

การศึกษาฤดูกาลและความถี่ของการติดเชื้อไวรัสในกุ้งขาวที่เลี้ยงในเขตจังหวัด

สมุทรสาคร จังหวัดชุมพร จังหวัดฉะเชิงเทรา และจังหวัดนครปฐม

ชัยวุฒิ สุตทองคง¹ ฐิติมา ทองศรีพงษ์¹ และวุฒิชัย ทองกล้า¹

รหัสทะเบียนวิจัย 47 03 32 47 047

บทคัดย่อ

การศึกษาการติดเชื้อไวรัสในกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) ได้ดำเนินการตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ.2547 โดยการสุ่มตรวจตัวอย่างกุ้งขาวในเขตพื้นที่จังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดชุมพร จังหวัดฉะเชิงเทรา และจังหวัดนครปฐม ทำการตรวจการติดเชื้อไวรัสในกุ้งขาวด้วยเทคนิค PCR สำหรับเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว (WSSV) และเชื้อแคระแกร็น (IHHNV) เทคนิค RT-PCR สำหรับเชื้อทอราซินโครมไวรัส (TSV) และเชื้อไวรัสโรคหัวเหลือง (YHV) พบช่วงที่กุ้งติดเชื้อ WSSV และเชื้อ TSV ตลอดทั้งปีโดยพบกุ้งติดเชื้อตัวแดงดวงขาวมากในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งเป็นในช่วงที่อากาศมีอุณหภูมิค่อนข้างต่ำ และกุ้งติดเชื้อ TSV มากในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนกรกฎาคม เป็นช่วงฤดูร้อนที่อากาศมีอุณหภูมิค่อนข้างสูง ในขณะที่พบกุ้งติดเชื้อ YHV และ IHHNV แพร่กระจายตลอดทั้งปี แต่ไม่พบว่าทำให้เกิดความเสียหายรุนแรงต่อการเลี้ยงกุ้งขาว ยกเว้นในช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศอย่างเฉียบพลัน โดยเฉพาะในช่วงเปลี่ยนฤดูที่มักพบกุ้งขาวแสดงอาการป่วยด้วยโรคหัวเหลือง โดยพบว่าเชื้อ IHHNV มีการเพิ่มขึ้นตลอดช่วงระยะเวลาของการเก็บตัวอย่าง

การติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวและทอราซินโครมไวรัส พบในกุ้งระยะโพสลาเวียร์ถึงระยะโตเต็มวัย ในขณะที่ไวรัสโรคหัวเหลืองพบในช่วงตั้งแต่กุ้งเริ่มลงเลี้ยงในบ่อดินจนถึงระยะโตเต็มวัย จังหวัดที่พบการติดเชื้อไวรัสในกุ้งขาวมากที่สุด คือ จังหวัดสมุทรสาคร รองลงมาคือจังหวัดฉะเชิงเทรา จังหวัดนครปฐม และจังหวัดชุมพร ตามลำดับ เนื่องจากไวรัสโรคหัวเหลืองเป็น RNA virus ดังนั้น มีความเป็นไปได้สูงที่เชื้อเกิดการกลายพันธุ์ ทำให้เชื้อมีความรุนแรงต่างกันรวมทั้งปัจจัยภายนอก เช่นอุณหภูมิ รวมถึงความเครียดของกุ้งที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมทำให้ภูมิคุ้มกันของกุ้งลดลง ทำให้สายพันธุ์ที่ก่อโรคเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว มีผลต่ออัตราการตายของกุ้งจากโรคหัวเหลืองเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะในช่วงเดือนพฤษภาคมที่มีการเปลี่ยนจากฤดูร้อนมาเป็นฤดูฝน และเดือนธันวาคมที่ปริมาณฝนลดลงและอุณหภูมิลดต่ำลง

คำสำคัญ: ความถี่ในการติดเชื้อไวรัส กุ้งขาว จังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดชุมพร จังหวัดฉะเชิงเทรา และจังหวัดนครปฐม ทอราซินโครมไวรัส ไวรัสตัวแดงดวงขาว ไวรัสโรคหัวเหลือง ไวรัส โรคแคระแกร็น

**STUDY ON SEASONAL AND PREVALENCE OF VIRAL INFECTION IN
PACIFIC WHITE SHRIMP (*Penaeus vannamei*) IN SAMUTSAKHON,
CHUMPHON, CHACHOENSAO AND NAKHONPATHOM PROVINCES**

Chaiwud Sudthongkong, Titima Thongsriphong and Wuttichai Thonglum

ABSTRACT

Study on Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) from October 2003 – September 2004. All shrimps were sampling from shrimp rearing pond in Samutsakhon, Chumphon, Chachoengsao and Nakhonpathom provinces. PCR and RT-PCR technique were used for identified white spot syndrome virus (WSSV), Taura syndrome virus (TSV), Yellow head virus (YHV) and Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV). All season were found WSSV, TSV, YHV and IHHNV. Most of WSSV and TSV infected shrimps were found between Novembers to February, February to July respectively. Yellow head disease always found after changing of climate. IHHNV infected to shrimp was increased from October 2003 to September 2004.

WSSV and TSV infection were found in post larvae and adult stage of shrimp. Numbers of viral infected shrimp were found in Samutsakhon, Chachoengsao, Nakhonpathom and Chumphon provinces respectively. High possibility of mutation in YHV was increased virulence of viral strains. The changing of climate and temperature of water were decreased shrimp immune; especially in May and December were found the number increasing of shrimp yellow head disease.

Keywords : Prevalence of viral infection, Pacific white shrimp, Samutsakhon, Chumphon, Chachoengsao, Nakhonpathom, Taura virus syndrome (TSV) White spot syndrome virus (WSSV) Yellow head virus (YHV) Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV)

คำนำ

จากการที่รัฐบาลอนุญาตให้มีการนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวจากต่างประเทศ ทำให้ปัจจุบันมีเกษตรกรหันมาเลี้ยงกุ้งชนิดนี้กันมากขึ้นเนื่องจากเชื่อว่ากุ้งชนิดนี้เลี้ยงง่าย โตเร็ว ทนต่อโรค และใช้ต้นทุนในการเลี้ยงต่ำเมื่อเทียบกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ที่ปัจจุบันประสบปัญหาในการเลี้ยง ทำให้

เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งกุลาดำเริ่มหันมาเลี้ยงกุ้งขาวมากขึ้น มีการขยายพื้นที่การเลี้ยงอย่างรวดเร็ว และมีการปล่อยที่อัตราหนาแน่นสูงเพื่อมุ่งผลในการจับกุ้งที่มีขนาดเล็กถึงปานกลางในช่วงระยะเวลาของการเลี้ยง 2 เดือนถึง 3 เดือน ทำให้ความต้องการลูกกุ้งสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว มีการเพาะเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์เอง โดยไม่มีการควบคุมและพัฒนาพันธุ์ที่ถูกต้องรวมทั้งอาจมีการลักลอบนำพ่อแม่พันธุ์เข้ามาซึ่งเสี่ยงต่อการนำเชื้อโรคเข้ามาโดยเฉพาะเชื้อทอราซินโครมไวรัสซึ่งทำให้กุ้งที่ติดเชื้อมีอัตราการตายที่สูงและยังเสี่ยงต่อเชื้อการนำเชื้อสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำเข้ามาอีกด้วย จากการที่มีการขยายพื้นที่การเลี้ยงกุ้งขาวอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะในเขตจังหวัดสมุทรสาครจังหวัดชุมพร จังหวัดฉะเชิงเทรา และจังหวัดนครปฐม ทั้งในเขตพื้นที่น้ำเค็มและพื้นที่แหล่งน้ำความเค็มต่ำรวมถึงการปล่อยกุ้งหนาแน่นทำให้โอกาสที่กุ้งจะป่วยหรือเกิดการระบาดของโรค โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสมีมากขึ้น โดยเฉพาะโรคไวรัสที่สำคัญ เช่น โรคทอรา

เกิดจากเชื้อ taura syndrome virus; TSV) โรคหัวเหลือง เกิดจากเชื้อ yellow head virus(YHV) โรคตัวแดงดวงขาว เกิดจากเชื้อ white spot syndrome virus (WSSV) และโรคแคะแกรน เกิดจากเชื้อ Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) เป็นต้น การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นการศึกษาถึงความถี่และฤดูกาลของการเกิดโรค การแพร่กระจายหรือการระบาดของออกของโรค ปัจจัยแวดล้อมที่อาจมีผลต่อการเกิดโรค รวมทั้งความรุนแรงของไวรัสแต่ละชนิดต่อกุ้งขาวที่เลี้ยงในเขตพื้นที่ ที่เก็บตัวอย่างเพื่อเป็นข้อมูลแนวทางในการป้องกันการระบาดของโรคและเป็นการเฝ้าระวังและแจ้งเตือนเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งให้ทราบถึงการเกิดโรค

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สุ่มเก็บตัวอย่างกุ้งขาว ที่เลี้ยงในบ่อดิน จังหวัดละ 10 บ่อ บ่อละ 10 ตัว ในเขตพื้นที่ 4 จังหวัด คือ สมุทรสาคร จังหวัดชุมพร จังหวัดฉะเชิงเทรา และจังหวัดนครปฐม ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ.2546 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ.2547 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างในบ่อที่มีกุ้งอายุไม่ต่ำกว่า 1 เดือน โดยสุ่มตัวอย่างกุ้งที่มีลักษณะภายนอกสมบูรณ์น้อยที่สุด เช่น โตช้า ลำตัวพิการ สีลำตัวผิดปกติ มีจุดสีบริเวณเปลือก อาหารไม่เต็มลำไส้ นำตัวอย่างกุ้งมาบดรวมกันเพื่อใช้ในการสกัด Total DNA และ Total RNA เดือนละ 1 ครั้ง
2. สกัด DNA จากตัวอย่างกุ้งขาว โดยใช้ DNA-zol[®] Reagent (Gibco BRL)
3. สกัด RNA จากตัวอย่างกุ้งขาว โดยใช้ Tri-zol[®] Reagent (Gibco BRL) ตามวิธีของ Arno Sewall และ Sharon McRae, Technical Services Life Technologies, Inc. Rockville Maryland
4. ตรวจเชื้อไวรัส ตรวจเชื้อและแยกชนิดไวรัส TSV, YHV, WSSV และ IHHNV โดยใช้เทคนิคทาง RT-PCR และ PCR ร่วมกับ ไพรเมอร์ (primer) ที่มีความไวและจำเพาะเจาะจงต่อสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสแต่ละชนิด
5. วิเคราะห์ข้อมูลด้วย Genetyx version 7

สรุปผลการทดลอง

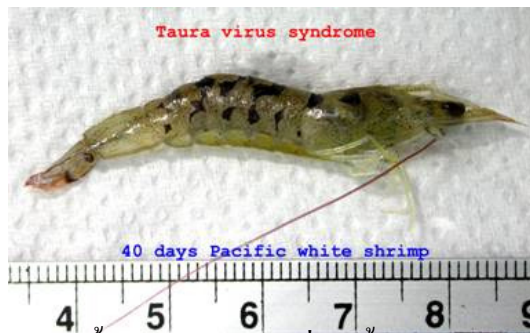
ผลการสุ่มเก็บตัวอย่างกุ้งขาวในพื้นที่จังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดชุมพร จังหวัดฉะเชิงเทรา และจังหวัดนครปฐม ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ.2546 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ.2547 และตรวจเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค RT-PCR และ PCR พบการติดเชื้อไวรัสทั้ง 4 ชนิด ตลอดทั้งปี (ภาพที่ 3) กุ้งขาวที่ติดเชื้อไวรัส WSSV, TSV, YHV และ IHNV ในพื้นที่ 4 จังหวัด พบว่ามีการแพร่กระจายอยู่ทั่วไป จากการศึกษาพบกุ้งติดเชื้อ TSV ตลอดทั้งปี พบมากในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤษภาคม ปัญหาความรุนแรงของโรคมักพบในบ่อที่เลี้ยงกุ้งด้วยน้ำระดับความเค็มต่ำมากกว่ากุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มสูงกว่า ลักษณะของกุ้งที่ติดเชื้อ TSV มีลักษณะตัวแดง หางแดง (ภาพที่ 1a) ซึ่งเป็นลักษณะที่แสดงอาการป่วยและมีการตายอย่างเฉียบพลัน หรือพบลักษณะเป็นเป็อนสีดำตามเปลือก ซึ่งเป็นระยะที่อยู่ในช่วงของการฟื้นตัว เช่นเดียวกับรายงานของ Hasson และคณะ (1999); Lightner (1996) ที่พบกุ้งขาวติดเชื้อและป่วยด้วยโรคทอรา โดยแบ่งการเกิดโรคเป็น 3 ระยะ คือ ระยะเฉียบพลัน กุ้งจะมีลำตัวและหาง สีแดง ระยะฟื้นตัวและระยะเรื้อรังจะพบเปลือกกุ้งมีลักษณะเป็นเป็อนสีดำ โดยกุ้งจะมีลักษณะของการเป็นพาหะตลอดชีวิต ในขณะที่กุ้งที่ติดเชื้อ WSSV และแสดงอาการป่วยด้วยโรคตัวแดงดวงขาว มักพบลักษณะลำตัวแดงแต่ไม่พบจุดขาวเหมือนกับที่พบในกุ้งกุลาดำ ซึ่งคล้ายกับอาการป่วยด้วยโรคทอรา แต่อัตราการตายจะรุนแรงมากกว่า จากผลการศึกษาผลของการสุ่มเก็บตัวอย่างพบการติดเชื้อ WSSV ในช่วงเดือนกันยายนถึงเดือนมีนาคม โดยพบการติดเชื้อมากที่สุดในเดือนพฤศจิกายน และกุมภาพันธ์ตามลำดับ (ภาพที่ 3) ซึ่งในช่วงดังกล่าวเป็นช่วงที่มีอากาศเย็น น้ำมีอุณหภูมิต่ำ อาจถึงประมาณ 20°C ในช่วงเวลากลางคืน บวกกับมีการเปลี่ยนแปลงขึ้นลงของอุณหภูมิในรอบวันสูง ซึ่งคล้ายกับรายงานของ Jiravanichpaisal และคณะ (2004) ที่กล่าวว่าอุณหภูมิน้ำที่ต่ำประมาณ 22°C หรือสูงกว่าเล็กน้อยทำให้กุ้ง Crayfish ยอมรับเชื้อและแสดงอาการป่วยด้วยโรคตัวแดงดวงขาวได้มากขึ้น

ผลการสุ่มเก็บตัวอย่างพบกุ้งติดเชื้อโรคหัวเหลืองตลอดทั้งปี โดยพบการติดเชื้อมากที่สุดในเดือนธันวาคมและพฤษภาคมตามลำดับ ในกุ้งขาวส่วนใหญ่ไม่พบการติดเชื้อที่รุนแรง จนเป็นสาเหตุให้กุ้งตายเป็นจำนวนมากตลอดช่วงของการเก็บข้อมูล ยกเว้นในบางช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศอย่างเฉียบพลัน เช่น กรณีที่ฝนตกหนักหลังจากที่อากาศร้อนหรือแห้งแล้งอยู่ช่วงระยะเวลาหนึ่ง รวมถึงช่วงที่อุณหภูมิลดต่ำลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งทั้งสองกรณีมักเกิดในช่วงการเปลี่ยนฤดู การที่สภาพอากาศมีการแปรปรวนสูงจากผลการเก็บตัวอย่างพบกุ้งขาวแสดงอาการป่วยและตายด้วยโรคหัวเหลืองในช่วงเดือนพฤษภาคมและเดือนธันวาคม ซึ่งทั้งสองเดือนมักพบการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่ค่อนข้างรวดเร็ว เนื่องจากการเข้าสู่ฤดูฝนในเดือนพฤษภาคม และการที่อุณหภูมิลดต่ำลงในเดือนธันวาคมเนื่องจากการเข้าสู่ฤดูหนาว โดยเฉพาะในเขตพื้นที่เลี้ยงกุ้งความเค็มต่ำจากรายงานของ Chantanachookin และคณะ (1993) การศึกษาการติดเชื้อโรคหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำพบว่าสาเหตุให้กุ้งตายเป็นจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น โดยมักพบกุ้งกินอาหารเพิ่มขึ้นอย่าง

รวดเร็วในระยะประมาณ 2 ถึง 3 วัน ก่อนการตายของกุ้ง โดยในช่วงนี้จะเริ่มสังเกตเห็นส่วนหัวหรือ ลำตัวของกุ้งเริ่มมีสีเหลือง ผลการศึกษากุ้งขาวที่ติดเชื้อ IHNV พบกุ้งติดเชื้อตลอดทั้งปีและพบว่า ปริมาณการติดเชื้อมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตลอดทั้งปี (ภาพที่ 3) การติดเชื้อ IHNV ซึ่งทำให้เกิดโรค แคระแกรนหรือ runt deformity syndrome (OIE, 2003) ที่มักพบไวรัสนี้เป็นสาเหตุให้กุ้งขาว โตช้าและลำตัวหรือรูปร่างผิดปกติ (ภาพที่ 2) ได้ตลอดทั้งปี อาจเพราะว่าทุกพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างนั้นมี ไวรัสนี้แพร่กระจายอยู่ทั่วพื้นที่เลี้ยงกุ้งหรือในสัตว์น้ำจำพวกกุ้ง ปู ในธรรมชาติอยู่ก่อนแล้ว จากรายงานพบว่ามักพบเชื้อไวรัสนี้ในกุ้งกุลาดำ แต่ไม่พบว่าทำให้กุ้งกุลาดำเป็นโรค (Lightner D.V., 1988)



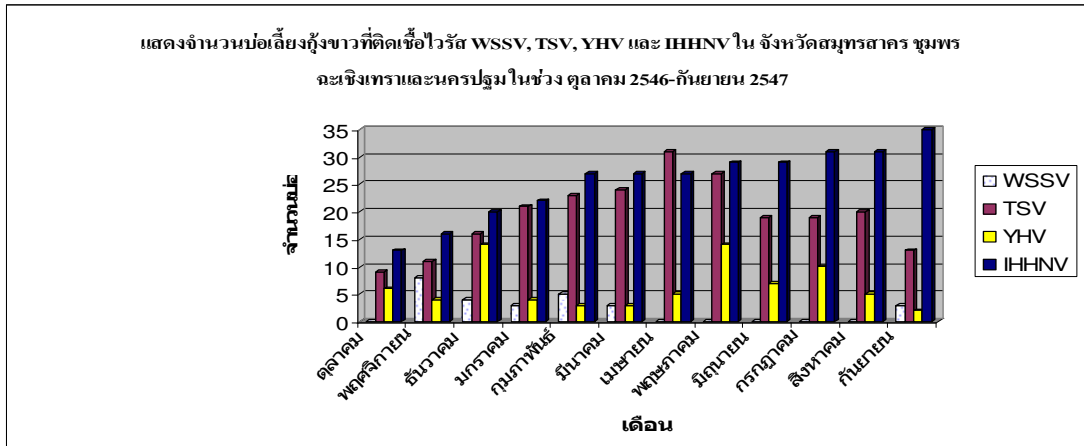
ภาพที่ 1a เปรียบเทียบกุ้งขาวที่ติดเชื้อ TSV (บน) และกุ้งขาวปกติ (ล่าง)



ภาพที่ 1b ลักษณะเป็นสีดำในกุ้งขาวที่ติดเชื้อ TSV



ภาพที่ 2 กุ้งติดเชื้อแคระแกรน หรือลำตัวพิการ (IHHNV)



ภาพที่ 3 ความถี่ในการพบกุ้งขาวติดเชื้อไวรัส ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2546 – กันยายน พ.ศ.2547 จากการศึกษาพบการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสทั้ง 4 ชนิดตลอดทั้งปี โดยพบว่าเชื้อ WSSV มักพบในช่วงเดือนที่น้ำมีอุณหภูมิค่อนข้างต่ำ เชื้อ TSV พบมากในฤดูร้อนซึ่งอุณหภูมิของน้ำโดยเฉลี่ยค่อนข้างสูง เชื้อ YHV พบในช่วงต่อของฤดูที่สภาพอากาศในรอบวันมีการเปลี่ยนแปลงสูง ในขณะที่เชื้อ IHNV มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตลอดระยะเวลาการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

Chantanachookin C., Boonyaratpalin S., Kasornchandra J., Direkbusarakom S., Aekpanithanpong U., Supamattaya K., Sriuraitana S. & Flegel T.W. (1993). Histology and ultrastructure reveal a new granulosis-like virus in *Penaeus monodon* affected by yellow-head disease. *Dis. Aquat. Org.*, **17**, 145-157.

Lightner D.V. (1996). A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 304 pp.

Lightner D.V. (1988). Diseases of cultured penaeid shrimp and prawns. *In*: Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture, Sindermann C.J. & Lightner D.V., eds. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 8-127.

Jiravanichpaisal P, Soderhall K, Soderhall I. 2004. Effect of water temperature on the immune response and infectivity pattern of white spot syndrome virus (WSSV) in freshwater crayfish. *Fish Shellfish Immunol.* 2004 Sep;17(3):265-75.

Hasson K.W., Lightner D.V., Mohny L.L., Redman R.M., Poulos B.T. & White B.L. (1999). Taura syndrome virus (TSV) lesion development and the disease cycle in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Dis. Aquat. Org.*, **36**, 81-93.

OIE, Office International de Epizooties. 2003. Diagnostic Manual for Aquatic Animals Diseases.

Office International de Epizooties, Paris.