แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกราม

Bacteria Involved with Luminescent Vibriosis in Giant Freshwater Prawn Hatcheries

*นิลุบล กิจอันเจริญ (Nilubol Kitancharoen)[1]**
เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว (Penpan Srisakultaew)[2]
นงนุช สุวรรณเพ็ง (Nongnuch Suwannapeng)[3]

บทคัดย่อ

โรคเรืองแสงทำให้เกิดความเสียหายต่อระบบโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกรามมาโดยตลอด ผลการวิจัยพบว่าเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคนี้ คือ เชื้อแบคทีเรียแกรมลบในสกุล *Vibrio* มี 3 ชนิด คือ *V. cholerae, V. parahaemolyticus* และ *V. mimicus* โดยชนิดที่พบมากที่สุดคือ *V. cholerae* ในการเก็บตัวอย่างพบเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิดอื่นร่วมอยู่ เช่น *Aeromonas hydrophila* เป็นต้น ในการศึกษา Homogeneity โดยการทำ DNA-DNA hybridization พบว่าเชื้อ *Vibrio* แต่ละชนิดมีความแปรปรวนในสายพันธุ์ค่อนข้างมาก จากการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญของเชื้อ *Vibrio* ทั้ง 3 ชนิดที่แยกได้จากกุ้งก้ามกรามพบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ความเค็ม 10-30 ส่วนในพันส่วน ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0-9.0 และสามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีแอมโมเนียสูงถึง 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อพบว่าเชื้อ *Vibrio* ทุกสายพันธุ์ไวต่อยา chloramphenicol และ streptomycin และทนต่อยา oxytetracycline ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในโรงเพาะฟักเพื่อการควบคุมโรคเรืองแสง สำหรับความสามารถในการก่อโรคของเชื้อในลูกกุ้งก้ามกรามและแม่พันธุ์นั้น พบว่าเชื้อ *V. cholerae* มีความรุนแรงสูงกว่าชนิดอื่นทั้งในลูกกุ้งและแม่พันธุ์ อย่างไรก็ตามเชื้อที่ทำการทดสอบทั้ง 4 ชนิด สามารถทำให้เกิดการตายในลูกกุ้งและแม่พันธุ์ในระดับต่าง ๆ

Abstract

Luminescent vibriosis has continuously interrupted the hatchery systems of giant freshwater prawn. From this study we found that most isolates belonged to 3 species of the genus *Vibrio*, a rod-shaped gram negative bacterial group, i.e. *V. cholerae, V. parahaemolyticus* and *V. mimicus*. *V. cholerae* were isolated dominantly from diseased shrimp. Another gram negative bacteria, *Aeromonas hydrophila*, was occasionally found contaminating shrimp specimens. In a study of homogeneity by DNA-DNA hybridization, results showed large variations both within the same species and among the different species. Considering growth conditions, the 3 *Vibrio* species showed good growth with temperature range of 25-35°C, salinity 10-30 ppt, pH 5.0-9.0, and even with 2 mg/l NH_3 dissolved. From susceptibility test, all *Vibrio* isolates were susceptible to chloramphenicol and streptomycin, but had intermediate resistance to oxytetracycline, an antibiotic commonly recommended for control of Luminescent disease in giant freshwater prawn hatcheries. In pathogenicity tests on juvenile and female brood stock, *V. cholerae* revealed clear high virulence compared to the others by causing high mortality both in juvenile and female brood stock. However, the 4 tested isolates affected mortalities of juvenile and female brood stock at various degrees.

คำสำคัญ: กุ้งก้ามกราม เชื้อ Vibrios โรคเรืองแสง โรงเพาะฟัก

Keywords: giant freshwater prawn, hatchery, Luminescent vibriosis, vibrios

[1]*ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[2]*รองศาสตราจารย์ ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[3]*นักวิจัย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จังหวัดมหาสารคาม*
**corresponding author, e-mail: kitancharoen@yahoo.co.th*

บทนำ

กุ้งก้ามกราม (giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* de Mann) เป็นกุ้งน้ำจืดขนาดใหญ่ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจของไทย กุ้งก้ามกรามพบแพร่กระจายทั่วไปในแหล่งน้ำจืดที่มีทางติดต่อกับทะเลเนื่องจากมีวงจรชีวิตในช่วงฤดูวางไข่และระยะตัวอ่อนอยู่ในน้ำกร่อย จากนั้นจึงอพยพย้ายถิ่นไปเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยในแหล่งน้ำจืด (Ismael and New, 2000) การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามมีแหล่งใหญ่อยู่พื้นที่ในเขตภาคกลาง คือ จังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม ฉะเชิงเทรา ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา และราชบุรี นอกจากนั้นในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือในพื้นที่จังหวัดกาฬสินธุ์ พื้นที่เลี้ยงกุ้งก้ามกรามมีประมาณ 40,000 ไร่ ซึ่งให้ผลผลิตมูลค่าถึง 1,117.6 ล้านบาท (กองเศรษฐกิจการประมง, 2542) แม้กุ้งก้ามกรามจะเป็นที่นิยมของตลาดในประเทศเป็นอย่างมาก แต่การศึกษาเกี่ยวกับกุ้งชนิดนี้มีน้อยมาก ปัจจุบันการเพาะฟักกุ้งก้ามกรามนั้นประสบปัญหาหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นปัญหาแม่พันธุ์มีขนาดเล็ก เนื่องจากมีการเจริญพันธุ์เร็ว หรือปัญหาทางด้านโรคทำให้ผลผลิตลูกกุ้งที่ได้ไม่แน่นอน โรคหนึ่งที่มีความสำคัญและทำให้ลูกกุ้งในโรงเพาะฟักตายเป็นอันมาก คือ โรคเรืองแสง (Luminescent disease) หรือชื่อที่รู้จักกันในหมู่เกษตรกรคือ โรคดาวเรือง หรือโรคเพชรพลอย ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย (ลิลา และคณะ, 2540)

โรคเรืองแสงนี้มีรายงานในโรงเพาะฟักกุ้งทะเลเช่นกัน ส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบชนิด *Vibrio harveyi* (ชลอ, 2543; Jayabalan and Pillai,1994) แต่ก็มีรายงานว่ามีเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเรืองแสง เช่น แบคทีเรียในสกุล *Photobacterium* (ลิลา และคณะ, 2540), แบคทีเรียสกุล *Vibrio* ชนิด *V. fischeri* (Stevens et al., 1994) และ *V. splendidus* (Baticados et al., 1990) เป็นต้น สำหรับในกุ้งก้ามกรามนั้น จิราพรและคณะ (2530) รายงานว่า สามารถแยกเชื้อ *V. harveyi* จากลูกกุ้งที่เป็นโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักและโรคนี้มักทำให้เกิดการตายในลูกกุ้งก่อนคว่ำ

การแพร่กระจายของโรคเรืองแสงมีรายงานทั้งในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกรามและกุ้งทะเลในเขตร้อนของทวีปเอเชีย และออสเตรเลีย (Vattanaviboon et al., 2003) ประเทศอินโดนีเซีย ประเทศไทย (Lin and Nash, 1996) และมีรายงานในบราซิล (Johnson and Bueno, 2000) ลิลา และคณะ (2540) รายงานว่าที่ผ่านมาเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งได้รับความเสียหายจากโรคเรืองแสงเป็นอย่างมาก เกษตรกรที่ประสบปัญหานี้มักใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษา แต่บางครั้งก็ให้ผลไม่แน่นอน เนื่องจากการดื้อยาของเชื้อ หรือบางครั้งวิธีการรักษาไม่ถูกต้องเนื่องจากการขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับสาเหตุของโรคที่เกิดขึ้น ลูกกุ้งจะมีอัตราการติดเชื้อและการตายสูงในระยะเวลาอันสั้น ข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกรามยังมีอยู่น้อยมากเมื่อเทียบกับการศึกษาในกุ้งทะเล ทำให้เราไม่ทราบข้อมูลที่แน่ชัดเกี่ยวกับชนิดและความหลากหลายของเชื้อ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเรืองแสงได้นั้น มิได้มีเพียงสกุล *Vibrio* เท่านั้น (Wegrzyn and Czyz, 2002) ดังนั้นการศึกษาชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรคเรืองแสงของกุ้งก้ามกรามในโรงเพาะฟักและคุณสมบัติบางประการของเชื้อ จะทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับโรคนี้ และอาจนำไปสู่การตรวจวินิจฉัยและการรักษาที่ถูกวิธี

วิธีการศึกษา

1. การรวบรวมเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกราม

การรวบรวมเชื้อที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งก้ามกรามในโรงเพาะฟักจากสถานีประมงและโรงเพาะฟักของเอกชน ในเขตพื้นที่จังหวัดสุพรรณบุรี กาฬสินธุ์ อุดรธานี และแหล่งที่มีการเพาะฟักลูกกุ้งก้ามกรามที่มีรายงานการเกิดโรค โดยก่อนที่จะทำการแยกเชื้อจากตัวอย่างกุ้งที่พบว่าป่วยเป็นโรคเรืองแสง จะฆ่าเชื้อภายนอกโดยการจุ่มตัวอย่างใน 70% ethanol เป็นเวลา 1–2 นาที จากนั้นนำไปล้างในน้ำสะอาดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง และทำการแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) Agar (Difco) หรือ Marine agar (Pronandisa, Spain) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้เพื่อทำการศึกษาต่อไป เชื้อ *Vibrio* อีก 2 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบ คือ *V. cholerae* แยกจากกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ได้รับความอนุเคราะห์จากผศ. ดร. นนทวิทย์ อารีย์ชน ห้องปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ *Vibrio harveyi* ATCC 14126 จาก Prof. Dr. Kishio Hatai, Fish Diseases Laboratory, Nippon Veterinary and Animal Science University ประเทศญี่ปุ่น

2. การศึกษาชนิดของเชื้อ

ศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี (Biochemical characteristics) โดยการย้อม gram stain ด้วย Gram stain set (BML) ตามวิธีการที่แจ้งโดยบริษัทผู้ผลิต การทดสอบ oxidase test โดย cytochrome oxidase test kits (Nissui) การทดสอบ Catalase test ด้วย Hydrogen peroxide ความเข้มข้น 30% และนำไปทดสอบด้วย API 20 E (Biomerieux, France) ตามวิธีการของบริษัทผู้ผลิต

3. การศึกษา homologeneity ของเชื้อที่แยกได้ โดยการทำ DNA-DNA hybridization

วิธีการประยุกต์มาจาก Kawamura et al. (1998) โดยการสกัด DNA จะประยุกต์มาจากวิธีการของ Darbre (1999) และสิรินดา (2541) genomic DNA สายเดี่ยวของแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อ คือ unlabeled DNA สายเดี่ยวซึ่งถูกยึดไว้ที่ผิวของ microdilution wells จะถูก hybridization ด้วย biotinylated DNA ของแบคทีเรียที่ทราบชนิด จากนั้นจะตรวจหา biotinylated DNA โดย fluorogenic substrate และค่า homology values จะพิจารณาจาก fluorometric direct binding method

4. การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อ

นำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่เลี้ยงบน Marine agar ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาล้างด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้งและปรับความเข้มข้นของเชื้อให้มีจำนวน $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเติมเชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน BHI ในสารละลาย NaCl เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 4.9 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 5, 10,15,20,25,30, 35 และ40 องศาเซลเซียส โดยแต่ละสายพันธุ์จะทำ 3 ซ้ำ ที่แต่ละระดับอุณหภูมิ หลังจาก 24 ชั่วโมง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่เปลี่ยนแปลงไป ด้วยเครื่อง spectrophotometer (Spectronic 21, Milton Roy Company) ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร หากไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสง ให้นำมาเขี่ยเชื้อบน Marine agar เพื่อดูการมีชีวิต

5. การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญของเชื้อ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการศึกษาเช่นเดียวกับ ในข้อ 4 และล้างด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง ปรับให้มีความเข้มข้น $1x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร แล้วใส่ 50 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลว BHI ในสารละลาย NaCl เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 4.95 มิลลิลิตร ซึ่งปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 และ 11 โดยแต่ละสายพันธุ์จะทำ 3 ซ้ำ ที่แต่ละค่าความเป็นกรด-ด่าง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจาก 24 ชั่วโมง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยน แปลงไป หากไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสง ให้นำมาเขี่ยเชื้อบน Marine agar เพื่อดูการมีชีวิต

6. การศึกษาผลของความเค็มต่อการเจริญของเชื้อ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการศึกษาเช่นเดียวกับ ในข้อ 4 นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ปรับให้มีความเข้มข้น $1x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เติมเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว BHI ที่ละลาย NaCl ที่ระดับความเค็ม 5 เท่าของ 0, 10, 20, 30 และ 40 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 4 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจาก 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยน แปลงไป โดยแต่ละสายพันธุ์จะทำ 3 ซ้ำ ที่แต่ละค่าความเค็ม หากไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสง ให้นำมาเขี่ยเชื้อบน Marine agar เพื่อดูการมีชีวิต

7. การศึกษาผลของอัมโมเนียต่อการเจริญของเชื้อ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการศึกษาเช่นเดียวกับ ในข้อ 4 นำมาล้างด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ปรับให้มีความเข้มข้น $1x10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร นำเชื้อมาปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงใน BHI ในสารละลาย NaCl เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 4.9 มิลลิลิตร ที่มี NH_4Cl และผ่านการปรับค่า total NH_3 เท่ากับ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ ammonia test kits (HACH)นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจาก 24 ชั่วโมง โดยแต่ละสายพันธุ์จะทำ 3 ซ้ำ ที่แต่ละระดับของอัมโมเนีย นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป หากไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสง ให้นำมาเขี่ยเชื้อบน Marine agar เพื่อดูการมีชีวิต

8. การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

นำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Marine agar ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และล้างด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ปรับให้มีความเข้มข้น $1x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เกลี่ยเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton agar (Difco) ผสม NaCl เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ นำ susceptibility disc (Oxoid) วางลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัด clear zone ที่เกิดขึ้นเทียบกับค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์

9. การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อในลูกกุ้งก้ามกราม

นำลูกกุ้งก้ามกรามอายุ 21 วัน จำนวน 1,050 ตัว มาแบ่งอนุบาลในโหลแก้ว ปริมาตร 10 ลิตร โหลละ 70 ตัว เพื่อปรับสภาพให้คุ้นกับสภาพการทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยน้ำที่ใช้เลี้ยงมีความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน ใส่เชื้อแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ คือ KKU 46001, 46010, 47015 และ ATCC 14126 ที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ซึ่งอยู่ในสารละลาย NaCl เข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยปรับให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้ใส่เชื้อลงไป สังเกตอัตราการตายที่เกิดขึ้นเป็นเวลา 96 ชั่วโมง การทดลองนี้ทำ 3 ซ้ำ

10. การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อในแม่พันธุ์กุ้งก้ามกราม

นำแม่พันธุ์กุ้งก้ามกรามน้ำหนักเฉลี่ย 26.9 กรัม จำนวน 450 ตัว มาแยกเลี้ยงในบ่อขนาด 1x1x0.5 เมตร บ่อละ 30 ตัว โดยใช้น้ำผสมน้ำทะเลให้มีความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน เพื่อปรับสภาพให้คุ้นกับสภาพการทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นฉีดเชื้อแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ใช้ในข้อ 9 เข้ากล้ามเนื้อ ในอัตรา 0.1 มิลลิลิตรต่อตัว โดยเชื้ออยู่ใน normal saline และมีความเข้มข้น 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนกลุ่มควบคุมฉีด normal saline ในอัตราเดียวกัน สังเกตอัตราการตายที่เกิดขึ้นเป็นเวลา 7 วัน

ผลการศึกษา

1. การรวบรวมเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกราม

การแยกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากกุ้งก้ามกรามที่เกิดโรคเรืองแสงจากโรงเพาะฟัก จากรัฐบาล ในเขตพื้นที่จังหวัดกาฬสินธุ์ อุดรธานี และสุรินทร์ ได้เชื้อแบคทีเรียจำนวนทั้งสิ้น 59 สายพันธุ์ แต่นำมาศึกษาในส่วนของคุณสมบัติของเชื้อ 18 สายพันธุ์โดยเลือกเฉพาะสกุล *Vibrio* แหล่งที่มาของเชื้อที่นำมาศึกษาแสดงไว้ในตารางที่ 1

เชื้อที่แยกได้กุ้งก้ามกรามส่วนใหญ่ได้จากพ่อแม่พันธุ์ซึ่งเมื่อย้ายมาลงในน้ำกร่อยมักจะพบการเรืองแสง สำหรับสายพันธุ์ KKU 46008 และ 46009 แยกได้จากลูกกุ้ง

2. ผลการศึกษาชนิดของเชื้อที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสง

จากการทำการศึกษาลักษณะของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกุ้งก้ามที่ป่วยเป็นโรคเรืองแสงจากโรงเพาะฟัก พบว่าโคโลนีมีลักษณะ กลม ขอบเรียบ นูนเล็กน้อย มีสีขาวครีม เรืองแสงได้ในที่มืด โดยให้แสงสีเขียวปนเหลือง เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Marine agar ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อนำมาย้อม Gram stain พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นแท่งสั้น มีขนาดเฉลี่ย 0.5-1.5 x 2-3.5 ไมโครเมตร และมีบางเซลล์ที่มีลักษณะเป็นรูป comma-shaped ปะปนอยู่ อย่างไรก็ตามในการแยกเชื้อดังกล่าวมีเชื้อแบคทีเรียอื่นปะปนมาด้วย ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ โคโลนีมีขนาดใหญ่กว่า และมีสีครีมปนเหลือง จากการทดสอบด้วย API 20 NE พบว่าเป็นแบคทีเรียในสกุล *Aeromonas* ชนิด *A. hydrophila*, *A. caviae* และ *A. sobria* ซึ่งมีอยู่ 11 สายพันธุ์ หรือเท่ากับ 18.6% ของปริมาณเชื้อทั้งหมดที่แยกได้

ในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อโดยการทดสอบด้วย API 20 E พบว่าเชื้อจำนวน 48 สายพันธุ์ อยู่ในสกุล *Vibiro* โดย เป็นชนิด *V. cholerae* จำนวน 27 สายพันธุ์ *V. mimicus* จำนวน 4 สายพันธุ์ ชนิด *V. parahaemolyticus* จำนวน 12 สายพันธุ์ และเป็น unidentify vibrios จำนวน 5 สายพันธุ์ ซึ่งต่างจาก *V. harveyi* ATCC 14126 และ *V. cholerae* reference strain คุณสมบัติของเชื้อจากการทดสอบด้วย API 20 E แสดงไว้ในตารางที่ 2

3. ผลการศึกษา homogeneity ของเชื้อที่แยกได้ โดยการทำ DNA-DNA hybridization

จากการทำ DNA-DNA hybridization ของเชื้อสกุล *Vibiro* ทั้ง 4 ชนิด คือ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* และ*V. harveyi* ATCC 14126 ซึ่งเป็น reference strain พบว่า ถึงแม้จะเป็นเชื้อชนิดเดียวกัน แต่มี homogeneity ต่างกัน ไม่มีสายพันธุ์ใดที่สามารถเกิด hybridization กันได้อย่างสมบูรณ์ เชื้อชนิด *V. cholerae* ทั้ง 27 สายพันธุ์ มี homogeneity ระหว่างสายพันธุ์ที่ 87.9-93.4 เปอร์เซ็นต์ เชื้อชนิด *V. parahaemolyticus* ทั้ง 4 สายพันธุ์ มี homogeneity ระหว่างสายพันธุ์ที่ 85.2-90.6 เปอร์เซ็นต์ เชื้อชนิด *V. mimicus* ทั้ง 12 สายพันธุ์ มี homogeneity ระหว่างสายพันธุ์ที่ 86.3-93.8 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อ *V. cholerae* มี homogeneity กับเชื้อ *V. mimicus* ระหว่าง 71.6-78.7 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าเชื้อชนิดอื่น

4. ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อ

ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกุ้งก้ามกรามที่ป่วยเป็นโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกราม พบว่า เชื้อแบคทีเรียทั้ง 18 สายพันธุ์ รวมทั้ง reference strains ทั้ง 2 สายพันธุ์ ทุกสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 5-20 องศาเซลเซียส นั้นเชื้อยังมีชีวิตอยู่ แต่ไม่มีการเจริญ ยกเว้นสายพันธุ์ *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* ที่อุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส เชื้อไม่สามารถเจริญได้ ส่วนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้บางสายพันธุ์ยกเว้นสายพันธุ์ KKU 47016, 47018, 47024 และ reference strains 2 สายพันธุ์ แต่เชื้อยังมีชีวิต

5. ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญของเชื้อ

ผลที่ได้จากการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างต่อการเจริญของเชื้อ แสดงว่าเชื้อในสกุล *Vibrio* สามารถเจริญได้ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 5.0-9.0 และเจริญได้ดีที่สุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 แต่มีบางสายพันธุ์ของ *V. mimicus* และ *V. parahaemolyticus* ไม่สามารถเจริญได้ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0 และ 9.0 ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 9.0 นั้น ถึงแม้จะไม่มีการเจริญ แต่เชื้อยังมีชีวิตอยู่ ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 10.0 เชื้อจะตาย

6. ผลของความเค็มต่อการเจริญของเชื้อ

เชื้อสกุล *Vibrio* ทุกสายพันธุ์ที่นำมาศึกษาสามารถเจริญได้ที่ระดับความเค็มที่ทำการศึกษา 10-40 ส่วนในพันส่วน และสามารถเจริญได้ดีที่สุดที่ช่วงความเค็ม 10-30 ส่วนในพันส่วน และลดลงที่ระดับความเค็ม 40 ส่วนในพันส่วน

7. ผลของแอมโมเนียต่อการเจริญของเชื้อ

ผลของแอมโมเนียต่อการเจริญของเชื้อสกุล *Vibrio* ทั้งหมดที่ทำการทดสอบนั้นสามารถเจริญได้ในสภาพที่ไม่มีและมีอัมโมเนียทุกระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ และการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณแอมโมเนียสูงขึ้น ยกเว้น *V. mimicus* KKU 46004 เจริญได้น้อยกว่าสายพันธุ์อื่นในทุกระดับอัมโมเนีย

8. การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

ผลของการทดสอบความไวของเชื้อสกุล *Vibrio* จำนวน 48 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากกุ้งก้ามกรามและ Reference strains 2 สายพันธุ์ ต่อยาปฏิชีวนะ 17 ชนิด สรุปไว้ในตารางที่ 3

9. ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อในลูกกุ้งก้ามกราม

จากการหาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อ *Vibrio* แต่ละสายพันธุ์ ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 โดยเชื้อ *V. cholerae* KKU 46001 และ *V. mimicus* KKU 46010 ทำให้เกิดการตายสะสมมากกว่า *V. harveyi* ATCC 14126 และ *V. parahaemolyticus* KKU 47015 ในช่วงเวลาที่ทำการสังเกตผล อุณหภูมิระหว่างการทดลองอยู่ในช่วง 23.2 - 26.7 องศาเซลเซียส

10. ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อในแม่พันธุ์กุ้งก้ามกราม

จากการหาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อ *Vibrio* แต่ละสายพันธุ์ในแม่พันธุ์กุ้งก้ามกรามให้ผลดังแสดงในตารางที่ 5 โดยเชื้อ *V. cholerae* KKU 46001 และ *V. parahaemolyticus* KKU 76015 ทำให้เกิดการตายสะสมมากกว่า *V. harveyi* ATCC 14126 และ *V. mimicus* KKU 46010 ในช่วงเวลาที่ทำการสังเกตผล อุณหภูมิระหว่างการทดลองอยู่ในช่วง 22.8 - 27.4 องศาเซลเซียส

สรุปและวิจารณ์ผล

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงอยู่ในสกุล *Vibiro* แต่จากที่เก็บตัวอย่างเชื้อในกุ้งก้ามกรามพบว่าไม่มีชนิด *V. harveyi* ที่มักมีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับโรคเรืองแสงในกุ้งก้ามกรามและกุ้งทะเล (Thonguthai, 1997) เชื้อ *V. cholerae* เป็นชนิดที่แยกได้มากที่สุดจากงานวิจัยนี้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานเกี่ยวกับเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสง ที่มีรายงานในกุ้ง คือ *Penaeus indicus* และ *P. monodon* Jayabalan (1994) *V. fischeri*, *V. cholerae* biotype *albensis*, *V. splendidus*, *P. phosphoreum*, *P. leiognathi* (ลิลา และคณะ, 2540; Miyamoto et al. 1985; Swartzman, 1990) อย่างไรก็ตามการจำแนกชนิดของเชื้อในสกุล *Vibrio* ทำได้ยากและคุณสมบัติทางชีวเคมีค่อนข้างใกล้เคียงกันมาก ถึงแม้จะใช้วิธีการ DNA-DNA hybridization เข้ามาช่วย เนื่องจากเชื้อในสกุลนี้มีความแปรปรวนของสายพันธุ์สูง ทำให้ยากต่อการจัดจำแนก กลไกการเรืองแสงของแบคทีเรียนั้น จากการศึกษาของ Swartzman (1990) พบว่า เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่กระตุ้นการเรืองแสงร่วมกับเอนไซม์หลายชนิด โดยมียีนใน Lux operon เป็นตัวควบคุม และมีเชื้อหลายชนิดที่สามารถเรืองแสงได้

ในการศึกษาเกี่ยวกับผลของสภาพแวดล้อมบางประการต่อการเจริญของเชื้อสกุล *Vibrio* ที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งก้ามกรามนั้นพบว่าเชื้อเหล่านี้สามารถเจริญได้ในสภาพการเลี้ยงซึ่งสอดคล้องกับการระบาดที่เกิดขึ้น ไม่ว่าจะเป็น อุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรด-ด่าง และมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ในช่วงกว้าง นอกจากนั้นยังสามารถเจริญได้ในสภาพที่มีอัมโมเนียสูงถึง 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

สอดคล้องกับรายงานของมณจันทร์และกมลพร (2543) ที่ว่าเชื้อ *V. harveyi* เจริญได้ดีในสภาพที่มีสารอินทรีย์ (organic matters) ของเสียจากอาหารและการขับถ่ายของกุ้งสะสมที่พื้นบ่อจำนวนมาก Lin and Nash (1996) รายงานว่าช่วงเดือนกันยายน ถึงตุลาคม ในปี ค.ศ. 1995 เกิดโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักกุ้งกุลาดำในจังหวัดสมุทรสาคร หลังการอนุบาลได้ 5 สัปดาห์ เกิดการตาย 10-20% ต่อวัน เมื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงที่เกิดโรคระบาดพบว่าน้ำในบ่อมีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8.5 ความเค็ม 8-10 ส่วนในพันส่วน ค่าความเป็นด่างมากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแอมโมเนีย 0.03-0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ธงชัยและอัจฉราวดี (2544) กล่าวถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคกุ้งก้ามกรามกับคุณสมบัติของน้ำในบ่ออนุบาลในบ่อที่เกิดโรคเรืองแสง ค่าเฉลี่ยของความเป็นกรด-ด่าง และแอมโมเนียของน้ำในบ่อที่เป็นโรคจะสูงกว่าบ่อที่ไม่เป็นโรค ซึ่งทำให้กุ้งเกิดความเครียดและอ่อนแอ ทำให้ง่ายต่อการติดเชื้อแบคทีเรียตามมา นอกจากนี้น้ำในบ่อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงจะทำให้พิษของแอมโมเนียเพิ่มมากขึ้น (Boyd, 1982)

ในการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ พบว่า เชื้อ *Vibrio* ทุกสายพันธุ์ไวต่อยา chloramphenicol และ streptomycin ซึ่งเป็นยาที่ห้ามนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อการบริโภค สำหรับ oxytetracycline ซึ่งเป็นยาที่อนุญาตให้ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อการบริโภคนั้นพบว่า เชื้อที่ทำการทดสอบส่วนใหญ่จะต้านทานต่อยานี้ สาเหตุดังกล่าวน่าจะเนื่องมาจากมีการใช้ยาตัวนี้เพื่อป้องกันการเกิดโรคในโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกรามอย่างแพร่หลาย ทำให้เชื้อส่วนใหญ่เกิดการดื้อยา ซึ่งควรที่จะหาหนทางแก้ไข เพื่อป้องกันความรุนแรงของปัญหาที่อาจเกิดขึ้นต่อมา

ความรุนแรงของโรคเรืองแสงนั้น นอกจากจะมีความสัมพันธ์กับชนิดและระยะการเจริญเติบโตของกุ้ง ลักษณะการเกิดโรคเกิดกับลูกกุ้งจะเกิดในระยะไมซิส, ลาวา และโพสลาวา (ลิลา, 2531; Lin and Nash, 1996; Leano et al., 1998) จากการวิจัยนี้พบว่าน่าจะขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อก่อโรคด้วยเช่นกัน เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกันแล้ว เชื้อแต่ละชนิดที่ทำการทดสอบมีความสามารถในการก่อโรคในลูกกุ้งก้ามกรามและแม่พันธุ์แตกต่างกัน ดารณีและคณะ (2530) รายงานว่า *V. harveyi* ทำให้ลูกกุ้งแชบ๊วยในระยะนอร์เพลียสจนถึงระยะไมซิส มีอัตราการตายสูงถึง 70-100% แต่จิราพร และคณะ (2530) พบว่า *V. harveyi* ไม่ทำให้ลูกกุ้งก้ามกรามที่ทดสอบติดเชื้อ อย่างไรก็ตาม รายงานดังกล่าวอ้างว่าแบคทีเรียชนิดนี้ มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคในกุ้งก้ามกรามเช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

กองเศรษฐกิจการประมง. 2542. **สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2542.** เอกสารฉบับที่ 10/2545. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

จิราพร เกษรจันทร์, สิทธิ บุญยรัตผลิน และ อุษณีย์ เจษฎาไกรสร. 2530. **โรคดาวเรืองในลูกกุ้งก้ามกราม.** เอกสารวิชาการฉบับที่ 67. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง.

ดารณี แซ่อุ่ย, อนันต์ ตันสุตะพานิช และ ลิลา เรืองแป้น. 2530. ***Vibrio harveyi* สาเหตุของโรคแบคทีเรียเรืองแสงของลูกกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*).** เอกสารวิชาการฉบับที่ 6. ฝ่ายทดลองและวิจัยเพื่อการเพาะเลี้ยง กองประมงน้ำกร่อย, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2543. **กุ้งไทย 2000.** กรุงเทพฯ : เจริญรัฐการพิมพ์.

ธงชัย นิติรัฐสุวรรณ และ อัจฉราวดี อนุมานไพศาล. 2544. **ปัจจัยและความสัมพันธ์ที่มีผลต่อปริมาณเชื้อวิบริโอในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำจังหวัดตรัง ปี 2541-2543.** การทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาประมงและสาขาอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกับ กระทรวง

เกษตรและสหกรณ์ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม ทบวงมหาวิทยาลัย, หน้า 145-152.

มณจันทร์ เมฆธน และ กมลพร มาแสวง. 2543. **ศักยภาพของแบคทีเรียที่มีประโยชน์บางชนิดในการยับยั้ง แบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้ง** การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 สาขาประมงและสาขาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกับ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม ทบวงมหาวิทยาลัย, หน้า 259-268.

ลิลา เรืองแป้น, ชัยวุฒิ สุดทองคง และยุบลรัตน์ ศรีแก้ว. 2540. **แบคทีเรียเรืองแสงในแหล่งเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ จังหวัดสงขลา.** เอกสารวิชาการฉบับที่ 18. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สิรินดา ยุ่นฉลาด. 2541. **คู่มือปฏิบัติการเทคนิคพื้นฐานทางพันธุวิศวกรรม.** ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Baticados, M.C.L., Lavilla-Pitogo, C.R., Cruz-Lacierda, E.R., De la Pena, L.D. and Sunaz, N.A. 1990. Studies on the chemical control of luminous bacteria *Vibrio harveyi* and *Vibrio splendidus* isolated from diseased *Penaeus monodon* larvae and rearing water. **Dis. of Aquat. Org.** 9:133-139.

Boyld, C.E. 1982. **Water quality management for pond fish culture.** Amesterdam: Elsevier Scientific Publishing Company.

Darbre, P.D. 1999. **Basic Molecular Biology Essential Techniques.** Division of Cell and Molecular Biology, School of Animal and Microbial Sciences, The University of Reading, UK.

Ismael, D. and New, M.B. 2000. **Biology of freshwater prawn.** Freshwater Prawn Culture: The Farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Oxford: Blackwell Science Ltd.

Jayabalan, N. and Pillai, D. 1994. Panaeid prawns and associated luminous bacteria. **Acta Microbiol. Immunol. Hung.** 41(4):415-421.

Johnson, S.K. and Bueno, S.L.S. 2000. **Health Management. In Freshwater Prawn Culture the farming of *Macrobrachium rosenbergii.*** Massachusetts: Blackwell Science Ltd.

Kawamura, Y., Hou, X., Sultana, F.K., Hirose, M., Miyake, S., and Ezaki, T. 1998. Distribution of *Staphylococus* species among Human Clinical Specimens and emended description of *Staphylococus caprae*. **J. Clinical Microbiol.** 36 (7): 2038-2042.

Leano, E.M., Lavilla-Pitogo, C.R. and Paner, M.G. 1998. Bacterial flora in the hepatopancreas of pond-reared *Penaeus monodon* juveniles with luminous vibriosis. **Aquaculture** 164: 367-374.

Lin, C.K and Nash, G.L. 1996. Luminous Bacteral Infection in Pond Reared *Penaeus monodon*. **Asian Shrimp News Collected** Volume 1989-1995. Published By Asian Shrimp Culture Council. Pp.182-184.

Miyamoto, C.M., Graham, A.D., Boylan, M., Evans, J.F., Hasel, K.W., Meighen, E.A. and Graham, A.F. 1985. Polycistronic mRNAs code for polypeptide of the *Vibrio harveyi* luminescence system. **J. Bacteriol.** 161: 995-1001.

Stevens, A.M, Dolan, K.M. and Greenberg, E.P. 1994. Synergistic binding of the *Vibrio fischeri* LuxR transcriptional activator domain and RNA polymerase to the *lux* promoter region. **Biochemistry** 91: 12619-12623.

Swartzman, E., Miyamoto, C., Graham, A. and Meighen, E. 1990. Delineation of transcriptional boundaries of the *lux* Operon of *Vibrio harveryi* demonstrates the presence of two new Lux Genes. **J. Biol. Chem.** 265 (6): 3513-3517.

Tonguthai, K. 1997. **Diseases of the Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii.*** AAHRI Newsletter Article from Volume 4 No.2, The Aquatic Animal Health Research Institute, Department of Fisheries Kasetsart University Campus.

Vattanaviboon, P., Panmanee, W., and Mongkolsuk, S. 2003. Induction of peroxide and superoxide protective enzymes and physiological cross-protection against peroxide killing by a superoxide generator in *Vibrio harveyi.* **FEMS Microbiol. Let.** 221: 89-95.

Wegrzyn, G. and Czyz, A. 2002. Invited paper How do marine bacteria produce light, why are they luminescent, and can we employ bacterial biolumines in aquatic biotechnology. **Oceanologia** 44: 291-305.

ตารางที่ 1 ที่มาของเชื้อสกุล *Vibrio* ที่แยกได้จากกุ้งก้ามกรามป่วยที่เป็นโรคเรืองแสงจากโรงเพาะฟักที่นำมาใช้ในการศึกษา

สายพันธุ์ (KKU)	บริเวณที่แยกเชื้อ	เวลาที่เก็บตัวอย่าง	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง
V. cholerae 46001	ตับ-ตับอ่อน	10/2546	ศพจ.อุดรธานี*
V. cholerae 46002	ระยางค์	10/2546	ศพจ.อุดรธานี
V. mimicus 46004	ตา	10/2546	ศพจ.อุดรธานี
*V. parahae.*46005	ตับ-ตับอ่อน	10/2546	ศพจ.อุดรธานี
V. cholerae 46006	ระยางค์	10/2546	ศพจ.อุดรธานี
*V. parahae.*46007	กล้ามเนื้อ	10/2546	ศพจ.อุดรธานี
V. cholerae 46008	ลูกกุ้ง	10/2546	ศพจ.อุดรธานี
V. mimicus 46009	ลูกกุ้ง	10/2546	ศพจ.*อุดรธานี*
V. mimicus 46010	ตับ-ตับอ่อน	10/2546	ศพจ.*อุดรธานี*
V. cholerae 47001	ตับ-ตับอ่อน	3/2547	สปจ.กาฬสินธุ์**
V. cholerae 47014	ตับ-ตับอ่อน	3/2547	สปจ.กาฬสินธุ์
*V. parahae.*47015	ตับ-ตับอ่อน	3/2547	สปจ.กาฬสินธุ์
V. cholerae 47016	กล้ามเนื้อ	3/2547	สปจ.กาฬสินธุ์
V. cholerae 47017	ตับ-ตับอ่อน	3/2547	สปจ.กาฬสินธุ์
*V. parahae.*47018	ตับ-ตับอ่อน	3/2547	สปจ.กาฬสินธุ์
*V. parahae.*47019	ตับ-ตับอ่อน	3/2547	สปจ.กาฬสินธุ์
V. cholerae 47024	ตับ-ตับอ่อน	5/2547	ศพจ.สุรินทร์
*V. parahae.*47025	ตับ-ตับอ่อน	5/2547	ศพจ.สุรินทร์

หมายเหตุ * ศพจ. คือ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด

** สปจ. คือ สถานีประมงน้ำจืด

ตารางที่ 2 คุณสมบัติของเชื้อสกุล *Vibrio* ที่แยกได้จากกุ้งก้ามกรามที่ป่วยเป็นโรคเรืองแสงจากโรงเพาะฟัก

คุณสมบัติบางประการ	V. cholerae	V.parahaemolyticus	V. mimicus
Colony on Marine agar	ครีม	ครีม	ครีม
Luminescent	+	+/−	+/−
Gram stain	-	-	-
Oxidase	+	+	+
Catalase	+	+	+
ONPG	+	-	-
ADH	-	-	-
LDC	+	+	+
ODC	+	+	+
CIT	+	+	+
H_2S	−	-	-
URE	-	-	-
TDA	-/+	-	-/+
IND	-	-	−
VP	+	+	-
GEL	+	+	+
GLU	+	+	+
MAN	+	+	+
INO	-	-/+	-
SOR	-	-	-
RHA	-	-	-
SAC	-	-	-
MEL	-	-	-
AMY	-	-	-
ARA	-	-	-

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความไวของเชื้อสกุล *Vibrio* ที่แยกได้จากกุ้งก้ามกรามที่ป่วยเป็นโรคเรืองแสงจากโรงเพาะฟักกุ้งก้ามกรามและ Reference strains 2 สายพันธุ์ ต่อยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะ	ผลการทดสอบ (จำนวนเชื้อ)				
	V. cholerae	*V. parahaemolyticus*	*V. mimicus*	*V. harveyi*	Unidentified vibrios
Amoxycillin (10)	R(28)	R(12)	R(4)	R(1)	R(5)
Ampicillin (10)	R(28)	R(12)	R(4)	R(1)	R(5)
Chloramphenicol (30)	S(28)	S(12)	S(4)	S(1)	S(5)
Cloxacillin (10)	I(28)	I(12)	I(4)	I(1)	I(5)
Doxycycline (30)	S(24) I(4)	S(11) I(1)	S(4)	S(1)	S(3) I(2)
Erythromycin (15)	R(28)	R(12)	R(4)	R(1)	R(5)
Kanamycin (30)	I(28)	I(12)	I(4)	I(1)	I(5)
Neomycin (30)	S(18) I(10)	S(6) I(6)	S(3) I(1)	I(1)	S(3) I(2)
Norfloxacin (10)	S(23) I(5)	S(8) I(4)	S(4)	S(1)	S(1) I(4)
Oxolinic acid (2)	I(28)	I(12)	I(4)	I(1)	I(5)
Oxytetracycline (30)	I(12) R(16)	I(4) R(8)	I(2) R(2)	I(1)	I(1) R(4)
Penicillin (10)	R(28)	R(12)	R(4)	R(1)	R(5)
Polymyxin B (300)	I(15) R(13)	I(7) R(5)	I(3) R(1)	I(1)	I(2) R(3)
Streptomycin (300)	S(28)	S(12)	S(4)	S(1)	S(5)
Sulfamethoxazol - trimethoprim (10)	R(28)	R(12)	R(4)	R(1)	R(5)
Tetracycline (30)	I(11) R(17)	I(7) R(5)	I(1) R(3)	I(1)	I(2) R(3)

หมายเหตุ S = susceptible
I = intermediate
R = resistant

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของกุ้งก้ามกรามอายุ 21 วัน ที่แช่ด้วยเชื้อ *Vibrio* ในเวลา 96 ชั่วโมง

สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Means ± SD)
กลุ่มควบคุม	36.67 ± 6.32[a]
V. harveyi ATCC14126	85.56 ± 4.41[b]
V. parahaemolyticus KKU 47015	84.44 ± 8.02[b]
V. mimicus KKU 46010	96.67 ±1.08[c]
V. cholerae KKU 46001	97.78 ± 3.60[c]

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติของแต่ละกลุ่มการทดลอง

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของแม่พันธุ์กุ้งก้ามกรามที่ฉีดเชื้อ *Vibrio* เข้ากล้ามเนื้อ ในเวลา 7 วัน

สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์การตายสะสม (Means ± SD)
กลุ่มควบคุม	15.78 ± 2.22[a]
V. harveyi ATCC14126	35.16 ± 4.21[b]
V. parahaemolyticus KKU 47015	49.38 ± 5.39[c]
V. mimicus KKU 46010	34.53 ± 3.96[b]
V. cholerae KKU 46001	51.59 ± 4.07[c]

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างทางสถิติของแต่ละกลุ่มการทดลอง