

การศึกษาเชื้อไวรัสในปลาน้ำจืดที่เกิดโรคระบาด ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

An Electron Microscopic Observation of Viral Particles in the Infected Fresh Water Fish from the Disease Outbreak

ณรงค์ จิ่งสมานญาติ, กิติ ศรีสุภาพ
จूरีย ปานกำเหนิด, บุญธรรม จงเจริญ
องอาจ เลหาวินิจ และ จันทรา กุญชร ณ อยุธยา¹
Narong Chungsamarnyart Kiti Srisuparb
Churee Pankamnerd Boontham Chongcharoen
Ong-ard Lawhavinij Chantana Kunjara

ABSTRACT

Eighteen fresh water fish affected with ulcerative skin disease outbreak in years 1983 - 1984 from the fish farms and natural canals in Supanburi and Nakhon Pathom provinces were examined for virus particle by using transmission electron microscope. There was no virus particle observed in the ulcerative tissue from eight fish collected, a few different types of virus particles, however, were found in the liver cells and one type in the splenic cells. These viral particles may be grouped into two groups according to their different sizes. The first group was a large spherical particles of 45-90 nm. having capsid surrounding the nucleic acid core. The other group was a small virus particles of 10-30 nm. with nonenveloped spherical or icosahedral shaped particles and were crystallized arrays of irregular arrays in cytoplasm or cytoplasmic membrane-bound inclusion body.

The groups of virus particles were revealed much morphological similar to Reoviruses in the former and Picornaviruses in the later which are both RNA viruses.

This study could not concluded that the virus particles observed were the causative agent of the ulcerative skin disease outbreak of fresh water fish. Further study on their significance in such disease outbreak is being conducted.

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นหาเชื้อไวรัสในปลาที่เป็นโรคระบาดมีผลตามตัว จำนวน 18 ตัว จากบ่อเลี้ยงปลาและแหล่งน้ำธรรมชาติที่เกิดโรคระบาด ในปี พ.ศ. 2526-2527 ในเขตจังหวัดนครปฐม และสุพรรณบุรี ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องทะลุ พบว่าจากการศึกษาเนื้อเยื่อปลาตรงบริเวณแผลจำนวน 8 ตัว ไม่พบอนุภาค

1. คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University

ของไวรัสใด ๆ แต่จากการศึกษาเนื้อเยื่อดับและม้ามของปลาจำนวน 10 ตัว ปรากฏว่าพบอนุภาคไวรัสอยู่รวมกันเป็นกลุ่มใน cytoplasm ของเซลล์ตับและม้าม อนุภาคไวรัสที่พบนั้นมีหลายชนิดตามลักษณะและขนาดที่แตกต่างกัน แต่พอจะแยกออกได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่มีอนุภาคกลม หรือ icosahedral shaped ขนาดใหญ่ประมาณ 45–90 nm. มี capsid หุ้ม nucleic acid core และกลุ่มที่มีขนาดอนุภาคเล็กมาก ประมาณ 10–30 nm. เป็นอนุภาคกลม หรือ icosahedral shaped จัดเรียงตัวเป็นผลึกหรือไม่เป็นผลึก และอยู่เป็นกลุ่มใน cytoplasm หรืออยู่ใน membrane-bounded inclusion body จากรูปร่างลักษณะและขนาดดังกล่าว คาดว่าอนุภาคไวรัสกลุ่มที่มีขนาดใหญ่ น่าจะเป็นไวรัสในกลุ่ม Reoviruses ส่วนอนุภาคไวรัสที่มีขนาดเล็กน่าจะอยู่ในกลุ่ม Picornaviruses ซึ่งเป็น RNA viruses ที่มีขนาดเล็กที่สุด

จากการพบอนุภาคไวรัสดังกล่าว ยังไม่สามารถยืนยันได้ว่าเชื้อไวรัสที่พบคือสาเหตุของการเกิดแผลโดยตรง ความสำคัญของเชื้อไวรัสที่พบกับการเกิดโรคระบาดในปลาครั้งนี้กำลังอยู่ในระหว่างการศึกษา

บทนำ

ในการศึกษาการเกิดโรคระบาดในสัตว์น้ำจัดช่วง 2–3 ปีที่ผ่านมา การศึกษาสาเหตุของโรคเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจกันมาก เพราะว่า การทราบสาเหตุที่แน่นอนของโรคจะเป็นแนวทางในการที่จะกำหนดวิธีการป้องกันกำจัดโรคต่อไป จากการรายงานผลการศึกษาของนักวิชาการหลายกลุ่ม ได้ให้ความสำคัญต่อเชื้อแบคทีเรียแอโรโมนาส ไฮโดรฟิลา (*Aeromonas hydrophila*) กันมาก เพราะเป็นเชื้อที่แยกได้จากปลาป่วยเสมอ ๆ (สิทธิ์ และคณะ, 2526) คณะผู้วิจัยเคยรายงานพบเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดที่บริเวณแผล (ณรงค์ และคณะ, 2527) อย่างไรก็ตามก็เป็นเพียงข้อสันนิษฐานเท่านั้น เพราะยังไม่มีรายงานใดที่พิสูจน์ให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถทำให้เกิดการระบาดของโรคเช่นเดียวกับการเกิดโดยธรรมชาติในครั้งนี้ อีกประการหนึ่งก็คือ เชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกันนี้ก็พบว่า มีอยู่ในน้ำเป็นประจำ การเกิดโรคจึงอาจจะเกิดจากสาเหตุอื่น หรือหลาย ๆ สาเหตุ รวมกัน จึงได้มีรายงานผลการศึกษาในระยะเวลาต่อมาว่า ได้พบทั้งเชื้อโปรโตซัว เช่น *Epistylis* และ *Trichodina* sps. รวมทั้งปรสิตบางชนิดเกาะบนผิวหนังปลาที่ติดโรคด้วย (สุปราณี และชโล, 2526) นอกจากนี้ก็ยังพบเชื้อราหลายชนิด (ณรงค์ และคณะ, 2527) ในบริเวณแผลที่เน่าเปื่อยของปลาที่ติดโรค เชื้อราที่พบบางชนิดมีลักษณะคล้าย *Saprolegnia* sp. (สุปราณี และชโล, 2526) เชื้อโรคชนิดอื่นที่พบว่า อาจจะเกี่ยวข้องกับสาเหตุของโรคในปลานี้ก็คือเชื้อไวรัส โดยพบอนุภาคที่มีลักษณะคล้ายอนุภาคไวรัสในอวัยวะ

ภายในของปลาบางตัวที่เกิดโรคอย่างน้อย 2 ชนิด (วัฒนา วัฒนวิจารย์ : ติดต่อกับการส่วนตัว) โดยที่ยังไม่เป็นที่วินิจฉัยว่าเป็นไวรัสชนิดใด ความสำคัญของเชื้อชนิดนี้กับการเกิดโรคจึงเป็นเรื่องน่าสนใจที่ควรจะศึกษาต่อไป การศึกษานี้มีความมุ่งหมายที่จะทำการตรวจหาเชื้อไวรัสในปลาที่เกิดโรคระบาด

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาที่นำมาศึกษาเป็นปลาช่อนจำนวน 20 ตัว จากบ่อเลี้ยงปลาในเขต อ.บางปลาหมอ จ.สุพรรณบุรี และจากแหล่งน้ำธรรมชาติในเขต ด.ดอนยายหอม อ.เมือง จ.นครปฐม ปลาจำนวนดังกล่าวเป็นปลาช่อนที่เป็นโรค มีแผลตามลำตัวจำนวน 16 ตัว และเป็นปลาช่อนจากบ่อเลี้ยงที่ยังไม่เป็นที่ติดโรคจำนวน 2 ตัว ตัดเนื้อเยื่อตรงบริเวณแผลเท่านั้นจากปลาช่อน 8 ตัว และที่เหลือ 10 ตัว ตัดเนื้อเยื่อบริเวณแผล ดับ และม้าม เนื้อเยื่อทั้งหมดจุ่มแช่ในน้ำยา Prefixative สูตร Modified Karnovsky's fixative without s-collidine buffer (Chungsamarnyart *et al.*, 1981) ซึ่งมีส่วนผสมดังนี้ 1.68% glutaraldehyde + 1.6% paraformaldehyde ใน 0.2 M Sorensen phosphate buffer pH 7.3 แล้วตัดเนื้อเยื่อต่าง ๆ ให้เป็นก้อนสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาด 1–2 ซม. ในน้ำยา fixative ที่เย็น แช่ต่อในขวดที่มีน้ำยา fixative ใหม่และเย็นจนครบ 2 ชม. หลังจากนั้นล้างก้อนเนื้อเยื่อหลาย ๆ ครั้งด้วย 0.2 M Sorensen phosphate buffer pH 7.3 และเย็น เป็นเวลานาน

20 นาที แล้วแช่ต่อด้วย 1% osmium tetroxide ใน phosphate buffer เช่นเดียวกันเป็นเวลานาน 2 ชม. กำจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อด้วย acetone series และหล่อเนื้อเยื่อในพลาสติก Epon 812 อบให้แข็งในตู้อบที่อุณหภูมิ 65-70°C เป็นเวลานาน 36 ชม.

ตัดเนื้อเยื่อปลาที่หล่อในพลาสติกด้วย ultramicrotome ให้ได้ ultrathin sections หนา 60-80 nm. และย้อม ultrathin sections ด้วย 2% uranyl acetate และ modified lead staining solution (Sato, 1966) ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ transmission JOEL 100 S

เนื้อเยื่อปลาจำนวน 3 ตัว ที่เหลือจากการเก็บตัวอย่างเพื่อตัด section ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ถูกเก็บเนื้อเยื่อบริเวณแผล, ตับ และม้าม นำมาบดรวมกันแล้วปั่น 3,000 รอบ/นาที นำส่วนใสข้างบนมาหยดลงบนกริดที่มีฟิล์ม formvar รองรับและย้อม negative stain ด้วย 2% uranyl acetate และศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบ transmission JOEL 100 S

ผลและวิจารณ์

ผลจากการศึกษาเชื้อไวรัสที่อาจจะเป็นสาเหตุของการเกิดแผลในปลาที่เป็นโรคโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ transmission พบว่า จากการศึกษาเนื้อเยื่อตรงบริเวณแผลไม่พบอนุภาคใด ๆ ที่จะเป็เชื้อไวรัสจากตัวอย่างปลาที่มีแผลจำนวน 8 ตัว ที่เก็บมาจากบ่อเลี้ยงปลาและในแหล่งน้ำธรรมชาติที่เกิดโรค การที่ไม่พบเชื้อไวรัสใด ๆ ในกล้ามเนื้อหรือเนื้อเยื่อบริเวณแผลนี้ น่าที่จะกล่าวได้ว่าเชื้อไวรัสไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับการเกิดแผลในปลาโดยตรง

จากการตรวจหาเชื้อไวรัสในอวัยวะภายในของปลาที่เป็นแผลดังกล่าวโดยวิธีเดียวกันพบอนุภาคของไวรัสในส่วน of cytoplasm ของเซลล์ตับ โดยการพบอนุภาคที่มีลักษณะคล้ายอนุภาคของไวรัสที่แตกต่างกันน้อย 4 ชนิด ดังนี้

1. อนุภาคไวรัสที่มีลักษณะกลมหรือ icosahedral shaped มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 45-90 nm. พบ capsid ที่หุ้ม nucleic core ซึ่งอยู่ตรงกลาง ไม่มี envelope ห่อหุ้มอนุภาคไวรัส อนุภาคของไวรัส

เหล่านี้อยู่รวมกันเป็นกลุ่มจำนวนมาก ใน inclusion ที่มีเยื่อหุ้ม (membrane-bounded inclusion body) (รูป 1a, 1b)

2. อนุภาคไวรัสที่มีลักษณะกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 20-30 nm. ไม่มี envelope อยู่รวมกันเป็นกลุ่มภายใน cytoplasm ของเซลล์ตับ (รูป 2a, 2b)

3. อนุภาคไวรัสที่มีลักษณะกลมหรือ icosahedral shaped ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอนุภาคประมาณ 10 nm. อยู่รวมกันเป็นผลึกที่มีการเรียงตัวของอนุภาคไวรสอย่างเป็นระเบียบ (crystalized) อยู่ใน membrane-bounded inclusion body เช่นกัน (รูป 3a, 3b)

4. อนุภาคไวรัสที่มีลักษณะกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 nm. จัดเรียงตัวอยู่อย่างเป็นระเบียบ เป็นกลุ่ม ๆ กระจายอยู่ภายใน membrane-bounded inclusion body ซึ่งบรรจุเต็มไปด้วย high electron dense fine grains (รูป 4a)

จากการนำเอาเนื้อเยื่อบริเวณแผล ตับ และม้าม มาบดรวมกันแล้วปั่น นำมาหยดบนกริดที่มีฟิล์มรองรับและย้อมด้วย negative stains ปรากฏว่าพบอนุภาคของไวรัสที่มีลักษณะเช่นเดียวกับชนิดที่ 1 ดังกล่าวแล้วข้างต้น โดยมีลักษณะของอนุภาคกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 45-90 nm. (รูป 4b, 4c, 4d) ส่วนอนุภาคไวรัสชนิดอื่นที่ไม่พบด้วยการศึกษาด้วยวิธีนี้ อาจเนื่องจากการเป็นอนุภาคขนาดเล็กมาก ซึ่งเมื่อนำมาปั่นแยกออกจากเซลล์แล้วยากต่อการที่จะบอกว่าเป็นอนุภาคไวรัส เนื่องจากไม่ได้ทำ purified เฉพาะแต่ละชนิดของไวรัส

นอกจากนี้ภายในเนื้อเยื่อม้าม ยังพบว่ามีอนุภาคไวรัสที่มีลักษณะกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20-24 nm. จัดเรียงตัวเป็นกลุ่มกระจายอยู่ใน membrane-bounded inclusion body (รูป 5a, 5b) อนุภาคชนิดนี้อาจจะเป็นชนิดเดียวกับไวรัสกลุ่มที่ 2 ที่ได้กล่าวแล้วข้างต้น เพราะมีลักษณะคล้ายคลึงกันและขนาดใกล้เคียงกัน

ส่วนในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลาตัวปกติไม่พบอนุภาคไวรัสแต่อย่างใด อาจจะเป็นไปได้ที่เชื้อไวรัสที่พบนั้นเป็นสาเหตุทำให้เกิด secondary infection ด้วยเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราทำให้เกิดแผลได้ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อเชื้อนั้น ๆ

จากลักษณะและขนาดของอนุภาคไวรัสที่พบทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวข้างต้น พอจะพิจารณาได้ว่า ไวรัสเหล่านี้เป็นไวรัสที่มี nucleic acid เป็น RNA เนื่องจากพบอนุภาค (Site of capsid assembly) ภายใน cytoplasm ของเซลล์ DNA ไวรัสที่มีการรวมอนุภาคใน cytoplasm นั้นมีเพียงกลุ่มเดียวคือ Iridovirus แต่ก็มีขนาดโตกว่านี้มากคือมีขนาดถึง 130 nm. และยังมี envelope หุ้มอนุภาคอีกด้วย (Melnick, 1974) ดังนั้นไวรัสที่พบจึงไม่ใช่ไวรัสในกลุ่ม DNA viruses

ในบรรดา RNA Viruses ทั้งหมดที่ทราบกันนี้ กลุ่มที่มีขนาดเล็กที่สุด คือกลุ่ม Picornaviruses ซึ่งมีขนาดมาตรฐานประมาณ 20-30 nm. (Melnick, 1974) และไวรัสที่พบครั้งนี้ที่มีลักษณะที่อาจจะจัดอยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ไวรัสชนิดที่ 2, 3 และ 4 แต่ยังไม่พบรายงานว่า Picornaviruses จะทำให้เกิดโรคในปลา ส่วนไวรัสที่พบชนิดที่ 1 นั้น มีขนาดและลักษณะที่น่าจะจัดให้อยู่ในกลุ่มของ Reoviruses ได้คือเป็น RNA viruses ที่มีขนาดประมาณ 60-80 nm. และมีรูปร่างเป็นแบบหกเหลี่ยม (icosahedral) หรือ cubic capsid symmetry ส่วนจะพิจารณาว่าไวรัสที่พบเหล่านี้จะมีความสำคัญอย่างไรกับการเกิดโรคระบาดในปลานั้น ยังมีอาจะที่จะตั้งสมมุติฐาน แต่ก็อาจจะกล่าวได้แต่เพียงว่าไม่น่าจะเป็นสาเหตุที่

ทำให้เกิดแผลโดยตรง เพราะในเนื้อเยื่อบริเวณรอบ ๆ แผล ไม่พบว่ามียอนุภาคไวรัสแต่อย่างใด แต่เคยมีรายงานว่าไวรัสกลุ่ม Rabdovirus ทำให้เกิดแผลที่ผิวหนังของตัวปลา (ulcerative disease of skin หรือ red disease) ในประเทศในยุโรปโดยพบไวรัสในเนื้อเยื่อไต (Bootsma *et al.*, 1975) ส่วน Reovirus ที่มีรายงานว่าทำให้เกิดโรค Infectious pancreatic necrosis (IPN) ได้ในปลา (Cohen *et al.*, 1973) แต่ไวรัสที่พบครั้งนี้ยังไม่ได้แยกออกมาเพาะเลี้ยงเพื่อการวินิจฉัยให้แน่นอนรวมทั้งการพิสูจน์ว่าสามารถทำให้เกิดโรคได้อย่างไรก็ตามการถ่ายโรคจากปลาป่วยไปยังปลาปกติก็กำลังศึกษาอยู่เพื่อเป็นการยืนยันถึงเชื้อไวรัสที่จะทำให้เกิดโรคระบาดในปลาต่อไป

ในการระบาดของโรคมีแผลตามตัวปลาที่พบในอินโดนีเซียได้มีรายงานว่าไวรัสไม่ใช่สาเหตุของการเกิดโรคระบาด (Angka, 1983) หลังจากได้ใช้ส่วนผสมของไตและม้ามของปลาป่วยมาบดและกรองด้วย millipore filter (0.45 u) เพื่อให้ปราศจากแบคทีเรีย แล้วฉีดเข้าปลาปกติ ปรากฏว่าไม่ทำให้เกิดแผลที่ตัวปลา

อย่างไรก็ตาม การศึกษาว่าไวรัสที่พบนี้จะเป็นตัวทำให้ปลาปกติเกิดเป็นแผลตามตัวได้หรือไม่นั้น ขณะนี้กำลังศึกษาอยู่เพื่อเป็นการยืนยันต่อไป

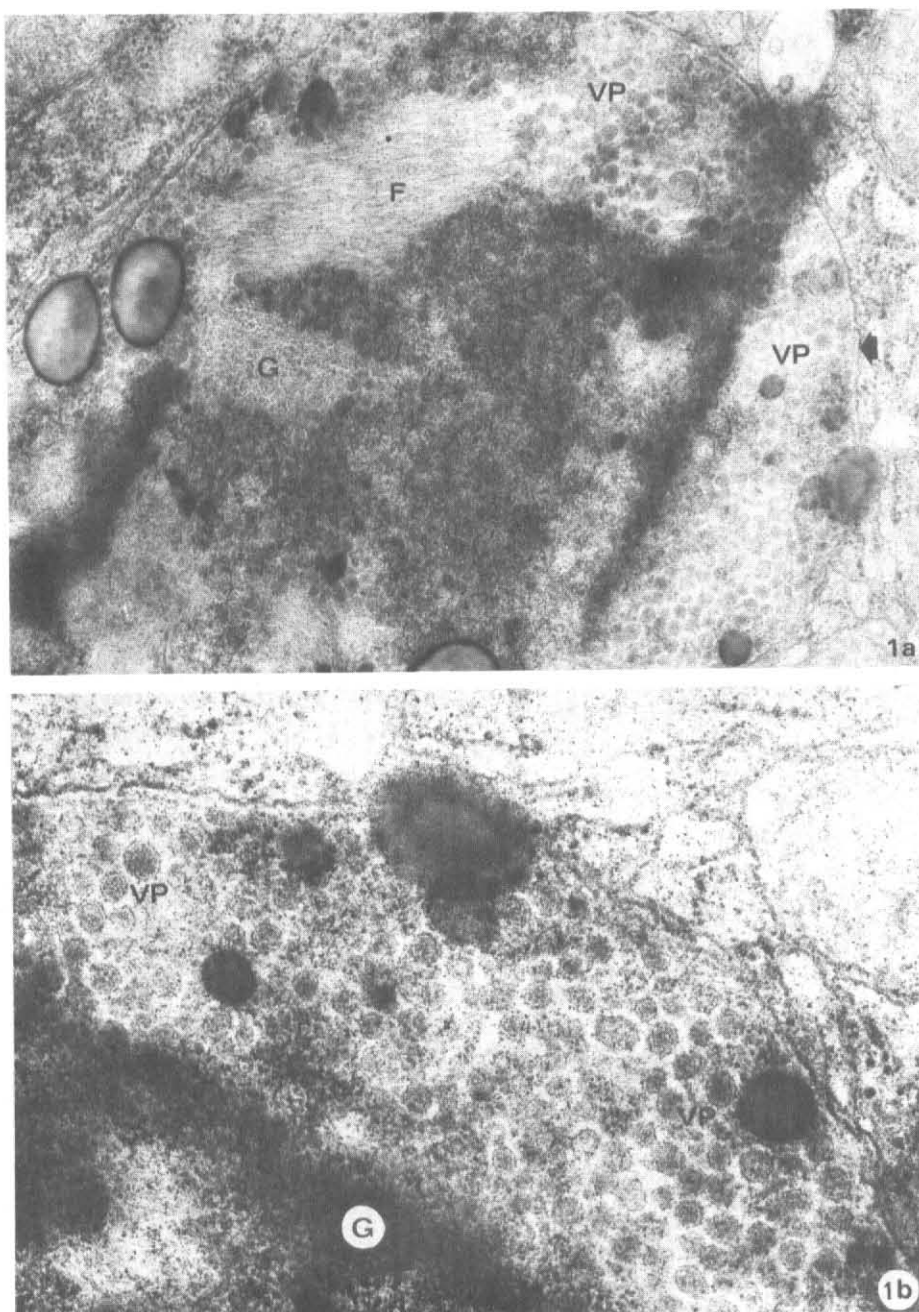


Fig. 1a. Ultrathin section of fish liver cells. A portion of the cytoplasm of an infected cell have a membrane-bounded inclusion body containing numerous 45-90nm. virus particles (VP). x 50,000. G., Moderate and high electron dense grains; F, Microfilaments.; Membrane of inclusion body (arrow)

Fig. 1b. Enlargement of the right lower corner area of Fig. 1a. x 100,000. VP, Virus particles; G, high electron dense grains

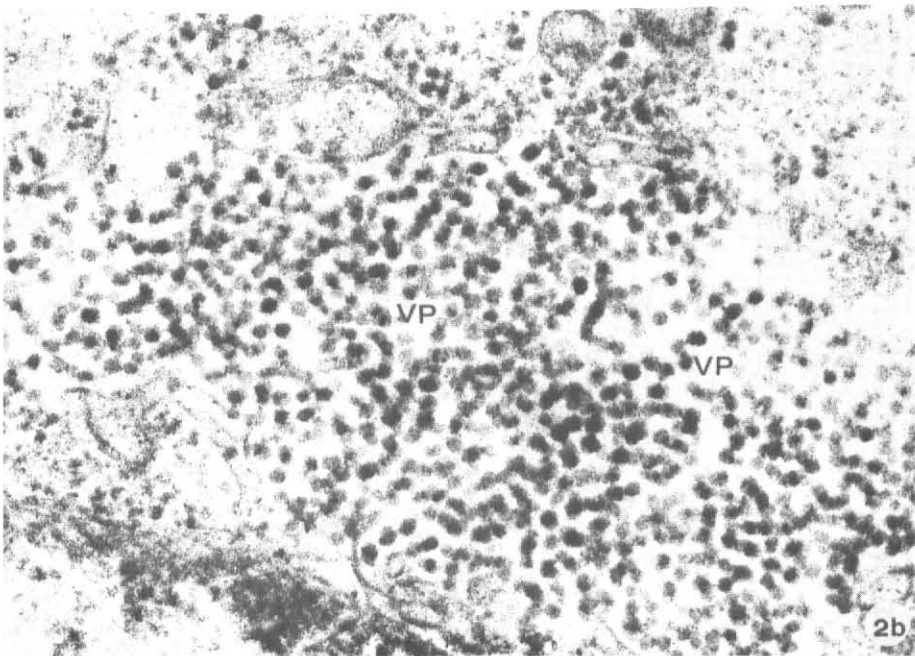
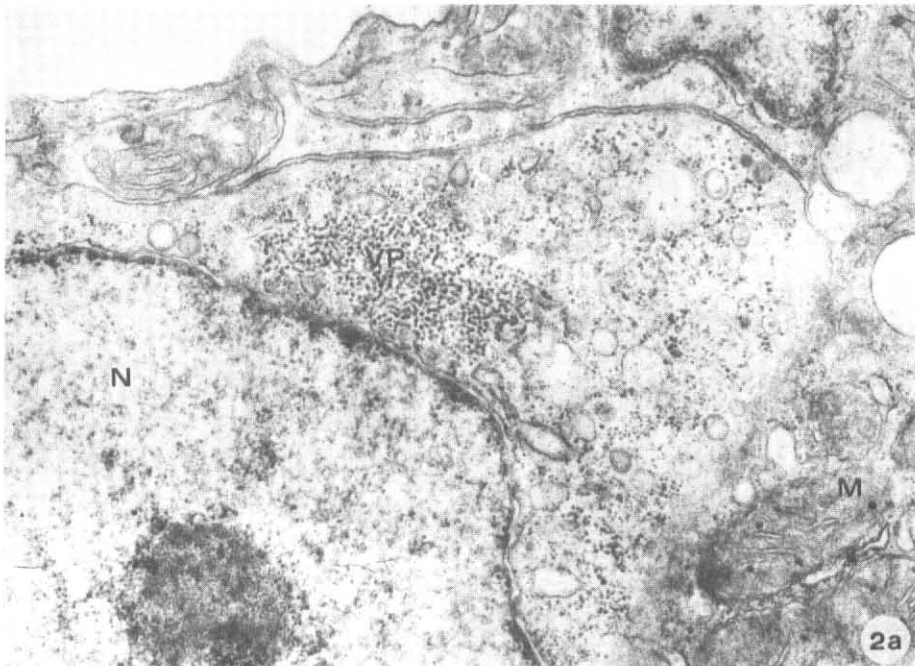


Fig. 2a. Ultrathin section of through cytoplasm and nucleus of fish liver cells, showing an aggregate of virus particles (VP) (approximately 25-30 nm. in diameter) in cytoplasm. (x 25,000). M, Mitochondria; N, Nucleus.

Fig. 2b. Enlargement the aggregate of virus particles of Fig. 2a. x 100,000. VP, Virus particles.

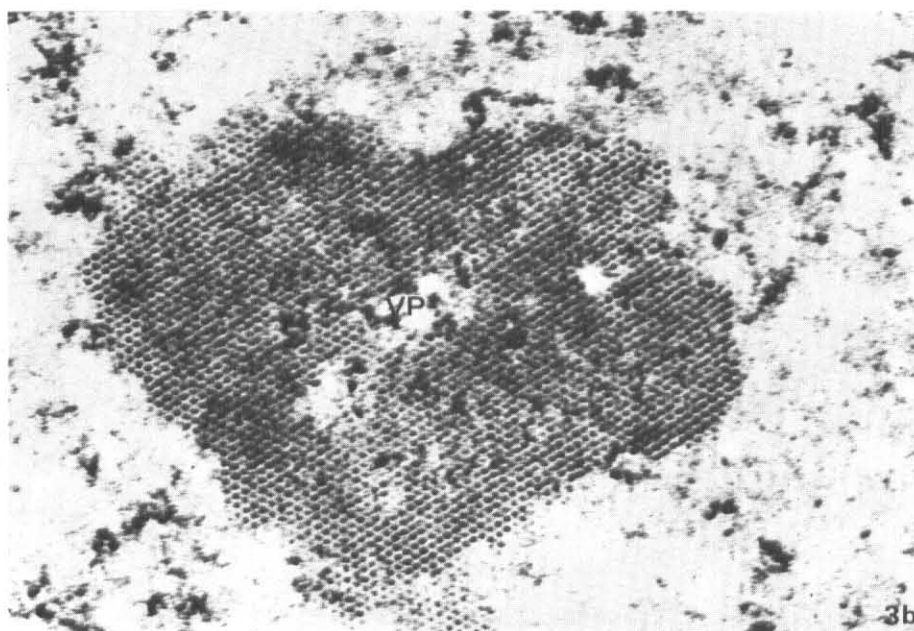
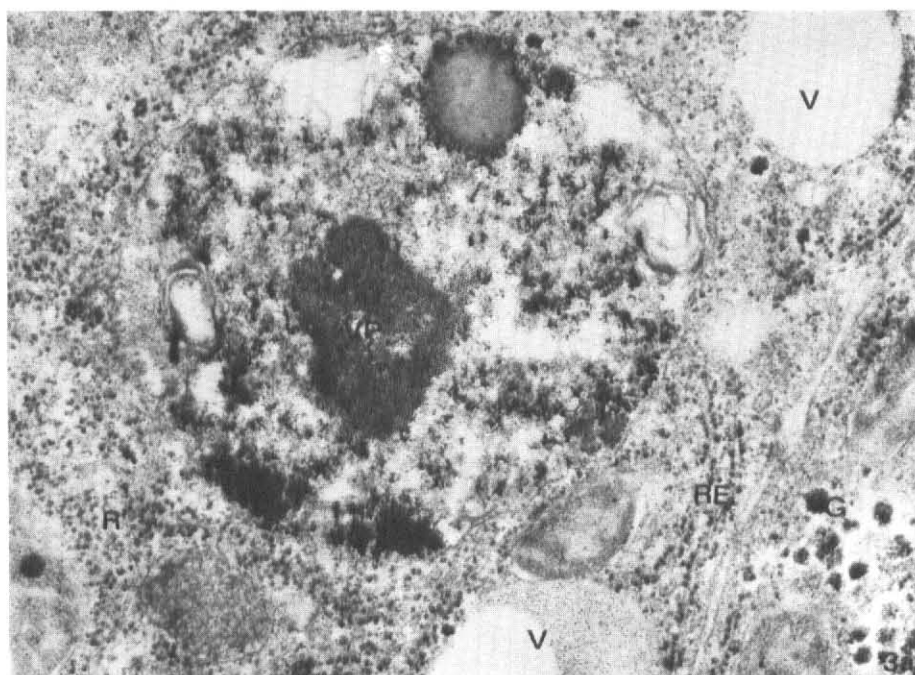


Fig. 3a. Ultrathin section of fish liver cells showing crystalline array of virus particles (VP) (approximately 10 nm. in diameter) in membrane-bound inclusion body, x 50,000, R, free ribosomes; G, Glycogen particles; RE, Rough ER.; V. Vacuoles.

Fig. 3b. Enlargement of the crystalline array of virus particles of Fig. 3a. x 150,000

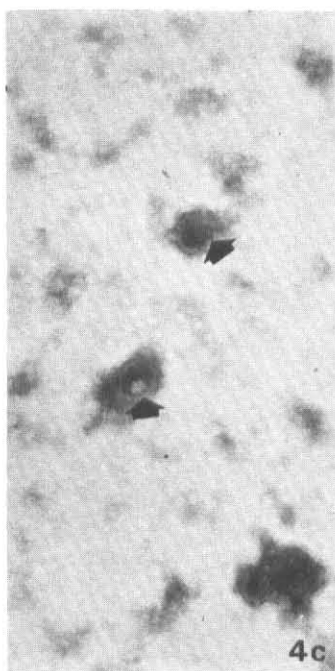
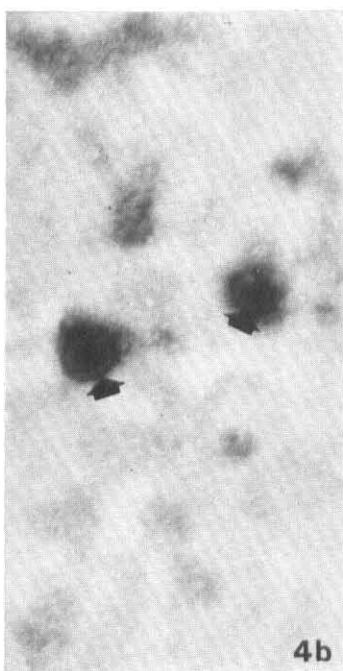
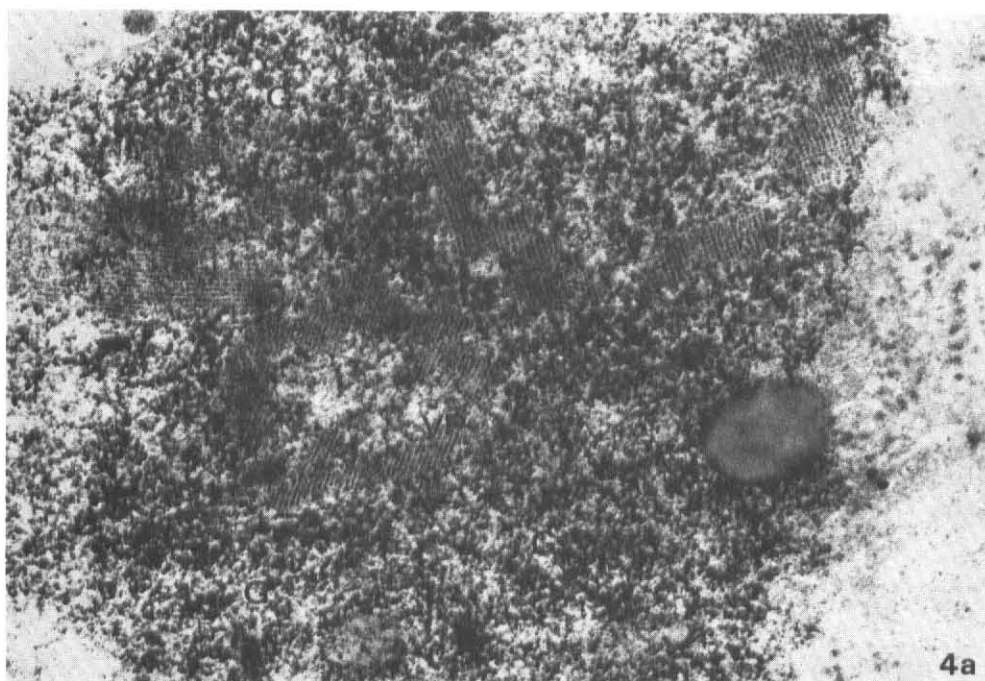


Fig. 4a. Ultrathin section of fish liver cells showing a few of virus particles crystalline arrays (VP) in membrane-bounded inclusion body. The virus particle size is approximately 10 nm. in diameter. x 87,000; G, High electron-dense fine grains.

Fig. 4b-d. Isolated virus particles from the liver, spleen and tissues in area of ulcerative wound negative staining with 2% uranyl acetate. (arrows) Fig. 4 b. Virus particles 62.5 nm. in longest diameter. x 120,000. Fig. 4 c. Virus particle 57.5 nm. in diameter showing a core of virus particle 22.5 nm. x 120,000. Fig. 4d. Virus particles 53.3, 64.6 and 83.3 nm. in diameter. x 90,000.

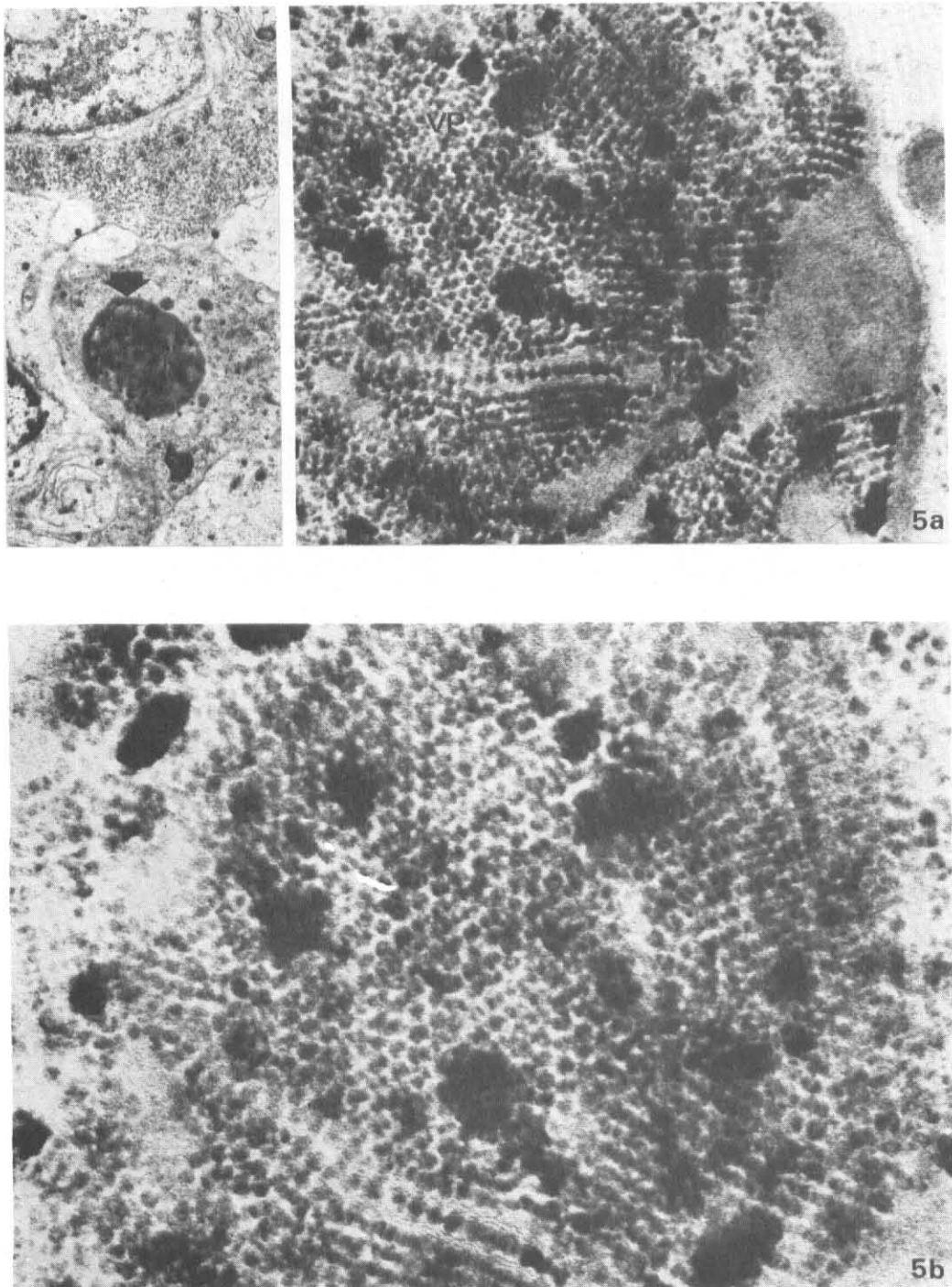


Fig. 5a-c. Ultrathin section of fish splenic cells showing aggregate of virus particles (VP) in membrane-bounded inclusion body (arrow in left side of Fig. 5 a.). Fig. 5 a. (right side) and 5 b. and the high. magnification of Fig. 5a left side showing virus particles 20-24 nm, in size.

เอกสารอ้างอิง

- สิทธิ์ บุญยรัตนผลิต, ฮาร์วาร์ยี่ห์ เรืองปราชญ์, สถาพร
ดิเรกบุษราคม, จิราพร เกษณจันทร์, กิจการ
ศุภมาตย์ และ วิไลลักษณ์ ผลชีวิน. 2526.
ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคน้ำ
วารสารการประมง 3 : 247-256.
- สุปราณี ชินบุตร และ ชลอ ลิมสุวรรณ. 2526. การ
เปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อเยื่อของปลาน้ำจืด
บางชนิดที่เป็นโรคระหว่างปี 2525-2526.
วารสารการประมง 3 : 247-256.
- ณรงค์ จึงสมานญาติ, กิติ ศรีสุภาพ, บุญธรรม จงเจริญ
และ งามอาจ เลหาวินิจ. 2527. การศึกษาลักษณะ
วิธีการของแผลปลาด้วยกล้องสแกนนิ่งอิเล็ก-
ตรอน (บทคัดย่อ), pp. 51-52. ใน การ
ประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 22 สาขาสัตวแพทย์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
- Angka, S.L. 1983. A fish disease outbreak in
West Java. Seameo-Biotrop Newsletter
43 : 4-5.
- Bootsma, R., P. de Kinkelin and M.L. Berre.
1975. Transmission experiments with
pike fry (*Esox lucius* L.) rabdovirus.
J. Fish Biol. 7 : 269-276.
- Chungsamarnyart, N., T., Fujioka, and J. Kitoh.
1981. Correlative light-, fluorescence-
and electron-microscopic studies of
catecholamine-storing cells in the adrenal

medulla of the domestic fowl. Cell Tissue
Res. 217 : 471-477.

- Cohen, J.A., A. Poinard and R. Scherrer. 1973.
Physio-chemical and morphological
features of infectious pancreatic necrosis
virus. J. Gen. Virol. 21 : 485-498.
- Melnick, J.L. 1974. Classification and nomen-
clature of animal viruses. Prog. Med.
Virol 17 : 290-294.
- Sato, T. 1968. A modified method for lead stain-
ing of thin sections J. Electron Micros.
17 : 158-159.

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการเฉพาะ
กิจแก้ไขปัญหาโรคระบาดสัตว์น้ำจืดที่ได้จัดสรรทุนใน
ศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณคณบดี คณะสัตวแพทยศาสตร์
และผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์, ผู้อำนวยการสถาบันประมงน้ำจืด กรม
ประมง, หัวหน้าศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืช
ทดลอง วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ได้ให้ความสนับสนุน
ในงานวิจัยนี้มาโดยตลอด

และขอขอบคุณ ดร.กมลพร ทองอุไทย คุณ
สุปราณี ชินบุตร คุณโสภา อาริรัตน์ และดร.ชลอ ลิม-
สุวรรณ และคุณศุภณิพร ชูประยูร ที่ได้ให้ความร่วมมือ
ในการวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างดี