

ศึกษาสายพันธุ์หนูที่เหมาะสมต่อการผลิตขยายเชื้อโปรโตซัวในหนูในสภาพโรงเรือน  
 Study on Suitable Rats-Varieties on Mass Production  
 of Protozoan in Laboratory

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ      ดาราพร รินทะรักษ์      ปราสาททอง พรหมเกิด  
 กลุ่มกีฏและสัตววิทยา      สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาหาสายพันธุ์หนูท้องขาวที่เหมาะสม สำหรับการติดเชื้อคือคิเดียนโปรสโตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* เพื่อเป็นอาหารจุลชีพสำหรับผลิตโปรโตซัวระยะสปอร์โรซิสต์ เพื่อผลิตสารชีวอินทรีย์กำจัดหนู ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2549 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2553 มีวัตถุประสงค์ เพื่อให้ได้สายพันธุ์หนูท้องขาวที่สามารถผลิตซิสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวให้ได้ปริมาณมาก(%การติดเชื้อพบในระดับสูงเป็นส่วนใหญ่) โดยทำการให้เชื้อโปรโตซัวระยะสปอร์โรซิสต์ในหนูโดยตรงทางปากในอัตรา 500 ซีสต์ ภายหลังให้เชื้อโปรโตซัวแล้ว 7 วัน ให้เชื้อโปรโตซัวระยะสปอร์โรซิสต์ซ้ำอีกครั้งในอัตรา 300 ซีสต์ ภายหลังให้เชื้อโปรโตซัวแล้ว ทำการเลี้ยงและดูแลหนูติดเชื้อเป็นเวลา 2 เดือน จึงทำการผ่าหนู เพื่อตรวจนับเชื้อโปรโตซัวระยะซาร์โคซิสต์ภายใต้กล้องกำลังขยายสูง

ผลการตรวจนับซิสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวของหนูแต่ละสายพันธุ์ พบว่า หนูขาวสายพันธุ์ Sprague Daw Ley มีความเหมาะสมที่สุดที่โปรโตซัวสามารถเจริญเติบโตและผลิตซิสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวในหนูทุกตัว และในระดับสูงพบมากถึง 70% อันดับรองลงมาได้แก่หนูนาใหญ่ มีการติดเชื้อในระดับสูงถึง 25% ระดับกลาง 25% และระดับต่ำ 40% ส่วนหนูท้องขาวชนิดอื่นๆ มีการติดเชื้อโปรโตซัวส่วนใหญ่ในระดับต่ำ 66.7-80.0%

สรุปผลการศึกษา พบว่า หนูขาวสายพันธุ์ Sprague Daw Ley เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดในการนำมาผลิตโปรโตซัวระยะซาร์โคซิสต์ให้ได้ปริมาณสูง อันดับรองลงมาได้แก่หนูนาใหญ่รุ่น F1

คำนำ

หนูเป็นสัตว์อาศัยตัวกลางของโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ที่มีความสำคัญต่อการผลิตสารชีวอินทรีย์กำจัดหนูเช่นเดียวกับงูเหลือม ซึ่งปริมาณซาร์โคซิสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวของหนูติดเชื้อ ที่เป็นอาหารของงูเหลือมนั้น มีความสัมพันธ์กับปริมาณสปอร์โรซิสต์ที่จะพบในมูลงูเหลือม แต่จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า หนูชนิดที่ได้ทำการติดเชื้อโปรโตซัวชนิดนี้ ปริมาณของเชื้อโปรโตซัวที่พบใน

กล้ามเนื้อลำตัวหนูนั้น จะแตกต่างกัน และความแตกต่างนี้พบได้แม้ในหนูชนิดเดียวกัน ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันของหนูต่อเชื้อโปรโตซัวชนิดดังกล่าว อาจมีส่วนทำให้การขยายพันธุ์ของโปรโตซัวในหนูลดระดับความรุนแรงของโปรโตซัวในการทำให้เกิดโรคในหนู และทำให้ปริมาณซิสต์ในระยะสุดท้ายของการเจริญที่พบในกล้ามเนื้อลำตัวลดลงด้วยเช่นกัน ดังนั้น จึงควรศึกษาปริมาณซิสต์ของโปรโตซัว *S. singaporensis* ในกล้ามเนื้อลำตัวของหนูท้องขาวทั้ง 5 สายพันธุ์ ว่าชนิดใด และหนูท้องขาวรุ่นใด จึงสามารถสร้างซิสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวได้เป็นปริมาณปานกลางถึงมาก

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. หนูสกุลท้องขาว จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) หนูป่ามาเลย์ (*R. tiomanicus*) หนูท่อ (*R. norvegicus*) หนูขาวสายพันธุ์สเปกโดเรย์ (*R. norvegicus* var. *Sprague Dawley*) หนูนาใหญ่ (*R. argentiventer*) ชนิดละ 10 คู่
2. กรงเลี้ยงทดลอง อาหาร น้ำ และผลไม้
3. nucleic acid stains, ethyl alcohol, methyl alcohol, ether, xylene, etc
4. ขวดปั่นสำหรับการปั่นตกตะกอนโปรโตซัวขนาด 50 มล. ; ขวดพลาสติกขนาด 250 มล.
5. กระดาดหิซซูแบบอเนกประสงค์ เครื่องชั่งน้ำหนัก ถังมือสำหรับแพทย์ ฯลฯ
6. sporocysts of *Sarcocystis singaporensis* จากมูลงูเหลือมหมายเลข 24 และ 9
7. feeding tube + syringe 1 ml. ; micropipette 10-200  $\mu$ l + tips, slides+coverglass
8. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยายสูง

### วิธีการ

#### การเลี้ยงขยายพันธุ์หนูจากธรรมชาติ เพื่อผลิตหนูรุ่น F1 และ F2

โดยนำหนูทั้ง 4 ชนิด ที่ดักจับมาจากนาข้าว สวนปาล์มน้ำมัน และแหล่งชุมชนต่างๆ มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการก่อนการทดลอง 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการเลี้ยงขยายพันธุ์หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) หนูป่ามาเลย์ (*R. tiomanicus*) หนูท่อ (*R. norvegicus*) และหนูนาใหญ่ (*R. argentiventer*) ชนิดละ 10 คู่ เพื่อผลิตหนูรุ่น F1 และทำการจับคู่หนูรุ่น F1 เหล่านี้ ชนิดละ 10 คู่ เพื่อผลิตหนูรุ่น F2 ภายในห้องเลี้ยงหนูทดลองของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ในระหว่างปี 2549-2553 เพื่อใช้ทดสอบการเจริญเติบโตและพัฒนาเชื้อโปรโตซัวในกล้ามเนื้อลำตัวหนูรุ่น F1 และ F2 สำหรับอาหารหนู จะใช้อาหารหนูของบริษัทซีพี และให้ข้าวโพดสดร่วมกับผลไม้ตามฤดูกาลแก่หนูทุกตัวเดือนละ 1 ครั้ง และเพิ่มหนอนนก เฉพาะแม่หนูที่ตั้งท้อง

## การติดเชื้อโปรโตซัว, *Sarcocystis singaporensis* ระยะสปอร์โรซิสต์ ให้กับหนู

นำหนูที่เกิดภายในห้องปฏิบัติการ(รุ่นF1,F2) และมีอายุประมาณ 2 เดือน ชนิดละ 10-30 ตัวต่อรุ่น มาทดสอบการติดเชื้อโปรโตซัว ระยะสปอร์โรซิสต์ของงูเหลือมหมายเลข 24 และ 9 ส่วนหนูขาวสายพันธุ์สเปกโดเรย์(*R.norvegicus* var.*Sprague Dawley*) จำนวน 30 ตัวต่อการติดเชื้อโปรโตซัว สั่งซื้อจากศูนย์สัตว์ทดลองศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล และนำมาทดสอบสปอร์โรซิสต์โดยตรง สำหรับปริมาณสปอร์โรซิสต์ที่ใช้ในการติดเชื้อมี 1 อัตรา คือ 300 - 500 ซีสต์ โดยให้โดยตรงทางปากแก่หนูทดสอบที่สลบด้วยอีเธอร์ก่อนใช้ feeding tube นำสารแขวนลอยสปอร์โรซิสต์เข้าสู่หลอดอาหารโดยตรง ในอัตรา 500 ซีสต์ ภายหลังจากให้เชื้อโปรโตซัวแล้ว 7 วัน ให้เชื้อโปรโตซัวระยะสปอร์โรซิสต์ซ้ำอีกครั้งในอัตรา 300 ซีสต์ เพื่อหาสายพันธุ์หนูที่โปรโตซัวสามารถติดเชื้อและขยายพันธุ์ในกล้ามเนื้อลำตัวหนู และสามารถตรวจพบซาร์โคซิสต์ได้ในระดับสูง

การตรวจสอบซีสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวหนู ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยายสูงที่กำลังขยาย 10X ดังนี้

- 1 = พบซีสต์ระดับต่ำ 1- 2 ซีสต์ต่อการส่องมอง 1 ครั้ง
- 2 = พบซีสต์ระดับกลาง 2- 3 ซีสต์ต่อการส่องมอง 1 ครั้ง
- 3 = พบซีสต์ระดับสูงมากกว่า 3 ซีสต์ต่อการส่องมอง 1 ครั้ง
- 4 = ไม่พบซีสต์

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### การเลี้ยงขยายพันธุ์หนูจากธรรมชาติ เพื่อผลิตหนูรุ่น F1 และ F2

การขยายพันธุ์หนูของแต่ละชนิดที่ดักมาจากธรรมชาตินั้น ต้องการหนูรุ่น F1 และ รุ่น F2 และมีอายุประมาณ 2 เดือน จึงจะทำการติดเชื้อโปรโตซัวได้ ผลจากการขยายพันธุ์หนูแต่ละชนิดครั้งนี้ ประสบผลสำเร็จในการขยายพันธุ์เฉพาะในหนูรุ่น F1 เท่านั้น(30 ตัว: 15 เพศผู้ 15 เพศเมีย) สำหรับหนูรุ่น F2 นั้น สำหรับหนูป่ามาเลย์และหนูท้องขาวให้ลูกจำนวนน้อยมาก และลูกหนูตายระหว่างการเลี้ยง สำหรับหนูนอร์เว การผสมพันธุ์ นั้น มักไม่ประสบผลสำเร็จ ประกอบกับแม่หนูส่วนใหญ่มีอาการตื่นเต้น จึงไม่สามารถเลี้ยงลูกได้ บางครั้งจะกัดลูกหนูจนตาย สำหรับหนูนอร์เวได้หนูรุ่น F1 เท่านั้นและเพียง 10 ตัว(5 เพศผู้ 5 เพศเมีย) ส่วนหนูนาใหญ่ นั้น ดักจับมาจากนาข้าวจากเขตหนองจอกในเดือนพฤศจิกายน 2553 พ่อแม่หนูนาใหญ่ประสบความสำเร็จในการผสมพันธุ์และขยายพันธุ์ ได้เฉพาะหนูรุ่น F1 จำนวน 20 ตัว(10 เพศผู้ 10 เพศเมีย) สำหรับหนูขาวสายพันธุ์ Sprague Dawley นั้น สั่งซื้อหนูอายุ 2 เดือน จำนวน 30 ตัว(15 เพศผู้ 15 เพศเมีย) โดยตรงจากศูนย์สัตว์ทดลองศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อใช้ศึกษาการติดเชื้อโปรโตซัวในห้องปฏิบัติการที่มีการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 26-27°C สำหรับการไม่ประสบผลสำเร็จในการผสมพันธุ์หนูรุ่น F2 ของหนูในห้องปฏิบัติการปกติของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรนั้น อาจเป็นเพราะการดูแลไม่ทั่วถึง

เนื่องจากมีปริมาณหนูทดลองอื่นๆ ในห้องเลี้ยงหนูมาก และอาหารหนูสำเร็จรูปปกติ อาจมีโปรตีนน้อยไปโดยเฉพาะช่วงผสมพันธุ์หนู ดังนั้นการเลี้ยงหนูก่อนจับคู่ ควรต้องให้อาหารประเภทโปรตีนเพิ่มเป็นพิเศษแก่หนูทั้งสองเพศ

### การติดเชื้อโปรโตซัว, *Sarcocystis singaporensis* ระยะสปอร์โรซิสต์ ให้กับหนู

ผลการศึกษาเกี่ยวกับการติดเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* ในหนูแต่ละชนิดรุ่น F1 ทั้งเพศเมียและเพศผู้ ภายหลังจากให้เชื้อโปรโตซัว แล้ว 2 เดือน แสดงไว้ในตารางที่ 1 ส่วนใหญ่เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อโปรโตซัวระยะซาร์โคซิสต์(sarcocysts) ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูของหนูทดลองทั้งหมดเท่ากับ 60% และพบซิสต์ในกล้ามเนื้อเพียง 25% ที่มีระดับการติดเชื้อโปรโตซัวสูง นอกจากนี้ผลการศึกษาในตารางที่ 1 ยังชี้ให้เห็นว่า 70% ของหนูขาวสายพันธุ์ Sprague Dawley ที่ได้รับเชื้อ มีการติดเชื้อในระดับที่สูง และหนูนาใหญ่ พบซิสต์ในกล้ามเนื้อในระดับสูง 25% และในระดับปานกลาง 25% ส่วนหนูห้องขาวบ้านและหนูป่ามาเลย์ ส่วนใหญ่พบซิสต์ในกล้ามเนื้อในระดับต่ำ 73.3% และ 66.7% ตามลำดับ การติดเชื้อในระดับสูงในหนูทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว พบเพียง 6.7%

สำหรับเพศของหนูในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของหนูป่ามาเลย์ และหนูห้องขาวบ้านโดยเฉพาะในหนูที่มีการติดเชื้อระดับสูง ส่วนหนูนาใหญ่พบซิสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวมากในหนูเพศเมีย 3 ตัว ในหนูเพศผู้ 2 ตัว ส่วนหนูขาวสายพันธุ์ Sprague Dawley พบซิสต์ระดับสูงในหนูเพศเมีย 10 ตัว เพศผู้ 11 ตัว สำหรับปริมาณสปอร์โรซิสต์ที่งูเหลือมขนาดกลางผลิตออกมา ภายหลังจากได้รับหนูติดเชื้อระดับสูง ระดับปานกลาง และระดับต่ำ เฉลี่ยเท่ากับ 2984.50 ซีสต์/ไมโครลิตร, 1009.10 ซีสต์/ไมโครลิตร และ 334.70 ซีสต์/ไมโครลิตร ตามลำดับ

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. หนูห้องขาวสายพันธุ์สปรากโดเรย์(*R.norvegicus* var. *Sprague Daw Ley*) เหมาะสมที่สุดที่จะนำมาใช้

ผลิตโปรโตซัวระยะซาร์โคซิสต์ ที่จะนำมาใช้เป็นอาหารงูเหลือมเพื่อโปรโตซัวระยะสปอร์โรซิสต์ แต่พ่อแม่หนูสายพันธุ์นี้ต้องซื้อจากศูนย์สัตว์ทดลองในราคาตัวละ 240 บาท ซึ่งไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในโรงงานผลิตเชื้อโปรโตซัวกำจัดหนูโดยตรง แต่สามารถลดค่าใช้จ่ายนี้ได้บ้าง ถ้านำพ่อแม่พันธุ์มาขยายพันธุ์ในห้องเลี้ยงหนูที่ต้องมีอากาศเย็น(ประมาณ 26°C - 27°C) ซึ่งสามารถขยายพันธุ์ได้ประมาณ 1-2 รุ่น

2. หนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer*) รุ่นลูกที่ 1 (F1) เหมาะสมเป็นอันดับที่ 2 ในการผลิตเชื้อโปรโตซัวระยะซาร์โคซิสต์ การขยายพันธุ์หนูนาใหญ่นั้น พ่อแม่พันธุ์สามารถดักจับได้จากนาข้าวโดยตรง และนำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องอุณหภูมิปกติได้

3. หนูห้องขาวอายุระหว่าง 1 เดือนครึ่ง ถึง 2 เดือน เหมาะสมสำหรับการติดเชื้อโปรโตซัว และการก่อเกิดซิสต์ของโปรโตซัวในกล้ามเนื้อลำตัวหนูนั้น ต้องเลี้ยงหนูนาน 2 เดือน

4. การเลี้ยงขยายพันธุ์หนู นอกจากอาหารหนูปกติแล้ว ควรเพิ่มอาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนหรือหนอนนกเพื่อเพิ่มน้ำหนักและจำนวนลูก เพื่อให้ได้ลูกหนูที่แข็งแรง ควรให้หนูเพศผู้ด้วยก่อนการผสมพันธุ์ เพื่อการผลิตสเปิร์มที่แข็งแรง

5. ควรให้ผลไม้ หรือแตงกวา ให้เป็นอาหารเสริมเดือนละ 1 ครั้ง

### คำขอบคุณ

ขอบคุณ นางทัศนวรรณ พุ่มกาหลง นักวิชาการเกษตร และนายโยชิฮิโร โทริศรี ลูกจ้าง ที่ได้ช่วยเลี้ยงขยายพันธุ์หนูและให้เชื้อโปรโตซัวแก่หนูในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนการเลี้ยงดูแลหนูติดเชื้อ และการตรวจสอบซีสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูในห้องปฏิบัติการ

### เอกสารอ้างอิง

- เกษม ทองทวี, กรแก้ว เสือสะอาด, ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ, พวงทอง บุญทรง, วิยะดา สีหบุตร และเสริมศักดิ์ หงส์นาค, 2533. ชีวิตวิทยาของหนูป่ามาเลย์. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2533, กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, หน้า 44-52.
- ส่งศักดิ์ เย็นบุตร และพวงทอง บุญทรง, 2516. ชีวิตวิทยาของหนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer*). ว. วิทย. กษ. 6 : 429-436.

ตารางที่ 1 แสดงระดับการติดเชื้อโปรโตซัวในกล้ามเนื้อลำตัวแต่ละชนิด ภายหลังจากให้เชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* แล้ว 2 เดือน

ชนิดของหนู รุ่น F1	จำนวน (ตัว)	ระดับการติดเชื้อโปรโตซัวในกล้ามเนื้อลำตัวหนู			
		1	2	3	4
หนูป่ามาเลย์	30	2(6.7%)	1(3.3%)	22(73.3%)	5(16.7%)
หนูห้องชาวบ้าน	30	2(6.7%)	0	20(66.7%)	8(26.7%)
หนูนาใหญ่	20	5(25%)	5(25%)	8(40%)	2(10%)
หนูนอร์เว	10	0	0	8(80%)	2(20%)
หนูขาวสายพันธุ์ Sprague Dawley	30	21(70%)	7(23.3%)	2(6.7%)	0
%การติดเชื้อโปรโตซัว		30(25%)	13(10.8%)	60(50%)	17(14.2%)

ตัวเลขในวงเล็บ แสดงเปอร์เซ็นต์ระดับการติดเชื้อในหนูแต่ละชนิด

1 = ระดับติดเชื้อสูง ; 2 = ระดับการติดเชื้อปานกลาง

3 = ระดับการติดเชื้อต่ำ ; 4 = ไม่พบการติดเชื้อ