

ภาคผนวก ง

การตรวจคุณภาพลูกกุ้งวิธีวนษ์สุนทร

การตรวจสอบคุณภาพของลูกกุ้ง ก่อนนำไปปล่อยในบ่อเลี้ยงนั้น มีรายงานทั้งในประเทศ (พูนสิน, 2542; กรรณวิท และ คำรน, 2546; กิจการ และ จีรพร, 2546; ขาวกุ้ง, 2539; ชลอ และ พรเลิศ, 2547) และต่างประเทศ (Bauman and Jamadre, 1990; Bauman and Scura, 1990; Baybay, 1989; Briggs, 1992; Csstille *et al.*, 1993; Tayamen and Brown, 1999; Saurabh *et al.*, 2006) สำหรับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ในเครือบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ โดยศูนย์ค้นคว้าวิจัยการเลี้ยงกุ้งของบริษัท ได้กำหนดวิธีตรวจสอบสุขภาพลูกกุ้งกุลาดำเรียกว่า วิธีวนษ์สุนทร(ขาวกุ้ง, 2539; ชลอ และ พรเลิศ, 2547) ต่อมาได้มีการประยุกต์ในการใช้งานให้เหมาะสมยิ่งขึ้น โดยเพิ่มขั้นตอน การตรวจเชื้อไวรัสดวงขาว และการตรวจเชื้อไวรัสโอ(ธงชัย และ อัจฉราวดี, 25 43)

การตรวจสอบคุณภาพลูกกุ้งกุลาดำแบบวนษ์สุนทร เป็นการตรวจสอบค่าต่างๆ ของลูกกุ้ง แล้วตัดสินคุณภาพของลูกกุ้ง โดยการให้คะแนน(ขาวกุ้ง, 2539; ชลอ และ พรเลิศ, 2547) ขั้นตอนวิธีการตรวจสอบ มีดังต่อไปนี้

1. ตรวจลักษณะภายนอก(Physical characteristics)

เป็นวิธีตรวจลูกกุ้งในอันดับแรก ถ้าผ่านขั้นตอนนี้แล้ว จะนำลูกกุ้งไปตรวจในขั้นตอนต่อไป นับเป็นวิธีการที่พื้นฐานที่สุด ได้แก่ การสังเกต ลำตัวยาว ลำตัวปกติ ไม่คดงอ ลำตัวควรมีสีน้ำตาลหรือเทา ไม่ควรเป็นสีแดงหรือสีเขียว กล้ามเนื้อใส มีขนาดสม่ำเสมอ มีอาหารเต็มลำไส้ ตลอดเวลา มีอวัยวะภายนอกครบถ้วน รยางค์ต่างๆ และแพนหางไม่ขาด รยางค์ต่างๆ สะอาด และไม่พบสิ่งสกปรกเกาะติดอยู่ และขณะว่ายน้ำแพนหางจะคลี่ออก รวมทั้งมีพฤติกรรมที่ตอบสนองอย่างรวดเร็วต่อสิ่งกระตุ้นภายนอก อย่างก็ตาม การตรวจลักษณะภายนอก แต่เน้นที่ หัวลูกกุ้ง คือ ตรวจรยางค์คู่หน้า และที่หางลูกกุ้ง คือ ตรวจแพนหาง ดังต่อไปนี้

1. 1 ตรวจรยางค์คู่หน้า(antennules)

ลูกกุ้งที่มีคุณภาพดีและแข็งแรง รยางค์คู่หน้าต้องแนบชิดติดกัน หรืออาจแยกออกจากกันชั่วคราว แล้วจะหุบชิดกันเหมือนเดิม ส่วนลูกกุ้งที่สุขภาพไม่ดี มีความเครียด และอ่อนแอ รยางค์คู่หน้าจะแยกออกจากกันตลอดเวลา

วิธีการทำ สุ่มลูกกุ้ง จำนวน 200 ตัว ใส่ในกะละมัง พิจารณาจากคุณลักษณะภายนอก ลูกกุ้งที่มีคุณภาพดีและแข็งแรง รยางค์คู่หน้าจะต้องแนบชิดติดกัน แม้ว่าบางครั้ง ขณะที่ว่ายน้ำ รยางค์คู่หน้าอาจจะกางออกได้ แต่จะหุบชิดกันในเวลาต่อมา ส่วนลูกกุ้งที่สุขภาพไม่ดีและไม่แข็งแรง พบว่า รยางค์คู่หน้าจะออกตลอดเวลา

เงื่อนไขการตัดสิน ลูกกุ้งที่รยางค์คู่หน้าจะต้องแนบชิดติดกัน ให้คะแนนเต็ม 10 ลูกกุ้งที่รยางค์คู่หน้ากางออกตลอดเวลา พบ 2 ตัว ตัด 1 คะแนน

1.2 ตรวจแพนหาง(Uropod)

ลูกกุ้งที่มีคุณภาพดีแข็งแรง และโตเต็มที่แล้ว(ระยะโพสลาว่า 13 ขึ้นไป) แพนหางจะต้องกางแผ่ออก (หางแตก)

วิธีการทำ สุ่มลูกกุ้ง จำนวน 200 ตัว ใส่ในกะละมัง พิจารณาจากคุณลักษณะแพนหาง ลูกกุ้งที่มีคุณภาพดี แข็งแรง และโตเต็มที่แล้ว(ระยะโพสลาว่า 13 ขึ้นไป) แพนหางจะต้องกางแผ่ออก (หางแตก) ส่วนลูกกุ้งที่อายุน้อยกว่านี้ แพนหางจะหุบอยู่

เงื่อนไขการตัดสิน ลูกกุ้งที่แพนหางจะต้องกางแผ่ออก (หางแตก) ให้คะแนนเต็ม 10 ลูกกุ้งที่ลักษณะหางไม่แผ่กางออก พบ 2 ตัว ตัด 1 คะแนน

2. พฤติกรรมการว่ายน้ำของลูกกุ้ง(Swimming behavior)

เมื่อตักลูกกุ้งจำนวนหนึ่งใส่ในกะละมังสีขาว แล้วเอามือกวนน้ำให้หมั่น พบว่าลูกกุ้งที่แข็งแรงจะว่ายน้ำทวนกระแสน้ำ และกระจายไปเกาะยึดติดกับพื้นกะละมัง หรือเกาะตามผนังหรือขอบกะละมัง ซึ่งแสดงความเป็นธรรมชาติของสัตว์หน้าดินของลูกกุ้ง(Benthic animal) ส่วนลูกกุ้งที่อ่อนแอ จะกองกับพื้นหรือลอยไปกับน้ำ หรือว่ายน้ำแบบไม่มีทิศทาง

วิธีการทำ สุ่มลูกกุ้ง จำนวน 200 ตัว ใส่ในกะละมัง สังเกตพฤติกรรมการว่ายน้ำของลูกกุ้ง โดยสังเกตว่าลูกกุ้งที่แข็งแรง กล้ามเนื้อจะใส และมีอาหารเต็มลำไส้ตลอดเวลา ซึ่งลูกกุ้งที่แข็งแรงนี้ จะว่ายน้ำทวนกระแสน้ำ และว่ายน้ำกระจายตามขอบกะละมัง ส่วนลูกกุ้งที่อ่อนแอจะว่ายน้ำแบบไม่มีทิศทาง

เงื่อนไขการตัดสิน ลูกกุ้งที่แข็งแรง จะว่ายน้ำกระแสน้ำ และอยู่กระจัดกระจายตามขอบกะละมัง ให้คะแนนเต็ม 10 ลูกกุ้งที่ลักษณะการว่ายน้ำแบบไม่มีทิศทางหรือลอยไปกับน้ำ หรือกองอยู่กลางกะละมัง พบ 1 ตัว ตัด 1 คะแนน

3. ตรวจปรสิตภายในและภายนอก(Fouling Organisms)

โรงเพาะฟักที่มีระบบสุขาภิบาลที่ดี มีระบบการป้องกันเชื้อโรคที่มีประสิทธิภาพ ตัวอย่าง เช่น มีการแยกอุปกรณ์ที่ใช้แต่ละบ่อออกจากกันอย่างเด็ดขาด จะไม่พบการระบาดของเชื้อปรสิตภายนอก ซึ่งได้แก่ เชื้อซูโอแทมเนียม(*Zoothamnium* sp.), วอร์ติเซลลา(*Vorticella* sp), แอคโนติดา(*Acanthamoeba* sp) หรือ อีพิสทิลิส(*Epistylis* sp.) รวมทั้งเชื้อแบคทีเรียภายนอก ได้แก่ แบคทีเรียเส้นสายหรือฟิลาเมนทัสแบคทีเรีย(filamentous bacteria) เป็นต้น ซึ่งการติดเชื้อปรสิตภายนอกของลูกกุ้ง รวมทั้งแบคทีเรียเส้นสาย แสดงว่าโรงเพาะฟักนั้น มีระบบสุขาภิบาลไม่ดีพอ อีกทั้งแสดงว่าลูกกุ้งอ่อนแอ หรือไม่ค่อยมีการลอกคราบ

วิธีการทำ คุ่มลูกกุ้งมาจำนวน 50 ตัว ทำให้สลบก่อน โดยแช่ลูกกุ้งในน้ำเย็น จากนั้นนำลูกกุ้งวางให้ตะแกรงบนแผ่นสไลด์แบบหลุม ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ละตัว ด้วยกำลังขยาย 100 เท่า ตรวจโดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์แสง ลูกกุ้งที่สุขภาพแข็งแรง จะต้องไม่มีการติดเชื้อปรสิตภายนอก เช่น ซูโอแทมเนียม ปรสิตภายใน เช่น กริการิน และแบคทีเรียเส้นสาย(filamentous bacteria) เป็นต้น ส่วนลูกกุ้งที่อ่อนแอ ลักษณะภายนอกลำตัวจะมีความสกปรก และอาจจะติดเชื้อปรสิต

เงื่อนไขการตัดสิน ลูกกุ้งที่แข็งแรง ลอกคราบเร็ว ทำให้ลำตัวสะอาด จะต้องไม่พบปรสิตภายนอกและภายใน รวมทั้งไม่พบแบคทีเรียเส้นสาย ให้คะแนนเต็ม 10 ถ้าพบเชื้อโรคดังกล่าวในลูกกุ้ง พบ 1 ตัว ให้ตัด 4 คะแนน

4. ค่า MGR(muscle to gut ratio)

อัตราส่วนของความกว้างของกล้ามเนื้อกับความกว้างของลำไส้ ที่จุดกึ่งกลางของปล้องที่ 6 หรือปล้องสุดท้าย เรียกว่า ค่า MGR อัตราส่วนของค่า MGR ที่ดี จะต้องเท่ากับ 4 : 1 หรือ มากกว่า ซึ่งตรวจโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ลูกกุ้งที่แข็งแรงและคุณภาพดี จะมีค่าอัตราส่วนของกล้ามเนื้อต่อ

ลำไส้ เท่ากับ 4 : 1 หรือมากกว่า ซึ่งแสดงว่าลูกกุ้งได้รับการเลี้ยงดูอย่างดี โดยใช้ทั้งอาหารสำเร็จรูปและอาหารธรรมชาติที่มีคุณภาพดี ทำให้ลูกกุ้งได้รับสารอาหารที่เหมาะสมครบถ้วน อย่างเพียงพอ และต่อเนื่อง เป็นผลให้ลูกกุ้งมีพัฒนาการของกล้ามเนื้อที่ดี ซึ่งมั่นใจว่าลูกกุ้งจะเจริญเติบโตต่อไปในบ่อเลี้ยง

วิธีการทำ สุ่มลูกกุ้ง จำนวน 50 ตัว ทำให้สลบก่อน โดยแช่ลูกกุ้งในน้ำเย็น จากนั้นนำลูกกุ้งวางให้ตะแกรงบนแผ่นสไลด์แบบหลุม ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ทีละตัว ด้วยกำลังขยาย 100 เท่า วัดความหนาของกล้ามเนื้อเปรียบเทียบกับความหนาของลำไส้ ตรงจุดกึ่งกลางของกล้ามเนื้อท้องปล้องที่ 6 โดยใช้สเกลในเลนส์ตาเป็นตัววัด การวัดจะเริ่มวัดจากขอบเปลือกในด้านบน มาสิ้นสุดที่เปลือกในด้านล่าง (ที่ขอบของเมดลีส, chromatophores) จากนั้นวัดระยะของทางเดินอาหาร(ลำไส้) จากด้านบนสุดมาจดด้านล่างสุด นำมาคำนวณหาค่าของ MGR

เงื่อนไขการตัดสิน ลูกกุ้งที่แข็งแรงและคุณภาพดี จะมีค่าอัตราส่วนของกล้ามเนื้อต่อลำไส้ เท่ากับ 4 : 1 หรือมากกว่า ถ้าพบว่า ลูกกุ้งที่มีค่า MGR เท่ากับ 4 : 1 หรือ มากกว่า ให้คะแนนเต็ม 20 ถ้าหากพบลูกกุ้งมีค่า MGR น้อยกว่านี้ ให้หักคะแนน ตัวละ 2 คะแนน

5. การทดสอบความเครียด(Stress test; ST)

สามารถตรวจสอบความแข็งแรง รวมทั้งคุณภาพของลูกกุ้งได้ ด้วยการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมอย่างฉับพลัน โดยแช่ลูกกุ้งในน้ำทะเลที่มีฟอร์มาลิน เข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร (ฟิฟตีเอ็ม) เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ถ้าลูกกุ้งมีความทนทานสามารถอยู่ในภาวะเครียดได้ โดยไม่ตาย แสดงว่าลูกกุ้งแข็งแรงและสุขภาพดี ซึ่งโดยปกติ โรงเพาะฟักทั่วไป จะนิยมใช้ฟอร์มาลินในการอนุบาลลูกกุ้งอยู่แล้วแต่ใช้ในความเข้มข้นต่ำ สำหรับวิธีการทดสอบ โดยการแช่ลูกกุ้งในน้ำทะเลที่มีฟอร์มาลินความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตรนั้น ยังมีความสัมพันธ์กับการตรวจสอบติดเชื้อไวรัสดวงขาวในลูกกุ้งได้ด้วย(พรเลิศ และ คณะ, 2541) และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกลูกกุ้งจากการติดเชื้อไวรัสดวงขาว ก่อนนำไปลงบ่อเลี้ยงได้อีกด้วย(ชลอ และ คณะ, 2541)

วิธีการทำ นำลูกกุ้ง จำนวน 100 ตัว แช่ในฟอร์มาลินเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พร้อมทั้งให้อากาศเบาๆ ซึ่งพบว่าลูกกุ้งที่แข็งแรง และมีคุณภาพดี สามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมที่ระดับนี้ได้สบาย โดยไม่อ่อนแอ และไม่ตาย (การเตรียมฟอร์มาลิน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ใช้ปีเปต ขนาด 1 มล. คูณฟอร์มาลิน 0.1 มล. ใส่ลงในภาชนะที่มีน้ำทะเล 1 ลิตร จะได้ สารละลายฟอร์มาลิน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร พอใช้)

เงื่อนไขการตัดสิน นับจำนวนลูกกุ้งที่ตาย หรืออ่อนแอ หรือใกล้ตาย (moribund) ภายหลังที่แช่ฟอร์มาลินเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ถ้าหากไม่พบลูกกุ้งตาย ให้คะแนนเต็ม 40 แต่ถ้าหากมีลูกกุ้งตาย ให้หักคะแนนจากลูกกุ้งที่ตาย ตัวละ 8 คะแนน (ธงชัย และ อัจฉราวดี, 25 43)

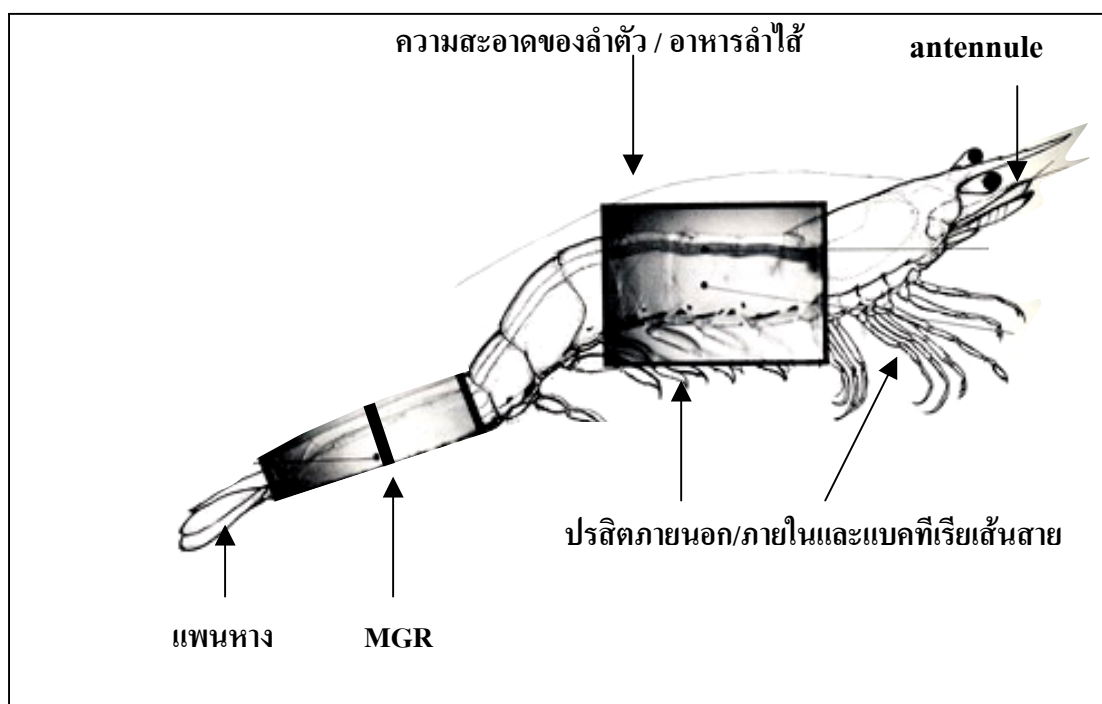
6. เกณฑ์การตัดสินคะแนนโดยวิธีวนัษุนทร

หลังจากตรวจสอบทุกเงื่อนไขแล้ว นำผลคะแนนมารวมกัน ถ้าได้คะแนนรวมมากกว่า 80 ขึ้นไป จากคะแนนเต็ม 100 คะแนน หมายความว่า ลูกกุ้งชุดนั้นมีคุณภาพสูง และสามารถตัดสินใจเลือกนำไปเลี้ยงได้ แต่ถ้าได้คะแนนรวมต่ำกว่า 80 หมายความว่า ลูกกุ้งชุดนั้น มีคุณภาพต่ำ ไม่ควรนำไปเลี้ยง

7. ตรวจปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp

ได้มีการดัดแปลง วิธีตรวจคุณภาพลูกกุ้งแบบวนัษุนทร ตามความเหมาะสม ได้แก่ การเพิ่มขั้นตอน การตรวจเชื้อไวรัสดวงขาว และการตรวจเชื้อ vibrio เป็นต้น (ธงชัย และ อัจฉราวดี, 25 43)

วิธีการทำ นำลูกกุ้งมาจำนวน 100 ตัว จุ่มในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% จากนั้นจุ่มล้างในน้ำเกลือเข้มข้น 0.85% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างใส่ในครก บดให้ละเอียด ใช้เข็มฉีดยาคูดตัวอย่างมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS เกลี่ยให้ทั่วเพลท บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 29 - 31 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนเชื้อ แยกเป็น โคโลนีสีเหลือง สีเขียว และโคโลนีเรืองแสง



ภาพผนวกที่ ง1 แสดงตำแหน่งที่ตรวจลูกกุ้งวัยวันชสุนทร

ที่มา: ข้าวกุ้ง, 2539



ภาพผนวกที่ ง2 แสดงวิธีตรวจสอบพฤติกรรมการว่ายน้ำของลูกกุ้ง

ที่มา: ชลอ และ พรเลิศ (2547)