

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๑๖/๒๕๖๕



Technical Paper No 16/2022

การศึกษาชนิดของเชื้อโรคในการอนุบาลลูกปูทะเล  
(*Scylla paramamosain* Estampador, 1949)

Study on Pathogens in Nursing of Mud Crab  
(*Scylla paramamosain* Estampador, 1949)

ปิยาลัย เหมทานนท์  
สิริวรรณ หนูเซ่ง  
นภารัตน์ ประไพวงศ์  
ธิดา สุวรรณาราม

Piyalai Hemtanon  
Siriwan Nooseng  
Naparath Prapaiwong  
Thida Suwannaram

กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

กรมประมง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Coastal Aquaculture Research and  
Development Division

Department of Fisheries

Ministry of Agriculture and Cooperatives



การศึกษานิตของเชื้อโรคในการอนุบาลลูกปูทะเล  
(*Scylla paramamosain* Estampador, 1949)

Study on Pathogens in Nursing of Mud Crab  
(*Scylla paramamosain* Estampador, 1949)

ปิยาลัย เหมทานนท์  
สิริวรรณ หนูเซ่ง  
นภารัตน์ ประไพวงศ์  
ธิดา สุวรรณาราม

Piyalai Hemtanon  
Siriwan Nooseng  
Naparath Prapaiwong  
Thida Suwannaram

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง  
สุราษฎร์ธานี

Surat Thani Coastal Aquaculture Research and  
Development Center

กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง

Coastal Aquaculture Research and  
Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

๒๕๖๕

2022

## สารบัญ

|                       | หน้า |
|-----------------------|------|
| บทคัดย่อ              | 1    |
| Abstract              | 2    |
| คำนำ                  | 3    |
| วัตถุประสงค์          | 4    |
| วิธีดำเนินการ         | 4    |
| 1. วิธีการทดลอง       | 4    |
| 2. การวิเคราะห์ข้อมูล | 8    |
| ผลการศึกษา            | 8    |
| วิจารณ์ผลการศึกษา     | 18   |
| สรุปผลการศึกษา        | 20   |
| คำขอบคุณ              | 20   |
| เอกสารอ้างอิง         | 20   |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ |                                                                                                                                                        | หน้า |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1        | การจัดการให้อาหารลูกปูทะเล                                                                                                                             | 5    |
| 2        | วิธีการตรวจโรคในปูทะเลด้วยเทคนิค PCR                                                                                                                   | 6    |
| 3        | วิธีการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและแบคทีเรียในน้ำ                                                                                                         | 8    |
| 4        | ผลการศึกษาเชื้อไวรัส 5 ชนิด เชื้อ EHP เชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> (Vp) และเชื้อ <i>Vp</i> <sub>AHPND</sub> ในลูกปูทะเล 4 ระยะ ทั้ง 3 รอบการอนุบาล | 12   |
| 5        | ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม vibrio และแบคทีเรียรวม (cfu/g) ในลูกปูทะเล 4 ระยะ ทั้ง 3 รอบการอนุบาล                                                             | 13   |
| 6        | อัตราการรอดและระยะเวลาพัฒนาการของลูกปูทะเลระยะ Zoea 1 ถึงระยะ 1 <sup>st</sup> Crab                                                                     | 14   |
| 7        | การตรวจพบเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> (Vp) ปริมาณแบคทีเรีย และคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลในรอบการอนุบาลที่ 1                                              | 16   |
| 8        | การตรวจพบเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> (Vp) ปริมาณแบคทีเรีย และคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลในรอบการอนุบาลที่ 2                                              | 17   |
| 9        | การตรวจพบเชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> (Vp) ปริมาณแบคทีเรีย และคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลในรอบการอนุบาลที่ 3                                              | 18   |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่ |                                                                                                                                                                                                        | หน้า |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1      | สัดส่วนปริมาณกลุ่มวิบริโอโคโลนีสีเหลืองและโตโลนีสีเขียว ในลูกปูทะเล 4 ระยะ (ก.ระยะ Zoea 1 ข. ระยะ Zoea 3 ค. ระยะ Megalopa ง. ระยะ 1 <sup>st</sup> Crab) ในรอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3                   | 10   |
| 2      | สัดส่วนปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอโคโลนีสีเหลืองและโคโลนีสีเขียว ในน้ำบ่ออนุบาลลูกปูทะเล 4 ระยะ (ก.ระยะ Zoea 1 ข.ระยะ Zoea 3 ค.ระยะ Megalopa ง.ระยะ 1 <sup>st</sup> Crab) ในรอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3 | 14   |

# การศึกษาชนิดของเชื้อโรคในการอนุบาลลูกปูทะเล (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949)

ปิยาลัย เหมทานนท์<sup>1\*</sup>, สิริวรรณ หนูเซ่ง<sup>2</sup>, นภารัตน์ ประไพวงศ์<sup>3</sup> และ ธิดา สุวรรณาราม<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำนครศรีธรรมราช

<sup>2</sup>ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสุราษฎร์ธานี

<sup>3</sup>ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสมุทรสาคร

## บทคัดย่อ

การศึกษาชนิดของเชื้อโรคในการอนุบาลลูกปูทะเล (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949) ในโรงเพาะฟัก โดยเก็บตัวอย่างลูกปูทะเลระยะต่างๆ ได้แก่ ระยะ Zoea 1, Zoea 3, Megalopa และ 1<sup>st</sup> Crab แบ่งการเก็บตัวอย่างลูกปูทะเล ออกเป็น 3 รอบการอนุบาล ๆ ละ 3 ชั่วโมง โดยมีความหนาแน่นของ Zoea 1 รอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 100, 75 และ 150 ตัวต่อลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษาเชื้อไวรัส 4 ชนิด ได้แก่ White spot syndrome virus (WSSV), Yellow head virus (YHV), Taura syndrome virus (TSV) และ Infectious myonecrosis virus (IMNV) เชื้อแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* สายพันธุ์ก่อโรค AHPND (*Vp*<sub>AHPND</sub>) เชื้อกลุ่มไมโครสปอริเดียน ได้แก่ *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) ในลูกปูทะเลระยะต่าง ๆ ไม่พบการติดเชื้อในทุกรอบการอนุบาล ส่วนเชื้อไวรัส Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) พบในระยะ Megalopa และ 1<sup>st</sup> Crab ในรอบการอนุบาลที่ 1 และระยะ Megalopa ในรอบการอนุบาลที่ 3 และตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในทุกรอบการอนุบาล และเกือบทุกระยะของลูกปูทะเล โดยเฉพาะระยะ 1<sup>st</sup> Crab ตรวจพบเชื้อในทุกรอบการอนุบาล ปริมาณไวรัสโดยรวมที่ตรวจพบในทั้ง 3 รอบการอนุบาล โดยในระยะ 1<sup>st</sup> Crab มีปริมาณเฉลี่ย  $6.73 \times 10^5$ ,  $1.11 \times 10^6$  และ  $2.10 \times 10^6$  cfu/g ตามลำดับรอบการอนุบาล โดยปริมาณเฉลี่ยของไวรัสกลุ่มโคโลนีสีเหลืองจะมีมากกว่ากลุ่มโคโลนีสีเขียว ในการอนุบาลลูกปูทะเลจากระยะ Zoea 1 พัฒนาเจริญเติบโตเข้าระยะ 1<sup>st</sup> Crab ใช้เวลา 25, 20 และ 21 วัน อัตราการตายจากระยะ Zoea 1 ถึงระยะ 1<sup>st</sup> Crab 4.84, 4.18 และ 6.72% ตามลำดับรอบการอนุบาล

คำสำคัญ: ปูทะเล เชื้อโรค โรงเพาะฟัก

## Study on Pathogens in Nursing of Mud Crab (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949)

Piyalai Hemtanon<sup>1\*</sup>, Siriwan Nooseng<sup>2</sup>, Naparat Prapaiwong<sup>3</sup> and Thida Suwannaram<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nakhon Si Thammarat Aquatic Animal Genetics Research and Development Center

<sup>2</sup> Surat Thani Coastal Aquaculture Research and Development Center

<sup>3</sup> Samut Sakhon Coastal Aquaculture Research and Development Center

### Abstract

The study on pathogens in a nursery of mud crab (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949) in the hatchery was conducted by collecting crab samples at different stages: Zoea 1, Zoea 3, Megalopa and 1<sup>st</sup> Crab. The crab samples were collected 3 cycles. Each nursing cycle consisted of 3 replications. The densities of Zoea 1 in nursery cycles 1, 2 and 3 were 100, 75 and 150 animals/l, respectively. The results showed that White spot syndrome virus (WSSV), Yellow head virus (YHV), Taura syndrome virus (TSV) and Infectious myonecrosis virus (IMNV), *Vibrio parahaemolyticus*, pathogenic strains AHPND (*Vp<sub>AHPND</sub>*), microsporidian strains, namely *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) were not found in all nursery cycles. hematopoietic necrosis virus (IHHNV) was only detected at Megalopa and 1<sup>st</sup> Crab stages in the 1<sup>st</sup> nursery cycle and Megalopa in the 3<sup>rd</sup> nursery cycle. While *V. parahaemolyticus* was detected in every nursery cycle in almost all stages of crabs, especially the 1<sup>st</sup> Crab stage that was detected in every nursery cycle. The total vibrio counts detected in the 1<sup>st</sup> Crab stage were  $6.73 \times 10^5$ ,  $1.11 \times 10^6$  and  $2.10 \times 10^6$  cfu/g, in 3 nursery cycles respectively. The average number of yellow-colony forming vibrio was greater than that of green-colony forming vibrio. In the nursery, the development stage of mud crab from Zoea 1 into the 1<sup>st</sup> Crab were 25, 20 and 21 days, respectively. Survival rates from Zoea 1 stage to the 1<sup>st</sup> Crab stage were 4.84, 4.18 and 6.72% in the 1<sup>st</sup> -3<sup>rd</sup> nursery cycle, respectively.

**Keywords:** Mud crab, *Scylla paramamosain* Estampador, 1949, pathogens, hatchery

---

\*Corresponding author: 331 Moo.3 Sichon, Sichon District, Nakhon Si Thammarat 80120

Tel. 0 7533 5653 E-mail: piyalaih@yahoo.com

## คำนำ

ปูทะเล (*Scylla* spp.) เป็นสัตว์น้ำที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย มีคุณค่าทางอาหารสูง รสชาติดี ทำให้เป็นที่นิยมของผู้บริโภค แต่เนื่องจากผลผลิตส่วนใหญ่ได้จากการรวบรวมจากแหล่งธรรมชาติ ปริมาณที่จับได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาดทำให้ปูทะเลมีราคาสูง ระหว่างปี 2556-2560 ปริมาณปูทะเลที่จับได้จากธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงลดลง โดยในปี 2556 มีปริมาณ 2,200 ตัน ปี 2558 มีปริมาณ 1,500 ตัน และในปี 2560 มีปริมาณ 400 ตัน ต่อมาในปี 2561 และ 2562 ปริมาณปูทะเลเพิ่มขึ้น 2,100 และ 3,000 ตัน ตามลำดับ (กลุ่มสถิติการประมง, 2564) การเลี้ยงปูในประเทศไทยจากอดีตจนถึงปัจจุบันเป็นการรวบรวมพันธุ์ปูจากธรรมชาตินำมาเลี้ยงให้ได้ขนาดที่ตลาดต้องการ ซึ่งการเลี้ยงในลักษณะนี้ทำให้ผลผลิตไม่แน่นอน เนื่องจากปริมาณพันธุ์ปูที่รวบรวมได้มีปริมาณไม่แน่นอนและมีแนวโน้มลดลง กรมประมง โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสุราษฎร์ธานี จึงมีแนวทางในการผลิตลูกปูทะเล เพื่อเพิ่มปริมาณลูกพันธุ์ให้มากขึ้น เนื่องจากอัตราการรอดในแต่ละระยะของลูกปูทะเลยังต่ำ

จากการศึกษาของสิริวรรณ และอาภรณ์ (2550) ได้ทดลองอนุบาลลูกปูทะเลที่ความเค็ม 30 ppt พบว่าลูกปูทะเลมีอัตราการตายจนถึงระยะ Megalopa และระยะลูกปูคราบแรก (1<sup>st</sup> Crab) เท่ากับ  $14.15 \pm 3.03\%$  และ  $1.30 \pm 0.16\%$  ตามลำดับ ปัญหาที่พบในการเพาะเลี้ยงปูทะเลมีหลายประการ เช่น พันธุ์ปูคุณภาพน้ำ ปริมาณและคุณภาพอาหาร เป็นต้น โดยปัจจัยหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ คือการเกิดโรคในระหว่างการเพาะเลี้ยง ซึ่งโรคในปูทะเลพบว่ามีสาเหตุจาก เชื้อไวรัส โปรโตซัว ปรสิต เชื้อรา และแบคทีเรีย เป็นต้น (Lavilla-Pitogo and De la Pena, 2004) Chen *et al.* (2000) ได้ศึกษาเชื้อ White spot syndrome virus (WSSV) ในตัวอ่อนปู *S. serrata* ที่จับจากธรรมชาติ พบเชื้อ WSSV 60% และได้ทำการทดลองนำตัวอ่อนปูที่ปราศจากเชื้อ WSSV มาแช่ในน้ำที่มีเชื้อ WSSV 2 ชั่วโมง แล้วนำมาเลี้ยงในน้ำปกติพบการตายสะสม 43% ในขณะที่ชุดควบคุมตายสะสม 20% ในระยะเวลา 14 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อ WSSV ทำให้ลูกปูตายได้ เชื้อไวรัสบางชนิดมีผลต่อการแสดงอาการของโรค อัตรารอดในกึ่งทะเล แต่ในปูทะเลที่ได้รับเชื้อไวรัสนี้ปูจะไม่แสดงอาการของโรคและไม่พบการตาย แต่จะเป็นพาหะนำเชื้อไปสู่กุ้งได้ จากการศึกษาของจริพรและคณะ (2548) ที่ได้ทดสอบการยอมรับเชื้อไวรัส IHNV ในปู *Scylla serrata* โดยฉีดเชื้อเข้าบริเวณขาเดิน ตลอดเวลา 10 วัน ไม่พบการแสดงอาการของโรคและไม่มีการตาย และยังคงตรวจพบอนุภาคของไวรัสในเลือดของปูหลังจากการฉีดเชื้อเป็นระยะเวลา 10 วัน และได้ทดลองฉีดเชื้อ TSV ในปู *S. serrata* พบว่าตลอดระยะเวลา 10 วันปูไม่แสดงอาการและไม่พบการตาย และยังคงตรวจพบเชื้อตลอดระยะเวลาการทดลอง ซึ่งทำให้ปูกลายเป็นพาหะนำเชื้อสู่สัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ได้ จากการศึกษาของฐิติพร และสมบูรณ์ (2553) พบว่าโรคที่พบในปูทะเลในโรงเพาะฟัก ได้แก่ ซูโอแทมเนียม แบคทีเรียชนิดต่างๆ (*Vibrio*, *Aeromonas*) และเชื้อรา โดยพบแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* (*Vibrio* spp.) ตั้งแต่ระยะ Nauplius Zoea Megalopa และตัวเต็มวัย ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่มีผลให้ลูกปูมีอัตราการรอดต่ำ จากการศึกษาจากเอกสารที่กล่าวมานี้ จะเห็นได้ว่าเชื้อที่มีการศึกษามีทั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในปู และเชื้อที่มีปูเป็นพาหะนำเชื้อไปสู่กุ้ง



การศึกษานี้เป็นการศึกษาชนิดเชื้อโรคที่พบในการอนุบาลลูกปูทะเลเพื่อเป็นข้อมูลนำไปใช้ในการพัฒนาการเพาะฟักและอนุบาลลูกปูทะเล (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949) เพื่อเพิ่มอัตราการรอดตายและผลิตให้มากขึ้น

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการติดเชื้อไวรัส 5 ชนิด ได้แก่ White spot syndrome virus (WSSV) Yellow head virus (YHV) Taura syndrome virus (TSV) Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) และ Infectious myonecrosis virus (IMNV) เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* สายพันธุ์ก่อโรค AHPND (*Vp<sub>AHPND</sub>*) และเชื้อปรสิต EHP ในลูกปูทะเลระยะต่างๆ
2. เพื่อศึกษาปริมาณแบคทีเรียรวมและปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp.) ในลูกปูทะเลระยะต่างๆ

### วิธีดำเนินการ

#### 1. วิธีการทดลอง

##### 1.1 การเตรียมน้ำทะเล

เตรียมน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt ที่ผ่านการตกตะกอนและกรองด้วยผ้ากรองขนาด 5 ไมครอน แล้วนำมาฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนความเข้มข้น 65-70 % ในอัตราส่วน 30 ppm

##### 1.2 การเตรียมบ่อทดลอง

เตรียมบ่อคอนกรีตทรงกลมขนาดความจุ 3 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 3 บ่อ เติมน้ำทะเลที่เตรียมไว้ลงในบ่อๆ ละ 2.5 ลูกบาศก์เมตร ให้อากาศแบบหัวทราย จำนวน 5 จุดต่อบ่อ

##### 1.3 การเตรียมแม่ปูทะเล

รวบรวมแม่ปูทะเลจากธรรมชาติ เมื่อแม่ปูมีไข่นอกกระดองสีเหลือง หรือเหลืองอมส้ม แช่แม่ปูด้วยฟอร์มาลินความเข้มข้น 100 ppm นาน 1 ชั่วโมง ให้อากาศตลอดเวลา เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อโรคที่อาจติดมากับแม่ปูและไข่ปู ก่อนย้ายไปยังฟักไข่ และเมื่อไข่ฟักเป็นลูกปูทะเลระยะ Zoea 1 ก็จะนำไปใส่ในบ่อทดลอง 3 บ่อ ในปริมาณที่เท่าๆ กัน

##### 1.4 การให้อาหาร

การจัดการด้านอาหารสำหรับอนุบาลลูกปูทะเล ชนิดที่ให้จะแตกต่างกันตามระยะลูกปูทะเลวัยอ่อน รูปแบบการให้อาหาร ดังตารางที่ 1 โดยระยะ Zoea 1-Zoea 5 ให้อาหารวันละ 4 มื้อ ระยะ Megalopa-1<sup>st</sup> Crab ให้อาหารวันละ 3 มื้อ

ตารางที่ 1 การจัดการให้อาหารลูกปูทะเล

| ชนิดอาหาร                             | การจัดการการให้อาหาร   |               |        |             |                                                                                          |          |                      |
|---------------------------------------|------------------------|---------------|--------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------|----------------------|
|                                       | Zoea 1                 | Zoea 2        | Zoea 3 | Zoea 4      | Zoea 5                                                                                   | Megalopa | 1 <sup>st</sup> Crab |
| ระยะเวลาการพัฒนา (วัน)                | 15-16 วัน              |               |        |             |                                                                                          | 8-9 วัน  |                      |
| โรติเฟอร์                             | 10-12 ตัว/มล.          |               |        |             |                                                                                          |          |                      |
| อาร์ทีเมียแรกฟัก                      |                        | 0.5-1 ตัว/มล. |        |             |                                                                                          |          |                      |
| อาร์ทีเมียอายุ 3-7 วัน                |                        |               |        | 1-2 ตัว/มล. |                                                                                          |          |                      |
| อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยมีชีวิต           |                        |               |        |             | 0.05-0.1 ตัว/มล.                                                                         |          |                      |
| อาร์ทีเมียตัวเต็มวัยแช่แข็ง           |                        |               |        |             | 0.3-0.5 กก./ลูกปูMegalopaหมื่นตัว/วัน<br>1-1.5 กก./ลูกปู1 <sup>st</sup> Crabหมื่นตัว/วัน |          |                      |
| อาหารสำเร็จรูปผง (MCF)                | 2.5 ก./ลูกปูแสนตัว/วัน |               |        |             |                                                                                          |          |                      |
| อาหารสำเร็จรูปกึ่งผง<br>(Lansy/flake) |                        |               |        |             | 5 ก./ลูกปูแสนตัว/วัน                                                                     |          |                      |
| อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด<br>(NRD G8)    |                        |               |        |             | 30 ก. G/ลูกปู Megalopa หมื่นตัว/วัน<br>95 ก. G/ลูกปู1 <sup>st</sup> Crab หมื่นตัว/วัน    |          |                      |

### 1.5 การจัดการระหว่างการอนุบาล

ระหว่างการอนุบาลลูกปูทะเลในระยะ Zoea 2 ถึง Zoea 5 มีการดูดตะกอน และเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณ 10-20 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรน้ำในบ่อทุกวัน และเพิ่มการถ่ายน้ำเป็น 30-50 เปอร์เซ็นต์ ในระยะ Megalopa ถึง 1<sup>st</sup> Crab มีการใส่น้ำแร่ธาตุในน้ำเมื่อลูกปูถึงระยะ Zoea 3 โดยใช้แร่ธาตุ ซึ่งประกอบด้วย ซีโอไลท์ 1 กิโลกรัม โดโลไมท์ 1 กิโลกรัม น้ำดีเกลือ 100 มิลลิลิตร คลุกเคล้าให้เข้ากัน นำไปสาดในบ่ออนุบาลด้วยความเข้มข้น 200 ppm (200 กรัมต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร) และเมื่อเข้าระยะ Megalopa ใส่แวนเพื่อเป็นที่หลบซ่อนและยึดเกาะของลูกปูทะเล โดยใช้แวน 500 กรัมต่อตารางเมตร เมื่อลูกปูทะเลพัฒนาเข้าสู่ระยะ 1<sup>st</sup> Crab ทำการนับจำนวนลูกปูทะเลเพื่อหาอัตราการรอดตาย โดยใช้สูตร

$$\text{อัตราการรอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนลูกปูทะเลที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนลูกปูทะเลเริ่มต้นการทดลอง}}$$

### 1.6 การเก็บตัวอย่างลูกปูทะเล

การเก็บตัวอย่างลูกปูทะเลใน 4 ระยะ คือ Zoea 1 Zoea 3 Megalopa และ 1<sup>st</sup> Crab เก็บตัวอย่างจาก 3 บ่อ ให้น้ำหนักประมาณ 1 กรัมต่อบ่อ โดยเก็บแบบมีชีวิตใส่ถุงบรรจุอากาศ นำมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำนครศรีธรรมราช โดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วนนำไปวิเคราะห์ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย และตรวจเชื้อโรคด้วยเทคนิค PCR เก็บตัวอย่างใน 3 รอบการอนุบาลดังนี้

รอบการอนุบาลที่ 1 เดือนเมษายน 2562

รอบการอนุบาลที่ 2 เดือนพฤษภาคม 2562

รอบการอนุบาลที่ 3 เดือนมิถุนายน 2562

### 1.7 การวิเคราะห์เชื้อโรค

1.7.1 การตรวจชนิดเชื้อโรคด้วยเทคนิค PCR ในลูกปูทะเลแต่ละระยะ ตามวิธีในคู่มือการตรวจโรคสัตว์น้ำด้วยเทคนิค PCR (ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา, 2561) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 วิธีการตรวจโรคในปูทะเลด้วยเทคนิค PCR

| ชนิดเชื้อ                                                                             | ชนิดสารพันธุกรรม    | วิธีวิเคราะห์ |
|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------|
| 1) White spot syndrome virus (WSSV)                                                   | dsDNA virus         | Nested PCR    |
| 2) Yellow head virus (YHV)                                                            | ssRNA virus         | Nested RT-PCR |
| 3) Taura syndrome virus (TSV)                                                         | RNA virus           | RT-PCR        |
| 4) Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV)                     | ssDNA virus         | Multiplex PCR |
| 5) Infectious myonecrosis virus (IMNV)                                                | dsRNA virus         | Nested RT-PCR |
| 6) <i>Vibrio parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ก่อโรค AHPND ( <i>Vp<sub>AHPND</sub></i> ) | DNA bacteria        | Multiplex PCR |
| - Vp-flaE: เชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i>                                           |                     |               |
| - Tumsat Vp3: เชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i>                                        |                     |               |
| ที่มียีนสร้างสารพิษ (Toxin) ก่อโรค AHPND ( <i>Vp<sub>AHPND</sub></i> )                |                     |               |
| 7) <i>Enterocytozoon hepatopenaei</i> (EHP)                                           | DNA parasitic fungi | Nested PCR    |

ข้อมูลที่ได้นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ของการตรวจพบเชื้อแต่ละชนิด

$$\text{การตรวจพบเชื้อ (\%)} = \frac{\text{จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ}}{\text{จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด}} \times 100$$

1.7.2 การตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในลูกปูทะเลแต่ละระยะ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp.) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) และเชื้อแบคทีเรียรวม โดยใช้อาหาร Trypticase Soy Agar (TSA) โดยชั่งลูกปูทะเลระยะ

ต่างๆ 0.1 กรัม ใส่ในโถรงบดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เติม 0.85% NaCl 0.9 มิลลิลิตร บดให้ละเอียด (ความเข้มข้นที่10) แล้วเจือจางแบบ serial ten-fold dilution ด้วย 0.85% NaCl เลือกความเข้มข้นที่เหมาะสม 3 ระดับ แล้วปิเปต ระดับละ 100 ไมโครลิตร และ spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่เติม NaCl 1% และ TCBS บ่มที่อุณหภูมิที่ 32 °C เมื่อครบ 18-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึกผลและคำนวณปริมาณแบคทีเรีย หน่วยเป็น cfu/g (ลีลา และชัยยุทธ, 2548; แก้วตา, 2558)

$$\text{ปริมาณแบคทีเรีย (cfu/g)} = \text{จำนวนโคโลนีเฉลี่ย} \times \text{ระดับความเจือจาง} \times 10$$

$$\text{สัดส่วนของเชื้อไวรัสโกลัมส์เหลือง (\%)} = \frac{\text{ปริมาณเชื้อไวรัสโกลัมส์เหลืองเฉลี่ย} \times 100}{\text{ปริมาณเชื้อไวรัสโดยรวม}}$$

$$\text{สัดส่วนของเชื้อไวรัสโกลัมส์เขียว (\%)} = \frac{\text{ปริมาณเชื้อไวรัสโกลัมส์เขียวเฉลี่ย} \times 100}{\text{ปริมาณเชื้อไวรัสโดยรวม}}$$

### 1.8 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและแบคทีเรียในน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อน้ำลูกปูทะเลแต่ละระยะ ใส่ในขวดพลาสติก ขนาด 500 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์คุณภาพน้ำ และขวดสีชาที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 100 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์แบคทีเรีย ดังตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** วิธีการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำและแบคทีเรียในน้ำ

| พารามิเตอร์                                                                                                                                                                                                   | วิธีวิเคราะห์                                        | เอกสารอ้างอิง                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| ความเค็ม (Salinity)                                                                                                                                                                                           | เครื่องวัดความเค็มแบบหักเหแสง (refracto salinometer) | -                                                             |
| อุณหภูมิ (Temperature)                                                                                                                                                                                        | Glass Thermometer (Alcohol Filled)                   | -                                                             |
| พีเอช (pH)                                                                                                                                                                                                    | pH meter ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น FiveEasy Plus    | -                                                             |
| ความเป็นด่าง (Alkalinity)                                                                                                                                                                                     | Potention titration method                           | APHA, AWWA and WEF (1998)                                     |
| บีโอดี (Biochemical oxygen demand ; BOD)                                                                                                                                                                      | Azide Modification                                   | APHA, AWWA and WEF (1998)                                     |
| ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved oxygen ; DO)                                                                                                                                                             | Azide Modification                                   | APHA, AWWA and WEF (1998)                                     |
| แอมโมเนียรวม (Total ammonia nitrogen ; TAN)                                                                                                                                                                   | Indophenol Blue                                      | Strickland and Parsons (1972)                                 |
| ไนไตรท์ (Nitrite ; NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )                                                                                                                                                             | Diazotization method                                 | Strickland and Parsons (1972)                                 |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> สายพันธุ์ก่อโรค AHPND ( <i>Vp</i> <sub>AHPND</sub> )<br>- <i>Vp</i> -flaE: เชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i><br>- Tumsat <i>Vp</i> 3: เชื้อ <i>V. parahaemolyticus</i> ที่มีพิษ | Multiplex PCR                                        | In house-method modified from Tinwongger <i>et al.</i> (2014) |
| สร้างสารพิษ (Toxin) ก่อโรค AHPND ( <i>Vp</i> <sub>AHPND</sub> )<br>ปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มไวรัส (Vibriosis)                                                                                                 | การเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร TCBS                       | ลีลา และชัยยุทธ (2548)                                        |

## 2. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้เก็บรวบรวมได้ ได้แก่ การตรวจพบเชื้อ WSSV YHV TSV IHNV  $Vp_{AHPND}$   $Vp-flaE$  และ EHP ปริมาณแบคทีเรียรวม ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp.) อัตราการตาย นำข้อมูลมาวิเคราะห์เชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด ค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์การตรวจพบเชื้อแต่ละชนิดในแต่ละระยะ เพื่อนำเสนอภาพรวมและแนวโน้มการติดเชื้อของกลุ่มตัวอย่างลูกปูที่ศึกษา

### ผลการศึกษา

#### 1. เชื้อไวรัส 5 ชนิด ในลูกปูทะเล

จากการตรวจไวรัส WSSV, YHV, TSV และ IMNV ตรวจไม่พบทั้ง 3 รอบการอนุบาล ตรวจพบเชื้อ IHNV ในรอบการอนุบาลที่ 1 ในลูกปูทะเลระยะ Megalopa  $66.67 \pm 57.74$  % และระยะ 1<sup>st</sup> crab  $66.67 \pm 57.7$  % และรอบการอนุบาลที่ 3 ในลูกปูทะเลระยะ Megalopa  $100 \pm 0.00$  % (ตารางที่ 4)

#### 2. เชื้อปรสิต EHP ในลูกปูทะเล

จากการตรวจลูกปูทะเลทั้ง 4 ระยะในทุกรอบการอนุบาล ตรวจไม่พบเชื้อ EHP (ตารางที่ 4)

#### 3. เชื้อแบคทีเรียในลูกปูทะเล

##### 3.1 เชื้อ $Vp_{AHPND}$ ในลูกปูทะเลระยะต่างๆ

จากการตรวจเชื้อ  $Vp_{AHPND}$  ผลตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าวในทุกระยะของลูกปูทะเลในทุกรอบการอนุบาล แต่ตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในรอบการอนุบาลที่ 1 ตรวจพบตั้งแต่วัย Zoea 3 เท่ากับ  $100.00 \pm 0.00$  % ระยะ Megalopa ตรวจพบ  $33.33 \pm 57.74$  % และระยะ 1<sup>st</sup> crab ตรวจพบ  $100.00 \pm 0.00$  % รอบการอนุบาลที่ 2 ตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในระยะ 1<sup>st</sup> crab  $100.00 \pm 0.00$  % และรอบการอนุบาลที่ 3 ตรวจพบเชื้อนี้ตั้งแต่วัย Zoea 1 เท่ากับ  $66.67 \pm 57.74$  % ระยะ Megalopa  $100.00 \pm 0.00$  % และระยะ 1<sup>st</sup> crab  $66.67 \pm 57.74$  % (ตารางที่ 4)

##### 3.2 เชื้อแบคทีเรีย ในลูกปูทะเลระยะต่างๆ

###### 3.2.1 ปริมาณแบคทีเรียในระยะ Zoea 1

รอบการอนุบาลที่ 1 และ 3 ปริมาณแบคทีเรียรวมเฉลี่ยมีจำนวนมากเกินกว่าที่จะนับได้ ( $>1 \times 10^9$  cfu/g) โดยรอบการอนุบาลที่ 2 มีปริมาณแบคทีเรียรวม  $4.00 \times 10^9$  cfu/g ปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* รวมทั้ง 3 รอบการอนุบาลมีปริมาณเฉลี่ย  $6.58 \times 10^6$ ,  $1.86 \times 10^8$  และ  $3.73 \times 10^6$  cfu/g ตามลำดับ (ตารางที่ 5) โดยสัดส่วนของแบคทีเรีย *Vibrio* กลุ่ม *V. parahaemolyticus* มีปริมาณต่ำสุดในรอบการอนุบาลที่ 1 0.76 % รอบการอนุบาลที่ 2 สูงสุดคือ 47.31 % รอบการอนุบาลที่ 3 เท่ากับ 6.07 % (ภาพที่ 1ก.)

###### 3.2.2 ปริมาณแบคทีเรียในระยะ Zoea 3

รอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3 ปริมาณแบคทีเรียรวมเฉลี่ย  $2.73 \times 10^7$ ,  $>1 \times 10^9$  และ  $6.95 \times 10^8$  cfu/g โดยรอบการอนุบาลที่ 2 มีปริมาณแบคทีเรียรวมเฉลี่ยมีจำนวนมากเกินกว่าที่จะนับได้ ปริมาณ *Vibrio* รวมทั้ง 3 รอบการอนุบาลมีปริมาณเฉลี่ย  $1.38 \times 10^5$ ,  $6.78 \times 10^4$  และ  $1.05 \times 10^7$  cfu/g

ตามลำดับ (ตารางที่ 5) โดยสัดส่วนของแบคทีเรียไวรัสโอกลุ่มสีเขียว ในรอบการอนุบาลที่ 1 เท่ากับ 8.39 % รอบการอนุบาลที่ 2 และรอบการอนุบาลที่ 3 ไม่พบแบคทีเรียไวรัสโอกลุ่มสีเขียว (ภาพที่ 1ข.)

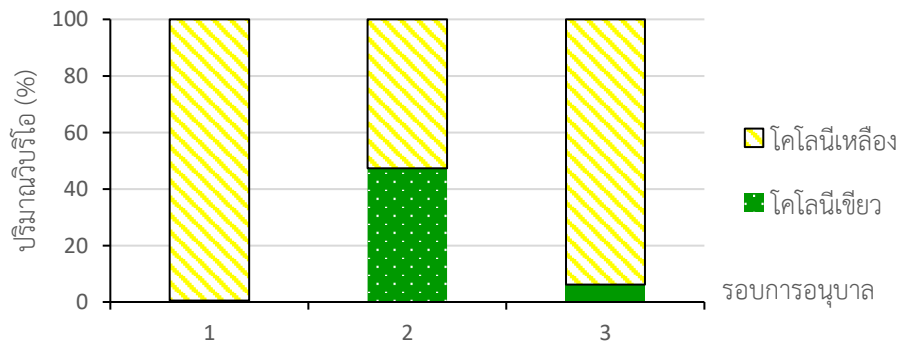
### 3.2.3 ปริมาณแบคทีเรียในระยะ Megalopa

รอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาณแบคทีเรียรวมเฉลี่ย  $2.10 \times 10^9$ ,  $>1 \times 10^9$  และ  $2.11 \times 10^9$  cfu/g ปริมาณไวรัสโอรวมเฉลี่ยในรอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ  $4.65 \times 10^7$ ,  $2.09 \times 10^6$  และ  $1.92 \times 10^6$  cfu/g ตามลำดับ (ตารางที่ 5) โดยสัดส่วนของแบคทีเรียไวรัสโอกลุ่มสีเขียวมีปริมาณต่ำสุดในรอบการอนุบาลที่ 2 เท่ากับ 3.94 % รอบการอนุบาลที่ 3 สูงสุด 49.56 % และรอบการอนุบาลที่ 1 เท่ากับ 13.31 % (ภาพที่ 1ค.)

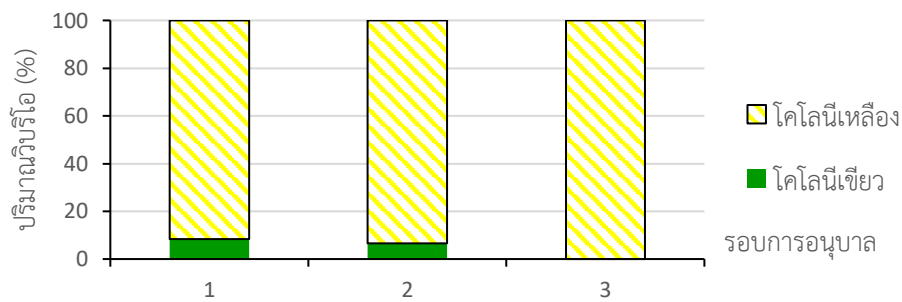
### 3.2.4 ปริมาณแบคทีเรียในระยะ 1<sup>st</sup> crab

รอบการอนุบาลที่ 1 และ 2 ปริมาณแบคทีเรียรวมเฉลี่ย  $>1 \times 10^9$  cfu/g ในรอบการอนุบาลที่ 3 มีค่าเท่ากับ  $8.83 \times 10^7$  cfu/g ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มไวรัสโอรวมเฉลี่ยในรอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ  $6.73 \times 10^5$ ,  $1.11 \times 10^6$  และ  $2.10 \times 10^6$  cfu/g ตามลำดับ (ตารางที่ 5) โดยสัดส่วนของแบคทีเรียไวรัสโอกลุ่มสีเขียวมีปริมาณต่ำสุดในรอบการอนุบาลที่ 1 เท่ากับ 0.49 % สูงสุดในรอบการอนุบาลที่ 2 คือ 9.8 % และรอบการอนุบาลที่ 3 เท่ากับ 1.32 % (ภาพที่ 1ง.)

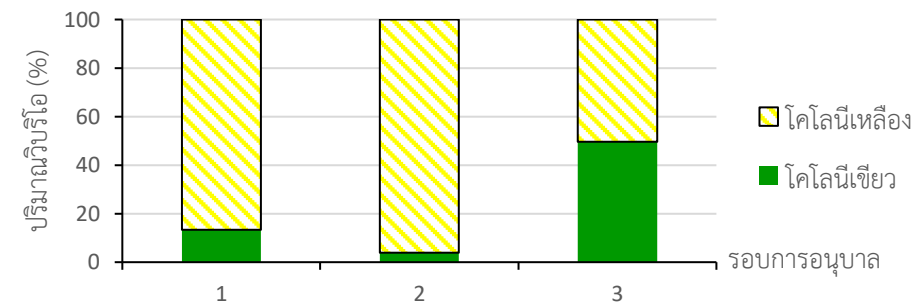
ก. ลูกปูทะเลระยะ Zoea 1



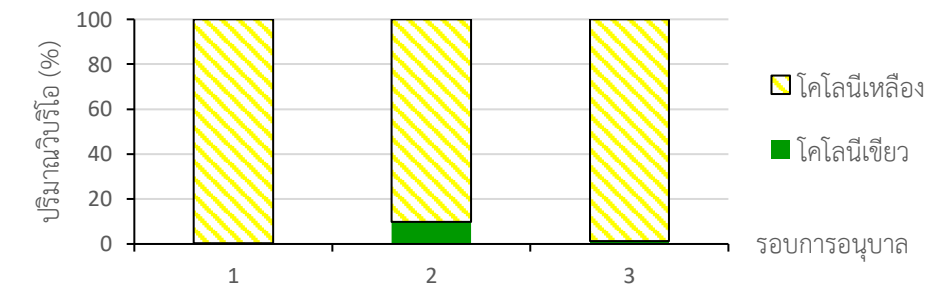
ข. ลูกปูทะเลระยะ Zoea 3



ค. ลูกปูทะเลระยะ Megalopa



ง. ลูกปูทะเลระยะ 1<sup>st</sup> Crab



ภาพที่ 1 สัดส่วนปริมาณกลุ่มวัยบริโอโคโลนีสีเหลืองและโคโลนีสีเขียว ในลูกปูทะเล 4 ระยะ (ก.ระยะ Zoea 1 ข. ระยะ Zoea 3 ค. ระยะ Megalopa ง. ระยะ 1<sup>st</sup> Crab) ในรอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3

ตารางที่ 4 ผลการศึกษาเชื้อไวรัส 5 ชนิด เชื้อ EHP เชื้อ *V. parahaemolyticus* (Vp) และเชื้อ *Vp<sub>AHPND</sub>* ในลูกปูทะเล 4 ระยะ ทั้ง 3 รอบการอนุบาล

| ระยะลูกปูทะเล        | รอบการอนุบาล | การตรวจพบเชื้อ (%) |     |     |             |      |     |             |                     |
|----------------------|--------------|--------------------|-----|-----|-------------|------|-----|-------------|---------------------|
|                      |              | WSSV               | YHV | TSV | IHHNV       | IMNV | EHP | Vp          | Vp <sub>AHPND</sub> |
| Zoea 1               | 1            | ND                 | ND  | ND  | ND          | ND   | ND  | ND          | ND                  |
|                      | 2            | ND                 | ND  | ND  | ND          | ND   | ND  | ND          | ND                  |
|                      | 3            | ND                 | ND  | ND  | ND          | ND   | ND  | 66.67±57.74 | ND                  |
| Zoea 3               | 1            | ND                 | ND  | ND  | ND          | ND   | ND  | 100±0.00    | ND                  |
|                      | 2            | ND                 | ND  | ND  | ND          | ND   | ND  | ND          | ND                  |
|                      | 3            | ND                 | ND  | ND  | ND          | ND   | ND  | ND          | ND                  |
| Megalopa             | 1            | ND                 | ND  | ND  | 66.67±57.74 | ND   | ND  | 33.33±57.74 | ND                  |
|                      | 2            | ND                 | ND  | ND  | ND          | ND   | ND  | ND          | ND                  |
|                      | 3            | ND                 | ND  | ND  | 100±0.00    | ND   | ND  | 100±0.00    | ND                  |
| 1 <sup>st</sup> Crab | 1            | ND                 | ND  | ND  | 66.67±57.74 | ND   | ND  | 100±0.00    | ND                  |
|                      | 2            | ND                 | ND  | ND  | ND          | ND   | ND  | 100±0.00    | ND                  |
|                      | 3            | ND                 | ND  | ND  | ND          | ND   | ND  | 66.67±57.74 | ND                  |



**ตารางที่ 5** ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มไวรัส และแบคทีเรียรวม (cfu/g) ในลูกปูทะเล 4 ระยะ ทั้ง 3 รอบการอนุบาล

| ระยะ<br>ลูกปู<br>ทะเล | ค่า  | แบคทีเรียในลูกปูทะเล (cfu/g) |                      |                      |                       |                      |                      |                      |                       |                      |                      |
|-----------------------|------|------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
|                       |      | รอบการอนุบาลที่ 1            |                      |                      |                       |                      | รอบการอนุบาลที่ 2    |                      |                       |                      |                      |
|                       |      | ไวรัสโอรวม                   | โคโลนีเขียว          | โคโลนีเหลือง         | แบคทีเรียรวม          | ไวรัสโอรวม           | โคโลนีเขียว          | โคโลนีเหลือง         | แบคทีเรียรวม          | ไวรัสโอรวม           | โคโลนีเขียว          |
| Zoea 1                | mean | 6.58×10 <sup>6</sup>         | 3.33×10 <sup>4</sup> | 6.55×10 <sup>6</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.86×10 <sup>8</sup> | 8.80×10 <sup>7</sup> | 9.80×10 <sup>7</sup> | 4.00×10 <sup>9</sup>  | 3.73×10 <sup>6</sup> | 2.27×10 <sup>5</sup> |
|                       | SD   | 1.92×10 <sup>6</sup>         | 2.89×10 <sup>4</sup> | 1.91×10 <sup>6</sup> | -                     | 6.00×10 <sup>6</sup> | 8.00×10 <sup>6</sup> | 2.00×10 <sup>6</sup> | 0.00×10 <sup>2</sup>  | 4.64×10 <sup>6</sup> | 3.23×10 <sup>5</sup> |
|                       | min  | 5.40×10 <sup>6</sup>         | <300                 | 5.40×10 <sup>6</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.80×10 <sup>8</sup> | 8.00×10 <sup>7</sup> | 9.60×10 <sup>7</sup> | 4.00×10 <sup>9</sup>  | 2.60×10 <sup>5</sup> | 4.00×10 <sup>4</sup> |
|                       | max  | 8.80×10 <sup>6</sup>         | 5.00×10 <sup>4</sup> | 8.75×10 <sup>6</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.92×10 <sup>8</sup> | 9.60×10 <sup>7</sup> | 1.00×10 <sup>8</sup> | 4.00×10 <sup>9</sup>  | 9.00×10 <sup>6</sup> | 6.00×10 <sup>5</sup> |
|                       |      |                              |                      |                      |                       |                      |                      |                      |                       |                      |                      |
| Zoea 3                | mean | 1.47×10 <sup>5</sup>         | 1.23×10 <sup>4</sup> | 1.35×10 <sup>5</sup> | 2.73×10 <sup>7</sup>  | 6.78×10 <sup>4</sup> | 4.50×10 <sup>3</sup> | 6.33×10 <sup>4</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.05×10 <sup>7</sup> | <300                 |
|                       | SD   | 8.40×10 <sup>4</sup>         | 1.53×10 <sup>4</sup> | 8.32×10 <sup>4</sup> | 1.27×10 <sup>7</sup>  | 2.99×10 <sup>4</sup> | 5.00×10 <sup>2</sup> | 2.94×10 <sup>4</sup> | -                     | 8.76×10 <sup>6</sup> | -                    |
|                       | min  | 4.15×10 <sup>4</sup>         | 2.50×10 <sup>3</sup> | 3.90×10 <sup>4</sup> | 1.70×10 <sup>7</sup>  | 4.30×10 <sup>4</sup> | 4.00×10 <sup>3</sup> | 3.90×10 <sup>4</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.50×10 <sup>6</sup> | <300                 |
|                       | max  | 1.95×10 <sup>5</sup>         | 3.00×10 <sup>4</sup> | 1.90×10 <sup>5</sup> | 4.15×10 <sup>7</sup>  | 1.01×10 <sup>5</sup> | 5.00×10 <sup>3</sup> | 9.60×10 <sup>4</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.90×10 <sup>7</sup> | <300                 |
| Mega lopa             | mean | 4.65×10 <sup>7</sup>         | 6.18×10 <sup>6</sup> | 4.03×10 <sup>7</sup> | 2.10×10 <sup>9</sup>  | 2.11×10 <sup>6</sup> | 8.33×10 <sup>4</sup> | 2.03×10 <sup>6</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.92×10 <sup>6</sup> | 9.50×10 <sup>5</sup> |
|                       | SD   | 1.83×10 <sup>6</sup>         | 5.46×10 <sup>6</sup> | 4.82×10 <sup>6</sup> | 8.54×10 <sup>8</sup>  | 1.56×10 <sup>6</sup> | 2.89×10 <sup>4</sup> | 1.55×10 <sup>6</sup> | -                     | 1.88×10 <sup>6</sup> | 9.76×10 <sup>5</sup> |
|                       | min  | 4.50×10 <sup>7</sup>         | 5.00×10 <sup>4</sup> | 3.70×10 <sup>7</sup> | 1.30×10 <sup>9</sup>  | 5.30×10 <sup>5</sup> | 5.00×10 <sup>4</sup> | 4.30×10 <sup>5</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | <300                 | <300                 |
|                       | max  | 4.85×10 <sup>7</sup>         | 1.05×10 <sup>7</sup> | 4.58×10 <sup>7</sup> | 3.00×10 <sup>9</sup>  | 4.20×10 <sup>6</sup> | 1.00×10 <sup>5</sup> | 4.10×10 <sup>6</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 3.75×10 <sup>6</sup> | 1.95×10 <sup>6</sup> |
|                       |      |                              |                      |                      |                       |                      |                      |                      |                       |                      |                      |
| 1 <sup>st</sup> Crab  | mean | 6.73×10 <sup>5</sup>         | 1.67×10 <sup>3</sup> | 6.72×10 <sup>5</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.11×10 <sup>6</sup> | 1.09×10 <sup>5</sup> | 1.00×10 <sup>6</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 2.51×10 <sup>6</sup> | 3.33×10 <sup>4</sup> |
|                       | SD   | 9.42×10 <sup>5</sup>         | 2.89×10 <sup>3</sup> | 9.43×10 <sup>5</sup> | -                     | 5.61×10 <sup>5</sup> | 1.32×10 <sup>5</sup> | 5.40×10 <sup>5</sup> | -                     | 2.21×10 <sup>6</sup> | 5.77×10 <sup>4</sup> |
|                       | min  | <300                         | 0.00×10 <sup>2</sup> | <300                 | >1.00×10 <sup>9</sup> | 6.20×10 <sup>5</sup> | 2.00×10 <sup>4</sup> | 5.50×10 <sup>5</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.40×10 <sup>5</sup> | <300                 |
|                       | max  | 1.75×10 <sup>6</sup>         | 5.00×10 <sup>3</sup> | 1.75×10 <sup>6</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 1.72×10 <sup>6</sup> | 3.00×10 <sup>5</sup> | 1.70×10 <sup>6</sup> | >1.00×10 <sup>9</sup> | 4.50×10 <sup>6</sup> | 1.00×10 <sup>5</sup> |
|                       |      |                              |                      |                      |                       |                      |                      |                      |                       |                      |                      |

#### 4. อัตราการรอดตายและระยะเวลาพัฒนาการของลูกปูทะเล

รอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3 ลูกปูทะเลจากระยะ Zoea 1 ถึงระยะ 1<sup>st</sup> Crab มีอัตราการรอดตายเฉลี่ย 4.84, 4.18 และ 6.72% ตามลำดับ และระยะเวลาพัฒนาการ 25, 20 และ 21 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 อัตราการรอดตายและระยะเวลาพัฒนาการของลูกปูทะเลระยะ Zoea 1 ถึงระยะ 1<sup>st</sup> Crab

| รอบการอนุบาล | ความหนาแน่น<br>ตัว/ลิตร | Zoea 1<br>(ตัว) | 1 <sup>st</sup> Crab<br>(ตัว) | อัตราการรอดตาย<br>(%) | ระยะเวลา<br>พัฒนาการ (วัน) |
|--------------|-------------------------|-----------------|-------------------------------|-----------------------|----------------------------|
| 1            | 100                     | 800,000         | 38,740                        | 4.84                  | 25                         |
| 2            | 75                      | 550,000         | 23,000                        | 4.18                  | 20                         |
| 3            | 150                     | 1,290,000       | 86,688                        | 6.72                  | 21                         |

#### 5. การศึกษาเชื้อแบคทีเรียในน้ำบ่ออนุบาลลูกปูทะเล

##### 5.1 เชื้อ $Vp_{AHPND}$ ในน้ำบ่ออนุบาลลูกปูทะเล

จากการตรวจเชื้อ  $Vp_{AHPND}$  ผลปรากฏว่าตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าวในน้ำทุกระยะของลูกปูทะเลในทุกรอบการอนุบาล แต่ตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* (*Vp*) ในรอบการอนุบาลที่ 1 ตรวจพบตั้งแต่ระยะ Zoea 3 เท่ากับ  $100.00 \pm 0.00$  % ระยะ Megalopa ตรวจพบ  $66.67 \pm 57.74$  % และระยะ 1<sup>st</sup> Crab ตรวจพบ  $33.33 \pm 57.74$  % รอบการอนุบาลที่ 2 ตรวจพบเชื้อ *Vp-flaE* ในระยะ 1<sup>st</sup> crab  $75.00 \pm 50.00$  % และรอบการอนุบาลที่ 3 ตรวจพบเชื้อในระยะ Megalopa และระยะ 1<sup>st</sup> Crab  $100.00 \pm 0.00$  % (ตารางที่ 7, 8 และ 9)

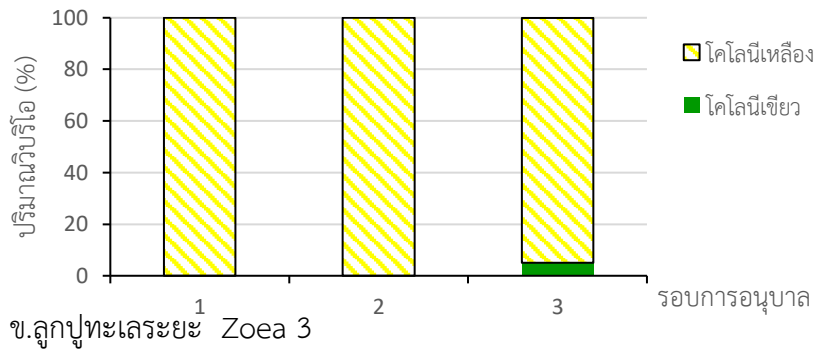
##### 5.2 ปริมาณแบคทีเรียในน้ำบ่ออนุบาลลูกปูทะเล

ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอรวมเฉลี่ยที่ตรวจพบในน้ำของการอนุบาลในรอบที่ 1 อยู่ในช่วง  $2.00 \times 10^3$  -  $8.14 \times 10^4$  cfu/ml การเลี้ยงในรอบที่ 2 อยู่ในช่วง  $1.81 \times 10^4$  -  $1.28 \times 10^5$  cfu/ml ในรอบการอนุบาลที่ 3 อยู่ในช่วง  $9.17 \times 10^3$  -  $4.95 \times 10^4$  cfu/ml (ตารางที่ 7, 8 และ 9) สัดส่วนของแบคทีเรียวิบริโอกลุ่มสีเหลืองมากกว่ากลุ่มสีเขียวในทุกระยะที่อนุบาลลูกปูทะเลและในทุกรอบการเลี้ยง (ภาพที่ 2)

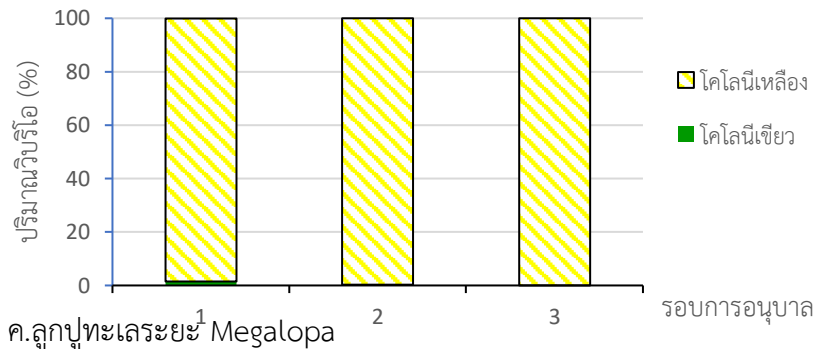
#### 6. การศึกษาคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลปูทะเล

คุณภาพน้ำในแต่ละรอบการเลี้ยง ได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง ความเป็นด่าง ค่าบีโอดี ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ยกเว้นค่าแอมโมเนียรวม ที่บางช่วงมีค่าเกินเกณฑ์ที่เหมาะสม ในรอบการอนุบาลที่ 1 แอมโมเนียรวม 0.0319-0.4631 mg/l รอบการอนุบาลที่ 2 แอมโมเนียรวม 0.1837-1.0896 mg/l และรอบการอนุบาลที่ 3 แอมโมเนียรวม 0.1606-1.9263 mg/l (ตารางที่ 7, 8 และ 9)

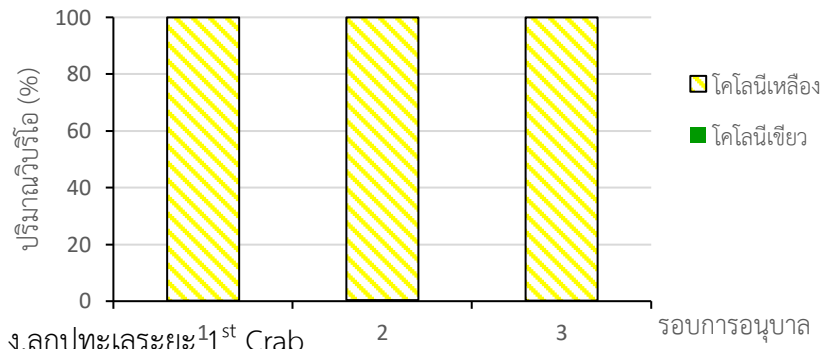
ก.ลูกปูทะเลระยะ Zoea 1



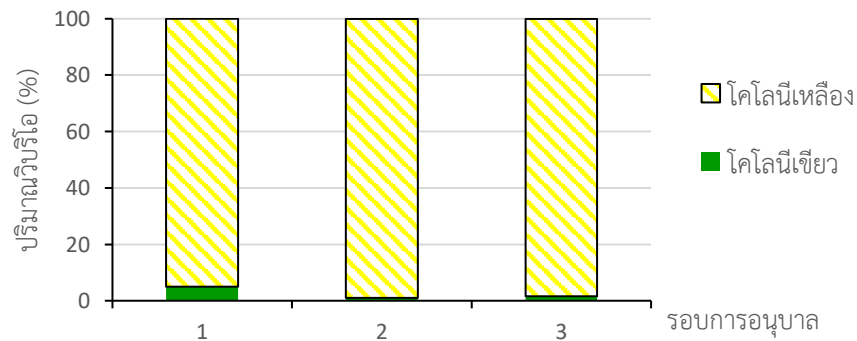
ข.ลูกปูทะเลระยะ Zoea 3



ค.ลูกปูทะเลระยะ Megalopa



ง.ลูกปูทะเลระยะ 1<sup>st</sup> Crab



ภาพที่ 2 สัดส่วนปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม vibrio โคโลนีสีเหลืองและโคโลนีสีเขียว ในน้ำบ่ออนุบาลลูกปูทะเล 4 ระยะ (ก.ระยะ Zoea 1 ข.ระยะ Zoea 3 ค.ระยะ Megalopa ง.ระยะ 1<sup>st</sup> Crab) ในรอบการอนุบาลที่ 1, 2 และ 3

ตารางที่ 7 การตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* (Vp) ปริมาณแบคทีเรีย และคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลในรอบการอนุบาลที่ 1

| ระยะ   | ค่า  | การตรวจพบเชื้อ <i>Vp</i> <sub>AHPND</sub> (%) |                     | ปริมาณแบคทีเรีย (cfu/ml) |                      |                      |           |           | คุณภาพน้ำ |            |            |           |                                     |
|--------|------|-----------------------------------------------|---------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|-----------|-------------------------------------|
|        |      | Vp                                            | Vp <sub>AHPND</sub> | วิบริโอรวม               | โคโลนีเขียว          | โคโลนีเหลือง         | Sal (ppt) | Temp (°C) | pH        | Alk (mg/l) | BOD (mg/l) | DO (mg/l) | NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l) |
| Zoea 1 | -    | 0.00                                          | 0.00                | 5.05×10 <sup>4</sup>     | <300                 | 5.05×10 <sup>4</sup> | 30.00     | 29.00     | 8.16      | 139.00     | 0.00       | 8.20      | 0.0800                              |
|        | mean | 100.00                                        | 0.00                | 1.86×10 <sup>4</sup>     | 2.83×10 <sup>2</sup> | 1.83×10 <sup>4</sup> | 30.00     | 29.17     | 8.20      | 153.67     | 0.93       | 8.37      | 0.0282                              |
|        | sd   | 0.00                                          | 0.00                | 1.56×10 <sup>4</sup>     | 2.75×10 <sup>2</sup> | 1.55×10 <sup>4</sup> | 0.00      | 0.29      | 0.01      | 1.15       | 0.31       | 0.81      | 0.0120                              |
|        | max  | 100.00                                        | 0.00                | 3.57×10 <sup>4</sup>     | 5.50×10 <sup>2</sup> | 3.54×10 <sup>4</sup> | 30.00     | 29.50     | 8.21      | 155.00     | 1.20       | 9.30      | 0.0421                              |
|        | min  | 100.00                                        | 0.00                | 5.25×10 <sup>3</sup>     | <300                 | 5.25×10 <sup>3</sup> | 30.00     | 29.00     | 8.19      | 153.00     | 0.60       | 7.80      | 0.0210                              |
|        | mean | 66.67                                         | 0.00                | 8.14×10 <sup>4</sup>     | 8.33×10              | 8.13×10 <sup>4</sup> | 29.67     | 29.17     | 8.25      | 143.00     | 2.00       | 7.20      | 0.0970                              |
|        | sd   | 57.74                                         | 0.00                | 1.28×10 <sup>4</sup>     | 1.44×10 <sup>2</sup> | 1.27×10 <sup>4</sup> | 0.58      | 0.29      | 0.00      | 0.00       | 0.00       | 0.00      | 0.0000                              |
|        | max  | 100.00                                        | 0.00                | 9.53×10 <sup>4</sup>     | 2.50×10 <sup>2</sup> | 9.50×10 <sup>4</sup> | 30.00     | 29.50     | 8.25      | 143.00     | 2.00       | 7.20      | 0.0970                              |
|        | min  | 0.00                                          | 0.00                | 7.00×10 <sup>4</sup>     | <300                 | 7.00×10 <sup>4</sup> | 29.00     | 29.00     | 8.25      | 143.00     | 2.00       | 7.20      | 0.0970                              |
|        | mean | 33.33                                         | 0.00                | 2.00×10 <sup>3</sup>     | 1.00×10 <sup>2</sup> | 1.90×10 <sup>3</sup> | 28.67     | 29.17     | 8.25      | 147.33     | 1.60       | 8.03      | 0.3871                              |
|        | sd   | 57.74                                         | 0.00                | 9.17×10 <sup>2</sup>     | 1.32×10 <sup>2</sup> | 9.26×10 <sup>2</sup> | 0.58      | 0.29      | 0.02      | 3.06       | 0.35       | 0.31      | 0.0869                              |
|        | max  | 100.00                                        | 0.00                | 2.80×10 <sup>3</sup>     | 2.50×10 <sup>2</sup> | 2.80×10 <sup>3</sup> | 29.00     | 29.50     | 8.27      | 150.00     | 2.00       | 8.30      | 0.4631                              |
|        | min  | 0.00                                          | 0.00                | 1.00×10 <sup>3</sup>     | <300                 | 9.50×10 <sup>2</sup> | 28.00     | 29.00     | 8.24      | 144.00     | 1.40       | 7.70      | 0.2923                              |
|        |      |                                               |                     |                          |                      |                      |           |           |           |            |            |           | 0.6347                              |

ตารางที่ 8 การตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* (Vp) ปริมาณแบคทีเรีย และคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลในรอบการอนุบาลที่ 2

| ระยะ                 | ค่า  | การตรวจพบเชื้อ $Vp_{AHPND}$ (%) |              | ปริมาณแบคทีเรีย (cfu/ml) |                    |                    |           |           | คุณภาพน้ำ |            |            |           |            |                 |
|----------------------|------|---------------------------------|--------------|--------------------------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|-----------|------------|-----------------|
|                      |      | $Vp$                            | $Vp_{AHPND}$ | วิบริโอรวม               | โคโลนีเขียว        | โคโลนีเหลือง       | Sal (ppt) | Temp (°C) | pH        | Alk (mg/l) | BOD (mg/l) | DO (mg/l) | TAN (mg/l) | $NO_2^-$ (mg/l) |
| Zoea 1               | mean | 0.00                            | 0.00         | $1.28 \times 10^5$       | <300               | $1.28 \times 10^5$ | 29.50     | 29.00     | 7.82      | 138.00     | 0.20       | 6.40      | 0.1837     | 0.0126          |
|                      | sd   | 0.00                            | 0.00         | $3.89 \times 10^4$       | -                  | $3.89 \times 10^4$ | 0.71      | 0.00      | 0.00      | 0.00       | 0.00       | 0.00      | 0.0000     | 0.0000          |
|                      | max  | 0.00                            | 0.00         | $1.55 \times 10^5$       | <300               | $1.55 \times 10^5$ | 30.00     | 29.00     | 7.82      | 138.00     | 0.20       | 6.40      | 0.1837     | 0.0126          |
|                      | min  | 0.00                            | 0.00         | $1.00 \times 10^5$       | <300               | $1.00 \times 10^5$ | 29.00     | 29.00     | 7.82      | 138.00     | 0.20       | 6.40      | 0.1837     | 0.0126          |
| Zoea 3               | mean | 0.00                            | 0.00         | $2.57 \times 10^4$       | $1.00 \times 10^2$ | $2.56 \times 10^4$ | 30.00     | 29.33     | 8.23      | 151.00     | 1.33       | 7.50      | 0.4362     | 0.0058          |
|                      | sd   | 0.00                            | 0.00         | $1.09 \times 10^4$       | $1.00 \times 10^2$ | $1.08 \times 10^4$ | 0.00      | 0.29      | 0.04      | 1.73       | 0.81       | 0.46      | 0.0778     | 0.0017          |
|                      | max  | 0.00                            | 0.00         | $3.56 \times 10^4$       | $2.00 \times 10^2$ | $3.54 \times 10^4$ | 30.00     | 29.50     | 8.27      | 153.00     | 2.20       | 8.00      | 0.5201     | 0.0076          |
|                      | min  | 0.00                            | 0.00         | $1.40 \times 10^4$       | <300               | $1.40 \times 10^4$ | 30.00     | 29.00     | 8.20      | 150.00     | 0.60       | 7.10      | 0.3664     | 0.0042          |
| Mega lopa            | mean | 0.00                            | 0.00         | $2.92 \times 10^4$       | $1.25 \times 10^2$ | $2.92 \times 10^4$ | 29.00     | 29.13     | 8.26      | 198.25     | 2.10       | 7.33      | 0.9782     | 0.0065          |
|                      | sd   | 0.00                            | 0.00         | $4.65 \times 10^4$       | $1.57 \times 10^2$ | $4.65 \times 10^4$ | 0.82      | 0.25      | 0.01      | 1.89       | 1.50       | 0.34      | 0.0809     | 0.0007          |
|                      | max  | 0.00                            | 0.00         | $4.28 \times 10^4$       | $2.50 \times 10^2$ | $4.28 \times 10^4$ | 30.00     | 29.50     | 8.27      | 201.00     | 4.00       | 7.80      | 1.0896     | 0.0076          |
|                      | min  | 0.00                            | 0.00         | $1.73 \times 10^4$       | <300               | $1.72 \times 10^4$ | 28.00     | 29.00     | 8.24      | 197.00     | 0.80       | 7.00      | 0.9049     | 0.0061          |
| 1 <sup>st</sup> Crab | mean | 75.00                           | 0.00         | $1.81 \times 10^4$       | $1.75 \times 10^2$ | $1.79 \times 10^4$ | 29.25     | 29.25     | 8.08      | 131.00     | 2.45       | 7.00      | 0.6601     | 0.0094          |
|                      | sd   | 50.00                           | 0.00         | $1.23 \times 10^4$       | $1.44 \times 10^2$ | $1.23 \times 10^4$ | 0.96      | 0.29      | 0.04      | 2.45       | 1.22       | 0.48      | 0.0204     | 0.0009          |
|                      | max  | 100.00                          | 0.00         | $3.52 \times 10^4$       | $3.50 \times 10^2$ | $3.50 \times 10^4$ | 30.00     | 29.50     | 8.11      | 134.00     | 4.20       | 7.70      | 0.6888     | 0.0101          |
|                      | min  | 0.00                            | 0.00         | $5.85 \times 10^3$       | <300               | $5.70 \times 10^3$ | 28.00     | 29.00     | 8.03      | 128.00     | 1.40       | 6.60      | 0.6416     | 0.0082          |

ตารางที่ 9 การตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* (Vp) ปริมาณแบคทีเรีย และคุณภาพน้ำในบ่ออนุบาลในรอบการอนุบาลที่ 3

| การตรวจพบเชื้อ $Vp_{AHPND}$ |      |          |              |                          |                    |                    |           |                             |           |            |            |           |            |                        |
|-----------------------------|------|----------|--------------|--------------------------|--------------------|--------------------|-----------|-----------------------------|-----------|------------|------------|-----------|------------|------------------------|
| ระยะ                        | ค่า  | ( $\%$ ) |              | ปริมาณแบคทีเรีย (cfu/ml) |                    |                    |           |                             | คุณภาพน้ำ |            |            |           |            |                        |
|                             |      | Vp       | $Vp_{AHPND}$ | วิบริโอรวม               | โคโลนีเขียว        | โคโลนีเหลือง       | Sal (ppt) | Temp ( $^{\circ}\text{C}$ ) | pH        | Alk (mg/l) | BOD (mg/l) | DO (mg/l) | TAN (mg/l) | $\text{NO}_2^-$ (mg/l) |
| Zoea 3                      | mean | 0.00     | 0.00         | $9.17 \times 10^3$       | $4.67 \times 10^2$ | $8.70 \times 10^3$ | 30.00     | 29.00                       | 8.07      | 136.00     | 1.67       | 7.4       | 0.1606     | 0.0081                 |
|                             | sd   | 0.00     | 0.00         | $1.78 \times 10^3$       | $6.43 \times 10^2$ | $2.42 \times 10^3$ | 0.00      | 0.00                        | 0.03      | 2.00       | 0.81       | 0.66      | 0.0324     | 0.0005                 |
|                             | max  | 0.00     | 0.00         | $1.05 \times 10^4$       | $1.20 \times 10^3$ | $1.05 \times 10^4$ | 30.00     | 29.00                       | 8.10      | 138.00     | 2.40       | 8.1       | 0.1825     | 0.0087                 |
|                             | min  | 0.00     | 0.00         | $7.15 \times 10^3$       | <300               | $5.95 \times 10^3$ | 30.00     | 29.00                       | 8.05      | 134.00     | 0.80       | 6.8       | 0.1234     | 0.0078                 |
|                             | mean | 0.00     | 0.00         | $4.95 \times 10^4$       | <300               | $4.95 \times 10^4$ | 29.33     | 29.33                       | 8.04      | 136.33     | 0.93       | 8.13      | 0.5495     | 0.1079                 |
|                             | sd   | 0.00     | 0.00         | $1.63 \times 10^4$       | -                  | $1.63 \times 10^4$ | 0.58      | 0.29                        | 0.03      | 2.08       | 0.31       | 1.12      | 0.0012     | 0.0213                 |
|                             | max  | 0.00     | 0.00         | $6.15 \times 10^4$       | <300               | $6.15 \times 10^4$ | 30.00     | 29.50                       | 8.06      | 138.00     | 1.20       | 9.10      | 0.5508     | 0.1325                 |
|                             | min  | 0.00     | 0.00         | $3.09 \times 10^4$       | <300               | $3.09 \times 10^4$ | 29.00     | 29.00                       | 8.01      | 134.00     | 0.60       | 6.90      | 0.5487     | 0.0952                 |
| Megalopa                    | mean | 100.00   | 0.00         | $4.41 \times 10^4$       | $8.33 \times 10$   | $4.40 \times 10^4$ | 28.67     | 29.33                       | 8.04      | 126.67     | 1.67       | 6.77      | 0.9081     | 0.0324                 |
|                             | sd   | 0.00     | 0.00         | $1.90 \times 10^4$       | $1.04 \times 10^2$ | $1.91 \times 10^4$ | 0.58      | 0.29                        | 0.03      | 1.53       | 0.64       | 0.55      | 0.1294     | 0.0127                 |
|                             | max  | 100.00   | 0.00         | $5.51 \times 10^4$       | $2.00 \times 10^2$ | $5.50 \times 10^4$ | 29.00     | 29.50                       | 8.06      | 128.00     | 2.40       | 7.30      | 1.0554     | 0.0450                 |
|                             | min  | 100.00   | 0.00         | $2.22 \times 10^4$       | <300               | $2.20 \times 10^4$ | 28.00     | 29.00                       | 8.01      | 125.00     | 1.20       | 6.20      | 0.8128     | 0.0197                 |
| 1 <sup>st</sup> Crab        | mean | 100.00   | 0.00         | $1.97 \times 10^4$       | $3.17 \times 10^2$ | $1.94 \times 10^4$ | 27.67     | 29.17                       | 7.74      | 142.67     | 0.80       | 7.10      | 1.7893     | 0.1539                 |
|                             | sd   | 0.00     | 0.00         | $1.96 \times 10^3$       | $7.64 \times 10$   | $2.03 \times 10^3$ | 0.58      | 0.29                        | 0.07      | 5.69       | 0.53       | 0.30      | 0.1798     | 0.0183                 |
|                             | max  | 100.00   | 0.00         | $2.13 \times 10^4$       | $4.00 \times 10^2$ | $2.10 \times 10^4$ | 28.00     | 29.50                       | 7.80      | 149.00     | 1.40       | 7.40      | 1.9263     | 0.1661                 |
|                             | min  | 100.00   | 0.00         | $1.75 \times 10^4$       | $2.50 \times 10^2$ | $1.71 \times 10^4$ | 27.00     | 29.00                       | 7.66      | 138.00     | 0.40       | 6.80      | 1.5857     | 0.1329                 |

## วิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษาชนิดของเชื้อโรคในการอนุบาลลูกปูทะเลในโรงเพาะฟักครั้งนี้ พบว่าเชื้อโรคที่พบในแต่ ละรอบการอนุบาลค่อนข้างมีความแตกต่างกัน จากการตรวจไวรัส 5 ชนิดในลูกปูทะเล 4 ระยะ คือ Zoea 1 Zoea 3 Megalopa และ 1<sup>st</sup> Crab พบการติดเชื้อไวรัส IHNV ในรอบการอนุบาลที่ 1 ในลูกปูทะเลระยะ Megalopa และ 1<sup>st</sup> Crab ส่วนในรอบการอนุบาลที่ 2 ตรวจไม่พบ และในรอบการอนุบาลที่ 3 ตรวจพบใน ระยะ Megalopa เพียงระยะเดียว โดยทั่วไปเชื้อ IHNV ในปูจะไม่ผลทำให้ปูแสดงอาการของโรคหรือทำให้ปู ตาย แต่ทำให้ปูอยู่ในภาวะเป็นพาหะนำเชื้อและส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำอื่น ๆ จากการศึกษาของจรีพรและคณะ (2548) ที่ได้ทดสอบการยอมรับเชื้อไวรัส IHNV ในปู *Scylla serrata* โดยฉีดเชื้อเข้าบริเวณขาเดิน ตลอดเวลา 10 วัน ไม่พบการแสดงอาการของโรคและไม่มีการตาย และยังคงตรวจพบอนุภาคของไวรัสในเลือดของปู หลังจากการฉีดเชื้อเป็นระยะเวลา 10 วัน

เชื้อไวรัสชนิดอื่นที่ตรวจไม่พบในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ WSSV TSV YHV และ IMNV ในกรณีของ เชื้อ WSSV Somboonna *et al.* (2010) ได้ศึกษาสายพันธุ์ของปูในการยอมรับเชื้อ WSSV โดยพบว่า ปูดำ หรือปูแดง (*Scylla olivacea*) มีความอ่อนแอต่อเชื้อมากที่สุด รองลงมาคือ ปูขาวหรือปูทองเหลือง (*S. paramamosain*) และปูเขียวหรือปูทองโหลง (*S. serrata*) ทนต่อเชื้อ WSSV มากที่สุด ซึ่งจากการศึกษา ของ Supamattaya *et al.* (1998) พบว่าไวรัส WSSV สามารถติดต่อสู่ปูม้า (*Portunus pelagicus*) และ ปู *S. serrata* ได้โดยการกิน การฉีด และการแช่ Chen *et al.* (2000) ได้ศึกษาเชื้อ WSSV ในตัวอ่อนปู *S. serrata* ที่จับจากธรรมชาติ พบเชื้อ WSSV 60% และได้ทำการทดลองนำตัวอ่อนปูที่ปราศจากเชื้อ WSSV มาแช่ในน้ำที่มีเชื้อ WSSV 2 ชั่วโมง แล้วนำมาเลี้ยงในน้ำปกติพบการตายสะสม 43% ในขณะที่ชุดควบคุมตาย สะสม 20% ในระยะเวลา 14 วัน Kanchanaphum *et al.* (1998, อ้างถึงใน วรรณ, 2545) ได้ศึกษา ความสามารถในการถ่ายทอดเชื้อ WSSV ของปู *S. serrata* ไปสู่กุ้งกุลาดำ โดยการเหนี่ยวนำให้ปูได้รับเชื้อโดย การฉีด และนำไปเลี้ยงร่วมกับกุ้งกุลาดำที่ปราศจากเชื้อ พบการถ่ายทอดเชื้อไปสู่กุ้งได้

เชื้อ TSV ในปู จากการการศึกษาของ จรีพรและคณะ (2548) ที่ได้ทดลองฉีดเชื้อ TSV ในปู *S. serrata* พบว่าตลอดระยะเวลา 10 วันปูไม่แสดงอาการและไม่พบการตาย และยังคงตรวจพบเชื้อตลอด ระยะการทดลอง ซึ่งทำให้ปูกลายเป็นพาหะนำเชื้อสู่สัตว์น้ำชนิดอื่นๆ ได้

เชื้อ YHV ในปู วรรณ (2545) ได้นำปู 5 ชนิดในวงศ์ Grapsidae มาเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อด้วยการ ฉีดไวรัสหัวเหลือง และการให้กินเนื้อกุ้งกุลาดำที่ติดเชื้อไวรัสหัวเหลือง เป็นเวลา 3 วัน ผลการตรวจไม่พบการ ติดเชื้อไวรัสหัวเหลืองในปู ชี้ให้เห็นว่าปูทั้ง 5 ชนิดนี้ ไม่มีแนวโน้มในการเป็นพาหะนำโรคไวรัสหัวเหลือง

เชื้อ IMNV เป็นเชื้อที่กรมประมงเฝ้าระวังเชิงรุกในประเทศเพื่อแสดงสถานะปลอดโรค (Country free) จากเชื้อนี้ เชื้อ IMNV พบครั้งแรกและมีรายงานในปี 2545-2548 ที่บราซิล และปี 2549 ในอินโดนีเซีย โดยเชื้อแพร่กระจายไปทั่วอินโดนีเซีย ทำให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตกุ้งของอินโดนีเซีย นอกจากนี้ปูเป็น พาหะของเชื้อชนิดนี้ด้วย (Jha *et al.*, 2021) แต่ยังไม่มีการศึกษาผลของเชื้อนี้ต่อปู จากการศึกษาจากเอกสาร งานวิจัยอื่นๆ พบว่าเชื้อไวรัสที่ทำให้ปูทะเล *S. paramamosain* ติดเชื้อและมีอัตราการตายที่สูงถึง 100% ภายใน 7 วัน คือเชื้อ Mud Crab Dicistrovirus (MRDV) ทำให้เซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของตับอ่อน เหงือก และ ลำไส้ติดเชื้อ ซึ่งก่อให้เกิดโรค Sleeping sickness (Weng *et al.* (2007)

เชื้อปรสิต EHP ในการศึกษารุ่นนี้ตรวจไม่พบเชื้อนี้ในลูกปูทะเลทุกระยะและทุกรอบการอนุบาล ซึ่งจากประวัติการตรวจโรคของโรงเพาะฟักปูทะเลของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สุราษฎร์ธานี ไม่เคยตรวจพบเชื้อชนิดนี้มาก่อน ซึ่งเป็นไปได้ว่าไม่มีเชื้อชนิดนี้อยู่ในระบบการเลี้ยง Kummari

et al. (2018) ได้ศึกษาเชื้อ EHP ในกุ้งขาวแวนนาไมประเทศอินเดีย โดยได้เก็บตัวอย่าง ปลา ปู เปรียงทราย (Polychaete) และกุ้งเคย (Acetes sp.) จากบ่อกุ้งที่ติดเชื้อ EHP มาตรวจเชื้อโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล ผลปรากฏว่าตรวจพบเชื้อ EHP ในปู เปรียงทราย และกุ้งเคย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสัตว์เหล่านี้สามารถติดเชื้อและเป็นพาหะในการนำเชื้อ EHP เข้าสู่โรงเพาะฟักได้

จากการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Vp<sub>AHPND</sub>* ผลปรากฏว่าตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าวในทุกระยะของปู ในทุกรอบการอนุบาล แต่ตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในทุกรอบการอนุบาล และเกือบทุกระยะของปู โดยเฉพาะระยะ 1<sup>st</sup> Crab ตรวจพบเชื้อในทุกรอบการอนุบาล มีการศึกษาว่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* มีผลต่อปูทะเล เช่น จากการศึกษาของ ภัทราวดี และคณะ (2560) ที่ได้ทดสอบความรุนแรงของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ในปูทะเล (*Scylla* sp.) โดยนำปูที่สุขภาพดีน้ำหนัก 304-400 กรัม มาฉีดเชื้อความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าที่ความเข้มข้นเชื้อ  $10^8$ - $10^{10}$  cfu/ml ปูมีการตายสะสม 100% ภายใน 1 วัน ความเข้มข้น  $10^7$  cfu/ml ปูมีการตายสะสม 100% ภายใน 2 วัน ความเข้มข้น  $10^6$  cfu/ml ปูมีการตายสะสม 22% ภายใน 30 วัน ซึ่งเชื้อ *V. parahaemolyticus* เมื่อเข้าไปอาศัยในสัตว์น้ำจะผลิตเอนไซม์ Protease ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีพิษสามารถทำลายเซลล์ของสัตว์น้ำได้ (Sudheesh and xu, 2001 อ้างถึงใน ภัทราวดี และคณะ, 2560) จากการศึกษาของจิรนนท์ และจินตนา (2553) ที่ได้เก็บตัวอย่างปูทะเล (*Scylla* sp.) จากฟาร์มเลี้ยงปูในจังหวัดจันทบุรีและจังหวัดสมุทรสงคราม พบปูทะเลที่มีอาการผิดปกติคืออกและท้องแดง เมื่อตรวจเชื้อแบคทีเรียพบ *V. parahaemolyticus* 50-75% ส่วนปูทะเลที่ปกติ พบ *V. parahaemolyticus* 15% ปริมาณเชื้อแบคทีเรียรวมและปริมาณไวรัสรวมที่ตรวจพบในลูกปูทั้ง 3 รอบการอนุบาลมีค่าสูงเกินเกณฑ์มาตรฐานโดยอ้างอิงเกณฑ์การตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียไวรัสในลูกกุ้ง คือ ต้องมีกลุ่มโคโลนีสีเหลืองไม่เกิน 1,000 cfu/g โคโลนีสีเขียวไม่เกิน 100 cfu/g และต้องไม่พบโคโลนีเรืองแสง (หนึ่งฤทัย และคณะ, 2561) ซึ่ง *V. parahaemolyticus* จะฉวยโอกาสในขณะที่สัตว์น้ำอยู่ในสภาวะเครียดหรือภูมิคุ้มกันลดต่ำลง โดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างหนาแน่นหรือเลี้ยงในที่กักขัง นอกจากนี้การสะสมของเสียพวกสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่พื้นบ่อก็เป็นการเพิ่มโอกาสให้เชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายปูได้ง่ายด้วยเช่นกัน (ภัทราวดี และคณะ, 2560) ฐิติพร และคณะ (2553) ตรวจพบแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* ได้แก่ *V. harveyi*, *V. carchariae*, *V. fluvalis*, *V. mcfiteranci*, *V. proteolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. splendidus*, *V. metschnikovii*, *V. cholerae* และ *V. orientalis* ในปูทะเล ซึ่งแบคทีเรียหลายชนิดในกลุ่มนี้เป็นเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์น้ำชายฝั่ง นอกจากนี้จากการศึกษาของฐิติพร และสมบุญ (2553) พบว่านอกจากลูกปูทะเลวัยอ่อนจากโรงเพาะฟักและอนุบาลมีการติดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* และ *Aeromonas* การที่ลูกปูทะเลมีการติดเชื้อก็อาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุ เช่น ติดเชื้อจากแม่สู่ลูก จากน้ำที่นำมาใช้ จากอาหารมีชีวิต Ahmed et al. (2010) ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียในอาร์ทีเมีย บนผิวอาร์ทีเมียมีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย  $3.9 \pm 0.9 \times 10^3$  ถึง  $1.0 \pm 2.9 \times 10^4$  cfu /อาร์ทีเมีย และในเนื้ออาร์ทีเมีย  $4.6 \pm 2.4 \times 10^7$  และ  $3.2 \pm 3.6 \times 10^8$  cfu/g. แบคทีเรียส่วนใหญ่แกรมลบรูปร่างแบบแท่งคิดเป็น 89% ของไอโซเลตทั้งหมด

จากการศึกษาในครั้งนี้ลูกปูทะเลมีอัตราการรอดจากระยะ Zoea 1 ถึงระยะ 1<sup>st</sup> Crab ทั้ง 3 รอบการอนุบาลอยู่ในช่วง 4.18-6.72% ซึ่งจากการศึกษาของสิริวรรณ และอาภรณ์ (2550) อนุบาลลูกปูทะเลที่ความเค็ม 30 ppt ลูกปูทะเลมีอัตราการรอดตายจากระยะ Zoea 1 จนถึงระยะ Megalopa และระยะ 1<sup>st</sup> Crab เท่ากับ  $14.15 \pm 3.03\%$  และ  $1.30 \pm 0.16\%$  ตามลำดับ สำหรับด้านระยะเวลาพัฒนาการของลูกปูทะเลจากระยะ Zoea 1 ถึงระยะ 1<sup>st</sup> Crab มีระยะ 20-25 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของสิริวรรณ และสุพากร (2554) ใช้เวลาประมาณ 24-25 วัน



คุณภาพน้ำระหว่างการอนุบาลลูกปูช่วงระยะ Zoea 1 ถึง 1<sup>st</sup> Crab ในแต่ละรอบการอนุบาลส่วนใหญ่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ยกเว้นปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำที่อนุบาลลูกปูทะเลระยะ Zoea 3 ถึง 1<sup>st</sup> Crab ในรอบการอนุบาลที่ 2 และ 3 เกินมาตรฐานที่กำหนด ซึ่งค่าที่เหมาะสมต้องไม่เกิน 0.4 mg/L ตามคำแนะนำคุณภาพน้ำที่เหมาะสมสำหรับการเพาะและอนุบาลลูกกุ้งทะเล (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2553) โดยแอมโมเนียอาจเกิดจากการเน่าเสียของลูกปูที่ตายและเศษอาหารที่สะสมตามพื้นบ่อ ปริมาณแอมโมเนียที่เกินมาตรฐานที่กำหนดอาจส่งผลต่อสุขภาพของลูกปูได้ ซึ่งสอดคล้องกับค่าบีโอดีซึ่งเป็นค่าที่เป็นดัชนีบอกว่าน้ำนั้นมีสารอินทรีย์มากน้อยเพียงใด ซึ่งค่าที่เหมาะสมสำหรับการอนุบาลสัตว์น้ำควรมีค่าบีโอดีที่น้อยกว่า 1.0 mg/L Licop (1988 cited after SCSP, 1982) ดังนั้นเมื่อลูกปูเข้าสู่ระยะ Zoea 3 ถึง 1<sup>st</sup> Crab ควรจัดการให้อาหารในปริมาณและชนิดอาหารที่เหมาะสมสำหรับพัฒนาการและเจริญเติบโต และเพิ่มปริมาณการเปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนให้มากขึ้น เพื่อลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำให้น้อยลง

### สรุปผลการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ผลการตรวจเชื้อไวรัส 5 ชนิด ตรวจพบเชื้อ IHNV เพียงชนิดเดียว ซึ่งไม่มีผลต่ออัตราการตายของลูกปูทะเล ในส่วนของเชื้อแบคทีเรีย ตรวจพบเชื้อ *V. parahaemolyticus* (Vp-flaE) ในทุกรอบการอนุบาล และเกือบทุกระยะของลูกปูทะเล โดยเฉพาะระยะ 1<sup>st</sup> Crab ตรวจพบเชื้อในทุกรอบการอนุบาล เป็นส่วนหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการรอด และปริมาณเชื้อแบคทีเรียไวรัสรวมที่ตรวจพบในทั้ง 3 รอบการอนุบาลมีค่าสูงเกินเกณฑ์มาตรฐาน จากผลการศึกษาในครั้งนี้ หากทำให้ระบบการเลี้ยงปลอดจากเชื้อ การอนุบาลลูกปูจะมีอัตราการรอดเพิ่มขึ้น การควบคุมโรคในระบบโรงเพาะฟักโดยใช้ระบบไบโอบีโอซีเคียวริตี้ การฆ่าเชื้ออาหารมีชีวิต เช่น อาร์ทีเมีย ก่อนนำมาอนุบาลลูกปูทะเล การจัดการอาหารที่เหมาะสม การจัดการของเสียในบ่อไม่ให้มีปริมาณสะสมเป็นสารอาหารให้แบคทีเรียเพิ่มจำนวนมากขึ้นในบ่อ รวมถึงการเลือกใช้อาหารด้านจุลชีพควรเป็นยาที่ได้จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อนนำมาใช้ และเป็นยาที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในสัตว์น้ำ หรือการใช้จุลินทรีย์ ปม.1 และสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อช่วยเสริมความแข็งแรงให้ลูกปูทะเลทำให้ได้ลูกปูทะเลที่มีคุณภาพปลอดโรค เมื่อเกษตรกรนำไปเลี้ยงจะช่วยให้มีอัตราการรอดเพิ่มขึ้น

### คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่โรงผลิตพันธุ์ปูทะเล ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสุราษฎร์ธานี และเจ้าหน้าที่หน่วยตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบสัตว์น้ำ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำนครศรีธรรมราช ที่ให้ความร่วมมือช่วยเหลือให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มสถิติการประมง. 2564. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2562. กองนโยบายและยุทธศาสตร์พัฒนาการประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 87 หน้า.
- แก้วตา ลัมเฮง. 2558. การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับโรคซันในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ในพื้นที่จังหวัดเพชรบุรี. แก่นเกษตร 43 (ฉบับพิเศษ 1): 581-587.

- จรีพร เรืองศรี, สุภภา ศิริรัฐนิคม, นพดล ศุภระกาญจน์, สุปัตตรา อรุณรัตน์, นิรุทธิ์ สุขเกษม, ธนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง, จิราพร เกสรจันทร์ และ กิจการ สุขมาตย์. 2548. การแพร่กระจายของเชื้อ Taura syndrome virus (TSV) และ Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) ในประชากรกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) และการยอมรับเชื้อในสัตว์น้ำสายพันธุ์พื้นเมืองของไทย. วารสารสงขลานครินทร์ วท. 27(ฉบับพิเศษ1) วาริชศาสตร์: 215-224.
- จิรนนท์ อินทนาคม และ จินตนา สและน้อย. 2553. ลักษณะที่ผิดปกติและชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในปูทะเลที่มี อาการอก-ท้องแดง. แก่นเกษตร 38 : 361-372.
- จิตติพร หลาวประเสริฐ และ สมบูรณ์ หลาวประเสริฐ. 2553. โรคในปูทะเล. วารสารการประมง 63(3): 265-267.
- จิตติพร หลาวประเสริฐ, สมบูรณ์ หลาวประเสริฐ, สุริยันต์ สุนทรวิทย์ และ ณรงค์ พลวารี. 2553. การศึกษาชนิดแบคทีเรียฟลอราในปูทะเล. วารสารการประมง 63(3): 238-241.
- ภัทราวดี ศรีมีเทียน, จิตติมา สุวรรณมาลา และ สุริยัน ธัญกิจจานุกิจ. 2560. การทดสอบความรุนแรงของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในปูทะเล (*Scylla* sp.) สัตวแพทยมหาสารคาม. 12(1): 19-27. อ้างตาม Sudheesh, P.S. and xu, H.S. 2001. Pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* in tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius: possible role of extracellular proteases. *J. Aquaculture*.196: 37-46
- ลิลา เรืองแป้น และ ชัยยุทธ พุทธิจัน. 2548. การป้องกันและควบคุมโรคติดเชื้อในการอนุบาลลูกปูม้า. ใน: รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการผลิตพันธุ์และการเลี้ยงปูม้าเชิงพาณิชย์. หน้า 253-274.
- วรรณณา ชโยวรรณ. 2545. การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสหัวเหลืองในปูวงศ์ Grapsidae ด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดี. วิทยานิพนธ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 106 หน้า. อ้างตาม Kanchanaphum, P., Wongteerasupaya, C., Sitidilokratana, N., Boonsaeng, V., Panyim, S., Tassanakajon, A., Withyachumnarnkul, B. and Flegel, T.W. 1998. Experimental transmission of white spot syndrome virus (WSSV) from crabs to shrimp *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Org.* 34: 1-7.
- สิริวรรณ หนูแข่ง และ สุพากร แก้วอักษร. 2554. การอนุบาลปูทะเล (*Scylla paramamosain* Estampador, 1949) วัยอ่อนระยะชูเอี้ยงถึงระยะลูกปูคราบแรกด้วยอาหารต่างชนิดกัน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 6/2554. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสุราษฎร์ธานี, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, กรมประมง. 21 หน้า.
- สิริวรรณ หนูแข่ง และ อาภรณ์ เทพพานิช. 2550. ระดับความเค็มของน้ำที่เหมาะสมต่ออัตราการรอดและพัฒนาการของปูทะเลวัยอ่อน, *Scylla paramamosain* Estampador, 1949. ใน: บทความย่อสัมมนาวิชาการด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ประจำปี 2550, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง. หน้า 8-9.
- สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2553. การปฏิบัติทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ดีสำหรับฟาร์มเพาะและอนุบาลลูกกุ้งทะเล. สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 26 หน้า.

- หนึ่งฤทัย นนพิภักดิ์, เต็มดวง สมศิริ, พุทธรัตน์ เป้าประเสริฐกุล และ นิติ ชูเชิด. 2561. การศึกษาการเจริญเติบโต การรอดตาย และความทนทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* สายพันธุ์ก่อโรคอีเอ็มเอส ของกุ้งขาวแวนนาไม 3 สายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 54. กรุงเทพฯ. หน้า 773-780.
- ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา. 2561. คู่มือการตรวจโรคสัตว์น้ำด้วยเทคนิค PCR. ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา กองวิจัยและพัฒนาสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง. 98 หน้า.
- Ahmed H., Al-Harbi and U.M. Naim. 2010. Bacterial Flora of Artemia Cultured in Earthen Saline Ponds *J Appl Aquaculture*. 22(3):194-201.
- APHA–AWWA and WEF. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20<sup>th</sup> edition. United Book Press, Maryland. 2671 pp.
- Chen, LL., C.F. Lo, Y.L. Chiu, C.F. Chang and G.H. Kou. 2000. Natural and experimental infection of white spot syndrome virus (WSSV) in benthic larvae of mud crab *Scylla serrata*. *Dis Aquat Organ*. 40(2): 157-61.
- Jha, R.K., H. Babikian, Kristina and S. Srisombat. 2021. Managing infectious myonecrosis virus (IMNV) in *Vannamei* shrimp culture: Learning by doing. *IJFAS*. 9(1): 385-391.
- Kummari, S., D.V. Haridas, S. Handique, S. Peter, C.G. Rakesh, K.G. Sneha, B. Manojkumar and D. Pillai. 2018. Incidence of Hepatopancreatic Microsporidiasis, by *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in *Penaeus vannamei* Culture in Nellore District, Andhra Pradesh, India and the Role of Management in its Prevention and Transmission. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sc.i*. 7(2): 2125-2134.
- Lavilla-Pitogo, C.R. and L.D. De la Pena. 2004. Disease in Farmed Mud Crabs *Scylla* spp.:Diagnosis, Prevention, and Control. SEAFDEC Aquaculture Department, Iloilo, Philippines, 89 p.
- Licop, M.S.R. (1988). Hatchery operations and management. In: Biology and culture of *Penaeus monodon*. SEAFDEC Aquaculture Department, Tigbauan, Iloilo, Philippines. pp. 59-88. Cited after SCSP. 1982. Working Party on Small-scale Shrimp and Prawn Hatcheries in Southeast Asia; 16-21 November 1981; Semarang, Central Java, Indonesia. Vol. II. Technical Report. Manila, South China Sea Fisheries Development and Coordinating Program. 125 p.
- Somboonna, N., S. Mangkalanan, A. Udompetcharaporn, C. Krittanai, K. Sritunyalucksana and TW. Flegel. 2010. Mud crab susceptibility to disease from white spot syndrome virus is species-dependent. *BMC Research Notes* 3, 315 <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-315>.
- Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada Bulletin 167. Ottawa. 310 pp.

- Supamattaya, K., RW. Hoffmann, S. Boonyaratpalin and P. Kanchanaphum 1998. Experimental transmission of white spot syndrome virus (WSSV) from black tiger shrimp *Penaeus monodon* to the sand crab *Portunus pelagicus*, mud crab *Scylla serrata* and krill *Acetes* sp. *DAO* 32: 79-85.
- Weng, S. P., Z. x. Guo, J. J. Sun, S. M. Chan, and J. G. He. 2007. A reovirus disease in cultured mud crab, *Scylla serrata*, in southern China. *J. Fish. Dis.*, 30: 133-139.