



วิทยานิพนธ์

การผลิตปลากัด (*Betta splendens* Regan) ปลอดเชื้อ
Mycobacterium sp.

Producing of Siamese Fighting Fish (*Betta splendens* Regan) Free
from *Mycobacterium* sp.

นางสาวพรรณติยา ใจอ่อน

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการประมง)
ปริญญา

วิทยาศาสตรการประมง

ชีววิทยาประมง

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การผลิตปลากัด (*Betta splendens* Regan) ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.
Producing of Siamese Fighting Fish (*Betta splendens* Regan) Free from
Mycobacterium sp.

นามผู้วิจัย นางสาวพรรณติยา ใจอ่อน

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิติ ชุเชิด, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์เต็มดวง สมศิริ, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณรงค์ วีระไวทยะ, Ms.C.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อากคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 4 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การผลิตปลากัด (*Betta splendens* Regan) ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

Producing of Siamese Fighting Fish (*Betta splendens* Regan) Free from
Mycobacterium sp.

โดย

นางสาวพรรณติยา ใจอ่อน

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการประมง)

พ.ศ. 2551

พรรณติยา ใจอ่อน 2551: การผลิตปลากัด (*Betta splendens* Regan) ปลอดเชื้อ
Mycobacterium sp. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการประมง) สาขาวิชา
วิทยาศาสตรการประมง ภาควิชาชีววิทยาประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิติ ชูเชิด, Ph.D. 104 หน้า

ปลากัดมีมูลค่าการส่งออกมากในลำดับที่ 1 ใน 3 ตั้งแต่ปี 2543-2548 แต่ปัญหานึ่งของการผลิตปลากัดส่งออก คือ การติดเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium* sp. จึงทดลองผลิตปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยการเลี้ยงจากการควบคุมการผลิตไรแดง (*Moina* sp.) จากหัวเชื้อน้ำเขียวคลอเรลล่า (*Chlorella* sp.) ที่ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ควบคุมสุขอนามัยฟาร์มโดยใช้น้ำผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีนความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 24 ชั่วโมง รวมทั้งอุปกรณ์ในระบบการเพาะเลี้ยงที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน นาน 24 ชม. และคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่ผ่านการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อ *Mycobacterium* spp. ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสและปฏิกิริยา Reverse cross blot hybridization (PCR-RCBH) จำนวน 10 คู่ นำมาเพาะพันธุ์ให้ได้ผลผลิตปลากัดทั้งหมด 3 รุ่นๆ ละ 10 ครอก เมื่อลูกปลาอายุ 10 วัน นำมาตรวจสอบการติดเชื้อ พบว่า ลูกปลากัดจำนวน 29 ครอกจาก 30 ครอก ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ผลการทดสอบยอมรับสมมุติฐานพ่อแม่ปลากัดที่ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถผลิตลูกปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อนำระบบการผลิตปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ให้เกษตรกรทดลองปฏิบัติ พบว่าเกษตรกรสามารถผลิตคลอเรลล่า และไรแดงปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้ แต่ลูกปลากัดที่ผลิตได้ยังมีการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

การประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับปัจจัยการผลิตปลากัดที่มีความสัมพันธ์ในการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลา พบว่า วิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้และ ความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำเป็นปัจจัยที่เกษตรกรมีความเห็นว่าไม่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาอย่างมีนัยสำคัญอย่างยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) ส่วนปัจจัยการผลิตด้านแหล่งที่มาของคลอเรลล่า แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิต สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อโรคในน้ำและในอุปกรณ์ที่ใช้ในฟาร์ม วิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิต และพื้นที่กักกันโรค มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

พรรณติยา ใจอ่อน

ลายมือชื่อนิติ

นิติ ชูเชิด

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

03 / 03 / 2551

Pantiya Jai-on 2008: Producing of Siamese Fighting Fish (*Betta splendens* Regan)
Free from *Mycobacterium* sp. Master of Science (Fisheries Science), Major Field:
Fisheries Science, Department of Fishery Biology. Thesis Advisor: Assistant
Professor Niti Chuchird, Ph.D. 104 pages.

Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regans) was ranked at the third of top export value among ornamental fishes during 2000-2006. However, a major problem in Siamese fighting fish production is the disease caused by *Mycobacterium* sp. This study intended to experimentally produce fighting fish free of the *Mycobacterium* sp. and to evaluate the related factors for disease free status. All fighting fish brooders, water flea (*Moina* sp.) and *Chlorella* sp. used in the experiment were tested for *Mycobacterium* sp. infection using polymerase chain reaction and reverse cross blot hybridization (PCR-RCBH). Water and all equipments used in the experimental system were treated for 24 hrs with 35 ppm. and 50 ppm. available chlorine, respectively. Ten pairs of the *Mycobacterium* sp.-free brooders were selected for breeding. Fry produced from three generations were collected and analyzed. A total of 30 groups of fry were obtained and tested for *Mycobacterium* sp. infection using PCR-RCBH at 10 days post hatching. There are 29 out of 30 groups of fry were shown negative to the test. This finding correlates with the hypothesis that *Mycobacterium* sp.-free brooders can be able to produce *Mycobacterium* sp.- free offspring ($p<0.05$). The experimental systems were also applied at the farm level. Although, the farmers were capable to produce both *Moina* sp. and *Chlorella* sp. that free of *Mycobacterium* sp., some groups of fry still carried *Mycobacterium* sp.

Water quality, live foods and brooders which are related factors for Mycobacteriosis infection in fighting fish production were evaluated though fish farmer's opinions. The results showed that preparation of water and frequency of exchange water are highly significant factors ($p<0.01$) while source of *Chlorella* sp., source of live foods, disinfection in farm system, disinfection on of the live foods and quarantine area are significant factors that related to an occurrence of Mycobacteriosis ($p<0.05$).

Pantiya Jai-on.

Student's signature

N. Chuchird.

Thesis Advisor's signature

03 / 03 / 2008

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ อุทัยรัตน์ ณ นคร ประธานการสอบ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิติ ชูเชิด ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ขอกราบขอบพระคุณ ดร. เต็มดวง สมศิริ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก รองศาสตราจารย์ ดร. ชลอ ลิมสุวรรณ อาจารย์ผู้แทนบัณฑิต และรองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและ ช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณท่านผู้อำนวยการ ดร. สุดา ตันทวนิช ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่การทดลอง คุณนนทรี ปานพรหมมินทร์ นักวิชาการประมง 6ว. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำที่กรุณาเอื้อเฟื้อข้อมูลและเป็นที่ปรึกษาเกี่ยวกับระบบการจัดการเพาะเลี้ยง คุณกนกพร เกษสุวรรณ นักวิชาการประมง 5 สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด ที่กรุณาให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูล รวมถึงคุณเสาวรส เรื่องฤทธิ์ คุณวุฒิชัย วงษ์จันทร์ เจ้าหน้าที่งานประมง 3 และคุณสุธีร์ ศรีเพชร เจ้าหน้าที่ประมง 2 ที่สละเวลาและเอื้อเฟื้อช่วยในการเก็บข้อมูล และคุณณัฐพล คงมาลัย ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ในการจัดทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ รวมถึงพี่ๆ นักวิชาการประมงและน้องๆ ที่สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืดทุกท่าน

ขอขอบคุณคุณอาวุธ อำทรัพย์ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่และสละเวลาเพื่อทดลองปฏิบัติในระบบการจัดการเพาะเลี้ยง และเกษตรกรผู้ให้ข้อมูลทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและสละเวลาในการตอบแบบประเมินความคิดเห็น จนทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณแม่ พี่ๆ ครอบครัวใจอ่อน ครอบครัววรรณเลิศศิริ และเพื่อนๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ ชี้นำและสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

คุณค่าของวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ บุพการี คณาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

พรรณติยา ใจอ่อน

กุมภาพันธ์ 2551

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(7)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	16
ผลและวิจารณ์	24
สรุปผลการทดลอง	67
ข้อเสนอแนะ	68
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	69
ภาคผนวก	76
ภาคผนวก ก: แบบสอบถามและเกณฑ์การให้คะแนน	77
ภาคผนวก ข: ตารางและภาพผลการทดลอง	87

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ระดับความเข้มข้นในระดับที่แตกต่างกันที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ได้ ภายในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดในพื้นที่ชุ่มตัวอย่าง	15
2	พื้นที่ชุ่มตัวอย่างฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด	19
3	ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของคลอเรลล่าและไรแดงที่ผลิตในระบบปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp.	26
4	ผลผลิตของไรแดงโดยเฉลี่ยที่ผลิตในระบบปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. เพื่ออนุบาลลูกปลากัด จำนวน 3 รุ่น	27
5	ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของลูกปลากัดรุ่น F1, F2, F3 อายุ 10 วัน ที่ผลิตด้วยระบบปลอดเชื้อ	29
6	ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของน้ำคลอเรลล่าไรแดงพ่อแม่พันธุ์ และลูกปลากัดอายุ 10 วัน ที่ผลิตโดยระบบปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ในกรณีศึกษาของนายอาวูธ อ่ำทรัพย์	32
7	กลุ่มตัวอย่างของเกษตรกรแยกตามพื้นที่จังหวัด	34
8	ผลการสำรวจแหล่งน้ำที่เกษตรกรเลือกใช้เพาะเลี้ยงปลากัด	39
9	ผลการสำรวจวิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดของเกษตรกร	40
10	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาภายในฟาร์มกับวิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์ม	40
11	ผลสำรวจการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำ	41
12	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาภายในฟาร์มกับการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำ	41
13	ผลสำรวจการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์	42

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์	43
15	ผลสำรวจความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากัด	44
16	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ	44
17	ผลสำรวจชนิดของอาหารมีชีวิตที่ใช้ในฟาร์มของเกษตรกร	45
18	ผลสำรวจแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่มีใช้ในฟาร์มของเกษตรกร	46
19	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิต	47
20	ผลสำรวจสารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์ม	48
21	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับวิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิต	48
22	ผลสำรวจแหล่งที่มาของน้ำเขียว (<i>Chlorella</i> sp.) ที่นำมาใช้เพาะไรแดง	49
23	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของน้ำเขียว (<i>Chlorella</i> sp.) ที่นำมาใช้เพาะไรแดง	49
24	ผลสำรวจแหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์ปลากัดที่ใช้ภายในฟาร์ม	50
25	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์	51
26	ผลสำรวจวิธีการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์	52
27	ผลสำรวจการจัดเขตพื้นที่กักกันโรคภายในฟาร์ม	52

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
28	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาภายในฟาร์มกับการจัดเขตพื้นที่กักกันโรคของพ่อแม่พันธุ์ที่นำเข้ามาจากฟาร์มอื่น	53
29	ผลสำรวจชนิดของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์	54
30	ผลสำรวจแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์	55
31	ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์	56
32	ผลสำรวจหลักปฏิบัติการป้องกันโรคภายในฟาร์มปลา	57
33	ผลสำรวจอาการป่วยของปลาภายในฟาร์ม	58
34	อาการเสี่ยงของโรควัณโรคปลาตามระดับจำนวนอาการเสี่ยงของโรคที่เกิดขึ้นกับปลาภายในฟาร์ม	59
35	ผลสำรวจวิธีการรักษา/สารเคมีที่ใช้รักษาปลาภายในฟาร์มเมื่อมีอาการเสี่ยงของวัณโรคปลา	60
36	ผลสำรวจอัตราส่วนของปลาในแต่ละรุ่นที่พบปลามีอาการเสี่ยงของวัณโรคปลา	60
37	ความคิดเห็นของเกษตรกรต่อผลกระทบของวัณโรคปลาที่เกิดขึ้นกับปลาภายในฟาร์ม	61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข1 ผลตรวจสอบการติดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของน้ำประปาดิบน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 24 ชั่วโมงและคลอเรลล่าที่ผลิตโดยระบบปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. โดยวิธี PCR-RCBH ของ Kox <i>et. al.</i> (1995)	88
ข2 ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของคลอเรลล่าและไรแดงที่ผลิตด้วยระบบปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp.	90
ข3 ความหนาแน่นของเซลล์คลอเรลล่าที่ผลิตในระบบปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ในขวดคาร์บอยภายในห้องปฏิบัติการ และถังเพาะทดลองนอกห้องปฏิบัติการ	91
ข4 ผลการตรวจหาเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. โดยปฏิกิริยา PCR-RCBH ในลูกปลาปลากัดรุ่น F1	92
ข5 ผลการตรวจหาเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. โดยปฏิกิริยา PCR-RCBH ในลูกปลากัดรุ่น F2	93
ข6 ผลการตรวจหาเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. โดยปฏิกิริยา PCR-RCBH ในลูกปลากัดรุ่น F3	94
ข7 ผลการตรวจสอบเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. จากตัวอย่างลูกปลากัดอายุ 10 วัน จำนวน 7 ครอก ในกรณีศึกษาของนายอาวูธ อัมทรัพย์ โดยวิธี PCR-RCBH	96
ข8 สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงคลอเรลล่า (<i>Chlorella</i> sp.) ในห้องปฏิบัติการ	97
ข9 สูตรปุ๋ยที่ใช้เพาะเลี้ยงคลอเรลล่าและไรแดง ปริมาตรน้ำ 300 ลิตร	98
ข10 ผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของการปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของพ่อแม่ปลากัด ลูกปลากัดรุ่น F1 F2 และ ลูกปลากัดรุ่น F3 วิเคราะห์ทางสถิติวิธี Correlation แบบ 2-tailed ที่ค่าระดับความเชื่อมั่น 95%	99

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ข11	Random sample size based on assumed pathogen prevalence in lot and assuming 100% sensitivity and specificity of the technique	100
ข12	เปรียบเทียบราคาค่าต้นทุนการผลิตไรแดงแบบต่อเนื่อง เนื้อที่ป่อ 50 ตารางเมตร	102

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 วงจรชีวิตของไรแดง	7
2 กรอบแนวคิดการวิจัย	21
3 กราฟแสดงการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ยของคลอเรลล่าในขวดคาร์บอย (Carboy) ภายในห้องปฏิบัติการ	24
4 กราฟแสดงการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ยของคลอเรลล่าในถังเพาะภายนอก ห้องปฏิบัติการ	25
5 ลักษณะของโรงเรือนเพาะเลี้ยงปลากัดของเกษตรกรใน จ. กรุงเทพฯ	35
6 ลักษณะของโรงเรือนเพาะเลี้ยงปลากัดของเกษตรกรใน จ. นครปฐม	36
7 ลักษณะของพื้นโรงเรือนเพาะเลี้ยงปลากัดที่ปูด้วยอิฐบล็อกลีเมนต์สูง 3 ชั้น	36
8 ลักษณะของภาชนะเลี้ยงปลากัด คือ ขวดสุราแบบแบนที่เจาะช่องด้านข้างของขวด	37
9 การเปลี่ยนถ่ายน้ำโดยใช้แรงดันของน้ำทำให้ตะกอนของสิ่งสกปรกปล้นออกมาที่ ช่องด้านข้างของขวด	37
10 ลักษณะของโรงเรือนเพาะเลี้ยงปลากัดของเกษตรกรใน จ. เพชรบุรี	38
11 ลักษณะการเลี้ยงปลากัดที่ถูกคัดเลือกลักษณะการต่อสู้ที่ดี	38
12 บ่อปูนเพาะเลี้ยงไรแดง	55

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ข1 ผลการตรวจสอบเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของน้ำประปาดิบที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 24 ชั่วโมงและคลอเรลล่าโดยวิธี PCR-RCBH	89
ข2 ผลการตรวจสอบเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของลูกปลากัด F1 อายุ 10 วันจำนวน 10 ครอกโดยวิธี PCR-RCBH	92
ข3 ผลการตรวจสอบเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของลูกปลากัด F2 อายุ 10 วันจำนวน 10 ครอกโดยวิธี PCR-RCBH	93
ข4 ผลการตรวจสอบเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของลูกปลากัด F3 อายุ 10 วันจำนวน 10 ครอกโดยวิธี PCR-RCBH	94
ข5 ผลการตรวจสอบเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ของน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคคลอเรลล่าและไรแดงที่ผลิตด้วยระบบปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. ในกรณีศึกษาของนายอาวุธ อำทรัพย์ โดยวิธี PCR-RCBH	95
ข6 ผลการตรวจสอบเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp. จากตัวอย่างลูกปลากัดอายุ 10 วันจำนวน 7 ครอก ในกรณีศึกษาของนายอาวุธ อำทรัพย์ โดยวิธี PCR-RCBH	96
ข7 ระบบการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดในระบบปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp.	101

การผลิตปลากัด (*Betta splendens* Regan) ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

Producing of Siamese Fighting Fish (*Betta splendens* Regan) Free of *Mycobacterium* sp.

คำนำ

โรคปลาหรือ Mycobacteriosis พบในประเทศไทยครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2526 ในปลาช่อน (*Channa striata*) ซึ่งเป็นสาเหตุให้ปลาตายเป็นจำนวนมากในระยะเวลาเพียง 2-3 วัน หลังจากมีอาการปรากฏ (ชลอ และคณะ, 2526) ต่อมาเมื่อปี พ.ศ. 2532 ได้มีรายงานพบโรคปลาในปลากัด (*Betta splendens* Regan) (สุปราณี และคณะ, 2533) และจากผลการสำรวจฟาร์มเอกชนที่เพาะเลี้ยงปลากัดเป็นระยะเวลา 1 ปี พบปลากัดติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. สูงถึงร้อยละ 72 (Pungkachonboon *et al.*, 1992) ทำให้มีผลกระทบต่อธุรกิจการเพาะเลี้ยงและส่งออกปลาสวยงามไปต่างประเทศ เนื่องจากปลากัดถือได้ว่าเป็นปลาสวยงามที่มีการส่งออกในลำดับที่ 1 ใน 3 มาโดยตลอดตั้งแต่ปี 2543 ซึ่งเมื่อปี 2548 มีมูลค่าการส่งออก 24,459,305.19 บาท (สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด, 2549) และคาดว่าจะมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ

การติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถติดต่อได้ 3 ทาง คือ จากทางพ่อแม่พันธุ์ การใช้อาหารมีชีวิต และแหล่งน้ำที่นำมาใช้เลี้ยงปลากัด ซึ่งทั้ง 3 สาเหตุนี้สามารถหาทางป้องกันได้ด้วยการจัดระบบการจัดการฟาร์มที่ถูกสุขอนามัยและมีแนวทางในการป้องกันเชื้อ *Mycobacterium* sp. เข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยงในฟาร์มก็จะส่งผลให้ได้ผลิตปลากัดที่มีคุณภาพและได้ปริมาณเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งยังช่วยป้องกันโรค fish tank granuloma ซึ่งเป็นโรคผิวหนังให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงได้ ดังนั้น ระบบการจัดการฟาร์มปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้เกษตรกรได้ผลิตปลากัดที่มีคุณภาพได้มาตรฐานการส่งออก

วัตถุประสงค์

เพื่อหาแนวทางในการจัดระบบการจัดการเพาะเลี้ยงปลากัดให้มีสุขอนามัยที่ดีปราศจากเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้โดย

1. การศึกษาปัจจัยของความเสี่ยงในการเกิดโรคปลาภายในระบบการเพาะเลี้ยงปลากัด
2. การทดสอบการผลิตคลอเรลล่า ไรแดงและปลากัดในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

3. การทดลองนำระบบการผลิตคลอเรลล่า ไรแดงและปลากัดแบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดของเอกชน

4. การศึกษาระบบการจัดการฟาร์มปลากัดของภาคเอกชน และประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคปลากับปัจจัยการผลิตปลากัดจากวิธีการจัดการฟาร์มของภาคเอกชน

การตรวจเอกสาร

ปลากัด (*Betta splendens* Regans) เป็นปลาพื้นเมืองที่เป็นเอกลักษณ์ของประเทศไทยซึ่งเป็นที่ยอมรับในต่างประเทศว่าปลากัดของประเทศไทยจะมีลักษณะสง่างาม อดทนและเลี้ยงง่ายจึงเป็นที่นิยมเลี้ยงกันโดยทั่วไป โดย Mr. C. Ted. Regans ได้เป็นผู้กำหนดชื่อวิทยาศาสตร์ ต่อมาปลากัดสยามจึงเริ่มเผยแพร่และเป็นที่รู้จักในประเทศแถบยุโรป จนกระทั่งปลากัดกลายเป็นสินค้าปลาสวยงามส่งออกที่มีปริมาณการส่งออกมากที่สุด ที่สามารถทำรายได้เข้าประเทศต่อปีไม่น้อยกว่าร้อยละสามสิบ เกษตรกรจึงนิยมเลี้ยงและหันมายึดเป็นอาชีพเพิ่มมากขึ้น (วันเพ็ญ และคณะ, 2531) ปลากัดธรรมชาติพบได้ทั่วไปในทุกภาคของประเทศไทย ในบริเวณที่มีระดับน้ำตื้นๆ น้ำค่อนข้างใส น้ำนิ่งหรือไหลเอื่อยๆ มีอวัยวะพิเศษช่วยในการหายใจ เรียก labyrinth organ อยู่ในโพรงอากาศหลังช่องเหงือก มีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อที่มีรอยหยักและมีเส้นเลือดฝอยมาหล่อเลี้ยงมากมาย สาเหตุนี้ทำให้ปลากัดสามารถอาศัยอยู่ในน้ำที่มีออกซิเจนน้อย จึงทำให้ประหยัดไฟฟ้า และทำให้มีต้นทุนในการเพาะเลี้ยงต่ำกว่าปลาประเภทอื่นๆ อีกทั้งยังเป็นการลงทุนระยะสั้น แต่ให้ผลผลิตและผลประโยชน์ตอบแทนแบบระยะยาว ใช้เวลาเลี้ยงเพียง 4-8 เดือน ก็สามารถจำหน่ายได้ และได้มีผู้พยายามคัดพันธุ์ปลากัดโดยเน้นความสวยงามเพื่อเลี้ยงไว้ดูเล่น โดยคัดพันธุ์เพื่อให้ได้ปลาที่มีครีบยาว สีสวย จนมีมากมายหลายสี ครีบต่างๆ ยกเว้นครีบอกยื่นยาวเป็นพวงโดยเฉพาะครีบทองยาวพองๆ กับความยาวลำตัวและหัวรวมกัน เรียกว่าปลากัดจีนหรือปลากัดเขมร และต่างประเทศรู้จักกันในนาม Siamese fighting fish (วันเพ็ญ และคณะ, 2531; ชัย และบุญชัย, 2548)

1. การเพาะเลี้ยงปลากัด

การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์สำคัญเป็นลำดับแรก ปลาเพศผู้ที่มีความสมบูรณ์เพศจะมีขอบเหงือกสีแดงเข้ม สุขภาพแข็งแรง วัยน้ำปราดเปรียว ไม่มีอาการเชื่องซึม ลักษณะสีส้มสวยงาม ชอบสร้างรังที่เรียกว่า หวด โดยการพ่นฟองอากาศที่มีน้ำเมือกจากปากและลำคอผสมด้วยจะมองเห็นฟองอากาศจับกลุ่มลอยบนผิวน้ำเสมอ แสดงว่าปลาเพศผู้มีความสมบูรณ์ทางเพศพร้อมที่จะผสมพันธุ์กับปลาเพศเมีย ส่วนปลาเพศเมียจะมีบริเวณท้องที่อูมเป่งและบริเวณใต้ท้องจะมีตุ่มสีขาวที่เรียกว่า ไข่ขาว มีลายชะโด เป็นจุดเส้นแนวขวางข้างลำตัว วัยน้ำโดยเอางาชขึ้น มีการก่อหวดเมื่อดูใกล้ๆ แถวยาวเรียงที่ขอบปากจะเหลื่อมเลี้ยงปลา แต่จะมีไม่มากเหมือนในปลาเพศผู้ พ่อแม่พันธุ์จะมีความสมบูรณ์เพศเต็มที่เมื่อมีอายุ 5-6 เดือนขึ้นไป ควรจะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในภาชนะขนาดเล็กที่มีช่องเปิดไม่กว้างมากนัก และวางในที่ๆ มีอากาศถ่ายเทได้ดี น้ำที่ใช้เลี้ยงควรมีค่าความเป็น

กรดต่ำ (pH) ประมาณ 6.5-7.5 มีความกระด้าง (Alkalinity) 150-200 มิลลิกรัมต่อลิตร บรรจุน้ำเพียง 3 ใน 4 ของภาชนะที่เลี้ยง โดยน้ำที่ใช้จะต้องปราศจากคลอรีน ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องเพิ่มออกซิเจน อาหารที่เหมาะสมควรจะเป็นอาหารที่มีชีวิต ซึ่งจะต้องผ่านการแช่สารละลายด่างทับทิมเข้มข้น 500-1,000 ส่วนในล้านส่วน เป็นเวลานาน 15-20 วินาที เพื่อฆ่าเชื้อโรคที่ติดมากับอาหาร หลังจากนั้นจึงล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้งหนึ่ง หรือแช่ในสารละลายด่างทับทิมความเข้มข้น 100-150 ส่วนในล้านส่วน นาน 3-5 นาที หรือหลีกเลี่ยงการให้อาหารมีชีวิต ซึ่งเป็นพาหะของโรค หรือสามารถให้อาหารเนื้อประเภทอื่นที่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ทดแทนได้ เช่น หัวใจวัว ปลา กุ้ง เนื้อหมู การเปลี่ยนถ่ายน้ำจะต้องมีการกระทำสัปดาห์ละ 1-2 ครั้งหรืออาจจะทุกๆ 2 สัปดาห์ โดยถ่ายน้ำเก่าครึ่งหนึ่งของปริมาตรน้ำทั้งหมด และทุกๆ 1-2 เดือนควรล้างภาชนะเลี้ยงปลาให้สะอาด เพื่อป้องกันการเกิดโรคที่อาจจะเกิดขึ้นได้เนื่องจากการหมักหมมที่บริเวณด้านข้างหรือก้นขวด โดยสามารถใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร นานหลายวัน หรือที่ความเข้มข้น 10-30 ส่วนในล้านส่วน แช่นาน 1 คืน และควรจะมีการทำความสะอาดพื้นโรงเพาะเลี้ยงโดยใช้คลอรีนความเข้มข้น 50-100 ส่วนในล้านส่วน สาดให้ทั่วถึงไว้ 30 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด (วันเพ็ญ และคณะ, 2531; สุปราณี และคณะ, 2545; สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ, 2546; ชัย และบุญชัย, 2548)

การอนุบาลลูกปลากัด เมื่อแยกปลาเพศผู้ออกแล้วอนุบาลลูกปลาต่ออีก 7-10 วันในอ่างเดิม จากนั้นย้ายไปอนุบาลต่อในอ่างที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ให้มีระดับน้ำสูงประมาณ 6 นิ้ว ให้อาหาร 2 มื้อ เช้า-เย็น เช่น โรติเฟอร์ พารามีเซียม ไทรเทเล (*Artemia* sp.) กรอง ไรนาเงฟ้านขนาดเล็ก ไรแดงกรองไข่ตุ๋น อาหารผง เป็นต้น หรืออาจจะนำไข่แดงต้มสุกบดละเอียดผสมกับน้ำแล้วใส่ขวดบรรจุน้ำแบบหัวสเปรย์ฉีดให้ลูกปลากิน เพื่อให้อาหารกระจายได้ดี ไม่เหลือตกค้าง สำหรับการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ปลากัดอายุ 0-45 วัน ไม่ควรมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ และเมื่อปลากัดอายุเกิน 45 วันขึ้นไป ควรจะแยกปลาเพศผู้ โดยใส่ในภาชนะละ 1 ตัวและแยกเพศเมียออกจากกันในช่วงนี้ด้วย มิเช่นนั้นจะเกิดการกัดกันเอง ทำให้เกิดความเสียหายได้ ควรแยกเลี้ยงเพื่อให้ได้ปลาขนาดใหญ่ในภาชนะ ใช้สายยางดูดถ่ายน้ำออกประมาณ 10เปอร์เซ็นต์ ในทุกๆ วัน และในทุกๆ 5-7 วัน ควรทำความสะอาดภาชนะให้เต็มใหม่ ด้วยการล้างฆ่าเชื้อโรค ตากแดดเป็นเวลา 2 วัน ถ้าเลี้ยงในบ่อปูน ทุกๆ 3-5 วัน ควรใช้สายยางค่อยๆ ดูดตะกอนก้นอ่างออกประมาณร้อยละ 10-20 โดยไม่รบกวนปลา การถ่ายน้ำแบบกะทันหันทีเดียวทั้งหมด ปลาอาจจะตายได้ (ชัย และบุญชัย, 2548)

2. ปัจจัยการผลิตปลากัดของเกษตรกร

2.1 การใช้อาหารมีชีวิตในการเพาะเลี้ยงปลากัด

นนทรีและบุษกร (2544) กล่าวว่าโดยธรรมชาติปลากัดจะกินสัตว์น้ำขนาดเล็กที่มีชีวิตเป็นอาหาร อาหารที่ให้อาหารที่มีขนาดเล็กพอดีกับปากปลา มีคุณค่าทางอาหารและย่อยได้ง่าย ปลาขนาดเล็กต้องใช้อาหารที่มีคุณค่าทางอาหารสูง เกษตรกรมักจะให้อาหารครั้งละน้อยๆ แต่บ่อยครั้ง ส่วนปลาพ่อแม่พันธุ์สามารถใช้อาหารได้ 3 ชนิด คือ

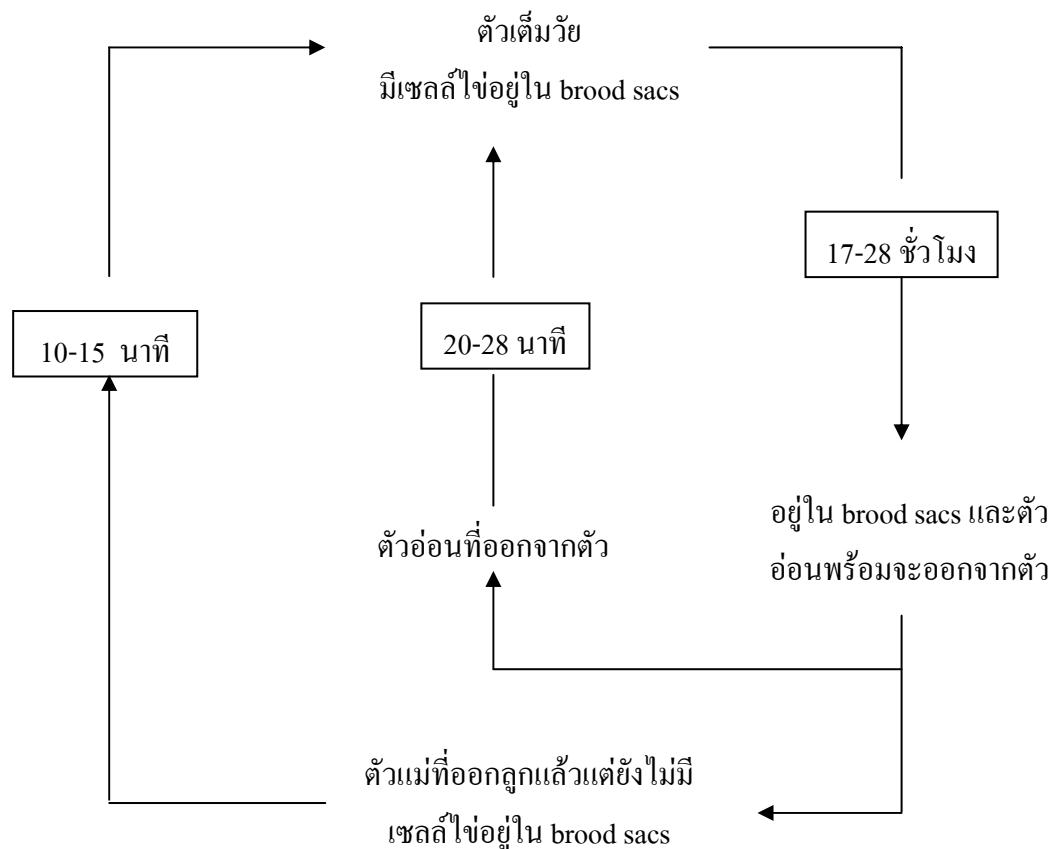
2.1.1 อาหารธรรมชาติ ได้แก่ ลูกน้ำ ไรแดง ไรทะเล (*Artemia* sp.) อาหารเหล่านี้จะทำให้ปลาโตเร็ว ปลากินได้ตลอดเวลา ก่อนนำมาใช้ต้องผ่านการฆ่าเชื้อเพราะอาจมาจากแหล่งน้ำที่ไม่สะอาด

2.1.2 อาหารสำเร็จรูป จำพวกอาหารผง อาหารเม็ด

2.1.3 อาหารผสม เกษตรกรบางรายจะผสมอาหารในการเลี้ยงเองซึ่งประกอบด้วย ส่วนประกอบหลายชนิด เช่น เนื้อปลา ไข่ตุ๋น ลูกน้ำ ไรแดง

เกษตรกรนิยมใช้ตัวอ่อนของไรแดงเลี้ยงลูกปลากัดเมื่อมีอายุ 10 วันและใช้ลูกน้ำ หนอนแดง ไรทะเล (*Artemia* sp.) เลี้ยงปลากัดอายุประมาณ 15-20 วัน และสามารถใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ได้ด้วย (พฤษภา, 2544; วิภาวดี, 2545) เนื่องจากคุณค่าทางอาหารของไรแดงจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ เฉลี่ยประมาณร้อยละ 50 ของน้ำหนักแห้ง ในตัวเต็มวัยจะมีไขมันสูงมากกว่าตัวอ่อนโดยปริมาณไขมันทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 20-27 ของน้ำหนักแห้ง ส่วนในระยะ juvenile มีปริมาณไขมันร้อยละ 4-6 (Rottmann *et al.*, 1992) เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากัดในจังหวัดนครปฐมใช้ไข่ต้มอนุบาลลูกปลาเป็นเวลาเฉลี่ย 8.5 วัน แล้วจึงเปลี่ยนเป็นลูกไรแดงและให้ลูกน้ำเมื่อใกล้เวลาจับขายเฉลี่ย 27.70 วัน โดยให้อาหารในช่วงเช้าวันละ 1 มื้อตลอดการเลี้ยง เกษตรกรร้อยละ 78.72 ใช้ไรแดงที่ซื้อมาจากฟาร์มหมู มีราคาเฉลี่ย 26.33 บาท/กิโลกรัม และเกษตรกรร้อยละ 80.64 ใช้ลูกน้ำที่ซื้อมาจากฟาร์มเพาะ มีราคาเฉลี่ย 60 บาท/กิโลกรัม (อมรรัตน์ และ สุภารัตน์, 2544) หรือให้ไข่แดงต้มสุกนานเป็นเวลา 3-5 วัน แล้วจึงเปลี่ยนเป็นไรแดงและลูกน้ำนาน 5 สัปดาห์ เมื่อเข้าสู่ช่วงเร่งการเจริญเติบโตจะสามารถกินอาหารได้หลายชนิด เช่น หนอนแดง อาหารแผ่นบาง เกือบด ดับไก่อัดแห้งแข็งหั่นเป็นชิ้นเสียบไม้ใส่ไว้ในบ่อและอาหารสำเร็จรูปสำหรับอาหารมีชีวิตที่ใช้จะผ่านการแช่ในด่างทับทิมความเข้มข้น 500-1,000 ส่วนในล้านส่วนนาน 10-20 วินาที เพื่อฆ่าเชื้อโรคก่อนทุกครั้ง

เมื่อความต้องการไรแดงมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ไรแดงตามแหล่งน้ำธรรมชาติมีปริมาณเท่าเดิมหรือมีปริมาณลดลง ทำให้ธุรกิจเลี้ยงปลาเริ่มประสบปัญหาการขาดแคลนไรแดง กรมประมงจึงส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเลี้ยงไรแดงขึ้นมา การขยายหัวเชื้อน้ำเขียว ธิดา (2542) แนะนำให้ใช้น้ำที่พักให้ตกตะกอนจนใส แล้วใส่คลอรีนผงความเข้มข้น 10-20 ส่วนในล้านส่วน ให้ฟองอากาศเป็นเวลา 1 วันหรืออย่างน้อยเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วกำจัดคลอรีนด้วยโซเดียมไธโอซัลเฟต ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) ในอัตราส่วน 5-7 เท่าของปริมาณคลอรีนที่ใช้ แล้วใช้ภาชนะที่มีความลึกไม่เกิน 1 เมตรในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้แสงสว่างส่องได้ทั่วถึงและเพียงพอ อุปกรณ์ควรแช่ 10 เปอร์เซ็นต์ฟอร์มาลิน เป็นเวลานาน 10-20 ชั่วโมง ล้างแล้วตากให้แห้ง ถังหรือบ่อเพาะอาจล้างด้วยคลอรีนผง คลอรีนน้ำ อัตรา 10-30 ส่วนในล้านส่วน แช่นาน 1 คืน (สุปราณี และคณะ, 2545) ถัดมา, (2541) นำคลอเรลล่าความหนาแน่น $1-1.5 \times 10^7$ เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร มาเป็นหัวเชื้อทำ mass culture ต่อไปซึ่งเป็นหัวเชื้อที่ได้จากห้องปฏิบัติการเลี้ยงด้วยอาหารสูตร NSIII ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส อัตราส่วนมืด/แสงสว่างเท่ากับ 12/12 ความเข้มของแสงที่ 2000 ลักซ์ ในการเพาะไรแดงตามวิธีของ ภาณุและคณะ(2532) และ กลุ่มพัฒนาธุรกิจการเพาะเลี้ยง และส่งออกสัตว์น้ำสวยงาม, (2544) จะต้องทำในบ่อที่อยู่ในสภาพเป็นกลางหรือด่างประมาณ 7-8 และผ่านการตากบ่อเพื่อกำจัดศัตรูเรียบร้อยแล้ว จากนั้นระบายน้ำเข้าบ่อโดยผ่านการกรองด้วยผ้ากรองพลาสติกตอนให้มีความสูงระดับ 20-30 เซนติเมตร เติมหิวเชื้อคลอเรลล่าและปุ๋ยที่ผ่านการหมักผสมอยู่เรียบร้อยแล้ว หมั่นคนน้ำในบ่อทุกวัน น้ำในบ่อจะมีสีเขียวภายใน 3-5 วัน นำพันธุ์ไรแดงที่ผ่านการตรวจสอบแล้วว่ามีปริมาณของไรแดงเพศผู้ต่ำกว่าร้อยละ 5 และผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีนความเข้มข้น 30 ส่วนในล้านส่วน (สุปราณี และคณะ, 2545) หรือใช้ แอลกอฮอล์ 60-85 เปอร์เซ็นต์ (Ruth and Roy, 2002) เมื่อครบระยะเวลา 3 วันหรือ 5 วันแล้ว จะสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ โดยเก็บเกี่ยวเพียงวันละครั้งหนึ่งของผลผลิตทั้งหมด ระบายน้ำออกและเติมน้ำเข้าทุกๆ 2-3 วัน ให้สูงได้ระดับ 5-15 เซนติเมตร



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของไรแดง

ที่มา : วีระและคณะ (2528)

อาหารและลักษณะการกินอาหารของไรแดงนั้น สันทนา และคณะ (2524) นำไรแดงที่รวบรวมได้จาก 5 แหล่งน้ำในเขตกรุงเทพฯ มาตรวจดูอาหารในกระเพาะอาหารและลำไส้ พบว่าไรแดงกินแบคทีเรียซึ่งมีทั้งแบบแท่ง (bacillus) และแบบกลม (coccus) นอกจากนี้ยังมีพวก *Euglena* และ *Chlorella* ด้วยในแหล่งน้ำที่มีไรแดงอยู่หนาแน่นมีสิ่งมีชีวิตเล็กๆ ได้แก่ *Euglena hyaline*, *E.oblonga*, *Phagus* sp., *Chlorella* sp., *Branchionus urceolaris*, *Scapholeberis* sp., *Oscillatoria* sp., *Vorticella* sp. และแบคทีเรีย เช่น *Bacillus* sp., *Aerobacter* sp., *Pseudomonas* sp. และ *Escherichia coli* ซึ่งส่วนใหญ่เป็นอาหารของไรแดงเกือบทั้งสิ้น Rottmann *et al.* (1992) พบว่าไรแดงสามารถกินยีสต์ สารอินทรีย์เน่าสลาย แพลงก์ตอนพืช และเชื้อราซึ่งเป็นอาหารที่มีคุณค่าสูงมาก ประชากรของไรแดงจะเติบโตอย่างรวดเร็วเมื่อมีอาหารเพียงพอ และยังสามารถใช้ประโยชน์จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินซึ่งเป็นพืชต่อปลาที่กินเข้าไป นำมาเป็นแหล่งพลังงานที่ใช้ในการเติบโตและสืบพันธุ์ของไรแดง ซึ่งคุณค่าอาหารจะมีมากเพียงใดขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและระยะเวลาในการนำเปื่อยของสารอินทรีย์

2.2 น้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงปลากัด

อมรรัตน์ และสุदारัตน์ (2544) รายงานว่า เกษตรกรที่เพาะเลี้ยงปลากัดในจังหวัด นครปฐมจำนวนร้อยละ 88 ใช้น้ำประปาหมู่บ้านซึ่งเป็นน้ำบาดาลในการเพาะเลี้ยงปลา โดยมีการ พักน้ำก่อนนำมาใช้ และเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวันในช่วงเย็น เช่นเดียวกับฟาร์มปลากัดที่จังหวัด ปทุมธานีที่เลือกใช้น้ำบาดาลและน้ำประปา โดยจะพักน้ำก่อนอย่างน้อย 3 วันหรือ 5 วัน

2.3 พ่อแม่พันธุ์

ชัยและบุญชัย (2548) แนะนำว่า ควรคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาและทราบประวัติความเป็นมาของสายพันธุ์ที่แน่นอน

3. ปัญหาด้านปัจจัยการผลิตปลากัด

3.1 โรคปลา

มีหลายสาเหตุ เช่น สภาพพื้นที่การเลี้ยงปลาที่หนาแน่น ในเขตที่ถูกจำกัดในเรื่องพื้นที่ ซึ่งเป็นภาวะที่ก่อให้เกิดความเครียดได้ส่งผลกระทบให้ปลากัดเกิดความอ่อนแอ มีผลทำให้เชื้อโรค สามารถทำอันตรายให้ปลาเป็นโรคได้ หรือการกินอาหารมีชีวิตรที่อาจเป็นพาหะนำเชื้อโรค (ศิริและคณะ, 2545)

3.2 คุณภาพน้ำ

Puttinaowarat *et. al.*, (2002) สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงปลากัดในกรุงเทพฯ จำนวน 88 ตัวอย่าง พบว่ามีเชื้อ *Mycobacterium marinum* จำนวน 39.8 เปอร์เซ็นต์ *Mycobacterium fortuitum* จำนวน 7.9 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ามีทั้ง *M. marinum* และ *M. fortuitum* จำนวน 20.5 เปอร์เซ็นต์ และพบ *Mycobacterium* spp. จำนวน 13.6 เปอร์เซ็นต์ มีตัวอย่างน้ำเพียง 18.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่พบเชื้อ *Mycobacterium* sp.

3.3 อาหาร

ปัจจุบันมีจำนวนเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากัดเพิ่มขึ้นมากทำให้เกิดปัญหาขาดแคลนไรแดงและมีราคาแพง ต้นทุนในการเพาะเลี้ยงปลากัดของเกษตรกรนั้นร้อยละ 93.05 เป็นค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับค่าอาหารของปลาสวยงาม ในขณะที่ราคาปลาที่เกษตรกรขายค่อนข้างต่ำ ส่งผลกระทบต่อผลตอบแทนในการลงทุนของเกษตรกร หากเกษตรกรสามารถเพาะเลี้ยงไรแดงได้เองหรือสามารถ

ใช้อาหารชนิดอื่น เช่น อาหารสำเร็จรูปทดแทนไรแดงจะสามารถลดปัญหาได้ (อมรรัตน์ และสุดา
รัตน์, 2544; วิภาวดี, 2545)

4. วัณโรคปลา

การศึกษาทางพยาธิสภาพปลาที่มีอาการวัณโรคปลาพบแบคทีเรียแบบ acid-fast bacilli ตาม
อวัยวะต่างๆ คล้ายคลึงกับที่พบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในผู้ป่วยวัณโรค โดยมีรายงานพบเชื้อ
Mycobacterium sp. ครั้งแรกในปี 1897 ในบ่อปลาในภายในสถานพักฟื้นคนป่วยเป็นวัณโรค ที่
ประเทศฝรั่งเศส Parisot and Wood (1960) ได้รายงานว่า Mycobacteriosis เดิมเรียก Fish
Tuberculosis แต่ต่อมาใช้คำว่า Mycobacteriosis แทน ปลาที่ติดเชื้อพบว่าลำตัวปลาจะมีบาดแผล
ขนาดเล็กสีเทากระหว่างผนังช่องท้องและรังไข่ Plumb (1994) รายงานการพบเชื้อ *Mycobacterium*
sp. ในปลาหลายชนิดทั้งในปลาทะเล ปลาบ่อเลี้ยง ปลาใน Aquarium และในปลาน้ำจืด

สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการพบวัณโรคปลาครั้งแรกในปลาช่อน (*Channa striata*)
ที่เลี้ยงในบ่อดิน ในปี 2526 อาการของปลาที่เป็นโรค คือ ผอม ลอยหัว เคลื่อนไหวช้า ตาขุ่น มีแผล
ตื้นสีเทากระจายตามลำตัวทั่วไปและปลาจะตายภายใน 2-3 วัน หลังจากมีอาการภายนอกปรากฏให้
เห็น (ชลอ และคณะ, 2526) และต่อมาในปี 2532 มีรายงานการพบโรคนี้ในปลากัด โดยปลาป่วยจะ
มีอาการผอม คาโปน อวัยวะภายในโตขึ้นและปลาจะค่อยๆ ทอยตาย (สุปราณี และคณะ, 2533)
และ Pungkachonboon *et al.* (1992) สำรวจปลากัดจากฟาร์มเอกชนจำนวน 5 ฟาร์ม เป็นระยะเวลา 1
ปี พบว่าปลากัดติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. สูงถึงร้อยละ 72

Dulin (1979); Wayne and Kubica (1986); Frerichs (1993) ได้รายงานว่า *Mycobacterium*
sp. ที่พบในปลาเป็นแบคทีเรียรูปร่าง curved หรือ straight bacilli ขนาด 0.25-0.35 ไมโครเมตร
× 1.5-2.0 ไมโครเมตร แกรมบวก ติดสีทนกรด (Ziehl-Neelsen) ไม่เคลื่อนที่ เจริญเติบโตช้าใน
สภาพที่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์

4.1 อาการของปลาที่เป็นโรค

ลักษณะอาการที่ปรากฏจะขึ้นอยู่กับชนิดของปลาที่ได้รับเชื้อ ซึ่งจะแสดงอาการ
แตกต่างกัน แต่อาการโดยทั่วไปมีลักษณะดังนี้

1. ชุบพอม
2. เบื่ออาหาร
3. ลีซีด
4. เก็ดหลุด ครีบก้อน
5. ตาโปน
6. โครงสร้างของขากรรไกรและกระดูกสันหลังผิดรูปร่างไป

นอกจากนั้นจะมีอาการว่ายน้ำกระตุกหรือชุกอยู่ที่มุมตู้ อวัยวะภายในที่ได้รับการติดเชื้อจะมีตุ่มเล็กๆ รูปร่างคล้ายข้าว บางครั้งก็จะพบแผลเปื่อยอยู่ที่ตับ ไต ม้าม และสามารถ smears เชื้อพบที่เหงือก หัวใจ กล้ามเนื้อ ผนังของท่อทางเดินอาหาร แผลจากผิวหนัง ตา สมอง รังไข่ เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และบริเวณบาดแผล อาจมีแผลเน่าตามผิวหนัง ตัว ตาโปน ท้องบวมแข็ง ตาจะบอดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้าง เมื่อเปิดช่องท้องพบว่าอวัยวะภายในบริเวณตับ ไต และม้ามจะเกิดเป็นตุ่มเล็กๆ (granuloma) กระจายอยู่ มีลักษณะสีขาวอมเหลืองอ่อนขนาดเท่าหัวเข็มหมุดเล็กๆ หรืออาจมีสีขาวเทา (ชลอ และคณะ, 2526; สุปรานีและเต็มดวง, 2535; ทศนา และคณะ, 2535)

4.2 วิธีการวินิจฉัยโรค Mycobacteriosis

สามารถทำได้โดยสังเกตจากอาการผิดปกติภายนอกของปลาแล้วนำมาตรวจสอบอย่างละเอียดโดยวิธีการดังต่อไปนี้

4.2.1 ตรวจสอบด้านเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียจากไต บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Ogawa egg media แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ ถ้ามีโคโลนีเชื้อ *Mycobacterium* sp. เกิดขึ้นจะมีลักษณะสีเหลืองหรือส้มหรือไม่มีสี เมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทนกรด โดยการย้อมสี Ziehl-Neelsen (ZN) แบคทีเรียจะติดสีแดง อาจจะเป็นเซลล์เดี่ยวๆ อยู่เป็นคู่หรือเรียงตัวขนานกันเป็นแพ (card formation) (ทศนาและคณะ, 2535 และ เขาวพา, 2536) หรือสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lowenstein-Jensen โดย *M. fortuitum* ไม่ผลิตเม็ดสี และ *M. chelonae* จะเจริญเติบโตที่ 25 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน 7 วัน ส่วน *M. marinum* มีโคโลนีสีเหลืองส้มเมื่อถูกแสง เจริญเติบโตช้าที่ 25 องศาเซลเซียส ใช้เวลานาน 2-3 สัปดาห์ (Wheeler and Graham, 1989; Plumb, 1994)

4.2.2 ตรวจสอบด้านพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อ

คีรีและศุภลักษณ์ (2545) ศึกษาพยาธิสภาพของอวัยวะภายในปลาป่วยที่ติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. พบว่ามี TB granuloma กระจายอยู่เต็มผิวหนัง ช่องปาก ท่อทางเดินอาหาร กระเพาะอาหาร ตับ ไต ม้ามและตับอ่อน โดย granuloma ประกอบด้วยชั้นต่างๆ รอบนอกจะเป็นชั้น collagenous fiber ถัดเข้ามามี epithelioid cells หลายชั้นล้อมรอบกลุ่มของ macrophage ที่เข้ามาช่วยกำจัดแบคทีเรียแล้วเกิดการตาย (Van Duijn, 1981) แบคทีเรียที่อยู่ตรงกลาง granuloma จะย้อมติดสี acid-fast (สุปรานี และคณะ, 2533; Conroy and Solarolo, 1965)

4.2.3 ตรวจสอบด้าน PCR-Polymerase Chain Reaction

Boom *et al.* (1990) นำตัวอย่างอวัยวะภายในของปลาที่ต้องการทดสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* มาสกัด DNA สำหรับใช้เป็น DNA ต้นแบบ (template) ในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่ (PCR) และใช้ Primer 14-F และ Primer pMyc7-R โดยใช้อุณหภูมิในปฏิกิริยาลูกโซ่ (PCR) ที่ 94 องศาเซลเซียส 15 นาที 65 องศาเซลเซียส 2 นาที และ 72 องศาเซลเซียส 3 นาที ทำปฏิกิริยาซ้ำ 40 รอบแล้วนำมาวิเคราะห์หัตถ์ด้วยวิธี reverse crossblot hybridization พิจารณาแถบสีที่เกิดขึ้น ถ้าตัวอย่างมีการติดเชื้อจะเกิดแถบสีลักษณะและตำแหน่งระดับเดียวกันกับเชื้อต้นแบบของ *Mycobacterium* sp.

4.2.4 ตรวจสอบด้วยวิธี Immunohistochemistry

คีรีและศุภลักษณ์ (2545) ประยุกต์วิธีของ Adams and Mateo (1994) ในการตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยการบ่มตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดี เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการจับตัวแบบจำเพาะเจาะจงระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี จากนั้นทำการย้อมสีด้วย Haematoxylin & Eosin เมื่อผลปฏิกิริยาเป็นบวกจะให้ผลเป็นสีน้ำตาลอมเหลือง โดยพบเชื้อ *Mycobacterium* sp. อัดแน่นอยู่ภายใน granuloma และพบ melanomacrophage center กระจายอยู่บริเวณด้านนอกด้วย

5. ความสามารถในการถ่ายทอดเชื้อ *Mycobacterium* spp.

5.1 ผ่านทางพ่อแม่พันธุ์

วัณโรคปลาสามารถถ่ายทอดจากพ่อแม่ปลาสู่รุ่นลูกได้ (สุปรานี และเต็มดวง, 2535; Chinabut *et al.*, 1994) และจากการทดลองของเขาวพาในปี 2536 พบว่าไข่ของปลากัดติดเชื้อของ *Mycobacterium* sp. ทั้งที่ได้รับการผสมพันธุ์จากพ่อแม่พันธุ์ที่เป็นวัณโรคปลาเพียงตัวใดตัวหนึ่ง

หรือเป็นทั้งคู่ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถถ่ายทอดเชื้อผ่านทางรังไข่และน้ำเชื้อ

5.2 ผ่านทางอาหารมีชีวิต

คีรี และคณะ (2545) สุ่มสำรวจฟาร์มเพาะอาหารมีชีวิตและแหล่งรวบรวมอาหารมีชีวิต โดยนำไโรแดงมาตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* พบว่าทุกแหล่งเลี้ยงและแหล่งรวบรวมมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp ทั้งชนิด *M. marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* และ *Mycobacterium* sp. สุปรานี และเต็มดวง (2535) กล่าวว่า การปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในกลุ่มอาหารสัตว์น้ำมีชีวิตจะทำให้เชื้อ *Mycobacterium* sp. ติดผ่านทางเยื่อทางเดินอาหารแล้วกระจายไปสู่อวัยวะต่างๆ ของร่างกาย จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปลาสวยงามตลอดจนสัตว์น้ำชนิดอื่นที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหารมีชีวิตมีโอกาสติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. เพิ่ม

การทดลองเปรียบเทียบเลี้ยงปลากัดด้วยไโรแดงจากธรรมชาติและไรทะเล (*Artemia* sp.) ที่เพาะจากห้องทดลอง โดยทัศน และคณะ (2535) พบว่าเปอร์เซ็นต์ของการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากกลุ่มการทดลองที่เลี้ยงด้วยไโรแดงสูงกว่าจากกลุ่มที่เลี้ยงด้วยไรทะเลอาจจะเป็นไปได้ที่ไโรแดงกินแบคทีเรีย ชนิด *Mycobacterium* sp. ที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำ

5.3 การถ่ายทอดเชื้อผ่านทางน้ำ

การปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในปลาที่เลี้ยงมีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนมาจากน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลา (ทัศน และคณะ, 2535) Puttinaowarat *et al.* (2002) เก็บตัวอย่างน้ำจากฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดตรวจพบทั้ง *M. marinum* และ *M. fortuitum*

5.4 การถ่ายทอดเชื้อสู่มนุษย์

เชื้อวัณโรคปลาที่สามารถถ่ายทอดมาสู่คนได้คือ *M. marinum*, *M. fortuitum* และ *M. chelonae* (Puttinaowarat *et al.*, 2000) โดย *M. fortuitum* เป็นสปิชีส์ที่ก่อให้เกิดโรคในคนมากที่สุด (Ross and Brancato, 1962) Kullavanijaya *et al.* (1993) รายงานว่าพบผู้ป่วยในไทยติดเชื้อ *M. marinum* จำนวน 18 รายในช่วงเวลา 20 ปี (1970-1990) ซึ่งเป็นผู้ที่มิอาชีพหรือมีงานอดิเรกที่เกี่ยวข้องกับน้ำจืดและน้ำทะเล ส่วน Puttinaowarat *et al.* (2000) ตรวจสอบตุ่มบาดแผลที่พบในผู้เพาะเลี้ยงปลากัดพบเชื้อ *M. fortuitum* และ *Mycobacterium* spp.

Clark and Shephard (1963) อ้างในเยาพา (2536) ได้รายงานว่า *Mycobacterium* ที่แยกได้จากคนพบว่าเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 30-33 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 7 วัน แต่เจริญเติบโตช้าที่

37 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 14 วัน ส่วน *Mycobacterium* ที่แยกได้จากปลา อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตคือ 18-20 องศาเซลเซียส และไม่เจริญที่ 37 องศาเซลเซียส ยกเว้นบางชนิดที่ปรับตัวเจริญได้ที่ 37 องศาเซลเซียส คือ *M. fortuitum* และ *M. chelonae* เนื่องจากบริเวณผิวหนังคนมีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะบริเวณมือและเท้าจะไม่กระจายไปยังอวัยวะส่วนอื่นๆ เรียกโรคผิวหนังนี้ว่า fish tank granuloma มีรายงานครั้งแรกในปี 1954 ได้รายงานไว้ว่าผู้เลี้ยงปลาสวยงามติดโรคนี้จากปลาสวยงาม หรือเรียกโรคนี้ว่า swimming pool granuloma (ปรียา และคณะ, 2535) ซึ่งอาการของผู้ที่เป็นโรคนี้จะมีอาการเป็นตุ่มหรือผื่นหนาหรือแผลหลุมหรือแผลแบบเรื้อรังมีอาการอักเสบโดยเฉพาะบริเวณมือ ข้อมือ นิ้วมือ แขน ขา เท้า ข้อเท้า หรือบริเวณที่สัมผัสกับน้ำบ่อยๆ เมื่อสงสัยว่าเป็นโรคนี้ควรไปพบแพทย์ เพราะสามารถรักษาได้โดยการใช้ยาปฏิชีวนะ (สุปราณี และเต็มดวง, 2535; Lim *et al.*, 2000) เช่น trimethoprim และ sulphamethoxazole (Kelly, 1976)

6. การป้องกันและควบคุมโรค

โรคปลาในปัจจุบันนี้ยังไม่มีวิธีในการรักษาที่ให้ผลแน่นอน เนื่องจากพบว่าสัตว์น้ำที่ป่วยส่วนใหญ่มักจะอยู่ในขั้นที่รุนแรงยากแก่การรักษา นอกจากนี้การรักษายังต้องใช้เวลานานหลายเดือน จากข้อมูลของ Goren, (1972); Barksdale and Kim, (1977); Ratledge, (1977) รายงานว่าการที่ผนังเซลล์ของ *Mycobacterium* sp. มีปริมาณของสารพวกไขมันสูงถึงร้อยละ 40 ของน้ำหนักตัวที่ปราศจากน้ำ มีไขมันชนิดหลักคือ mycolic acids, glycolipid, phospholipids และ mycoside ช่วยทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์แข็งแรง ซึ่งคุณสมบัตินี้ทำให้เซลล์ยอมสืดยาก และทนต่อการล้างสีด้วยกรดอินทรีย์ ทำให้สารเคมี และยาซึมผ่านได้ยากจึงทนต่อการฆ่าเชื้อ และยาปฏิชีวนะ มีการพยายามใช้ยาปฏิชีวนะหลายชนิดเพื่อการรักษา และควบคุมการติดเชื้อซึ่งมีหลายวิธีดังนี้ (เต็มดวง, 2537)

6.1 การรักษาโดยการผสมอาหารให้ปลาป่วยกิน

โดยใช้ sulphamethoxazole 2 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม doxycycline หรือ minocycline 0.5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม หรือใช้ kanamycin sulphate 100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมผสมให้ปลาป่วยกินติดต่อกัน 7-10 วัน

6.2 การรักษาโดยการแช่

นิยมใช้ doxycycline หรือ minocycline 2-3 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร oxytetracycline (pure) 15 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร หรือ tetracycline 30 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร หรือใช้ kanamycin sulphate 100 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร หรือ 100 กรัม/น้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร (100 ส่วนในล้านส่วน) แช่ปลาป่วย ติดต่อกันนาน 5 วัน

เต็มดวง และสุริยันต์ (2535) พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของ kanamycin sulphate ที่สามารถฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. คือ 25 ส่วนในล้านส่วน แต่การรักษาปลาที่มีอาการป่วยด้วยการแช่ kanamycin sulphate ความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน และให้ปลากินโรนินาที่แช่ kanamycin sulphate ความเข้มข้น 1,000 ส่วนในล้านส่วน นาน 5 นาที ยังคงพบ granuloma ที่อวัยวะภายใน ซึ่งภายใน granuloma ยังคงมีแบคทีเรีย ย้อมสีทึบครดอยู่ และสามารถแยกเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้

6.3 การรักษาโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ

วิธีนี้เหมาะสมกับปลาที่มีขนาดใหญ่ โดยใช้ sulphasoxazole (gantrisin) 0.2 กรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม doxycycline หรือ minocycline 0.005 กรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม หรือใช้ kanamycin sulphate 20 มิลลิกรัม/น้ำหนักปลา 1 กิโลกรัมฉีดเข้าช่องท้อง (Conroy and Solarolo, 1965; Conroy, 1966)

ถึงแม้เคยมีผู้ประสบความสำเร็จ ในการรักษาปลาด้วยการฉีดด้วย kanamycin sulphate ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม ต่อปลา 1 กิโลกรัม แต่วิธีนี้ใช้เวลานานในการรักษาจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับปลาพ่อแม่พันธุ์และปลาที่มีมูลค่าสูง และต้องระมัดระวังในการเลือกใช้วิธีนี้รักษา เนื่องจากปลาที่ป่วยหนักมักจะตายเนื่องจากความบอบช้ำในระหว่างการฉีด (Lawhavinit *et al.*, 1988)

นอกจากนี้ยังมีการทดลองใช้ยาปฏิชีวนะอีกหลายชนิดในการรักษาโรค Mycobacteriosis เช่น Amicacin, Sarafloxacin, Streptomycin, Allicin, Chloramines B หรือ T, Cycloserine, Deoxycycline, Ethambutol, Ethionamine, Isoniazid, Minocycline, Penicillin, Rifampicin, Sulphanamides, Tetracyclin และอื่นๆ (Santacana *et al.*, 1982; Colorni *et al.*, 1998; Dulin 1979; Van Duijn, 1981) แต่เป็นเพียงการลดอัตราการตายของปลาเท่านั้น ส่วนเชื้อก็ยังคงแฝงในตัวปลา โดยสามารถแยกเชื้อได้ภายหลังจากการรักษาซึ่งเชื่อที่แฝงอยู่นี้มีโอกาที่จะแพร่สู่ตัวปลาต่อไป

ได้ ดังนั้น การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะนอกจากจะไม่สามารถทำลายเชื้อโดยสิ้นเชิงแล้ว ยังเป็นการสิ้นเปลืองเนื่องจากยาดังกล่าวมีราคาแพงและหากมีการใช้บ่อยและนาน อาจนำไปสู่ภาวะดื้อยาได้ (Colomi *et al.*, 1998)

7. ประสิทธิภาพของยามาเชื้อบางชนิดต่อเชื้อวัณโรคปลา

เต็มดวงและธรรมบุญ (2541) รายงานว่ายามาเชื้อชนิดที่ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วไปสามารถฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในระดับความเข้มข้น ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 1 ระดับความเข้มข้นของสารเคมีในระดับที่แตกต่างกัน ที่สามารถฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. ภายในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สารเคมี	ความเข้มข้น	ระยะเวลา
ฟอร์มาลิน	1 เปอร์เซ็นต์	1-4 ชั่วโมง
	5 เปอร์เซ็นต์	30 นาที-3 ชั่วโมง
	10 เปอร์เซ็นต์	5-10 นาที
โพวิโดน ไอโอดีน	1 เปอร์เซ็นต์	4-6 ชั่วโมง
	2 เปอร์เซ็นต์	3-6 ชั่วโมง
	3 เปอร์เซ็นต์	3-5 ชั่วโมง

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

จากการศึกษาการจัดการระบบเพาะเลี้ยงปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

แบ่งการทดลองออกเป็น 5 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 การผลิตหัวเชื้อน้ำเขียว *Chlorella* sp. ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ส่วนที่ 2 การเพาะไรแดงในสภาพปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ส่วนที่ 3 การเพาะพันธุ์ปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ส่วนที่ 4 การตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของพ่อแม่พันธุ์และลูกปลากัดที่เพาะได้จากพ่อแม่พันธุ์ที่ผ่านการตรวจสอบว่าปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ส่วนที่ 5 การทดลองนำระบบการจัดการฟาร์มแบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดของเอกชน

ส่วนที่ 6 การศึกษาระบบการจัดการฟาร์มปลากัดของภาคเอกชน

1. การผลิตหัวเชื้อน้ำเขียว *Chlorella* sp. ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

นำเซลล์คลอเรลล่า (*Chlorella* sp.) ที่เพาะลงบน Proteos medium แบบ slant ในหลอดแก้วฝาปิดแบบเกลียว ที่อุณหภูมิห้อง นำมาขยายให้ได้ความหนาแน่นของเซลล์ $1-1.5 \times 10^7$ เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ปริมาตร 30 ลิตร เพื่อนำไปขยายปริมาณเซลล์ แบบ mass culture ในถังไฟเบอร์กลาสความจุ 300 ลิตร โดยก่อนที่จะใส่หัวเชื้อเซลล์ *Chlorella* sp. ลงไปจะต้องเตรียมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีน 50 ส่วนในล้านส่วนนาน 1 วัน โดยให้ออกซิเจนตลอด 24 ชั่วโมง และเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 300 ส่วนในล้านส่วน แล้วจึงเติมปุ๋ยต่างๆ ตามขั้นตอนการเพาะเลี้ยงไรแดงต่อไป

2. การเพาะไรแดงในสภาพปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

เติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วให้มีระดับสูงขึ้นอีกประมาณ 5 เซนติเมตร หลังจากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 2-3 วัน และในช่วงระหว่างวันต้องหมั่นคนน้ำเขียวบ่อยๆ เพื่อป้องกันการตกตะกอน และเมื่อคลอเรลล่าเจริญเติบโตเต็มที่แล้วก็ได้นำเขียวที่พร้อมทำการลงหัวเชื้อไรแดงซึ่งพันธุ์ไรแดงที่ใช้ต้องคัดโดยใช้ผ้าโอล่อนแก้ว และผ่านการตรวจสอบว่าปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส และปฏิกิริยา Reverse cross blot hybridization (PCR-RCBH)

เรียบร้อยแล้ว หรือใช้พันธุ์ไรแดงที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยคลอรีน ความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน จุ่มนาน 30 วินาที แล้วจึงนำมาใช้เป็นพันธุ์ไรแดงที่ปริมาณ 50 กรัม ซึ่งผลผลิตที่ได้จะได้ผลผลิตไรแดงเป็น 10 เท่าของแม่พันธุ์ไรแดงที่มีชีวิต ใช้เวลาประมาณ 3 วัน และสามารถเก็บเกี่ยวไรแดงได้แล้ว จะเก็บเกี่ยวไรแดงมาใช้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ของไรแดงที่เกิดขึ้น คือ ประมาณ 250 กรัม ให้ลดระดับน้ำลงให้เหลือระดับน้ำสูงประมาณ 10 เซนติเมตร แล้วเติมน้ำเขียว(*Chlorella* sp.) และน้ำสะอาดอย่างละ 5 เซนติเมตร ทำทุกวันจนกว่าในถังจะไม่สามารถผลิตไรแดงได้จึงล้างถังแล้วเริ่มทำการเพาะใหม่ นำไรแดงที่ได้ไปเป็นอาหารให้กับปลากัด โดยให้อาหาร 2 เวลา คือ เช้าและเย็น

3. การเพาะพันธุ์ปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

3.1 การตรวจสอบการติดเชื้อของพ่อแม่ปลากัดก่อนที่จะนำมาผสมพันธุ์ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส และปฏิกิริยา Reverse cross blot hybridization (PCR-RCBH) ตามวิธีของ Kox *et.al.* (1995) จากตัวอย่างเหงือกและครีบหางของปลากัด จากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลการปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในเหงือกและครีบหางของปลากัด โดยการทดสอบทางสถิติด้วยไคสแควร์ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3.2 การเพาะพันธุ์ ผสมพันธุ์พ่อแม่ปลาที่ผ่านการตรวจสอบการติดเชื้อแล้วจำนวน 10 คู่ เมื่อลูกปลาอายุ 10 วัน ตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ prevalence ถ้าผลการตรวจสอบไม่พบเชื้อ *Mycobacterium* sp. จะเลี้ยงต่อเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ ถ้าผลตรวจสอบพบเชื้อจะกำจัดลูกปลาทั้งหมด ให้ลูกปลากินไรแดงปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. สลับกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปเลี้ยงปลากัดจนอายุ 4 เดือน

3.3 การเพาะเลี้ยงรุ่นต่อไป

3.3.1 นำปลากัดอายุ 4 เดือนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงให้เป็นรุ่นที่ 1 และกำหนดหมายเลขให้กับปลากัดที่เพาะได้ทุกตัวเพื่อสะดวกต่อการจับคู่ผสมพันธุ์ และป้องกันการผสมพันธุ์แบบเลือดชิด

3.3.2 นำปลากัดในรุ่นที่ 1 ที่ไม่ได้มาจากพ่อแม่พันธุ์คู่เดียวกันมาคัดเลือก นำปลาเพศผู้และเพศเมียที่แข็งแรงมาเทียบคู่กันเพื่อผสมพันธุ์ และเพาะเลี้ยงต่อไปเพื่อให้ได้ปลากัดรุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ต่อไป

4. การตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของลูกปลากัดที่เพาะได้จากพ่อแม่พันธุ์ที่ผ่านการตรวจสอบว่าปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส และปฏิกิริยา Reverse cross blot hybridization (PCR-RCBH) โดยมีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

สุ่มตัวอย่างลูกปลากัดอายุ 10 วัน ที่ 5 เปอร์เซ็นต์ prevalence นำมาสกัด DNA บริสุทธิ์จากตัวอย่างปลากัดโดยวิธีของ Boom *et al.* (1990) แล้วนำมาวิเคราะห์ตัวอย่างโดยปฏิกิริยา PCR และตรวจสอบ PCR product โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี reverse cross blot hybridization (Kox *et al.*, 1995)

5. การทดลองนำระบบการจัดการฟาร์มแบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดของเอกชน

เมื่อผลิตปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้ 3 รุ่นแล้ว จึงนำระบบการจัดการฟาร์มระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ทดลองใช้ในฟาร์มของเกษตรกร เพื่อเป็นแนวทางป้องกันเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากสาเหตุทั้ง 3 ประการ คือ จากทางพ่อแม่พันธุ์ ทางอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงปลากัด และจากทางน้ำที่นำมาใช้เลี้ยงปลากัดทดลองระบบในฟาร์มของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากัด โดยตั้งข้อกำหนด ดังนี้

5.1 ใช้หัวเชื้อโคลอเรลล่าที่ผ่านการตรวจสอบว่าปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มาผลิตเป็นน้ำเขียว เพื่อเป็นอาหารของไรแดง

5.2 ใช้หัวเชื้อไรแดงที่ผ่านการตรวจสอบว่าปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มาผลิตเป็นอาหารให้กับปลากัด

5.3 น้ำที่ใช้ทั้งหมดทั้งในกิจกรรมของฟาร์มผู้เพาะเลี้ยงปลากัดและการผลิตไรแดงจะต้องเป็นน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน

5.4 ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยง และพื้นที่โรงเพาะเลี้ยง

5.4.1 ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคอุปกรณ์ด้วยคลอรีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน แช่ข้ามคืน แล้วล้างตากแดด หรือถ้าเป็นกระชอนให้แช่ประมาณ 1 ชั่วโมงแล้วแขวนตากแดดให้แห้ง

5.4.2 ทำความสะอาดพื้นโรงเพาะเลี้ยงด้วยคลอรีนความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน สาดให้ทั่วทั้งโรงข้ามคืน เดือนละ 1 ครั้ง

5.5 ใช้พ่อแม่พันธุ์ที่ผ่านการตรวจสอบว่าปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

6. ทดสอบระบบการจัดการฟาร์มปลากัดของภาคเอกชน

6.1 สำรวจฟาร์มปลากัดในเขตจังหวัดนครปฐม เพชรบุรีและกรุงเทพมหานคร จำนวน 40 ฟาร์ม เพื่อศึกษาระบบการเพาะเลี้ยง การให้อาหารและระบบน้ำ โดยใช้แบบสอบถามตามภาคผนวก ก สุ่มเลือกฟาร์มโดยเลือกพื้นที่ที่สืบค้นจากข้อมูลการขึ้นทะเบียนเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงเพื่อการส่งออกของสถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด กรมประมง (ไม่ได้จัดพิมพ์ข้อมูล) ทำให้ทราบว่าเกษตรกรที่มีอาชีพเพาะเลี้ยงปลากัดมีอยู่เป็นจำนวนมากในจังหวัดนครปฐม เพชรบุรีและกรุงเทพฯ ดังนี้

ตารางที่ 2 จำนวนฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดในพื้นที่สุ่มตัวอย่าง

พื้นที่สุ่มตัวอย่าง	จำนวน (ฟาร์ม)
นครปฐม	21
เพชรบุรี	15
กรุงเทพฯ	5
รวม	41

ที่มา : สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด, (ไม่ได้จัดพิมพ์ข้อมูล)

ในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างสามารถคำนวณหาขนาดกลุ่มตัวอย่างจากจำนวนฟาร์มปลากัดทั้งหมดที่ขึ้นทะเบียนเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงเพื่อการส่งออกของสถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด กรมประมง โดยใช้สูตรการคำนวณของ Yamane (1973) โดยยอมให้มีความคลาดเคลื่อนของการประมาณค่าสัดส่วนเกิดขึ้นได้เท่ากับ 0.05 (ระดับความมีนัยสำคัญ 0.05) ดังนี้

$$n = \frac{N}{1+Ne^2}$$

เมื่อ n = ขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่ต้องการ

N = จำนวนประชากร

e = ความคลาดเคลื่อน เนื่องจากการสุ่มเท่าที่จะยอมรับได้

เมื่อแทนค่าในสูตร

$$\begin{aligned} n &= \frac{41}{1+41(0.05)^2} \\ &= 39.64 \end{aligned}$$

ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่างทั้งสิ้น 40 ฟาร์ม

จำนวนกลุ่มตัวอย่างในจังหวัดนครปฐม; $N = 21$, $n = 19.95$

ดังนั้น ได้กลุ่มตัวอย่างที่สุ่มจำนวน 20 ฟาร์ม

จำนวนกลุ่มตัวอย่างในจังหวัดเพชรบุรี; $N = 15$, $n = 14.45$

ดังนั้น ได้กลุ่มตัวอย่างที่สุ่มจำนวน 15 ฟาร์ม

จำนวนกลุ่มตัวอย่างในจังหวัดกรุงเทพมหานคร; $N = 5$, $n = 4.94$

ดังนั้น ได้กลุ่มตัวอย่างที่สุ่มจำนวน 5 ฟาร์ม

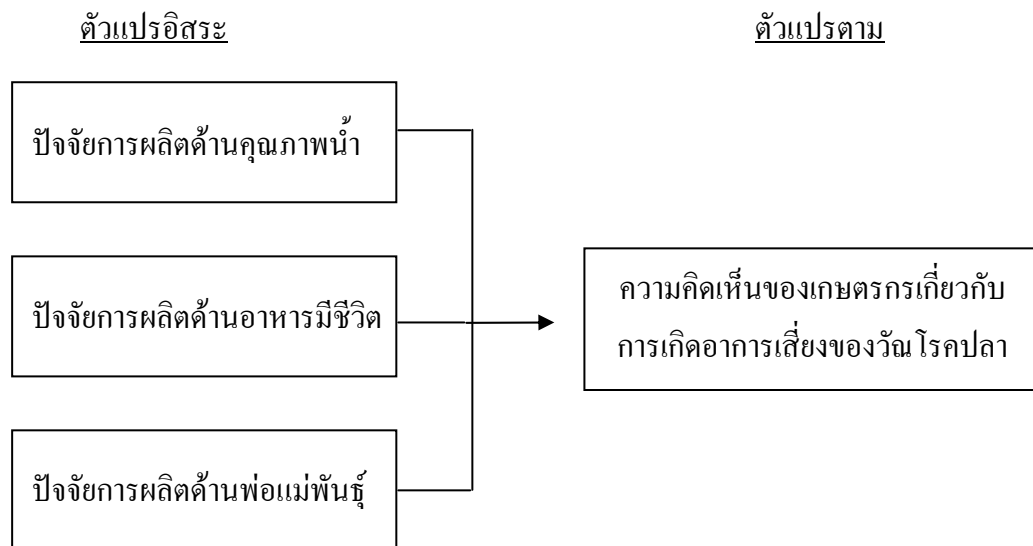
6.2 ประเมินความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดวันโรคปลากับปัจจัยการผลิตปลากัดจากวิธีการจัดการฟาร์มของภาคเอกชน

6.2.1 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาปัจจัยการผลิตปลากัดและการเกิดอาการเสี่ยงวันโรคปลาของปลากัดภายในฟาร์มของเอกชน เป็นการศึกษากระบวนการจัดการในฟาร์มปลากัดของเอกชน ในจังหวัดนครปฐม เพชรบุรี และกรุงเทพมหานคร จำนวน 40 ราย โดยทำการศึกษาในช่วงระหว่างเดือนตุลาคม ปี พ.ศ. 2548 ถึง เดือน กุมภาพันธ์ 2550 ประเด็นการศึกษา คือ ความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยการผลิตทั้ง 3 ด้าน คือ ด้านคุณภาพน้ำ อาหารมีชีวิตและพ่อแม่

พันธุ์ว่ามีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงของการเกิดวัณโรคปลาของปลากัดที่ผลิตภายในฟาร์มของเอกชน

6.2.2 กรอบแนวคิดงานวิจัย



ภาพที่ 2 กรอบแนวคิดการวิจัย

6.2.3 สมมติฐาน

สมมติฐานที่ 1 ปัจจัยการผลิตด้านคุณภาพน้ำมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงของการเกิดวัณโรคปลาที่เกิดขึ้นภายในฟาร์ม

สมมติฐานที่ 2 ปัจจัยการผลิตด้านอาหารมีชีวิตมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงของการเกิดวัณโรคปลาที่เกิดขึ้นภายในฟาร์ม

สมมติฐานที่ 3 ปัจจัยการผลิตด้านพ่อแม่พันธุ์มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงของการเกิดวัณโรคปลาที่เกิดขึ้นภายในฟาร์ม

6.2.4 อุปกรณ์

แบบสัมภาษณ์ (questionnaire) ตามภาคผนวก ก ซึ่งมีคำถามปลายปิด (closed question) ข้อที่ 2-5, 7-10, 12-14, 17, 19 และคำถามแบบปลายเปิด (open-ended question) ข้อที่ 1, 6, 11 15, 18, 20

6.2.5 การหาความเชื่อมั่น (Reliability)

เมื่อได้แบบสอบถามฉบับสมบูรณ์แล้วนำไปทดลองใช้กับเกษตรกรที่เพาะเลี้ยงปลากัดภายในจังหวัดนครปฐม เพชรบุรีและกรุงเทพฯ จำนวน 30 ราย แล้วนำมาวิเคราะห์หาความเชื่อมั่นโดยวิธีการคำนวณสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของ Cronbach 's Alpha ได้เท่ากับ 0.7831 จากนั้นจึงนำไปใช้จริง

6.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

ผู้วิจัยวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เครื่องคอมพิวเตอร์โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for Social Science) for window version 11.0 โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล ประกอบด้วย

1. สถิติพรรณนา (descriptive statistics) ได้แก่ ค่าความถี่ ร้อยละ เพื่ออธิบายข้อมูลทั่วไปของระบบการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด

2. สถิติอนุมาน (inferential statistic) วิเคราะห์ความคิดเห็นของเกษตรกรต่อความสัมพันธ์ของการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลากับตัวแปรอิสระต่างๆ ที่กำหนดไว้นำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของตัวแปรที่มีลักษณะข้อมูลที่มีระดับมาตรวัดเป็นอัตราส่วนมาตร ได้แก่ ปัจจัยการผลิตด้านคุณภาพน้ำ ด้านอาหารมีชีวิตและด้านพ่อแม่พันธุ์ ใช้สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Spearman 's rank correlation coefficient)

สถานที่ทำการทดลอง

สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ แขวงลาดยาว
เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร และฟาร์มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากัดในเขตจังหวัดนครปฐม
เพชรบุรีและกรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองครั้งนี้เริ่มทำการทดลองเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2548 และสิ้นสุดการทดลองเดือน
กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2550

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

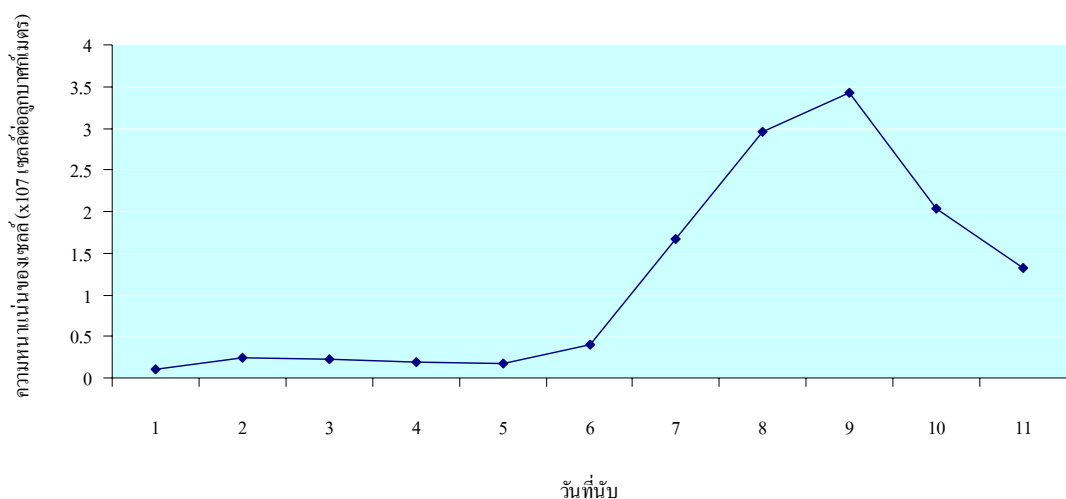
1. ปลากัดคุณภาพดีปลอดจากเชื้อโรค *Mycobacterium* sp.
2. ลดต้นทุนในการผลิตปลากัด เนื่องจากการที่ได้ปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มาเป็นพ่อแม่พันธุ์ประกอบกับการจัดการสุขอนามัยฟาร์มที่ดีก็จะทำให้ผลผลิตของฟาร์มเพิ่มมากขึ้น และยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในการรักษาโรค
3. ธุรกิจปลากัดจะมีทิศทางขยายตัวเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกษตรกรมีรายได้มากขึ้นและ
ภาวะทางเศรษฐกิจเติบโตได้มากขึ้น
4. ลดความเสี่ยงของเกษตรกรในการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากปลากัดและไรแดง

ผลและวิจารณ์

ผลการทดลองที่ 1 การผลิตหัวเชื้อคลอเรลล่าในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

การผลิตหัวเชื้อคลอเรลล่าในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถผลิตได้โดยใช้คลอเรลล่าที่ผ่านการตรวจเชื้อ *Mycobacterium* sp. ด้วยปฏิกิริยา PCR-RCBH การผลิตหัวเชื้อคลอเรลล่าบริสุทธิ์นั้นจะมีการผลิตจากห้องปฏิบัติการที่เลี้ยงเซลล์คลอเรลล่าบริสุทธิ์บน Proteose medium จากนั้นย้ายลงมาเลี้ยงในอาหารเหลวและขยายปริมาณให้ได้ 30 ลิตร ในขวด คาร์บอย (carboy) จะได้หัวเชื้อคลอเรลล่ามีความหนาแน่นเซลล์โดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.6×10^7 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ภายในระยะเวลา 7 วัน (ตารางผนวกที่ 3) ซึ่งจะมีอัตราการเจริญเติบโต ดังภาพที่ 3

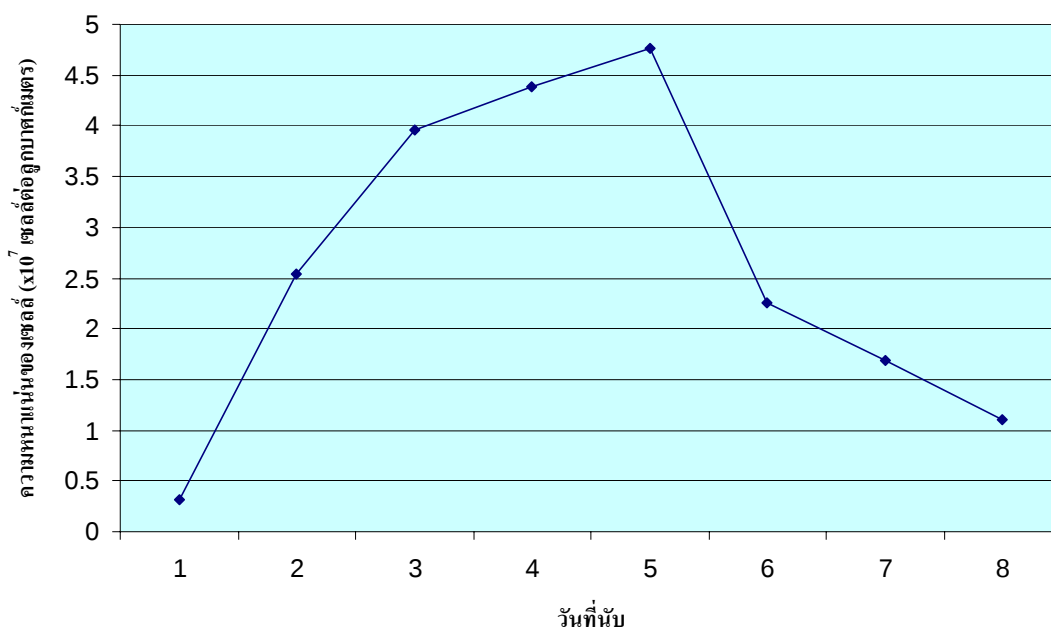
กราฟแสดงการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ยของคลอเรลล่าในขวดคาร์บอย (Carboy) ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 3 กราฟแสดงการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ย 3 ครั้งของคลอเรลล่าในขวดคาร์บอย (carboy) ภายในห้องปฏิบัติการ

หลังจากนั้นสามารถนำหัวเชื้อคลอเรลล่ามาขยายลงในถังเพาะภายนอกห้องปฏิบัติการ เพาะเลี้ยงในน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีน ความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 24 ชั่วโมง (ตารางผนวกที่ 1) พบว่าหัวเชื้อคลอเรลล่าที่ได้ ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มีความหนาแน่นเซลล์โดยเฉลี่ยเท่ากับ 4.7×10^7 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ในเวลา 5 วัน (ตารางผนวกที่ 3) หลังจากเติมหัวเชื้อ ซึ่งจะมีอัตราการเจริญเติบโต

กราฟแสดงการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ยของคลอเรลล่าในถังเพาะนอกห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 4 กราฟแสดงการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ย 3 ครั้งของคลอเรลล่าในถังเพาะภายนอกห้องปฏิบัติการ

วิจารณ์การทดลองที่ 1 การศึกษาการผลิตหัวเชื้อคลอเรลล่า (*Chlorella* sp.) ในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ลัดดา (2541) กล่าวว่า การผลิตคลอเรลล่าให้บริสุทธิ์นั้น สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ เทคนิคทางปฏิชีวนะ (Antibiotics technique) เทคนิคการใช้แสงอุลตราไวโอเลต (UV Light technique) เทคนิคการกรอง (Filter technique) และการล้างด้วยเทคนิคการปั่นให้ตกตะกอน (Washing by centrifugating technique) ผู้วิจัยเลือกวิธีการล้างด้วยเทคนิคการปั่นให้ตกตะกอน นำมาประยุกต์ใช้กับหัวเชื้อคลอเรลล่าที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ โดยได้ใช้ปลายหลอดที่ฆ่าเชื้อแล้วเก็บเซลล์คลอเรลล่าจำนวน 1 หลอดแล้วนำมาเพาะเลี้ยงบน proteose agar นาน 7 วัน ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของคลอเรลล่า เมื่อได้คลอเรลล่าบริสุทธิ์จึงย้ายลงเลี้ยงในหลอดอาหารวุ้นที่เทแบบเอียง (fresh slant agar) เก็บไว้ในที่มืดและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บเป็นหัวเชื้อไว้ใช้งานในครั้งต่อไป ซึ่งเป็นวิธีสะดวกและไม่มีข้อจำกัดอย่างเช่นในเทคนิคทางปฏิชีวนะที่ยาปฏิชีวนะบางชนิดถ้าใช้ในปริมาณมากจะทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปได้ หรือในเทคนิคการใช้แสงอุลตราไวโอเลตนั้นเหมาะสมกับสายพันธุ์ที่มีเมือกหนาๆ หุ้มเซลล์เท่านั้น

ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาการผลิตไรแดงในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

การผลิตไรแดงในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ต้องใช้คลอเรลล่าที่ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. เป็นอาหาร ขั้นตอนการผลิตคลอเรลล่าที่ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ต้องใช้หัวเชื้อคลอเรลล่าที่ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มาเพาะขยายพันธุ์ในถังเพาะคลอเรลล่า และใส่ปุ๋ยนาสูตร 16-20-0 ปุ๋ยสูตร 21-0-0 ปุ๋ยยูเรีย 46-0-0 ปูนขาว รำ อามิ-อามิ เพื่อเป็นอาหารของคลอเรลล่า (ตารางผนวกที่ 7) และนำคลอเรลล่าที่เพาะขยายพันธุ์ได้มาตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ด้วยปฏิกิริยา PCR-RCBH และยืนยันผลการตรวจด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Mycobacterium* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Ogawa egg อีกครั้ง ได้ผลการทดลองดัง ตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของคลอเรลล่า และไรแดงที่ผลิตในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ชนิดตัวอย่าง/ ตัวอย่างที่	ทดสอบ PCR-RCBH						ทดสอบเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Ogawa egg					
	จำนวนตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบ			จำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านการทดสอบ			จำนวนตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบ			จำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านการทดสอบ		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
หัวเชื้อคลอเรลล่า	9	9	9	0	0	0	9	9	9	0	0	0
คลอเรลล่าเพาะในถังปลอดเชื้อ	14	24	25	4	3	2	18	27	27	0	0	0
หัวเชื้อไรแดงผ่านคลอรีน	15	21	22	3	6	5	18	27	27	0	0	0
หัวเชื้อไรแดงเพาะเลี้ยงในถังปลอดเชื้อ	13	23	23	5	4	4	18	27	27	0	0	0

การทดสอบฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในหัวเชื้อไรแดงด้วยคลอรีน ความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วนนาน 30 วินาที แล้วล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. แล้วนำหัวเชื้อไรแดงไปตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยปฏิกิริยา PCR-RCBH ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในหัวเชื้อไรแดง จากนั้นนำหัวเชื้อไรแดงที่ผ่านการตรวจสอบเชื้อแล้วมาเลี้ยงโดยใช้คลอเรลล่าซึ่งผ่านการตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. เป็นอาหารให้กับไรแดง จำนวน 3

ถึง ซึ่งได้ปริมาณผลผลิตโดยเฉลี่ยของไรแดง ดัง ตารางที่ 4 สุ่มตัวอย่างคลอเรลล่าและไรแดง ตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. อีกครั้ง ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในไรแดง (ตาราง ผวนกที่ 2) จากนั้นนำไรแดงที่ปลอดเชื้อใช้เป็นอาหารปลากัด

ตารางที่ 4 ผลผลิตของไรแดงโดยเฉลี่ยที่ผลิตในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. เพื่ออนุบาลลูก ปลากัดจำนวน 3 รุ่น

ไรแดงเพื่ออนุบาลปลากัด รุ่นที่	ถึงที่1: รุ่น (กรัม)	ถึงที่2: รุ่น (กรัม)	ถึงที่ 3: รุ่น (กรัม)	รวม (กิโลกรัม)
G1	800	700	900	2.4
G2	880	1000	920	2.8
G3	800	840	720	2.36

วิจารณ์การทดลองที่ 2 การศึกษาการผลิตไรแดงในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

การผลิตไรแดงปลอดเชื้อดำเนินการโดยใช้หัวเชื้อไรแดงที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีน ความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 30 วินาที แล้วใช้คลอเรลล่าที่ผ่านการเพาะเลี้ยงด้วยระบบ ปลอดเชื้อเป็นอาหาร ผลการทดสอบไรแดงและคลอเรลล่าด้วยเทคนิค PCR-RCBH พบการ ปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในถึงเพาะคลอเรลล่า และหัวเชื้อไรแดงในบางตัวอย่าง แต่การ ยืนยันผลการตรวจด้วย การเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Ogawa egg ไม่พบโคโลนีของ *Mycobacterium* sp. อาจเป็นผลมาจากการใช้คลอรีนในการฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. ทำให้ยังคงเหลือเศษซาก DNA ของ *Mycobacterium* sp. โดยเศษซากของ DNA และ RNA ที่ไม่มีชีวิตจะส่งผลการเกิดแถบสี บนกระดาษไนโตรเซลลูโลสในกระบวนการตามขั้นตอนของเทคนิค PCR-RCBH (Prince and Andrus, 1992)

ส่วนผสมของปุ๋ยที่ใช้เพาะเลี้ยงคลอเรลล่ามีหลายสูตรในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยเลือกใช้วิธี การเพาะเลี้ยงและสูตรปุ๋ยของสถานีประมงน้ำจืด จังหวัดอ่างทอง ตามตารางผวนกที่ 9 ซึ่งเป็นสูตร ปุ๋ยที่ปราศจากมูลสัตว์ ใช้รำเป็นสารอินทรีย์แทนการใช้มูลสัตว์ Ross, (1970); Baker and Hagen, (1942) กล่าวว่าเมื่อนำไรแดงที่เพาะเลี้ยงในคลอเรลล่าที่ผลิตจากมูลสัตว์มาเลี้ยงปลากัดจะมีโอกาสที่ เชื้อ *Mycobacterium* sp. จะสามารถถ่ายทอดไปสู่ปลากัดได้

สาเหตุที่ผู้วิจัยเลือกการเพาะเลี้ยงคลอเรลล่าและไรแดงแบบต่อเนื่องสำหรับการวิจัยนี้ เพื่อให้สามารถเก็บเกี่ยวไรแดงได้หลายครั้ง โดยเก็บเกี่ยวไรแดงในถังเพาะขนาด 300 ลิตร จำนวน 3 ถัง ๆ ละ 200-250 กรัม ต่อครั้ง โดยเก็บเกี่ยวไรแดงเมื่อครบระยะเวลา 4 วันหลังจากเติมหัวเชื้อไรแดง และหลังจากนั้นอีกในทุกๆ 2 วัน ประมาณ 3 ครั้ง จนกระทั่งมีของเสียสะสมอยู่ที่พื้นถังและไม่สามารถเพาะเลี้ยงคลอเรลล่าได้ ซึ่งเป็นอัตราการผลิตไรแดงที่มีความเพียงพอต่อการอนุบาลลูกปลากัด จำนวนประมาณ 2,000 ตัว ต่อการผลิตปลากัดแต่ละรุ่น โดยใช้พื้นที่ประมาณ 10 ตารางเมตร ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีอยู่อย่างจำกัดในการวิจัยครั้งนี้ ดังนั้น หากเกษตรกรมีพื้นที่จำกัด และใช้พื้นที่ส่วนใหญ่ในกิจกรรมเพาะเลี้ยง ทำให้พื้นที่ในการผลิตไรแดงไว้ใช้เองมีน้อยหรือไม่มีเลยก็อาจจะนำวิธีการเพาะไรแดงแบบดังกล่าวนำไปประยุกต์ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดได้ ซึ่งการผลิตไรแดงให้ได้ในปริมาณที่มากพอนั้นต้องอาศัยประสบการณ์ที่มากพอของเกษตรกรประกอบด้วย การผลิตไรแดงไว้ใช้เองนั้นถ้าหากเกษตรกรสามารถทำได้ จะสามารถป้องกันการถ่ายทอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากอาหารมีชีวิตสู่ระบบการเพาะเลี้ยงได้ โดยต้นทุนการผลิตประมาณ 21- 26 บาทต่อผลผลิตไรแดง 1 กิโลกรัม มีผลผลิตประมาณ 25 – 30 กิโลกรัมต่อบ่อ (ตารางผนวกที่ 11) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับราคาไรแดงที่มีการขายจากผู้ผลิตจากบ่อคนที่เดิมด้วยข้อมูลสัปดาห์นั้นจะมีราคา 25-30 บาทต่อกิโลกรัม จึงมีราคาแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้นแต่ปลอดภัยจากเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ผลการทดลองที่ 3 การศึกษาการเพาะพันธุ์ปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ขั้นตอนการเตรียมพ่อแม่พันธุ์เพื่อการเพาะพันธุ์ปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จะใช้พ่อแม่พันธุ์ปลากัดที่ผ่านการตรวจหาเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยปฏิกิริยา PCR-RCBH ที่อวัยวะเหงือกและครีบของพ่อแม่พันธุ์ปลากัด เมื่อไม่พบเชื้อจากพ่อแม่พันธุ์ จำนวน 10 คู่ นำมาเพาะพันธุ์เพื่อให้ได้ลูกปลากัดรุ่นที่ 1 (G1) เมื่อปลากัดรุ่นที่ 1 อายุได้ประมาณ 4 เดือน นำมาเพาะพันธุ์เพื่อให้ได้ลูกปลากัดรุ่นที่ 2 (G2) และเมื่อปลากัดรุ่นที่ 2 อายุได้ประมาณ 4 เดือน นำมาเพาะพันธุ์เพื่อให้ได้ลูกปลากัดรุ่นที่ 3 (G3) สุ่มตัวอย่างลูกปลากัดอายุ 10 วันที่เพาะพันธุ์ได้ในแต่ละรุ่น ในอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ prevalence (ตารางผนวกที่ 4-6) เพื่อตรวจหาเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยปฏิกิริยา PCR-RCBH ได้ผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของลูกปลากัด รุ่น G1, G2 และ G3 อายุ 10 วัน ที่ผลิตด้วยระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. (ตารางผนวกที่ 4-6 และภาพผนวกที่ 2-4)

ลูกปลากัดรุ่นที่	จำนวนลูกปลากัดที่ไม่ติดเชื้อ	จำนวนลูกปลากัดติดเชื้อ
	<i>Mycobacterium</i> sp. (ครอก)	<i>Mycobacterium</i> sp. (ครอก)
F1	10	0
F2	9	1
F3	10	0

จากผลการทดสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในลูกปลากัดรุ่นที่ 1 และที่ 3 จำนวน 10 ครอก ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. แต่ผลการทดสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในลูกปลากัดรุ่นที่ 2 จำนวน 10 ครอก พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จำนวน 1 ครอก และเมื่อนำผลการทดสอบการติดเชื้อของลูกปลากัดมาวิเคราะห์ทางสถิติอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ prevalence (ตารางผนวกที่ 10) พบว่ายอมรับสมมุติฐาน กล่าวคือ พ่อแม่พันธุ์ปลากัดที่ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มีความสัมพันธ์ต่อการผลิตลูกปลากัดที่ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

วิจารณ์การทดลองที่ 3 การศึกษาระบบการเพาะพันธุ์ปลากัดในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ผลการทดสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในลูกปลากัดรุ่นที่ 1 และรุ่นที่ 3 จำนวน 10 ครอก ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. แต่ผลการทดสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในลูกปลากัดรุ่นที่ 2 จำนวน 10 ครอก พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จำนวน 1 ครอก (ตารางผนวกที่ 4-6 และภาพผนวกที่ 2-4) และเมื่อนำผลการทดสอบการติดเชื้อของลูกปลากัดมาวิเคราะห์ทางสถิติ ในอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ prevalence (ตารางผนวกที่ 10) พบว่ายอมรับสมมุติฐาน กล่าวคือ พ่อแม่พันธุ์ปลากัด มีความสัมพันธ์ต่อการปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของลูกปลากัดสอดคล้องเช่นเดียวกับการทดลองของเยวพา (2536) ที่รายงานไว้ว่าไข่ของปลากัดที่ได้มาจากการผสมพันธุ์ของพ่อหรือแม่ปลากัดที่ติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จะพบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ด้วย เช่นเดียวกับ Pungkachonboon (1992) ได้รายงานไว้ว่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถติดต่อถ่ายทอดจากพ่อแม่ที่มีเชื้อสู่ลูกได้ โดยก่อนการเพาะพันธุ์ปลากัดได้มีการสุ่มตรวจการติดเชื้อของลูกปลากัดในรุ่นที่ 1 เมื่อผ่านการตรวจสอบจึงนำมาเป็นพ่อแม่พันธุ์เพื่อผลิตปลากัดรุ่นที่ 2 โดยอาจจะเกิดความผิดพลาดจากการตรวจสอบการติดเชื้อโดยใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างในอัตรา 5% prevalence ต่อครอก ดังนั้น ลูก

ปลาที่ไม่ถูกสุมตัวอย่างจะถูกเลี้ยงให้เจริญเติบโต เพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ จึงอาจจะเป็นไปได้ว่าลูกปลาที่ไม่ถูกสุมตัวอย่างมีเชื้อ *Mycobacterium* sp. ทำให้มีโอกาเสี่ยงที่ผู้วิจัยคัดเลือกปลากัดที่มีเชื้อ *Mycobacterium* sp. มาเป็นพ่อแม่พันธุ์

ผลการทดลองที่ 4 กรณีศึกษาการทดลองนาระบบการจัดการฟาร์มแบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดของเอกชน

การทดลองนาระบบการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดแบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มาประยุกต์ใช้ในฟาร์มผู้เพาะเลี้ยงปลากัด ของนายอาวูร อำทรัพย์ ตั้งอยู่เลขที่ 132 /1 ม.7 ต. สามควายเผือก จ.นครปฐม โดยกำหนดเงื่อนไขการของระบบการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดแบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ดังนี้

4.1 เกษตรกรใช้หัวเชื้อคลอเรลล่าที่ผ่านการทดสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากผู้วิจัยมาเป็นหัวเชื้อคลอเรลล่าในการเพาะขยายเพิ่มปริมาณคลอเรลล่าในถังซีเมนต์กลมที่เกษตรกรล้างฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีนเรียบร้อยแล้ว โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงและสูตรปุ๋ยวิทยาศาสตร์ (ตารางผนวกที่ 8) ห้ามใช้ส่วนผสมของมูลสัตว์ เพื่อใช้เป็นอาหารให้กับไรแดง เมื่อครบระยะเวลาประมาณ 7 วัน จึงได้คลอเรลล่าที่มีความหนาแน่นเหมาะสมโดยสังเกตจากสีของน้ำที่เพาะเลี้ยงคลอเรลล่าที่เป็นสีเขียวเข้ม หรือครบระยะเวลา 3 วันหลังจากเติมหัวเชื้อ คลอเรลล่าในการเพาะเลี้ยงไรแดง เมื่อสุมตัวอย่างตรวจการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. พบว่าปราศจากเชื้อ *Mycobacterium* sp. จึงนำไปใช้เป็นอาหารให้กับไรแดง

4.2 เกษตรกรใช้หัวเชื้อไรแดงที่ล้างฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีน ความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 30 วินาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วนำมาเป็นหัวเชื้อไรแดงในการเพาะเลี้ยงไรแดงเพื่อใช้เป็นอาหารให้กับปลากัดที่เพาะพันธุ์ได้จากพ่อแม่พันธุ์ที่ผู้วิจัยนำมามอบให้

4.3 ผู้วิจัยนำปลากัดพ่อแม่พันธุ์ที่ผ่านการตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มอบให้เกษตรกร เพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในการเพาะเลี้ยงปลากัดในภาชนะที่ผ่านการล้างฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว หลังจากระยะเวลา 15 วันที่เกษตรกรสามารถผลิตไรแดงได้ปริมาณคงที่

4.4 การเตรียมระบบการจัดการภายในฟาร์ม

4.4.1 การจัดการคุณภาพน้ำ

เกษตรกรต้องฆ่าเชื้อโรคในน้ำบาดาลจากประปาหมู่บ้าน ที่เติมลงในบ่อซีเมนต์ ขนาด 1 ตัน ที่นำมาใช้ทั้งในกิจกรรมของการผลิตคลอรีนแล้ว ไรแดง เพาะเลี้ยงปลากัด ด้วยคลอรีน ความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน เปิดอากาศโดยตลอด และใช้สารโซเดียมไฮโอซัลเฟต ความเข้มข้น 300 ส่วนในล้านส่วน เพื่อสลายฤทธิ์ของคลอรีนก่อนนำมาใช้ในกิจกรรมเพาะเลี้ยง

4.4.2 การทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยง และพื้นที่โรงเพาะเลี้ยง

4.4.2.1 เกษตรกรทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคอุปกรณ์ เช่น ขันพลาสติก ข้อน ตักไรแดง แปรงล้างขวด เป็นต้น ด้วยคลอรีนความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน แช่ข้ามคืน แล้วคว่ำตากแดด หรือถ้าเป็นกระชอนให้แช่ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วแขวนตากแดดให้แห้ง

4.4.2.2 ทำความสะอาดพื้นโรงเพาะเลี้ยงด้วยคลอรีนความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน สาดให้ทั่วทั้งไว้ข้ามคืนก่อนนำปลาพ่อแม่พันธุ์เข้าสู่ฟาร์ม

4.5 ข้อควรระวังที่ผู้วิจัยแนะนำให้กับเกษตรกร

4.5.1 เกษตรกรต้องมีการจัดแยกเขตพื้นที่กักกันระหว่างพื้นที่การเพาะเลี้ยงปลากัด ระบบปกติกับพื้นที่การเพาะเลี้ยงปลากัดในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. อย่างชัดเจน

4.5.2 เกษตรกรต้องจัดแยกอุปกรณ์ระหว่างพื้นที่การเพาะเลี้ยงปลากัดระบบปกติกับพื้นที่การเพาะเลี้ยงปลากัดในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

4.5.3 เกษตรกรต้องแยกเขตพื้นที่และอุปกรณ์ของปลาป่วยออกจากพื้นที่เพาะเลี้ยง

4.5.4 เกษตรกรต้องทำความสะอาดมือเสียก่อน หากเกษตรกรปฏิบัติงานในเขตพื้นที่ปลาป่วย หรือในพื้นที่การเพาะเลี้ยงปลากัดระบบปกติ

เมื่อนำตัวอย่างน้ำบาดาลที่ฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีนใช้เพาะเลี้ยงคลอเรลล่า เพื่อเป็นอาหารให้กับไรแดงในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในตัวอย่างน้ำที่ใช้ภายในฟาร์ม คลอเรลล่าและไรแดง ด้วยวิธี PCR-RCBH ก่อนนำน้ำและไรแดงมาใช้ในการเพาะเลี้ยงปลากัด เมื่อเพาะพันธุ์ปลากัดได้ลูกปลาอายุ 10 วัน จึงสุ่มตัวอย่างที่อัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ prevalence ทดสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้ผลการทดลอง ดังตารางที่ 5 (ภาพผนวกที่ 5 และ 6)

ตารางที่ 6 ผลตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของ น้ำ คลอเรลล่า ไรแดง พ่อแม่พันธุ์และลูกปลากัด อายุ 10 วัน ที่ผลิตโดยระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในกรณีศึกษาของ นายอาวุธ อัมรินทร์

สิ่งที่นำมาตรวจสอบ	ถึงที่	ตัวอย่างที่	ผลการติดเชื้อ	
			<i>Mycobacterium</i> sp.	
			การเพาะเชื้อ	เทคนิค
			บนอาหาร	PCR- RCBH
			Ogawa egg	
น้ำบาดาลผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน	1	1	-	+
		2	-	+
	2	1	-	+
		2	-	-
คลอเรลล่าที่เพาะในถังซีเมนต์	1	1	-	-
		2	-	-
	2	1	-	-
		2	-	-
คลอเรลล่าและไรแดงที่เพาะในระบบปลอดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp.	1	1	-	-
		2	-	-
	2	1	-	-
		2	-	-
พ่อแม่พันธุ์ (คู่)		7	0	-
ลูกปลากัด อายุ 10 วัน (ครอก)		7	0	+

หมายเหตุ + คือ ตรวจพบเชื้อ *Mycobacterium* sp., - คือ ตรวจไม่พบเชื้อ *Mycobacterium* sp.
0 คือ ไม่ได้รับการตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp.

วิจารณ์การทดลองที่ 4 การศึกษาการทดลองนำระบบการจัดการฟาร์มแบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดของเอกชน

เมื่อเกษตรกรนำไรแดงปลอดเชื้อไปใช้ในการอนุบาลลูกปลากัดในระบบปลอดเชื้อ พบว่าลูกปลากัดทั้งหมดมีการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. (ตารางผนวกที่ 7 และภาพผนวกที่ 6) ทั้งนี้สาเหตุอาจเกิดจาก

1. เกษตรกรไม่ทำความสะอาดอุปกรณ์โดยการฆ่าเชื้อโรคทุกครั้ง และนำอุปกรณ์ไปใช้นอกเขตพื้นที่ปลอดเชื้อในบางครั้งจึงมีโอกาสดูเชื้อ *Mycobacterium* sp. เข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยงปลากัดปลอดเชื้อ
2. มีผู้ปฏิบัติงานมากกว่า 1 คน ซึ่งอาจให้ความสำคัญในการปฏิบัติตามข้อกำหนดได้ไม่เท่ากัน เนื่องจากผู้ปฏิบัติงานบางคนอาจจะไม่ให้ความสำคัญ และเพิกเฉยที่จะปฏิบัติ เช่น การนำอุปกรณ์นอกเขตพื้นที่การทดลองมาใช้ร่วมกัน หรือใช้น้ำที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อโรคในการทำความสะอาดอุปกรณ์ในขณะที่ผู้ปฏิบัติงานอีกคนปฏิบัติตามอย่างเคร่งครัด
3. มีการใช้อุปกรณ์ตกไรแดงให้ปลาร่วมกับอุปกรณ์ที่ใช้ช้อนไรแดงมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ทำให้เชื้อ *Mycobacterium* sp. ปนเปื้อนในคลอเรลล่าที่ใช้เลี้ยงไรแดง เมื่อไรแดงกินคลอเรลล่าจึงทำให้ติดเชื้อเนื่องจากอาหารมีชีวิตสามารถถ่ายทอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้ (Ross, 1970; Baker และ Hagen, 1942) ซึ่งสุปรานีและเต็มดวง (2535) รายงานว่า เชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถติดต่อผ่านทางเชือบุอาหารแล้วกระจายไปสู่สัตว์ต่างๆ ได้
4. ภายในฟาร์มของเกษตรกรไม่ได้จัดแยกเขตพื้นที่ของปลาป่วยกับระบบการเพาะเลี้ยงแบบปกติอาจเป็นไปได้ที่เกษตรกรจะมีการสัมผัสกับปลาป่วยหรือน้ำที่บรรจุในภาชนะเลี้ยง เมื่อเกษตรกรเข้ามาทำงานในเขตพื้นที่การเพาะเลี้ยงและเขตพื้นที่การทดลอง โดยไม่ได้ผ่านการทำความสะอาด จึงนำเชื้อมาแพร่ในพื้นที่ทดลอง

5. เกษตรกรรับมอบพ่อแม่พันธุ์ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. แล้ว นำไปพักเพื่อรอระยะเวลาให้ปลาพร้อมผสมพันธุ์ ซึ่งช่วงเวลาที่ผู้วิจัยมอบปลาพ่อแม่พันธุ์ให้เกษตรกรนั้นเป็นช่วงที่จังหวัดนครปฐมมีสภาพภูมิอากาศอุณหภูมิต่ำ จึงทำให้พ่อแม่พันธุ์ปลากัดไม่มีพฤติกรรมการผสมพันธุ์ จึงต้องรอจนถึงช่วงเดือนมีนาคม ซึ่งจะมีสภาพภูมิอากาศที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้ระยะเวลา 4 เดือน ที่พ่อแม่พันธุ์ที่อยู่กับเกษตรกรอาจได้รับการปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากกระบวนการเลี้ยงปลากัดแบบปกติที่เกษตรกรปฏิบัติ แต่พ่อแม่พันธุ์ไม่แสดงอาการของวัณโรคปลา เนื่องจากเป็นโรคเรื้อรัง (Plumb, 1994) ซึ่งหากร่างกายได้รับเชื้อโรค แต่อยู่ในสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงที่ดีปลาจะไม่แสดงอาการป่วย หรือจากเทคนิคการตรวจสอบที่มีความเสี่ยงในการตรวจเชื้อโรคไม่พบ เนื่องจากไม่สามารถเก็บตัวอย่างจากอวัยวะภายในจากพ่อแม่พันธุ์มาตรวจสอบได้ อาจทำให้ได้พ่อแม่พันธุ์ที่มีเชื้อโรคแฝงอยู่ สอดคล้องกับรายงานของทัศนและคณะ (2536) ว่าปลาที่ไม่แสดงอาการของโรค แต่มีเชื้อ *Mycobacterium* sp. อยู่ในตัวในปริมาณที่น้อย จะทำให้พ่อแม่ปลาเป็นพาหะของวัณโรคปลาเท่านั้น และสามารถถ่ายทอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ไปสู่ลูกได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง ในตารางผนวกที่ 7 และภาพผนวกที่ 6 ซึ่งพบว่าลูกปลากัดจากพ่อแม่พันธุ์ของระบบการทดลองนี้ทั้งหมดติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ผลการทดลองที่ 5 การศึกษาระบบการจัดการฟาร์มปลากัดของภาคเอกชนและประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดวัณโรคปลากับปัจจัยการผลิตปลากัดจากวิธีการจัดการฟาร์มของภาคเอกชน

ผลการศึกษาระบบการจัดการฟาร์มปลากัดของเอกชน จากเกษตรกรจำนวน 40 ราย จากพื้นที่ 3 จังหวัด คือ นครปฐม เพชรบุรีและกรุงเทพมหานคร แยกออกเป็นจำนวน ดังตารางที่ 6 โดยใช้แบบสอบถามซึ่งมีโครงสร้างแบบสอบถามและหลักเกณฑ์การให้คะแนน (ภาคผนวก ก) ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 7 กลุ่มตัวอย่างของเกษตรกรแยกตามพื้นที่

n = 40

เกษตรกรจากจังหวัด	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
นครปฐม	20	50
เพชรบุรี	15	37.5
กรุงเทพฯ	5	12.5

ผลสำรวจพบว่าเกษตรกรในพื้นที่ 3 จังหวัดนี้มีความแตกต่างกันในด้านของขนาดพื้นที่ ซึ่งฟาร์มที่อยู่ในกรุงเทพฯ เนื่องจากมีพื้นที่ที่มีมูลค่าสูง จึงค่อนข้างจำกัดในด้านของพื้นที่เลี้ยงที่เกษตรกรในกรุงเทพฯ ที่สำรวจมาพบว่า เกษตรกรร้อยละ 100 ที่ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงอยู่ในบริเวณรอบๆ บริเวณบ้านรวมถึงในตัวบ้านพักอาศัยด้วยซึ่งจะมีพื้นที่โดยเฉลี่ยประมาณ 100-150 ตารางเมตรเท่านั้น ซึ่งแตกต่างจากเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดนครปฐมและเพชรบุรีที่จะมีพื้นที่การเพาะเลี้ยงปลาแยกออกมาชัดเจนกับตัวบ้านพักอาศัยและมีพื้นที่โดยเฉลี่ยประมาณ 50-200 ตารางเมตรไม่รวมบริเวณบ้านพักอาศัยด้วย มีโรงเรือนที่ใช้เพาะเลี้ยงโดยเฉพาะ ซึ่งจะมีความแตกต่างกันในพื้นที่ของแต่ละจังหวัด

เกษตรกรผู้เลี้ยงปลากัดในกรุงเทพฯ จะใช้น้ำจากระบบน้ำประปากรองผ่านเครื่องกรองคาร์บอน และมีถังพักน้ำเพื่อสำรองไว้ใช้เมื่อเวลาน้ำประปาไม่ไหล ส่วนภาชนะที่ใช้เลี้ยงแยกได้เป็น 2 ชนิด ตามวัตถุประสงค์ในการใช้ คือ อ่างปูนซีเมนต์กลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.80-1.00 เมตร ใช้นุบาลลูกปลา และใช้ภาชนะเหลี่ยมสีขาววางไว้บนชั้นทั้งภายในและนอกบ้านเลี้ยงปลาให้ได้ขนาดตามที่ตลาดต้องการเมื่อปลากัดอายุได้ 45 วันขึ้นไปแล้ว



ภาพที่ 5 ลักษณะของโรงเรือนเพาะเลี้ยงปลากัดของเกษตรกรในกรุงเทพฯ



ภาพที่ 6 ลักษณะของโรงเรือนเพาะเลี้ยงปลากัดของเกษตรกรในจังหวัดนครปฐม

เกษตรกรในจังหวัดนครปฐม ทำพื้นโรงเรือนเลี้ยงปลากัดด้วยอิฐบล็อกปูซีเมนต์เรียงซ้อนกัน มีความสูง 3 ชั้น วัตถุประสงค์เพื่อป้องกันน้ำขังที่พื้นโรงเรือน และใช้ขวดสุราแบบแบนเลี้ยงปลากัดให้ได้ขนาดตลาด โดยขวดจะเจาะที่ด้านข้างขวดเพื่อให้น้ำและตะกอนสิ่งสกปรกสั่นออกมาเมื่อเวลาถ่ายน้ำ โดยเติมน้ำลงไปในช่วงด้วยขนาดของแรงดันน้ำที่ทำให้ตะกอนของสิ่งสกปรกเคลื่อนที่ขึ้นมาถึงบริเวณด้านข้างของปากขวดที่เจาะช่องไว้ได้ จะเปลี่ยนน้ำในทุกๆ 1-3 วันโดยใช้น้ำประปาที่เป็นน้ำบาดาลในระบบประปาหมู่บ้าน



ภาพที่ 7 ลักษณะของพื้นโรงเรือนเพาะเลี้ยงปลากัดที่ปูด้วยอิฐบล็อกซีเมนต์สูง 3 ชั้น



ภาพที่ 8 ลักษณะของภาชนะเลี้ยงปลากัด คือ ขวดสุราแบบแบน ที่เจาะช่องด้านข้างของขวด



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนถ่ายน้ำโดยใช้แรงดันของน้ำทำให้ตะกอนของสิ่งสกปรกดันออกมาที่ช่องด้านข้างของขวด

เกษตรกรในจังหวัดเพชรบุรีจะมีระบบการเพาะเลี้ยงในภาชนะที่เป็นอ่างทำด้วยปูนซีเมนต์ เพื่อควบคุมอุณหภูมิของน้ำ และป้องกันแสงแดดด้วยผ้าพลาสติกกรองแสง พื้นที่โรงเรือนเป็นพื้นดิน ใช้น้ำบาดาลที่ผ่านระบบประปาหมู่บ้านในการเพาะเลี้ยง ภายในอ่างปูนซีเมนต์จะมีดินเลน

และพืชน้ำปลูกอยู่ด้วยเพื่อช่วยดูดซับตะกอนสารอินทรีย์ โดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิตขาย และปลากัดตัวใดที่มีพฤติกรรมการต่อสู้ที่ดี เกษตรกรจะคัดเลือกปลากัดเลี้ยงไว้ในภาชนะที่เลี้ยงด้วยน้ำที่มีการหมักด้วยใบहुากวาง ด้วยเกษตรกรมีแนวคิดเห็นว่าจะทำให้เกิดของปลากัดมีความแข็งแรง เมื่อนำปลากัดไปต่อสู้จะทำให้ผิวหนังของปลาเกิดบาดแผลได้ยากขึ้น



ภาพที่ 10 ลักษณะของโรงเรือนเพาะเลี้ยงปลากัดของเกษตรกรในจังหวัดเพชรบุรี



ภาพที่ 11 ลักษณะการเลี้ยงปลากัดที่คัดเลือกจากลักษณะการต่อสู้ที่ดี

5.1 ผลการศึกษาด้านคุณภาพน้ำ

5.1.1 แหล่งน้ำที่ใช้ในระบบการเพาะเลี้ยง

การศึกษาการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่า แหล่งน้ำที่ใช้ในระบบการเพาะเลี้ยงปลากัด มีผลดังตารางที่ 8 ซึ่งเกษตรกรมีความคิดเห็นว่าน้ำประปาและน้ำบาดาลที่ผ่านระบบประปาหมู่บ้านผ่านการฆ่าเชื้อโรคจากสารเคมีเรียบร้อยแล้ว จึงนิยมใช้น้ำจากแหล่งน้ำเหล่านี้ น้ำบาดาลจะเป็นน้ำที่ใช้ในระบบสาธารณสุขปกติของเกษตรกรในจังหวัดนครปฐมและเพชรบุรี โดยจะนำมาแปรรูปให้อยู่ในระบบน้ำประปาหมู่บ้านผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยสารเคมี

ตารางที่ 8 ผลการสำรวจแหล่งน้ำที่เกษตรกรเลือกใช้เพาะเลี้ยงปลากัด

n = 40

แหล่งน้ำที่เกษตรกรเลือกใช้	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
น้ำประปา	23	57.5
น้ำบาดาล	16	40.0
น้ำจากแม่น้ำลำคลองร่วมกับน้ำบาดาล	1	2.5
เกษตรกรในจังหวัดนครปฐม		
น้ำประปา	8	20.0
น้ำบาดาล	12	30.0
เกษตรกรในจังหวัดเพชรบุรี		
น้ำประปา	10	25.0
น้ำบาดาล	4	10.0
น้ำจากแม่น้ำลำคลองร่วมกับน้ำบาดาล	1	2.5
เกษตรกรในกรุงเทพฯ		
น้ำประปา	5	12.5

5.1.2 วิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์ม

การศึกษาการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่า เกษตรกรมีวิธีการเตรียมน้ำดังตารางที่ 9 โดยเกษตรกรมีความคิดเห็นว่าน้ำประปาและน้ำบาดาลที่ผ่านระบบประปาหมู่บ้านผ่านการฆ่าเชื้อโรคจากสารเคมีเรียบร้อยแล้ว การพักน้ำทิ้งไว้เพื่อให้สารเคมีที่มากับน้ำสลายฤทธิ์จึงเพียงพอแล้วสำหรับการเพาะเลี้ยง เกษตรกรจึงไม่นิยมใช้ระบบกรองน้ำในการเตรียมน้ำ เพื่อ

ประหยัดต้นทุน และเกษตรกรบางรายไม่ได้จัดพื้นที่หรือมีต้นทุน สำหรับระบบพักน้ำก่อนใช้งาน จึงใช้น้ำจากหัวเปิดจ่ายน้ำนำมาใช้งานทันที

ตารางที่ 9 ผลการสำรวจวิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดของเกษตรกร

n = 40

วิธีการเตรียมน้ำ	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
มีระบบพักน้ำ	18	45.0
มีระบบพักน้ำที่นำไปหูกวางแช่ทิ้งไว้	6	15.0
เติมอากาศลงในน้ำ	1	2.5
ใช้น้ำที่ผ่านระบบกรองน้ำและเก็บไว้ในระบบบ่อพักน้ำ	1	2.5
ใช้น้ำที่ผ่านระบบกรองน้ำและนำไปหูกวางแช่ทิ้งไว้	1	2.5
ไม่มีเตรียมน้ำก่อนใช้งาน	13	32.5

ประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของ วัณโรคปลาภายในฟาร์มกับวิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์ม

ตารางที่ 10 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาภายในฟาร์มกับวิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์ม

n = 40

ปัจจัยด้านคุณภาพน้ำ	ระดับรุนแรงการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรค(ร้อยละ)				ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
วิธีการเตรียมน้ำ	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	0.243	0.163

ผลประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวัณโรคปลากับวิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์ม พบว่า ค่า Spearman correlation เท่ากับ 0.243 และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.163 ซึ่งมากกว่า 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการของวัณโรคปลาภายในฟาร์มไม่มีความสัมพันธ์กับวิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.1.3 การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำ

การศึกษาการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่า สารเคมีที่เกษตรกรใช้ฆ่าเชื้อโรคในน้ำแสดง ดัง ตารางที่ 11 โดยเกษตรกรใช้คลอรีนซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส นอกจากนี้เกษตรกรยังใช้โพวิโดนไอโอดีน ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเช่นกัน แต่เกษตรกรผู้ให้ความคิดเห็นว่าสารเคมีทั้ง 2 ชนิด หาซื้อยาก มีราคาแพงและเกรงว่าจะเป็นอันตรายต่อปลากัด เกษตรกรบางรายจึงเลือกใช้เกลือ คลอรีน ด่างทับทิม ในขณะที่เกษตรกรบางส่วนหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี เพราะเกรงว่าสารเคมีที่ใช้จะทำอันตรายต่อปลากัด

ตารางที่ 11 ผลสำรวจการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำ

n = 40

สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำ	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
คลอรีน	5	12.5
โพวิโดนไอโอดีน	5	12.5
ฟอร์มาลิน เกลือ ด่างทับทิม ยาออกซิเตตราซัยคลิน	12	30
ไม่มีการใช้สารเคมี	18	45

ประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำ

ตารางที่ 12 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำ

n = 40

ปัจจัย ด้านคุณภาพน้ำ	ระดับรุนแรงของอาการเสี่ยงต่อวันโรคปลา (ร้อยละ)				ค่า สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
การใช้สารเคมีฆ่า เชื้อโรคในน้ำ	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	0.357	0.024

ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของ วัณโรคปลา กับสารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์มพบว่า ค่า Spearman correlation เท่ากับ 0.357 และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.024 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลา ภายในฟาร์มมีความสัมพันธ์กับการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ระดับ ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กล่าวคือ การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำมีระดับความสัมพันธ์กับการเกิด อาการเสี่ยงของวัณโรคปลาที่อัตราร้อยละ 35.7

5.1.4 การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์

การศึกษาการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่า สารเคมีที่เกษตรกรใช้ฆ่าเชื้อ โรคในอุปกรณ์ แสดงในตารางที่ 13 เกษตรกรมีวิธีการฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์ด้วยวิธีการแช่อุปกรณ์ ลงไปในสารเคมีที่ละลายน้ำแล้วตามการคาดคะเนของแต่ละบุคคลโดยไม่มีการชั่งตวงวัดที่แน่นอน เช่น ถ้าเกษตรกรรายใดใช้ด่างทับทิมเป็นสารเคมีฆ่าเชื้อโรค โดยการสังเกตสีของสารละลายต่าง ทับทิมให้สารละลายมีสีชมพูบานเย็น หลังจากแช่อุปกรณ์ในสารละลายดังกล่าวเป็นเวลานานครึ่ง วัน จึงนำไปแขวนตากแดดให้แห้ง หรือการใช้เกลือ เกษตรกรจะคาดคะเนปริมาณที่ใช้โดยใช้ ปริมาณเป็นหน่วยกำมือของเกษตรกรเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาตรของน้ำในภาชนะที่บรรจุเป็นลิตร ส่วนปริมาณการใช้คลอรีนและโพวิโดนไอโอดีนนั้น เกษตรกรจะปฏิบัติตามสลากข้างบรรจุภัณฑ์ อย่างเคร่งครัด และแช่อุปกรณ์ทิ้งไว้นาน 1 คืน จึงนำมาแขวนตากแดด เป็นต้น

ตารางที่ 13 ผลสำรวจการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์

n = 40

สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
คลอรีน	3	7.5
โพวิโดนไอโอดีน	5	12.5
ฟอร์มาลิน เกลือ ด่างทับทิม ยาเหลือง	10	25
ไม่มีการใช้สารเคมี	22	55

ประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์

ตารางที่ 14 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์

n = 40

ปัจจัย ด้านคุณภาพน้ำ	ระดับรุนแรงของอาการเสี่ยงต่อวันโรคปลา (ร้อยละ)				ค่า สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
การใช้สารเคมีฆ่า เชื้อโรค ในอุปกรณ์	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	0.523	0.015

ผลประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์พบว่า ค่า Spearman correlation เท่ากับ 0.523 และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.015 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มมีความสัมพันธ์กับการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 กล่าวคือ การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์มีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาที่ระดับร้อยละ 52.3

5.1.5 การเปลี่ยนถ่ายน้ำ

การศึกษากิจการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่า เกษตรกรมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำในควมถี่ที่แตกต่างกันดัง ตารางที่ 15 เกษตรกรในแต่ละพื้นที่จะมีพฤติกรรมการเปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตราความถี่ที่แตกต่างกัน จากข้อมูลเกษตรกรในจังหวัดนครปฐมและกรุงเทพฯ นั้นจะมีอัตราความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำมากกว่า โดยบางรายอาจจะมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ วัน หรืออย่างช้าที่สุดจะเป็นเวลาในทุกๆ 7 วันเท่านั้น เนื่องจากเกษตรกรในพื้นที่ 2 จังหวัดนี้ เลี้ยงปลากัดในภาชนะที่เป็นขวด หรือเป็นภาชนะเหลี่ยมที่มีขนาดเล็กเลี้ยงปลา ทำให้น้ำที่ใช้เลี้ยงมีคุณภาพต่ำได้ง่าย เนื่องจากการสะสมของมูลและเศษอาหารที่ปลากินไม่หมด ส่งผลให้ปลาป่วยได้ง่าย ดังนั้น เกษตรกรจึงมีความจำเป็นต้องเปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตราที่ถี่มากกว่าเกษตรกรที่เลี้ยงปลากัดในจังหวัดเพชรบุรีที่เลี้ยงปลากัดในอ่างซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอ่างประมาณ 1-1.5 เมตร ปลุกพืชน้ำ

เช่น ผักบุ้ง ผักแว่น เป็นต้น ไว้เพื่อดูดซับสารอินทรีย์ที่ตกค้างอยู่ในบ่อ เกษตรกรมีความคิดเห็นว่าการเปลี่ยนถ่ายน้ำไม่ใช่เรื่องสำคัญ เพียงแค่หมั่นเติมน้ำสะอาดเพิ่มเติมจากระดับน้ำที่ลดลงก็เพียงพอแล้ว

ตารางที่ 15 ผลสำรวจความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากัด

n = 40

ความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ระยะเวลาไม่เกินทุกๆ 3 วัน	20	50
ระยะเวลาไม่เกินทุกๆ 7 วัน	8	20
ระยะเวลาไม่เกินทุกๆ 14 วัน	2	5
ระยะเวลาไม่เกินทุกๆ 30 วัน	5	12.5
เก็บเกี่ยวผลผลิต	5	12.5

ประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ

ตารางที่ 16 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ

n = 40

ปัจจัย ด้านคุณภาพน้ำ	ระดับรุนแรงของอาการเสี่ยงต่อวันโรคปลา (ร้อยละ)				ค่า สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
ความถี่ของการ เปลี่ยนถ่ายน้ำ	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	-0.050	0.758

ผลประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลากับความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ พบว่า ค่า Spearman correlation เท่ากับ - 0.050 และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.758 ซึ่งมากกว่า 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการของวันโรคปลาภายในฟาร์มไม่มีความสัมพันธ์กับความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดสอบสมมุติฐานที่ 1 ปัจจัยการผลิตด้านคุณภาพน้ำมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดอาการเหี่ยววัน โรคปลาทั้ง 4 ปัจจัยย่อยนั้น สามารถสรุปได้ว่าปัจจัยการผลิตด้านคุณภาพน้ำที่มีผลต่อการเกิดอาการวันโรคปลาภายในฟาร์มของเกษตรกร คือ สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อโรคในน้ำและอุปกรณ์ที่ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด ส่วนวิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ในฟาร์มและความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำไม่เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดอาการวันโรคปลาภายในฟาร์มของเกษตรกร

5.2 ผลการศึกษาด้านอาหารมีชีวิต

5.2.1 อาหารมีชีวิตที่ใช้ในฟาร์ม

การศึกษานิดของอาหารมีชีวิตที่ใช้ในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดแสดงดัง ตารางที่ 17 พบว่า เกษตรกรต้องมีอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงปลากัดภายในฟาร์มอยู่หลายชนิด เนื่องจากความต้องการอาหารและขนาดของปากปลาในแต่ละวัยจะแตกต่างกัน ไโรแดงและหนอนจิ๋ว จะนิยมใช้เลี้ยงปลากัดเมื่อมีอายุ 4 วันถึง 45 วัน และเกษตรกรจะนิยมใช้ลูกน้ำและหนอนแดง ซึ่งบางรายผสมกับไข่ตุ๋นควบคู่ไปด้วย เพื่อเลี้ยงปลากัดที่มีอายุ 45 วันขึ้นไปจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิต

ตารางที่ 17 ผลสำรวจชนิดของอาหารมีชีวิตที่ใช้ในฟาร์มของเกษตรกร

n = 40

ชนิดของอาหารมีชีวิต	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ไโรแดง	12	30
หนอนจิ๋ว (Microworm)	1	2.5
ลูกน้ำและไโรแดง	24	60
ใช้หนอนแดงและไโรแดงร่วมกัน	1	2.5
ใช้ลูกน้ำ หนอนแดงและไโรแดงร่วมกัน	2	5

5.2.2 แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่มีการใช้ในฟาร์ม

เกษตรกรรวบรวมอาหารมีชีวิตมาจากแหล่งที่มาแตกต่างกันดัง ตารางที่ 18 ไโรแดงและลูกน้ำของ เกษตรกร ร้อยละ 67.5 ใช้ไโรแดงซึ่งเพาะเลี้ยงในบ่อดินมีราคา 25-30 บาทต่อกิโลกรัม เกษตรกรเพียงร้อยละ 12.5 ที่ซื้อไโรแดงจากผู้ผลิตที่เพาะไโรแดงในบ่อปูน ราคา 100 บาทต่อกิโลกรัม เพื่อเป็นการลดต้นทุนเกษตรกรจึงต้องใช้อาหารมีชีวิตที่ราคาถูก ให้สอดคล้องกับราคาขายของปลากัดที่มีราคาถูก เนื่องจากการผลิตไโรแดงจากบ่อปูนนั้นจะต้องเติมปุ๋ยวิทยาศาสตร์และ

สารอินทรีย์ เช่น รา ปลาปน เป็นต้น รวมทั้งต้องมีค่าใช้จ่ายในส่วนของการก่อสร้างบ่อ การใช้ไฟฟ้า ในอุปกรณ์ เช่น ปั๊มลม จึงทำให้ผู้ผลิตไรแดงด้วยบ่อปูนนั้นต้องขายไรแดงในราคาที่สูงกว่าผู้ผลิตไรแดงจากบ่อดินที่อาศัยสารอินทรีย์จากแหล่งน้ำธรรมชาติ และการเติมปุ๋ยมูลสัตว์เท่านั้น จึงทำให้มีต้นทุนการผลิตที่สูงกว่า ไม่พบเกษตรกรใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูป เนื่องจากมีระดับปริมาณของโปรตีนน้อยกว่าอาหารมีชีวิต และเกษตรกรสังเกตว่าอาหารเม็ดเป็นสาเหตุทำให้ปลามีอาการท้องอืดบวม เมื่อปลากินเป็นจำนวนมาก

ตารางที่ 18 ผลสำรวจแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่มีการใช้ในฟาร์มของเกษตรกร

n = 40

แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิต	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ซื้อจากผู้ผลิตอาหารมีชีวิตในบ่อดิน	13	32.5
เก็บเกี่ยวในแหล่งน้ำธรรมชาติและซื้อจากผู้ผลิตอาหารมีชีวิตในบ่อดิน	10	25
เพาะเลี้ยงด้วยตนเองในบ่อดิน	7	17.5
ซื้อจากผู้ผลิตอาหารมีชีวิตในบ่อปูน	4	10
เก็บเกี่ยวในแหล่งน้ำธรรมชาติ	3	7.5
ซื้อจากผู้ผลิตอาหารมีชีวิตในบ่อปูนร่วมกับเพาะเลี้ยงด้วยตนเองในบ่อดิน	1	2.5
ซื้อจากผู้ผลิตอาหารมีชีวิตและเพาะเลี้ยงด้วยตนเองในบ่อดิน	1	2.5

ประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวัน โรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิต

ตารางที่ 19 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการ
เสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิต

n = 40

ปัจจัย ด้านอาหารมีชีวิต	ระดับรุนแรงของอาการเสี่ยงต่อวันโรคปลา (ร้อยละ)				ค่า สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
แหล่งที่มาของ อาหารมีชีวิต	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	0.394	0.012

ผลประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลากับแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิต พบว่า ค่า Spearman correlation เท่ากับ 0.394 และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.012 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มมีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาอาหารมีชีวิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กล่าวคือ แหล่งที่มาอาหารมีชีวิตมีความสัมพันธ์ในการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มที่ระดับร้อยละ 39.4

5.2.3 วิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์ม

เกษตรกรมีวิธีการล้างทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่แตกต่างกันดัง ตารางที่ 20 เกษตรกรในส่วนที่เคยได้รับข้อมูลจากกรมประมง หรือจากผู้มีประสบการณ์จะเลือกสารละลายด่างทับทิมล้างฆ่าเชื้อโรคอาหารมีชีวิตก่อนใช้ เพราะเกษตรกรทราบว่าด่างทับทิมสามารถฆ่าปรสิตภายนอกที่ปนเปื้อนมากับอาหารมีชีวิตที่มาจากแหล่งธรรมชาติได้ เช่น เห็บระฆัง ปลิงโต เป็นต้น เกษตรกรบางรายใช้เพียงน้ำประปาสะอาดล้างอาหารมีชีวิต เพราะเกรงว่าอาหารมีชีวิตที่นำมาให้ปลาจะตายถ้ามีการล้างฆ่าเชื้อโรคด้วยสารเคมี แต่เกษตรกรที่ใช้ด่างทับทิมล้างฆ่าเชื่อนั้นระบุว่า สารละลายด่างทับทิมทำให้อาหารมีชีวิต เช่น ลูกน้ำ ไรแดง ตายในปริมาณที่น้อยมาก แต่ปลาก็กินอาหารที่ตายเหล่านั้นเป็นอาหารได้

ตารางที่ 20 ผลสำรวจสารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์ม

n = 40

วิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์ม	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ใช้น้ำประปาสะอาดล้างนานประมาณ 1 นาที	24	60
ไม่มีการล้างฆ่าเชื้อโรค	8	20
ล้างฆ่าเชื้อโรคด้วยด่างทับทิม	7	17.5
ล้างฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีน	1	2.5

ประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวัน โรคปลาภายในฟาร์มกับวิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์ม

ตารางที่ 21 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับวิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิต

n = 40

ปัจจัย ด้านอาหารมีชีวิต	ระดับรุนแรงของอาการเสี่ยงต่อวันโรคปลา (ร้อยละ)				ค่า สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
วิธีฆ่าเชื้อโรค อาหารมีชีวิต	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	0.058	0.000

ผลประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวัน โรคปลากับวิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์ม พบว่า ค่า Spearman correlation เท่ากับ 0.58 และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.000 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการของวัน โรคปลาภายในฟาร์มมีความสัมพันธ์กับวิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 99 กล่าวคือ วิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์มมีความสัมพันธ์ในการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มที่ระดับร้อยละ 58

5.2.4 แหล่งที่มาของน้ำเขียว (*Chlorella* sp.) ที่นำมาใช้เพาะไรแดง

การศึกษากิจการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่า เกษตรกรใช้น้ำเขียวจากแหล่งที่แตกต่างกันดัง ตารางที่ 22

ตารางที่ 22 ผลสำรวจแหล่งที่มาของน้ำเขียว (*Chlorella* sp.) ที่นำมาใช้เพาะไรแดง

n = 40

แหล่งที่มาของน้ำเขียว (<i>Chlorella</i> sp.)	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ใช้น้ำเขียวจากบ่อดินหรือคลองร่วมกับปุ๋ยคอก	33	82.5
ใช้น้ำเขียวจากห้องปฏิบัติการและบ่อดินร่วมกับปุ๋ยคอก	5	12.5
จากบ่อดินหรือคลองร่วมกับปุ๋ยวิทยาศาสตร์	1	2.5
ใช้น้ำเขียวจากห้องปฏิบัติการและบ่อดินร่วมกับปุ๋ยวิทยาศาสตร์	1	2.5

ประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวัน โรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของน้ำเขียว (*Chlorella* sp.)

ตารางที่ 23 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวัน โรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของน้ำเขียวคลอเรลล่า (*Chlorella* sp.)

n = 40

ปัจจัย ด้านอาหารมีชีวิต	ระดับรุนแรงของอาการเสี่ยงต่อวัน โรคปลา (ร้อยละ)				ค่า สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
แหล่งที่มาของ คลอเรลล่า	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	0.361	0.022

ผลประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวัน โรคปลากับแหล่งที่มาของน้ำเขียวพบว่า ค่า Spearman correlation เท่ากับ 0.361 และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.022 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการของวัน โรคปลาภายในฟาร์มมีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของคลอเรลล่าที่ใช้ภายในฟาร์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ

95 กล่าวคือ แหล่งที่มาของน้ำเขียว (*Chlorella* sp.) มีความสัมพันธ์ในการเกิดอาการเสียงของวันโรคปลาภายในฟาร์มที่ระดับร้อยละ 36.1

จากผลการทดสอบสมมุติฐานที่ 2 ปัจจัยการผลิตด้านอาหารทั้ง 3 ปัจจัยย่อย สามารถสรุปได้ว่าเกษตรกรมีความคิดเห็นว่า ปัจจัยการผลิตด้านอาหารมีผลต่อการเกิดอาการวันโรคปลาภายในฟาร์มของเกษตรกร คือ แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่มีการใช้ในฟาร์ม วิธีการฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์ม และแหล่งที่มาของน้ำเขียว (*Chlorella* sp.) ที่นำมาใช้เพาะไรแดง

5.3 ผลการศึกษาด้านพ่อแม่พันธุ์

5.3.1 แหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์

การศึกษากิจการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่าเกษตรกรใช้พ่อแม่พันธุ์แตกต่างกันดัง ตารางที่ 24 โดยเกษตรกรใช้พ่อแม่พันธุ์จากต่างฟาร์มเพื่อป้องกันการชิดกันของสายเลือด

ตารางที่ 24 ผลสำรวจแหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์ปลากัดที่ใช้ภายในฟาร์ม

n = 40

แหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ใช้พ่อแม่พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงเองร่วมกับรวบรวมจากผู้เพาะเลี้ยงรายอื่น	20	50
รวบรวมจากผู้เพาะเลี้ยงรายอื่น	13	32.5
ใช้พ่อแม่พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงเอง	7	17.5

ประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์

ตารางที่ 25 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์

n = 40

ปัจจัย ด้านพ่อแม่พันธุ์	ระดับรุนแรงของอาการเสี่ยงต่อวันโรคปลา (ร้อยละ)				ค่า สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
แหล่งที่มาของ พ่อแม่พันธุ์	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	-0.136	0.403

ผลประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลากับแหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์ พบว่า ค่า Spearman correlation เท่ากับ -0.136 และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.403 ซึ่งมากกว่า 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการของวันโรคปลาภายในฟาร์มไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้ภายในฟาร์มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.3.2 วิธีการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์

การศึกษาการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่าเกษตรกรใช้พ่อแม่พันธุ์ที่มีการพิจารณาที่แตกต่างกันดัง ตารางที่ 26 โดยลักษณะรูปพรรณสัณฐานที่เกษตรกรจะต้องผลิตปลากัดให้มีลักษณะเหล่านี้ ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาด คือ ลำตัวมีรูปร่างแบนยาว ปากเขี้ยวเล็กน้อย มีครีบออกยาวเท่ากัน หางได้รูปตามลักษณะของสายพันธุ์ เช่น หางรูปใบโพธิ์ หางรูปครึ่งวงกลม หางรูปสามเหลี่ยม โดยได้สมมาตรกัน มีสีสันทึบสวยงาม เป็นสีเดียว เนียนเรียบตลอดทั้งลำตัว เช่น สีแดง สีน้ำเงินเหมือนกันตลอดทั้งลำตัว ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะต้องมีการพัฒนาที่คงที่แล้วจากพ่อแม่พันธุ์ และจะต้องคัดเลือกจากฟาร์มที่ไม่มีประวัติเป็นโรค เช่น ปรสิตรภายนอก โรคสนิม โรคจากเชื้อรา โดยเฉพาะโรควันโรคปลาที่สามารถถ่ายทอดจากพ่อแม่สู่ลูกได้ ในบางพื้นที่ คือ จังหวัดเพชรบุรี เกษตรกรจะต้องคำนึงถึงอีกหนึ่งปัจจัย คือ เอกลักษณะการต่อสู้ที่มีความดุขัน มีนิสัยการกัดโดยไม่เลิกกัดกับคู่ต่อสู้โดยง่าย มีเกล็ดที่แข็ง มีพื้นที่แหลมคม เป็นต้น

ตารางที่ 26 ผลสำรวจวิธีการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์

n = 40

หลักเกณฑ์การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
เกษตรกรพิจารณาจากลักษณะรูปพรรณสัณฐาน	14	35
เกษตรกรพิจารณาจากฟาร์มที่ไม่มีประวัติด้านโรค	3	7.5
เกษตรกรพิจารณาจากการพัฒนาลักษณะทางพันธุกรรมที่คงที่	5	12.5
เกษตรกรพิจารณาจากเอกลักษณ์การต่อสู้ที่เฉพาะตัว	5	12.5
เกษตรกรพิจารณาจากสีขนสวยงาม	2	5
คำนึงถึงหลายๆ ปัจจัยร่วมกัน	11	27.5

5.3.3 พื้นที่กักกันโรค

เกษตรกรจัดเขตพื้นที่กักกันโรคปลาที่นำเข้ามาใหม่ภายในฟาร์ม โดยจากผลการสำรวจเป็นไปดัง ตารางที่ 27

ตารางที่ 27 ผลสำรวจการจัดเขตพื้นที่กักกันโรคภายในฟาร์ม

n = 40

การจัดเขตพื้นที่กักกันโรคภายในฟาร์ม	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
เกษตรกรจัดเขตพื้นที่กักกันโรคอย่างชัดเจน	16	40
เกษตรกรไม่จัดเขตพื้นที่กักกันโรค แต่แยกอุปกรณ์	14	35
เกษตรกรไม่จัดเขตพื้นที่กักกันโรค	9	22.5
เกษตรกรจัดเขตพื้นที่กักกันโรคอย่างชัดเจน แต่ไม่แยกอุปกรณ์	1	2.5

ประเมินความคิดเห็นเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวัณโรคปลาภายในฟาร์มกับการจัดเขตพื้นที่กักกันโรคของพ่อแม่พันธุ์ที่นำเข้ามาจากฟาร์มอื่น

ตารางที่ 28 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาภายในฟาร์มกับการจัดเขตพื้นที่กักกันโรคของพ่อแม่พันธุ์ที่นำเข้ามาจากฟาร์มอื่นๆ

n = 40

ปัจจัย ด้านพ่อแม่พันธุ์	ระดับรุนแรงของอาการเสี่ยงต่อวัณโรคปลา (ร้อยละ)				ค่า สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
เขตพื้นที่กักกัน โรคของพ่อแม่ พันธุ์จากฟาร์มอื่น	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	0.529	0.000

ผลประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาภายในฟาร์มกับการจัดเขตพื้นที่กักกันโรคของพ่อแม่พันธุ์ที่นำเข้ามาจากฟาร์มอื่น พบว่าค่า เท่ากับ 0.529 ค่า Spearman correlation และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.000 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการของวัณโรคปลาภายในฟาร์มมีความสัมพันธ์กับการจัดเขตพื้นที่กักกันโรคของพ่อแม่พันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 99 กล่าวคือ การจัดเขตพื้นที่กักกันโรคของพ่อแม่พันธุ์มีความสัมพันธ์ในการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาที่ระดับร้อยละ 52.9

5.3.4 ชนิดของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

การศึกษาการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่า เกษตรกรให้อาหารมีชีวิตแก่พ่อแม่พันธุ์ มีความแตกต่างกันดัง ตารางที่ 29 ไรแดงเป็นอาหารมีชีวิตที่นิยมเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ซึ่งนำมาผสมกับไข่ตุ๋นด้วย เนื่องจากหาง่าย เพราะมีผู้ผลิตขายอยู่จำนวนมาก แต่จากการสอบถามจากเกษตรกรพบว่า เกษตรกรมีความต้องการลูกน้ำมากกว่า แต่มีผู้ผลิตลูกน้ำและลูกน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติมีจำนวนน้อยจึงทำให้เกษตรกรหาลูกน้ำมาใช้เป็นอาหารปลาได้ยาก

ตารางที่ 29 ผลสำรวจชนิดของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

n = 40

ชนิดของอาหารมีชีวิต	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ไรแดง	21	52.5
ลูกน้ำ	9	22.5
ไรแดงและลูกน้ำ	7	17.5
ไรแดงและหนอนจิ๋ว	3	7.5

5.3.5 แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

การศึกษาการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่าเกษตรกรใช้อาหารมีชีวิตให้กับพ่อแม่พันธุ์ เช่น ไรแดง ลูกน้ำ เป็นต้น โดยมีแหล่งที่มาที่แตกต่างกันดัง ตารางที่ 30 อาหารมีชีวิตที่เก็บเกี่ยวจากแหล่งน้ำธรรมชาติจะประกอบด้วยไรแดงและลูกน้ำ แต่เนื่องจากไรแดงที่เกิดจากบ่อดินที่เป็นแหล่งน้ำธรรมชาตินั้นไม่สามารถคาดคะเนผลผลิตที่ต้องการได้แน่นอนตามความต้องการหรือมีปริมาณน้อยไม่เพียงพอ ทำให้เกษตรกรบางรายมีการเพาะเลี้ยงไว้ใช้เอง โดยมีเกษตรกรเพียงร้อยละ 7.5 เท่านั้นที่เพาะเลี้ยงไรแดงด้วยตนเองในบ่อดินที่ตนเองมีอยู่ โดยเติมปุ๋ยมูลหมูที่หาซื้อได้ง่ายจากบริเวณจังหวัดนครปฐม เกษตรกรในกรุงเทพฯ และเพชรบุรีเพาะเลี้ยงไรแดงไว้ใช้เองในบ่อปูนร้อยละ 2.5 ซึ่งใช้สูตรปุ๋ยวิทยาศาสตร์ผสมกับกากน้ำตาล รำ ปลาป่นปราศจากการใช้ปุ๋ยมูลสัตว์ เช่นเดียวกับผู้วิจัย แต่ใช้หัวเชื้อไรแดงจากการซื้อจากผู้ผลิตไรแดงจากบ่อดิน ผ่านการล้างฆ่าเชื้อโรคด้วยด่างทับทิมและใช้น้ำจากระบบประปาหมู่บ้านซึ่งเป็นน้ำบาดาลที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยสารเคมีอีกครั้งก่อนใช้งาน



ภาพที่ 12 บ่อปูนเพาะเลี้ยงไรแดง

ตารางที่ 30 ผลสำรวจแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

n = 40

แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิต	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
เก็บเกี่ยวในแหล่งน้ำธรรมชาติและซื้อจากผู้ผลิตอาหารมีชีวิตในบ่อดิน	26	68
ซื้อจากผู้ผลิตอาหารมีชีวิตในบ่อดิน	7	17.5
เก็บเกี่ยวในแหล่งน้ำธรรมชาติและเพาะเลี้ยงด้วยตนเองในบ่อดิน	2	5
ผลิตหรือซื้อจากผู้ผลิตอาหารมีชีวิตในบ่อปูน	4	10
ซื้อจากผู้ผลิตอาหารมีชีวิตในบ่อปูนร่วมกับเพาะเลี้ยงด้วยตนเองในบ่อดิน	1	2.5

ประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

ตารางที่ 31 ผลการประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาภายในฟาร์มกับแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

n = 40

ปัจจัย ด้านพ่อแม่พันธุ์	ระดับรุนแรงของอาการเสี่ยงต่อวันโรคปลา (ร้อยละ)				ค่า สัมประสิทธิ์ สหสัมพันธ์ (Spearman correlation)	Approximate significant (ค่า Approx. sig.)
	ต่ำ	ปานกลาง	สูง	รวม (ร้อยละ)		
แหล่งที่มาของ อาหารมีชีวิตที่ใช้ เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์	20 (50)	6 (15)	14 (35)	40 (100)	0.321	0.050

ผลประเมินความคิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการของวันโรคปลากับแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์พบว่า ค่า Spearman correlation เท่ากับ 0.321 และค่า Approx. sig. เท่ากับ 0.050 ซึ่งเท่ากับ 0.05 แสดงว่าการเกิดอาการของวันโรคปลาภายในฟาร์มมีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ณ ระดับร้อยละ 95 กล่าวคือแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์มีความสัมพันธ์ในการเกิดอาการเสี่ยงของวันโรคปลาที่ระดับร้อยละ 32.1

จากผลการทดสอบสมมุติฐานที่ 3 ปัจจัยการผลิตด้านอาหารทั้ง 3 ปัจจัยย่อย สามารถสรุปความคิดเห็นของเกษตรกรได้ว่าปัจจัยการผลิตด้านพ่อแม่พันธุ์มีผลต่อการเกิดอาการวันโรคปลาภายในฟาร์มของเกษตรกร คือ พื้นที่กักกันโรค และแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ ส่วนแหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์ปลากัดที่ใช้ภายในฟาร์ม เป็นปัจจัยที่ไม่มีผลต่อการเกิดอาการวันโรคปลาภายในฟาร์มของเกษตรกร

5.4 ผลการศึกษาด้านโรค

5.4.1 การป้องกันการเกิดโรคภายในฟาร์ม

การศึกษาการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลา กัด พบว่าเกษตรกรมีหลักปฏิบัติในการป้องกันโรคที่แตกต่างกัน ดัง ตารางที่ 32 เกษตรกรให้ความสำคัญกับการใช้พ่อแม่พันธุ์ปลากัดจากฟาร์มที่ไม่มีประวัติการเป็นโรค หรือเป็นในปริมาณน้อยที่สุด โดยเฉพาะโรคที่สามารถถ่ายทอดจากพ่อแม่สู่ลูกได้ หากภายในฟาร์มใดมีประวัติของโรคนี้ แต่ขาดความรู้ด้านรักษาโรค วิธีการฆ่าเชื้อโรคในน้ำที่ใช้ ในอาหารและอุปกรณ์ที่ใช้ในฟาร์มสามารถส่งผลให้เชื้อโรคแพร่กระจายในระบบการเลี้ยงและถ่ายทอดจากปลารุ่นพ่อแม่สู่ลูกปลารุ่นถัดไปได้ โดยเมื่อเกษตรกรไปคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่ฟาร์มจะใช้เวลานานในการสำรวจระบบการเพาะเลี้ยง หรืออาศัยความสนิทสนมระหว่างเกษตรกรกับผู้ขาย หลังจากนั้นจึงนำปลาที่ซื้อมาใหม่แยกภาชนะเลี้ยงไว้จากปลาที่มีอยู่เดิม มีเกษตรกรเพียงบางส่วนที่จัดทำเขตกักกันโรค เพื่อสังเกตอาการก่อนนำมาเข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยง ส่วนเรื่องการล้างทำความสะอาด ฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตและในน้ำนั้น เกษตรกรให้ความสำคัญรองลงมา เนื่องจากเกษตรกรมีความคิดเห็นว่ น้ำและอาหารมีชีวิตที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อโรค จะสามารถเป็นสาเหตุนำเชื้อโรคเข้าสู่ฟาร์ม เกษตรกรจึงมีความคิดเห็นว่ใช้น้ำประปาในการเพาะเลี้ยง และทำความสะอาดอาหารมีชีวิต เพียงพอกับการป้องกันโรค

ตารางที่ 32 ผลสำรวจหลักปฏิบัติการป้องกันโรคภายในฟาร์มปลากัด

n = 40		
หลักปฏิบัติการป้องกันโรคภายในฟาร์ม	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
เกษตรกรใช้พ่อแม่พันธุ์จากฟาร์มที่ไม่มีประวัติเป็นโรค	19	47.5
เกษตรกรใช้อาหารมีชีวิตที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรค	10	25
เกษตรกรใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรค	7	17.5
เกษตรกรใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคและใช้อาหารมีชีวิตที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรค	2	5
เกษตรกรใช้อาหารมีชีวิตที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคและใช้พ่อแม่พันธุ์จากฟาร์มที่ไม่มีประวัติเป็นโรค	1	2.5
เกษตรกรใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคและใช้พ่อแม่พันธุ์จากฟาร์มที่ไม่มีประวัติเป็นโรค	1	2.5

5.4.2 อาการป่วยของปลากัดที่พบภายในฟาร์ม

เกษตรกรพบอาการป่วยของปลากัดต่างๆ หลายโรคในฟาร์ม ดัง ตารางที่ 33

ตารางที่ 33 ผลสำรวจอาการป่วยของปลาภายในฟาร์ม

n = 40

อาการป่วยที่พบในฟาร์ม	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
อาการเกล็ดตั้ง	16	40
อาการมีเชื้อรา	10	25
อาการลำตัวมีสีสนิม	7	17.5
ลำตัวมีอาการลึบและแข็ง	4	10
อาการตัวเปื่อย	3	7.5

โรคในปลากัดที่เกษตรกรพบมากที่สุด คือ โรคเกล็ดตั้งซึ่งจะพบในปลาที่มีอายุไม่เกิน 45 วัน เกษตรกรรักษาโรคโดยเปลี่ยนถ่ายน้ำออกปริมาณร้อยละ 50 ของน้ำที่มีอยู่เดิมแล้วเติมน้ำใหม่ให้มีปริมาณเท่าเดิม แล้วใช้เกลือในปริมาณที่คาดคะเนประมาณ 2 กำมือ แช่ตลอด 24 ชั่วโมง นาน 2 วัน ทำซ้ำ 3 ครั้ง ก็สามารถรักษาโรคนี้ได้ โรคนี้เกิดขึ้นบ่อยครั้ง ในแทบทุกบ่อแต่มีปริมาณไม่ถึงร้อยละ 50 ของผลผลิตในแต่ละรุ่น

โรคสนิมเป็นอีกโรคหนึ่งที่พบในปลากัดอายุไม่เกิน 45 วัน แต่พบในปริมาณที่ไม่มาก ไม่พบในทุกรุ่นการผลิต เกษตรกรรักษาโรคนี้โดยถ่ายน้ำและใช้เกลือรักษาเช่นเดียวกับโรคเกล็ดตั้ง แต่ในเกษตรกรบางรายจะใช้ฟอร์มาลินอัตราส่วน 25-30 มิลลิกรัม ต่อน้ำ 1000 ลิตร ใส่ในช่วงกลางวัน แล้วเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 2 วัน ส่วนโรคเชื้อราและโรคตัวเปื่อย พบทั้งปลาที่มีอายุไม่เกินและเกิน 45 วันแล้ว แก้ไขโดยการใส่ฟอร์มาลินซึ่งเป็นอาการที่มักจะพบในช่วงฤดูหนาว แต่ในเกษตรกรบางรายรักษาโดยใช้ยาออกซิเตตราไซคลินละลายน้ำในบ่อที่มีปลาที่มีอาการป่วย โดยสังเกตให้น้ำมีสีเหลืองอ่อน ส่วนปลากัดที่มีอาการลำตัวลึบและแข็งนั้น พบในปลาที่มีอายุไม่เกิน 45 วัน ประมาณร้อยละ 50 ของปลาที่ผลิตได้ในแต่ละรุ่น ทั้งนี้เกษตรกรรักษาด้วยเกลือ ฟอร์มาลินและยาออกซิเตตราไซคลิน แต่เกษตรกรพบว่ายาและสารเคมีนี้ไม่ค่อยได้ผลในการรักษา

5.4.3 อาการเสี่ยงของโรควันโรคปลาที่พบในปลากัดป่วยภายในฟาร์ม

การศึกษากิจการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัด พบว่า เกษตรกรพบอาการป่วยต่างๆ ที่เป็นลักษณะอาการเสี่ยงของโรควันโรคปลาที่เกิดขึ้นกับปลากัดป่วยภายในฟาร์ม ดังนี้

5.4.2.1 อาการท้องบวม

5.4.2.2 อาการตาปูดโปน บวมขุ่น

5.4.2.3 อาการพอม หัวโต

5.4.2.4 อาการลำตัวมีสีดำคล้ำ

5.4.2.5 อาการปากบวม มีสีดำคล้ำ

จากข้อมูลผลสำรวจสามารถแบ่งระดับโอกาสเสี่ยงในการเกิดโรควันโรคปลาได้ตามระดับจำนวนอาการเสี่ยงของวันโรคปลาที่เกิดขึ้นกับปลากัดภายในฟาร์ม โดยแปรผลระดับความรุนแรงของอาการเสี่ยงของการเกิดวันโรคปลาเป็นรายชื่อจากค่าเฉลี่ย (Mean) ตามวิธีในภาคผนวก ก โครงสร้างแบบสัมภาษณ์ ได้ผลดัง ตารางที่ 34

ตารางที่ 34 อาการเสี่ยงของโรควันโรคปลาตามระดับจำนวนอาการเสี่ยงของโรคที่เกิดขึ้นกับปลากัดภายในฟาร์ม

n = 40

ระดับจำนวนอาการเสี่ยงของโรคที่เกิดขึ้นภายในฟาร์ม	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ปลากัดมีอาการเสี่ยงวันโรคปลาร่วม 5 อาการ	7	17.5
ปลากัดมีอาการเสี่ยงวันโรคปลาร่วม 4 อาการ	12	30
ปลากัดมีอาการเสี่ยงวันโรคปลาร่วม 3 อาการ	3	7.5
ปลากัดมีอาการเสี่ยงวันโรคปลาร่วม 2 อาการ	8	20
ปลากัดมีอาการเสี่ยงวันโรคปลาร่วม 1 อาการ	5	12.5
ไม่พบปลากัดมีอาการเสี่ยงวันโรคปลา	5	12.5

5.4.4 วิธีการรักษาปลาภายในฟาร์มเมื่อมีอาการของวันโรคปลา

เมื่อเกษตรกรพบปลาป่วยมีอาการของโรควันโรคปลาภายในฟาร์ม เกษตรกรจะมีวิธีการรักษา ดัง ตารางที่ 35 เกษตรกรใช้เกลือ ยาออกซิเตตราซัยคลิน และฟอร์มาลินรักษาอาการ

ป่วยในอัตราส่วนเช่นเดียวกับในข้อ 5.4.2 แต่เป็นวิธีการรักษาที่ไม่ได้ผล เกษตรกรส่วนใหญ่จึงนิยม
กำจัดทิ้ง เมื่ออาการป่วยหลังจากการรักษาด้วยยาและสารเคมีไม่เป็นผลภายใน 2-3 วัน

ตารางที่ 35 ผลสำรวจวิธีการรักษาหรือสารเคมีที่ใช้รักษาปลาภายในฟาร์มเมื่อมีอาการเสี่ยงของวัน
โรคปลา

n = 40

วิธีการหรือสารเคมีที่ใช้รักษา	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
กำจัดทิ้ง	34	85
ใส่เกลือ	3	7.5
ใส่ยาออกซิเตตราซัยคลินร่วมกับเกลือ	2	5
ใส่ฟอर्मาลิน	1	2.5

5.4.5 ปริมาณของปลากัดในแต่ละรุ่นที่พบอาการป่วยของวันโรคปลา

อัตราส่วนของปลากัดป่วยที่มีอาการวันโรคปลาในแต่ละรุ่นมีผลสำรวจ ดัง
ตารางที่ 36 เมื่อเกษตรกรพบปลาป่วยภายในระบบการเพาะเลี้ยงเดียวกันจะมีการดูแลเรื่องการ
เตรียมน้ำ การล้างฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตมากขึ้นและจะกำจัดปลาที่มีอาการทิ้ง เพื่อไม่ให้ปลา
มีโอกาสได้รับเชื้อมากขึ้น

ตารางที่ 36 ผลสำรวจอัตราส่วนของปลากัดในแต่ละรุ่นที่พบปลามีอาการป่วยของวันโรคปลา

n = 40

อัตราส่วนของปลากัดที่ป่วยมีอาการของวันโรคปลา	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ปริมาณปลาป่วยมีน้อยกว่าร้อยละ 50 ของผลผลิตทั้งหมด	15	37.5
ปริมาณปลาป่วยมีเท่ากับร้อยละ 50 ของผลผลิตทั้งหมด	8	20
ปริมาณปลาป่วยมีมากกว่าร้อยละ 50 ของผลผลิตทั้งหมด	17	42.5

5.4.6 ความคิดเห็นของเกษตรกรต่อผลกระทบของวัณโรคปลาที่เกิดขึ้นกับปลากัดภายในฟาร์ม

ความคิดเห็นของเกษตรกรต่อปลาวัยเป็นโรควัณโรคปลาภายในฟาร์ม ดังตารางที่ 37 เนื่องจากวัณโรคปลาเป็นโรคที่ไม่สามารถรักษาให้หายได้ จึงต้องกำจัดทิ้งเมื่อปลามีอาการป่วย ส่งผลกระทบให้ผลผลิตปลากัดลดลงจากเดิมที่เพาะเลี้ยงไว้ตั้งแต่วัยอนุบาล รวมทั้งเกษตรกรยังมีความคิดเห็นว่า เมื่อปลากัดภายในฟาร์มเกิดโรคนี้ ทำให้สิ้นเปลืองยา เนื่องจากใช้ยาปฏิชีวนะรักษาไม่ได้เหมือนกับปลาที่มีอาการป่วยของแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ได้ และเกิดการติดต่อกันของโรคภายในระบบเพาะเลี้ยงเดียวกัน

ตารางที่ 37 ความคิดเห็นของเกษตรกรต่อผลกระทบของวัณโรคปลาที่เกิดขึ้นกับปลากัดภายในฟาร์ม

วิธีการหรือสารเคมีที่ใช้รักษา	จำนวน	จำนวน (ร้อยละ)
ส่งผลกระทบให้ผลผลิตลดลง	19	47.5
ผลผลิตลดลง สิ้นเปลืองยาและทำให้เกิดการติดต่อกันของโรคเมื่อใช้อุปกรณ์ร่วมกัน	9	22.5
เป็นโรคที่รักษาไม่หาย ทำให้สิ้นเปลืองยา	7	17.5
เกิดการติดต่อกันของโรคเมื่อใช้อุปกรณ์ร่วมกัน	5	12.5

วิจารณ์การทดลองที่ 5 การศึกษาระบบการจัดการฟาร์มปลากัดของภาคเอกชนและประเมินความ
คิดเห็นของเกษตรกรเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดอาการเสี่ยง
วัณโรคปลากับปัจจัยการผลิตปลากัดจากวิธีการจัดการฟาร์มของภาคเอกชน

5.1 ผลการศึกษาด้านคุณภาพน้ำ

เกษตรกรร้อยละ 45 ที่ใช้น้ำประปาเลือกเตรียมน้ำเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงปลากัดด้วยวิธีพักน้ำทิ้งไว้ประมาณ 2-3 วัน เพื่อสลายฤทธิ์ของสารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อโรคในน้ำประปาของหมู่บ้าน ดังนั้น เกษตรกรจึงมีความคิดเห็นที่ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคเพิ่มเติม เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีที่อาจเป็นอันตรายต่อเกษตรกรและสัตว์น้ำ แต่ Puttinaowarat *et al.*, 2002 รายงานว่าน้ำที่ผู้เพาะเลี้ยงปลากัดใช้จาก 3 จังหวัด คือ กรุงเทพฯ นครปฐม และสุพรรณบุรี มีเชื้อ *Mycobacterium* sp. ปนเปื้อนอยู่สอดคล้องกับผลการทดลองของผู้วิจัยที่พบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ปนเปื้อนอยู่ในน้ำประปาเช่นเดียวกัน เนื่องมาจากอัตราส่วนในการเติมสารละลายคลอรีนของกองประปาชนบท กรมอนามัย เติมคลอรีนในระดับความเข้มข้น 1 ส่วนในล้านส่วนเท่านั้น (ศิริวัฒนา และคณะ, 2543) ดังนั้น เกษตรกรควรใช้คลอรีนความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 24 ชม. ฆ่าเชื้อโรคในน้ำก่อนนำมาใช้ เพื่อป้องกันเชื้อ *Mycobacterium* sp. เข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยง

เกษตรกรบางรายเลือกใช้เกลือ คลอรีน ด่างทับทิม โพวิโดน ไอโอดีน และยาออกซิเตตรา-ซัยคลินฆ่าเชื้อโรคในน้ำ และอุปกรณ์ที่อาจสัมผัสกับเชื้อโรคที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำ ซึ่งเกลือและด่างทับทิมนั้นมีประสิทธิภาพฆ่าปรสิตภายนอกเท่านั้น ส่วนยาออกซิเตตราซัยคลินถึงแม้จะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ แต่ก็ยังไม่พบรายงานว่าสามารถฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้ และอาจส่งผลให้เกิดการดื้อยาของเชื้อโรค หากมีการใช้ยาอย่างต่อเนื่อง ส่วนคลอรีนมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส รวมทั้งโพวิโดน ไอโอดีนที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เช่นเดียวกัน (สุปราณี และคณะ, 2545) โดยโพวิโดน ไอโอดีนนั้นมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 3-6 ชั่วโมง (เต็มดวง และธรรมบุญ, 2541) และจากการวิจัยพบว่าคลอรีนสามารถฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้ ที่ระดับความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 30 วินาที ซึ่งถึงแม้สารเคมีทั้ง 2 ชนิดจะมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ แต่เกษตรกรให้ความคิดเห็นว่าสารเคมีทั้ง 2 ชนิด หาซื้อยาก มีราคาแพง และเป็นอันตรายต่อปลากัด แต่คลอรีนสามารถสลายฤทธิ์ได้เมื่อเกษตรกรมีระบบการพักน้ำที่มีการเติมอากาศในน้ำตลอดเวลาหรือเมื่อโดนแสงแดด หรือเติมสารโซเดียมไฮโปซัลไฟต์เพื่อช่วยสลายฤทธิ์คลอรีนในน้ำหลังจากเติมคลอรีนแล้วอย่างน้อย 24

ข้าวโมง (สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงาม และพรรณไม้น้ำ, 2546) เกษตรกรก็จะได้น้ำในระบบการเพาะเลี้ยงที่ปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. และไม่เป็นอันตรายต่อปลากัด

ความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำของเกษตรกร พบว่า เกษตรกรในจังหวัดนครปฐมและกรุงเทพฯ จะเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 1-3 วัน แต่เกษตรกรในจังหวัดเพชรบุรีจะเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 7, 14 และ 30 วัน หรือจนกระทั่งเกษตรกรเก็บเกี่ยวผลผลิต เนื่องจากเกษตรกรเลี้ยงปลาในภาชนะขนาดใหญ่แตกต่างจากเกษตรกรในกรุงเทพฯ และนครปฐมที่เลี้ยงปลาในขวดสุราชนิดแบน จากมูลและเศษอาหารเหลือ ทำให้น้ำเกิดการเน่าเสียส่งผลให้คุณภาพน้ำภายในภาชนะเลี้ยงปลามีคุณภาพต่ำ ส่งผลกระทบให้ปลาอ่อนแอและทำให้เชื้อโรคสามารถทำอันตรายหรือทำให้ปลาเป็นโรคได้ นอกจากนี้เกษตรกรในจังหวัดเพชรบุรีได้เดินดินลงไปภายในภาชนะที่มีการเพาะเลี้ยงส่งผลให้เพิ่มความเสี่ยงกับการนำเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากดินเข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยงได้มากขึ้น เนื่องจากเชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถพบได้ทั้งในน้ำและในดิน (Donoghue *et al.*, 1970 และ Howard *et al.*, 1987 อ้างใน Puttinaowarat, 1999) การใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคและความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำจะช่วยให้อุณหภูมิของน้ำในภาชนะเลี้ยงปลาเป็นน้ำที่มีคุณภาพดี ส่งผลให้สามารถผลิตปลากัดที่มีคุณภาพดี

5.2 ผลการศึกษาด้านอาหารมีชีวิต

เกษตรกรร้อยละ 82.5 เลือกใช้ไรแดงที่ซื้อจากผู้ผลิตบ่อดิน ซึ่งใช้น้ำเขียวที่เพาะด้วยปุ๋ยมูลสัตว์ ร้อยละ 82.5 เนื่องจากปลากัดมีราคาขายส่งที่ถูก ทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องใช้ไรแดงที่ผลิตจากบ่อดิน เพราะมีราคาถูกเมื่อเปรียบเทียบกับไรแดงที่ผลิตในบ่อปูนที่เติมด้วยปุ๋ยวิทยาศาสตร์ แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่มาจากบ่อดินนั้น มีโอกาสเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. สอดคล้องกับรายงานของ Kubica *et al.*, 1963 พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากดินตัวอย่างได้หลายชนิดได้แก่ *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium smegmatis* และ *Mycobacterium phlei* และในปัจจุบัน Katila *et al.*, 1995 และ Donoghue *et al.*, 1970 อ้างใน Puttinaowarat, (1999) พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากดินของฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาที่สามารถก่อให้เกิดโรคผิวหนังในคนได้ซึ่งสันทนา (2524) พบว่า โดยปกติไรแดงกินอาหารจำพวกแบคทีเรีย จึงมีความเสี่ยงที่ไรแดงจะกิน *Mycobacterium* sp. ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำของบ่อดินที่เพาะไรแดงด้วย สอดคล้องกับศิริ และคณะ(2545) พบว่าการสุ่มสำรวจฟาร์มเพาะอาหารมีชีวิต และแหล่งรวบรวมอาหารมีชีวิตทุกแหล่งมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. ไรแดง

ทั่วไปจึงมีความเสี่ยงสูงที่จะปนเปื้อนเชื้อ *Mycobacterium* sp. เมื่อนำไธแดงเหล่านี้มาเลี้ยงปลากัดจึงทำให้เชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถถ่ายทอดเชื้อจากอาหารมีชีวิตไปสู่ปลากัดได้ (Ross, 1970; Baker and Hagen, 1942) โดยสุปราณี และเต็มดวง (2535) พบว่า เชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถถ่ายทอดเชื้อจากอาหารมีชีวิตผ่านทางเยื่ออาหารแล้วกระจายไปสู่อวัยวะต่างๆ ได้ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาจากแบบสอบถามของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากัดที่พบว่าปลากัดภายในฟาร์มของเกษตรกรร้อยละ 87.5 มีอาการเสี่ยงของวัณโรคและมีเกษตรกรร้อยละ 80 ที่ใช้อาหารมีชีวิตที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคจากสารเคมี จึงทำให้มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. ภายในระบบการเพาะเลี้ยงปลากัด ดังนั้น การเพาะไธแดงในระบบปลอดเชื้อ โดยใช้น้ำเขียว หัวเชื้อไธแดงที่ปลอดเชื้อ และปราศจากการใช้ปุ๋ยมูลสัตว์ จึงสามารถเป็นอีกแนวทางในการป้องกันเชื้อ *Mycobacterium* sp. ได้ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของปักษสราภา, (2549) ที่ศึกษาชนิด และปริมาณของเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเลี้ยงไธแดงในบ่อซีเมนต์ที่ปราศจากการใช้ปุ๋ยมูลสัตว์นั้น ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp.

เกษตรกรร้อยละ 60 ทำความสะอาดอาหารมีชีวิตโดยใช้น้ำประปาสะอาดล้างเท่านั้น เนื่องจากเกษตรกรมีความคิดเห็นว่า การล้าง และกำจัดตะกอนสิ่งสกปรกที่ติดมากับไธแดงก็สะอาดเพียงพอแล้ว แต่ยังขาดข้อมูลการปนเปื้อนของเชื้อวัณโรคปลาในไธแดงที่สามารถถ่ายทอดสู่ปลากัดได้ ถ้าไม่มีการฆ่าเชื้อโรคเสียก่อน มีเกษตรกรร้อยละ 17.5 ใช้ด่างทับทิมล้างทำความสะอาด และฆ่าเชื้อโรคในไธแดง คิริ และคณะ (2545) รายงานว่า เกษตรกรบางรายที่ใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตโดยใช้น้ำยาด่างทับทิม ความเข้มข้น 5-7 ส่วนในล้านส่วน หรือใช้ยาปฏิชีวนะความเข้มข้น 10-20 ส่วนในล้านส่วน แช่นาน 5-10 นาที แต่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวไม่สามารถฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. ที่ปนเปื้อนได้เนื่องจากระดับความเข้มข้นของยาฆ่าเชื้อโรคที่จะสามารถฆ่าเชื้อโรคได้ต้องมีความเข้มข้นสูงในระดับที่เป็นอันตรายต่ออาหารมีชีวิต Cokendolpher and Haukos, (1996) ใช้ Chlorox ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วน ฉีดลงภาชนะที่ต้องการฆ่าเชื้อโรคให้ทั่วแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง เช่นเดียวกับ Prince and Andrus (1992) ที่ศึกษาการกำจัด DNA และ RNA ของเซลล์ที่ไม่ต้องการ เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของเชื้อโรคในห้องปฏิบัติการฟิชเอร์ พบว่า Sodium hypochloride (Chlorox) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 1 นาทีสามารถทำลาย DNA ของเซลล์ที่ไม่ต้องการได้ จากผลการทดลองพบว่า เกษตรกรควรใช้คลอรีน ความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน แช่นาน 30 วินาที สามารถฆ่าเชื้อโรคได้ โดยที่ไธแดงยังคงมีชีวิตอยู่ เนื่องจากคลอรีนสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนในเยื่อหุ้มเซลล์ โปรโตพลาสซึม และรบกวนการทำงานของเอนไซม์ในแบคทีเรีย ทำให้การเจริญของแบคทีเรียหยุดชะงักและตายในที่สุด เช่น คลอรีนที่ระดับความเข้มข้น

0.075 ส่วนในล้านส่วน นาน 60 วินาที สามารถทำลายเชื้อ *Escherichia coli* ได้ในปริมาณร้อยละ 99 (Baker, 1926; Green and Stumpf, 1964 ; Rudolph and Levine, 1941; Camper and MacFeter, 1979)

5.3 ผลการศึกษาด้านพ่อแม่พันธุ์

เกษตรกรใช้ไรแดง ลูกน้ำ และไข่ตุ๋นเป็นอาหารให้กับพ่อแม่พันธุ์ โดยแหล่งที่มาของลูกน้ำ และไรแดง ร้อยละ 68 มาจากแหล่งผลิตบ่อดินที่เดิมปุ๋ยมูลสัตว์ และแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งมีความเสี่ยงสูงในการปนเปื้อนเชื้อ *Mycobacterium* sp. สอดคล้องกับศิริ และคณะ, (2545) พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในอาหารมีชีวิต เมื่อพ่อแม่พันธุ์กินอาหารมีชีวิตจากแหล่งผลิตต่างๆ เช่น ไรแดงจากบ่อดินที่เดิมปุ๋ยมูลสุกร หรือลูกน้ำที่ผลิตจากบ่อที่เดิมปุ๋ยมูลไก่ ส่งผลให้พ่อแม่พันธุ์มีโอกาสเสี่ยงที่จะได้รับเชื้อ *Mycobacterium* sp. และสามารถถ่ายทอดเชื้อจากพ่อแม่พันธุ์สู่ลูกได้ (สุปราณี และเต็มดวง, 2535)

การใช้พ่อแม่พันธุ์ปลาจากภายนอกฟาร์มเพื่อสลับสายพันธุ์ เพื่อป้องกันปัญหาการชิดกันของสายพันธุ์ เกษตรกร ร้อยละ 82.5 นำพ่อแม่พันธุ์จากฟาร์มอื่นเข้ามาเพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ภายในฟาร์มของตนเอง โดยคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์จากฟาร์มที่มีชื่อเสียง หรือมีความรู้จกกัน โดยเป็นส่วนตัวจนเป็นที่ไว้วางใจในศักยภาพในการผลิตปลากัดที่มีคุณภาพที่ดี เมื่อนำปลากัดเข้ามาภายในฟาร์ม พบว่า เกษตรกรเพียงร้อยละ 40 มีการจัดพื้นที่กักกันโรคสำหรับปลาที่นำเข้าฟาร์มมาใหม่ เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่ยังไม่เห็นความสำคัญของพื้นที่กักกันโรค และไม่ต้องการเสียพื้นที่ที่สามารถใช้ในกิจกรรมเพาะเลี้ยง เนื่องจากไม่ได้คำนึงถึงเรื่องโรคที่ติดมากับพ่อแม่พันธุ์ทำให้ระบบการเพาะเลี้ยงมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคได้ เมื่อพ่อแม่พันธุ์ที่นำมาปนเปื้อนเชื้อ *Mycobacterium* sp. จะส่งผลให้เกษตรกรได้ผลผลิตลูกปลากัดที่ติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ด้วย เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Michelson (1961) ได้พิสูจน์การติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของตัวอ่อนภายในท้องของปลาที่ติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในรังไข่ พบว่ามีการติดเชื้อในตัวอ่อนด้วย ดังนั้น เกษตรกรควรให้ความสำคัญในการจัดเขตพื้นที่กักกันโรค เพื่อตรวจสอบสุขภาพของปลา และถ้าต้องการตรวจสอบในระดับห้องปฏิบัติการควรเก็บตัวอย่างครีบท้องของพ่อแม่พันธุ์ส่งตรวจการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จะได้ผลที่แม่นยำที่สุด

5.4 ผลการศึกษาด้านโรค

เกษตรกรพบว่า ปลากัดป่วยแสดงอาการเกล็ดตั้งมากที่สุด พบได้บ่อยครั้ง ในแทบทุกบ่อเพาะเลี้ยงของเกษตรกร ส่วนอาการลำตัวมีสีสนิม มีเชื้อรา และมีอาการตัวเปื่อยนั้นจะพบในปริมาณที่น้อยกว่า และไม่พบในทุกรุ่นการผลิตเช่นเดียวกับอาการของโรคเกล็ดตั้ง ซึ่งอาการป่วยเหล่านี้ อาจเกิดจากระบบการเพาะเลี้ยงที่ไม่ถูกสุขอนามัยฟาร์ม ส่งผลให้ปรสิตและเชื้อโรคต่างๆ จากภายนอก เข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยงของฟาร์มซึ่งข้อมูลของสถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด (2546) รายงานว่า โรคสนิมเกิดจากปรสิตชื่อว่า *Oodinium* sp. โรคเกล็ดตั้งเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย โรคตัวเปื่อยเกิดจากโปรโตซัวชื่อ *Tetrahymena* sp. และโรคที่เกิดจากเชื้อรา ซึ่งเป็นโรคทั้งหมดที่สำรวจพบจากปลากัดภายในฟาร์มของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากัด ซึ่งอาจจะมีสาเหตุจากการได้รับเชื้อโรคจากอาหารมีชีวิต เช่น ไรแดงและลูกน้ำที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อโรค เนื่องจากเกษตรกรมีเพียงการใช้ น้ำประปาล้างทำความสะอาดเท่านั้น ทำให้เชื้อโรคต่างๆ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา และปรสิตชนิดต่างๆ ยังคงอยู่เนื่องจากแหล่งน้ำธรรมชาติที่ไรแดง และลูกน้ำอาศัยอยู่มักจะมีเชื้อโรคอาศัยอยู่ (อมรรัตน์ และบุญกร, 2543) เมื่อมีการใช้น้ำที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคจะส่งผลการนำเชื้อโรคเหล่านี้สู่ระบบการเพาะเลี้ยงได้เช่นเดียวกัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การผลิตปลากัดปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. สามารถดำเนินการภายใต้ระบบการจัดการเพาะเลี้ยงที่สะอาดและถูกสุขอนามัย (ภาคผนวก ข ภาพผนวกที่ 11) เพื่อป้องกันเชื้อ *Mycobacterium* sp. เข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยงจาก 3 แนวทางป้องกัน คือ

1. การป้องกันการถ่ายทอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ผ่านทางพ่อแม่พันธุ์

ผู้เพาะเลี้ยงสามารถนำปลากัดพ่อแม่พันธุ์ตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ก่อนเพาะพันธุ์ และตระหนักถึงความสำคัญของการจัดเขตพื้นที่กักกันโรคและแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ควรมาจากระบบการเพาะเลี้ยงที่สะอาด ไม่มีการใช้ปุ๋ยมูลสัตว์

2. การป้องกันการถ่ายทอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ผ่านทางน้ำ

น้ำและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะด้วยคลอรีน ความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 24 ชั่วโมง และเปิดอากาศผ่านน้ำโดยตลอด ควรฆ่าเชื้อโรคอุปกรณ์ที่ใช้เพาะเลี้ยงในฟาร์ม ด้วยคลอรีนความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน แช่ทิ้งไว้ข้ามคืนแล้วล้างด้วยน้ำสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคแล้วตากแดดทิ้งไว้ให้แห้ง

3. การป้องกันการถ่ายทอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ผ่านทางอาหารมีชีวิต

อาหารมีชีวิต ด้วยการผลิตไรแดงในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยใช้หัวเชื้อไรแดงที่ผ่านการฆ่าเชื้อ *Mycobacterium* sp. ด้วยคลอรีน ความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 30 วินาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด นำมาเพาะในถังเพาะบรรจุคอลเรลล่าที่เพาะขยายเพิ่มปริมาณด้วยสูตรปุ๋ยวิทยาศาสตร์ ปราศจากการใช้ปุ๋ยมูลสัตว์

ข้อเสนอแนะ

การป้องกันเชื้อ *Mycobacterium* sp. เข้าสู่ระบบการเพาะเลี้ยง สามารถป้องกันได้ จากการติดเชื้อในปัจจัยการผลิต 3 แนวทาง คือ พ่อแม่พันธุ์ อาหารมีชีวิต และน้ำ แต่การทดสอบการติดเชื้อนั้นต้องใช้เวลานานหลายวันจึงสามารถรู้ผลการทดสอบการติดเชื้อได้ หากมีการพัฒนาวิธีการทดสอบการติดเชื้อที่สามารถรู้ผลได้ทันที การป้องกันการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. จะสะดวกต่อการปฏิบัติของเกษตรกร และสามารถปฏิบัติป้องกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ และควรให้ความรู้แก่เกษตรกรให้รู้จักเชื้อ *Mycobacterium* sp. มากยิ่งขึ้น ทั้งในด้านของสาเหตุการเกิดโรค แหล่งที่มาของเชื้อโรค การป้องกัน อาการและการรักษาโรคในปลาเมื่อได้รับเชื้อโรค

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กลุ่มพัฒนาธุรกิจการเพาะเลี้ยงส่งออกสัตว์น้ำสวยงาม. 2544. การเพาะไรแดง. สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ศิริ กอนันตกุล, เต็มดวง สมศิริ, ศุภลักษณ์ พุฒินาวรัตน์ และ สุริยันต์ สุนทรวิทย์. 2545. การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในอาหารมีชีวิต. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2545. สำนักงานวิชาการ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

_____, และ ศุภลักษณ์ พุฒินาวรัตน์. 2545. การตรวจเชื้อแบคทีเรียในเนื้อเยื่อปลาโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสเทรีย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 2/2545 กรมประมง.

ชลอ ลีมสุวรรณ, สุปราณี ชินบุตร, กมลพร ภวภูตานนท์และองอาจ เลหาวินิจ. 2526. วันโรคในปลาช่อน. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 32 สถาบันวิจัยประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ชัย เกียรติ์นันท และ บุญชัย อัสวกิจวานิช. 2548. การพัฒนาปลากัดไทยก้าวไกลสู่ตลาดโลก. วารสารการประมง 58 (6): 505-517.

เต็มดวง พึ่งขจรบุญ และ สุริยันต์ สุนทรวิทย์. 2535. การใช้กาน้ำขมิ้นในการรักษาวันโรคในปลากัด, น. 97-99. ใน รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2535. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

เต็มดวง สมศิริ. 2537. วิธีการตรวจสอบปลาติดเชื้อวันโรค. วารสารโรคสัตว์น้ำ 4 (1): 3-4.

_____, และธรรมบุญ จตุรพาหุ. 2541. ประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อบางชนิดต่อเชื้อวันโรคปลา, น. 101 ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธิดา เพชรมณี. 2542. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา, กรมประมง.

ทัศนาศอดจิตร์, เต็มดวง สมศิริและสุปราณี ชินบุตร. 2535. การศึกษาการติดต่อของเชื้อ *Mycobacteria* ในปลากัด, *Betta splendens* Regan. น. 298-301 ใน รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2536. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด กรมประมง, กรุงเทพฯ.

นนทรี ปานพรหมมินทร์ และ บุญกร บำรุงธรรม. 2544. อาหารมีชีวิตที่นิยมใช้เลี้ยงปลากัด.
วารสารการประมง 54 (2): 171-176.

พฤษภา ฌ อยู่ชยา. 2544. เคล็ดลับการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ปลากัด. สำนักพิมพ์แนว
เกษตรกรรม. กรุงเทพฯ.

ปภัศสรภา ฌม่ายศรี. 2549. การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงไรแดง
(*Moina macrocopa* Straus). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปรียา กุลละวณิชย์, สุปรียา ศิริมาจันทร์และปรีชา พุทธาภูมิไกร. 2535. *Mycobacterium marinum*
cutaneous infection. วารสารโรคผิวหนัง 8: 141-147.

ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, ทวี วิพุททนามาศ, วีระ วัชรกรโยธิน และ ทศนีย์ สุขสวัสดิ์. 2532. การ
เพาะเลี้ยงไรแดง. สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดปทุมธานี, กองประมงน้ำจืด, ปทุมธานี.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2541. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
กรุงเทพ.

เยาวพา ฌณาญาติ. 2536. การศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยผ่านทางรังไข่ในปลา
กั๊ดจีน(*Betta splendens* Regan). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันเพ็ญ มินกาญจน์, นงนุช เลาหะวิสุทธิ และ สุภาพ พรหมยศ. 2531. การเพาะพันธุ์ปลากัด. กรุงเทพมหานคร.
สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

วิภาวดี หวานชิด. 2545. การวิเคราะห์ทางการเงินของการลงทุนเพาะเลี้ยงปลาสวยงามในอำเภอ
นครชัยศรี จังหวัดนครปฐม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วีระ วัชรกรโยธิน, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, ทวี วิพุททนามาศและ ทศนีย์ สุขสวัสดิ์. 2528. การ
เพาะไรแดง, น. 51-69. ใน รายงานประจำปี 2528. สถานีพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาจังหวัด
ปทุมธานี, ปทุมธานี.

ศิริวัฒนา ตอวิวัฒน์, พีระพล เอี่ยมสะอาด, ชีระศักดิ์ วิสวะวาทีน และ บุญชู กองสุข. 2543. รายงาน
การศึกษาวิจัย: ประสิทธิภาพและประสิทธิผลของสารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคในระบบ
ประปาหมู่บ้าน. สำนักงานสภาพัฒนาการแห่งชาติ.

สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ. 2546. **มาตรฐานการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลา
สวยงามเพื่อการส่งออก**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด. 2549. **ทะเบียนเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงเพื่อการส่งออก**. (ไฟล์ข้อมูล).
กรมประมง. สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด. 2549. **มูลค่าการส่งออก**. ข้อมูลการส่งออก
สัตว์น้ำสวยงาม. แหล่งที่มา: [http://www.fisheries.go.th/aahri/aahri-
new/thai/value_total_thF00.htm#t01](http://www.fisheries.go.th/aahri/aahri-new/thai/value_total_thF00.htm#t01), 15 สิงหาคม 2549.

สันทนา ดวงสวัสดิ์, ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ สมเพชร ไชยทอง. 2524. การศึกษาชีวประวัติและการ
เพาะเลี้ยงไรแดงเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์น้ำวัยอ่อน เอกสารงานนิเวศวิทยา.
ฉบับที่ 1/2524 สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
10 น.

สุปราณี ชินบุตร และ เต็มดวง สมศิริ. 2535. วัณโรคในปลา. **วารสารข่าวโรคสัตว์น้ำ** 2 (2): 3-4.
_____, _____ และ พรเลิศ จันทรรักษ์กุล. 2545. ยาและสารเคมีเพื่อป้องกันและรักษาสัตว์น้ำ.
สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ, กรุงเทพฯ.

_____, นงนุช เลาหะวิสุทธิ, พรเลิศ จันทรรักษ์กุล และ เต็มดวง พึ่งขจรบุญ. 2533. การเกิดโรค
จากเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในปลากัด. **วารสารการประมง** 43: 119-122.

อมรรัตน์ เสริมวัฒนานุกูล และ สุภารัตน์ บวรศุกกิจกุล. 2544. ศักยภาพการผลิตปลากัดเพื่อการ
ส่งออกในจังหวัดนครปฐม. **วารสารการประมง** 54 (5): 423-432.

Adams, A. and M. Marin de Mateo. 1994. Immunohistochemical defection of fish pathogens.
pp.133-144. In: J.S. Stolen, Fletcher T.C., S.L. kaattari and A.F. Rowley, eds. **Tech. Fish
Immunol. 3**. Fair Haven, NJ: SOS Publication.

Baker, J.A. and W.A. Hagen. 1942. Turberclosis of Mexican platyfish (*Platypoceilus
maculates*). **J. Infect. Dis.** 70: 248-252.

Baker, J.C. 1926. Chlorine in sewage and waste disposal, p. 107. *Cited by* C.I. Wei, D.L. Cook
and J.R. Kirk. Use of Chlorine compounds in the feed industry. **Food Technol.** 39 (1) :
107-115.

Barksdale, L. and K.S. Kim. 1977. *Mycobacterium* sp. **Bact. Rev.** 41: 217-219.

- Boom, R., sol, C.I.A. , M.M.M.Salimans, C.L.Jansen, P.M.E. Werthiem, Van Dillen, and J. Van Der Noordaa. 1990. Rapid and simple method for purification of Neucleic acids. **J. Clinic. Microbiol.** 28 (3): 495-503.
- Campers, A.K. and G.A. MacFeters. 1979. Chlorine injury and the enumeration of waterborne coliform bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** 37 (3) : 633-641.
- Chinabut, S.,Y.Kanayati and T.Punkachonboon. 1994. Study of transvarian transmission of mycobacteria in *Betta splendens* Regan. pp. 339-341. *In* T.W. Flegel and I.MacRae. **Proceeding of the Third Asian Fisheries Forum**, Fish Health Section Singapore.
- Clark, H.F. and C.C. Shephard. 1963. Effect of environmental temperatures on infection with *Mycobacterium marinum* (Balnei) of mice and a number of poikilothermic species. **J. Bact.** 86: 1057-1069.
- Colorni, A., R. Avtalion, W. Knibb, E. Berger, B. Colorni, and B. Timan. 1998. Histopathology of sea bass(*Dicentrarchus labrax*) experimentally infected with *Mycobacterium marinum* and treated with streptomycin and garlic(*Allium sativum*) extract. **Aquaculture.** 160: 1-17.
- Conroy, D.A. 1966. Observasion sobre casos espontaneos de tuberculosis lctica. **Microbiol. Esp.** 19: 93- 113.
- _____ and E.B. Solarolo. 1965. Sensitivity of some acid-fast bacteria of piscine origin to certain Chemathera peutic substances. **J. Fish Res. Board Can.** 22: 243-245.
- Cokendolpher J.C. and J.F. Haukos. 1996. **The practical Application of Disinfectant and Sterilization in Health Care Facilities.** 41-45.
- Donoghue H.D., E. Overend and J.L. Stanford. 1997. A longitudinal study of environment mycobacteria on a farm in south-west England. **J. Applied. Microbiology.** 82 (1): 57-67.
- Dulin, M.P. 1979. A review of tuberculosis(Mycobacteriosis) in fish. **Vet. Med./Sac.** 74: 731-735.

- Frerichs, G.N.1993. **Mycobacteriosis: Nocardiosis, in Bacterial Disease of Fish**, Blackwell Scientific, Oxford.
- Goren, M.B. 1972. Mycobacterial lipids: select topic. **Bact. Rev.** 36: 33-39.
- Green, D.E. and P.K. Stumpf. 1946. The mode of action of chlorine. **Food Technol.** 39(1) : 107-115.
- Howard J. B., J. Klaas, S.J. Rubin, A. S. Weissfield and R. C. Tilton. 1987. **Clinic. Pathogen. Microbiol.** St. Louis, Missouri: C.V. Mosby.
- Katila, M.J., E. Iivannainen, P. Torkko., J.Kauppien., P. Martikainen and P. Vaananen. 1995. Isolation of potentially pathogenic mycobacteria in the Finnish environment. **Mycobacterial Infections in Scandinavia.** 98: 9-11.
- Kelly, R. 1976. *Mycobacterium marinum* Infection from a Tropical Fish Tank; Treatment with Trimethoprim and Sulphamethiazole. **Med. J. Aust.** 2: 681-687.
- Kullavanijaya, P., S. Sirimacham, and P. Bhuddhavudhikrai. 1993. *Mycobacterium marinum* cutaneous infections acquired from occupations and hobbies. **Int. J. Dermato.** 32 (7): 504-507.
- Kubica, G. P., Beam, R. E., & Palmer, J. W. (1963). A method for the isolation of unclassified acid-fast bacilli from soil and water. **American Review of Respiratory Disease.** 88; 718-720.
- Kox, L.F., J. Van Leeuwen, S. Knijper, H.M. Jansen and A.H.J. Kolk. 1995. PCR essay based on DNA coding for 16S and RNA for detection and identification of mycobacteria in clinical samples. **J. Clinic. Microbiol.** 33 (12): 3225-3233.
- Lawhavit, O., K. Hatai, S.S. Kubota, K. Toda and N. Susuki. 1988. Treatment of *Mycobacterium* infection in Pejerre *Odonthestes bonairnsis* C & V. **Bull. Nippon Vet. Zootech. Coll.** 37: 35-38.
- Lim, Y.W., J. Chia, and K.P. Looi. 2000. A case report of *Mycobacterium marinum* infection of the hand. **Sing. Med. J.** 41 (5): 221-223.

- Michelson, E. 1961. An acid-fast pathogen of fresh water snails. **J. Trop. Med. Hug.** 10:432-433.
- Parisot, T.J. and F.M. Wood. 1960. A comparative study of the causative agents of a mycobacterial disease of salmonid fishes. **An. Rev. Respir. Dis.** 82: p. 212.
- Plumb, J.A. 1994. **Health Maintenance of Cultured Fishes: Principal Microbial Disease.** CRC Press, Inc., USA.
- Prince, A.M. and L. Andrus. 1992. PCR: how to kill unwanted DNA. **Biotechniques.** 12 : 358-360.
- Pungkachonboon, T., M.Shariff, K.Tajima and O. Lawhavinit. 1992. Isolation and characterization of *Mycobacterium* sp. from Siamese fighting fish *Betta splendens* Regan, 291-298 pp. *In* M.Shariff, R.P.Subsinghe and J.R.Arthur eds. **Disease in Asian Aquaculture.** Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Puttinaowarat, S. 1999. Mycobacteriosis: a chronic disease threatening fish and man. *J. Aahri Newsletter Article.* 8(2).
- _____, K.D. Thompson and A. Adams. 2000 . Mycobacteriosis: defection and identification of aquatic *Mycobacterium* species. **Fish Vet. J.** 5: 6-21.
- _____, _____, T. Somsiri, A.H.J. Kolk, K. Preeya and A. Adams. 2002. Detection and Identification of aquatic *Mycobacterium* sp. in fish, fish farm workers and the environment, 243-255 pp. *In* Lavilla-Pitogo, Celia R. and Erlinda R. Cruz-Lacierda, eds. **Disease in Asian Aquaculture IV.** Fish Health Section, Iloilo, Philippines.
- Ratledge, C. 1977. **The Mycobacteria.** Meadowfield Press Ltd., London.
- Ross, A. J. 1970. Mycobacteriosis among Pacific salmonid fishes. pp. 279-283. *In*: S. F. Snieszko (ed.), **A symposium on diseases of fishes and shellfishes.** American Fisheries Society, Washington D.C.

- _____ and F.P. Brancato. 1962. *Mycobacterium fortuitum* from the tropical fish *Hyphessobrycon innesi*. **J. Bact.** 78: 392-395.
- Rottmann, R.W., J. Scott Graves, W. Craig and R.P.E. Yanong. 1992. **Moinas Cultures**.
Available Source: http://sdis.ifas.ufl.edu/BODY_FAO24, July 15, 2006.
- Rudolph, A.S. and M.Levine. 1941. Factors affecting the germicidal efficiency of hypochlorite solution. **Food Technol.** 39(1):107-115.
- Ruth F.F. and P.E. Roy. 2002. **Mycobacteriosis in Fish**. Available Source:
<http://edis.ifas.ufl.edu/VM055>, May 22, 2006.
- Santacana J.A., D.A. Conroy, M.E. Mujica, C. Marine and N.Lopez. 1982. Acid-fast bacterial infection and its control in three spot gouramies, *Trichogaster trichopterus* Pallas. **J. Fish Dis.** 5: 545-547.
- Taro, Y. 1973. **Statistics: An Introduction analysis**. 3 rd ed. Harper and Row, New York.
- Van Dujin, D. 1981. Tuberculosis in fish. **J. Small Anim. Pract.** 22: 391-411.
- Wayne, L.G. and S. Kubica. 1986. Genus *Mycobacterium*, 1436- 1457 pp. In Sneath, P.H.A., N.S. Mair, M.E. Shreve, and J.G. Holt, eds. **Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Vol.2**, Williams & Wilkins, Baltimore.
- Wheeler, A.P. and B.S. Graham. 1989. Saturday conference: atypical mycobacterial infection, **South. Med. J.**, 82: 1250.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
แบบสอบถามและเกณฑ์การให้คะแนน

แบบสอบถามระบบการเพาะเลี้ยงปลา
การจัดการฟาร์มที่เกี่ยวกับสาเหตุของการก่อโรควัณโรคปลา

ชื่อฟาร์ม.....ชื่อเจ้าของ.....
ที่อยู่.....
ขนาดของฟาร์ม.....ไร่ จำนวน.....ขวดเหลี่ยม

ด้านคุณภาพน้ำ

1. น้ำที่ใช้ในระบบการเพาะเลี้ยง

1. ประปา 2. น้ำบาดาล 3. น้ำจากแม่น้ำลำคลอง 4. น้ำฝน 5. อื่นๆ

2. ระบบเตรียมน้ำที่ใช้ในฟาร์ม

1. ผ่านระบบกรองน้ำ
2. พักน้ำตั้งทิ้งไว้
3. เป่าอากาศลงในบ่อพักน้ำ
4. ใช้ใบหูกวาง
5. ไม่จำเป็นต้องมีการพักน้ำ
6. อื่นๆ.....

3. การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำ

1. คลอรีน 2. ฟอर्मาลิน 3. เกลีโอ 4. โฟวิโคนไอโอดีน 5. อื่นๆ.....

4. การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคอุปกรณ์

1. คลอรีน 2. ฟอर्मาลิน 3. เกลีโอ 4. โฟวิโคนไอโอดีน 5. อื่นๆ.....

5. การเปลี่ยนถ่ายน้ำ

1. มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 3 วัน
2. มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 7 วัน
3. มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 14 วัน
4. ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำจนกว่าจะจับขาย
5. อื่นๆ.....

ด้านอาหาร

6. อาหารมีชีวิตที่ใช้ในฟาร์ม

1. ไรแดง 2. ลูกน้ำ 3. หนอนแดง 4. Microworm

7. แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิต

1. ซ้อนในบ่อธรรมชาติ
2. เพาะเลี้ยงเอง
3. ซื้อจากผู้ผลิตบ่อดิน ราคา.....บ./กก.
4. ซื้อจากผู้ผลิตบ่อปูน ราคา.....บ./กก.

8. การฆ่าเชื้อในอาหารมีชีวิต

1. ใช้น้ำสะอาดล้าง นาน.....นาที
2. ใช้ด่างทับทิม ปริมาณ.....นาน.....นาที
3. ใช้ฟอร์มาลิน ปริมาณ.....นาน.....นาที
4. ใช้คลอรีน ปริมาณ.....นาน.....นาที
5. ไม่มีการล้างฆ่าเชื้อ

9. แหล่งน้ำเขียวที่นำมาใช้เพาะไรแดง

1. จากห้องปฏิบัติการ
2. ใช้น้ำเขียวจากบ่อดิน หรือคลองมาทำน้ำเขียวด้วยปุ๋ยวิทยาศาสตร์ทั้งสิ้น
3. ใช้น้ำเขียวจากบ่อดิน หรือคลองมาทำน้ำเขียวด้วยปุ๋ยคอกทั้งสิ้น
4. ใช้ทั้งข้อ 1 และข้อ 3
5. ใช้ทั้งข้อ 2 และข้อ 3

ด้านพ่อแม่พันธุ์

10. แหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์

1. เพาะเลี้ยงเอง
2. รวบรวมจากธรรมชาติ
3. รวบรวมจากผู้เพาะเลี้ยงรายอื่น

11. วิธีการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์

1. จากฟาร์มไม่มีประวัติเป็นวัณโรค
2. มีสีสันสวยงาม
3. มีครีบก่องและลักษณะที่ต้องการ
4. มีการพัฒนาสายพันธุ์ที่นิ่งแล้ว
5. อื่นๆ.....

12. พื้นที่กักกันโรคของปลาที่เข้ามาใหม่

1. แยกเป็นโซนอย่างชัดเจน
2. แยกเฉพาะเหลี่ยมแต่ไม่แยกโซน
3. แยกอุปกรณ์ในการเลี้ยง
4. สามารถติดตามแหล่งที่มาของพ่อแม่ได้

13. อาหารที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่

1. ไไรแดง 2. ลูกน้ำ 3. หนอนแดง 4. Microworm

14. แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิต

1. ช้อนในบ่อธรรมชาติ
2. เพาะเลี้ยงเอง
3. ซื้อจากผู้ผลิตบ่อดิน
4. ซื้อจากผู้ผลิตบ่อปูน

ด้านโรค

15. การป้องกันของโรคในฟาร์ม

1. ใช้น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
2. ใช้อาหารมีชีวิตที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
3. ใช้พ่อแม่พันธุ์จากฟาร์มที่ไม่มีประวัติเป็นโรค

16. อาการป่วยของปลาภายในฟาร์ม

1. โรคสนิม
2. โรคเกล็ดตั้ง
3. โรคเชื้อรา

17. ปลาภายในฟาร์มมีอาการดังกล่าว ที่เป็นอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาหรือไม่

1. ท้องบวม
2. ตาโปน โปน บวม ขุ่น
3. ผอม หิวโศ
4. สีตัวดำคล้ำ
5. ปากบวม มีสีคล้ำ

18. การรักษาเมื่อปลาในฟาร์มมีอาการเสี่ยงวัณโรคปลา

1. กำจัดทั้งทันที เมื่อพบอาการ
2. ใช้เกลือ ปริมาณ.....นาน.....วัน
3. ใช้ยาเหลือง ปริมาณ.....นาน.....วัน

19. ในปลาแต่ละรุ่นที่ผลิตจะพบปลาที่มีอาการเสี่ยงวัณโรคปลา

1. น้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์
2. ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์
3. มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

20. ผลกระทบที่เกิดขึ้นเมื่อมีปลาในฟาร์มที่มีอาการเสี่ยงวัณโรคปลา

1. ผลผลิตของฟาร์มที่ควรขายได้ลดลง
2. ปลาที่เป็นแล้วไม่สามารถรักษาให้หายได้ ทำให้สิ้นเปลืองยา
3. เมื่อใช้อุปกรณ์ร่วมกันทำให้มีการติดต่อของโรค
4. ติดต่อสู่ผู้เพาะเลี้ยงทำให้เกิดโรคผิวหนัง

โครงสร้างแบบสัมภาษณ์

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ผู้วิจัยใช้แบบสอบถามที่สร้างขึ้นตามกรอบแนวคิดและทฤษฎี ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ข้อมูลปัจจัยการผลิตด้านคุณภาพน้ำ คำถามข้อที่ 2-5 ประกอบด้วย วิธีการเตรียมน้ำก่อนใช้ภายในฟาร์ม การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำ การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอุปกรณ์ และความถี่ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ

วิธีการเตรียมน้ำ

เกณฑ์การให้คะแนน

เตรียมน้ำผ่านระบบกรองน้ำ พักน้ำ เติมออกซิเจน แซ่ไบฮูกวาง	ให้คะแนน	14
เตรียมน้ำผ่านระบบกรองน้ำ พักน้ำ เติมออกซิเจน	ให้คะแนน	13
เตรียมน้ำผ่านระบบกรองน้ำ เติมออกซิเจน แซ่ไบฮูกวาง	ให้คะแนน	12
เตรียมน้ำผ่านระบบกรองน้ำ เติมออกซิเจน	ให้คะแนน	11
เตรียมน้ำผ่านระบบกรองน้ำ พักน้ำ แซ่ไบฮูกวาง	ให้คะแนน	10
เตรียมน้ำผ่านระบบกรองน้ำ พักน้ำ	ให้คะแนน	9
เตรียมน้ำผ่านระบบกรองน้ำ	ให้คะแนน	8
เตรียมน้ำโดยพักน้ำ เติมออกซิเจน แซ่ไบฮูกวาง	ให้คะแนน	7
เตรียมน้ำโดยพักน้ำ เติมออกซิเจน	ให้คะแนน	6
เตรียมน้ำโดยพักน้ำ แซ่ไบฮูกวาง	ให้คะแนน	5
เตรียมน้ำโดยเติมออกซิเจน	ให้คะแนน	4
เตรียมน้ำโดยพักน้ำ	ให้คะแนน	3
เตรียมน้ำโดยแซ่ไบฮูกวาง	ให้คะแนน	2
ไม่มีการเตรียมน้ำก่อนใช้	ให้คะแนน	1

การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในน้ำและอุปกรณ์

เกณฑ์การให้คะแนน

ใช้สารคลอรีนหรือใช้สารอื่นๆร่วมกับคลอรีน	ให้คะแนน	4
ใช้สารโพวิโดนไอโอดีน	ให้คะแนน	3
ใช้สารอื่นๆ นอกจากคลอรีนและโพวิโดนไอโอดีน	ให้คะแนน	2
ไม่มีการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อโรค	ให้คะแนน	1

ความถี่ของการเปลี่ยนถ่ายน้ำ

เกณฑ์การให้คะแนน

เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 3 วัน	ให้คะแนน	6
เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 7 วัน	ให้คะแนน	5
เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 14 วัน	ให้คะแนน	4
เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 30 วัน	ให้คะแนน	3
เปลี่ยนถ่ายน้ำโดยสังเกตจากความขุ่นของน้ำ	ให้คะแนน	2
ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิต	ให้คะแนน	1

ตอนที่ 2 ข้อมูลปัจจัยการผลิตด้านอาหารมีชีวิต คำถามข้อที่ 7-9 ประกอบด้วย แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่มีการใช้ในฟาร์ม สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์ม และแหล่งที่มาของน้ำเขียว (*Chlorella* sp.) ที่นำมาใช้เพาะไรแดง

แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่มีการใช้ในฟาร์ม

เกณฑ์การให้คะแนน

เกษตรกรใช้ไรแดงผลผลิตจากบ่อปูน	ให้คะแนน	5
เกษตรกรผลิตไรแดงใช้เอง	ให้คะแนน	4
เกษตรกรใช้ไรแดงจากผลผลิตบ่อดินร่วมกับบ่อปูน	ให้คะแนน	3
เกษตรกรใช้ผลิตไรแดงเองร่วมกับผลผลิตบ่อดินธรรมชาติ	ให้คะแนน	2
เกษตรกรใช้ผลิตไรแดงจากแหล่งน้ำธรรมชาติ	ให้คะแนน	1

สารเคมีฆ่าเชื้อโรคในอาหารมีชีวิตที่ใช้ภายในฟาร์ม

เกณฑ์การให้คะแนน

เกษตรกรใช้คลอรีน	ให้คะแนน	5
เกษตรกรใช้ด่างทับทิม	ให้คะแนน	4
เกษตรกรใช้ฟอร์มาลิน	ให้คะแนน	3
เกษตรกรใช้น้ำประปาสะอาด	ให้คะแนน	2
เกษตรกรไม่มีการล้างทำความสะอาด	ให้คะแนน	1

แหล่งที่มาของน้ำเขียว (*Chlorella* sp.) ที่นำมาใช้เพาะไรแดง

เกณฑ์การให้คะแนน

จากห้องปฏิบัติการ	ให้คะแนน	5
จากห้องปฏิบัติการร่วมกับบ่อดินเดิมปฏีวิทยาศาสตร์	ให้คะแนน	4
จากห้องปฏิบัติการร่วมกับบ่อดินเดิมปฏิมูลสัตว์	ให้คะแนน	3
จากบ่อดินเดิมปฏีวิทยาศาสตร์	ให้คะแนน	2
จากบ่อดินเดิมปฏิมูลสัตว์	ให้คะแนน	1

ตอนที่ 3 ข้อมูลปัจจัยการผลิตด้านพ่อแม่พันธุ์ คำถามข้อที่ 10, 12-14 ประกอบด้วย แหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์ปลากัดที่ใช้ภายในฟาร์ม พื้นที่กักกันโรค และแหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์

แหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์ปลากัดที่ใช้ภายในฟาร์ม

เกณฑ์การให้คะแนน

เกษตรกรใช้พ่อแม่พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงด้วยตนเอง	ให้คะแนน	5
เกษตรกรใช้พ่อแม่พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงด้วยตนเองร่วมกับรวบรวมจากผู้เพาะเลี้ยงรายอื่น	ให้คะแนน	4
เกษตรกรใช้พ่อแม่พันธุ์ที่เพาะเลี้ยงด้วยตนเองร่วมกับรวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติ	ให้คะแนน	3
เกษตรกรรวบรวมจากผู้เพาะเลี้ยงรายอื่น	ให้คะแนน	2

เกษตรกรรวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติ	ให้คะแนน	1
----------------------------------	----------	---

พื้นที่กักกันโรค

เกณฑ์การให้คะแนน

เกษตรกรแยกพื้นที่กักกันและอุปกรณ์	ให้คะแนน	4
เกษตรกรไม่แยกพื้นที่กักกันแต่แยกอุปกรณ์	ให้คะแนน	3
เกษตรกรแยกพื้นที่กักกันแต่ไม่แยกอุปกรณ์	ให้คะแนน	2
เกษตรกรแยกพื้นที่กักกันและอุปกรณ์	ให้คะแนน	1

แหล่งที่มาของอาหารมีชีวิตสำหรับพ่อแม่พันธุ์ที่มีการใช้ในฟาร์ม

เกณฑ์การให้คะแนน

เกษตรกรใช้ไรแดง ลูกน้ำ ผลิตจากบ่อบุณ	ให้คะแนน	5
เกษตรกรผลิตไรแดง ลูกน้ำใช้เอง	ให้คะแนน	4
เกษตรกรใช้ไรแดง ลูกน้ำจากผลิตบ่อดินร่วมกับบ่อบุณ	ให้คะแนน	3
เกษตรกรใช้ผลิตไรแดง ลูกน้ำเองร่วมกับ	ให้คะแนน	2
ผลิตบ่อดินธรรมชาติ		
เกษตรกรใช้ผลิตไรแดง ลูกน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ	ให้คะแนน	1

ตอนที่ 4 ข้อมูลด้านโรค คำถามข้อที่ 16 และ 17 ประกอบด้วย การป้องกันโรคภายในฟาร์ม อาการป่วยของปลาภายในฟาร์ม และอาการเสี่ยงของวัณโรคปลาที่เกิดภายในฟาร์ม

อาการป่วยของปลาภายในฟาร์มและการเกิดอาการเสี่ยงของวัณโรคปลา

เกณฑ์การให้คะแนนตามระดับจำนวนอาการที่เกิดขึ้น (คำถามเชิงลบ)

ปลากัดไม่มีอาการป่วย	ให้คะแนน	6
ปลากัดมีอาการป่วยจำนวน 1 อาการ	ให้คะแนน	5
ปลากัดมีอาการป่วยจำนวน 2 อาการ	ให้คะแนน	4
ปลากัดมีอาการป่วยจำนวน 3 อาการ	ให้คะแนน	3
ปลากัดมีอาการป่วยจำนวน 4 อาการ	ให้คะแนน	2
ปลากัดมีอาการป่วยจำนวน 5 อาการ	ให้คะแนน	1

การจำแนกระดับ

ข้อคำถามที่ใช้วัดระดับการเกิดอาการเสี่ยงวัณโรคปอดภายในฟาร์มสามารถแปรผลระดับความรุนแรงของการเสี่ยงเกิดวัณโรคปอดเป็นรายชื่อจากค่าเฉลี่ย (Mean) ดังนี้

$$\begin{aligned}\text{ช่วงความกว้างของข้อมูลในแต่ละชั้น} &= \frac{\text{คะแนนสูงสุด} - \text{คะแนนต่ำสุด}}{\text{จำนวนชั้น}} \\ &= \frac{6 - 1}{3} \\ &= 1.67\end{aligned}$$

ดังนั้นระดับความรุนแรงของการเสี่ยงเกิดวัณโรคปอด จึงแบ่งออกได้ ดังนี้

คะแนน 5 – 6 คือ มีระดับความรุนแรงสูงของการเสี่ยงเกิดวัณโรคปอด

คะแนน 3 – 4 คือ มีระดับความรุนแรงปานกลางของการเสี่ยงเกิดวัณโรคปอด

คะแนน 1 – 2 คือ มีระดับความรุนแรงต่ำของการเสี่ยงเกิดวัณโรคปอด

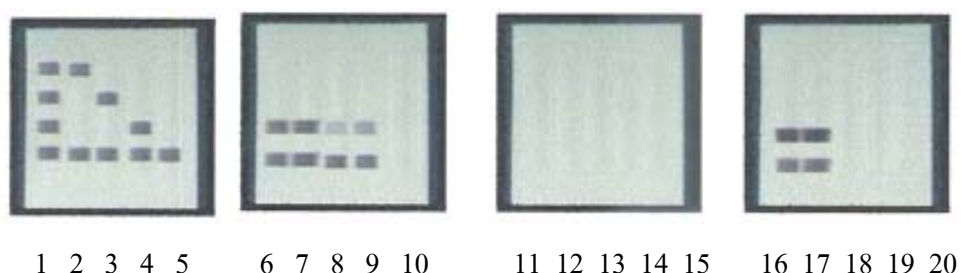
ภาคผนวก ข
ตารางและภาพผลการทดลอง

ตารางผนวกที่ 1 ผลตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของ น้ำประปาดิบ น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคด้วยคลอรีน 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 24 ชม. และคลอเรลล่า ที่ผลิตโดยระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยวิธี PCR-RCBH ของ Kox และคณะ (1995)

สิ่งที่น่าสนใจ	ตัวอย่างที่	ผลการติดเชื้อ <i>Mycobacterium</i> sp.
น้ำประปา	1	+
	2	+
น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน	1	+
	2	+
หัวเชื้อคลอเรลล่าจากห้องปฏิบัติการ	1	-
	2	-
คลอเรลล่าที่เลี้ยงในขวด carboy ภายในห้องปฏิบัติการ	1	-
	2	-
คลอเรลล่าที่เลี้ยงในถังเพาะภายนอกห้องปฏิบัติการ	1	-
	2	-

หมายเหตุ + คือ พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

- คือ ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.



ภาพผนวกที่ 1 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของน้ำประปาดิบที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ความเข้มข้น 35 ส่วนในล้านส่วน นาน 24 ชั่วโมง และคลอเรลล่าโดยวิธี PCR-RCBH ช่องที่ : (1) DNA pool, (2) *Mycobacterium fortuitum*, (3) *Mycobacterium chelonae*, (4) *Mycobacterium marinum*, (5) *Mycobacterium* spp. (6) น้ำประปาตัวอย่างที่ 1 (7) น้ำประปาดิบอย่างที่ 2 (8) น้ำผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนตัวอย่างที่ 1 (9) น้ำผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนตัวอย่างที่ 2 (10) หัวเชื้อคลอเรลล่าบริสุทธิ์จากห้องปฏิบัติการตัวอย่างที่ 1 (11) หัวเชื้อคลอเรลล่าบริสุทธิ์จากห้องปฏิบัติการตัวอย่างที่ 2 (12) หัวเชื้อคลอเรลล่าขยายในขวด carboy ภายในห้องปฏิบัติการตัวอย่างที่ 1 (13) หัวเชื้อคลอเรลล่าขยายในขวด carboy ภายในห้องปฏิบัติการตัวอย่างที่ 2 (14) คลอเรลล่าที่เลี้ยงในถังเพาะภายนอกห้องปฏิบัติการตัวอย่างที่ 1 (15) คลอเรลล่าที่เลี้ยงในถังเพาะภายนอกห้องปฏิบัติการตัวอย่างที่ 2 (16) *Mycobacterium marinum* (S4), (17) *Mycobacterium marinum* (S10), (18) nanopure water

ตารางผนวกที่ 2 ผลการตรวจสอบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของคลอเรลล่าและไรแดงที่ผลิต
ด้วยระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

ชนิด	ถัง	ตัวอย่าง	ผลการตรวจ					
			ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ครั้งที่ 3	
			PCR-RCBH	Ogawa egg	PCR-RCBH	Ogawa egg	PCR-RCBH	Ogawa egg
หัวเชื้อคลอเรลล่า	-	1	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-
คลอเรลล่าที่ขยายใน ถังเพาะ	1	1	-	-	-	-	+	-
		2	-	-	-	-	-	-
	2	1	-	-	-	-	+	-
		2	-	-	-	-	-	-
	3	1	+	-	-	-	-	-
		2	-	-	+	-	-	-
หัวเชื้อไรแดงที่ผ่าน การฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน	1	1	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-
	2	1	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	+	-
	3	1	+	-	-	-	-	-
		2	-	-	+	-	-	-
หัวเชื้อไรแดงที่ผ่าน การฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน ที่เลี้ยงลงในถังเพาะ คลอเรลล่า	1	1	+	-	-	-	+	-
		2	-	-	+	-	-	-
	2	1	+	-	-	-	+	-
		2	-	-	-	-	-	-
	3	1	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ + คือ พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

- คือ ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

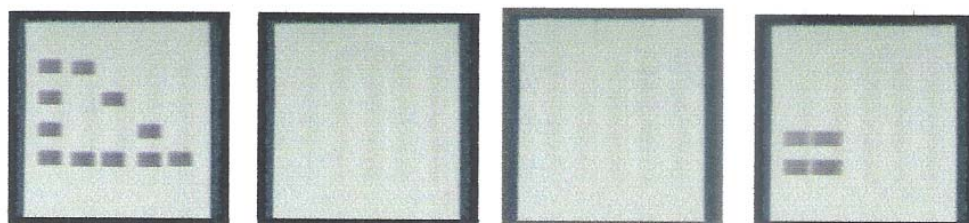
ตารางผนวกที่ 3 ความหนาแน่นของเซลล์คลอเรลล่าที่ผลิตในระบบปิดเชื้อ *Mycobacterium* sp.
ในขวดคาร์บอยภายในห้องปฏิบัติการ และถังเพาะทดลองนอกห้องปฏิบัติการ

วันที่/ ครั้งที่	ขวดคาร์บอยภายในห้องปฏิบัติการ ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลูกบาศก์เมตร)				ถังทดลองเพาะภายนอกห้องปฏิบัติการ ($\times 10^7$ เซลล์ต่อลูกบาศก์เมตร)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
1	0.1	0.1	0.1	0.1				
2	0.29	0.25	0.21	0.25	2.61	2.53	2.48	2.54
3	0.30	0.20	0.20	0.23	3.84	4.29	3.75	3.96
4	0.35	0.12	0.13	0.20	4.10	4.66	4.43	4.39
5	0.35	0.10	0.10	0.18	4.63	5.00	4.66	4.76
6	0.70	0.22	0.28	0.40	2.22	2.43	2.11	2.25
7	3.30	0.81	0.90	1.67	1.64	2.00	1.44	1.69
8	3.87	2.40	2.61	2.96	1.00	1.52	0.83	1.11
9	2.82	3.64	3.81	3.42				
10	1.32	2.11	2.68	2.03				
11	0.93	1.26	1.80	1.33				

ตารางผนวกที่ 4 ผลการตรวจหาเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยปฏิกิริยา PCR-RCBH ในลูกปลากัดรุ่นที่ 1

พ่อแม่ปลาคูที่	จำนวนลูกปลาที่ฟักได้ได้ (รุ่นที่ 1)	จำนวนลูกปลาที่สุ่มตรวจ (รุ่นที่ 1)	ผลการตรวจ
1	250	50	-
2	310	55	-
3	200	50	-
4	180	50	-
5	240	50	-
6	150	50	-
7	80	45	-
8	250	50	-
9	250	50	-
10	80	45	-

หมายเหตุ + คือ พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. – คือ ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.



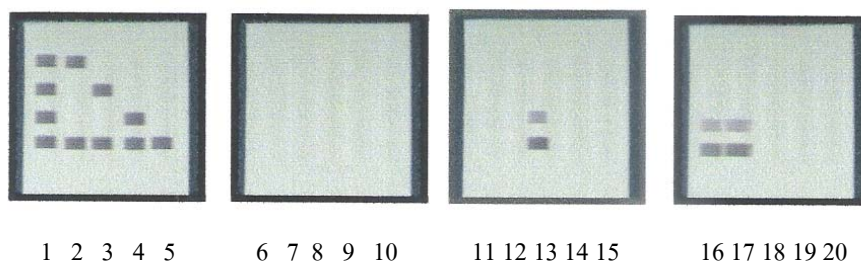
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

ภาพผนวกที่ 2 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของลูกปลากัด (G1) อายุ 10 วัน จำนวน 10 ครอก โดยวิธี PCR-RCBH ช่องที่ : (1) DNA pool, (2) *Mycobacterium fortuitum*, (3) *Mycobacterium chelonae*, (4) *Mycobacterium marinum*, (5) *Mycobacterium* spp. (6) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 1 (7) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 2 (8) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 3 (9) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 4 (10) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 5 (11) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 6 (12) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 7 (13) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 8 (14) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 9 (15) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 10 (16) *Mycobacterium marinum* (S4), (17) *Mycobacterium marinum* (S10), (18) nanopure water

ตารางผนวกที่ 5 ผลการตรวจหาเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยปฏิกิริยา PCR-RCBH ในลูกปลากัด
รุ่นที่ 2

พ่อแม่ปลารุ่นที่ 1 คู่ที่	จำนวนลูกปลาที่ฟักได้ได้ (รุ่นที่ 2)	จำนวนลูกปลาที่สุ่มตรวจ (รุ่นที่ 2)	ผลการตรวจ
1	180	50	-
2	240	55	-
3	250	50	-
4	100	45	-
5	100	45	-
6	200	50	-
7	350	55	-
8	280	55	+
9	80	45	-
10	80	45	-

หมายเหตุ + คือ พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. - คือ ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.

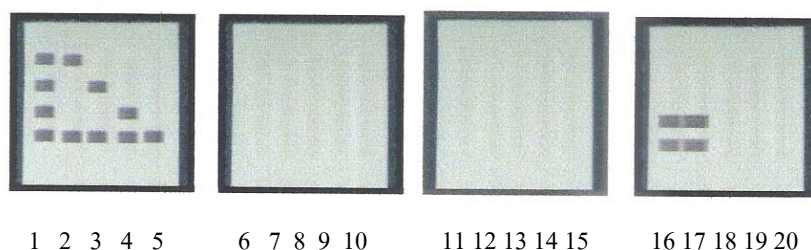


ภาพผนวกที่ 3 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของลูกปลากัด (G2) อายุ 10 วัน จำนวน 10 ครอก โดยวิธี PCR-RCBH ผลการตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยวิธี PCR-RCBH ช่องที่ : (1) DNA pool, (2) *Mycobacterium fortuitum*, (3) *Mycobacterium chelonae*, (4) *Mycobacterium marinum*, (5) *Mycobacterium* spp. (6) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 1 (7) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 2 (8) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 3 (9) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 4 (10) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 5 (11) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 6 (12) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 7 (13) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 8 (14) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 9 (15) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 10 (16) *Mycobacterium marinum* (S4), (17) *Mycobacterium marinum* (S10), (18) nanopure water

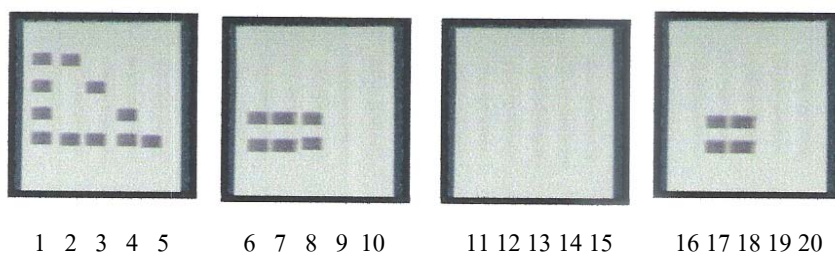
ตารางผนวกที่ 6 ผลการตรวจหาเชื้อ *Mycobacterium* sp. โดยปฏิกิริยา PCR-RCBH ในลูกปลากัดรุ่นที่ 3

พ่อแม่ปลารุ่นที่ 2 คู่ที่	จำนวนลูกปลาที่ฟักได้ (รุ่นที่ 3)	จำนวนลูกปลาที่สุ่มตรวจ (รุ่นที่ 3)	ผลการตรวจ
1	80	45	-
2	220	50	-
3	250	50	-
4	120	50	-
5	100	50	-
6	250	50	-
7	240	50	-
8	230	50	-
9	130	50	-
10	90	45	-

หมายเหตุ + คือ พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. – คือ ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.



ภาพผนวกที่ 4 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของลูกปลากัด (G3) อายุ 10 วัน จำนวน 10 ครอก โดยวิธี PCR-RCBH ช่องที่ : (1) DNA pool, (2) *Mycobacterium fortuitum*, (3) *Mycobacterium chelonae*, (4) *Mycobacterium marinum*, (5) *Mycobacterium* spp. (6) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 1 (7) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 2 (8) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 3 (9) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 4 (10) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 5 (11) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 6 (12) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 7 (13) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 8 (14) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 9 (15) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 10 (16) *Mycobacterium marinum* (S4), (17) *Mycobacterium marinum* (S10), (18) nanopure water

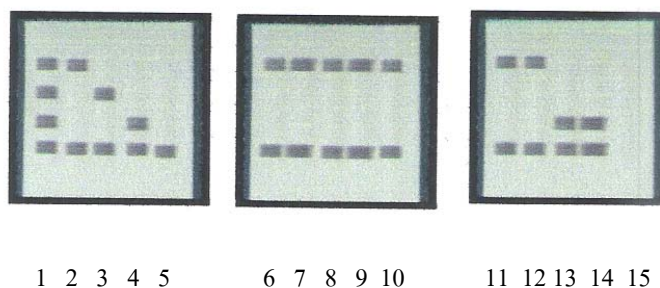


ภาพผนวกที่ 5 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรค คลอเรลล่า และไรแดงที่ผลิตโดยระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในกรณีศึกษา ของ นาย อาวุธ อำทรัพย์ โดยวิธี PCR-RCBH ช่องที่ : (1) DNA pool, (2) *Mycobacterium fortuitum*, (3) *Mycobacterium chelonae*, (4) *Mycobacterium marinum*, (5) *Mycobacterium* spp. (6) น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนถึงที่ 1 ตัวอย่างที่ 1 (7) น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนถึงที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 (8) น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนถึงที่ 2 ตัวอย่างที่ 1 (9) น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนถึงที่ 2 ตัวอย่างที่ 2 (10) คลอเรลล่าที่เพาะในถังซีเมนต์กลมถึงที่ 1 ตัวอย่างที่ 1 (11) คลอเรลล่าที่เพาะในถังซีเมนต์กลมถึงที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 (12) คลอเรลล่าที่เพาะในถังซีเมนต์กลมถึงที่ 2 ตัวอย่างที่ 1 (13) คลอเรลล่าที่เพาะในถังซีเมนต์กลมถึงที่ 2 ตัวอย่างที่ 2 (13) คลอเรลล่าและไรแดงที่ผลิตโดยระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ถึงที่ 1 ตัวอย่างที่ 1 2 (14) คลอเรลล่าและไรแดงที่ผลิตโดยระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ถึงที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 (15) คลอเรลล่าและไรแดงที่ผลิตโดยระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ถึงที่ 2 ตัวอย่างที่ 1 (16) คลอเรลล่าและไรแดงที่ผลิตโดยระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ถึงที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 (17) *Mycobacterium marinum* (S4), (18) *Mycobacterium marinum* (S10), (19) nanopure water

ตารางผนวกที่ 7 ผลการทดสอบปอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ลูกปลากัดรุ่นที่ 1 อายุ 10 วันที่มาจากพ่อแม่พันธุ์ที่ปอดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ในกรณีศึกษา ของ นายอาวุธ อ่ำทรัพย์ โดยวิธี PCR- RCBH ของ Kox และคณะ (1995)

พ่อแม่ปลาคูที่	จำนวนลูกปลาที่ฟักได้ (ตัว)	จำนวนลูกปลาที่สุ่มตรวจ (ตัว)	ผลการตรวจ
1	300	55	+
2	350	55	+
3	350	55	+
4	300	55	+
5	250	50	+
6	350	55	+
7	300	55	+

หมายเหตุ + คือ พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp. – คือ ไม่พบการติดเชื้อ *Mycobacterium* sp.



ภาพผนวกที่ 6 ผลการตรวจสอบเชื้อ *Mycobacterium* sp. จากตัวอย่างลูกปลากัดอายุ 10 วัน จำนวน 7 ครอก ในกรณีศึกษาของนายอาวุธ อ่ำทรัพย์ โดยวิธี PCR-RCBH ช่องที่ : (1) DNA pool, (2) *Mycobacterium fortuitum*, (3) *Mycobacterium chelonae*, (4) *Mycobacterium marinum*, (5) *Mycobacterium* spp. (6) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 1 (7) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 2 (8) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 3 (9) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 4 (10) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 5 (11) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 6 (12) ตัวอย่างลูกปลากัดครอกที่ 7 (13) *Mycobacterium marinum* (S4), (14) *Mycobacterium marinum* (S10), (15) nanopure water

ตารางผนวกที่ 8 สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงคลอเรลล่า (*Chlorella* sp.) ในห้องปฏิบัติการ

สารเคมีที่ใช้	ปริมาณต่อลิตร
KNO ₃	10 ml.
KH ₂ PO ₄	2 ml.
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	2 ml.
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2 ml.
CaCl ₂ ·2H ₂ O	2 ml.
NaCl	2 ml.
Micro A ประกอบด้วย	
1. KBr	0.595 g.
2. KI	0.451 g.
3. LiCl	0.021 g.
4. H ₃ BO ₃	0.077 g.
5. น้ำกลั่น	1 ลิตร
นำ Micro A ผสมกันแล้วเติม HCl 3 ml. และนำ Micro A ไปใช้เพียง 2 ml.	
Micro B ประกอบด้วย	
1. MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.05 g.
2. น้ำกลั่น	1 ลิตร
นำ Micro B ผสมกันแล้วเติม HCl 3 ml. และนำ Micro A ไปใช้เพียง 2 ml.	
Micro C ประกอบด้วย	
1. Fe(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O	8.1 g.
2. EDTA	7.5 g.
3. น้ำกลั่น	1 ลิตร
นำ Micro C ผสมกันแล้วเติม HCl 3 ml. และนำ Micro A ไปใช้เพียง 2 ml.	

หลังจากที่เตรียมสารได้ครบทุกชนิดแล้ว ให้นำมาเติมลงใน flask ที่ใส่น้ำ (ฆ่าเชื้อโรคด้วย
เครื่องนึ่งความดันสูง เรียบร้อยแล้ว) ตามปริมาณที่จะเตรียม

ตารางผนวกที่ 9 สูตรปุ๋ยที่ใช้เพาะเลี้ยงคลอเรลล่าและไรแดง ปริมาณน้ำ 300 ลิตร

ชนิดปุ๋ย	ปริมาณ (กรัม)
ปุ๋ยนา (16-20-0)	18
ปุ๋ยสูตร (21-0-0)	120
ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0)	120
ปูนขาว	50
รำ	50
อามิ-อามิ (กากน้ำตาล)	120 ลบ.ซม.
หัวเชื้อคลอเรลล่า	30 ลิตร

เติมน้ำให้มีระดับสูงประมาณ 15 เซนติเมตร เติมปุ๋ยและหัวเชื้อคลอเรลล่า จากนั้นเติมน้ำให้สูงถึง 20 เซนติเมตร หลังจากนั้นทิ้งไว้ประมาณ 2-3 วันและในช่วงระหว่างวันต้องหมั่นคนน้ำเขียวบ่อยๆ เพื่อป้องกันการตกตะกอน เมื่อคลอเรลล่าเจริญเต็มที่แล้วก็ลงหัวเชื้อไรแดงใช้เวลาประมาณ 7 วันจะสามารถเก็บเกี่ยวไรแดงได้ สำหรับวิธีการเพาะไรแดงแบบต่อเนื่องจะเก็บเกี่ยวไรแดงมาใช้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ของไรแดงที่เกิดขึ้น จากนั้นลดระดับน้ำลงให้สูงประมาณ 10 เซนติเมตร แล้วเติมน้ำเขียวและน้ำสะอาดให้ระดับน้ำสูงอย่างละ 5 เซนติเมตร ทำเช่นนี้ทุกวันจนในถึงเพาะไม่สามารถผลิตไรแดงได้จึงล้างถังแล้วเริ่มทำการเพาะไรแดงอีกครั้ง

ตารางผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของการปลดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ของพ่อแม่ปลากัดลูกปลากัดรุ่นที่ 1 , รุ่นที่ 2 และลูกปลากัดรุ่นที่ 3 วิเคราะห์ทางสถิติวิธีไคสแควร์ที่ค่าระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

		M1	G11	G21	G31
P	Chi-square ^a	10 ^a	10 ^a	10 ^a	10 ^a
	Asymp. Sig.	-	-	-	-
	N	10	10	10	10
G1	Chi-square ^a	10 ^a	10 ^a	6.400	10 ^a
	Asymp. Sig.	-	-	0.011	-
	N	10	10	10	10
G2	Chi-square ^a	10 ^a	10 ^a	10 ^a	10 ^a
	Asymp. Sig.	-	-	-	-
	N	10	10	10	10

10^a = This variable is constant. Chi-square-test is cannot performed.

สมมุติฐานที่ 1 พ่อแม่ปลากัดที่ปลดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มีความสัมพันธ์ต่อการปลดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ลูกปลากัด รุ่น F11

สมมุติฐานที่ 2 พ่อแม่ปลากัดรุ่น F1 ที่ปลดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มีความสัมพันธ์การปลดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ต่อลูกปลากัด รุ่น F21

สมมุติฐานที่ 3 พ่อแม่ปลากัดรุ่น F2 ที่ปลดเชื้อ *Mycobacterium* sp. มีความสัมพันธ์ต่อการปลดเชื้อ *Mycobacterium* sp. ลูกปลากัด รุ่น F31

หมายเหตุ P แทน พ่อแม่ปลากัด รุ่นที่ 1

G1 แทน พ่อแม่ปลากัด รุ่นที่ 2

G2 แทน พ่อแม่ปลากัด รุ่นที่ 3

G11 แทน ลูกปลากัด รุ่น F1

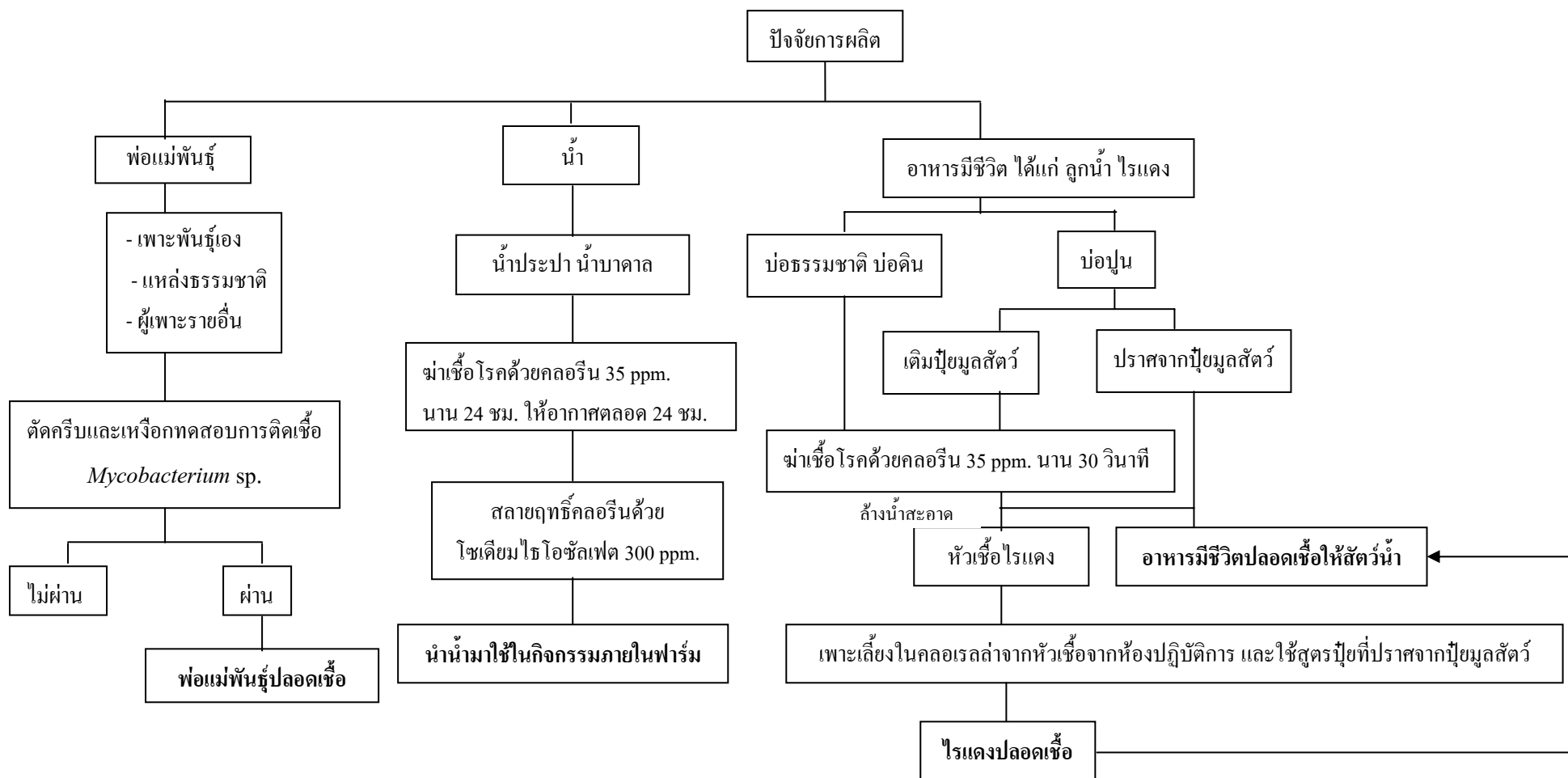
G21 แทน ลูกปลากัด รุ่น F2

G31 แทน ลูกปลากัด รุ่น F3

ตารางผนวกที่ 11 Random sample size based on assumed pathogen prevalence in lot and assuming 100% sensitivity and specificity of the technique (Ossiander and Wedemeyer, 1973)

Lot size	At 5% prevalence, size of sample
50	35
100	45
250	50
500	55
1,000	55
1,500	55
2,000	60
4,000	60
10,000	60
100,000 or more	60

ภาพผนวกที่ 7 ระบบการจัดการฟาร์มเพาะเลี้ยงปลากัดในระบบปลอดเชื้อ *Mycobacterium* sp.



ตารางผนวกที่ 12 เปรียบเทียบราคาต้นทุนการผลิตไรแดงแบบต่อเนื่อง เนื้อที่ป่อ 50 ตารางเมตร

ราคาต้นทุนการผลิต		กองส่งเสริมการประมง(ภาณุและคณะ, 2532)		สูตรปุ๋ยในการวิจัย	
วัตถุดิบ	ราคา (บาท)	จำนวน	ราคา (บาท)	จำนวน	ราคา (บาท)
<u>ต้นทุนค่าปุ๋ย</u>					
น้ำกากผงชूरस (ลิตร)	0.35/ ลิตร	30	10.50	12	4.20
ปุ๋ย N-P-K (16-20-0) (กิโลกรัม)	5 / กก.	2.25	11.25	1.8	4.05
ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) (กิโลกรัม)	4 / กก.	4.5	18	12	48
ปุ๋ยซุเปอร์ฟอสเฟต (0-46-0) (กิโลกรัม)	8 / กก.	0.39	3.12	0.60	4.8
ปูนขาว (กิโลกรัม)	1 / กก.	4.5	4.5	3	3
รำ	2 / กก.	-	-	5	10
<u>ต้นทุนค่าไฟฟ้า</u>					
เครื่องปั๊มลมมอเตอร์ 24 Kw.	2 / วัน	10 วัน	20	10 วัน	20
30 นาที / วัน					
เครื่องสูบน้ำ ขนาดท่อ 2 นิ้ว	2 / ชั่วโมง	1 วัน	2	1 วัน	2

ตารางผนวกที่ 12 เปรียบเทียบราคาค่าต้นทุนการผลิตไร่แดงแบบต่อเนื่อง เนื้อที่บ่อ 50 ตารางเมตร (ต่อ)

ราคาค่าต้นทุนการผลิต		กองส่งเสริมการประมง(ภาณุและคณะ, 2532)		สูตรป้อนในการวิจัย	
วัตถุดิบ	ราคา (บาท)	จำนวน(วัน)	ราคา (บาท)	จำนวน	ราคา (บาท)
<u>ต้นทุนค่าเสื่อมราคาอุปกรณ์</u>					
บ่อซีเมนต์ ขนาด 50 ตารางเมตร	ร้อยละ 10 ต่อปี	10	82.19	10	82.19
ราคาบ่อละ 30,000 บาท					
เครื่องปั้มน้ำ	ร้อยละ 10 ต่อปี	10	57.53	10	57.53
ราคา 21,000 บาท					
เครื่องสูบน้ำขนาดท่อ 2 นิ้ว	ร้อยละ 10 ต่อปี	1	1.92	1	1.92
ราคา 7,000 บาท					
เครื่องปั้ลม	ร้อยละ 10 ต่อปี	10	76.71	10	76.71
ราคา 28,000 บาท					
<u>ต้นทุนค่าแรงงาน</u>					
ค่าจ้างคนงาน		6	350	6	350
ผลผลิตโดยเฉลี่ยต่อบ่อ (กิโลกรัม)		30	-	25	-
ต้นทุนการผลิตต่อกิโลกรัม		-	21.25	-	26.58

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวพรรณดิยา ใจอ่อน
วัน เดือน ปี ที่เกิด	11 พฤษภาคม 2523
สถานที่เกิด	จ. สมุทรสงคราม
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี วท.บ. (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นักวิชาการประมง
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด กรมประมง
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-