

# การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายกลวง (*Solieria robusta* (Greville) Kylin)

## ในการยับยั้งและป้องกันเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ

(*Penaeus monodon* Fabricius, 1798)

กัญญารัตน์ สุนทรธา\* และ ฤทธิกร ศรีแก้ว  
ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสงคราม

### บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายกลวงในการยับยั้งและป้องกันเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว (WSSV) ในกุ้งกุลาดำโดยผสมสารสกัดยับยั้งสาหร่ายกลวงที่ระดับความเข้มข้น 25, 50, 250 และ 500 พีพีเอ็ม กับเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวที่ทำให้กุ้งกุลาดำตาย 100 % หลังจากนั้นนำไปฉีดเข้ากล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 8.75 กรัม แล้วเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายกลวงระดับความเข้มข้น 25 พีพีเอ็มที่ฉีดเข้าไปในกุ้งกุลาดำสามารถยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ดีที่สุด โดยกุ้งมีอัตราการรอดตาย 88.89 % เมื่อเทียบกับสารสกัดในอัตรา 50, 250 และ 500 พีพีเอ็ม ซึ่งพบอัตราการรอดตาย 51.85, 59.26 และ 0 % ตามลำดับ เมื่อประยุกต์ใช้สาหร่ายกลวงอบแห้ง 15 % เป็นส่วนผสมผลิตเป็นอาหารอัดเม็ดสำเร็จรูปให้กุ้งกินพร้อมรับเชื้อ และก่อนรับเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว 3, 7, 15 และ 30 วัน พบว่ากุ้งที่กินอาหารผสมสาหร่ายอัดเม็ดก่อนได้รับเชื้อ 7 วัน มีอัตราการรอดตาย 74.07 % ซึ่งดีกว่ากุ้งที่กินอาหารผสมสาหร่ายอัดเม็ดพร้อมรับเชื้อและก่อนรับเชื้อ 3, 15 และ 30 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยมีอัตราการรอดตาย 0, 33.33 และ 0 % ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำสาหร่ายกลวง *Solieria robusta* ไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อเลี้ยง เพื่อยับยั้งและป้องกันเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวต่อไป

**คำสำคัญ:** สาหร่ายกลวง กุ้งกุลาดำ เชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

\* ผู้รับผิดชอบ : ๑๓๕ หมู่ ๑๑ ต. ลาดใหญ่ อ. เมือง จ. สมุทรสงคราม ๗๕๐๐๐ โทร. ๐ ๓๔๗๑ ๖๑๑๕

e-mail : [kunyarut2007@yahoo.co.th](mailto:kunyarut2007@yahoo.co.th)

**Study on Efficiency of *Solieria robusta* (Greville ) Kylin for Inhibition and  
Prevention of White Spot Syndrome Virus in Black Tiger Shrimp  
( *Penaeus monodon* Fabricius, 1798 )**

**Kunyarut Suntara\* and Ritthikorn Sornkaew**

Samutsongkhram Coastal Fisheries Research and Development Center

**Abstract**

Two experiments have been set to determine the efficiency of *Solieria robusta* (Greville) Kylin crude extract on prevention and inhibition of white spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp. In the first experiment, seaweed crude extract was mixed with WSSV solution at 25, 50, 250 and 500 part per million (ppm). The mixture solution was injected into black tiger shrimp which has average body weight was 8.75 gram. After 15 days of injection, shrimp which was injected with 25 ppm solution had the highest survival rate (88.89 %). Shrimp which was injected with 50, 250 and 500 ppm solution had 51.85, 59.26 and 0 % of survival rate respectively. The second experiment, 15 % of dried seaweed was mixed in the shrimp feed and used to feed black tiger prawn at 3, 7, 15 and 30 days before WSSV injection. The survival rate after injection with WSSV was 0, 74.07, 33.33 and 0 % in shrimp fed experimental diet at 3, 7, 15 and 30 days before injection respectively. Shrimp fed experimental diet for 7 days before injection had the highest survival rate (74.07 %) and was significantly higher than other treatments ( $P < 0.05$ ). From this study, *Solieria robusta* had a potential on using to prevent and inhibition of WSSV in black tiger prawn.

**Key words** : *Solieria robusta*, *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798), White Spot Syndrome Virus

\* Corresponding author : 135 Moo 11, Lad – yai Sub-district, Muang District, Samutsongkram Province 75000. Tel. 0 3471 6115 e-mail : kunyarut2007@yahoo.co.th

## คำนำ

ประเทศไทยเคยเป็นผู้นำในการผลิตกุ้งกุลาดำ และมีรายได้เข้าประเทศจากการส่งออกกุ้งกุลาดำ เป็นมูลค่าปีละไม่น้อยกว่า 60,000 ล้านบาท อย่างไรก็ตามปัญหาการระบาดของโรคไวรัส โดยเฉพาะไวรัส ตัวแดงดวงขาวซึ่งเป็นไวรัสชนิด DNA มีความรุนแรงมาก สามารถแพร่ระบาดในแหล่งเลี้ยงกุ้งได้อย่าง รวดเร็วและสร้างความเสียหายให้แก่ผู้เลี้ยงกุ้งทั้งในประเทศ และอีกหลายประเทศทั่วโลกทั้งในทวีปเอเชีย อเมริกา และประเทศในกลุ่มอเมริกาใต้ เชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวสามารถทำให้กุ้งในบ่อเลี้ยงตายได้มากถึง ๙๐ และเป็นตัวการสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายในอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งของเอเชียในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา ในประเทศไทยมีรายงานพบการระบาดของโรคตัวแดงดวงขาวที่เกิดจากเชื้อไวรัส White Spot Syndrome Virus (WSSV) เป็นครั้งแรกเมื่อประมาณเดือนตุลาคม 2537 ในเขตอำเภอรอนนาค และอำเภोजะนะ จังหวัด สงขลา กุ้งที่ป่วยมีลักษณะ ลำตัวสีแดงมีดวงขาวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 - 2.0 มิลลิเมตร ทั้งบริเวณส่วน หัวและลำตัว ว่ายอยู่บริเวณผิวน้ำหรือเกยขอบบ่อไม่มีแรงติดตัว กินอาหารลดลง ตัวนึ่ม ลอกคราบไม่ออก หรือลอกคราบแล้วไม่แข็งตัว และจะทยอยตายจนหมดบ่อหรือเกือบหมดบ่อภายใน 7 - 15 วัน ปลายปี พ.ศ. 2539 โรคไวรัสตัวแดงดวงขาวได้แพร่ระบาดไปทั่วประเทศอย่างรวดเร็ว และยังพบการระบาดของโรคนี จนถึงปัจจุบัน การแพร่กระจายของเชื้อโรคจะแพร่ไปกับน้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อ นอกจากจะถ่ายทอดผ่านทาง น้ำแล้ว สัตว์น้ำในธรรมชาติที่อาจเป็นพาหะได้แก่ กุ้ง เคย ปู หรือพาหะตัวน้ำที่เล็ก ซากกุ้งที่เป็นโรค เป็นต้น (จิราพร และคณะ, 2543)

ปัจจุบันพบว่าสาหร่ายทะเลหลายชนิดมีสารต่างๆที่สามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆได้ เช่น ลดความดัน ลดระดับคลอเรสเตอรอล ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ต่อต้านเชื้อเอดส์ เป็นต้น Reichelt and Borowitz (1984) ได้ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆของสารสกัดจากสาหร่ายสีแดง พบว่า สามารถใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรคที่ผิวหนังได้ Higg (1981) รายงานว่าสารในกลุ่ม Prostaglandins, Leukotrienes Thromboxanes และ Liposin ที่พบในสาหร่ายสีแดงเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Eicosanoid) รวมถึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ได้มีรายงานพบว่าส่วนของ Carbohydrate ในสาหร่ายหลาย ชนิดมีสารที่ยับยั้งเซลล์มะเร็ง เช่น *Sargassum* sp. ซึ่งไม่ได้มีผลโดยตรงแต่จะไปกระตุ้นภูมิคุ้มกัน สาร Carrageenan ซึ่งเป็น Polymeric SPS พบมากในกลุ่มสาหร่ายสีแดง ได้แก่ *Chondrus* sp. และ *Euchema* sp. สามารถปลดปล่อย Kinin มีผลยับยั้งการอักเสบติดเชื้ออย่างรุนแรง (Nakazawa et al., 1976) ในวงการแพทย์ ยังพบสารสกัดจากสาหร่ายสีแดงหลายชนิด เช่น *Chondrus* sp., *Euchema* sp., *Laurencia hybrida*, *Gracilaria lichenoides* มีประสิทธิภาพและคุณสมบัติที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน เป็นยา Antibiotic ต่อต้านและยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces indoles* (Konig and Wright, 1992) จากคุณสมบัติของ สาหร่ายกลุ่มสีแดงซึ่งพบสารต้านอนุมูลอิสระที่มีส่วนสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันและยับยั้งไวรัสได้ งานวิจัย ปัจจุบันมุ่งศึกษาประสิทธิภาพและความจำเพาะของคาร์ราจีแนนต่อการต้านเซลล์มะเร็ง การควบคุมระบบ

ภูมิคุ้มกัน การต้านทานไวรัส คาดว่าถ้ามีการตัดแปลงโครงสร้างทางเคมีของคาร์ราจีแนน ก็จะได้สารเคมีชนิดใหม่ที่สามารถยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส HIV เมื่อใช้ร่วมกับสารต้านไวรัสชนิดอื่นๆ นิภูฐารัตน์ และเขาวลัดถัน (2529) พบสารสกัดด้วยน้ำจาก phycocolloid บางชนิด เช่น agar, carrageenan และ iridophycan มีคุณสมบัติเป็นสารที่ยับยั้งการแข็งตัวของเลือด (anticoagulating blood compound) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดจากสาหร่ายสีแดง *Delesseria sanguinea* ให้ผลดีเท่ากับหรือดีกว่า heparin phycocolloid ชนิด algasol T331

สาหร่ายกวางหรือสาหร่ายโพรง (*Solieria robusta* (Greville) Kylin) เป็นสาหร่ายทะเลสีแดงชนิดหนึ่งที่พบในประเทศไทย อยู่ใน Division Rhodophyta, Family Solieriaceae พบในแหล่งน้ำที่มีความเค็มประมาณ 28 - 31 ส่วนในพันส่วน ชอบขึ้นในบริเวณพื้นที่ทราย บนเปลือกหอย เศษหิน หรือหินปะการัง พบอยู่ในระดับน้ำขึ้นน้ำลง ความลึกประมาณ 1- 5 เมตร สาหร่ายกวางมีลักษณะ เป็นพุ่มอวบน้ำ นุ่ม ความกว้างประมาณ 1 เซนติเมตร สามารถสูงได้ถึง 23 เซนติเมตร ส่วนที่ใช้ยึดเกาะเป็นรูปถ้วย แฉกแขนงได้หลายแบบมีทั้งแบบสลับ แบบคู่ และแตกแขนงจากจุดเดียวกัน แขนงเป็นรูปทรงกระบอกกว้างประมาณ 3 เซนติเมตร ปลายแหลม โคนแคบ ซิสโตคาร์ปเป็นรูปประจักษ์กว่า มีหลายสี เช่น สีน้ำตาลแกมเขียว สีดำ สีน้ำตาลแกมเหลือง และ สีชมพู (Pharm et al., 2011) ประโยชน์ในด้านการประมงหรือการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนิยมใช้เป็นพืชดูดซับธาตุอาหารที่เกิดจากการขับถ่ายของเสียหรือสารอาหารในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ใช้เป็นที่หลบซ่อนระหว่างการเพาะอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน นอกจากนี้สาหร่ายกวางยังสามารถนำมาสกัดสาร Carrageenan และสกัดวุ้น (Agar) ได้ ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร เครื่องดื่มรวมถึงเครื่องสำอาง แชมพู สบู่ สำหรับคุณค่าทางอาหารของสาหร่ายกวาง ประกอบด้วย โปรตีน 3.85 % ไขมัน 0.26% แคลเซียม 34,087 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เหล็ก 1,900 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ 50)

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสงคราม มีสาหร่ายกวาง (*Solieria robusta*) เจริญอยู่ในบ่อพักน้ำเป็นจำนวนมาก ข้อมูลการศึกษาวิจัยประโยชน์ของสาหร่ายกวางยังมีน้อย ผู้วิจัยจึงสนใจนำมาใช้ในการศึกษาทดลองยับยั้งและป้องกันเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำในครั้งนี้



ภาพที่ 1 สาหร่ายกวาง (*Solieria robusta* (Greville) Kylin)

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสาหร่ายกลวงในการยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายกลวงในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ

## วิธีดำเนินการ

### 1. การเตรียมน้ำทะเลและกุ้งทดลอง

#### 1.1 น้ำทะเลฆ่าเชื้อ

น้ำทะเลที่ใช้ในการทดลองเตรียมโดยการกรองด้วยถุงกรองผ้าสักหลาด มีความเค็ม 25 ส่วนในพัน ส่วน พีเอช 8.0 - 8.2 ฆ่าเชื้อด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พร้อมทั้งให้อากาศเป็นเวลา 7 วันเพื่อให้คลอรีนหมดฤทธิ์ก่อนใช้

#### 1.2 กุ้งทดลอง

นำ กุ้งกุลาดำที่มีสุขภาพแข็งแรงและปลอดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวจากบ่อเลี้ยงของเกษตรกร น้ำหนักประมาณ 8 - 10 กรัม จำนวน 1,000 ตัว มาพักไว้ในบ่อซีเมนต์ขนาด 30 ตัน ที่บรรจุน้ำทะเล ฆ่าเชื้อที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสงคราม เลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 4 ครั้ง เวลาประมาณ 07.00, 11.00, 15.00 และ 19.00 น. พร้อมทั้งให้อากาศผ่านหัวทรายตลอดเวลา ดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำ ทุกวันๆละ 30 % พักกุ้งไว้อย่างน้อย 7 วันเพื่อให้กุ้งคุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมก่อนนำไปใช้ทดลอง

### 2. การเตรียมสารสกัดหยาบสาหร่ายกลวง

รวบรวมสาหร่ายกลวงจากบ่อพักน้ำของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสงคราม ล้างด้วยน้ำสะอาด นำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นบดสาหร่ายให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น เตรียมสารสกัดหยาบสาหร่ายกลวงทำโดยแช่สาหร่ายผงในเอทิลแอลกอฮอล์ 70 % ในอัตราส่วน 1 : 10 (w/v) กวนให้สาหร่ายผงสัมผัสกับแอลกอฮอล์อย่างทั่วถึงวันละ 2 ครั้ง เมื่อครบ 7 วันแล้วจึง กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำของเหลวที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแห้งอัตโนมัติ (Rotary Evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนกระทั่งแห้ง คำนวณน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้โดยการ ชั่งน้ำหนัก ขวดก่อน และหลังการทำการระเหยแห้ง จากนั้นเติมสารโพลีไวนิลไพโรลิโดน (Polyvinylpyrrolidone) น้ำหนัก 4 เท่าของสารสกัดที่ได้ (w/w) และเติมเอทิลแอลกอฮอล์ 90 % เพื่อละลายสารสกัด แล้วนำไประเหยแห้งอีกครั้ง สุดท้ายจะได้สารสกัดหยาบจากสาหร่ายกลวงลักษณะเป็นเกล็ดสีขาวปิดฝาสนิทเก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสตามวิธีของ Herunsalee and Direkbusarakom (1993)

### 3. การเตรียมเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

นำกุ้งกุลาดำที่ตรวจยืนยันแล้วว่าติด เชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว มาตัดเหงือกบดผสมกับสารละลาย Lobster Haemolymph Medium (LHM) ในอัตราส่วน 1 : 10 (w/v) แล้วนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วน ที่เป็นของเหลวใส ( supernatant) กรองผ่านกระดาษกรอง ที่มีความละเอียด 0.45 ไมครอน เพื่อแยกแบคทีเรียออกเก็บ สัตว์เซลล์เชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว ไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ทดลอง

หาค่าความเข้มข้นของเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวที่ทำให้กุ้งตาย 100 % ภายในเวลา 10 วัน โดยเจือจาง เชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวที่เตรียมไว้ ครั้งละ 10 เท่า ด้วยสารละลาย LHM ปลอดเชื้อให้ได้ความเข้มข้น  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  และ  $10^{-8}$  แล้วฉีดเข้ากล้ามเนื้อปล้อง ที่ 3 ของกุ้งกุลาดำ ตัวละ 0.1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว สำหรับชุดควบคุม ฉีดด้วยสารละลาย LHM ปลอดเชื้อ ให้กุ้งกินอาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 4 มื้อ และเปลี่ยนถ่ายน้ำในช่วงเช้าทุกวัน บันทึกจำนวนกุ้งที่ตายทุกวัน จนครบ 10 วัน แล้วพิจารณาเลือกความเข้มข้นของเชื้อไวรัสที่ทำให้กุ้งทดลองตาย 100 % ภายในเวลา 10 วัน ซึ่งต่อจากนี้จะเรียกว่า เชื้อไวรัส L 100 เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

### 4. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสาหร่ายกลวงในการยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

#### 4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบสาหร่ายกลวงผสมกับเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

ละลายเกล็ดสารสกัดหยาบ สาหร่ายกลวงที่ได้จากข้อ 2 ด้วยน้ำเกลือ 1.5% ปลอดเชื้อ ให้ได้ระดับความเข้มข้น 1,000, 500, 100 และ 50 พีพีเอ็ม จากนั้นนำแต่ละระดับความเข้มข้นมาผสมกับเชื้อไวรัส L100 ในอัตราส่วน 1 : 1 ซึ่งจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 500, 250, 50 และ 25 พีพีเอ็ม ซึ่งต่อไปนี้จะเรียกว่า LS 500, LS 250, LS 50 และ LS 25 ตามลำดับ แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ ห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปฉีดเข้ากล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำปล้องที่ 3 ตัวละ 0.1 มิลลิลิตร ตามวิธีในข้อ 4.2

4.2 ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสาหร่ายกลวงในการยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด แบ่งออกเป็น 6 ชุดการทดลอง ใดๆละ 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม ฉีดสารละลาย LHM ผสมน้ำเกลือ 1.5% ปลอดเชื้อในอัตราส่วน 1 : 1

ชุดการทดลองที่ 2 ฉีด LS 25

ชุดการทดลองที่ 3 ฉีด LS 50

ชุดการทดลองที่ 4 ฉีด LS 250

ชุดการทดลองที่ 5 ฉีด LS 500

ชุดการทดลองที่ 6 ชุดควบคุมฉีดเชื้อไวรัส L 100 ผสมน้ำเกลือ 1.5 % ปลอดเชื้อในอัตราส่วน 1 : 1

ทุกชุดการทดลองใช้วิธี ฉีดเข้ากล้ามเนื้อปล้องที่ 3 ของกึ่งกุดาคำตัวละ 0.1 มิลลิลิตร แล้วเลี้ยงใน ตู้กระจกขนาด 30 x 62 x 39 เซนติเมตร บรรจุน้ำ 50 ลิตร เลี้ยงกุ้งด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปวัน ละ 4 ครั้ง เวลา ประมาณ 07.00, 11.00, 15.00 และ 19.00 น.ให้อากาศผ่านหัวทรายตลอดเวลา เปลี่ยนถ่ายน้ำในช่วงเช้าก่อน ให้อาหารทุกวัน วิเคราะห์คุณภาพน้ำในตู้ทดลองก่อนเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 2 วัน บันทึกการตายทุกวันเป็นเวลา 15 วัน เก็บตัวอย่างกุ้งที่ตายยืนยันผลการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวโดยเทคนิค Nested PCR (Lo *et al.*, 1997)

## 5. ศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายกลวงในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกึ่งกุดาคำ

ดำเนินการทดลองโดยการใช้สาหร่ายกลวงอบแห้งเป็นส่วนผสมในอาหารอัดเม็ดปริมาณ 15% ซึ่งเป็นปริมาณสูงสุดที่จะใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเม็ดได้ แล้วให้กึ่งกุดาคำกินเป็นระยะเวลาต่างๆ กัน คือ, 3, 7, 15 และ 30 วัน ก่อนฉีดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว แล้วบันทึกอัตราการรอดตายสะสมเรื่อยๆ ไปนี้

### 5.1 การเตรียมอาหารอัดเม็ด

อาหารอัดเม็ดผสมสาหร่ายกลวง ผลิตโดยสถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำชายฝั่ง สำนักวิจัยและ พัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง มีสูตรอาหารดังนี้ ปลาป่นเกรด 1 30 % แกลบทุ้งบด 8 % หมักป่น 2 % กากถั่วเหลือง 35 % วิท กลูเตน 5 % น้ำมันพืช 0.7 % น้ำมันปลา 1.5 % วิตามินรวม 1.5% วิตามินซี 0.2% เลซิดิน 0.8 % วิตามินอี 0.2 % สาหร่ายกลวง 15 % ราแดง (เป็นแหล่งของ Astaxanthin) 0.1 %

5.2 ศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายกลวงในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกึ่งกุดาคำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด แบ่งออกเป็น 6 ชุดการทดลอง ะละ 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุมกินอาหารผสมสาหร่ายกลวงอัดเม็ดและไม่ฉีดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

ชุดการทดลองที่ 2 กินอาหารผสมสาหร่ายกลวงอัดเม็ดพร้อมกับฉีดเชื้อไวรัส L 100

ชุดการทดลองที่ 3 กินอาหารผสมสาหร่ายกลวงอัดเม็ด 3 วัน ก่อนฉีดเชื้อไวรัส L 100

ชุดการทดลองที่ 4 กินอาหารผสมสาหร่ายกลวงอัดเม็ด 7 วัน ก่อนฉีดเชื้อไวรัส L 100

ชุดการทดลองที่ 5 กินอาหารผสมสาหร่ายกลวงอัดเม็ด 15 วัน ก่อนฉีดเชื้อไวรัส L 100

ชุดการทดลองที่ 6 กินอาหารผสมสาหร่ายกลวงอัดเม็ด 30 วัน ก่อนฉีดเชื้อไวรัส L 100

เลี้ยงกุ้งทดลองในตู้กระจกขนาด 30 x 62 x 39 เซนติเมตร บรรจุน้ำ 50 ลิตร ให้กุ้งกินอาหารผสม สาหร่ายกลวงอัดเม็ดวันละ 4 ครั้ง เวลาประมาณ 07.00, 11.00, 15.00 และ 19.00 น. แต่ละชุดการทดลอง หลังจากฉีดเชื้อแล้วให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปแทนอาหารผสมสาหร่ายกลวง ให้อากาศผ่านหัวทรายตลอดเวลา เปลี่ยนถ่ายน้ำในช่วงเช้าก่อนให้อาหารทุกวัน วิเคราะห์คุณภาพน้ำในตู้ทดลองก่อนเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 2 วัน บันทึกการตายทุกวันเป็นเวลา 15 วัน เก็บตัวอย่างกุ้งยืนยันผลการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวด้วยเทคนิค Nested PCR

## 6. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำที่ตรวจวิเคราะห์ในระหว่างการทดลอง ได้แก่ พีเอช ใช้เครื่องวัดพีเอชยี่ห้อ Denver รุ่น 215 อุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนละลาย ใช้เครื่องวัด DO ยี่ห้อ ENVISCIENCE รุ่น YSI 650 MDS ความเค็มวัดด้วยเครื่องวัดความเค็มแบบหักเหแสง (refractometer) ยี่ห้อ ATAGO รุ่น S/Mill-e ปริมาณแอมโมเนียรวม วิเคราะห์โดยวิธีฟีนอลไฮโปคลอไรท์ (phenol-hypochlorite method) และปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธี diazotization (Strickland and Parsons, 1972) และความเป็นด่าง โดยวิธีไตเตรชัน (APHA, AWWA and WPCF, 1980)

## 7. การตรวจเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ยืนยันผลการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวของตัวอย่างกุ้งทดลองโดยเทคนิค Nested PCR (Lo *et al.*, 1997) ขั้นตอนการตรวจวินิจฉัยโดยสกัดสารพันธุกรรม (DNA) จากตัวอย่าง หลังจากนั้นผ่านขั้นตอนการเพิ่มปริมาณ DNA โดยปฏิกิริยา PCR ย้อมสีด้วย ethidium bromide แล้วแยก DNA ตามน้ำหนักโมเลกุล ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis แปลผลโดยดูแถบ band DNA บน agarose gel เทียบกับ DNA ladder marker ขนาด 100 bp มี Reagent blank, Negative control และ Positive WSSV ในการควบคุม คุณภาพผลการทดสอบ ตัวอย่างที่ติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวจะปรากฏแถบ band ที่ 941 bp

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

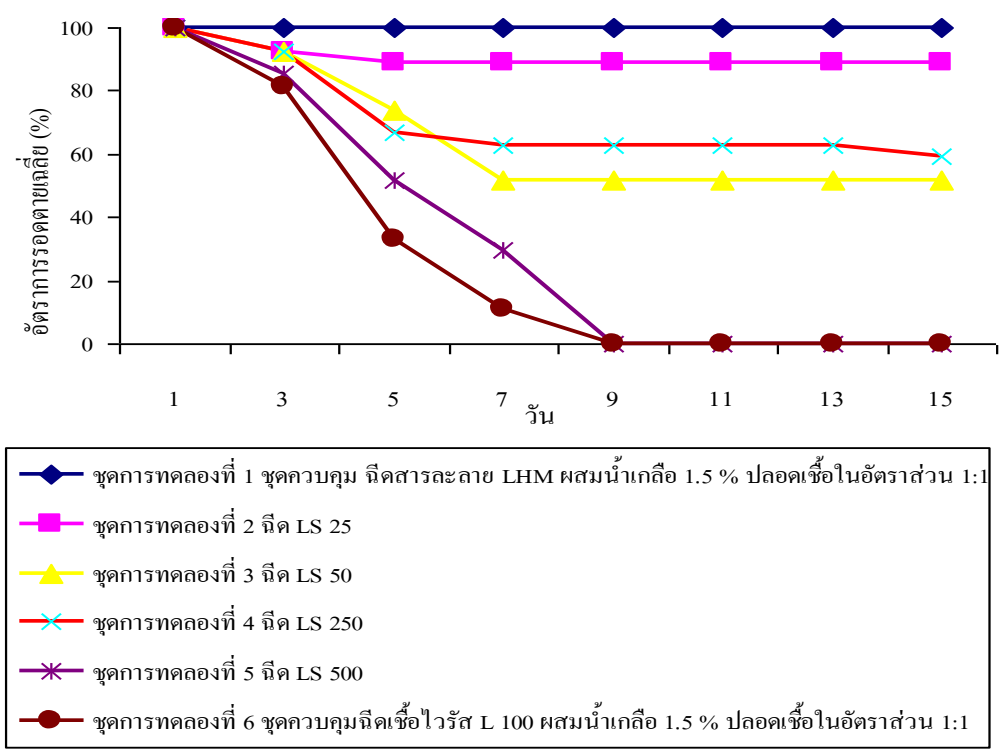
## ผลการศึกษา

### 1. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสาหร่ายกลวงในการยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสาหร่ายกลวงในการยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ พบว่าชุดการทดลองที่ 2 ที่ฉีด LS 25 มีอัตราการรอดตายเฉลี่ย  $88.89 \pm 0.91$  % สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้มากกว่าชุดการทดลองที่ 3, 4 และ 5 ที่ฉีด LS 50, LS 250 และ LS 500 ตามลำดับ มีอัตราการรอดตายเฉลี่ยเพียง  $51.85 \pm 0.58$ ,  $59.26 \pm 1.32$  และ  $0 \pm 0.00$  % ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับชุดควบคุมที่ฉีดเชื้อไวรัส L 100 ผสมน้ำเกลือ 1.5% ปลอดภัยในอัตราส่วน 1 : 1 ซึ่งจะแสดงอาการของโรคและทยอยตายจนหมดในระยะเวลา 7 - 9 วันหลังจากฉีดเชื้อ สำหรับกุ้งกุลาดำในชุดควบคุมที่ฉีดสารละลาย LHM ผสมน้ำเกลือ 1.5 % ปลอดภัยในอัตราส่วน 1 : 1 มีอัตราการรอดตาย 100% (ภาพที่ 2)

ผลการตรวจยืนยันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวโดยวิธี Nested PCR พบว่ากึ่งที่ตายในทุกชุด การทดลองพบเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว ส่วนชุดควบคุมที่ไม่ติดเชื้อ ตรวจไม่พบการติดเชื้อ

คุณภาพน้ำในระหว่างการทดลอง พบว่า ชุดการทดลองที่ 5 นีด LS 500 มีปริมาณแอมโมเนียเฉลี่ย 2.524 มิลลิกรัม/ลิตร สูงกว่าชุดการทดลองที่ 4, 3 และ 2 ซึ่งนีดเชื้อ LS 250, LS 50 และ LS 25 โดยมีปริมาณแอมโมเนียเฉลี่ย 2.415, 2.031 และ 1.050 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ชุดควบคุมที่นีดเชื้อ L 100 ผสมน้ำเกลือ 1.5% ปลอดเชื้อในอัตราส่วน 1:1 มีปริมาณแอมโมเนียเฉลี่ยสูงกว่าชุด ควบคุมที่นีด LHM ผสมน้ำเกลือ 1.5% ปลอดเชื้ออัตราส่วน 1:1 เท่ากับ 2.087 และ 0.484 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับค่าความเค็ม พีเอช อุณหภูมิ ออกซิเจนละลาย ความเป็นด่าง และไนไตรท์ ทุกชุดการทดลองอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำ(ตารางที่ 1)



ภาพที่ 2 อัตราการรอดตายเฉลี่ยของกึ่งกุลาดำในการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสาหร่ายกลวง ในการยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

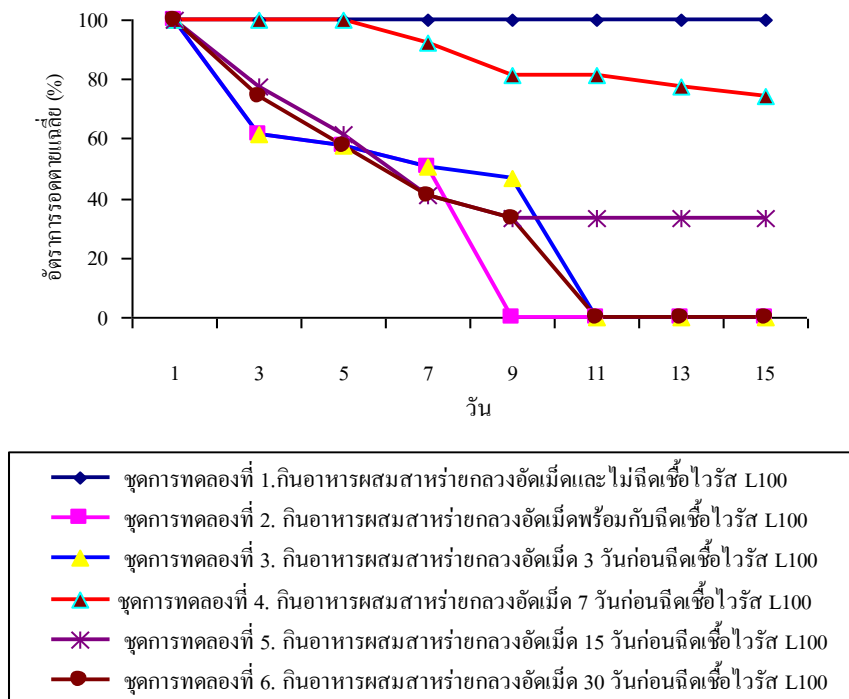
**ตารางที่ 1** ค่าเฉลี่ยคุณภาพน้ำในตู้ทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบสำหรับยากลวงในการยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

ชุดการทดลอง	ความเค็ม (พีพีที)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ออกซิเจนละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	ความเป็นด่าง (มิลลิกรัม/ลิตร)	แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัม/ลิตร)	ไนไตรท์ (มิลลิกรัม/ลิตร)
1. นีดLHMผสมน้ำเกลือ ในอัตราส่วน	25	8.00	27	4.20	75	0.484	0.251
2. นีดLS 25	25	7.62	27	4.00	84	1.050	0.694
3. นีดLS 50	25	7.64	27	4.08	89	2.031	0.354
4. นีดLS 250	25	7.63	28	4.97	93	2.415	0.876
5. นีดLS 500	25	7.65	28	4.32	84	2.524	0.145
6. นีดL 100 ผสมน้ำเกลือ ในอัตราส่วน	25	7.83	28	4.05	82	2.087	0.043

## 2. ประสิทธิภาพของสาหร่ายกลวงในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายกลวงอบแห้งเมื่อผสมในอาหารอัดเม็ดให้กุ้งกุลาดำกิน เพื่อป้องกันเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว พบว่ากุ้งในชุดการทดลองที่ให้กินอาหารผสมสาหร่ายอัดเม็ด เป็นเวลา 7 วัน มีอัตราการรอดตายเฉลี่ย  $74.07 \pm 2.91$  % สูงกว่าชุดการทดลองที่ให้กินอาหารผสมสาหร่ายอัดเม็ด เป็นเวลา 3, 15 และ 30 วัน ซึ่งมีอัตราการรอดตายเฉลี่ย  $0 \pm 0.00$ ,  $33.33 \pm 3.46$  และ  $0 \pm 0.00$  % ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่ชุดการทดลองที่ให้กินอาหารผสมสาหร่ายอัดเม็ดพร้อมกับฉีดเชื้อไวรัส ทอยตายจนหมดภายใน 7 - 9 วันหลังจากฉีดเชื้อ ส่วน ชุดควบคุมที่ให้กินอาหารผสมสาหร่ายกลวงอัดเม็ดและไม่ฉีดเชื้อไวรัส พบว่ามีอัตราการรอดตาย 100 (ภาพที่ 3)

คุณภาพน้ำในระหว่างการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ 6 มีปริมาณแอมโมเนียสูง ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.431 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งสูงกว่าชุดการทดลองที่ 3, 4 และ 5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.345, 1.325 และ 1.895 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ สำหรับชุดการทดลองที่ 2 มีปริมาณแอมโมเนียสูงกว่าชุดที่ 1 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.135 และ 1.084 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ค่าความเค็ม พีเอช อุณหภูมิ ออกซิเจนละลาย ความเป็นด่าง และไนไตรท์ ทุกชุดการทดลองอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำ (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 3 อัตราการรอดตายเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำในการศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายกลวงในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยคุณภาพน้ำในตู้ทดลองประสิทธิภาพของสารยากลวงในอาหารอัดเม็ดในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกึ่งกุลาคำ

ชุดการทดลอง	ความเค็ม (พีพีที)	พีเอช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ออกซิเจนละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	ความเป็นด่าง (มิลลิกรัม/ลิตร)	แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัม/ลิตร)	ไนโตรท์ (มิลลิกรัม/ลิตร)
1. กินอาหารผสมสารยากลวงอัดเม็ดและไม่ฉีดเชื้อไวรัส L 100	25	8.01	27	4.08	75	1.084	0.151
2. กินอาหารผสมสารยากลวงอัดเม็ดพร้อมกับฉีดเชื้อไวรัส L 100	25	7.53	28	4.15	82	2.135	0.053
3. กินอาหารผสมสารยากลวงอัดเม็ด 3 วัน ก่อนฉีดเชื้อไวรัส L 100	25	7.65	28	3.98	90	1.345	0.052
4. กินอาหารผสมสารยากลวงอัดเม็ด 7 วัน ก่อนฉีดเชื้อไวรัส L 100	25	7.98	28	3.78	90	1.325	0.112
5. กินอาหารผสมสารยากลวงอัดเม็ด 15 วัน ก่อนฉีดเชื้อไวรัส L 100	25	7.78	27	3.95	84	1.895	0.594
6. กินอาหารผสมสารยากลวงอัดเม็ด 30 วัน ก่อนฉีดเชื้อไวรัส L 100	25	7.98	27	3.95	89	2.431	0.454

## สรุปและวิจารณ์

จากผลการศึกษา ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายกลวง (*Solieria robusta*) ในการยับยั้ง และป้องกันเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 50 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้น 50, 250 และ 500 พีพีเอ็ม โดยพบอัตราการรอดตายเท่ากับ  $88.89 \pm 0.91$ ,  $51.85 \pm 0.58$ ,  $59.26 \pm 1.32$  และ  $0 \pm 0.00$  % ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าฤทธิ์ของสารสกัดจากสาหร่ายเกลียวทองในการยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำของปิยาลัย และคณะ (2546) ที่พบว่าความเข้มข้นของสารสกัด 1,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสได้ 92 % นอกจากนี้ยังพบมีค่าต่ำกว่าการศึกษาของ สดภาพร และคณะ (2540) ที่พบว่าสารสกัดจากหญ้าไต้ใบ (*Phyllanthus urinaria*) ความเข้มข้น 1,000 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งเชื้อได้ 100 % ในการศึกษาที่สาหร่ายกลวงเป็นสาหร่ายสีแดงซึ่งน่าจะมีสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ ซึ่งสอดคล้องกับ มนชัย และสาโรจน์ (2554) ได้กล่าวว่า คาร์ราจีแนนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดแยกได้จากผนังเซลล์ของสาหร่ายสีแดง สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ โดยเกี่ยวข้องกับกระบวนการตอบสนองต่อการอักเสบ ภูมิคุ้มกัน และยังสามารถยับยั้งเชื้อไวรัสบางชนิดได้

จากการประยุกต์ใช้สาหร่ายกลวงอบแห้ง 15 % ผสมในอาหารอัดเม็ดสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบว่าป้องกันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ การให้กุ้งกินอาหารผสมสาหร่ายอัดเม็ดเป็นเวลา 7 วันก่อนฉีดเชื้อเป็นระยะเวลาการใช้ที่เหมาะสม ทำให้กุ้งรอดตายได้ถึง  $74.07 \pm 2.91$  % ในขณะที่ชุดการทดลองที่กินก่อนฉีดเชื้อ 3 และ 30 วัน พบว่าไม่สามารถป้องกันเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ ส่วนชุดการทดลองที่กินก่อน 15 วัน สามารถป้องกันได้ระดับหนึ่งโดยกุ้งมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารพร้อมฉีดเชื้อถึง  $33.33 \pm 3.46$  % ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าระยะเวลาที่ให้กินอาหารผสมสาหร่ายกลวง ถ้าใช้ระยะเวลาสั้นเกินไป หรือนานเกินไปอาจจะไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ดีเท่าที่ควร ในการศึกษาของ มนทกานติ (2551) ประเมินคุณค่าทางอาหารสำเร็จรูปและสาหร่ายต่างๆ จำนวน 4 ชนิด คือสาหร่าย ผมนาง สาหร่ายหนาม สาหร่ายกลวง และสาหร่ายผักกาดทะเล ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของหอยเป่าฮือ (*Haliotis asinina*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปดีกว่าที่ใช้สาหร่ายเป็นอาหาร โดยเฉพาะสาหร่ายกลวงซึ่งให้การเจริญเติบโตของหอยเป่าฮือต่ำสุดมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของหอยในระดับต่ำทั้งน้ำหนักแห้ง ปริมาณโปรตีน และระดับพลังงานรวม รวมถึง total n-3HUFA ก่อนข้างต่ำแต่ปริมาณไขมันในสาหร่ายกลวงมีในระดับสูงและใกล้เคียงกับสาหร่ายหนามอาจเป็นแหล่งของแร่ธาตุ ดังนั้นอาจจะไม่เหมาะต่อการให้กินเป็นอาหารหลักแต่ควรกินร่วมกับอาหารสำเร็จรูปแทน

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสาหร่ายกลวงมีแนวโน้มสามารถยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว และเมื่อนำไปผสมในอาหารให้กุ้งกุลาดำกินยังมีแนวโน้มช่วยป้องกันการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ด้วย แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น ควรศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมอีกหลายๆ ด้าน เช่น

การศึกษาสูตรอาหารทดลองผสมสาหร่ายกลวงปริมาณต่างๆ กัน ความเป็นพิษของสาหร่ายกลวงต่อกุ้งกุลาดำโดยการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อ ผลของสารสกัดสาหร่ายกลวงต่อระบบภูมิคุ้มกันในกุ้ง การดูดซึมสารเข้าไปในตัวกุ้ง ระยะเวลาการคงตัวของสารออกฤทธิ์ กลไกการทำลายไวรัสของสารสกัดจากสาหร่ายกลวง เป็นต้น เพื่อยืนยันผลต่อไป

### คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณ ผอ. คมนันท์ ศิลปจารณ์ ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งที่ให้แนวคิด และวิธีดำเนินการทดลองการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายกลวงในการป้องกันและยับยั้งเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ และขอขอบคุณ ผู้ร่วมงานในศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสงครามทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการดำเนินงานอย่างดียิ่ง ท้ายนี้ขอขอบคุณคณะกรรมการตรวจเอกสารวิชาการ และเลขานุการ กลุ่มด้านโรคสัตว์น้ำที่ช่วยให้คำแนะนำตรวจทานแก้ไขการเขียนรายงานวิจัยเล่มนี้ให้ถูกต้องตามรูปแบบการเขียนงานวิจัยของกรมประมง

### เอกสารอ้างอิง

- จิราพร เกษรจันทร์, สุดา ตันทวนนิช, เรวัตร์ คงประดิษฐ์ และ สราวุธ ศรีวัฒนวรัญญู. 2543. ศึกษาความเป็นไปได้ในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวจากพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำสู่ลูกกุ้ง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2543. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลฝั่งอ่าวไทย, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 17 หน้า.
- ณัฐวรรณ์ ปภาวสิทธิ และ เขียวลักษณ์ อัมพรรัตน์. 2529. รายงานการวิจัยและวิเคราะห์สถานภาพและศักยภาพการผลิตและการใช้สาหร่ายทะเลรวมทั้งความต้องการในงานวิจัยและพัฒนาในประเทศไทย. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร. 181 หน้า.
- ปิยาลักษณ์ เหมทานนท์, สดาพร ดิเรกบุษราคม และ โอภาส ตันติฐากุล. 2546. การศึกษาผลของสารต้านไวรัสสาหร่ายเกลียวทองในการป้องกันโรคติดเชื้อจากไวรัสตัวแดงดวงขาวในลูกกุ้งกุลาดำ. ใน : รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาประมง ครั้งที่ 40- วันศุกร์ที่ 2545 . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 591 - 595.
- มณชัย เดชสังกรานนท์ และ สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล. 2554. สารโกลนเนสซจากสิ่งมีชีวิตได้ทะเล. สรรสาระเทคโนโลยีชีวภาพฉบับเดือน พฤษภาคม . ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 17.

- มนทกานติ ท้ามดิน. 2551. การประเมินคุณค่าทางอาหารของอาหารสำเร็จรูปและสาหร่ายชนิดต่างๆจำนวน 4 ชนิดที่มีต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของหอยเป็ด (*is asinina*). ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาประมง ครั้งที่ 46 วันที่ 29 มกราคม 2551 . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 11 -21.
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์. 2550. คุณค่าสาหร่ายทะเล. ศูนย์ประสานงานความปลอดภัยด้านอาหารประมง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด. 4 หน้า
- สถาพร ดิเรกนุชราคม, เครือวัลย์ อ่อนทอง, สมพร รุ่งกำเนิดวงศ์ และ นิพัทธ์ โชติการ. 2540. ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรบางชนิดต่อเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ. ในรายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาประมง ครั้งที่ 35 วันที่ 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2540. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ หน้า 145-150
- APHA, AWWA and WPCF. 1980. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 15<sup>th</sup> ed. American Public Health Publisher Int. New York, USA. 1,134 pp.
- Herunsalee, A. and S. Direkbusarakom. 1993. Investigation on the bioactive Thai medicinal plants to virus in tiger prawns. **In:** *Menasavet, P.*(ed.) Proc. on Conference on Marine Biotechnology in the Asian Pacific Region 16-20 November. 1993. pp.104-106
- Higg, M. D. 1981. Antimicrobial components of the red alga *Larminaria hybrida* (Rhodophyta. Rhodomelaceae) **In:** *Miachi, S., J. K. Arube and Y. Ishida* (eds). Proc. of the 1<sup>st</sup> International marine biotechnology. 3-6 September 1989. Toronto Pastrol, Toyko, Japan. Fuji Technology Press Ltd., Japan. pp.127-130.
- Konig, G. M. and A. D. Wright. 1992. Algal secondary metabolites and their pharmaceutical potential in Human medical agents from plants. edited by A. D. Kinghorn and M. F. Balandrin. ACS Symp. Series 534: 276-291.
- Lo, C. F., C. H. Ho, C. H. Chen, K. F. Liu, Y. L. Chiu, P. Y. Yeh, S. E. Peng, H. C. Hsu, H. C. Liu, C. F. Chang, M. S. Su, C. H. Wang and C. H. Kou. 1997. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs. *Dis. Aquat. Org.* 30:53-72.
- Nakazawa, S., F. Abe, H. Kuroda, K. Khono and T. Higashi. 1976. Antitumor effect of water - extracts from marine algae (2) *Sargassum horneri* (Turner). *Chemotherapy* 24: 443-447.
- Pham, M. N., H. T. W. Tan, S. Mitrovic and H. H. T. Yeo. 2011. A Checklist of the Algae of Singapore, 2<sup>nd</sup> Edition. Raffles Museum of Biodiversity Research, National University of Singapore. 99 pp.

Reichelt, J. L. and M. A. Borowitz. 1984. Antimicrobial activity from marine algae: Result of large- scale screening program. In : *Proc.Int. Seaweed Symp.*11:158-168.

Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada Bulletin 167. Ottawa. 310 pp.

