

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การจำแนกชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากปลาตายตามวิธีทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristics)

จากผลการศึกษาชนิดของเชื้อราในปลาตายจากฟาร์มปลาตาย และน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาตายทั้งจากฟาร์มเอกชน ร้านขายปลาตู้ตาย และหน่วยงานของรัฐในเขตภาคกลาง 4 จังหวัด ประกอบด้วย นนทบุรี ปทุมธานี นครปฐม ราชบุรี และภาคตะวันออกเฉียเหนือ 8 จังหวัด ประกอบด้วย มหาสารคาม ขอนแก่น กาฬสินธุ์ ยโสธร ร้อยเอ็ด อุบลราชธานี หนองคาย และนครราชสีมา ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึง เดือนกรกฎาคม 2550 (เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 เดือน รวม 5 ครั้ง 5 ครั้ง) ผลการสำรวจปลาป่วยและการติดเชื้อราของปลาตายพบว่า ในช่วงเดือนธันวาคมจะพบมากที่สุด รองลงมาคือ ตุลาคม ส่วนเดือนเมษายนและเดือนกรกฎาคมนี้พบการติดเชื้อราน้อยมาก จากการสำรวจครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างปลาป่วยจากปลาตาย 35 ชนิด จำนวน 585 ตัว พบปลาตายที่ติดเชื้อรา 21 ชนิด จำนวนทั้งหมด 156 ตัว ผลการศึกษาพบว่า ปลาป่วยทั้งหมดที่นำมาวินิจฉัยพบมีการติดเชื้อปรสิตมากที่สุดคือ 49.40% รองลงมาคือ เชื้อรา แบคทีเรีย และอื่นๆ คิดเป็น 26.67, 18.33 และ 7.35% ตามลำดับ (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการจำแนกชนิดของเชื้อโรคอื่นๆ หรือเก็บรักษาตัวอย่างของเชื้อปรสิตและแบคทีเรียที่สำรวจพบ เพียงแต่ทำการถ่ายภาพบางตัวอย่างที่น่าสนใจไว้ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยไม่ได้เก็บตัวอย่างในเดือนกุมภาพันธ์ซึ่งคาดว่าจะมีการระบาดของเชื้อราจำนวนมากเช่นกัน เนื่องจากต้องปรับช่วงเวลาในการออกเก็บตัวอย่าง เพราะงบประมาณไม่เพียงพอ ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่า ปลาตายส่วนใหญ่มีแหล่งกำเนิดมาจากภาคกลาง โดยเฉพาะจังหวัดราชบุรี หรือนครปฐม ซึ่งส่งมาขายยังตลาดนัดสวนจตุจักร แล้วร้านขายปลาตายจากจังหวัดต่างๆ ก็มารับซื้อปลาตายจากตลาดนัดปลาตายไปขาย จากการสำรวจร้านขายปลาตายใน 8 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียเหนือพบว่าทุกร้านรับปลาตายจากกรุงเทพมหานครและราชบุรี แม้จะมีบางร้านที่เพาะพันธุ์ปลาบางชนิดได้เองบ้าง แต่ก็เพียงส่วนน้อย อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาที่เก็บตัวอย่างเป็นปลาที่ติดเชื้อรา มีจำนวน 21 ชนิด จำแนกอยู่ในชั้น Oomycetes ที่พบว่ามีผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดเป็นอย่างมาก คือ เชื้อราในลำดับ Saprolegniales วงศ์ Saprolegniaceae สกุลที่พบมากที่สุด คือ *Achlya* ซึ่งพบในทุกแหล่งที่ทำการศึกษารองลงมา คือ สกุล *Saprolegnia*, *Aphanomyces* และสกุล *Leptolegnia* ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบ *Pythium* sp. และ Imperfect fungi ต่างๆ แต่ไม่ได้ทำการจำแนกชนิดในที่นี้ และจากการศึกษาพบว่าชนิดของเชื้อราที่แยกได้ไม่มีความสัมพันธ์กับชนิดของปลาแต่มีแนวโน้มที่จะมีความสัมพันธ์กับแหล่งที่ทำการศึกษา

1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristic)

เชื้อราที่สำรวจพบส่วนใหญ่อยู่ในชั้น Oomycetes จำนวน 113 สายพันธุ์ (Strains) (ตารางที่ 6) นอกจากนี้ยังพบเชื้อราในชั้น Pythiales จำนวน 5 สายพันธุ์ และกลุ่ม Imperfect fungi เช่น *Fusarium* เป็นต้น จำนวน 88 สายพันธุ์ ซึ่งจะไม่ศึกษารายละเอียดในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เนื่องจากจากการศึกษาจากเอกสารที่ผ่านมา มีรายงานว่า เชื้อราเหล่านี้ไม่ใช่เหตุของการเกิดโรคในปลา แต่เป็น Saprophytic fungi ส่วนที่เหลือยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ปลาที่เก็บตัวอย่างเป็นปลาที่แสดงอาการป่วย เช่น วัยน้ำขุ่น เชื้องซึม มีบาดแผล เป็นแผลหลุม และแผลหลุมลึก ตกเลือด ท้องบวม เกล็ดตุง ครีบกร่อน ดังแสดงในภาพที่ 6 โดยปลาที่ติดเชื้อมักพบมีเชื้อราเกาะบริเวณลำตัวปลาทั้งผิวน้ำ เหงือก และครีบต่างๆ เมื่อนำอวัยวะส่วนนั้นมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบใยรา (ภาพที่ 7 และ 8) ปลาที่พบเชื้อรามากที่สุดคือ ปลาบอลลูน รองลงมาก็คือปลาทอง และปลาหางนกยูง ตามลำดับ ส่วนใหญ่มักแยกได้จากผิวน้ำและครีบ โดยพบเชื้อราทั้งสิ้น 5 สกุล คือ สกุล *Achlya* (ภาพที่ 9), *Aphanomyces* (ภาพที่ 10), *Leptolegnia* (ภาพที่ 11) *Dictyuchus* (ภาพที่ 12) และ *Saprolegnia* (ภาพที่ 13) โดยเชื้อราในสกุล *Achlya* พบมากที่สุด พบในเกือบทุกพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่าง รองลงมาก็คือ สกุล *Saprolegnia*, *Aphanomyces*, *Leptolegnia* และ *Dictyuchus* โดยพบจำนวน 50, 41, 15, 5 และ 2 สายพันธุ์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5) เชื้อราส่วนใหญ่ยังไม่สามารถจำแนกในระดับชนิด (species) ได้ เนื่องจากไม่สร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ อย่างไรก็ตาม สามารถจำแนกเชื้อราในระดับชนิดได้ทั้งหมด 51 สายพันธุ์ (ตารางที่ 7) เชื้อราในสกุล *Achlya* ที่พบมากที่สุดคือ *A. bisexualis* (ภาพที่ 14) รองลงมาก็คือ *A. klebsiana* (ภาพที่ 15), *A. ambisexualis* (ภาพที่ 16), *A. diffusa* และ *A. channae* (ภาพที่ 17) ตามลำดับ แต่เชื้อราในสกุลนี้ที่แยกได้ส่วนใหญ่ไม่สร้างการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศทำให้ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ สำหรับสกุล *Saprolegnia* ชนิดที่พบมากที่สุด คือ *S. multispora* (ภาพที่ 18) รองลงมาก็คือ *S. diclina* (ภาพที่ 18) *S. ferax* (ภาพที่ 19) *S. multispora* (ภาพที่ 20) และ *S. paradiclina* (ภาพที่ 21) ตามลำดับ สำหรับเชื้อราในสกุล *Aphanomyces* ชนิดที่พบมากที่สุด คือ *A. laevis* รองลงมาก็คือ *A. stellatus* นอกนั้นไม่สร้างการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศทำให้ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ สำหรับชนิดที่แยกได้ คือ เชื้อราในสกุล *Leptolegnia* และ *Dictyuchus* พบเล็กน้อย โดยไม่พบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเช่นกัน

การศึกษาค้นคว้านี้ให้ผลใกล้เคียงกับ ปณรัตน์ และคณะ (2551) การศึกษาเชื้อราจากแหล่งที่มีการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งจากตัวปลาและไข่ปลา พบว่า โดยมากจะพบเชื้อราในช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 25°C อย่างไรก็ตามในช่วงที่อุณหภูมิสูงยังสามารถแยกเชื้อราได้บ้าง นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อที่มีผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดเป็นอย่างมาก คือ เชื้อราใน สกุล *Achlya* ซึ่งพบในทุกแหล่งที่ทำการศึกษารองลงมาก็คือ สกุล *Saprolegnia*, *Aphanomyces* และ *Leptolegnia* ตามลำดับ จากผลการ ศึกษาชีวชนิดของเชื้อ

ราที่แยกได้มีแนวโน้มว่าจะมีความสัมพันธ์กับแหล่งน้ำที่ทำการศึกษา โดยไม่มีความสัมพันธ์กับชนิดของปลาแต่ประการใด เช่นเดียวกันนิลบล และคณะ (2543) ได้สำรวจพบในไข่ปลาอุกอยู่ในเขตจังหวัดขอนแก่น สันนิษฐานว่าเชื้อราที่พบอาจเป็น Saprophytic fungi ที่เข้ามาเกาะอาศัยเท่านั้น ส่วนสกุล *Aphanomyces* และ *Leptolegnia* นั้นไม่สามารถจำแนกในระดับชนิดได้ เนื่องจากไม่สร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนิลบล และคณะ (2543) ที่ศึกษาเชื้อราในไข่ปลาเศรษฐกิจในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และ Kitancharoen (1997) ที่ได้สำรวจเชื้อราบนไข่ปลากลุ่ม Salmonids มักพบปัญหาเชื้อราไม่สร้าง Oogonia และ Antheridia ทำให้ยากแก่การจำแนกชนิด

ตารางที่ 3 ผลการสำรวจปลาป่วยในเขตภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกรกฎาคม 2550

จังหวัด	จำนวนฟาร์ม	จำนวนร้าน	จำนวนปลาที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนเชื้อราที่พบ (ตัวอย่าง)		จำนวนเชื้อราที่พบ	จำนวนเชื้อรา Oomycetes	จำนวนปลาที่ติดเชื้ออื่นๆ*
				น้ำ	ปลา			
วันออกเฉียงเหนือ								
พัตินธุ์	1	1	28	3	3	6	2	25
นแก่น	1	5	45	5	14	19	13	31
ราชสีมา	1	2	24	2	4	6	5	20
าสารคาม	3	1	38	6	15	21	16	23
รร	-	1	23	3	4	7	3	19
เียด	2	1	24	2	6	8	4	18
องคาย	2	2	40	3	12	15	8	28
ลราชธานี	3	2	32	4	9	13	7	23
าง								
เทพมหานคร	-	10	75	8	20	28	16	55
รปฐม	5	-	69	5	12	17	9	57
ทบุรี	1	1	30	2	8	10	4	22
บุรี	6	12	157	7	49	56	27	108
	25	39	585	50	156	206	113	429

* หมายถึง ติดเชื้อแบคทีเรีย หรือปรสิตชนิดต่างๆ

ตารางที่ 4 เชื้อโรคที่ตรวจพบในปลาสวยงามในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างเดือน
ตุลาคม 2549- มิถุนายน 2550

เชื้อโรค (pathogen)	%
ปรสิต	49.40
เชื้อรา	26.67
แบคทีเรีย	18.33
อื่นๆ	7.35
รวม	100

ตารางที่ 5 การจำแนกเชื้อราระดับสกุล (Genus) ที่แยกได้จากน้ำและปลาสวยงามที่พบในการศึกษา
ครั้งนี้

เชื้อราสกุลต่างๆ ในวงศ์ Oomycetes	จำนวนสายพันธุ์ (Strains)
<i>Achlya</i>	50
<i>Saprolegnia</i>	40
<i>Aphanomyces</i>	15
<i>Leptolegnia</i>	5
<i>Dictyuchus</i>	2
รวม	113

ตารางที่ 6 สถานที่และชนิดของปลาที่ทำการเก็บตัวอย่างเชื้อรา

จ	สถานที่ทำการเก็บ ตัวอย่าง	ชนิดปลา*	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง	เชื้อราที่พบ	รหัสสายพันธุ์
กรุงเทพมหานคร	กรุงเทพฯ	ปลากะโห้	ลำตัว	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06001
			เหงือก	<i>Saprolegnia multispora</i>	RMF 06002
		ปลาบึก	ครีบหลัง	<i>Achlya klebsiana</i>	RMF 06003
		ปลาทองอรันดา	ครีบหาง	<i>Achlya channae</i>	RMF 06004
				<i>Aphanomyces</i> sp.	RMF 06005
		ปลาทองหัวสิงห์	กล้ามเนื้อ	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06006
		ปลาเสือคาว	ครีบอก	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06007
		ปลาตะเพียนทอง	เหงือก	<i>Achlya bisexualis</i>	RMF 06021
		ปลาเสือพ่นน้ำ	ครีบหาง	<i>Saprolegnia multispora</i>	RMF 06022
		ปลาทองหัวสิงห์	ครีบหาง	<i>Aphanomyces</i> sp.	RMF 06023
		ปลาเสือคาว	ลำตัว	<i>Saprolegnia multispora</i> <i>Achlya</i>	RMF 07001
		ปลาบอลลูน	ครีบหลัง	<i>klebsiana</i>	RMF 07002
		น้ำ	ตู้ปลากะโห้	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06009
		น้ำ	ตู้ปลาทอง	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06010
		น้ำ	ตู้ปลาบึก	<i>Saprolegnia multispora</i>	RMF 06011
		น้ำ	ตู้ปลาฉลามหางไหม้	<i>Leptolegnia</i> sp.	RMF 06024
	นครปฐม	บอลลูนขาว	ครีบหลัง	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06012
		บอลลูนแดง	ครีบหาง	<i>Saprolegnia eccentrica</i>	RMF 06013
		บอลลูนดำ	ครีบหลัง	<i>Achlya bisexualis</i>	RMF 06014
		บอลลูนดำ	ครีบหลัง	<i>Achlya</i> sp.	RMF 07003
		บอลลูนขาว	ครีบกัน	<i>Saprolegnia diclina</i>	RMF 07004
		น้ำ	บ่อปลาหมอสี	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06015
		น้ำ	บ่อปลาเทวดา	<i>Aphanomyces laevis</i>	RMF 06016
		น้ำ	บ่อปลาบอลลูน	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06017
		น้ำ	บ่อปลาทอง	<i>Achlya klebsiana</i>	RMF 07005
ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปลาฉลามหางไหม้	ครีบหลัง	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06018
		ปลาใบไม้	ลำตัว	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 07006
		น้ำ	ตู้ปลาฉลามหางไหม้	<i>Saprolegnia multispora</i> <i>Achlya</i>	RMF 06019
		น้ำ	บ่อปลาการ์ป	sp.	RMF 06020

จ	สถานที่ทำการเก็บ ตัวอย่าง	ชนิดปลา*	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง	เชื้อราที่พบ	รหัสสายพันธุ์				
ราชบุรี	ปลาเป็นมาเลเชียปลา ใบไม้ หางนกยูง ปลาทองหัวสิงห์ กระดี่มุก ปลาตะเพียนทองปลา บอลลูน ปลาเสือคาว หางนกยูง ปลาหมอสี ปลาทองออแล้นดา ปลาอุกผึ่งดำ ปลาเป็นมาเลเชีย ปลาหมอ ปลากระดี่นางฟ้า ปลาบอลลูน ปลาทองหัวสิงห์ ปลาตะเพียนทอง ปลาเสือคาว น้ำ น้ำ น้ำ น้ำ น้ำ	ครีบบาง ครีบล้าง ครีบบาง ลำตัว กล้ามเนื้อ ลำตัว ครีบล้าง ลำตัว ครีบบาง ลำตัว ลำตัว ลำตัว โคนหาง ครีบล้าง ลำตัว ลำตัว ครีบบาง ครีบบาง กล้ามเนื้อ ครีบล้าง บ่อปลาทอง บ่อปลาหางนกยูง บ่อปลาบอลลูน ตู้ปลาตะเพียนทอง ตู้ปลากระดี่นางฟ้า	<i>Achlya bisexualis</i> <i>Saprolegnia multispora</i> <i>Achlya</i> sp. <i>Aphanomyces</i> sp. <i>Saprolegnia diclina</i> <i>Achlya bisexualis</i> <i>Saprolegnia</i> sp. <i>Saprolegnia</i> sp. <i>Aphanomyces</i> sp. <i>Saprolegnia diclina</i> <i>Achlya klebsiana</i> <i>Leptolegnia</i> sp. <i>S. diclina</i> <i>Leptolegnia</i> sp. <i>Saprolegnia</i> sp. <i>Achlya</i> sp. <i>Achlya ambisexualis</i> <i>Dictyuchus</i> sp. <i>Aphanomyces</i> sp. <i>Aphanomyces</i> sp. <i>Achlya channae</i> <i>Achlya</i> sp. <i>Achlya</i> sp. <i>Achlya bisexualis</i> <i>Achlya</i> sp. <i>Achlya</i> sp.	RMF 06021 RMF 06022 RMF 06023 RMF 06024 RMF 06025 RMF 06026 RMF 06027 RMF 06028 RMF 06029 RMF 06030 RMF 06031 RMF 06032 RMF 06033 RMF 06034 RMF 07007 RMF 07008 RMF 07009 RMF 07010 RMF 07011 RMF 07012 RMF 07013 RMF 06035 RMF 06036 RMF 06037 RMF 07014 RMF 07015					
					กาฬสินธุ์	ปลาหางนกยูง ปลาบอลลูน	ครีบล้าง ลำตัว	<i>Achlya bisexualis</i> <i>Saprolegnia</i> <i>ferax</i>	RMF 06038 RMF 06039
					ขอนแก่น	ปลาทองหัวสิงห์ ปลาบอลลูน ปลาปักเป้า ปลาเสือพ่นน้ำ	ลำตัว ครีบล้าง ครีบล้างและลำตัว ลำตัว	<i>Saprolegnia multispora</i> <i>Achlya klebsiana</i> <i>Achlya</i> sp. <i>Aphanomyces</i> sp.	RMF 06040 RMF 06041 RMF 06042 RMF 06043

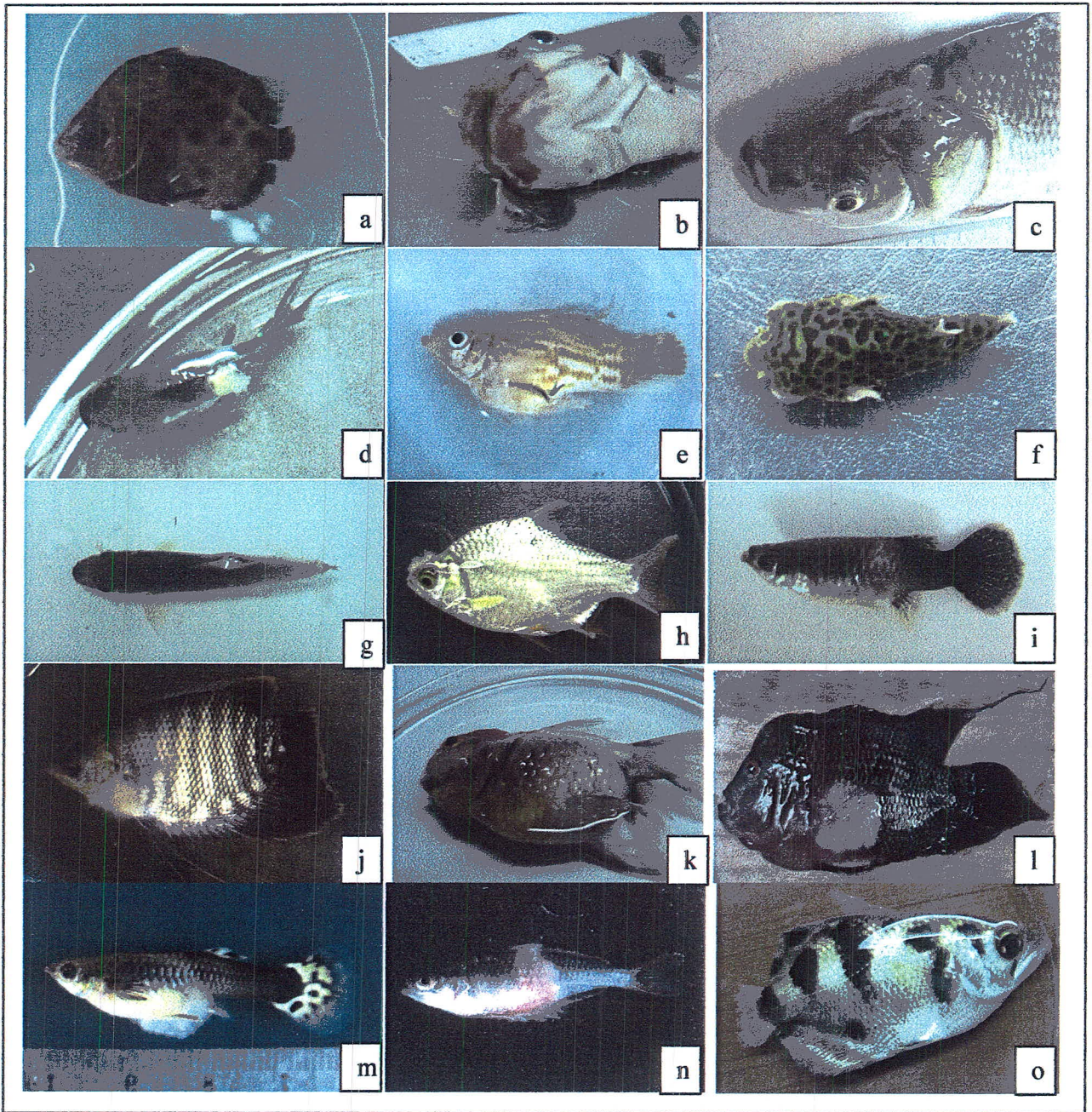
๖	สถานที่ทำการเก็บตัวอย่าง	ชนิดปลา*	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง	เชื้อราที่พบ	รหัสสายพันธุ์
	ขอนแก่น	หางนกยูง	ครีบหาง	<i>Saprolegnia ferax</i>	RMF 06044
		ปลาซอด	ลำตัว	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06045
		ปลาบอลลูน	ลำตัว	<i>Saprolegnia paradiclina</i>	RMF 07016
		ปลาปักเป้า	ลำตัว	<i>Achlya diffusa</i>	RMF 07017
		ปลาเสือพ่นน้ำ	ครีบหาง	<i>Leptolegnia</i> sp.	RMF 07018
		น้ำ	ตู้ปลาปักเป้า	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06046
		น้ำ	ตู้ปลาบอลลูน	<i>Saprolegnia ferax</i>	RMF 06047
		น้ำ	ตู้ปลาเสือพ่นน้ำ	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06048
		น้ำ	บ่อปลาการ์ป	<i>Aphanomyces laevis</i>	RMF 07019
	นครราชสีมา	ปลาหางนกยูง	ลำตัว	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06049
		ปลาบอลลูน	ลำตัว	<i>Saprolegnia multispora</i>	RMF 06050
		ปลาทองริวกิ้น	ลำตัวและครีบหาง	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06051
		น้ำ	บ่อปลาทอง	<i>Achlya diffusa</i>	RMF 06052
		น้ำ	ตู้ปลาบอลลูน	<i>Saprolegnia multispora</i>	RMF 07020
	มหาสารคาม	ปลาหางนกยูง	ครีบหาง	<i>Saprolegnia paradiclina</i>	RMF 06053
		ปลาบอลลูน	ครีบหลัง	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06054
			ลำตัว	<i>Aphanomyces stellatus</i>	RMF 06055
		ปลาทองออลันดา	ลำตัว	<i>Achlya ambisexualis</i>	RMF 06056
			เหงือก	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06057
		ปลาทองรักเลห์	เหงือก	<i>Saprolegnia paradiclina</i>	RMF 06058
		ปลาหมอสี	ลำตัว	<i>Aphanomyces</i> sp.	RMF 06059
		ปลากระดี่นางฟ้า	ครีบหาง	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06060
		ปลากลาย	ครีบหลัง	<i>Saprolegnia</i> sp. <i>Aphanomyces</i>	RMF 07021
		ไขปลาการ์ป	ไข่	sp.	RMF 07022
		ไขปลาทองคาโปน	ไข่	<i>Achlya</i> sp.	RMF 07023
		น้ำ	บ่อปลาบอลลูน	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06061
		น้ำ	บ่อปลาทอง	<i>Saprolegnia multispora</i>	RMF 06062
		น้ำ	ตู้ปลากลาย	<i>Leptolegnia</i> sp.	RMF 06063
		น้ำ	บ่อปลาหางนกยูง	<i>Dictyuchus</i> sp.	RMF 07024
		น้ำ	บ่อปลากระดี่นางฟ้า	<i>Achlya</i> sp.	RMF 07025
		ปลาหางนกยูง	ลำตัว	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06064

บ	สถานที่ทำการเก็บตัวอย่าง	ชนิดปลา*	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง	เชื้อราที่พบ	รหัสสายพันธุ์
	ยโสธร	ปลาบอลลูนน้ำ	ครีบล้าง	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06065
			ตู้ปลาหางนกยูง	<i>Saprolegnia paradiclina</i>	RMF 06066
	ร้อยเอ็ด	ปลาหางนกยูง	ลำตัว	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06067
		ปลาบอลลูน	ครีบ	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06068
		ปลาทองออลันดา	ลำตัว	<i>Aphanomyces laevis</i>	RMF 06069
		น้ำ	บ่อปลาหางนกยูง	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06070
	หนองคาย	ปลาหางนกยูง	ลำตัว	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06071
		ปลาบอลลูน	ครีบล้าง	<i>Saprolegnia paradiclina</i>	RMF 06072
		ปลาทองริวกิ้น	ลำตัว	<i>Achlya ambisexualis</i>	RMF 06073
		ปลาตะเพียนทอง	แผลตามลำตัว	<i>Achlya</i> sp.	RMF 07026
		บอลลูน	ครีบล้าง	<i>Aphanomyces</i> sp.	RMR 07027
		น้ำ	บ่อปลาตะเพียนทอง	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06074
		น้ำ	บ่อปลาหางนกยูง	<i>Saprolegnia multispora</i>	RMF 06075
		น้ำ	บ่อปลากระดี่	<i>Achlya</i> sp.	RMF 07028
	อุบลราชธานี	ปลาหมอสี	เหงือก	<i>Saprolenia multispora</i>	RMF 06076
			ลำตัว	<i>Achlya ambisexualis</i>	RMF 06077
		ปลาซอด	ลำตัว	<i>Achlya</i> sp.	RMF 06078
		ปลาทองริวกิ้น	ลำตัว	<i>Aphanomyces stellatus</i>	RMF 06079
		ปลาบอลลูน	ครีบท้อง	<i>Saprolegnia</i> sp.	RMF 06080
		น้ำ	ตู้ปลาทอง	<i>Achlya diffusa</i>	RMF 06081
		น้ำ	ตู้ปลาบอลลูน	<i>Achlya</i> sp.	RMF 07029

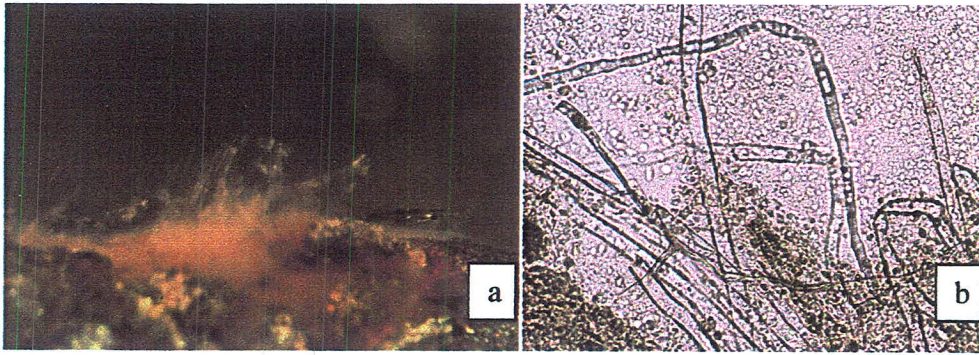
หมายเหตุ* ชื่อวิทยาศาสตร์ของปลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง : ปลากัด *Betta splendens*, ปลากระดี่มุก *Colisa leeri*, กระจกคี่นางฟ้า *Trichogaster microlepis*, ปลากระโห้ *Catlocarpio siamensis*, ปลาทราย, *Notopterus chilata*, ปลาการ์ป *Cyprinus carpio*, ปลาหางไหม้ *Balantiocheilos melanopterus*, ปลาตะเพียนขาว *Puntius gonionotus*, ตะเพียนทอง *Baeobodes altus*, ปลาทอง *Carassius auratus*, ปลานก *Pangasianodon gigas*, ปลาใบไม้ *Brachirus panoides*, ปลาบอลลูน *Xiphophorus hellari*, ปลาปักเป้า *Tetraodon fluviatilis*, ปลาอุกผึ่ง *Gyrinocheilus aymonieri*, ปลาตะกรับเสียดาว *Scatophagus argus*, ปลาเสือพ่นน้ำ *Toxotes chatareus*, ปลาซอด *Xiphophorus maculatus*, ปลาหางนกยูง *Poecilia reticulata*, ปลาหมอไทย *Anabrus testudineus*, ปลาหมอสี *Etrolus* sp.

ตารางที่ 7 การจำแนกเชื้อราระดับสกุล (Genus) ที่แยกได้จากน้ำและปลาสวยงามที่พบในการศึกษาครั้งนี้

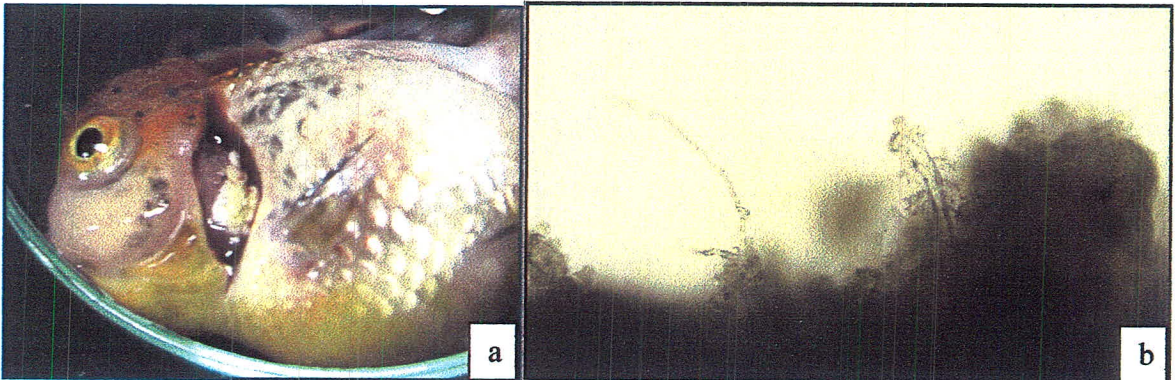
เชื้อราชนิด (Species) ต่างๆ ในวงศ์ Oomycetes	จำนวนสายพันธุ์ (Strains)
Genus: <i>Achlya</i>	50
<i>Achlya bisexualis</i>	6
<i>Ac. ambisexualis</i>	4
<i>Ac. diffusa</i>	3
<i>Ac. dubia</i>	5
<i>Ac. channae</i>	2
<i>Achlya</i> spp.	30
Genus: <i>Saprolegnia</i>	40
<i>S. multispora</i>	12
<i>S. diclina</i>	4
<i>S. ferax</i>	3
<i>S. paradiclina</i>	5
<i>S. ecentrica</i>	1
<i>Saprolegnia</i> spp.	15
Genus: <i>Aphanomyces</i>	15
<i>Ap. laevis</i>	3
<i>Ap. stellatus</i>	2
<i>Aphanomyces</i> spp.	10
Genus: <i>Leptolegnia</i>	5
<i>Leptolegnia</i> spp.	5
Genus: <i>Dictyuchus</i>	2
<i>Dictyuchus</i> spp.	2
รวม	113



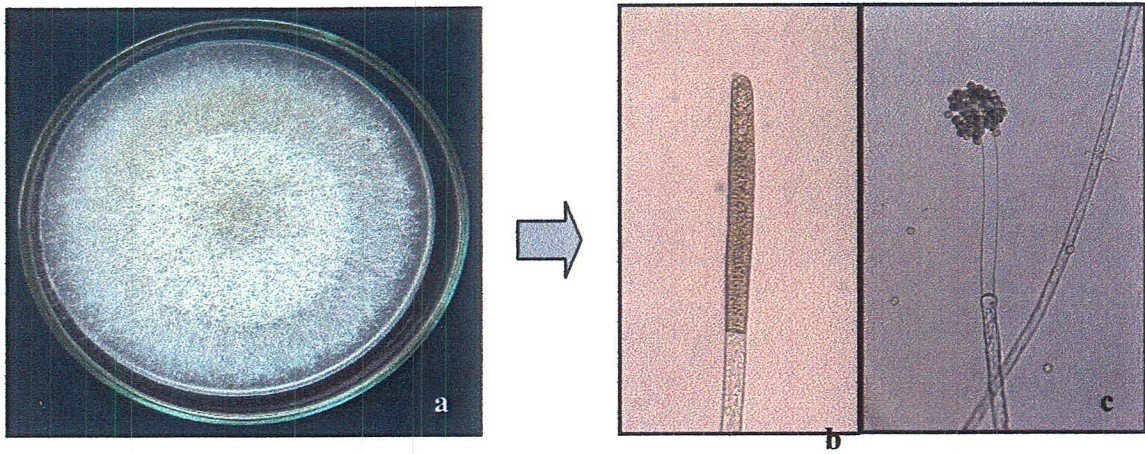
ภาพที่ 6 ลักษณะอาการของปลาที่ติดเชื้อรา (a) ปลาเสือดาบ (b) ปลาบึก (c) ปลากระโห้ (d) ปลา
 บอลลูนดำ (e) ปลาบอลลูนลายส้ม (f) ปลาบึกเปาะ (g) ปลาลูกผึ้ง (h) ปลาตะเพียนทอง (i)
 ปลาหางนกยูง (j) ปลาแรด (k) ปลาทอง (l) ปลาหมอสี (m) ปลาหางนกยูง (n) ปลาสายรุ้ง
 (o) ปลาเสือพ่นน้ำ



ภาพที่ 7 ลักษณะอาการของปลาที่ติดเชื้อรา (a) ปลาเสือดาว (b) ปลาบึก (c) ปลากระโห้ (d) ปลาบอลลูนดำ (e) ปลาบอลลูนลายส้ม (f) ปลาปักเป้า (g) ปลาอุกผึ่ง (h) ปลาตะเพียนทอง (i) ปลาหางนกยูง (j) ปลาแรด (k) ปลาทอง (l) ปลาหมอสี (m) ปลาหางนกยูง (n) ปลาสาขรุ้ง (o) ปลาเสือพ่นน้ำ



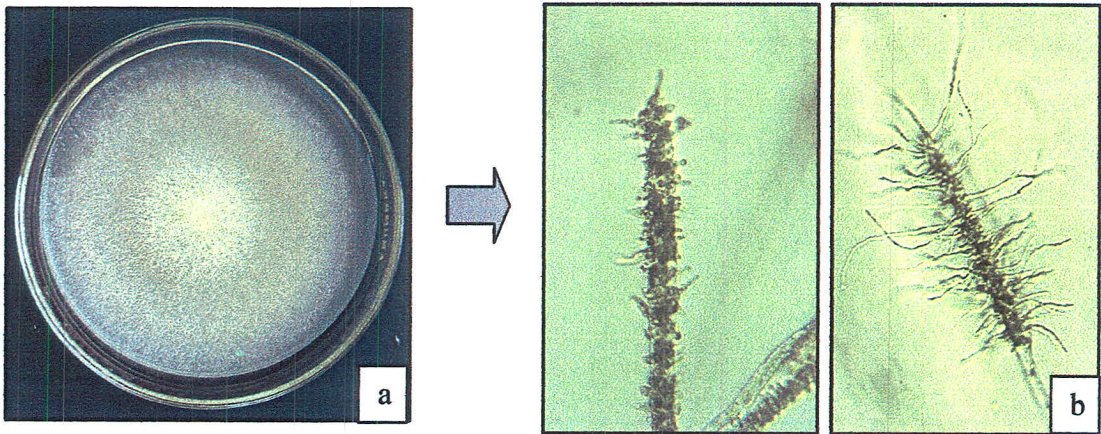
ภาพที่ 8 การติดเชื้อ (a) ลักษณะอาการของปลาที่ติดเชื้อราที่ลำตัว และ (b) เส้นใยราที่แยกจากปลาป่วย



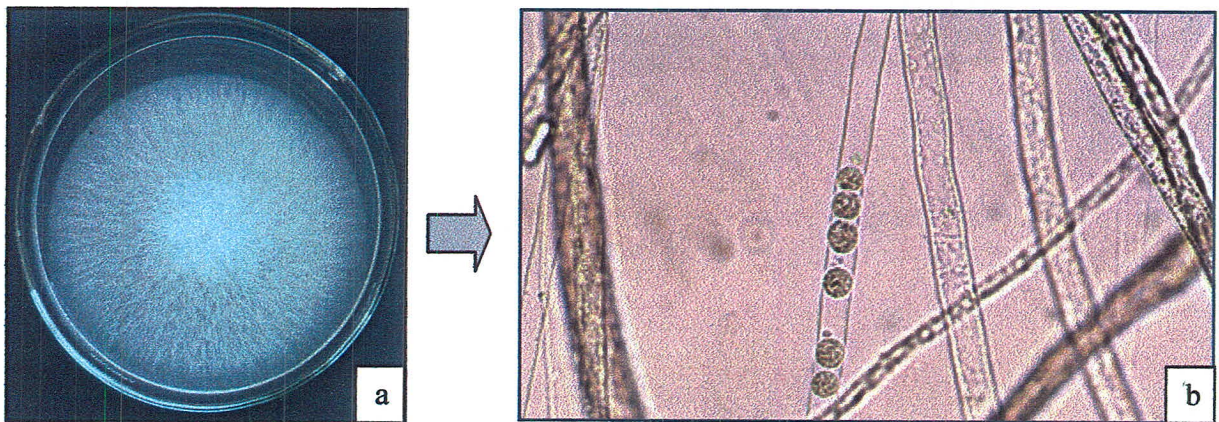
ภาพที่ 9 การติดเชื้อรา (a) ลักษณะอาการของปลาที่ติดเชื้อราที่เหงือก และ (b) เส้นใยราที่พบใน เหงือก ปลาป่วย



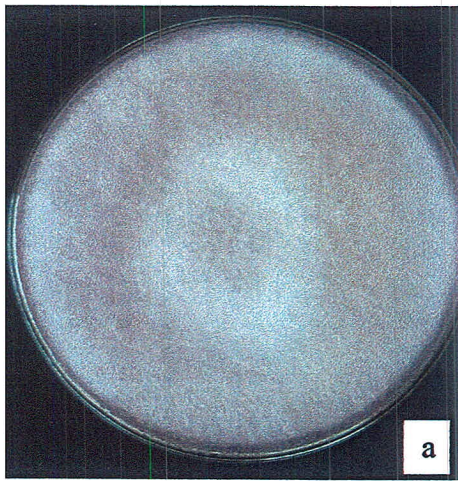
ภาพที่ 10 เชื้อรา (a) *Achlya* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (b) Immature zoospores (c) Mature zoospore กำลังปล่อย Zoospores แบบ Achlyoid



ภาพที่ 11 เชื้อรา (a) *Dictyuchus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (b) Mature zoospore กำลังปล่อย Zoospores แบบ Dictyuchoid



ภาพที่ 12 เชื้อรา (a) *Leptolegnia* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และ (b) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของ Mature zoospores กำลังปล่อย Zoospores แบบ Saprolegnoid

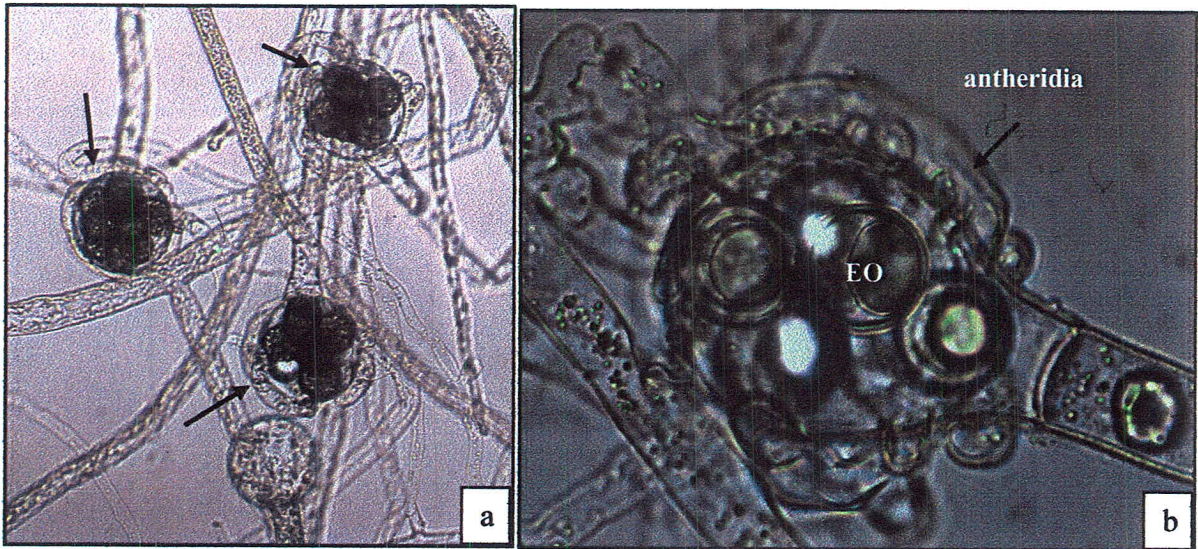


ภาพที่ 13 เชื้อรา (a) *Saprolegnia* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และ (b) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

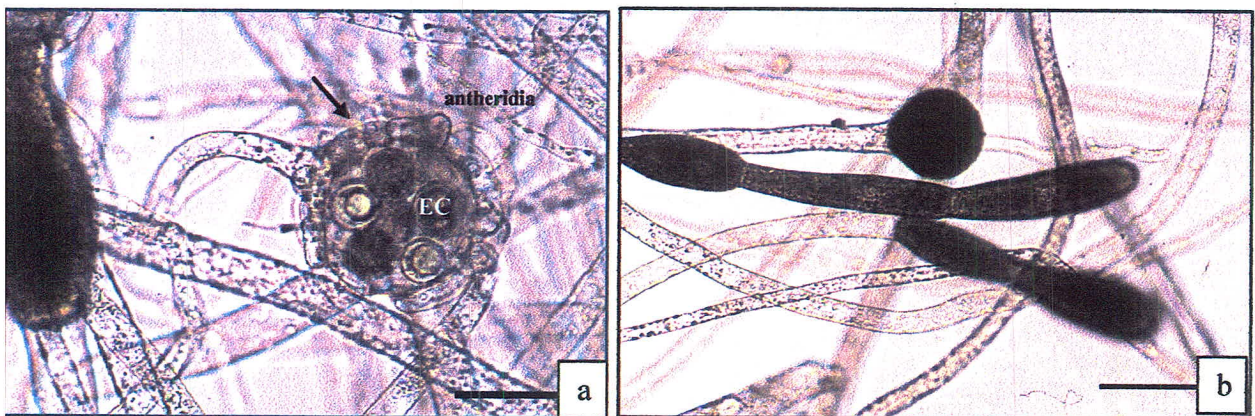
Mature zoospore กำลังปล่อย Zoospores แบบ Saprolegnoid



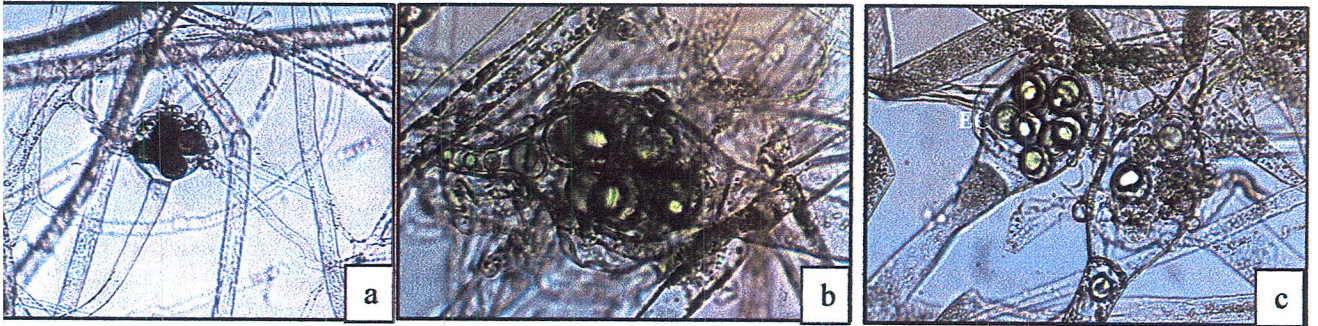
ภาพที่ 14 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Achlya bisexualis*; (a) รูปร่าง Oogonium ส่วนมากเป็นทรงกลม เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 48 μm เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เป็นแบบ Diclinous antheridia (b) Mature oospore, Not fill oogonium ที่เกาะด้วย Diclinous antheridia



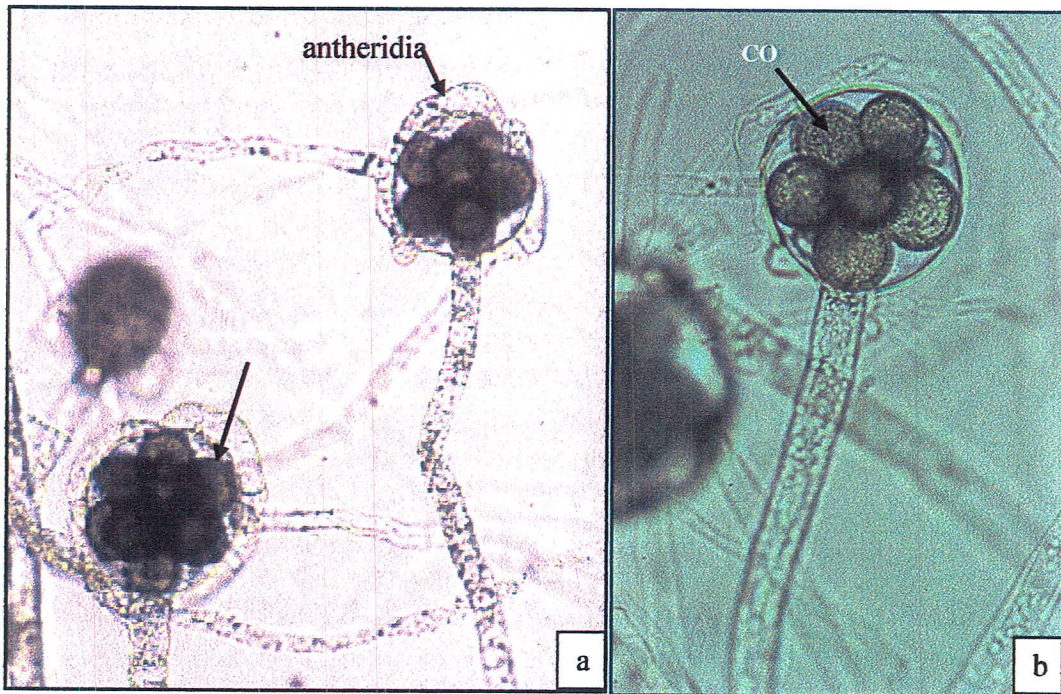
ภาพที่ 15 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Achlya klebsiana*; (a) Oogonia รูปกลม และ Immature oospores ที่เกาะด้วย Diclinous antheridial branches (สรชี) (b) Oogonium กับ Eccentric oospore ถูกโอบล้อมด้วย Antheridia (EO : eccentric oospore)



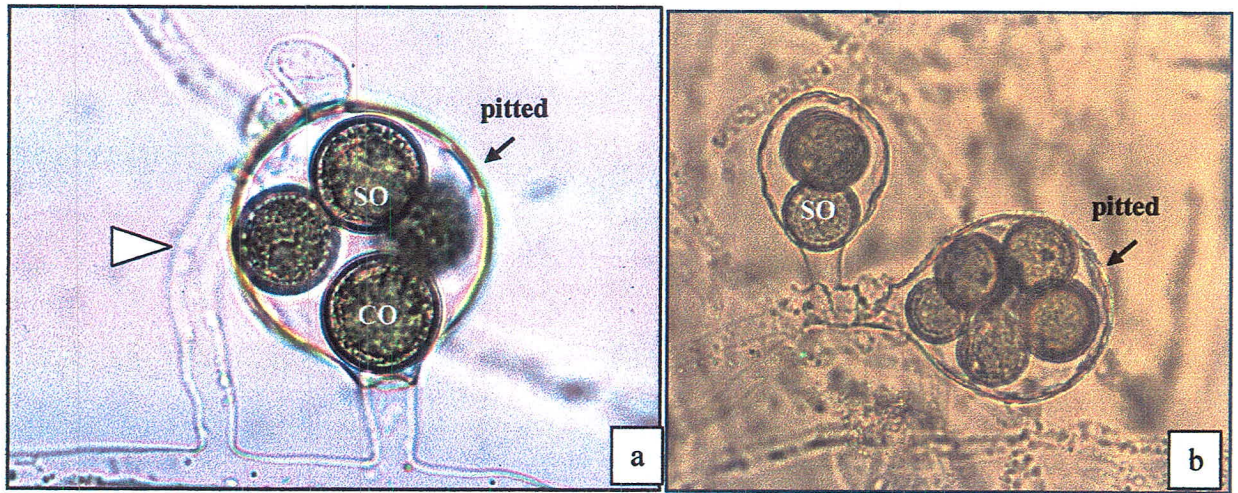
ภาพที่ 16 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Achlya ambisexualis*; (a) Spherical oogonium ที่มี Eccentric Oospore อยู่เต็มเซลล์ มีเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แบบ Projections appressed of diclinous antheridial branch (สรชี), (b) Catenulated gemma (ลูกสรสีแดง) และ Pyriform gemma (ลูกสรสีน้ำเงิน), (EO: Eccentric oospore)



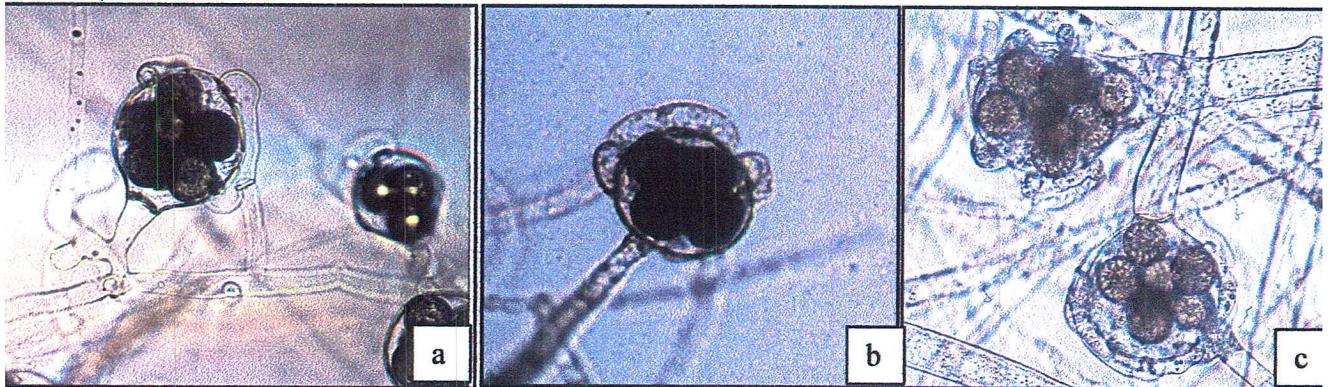
ภาพที่ 17 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Achlya channae* (a) Oogonium รูปกลม เกาะด้วย Diclinous antheridia (b) Oogonium รูป Naviculated มี Oospore หลายขนาด (c) Oospore แบบ Filling และมีการฟ่อ่อนเจริญเป็นเส้นใย (EO : Eccentric oospore)



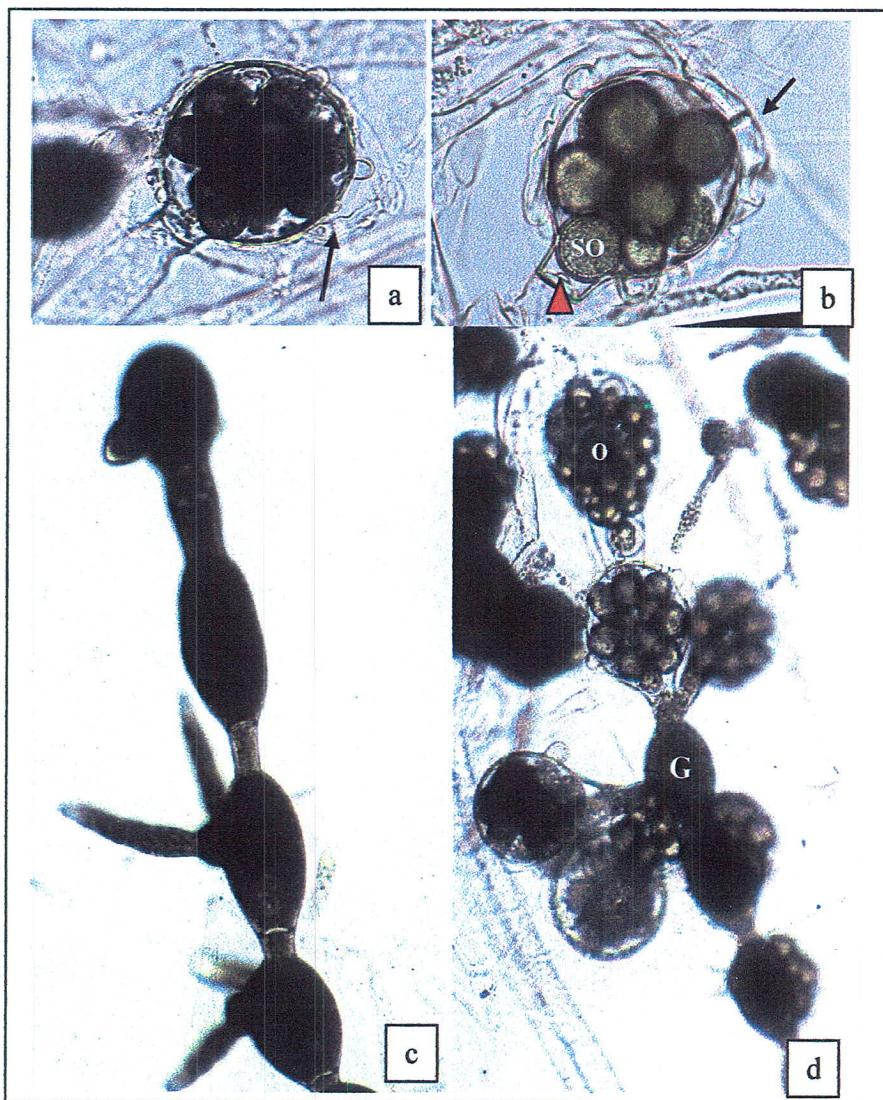
ภาพที่ 18 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Saprolegnia diclina* (a) Young oogonia และ Diclinous antheridial branches ใน Immature oogonia (ศรีษะ) (b) Mature oogonium ที่มี Centric oospore (CO : Centric oospore)



ภาพที่ 19 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Saprolegnia ferax*; (a) Oogonium รูป Spherical, Non filling, Oospore มีทั้งแบบ Centric และ Subcentric, มี Pitted รอบ Oogonia (สรชี้) และ เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เป็นแบบ Monoclinous antheridia (หัวลูกสรชี้) (CO: Centric oospore, SO : subcentric oospore)



ภาพที่ 20 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Saprolegnia multispora*; (a) Spherical oogonia เกาะด้วย Monoclinous antheridia, (b) Terminal oogonium และ Immature oospore เกาะด้วย Diclinous antheridia, (c) Oogonia ที่มี Multiple oospore โอบล้อมด้วย Diclinous antheridia



ภาพที่ 21 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ *Saprolegnia paradiclina*; (a) Oogonium รูปกลม เกาะ ด้วย Diclinous antheridia, immature oospore (b) Pyriform oogonium ที่มี diclinous antheridia (สรชี) และ Hypogynous antheridia (หัวตูสรชี), subcentric oospore (c) Catenulate gemmae (G) ที่จะพัฒนาไปเป็น oogonia ต่อไป (d) Cluster ของ Oogonia ที่พัฒนามาจาก catenulate gamma (SC: Subcentric oogonia, O: Oogonia, G: Gamma)

1.2 การจำแนกชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากปลาตายตามวิธีทางอนุชีววิทยา (Molecular characteristics)

1.2.1 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ ITS gene ของเชื้อรา 32 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saprolegnia* 15 สายพันธุ์, *Achlya* 6 สายพันธุ์, *Aphanomyces* 4 สายพันธุ์, *Leptolegnia* 3 สายพันธุ์ และ *Dictyuchus* 1 สายพันธุ์ จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์จาก GenBank มาเปรียบเทียบ 4 สกุล ได้แก่ *Saprolegnia*, *diclina*, *Saprolegnia hypogyna*, *Achlya proliferata*, *Phytophthora sojae* และ *Pythium splendens* (ตารางที่ 8) ผลการศึกษา พบว่า ITS ซึ่งอยู่ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 18S และ 28S rDNA ของเชื้อราทั้ง 28 สายพันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์ ITS-F และ ITS-R สำหรับทำ PCR ซึ่งจะทำให้ได้ลำดับเบสที่มีความยาวประมาณ 650-750 bp โดยความยาวเฉลี่ยของลำดับเบสที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้อยู่ระหว่าง 649-669 bp ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนของ ITS1, 5.8S และ ITS2 ที่มีความยาว 158-173, 159 และ 332-337 bp, ตามลำดับ (ตารางที่ 8) เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาศึกษาความแตกต่าง (Identity) พบว่า เชื้อราแต่ละสกุลที่แยกได้มีความแตกต่างกัน ดังเช่นในกลุ่มของ *Saprolegnia* ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบมากที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ ที่ค่า Homology 99.4-100% โดยไม่ขึ้นกับแหล่งเก็บตัวอย่างและสถานที่ ในเชื้อราสกุล *Achlya* แสดงค่า Homology 92.3-78.2, 79.2-81.4, 89.8-91.1, 82.0-91.1 and 80.2-81.8% ต่อเชื้อราสกุล *Saprolegnia* ส่วน *Achlya*, *Dictyuchus*, *Phytophthora*, *Pythium* and *Leptolegnia* มีค่า similarity 75.8-76.0, 66.5, 59.4, 60.2 and 73.9-77.8% ต่อเชื้อรา *Saprolegnia* ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ITS ซึ่งประกอบด้วย ITS1, 5.8S และ ITS2 นั้น พบว่า ส่วนของ 5.8S และ ITS2 มีความคล้ายคลึงกันมากกว่า ITS1 และส่วนของ 5.8S ของเชื้อราทุกสายพันธุ์นั้น มีความคล้ายคลึงกันจนไม่สามารถจำแนกชนิดของเชื้อราได้ ซึ่งให้ผลไปในทิศทางเดียวกับ Phadee (2005) ที่รายงานว่ ลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน of ITS (ITS1 และ ITS2) ของ *A. piscicida* ที่แยกได้จากปลาที่ติดเชื้อ Mycotic granulomatosis จากประเทศญี่ปุ่นมีค่าใกล้เคียงกับ ITS จาก Epizootic ulcerative syndrome, Red spot disease และ Ulcerative mycotic ที่แยกได้จากประเทศต่างๆ ทั่วโลก (98.8-100 and 99.4-100%, ตามลำดับ) และพบว่าส่วน of 5.8S ก็มีค่าใกล้เคียงในทุกสกุลเช่นเดียวกัน เช่นเดียวกัน Yan *et al.* (1995) ได้ศึกษาค่าความเหมือน (Sequence similarity values) ของ ITS regions ในเชื้อรา *Phialophora americana* 4 สายพันธุ์ มีค่ามากกว่า 98% และพบว่าค่าความเหมือนดังกล่าวขึ้นอยู่กับการ Intrasppecific variation และการศึกษา Intrasppecific similarities ของ *Cenococcum geophilum* 18 สายพันธุ์ มีค่าเท่ากับ 96% (Shinohara *et al.*, 1999).

ตารางที่ 8 Nucleotide homology ของเชื้อราที่แยกได้จากน้ำและปลาสดจาก DNA ในส่วนของ ITS genes; TS I, 5.8S and ITS II

Fungal species	Fungal strains	ITS		ITS1		5.8S		ITS2		Accession
		Length	%homo	Length	%homo	Length	%homo	Length	%homo	No.
<i>S. multispora</i>	RMF 06002	649		158		159		332		...
<i>S. multispora</i>	RMF 07001	651	99.7	160	98.8	159	100	332	100	...
<i>S. multispora</i>	RMF 06011	651	99.7	160	98.8	159	100	332	100	...
<i>S. multispora</i>	RMF 06019	649	100	158	100	159	100	332	100	...
<i>S. multispora</i>	RMF 06027	649	100	158	100	159	100	332	100	...
<i>S. multispora</i>	RMF 06028	651	99.7	160	98.8	159	100	332	100	...
<i>S. multispora</i>	RMF 07007	651	99.7	160	98.8	159	100	332	100	...
<i>S. multispora</i>	RMF 06048	649	100	158	100	159	100	332	100	...
<i>S. multispora</i>	RMF 07021	651	99.7	160	98.8	159	100	332	100	...
<i>O. S. multispora</i>	RMF 06074	649	100	158	100	159	100	332	100	...
1. <i>Aphanomyces</i> sp.	RMF 07022	668	75.9	167	69.0	159	96.9	342	67.4	...
2. <i>S. ecentrica</i>	RMF 06013	651	96.2	160	90.6	159	100	332	97.0	...
3. <i>S. ferax</i>	RMF 06039	660	91.2	170	81.1	159	100	331	92.5	...
4. <i>S. hypogyna</i>	ATCC 52712	664	92.3	173	84.4	159	100	332	92.8	...
5. <i>Aphanomyces</i> sp.	RMF 06016	655	78.2	159	75.2	159	97.5	337	71.0	...
6. <i>Achlya</i> sp.	RMF 06003	666	79.2	170	75.1	159	96.9	337	73.3	...
7. <i>Achlya</i> sp.	RMF 07005	658	81.2	168	76.5	159	99.4	331	75.5	...
8. <i>A. laevis</i>	RMF 07019	655	80.5	160	74.7	159	97.5	336	75.7	...
9. <i>Ac. diffusa</i>	RMF 06052	652	81.4	159	80.4	159	95.6	334	76.2	...
0. <i>A. stellatus</i>	RMF 06079	651	82.0	159	82.3	159	96.2	333	75.9	...
1. <i>S. diclina</i>	RMF 06030	663	90.1	172	84.1	159	100	332	88.6	...
2. <i>S. paradiclina</i>	RMF 06066	662	89.8	171	85.2	159	100	332	87.4	...
3. <i>Ac. bisexualis</i>	RMF 06026	654	80.2	161	76.7	159	97.5	337	74.2	...
4. <i>Ac. bisexualis</i>	RMF 06038	652	81.8	160	81.8	159	96.2	333	75.9	...
5. <i>S. ambisexualis</i>	RMF 07009	647	80.3	160	79.2	159	96.2	328	74.0	...
5. <i>Ac. prolifera</i>	NJM 9315	668	75.8	173	70.7	159	98.1	336	68.6	AY647196
7. <i>Dictyuchus</i> sp.	RMF 07024	647	66.5	167	54.7	159	96.9	321	58.6	...
3. <i>Phyth. sojae</i>	AY277278	827	59.4	230	56.0	161	96.2	436	43.4	AY277278
3. <i>Pyth. splendens</i>	AY269993	806	60.2	208	51.9	158	97.5	440	50.0	AY269993
3. <i>Leptolegnia</i> sp.	RMF 07018	651	73.9	161	72.7	159	96.9	331	63.8	...
1. <i>Leptolegnia</i> sp.	RMF 06063	654	75.2	162	73.5	159	96.9	333	66.0	...
2. <i>Leptolegnia</i> sp.	RMF 06032	655	74.2	163	71.2	159	96.	33	65.1	...

หมายเหตุ: ... หมายถึง ยังไม่ได้ Submit to GenBank

1.2.2 การศึกษา Phylogenetic analysis ของเชื้อราที่แยกจากปลาซวยงาม

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างยีนของเชื้อราสกุลต่างๆ ที่แยกได้จากปลาซวยงามในส่วน
ของ ITS region (ITS1, 5.8S และ ITS2 sequences) โดยใช้โปรแกรม PAUP 4.0b1 และสร้าง Phylogenetic tree
แบบ Neighbor-joining (NJ) (ภาพที่ 22) จากลักษณะของ Tree ที่ได้ จะเห็นว่า *Saprolegnia multispora* และ
Saprolegnia sp. เป็น Single cluster ที่แสดง Bootstrap support 100% ถึงแม้ว่า *Saprolegnia* บางส่วนจะไม่สามารถ
จำแนกชนิดได้จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) เนื่องจากเชื้อราไม่สร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบ
อาศัยเพศ เช่น Oogonia (Oospore) และ Antheridia ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า เชื้อราที่ไม่สามารถแยกชนิดได้จาก
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถแยกได้ด้วยลักษณะทางอนุชีววิทยาหรือลักษณะการแสดงออกของยีน
โดยเฉพาะในส่วนของ ITS gene จากลักษณะของ Phylogeny tree จะพบว่า *Saprolegnia* สามารถแยกเป็น 3
กลุ่ม รวมทั้งแยกกลุ่มชัดเจกับ *Achlya*, *Aphanomyces*, *Dictyuchus*, *Leptolegnia*, *Phytophthora* and *Pythium*
species ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราแต่ละสกุลก็แยกกลุ่มตามชนิด (Species) ได้ด้วย ITS gene เป็นที่ทราบ
กันว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ rDNA genes ให้ผลดีในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิต ไม่ว่าจะเป็น
พืช สัตว์ หรือเชื้อรา (Avisé *et al.*, 1986; Taylor, 1986) จากการศึกษาในครั้งนี้ จะเห็นว่า ITS sequence สามารถ
บ่งชี้ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราในวงศ์ Oomycetes ที่แยกได้จากปลาซวยงามในภาคกลางและภาค
ตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยได้ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีดังกล่าวกับเทคนิคอื่นๆ เช่น RAPD และ RFLP
จะเห็นว่าวิธีทั้งอย่างหลังจะไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ในกรณีที่สิ่งมีชีวิตมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก
(Levenfors และ Fatehi, 2004) การศึกษา Phylogenetic tree ในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า ITS regions มีประโยชน์ในการ
จำแนกชนิดและศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราแบบ Interspecific relationships ซึ่งจะแยกเชื้อราออกเป็น Single
group และยังสามารถแยกเชื้อราคนละ Species ออกจากกันได้



ภาพที่ 22 Phylogenetic analysis ของเชื้อราที่แยกได้จากน้ำและปลาตายงามโดยใช้ DNA ในส่วนของ internal transcribed spacers (ITS) โดยใช้ Neighbor-joining from และจำนวนของ branches indicate จาก bootstrap values มี D แทน outgroup และ A แทนกลุ่มที่ศึกษา

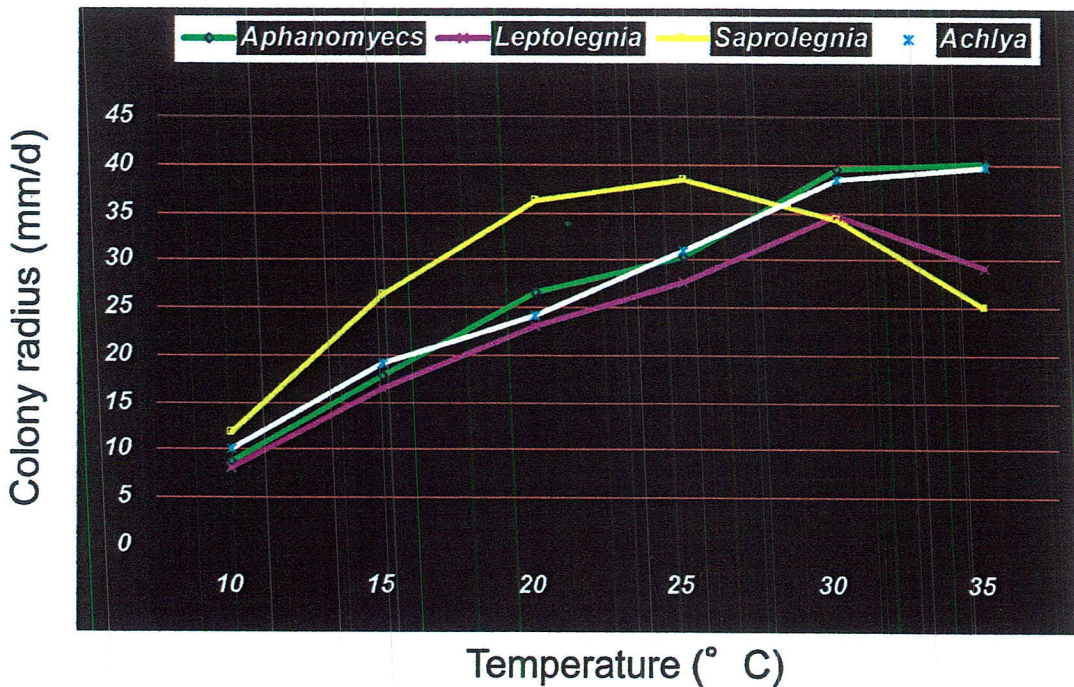
2. ลักษณะทางชีววิทยาของเชื้อราที่แยกได้

เชื้อราน้ำ โดยเฉพาะวงศ์ Oomycetes นั้น สามารถแพร่กระจายไปตามที่ต่างๆ และเจริญเติบโตเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งเชื้อราน้ำโดยทั่วไปจะมีทั้งที่ไม่ก่อโรค (Saprophytic fungi) และเชื้อราที่สามารถก่อให้เกิดโรค (Pathogenic fungi) ได้ การแพร่กระจายของเชื้อราดังกล่าวมักจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพราะหากมีการแพร่ระบาดของเชื้อราเป็นจำนวนมากก็จะก่อให้เกิดความสูญเสียอย่างต่อเนื่อง ถึงแม้ว่าเชื้อราจะไม่ใช่อุปสรรคหลักในการเกิดโรคในสัตว์น้ำก็ตาม ดังนั้นการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อราจึงมีความสำคัญ เพื่อหาแนวทางในการจัดการฟาร์มเพื่อไม่ให้เกิดโรค ดังนี้

2.1 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อรา

จากเชื้อรา 4 สกุล ได้แก่ *Achlya*, *Aphanomyces*, *Saprolegnia* และ *Leptolegnia* มาสกุลละ 5, 5, 5 และ 2 สายพันธุ์ ที่แยกได้ พบว่าเชื้อราในสกุล *Saprolegnia* มีอัตราการเจริญสูงที่ทุกระดับอุณหภูมิที่ทำการศึกษา ยกเว้นที่ 40°C เชื้อราที่สามารถเจริญได้เร็วในอาหารเลี้ยงเชื้อ GY agar คือ *Saprolegnia* spp. รองลงมาคือ *Leptolegnia* sp., *Aphanomyces* spp. และ *Achlya* spp. เชื้อราทุกสกุลสามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25-30°C และอัตราการเจริญจะลดลงที่อุณหภูมิ 35°C อย่างไรก็ตามเชื้อราในสกุล *Achlya* และ *Aphanomyces* สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30-35°C สำหรับเชื้อราในสกุล *Saprolegnia* จะเจริญได้เล็กน้อยที่อุณหภูมิ 30°C และเชื้อราทุกสายพันธุ์ที่นำมาศึกษาจะตายที่อุณหภูมิ 40°C (ภาพที่ 23) โดยไม่มีเส้นใยเจริญออกมาจากส่วนของ GY agar ที่ตัดด้วย Cork borer No. 2 มาวางบน GY agar หรืองอกออกมาเล็กน้อย และหยุดการเจริญไปหลังจาก 24 ชั่วโมง จากการสังเกตพบว่าส่วนของไซโตพลาสซึมภายในเส้นใยจะเสื่อมสลายไป ซึ่งสอดคล้องกับ ปณรัตน์ และคณะ (2551) ที่ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากปลาเศรษฐกิจในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า เชื้อราที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิต่างๆ คือ *Saprolegnia* spp. รองลงมาคือ *Leptolegnia* sp., *Aphanomyces* spp. และ *Achlya* spp. เชื้อราทุกสกุลสามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25-30°C และอัตราการเจริญจะลดลงที่อุณหภูมิ 35°C อย่างไรก็ตามเชื้อราในสกุล *Achlya* และ *Aphanomyces* สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30-35°C สำหรับเชื้อราในสกุล *Saprolegnia* สามารถเจริญได้เล็กน้อยที่อุณหภูมิ 30°C และเชื้อราทุกสายพันธุ์ที่นำมาศึกษาจะตายที่อุณหภูมิ 40°C ซึ่งจะแตกต่างจากการศึกษาของนิลบล และคณะ (2543) ที่รายงานว่า เชื้อราสกุล *Achlya*, *Saprolegnia*, *Aphanomyces* และสกุล *Pythium* สามารถเจริญและมีชีวิตอยู่ได้ที่อุณหภูมิ 4-30 °C โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราส่วนใหญ่ คือ 25°C อุณหภูมิต่ำ (10°C) จะทำให้ระยะเวลาในการสร้างสปอร์ของเชื้อราในสกุล *Saprolegnia* และ *Achlya* ยาวนานขึ้น ในขณะที่ *Aphanomyces* และ *Pythium* นั้นจะสร้างได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า คือ ที่ 20°C โดยที่อุณหภูมิ 10 และ 30°C นั้น ไม่เหมาะสมต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อราทั้งสองสกุล จากผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าเชื้อราในชั้น Oomycetes สามารถพบอยู่ทั่วไปทั้งจากปลาในธรรมชาติและปลาใน

ฟาร์มเลี้ยง และเมื่อเปรียบเทียบกับ Kitancharoen (1997) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกัน ถึงแม้จะทำการศึกษาในกลุ่มปลาที่ต่างกัน แสดงว่าคุณสมบัติทางกายภาพนี้สัมพันธ์กับชนิดของเชื้อรามากกว่าแหล่งที่พบหรือชนิดของปลา

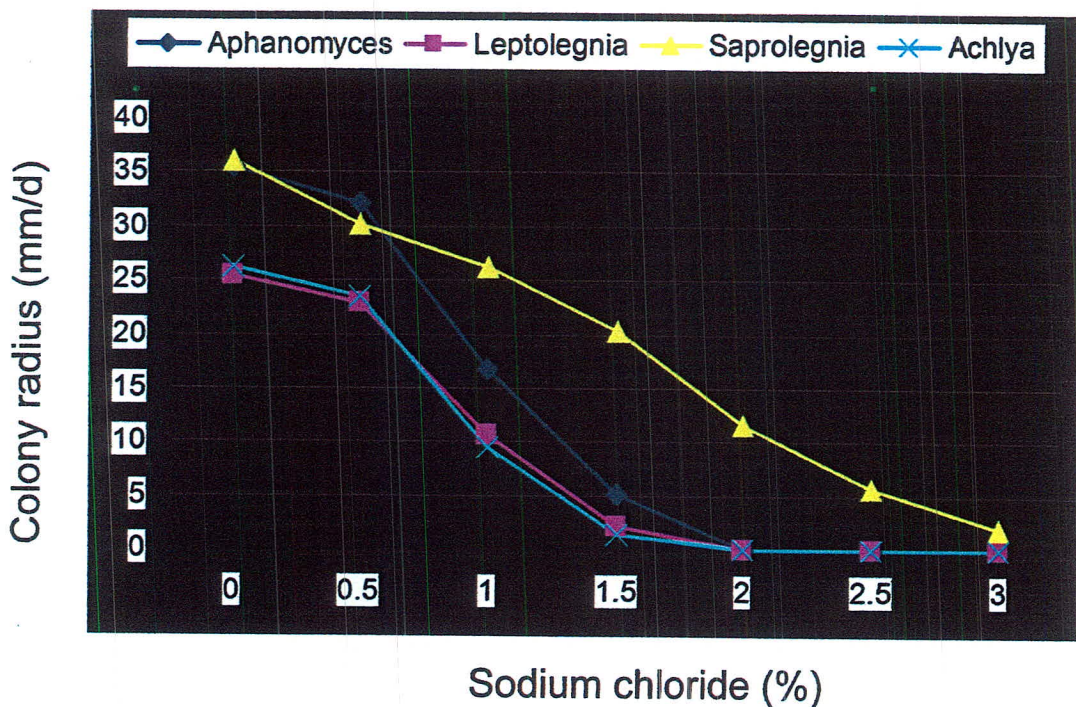


ภาพที่ 23 ผลของอุณหภูมิที่ระดับต่างๆ ต่อการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา 4 ชนิด ที่พบในปลา

2.2 ผลของความเค็ม (Sodium chloride: NaCl) ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา

จากเชื้อราทั้ง 4 สกุล ได้แก่ *Achlya*, *Aphanomyces*, *Saprolegnia* และ *Leptolegnia* มาสกุลละ 5, 5, 5 และ 2 สายพันธุ์ ที่แยกได้ พบว่าเชื้อราทุกชนิดเจริญได้ดีในสภาพที่ไม่มีเกลือหรือความเค็มต่ำ ตั้งแต่ 0-1% NaCl โดยจะพบเฉพาะ *Saprolegnia* spp. สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้น 2% NaCl และเจริญเล็กน้อยที่ 3% NaCl แต่ลักษณะของใยจะผิดปกติไป ส่วนเชื้อราชนิดอื่นๆ อีก 3 ชนิด ไม่สามารถเจริญตั้งแต่ความเข้มข้น 2% NaCl จากการทดลองพบว่าเชื้อราที่สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีความเค็มรองลงมาคือ *Leptolegnia* sp., *Aphanomyces* spp. และ *Achlya* spp. ตามลำดับ (ภาพที่ 24) อย่างไรก็ตาม เชื้อราที่เจริญในสภาพที่มีความเค็มสูงจะทำให้ลักษณะของใยรากงอกและผิดปกติ ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ ปณรัตน์ และคณะ (2551) ที่ศึกษาผลของความเค็มต่อการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากปลาเศรษฐกิจในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า เชื้อราทุกชนิดเจริญได้ดีในสภาพความเค็มตั้งแต่ 0-1% NaCl โดย *Saprolegnia* spp. สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้น

2% NaCl และเจริญเล็กน้อยที่ 3% NaCl และเชื้อราที่สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีความเค็มรองลงมาคือ *Leptolegnia* sp., *Aphanomyces* spp. และ *Achlya* spp. ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chukanhom (2004) ที่รายงานว่า เชื้อราในกลุ่ม Oomycetes จะเจริญได้ดีในช่วงความเค็ม 1-2% หากความเค็มสูงกว่านั้นจะมีผลต่อการเจริญและรูปร่างของเซลล์ เช่นเดียวกัน จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นว่า เชื้อราที่เจริญในสภาพที่มีความเค็มสูงจะทำให้ลักษณะของไฮราหึงงอและผิดปกติ



ภาพที่ 24 ผลของความเค็มที่ระดับต่างๆ ต่อการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา 4 ชนิด ที่พบในปลา

2.3 ผลของ pH ต่อการเจริญของเชื้อรา

เชื้อราทั้ง 4 สกุลที่ทำการศึกษาสามารถเจริญได้ในช่วง pH 4-9 ยกเว้น *Aphanomyces* spp. ที่ไม่สามารถเจริญใน pH 4 ได้ และเจริญได้ช้ากว่าสกุลอื่นๆ ที่ pH 5 และ 6 เชื้อราส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่ pH 6-8 (ตารางที่ 9) ส่วนที่ pH 10 เชื้อราส่วนใหญ่สามารถเจริญได้บ้างเล็กน้อย แต่รูปร่างของไฮราจะผิดปกติไป ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ ปณรัตน์ และคณะ (2551) ที่ศึกษาผลของความเค็มต่อการเจริญของเชื้อราที่แยกได้จากปลาเศรษฐกิจในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า pH มีผลต่อการเจริญของเชื้อราโดยเชื้อราส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ที่ pH ตั้งแต่ 5.0-10.0 โดยช่วง pH 6.0-8.0 จะเจริญได้ดีที่สุดในทุกสกุล มีเพียง *Achlya* และ *Saprolegnia* เท่านั้นที่สามารถเจริญได้ที่ pH 4 ซึ่งเป็นไปได้ว่าเชื้อราสายพันธุ์นี้อาจทำให้เกิด internal

saprolegniasis ได้เหมือนเช่นที่เกิดในปลากลุ่ม salmonids (Hatai and Egusa, 1977) เนื่องจากสามารถทนต่อ pH ที่เป็นกรดในกระเพาะของปลาได้ แต่การเจริญของเส้นใยจะยุติปกติในระยะแรก ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมมีผลต่อขบวนการเมตาบอลิซึมในการสังเคราะห์สารต่างๆ ของเชื้อรา (Kitancharoen *et al.*, 1996)

ตารางที่ 9 ผลของ pH ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา 4 สกุลที่พบในปลา

pH	<i>Aphanomyces</i> spp.	<i>Achlya</i> spp.	<i>Saprolegnia</i> spp.	<i>Leptolegnia</i> spp.
3	-	±	-	±
4	±	+	+	+
5	++	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++	+++
7	+++	+++	+++	+++
8	+++	+++	+++	+++
9	++	++	+++	++
10	±	±	+	+
11	-	-	-	±
12	-	-	-	-

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่เจริญ ± หมายถึง เจริญเล็กน้อย + หมายถึง เจริญ
 ++ หมายถึง เจริญได้ดี +++ หมายถึง เจริญได้ดีมาก

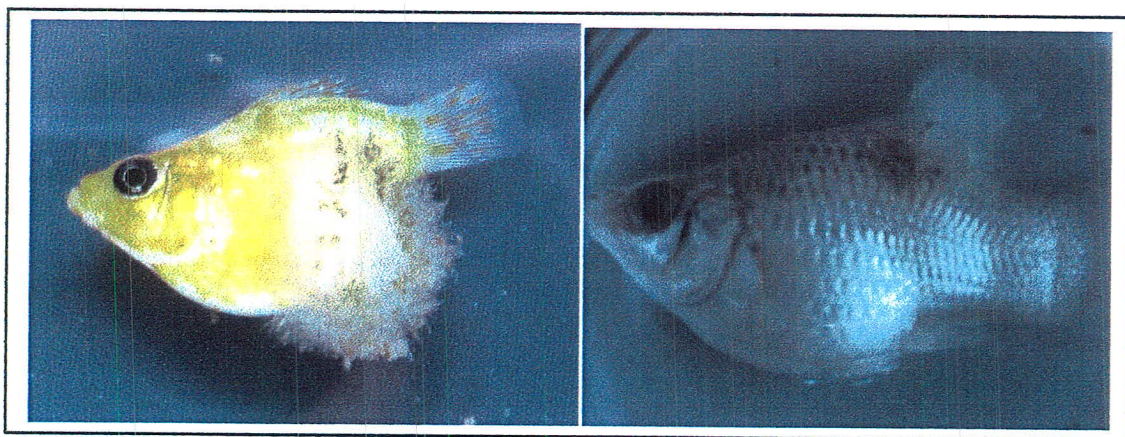
: *Aphanomyces*, *Achlya*, *Saprolegnia* and *Leptolegnia* spp. วัดการเจริญในวันที่ 5, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ

3. ผลการศึกษาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราต่อปลาสวยงาม

3.1 ผลการทดสอบเชื้อรา 4 สกุลต่อปลาบอลลูน

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา 4 สกุล จำนวน 17 สายพันธุ์ ได้แก่ *Achlya* sp. 5 สายพันธุ์, *Saprolegnia* sp. 5 สายพันธุ์, *Aphanomyces* sp. 5 สายพันธุ์ และ *Leptolegnia* sp. 2 สายพันธุ์ต่อปลาบอลลูน ที่เลี้ยงปลาทดลองที่อุณหภูมิที่ 25°C จากนั้นนำปลาทดลองซึ่งมีปลาปกติ (Intact) จำนวน 5 ตัว และปลาที่ถูกทำให้เกิดบาดแผลด้วยการดึงเกล็ดด้านซ้ายได้ครึ่งหลัง (Injured) ของปลาออก 3-4 เกล็ด จำนวน 5 ตัว จากนั้นนำไปแช่ลงในน้ำในตู้ที่มีน้ำ 1 ลิตร ที่มี Zoospores ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 และ 1×10^5

เซลล์ต่อลิตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 15°C เพื่อให้ปลาเกิดความเครียด ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 10 พบว่า เชื้อราทุกชนิดสามารถก่อให้เกิดปลาบอลลูนติดโรคได้โดยขึ้นกับความเข้มข้นของเชื้อและสภาวะแวดล้อมที่ก่อให้เกิดความเครียด จะพบว่าปลาบอลลูนที่แช่ใน Zoospores เชื้อราทั้ง 4 สกุล ที่ความเข้มข้นประมาณ 1×10^5 และ 1×10^4 เซลล์ต่อลิตร ส่วนที่ความเข้มข้น 1×10^3 เซลล์ต่อลิตร มีเพียง *Saprolegnia* sp. และ *Aphanomyces* sp. บางสายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้เมื่อถูกดิ่งเกล็ดคอก ส่วนปลาที่ไม่ถูกดิ่งเกล็ดคอกจะมีเฉพาะ *Saprolegnia* sp. และ *Achlya* sp. เท่านั้นที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ แต่ต้องมีปริมาณ Zoospores ในระดับสูง โดยปลาที่ติดเชื้อราจะแสดงอาการเชื่องซึม ว่ายน้ำช้า และมีปุยของเชื้อราเกาะบริเวณผิวหนังตัว (ภาพที่ 25) เมื่อทำการแยกเชื้อจากปลาป่วยก็พบว่า เป็นเชื้อที่ทำการทดลองจริง แสดงว่าเชื้อเหล่านี้สามารถทำให้เกิดโรคได้จริงแต่ต้องอยู่ในสภาวะที่ก่อให้เกิดความเครียด จากผลการทดลองพบว่า *Saprolegnia* sp. สามารถในการก่อให้เกิดโรคสูงที่สุดในทุกความเข้มข้นและทุกสภาพ รองลงมาคือ *Achlya* sp., *Aphanomyces* sp. และ *Leptolegnia* sp. ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ ปรณรัตน์ (2551) ที่ทดสอบ ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสกุล *Achlya* sp., *Saprolegnia* sp., *Aphanomyces* sp. และ *Leptolegnia* sp. ต่อปลาสด โดยทำการดิ่งเกล็ดด้านซ้ายใต้ครีบท้องของปลาออก 3 เกล็ด ควบคุมอุณหภูมิเลี้ยงที่ 15°C เพื่อให้ปลาเกิดความเครียด จากผลการทดลองพบว่า เชื้อราทุกชนิดสามารถก่อให้เกิดปลาสดติดโรคได้โดย ที่ความเข้มข้น 1×10^5 , 1×10^4 และ 1×10^3 เซลล์ต่อลิตร สามารถก่อให้เกิดโรคได้เมื่อถูกดิ่งเกล็ดคอก ส่วนปลาที่ไม่ถูกดิ่งเกล็ดคอกจะมีเฉพาะ *Saprolegnia* sp. และ *Leptolegnia* sp. เท่านั้นที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับ Chukanhom (2004) ที่ทดสอบในปลาแพลทตี้ และชี้ว่านอกจากปริมาณของเชื้อราที่ปลาได้รับแล้ว ค่า pH และความเค็มของน้ำก็มีผลต่อการติดเชื้อราของปลาค็วย



ภาพที่ 25 ทดสอบ (a) ปลาบอลลูน IT แสดงอาการติดเชื้อ *Achlya* RMF 06051 (b) ปลาบอลลูน IJ ที่ถูกดิ่งเกล็ดคอกแสดงอาการติดเชื้อรา *Saprolegnia* sp. RMF 0254 พบปุยสีขาวของเชื้อราเกาะบริเวณแผล

ตารางที่ 10 ผลของความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา 4 สายพันธุ์ต่อปลาบอลลูน

เชื้อรา	ความเข้มข้นของ Zoospores (spores/mL)									
	1x10 ⁵		1x10 ⁴		1x10 ³		1x10 ²		กลุ่มควบคุม	
	IJ	IT	IJ	IT	IJ	IT	IJ	IT	IJ	IT
<i>Achlya</i> spp.										
- RMF 06004	++	+/-	+	+/-	-	-	-	-	-	-
- RMF 06014	+	+/-	+	-	-	-	-	-	-	-
- RMF 06037	+	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-
- RMF 06051	++	+/-	+	-	-	-	-	-	-	-
- RMF 07002	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aphanomyces</i> spp.										
- RMF 06005	+	+/-	+	-	+	-	-	-	-	-
- RMF 06024	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
- RMF 06059	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
- RMF 07019	+/-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-
- RMF 07022	+	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Leptolegnia</i> spp.										
- RMF 06032	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- RMF 07018	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saprolegnia</i> spp.										
- RMF 06030	++	+/-	+	-	+	-	-	-	-	-
- RMF 06066	++	+/-	+	+/-	+	-	-	-	-	-
- RMF 06076	++	+/-	+/-	-	+/-	-	-	-	-	-
- RMF 07016	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- RMF 07021	++	+	+	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-

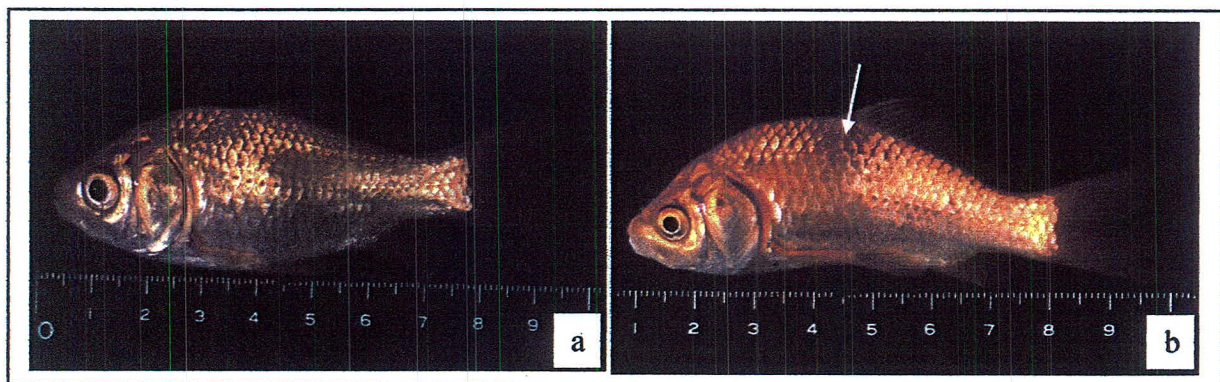
หมายเหตุ: IT (Intact) : ปลาที่ทำการทดลองปกติ IJ (Injured) : ปลาที่ดิ่งเกล็ดออกก่อนทำการทดลอง

+++ : มีจำนวนปลาที่ติดเชื้อรา 7-10 ตัว; ++ : มีจำนวนปลาที่ติดเชื้อรา 4-6 ตัว;

+: มีจำนวนปลาที่ติดเชื้อรา 1-3 ตัว; - : ไม่แสดงอาการติดเชื้อรา; +/- : แสดงอาการติดเชื้อเพียงชั้นเดียว

3.2 ผลการทดสอบเชื้อรา 4 สกุลต่อปลาทอง

จากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา 4 สกุล จำนวน 17 สายพันธุ์ ได้แก่ *Achlya* sp. 5 สายพันธุ์, *Saprolegnia* sp. 5 สายพันธุ์, *Aphanomyces* sp. 5 สายพันธุ์ และ *Leptolegnia* sp. 2 สายพันธุ์ต่อปลาทอง ขนาดน้ำหนัก 8-10 กรัม และความยาว 45-60 เซนติเมตร (ตารางที่ 11) โดยวิธีการฉีด Zoospore ของเชื้อรา แต่ละสายพันธุ์ที่ได้โคนกริบหลังด้านซ้าย ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 และ 1×10^5 เซลล์ต่อลิตร ผลการทดลอง พบว่า เชื้อราทุกสกุลสามารถก่อให้เกิดปลาทองติดโรคได้เพียงเล็กน้อย และแสดงอาการไม่รุนแรง (ภาพที่ 26, ตารางที่ 11) ปลาทองจะแสดงอาการตกเลือดและมีจุดแดงเล็กน้อยเฉพาะในปลาที่ฉีดด้วยเชื้อ *Aphanomyces* sp., *Achlya* sp. และ *Saprolegnia* sp. ที่ความเข้มข้น 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่อาการดังกล่าวจะหายไปเป็นปกติเมื่อเวลาผ่านไป 3 สัปดาห์ที่ 3 แสดงว่า เชื้อเหล่านี้ไม่ใช่สาเหตุที่แท้จริงในการก่อให้เกิดโรคในปลา แต่จะเป็นเชื้อโรโอกาสจะเข้าทำอันตรายต่อปลา เมื่อปลาอยู่ในสภาวะที่อ่อนแอ ปริมาณเชื้อมีมากขึ้น และสภาพแวดล้อมเสื่อมลงจะส่งผลให้ปลาเป็นโรคได้ (ปณรัตน์, 2552) และไม่สามารถเจริญภายในเนื้อเยื่อปลาได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการฉีดเชื้อราเข้าไปในกล้ามเนื้ออาจทำให้เชื้อราบางชนิดไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ เพราะโดยธรรมชาติจะก่อให้เกิดโรคภายนอก โดยทั่วไปจะมีเชื้อราบางชนิดที่สามารถเจริญในกล้ามเนื้อปลาได้ เช่น *Aphanomyces invadans* (*A. piscicida*) (Hatai และ Egusa, 1977; Phadee, 2005) และ *Saprolegnia parasitica* (Hatai และ Egusa, 1979; Hussien, 2003) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาของ ปณรัตน์ (2551) ที่ทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Achlya* sp., *Saprolegnia* sp., *Aphanomyces* sp. และ *Leptolegnia* sp. ต่อปลาตะเพียนขาว โดยการฉีดสารละลาย zoospore ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อราส่วนใหญ่ไม่ทำให้ปลาตะเพียนขาวเกิดโรคในระหว่างการทดลอง ยกเว้น แสดงอาการตกเลือดและมีจุดแดงเล็กน้อย



ภาพที่ 26 ทดสอบ (a) ปลาทองปกติที่ฉีดเชื้อ *Achlya* RMF 06051 (b) ปลาทองที่ฉีดเชื้อ *Saprolegnia* sp. RMF 06030 แสดงอาการติดเชื้อ (ศรชี้)

ตารางที่ 11 ผลของความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา 4 สายพันธุ์ต่อปลาทอง

เชื้อรา	ความเข้มข้นของ Zoospores (spores/mL)				
	1×10^5	1×10^4	1×10^3	1×10^2	กลุ่มควบคุม
<i>Achlya</i> spp.					
- RMF 06004	+/-	+/-	-	-	-
- RMF 06014	-	-	-	-	-
- RMF 06037	-	-	-	-	-
- RMF 06051	-	-	-	-	-
- RMF 07002	-	-	-	-	-
<i>Aphanomyces</i> spp.					
- RMF 06005	+	+/-	-	-	-
- RMF 06024	-	-	-	-	-
- RMF 06059	+/-	-	-	-	-
- RMF 07019	-	-	-	-	-
- RMF 07022	-	-	-	-	-
<i>Leptolegnia</i> spp.					
- RMF 06032	-	-	-	-	-
- RMF 07018	-	-	-	-	-
<i>Saprolegnia</i> spp.					
- RMF 06030	+	+/-	-	-	-
- RMF 06066	+/-	-	-	-	-
- RMF 06076	-	-	-	-	-
- RMF 07016	-	-	-	-	-
- RMF 07021	+/-	-	-	-	-

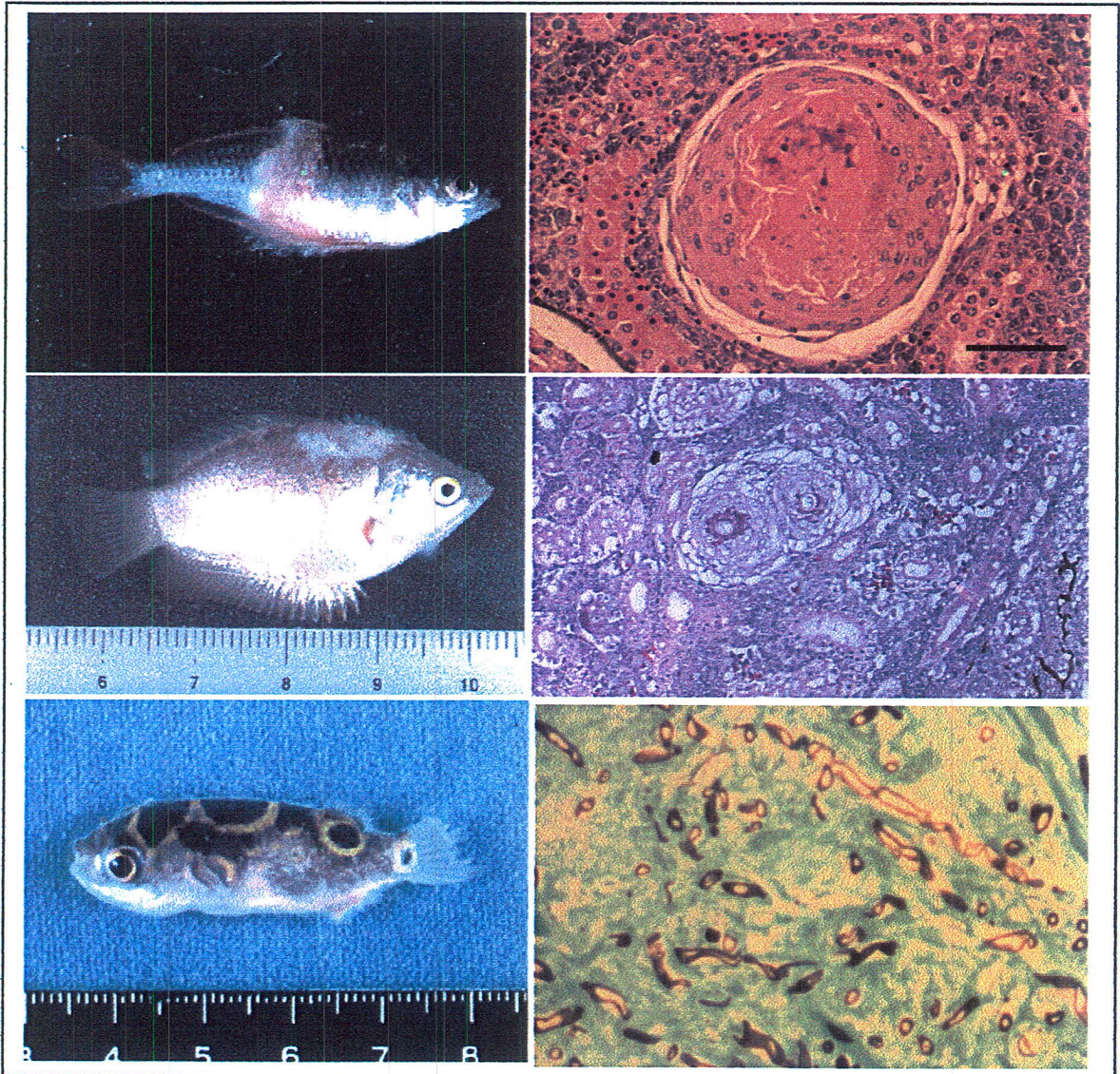
หมายเหตุ: +++ : มีจำนวนปลาที่ติดเชื้อรา 7-10 ตัว; ++ : มีจำนวนปลาที่ติดเชื้อรา 4-6 ตัว;

+ : มีจำนวนปลาที่ติดเชื้อรา 1-3 ตัว; - : ไม่แสดงอาการติดเชื้อรา; +/- : แสดงอาการติดเชื้อเพียงชั่วคราว

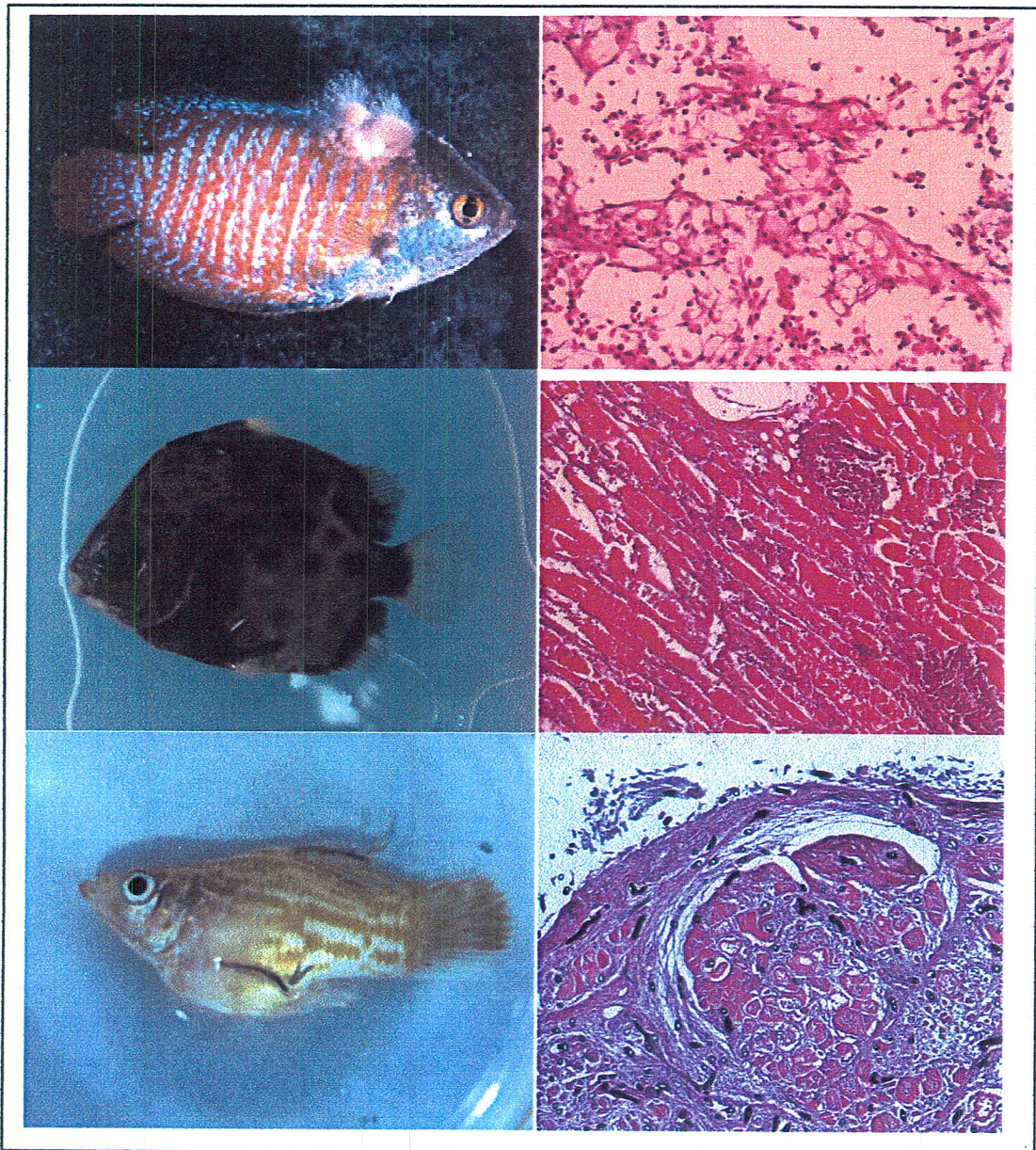
4. การตรวจสอบทางพยาธิวิทยา (Histopathological findings)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของปลาสวยงามที่ติดเชื้อราชนิดต่างๆ จากภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จากผลการทดลองพบว่าปลาที่ติดเชื้อราจะแสดงอาการไม่แตกต่างกันมาก นั่นคือ จะพบ

ราแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อหรือกล้ามเนื้อปลา ทำให้เนื้อเยื่อปลาตาย และหากใยราแทรกเข้าไปในกล้ามเนื้อบริเวณ
 ลึก จะมีการสร้าง Granuloma ขึ้นมา เพื่อโอบล้อมใยราไว้ (Hatai และ Egusa, 1979; Chukanhom, 2004) (ภาพที่
 27-28)



ภาพที่ 25 พยาธิสภาพ (a) ปลาสาวยุ่งติดเชื้อ *Saprolegnia* (b) Granuloma ที่ดับปลาสาวยุ่ง (H&E, Bar = 50µm) (c) ปลากระดี่แคะราติดเชื้อ *Aphanomyces* (d) Granulomas ที่ดับปลากระดี่แคะ (e) ปลาปักเป้าติดเชื้อ *Aphanomyces* (f) เส้นใยรา ที่บริเวณกล้ามเนื้อ (สีดำ)



ภาพที่ 26 พยาธิสภาพ (a) ปลากระดี่แกระติดเชื้อรา *Aphanomyces* sp. ขึ้นรุนแรง (b) กล้ามเนื้อปลากระดี่แกระถูกทำลายจากเชื้อรา (H&E) (c) ปลาทะกัับเสือดาวติดเชื้อ *Achlya* sp. (d) กล้ามเนื้อปลาทะกัับเสือดาวถูกทำลายจากเชื้อรา (H&E) (e) ปลาบอลลูนติดเชื้อ *Saprolegnia* sp. พร้อมกับหนอนสมอ (f) เนื้อเยื่อปลาบอลลูนติดเชื้อรา พบเส้นใยบริเวณผิวหนังและกล้ามเนื้อ (G-H&E)

5. การศึกษาประสิทธิภาพของยา สารเคมี และสมุนไพรบางชนิดที่มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อรา

5.1 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโต (Fungistatic effect) และการฆ่า (Fungicidal effect) เชื้อราของสารเคมีบางชนิด

ผลการใช้สารเคมี 12 ชนิด (ตารางที่ 12) ในการควบคุมการยับยั้งเจริญและการฆ่าเชื้อราในระยะเส้นใย 4 สกุล จำนวน 17 สายพันธุ์ ได้แก่ *Achlya* sp. 5 สายพันธุ์, *Saprolegnia* sp. 5 สายพันธุ์, *Aphanomyces* sp. 5 สายพันธุ์ และ *Leptolegnia* sp. 2 สายพันธุ์ โดยการสัมผัสโดยตรง ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ กัน พบว่า สารเคมีแต่ละชนิดมีความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่แตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เส้นใยของเชื้อราสัมผัสกับสารเคมี จากตารางจะเห็นว่า สารเคมีแต่ละชนิดมีความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่แตกต่างกันตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เส้นใยของเชื้อราสัมผัสกับสารเคมี (ตารางที่ 12) พบว่า สารเบนซิลโคเนียมคลอไรด์, ซีนีอออล, ฟอรัมาลิน, กลูตารัลดีไฮด์, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, มาลาไคท์กรีน, พาราฟอรัมาลดีไฮด์, ค่างทับทิม (โปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต), โพวิโดนไอโอดีน, ไพซีส, โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และโซเดียมคลอไรด์ (เกลือแกง) มีค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา (FS) ทั้ง 4 สกุล ที่ระดับความเข้มข้น 31.25, 2,500, 31.25-62.5, 15.63-31.25, 250, 0.97, 62.5-125, 500, 31.5-125, 3.60-7.81 ppm และ 2-3% ตามลำดับ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนค่าความเข้มข้นของสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อรา (FC) ทั้ง 4 สกุล ที่ระดับความเข้มข้น 31.25-62.5, 5,000, 62.5-125, 31.25, 250-500, 1.95, 31.25-62.5, 125, 500, 62.5-250, 7.81 ppm และ 2.5-3.5% ตามลำดับ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง มาลาไคท์กรีนเป็นสารเคมีที่สามารถควบคุมเชื้อราทุกสกุลได้ความเข้มข้นต่ำ ถึงแม้จะในการแช่ระยะสั้นก็ตาม สำหรับเชื้อราทุกสกุล รองลงมาคือ สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์, กลูตารัลดีไฮด์, พาราฟอรัมาลดีไฮด์, เบนซิลโคเนียมคลอไรด์ และ ฟอรัมาลิน ตามลำดับ ส่วนไพซีส, ค่างทับทิม, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเกลือแกง ต้องใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นจึงจะฆ่าเชื้อราได้ อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองถึงแม้ ซีนีอออลและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะฆ่าเชื้อราได้ แต่ต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงมาก ซึ่งอาจไม่คุ้มค่ากับการลงทุน รวมทั้งอาจเป็นอันตรายต่อปลาป่วยได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนิลบล และคณะ (2543) ที่รายงานว่ามาลาไคท์กรีนเป็นสารเคมีที่สามารถควบคุมเชื้อราได้ดี และมีผลกระทบต่อไข่ปลาและลูกปลาน้อยที่สุด รวมถึงผลในระดับที่มีผลควบคุมเชื้อราต่อเปอร์เซ็นต์ฟักของไข่ปลาและอัตราการตายของลูกปลา โดยการแช่ในระยะสั้น ส่วนเบนซินไวโอเล็ต, ค่างทับทิมและโพวิโดนไอโอดีนนั้น แนะนำว่าไม่ควรนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อราบนไข่ปลาหรือในลูกปลา เนื่องจากความเข้มข้นที่ระดับควบคุมเชื้อราได้นั้น มีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ปลาและต่ออัตราการตายของลูกปลา มาลาไคท์กรีนที่ระดับความเข้มข้น 1.25-5.0 ppm ไม่มีผลต่ออัตราฟักของไข่ปลานิลและอัตราการตายของลูกปลานิล อย่างไรก็ตามที่ระดับความเข้มข้น 5.0 ppm ทำให้เปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ลดลงและมีการตายเกิดขึ้น

ในลูกปลานิล สำหรับลูกปลาตะเพียนไม่ควรใช้มาลาไคท์กรีนเพื่อควบคุมเชื้อรา เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถควบคุมเชื้อราได้ มีผลทำให้เกิดอัตราการตายในลูกปลาตะเพียนถึงประมาณ 60% ส่วนลูกปลาในนั้นมีความไวต่อมาลาไคท์กรีนปานกลาง เมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลและปลาตะเพียน แต่เนื่องจากมาลาไคท์กรีนเป็นสารก่อมะเร็งและมีผลต่อการเจริญของคัพภะ (Meyer and Jorgensen, 1983) ดังนั้นจึงควรระมัดระวังในการนำมาใช้ จากผลการศึกษานับสนุนข้อมูลจาก Kitancharoen (1997) ที่ว่าความเข้มข้นของมาลาไคท์กรีนที่สามารถใช้ในการควบคุมเชื้อราบนไข่ปลากลุ่ม Salmonids ได้ เมื่อทำการแช่ในระยะสั้น อยู่ในช่วง 2-5 ppm อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีว่า มาลาไคท์กรีนนั้น สามารถก่อให้เกิดมะเร็ง การกลายพันธุ์ (Meyer and Jorgenson, 1983; Clemmensen *et al.*, 1984; Fernandes *et al.*, 1991) กกระบบภูมิคุ้มกัน (Prost and Sopinska, 1989) และตกค้างในเนื้อเยื่อปลาได้ (Meinertz *et al.*, 1995) ในขณะนี้บางประเทศได้ห้ามนำมาลาไคท์กรีนมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะสัตว์น้ำที่นำมาเป็นอาหารของมนุษย์ ซึ่งในปลาสวยงามอาจได้รับการยกเว้น ดังนั้น การใช้สารเคมีตัวอื่น เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์, กลูตารัลดีไฮด์, พาราฟอร์มัลดีไฮด์, เบนซัลโคเนียมคลอไรด์ หรือฟอร์มาลิน จึงเป็นทางเลือกที่ดี แต่ต้องศึกษาความเป็นพิษของสารดังกล่าวต่อปลา เพราะอาจเป็นสารที่เป็นอันตราย เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และสารบางตัวก็มีราคาค่อนข้างแพง เช่น กลูตารัลดีไฮด์ และเบนซัลโคเนียมคลอไรด์ จึงต้องประเมินความคุ้มค่า สำหรับฟอร์มาลินถือเป็นสารเคมีราคาถูกที่สามารถใช้ป้องกันรักษาโรคในสัตว์น้ำได้ดี โดยหากใช้ร่วมกับมาลาไคท์กรีนที่ความเข้มข้น 0.1-0.5 ppm ต่อฟอร์มาลิน 25-50 ppm จะให้ผลดีขึ้น (นนทวิทย์, 2537)

จากผลการทดสอบสารเคมีทั้ง 12 ชนิด ต่อเชื้อรา 4 สกุล พบว่า เชื้อราสกุล *Saprolegnia* จะทนต่อสารเคมีได้มากที่สุด รองลงมาคือ *Achlya*, *Aphanomyces* และ *Leptolegnia* ตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่ตอบสนองหรือมีความไวต่อสารเคมีมากที่สุด คือ *Aphanomyces* รองลงมาคือ *Leptolegnia*, *Achlya* และ *Saprolegnia* ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการรักษาหรือกำจัด *Saprolegnia* จะต้องใช้สารเคมีที่ความเข้มข้นสูงกว่าการรักษาโรคติดเชื้อราชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะ *Aphanomyces* อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาในห้องทดลอง จึงควรที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการรักษาโรคติดเชื้อราในตัวปลา เพื่อทราบความเข้มข้นที่แน่นอนในการรักษา

5.2 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโต (Fungistatic effect) และการฆ่า (Fungicidal effect) เชื้อราของยาปฏิชีวนะบางชนิด

ผลการใช้ยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด (ตารางที่ 12) ในการควบคุมการยับยั้งเจริญและการฆ่าเชื้อราในระยะเส้นใย 4 สกุล จำนวน 17 สายพันธุ์ ได้แก่ *Achlya* sp. 5 สายพันธุ์, *Saprolegnia* sp. 5 สายพันธุ์, *Aphanomyces* sp. 5 สายพันธุ์ และ *Leptolegnia* sp. 2 สายพันธุ์ โดยการสัมผัสโดยตรง ที่ระดับความเข้มข้นและ

ระยะเวลาต่างๆ กัน พบว่า สารเคมีแต่ละชนิดมีความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่แตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เส้นใยของเชื้อราสัมผัสกับยาปฏิชีวนะ จากตารางจะเห็นว่า ยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดมีความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่แตกต่างกันตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เส้นใยของเชื้อราสัมผัสกับสารเคมี (ตารางที่ 12) พบว่า คลอแรมฟินิคอล, ออกโซลิติกแอซิด และออกซิเตตราไซคลิน มีค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา (FS) ทั้ง 4 สกุล ที่ระดับความเข้มข้น 500-5,000, 625-2,500 และ 125-250 ppm ตามลำดับ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนค่าความเข้มข้นของสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อรา (FC) ทั้ง 4 สกุล ที่ระดับความเข้มข้น 1,000-5,000, 1,250-2,500 และ 125-500 ppm ตามลำดับ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง จะเห็นว่ายาปฏิชีวนะทั้ง 3 ชนิด ต้องใช้ความเข้มข้นสูงมากในการยับยั้งและฆ่าเชื้อรา ทั้งนี้กลไกการทำงานของยาปฏิชีวนะนั้นจะเหมาะสมสำหรับรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย การนำยาปฏิชีวนะมาใช้กับเชื้อราจึงมีวัตถุประสงค์เพียงใช้ฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับเชื้อราระหว่างการแยกเชื้อจาก Host เนื่องจากตามสภาพแวดล้อมทั่วไปมักมีแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ (Hatai และ Egusa, 1977) หรือกรณีเชื้อราที่เก็บไว้นานๆ มีแบคทีเรียปนเปื้อน หากปล่อยทิ้งไว้ เชื้อแบคทีเรียจะเจริญคลุมเชื้อรา และเชื้อราจะตายในที่สุด ดังนั้นการทำเชื้อราให้บริสุทธิ์โดยใช้ยาปฏิชีวนะจึงเป็นสิ่งจำเป็น (ปณรัตน์, 2552) นอกจากนี้ยังพบว่า ที่ความเข้มข้นดังกล่าวอาจเป็นอันตรายต่อปลา จึงไม่แนะนำให้ใช้ในการรักษา

จากผลการทดสอบยาปฏิชีวนะทั้ง 3 ชนิด ต่อเชื้อรา 4 สกุล พบว่า เชื้อราสกุล *Saprolegnia* และ *Leptolegnia* จะทนต่อสารเคมีได้มากที่สุด รองลงมาคือ *Achlya* และ *Aphanomyces* ตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่ตอบสนองหรือมีความไวต่อสารเคมีมากที่สุด คือ *Achlya* และ *Saprolegnia* รองลงมาคือ *Aphanomyces* และ *Leptolegnia*, ตามลำดับ

5.3 การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโต (Fungistatic effect) และการฆ่า (Fungicidal effect) เชื้อราของสมุนไพรบางชนิด

ผลการใช้สมุนไพร 7 ชนิด (ตารางที่ 13) ในการยับยั้งเจริญและการฆ่าเชื้อราในระยะเส้นใย 4 สกุล จำนวน 17 สายพันธุ์ ได้แก่ *Achlya* sp. 5 สายพันธุ์, *Saprolegnia* sp. 5 สายพันธุ์, *Aphanomyces* sp. 5 สายพันธุ์ และ *Leptolegnia* sp. 2 สายพันธุ์ โดยการสัมผัสโดยตรง ที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ กัน พบว่า สมุนไพรแต่ละชนิดมีความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่แตกต่างกันตามระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่เส้นใยของเชื้อราสัมผัสกับสมุนไพร จากตารางจะเห็นว่าสมุนไพรแต่ละชนิด มีความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อราที่แตกต่างกันตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เส้นใยของเชื้อราสัมผัสกับสารสมุนไพร (ตารางที่ 13) พบว่า กระเทียม, ข่า, บอระเพ็ด, ฟ้าทะลายโจร, ใบฝรั่ง, เสดดพังพอนตัวผู้ และพริกแดง มีค่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา (FS) ทั้ง 4 สกุล ที่ระดับความเข้มข้น 39.1-78.1, 1,250-2,500,

312.5-625, 625-1,250, 2,500, 1,250 และ 312.5-625 ppm ตามลำดับ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนค่าความเข้มข้นของสารเคมีที่สามารถฆ่าเชื้อรา (FC) ทั้ง 4 สกูล ที่ระดับความเข้มข้น 78.1-156.3, 1,250-2,500, 625, 1,250, 2,500-5,000, 1,250-2,500 และ 625-1,250 ppm ตามลำดับ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง

จากผลการทดลองจะเห็นว่า กระเทียมให้ผลในการยับยั้งและฆ่าเชื้อราได้ดีที่สุด รองลงมาคือ บอระเพ็ด, ฟ้าทะลายโจร และพริกแดง ตามลำดับ ซึ่งสังเกตได้จากระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ในระดับต่ำกว่า อย่างไรก็ตาม ที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวอาจเป็นพิษต่อปลาปวยหรือไม่ต้องทำการทดสอบต่อไป ส่วนข่า ใบฝรั่ง และเสลดพังพอนตัวผู้ ต้องใช้ความเข้มข้นสูงมากในการยับยั้งและฆ่าเชื้อรา อาจไม่คุ้มทุน ผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สอดคล้องกับพรทิพย์ และคณะ (2550) ที่รายงานว่า สารสกัดกระเทียม สามารถควบคุม *Aspergillus flavus* และทำลายสารแอฟลาทอกซินได้ 95.1% ภายในเวลา 14 วัน ซึ่งแตกต่างจาก ร่มฤดี และคณะ (มปป.) รายงานว่า สารสกัดจากกระเทียมต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ในปลาอุกถูกผสมให้ผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของสารสกัด และพบว่า มีค่า MIC ต่อเชื้อ *A. hydrophila* ที่ 8,192 ppm เช่นเดียวกัน พีรพัฒน์ และคณะ (2010) ได้รายงานการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดขมิ้นชัน และกระเทียม ที่ผลิตเป็นการค้า เปรียบเทียบกับสารสมุนไพรสกัดสดจำนวน 6 ชนิด (ขมิ้นชัน กระเทียม ขิง ข่า พริก และใบมะกรูด) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 99.8% ที่ความเข้มข้น 20, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้ง Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) กลุ่มละ 20 ไอโซเลท ด้วยวิธี Disk diffusion พบว่า ขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA เท่ากับ 10% และ 5% ตามลำดับ จากจำนวน เชื้อทั้งหมด และกระเทียมและสารสมุนไพรสกัดสดจากขมิ้นชัน กระเทียม ขิง ข่า พริก และใบมะกรูด ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA

ในกรณีของการทดสอบฟ้าทะลายโจร กิจการ และคณะ (2548) ทำการศึกษาศารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งพบว่าเชื้อ *Vibrio* spp. ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำ และพบว่าสารสกัดจากฟ้าทะลายโจรที่ความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ และจุไรวรรณ และสมพร (2553) รายงานว่า สารสกัดด้วยน้ำของฟ้าทะลายโจรความเข้มข้นเท่ากับ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ นอกจากนี้แล้วยังพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมด้วยสารสกัดฟ้าทะลายโจร ในอัตราส่วนระหว่างสารสกัดต่ออาหาร เท่ากับ 4:36 (w/w) และ 5:35 (w/w) มีอัตราการตายเนื่องจากการติดเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ต่ำกว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่ผสมด้วยสารสกัดฟ้าทะลายโจร ส่วนสิริวรรณ และसानิต (2553) รายงานว่า การทดสอบสารสกัดจากใบมะรุม และฟ้าทะลายโจรทั้งในสภาพสด และแห้ง ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก (*Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici*) โดยใช้วิธี glass slide พบว่าสาร

สกัดจากฟัทะลายโจรทั้งสดและแห้งที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm แสดงผลการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราทุกไอโซเลต แต่ไม่พบการยับยั้งการงอกของเชื้อราจากการใช้สารสกัดจากมะรุม

อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า ใบฝรั่งต้องการใช้ในระดับความเข้มข้นสูงจึงจะสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อราได้ ซึ่งแตกต่างจากการทดสอบในแบคทีเรียของ เพ็ญศรี และคณะ (2549) ทดลองนำใบฝรั่งสด ใบฝรั่งตากแห้ง และใบฝรั่งตากแห้งเก็บไว้นาน 1 เดือน โดยนำมาคั้นและทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสโอที่แยกได้จากกุ้งป่วย 7 ชนิด คือ *Vibrio damsela*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio pelagius*ll, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio harveyi* และ *Vibrio mimicus* โดยวิธี Agar dilution พบว่า ใบฝรั่งสดและใบฝรั่งตากแห้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio damsela*, *Vibrio alginolyticus* และ *Vibrio pelagius*ll มีค่า MIC เท่ากับ 0.078 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับ *Vibrio vulnificus* และ *Vibrio harveyi* มีค่า MIC เท่ากับ 0.078 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับ *Vibrio vulnificus* และ *Vibrio harveyi* มีค่า MIC เท่ากับ 0.156 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วน *Vibrio parahaemolyticus* มีค่า MIC เท่ากับ 0.313 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเชื้อที่ให้ค่าสูงสุด คือ *Vibrio mimicus* เท่ากับ 0.625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดที่ได้จากใบฝรั่งตากแห้งที่เก็บไว้นาน 1 เดือน ให้ค่า MIC สูงกว่า ใบฝรั่งสดและใบฝรั่งตากแห้งเพิ่มขึ้นหนึ่งความเข้มข้นในแต่ละเชื้อ พบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งที่นำไปคั้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อไวรัสโอที่ก่อโรคในกุ้งได้ภายใต้ห้องปฏิบัติการ ซึ่งความร้อนไม่ได้ทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดสูญเสียไป ดังนั้นใบฝรั่งสดและใบฝรั่งตากแห้งมีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อเหมือนกันในขณะที่ใบฝรั่งตากแห้งที่เก็บไว้นานๆ ประสิทธิภาพจะเสื่อมลง

จากผลการทดสอบสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ต่อเชื้อรา 4 สกุล พบว่า เชื้อราสกุล *Saprolegnia* จะทนต่อสารเคมีได้มากที่สุด รองลงมาคือ *Leptolegnia*, *Aphanomyces* และ *Achlya* ตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่ตอบสนองหรือมีความไวต่อสารเคมีมากที่สุด คือ *Achlya* รองลงมาคือ *Leptolegnia*, *Aphanomyces* และ *Saprolegnia* ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการรักษาหรือกำจัด *Saprolegnia* จะต้องใช้สารเคมีที่มีความเข้มข้นสูงกว่าการรักษาโรคติดเชื้อราชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะ *Aphanomyces* อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาในห้องทดลอง จึงควรที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการรักษาโรคติดเชื้อราในตัปลา เพื่อทราบความเข้มข้นที่แน่นอนในการรักษา

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของสารเคมีและยาปฏิชีวนะบางชนิดที่มีผลต่อการยับยั้งและฆ่าเชื้อรา 4
สกุลหลังจากสัมผัสเชื้อเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

สารเคมี (ppm)	เชื้อรา							
	<i>Achlya</i>		<i>Aphanomyces</i>		<i>Leptolegnia</i>		<i>Saprolegnia</i>	
	FS	FC	FS	FC	FS	FC	FS	FC
1. Benzalkonium chloride	31.25	62.5	31.25	31.25	31.25	62.5	31.25	62.5
2. Ceneole	2,500	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000
3. Formalin	31.25	62.5	31.25	62.5	31.25	62.5	62.5	125
4. Glutaraldehyde	15.63	31.25	15.63	31.25	31.25	31.25	15.63	31.25
5. Hydrogen peroxide	250	500	250	250	250	250	250	500
6. Malachite green	0.97	1.95	0.97	1.95	0.97	1.95	0.97	1.95
7. Paraformaldehyde	15.63	31.25	15.63	31.25	31.25	62.5	31.25	31.25
8. Potassium permanganate	125	125	125	125	62.5	125	125	125
9. Povidone iodine	500	500	500	500	500	500	500	500
10. Pyceze	125	125	125	250	31.25	62.5	125	125
11. Sodium chloride*	3	3	2	2.5	3	3.5	3	3.5
12. Sodium hypochlorite	3.60	7.81	7.81	7.81	3.60	7.81	3.60	7.81
13. Chloramphenicol	5,000	5,000	5,000	5,000	2500	2500	500	1,000
14. Oxolinic acid	625	1250	625	1250	2500	2500	2500	2500
15. Oxytetracyclin	500	500	500	1000	1000	2000	500	500

หมายเหตุ: FS: Fungistatic; FC: Fungicidal * : %

ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพของสมุนไพรบางชนิดที่มีผลต่อการยับยั้งและฆ่าเชื้อรา 4 สกุลหลังจาก
สัมผัสเชื้อเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

สมุนไพร (ppm)	เชื้อรา							
	<i>Achlya</i>		<i>Aphanomyces</i>		<i>Leptolegnia</i>		<i>Saprolegnia</i>	
	FS	FC	FS	FC	FS	FC	FS	FC
1. กระเทียม <i>Allium sativum</i> Linn.	78.1	156.3	78.1	78.1	39.1	78.1	78.1	156.3
2. ข่า <i>Alpinia galanga</i> Linn.	1,250	1,250	1,250	2,500	1,250	2,500	2,500	2,500
3. บอระเพ็ด <i>Tinospora crispa</i>	312.5	625	625	625	312.5	625	312.5	625
4. ฟ้าทะลายโจร <i>Andrographis paniculate</i>	625	1,250	625	1,250	1,250	1,250	625	1,250
5. ใบฝรั่ง <i>Psidium guajava</i> Linn.	2,500	5,000	2,500	5,000	2,500	2,500	5,000	5,000
6. เสดคพังพอนตัวผู้ <i>Barleria lupulina</i> Linn.	1,250	1,250	1,250	2,500	1,250	2,500	1,250	2,500
7. พริกแดง <i>Capsicum</i> spp.	625	625	625	1,250	312.5	625	625	625

หมายเหตุ: FS: Fungistatic; FC: Fungicidal