ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

อัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่ได้รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน

Survival Rate in the Susceptibility of Black Tiger Shrimp, White Shrimp and Giant Seaperch to *Vibrio* sp.

โดย

นายสันติ ปานนุสา 43040459

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

Department of Fisheries Science Faculty of Agricultural Technology

King Mongkut's Institute of Technology Lardkrabang

Bangkok 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

อัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่ได้รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน

Survival Rate in the Susceptibility of Black Tiger Shrimp, White Shrimp and Giant Seaperch to *Vibrio* sp.

ชื่อนักศึกษา นายสันติ ปานนุสา

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ 28 เดือน พ.ค. พ.ศ. 47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2546

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

อัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่ได้รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน

Survival Rate in the Susceptibility of Black Tiger Shrimp, White Shrimp and Giant Seaperch to *Vibrio* sp.

T099453

โดย

นายสันติ ปานนุสา

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2546

ปพ.
ส561ค
2546

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....99453
วัน.เดือน.ปี.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

อัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่ได้รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน

Survival Rate in the Susceptibility of Black Tiger Shrimp, White Shrimp and Giant Seaperch to *Vibrio* sp.

การหาอัตรารอดตายในสัตว์น้ำ 3 ชนิด คือ กุ้งกุลาดำ *(Penaeus monodon)* กุ้งขาว *(Litopenaeus vannamei)* และปลากะพงขาว *(Lates calcarifer)* เมื่อทดสอบกับเชื้อ *Vibrio harveyi, V. fluvialis* และ *V. cholerae* ที่ระดับความเข้มข้น 90%T 70%T และ 50%T พบว่าสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีอัตรารอดตายหลังจากได้รับเชื้อแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยกุ้งกุลาดำ กุ้งขาวและปลากะพง มีอัตรารอดตายเท่ากับ 95.6%±5.38, 95.00%±5.50 และ 99.3%±1.78 ตามลำดับ ชนิดของเชื้อส่งผลกระทบต่ออัตรารอดตายของสัตว์ทดลองโดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยเชื้อ *V. harveyi, V. fluvialis* และ *V. Cholerae* มีอัตรารอดตายเท่ากับ 95.9%±4.58^{a}, 95.7%±5.40^{a} และ 98.4%±3.90^{b} ตามลำดับ ระดับความเข้มข้นของเชื้อแต่ละชนิดไม่ส่งผลระทบต่ออัตรารอดตายของสัตว์ทดลองโดยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ 90%T, 70%T และ 50%T มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 96.9±5.03, 97.6±3.28 และ 95.6±5.77 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ. รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์เป็นอย่างสูง เนื่องจากเป็นผู้ให้คำปรึกษา ติชม และแนะนำสิ่งที่ดี ๆ ในหลายเรื่อง รวมทั้งจุดประกายความคิด ความหวัง และเทคนิคตลอดการทดลองจนสำเร็จ และ ผศ. สมชาย หวังวิบูลกิจ เป็นอย่างสูงที่ให้คำปรึกษาราคากุ้งและให้ใช้ถังสีเทาได้

ข้าพเจ้าขอขอบคุณพี่มอญและพี่ดาวที่ให้เบิกอุปกรณ์แม้ว่าจะเลยข้อบังคับที่กำหนดไว้และลดราคาของที่เสียหายเหลือ 500 บาท

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ทุกคน เพื่อนวิทย์ที่ลามกและแจมตลอดการทดลอง เพื่อนยอดที่ไปซื้อกุ้ง เพื่อนดูกที่มักถามว่า "เฮ้ย! เสร็จยังว่ะ" เพื่อนท้อยที่ยืมปริ๊นเตอร์ เพื่อนป๊อปที่บวช เพื่อนยะห์ที่เลี้ยงไก่หลายไม้ เพื่อนนัทที่ข้าพเจ้ายืมกระบะพลาสติกโดยไม่บอก เพื่อนนุที่มาเที่ยวบ้าน เพื่อนอี๊ดที่ช่วยอบเครื่องแก้วและเอาอาหารข้าพเจ้าไปใช้ เพื่อนเก่ที่มากะอี๊ด เพื่อนต้อมที่ติดทหาร เพื่อนโอ๋อ้วนที่ส่งรูปให้ เพื่อนโอผอมที่ยังไม่ทำปัญหาพิเศษ เพื่อนรงค์ที่ให้ยืมจักรยาน เพื่อนมุ้ยที่อยู่ทุกเหตุการณ์ เพื่อนทอมที่เลี้ยงกบเน่า ๆ เป็นต้น

ขอขอบคุณน้อง ๆ ทุกคน น้องฝนที่ช่วยหาสัตว์ทดลองและไปซื้อ น้องบอลที่ขับรถไปกะน้องฝน น้องจุงและน้องป้อมที่ให้ยืมมอ' ไซด์ น้องอิทที่ขุดบ่อ น้องโต้ที่ให้กินปลากรอบ น้องจุ๊ที่เมาเหล้า น้องส้มที่ให้...ยืมผ้าใบและตัง น้องตั้มที่มาจากโรงเรียนเดียวกัน เป็นต้น

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณป๋าและแม่ พี่สาวคนโตและคนเล็ก ที่ได้มอบโอกาสเงิน การศึกษา และครอบครัวที่เป็นกำลังใจที่สำคัญที่สุดในชีวิต

นายสันติ ปานนุสา

พฤษภาคม 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	15
ผลการทดลองและวิจารณ์	21
สรุป	26
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การตรวจนับแบคทีเรียในระบบการเลี้ยงกุ้งทั้งหมดจากฟาร์มเพาะ	4
2	อัตรารอดของกุ้งกุลาดำในระยะต่าง ๆ เมื่อได้รับเชื้อ *V. harveyi* Strain BP04 ที่ความเข้มข้น 10^3 cfu/ml เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	5
3	อัตรารอดของกุ้งขาวเมื่อได้รับปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ที่แตกต่างกัน และในระยะต่าง ๆ กัน	5
4	อัตรารอดของอาร์ทีเมียระยะนอเพลียส	8
5	ปริมาณของเชื้อที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	21
6	การวิเคราะห์ความแปรปรวน	23
7	ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของอัตรารอดในสัตว์ทดลอง	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เชื้อแบคทีเรียเรืองแสง	2
2	อัตรารอดของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับโพรไบโอติก 3 ชนิดร่วมกับ *V. harveyi* เป็นเวลา 10 วัน	10
3	ปริมาณของเชื้อ *V. harveyi* เมื่อมีการเติมโอโซนนานต่างกัน	11
4	ค่าเฉลี่ยการตายของลูกกุ้งกุลาดำภายในเวลา 24 ชั่งโมงเมื่อมีการเติมโอโซนอย่างต่อเนื่อง และค่าโอโซนที่ตกค้าง (ROC)	12
5	ลักษณะเนื้อเยื่อเซลล์เหงือกของกุ้งกุลาดำเมื่อเติมโอโซน	13
6	การขยายเชื้อลงใน Flask ขนาด 250 ml ซึ่งบรรจุอาหารเหลว 100 ml	16
7	การเข้าเครื่อง Centrifuge ที่ 3,000 rpm อุณหภูมิ 4^{o}C เป็นเวลา 15 นาที	16
8	เชื้อบริสุทธิ์ความเข้มข้นสูงใน Flask ขนาด 100 ml	17
9	นับโคโลนีในจานเพาะเชื้อ	17
10	แผนผังการทดลองหาอัตรารอดในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกัน	18
11	กระบะพลาสติกเลี้ยงสัตว์ทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์	19
12	การนำสัตว์ทดลองไปรับเชื้อโดยแช่ในบีกเกอร์นาน 30 นาที	19
13	อัตรารอดของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับเชื้อ *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกันเป็นเวลา 96 ชั่วโมง	24
14	อัตรารอดของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับเชื้อ *V. fluvialis* ที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกันเป็นเวลา 96 ชั่วโมง	24
15	อัตรารอดของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับเชื้อ *V. cholerae* ที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกันเป็นเวลา 96 ชั่วโมง	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

กลุ่มผลิตภัณฑ์ประมงเป็นกลุ่มที่มีการส่งออกมากที่สุด โดยมีสหรัฐอเมริกาเป็นตลาดอันดับหนึ่งของไทย การส่งออกในระหว่างปี พ.ศ. 2540-2545 นั้น มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น คิดเป็นอัตราการเจริญเติบโตของมูลค่าเฉลี่ยร้อยละ 9.61 นอกจากนี้ตลาดยังคงมีความต้องการสูงทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยในปี พ.ศ. 2544 มีมูลค่าการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งไปสหรัฐอเมริกาถึง 1,266,872 ล้านเหรียญสหรัฐ แต่ในปี พ.ศ. 2545 ลดลงเหลือ 977,256 ล้านเหรียญสหรัฐ (นุชจรินทร์, 2546) เนื่องจากการคุมเข้มการนำเข้าสินค้ากุ้ง เพราะมีการตรวจพบสารตกค้างจำพวกคลอแรมฟินิคอล และไนโตรฟูแรนในกุ้งจากผู้ส่งออกแถบภูมิภาคเอเชีย ซึ่งเกิดจากความรู้เท่าไม่ถึงการณ์ของเกษตรกรที่นิยมใช้ยาปฏิชีวนะ และใช้ไม่ถูกต้อง จึงส่งผลกะทบต่อเนื่องทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อ ทำให้ต้องเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของยาที่แรงขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้มียาตกค้างอยู่ในเนื้อกุ้ง

ในการศึกษาต่อไปนี้เป็นการทดสอบหาอัตราการตายใน กุ้งกุลาดำ กุ้งขาวและปลากะพงเพื่อให้ทราบว่าสัตว์น้ำแต่ละชนิดนั้น มีความต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio* sp. แตกต่างกันอย่างไร เพื่อเป็นประโยชน์ในการเพาะเลี้ยง การป้องกัน และพัฒนาปรับปรุงสายพันธุ์ต่อไป

จุดประสงค์

ศึกษาอัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) และปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ที่รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

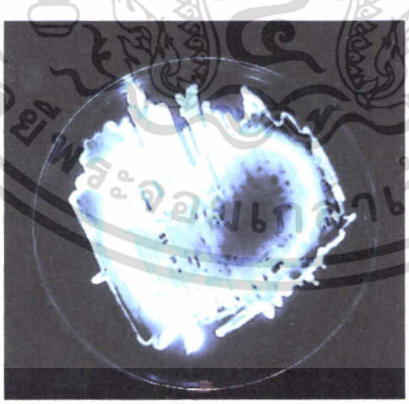
การตรวจเอกสาร

1. สาเหตุของโรคเรืองแสง

โรคเรืองแสงเดิมชื่อ Beneckea และ Lucibacterium ปัจจุบันจัดอยู่ในสกุลวิบริโอ ชื่อว่า *Vibrio harveyi* เชื้อกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็นแกรมลบ (Gram - negative) เคลื่อนที่ได้มี Polar flagella รูปร่างเป็นแท่งโค้งสั้น ขนาดเซลล์ 1.5–4.0 µm ไม่สร้างสปอร์ และไม่สร้างซีสต์ (Cyst) เป็นพวก Facultative anaerobes สร้างสารสีเขียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS (Thiosulfate-citrate-bile-salf-sucrose) อุณหภูมิที่เหมาะสม 20-30 °C ค่า pH 7-9 ความเค็มระหว่าง 10-40 ppt มีลักษณะเด่นที่สำคัญเมื่อส่องดูภายใต้แสง Fluorescent จะเรืองแสงขึ้นมา ซึ่งเกิดจากการเร่งปฏิกิริยาเรืองแสงทางชีวภาพ โดยมีเอนไซม์ luciferase เป็นตัวปฏิกิริยาออกซิไดส์ของการีดิวส์ Flavin momonucleotide ($FMNH_2$) และ Log chain aldehyde โดยโมเลกุลของ O_2 โดยมีปัจจัยที่จำเป็น และสำคัญต่อการเรืองแสง คือ $FHNH_2$ O_2 Aldehyde และ Luciferase มีสมการเคมีดังนี้

$$FMNH_2 + O_2 + RCHO \xrightarrow{\text{Luciferase}} FMN + H_2O + ROOH + \text{แสง}$$

ปฏิกิริยานี้คล้ายกับการเกิดการเรืองแสงในหิ่งห้อย ดังนั้นถ้าในน้ำ หรือในตัวกุ้งมีแบคทีเรียชนิดนี้อยู่มาก จะเรืองแสง หรือเกิดพรายน้ำขึ้นมาในเวลากลางคืน หากกุ้งมีการเรืองแสงบริเวณหัวแสดงว่ามีเชื้อในตับ (Hepatopancreas) (บุณยนุช, 2544)



ภาพที่ 1 เชื้อแบคทีเรียเรืองแสง

ที่มา: www.google.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การแพร่ระบาดของ *Vibrio* sp.

แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอนั้นสามารถต่อต่อสู่สัตว์น้ำได้ดังต่อไปนี้

(1) ติดต่อมาทางน้ำ เนื่องจากฟาร์มสัตว์น้ำส่วนใหญ่ยังมีวิธีการเตรียมน้ำค่อนข้างมีความเสี่ยงคือ สูบน้ำเข้าบ่อพักแล้วเติมคลอรีน จากนั้นตีน้ำจนกว่าคลอรีนจะหมด (ใช้เพียงบ่อเดียวจนครบทุกขั้นตอนการเลี้ยง) ในขณะที่การตีน้ำอยู่นั้นทำให้เกิดการตกตะกอนของสารแขวนลอยต่าง ๆ ที่อยู่ในน้ำ ทำให้เชื้อโรคที่อยู่ในรูปของสปอร์ หรือสร้างแคปซูลห่อหุ้มนั้นยังตายไม่หมดนั้นฟุ้งกระจายเต็มบ่อ

(2) ติดต่อจากแม่พันธุ์โดยผ่านทางไข่ คือ ในกรณีแม่กุ้งมีการติดเชื้อแบคทีเรีย หรือไวรัสโดยเฉพาะ MVB (Monodon baculor virus) และตัวแดงดวงขาว ในช่วงที่ทำการย้ายไข่ไปเพาะฟัก ถ้าไม่มีการฆ่าเชื้อก่อน มีความเสี่ยงสูงมากที่เชื้อโรคดังกล่าวติดต่อถึงลูกกุ้งได้

(3) ติดต่อจากอาหาร พบได้ตั้งแต่การนำแพลงก์ตอนจำพวก Skeletonema และ Chaetoceros รวมทั้งไข่อาร์ทีเมียที่ให้เป็นอาหารแก่ลูกกุ้ง ซึ่งมีเชื้อวิบริโอสีเขียว และเหลืองปนเปื้อนอยู่จะติดต่อ และทำอันตรายกับลูกกุ้งได้ และเมื่อนำมาเพาะแบคทีเรียดังกล่าวจะเพิ่มจำนวนขึ้นเป็นหลายเท่าถึงแม้ว่าเพาะกับน้ำทะเลปลอดเชื้อก็ตาม

(4) ติดต่อมาทางน้ำที่เติมในช่วงท้าย ๆ ของการอนุบาล ถึงแม้ว่าทางโรงเพาะฟักมีวิธีการเตรียมน้ำสำหรับเพาะฟักลูกกุ้งในช่วงแรกเป็นอย่างดี ไม่มีเชื้อโรคหลงเหลือ แต่ช่วงที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพื่อกำจัดของเสีย หรือเร่งการเจริญเติบโตของกุ้งนั้น ดังนั้นหากไม่มีการบำบัดที่ดีพอ หรือนำน้ำทะเลสด ๆ มาทำการอนุบาลก็นับว่ามีโอกาสที่ลูกกุ้งมีการติดเชื้อสูงมาก (เกรทเทอร์ เวท, 2544)

Karunasagar *et al.* (1994) ได้ตรวจหาแบคทีเรียทั้งระบบการเลี้ยงจากฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้ง เช่น น้ำที่ใช้เลี้ยง ไข่อาร์ทีเมีย และแพลงก์ตอน พบแบคทีเรียชนิดเรืองแสง ตามตารางที่ 1 จากผลการวิจัยพบว่าสัตว์สามารถรับเชื้อได้โดยตรงจากน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยง และจากพ่อแม่โดยผ่านทางไข่ เนื่องจากพบแบคทีเรียที่มีแสงจากน้ำทะเล และบ่ออนุบาล แต่ไม่พบเชื้อแบคทีเรียที่มากับอาหารที่ใช้เลี้ยง ทั้งสาหร่ายและอาร์ทีเมีย ดังนั้นจึงควรระวังเรื่องของน้ำที่ใช้เลี้ยงมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 การตรวจนับแบคทีเรียในระบบการเลี้ยงกุ้งทั้งหมดจากฟาร์มเพาะเลี้ยง (หน่วย cfu/ml/g)

ตัวอย่าง	จำนวนแบคทีเรียรวม	จำนวนแบคทีเรียที่มีแสง
Seawater (SW1)	3.5×10^3	2.3×10^2
Seawater (SW2)	2.0×10^2	nil*
Seawater (SW3)	2.7×10^2	nil
Seawater (SW4)	6.4×10^2	nil
Seawater (SW5)	5.6×10^2	nil
Eggs (M_1)	2.2×10^7	nil
Neuplii (M_2)	1.2×10^7	nil
Larval tank (L_1T_3)	1.7×10^7	1.0×10^2
Larval tank (L_2T_8)	2.5×10^7	3.0×10^4
Larval tank (PL_2T_{12})	1.2×10^3	3.5×10^2
Larval tank (PL_3T_8)	9.9×10^4	7.0×10^4
Larval tank (PL_1T_{13})	2.0×10^7	2.2×10^6
Indoor algae (G_1)	7.5×10^3	nil
Outdoor algae (G_2)	2.7×10^2	nil
Outdoor algae (G_3)	1.0×10^1	nil
Artemia neuplii (A_2G)	3.0×10^4	nil
Artemia neuplii (A_1G)	3.0×10^5	nil
Artemia cyst (A_2G)	4.3×10^3	nil
Artemia cyst (A_2S)	1.4×10^4	nil
Artemia (silver)	nil	nil
Artemia (gold)	nil	nil

nil = ไม่พบเชื้อ

ที่มา: Karunasagar *et al.* (1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการระบาดและความรุนแรงของโรค

2.1.1 ปัจจัยในตัวกุ้ง

อายุของกุ้งเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่ออัตรารอดเมื่อได้รับเชื้อ *V. harveyi* โดย Prayitno and Latchford (1995) ได้ทำการทดลองพบว่าในกุ้งระยะ Zoea-1 มีอัตรารอดเพียง 25.80% เท่านั้น ในขณะที่ระยะ Postlarvae 4-5 มีอัตรารอด 54.50% แสดงว่ากุ้งจะมีความต้านทานโรคมากขึ้นตามช่วงอายุต่าง ๆ (ตารางที่ 2) ในทำนองเดียวกับกุ้งขาว มีอัตรารอดสูงขึ้นเมื่อมีอายุการเจริญเติบโตมากขึ้นขึ้น (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำในระยะต่างๆ เมื่อได้รับเชื้อ *V. harveyi* Strain BP04 ที่ ความเข้มข้น 10^3 cfu/ml เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ระยะของตัวอ่อน	อัตรารอด(%)	
	Control	BP04
Zoea 1	84.00[a]	25.80[b]
Zoea 2	83.00[a]	38.17[b]
Zoea 3	78.17[a]	35.00[b]
Mysis 1	83.75[a]	47.08[b]
Mysis 2	82.08[a]	53.75[b]
Mysis 3	83.29[a]	55.63[b]
Postlarvae 1-2	85.50[a]	51.50[b]
Postlarvae 4-5	83.00[a]	54.50[b]

ที่มา: ดัดแปลงจาก Prayitno and Latchford (1995)

ตารางที่ 3 อัตรารอดของกุ้งขาวเมื่อได้รับปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ที่แตกต่างกัน ในระยะต่างๆ กัน

Strains		Nauplii	Protozoea 1	Protozoea 2	Protozoea 3	Mysis 1	Mysis 2	Mysis 3	Postlarva 1
V. harveyi	103	46.3±15.4	75.5±12.6	63.5±10.1	53.0± 5.3	72.2±17.3	65.2±9.5	71.2±9.4	80.8±11.3
	105	28.1±12.2	60.7±3.9	48.4±9.4	47.5±7.0	20.6±18.6	57.0±3.6	49.8±11.6	65.0±5.7
	107	15.3 ±6.6	47.5±5.4	32.2±7.5	30.4±9.6	4.9±3.7	36.2±4.7	37.1±15.0	54.4±13.0

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gabriel *et al.* (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ปัจจัยด้านคุณภาพน้ำ

เนื่องจากกุ้งดำรงชีวิตอยู่ในน้ำ และเชื้อสามารถแพร่ระบาดทางน้ำได้เช่นกัน น้ำจึงมีความสำคัญต่อสุขภาพกุ้งมาก ปัจจัยด้านคุณภาพน้ำที่มีผลต่อการระบาด และความรุนแรงของโรค ได้แก่

(1) อุณหภูมิ เชื้อวิบริโอสามารถเจริญได้ดีในช่วงกว้าง 20-30 °C และจะแบ่งตัวได้รวดเร็วเมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้น จึงพบการระบาดของโรคนี้ในฤดูแล้ง และฤดูร้อน ช่วงฤดูหนาวพบความรุนแรงของโรคน้อย (บุณยนุช, 2544)

(2) ความเค็ม แม้ว่าเชื้อวิบริโอสามารถอยู่ในน้ำที่มีความเค็มได้เป็นช่วงกว้าง (10-40 ppt) แต่พบว่าน้ำที่มีความเค็มต่ำจะมีความรุนแรงของโรคลดลง โดยที่ความเค็ม 5 ppt จะทำให้เชื้อลดลงมาก และที่ 0 ppt เชื้อไม่สามารถเจริญได้เลย (ชลอ, 2000)

(3) ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ปกติเชื้อวิบริโอจะเจริญเติบโตดีที่ pH 7-9 ซึ่งเป็นช่วงที่พบในบ่อเลี้ยงทั่วไป แต่เมื่อ pH ลดลงถึง 5.5 เชื้อจะมีการระบาดเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับ pH 6.0 โดยยังไม่ทราบถึงกลไกที่เพิ่มความรุนแรงของเชื้อได้ (ชลอ, 2000)

(4) สารอินทรีย์ สารอินทรีย์ในบ่อเกิดจากการตายของสิ่งมีชีวิตในน้ำ อาหารกุ้งที่เหลือ และของเสียที่กุ้งปล่อยออกมามีการสะสมไว้ก้นบ่อ หากมีมากจะทำให้เชื้อวิบริโอเจริญดีเนื่องจากเชื้อใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนจึงพบว่าโรคนี้จะระบาดมากในช่วงเดือนที่ 3 หรือ 4 ของการเลี้ยง ซึ่งเป็นช่วงที่มีการสะสมของตะกอนมาก (บุณยนุช, 2544)

3. อาการของโรคเรืองแสง

อาการทั่วไปของโรคเรืองแสงจะสังเกตได้ว่าในเวลากลางคืนจะเห็นการเรืองแสงที่ส่วนหัว พบเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด และในตับ นอกจากนี้ยังสามารถแยกลักษณะอาการที่เกิดกับลูกกุ้งและกุ้งใหญ่ได้ดังนี้

(1) อาการในลูกกุ้งนั้นพบว่าลูกกุ้งจะอ่อนแอไม่ว่ายน้ำ ไม่กินอาหาร ตัวขุ่นขาว พบเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด และในตับ เมื่อสังเกตลูกกุ้งในเวลากลางคืนที่มืดสนิท จะเห็นแสงสีเขียวลอยขึ้นตามการขึ้นลงของลูกกุ้งที่ตายและกับพวกที่ใกล้ตาย จะล่องลอยไปตามการเคลื่อนไหวของน้ำกระแสน้ำ กับพวกที่ใกล้ตาย โรคนี้จะทำให้ลูกกุ้งตายใน 1-2 วัน (ปภาศิริ, 2537)

(2) อาการในกุ้งใหญ่พบว่าในขณะที่กุ้งยังแข็งแรงนั้น เชื้อวิบริโอที่เข้าสู่ตัวกุ้งจะถูกทำลาย เพราะกุ้งมีกลไกป้องกันตัวเองระดับหนึ่งตามธรรมชาติ คือ กุ้งจะมีการหดตัวของลำไส้ลักษณะเป็นลูกคลื่น (Peristalsis) ซึ่งเป็นการขจัดแบคทีเรียออกจากทางเดินอาหาร ทำให้ลดโอกาสการเกาะติดของเชื้อโรคต่อเซลล์ผนังลำไส้ได้ หรืออาจถูกพาออกจากลำไส้พร้อมกับเยื่อบางๆที่หุ้มผนังลำไส้ (Peritriphic membrane) ถ้าในขณะที่เชื้อกำลังทำลายผนังเซลล์ จะมีฮีโมไซต์หรือเม็ดเลือดจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระแสเลือดที่อยู่ภายใต้เซลล์บุผนังลำไส้ เพื่อคอยจับกิน และป้องกันไม่ให้เชื้อบุกรุกเข้าสู่กระแสเลือดได้ แต่ถ้าหากเชื้อทำลายเฉพาะเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ จะทำให้ลำไส้สูญเสียหน้าที่ในการดูดซึมอาหาร กุ้งไม่โตเท่าที่ควร แต่ถ้ามีเชื้อวิบริโอในน้ำมากเกินไป หรือกุ้งไม่แข็งแรง ระบบป้องกันตัวเองจะไม่สามารถขจัดเชื้อได้ ทำให้เชื้อเข้าสู่กระแสเลือด และไปเพิ่มจำนวนในตับ (บุณยนุช, 2544)

ส่วนในกุ้งที่ป่วยจะเกยขึ้นมาตามขอบบ่อหรือว่ายอยู่ที่ผิวน้ำ เปลือกและลำตัวมีสีเข้ม สกปรก ตับฝ่อ และจะเห็นการเรืองแสงที่ส่วนหัวได้อย่างชัดเจนในเวลากลางคืน เมื่อตรวจสอบทางเนื้อเยื่อในกุ้งป่วยพบว่าส่วนตับและตับอ่อนนั้นถูกทำลายอย่างรุนแรงทำให้การย่อยอาหารไม่เป็นปกติ และอาหารที่สะสมไว้ในตับจะน้อยลง นอกจากนี้ยังพบว่าลำไส้เกิดเซลล์ตาย และมีอาการอักเสบเช่นกัน (ไม่ปรากฏผู้แต่ง, 2000) ในประเทศฟิลิปปินส์พบว่า 59% ของกุ้งที่ตรวจได้พบโรคตัวแดงดวงขาว (Red disease syndrome) เกิดขึ้นร่วมกับเชื้อวิบริโอทำให้กุ้งมีลำตัวสีแดง มีจุดสีขาวเป็นดวง ๆ หางบวมน้ำ และแผ่นปิดเหงือกบวม (Alapide *et al.*,1997)

4. การป้องกันและรักษาโรคเรืองแสง

(1) การปรับความเค็มพบว่าในช่วงที่มีการระบาดของโรคเรืองแสง เช่น ในหน้าร้อน ผู้เลี้ยงกุ้งควรหาน้ำที่มีความเค็มต่ำ หรือน้ำจืดมาเติมในบ่อให้ปรับความเค็มน้ำในบ่อเหลือประมาณ 5-7 ppt ปัญหาของโรคเรืองแสงลดน้อยลง เพราะฤดูร้อนน้ำระเหยออกไป ทำให้น้ำมีความเค็มสูงขึ้นเหมาะแก่การเจริญเติบโตของเชื้อวิบริโอ (ชลอ, 2000)

(2) การใช้จุลินทรีย์บำบัดน้ำและพื้นบ่อนั้นสามารถใช้จุลินทรีย์พวก *Nitrobactor* และ *Nitrosomonas* ในการเตรียมน้ำ บำบัดน้ำ และพื้นบ่อสม่ำเสมอ ซึ่งจะช่วยลดของเสียที่เป็นพวกสารอินทรีย์ในน้ำ เช่น อาหารกุ้งที่เหลือ เซลล์สาหร่ายที่ตาย และขี้กุ้ง เป็นต้น ถ้าในบ่อมีของเสียเหล่านี้มากจะทำให้จำนวนเชื้อวิบริโอเจริญเติบโตเป็นอย่างดี (บุณยนุช, 2544) เนื่องจากมีค่า NH_3 และ NO_2 สูง ซึ่งแบคทีเรียเรืองแสงกลุ่มนี้ต้องการคาร์บอน (C) และไนโตรเจน (N) เพื่อการเจริญเติบโต ควรบำบัดน้ำควบคู่กับการควบคุมปริมาณอาหารให้อยู่ในระดับที่กุ้งกินได้หมดพอดี จึงจะก่อให้เกิดผลในการลดจำนวนของเชื้อแบคทีเรียเรืองแสง (ชลอ, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อในน้ำมีการใช้ยาฆ่าเชื้อเพื่อลดจำนวนเชื้อวิบริโอในน้ำ และอุปกรณ์เครื่องมือ สารเคมีที่เป็นที่เป็นที่นิยมและยอมรับว่าใช้ได้ดี ได้แก่ ฟอร์มาลิน 25-50 ppm แต่ควรระวังเรื่องปริมาณ O_2 ที่ละลายในน้ำ (DO) จะลดลง BKC 1-2 ppm และด่างทับทิม 4-5 ppm สารเคมีดังกล่าวจะใช้ได้ผลในระยะสั้นเท่านั้น เมื่อหมดฤทธิ์สารเคมีเชื้อจะเจริญเพิ่มขึ้น (บุณยนุช, 2544)

(4) การใช้ยาปฏิชีวนะป้องกันเชื้อที่มากับอาหารมีชีวิต เนื่องมาจากในการอนุบาลลูกกุ้งนิยมใช้อาร์ทีเมียเป็นอาหารซึ่ง Roque and Gomez-Gil (2003) พบว่าอาร์ทีเมียสามารถรับเชื้อวิบริโอ และถ่ายทอดไปสู่ลูกกุ้งที่กินเข้าไป ก่อนที่จะนำมาใช้เป็นอาหาร ควรแช่ยาปฏิชีวนะ Enrofloxacin 40% w/w นาน 48 ชั่วโมง ทำให้มีสามารถต้านทานต่อเชื้อวิบริโอได้ Strain PN9801 ได้ และระยะเวลาการต้านทานต่อเชื้อจะอยู่ได้นานถึง 24 ชั่งโมง ทั้งการทดลองที่ 1 และ 2 ซึ่งมีความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียที่ให้คือ 3.80×10^6 และ 6.15×10^6 cfu/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งกลุ่มที่ได้รับยาแล้ว 48 ชั่วโมงทั้ง 2 การทดลอง มีอัตรารอดไม่แตกต่างกัน แต่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับยามาก แสดงว่าอาร์ทีเมียทนต่อเชื้อได้ กุ้งจึงปลอดภัยจากโรค ส่วนกลุ่มที่ได้รับเชื้อโดยไม่ได้รับยามีอัตรารอดน้อยมาก ตายเนื่องจากถูกเชื้อเข้าทำลาย ไม่เหมาะนำมาเป็นอาหารแก่ลูกกุ้ง

เมื่อกุ้งกินอาร์ทีเมียเข้าไปทำให้กุ้งได้รับยาปฏิชีวนะเข้าไปด้วย กุ้งจึงแข็งแรง มีความต้านทานโรคมากขึ้น แต่ต้องระวังยาที่ตกค้างในตัวกุ้งถ้ามีการแช่ยาปฏิชีวนะที่เข้มข้นมาก ๆ เป็นข้อควรระวังอย่างยิ่งเมื่อตรวจพบในลูกกุ้ง

ตารางที่ 4 อัตรารอดของอาร์ทีเมียระยะนอเพลียส

	Experiment 1				Experiment 2			
	Enro	StrainPN9801	Enro4h	Enro24h	Enro	StrainPN9801	Enro4h	Enro24h
Mean	98.75[a]	9.79[b]	83.33[a]	83.33[a]	100[a]	48.33[b]	92.17[a]	86.50[a]
S.D.	1.60	10.68	12.83	11.03	0	10.45	11.65	8.35
n	4	4	3	4	4	4	4	3

Enro = อาร์ทีเมียได้รับ Enroflaxasin เท่านั้น, StrainPN9801 = อาร์ทีเมียได้รับเชื้อ V. harveyi StrainPN9801 เท่านั้น, Enro4h = อาร์ทีเมียได้รับยา และเชื้อนาน 4 ชั่วโมง, Enro24h = อาร์ทีเมียได้รับยา และเชื้อนาน 24 ชั่วโมง

ที่มา: Roque and Gome-Gil (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(5) การใช้โพรไบโอติก(Probiotic) ซึ่งโพรไบโอติก คือ เซลล์ของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในอาหารด้วยวิธีใด ๆ แล้วสามารถเข้าไปอยู่ในลำไส้ของเจ้าบ้าน และสิ่งมีชีวิตได้ เพื่อพร้อมที่จะไปปรับปรุงสุขภาพของเจ้าบ้านให้ดีขึ้น แบคทีเรียที่ใช้ควรมีคุณสมบัติคือ มีความสามารถในการต่อต้านแบคทีเรียก่อโรคในหลอดทดลอง มีความสามารถในการยึดเกาะลำไส้ หรือสามารถอยู่ในลำไส้ได้ชั่วระยะเวลาหนึ่ง เพิ่มความต้านทานโรคให้กับเจ้าบ้านได้ และความสามารถแข่งขันหรือแย่งพื้นที่กับแบคทีเรียก่อโรค และสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ โดยทีจุลินทรีย์ที่มีการผลิต และใช้เป็นโพรไบโอติกมีหลายชนิดสามารถแยกเป็นกลุ่มได้ดังนี้

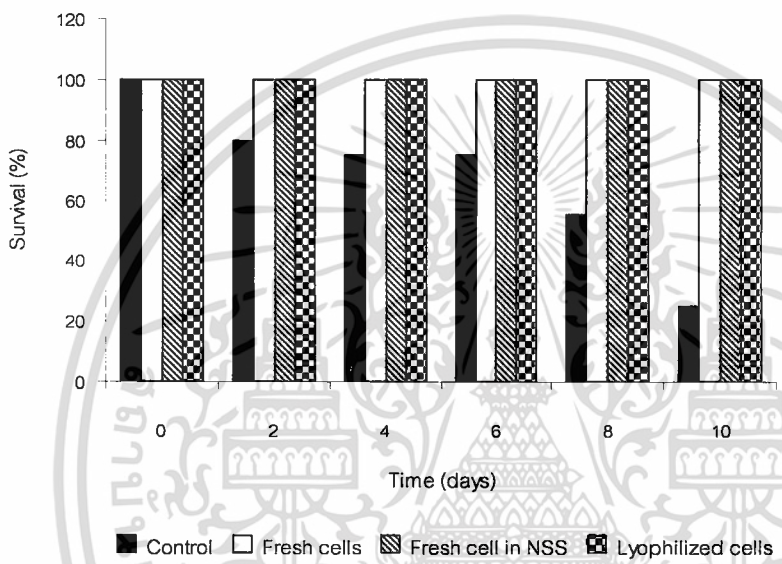
- กลุ่มแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ (Spore forming bacteria) เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ ข้อดี คือ สามารถสร้างเอนไซม์หลายชนิด เช่น Protease, Amylase, Lipase และบางชนิดสามารถสร้างสารแอนติไบโอติก (Antibiotic) สามารถเก็บในรูปของสปอร์ได้ ทำให้สะดวกต่อการใช้งาน และเก็บรักษาได้นาน ได้จำนวนเชื้อที่ทำงานจริงไม่ลดลง ตัวอย่างแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus cereus, B. coagulans* และ *B. Subtilis*

- กลุ่มแบคทีเรียสร้างกรด (Lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ และสร้างกรดแลคติกทำให้มีค่า pH ในทางเดินอาหารต่ำลง มีสถาวะไม่เหมาะสมที่เชื้อโรคต่าง ๆ จะเจริญเติบโตได้ข้อดี คือจัดว่าเป็น GRAS (Generally recognized as safe organism) หรือมีความปลอดภัยสูงต่อคนและสัตว์ เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม แต่มีข้อเสีย คือ ไม่สามารถเก็บอยู่ในรูปของสปอร์ได้ ทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้น และจำนวนแบคทีเรียมีชีวิตทำงานได้จริงลดต่ำลงเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาการเก็บรักษาและสภาพแวดล้อม ตัวอย่างแบคทีเรีย ได้แก่ *Bifidobacterium, thermophilum* และ *B. pseudologum, Lactobacillus acidophilus, L. bifidus, L. brevis, L. bulgarius* และ *L. lactis* หรือ *Streptococcus faecium, S. lsctis* และ *S. cremoris*

- กลุ่มยีสต์ มีเป้าหมายหลักในการเสริมคุณค่าทางอาหารมากกว่าที่จะมีคุณสมบัติของโพรไบโอติกโดยเฉพาะกับในกุ้ง เพราะมีการเจริญเติบโตช้ากว่าแบคทีเรีย และมีปัญหาในด้านอายุการเก็บรักษาสั้น เนื่องจากไม่สามารถเก็บในรูปของสปอร์ได้ เช่น *Saccharomyces* เป็นต้น (บุณยนุช, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rengpipat *et al.* (1998) ได้ทำการทดลองในสภาพที่มีเชื้อ *V.harveyi* เข้มข้น 10^5 cfu/ml พบว่ากุ้งที่ได้รับโพรไบโอติก *Bacillus* S11 ทั้ง 3 รูปร่าง (Form) คือ เซลล์ปกติ (Fresh cell) ซึ่งมีอายุ 24 ชั่วโมง เซลล์ปกติที่เก็บในสารละลายเกลือ 0.85% (NSS, Normal saline solution) และเซลล์ที่ถูกแช่เข็ง (Freeze-dried) โดยใช้เครื่อง Lyopilizer FD-1 (Lyopilized cell) แล้วนำมาเติมลงในอาหาร 10^{10} CFU/g พบว่ารูปร่างทั้ง 3 ชนิดให้อัตรารอดไม่แตกต่างกัน คือมีอัตรารอด 100% ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้รับโพรไบโอติกพบว่ามีอัตรารอดน้อยมากเพียง 26% (ภาพที่ 2) นอกจากนั้นพบความแตกต่างกันของสี ขนาด และเนื้อเยื่อ ซึ่งเกิดจากการสร้างโคโลนีของ *Bacillus* S11 ในทางเดินอาหารของกุ้ง แบคทีเรียพวกนี้สร้างสารต้านจุลชีพขึ้นมา หรือสิ่งที่ขัดขวางการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. harveyi* ได้



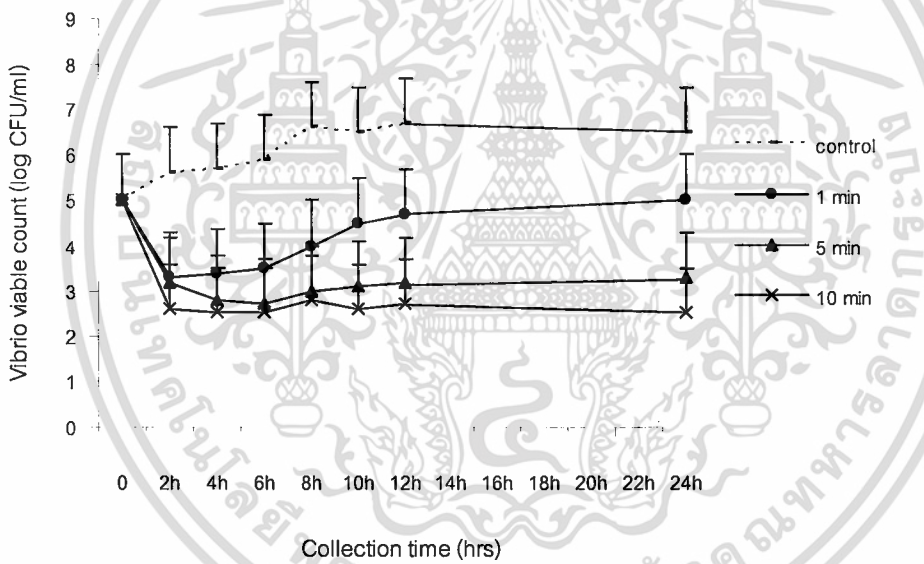
ภาพที่ 2 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำเมื่อได้รับโพรไบโอติก 3 ชนิดร่วมกับเชื้อ *V. harveyi* เป็นเวลา10 วัน

ที่มา: Rengpipat *et al.* (1998)

วิธีการเลือกใช้โพรไบโอติกจึงควรให้ความสำคัญ เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดต้องคำนึงถึงสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับชนิดกุ้ง โดยเฉพาะทางเดินอาหาร ใช้ให้เหมาะสมกับอายุของกุ้ง สามรถตรวจสอบจำนวนของเชื้อมีชีวิตทั้งก่อนและหลังการผสมกับอาหาร ต้องมีการให้กินตามขนาดที่แนะนำอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้มีจำนวนจุลินทรีย์เพียงพอ ควรระวังการใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะอาจทำให้มีการต้านฤทธิ์กันกับโพรไบโอติก และมีพิจารณาอาหาร สภาพแวดล้อม และสภาวะของสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

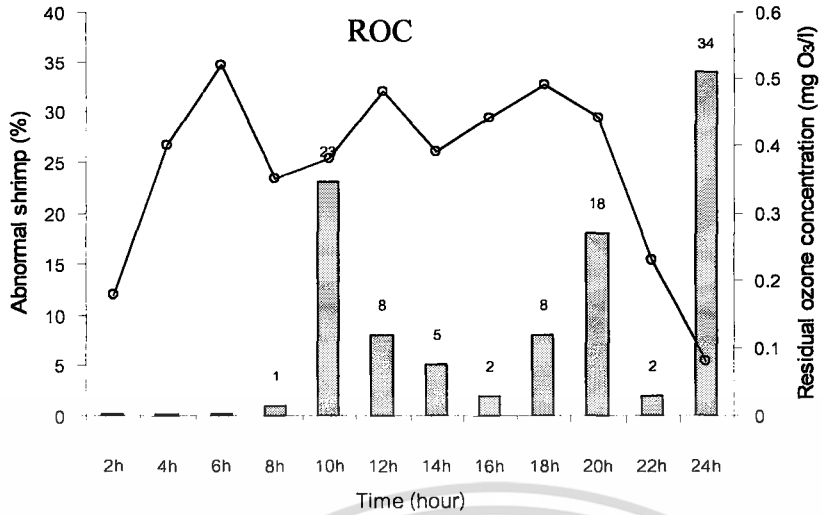
(6) การใช้โอโซน (O_3) เนื่องจากโอโซนเป็นตัวออกซิไดส์ที่รุนแรง (Strong oxidant) จึงนิยมนำมาใช้ฆ่าเชื้อโรคในน้ำดื่ม ซึ่งมีความรุนแรงกว่าคลอรีนมาก ต่อมามีการนำมาใช้กับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเพื่อเป็นการป้องกันเชื้อโรค และคุณภาพน้ำ Meunpol *et al.* (2003) ได้ทดลองผลของโอโซนกับเชื้อ *V. harveyi* Strain D331 ที่มีความเข้มข้น 10^5 cfu/ml พบว่าเชื้อวิบริโอถูกทำลาย และมีปริมาณลดลง พบเชื้อน้อยที่สุดเมื่อมีการเติมโอโซนนาน 10 นาที (ภาพที่ 3) แต่ความเป็นพิษของโอโซน เมื่อมีการให้โอโซนในขณะเลี้ยงกุ้งระยะ P15 อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 8 ชั่งโมง พบว่ามีปริมาณความเข้มข้นของโอโซนที่ตกค้าง (ROC = Residual ozone concentrate) อยู่ระหว่าง 0.34 และ 0.50 mg O_3/l พบว่ากุ้งบางตัวมีการเคลื่อนที่ของ Pleopods แปลกไป และสูญเสียการว่ายน้ำ จากนั้น 10 ชั่วโมงจะมีกุ้งตาย 23% และจะเพิ่มเป็น 34% ที่ 24 ชั่งโมง (ภาพที่ 4) ขณะที่เมื่อตรวจดูลักษณะของเหงือกกุ้ง (ภาพที่ 5) พบว่า Gill lamella ขยายขนาดและเชื่อมติดกัน (Hyperplasia) และสภาพของเซลล์เหงือกบางส่วนจะบิดเบี้ยวไป(S) ทำให้กุ้งไม่สามารถแลกเปลี่ยนอิออน และรักษาสมดุลภายในร่างกายได้ เป็นเหตุทำให้กุ้งตาย



ภาพที่ 3 ปริมาณของเชื้อ *V. harveyi* เมื่อมีการเติมโอโซนนานต่างกัน

ที่มา: ดัดแปลงจาก Meunpol *et al.* (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

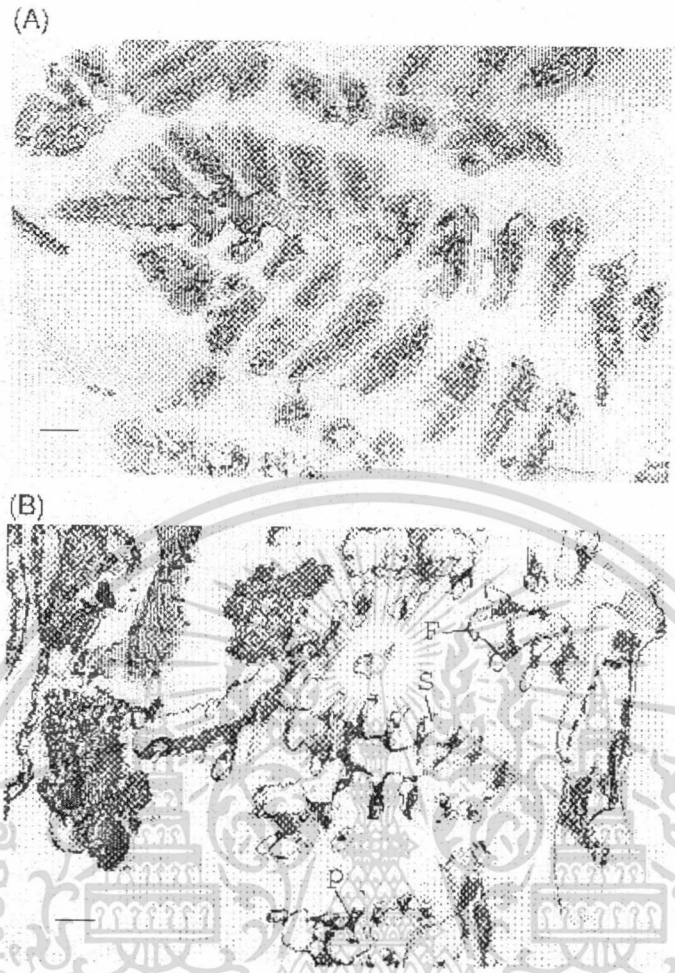


ภาพที่ 4 ค่าเฉลี่ยการตายของลูกกุ้งกุลาดำภายใน 24 ชั่วโมง เมื่อมีการเติมโอโซนอย่างต่อเนื่อง และแสดงค่าของโอโซนที่ตกค้าง (ROC)

ที่มา: Meunpol *et al.* (2003)

ข้อควรระวังในการใช้โอโซนในการเลี้ยงกุ้ง ต้องระวังเรื่องโอโซนที่ตกค้างซึ่งจะเป็นอันตรายต่อกุ้งโดยตรง การมีต้นทุนที่สูงขึ้น และควรใช้ในการฆ่าเชื้อน้ำที่จะเลี้ยงซึ่งจะเหมาะสมกว่า เนื่องจากเห็นได้ว่าโอโซนนั้นมีความรุนแรงมาก สามารถทำลายเชื้อได้เกือบทุกตัว ซึ่งรวมถึงกุ้งที่เลี้ยงด้วยถ้าใช้ให้ถูกวิธีจะได้ประสิทธิในการป้องกันเชื้อ *V. harveyi* สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 ลักษณะเนื้อเยื่อเซลล์เหงือกของกุ้งกุลาดำ: (A) กลุ่มควบคุมปกติ; (B) สภาพเหงือกที่มีโอโซนตกค้างอยู่ 0.16 – 0.50 mg O_3/l โดยที่ (s) ลักษณะเซลล์ที่ปิดเบี้ยวไป และ (p) การรวมตัวกันของเซลล์

ที่มา: Meunpol *et al.* (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. **ความเป็นพิษ**

พิษ คือ อาการที่เกิดขึ้นต่อมนุษย์ สัตว์ และพืช จนทำให้สุขภาพและพลานามัยเสื่อมลง ไม่สามารถมีชีวิตอยู่อย่างผาสุก หรือเจริญเติบโตได้ไม่ปกติตามธรรมชาติ โดยอาการแบ่งออกได้เป็น มองเห็นด้วยตาเปล่า และมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า พิษเป็นสิ่งที่เป็นรูปธรรม หรือสิ่งที่เป็นนามธรรม จะทำให้พฤติกรรมเปลี่ยนแปลงสามารถแบ่งได้เป็น พิษภายนอก เช่น ผิวหนังเป็นตุ่ม พุพอง คัน แสบ เป็นต้น และพิษภายใน เช่น มีผลกับระบบประสาท ระบบย่อยอาหาร ระบบหมุนเวียนเลือดเป็นต้น

การเกิดพิษแบ่งได้เป็น พิษเฉียบพลัน (Acute effect) คือ มีอาการทันทีที่ได้รับเชื้อ หรือสารพิษ และพิษเรื้อรัง (Chronic effect) คือ มีอาการแสดงออกไม่มาก แต่สิ่งมีชีวิตมักอ่อนแอลงเรื่อย ๆ ส่วนใหญ่เกิดขึ้นกับสัตว์ที่เป็นโรคต่าง ๆ ซึ่งความเข้มข้นของเชื้อใช้การวัดประมาณเป็น %T (% Transmitant) หรือค่าแสงส่องผ่าน ส่วน %Ab (%Absorbance) หรือค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrometer จากนั้นได้ทำการนับจำนวนเชื้อแต่ละ %T ด้วยวิธี Plate count เพื่อเป็นค่าที่ใช้แทนความเข้มข้นของเชื้อที่ใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อ *Vibrio* sp. 3 ชนิด ได้แก่ *V. harveyi, V. fluvialis*, และ *V. Cholerae*
2. สัตว์ทดลอง 3 ชนิด ได้แก่ กุ้งกุลาดำระยะ P15 จำนวน 1,500 ตัว กุ้งขาวระยะ P15 จำนวน 1,500 ตัว และปลากะพงขาวขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 1,500 ตัว
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Triptic soy broth (TSB)
4. Plate 60 ใบ
5. ไมโครปิเปต ขนาด 1~1000 µl และ 1~10 ml
6. หลอดทดลอง 60 หลอด
7. Flask 250 ml 3 ใบ
8. Flask 50 ml 3 ใบ
9. กระบะพลาสติก 3 ใบ
10. ถังพักน้ำ 2 ใบ
11. เครื่อง Spectrometer

วิธีการทดลอง

1. หาความเข้มข้น (%T) ของเชื้อ *V. harveyi, V. fluvialis* และ *V. Cholerae*

มีวิธีการทดลองดังนี้

(1) นำเชื้อ *V. harveyi, V. fluvialis*, และ *V. cholerae* ที่บริสุทธิ์จากคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เลี้ยงด้วยสูตรอาหารดังนี้ TSA 30g/l, NaCl 20g/l และ Agar 18g/l

(2) ขยายเชื้อลงใน Flask ขนาด 250 ml ซึ่งบรรจุอาหารเหลว 100 ml จากนั้นนำไปวางบนเครื่องเขย่า 150 รอบ/นาที ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (ภาพที่ 6)

(3) แบ่งเชื้อที่ได้ใส่หลอด Centrifuge 4 หลอด หลอดละ 10 ml ปิดฝา แล้วนำเข้าเครื่อง Centrifuge ที่ 3,000 rpm อุณหภูมิ 4^{o}C เป็นเวลา 15 นาที (ภาพที่ 7)

(4) รินส่วนใสทิ้ง แล้วเติมน้ำเกลือ (0.85%NaCl) ลงในหลอด หลอดละ 5 ml ปิดฝา ผสมให้ตะกอนกับน้ำเกลือเข้ากัน

(5) นำเข้าเครื่อง Centrifuge อีกครั้งที่ 3,000 rpm อุณหภูมิ 4^{o}C เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(6) รินส่วนใสทิ้ง แล้วเติมน้ำเกลือลงไปทั้ง 4 หลอดหลอดละ 5 ml ผสมให้ตะกอนกับน้ำเกลือเข้ากัน แล้วจากนั้นเทของเหลวที่ได้ลงใน Flask ขนาด 100 ml (ภาพที่ 8)

(7) เจือจางเชื้อใน Flask แล้วนำไปวัด %T ที่ความยาวคลื่น 660 nm แล้วนำมาคำนวนแบ่งการเจือจางเป็น 90, 80, 70, 60 และ 50%T ตามลำดับ

(8) ทำ Plate count (โดยที่ *V. harveyi* เจือจาง 10^{-4} ส่วน *V. fluvialis* และ *V. Cholerae* เจือจาง 10^{-6}) Suspension จาก Tube ที่ได้เลือกไว้ปริมาณ 0.1 ml หยดตรงกลางจานเพาะเลี้ยง TSA ใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมจุ่มแอลกอฮอล์ 95% เผาไฟทิ้งให้เย็น ป้ายไปมาตลอดเนื้อที่บนจานเพาะเชื้อจนแห้ง แล้วไปบ่มใน Incubator ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

(9) นับโคโลนี โดยเลือกจานเพาะเชื้อ ที่มีแบคทีเรียอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี และคำนวณหาจำนวนเซลล์แบคทีเรียต่อ 1 ml (ภาพที่ 9)

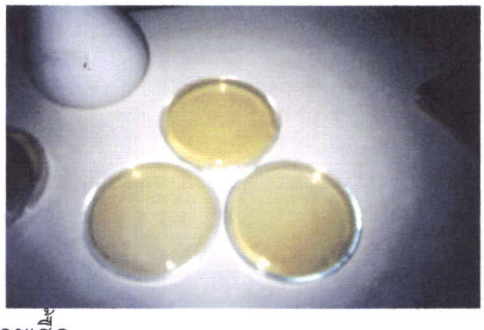
(10) ดำเนินการเหมือนกันทั้ง 3 ชนิด

ภาพที่ 6 ขยายเชื้อลงใน Flask ขนาด 250 ml ซึ่งบรรจุอาหารเหลว 100 ml

ภาพที่ 7 นำเข้าเครื่อง Centrifuge ที่ 3,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที

ภาพที่ 8 เชื้อบริสุทธิ์ความเข้มข้นสูงใน Flask ขนาด 100 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 นับโคโลนีในจานเพาะเชื้อ

2. หาอัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน

วางแผนทดลองแบบสุ่มบล็อคสมบูรณ์ในแฟคทอเรียลชนิด 2 ปัจจัย โดยที่บล็อค คือ ชนิดของสัตว์ทดลอง 3 ชนิด ได้แก่ กุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ปัจจัยที่ 1 คือชนิดของเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ *V. harveyi*, *V. fluvialis* และ *V. cholerae* ปัจจัยที่ 2 คือ ระดับความเข้มข้นของเชื้อ 3 ระดับ ได้แก่ 90%T, 70%T และ 50%T และกลุ่ม Control ทั้งหมดมี 3 ซ้ำ มีแผนผังการทดลองตามภาพที่ 10 โดยมีขั้นตอนการทดลองดังต่อไปนี้

(1) นำสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิดมาเลี้ยงปรับสภาพด้วยน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยการเติมคลอรีน 30 ppm (ก่อนใช้น้ำจะมีการตรวจสอบคลอรีน) นาน 1 สัปดาห์ ในกระบะพลาสติก (ภาพที่ 11) ใช้กุ้งระยะ Postlarva15 และปลากะพงขนาด 0.5 เซนติเมตร สำหรับการทดลอง

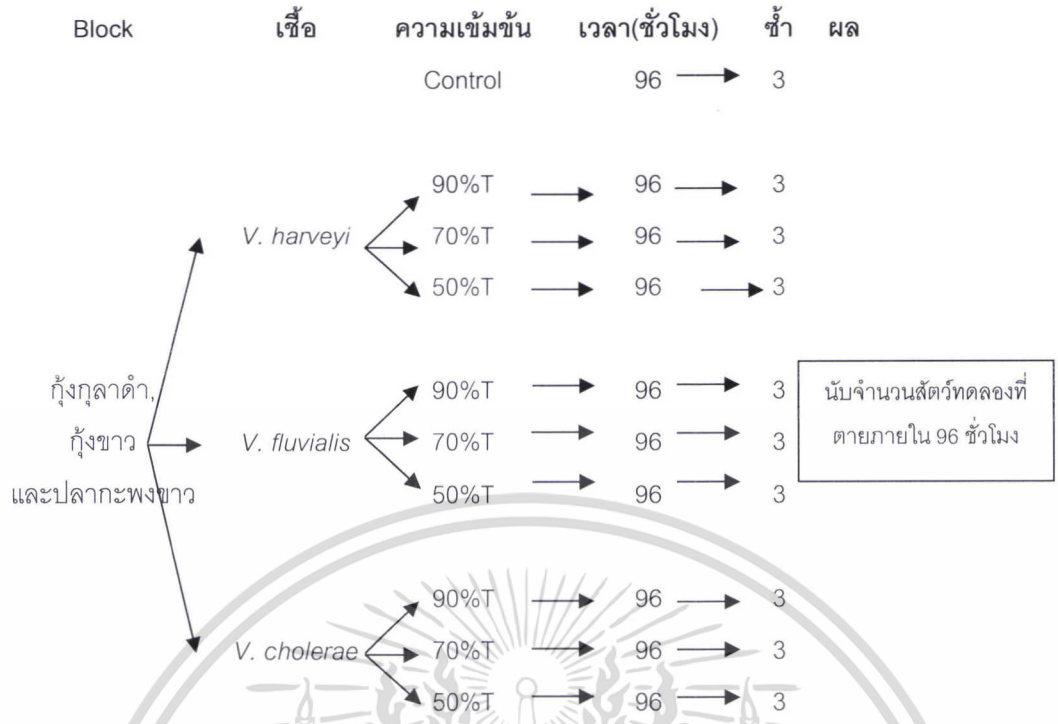
(2) กุ้งกุลาดำ และกุ้งขาวได้ใช้อาหารสำเร็จรูปเบอร์ 0 สำหรับอาหารปลากะพงได้ใช้อาร์ทีเมีย

(3) นำกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพง จำนวน 150 ตัว มาแช่ในน้ำทะเลที่มีเชื้อ *V. harveyi*, *V. fluvialis* และ *V. cholerae* โดยมีระดับความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ 90%T, 70%T และ 50%T ตามลำดับ (ภาพที่ 12)

(4) แช่สัตว์ทดลองนาน 30 นาที จากนั้นนำสัตว์ทดลองมาล้างกับน้ำทะเล 1-2 ครั้ง

(5) นำไปเลี้ยงต่อโดยมีจำนวน 50 ตัวต่อ 1 ซ้ำ จำนวน 3 ซ้ำ พร้อมให้อาหารปกติ สำหรับกลุ่มควบคุมเลี้ยงในลักษณะเดียวกัน แต่สัตว์ทดลองจะไม่ได้รับเชื้อ

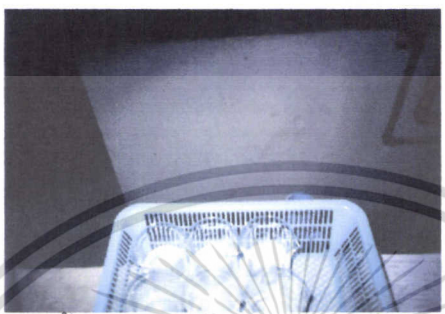
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
99453



ภาพที่ 10 แผนผังการทดลองหาอัตรารอดในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 11 เลี้ยงสัตว์ทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ในกระบะพลาสติก



ภาพที่ 12 การนำสัตว์ทดลองไปรับเชื้อโดยแช่ในบีกเกอร์นาน 30 นาที

การบันทึกข้อมูล

(1) หาความเข้มข้น (%T) ของเชื้อ *V. harveyi*, *V. fluvialis* และ *V. Cholerae*

บันทึกจำนวนโคโลนีในแต่ละ Dilution ที่มีจำนวนอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี

(2) หาอัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่ได้รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกัน

บันทึกจำนวนสัตว์ทดลองที่ตายในเวลา 96 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูล

(1) หาความเข้มข้น (%T) ของเชื้อ *V. harveyi*, *V. fluvialis* และ *V. Cholerae*

<u>การคำนวณ</u>

จำนวนโคโลนีของ Dilution ที่ 10^{-x} = Y โคโลนี และหยดตัวอย่าง 0.1 ml

เพราะฉะนั้น ตัวอย่างที่ต้องการนับมีแบคทีเรีย = $Y * 10 * 10^{x}$ โคโลนี/ml (cfu/ml)

(2) หาอัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่ได้รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกัน

<u>การคำนวณ</u>

อัตราการรอดตาย = (จำนวนที่รอด – จำนวนที่ตาย)/จำนวนที่เลี้ยงทั้งหมด*100

(3) วิเคราะห์อัตราการตาย และความแตกต่างของการตายของสัตว์ทดลอง ด้วยโปรแกรม Systat version 5.0 for Windows และ Spss version 10.0 for Windows

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ระยะเวลาการทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่ 1 กุมภาพันธ์ และสิ้นสุดการทดลอง 20 เมษายน 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20513

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความเข้มข้น (%T) ของเชื้อ *V. harveyi, V. fluvialis* และ *V. Cholerae*

ในการศึกษานี้ทำให้ทราบว่าที่ %T ต่าง ๆ ของเชื้อแต่ละชนิดนั้นมีปริมาณเจือจางอยู่ไม่เท่ากัน และใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการทดลองต่อไป

ตารางที่ 5 ปริมาณของเชื้อที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

เชื้อ	ระดับความเข้มข้น	จำนวนของเชื้อ (cfu/ml)
V. harveyi	90%T	$6.0\pm0.71 \times 10^{6}$
	70%T	$1.1\pm0.28 \times 10^{7}$
	50%T	$1.6\pm0.14 \times 10^{7}$
V. fluvialis	90%T	$3.5\pm0.71 \times 10^{7}$
	70%T	$2.8\pm0.21 \times 10^{8}$
	50%T	$6.6\pm0.78 \times 10^{8}$
V. cholerae	90%T	$6.5\pm0.71 \times 10^{7}$
	70%T	$1.6\pm0.00 \times 10^{8}$
	50%T	$4.0\pm0.21 \times 10^{8}$

2. อัตราการรอดตายในกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพงขาว ที่รับเชื้อ *Vibrio* sp. ในระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่า

(1) ชนิดสัตว์น้ำแต่ละชนิด เชื้อโรคไม่ส่งผลกระทบต่ออัตรารอดตายของสัตว์ทดลองทั้ง 3 ชนิด (ตารางที่ 6) โดยกุ้งกุลาดำ กุ้งขาวและปลากะพง มีอัตรารอดตายเท่ากับ 95.9%±5.38, 95.0%±5.50 และ 99.3%±1.78 ตามลำดับ เนื่องสัตว์น้ำแต่ละชนิดนั้นเมื่อมีอายุมากขึ้น จะมีระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย สามารถขับสารพิษ หรือเชื้อโรคได้ โดยการขับถ่ายออกทางลำไส้ เช่น ในกุ้งกุลาดำ (ปุณยนุช, 2544) ซึ่งในสัตว์น้ำที่มีขนาดเล็กพบว่า เมื่อนำลูกกุ้งกุลาดำ และกุ้งขาวมาทดสอบกับเชื้อ *V. harveyi* ที่ความเข้มข้นของเชื้อ 10^{3} cfu/ml พบว่าลูกกุ้งระยะ Zoea, Mysis, และ Postlarvae 1 จะมีอัตรารอดตายเพียง 25.8%, 47.1% และ 51.5% ตามลำดับ (Prayitno and Latchford, 1995) และกุ้งขาวมีอัตรารอดตาย 75.5±12.6%, 72.2±17.3% และ 80.8±11.3% ตามลำดับ แสดงว่าสัตว์น้ำที่มีอายุน้อยยังมีระบบภูมิคุ้มกันที่ต่ำ ร่างกายยังสามารถขับเชื้อโรคออกจากร่างกายได้ จึงไวต่อการรับเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

(2) ชนิดสัตว์ทดลองที่ได้รับเชื้อแต่ละชนิดส่งผลต่ออัตรารอดตายของสัตว์ทดลองโดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยพบว่าเชื้อ *V. harveyi, V. fluvialis* และ *V. Cholerae* มีอัตรารอดตายเท่ากับ 95.9%±4.58, 95.7%±5.40 และ 98.4%±3.90 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอัตรารอดในสัตว์เมื่อได้รับเชื้อแต่ละชนิดพบว่า อัตรารอดของสัตว์เมื่อได้รับเชื้อ *V. fluvialis* กับ *V. cholerae* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตามตารางที่ 7 พบว่าเชื้อ *V. fluvialis* มีอัตราการรอดตายของสัตว์น้ำต่ำที่สุด และเชื้อ *V. Cholerae* มีอัตรารอดตายสูงที่สุด

เมื่อวิเคราะห์อัตรารอดของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับเชื้อ *V. harveyi* พบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งกุลาดำ และกุ้งขาวมีแนวโน้มลดลงตามระดับความเข้มข้นของเชื้อที่สูงขึ้น ซึ่งมีอัตรารอดต่ำสุดที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อ 50%T หรือมีจำนวนของเชื้อเท่ากับ 1.60±0.141 X 10^7cfu/ml คือ 92.7%±3.67 และ 88.0%±2.69 ตามลำดับ ส่วนปลากะพงขาวนั้นมีอัตราการรอดตายสูง และไม่แตกต่างกันในระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกัน ส่วนปลาบางส่วนที่ตายลง 3.3±1.68% นั้นเกิดจากอาร์ทีเมียที่ได้ใช้ให้เป็นอาหารนั้นไม่พอต่อการเลี้ยงปลาบางส่วนจึงตาย ตามภาพที่ 13

เมื่อวิเคราะห์อัตรารอดของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับเชื้อ *V. fluvialis* พบว่าอัตราการรอดตายของกุ้งขาวมีแนวโน้มลดลงตามระดับความเข้มข้นของเชื้อที่สูงขึ้น ซึ่งมีอัตรารอดต่ำสุดที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อ 90%T หรือมีจำนวนของเชื้อเท่ากับ3.5±0.71 X 10^7cfu/ml คือ 89.3%±5.98 ซึ่งโดยเฉลี่ยกุ้งขาวมีอัตรารอดต่ำสุดเมื่อเทียบกับกุ้งกุลาดำและปลากะพงขาว ส่วนปลากะพงขาวนั้นมีอัตราการรอดตายสูง และไม่แตกต่างกันในระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกัน แต่โดยรวมแล้วสัตว์ทดลองมีอัตราการรอดตายเฉลี่ยต่ำที่สุดที่เชื้อชนิดนี้ ตามภาพที่ 14

และเมื่อวิเคราะห์อัตรารอดของของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับเชื้อ *V. cholerae* พบว่าอัตราการตายของกุ้งกุลาดำ และปลากะพงขาวมีแนวโน้มลดลงตามระดับความเข้มข้นของเชื้อที่สูงขึ้น ซึ่งมีอัตรารอดต่ำสุดที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อ 50%T หรือมีจำนวนของเชื้อเท่ากับ 4.0±0.21X 10^7cfu/ml คือ 92.0%±0.67 และ 98.0%±1.15 ตามลำดับ ซึ่งพบว่ากุ้งกุลาดำจะมีอัตราการรอดตายต่ำที่สุด ส่วนกุ้งขาวที่มีอัตราการตายลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของเชื้อที่ 50% นั้นเกิดจากมีความผิดพลาดเนื่องจากการนับสัตว์ทดลองที่ตาย ตามตารางที่ 15

(3) ระดับความเข้มข้นแต่ละระดับมีอัตรารอดแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ 90%T, 70%T และ 50%T มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 96.9±5.03, 97.6±3.28 และ 95.6±5.78 ตามลำดับ เนื่องมาจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายของสัตว์น้ำสามารถขับสารพิษ หรือเชื้อโรค โดยการขับถ่ายออกทางลำไส้ จึงทำให้สัตว์ได้รับจำนวนเชื้อได้เพียงจำนวนหนึ่งเท่านั้น เพื่อเป็นการป้องกันการเกิดอันตรายต่อร่างกายในขั้นแรก เช่น ในกุ้งกุลาดำ (ปุณยนุช, 2544) แต่ถ้าร่างกายสัตว์น้ำอ่อนแอมีระบบภูมิคุ้มกันต่ำลง จะทำให้สัตว์ติดเชื้อ และสามารถแสดงอาการได้อย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(4) เมื่อพิจารณาการกระทำร่วมระหว่างชนิดของเชื้อ กับระดับความเข้มข้นของเชื้อพบว่าไม่มีการกระทำร่วมของทั้ง 2 ปัจจัยดังกล่าว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P> 0.05) ซึ่งเป็นอิสระต่อกัน

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวน

Source	Sum of squares	df	Mean square	F-ratio	P
ชนิดของสัตว์ (Block)	59.654	2	29.827	1.609	0.207
ชนิดของเชื้อ	244.543	2	122.272	6.596	0.002*
ระดับความเข้มข้น	125.136	2	62.568	3.375	0.051
ชนิดของเชื้อ x ระดับความเข้มข้น	138.272	4	34.568	1.865	0.126
Error	1297.679	70	18.538		

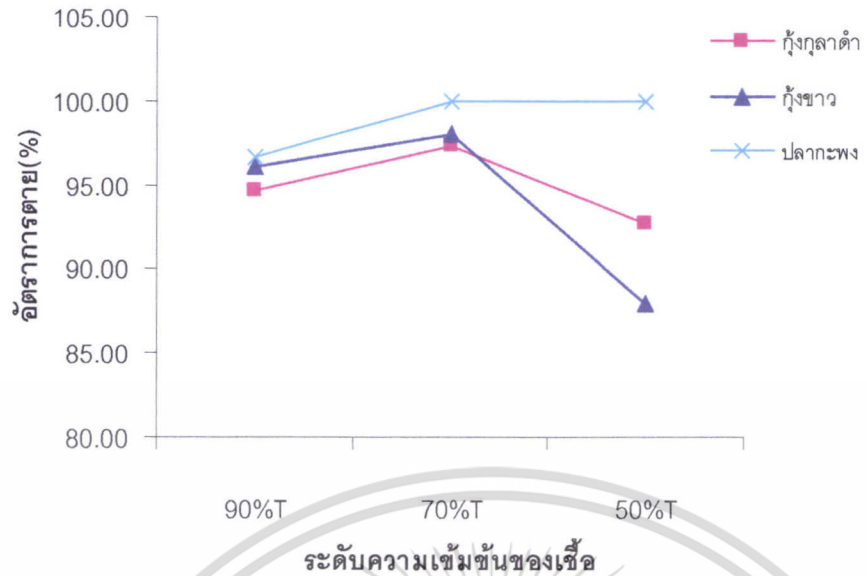
หมายเหตุ * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ P<0.05

ตารางที่ 7 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของอัตรารอดกับชนิดของเชื้อ

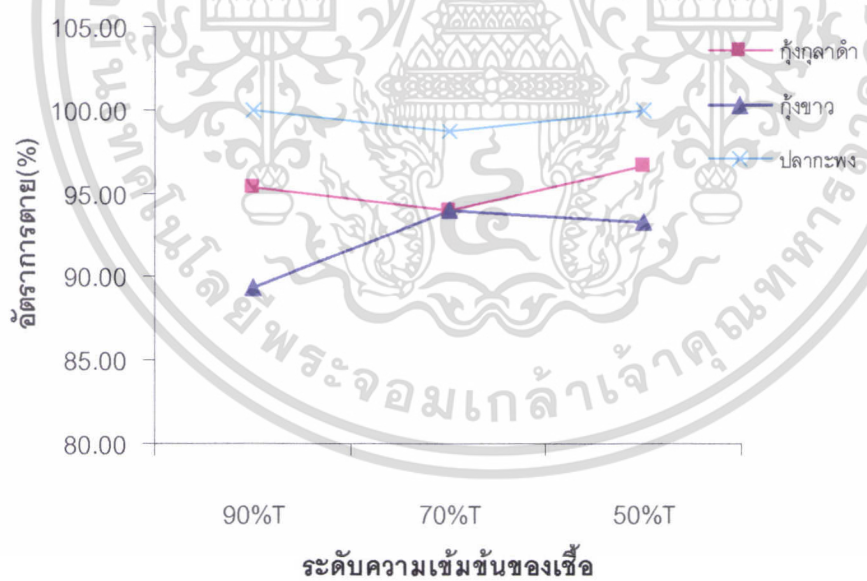
(I) STRAIN	(J) STRAIN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
V. harveyi	*V. fluvialis*	0.2222	1.2855	.863	-2.3371	2.7815
	V . cholerae	-2.5185	1.2855	.054	-5.0778	4.076E-02
V. fluvialis	*V. harveyi*	-0.2222	1.2855	.863	-2.7815	2.3371
	V. cholerae	-2.7407*	1.2855	.036	-5.3000	-0.1815
V. cholerae	*V. harveyi*	2.5185	1.2855	.054	-4.0756E-02	5.0778
	V. fluvialis	2.7407*	1.2855	.036	0.1815	5.3000

หมายเหตุ * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ P<0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

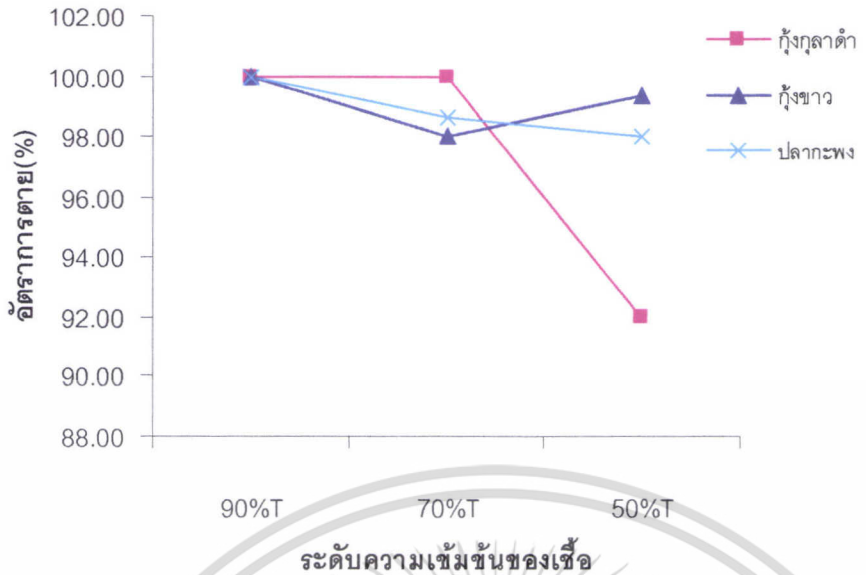


ภาพที่ 13 อัตรารอดของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับเชื้อ *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกันเป็นเวลา 96 ชั่วโมง



ภาพที่ 14 อัตรารอดของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับเชื้อ *V. fluvialis* ที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกันเป็นเวลา 96 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 15 อัตรารอดของสัตว์ทดลองเมื่อได้รับเชื้อ *V. cholerae* ที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

1. กุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และปลากะพง หลังจากได้รับเชื้อ *Vibrio* sp. แล้วมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 95.9%±5.38, 95.0%±5.50 และ 99.3%±1.78 ตามลำดับ

2. สัตว์น้ำเมื่อได้รับเชื้อ *V. harveyi*, *V. fluvialis* และ *V. Cholerae* มีอัตรารอดตายเท่ากับ 95.9%±4.58, 95.7%±5.40 และ 98.4%±3.90 ตามลำดับ

3. สัตว์น้ำเมื่อได้รับระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ 90%T, 70%T และ 50%T มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 96.9±5.03, 97.6±3.28 และ 95.6±5.78 ตามลำดับ

4. เมื่อพิจารณาการกระทำร่วมระหว่างชนิดของเชื้อ กับระดับความเข้มข้นของเชื้อพบว่าไม่มีการกระทำร่วมของทั้ง 2 ปัจจัย

ข้อเสนอแนะ

1. ในการนับจำนวนสัตว์นั้น ต้องมีความระมัดระวังอย่างยิ่ง เพื่อป้องการสัตว์ตายเนื่องจากการบอบช้ำจากนับ เพราะสัตว์มีความอ่อนแอลงเมื่อได้รับเชื้อแล้ว

2. ต้องปิดฝาภาชนะที่ใช้เลี้ยงสัตว์ทดลองเพื่อป้องกันการกระโดดออกมาตาย ทำให้ผลการทดลองมีความคลาดเคลื่อนได้

3. การบันทึกผลนั้นควรนับสัตว์ทดลองที่ตายควบคู่กับสัตว์ทดลองที่ยังมีชีวิต รวมทั้งตรวจดูรอบ ๆ ภาชนะเสมอว่ามีสัตว์ทดลองหลุดรอด หรือดูภายในภาชนะว่าสัตว์ทดลองตายเนื่องจากปัจจัยทดลอง หรือเพราะกัดกันเอง

4. ช่วงทดลองหมั่นเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน ประมาณ 1/3 ของภาชนะที่ใช้เลี้ยงสัตว์ทดลอง เพื่อกำจัดของเสีย และเศษซากสัตว์ทดลองที่ตาย

5. ควรให้อาหารบ่อย ๆ แต่น้อย ๆ เพื่อให้สัตว์ทดลองกินอาหารให้หมด และไม่เหลือตกค้างเป็นของเสีย

6. ใส่ออกซิเจนขณะที่ให้สัตว์รับเชื้อ ป้องกันการขาดออกซิเจนตาย

7. ควรให้อาหารแก่ปลากะพงขาวอย่างเพียงพอ เพื่อป้องกันการกินกันเอง และแยกปลาที่มีขนาดใหญ่ในกลุ่มทดลองออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์. 2537. โรคและพยาธิของสัตว์น้ำ. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี 175 น.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2000. โรคติดเชื้อแบคทีเรียเรืองแสง. กุ้งไทย 2000 : 169-170.

บุณยนุช นำโชควิริยะ. 2544. การใช้โพรไบโอติกควบคุมโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ. รายงานสัมมนาทางวิชาการปีการศึกษา 2544. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. น. 5-16.

นุชจรินทร์ เกตุนิล. 2546. แนวโน้มการบริโภคอาหารไทยในสหรัฐอเมริกา. วารสารสถาบันอาหาร 5(80) : 2546.

Prayitno, S.B. and J.W. Latchford. 1995. Experimental infections of crustaceans with luminous bacteria related to *Photobacterium* and *Vibrio*. Effect of salinity and pH on infectiosity. Aquaculture. 132(1-2): 105-112.

Rengpipat, S., W. Phianphak, S. Piyatiratitivorakul. and P. Menasveta. 1998. Effects of probiotic bacterium on black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) survival and growth. Aquaculture. 167(3-4): 301-313.

Meunpol, O., K. Lopinyosiri. and P. Menasveta. 2003. The effect of ozone and probiotic on the survival of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Aquaculture. 220: 437-448.

Sung, H., H. Li, F. Tsai, Y. Ting. and W. Chao. 1999. Changes in the composition of *Vibrio* communities in pond water during tiger shrimp (*Penaeus monodon*) cultivation and in the hepatopancreas of healthy and diseased shrimp. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 236: 261-271.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alapide-Tendencia, E.V. and L.A. Dureza. 1997. Isolation of Vibrio spp. from *Penaeus monodon* (Fabricius) with red disease syndrome. Aquaculture. 154: 107-114.

Karunasagar, I., R. Pai, G.R. Malathi. and I. Karunasagar. 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture. 128: 203-209

Roque, A. and B. Gomez-Gil. 2003. Therapeutic effect of enrofloxacin in an experimental infection with a luminescent *Vibrio harveyi* in *Artemia Franciscana* Kellog 1906. Aquaculture. 220: 37-42.

Gabriel, A., R. Vazquez-Juarez and F. Ascencio. 2001. Difference in the susceptibility of American white shrimp larval substage (*Litopenaeus vannamei*) to four species. Journal of Invertebrete Pathology. 78: 215-219.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณของเชื้อ *V. harveyi* ที่ %T ต่าง ๆ

%T (ที่ต้องการ)	%T (วัดจริง)	จำนวนโคโลนีที่เจือจาง10^{-4}เท่า	เฉลี่ย	จำนวนเชื้อ (cfu/ml)
100	100	0	0.00	0.00
90	84.6	55	60.0±7.07	6.0±0.71 X 10^{6}
		65		
80	70.2	87	85.5±2.12	8.6±0.21 X 10^{6}
		84		
70	61.2	106	108.0±2.83	1.1±0.28 X 10^{7}
		110		
60	52.2	147	151.0±5.657	1.5±0.57 X 10^{7}
		155		
50	45	161	160.0±1.414	1.6±0.14 X 10^{7}
		159		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 ปริมาณของเชื้อ *V. fluvialis* ที่ %T ต่าง ๆ

%T (ที่ต้องการ)	%T (วัดจริง)	จำนวนโคโลนีที่เจือจาง10^{-6}เท่า	เฉลี่ย	จำนวนเชื้อ (cfu/ml)
100	100	0	0.00	0.00
90	84.6	4	3.5±0.71	3.5±0.71 X 10^{7}
		3		
80	70.2	13	15.0±2.83	1.5±0.28 X 10^{8}
		17		
70	61.2	26	27.5±2.12	2.8±0.21 X 10^{8}
		29		
60	52.2	44	38.0±8.49	3.8±0.85 X 10^{8}
		32		
50	45	71	65.5±7.78	6.56±0.78 X 10^{8}
		60		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 ปริมาณของเชื้อ *V. cholerae* ที่ %T ต่าง ๆ

%T (ที่ต้องการ)	%T (วัดจริง)	จำนวนโคโลนีที่เจือจาง10^{-6}เท่า	เฉลี่ย	จำนวนเชื้อ (cfu/ml)
100	100	0	0.00	0.00
90	84.6	7	6.5±0.71	6.5±0.71 X 10^{7}
		6		
80	70.2	18	17.0±1.41	1.7±0.14 X 10^{7}
		16		
70	61.2	16	16.0±0.00	1.6±0.00 X 10^{8}
		16		
60	52.2	16	16.5±0.71	1.7±0.07 X 10^{8}
		17		
50	45	41	39.5±2.12	4.0±0.21 X 10^{8}
		38		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 จำนวนตัวของกุ้งกุลาดำที่ตายเมื่อทดสอบกับ *V. harveyi, V. fluvialis* และ *V. cholerae*

	V. harveyi				*V. fluvialis*				*V. Cholerae*			
	24	48	96	รวม	24	48	96	รวม	24	48	96	รวม
control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90%T	2	4	0	6	3	2	1	6	0	0	0	0
	0	2	0	2	0	0	1	1	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
เฉลี่ย				2.67				2.33				0.00
70%T	0	2	0	2	3	3	1	7	0	0	0	0
	0	2	0	2	0	1	1	2	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
เฉลี่ย				1.33				3.00				0.00
50%T	1	4	0	5	3	0	1	4	0	0	0	0
	0	2	0	2	0	0	1	1	2	0	0	2
	0	3	1	4	0	0	0	0	8	1	1	10
เฉลี่ย				3.67				1.67				4.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 จำนวนตัวของกุ้งขาวที่ตายเมื่อทดสอบกับ *V. harveyi*, *V.f luvialis* และ *V.cholerae*

	V. harveyi				*V. fluvialis*				*V. Cholerae*			
	24	48	96	รวม	24	48	96	รวม	24	48	96	รวม
control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90%T	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0	0	0
	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	1	9	10	0	0	0	0
เฉลี่ย				2.00				5.33				0.00
70%T	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0	2	2
	0	0	0	0	0	1	2	3	0	0	1	1
	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0
เฉลี่ย				1.00				3.00				1.00
50%T	1	0	3	4	0	1	6	7	0	0	0	0
	6	2	1	9	0	0	3	3	0	0	0	0
	3	1	1	5	0	0	0	0	0	0	1	1
เฉลี่ย				6.00				3.33				0.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 6 จำนวนตัวของปลากะพงขาวที่ตายเมื่อทดสอบกับ *V. harveyi*, *V. fluvialis* และ *V. cholerae*

	V. harveyi				*V. fluvialis*				*V. Cholerae*			
	24	48	96	รวม	24	48	96	รวม	24	48	96	รวม
control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90%T	0	2	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
เฉลี่ย				1.67				0.00				0.00
70%T	0	0	0	0	0	2	0	2	1	0	0	1
	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
เฉลี่ย				0.00				0.67				0.67
50%T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
เฉลี่ย				0.00				0.00				1.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7 อัตรารอดตายของสัตว์ทดลองแต่ละชนิด เมื่อได้รับเชื้อ และระดับความเข้มข้นของเชื้อที่ต่างกัน เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

ชนิดของเชื้อ	ระดับความเข้มข้นของเชื้อ	ชนิดของสัตว์		
		กุ้งกุลาดำ	กุ้งขาว	ปลากะพงขาว
V. harveyi	90%T	88.00	94.00	92.00
		96.00	94.00	98.00
		100.00	100.00	100.00
	70%T	96.00	94.00	100.00
		96.00	100.00	100.00
		100.00	100.00	100.00
	50%T	90.00	92.00	100.00
		96.00	82.00	100.00
		92.00	90.00	100.00
V. fluvialis	90%T	88.00	94.00	100.00
		98.00	94.00	100.00
		100.00	80.00	100.00
	70%T	86.00	94.00	96.00
		96.00	94.00	100.00
		100.00	94.00	100.00
	50%T	92.00	86.00	100.00
		98.00	94.00	100.00
		100.00	100.00	100.00
V. cholerae	90%T	100.00	100.00	100.00
		100.00	100.00	100.00
		100.00	100.00	100.00
	70%T	100.00	96.00	98.00
		100.00	98.00	98.00
		100.00	100.00	100.00
	50%T	100.00	100.00	98.00
		96.00	100.00	98.00
		80.00	98.00	98.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้