สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การแพร่กระจายและการถ่ายทอดเชื้อไวรัสระหว่างกุ้งขาวกับกุ้งพื้นเมืองในลุ่มแม่น้ำบางปะกง

Distribution and transmission of virus diseases between *Litopenaeus vannamei* and native shrimp species in Bangpakong Watershed

โดย

ผศ.ดร. ปภาศิริ บาร์เนท

ดร. วันศุกร์ เสนานาญ

ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

นาย จรัญ วงษ์วิวัฒนาวุธิ

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจังหวัดฉะเชิงเทรา กรมประมง

งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2548 - 2550

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

Bk 0102724
22 มิ.ย. 2552
249020

เริ่มบริการ
23 มี.ค. 2552

บทคัดย่อ

หนึ่งในปัญหาผลกระทบทางนิเวศน์ระยะสั้นที่เกิดจากการนำสัตว์ต่างถิ่นเข้ามาสู่การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คือการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรคต่างถิ่นสู่สัตว์ท้องถิ่น และ การเป็นพาหะในการเพิ่มจำนวนเชื้อท้องถิ่นในแหล่งน้ำธรรมชาติ ไวรัสทอร่า (Taura Syndrome Virus) เป็นเชื้อจำเพาะและก่อการตายในกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) และ เชื้อ White Spot Syndrome Virus (WSSV) และ Yellow Head Virus (YHV) เป็นเชื้อท้องถิ่นที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับอุตสาหกรรมกุ้งทะเลของไทย ประเทศไทยมีการนำกุ้งขาวเข้ามาเพื่อการเพาะเลี้ยงตั้งแต่ปีพศ. 2541 แม้ว่าจะมีระเบียบควบคุมการนำเข้ากุ้งขาวที่ต้องปลอดเชื้อก่อโรคก็ตาม ยังมีการรายงานการระบาดของไวรัสทอร่าในกุ้งขาวที่เลี้ยงในประเทศ ไทยเมื่อปีพศ. 2546 การศึกษาในครั้งนี้ได้พยายามอธิบายรูปแบบในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสต่างถิ่น (Taura Syndrome Virus, TSV) จากกุ้งขาวไปยังกุ้งและสัตว์น้ำท้องถิ่น และการถ่ายทอดเชื้อที่ปรากฏในกุ้งท้องถิ่นของไทย (WSSV และ YHV) ไปยังกุ้งขาว การศึกษาแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ (1) การสำรวจไวรัสสามชนิด คือ TSV, WSSV และ YHV ในกุ้งพ่อแม่พันธุ์ที่จับจากธรรมชาติของอ่าวไทย และกุ้งพื้นเมือง ในแม่น้ำบางปะกง (2) การตรวจสอบการปรากฏของไวรัสทั้งสามชนิดในกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงในฟาร์ม และ (3) การทดลองการถ่ายทอดเชื้อจากกุ้งที่เป็นโรคไปสู่กุ้งชนิดใหม่ในห้องปฏิบัติการผ่านทางน้ำ ที่ความเค็ม 10 ppt (ไวรัสทั้งสามชนิดในกุ้งกุลาดำ กุ้งก้ามกราม และกุ้งขาว) และ โดยการฉีดและผ่านทางน้ำ ที่สภาพความเค็มสูง (25 ppt) และ ความเค็มต่ำ (5 ppt) (เฉพาะการรับเชื้อ WSSV และ YHV ของกุ้งขาว)

สำรวจเชื้อไวรัสทั้งสามชนิดในประชากรสัตว์น้ำตามธรรมชาติ และ ในฟาร์มในช่วงฤดูแล้ง และฤดูฝน ของปี พ.ศ. 2548 ถึงปี พ.ศ. 2550 สำหรับการตรวจไวรัส TSV จะใช้เทคนิค RT-PCR ของชุดทดสอบ IQ2000™ TSV ส่วนการตรวจ WSSV และ YHV ใช้เทคนิค Immuno dot blot โดย monoclonal antibody ผลการตรวจไวรัสในพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่จับจากอ่าวไทย (30 ตัวแต่ละฤดูกาล รวมจำนวนทั้งสิ้น 250 ตัวอย่าง) พบไวรัส TSV, WSSV และYHV ปริมาณ 13.6, 22 และ 8 % ของตัวอย่างกุ้งที่ตรวจสอบทั้งหมด ตามลำดับ ส่วนในพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วยจากอ่าวไทย จำนวนทั้งสิ้น 54 ตัวอย่าง พบไวรัส TSV WSSV และ YHV ปริมาณ 7.4, 18.5 และ 13 % ตามลำดับ สำหรับผลการตรวจการปรากฏตลอด 3 ปี ของไวรัสในกุ้งธรรมชาติที่จับจากแม่น้ำบางปะกง ซึ่งเป็นกุ้งพื้นเมือง 9 ชนิดได้แก่ *Macrobranchium rosenbergii*, *Penaeus monodon*, *P. semisucatus*, *P. merguiensis*, *Metapenaeus affinis*, *M. brevicornis*, *M. ensis*, *M. tenuipes* and *Parapenopsis hungerfordi* มีเปอร์เซ็นต์การพบไวรัส TSV, WSSV และ YHV เท่ากับ 12.20% (+82/672 ตัว) 13.44% (+134/997 ตัว) และ 14.24% (+142/997 ตัว) ตามลำดับ โดยมีแนวโน้มตรวจพบช่วงฤดูแล้ง มากกว่าฤดูฝน นอกจากนี้ ยังสามารถพบไวรัสทั้งสามชนิดได้ในกุ้งขาวจับจากธรรมชาติ และพบเชื้อ TSV ได้ใน หอยแมลงภู่ ปูม้า และ ปลากะพงขาว จากปากแม่น้ำบางปะกงและชายฝั่งจังหวัดชลบุรี การตรวจไวรัสจากกุ้งเลี้ยงในฟาร์มจังหวัดฉะเชิงเทรา พบไวรัสทั้งสาม

ชนิด ทั้งในกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกราม ไม่ว่าจะเลี้ยงชนิดเดียว หรือเลี้ยงหลายชนิดในบ่อเดียวกัน เปอร์เซ็นต์การพบไวรัสในกุ้งที่เลี้ยงในฤดูแล้งจะสูงกว่าในฤดูฝน การศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงการแพร่กระจายของไวรัส TSV ต่อกุ้งท้องถิ่นได้หลายชนิดและสัตว์ทะเลบางชนิดของประเทศไทย และกุ้งขาวเองก็ยอมรับไวรัสท้องถิ่นของประเทศไทย ดังนั้นการเฝ้าระวังการขยายตัวและการเพิ่มความรุนแรงของไวรัสทั้งสามชนิด ในกุ้งพื้นเมืองในแม่น้ำบางปะกง จึงมีบทบาทเพื่อการอนุรักษ์สัตว์น้ำอย่างยั่งยืน

การทดลองศึกษาความสามารถในการถ่ายทอดไวรัสสามชนิด จากกุ้งติดเชื้อไปยังกุ้งชนิดใหม่ พบว่าที่ความเค็ม 10 ppt กุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกราม ยอมรับไวรัส TSV จากกุ้งขาวผ่านทางน้ำในเปอร์เซ็นต์ต่ำ (2 – 9 %) และไม่มีการตาย ในขณะที่ กุ้งขาวยอมรับเชื้อ WSSV และ YHV และมีการตายจากไวรัส WSSV (64%) และ YHV (91%) ในการทดลองที่ความเค็ม 5 ppt และ 25 ppt พบว่าทั้งการฉีดและผ่านทางน้ำของเชื้อ WSSV และ YHV ก่อการตายในกุ้งขาวทั้งหมด ที่ทั้งสองความเค็ม โดยกุ้งขาวตายติดต่อกันหมดภายใน 2-3 วันโดยวิธีฉีด แต่เมื่อผ่านทางน้ำกุ้งขาวจะรับเชื้อภายใน 24-72 ชั่วโมง และตายหมดภายใน 13-15 วัน และ14-22 วัน ที่ความเค็ม 5 และ 25 ppt ตามลำดับ

Abstract

One of the short-term ecological effects of an alien species introduced for aquaculture is the emergence of alien pathogens in the naïve milieu and possible infection of native species. In addition, alien species may be a carrier of native pathogens. Since the early 1990s, Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) has been imported to many Asian countries for aquaculture, including Thailand. Despite Thailand's regulations on importing only pathogen-free broodstocks, the marine shrimp industry experienced outbreaks of Taura Syndrome Virus (TSV), a pathogen specific to *L. vannamei*, in 2003. White Spot Syndrome Virus (WSSV) and Yellow Head Virus (YHV) are pathogens native to Thailand; they have caused mass mortalities in black tiger prawn (*Penaeus monodon*) aquaculture. Our study attempted to describe the patterns of pathogen spread and transmission by conducting series of studies: (1) survey of the spread of TSV, WSSV and YHV in local populations of native aquatic species in the Bangpakong River and the Gulf of Thailand; (2) survey of the spread of the three pathogens in farmed *L. vannamei*, *Penaeus monodon* and *Macrobrachium resenbergii* in the Bangpakong River area; and (3) experiments describing pathogen transmission from diseased individuals to a new species via water at 10 ppt (a normal salinity for farming Pacific white shrimp; three pathogens and three shrimp species) and via injection and water at 5 ppt and 25 ppt (susceptibility of white shrimp to WSSV and YHV infection).

We examined the occurrence of TSV, WSSV and YHV in local populations of local shrimp and aquatic species in the Bangpakong estuary, and the Gulf of Thailand as well as in white shrimp in farms during the wet and dry seasons of 2005 and 2007. For the Gulf of Thailand samples, we focused on examining populations of *P. monodon* and *P. merguiensis* as they provided broodstock for aquaculture. We detected the presence of TSV using nested RT-PCR (IQ2000™ TSV Detection and Prevention System). From a total of 250 *P. monodon* adults (n =30 individuals per season; 3 years), an average TSV WSSV and YHV occurrence was 13.6, 22 and 8 %, respectively. From a total of 54 *P. merguiensis* adults (3 years), an average TSV WSSV and YHV occurrence was 7.4, 18.5 and 13 %, respectively. All three viruses were found in 9 species of native shrimp, namely *Macrobranchium rosenbergii*, *Penaeus monodon*, *P. semisucatus*, *P. merguiensis*, *Metapenaeus affinis*, *M. brevicornis*, *M. ensis*, *M. tenuipes* and *Parapenopsis hungerfordi*. An average TSV WSSV and YHV prevalence in these species in over all 3 years was 12.20% (+82/672 shrimp) 13.44% (+134/997 shrimp) and 14.24% (+142/997 shrimp) respectively. We also detected the presence of TSV in green mussel, blue swimming crab and sea bass. All three viruses were found in *L. vannamei*, *P. monodon* and *Macrobranchium rosenbergii* farmed as

mono- and polyculture. For all viruses, we observed a similar trend with the highest occurrence of the viruses in the dry seasons. The presence of the three viruses in several wild shrimp species raises a concern over the increased virulence of this pathogen, leading to outbreaks in local shrimp species. Therefore, a long-term monitoring program for overall health of native shrimp species may be needed to ensure appropriate management and conservation strategies.

A cohabitation experiment has shown a successful horizontal transmission of TSV, WSSV, and YHV through water at 10 ppt. In *P. monodon* and *M. rosenbergii,* the TSV infection rate ranged from 2-9% without mortality. However, the mortality rate of infected *L. vannamei* by WSSV and YHV was at 64% and 91%, respectively. Susceptibility and mortality of *L. vannamei* to WSSV and YHV was similar when the shrimp exposed to viruses by viral injection and immersion at two extreme salinity conditions (5 ppt and 25 ppt). By viral injection, both viruses caused 100% death in *L. vannamei* within 2-3 days at both salinity levels. By immersion, we detected the presence of the viruses in *L. vannamei* within 48 – 72 hours and the viruses led to 100% death within 13-15 days and 14-22 days at 5 ppt and 25 ppt, respectively.

คำขอบคุณ

การศึกษาเรื่องการแพร่กระจายและการถ่ายทอดเชื้อไวรัสระหว่างกุ้งขาวกับกุ้งพื้นเมืองในลุ่มแม่น้ำบางปะกงนี้ เป็นโครงการต่อเนื่อง 3 ปี ระหว่างปี 2548 ถึง 2550 สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบคุณภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ได้ให้สถานที่ทดลอง วิเคราะห์ผลทางห้องปฏิบัติการ ฝ่ายวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพา ที่แจ้งข้อมูล จัดเตรียมเอกสารทั้งสามปี และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช) อนุเคราะห์เงินทุนวิจัยจัดสรรผ่านเงินงบประมาณแผ่นดิน ขอขอบคุณ ศาสตรจารย์ ดร. ไพศาล สิทธิกรกุล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่อนุเคราะห์โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลือง ขอขอบคุณข้อมูลและความร่วมมือจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจังหวัดฉะเชิงเทรา กรมประมง ขอขอบคุณนักศึกษาหลายท่านที่ช่วยเก็บตัวอย่างกุ้งจากพื้นที่ งานทดลอง และ ส่วนหนึ่งก็เป็นงานปัญหาพิเศษ ทั้งระดับปริญญาตรี และงานวิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา มีรายชื่อดังนี้ นางสาวอรวรรณ คุรุรัตน์ นายอมรเทพ โชติช่วง นายเอกชัย ดำปาน นายอับดุลเลาะห์ สลีฝัน นายยั่งยืน แซ่ลิ้ม นายสิทธิพร ศรชัย นายขวัญชัย ปากน้ำ

สารบัญ

		หน้า
บทที่ 1	ความสำคัญในการวิจัย	12
บทที่ 2	การสำรวจเอกสาร	
	ระบบนิเวศน์และทรัพยากรสัตว์น้ำที่สำคัญในแม่น้ำบางปะกง	15
	ความเป็นมาและปัญหาของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ	18
	ชีววิทยากุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) สัตว์น้ำต่างถิ่น	19
	ประวัติการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย	20
	อันตรายจากสัตว์น้ำต่างถิ่น	22
	โรคจากเชื้อไวรัสสามชนิดที่สร้างความเสียหายต่ออุตสาหกรรมกุ้งทะเล	22
	การระบาดของโรคทอร่า	29
บทที่ 3	อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	42
บทที่ 4	ผลการทดลอง	
	ตอนที่ 1 ผลการแพร่กระจายของเชื้อ Taura Syndrome Virus, White Spot Syndrome Virus, Yellow Head Virus ในกุ้งเลี้ยงและกุ้งพื้นเมือง ในลุ่มแม่น้ำบางปะกง สัตว์ทะเล และพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่จับจากอ่าวไทย	56
	การตรวจไวรัสในพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจับจากอ่าวไทย	56
	การตรวจไวรัสในพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วยและกุ้งกุลาลายจับจากอ่าวไทย	59
	การตรวจไวรัสจากกุ้งพื้นเมืองชนิดต่าง และ กุ้งขาวในลุ่มแม่น้ำบางปะกง	60
	การตรวจไวรัส TSV จากสัตว์ทะเลชนิดต่าง ในลุ่มแม่น้ำบางปะกง และแนวชายฝั่งจังหวัดชลบุรี	76
	การตรวจไวรัสจากกุ้งขาวและกุ้งพื้นเมืองที่เลี้ยงในฟาร์มจังหวัดฉะเชิงเทรา	80
	ตอนที่ 2 ความรุนแรงในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส Taura syndrome virus, White Spot Syndrome Virus และ Yellow Head Virus ระหว่างกุ้งขาว กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม	88
	การทดลองการถ่ายทอดเชื้อไวรัสระหว่างกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ กับ กุ้งก้ามกรามผ่านทางน้ำที่ความเค็ม 10 ppt	88
	การยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลืองในกุ้งขาวที่เลี้ยง ในความเค็ม 5 ppt และ 25 ppt	92
บทที่ 5	วิจารณ์ผลการทดลอง	99
เอกสารอ้างอิง		104

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
บทที่ 2		
2.1	ชนิดของสัตว์น้ำขนาดเล็กที่พบในระบบนิเวศน้ำกร่อยบางปะกงตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงตุลาคม พ.ศ. 2547	17
2.2	แสดงการเกิดการระบาดของโรคทอร่าในประเทศต่าง ๆ	29
2.3	การศึกษาโรคทอร่าในฟาร์มกุ้ง รัฐ Sinaloa โดยแสดง ปีที่ทำการศึกษา, เขต, จำนวนตัวอย่าง และวิธีการวิเคราะห์	30
2.4	การศึกษาโรคทอร่าในฟาร์มกุ้ง รัฐ Sinaloa จากปี 2539-2541	31
2.5	การยอมรับเชื้อทอร่าในสัตว์น้ำพื้นเมืองของประเทศไทย	36
2.6	การยอมรับเชื้อ IHHNV ในสัตว์น้ำพื้นเมืองของประเทศไทย	37
บทที่ 4		
4.1	ผลการตรวจไวรัสสามชนิดในพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่จับจากเรือประมงอวนลากในอ่าวไทย	57
4.2	ผลการตรวจไวรัสสามชนิดในพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วยและกุ้งกุลาลายที่จับจากเรือประมงอวนลากในอ่าวไทย	59
4.3	Prevalence of TSV in wild-caught shrimp of the Bangpakong estuary during 2005-2007	62
4.4	Prevalence of TSV in wild-caught shrimp of dry season, 2005 from the Bangpakong estuary	63
4.5	Prevalence of TSV in wild-caught shrimp during2006 from the Bangpakong estuary	64
4.6	Prevalence of TSV in wild-caught shrimp of dry season, 2007 from the Bangpakong estuary	65
4.7	Prevalence of WSSV in wild-caught shrimp of the Bangpakong estuary during 2005-2007	66
4.8	Prevalence of WSSV in wild-caught shrimp of dry season, 2005 from the Bangpakong estuary	67
4.9	Prevalence of WSSV in wild-caught shrimp during 2006 from the Bangpakong estuary	68
4.10	Prevalence of WSSV in wild-caught shrimp of dry season, 2007 from the Bangpakong estuary	70
4.11	Prevalence of YHV in wild-caught shrimp of the Bangpakong estuary during 2005-2007	71

ตารางที่		หน้า
4.12	Prevalence of YHV in wild-caught shrimp of dry season, 2005 from the Bangpakong estuary	72
4.13	Prevalence of YHV in wild-caught shrimp during 2006 from the Bangpakong estuary	73
4.14	Prevalence of YHV in wild-caught shrimp of dry season, 2007 from the Bangpakong estuary	75
4.15	ผลการตรวจเชื้อ Taura Syndrome Virus ด้วยเทคนิค RT-PCR ในสัตว์ทะเลชนิดต่างๆ	76
4.16	ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งเลี้ยงในช่วงฤดูแล้ง 2547 และ ช่วงฤดูฝนปี 2548	81
4.17	ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งเลี้ยงและปลาบางชนิดในช่วงฤดูแล้ง 2549	81
4.18	ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งขาว กุ้งก้ามกรามสำรวจจากฟาร์มเลี้ยงช่วงฤดูฝน 2549	82
4.19	สรุปผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งเลี้ยงในช่วงฤดูแล้ง 2550	83
4.20	ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งขาว กุ้งก้ามกรามสำรวจจากฟาร์มอำเภอเมือง (I)	84
4.21	ผลการตรวจไวรัสไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งขาว กุ้งก้ามกรามสำรวจจากฟาร์มอำเภอบ้านโพธิ์ (II)	85
4.22	ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ กุ้งก้ามกรามสำรวจจากฟาร์มอำเภอบางคล้า (III)	86
4.23	ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิดจากกุ้งเลี้ยงเศรษฐกิจคือกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และกุ้งก้ามกราม (ไม่แยกชนิด) ในฟาร์มบ่อดินในแต่ละฤดูกาลตลอด 3 ปี	87
4.24	ระยะเวลาและการตรวจพบไวรัส TSV ในกุ้งทดลองแต่ละชนิด	89
4.25	ระยะเวลาและการตรวจพบไวรัส WSSV ในกุ้งทดลองแต่ละชนิด	90
4.26	ระยะเวลาและการตรวจพบไวรัส YHV ในกุ้งทดลองแต่ละชนิด	91
4.27	อัตราการตายรวมของกุ้งระหว่างการทดลองการถ่ายทอดเชื้อไวรัส TSV, WSSV, และ YHV	91
4.28	เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อและการถ่ายทอดไวรัส TSV, WSSV และ YHV ในกุ้งขาว กุ้งกุลาดำและ กุ้งก้ามกรามทดลอง	91
4.29	การยอมรับไวรัสหัวเหลืองในกุ้งขาวทดลองด้วยวิธีฉีดในความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	92
4.30	การยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งขาวทดลองด้วยวิธีฉีดในความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	92
4.31	อัตรารอดของกุ้งขาวทดลองเมื่อใส่เชื้อไวรัสหัวเหลือง ในน้ำเลี้ยง	94
4.32	การตรวจหาเชื้อไวรัสหัวเหลืองในระยางค์กุ้งขาวทดลองหลังการใส่ไวรัสในน้ำเลี้ยง	95
4.33	อัตรารอดของกุ้งขาวทดลองเมื่อใส่ไวรัสตัวแดงดวงขาวในน้ำเลี้ยง	97
4.34	การตรวจหาเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในรยางค์กุ้งขาวทดลองหลังการใส่ไวรัสในน้ำเลี้ยง	98

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
บทที่ 2		
2.1	ลักษณะดวงขาวใต้เปลือกของกุ้งกุลาดำที่เป็นโรคตัวแดงดวงขาว	24
2.2	ลักษณะกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อไวรัสหัวเหลือง	26
2.3	กุ้งขาวเลี้ยงในบ่อดินที่เป็นโรคทอร่า	27
2.4	กุ้งขาวทีเป็นโรคทอร่า สำรวจพบจากฟาร์มเลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทรา	28
2.5	ลักษณะจุดดำที่พบในกุ้งขาวจากรัฐเท็กซัสที่ติดเชื้อโรคทอร่า	28
2.6	แผนที่แสดงพื้นที่ที่ทำการศึกษา ในรัฐ Sinaloa	30
2.7	เปอร์เซ็นต์การเลี้ยงกุ้งขาวตั้งแต่ปีพ.ศ. 2539-2541จากฟาร์มกุ้งในรัฐ Sinaloa	32
2.8	Hematoxylin and eosin section ของ *Penaeus setiferu* ที่ได้รับเชื้อโรคทอร่า	33
2.9	เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกุ้งขาวระยะ postlarvae ที่ได้รับเชื้อตัวแดงดวงขาวทั้ง 3 วิธี	38
2.10	เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกุ้งขาวขนาด 1 กรัม	38
2.11	ผลการตรวจสอบโรคทอร่าด้วยวิธี RT-PCR	39
2.12	การทดลองแบบ one-step และ two-step ด้วยวิธีการ RT-PCR	39
บทที่ 3		
3.1	การสุ่มเก็บตัวอย่างกุ้งจากแม่น้ำบางปะกง จากอำเภอบางคล้าถึงปากแม่น้ำ มีความยาวประมาณ 69 กิโลเมตร ถูกแบ่งออกเป็น 5 สถานีในการจับกุ้งจากธรรมชาติ	51
3.2	โพงพาง (Stow nets) วางใต้น้ำเพื่อจับกุ้งในแม่น้ำบางปะกง	51
3.3	อวนรุน (Trawlers) ใช้จับกุ้งที่ปากแม่น้ำบางปะกง อำเภอท่าข้าม จังหวัดฉะเชิงเทรา	52
3.4	กุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อดินจากฟาร์มกุ้งจาก อำเภอบ้านโพธิ์ จังหวัดฉะเชิงเทรา	52
3.5	กุ้งขาวและก้ามกรามถูกคัดแยกหลังการเก็บเกี่ยวจากบ่อดิน	52
3.6	กุ้งท้องถิ่นชนิดต่างๆ ที่จับได้จากแม่น้ำบางปะกง	53
3.7	พ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วยและกุ้งกุลาลาย ที่จับจากเรือชาวประมงในอ่าวไทย	53
3.8	ลำดับคู่เบสของผลผลิตจาก RT-PCR ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างกุ้ง กุ้งที่มีไวรัส TSV จะปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 284 bp (เครื่องหมาย + ในแต่ละแถว) จากแผ่นวุ้นอะกาโรส	54
3.9	แสดงผลบนกระดาษ Nitrocellulose membrane บนจุดที่มีการเปลี่ยนสีเป็นบวกในตัวอย่างกุ้งที่มีไวรัส ไวรัส WSSV หรือ YHV เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่มีไวรัส (P) และไม่มีไวรัส (N)	54
3.10	กุ้งขาว (บน) กุ้งกุลาดำ (กลาง) และกุ้งก้ามกราม (ล่าง) ที่ทดลองเลี้ยงการถ่ายทอดไวรัส TSV, WSSV และ YHV	55

ภาพที่		หน้า
3.11	ระบบถังทดลองเลี้ยงกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกราม ระบบจะถูกคลุมด้วยพลาสติก	55
3.12	ระบบถังทดลองเลี้ยงกุ้ง ถูกแบ่งออก เป็นสามช่องโดยมีตะแกรงกั้นไม่ให้กุ้งแต่ละชนิดปนกัน	55
3.13	กระชังถูกเย็บและแบ่งย่อยเป็น 20 ช่อง	55
บทที่ 4		
4.1	เปอร์เซ็นต์การพบไวรัส TSV ไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV ในพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ	58
4.2	เปอร์เซ็นต์การพบไวรัส TSV ไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV ในพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วย	60
4.3	เปอร์เซ็นต์การพบไวรัส TSV ไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV ในกุ้งพื้นเมืองจับจากแม่น้ำบางปะกง	61
4.4	เปอร์เซ็นต์การพบไวรัส TSV ไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV ในกุ้งขาวจับจากแม่น้ำบางปะกง	62
4.5	แถบผลผลิต PCR ที่แสดงเชื้อ TSV ในปลากะพงขาวโดยเทคนิค RT-PCR	78
4.6	แถบผลผลิต PCR ที่แสดงเชื้อ TSV ในปูม้า และ หอยแมลงภู่ โดยเทคนิค RT-PCR	79
4.7	อัตรารอดของกุ้งขาวทดลองเมื่อใส่เชื้อไวรัสหัวเหลือง ในน้ำเลี้ยง	94
4.8	อัตรารอดของกุ้งขาวทดลองเมื่อใส่ไวรัสตัวแดงดวงขาวในน้ำเลี้ยง	97

บทที่ 1
ความสำคัญในการวิจัย

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เป็นกุ้งทะเลที่เป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศไทยมานาน แต่ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาการเลี้ยงกุ้งกุลาดำต้องประสบกับปัญหาหลายประการได้แก่ การระบาดของโรคตัวแดงดวงขาว (White Spot Syndrome Virus: WSSV) และโรคหัวเหลือง (Yellow Head Virus: YHV) สิ่งแวดล้อมเสื่อมโทรม ราคากุ้งตกต่ำ และปัญหาการขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่ต้องจับจากธรรมชาติ (เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์, 2547) จากปัญหาทั้งหมดทำให้มีการนำพันธุ์กุ้งชนิดใหม่เข้ามาจากต่างประเทศเพื่อเลี้ยงทดแทนโดยเฉพาะกุ้งขาวหรือกุ้งขาวแปซิฟิค (Paciffic white shrimp : *Litopenaeus vannamei*) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดแถบชายฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิคตั้งแต่ประเทศเม็กซิโกถึงเปรู พ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวได้ถูกนำเข้าในประเทศไทยในช่วง ปี 2545 เนื่องจากกุ้งขาวเลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว และสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ดี (ปิยบุตร วานิชพงษ์พันธุ์, 2545) ทำให้มีการลักลอบนำเข้ากุ้งขาวมาเลี้ยงทดแทนกุ้งกุลาดำในช่วงปี พ.ศ. 2540 ซึ่งปราศจากการควบคุมและกักกันโรค (มาลินี วิชชาวุธ และ สมยศ สิทธิโชคพันธ์, 2548) และปัจจุบันการอนุบาลและการเลี้ยงกุ้งขาวมีความนิยมอย่างแพร่หลายของเกษตรกร ทำให้การเลี้ยงกุ้งพื้นเมืองในประเทศไทย เช่น กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม มีผลกระทบได้ ปัญหาของการนำสัตว์ชนิดต่างถิ่นคือกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงจะเกี่ยวข้องกับการนำโรคชนิดใหม่เข้ามา และกุ้งขาวจะรับเชื้อไวรัสจากกุ้งพื้นเมืองและเกิดโรคถึงตายได้ หรืออาจรับเชื้อแต่ไม่แสดงอาการของโรค ซึ่งสามารถนำเชื้อไปแพร่ต่อกุ้งพื้นเมืองแหล่งอื่นได้ อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาวเคยเกิดความเสียหายมาแล้วในทวีปอเมริกา จากการระบาดของโรคทอร่า (Taura Syndrome Virus : TSV) ทำให้กุ้งขาวที่ได้รับเชื้อมีอัตราการตายสูงถึง 90% นอกจากนี้กุ้ง *Penaeus. setiferus* ซึ่งเป็นกุ้งพื้นเมืองในประเทศเม็กซิโก มีอัตราการตาย 100% ภายใน 7 วันหลังจากได้รับเชื้อไวรัสทอร่า (Overstreet et al., 1997) และยังเป็นเชื้อที่ก่อโรครุนแรงในกุ้งสกุล *Penaeus* หลายชนิดอาทิเช่น *P. schmitti, P. stylirostris* , *P. aztecus*, *P. duorarum, P. chinensis, P. japonicus* และ *P. monodon* (FAO, 2005) การนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทยมีความปลอดภัย มีผลกระทบต่อผลผลิตและอัตรารอดของของกุ้งพื้นเมืองในไทยได้หรือไม่นั้น รวมทั้งระบบนิเวศน์บริเวณแหล่งเลี้ยงกุ้งซึ่งเป็นโจทย์ปัญหาของการวิจัยในครั้งนี้ ในการศึกษาครั้งนี้จะทำการศึกษาในเขตพื้นที่ลุ่มแม่น้ำบางปะกง เนื่องจากเป็นแม่น้ำสายหลักของ จ.ฉะเชิงเทรา ที่มีปากแม่น้ำไหลลงสู่อ่าวไทย มีความหลากหลายทางชีวภาพและความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์น้ำขนาดเล็กที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศได้แก่ กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย กุ้งตะกาด กุ้งหัวมัน และกุ้งก้ามกราม (ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน, 2548) และเป็นพื้นที่เพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ซึ่งปัจจุบันได้มีการเลี้ยงกุ้งขาวทดแทนการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นจำนวนมาก

การนำเข้ากุ้งขาวเข้าสู่ประเทศไทยเพื่อการเพาะเลี้ยงเป็นสัตว์เศรษฐกิจ จะนำเชื้อไวรัส เช่นไวรัส Taura Syndrome Virus (TSV) เป็นชนิดที่จำเพาะต่อกุ้งขาวเนื่องจากมีการรับเชื้อได้ค่อนข้างสูง (ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2546) ทั้งนี้ยังไม่มีข้อมูลเพียงพอที่กุ้งกุลาดำจะยอมรับไวรัสทอร่ามาก่อน และเมื่อกุ้งขาวถูกนำเข้าสู่ระบบการเลี้ยงในบ่อดิน ก็เริ่มมีการรายงานความเสียหายในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ดังรายงานการระบาดของโรคทอร่า ในฟาร์มเลี้ยงกุ้งกุลาดำใน จังหวัดนครปฐม เป็นสาเหตุให้กุ้งกุลาดำตายประมาณ 10-30 % ภายใน 7-10 วัน (วิศณุ บุญญาวิวัฒน์, 2547) และยังพบกุ้งกุลาดำในจังหวัดฉะเชิงเทรา ราชบุรี ชลบุรี สมุทรสาครและเพชรบุรี ตั้งแต่ระยะโพสลาวาร์จนถึงระยะโตเต็มวัยมีการติดเชื้อไวรัสทอร่า และแสดงอาการป่วยและการตาย (ชัยวุฒิ สุดทองคง, 2547) การใช้เทคนิคการตรวจไวรัสชนิดต่าง ๆ ในกุ้งทะเล ต้องดำเนินการตามกฎของ OIE (2003a) ซึ่งช่วยให้กุ้งขาวมีชีวิตนำเข้าสู่ประเทศไทยเพื่อการเพาะเลี้ยงจะได้ปลอดไวรัส

กุ้งขาวสามารถรับเชื้อไวรัสชนิดอื่น ๆ และเป็นสาเหตุให้กุ้งตายได้เช่นกัน ไวรัสชนิด White Spot Syndrome Virus (WSSV) และ ไวรัส Yellow Head Virus (YHV) เป็นชนิดที่มีการระบาดรุนแรงในกุ้งกุลาดำมานาน ดังนั้นการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทยอาจมีความเสียหายทางผลผลิตได้ ถ้ากุ้งขาวยอมรับไวรัสพื้นเมืองทั้งสองชนิดของไทยหรือไม่ จากการศึกษาของ Perez (2005) พบว่ากุ้งขาวในระยะโพสลาวาร์สามารถรับเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวมีอัตรารอดต่ำ ดังนั้นการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย ซึ่งเกษตรกรมีการสลับเลี้ยงระหว่างกุ้งกุลาดำ และกุ้งขาว ในบางพื้นที่เลี้ยงกุ้งก้ามกราม จึงมีความเสี่ยงอย่างมากที่กุ้งขาวจะเป็นพาหะ และนำโรคใหม่เข้ามาทำความเสียหายต่อกุ้งพื้นเมืองในประเทศไทยได้ บางครั้งกุ้งเลี้ยงอาจติดเชื้อไวรัสหลายชนิดพร้อมกันก็ได้ (co-infection) เนื่องจากมีการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทยได้เพียงไม่กี่ปีที่ผ่านมาจึงควรมีการศึกษาถึงผลกระทบของไวรัวทอร่าในกุ้งขาวมีการแพร่กระจายของไวรัสสู่กุ้งพื้นเมืองในธรรมชาติแล้วหรือ ไวรัสจากกุ้งขาวปนเปื้อนในแหล่งเลี้ยงมากน้อยเพียงใด และแพร่กระจายสู่แม่น้ำบางปะกง และอ่าวไทย หรือไม่ โดยเฉพาะถ้ากุ้งขาวจากบ่อเลี้ยงมีการหลุดรอดสู่แหล่งน้ำธรรมชาติและตั้งประชากรได้ รวมทั้งมีโอกาสถ่ายทอดโรคสู่กุ้งพื้นเมือง ถ้ามีการเลี้ยงสลับกันในบ่อเลี้ยง โดยเฉพาะเขตลุ่มน้ำบางปะกงซึ่งเป็นเขตน้ำกร่อยที่เกษตรกรนิยมเลี้ยงกุ้งขาว กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกรามรวมกัน ทั้งควรทราบถึงโอกาสการปรากฏของเชื้อไวรัสทอร่า ตัวแดงดวงขาวและหัวเหลืองในกุ้งพื้นเมืองจากลุ่มน้ำบางปะกง และพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากอ่าวไทยแต่ละฤดูกาล ในกุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อดิน ซึ่งถ้ามีการเกิดโรคระบาดย่อมส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศไทย

การศึกษาการแพร่กระจายไวรัสระหว่างกุ้งขาว (*L. vannamei*) และกุ้งพื้นเมืองบริเวณแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ในครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อให้ทราบถึงโอกาสการถ่ายทอดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวและหัวเหลืองจากบ่อเลี้ยงที่เคยเกิดการระบาดในกุ้งพื้นเมืองสู่กุ้งขาวที่นำมาเลี้ยงในบ่อดิน และโอกาสการถ่ายทอดเชื้อโรคทอร่าจากกุ้งขาวซึ่งเป็นกุ้งต่างถิ่นสู่กุ้งพื้นเมือง และพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในอ่าวไทยหากเกิดการหลุดรอดสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศไทย ดังนั้นจึงควรมีการเฝ้าระวังการระบาดของโรคทอร่าและการปนเปื้อนของเชื้อในกุ้งกุลาดำเลี้ยงในบ่อดินและกุ้ง

พื้นเมืองชนิดอื่น ๆ ในแหล่งน้ำธรรมชาติ และนำข้อมูลการพบเชื้อไวรัสมาใช้ในการพิจารณาการนำเข้าสัตว์น้ำต่างถิ่นให้เข้มงวด เพื่อลดโอกาสการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสในระบบนิเวศน์และสิ่งแวดล้อม ให้น้อยลง และเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความเสียหายเพิ่มขึ้นต่อสัตว์น้ำพื้นเมืองชนิดอื่น ๆ ของประเทศไทย นอกจากนี้งานวิจัยครั้งนี้จะรายงานผลการทดลองการถ่ายทอดเชื้อไวรัสทอร่าต่างถิ่น และไวรัสพื้นเมืองระหว่างกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และกุ้งก้ามกราม ผลของการศึกษาการแพร่กระจายและการถ่ายทอดเชื้อไวรัสระหว่างกุ้งขาวกับกุ้งพื้นเมืองในลุ่มแม่น้ำบางปะกงในครั้งนี้จะเป็นแนวทางช่วยให้เกษตรกรตระหนักต่อการแพร่กระจายและการระบาดของโรคของเชื้อไวรัสชนิดใหม่ และยังช่วยเสริมข้อมูลช่วงเวลาการถ่ายทอดเชื้อระหว่างกุ้งขาวและกุ้งพื้นเมืองเพื่อให้ทางรัฐบาลหามาตรการในการควบคุมการเกิดโรคระบาดหรือช่วยบรรเทาให้น้อยลงต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1 เพื่อศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อ Taura Syndrome Virus (TSV), White Spot Syndrome Virus (WSSV), Yellow Head Virus (YHV) ในกุ้งเลี้ยงและกุ้งพื้นเมืองในลุ่มแม่น้ำบางปะกง พ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำและแชบ๊วยที่จับจากอ่าวไทย และสัตว์น้ำอาศัยแม่น้ำบางปะกง และตามแนวชาวฝั่งจังหวัดชลบุรี

2 เพื่อศึกษาความรุนแรงในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส Taura syndrome virus, White Spot Syndrome Virus และ Yellow Head Virus ระหว่างกุ้งขาว กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม

ผลที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการ

1. ทำให้ทราบผลกระทบของการนำกุ้งขาวมาเลี้ยงในประเทศไทยในเรื่องความเสี่ยงของการแพร่และกระจายเชื้อไวรัสต่อกุ้งพื้นเมืองและพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในประเทศไทย

2. ตระหนักถึงความรุนแรงและโอกาสการถ่ายทอดเชื้อไวรัสระหว่างกุ้งขาว กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม ถ้าจะมีการเลี้ยงสลับระหว่างกุ้งเลี้ยงทั้งสามชนิดทั้งการอนุบาลลูกกุ้งและการเลี้ยงในบ่อดิน

3. ทราบถึงสถานการณ์การปนเปื้อนของเชื้อไวรัสในพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ และพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วยธรรมชาติที่อาศัยในอ่าวไทย รวมทั้งสัตว์น้ำที่อาศัยแม่น้ำบางปะกง และตามแนวชายฝั่งจังหวัดชลบุรี

4. ตระหนักถึงมีการถ่ายทอดเชื้อโรคระหว่างกุ้งต่างสายพันธุ์เพื่อหามาตรการในการควบคุมโรค

บทที่ 2

เอกสารงานวิจัย

จากการประชุม Shrimp virus disease workshop เมื่อเดือนพฤศจิกายน ปี 2001ที่ New Orleans, LA, USA มีการหยิบยกประเด็นสถานการณ์และแนวโน้มของ exotic shrimp viruses ที่จะมีผลกระทบต่อการเลี้ยงกุ้งในประเทศสหรัฐอเมริกา ผลของที่ประชุมมีความต้องการที่จะเข้าใจมากขึ้นถึงความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นต่อการเลี้ยงกุ้ง ถ้ามีเชื้อไวรัสชนิดอื่นเข้ามาในประเทศ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเชื้อโรคในธรรมชาติได้อย่างไรบ้าง (EPA, 2001) ดังนั้นประเทศไทยจึงควรมีความตื่นตัวและตระหนักต่อการนำกุ้งขาวซึ่งไม่ใช่กุ้งพื้นเมือง เข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย โดยเฉพาะสองฝั่งแม่น้ำบางปะกง ตั้งแต่ปากแม่น้ำขึ้นไปถึงต้นน้ำที่มีการเลี้ยงกุ้งในบ่อดินทั้งกุ้งกุลาดำ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม

ระบบนิเวศน์และทรัพยากรสัตว์น้ำที่สำคัญในแม่น้ำบางปะกง

แม่น้ำบางปะกงเป็นแม่น้ำสายหลักของภาคตะวันออกของประเทศไทย มีต้นกำเนิดจากการรวมตัวของแม่น้ำ 2 สายคือ แม่น้ำปราจีน และแม่น้ำนครนายก ไหลมาบรรจบที่เส้นแบ่งเขต 3 จังหวัดคือ อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก อำเภอบ้านสร้าง จังหวัดปราจีนบุรี และอำเภอบางน้ำเปรี้ยว จังหวัดฉะเชิงเทรา แล้วไหลผ่านพื้นที่ตอนกลางของจังหวัดฉะเชิงเทราตั้งแต่อำเภอบางน้ำเปรี้ยว อำเภอบางคล้า อำเภอเมือง อำเภอบ้านโพธิ์ และไหลลงสู่อ่าวไทยที่อำเภอบางปะกง และรับน้ำจากคลองสาขาที่สำคัญ 2 สายคือ คลองท่าลาด ที่อำเภอบางคล้า และคลองหลวง ที่อำเภอบ้านโพธิ์ แม่น้ำบางปะกงมีความยาวประมาณ 122 กิโลเมตร ครอบคลุมพื้นที่จังหวัดปราจีนบุรี นครนายก ฉะเชิงเทรา และชลบุรีบางส่วนแม่น้ำบางปะกงมีความยาวมากและไหลผ่านหลายพื้นที่จนถึงปากแม่น้ำออกสู่ทะเล ทำให้เป็นแหล่งทรัพยากรที่สำคัญทั้งในระบบนิเวศน์น้ำจืด น้ำกร่อย และป่าชายเลน ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพทั้งชนิดและปริมาณ มีความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรปลาทั้งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม และสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ เป็นแหล่งที่อยู่อาศัย แหล่งอาหาร แหล่งผสมพันธุ์วางไข่และอนุบาลตัวอ่อน เป็นพื้นที่เกษตรกรรมที่สำคัญ ทั้งการเพาะปลูก เลี้ยงสัตว์ ประมง รวมทั้งเป็นแหล่งอุตสาหกรรมที่สำคัญของภาคตะวันออก โดยมีการเพาะเลี้ยงทั้งสัตว์น้ำจืด เช่นปลาน้ำจืด และสัตว์ทะเล เช่นการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ การเลี้ยงปลากะพงในกระชังและการเลี้ยงหอยแมลงภู่เป็นต้น (ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน , 2548)

ระบบนิเวศน์ของลุ่มแม่น้ำบางปะกงจัดเป็นแหล่งทรัพยากรประมงที่มีความสำคัญ เพราะมีความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรกุ้งอย่างมาก ชนิดของกุ้งที่พบจะสะท้อนถึงความเค็มของน้ำ ตามฤดูกาลโดยพบทรัพยากรกุ้ง 14 ชนิด ใน 4 วงศ์ คือ Alpheidae, Palaemonidae, Sergestidae และ Penaeidae และทรัพยากรสัตว์น้ำอื่น ๆ อีก 21 ชนิด ใน 15 วงศ์ ดังตารางที่ 2.1 จำนวนสัตว์น้ำที่จับได้ในฤดูฝนมากกว่าฤดูแล้ง ทรัพยากรกุ้งที่พบในแม่น้ำบางปะกงส่วนใหญ่เป็นกุ้งที่มีความสำคัญ

ทางเศรษฐกิจเช่น กุ้งก้ามกราม (*Macrabranchium rosenbergii*) จัดเป็นกลุ่มเป้าหมายหลักทางการประมงในพื้นที่แห่งนี้ สามารถพบได้ตลอดลำน้ำโดยพบมากในบริเวณน้ำจืดและน้ำกร่อยตอนบน นอกจากนี้ยังพบกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*), กุ้งหัวมัน (*Metapenaeus brevicornis*), และกุ้งตะกาด (*Metapenaeus* spp.) กระจายทั่วไปตลอดลำน้ำทั้งในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน โดยบริเวณน้ำกร่อยตอนล่างพบกุ้งตะกาดมากกว่าในบริเวณอื่นเพราะกุ้งกลุ่มนี้ชอบอาศัยอยู่ในน้ำกร่อยและน้ำเค็ม กุ้งหัวมัน พบปริมาณสูงมากขึ้นตลอดลำน้ำในช่วงฤดูฝน ซึ่งช่วงระยะเวลาดังกล่าวเป็นฤดูวางไข่ของกุ้งกลุ่มนี้ ส่วนกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*) พบได้เฉพาะฤดูแล้งที่ความเค็มรุกเข้าไป ส่วนในช่วงฤดูฝนพบกุ้งชนิดนี้น้อยมากแม้กระทั่งบริเวณปากแม่น้ำในทะเลเนื่องจากความเค็มต่ำมาก ส่วนทรัพยากรสัตว์น้ำอื่น ๆได้แก่ ปู และหมึกชนิดต่าง ๆ ส่วนใหญ่พบปริเวณปากแม่น้ำโดยเฉพาะปูกะตอยพบปริมาณมากในช่วงฤดูแล้ง

จากการศึกษาความหลากหลายของชนิดกุ้งสกุล *Penaeus* ที่พบในอ่าวไทยตอนบนโดยเก็บตัวอย่างจากท่าเทียบเรือ ท่าขึ้นปลา สะพานปลาและตลาด จาก 11 จังหวัดได้แก่ ตราด จันทบุรี ระยอง ชลบุรี ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และกรุงเทพมหานคร ด้วยการวิเคราะห์รูปแบบดีเอ็นเอ โดยใช้ microsatellite markers สามารถจำแนกกุ้งได้ 8 ชนิด ประกอบด้วย *P. monodon* , *P. semisulcatus* , *P. indicus* , *P. merguiensis* , *P. silas* , *P. japonicus* , *P. latisulcatus* และ *P. longistylu* (แขวลี วิบูลย์กิจ, 2545)

จากการศึกษาโครงสร้างของประชากรกุ้งในบริเวณป่าชายเลนปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2540 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2541 เก็บตัวอย่างโดยใช้เรืออวนรุนขนาดเล็กลาก ในช่วงเวลากลางวันและกลางคืน พบกุ้งทั้งหมด 18 ชนิด ได้แก่ กุ้งดีดขัน ครอบครัว Alpheidae สกุล Alpheus ชนิด *Alpheus euphrosyne* และ *A. rapacida* กุ้งฝอยครอบครัว Hippolytidae สกุล *Latreutes* ชนิด *Latreutes mucronatus* ครอบครัว Palaemondiae สกุล *Exopalaemon* ชนิด *Exopalaemon styliferus* (กุ้งหัวมีดโกน) สกุล *Macrobrachium* ชนิด *M. equidens* (กุ้งกระต่อม), *M. mirabile* (กุ้งฝอย) และ *M. rosenbergii* (กุ้งก้ามกราม) กุ้งฝอยสกุล *Palaemon* ชนิด *P. semmelinkii* และ *P. sewelli* ครอบครัว Penaeidae สกุล *Metapenaeus* ชนิด *M. affinis* (กุ้งโอคัก), *M. brevicornis* (กุ้งหัวมัน) และ *M. ensis* (กุ้งตะกาด) สกุล *Parapenaeopsis* ชนิด *P. hungerfordi* (กุ้งปล้อง) และสกุล *Penaeus* ชนิด *P. merguiensis* (กุ้งแชบ๊วย) และ *P. monodon* (กุ้งกุลาดำ) กุ้งเคยครอบครัว Sergestidae สกุล *Acetes* ชนิด *A. indicus*, *A. japonicus* และ *A. vulgaris* โดยกุ้งที่พบเป็นชนิดเด่น คือ กุ้งแชบ๊วย *P. merguiensis* รองลงมาเป็นกุ้งกระต่อม *M. equidens*, กุ้งปล้อง *P. hungerfordi* และกุ้งตะกาด *M. ensis* ตามลำดับ ส่วนกุ้งเคย *A. indicus* และ *A. vulgaris* พบเป็นชนิดเด่นในช่วงกลางคืนเท่านั้น ผลผลิตของกุ้งมีความแตกต่างกันในช่วงเวลากลางวันและกลางคืนโดยผลผลิตของกุ้งในช่วงเวลากลางคืนจะสูงกว่า

ตารางที่ 2.1 ชนิดของสัตว์น้ำขนาดเล็กที่พบในระบบนิเวศน้ำกร่อยบางปะกงตั้งแต่เดือนมกราคมถึงตุลาคม พ.ศ. 2547 (ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน, 2548)

ลำดับ	ชื่อวงศ์	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	พบแพร่กระจาย		
				น้ำจืด	น้ำกร่อย	ทะเล
1	Penaeidae	*Penaeus monodon*	กุ้งกุลาดำ	X	X	X
2		*Penaeus semisulcatus*	กุ้งกุลาลาย			X
3		*Penaeus merguiensis*	กุ้งแชบ๊วย	X	X	X
4		*Litopenaeus vannamei*	กุ้งขาว			X
5		*Metapenaeus brevicornis*	กุ้งหัวมัน	X	X	X
6		*Metapenaeus spp.*	กุ้งตะกาด	X	X	X
7		*Parapenaeopsis sp.*	กุ้งตะเข็บ/กุ้งปล้อง		X	X
8	Sergestidae	*Sergestids*	เคยตาแดง		X	X
9	Palaemonidae	*Macrobrachium mirabile*	กุ้งฝอย	X		
10		*Macrobrachium rosenbergii*	กุ้งก้ามกราม	X	X	X
11		*M. equidens*	กุ้งกะต่อม		X	X
12		*Palaemon spp.*	กุ้งชฎา		X	
13		*Exopalaemon vietnamicus*	กุ้งหัวมันแข็ง เวียดนามชนิดต่างๆ		X	X
14	Alphaeidae	*Alpheus spp.*	กุ้งดีดขัน		X	X

การกระจาย ความชุกชุมและผลผลิตของกุ้งสูงสุดในบริเวณฝั่งบางหญ้าแพรก ปัจจัยสำคัญที่เป็นตัวจำกัดการกระจาย ความชุกชุมและผลผลิตของกุ้งในบริเวณนี้ ได้แก่ ความเค็มของน้ำ โดยพบว่าการกระจาย ความชุกชุมและผลผลิตของกุ้งต่ำสุดในช่วงฤดูฝน พ.ศ. 2540 เมื่อศึกษาการกระจายของกุ้งขนาดต่าง ๆ กัน พบกุ้งอยู่ในระยะวัยรุ่นจนถึงระยะเต็มวัยโดยความชุกชุมของกุ้งในแต่ละวัยแตกต่างกันไปในแต่ละฤดู แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของป่าชายเลนในบริเวณนี้ในแง่ของการเป็นแหล่งอาศัยและอนุบาลของกุ้ง (เกศยา นิลวานิช , 2542)

ความเป็นมาและปัญหาของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

จากการประสบความสำเร็จของกรมประมงในการเพาะขยายพันธุ์กุ้งกุลาดำตั้งแต่ พ.ศ. 2515 ทำให้เกษตรกรเริ่มมีการนำกุ้งไปปล่อยเลี้ยงในบ่อกุ้ง หรือนากุ้งธรรมชาติเพื่อเพิ่มผลผลิตจากระดับ 40-50 กิโลกรัม/ไร่ เป็นมากกว่า 200 กิโลกรัมไร่ และพัฒนาต่อมาจนเป็นการเลี้ยงโดยใช้กุ้งจากโรงเพาะฟักอย่างเดียวในช่วงประมาณ พ.ศ. 2525 และจากการประสบความสำเร็จในการเลี้ยงประกอบกับราคากุ้งที่ขยับตัวสูงขึ้นและการส่งออกขยายตัวอย่างรวดเร็วทำให้เกษตรกรเพิ่มพื้นที่และมีการพัฒนาการเลี้ยงอย่างรวดเร็ว มีการขยายตัวในจังหวัดทางภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ฝั่งอ่าวไทยในช่วงปี พ.ศ. 2528-2531 ทำให้มีผลผลิตออกมาจำนวนมาก จนทำให้ไม่สามารถหาตลาดการส่งออกได้ทัน ส่งผลให้ราคากุ้งตกต่ำเป็นครั้งแรกในช่วงปี พ.ศ. 2532-2533 ทำให้เกษตรกรประสบปัญหาการขาดทุนในแทบทุกพื้นที่โดยเฉพาะฟาร์มขนาดกลางและขนาดใหญ่ หลังจากภาวะราคากุ้งตกต่ำได้ไม่นาน เกษตรกรก็ประสบปัญหาการเกิดโรคไวรัสหัวเหลืองระบาดที่ภาคกลางโดยเฉพาะบริเวณ 3 สมุทร คือ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม และสมุทรปราการ และได้ขยายไปทางภาคตะวันออกและภาคใต้ตามลำดับ ในปีถัดมาก็เกิดปัญหาการระบาดของโรคตัวแดงดวงขาวทำให้เกิดความเสียหายเป็นบริเวณกว้างครอบคลุมในทุกพื้นที่การเลี้ยง ถึงแม้ในช่วงปี พ.ศ. 2541-2543 ราคากุ้งและผลตอบแทนสูงมาก แต่พบว่าขนาดของกุ้งที่จับได้มีขนาดเล็กลงเรื่อย ๆ อันเนื่องมาจากระบบการเลี้ยงแบบปิดที่มีการปล่อยกุ้งความหนาแน่นสูง และผลผลิตต่อพื้นที่เลี้ยงก็เริ่มลดลงจาก 80-90% จนเหลือประมาณ 50-60% โดยสาเหตุที่ทำให้อัตรารอดตายของกุ้งต่ำลงคือปัญหาในเรื่องโรค และคุณภาพของลูกกุ้งที่ลดลงจากราคากุ้งที่ต่ำลงด้วย จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นทำให้เกษตรกรเริ่มเข้าสู่ระบบการเลี้ยงแบบปิดมากยิ่งขึ้นและมีการเปลี่ยนแปลงการเลี้ยงในช่วงปี พ.ศ. 2543 โดยมีการเริ่มใช้ยาและเคมีภัณฑ์ในการแก้ปัญหาการเลี้ยงมากขึ้น จนกระทั่งปี พ.ศ. 2544 ราคากุ้งเริ่มลดลงเรื่อย ๆ จากผลผลิตกุ้งที่เพิ่มขึ้นทั่วโลกและการใช้มาตรการตรวจสอบสารตกค้างในผลิตภัณฑ์กุ้ง ทำให้แนวโน้มราคากุ้งลดต่ำลงและประกอบกับการเลี้ยงที่ลดลง จึงเกิดภาวะวิกฤตกับอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งอย่างต่อเนื่องมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 จนถึงปัจจุบัน (ชลอ และพรเลิศ, 2547) อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นอุตสาหกรรมที่มีมูลค่าสูงและมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง แต่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำต้องอาศัยพ่อแม่พันธุ์จากธรรมชาติ ทำให้ในปัจจุบันประเทศไทยต้องประสบกับปัญหาการขาดแคลนพ่อแม่พันธุ์ เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์และคณะ (2547) จึงได้ทำการศึกษาวิจัยทางด้านพันธุกรรมพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ การศึกษาทางด้านชีววิทยาและการศึกษาทางด้านพลวัตประชากร เพื่อเป็นการพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งอย่างยั่งยืน โดยการศึกษาทางด้านพลวัตประชากรได้ทำการศึกษาแหล่งพ่อแม่พันธุ์อื่น ๆ ในประเทศไทยและน่านน้ำใกล้เคียง เพื่อฟื้นฟูแหล่งพ่อแม่พันธุ์ที่กำลังเสื่อมโทรม รวมถึงศึกษาแหล่งแพร่พันธุ์และกระจายพันธุ์ของกุ้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ จังหวัดฉะเชิงเทราเป็นจังหวัดชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทยมีพื้นที่

บางส่วนที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง โดยเฉพาะการพัฒนาการเลี้ยงกุ้งทะเลอย่างกว้างขวาง จากการสำรวจพื้นที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำในจังหวัดฉะเชิงเทราด้วยภาพถ่ายดาวเทียม Landsat-5 (TM) พบมีพื้นที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำประมาณ 96,536.00 ไร่ โดยพื้นที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำอยู่บริเวณชายฝั่งทะเลและลึกเข้าไปในแผ่นดิน จากการศึกษาพบว่าพื้นที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำบางส่วนห่างจากชายฝั่งทะเลไม่น้อยกว่า 50 กิโลเมตร ซึ่งกระจายอยู่ทั่วไปใน 7 อำเภอ คือ บางปะกง เมือง บ้านโพธิ์ บางคล้า บางน้ำเปรี้ยว แปลงยาว และราชสาส์น มีพื้นที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำประมาณ 21,203.50, 13,533.75, 35,708.00, 21,688.00, 2,933.25, 1,325.50 และ 144.00 ไร่ตามลำดับ (ประจวบ ลีรักษาเกียรติ, 2543) แต่จากการที่อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำของประเทศไทยต้องประสบปัญหาหลายประการในช่วงเวลาที่ผ่านมาทำให้การเพาะเลี้ยงกุ้งไม่ประสบความสำเร็จ จึงมีการนำเข้ากุ้งสายพันธุ์ใหม่จากต่างประเทศเข้ามาเลี้ยงทดแทนการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยเฉพาะกุ้งขาวหรือกุ้งขาวแปซิฟิค เนื่องจากกุ้งสายพันธุ์นี้มีความสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ดี เลี้ยงง่ายและโตเร็ว ในขณะเดียวกุ้งขาวก็ยังนำโรคทอร่าซึ่งเป็นโรคไวรัสที่ส่งผลกระทบสำคัญต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาว จากการประเมินความเสี่ยงของโรคติดเชื้อในกุ้งขาว ซึ่งได้ดำเนินการบนพื้นฐานที่ไม่มีมาตรการควบคุม (unrestricted risk analysis) พบว่าโรคติดเชื้อไวรัส 3 ชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับการนำเข้ากุ้งขาวได้แก่ Taura syndrome virus, White spot syndrome virus และ Infectious Hypodermal and Haematopoietic Necrosis Virus (IHHNV) เป็นโรคที่มีความเสี่ยงสูงอยู่ในระดับที่ยอมรับไม่ได้ เนื่องจากพบโอกาสการปนเปื้อนในกุ้งขาวที่นำเข้ามาในประเทศไทย และสามารถแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดการติดเชื้อในสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองหลายชนิด และส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย (นพดล ศุกระกาญจน์ และคณะ, 2548)

ชีววิทยากุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) สัตว์น้ำต่างถิ่น

กุ้งขาวหรือกุ้งขาวแปซิฟิค (Pacific white shrimp) เป็นกุ้งขนาดกลาง ถูกค้นพบโดย Boone ในปี ค.ศ. 1931 มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* ชื่อสามัญที่ F.A.O. รับรองและใช้เรียกกันทั่วโลกคือ Whiteleg shrimp นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น อเมริกา เม็กซิโก กัวเตมาลา นิคารากัว คอสตาริกา ปานามา โคลัมเบีย อิควาดอร์ และ เปรู เนื่องจากเป็นกุ้งที่มีความแข็งแรงและทนทาน ขยายพันธุ์ในธรรมชาติได้กว้างไกล พบตามแนวชายฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิค ตั้งแต่เม็กซิโกจนถึงเปรู ที่ระดับความลึกจากแนวชายฝั่งลงไปประมาณ 72 เมตร หรือ 235 ฟุต ลักษณะพื้นท้องทะเลเป็นเหมือนโคลน (muddy bottom) ซึ่งเหมาะต่อการเจริญเติบโตและเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์

ลักษณะทั่วไปของกุ้งขาว ลำตัวมี 8 ปล้อง ลำตัวมีสีขาว หน้าอกใหญ่ ส่วนหัวมี 1 ปล้อง มีกรียาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือกหัว สันกรีสูง ปลายกรีแคบ ส่วนของกรีมีลักษณะเป็น

สามเหลี่ยมมีสีแดงอมน้ำตาล กรีด้านบนมีรอยหยักเป็นฟันเลื่อย 8 ซี่ กรีด้านล่างมี ฟัน 2 ซี่ ร่องบนกรีมองเห็นชัดเจน เปลือกหัวมีสีขาวอมชมพูถึงแดง ส่วนหางมี 1 ปล้อง ปลายหางมีสีแดงเข้ม แพนหางมี 4 ใบ และ 1 กรีหาง ขนาดโตเต็มที่ประมาณ 230 มิลลิเมตรหรือ 9 นิ้ว น้ำหนักเฉลี่ย 120 กรัม

ประวัติการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย

กุ้งขาวเริ่มเข้ามาในทวีปเอเชียครั้งแรกช่วงปีพ.ศ. 2521-2522 ในประเทศฟิลิปปินส์ และในปีพ.ศ. 2531 ประเทศจีน แต่เริ่มมีการเลี้ยงในเชิงเศรษฐกิจตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539 ในประเทศจีน ไต้หวัน ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย เวียดนาม ไทย มาเลเซีย และอินเดีย ในปีพ.ศ. 2545 ประเทศจีนมีการผลิตกุ้งขาวได้มากกว่า 270,000 เมตริกตัน และเพิ่มขึ้นในปี พ.ศ. 2546 เป็น 300,000 เมตริกตัน คิดเป็น 71 เปอร์เซ็นต์ของการผลิตกุ้งทั้งหมด เช่นเดียวกับในประเทศไทยที่มีการผลิตกุ้งขาวได้ 120,000 เมตริกตัน และประเทศเวียดนามและอินโดนีเซียมีผลผลิตประมาณ 30,000 เมตริกตันในปี พ.ศ. 2546 ซึ่งสาเหตุของการเพิ่มจำนวนผลผลิตกุ้งขาวในทวีปเอเชียมีสาเหตุมาจากการประสบปัญหาในการเลี้ยงกุ้งพื้นเมือง (*P. chinensis* ในประเทศจีน และ *P. monodon* ในประเทศต่าง ๆ ในเอเชีย) ที่มีผลผลผลิตลดต่ำลง กุ้งโตช้า และปัญหาหลักจากการเกิดโรคระบาด โดยเฉพาะปัญหาจากเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวและหัวเหลือง ที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อระบบเศรษฐกิจการเลี้ยงกุ้ง เกษตรกรส่วนใหญ่จึงหันมาผลิตกุ้งขาวเพื่อการส่งออกทดแทน โดยในประเทศไทยได้มีการลดการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งเป็นกุ้งพื้นเมืองของประเทศที่ทำรายได้เข้าสู่ประเทศเป็นจำนวนมาก และเคยเป็นประเทศผู้ส่งออกกุ้งกุลาดำอันดับหนึ่งในช่วงหลายปีที่ผ่านมา แต่จากปัญหาโรคระบาดจากเชื้อไวรัสหัวเหลืองในปี พ.ศ. 2535 และเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในปีพ.ศ. 2537 ทำให้เกิดความเสียหายต่อการเลี้ยงกุ้งพื้นเมืองในทวีปเอเชียคิดเป็นมูลค่ากว่า 1 พันล้านดอร์ลาสหรัฐ ต่อปี และจากการที่กรมประมงสั่งห้ามเลี้ยงกุ้งกุลาดำในพื้นที่น้ำจืดในช่วงปีพ.ศ. 2543 ทำให้มีการเพิ่มจำนวนการเลี้ยงกุ้งขาวมากขึ้น

จากปัญหาการเกิดโรคทอร่าซึ่งส่งผลให้กุ้งขาวมีอัตราการตายสูง 40-90 เปอร์เซ็นต์ก็เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้การเลี้ยงกุ้งขาวประสบปัญหา ทำให้หลายประเทศในทวีปเอเชียที่ยังไม่อนุญาตให้มีการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยง เนื่องจากมีความเป็นไปได้ว่ากุ้งขาวที่นำเข้าจะเป็นพาหะนำโรคต่าง ๆ ทำให้เกิดความเสียหายต่อระบบเศรษฐกิจการเลี้ยงกุ้งเช่นเดียวกับที่เคยเกิดขึ้นมาแล้วในทวีปอเมริกา ในส่วนประเทศไทยกรมประมงได้พยายามที่จะป้องกันปัญหาโดยอนุญาตให้นำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวได้จากแหล่งที่กรมประมงรับรองแล้วเท่านั้น โดยมีการประสานงานกับรัฐบาลต้นทางให้ทำการรับรองกุ้งขาวที่จะนำเข้าประเทศไทย ซึ่งต้องปลอดจากเชื้อไวรัสร้ายแรง 4 ชนิด ได้แก่ WSSV, ไวรัสหัวเหลือง, TSV และ IHHNV โดยกรมประมงจะทำการสุ่มตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวที่ด่านตรวจสัตว์น้ำทุกครั้ง กุ้งที่เหลือหลังจากเก็บตัวอย่างจะต้องนำไปกักกันไว้ยังสถานที่กักกันสัตว์น้ำที่กรมประมงได้กำหนดไว้เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 15 วัน เมื่อกรมประมงได้ทำการ

ตรวจสอบเรียบร้อยแล้วจึงจะอนุญาตให้เกษตรกรนำพ่อแม่พันธุ์จำหน่ายต่อไป (มาลินี วิชชาวุธ และสมยศ สิทธิโชคพันธ์ , 2548)

ปัจจุบันผู้เลี้ยงกุ้งทะเลมักหันมาเลี้ยงกุ้งขาว (*L. vannamei*) กันมากขึ้นเนื่องจากใช้ระยะเวลาการเลี้ยงสั้นกว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ และได้กำไรดีกว่าการเลี้ยงกุ้งทะเลชนิดอื่น แต่อย่างไรก็ตามกุ้งขาวถือเป็นสัตว์ต่างถิ่น (alien species) เนื่องจากมิได้มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย ดังนั้นการนำเข้ากุ้งขาวเข้ามาในราชอาณาจักรจึงต้องผ่านการอนุญาตและอยู่ภายใต้เงื่อนไขของรัฐ ซึ่งผลกระทบของการนำสัตว์น้ำต่างถิ่นเข้ามาเลี้ยงมีสองประการใหญ่คือ การนำโรคซึ่งไม่เคยปรากฏของการระบาดปนเปื้อนเข้ามากับพันธุ์ต่างถิ่น และอีกประการหนึ่งคือ พันธุ์ต่างถิ่นอาจมีผลกระทบในด้านซึ่งไม่เอื้อต่อการดำรงชีวิตของพันธุ์เจ้าบ้าน เช่นการแย่งอาหาร การทำลายพันธุ์เจ้าบ้านให้ลดลงจนสูญพันธุ์ไปในที่สุด ฯลฯ โดยปรากฏการณ์ดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมีการหลุดรอดไปแพร่พันธุ์ในธรรมชาติ ดังนั้นการนำเข้าสัตว์น้ำต่างถิ่นเข้ามาเพื่อเพาะเลี้ยงจึงต้องระมัดระวังและมีมาตรการป้องกันไม่ให้พันธุ์ต่างถิ่นหลุดออกไปสู่ธรรมชาติอันจะนำไปสู่ผลเสียต่อสัตว์พันธุ์เจ้าบ้านได้ (สุภัทรา อุไรวรรณ์, 2547)

จากการลักลอบนำเข้ากุ้งขาวในช่วงปี พ.ศ. 2541 เข้ามาในประเทศไทย และเป็นสายพันธุ์จากประเทศไต้หวันซึ่งไม่มีการรับรองคุณภาพสายพันธุ์ จึงเป็นความเสี่ยงต่อการเกิดปัญหาอย่างต่อเนื่อง กรมประมงจึงได้ออกระเบียบกำหนดวิธีการปฏิบัติเพื่อใช้พิจารณาการนำเข้ากุ้งขาวขึ้นในปี พ.ศ. 2545 ว่าด้วยการขอหนังสือรับรองโรงเพาะฟักกุ้งขาว เพื่อการเพาะพันธุ์ พ.ศ. 2545 และระเบียบว่าด้วยการยื่นคำขอหนังสือรับรองโรงเพาะฟักกุ้งขาวเพื่อการเพาะพันธุ์ พ.ศ. 2545 (ฉบับที่ 2) รวมระยะเวลาที่อนุญาตให้นำเข้าประมาณ 11 เดือน โดยมีการนำเข้าทั้งสิ้น 104,717 ตัว โดยส่วนใหญ่พ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวที่นำเข้าได้มาจากประเทศไต้หวัน ซึ่งมีการนำเข้ามาจากฮาวายเมื่อปี พ.ศ. 2533 และมีการขึ้นทะเบียนฟาร์ม

นอกจากนี้กรมประมงได้ทำการอนุญาตให้นำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวได้จากแหล่งที่กรมประมงรับรองแล้วเท่านั้น โดยการทำการประสานงานกับรัฐบาลของประเทศต้นทางให้ทำการรับรองกุ้งขาวที่จะนำเข้ามายังประเทศไทย จะต้องปลอดจากเชื้อไวรัสร้ายแรง 4 ชนิด คือ WSSV, YHV, TSV และ IHHNV โดยกรมประมงจะสุ่มตัวอย่างพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวที่นำเข้าทุกครั้ง เพื่อตรวจสอบการติดเชื้อทั้ง 4 ชนิดข้างต้น จะทำการสุ่มตรวจตัวอย่างที่ด่านตรวจสัตว์น้ำท่าอากาศยานกรุงเทพ ด่านตรวจสัตว์น้ำท่าอากาศยานหาดใหญ่ และด่านตรวจสัตว์น้ำท่าอากาศยานภูเก็ต กุ้งที่เหลือจากการเก็บตัวอย่างจะต้องกักกันไว้ยังสถานกักกันสัตว์น้ำที่กรมประมงกำหนดไว้เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 15 วัน เมื่อกรมประมงได้ทำการตรวจสอบเรียบร้อยแล้วจึงอนุญาตให้เกษตรกรนำพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวไปดำเนินการเพาะพันธุ์จำหน่ายต่อไป (มาลินี วิชชาวุธ และสมยศ สิทธิโชคพันธ์ , 2548)

แหล่งพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวที่ประเทศสหรัฐอเมริกาที่ประมงได้ทำการรับรองแล้วจำนวน 4 แห่งคือ

1. Shrimp Improvement System. 88005 Overseas Hwy. No. 10-166 Islamorada, Florida. USA. 33036.

2. Syaqua 1100. Moraga Way. Suite 102. Maraga. California. USA. 94556.

3. High Health Aquacultrue. Inc., NELHA. Kailua-Kona. Hawaii.

4. USA.Kona Bay Marine Resources, Inc. 73-4460 Queen Kaahumaun Hwy. Suite 108. Kailaua-Kona, Hawaii. USA. 96740

อันตรายจากสัตว์น้ำต่างถิ่น

ประเทศไทยได้มีการลักลอบนำเข้ากุ้งขาวมาเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ประมาณปี พ.ศ. 2541 เพื่อการเลี้ยงทดแทนกุ้งกุลาดำที่ประสบกับปัญหาในการเลี้ยงทำให้ผลผลิตลดลง ราคากุ้งตกต่ำและจากปัญหาการระบาดของโรคตัวแดงดวงขาว (White Spot Syndrome Virus : WSSV) และโรคหัวเหลือง (Yellow Head Virus :YHV) ซึ่งกุ้งขาวจัดเป็นสัตว์น้ำต่างถิ่นที่นำพาโรคทอร่า (Taura syndrome virus : TSV) มาสู่ประเทศไทย โรคทอร่าเคยสร้างความเสียหายอย่างมากในทวีปอเมริกาเป็นสาเหตุให้กุ้งขาวที่ติดเชื้อมีอัตราการตายสูง 40-90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกุ้งขาวมิได้เป็นสัตว์น้ำต่างถิ่นชนิดแรกที่นำเข้ามาในประเทศไทยเท่าที่มีการบันทึกเป็นหลักฐานมีการนำเข้าปลาทองมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2235 หรือเมื่อประมาณ 300 กว่าปีที่ผ่านมาเมื่อครั้งสมัยกรุงศรีอยุธยาเป็นเมืองหลวง นำมาเลี้ยงเป็นปลาสวยงาม ประมาณปี พ.ศ. 2456 ได้มีการนำเข้าปลาไนและปลาจีนซึ่งหลังจากนั้นมีรายงานการระบาดของโรคหนอนสมอเกิดขึ้นในประเทศไทย ต่อมาในปี พ.ศ. 2520 ได้มีการนำเข้าปลาดุกรัสเซียซึ่งมีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา โดยนำเข้ามาจากประเทศลาวเพราะเห็นว่าเป็นปลาที่โตเร็ว เลี้ยงง่าย จากนั้นได้มีการนำมาผสมพันธุ์ข้ามระหว่างปลาดุกรัสเซียและปลาดุกอุยของประเทศไทย กลายเป็นปลาดุกลูกผสมที่เรียกว่า ปลาดุกบิ๊กอุย ซึ่งโตเร็วและเนื้ออร่อย มีผลทำให้ปลาดุกด้านหายไปจากธุรกิจการเลี้ยงปลาและเกือบสูญพันธุ์ไปจากแหล่งน้ำ เนื่องจากปลาดุกบิ๊กอุยมีนิสัยดุร้าย เมื่อเกิดเหตุการณ์น้ำท่วมทำให้ปลาดุกบิ๊กอุยหลุดลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ทำให้แย่งอาหารปลาชนิดอื่น กินไข่และตัวอ่อนของปลาดุกพื้นเมืองรวมทั้งกัดกินปลาชนิดอื่นในแหล่งน้ำ (สุปราณี ชินบุตร, 2547) เนื่องจากสัตว์น้ำต่างถิ่นมีทั้งชนิดพันธุ์ที่อาศัยอยู่ได้แต่ไม่สามารถแพร่พันธุ์ได้กับชนิดที่สามารถแพร่พันธุ์ได้ ซึ่งชนิดที่สามารถแพร่พันธุ์ได้นั้นจะเป็นชนิดพันธุ์ที่มีความสามารถในการแข่งขันสูง และเป็นชนิดพันธุ์ส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำพื้นเมืองได้

โรคจากเชื้อไวรัสสามชนิดที่สร้างความเสียหายต่ออุตสาหกรรมกุ้งทะเล

ประเทศไทยเคยเป็นประเทศที่มีการเลี้ยงกุ้งกลาดำได้ผลผลิตสูงสุดเป็นอันดับหนึ่งของโลกติดต่อกันมาหลายปี ผลผลิตเคยสูงสุด 240,000 เมตริกตันในปี พ.ศ. 2537-2538 และผลผลิตเริ่ม

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

ลดลงมีจำนวนประมาณ 200,000 เมตริกตันในปี พ.ศ. 2542 ในขณะที่จำนวนฟาร์มเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วในพื้นที่ 500,000 ไร่ (ประจวบ หลำอุบล, 2546) ซึ่งปัญหาที่พบทั้งในทวีปเอเชีย อินโดแปซิฟิคและทวีปเมริกา ได้แก่ปัญหาจากโรคระบาดจากเชื้อไวรัส สร้างความเสียหายต่อระบบอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งเป็นมูลค่าหลายร้อยล้านดอลล่าร์สหรัฐ ซึ่งมีสาเหตุมาจากการขนย้ายสัตว์มีชีวิตและไม่มีชีวิตเป็นการส่งผ่านโลกจากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่ง โดยสินค้ากุ้งแช่แข็งเป็นปัจจัยหนึ่งของการแพร่กระจายเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวจากทวีปเอเชียสู่ทวีปอเมริกา และในทางกลับกันมานำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งจากอเมริกาก็เป็นการนำโรคทอร่ามาสู่ทวีปเอเชีย โรคไวรัสที่สำคัญ 3 ชนิดที่ก่อโรครุนแรงและสร้างความเสียหายอย่างมากต่อการอุตสาหกรรมเลี้ยงกุ้งเศรษฐกิจของประเทศไทย ได้แก่

1. โรคตัวแดงดวงขาว

โรคดวงขาว หรือ โรคตัวแดงดวงขาว (White Spot Syndrome Virus : WSSV) เป็นโรคไวรัสที่สร้างความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งทะเลเป็นอย่างมาก พบการระบาดในแถบทวีปเอเชียในช่วงปี พ.ศ. 2535 และในทวีปอเมริกาในช่วงปี พ.ศ. 2542 โรคตัวแดงดวงขาวก่อให้เกิดความรุนแรงในสัตว์น้ำหลายชนิด เป็นโรคไวรัสชนิดหลักที่สร้างความเสียหายให้กับอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้ง ในปี พ.ศ. 2537 สร้างความเสียหายกว่า 1 พันล้านดอลล่าร์สหรัฐในทวีปเอเชีย และในทวีปอเมริกา ประเทศเอกวาดอร์ ช่วง 6 เดือนแรกของการเกิดการระบาดทำให้เกิดความสูญเสียประมาณ 63,000 เมตริกตัน และทำให้อุตสาหกรรมกุ้งขาว (*L. vannamei*) และ *P. stylirostris* เกิดความเสียหายกว่า 280 ล้านดอลล่าร์สหรัฐ ในทวีเอเชียพบมีรายงานการระบาดในประเทศญี่ปุ่นเป็นครั้งแรกในช่วงปี พ.ศ. 2535 – 2536 เกิดการระบาดในกุ้ง *P. japonicus* ซึ่งเกิดจากการนำเข้ากุ้งมีชีวิตมาจากประเทศจีน ในเวลาต่อมาพบมีการระบาดของโรคในประเทศไต้หวันในกุ้งหลายชนิดได้แก่ *P. monodon, P. japonicus* และ *P. penicillatus* และ *P. monodon* ทางภาคใต้ของประเทศไทย นอกจากนี้ยังพบการเกิดโรคในกุ้งชนิดอื่น ๆ ได้แก่ *P. merguiensis, Metapenaeus ensis, M. monoceros* และในปูอีกหลายสายพันธุ์ และในขณะเดียวกันยังพบสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ ที่เป็นพาหะของโรคนี้ได้แก่ *Palaemon setiferus, Euphausis superba, M. dobsoni, Parapenaeopsis stylifer, Solenocera indica, Squilla mantis, Macrobrachium rosenbergii* และ ปูอีกหลายชนิด (FAO,2005) ในประเทศไทยเริ่มมีการระบาดของโรคชนิดนี้ตั้งแต่ปลายปี พ.ศ. 2537 ทางภาคตะวันออกและใต้ตั้งแต่จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี สงขลา นครศรีธรรมราช และปัตตานี ส่วนภาคใต้ฝั่งตะวันตกพบที่จังหวัดตรัง การระบาดของโรคดังกล่าวก่อให้เกิดการสูญเสียอย่างมากในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทย โดยความรุนแรงของเชื้อและการสูญเสียเกิดขึ้นใกล้เคียงกับโรคหัวเหลืองที่เคยระบาดในกุ้งกุลาดำในปัจจุบันนี้โรคตัวแดงดวงขาวพบในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำทุกพื้นที่แต่ความรุนแรงขึ้นอยู่กับฤดูกาลและพื้นที่การเลี้ยงในช่วงปลายปีตั้งแต่เดือนกันยายนจนถึงสิ้นปีและต้นปีซึ่งอากาศหนาวเย็นจะมีการตายของกุ้งโรคตัวแดงดวงขาวมากกว่าช่วงอื่น ๆ

ส.ล.ม.3 ป1640 ส.ล.ม.3
249020

สาเหตุของโรค

เกิดจากเชื้อไวรัส (SEMBV: Systemic Ectidermal & Mesodermal Baculovirus) ชนิด ดีเอ็นเอ (DNA) รูปร่างของเชื้อเป็นแท่งมีขนาดใหญ่กว่าเชื้อหัวเหลืองประมาณ 1 เท่า โดยมีความยาว 270 - 290 นาโนเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อประมาณ 110 - 120 นาโนเมตร เชื้อไวรัสสามารถทำลายเนื้อเยื่อผิวใต้เปลือก เหงือก อวัยวะสร้างเม็ดเลือด ต่อมน้ำเหลืองและเม็ดเลือด โดยทำให้นิวเคลียสของเซลล์บวมโต การวินิจฉัยโรคสามารถสังเกตอาการได้โดยกุ้งที่เป็นโรคจะมีลักษณะมีดวงสีขาวบริเวณเปลือกลักษณะดวงที่เกิดขึ้นนี้เกิดจากความผิดปกติของการสะสมแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่ผิดปกติ

อาการของโรค

กุ้งที่เป็นโรคดวงขาวจะมีลักษณะจุดขาวหรือดวงขาวมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.1 - 2 มิลลิเมตร แสดงดังภาพที่ 2.1 กุ้งที่เป็นโรคตัวแดงดวงขาวนี้จะว่ายอยู่บริเวณผิวน้ำหรือเกยขอบบ่อ ไม่มีแรงดีดตัว กินอาหารลดลงบางครั้งพบกุ้งที่มีอาการลอกคราบไม่ออก หรือลอกคราบแล้วไม่แข็งตัว ตัวนิ่มอัตราการตายของกุ้งหลังจากเกิดโรคขึ้นอยู่กับแหล่งเลี้ยงและฤดูกาลในช่วงที่มีอากาศหนาวหรือฝนตกหนักติดต่อกันนาน ๆ อัตราการตายของกุ้งสูงถึง 80 - 100% ภายใน 4 - 5 วัน

ภาพที่ 2.1 ลักษณะดวงขาวใต้เปลือกของกุ้งกุลาดำที่เป็นโรคตัวแดงดวงขาวจากฟาร์มแห่งหนึ่งจังหวัดจันทบุรี (ภาพถ่ายโดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปภาศิริ บาร์เนท)

การวินิจฉัยโรค

เนื่องจากโรคตัวแดงดวงขาวมีสาเหตุมาจากไวรัส โดยไวรัสชนิดนี้จะทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพคือ นิวเคลียสบวมโต และเกิดอินคลูชั่นในนิวเคลียสที่ย้อมสีติดสีแดง

ถึงสีน้ำเงินด้วยสี H&E ของอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ เหงือก เซลล์เยื่อบุผนังกระเพาะอาหาร อวัยวะสร้างเม็ดเลือด ท่อทางเดินอาหารส่วน midgut ผนังรังไข่เนื้อเยื่อ ประสาท และ antennal gland

2. โรคหัวเหลือง

โรคหัวเหลือง (Yellow head virus : YHV) เป็นไวรัสชนิดแรกที่สร้างปัญหาให้กับอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งในทวีปเอเชีย มีรายงานการระบาดครั้งแรกในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินในภาคตะวันออกของประเทศไทยช่วงปี พ.ศ. 2533-2534 และแพร่กระจายลงไปทางภาคใต้ในปี พ.ศ. 2535 โรคหัวเหลืองเป็นสาเหตุที่ทำให้กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินตายทั่วทุกภูมิภาคในทวีปเอเชีย ได้แก่ ประเทศไทย ไต้หวัน อินโดนีเซีย มาเลเซีย จีน ฟิลิปปินส์ และเวียดนาม นอกจากนี้ยังการเกิดโรคในกุ้งชนิดอื่นอาทิเช่น *Penaeus merguiensis, Metapenaeus ensis, Palaemon styliferus* และ *Acetes* spp. และสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ ที่เป็นพาหะของโรคหัวเหลือง เช่น กุ้งก้ามกราม ปูชนิดต่าง ๆ และอาทีเมีย ในทวีปอเมริกาพบการระบาดของโรคหัวเหลืองที่รัฐเท็กซัส ในปี พ.ศ. 2538 อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในฮาวายพบว่าโรคหัวเหลืองเป็นสาเหตุทำให้กุ้งหลายชนิดตายได้แก่ *P. vannamei, P. stylirostris, P. setiferus, P. aztecus* และ *P. duorarum* หลังจากได้รับเชื้อ (FAO,2005)

สาเหตุของโรค

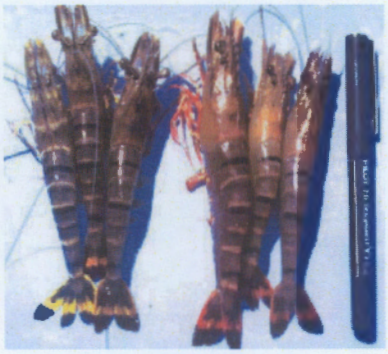
สาเหตุของโรคเกิดจาก อาร์เอ็นเอไวรัส (RNA) ชนิด ssRNA เชื้อไวรัสหัวเหลือง เชื้อมีขนาดความยาว 150-200 นาโนเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 45-50 นาโนเมตร สามารถติดเชื้อได้บริเวณเหงือก ต่อมน้ำเหลือง อวัยวะสร้างเม็ดเลือด และเม็ดเลือด

อาการของโรค

โรคชนิดนี้เรียกตามลักษณะของกุ้งที่ป่วยซึ่งมักจะอยู่ตามริมขอบบ่อลำตัวกุ้งมีสีซีด มองเห็นส่วนหัวมีสีเหลือง เนื่องจากตับและตับอ่อน (hepatopancreas) มีสีซีดเหลือง แสดงดังภาพที่ 2.2 กุ้งที่เป็นโรคหัวเหลืองจะมีขนาดตั้งแต่ขนาดเล็กอายุ 25 วันขึ้นไปจนถึงประมาณ 70 วัน กุ้งที่เป็นโรคหัวเหลืองนั้นพบว่ากุ้งตายอย่างรวดเร็วโดยใช้เวลา 2-3 วันกุ้งจะตายหมดบ่อ สำหรับโรคหัวเหลืองที่เกิดกับกุ้งอายุประมาณ 50-70 วัน ก่อนที่จะเริ่มมีกุ้งตาย การกินอาหารจะเพิ่มขึ้นมากติดต่อกันหลายวัน หลังจากเริ่มพบมีกุ้งตาย อัตราการตายจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 2-3 วัน กุ้งจะตายหมดบ่อ เมื่อเปรียบเทียบความรุนแรงของโรคที่ทำให้เกิดความเสียหายในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำทุกชนิด พบว่าโรคหัวเหลืองทำให้กุ้งตายรวดเร็วและรุนแรงมากที่สุด และการแพร่กระจายในพื้นที่การเลี้ยงแต่ละแหล่งจะรวดเร็วมาก ในระยะแรก ๆ ที่มีการเลี้ยงกุ้งโดยใช้ระบบเปิดถ่ายน้ำบ่อย ๆ แต่หลังจากมีการดัดแปลงการเลี้ยงกุ้งมาเป็นระบบถ่ายน้ำน้อยลง หรือใช้ระบบปิดแบบน้ำหมุนเวียน ทำให้การแพร่กระจายของโรคหัวเหลืองลดความรุนแรงลงไปและการแพร่กระจายไม่กว้างขวางมาก เหมือนยุคแรก ๆ

การวินิจฉัยโรค

พยาธิสภาพของกุ้งที่เป็นโรคหัวเหลืองจะทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อและเซลล์ในอวัยวะต่าง ๆ การวินิจฉัยสามารถตรวจย้อมเม็ดเลือดประกอบกับการดูอาการและอัตราการตายที่เกิดขึ้น เมื่อวิเคราะห์ปัญหาการเกิดโรคหัวเหลืองในปัจจุบันในพื้นที่ต่าง ๆ พบว่าบ่อที่มีกุ้งเป็นโรคนี้มีการเตรียมสีน้ำไม่ดี หรือมีปัญหาสีน้ำล้มบ่อยในระยะแรก มีการให้อาหารค่อนข้างมากในระยะเดือนแรก โดยเฉพาะพื้นบ่อมักจะมีปัญหาจากแพลงก์ตอนที่ตายลงไปเคลือบพื้นบ่อและบ่อที่มีเลนกระจายและเน่ามากโดยเฉพาะบ่อที่เป็นดินร่วนและดินทรายมีโอกาสเกิดโรคสูงกว่าบ่อที่พื้นแข็งและเลนรวมอย่างดี แหล่งเลี้ยงที่มีบ่อเลี้ยงหนาแน่นแต่ใช้แหล่งน้ำหรือน้ำจากคลองขนาดเล็กร่วมกันมีโอกาสเกิดโรคหัวเหลืองสูงกว่าบริเวณที่มีพื้นที่การเลี้ยงไม่หนาแน่นมาก



ภาพที่ 2.2 ลักษณะกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อไวรัสหัวเหลือง (กุ้งกุลาดำ 3 ตัวทางด้านขวา) (Flegel, 2006)

3. โรคทอร่า

โรคทอร่า (Taura syndrome virus : TSV เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสที่ส่งผลกระทบต่อการเลี้ยงกุ้งโดยเฉพาะกุ้งขาวแปซิฟิค หรือ Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) ซึ่งเป็นเป้าหมายหลักและทำให้กุ้งตายสูงถึง 90 % และเคยสร้างความเสียหายกว่า 100 ล้านเหรียญดอลล่าสหรัฐในอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศเอกวาดอร์ และเป็นประเทศที่ค้นพบการระบาดของเชื้อนี้เป็นครั้งแรกบริเวณฟาร์มกุ้งใกล้กับแม่น้ำทอร่า (Taura River) ในปี พ.ศ. 2535 โรคทอร่าสามารถก่อให้เกิดโรคในกุ้ง Penaeid หลายชนิดของอเมริกาและก่อโรครุนแรงในกุ้งขาว (*L. vannamei*) , *P. setiferus* และ *P. schmitti* และสามารถก่อโรคได้ในกุ้งชนิดอื่น ๆ ได้แก่ *P. aztecus, P. duorarum, P. monodon* (กุ้งกุลาดำ), *P. japonicus* และ *P. chinensis*

สาเหตุของโรค

โรคทอร่าหรือโรคหางแดง (Little Red Tail) หรือ โรค La Colita Roja มีสาเหตุจากเชื้อ Taura Syndrome Virus (TSV) จัดอยู่ในครอบครัว Picornaviridae สกุล Cricket paralysis-like virus

เป็นไวรัสชนิดอาร์เอ็นเอไวรัส (RNA virus) ที่มีสายอาร์เอ็นเอสายเดียว มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30-32 นาโนเมตร มีรูปร่างแบบ Icosahedrons ไม่มีผนังหุ้ม (non-enveloped) ซึ่งเจริญอยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์บุผนังของกุ้งที่ติดเชื้อ เมื่อเข้าสู่เซลล์เยื่อบุใต้ชั้นเปลือก (cuticular epithelium) ทั้งที่ตัวรยางค์ เหงือก ลำไส้ หลอดอาหารและกระเพาะอาหาร ทำให้เซลล์เกิดเป็นหย่อมเนื้อตาย ในบางครั้งพบได้ที่เนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้เปลือก และกล้ามเนื้อลายที่ติดกับเยื่อบุผิว โรคนี้เป็นสาเหตุทำให้กุ้งพันธุ์พื้นเมืองของทวีปอเมริกาเหนือและใต้ ได้แก่กุ้งขาวแปซิฟิคติดเชื้อป่วยและตาย

อาการของโรค

มี 3 ระยะ คือ

1. ระยะเฉียบพลัน (acute phase)

มักจะเกิดในกุ้งวัยอ่อนระยะ 2-4 สัปดาห์ที่นำลงบ่อดิน หรือกุ้งขนาด 0.1-1.5 กรัม โรคนี้จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อบริเวณใต้เปลือกและ กล้ามเนื้อลายที่ติดกับเยื่อบุผิว ทำให้เปลือกนิ่ม กุ้งมักจะตายช่วงลอกคราบ ลักษณะอื่นที่แสดงร่วมคือ ปื้นสีแดงที่เกิดจากการอักเสบของเซลล์สีแดงในชั้นผิวหนัง แพนหาง และระยางค์ขาทั้งหมด หรือเรียกชื่อโรคว่าโรคหางแดง (Little Red Tail) ลักษณะแสดงออกตัวแดงหรือชมพู (ภาพที่ 2.3 และ 2.4) กุ้งที่ติดเชื้อเฉียบพลันจะอ่อนแอ ว่ายน้ำโดยไม่มีทิศทาง และเซลล์เม็ดสี (chromatophore) กระจายทั่วตัวเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีกุ้ง กุ้งที่ติดเชื้อมักไม่กินอาหาร ทำให้ลำไส้ไม่มีอาหาร ปลายระยางค์กร่อนและเน่า ระหว่างการระบาดจะพบกุ้งตาย อัตราการตาย 40-95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 2.3 กุ้งขาวเลี้ยงในบ่อดินที่เป็นโรคทอร่า (ชลอ และพรเลิศ , 2547)

ภาพที่ 2.4 กุ้งขาวที่เป็นโรคทอร่า สำรวจพบจากฟาร์มเลี้ยงในจังหวัดฉะเชิงเทรา (ภาพถ่ายโดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปภาศิริ บาร์เนท)

2. ระยะการรับเชื้อผ่าน (recovery phase)

เป็นระยะที่ไวรัสผ่านเข้าสู่ lymphoid organ ของกุ้งที่รอดตายจากระยะแรก เป็นเวลา 2-3 วัน ถ้าเชื้อสะสมมากกุ้งจะทยอยตาย กุ้งที่รอดตายและสามารถลอกคราบได้จะมีอาการดีขึ้นหรืออาจเข้าสู่การติดเชื้อระยะเรื้อรัง (ลิลา เรืองแป้น, 2546)

3. ระยะเรื้อรัง (chronic phase)

เป็นกุ้งที่รอดตายจากระยะที่ 1 และ 2 ซึ่งมักแสดงรอยโรคหลายๆ แห่งที่เปลือก ก่อให้เกิดจุดดำ (melanin) (ภาพที่ 2.5) กระจายทั่วไปตามเปลือก กุ้งที่พบในระยะนี้อาจไม่มีเม็ดสีแดงกระจาย เปลือกไม่นิ่ม มีการกินอาหารและพฤติกรรมปกติ ภายหลังหากกุ้งลอกคราบได้จะไม่พบเม็ดสีดำที่เปลือก และกุ้งที่ติดเชื้อในระยะนี้จะเป็นพาหะของโรคไปสู่ตัวอื่น ๆ ทำให้เกิดการแพร่กระจายของโรคได้อย่างรวดเร็ว

ภาพที่ 2.5 ลักษณะจุดดำที่พบในกุ้งขาวจากรัฐเท็กซัสที่ติดเชื้อโรคทอร่า (Lightner, 1996)

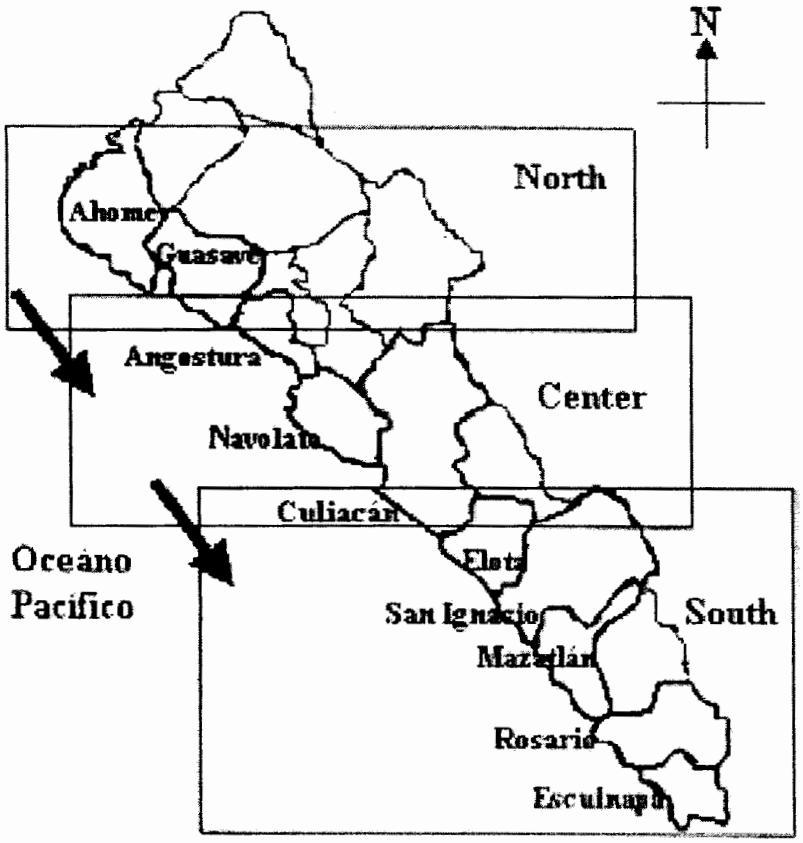
การระบาดของโรคทอร่า

โรคทอร่าค้นพบครั้งแรกในแม่น้ำ Taura ประเทศ Ecuador ปี พ.ศ. 2535 ต่อมาได้ระบาดไปยังแหล่งที่อยู่อาศัยของกุ้งในลาตินอเมริกา รวมถึงฮาวายและบริเวณชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิก ทำให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงในประเทศ Columbia, Costa Rica ; El Salvador , Guatemala , Honduras, Mexico, Nicaragua, Panama และ Peru โรคทอร่ายังสร้างปัญหาให้แก่ฟาร์มเลี้ยงกุ้งในฝั่งทะเล Atlantic หลายประเทศได้แก่ Brazil, Belize, Columbia, Mexico และ Venezuela รวมถึงเขตตะวันออกเฉียงใต้ของอเมริกาในรัฐ Florida, Carolina และ Texas ซึ่งส่งผลกระทบต่อธุรกิจการเลี้ยงกุ้งใน Florida และ Belize เป็นอย่างมาก (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 แสดงการเกิดการระบาดของโรคทอร่าในประเทศต่าง ๆ (FAO , 2005)

ปีพ.ศ.	ประเทศ
2535	Ecuador, Latin and North America
2536	Ecuador Peru
2537	Columbia (Pacific and Atlantic coasts), Honduras, Guatemala, El Savador, Nicaragua, Hawaii, Florida andBrazil
2538-2539	Mexico, Texas, South Carolina and Belize
2542	Mainland China and Taiwan Province of China
2543	Thailand

Zarain-Herzberg, and Ascencio-Valle, 2000 ได้ทำการศึกษาการระบาดของโรคทอร่าในฟาร์มกุ้งขาวของรัฐ Sinaloa ที่ตั้งอยู่ทางตะวันตกเฉียงเหนือของประเทศแม็กซิโก หลังจากพบว่าฟาร์มกุ้งกว่า 75 % ในมณฑล Guasave มีการระบาดของโรคทอร่าในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2538 จากนั้นจึงได้ทำการสำรวจอย่างต่อเนื่องโดยแบ่งพื้นที่ออกเป็น 3 เขตได้แก่ตอนเหนือ ตอนกลาง และตอนใต้ของรัฐ (ภาพที่ 2.6) และแบ่งการเก็บตัวอย่างออกเป็น 2 ช่วง คือ ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงเดือนมิถุนายน (ฤดูใบไม้ผลิถึงฤดูฝน) และเดือนกรกฎาคมถึงเดือนธันวาคม (ฤดูใบไม้ร่วงถึงฤดูหนาว) โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างในฟาร์มจากทั้ง 3 เขต ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2538-2541 (ตารางที่ 2.3)



ภาพที่ 2.6 แผนที่แสดงพื้นที่ที่ทำการศึกษา ในรัฐ Sinaloa

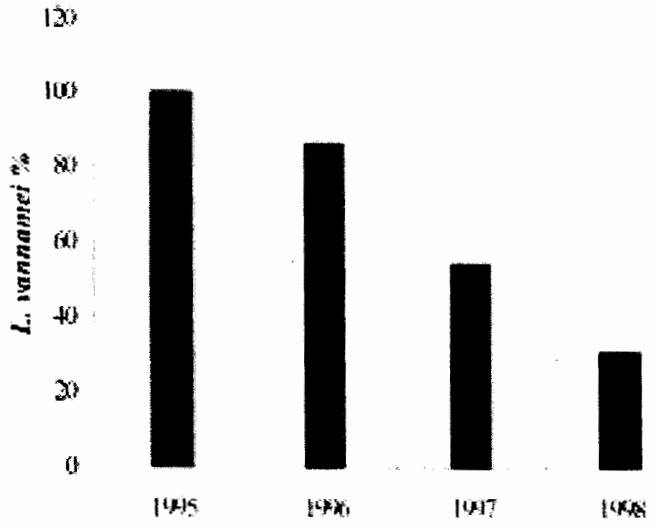
ตารางที่ 2.3 การศึกษาโรคทอร่าในฟาร์มกุ้ง รัฐ Sinaloa โดยแสดง ปีที่ทำการศึกษา, เขต, จำนวนตัวอย่าง และวิธีการวิเคราะห์ (Zarain-Herzberg, and Ascencio-Valle, 2000)

Year	Zone	Farms	Shrimp Samples	Diagnostic Method
1995	North	8	25	Histology (H and E)
	Center	4	20	
	South	3	17	
1996	North	11	35	Histology (H and E)
	Center	15	33	
	South	9	20	
1997	North	9	36	Histology (H and E) and TSV genomic probe
	Center	9	46	
	South	5	31	
1998	Center	23	71	Histology (H and E) and TSV genomic probe

ผลจากการศึกษากุ้งขาวที่ติดเชื้อโรคทอร่าในระหว่างช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนตุลาคม 2538 นั้น พบว่าในเดือนเมษายนทางตอนเหนือของรัฐ Guasave พบตัวอย่างกุ้งที่ติดเชื้อโรคทอร่า 75 % (6/8) ในเดือนมิถุนายน ทางตอนกลางของรัฐ Navolato พบการติดเชื้อ 100 % (4/4) และเดือนตุลาคม ทางตอนใต้ของรัฐ Elota การติดเชื้อ 100 % เช่นกัน ในปี พ.ศ. 2539 พบการติดเชื้อโรคทอร่าสูงที่สุดทางตอนใต้ของรัฐ (92%) เนื่องจากมีการเลี้ยงกุ้งเพิ่มมากขึ้นกว่าปีพ.ศ. 2538 ถึง 45% และมีการลดลงของกุ้งที่ติดเชื้อในปีถัดไป (ตารางที่ 2.4) การลดลงในปีพ.ศ. 2540-2541 อาจเนื่องมาจากมีการป้องกันหลังจากทราบสาเหตุการตาย และจากปริมาณในการเลี้ยงที่ลดลงจาก 100 % ในปี พ.ศ. 2538 ลดลงประมาณ 70% ในปี พ.ศ. 2541 (ภาพที่ 2.7) ในการแพร่กระจายของโรคทอร่าอาจมาจากหลายปัจจัยเช่น มีการเคลื่อนย้ายลูกกุ้งและพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ที่มีเชื้อโรคทอร่า ซึ่งเกิดขึ้นเช่นเดียวกับที่ไต้หวัน (Chien et al., 1999) หรือมาจากพาหะที่ทำให้โรคแพร่กระจายออกไปในวงกว้างเช่นนกนางนวล หรือจากแมลงน้ำต่างๆ (Lightner et al., 1995)

ตารางที่ 2.4 การศึกษาโรคทอร่าในฟาร์มกุ้ง รัฐ Sinaloa จากปี 2539-2541 (Zarain-Herzberg, and Ascencio-Valle, 2000)

Year	Zone	Prevalence percent	Origin of *L. vannamei* percent	
			Cultivation	Wild
1996	North	(8/11) 73	91	80
	Center	(12/13) 92	84	75
	South	(7/9) 78	83	100
1997	North	(3/9) 34	67	50
	Center	(7/9) 78	55	67
	South	(1/5) 20	40	50
1998	Center	(8/23) 34	30	67

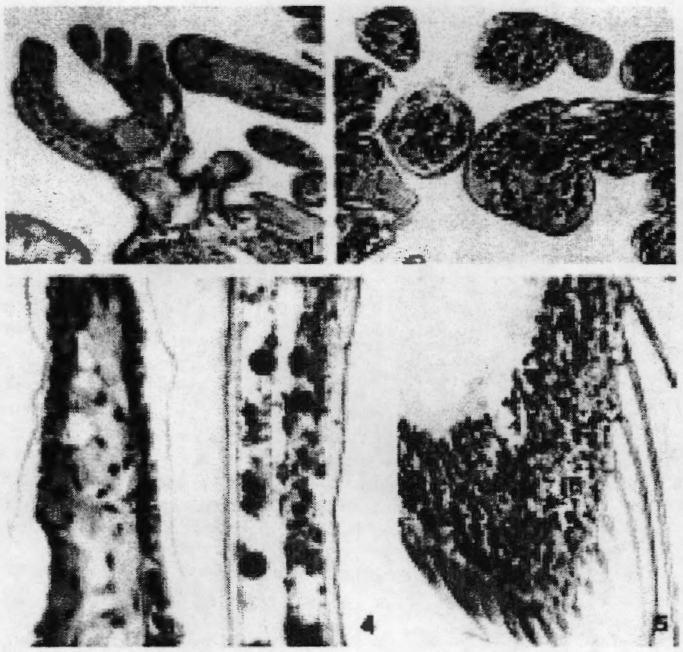


ภาพที่ 2.7 เปอร์เซ็นต์การเลี้ยงกุ้งขาวตั้งแต่ปีพ.ศ. 2539-2541จากฟาร์มกุ้งในรัฐ Sinaloa (Zarain-Herzberg, and Ascencio-Valle, 2000)

จากการระบาดของโรคทอร่าที่เกิดขึ้นในหลายพื้นที่และส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งขาวในอเมริกาทำให้เกิดความสูญเสียต่อระบบเศรษฐกิจทำให้มีการศึกษาถึงผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นกับกุ้งพื้นเมืองของอเมริกา Overstreet (1996) ได้มีการศึกษาความไวในการติดเชื้อของกุ้งพื้นเมือง 3 ชนิดในอเมริกาได้แก่ *Penaeus setiferus* , *P. aztecus* และ *P. duorarum* โดยนำลูกกุ้งระยะ postlarvae (ที่ได้จากแม่พันธุ์กุ้งชนิดต่าง ๆ ที่จับได้จากธรรมชาติ) มาทำให้ติดเชื้อโดย 3 วิธี โดยการฉีดเชื้อโรคทอร่าเข้าโดยตรง ให้กินเนื้อเยื่อกุ้งที่ติดเชื้อ และให้กินอาหารที่ผสมเชื้อโรคทอร่า พบว่ากุ้งสามารถรับเชื้อได้จากทั้ง 3 วิธีและกุ้งที่ได้รับเชื้อโดยการฉีดจะแสดงอาการเร็วที่สุด หลังจากกุ้งได้รับเชื้อแล้วพบว่า *P. setiferus* มีอัตราการตายสูงที่สุด คือตาย 100% หลังจากได้รับเชื้อประมาณ 3-7 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการตายของกุ้งขาวที่เกิดการตาย 100% หลังจากได้รับเชื้อ 2-8 วัน แต่ *P. aztecus และ P. duorarum* หลังจากได้รับเชื้อไม่พบการตาย เมื่อนำกุ้งทั้ง 2 ชนิดมาทำการตรวจสอบพบว่ากุ้งทั้ง 2 ชนิดได้รับเชื้อโรคทอร่า แต่ไม่แสดงอาการหรือเกิดการตาย และเมื่อนำมาทดลองกับกุ้งต่างถิ่นได้แก่ *P. chinensis* เกิดการตายถึง 70 % จึงให้เห็นว่าโรคทอร่าสามารถทำให้เกิดการระบาดในกุ้งชนิดอื่น ๆ ได้และกุ้งที่ได้รับเชื้อบางชนิดสามารถเป็นพาหะทำให้เกิดโรคระบาดในกุ้งชนิดอื่น ๆ ต่อไปได้เช่นกัน และเมื่อนำกุ้งที่ติดเชื้อมาตรวจสอบพบว่า กุ้งที่ติดเชื้อเกิดความผิดปกติของเซลล์เม็ดเลือด (ภาพที่ 2.8)

Zarain-Herzberg, and Ascencio-Valle (2000) พบว่ากุ้งขาวที่ติดเชื้อโรคทอร่ามีความผิดปกติของนิวเคลียสทำให้เกิด pycnosis และ karyorrhexis บริเวณเยื่อบุผิว ลำตัวมีสีแดง เปลือกนิ่ม นอกจากนี้ยังเกิด melanization บนผิวหนัง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Song (2003) และยัง

พบว่าเมื่อกุ้งขาวได้รับเชื้อโรคทอร่าปริมาณเม็ดเลือด, hyalinocyte , granulocyte, และ plasma protein จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญคือ 21% , 24%, 17% และ 56% ตามลำดับ นอกจากนี้ haemocyanin ยังลดลงถึง 67% เมื่อการศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* ยังพบว่า copper ion , calcium ion , ตัวกระตุ้นเอมไซม์ TGase และ plasma ที่ทำหน้าที่ยับยั้งเชื้อโรคมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบว่า phenoloxidase (PO) มีการทำงานเพิ่มขึ้นในกุ้งขาวที่ติดเชื้อ จากปัจจัยต่าง ๆ ทำให้ทราบได้ถึงการเปลี่ยนแปลงของกุ้งขาวหลังการได้รับเชื้อ



ภาพที่ 2.8 Hematoxylin and eosin section ของ *Penaeus setiferu* ที่ได้รับเชื้อโรคทอร่า
(1. เหงือกกุ้งปกติ , 2. เหงือกกุ้งที่ได้รับเชื้อโรคทอร่า , 3. ภาพตัดตามยาวของ antenna ในกุ้งปกติ , 4. ภาพตัดตามยาวของ antenna ในกุ้งที่ติดเชื้อโรคทอร่า และ 5. ภาพตัดตามผิวหน้าของ exopod ของ uropod ในกุ้งที่ติดเชื้อ)

วิศณุ บุญญาวิวัฒน์ และคณะ (2547) ได้มีการตรวจพบอาการผิดปกติในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินจังหวัดนครปฐม ช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2547 โดยทำการเก็บตัวอย่างจากฟาร์มจำนวน 10 ฟาร์ม ซึ่งพบความผิดปกติของกุ้งกุลาดำที่มีอายุประมาณ 25-40 วัน โดยกุ้งที่ตายมีรอยโรคเป็นปื้นสีขาวที่เปลือกบริเวณแผ่นปิดเหงือก และโคนหาง กุ้งที่ติดเชื้อระยะเฉียบพลันมีการตาย 10-30% ภายใน 7-10 วัน ส่วนกุ้งที่รอดและเข้าสู่ระยะเรื้อรังมีอัตราการตายลดลงและมีอาการของโรคปรากฏเป็นรอยแผลสีดำตามเปลือกและมักตายในช่วงลอกคราบถัดไป ซึ่งเมื่อนำมาตรวจลำดับนิ

วคลีโอไทด์พบว่าตรงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อโรคทอร่าที่มีรายงานใน Genbank ถึง 97% ในประเทศไทย

ชัยวุฒิ สุดทองคง (2547) ได้ทำการสุ่มตัวอย่างกุ้งกุลาดำในเขตพื้นที่จังหวัด ฉะเชิงเทรา ราชบุรี ชลบุรี สมุทรสาคร และเพชรบุรี พบกุ้งกุลาดำตั้งแต่ระยะโพสลาวาร์จนถึงระยะโตเต็มวัยติดเชื้อและป่วยด้วยโรคทอร่า โดยพบกุ้งบางตัวมีลักษณะคล้ายกุ้งขาวที่ป่วยด้วยโรคทอร่า คือส่วนของเปลือกกุ้งมีจุดสีน้ำตาลดำ โดยสาเหตุการเกิดจุดสีดำอาจเป็นการเกิดร่วมกับการติดเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากไม่พบลักษณะเปลือกดำ ในกุ้งที่ป่วยบางส่วนที่ติดเชื้อรุนแรงที่แสดงอาการป่วยและตาย หรือในบางตัวอย่างพบมีลักษณะของจุดสีขาวคล้ายกับลักษณะกุ้งที่เป็นโรคตัวแดงดวงขาว และส่วนใหญ่พบว่าไม่มีอาหารในลำไส้กุ้งที่ป่วยและตายระหว่างการลอกคราบเช่นเดียวกับกุ้งขาว จากการตรวจสอบตัวอย่างกุ้งกุลาดำที่เกษตรกรนำมาตรวจที่แลป PCR ในช่วงระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงพฤษภาคม พบกุ้งจากจังหวัดฉะเชิงเทราและราชบุรีซึ่งเป็นกุ้งที่เลี้ยงในพื้นที่ความเค็มต่ำมีการติดเชื้อโรคทอร่าและแสดงอาการป่วยมากที่สุด

จรีพร เรืองศรี และคณะ (2547) ทำการติดตามการแพร่กระจายของโรคติดเชื้อที่อาจปนเปื้อนมาจากการนำเข้ากุ้งขาวโดยเฉพาะเชื้อไวรัสทอร่า และ IHHNV (Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus) และผลกระทบของโรคต่อกุ้งพื้นเมืองอื่น ๆในประเทศไทย โดยเฉพาะกุ้งกุลาดำ โดยการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวทั้งจากโรงเพาะฟักและบ่อดินทุกภูมิภาคทั่วประเทศ ระหว่างเดือนกันยายนถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2546 โดยกำหนดจำนวนตัวอย่างที่อุบัติการณ์การเกิดโรคที่ 2% (2% prevalence) ในการประเมินจำนวนโรงเพาะฟักและบ่อเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทย พบว่ามีพื้นที่การเลี้ยงไม่น้อยกว่า 100,000 บ่อทั่วประเทศ ดังนั้นการสุ่มเก็บตัวอย่างกุ้งขาวทั้งหมดจำนวนอย่างน้อย 147 บ่อ ในการศึกษาครั้งนี้ ทำการเก็บตัวอย่างลูกกุ้งขาวจากโรงเพาะฟักรวม 163 ตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างกุ้งขาวจากบ่อดินรวม 192 ตัวอย่าง โดยรวบรวมจากภูมิภาคต่าง ๆ ทั่วประเทศ ทำการเก็บตัวอย่างกุ้งมีชีวิตใส่ถุงพลาสติกอัดออกซิเจน ตัวอย่างที่ใกล้ตายหรือตายใหม่ ๆ เก็บใส่ถุงแช่น้ำแข็งหรือแช่แข็งเพื่อนำมาตรวจสอบการติดเชื้อโดยใช้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรส (polymerase chain reaction : PCR) ในห้องปฏิบัติการ และนำเชื้อโรคทอร่าและ IHHNV ที่แยกได้มาทดสอบการยอมรับเชื้อในสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองของไทย ได้แก่ กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) น้ำหนัก 4-6 กรัม กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) น้ำหนัก 9-12 กรัม กุ้งตะกาด (*Metapenaeus monoceros*) น้ำหนัก 4-6 กรัม กุ้งกะต่อม (*M. equideus*) น้ำหนัก 3-5 กรัม กั้งตั๊กแตน (*Chloridopsis immaculatus*) น้ำหนัก 6-10 กรัม ปูดำ (*Scylla serrata*) น้ำหนัก 60-70 กรัม และปูแสม (*Sesarma* sp.) น้ำหนัก 20-30 กรัม จำนวนชนิดละ 30 ตัว โดยฉีดสารละลายเชื้อไวรัสเจือจาง 1,000 เท่าปริมาตร 0.1-0.3 มิลลิลิตรเข้าบริเวณกล้ามเนื้อท้องปล้องสุดท้ายของสัตว์ทดลองกลุ่มกุ้ง ส่วนปูฉีดเข้าบริเวณขาเดิน สำหรับกุ้งเคย (*Acetes* sp.) และกุ้งฝอยน้ำจืด (*M. lanchesteri*) ซึ่งมีขนาดเล็กทำการทดสอบการยอมรับเชื้อโดยการแช่ทิ้งไว้ 5 ชั่วโมง

ผลการศึกษาของจรีพร เรืองศรี และคณะ (2547) ยังพบตัวอย่างกุ้งขาวจากโรงเพาะฟักทั่วประเทศไทยมีการติดเชื้อทอร่าคิดเป็น 3.68% และติดเชื้อ IHHNV คิดเป็น 44.17% กุ้งขาวจากบ่อดินทั่วประเทศไทยมีการติดเชื้อ IHHNV สูงถึง 67.19% ในขณะที่พบการแพร่กระจายของเชื้อทอร่าเพียง 6.77% และผลการทดสอบการยอมรับเชื้อทอร่าและ IHHNV ในสัตว์พื้นเมืองของประเทศไทยพบว่ากุ้งกุลาดำ กุ้งตะกาด กุ้งกะต่อม กั้งตั๊กแตน ปูแสม กุ้งเคยและกุ้งฝอยน้ำจืด สามารถยอมรับเชื้อทอร่า โดยบางส่วนมีการตายเนื่องจากการติดเชื้อ ส่วนสัตว์น้ำที่รอดตายและไม่แสดงอาการของโรค พบยังคงมีเชื้อไวรัสปรากฏอยู่ในตัวหลังการฉีดเชื้อเป็นเวลา 10 วัน ยกเว้นกุ้งกุลาดำที่ไม่พบอนุภาคของไวรัสในตัวหลังจากวันที่ 10 ของการติดเชื้อ (ตารางที่ 2.5) สำหรับการติดเชื้อ IHHNV พบว่าสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในกุ้งกุลาดำ กุ้งตะกาด กุ้งกะต่อม กุ้งเคย กั้งตั๊กแตน ปูแสม และกุ้งฝอยน้ำจืด โดยสัตว์น้ำส่วนหนึ่งมีการตายหลังจากติดเชื้อ และให้ผลบวกในการตรวจสอบหาเชื้อด้วยวิธี PCR ส่วนกลุ่มที่รอดตายยังคงพบเชื้ออยู่ในเลือดหลังการฉีดเชื้อเป็นเวลา 10 วัน ยกเว้นปูแสมที่รอดตายและไม่พบอนุภาคของเชื้อไวรัสในร่างกาย นอกจากนี้พบว่ากุ้งก้ามกรามและปูดำไม่แสดงอาการของโรคและไม่ตายหลังการได้รับเชื้อ IHHNV แต่ยังคงพบอนุภาคของไวรัสอยู่ในเลือด หลังการฉีดเชื้อเป็นเวลา 6 และ 10 วัน (ตารางที่ 2.6)

Perez et al. (2005) ได้ทำการศึกษาการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว ในกุ้งขาวระยะตัว postlarvae และ juveniles โดยนำกุ้งขาวจากระยะ nauplii ถึง PL12 มาเลี้ยงในถังขนาด 50 ลิตร จนได้กุ้งระยะ PL20, PL30 และ PL40 นำมาทดลองให้รับเชื้อโดยการฉีด การกินเนื้อเยื่อกุ้งที่ติดเชื้อและการกินอาหารที่ผสมเนื้อเยื่อที่มีเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว และทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 24 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่ากุ้งในทุกระยะมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นในช่วง 1-7 วัน (ภาพที่ 2.9) และจะเห็นว่ากุ้งที่ได้รับเชื้อโดยการกินเนื้อเยื่อ จะมีอัตรารอดต่ำที่สุด (28.3 %) ตามด้วยการกินอาหารผสม (39.2 %) และ การฉีดมีอัตรารอด (49.6 %) ในขณะที่ชุดควบคุมมีอัตรารอดสูงที่สุด (72.5 %) ซึ่งการติดเชื้อโดยการกินเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อ และการกินอาหารผสมเป็นโอกาสที่สามารถเกิดขึ้นได้มากที่สุด จึงได้มีการทดสอบต่อในกุ้งระยะ juveniles ที่มีน้ำหนักประมาณ 1 กรัมที่ได้ตัวอย่างมาจาก 3 แหล่ง ให้รับเชื้อด้วยการกินเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว เลี้ยงต่อจนครบ 11 วัน พบว่ากุ้งมีอัตราการตายแตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่ได้รับเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 2.10) และในการศึกษาระยะ postlarvae พบว่ากุ้งในระยะ PL40 มีอัตรารอดต่ำกว่าอีก 2 ระยะ (35.6 %) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจาก PL20 (51.9%) และ PL30 (54.7 %)

ตารางที่ 2.5 การยอมรับเชื้อทอร่าในสัตว์น้ำพื้นเมืองของประเทศไทย จรีพร เรืองศรี และคณะ (2547)

Species	Mortality of TSV infect animal (%)	Mortality of the controls (%)	RT-PCR result*	Existence of virus in surviving shrimp after infect**		
				3 days	6days	10 days
Penaeus monodon	14.37	0	+	+	+	-
Metapenaeus monoceros	45	15	+	+	ND	+
Macrobrachium rosenbergii	0	0	0	ND	ND	+
Macrobracium equideus	71.43	40.91	+	+	+	+
Chloridopsis immaculatus	87.5	5	+	ND	ND	+
Sesarma sp.	42.86	0	+	ND	ND	+
Scylla serrata	0	0	+	+	+	+
Acetes sp.	64	12	+	+	+	+
Macrobrachium lanchesteri	40	6.67	+	ND	ND	+

* = Detectd in dead specimen ; ** = Detected in live specimen ; + = Positive result ;

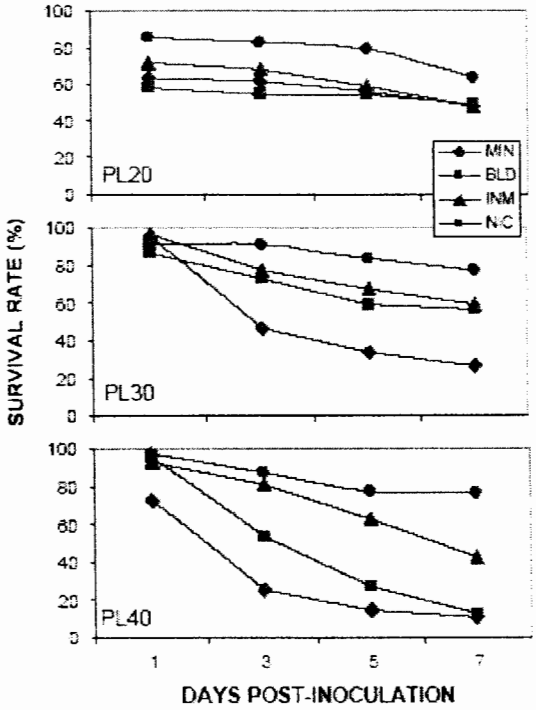
- = Negative result ; ND = non-detectable

ตารางที่ 2.6 การยอมรับเชื้อ IHHNV ในสัตว์น้ำพื้นเมืองของประเทศไทย จรีพร เรืองศรี และคณะ (2547)

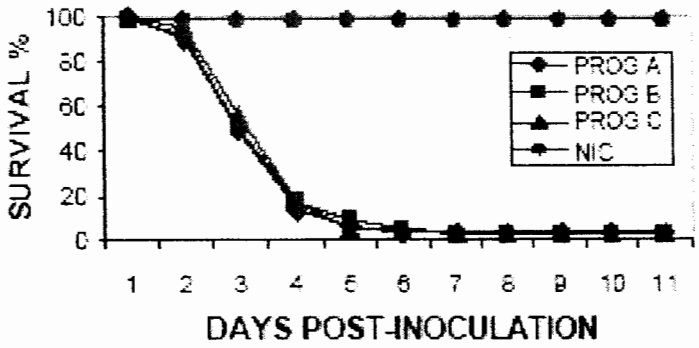
Species	Mortality of TSV infect animal (%)	Mortality of the controls (%)	RT-PCR result*	Existence of virus in surviving shrimp after infect**		
				3 days	6days	10 days
Penaeus monodon	43.33	0	+	+	+	+
Metapenaeus monoceros	27.27	15	+	+	ND	-
Macrobrachium rosenbergii	0	0	ND	ND	+	-
Macrobracium equideus	53.33	40.91	+	+	+	+
Chloridopsis immaculatus	22.73	5	+	ND	ND	+
Sesarma sp.	28.57	0	+	-	-	-
Scylla serrata	0	0	-	-	-	+
Acetes sp.	50	12	+	+	+	+
Macrobrachium lanchesteri	20	6.67	+	+	+	+

* = *Detectd in dead specimen ;* ** = *Detected in live specimen ;* + = *Positive result ;*

- = Negative result ; ND = non-detectable



ภาพที่ 2.9 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกุ้งขาวระยะ postlarvae ที่ได้รับเชื้อตัวแดงดวงขาวทั้ง 3 วิธี (MIN คือ ให้กุ้งกินเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อ, BLD คือ ให้กุ้งกินอาหารผสมเนื้อเยื่อที่มีเชื้อ, IMM คือ การฉีดเชื้อเข้าโดยตรง และ NIC คือ ชุดควบคุม)

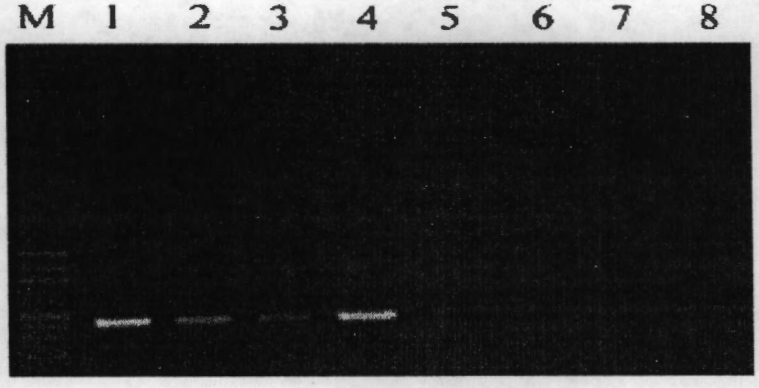


ภาพที่ 2.10 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของกุ้งขาวขนาด 1 กรัมจากที่มา 3 แหล่ง (A, B and C) ที่ได้รับเชื้อโดยการกินเนื้อเยื่อกุ้งที่ติดเชื้อ (NIC: ชุดควบคุม)

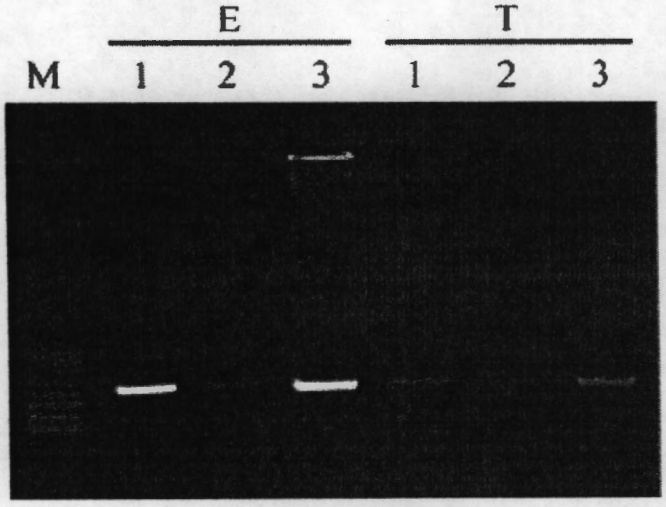
การวินิจฉัยโรคทอร่า

ในการศึกษาเชื้อไวรัสในกุ้งมีวิธีการตรวจสอบได้หลายวิธีเช่นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อ สารภายในร่างกายที่ใช้ในการยับยั้งสิ่งแปลกปลอม ในการตรวจสอบโรคทอร่าหรือ เชื้อไวรัสหัวเหลือง ซึ่งเป็นไวรัสชนิด RNA virus จะนิยมใช้วิธี RT-PCR (Kiatpathomchai et al., 2004

และ Lu et al., 2004) ในการตรวจสอบเนื่องจากมีความแม่นยำสูง และยังสามารถใช้วิธี Real-time RT-PCR ในการตรวจสอบ ผู้ที่จะทำการตรวจสอบต้องมีความชำนาญจึงจะไม่ทำให้เกิดข้อผิดพลาดในการตรวจสอบได้ เนื่องจากเชื้อไวรัสมีความสามารถในการกลายพันธุ์จึงมีการทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระดับนิวคลีโอไทด์ของโรคทอร่า เพื่อให้การตรวจสอบเป็นไปอย่างแม่นยำ Lu et al. (2004) ได้นำวิธีการ PCR มาใช้ในการตรวจสอบเพื่อให้เกิดความรวดเร็วในการตรวจโรคทอร่า และได้นำวิธี RT-PCR มาใช้ตรวจสอบอีกวิธีหนึ่ง โดยนำ genomic DNA และ mRNA ที่ได้จากกุ้งที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อมาทำการตรวจ โดยใช้ไพรเมอร์ 822F และ 822R ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ของโรคทอร่าที่จับได้มีขนาด 420 bp (ภาพที่ 2.11) และเมื่อทำการทดลองแบบ one-step และ two-step พบว่าการใช้วิธี two-step สามารถแสดงผลได้ชัดเจนกว่าแบบ one-step (ภาพที่ 2.12)



ภาพที่ 2.11 ผลการตรวจสอบโรคทอร่าด้วยวิธี RT-PCR (1-4 คือกุ้งที่ติดโรคทอร่า, 5-8 คือชุดควบคุมไม่ติดเชื้อ)



ภาพที่ 2.12 การทดลองแบบ one-step และ two-step ด้วยวิธีการ RT-PCR (E คือ two-step และ T คือ one-step)

นอกจากวิธีวิเคราะห์แล้วการเลือกชิ้นส่วนของกุ้งเพื่อใช้ในการตรวจสอบก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ผลที่ได้มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น Nunan et al. (2004) ได้ทำการตรวจเชื้อโรคทอร่าโดยนำตัวอย่างกุ้งขาว 100 ตัว ขนาด 3 กรัม ที่ได้รับเชื้อโรคทอร่าจาก 2 วิธี คือการกินเนื้อเยื่อกุ้งที่ติดเชื้อและการฉีดเชื้อเข้าโดยตรง ทำการสังเกตกุ้งที่ตายหลังจากได้รับเชื้อ 2 วัน 3 วัน และกุ้งที่รอดจากการติดเชื้อ เมื่อนำกุ้งที่ติดเชื้อมาตรวจสอบโดยแบ่งออกเป็น 6 ส่วนได้แก่ ส่วนหัว เหงือก ลำตัว เนื้อเยื่อหาง ขาว่ายน้ำ และส่วนแพนหาง พบว่าการได้รับเชื้อแบบฉีดทั้ง 6 ส่วนมีปริมาณเชื้อมากกว่าการรับเชื้อด้วยวิธีการกิน

ในการตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยวิธี RT-PCR นอกจะใช้ในการตรวจสอบเชื้อโรคทอร่าแล้ว การตรวจเชื้อไวรัสหัวเหลือง ก็สามารถใช้วิธีนี้ได้เช่นกัน (Kiatpathomchai et al, 200ภ) แต่เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบค่อนข้างสูงจึงมีการศึกษาวิธีการตรวจที่ลดค่าใช้จ่าย โดยการใช้วิธี Dot-blot nitrocellulose enzyme immunoassays (DB-NC-EIA) และยังสามารถตรวจสอบเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว ได้อีกด้วย (Nadara and Loh, 1999) ในการตรวจสอบเชื้อไวรัสในกุ้งมีหลายวิธีให้เลือกใช้ ควรเลือกใช้ให้ถูกต้องตามลักษณะของไวรัสชนิดนั้น ๆ จึงจะทำให้ผลที่ได้มีความถูกต้องและแม่นยำมากที่สุด

จากการศึกษาข้างต้นจะเห็นได้ว่าเชื้อไวรัสเพียงหนึ่งชนิด สามารถก่อให้เกิดการระบาดได้กับกุ้งหลายชนิด ซึ่งมีความรุนแรงต่างกัน และกุ้งชนิดเดียวกันยังรับเชื้อและเกิดการระบาดจากเชื้อไวรัสได้หลายชนิด ดังนั้นการป้องกันการติดเชื้อไวรัสน่าจะเป็นวิธีที่ช่วยให้ระบบอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งมีความปลอดภัย และไม่ก่อให้เกิดความสูญเสียต่อระบบเศรษฐกิจ นอกจากนี้การป้องกันการกระจายของเชื้อลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติก็จะช่วยไม่ให้เกิดการระบาดในธรรมชาติ และป้องกันไม่ให้เกิดพาหะของเชื้อจากสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ ได้ เช่นกัน

โรคที่เกิดจากไวรัสและมีความจำเพาะต่อกุ้งขาวคือชนิด Taura Syndrome Virus (TSV) จะระบาดในกุ้งช่วงอายุ 1-2 เดือน ทำให้ลำตัวกุ้งอ่อนนุ่ม เปลือกไม่แข็ง เลือดมีการแข็งตัวช้า (Song et al., 2003) ลำตัวและปลายแพนหางเป็นสีชมพูถึงแดงเข้ม เนื่องจากเชื้อไวรัสชนิดนี้มีความจำเพาะต่อกุ้งขาวอย่างมาก กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกรามในประเทศไทยถ้าได้รับเชื้อเข้าไปอาจเป็นพาหะของโรคได้ ดังเช่นการทดลองการฉีด TSV เข้าในกุ้ง *Penaeus setiferus*, *P. duorarum*, *P. aztecus* หลังจากได้รับเชื้อ 79 วัน กุ้งทั้งสามชนิดไม่แสดงอาการของโรคเลย ซึ่งต่างจากกุ้งขาว *P. vannamei* ที่มีการตายสูงมาก อย่างไรก็ตามยังพบว่า *P. chinensis* ซึ่งเป็น non-native species มีความไวต่อการรับโรค TSV สูงมาก (Overstreet et al., 1997.) โรค TSV มีโอกาสถ่ายทอดเชื้อจากกุ้งสู่กุ้ง และพ่อแม่ไปสู่ลูกกุ้งได้ จึงควรมีความตระหนักอย่างยิ่งถึงการเป็นพาหะระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวสลับกับกุ้งต่าง ๆ รวมทั้งถ้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำรับเชื้อ TSV เข้าไป ลูกกุ้งก็มีโอกาสเก็บเชื้อเอาไว้ (harbor virus)

โรคในกุ้งที่เกิดจากไวรัส White Spot Syndrome Virus (WSSV) มีโอกาสระบาดได้ในกุ้ง penaeid ทั่วไป ดังมีการทดลองมากมายเกี่ยวกับการถ่ายทอดเชื้อ WSSV ระหว่างกุ้ง *P. monodon*, *P. japonicus*, *P. penicillatus* ผลการทดลองพบว่าเชื้อ WSSV ไม่ว่าโดยการแช่หรือให้กินก็ตาม จะมีการถ่ายทอดเชื้อกันได้ ระหว่าง penaeid shrimp ที่ต่างชนิดกันและก่อให้เกิดการตายได้ภายใน 4-6 วัน (Chou et al., 1998) ทั้งยังมีการรายงานว่าการให้กุ้งก้ามกรามกินกุ้งกุลาดำที่มีเชื้อ WSSV หรือฉีดเชื้อ WSSV เข้าไป สามารถทำให้เกิดการตายของกุ้งก้ามกรามได้ (Pramod Kiran et al., 2002) เชื้อไวรัส WSSV มีการถ่ายทอดเชื้อจากพ่อแม่กุ้งกุลาดำไปสู่ลูกกุ้งได้ (จิราพร และคณะ 2543) ส่วนการศึกษาการระบาดทำความเสียหายต่อการเลี้ยงกุ้งขาวและการตรวจหาเชื้อ WSSV ในกุ้งขาวก็มีรายงานมากมายในเร็ว ๆนี้ (Prior et al., 2003; Tsai et al., 2002; Durand & Lighter, 2002)

โรคในกุ้งที่เกิดจากไวรัส Yellow Head Virus (YHV) เป็นชนิดที่ทำความเสียหายต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยอย่างมากและเป็นเวลานาน ทำให้เกษตรกรหันไปเลี้ยงกุ้งขาวกันมากขึ้น แม้ว่าโรคหัวเหลืองจะไม่เป็นสาเหตุการตายในกุ้งขาวก็ตาม ได้มีการตรวจพบไวรัส YHV ในกุ้งขาวที่เจือจางลงสิบเท่า ด้วยวิธี Dot-blot nitrocellulose enzyme immunoassay (Cesar et al., 2000) และยังมีการรายงานการเลี้ยงเซลล์ Lymphoid organ ของกุ้งขาวเพื่อทดสอบการทำลายเซลล์เลี้ยงด้วยเชื้อ YHV ได้ภายในสามวัน (Lu et al., 1995) กุ้งขาวมีความทนทานต่อการเกิดโรคหัวเหลือง จึงเป็นเพียงตัวเก็บเชื้อโรคเอาไว้ ซึ่งอาจนำเชื้อไปถ่ายทอดแก่กุ้งพื้นเมืองของประเทศไทยไม่ว่าจะหลุดรอดออกสู่ธรรมชาติ หรือฟาร์มกุ้งที่มีการเลี้ยงสลับชนิดของกุ้ง ซึ่งผู้ขอทุนวิจัยได้ออกสำรวจฟาร์มการติดเชื้อไวรัสหัวเหลืองในการอนุบาลกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำในเขตจังหวัดชลบุรี ช่วงตุลาคม 2546 (โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชน ประจำปี 2546) พบว่า เจ็ดจากสิบเก้าฟาร์มได้ตรวจพบเชื้อไวรัสหัวเหลืองทั้งกุ้งพีขาวและลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาร์วา โดยกุ้งกุลาดำมีลักษณะป่วยและตาย แต่กุ้งขาวไม่มีการตายและแสดงอาการป่วยเลย ดังนั้นสถานการณ์ของการเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยจึงมีโอกาสเกิดปัญหาการแพร่กระจายและการถ่ายทอดเชื้อระหว่างกุ้ง penaeid ต่างชนิดกัน รวมทั้งการติดเชื้อร่วมกันในอนาคตได้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. สถานที่เก็บตัวอย่าง

สถานที่จับกุ้งท้องถิ่นจากแม่น้ำบางปะกง แม่น้ำบางปะกงความยาวประมาณ 122 กิโลเมตร ถูกแบ่งออกเป็น 5 สถานีในการจับกุ้งจากธรรมชาติ แสดงดังภาพที่ 3.1 กุ้งธรรมชาติถูกดักจับ (โดยชาวประมง) ด้วยเครื่องมือจับกุ้งสองแบบคือโพงพาง และ อวนรุน

สถานีที่ 1 คือ อำเภอบางคล้า จับกุ้งจากแม่น้ำด้วยโพงพาง

สถานีที่ 2 คือ อำเภอเมืองและ อำเภอบ้านโพธิ์ จับกุ้งจากแม่น้ำด้วยโพงพาง

สถานีที่ 3 และ 4 คือ อำเภอบางปะกง จับกุ้งจากแม่น้ำด้วยโพงพาง (Stow nets) แสดงดังภาพที่ 3.2

สถานีที่ 5 คือ อำเภอท่าข้าม ปากแม่น้ำบางปะกง จับกุ้งจากแม่น้ำด้วยอวนรุน (Trawlers) ที่อำเภอท่าข้าม ปากแม่น้ำบางปะกง แสดงดังภาพที่ 3.3

2. สัตว์ที่ใช้ในการสุ่มตัวอย่างและการทดลอง

สัตว์ที่ใช้ในสุ่มตัวอย่างเพื่อการตรวจหาไวรัสและใช้ในการทดลอง มีดังนี้

2.1 กุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อดินจากฟาร์มกุ้งจากจังหวัดฉะเชิงเทรา อาจเป็นกุ้งขาวที่เลี้ยงร่วมกับกุ้งกุลาดำ หรือ กุ้งก้ามกราม และมีการเก็บตัวอย่างสัตว์น้ำที่อาศัยในบ่อดินที่เลี้ยงกุ้งด้วย เพื่อตรวจไวรัสสามชนิด คือไวรัส Taura Syndrome Virus, White Spot Syndrome Virus และ Yellow Head Virus หรือไม่ แสดงภาพที่ 3.4 และ 3.5 ที่กุ้งขาวเลี้ยงร่วมกับกุ้งก้ามกรามในบ่อดินแห่งหนึ่งในอำเภอบ้านโพธิ์ จังหวัดฉะเชิงเทรา (n = 1-20 ตัว ต่อชนิด ต่อฤดูกาล) โดยรวบรวมจากทั้งสิ้น 55 ฟาร์ม ซึ่งแบ่งเป็นฤดูกาลละ 8-23 ฟาร์ม

2.2 กุ้งพื้นเมืองที่จับจากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาว และจำแนกชนิด แสดงภาพกุ้งสดที่ยังไม่แยกชนิด ดังภาพที่ 3.6 การตรวจไวรัสในตัวอย่างกุ้งแต่ละชนิด จะทำการตรวจกุ้งแต่ละตัวถ้ากุ้งมีขนาดใหญ่ แต่หากกุ้งมีขนาดเล็กลงมาจะรวมตัวอย่างตรวจตั้งแต่ 2-5 ตัว ให้เป็น 1 ตัวอย่าง

2.3 พ่อและแม่พันธุ์กุ้ง ทั้งกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย (n = 30 ตัว ต่อฤดูกาล และ 6-29 ตัว ต่อฤดูกาล สำหรับกุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วย ตามลำดับ) จะซื้อจากแหล่งรวบรวมกุ้งมีชีวิตจากธรรมชาติที่ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี กุ้งที่ซื้อมาแสดงดังภาพที่ 3.7

2.4 กุ้งที่ใช้ในงานทดลองศึกษาความรุนแรงในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส Taura Syndrome Virus, White Spot Syndrome Virus และ Yellow Head Virus เป็นกุ้งเลี้ยงจากบ่อดิน คือ กุ้งขาว กุ้งกุลาดำ หรือ กุ้ง

ก้ามกราม กุ้งทดลองก่อนใช้ในงานทดลองจริงจะมีการตรวจไวรัสทั้งสามชนิด ซึ่งต้องไม่มีไวรัสปนเปื้อนอยู่เลย

3. การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสทอร่า

การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสทอร่าด้วยชุดตรวจสอบ IQ 2000 TM TSV Detection System (สั่งซื้อแจกตัวแทนในประเทศไทยคือ บริษัทบางกอก เฟิสท์ ยูเนี่ยนและ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ)

อุปกรณ์และสารเคมี

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ มีดังนี้ เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม เครื่องปั่นเหวี่ยง ตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส ไมโครเวฟ เครื่องอิเล็กโตรโฟไลซิสแบบแนวนอน เครื่องดูดสารละลายปริมาณต่ำ และชุดอ่านเจลด้วยแสงอัลตร้าไวโอเลต

3.2 ชุดตรวจสอบไวรัสทอร่า (Taura Syndrome Virus) IQ 2000 TM TSV Detection System

ส่วนประกอบในชุดทดสอบ (เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C)

- RT-PCR Premix (_reaction buffer , dNTPs , TSV specific)	420 µl/vial
- Nested PCR Premix (_reaction buffer , dNTPs , TSV specific)	840 µl/vial
- Plasmid P (+) Standard	100µl/vial (10^4 copies/µl)
- Yeast tRNA	500 µl/vial (40 ng/µl)
- IQzyme Mix	180 µl/vial (2 U/µl)
- RT Enzyme Mix	60 µl/vial
- 6X Loading Dye	1500 µl/vial
- DNA Marker	100 µl/vial
- DEPC ddH_2O	50 ml/bottle

น้ำยาสกัด เก็บรักษาที่ 4 °C

- RNA Extraction Solution

วิธีการทดลอง

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

1. เขียน label ที่ microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml โดยเขียนชื่อตัวอย่าง วันที่

2. ตัดเนื้อเยื่อตัวอย่าง (ขาว่ายน้ำหรือเหงือก) ใส่ลงในหลอด

3. เติม RNA Extraction Solution ปริมาตร 500 ml และบดตัวอย่างให้ละเอียดตั้งทิ้งไว้ 5 นาที

4. เติมคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 100 ml ผสมให้เข้ากันด้วย vortex ประมาณ 20 วินาที ตั้งทิ้งไว้อีก 3-5 นาที

5. ปั่นหลอดตัวอย่างใน Centrifuge (12000 g) ที่ 4 °C นาน 15 นาที

6. ดูดสารละลายในด้านบนปริมาตร 200 µl ใส่ลงใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml เติมสารละลาย Isopropanal 200 µl (แช่เย็นที่ -20 °C ผสมให้เข้ากันด้วย vortex แล้วนำไปแช่ที่ -20 °C นาน 10 นาที

7. ปั่นหลอดตัวอย่างใน Centrifuge (12000 g) ที่ 4 °C นาน 15 นาที

8. เทสารละลายใสทิ้งให้เหลือเพียงตะกอน (DNA/RNA) ที่ก้นหลอดระวังอย่าให้ตะกอนหลุด ล้างตะกอนด้วย 75% ethanol (-20 °C) ปริมาตร 500 ml ปั่นหลอดตัวอย่างใน Centrifuge (12000 g) ที่ 4 °C นาน 5 นาที

9. เท ethanol ออกระวังอย่าให้ตะกอนหลุด จากนั้นคว่ำหลอดทิ้งไว้ประมาณ 5 นาทีเพื่อให้ ethanol ระเหยออกให้มากที่สุด

10. เติม DEPC ddH2O 100 µl เพื่อละลายตะกอน

11. เตรียม master mix (RT-PCR reaction regent) เติมลงใน microcentrifuge tube 0.5 ml หลอดละ 8 µl และเตรียมเพิ่มอีก 2 หลอด ไว้สำหรับ positive (+) , negative (-) control

12. เติมสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ในข้อ 10 ปริมาตร 2 µl ลงในหลอดที่เติม master mix ผสมให้เข้ากันด้วย

Master Mix : RT-PCR Reaction regent (8 µl/reaction)

- RT- PCR Premix 7.0 µl
- IQzyme Mix 0.5 µl (2 unit/µl)
- RT Enzyme Mix 0.5 µl

13. นำเข้าเครื่อง PCR โดยใช้โปรแกรม RT- PCR reaction profile

42 °C 30 นาที , 94 °C 2 นาที

94 °C 20 วินาที , 62 °C 20 วินาที , 72 °C 30 วินาที จำนวน 7 รอบ

94 °C 30 วินาที , 58 °C 30 วินาที , 72 °C 30 วินาที จำนวน 13 รอบ

72 °C 30 วินาที , 20 °C 30 วินาที

14. เมื่อเสร็จสิ้นขั้นตอนแรก เติม Nested PCR reaction regent หลอดละ 15 µl

Master Mix : Nested PCR Reaction Regent (15 µl/reaction)

- Nested PCR Premixed 14 µl
- IQzyme DNA Polymerase 1 µl (2 unit/µl)

และนำไปเข้าเครื่องใหม่อีกครั้งโดยใช้ โปรแกรม Nested - PCR reaction profile

94 °C 20 วินาที , 62 °C 20 วินาที , 72 °C 30 วินาที จำนวน 30 รอบ

72 °C 30 วินาที , 20 °C 30 วินาที

นำตัวอย่างที่ได้ไป load บน 2 % agarose gel สำหรับ Gel Electrophoresis

15. เตรียม agarose gel 2 % โดยชั่ง agarose 1.6 g ใส่ลงในบิกเกอร์ ใช้ 1X TBE buffer {(Boric acid 27.5 g, Tris base 54.0 g, EDTA (pH 8, 0.5 M) 20.0 mL in 1 Liter (5X) or in 500 mL (10X)} 80 ml (15 lane) เป็นตัวทำละลาย ต้มจนละลายหมด หรือ เข้า ไมโครเวฟ 45 วินาที ระวังล้น) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที เพื่อไม่ให้ร้อนจัด

16. เทลงใน gel box แล้ววางหวี (เพื่อให้เป็นหลุมสำหรับ load) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีรอให้ gel แข็งตัว (ควรเทช้า ๆ โดยไม่ให้เกิดฟองอากาศภายใน และ gel ควรสูงประมาณ 0.3-0.5 เซนติเมตร

17. นำ gel box วางลงใน blocker ที่เติม 1X TBE buffer โดยให้สูงกว่า gel ประมาณ 0.8 เซนติเมตร จากนั้นค่อย ๆ ดึงหวีออก

18. PCR products และ molecular weight standard โดยเติม loading dye 5 µl

19. load สารละลายตัวอย่าง ใส่ลงใน lane ๆ ปริมาณแถวละ 10 µl

20. นำไปผ่านกระแสไฟฟ้าที่ 100-150 V นานประมาณ 60 นาที (หรือจนใกล้สุด gel)

21. นำ gel ที่ได้ไปย้อมสีด้วย ethidium bromide เป็นเวลาประมาณ 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นอีก 10 นาที นำไปตรวจดูด้วยแสง UV

22. บันทึกผล ผลการตรวจไวรัส TSV บนอาหารวุ้น ที่ย้อมสีด้วย ethidium bromide ให้เห็นแบนที่มีขนาด 284 bp ซึ่งเป็นตัวอย่างจากกุ้งที่มีไวรัส TSV ซึ่งเป็นขนาดที่เทียบกับ plasmid ของ TSV และกุ้งที่ไม่ปรากฏขนาด 284 bp เป็นกุ้งที่ไม่มีไวรัส แสดงดังภาพที่ 3.8 เป็นแผ่นเจลสองตอนที่ส่องผ่านภายใต้ แสง UV

4. การตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำด้วยวิธี Dot blot nitrocellulose membrane enzyme immunoassay การจับของแอนติบอดีกับแอนติเจนเป็นปฏิกิริยาที่มีความจำเพาะสูง ดังนั้นจึงสามารถใช้แอนติบอดีในการตรวจสอบแอนติเจนจากไวรัสแต่ละชนิดได้อย่างจำเพาะเจาะจง

4.1 อุปกรณ์และสารเคมี

4.1.1 Triton-X

4.1.2 Appendrof tube 1.5 ml

4.1.3 แท่งบดพลาสติก

4.1.4 กระดาษ nitrocellulose membrane

4.1.5 Blocking solution

4.1.6 Autopipette and tip

4.1.7 PBS-Tween 20

4.1.8 Goat anti mouse

4.1.9 NBT/BCIP สำหรับ Alkaline phosphatase

4.1.10 DAB สำหรับ Horseradish peroxidase

4.1.11 Mouse monoclonal anti WSSV (Chalvisuthangkura et al. 2004)

4.1.12 Mouse monoclonal anti YHV (Sithigorngul et al., 2000)

4.2 วิธีการทดลอง

4.2.1 นำเหงือกกุ้งและระยางค์กุ้งมาใส่ใน Appendrof ที่มี Triton–x 100 ไมโครลิตร บดให้ละเอียดด้วยแท่งพลาสติกบดกุ้ง

4.2.2 หยดสารละลายในข้อ 1 ลงบนกระดาษ Nitrocellulose membrane 0.1 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้ง

4.2.3 นำกระดาษ Nitrocellulose membrane ใส่ลงใน tube ที่มี blocking solution (5% nonfat dry milk in PBS) ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง

4.2.4 ล้างด้วย 0.05% Tween-20 in Phosphate buffer saline (PBS –Tw20) นาน 5 นาที จำนวน 3 ครั้ง

4.2.5 Treated ด้วย mouse anti-WSSV Mab นานข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง

4.2.6 ล้างด้วย 0.05% Tween-20 in Phosphate buffer saline (PBS –Tw20) นาน 5 นาที จำนวน 3 ครั้ง

4.2.7 Treated ด้วย goat anti mouse – เอ็นไซม์ HRP นาน 1 ชั่วโมงอุณหภูมิห้อง

4.2.8 ล้างด้วย 0.05% Tween-20 in Phosphate buffer saline (PBS –Tw20) นาน 5 นาที จำนวน 3 ครั้ง

4.2.9 Treated ด้วย NBT/BCIP หรือ DAB (7 mg ร่วมกับ 25 µl ของ H2O2 และ CoCl2 ต่อ PBS ปริมาณ 20 ml ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น

4.2.10 อ่านผลบนกระดาษ Nitrocellulose membrane แสดงดังภาพที่ 3.9 ผลการตรวจไวรัส WSSV และ YHV โดยวิธีทาง Immuno-dot blot บนกระดาษ nitrocellulose membrane (N= negative sample, P= Positive TSV sample)

5. ตัวอย่างสัตว์ทะเลและการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อตรวจไวรัส TSV

สุ่มเก็บสัตว์น้ำ 10 ชนิด ที่เป็นตัวแทนของสัตว์กลุ่มปู หอย เพรียง และ ปลา ชนิดละ 3 ตัวอย่าง แล้วนำสัตว์ตัวอย่างมาตัดอวัยวะที่ใช้ทดสอบในปริมาณ 0.3 กรัมใส่ใน micro centrifuge tube ขนาด 1.5 มล. แล้วนำไปตรวจเชื้อ TSV ด้วยเทคนิค RT-PCR ชนิดของสัตว์น้ำธรรมชาติที่เก็บสำรวจแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 3.1 ชนิดของสัตว์น้ำที่ทำการสำรวจจากแม่น้ำบางปะกงและแนวชายฝั่งจังหวัดชลบุรี

ชนิดของสัตว์น้ำ	ชื่อวิทยาศาสตร์	พื้นที่เก็บตัวอย่าง	อวัยวะที่ใช้ทดลอง
ปูดำ	*Scylla serrata*	บางปะกง	เหงือกและ ตับ
ปูม้า	*Portunus pelagicus*	อ่างศิลา	
ปูแสม	*Sesarma mederi*	บางปะกง	
หอยแมลงภู่	*Perna viridis*	อ่างศิลา (ชายฝั่ง)	เหงือกและเนื้อเยื่อ
หอยแมลงภู่	*Perna viridis*	อ่างศิลา (น้ำลึก)	
หอยนางรม	*Saccostrea cucullata*	อ่างศิลา	
หอยตลับ	*Meretrix meretrix*	หาดวอนนภา	
หอยเสียบ	*Donax faba* Gmelin	หาดวอนนภา	
ชนิดของสัตว์น้ำ	ชื่อวิทยาศาสตร์	พื้นที่เก็บตัวอย่าง	อวัยวะที่ใช้ทดลอง
เพรียงเลือด	*Glycera dibranchiata*	หาดวอนนภา	หัวและเนื้อเยื่อ
เพรียงทราย	*Perinereis nuntia*	หาดวอนนภา	
ปลากะพงขาว	*Lates calcarifer*	บางปะกง	เหงือก

การทดลอง ความรุนแรงในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส Taura syndrome virus, Whit Spot Syndrome Virus และ Yellow Head Virus ระหว่างกุ้งขาวกับกุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม

ตอนที่ 1 การทดลองการถ่ายทอดเชื้อไวรัส ระหว่างกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ กับ กุ้งก้ามกราม

การวางแผนการทดลอง

สัตว์ทดลอง

ความยาวและน้ำหนักเฉลี่ย ของกุ้งขาว คือ 4.102 ± 0.215 กรัม และ 7.57 ± 0.111 เซนติเมตร ความยาวและน้ำหนักเฉลี่ย ของกุ้งกุลาดำ คือ 2.76 ± 0.125 กรัม และ 6.2 ± 0.15 เซ็นติเมตร ความยาวและน้ำหนักเฉลี่ย ของกุ้งก้ามกราม คือ 4.08 ± 0.223 กรัม และ 7.25 ± 0.339 เซ็นติเมตร ภาพถ่ายของกุ้งทั้งสามชนิด แสดงดังภาพที่ 3.10 และระบบถังทดลองเลี้ยงถูกคลุมด้วยพลาสติกเพื่อป้องกันการปนเปื้อนไวรัสไปสู่สิ่งแวดล้อม แสดงดังภาพที่ 3.11 และกระชังเลี้ยงกุ้งถูกแบ่งแยกออกเป็นสามช่อง แสดงดังภาพที่ 3.12

ชุดการทดลอง แต่ละชุดทดลองมีสามซ้ำดังนี้

ชุดทดลองที่ 1 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม ไม่มีการฉีดเชื้อไวรัสชนิดใดในกุ้งทั้งสามชนิด

ชุดทดลองที่ 2 โดยการเฉีดเชื้อ TSV ในกุ้งขาว และเลี้ยงร่วมกับ กุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกราม ที่ปกติ

ชุดทดลองที่ 3 โดยการฉีดเชื้อ WSSV ในกุ้งกุลาดำ และเลี้ยงร่วมกับ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม ที่ปกติ

ชุดทดลองที่ 4 โดยการฉีดเชื้อ YHV ในกุ้งกุลาดำ และเลี้ยงร่วมกับ กุ้งขาว และกุ้งก้ามกราม ที่ปกติ

กุ้งทั้งหมดได้ตรวจไวรัส ทั้งสามชนิด ก่อนนำไปทดลอง กุ้งชนิดละ 25 ตัว ถูกเลี้ยงร่วมกันทั้งหมด 75 ตัว ในภาชนะเดียวกันที่มีปริมาตรน้ำทะเล 100 ลิตร ที่ความเค็ม 10 ppt ในภาชนะหนึ่งๆจะถูกแบ่งกั้นด้วยตะแกรงเป็นสามช่อง (ภาพที่ 15) ให้กุ้งทั้งสามชนิดถูกแยกเลี้ยงกัน เพื่อไม่ให้มีการจับกินของกุ้งต่างชนิดกัน การเลี้ยงร่วมกันระหว่างกุ้งทั้งสามชนิดเมื่อกุ้งถูกฉีดด้วยไวรัสไปแล้วสองวัน ทำการสุ่มตัวอย่างกุ้งชนิดละ 9 ตัว ในแต่ละชุดทดลอง ในวันที่ 1, 3, 7, 15 และ หลังกุ้งได้รับการฉีดเชื้อไวรัสแต่ละชนิด

ปริมาณเชื้อไวรัส

เชื้อไวรัสจะใช้ในอัตรา non-lethal dose (ใช้วิธี dilution method) ที่ไม่ก่อการตายภายใน 24 ชั่วโมง

เทคนิคการยืนยันไวรัสในตัวกุ้ง

- ไวรัสชนิดTSV ใช้เทคนิคการขยายปริมาณไวรัสทาง RT- PCR (Reverse Transcription -Polymerase Chain Reaction) โดยใช้ชุดสกัด RNA และ ชุดทดสอบ IQ 2000™ TSV Detection and Prevention System เป็นผลิตภัณฑ์จากประเทศไต้หวัน
- ไวรัสชนิด WSSV และ YHV โดยใช้เทคนิค Immuno dot blot ที่มีหลักการการจับจำเพาะระหว่างแอนติบอดี กับไวรัส แต่ละชนิด (a gift from Sithigorngul et al., 2000 for YHV and Chalvisuthangkura et al., 2004 for WSSV)

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

แสดงตารางระยะเวลาและจำนวนกุ้งที่พบเชื้อไวรัสจากกุ้งแต่ละชนิด และ อัตราการตาย

ตอนที่ 2 การทดลองการยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลืองในกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 5 ppt และ 25 ppt

การวางแผนการทดลอง

สัตว์ทดลอง

น้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งขาว คือ 3.74 ± 1.0 กรัม และ ความยาวมาตรฐานเฉลี่ย คือ 65.13 ± 6.51 เซนติเมตร ภาพกุ้งขาวดังภาพที่ 8 กุ้งขาวจะถูกเลี้ยงแยกเดี่ยวแต่ละตัวในกระชังที่แบ่งกั้นย่อย กุ้งขาวมีชีวิตนำมาใช้ทดลองการยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลือง

ระบบถังเลี้ยงและกระชัง

กระชังใหญ่ประกอบด้วยช่องย่อยจำนวน 20 ช่อง แสดงดังภาพที่ 3.13 ใช้ขังเลี้ยงเดี่ยวกุ้งขาวแต่ละตัว เพื่อป้องกันการกินกันเอง

ชุดการทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 8 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองมีสองซ้ำที่เป็นการตัดระยางค์เพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัส และ และมีชุดทดลองอีกสองซ้ำ เพื่อตรวจสอบอัตราการตาย มีกุ้งขาวถังละ (ซ้ำละ) 20 ตัว

1. การยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลืองในกุ้งขาวด้วยวิธีฉีด โดยใช้การเจือจางไวรัส (stock) เป็น 1 ต่อ 100, 200 และ 500 เท่า ใช้กุ้งขาวมีชีวิตทั้งหมด 960 ตัว

ชุดทดลองที่ 1 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 5 ppt

ชุดทดลองที่ 2 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 25 ppt

ชุดทดลองที่ 3 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 5 ppt และฉีดไวรัสตัวแดงดวงขาว

ชุดทดลองที่ 4 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 25 ppt และฉีดไวรัสตัวแดงดวงขาว

ชุดทดลองที่ 5 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 5 ppt
ชุดทดลองที่ 6 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 25 ppt
ชุดทดลองที่ 7โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 5 ppt และฉีดไวรัสหัวเหลือง
ชุดทดลองที่ 8 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 25 ppt และฉีดไวรัส
2. การยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลืองในกุ้งขาวด้วยวิธีใส่เชื้อไวรัสในน้ำ
ใช้กุ้งขาวมีชีวิตทั้งหมด 640 ตัว
ชุดทดลองที่ 1 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 5 ppt
ชุดทดลองที่ 2 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 25 ppt
ชุดทดลองที่ 3โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 5 ppt และใส่ไวรัสตัวแดงดวงขาวในถังเลี้ยง
ชุดทดลองที่ 4 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 25 ppt และใส่ไวรัสตัวแดงดวงขาวในถังเลี้ยง
ชุดทดลองที่ 5 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 5 ppt
ชุดทดลองที่ 6 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 25 ppt
ชุดทดลองที่ 7โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 5 ppt และใส่ไวรัสหัวเหลืองในถังเลี้ยง
ชุดทดลองที่ 8 โดยการเลี้ยงกุ้งขาว ในน้ำเค็มความเค็ม 25 ppt และใส่ไวรัสหัวเหลืองในถังเลี้ยง

ปริมาณเชื้อไวรัส

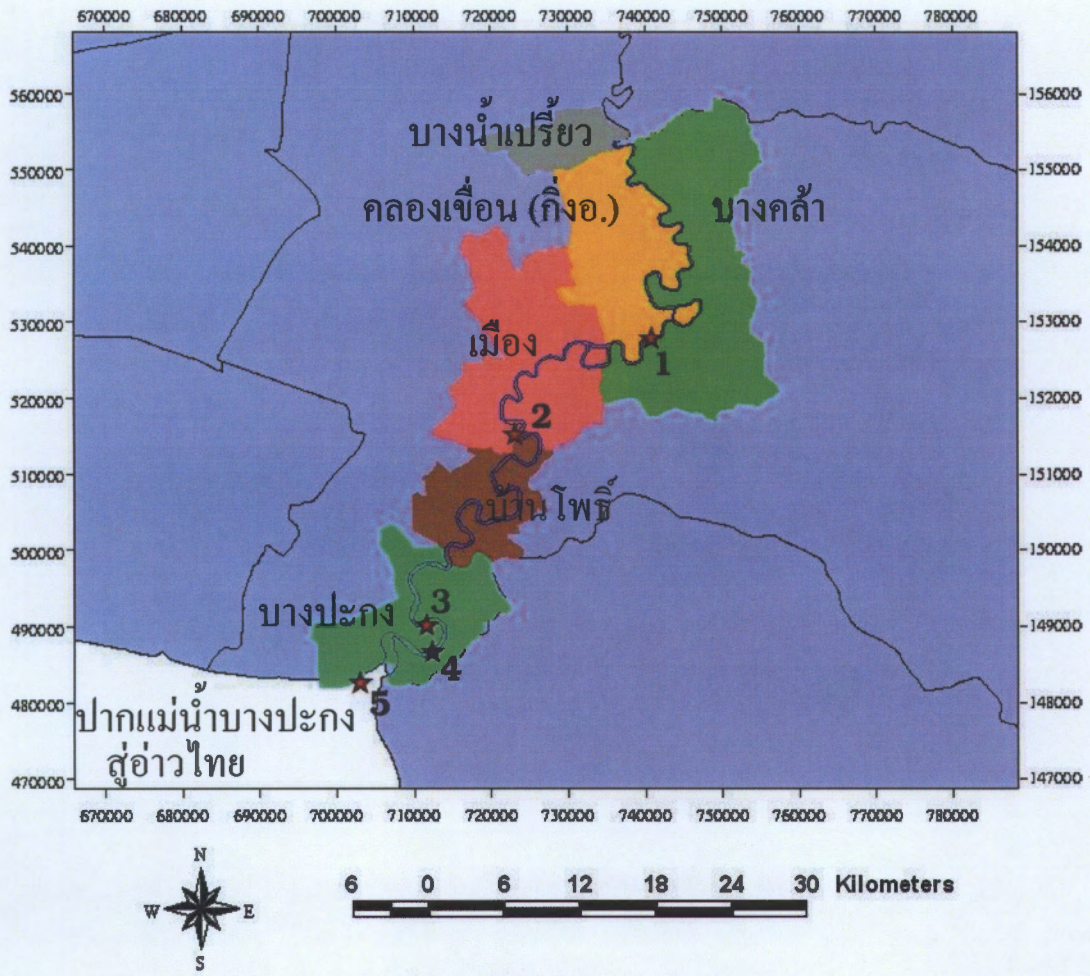
- ฉีดไวรัสปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ต่อกุ้ง 1 ตัว ทั้งไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลือง
- ใส่ไวรัสปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร (stock) ทั้งไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลือง ในถังน้ำเลี้ยงกุ้ง ปริมาตร 50 ลิตร

เทคนิคการยืนยันไวรัสในตัวกุ้ง

ในการตรวจหาไวรัสทั้งชนิด WSSV และ YHV ใช้เทคนิค Immuno dot blot ที่มีหลักการการจับจำเพาะระหว่าง แอนติบอดี กับไวรัส แต่ละชนิด จากระยางค์กุ้งที่ตัดมาตรวจ

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาและจำนวนกุ้งที่พบเชื้อไวรัสแต่ละชนิดจากกุ้งขาว และอัตราการตายของกุ้งหลังการรับเชื้อไวรัสทุกวันตลอดการทดลอง



ภาพที่ 3.1 การสุ่มเก็บตัวอย่างกุ้งจากแม่น้ำบางปะกง จากอำเภอบางคล้าถึงปากแม่น้ำมีความยาวประมาณ 69 กิโลเมตร ถูกแบ่งออกเป็น 5 สถานีในการจับกุ้งจากธรรมชาติ

ภาพที่ 3.2 โพงพาง (Stow nets) วางใต้น้ำเพื่อจับกุ้งในแม่น้ำบางปะกง

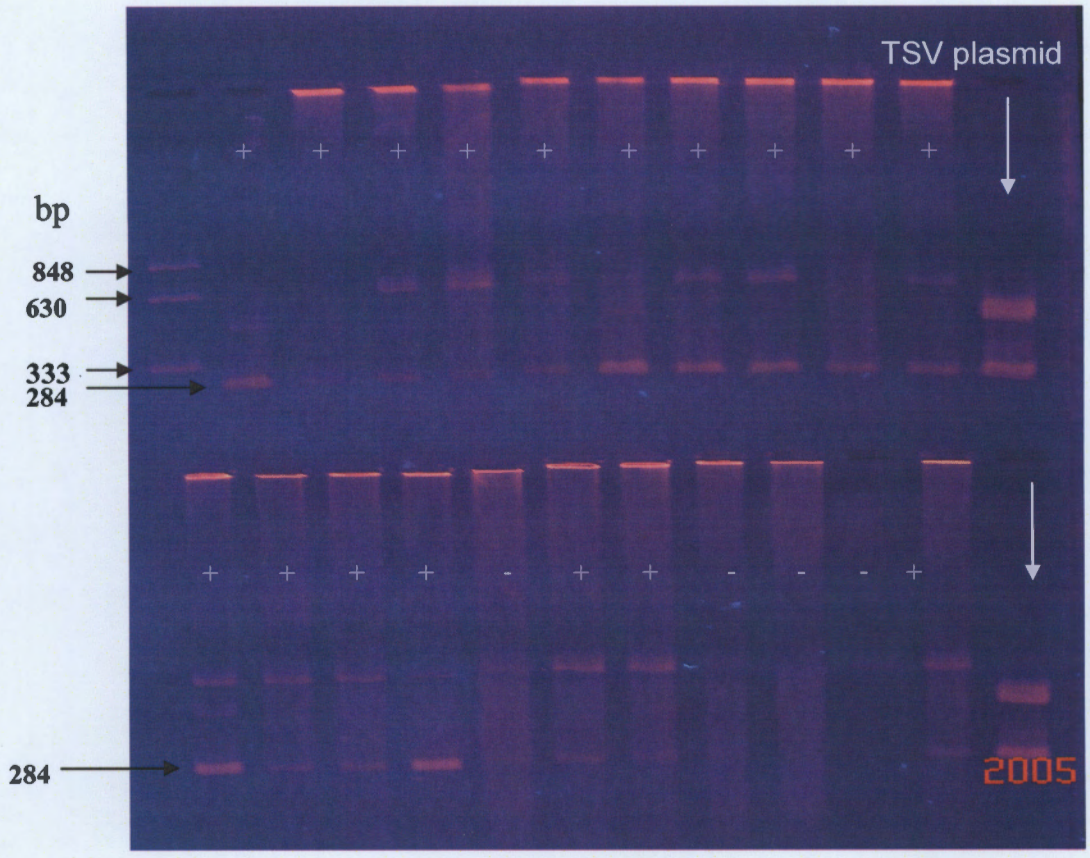
ภาพที่ 3.3 อวนรุน (Trawlers) ใช้จับกุ้งที่ปากแม่น้ำบางปะกง อำเภอท่าข้าม จังหวัดฉะเชิงเทรา

ภาพที่ 3.4 กุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อดินจากฟาร์มกุ้งจาก อำเภอบ้านโพธิ์ จังหวัดฉะเชิงเทรา

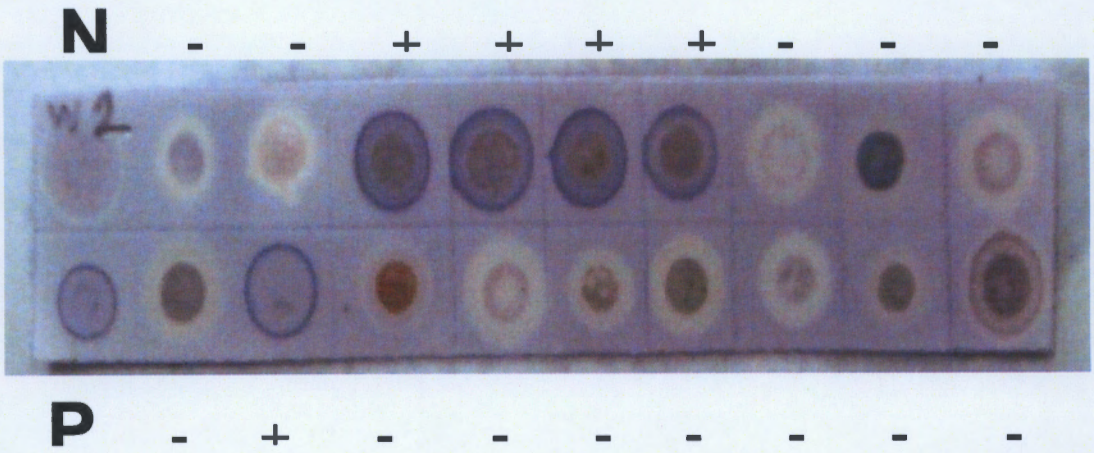
ภาพที่ 3.5 กุ้งขาวและก้ามกรามถูกคัดแยกหลังการเก็บเกี่ยวจากบ่อดิน

ภาพที่ 3.6 กุ้งท้องถิ่นชนิดต่างๆ ที่จับได้จากแม่น้ำบางปะกง

ภาพที่ 3.7 พ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วยและกุ้งกุลาลาย ที่จับจากเรือชาวประมงในอ่าวไทย



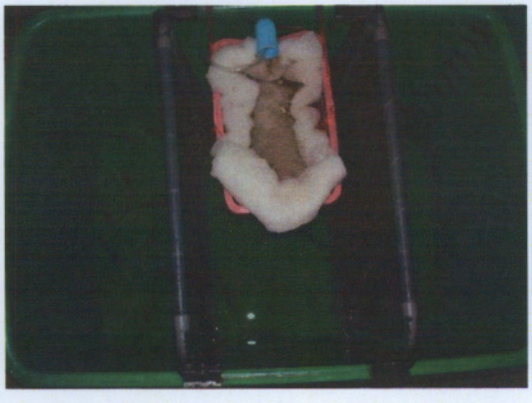
ภาพที่ 3.8 ลำดับคู่เบสของผลผลิตจาก RT-PCR ที่แสดงแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างกุ้ง กุ้งที่มีไวรัส TSV จะปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 284 bp (เครื่องหมาย + ในแต่ละแถว) จากแผ่นวุ้นอะกาโรส



ภาพที่ 3.9 แสดงผลบนกระดาษ Nitrocellulose membrane บนจุดที่มีการเปลี่ยนสีเป็นบวกในตัวอย่างกุ้งที่มีไวรัส ไวรัส WSSV หรือ YHV เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่มีไวรัส (P) และไม่มีไวรัส (N)

ภาพที่ 3.10 กุ้งขาว (บน) กุ้งกุลาดำ (กลาง) และกุ้งก้ามกราม (ล่าง) ที่ทดลองเลี้ยงการถ่ายทอดไวรัส TSV, WSSV และ YHV

ภาพที่ 3.11 ระบบถังทดลองเลี้ยงกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกราม ระบบจะถูกคลุมด้วยพลาสติก



ภาพที่ 3.12 ระบบถังทดลองเลี้ยงกุ้ง ถูกแบ่งออก ภาพที่ 3.13 กระชังถูกเย็บและแบ่งย่อยเป็น 20 ช่อง เป็นสามช่องโดยมีตะแกรงกั้นไม่ให้กุ้งแต่ละชนิดปนกัน

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลตอนที่ 1 ผลการแพร่กระจายของเชื้อ Taura Syndrome Virus, White Spot Syndrome Virus, Yellow Head Virus ในกุ้งเลี้ยงและกุ้งพื้นเมือง ในลุ่มแม่น้ำบางปะกง สัตว์ทะเล และพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่จับจากอ่าวไทย

การแพร่กระจายของเชื้อ Taura Syndrome Virus (TSV), White Spot Syndrome Virus (WSSV), Yellow Head Virus (YHV) สุ่มตรวจในกุ้งเลี้ยงในฟาร์มเลี้ยงกุ้งจังหวัดฉะเชิงเทรา กุ้งพื้นเมืองในลุ่มแม่น้ำบางปะกงตามสถานีต่าง ๆ ที่ทำการจับโดยใช้โพงพางและอวนรุน และซื้อพ่อแม่พันธุ์กุ้งตัวอย่างคือพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ พ่อพันธุ์กุลาดำมา และพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วย โดยมีกุ้งกุลาลายจำนวน 1 ตัวที่จับจากอ่าวไทย กุ้งเหล่านี้ถูกจับโดยเรือประมงอวนลากและได้ถูกรวบรวมอยู่ที่ตำบลอ่างศิลา การศึกษาสำรวจตลอด 3 ปี โดยเริ่มจากช่วงปลายปี พ.ศ. 2547 (ค.ศ. 2005) ถึง ต้นปี พ.ศ. 2550 (ค.ศ. 2007) โดยทำการเก็บตัวอย่างเป็นช่วงฤดูแล้ง และ ฤดูฝน ได้ผลการทดลองมีดังนี้

1. ผลการตรวจไวรัสในพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจับจากอ่าวไทย

พ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำตรวจพบไวรัส 3 ชนิดที่ทำการตรวจคือ ไวรัส TSV โดยใช้วิธีทาง PCR (extracted DNA kit and primer from IQ2000 TSV Detection and Prevention System) ส่วนการตรวจไวรัสชนิด WSSV และ YHV จะใช้วิธี Immuno dot blot โดยใช้ monoclonal antibody (ได้จาก Sithikonkul et al., 2000 ใน YHV และ Chalvisuthangkura et al., 2004 ใน WSSV) ที่จำเพาะต่อไวรัสแต่ละชนิด

ผลการตรวจไวรัสในกุ้งช่วงฤดูแล้ง 2549 นี้ จากพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจำนวน 30 ตัว พบไวรัสทั้งสามชนิดได้ทั้งพ่อพันธุ์ และแม่พันธุ์ โดยพบว่าพ่อพันธุ์กุ้งกุลาดำมีโอกาสพบไวรัสได้ทั้งสามชนิดโดยเฉพาะพ่อพันธุ์พบไวรัส TSV ได้มากกว่าแม่พันธุ์ เมื่อคำนึงถึงการพบไวรัสกับฤดูกาลพบว่าพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำมีการปนเปื้อนของไวรัสทั้งสามชนิดในช่วงฤดูแล้งมากกว่าช่วงฤดูฝน เปอร์เซ็นต์การพบไวรัสแยกตามเพศกุ้งในแต่ละฤดูกาล แสดงดังตารางที่ 4.1

เมื่อพิจารณาการพบไวรัสแต่ละชนิดในพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำมีดังนี้ คือ เปอร์เซ็นต์การพบไวรัสตามฤดูกาลพบว่าไวรัส TSV และ ไวรัส WSSV มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน โดยพบเปอร์เซ็นต์สูงมากในช่วงสำรวจปี พ.ศ. 2548 และฤดูแล้งปี พ.ศ. 2550 แสดงดังภาพที่ 4.1 ส่วนไวรัส YHV พบน้อยในช่วงสำรวจปี พ.ศ. 2548 แต่เริ่มพบมากขึ้นในช่วงฤดูฝนของปี พ.ศ. 2549 และ ฤดูแล้งปี พ.ศ. 2550

ตารางที่ 4.1 ผลการตรวจไวรัสสามชนิดในพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่จับจากเรือประมงอวนลากในอ่าวไทย ช่วง Dry season เดือน ธันวาคม 2547 – เมษายน 2550 และช่วง Wet season เดือน มิถุนายน-สิงหาคม 2548

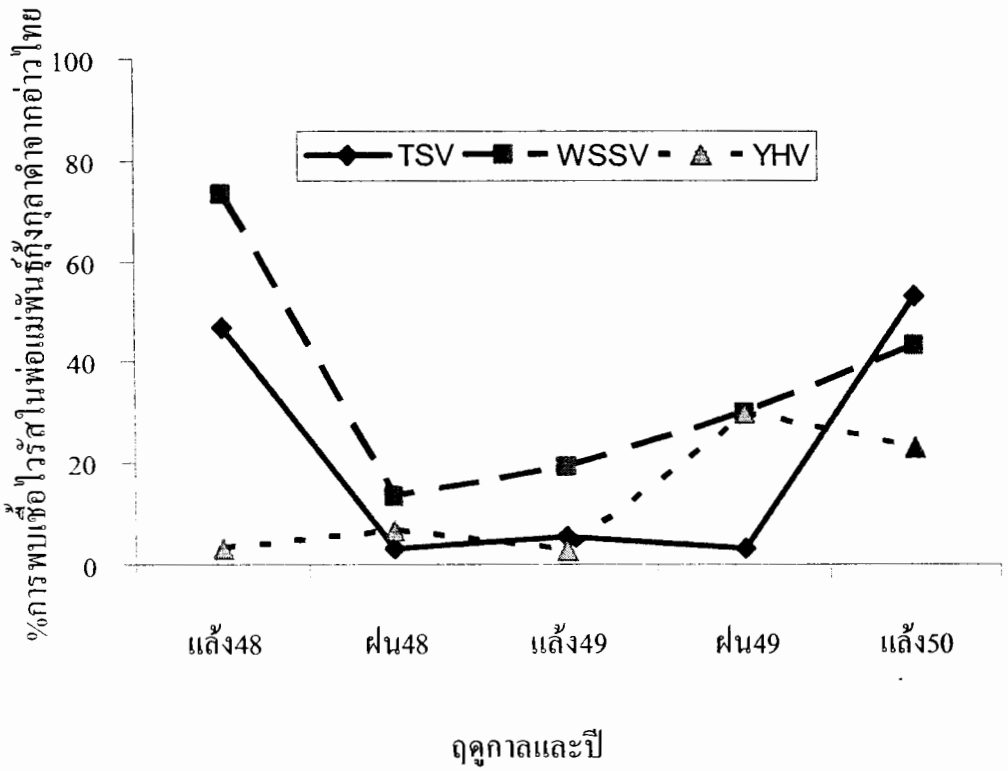
ตัวอย่าง	ช่วง Dry season เดือน ธันวาคม 2547 – เมษายน 2548			
	จำนวน (ตัว)	TSV (ตัว)	WSSV (ตัว)	YHV (ตัว)
พ่อพันธุ์กุ้งกุลาดำ	10	10	4	0
แม่พันธุ์กุ้งกลาดำ	20	4	18	1
รวม	30	14	22	1
%prevalence		46.66	73.33	3.33

ตัวอย่าง	ช่วง Wet season เดือน มิถุนายน-สิงหาคม 2548			
	จำนวน (ตัว)	TSV (ตัว)	WSSV (ตัว)	YHV (ตัว)
พ่อพันธุ์กุ้งกุลาดำ	22	1	4	2
แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ	8	0	0	0
รวม	30	1	4	2
%prevalence		3.33	13.33	6.66

ตัวอย่าง	ช่วง Dry season เดือน ธันวาคม 2548 – เมษายน 2549			
	จำนวน (ตัว)	TSV (ตัว)	WSSV (ตัว)	YHV (ตัว)
พ่อพันธุ์กุ้งกุลาดำ	20	2	3	0
แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ	16	0	4	1
รวม	36	2	7	1
%prevalence		5.55	19.44	2.77

ตัวอย่าง	ช่วง Wet season เดือน มิถุนายน-สิงหาคม 2549			
	จำนวน (ตัว)	TSV (ตัว)	WSSV (ตัว)	YHV (ตัว)
พ่อพันธุ์กุ้งกุลาดำ	19	1	5	5
แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ	11	0	4	4
รวม	30	1	9	9
%prevalence		3.33	30	30

ตัวอย่าง	ช่วง Dry season เดือน ธันวาคม 2549 – เมษายน 2550			
	จำนวน (ตัว)	TSV (ตัว)	WSSV (ตัว)	YHV (ตัว)
พ่อพันธุ์กุ้งกุลาดำ	8	6	2	1
แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ	22	10	11	6
รวม	30	16	13	7
%prevalence		53.3	43.33	23.33



ภาพที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การพบไวรัส TSV ไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV ในพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ (n=30 ตัว ในแต่ละฤดูกาล) จากอ่าวไทยช่วงปี พ.ศ. 2548 ถึง 2550

2. ผลการตรวจไวรัสในพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วยและกุ้งกุลาลายจับจากอ่าวไทย

ผลการตรวจไวรัสในพ่อแม่พันธุ์กุ้งบ๊วย พบว่าเปอร์เซ็นต์ของไวรัส TSV ได้ในพ่อพันธุ์เท่านั้น และในบางช่วงฤดูกาลและ ไวรัส WSSV และไวรัส YHV พบเปอร์เซ็นต์สูงในแม่พันธุ์ช่วงฤดูแล้งปีพศ 2550 เปอร์เซ็นต์การพบไวรัสแยกตามเพศกุ้งในแต่ละฤดูกาล แสดงดังตารางที่ 4.2 และ เปอร์เซ็นต์การพบไวรัสแต่ละชนิดของพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วยและกุ้งกุลาลายรวมในแต่ละฤดูกาล แสดงดังภาพที่ 4.2

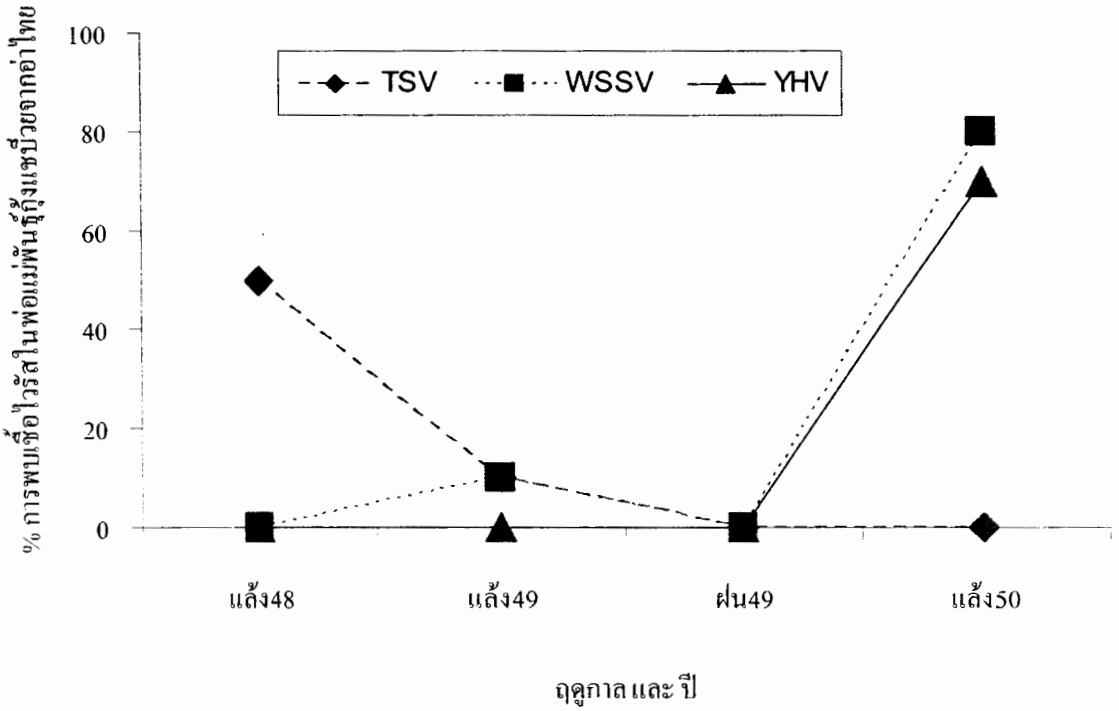
ตารางที่ 4.2 ผลการตรวจไวรัสสามชนิดในพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วยและกุ้งกุลาลายที่จับจากเรือประมงอวนลากในอ่าวไทยช่วง Dry season เดือน ธันวาคม 2547 – เมษายน 2550 และช่วง Wet season เดือน มิถุนายน-สิงหาคม 2548

ตัวอย่าง	ช่วง Dry season เดือน ธันวาคม 2547 – เมษายน 2548			
	จำนวน (ตัว)	TSV (ตัว)	WSSV (ตัว)	YHV (ตัว)
พ่อพันธุ์กุ้งแชบ๊วย	3	3	0	0
แม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วย	3	0	0	0
รวม	6	3	0	0
%prevalence		50	0	0

ตัวอย่าง	ช่วง Dry season เดือน ธันวาคม 2548 – เมษายน 2549			
	จำนวน (ตัว)	TSV (ตัว)	WSSV (ตัว)	YHV (ตัว)
พ่อพันธุ์กุ้งแชบ๊วย	5	1	1	0
แม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วย	4	0	0	0
แม่พันธุ์กุ้งกุลาลาย	1	0	0	0
รวม	10	1	1	0
%prevalence		10	10	0

ตัวอย่าง	ช่วง Wet season เดือน มิถุนายน-สิงหาคม 2549			
	จำนวน (ตัว)	TSV (ตัว)	WSSV (ตัว)	YHV (ตัว)
พ่อพันธุ์กุ้งแชบ๊วย	16	0	1	0
แม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วย	13	0	0	0
รวม	29	0	1	0
%prevalence		0	0.03	0

ตัวอย่าง	ช่วง Dry season เดือน ธันวาคม 2549 – เมษายน 2550			
	จำนวน (ตัว)	TSV (ตัว)	WSSV (ตัว)	YHV (ตัว)
แม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วย	10	0	8	7
รวม	10	0	8	7
%prevalence		0	80	70



ภาพที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การพบไวรัส TSV ไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV ในพ่อแม่พันธุ์กุ้งแชบ๊วย (n= ตั้งแต่ 6-29 ตัวในแต่ละฤดูกาล) จากอ่าวไทยช่วงปี พ.ศ. 2548 ถึง 2550

3. ผลการตรวจไวรัสจากกุ้งพื้นเมืองชนิดต่าง และ กุ้งขาวในลุ่มแม่น้ำบางปะกง

กุ้งจะถูกจับด้วยเครื่องมือการประมงสองรูปแบบคือ การจับโดยใช้โพงพาง (สถานีที่ 1 อำเภอบางคล้า สถานีที่ 2 อำเภอเมืองและอำเภอบ้านโพธิ์ สถานีที่ 3 และ 4 อำเภอบางปะกง) และการลากโดยเรืออวนรุน (สถานีที่ 5 อำเภอท่าข้าม) อย่างไรก็ตามอาจไม่สามารถจับกุ้งได้บางสถานี เนื่องจากข้อจำกัดของสภาพธรรมชาติของแม่น้ำ และ ความไม่สะดวกของชาวประมง

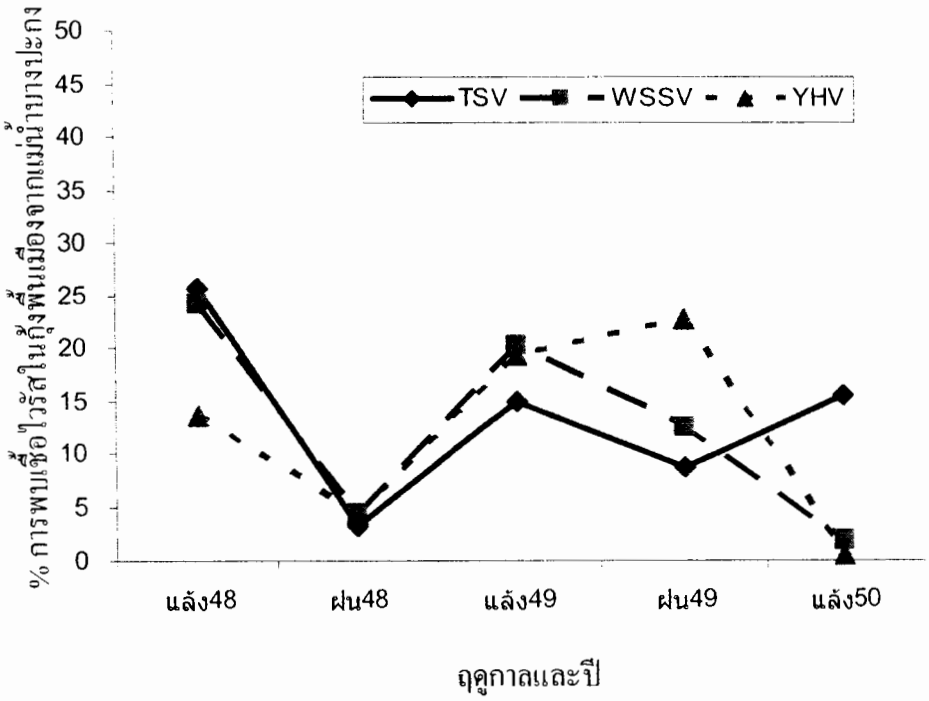
พบว่าไวรัส TSV สามารถพบได้ทุกฤดูกาล ตลอดสามปีมีเปอร์เซ็นต์ความชุกชุมรวมที่ 12.20% (จำนวนกุ้ง 82 ตัวจากการสุ่มตรวจจำนวน 672 ตัว) จากช่วงการพบตั้งแต่ 3.33 – 25.75% พบว่าไวรัส WSSV สามารถพบได้ทุกฤดูกาล ตลอดสามปีมีเปอร์เซ็นต์ความชุกชุมรวมที่ 13.44% (จำนวนกุ้ง 134 ตัว จากการสุ่มตรวจจำนวน 997 ตัว) จากช่วงการพบตั้งแต่ 1.90 – 24.24% พบว่าไวรัส YHV สามารถพบได้

ทุกฤดูกาล ตลอดสามปีมีเปอร์เซ็นต์ความชุกชุมรวมที่ 14.24% (จำนวนกุ้ง 142 ตัวจากการสุ่มตรวจจำนวน 997 ตัว) จากช่วงการพบตั้งแต่ 0.48 – 22.58%

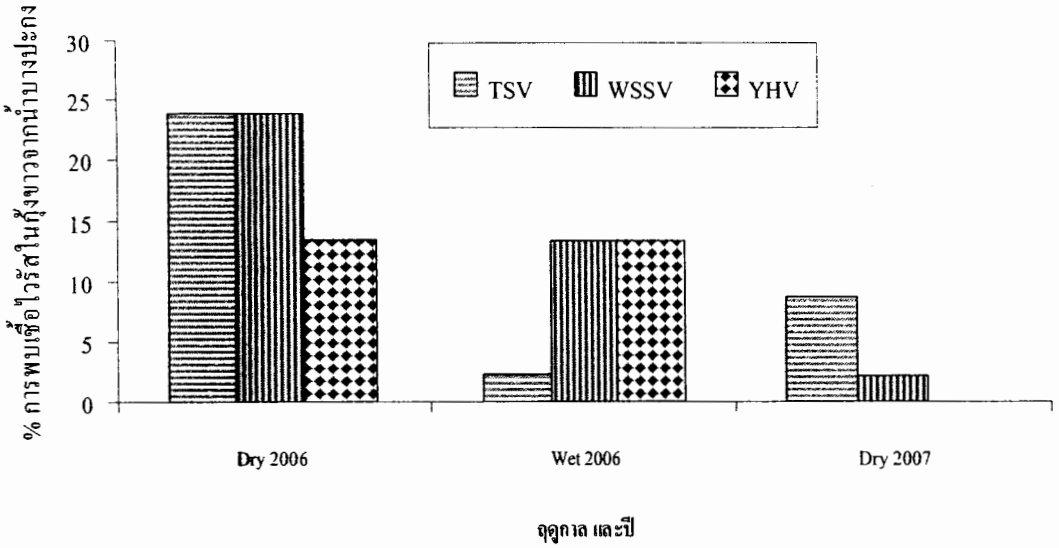
ชนิดของกุ้งพื้นเมืองจำนวน 10 ชนิด ในลุ่มแม่น้ำบางปะกง ที่พบไวรัสทั้งสามชนิดได้แก่ กุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) กุ้งกุลาลาย (*P. semisucatus*) กุ้งก้ามกราม (*M. rosenbergii*) กุ้งแชบ๊วย (*P. merguiensis*) กุ้งหลังไข่ (*Metapenaeus brevicornis*) กุ้งตะกาด (*Metapenaeus affinis*) *Metapenaeus tenuipes* กุ้งปล้อง (*Parapenopsis hungerfordi*) กุ้งกะต่อม และ กุ้งชฎา การพบไวรัส TSV ใน กุ้งพื้นเมืองของประเทศไทย ทำให้ทราบว่ากุ้งเหล่านี้ยอมรับไวรัสต่างถิ่น คือ ชนิด TSV ที่ติดมากับกุ้งขาว

อนึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่า ชนิดของกุ้งที่จับได้ในช่วงฤดูแล้งซึ่งแม่น้ำบางปะกงพบ ขึ้นอยู่กับความเค็มของน้ำ เพราะแม่น้ำบางปะกงที่มีความยาวมากประมาณ 122 กิโลเมตร และสำรวจในช่วงอำเภอบางคล้าถึงปากแม่น้ำบางปะกงด้วยระยะทาง 69 กิโลเมตรซึ่งยังได้รับอิทธิพลของความเค็มที่ค่อนข้างสูงบริเวณแถบปากแม่น้ำ ตั้งแต่อำเภอท่าข้าม ไปจนถึงอำเภอบางปะกง และ อำเภอเมือง ทำให้กุ้งที่พบแถวปากแม่น้ำบางปะกง ที่น้ำมีความเค็มสูง จะเป็นกุ้งชนิดต่อไปนี้ คือ กุ้งแชบ๊วย กุ้งหัวมัน กุ้งปล้อง ส่วนกุ้งที่ทนความเค็มได้ดี สามารถอยู่ในน้ำกร่อยได้ คือ กุ้งโอคักน้ำตื้น กุ้งกะต่อม กุ้งหลังไข่ กุ้งกุลาลาย กุ้งกุลาดำ และกุ้ง *Metapenaeus tenuipes* ส่วนกุ้งที่พบอาศัยอำเภอเมือง และ อำเภอบางคล้าเป็นกุ้งที่ทนน้ำจืดได้เช่น กุ้งก้ามกราม

กุ้งขาวจับได้จากธรรมชาติจากแม่น้ำบางปะกง มีการพบไวรัส TSV ได้ตั้งแต่ 8.7% -23.88% โดยและสามารถพบการปนเปื้อนของไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV จึงชี้ได้ว่า กุ้งขาวมีการยอมรับเชื้อไวรัสท้องถิ่นของประเทศไทยเข้าสู่ร่างกาย



ภาพที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การพบไวรัส TSV ไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV ในกุ้งพื้นเมืองจับจากแม่น้ำบางปะกง (n= มีจำนวนไม่เท่ากันในแต่ละฤดูกาลตั้งแต่ 2 – 76 ตัวอย่าง) ช่วงปีพศ 2548 ถึง 2550



ภาพที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การพบไวรัส TSV ไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV ในกุ้งขาวจับจากแม่น้ำบางปะกง (n= ตั้งแต่ 6-29 ตัวอย่างในแต่ละฤดูกาล) จากอ่าวไทยช่วงปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2550

3.1 ผลการแพร่กระจายของไวรัส TSV ในกุ้งพื้นเมือง และกุ้งขาวในธรรมชาติ ตลอด 3 ปี โดยทำการเก็บตัวอย่างเป็นช่วงฤดูแล้ง และ ฤดูฝน โดยภาพรวมสำหรับผลการพบไวรัส TSV ในกุ้งพื้นเมือง ทั้ง 3 ปี มีเปอร์เซ็นต์การพบ 12.20% (+82/672 ตัว) มีแนวโน้มพบความถี่สูงในช่วงฤดูแล้ง (14.85% - 25.75%) มากกว่าฤดูฝน (3.3% และ 8.7%) แสดงดังตารางที่ 4.3 โดยแยกตามชนิดของกุ้งพื้นเมืองและเปอร์เซ็นต์การพบ แสดงดังตารางที่ 4.4, 4.5 และ 4.6 ส่วนการพบในกุ้งขาวมีเปอร์เซ็นต์ 16.44% (+37/225 ตัว) สอดคล้องกับกุ้งพื้นเมืองที่ช่วงฤดูแล้งพบมากกว่าฤดูฝน

ตารางที่ 4.3 Prevalence of TSV in wild-caught shrimp of the Bangpakong estuary during 2005-2007.

Season/year	Shrimp specimen	
	Local shrimp species (a and b)	*Litopenaeus vannamei* (a and b)
Dry 2005	25.75% (+17/66)	-
Wet 2005	3.3% (+3/91)	-
Dry 2006	14.85% (+15/101)	23.88% (+32/134)
Wet 2006	8.7% (+19/218)	2.22% (+1/45)
Dry 2007	15.53% (+32/206)	8.7% (+4/46)
Total a and b	12.20% (+82/672)	16.44% (+37/225)

[a]% prevalence = [b] # positive (+) TSV / total # of shrimp tested

ตารางที่ 4.4 Prevalence of TSV in wild-caught shrimp of dry season, 2005 from the Bangpakong estuary.

Stations	Scientific names	Dry season, [b] (ind)	[a] %	Wet season, [b] (ind)	[a] %
1 (Bangkla)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	NA (2 ตัว)	-
	Peneaus monodon	NS	-	+0/2	0
	Macrobranchium rosenbergii	NS	-	+0/12	0
2 (Mueang)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	NA (1)	-
3+4 (Banpakong)	*Peneaus monodon*	+1/13	7.69	+0/13	0
	Macrobranchium rosenbergii	+3/3	100	+0/16	0
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+2/6	33.33	+0/10	0
	Parapenopsis hungerfordi	+1/10	10	+1/10	10
	Metapenaeus brevicornis	+4/10	40	+1/10	10
	Penaeus merguiensis	NS	-	+0/8	0
	Metapenaeus affinis	NS	-	+1/10	10
5 (The River Mouth)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	NA (10)	-
	Peneaus monodon	+1/4	0	NS	-
	Metapenaeus affinis	+3/10	0	NS	-
	Penaeus merguiensis	+2/10	20	NS	-
% Total	Local shrimps	+17/66	25.75	+3/91	3.3

[a]% prevalence = [b] # positive (+) TSV / total # of shrimp tested; NS = Non of sample caught

NA = Not available because samples were degraded

ตารางที่ 4.5 Prevalence of TSV in wild-caught shrimp during 2006 from the Bangpakong estuary.

Stations	Scientific names	Dry season, [b] (ind)	[a]%	Wet season, [b] (ind)	[a]%
1	*Litopenaeus vannamei*	+6/44	13.6	+0/4	0
(Bangkla)	*Macrobranchium rosenbergii*	+0/24	0	+10/46	21.74
	Metapenaeus brevicornis	NS	-	+8/12	66.66
	Metapenaeus affinis	NS	-	+0/6	0
2	*Litopenaeus vannamei*	+26/47	55.32	+0/11	0
(Mueang)	*Metapenaeus brevicornis*	+0/10	0	+0/5	0
	กุ้งตะกาด Unknown specie	+0/10	0	NS	-
	Metapenaeus affinis	+4/10	40	+0/5	0
3+4	*Litopenaeus vannamei*	+0/43	0	+0/15	0
(Banpakong)	*Peneaus monodon*	+1/4	25	+1/20	5
	Macrobranchium rosenbergii	+0/1	0	+0/46	0
	Metapenaeus affinis	NS	-	+0/4	0
	Penaeus merguiensis	NS	-	+0/6	0
	Macrobrachium equidens	NS	-	+0/5	0
	Metapenaeus tenuipes	NS	-	+0/1	0
	Penaeus semisucatus	+3/3	100	NS	-
	Metapenaeus brevicornis	+2/18	11.11	NS	-
	Parapenopsis hungerfordi	+5/11	45.45	NS	-
5	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	+1/15	6.66
(The River	*Peneaus monodon*	NS	-	+0/5	0
Mouth)	*Macrobranchium rosenbergii*	NS	-	+0/10	0
	Metapenaeus brevicornis	NS	-	+0/10	0
	Metapenaeus affinis	NS	-	+0/5	0
	Penaeus merguiensis	+0/10	0	+0/10	0
	Metapenaeus tenuipes	NS	-	+0/10	0
	Parapenopsis hungerfordi	NS	-	+0/6	0
	Unknown specie	NS	-	+0/1	0
	Unknown specie	NS	-	+0/5	0
%Toatal	Local shrimps	+15/101	14.85	19/218	8.7
%Total	*Litopenaeus vannamei*	+32/134	23.88	1/45	2.22

[a]% prevalence = [b] # positive (+) TSV / total # of shrimp tested; NS = Non of sample caught, NA = Not available because samples were degraded

ตารางที่ 4.6 Prevalence of TSV in wild-caught shrimp of dry season, 2007 from the Bangpakong estuary.

Stations	Scientific names	Dry season [b] (ind)	[a]%
1 (Bangkla)	No sample collection	-	-
2 Mueang	*Litopenaeus vannamei*	+1/4	25
	Metapenaeus ensis	+6/10	60
	Metapenaeus tenuipes	+1/10	10
	Metapenaeus affinis	+0/11	0
	Penaeus merguiensis	+1/10	10
	Unknown specie	+1/10	10
	Parapenopsis hungerfordi	+0/14	0
	Metapenaeus moyebi	+0/10	0
3+4 Banpakong	*Litopenaeus vannamei*	+1/38	2.6
	Peneaus monodon	+2/12	16.6
	Macrobranchium rosenbergii	+2/7	28.5
	Metapenaeus affinis	+0/2	0
	Penaeus merguiensis	+1/9	11.1
	Metapenaeus moyebi	+0/4	0
	Metapenaeus tenuipes	+2/10	20
	Metapenaeus ensis	+6/8	75
	Unknown specie	+0/13	0
	Parapenopsis hungerfordi	+0/9	0
5 The River Mouth	*Litopenaeus vannamei*	+2/4	50
	Peneaus monodon	+0/10	0
	Metapenaeus moyebi	+2/2	100
	Metapenaeus brevicornis	+2/11	18.2
	Metapenaeus affinis	+0/2	0
	Penaeus merguiensis	+1/11	9
	Metapenaeus tenuipes	+2/9	22.2
	Metapenaeus ensis	+0/6	0
	Parapenopsis hungerfordi	+1/1	100
	Unknown specie	+2/5	40
% Total	Local shrimps	+32/206	15.53
% Total	*Litopenaeus vannamei*	+4/46	8.7

[a]% prevalence = [b] # positive (+) TSV / total # of shrimp tested; NS = Non of sample caught, NA = Not available because samples were degraded

3.2 ผลการแพร่กระจายของไวรัส WSSV ในกุ้งพื้นเมือง และกุ้งขาวในธรรมชาติ ตลอด 3 ปี โดยทำการเก็บตัวอย่างเป็นช่วงฤดูแล้ง และ ฤดูฝน โดยภาพรวมสำหรับผลการพบไวรัส WSSV ในกุ้งพื้นเมืองทั้ง 3 ปี มีเปอร์เซ็นต์การพบ 13.44% (+134/997 ตัว) มีแนวโน้มพบความถี่สูงในช่วงฤดูแล้งเพียง 2 ปี คือ ปี 2005 (24.24%) และ 2006 (20.10%) ส่วนปี 2007 (1.90%) พบได้น้อยเหมือนกับฤดูฝน (12.44% และ 4.39 %) แสดงดังตารางที่ 4.7 โดยแยกตามชนิดของกุ้งพื้นเมืองและเปอร์เซ็นต์การพบ แสดงดังตารางที่ 4.8, 4.9 และ 4.10 ส่วนการพบในกุ้งขาวมีเปอร์เซ็นต์ 17.33% (+39/225 ตัว) ช่วงฤดูแล้งปี 2006 พบได้สูงมาก คือ 23.88% (+32/134 ตัว)

ตารางที่ 4.7 Prevalence of WSSV in wild-caught shrimp of the Bangpakong estuary during 2005-2007.

Season/year	Shrimp specimen	
	Local shrimp species a and b	*Litopenaeus vannamei* a and b
Dry 2005	24.24% (+16/66)	-
Wet 2005	4.39% (+4/91)	-
Dry 2006	20.10% (+83/413)	23.88% (+32/134)
Wet 2006	12.44% (+27/217)	13.33% (+6/45)
Dry 2007	1.90% (+4/210)	2.17% (+1/46)
Total a and b	13.44% (+134/997)	17.33% (+39/225)

[a]% prevalence = [b] # positive (+) WSSV / total # of shrimp tested

ตารางที่ 4.8 Prevalence of WSSV in wild-caught shrimp during 2005 from the Bangpakong estuary.

Stations	Scientific names	Dry season, [b] (ind)	[a]%	Wet season, [b] (ind)	[a]%
1 (Bangkla)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	NA (2 ตัว)	-
	Peneaus monodon	NS	-	+0/2	0
	Macrobranchium rosenbergii	NS	-	+0/12	0
2 (Mueang)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	NA (1)	-
3+4 (Banpakong)	*Peneaus monodon*	+8/13	61.5	+0/13	0
	Macrobranchium rosenbergii	+1/3	33.33	+1/16	
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+1/6	16.6	+0/10	0
	Parapenopsis hungerfordi	+0/10	0	+0/10	0
	Metapenaeus brevicornis	+4/10	40	+2/10	20
	Penaeus merguiensis	NS	20	+1/8	0
	Metapenaeus affinis	NS	-	+0/10	0
5 (The River Mouth)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	NA (10)	-
	Peneaus monodon	+0/4	0	NS	-
	Metapenaeus affinis	+0/10	0	NS	-
	Penaeus merguiensis	+2/10	20	NS	-
% Total	Local shrimps	+16/66	24.24	+4/91	4.39

[a]% prevalence = [b] # positive (+) WSSV / total # of shrimp tested;

NS = Non of sample caught

NA = Not available because samples were degraded

ตารางที่ 4.9 Prevalence of WSSV in wild-caught shrimp during 2006 from the Bangpakong estuary.

Stations	Scientific names	Dry season, [b] (ind)	[a] %	Wet season, [b] (ind)	[a] %
1 (Bangkla)	*Litopenaeus vannamei*	+7/44	15.9	+0/4	0
	Macrobranchium rosenbergii	+13/76	17.1	+0/46	0
	Penaeus monodon	+1/5	20	NS	-
	Metapenaeus affinis	NS	-	+0/6	0
	Metapenaeus brevicornis	NS	-	+2/12	16.66
2 (Mueang)	*Litopenaeus vannamei*	+14/47	29.78	+3/11	27.27
	Metapenaeus brevicornis	+1/10	10	+0/5	0
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+19/40	47.5	NS	-
	Metapenaeus affinis	+8/45	17.77	+0/5	0
	Metapenaeus tenuipes	+3/34	8.8	NS	-
3+4 (Banpakong)	*Litopenaeus vannamei*	+11/43	25.58	+3/15	20
	Penaeus monodon	+2/6	33.33	+3/20	15
	Macrobranchium rosenbergii	+2/3	66.66	+15/46	32.61
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+0/8	0	NS	-
	Metapenaeus affinis	NS		+0/4	0
	Penaeus merguiensis	NS	-	+0/6	0
	Macrobranchium equidens	NS	-	+0/5	0
	Metapenaeus tenuipes	+7/23	30.43	+0/1	0
	Penaeus semisucatus	+1/3	33.33	NS	-
	Metapenaeus brevicornis	+1/28	3.57	NS	-
	Parapenopsis hungerfordi	+7/29	24.13	NS	-
5 (The River Mouth)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	+0/15	0
	Penaeus monodon	+0/2	0	+1/5	20
	Macrobranchium rosenbergii	NS	-	+3/10	30
	Metapenaeus brevicornis	+0/5	0	+2/10	20
	Metapenaeus affinis	NS	-	+0/4	0
	Penaeus merguiensis	+16/66	24.24	+0/10	0
	Metapenaeus tenuipes	+2/30	6.66	+1/10	10
	Parapenopsis hungerfordi	NS	-	+0/6	0
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	NS	-	+0/1	0
	กุ้งชฎา Unknown specie	NS	-	+0/5	0

%Total	Local shrimps	+83/413	20.10	+27/217	12.44
%Total	*Litopenaeus vannamei*	+32/134	23.88	+6/45	13.33

[a]% prevalence = [b] # positive (+) WSSV / total # of shrimp tested; NS = Non of sample caught, NA = Not available because samples were degraded

ตารางที่ 4.10 Prevalence of WSSV in wild-caught shrimp of dry season, 2007 from the Bangpakong estuary.

Stations	Scientific names	Dry season [b] (ind)	[a]%
1 (Bangkla)	No sample collection	-	-
2 Mueang	*Litopenaeus vannamei*	+0/4	0
	Metapenaeus ensis	+0/10	0
	Metapenaeus tenuipes	+0/10	0
	Metapenaeus affinis	+0/11	0
	Penaeus merguiensis	+0/10	0
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+0/10	0
	Parapenopsis hungerfordi	+0/14	0
	Metapenaeus moyebi	+0/10	0
3+4 Banpakong	*Litopenaeus vannamei*	+1/38	2.63
	Peneaus monodon	+0/12	0
	Macrobranchium rosenbergii	+0/7	0
	Metapenaeus affinis	+0/2	0
	Penaeus merguiensis	+0/9	0
	Metapenaeus moyebi	+0/4	0
	Metapenaeus tenuipes	+0/10	0
	Metapenaeus ensis	+1/8	12.5
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+1/13	7.7
	Parapenopsis hungerfordi	+0/9	0
5 The River Mouth	*Litopenaeus vannamei*	+0/4	0
	Peneaus monodon	+0/10	0
	Metapenaeus moyebi	+0/2	0
	Metapenaeus brevicornis	+0/11	0
	Metapenaeus affinis	+0/6	0
	Penaeus merguiensis	+1/11	9
	Metapenaeus tenuipes	+0/9	0
	Metapenaeus ensis	+1/6	16.66
	Parapenopsis hungerfordi	+0/1	0
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+0/2	0
	กุ้งชฎา Unknown specie	+0/3	0
% Total	Local shrimps	+4/210	1.90
% Total	*Litopenaeus vannamei*	+1/46	2.17

[a]% prevalence = [b] # positive (+) WSSV / total # of shrimp tested; NS = Non of sample caught, NA = Not available because samples were degraded

3.3 ผลการแพร่กระจายของไวรัส YHV ในกุ้งพื้นเมือง และกุ้งขาวในธรรมชาติ ตลอด 3 ปี โดยทำการเก็บตัวอย่างเป็นช่วงฤดูแล้ง และ ฤดูฝน โดยภาพรวมสำหรับผลการพบไวรัส YHV ในกุ้งพื้นเมืองทั้ง 3 ปี มีเปอร์เซ็นต์การพบ 14.24% (+142/997 ตัว) มีแนวโน้มพบความถี่สูงในช่วงฤดูแล้งเพียง 2 ปี คือ ปี ค.ศ. 2005 (13.64%) และปี ค.ศ. 2006 (19.3%) ส่วนปี ค.ศ. 2007 (0.48%) พบได้น้อยเหมือนกับฤดูฝน ของปี 2005 (4.39%) แต่ฤดูฝนในปี 2006 (22.58%) กลับพบเปอร์เซ็นต์สูงมาก แสดงดังตารางที่ 4.11 โดยแยกตามชนิดของกุ้งพื้นเมืองและเปอร์เซ็นต์การพบ แสดงดังตารางที่ 4.12, 4.13 และ 4.14 ส่วนการพบในกุ้งขาวมีเปอร์เซ็นต์ 10.67% (+24/225 ตัว) ช่วงฤดูแล้งและฤดูฝนปี 2006 พบได้ใกล้เคียงกันประมาณ 13% แต่ปริมาณตัวอย่างแตกต่างกัน และไม่พบไวรัส YHV เลยในปี ค.ศ. 2007

ตารางที่ 4.11 Prevalence of YHV in wild-caught shrimp of the Bangpakong estuary during 2005-2007.

Season/year	Shrimp specimen	
	Local shrimp species a and b	*Litopenaeus vannamei* a and b
Dry 2005	13.64% (+9/66)	-
Wet 2005	4.39% (+4/91)	-
Dry 2006	19.3% (+79/413)	13.43% (+18/134)
Wet 2006	22.58% (+49/217)	13.33% (+6/45)
Dry 2007	0.48% (+1/210)	0% (+0/46)
Total a and b	14.24% (+142/997)	10.67% (+24/225)

[a]% prevalence = [b] # positive (+) YHV / total # of shrimp tested

ตารางที่ 4.12 Prevalence of YHV in wild-caught shrimp of dry season, 2005 from the Bangpakong estuary.

Stations	Scientific names	Dry season, [b] (ind)	[a]%	Wet season, [b] (ind)	[a]%
1 (Bangkla)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	NA (2 ตัว)	-
	Peneaus monodon	NS	-	+0/2	0
	Macrobranchium rosenbergii	NS	-	+0/12	0
2 (Mueang)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	NA (1)	-
3+4 (Banpakong)	*Peneaus monodon*	+4/13	61.5	+0/13	0
	Macrobranchium rosenbergii	+1/3	33.33	+1/16	
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+0/6	16.6	+0/10	0
	Parapenopsis hungerfordi	+0/10	0	+0/10	0
	Metapenaeus brevicornis	+3/10	40	+3/10	20
	Penaeus merguiensis	NS	20	+0/8	0
	Metapenaeus affinis	NS	-	+0/10	0
5 (The River Mouth)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	NA (10)	-
	Peneaus monodon	+0/4	0	NS	-
	Metapenaeus affinis	+0/10	0	NS	-
	Penaeus merguiensis	+1/10	20	NS	-
% Total	Local shrimps	+9/66	13.64	+4/91	4.39

[a]% prevalence = [b] # positive (+) YHV / total # of shrimp tested;

NS = Non of sample caught

NA = Not available because samples were degraded

ตารางที่ 4.13 Prevalence of YHV in wild-caught shrimp during 2006 from the Bangpakong estuary.

Stations	Scientific names	Dry season, [b] (ind)	[a] %	Wet season, [b] (ind)	[a] %
1 (Bangkla)	*Litopenaeus vannamei*	+8/44	52	+0/4	0
	Macrobranchium rosenbergii	+24/76	31.58	+8/46	17.39
	Penaeus monodon	+1/5	20	NS	-
	Metapenaeus affinis	NS	-	+1/6	16.67
	Metapenaeus brevicornis	NS	-	+0/12	0
2 (Mueang)	*Litopenaeus vannamei*	+8/47	17.02	+5/11	45.45
	Metapenaeus brevicornis	+2/10	20	+3/5	60
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+6/40	15	NS	-
	Metapenaeus affinis	+3/45	6.67	+3/5	60
	Metapenaeus tenuipes	+4/34	11.76	NS	-
3+4 (Banpakong)	*Litopenaeus vannamei*	+2/43	4.65	+0/15	0
	Penaeus monodon	+2/6	33.33	+3/20	15
	Macrobranchium rosenbergii	+1/3	33.33	+15/46	32.6
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+0/8	0	NS	-
	Metapenaeus affinis	NS	-	+0/4	0
	Penaeus merguiensis	NS	-	+0/6	0
	Macrobranchium equidens	NS	-	+0/5	0
	Metapenaeus tenuipes	+4/23	17.39	+0/1	0
	Penaeus semisucatus	+0/3	0	NS	-
	Metapenaeus brevicornis	+1/28	3.57	NS	-
	Parapenopsis hungerfordi	+15/29	51.72	NS	-
5 (The River Mouth)	*Litopenaeus vannamei*	NS	-	+1/15	6.67
	Penaeus monodon	+1/2	50	+3/5	60
	Macrobranchium rosenbergii	NS	-	+6/10	60
	Metapenaeus brevicornis	+0/5	0	+3/10	30
	Metapenaeus affinis	NS	-	+0/4	0
	Penaeus merguiensis	+13/66	19.7	+1/10	10
	Metapenaeus tenuipes	+2/30	6.67	+1/10	10
	Parapenopsis hungerfordi	NS	-	+0/6	0
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	NS	-	+1/1	100
	กุ้งชฎา Unknown specie	NS	-	+1/5	20

%Total	Local shrimps	+79/413	19.13	+49/217	22.58
%Total	*Litopenaeus vannamei*	+18/134	13.43	+6/45	13.33

[a]% prevalence = [b] # positive (+) YHV / total # of shrimp tested; NS = Non of sample caught

ตารางที่ 4.14 Prevalence of YHV in wild-caught shrimp of dry season, 2007 from the Bangpakong estuary.

Stations	Scientific names	Dry season [b] (ind)	[a]%
1 (Bangkla)	No sample collection	-	-
2 Mueang	*Litopenaeus vannamei*	+0/4	0
	Metapenaeus ensis	+0/10	0
	Metapenaeus tenuipes	+0/10	0
	Metapenaeus affinis	+0/11	0
	Penaeus merguiensis	+0/10	0
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+0/10	0
	Parapenopsis hungerfordi	+0/14	0
	Metapenaeus moyebi	+0/10	0
3+4 Banpakong	*Litopenaeus vannamei*	+0/38	2.63
	Peneaus monodon	+0/12	0
	Macrobranchium rosenbergii	+0/7	0
	Metapenaeus affinis	+0/2	0
	Penaeus merguiensis	+0/9	0
	Metapenaeus moyebi	+0/4	0
	Metapenaeus tenuipes	+0/10	0
	Metapenaeus ensis	+1/8	12.5
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+0/13	7.7
	Parapenopsis hungerfordi	+0/9	0
5 The River Mouth	*Litopenaeus vannamei*	+0/4	0
	Peneaus monodon	+0/10	0
	Metapenaeus moyebi	+0/2	0
	Metapenaeus brevicornis	+0/11	0
	Metapenaeus affinis	+0/6	0
	Penaeus merguiensis	+0/11	0
	Metapenaeus tenuipes	+0/9	0
	Metapenaeus ensis	+0/6	0
	Parapenopsis hungerfordi	+0/1	0
	กุ้งกะต่อม Unknown specie	+0/2	0
	กุ้งชฎา Unknown specie	+0/3	0
% Total	Local shrimps	+1/210	0.48
% Total	*Litopenaeus vannamei*	+0/46	0

[a]% prevalence = [b] # positive (+) YHV / total # of shrimp tested; NS = Non of sample caught

4. ผลการตรวจไวรัส TSV จากสัตว์ทะเลชนิดต่าง ในลุ่มแม่น้ำบางปะกง และแนวชายฝั่งจังหวัดชลบุรี

สัตว์ทะเลชนิดต่าง ๆ ถูกเก็บรวบรวม ในลุ่มแม่น้ำบางปะกง และแนวชายฝั่งจังหวัดชลบุรี ในปี พ.ศ. 2548 (ค.ศ. 2005) เพราะคาดว่าไวรัส TSV น่าจะมีการแพร่กระจายไปสู่สัตว์น้ำอื่น ๆ นอกจากกุ้งพื้นเมืองหรือไม่ และเพื่อให้ทราบว่ามีสัตว์ทะเลชนิดใดบ้างที่ยอมรับไวรัส TSV ผลการตรวจมีดังนี้

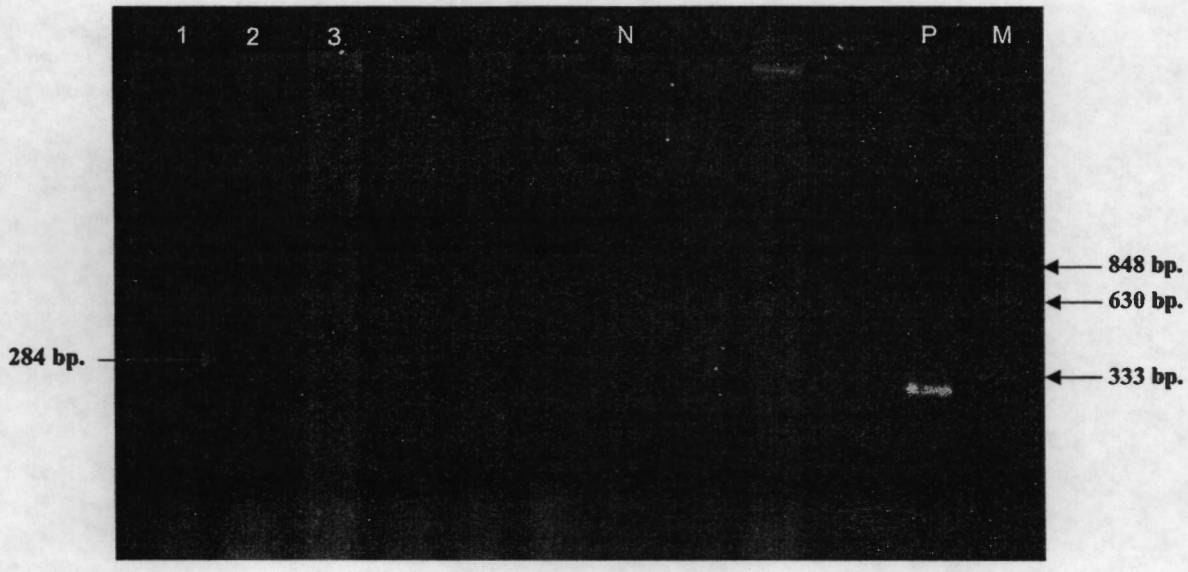
จากการสำรวจชนิดของสัตว์ทะเลและสัตว์น้ำกร่อยที่สามารถรับเชื้อ Taura Syndrome Virus (TSV) บริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและชายฝั่งจังหวัดชลบุรี พบเชื้อ TSV ในสัตว์น้ำ 3 ชนิด ได้แก่ หอยแมลงภู่ ปูม้า และ ปลากะพงขาว ซึ่งมีรายละเอียดตามตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 ผลการตรวจเชื้อ Taura Syndrome Virus ด้วยเทคนิค RT-PCR ในสัตว์ทะเลชนิดต่างๆ

ชนิดสัตว์น้ำ	สถานที่เก็บตัวอย่าง	ลำดับที่	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (ซม.)	ผล RT-PCR (p = Positive, n= Negative)
ปูดำ	บางปะกง	1	150.00	11.40	n
		2	190.00	12.60	n
		3	174.00	12.20	n
ปูม้า	อ่างศิลา	1	140.00	12.50	n
		2	135.00	12.00	p (แบนเข้ม) *
		3	175.00	13.20	n
ปูแสม	บางปะกง	1	36.64	3.90	n
		2	33.93	3.80	n
		3	32.66	3.70	n
หอยแมลงภู่	อ่างศิลา (ชายฝั่ง)	1	30.53	9.60	n
		2	43.24	10.40	n
		3	26.17	8.30	n
หอยแมลงภู่	อ่างศิลา (น้ำลึก)	1	35.12	8.40	p (แบนจาง) *
		2	42.17	9.40	p (แบนจาง) *
		3	37.55	9.00	p (แบนจาง) *

ตารางที่ 4.15 (ต่อ)

ชนิดสัตว์น้ำ	สถานที่เก็บตัวอย่าง	ลำดับที่	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (ซ.ม.)	ผล RT-PCR (p = Positive, n= Negative)
หอยนางรม	อ่างศิลา	1	50.16	5.50	n
		2	60.44	6.20	n
		3	53.29	6.00	n
หอยตลับ	หาดวอนนภา	1	17.34	3.60	n
		2	22.84	3.90	n
		3	25.69	4.00	n
หอยเสียบ	หาดวอนนภา	1	1.27	1.10	n
		2	1.32	1.20	n
		3	1.67	1.40	n
เพรียงเลือด	หาดวอนนภา	1	25.00	1.43	n
		2	26.10	1.56	n
		3	22.40	1.30	n
เพรียงทราย	หาดวอนนภา	1	22.70	1.35	n
		2	17.20	0.99	n
		3	20.50	2.57	n
ปลากะพงขาว	บางปะกง	1	670.00	29.00	n
		2	640.00	27.00	p (แบนจาง) *
		3	647.00	27.00	n



ภาพที่ 4.5 แถบผลผลิต PCR ที่แสดงเชื้อ TSV ในปลากะพงขาวโดยเทคนิค RT-PCR (IQ 2000™ TSV Detection and Prevention System) บน 2% agarose gel eletrophoresis

ช่องที่ 1 เนื้อเยื่อปลากะพงขาวที่ไม่ติดเชื้อ TSV

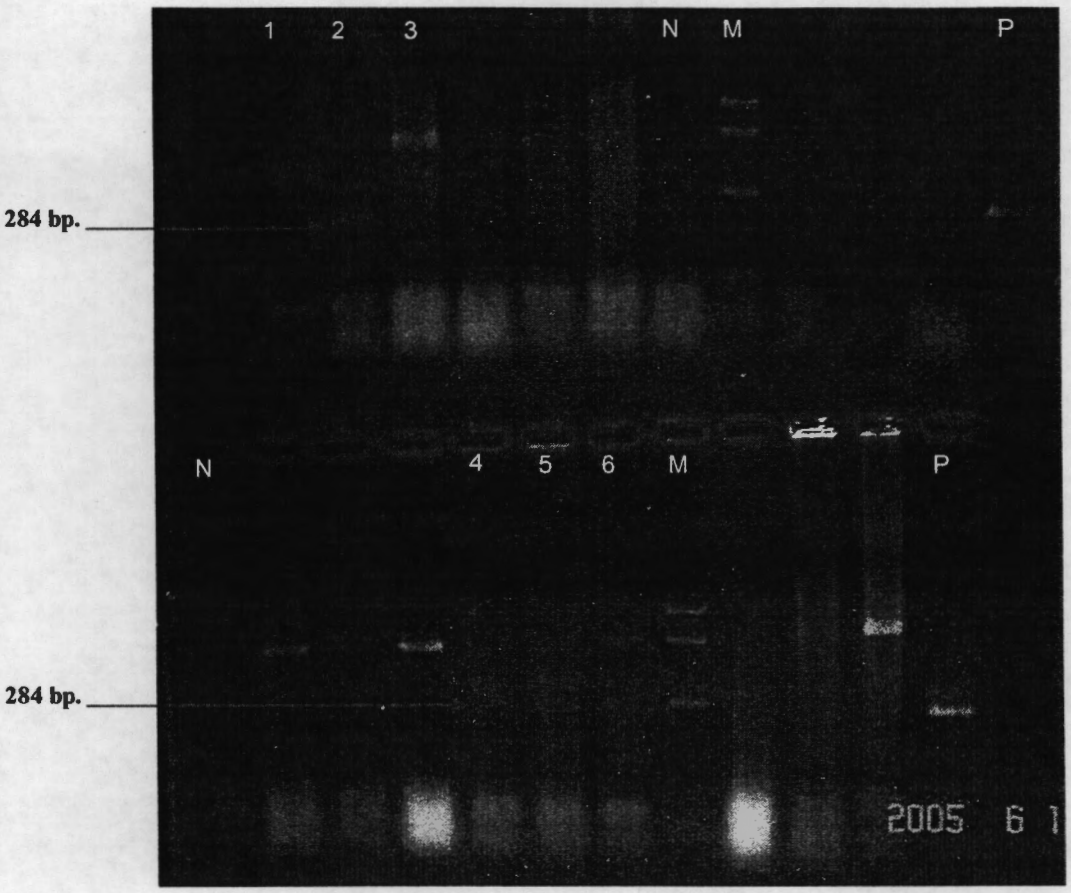
ช่องที่ 2 เนื้อเยื่อปลากะพงขาวที่ติดเชื้อ TSV (284 bp.)

ช่องที่ 3 เนื้อเยื่อปลากะพงขาวที่ไม่ติดเชื้อ TSV

ช่องที่ N Negative control (DEPC ddH_2O)

ช่องที่ P Positive control (plasmid TSV)

ช่องที่ M ตำแหน่งของ DNA Marker



ภาพที่ 4.6 แถบผลผลิต PCR ที่แสดงเชื้อ TSV ในปูม้า และ หอยแมลงภู่ โดยเทคนิค RT-PCR (IQ 2000™ TSV Detection and Prevention System) บน 2% agarose gel eletrophoresis

ช่องที่ 1 เนื้อเยื่อปูม้าที่ไม่ติดเชื้อ TSV

ช่องที่ 2 เนื้อเยื่อปูม้าที่ติดเชื้อ TSV (284 bp.)

ช่องที่ 3 เนื้อเยื่อปูม้าที่ไม่ติดเชื้อ TSV

ช่องที่ 4 เนื้อเยื่อหอยแมลงภู่ที่ติดเชื้อ TSV (284 bp.)

ช่องที่ 5 เนื้อเยื่อหอยแมลงภู่ที่ติดเชื้อ TSV (284 bp.)

ช่องที่ 6 เนื้อเยื่อหอยแมลงภู่ที่ติดเชื้อ TSV (284 bp.)

ช่องที่ N Negative control (DEPC ddH_2O)

ช่องที่ P Positive control (plasmid TSV)

ช่องที่ M ตำแหน่งของ DNA Marker

5. ผลการตรวจไวรัสจากกุ้งขาวและกุ้งพื้นเมืองที่เลี้ยงในฟาร์มจังหวัดฉะเชิงเทรา

5.1 ผลการสำรวจการพบไวรัสทั้งสามชนิดตลอดสามปีได้ผลดังนี้

ผลการสำรวจในช่วงปีที่ 1 ฤดูแล้ง เดือน พฤศจิกายน 2547 – เมษายน 2548 และในช่วงฤดูฝนปี 2548 ตัวอย่างสำรวจเป็นกุ้งขาวทั้งหมดที่เลี้ยงในฟาร์มในสามอำเภอ (อำเภอบางคล้า อำเภอเมือง อำเภอบางปะกงและ อำเภอบ้านโพธิ์) จำนวน 9 ฟาร์ม พบว่าช่วงฤดูแล้งกุ้งขาวมีไวรัสทั้งสามชนิดมากกว่าช่วงฤดูฝน แสดงดังตารางที่ 4.16

ผลการสำรวจในช่วงปีที่ 2 ผลการสำรวจในช่วงฤดูแล้ง เดือน พฤศจิกายน 2548 – เมษายน 2549 ในกุ้งขาวที่เลี้ยงในฟาร์ม ในสามอำเภอ (อำเภอบางน้ำเปรี้ยว อำเภอเมือง และ อำเภอบ้านโพธิ์) จำนวน 8 ฟาร์ม ดังตารางที่ 4.17 พบว่า กุ้งขาว ส่วนใหญ่ มี ไวรัส TSV เป็นจำนวนมาก โดยพบมีไวรัส WSSV ร่วมด้วยเป็นบางบ่อและบางฟาร์ม แต่ไวรัส YHV ไม่พบในปี 2548 และ 2549 และพบได้มากปี 2550 และพบว่าปลาในบ่อกุ้งไม่พบไวรัสทั้งสามชนิด แต่พบว่าปลากะพงขาวเลี้ยงในกระชังในแม่น้ำบางปะกง มีไวรัส TSV จำนวน 3 ตัวจากการสุ่มตรวจ 8 ตัว

ผลการตรวจไวรัสจากกุ้งขาว ในช่วงฤดูฝน เดือน มิถุนายน 2549 – สิงหาคม 2549 ที่เลี้ยงในฟาร์มของอำเภอบางคล้า อำเภอเมือง และ อำเภอบ้านโพธิ์ ดังตารางที่ 4.18 พบการปนเปื้อนของไวรัส TSV มีค่อนข้างน้อย แม้จะพบไวรัส WSSV และ YHV ได้บ้าง ฟาร์มกุ้งในจังหวัดฉะเชิงเทราจะทำการเลี้ยงกุ้งขาวในบ่อดินอย่างเดียว และส่วนใหญ่ เกษตรกรจะเลี้ยงกุ้งขาวและกุ้งก้ามกรามร่วมกัน โดยจะปล่อยกุ้งขาวลงเลี้ยงก่อนประมาณ 1 เดือน และปล่อยกุ้งก้ามกรามลงเลี้ยง จุดประสงค์ที่เกษตรกรมีการเลี้ยงเช่นนี้เนื่องจากมีความเชื่อว่า กุ้งก้ามกรามจะเป็นตัวรับไวรัสจากน้ำในบ่อเลี้ยงที่มีไวรัส เพราะกุ้งขาวที่เป็นโรคจะปล่อยไวรัสสู่น้ำทางเหงือก หรือการขับถ่าย ในบางครั้งกุ้งก้ามกรามจะกินกุ้งขาวที่อ่อนแอจากการเป็นโรคด้วย โดยปกติกุ้งก้ามกรามเป็นกุ้งที่มีความทนทานต่อไวรัสชนิดต่าง ๆ ได้ดี จึงปรากฏว่าส่วนใหญ่เกษตรกรประสบความสำเร็จในการเลี้ยงผสมกุ้งทั้งสองชนิดร่วมกัน และมักได้ผลผลิตในปริมาณที่น่าพอใจ

การพบไวรัส ในกุ้งเลี้ยงจากฟาร์มในปริมาณต่ำนี้ของช่วงฤดูฝน ปี 2549 คาดว่าน่าจะมีผลต่อการพบไวรัสในกุ้งในธรรมชาติได้น้อยลงในช่วงฤดูแล้งในปี 2550 ต่อไป

ผลการสำรวจในช่วงปีที่ 3 ผลการตรวจไวรัสจากกุ้งขาวที่เลี้ยงอยู่ระหว่างลุ่มแม่น้ำบางปะกงทั้งสองฝั่งในช่วงฤดูแล้ง 2550 โดยกุ้งขาวและกุ้งก้ามกรามจะถูกเลี้ยงร่วมในบ่อเดียวกัน ทำให้สามารถพบไวรัสทั้ง 3 ชนิด ได้ทั้งกุ้งขาวและก้ามกราม หรือกุ้งกุลาดำแสดงผลรวมดังตารางที่ 4.19 และแสดงตัวอย่างกุ้งที่สุ่มตรวจและกุ้งแต่ละชนิดเลี้ยงร่วมในบ่อเดียวกัน แสดงดังตารางที่ 4.20, 4.21 และ 4.22 โดยการเลี้ยงร่วมกันโดยมีบ่อดินที่ อำเภอบางคล้า เลี้ยงกุ้งขาวร่วมกับกุ้งกุลาดำ จะพบเปอร์เซ็นต์ไวรัสทั้ง 3 ชนิดในกุ้งกุลาดำสูงมาก แต่ไม่พบในกุ้งขาว แสดงดังตารางที่ 4.22

สรุปในภาพรวมการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งเลี้ยงเศรษฐกิจคือกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และกุ้งก้ามกรามในฟาร์มบ่อดินในแต่ละฤดูกาล ตลอด 3 ปี จากอำเภอต่าง ๆ ในจังหวัดฉะเชิงเทรา แสดงดังตารางที่ 4.23 ไวรัส TSV มีแนวโน้มพบมากในช่วงฤดูแล้งมากกว่างฤดูฝน ทั้งสามปี ส่วนไวรัสWSSV และ YHV เพียงบางปี

ตารางที่ 4.16 ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งเลี้ยงในช่วงฤดูแล้ง 2547 และ ช่วงฤดูฝนปี 2548

เดือน ปี	อำเภอ	TSV	WSSV	YHV	จำนวนตัว
ฤดูแล้ง2548	อำเภอบางคล้า (1 ฟาร์ม)	5	3	1	8
	อำเภอเมือง (2 ฟาร์ม)	11	14	10	17
	อำเภอบ้านโพธิ์ (3 ฟาร์ม)	8	9	11	20
	รวม	24	26	22	45
ฤดูฝน2548	อำเภอบางคล้า (1 ฟาร์ม)	2	0	0	18
	อำเภอเมือง (1 ฟาร์ม)	0	0	0	5
	อำเภอบางปะกง (1 ฟาร์ม)	0	4	2	11
	รวม	2	4	2	34

ตารางที่ 4.17 ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งเลี้ยงและปลาบางชนิดในช่วงฤดูแล้ง 2549

อำเภอ	ชนิดของสัตว์	TSV	WSSV	YHV	จำนวนตัว
อำเภอบางน้ำเปรี้ยว (2 ฟาร์ม)	กุ้งขาว	8	0	0	12
อำเภอเมือง (5 ฟาร์ม)	กุ้งขาว	11	0	0	25
	ปูนา	1	0	0	1
อำเภอบ้านโพธิ์ (1 ฟาร์ม)	กุ้งขาว	8	4	0	20
	กุ้งก้ามกราม	8	0	0	10
	ปลาตะเพียนขาว	0	0	0	2
	ปลาบู่ใส	0	0	0	1
อำเภอบางปะกง	ปลากะพงขาว	3	0	0	8

ตารางที่ 4.18 ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งขาว กุ้งก้ามกรามสำรวจจากฟาร์มเลี้ยงช่วงฤดูฝน 2549

อำเภอ	ชนิดของสัตว์	TSV	WSSV	YHV	จำนวนตัวอย่าง
บางคล้า					
ฟาร์มที่ 1	กุ้งขาว	0	0	6	9
ฟาร์มที่ 2	กุ้งขาว	1	0	2	15
ฟาร์มที่ 3	กุ้งขาว	0	0	1	5
ฟาร์มที่ 4	กุ้งก้ามกราม	0	0	0	10
ฟาร์มที่ 5	กุ้งขาว + กุ้งก้ามกราม	0/0	0/0	0/0	8/1
ฟาร์มที่ 6	กุ้งขาว	8	0	0	10
เมือง					
ฟาร์มที่ 1	กุ้งขาว	0	2	0	5
ฟาร์มที่ 2	กุ้งขาว	0	0	0	5
ฟาร์มที่ 3	กุ้งขาว	1	0	0	8
ฟาร์มที่ 4	กุ้งขาว	0	0	0	5
ฟาร์มที่ 5	กุ้งขาว + กุ้งก้ามกราม	2/3	0/0	0/5	4/5
ฟาร์มที่ 6	กุ้งขาว + กุ้งก้ามกราม	0/2	0/0	0/3	4/5
ฟาร์มที่ 7	กุ้งขาว	0	0	1	4
ฟาร์มที่ 8	กุ้งขาว + กุ้งก้ามกราม	5/8	1/0	1/0	13/8
บ้านโพธิ์					
ฟาร์มที่ 1	กุ้งขาว	1	0	0	9
ฟาร์มที่ 2	กุ้งขาว	0	0	0	14
ฟาร์มที่ 3	กุ้งขาว + กุ้งก้ามกราม	0/0	0/1	0/0	4/6
ฟาร์มที่ 4	กุ้งขาว	0	1	1	2
ฟาร์มที่ 5	กุ้งขาว	0	0	0	3
ฟาร์มที่ 6	กุ้งขาว + กุ้งก้ามกราม	0/0	1/1	1/1	2/1
ฟาร์มที่ 7	กุ้งขาว	0	0	0	5
ฟาร์มที่ 8	กุ้งขาว + กุ้งก้ามกราม	0/0	0/0	0/0	5/4
ฟาร์มที่ 9	กุ้งขาว	0	1	1	2

ตารางที่ 4.19 สรุปผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งเลี้ยงในช่วงฤดูแล้ง 2550

อำเภอ	ชนิดของสัตว์	TSV	WSSV	YHV	จำนวนตัว
อำเภอบางคล้า (5 ฟาร์ม)	กุ้งขาว	4	12	4	31
(กุ้งเลี้ยงร่วมกันและแยก)	กุ้งก้ามกราม	4	4	4	17
ดูตาราง 4.22 เพิ่มเติม	กุ้งกุลาดำ	3	12	14	20
	รวม	11	28	22	68
อำเภอเมือง (5 ฟาร์ม)	กุ้งขาว	1	5	6	16
(กุ้งเลี้ยงร่วมกันและแยก)	กุ้งก้ามกราม	2	5	4	15
ดูตาราง 4.20 เพิ่มเติม	รวม	3	10	10	31
อำเภอบ้านโพธิ์ (5 ฟาร์ม)	กุ้งขาว	0	2	1	16
(กุ้งเลี้ยงร่วมกันและแยก)	กุ้งก้ามกราม	2	30	29	41
ดูตาราง 4.22 เพิ่มเติม	รวม	2	32	30	57

ตารางที่ 4.20 ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งขาว กุ้งก้ามกรามสำรวจจากฟาร์มอำเภอเมือง (I)

ฟาร์ม	บ่อ	ชนิดกุ้ง	จำนวน (ตัวอย่าง)	ผล TSV positive	ผล WSSV Positive	ผล YHV positive
1	1	*Macrobranchium rosenbergii*	1	-	-	-
	2	*Macrobranchium rosenbergii*	3	-	-	-
		Litopenaeus vannamei	1	-	-	-
	3	*Macrobranchium rosenbergii*	1	-	-	-
		Litopenaeus vannamei	1	-	-	-
2	1	*Macrobranchium rosenbergii*	1	-	1	1
		Litopenaeus vannamei	4	-	2	3
	2	*Macrobranchium rosenbergii*	2	-	2	1
		Litopenaeus vannamei	4	1	2	2
3	1	*Macrobranchium rosenbergii*	2	2	-	-
4	1	*Litopenaeus vannamei*	4	-	-	-
5	1	*Macrobranchium rosenbergii*	1	-	1	-
	2	*Macrobranchium rosenbergii*	2	-	1	2
	3	*Macrobranchium rosenbergii*	1	-	-	-
		Litopenaeus vannamei	1	-	1	1
	4	*Macrobranchium rosenbergii*	1	-	-	-
		Litopenaeus vannamei	1	-	-	-
รวม			31	3	10	10

ตารางที่ 4.21 ผลการตรวจไวรัสไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งขาว กุ้งก้ามกรามสำรวจจากฟาร์มอำเภอบ้านโพธิ์ (II)

ฟาร์ม	บ่อ	ชนิดกุ้ง	จำนวน (ตัวอย่าง)	ผล TSV positive	ผล WSSV Positive	ผล YHV positive
1	1	*M. rosenbergii*	4	2	4	4
	2	*M. rosenbergii*	4	-	2	2
		Litopenaeus vannamei	3	-	-	-
	3	*M. rosenbergii*	5	-	5	5
		Litopenaeus vannamei	2	-	2	1
	4	*M. rosenbergii*	3	-	3	3
		Litopenaeus vannamei	3	-	-	-
2	1	*M. rosenbergii*	3	-	2	1
	2	*M. rosenbergii*	2	-	1	1
3	1	*M. rosenbergii*	3	-	1	1
	2	*M. rosenbergii*	3	-	3	3
	3	*M. rosenbergii*	4	-	4	4
	4	*M. rosenbergii*	5	-	4	4
4	1	*Litopenaeus vannamei*	4	-	-	-
5	1	*M. rosenbergii*	2	-	-	-
		Litopenaeus vannamei	1	-	-	-
	2	*M. rosenbergii*	3	-	1	1
		Litopenaeus vannamei	3	-	-	-
รวม			57	2	32	30

ตารางที่ 4.22 ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิด จากกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ กุ้งก้ามกรามสำรวจจากฟาร์มอำเภอบางคล้า (III)

ฟาร์ม	บ่อ	ชนิดกุ้ง	จำนวน (ตัวอย่าง)	ผล TSV positive	ผล WSSV positive	ผล YHV positive
1	1	*Macrobranchium rosenbergii*	1	-	-	-
	2	*Litopenaeus vannamei*	1	-	-	-
	3	*Litopenaeus vannamei*	2	-	-	-
	4	*Litopenaeus vannamei*	3	-	-	-
2	1	*Penaeus monodon*	2	-	-	-
		Litopenaeus vannamei	2	-	-	-
3	1	*Litopenaeus vannamei*	2	-	-	-
	2	*Litopenaeus vannamei*	3	-	2	--
4	1	*Litopenaeus vannamei*	2	-	1	-
	2	*Litopenaeus vannamei*	2	-	1	-
	3	*Litopenaeus vannamei*	2	-	-	2
5	1	*Penaeus monodon*	3	-	2	3
	2	*Litopenaeus vannamei*	3	-	-	-
		Penaeus monodon	15	3	10	11
	3	*Litopenaeus vannamei*	9	4	8	2
		Macrobranchium rosenbergii	16	4	4	4
รวม			68	11	28	22

ตารางที่ 4.23 ผลการตรวจไวรัส 3 ชนิดจากกุ้งเลี้ยงเศรษฐกิจคือกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และกุ้งก้ามกราม (ไม่แยกชนิด) ในฟาร์มบ่อดินในแต่ละฤดูกาลตลอด 3 ปี

ฤดูกาล ปี	จำนวนกุ้งที่ตรวจ (ตัว)	TSV % prevalence/b	WSSV % prevalence/b	YHV % prevalence/b
ฤดูแล้ง2548	45	53.3 (+24)	57.7 (+26)	48.8 (+22)
ฤดูฝน2548	34	5.8 (+2)	11.7 (+4)	5.8 (+2)
ฤดูแล้ง2549	67	52.2 (+35)	6.0 (+4)	0 (+0)
ฤดูฝน2549	181	17.1 (+31)	4.4 (+8)	12.7 (+23)
ฤดูแล้ง2550	156	10.2 (+16)	44.8 (+70)	39.7 (+62)
รวม	483	22.4 (+108)	23.2 (+112)	22.6 (+109)

b = total of tested shrimp has positive (+) virus

5.2 ผลการตรวจไวรัสจากกุ้งขาวที่เลี้ยงอยู่ระหว่างลุ่มแม่น้ำบางปะกง

เป็นข้อมูลที่ทางศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจังหวัดฉะเชิงเทรา กรมประมง เฉพาะ ทำการบริการตรวจฟรีให้แก่เกษตรกรเลี้ยงกุ้ง โดยมีทั้งกุ้งระยะวัยอ่อนโพสต์ลาวาและกุ้งบ่อดินจากบ่อเลี้ยง เกษตรกรนำมาตรวจจำนวน 73 ราย เป็นตัวอย่างทั้งกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำจำนวน 106 ตัวอย่าง พบไวรัส TSV เป็น 68% (72 ตัวอย่าง) เป็นรายงานข้อมูลตลอดปี 2548 เท่านั้น

ผลตอนที่ 2 ความรุนแรงในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส Taura syndrome virus, White Spot Syndrome Virus และ Yellow Head Virus ระหว่างกุ้งขาว กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม

2.1 การทดลองการถ่ายทอดเชื้อไวรัสระหว่างกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ กับ กุ้งก้ามกรามผ่านทางน้ำที่ความเค็ม 10 ppt

การแพร่กระจายและการถ่ายทอดเชื้อไวรัสระหว่างกุ้งขาวกับกุ้งพื้นเมือง คือ กุ้งกุลาดำ และกุ้งก้ามกราม เพื่อศึกษาความสามารถในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส White Spot Syndrome Virus และ Yellow Head Virus ระหว่างกุ้งขาวกับกุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม และความรุนแรงในการก่อโรค เนื่องจาก กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกรามเป็นกุ้งพื้นเมืองในประเทศไทย ส่วนกุ้งขาวเป็นกุ้งนำเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย ดังนั้นในการนำกุ้งต่างถิ่นเข้ามาสู่สิ่งแวดล้อมใหม่ ยังเป็นสิ่งที่ต้องตระหนักถึงความเสี่ยงในการนำเชื้อโรคใหม่ ๆ มากระทบต่อสัตว์น้ำในท้องถิ่นได้ และกุ้งขาวเองอาจรับเชื้อจากกุ้งท้องถิ่น จนอาจเป็นปัญหาหรือมีผลกระทบต่อผลผลิตในการเลี้ยงกุ้งขาว

งานทดลองในครั้งนี้เป็นการศึกษาการถ่ายทอดเชื้อไวรัสระหว่างกุ้งต่างชนิดกัน โดยกุ้งจะถูกทดลองเลี้ยงในถังจำลอง โดยคำนึงถึงชนิดของไวรัสที่ก่อโรคประจำในกุ้งชนิดหนึ่งสามารถจะถ่ายทอดไปสู่กุ้งชนิดอื่นๆได้หรือไม่ เช่น กุ้งขาวที่เป็นกุ้งต่างถิ่นที่ไม่ได้อาศัยอยู่ในประเทศไทยมาก่อน มักเป็นโรคจากเชื้อไวรัส TSV ส่วนกุ้งกุลาดำเป็นกุ้งท้องถิ่นที่เลี้ยงเชิงพานิชย์ในประเทศไทย มักเป็นโรคจากเชื้อไวรัส WSSV และ YHV สำหรับกุ้งก้ามกรามเป็นกุ้งท้องถิ่นในประเทศไทย ที่ไม่ได้มีผลกระทบการก่อโรคจากไวรัสทั้งสามชนิด แต่ใช้เป็นสัตว์ทดลองในครั้งนี้เพื่อยืนยันว่า 1) ไวรัสจากกุ้งที่มีเชื้อ ได้มีการแพร่กระจายออกจากร่างกายกุ้งไปสู่กุ้งชนิดอื่น 2) ถ้ากุ้งก้ามกรามสามารถรับเชื้อไวรัสทั้งสามชนิดเข้าสู่ร่างกายได้ จัดว่าเป็นสัตว์พาหะชนิดหนึ่ง

การถ่ายทอดของเชื้อไวรัสในครั้งนี้จะทดลองการแพร่กระจายทางน้ำ เพราะเป็นวิธีการที่ทำให้ทราบว่าเชื้อไวรัสมีความสามารถในการถ่ายทอดได้ในขณะที่กุ้งมีชีวิต และไวรัสถูกปล่อยออกมาจากกุ้งมีชีวิตที่ติดเชื้อ ซึ่งลักษณะงานดังกล่าว มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการแพร่กระจายของไวรัส 3 ชนิด (TSV, WSSV, YHV) ทางน้ำระหว่างกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกราม สามารถติดเชื้อไวรัสระหว่างกันได้หรือไม่ รวมทั้งอาจก่อความรุนแรงของโรคจนถึงขั้นกุ้งเจ็บป่วยและตาย ซึ่งข้อมูลจะมีประโยชน์ต่องานการระบาดของโรคในสัตว์น้ำมีผลกระทบจากสัตว์ต่างถิ่นเพราะสามารถทราบถึงกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และกุ้งก้ามกรามถูกสุ่มตรวจไวรัสก่อนการทดลอง พบว่า กุ้งทั้งสามชนิดไม่มีไวรัส TSV, WSSV และ YHV ในร่างกายเลย

2.1.1. การทดลองการถ่ายทอดเชื้อไวรัส TSV จากกุ้งขาวสู่กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม

กุ้งขาวได้ถูกฉีดไวรัส TSV เข้าสู่ร่างกาย พบว่าหลังกุ้งขาวได้รับเชื้อ 2 วัน ได้ถูกตรวจพบเชื้อไวรัส TSV จำนวน 4 ตัว จาก 9 ตัว ทำให้การแพร่กระจายของเชื้อ TSV เริ่มต้นมีน้อยลงจากกุ้งที่จะปลดปล่อยออกมาสู่น้ำในถังทดลองเลี้ยง รวมทั้งมีปริมาณน้อยลงไปเรื่อย ๆ คือวันที่ 1 หลังการเลี้ยงร่วมกับกุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม ไม่สามารถตรวจพบไวรัส TSV ในกุ้งขาวจำนวน 9 ตัว แต่พบในวันที่ 3 จำนวน 2 ตัว จาก

9 ตัว อย่างไรก็ตามแม้มีการพบไวรัส TSV ในกุ้งปริมาณน้อย ก็ยังพบมีการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสนี้ไปยังทั้งกุ้งก้ามกราม (4 ตัว จาก 9 ตัว ในวันที่ 3 หลังการเลี้ยงร่วมกัน) และ กุ้งกุลาดำ (1 ตัว จาก 9 ตัว ในวันที่ 15 หลังการเลี้ยงร่วมกัน) และเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงร่วมกันภายใน 30 วัน ไม่พบไวรัส TSV ในกุ้งทั้งสามชนิด โดยกุ้งทั้งสามชนิดไม่มีการตายในระหว่างการทดลองเลี้ยง ภายใน 30 วัน โดยภาพรวมกุ้งกุลาดำได้รับเชื้อ TSV ทางน้ำจำนวน 1 ตัว จาก 45 ตัว ส่วนกุ้งก้ามกราม ได้รับเชื้อ TSV ทางน้ำจำนวน 4 ตัว จาก 45 ตัว ระยะเวลาและการตรวจพบไวรัส TSV ในกุ้งแต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 4.24

ตารางที่ 4.24 ระยะเวลาและการตรวจพบไวรัส TSV ในกุ้งทดลองแต่ละชนิด

ชนิดของกุ้ง	จำนวนกุ้งพบไวรัส TSV /จำนวนกุ้งสุ่มตรวจ (ตัว)						กุ้ง + /จำนวนตรวจ (ตัว)
	2วัน	↓1วัน	3 วัน	7 วัน	15วัน	30วัน	
กุ้งชุดทดลอง							
กุ้งกุลาดำ	0/9	0/9	0/9	0/9	1/9	0/9	1/45
กุ้งขาว	4/9	0/9	2/9	0/9	0/9	0/9	6/45
กุ้งก้ามกราม	0/9	0/9	4/9	0/9	0/9	0/9	4/45
กุ้งชุดควบคุม							
กุ้งกุลาดำ	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/45
กุ้งขาว	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/45
กุ้งก้ามกราม	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/45

↓ เริ่มเลี้ยงกุ้งทั้งสามชนิดร่วมกัน

2.1.2. การทดลองการถ่ายทอดเชื้อไวรัส WSSV จากกุ้งกุลาดำสู่กุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม

กุ้งกุลาดำได้ถูกฉีดไวรัส WSSV เข้าสู่ร่างกาย พบว่าหลังกุ้งกุลาดำได้รับเชื้อ 2 วัน ได้ถูกตรวจพบเชื้อ WSSV จำนวน 9 ตัว จาก 9 ตัว ทำให้การแพร่กระจายของเชื้อ WSSV เริ่มต้นจะมีปริมาณสูงมากและปลดปล่อยออกมาสู่น้ำในถังทดลองเลี้ยง ผลการตรวจไวรัสในวันที่ 1, 3, 7, 15 และ 30 หลังการเลี้ยงร่วมกับกุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม พบเชื้อในกุ้งทั้งสองชนิดจำนวนช่วงใกล้เคียงกันคือ 5-7 ตัว จาก 9 ตัว ส่วนกุ้งกุลาดำเองมีการพบเชื้อ WSSV จากจำนวนกุ้งทั้งหมดที่ถูกฉีดเชื้อทดลอง โดยในวันที่ 30 กุ้งกุลาดำแม้มีเหลือรอดเพียง 6 ตัว สามารถตรวจพบ WSSV ในกุ้งทุกตัว โดยภาพรวมกุ้งขาวได้รับเชื้อ WSSV ทางน้ำจำนวน 29 ตัว จาก 45 ตัว ส่วนกุ้งก้ามกรามได้รับเชื้อ WSSV ทางน้ำจำนวน 31 ตัว จาก 45 ตัว จึงนับได้ว่าไวรัส WSSV ก่อความรุนแรงต่อกุ้งกุลาดำ และสามารถถ่ายทอดไปยังกุ้งขาวที่เป็นกุ้งต่างถิ่นในอัตราใกล้เคียงกันกับกุ้งก้ามกราม และกุ้งทั้งสามชนิดมีการตายในระหว่างการทดลองเลี้ยงภายใน 30 วันดังตารางที่ 4.26 ระยะเวลาและการตรวจพบไวรัส WSSV ในกุ้งแต่ละชนิด แสดง ดังตารางที่ 4.25

ตารางที่ 4.25 ระยะเวลาและการตรวจพบไวรัส WSSV ในกุ้งทดลองแต่ละชนิด

ชนิดของกุ้ง	จำนวนกุ้งพบไวรัส WSSV /จำนวนกุ้งสุ่มตรวจ (ตัว)						รวมกุ้งพบไวรัส / จำนวนตรวจ (ตัว)
	2วัน	↓1 วัน	3 วัน	7 วัน	15 วัน	30 วัน	
กุ้งชุดทดลอง							
กุ้งกุลาดำ	9/9	9/9	9/9	8/9	9/9	6/6*	41/42
กุ้งขาว	0/9	6/9	5/9	6/9	6/9	6/9	29/45
กุ้งก้ามกราม	0/9	6/9	7/9	5/9	7/9	6/9	31/45
กุ้งชุดควบคุม							
กุ้งกุลาดำ	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/45
กุ้งขาว	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/45
กุ้งก้ามกราม	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/45

* กุ้งกุลาดำมีการตาย จำนวนกุ้งที่สุ่มตัวอย่างจึงมีเพียง 6 ตัว

↓ เริ่มเลี้ยงกุ้งทั้งสามชนิดร่วมกัน

2.1.3. การทดลองการถ่ายทอดเชื้อไวรัส YHV จากกุ้งกุลาดำสู่กุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม

กุ้งกุลาดำได้ถูกฉีดไวรัส YHV เข้าสู่ร่างกาย พบว่าหลังกุ้งกุลาดำได้รับเชื้อ 2 วัน ได้ถูกตรวจพบเชื้อ YHV จำนวน 9 ตัว จาก 9 ตัว ทำให้การแพร่กระจายของเชื้อ YHV เริ่มต้นจะมีปริมาณสูงมากปลดปล่อยออกมาสู่น้ำในถังทดลองเลี้ยง ผลการตรวจไวรัสในวันที่ 1, 3, 7, 15 และ 30 วัน หลังการเลี้ยงร่วมกับกุ้งขาวและกุ้งก้ามกราม พบเชื้อในกุ้งทั้งสองชนิดจำนวนช่วงใกล้เคียงกันคือ 5-7 ตัว จาก 9 ตัว ส่วนกุ้งกุลาดำเองมีการพบเชื้อ YHV จากจำนวนกุ้งทั้งหมดที่ถูกฉีดเชื้อทดลอง โดยในวันที่ 30 กุ้งกุลาดำมีเหลือรอดเพียง 6 ตัว และตรวจพบ YHV ในกุ้งทุกตัว โดยภาพรวมกุ้งขาวได้รับเชื้อ YHV ทางน้ำจำนวน 41 ตัว จาก 45 ตัว ส่วนกุ้งก้ามกราม ได้รับเชื้อ YHV ทางน้ำจำนวน 26 ตัว จาก 45 ตัว ระยะเวลาและการตรวจพบไวรัส YHV ในกุ้งแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 4.26 จึงนับได้ว่าไวรัส YHV ก่อความรุนแรงต่อกุ้งกุลาดำ และสามารถถ่ายทอดไปยังกุ้งขาวที่เป็นกุ้งต่างถิ่นในอัตราใกล้เคียงกันกับกุ้งก้ามกราม และกุ้งทั้งสามชนิดมีการตายในระหว่างการทดลองเลี้ยงภายใน 30 วันดังตารางที่ 4.27

สรุปเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อและการถ่ายทอดไวรัส TSV, WSSV และ YHV ในกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกรามแสดงดังตารางที่ 4.28

ตารางที่ 4.26 ระยะเวลาและการตรวจพบไวรัส YHV ในกุ้งทดลองแต่ละชนิด

ชนิดของกุ้ง	จำนวนกุ้งพบไวรัส YHV /จำนวนกุ้งสุ่มตรวจ (ตัว)						กุ้ง + /จำนวนตรวจ (ตัว)
	2วัน	↓1 วัน	3 วัน	7 วัน	15 วัน	30 วัน	
กุ้งชุดทดลอง							
กุ้งกุลาดำ	9/9	9/9	9/9	9/9	5/9	9/9	41/45
กุ้งขาว	0/9	9/9	9/9	9/9	9/9	5/9	41/45
กุ้งก้ามกราม	0/9	8/9	7/9	9/9	1/9	1/9	26/45
กุ้งชุดควบคุม							
กุ้งกุลาดำ	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/45
กุ้งขาว	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/45
กุ้งก้ามกราม	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/45

↓ เริ่มเลี้ยงกุ้งทั้งสามชนิดร่วมกัน

ตารางที่ 4.27 อัตราการตายรวมของกุ้งระหว่างการทดลองการถ่ายทอดเชื้อไวรัส TSV, WSSV, และ YHV

ชนิดของกุ้งทดลองรับเชื้อไวรัส	จำนวนกุ้งที่ตายรวมต่อกุ้งทดลองทั้งหมด		
	การถ่ายทอดไวรัส TSV โดยกุ้งขาว	การถ่ายทอดไวรัส WSSV โดยกุ้งกุลาดำ	การถ่ายทอดไวรัส YHV โดยกุ้งกุลาดำ
กุ้งกุลาดำ	0/66	28/66	19/66
กุ้งขาว	0/66	20/66	10/66
กุ้งก้ามกราม	0/66	20/66	8/66

ตารางที่ 4.28 เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อและการถ่ายทอดไวรัส TSV, WSSV และ YHV ในกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกรามทดลอง

เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ	ถ่ายทอดสู่	เปอร์เซ็นต์การรับเชื้อ
TSV ในกุ้งขาว (13%)	→	กุ้งกุลาดำ (2%) กุ้งก้ามกราม (9%)
WSSVในกุ้งกุลาดำ (100%)	→	กุ้งขาว (64%) กุ้งก้ามกราม (69%)
YHV ในกุ้งกุลาดำ (100%)	→	กุ้งขาว (91%) กุ้งก้ามกราม (58%)

2.2. ผลการทดลองการยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลืองในกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 5 ppt และ 25 ppt

2.2.1 การยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลืองในกุ้งขาวด้วยวิธีฉีด พบว่าไวรัสทั้งสองชนิดก่อการตายภายใน 24 ชั่วโมง กุ้งขาวจะตายหมดในระยะ 2-3 วันหลังการรับไวรัสเข้าร่างกาย และความรุนแรงจะน้อยลงตามความเข้มข้นของไวรัส ที่เจือจางมากขึ้น ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.29 สำหรับการทดลองไวรัสหัวเหลือง และ 4.30 สำหรับ การทดลองไวรัสตัวแดงดวงขาว

ตารางที่ 4.29 การยอมรับไวรัสหัวเหลืองในกุ้งขาวทดลองด้วยวิธีฉีดในความเข้มข้นต่างๆ กัน

days after injected	%survival rate at 5 ppt			%survival rate at 25 ppt		
	YHV			YHV		
	1 ต่อ 100	1 ต่อ 200	1 ต่อ 500	1 ต่อ 100	1 ต่อ 200	1 ต่อ 500
0	100	100	100	100	100	100
1	100	50	66.6	100	20	80
2	100	0	0	100	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0

ตารางที่ 4.30 การยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งขาวทดลองด้วยวิธีฉีดในความเข้มข้นต่างๆ กัน

days after injected	%survival rate at 5 ppt			%survival rate at 25 ppt		
	WSSV			WSSV		
	1 ต่อ 100	1 ต่อ 200	1 ต่อ 500	1 ต่อ 100	1 ต่อ 200	1 ต่อ 500
0	100	100	100	-	100	100
1	100	87.5	71.4	-	85.7	85.7
2	100	75	71.4	-	71.4	71.4
3	50	56.25	57.1	-	42.85	57.1
4	0	0	0	-	0	0
5	0	0	0	-	0	0

หมายเหตุ - = ไม่ได้ทดลอง

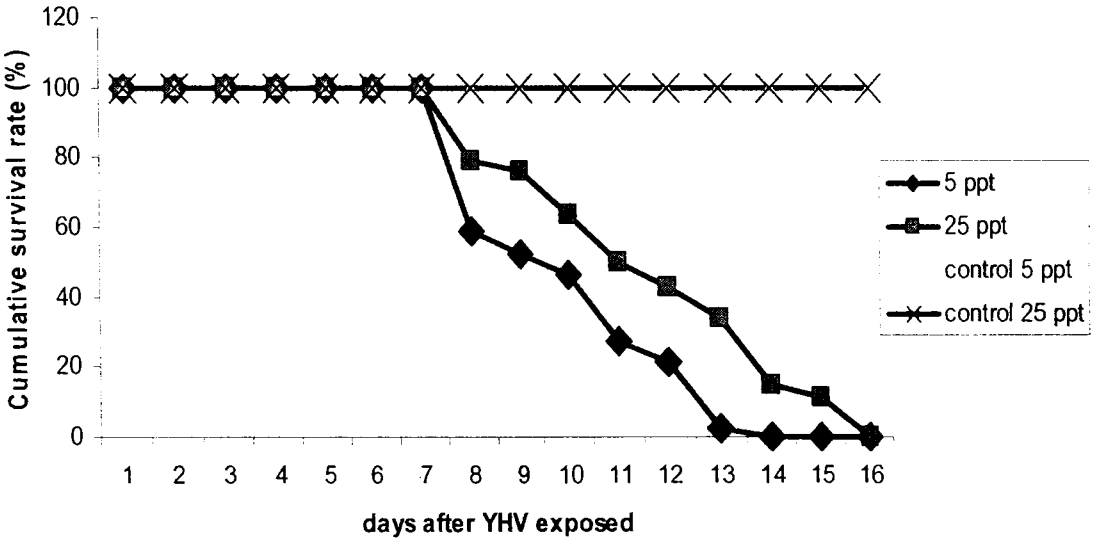
2.2.2 การยอมรับไวรัสตัวแดงดวงขาวและไวรัสหัวเหลืองในกุ้งขาวด้วยวิธีใส่เชื้อไวรัสในน้ำ

ระดับความเค็มมีผลต่อความรุนแรงของ YHV ผ่านทางน้ำ ต่อกุ้งขาว โดยอัตราการตายของกุ้งขาวที่ความเค็ม 5 ppt มีความรุนแรงมากกว่าที่ความเค็ม 25 ppt (ตารางที่ 4.31 และภาพที่ 4.7) แม้ว่าการตายจะเริ่มพร้อมกันในวันที่ 7 หลังจากการเติมเชื้อลงในน้ำ อัตรารอดตายสะสมของกุ้งขาวในความเค็ม 5 ppt (58.75%) มีค่าต่ำกว่าที่ ความเค็ม 25 ppt (78.75%) นอกจากนี้ ความรุนแรงของไวรัส YHV ต่อกุ้งขาวที่ความเค็มต่ำจะก่อการตายในกุ้งขาวใช้เวลาสั้นมาก คือ ทำให้กุ้งขาวตายปริมาณ 100% (40 ตัว) ภายใน 13 วัน เมื่อเทียบกับความเค็ม 25 ppt ที่กุ้งทั้งหมดตายภายใน 15 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม YHV ในน้ำ ซึ่งกุ้งขาวไม่มีการตายตลอดการทดลองเลี้ยง

กุ้งขาวมีการติดเชื้อไวรัส YHV ผ่านทางน้ำในวันที่สอง ทั้งความเค็มที่ 5 ppt และ 25 ppt และ คาดว่ามีการติดเชื้อ 100%ในวันที่สาม จนเริ่มก่อการตายในกุ้งขาวในวันที่ 7 การพบไวรัส YHV ในกุ้งขาวทดลองที่ความเค็ม 5 ppt คือ 69% (60/87 ตัวอย่าง) และความเค็ม 25 ppt คือ 57.5% (54/94 ตัวอย่าง) แสดงดังตารางที่ 4.32 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งกุ้งขาวไม่มีการติดเชื้อตลอดการทดลองเลี้ยง

ตารางที่ 4.31 อัตรารอดของกุ้งขาวทดลองเมื่อใส่เชื้อไวรัสหัวเหลืองในน้ำเลี้ยง

days after YHV exposed	% Cumulative survival rate			
	YHV 5 ppt	YHV 25 ppt	No YHV control 5 ppt	No YHV control 25 ppt
0	100	100	100	100
1	100	100	100	100
2	100	100	100	100
3	100	100	100	100
4	100	100	100	100
5	100	100	100	100
6	100	100	100	100
7	58.75	78.75	100	100
8	52.5	76.25	100	100
9	46.25	63.75	100	100
10	27.5	50	100	100
11	21.25	42.5	100	100
12	2.5	33.75	100	100
13	0	15	100	100
14	0	11.25	100	100
15	0	0	100	100



ภาพที่ 4.7 อัตรารอดตายสะสมของกุ้งขาวทดลองเมื่อใส่เชื้อไวรัสหัวเหลืองในน้ำเลี้ยง

ตารางที่ 4.32 การตรวจหาเชื้อไวรัสหัวเหลืองในระยางค์กุ้งขาวทดลองหลังการใส่ไวรัสในน้ำเลี้ยง

Days after YHV exposed	จำนวนตัวอย่างที่พบไวรัสต่อจำนวนทั้งหมด			
	YHV ความเค็ม 5 ppt	YHV ความเค็ม 25 ppt	No YHV ความเค็ม 5 ppt	No YHV ความเค็ม 25 ppt
0	0/10	0/10	0/10	0/10
1	0/10	0/10	0/10	0/10
2	4/10	2/10	0/10	0/10
3	10/10	10/10	0/10	0/10
4	9/10	9/10	0/10	0/10
5	10/10	9/10	0/10	0/10
6	6/10	8/10	0/10	0/10
7	8/10	7/10	0/10	0/10
8	6/10	3/10	0/10	0/10
9	4/4	2/6	0/10	0/10
10	3/3	0/3	0/10	0/10
11	-	4/5	0/10	0/10
รวม	60/87	54/94	0/120	0/120

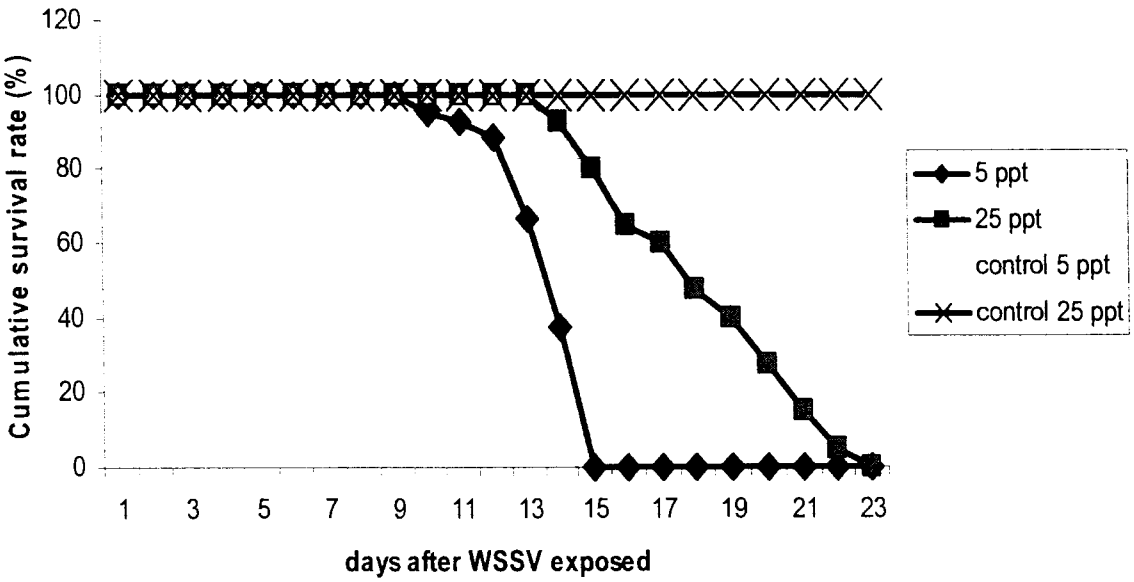
หมายเหตุ - = กุ้งตายหมด

จากข้อมูลอัตราการตายของกุ้งขาวหลังจากรับเชื้อ WSSV และระยะเวลาที่กุ้งขาวพบไวรัสในร่างกาย พบว่าความรุนแรงของไวรัสตัวแดงดวงขาวผ่านทางน้ำ ได้รับอิทธิพลจากระดับความเค็ม โดยการตายของกุ้งขาวที่ความเค็ม 5 ppt มีความรุนแรงมากกว่าที่ความเค็ม 25 ppt กุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 5 ppt จะเริ่มตายในวันที่ 9 (อัตรารอดที่ 95%) ส่วนในความเค็ม 25 ppt กุ้งขาวเริ่มตาย ในวันที่ 13 (อัตรารอดที่ 92.5%) นอกจากนี้ความรุนแรงของไวรัสตัวแดงดวงขาวต่อกุ้งขาวที่ความเค็มต่ำจะก่อการตายในกุ้งขาวใช้เวลาสั้นมาก คือ ทำให้กุ้งขาวตายปริมาณ 100% (40 ตัว) ภายใน 14 วัน เมื่อเทียบกับความเค็ม 25 ppt ใช้ระยะเวลา 22 วัน (ตารางที่ 4.33 และ ภาพที่ 4.8) และ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไวรัส WSSV ในน้ำ ซึ่งกุ้งขาวไม่มีการตายตลอดการทดลองเลี้ยง

กุ้งขาวมีการติดเชื้อ WSSV ผ่านทางน้ำในวันที่สาม ทั้งความเค็มที่ 5 ppt และ 25 ppt การพบไวรัส WSSV ในกุ้งขาวทดลองที่ความเค็ม 5 ppt คือ 35.5 % (39/110 ตัวอย่าง) และความเค็ม 25 ppt คือ 56 % (86/153 ตัวอย่าง) แสดงดังตารางที่ 4.34 แต่เนื่องจาก การติดเชื้อไวรัสซ้ำซ้อนจะเกิดขึ้นเนื่องจากไวรัสสามารถถ่ายทอดเชื้อผ่านทางน้ำได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งกุ้งขาวไม่มีการตายและติดเชื้อตลอดการทดลองเลี้ยง

ตารางที่ 4.33 อัตรารอดของกุ้งขาวทดลองเมื่อใส่ไวรัสตัวแดงดวงขาวในน้ำเลี้ยง

days after WSSV exposed	% Cumulative survival rate			
	WSSV 5 ppt	WSSV 25 ppt	No WSSV control 5 ppt	No WSSV control 25 ppt
0	100	100	100	100
1	100	100	100	100
2	100	100	100	100
3	100	100	100	100
4	100	100	100	100
5	100	100	100	100
6	100	100	100	100
7	100	100	100	100
8	100	100	100	100
9	95	100	100	100
10	92.5	100	100	100
11	88.75	100	100	100
12	66.25	100	100	100
13	37.5	92.5	100	100
14	0	80	100	100
15	0	65	100	100
16	0	60	100	100
17	0	47.5	100	100
18	0	40	100	100
19	0	27.5	100	100
20	0	15	100	100
21	0	5	100	100
22	0	0	100	100



ภาพที่ 4.8 อัตรารอดตายสะสมของกุ้งขาวทดลองเมื่อใส่ไวรัสตัวแดงดวงขาวในน้ำเลี้ยง

ตารางที่ 4.34 การตรวจหาเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในระยางค์กุ้งขาวทดลองหลังการใส่ไวรัสในน้ำเลี้ยง

Days after WSSV exposed	จำนวนตัวอย่างที่พบไวรัสต่อจำนวนทั้งหมด			
	WSSV ความเค็ม 5 ppt	WSSV ความเค็ม 25 ppt	No WSSV ความเค็ม 5 ppt	No WSSV ความเค็ม 25 ppt
0	0/10	0/10	0/10	0/10
1	0/10	0/10	0/10	0/10
2	0/10	0/10	0/10	0/10
3	1/10	9/10	0/10	0/10
4	3/10	4/10	0/10	0/10
5	5/10	7/10	0/10	0/10
6	3/10	1/10	0/10	0/10
7	3/10	1/10	0/10	0/10
8	7/10	6/9	0/10	0/10
9	8/8	8/10	0/10	0/10
10	2/8	10/10	0/10	0/10
11	4/7	8/9	0/10	0/10
12	0/2	2/8	0/10	0/10
13	3/4	4/9	0/10	0/10
14	0/1	6/6	0/10	0/10
15	-	4/6	0/10	0/10
16	-	7/7	0/10	0/10
17	-	4/4	0/10	0/10
18	-	5/5	0/10	0/10
19	-	-	0/10	0/10
20	-	-	0/10	0/10
รวม	39/110	86/153	0/210	0/210

หมายเหตุ - = กุ้งตายหมด

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

โรคที่เกิดจากไวรัสและมีความจำเพาะต่อกุ้งขาวคือชนิด Taura Syndrome Virus (TSV) จะระบาดในกุ้งช่วงอายุ 1-2 เดือน ทำให้ลำตัวกุ้งอ่อนนุ่ม เปลือกไม่แข็ง เลือดมีการแข็งตัวช้า (Song et al., 2003) ลำตัวและปลายแพนหางเป็นสีชมพูถึงแดงเข้ม เนื่องจากเชื้อไวรัสชนิดนี้มีความจำเพาะต่อกุ้งขาวอย่างมาก สำหรับกุ้งที่เลี้ยงในประเทศไทยคือ กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกรามถ้าได้รับเชื้อเข้าไปอาจเป็นเพียงพาหะของโรคได้ ดังเช่นการทดลองการฉีด TSV เข้าในกุ้ง *Penaeuse setiferus*, *P. duorarum*, *P. aztecus* หลังจากได้รับเชื้อ 79 วัน กุ้งทั้งสามชนิดไม่แสดงอาการของโรคเลย สอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ที่กุ้งกุลาดำและกุ้งก้ามกราม ไม่มีการตายหลังการรับไวรัส TSV เข้าไปภายใน 30 วัน อย่างไรก็ตามยังพบว่า *P. chinensis* ซึ่งเป็น non-native species มีความไวต่อการรับโรค TSV สูงมาก (Overstreet et al., 1997.) โรค TSV มีโอกาสถ่ายทอดเชื้อจากกุ้งสู่กุ้ง และพ่อแม่ไปสู่ลูกกุ้งได้ จึงควรมีความตระหนักอย่างยิ่งถึงการเป็นพาหะระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวร่วมกัน หรือสลับกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ กุ้งก้ามกราม หรือ ปลากะพงขาว ดังเป็นที่นิยมปฏิบัติกันในฟาร์มเลี้ยงกุ้งของจังหวัดฉะเชิงเทรา ในปัจจุบันกุ้งขาวถูกผลิตให้เป็นสายพันธุ์ต้านไวรัส TSV ดังนั้นจะมีความทนทานต่อการเกิดโรคทอร่ามาก จึงเป็นเพียงตัวพาหะเก็บเชื้อโรคเอาไว้ ซึ่งอาจนำเชื้อไปถ่ายทอดแก่กุ้งพื้นเมืองของประเทศไทยไม่ว่าจะหลุดรอดออกสู่ธรรมชาติ หรือฟาร์มกุ้งที่มีการเลี้ยงสลับชนิดของกุ้ง หรือเลี้ยงร่วมกันได้

โรคในกุ้งกุลาดำที่ก่อการตายรุนแรงมากคือไวรัส White Spot Syndrome Virus (WSSV) มีโอกาสระบาดได้ในกุ้ง penaeid ทั่วไป โดยการทดลองครั้งนี้ก็ยืนยันถึงกุ้งขาวได้ตายหมดไม่ว่าจะฉีดเข้าสู่ร่างกายหรือผ่านทางน้ำ ไม่ว่าความเค็มน้ำต่ำที่ 5 ppt หรือความเค็มสูงที่ 25 ppt ก็ตาม และการเฝ้าระวังการระบาดของและการทดลองผลของไวรัส WSSV ต่อกุ้งขาวก็มีรายงานมากมายในเร็วๆนี้ (Prior et al., 2003; Tsai et al., 2002; Durand & Lighter, 2002) สำหรับโรคหัวเหลืองเกิดจากไวรัส YHV ที่ก่อการตายในกุ้งกุลาดำ ก็สามารถก่อการตายในกุ้งขาวอย่างรุนแรงได้ การตายของกุ้งขาวเมื่อรับไวรัสท้องถิ่นเข้าสู่ร่างกายคือไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV อาจมีผลกระทบต่อผลผลิตการเลี้ยงกุ้งขาวได้ถ้ามีการเลี้ยงกุ้งขาวร่วมกับกุ้งก้ามกรามที่มักเป็นพาหะของไวรัส

ผลการสำรวจจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งในบ่อดินบริเวณสองฝั่งแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรามีหลักฐานที่แน่ชัดว่ากุ้งขาวมีไวรัส TSV ที่เป็นไวรัสหลักประจำตัว ซึ่งสามารถแพร่กระจายเชื้อนี้ไปสู่กุ้งท้องถิ่นของประเทศไทยได้ จากผลการสำรวจในครั้งนี้ที่พบไวรัส TSV ได้ในกุ้งพื้นเมือง 9 ชนิด ที่จับจากธรรมชาติในแม่น้ำบางปะกง และพบทั้งในหอยแมลงภู่ ปูม้า และ ปลากะพงขาว รวมทั้งพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย ที่อาศัยอยู่ในอ่าวไทยด้วย ไวรัส TSV ที่แพร่กระจายอยู่ในระบบนิเวศน์ทางน้ำของแม่น้ำบางปะกง มีความน่าเป็นห่วงมากเนื่องจากเป็นแม่น้ำที่มีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหลายชนิด การประมง และมีสัตว์น้ำที่อาศัยหลากหลายอย่างมาก โดยเฉพาะมีกุ้งที่สำคัญถึง 4 วงศ์ ได้แก่ Alpheidae, Palaemonidae, Sergestidae และ Penaeidae และทรัพยากรสัตว์น้ำอื่น ๆ อีก 21 ชนิด ใน 15 วงศ์ (ศูนย์วิจัยทรัพยากรทาง

ทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน, 2548) และกุ้งชนิดต่าง ๆ (Penaeoid shrimps) ที่สำคัญตามชายฝั่งจังหวัดฉะเชิงเทรา จังหวัดชลบุรี และในอ่าวไทย (Tongkrock-Olan et al., 2007) กุ้งพื้นเมืองธรรมชาติในแม่น้ำบางปะกงที่ยอมรับไวรัส TSV และทั้งไวรัส WSSV และ YHV อันเนื่องจากการถ่ายทอดผ่านทางน้ำหรือการกินกันก็ตาม ความรุนแรงเมื่อรับเชื้อไวรัสขึ้นอยู่กับชนิดของไวรัส และกุ้งเหล่านี้มีความเครียดตลอดเวลาอันเนื่องจากอาศัยในแม่น้ำบางปะกงที่มีคุณสมบัติน้ำเปลี่ยนแปลงอย่างมากในรอบปี โดยเฉพาะค่าความเค็มที่เปลี่ยนแปลงช่วงกว้างเนื่องจากอิทธิพลของน้ำทะเลหนุนขึ้นจากปากแม่น้ำอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งน้ำจืดจากต้นน้ำที่ไหลลงมาสู่ปากแม่น้ำ การพบไวรัส TSV จากการตรวจพบเชื้อ TSV ในสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิดคือหอยแมลงภู่ ปูม้า และปลากะพงขาวในครั้งนี้ ทำให้เกิดความวิตกกังวลเกี่ยวกับผลกระทบต่อระบบนิเวศน์ในแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งมีโอกาสเป็นไปได้สูงที่เชื้อ TSV จะแพร่ระบาดและสร้างความเสียหายให้กับสัตว์น้ำพื้นเมืองของประเทศไทยซึ่งจากรายงานของ นิติ ชูเชิด และ คณะ (ม.ป.ป.) กล่าวว่าเชื้อ TSV สามารถถ่ายทอดผ่านทางน้ำไปยังกุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกรามได้ โดยจะทำให้กุ้งกุลาดำตาย 10-20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกุ้งก้ามกรามไม่พบการตาย แต่ให้ผลการตรวจด้วย RT-PCR เป็นบวก สำหรับผลทดลองความรุนแรง นอกจากนี้ในอนาคต TSV อาจก่อโรคและสร้างความเสียหายให้กับสัตว์น้ำพื้นเมือง ซึ่งจะทำให้ความหลากหลายของสัตว์น้ำในธรรมชาติลดลง และจะทำให้ระบบห่วงโซ่อาหารเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศน์อย่างมาก นอกจากนี้ยังต้องเฝ้าระวังเป็นพิเศษในการนำสัตว์น้ำธรรมชาติที่ติดเชื้อ TSV ไปเป็นอาหารของสัตว์น้ำเศรษฐกิจ เช่น กุ้งกุลาดำ ปูม้า ปูดำ รวมถึง สัตว์ทะเลชนิดอื่น ๆ ซึ่งอาจจะเกิดการระบาดและสร้างความเสียหายต่อสัตว์น้ำเศรษฐกิจได้ และสำหรับผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต้องเฝ้าระวังมากยิ่งขึ้นในการนำสัตว์น้ำจากธรรมชาติไปเป็นพ่อแม่พันธุ์โดยเฉพาะกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย เนื่องจากเชื้อ TSV สามารถถ่ายทอดเชื้อในแนวดิ่งจากพ่อแม่สู่ลูกได้ (จิราพร เกษรจันทร์ และคณะ 2543) การสำรวจในครั้งนี้สามารถพบไวรัส TSV ไวรัส WSSV และ YHV ร่วมกันในร่างกายกุ้งได้มากกว่าหนึ่งชนิดซึ่งสอดคล้องกับรายงานการพบไวรัส TSV ร่วมกับไวรัส WSSV ในกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินสุ่มจากฟาร์มในจังหวัดฉะเชิงเทรา ช่วงสำรวจ ค.ศ. 2003-2004 ที่เลี้ยง (Phalitakul, et al, 2006)

การสำรวจครั้งนี้ ในปี 2549 พบกุ้งขาวจับจากแม่น้ำบางปะกง มีไวรัส TSV ในปริมาณสูงมาก สัณนิษฐานได้ว่า อาจมีฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวโดยเฉพาะบริเวณอำเภอเมือง มีปัญหาการตายของกุ้งขาวเจากการระบาดของไวรัส TSVขณะเลี้ยงในบ่อดิน ดังนั้นผู้เลี้ยงกุ้งอาจจะปล่อยทิ้งน้ำและกุ้งขาวที่เป็นโรคจากบ่อเลี้ยงออกสู่ธรรมชาติ และได้มีรายงานยืนยันการพบกุ้งขาวในแม่น้ำบางปะกง และ บริเวณปากแม่น้ำ (Senanan et al, 2007) จากผลการสำรวจไวรัสทั้งสามชนิด เป็นสิ่งที่น่าวิตกอย่างมาก เพราะประเทศไทยมีการนำเข้ากุ้งขาวมาเลี้ยงในฟาร์มอยู่ทั่วไปทั้งประเทศไทย ไวรัส TSV จึงมีบทบาทต่อกุ้งพื้นเมืองอย่างมากในแง่มีการแพร่กระจาย ไวรัส TSV ไปในกุ้งได้หลายชนิด รวมทั้งสัตว์ที่ไม่ใช่กุ้ง คือ ปลากะพงขาว และ ปู โดยเชื้ออาจผ่านทางน้ำ การเป็นพาหะหรือการที่สัตว์กินกัน เข้าสู่ระบบห่วงโซ่อาหาร ทำให้ ไวรัส TSV ยิ่งแพร่กระจายไปสู่สัตว์ทะเลของประเทศไทย ซึ่งอาจนำไปสู่ปัญหาการตายของสัตว์เลี้ยงพื้นเมืองเพราะการระบาดของโรค ทั้งในฟาร์ม และ แหล่งน้ำธรรมชาติ แม้กระทั่งอาจส่งผลกระทบเมื่อมีการคิดค้นนำสัตว์ทะเลพันธุ์ใหม่ ๆ มาขยายพันธุ์ เพราะไวรัสมีการถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกได้ ปัญหาของกุ้งขาวเองที่ยอมรับ

ไวรัสท้องถิ่นทั้งไวรัส WSSV และ ไวรัส YHV ไวรัสทั้งสองชนิดก็สามารถก่อการตายของกุ้งขาวที่เลี้ยงในฟาร์มได้เช่นกัน ผลสุดท้ายก็อาจนำมาของผลผลิตซึ่งไม่สูงมากนักจากการเลี้ยงกุ้งขาวในฟาร์ม ดังนั้นองค์กรที่เกี่ยวข้องรับผิดชอบต่อระบาดของโรคในสัตว์น้ำควรมีการออกกฎ และ ระเบียบ ในระบบน้ำทิ้งจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีความเสี่ยงของเชื้อโรคน้อยที่สุดก่อนปล่อยทิ้งสู่ลำคลองธรรมชาติ รวมทั้งการเฝ้าระวัง และตรวจเข้มงวดต่อการนำเข้ากุ้งขาวจากต่างประเทศ และตรวจสอบกุ้งขาวในประเทศไทยทั้งระบบโดยมีเอกสารรับรองการปลอดเชื้อไวรัส TSV เมื่อมีการย้ายกุ้งขาวออกนอกพื้นที่เลี้ยงทุกอายุ ตั้งแต่ พ่อแม่พันธุ์ ลูกกุ้ง กุ้งเนื้อก่อนขายห้องเย็น ทั้งนี้เพื่อลดการแพร่ของไวรัส TSV ในกุ้งขาวต่อระบบนิเวศน์ของประเทศไทยและลดการระบาดของโรคจากไวรัสในพื้นที่เลี้ยงกุ้ง

การพบไวรัสทั้งสามชนิดในกุ้งเลี้ยงในฟาร์ม โดยอัตราการพบ ไวรัส TSV ในกุ้งเลี้ยงทั้งกุ้งขาว กุ้งกุลาดำ และกุ้งก้ามกรามในฟาร์มจังหวัดฉะเชิงเทรา เฉลี่ยสามปี (พ.ศ. 2548-2550) อยู่ที่ 22.4 % (483 ตัวอย่าง) สอดคล้องกับการสำรวจของ จรีพร เรืองศรี และ คณะ (2547) พบการติดเชื้อ ไวรัส TSV ในกุ้งขาวเลี้ยงในบ่อดินจังหวัดฉะเชิงเทรา (สำรวจเมื่อปี พ.ศ. 2546) อัตรา 20 % (15 ตัวอย่าง) การศึกษาในครั้งนี้คำนึงถึงเชื้อไวรัส TSV ซึ่งเป็นไวรัสที่ก่อโรคในกุ้งขาว และตั้งแต่ปี พ.ศ. 2541 เป็นต้นมา ประเทศไทยได้นำกุ้งขาวมาเลี้ยงในหลายพื้นที่ และหนึ่งในพื้นที่นี้ คือ จังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งมีการเลี้ยงกุ้งขาวกันอย่างหนาแน่น และอัตราการพบไวรัส TSV ยังพบในอัตราค่อนข้างสูงนี้จะมีผลต่อการปนเปื้อนของไวรัส TSV ในกุ้งพื้นเมืองธรรมชาติในแม่น้ำบางปะกง และ อ่าวไทย ได้ ดังการพบไวรัส TSV ในกุ้งทะเลจำนวน 11 ชนิดและพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำและแชบ๊วยจากอ่าวไทย สำหรับฟาร์มบ่อดินในจังหวัดฉะเชิงเทรามีการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามกันมากและเลี้ยงร่วมกับกุ้งขาว ทำให้กุ้งก้ามกรามสามารถเป็นพาหะของไวรัส TSV เพราะไม่พบการตายในการทดลองการถ่ายทอดไวรัสจากกุ้งขาวสู่กุ้งก้ามกรามผ่านทางน้ำ แต่พบการยอมรับไวรัสเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบว่ากุ้งก้ามกรามยอมรับไวรัส TSV แต่ไม่เป็นโรคทอร่า จึงสามารถเป็นพาหะได้ และไวรัส TSV สามารถดำรงชีวิตในน้ำจืดและคงความสามาถในการถ่ายทอดเชื้อได้นาน 5 วัน (จารี ผลชนะ และคณะ 2548)

ผลจากการสำรวจเชื้อ Taura Syndrome Virus ในสัตว์ทะเลและสัตว์น้ำกร่อยบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและชายฝั่งจังหวัดชลบุรี ด้วยเทคนิค RT-PCR มีสัตว์น้ำที่ให้ผลการตรวจเป็นบวก (Positive) 3 ชนิด คือ หอยแมลงภู่ (ร่องน้ำลึก) คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ปูม้า คิดเป็น 33.33 เปอร์เซ็นต์ และ ปลากะพงขาว คิดเป็น 33.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสัตว์น้ำ 7 ชนิด ที่เหลือ คือ หอยนางรม หอยเสียบ หอยตลับ ปูดำ ปูแสม เพรียงเลือด และ เพรียงทราย ให้ผลเป็นลบ (Negative)

จากการตรวจสอบยืนยันการติดเชื้อ TSV ด้วยเทคนิค RT-PCR ในหอยแมลงภู่ ปูม้า และ ปลากะพงขาว ซึ่งคาดว่าสัตว์ทะเลดังกล่าวได้รับเชื้อ TSV โดยการกิน หรือ จากการถ่ายทอดทางน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับ OIE (2003b) ที่รายงานถึงสาเหตุของการถ่ายทอดเชื้อ TSV ดังนี้ คือ

1. การถ่ายทอดเชื้อในแนวราบ โดยสัตว์ตัวอื่นกินกุ้งที่ป่วยเป็น TSV
2. การถ่ายทอดเชื้อในแนวดิ่งจากพ่อแม่ไปสู่ลูกหลาน
3. การเลี้ยงสัตว์ติดเชื้อ TSV กับสัตว์ที่ไม่ติดเชื้อรวมกัน

4. น้ำ และ อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงสัตว์มีการปนเปื้อนเชื้อ TSV

5. อุจจาระของนกนางนวล และ นกทะเลชนิดอื่น ๆ ที่กินกุ้งที่ติดเชื้อ TSV

เมื่อพิจารณาถึงพื้นที่ในการสำรวจครั้งนี้ คือ บริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและชายฝั่งจังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการระบาดของโรค TSV เนื่องจากบริเวณแม่น้ำบางปะกงในเขตจังหวัดฉะเชิงเทรามีการเลี้ยงกุ้งขาว *L. vannamei* อย่างหนาแน่น และเกิดการระบาดของโรค TSV อย่างต่อเนื่อง และ ในพื้นที่ดังกล่าวยังมีการถ่ายเทน้ำจากการเพาะเลี้ยงกุ้งลงสู่แม่น้ำบางปะกงโดยตรง ซึ่งน้ำจากแม่น้ำบางปะกงจะไหลลงสู่อ่าวไทยและแนวชายฝั่งจังหวัดชลบุรี จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าระบบนิเวศน์บริเวณปากแม่น้ำบางปะกง และ ชายฝั่งจังหวัดชลบุรีได้รับผลกระทบจากไวรัส TSV แล้ว เนื่องจากมีการตรวจพบเชื้อ TSV ในสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ 3 ชนิด คือ

1. หอยแมลงภู่ ที่สุ่มเก็บจากฟาร์มบริเวณร่องน้ำลึกอ่างศิลา ซึ่งคาดว่าอาจติดเชื้อ TSV โดยผ่านทางน้ำ และ ดินตะกอนที่ไหลมาจากแม่น้ำบางปะกง เนื่องจากนิสัยการกินอาหารของหอยแมลงภู่จะใช้วิธีการกรองอาหารจากน้ำ ซึ่งมีดินตะกอนที่เป็นแหล่งอาศัยของเชื้อโรคเข้าไปด้วย จึงทำให้ติดเชื้อ TSV ได้ จากการศึกษาในครั้งนี้ จะสังเกตเห็นได้ชัดว่า หอยแมลงภู่จากบริเวณร่องน้ำลึกอ่างศิลา ติดเชื้อ TSV 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่หอยแมลงภู่จากชายฝั่งบริเวณสะพานปลาอ่างศิลา ไม่มีการตรวจพบเชื้อ TSV อาจเนื่องมาจากโอกาสในการสัมผัสกับน้ำที่ปนเปื้อน TSV น้อยกว่าหอยที่ได้จากบริเวณร่องน้ำลึก

2. ปูม้า ที่สุ่มเก็บจากเรือประมงขนาดเล็กจากอ่างศิลา ซึ่งสันนิษฐานสาเหตุการติดเชื้อ TSV อาจเนื่องมาจากการกินสัตว์ที่ป่วยและการรับเชื้อผ่านทางน้ำโดยการสัมผัสกับน้ำที่ถ่ายเทจากแม่น้ำบางปะกงซึ่งมีการปนเปื้อนของเชื้อ TSV อย่างต่อเนื่องจึงทำให้ปูม้าที่อาศัยอยู่บริเวณน้ำลึกยอมรับเชื้อ TSV ได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ OIE (2003b) ที่กล่าวว่า โรคที่ควรเฝ้าระวังในสัตว์น้ำกลุ่ม Crustacean คือ Taura Syndrome virus disease, White spot syndrome virus disease และ Yellowhead virus disease และยังสอดคล้องกับข้อกำหนดของกรมประมง ว่าด้วยการนำเข้าสัตว์น้ำประเภทกุ้ง และ ปู มาในราชอาณาจักร โดยต้องมีการตรวจโรค ดังนี้ คือ

1. โรคทอร่าซินโดรมไวรัส (Taura syndrome virus disease or TSV)
2. โรคตัวแดงดวงขาว (White spot syndrome virus disease or WSSV)
3. โรคหัวเหลือง (Yellowhead virus disease or YHV)
4. โรคไอเอชเอชเอนวี (Infectious hypodermal and haematopoietic necrosos virus or IHHNV) (กรมประมง, ม.ป.ป.)

3. ปลากะพงขาว ที่สุ่มเก็บจากกระชังบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง ตำบลท่าข้าม จังหวัด ฉะเชิงเทรา โดยสาเหตุการติดเชื้อ TSV อาจมาจากสองลักษณะ คือ การสัมผัสกับน้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อ TSV จากแม่น้ำบางปะกง และ การกินอาหารที่ติดเชื้อ TSV ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lotz el al., (1997) อ้างถึงโดย นิติ ชูเชิด และ คณะ (ม.ป.ป.) ที่กล่าวว่า เชื้อไวรัสสามารถถ่ายทอดไปยังสัตว์น้ำอื่น ๆ ได้โดยการอยู่รวมกัน หรือ การกินกันเอง

จากการตรวจพบเชื้อ TSV ในสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิดคือหอยแมลงภู่ ปูม้า และ ปลากะพงขาว ในครั้งนี้ ทำให้เกิดความวิตกกังวลเกี่ยวกับผลกระทบต่อระบบนิเวศน์ในแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งมีโอกาสเป็นไปได้สูงที่เชื้อ TSV จะแพร่ระบาดและสร้างความเสียหายให้กับสัตว์น้ำพื้นเมืองของประเทศไทยซึ่งจากรายงานของ นิติ ชูเชิด และ คณะ (ม.ป.ป.) กล่าวว่าเชื้อ TSV สามารถถ่ายทอดผ่านทางน้ำไปยังกุ้งกุลาดำ และ กุ้งก้ามกรามได้ โดยจะทำให้กุ้งกุลาดำตาย 10-20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกุ้งก้ามกรามไม่พบการตาย แต่ให้ผลการตรวจด้วย RT-PCR เป็นบวก นอกจากนี้ในอนาคต TSV อาจก่อโรคและสร้างความเสียหายให้กับสัตว์น้ำพื้นเมือง ซึ่งจะทำให้ความหลากหลายของสัตว์น้ำในธรรมชาติลดลง และจะทำให้ระบบห่วงโซ่อาหารเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศน์อย่างมาก นอกจากนี้ยังต้องเฝ้าระวังเป็นพิเศษในการนำสัตว์น้ำธรรมชาติที่ติดเชื้อ TSV ไปเป็นอาหารของสัตว์น้ำเศรษฐกิจ เช่น กุ้งกุลาดำ ปูม้า ปูดำ รวมถึง สัตว์ทะเลชนิดอื่น ๆ ซึ่งอาจจะเกิดการระบาดและสร้างความเสียหายต่อสัตว์น้ำเศรษฐกิจได้ และสำหรับผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต้องเฝ้าระวังมากยิ่งขึ้นในการนำสัตว์น้ำจากธรรมชาติไปเป็นพ่อแม่พันธุ์ เนื่องจากเชื้อ TSV สามารถถ่ายทอดเชื้อในแนวดิ่งจากพ่อแม่สู่ลูกได้

ส่วนในสัตว์น้ำ 7 ชนิด คือ หอยนางรม หอยเสียบ หอยตลับ ปูดำ ปูแสม เพรียงเลือด และ เพรียงทราย ที่ผลการตรวจเป็นลบ (negative) ซึ่งอาจมีเหตุผลสองประการ คือ ประการแรก สัตว์น้ำดังกล่าว เช่น หอยนางรมดำรงชีวิตอยู่บริเวณชายฝั่ง หอยเสียบและหอยตลับ ฝังตัวอยู่ในทรายบริเวณชายฝั่ง เพรียงทราย และ เพรียงเลือด ฝังตัวอยู่ในทรายหรือโคลนปนทรายบริเวณริมหาดและบริเวณป่าชายเลน ส่วนปูดำ และ ปูแสม อาศัยอยู่ในรูและหากินบริเวณป่าชายเลน จึงมีโอกาสสัมผัสกับน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ TSV น้อยกว่าในกลุ่มสัตว์น้ำที่ติดเชื้อ TSV ประการที่สอง คือ เชื้อ TSV มีการเข้าไปสู่ร่างกายของสัตว์น้ำแล้ว แต่อาจมีสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต และเชื้อ ไม่สามารถเพิ่มจำนวนภายในตัวสัตว์น้ำได้ ดังนั้นการนำสัตว์น้ำเหล่านี้ไปเป็นอาหารของสัตว์น้ำเศรษฐกิจอื่น ๆ น่าจะมีความปลอดภัยจากเชื้อ TSV รวมทั้งไม่กระทบต่อระบบนิเวศน์ของการกินแบบห่วงโซ่อาหาร และ การนำไปเป็นพ่อแม่พันธุ์เพื่อพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงเศรษฐกิจต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. ม.ป.ป. การนำเข้าสัตว์น้ำต่างถิ่นเข้ามาในราชอาณาจักร. วันที่ค้นข้อมูล 12 มกราคม 2549, เข้าถึงได้จาก http://www.fisheries.go.th/aahri-new/thai/pdf/A0101.pdf.

เกศยา นิลวานิช. 2542. โครงสร้างประชากรกุ้งในบริเวณป่าชายเลนปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

แขวลี วิบูลย์กิจ. 2545. ความหลากหลายของชนิดกุ้งสกุล Penaeus ที่พบในบริเวณอ่าวไทยตอนบน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จรีพร เรืองศรี, สุภาฎา คีรีรัฐนิคม, นพคล ศุกระกาญจน์, สุพัตรา อรุณรัตน์, นิรุทธิ์ สุขเกษม, ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง, จิราพร เกษรจันทร์ และกิจการ ศุภมาตย์. 2548. การแพร่กระจายของเชื้อ Taura syndrome virus (TSV) และ Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) ในประชากรกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) และการยอมรับเชื้อในสัตว์น้ำพันธุ์พื้นเมืองของไทย. วารสารสงขลานครินทร์, ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 27 (พิเศษ 1). 215-224.

จารี ผลชนะ, เต็มดวง สมศิริ, สุริยันต์ สุนทรวิทย์ และ Nash, G. 2548. การประชุมวิชาการประมงประจำปี 2548. (บทคัดย่อ)

จิราพร เกษรจันทร์, สุดา ตัณฑวณิช, เรวัตร คงประดิษฐ์ และ สราวุธ ศรีวัฒนวรัญญู. 2543. ศึกษาความเป็นไปได้ในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวจากพ่อแม่กุ้งกุลาดำสู่ลูกกุ้ง. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ ๕/๒๕๔๓. 17 หน้า.

ชัยวุฒิ สุดทองคง. 2547. การระบาดของโรคทอร่าซินโดรมในกุ้งกุลาดำ. สัมมนาวิชาการประมงประจำปี 2547. กรมประมงร่วมกับศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงตะวันออกเฉียงใต้. 771-773.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2546. โรคกุ้งขาวแวนาไมในประเทศไทย. ซิตโต้ อควานิวส์. ปีที่ 1 ฉบับบที่ 3. หน้า 17-20.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชชกูล. 2547. อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลในประเทศไทย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

นิติ ชูเชิด, ชลอ ลิ้มสุวรรณ และ ทิมโมที วิลเลี่ยม ฟลีเกล. ม.ป.ป. การศึกษาช่วงระยะเวลาการมีชีวิตของ Taura Syndrome Virus ในน้ำความเค็มต่ำและการทำให้เกิดโรคต่อกุ้งขาวแวนนาไม กุ้งกุลาดำ และกุ้งก้ามกราม. รายงานฉบับสมบูรณ์ การวิจัยเพื่อพัฒนาเพื่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมอย่างยั่งยืน. 308-311.

นพคล ศุกระกาญจน์, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, จรีพร เรืองศรี และกิจการ ศุภมาตย์. 2548. การวิเคราะห์ความเสี่ยง: กรณีศึกษาการนำเข้ากุ้งขาวในประเทศไทย. วารสารสงขลานครินทร์, 27 (พิเศษ 1). 225-238.

ประจวบ ลีรักษาเกียรติ. 2543. การสำรวจและประเมินพื้นที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำ ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา และ ชลบุรี ด้วยระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์. เอกสารวิชาการฉบับที่ 9/2543, ศูนย์ศึกษาการพัฒนาประมงอ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี.

ประจวบ หลำอุบล. 2546. การเลี้ยงกุ้งทะเล. เสวนาวิชาการเรื่องกุ้ง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะประมงมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปิยบุตร วานิชพงพันธุ์. 2545. ศาสตร์ของกุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม (ตอนที่ 1). วารสารสัตว์น้ำ, 14(158): 87-89.

เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์, อัญชลี ทัศนาขจร,วงศ์ปฐม กมลรัตน์, สุภัทรา อุไรวรรณ์, พอจำ อรัณยกานนท์, ประจวบ หลำอุบล. 2547. พันธุกรรม-พ่อแม่พันธุ์ ชีววิทยาและพลวัตรประชากร. รายงานการวิจัยเรื่องการรวบรวมวิเคราะห์และสังเคราะห์งานวิจัยกุ้งทะเลของประเทศไทย, สำนักงานคณะกรรามการวิจัยแห่งชาติ.

ภิญโญ เกียรติภิญโญ. 2545. วิธีปฏิบัติสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาว *L. vannamei.* (พิมพ์ครั้งที่ 1) สมุทรปราการ, เมืองเกษตรแมกกาซีน จำกัด.

มาลินี วิชชาวุธ และ สมยศ สิทธิโชคพันธ์. 2548. การนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวตามระเบียบกรมประมง.วารสารการประมง. 58(2): 170.

สุปราณี ชินบุตร. 2547. อันตรายจากสัตว์น้ำต่างถิ่น. สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง. วารสารข่าวโรคสัตว์น้ำ. 14 (1) : 2-3.

สุภัทรา อุไรวรรณ์. 2547. กุ้งขาวสัตว์น้ำต่างถิ่น. นานาสัตว์น้ำ. 8 (3): 12-13.

วิศณุ บุญญาวิวัฒน์, อรวรรณ บุตรดี, วรวิทย์ วัชชวัลค, ทินวรรธน์ ศรีสุข, วิจิตรา วรรณโวหาร, สกุณา พัฒนกุลอนันต์ และปรีดา เสิศวัชระสารกุล. 2547. การติดเชื้อไวรัสทอร่าโดยวิธีธรรมชาติของกุ้งกุลาดำที่เพาะเลี้ยงในพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทย. ประชุมวิชาการทางสัตว์แพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 30 .

ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน. 2548. ระบบนิเวศน้ำกร่อยแม่น้ำบางปะกง. กรมทรัพยากรทางทะเล.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี. 2547. ไวรัสทอร่าซินโดรม (Taura Syndrome Virus : TSV). วันที่ค้นข้อมูล 15 กันยายน 2548, เข้าถึงได้จาก http://www.fisheries.go.th/cf-chan/omod/taura/taura-page.html.

Cesar, E., Nadala Jr., B. and. Loh, C. P. 2000. Dot-blot nitrocellulose enzyme immunoassays for the Detection of white-spot virus and yellow-head virus of penaeid shrimp. Journal of Virological Methods. 84: 175-179.

Chalvisuthangkura, P., Tanngkhabuanbutra, J., Longyant, S., Sithigorngul, W., Rukpratanporn, S., Menasveta, P., and Sithigorngul, P. 2004. Monoclonal antibodies against a truncated viral

envelope protein (VP28) can detect white spot syndrome virus (WSSV) infections in shrimp. Science Asia. 30: 359-363.

Chien, T., Hsu-Tien, H., Sheng-Hsieng, C., Jung-Ping, H., Shu-Ting, K., Nan-Jung, L., Tien-Lai, H., Ming-Chang, L. and Shih-Yuh, L. 1999. Taura syndrome in pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. Disease of Aquatic Organisms. 38. 159-161.

Chou, H.Y., Huang, C.Y., Lo, C.F., Kou, G.H. 1998. Studies on transmission of white spot syndrome Associated buculovirus (WSBV) in *Penaeus monodon* and *P. japonicus* via waterborne contact and oral ingestion. Aquaculture. 164: 263-276.

Durand, S.V. and Lighter, D.V. 2002. Quantitative real time PCR for the measurement of white Spot Syndrome virus in shrimp. Journal of Fish Diseases. 25: 381-389.

EPA.. 2001. Annual Report: Update on the Exotix Shrimp Viruses Issue 855-R-02-003.

FAO. 2005. Introduction and movement of two penaeid shrimp species in Asia Pacific. FAO fisheries technical paper 476 p.

Flegel, T.W. 2006. Detection of major penaeid shrimp viruses in Asia, a historical perspective with emphasis on Thailand. Aquaculture. 258: 1–33.

Kiatpathomchai, W., Jitrapakdee, S., Panyim, S. and Boonsaeng,V. 2004. RT-PCR detection of yellow head virus (YHV) infection in *Penaeus monodon* using dried haemolymph spots. Journal of Virological Methods, 119: 1-5.

Lightner, D.V., R.M. Redman, K.W. Hasson, and C.R. Pantoja. 1995. Taura syndrome in *Penaeus vannamei* (Crustacea : Decapoda): gross sings, histopathology and ultrastructure. Disease of Aquatic Organisms. 21: 53-59.

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304 p.

Lotz, J.M. 1997. Effect of host size on virulence of Taura virus to the marine shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Penaeidae): Disease of Aquatic Organisms. 30: 45-51.

Lu, Y., Tapay, L.M. Loh, P.C., Brock, J.A. and Gose, R. 1995. Development of a quantal assay in primary shrimp cell culture for yellow head buculovirus (YBV) of penaeid shrimp. Journal of Virological Methods. 52: 231-236.

Lu, Y., Wang, S.Y. and Lotz, J.M. 2004. The use of differential display to isolate viral genomic sequence for rapid development of PCR-based detection methods. A test case using Taura syndrome virus. Journal of Virological Methods. 121: 107-114.

Nadala JR.,E.C.B. and Loh, P.C. 1999. Dot-blot nitrocellulose enzyme immunoassays for

the detection of white-spot virus and yellow-head virus of penaeid shrimp.Journal of virological Methods, 84, 175-179.

Nunan,L.M., Tang-Nelson, K. and Lightner, D.V. 2004. Real-time RT-PCR determination of viral copy number in *Penaeus vannamei* experimentally infected with Taura syndrome virus. Aquaculture. 229, 1-10.

Office International des Epizootics (OIE). 2003a. OIE Manual of Diagnostic tests for Aquatic Animals, 4th ed. Office International des Epizootics, paris, 275-297.

Office International des Epizootics (OIE). 2003b. Taura Syndrome. วันที่ค้นข้อมูล 3 ตุลาคม 2548, เข้าถึงได้จาก http://www.oie.int/fdc/eng/Publicat/Cardenglish/4.1.1.%20Taura%20syndrome%20September%202000.doc.

Overstreet, R.M., Lightner, D.V., Hasson, K.W., McIlwain, S. and Lotz, J.M. 1997. Susceptibility to Taura syndrome virus of some Penaeid shrimp species native to the gulf of Mexico and The Southeastern United States. Journal of Invertebrate Pathology. 69, 165-176.

Peres, F., Filip, A.M. and Calderon, J. 2005. Pathogenicity of white spot syndrome virus on postlarvae and juveniles of *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei*. Aquaculture. 250: 586-591.

Phalitakul, S., Wongtawatchai, J., Sarkaputi, M. and Viseshakul, N. 2006. The molecular detection of Taura syndrome virus emerging with White spot syndrome virus in penaeid shrimps of Thailand. Aquaculture. 260: 77-85.

Pramod Kiran, R.B., Rajendran, K.V., Jung, S.J. and Oh. M.J. 2002. Experimental susceptibility of different life-stages of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), to white spot syndrome virus (WSSV). Journal of Fish Disease. 25: 201-207.

Prior, S., Browdy, C.L. Shepard, E.F. Laramore, R. and Parnell, P.G. 2003. Control bioassay systems for determination of lethal infective doses of tissue homogenates containing Taura syndrome or white spot syndrome virus. Diseases of Aquatic Organisms. 54(2): 89-96.

Senanan, W., Tongkrock-Olan, N., Panutrakul, S., and Barnette, P., and Wongwiwatanawute. 2007. The presence of the Pacific whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boonei, 1931) in the wild in Thailand. Journal of Shellfish Research. 26(4): 1187-1192.

Sithigorngul, P., Chauychuwong, P., Sithigorngul, W., Longyant, S., Chaivisuthangkura, P., Menasveta, P.. 2000. Development of a monoclonal antibody specific to yellow head virus (YHV) from *Penaeus monodon*. Disease of Aquatic Organisms. 42, 27-34.

Song, Y-L, Yu, C-I., Lien, T-W., Huang, C-C. and Lin, M-N. 2003. Haemolymph parameters of

Pacific White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus. Fish & Shellfish Immunology. 14: 317-331.

Tongkrock-Olan, N., Senanan, W., Panutrakul, S., and Barnette, P. 2007. Species and distribution of Penaeoid shrimps in Thailand. Journal of Shellfish Research. 26(4): 1239-1247.

Tsai, J.M., Shiau, L.J., Lee, H.H., Chan, P.W. and Lin, C.Y. 2002. Simultaneous detection of white spot Syndrome virus (WSSV) and Taura syndrome virus (TSV) by multiple reverse transcription-Polymerase chain reaction (RT-PCR) in pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Diseases of Aquatic Organisms. 50(1): 9-12.

Zarain-Herzberg, M. and Ascencio-Valle, F. 2000. Taura syndrome in Mexico: follow-up study in shrimp farms of Sinaloa. Aquaculture. 193: 1-9.