

ผลของคลอโรเลลาและออกซิลาตอเรียต่อ วิบริโอ ฮาอีอายุ 1526 ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ



นายพูลศักดิ์ พยัพเมฆ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-13-0383-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 19923144

EFFECT OF *Chlorella* sp. AND *Oscillatoria* sp. ON *Vibrio harveyi* 1526 IN GIANT  
TIGER PRAWN *Penaeus monodon* FABRICIUS CULTURE



Mr. Pulsak Payapmek

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Marine Science

Department of Marine Science

Faculty of Science

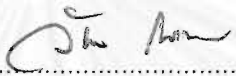
Chulalongkorn University

Academic Year 2000

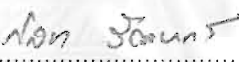
ISBN 974-13-0383-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์      ผลของคลอโรเลลาและออกซิลาตอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ  
โดย                              นายพูนศักดิ์ พย์พเมฆ  
สาขาวิชา                      วิทยาศาสตร์ทางทะเล  
ภาควิชา                              วิทยาศาสตร์ทางทะเล  
อาจารย์ที่ปรึกษา              รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา  
หลักสูตรปริญญาโท

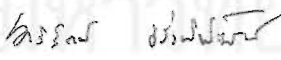
  
..... คณะบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย ไพฑิธิต)


คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. กัลยา วัฒยากร)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

  
..... กรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมณะเศวต)

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิติธรรมง)

พูลศักดิ์ พัยพเมฆ : ผลของคลอเรลลาและออสซิลลาตอเรียต่อ *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 ในการเลี้ยง กุ้งกุลาดำ (EFFECT OF *Chlorella* sp. AND *Oscillatoria* sp. ON *Vibrio harveyi* 1526 IN GIANT TIGER PRAWN *Penaeus monodon* FABRICIUS CULTURE.) อาจารย์ ที่ปรึกษา: รศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรวิฑูรกุล, 95 หน้า. ISBN 974-13-0383-1.

ศึกษาความสัมพันธ์ร่วมของคลอเรลลาและออสซิลลาตอเรียในการยับยั้งการเจริญของ *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 โดยวางแผนการทดลองแบบแฟกตอเรียลที่มีคลอเรลลา 4 ระดับ ( $0$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  และ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และออสซิลลาตอเรีย 4 ระดับ ( $0$ ,  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ภายหลังจากเติม *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 ลงในน้ำเลี้ยง 120 ชั่วโมง พบว่าออสซิลลาตอเรียทั้ง 3 ระดับ คือ  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Vibrio* ฮาวิอาย สายพันธุ์ 1526 ได้ไม่แตกต่างกัน และการเพิ่มขึ้นของออสซิลลาตอเรียทั้ง 3 ระดับ คือ  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในน้ำเลี้ยงที่มีคลอเรลลา  $0$ ,  $10^5$  และ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของ *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 ได้ดีกว่ามีคลอเรลลาแต่เพียงชนิดเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่คลอเรลลาที่  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรไม่จำเป็นต้องมีออสซิลลาตอเรียก็สามารถยับยั้งการเจริญของ *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 ได้ดีกว่าคลอเรลลาระดับอื่น

เมื่อทำการทดสอบผลของคลอเรลลาและออสซิลลาตอเรียต่อ *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 และอัตราการรอดของ กุ้งกุลาดำภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงด้วย *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 เป็นเวลา 8 วัน ไม่พบความสัมพันธ์ร่วมของคลอเรลลาและออสซิลลาตอเรีย *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 มีปริมาณลดลง แต่ยังคงมีปริมาณมากพอต่อการเหนี่ยวนำให้กุ้งมีการตายเนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียเรืองแสง นอกจากนี้ความเป็นพิษของแอมโมเนีย และไนไตรท์ ก็เป็นสาเหตุร่วมให้กุ้งในทุกะดับของคลอเรลลาและออสซิลลาตอเรียเป็นโรคเรืองแสงด้วยเช่นกัน

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ..... วิทยาศาสตร์ทางทะเล.....

สาขาวิชา ..... วิทยาศาสตร์ทางทะเล.....

ปีการศึกษา .... 2543 .....

ลายมือชื่อนิสิต .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

## 4072338123: Major Marine Science

KEY WORD: *Chlorella* / *Oscillatoria* / *Vibrio harveyi* 1526/ *Penaeus monodon*

PULSAK PAYAPMEK: EFFECT OF *Chlorella* sp. AND *Oscillatoria* sp. ON *Vibrio harveyi* 1526 IN GIANT TIGER PRAWN *Penaeus monodon* FABRICIUS CULTURE. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SOMKIAT PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D. 95 pp. ISBN 974-13-0383-1.

Present study indicated the interactive effect between *Chlorella* sp. and *Oscillatoria* sp. to inhibited the growth of *Vibrio harveyi* 1526 designed using CRD involved factorial containing 4 concentrations of *Chlorella* sp. (0,  $10^5$ ,  $10^6$  and  $10^7$  cells/ ml) and 4 concentrations of *Oscillatoria* sp. (0,  $10^3$ ,  $10^4$  and  $10^5$  cells/ ml). After inoculated with *V. harveyi* 1526 for 120 hour, *Oscillatoria* sp. at concentrations  $10^3$ ,  $10^4$  and  $10^5$  cells/ ml showed significant effect on *V. harveyi* 1526 reductions. *Chlorella* sp. at concentrations 0,  $10^5$  and  $10^6$  cells/ ml associated with *Oscillatoria* sp. concentrations  $10^3$ ,  $10^4$  and  $10^5$  cells/ ml negatively affected survival of *V. harveyi* 1526 than the absence of *Oscillatoria* sp. in mixed culture. A similar growth inhibition of *V. harveyi* 1526 was observed for *Chlorella* sp.  $10^7$  cells/ ml without *Oscillatoria* sp. associations.

When performing for the challenge test by bathing shrimp with *V. harveyi* 1526 for 8 days, results showed a non-interactive effect between *Chlorella* and *Oscillatoria* inhibiting growth of *V. harveyi* 1526 and shrimp survival. Although the reduction of *V. harveyi* 1526 populations exposed to various density of *Chlorella* sp. and *Oscillatoria* sp. mixed culture, the high *V. harveyi* sustained in the culture also caused high shrimp mortality. The toxicity of high ammonia and nitrite nitrogen concentration from overfeeding also other caused of luminescent disease.

Department .....Marine Science..... Student's signature .....  
Field of study..... Marine Science..... Advisor' s signature .....  
Academic year .....2000 ..... Co-advisor's signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้โดยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิดารกุล ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอกราบขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอขอบคุณ รศ. ดร. กัลยา วัฒยากร ศ. ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต รศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิดารกุล รศ. ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ และ ผศ. ดร. เจริญ นิตธรรมยง ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการในการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณหน่วยงานของเครือเจริญโภคภัณฑ์ บริษัท ซี. ฟาร์ม จำกัด ต. ปากน้ำประแสร์ อ. แกลง จ. ระยอง ,บริษัท กรุงเทพเพาะเลี้ยงกุ้ง จำกัด ต. บ้านอำเภอ อ. สัตหีบ จ. ชลบุรี และศูนย์ค้นคว้าวิจัยการเลี้ยงกุ้ง ต. บางโพธิ์ อ. เมือง จ. สมุทรสาคร ตลอดจนความเอื้ออนุเคราะห์ของพนักงานบริษัทต่างๆ ดังกล่าวที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่มอบทุนสนับสนุนการทำวิจัย

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจ ตลอดจนเงินทุนสนับสนุนเพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ .....	ฉ
สารบัญ .....	ช
สารบัญตาราง .....	ฌ
สารบัญภาพ .....	ฐ
บทที่	
1 บทนำ .....	1
2 การตรวจเอกสาร .....	4
3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง .....	20
4 ผลการทดลอง .....	29
5 อภิปรายผลการทดลอง .....	50
6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	57
รายการอ้างอิง .....	59
ภาคผนวก .....	65
ภาคผนวก ก .....	66
ภาคผนวก ข .....	77
ภาคผนวก ค .....	79
ประวัติผู้เขียน .....	95

สถาบันเวทียบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ลักษณะบางประการของ วับริโอ ฮาวิอาย จากตัวอย่างกึ่งกลาดำที่ป่วยเป็นโรคเรืองแสง .....	8
2. บทสรุปแนวทางการควบคุมการเจริญของ วับริโอ ฮาวิอาย .....	12
3. ระดับความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเรืองแสง 60 สายพันธุ์ .....	13
4. จำนวนสายพันธุ์ของ วับริโอชนิดที่เรืองแสง และไม่เรืองแสง โดยทำการจำแนกจากกึ่งกลาดำ และภายในฟาร์มเลี้ยงกุ้ง ที่พบว่ามีการติดต่อต่อสารปฏิชีวนะ .....	14
5. คุณลักษณะบางประการทางชีวเคมีของ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ที่สามารถแยกได้จากตัวอย่าง น้ำเลี้ยง และตัวอย่างกึ่งกลาดำหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค .....	29
6. ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองของคลอโรลลา ออกซิลาตอเรีย และ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดการ ทดลองที่มีคลอโรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	35
7. ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองของคลอโรลลา ออกซิลาตอเรีย และ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดการ ทดลองที่มีคลอโรลลา $10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	36
8. ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองของคลอโรลลา ออกซิลาตอเรีย และ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดการ ทดลองที่มีคลอโรลลา $10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	36
9. ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองของคลอโรลลา ออกซิลาตอเรีย และ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดการ ทดลองที่มีคลอโรลลา $10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	37
10. อัตรารอดของกึ่งกลาดำภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสง โดยแยกตาม ชุดทดลองที่มีคลอโรลลาต่างกัน 4 ระดับ .....	40
11. อัตรารอดของกึ่งกลาดำภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสง โดยแยกตาม ชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ .....	40

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย







## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่

หน้า

1 ค. ปริมาณแอมโมเนีย (Ammonia nitrogen) ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่มีคลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	79
2 ค. ปริมาณแอมโมเนีย (Total ammonia nitrogen) ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่ออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ ..	80
3 ค. ปริมาณไนเตรตภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่มีคลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	81
4 ค. ปริมาณไนเตรต ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่ออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	82
5 ค. ความเป็นกรดและด่างเมื่อเวลา 8.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่คลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	83
6 ค. ความเป็นกรดและด่างเมื่อเวลา 8.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่ออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ ..	84
7 ค. ความเป็นกรดและด่างเมื่อเวลา 15.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่คลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	85
8 ค. ความเป็นกรดและด่างเมื่อเวลา 15.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่ออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ ..	86
9 ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเมื่อเวลา 8.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่คลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	87
10 ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเมื่อเวลา 8.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่ออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ ..	88
11 ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเมื่อเวลา 15.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่คลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ .....	89
12 ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเมื่อเวลา 15.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่ออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ ..	90
13 ค. ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite - nitrogen) ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อไนไตรท์ .....	91

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่

หน้า

- 14 ค. ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite - nitrogen) ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกึ่งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อไนไตรท์ .....92
- 15 ค. ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite - nitrogen) ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกึ่งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อไนไตรท์ .....93
- 16 ค. ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite - nitrogen) ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกึ่งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อไนไตรท์ .....94

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
14. ไนไตรท์ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา $10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ ออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ.....	45
15. ไนไตรท์ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา $10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ ออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ .....	46
16. ไนไตรท์ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา $10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ ออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ .....	46
17. ไนเตรตในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ ออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ .....	47
18. ไนเตรตในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา $10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ ออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ .....	47
19. ไนเตรตในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา $10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ ออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ .....	48
20. ไนเตรตในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา $10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ ออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ .....	48

## บทนำ

กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* เป็นกุ้งที่มีการเลี้ยงอย่างกว้างขวาง คิดเป็น 70 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตกุ้งที่เลี้ยงทางซีกโลกตะวันออก โดยพบว่าฟาร์มกุ้งเกือบทั้งหมดตั้งอยู่บริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในปี พ.ศ. 2542 ฟาร์มดังกล่าวสามารถผลิตกุ้งได้ 642,750 เมตริกตัน คิดเป็นประมาณ 79 เปอร์เซ็นต์ของกุ้งที่ผลิตได้ทั่วโลก เพิ่มขึ้นจากที่ผลิตได้ในปี พ.ศ. 2541 (530,000 เมตริกตัน) ประมาณ 21 เปอร์เซ็นต์ (ทีมงานข่าวกุ้ง บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน), 2543) สำหรับประเทศไทยการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นอาชีพที่ทำรายได้ให้กับเกษตรกรเป็นอย่างดี การเลี้ยงในปัจจุบันใช้ระบบการเลี้ยงแบบพัฒนา (intensive) ซึ่งให้ผลผลิตสูง มีการปล่อยพันธุ์กุ้งอย่างหนาแน่น และใช้น้ำหมุนเวียน ถ่ายน้ำบ่อยครั้ง ทำให้กุ้งอ่อนแอ เป็นโรค และเริ่มตายมากขึ้น (มณจันทร์ เหมชน และกมล มาแสวง, 2543)

สาเหตุการตายของกุ้งส่วนใหญ่ในปัจจุบันนอกจากการติดเชื้อไวรัสแล้ว เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียเรืองแสง (Luminescent bacteria) เช่น วิกิริโอ ฮาวิอาย (*Vibrio harveyi*) เพราะแบคทีเรียชนิดนี้มีแหล่งที่อยู่ในทะเลบริเวณใกล้ชายฝั่งทะเล ซึ่งทำให้เกิดการติดเชื้อเป็นไปได้ง่าย (ผ่ายวิชัย เทคโนโลยีชีวภาพ, 2540) ปัญหาโรคเรืองแสงนำความเสียหายมาสู่การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำทั้งในโรงเพาะฟักและในบ่อดิน ในพื้นที่เลี้ยงภาคใต้และภาคตะวันออกของอ่าวไทย และฝั่งอันดามัน โดยปัญหาที่เกิดขึ้นมีแนวโน้มที่เพิ่มจำนวนและความรุนแรงมากขึ้น โดยเฉพาะช่วงหน้าร้อน (มีนาคม - กรกฎาคม) ของทุกปี เนื่องจากความเค็มและอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียโดยเฉพาะ วิกิริโอ ฮาวิอาย แต่ในฤดูฝนภาวะการระบาดของโรคเรืองแสงก็สร้างปัญหาให้แก่เกษตรกรในประเทศอินโดนีเซียเช่นกัน (Prayitno และ Latchford, 1995)

การใช้สารปฏิชีวนะและสารเคมีเพื่อป้องกันและรักษาโรคดังกล่าวของเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้ง ซึ่งส่วนใหญ่ยังขาดความรู้และความเข้าใจ มักก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยา ตลอดจนปัญหายาและสารเคมีตกค้างในกุ้งที่จับขาย เนื่องจากการใช้ยาและสารเคมีในอัตราที่สูงเกินความจำเป็นและใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน ทำให้แบคทีเรียโดยเฉพาะ วิกิริโอ ฮาวิอาย เกิดการดื้อต่อสารปฏิชีวนะหลายชนิด (Tjahjadi et al., 1994) บางกรณีความรุนแรงของโรคอาจเพิ่มมากขึ้นทำให้ยากต่อการควบคุมในอนาคต การใช้สารปฏิชีวนะจะได้ผลดีก็ต่อเมื่อแหล่งของเชื้อถูกกำจัดไปด้วย

วิธีการจัดการและควบคุมไวรัส นอกจากการใช้สารปฏิชีวนะและสารเคมีในการฆ่าเชื้อแล้ว วิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพกำลังเป็นที่สนใจศึกษาเนื่องจากไม่เป็นอันตรายต่อคนและสัตว์ เช่น การใช้ จุลินทรีย์โปรไบโอติกหรือสารเสริมชีวนะที่มีประสิทธิภาพในการต่อต้านการเจริญของ ไวรัส ฮาวิออย (สมบัติ รักประทานพร, 2542; มณจันทร์ เมฆธน และกมลพร มาแสวง, 2543; Rengpipat et al., 1998; Rengpipat et al., 1998) การใช้วัคซีนเพื่อป้องกันโรค (Sung et al., 1994 อ้างถึงใน สมบัติ รักประทานพร, 2542; Horne et al., 1995; Itami et al., 1998 อ้างถึงใน สมบัติ รักประทานพร, 2542)

การจัดการแพลงค์ตอนในบ่อเลี้ยงโดยเฉพาะแพลงค์ตอนพืชเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่อาศัยหลักการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาและแบบยับยั้งกันในระบบนิเวศน์ของแพลงค์ตอนและจุลินทรีย์ โดยเฉพาะสาหร่ายสีเขียว ชนิด คลอเรลลา (*Chlorella* spp.) สามารถสร้างสารที่มีชื่อเรียกว่า คลอเรลลิน (chlorellin) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะโดยสามารถยับยั้งไวรัสได้หลายชนิด เช่น ไวรัส ฮาวิออย (*Vibrio harveyi*), *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio penaeicida* ได้ (Pratt et al., 1944; Direkbusarakom et al., 1997)

การควบคุมปริมาณและชนิดของแพลงค์ตอนในปัจจุบันยังไม่ประสบผลสำเร็จ เนื่องจาก การขาดความรู้และความเข้าใจอย่างแท้จริงเพื่อใช้ในการปฏิบัติงาน โดยสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศน์มีความสัมพันธ์เกี่ยวเนื่องกัน ภายในบ่อเลี้ยงกุ้งนอกจากคลอเรลลาแล้วยังพบแพลงค์ตอนที่ให้โทษอีกหลายชนิด เช่น พวกไดโนแฟลกเจลเลต (dinoflagellate) พวกสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวบางชนิด ได้แก่ ออสซิลลาตอเรีย (*Oscillatoria* spp.) แอนาบีนา (*Anabaena* spp.) รวมทั้งพวกที่สร้างโคโลนีเป็นฝ้ายที่ผิวหน้าน้ำ เช่น ไมโครซิสทิส (*Microcystis* spp.) เป็นต้น สาหร่ายเหล่านี้มักก่อให้เกิดปัญหา กลิ่นโคลน และยังเป็นพวกที่มีการสร้างเมือกออกมาบริเวณผนังเซลล์ ทำให้เกิดการอุดตันที่เหงือกกุ้ง กุ้งขาดอากาศหายใจมีผลให้กุ้งกินอาหารน้อยลง และระบบภูมิคุ้มกันโรคลดต่ำลง

#### สมมติฐานงานวิจัย :

1. การเพิ่มขึ้นของออสซิลลาตอเรียในบ่อเลี้ยงอาจทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุม ไวรัส ฮาวิออย 1526 ของคลอเรลลาลดลง
2. การเพิ่มขึ้นของออสซิลลาตอเรียในบ่อเลี้ยงอาจมีผลให้เกิดการอุดตันที่เหงือกกุ้ง กุ้งขาดออกซิเจนที่ใช้ในการหายใจ และส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันโรคเป็นผลให้เป็นโรคเรืองแสงเนื่องจากการติด ไวรัส ฮาวิออย 1526 และเพิ่มอัตราการตายของกุ้ง

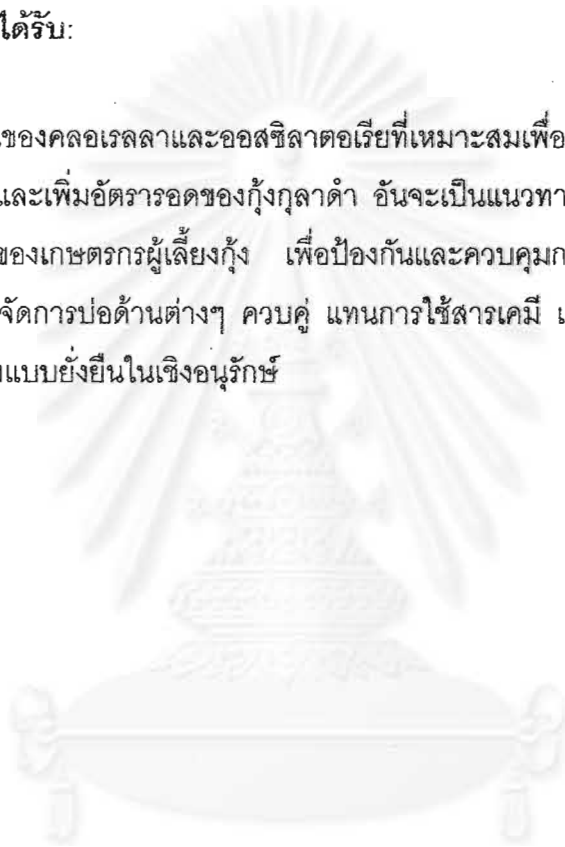


## วัตถุประสงค์งานวิจัย :

1. เพื่อให้ทราบถึงผลของระดับความหนาแน่นของคลอเรลลาและออกซิลาตอเรีย ต่อการยับยั้งการเจริญของ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ที่ก่อให้เกิดโรคเรืองแสง
2. เพื่อให้ทราบถึงผลของระดับความหนาแน่นของคลอเรลลาและออกซิลาตอเรีย ต่ออัตราการรอดของกุ้ง และคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

## ผลการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ:

ทราบถึงปริมาณของคลอเรลลาและออกซิลาตอเรียที่เหมาะสมเพื่อการควบคุมการเจริญของ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 และเพิ่มอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ อันจะเป็นแนวทางในการควบคุมชนิด และปริมาณของแพลงค์ตอนของเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้ง เพื่อป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคเรืองแสง ในบ่อเลี้ยงกุ้งรวมกับการจัดการบ่อด้านต่างๆ ควบคุม แทนการใช้สารเคมี และสารปฏิชีวนะซึ่งจะเป็นการพัฒนาวิธีการเลี้ยงกุ้งแบบยั่งยืนในเชิงอนุรักษ์



## การตรวจเอกสาร

## โรคเรืองแสง (Luminous disease)

โรคเรืองแสง มีรายงานการตรวจพบการระบาดในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2530 โดยพบว่าการระบาดของโรคเริ่มเกิดขึ้นบริเวณภาคกลางของประเทศ ซึ่งเดิมเป็นแหล่งเลี้ยงกุ้งแหล่งใหญ่ในอดีต เป็นผลให้เกิดการตายในกุ้งวัยอ่อนระยะ nauplius จนถึงระยะ zoea ของกุ้งแชบ๊วย *P. merguensis* สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ในระยะ mysis ไม่พบการตาย) ภาวะดังกล่าวจะสังเกตเห็นกุ้งและน้ำในบ่อมีการเรืองแสงในตอนกลางคืน (Ruangpan, 1998) แต่ในกุ้งกุลาดำพบโรคเรืองแสงตั้งแต่กุ้งวัยอ่อนระยะ nauplius จนถึง ระยะ mysis ตั้งแต่นั้นมาโรคเรืองแสงเป็นสาเหตุการตายส่วนใหญ่ (80 – 100 เปอร์เซ็นต์ของสาเหตุทั้งหมด) ของกุ้งวัยอ่อนในโรงเพาะฟักแถบเอเชีย (Ruangpan, et al., 1987 อ้างถึงใน Ruangpan, 1998) ชนิดของแบคทีเรียเรืองแสงที่มีการตรวจพบในฟาร์มเลี้ยงกุ้งประกอบด้วย *Vibrio fisheri*, *V. harveyi*, *V. cholerae* biotype *albensis* และ *Photobacterium leiognathi* โดยเฉพาะ ิวบริโอ ฮาวิอาย (*V. harveyi*) ถูกตรวจพบว่าก่อให้เกิดการตายของกุ้งทั้งในโรงเพาะฟักและในบ่อเลี้ยงขณะที่กุ้งมีอายุได้ 2-3 เดือน นอกจากนี้กุ้งที่ป่วยเป็นโรคเหงือกสีชา (tea-brown gill syndrome; TBGS) (Ruangpan, 1998) และโรคตัวแดง (red disease syndrome) (Alapide-Tendencia and Dureza, 1997) พบว่ามี ิวบริโอ ฮาวิอาย ปนเปื้อนอยู่

การศึกษาของ Ruangpan et al. (1995 อ้างถึงใน Ruangpan, 1998) โดยการให้เทคนิคการจำแนกชนิดด้วยระบบตัวเลข (numerical taxonomic analysis) พบว่า ิวบริโอ ทั้งชนิดที่เรืองแสงและไม่เรืองแสงที่ตรวจพบจากกุ้งที่ป่วยเป็นโรคจากพื้นที่เลี้ยงในประเทศไทยมีทั้งหมด 180 ชนิด โดย ิวบริโอ ชนิดเรืองแสงมีถึง 70 เปอร์เซ็นต์เป็น ิวบริโอ ฮาวิอาย (*V. harveyi*) และอีก 7.7 เปอร์เซ็นต์เป็น *V. fisheri* และในปี พ.ศ. 2539 จากการคัดแยกชนิดของแบคทีเรียเรืองแสงจากพื้นที่ชายฝั่งทะเลของประเทศไทยจำนวน 210 ตัวอย่าง พบว่าร้อยละ 57 เปอร์เซ็นต์ เป็นแบคทีเรียชนิด *V. harveyi*, *V. cholerae* biotype *albensis* และ *photobacterium leiognathi* โดยพบว่า *V. harveyi* ที่คัดแยกได้ จะแสดงลักษณะโคโลนีสีเขียวและสีเหลืองบนอาหาร TCBS (thiosulfate citrate bilesalt sucrose agar)

โรคเรืองแสงเนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียมีกระบาดในช่วงฤดูร้อน อุณหภูมิของน้ำสูง ความเค็มระหว่าง 10 – 40 ส่วนในพันส่วน (ppt) แบคทีเรียชนิดนี้เป็นชนิดแกรมลบ (Gram negative) มีชีวิตอยู่ในน้ำ เจริญได้ดีในน้ำที่มีอินทรีย์สารสูงและในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำ โดยเฉพาะในช่วงหลังของการเลี้ยงประมาณเดือนที่ 3 และ 4 เพราะเป็นช่วงที่มีสารอินทรีย์สะสมอยู่ในน้ำและตะกอนเลนกันบ่อมากขึ้น ทำให้โรคเรืองแสงทวีความรุนแรงมากขึ้น เนื่องจากบริเวณพื้นที่กันบ่อมีระดับออกซิเจนต่ำ แบคทีเรียที่ต้องอาศัยออกซิเจนในการเจริญ ไม่สามารถเจริญแข่งกับ vibrio ฮาวิอาย ได้ทัน เป็นผลให้มีการตรวจพบปริมาณของ vibrio ฮาวิอาย ในน้ำสูงกว่าปกติ นอกจากนี้พบว่าตะกอน น้ำเลี้ยง และอาหารสดจำพวกหอย ยังเป็นแหล่งปนเปื้อนของแบคทีเรียหลายสกุล โดยเฉพาะแบคทีเรียในสกุล vibrio ได้แก่ *Vibrio alginolyticus* มีปริมาณที่สูงคิดเป็นร้อยละ 57 และยังพบ *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* (Bhaskar and Setty, 1994)

เมื่อกุ้งไม่แข็งแรงพอ แบคทีเรียจะเข้าไปในตัวกุ้ง แบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้นภายในตับ (hepatopancrease) ของกุ้ง ทำให้เกิดการอักเสบ เนื่องจากตับกุ้งเป็นอวัยวะที่สร้างน้ำย่อยสำหรับย่อยอาหาร และสะสมอาหารที่ย่อยแล้ว เมื่อตับอักเสบก็ทำให้การย่อยอาหารผิดปกติและอาหารที่สะสมไว้จะลดปริมาณลง กุ้งจะเริ่มอ่อนแอและตายในที่สุด โดย vibrio ฮาวิอาย สามารถสร้างสารที่เรืองแสงได้ในที่มืด จากการสังเกตอาการจากกุ้งในบ่อในช่วงกลางคืน ถ้าตับกุ้งมีแบคทีเรียชนิดนี้อยู่มากก็ จะเห็นการเรืองแสงในน้ำหรือพรายน้ำในเวลากลางคืน และจะเห็นกุ้งที่ว่ายน้ำอยู่มีแสงเรืองๆ ที่บริเวณหัวกุ้ง ซึ่งเกิดจากการเรืองแสงของ vibrio ฮาวิอาย ในตับ (ที่ทีมงานชาวกุ้ง บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน), 2542) ตับจะฝ่อลงเล็กน้อย และเมื่อเริ่มแพร่เข้าสู่แอ่งเลือด เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) (Zefran et al., 1994) เมื่อตรวจสอบทางด้านเนื้อเยื่อวิทยาพบว่าความเสียหายส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่ระบบทางเดินอาหาร สังเกตพบแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะเป็นแท่งสั้นๆ อยู่ภายในตับ ตับถูกทำลายอย่างรุนแรง ท่อตับถูกแทนที่ด้วยกลุ่มเม็ดเลือดที่ล้อมรอบด้วยแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุ (bacterial hemocytic nodules) และส่วนใหญ่จะเกิดการผลิตและสะสมสารสีดำทำให้ผิวหนังมีความดำมากกว่าปกติ (melanization) ส่วนในลำไส้พบการตายของเซลล์และการอักเสบอย่างเด่นชัด นอกจากนี้ยังพบการตายของเซลล์และการอักเสบของอวัยวะอื่นร่วมด้วย เช่น อวัยวะสำหรับการสร้างเม็ดเลือดขาว (lymphoid organ) และเหงือก เป็นต้น

อาการของลูกกุ้งที่ติด vibrio ฮาวิอาย คือ ลูกกุ้งขาดความว่องไว การเคลื่อนที่เป็นไปอย่างช้า บริเวณกล้ามเนื้อช่วงท้องจะมีสีขาวขุ่น เมื่อลูกกุ้งจวนจะตาย ลูกกุ้งจะจมลงกันบ่อ และตายภายใน 1-2 วัน อัตราการตายจะเพิ่มขึ้นจนอาจตายหมดบ่อ (Ruangpan, 1995 อ้างถึงใน สุพล พันธุมะโสภาส, 2542)

ความเข้มข้นของ vibrio ฮาวิอาย ที่ทำให้กุ้งกุลาดำตาย 50 เปอร์เซ็นต์อยู่ที่  $4.87 - 8.65 \times 10^4$  cfu/ g และปริมาณสารที่หลั่งออกมาจากเซลล์ (extracellular products) ที่สามารถทำให้กุ้งกุลาดำตาย 50 เปอร์เซ็นต์อยู่ที่ 1.20 – 1.51 ไมโครกรัมโปรตีน ต่อน้ำหนักกุ้ง 1 กรัม ( $\mu\text{g protein/ g}$ ) ในขณะที่ความเข้มข้นของ *Vibrio alginolyticus* ที่ทำให้กุ้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์อยู่ที่  $1.13 \times 10^5$  และ  $2.46 \times 10^5$  Colony-forming units ต่อน้ำหนักของกุ้ง 1 กรัม (cfu/ g) เมื่อทดสอบในกุ้งกุลาดำและกุ้งครุมา ตามลำดับ (Lee et al., 1996) แต่ความเข้มข้นที่ทำให้กุ้งกุลาดำตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ณ เวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง เมื่อทดสอบการติด vibrio ฮาวิอาย 1526 ในกุ้งกุลาดำที่มีขนาด 0.77 กรัม พบว่าอยู่ที่  $7.65 \times 10^5$   $1.30 \times 10^5$   $3.44 \times 10^4$  และ  $1.77 \times 10^4$  cfu/ ml ตามลำดับ (สมบัติ รักประทานพร, 2542)

### สกุล vibrio (Vibrio)

vibrio ที่มีความเกี่ยวข้องกับการเลี้ยงกุ้งจัดอยู่ในครอบครัว Vibrionaceae กลุ่มแบคทีเรียติดแกรมลบที่อยู่ได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศ (ออกซิเจน) มากหรือมีอากาศน้อยๆ ได้ (Facultative Anaerobic Gram negative rods) เป็นแบคทีเรียรูปแท่งตรงหรือโค้ง มีความกว้าง 0.5 – 0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.4 – 2.6 ไมโครเมตร สามารถเคลื่อนที่ได้ เนื่องจากมี flagella ชนิด polar flagella คือ มีอยู่ที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ และมีปลอกหุ้ม (sheath) บริเวณเยื่อหุ้มชั้นนอกของผนังเซลล์ flagella จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาพผิว และสภาวะที่อยู่ขณะนั้น เช่น ถ้าอยู่ในของเหลว จะเคลื่อนที่ได้โดย monotrichous หรือ multitrichous polar flagella ถ้าอยู่บนอาหารที่เป็นของแข็งจะเป็นแบบ lateral flagella ที่มีปลอกหุ้มสั้นกว่า และไม่สร้าง endospore หรือ microcyst

vibrio สามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 20 – 30 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดต่าง (pH) ระหว่าง 8 – 9 ในการเจริญ vibrio ทุกชนิดต้องการอิออนของโซเดียม หรือเกลือ 1 – 3 เปอร์เซ็นต์ โดยจะไม่เจริญในน้ำจืดหรืออาหารที่ไม่ผสมเกลือ จัดเป็นแบคทีเรียพวกที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon source) และพลังงาน (chemoorganotroph) เนื่องจากเป็นพวก facultative anerobic bacteria จึงมีทั้งกระบวนการหายใจ โดยมีออกซิเจนเป็น electron acceptor และกระบวนการเมตาโบลิซึมที่เป็น fermentative คือ สามารถย่อยสลายอาหารได้โดยไม่ใช้อากาศ สามารถใช้ D-glucose เป็นแหล่งคาร์บอนและ ammonium salt เป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้ยังสามารถย่อยสลายพวกคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ รวมถึงพวกน้ำตาล maltose, D-mannose และ trehalose แล้วได้กรดออกมา แต่ไม่สร้างก๊าซ vibrio ส่วนใหญ่สามารถสร้าง oxidase รวมถึง Amylase,

Gelatinase, Lipase, Chitinase, Alginase และ Deoxyribonuclease แต่ไม่มี Arginine dihydrolase และสามารถรีดิวซ์ ไนเตรต (nitrate) ได้ ซึ่งจะเกิด end product หลายอย่างขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย ซึ่ง end product ที่ได้คือ ไนไตรท์ (nitrite) หรือแอมโมเนีย (ammonia) และไวต์อ vibriostatic agent 0/129 (ฝ่ายวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ, 2540)

แบคทีเรียในสกุลวิบริโอที่ตรวจพบในกุ้ง penaeids ได้แก่ *Vibrio cholerae*, *V. nereis*, *V. splendidus*, *V. tubiashii*, *V. damsela*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. fischeri*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* และ *V. harveyi* เป็นต้น (Lavilla-Pitogo, 1995)

### วิบริโอ ฮาวิอาย (*Vibrio harveyi*)

วิบริโอ ฮาวิอาย เป็นแบคทีเรีย 1 ใน 6 ชนิดที่มีการเรืองแสงซึ่งพบได้ในทะเลและเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในกุ้ง แบคทีเรียเรืองแสงอีก 5 ชนิดคือ *V. parahaemolyticus* (โคโลนีสีเขียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS) *V. alginolyticus* (สีเหลือง) *V. anguillarum* (สีเหลือง), *V. damsela* (สีเขียว) และ *V. fluvialis* (สีเหลือง)

การเรืองแสงของ วิบริโอ ฮาวิอาย พบว่าเกิดจากการเปลี่ยนพลังงานเคมีเป็นพลังงานแสง ซึ่งตรงข้ามกับกระบวนการสังเคราะห์แสงที่เป็นการเปลี่ยนพลังงานแสงเป็นพลังงานเคมี การเกิดกระบวนการเรืองแสงเกิดในสภาวะที่มีออกซิเจน สารตั้งต้นที่ทำให้เกิดการเรืองแสงคือ FMNH<sub>2</sub> (Flavin mononucleotide) และ สารประกอบอัลดีไฮด์ (Aliphatic aldehyde) ที่เป็นสายยาวแบบ tetradecanal โดยมี luciferase เป็นตัวเร่งในปฏิกิริยา ผลผลิตคือ แสง, FMN (Flavin mononucleotide) และกรดไขมัน (Aliphatic acid)

ปฏิกิริยาของกระบวนการเกิดแสง (Luminescent process) (Rheinheimer, 1992 อ้างถึงใน ฝ่ายวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ, 2540)



การตรวจสอบ วิบริโอ ฮาวิอาย สามารถทำได้โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร TCBS (thiosulfate citrate bilesalt sucrose agar) ที่มีความจำเพาะต่อแบคทีเรียในสกุลวิบริโอ ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้จะมีแหล่งคาร์บอน ได้แก่ ซิเตรต (citrate) และน้ำตาล ส่วนแหล่งไนโตรเจน ได้แก่

yeast extract และ peptone และมีอินดิเคเตอร์ คือ Bromthymol blue และ Thymol blue ซึ่งมีช่วงการเปลี่ยนสีในช่วง pH 8.0 – 9.6 โดยจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีเขียว เมื่อเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเรียบร้อยแล้วจะมี pH  $8.6 \pm 0.2$  ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS จึงมีสีเขียว วิบริโอ ฮาวิอาย มีโคโลนีสีเขียวเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร TCBS แสดงว่าแบคทีเรียชนิดนี้ไม่ใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนจึงไม่สร้างกรดออกมาทำให้อินดิเคเตอร์ไม่เปลี่ยนสี ซึ่งแตกต่างจากวิบริโอที่มีโคโลนีสีเหลือง เช่น *V. alginolyticus* ที่สามารถใช้น้ำตาล sucrose แล้วผลิตกรดออกมา (pH ลดลง) ทำให้อินดิเคเตอร์เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง จึงจัดแบคทีเรียพวกนี้อยู่ในกลุ่ม sucrose fermenting ลักษณะทางชีวเคมีของ วิบริโอ ฮาวิอาย ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

การแพร่กระจายของแบคทีเรียชนิดนี้ พบว่าตามปกติจะอาศัยอยู่ในทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut) ของแมงกิ้ง ดังนั้นเมื่อแมงกิ้งปล่อยไข่ออกมา แบคทีเรียจึงติดออกมาด้วยกับไข่ นอกจากนี้พบว่า แบคทีเรียชนิดนี้มักพบในช่วงฤดูฝน เนื่องจากองค์ประกอบทางสิ่งแวดล้อมมีผลต่อการระบาดของแบคทีเรียชนิดนี้ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม pH และสารอินทรีย์ในน้ำที่มากขึ้น (Prayitino & Latchford, 1995 อ้างถึงใน ฝ่ายวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ, 2540) สำหรับประเทศไทยจะพบการระบาดของโรคเรืองแสงในช่วงฤดูร้อนที่น้ำมีความเค็มค่อนข้างสูง

ตารางที่ 1. ลักษณะบางประการของ วิบริโอ ฮาวิอาย จากตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่ป่วยเป็นโรคเรืองแสง (Nithimathachoke et al., 1995)

Test	Characteristic
Gram staining	Gram negative rod
Growth on TCBS	Green
Luminescence	+
Mortality	+
Swarming	-
Pigment production	-
Oxidative-fermentative test	Fermentative
Oxidase	+
Catalase	+
Gas from glucose	-
Nitrate reduction	+

ตารางที่ 1. (ต่อ)

Test	Characteristic
Methyl red	+
Voges-Proskauer	-
Indole production	+
Citrate utilization	-
Decarboxylase of:	
Arginine	-
Lysine	+
Ornithine	-
Gelatin liquefaction	+
Growth at	
4 °C	±
30 °C	+
40 °C	-
Growth in % NaCl	
0	-
1	+
3	+
6	+
8	-
100	-
Utilization of	
Glucose	+
Lactose	-
Sucrose	-
Arabinose	-
mannitol	+
Sensitivity to O/129	
10 mg	+
150 mg	+
Antibiotic Sensitivity (S)/ Resistance (R)	
Chloramphenicol	S

## ตารางที่ 1. (ต่อ)

Test	Characteristic
Antibiotic Sensitivity (S)/ Resistance (R)	
Sulfamethoxazole-trimethoprim	S
Oxytetracycline	R
Nitrofurantion	Intermediate S
Oxolinic acid	S

### วิธีการจัดการและควบคุมไวรัสโอ

แนวทางป้องกันโรคเรื้อรังแสง (ตารางที่ 2) จำเป็นต้องคำนึงถึงการจัดการบ่อเลี้ยงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อป้องกันการเกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้เทคโนโลยีเพื่อควบคุมการเจริญของแบคทีเรีย แนวทางสำคัญที่สามารถควบคุมการเจริญของ ไวรัสโอ ฮาวิอาย ได้ ประกอบด้วย

#### 1. การใช้อาหารและสารเคมีฆ่าเชื้อ

การใช้อาหารหรือสารเคมีกำจัดเชื้อในน้ำ โดยทั่วไปสามารถลดปริมาณเชื้อได้ภายใน 12 - 24 ชั่วโมงแรกเท่านั้น เมื่อหมดฤทธิ์สารเคมีไวรัสโอที่ยังมีเหลืออยู่ภายในบ่อจะเจริญกลับคืนมาเหมือนเดิม ไม่สามารถถูกกำจัดได้หมด เป็นการสิ้นเปลืองทั้งเงินทุน และเวลา ควรมีการลดปริมาณสารอินทรีย์ในบ่อ และจัดการตะกอนเลนควบคู่ไปด้วย นอกจากนี้การใช้อาหารและสารเคมีที่ไม่ถูกวิธี ผลที่ตามมาก็คือ การดื้อยาของแบคทีเรีย ทำให้ความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคมามากขึ้น และแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อกึ่งลดปริมาณลง เพราะสารเคมีไม่มีความจำเพาะต่อการกำจัดแบคทีเรีย ผลของการทดลองกำจัดแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการพบว่าสารเคมีที่สามารถกำจัดแบคทีเรียได้ 100 เปอร์เซ็นต์ภายใน 6 ชั่วโมง ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide; 50% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ระดับความเข้มข้น 12.5 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ฟอรัมาลดีน (37% Formaldehyde) ระดับความเข้มข้น 50 ส่วนในล้านส่วน และแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ (Calcium hypochlorite; chlorine powder 60%) ระดับความเข้มข้น 30 ส่วนในล้านส่วน (ฝ่ายวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ, 2540)

การศึกษาการใช้ Providon Iodine ซึ่งเป็นสารประกอบระหว่าง Polyvinylpyrrolidone กับ Iodine พบว่าสารดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้น 2 ส่วนในล้านส่วน (ppm) สามารถทำลาย ไวรัสโอ ฮาวิอาย ที่ระดับความหนาแน่น  $4.5 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรได้หมดและในน้ำทะเลที่ได้รับการฆ่าเชื้อ การใช้สารดังกล่าวด้วยระดับความเข้มข้นเพียง 1 ส่วนในล้านส่วนสามารถทำลาย ไวรัสโอ ฮาวิอาย ที่



ระดับความหนาแน่น  $1 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรให้หมดไปโดยใช้เวลา 30 นาที (นนทวิทย์, 2533 อ้างถึงใน สุพล พันธุมะโอภาส, 2542)

## 2. การใช้สารปฏิชีวนะ

การศึกษาเกี่ยวกับการสร้างภูมิคุ้มกันต่อแบคทีเรีย โดยการใช้สารปฏิชีวนะ และสารเคมี (Adams, 1991) (ตารางที่ 3) ส่วนใหญ่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ในระยะสั้น แบคทีเรียในสกุล *ไวรัสโอ* มักเกิดการติดต่อสารปฏิชีวนะหลายประเภท (ตารางที่ 4) โดยเฉพาะ *V. parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียชนิดที่ไม่ทนต่อสารปฏิชีวนะประเภท Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Doxycycline, Hydrochloride, Nalidixic acid, Oxolinic acid และ Oxytetracycline แต่ทนทานต่อ ยา Ampicillin, Novobiocin, Penicillin G, Sulfisoxazole และ Sulfonamide (Liu et al, 1996) ส่วน *ไวรัสโอ ฮาวิอาย* ต่อด้านต่อสารปฏิชีวนะหลายชนิดยกเว้น Rifampicin (Tjahjadi et al., 1994)

นอกจากนี้สภาพแวดล้อมทางกายภาพ และเคมี มีผลต่อระดับภูมิคุ้มกันต่อแบคทีเรียเช่นกัน (Noga et al., 1996) การทดสอบการใช้สารปฏิชีวนะกับ *ไวรัสโอ ฮาวิอาย* ที่แยกได้จากลูกกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อ พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากลูกกุ้งที่ติดเชื้อจะทนทานต่อยา 0/129 (2,4-diamino-6,7 diisopropylpteridine) รวมถึงสารปฏิชีวนะอีกหลายชนิด ได้แก่ Chloramphenicol, Erythromycin, Streptomycin และ Co - trimoxazole และยังพบว่าแบคทีเรียที่ติดต่อสารปฏิชีวนะเหล่านี้ จะเป็นสาเหตุการตายของลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อน (Karunasagar et al., 1994 อ้างถึงใน สุพล พันธุมะโอภาส, 2542)

การใช้ยาควรมีการตรวจความไวของเชื้อกับยารชนิดต่างๆ ก่อนการใช้ซึ่งจะได้ผลดีก็ต่อเมื่อ แหล่งของแบคทีเรียถูกกำจัดไปด้วย แต่การใช้สารปฏิชีวนะผสมอาหารในกุ้งโตที่พร้อมจะจับ อาจเกิด ปัญหาและสารเคมีตกค้าง ทำให้การส่งออกกุ้งได้รับผลกระทบ (ทีมงานชาวกุ้ง บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน), 2543)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2. บทสรุปแนวทางการคุมการเจริญของ vibrio ฮาวิอาย

Biological and chemical control	Application	Dosage	Effectiveness
<i>Bacillus</i> stain S11	Probiotic/ feeding	ND	74 % RPS
<i>Lactobacillus casei</i>	Probiotic/ feeding	ND	Growth inhibition
<i>L. acidophilus</i>			
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Concomitant culture	1 : 10 cfu	Growth inhibition 0 to 100%
<i>Chlorella</i> sp.	Concomitant culture	1,000 : 1 cell/ cfu	Growth inhibition
<i>Skeletonema costatum</i>	Concomitant culture	500 : 1 cell/ cfu	Growth inhibition 35 to 100%
Guava leaf extract	Feeding	MIC 1,250 µg/ ml	Growth inhibition
Fresh water	Spray or bath containers and equipment	Several times	Growth inhibition
Benzalkonium chloride	Water treatment	40% MIC 64 ppm MBC 64 ppm	Growth inhibition
Formalin	Water treatment	40 – 50 ppm	Growth inhibition
Providone iodine	Water treatment	1 – 3 ppm MBC 64 ppm MIC 102 ppm	Growth inhibition

ND = No data; MIC = Minimal inhibitory concentration; MBC = Minimal bactericidal concentration ; RPS = Relative percent of survival

ที่มา: Ruangpan (1998)

ตารางที่ 3. ระดับความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเรืองแสง 60 สายพันธุ์

Drugs	MIC ranges	Ics ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
	( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	50%	90%
Oxytetracycline	6.25 - 100	15.00	69.20
Oxolinic acid	12.5 - 100	28.20	56.70
Norfloxacin	0.8 - 100	65.50	100
Cloramphenicol	3.13 - 50	8.75	45.20
Trimethoprim	3.13 - 25	9.37	15.00
Kanamycin	100 - >100	>100	> 100

Ics ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 50% และ Ics ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 90% คือ ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเรืองแสงได้ 50% และ 90% ของจำนวนสายพันธุ์แบคทีเรียเรืองแสงทั้งหมด

MIC = Minimal inhibitory concentration

ที่มา: Ruangpan (1998)

### 3. การใช้วัคซีน

วัคซีนที่ใช้กับ vibrio คือ "ไวโบริซีน" สามารถใช้ป้องกันการเกิดโรคเรืองแสงจาก vibrio ฮาวิออย ในการศึกษาของศูนย์ค้นคว้าวิจัยการเลี้ยงกุ้ง พบว่าการใช้วัคซีนเพื่อป้องกันการเจริญของ vibrio ฮาวิออย โดยการผสมลงในอาหารให้กุ้งกินต่อเนื่องกัน 7 วัน และหยุดการให้ยา 7 วัน สลับกันไปตลอด 2 เดือนภายในห้องทดลอง ทำให้กุ้งมีภูมิคุ้มกันต้านทานต่อ vibrio ฮาวิออย มากกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับวัคซีน (ทีมงานข่าวกุ้ง บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน), 2539) นอกจากนี้ในการศึกษาของ Home et al. (1995) พบว่า วัคซีนที่ผลิตขึ้นจาก vibrio (*Vibrio* spp.) เมื่อนำมาทดสอบโดยการจุ่มวัคซีน และให้วัคซีนโดยการผสมอาหาร ในกุ้งกุลาดำทุกๆ 4-6 สัปดาห์ พบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อ *V. parahaemolyticus* ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

ในปี ค.ศ. 1994 การศึกษาของ Itami et al. (อ้างถึงใน สมบัติ รักประทานพร, 2542) โดยการใช้ปัสต้า-1,3-กลูแคน ซึ่งสกัดจาก *Schizophyllum commune* ผสมในอาหารเลี้ยงกุ้ง *Penaeus japonicus* พบว่ากุ้งมีประสิทธิภาพของเม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytic activity) สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อใช้สารกระตุ้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักกุ้งต่อวัน เป็นเวลา 3 วัน หรือ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักกุ้งต่อวัน เป็นเวลา 10 วัน

ตารางที่ 4. จำนวนสายพันธุ์ของไวรัสชนิดที่เรืองแสง และไม่เรืองแสง โดยทำการจำแนกแบคทีเรีย จากกุ้งกุลาดำ และภายในฟาร์มเลี้ยงกุ้ง ที่พบว่ามีการติดต่อสารปฏิชีวนะ

Drugs	% of drug resistant strains/ year					
	1989	1990	1992	1994	1995	1996
Trimethoprim	0	23.4	25.5	ND	ND	20
Chloramphenicol	0	2.94	5.1	14.8	47.1	20
Oxolinic acid	90	0	0	11	20.5	45
Oxytetracycline	ND	32.2	36.4	45.9	71.4	0.4
Norfloxacin	ND	22.9	7.3	41.5	87.6	90
Kanamycin	0	ND	14.5	100	100	100
Sulfamonomethoxine	0	61.95	100	ND	ND	ND

ND = No data

ที่มา: Ruangpan (1998)

ในรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ไวรัสเอ็นยู-1 (*Vibrio* spp. NU-1) ที่ฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลินผสมอาหาร 0.05, 0.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในรูปของไมโครเอนแคปซูล (microencapsule) พบว่า อัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะซุเคีย (zoea) สูงขึ้น และลูกกุ้งในระยะไมซิส (mysis) ที่เริ่มเข้าระยะโพสท์ลาร์วา (post larva) มีชีวิตรอดเพิ่มขึ้น (Itami, 1991 อ้างถึงใน สมบัติ รักประทานพร, 2542)

การศึกษาประสิทธิภาพของเปปติโดไกลแคนจาก *Bifidobacterium thermophilum* ในกุ้ง *P. japonicus* พบว่า กุ้งที่ได้รับอาหารผสมเปปติโดไกลแคน จะมีความต้านทานโรคสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับเปปติโดไกลแคนอย่างมีนัยสำคัญ หลังเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio penaeicida* และไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคดวงขาว เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือด (phagocytic index) พบว่าในกุ้งที่ได้รับเปปติโดไกลแคน มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Itami et al., 1998 อ้างถึงใน สมบัติ รักประทานพร, 2542)

การใช้วัคซีนที่ผลิตจากแบคทีเรียที่ถูกฆ่าให้ตาย เรียกว่า "แบคทีเรีย (bacterin)" ที่ผลิตจาก *V. vulnificus* ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาร์วา - 13 เป็นเวลา 83 วัน โดยแช่กุ้งใน

แบคทีเรียที่มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง พบว่าสามารถเพิ่มน้ำหนักตัวและความยาวของกุ้งได้ (Sung et al., 1991 อ้างถึงใน สมบัติ รักประทานพร, 2542)

การแช่กุ้งกุลาดำในสารแขวนลอยบีตา-กลูแคนเป็นเวลา 3 ชั่วโมงก่อนการเลี้ยงกุ้ง จะทำให้กุ้งมีความเจริญเติบโตสูงขึ้น และเมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio vulnificus* จะพบว่าความต้านทานโรคสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ใช้บีตา-กลูแคน ความเข้มข้นของบีตา-กลูแคน ที่เหมาะสมในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน คือ 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แม้จะสามารถกระตุ้นได้ในช่วงสั้น ได้ (Sung et al., 1994 อ้างถึงใน สมบัติ รักประทานพร, 2542)

#### 4. การใช้สารเสริมชีวิตหรือโปรไบโอติก (probiotic)

การใช้สารเสริมชีวิตคือการที่ใช้แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติต่อต้านการเจริญของ vibrio ฮาวิอาย โดยการผสมในอาหารกุ้ง แบคทีเรียชนิดนี้จะมีชีวิตอยู่ในลำไส้ หรือในตับกุ้ง คอยทำหน้าที่ต่อต้านการเจริญเติบโตของของ vibrio ฮาวิอาย หรือยับยั้งการทำงานของ vibrio ฮาวิอาย แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติดังกล่าวได้แก่ *Bacillus* spp., *Streptococcus* spp. และ *Clostridium botulycum*

มณจันทร์ เมฆธน และกมลพร มาแสวง (2543) ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรีย 8 ชนิดในการยับยั้ง vibrio ฮาวิอาย ที่เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสงในกุ้ง หลังการทดสอบนาน 72 ชั่วโมงในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าแบคทีเรีย 3 ชนิด ที่มีศักยภาพในการยับยั้ง vibrio ฮาวิอาย ได้แก่ *Bacillus subtilis* AM-01, *Bacillus licheniformis* AM-04 และ *Nitrosomonas* sp. AM-11 นอกจากนี้ยังพบว่า *Bacillus subtilis* AM-01 ถึงแม้จะมีความสามารถในการควบคุมการเจริญเติบโตของ vibrio ฮาวิอาย แบบเข้าครอบครองบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar ช้ากว่า *Bacillus licheniformis* AM-04 และ *Nitrosomonas* sp. AM-11 ก็ตาม แต่ทำให้รูปร่างทางสัณฐานวิทยาของ vibrio ฮาวิอาย เปลี่ยนแปลง และขนาดเล็กกว่าปกติมาก โดยความผิดปกติที่เกิดขึ้นเป็นแบบถาวร จึงทำให้แบคทีเรียชนิดนี้มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในบ่อกุ้งเพื่อยับยั้งการเจริญของ vibrio ฮาวิอาย มากที่สุด

Rengpipat et al., (1998) ทำการศึกษาโดยการให้โปรไบโอติกเสริมในอาหารกุ้งกุลาดำโดยการใช้ *Bacillus* S11 ที่แยกได้จากลำไส้กุ้งกุลาดำที่มีสุขภาพดี และมีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก ผสมในอาหารเป็นเวลานาน 100 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* S11 จะมีการเจริญเติบโต และอัตราการรอดสูงกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* S11 อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) และพบว่าภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสง กุ้งที่ได้รับสารโปรไบโอติกในอาหารมี

อัตราการรอด 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสม *Bacillus* S11 มีความผิดปกติของตับและลำไส้ และมีอัตราการรอดเพียง 26 เปอร์เซ็นต์

Rengpipat et al., (1998) ทำการศึกษาโดยใช้ *Bacillus* S11 ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก โดยเติมลงไปในช่วงตอนการเพาะฟักอาร์ทีเมียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำอาร์ทีเมียที่เก็บเกี่ยวได้ไปใช้เป็นอาหารลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาร์วา - 10 พบว่าลูกกุ้งที่ได้รับอาร์ทีเมียดังกล่าว มีอัตราการรอดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้โปรไบโอติก นอกจากนี้ *Bacillus* S11 ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ

ผลการใช้สารชีวระดังกกล่าวมักให้ผลดีเฉพาะในห้องปฏิบัติการ ยังไม่มีการศึกษาอย่างแท้จริงในการทดสอบการใช้ในสภาพบ่อเลี้ยงจริง มีการคาดหมายว่าเมื่อทดลองใช้ในภาคสนามแล้ว มักไม่ได้อผลเหมือนในห้องทดลอง (ลิลลา เรืองแป้น, 2541) การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมภายในบ่อซึ่งเกิดขึ้นตลอดเวลา อาจเป็นสาเหตุการใช้สารชีวระดางบางชนิดจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมมากขึ้นก่อนนำไปใช้ และมีความจำเป็นต้องปรับสภาพแวดล้อมภายในบ่อเลี้ยง หรือสภาพของสารเสริมชีวระดางนั้นๆ ให้มีความสอดคล้อง เพื่อให้ประสิทธิภาพในการควบคุมแบคทีเรียมีประสิทธิภาพสูงสุด

## 5. การใช้แพลงค์ตอนพืช

แพลงค์ตอนพืชเป็นแหล่งผลิตออกซิเจนจากระบบการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ยังสามารถกำจัดสารพิษ เช่น แอมโมเนีย ไนไตรท์ ที่เกิดขึ้นจากของเสียในบ่อเลี้ยงแล้ว การใช้แพลงค์ตอนพืชยังเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการป้องกัน และควบคุมโรคเรืองแสงเนื่องจากการติดแบคทีเรีย โดยดำเนินการควบคู่ไปกับการควบคุมคุณภาพน้ำในบ่อ การจัดการบ่อ และการตรวจสอบปริมาณไวรัสเรืองแสง ซึ่งเป็นที่ยอมรับว่าไม่เกิดผลข้างเคียงต่อกุ้งและระบบการเลี้ยง

ชาญเดช วัจสะวิบูลย์ และคณะ (2540) ศึกษาการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสท์ลาร์วาในน้ำที่มีคลอโรลลาเปรียบเทียบกับน้ำที่ไม่มีคลอโรลลา แม้อัตราการรอดของทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันแต่การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำกลุ่มที่อนุบาลในน้ำที่มีคลอโรลลาพบว่าแตกต่างจากลูกกุ้งที่ไม่ได้เลี้ยงในคลอโรลลาอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) จากการเก็บตัวอย่างไวรัสในน้ำเลี้ยงพบว่าปริมาณของไวรัสสูงตลอดการทดลองโดยไม่พบไวรัสเรืองแสง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าไวรัสเหล่านั้นเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ก่อให้เกิดโรค และอาจจะมีชนิดที่ช่วยให้ลูกกุ้งมีการเจริญเติบโตดีและอัตราการรอดสูง เช่น *Vibrio alginolyticus* เป็นต้น

สุพล พันธุมะโสภาส (2542) ศึกษาถึงการใช้แพลงค์ตอนพืช 2 ชนิด คือ คลอเรลลา (*Chlorells* sp.) และ *Skeletonema calcitrans* และการใช้ไวรัสโคโลนีสีเหลือง หรือ *Vibrio alginolyticus* ร่วมกับการใช้น้ำตาลเพื่อควบคุมการเจริญของ ไวริโอ ฮาวิอาย ผลการศึกษาพบว่าการใช้ *Vibrio alginolyticus* ที่ระดับความหนาแน่น  $10^3$  cfu/ ml ร่วมกับการใช้น้ำตาลความเข้มข้น 5 ส่วนในล้านส่วน (ppm) มีผลในการควบคุมการเจริญของ ไวริโอ ฮาวิอาย ระดับความหนาแน่น  $10^3$  cfu/ ml ได้ภายใน 3 วัน แต่การใช้ *Chlorella* sp. และ *Chaetoceros calcitrans* ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ ไวริโอ ฮาวิอาย ได้

Pratt et al. (1944) ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของคลอเรลลากับแบคทีเรีย โดยนำสารที่สกัดได้จาก *Chlorella vulgaris* และ *C. pyrenoidosa* มาทดสอบผลต่อดำรงกิจกรรมของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacterium coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* พบว่ามีผลในการยับยั้งกิจกรรมต่างๆ ของแบคทีเรียชนิดดังกล่าว และเพื่อความสะดวกในการเรียกชื่อ จึงใช้คำว่า Chlorellin แทนสารที่สกัดได้

Kogure et al. (1980) พบว่าไดอะตอม (*Skeletonema costatum*) สามารถควบคุมการเจริญของ *Vibrio* sp. และ *Pseudomonas* sp. ได้โดยทำการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเทียม ในขณะที่แพลงค์ตอนสัตว์จะเป็นตัวสนับสนุนการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองชนิด และการใช้ *Skeletonema costatum* ในระยะ young greenish cells สำหรับเป็นอาหารและเตรียมน้ำก่อนใช้ในการเพาะกุ้ง จะช่วยป้องกันการเกิด luminous biofilm และช่วยต้านทานโรคเรืองแสงในแม่กุ้งและลูกกุ้งในระยะโพสท์ลาร์วา (post larvae) (Kitto และ Regunathan, 1997)

Lustigman (1988) พบว่าแพลงค์ตอนพืชสีน้ำตาลในครอบครัว Bacillariophyceae Chrysophyceae และ Cryptophyceae มีความสามารถในการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งแพลงค์ตอนสีเขียวไม่สามารถที่จะผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีนัก ส่วนแพลงค์ตอนในครอบครัว Volvocaceae จะผลิตสารพวก non-protein ซึ่งเป็นสาร heat labile ซึ่งจะไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของสาหร่ายชนิดอื่น นอกจากนี้สารที่สกัดจาก *Tetraselmis suecica* มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียไวรัส (*Vibrio* spp.) โดยสามารถแสดงผลในการเกิด zones of clearing เมื่อทดสอบด้วย paper discs (Austin และ Day ,1990) แต่ในการศึกษาการอยู่ร่วมกันของ *Flavobacterium* sp.

และ *Chaetoceros gracilis* พบว่าเมื่อทำการเลี้ยงเปรียบเทียบกับแบบปลอดเชื้อ (axenic culture) อัตราการเจริญเติบโตเมื่อเลี้ยงร่วมกันจะสูงกว่า (Suminto และ Hirayama, 1996)

Lustigman และ Brown (1991) พบว่าสารที่ผลิตจากสาหร่ายน้ำเค็ม 18 ชนิดในแถบชายฝั่งของนิวยอร์ก และนิวเจอร์ซีย์ ประเทศสหรัฐอเมริกา มีผลต่อการยับยั้ง *Escherichia coli* หรือ *Staphylococcus epidermidis* หรือทั้งสองชนิด

Boroxitzka (1995) กล่าวถึงสารที่สกัดได้หรือหลังออกมาภายนอกเซลล์จากสาหร่ายเซลล์เดี่ยว อันได้แก่ fatty acids, glycolipid, acrylic acid, phenolics, bromophenols, terpenoids, carbohydrates, N-glycosides, polysaccharides, acrolyl-choline,  $\beta$  - diketone, isonitrile-containing indole alkaloids และสารพิษอื่นๆ เช่น nodularin, goniatotoxin, saxitoxin, okadaic acid และ ciguatoxin ล้วนมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและราหลายชนิด

Direkbusarakom et al. (1997) ศึกษาผลของคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) ต่อการเจริญของไวรัสทั้ง 3 ชนิด ที่ก่อให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ ได้แก่ *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* และ *V. penaeicida* พบว่า สารที่มีหลังออกมาจากคลอเรลลาที่มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของไวรัสทั้ง 3 ชนิด

แพลงก์ตอนถ้ามีปริมาณมากเกินไปหรือมีแพลงก์ตอนที่เป็นพิษ จะส่งผลกระทบต่อกุ้งและระบบนิเวศน์ในบ่อ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของน้ำเป็นอย่างมาก และโน้มนำให้กุ้งเกิดอาการเครียดและง่ายต่อการเป็นโรค การศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษของสารพิษที่สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวผลิตขึ้น เช่น สารพิษในกลุ่มประเภท Hepatotoxic cyclic hepta และ pentapeptides หรือในกลุ่มของ Microcystins และ cyanoginosins ที่สร้างขึ้นจากสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวในสกุล *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Nodularia* และ *Oscillatoria* ล้วนแต่มีผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย รา โปรโตซัวบางชนิด รวมทั้งมีความเป็นพิษต่อแพลงก์ตอนสัตว์จำพวก copepods และสาหร่ายชนิดอื่น ๆ (Hawser et al., 1992)

สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวในสกุล ออสซิลลาตอเรีย เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงภายใต้เทคนิคแบบปลอดเชื้อ พบว่าปริมาณสารพิษจะสูงขึ้นเมื่อปริมาณไนโตรเจนในน้ำเลี้ยงสูตร Z 8 เพิ่มสูงขึ้น และเมื่อสกัดสารพิษแล้วนำมาทดสอบกับสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว และสาหร่ายสีเขียวบางชนิด เช่น *Anacystis nidulans* และ *Microcystis aeruginosa* พบว่าทำให้เซลล์ของสาหร่ายเหล่านี้สูญเสีย



โปรตีนและคลอโรฟิลล์ กระบวนการสังเคราะห์แสงจะถูกยับยั้ง (Bagchi et al., 1993; Bagchi and Marwah, 1994; Chauhan et al., 1992; Sivonen, 1990)

Smith (1996) ศึกษาพบว่าสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวและแบคทีเรียเป็นสาเหตุร่วมที่ทำให้เกิดการตายของกุ้งกุลาดำในบ่อ คือ สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวทั้งที่เจริญอยู่ที่พื้นท้องน้ำ และดำรงสภาพเป็นแพลงค์ตอน ทำให้เกิดการตายของกุ้งกุลาดำในฟาร์มเลี้ยงของประเทศออสเตรเลีย การตายของกุ้งมีสาเหตุจากการติดแบคทีเรียในครอบครัว Vibrionaceae หลังจากได้รับสารพิษจากการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนหนาแน่นของสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว นอกจากนี้พบว่าสารที่สกัดจากสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวในอันดับ Oscillatoriales ได้แก่ *Oscillatoria corakiana* เจริญเด่นในบ่อ แม้จะไม่สร้างสารพิษแต่เมื่อนำมาฉีดเข้าสู่กุ้งกุลาดำ และกุ้งครุมา (*P. Japonicus*) พบว่าทำให้กุ้งมีการตายเกิดขึ้น และระดับความเข้มข้นที่ลดต่ำลงของสารพิษที่สกัดได้ แม้ไม่ทำให้เกิดการตายอย่างฉับพลัน แต่มีผลทำให้กุ้งกินอาหารน้อยลง และมีระบบภูมิคุ้มกันโรคลดต่ำลง

ในสภาพบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ มักพบว่าคลอเรลลาไม่ได้เป็นแพลงค์ตอนพืชชนิดเดียวที่เจริญอยู่ในน้ำ หากแต่มีแพลงค์ตอนพืชชนิดอื่นที่มักก่อให้เกิดโทษต่อกุ้งกุลาดำ เช่น ออสซิลลาตอเรีย ปะปนอยู่ในน้ำเลี้ยง การกำหนดชนิดและควบคุมปริมาณแพลงค์ตอนพืชที่เป็นประโยชน์ในการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียเรืองแสง และไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดของกุ้งเป็นสิ่งสมควรได้รับการศึกษาเพื่อเป็นแนวทางให้สามารถเลี้ยงกุ้งโดยการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม ชดเชยการใช้สารเคมี และก่อให้เกิดความยั่งยืน

## อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

### สถานที่ดำเนินการทดลอง

งานทดลองเพื่อประกอบการทำวิทยานิพนธ์ได้รับการสนับสนุนด้านอุปกรณ์ และสถานที่จากหน่วยงานของเครือเจริญโภคภัณฑ์ดังต่อไปนี้ บริษัท กรุงเทพเพาะเลี้ยงกุ้ง จำกัด ต. บ้านอำเภอ อ. สัตหีบ จ. ชลบุรี ในการเพาะเลี้ยงแพลงค์ต่อนพืชเพื่อใช้ในการทดลอง, บริษัท ซี. ฟาร์ม จำกัด ต. ปากน้ำประแสร์ อ. แกลง จ. ระยอง ในการเตรียมงานและดำเนินการทดลอง และศูนย์ค้นคว้าวิจัยการเลี้ยงกุ้ง ต. บางโพธิ์ อ. เมือง จ. สมุทรสาคร ที่สนับสนุนด้านการจำแนกชนิดแบคทีเรีย

### การเตรียมการทดลอง

ก. การเพาะเลี้ยง *Chlorella* sp. และ *Oscillatoria* sp.

1. เตรียมสารอาหารสูตรคอนเวย์ (Conway medium) สำหรับการเพาะเลี้ยงคลอเรลลา และอาหารสูตรของอัลเลนที่ปรับปรุงแล้ว (Allen Blue-green Medium Modified) สำหรับการเพาะเลี้ยงออกซิลาตอเรีย (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540) โดยใช้ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำเลี้ยง 1 ลิตร
2. เตรียมน้ำเลี้ยง (Enriched medium) สำหรับเลี้ยง *Chlorella* sp. และ *Oscillatoria* sp. โดยใช้น้ำทะเลความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน ( $\mu\text{m}$ ) นำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อ ตารางนิ้ว นาน 30 นาที วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานไม่น้อยกว่า 2 - 3 วัน เพื่อให้อากาศละลายลงสู่น้ำเลี้ยงอย่างสมบูรณ์ แล้วจึงนำไปเติมอาหารสูตรคอนเวย์ (Conway medium) สำหรับการเพาะเลี้ยงคลอเรลลา และอาหารสูตรของอัลเลนที่ปรับปรุงแล้ว (Allen Blue-green Medium Modified) สำหรับการเพาะเลี้ยงออกซิลาตอเรียด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
3. คัดแยกเซลล์แพลงค์ต่อนด้วยวิธี Capillary technique แล้วนำไปเลี้ยงในตู้บ่มที่ควบคุมความเข้มแสง 6,000 - 9,000 ลักซ์ ช่วงเวลาแสงสว่างและช่วงเวลามืด เท่ากับ 12 และ 12 ชั่วโมง ในรอบวันและอุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส

4. เพาะเลี้ยงเซลล์แพลงค์ตอนพืชให้ได้ปริมาณมาก โดยใช้ขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร และ 5 ลิตร เลี้ยงแพลงค์ตอนที่มีปริมาตร 1.5 และ 3 ลิตร ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ตามลำดับ โดยเลี้ยงต่อภายในห้องสำหรับการเลี้ยงแพลงค์ตอนที่มีระดับความเข้มแสง และอุณหภูมิตามที่กล่าวข้างต้น

5. ขยายเซลล์แพลงค์ตอนพืชให้ได้ปริมาณมากภายนอกห้องปฏิบัติการ ด้วยสูตรอาหาร ดังต่อไปนี้ ในน้ำเลี้ยง 1 ลูกบาศก์เมตร

แอมโมเนียมซัลเฟต ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	100	กรัม
ซูเปอร์ฟอสเฟต (Ca <sub>3</sub> (H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> )	15	กรัม
ยูเรีย (CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> )	5	กรัม

และเก็บเกี่ยวเมื่อ *Chlorella* sp. และ *Oscillatoria* sp. เจริญเข้าสู่ระยะเอกซโพเนนเชียล (Exponential phase) เพื่อนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

#### ข. การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำกิ้งกูดำน้ำหนัก 0.5 - 2.0 กรัม (อายุ 20 - 35 วัน) มาปรับให้คุ้นสภาพกับความเค็มที่ 15 ส่วนในพันส่วน เป็นเวลาอย่างน้อย 14 วันก่อนการทดลอง คัดกิ้งให้มีขนาดใกล้เคียงกัน โดยใช้น้ำหนักเป็นเกณฑ์ และให้อาหารเม็ด (Artificial feed) ในปริมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ต่อวัน

#### ค. การเตรียมน้ำทดลอง

นำน้ำทะเลจากบ่อเลี้ยงกิ้งกูดำเดิม หรือแหล่งน้ำใกล้เคียงมาปรับความเค็มให้ได้เท่ากับ 15 ส่วนในพันส่วน (ppt) โดยนำน้ำทะเลไปผ่านการกรองด้วยผ้ากรอง และฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนด้วย การเติมสารไฮโปคลอไรต์ในอัตราส่วน 16 กรัม ต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร ทิ้งไว้ให้คลอรีนสลายตัว ประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วเติมโซเดียมไฮโอซัลเฟต 40 - 45 กรัมต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตรก่อนนำน้ำนั้นมาใช้ทดลอง

#### ง. การเตรียม วิบริโอ ฮาวิอาย 1526

เก็บรักษา วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 จากศูนย์วิจัยการเลี้ยงกุ้ง บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร สัตว์ จำกัด จังหวัดสมุทรสาคร ที่ใช้ในการทดลองไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone soya agar (TSA, Oxoid Ltd., Hampshire, England) และเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone soya broth (TSB, Oxoid Ltd., Hampshire, England) ผสมน้ำเกลือความเข้มข้น 1% (1% NaCl) ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ควบคุมอุณหภูมิระหว่างการเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24

ชั่วโมงหลังจากนั้นปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียด้วยน้ำเกลือมาตรฐานความเข้มข้น 0.85% (Sterile Normal Saline Solution ; 0.85% NaCl) ให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการก่อนนำไปใช้ต่อไป

### การศึกษาอัตราส่วนของ *Chlorella* sp. และ *Oscillatoria* sp. ในการควบคุมการเจริญของ *Vibrio harveyi* 1526

วางแผนการทดลองแบบ Factorial design แบบ  $4 \times 4$  โดยแบ่งเป็นความเข้มข้นของ *Chlorella* sp. 4 ระดับ และความเข้มข้นของ *Oscillatoria* sp. 4 ระดับ โดยเตรียมน้ำที่มีปริมาณ *Chlorella* sp.  $0, 1 \times 10^5, 1 \times 10^6$  และ  $1 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่มีปริมาณ *Oscillatoria* sp.  $0, 1 \times 10^3, 1 \times 10^4$  และ  $1 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ละชุดการทดลองจะมี 3 ซ้ำ ทดลองในขวดรูปชมพู่ปริมาตรน้ำ 100 มิลลิลิตร แล้วเติม *Vibrio harveyi* 1526 ลงในน้ำเลี้ยงให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น  $1 \times 10^6$  cfu/ml เก็บน้ำตัวอย่างมาเพาะเลี้ยงและตรวจนับแบคทีเรียบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ thiosulphate citrate bile sucrose agar (TCBS, Oxoid Ltd., Hampshire, England) ก่อนและหลังการเติม *Vibrio harveyi* 1526 ณ เวลา 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ตามลำดับ พร้อมการตรวจนับปริมาณแพลงค์ตอนพืช ด้วย Haemocytometer พร้อมทั้งตรวจวัด pH และอุณหภูมิ

### การศึกษามลของอัตราส่วนของ *Chlorella* sp. และ *Oscillatoria* sp. ต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงโดย *Vibrio harveyi* 1526 ในกุ้งกุลาดำ

นำกุ้งกุลาดำที่เตรียมไว้ปล่อยลงเลี้ยงในชุดทดลองจากการทดลองข้างต้น ด้วยอัตราความหนาแน่นประมาณ 25 ตัวต่อน้ำเลี้ยง 30 ลิตร ในถังพลาสติกที่บรรจุน้ำปริมาตร 30 ลิตร แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย 3 ซ้ำ โดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำตลอดการทดลอง และในแต่ละถังจะได้รับอากาศตลอดเวลา แล้วเติม *Vibrio harveyi* 1526 (Bath challenge) ลงในน้ำให้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ  $1 \times 10^5$  cfu/ml บันทึกการตายของกุ้งและตรวจสอบ วิบริโอ ฮาเวีย 1526 ในแต่ละถังเมื่อสิ้นสุดการทดลอง หลังทดลองเป็นเวลา 8 วัน และให้อาหารเม็ดในอัตรา 8 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวต่อวัน เก็บน้ำตัวอย่างมาเพาะเลี้ยง และตรวจนับแบคทีเรียบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS พร้อมการตรวจนับปริมาณแพลงค์ตอนพืช ด้วย Haemocytometer และวิเคราะห์คุณภาพน้ำทุก 2 วัน

## การเก็บรวบรวมข้อมูล

### 1. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

การตรวจวัดคุณภาพน้ำ ตามวิธีของ American Public Health Association, American Water Work Association and Water Environment Federation (APHA-AWWA-WEF, 1992) แบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ

ก. การตรวจวัดคุณภาพน้ำทางกายภาพประกอบด้วยอุณหภูมิ ที่วัดโดยเทอร์โมมิเตอร์ , ความเค็ม วัดโดยใช้ Refractometer model Atago-r-5000, pH วัดโดยใช้ Orion pH - meter (GEM 310) และปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ วัดโดยใช้ DO meter YSI model 518 การตรวจวัดคุณภาพน้ำ จะตรวจวัดวันละ 2 ครั้ง (เวลา 07.00 - 08.00 น. และ 15.00 - 16.00 น.)

ข. การตรวจวัดคุณภาพน้ำทางเคมี ตรวจวัดคุณภาพน้ำ ทุก 2 วัน (เวลา 07.00 - 08.00 น.) โดยคุณภาพน้ำที่ตรวจวัดมีดังนี้ ปริมาณแอมโมเนีย ( $\text{NH}_4 + \text{NH}_3 - \text{N}$ ) วัดโดยใช้วิธี Automated Phenate method ด้วยเครื่อง Skalar Continuous Flow analyzer (Skalar Analytical B.V., DE BREDA, NETHERLANDS) ปริมาณไนโตรท์ ( $\text{NO}_2 - \text{N}$ ) และไนเตรต ( $\text{NO}_3 - \text{N}$ ) วัดโดยใช้วิธี Automated Cadmium Reduction method ด้วยเครื่อง Skalar Continuous Flow analyzer

### 2. การตรวจสอบปริมาณ *Chlorella* sp. และ *Oscillatoria* sp.

เก็บน้ำตัวอย่างปริมาตรรวม 100 - 200 มิลลิลิตร และแยกเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบหัวกลับกำลังขยาย 40 เท่าด้วย Haemocytometer

### 3. การตรวจสอบปริมาณไวรัสในน้ำตัวอย่าง

เก็บน้ำตัวอย่างปริมาตรรวม 100 - 200 มิลลิลิตร นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS, Oxoid ltd., Hampshire, England และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 18 - 24 ชั่วโมง แล้วจึงตรวจนับจำนวนโคโลนี และแยกโคโลนีให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์ เพื่อยืนยันผลว่าเป็น ไวรัสฮาร์วีย์

### 4. การตรวจ ไวรัสฮาร์วีย์ ในกุ้งกุลาดำ

นับจำนวนกุ้งเพื่อคำนวณอัตราการรอดในแต่ละชุดการทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และสุ่มตัวอย่างกุ้งแต่ละหน่วยทดลอง นำมาฆ่าเชื้อภายนอกด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ซ้ำด้วยผ้าสะอาดจนหมดกลิ่นแอลกอฮอล์ แล้วจึงนำมาบดให้ละเอียดในครกบดยา เติมน้ำละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 %

คนให้เข้ากัน เพราะเชื้อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS, Oxoid Ltd., Hampshire, England (Serial dilutions) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 18 - 24 ชั่วโมง แล้วจึงแยกโคโลนีให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์ ทำเก็บตัวอย่างแบคทีเรียที่ตรวจพบเพื่อการจำแนกชนิดต่อไป

##### 5. การจำแนกชนิด ลักษณะรูปร่าง และการทดสอบทางชีวเคมี

ตรวจสอบแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำ และในตัวอย่างกึ่งจากชุดทดลองระหว่างการเหนียวน้ำให้เกิดโรคไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS และแยกโคโลนี เพื่อนำไปทดสอบลักษณะทางชีวเคมี ตามการจำแนกใน Bergey 's Manual of Systematic Bacteriology (Baumann และ Schubert, 1986) เพื่อทราบชนิดของแบคทีเรียว่าเป็น วิบริโอ ฮาวิออย ประกอบด้วยลักษณะดังต่อไปนี้

- การติดสีแกรม นำแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS, Oxoid Ltd., Hampshire, England มาย้อมดูการติดสีแกรม ดูรูปร่างและการจัดเรียงตัวของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์
- การทดสอบการเคลื่อนที่ ถ่ายเชื้อลงบนอาหารทดสอบการเคลื่อนที่ (motility test medium) ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1% โดยแทงเข็มเขี่ยเชื้อลงไปจนสุดหลอดทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสหรืออุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ถ้าเชื้อสามารถเคลื่อนที่ได้จะเจริญออกมาอกรอยที่แทงไว้
- การทดสอบแคตาเลส (Catalase test) โดยหยด 3%  $H_2O_2$  ลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาดและแห้ง เขี่ยเชื้อที่ต้องการทดสอบอายุ 24 ชั่วโมงจากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร Nutrient agar slant มาจำนวน 2 loopful ลงในหยดของ  $H_2O_2$  ถ้าเกิดฟองก๊าซขึ้นแสดงว่าเชื้อสามารถสร้างแคตาเลสซึ่งสามารถสลาย  $H_2O_2$  ฟองก๊าซที่เกิดขึ้นเป็นก๊าซออกซิเจน โดยแสดงผลการทดสอบเป็นบวก
- การทดสอบออกซิเดส (Oxidase test) โดยการหยดสารละลายเตตระเมทิลพาราฟีนิลไดเอมีนไดไฮโดรคลอไรด์ (Tetramethyl paraphenyl diamine dihydrochloride) เข็มชั้น 1% ลงบนกระดาษกรองจนชุ่มแล้วใช้ลวดปลาตีนมีเขี่ยเชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ป้ายลงบนกระดาษกรอง ถ้าเกิดสีม่วงขึ้นภายใน 10 วินาที แสดงว่าผลเป็นบวก ที่เกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียมีการสร้างไซโตโครมออกซิเดส (Cytochrome oxidase) โดย N,N,N,N-Tetramethyl-p-phenylene-diamine dihydrochloride ถูกออกซิไดซ์โดย oxidized cytochrome c จะเกิดสีม่วงของ Wurster' s blue ถ้าไม่เกิดสีม่วง แสดงว่า แบคทีเรียไม่สร้าง Cytochrome oxidase

- การทดสอบการย่อยเจลาติน (Gelatin liquefaction test) โดยการถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient gelatine medium ในลักษณะที่เป็นจุด เรียกว่า ทำ point incubate ลงในจานเพาะเชื้อ ป่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นให้เทลาดด้วยสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ (Mercuric chloride;  $HgCl_2$  12 กรัมละลายในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร และกรดเกลือเข้มข้น 16 มิลลิลิตร) เมื่อเกิดวงใสรอบบริเวณเชื้อที่เจริญ จะให้ผลเป็นบวก เนื่องจากแบคทีเรียสามารถย่อยเจลาติน โดยใช้เจลาติเนส (gelatinase) เมื่อถูกย่อยเจลาตินจะเสียคุณสมบัติในการเป็นเจล ที่จะเป็นของเหลวแม้ในอุณหภูมิต่ำ แต่ถ้าไม่เกิดวงใสจะให้ผลเป็นลบ
- การทดสอบการสร้างอินโดล โดยการถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไนเตรท (nitrate broth) ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1% ป่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบไนโตรเจนที่เกิดขึ้นโดยการเติมกรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid) 2-3 หยด และแอลฟาแนฟทิลลามีน ( $\alpha$  - Naphthylamine) ลงไปตามลำดับ ถ้าเกิดสีแดงภายใน 30 วินาที ให้เป็นผลบวก สีแดงที่เกิดขึ้น เนื่องจากไนโตรเจนที่เกิดขึ้น ทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟานิลิก ได้สารประกอบประเภทเกลือไดอะโซเนียม (Diazonium) และเกลือที่ได้นี้จะรวมตัวกับแอลฟาแนฟทิลลามีน ทำให้เกิดสีแดงของอะโซดาย (Azodye) ที่ละลายน้ำได้ แต่ถ้าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงให้ผลเป็นลบ บางครั้งไนโตรเจนที่เกิดขึ้นทั้งหมดจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย อาหารจึงไม่เปลี่ยนสี ดังนั้นจึงต้องใส่ผงสังกะสีลงไปทดสอบ ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดง เนื่องจากสังกะสีไปดึงออกซิเจนจากไนเตรทให้กลายเป็นไนโตรเจน แสดงว่าเชื้อไม่สามารถใช้ไนเตรทได้ให้ผลเป็นลบ ถ้าไม่เกิดสีแดง แสดงว่าไนโตรเจนเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียหมดจึงให้ผลเป็นบวก
- การทดสอบเมทิลเรด (Methyl Red test) ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเอ็มฮาร์-วีพี ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1 % ป่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบโดยการหยดเมทิลเรด (methyl red) ลงไป 1 หยดเนื่องจากเป็นอินดิเคเตอร์ (indicator) เป็นสีแดงที่ pH 4-5 และเปลี่ยนเป็นสีเหลืองที่ pH 6-7 จากการทดสอบถ้ามีสีแดงเกิดขึ้น จะให้ผลเป็นบวกเนื่องจากแบคทีเรียสามารถสร้างกรดจากการใช้น้ำตาลกลูโคส และมีปริมาณกรดมาก (mixed acid fermentation) มากพอที่จะเอาชนะความสามารถในการปรับสภาพความเป็นกรดต่าง (buffering capacity) และถ้ามีสีเหลือง (butylene glycol fermentation) จะให้ผลเป็นลบ

- การทดสอบเมทิลคาร์บินอล (Voges proskauer test) ถ่ายแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์-วีพี ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1 % บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบโดยเติมแอลฟาแนฟทอล ( $\alpha$  - Naphthol) 5% ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตรแล้วจึงใส่สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 40% ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน ถ้ามีสีแดงเกิดขึ้นภายใน 10 นาทีหรือ 24 ชั่วโมง แสดงว่าแบคทีเรียมีการผลิตอะซิโตอิน (Acetoin) จากวัฏจักรบิวทีรีนไกลคอล (Bethylene glycol pathway) ซึ่ง 40% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์จะเปลี่ยนกลับให้อะซิโตอินกลายเป็นกลายเป็นไดอะซีติล (Diacyetyl) และเกิดสารประกอบสีแดง โดยการเร่งปฏิกิริยาของแอลฟาแนฟทอล ให้บันทึกผลเป็นบวก ถ้าไม่เกิดสีแดงให้ผลเป็นลบ
- การทดสอบการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen sulfide production test) โดยถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารทริปเปิ้ล ซูการ์ ไอรอน (Triple Iron Sugar; TSI) ที่ผิวของพื้นเอียง (slant) โดยใช้เข็มเย็บเชื้อ (needle) และเชื้อลงในอาหารโดยขีดไปมา (streak) ที่ผิวของอาหารแล้วแทงลง (stab) ในอาหารที่ส่วนก้นหลอด เรียกว่าทำ butt บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจผลทุกวัน สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารและการเกิดก๊าซ แบคทีเรียจะใช้น้ำตาลโดยขบวนการหมัก (fermentation) ที่ก้นหลอด แต่ที่ผิวเอียงของอาหาร (slant) จะใช้ขบวนการหายใจ (respiration) และการใช้สารประกอบไนโตรเจนในอาหารทำให้ได้สารที่มีสภาพเป็นต่าง ดังนั้นถ้าแบคทีเรียใช้กลูโคสเพียงอย่างเดียวจะเกิดการดัดปริมาณน้อย จึงเกิดสีเหลืองเฉพาะก้นหลอด ส่วนผิวเอียงจะมีสีแดงเนื่องจากสภาพเป็นต่าง แต่ถ้าแบคทีเรียใช้น้ำตาลแลคโตส หรือซูโครสด้วย จะมีสีเหลืองเกิดที่ผิวเอียง เพราะเกิดการดัดปริมาณมาก ถ้าเกิดก๊าซจากการใช้น้ำตาล จะมีฟองอากาศแทรกอยู่ในอาหาร บางครั้งถ้าก๊าซมาก ก็จะดันให้อาหารลอยขึ้นจากก้นหลอด และถ้าเป็นเชื้อที่ผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ด้วย จะเกิดสีดำของเฟอร์รัสซัลไฟด์ตามรอยที่ถ่ายเชื้อ โดยถือว่าให้ผลเป็นบวก แต่ถ้าไม่มีก๊าซเกิดขึ้นให้ผลเป็นลบ
- การทดสอบการออกซิไดส์และการหมัก (Oxidation-Fermentation test) โดยการถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหาร Hugh and Leifson's O-F medium ชนิดละ 2 หลอด โดยการแทงลงไปตรงๆ หลอดหนึ่งจะทำให้อยู่ในสภาพขาดอากาศโดยการเทพาราฟินเหลวปิดผิวหน้าประมาณ 2 เซนติเมตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง ถ้าอาหารเปลี่ยนสีจากเขียวเป็นเหลือง เฉพาะหลอดที่ไม่มีพาราฟิน แสดงว่าเป็นออกซิเดชัน (oxidation) เพราะมีความจำเป็นต้องใช้อากาศ โดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน แต่ถ้าเกิดการเปลี่ยนสีทั้งสองหลอด แสดงว่าเป็นหมัก (fermentation)



- การใช้ไนเตรท ถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเหลวไนเตรท (Nitrate broth) ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1% บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบไนเตรทที่เกิดขึ้นโดยการเติมกรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid) 2-3 หยด และแอลฟาแนฟทิลลามีน ( $\alpha$ -Naphthylamine) ลงไปตามลำดับ ถ้าเกิดสีแดงภายใน 30 วินาที ให้ผลเป็นบวก สีแดงที่เกิดขึ้นเนื่องจากไนเตรทที่เกิดขึ้น ทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟานิลิก ได้สารประกอบประเภทเกลือไดอะโซเนียม (Diazonium) และเกลือที่ได้นี้จะรวมตัวแอลฟาแนฟทิลลามีน ทำให้เกิดสีแดงของอะโซไดย (Azodye) ที่ละลายน้ำได้ อาหารจึงไม่เปลี่ยนสี ดังนั้นจึงต้องใส่ผงสังกะสีลงไปทดสอบ ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีแดง เนื่องจากสังกะสีไปดึงออกซิเจนจากไนเตรทให้กลายเป็นไนเตรท แสดงว่าเชื้อไม่สามารถใช้ในเตรทได้ให้ผลเป็นลบ ถ้าไม่เกิดสีแดง แสดงว่าไนเตรทเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียหมดจึงให้ผลเป็นบวก
- การใช้ซิเตรท โดยถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารซิมมอนส์ซิเตรท (Simmon's citrate agar) ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1% บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-7 วัน เชื้อที่สามารถใช้ซิเตรทได้จะเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์ในอาหารจากสีเขียวกลายเป็นสีน้ำเงิน เนื่องจากเชื้อสามารถใช้โซเดียมซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน และใช้แอมโมเนียฟอสเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนได้แอมโมเนียที่มีสมบัติเป็นเบส ทำให้บรอมโรโมลบลูเปลี่ยนจากสีเขียวกลายเป็นสีน้ำเงิน ถ้าเชื้อไม่สามารถใช้โซเดียมซิเตรทได้อาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีเขียวเหมือนเดิม
- การทดสอบการออกซิไดส์กลูโคเนต (Gluconate oxidation test) โดยการเตรียมถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบปริมาณมากลงไปใต้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรที่ได้เติมเม็ดกลูโคเนต (gluconate substrate tablet) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมเม็ดไคลนิต (clinitest tablet) โดยจะมีผลเป็นบวก เมื่อเกิดตะกอนสีส้มเหลืองของคอปรัส ออกไซด์ (cuprous oxide) เนื่องจากมีการออกซิไดส์กลูโคเนต โดยคอปริกไอออน (cupric ion) จะถูกรีดิวซ์เป็นคอปรัสไอออน (cuprous ion) แต่ถ้ามีสีน้ำเงินแสดงว่าให้ผลเป็นลบ
- การทดสอบดีคาร์บอกซิเลส (Decarboxilase test) โดยการถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารที่มีกรดอะมิโน เช่น ไลซีน (lysine) อาร์จินีน (arginine) และ ออร์นิทีน (ornithine) แต่ละชนิดอย่างละ 1 หลอด ทำหลอดเปรียบเทียบกับแล้วจึงเทพาราฟินเหลวทับทุกหลอด แล้วปิดจุกฝาเกลียวให้แน่น บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 24 - 48 ชั่วโมง โดยจะให้เป็นบวกหลอดที่มีกรดอะมิโนเป็นสีม่วง ส่วนหลอดเปรียบเทียบกับเป็นสีเหลือง เนื่องจากแบคทีเรียมีดีคาร์บอกซิเลส

(decarboxilase) และสามารถใช้กรดอะมิโนที่เหมาะสมได้ แต่จะให้ผลเป็นลบคือเป็นสีเหลืองทั้งสองหลอด

- การทดสอบความสามารถในการทนเกลือ โดยการถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 0 -10% บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจดูการเจริญของเชื้อโดยดูความขุ่นของเชื้อที่ขึ้นในอาหาร ถ้าเชื้อเจริญเกิดความขุ่นให้ผลเป็นบวก ถ้าไม่เจริญให้ผลเป็นลบ
- การทดสอบการหมักคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate fermentation test) โดยการถ่ายเชื้อที่ต้องการทดสอบลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวทดสอบการใช้น้ำตาล และคาร์โบไฮเดรตประเภทต่างๆ ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 1% บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง สังเกตการสร้างกรด ถ้าเชื้อสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้จะสร้างกรด ทำให้อินดิเคเตอร์บรอมไทมอลบลูในอาหารเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลืองให้ผลเป็นบวก ถ้ามีก๊าซในหลอดดักก๊าซ แสดงว่าเชื้อหมักคาร์โบไฮเดรตแล้วได้กรดและก๊าซ แต่ถ้าไม่มีก๊าซในหลอดดักก๊าซแสดงว่าได้เฉพาะกรด ถ้าไม่เปลี่ยนสีให้ผลเป็นลบ

#### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับค่าเฉลี่ยโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two-way Analysis of Variance) และเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยของการทดลองโดย Duncan's New Multiple Test

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 1. ผลการทดสอบชนิดของ vibrio ฮาวิอาย 1526 ทางชีวเคมี

ผลการจำแนกชนิดทางชีวเคมีของ vibrio ฮาวิอาย 1526 ภายหลังจากทดลองที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำเลี้ยง และกุ้ง หลังการเหนียวน้ำให้เกิดโรค โดยการเติมเชื้อแบคทีเรียลงในชุดทดลอง พบว่าเป็นแบคทีเรียที่มีคุณลักษณะทางชีวเคมีตรงตาม vibrio ฮาวิอาย ทุกประการ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5. คุณลักษณะบางประการทางชีวเคมีของ vibrio ฮาวิอาย 1526 ที่สามารถแยกได้จากตัวอย่างน้ำเลี้ยง และตัวอย่างกุ้งกุลาดำหลังการเหนียวน้ำให้เกิดโรค

Test	Characteristics
Gram stain	Gram negative rod
Glucose fermentation	Fermentative
Oxidase	+
Catalase	+
Motility	+
Indole formation	+
Luminescence	+
Gelatin liquifaction	+
Arginine dihydrolase	-
Lysine decarboxylase	+
Ornithine decarboxylase	-
Colony color on TCBS	Green
Methyl red and Voges proskauer test	-
Fermentation to acid	
Glucose	+
Sucrose	-
Lactose	-

## ตารางที่ 5. (ต่อ)

Test	Characteristic
Growth in % NaCl	
0 %	-
3 %	+
6 %	+
8 %	-
10 %	-
Utilization of	
Citrate	+
Glucose	+
Lactose	-
Sucrose	-
Arabinose	-
Mannitol	+
Cellobiose	+
Mannose	+
Salicin	+
Pyruvic acid	+
Gluconate	+
Glucuronate	+

หมายเหตุ : + = Positive; - = Negative

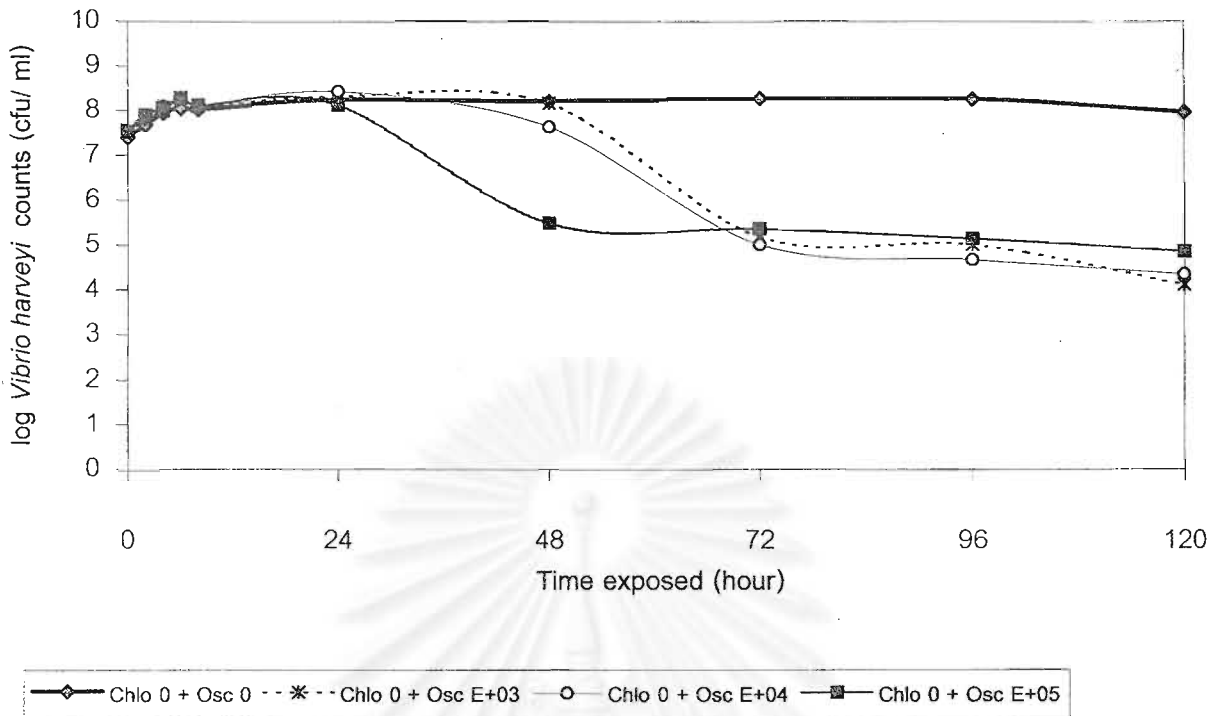
2. ผลของอัตราส่วนคลอเรลลาและออกซิเจนต่อการควบคุมการเจริญของไวรัสโฮ ฮาวิอาย 1526

ไม่พบความแตกต่างของความเป็นกรดต่าง (pH) และอุณหภูมิ โดยมีค่าอยู่ที่  $8.5 \pm 0.2$  และอุณหภูมิอยู่ที่ระดับ  $28.5 \pm 2.2$  องศาเซลเซียส

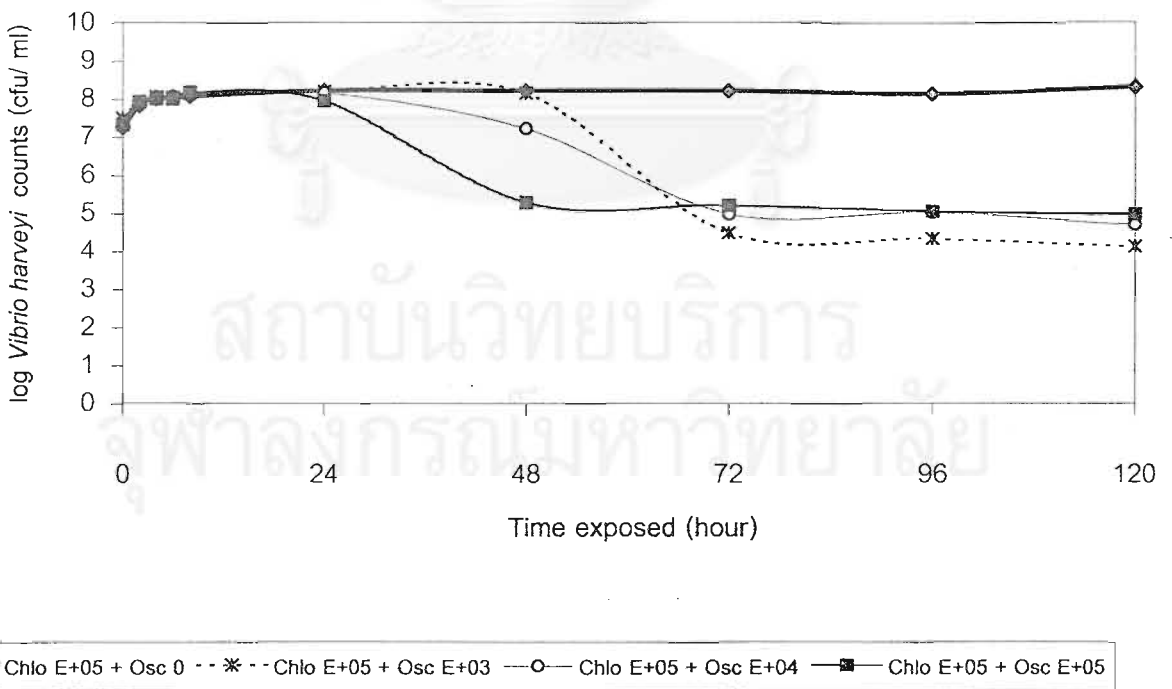
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงถึงความสัมพันธ์ร่วม (Interaction) ระหว่างปริมาณคลอเรลลาของชิลาดอเรีย และเวลาที่ทำการศึกษา ดังนั้นในการแสดงผลการศึกษาจึงทำการแยกผลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ vibrio ฮาวิอาย 1526 ในแต่ละช่วงเวลาดังนี้

ภายหลังการเติมเชื้อ vibrio ฮาวิอาย 1526 ลงในชุดทดลอง การเปลี่ยนแปลงของ vibrio ฮาวิอาย 1526 ในแต่ละชุดการทดลองสามารถแสดงได้ในภาพที่ 1 ถึง 4 โดยทุกชุดทดลองพบการเพิ่มขึ้นของ vibrio ฮาวิอาย 1526 อย่างรวดเร็ว โดยชุดทดลองที่ไม่มีคลอเรลลา จะมีปริมาณ vibrio ฮาวิอาย 1526 เพิ่มขึ้นสูงสุด คือ  $3.06 \pm 1.45 \times 10^7$  cfu/ ml และมีปริมาณ vibrio ฮาวิอาย 1526 สูงกว่าชุดทดลองที่มีคลอเรลลาเพียง  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรที่มีปริมาณ  $2.32 \pm 0.96 \times 10^7$  cfu/ ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^6$  และ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรจะมีปริมาณ vibrio ฮาวิอาย 1526 ต่ำที่สุด คือ  $6.90 \pm 6.20 \times 10^6$  และ  $7.28 \pm 6.08 \times 10^6$  cfu/ ml ตามลำดับ แต่ทั้งนี้กลับไม่พบว่าออสซิลาดอเรีย  $0, 10^3, 10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรมีผลต่อปริมาณ vibrio ฮาวิอาย 1526 ( $p < 0.05$ )

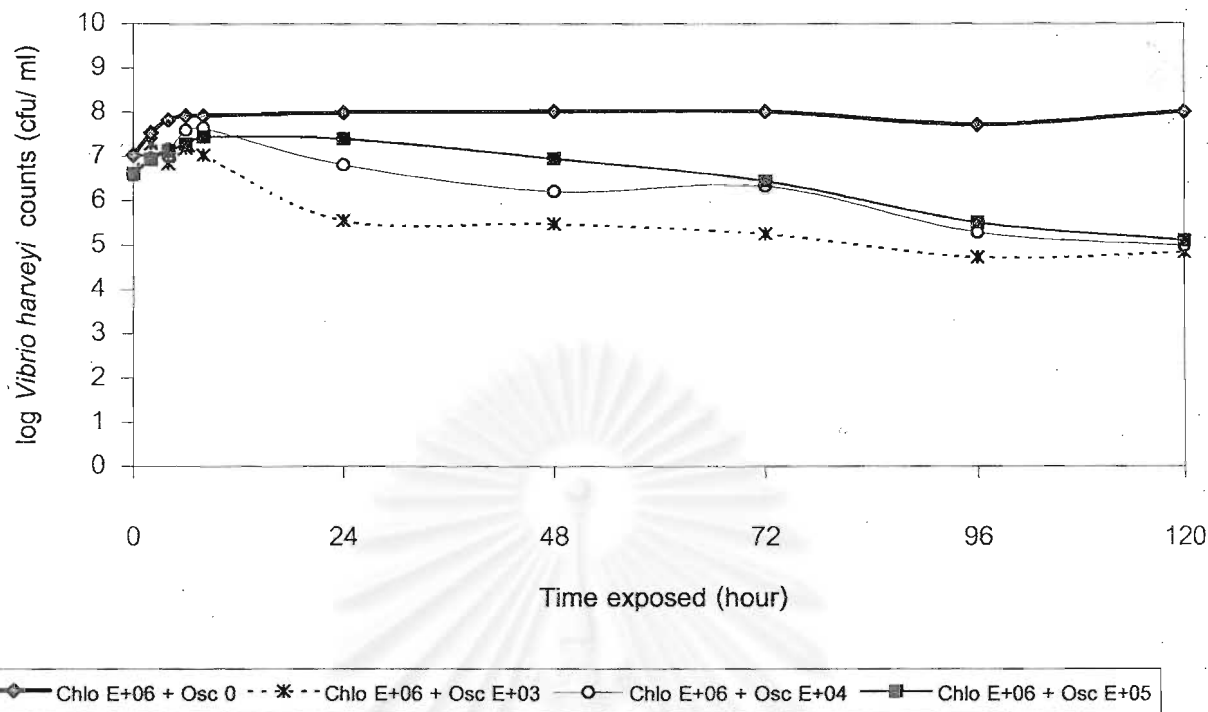
ตลอด 24 ชั่วโมงแรกหลังการเติมเชื้อในชุดทดลอง การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออสซิลาดอเรียต่อ vibrio ฮาวิอาย 1526 (ภาคผนวก ก) ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าออสซิลาดอเรีย  $0, 10^3, 10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรไม่สามารถทำให้ปริมาณ vibrio ฮาวิอายลดต่ำลงได้ แต่ยังคงเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างต่อเนื่อง เมื่อ 2 ชั่วโมงแรกของการศึกษาชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออสซิลาดอเรีย 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตรมีปริมาณ vibrio ฮาวิอาย 1526 ต่ำที่สุด คือ  $5.03 \pm 1.62 \times 10^7$  cfu/ ml ในขณะที่ชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลาดอเรีย  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ ชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออสซิลาดอเรีย  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะมีปริมาณ vibrio ฮาวิอาย 1526 สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) คือ  $7.89 \pm 0.79 \times 10^7$  และ  $8.31 \pm 1.35 \times 10^7$  cfu/ ml ตามลำดับ ที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการเติมเชื้อ ปริมาณ vibrio ฮาวิอาย 1526 ในทุกระดับของออสซิลาดอเรียจะเพิ่มสูงขึ้นในระดับใกล้เคียงกัน เช่นเดียวกับชุดการทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและมีออสซิลาดอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ ยังคงพบการเพิ่มขึ้นของ vibrio ฮาวิอาย 1526 อย่างต่อเนื่องตลอด 24 ชั่วโมงแรกของการศึกษา โดยชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลาดอเรีย  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร vibrio ฮาวิอาย 1526 เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังการเติมเชื้อ และพบว่าปริมาณ vibrio ฮาวิอาย 1526 ที่เวลา 24 ชั่วโมงหลังการเติมเชื้อจะเริ่มลดปริมาณลง และมีปริมาณต่ำที่สุด คือ  $1.14 \pm 0.18 \times 10^8$  cfu/ ml ต่ำกว่าชุดทดลองที่มีออสซิลาดอเรีย  $0, 10^3$  และ  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและมีออสซิลาดอเรียแตกต่างกัน 4



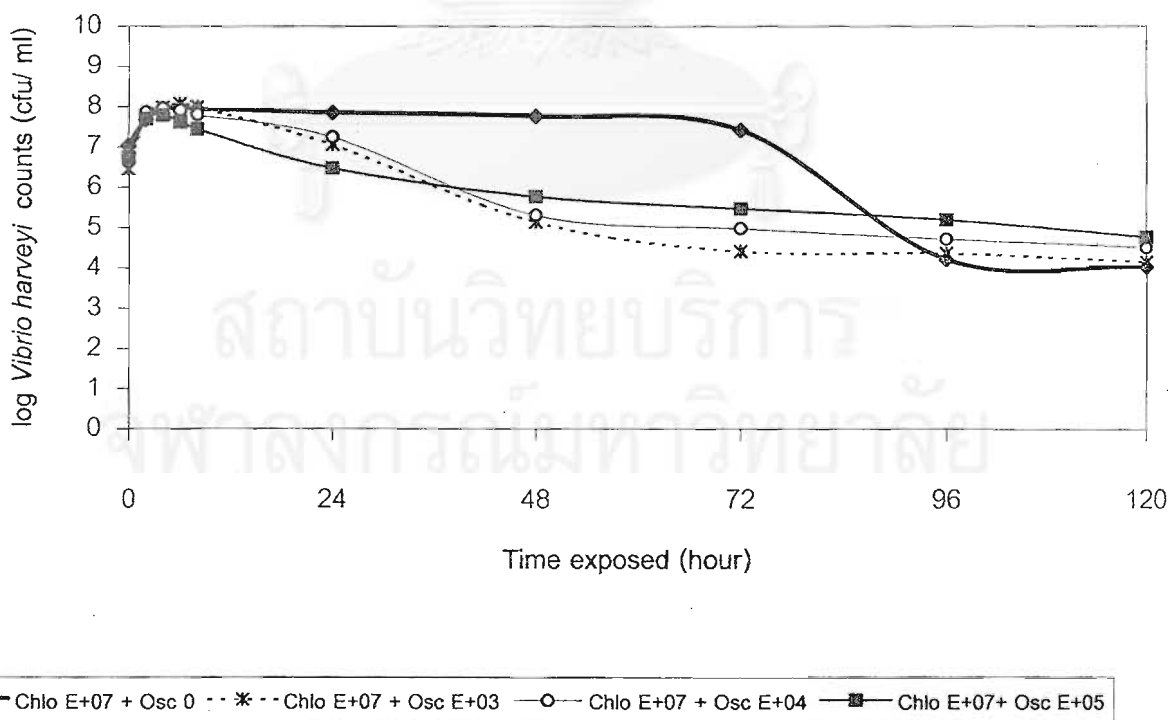
ภาพที่ 1: วัibriโอ ฮาวิอัย 1526 ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลิน 4 ระดับ ณ เวลาต่างๆ



ภาพที่ 2: วัibriโอ ฮาวิอัย 1526 ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลิน 4 ระดับ ณ เวลาต่างๆ



ภาพที่ 3: วับริโอ ฮาเวียอาย 1526 ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลลาตอเรีย 4 ระดับ ณ เวลาต่างๆ



ภาพที่ 4: วับริโอ ฮาเวียอาย 1526 ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลลาตอเรีย 4 ระดับ ณ เวลาต่างๆ

ระดับ ตลอด 24 ชั่วโมงแรกของการศึกษา วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ในทุกชุดทดลองยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังการเติมเชื้อ แต่การเพิ่มขึ้นของออกซิลาตอเรียทั้ง 3 ระดับ คือ  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรมีผลทำให้การเพิ่มขึ้นของ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 มีปริมาณต่ำกว่าชุดทดลองที่มีแค่คลอเรลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรแต่เพียงชนิดเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรีย  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ขณะที่ชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร การเพิ่มขึ้นของออกซิลาตอเรียทั้ง 4 ระดับ ยังคงพบการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องของ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการศึกษา แต่หลังจากนั้นพบว่า การเพิ่มขึ้นของออกซิลาตอเรีย  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 เริ่มลดปริมาณลงในขณะที่ชุดทดลองที่มีคลอเรลลาแต่เพียงชนิดเดียว วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ยังคงมีปริมาณสูง และเมื่อเวลา 24 ชั่วโมงชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะมีปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ต่ำที่สุดและต่ำกว่าชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรีย 0,  $10^3$  และ  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ภายหลังการเติมเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติไม่พบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออกซิลาตอเรียต่อปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 (ภาคผนวก ก) แต่พบว่า การเพิ่มขึ้นของออกซิลาตอเรียตั้งแต่  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้ปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ลดต่ำลงกว่าชุดทดลองที่ไม่มีออกซิลาตอเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) การเพิ่มขึ้นของออกซิลาตอเรียที่ระดับ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรจะมีปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ต่ำที่สุด เช่นเดียวกับชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรที่มีผลให้ปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ต่ำที่สุด ต่ำกว่าชุดทดลองที่มีคลอเรลลาในระดับอื่นๆ

ภายหลังการเติมเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่ามีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออกซิลาตอเรียต่อปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 (ภาคผนวก ก) เมื่อพิจารณาถึงการเพิ่มขึ้นของออกซิลาตอเรียทั้ง 3 ระดับคือ  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แม้ไม่มีผลทำให้ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดที่มีคลอเรลลาทั้ง 4 ระดับแตกต่างกันทางสถิติ แต่ออกซิลาตอเรียทั้ง 3 ระดับดังกล่าวมีผลทำให้ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ลดต่ำลงและต่ำกว่าชุดทดลองที่มีคลอเรลลาแต่เพียงชนิดเดียว ในขณะที่ชุดทดลองที่มีคลอเรลลาเพียงชนิดเดียว คือ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่า วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 เริ่มลดปริมาณลง



ภายหลังการเติมเชื้อเป็นเวลา 96 ชั่วโมง การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติไม่พบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียต่อ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 (ภาคผนวก ก) การเพิ่มขึ้นของออสซิลาทอเรีย  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรในทุกระดับของคลอเรลลามีผลให้ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ลดลงกว่าชุดทดลองที่มีคลอเรลลาแต่เพียงชนิดเดียว แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ในชุดทดลองที่มีการเพิ่มขึ้นของออสซิลาทอเรียทั้ง 3 ระดับดังกล่าว แต่ในชุดทดลองที่มีออสซิลาทอเรียเพียง  $10^3$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรกลับมีผลให้ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ลดต่ำลงกว่าชุดทดลองที่มีออสซิลาทอเรีย  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เมื่อสิ้นสุดการทดลองหลังการเติมเชื้อเป็นเวลา 120 ชั่วโมง การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่ามีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียต่อ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 (ภาคผนวก ก) ปริมาณ วิกิริโอ ในชุดทดลองที่มีออสซิลาทอเรีย 3 ระดับคือ  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ยังคงมีการลดปริมาณลงแต่มีการลดลงอย่างช้าๆ การเพิ่มขึ้นของออสซิลาทอเรียในระดับ  $10^3$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรจะมีผลให้ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ลดต่ำที่สุด แม้ไม่พบว่ามี ความแตกต่างทางสถิติกับออสซิลาทอเรีย  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ชุดการทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรแต่เพียงชนิดเดียวกลับพบว่า วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ลดต่ำลงมากที่สุด และต่ำกว่าชุดทดลองที่มีการเพิ่มขึ้นของออสซิลาทอเรีย  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตลอดระยะเวลา 120 ชั่วโมงของการทดลอง คลอเรลลาและออสซิลาทอเรียมีความสัมพันธ์ร่วมกันในการยับยั้งการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ โดยพบว่าออสซิลาทอเรียทั้ง 3 ระดับ คือ  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรให้ผลในการยับยั้งการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ได้ไม่ต่างกัน และพบว่า การเพิ่มขึ้นของออสซิลาทอเรียทั้ง 3 ระดับดังกล่าวมีผลให้คลอเรลลา  $10^5$  และ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ได้ดีกว่าการมีแต่คลอเรลลาเพียงชนิดเดียว เช่นเดียวกับคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรสามารถผลิตสารปฏิชีวนะให้ผลในการยับยั้งการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ได้ดีกว่าคลอเรลลาระดับอื่นแม้จะไม่มีออสซิลาทอเรียผสมอยู่ก็ตาม

### 3. ผลของอัตราส่วนของคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงโดย วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526

เนื่องจากช่วงเวลาในการทดลองอยู่ในช่วงของฤดูฝน มีฝนตกชุกตลอดวัน แสงสว่างอาจมีไม่เพียงพอต่อขบวนการสังเคราะห์แสง เป็นเหตุให้หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยการเติมเชื้อ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ลงในชุดทดลองโดยการเติมเชื้อ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ลงในชุดทดลองจึงพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของคลอโรเลลา และออกซิลาตอเรียในแต่ละชุดทดลองตลอดการทดลอง (ตารางที่ 6 ถึง 9)

ตารางที่ 6. ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองของคลอโรเลลา ออกซิลาตอเรีย และ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดการทดลองที่มีคลอโรเลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอโรเลลา (cell/ ml)	ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	คลอโรเลลา <sup>1</sup> (cell/ ml)	ออกซิลาตอเรีย <sup>1</sup> (cell/ ml)	วับริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
0	0	$3.33 \pm 6.99 \times 10^3$	$8.51 \pm 14.80 \times 10^2$	$6.52 \pm 15.80 \times 10^5$
	$10^3$	$4.33 \pm 7.29 \times 10^3$	$1.20 \pm 2.40 \times 10^4$	$4.16 \pm 8.31 \times 10^4$
	$10^4$	$2.33 \pm 3.72 \times 10^3$	$6.10 \pm 11.80 \times 10^3$	$1.34 \pm 1.81 \times 10^4$
	$10^5$	$1.00 \pm 2.07 \times 10^3$	$3.86 \pm 9.78 \times 10^3$	$1.49 \pm 1.51 \times 10^4$

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 7. ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองของคลอโรเลลา ออกซิลาตอเรีย และ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดการทดลองที่มีคลอโรเลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอโรเลลา (cell/ ml)	ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	คลอโรเลลา <sup>1</sup> (cell/ ml)	ออกซิลาตอเรีย <sup>1</sup> (cell/ ml)	วับริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
$10^5$	0	$6.67 \pm 15.40 \times 10^3$	$5.22 \pm 8.08 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$8.86 \pm 33.00 \times 10^5$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$6.33 \pm 9.15 \times 10^3$	$2.08 \pm 3.06 \times 10^4$ <sup>b</sup>	$8.27 \pm 14.90 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^4$	$9.67 \pm 21.90 \times 10^3$	$5.74 \pm 12.60 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$2.19 \pm 2.80 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^5$	$8.33 \pm 17.40 \times 10^3$	$3.33 \pm 10.20 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$1.09 \pm 1.17 \times 10^4$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 8. ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองของคลอเรลลา ออสซิลาทอเรีย และ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดการทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออสซิลาทอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอเรลลา (cell/ ml)	ออสซิลาทอเรีย (cell/ ml)	คลอเรลลา <sup>1</sup> (cell/ ml)	ออสซิลาทอเรีย <sup>1</sup> (cell/ ml)	วิบริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
$10^6$	0	$4.30 \pm 7.34 \times 10^4$ <sup>a</sup>	$3.73 \pm 5.74 \times 10^3$	$5.53 \pm 9.79 \times 10^4$
	$10^3$	$6.80 \pm 13.80 \times 10^4$ <sup>ab</sup>	$2.33 \pm 3.62 \times 10^3$	$4.30 \pm 7.05 \times 10^4$
	$10^4$	$5.67 \pm 9.42 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$3.37 \pm 7.03 \times 10^3$	$9.94 \pm 14.40 \times 10^3$
	$10^5$	$7.67 \pm 13.70 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1.87 \pm 4.67 \times 10^3$	$1.38 \pm 1.93 \times 10^4$

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 9. ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองของคลอเรลลา ออสซิลาทอเรีย และ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดการทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และออสซิลาทอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอเรลลา (cell/ ml)	ออสซิลาทอเรีย (cell/ ml)	คลอเรลลา <sup>1</sup> (cell/ ml)	ออสซิลาทอเรีย <sup>1</sup> (cell/ ml)	วิบริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
$10^7$	0	$2.15 \pm 3.56 \times 10^5$	$1.07 \pm 2.63 \times 10^3$	$1.36 \pm 3.65 \times 10^5$
	$10^3$	$1.39 \pm 3.16 \times 10^5$	$4.63 \pm 9.65 \times 10^3$	$2.77 \pm 4.24 \times 10^4$
	$10^4$	$1.03 \pm 1.25 \times 10^4$	$9.07 \pm 18.00 \times 10^3$	$8.42 \pm 7.27 \times 10^3$
	$10^5$	$3.67 \pm 5.81 \times 10^3$	$3.07 \pm 3.15 \times 10^3$	$2.38 \pm 2.29 \times 10^4$

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

### 3.1 ผลของคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526

ภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำโดยการเติม วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ลงในหน่วยทดลอง พบว่าคลอเรลลา และออสซิลาทอเรียไม่มีความสัมพันธ์ร่วมต่อปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 (ภาคผนวก ข) การเปลี่ยนแปลงของ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังการทดลองเป็นเวลา 2 วัน พบว่า วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ในทุกชุดการทดลองมีปริมาณต่ำกว่าเมื่อเริ่มต้นทดลอง ผลของคลอเรลลาต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 พบว่า วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสง จะมีปริมาณที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรืองแสงแค่เพียงวันแรกของการทดลองเท่านั้น หลังจากนั้นพบว่ามี

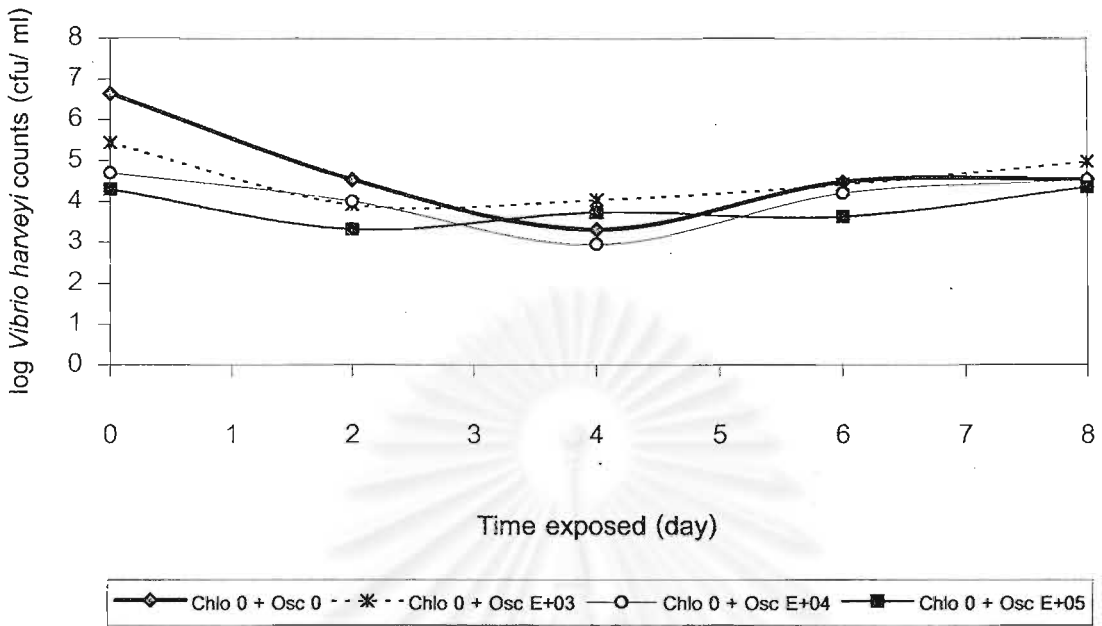
ปริมาณลดลงจากปริมาณเริ่มทดลองในทุกระดับของคลอเรลลา (ภาพที่ 5 ถึง 8) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า มีเพียงวันที่ 4 ของการทดลองพบว่าเมื่อคลอเรลลามีระดับแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ  $0$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  และ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีผลให้ปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่วันเวลาอื่นไม่พบที่มีความแตกต่างกัน (ภาคผนวก ข) และเมื่อพิจารณาถึงผลของออสซิลาทอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 การเปลี่ยนแปลงของ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในกุ้งพบว่าเมื่อเริ่มทดลองปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ในหน่วยทดลองที่ไม่มีออสซิลาทอเรีย จะมีปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 สูงถึง  $2.08 \pm 3.76 \times 10^6$  cfu/ml และพบว่าสูงกว่าชุดทดลองที่มีระดับออสซิลาทอเรีย  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อเวลาในการทดลองผ่านไปกลับพบว่า วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 มีปริมาณลดลงจนมีปริมาณต่ำกว่าเมื่อเริ่มทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าชุดทดลองที่ไม่มีออสซิลาทอเรียมีปริมาณ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ไม่แตกต่างชุดทดลองที่มีออสซิลาทอเรียทั้ง 3 ระดับมากนัก

### 3.2 ผลของคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียต่ออัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ

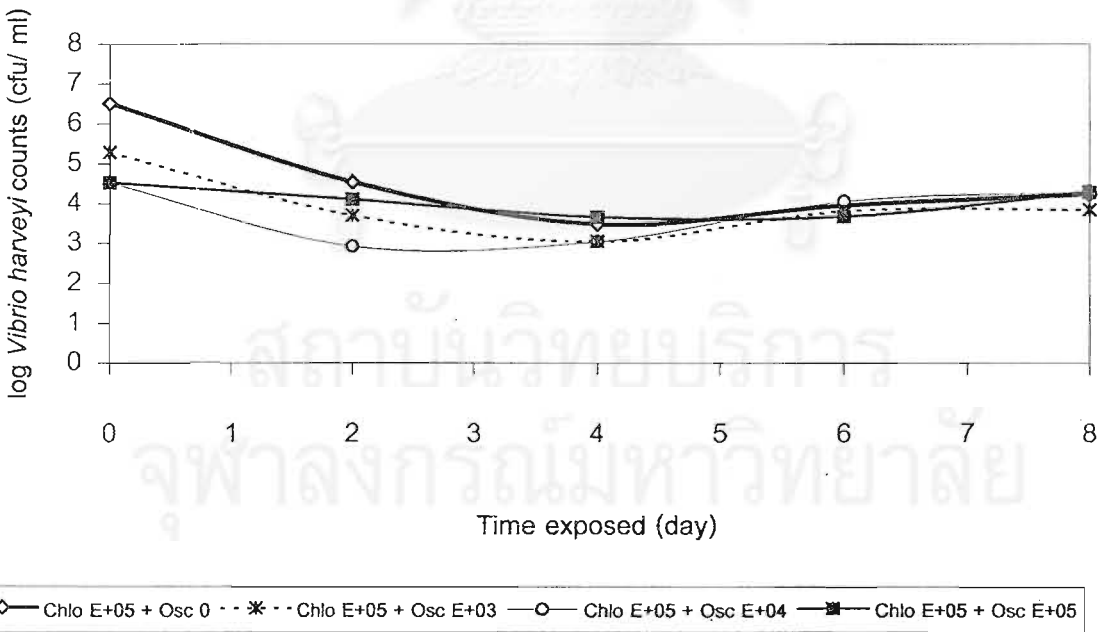
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติไม่พบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออสซิลาทอเรีย ต่ออัตราการรอดของกุ้งกุลาดำภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสง โดยคลอเรลลาที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ไม่มีผลให้เกิดความแตกต่างทางสถิติต่ออัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ ในขณะที่ออสซิลาทอเรียที่แตกต่างกัน 4 ระดับมีผลต่ออัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ ( $p < 0.05$ ) ชุดทดลองที่ไม่มีออสซิลาทอเรียหรือมีออสซิลาทอเรียเพียง  $10^3$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร กุ้งกุลาดำจะมีอัตราการรอดต่ำที่สุด  $12.33 \pm 20.21$  และ  $5.00 \pm 13.97$  เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่หน่วยทดลองที่มีออสซิลาทอเรีย  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะมีอัตราการรอดของกุ้งสูงที่สุด คือ  $48.00 \pm 6.61$  เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10 และ 11)

### 4. ผลของอัตราส่วนของ คลอเรลลาและออสซิลาทอเรียต่อคุณภาพน้ำบางประการ ภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสง

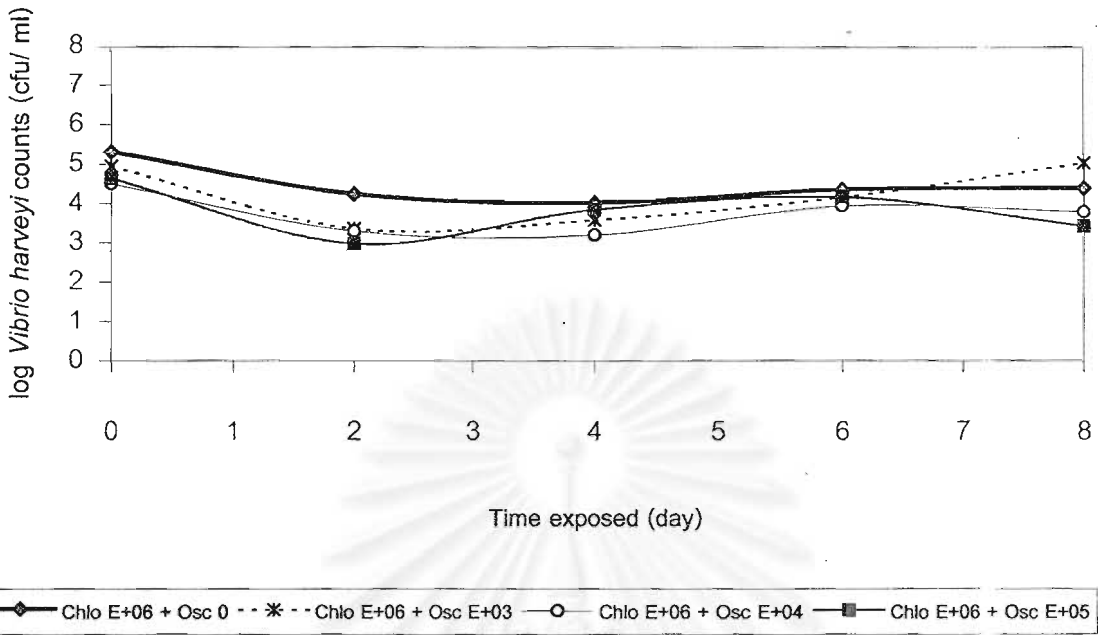
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติไม่พบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา ออสซิลาทอเรีย และเวลา ภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อคุณภาพน้ำที่ทำการศึกษา ซึ่งได้แก่ แอมโมเนีย (Ammonia nitrogen) ความเป็นกรดต่าง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ แต่ทั้งนี้กลับพบที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา ออสซิลาทอเรีย และเวลาหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อไนไตรท์ (Nitrite nitrogen) และไนเตรต (Nitrate nitrogen) ดังนั้นจึงแยกพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในแต่ละช่วงเวลาที่ทำการศึกษาได้ดังนี้



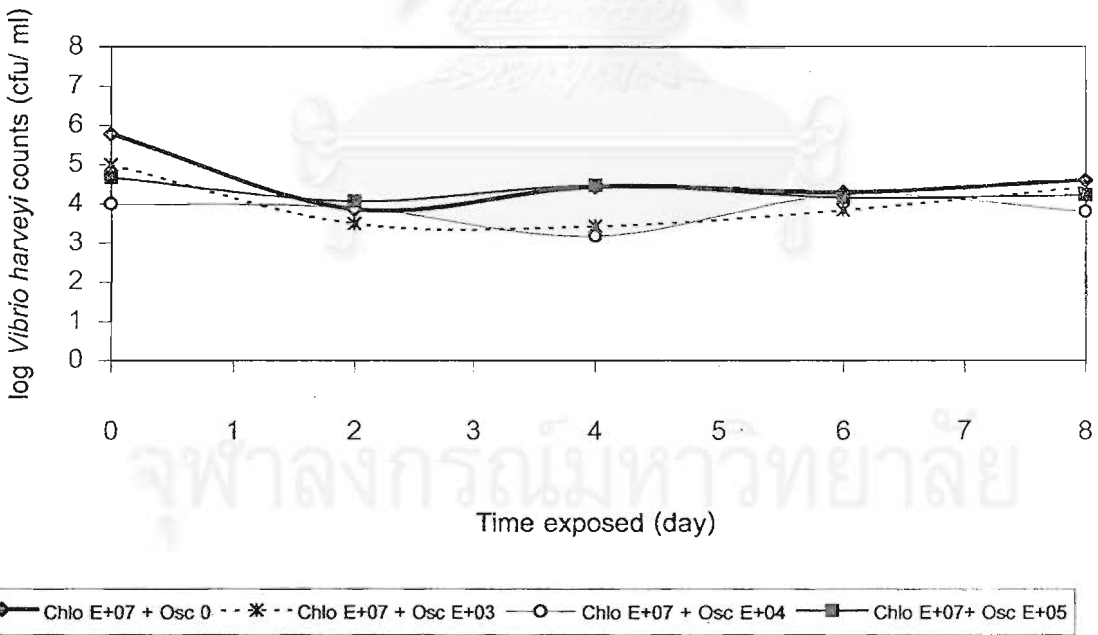
ภาพที่ 5 : วับริโอ ฮาเวีย 1526 ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



ภาพที่ 6 : วับริโอ ฮาเวีย 1526 ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



ภาพที่ 7 : วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลลาตอเรีย 4 ระดับหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



ภาพที่ 8 : วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลลาตอเรีย 4 ระดับหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ

ตารางที่ 10. อัตรารอดของกุ้งกุลาดำภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสง โดยแยกตามชุดทดลอง ที่มีคลอเรลลาต่างกัน 4 ระดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 วัน

คลอเรลลา (cell/ ml)	อัตรารอด (%) <sup>1</sup>
0	15.33 ± 22.94
10 <sup>5</sup>	21.67 ± 23.85
10 <sup>6</sup>	23.67 ± 25.95
10 <sup>7</sup>	26.67 ± 26.66

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 11 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสง โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออสซิลลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 วัน

ออสซิลลาตอเรีย (cell/ ml)	อัตรารอด (%) <sup>1</sup>
0	12.33 ± 20.21 <sup>ab</sup>
10 <sup>3</sup>	5.00 ± 13.97 <sup>a</sup>
10 <sup>4</sup>	22.00 ± 27.42 <sup>b</sup>
10 <sup>5</sup>	48.00 ± 6.61 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

#### 4.1 ผลของคลอเรลลาและออสซิลลาตอเรียต่อปริมาณแอมโมเนีย (Ammonia nitrogen)

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเมื่อวันที่ 0, 2, 4 และ 8 ของการทดลอง คลอเรลลาและออสซิลลาตอเรียไม่มีความสัมพันธ์ร่วมต่อปริมาณแอมโมเนีย แต่วันที่ 6 ของการทดลองพบว่าคลอเรลลาและออสซิลลาตอเรียมีความสัมพันธ์ร่วม (ภาคผนวก ค) เมื่อพิจารณาผลของคลอเรลลาต่อปริมาณแอมโมเนีย พบว่าปริมาณแอมโมเนียในทุกะดับของคลอเรลลาจะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อเวลาในการ

ทดลองเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 9 ถึง 12) และในวันแรกหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดยการเติมเชื้อ วับริโอ ฮาอีอายุ 1526 ลงในชุดทดลองของการทดลองพบว่าคลอเรลลาที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0,  $10^5$ ,  $10^6$  และ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยหน่วยทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะมีปริมาณแอมโมเนียสูงที่สุด แต่หลังจากนั้นไม่พบว่ามีความแตกต่างกัน เมื่อคลอเรลลาแตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาถึงผลของออกซิลาตอเรียต่อปริมาณแอมโมเนีย พบว่าปริมาณแอมโมเนียในทุก ระดับของออกซิลาตอเรียจะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อเวลาในการทดลองเพิ่มมากขึ้น โดยหลังการเติมเชื้อ จนถึงวันที่ 2 ของการทดลองพบว่าออกซิลาตอเรียที่แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0,  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ไม่มีผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียแตกต่างกัน แต่ปริมาณแอมโมเนียยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุกระดับของออกซิลาตอเรีย และเมื่อสิ้นสุดการทดลองชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรีย  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรแม้จะมีปริมาณแอมโมเนียสูงขึ้นจากเมื่อเริ่มต้นทดลองมาก แต่พบว่ายังคงมีปริมาณต่ำกว่าชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรีย 0,  $10^3$  และ  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

#### 4.2 ผลของคลอเรลลาและออกซิลาตอเรียต่อไนไตรท์ (Nitrite nitrogen)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียมีความสัมพันธ์ร่วมต่อปริมาณไนไตรท์ในวันที่ 0, 2, 6 และ 8 ของการทดลองหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค (ภาคผนวก ค) และยังพบว่าปริมาณไนไตรท์มีการสะสมมากขึ้นอย่างต่อเนื่องในทุกชุดทดลอง (ภาพที่ 13 ถึง 16) การเพิ่มขึ้นของออกซิลาตอเรียทั้ง 4 ระดับมีผลทำให้ปริมาณไนไตรท์ในทุกระดับคลอเรลลามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และการเพิ่มขึ้นของออกซิลาตอเรียที่ระดับ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรในทุกระดับคลอเรลลามีผลให้ไนไตรท์มีการสะสมในระดับที่สูงสุด

#### 4.3 ผลคลอเรลลาและ ออกซิลาตอเรียต่อไนเตรต (Nitrate nitrogen)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า มีเพียงวันที่ 2 และวันสุดท้ายของการทดลองที่พบว่ามี ความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออกซิลาตอเรียต่อปริมาณไนเตรต (ภาคผนวก ค) โดยความเข้มข้นของไนเตรตจะมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อเวลาในการทดลองผ่านไป (ภาพที่ 17 ถึง 20) เมื่อพิจารณาถึง ผลของคลอเรลลาต่อไนเตรตพบว่า คลอเรลลาที่แตกต่างกัน 4 ระดับคือ 0,  $10^5$ ,  $10^6$  และ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้ไนเตรตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเริ่มต้นการทดลองชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะมีปริมาณไนเตรตสะสมมากที่สุด คือ  $1.790 \pm 0.734$  มิลลิกรัมต่อลิตร และพบว่าไนเตรตจะเพิ่มสูงอย่างต่อเนื่องตลอดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองชุด



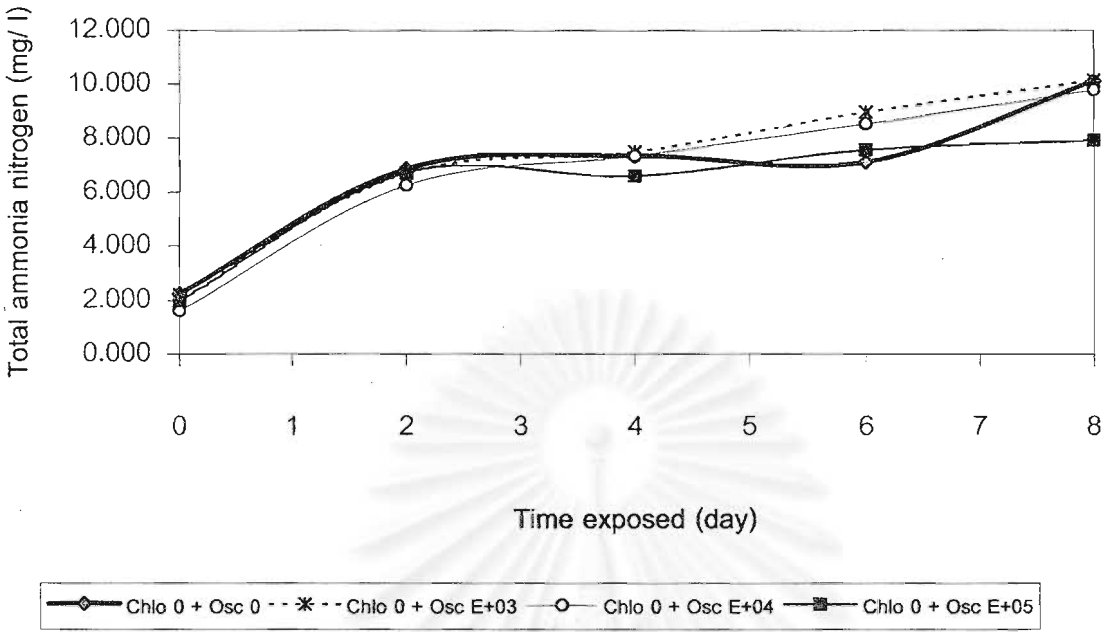
การทดลองดังกล่าวจะมีไนเตรตสูงที่สุดเช่นกัน คือ  $8.548 \pm 7.030$  มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ชุดทดลองที่ไม่มีคลอเรลลาจะมีไนเตรตต่ำที่สุด คือ  $3.668 \pm 5.300$  มิลลิกรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาถึงผลของออกซิเจนต่อไนเตรต พบว่าตลอดเวลาในการทดลองมีการสะสมของไนเตรตในทุกชุดทดลองเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการทดลองที่ผ่านไป โดยออกซิเจนที่แตกต่างกัน 4 ระดับคือ 0,  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้ไนเตรตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเริ่มต้นการทดลองชุดทดลองที่มีออกซิเจนที่  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะมีปริมาณไนเตรตสะสมมากที่สุด คือ  $2.293 \pm 0.638$  มิลลิกรัมต่อลิตร และพบว่าไนเตรตจะเพิ่มสูงตามเวลาในการทดลองที่ผ่านไป เมื่อสิ้นสุดการทดลองชุดการทดลองดังกล่าวจะมีไนเตรตสูงที่สุดเช่นกัน คือ  $16.768 \pm 6.025$  มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ชุดทดลองที่ไม่มีคลอเรลลาจะมีไนเตรตต่ำที่สุด คือ  $1.862 \pm 0.795$  มิลลิกรัมต่อลิตร

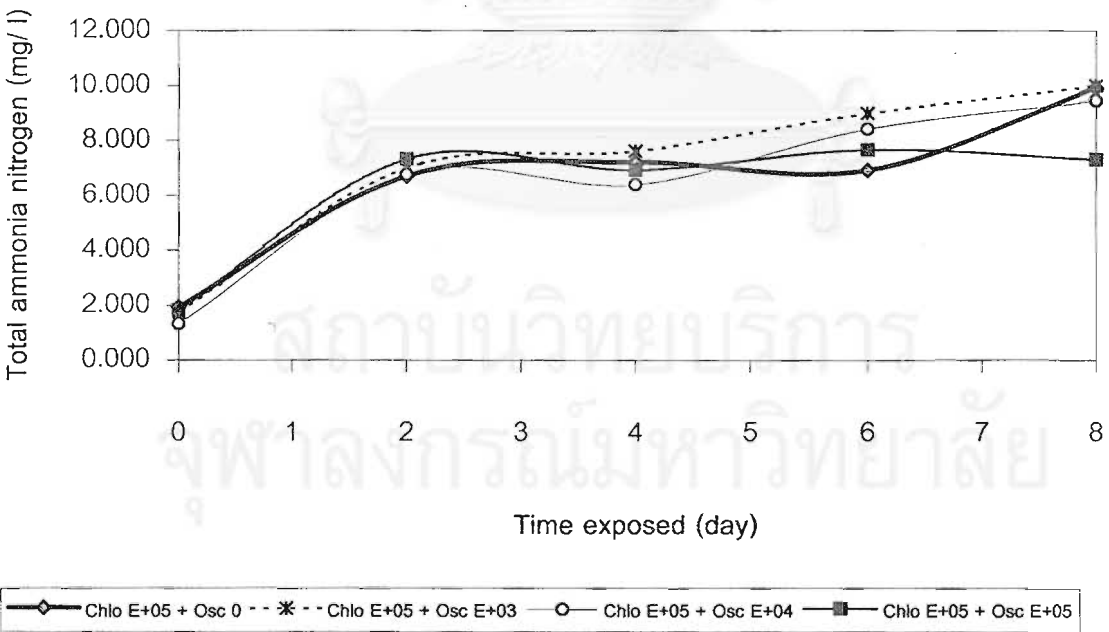
#### 4.4 ผลของคลอเรลลาและออกซิเจนต่อความเป็นกรดต่าง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า คลอเรลลาและออกซิเจนไม่มีความสัมพันธ์ร่วมต่อความเป็นกรดต่างและปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ โดยความเป็นกรดต่าง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในตอนเช้า และตอนบ่ายในทุกชุดทดลองยังคงมีความเหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ แม้พบว่าออกซิเจนที่แตกต่างกัน 4 ระดับเป็นผลให้ความเป็นกรดต่างในช่วงเช้า (8.00 น.) และบ่าย (15.00 น.) ตลอดการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ก็ตาม (ภาคผนวก ค)

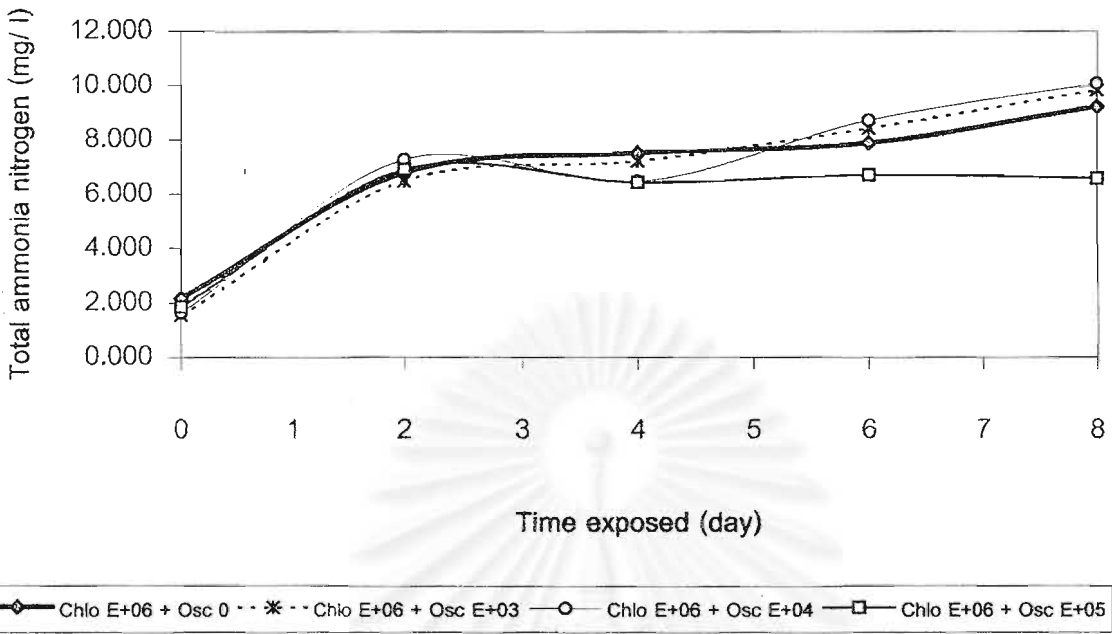
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



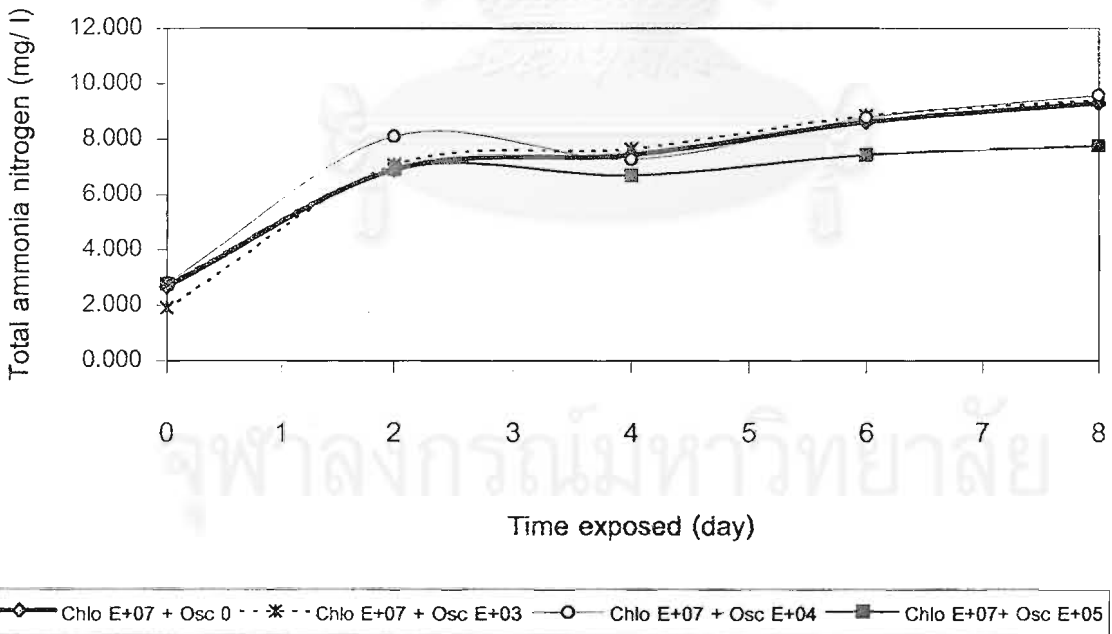
ภาพที่ 9 : แอมโมเนียในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิเจนต่อเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



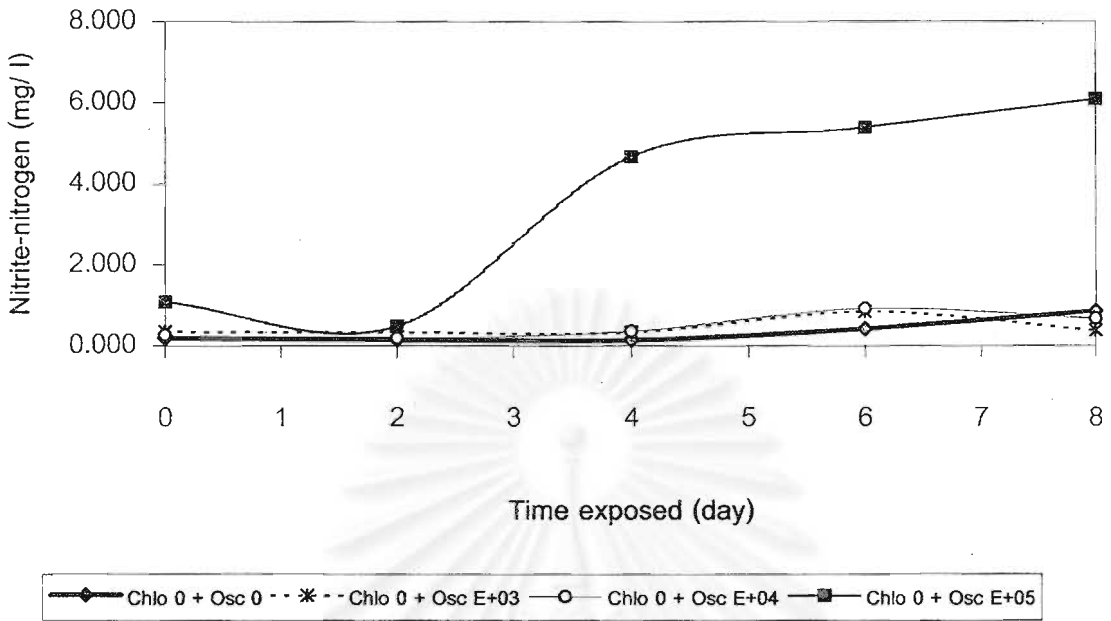
ภาพที่ 10 : แอมโมเนียในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 10<sup>5</sup> เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิเจนต่อเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



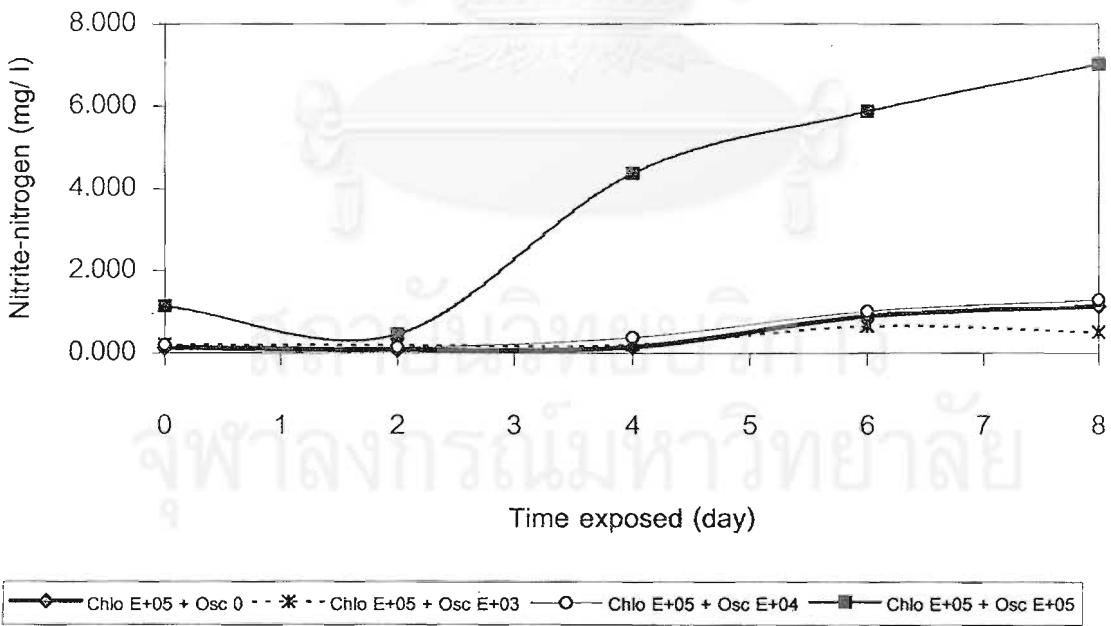
ภาพที่ 11 : แอมโมเนียในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลาทอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



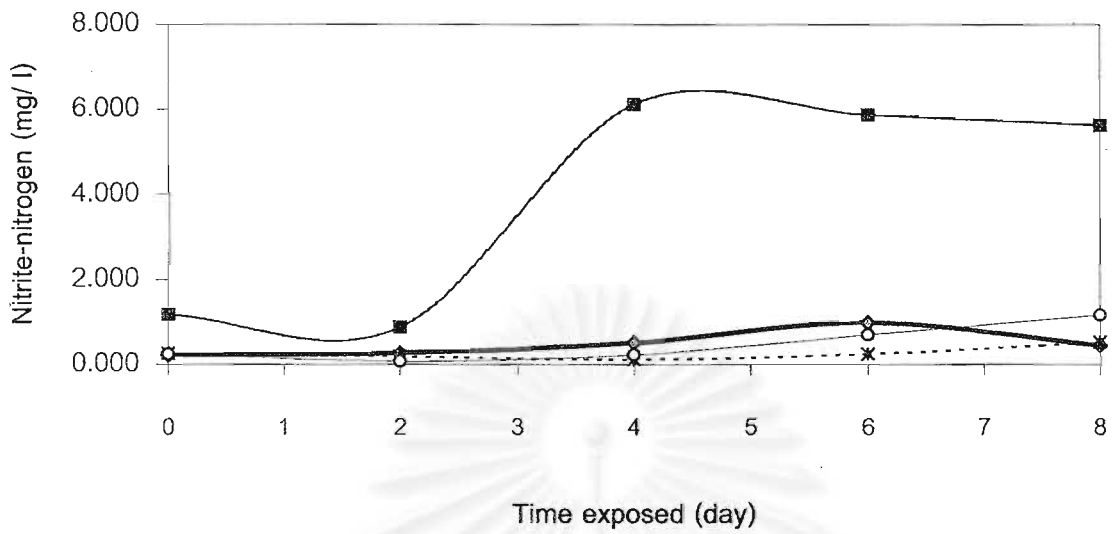
ภาพที่ 12 : แอมโมเนียในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออสซิลาทอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



ภาพที่ 13 : ไนไตรท์ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ

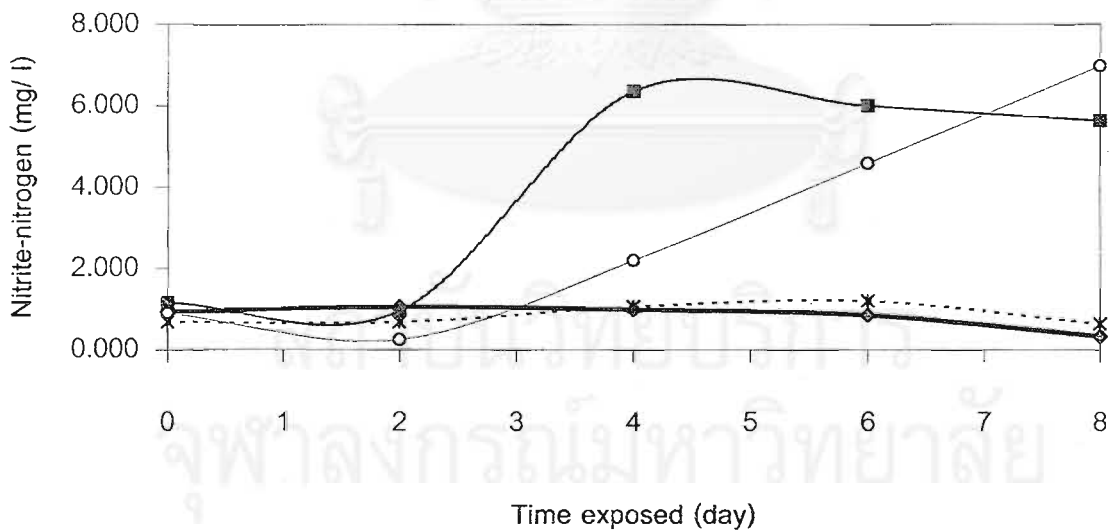


ภาพที่ 14 : ไนไตรท์ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



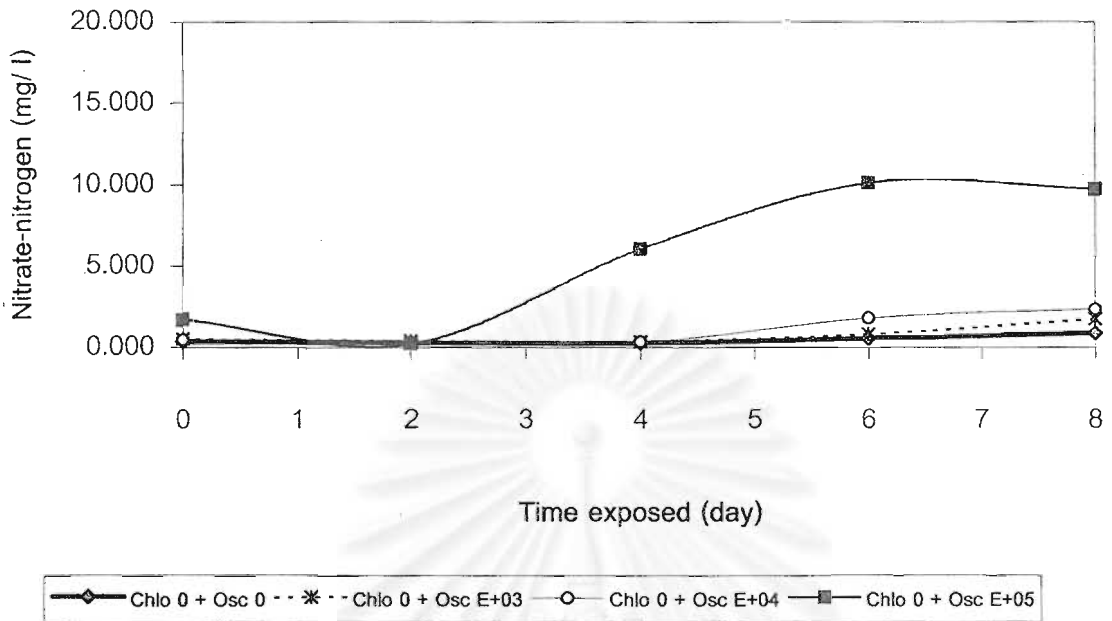
Chlo E+06 + Osc 0 \* Chlo E+06 + Osc E+03 Chlo E+06 + Osc E+04 Chlo E+06 + Osc E+05

ภาพที่ 15 : ไนโตรที่ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ

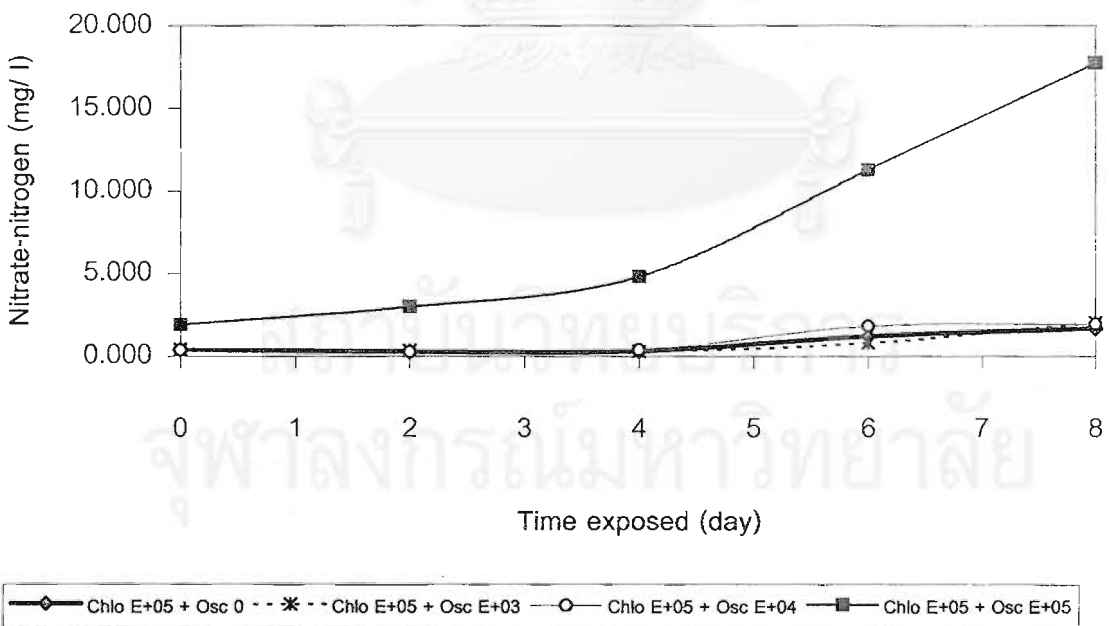


Chlo E+07 + Osc 0 \* Chlo E+07 + Osc E+03 Chlo E+07 + Osc E+04 Chlo E+07 + Osc E+05

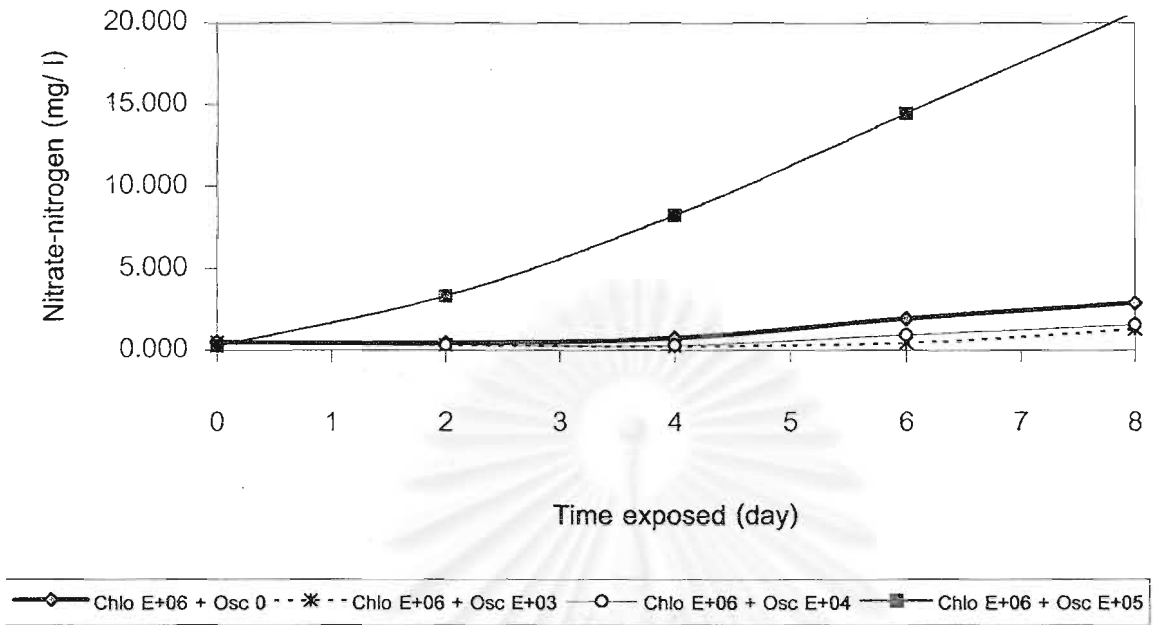
ภาพที่ 16 : ไนโตรที่ในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



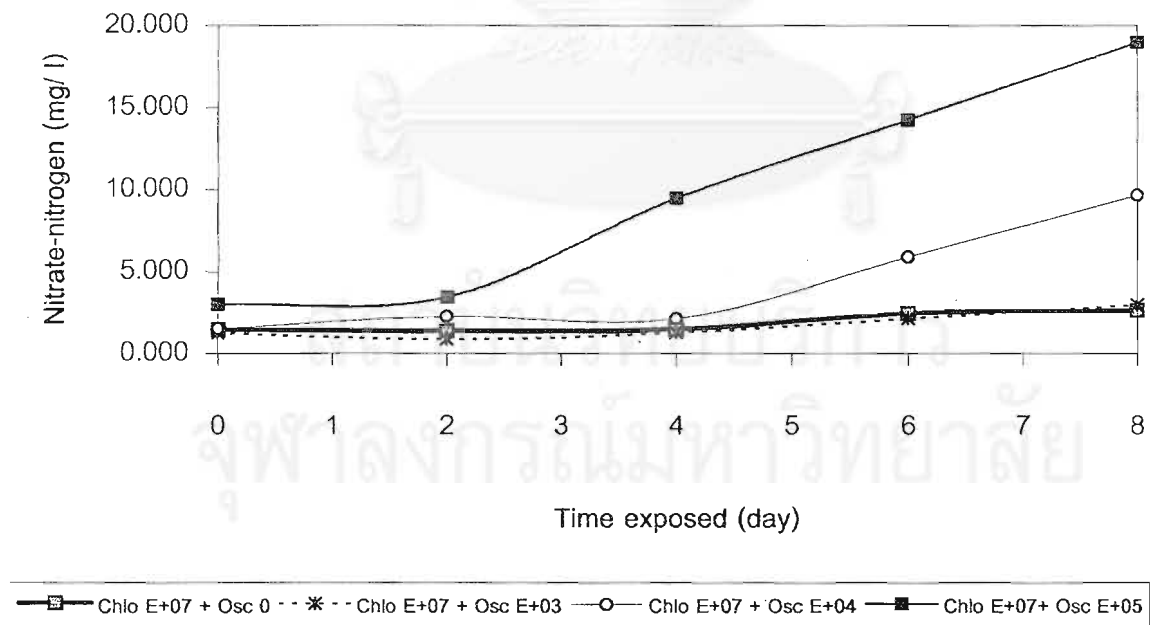
ภาพที่ 17 : ไนเตรทในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



ภาพที่ 18 : ไนเตรทในชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



ภาพที่ 19 : ไนเตรทในชุดทดลองที่มีคลอเคลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ ณ เวลาต่างๆ ให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ



ภาพที่ 20 : ไนเตรทในชุดทดลองที่มีคลอเคลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรและออกซิลาตอเรีย 4 ระดับ หลังการเหนี่ยวนำ ให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ

## อภิปรายผลการทดลอง

ผลของอัตราส่วนของคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียต่อการควบคุมการเจริญของ *วิบริโอ* ฮาวิอาย 1526

ผลของอุณหภูมิและความเป็นกรดต่างของน้ำเลี้ยงปริมาตร 100 มิลลิลิตรพบว่าทุกชุดการทดลองมีอุณหภูมิและความเป็นกรดต่างไม่แตกต่างกันมาก คือ  $28.5 \pm 2.2$  องศาเซลเซียส และ  $8.5 \pm 0.2$  ตามลำดับ ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญของ *วิบริโอ* ฮาวิอาย 1526 สอดคล้องกับรายงานของฝ่ายวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ (2540) ที่กล่าวถึงแบคทีเรียในสกุล *วิบริโอ* เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Facultative anaerobic bacteria* สามารถดำรงชีพและเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 20 – 30 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดต่าง 8 – 9 เช่นเดียวกัน Lavilla-Pitogo, Albright และ Paner (1998) พบว่า *วิบริโอ* ฮาวิอาย จะเจริญและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 5 – 70 ส่วนในพันส่วน (ppt) ความเป็นกรดต่าง 6 – 9 และอุณหภูมิ 17 – 35 องศาเซลเซียส ขณะเดียวกันการขาดการผสมผสานของมวลน้ำในภาชนะที่มีปริมาตรน้ำเลี้ยงที่จำกัดคือ 40 มิลลิลิตร ทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงของแพลงค์ตอนพืชมีสูงกว่ากระบวนการหายใจของแบคทีเรีย มีผลทำให้ความเป็นกรดต่างสูงถึง 9.6 เป็นผลให้ *วิบริโอ* ฮาวิอาย ในชุดทดลองมีการลดปริมาณลงอย่างต่อเนื่อง (สุพล พันธุ์โสภาส, 2542) เนื่องจากคุณภาพน้ำในการทดลองเหมาะสมต่อการเจริญของ *วิบริโอ* ฮาวิอาย ดังนั้นเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของ *วิบริโอ* ฮาวิอาย 1526 ในแต่ละชุดการทดลอง จึงควรมีผลมาจากระดับความหนาแน่นของคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียที่ทำการศึกษา

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติตลอดระยะเวลาทดลอง 120 ชั่วโมง โดยรวมพบว่าคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียมีความสัมพันธ์ร่วมต่อการเจริญของ *วิบริโอ* ฮาวิอาย 1526 สอดคล้องกับ Kogure et al. (1980) ที่กล่าวถึง แพลงค์ตอนพืชและแบคทีเรียในน้ำทะเลธรรมชาติจะมีความสัมพันธ์ร่วมกันโดยศึกษาพบว่า แพลงค์ตอนพืชชนิดต่างๆ (*Chaetoceros* sp., *Coscinodiscus* sp., *Ditylum* sp., *Nitzschia* sp. และ *Stephanopyxis* sp.) แสดงผลร่วมในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในสกุล *วิบริโอ* มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่นๆที่พบในแหล่งน้ำเดียวกัน และพบว่าแบคทีเรียกับแบคทีเรียและแพลงค์ตอนสัตว์กับแบคทีเรียต่างก็มีความสัมพันธ์ร่วมเช่นกัน โดยแพลงค์ตอนสัตว์จะส่งเสริมให้แบคทีเรียในสกุล *วิบริโอ* เจริญได้ดีในระบบนิเวศน์เดียวกัน



การศึกษาการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังจากเติมลงในชุดทดลอง พบว่า วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 ในทุกชุดการทดลองจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจาก  $10^6$  cfu/ ml จนมีความเข้มข้นของแบคทีเรียเมื่อเวลา 8 ชั่วโมงแรกของการศึกษาที่ระดับ  $1.04 \pm 0.48 \times 10^7$  ถึง  $1.50 \pm 0.13 \times 10^8$  cfu/ ml เป็นผลมาจากการได้รับสารอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 รวมทั้งการปราศจากจุลินทรีย์คู่แข่งชั้น จึงพบว่า วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วสอดคล้องกับ Lavilla-Pitogo, Albright และ Paner (1998) ที่พบว่าการฆ่าเชื้อในน้ำทะเลด้วยหม้อนึ่งความดันเป็นผลให้ปราศจากจุลินทรีย์ในน้ำทะเลที่ใช้ในการทดลอง มีผลให้ วิกิริโอ ฮาวิอาย เพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว และเจริญได้ในน้ำเลี้ยงตลอดระยะเวลาการทดลอง 7 วัน ในขณะที่ วิกิริโอ ฮาวิอาย ในน้ำทะเลที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ หลังจากทดลองเป็นเวลานาน 3 วัน จะพบว่า วิกิริโอ ฮาวิอาย ลดปริมาณลงอย่างต่อเนื่องและตรวจสอบไม่พบเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ชุดทดลองที่มีคลอเรลลาเพียงชนิดเดียวที่ระดับ  $10^5$  และ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรพบว่า วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดทดลองดังกล่าวหลังการเพิ่มปริมาณอย่างต่อเนื่อง และมีปริมาณสูงตลอดการทดลอง โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองจะมี วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 อยู่ที่ระดับ  $2.11 \pm 0.82 \times 10^8$  และ  $1.02 \pm 0.86 \times 10^8$  cfu/ ml ตามลำดับ เช่นเดียวกับชุดทดลองที่ไม่มีคลอเรลลาและออสซิลัตอเรียที่ยังคงมี วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 อยู่ที่ระดับ  $9.25 \pm 5.33 \times 10^7$  cfu/ ml เมื่อเวลา 120 ชั่วโมงเป็นผลมาจากคลอเรลลาที่แม้จะมีการศึกษาพบว่าสามารถผลิตสารคลอเรลลิน (chlorellin) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะสามารถยับยั้งกิจกรรมของแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบได้ (Pratt et al., 1944) แต่เหตุที่ วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดทดลองดังกล่าวยังคงมีปริมาณสูงตลอดการทดลอง อาจเนื่องมาจากสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้มีปริมาณไม่พอเพียงต่อการยับยั้งการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอาย ได้ สอดคล้องกับสุพล พันธุมะโอภาส (2542) ที่ทำการศึกษพบว่าคลอเรลลา  $1 \times 10^6$  ถึง  $5 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอาย ได้ โดยพบว่า วิกิริโอ ฮาวิอาย ยังคงมีปริมาณ  $1.45 \times 10^3$  cfu/ ml เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (192 ชั่วโมง) ใกล้เคียงกับปริมาณ วิกิริโอ ฮาวิอาย เมื่อเริ่มต้นการทดลอง ( $2.25 \times 10^3$  cfu/ ml) และพบว่าผลของคลอเรลลา  $2 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อทดสอบผลต่อการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอาย ที่ระดับ  $5.0 \times 10^3$  cfu/ ml ตลอด 96 ชั่วโมงของการทดลอง วิกิริโอ ฮาวิอาย มีแนวโน้มลดลงเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ชุดควบคุมที่ไม่มีคลอเรลลา จะมี วิกิริโอ ฮาวิอาย เพิ่มขึ้นและมีปริมาณ  $10^4$  cfu/ ml เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Direkbusarakom et al., 1997) เช่นเดียวกับชาญเดช วงศ์วิบูลย์ et al. (2540) ที่ใช้คลอเรลลาที่ระดับความแน่น  $2 \times 10^6$  ถึง  $7 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรเพื่อการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ พบว่า วิกิริโอในกลุ่มที่มีคลอเรลลาและไม่มีคลอเรลลาไม่มีความแตกต่างทางสถิติ สาเหตุอีกประการหนึ่งอาจเนื่องมาจากสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้ ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 สอดคล้องกับ

Sieburth (1959) ที่พบว่าสารปฏิชีวนะที่แพลงค์ตอนผลิตได้มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดแกรมบวกมากกว่าชนิดแกรมลบ เช่นเดียวกับ Duff et al. (1966) และ Lustigman (1988) ที่พบว่าแพลงค์ตอนสีเขียวครอบครั *Chlorophyceae* ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีเหมือนแพลงค์ตอนพืชในครอบครัว *Bacillariophyceae*, *Chrysophyceae* และ *Cryptophyceae* ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมลบ และชนิดแกรมบวกโดยเฉพาะแบคทีเรียสกุล *Staphylococcus* ได้ดีกว่า

ชุดทดลองที่มีคลอเรลลาเพียงชนิดเดียวที่ระดับ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แม้จะพบว่าหลังจากเริ่มทดลองจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับชุดทดลองที่มีคลอเรลลา  $0$ ,  $10^5$  และ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ภายหลังจากเริ่มทดลองได้ 72 ชั่วโมง วับริโอ ฮาวิอาย 1526 จะลดปริมาณอย่างรวดเร็วและมีปริมาณต่ำกว่าชุดทดลองที่มีออกซิซิลตาตอเรียเพิ่มขึ้นทั้ง 3 ระดับอย่างมีนัยสำคัญคือ  $1.04 \pm 0.13 \times 10^3$  cfu/ ml เมื่อสิ้นสุดการทดลอง แสดงให้เห็นว่าคลอเรลลาที่ระดับ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับคลอเรลลา  $0$ ,  $10^5$  และ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ยากที่จะชี้ชัดลงไปว่าการลดลงของแบคทีเรียเป็นผลมาจากการยับยั้งโดยสารปฏิชีวนะ หรือเกิดจากสารอาหารที่แพลงค์ตอนผลิตให้เริ่มหมดลงอย่างหนึ่งอย่างใด เพราะสารที่ผลิตขึ้นจากแพลงค์ตอน มักแสดงผลทั้งการสนับสนุนและการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เจริญร่วมในระบบนิเวศน์เดียวกับแพลงค์ตอนชนิดนั้นๆ (Bell และ Lang, 1974) ดังนั้นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในการทดลองนี้ลดลงอย่างรวดเร็ว คือสารปฏิชีวนะที่คลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรสร้างขึ้นมีปริมาณมากเพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 สอดคล้องกับ Sieburth (1959) ที่กล่าวถึงสารปฏิชีวนะที่แพลงค์ตอนพืชผลิตขึ้น จะมีปริมาณมากเมื่อแพลงค์ตอนพืชมีปริมาณมากด้วยเช่นกัน ในทางตรงกันข้ามแพลงค์ตอนพืชที่มีปริมาณน้อยกลับมีผลในการสนับสนุนการเจริญของแบคทีเรียแทน สาเหตุอีกประการที่มีผลให้เกิดการลดลงของ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 อาจเนื่องมาจากแหล่งอาหารที่แบคทีเรียใช้ในการเจริญเริ่มหมดลง หรือเกิดสารพิษจากกระบวนการสลายตัวของแพลงค์ตอนพืชเมื่อเจริญเข้าสู่ระยะ Death phase (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2540) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Baslow (1969 อ้างถึงใน Lavilla-Pitogo, Albright และ Paner, 1998) ที่พบว่าผลกระทบทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ เช่นการมีคู่แข่งขันในการแย่งสารอาหาร พฤติกรรมของไวรัสที่เป็นอันตราย และสารปฏิชีวนะที่ไดอะตอมหลายชนิด เช่น *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Nitzschia* และ *Licmorphora* ผลิตขึ้นล้วนเป็นปัจจัยที่เอื้อให้เกิดการต่อต้านการเจริญของ วับริโอ ฮาวิอาย

ชุดทดลองที่มีการเพิ่มขึ้นของออกซิลาตอเรีย  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรในทุกระดับของคลอเวลลา มีผลทำให้ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ที่เคยเพิ่มขึ้นใน 24 ชั่วโมงแรกของการทดลอง เริ่มลดปริมาณลงอย่างต่อเนื่อง และมีปริมาณต่ำกว่าชุดทดลองที่ไม่ออกซิลาตอเรียอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบความแตกต่างของ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 เมื่อออกซิลาตอเรียแตกต่างกันทั้ง 3 ระดับ เป็นผลมาจากออกซิลาตอเรียมีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 เช่นเดียวกับคลอเวลลา สอดคล้องกับ Rammamurthy และ Krishnamunthy (1967) ที่พบว่า *Oscillatoria erythraea* (*Trichodesmium erythraeum*) สามารถผลิตสารที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวก (*Staphylococcus aureus*, *Sarcina leutia* และ *Bacillus subtilis*) และแบคทีเรียชนิดแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. และ *Xanthomonas* sp.) ได้เช่นกัน โดยการเกิด Zone of clearing ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Chauhan et al. (1992) ที่พบว่าสารปฏิชีวนะที่ผลิตจากออกซิลาตอเรียเป็นผลให้สาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว และสาหร่ายสีเขียวในระบบนิเวศน์เดียวกันเกิดการสูญเสียคลอโรฟิลล์ และมีผลให้การเจริญหยุดชะงักลง แต่สารปฏิชีวนะที่ผลิตได้กลับไม่แสดงผลในการยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิด โดยพบว่า แบคทีเรีย ไดอะตอม ไดโนแฟลกเจลเลต รา โปรโตซัว ไฮโดรซัว โคพิพอด สามารถเจริญอยู่ร่วมกับ Marine *Oscillatoria* (*Trichodesmium* spp.) (Siddiqui et al., 1992) โดยการใช้ออกซิลาตอเรียเป็นที่ยึดเกาะและเป็นแหล่งผลิตอาหาร โดยเฉพาะแบคทีเรียที่จะมีความสัมพันธ์กับออกซิลาตอเรียในรูปแบบการพึ่งพาอาศัยกันมากกว่าการต่อต้านกัน มีแบคทีเรียมากมายหลายชนิดที่เจริญอยู่บนออกซิลาตอเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Cytophaga* และ *Flavobacterium* ซึ่งจะเกาะอยู่รอบๆ เซลล์ที่มีสภาพเป็นเมือกเหนียว โดยออกซิลาตอเรียจะอาศัยผลผลิตที่แบคทีเรียสร้างขึ้นเป็นแหล่งอาหาร เช่น สารอนินทรีย์ในโตรเจน วิตามิน และ chelating agent (O' Neil และ Roman, 1991; Paerl, 1995) โดยความสัมพันธ์ร่วมของแบคทีเรียและออกซิลาตอเรียในแบบพึ่งพาอาศัยกัน (mutualism) จึงเป็นการยากในการเพาะเลี้ยงออกซิลาตอเรียให้มีผลผลิตอย่างต่อเนื่อง ด้วยกรรมวิธีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบปลอดเชื้อ (axenic culture) (Paerl, Bebout และ Prufert, 1989) การทดลองของ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 จึงน่าจะมีผลมาจากการเจริญแข่งขันของจุลินทรีย์ที่เจริญร่วมกับออกซิลาตอเรีย มากกว่าผลของสารปฏิชีวนะที่ออกซิลาตอเรียผลิตขึ้น เช่นการทดลองเลี้ยง วิบริโอ ฮาวิอาย ร่วมกับไดอะตอมพบว่าผลการทดลองของ วิบริโอ ฮาวิอาย เป็นผลมาจากการเจริญแข่งขันของจุลินทรีย์ที่เจริญร่วมกับไดอะตอม มากกว่าผลจากไดอะตอมหรือสารที่สกัดได้จากไดอะตอมเอง (Lavilla-Pitogo, Albright และ Paner, 1998) สอดคล้องกับ Lemos et al. (1991) ที่ทำการศึกษาภาวะการแข่งขันของแบคทีเรียในทะเล พบว่าแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ จะเจริญได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ไม่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะในระบบนิเวศน์เดียวกัน แม้ว่าภาวะดังกล่าวใน

ธรรมชาติที่มีสารอาหารน้อย จะสังเกตการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียไม่ชัดเจนเท่ากับในงานทดลองที่มีสารอาหารมากเพียงพอก็ตาม และเป็นที่ยอมรับอย่างแน่ชัดว่าการลดปริมาณอย่างรวดเร็วของแบคทีเรีย เป็นผลมาจากสารปฏิชีวนะไม่ได้เป็นผลจากการขาดสารอาหารเนื่องจากมีแบคทีเรียเจริญแข่งขัน โดยพบว่าแบคทีเรียชนิดที่ไม่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ 2 ชนิดในชุดทดลองสามารถเจริญควบคู่กันจนสิ้นสุดการทดลอง แม้แต่ในแบคทีเรียชนิดเดียวกันอย่าง *Vibrio* ฮาวิอาย เอง ยังพบว่า *Vibrio* ฮาวิอาย ที่เจริญในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำที่สามารถสร้างสารที่มีผลต่อเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยโปรตีนให้เป็นโพลีเปปไทด์ (proteolytic enzyme) จะเจริญได้ดีกว่า *Vibrio* ฮาวิอาย ที่ดำรงชีวิตแบบอิสระ และไม่มีการสร้างสารดังกล่าว (Hoyt และ Sizemore, 1982)

### ผลของอัตราส่วนของคลอโรลลาและออกซิเจนต่อเรียต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงโดย *Vibrio* ฮาวิอาย 1526

*Vibrio* ฮาวิอาย 1526 ทุกชุดการทดลองมีการลดลงหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงจนมีระดับไม่แตกต่างกันมากคือ  $1.09 \pm 1.17 \times 10^4$  ถึง  $8.86 \pm 33.00 \times 10^5$  cfu/ml ตลอดระยะเวลาการทดลอง เป็นผลมาจากคลอรีนที่ใช้ในการเตรียมน้ำก่อนการทดลองลดประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อลง ทำให้แบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับอาหารและลูกกุ้งสามารถเจริญแข่งขันกับ *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 ที่ถูกเติมลงไป สอดคล้องคล้อยกับ Alabi et al. (1997) ที่พบการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนจากลูกกุ้งและอาหาร หลังจากประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสำหรับการเตรียมน้ำก่อนการเลี้ยงกุ้งโดยการใช้ออกซิเจน และการฉายแสงอุลตราไวโอเล็ตลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง แบคทีเรียที่ตรวจพบในน้ำเลี้ยงและตะกอนเลนภายในบ่อเลี้ยงกุ้งมีทั้งชนิดแกรมบวก และแกรมลบ ดังเช่น Sharmila et al. (1996) ที่ศึกษาแบคทีเรียในบ่อเลี้ยงกุ้ง *Penaeus indicus* พบที่มีการเจริญของแบคทีเรียในสกุล *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* และ *Vibrio* รวมทั้งแบคทีเรียในครอบครัว Enterobacteriaceae ที่มีการเจริญในน้ำเลี้ยงและตะกอนเลนมากถึง  $1.80 \times 10^3$  ถึง  $4.50 \times 10^3$  cfu/ml และ  $1.82 \times 10^6$  ถึง  $4.72 \times 10^6$  cfu/g of sediment ตามลำดับ แบคทีเรียที่ตรวจพบมีผลร่วมกับคลอโรลลาและออกซิเจนต่อเรียที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของ *Vibrio* ฮาวิอาย 1526 ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น หนึ่งในแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในการทดลองนี้ก็คือ แบคทีเรียในกลุ่มที่สามารถออกซิไดซ์แอมโมเนียให้เป็นไนไตรท์ และไนเตรตได้ (Nitrifying bacteria) (ฝ่ายวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ, 2539; Kelso et al., 1997) สังเกตได้จากการเพิ่มขึ้นของไนไตรท์และไนเตรตอย่างต่อเนื่องตลอดการทดลอง โดยเฉพาะ *Nitrosomonas* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถออกซิไดซ์แอมโมเนียให้เป็นไนไตรท์ พบว่ามี

ความสามารถในการควบคุมการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอาย โดยทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์แบคทีเรีย (มณจันทร์ เมฆธน และกมลพร มาแสวง, 2543) สาเหตุหนึ่งของการตรวจพบ วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 ตลอดการทดลองในขณะที่พบการแข่งขันของแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ในชุดทดลอง เป็นผลมาจากปริมาณสารอาหารที่มีเหลือเพียงพอสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย จากการสะสมของของเสียในรูปแอมโมเนียในระดับที่สูงในทุกชุดการทดลอง ซึ่งมีสาเหตุมาจากแพลงค์ตอนพืชไม่สามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ แสงเป็นหนึ่งในปัจจัยทางกายภาพที่มีความสำคัญในการเจริญของแพลงค์ตอนพืช ความเข้มแสงที่จำกัดในวันที่มีเมฆมาก หรือมีฝนตกเป็นผลให้การสังเคราะห์แสงในช่วงดังกล่าวถูกยับยั้งซึ่งตรวจสอบได้จากความเป็นกรดต่าง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในชุดทดลองทั้งภาคเช้าและภาคบ่ายไม่แตกต่างกันมาก สอดคล้องกับ Ma et al. (1997) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยง *Chlorella zofingiensis* ในสภาพที่แสงมีการเปลี่ยนแปลง พบว่าในวันที่มีแสงจำกัดกระบวนการสังเคราะห์แสงจะไม่ถูกยับยั้งเหมือนเมื่อวันที่มีเมฆมาก มีผลให้ตรวจพบอัตราส่วนระหว่างธาตุคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio) เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจากกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน แต่หากทำการเพาะเลี้ยงแพลงค์ตอนพืชแบบให้แสงต่อเนื่องกันโดยตลอด จะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงหยุดชะงัก มีผลให้อัตราการเจริญของ *Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella vulgaris* และ *Synechococcus elongatus* ต่ำลงกว่าการเพาะเลี้ยงโดยให้แสงแบบมีดิสจาง (Nedbal et al., 1996)

การเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียและไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ จึงน่าจะเป็นมูลเหตุร่วมที่ก่อให้เกิดการตายของกุ้งในแต่ละชุดการทดลอง การเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อกุ้งถ่ายมูล ในระยะเวลา 1 ชั่วโมงแรกภายหลังได้รับอาหาร กุ้งจะขับถ่ายของเสียในรูปไนโตรเจนต่างๆ มากที่สุดประมาณ 61-83 เปอร์เซ็นต์ (Wajsbrodt et al., 1989) และเมื่อมีการปนเปื้อนของ วิกิริโอ ฮาวิอาย 1526 ที่สามารถก่อให้เกิดโรคเรืองแสงได้ในแต่ละชุดการทดลอง ภาวะการเกิดโรคในกุ้งกุลาดำโดยเฉพาะโรคเรืองแสง มีผลเกี่ยวเนื่องมาจากการจัดการคุณภาพน้ำที่ไร้ประสิทธิภาพ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายมีไม่พอเพียง ความผันแปรของความเค็ม รวมทั้งการปนเปื้อนของสารพิษและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ความสัมพันธ์ระหว่างกุ้ง สภาพแวดล้อมภายในบ่อ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคมีความสอดคล้องกัน ถ้าระบบการเลี้ยงมีการจัดการที่ได้ประสิทธิภาพ การปนเปื้อนของเชื้อโรคน้อย กุ้งมีสุขภาพแข็งแรง ไม่เครียด กุ้งจะมีการเติบโตที่ปกติ ไม่ป่วยและตายจากการติดเชื้อ (Flegel et al, 1995; Hall และ Van Ham, 1998) สอดคล้องกับ ลีลา เรืองแป้น (2541) ที่ศึกษาพบว่ากุ้งที่อยู่ในน้ำเลี้ยงที่มีคุณภาพดี มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียน้อย กุ้งไม่เครียด แม้จะมีการฉีดแบคทีเรียเรืองแสงเข้าไปในตัวกุ้งสูงถึง 1,000 cfu/ ml ก็ไม่สามารถทำให้กุ้งป่วยหรือตายแต่อย่างไร แต่จากผลของอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำในทุกชุดทดลอง พบว่ามีการตายของกุ้งเป็นจำนวนมาก แม้พบว่า วิกิริโอ

ฮาวิอาย 1526 จะลดปริมาณลง แต่ความเข้มข้นของ vibrio ฮาวิอาย 1526 ที่คงเหลือในแต่ละชุด การทดลอง ยังสามารถแสดงผลให้กุ้งมีการติดเชื้อได้ เมื่อพบว่ามีการปนเปื้อนของ vibrio ฮาวิอาย 1526 ภายในตัวกุ้งภายหลังการแยกเชื้อให้มีความบริสุทธิ์ สอดคล้องกับรายงานของ Nithimathachoke et al. (1995) ที่พบว่า vibrio ฮาวิอาย ระดับต่ำ  $1.7-7.0 \times 10^4$  cfu/ ml มีผลทำให้ กุ้งกุลาดำ 30-70 เปอร์เซ็นต์ตายในระหว่างการทดลองเลี้ยงในน้ำที่มี vibrio ฮาวิอาย ปนเปื้อนอยู่ คลอโรเลลาและออกซิลาตอเรียต่ออัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าไม่มี ความสัมพันธ์ร่วมกัน โดยคลอโรเลลาทั้ง 4 ระดับ คือ  $0$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  และ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรไม่มีผลให้ อัตรารอดของกุ้งแตกต่างกัน และออกซิลาตอเรีย  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรมีผลให้กุ้งมีอัตราการรอดสูงสุด เมื่อเทียบกับออกซิลาตอเรีย  $0$ ,  $10^3$  และ  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แม้ชุดทดลองดังกล่าวจะพบว่า มี ออกซิลาตอเรียอยู่จริงตลอดระยะเวลา 8 วันของการทดลองใกล้เคียงกับชุดทดลองอื่นๆ มูลเหตุที่ทำให้ กุ้งในทุกระยะการทดลอง มีการตายจึงยากที่จะชี้ชัดว่าเป็นเพราะสารพิษที่ออกซิลาตอเรียผลิตขึ้น เช่นเดียวกับ Suvapepun (1991) ที่ไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่ากุ้งที่เลี้ยงตามแนวชายฝั่งทางภาคใต้ ตายเนื่องจากสารพิษที่ผลิตขึ้นจากการเจริญของออกซิลาตอเรีย หรือกุ้งตายจากการขาด ออกซิเจน หากแต่การตายของกุ้งกุลาดำในการทดลองอาจมีสาเหตุร่วมของออกซิลาตอเรียและ vibrio ฮาวิอาย 1526 มาเกี่ยวข้อง สอดคล้องกับการศึกษาของ Smith (1996) ที่พบแบคทีเรียใน สกุล vibrio (*Vibrio harveyi*, *V. angillarum* และ *V. vulnificus*) ถูกจำแนกได้จากเนื้อเยื่อกุ้งที่ป่วย จากป่อเลี้ยงที่มีสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว Oscillatoriales เจริญเด่น (65,000 ถึง 78,000 เซลล์ต่อ มิลลิลิตร) แม้ว่า *Oscillatoria corakiana* ที่มีปริมาณมากจะไม่สร้างสารพิษที่เป็นอันตรายต่อกุ้ง กุลาดำ แต่ก็ส่งผลต่อพฤติกรรมกินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันโรค ทำให้เกิดการติดเชื้อได้ง่าย ความเป็นพิษของแอมโมเนียและไนไตรท์เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้กุ้งมีอัตราการรอดต่ำ เช่นเดียวกับ Issa (1999) ที่ศึกษาพบว่า *Oscillatoria angustissima* และ *Calothrix parietina* สามารถสร้างสาร ปฏิชีวนะที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว มากกว่าสิ่งมีชีวิตที่มีโครงสร้างหลาย เซลล์ นอกจากนี้พบว่าสารที่สร้างจากการเจริญของ Marine Oscillatoria (*Trichodesmium erythraeum*) ไม่ก่อให้เกิดการตายของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจำพวกโคพิพอด และอาร์ทีเมีย (Hawser et al., 1992)

## สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

### สรุปผลการทดลอง

1. คลอเรลลาและออสซิลาทอเรียมีความสัมพันธ์ร่วมกันในการยับยั้งการเจริญของ วibriโอ ฮาวิอาย 1526 ที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ
2. ออสซิลาทอเรียทั้ง 3 ระดับ คือ  $10^3$ ,  $10^4$  และ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรให้ผลในการยับยั้งการเจริญของ วibriโอ ฮาวิอาย 1526 ได้ไม่ต่างกัน และพบว่าการเพิ่มขึ้นของออสซิลาทอเรียทั้ง 3 ระดับดังกล่าวมีผลให้คลอเรลลา  $10^5$  และ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการเจริญของ วibriโอ ฮาวิอาย 1526 ได้ดีกว่าการมีแต่คลอเรลลาเพียงชนิดเดียว เช่นเดียวกับคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรสามารถให้ผลในการยับยั้งการเจริญของ วibriโอ ฮาวิอาย 1526 ได้ดีกว่าคลอเรลลา ระดับอื่นแม้จะไม่มีออสซิลาทอเรียผสมอยู่ก็ตาม
3. ผลของคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียในการยับยั้งการเจริญของ วibriโอ ฮาวิอาย 1526 ในแหล่งเลี้ยงจริง จะไม่เกิดผลเท่าที่ควรถ้าปราศจากการจัดการคุณภาพน้ำควบคู่ไปด้วย ของเสียที่มีสะสมในบ่อเลี้ยงจะเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์ของ วibriโอ ฮาวิอาย 1526 ในการเจริญมีผลให้กุ้งที่มีความเครียดจากสารพิษที่สะสมอยู่ในบ่อ มีอัตราการรอดต่ำเนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียเรืองแสง และออสซิลาทอเรียที่พบในบ่ออาจมีสาเหตุร่วมทำให้กุ้งเกิดความเครียด มีผลให้ระบบภูมิคุ้มกันลดต่ำลงแม้ในงานทดลองนี้จะไม่สามารถสังเกตผลได้ชัดเจน

## ข้อเสนอแนะ

ในการทดสอบผลของอัตราส่วนของคลอเรลลาและออกซิลาตอเรีย ต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงโดย วิกิริโอ ฮาวิอายุ 1526 ไม่สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงของแสงในรอบวันให้คงที่ได้เป็นผลให้แพลงค์ตอนพืชตายลงระหว่างการทดลอง จึงทำให้ผลการทดลองไม่สามารถระบุได้ชัดเจนถึงสาเหตุของการตายของกึ่งกุลาดำที่เกิดจากโรคเรืองแสง หรือเกิดจากของเสียที่เกิดจากการย่อยสลายของแพลงค์ตอนพืชที่ตายลง ในการศึกษาครั้งต่อไปจึงควรมีการให้แสงที่มีความสำคัญของแพลงค์ตอนพืชในการสังเคราะห์แสงอย่างพอเพียง นอกจากนี้ยังคงต้องนำผลการทดลองที่ได้ไปใช้ในสภาพจริงของการเลี้ยงกึ่งในบ่อดิน ที่พบว่ามีความหลากหลายของแพลงค์ตอนพืชที่เจริญภายในบ่อเลี้ยง ด้วยความสัมพันธ์ในระบบนิเวศนี้จึงควรศึกษาเพิ่มเติมถึงการเปลี่ยนแปลง และผลกระทบของแพลงค์ตอนชนิดอื่นที่ตรวจพบ ว่าสามารถเจริญในบ่อเลี้ยงว่ามีผลต่อการเจริญของ วิกิริโอ ฮาวิอายุ อย่างไร เพื่อจะสามารถวางแผนการจัดการเพื่อผลในการยับยั้งการระบาดของโรคเรืองแสงเมื่อทราบถึงชนิดของแพลงค์ตอนที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแล้ว จึงควรศึกษาต่อเนื่องถึงการจัดการที่เหมาะสมเพื่อการคงอยู่ของแพลงค์ตอนที่เป็นประโยชน์ และวิธีการควบคุมและป้องกันการเกิดแพลงค์ตอนที่มีส่วนเชื้อให้การติดเชื้อเรืองแสงในกึ่งกุลาดำต่อไป



## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- ชาญเดช วังสะวิบูลย์, ธิดา เพชรมณี และ สถาพร ดิเรกบุษราคม. 2540. ผลของการควบคุมให้มีคลอเรลลาในบ่ออนุบาลลูกกุ้งกุลาดำในระยะโพสท์ลาร์วา (พี5-พี15). ในรายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36, หน้า 113. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร.
- ทีมงานข่าวกุ้ง บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน). 2543. สรุปการเลี้ยงกุ้งโลกปี 2542. วารสารเครือเจริญโภคภัณฑ์ ข่าวกุ้ง. ฉบับที่ 140(มีนาคม) : 1-3.
- ทีมงานข่าวกุ้ง บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน). 2543. การเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์. วารสารเครือเจริญโภคภัณฑ์ ข่าวกุ้ง. ฉบับที่ 140(มีนาคม) : 2-3.
- ฝ่ายวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ. 2539. ข่าววิชาการภายใน Bacteria. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์ฝึกอบรมวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. (อัดสำเนา)
- ฝ่ายวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ. 2540. ข่าววิชาการภายใน เรื่องน้ำรู้เกี่ยวกับแบคทีเรีย Vibrio. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์ฝึกอบรมวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. (อัดสำเนา)
- มณจันทร์ เมฆธน และ กมลพร มาแสวง. 2543. ศักยภาพของแบคทีเรียที่มีประโยชน์บางชนิดในการยับยั้งแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้ง. ในรายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38, หน้า 259-268. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2540. คู่มือการเลี้ยงแพลงค์ตอน. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ลิลลา เรืองแน่น. 2541. แบคทีเรียเรืองแสงกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ในรายงานการสัมมนาวิชาการกุ้งกุลาดำช่วยฟื้นฟูเศรษฐกิจไทย, หน้า 40-42. 16 กันยายน ณ โรงแรมเคพีแกรนด์ จังหวัดจันทบุรี.
- สมบัติ รักประทานพร. 2542. การเสริมภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* ด้วย *Bacillus* สายพันธุ์ S11. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุพล พันธุ์มะโอภาส. 2542. การศึกษาการใช้ *Chlorella* sp. , *Chaetoceros calcitrans* และ *Vibrio* sp. โคโลนีสีเหลืองเพื่อการควบคุม *Vibrio harveyi* ในระบบการอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

## ภาษาอังกฤษ

- Adams, A. 1991. Response of penaeid shrimp to exposure to *vibrio* species. Fish and Shellfish Immunology 1(1): 59-70.
- Alapide-Tendencia, E. V. and Dureza, L. A. 1997. Isolation of *Vibrio* spp. from *Penaeus monodon* (Fabricius) with red disease syndrome. Aquaculture 154: 107-114.
- Alabi, A. O., Yudiati, E. Jones, D. A., and Latchford, J. W. 1997. Bacterial levels in penaeid larval cultures. In T. W. Flegel and I. W. MacRae (eds.), Diseases in Asian Aquaculture III, pp. 381-388. Manila: Fish Health Section, Asian Fisheries Society.
- American Public Health Association, American Water Work Association and Water Environment Federation (APHA-AWWA-WEF). 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 18<sup>th</sup> ed. Washington, D. C. : APHA.
- Austin, B and Day, J. G. 1990. Inhibition of prawn pathogenic *Vibrio* spp. by a commercial spray-dried preparation of *Tetraselmis suecica*. Aquaculture 90: 389-392.
- Bagchi, S. N., Chauhan, V. A., and Marwah, J. B. 1993. Effect of an antibiotic from *Oscillatoria late-virens* on growth, photosynthesis, and toxicity of *Microcystis aeruginosa*. Current Microbiology 26(4): 223-228.
- Bagchi, S. N. and Marwah, J. B. 1994. Incidence of Vibrios of public health significance in the farming phase of tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Journal of the Science of Food and Agriculture 66(2): 225-231.
- Baumann, P., and Chubert, H. W. 1986. Vibrionaceae. In Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1. USA: Waverly Press, inc.
- Bell, W. H. and Lang, J. M. 1974. Selective stimulation of marine bacteria by algal extracellular products. Limnology and Oceanography 19(5): 833-839.
- Bhaskar, N. and Setty, T. M. R. 1994. Incidence of vibrios of public health significance in farming phase of tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Journal of the Science of Food and Agriculture 66(2): 225-231.
- Borowitzka, M. A. 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. Journal of Applied Phycology 7: 3-15.

- Chauhan, V. S., Marwah, J. B., and Bagchi, S. N. 1992. Effect of an antibiotic from *Oscillatoria* sp. on the phytoplankters, higher plants and mice. New Phytologist 120: 251-257.
- Direkbusarakom, S., Pechmanee, T., Assavaaree, M., and Danayadol, Y. 1997. Effect of *Chlorella* on the growth of *Vibrio* isolated from diseased shrimp. In T. W. Flegel and I. W. MacRae (eds.) , Diseases in Asian Aquaculture III, pp. 355-358. Manila: Fish Health Section, Asian Fisheries Society.
- Duff, D. C. B., Bruce, D. L., and Antia, N. J. 1966. The antibacterial activity of marine planktonic algae. Canadian Journal of Microbiology 12(5): 877-884.
- Flegel, T. W., Fegan, D. F., and Sriuriratana, S. 1995. Environmental control of infectious shrimp disease in Thailand. In M. Shariff, J. R. Arthur and R. P. Subasinghe (eds.) , Diseases in Asian Aquaculture II, pp. 65-79. Manila: Fish Health Section, Asian Fisheries Society.
- Hall, M. R. and Van Ham, E. H. 1998. The effects of different types of stress on blood glucose in the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. Journal of the World Aquaculture Society 29(3): 290-299.
- Hawser, S. P., O'Neil, J. M., Roman, M. R., and Codd, G. A. 1992. Toxicity of blooms of the cyanobacterium *Trichodesmium* to zooplankton. Journal of Applied Phycology 4: 79-86.
- Horne, M. T., Poy, M., and Pranthanpipat, P. 1995. Control of vibriosis in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, by vaccination. In M. Shariff, J. R. Arthur and R. P. Subasinghe (eds.), Diseases in Asian Aquaculture II, pp. 459-467. Manila: Fish Health Section, Asian Fisheries Society.
- Hoyt, P. R. and Sizemore, R. K. 1982. Competitive dominance by a bacteriocin-producing *Vibrio harveyi* strain.
- Issa, A. A. 1999. Antibiotic production by the cyanobacteria *Oscillatoria angustissima* and *Calothrix parietina*. Environmental Toxicology and Pharmacology 8(1): 33-37.
- Kelso, B. H. L., Smith, R. V., Laughlin, R. J., and Lennox, S. D. 1997. Dissimulatory nitrate reduction in anaerobic sediments leading to river nitrate accumulation. Applied and Environmental Microbiology 63(12): 4679-4685.
- Kitto, M. R. and Regunathan, C. 1997. *Skeletonema* can kill luminosis in shrimp hatcheries. Fish Farmer 11(6): 15-16.

- Kogure, K., Simidu, U., and Taga, N. 1980. Effect of phyto- and zooplankton on the growth of marine bacteria in filtered seawater. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 46(3): 323-326.
- Lavilla- Pitogo, C. R. 1995. Bacterial diseases of penaeid shrimp: an Asian view. In M. Shariff, J. R. Arthur and R. P. Subasinghe (eds.), Diseases in Asian Aquaculture II, pp. 107-121. Manila: Fish Health Section, Asian Fisheries Society.
- Lavilla- Pitogo, C. R., Albright, L. J., and Paner, M. G. 1998. Will microbial manipulation sustain the ecological balance in shrimp (*Penaeus monodon*) hatcheries? In T. W. Flegel (ed.) , Advances in shrimp biotechnology, pp. 185-192. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology.
- Lee, K. K., Yu, S. R., Chen, F. R., Yang, T. L. , and Liu, P. C. 1996. Virulence of *Vibrio alginolyticus* isolated from diseased tiger prawn, *Penaeus monodon*. Current Microbiology 32(4): 229-231.
- Lemos, M. L., Dopazo, C. P., Toranzo, A. E., and Barja, J. L. 1991. Competitive dominance of antibiotic-producing marine bacteria in mixed cultures. The Journal of Applied Bacteriology 71: 228-232.
- Liu, P. Ç., Lee, K. K., and Chen, S. N. 1996. Pathogenicity of different isolates of *Vibrio harveyi* in tiger prawn, *Penaeus monodon*. Letters in Applied Microbiology 22(6): 413-416.
- Lustigman, B. 1988. Comparison of antibiotic production from four ecotypes of the marine alga, *Dunaliella*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 40: 18-22.
- Lustigman, B. and Brown, C. 1991. Antibiotic production by marine algae isolated from the New York/ New Jersey Coast. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 46: 329-335.
- Ma, X., Chen, K., and Lee, Y. 1997. Growth of *Chlorella* outdoors in a changing light environment. Journal of Applied Phycology 9:425-430.
- Nedbal, L., Tichy, V., Xiong, F., Grobbelaar, J. U. 1996. Microscopic green algae and cyanobacteria in high-frequency intermittent light. Journal of Applied Phycology 8: 325-333.
- Nithimathchoke, C., Pratanpipat, P., Thongdaeng, K., Withyachumnarnkul, B., and Nash, G. 1995. Luminous bacterial infection in pond reared *Penaeus monodon*. Asian shrimp news 23: 1-4.

- Noga, E. J., Arroll, T. A., Bullis, R. A., and Khoo, L. 1996. Antibacterial activity in haemolymph of white shrimp, *Penaeus setiferus*. The Journal of Marine Biotechnology 4(3): 181-184.
- O' Neil, J. M., and Roman, M. R. 1991. Grazers and associated organisms of *Trichodesmium*. In E. J. Carpenter, D. G. Capone and J. R. Rueter (eds.), Marine Pelagic Cyanobacteria: Trichodesmium and other Diazotrophs, pp. 61-73. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Paerl, H. W. 1995. Ecology of blue-green algae in aquaculture ponds. Journal of the World Aquaculture Society 26(2): 109-131.
- Paerl, H. W., Bebout, B. M., and Prufert, L. F. 1989. Bacterial associations with marine *Oscillatoria* sp. (*Trichodesmium* sp.) populations: ecophysiological implications. Journal of Phycology 25:773-784.
- Pratt, R., Daniels, T. C., Eiler, J. J., Gunnison, J. B., Kumler, W. D., Oneto, J. F., and Strait, L. A. 1944. Chlorellin, an antibacterial substance from *Chlorella*. Science 99:351-352.
- Prayitno, S. B. and Latchford, J. W. 1995. Experimental infections of crustaceans with luminous bacteria related to *Photobacterium* and *Vibrio*. Effect of salinity and pH on infectiosity. Aquaculture 132: 105-112.
- Ramamurthy, V. D. and Krishnamunthy, S. 1967. The antibacterial properties of marine blue-green alga *Trichodesmium erythraeum* (Ehr.). Current Science 36: 524-525.
- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., and Menasveta, P. 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture 167(3-4): 301-313.
- Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S., and Menasveta, P. 1998. Probiotics in aquaculture: a case study of probiotics for larvae of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). In T. W. Flegel (ed.), Advances in shrimp biotechnology, pp. 177-181. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology.
- Ruangpan, L. 1998. Luminous bacteria associated with shrimp mortality. In T. W. Flegel (ed.), Advances in shrimp biotechnology, pp. 205-211. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology.

- Sharmila, R., Abraham, T. J., and Sundararaj, V. 1996. Bacterial flora of semi-intensive pond-reared *Penaeus indicus* (H. Milne Edwards) and the environment. Journal of Aquaculture in the Tropics 11: 193-203.
- Siddiqui, P. J. A., Carpenter, E. J., and Bergman, B. 1991. *Trichodesmium*: ultrastructure and protein localization. In E. J. Carpenter, D. G. Capone and J. R. Rueter (eds.), Marine Pelagic Cyanobacteria: Trichodesmium and other Diazotrophs, pp. 9-28. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Sieburth, J. M. 1959. Antibacterial activity of Antarctic marine phytoplankton. Limnology and Oceanography 4(4): 419-424.
- Sivonen, K. 1990. Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate, and bacteria on growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. Applied and Environmental Microbiology 56(9):2658-2666.
- Smith, P. T. 1996. Toxic effects of blooms of marine species of oscillatorioides on farmed prawns (*Penaeus monodon*, *Penaeus japonicus*) and brine shrimp (*Artemia salina*). Toxicon 34(8): 857-869.
- Sumintu and Hirayama, K. 1996. Effects of bacterial coexistence on the growth of a marine diatom *Chaetoceros gracilis*. Fisheries Science 62(1): 40-43.
- Suvapepun, S. 1991. *Trichodesmium* blooms in the Gulf of Thailand. In E. J. Carpenter, D. G. Capone and J. R. Rueter (eds.), Marine Pelagic Cyanobacteria: Trichodesmium and other Diazotrophs, pp. 343-348. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Tjahjadi, M. R., Angka, S. L., and Suwanto, A. 1994. Isolation and evaluation of marine bacteria for biocontrol of luminous bacterial disease in tiger shrimp larvae (*Penaeus monodon*, Fabricius). Asian-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology 2(4):347-352.
- Wajsbrojt, N., Krom, M. D., Gasith, A., and Samocha, T. 1989. Ammonia excretion of green tiger prawn *Penaeus semisulcatus* as a possible limit on the biomass density in shrimp ponds. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh 41(4): 159-164.
- Zefran, Des Roza, B., Sugama, K., Wada, S., and Hatai, K. 1994. Histological study of luminescent *Vibrio harveyi* infection in hatchery reared larvae of *Penaeus monodon*. In L. M. Chou et al. (eds.), The Third Asian Fisheries Forum, pp. 294-297. Manila: Asian Fisheries Society.



## ภาคผนวก ก

### ค่าสถิติ

ผลของอัตราส่วนคลอเรลลา และออกซิซิลาทอเรียต่อการควบคุมการเจริญของ  
ไวรัสโอ ฮาวิอาย 1526

ตารางที่ 1 ก. ไวริโอ ฮาวิอาย 1526 เมื่อเริ่มเติมเชื้อลงในชุดทดลอง (0 ชั่วโมง) เมื่อไม่พบความ  
สัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออกซิซิลาทอเรียต่อ ไวริโอ ฮาวิอาย 1526 โดยแยก  
ตามชุดทดลองที่มีคลอเรลลาและออกซิซิลาทอเรียต่างกัน 4 ระดับ

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณไวรัสโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
0	$3.06 \pm 1.45 \times 10^7^a$
$10^5$	$2.32 \pm 0.96 \times 10^7^b$
$10^6$	$6.90 \pm 6.20 \times 10^6^c$
$10^7$	$7.28 \pm 6.08 \times 10^6^c$

ปริมาณออกซิซิลาทอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณไวรัสโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
0	$1.62 \pm 1.38 \times 10^7$
$10^3$	$1.88 \pm 1.65 \times 10^7$
$10^4$	$1.70 \pm 1.30 \times 10^7$
$10^5$	$1.81 \pm 1.43 \times 10^7$

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ตารางที่ 2 ก. วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดทดลองที่มีปริมาณคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ ภายหลังจากเติมเชื้อลงในชุดทดลอง 2, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526

		ปริมาณวิบริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)				
ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	2 ชั่วโมง	4 ชั่วโมง	6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
0	0	$5.03 \pm 1.62 \times 10^7$ <sup>a</sup>	$9.25 \pm 1.19 \times 10^7$ <sup>a</sup>	$1.17 \pm 0.17 \times 10^8$ <sup>a</sup>	$1.11 \pm 0.18 \times 10^8$ <sup>b</sup>	$1.72 \pm 0.41 \times 10^8$ <sup>ab</sup>
	10 <sup>3</sup>	$6.78 \pm 1.22 \times 10^7$ <sup>ab</sup>	$1.02 \pm 0.03 \times 10^8$ <sup>a</sup>	$2.02 \pm 0.19 \times 10^8$ <sup>b</sup>	$1.28 \pm 0.13 \times 10^8$ <sup>b</sup>	$2.06 \pm 0.19 \times 10^8$ <sup>bc</sup>
	10 <sup>4</sup>	$7.89 \pm 0.79 \times 10^7$ <sup>b</sup>	$1.26 \pm 0.09 \times 10^8$ <sup>b</sup>	$1.86 \pm 0.12 \times 10^8$ <sup>b</sup>	$1.28 \pm 0.16 \times 10^8$ <sup>b</sup>	$2.63 \pm 0.37 \times 10^8$ <sup>c</sup>
	10 <sup>5</sup>	$8.31 \pm 1.35 \times 10^7$ <sup>b</sup>	$1.22 \pm 0.07 \times 10^8$ <sup>b</sup>	$1.94 \pm 0.11 \times 10^8$ <sup>b</sup>	$1.38 \pm 0.37 \times 10^8$ <sup>b</sup>	$1.31 \pm 0.06 \times 10^8$ <sup>a</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ก. วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดทดลองที่มีปริมาณคลอเรลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ ภายหลังจากการเติมเชื้อลงในชุดทดลอง 2, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออกซิลาตอเรียต่อ วับริโอ ฮาวิอาย 1526

คลอเรลลา (cell/ ml)	ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวับริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)				
		2 ชั่วโมง	4 ชั่วโมง	6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
$10^5$	0	$6.93 \pm 2.16 \times 10^7$	$1.05 \pm 0.14 \times 10^8$	$1.09 \pm 0.27 \times 10^8$	$1.20 \pm 0.07 \times 10^8$	$1.65 \pm 0.19 \times 10^8$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$8.64 \pm 0.25 \times 10^7$	$1.15 \pm 0.32 \times 10^8$	$1.12 \pm 0.32 \times 10^8$	$1.43 \pm 0.15 \times 10^8$	$1.59 \pm 0.19 \times 10^8$ <sup>a</sup>
	$10^4$	$8.14 \pm 0.79 \times 10^7$	$1.14 \pm 0.17 \times 10^8$	$1.18 \pm 0.31 \times 10^8$	$1.46 \pm 0.16 \times 10^8$	$1.48 \pm 0.30 \times 10^8$ <sup>a</sup>
	$10^5$	$8.75 \pm 0.94 \times 10^7$	$1.05 \pm 0.32 \times 10^8$	$1.03 \pm 0.19 \times 10^8$	$1.50 \pm 0.13 \times 10^8$	$1.14 \pm 0.18 \times 10^8$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 ก. วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ในชุดทดลองที่มีปริมาณคลอเรลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ ภายหลังจากการเติมเชื้อลงในชุดทดลอง 2, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออกซิลาตอเรียต่อ วับริโอ ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวับริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)				
		2 ชั่วโมง	4 ชั่วโมง	6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
$10^6$	0	$3.42 \pm 2.21 \times 10^7$	$6.63 \pm 5.09 \times 10^7$	$8.15 \pm 2.59 \times 10^7$ <sup>a</sup>	$8.14 \pm 2.84 \times 10^7$ <sup>a</sup>	$9.59 \pm 3.36 \times 10^7$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$1.91 \pm 2.85 \times 10^7$	$6.85 \pm 1.67 \times 10^6$	$1.50 \pm 0.76 \times 10^7$ <sup>b</sup>	$1.04 \pm 0.48 \times 10^7$ <sup>c</sup>	$3.53 \pm 1.81 \times 10^5$ <sup>b</sup>
	$10^4$	$8.81 \pm 2.41 \times 10^6$	$1.41 \pm 0.48 \times 10^7$	$3.85 \pm 1.00 \times 10^7$ <sup>b</sup>	$4.28 \pm 1.17 \times 10^7$ <sup>b</sup>	$6.29 \pm 2.67 \times 10^6$ <sup>b</sup>
	$10^5$	$8.55 \pm 2.84 \times 10^6$	$1.31 \pm 0.57 \times 10^7$	$1.85 \pm 0.25 \times 10^7$ <sup>b</sup>	$2.70 \pm 0.52 \times 10^7$ <sup>bc</sup>	$2.47 \pm 0.16 \times 10^7$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5 ก. vibrio ฮาวิอาย 1526 ในชุดทดลองที่มีปริมาณคลอเรลลา  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออสซิลาทอเรียต่างกัน 4 ระดับ ภายหลังจากเติมเชื้อลงในชุดทดลอง 2, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออสซิลาทอเรียต่อ vibrio ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออสซิลาทอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณ vibrio ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)				
		2 ชั่วโมง	4 ชั่วโมง	6 ชั่วโมง	8 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
$10^7$	0	$4.72 \pm 1.54 \times 10^7$	$8.89 \pm 0.66 \times 10^7$ <sup>a</sup>	$8.80 \pm 2.21 \times 10^7$ <sup>ab</sup>	$8.74 \pm 2.41 \times 10^7$ <sup>a</sup>	$7.07 \pm 6.62 \times 10^7$
	$10^3$	$6.01 \pm 0.22 \times 10^7$	$9.53 \pm 0.30 \times 10^7$ <sup>a</sup>	$1.19 \pm 0.17 \times 10^8$ <sup>a</sup>	$9.67 \pm 3.46 \times 10^7$ <sup>a</sup>	$1.14 \pm 0.22 \times 10^7$
	$10^4$	$7.19 \pm 1.00 \times 10^7$	$8.61 \pm 1.21 \times 10^7$ <sup>a</sup>	$7.92 \pm 2.86 \times 10^7$ <sup>b</sup>	$6.11 \pm 1.36 \times 10^7$ <sup>ab</sup>	$1.72 \pm 0.98 \times 10^7$
	$10^5$	$4.93 \pm 1.71 \times 10^7$	$6.07 \pm 0.30 \times 10^7$ <sup>b</sup>	$4.10 \pm 1.68 \times 10^7$ <sup>c</sup>	$2.77 \pm 0.26 \times 10^7$ <sup>b</sup>	$2.97 \pm 1.61 \times 10^6$

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6 ก. วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังจากเติมลงในชุดทดลอง 48 ชั่วโมง เมื่อไม่พบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 โดยแยกตามชุดทดลองที่มีคลอเรลลาและออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

ปริมาณ ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวับริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
0	$1.21 \pm 0.64 \times 10^8$ <sup>a</sup>
$10^3$	$7.27 \pm 8.44 \times 10^7$ <sup>b</sup>
$10^4$	$1.76 \pm 4.71 \times 10^7$ <sup>c</sup>
$10^5$	$3.12 \pm 4.97 \times 10^6$ <sup>c</sup>

ปริมาณ คลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณวับริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
0	$9.47 \pm 8.52 \times 10^7$ <sup>a</sup>
$10^5$	$9.11 \pm 8.60 \times 10^7$ <sup>a</sup>
$10^6$	$5.69 \pm 6.67 \times 10^7$ <sup>ab</sup>
$10^7$	$2.48 \pm 4.90 \times 10^7$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 48 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a b c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 ก. วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังการเติมลงในชุดทดลอง 72 ชั่วโมง เมื่อคลอเรลามี ปริมาณ 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวิบริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
0	0	$1.83 \pm 0.40 \times 10^8$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$1.54 \pm 0.00 \times 10^5$ <sup>b</sup>
	$10^4$	$1.02 \pm 0.63 \times 10^5$ <sup>b</sup>
	$10^5$	$2.28 \pm 1.45 \times 10^5$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 72 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a b c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 8 ก. วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังการเติมลงในชุดทดลอง 72 ชั่วโมง เมื่อคลอเรลามี ปริมาณ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวิบริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
$10^5$	0	$1.65 \pm 0.31 \times 10^8$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$3.09 \pm 1.46 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^4$	$9.83 \pm 10.30 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^5$	$1.68 \pm 0.34 \times 10^5$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 72 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a b c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 9 ก. วibriโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังจากเติมลงในชุดทดลอง 72 ชั่วโมง เมื่อคลอเรลลามี ปริมาณ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วibriโอ ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวibriโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
$10^6$	0	$1.01 \pm 0.54 \times 10^8$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$1.77 \pm 1.02 \times 10^5$ <sup>b</sup>
	$10^4$	$2.10 \pm 2.79 \times 10^6$ <sup>b</sup>
	$10^5$	$3.55 \pm 1.08 \times 10^6$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 72 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a b c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 10 ก. วibriโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังจากเติมลงในชุดทดลอง 72 ชั่วโมง เมื่อคลอเรลลามี ปริมาณ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วibriโอ ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวibriโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
$10^7$	0	$2.56 \pm 4.22 \times 10^7$
	$10^3$	$2.53 \pm 0.95 \times 10^4$
	$10^4$	$9.39 \pm 4.76 \times 10^4$
	$10^5$	$2.93 \pm 0.00 \times 10^5$

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 72 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a b c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 11 ก. วับริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังการเติมลงในชุดทดลอง 96 ชั่วโมง เมื่อไม่พบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและออกซิลาตอเรียต่อ วับริโอ ฮาวิอาย 1526 โดยแยกตามชุดทดลองที่คลอเรลลาและออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

ปริมาณ ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวับริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
0	$9.14 \pm 13.00 \times 10^7$ <sup>a</sup>
$10^3$	$3.89 \pm 2.74 \times 10^4$ <sup>b</sup>
$10^4$	$9.22 \pm 7.98 \times 10^4$ <sup>b</sup>
$10^5$	$1.82 \pm 1.02 \times 10^5$ <sup>b</sup>

ปริมาณ คลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณวับริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
0	$7.16 \pm 16.20 \times 10^7$
$10^5$	$4.79 \pm 7.12 \times 10^7$
$10^6$	$2.82 \pm 4.54 \times 10^7$
$10^7$	$5.48 \pm 6.17 \times 10^4$

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 96 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a b c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 12 ก. วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังจากการเติมลงในชุดทดลอง 120 ชั่วโมง เมื่อคลอเรลลามี ปริมาณ 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวิบริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
0	0	$9.25 \pm 5.33 \times 10^7$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$1.32 \pm 0.00 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^4$	$2.22 \pm 1.71 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^5$	$7.27 \pm 4.10 \times 10^4$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 120 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a b c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 13 ก. วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังจากการเติมลงในชุดทดลอง 120 ชั่วโมง เมื่อคลอเรลลามี ปริมาณ  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวิบริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
$10^5$	0	$2.11 \pm 0.82 \times 10^8$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$1.35 \pm 0.00 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^4$	$5.07 \pm 4.83 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^5$	$9.44 \pm 4.39 \times 10^4$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 120 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a b c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 14 ก. วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังการเติมลงในชุดทดลอง 120 ชั่วโมง เมื่อคลอเรลลามีปริมาณ  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวิบริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
$10^6$	0	$1.02 \pm 0.86 \times 10^8$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$6.83 \pm 0.50 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^4$	$9.49 \pm 2.91 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^5$	$1.48 \pm 0.10 \times 10^5$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 120 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 15 ก. วิบริโอ ฮาวิอาย 1526 ภายหลังการเติมลงในชุดทดลอง 120 ชั่วโมง เมื่อคลอเรลลามีปริมาณ  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยแยกตามชุดทดลองที่มีออกซิลาตอเรียต่างกัน 4 ระดับ หลังพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ วิบริโอ ฮาวิอาย 1526

ปริมาณคลอเรลลา (cell/ ml)	ปริมาณออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณวิบริโอ ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)
$10^7$	0	$1.04 \pm 0.13 \times 10^4$ <sup>a</sup>
	$10^3$	$1.38 \pm 0.62 \times 10^4$ <sup>a</sup>
	$10^4$	$3.12 \pm 2.10 \times 10^4$ <sup>b</sup>
	$10^5$	$5.88 \pm 0.14 \times 10^4$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ณ เวลา 120 ชั่วโมง  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาคผนวก ข

ค่าสถิติ

ผลของคลอเรลลาและออสซิลิลาต่อเรียต่อไวรัสโ ฮาวิอ้ายภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ

ตารางที่ 1 ข. ไวรัสโ ฮาวิอ้าย 1526 ภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่คลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อไม่พบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออสซิลิลาต่อเรียต่อ ไวรัสโ ฮาวิอ้าย 1526

ปริมาณไวรัสโ ฮาวิอ้าย<sup>1</sup> (cfu/ ml)

คลอเรลลา (cell/ ml)	0 วัน	2 วัน	4 วัน *	6 วัน	8 วัน
0	1.17 ± 3.67 × 10 <sup>6</sup>	1.34 ± 1.67 × 10 <sup>4</sup>	4.77 ± 4.94 × 10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	1.88 ± 1.77 × 10 <sup>4</sup>	4.62 ± 5.17 × 10 <sup>4</sup>
10 <sup>5</sup>	8.63 ± 17.20 × 10 <sup>5</sup>	1.33 ± 1.80 × 10 <sup>4</sup>	2.47 ± 2.20 × 10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	7.83 ± 5.50 × 10 <sup>3</sup>	1.59 ± 1.14 × 10 <sup>4</sup>
10 <sup>6</sup>	9.09 ± 10.70 × 10 <sup>4</sup>	5.62 ± 10.70 × 10 <sup>3</sup>	5.69 ± 4.57 × 10 <sup>3</sup> <sup>a</sup>	1.53 ± 1.12 × 10 <sup>4</sup>	3.50 ± 6.26 × 10 <sup>4</sup>
10 <sup>7</sup>	1.86 ± 4.00 × 10 <sup>5</sup>	7.40 ± 5.78 × 10 <sup>3</sup>	1.53 ± 2.07 × 10 <sup>4</sup> <sup>b</sup>	1.42 ± 1.22 × 10 <sup>4</sup>	2.21 ± 2.25 × 10 <sup>4</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออสซิลิลาต่อเรีย

ตารางที่ 2 ข. vibrio ฮาวิอาย 1526 ภายหลังกการเหนียวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองของสซิลลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อไม่พบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออสซิลลาตอเรียต่อ vibrio ฮาวิอาย 1526

ออสซิลลาตอเรีย (cell/ ml)	ปริมาณ vibrio ฮาวิอาย <sup>1</sup> (cfu/ ml)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน *	6 วัน	8 วัน
0	$2.08 \pm 3.76 \times 10^6$ <sup>a</sup>	$2.31 \pm 1.95 \times 10^4$ <sup>a</sup>	$1.07 \pm 1.24 \times 10^4$ <sup>a</sup>	$2.01 \pm 1.27 \times 10^4$	$2.89 \pm 1.99 \times 10^4$ <sup>ab</sup>
10 <sup>3</sup>	$1.62 \pm 1.51 \times 10^5$ <sup>b</sup>	$4.67 \pm 4.98 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$4.60 \pm 5.00 \times 10^3$ <sup>ab</sup>	$1.35 \pm 1.67 \times 10^4$	$5.86 \pm 7.22 \times 10^4$ <sup>a</sup>
10 <sup>4</sup>	$3.12 \pm 2.27 \times 10^4$ <sup>b</sup>	$5.07 \pm 6.88 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1.25 \pm 0.95 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1.31 \pm 0.96 \times 10^4$	$1.65 \pm 2.55 \times 10^4$ <sup>b</sup>
10 <sup>5</sup>	$3.58 \pm 2.02 \times 10^4$ <sup>b</sup>	$6.87 \pm 9.72 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$1.17 \pm 1.81 \times 10^4$ <sup>a</sup>	$9.55 \pm 9.42 \times 10^3$	$1.53 \pm 1.52 \times 10^4$ <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออสซิลลาตอเรีย

ภาคผนวก ค

ค่าสถิติ

ผลของคลอเรลลาและออสซิลิลาตอเรียต่อคุณภาพน้ำบางประการภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ

ตารางที่ 1 ค. ปริมาณแอมโมเนีย (Ammonia nitrogen) ภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่มีคลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอเรลลา (cell/ ml)	แอมโมเนีย <sup>1</sup> (mg/l)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน *	8 วัน
0	2.021 ± 0.659 <sup>a</sup>	6.628 ± 0.781	7.193 ± 0.425	8.042 ± 0.830	9.493 ± 1.041
10 <sup>5</sup>	1.705 ± 0.292 <sup>a</sup>	6.940 ± 0.520	7.029 ± 0.669	7.992 ± 0.881	9.156 ± 1.332
10 <sup>6</sup>	1.811 ± 0.481 <sup>a</sup>	6.863 ± 0.495	6.909 ± 0.604	7.932 ± 0.997	8.921 ± 1.642
10 <sup>7</sup>	2.537 ± 0.691 <sup>b</sup>	7.234 ± 0.558	7.260 ± 0.428	8.414 ± 0.639	9.001 ± 1.087

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออสซิลิลาตอเรีย

ตารางที่ 2 ค. ปริมาณแอมโมเนีย (Total ammonia nitrogen) ภายหลังจากเหนียนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตาม  
ถึงทดลองที่ออสซิลลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

ออสซิลลาตอเรีย (cell/ ml)	แอมโมเนีย <sup>1</sup> (mg/ l)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน*	8 วัน
0	2.259 ± 0.629	6.807 ± 0.265	7.372 ± 0.265 <sup>a</sup>	7.631 ± 0.900 <sup>a</sup>	9.630 ± 0.926 <sup>a</sup>
10 <sup>3</sup>	1.862 ± 0.432	6.808 ± 0.507	7.491 ± 0.507 <sup>a</sup>	8.803 ± 0.355 <sup>b</sup>	9.836 ± 0.438 <sup>a</sup>
10 <sup>4</sup>	1.846 ± 0.697	7.090 ± 0.862	6.864 ± 0.862 <sup>b</sup>	8.606 ± 0.228 <sup>b</sup>	9.713 ± 0.569 <sup>a</sup>
10 <sup>5</sup>	2.107 ± 0.690	6.960 ± 0.714	6.665 ± 0.714 <sup>b</sup>	7.339 ± 0.586 <sup>a</sup>	7.392 ± 1.045 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออสซิลลาตอเรีย

ตารางที่ 3 ค. ปริมาณไนเตรตภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถังทดลองที่มีคลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอเรลลา (cell/ ml)	ไนเตรต <sup>1</sup> (mg/l)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน *
0	0.781 ± 0.652 <sup>a</sup>	0.780 ± 1.121 <sup>a</sup>	1.750 ± 3.046 <sup>a</sup>	3.314 ± 4.563 <sup>a</sup>	9.493 ± 1.041 <sup>a</sup>
10 <sup>5</sup>	0.765 ± 0.712 <sup>a</sup>	0.962 ± 1.253 <sup>a</sup>	1.453 ± 2.236 <sup>a</sup>	3.775 ± 4.730 <sup>a</sup>	9.156 ± 1.332 <sup>b</sup>
10 <sup>6</sup>	0.989 ± 0.947 <sup>b</sup>	1.088 ± 1.341 <sup>a</sup>	2.366 ± 3.612 <sup>a</sup>	4.433 ± 6.066 <sup>a</sup>	8.921 ± 1.642 <sup>bc</sup>
10 <sup>7</sup>	1.790 ± 0.734 <sup>c</sup>	1.967 ± 1.037 <sup>b</sup>	3.570 ± 3.649 <sup>b</sup>	6.154 ± 5.212 <sup>b</sup>	9.001 ± 1.087 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิเจนละลาย

ตารางที่ 4 ค. ปริมาณไนเตรตภายหลังการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ่มกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึงทดลองที่ออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ไนเตรต <sup>1</sup> (mg/l)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน*	8 วัน
0	0.677 ± 0.460 <sup>a</sup>	0.582 ± 0.467 <sup>a</sup>	0.694 ± 0.660 <sup>a</sup>	1.521 ± 1.021 <sup>ab</sup>	1.862 ± 0.795 <sup>a</sup>
10 <sup>3</sup>	0.662 ± 0.360 <sup>a</sup>	0.470 ± 0.258 <sup>a</sup>	0.536 ± 0.451 <sup>a</sup>	1.049 ± 1.037 <sup>a</sup>	2.006 ± 1.168 <sup>a</sup>
10 <sup>4</sup>	0.693 ± 0.498 <sup>a</sup>	0.757 ± 0.898 <sup>a</sup>	0.775 ± 0.811 <sup>a</sup>	2.600 ± 2.222 <sup>b</sup>	3.863 ± 3.676 <sup>a</sup>
10 <sup>5</sup>	2.293 ± 0.638 <sup>b</sup>	2.988 ± 0.905 <sup>b</sup>	7.133 ± 2.827 <sup>b</sup>	12.506 ± 2.943 <sup>c</sup>	16.768 ± 6.025 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิลาตอเรีย



ตารางที่ 5 ค. ความเป็นกรดและต่างเมื่อเวลา 8.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึง  
 ทดลองที่คลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอเรลลา (cell/ ml)	ความเป็นกรด-ต่าง (pH)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
0	7.6 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.6 ± 0.2	7.6 ± 0.3	7.6 ± 0.4
10 <sup>5</sup>	7.7 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.7 ± 0.2	7.6 ± 0.3	7.6 ± 0.5
10 <sup>6</sup>	7.6 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.6 ± 0.2	7.5 ± 0.3	7.4 ± 0.7
10 <sup>7</sup>	7.7 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.6 ± 0.2	7.6 ± 0.3	7.5 ± 0.5

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออซซิลาตอเรีย

ตารางที่ 6 ค. ความเป็นกรดและต่างเมื่อเวลา 8.00 น. ภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึง  
 ทดลองที่อัตราเชื้อต่อเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

อัตราเชื้อต่อเรีย (cell/ ml)	ความเป็นกรด-ต่าง (pH)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
0	7.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	7.6 ± 0.1 <sup>a</sup>	7.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	7.6 ± 0.5 <sup>a</sup>
10 <sup>3</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	7.8 ± 0.0 <sup>a</sup>	7.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.9 ± 0.2 <sup>b</sup>
10 <sup>4</sup>	7.6 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>ab</sup>	7.7 ± 0.2 <sup>ab</sup>
10 <sup>5</sup>	7.6 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.5 ± 0.1 <sup>c</sup>	7.2 ± 0.2 <sup>c</sup>	7.0 ± 0.4 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเวลลาและ อัตราเชื้อต่อเรีย

สถาบันวิทยบริการ  
 าลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 ค. ความเป็นกรดและด่างเมื่อเวลา 15.00 น. ภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึงทดลองที่คลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอเรลลา (cell/ ml)	ความเป็นกรด-ด่าง (pH)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
0	7.7 ± 0.2	7.7 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.9 ± 0.3	7.8 ± 0.3
10 <sup>5</sup>	7.8 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.8 ± 0.3	7.7 ± 0.3
10 <sup>6</sup>	7.7 ± 0.2	7.7 ± 0.1	7.8 ± 0.1	7.7 ± 0.5	7.6 ± 0.6
10 <sup>7</sup>	7.7 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.8 ± 0.3	7.7 ± 0.4

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออสซิลลาตอเรีย

ตารางที่ 8 ค. ความเป็นกรดและต่างเมื่อเวลา 15.00 น. ภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึง  
 ทดลองที่ออสซิลลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

ออสซิลลาตอเรีย (cell/ ml)	ความเป็นกรด-ต่าง (pH)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
0	7.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	7.9 ± 0.1 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.3 <sup>a</sup>
10 <sup>3</sup>	7.9 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	8.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.9 ± 0.2 <sup>b</sup>
10 <sup>4</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	7.8 ± 0.1 <sup>ab</sup>	7.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.9 ± 0.0 <sup>a</sup>	7.8 ± 0.1 <sup>ab</sup>
10 <sup>5</sup>	7.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	7.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	7.6 ± 0.1 <sup>c</sup>	7.4 ± 0.1 <sup>c</sup>	7.2 ± 0.3 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ระหว่างคลอเรลลาและ ออสซิลลาตอเรีย

ตารางที่ 9 ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเมื่อเวลา 8.00 น. ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตาม  
ถึงทดลองที่คลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอเรลลา (cell/ ml)	ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (mg/l)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
0	5.5 ± 0.2	5.9 ± 0.4	7.0 ± 0.8	5.6 ± 0.4	4.6 ± 0.6
10 <sup>5</sup>	5.4 ± 0.3	5.9 ± 0.3	7.2 ± 0.5	5.4 ± 0.5	4.6 ± 0.6
10 <sup>6</sup>	5.5 ± 0.3	6.0 ± 0.3	7.3 ± 0.5	5.5 ± 0.6	4.6 ± 0.8
10 <sup>7</sup>	5.5 ± 0.2	6.0 ± 0.3	7.2 ± 0.6	5.5 ± 0.5	4.6 ± 0.7

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิลาตอเรีย

ตารางที่ 10 ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเมื่อเวลา 8.00 น. ภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึงทดลองที่ออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (mg/ l)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
0	5.5 ± 0.1	5.8 ± 0.3	6.8 ± 0.7 <sup>a</sup>	5.3 ± 0.5	4.3 ± 1.0
10 <sup>3</sup>	5.6 ± 0.3	6.0 ± 0.2	7.4 ± 0.6 <sup>b</sup>	5.7 ± 0.4	4.9 ± 0.6
10 <sup>4</sup>	5.6 ± 0.2	6.0 ± 0.3	7.3 ± 0.4 <sup>b</sup>	5.5 ± 0.6	4.6 ± 0.5
10 <sup>5</sup>	5.4 ± 0.2	5.9 ± 0.3	7.2 ± 0.6 <sup>ab</sup>	5.4 ± 0.4	4.4 ± 0.6

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิลาตอเรีย

ตารางที่ 11 ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเมื่อเวลา 15.00 น. ภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึงทดลองที่คลอเรลลาแตกต่างกัน 4 ระดับ

คลอเรลลา (cell/ ml)	ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (mg/l)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
0	6.5 ± 0.3	6.8 ± 0.4	7.0 ± 0.6	7.8 ± 0.4	5.4 ± 0.4
10 <sup>5</sup>	6.4 ± 0.5	6.6 ± 0.6	7.0 ± 0.5	7.7 ± 0.4	5.5 ± 0.5
10 <sup>6</sup>	6.4 ± 0.4	6.9 ± 0.5	7.1 ± 0.6	7.8 ± 0.5	5.7 ± 0.5
10 <sup>7</sup>	6.5 ± 0.4	6.8 ± 0.5	7.0 ± 0.5	7.7 ± 0.5	5.5 ± 0.5

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิเจนที่ละลายน้ำ

ตารางที่ 12 ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเมื่อเวลา 15.00 น. ภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึงทดลองที่ออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ

ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (mg/ l)				
	0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
0	6.5 ± 0.3	6.7 ± 0.3	6.7 ± 0.5 <sup>a</sup>	7.6 ± 0.5	5.4 ± 0.4
10 <sup>3</sup>	6.6 ± 0.5	7.0 ± 0.3	7.2 ± 0.6 <sup>b</sup>	7.9 ± 0.4	5.6 ± 0.4
10 <sup>4</sup>	6.4 ± 0.4	6.8 ± 0.6	7.2 ± 0.4 <sup>b</sup>	7.6 ± 0.4	5.4 ± 0.4
10 <sup>5</sup>	6.6 ± 0.2	6.8 ± 0.6	7.0 ± 0.5 <sup>ab</sup>	7.8 ± 0.5	5.6 ± 0.6

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>abc</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิลาตอเรีย



ตารางที่ 13 ค. ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite - nitrogen) ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึงทดลอง ที่มีคลอเรลลา 0 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ ไนไตรท์

คลอเรลลา (cell/ ml)	ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ไนไตรท์ <sup>1</sup> (mg/l)				
		0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
0	0	0.187 ± 0.041 <sup>a</sup>	0.145 ± 0.017 <sup>a</sup>	0.132 ± 0.125 <sup>a</sup>	0.404 ± 0.391 <sup>a</sup>	0.848 ± 0.285 <sup>a</sup>
	10 <sup>3</sup>	0.348 ± 0.037 <sup>a</sup>	0.325 ± 0.054 <sup>bc</sup>	0.335 ± 0.184 <sup>a</sup>	0.829 ± 0.508 <sup>a</sup>	0.369 ± 0.172 <sup>a</sup>
	10 <sup>4</sup>	0.258 ± 0.068 <sup>a</sup>	0.177 ± 0.042 <sup>ab</sup>	0.350 ± 0.160 <sup>a</sup>	0.908 ± 0.389 <sup>a</sup>	0.658 ± 0.063 <sup>a</sup>
	10 <sup>5</sup>	1.083 ± 0.180 <sup>b</sup>	0.481 ± 0.157 <sup>c</sup>	4.659 ± 2.271 <sup>b</sup>	5.370 ± 0.851 <sup>b</sup>	6.080 ± 0.620 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิลาตอเรีย

สถาบันวิทยบริการ  
 าลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 ค. ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite - nitrogen) ภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึงทดลอง ที่มีคลอเรลลา  $10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ ไนไตรท์

คลอเรลลา (cell/ ml)	ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ไนไตรท์ <sup>1</sup> (mg/ l)				
		0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
$10^5$	0	$0.120 \pm 0.016^a$	$0.081 \pm 0.020^a$	$0.149 \pm 0.049^a$	$0.900 \pm 0.170^a$	$1.137 \pm 0.087^a$
	$10^3$	$0.210 \pm 0.110^a$	$0.196 \pm 0.046^a$	$0.210 \pm 0.069^a$	$0.658 \pm 0.358^a$	$0.509 \pm 0.080^a$
	$10^4$	$0.202 \pm 0.092^a$	$0.139 \pm 0.033^a$	$0.378 \pm 0.207^a$	$1.024 \pm 0.231^a$	$1.298 \pm 0.201^a$
	$10^5$	$1.145 \pm 0.054^b$	$0.456 \pm 0.124^b$	$4.730 \pm 1.104^b$	$5.874 \pm 0.023^b$	$7.018 \pm 1.061^b$

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิลาตอเรีย

ตารางที่ 15 ค. ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite - nitrogen) ภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึงทดลอง ที่มีคลอเรลลา  $10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ ไนไตรท์

คลอเรลลา (cell/ ml)	ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ไนไตรท์ <sup>1</sup> (mg/l)				
		0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
$10^6$	0	0.224 ± 0.041 <sup>a</sup>	0.269 ± 0.085 <sup>a</sup>	0.517 ± 0.495 <sup>a</sup>	0.981 ± 0.117 <sup>a</sup>	0.451 ± 365 <sup>a</sup>
	$10^3$	0.263 ± 0.029 <sup>a</sup>	0.196 ± 0.023 <sup>a</sup>	0.122 ± 0.035 <sup>a</sup>	0.243 ± 0.163 <sup>a</sup>	0.529 ± 0.060 <sup>a</sup>
	$10^4$	0.245 ± 0.065 <sup>a</sup>	0.073 ± 0.036 <sup>b</sup>	0.233 ± 0.088 <sup>a</sup>	0.700 ± 0.350 <sup>a</sup>	1.166 ± 0.608 <sup>a</sup>
	$10^5$	1.179 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.879 ± 0.026 <sup>c</sup>	6.122 ± 0.254 <sup>b</sup>	5.875 ± 0.072 <sup>b</sup>	5.628 ± 0.390 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิลาตอเรีย

ตารางที่ 16 ค. ปริมาณไนไตรท์ (Nitrite - nitrogen) ภายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคต่อกุ้งกุลาดำ ณ วันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 ของการทดลอง โดยแยกตามถึงทดลอง ที่มีคลอเรลลา $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีออกซิลาตอเรียแตกต่างกัน 4 ระดับ เมื่อพบความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลา และออกซิลาตอเรียต่อ ไนไตรท์

คลอเรลลา (cell/ ml)	ออกซิลาตอเรีย (cell/ ml)	ไนไตรท์ <sup>1</sup> (mg/l)				
		0 วัน	2 วัน	4 วัน	6 วัน	8 วัน
$10^7$	0	0.941 ± 0.041 <sup>a</sup>	1.065 ± 0.047 <sup>a</sup>	0.988 ± 0.240 <sup>a</sup>	0.848 ± 0.295 <sup>a</sup>	0.327 ± 0.039 <sup>a</sup>
	$10^3$	0.697 ± 0.079 <sup>a</sup>	0.687 ± 0.165 <sup>b</sup>	1.071 ± 0.078 <sup>a</sup>	1.211 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.638 ± 0.008 <sup>a</sup>
	$10^4$	0.915 ± 0.149 <sup>a</sup>	0.248 ± 0.082 <sup>c</sup>	2.199 ± 0.370 <sup>b</sup>	4.591 ± 0.796 <sup>b</sup>	6.983 ± 1.377 <sup>b</sup>
	$10^5$	1.171 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.963 ± 0.100 <sup>a</sup>	6.364 ± 0.124 <sup>c</sup>	5.999 ± 0.069 <sup>c</sup>	5.634 ± 0.238 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

<sup>a b c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\* เวลาที่มีความสัมพันธ์ร่วมระหว่างคลอเรลลาและ ออกซิลาตอเรีย

## ประวัติผู้เขียน

นายพลศักดิ์ พัทพ์เมฆ เกิดเมื่อวันที่ 30 พฤศจิกายน พ.ศ. 2516 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการประมง) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี เมื่อปี 2538 เข้าทำงานในตำแหน่งพนักงานวิจัย ศูนย์วิจัยการจัดการคุณภาพน้ำ บริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) ต่อมาในปีการศึกษา 2540 จึงขอลาออกเพื่อเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2540 สำเร็จการศึกษาเมื่อภาคปลาย ปีการศึกษา 2543



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย