

3. การศึกษาอัตราการรอด อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณการพบ MBV และ HPV ในตับและตับอ่อน และ spheroid ในต่อมน้ำเหลืองระหว่างกึ่งเลี้ยงที่มาจากแม่กึ่งคุณภาพแตกต่างกัน

3.1 การศึกษาการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์กึ่งโดยวัดความยาวและชั่งน้ำหนัก

ภายหลังการเพาะฟักลูกกึ่งรอบที่สอง และอนุบาลลูกกึ่งรอบที่สอง จนได้ลูกกึ่งวัยอ่อนระยะโพสลาาร์ว 10 (PL10) แล้ว สุ่มเลือกพ่อแม่พันธุ์กึ่งจำนวน 20 ตัว จากพ่อแม่พันธุ์ทั้งหมดที่ใช้ในการทดลองของโรงเพาะฟักแต่ละแห่ง โดยแบ่งเป็นเพศละ 10 ตัว แล้วนำมาวัดความยาว และชั่งน้ำหนัก ผลการวัดขนาด สำหรับพ่อแม่พันธุ์กึ่งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรี พบว่าแม่พันธุ์มีความยาวเฉลี่ย 11.1 ± 0.37 นิ้ว มีน้ำหนักเฉลี่ย 259.4 ± 24.03 กรัม และมีอัตราส่วนความยาว/น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 23.34 ± 1.26 กรัม/นิ้ว ส่วนพ่อพันธุ์กึ่งมีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 8.52 ± 0.22 นิ้ว มีน้ำหนักเฉลี่ย 108.5 ± 15.99 กรัม และอัตราส่วนความยาว/น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 12.70 ± 1.53 กรัม/นิ้ว ในขณะที่ผลการวัดขนาดพ่อแม่พันธุ์กึ่งจากโรงเพาะฟักจังหวัดระนอง พบว่า แม่พันธุ์มีความยาวเฉลี่ย 11.02 ± 0.47 นิ้ว มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 258.0 ± 36.76 กรัม และมีอัตราส่วนความยาว/น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 23.34 ± 2.38 กรัม/นิ้ว ส่วนพ่อพันธุ์มีความยาวเฉลี่ย 8.91 ± 0.39 นิ้ว มีน้ำหนักเฉลี่ย 121.5 ± 11.80 กรัม และมีอัตราส่วนความยาว/น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 13.62 ± 0.87 กรัม/นิ้ว ดังแสดงในตารางที่ 13

จากการวิเคราะห์ พบว่า พ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำจากทั้งสองแหล่งมีความยาวและน้ำหนักใกล้เคียงกัน และยังมีอัตราส่วนความยาว/น้ำหนักใกล้เคียงกัน เนื่องจากโรงเพาะฟักทั้ง 2 แห่ง ใช้หลักการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์กึ่งด้วยสายตา(ประสบการณ์) และหลักการคัดขนาดพ่อแม่พันธุ์กึ่งแบบเดียวกัน ซึ่งโรงเพาะฟักที่มีมาตรฐานส่วนใหญ่ในปัจจุบัน จะใช้วิธีการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์เบื้องต้นแบบนี้ สำหรับเรื่องนี้ กรรณวิทย์ และคำธณ (2547) กล่าวว่าย้อนไปในอดีต การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ใช้วิธีวัดความยาวเป็นหลัก ทำให้ควบคุมคุณภาพของพ่อแม่พันธุ์ได้ยาก จึงเสนอให้เพิ่มชั่งน้ำหนักและนำมาคำนวณหาค่า อัตราส่วนความยาว/น้ำหนัก จากนั้น คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์กึ่งที่มีขนาดความยาวและน้ำหนักอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน นั่นคือพ่อพันธุ์กึ่งจะต้องมีความยาว 8 นิ้วขึ้นไปและน้ำหนักไม่ต่ำกว่า 12 กรัม/ความยาว 1 นิ้ว ส่วนแม่พันธุ์กึ่งมีความยาว 10 - 12 นิ้วและมีน้ำหนักไม่ต่ำกว่า 20 กรัม/ความยาว 1 นิ้ว ดังนั้น พ่อแม่พันธุ์กึ่งบางตัวที่วัดความยาวได้เกณฑ์ แต่น้ำหนักตัวเบา ซึ่งเมื่อนำมาคิดเป็นอัตราส่วน ความยาว/น้ำหนัก กึ่งตัวนั้นอาจจะไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานได้

ตารางที่ 13 ผลการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาคำทั้งสองแหล่ง

ตัวแปร	โรงเพาะฟักชลบุรี		โรงเพาะฟักระนอง	
	แม่พันธุ์	พ่อพันธุ์	แม่พันธุ์	พ่อพันธุ์
ความยาวเฉลี่ย (นิ้ว)	11.1± 0.37	8.52±0.22	11.02±0.47	8.91±0.39
น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	259.4±24.03	108.5±15.99	258.0±36.76	121.5±11.80
อัตราส่วนความยาว/น้ำหนัก (กรัม / นิ้ว)	23.34±1.26	12.70±1.53	23.34±2.38	13.62±0.87

3.2 การศึกษาการติดเชื้อไวรัสดวงขาวและMBV ในพ่อแม่พันธุ์กึ่ง

ผลการตรวจการติดเชื้อไวรัสดวงขาวด้วยวิธี PCR ของพ่อแม่พันธุ์กึ่งทุกตัวจากทั้งสองโรงเพาะฟัก ไม่พบการติดเชื้อไวรัสดวงขาว และผลการตรวจสอบการติดเชื้อไวรัส MBV โดยตรวจหา occlusion body ของ MBV ในจี๊กึ่งของพ่อแม่พันธุ์ทุกตัว พบว่าพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์จากโรงเพาะฟักระนองติดเชื้อ MBV เป็นจำนวน 20 % เท่ากัน และพบว่าแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์กึ่งจากโรงเพาะฟักชลบุรี ติดเชื้อ MBV เป็นจำนวน 60 % และ 50 % ตามลำดับ ผลการตรวจ แสดงในตารางที่ 14 ผลของการตรวจพ่อแม่พันธุ์กึ่งทั้งหมดไม่พบไวรัสดวงขาว เนื่องจากพ่อแม่พันธุ์กึ่งทั้งหมด เป็นพ่อแม่พันธุ์จากทะเลลึก ที่ระดับ 60 - 80 เมตร และพ่อแม่พันธุ์ทุกตัวที่ผ่านการตรวจไวรัสดวงขาวด้วยวิธี PCR แล้ว และให้ผลเป็นลบเท่านั้น จึงจะอนุญาตให้นำเข้าไปเลี้ยงรวมกันในบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ได้ ส่วนปริมาณการพบ occlusion body ของ MBV ในจี๊ของพ่อแม่กึ่ง จากโรงเพาะฟักชลบุรี มีค่าสูงกว่ากึ่งจากโรงเพาะฟักระนองนั้น มีโอกาสเป็นไปได้ เพราะว่าพ่อแม่กึ่งจากโรงเพาะฟักชลบุรีเป็นพ่อแม่กึ่งจากจังหวัดสตูล ซึ่ง วรรณวิท (2545) รายงานว่า ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2543 ตรวจพบพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาคำติดเชื้อ MBV สูงถึง 60 - 80 % ส่วนพ่อแม่กึ่งจากระนองเป็นมาจากประเทศพม่า ติดเชื้อ MBV เพียงเล็กน้อยเท่านั้น สำหรับปริมาณการติดเชื้อ MBV จากจี๊ของแม่กึ่งนั้น โรงเพาะฟักส่วนใหญ่ไม่นิยมตรวจกัน เพราะผู้ประกอบการส่วนใหญ่ยังไม่แน่ใจว่า MBV มีผลต่อการเจริญเติบโตหรือการแตกขนาดของกึ่งที่เลี้ยงในบ่อหรือไม่ รวมทั้งห้องปฏิบัติการของเอกชนตรวจ MBV ได้แม่นยำหรือไม่ ดังนั้น ในเรื่องนี้ต้องใช้นักวิชาการที่มีประสบการณ์ร่วมตรวจด้วย ส่วนในกรณีของไวรัสดวงขาว มีห้องปฏิบัติการของภาคเอกชนและรัฐบาลจำนวนมาก ที่ให้บริการอยู่แล้ว และตรวจได้แม่นยำด้วยวิธี PCR ถ้าการตรวจให้ผลเป็นบวก จะมีโอกาสให้พ่อแม่พันธุ์ที่เลี้ยงอยู่

รวมกันมีโอกาสติดเชื้อไวรัสชนิดนี้เพิ่มขึ้น และจะมีผลต่อการผลิตลูกกุ้ง ซึ่งเมื่อนำลูกกุ้งไปตรวจไวรัสดวงขาวด้วยวิธี PCR ถ้าให้ผลเป็นบวก โรงเพาะฟักจะขายลูกกุ้งชุดนี้ไม่ได้

ตารางที่ 14 ผลการตรวจ MBV และไวรัสดวงขาวในพ่อแม่พันธุ์กุ้งทั้งสองแหล่ง

แหล่ง	จำนวนพ่อแม่พันธุ์กุ้ง	ผลการตรวจ ไวรัส MBV		ผลการตรวจ ไวรัส WSSV	
		พบ MBV	คิดเป็น%	พบ	คิดเป็น%
โรงเพาะฟัก	แม่พันธุ์ จำนวน 10 ตัว	6 ตัว	60	0	0
ชลบุรี	พ่อพันธุ์ จำนวน 10 ตัว	5 ตัว	50	0	0
	รวม 20 ตัว	11 ตัว	55	0	0
โรงเพาะฟัก	แม่พันธุ์จำนวน 10 ตัว	2 ตัว	20	0	0
ระนอง	พ่อพันธุ์ จำนวน 10 ตัว	2 ตัว	20	0	0
	รวม 20 ตัว	4 ตัว	20	0	0

3.3 การศึกษาพยาธิสภาพวิทยาของตับและตับอ่อนของแม่กุ้ง

ผลการตรวจปริมาณ occlusion body ของ MBV ในส่วนของเซลล์ตับและตับอ่อน ซึ่งแสดงถึงการติดเชื้อไวรัส MBV พบว่าแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรีติดเชื้อ MBV เป็นจำนวนมากกว่าแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดระนอง โดยแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรี ติดเชื้อ MBV เป็นจำนวน 6 ตัว (ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจพบ occlusion body ของ MBV ในจีของแม่กุ้ง) และมีลักษณะเป็น occlusion body ขนาดเล็ก ซึ่งแสดงว่าเป็นการติดเชื้อ MBV ระยะเริ่มแรกและตรวจพบ occlusion body มีปริมาณเล็กน้อย (10%) สำหรับแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดระนอง พบว่าติดเชื้อ MBV จำนวน 2 ตัว (ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจ occlusion body ของ MBV ในจีของแม่กุ้ง เช่นเดียวกัน) และตรวจพบว่าเป็น occlusion body ขนาดเล็ก ซึ่งแสดงว่าเป็นการติดเชื้อ MBV ระยะเริ่มแรก และพบปริมาณ occlusion body เล็กน้อย (10%) เช่นเดียวกับแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรี ดังแสดงในตารางที่ 15-16 และ ภาพที่ 7

สำหรับการตรวจเชื้อ MBV ในกึ่งกลาดำของประเทศไทยนั้น มีรายงานว่า ในปีพ.ศ. 2532 ระเบิด และ คณะ (2532) ได้ตรวจพบ MBV ในกึ่งกลาดำที่เลี้ยงในบ่อดิน ซึ่งถือว่าเป็นการพบ MBV เป็นครั้งแรกในประเทศไทย ต่อมาปีพ.ศ. 2533 มีการตรวจเชื้อ MBV ในพ่อแม่พันธุ์กึ่งกลาดำของไทย ที่จับมาจากทะเล พบว่า ติดเชื้อ 10 % (สุวรรณเกียรติ และ คณะ, 2533) และ 5.7 % (Fegan *et al.*, 1991) สำหรับในการทดลองนี้ พบว่า แม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรีและระนอง ติดเชื้อ MBV 60 % และ 20% ตามลำดับ ถือว่ามีโอกาสเป็นไปได้ เพราะว่า กรรณวิท (2545) รายงานว่า ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 เป็นต้นมา พ่อแม่พันธุ์กึ่งกลาดำจากธรรมชาติของไทย ตรวจพบปริมาณ เชื้อ MBV เพิ่มขึ้นทุกปี และสูงถึง 60 -80 %

สำหรับการตรวจปริมาณ inclusion body ในเซลล์บุท่อตับและตับอ่อน ซึ่งแสดงถึงการ ติดเชื้อ HPV นั้น พบว่าแม่กุ้งจากทั้งสองโรงเพาะฟัก มีปริมาณเชื้อ HPV เป็นจำนวนเท่ากัน นั่นคือ แม่กุ้งติดเชื้อ HPV จำนวน 2 ตัว และมีลักษณะเป็น inclusion body ขนาดเล็ก แสดงว่าเป็นการติด เชื้อ HPV ระยะเริ่มแรก อีกทั้งยังพบปริมาณ inclusion body เพียงเล็กน้อย(10%) เท่ากันด้วย ซึ่งจาก การตรวจเอกสารในประเทศไทย ไม่พบรายงานการตรวจเชื้อ HPV ในพ่อแม่พันธุ์กึ่งกลาดำแต่อย่าง ใด มีแต่รายงานการศึกษา การติดเชื้อ HPV ในกึ่งกลาดำจากบ่อเลี้ยงเท่านั้น (ทาริกา, 2543; ลวไมย, 2546; อรพรรณ, 2547; วรินธา , 2548; Flegel, 2001; Flegel *et al.*, 2002) ดังแสดงไว้ใน ตารางที่ 15 -16 และ ภาพที่ 8

สำหรับการตรวจการติดเชื้อ MBV และ HPV ร่วมกัน ในแม่กุ้งตัวเดียวกัน พบว่าแม่กุ้ง จากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรี ที่ติดเชื้อ MBV จำนวน 6 ตัวนั้น เป็นแม่กุ้งที่ติดเชื้อ MBV อย่างเดียว จำนวน 4 ตัว ที่ติดเชื้อ MBV และ HPV ร่วมกัน มีจำนวน 2 ตัว ส่วนแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัด ระนอง ซึ่งติดเชื้อ MBV จำนวน 2 ตัวนั้น เป็นแม่กุ้งที่ติดเชื้อ MBV อย่างเดียว จำนวน 1 ตัว ที่ติด เชื้อ MBV และ HPV ร่วมกัน มีจำนวน 1 ตัว

นอกจากนั้น จากการศึกษาทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อบุตับและตับอ่อนของแม่กุ้งจาก โรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรี ยังมีลักษณะที่ผิดปกติอื่นๆ อีก ได้แก่ ตรวจพบการติดเชื้อแบคทีเรีย และ เชื้อไมโครสปอริเดียน(Microsporidian) เป็นจำนวน 30 % และ 20 % ตามลำดับ ในขณะที่ตรวจไม่ พบลักษณะการติดเชื้อมีดังกล่าวนี้นี้ในแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดระนอง สำหรับลักษณะการติดเชื้อ แบคทีเรีย ถึงแม้ว่าในการทดลองนี้ยังไม่ได้วิเคราะห์ว่าเป็นแบคทีเรียชนิดใด แต่ เศรษฐเกียรติ และ คณะ (2533) รายงานว่าผลจากการตรวจตับและตับอ่อนของพ่อแม่พันธุ์กึ่งกลาดำจากทะเล พบเชื้อ

แบคทีเรียชนิด vibrio ได้แก่ *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* และ *V. vulnificus* เป็นต้น นอกจากนี้ ผลการตรวจพยาธิสภาพของกล้ามเนื้อ ยังพบการตายของเนื้อเยื่อ(necrosis) ในกล้ามเนื้อของแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรี ในขณะที่ไม่พบความผิดปกติดังกล่าวนี้ ในแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดระนอง ดังแสดงในตารางที่ 15 -16 และ ภาพที่ 9

3.4 การศึกษาพยาธิสภาพวิทยาของต่อมน้ำเหลืองของแม่กุ้ง

ต่อมน้ำเหลืองที่ปกติ มีลักษณะเป็นท่อปลายปิดและมีผนังหุ้ม ซึ่งผนังท่อด้านนอกของต่อมน้ำเหลืองถูกหุ้มด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน(fibrous connective tissues) ที่เป็นชั้นบางๆ ภายในท่อต่อมน้ำเหลือง ประกอบด้วย stromal matrix ซึ่งตรงกลางท่อต่อมน้ำเหลือง(stromal matrix) มีช่องเลือด (tubule lumen หรือ central vessel หรือ hemolymph vessel) ส่วนผนังท่อด้านในของต่อมน้ำเหลือง เรียกว่า endothelium ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อชั้นเดียวและบางๆ ห่อหุ้มช่องเลือดไว้ ภายในท่อต่อมน้ำเหลืองมี stromal matrix cells กระจายอยู่ใน stromal matrix และมี endothelial cells ซึ่งเป็นเซลล์รูปแบน อยู่เรียงกันบริเวณรอบชั้น endothelium ภายใน stromal matrix และช่องเลือดของต่อมน้ำเหลือง จะมีน้ำเลือด (hemolymph) และเม็ดเลือดกระจายอยู่ และยังมีแอ่งเลือด (hemolymph sinus) แทรกอยู่ระหว่างท่อของต่อมน้ำเหลืองด้วย(อนุตรา, 2534; Shao *et al.*, 2004; Van der Braak *et al.*, 2002) ดังแสดงในภาพที่ 10 -12

ผลการตรวจปริมาณ spheroid ที่เกิดในท่อต่อมน้ำเหลือง ซึ่งแสดงถึงความผิดปกติของเนื้อเยื่อต่อมน้ำเหลือง พบว่า แม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรีมีความผิดปกติหรือมี spheroid มากกว่าแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดระนอง เป็นจำนวน 60 % และ 20 % ตามลำดับ กล่าวคือแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรีและระนองที่ตรวจพบ spheroid มีจำนวน 6 ตัวและ 2 ตัว จากจำนวนแม่กุ้งทั้งหมด 10 ตัว ตามลำดับ(ตารางที่ 15 -16) เมื่อพิจารณาจากปริมาณ spheroid ที่เกิดขึ้นต่อพื้นที่ต่อมน้ำเหลืองที่ปกติ จะแบ่งแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรีได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เป็นแม่กุ้งที่พบต่อมน้ำเหลืองปกติ ไม่พบ spheroid เลย มีจำนวน 4 ตัว กลุ่มที่ 2 เป็นแม่กุ้งที่พบต่อมน้ำเหลืองผิดปกติ และพบปริมาณ spheroid เล็กน้อย(10 - 20 % ของพื้นที่ต่อมน้ำเหลือง) มีจำนวน 4 ตัว และกลุ่มที่ 3 เป็นแม่กุ้งที่มีต่อมน้ำเหลืองผิดปกติมากและพบปริมาณ spheroid มาก(50 % ของพื้นที่ต่อมน้ำเหลือง) มีจำนวน 2 ตัว ดังแสดงในภาพที่ 21 - 24 ในขณะที่การตรวจพยาธิสภาพต่อมน้ำเหลืองของแม่กุ้งจากโรงเพาะฟักจังหวัดระนอง สามารถแบ่งแม่กุ้งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เป็นแม่กุ้งที่มีต่อมน้ำเหลืองปกติ ไม่พบ spheroid เลย มีจำนวน 8 ตัว และกลุ่มที่ 2 เป็นแม่กุ้งที่

ต่อมน้ำเหลืองผิดปกติเพียงเล็กน้อย และพบปริมาณ spheroid เล็กน้อย(10 - 20% ของพื้นที่ต่อมน้ำเหลือง) มีจำนวน 2 ตัว ดังแสดงในตารางที่ 15 -16 และ ภาพที่ 17- 20

สำหรับกลไกการเกิด spheroid ในเซลล์ต่อมน้ำเหลืองนั้น Van der Braak *et al.* (2002) ได้ทดลองฉีดเชื้อ *Vibrio anguillarum* เข้าในกึ่งกลาดำ พบว่า เชื้อแบคทีเรียสามารถทำให้เกิด spheroid ในเซลล์ต่อมน้ำเหลือง ได้เช่นเดียวกัน ภายหลังการทดลองฉีดเชื้อ *Vibrio anguillarum* เข้าไปในกึ่งเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เริ่มพบ spheroid เกิดขึ้นในต่อมน้ำเหลืองของกึ่งกลาดำ โดยกระบวนการเริ่มต้นจากเม็ดเลือดจะเข้าทำลายเชื้อแบคทีเรีย โดยการจับกลืนเชื้อ(phagocytosis) ที่พบในร่างกึ่ง จากนั้น เม็ดเลือดจะเคลื่อนที่ไปยังช่องน้ำเลือดของท่อต่อมน้ำเหลือง และจะเคลื่อนที่ผ่านชั้นผนังชั้นใน(endrothelium) เข้าไปใน stromal matrix พบว่ากระบวนการกำจัดเชื้อแบคทีเรียเริ่มเกิดขึ้น พร้อมๆ กับการที่เม็ดเลือดเคลื่อนที่ต่อไปยังผนังท่อด้านนอก และกระบวนการกำจัดเชื้อแบคทีเรียจะสิ้นสุดที่ผนังท่อด้านนอก จากนั้นผนังท่อด้านนอกจะแยกตัวออก เพื่อให้เม็ดเลือดรวมทั้ง stromal matrix บางส่วน ออกจากท่อต่อมน้ำเหลือง เข้าสู่แอ่งเลือด แล้วแทรกอยู่ระหว่างท่อต่อมน้ำเหลือง โดยมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันห่อหุ้มไว้ กลายเป็น spheroid ในที่สุด ซึ่ง Van der Braak *et al.* (2002) ได้สรุปว่า กระบวนการกำจัดเชื้อ *Vibrio* เป็นการร่วมมือกันระหว่างเม็ดเลือดและต่อมน้ำเหลือง โดยเม็ดเลือดทำหน้าที่กลืนเชื้อแบคทีเรีย แล้วเคลื่อนที่ไปทำลายเชื้อแบคทีเรียใน spheroid ที่ต่อมน้ำเหลือง เชื้อแบคทีเรียจะถูกกำจัดภายใน spheroid แสดงว่า spheroid ทำหน้าที่คล้ายเครื่องกรองเม็ดเลือดนั่นเอง ภาพที่ 15 แสดงผนังท่อด้านนอกของท่อต่อมน้ำเหลืองได้แตกออก และเม็ดเลือดจะออกจากท่อต่อมน้ำเหลืองพร้อมกับ stromal matrix บางส่วน เข้าสู่แอ่งเลือด แล้วกลายเป็น spheroid ดังแสดงในภาพที่ 13 -16

สำหรับสาเหตุที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของต่อมน้ำเหลืองที่ผิดปกติ โดยพบ spheroid เกิดขึ้นในต่อมน้ำเหลืองนั้น มีรายงานว่าในปีพ.ศ. 2535 Bonami *et al.* (1992) ได้ตรวจพบ spheroid เป็นครั้งแรกในท่อต่อมน้ำเหลืองของกึ่งขาวแวนนาไม ที่ติดเชื้อ LOVV ในปี พ.ศ. 2538 Spann *et al.* (1995) ได้รายงานเป็นคณะแรกว่าพบ spheroid ในต่อมน้ำเหลืองในกึ่งกลาดำวัยรุ่นและพ่อแม่พันธุ์ กึ่งกลาดำที่จับจากธรรมชาติที่ประเทศออสเตรเลีย ซึ่งเกิดจากติดเชื้อ LOV และให้ความเห็นต่อว่า spheroid จะเกิดขึ้นเมื่อเซลล์ต่อมน้ำเหลืองติดเชื้อไวรัสหัวเหลือง LOV หรือ GAV ซึ่ง spheroid ที่เกิดขึ้นนี้ จะมีรูปร่างลักษณะคล้ายคลึงกัน ไม่ว่าจะติดเชื้อไวรัสชนิดใด ในขณะที่ Anggraeni และ Owen (2000) ได้ศึกษาปฏิกิริยาของเอนไซม์ phenoloxidase และ peroxidase ภายใน spheroid ของต่อมน้ำเหลืองของกึ่งกลาดำ และเปรียบเทียบว่า spheroid มีคุณสมบัติคล้ายกับเม็ดเลือดชนิด semi-

granulocytes และ granulocytes ที่มีขนาดใหญ่และทำหน้าที่กลืนกินเชื้อ ไวรัส แบคทีเรีย และ สารแปลกปลอมต่างๆ เข้าไป ในปีพ.ศ. 2545 จากการศึกษาของ บุญเสริม และ คณะ (2546) โดยนำน้ำสกัดจากต่อมน้ำเหลืองของกึ่งกลาคำนขนาดเล็ก ที่มีอาการโตช้า(Monodon Slow Growth Syndrome) ที่พบในประเทศไทย ไปฉีดให้กึ่งปกติและเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 2 เดือน พบว่ากึ่งที่เลี้ยงเกิดการกระจายแกรนเหมือนกึ่งที่มีอาการโตช้า และตรวจพบลักษณะที่ผิดปกติ คือ เกิด spheroid ในต่อมน้ำเหลือง คล้ายกับโรคที่เกิดจากเชื้อ LOVV ที่พบในกึ่งขาวแวนนาไมในต่างประเทศ (Bonami *et al.*, 1992)

สำหรับการทดลองนี้ ได้ศึกษาความผิดปกติหรือการเกิด spheroid ในต่อมน้ำเหลืองของแม่กึ่งกลาคำนที่จับจากธรรมชาติจาก 2 แหล่ง และพบว่า พยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อของต่อมน้ำเหลืองของแม่กึ่งจากโรงเพาะฟักจังหวัดชลบุรี มีปริมาณ spheroid มากกว่าแม่กึ่งจากโรงเพาะฟักจังหวัดระนองเป็นจำนวน 60 % และ 20 % ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าคุณภาพของแม่กึ่งทั้ง 2 แหล่ง มีความแตกต่างกัน แต่ในการทดลองนี้ ไม่ได้วิเคราะห์ว่า spheroid ที่เกิดขึ้นในต่อมน้ำเหลืองนั้น เกิดจาก เชื้อไวรัส หรือเชื้อแบคทีเรียชนิดใด อย่างไรก็ตาม ปรากฏการณ์ที่เกิดการเกิด spheroid ในต่อมน้ำเหลืองของแม่กึ่งกลาคำนที่จับจากธรรมชาติ แสดงให้เห็นว่าได้มีเชื้อแปลกปลอมเข้าไปในตัวแม่กึ่ง และเชื่อดังกล่าว อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิด spheroid และการเจริญเติบโตช้าของกึ่งกลาคำนที่เลี้ยงในบ่อดิน