในหอยและหมึกดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่1 โรคติดเชื้อจากแบคที่เรียในหอยและหมึก

Name of Disease	Causative Agent	Hosts
Gastropod acid-fast bacteremia	Unidentified acid-fast bacilli	Snail: *Biomphalaria glabrata* *B. pfeifferi* , *Helisoma anceps*
American oyster vibrio cardiac edema or cardiac vibriosis	*Vibrio anguillarum*	Oyster: *Crassostrea virginica*
Vibriosis of juven		ıas
		·cenaria
Mycelial disease	actinomycete	*C. virginica*
Juvenile abalone vibriosis	*Vibrio alginolyticus*	Abalone: *Haliotis rufescens*
-	Opportunistic Gram-negative bacteria	Squid: *Loligo pealei* , *L. plei* *Lolliguncula brevis* *Loligo opalesceni*

ที่มา : Khardori and Fainstein (1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 **รา** (Fungi) เชื้อราจะเจริญเติบโตบริเวณเปลือกหอย เมื่อเชื้อราสร้างเส้นใยมากขึ้นจะลามเข้าไปในเปลือกด้านใน ทำให้บริเวณที่มีการติดเชื้อระคายเคือง (irritation of the mantle) เกิดการสะสมของแคลเซียมและทำให้เปลือกหอยบิดเบี้ยวไป (shell distortion)

2.4 **ปรสิต** (Parasite) ที่สำคัญจะเป็นปรสิตในกลุ่มสัตว์เซลล์เดี่ยว (protista) เช่น *Perkinsus marinus* และ *Haplosporidia spp.* ซึ่งมีรายงานว่า หอยที่มีการติดเชื้อชนิดนี้จะเกิดการตายจำนวนมาก (Perkins, 1990) วันทนา (2528) รายงานว่า ปัญหาที่เกิดขึ้นในการอนุบาลลูกหอยระยะ Veliger larva คือ มักมีโปรโตซัวชนิด Zoothamniunm เกาะตาม velum ของลูกหอย ซึ่งขัดขวางการเคลื่อนที่และโบกพัดอาหารเข้าปาก ลูกหอยจะจมลงก้นถังและตายเป็นจำนวนมาก ตัวอย่างของโปรโตซัวที่ทำให้เกิดโรคระบาดต่อหอยนางรมในธรรมชาติคือ

Bonamia ostreae

มีรายงานจ ...เข้าของเชื้อโปรโตซัว *Bonamia ost* ...negal ประเทศไอร์แลนด์ ผลกา... ...อการหาเชื้อในเนื้อเยื่อ (cellular ...กการตรวจของสถาบันสุขภาพสัตว์... ...ละ in situ hybridization โรค ...พื้นที่ที่พบการระบาดของโรคคือ ส... ...ะพบว่า หอยที่มีการติดเชื้อจะมีสีเ... ...ื้ออาจไม่แสดงอาการใดๆ การติด... ...จุลพยาธิวิทยาการตรวจทางเซลล์วิ... ...ยเหงือกซึ่งเป็นอวัยวะสำคัญที่ใช้ใ... ...รตาย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ธนาคารโลหิตพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Haplospor...

Ewart and ... ...ตัวการที่ทำให้เกิดการตายหมู่ (MSX diaease) ของหอยตะโกรม *Crassostrea virginica* ในประเทศสหรัฐอเมริกาในอ่าวเดลาแว (Delaware Bay) และอ่าวเชซาพีค (Chesapeake Bay) ซึ่งเคยเป็นพื้นที่ที่มีการเพาะเลี้ยงหอยตะโกรมที่อุดมสมบูรณ์มาก ทำให้ประชากรหอยตะโกรมในอ่าวดังกล่าวทั้งสองลดลงมากกว่าร้อยละ 90

Perkinsus marinus

Ewart and Ford (1993) รายงานว่า โปรโตซัว *Perkinsus marinus* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายหมู่ของหอยตะโกรม *Crassostrea virginica* บริเวณอ่าวแม็กซิโก ซึ่ง Karolus et al. (2000) ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อ *Perkinsus marinus* ที่ระดับน้ำตื้นและที่ระดับน้ำลึก พบว่าการแพร่กระจายของเชื้อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (t-test, $P < 0.05$) (ตารางที่ 2 และ 3)

ตารางที่ 2 การแพร่กระจายของเชื้อ *Perkinsus marinus* บริเวณน้ำตื้น ณ เมืองต่างๆในปีคศ. 1997

Town	Date	Location	Weighted prevalence	Prevalence (%)
Greenwich	01/15/97	41°01.21′N:73°35.74′W	0.8	100
Greenwich	01/15/97	41°01.05′N:73°34.52′W	1.2	90
Waterford	03/04/97	41°19.03′N:72°10.63′W	0.2	30
Madison	04/04/97	41°16.00′N:72°36.00′W	0.8	50
Clinton	04/06/97	41°15.97′N:72°32.00′W	0.8	90
Guilford	04/06/97	41°16.05′N:72°39.62′W	0.3	70
Bridgeport	06/25/97	41°09.08′N:73°10.28′W	0.6	40
Greenwich	07/15/97	41°01.21′N:73°35.74′W	1.9	90
Bridgeport	0			
Greenwich	0			
Guilford	0			
Clinton	1			
Stratford	1			
Bridgeport	1			
Clinton	1			
Clinton	1			
Fairfield	1			
Norwalk	1			

ที่มา : Karolus et a

ตารางที่ 3 การแพร่

ปีคศ. 1997

Town	Dat			alence
Madison	05/			
Westport	07/			
Westport	08/			
Westport	09/			
Norwalk	12/			
Westport	12/			
Norwalk	12/17/97	41°03.36′N:73°25.12′W	1.7	90
Norwalk	12/17/97	41°04.57′N:73°23.28′W	1.7	90

ที่มา : Karolus et al. (2000)

จากตารางที่ 2 และ 3 สรุปได้ว่า เชื้อ *Perkinsus marinus* สามารถที่จะแพร่กระจายได้ทั่วไปทั้งในบริเวณน้ำตื้นและบริเวณน้ำลึก Nowak (2007) ได้ศึกษาเกี่ยวกับชนิดของปรสิตที่ส่งผลกระทบต่อธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเล โดยแสดงถึงชนิด และเจ้าบ้าน (host) ของปรสิต ดังตารางที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 โปรโตซัวที่ส่งผลกระทบต่อธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเลบางชนิด

Parasite	Type of parasite	Host	Reported from wild populations?	Reference
Neoparamoeba spp.	Ectoparasite – Sarcomastigophora	Atlantic salmon, turbot	No	Kent et al. (1988a), Dyková et al. (2005) and Douglas-Helders et al. (2002)
Uronema nigricans	Endoparasite – Ciliate	Southern bluefin tuna	No	Munday et al. (1997) and Munday et al. (2003)
Loma salmonae	Endoparasite – Microsporidian	Chinook salmon	Yes	Kent et al. (1998b)
Kudoa spp.	Endoparasite – Myxozoan	Salmonids, tuna, yellowtail	Yes	Munday et al. (1998)
Benedenia seriolae	Ectoparasite – Monogenean	Yellowtail	Yes	Egusa (1983), Whittington et al. (2001), Sharp et al. (2003) and Chambers and Ernst (2005)
Zeuxapta seriolae	Ectoparasite – Monogenean	Yellowtail, amberjack	Yes	Egusa (1983), Sharp et al. (2003) and Mansell et al. (2005)
Heteraxine heterocerca	Ectoparasite – Monogenean	Amberjack	Yes	Egusa (1983)
Neobenedenia melleni	Ectoparasite – M	Barramundi, cobia,	Yes	Mueller et al. (1994), Deveney et al. (2001)
Lepeophtheirus salmonis	E C			
Caligus spp.	E C			
Ceratothoa spp.	E Is			les (2001)

Yellowtail is *Seriola* spp.

ที่มา : Nowak (200

Cheng (2 ลายประการ ที่สำคัญได้แก่

1.การขาดส

2.ความผิดป

3.เนื้องอก (

4.สารพิษ (อว่าเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมในทะเลและทำให้สัตร์น้ำตาย ได้แก่ ยาฆ่าแมลงที่มีส่วนประกอบของ Chlorinated hydrocarbon และ Dichlorodiphenyl trichloroethane (DDT) หรือ Polychlorinated biphenyl (PCB) ที่มีโครงสร้างเหมือน DDT นอกจากนั้นยังมีสารพิษที่เกิดจาก inorganic tooricants ซึ่งได้แก่ ไซยาไนด์, ปรอท, ตะกั่ว, สารหนู, ทองแดง, สังกะสี และแคดเมียม เมื่อหอยได้รับสารพิษเหล่านี้เข้าไปจะถูกสะสมอยู่ในตัวหอย และเมื่อถึงระดับหนึ่งจะทำให้หอยตายได้

2.5 **คุณภาพน้ำ** เช่น แอมโมเนีย,ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

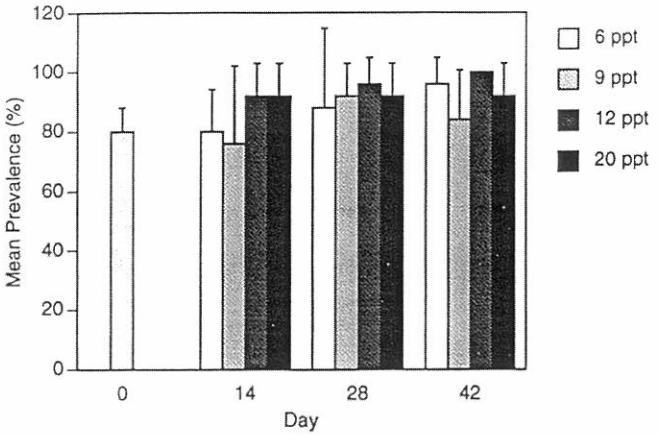
ตารางที่ 5 อาการของหอยเมื่อคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลง

คุณภาพน้ำ	อาการ						
	ตายทันที	ตายกลางคืน	ตายกลางวัน	เจริญเติบโตช้า	ไม่กินอาหาร	เกิดโรคแทรกจากแบคทีเรีย	ตัวอ่อนตาย
อุณหภูมิในน้ำ	*	*	*	*	*	*	*
ความเค็ม	*	*	*	*	*	*	*
ความเป็นกรดด่าง	*	*	*		*		
ความกระด้าง				*			
ความเป็นด่าง							
ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ							*
แอมโมเนีย							
ไนไตรท์							
สารพิษในน้ำ							*

ที่มา : Arringnon (1

Hepper (1 หอยโดย ในช่วง
หน้าแล้งระดับความ ซึ่งก่อให้เกิด
ปัญหาการติดโรคใน อร์เซ็นต์การติด
เชื้อ *Perkinsus m* ะดับความเค็ม
ต่างกัน จากนั้นทำใ เชื้อจากบริเวณ
ต่างๆ เช่น เนื้อเยื่อบริเวณทวารหนัก เนื้อเยื่อบริเวณเหงือก และเนื้อเยื่อบริเวณแมนเทิล มาวิเคราะห์ปริมาณเชื้อที่แพร่กระจายอยู่พบว่าอัตราการแพร่กระจายของเชื้อ *Perkinsus marinus* ในหอยนางรม (*Crassostrea virginica*) ที่เลี้ยงระดับความเค็มต่างๆ มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้ออยู่ในช่วง 76 – 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอัตราการติดเชื้อจะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งอัตราการแพร่กระจายของเชื้อจะขึ้นอยู่กับระดับความเค็มที่เลี้ยงและช่วงระยะเวลาของการติดเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การแพร่กระจายของเชื้อมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตามระดับความเค็มที่เลี้ยง โดยเปอร์เซนต์การแพร่กระจายของเชื้อจะมีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่ระดับความเค็ม 12 ‰ ดังแสดงในภาพที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ *Perkinsus marinus* ในหอยนางรม(*Crassostrea virginica*) ที่ระดับความเค็ม

ที่มา : Ragone anc

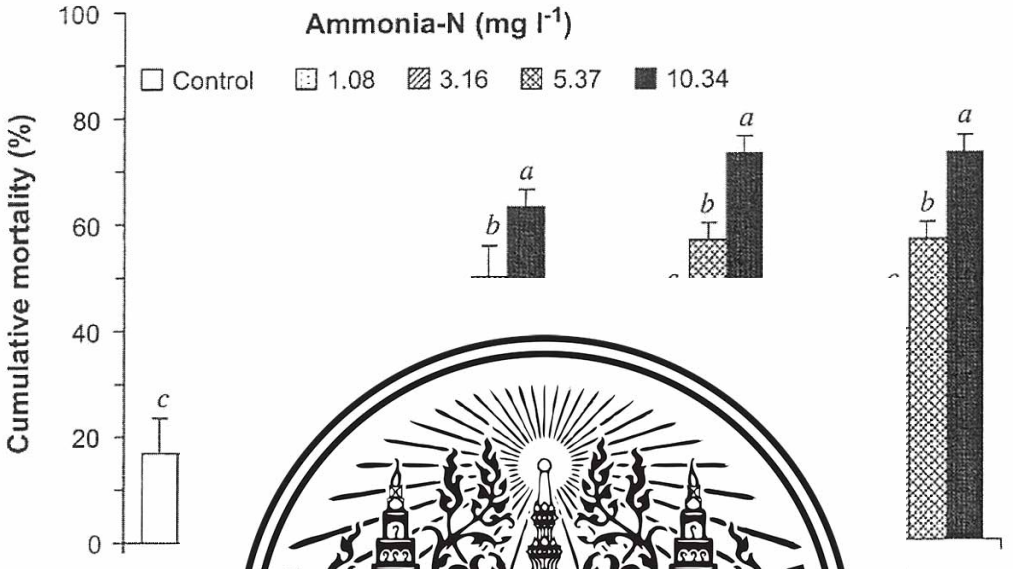
ภาพที่ 6 เปอร์เซ็น เกการติดเชื้อที่ระดับควา

ที่มา : Ragone and Burreson (1993)

จากภาพที่ 6 การตายสะสมของหอยนางรม(*Crassostrea virginica*) เมื่อเลี้ยงที่ระดับความเค็ม 6, 9, 12, และ 20 ‰ การตายสะสมมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตามระดับความเค็มและระยะเวลาในการรับเชื้อ ดังนั้นระดับความเค็มและช่วงระยะเวลาในติดเชื้อจะส่งผลต่ออัตราการตายของหอยโดยมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น ($P<0.0001$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cheng et al. (2004) ได้ศึกษาผลของแอมโมเนียต่อภูมิคุ้มกันในหอยเป๋าฮื้อ (*Haliotis diversicolor supertexta*) ที่ได้รับเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ปริมาณ 1.6 x 10^5 cfu/หอย 1 ตัว นำไปเลี้ยงที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียต่างกัน 4 ระดับ พิจารณาเปอร์เซ็นอัตราการตายสะสมได้ผลดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 เปอร์เซ็น *ta*) ที่ได้รับเชื้อ *Vibrio pa* ะดับ

ที่มา : Cheng et al.

จากกราฟพ ปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนี ต่างกันมากทั้งที่ได้รับเชื้อในปริมาณทเทากบชุดอนๆ เนองมาจากหอยสามารถสรางภูมคุมกนเชอโรคได้ แต่เมื่อคุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อต้านเชื้อโรคลดลงทำให้อัตราการตายสะสมของหอยเพิ่มขึ้นตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือผ่าตัด
2. กล้องจุลทรรศน์
3. อ่างลอยชิ้นเนื้อ
4. หม้อต้มพาราฟิน
5. เครื่อง microtome รุ่น Microm HM 335 E
6. cold-plate
7. slide warmer
8. magnetic s
9. incubator
10. สไลด์แก้วแ
11. เข็มฉีดยาข
12. อุปกรณ์และ
13. เครื่องวัดคว
14. เครื่องวัดปริ
15. เครื่องวัดค่า
16. อุปกรณ์ในก
17. อุปกรณ์บันท

สัตว์ทดลองที่ใช้

หอยหวาน (*Bat* ... น้ำหนักเฉลี่ย 2.30 ± 0.06 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

แผนการทดลอง

นำหอยป่วยที่มีอาการผิดปกติ(ไม่หดเท้า และไม่ฝังตัวในพื้นทราย) มาวินิจฉัยโรคเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการโดยศึกษาปรสิตภายนอกและทำการเขี่ยเชื้อแบคทีเรียบริเวณเท้า และศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ หากพบเชื้อทดสอบเชื้อโรคกับหอยหวานโดยให้รับเชื้อด้วยการฉีดเชื้อเข้าสู่เท้าหอยแล้วสังเกตุลักษณะอาการเป็นเวลา 2 สัปดาห์ทุกวัน

วิธีการทดลอง

1. ขั้นตอนการวินิจฉัยโรค

1.1 นำหอยหวานที่แสดงอาการผิดปกติซึ่งมีขนาดความยาวเฉลี่ย 22.08 ± 0.45 มิลลิเมตร น้ำหนักเ ยคำนวณจาก อัตราการปล่อยหอย เค็ม 30 พันใน ล้านส่วน นำปลาข้า มาเป็นอาหาร เลี้ยงหอยหวาน โดย งอาหารให้เป็น ชิ้นเล็ก นำไปวางบน ารแล้ว จึงเก็บ อาหารที่เหลือออก ไม่ฝังตัวในพื้น ทราย เท้ามีลักษณะ ณะของเปลือก หรือส่วนของเท้าว่า งมาวิเคราะห์ คุณภาพน้ำ

1.2 ดังที่กล่าวมา ข้างต้น เพื่อส่องดูปร

1.3 หอย แล้วนำไป streak plate บนอา าหารเลี้ยงเชื้อ จำเพาะ (selective media) ของแบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากที่เชื้อเจริญบนผิวหน้าวุ้นแล้ว นำตัวอย่างเชื้อไปย้อมสีแกรม เพื่อทำให้บริสุทธิ์และให้มั่นใจว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกหรือแกรมลบ จากนั้นทำการเก็บเชื้อในอาหาร Trypticase Soy Agar (TSA) เพื่อที่จะนำไปวิเคราะห์หาชนิดของเชื้อด้วยวิธีการ Biochemical test ต่อไป

1.4 นำหอยที่ผ่านการผ่าเท้าเขี่ยเชื้อแล้วไปดองในน้ำยา Davidson's fixative อย่างน้อย 48 ชั่วโมง เพื่อที่จะศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ จากนั้นนำไปผ่านขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อฝังพาราฟิน (Paraffin technique) ตามวิธีการของ Shaw and Battle (1957)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 หลังจากที่เตรียมชิ้นเนื้อฝังพาราฟินแล้ว นำไปตัดที่ขนาดความหนา 4 – 5 ไมโครเมตร จากนั้นก็จะเข้าสู่กระบวนการย้อมสี Hematoxylin and Eosin ตามวิธีการของ Mortoja and Mortoja-Pierson (1967)

1.6 นำสไลด์ที่ย้อมสีแล้วไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. ขั้นตอนการทดสอบเชื้อกับหอยหวาน

2.1 เตรียมสารละลายของเชื้อตัวอย่างความเข้มข้น 1.5 x 10^8 cfu/ml (McFarland standard scale No. 0.5) ใน Normal saline (0.85% NaCl)

2.2 เตรียมหอยหวานที่จะทำการทดลอง ขนาดความยาวเปลือก 22.08 ± 0.45 มิลลิเมตร และน้ำหนักของหอย 2.30 ± 0.06 กรัม โดยแบ่งหอยออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม และชุดทดลองที่มีการฉีดเชื้อ ซึ่งแต่ละชุดจะทำการทดลอง 2 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำจะเลี้ยงหอย

จำนวน 10 ตัว อัตร ยหวานของ นิล

นาจ และศิรุษา (25

2.2 สารละลายเชื้อ

ที่เตรียมไว้ 1.5 x 10 ของหอยหวาน

2.3 นระยะเวลา 2

สัปดาห์

การเก็บและวิเครา

การเก็บข้อมู

นำหอยหวา เยื่อบริเวณเท้า

สังเกตอาการผิดปก น์ทึกชนิดและ

ปริมาณของปรสิตที่ โลนีแบคทีเรีย

จากการผ่าเท้าเขี่ยเชื้อ เท้า ท่ออาหาร

และเหงือกของหอยหวานที่แสดงอาการผิดปกติ

ในการบันทึกปริมาณจะบันทึกในลักษณะการใช้สัญลักษณ์ (*) เป็นตัวบ่งชี้

(*) หมายถึง มีปริมาณน้อย (ปริมาณตัวอย่างต่ำกว่า 10 ตัวอย่างจากการสังเกตุ)

(**) หมายถึง มีปริมาณปานกลาง (ปริมาณตัวอย่างต่ำกว่า 50 ตัวอย่างจากการสังเกตุ)

(***) หมายถึง มีปริมาณมาก (ปริมาณตัวอย่างตั้งแต่ 50 ตัวอย่างขึ้นไปจากการสังเกตุ)

การวิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบลักษณะอาการต่างๆของหอยที่เกิดโรคเท้าบวมกับหอยที่ปกติ และคำนวนเปอร์เซ็นต์หอยหวานที่แสดงอาการผิดปกติหลังจากได้ฉีดเชื้อเข้าสู่บริเวณเท้าหอย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ และโรงเรือนเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ(ตึกเก่า) ตึกภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

ทำการทดลองใช้เวลาประมาณ 4 เดือน ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงเดือนเมษายน 2550

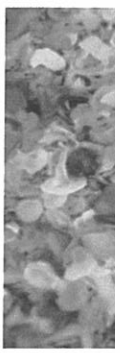
99448

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

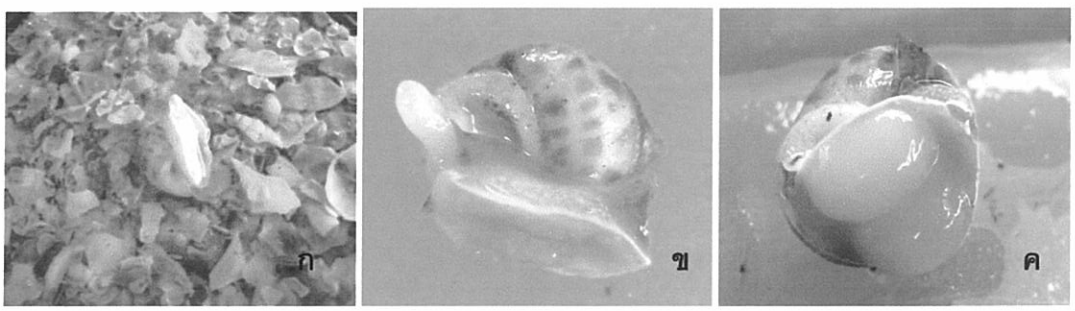
ผลการทดลองและวิจารณ์

อาการภายนอก

จากการศึกษาลักษณะอาการภายนอกของหอยหวาน(*Babylonia areolata*) โดยทำการสุ่มตรวจทั้งหมด 18 ตัว แบ่งออกเป็นหอยปกติ 3 ตัว และหอยที่แสดงอาการผิดปกติ 15 ตัว เพื่อเปรียบเทียบหอยที่มีลักษณะปกติกับหอยที่แสดงอาการผิดปกติ(ตารางที่ 6) พบว่าหอยที่มีลักษณะปกติจะมีการฝังตัวในพื้นทรายและขึ้นมากินอาหารเมื่อถึงเวลาให้อาหารตาม(ภาพที่ 8) ขณะที่หอยมีการยืดเท้า(foot)หรือกำลังเคลื่อนที่ เมื่อมีสิ่งเร้าจากภายนอกมารบกวน เท้าของหอยก็จะหดเข้าในเปลือก และจะปิดฝา(operculum) แน่นสนิท ส่วนหอยที่ผิดปกติ ไม่ฝังตัวในพื้นทราย และไม่กินอาหาร เท้า(foot) จะยืดออกนอกเปลือก เมื่อมีสิ่งเร้าจากภายนอกมากระตุ้นอาจมีการหดกล้ามเนื้อเท้าเพียงเล็กน้อยแต่จะไม่หด ดปกติบางตัวพบลักษณะการบวมข ง 2 บริเวณอาจเกิดขึ้นในหอยตัวเดี



ภาพที่ 8 ลักษณะก



ภาพที่ 9 ลักษณะอาการหอยหวานที่ผิดปกติ หอยหวานที่เกิดอาการเท้าเกร็ง (ก) หอยหวานที่แสดงอาการท่อบวม (ข) ลักษณะอาการเท้าบวม (ค) ที่เกิดกับหอยหวาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ลักษณะอาการภายนอกที่ผิดปกติในหอยหวาน

หอยตัวที่	ลักษณะอาการภายนอก			
	ไม่ฝังตัวในพื้นทราย	ไม่กินอาหาร	เท้ายืดออกนอกเปลือก	ท่ออาหารบวม
ปกติ (1)	-	-	-	-
ปกติ (2)	-	-	-	-
ปกติ (3)	-	-	-	-
ผิดปกติ (1)	√	√	√	-
ผิดปกติ (2)	√	√	√	√
ผิดปกติ (3				
ผิดปกติ (4				
ผิดปกติ (5				
ผิดปกติ (6				
ผิดปกติ (7				
ผิดปกติ (8				
ผิดปกติ (9				
ผิดปกติ (1(				
ผิดปกติ (1				
ผิดปกติ (1:				
ผิดปกติ (1:				
ผิดปกติ (1-				
ผิดปกติ (15)	√	√	√	-

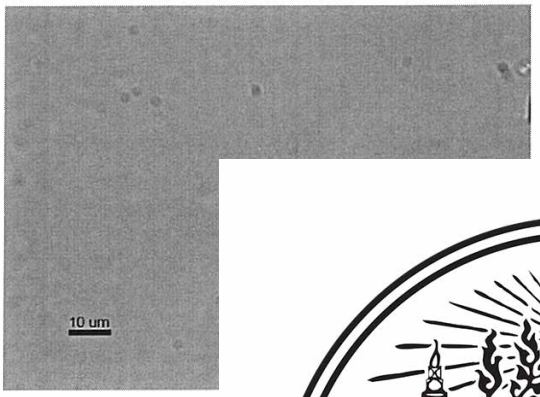
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

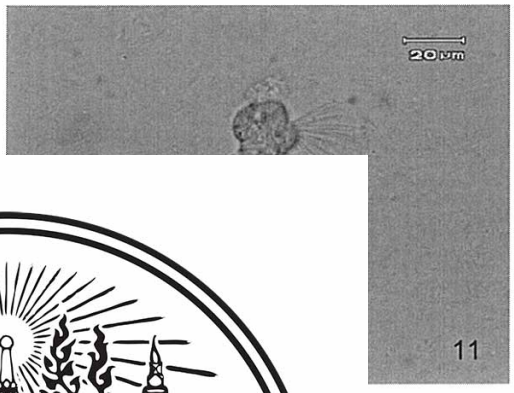
ผลการศึกษาปรสิต

เมื่อนำหอยหวานมาส่องดูปรสิต โดยการขูดเมือกที่เท้าหอยหวาน พบว่าหอยที่ปกติไม่พบปรสิตหรือพบในปริมาณน้อยมาก ส่วนหอยหวานที่แสดงอาการผิดปกตินั้นทุกตัวจะพบปรสิตที่เด่นๆ อยู่ 2 ชนิด คือ *Uronema sp.* ซึ่งมีลักษณะกลมรี มี cilia รอบๆตัว (ดังภาพที่10) และปรสิตที่พบอีกชนิดไม่สามารถระบุชนิดได้(unknown) มีลักษณะ ทรงกลม มีขนยาวรอบๆตัวลักษระการเคลื่อนไหวคล้ายๆ กับการขยุ้มของแมงมุง (ดังภาพที่ 11) ปรสิตที่ตรวจพบบริเวณเมือกเท้าของหอยหวานอาจมาจากอาหารที่ให้ซึ่งเป็นปลาข้างเหลือง หรือจากคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Munday et al. (1997) และ Munday et al. (2003) รายงานว่า *Uronema nigricans* มีลักษณะการดำรงชีวิตแบบอิสระ (free living) มีซีเลียอยู่รอบตัว และมีหลายชนิดด้วยกันซึ่งมีมากกว่า 25 ชนิด ลักษณะที่ใช้ในการแยกชนิดของ *Uronema* sp. คือ ซีเลีย และพบว่า *Uronema nigricans* เป็นปรสิตภายใน (endoparasite) เจ้าบ้าน (host) ของปรสิตชนิดนี้ คือ Southern bluefin tuna โดย *Uronema nigricans* เป็นสาเหตุของการเกิดโรค swimmer syndrome ก่อให้เกิดการตายเป็นจำนวนมากในปลา Southern bluefin tuna



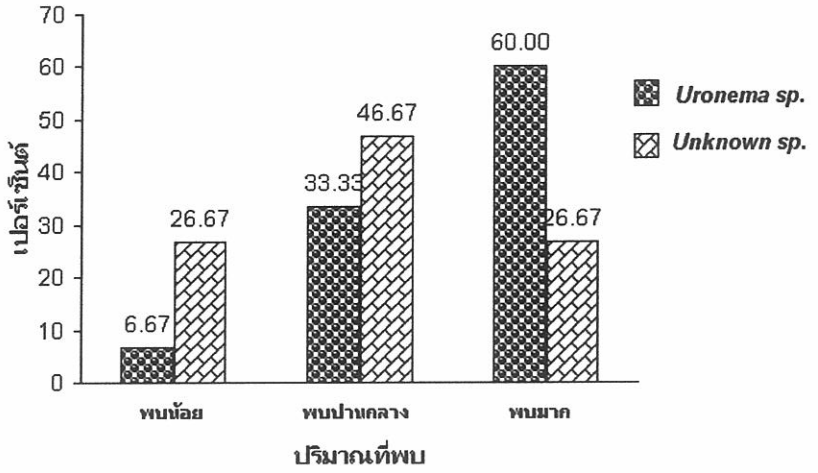


ภาพที่ 10 *Uronei*

ภาพที่ 11 Unkno\

ปริมาณปรส รสุ่มตรวจหอย
หวานจำนวน 15 ตัว 7 เปอร์เซ็นต์ ที่
พบมีปริมาณตัวอย่ ,ป คิดเป็น 60
เปอร์เซ็นต์ และปรสิ รสุ่มตรวจหอย
หวานจำนวน 15 ตัว พบในปริมาณ
ปานกลาง คิดเป็น 46 เปอร์เซ็นต์ พบในปริมาณมาก คิดเป็น 27 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อพิจารณาจากภาพที่ 12 พบว่า *Uronema sp.* เป็นชนิดที่เด่นและเกาะอยู่ตามเมือกเท้าหอยหวาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 เปอร์เซ็นต์ปริมาณและชนิดของปรสิตที่พบบริเวณเมือกเท้าหอยหวานจำนวน 15 ตัว

ผลการศึกษาแบค

ผลจากกา บแบคทีเรีย ส่วน
หอยที่แสดงอาการ บว่าเกิดโคโลนีสี
เหลือง มัน วาว ขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศูนย์วิทยทรัพยากร
พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาพที่ 13 ลักษณะเชื้อแบคทีเรียจากการผ่าเท้าหอยแล้วเขี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ (TCBS) ในหอยปกติ (ก) และหอยที่แสดงอาการผิดปกติ (ข)

ปริมาณของโคโลนีที่เกิดบนผิวหน้าวุ้นจากการเขี่ยเชื้อบริเวณเท้าของหอยที่แสดงอาการผิดปกติ พบว่าจะมีปริมาณโคโลนีของแบคทีเรียบนผิวหน้าวุ้น (TCBS) ในปริมาณมาก น้อย ต่างกันไป

เมื่อนำแบคทีเรียมาทำการย้อมสีแกรม พบว่าผลการย้อมสีแกรมแบคทีเรียให้ผลเป็นลบ (Gram-negative) จากนั้นนำไปทดสอบผลทาง Biochemical test พบว่า เป็นแบคทีเรียชนิด *Vibrio alginolyticus* ซึ่งผลการทดสอบดังตารางที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบเชื้อทาง Biochemical test

Biochemical tests	
Gram stain	-
Shape	rod, yellow in TCBS
Motility	+
Oxidase reaction	+
Catalase reaction	+
Oxidative-Fermentative test	Fermentative(F)
Fermentation of sugar	
- Glucose	+
- sucrose	+
- Lactose	
- Manitol	
- Maltose	
- Salicin	
- Xylose	
- Mannose	
- Arabinose	
- Sorbitol	
- Inositol	
Gas from glucose	
TSI	
Citrate	
Esculin hydrolysis	
Gelatin hydrolysis	
Hydrogen sulphide	-
Nitrate reduction	+
MR test	+
Indole	+
Swarming	+
Ornithine decarboxylase	+
Lysin decarboxylase	+
Arginine decarboxylase	-

หมายเหตุ + หมายถึง เกิดปฏิกิริยา

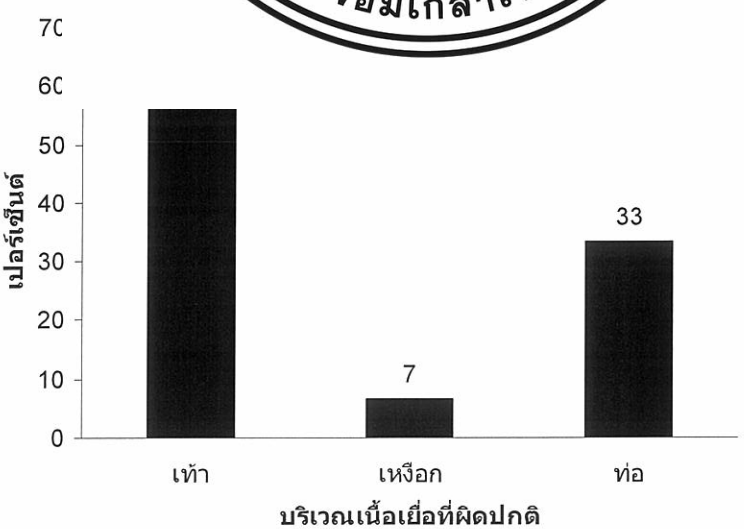
\- หมายถึง ไม่เกิดปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิจารณาคุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงหอยซึ่งเตรียมจาก stock ความเค็มประมาณ 90-120 พีพีที อาจส่งผลให้คุณภาพน้ำไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำ ลิลา (2529) กล่าวว่า น้ำที่เตรียมจะใช้เลี้ยงสัตว์น้ำโดยผ่านการฆ่าเชื้อเกิน 1 อาทิตย์ จะมีแบคทีเรียเกิดขึ้นมาอีก รัตนาภรณ์ (2540) รายงานว่า แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในสถานเลี้ยงสัตว์น้ำเค็ม โดยสุ่มนำน้ำที่ใช้เลี้ยงและปลาหรือสัตว์น้ำที่เริ่มแสดงอาการป่วยมาตรวจ พร้อมทั้งตัดชิ้นส่วนอวัยวะภายในของปลาที่ป่วยตายมาแยกเชื้อ พบว่าเป็นแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* รวมทั้งหมด 5 ชนิด คือ *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* และมีรายงานเพิ่มเติมจาก กิจการ และคณะ (2543) ว่า ระดับค่าความเป็นกรด-ด่างที่มากกว่า 8 เป็นระดับที่มีความเหมาะสมต่อการเกิดแบคทีเรียโดยเฉพาะเชื้อวิบริโอ

ผลการศึกษาเนื้อเ

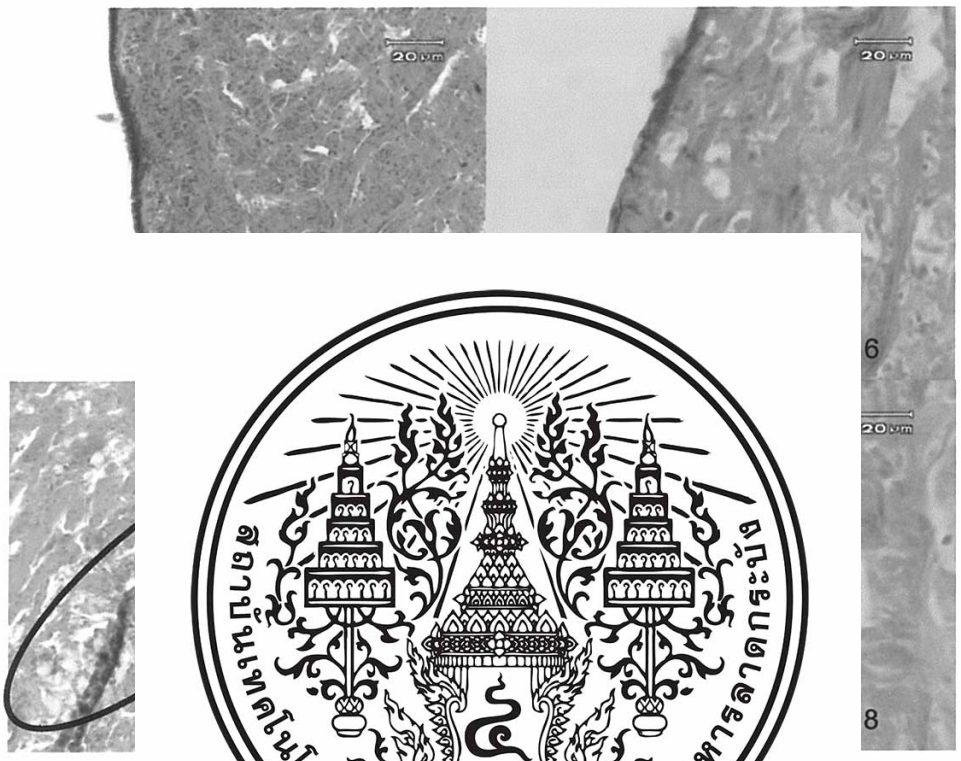
จากการสุ่ม ...เมาศึกษาทาง
เนื้อเยื่อวิทยา(histo ...นื้อเยื่อเหงือก
(ctenidium) และเนื้ ...% และ 33%
ตามลำดับ ดังภาพที่ ...องกับลักษณะ
ผิดปกติจากภายนอ ...และพบปรสิต
บริเวณเมือกเท้าที่ยื ...เยื่อโดยปรสิต
แล้วส่งผลต่อเนื่องใ ...ยส่วนรวมแล้ว
ปรสิตภายนอก เป็น ...ป็นช่องทางให้
แบคทีเรียแทรกซ้อน ...



ภาพที่ 14 บริเวณเนื้อเยื่อที่ผิดปกติ จากการสุ่มตรวจหอยจำนวน 15 ตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะอาการผิดปกติทางเนื้อเยื่อ พบว่า เนื้อเยื่อเท้า(foot) ที่แสดงอาการผิดปกติ เส้นใยกล้ามเนื้อจะบวมติดสีจางกว่าปกติ และกล้ามเนื้อจะอยู่กันอย่างหลวมๆเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะของเนื้อเยื่อที่ปกติ ในหอยบางตัวพบว่าบริเวณกล้ามเนื้อบางส่วนถูกทำลายและพบการรวมตัวกันของแบคทีเรียในบริเวณที่มีการตายของเนื้อเยื่อ(necrosis) หอยบางตัวมีการฝังตัวของปรสิตภายในเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 18)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ธนาคารโลหิตพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาพที่15 ลักษณะเ

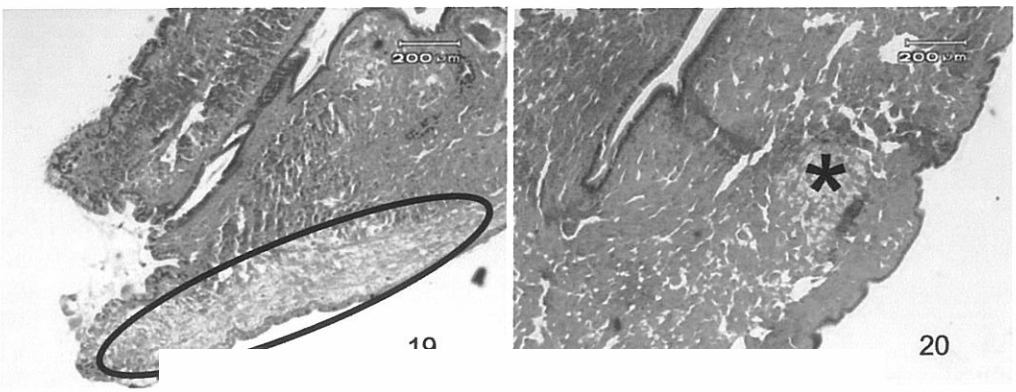
ภาพที่16 เนื้อเยื่อเท้ ลวมๆ

ภาพที่17 กล้ามเนื้อ

ภาพที่18 บริเวณที่มีการฝังตัวของปรสิตภายในเนื้อเยื่อเท้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

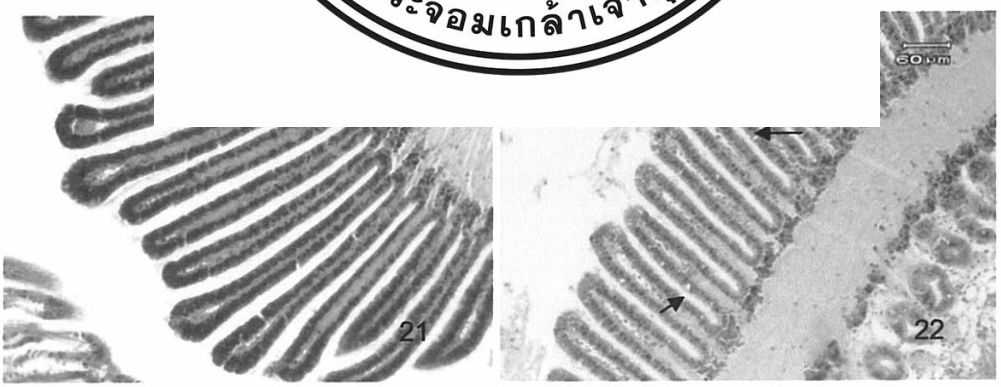
ลักษณะเนื้อเยื่อท่ออาหาร(proboscis) ที่บวมผิดปกติเมื่อนำมาศึกษาผลทางเนื้อเยื่อพบว่า กล้ามเนื้อบริเวณขอบนอกจะมีลักษณะบวมติดสีจางอย่างเห็นได้ชัดเจน มัดกล้ามเนื้อจะเรียงตัวกันหลวมๆ ในหอยบางตัวพบกล้ามเนื้อท่ออาหารถูกทำลายและการรวมตัวกันของเชื้อแบคทีเรียดังภาพที่ 20



ภาพที่19 ลักษ ...งตัวกันหลวมๆ กล้ามเ

ภาพที่ 20 ลักษณ ...เบการรวมตัวกัน ของแบ

จากการศึกษาเนื้อ ...พบว่าลักษณะผิดปกติที่เกิดบริเว ...ารสุ่มตรวจหอย จำนวน 15 ตัว และ ...มากกว่าปกติ



ภาพที่ 21 ลักษณะเหงือก(ctenidium) ปกติ แผงเหงือกจะติดสีชัดเจน

ภาพที่ 22 ลักษณะเหงือก(ctenidium) ผิดปกติ ต่อมเมือก(mucus gland) เพิ่มจำนวนมากกว่าปกติ (ลูกศร) และ ติดสีย้อมจางลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณภาพน้ำในระบบเลี้ยง

จากการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในหน่วยทดลองที่เลี้ยงหอยหวาน โดยทำการสุ่มตรวจเช็คจากหน่วยทดลองตั้งแต่วันที่ 5 พฤศจิกายน 2549 ถึง 6 มกราคม 2550 ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในหน่วยทดลองที่เลี้ยงหอยหวาน

วันที่	กรด-ด่าง	ออกซิเจน (mg/l)	อัลคาไลน์ (mg/l)	แอมโมเนีย (mg/l)	อุณหภูมิ (°C)	หมายเหตุ
5 พ.ย 49	7.62	6.25	110	0.098	27	
17 พ.ย 49	7.34	6.05	97.8	0.145	25.5	
5 ธ.ค 49	7.64	6.45	98.2	0.087	27.5	
15 ธ.ค 49						
6 ม.ค 50						

ผลการวิเค ค่าที่ค่อนข้าง
ใกล้เคียงกันและมีค่ งที่ใช้เลี้ยงสัตว์
น้ำ , 2549) พิจารณ เท่ากับ 0.145,
0.134, และ 0.156 ม เล็กน้อย ซึ่งค่า
แอมโมเนีย มาตรฐา ลลิกรัมต่อลิตร
อาจส่งผลต่อการเกิ บความเข้มข้น
ของแอมโมเนียต่อภู) ที่ระดับต่างๆ
หลังจากทำให้หอยไ ายสะสมมีค่า
เพิ่มขึ้นตามความเข้ มีค่าอยู่ในช่วง
26 – 28 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าในช่วงเดือนมกราคมซึ่งอุณหภูมิค่อนข้างต่ำ ส่งผลให้อุณหภูมิในระบบเลี้ยงมีค่าที่ต่ำกว่าปกติ คือ อุณหภูมิในระบบเลี้ยงวันที่ 6 มกราคม 2550 วัดได้ 20.3 องศาเซลเซียส อาจส่งผลให้หอยเกิดภูมิต้านทานที่ต่ำลง ก่อให้เกิดโรคหรือการติดเชื้อได้ง่ายขึ้น ธีรพันธ์ (2529) กล่าวว่า ความเครียดเป็นสาเหตุหลักสำคัญที่ส่งผลต่อสัตว์เลือดเย็นในด้านการปรับตัวปรับอุณหภูมิ ช่วงอุณหภูมิต่ำสัตว์น้ำจะปรับตัวได้อยากและอ่อนแอ เชื้อโรคบางชนิดเจริญได้ดีในช่วงหนาว องค์ประกอบหลายอย่างรวมกันอาจส่งผลให้สัตว์น้ำเกิดโรคได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลทดสอบการฉีดเชื้อกลับเข้าสู่เท้าหอย

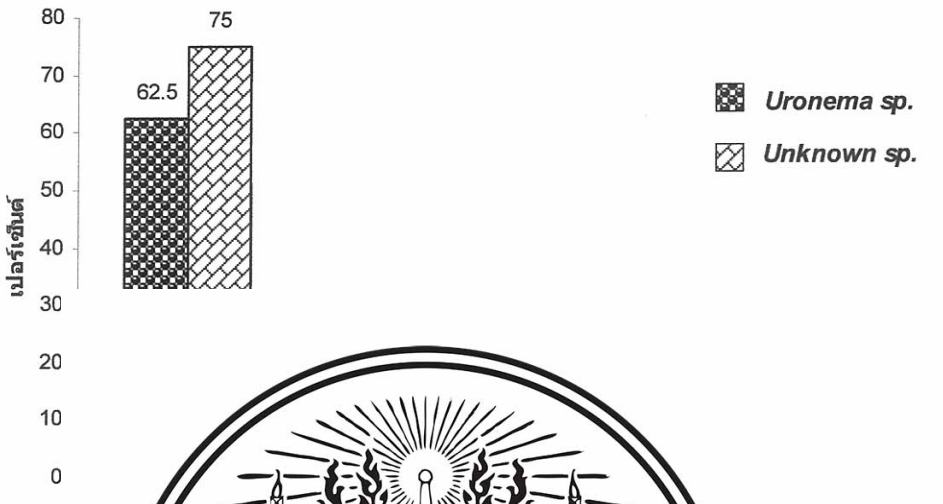
จากการทดลองโดยการฉีดเชื้อปริมาณความเข้มข้น 1.5 x 10^8 cfu/ml ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ต่อตัว เข้าบริเวณเท้าของหอยหวานจำนวน 20 ตัว พบว่า หอยหวานในกลุ่มที่ฉีดเชื้อเข้าบริเวณเท้าหอยแล้วเฝ้าสังเกตุเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ มีลักษณะอาการผิดปกติต่างๆ เช่นเดียวกับหอยที่แสดงอาการผิดปกติโดยธรรมชาติ คือ เท้ายืดออกนอกเปลือก ไม่กินอาหาร โดยเริ่มแสดงอาการตั้งแต่วันที่ 2 หลังจากได้รับเชื้อ และพบว่าหอยจะแสดงอาการผิดปกติเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อครบ 2 สัปดาห์ อัตราผิดปกติสะสมคิดเป็น 75 เปอร์เซ็นต์ ในชุดควบคุมพบว่า อัตราที่หอยแสดงอาการผิดปกติเริ่มขึ้นหลังจากวันที่ 8 และมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง ซึ่งหอยที่แสดงอาการผิดปกติในชุดควบคุมอาจเนื่องมาจากบาดแผลที่ได้รับระหว่างการฉีดน้ำเกลือ (ภาพที่ 23)

ภาพที่ 23 จำนวนห เป็นระยะเวลา 2 สัปดา

ปริมาณปรสิต *Uronema sp.* ที่ตรวจพบบริเวณเมือกเท้าหอยหวานจากการสุ่มตรวจหอยหวานจำนวน 8 ตัว พบว่าปริมาณของ *Uronema sp.* ที่พบน้อยกว่า 10 ตัว คิดเป็น 62.5 เปอร์เซ็นต์ พบมีปริมาณตัวอย่างต่ำกว่า 50 ตัว คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ พบตั้งแต่ 50 ตัวขึ้นไป คิดเป็น 12.5 เปอร์เซ็นต์ และปรสิตที่ตรวจพบแต่ไม่สามารถระบุชนิดได้ (Unknown sp.) จากการสุ่มตรวจหอยหวานจำนวน 8 ตัว พบว่าปริมาณของ Unknown sp. ที่พบน้อย คิดเป็น 75 เปอร์เซ็นต์ พบในปริมาณปานกลาง คิดเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ พบในปริมาณมาก คิดเป็น 0 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 24

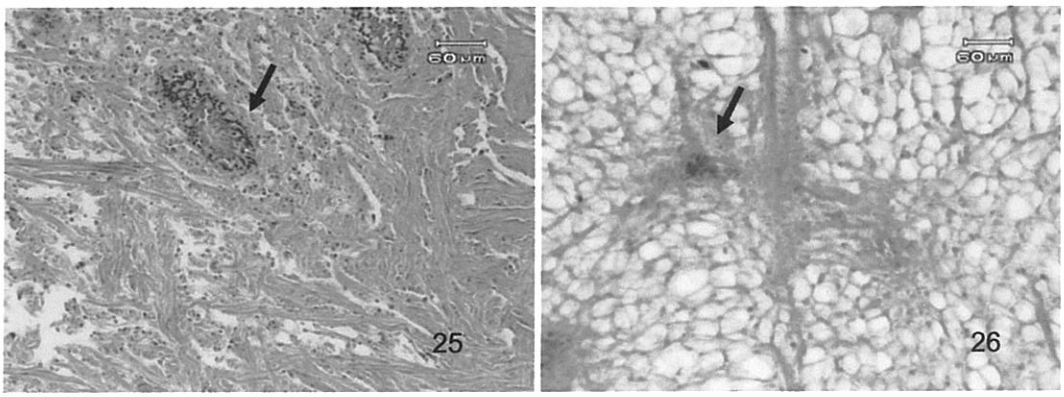
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษายังคงพบปรสิตอยู่ทั้ง 2 ชนิด คือ *Uronema sp.* และ Unknown sp. แต่พบในปริมาณที่ลดลงกว่าปกติ กล่าวคือ ความชุกชุมของจำนวนปรสิตที่เจอบริเวณเท้าปริมาณน้อยกว่า 10 ตัวต่อหอย 1 ตัว พบจากประชากรที่ทำการสุ่มตรวจมากขึ้น ในทางตรงกันข้าม ความชุกชุมของจำนวนปรสิตที่เจอบริเวณเท้าปริมาณมากกว่า 50 ตัวต่อหอย 1 ตัว พบจากประชากรที่ทำการสุ่มตรวจน้อยลง



ภาพที่ 24 ปริมาณ ...สุ่มตรวจ 8 ตัว

เมื่อทำการ ...หน้าวุ้น(TCBS)
จากนั้นนำเชื้อที่ได้ไ ...ในแบคทีเรียชนิด
Vibrio alginolyticu
ผลการศึกษ ...มเนื้อจะบวมติด
สีย้อมจางกว่าปกติ ...ลายและเกิดการ
รวมตัวกันของแบคทีเรียบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน(connecting tissue) ดังแสดงในภาพที่ 26)



ภาพที่ 25 กล้ามเนื้อเท้าบางส่วนถูกทำลาย

ภาพที่ 26 เนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เกิดการรวมตัวกันของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

สาเหตุของความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับหอยหวาน (*Babylonia areolata*) ในการเลี้ยงระบบน้ำนิ่ง คือ คุณภาพน้ำไม่เหมาะสม และการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิระหว่างการเลี้ยงส่งผลให้หอยเกิดภูมิต้านทานต่ำ รวมไปถึงการแพร่กระจายของปรสิตและแบคทีเรีย

ลักษณะอาการภายนอกที่ผิดปกติ คือ ไม่ฝังตัวในพื้นทราย และไม่กินอาหาร เท้า(foot) จะยืดออกนอกเปลือก เมื่อมีสิ่งเร้าจากภายนอกมากระตุ้นอาจมีการหดกล้ามเนื้อเท้าเพียงเล็กน้อยแต่จะไม่หดเท้าเข้าในเปลือกทั้งหมดและจะไม่ปิดฝา ในหอยที่แสดงอาการผิดปกติบางตัวพบลักษณะการบวมของเนื้อเยื่อเกิดขึ้น คือ ท่ออาหาร(proboscis) และกล้ามเนื้อเท้า(foot) ซึ่งกล้ามเนื้อทั้ง 2 บริเวณอาจเกิดขึ้นในหอยตัวเดียวกันหรือเกิดในหอยคนละตัว

ปรสิตที่พบจ ลักษณะกลมรี
มี cilia รอบๆตัว และ ยาวรอบๆตัว
ลักษณะการเคลื่อนไ
แบคทีเรียที่ พ ะ (TCBS) คือ
Vibrio alginolyticus
ลักษณะอาก oboscis) เส้น
ใยกล้ามเนื้อจะบวม บางตัวพบว่า
บริเวณกล้ามเนื้อบาง างตัวมีการฝัง
ตัวของปรสิตภายในเ ผิดปกติ พบว่า
ลักษณะผิดปกติที่เกิ ต์จากการสุ่ม
ตรวจหอยจำนวน 15 l) เพิ่มจำนวน
มากกว่าปกติ และซึ่งเ
ผลทดสอบก เต้น สรุปได้ว่า
เชื้อ *Vibrio alginolyticus* มีส่วนที่ทำให้หอยเกิดอาการผิดปกติและยังส่งผลต่อเนื้อเยื่อหอย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศูนย์วิทยทรัพยากร
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ข้อเสนอแนะ

- ควรที่จะมีการศึกษาถึงวิธีการป้องกันและแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นจากอาการผิดปกติในหอยหวาน เนื่องจากการทดลองครั้งนี้เป็นการหาสาเหตุและผลที่เกิดขึ้นเท่านั้น
- จากการทดลองทำให้ทราบว่า ปัจจัยที่สำคัญอีกประการในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ(สัตว์น้ำเค็ม) คือ ทำเลที่ตั้ง จะต้องอยู่ใกล้ทะเล เนื่องจากง่ายในการจัดการคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กิจการ ศุภมาตย์, จรีพร เรืองศรี, นเรศ ช่วนยุก, ไมตรี วรรณเดช, วีรพงษ์ เทพอักษร, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, อภิญญา สิ่งประดิษฐ์. 2543. การศึกษาปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อวิบริโอเรืองแสง (*Vibrio harveyi*) ในน้ำทะเล. วารสารสงขลานครินทร์. 22:697 – 70.

นพดล ศุกระกาญจน์. 2549. คู่มือปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยทักษิณ. 103 น.

_____. รายงานโรคระบาดสัตว์ขององค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ. ประจำวันที่ 21 ธันวาคม 2549.

นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธิ์ และศิรุษา กฤษณะพันธุ์. 2545. คู่มือการเพาะเลี้ยงหอยหวาน. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์ม

นิลนาจ ชัยธนาวิสุทธ์

ลิลา เรืองแป้น. 252 เรประมง. กรม ประมง. กรุงเท

สิทธิ บุญยรัตผลิน. การสัมนาการ ประมง. กรมป

Arringnon, J. 1999 C., USA. 582 p.

Cheng, T. C. 2000 da. 289 p.

Cheng, W., I. S. Hs e response of Taiwan aba ity to *Vibrio parahaemoly*

Colakoglu, F. A., rio *spp*. and *Aeromonas spp*. in shellfish harveted off Dardanelles cost of Turkey. Food Control .17:648-652.

Ewart, J. and S. E. Ford. 1993. History and impact of MSX and (Dermo) diseases on oyster stocks in the Northeast region. Northeast Regional Aquaculture Center fact sheet no. 200.

FAO. 1990. Review of potentially harmful substances : choosing priority organochlorine for assessment. Report No. 42.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ford, E. S. and J. F. Borrero. 2001. Epizootiology and Pathology of Juvenile Oyster Disease in the Eastern Oyster, *Crassostrea virginica*. Journal of Invertebrate Pathology. 78: 141 154.

Friedman, C. S. and R. P. Hedrick. 1999. Pacific oyster nocadiosis : isolation of the bacterium and induction of laboratory infections. Journal of Invertebrate Pathology. 57:109-120.

Karous, J., I. Sunila., S. Spear and J. Volk. 2000. Prevalence of *Perkinsus marinus* (Dermo) in *Crassostrea virginica* along the Connecticut Shoreline. Aquaculture. 183:215 221

Martoja, R. and M. Martoja-Pierson. 1967. Initiation aux Techniques de l'histologie Animale. Masson et Cie Ed, Paris. 1232 p.

Munday, B.L., P.. 1997. Fatal encephalitis ıthern bluefin tuna *(Thunnı* B. F. Nowak. 2007. Paras experimental evolution of ı

Munday, B.L., Y. S ıas (*Thunnus spp.*) Journa ɔ diseases in marine cage International Journal for Pı

Nowak, B. F. 2007 experimental evolution of ı

Perkins, F. O. 199C 29 p.

Perkins, F. O. 200C. Infectious disease of mollusks. CRC Press, Florida. 200 p.

Ragone, L. M. and E. M. Burreson. 1993. Effect of salinity on infection progression and pathogenicity of *Perkinsus marinus* in the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (GMELIN). Journal of Shellfish Research. 12:1-7.

Shaw, B. L. and H. I. Battle. 1957. The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster Crassostrea virginica (Gmelin). Journal of Zoology. 35:325 347.

Sindermann, C. J. 1970. Principle diseases of marine fish and shellfish. Academic Press, New York. 369 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 คุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Vibrio spp.* และ *Aromonas spp.*

	V. alginotyticus	*V. vulnificus*	*V. parahaemolyticus*	*A. hydrophila*
Grow with 3% NaCl	+	+	+	+
Grow with 6% NaCl	+	+	+	+
Grow with 8% NaCl	+	–	+	–
Grow with 10% NaCl	+	–	–	+
Grow at 42 °C	+	+	+	d
Motility	+	+	+	
Oxydase	+	+	+	+
ONPG	–	+	–	+
Arginine dihydrolase	–	–	–	+
Lysine decorboxylase	+	+	+	d
Ornithine decorboxylase	+	+	+	
Citrate utilization				–
H_2S production				–
Urea				–
Tryptophane desaminase				–
Indole production				+
V.P.				+
Gelatinase				+
Fermentation				
Glucose				+
Mannitol				+
Inositol				–
Sorbitol				–
Rhamnose				–
Sucrose				d
Melibiose				
Amygdalin				–
Arabinose				d
Lactose				d

d = 11-89 % Pos

\+ = Positive

\- = Negative

ที่มา : Colakoglu et al. (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมความขุ่นของเชื้อด้วยวิธีการ McFarland Standard

ซึ่งประกอบด้วย Solution 1 : 1% Barium chloride (1% w/v $BaCl_2$)

Solution 2 : 1% Sulphuric acid (1% w/v H_2SO_4)

ตารางผนวกที่ 2 อัตราส่วนของสารละลายเกลือแบเรี่ยมเปรียบเทียบกับ McFarland Scale

McFarland Standard	1% BaCl (ml)	1% H_2SO_4 (ml)
1	0.1	9.9
2	0.2	9.8
3	0.3	9.7
4	0.4	9.6
5	0.5	9.5
6		
7		
8		
9		
10		

ที่มา : นพดล (254

ตารางผนวกที่ 3 จำ

Mcl	0^6/ml)

5	1,500
6	1,800
7	2,100
8	2,400
9	2,700
10	3,000

ที่มา : นพดล (2549)

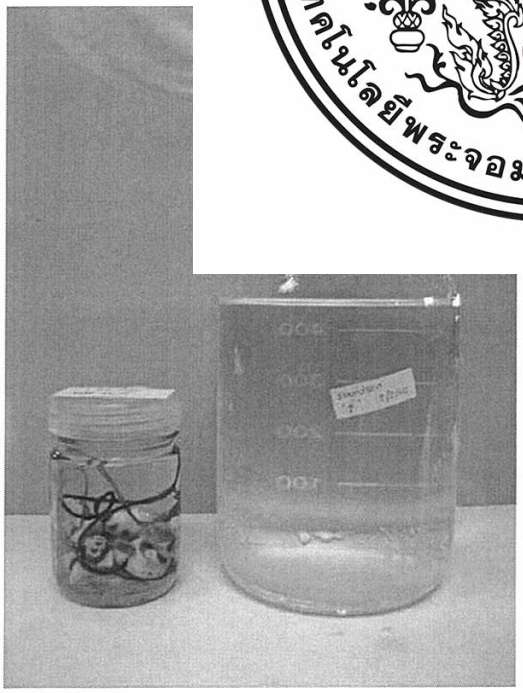
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนและวิธีการเตรียมชิ้นเนื้อฝังพาราฟิน (Paraffin technique)

นำหอยที่ผ่านการผ่าเท้าเขี่ยเชื้อแล้วไปดองในน้ำยา Davidson's fixative อย่างน้อย 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาผ่านขบวนการดังต่อไปนี้

1. ตัดชิ้นเนื้อที่ต้องการศึกษาใส่ลงใน cassette block
2. แช่ตัวอย่างใน 50 % แอลกอฮอล์ นาน 1 ชั่วโมง
3. แช่ตัวอย่างใน 70 % แอลกอฮอล์ นาน 1 ชั่วโมง
4. แช่ตัวอย่างใน 80 % แอลกอฮอล์ นาน 1 ชั่วโมง
5. แช่ตัวอย่างใน 95 % แอลกอฮอล์ นาน 1 ชั่วโมง
6. แช่ตัวอย่างใน 100 % แอลกอฮอล์ #1 นาน 1 ชั่วโมง
7. แช่ตัวอย่างใน 100 % แอลกอฮอล์ #2 นาน 1 ชั่วโมง

**การย้าย (าะเบาๆลงบน กระดาษซับเพื่อป้อง

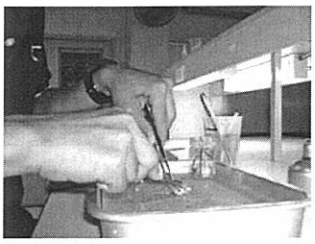


หอยหวานที่ดองในน้ำยา Davidson's fixative

การซับหรือเคาะ cassette block เบาๆ เมื่อมีการเปลี่ยนความเข้มข้นสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพแสดงการเตรียมชิ้นเนื้อฝังพาราฟิน (*Embedding*)



1.ตัดชิ้นเนื้อที่ต้องการศึกษา

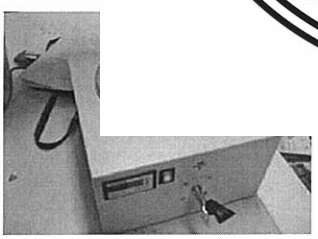
2.นำชิ้นเนื้อใส่ใน cassette block

3.เตรียมแ

5.แช่ตัวอย่

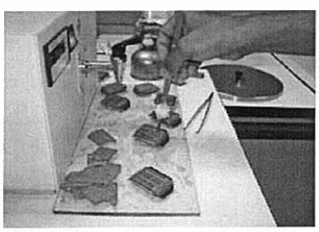
(ต้อ

ลอมเหลว

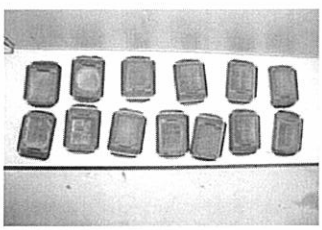


7.แช่ตัวอย่างในพาราฟินหลอมเหลว เพื่อสู่ขั้นตอน *Embedding*

8.นำชิ้นเนื้อวางบน Mole และเติมพาราฟินหลอมเหลวให้เต็ม



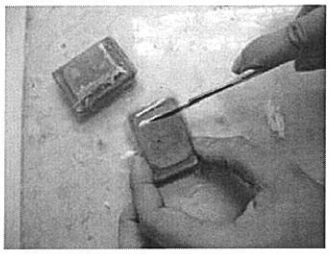
9.วาง cassette block บน Mole ที่มีชิ้นเนื้อ (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ)



10.ตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝังพาราฟินเสร็จแล้ว นำไปเก็บในตู้เย็น

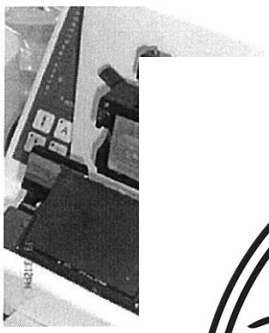
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพแสดงขั้นตอนการตัดชิ้นเนื้อตัวอย่าง



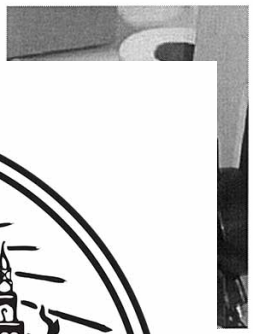
1.ตัดพาราฟินส่วนเกินออก

2.วางชิ้นเนื้อบน cold-plate



3.นำ cassette ไ

บนเครื่อง mic

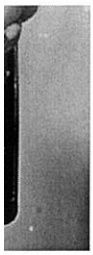


ฟินด้วย

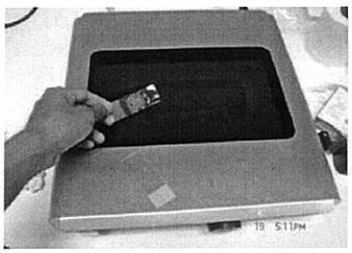
รอน

5.วางแผ่นชิ้นเนื้อบ

หยดแอลกอฮอล์



ยชิ้นเนื้อ



7.ตักชิ้นเนื้อขึ้นจากอ่างลอยชิ้นเนื้อ และซับให้แห้ง

8.วางสไลด์บน slide warmer ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชม. เพื่อเข้าสู่ขั้นตอนการย้อมสีต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

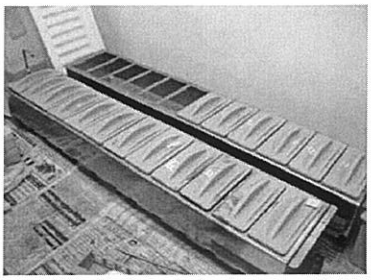
ขั้นตอนการย้อมสี hematoxylin and eosin (H&E)

1. xylene I	3-5 นาที
2. xylene II	3-5 นาที
3. absolute alcohol I	2-5 นาที
4. absolute alcohol II	2-5 นาที
5. 95% alcohol	1-2 นาที
6. 70% alcohol	1-2 นาที
7. slowly dripping tap water	3-5 นาที
8. hematoxylin staining	3 นาที
9. slowly dripping tap water	3-5 นาที

22. xylene III	3 นาที
23. permount	

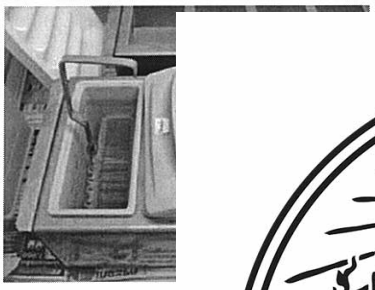
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพแสดงขั้นตอนการย้อมสี H&E

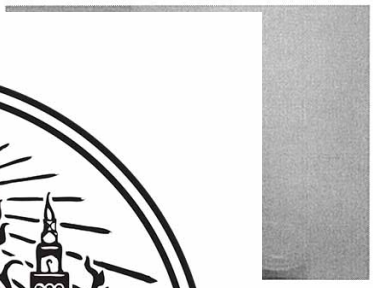


1.เตรียมสารละลายต่างๆ

2.นำสไลด์วางในแท่นวางสไลด์



3.แช่สไลด์ในตัวอ



ย่างเบาๆ

5.เข้าสู่ขั้นตอนการ permount

6.ซีนเนื้อทีผ่านการย้อมสีเรียบร้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้