บทที่ 1
บทนำ

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของประเทศไทย โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในปัจจุบันมีความสำคัญมากขึ้นเนื่องจากประเทศไทยเป็นผู้ผลิตกุ้งรายใหญ่เป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยมีมูลค่าการผลิตและการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปี ปริมาณการส่งออกกุ้งกุลาดำแช่แข็งตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534-2537 มีปริมาณ 121,240, 140,432, 148,889 และ 190,650 ตัน ตามลำดับ คิดเป็นมูลค่า 26,675, 31,700, 37,850 และ 48,100 ล้านบาท ตามลำดับ

ในปี พ.ศ. 2537 การส่งออกกุ้งแช่แข็ง จัดเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้มากเป็นอันดับสามของประเทศไทย รองจากเสื้อผ้าสำเร็จรูป และอุปกรณ์เครื่องคอมพิวเตอร์ (Anonymous, 1995) แต่การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา ก็ยังมีปัญหาเกิดขึ้น เนื่องจากสภาพแวดล้อมในบางพื้นที่เริ่มมีการเสื่อมโทรม มีการเลี้ยงอย่างหนาแน่น และการจัดการที่ไม่ดีพอ ทำให้ปัญหาโรคกุ้งเกิดมากขึ้น

ปัญหาการเกิดโรคติดเชื้อที่พบในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ มีทั้งที่เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Vibrio ต่างๆ เช่น *V. parahaemolyticus, V. harveyi* การติดเชื้อไวรัส เช่น ไวรัสหัวเหลือง (Yellow Head Virus, YHV) ไวรัสตัวแดงจุดขาว (Systemic Ectodermal Mesodermal Baculovirus, SEMBV) ไวรัสเอ็มบีวี (Monodon Baculovirus, MBV), จากเชื้อรา และปรสิตอื่นๆ (ชลอ, 2534; Sindermann, 1988; Nash et al., 1992; Anonymous, 1992a; Brock, 1992; Lightner, 1996) ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้ง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการควบคุมการเกิดโรค ซึ่งมีขั้นตอนที่สำคัญคือ การวินิจฉัย การป้องกัน และการรักษา

สำหรับการรักษาหรือป้องกันโรคในกุ้งกุลาดำนั้น ในกลุ่มของโรคติดเชื้อไวรัสซึ่งทำให้เกิดความเสียหายมากต่อผู้เลี้ยงนั้น ยังไม่มียาหรือสารเคมีที่จะใช้รักษาได้ และในส่วนของโรคติดเชื้อแบคทีเรียนั้น สามารถใช้สารปฏิชีวนะในการรักษา แต่จะมีปัญหาของสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้งซึ่งมีผลกระทบต่อการส่งออก เนื่องจากมีระเบียบของ USDA (United States Department of Agriculture) ได้กำหนดให้มาตราฐานของสารปฏิชีวนะออกซีเตตราไซคลีน ตกค้างในเนื้อสัตว์ได้สูงสุดไม่เกิน 0.1 ส่วนในล้านส่วน (ppm) (Anonymous, 1992b)

ดังนั้นการป้องกันโรคจึงเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะลดความสูญเสียจากปัญหาการเกิดโรคติดเชื้อได้ โดยรวมไปถึงการป้องกันทางด้านภูมิคุ้มกัน (Immunological protection) ซึ่งจะช่วยเพิ่ม

ความต้านทานให้เซลล์เจ้าบ้านจึงช่วยลดความสูญเสียจากการเกิดโรคติดเชื้อขึ้นได้ (Ratcliffe,1985) ปัจจุบันเริ่มมีการศึกษาการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันหรือสารเสริมภูมิคุ้มกัน(Immunostimulant, Immunoenhancer) และวัคซีนในสัตว์น้ำชนิดต่างๆ รวมทั้งในกุ้งกุลาดำ เพื่อเพิ่มความต้านทานต่อการเกิดโรคซึ่งสารที่ใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันมีหลายชนิด เช่น สารจากแบคทีเรีย จากสัตว์ และจากสารเคมีบางชนิด เป็นต้น (Anderson, 1992)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาประสิทธิภาพของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันซึ่งเตรียมจากเซลล์ของ *Clostridium butyricum* และสารกระตุ้นทางการค้า IE-04 ต่อการเสริมหรือกระตุ้นภูมิคุ้มกันและเพิ่มความต้านทานต่อการติดเชื้อแบคทีเรียและไวรัสหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำ สำหรับภูมิคุ้มกันในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังซึ่งรวมถึงกุ้งกุลาดำด้วยนั้นแบ่งได้ 2 ชนิด คือ ภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองโดยเซลล์ผ่านขบวนการ phagocytosis, coagulation, encapsulation และระบบ prophenoloxidase ส่วนภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองโดยสารน้ำประกอบด้วย agglutinin, bactericidin, lysin และ precipitin (Sindermann,1990) ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษากันน้อยมาก ในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำที่ตอบสนองโดยเซลล์ คือ การเกิด phagocytosis และภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองโดยสารน้ำ คือ bactericidin รวมทั้งติดตามดูความสัมพันธ์ของการเกิด phagocytosis และ bactericidin ในการเพิ่มความต้านทานต่อการติดเชื้อแบคทีเรียและไวรัสหัวเหลือง หลังการกระตุ้นด้วยสารกระตุ้นทางการค้า IE-04 และเซลล์ของ *C. butyricum* เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาและพัฒนาการใช้แบคทีเรียเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ และเป็นแนวทางในการป้องกันและลดปัญหาการเกิดโรคติดเชื้อในกุ้งกุลาดำอีกทางหนึ่ง

ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

1. เตรียมเซลล์ของ *C. butyricum* เพื่อใช้ในการทดสอบการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ

2. ทดสอบหาความเข้มข้นของสารกระตุ้นทางการค้า IE-04 ที่เหมาะสมเพื่อที่จะนำไปใช้เปรียบเทียบกับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากเซลล์ของ *C. butyricum*

3. ทดสอบประสิทธิภาพของสารกระตุ้นทางการค้า IE-04 ต่อการเสริมภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำเป็นเวลานาน 30-90 วัน

4. ทดสอบหาความเข้มข้นของเซลล์ *C. butyricum* ที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารกระตุ้นทางการค้า IE-04

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากเซลล์ของ *C. butyricum* และจากสารกระตุ้นทางการค้า IE-04 ต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ

6. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากเซลล์ของ *C. butyricum* จากสารกระตุ้นทางการค้า IE-04 และที่เตรียมจากเซลล์ของ *C. butyricum* ผสมกับสารกระตุ้นทางการค้า IE-04 ต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย