

ภาคผนวก

## 1. การคำนวณสมรรถภาพการผลิต

1.1 น้ำหนักเพิ่มเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (weight gain, WG);

$$\text{WG (กรัม)} = \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้นการทดลอง}$$

1.2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน (specific growth rate, SGR);

$$\text{SGR (\%/day)} = \frac{\ln(\text{น้ำหนักสุดท้าย}) - \ln(\text{น้ำหนักเริ่มต้น}) \times 100}{\text{ระยะเวลาทดลอง}}$$

1.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio, FCR);

$$\text{FCR} = \frac{\text{น้ำหนักอาหาร (แห้ง) ที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

1.4 อัตราการกินอาหาร (feed intake, FI);

$$\text{อัตราการกินอาหาร(กรัม/ตัว/วัน)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินต่อปลา 1 ตัว}}{\text{จำนวนวัน}}$$

1.5 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio, PER);

$$\text{PER} = \frac{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่ม (กรัม)}}{\text{โปรตีนที่กิน (กรัม)}}$$

### 1.6 การใช้ประโยชน์โปรตีนสุทธิ (net protein utilization, NPU)

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่สะสมในตัวปลา} = \frac{B-B_0}{I} \times 100$$

B = ปริมาณโปรตีนในตัวปลาขณะเสร็จสิ้นการทดลอง (น้ำหนักแห้ง)

B<sub>0</sub> = ปริมาณโปรตีนในตัวปลาขณะเริ่มการทดลอง (น้ำหนักแห้ง)

I = ปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ปลากิน (น้ำหนักแห้ง)

### 1.7 ต้นทุนการผลิตต่อปลา 1 กิโลกรัม

ต้นทุนการผลิต = ต้นทุนค่าอาหาร 1 กิโลกรัม x อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

## 2. การเตรียมเชื้อ *A. hydrophila*

2.1 เชื้อ *A. hydrophila* จากกรมประมง เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Aromonas medium base (RYAN) จนได้โคโลนีเดี่ยว สีเขียวอมน้ำตาล

2.2 แยกเชื้อเก็บไว้ใน slant (ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส)

2.3 นำเชื้อที่เก็บไว้ใน slant จากข้อ 2.2 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient brost ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 18 – 24 ชั่วโมง ให้ได้เซลล์ประมาณ 10<sup>9</sup> เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตรวจสอบจำนวนแบคทีเรียด้วยวิธี total plate count

## 3. การกระตุ้นการเกิดโรคด้วยวิธีการแช่ (baht treatment)

3.1 นำเชื้อ *A. hydrophila* ที่เลี้ยงจากข้อ 2.2 ปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ด้วยความเร็วประมาณ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้แบคทีเรียตกตะกอน

3.2 ล้างทำความสะอาดแบคทีเรียด้วยน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ด้วยความเร็วประมาณ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ทำซ้ำ 2 ครั้ง

3.3 หลังจากล้างครั้งสุดท้ายจะได้แบคทีเรียตกตะกอนอยู่ใต้หลอดทดลองนำเชื้อที่ได้ไปใส่ในตู้ปลาที่มีปริมาตรน้ำ 70 ลิตร เพื่อให้มีเชื้อในตู้ปลาประมาณ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

Aromonas medium base (RYAN) (Aoxid Ltd.) ประกอบด้วยส่วนผสมดังนี้

Proteose peptone	5.0 g
Yeast extract	3.0 g
L. Lysine monohydrochloride	3.5 g
L. Arginine monohydrochloride	2.0 g
Sorbitol	3.0 g
Inositol	2.5 g
Lactose	1.5 g
Xylose	3.75 g
Bile Salts No.3	3.0 g
Sodium thiosulphate	10.67 g
Sodium chloride	5.0 g
Ferric ammonium citrate	0.8 g
Bromothymol blue	0.04 g
Thymol blue	0.04 g
Agar	12.5 g
Distilled water	1.0 L
Final pH 8.0 + 0.2	