

สารบัญ

หน้า

คำนำ	i
กิตติกรรมประกาศ.....	ii
บทคัดย่อ	iii
สารบัญ	v
สารบัญตาราง	vi
สารบัญภาพ	vii
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
วิธีการทดลอง	13
ผลการทดลองและวิจารณ์	22
สรุปผลการทดลอง	61
เอกสารอ้างอิง	63
ภาคผนวก	70

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 เชื้อราที่นำมาหาลำดับ DNA และการสร้าง Phylogenetic tree ในการศึกษา	17
2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราในวงศ์ Oomycetes ที่นำมาใช้ในเป็นลำดับ นิวคลีโอไทด์อ้างอิงสำหรับสร้าง Phylogenetic tree	18
3 ผลการสำรวจปลาป่วยในเขตภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่าง เดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกรกฎาคม 2550	24
4 เชื้อโรคที่ตรวจพบในปลาสวยงามในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549- มิถุนายน 2550	25
5 การจำแนกเชื้อราระดับสกุล (Genus) ที่แยกได้จากน้ำและปลาสวยงามที่พบ ในการศึกษานี้	25
6 สถานที่และชนิดของปลาที่ทำการเก็บตัวอย่างเชื้อรา	26
7 การจำแนกเชื้อราระดับสกุล (Genus) ที่แยกได้จากน้ำและปลาสวยงามที่พบ ในการศึกษานี้	30
8 Nucleotide homology ของเชื้อราที่แยกได้จากน้ำและปลาสวยงามจาก DNA ในส่วน of ITS genes; ITS I, 5.8S and ITS II	41
9 ผลของ pH ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา 4 สกุลที่พบในปลา	47
10 ผลของความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา 4 สายพันธุ์ต่อปลาบอลลูน	49
11 ผลของความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา 4 สายพันธุ์ต่อปลาทอง	51
12 ประสิทธิภาพของสารเคมีและยาปฏิชีวนะบางชนิดที่มีผลต่อการยับยั้งและ ฆ่าเชื้อรา 4 สกุลหลังจากสัมผัสเชื้อเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ	59
13 ประสิทธิภาพของสมุนไพรบางชนิดที่มีผลต่อการยับยั้งและฆ่าเชื้อรา 4 สกุล หลังจากสัมผัสเชื้อเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ	60

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 รูปแบบการปล่อย Zoospores ในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อราในวงศ์ Saprolegniaceae 4 สกุล	9
2 ลักษณะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราในวงศ์ Saprolegniaceae ประกอบด้วย เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (Antheridia) เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (Oogonia) และไข่ของเชื้อรา (Oospores)	10
3 การแยกเชื้อราจากปลา และการแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์	14
4 การเก็บรักษาเชื้อรา และการผลิต Zoospore (a) รูปแบบการสร้าง Zoospore ของเชื้อรา เพื่อจำแนกระดับสกุล (b)	15
5 การศึกษา Sexual reproduction	16
6 ลักษณะอาการของปลาที่ติดเชื้อรา (a) ปลาเลือดขาว (b) ปลาบึก (c) ปลากระโห้ (d) ปลาบอดลุนดำ (e) ปลาบอดลุนลายส้ม (f) ปลาปักเป้า (g) ปลาลูกผึ้ง (h) ปลาตะเพียนทอง (i) ปลาหางนกยูง (j) ปลาแรด (k) ปลาทอง (l) ปลาหมอสี (m) ปลาหางนกยูง (n) ปลาสายรุ้ง (o) ปลาเสือพ่นน้ำ	31
7 การติดเชื้อ (a) ลักษณะอาการของปลาที่ติดเชื้อราที่ลำตัว และ (b) เส้นใยราที่แยกจากปลาป่วย	32
8 การติดเชื้อรา (a) ลักษณะอาการของปลาที่ติดเชื้อราที่เหงือก และ (b) เส้นใยราที่พบใน เหงือกปลาป่วย	32
9 เชื้อรา (a) <i>Achlya</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (b) Immature zoospores (c) Mature zoospore กำลังปล่อย Zoospores แบบ Achlyoid	33
10 เชื้อรา (a) <i>Aphanomyces</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (b) Mature zoospores กำลังปล่อย Zoospore แบบ Achlyoid	33
11 เชื้อรา (a) <i>Dictyuchus</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (b) Mature zoospore กำลังปล่อย Zoospores แบบ Dictyuchoid	34
12 เชื้อรา (a) <i>Leptolegnia</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และ (b) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของ Mature zoospores กำลังปล่อย Zoospores แบบ Saprolegnoid	34
13 เชื้อรา (a) <i>Saprolegnia</i> บนอาหารเลี้ยงเชื้อ และ (b) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ Mature zoospore กำลังปล่อย Zoospores แบบ Saprolegnoid	35

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
14 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ <i>Achlya bisexualis</i> ; (a) รูปร่าง Oogonium ส่วนมากเป็นทรงกลม เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 48 μm เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เป็นแบบ Diclinous antheridia (b) Mature oospore, Not fill oogonium ที่เกาะด้วย Diclinous antheridia	35
15 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ <i>Achlya klebsiana</i> ; (a) Oogonia รูปกลม และ Immature oospores ที่เกาะด้วย Diclinous antheridial branches (b) Oogonium กับ Eccentric oospore ถูกโอบล้อมด้วย Antheridia	36
16 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ <i>Achlya ambisexualis</i> ; (a) Spherical oogonium ที่มี Eccentric Oospore อยู่เต็มเซลล์ มีเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้แบบ Projection appressed of diclinous antheridial branch (b) Catenulated และ Pyriform gemma	36
17 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ <i>Achlya channae</i> (a) Oogonium รูปกลม เกาะด้วย Diclinous antheridia (b) Oogonium รูป Naviculated มี Oospore หลายขนาด (c) Oospore แบบ Filling และมีการฝ่อก่อน เจริญเป็นเส้นใย	37
18 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ <i>Saprolegnia diclina</i> (a) Young oogonia และ Diclinous antheridial branches ใน Immature oogonia (b) Mature oogonium ที่มี Centric oospore	37
19 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ <i>Saprolegnia ferax</i> ; (a) Oogonium รูป Spherical, Non filling, Oospore มีทั้งแบบ Centric และ Subcentric, มี Pitted รอบ Oogonia และ เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เป็นแบบ Monoclinous antheridia	38
20 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ <i>Saprolegnia multispora</i> ; (a) Spherical oogonia เกาะด้วย Monoclinous antheridia, (b) Terminal oogonium และ Immature oospore เกาะด้วย	38
21 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ <i>Saprolegnia paradiclina</i> ; (a) Oogonium รูปกลม เกาะ ด้วย Diclinous antheridia, immature oospore (b) Pyriform oogonium ที่มี diclinous antheridia และ Hypogynous antheridia, subcentric oospore (c) Catenulate gemmae (G) ที่จะพัฒนาไปเป็น oogonia ต่อไป (d) Cluster ของ Oogonia ที่พัฒนามาจาก catenulate gamma	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
22	Phylogenetic analysis ของเชื้อราที่แยกได้จากน้ำและปลาสดขามโดย ใช้ DNA ในส่วนของ Internal transcribed spacers (ITS) โดยใช้ Neighbor- joining from และจำนวนของ Branches indicate จาก Bootstrap values มี D แทน Outgroup และ A แทนกลุ่มที่ศึกษา 43
23	ผลของอุณหภูมิที่ระดับต่างๆ ต่อการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา 4 ชนิด ที่พบในปลา 45
24	ผลของความเค็มที่ระดับต่างๆ ต่อการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา 4 ชนิด ที่พบในปลา 46
25	ทดสอบ (a) ปลาบอลลูน IT แสดงอาการติดเชื้อ <i>Achlya</i> RMF 06051 (b) ปลาบอลลูน IJ ที่ถูกดึงเกล็ดออกแสดงอาการติดเชื้อรา <i>Saprolegnia</i> sp. RMF 0254 พบปุยสีขาวของเชื้อราเกาะบริเวณแผล 48
26	ทดสอบ (a) ปลาทองปัดที่ติดเชื้อ <i>Achlya</i> RMF 06051 (b) ปลาทองที่ ติดเชื้อ <i>Saprolegnia</i> sp. RMF 06030 แสดงอาการติดเชื้อ 50
27	พยาธิสภาพ (a) ปลาสาขรุ้งติดเชื้อ <i>Saprolegnia</i> (b) Granuloma ที่ตับปลา สาขรุ้ง (c) ปลากระดี่แคระติดเชื้อ <i>Aphanomyces</i> (d) Granulomas ที่ตับปลา กระดี่แคระ (e) ปลาปักเป้าติดเชื้อ <i>Aphanomyces</i> (f) เส้นใยรา ที่บริเวณ กล้ามเนื้อ 52
28	พยาธิสภาพ (a) ปลากระดี่แคระติดเชื้อรา <i>Aphanomyces</i> sp. ขึ้นรุนแรง (b) กล้ามเนื้อปลากระดี่แคระถูกทำลายจากเชื้อรา (c) ปลาตะกรับเสียดาว ติดเชื้อ <i>Achlya</i> sp. (d) กล้ามเนื้อปลาตะกรับเสียดาวถูกทำลายจากเชื้อรา (e) ปลาบอลลูนติดเชื้อ <i>Saprolegnia</i> sp. พร้อมกับหนอนสมอ (f) เนื้อเยื่อ ปลาบอลลูนติดเชื้อรา พบเส้นใยราบริเวณผิวหนังและกล้ามเนื้อ 53