

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

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การประยุกต์ใช้สมุนไพรหรือสูตรยาสมุนไพรท้องถิ่นในภาคตะวันออกในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและ
การควบคุมแบคทีเรียก่อโรคในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจ

(Application of herb and herb formula collected from Eastern part of Thailand for immune
stimulant and controlling of pathogenic bacteria in economic aquaculture)

โดย

นางสุภัททิ นิมรรัตน์¹

นายวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย²

นางสาวกาญจนา หริัมเพ็ง¹

¹ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

²ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

เสนอต่อ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2551

18 พ.ค. 2552

๒๕๕๑/๗๐

เริ่มบริการ

254670

19 ส.ค. 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญตาราง.....	ข
สารบัญรูป.....	ก
กิตติกรรมประกาศ.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษและภาษาไทย.....	จ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา.....	3
รายละเอียดทั่วไปเกี่ยวกับกุ้งขาว.....	3
รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา.....	8
บทที่ 3 วัสดุและอุปกรณ์.....	11
บทที่ 4 วิธีการทดลอง.....	14
บทที่ 5 ผลการทดลอง.....	16
บทที่ 6 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....	35
เอกสารอ้างอิง.....	40

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Total heterotroph, <i>Vibrio</i> และ <i>Pseudomonas</i> ที่พบในตัวอย่าง กุ้งขาวที่วางจำหน่ายตามตลาดต่างๆ ภายในจังหวัดชลบุรี.....	16
2 เปอร์เซ็นต์ของแบคทีเรียกลุ่ม total heterotroph, <i>Vibrio</i> และ <i>Pseudomonas</i> ที่พบใน ตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายในชลบุรี	19
3 ปริมาณแบคทีเรียที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อจากการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวจากการ เพาะเลี้ยงในจังหวัดชลบุรี	23
4 ชนิดแบคทีเรียที่พบจากตัวอย่างกุ้งขาวจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดชลบุรี.....	25
5 สมุนไพรชนิดต่างๆ ในการยับยั้งจุลินทรีย์.....	30
6 ปริมาณของสารสกัดของสมุนไพร.....	33
7 ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียบางชนิดด้วยสารสกัดสมุนไพร จำนวน 4 ชนิด.....	34

สารบัญรูป

รูปที่

หน้า

1	แสดงอวัยวะภายนอกของกุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม ที่โตเต็มวัย.....	4
---	---	---

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการประยุกต์ใช้สมุนไพรหรือสูตรยาสมุนไพรท้องถิ่นในภาคตะวันออกเฉียงในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและการควบคุมแบคทีเรียก่อโรคในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจ (Application of herb and herb formula collected from Eastern part of Thailand for immune stimulant and controlling of pathogenic bacteria in economic aquaculture) สำเร็จเรียบร้อยลงได้โดยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2551 ข้าพเจ้าและคณะทำงานได้จัดสรรงบประมาณบางส่วนเพื่อสนับสนุนโครงการระดับปริญญาตรีของนายพิรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์ ข้าพเจ้าและคณะทำงานขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยาและภาควิชาวิทยาศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการทดลองและอุปกรณ์ต่างๆ

สุบัณฑิต นิมรัตน์และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย

6 กุมภาพันธ์ 2552

บทคัดย่อ

ในการศึกษานี้พบว่าในกุ้งขาวมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม total heterotroph ที่วางจำหน่ายตามตลาดต่าง ๆ ภายในจังหวัดชลบุรี ($0.34 \pm 0.1 \times 10^4$ CFU/g to $1,505.00 \pm 77.78 \times 10^4$ CFU/g) มีปริมาณสูงกว่ากุ้งขาวที่เก็บมาจากฟาร์มเพาะเลี้ยง (4.07 ± 0.49 CFU/g to $975.00 \pm 7.07 \times 10^3$ CFU/g) ส่วนปริมาณกลุ่ม *Vibrio* จากกุ้งขาวที่เก็บมาจากฟาร์มเพาะเลี้ยง ($0.63 \pm 0.32 \times 10^3$ CFU/g to $224.00 \pm 1.41 \times 10^3$ CFU/g) มีปริมาณสูงกว่ากุ้งขาวที่วางจำหน่ายตามตลาดต่าง ๆ ภายในจังหวัดชลบุรี (undetectable levels to $0.03 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/g) และกลุ่ม *Pseudomonas* ที่เก็บมาจากฟาร์มเพาะเลี้ยง ($4.20 \pm 0.85 \times 10^3$ CFU/g to $224.00 \pm 1.41 \times 10^3$ CFU/g) มีปริมาณที่ไม่แตกต่างจาก *Pseudomonas* จากกุ้งขาวที่วางจำหน่ายตามตลาดต่าง ๆ ภายในจังหวัดชลบุรี ($0.07 \pm 0.01 \times 10^4$ CFU/g to $80.67 \pm 3.79 \times 10^4$ CFU/g) ส่วนชนิดของแบคทีเรียที่พบในกุ้งขาวมีความหลากหลายอย่างมาก ได้แก่ *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Bacillus* spp., *Citrobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia* spp., *Flavobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Moraxella* spp., *Pasteurella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus* spp., *Vibrio* spp., *Yersinia* spp., Unidentified bacteria, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvalis*, *V. furnisii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *P. aeruginosa*, *P. alcaligenes*, *P. cichocii*, *P. mendocina*, *P. putid* และ *P. stutzeri* พบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการก่อโรคในกุ้งคือ *P. fluorescens* ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดพริก กระเทียม ขมิ้นและขิงด้วยสารละลายจำนวน 3 ชนิดคือ น้ำเมทานอลและไดคลอโรมีเทนในการต้านแบคทีเรีย *P. fluorescens* ที่แยกจากกุ้งขาวและเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในกุ้งขาวและสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ เมื่อวิเคราะห์ด้วยการวาง disk พบว่าสารสกัดพริก ขมิ้นและขิงด้วยเมทานอลสามารถยับยั้ง *P. fluorescens* ได้ดีที่สุด

คำสำคัญ : พริก, กระเทียม, ขมิ้น, ขิง, กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*), *P. fluorescens*, แบคทีเรียกลุ่ม total heterotroph, *Vibrio*, *Pseudomonas*

Abstract

In this study, total heterotrophic bacteria were slightly higher in *Litopenaeus vannamei* distributed in Chon Buri Province ($0.34 \pm 0.1 \times 10^4$ CFU/g to $1,505.00 \pm 77.78 \times 10^4$ CFU/g) than from farms (4.07 ± 0.49 CFU/g to $975.00 \pm 7.07 \times 10^3$ CFU/g). The *Vibrio* levels of *L. vannamei* samples taken from farms ($0.63 \pm 0.32 \times 10^3$ CFU/g to $224.00 \pm 1.41 \times 10^3$ CFU/g) were higher than those from the markets in Chon Buri (undetectable levels to $0.03 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/g). The bacterial count on *L. vannamei* for *Pseudomonas* reared in the farms ($4.20 \pm 0.85 \times 10^3$ CFU/g to $224.00 \pm 1.41 \times 10^3$ CFU/g) and those sale in Chon Buri markets ($0.07 \pm 0.01 \times 10^4$ CFU/g to $80.67 \pm 3.79 \times 10^4$ CFU/g) were no significant difference. There were high diversity of bacteria found in *L. vannamei* such as *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Bacillus* spp., *Citrobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia* spp., *Flavobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Moraxella* spp., *Pasteurella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus* spp., *Vibrio* spp., *Yersinia* spp., Unidentified bacteria, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvalis*, *V. furnisii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *P. aeruginosa*, *P. alcaligenes*, *P. cichocii*, *P. mendocina*, *P. putid* and *P. stutzeri*. The potential shrimp pathogen found in this study was *P. fluorescens*. Chili, garlic, curcuma and ginger were extracted in water, methanol, and dichloromethane, and tested for antimicrobial activities against *P. fluorescens* isolated from *L. vannamei*. Using disk assays, the methanolic extract of chili, curcuma and ginger exhibited the growth-inhibited *P. fluorescens* to regrow on agar, indicating a bacteriostatic mode of action.

Key words: Chili, Garlic, Ginger, Curcuma, White shrimp (*Litopenaeus vannamei*), *P. fluorescens*, total heterotroph, *Vibrio*, *Pseudomonas*

บทที่ 1

บทนำ

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจเป็นอุตสาหกรรมที่มีการขยายตัวอย่างกว้างขวางทั่วโลก เนื่องจากสัตว์น้ำจากธรรมชาติไม่สามารถสนองความต้องการของประชากรที่กำลังเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจึงทำให้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มขึ้นทั่วโลก การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในแต่ละประเทศจะมีลักษณะการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันตามภูมิประเทศและภูมิอากาศที่เหมาะสม ในประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่สำคัญคือ กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) กุ้งขาวอินเดีย (*L. indicus*) โดยการเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยนิยมเลี้ยงอย่างแพร่หลายในหลายจังหวัดบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศไทยเนื่องจากการเป็นแหล่งทุนที่ให้ผลตอบแทนสูงและใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงสั้น (ประจวบ, 2531) ในปัจจุบันคาดว่ามีพื้นที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำไม่ต่ำกว่า 400,000-500,000 ไร่ โดยจังหวัดที่มีการเลี้ยงอย่างแพร่หลาย ได้แก่ สมุทรปราการ นครศรีธรรมราช สมุทรสาคร สมุทรสงคราม สุราษฎร์ธานี สงขลา ชลบุรี ระยอง จันทบุรีและตราด (กรมประมง, 2530)

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจได้ประสบกับปัญหาโรคซึ่งเกิดได้จากหลายสาเหตุ สาเหตุที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ การเกิดโรคจากแบคทีเรีย พบว่าแบคทีเรียที่มักเป็นสาเหตุให้เกิดโรคส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีอยู่ในน้ำทะเล ได้แก่ *Vibrio parahaemolyticus*, *V. harveyi*, *V. damsela*, *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. splendidus*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Mycobacterium fortuitum*, *M. marinum* และ *Rickettsia* เป็นต้น (Nogueira-Lima et al., 2006) ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันและรักษาโรคกุ้งที่เกิดจากแบคทีเรีย เกษตรกรไทยจึงใช้สารปฏิชีวนะในการกำจัดแบคทีเรียเหล่านี้ สารปฏิชีวนะที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ได้แก่ penicillin, cephalosporins, tetracyclines, chloramphenicols, aminoglycosides, spectinomycin, lincosamide, macrolides, nitrofurans, nitroimidazoles, sulfonamides, trimethoprim, polymyxins and quinolones (Prescott, 2000) นอกจากสารปฏิชีวนะมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคแล้วยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ (Teuber, 2001) แต่ผลกระทบที่เกิดขึ้นตามมาจากการใช้สารปฏิชีวนะคือ 1) การคัดค้านสารปฏิชีวนะของแบคทีเรียก่อโรคทำให้การควบคุมและรักษาโรคของสัตว์น้ำทำได้ยากขึ้น ยกตัวอย่างเช่น จากการศึกษาของ Baticados et al. (1990) พบว่า *V. harveyi* และ *V. splendidus* สายพันธุ์เรืองแสงที่แยกได้จากกุ้งระยะตัวอ่อนมีความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น erythromycin, kanamycin, penicillin และ streptomycin นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการใช้ oxytetracycline ยังเป็นสาเหตุทำให้การคัดค้านยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมเลี้ยงกุ้งเพิ่มมากขึ้นและในขณะเดียวกันจากการสุ่มตัวอย่างกุ้งที่ใช้ยาปฏิชีวนะในประเทศเอกวาดอร์และฟิลิปปินส์พบว่ามีกรดคลอแอมเฟนิคอล เป็นอย่างมาก

(Baticados and Padihare, 1992; Nash et al., 1992) 2) การใช้ยาปฏิชีวนะอาจทำให้เกิดการถ่ายทอดยีนดื้อยาจากจุลินทรีย์สู่จุลินทรีย์ชนิดอื่น สัตว์น้ำและมนุษย์ได้โดยผ่านทางห่วงโซ่อาหาร (Witte, 2000; Teuber, 2001) อาจทำให้การบริโภคสัตว์น้ำและการรักษาโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพลดลง Chang และ Bolton (1987) รายงานว่า *A. hydrophila* สายพันธุ์ที่แยกได้จากฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในเอเชียคือดื้อยา tetracycline และ rifampicin มากกว่าสายพันธุ์ที่แยกได้จากออสเตรเลีย เนื่องจากการถ่ายทอดยีนดื้อยابนพลาสมิดระหว่างแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อม จึงทำให้พบแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดมากขึ้น 3) การตกค้างของสารปฏิชีวนะในอาหารและสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและยังก่อให้เกิดปัญหาการส่งออกสินค้าประเภทผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำ จากการศึกษาพบว่า oxytetracycline สามารถสะสมในกล้ามเนื้อของปลาที่มีการใช้สารปฏิชีวนะชนิดนี้ และพบว่า oxolinic acid และ oxytetracycline ยังมีการสะสมในดินตะกอนน้ำรอบบริเวณที่มีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีการใช้สารปฏิชีวนะ (Lunestad and Goksoyr, 1990; Coyne et al., 1994) สารปฏิชีวนะเหล่านี้อาจจะตกค้างได้เป็นระยะเวลานานภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ซึ่งสารปฏิชีวนะบางชนิดมีครึ่งชีวิตนานประมาณ 100 ปี ทำให้การย่อยสลายเกิดขึ้นได้ช้ามาก (Samuelsen et al., 1992)

การจัดการกับปัญหาเหล่านี้สามารถทำได้โดยใช้สารประกอบสมุนไพรธรรมชาติ ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพและป้องกันโรคได้เช่นเดียวกัน รวมทั้งไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างและไม่ก่อผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Sahul Hameed and Balasubramanian, 2000) สารประกอบสมุนไพรธรรมชาติจะถูกนำไปใช้เป็นยาต้านจุลชีพในรูปของสารสกัดและรูปของผง ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ จากการศึกษาพบว่าสารสกัด ethanolic จากเมล็ดพริกไทย (*Xylopi aethiopia*) ถูกนำไปใช้ในการต้านรา (*Candida albicans*) และแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Salmonella typhi* และ *Proteus vulgaris* (Okeke et al., 2001) สารสกัดจากสาหร่ายทูนและสาหร่ายสีแดงยังมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคและไม่ก่อโรคได้เช่นกัน (Booma Kasthuri, 1998)

ดังนั้นในการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำพืชสมุนไพรในท้องถิ่นมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำของพืชสมุนไพรในท้องถิ่น ทั้งนี้เพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

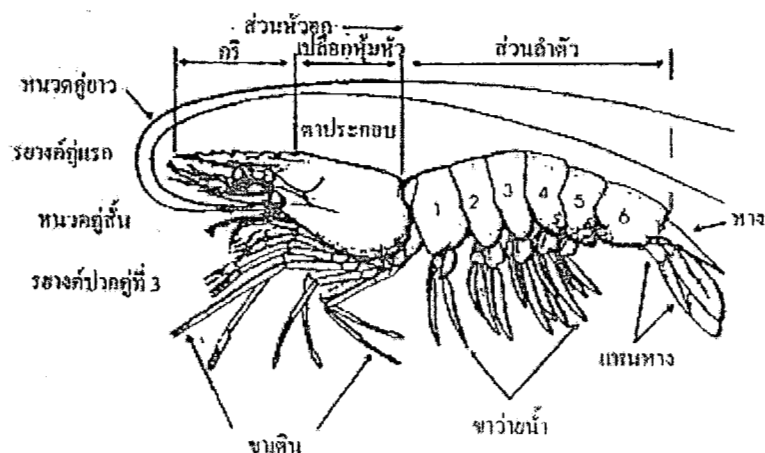
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา แบ่งได้เป็น 2 ข้อ คือ

1. รายละเอียดทั่วไปเกี่ยวกับกุ้งขาว
2. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

1. รายละเอียดทั่วไปเกี่ยวกับกุ้งขาว

กุ้งขาวหรือกุ้งขาวแวนนาไมจัดเป็นกุ้งทะเลในกลุ่มกุ้งขาวแปซิฟิก (Pacific white shrimp) โดยอยู่ในตระกูล *Penaeus* เช่นเดียวกับกับกุ้งกุลาดำ แต่เนื่องจากมีลักษณะหลายประการแตกต่างจากกุ้งในตระกูล *Penaeus* จึงได้แยกอยู่ในตระกูล *Litopenaeus* ที่ในปัจจุบันให้ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litopenaeus vannamei* (ลิลา เรืองแป้น, 2546)

ลักษณะของกุ้งขาวแวนนาไมเมื่อโตเต็มวัย มี 8 ปล้องตัว ลำตัวสีขาวเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า มีลำตัวยาวโค้งงอเล็กน้อย เปลือกหุ้มตัวด้านบนของเปลือกกุ้ง เรียกว่า เทอไกท์ (tergite) ส่วนด้านล่างที่คลุมโคนขาว่ายน้ำเรียกว่า พูรา (pleura) ส่วนด้านท้องของกุ้ง เรียกว่า สเตอไนท์ (sternite) ส่วนหัวมี 1 ปล้อง เปลือกคลุมหัวจะคลุมส่วนหัวอกด้านบน รวมทั้งบริเวณเหงือก ด้านข้างที่คลุมเหงือกทั้งสองด้าน เรียกว่า แบรนซิโอสติไกท์ (branciostegite) ส่วนหน้าของเปลือกคลุมหัวจะยื่นแหลมออกไปเรียกว่า กรี (rostrum) มีกรีอยู่ในระดับยาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือกหัว สันกรีสอง ปลายกรีแคบ ส่วนของกรีมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีแดงอมน้ำตาล กรีด้านบนมี 8 ฟัน กรีด้านล่างมี 2 ฟัน ร่องบนกรีมองเห็นได้ชัด เปลือกหัวสีขาวอมชมพูถึงแดง ขาคีนมีสีขาวเป็นลักษณะที่โดดเด่นหนวดแดง 2 เส้นยาว ตาแดงเข้ม ส่วนตัวมี 6 ปล้อง เปลือกตัวสีขาวอมชมพูถึงแดง เปลือกบาง ขาว่ายน้ำ 5 คู่ มีสีขาวข้างในที่ปลายมีสีแดง ส่วนหางมี 1 ปล้อง ปลายหางมีสีแดงเข้ม แพนหางมี 4 ใบ และ 1 กรีหาง (อาทินันท์ ประสมพงศ์, 2549) ลักษณะของกุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไมที่โตเต็มวัยแสดงดังรูปที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงอวัยวะภายนอกของกุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม ที่โตเต็มวัย
(ที่มา : ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์, 2546)

• **วงจรชีวิต** ในธรรมชาติของกุ้งสายพันธุ์นี้จะมีอายุขัยประมาณเกือบ 36 เดือน โดยจะวางไข่ที่ระดับน้ำลึกประมาณ 30-60 มิลลิเมตร ไข่ฟักเป็นทราย ปกติแล้วแม่กุ้งขนาด 60-120 กรัม จะวางไข่ประมาณ 150,000 ถึง 250,000 ฟอง ส่วนแม่กุ้งขนาด 30-40 กรัม จะวางไข่ประมาณไม่เกิน 100,000 ฟอง โดยจะวางไข่ในตอนกลางคืนบนพื้น แม่กุ้งจะว่ายน้ำอย่างรวดเร็วอยู่ประมาณ 45-60 นาที แล้วจึงเริ่มออกไข่ขณะที่ลดความเร็วลงอย่างช้าๆ เนื่องจากลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของกุ้งขาวแวนนาไมนี้มีลักษณะเป็นแบบเปิด (opened thelycum) แตกต่างจากลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของกุ้งกุลาดำ ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบปิด (closed thelycum) ดังนั้นรูปแบบการสืบพันธุ์และพฤติกรรมในการสืบพันธุ์จึงแตกต่างจากลักษณะของกุ้งกุลาดำและกุ้งแชบ๊วย

การเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทย

- กุ้งขาวแวนนาไมมีถิ่นกำเนิดอยู่ในฝั่งทะเลตะวันตก แถบทางประเทศเม็กซิโกลงไปถึงเอกวาดอร์ ถึงหมู่เกาะฮาวาย แต่เนื่องจากเป็นกุ้งที่สามารถนำมาเลี้ยงในบ่อดินได้เป็นอย่างดี เพราะเลี้ยงง่าย โตเร็ว สามารถเลี้ยงได้ในระดับความเค็มตั้งแต่ 1-2 พีพีที เจริญเติบโตในอุณหภูมิน้ำตั้งแต่ 20 องศาเซลเซียสไปจนถึง 35 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 26-29 องศาเซลเซียส จึงทำให้มีผู้นำกุ้งขาวแวนนาไมไปเลี้ยงในที่ต่างๆ ของโลกทั้งในสหรัฐอเมริกา, อเมริกากลางและใต้, ทวีปยุโรป, ทวีปออสเตรเลียรวมทั้งในทวีปเอเชียด้วย โดยเริ่มจากที่ประเทศจีนและไต้หวัน ต่อมากระจายไปสู่ประเทศอื่นๆ เช่น อินโดนีเซีย รวมทั้งในประเทศไทย (ฝ่ายวิจัยและพัฒนา บริษัทพันธุ์กุ้งสากล, 2545)

ในปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งบ่อดิน หันมานิยมเลี้ยงกุ้งขาวกันมากขึ้น โดยเฉพาะในพื้นที่ที่เลี้ยง กุ้งกุลาดำไม่ได้ หรือในช่วงฤดูฝนต่อหนาวที่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีความเสี่ยงต่อความเสียหายจากโรค ไวรัส และเขตพื้นที่เลี้ยงกุ้งในความเค็มต่ำ โดยกุ้งขาวแวนนาไมมีข้อดีหลายอย่างหากเปรียบเทียบกับ กุ้งกุลาดำ เช่น ต้องการอาหารโปรตีนต่ำ ราคาอาหารจึงถูกกว่ากุ้งกุลาดำทำให้ต้นทุนต่ำ นอกจากนั้นยังให้อัตราแลกเนื้อค่อนข้างดีเพราะกุ้งขาวเก็บกินอาหารธรรมชาติในบ่อได้ดีกว่า ระยะเวลาการเลี้ยงสั้นเพียง 90-100 วันก็จะได้ประมาณ 70-80 ตัว/กก. ส่วนข้อเสียของกุ้งชนิดนี้ที่ เห็นได้ชัดคือ การทำเป็นกุ้งไซส์ใหญ่ไม่ง่ายและไม่คุ้มกับการเลี้ยง ดังนั้นตลาดที่ต้องการกุ้งไซส์ ใหญ่ เช่น ตั้งแต่ 50 ตัว/กก. จึงยังต้องพึ่งกุ้งกุลาดำอย่างเลี่ยงไม่ได้ นอกจากนั้นถ้ามีการเลี้ยงกุ้งขาว อย่างกว้างขวางอาจมีปัญหาเกี่ยวกับโรคต่างๆซึ่งอาจแพร่กระจายในธรรมชาติ (ฝ่ายวิจัยและพัฒนา บริษัท พันธุ์กุ้งสากล, 2545)

ลักษณะพิเศษของกุ้งสายพันธุ์นี้คือ สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ง่าย โดย สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในน้ำที่มีระดับความเค็มที่ 5-35 ส่วนในพันส่วน (ppt) และระดับ ความเค็มต่ำ 0-5 ส่วนในพันส่วน แต่ระดับความเค็มที่เจริญเติบโตได้ดีคือ 10-22 ส่วนในพันส่วน ระดับออกซิเจนละลายน้ำ (D.O.) ควรมีค่า 4-9 มิลลิเมตรต่อลิตร และสำหรับค่าความเป็นกรดและ ด่าง (pH) ควรอยู่ระหว่าง 7.2-8.6 จึงอาจจะทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในบริเวณพื้นที่ชายฝั่ง (coastal area)

การคัดเลือกกุ้ง

การคัดเลือกลักษณะของลูกกุ้งที่เหมาะสม ต้องเป็นลูกกุ้งที่ได้รับการปรับสภาพเพื่อเลี้ยง ในระดับความเค็มที่ 10 ส่วนในพันส่วน จากโรงเพาะฟักที่เป็นบ่อปูน ลูกกุ้งที่มีขนาด (อายุ) พี 15 - พี 16 จะมีลักษณะของพู่เหงือก (gill filament) พัฒนาครบสมบูรณ์ มีหนวดสีแดงทั่วทั้งเส้น สีแดง ของหนวดต้องไม่แดงเป็นปด้อย ๆ ปลายกริตรงไม่งอนขึ้นตาโต ลำตัวอ้วน และสั้น หน้อกใหญ่ การเคลื่อนไหวเร็วและมีอัตราการชีวิตรอดมากกว่า 80% ในเวลา 48 ชั่วโมง ภายหลังที่ผ่านการ ทดสอบการลองน้ำจากบ่อทดสอบที่เตรียมไว้ ลักษณะของลูกกุ้งที่ไม่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง ลูก กุ้งมีลำตัวยาว ผอม ปลายกริองขึ้น ตาเล็ก หนวดมีสีแดงเป็นปด้อย พบว่าเมื่อปล่อยกุ้งลงบ่อดินไป ได้ประมาณ 1 เดือน หากนำมาทดสอบกับน้ำที่มีความเค็มต่ำกว่า 5 ส่วนในพันส่วน ลูกกุ้งจะทยอย ตายเนื่องจากความแข็งแรงต่ำ และสารอาหาร แร่ธาตุที่จำเป็นบกพร่อง หากเกษตรกรต้องการเลี้ยง ต่อไปจะต้องเพิ่มปริมาณสารอาหาร แร่ธาตุที่จำเป็นให้พอเพียงกุ้งจึงจะรอดแต่ก็จะมีอัตราการรอดที่ต่ำ กว่า 30 เปอร์เซ็นต์ (<http://www.nicaonline.com>)

ปัญหาที่พบในระบบการเลี้ยง

ปัญหาการเลี้ยงกุ้งขาวแล้วไม่โตมีหลายสาเหตุ เช่น 1) การบีบอาหารมากเกินไปเนื่องจาก เกษตรกรบางคนเลี้ยงกุ้งขาวแล้วคิดว่ากุ้งสามารถกินตะกอนซากแพลงก์ตอน ซี้แดดได้จึงมักเลี้ยงกุ้ง

ขาวโดยการให้อาหารค่อนข้างจำกัด และชี้แจงไม่มีคุณค่าทางอาหารมากแต่กุ้งกินเพื่อยังชีพเท่านั้น ทำให้กุ้งไม่โต 2) ปัญหาเรื่องการเช็ดขอยไม่ออก ปัญหานี้มักเกิดขึ้นในช่วงกุ้งอายุ 50 วันขึ้นไป การเช็ดขอยไม่ออกมักเกิดกับผู้ที่ให้ขอยเป็นขอยเหลี่ยมหรือขอยของกุ้งกุลาดำ ปัญหาของขอยเหลี่ยมคือ อาหารจะตกลงไปอยู่บริเวณกลางขอยทำให้กุ้งเข้าไปกินอาหารได้น้อย ถ้าขอยขยสูงเมื่อกุ้งว่ายน้ำมากระทบ ขอยขยก็จะว่ายข้ามไม่ยอมเข้าไปกินอาหารในขอย (สุขวัฒน์ เอกตระกูลวัฒน์, 2546)

โรคที่พบได้บ่อยในกุ้งขาว

1. โรค vibriosis (Vibriosis)

สาเหตุ มาจากเชื้อแบคทีเรียพวก vibrio เช่น *V. parahaemolyticus*, *V. haueyi* และ *V. alginolyticus* โดยระยะการติดเชื้อของโรค vibriosis สามารถเกิดขึ้นได้ในทุกระยะชีวิตของกุ้งขาวลิทอพีเนียสแวนนาไม

อาการสำคัญ การมีรอยแผลติดเชื้อ บนเปลือกกุ้งและมีแผลเปิด กุ้งกินอาหารน้อยลง ลำไส้ขาว ตับ ตับอ่อนผิดปกติ สีเนื้อจะขุ่น มีตะกอนเกาะตามผิว ตัวหลวม หากปล่อยไว้นาน อาการจะรุนแรงรักษายาก

การแพร่เชื้อ เนื่องจากมีเชื้อแบคทีเรีย vibrio จำนวนมากบนเปลือกกุ้งและมีแผลเปิดหรือกุ้งกินเชื้อเข้าไปจำนวนมาก

การวินิจฉัย ตรวจจากเนื้อเยื่อของกุ้งโดยใช้ histopathology กล้องจุลทรรศน์ การเพาะเซลล์

การควบคุมโรค

1. ต้องใช้น้ำทะเลที่ไม่มีเชื้อ vibriosis ปนเปื้อนอยู่อย่างเด็ดขาด
2. ต้องระมัดระวังไม่ให้เชื้อแบคทีเรีย vibrio แต่ละชนิดกระจายไปพื้นที่อื่น

(<http://www.kungthai.com/bactshrimp.html>)

2. โรคจุดสีดำ (Black Spot Disease, BSD)

สาเหตุ อาจเกิดจากการได้รับเชื้อ TSV (Taura Syndrome Virus) หรือขาดออกซิเจนเรื้อรัง โดยระยะการติดเชื้อสามารถติดเชื้อได้ในทุกระยะของวงจรชีวิตของกุ้งขาวลิทอพีเนียส แวนนาไม โดยพบว่าแบคทีเรียหลายชนิดที่พบอยู่ในแหล่งน้ำทั่วไป ได้แก่ *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. damsela*, *V. harveyi* และ *Flavobacterium* sp.

อาการสำคัญ

1. ทำให้เพิ่มอัตราการตายของตัวอ่อนกุ้งขาวลิทอพีเนียส แวนนาไม ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค BSD

2. ทำให้แผลที่เปลือกกุ้งจะเป็นจุดที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายของกุ้งชกเว้น
เชื้อ BSD

การวินิจฉัย เมื่อทำการสังเกตจะเห็นจุดดำที่บริเวณเปลือกกุ้ง

การควบคุมโรค ดำเนินการป้องกันล่วงหน้าโดยการหาสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค เช่น
จำนวนกุ้งแออัดมากเกินไป สภาพแวดล้อมไม่ดี การให้ยาปฏิชีวนะไม่ได้ผล ควรเน้นการแก้ไขใน
เรื่องการจัดการคุณภาพของบ่อเพาะเลี้ยง (ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์, 2546)

3. โรคมายโคแบคทีริโอซิส (Mycobacteriosis)

สาเหตุ มาจาก *Mycobacterium* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งตรวจพบได้ด้วยการย้อมพิเศษ ที่เรียกว่า Acid-Fast ระยะการติดเชื้อของโรคนี้จะพบการติดเชื้อในกุ้งชาวลีโทพีเนียส
แวนนาไม ที่โตเต็มวัย ส่วนกุ้งชาวลีโทพีเนียส แวนนาไม ตัวอ่อนง่ายต่อการติดเชื้อแต่โอกาสใน
การรับเชือน้อยกว่า

อาการสำคัญ มักไม่มีการแสดงเฉพาะการติดเชื้อที่นำไปสู่ความผิดปกติทางสรีระ
และทำให้ตาย แต่คาดว่าน่าจะเริ่มต้นจากการที่กุ้งกินอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อ ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้
เติบโตค่อนข้างช้า ทำให้การติดเชื้อนาน แต่กุ้งที่ตายส่วนใหญ่เนื่องจากการติดเชื้อแทรกซ้อนจากโรค
Vibriosis จะพบการติดเชื้อบริเวณกล้ามเนื้อหัวใจ เหงือก และรังไข่ของกุ้ง (Brock and Lightner,
1990)

การวินิจฉัย กระทำโดยการย้อมพิเศษที่เรียกว่า Acid-Fast

4. โรคทอราซินโดรม (Taura Syndrome, TS)

สาเหตุของโรค เชื้อไวรัสชนิด cytoplasmic ขนาด 30 นาโนเมตร (nm) อยู่ในกลุ่ม
Nodavirus เรียกเชื้อไวรัสนี้ว่า ไวรัสทอรา ซินโดรม (Taura Syndrome Virus, TSV) ระยะการติด
เชื้อเป็นโรคของกุ้งชาวลีโทพีเนียส แวนนาไมในระยะวัยรุ่น (juvenile)

อาการสำคัญ กุ้งชาวลีโทพีเนียส แวนนาไมที่ได้รับเชื้อสูง มักจะตายเพราะการติด
เชื้อจะเกิดเร็วมาก กุ้งที่ตายในช่วงติดเชื้ออย่างฉับพลัน จะอ่อนแอ วายน้ำผิดปกติ มีเปลือกนูน
ผิดปกติ หรือสิ้นใจอย่างรวดเร็ว ส่วนกุ้งที่รอดตายจะติดเชื้อเรื้อรัง เปลือกจะเปื่อยยุ่ยและมีจุดดำกึ่ง
ที่ติดเชื้อไวรัส ได้แก่ กุ้งขาว *L. vannamei*, *L. stylirostris* และ *L. aztecus* (นพดล สุกระกาญจน์
และคณะ, 2547)

การวินิจฉัย สามารถวินิจฉัยได้ 2 ทางคือ

1. ตรวจพบ “buckslot” pattern ของ cytoplasmic inclusion
2. ตรวจพบเชื้อไวรัสทอราซินโดรม (TSV)

การควบคุมโรค

1. ต้องมีข้อมูลเชื้อไวรัสทอราซินโครม (TSV) ทางระบาดวิทยาและชีววิทยา
2. กำจัดเชื้อไวรัสทอราซินโครม (TSV) ออกจากฟาร์มกุ้ง
3. เปลี่ยนสปีชีส์กุ้งชาวลิทอเพเนียส แวนนาไมเป็นกุ้งน้ำจืดลิทอเพเนียส สไตลิ

รอสทริส (*Litopenaeus synlirostris*)

4. เลือกสายพันธุ์ของกุ้งชาวลิทอเพเนียส แวนนาไมที่ทนทานต่อเชื้อทอราซินโครม (TSV)

5. โรคเหงือกดำ (Black Gill Disease, BGD)

สาเหตุ พบว่ามีหลายสาเหตุที่ทำให้เหงือกของกุ้งมีสีดำ หรือการได้รับบาดเจ็บอาจทำให้เหงือกกุ้งมีสีดำคล้ายกับโรค BGD ต้องแยกโรค BGD จากการสะสมของสารอินทรีย์เคมีบนผิวของ lamella ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อกุ้งอยู่ในน้ำขุ่นมากๆ แต่ภาวะนี้จะไม่ทำลายเปลือกหรือเนื้อเยื่อของเหงือก ระยะการติดเชื้อเกิดขึ้นได้ในทุกระยะของวงจรชีวิตกุ้งชาวลิทอเพเนียส แวนนาไม

อาการสำคัญ กุ้งชาวลิทอเพเนียส แวนนาไมที่ติดเชื้อจะมีเหงือกสีดำ เมื่อเหงือกของกุ้งถูกทำลายมาก กุ้งจะเหงาหงอย ไม่กินอาหาร มีความทนทานต่อการขาดออกซิเจน

การวินิจฉัย ชับซ้อนเนื่องจากมีหลายสาเหตุเช่น ผลของพิษโลหะหนักหรือผลของแอมโมเนีย เป็นต้น

การควบคุม ขึ้นกับสาเหตุ ถ้าเป็นจากพิษจากโลหะหนักหรือแอมโมเนียก็เปลี่ยนถ่ายน้ำ ถ้าจากขาดวิตามินซีก็ปรับปรุงคุณภาพของอาหาร (ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์, 2546)

2. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

จริยาและคณะ (2532) ศึกษาการใช้สารสกัดใบฝรั่งและเปลือกมังคุดในการต้านเชื้อแบคทีเรียโรคอุจจาระร่วง 12 สายพันธุ์ *Vibrio* 2 สายพันธุ์ *Shigella* 4 สายพันธุ์ *Salmonella* 5 สายพันธุ์ และ Enteropathogenic *E.coli* พบว่าเชื้อโรคอุจจาระร่วงทั้ง 12 สายพันธุ์จะไม่เจริญถ้าใช้ความเข้มข้นของสารสกัดโดยการต้มใบฝรั่ง 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและจากเปลือกมังคุด 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่าสารสกัดจากใบฝรั่งมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียดีกว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุด สำหรับยาหม้อที่ใช้ต้มตามตำรายาไทยของใบฝรั่งเพื่อเปรียบเทียบและเปลือกมังคุดจะมีน้ำหนักของสารสกัดยาหม้อที่ใช้อยู่แต่ละครั้งประมาณ 621 ± 9 และ 116 ± 7 มิลลิกรัมตามลำดับ ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียและประมาณยาหม้อที่ต้มในแต่ละครั้งพบว่าใบฝรั่งเป็นสมุนไพรในการรักษาโรคอุจจาระร่วงได้ดีกว่าเปลือกมังคุด

มนตรี ไชยชาติ (2546) ศึกษาถึงการติดเชื้อไวรัสก่อโรคตัวแดงดวงขาวของลูกกุ้งกุลาดำและลูกกุ้งขาว พบว่าการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว White syndrome virus (WSSV) ระหว่างลูกกุ้ง

มนตรี ไชยชาติ (2546) ศึกษาถึงการติดเชื้อไวรัสก่อโรคตัวแดงดวงขาวของลูกกุ้งกุลาดำ และลูกกุ้งขาว พบว่าการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว White syndrome virus (WSSV) ระหว่างลูกกุ้งกุลาดำและลูกกุ้งขาวโดยผ่านทางน้ำและอาร์ทีเมีย เพื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดของลูกกุ้งและระยะเวลาในการติดเชื้อ WSSV ลูกกุ้งถูกเลี้ยงในน้ำ ความเค็ม 27 PPT อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส อัตราการปล่อย 2,000 ตัวต่อน้ำ 40 ลิตร WSSV จากกุ้งเป็นโรคจะถูกสกัดด้วย 0.1% Triton-X ทำการใส่เชื้อ WSSV ลงในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้ง และในตัวอย่างอาร์ทีเมียแล้วนำไปให้กุ้งกิน ทำการตรวจสอบการติดเชื้อด้วยชุดทดสอบ (Strip test) จากบริษัท อินโนเฟค (จำกัด) ในช่วงวันที่ 12, 24 และวันที่ 2, 3, 4 และ 5 วัน พบว่าตรวจพบลูกกุ้งกุลาดำมีการติดเชื้อ WSSV ใน 12 ชั่วโมงไปจนถึงวันที่ 3 ทั้งผ่านทางน้ำและตัวอย่างอาร์ทีเมีย แต่ลูกกุ้งขาวมีการติดเชื้อ WSSV ผ่านทั้งสองทางที่ 12 ชั่วโมงไปจนถึงวันที่ 4 ส่วนอัตราการตายของกุ้งทั้ง 2 ชนิดภายในช่วงหลังได้รับเชื้อ WSSV ผ่านทางน้ำ พบว่าลูกกุ้งกุลาดำมีอัตราการตายสะสมอยู่ที่ 460 ตัว (23%) ลูกกุ้งขาวมีอัตราการตายสะสมอยู่ที่ 224 ตัว (11.2%) และผ่านทางตัวอย่างอาร์ทีเมีย ลูกกุ้งกุลาดำมีอัตราการตายสะสมอยู่ที่ 556 ตัว (28.3%) ลูกกุ้งขาวมีอัตราการตายสะสมอยู่ที่ 113 ตัว (5.65%) ตามลำดับ จากผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าไวรัส WSSV ที่ปนเปื้อนในน้ำและตัวอย่างอาร์ทีเมียสามารถทำให้ลูกกุ้งมีการติดเชื้อภายใน 12 ชั่วโมงและกุ้งขาวมีความทนทานต่อการติดเชื้อสูงกว่ากุลาดำ เนื่องจากมีอัตราการตายน้อยกว่า

Bhaskar (1998) ได้ศึกษาการแพร่กระจายของแบคทีเรียที่ก่อโรคในคน เช่น *Salmonella*, *Vibrio* sp. และ *Listeria monocytogenes* ในกุ้งระยะต่างๆของการเลี้ยงด้วยการใช้วิธีพื้นฐาน ซึ่ง *Salmonella* sp. และ *Vibrio* sp. สามารถพบได้ในทุกตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ส่วน *Listeria* sp. ไม่พบในตัวอย่างที่เป็นเนื้อหอยกาบที่นำมาใช้เลี้ยงกุ้ง ดินตะกอนและกุ้งในระยะเก็บเกี่ยว

Alam, Mostafa and Bhuiyan (2003) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการแพร่กระจายของแบคทีเรียในก้ามเนื้อของกุ้งโดยวิธีการผลิตของโรงงาน พบว่า ค่า Standard Plate Count (SPC) ของแบคทีเรียที่พบในก้ามเนื้อของกุ้งมีค่าลดลงเมื่อผ่านวิธีการผลิตของโรงงาน คือ การล้างด้วยสารประกอบคลอรีนที่มีความเข้มข้น 5 ppm และการแช่แข็ง มีค่าลดลงอยู่ในช่วง 8×10^5 CFU/g และ 6×10^5 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

Abraham และ Palaniappan (2004) พบว่า การเพาะเลี้ยงกุ้งในอินเดียมักพบปัญหาเกี่ยวกับผลผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบบหนาแน่นมีการเกิดโรคเรืองแสง โดยพบว่าบ่อยครั้งมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อจาก *V. harveyi* หรือแบคทีเรียเรืองแสงสายพันธุ์อื่น เช่น *V. lundii* biotype 1, *Photobacterium phoxoreum* มีส่วนน้อยที่เกิดจาก *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis*, *V. alginolyticus* และ *P. damasela*

และโรงแรมบริเวณช่องแคบของประเทศตุรกี จำนวนทั้งหมด 127 ตัวอย่าง ซึ่งจากตัวอย่างทั้งหมดมี ตัวอย่างหอยแมลงภู่น้ำจืด 97 ตัวอย่าง และตัวอย่างกุ้งจำนวน 30 ตัวอย่าง จากการทดลองพบ แบคทีเรียสายพันธุ์ *Vibrio* และ *Aeromonas* ในตัวอย่างจำนวน 84 ตัวอย่าง โดยจากตัวอย่าง ทั้งหมดจะพบปริมาณของ *Vibrio* สายพันธุ์ต่างๆ คือ ร้อยละ 26.7 ของตัวอย่างทั้งหมดจะพบ *V. alginolyticus* ร้อยละ 9.4 ของตัวอย่างจะพบ *V. vulnificus* ร้อยละ 0.8 ของตัวอย่างจะพบ *V. parahaemolyticus* และร้อยละ 29.1 จะพบ *A. hydrophila*

บทที่ 3

วัสดุและอุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์

- 1.1 เครื่องตีผสมอาหาร (stomacher)
- 1.2 ตู้บ่มอุณหภูมิ (incubator) 37 องศาเซลเซียส
- 1.3 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
- 1.4 เครื่องปั่นผสม (vortex mixer)
- 1.5 แผงแก้วเกลี่ยเชื้อ (spreader)
- 1.6 เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ (Multiprobe : Horiba W – 20XD Series)
- 1.7 เวอร์เนียร์
- 1.8 บ่อเลี้ยงกุ้งจำลองขนาด 0.8×1.2×0.6 เมตร
- 1.9 เครื่อง Centrifuge
- 1.10 กระดาษกรอง Milpore membrane ขนาดรูกรอง 0.45 ไมครอน
- 1.11 เครื่อง Rotary evaporator
- 1.12 ผ้าขาวบาง
- 1.13 อาหารสัตว์น้ำสำเร็จรูป
- 1.14 ยาปฏิชีวนะ

2. สารเคมี

- 2.1 Gram's crystal violet
- 2.2 Gram's iodine
- 2.3 Gram's alcohol
- 2.4 Gram's safranin
- 2.5 Malachite green
- 2.6 Tetramethyl- *p*- phenylenediamine dihydrochloride
- 2.7 Hydrogen peroxide
- 2.8 Kovac reagent
- 2.9 Voges – Proskauer reagent
- 2.10 Methy Red reagent
- 2.11 Nitrate reagent
- 2.12 แอลกอฮอล์ 40 %

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเตรียมเซลล์

3.1.1 Trypticase soy agar (TSA)

3.1.2 Trypticase soy broth (TSB)

3.1.3 Muller-Hinton Broth

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์

3.2.1 Normal saline

3.2.2 Plate count agar (PCA)

3.2.3 Thiosulfate citrate bile salts agar (TCBS)

3.2.4 *Pseudomonas* isolation agar (PIA)

3.2.5 Nutrient agar (NA)

3.2.6 MacConkey agar

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ

3.3.1 Triple sugar iron agar (TSI)

3.3.2 Lysine indole motile agar (LIM)

3.3.3 MR-VP medium

3.3.4 Urease

3.3.5 Simmon's citrate agar

3.3.6 Lysine decarboxylase

3.3.7 Arginine decarboxylase

3.3.8 Ornithine decarboxylase

3.3.9 Lactose

3.3.10 Sucrose

3.3.11 Arabinose

3.3.12 0% NaCl

3.3.13 3% NaCl

3.3.14 6% NaCl

3.3.15 8% NaCl

3.3.16 10% NaCl

4. ตัวอย่างกุ้งขาว

ตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายภายในจังหวัดชลบุรี จำนวน 40 ตัวอย่าง

5. ตัวอย่างสมุนไพร

สมุนไพรจำนวน 6 ชนิด ที่หาได้ง่ายในภาคตะวันออก

บทที่ 4

วิธีการทดลอง

1. การแยกแบคทีเรียก่อโรคจากบ่อเพาะเลี้ยงและท้องตลาดของกุ้งขาวรวมทั้งจากตัวหรืออวัยวะส่วนต่างๆที่สำคัญของกุ้งขาว

การแยกแบคทีเรียจากกุ้งขาวด้วยการชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 25 กรัม ผสมกับ Normal saline 0.85 % ปริมาตร 225 มิลลิลิตร แล้วตีบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผสมหรือจากน้ำหรือดินตะกอนของบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาเจือจางด้วย Normal saline 0.85 % ให้ได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA, TCBS และ PIA จานละ 0.1 มิลลิลิตร โดยแต่ละความเจือจางทำ 3 ซ้ำ แล้วสเปรดเพลท นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี แล้วคำนวณเป็น CFU/g นำโคโลนีที่แตกต่างกันไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อจัดจำแนกแบคทีเรียโดย Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt & Bergry, 1994) และ API kit

2. การศึกษาสมุนไพรที่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรีย

2.1 ศึกษาคุณสมบัติของสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งหรือฆ่าแบคทีเรียก่อโรค

ทำการคัดเลือกสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งหรือฆ่าแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำเศรษฐกิจ และพบได้ง่ายในภาคตะวันออก

2.2 การสกัดสมุนไพร

นำสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ขมิ้น พริก กระเทียม และขิง มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นจากนั้นนำไปตากให้แห้งและนำไปอบที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำสมุนไพรแห้งมาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นหลังจากนั้นนำสมุนไพรบดไปสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลมารองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ หลังจากกรองแล้วนำมาระเหยด้วยตัวทำละลายเมทานอลในตู้อบ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ และนำมาคำนวณปริมาณของสารสกัดของสมุนไพรต่อโปรวมทั้งเก็บสารสกัดสมุนไพรที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำออกมาใช้

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพรที่ศึกษาด้วยวิธี

disk diffusion

2.3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจากข้อที่ 1

นำเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง nutrient agar เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Muller-Hinton Broth เป็นเวลา 3-5 ชั่วโมง ก่อนนำไปทำการทดสอบ ให้ได้ความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียเท่ากับความขุ่นของ McFarland No.0.5 ทดสอบ biochemical test เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อ ได้แก่ TSI, motile, simmon citrate agar, lysine decarboxylase, indole test

2.3.2 ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสมุนไพรชนิดต่าง ๆ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยง Muller-Hinton Broth ให้ได้ความขุ่นของแบคทีเรียเทียบเท่ากับความขุ่นของ McFarland No.0.5 ใช้ไม้พันสำลีจุ่มลงใน suspension ของเชื้อบดพอหมาด ๆ กับข้างหลอดจากนั้นป้ายลงบนหน้าอาหาร MHA โดยป้ายให้ทั่วโดยทำมุมซึ่งกันและกัน 60 องศา ทำซ้ำ 3 ครั้งวางทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที การเตรียม disc โดยหยดสมุนไพรที่สกัดได้แต่ละชนิดลงบน disc 20 ไมโครลิตร อบให้แห้ง วาง disc ที่หยดสารสกัดและ disc ยาปฏิชีวนะลงบนอาหารที่ป้ายเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 18-24 ชั่วโมง อ่านผล inhibition zone รอบ ๆ แผ่น disc

บทที่ 5

ผลการทดลอง

1. ปริมาณและชนิดของแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างกุ้งขาว

จากการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายตามตลาดต่างๆ ภายในจังหวัดชลบุรี เพื่อวิเคราะห์หาแบคทีเรียกลุ่ม Total heterotroph, *Vibrio* และ *Pseudomonas* ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม Total heterotroph, *Vibrio* และ *Pseudomonas* ที่พบในตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายตามตลาดต่างๆ ภายในจังหวัดชลบุรี

ตัวอย่าง	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU/g)		
	Total heterotroph ($\times 10^4$)	<i>Vibrio</i> ($\times 10^4$)	<i>Pseudomonas</i> ($\times 10^4$)
1	10.33 $\pm$ 1.53 ^{h,1}	0.34 $\pm$ 0.04 ^{kl,2}	0.07 $\pm$ 0.01 ^{g,2}
1	13.20 $\pm$ 1.95 ^{h,1}	0.03 $\pm$ 0.00 ^{l,2}	0.50 $\pm$ 0.14 ^{g,2}
3	3.93 $\pm$ 0.77 ^{h,1}	3.05 $\pm$ 1.20 ^{f,1}	0.47 $\pm$ 0.06 ^{g,2}
4	6.87 $\pm$ 1.40 ^{h,1}	0.45 $\pm$ 0.02 ^{kl,2}	1.21 $\pm$ 0.32 ^{fg,2}
4	3.13 $\pm$ 1.62 ^{h,1}	1.40 $\pm$ 0.56 ^{ghij,2}	0.55 $\pm$ 0.24 ^{fg,2}
4	12.73 $\pm$ 1.16 ^{h,1}	0.14 $\pm$ 0.05 ^{kl,2}	1.60 $\pm$ 0.95 ^{fg,2}
3	9.83 $\pm$ 1.82 ^{h,1}	0.08 $\pm$ 0.07 ^{l,2}	1.38 $\pm$ 0.17 ^{fg,2}
3	29.00 $\pm$ 6.00 ^{gh,2}	0.03 $\pm$ 0.00 ^{l,2}	67.00 $\pm$ 6.24 ^{b,1}
3	147.67 $\pm$ 13.87 ^{d,1}	0.03 $\pm$ 0.00 ^{l,2}	80.67 $\pm$ 3.79 ^{a,2}
10	32.67 $\pm$ 5.86 ^{gh,1}	1.45 $\pm$ 0.21 ^{ghi,2}	1.04 $\pm$ 0.09 ^{fg,2}
3	1,505.00 $\pm$ 77.78 ^{a,1}	9.30 $\pm$ 1.55 ^{b,2}	8.06 $\pm$ 4.57 ^{ef,2}
10	32.00 $\pm$ 2.83 ^{gh,1}	0.44 $\pm$ 0.14 ^{e,1}	31.67 $\pm$ 14.05 ^{d,1}
13	1,155.00 $\pm$ 77.78 ^{b,1}	0.38 $\pm$ 0.03 ^{kl,2}	5.00 $\pm$ 1.51 ^{fg,2}
13	9.93 $\pm$ 1.97 ^{h,1}	0.38 $\pm$ 0.03 ^{kl,2}	0.85 $\pm$ 0.22 ^{fg,2}
4	12.33 $\pm$ 3.78 ^{h,1}	0.03 $\pm$ 0.00 ^{l,2}	1.50 $\pm$ 0.20 ^{fg,2}
10	10.57 $\pm$ 2.00 ^{h,1}	0.03 $\pm$ 0.02 ^{l,2}	0.48 $\pm$ 0.11 ^{g,2}
17	7.80 $\pm$ 1.13 ^{h,1}	0.05 $\pm$ 0.01 ^{l,2}	1.15 $\pm$ 0.49 ^{fg,2}
10	5.60 $\pm$ 0.71 ^{h,1}	0.08 $\pm$ 0.07 ^{l,2}	0.50 $\pm$ 0.10 ^{g,2}
13	37.67 $\pm$ 7.02 ^{gh,1}	1.10 $\pm$ 0.00 ^{ijk,2}	5.40 $\pm$ 0.20 ^{fg,2}
10	39.50 $\pm$ 3.53 ^{gh,1}	5.50 $\pm$ 0.10 ^{j,2}	5.00 $\pm$ 1.00 ^{fg,2}

21	40.67 $\pm$ 4.04 ^{gh,1}	1.85 $\pm$ 0.63 ^{gh,2}	3.70 $\pm$ 0.10 ^{fg,2}
21	109.67 $\pm$ 12.05 ^{c,1}	2.96 $\pm$ 0.46 ^{f,3}	30.33 $\pm$ 1.53 ^{d,2}
21	217.00 $\pm$ 32.51 ^{c,1}	0.49 $\pm$ 0.02 ^{ijkl,3}	59.00 $\pm$ 16.37 ^{c,2}
24	10.90 $\pm$ 3.39 ^{h,1}	0.51 $\pm$ 0.15 ^{ijkl,2}	2.37 $\pm$ 0.68 ^{fg,2}
24	55.67 $\pm$ 2.08 ^{g,1}	0.14 $\pm$ 0.00 ^{kl,2}	0.82 $\pm$ 0.08 ^{fg,2}
26	16.47 $\pm$ 1.91 ^{gh,1}	0.18 $\pm$ 0.04 ^{kl,2}	0.52 $\pm$ 0.52 ^{fg,3}
24	26.00 $\pm$ 10.15 ^{gh,1}	ไม่สามารถตรวจพบ	2.70 $\pm$ 0.20 ^{fg,2}
24	5.00 $\pm$ 1.73 ^{h,1}	0.07 $\pm$ 0.03 ^{l,2}	3.33 $\pm$ 1.27 ^{fg,1}
26	109.00 $\pm$ 36.29 ^{c,1}	17.50 $\pm$ 0.70 ^{a,2}	0.40 $\pm$ 0.14 ^{c,2}
26	57.33 $\pm$ 5.69 ^{g,1}	1.48 $\pm$ 0.23 ^{ghi,3}	12.50 $\pm$ 2.12 ^{fg,2}
21	7.50 $\pm$ 0.92 ^{h,1}	0.61 $\pm$ 0.07 ^{ijkl,2}	1.25 $\pm$ 0.21 ^{fg,2}
24	6.73 $\pm$ 0.99 ^{h,1}	0.36 $\pm$ 0.05 ^{kl,2}	0.76 $\pm$ 0.12 ^{fg,2}
33	13.00 $\pm$ 2.43 ^{h,1}	0.26 $\pm$ 0.01 ^{kl,2}	1.53 $\pm$ 0.46 ^{fg,2}
33	9.13 $\pm$ 1.01 ^{h,1}	0.26 $\pm$ 0.01 ^{kl,2}	0.90 $\pm$ 0.00 ^{fg,2}
33	9.63 $\pm$ 1.70 ^{h,1}	0.13 $\pm$ 0.05 ^{kl,2}	1.20 ^a $\pm$ 0.28 ^{fg,2}
33	5.35 $\pm$ 3.75 ^{h,1,2}	7.80 $\pm$ 1.51 ^{c,1}	1.00 $\pm$ 0.28 ^{fg,2}
33	4.00 $\pm$ 0.35 ^{h,1}	0.27 $\pm$ 0.15 ^{kl,3}	1.23 $\pm$ 0.31 ^{fg,2}
33	5.70 $\pm$ 2.00 ^{h,1}	0.92 $\pm$ 0.04 ^{ijkl,2}	3.26 $\pm$ 0.68 ^{fg,1,2}
33	89.50 $\pm$ 9.19 ^{f,1}	0.77 $\pm$ 0.05 ^{ijkl,2}	1.70 $\pm$ 0.14 ^{fg,2}
40	12.23 $\pm$ 2.84 ^{h,1}	2.07 $\pm$ 0.07 ^{g,2}	2.65 $\pm$ 0.07 ^{fg,2}
33	0.34 $\pm$ 0.1 ^{h,1}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{l,1}	0.22 $\pm$ 0.12 ^{g,1}
42	10.4 $\pm$ 0.34 ^{h,1}	0.25 $\pm$ 0.12 ^{l,2}	3.12 $\pm$ 1.22 ^{fg,2}
33	4.4 $\pm$ 0.51 ^{h,1}	0.04 $\pm$ 0.01 ^{l,3}	1.70 $\pm$ 0.14 ^{fg,2}
33	10.4 $\pm$ 0.42 ^{h,1}	0.31 $\pm$ 0.02 ^{ijkl,2}	1.73 $\pm$ 0.23 ^{fg,2}

จากการจัดจำแนกแบคทีเรียสกุลต่างๆ ที่พบในตัวอย่างกุ้งขาว พบแบคทีเรียกลุ่ม Total heterotroph, *Vibrio* และ *Pseudomonas* เมื่อพิจารณาจากการพบแบคทีเรียในตัวอย่างกุ้งขาวทั้งหมด พบว่าแบคทีเรียที่สามารถพบได้บ่อยในตัวอย่างกุ้งขาวทั้งหมด ดังตารางที่ 2 โดยพบชนิดของแบคทีเรียที่พบในกุ้งขาวมีความหลากหลาย ได้แก่ *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Bacillus* spp., *Citrobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia* spp., *Flavobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Moraxella* spp., *Pasteurella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus* spp., *Vibrio* spp., *Yersinia* spp., *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvalis*, *V. furnisii*, *V. mimicus*,

V. parahaemolyticus, *V. vulnificus*, *P. aeruginosa*, *P. alcaligenes*, *P. cichocii*, *P. mendocina*,
P. putida and *P. stutzeri*

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบองค์ประกอบที่เรียกกลุ่ม total heterotroph, *Vibrio* และ *Pseudomonas* ที่พบในตัวอย่างกุ้งขาวที่วางจำหน่ายในตลาด

ตัวอย่าง	ชนิดของแบคทีเรีย														
	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>Alcaligenes</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Escherichia</i> spp.	<i>Flavobacterium</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Moraxella</i> spp.	<i>Pasteurella</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Serratia</i> spp.	<i>Shigella dysenteriae</i>
1	-	10%	40%	-	-	-	-	-	-	10%	-	-	-	40%	-
2	-	11.36%	-	-	-	28.78%	1.5%	-	-	-	-	-	-	45.45%	9.85%
3	-	33.46%	-	-	-	-	-	28.20%	-	-	-	-	-	38.46%	-
2	-	-	-	-	-	-	-	37.68%	-	-	-	-	-	-	47.83%
1	-	25.81%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	45.16%	-	3.22%
6	-	-	-	-	17.32%	58.27%	-	-	-	-	-	-	24.41%	-	-
3	-	38.78%	45.92%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.24%	-
8	-	24.14%	-	-	-	31.03%	-	32.76%	-	-	-	-	-	12.24%	-
8	-	-	24.48%	-	-	-	-	15.31%	-	-	12.5%	-	-	48.98%	-
10	-	-	-	-	-	-	-	25%	-	9.37%	-	-	28.13%	37.5%	-
11	-	10.09%	28%	-	-	18%	-	55.33%	-	-	-	10%	-	-	-
12	-	-	-	28.12%	21.87%	-	-	38.06%	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	6.42%	-	-	38.88%	-	-	-	17.43%	-	33.94%	-
12	25.25%	-	-	-	18.18%	-	-	38.88%	-	-	-	-	-	23.23%	-
15	-	66.67%	-	-	8.33%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	47.17%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17.92%	25%	-
11	-	32.05%	28.21%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.53%	-
18	51.78%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39.74%	-
15	-	13.51%	-	-	-	47.03%	-	-	-	25%	-	-	40.54%	23.22%	-
20	-	17.95%	-	-	-	-	-	-	-	41.03%	-	-	-	33.33%	-
															7.69%

ชนิดของแบคทีเรีย															
ตัวอย่าง	Vibrio								Pseudomonas						
	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. fluvialis</i>	<i>V. furnissii</i>	<i>V. vulnificus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	Unidentified bacteria	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. alcaligenes</i>	<i>P. citricoli</i>	<i>P. mendocina</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. stutzeri</i>	Unidentified bacteria
1	-	-	-	17.70%	-	26.47%	55.88%	-	-	71.43%	-	-	-	-	28.57%
1	-	-	66.67%	-	-	-	-	33.33%	-	80%	-	-	-	20%	-
1	-	-	-	-	-	56.79%	34.57%	7.41%	-	80.85%	-	19.15%	-	-	-
1	30.79%	-	-	-	-	-	50.45%	-	-	52.1%	42.98%	-	-	-	4.96%
5	-	-	-	-	85.71%	-	-	14.29%	-	78.18%	-	-	-	21.82%	-
5	-	-	-	-	57.14%	42.86%	-	-	75%	-	25%	-	-	-	-
5	-	-	-	-	37.5%	-	62.5%	-	-	45.65%	-	27.54%	18.8%	-	7.97%
5	-	-	-	-	100%	-	-	-	64.18%	35.82%	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	83.33%	-	-	16.67%	41.25%	36.25%	-	-	12.5%	-	10%
5	21.84%	34.25%	-	-	26.62%	-	17.12%	-	35.58%	-	28.85%	28.85%	-	-	6.73%
1	-	-	40.86%	-	-	-	48.39%	2.23%	-	61.25%	-	-	25%	-	3.75%
5	-	-	42.7%	-	58.43%	-	-	-	87.10%	-	-	-	12.90%	-	-
1	-	-	-	-	47.37%	36.84%	15.8%	-	64%	36%	-	-	-	-	-
14	-	-	-	28%	-	-	72%	-	47.62%	-	-	39.28%	-	-	13.1%
14	-	-	33.33%	-	-	-	66.67%	-	71.43%	-	28.57%	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	100%	-	57.45%	42.55%	-	-	-	-	-
14	-	-	-	20%	-	-	80%	-	-	63.64%	-	18.18%	-	-	27.27%
1	-	-	-	16.67%	-	-	83.33%	-	-	80%	-	20%	-	-	-
19	36.36%	-	-	63.64%	-	-	-	-	-	55.55%	37.04%	-	-	7.41%	-
19	-	-	-	-	-	83.33%	19.88%	-	-	86%	-	-	-	-	14%

ชนิดของแบคทีเรีย																
ตัวอย่าง	Vibrio								Pseudomonas							
	V. alginolyticus	V. cholerae	V. fluvialis	V. furnissii	V. mimicus	V. parahaemolyticus	V. vulnificus	bacteria	P. aeruginosa	P. alcaligenes	P. cichorii	P. mendocina	P. putida	P. stutzeri	Unidentified	
21	-	-	83.33%	-	-	16.67%	-	-	-	86.49%	-	-	-	-	-	13.51%
21	-	-	27.59%	-	75.8%	-	-	-	37.5%	56.25%	-	-	-	-	-	-
21	-	-	24.49%	-	75.51%	-	-	-	61.02%	39.98%	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	96.08%	-	3.92%	-	78.26%	-	21.74%	-	-	-	-
21	14.29%	-	85.71%	-	-	-	-	-	64.64%	-	-	20.73%	-	-	-	14.63%
21	-	80%	-	-	-	-	20%	-	-	84.62%	-	15.38%	-	-	-	-
21	-	-	-	-	85.71%	-	-	14.28%	-	87.88%	-	-	12.12%	-	-	-
28	-	-	-	-	60%	-	40%	-	-	100%	-	-	-	-	-	-
28	-	-	56.76%	38.51%	-	-	-	4.73%	40.5%	47.93%	-	11.57%	-	-	-	-
21	-	-	-	-	91.80%	8.20%	-	-	-	72%	32%	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	52.78%	-	47.22%	-	65.79%	-	-	-	-	26.32%	-	-
21	-	11.54%	34.62%	-	53.85%	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	31.83%	-	54.55%	13.64%	-	88.89%	-	-	-	-	-	11.11%
21	-	-	-	-	-	33.34%	66.67%	-	-	-	-	-	66.67%	33.33%	-	-
36	79.49%	-	-	-	-	-	14.10%	6.41%	80.00%	-	-	-	20.00%	-	-	-
37	50%	-	-	-	50%	-	-	-	-	66.67%	-	25%	-	-	-	8.33%
21	-	-	-	-	27.27%	39.77%	34.10%	-	12.00%	85.63%	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	72.73%	-	27.27%	-	94.74%	-	-	-	-	-	-	5.26%
21	-	-	40%	-	-	50%	-	20%	-	96.15%	3.85%	-	-	-	-	-
รวมตัวอย่างทั้งหมด	6	-	11	-	19	11	21	10	17	30	8	11	-	5	14	

จากการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดชลบุรี เพื่อศึกษาถึงปริมาณและการแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่ม Total heterotroph, *Vibrio* และ *Pseudomonas* แสดงผลการทดลองดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณแบคทีเรียที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อจากการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดชลบุรี

ตัวอย่าง	ปริมาณแบคทีเรีย		
	Total heterotroph ($\times 10^3$ CFU/g)	<i>Vibrio</i> ($\times 10^3$ CFU/g)	<i>Pseudomonas</i> ($\times 10^3$ CFU/g)
1	$12.90 \pm 1.56^{op,1}$	$4.20 \pm 0.85^{pq,2}$	$2.03 \pm 0.47^{mnop,3}$
2	$9.95 \pm 0.07^{pq,2}$	$71.50 \pm 2.12^{g,1}$	$13.00 \pm 2.83^{i,2}$
1	$16.00 \pm 1.41^{n,2}$	$99.00 \pm 10.82^{c,1}$	$2.10 \pm 0.56^{mnop,3}$
2	$58.50 \pm 2.12^{i,1}$	$36.00 \pm 8.49^{k,2}$	$12.85 \pm 0.07^{i,3}$
1	$40.00 \pm 1.41^{kl,1}$	$49.00 \pm 7.07^{i,1}$	$19.10 \pm 0.14^{i,2}$
2	$19.50 \pm 2.12^{n,3}$	$224.00 \pm 1.41^{a,1}$	$63.00 \pm 2.83^{c,2}$
7	$115.00 \pm 4.24^{d,2}$	$176.67 \pm 5.77^{b,1}$	$26.00 \pm 4.24^{gh,3}$
1	$13.70 \pm 1.84^{op,3}$	$37.00 \pm 1.41^{k,1}$	$18.00 \pm 1.41^{i,2}$
7	$8.00 \pm 0.57^{qr,2}$	$146.50 \pm 12.02^{c,1}$	$4.00 \pm 2.40^{lm,2}$
2	$37.00 \pm 6.00^{i,2}$	$142.00 \pm 4.24^{c,1}$	$19.25 \pm 3.46^{i,3}$
7	$4.07 \pm 0.49^{r,2}$	$6.50 \pm 0.14^{op,1}$	$4.55 \pm 1.06^{lm,2}$
1	$59.50 \pm 4.94^{i,2}$	$123.00 \pm 1.41^{d,1}$	$32.5 \pm 4.94^{i,3}$
7	$28.20 \pm 0.10^{m,1}$	$3.00 \pm 0.00^{pq,2}$	$2.10 \pm 1.13^{mnop,2}$
14	$99.50 \pm 0.71^{c,1}$	$94.00 \pm 1.41^{f,2}$	$0.07 \pm 0.11^{p,3}$
15	$44.00 \pm 4.24^{k,1}$	$4.50 \pm 0.71^{pq,2}$	$1.80 \pm 0.42^{nop,2}$
15	$27.00 \pm 1.41^{m,1}$	$28.00 \pm 3.61^{i,1}$	$6.80 \pm 2.40^{i,2}$
17	$96.50 \pm 4.95^{cf,1}$	$34.50 \pm 2.12^{k,2}$	$1.33 \pm 0.58^{op,3}$
14	$17.65 \pm 0.78^{n,1}$	$0.63 \pm 0.32^{q,2}$	$0.03 \pm 0.06^{p,2}$
2	$27.87 \pm 0.61^{m,1}$	$4.70 \pm 1.70^{pq,2}$	$0.13 \pm 0.11^{p,3}$
14	$915.00 \pm 7.07^{a,1}$	$5.00 \pm 0.28^{pq,2}$	$0.17 \pm 0.21^{p,2}$
1	$27.60 \pm 0.40^{m,1}$	$16.00 \pm 0.75^{mn,2}$	$5.05 \pm 0.07^{lm,3}$

254670

๒๓๙.๒๔
 ก๒๒๓๗๖
 ๓-๒

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ปริมาณแบคทีเรีย		
	Total heterotroph ($\times 10^3$ CFU/g)	<i>Vibrio</i> ($\times 10^3$ CFU/g)	<i>Pseudomonas</i> ($\times 10^3$ CFU/g)
22	14.05 $\pm$ 4.31 ^{op,1}	16.30 $\pm$ 0.56 ^{m,1}	0.93 $\pm$ 0.45 ^{op,2}
22	15.85 $\pm$ 1.34 ^{n,1}	13.00 $\pm$ 1.65 ^{mn,1}	0.13 $\pm$ 0.15 ^{p,2}
24	7.85 $\pm$ 3.46 ^{q,2}	4.50 $\pm$ 2.12 ^{pq,2}	9.75 $\pm$ 0.64 ^{k,1}
24	4.50 $\pm$ 0.70 ^{r,2}	4.00 $\pm$ 0.00 ^{pq,2}	31.00 $\pm$ 6.00 ^{f,1}
22	17.75 $\pm$ 0.78 ^{n,1}	13.90 $\pm$ 1.13 ^{mn,2}	0.07 $\pm$ 0.12 ^{p,3}
24	123.50 $\pm$ 0.71 ^{c,1}	14.15 $\pm$ 1.20 ^{mn,2}	0.13 $\pm$ 0.12 ^{p,3}
24	74.50 $\pm$ 2.12 ^{h,1}	13.30 $\pm$ 0.40 ^{mn,2}	0.23 $\pm$ 0.06 ^{p,3}
22	82.00 $\pm$ 1.41 ^{g,1}	23.50 $\pm$ 2.12 ^{l,2}	0.37 $\pm$ 0.35 ^{h,3}
22	94.00 $\pm$ 1.41 ^{i,2}	10.55 $\pm$ 0.21 ^{mn,1}	0.50 $\pm$ 0.87 ^{p,3}
22	50.50 $\pm$ 2.12 ^{j,1}	11.65 $\pm$ 0.49 ^{mn,2}	0.90 $\pm$ 0.00 ^{op,3}
24	151.50 $\pm$ 2.12 ^{h,2}	100.50 $\pm$ 0.71 ^{c,1}	38.66 $\pm$ 2.52 ^{e,3}
22	94.00 $\pm$ 1.41 ^{i,2}	12.50 $\pm$ 0.56 ^{mn,2}	0.87 $\pm$ 0.25 ^{j,3}
24	80.00 $\pm$ 1.41 ^{g,2}	53.33 $\pm$ 0.58 ^{h,3}	98.00 $\pm$ 4.24 ^{a,1}
22	73.33 $\pm$ 0.57 ^{h,2}	34.50 $\pm$ 2.12 ^{k,3}	91.00 $\pm$ 2.83 ^{h,1}
- 36	29.50 $\pm$ 0.71 ^{m,2}	70.50 $\pm$ 0.71 ^{g,1}	63.00 $\pm$ 2.83 ^{c,1}
- 36	82.00 $\pm$ 1.41 ^{g,1}	56.50 $\pm$ 0.71 ^{h,2}	46.50 $\pm$ 2.12 ^{d,3}
- 36	53.50 $\pm$ 0.71 ^{j,1}	34.50 $\pm$ 2.12 ^{k,3}	24.00 $\pm$ 1.41 ^{h,3}
- 36	50.50 $\pm$ 2.12 ^{j,1}	13.30 $\pm$ 0.40 ^{mn,2}	28.00 $\pm$ 1.41 ^{g,2}
- 36	55.00 $\pm$ 1.41 ^{h,1}	42.50 $\pm$ 0.71 ^{j,2}	28.00 $\pm$ 1.41 ^{g,2}

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษไม่เหมือนกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตัวเลขที่ไม่เหมือนกันในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากการเก็บตัวอย่างกุ้งขาวจากการเพาะเลี้ยงพบปริมาณของแบคทีเรียกลุ่ม Total heterotroph, *Vibrio* และ *Pseudomonas* ดังตารางที่ 4 จากการจัดจำแนกแบคทีเรียสกุลต่างๆ ที่พบในตัวอย่างกุ้งขาว พบแบคทีเรีย ได้แก่ *Aeromonas* spp., *Bacillus* spp., *Citrobacter* spp., *Flavobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Moraxella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *P. alcaligenes*, *P. cichocii*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. pseudoalcaligenes*, *Shigella sonnei*, *S. flexneri*, *Staphylococcus* spp., *Vibrio alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvalis*, *V. furnisii*, *V. metschnikovii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *Yersinia* spp.

ตารางที่ 4 ชนิดแบคทีเรียที่พบจากตัวอย่างกุ้งขาวจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดชลบุรี

ตัวอย่าง	ชนิดของแบคทีเรีย											
	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Flavobacterium</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Moraxella</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Yersinia</i> spp.	Unidentified bacteria
1	25%	-	-	-	-	50%	-	50%	-	-	-	-
2	20%	-	-	-	-	20%	60%	-	-	-	-	-
2	33.33%	-	-	-	-	66.67%	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	66.67%	-	33.33%	-	-	-	-
1	-	-	50%	-	-	-	-	-	-	-	50%	-
6	-	-	-	-	-	-	50%	-	25%	25%	-	-
2	-	20%	-	-	-	-	60%	-	20%	-	-	-
2	-	33.33%	-	-	-	22.22%	-	-	22.22%	-	22.22%	-
9	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	-
10	16.67%	33.33%	-	-	-	50%	-	-	-	-	-	-
10	20%	20%	-	-	-	20%	-	-	-	40%	-	-
12	-	25%	-	-	-	50%	-	-	-	-	25%	-
13	-	-	33.33%	-	-	33.33%	33.33%	-	-	-	-	-
10	50%	-	16.67%	-	-	33.33%	-	-	-	-	-	-
15	-	-	25%	-	-	25%	25%	-	-	25%	-	-
15	-	50%	25%	-	-	25%	-	-	-	-	-	-
9	-	33.33%	33.33%	-	-	33.33%	-	-	-	-	-	-
15	14.29%	-	-	-	-	42.86%	14.29%	-	-	28.57%	-	-
10	-	-	20%	-	-	60%	20%	-	-	-	-	-
10	-	-	50%	-	-	-	50%	-	-	-	-	-

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ชนิดของแบคทีเรีย											
	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Flavobacterium</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Moraxella</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Yersinia</i> spp.	Unidentified bacteria
21	-	-	50%	-	-	-	50%	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	-
23	16.67%	16.67%	-	-	-	33.33%	16.67%	-	-	16.67%	-	-
24	20%	40%	-	-	-	20%	20%	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	33.33%	-	33.33%	-	-	33.33%	-	-
25	25%	-	25%	-	-	-	25%	-	-	-	25%	-
25	33.33%	-	33.33%	-	-	-	-	-	-	-	33.33%	-
28	-	-	-	-	-	50%	-	50%	-	-	-	-
29	-	-	33.33%	33.33%	-	33.33%	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	50%	-	-	-	-	50%	-
24	-	-	25%	-	-	-	-	-	-	-	-	75%
32	-	-	50%	-	-	50%	-	-	-	-	-	-
33	-	-	50%	-	-	-	50%	-	-	-	-	-
32	50%	-	-	-	-	50%	-	-	-	-	-	-
35	50%	25%	25%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	33.33%	33.33%	-	-	-	33.33%	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	50%	-	-	-	-	50%	-
30	-	-	-	-	-	50%	-	-	-	-	50%	-
รวมตัวอย่างที่พบ	14	11	16	-	1	29	11	3	-	6	8	1

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ชนิดของแบคทีเรีย														
	<i>Pseudomonas</i>							<i>Vibrio</i>							
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. alcaligenes</i>	<i>P. chlororaphis</i>	<i>P. cichorii</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. pseudocaligenes</i>	Unidentified bacteria	<i>V. alginolyticus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. furnissii</i>	<i>V. metschnikovii</i>	<i>V. mimicus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>	Unidentified bacteria
1	-	33.33%	-	-	-	66.67%	-	-	-	-	75%	-	25%	-	-
2	-	25%	-	-	-	25%	-	-	75%	-	-	25%	-	-	-
3	-	75%	-	-	-	25%	-	-	16.67%	-	33.33%	50%	-	-	-
4	-	50%	-	-	-	50%	-	-	14.29%	-	42.86%	14.29%	14.29%	14.29%	-
5	-	66.67%	-	-	-	-	33.33%	-	20%	-	60%	20%	-	-	-
3	-	66.67%	-	-	-	-	-	-	-	-	50%	50%	-	-	-
7	33.33%	66.67%	-	-	-	-	-	-	-	-	25%	50%	-	25%	-
3	50%	25%	-	-	-	25%	-	-	-	-	50%	-	50%	-	-
5	100%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	60%	-	-	-	40%
10	33.33%	33.33%	-	-	-	33.33%	-	-	80%	-	-	-	-	-	20%
11	-	66.67%	-	-	-	33.33%	-	-	-	-	20%	-	60%	20%	-
12	25%	50%	-	-	-	25%	-	-	-	-	40%	-	20%	40%	-
11	3	-	-	-	75%	25%	-	20%	-	-	20%	40%	50%	-	-
14	-	66.67%	-	-	-	-	33.33%	-	-	-	-	50%	50%	-	-
15	-	66.67%	33.33%	-	-	-	-	-	-	25%	50%	25%	-	-	-
16	-	66.67%	-	-	-	33.33%	-	-	16.67%	-	33.33%	33.33%	16.67%	-	-
17	33.33%	66.67%	-	-	-	-	-	50%	-	-	50%	-	-	-	-
16	-	60%	-	-	-	-	40%	50%	-	-	50%	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	100%	-	-	-	-
20	-	50%	-	-	-	50%	-	-	50%	-	50%	-	-	-	-

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ชนิดของแบคทีเรีย														
	Pseudomonas							Vibrio							
	P. aeruginosa	P. alcaligenes	P. chlororaphis	P. cichorii	P. fluorescens	P. pseudoalcaligenes	Unidentified bacteria	V. alginolyticus	V. cholerae	V. furnissii	V. metschnikovii	V. furnissii	V. parahaemolyticus	V. vulnificus	Unidentified bacteria
21	-	-	-	-	40%	80%	-	-	-	-	100%	-	-	-	-
21	-	20%	-	-	-	80%	-	33.33%	-	-	66.67%	-	-	-	-
21	-	50%	-	-	-	50%	-	-	33.33%	-	66.67%	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-	50%	50%	-	-	-
25	-	25%	-	-	-	75%	-	-	-	-	100%	-	-	-	-
21	20%	80%	-	-	-	-	-	-	-	-	50%	50%	-	-	-
21	50%	25%	-	-	25%	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-
28	33.33%	33.33%	-	-	33.33%	-	-	-	75%	-	25%	-	-	-	-
25	75%	25%	-	-	-	-	-	-	33.33%	-	66.67%	-	-	-	-
25	50%	-	50%	-	-	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-
28	40%	40%	20%	-	-	-	-	-	33.33%	-	66.67%	-	-	-	-
25	-	66.67%	-	-	-	33.33%	-	-	50%	-	50%	-	-	-	-
28	33.33%	66.67%	-	-	-	-	-	-	-	-	50%	-	50%	-	-
25	-	50%	25%	-	25%	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-
25	-	-	-	33.33%	33.33%	33.33%	-	50%	-	-	50%	-	-	-	-
36	-	-	-	60%	-	-	40%	50%	-	-	100%	-	-	-	-
37	-	-	-	100%	-	-	-	-	-	50%	50%	-	-	-	-
36	-	-	-	25%	25%	50%	-	-	-	-	100%	-	-	-	-
37	-	25%	-	25%	50%	-	-	-	-	-	100%	-	-	-	-
40	-	33.33%	-	66.67%	-	-	-	-	50%	-	50%	-	-	-	-
รวมตัวอย่างที่พบ	13	30	4	6	8	20	4	6	13	2	37	12	9	4	2

2. การสำรวจและค้นคว้าเอกสารเกี่ยวกับสมุนไพรชนิดต่างๆ ที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่พบในระบบเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สมุนไพรที่ได้ทำการสำรวจที่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรียชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลของสมุนไพรชนิดต่างๆ ในการยับยั้งจุลินทรีย์

ชื่อสมุนไพร	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	สารสกัด	ผลการออกฤทธิ์	ยับยั้งเชื้อ	คุณสมบัติพิเศษ อื่นๆ	เอกสารอ้างอิง
ตะขุง	Castor-Oil Plant	<i>Ricinus communis</i>	butanolic	มีฤทธิ์สูง	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	Immanuel et al., 2004
ว่านธรณีสาร	-	<i>Phyllanthus niruri</i>	butanolic	มีฤทธิ์ปานกลาง	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	Immanuel et al., 2004
หญ้าคั่วเต้า	Harsh slit wert, Yaa hua to	<i>Leucus aspera</i>	butanolic	มีฤทธิ์ปานกลาง	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	Immanuel et al., 2004
มันสำปะหลัง	Cassava Root	<i>Manihot esculenta</i>	butanolic	มีฤทธิ์ต่ำ	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	Immanuel et al., 2004
เมล็ดพืชตระกูลพลิว		<i>Piper nigrum</i> (L.)	ethanolic	มีฤทธิ์	<i>Candida albicans</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Proteus vulgaris</i>	-	Okeke et al., 2001
	สะเดาอินเดีย	<i>Azadirachta indica</i> Juss		มีฤทธิ์	<i>Alternaria trititina</i>	-	Parveen and Kumar, 2000
	กะเพรา	Holy basil, Sacred basil		มีฤทธิ์	<i>Alternaria trititina</i>	-	Parveen and Kumar, 2000
	ขิง	<i>Zingiber officinale</i> Rosc.		มีฤทธิ์	<i>Alternaria trititina</i>	-	Parveen and Kumar, 2000

ตารางที่ 5 ผลของสมุนไพรชนิดต่างๆ ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (ต่อ)

ชื่อสมุนไพร	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	สารสกัด	ผลการออกฤทธิ์	ยับยั้งเชื้อ	คุณสมบัติพิเศษอื่นๆ	เอกสารอ้างอิง
ฟ้าทะลายโจร	Sugar Apple, Custard Apple	<i>Andrographis paniculata</i> Ness.	methonolic	มีฤทธิ์	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas vulgaris</i> <i>Salmonella Typhi</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> <i>Vibrio</i> sp., <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	-ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้งกุลาดำ ระยะโพสลาวา -เพิ่มอัตราการรอดชีวิตของลูกกุ้งให้สูงขึ้น ระดับสูง	Citarasu, 2000
มะแว้งเครือ	-	<i>Solanum trilobatum</i> Linn.	methonolic	มีฤทธิ์	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas vulgaris</i> <i>Salmonella Typhi</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> <i>Vibrio</i> sp., <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	-ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้งกุลาดำ ระยะโพสลาวา -เพิ่มอัตราการรอดชีวิตของลูกกุ้งให้สูงขึ้น ระดับสูง	Citarasu, 2000
-	Psoralea seed, Malay tea, Bemchi	<i>Psoralea corylifolia</i>	methonolic	มีฤทธิ์สูง	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas vulgaris</i> <i>Salmonella Typhi</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>Vibrio</i> sp. <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>	-ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้งกุลาดำ ระยะโพสลาวา -เพิ่มอัตราการรอดชีวิตของลูกกุ้งให้สูงขึ้น ระดับสูง	Citarasu, 2000

และได้ดำเนินการเลือกสมุนไพรจำนวน 4 ชนิดมาสกัดและดำเนินการทดสอบความสามารถในการยับยั้งหรือฆ่าแบคทีเรียที่พบในแบคทีเรียที่ปนเปื้อน

3. การสกัดสมุนไพร

จากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่าสารสกัดสารสกัดกระเทียมด้วย Methanol มีเปอร์เซ็นต์การสกัดสูงสุดถึง 10.62% รองลงมา คือสารสกัดสารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ 7.71% ส่วนสารสกัดจากสารสกัดชาด้วยน้ำ สารสกัดขมิ้นด้วยน้ำและสารสกัดขมิ้นด้วย Dichloromethane ให้เปอร์เซ็นต์การสกัดในปริมาณน้อยคือ 0.77-0.79 % หลังจากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดไปทดสอบในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 4 ชนิดที่แยกมาจากสิ่งแวดล้อมหรือตัวปลาตุ๋นอู่ฟรังก์ดังแสดงในตารางที่ 7

จากผลการทดลองในตารางที่ 7 พบว่าสารสกัดสารสกัดขมิ้นด้วย methanol มีความสามารถในการยับยั้ง *P. fluorescens* มากที่สุดคือ มี inhibition zone เท่ากับ 11 ± 2.516611 มิลลิเมตร รองลงมาคือ สารสกัดพริกด้วย methanol, สารสกัดขิงด้วย methanol, สารสกัดขิงด้วยน้ำ

หลังจากนั้นนำสารสกัดพริก ขมิ้นและขิงด้วยสารเมทานอลมาทดสอบในการแข่งขันเปรียบเทียบกับชุดแข่งขันที่ไม่มีการเติมและมีการเติมยาปฏิชีวนะชนิด penicillin-streptomycin 1% ผลการทดสอบพบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมยาปฏิชีวนะและชุดที่มีการเติมสารสกัดขิงด้วยเมทานอลพบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่สูงสุด เท่ากับ $37.78 \pm 2.22\%$ และลดแบคทีเรียกลุ่ม THB ได้ 100% ภายในการแข่งขัน 90 วัน โดยชุดควบคุมมีการลดลงของปริมาณแบคทีเรีย 100% เช่นกัน แต่มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ $35.55 \pm 2.22\%$ ส่วนสารสกัดขมิ้นและพริกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่ม THB ได้ 100% แต่มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เท่ากับ $15.55 \pm 2.22\%$ และ $22.22 \pm 2.22\%$ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 6 ปริมาณของสารสกัดของสมุนไพร

สารสกัดสมุนไพร	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	Extract yield (กรัม)	Extract yield (%)
สารสกัดพริกด้วยน้ำ	700	26.04	3.72
สารสกัดพริกด้วย Methanol	700	27.83	3.98
สารสกัดพริกด้วย Dichloromethane	700	18.86	2.69
สารสกัดขิงด้วยน้ำ	650	5.14	0.79
สารสกัดขิงด้วย Methanol	650	11.75	1.81
สารสกัดขิงด้วย Dichloromethane	650	7.68	1.18
สารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ	700	53.98	7.71
สารสกัดกระเทียมด้วย Methanol	700	74.37	10.62
สารสกัดกระเทียมด้วย Dichloromethane	700	18.7	2.67
สารสกัดขมิ้นด้วยน้ำ	800	6.14	0.77
สารสกัดขมิ้นด้วย Methanol	800	8.18	1.02
สารสกัดขมิ้นด้วย Dichloromethane	800	6.2	0.78

ตารางที่ 7 ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียบางชนิดด้วยสารสกัดสมุนไพรจำนวน 4 ชนิด

สารสกัดสมุนไพร	Inhibition zone (มิลลิเมตร)		
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>		
	2.5 mg/ml	250 mg/ml	800 mg/ml
Dichloromethane (DCM)	6±0.0	6±0.0	6±0.0
METHANOL	7±0.0	7±0.0	7±0.0
น้ำ	6±0.0	6±0.0	6±0.0
สารสกัดพริกด้วย DCM	6±0.0	6±0.0	6±0.0
สารสกัดพริกด้วย methanol	7.1±1.266228	9.5±1.266228	7.6±1.266228
สารสกัดพริกด้วยน้ำ	6±0.0	6±0.0	6±0.0
สารสกัดกระเทียมด้วย DCM	6±0.0	6±0.0	6±0.0
สารสกัดกระเทียมด้วย methanol	6±0.0	6±0.0	6±0.0
สารสกัดกระเทียมด้วยน้ำ	6±0.0	6±0.0	6±0.0
สารสกัดขมิ้นด้วย DCM	6±0.0	6±0.0	6±0.0
สารสกัดขมิ้นด้วย methanol	11±2.516611	8±2.516611	6±2.516611
สารสกัดขมิ้นด้วยน้ำ	6±0.0	6±0.0	6±0.0
สารสกัดขิงด้วย DCM	6±0.0	6±0.0	6±0.0
สารสกัดขิงด้วย methanol	6±0.57735	6±0.57735	7±0.57735
สารสกัดขิงด้วยน้ำ	6±0.0	6±0.0	6±0.0

บทที่ 6

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาพบว่างานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกเริ่มที่ทำการศึกษาถึงปริมาณของแบคทีเรียกลุ่ม THB, *Vibrio* และ *Pseudomonas* ในกุ้งขาวจากตลาดและจากฟาร์มเพาะเลี้ยงในประเทศไทย ดังนั้นผลการศึกษารั้งนี้ น่าจะมีประโยชน์อย่างสูงต่องานวิจัยในอนาคตที่จะทำการศึกษาในด้านแบคทีเรียวิทยาในปลาดุกอัมพรกันเพื่อการประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆต่อไป และในการศึกษารั้งนี้พบว่าในกุ้งขาวมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม THB ที่วางจำหน่ายตามตลาดต่าง ๆ ภายในจังหวัดชลบุรีอยู่ในช่วง $0.34 \pm 0.1 \times 10^4$ CFU/g ถึง $1,505.00 \pm 77.78 \times 10^4$ CFU/g ส่วนจากกุ้งขาวที่เพาะเลี้ยงในจังหวัดชลบุรีอยู่ในช่วง 4.07 ± 0.49 CFU/g ถึง $975.00 \pm 7.07 \times 10^3$ CFU/g ส่วนปริมาณกลุ่ม *Vibrio* อยู่ในช่วงปริมาณที่น้อยจนไม่สามารถตรวจพบถึง $0.03 \pm 0.00 \times 10^4$ CFU/g และกลุ่ม *Pseudomonas* มีปริมาณอยู่ในช่วง $0.07 \pm 0.01 \times 10^4$ CFU/g ถึง $80.67 \pm 3.79 \times 10^4$ CFU/g และจากฟาร์มเพาะเลี้ยงอยู่ในช่วง 4.20 ± 0.85 ถึง $224.00 \pm 1.41 \times 10^3$ CFU/g

ส่วนชนิดของแบคทีเรียที่พบในกุ้งขาวมีความหลากหลายทั้งฟาร์มเพาะเลี้ยงและจากตลาด ได้แก่ *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Bacillus* spp., *Citrobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia* spp., *Flavobacterium* spp., *Klebsiella* spp., *Lactobacillus* spp., *Moraxella* spp., *Pasteurella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Shigella dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei*, *Staphylococcus* spp., *Vibrio* spp., *Yersinia* spp., *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. fluvialis*, *V. furnisii*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *P. aeruginosa*, *P. alcaligenes*, *P. chlororaphis*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. cichocii*, *P. mendocina*, *P. putida* และ *P. stutzeri* พบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการก่อโรคในคน คือ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* และ *P. aeruginosa*

แบคทีเรียสกุล *Vibrio* มากกว่า 30 สปีชีส์เป็นแบคทีเรียที่สามารถก่อโรคในมนุษย์และในกุ้งได้ โดยแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางการแพทย์และก่อโรคที่สำคัญในมนุษย์ คือ *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* และ *V. vulnificus* (นงลักษณ์, 2547) โดย *V. cholerae* ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงอย่างรุนแรงหรืออหิวาตกโรค (Dalsgaard et al., 1995) ช่องทางการติดเชื้อเข้าสู่ร่างกายมาจากการกินน้ำหรืออาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ *V. cholerae* สามารถพบได้ในน้ำทะเลหรือซึ่งมีโอกาสสูงที่จะเกิดการปนเปื้อนในตัวกุ้ง หรืออาจเกิดการปนเปื้อนในกุ้งขาวขณะอยู่ที่โรงเพาะฟักลูกกุ้งก่อนที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในบ่อดิน (ลิลา, 2540) *V. parahaemolyticus* ก่อให้เกิดโรคกระเพาะอาหารลำไส้อักเสบในมนุษย์ เชื้อนี้สามารถตรวจพบได้บ่อยในอาหารทะเลที่เพาะเลี้ยงในน้ำกร่อยในระหว่างฤดูร้อน เมื่อได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเสีย มีไข้ และ *V. vulnificus* ทำให้เกิดโรคกับคนได้ 3 ลักษณะ คือ การติดเชื้อที่บาดแผล เกิดอาการโลหิต

เป็นพิษและอาการท้องร่วงรุนแรง (นงลักษณ์, 2547) ซึ่งสาเหตุการติดเชื้อส่วนใหญ่จะเกิดจากการสัมผัสกับน้ำทะเลหรือรับประทานอาหารทะเลดิบที่มีการปนเปื้อนเชื้อเข้าไป (นันทนา และบัญญัติ, 2532) ส่วนแบคทีเรียสกุล *Vibrio* ที่มีความสำคัญในการก่อโรคในสัตว์ทะเลรวมถึงกุ้งคือ *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. vulnificus*, *V. penaeicida*, *V. mimicus* และ *Vibrio* spp. แบคทีเรียเหล่านี้จะก่อให้เกิดโรคในกุ้ง ได้แก่ โรค Vibriosis (Sudheesh *et al.*, 2002) โรค Vibriosis เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงกุ้ง โดยเฉพาะในโรงฟักกุ้งที่เกิดการติดเชื้อมักจะมีอัตราการตายร้อยละ 100 (นพดล และคณะ, 2547) ระยะการติดเชื้อนี้สามารถเกิดขึ้นได้ในทุกระยะชีวิตของกุ้งขาว อาการที่พบเมื่อกุ้งเกิดการติดเชื้อ คือ การเกิดรอยแผลติดเชื้อบนเปลือกกุ้ง (ปิยะบุตร, 2547) ส่วนโรคอื่นๆ เช่น โรคเสี้ยนดำเกิดจาก *V. vulnificus* ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถพบได้ทั่วไปในน้ำทะเล (Gopal *et al.*, 2005)

แนวทางการป้องกันการเกิดโรคจากแบคทีเรียสกุล *Vibrio* คือต้องผ่านกรรมวิธีในการปรุงอาหารให้สุก เช่น *V. parahaemolyticus* ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หรืออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที (พิไลพรรณ และบัญญัติ, 2521) จึงควรมีการแนะนำให้ประชาชนระมัดระวังการปนเปื้อนของเชื้อจากแหล่งต่างๆ และผู้ที่เกี่ยวข้องควรให้ข้อมูลกับประชาชนได้ทราบถึงการปนเปื้อนจาก *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* ในอาหารทะเลนั้นเกิดขึ้นได้ทุกเมื่อโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูร้อน ดังนั้นในการรับประทานอาหารทะเลต่างๆ จึงควรหลีกเลี่ยงที่จะรับประทานอาหารทะเลสุก ๆ ดิบ ๆ เพื่อลดอัตราการปนเปื้อนของเชื้อเข้าสู่ร่างกายของผู้บริโภค (นันทนา และบัญญัติ, 2532)

เมื่อจำแนกเชื้อพบว่าแบคทีเรียที่พบในตัวอย่างกุ้งขาวส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียสกุล *Flavobacterium* spp. (53.33 %) การปนเปื้อนจากแบคทีเรียสกุล *Flavobacterium* spp. บ่งบอกถึงการปนเปื้อนมาจากธรรมชาติ เช่น ดิน และน้ำ ซึ่งอาจเกิดจากสถานที่ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้ง หรือน้ำที่ใช้ทำความสะอาด *Flavobacterium* บางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ (Dalsgaard, 2001) และเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่อาจก่อให้เกิดโรคต่างๆ ในเด็กและคนที่มีภูมิคุ้มกันอ่อนแอ ดังกล่าว รายงานของ Maclean, Vinogradov, Crump, Perry and Kay (2001) ที่กล่าวว่า *Flavobacterium* สามารถก่อให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบได้ ถ้าเกิดการสัมผัสเชื้ออาจก่อให้เกิดอันตรายได้ ดังนั้นควรทำความสะอาดกุ้งก่อนเพื่อลดจำนวนแบคทีเรีย ควรปรุงให้สุกก่อนรับประทาน และควรระมัดระวังในการสัมผัสกับสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำ หรือ ดิน เพื่อป้องกันการติดตัวของเชื้อ

แบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนรองลงมาคือ *Aeromonas* spp. การปนเปื้อนจาก *Aeromonas* spp. บ่งบอกถึงการปนเปื้อนอาจเนื่องมาจากสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำ เนื่องจาก *Aeromonas* spp. เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอย่างอิสระในน้ำจืด หรือน้ำกร่อย (Baron, Peterson and Finegold, 1994) บางครั้งพบในปลา ในดิน หรือในอาหาร และเป็นเชื้อฉวยโอกาสสามารถติดเชื้อในคนที่มีภูมิคุ้มกันอ่อนแอ อาจก่อให้เกิดโรคท้องร่วงอย่างรุนแรงในเด็ก (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) ดังนั้นควรมีการ

แนะนำให้เกษตรกรมีการระมัดระวังและแก้ปัญหาเพื่อไม่ให้เกิดการติดเชื้อและป้องกันการระบาดของแบคทีเรียกลุ่ม *Aeromonas* spp.

แบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนรองลงมาคือ *Bacillus* spp. บ่งบอกถึงการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม การปนเปื้อนอาจเนื่องมาจากน้ำและดินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหรือน้ำที่ใช้ในการทำความสะดวก รวบรวมถึงเครื่องมือในการจับ (บุษกร อุดรชาติ, 2547) *Bacillus* บางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (US. Food & Drug Administration, 2000) นอกจากนี้ยังสามารถพบแบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนรองลงมาคือ *Vibrio* spp. ซึ่งการปนเปื้อนจาก *Vibrio* spp. บ่งบอกถึงอันตรายของการเกิดโรคในกุ้งเนื่องจาก *Vibrio* จะก่อให้เกิดโรควิบรี-โอซิส (Vibriosis) (สุวัฒน์, แก้วกานต์, นเรศ และวีรพงศ์, 2549) และอาจก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคได้ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547) นอกจากนี้ยังสามารถพบแบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนรองลงมาคือ *Staphylococcus* spp. การปนเปื้อนจากแบคทีเรียสกุล *Staphylococcus* spp. บ่งบอกถึงสุขลักษณะของผู้ที่เกี่ยวข้องกับการเก็บรักษาโดยอาจมีการสัมผัสจากผู้ขายหรือเกษตรกรที่เพาะเลี้ยง เพราะ *Staphylococcus* spp. เป็นเชื้อที่พบบริเวณผิวหนังมนุษย์ (นันทนา อรุณรักษ์, 2537) แบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนรองลงมาคือ *Pseudomonas* spp. ซึ่ง *Pseudomonas* เป็นเชื้อฉวยโอกาสอาจก่อให้เกิดโรคกับเด็กและผู้ที่มีภูมิคุ้มกันอ่อนแอ (Baron และคณะ, 1994)

นอกจากนี้ยังสามารถพบแบคทีเรียสกุลอื่นๆ ที่มีการปนเปื้อน เช่น *Corynebacterium* spp., *Moraxella* spp. และ *Enterobacter* spp. *Corynebacterium* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อมและบางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรค (บุษกร อุดรชาติ, 2547) สำหรับ *Moraxella* spp. เป็นเชื้อฉวยโอกาสบางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรคการอักเสบของโพรงกระดูกที่กะโหลกศีรษะ และโรคเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger and Winn, 1999) นอกจากนี้สามารถพบสกุล *Moraxella* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบมากในกุ้ง (บุษกร อุดรชาติ, 2547) ดังนั้นก่อนบริโภค ผู้บริโภคควรล้างทำความสะอาดเพื่อลดปริมาณแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับตัวกุ้ง และควรปรุงให้สุกก่อนรับประทานเพื่อลดหรือทำลายแบคทีเรียที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค สำหรับ *Enterobacter* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อมและเป็นเชื้อฉวยโอกาสอาจก่อให้เกิดโรคในคนได้ (สุวณี สุภเวชย์ และ มาลัย วรจิตร, 2536) แบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนรองลงมาคือ *Proteus* spp. การปนเปื้อนจากแบคทีเรียสกุล *Proteus* spp. บ่งบอกถึงอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษากุ้งเพราะกุ้งที่เก็บในที่ที่มีอุณหภูมิสูงประมาณ 16.7-22.2 องศาเซลเซียส มักเกิดการเน่าเสียโดยเชื้อกลุ่ม *Proteus* sp. (บุษกร อุดรชาติ, 2547) นอกจากนี้ *Proteus* sp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารพิษฮีสตามีน (Kalamaki และคณะ, 1997)

นอกจากนี้ยังสามารถพบแบคทีเรียสกุล *Serratia* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบในธรรมชาติแพร่กระจายอยู่ในดินและ *Serratia* spp. เป็นเชื้อฉวยโอกาสทำให้เกิดติดเชื้อในเด็กแรกเกิดหรือผู้ที่อ่อนแอได้ (Baron และคณะ, 1994) แบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนรองลงมาคือ *Alcaligenes* spp. และ

Acinetobacter spp. สอดคล้องกับการรายงานของ Lakshmanan และคณะ (2002) รายงานว่า พบแบคทีเรียสกุล *Alcaligenes* และ *Acinetobacter* ในตัวอย่างปลาและกุ้งที่เก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง และสามารถพบ *Acinetobacter* ในปลาทูน่า (Middlebrooks et al., 1988) สำหรับการปนเปื้อนจาก *Alcaligenes* spp. และ *Acinetobacter* spp. บ่งบอกถึงการปนเปื้อนมาจากสิ่งแวดล้อม แต่เป็นเชื้อฉวยโอกาสสามารถก่อโรคแก่คนได้ (สุวณี สุกเวชย์ และ มาลัย วรจิตร, 2536) ดังนั้นควรระมัดระวังในการสัมผัสกับสภาพแวดล้อมเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการติดเชื้อจากสิ่งแวดล้อมซึ่งอาจก่อให้เกิดโรคได้ จากการทดลองสามารถพบแบคทีเรียสกุล *Pasteurella* spp. *Citrobacter* spp. *Klebsiella* spp. *Yersinia* spp. และ *Shigella dysenteriae* สำหรับ *Pasteurella* spp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ในเยื่อเมือกของสัตว์ป่าและสัตว์ที่เลี้ยงไว้ในครัวเรือน (Gautier และคณะ, 2005) สำหรับการปนเปื้อนจากแบคทีเรียสกุล *Pasteurella* spp. อาจเนื่องมาจากการปนเปื้อนข้ามจากสัตว์เลี้ยงจากแหล่งที่ขายหรือแหล่งที่เพาะเลี้ยง *Citrobacter* spp. เป็นเชื้อที่พบในสิ่งแวดล้อมแต่เป็นเชื้อฉวยโอกาสบางสายพันธุ์อาจก่อให้เกิดโรค Enteric fever เป็นโรคที่ติดเชื้อทางกระแสเลือด (Suwansrinon, Wilde, Visith and Hanvesakul, 2005) สำหรับ *Klebsiella* spp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อม (Baron และคณะ, 1994) แต่สามารถเป็นเชื้อฉวยโอกาสอาจก่อโรคในคนได้ สำหรับ *Yersinia* spp. เป็นแบคทีเรียที่พบในจากดิน น้ำ บางสายพันธุ์เป็นเชื้อก่อโรค

นอกจากนี้ยังสามารถพบ *Shigella dysenteriae* ในตัวอย่างกุ้งขาว สำหรับ *Shigella* เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคบิด มีอาการปวดท้องรุนแรง และถ่ายอุจจาระเป็นมูกเลือด *Shigella dysenteriae* สามารถพบได้ในน้ำ อาหาร และแยกได้จากผู้ป่วย (Wikipedia, 2006) นอกจากนี้การปนเปื้อนจาก *Shigella* อาจเนื่องมาจากการสัมผัสของผู้ที่มีสุขลักษณะไม่ดีจึงทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ ซึ่ง *Shigella* จะสามารถรอดชีวิตในอาหารทะเลได้และมีอัตราเสี่ยงในการเกิดโรค shigellosis ได้ (<http://www.nap.edu/books>) โดยปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค คือ 10^3 และจากปริมาณของ Aerobic heterotrophic ของตัวอย่างที่ 5 มีปริมาณ $0.31 \pm 0.16 \times 10^5$ CFU/g จากปริมาณแบคทีเรียบ่งบอกว่าตัวอย่างกุ้งขาวมีอันตรายต่อผู้บริโภค แต่ *Shigella* สามารถถูกยับยั้งโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที (<http://www.cfsan.fda.gov>) จากการทดลองสามารถพบแบคทีเรียสกุลต่างๆ เช่น *Pseudomonas* spp. *Alcaligenes* spp. *Acinetobacter* spp. และ *Citrobacter* spp. สอดคล้องกับการรายงานของ Lakshmanan และคณะ (2002) รายงานว่า พบแบคทีเรียสกุล *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* และ *Pseudomonas* ในตัวอย่างปลาและกุ้งที่เก็บรักษาด้วยน้ำแข็ง และสามารถพบ *Aeromonas*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Vibrio*, และ *Acinetobacter* ในปลาทูน่า (Middlebrooks et al., 1988)

จากการศึกษาปริมาณของสารสกัดของสมุนไพรพบว่า สารสกัดกระเทียมด้วยเมทานอลมีปริมาณสารสกัดสูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดกระเทียมด้วยน้ำและสารสกัดใบมะกรูดด้วยน้ำ ส่วนสารสมุนไพรที่ให้ปริมาณสารสกัดต่ำที่สุด คือ สารสกัดใบมะกรูดด้วย Dichloromethane รองลงมาคือ สารสกัดขมิ้นด้วยน้ำและสารสกัดขมิ้นด้วย Dichloromethane นอกจากนั้นยังพบว่าความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียด้วยสารสกัดสมุนไพรจำนวน 4 ชนิด สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดขมิ้นด้วย methanol ความเข้มข้น 2.5 mg/mL สามารถยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดพริกด้วยเมทานอลความเข้มข้น 250 mg/mL และ สารสกัดข่าด้วยน้ำ ความเข้มข้น 2.5 mg/mL ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang et al. (2009) ที่รายงานถึงสารสกัดขมิ้นด้วย 95% (v/v) เอทานอลที่สามารถยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* ด้วยความเข้มข้น 20-80 mg/ml แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อกลุ่ม *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* และ *Lactobacillus* รวมทั้งไม่สามารถยับยั้ง *Vibrio parahaemolyticus*, *E. coli* 29522 และ *S. aureus* 29523 ด้วยน้ำมันสด (Vuddhakul et al., 2007)

นอกจากนี้งานวิจัยของ Jian และ Wu (2003) ได้ศึกษาผลของสมุนไพรจีน 2 ชนิด คือ รากต้นหางนิ (*Radix astragalin seu Hedysari*) และรากโสมตังกุยจีน (*Radix angelicae sinensis*) ต่อระบบภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะเจาะจง ปริมาณเซลล์ฟาโกไซต์ กิจกรรมของไลโซไซม์ คอมพลีเมนต์ และความต้านทานต่อ *Vibrio alginolyticus* ของปลา yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) ทำการทดลองโดยเลี้ยงปลา yellow croaker แล้วเติมแบคทีเรียก่อโรค คือ *V. alginolyticus* ปริมาณ 10^8 cell/ml และให้อาหาร (ซูริมิ) ที่เติมสมุนไพรจีนทั้ง 2 ชนิดผสมกันความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5% (w/w) เป็นเวลา 30 วันพบว่าสมุนไพรจีนความเข้มข้น 0.5% ที่เติมลงในอาหาร ไม่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะเจาะจงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในทางตรงกันข้ามซูริมิที่เติมสมุนไพรจีนความเข้มข้น 1.0 และ 1.5% มีผลให้กิจกรรมของไลโซไซม์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารชนิดนี้เป็นเวลา 20, 25 และ 30 วัน เป็นผลทำให้กิจกรรมของคอมพลีเมนต์เพิ่มสูงขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารชนิดนี้เป็นเวลา 15 วัน อัตราการรอดชีวิตของปลา yellow croaker มีค่าสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับซูริมิที่เติมสมุนไพรจีนความเข้มข้น 0.5% และกลุ่มควบคุมมีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 37 และ 75% ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสมุนไพรจีนสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและเพิ่มความต้านทานโรคของปลา yellow croaker ได้ดังนั้นสมุนไพรธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ควบคุม รักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียได้ รวมทั้งอาจนำมาประยุกต์ใช้ในการภูมิคุ้มกัน และส่งเสริมการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำได้

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง (2530) สถิติการประมงแห่งประเทศไทย กองนโยบายและแผนงาน กรมประมง
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- จริยา สันติสุข, สมเกียรติ คีจิมเสริมพงศ์, วิมา จารุปรีชาชาญ.(2532). เปรียบเทียบประสิทธิภาพ
ในการรักษาโรคอุจจาระร่วงระหว่างใบฝรั่งและเปลือกมังคุด. วารสารเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล, 16(2):32-5.
- นันทนา อรุณฤกษ์และบัญญัติ สุขศรีงาม. (2532). อุบัติการณ์และการแพร่กระจายของแบคทีเรีย
สกุล *Vibrionaceae* ในบริเวณหาดพิทยา เมืองพิทยา จังหวัดชลบุรี. ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- นันทนา อรุณฤกษ์. (2537). การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอนแอโรบส์. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2547). แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: โนเบิล
พริ้นท์.
- นพดล สุกระกาญจน์ และคณะ. (2547). โรคติดเชื้อที่สำคัญในกุ้งขาว. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ,
7(1), 68-92.
- บุญกร อุดรภิชาติ. (2547). จุลชีววิทยาทางอาหาร. สงขลา: มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- ประจวบ หล้าอุบล. (2531). การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
กรุงเทพฯ.
- ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. (2546). ศาสตร์ของกุ้งขาว ลิโทพีเนียส แวนนาไม. วารสารสัตว์น้ำ,
14(161), 109-112
- ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. (2547). ศาสตร์ของกุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม. วารสารสัตว์น้ำ,
15(178), 73-76.
- ฝ่ายวิจัยและพัฒนา บริษัท พันธุ์กุ้งสากล. (2545). พันธุ์กุ้งสากล. วารสารสัตว์น้ำ, 14(159), 149-150
- พิไลพรรณ พงษ์พูลและบัญญัติ สุขศรีงาม. (2521). การสำรวจเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ใน
อาหารสดจากทะเล. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
บางแสน.
- มนตรี ไชยชาติ. (2546). การติดเชื้อไวรัสก่อโรคตัวแดงดวงขาวของลูกกุ้งกุลาดำและลูกกุ้งขาว.
ภาควิชาวชิรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- จุลินทรีย์กับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. บริษัท ออลเวท จำกัด. วันที่ค้นข้อมูล 17 มกราคม 2549, เข้าถึงได้
จาก <http://www.kungthai.com/bactshrimp.html>
- ลีลา เรืองเป็น. (2540). ความรู้เกี่ยวกับแบคทีเรียและโรคกุ้ง. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มติชน.

- ลิลา เรืองแป้น. (2546). กุ้งขาวแวนนาไม ปัญหาที่เกิดขึ้นในปัจจุบันและอนาคต. วารสารสัตว์น้ำ, 14(167), 131-134.
- สุขวัฒน์ เอกตระกูลวัฒน์. (2546). ปัญหาการเลี้ยงกุ้งขาวแล้วไม่โตเกิดจากอะไร. วารสารสัตว์น้ำ, 14(164), 74-76.
- สุบัณฑิต นิมรรัตน์ แก้วกานต์ ศักดิ์อนุชัชชาญ นเรศ เชื้อสุวรรณ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2549). การแพร่กระจายของแบคทีเรียกลุ่ม vibrio ในสัตว์ทะเลจากธรรมชาติและการเพาะเลี้ยง. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 10 (In press).
- สุวณี สุขเวช และ มาลัย วรจิตร. (2536). แบคทีเรียพื้นฐาน. กรุงเทพฯ: ศิริยอด.
- อาทินันท์ ประสมพงศ์. (2546). เทคนิคการเลี้ยงกุ้งขาว หรือวามาไม. วันที่ค้นข้อมูล 25 มกราคม 2549 เข้าถึงได้จาก <http://www.nicaonline.com/>
- อาทินันท์ ประสมพงศ์. (2549). เทคนิคการเลี้ยงกุ้งขาว หรือ วามาไม. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.
- Abraham Jawahar. T., and Palaniappan R. (2004). Distribution of luminous bacteria in semi-intensive oenaeid shrimp hatcheries of Tamil Nadu, India. Aquaculture, 232, 81-90.
- Alam, S.M.N., Mostafa, Golam and Bhuiyan, H.D. (2003). Prevalence of bacteria in the muscle of shrimp in processing plant. Internet Journal of Food Safety, 5, 21-23.
- Baron, E.J., Peterson, L.R. and Finegold, S.M. (1994). Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. St. Louis: Mosby-Year Book.
- Baticados, M.C.L., Lavilla-Pitigo, C.R., Cruz-Lacicerda, E.R., Delapena, L.D. and Sunaz, N.A. (1990) Studies on the chemical control of luminous bacteria *Vibrio harveyi* and *V. splendidus* isolated from diseased *Penaeus monodon* larvae and rearing water. Dis. Aquat. Org., 9: 133-139.
- Baticados, M.C.L. and Padihare, J.O. (1992) The use of chemotherapeutic agent in the Philippines. In Shariff, I.M., Subasinghe, R.P., Arthur, J.R. (Eds.), Disease in Asian Aquaculture. Fish Section. Asian Fishery Society, Manila, Philippines, pp. 531- 546.
- Bhaskar, N., Seety, T.M.R, Mondal, s., Joseph, M.A., Raju, C.V., Ragunath, B,S., and Anantha, C.S. (1998). Prevalence of bacteria public health significance in the cultured shrimp (*Penaeus monodon*). Food Microbiology, 15, 511-519.
- Boóma Kasthuri, R. (1998) Antimicrobial activity of selected species of seaweeds on pathogenic and non pathogenic bacteria. M. Sc. Dissertation. M.S. University, Tirunelveli, Tamilnadu, India.

- Brock, J.A. and Lightner, D.V. (1990). Disease of Crustaces. Diseases caused by Microorganism. In: Kinne, O. (ed.). Diseases of Marine Animal, Vol.III. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg Germany.245-349.
- Chang, B.J. and Bolton, S.M. (1987) Plasmids and resistance to antimicrobial agents in *Aeromonas hydrophila* clinical isolates. Antimicrob. Agents Chemother, 31: 1281-1282.
- Citarasu, T. (2000) Developing Artemia enrichment ayurvedic diet for promoting growth and reducing stress induced diseases in *Penaeus* sp. Ph.D. Thesis, M.S. University, Tirunelveli, Tamil Nadu, India.
- Colakoglu, F.A., Sarmasik, Aliye and Koseoglu, Burcu. (2005). Occurrence of *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. in shellfish harvested off Dardanelles coast of Turkey. Food Control. Article in press.
- Coyne, R., Hiney, M., O'Connor, B., Kerry, J., Cazabon, D. and Smith, P. (1994) Concentration and persistence of oxytetracycline in sediments under a marine salmon farm. *Aquaculture*, 123: 31-42.
- Dalsgaard, A., Huss, H.H., Kittikun, A.h., and Larsen, J.L. (1995). Prevalence of *Vibrio cholerae* and *Salmonella* in a major shrimp production area in Thailand. International Journal of Food Microbiology, 28, 101-113.
- Dalsgaard, I. (2001). Selection of media for antimicrobial susceptibility testing of fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 196, 267-275.
- Gautier, A.L., Dubois, D., Escande, F.O., Avril, J.L., Cuot, P.T., Gaillot, O. (2005). Rapid and Accurate Identification of Human Isolates of *Pasteurella* and Related Species by Sequencing the *sodA* Gene. Journal of Clinical Microbiology, 43(5), 2307-2314.
- Gopal, S., Otta, S.K., Kumar, S., Karunasagar, I., Nishibuchi, M. and Kurunasagar, I. (2005). The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture Environments;implication for food safety . International Journal of Food Microbiology,102, 151-159.
- Holt, John G. and Bergey, D.H. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Immanuel, G., Vincybai, V.C., Sivaram, Palavesam, A. and Marian, M.P. (2004) Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. *Aquaculture*, 236: 53-65.

- Jennkins, J. A. and Tiersch, T. R. (1997). A Preliminary bacteriological study of refrigerated channel catfish sperm. *Journal of the world aquaculture society*, 28(3), 282-288.
- Jian, J. and Wu, Z. 2003. Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* (Richardson). *Aquaculture*, 218: 1-9.
- Kalamaki, M., Price, R.J. and Fung, D.Y.C. (1997). Rapid Methods for Identifying Seafood Microbial Pathogens and Toxins, *Journal of rapid method and authentication in microbiology*, 5, 87-137.
- Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies. (2000). U. S. Food and Drug Administration. Retrieved April 22, 2006 from <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift-over.html>
- Koneman, W.E., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C. and Winn, W.C. (1999). Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia: Lippincott.
- Lakshmanan, R., Shakila, R.J. and Jeyasekaran, G. (2002). Survival of amine-forming bacteria during the ice storage of fish and shrimp. *Food Microbiology*, 19, 617-625.
- Lunestad, B. and Goksoyr, J. (1990) Reduction in the antibacterial effect of oxytetracycline in sea water by complex formation with magnesium and calcium. *Dis. Aquat. Org.*, 9: 67-72.
- Maclean, L.L., Vinogradov, E., Crump, E.M., Perry, M.B., Kay, W.W. (2001). The structure of the lipopolysaccharide O-antigen produced by *Flavobacterium psychrophilum*. *FEBS Journal*, 268, 2710-2716.
- Mahmoud, B. S. M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Shik, S. I., Suk, C. D. and Suzuki T, (2004). Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*, 21, 657-666.
- Maturin, L.J. and Peeler, J.T. (2001). Aerobic Plate Count. US. Retrieved March 29, 2006 from <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-3.html>
- Middlebrooks, B. L., Toom, P.M., Douglas, W. L., Harrison, R. E. and McDowell, S. (1988). Effects of storage time and temperature on the microflora and amine development in Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*). *Journal of Food Science*, 53: 1024-1029.

- Nash, G., Nithimathahoke, C., Tungmandi, C., Arkarjamon, A. and Rumathaversub, P. (1992) Vibriosis and its control in pond reared *P. monodon* in Thailand. In Shariff, M., Subasinghe, R.P., Arthur, J.R. (Eds.), Diseases in Asian Aquaculture: I. Fish Health Section. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 143–155.
- Nogueira-Lima, A.C., Gesteira, T.C.V. and Mafezoli, J. (2006) Oxytetracycline residues in cultivated marine shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931) (Crustacea, Decapoda) submitted to antibiotic treatment. *Aquaculture*, 254: 748-757.
- Okeke, M.I., Iroegbu, C.V.J., Jideofor, C.O., Okoli, A.S. and Esimore, C.O. (2001) Antimicrobial activity of ethanol extracts of two indigenous Nigerian spices. *J. Herbs Spices Med. Plants*, 8(4): 39-46.
- Prescott, J.F. (2000) Antimicrobial drug resistance and its epidemiology. In: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, edn 3. Edited by Prescott JF, Baggot JD, Walker RD. Ames: Iowa State University Press; pp. 27-49.
- Sahul Hameed, A.S. and Balasubramanian, G. (2000) Antibiotic resistance in bacteria isolated from *Artemia nauplii* and efficacy of formaldehyde to control bacterial load. *Aquaculture*, 183: 195-205.
- Samuelson, O.B. (1992) The fate of antibiotics/chemotherapeutants in marine aquaculture sediments. In C. Michel and D.J. Alderman (Editors), Chemotherapy in Aquaculture: From Theory to Reality. Office International des Epizooties, Paris, pp. 87-95.
- Seafood Safety. (1991). The national academies press. Retrieved April 22, 2006 from <http://www.nap.edu/books/0309043875/html/61.html>
- Sudheesh, S.P., Jie, K., and Xu, H.S. (2002). Random amplified polymorphic DNA-PCR typing of *Vibrio parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* isolate from culture shrimp. *Aquaculture*, 207, 11-17.
- Sugita, H., Shibuya, K., Shimooka, H. and Deguchi, Y. (1996). Antibacterial abilities of intestinal bacteria in freshwater cultured fish. *Aquaculture*, 145, 195-203.
- Suwansrinon, K., Jaijaroenso, W., Daviratanasilpa, S., Sriaroon, C., Wilde, H. and Sitprija, V. (2005). Adverse reactions to human rabies immune globulin manufactured by the Thai Red Cross Society. *Vaccine*, 23, 1324–1325.
- Teuber, M. (2001) Antibiotikaresistente Bakterien in Lebensmitteln. *Mitt Lebensm Hyg* [Title translation: Antibiotic-resistant bacteria in food.] 92:10-27.

- Wikipedia. (2006). *Shigella dysenteriae*. Retrieved April 8, 2006 from http://en.wikipedia.org/wiki/Shigella_dysenteriae
- Witte, W. (2000). Ecological impact of antibiotics use in animals on different complex microXora: environment. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14: 321–325.
- Vuddhakul, V., Bhoopong, P., Hayeebilan, F., Subhadhirasakul, S. (2007) Inhibitory activity of Thai condiments on pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Microbiology* 24: 413–418.
- Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y.L., Sun, x. (2009) Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 °C. *Meat Science* 81 (2009) 686–692.