บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชีววิทยาของกุ้งก้ามกราม

กุ้งก้ามกราม (Giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* de Man) มีชื่อเรียกเป็นภาษาท้องถิ่นว่า กุ้งนาง กุ้งหลวง กุ้งใหญ่ (Brohmanonada and Sahavacharin, 1995) จัดเป็นกุ้งในสกุล *Macrobrachium* ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด โดยมีรายงานว่าเพศผู้อาจมีความยาวจากปลายกรีถึงปลายหาง 32 เซนติเมตร ส่วนเพศเมียอาจยาวถึง 25 เซนติเมตร (Ismael and New, 2000) สำหรับในประเทศไทยเคยมีรายงานว่า พบกุ้งก้ามกรามที่มีน้ำหนักถึง 470 กรัม (Tongsnga, 1964) กุ้งก้ามกราม มีลำตัวเป็นปล้อง ส่วนหัวและอกจะคลุมด้วยเปลือกชิ้นเดียวกัน ส่วนของลำตัวจะแยกเป็นปล้องๆ กุ้งก้ามกรามมีหนวด 2 คู่ ขาเดิน 5 คู่ และขาว่ายน้ำ 5 คู่ ปลายหางจะมีลักษณะเป็นหนามแหลม และมีแพนหาง 2 ข้าง ขาเดินคู่ที่ 1 และ 2 จะมีปลายเป็นก้าม ส่วนคู่ที่ 3, 4 และ 5 มีลักษณะเป็นปลายแหลมธรรมดา ขาเดินคู่ที่ 2 จะมีก้ามที่มีขนาดใหญ่ยาวมาก โดยเฉพาะในกุ้งตัวผู้ กุ้งก้ามกรามเมื่อผสมพันธุ์มีไข่จะอพยพลงลงบริเวณปากแม่น้ำลำคลองที่เป็นน้ำกร่อยไข่จะฟักออกเป็นตัวในเขตน้ำกร่อยและพัฒนาไปเรื่อยๆ (Ismael and New, 2000) วงจรชีวิตกุ้งชนิดนี้ ในระยะวัยอ่อนจะหงายท้องว่ายน้ำ อาศัยเจริญเติบโตอยู่ในน้ำกร่อย ความเค็มที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 10-17 ส่วนในพันส่วน (ประจวบ, 2521) อาหารที่เหมาะสมสำหรับกุ้งวัยอ่อนได้แก่ แพลงก์ตอนสัตว์ซึ่งเป็นตัวอ่อนของสัตว์จำพวกกุ้ง ปู ไรน้ำ ไข่ปลา ไข่หอย หนอนทะเล และแพลงก์ตอนขนาดเล็กทุกชนิด โดยธรรมชาติกุ้งก้ามกรามจะกินอาหารบ่อยครั้งและรวดเร็วเพราะทางเดินอาหารสั้น การย่อยและการดูดซึมอาหารเป็นไปอย่างรวดเร็ว ลูกกุ้งจะใช้เวลาอยู่ประมาณ 45-60 วัน กว่าจะเจริญเป็นกุ้งวัยรุ่นขนาด 1-2 เซนติเมตร ที่มีอวัยวะสมบูรณ์เหมือนตัวเต็มวัย แล้วเดินทางเข้าไปอาศัยในแหล่งน้ำจืดต่อไป (บรรจง, 2521)

ถิ่นกำเนิดของกุ้งก้ามกรามอยู่ในทวีปเอเชีย พบชุกชุมในประเทศไทย พม่า เวียดนาม เขมร มาเลเซีย บังคลาเทศ อินเดีย เนปาล ฯลฯ (New, 1998) ในประเทศไทยพบกุ้งก้ามกรามแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำจืดที่มีทางติดต่อกับทะเล และแหล่งน้ำกร่อยบริเวณปากแม่น้ำลำคลอง (ยนต์, 2529) นอกจากนี้ยังพบว่ากระจายไปทั่วทุกภูมิภาคของโลก เช่นในปี 1965-1966 ได้มีการนำกุ้งก้ามกรามเข้าไปยังประเทศฮาวาย เพื่อศึกษาและพัฒนาระบบการเพาะฟัก (Fujimura and Okamoto, 1972, อ้างถึงโดย New, 1998)

กุ้งก้ามกรามเป็นสัตว์น้ำชนิดหนึ่งซึ่งมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ ผลผลิตและมูลค่ากุ้งก้ามกรามจากการเพาะเลี้ยงและจับได้ในธรรมชาติของเกษตรกรในปี พ.ศ. 2542, 2543, 2544, 2545, และ 2546 มีปริมาณถึง 8,600, 1,000, 13,400, 15,800 และ 28,500 ตัน ตามลำดับ และคิดเป็นมูลค่า 1,117.6, 1,230.8, 1,611.6, 1,850.6 และ 3,039.7 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศกรมประมง, 2548) จากมูลค่ารวมกุ้งก้ามกรามทั้งหมดและมีแนวโน้มที่จะสูงขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากความนิยมในต่างประเทศเพิ่มขึ้น ปัจจุบันเกษตรกรสนใจการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามมากขึ้น เนื่องจากเกษตรกรที่เคยประกอบอาชีพการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในเขตพื้นที่น้ำจืดซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม หันมาเลี้ยงกุ้งก้ามกรามมากขึ้น นอกจากนั้นกุ้งก้ามกรามจัดว่าเป็นสัตว์น้ำที่มีราคาค่อนข้างสูงและเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ องค์การสะพานปลา (2549) ได้รายงานสภาวะราคากุ้งก้ามกรามภายในประเทศประจำเดือนกุมภาพันธ์ ปี พ.ศ. 2549 กุ้งที่จับได้ในธรรมชาติขนาดใหญ่ (4-5 ตัวต่อกิโลกรัม) มีราคาเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 470-550 บาทต่อกิโลกรัม กุ้งขนาดกลาง (5-6 ตัวต่อกิโลกรัม) มีราคาเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 420-485 บาทต่อกิโลกรัม กุ้งขนาดเล็ก (8-10 ตัวต่อกิโลกรัม) มีราคาเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 280-450 บาทต่อกิโลกรัม สำหรับกุ้งก้ามกรามที่ได้จากการเพาะเลี้ยงขนาด (13-14 ตัวต่อกิโลกรัม) มีราคาเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 260-410 บาท กุ้ง ขนาดกลาง (15-16 ตัวต่อกิโลกรัม) มีราคาเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 190-360 บาท และกุ้งขนาดเล็ก (25-40 ตัวต่อกิโลกรัม) มีราคาเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 120-150 บาท

จากราคากุ้งก้ามกรามที่ค่อนข้างสูงขึ้นในปัจจุบัน และการขยายพื้นที่การเลี้ยงจากภาคกลางของประเทศ ไปยังพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและพื้นที่อื่นๆ ในประเทศ ทำให้โรงเพาะฟักกุ้งก้ามกรามเพิ่มจำนวนมากขึ้น ทั้งในพื้นที่จังหวัดใกล้กับน้ำทะเล เช่น จังหวัดนครปฐม สุพรรณบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง และตราด เป็นต้น และจังหวัดอื่นที่มีพื้นที่นอกเขตน้ำทะเลที่ทำการเพาะพันธุ์กุ้งก้ามกรามซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นของหน่วยงานราชการของกรมประมง เช่น จังหวัดกาฬสินธุ์ อุดรธานี สุรินทร์ ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ขอนแก่น สกลนคร อุบลราชธานี ปทุมธานี ลพบุรี อ่างทอง สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ ตาก สุราษฎร์ธานี สตูล ตรัง และพัทลุง โดยส่วนใหญ่ผลิตกุ้งก้ามกรามเพื่อปล่อยแหล่งน้ำเพื่อเพิ่มปริมาณในธรรมชาติ และจำหน่ายแก่เกษตรกรบ้างบางส่วน (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, 2549) สาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามไม่แพร่หลายทั่วทุกภาคของประเทศ คือ การเพาะกุ้งก้ามกรามต้องใช้น้ำเค็ม ความเค็มประมาณ 10-15 ส่วนในพันส่วน หากพื้นที่ห่างไกลจากทะเลจะต้องเสียค่าขนส่งน้ำทะเลในราคาสูง ต้นทุนการผลิตจะสูงกว่าแหล่งที่อยู่ใกล้ทะเล และนอกจากนี้สำหรับในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกรามนั้น มีหลายแหล่งที่ประสบปัญหาไม่ว่าจะเป็นปัญหาแม่พันธุ์มีขนาดเล็ก เนื่องจากมีการเจริญพันธุ์เร็วขึ้นและนอกจากนั้นปัญหาทาง

ด้านโรคทำให้ผลผลิตลูกกุ้งก้ามกรามที่ได้ไม่แน่นอน เกิดปัญหากุ้งไม่มีคุณภาพ และเกิดปัญหาการตาย ทำให้อัตรารอดต่ำ (วิศณุ, 2541)

2.2 โรคที่พบในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกราม

2.2.1 โรคเรืองแสง (Luminescent vibriosis) เป็นโรคหนึ่งที่มีความสำคัญและทำให้ลูกกุ้งในโรงเพาะฟักตายเป็นอันมาก ดังที่รู้จักกันดีในหมู่เกษตรกรคือ โรคดาวเรืองหรือโรคเพชรพลอย ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผู้เพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามเป็นอย่างมาก (ยนต์, 2529) สอดคล้องกับ พรเลิศ และคณะ (2537) ที่รายงานว่าโรคเรืองแสง เกิดจากเชื้อวิบริโอชนิดที่สามารถเรืองแสงได้ โรคเรืองแสงมักพบในโรงเพาะฟักลูกกุ้งก้ามกราม กุ้งกุลาดำ และกุ้งทะเลอื่นๆ (จิราพร และคณะ, 2530; ดารุณี และคณะ, 2530; ชลอ, 2543) สำหรับในกุ้งก้ามกรามนั้น โรคนี้ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมาก และสามารถเกิดได้กับลูกกุ้งทุกระยะ แต่ยังมีรายงานน้อยมากเมื่อเทียบกับในกุ้งทะเล Thonguthai (1997) รายงานว่ากุ้งก้ามกรามวัยอ่อนมีความไวต่อเชื้อ *V. harveyi* ซึ่งเป็นเชื้อที่พบมากในโรงเพาะฟักกุ้งน้ำจืดและกุ้งทะเลสำหรับในประเทศไทย โรคเรืองแสงพบได้ในน้ำทะเลและน้ำจากนาเกลือที่นำมาใช้เพาะฟักและอนุบาลลูกกุ้งวัยอ่อนในระบบโรงเพาะฟัก สิ่งที่สังเกตได้ว่าเกิดการระบาดของโรคคือ มีการเรืองแสงในน้ำทะเลที่ใช้เพาะฟักหรืออนุบาลลูกกุ้ง และกุ้งจะมีลักษณะตัวขาวขุ่น ว่ายน้ำผิดปกติ มักมีเศษตะกอนเกาะตามระยางค์ กุ้งที่ติดเชื้อมีลำตัวหลวม ซี่เหงือกมีสีดำ ตับและตับอ่อนสีซีดลง และตัวกุ้งจะเรืองแสงเวลากลางคืน (กิจการ, 2543) บางครั้งลูกกุ้งที่เป็นโรค จะเกาะติดกันเป็นกลุ่ม ไม่กินอาหาร กุ้งที่อ่อนแอใกล้ตายจะล่องลอยไปตามการเคลื่อนไหวของน้ำ ลำตัวเปลี่ยนเป็นสีแดงแล้วเริ่มขุ่นขาว ลำตัวหักงอ ในกรณีที่ติดเชื้อรุนแรง ลูกกุ้งจะจมลงก้นบ่อ และตายภายในเวลา 1-2 วัน (Ruangpan, 1995) สำหรับกุ้งในบ่อดินพบว่า กุ้งที่ป่วยจะว่ายน้ำไม่มีทิศทาง บางตัวขึ้นตามขอบบ่อ เปลือกและลำตัวมีสีเข้ม สกปรก กล้ามเนื้อขุ่น ตัวลีบฝ่อไม่มีอาหารในลำไส้ การตอบสนองช้า เชื้อเข้าทำลายอวัยวะเป้าหมาย เช่น ตับและตับอ่อนของกุ้ง ในบ่อมีขี้กุ้งอยู่น้อย และขี้กุ้งไม่เป็นสาย (Leano et al., 1998) สามารถตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย ที่เหงือก กล้ามเนื้อ และส่วนท้ายของกระเพาะอาหาร (Jayabalan, 1994; Vattanaviboon et al., 2003) จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาภายในตัวกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อโรคเรืองแสงพบว่า มีความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเลือดสูงกว่ากุ้งที่ไม่ติดเชื้ออย่างชัดเจน ปริมาณโปรตีนในซีรั่มลดลงในช่วง 24 ชั่วโมง หลังการติดเชื้อในระยะแรก กุ้งที่ติดเชื้อเริ่มพบในตับและต่อมน้ำเหลือง มีเนื้อเยื่อตายเล็กน้อย กุ้งที่ติดเชื้อมีปริมาณเม็ดเลือดในระบบหมุนเวียนเลือดลดลง เหงือกตายเป็นบริเวณ

กว้าง กุ้งที่ติดเชื้อเป็นเวลา 14 วัน เซลล์บุท่อใน ตับและตับอ่อนตายเกือบทั้งหมด ระยะนี้กุ้งจะไม่กินอาหารและตายทั้งหมด (จรีพรและกิจการ, 2530)

จิราพร และคณะ (2530) รายงานว่าจากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากลูกกุ้งก้ามกรามที่เกิดโรคใน พบเชื้อแบคทีเรียเรืองแสงจากทุกตัวอย่างที่นำมาศึกษา หลังการเขี่ยเชื้อในระยะเวลา 4 ชั่วโมง แบคทีเรียที่เจริญพบว่ามีลักษณะเด่นคือ เรืองแสงสีเขียวได้ในความมืด เมื่อบ่มต่อไปครบ 24 ชั่วโมง ลักษณะของโคโลนีที่ปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ โคโลนีขนาดใหญ่เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4-5 มิลลิเมตร ย้อมติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) เคลื่อนที่โดยใช้ polar flagella ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอาหารและพลังงาน ลิลา และคณะ (2540) รายงานว่าในกุ้งทะเล โรคเรืองแสงนี้จะเกิดขึ้นในการเพาะและอนุบาลลูกกุ้ง ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งตรงกับ Lin and Nash (1996) และ Leano et al. (1998) รายงานว่า *V. harveyi* ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักกุ้งกุลาดำ Jayabalan (1994) รายงานว่าพบแบคทีเรีย *V. harveyi* และ *V. fischeri* เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสง ในกุ้ง *Penaeus indicus* และ *P. monodon* นอกจากนั้นยังพบว่า มีแบคทีเรียอีกหลายชนิดที่เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสง เช่น แบคทีเรียในสกุล *Photobacterium* (ลิลา และคณะ, 2540; Caccamo et al., 1999) *V. fischeri* (Stevens et al., 1994) *V. splendidus* (Baticados et al., 1990) และ *V. orientalis* (Caccamo et al., 1999) เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับ ลิลา และคณะ (2540) Miyamoto et al. (1985) และ Swartzman (1990) รายงานว่า *V. cholerae* biotype *albensis, V. fischeri, V. logei, V. splendidus, P. phosphoreum, P. leiognathi* ก็สามารถทำให้เรืองแสงได้

ความรุนแรงของโรคเรืองแสงนั้นมีความสัมพันธ์กับชนิดและระยะการเจริญเติบโตของกุ้ง ลักษณะการเกิดโรคมักเกิดกับลูกกุ้ง ในระยะ mysis, larvae และ post larvae (Lin and Nash, 1996) จากการทดลองความรุนแรงของเชื้อต่อลูกกุ้งกุลาดำโดย มณเฑียร และคณะ (2533) ปรากฏว่าลูกกุ้งกุลาดำระยะ nauplius ที่ทดสอบการก่อโรค ด้วยการใส่เชื้อที่มีค่าการดูดกลืนแสง 0.84, 0.54, 0.34 และ 0.18 พบการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ทุกระดับความเข้มข้น ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีลูกกุ้งตาย 34.8 เปอร์เซ็นต์ ลูกกุ้งระยะ mysis จะตายเพียง 74.5, 70, 63 และ 53.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมตาย 25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกุ้งระยะ post larvae มีลูกกุ้งตาย 50, 50, 40 และ 35 เปอร์เซ็นต์ และในกลุ่มควบคุมกุ้งตาย 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการตายของลูกกุ้งกุลาดำในแต่ละระยะการเจริญจากการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อต่างๆกัน พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนั้น Thonguthai (1997) และ Leano et al. (1998) รายงานว่ามีอัตราการตายสูงถึง 50-100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งในกุ้งก้ามกรามและในกุ้งกุลาดำ โดยมักจะพบการตายช่วงเดือนแรกของการเพาะฟัก คารุณี และคณะ (2530) รายงานว่าโรคเรืองแสงทำให้ลูกกุ้งแชบ๊วยในระยะ nauplius จนถึงระยะ mysis มีอัตราการตายสูงถึง 70-100 เปอร์เซ็นต์ แต่จากงานของ จิราพร และคณะ (2530) ไม่สามารถทำให้ลูกกุ้งก้ามกรามที่ทดสอบติดเชื้อ *V. harveyi* ได้ สำหรับกลไกการเรืองแสงของแบคทีเรีย *V. harveyi, V. fischeri, P. phosphorum* และ *P. leiognathi* นั้น จากการศึกษา Swartzman (1990) กล่าวว่าเกิดจากการทำงานของ luciferin ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการเรืองแสง เกิดการ oxidation กับโมเลกุลของ O_2 โดยมีเอนไซม์ luciferase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแล้วให้พลังงานแสงออกมาพร้อมกับ luciferin ก็จะเปลี่ยนไปเป็น oxyluciferin จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับโดยใช้พลังงานเคมีเปลี่ยน oxyluciferin ไปเป็น luciferin ซึ่งขบวนการนี้เกิดในบริเวณยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการเกิดแสง สำหรับปริมาณแสงที่เกิดขึ้นนั้น ขึ้นกับเอนไซม์และบริเวณอวัยวะของโฮสต์ที่แบคทีเรียแต่ละชนิดอาศัยอยู่แตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมได้แก่ ความเค็ม ความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ ปริมาณของสารอินทรีย์มีผลต่อการระบาดของโรค ความรุนแรงของโรค นอกจากเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสงในกุ้งแล้ว คุณภาพน้ำในบ่อที่ไม่เหมาะสม และสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้กุ้งอ่อนแอติดเชื้อได้ง่าย เชื้อที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงมักพบแพร่กระจายทั่วไปตามบริเวณชายฝั่งและพื้นที่ความเค็มต่ำที่มีโรงเพาะกุ้งทะเล มณจันทร์และกมลพร (2543) รายงานว่าเชื้อ *V. harveyi* เจริญได้ดีในสภาพที่มีสารอินทรีย์ ซึ่งเกิดจากของเสียจากอาหาร และสิ่งขับถ่ายของกุ้งที่พื้นก้นบ่อ กุ้งจะอาศัยอยู่บริเวณพื้นบ่อตลอดเวลา ดังนั้นโอกาสที่จะสัมผัสเชื้อ *V. harveyi* จึงมีมาก ธงชัยและอัจฉราวดี (2544) กล่าวว่าปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณเชื้อวิบริโอในน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ คือ ระดับความเค็มของน้ำ และอายุของกุ้ง Lin and Nash (1996) รายงานว่าจากการศึกษาในช่วงเดือนกันยายน ถึงตุลาคม ปี ค.ศ. 1995 ซึ่งมีการระบาดของโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักกุ้งกุลาดำมากในจังหวัดสมุทรสาคร พบกุ้งลอยอยู่บริเวณผิวน้ำ มีอัตราการตาย 10-20 เปอร์เซ็นต์ เกิดการเรืองแสงที่บริเวณหัวของกุ้งในเวลากลางคืน คุณภาพน้ำในบ่อที่เกิดโรค พบว่าน้ำในบ่อมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8.5 ความเค็ม 8-10 ส่วนในพันส่วน ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) มากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแอมโมเนีย 0.03-0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณเชื้อ *Vibrio* ที่ตรวจพบในน้ำมากกว่า 10^3 CFU ต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับ โสภาและสมเกียรติ์ (2531) ที่รายงานความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคกุ้งก้ามกรามกับคุณสมบัติของน้ำในบ่ออนุบาลที่มีการระบาดของโรค มีบ่อที่เกิดกุ้งเรืองแสงอยู่ 3.1 เปอร์เซ็นต์ จากจำนวนบ่อที่ทำการเพาะกุ้งทั้งหมด 64 บ่อ และพบว่าค่าเฉลี่ยของความเป็นกรดเป็นด่าง และ unionize

ammonia ของน้ำที่ในบ่อที่เป็นโรคสูงกว่าบ่อที่ไม่เป็นโรค และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยบ่อที่เป็นโรคมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ย 7.6 ปริมาณ unionize ammonia มีค่าเท่ากับ 0.0785 มิลลิกรัมต่อลิตร และบ่อที่ไม่เป็นโรคมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ย 7.4 ปริมาณ unionize ammonia มีค่าเท่ากับ 0.0301 มิลลิกรัมต่อลิตร

การแพร่กระจายของโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกรามและกุ้งทะเลเกิดขึ้นในเขตร้อน เช่น ทวีปเอเชีย ออสเตรเลีย (Vattanaviboon et al., 2003) บราซิล (Johnson et al., 2000) อินโดนีเซียและไทย (Lin and Nash, 1996) นอกจากนี้ Baticados et al. (1990) รายงานว่า *V. harveyi* เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในต่างประเทศหลายแห่งได้แก่ไต้หวันและประเทศฟิลิปปินส์ ลิลา และคณะ (2540) รายงานว่า 60 สายพันธุ์ ของเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ที่เรืองแสง แยกได้จากน้ำบริเวณชายฝั่งทะเล โรงเพาะฟัก และบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลทางภาคใต้ของไทย พบ *V. harveyi* จำนวน 54 สายพันธุ์ และ *V. cholerae* biotype *albensis* จำนวน 6 สายพันธุ์ Brock (1992, อ้างถึงโดย Lin and Nash, 1996) ซึ่งรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* พบในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำทุกระยะ ชนิดที่ก่อโรค ได้แก่ *V. parahaemolyticus, V. alginolyticus V. anguillarum, V. vulnificus, V. damsela* และ *V. harveyi* ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากน้ำและกุ้งที่เป็นโรคเรืองแสงนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบคือ *V. harveyi* มีรายงานว่าทำให้เกิดการตายของกุ้งจำนวนมากในประเทศไทยและอินโดนีเซีย ส่วนคุณสมบัติของเชื้อในสกุล *Vibrio* ที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งทะเล (Boonyaratpalin, 1990 และ Lavilla – Pitogo et al., 1990, อ้างถึงโดย Lin and Nash, 1996) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

2.2.2 โรคอื่นๆ

โรคที่เกิดจากพยาธิ ศัตรูของกุ้งก้ามกรามในช่วงเพาะฟักและอนุบาล ที่มีรายงาน ได้แก่ การระบาดของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังกลุ่มไฮโดรซัว (hydrozoa) ซึ่งอยู่ในกลุ่มของพวกแมงกระพรุน สัตว์ในกลุ่มนี้จะพบ สองรูปแบบ คือ ประเภทที่มีลักษณะเหมือนแมงกระพรุนว่ายอยู่ในน้ำและประเภทเกาะติดกับวัสดุลักษณะเป็นหน่อแตกแขนงใช้จำแนกชนิด ไฮโดรซัวที่พบในบ่ออนุบาลลูกกุ้งก้ามกรามมีหลายชนิด เช่น โอบีเลีย ซึ่งพบในรูปที่เป็นหน่อเกาะข้างผนังบ่อ และรูปแมงกระพรุนว่ายน้ำเป็นอิสระ และชอบบริเวณอับแสง ซึ่งโอบีเลียนอกจากจะเป็นอันตรายต่อลูกกุ้งแล้วยังเป็นอันตรายต่ออาร์ทีเมียด้วย ซึ่งปัญหาที่เกิดขึ้นมักเกิดจากน้ำทะเลที่นำมาผสมสำหรับใช้ในโรงเพาะฟัก (ยนต์, 2529) นอกจากนี้ อนันต์และพจนีย์ (2524) รายงานว่าโรคพยาธิในลูกกุ้งเกิดจากโปรโตซัวพวกยึดเกาะบางชนิด บางครั้งเป็นปัญหามากในการอนุบาลลูกกุ้ง ทำให้กุ้งเสียการทรงตัว เคลื่อนไหวไม่สะดวก ไม่กินอาหาร อ่อนแอ และตายในที่

สุดเช่นเดียวกับ Anderson (1993, อ้างถึงโดย Hoa, et al. 2000b) ซึ่งรายงานว่า จากการตรวจวินิจฉัยกุ้งก้ามกรามที่พบโปรโตซัวสกุล *Zoothamnium, Epistylis, Vorticella* และ *Acineta* เกาะอยู่ตามลำตัวเหงือกและขาว่ายน้ำ ในการป้องกันและรักษาโรคที่เกิดจากพยาธิภายนอกซึ่งส่วนใหญ่จะติดมากับอาร์ทีเมีย ดังนั้นก่อนนำอาร์ทีเมียมาให้เป็นอาหารลูกกุ้ง ควรมีการฆ่าเชื้อด้วยโดยฟอร์มาลิน และน้ำที่นำมาใช้เพาะฟักต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนเสียก่อน

โรคที่เกิดจากเชื้อรา เชื้อราส่วนใหญ่แล้วมักพบบนไข่กุ้งที่ไม่ฟักเป็นตัวแล้วแพร่มายังลูกกุ้ง เชื้อราที่พบที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคในกุ้งก้ามกรามคือ *Lagenidium callinectes* และ *Sirolpidium* sp. (Brock, 1993) เชื้อราที่พบเกาะลูกกุ้งจะทำให้ลูกกุ้งมีลำตัวสีขาวซีดตามระยางค์ต่างๆ เช่น ขามีลักษณะคล้ายสำลี การป้องกันและรักษาต้องจัดการน้ำที่ใช้ในการอนุบาลให้สะอาดปราศจากเชื้อและพยายามอย่าให้มีตะกอนหรือเศษอาหารมากจะป้องกันปัญหาเกี่ยวกับเชื้อราได้ การใช้ฟอร์มาลิน 15-30 ส่วนในล้านส่วน นอกจากนี้สามารถใช้สารละลาย merthiolate ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อราสกุล *Lagenidium* ได้ (Johnson and Bueno, 2000)

โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โรคที่เกิดจากแบคทีเรียในกุ้งก้ามกรามมีหลายโรค โรคเนื้อตาย เกิดบริเวณเนื้อเยื่อของระยางค์ โดยเฉพาะหนวดและระยางค์บริเวณท้องจะตาย แบคทีเรียจะทำลายส่วนของระยางค์เพียงเล็กน้อยและทำให้ลูกกุ้งตายอย่างเร็ว พบในลูกกุ้งระยะ larvae, post larvae และ juveniles (Brock, 1993) ลูกกุ้งที่เกิดโรคจะกินอาหารน้อยลงและกินกันเองมากขึ้น กุ้งที่ป่วยหนักจะมีสีออกน้ำเงิน มักจะพบจุลินทรีย์และรอยสีดำตามตัวลูกกุ้ง บางครั้งจะพบระยางค์มีลักษณะผิดปกติและมีการตายระหว่างลอกคราบ Hanson (1977) รายงานว่าพบการตายของลูกกุ้งที่อยู่ในความเค็มสูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ กล้ามเนื้อจะเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่นและตายภายในวันเดียว โดยสาเหตุไม่ทราบชัดเจน แต่สันนิษฐานว่าอาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีผลต่อการเกิดโรค (Hanson, 1977) สามารถรักษาได้โดยใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาให้ยาผสมกับอาหารให้ลูกกุ้งกิน

โรคเอ็มซีดี Mid –Cycle Disease (Syndrome) โรคเอ็มซีดี (MCD, Mid –Cycle Disease) จะทำให้กุ้งตายในช่วงอายุระหว่าง 12 ถึง 24 วันมากที่สุด ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของโรคนี้ ในช่วงอื่นๆ ลูกกุ้งอาจจะตายบ้างแต่เป็นจำนวนน้อยความเสียหายที่เกิดจากโรคเอ็มซีดีไม่รุนแรงนัก แต่ทำให้ผลผลิตลูกกุ้งจะลดลงมาก ลูกกุ้งจะอ่อนแอ กินอาหารน้อยลง ว่ายน้ำควงสว่าน

สว่าน จากการตรวจระดับเซลล์ เซลล์ผิวของตับและตับอ่อนจะสลายตัว อัตราการตายจะสูงขึ้นในช่วงวันที่ 14 ถึง 18 นอกจากนี้ลูกกุ้งในระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 5 ก็สามารถเป็นโรคนี้ได้ สำหรับกุ้งในระยะหลัง จะมีความต้านทานโรคนี้ ส่วนลูกกุ้งที่เป็นโรคจะมีสีเทาน้ำเงิน บางครั้งพบแบคทีเรียพวกคอคโคแบคซิลลัสในช่องทางเดินอาหารทำให้มีการตายถึง 90 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่าในโรงเพาะฟัก ในประเทศมาเลเซีย (Anderson et al., 1990, อ้างถึงโดย Brock, 1993) ยังไม่ทราบแน่ชัด อาจเกิดจากแบคทีเรีย หรือสารพิษ เช่น โลหะหนัก ยาฆ่าแมลง ยากำจัดวัชพืช ไบโอท็อกซิน หรือการขาดสารอาหาร จากการทดลองใช้ยาหลายชนิดในการรักษา ปรากฏว่าไม่ได้ผล วิธีที่ดีที่สุดคือ กำจัดลูกกุ้งทั้งหมดทิ้ง แล้วทำความสะอาดฆ่าเชื้อเครื่องใช้ต่างๆ เป็นการป้องกันที่ต้องทำความสะอาดฆ่าเชื้อบ่อทุกครั้งที่อนุบาลลูกกุ้งเสร็จแต่ละชุด

โรคลอกคราบไม่ออก โรคนี้ปกติจะเกิดกับตัวอ่อนของกุ้ง ในระยะที่ 11 หรือกุ้งคว่ำ ในระยะแรกๆ ปกติกุ้งจะตายช่วงที่ลอกคราบระยะที่ 11 ลูกกุ้งที่ตายจะติดอยู่กับคราบตรงบริเวณขาว่ายน้ำ ระยางค์ส่วนหน้า ตาและกรี ลูกกุ้งบางตัวอาจลอกคราบหลุดออกมาได้ แต่จะตายหลังจากลอกคราบ ลูกกุ้งพวกนี้ระยางค์จะผิดปกติ ลูกกุ้งคว่ำอยู่ในระยะแรกๆ บางครั้งก็พบว่าเป็นโรคนี้สาเหตุของโรคยังไม่สามารถวิเคราะห์ได้แน่นอน อาจจะเกิดจากการขาดสารอาหารหรือคุณภาพน้ำที่ไม่ดีโดยการป้องกันและรักษาสามารถทำได้โดยการควบคุมคุณภาพน้ำในการอนุบาลให้อยู่ในสภาพที่ดี (ยนต์, 2529)

2.3 ชีววิทยาของเชื้อวิบริโอ

แบคทีเรียในสกุลวิบริโอ *(Vibrio)* ในครอบครัว Vibrionaceae ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการติดเชื้ออย่างรุนแรง ยอดยิ่ง (2540) รายงานว่าแบคทีเรียในครอบครัว Vibrionaceae จัดอยู่ในจำพวก facultatively anaerobic gram negative rods ซึ่งประกอบด้วย 4 สกุล คือ

1) Genus *Vibrio*
2) Genus *Plesiomonas*
3) Genus *Aromonas*
4) Genus *Photobacterium*

สำหรับเชื้อแบคทีเรียในสกุลวิบริโอเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นแท่งตรง หรือโค้งเล็กน้อย (comma-shaped) รูปร่างของเชื้อจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ เซลล์ของเชื้อวิบริโอมีขนาด 0.5-0.3 x 1.4-2.6 ไมโครเมตร ลักษณะของโคโลนีของเชื้อวิบริโอ บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป จะกลมมีผิวเรียบ โค้ง สีขาวอมเทา หลังจากบ่มเชื้อ 48 ชั่วโมง ที่

อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เชื้อวิบริโอสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่โดยใช้ flagella จำนวน 1 เส้น หรือมากกว่าที่ปลายเซลล์ แต่บางชนิดไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีขบวนการเมตาบอลิซึมแบบ chemeorganotrophic และไวต่อ vibriostat 2, 4 diamino-6, 7- diisopropyl pteridine phosphate (0/129) ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของเชื้อในสกุลนี้ที่แตกต่างจากเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม aeromonads มีเอนไซม์ oxidase, catalase, β -galactosidase และ arginine dihydrolase ไม่สร้างก๊าซในการหมักคาร์โบไฮเดรต สามารถเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรท์ เชื้อวิบริโอพบทั่วไปในน้ำกร่อยและน้ำทะเล มักจะพบมากบริเวณน้ำนิ่ง พื้นก้นบ่อที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูง บางชนิดทำให้เกิดโรคกับมนุษย์ (นิลุบล, 2544) ชนิดที่สำคัญมากที่ทำให้เกิดการติดเชื้ออย่างรุนแรง คือ เชื้ออหิวาต์ (*V. cholerae)* ซึ่งทำให้เกิดโรคอหิวาตกโรค และอีกชนิดหนึ่งคือ *V. parahaemolyticus* ซึ่งทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง เชื้อชนิดนี้มักปนเปื้อนมากับอาหารทะเล เนื่องจากมันอาศัยอยู่ในน้ำชายฝั่งทะเลและแหล่งน้ำกร่อย แบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ทำให้เกิดการตายและความเสียหายกับฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งและปลาเป็นจำนวนมาก ในประเทศไทยมีรายงานเกี่ยวกับการพบเชื้อวิบริโอในกุ้งกุลาดำ อาการที่เกิดกับกุ้งกุลาดำในขั้นแรกๆ คือ กินอาหารน้อยลง ซึม และเครียด เสียการทรงตัวเมื่อว่ายน้ำ และในที่สุดก็จะอยู่ตามขอบฝั่งและตายภายใน 2-3 วัน (ปัญญา และคณะ, 2532; สมศักดิ์ และคณะ, 2532; Thompson et al., 2004)

เชื้อวิบริโอสามารถเจริญได้ทั่วไปในแหล่งน้ำเค็มเป็น opportunistic หรือ facultative pathogen ก่อให้เกิดโรค Vibriosis โดยการเกิดมักเป็นแบบ secondary infection และความรุนแรงต่อกุ้งขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ จรีพร และคณะ (2546) ทดสอบความรุนแรงของเชื้อ *V. harveyi* พบว่าปริมาณของเชื้อที่ทำให้กุ้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 10 วัน พบปริมาณเชื้อตั้งแต่ $1.6x10^6$-$7.27x10^7$ CFU ต่อมิลลิลิตร Lightner (1988) รายงานความสามารถของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ก่อให้เกิดโรคพบว่า ถ้าในน้ำมีเชื้อชนิดนี้อยู่ 10^2 เซลล์ต่อมิลลิลิตร อาจทำให้กุ้งกุลาดำเกิดโรคหรือไม่ก็ได้ และเมื่อทำการทดสอบกุ้งในระยะ juvenile โดยให้ได้รับปริมาณเชื้อ 10^7, 10^6 และ 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่ากุ้งจะมีอาการอ่อนแอลงสองวันและจะฟื้นคืนสภาพเดิมได้หากไม่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมจนทำให้เกิดความเครียดภายใน 3-5 วัน นอกจากนี้มีวิบริโออีกชนิดหนึ่งที่อยู่ร่วมกับปลาทะเล คือ *V. fischeri* เป็นวิบริโอชนิดเรืองแสง (Luminescent bacterium) มักพบอยู่ในอวัยวะของปลา และปลาหมึก แต่อยู่เป็นอิสระหรืออยู่ร่วมกับสัตว์น้ำชนิดอื่นๆได้ ส่วนการเรืองแสงในพวกกุ้งนั้น เกิดจากการติดเชื้อ *V. harveyi* (ยอดยิ่ง, 2540) ส่วนคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ดังแสดงไว้ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Vibrio*

คุณสมบัติ	*V. alginolyticus*	*V. parahaemolyticus*	*V. harveyi*	*V. vulificus*	*V. fluvialis*	*V. damsela*
TCBS agar	Y	G	Y	G	Y	G
Triple sugar iron agar	A/A	K/A	A/A	K/A	A/A	K/A
Motility	+	+	+	+	+	+
OF test	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
0/129 10 μg	S	S	S	S	S	S
150 μg	S	S	S	S	S	S
ONPG hydrolysis	-	-	+	+	+	-
Arinine decarboxylase	-	-	-	-	+	+
Lysine decarboxylase	+	+	+	+	-	-
Orinithine decarboxylase	+	+	+	+	-	-
Oxidase	+	+	+	+	+	+
Indole	+	+	+	+	+	-
Voges-Proskauer	-	-	-	-	-	-
Citrate	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	-	-	-
Glucose	+	+	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	+	-	-
lactose	-	-	-	+	-	-
Maltose	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	-
Mannose	+	+	+	+	+	+
Raffinose	-	-	-	-	-	-
Sucrose	+	-	+	-	+	-
Saccharose	+	-	+	-	+	-
NaCl 0%	-	-	-	-	+	-
3%	+	+	+	+	+	+
6%	+	+	+	+	+	+
8%	+	+	+	-	+	-
10%	+	+	+	-	+	-

หมายเหตุ G = โคโลนีสีเขียว Y = โคโลนีสีเหลือง A = สร้างกรด
K = สร้างด่าง S = ไวต่อการทดสอบ + = ผลเป็นบวก - = ผลเป็นลบ

ที่มา: (อมรชัย, 2536)

2.3.1 ชีววิทยาของเชื้อ *V. harveyi*

Reichelt et al. (1976, อ้างถึงโดย ยอดยิ่ง, 2540) รายงานว่า *V. harveyi* เดิมมีชื่อสกุลเป็น *Lucibacterium* ต่อมาจึงเปลี่ยนสกุลไปอยู่สกุล *Beneckea* เพราะมีลักษณะของ flagella ที่เปลี่ยนแปลงไปมาได้ แต่ภายหลังมาอยู่ในสกุล *Vibrio* แบคทีเรียชนิด *V. harveyi* เป็นแบคทีเรียน้ำเค็มที่พบทั่วไปในน้ำและสัตว์ทะเลรวมทั้งในน้ำกร่อย ลักษณะทางชีวเคมีของแบคทีเรียชนิดนี้ จะคล้ายกับ *V. parahaemolyticus* เจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีความเค็ม 30-60 ส่วนในพันส่วน *V. harveyi* สามารถเจาะผ่านเข้าไปอยู่ในเหงือกและในน้ำเลือดได้ของกุ้งได้ เมื่ออยู่ในเหงือกจะทำให้เหงือกเป็นสีชา และจะพบว่าเป็นสีส้มในเวลากลางคืน โรคนี้เรียกกันว่าโรคเหงือกสีชา แต่ยังไม่มีรายงานว่าทำให้กุ้งตายอย่างร้ายแรง นอกจากนี้ *V. harveyi* มีความสามารถในการเรืองแสง ทำให้เกิดโรคเรืองแสงคล้ายเพชรเมื่อเกาะอยู่ทั่วบริเวณเปลือกที่หุ้มลำตัวกุ้ง *V. harveyi* มีขนาด 1 ไมโครเมตร รูปร่างเป็นแท่งปลายมน เคลื่อนที่โดยใช้ polar flagella ที่อยู่รอบลำตัว ลักษณะสีขุ่น กลมนูนขอบเรียบ เป็นมันวาว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเท่ากัน เติบโตได้ดีในช่วงที่มีอุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส ที่ระดับ ความเป็นกรดเป็นด่าง 6.0-9.0 และเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0.5-7.5 เปอร์เซ็นต์ มีคุณสมบัติพิเศษ ferment carbohydrates อาหารเลี้ยงเชื้อ *Vibrio* อีกชนิดหนึ่งที่นิยมในห้องปฏิบัติการคือ Thiosulfatecitrate Bile Salt Sucrose Agar ซึ่งอาหารชนิดนี้เป็นอาหารแข็ง ที่เชื้อ *Vibrio* sp. เจริญได้ดีเพียงชนิดเดียวเท่านั้น เชื้อแบคทีเรียที่สามารถเรืองแสงได้ นอกจาก *V. harveyi* แล้วยังมีอีกหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็น *V. fischeri, V. logei, V. orientalis, V. splendidus, Photobacterium phosphorum*, และ *P. leiognathi,* รวมทั้ง *V. cholerae* ก็สามารถเรืองแสงได้ (Barrow and Feltham, 1995) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* และ *Photobacterium*

เชื้อ	Oxidase (Kovac)	Nitrate-nitrite	Indole production	Vogas Proskauer	Lysine Decarboxylase	Arginine Dihydrolase
V. cholerae	+	+	+	+	-	+
V. mimicus	+	+	+	-	+	-
V. parahaemolyticus	+	+	+	-	+	-
V. harveyi	+	+	+	-	+	-
V. orientalis	+	+	+	-	+	-
V. splendidus	+	+	+	-	-	-
P. phosphoreum	-	+	-	+	+	+
P. leignathi	-	+	-	+	+	+

หมายเหตุ + = ผลเป็นบวก - = ผลเป็นลบ

ที่มา: (ดัดแปลงจาก Barrow and Feltham., 1995)

2.3.2 ชีววิทยาของเชื้อ *V. cholerae*

Farmer and Brenner (2005) รายงานว่า *V. cholerae* จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะรูปร่างเป็น comma shaped จัดเป็น facultative anaerobe มีเอนไซม์ oxidase พบได้ในแหล่งน้ำโสโครกที่ยังไม่มีการฆ่าเชื้อ สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในบ่อเมื่อมีปริมาณธาตุอาหารที่ต้องการ เจริญได้ใน TCBS Agar ลักษณะโคโลนีมีสีเหลืองเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร เป็น sucrose-positive สามารถเจริญได้หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 5-8 ชั่วโมง เจริญได้อาหารผสมโซเดียมคลอไรด์ หรือใน Marine agar (Barrow and Feltham, 1995) และเจริญได้ดีใน alkaline peptone water ซึ่งมีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 8.5 (จุฬารัตน์และเกษแก้ว, 2542) เมื่อทำการทดสอบทางชีวเคมี (ตารางที่ 2)

Davis et al. (1981) รายงานคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *V. cholerae* พบว่าสามารถใช้น้ำตาล mannose, mannitol และน้ำตาล sucrose มีคุณสมบัติ lysine decarboxylase, ornithine decarboxylase เป็นบวกแต่ arginine dihydrolase เป็นลบ สามารถเกิดปฏิกิริยา Voges-Proskauer

สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0, 1 และ 6 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถเจริญในอาหารที่ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะพบว่า *V. cholerae* ต้านทานต่อยา colistin, sulfadiazine, nalidixic acid และ kanamycin และไวต่อยา gentamicin, ampicillin, carbenicillin และ tetracycline จากการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อ *V. cholerae* แต่ละสายพันธุ์ โดยใช้วิธี DNA hybridization โดยหาความสัมพันธ์ RBR (Relative binding ratio) จาก เปอร์เซ็นต์ heterologous DNA reaction / เปอร์เซ็นต์ homologous DNA reaction x 100 ของเชื้อ *V. cholerae* ที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง (labeled) กับ DNA ที่ไม่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง (unlabeled) ผลการศึกษาความเหมือนของเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ชนิด *V. cholerae* แต่ละสายพันธุ์ที่นำมาศึกษา มีค่าอยู่ระหว่าง 64-94 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับ reference strain และ *V. cholerae* กับ *V. mimicus* มีความเหมือนกันมีค่าอยู่ระหว่าง 24-54 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับ reference strain ส่วน *V. cholerae* กับ *Escherichia coli* K-12 ซึ่งต่างสกุลกัน มีความเหมือนกันมีค่าอยู่ระหว่าง 3 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3

Brenner et al. (1983, อ้างถึงโดย Farmer and Brenner, 2005) รายงานความเหมือนกันของเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* โดยวิธี DNA-DNA hybridization พบว่า *V. cholerae* มีความเหมือนกันระหว่างสายพันธ์ 80-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *V. mimicus* มีความเหมือนกันระหว่างสายพันธ์ 50-60 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีความสัมพันธ์กันมากกว่าเชื้อ *Vibrio* ชนิดอื่น นอกจากนี้พบว่า *V. parahaemolyticus* มีเหมือนกันกับ *V. alginolyticus* และมีความเหมือนกันกับเชื้อ *Vibrio* ชนิดอื่น 30 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ของ DNA ชนิด atypical *V. cholerae* และ *V. mimicus* เปรียบเทียบกับ *V. cholerae* 9061-79

unlabeled DNA	RBR[b] 60°	เปอร์เซ็นต์ D	หมายเหตุ
Vibrio cholerae 9061-79	100	0	
V. cholerae 9060-79	94	1.7	
V. cholerae 1196-78	64	0.6	
V. cholerae 7165(man$^-$)	73	1.1	
V. cholerae 7165(man$^-$)	85	0.7	
V. cholerae 5011(NaCl$^-$)	80	0.6	
V. cholerae 1528-79(mtl$^-$)	87	1.9	
V. cholerae 1727-79(mtl$^-$)	87	1.1	
V. cholerae 1742-79(mtl$^-$)	90	2.2	
V. cholerae 1954-79(mtl$^-$)	92	1.7	
V. cholerae 1955-79(mtl$^-$)	88	1.8	
V. cholerae 1956-79(mtl$^-$)	90	1.4	
V. cholerae 1936-79(lys$^-$)	91	2.6	
V. cholerae 2088-78(sal$^+$, cel$^+$)	92	2.4	
V. mimicus 6306	54	7.7	
V. mimicus 6365	48	8.4	
V. mimicus 7629	35	6.8	
V. mimicus 6661	27	8.3	
V. mimicus 5634	24	4.9	
Escherichia coli K-12	3	16.7	

หมายเหตุ man = mannose; mtl = mannitol; lys = lysine decarboxylase

RBR[b] = Relative binding ratio เปอร์เซ็นต์ D = เปอร์เซ็นต์ divergence

ที่มา: (ดัดแปลงจาก Davis et al., 1981)

Oanh (2000) รายงานว่าจากการแยกเชื้อแบคทีเรียสกุล *Vibrio* จากโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกราม พบสายพันธุ์ *V. cholerae* จำนวน 26 สายพันธุ์ หลังจากเลี้ยงเชื้อบนอาหาร TCBS Agar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 วัน โคโลนีมีลักษณะกลมนูนเล็กน้อยขนาด 1-1.5 มิลลิเมตร สีเทาอ่อน โคโลนีเรียบเป็นมันวาว เมื่อทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าทุกสายพันธุ์มีคุณสมบัติ lysine decarboxylase และ ornithine decarboxylase เป็นบวก ส่วน arginine dihydrolase ให้ผลเป็นลบ เจริญในอาหารเหลวที่มีเปปโตน 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0, 3 และ 6 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถเจริญในอาหารที่ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรท์ได้ เกิดปฏิกิริยา Voges-Proskauer สร้าง indole และสร้างกรดได้ สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตในรูปน้ำตาล glucose, lactose, mannitol และ lactose ได้แต่ไม่ใช้ arabinose, cellubiose, salicin และ xylose ไม่สามารถสร้างก๊าซได้จากน้ำตาล glucose สร้างเอนไซม์ gelatin hydrolase ได้น้อย ไม่พบการเรืองแสง และไม่เจริญใน urease แต่ใช้ citrate utilization ได้

ลิลา และคณะ (2540) ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการกับเชื้อแบคทีเรีย *V. cholerae* biotype *albensis* ที่เรืองแสงในแหล่งเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่าสามารถเจริญบนอาหารที่ไม่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้ สีของโคโลนีบนอาหาร Brom Thymol Blue Teepol (BTB) เป็นสีเหลือง เมื่อทดสอบ arginine dihydrolase ให้ผลเป็นลบ ส่วน lysine decarboxylase และ ornithine decarboxylase ให้ผลเป็นบวก สามารถสร้าง indole ให้กรดจากการหมักน้ำตาล galactose ส่วน cellobiose และ salicin ให้ผลเป็นบวก แต่ทดสอบน้ำตาล mannose ให้ผลไม่แน่นอน เมื่อทดสอบยาต้านจุลชีพ พบว่าแบคทีเรียดื้อต่อยาไตรเมทโธพริม

Barrow and Felthan (1995) รายงานว่าจากการจัดจำแนก *V. cholerae* พบว่าแต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้ มีคุณสมบัติทางชีวเคมีเหมือนกัน (ตารางที่ 4) แต่ความสามารถการก่อโรคต่างกันเช่น ความสามารถในการสร้างสารพิษ (toxin) ต่างกัน ดังตัวอย่างคือ *V. cholerae* 01 สามารถสร้างสารพิษและเกิดการแพร่ระบาดของอหิวาตกโรคได้ และนอกจากนี้ยังพบว่า *V. cholerae* ที่แยกได้จากหลายแหล่งในบริเวณพื้นที่น้ำกร่อยปากแม่น้ำซึ่งแตกต่างกัน พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ ไม่สามารถสร้างสารพิษที่ก่อให้เกิดอหิวาตกโรคและไม่ทำให้เกิดอาการท้องร่วง ส่วนสายพันธุ์ non-01 *V. cholerae* พบว่าไม่สร้างสารพิษ ถึงแม้จะแยกได้จากบริเวณที่เกิดโรคท้องร่วงระบาดก็ตาม แต่เมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนไปอุณหภูมิสูงขึ้น กลับสามารถสร้างสารพิษทำให้เกิดอหิวาตกโรคได้ นอกจากนี้ *V. cholerae* 01 เกิดปฏิกิริยา Voges-Proskauer และไวต่อยาปฏิชีวนะ polymyxin B ขนาด 50 IU

2.3.3 ชีววิทยาของเชื้อ *V. parahaemolyticus*

ยอดยิ่ง (2540) เชื้อแบคทีเรียชนิด *V. parahaemolyticus* เดิมชื่อ *Pasteurella parahaemolytica* และมีการรวม *V. parahaemolyticus* กับ *V. alginolyticus* เป็นชนิดเดียวกันคือ *V. parahaemolyticus* เนื่องจากวิบริโอชนิดนี้ มีการแพร่กระจายอยู่ทั่วโลกและพบว่าทำให้เกิดการติดเชื้อในทางเดินอาหารของคน สามารถทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง มักปนมากับอาหารทะเล อาศัยอยู่บริเวณชายฝั่งทะเลและน้ำกร่อย เป็นแบคทีเรียแกรมลบมีหลายลักษณะคือ โค้งงอ แท่งตรง กลม ย้อมติดสีที่ปลายทั้งสองข้าง เคลื่อนที่โดยใช้ flagellum 1 เส้น มีคุณสมบัติทางชีวเคมีดังนี้คือ สามารถย่อยแป้งได้ มีเอนไซม์ cytochrome oxidase และ phenoloxidase ไม่เจริญใน Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBS) ถ้าไม่ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ สามารถใช้ glucose และผลิตทั้งกรดและด่างไม่สร้าง H_2S ซึ่งมี metabolism แบบใช้ O_2 ลักษณะโคโลนีเรียบ และเป็นสีเขียวเข้ม ไม่สามารถหมักน้ำตาลที่อยู่ใน TCBS เติบโตและเจริญได้ดีที่ความเค็ม 29 ส่วนในพันส่วน เชื้อ *V. parahaemolyticus* ในปริมาณ $3.0x10^2$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60, 80 หรือ 100 องศาเซลเซียส ภายใน 1 นาที สามารถเจริญได้ดีในสภาพปกติคือ ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ระหว่าง 7.6-9.0 ต้องการความเค็มระหว่าง 2-7 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเจริญเติบโต อุณหภูมิที่สามารถเจริญได้อยู่ประมาณ 25-44 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 36-37 องศาเซลเซียส เมื่อทดสอบยาปฏิชีวนะพบว่า kanamycin, tetracycline และ cephalothins จะไประงับการสร้างโปรตีนของเซลล์ ทำให้ไม่สามารถแพร่พันธุ์ได้และตายในที่สุด และคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเชื้อ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4

Lightner (1998) ทดสอบความสามารถของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ก่อให้เกิดโรคเมื่อทำการทดสอบกับลูกกุ้งระยะ juvenile โดยที่ปริมาณเชื้อ 10^7, 10^6 และ 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบกุ้งตายหมดในระยะเวลา 1, 6-9 และ 12-13 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนกุ้งที่ได้รับเชื้อปริมาณ 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบกุ้งจะอ่อนแอลงเป็นเวลาสองวัน และจะฟื้นคืนสภาพเดิมภายในระยะเวลา 3-5 วัน หากไม่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมจนเครียด ถ้าในน้ำมีเชื้อชนิดนี้อยู่ 10^2 เซลล์ต่อมิลลิลิตร อาจทำให้กุ้งเกิดโรคหรือไม่ก็ได้ นิติ (2538) ทดสอบความสามารถของเชื้อโดยการฉีดเชื้อ *V. parahaemolyticus* เข้าทางกล้ามเนื้อ โดยทดสอบกับกุ้งกุลาดำขนาด 15-20 กรัม ปรับให้ได้ปริมาณ $2.82x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ถึง $18.24x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีอัตราการตายสะสมในเวลา 96 ชั่วโมง มีผลทำให้กุ้งตาย 30-50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อคำนวณหาค่า 96 ชั่วโมง LD_{30-50} จะมีค่าเท่ากับ $7.65x10^7$ ถึง $10.11x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

Farmer and Brenner (2005) รายงานว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* พบในส่วนของกระเพาะอาหารและลำไส้ ตั้งแต่ปี 1950 แพร่กระจายทั่วไปทุกส่วนของโลกที่บริโภคอาหารทะเล เช่น ในเดือนตุลาคม 1950 เกิดอาหารเป็นพิษท้องร่วงอย่างรุนแรงที่เมืองโอซากา ประเทศญี่ปุ่น มีคนไข้ติดเชื้อทั้งหมด 272 ราย และพบว่าตาย 20 ราย จากการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS ลักษณะโคโลนีสีเขียว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี 2-3 มิลลิเมตร lysine decarboxylase ให้ผลเป็นบวก arginine dihydrolase ให้ผลเป็นลบ เกิดปฏิกิริยา Voges-Proskauer สามารถหมักน้ำตาล lactose และ salicin ใช้ urea ได้ (ตารางที่ 4) และจากการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะพบว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* สามารถต้านทานยา ampicillin และ carbenicillin และไวต่อยา colistin

2.3.4 ชีววิทยาของเชื้อ *V. mimicus*

Davis et al. (1981) กล่าวว่า *V. mimicus* ลักษณะเป็น cholera-like strains เนื่องจากมีคุณสมบัติเหมือนกับ *V. cholerae* มาก จากการทดสอบ *V. mimicus* สายพันธุ์ ATCC 33653 พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างลักษณะกลม นูนเล็กน้อย สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ flagellum 1 เส้น บริเวณตรงปลายแท่ง ปฏิกิริยา oxidase ให้ผลเป็นบวก ไวต่อ vibriostat 0/129 ไม่สามารถใช้น้ำตาล sucrose ได้ Oanh (2000) รายงานว่า *V. mimicus* หลังจากเลี้ยงเชื้อที่ 20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 วัน โคโลนีมีขนาด 3 มิลลิเมตร ลักษณะเป็นมันวาว เมื่อทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าทุกสายพันธุ์มีคุณสมบัติ lysine decarboxylase และ ornithine decarboxylase เป็นบวก เจริญในอาหารเหลวที่มีเปปโตน 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0, 3 และ 6 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถเจริญได้ในอาหารที่ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรท์ได้ สร้างเอนไซม์ lipase และ gelatin hydrolyses สามารถสร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรตในรูปน้ำตาล glucose, galactose lactose, mannitol, salicin และ trehalose สามารถเปลี่ยนแป้งให้เป็นกรดได้จาก cellobiose และ glycerol แต่ไม่สร้างกรดจากคาร์โบไฮเดรตในน้ำตาล arabinose sucrose และ xylose ไม่สร้างก๊าซจากน้ำตาล glucose ไม่สามารถใช้ arginine dihydrolase ไม่เกิดปฏิกิริยา Voges-Proskauer และไม่เกิดการเรืองแสง

Farmer and Brenner (2005) รายงานว่า *V. mimicus* เป็นแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ที่พบในบริเวณที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วง เช่น อาหารทะเลสด พบในอวัยวะของหอยนางรมและกุ้งซึ่งพบว่าอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกันกับ *V. cholerae* โดย *V. mimicus* พบว่าแยกได้จากหลายประเทศทั่วโลก อาทิเช่น แคนาดา เม็กซิโก ฟิลิปปินส์ นิวซีแลนด์ เกาะกวม และบังคลาเทศ จาก

การศึกษาของ Davis et al. (1981) รายงานว่า 6 สายพันธุ์ของแบคทีเรียที่นำมาศึกษา DNA hybridization พบว่า 5 สายพันธุ์มีความสัมพันธ์กันและมีความเหมือนกันกับ *V. cholerae* มีค่าอยู่ระหว่าง 24-25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) และมีลักษณะทาง phenotypic เหมือนกันเป็นส่วนใหญ่ แต่ต่างกันที่ *V. mimicus* ไม่สามารถใช้น้ำตาล sucrose ได้ ดังนั้นจึงรายงานเป็นชนิดใหม่ ให้ชื่อว่า *Vibrio mimicus* ซึ่งมาจากคำว่า "mimic" *V. cholerae* แปลว่า "เหมือนกับ" *V. cholerae* จากการจัดจำแนกชนิด *V. mimicus* เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS โคโลนีสีเขียว และเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ enteric media และใน nutrient broth ที่ไม่ผสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ คุณสมบัติทางชีวเคมีดังแสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางชีวเคมีบางการของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Vibrio*

คุณสมบัติ	*V. cholerae*	*V. parahaemolyticus*	*V. mimicus*
Motility	-	d	-
Growth with 0%Nacl	+	-	+
Moller' decarboxylases:			
arginine	-	-	-
lysine	+	+	+
ornithine	+	+	+
Nitrates reduced	+	+	+
Oxidase	+	+	+
Gas from glucose	-	-	-
ONPG hydrolysis	+	-	+
Voges-Proskauer	+	-	-
Resistance to			
0/129 10 μg	-	+	-
0/129 150 μg	-	-	-
Ampicillin 10 μg	-	+	-
Polymyxin B 50 i.u.	+	d	-
Hydrolysis of			
starch	+	+	-
urea	-	d	-
Acid from			
L-arabinose	-	d	-
arbutin	-	-	d
salicin	-	-	-
sucrose	+	-	-
xylose	-	-	-
Growth on			
ethanol	-	d	-
propanol	-	+	-
D-galacturonate	-	-	-
D- glucosamine	+	+	-

หมายเหตุ d = 16-84 เปอร์เซ็นต์ ของสายพันธุ์ ให้ผลเป็นบวก

\+ = ผลเป็นบวก - = ผลเป็นลบ

ที่มา: (ดัดแปลงจาก Barrow and Felthan, 2536)