

นิสิตมก. เจ่งคิดป้องกันโรคเรืองแสงในกุ้ง
สำเร็จคว้ารองชนะเลิศรางวัล "นวัตกรรมแห่ง

นิสิตมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ได้รับรางวัลรองชนะเลิศอันดับที่ 2 จากผลงาน “การใช้แอนติบอดีที่ผลิตจากไข่ไก่ในการป้องกันโรคเรืองแสงของกุ้งกุลาดำ ช่วยสร้างความแข็งแกร่งให้แก่ธุรกิจที่เกี่ยวข้องทั้งระบบ ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ยั่งยืน

นายกวิน ปุณฺณโณกุล นิสิตสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Materials and Methods



วิทยาเขตกำแพงแสน ได้รับรางวัลรองชนะเลิศอันดับที่ 2 จากผลงาน “การใช้แอนติบอดีที่ผลิตจากไข่ไก่ในการป้องกันโรคเรืองแสงของกุ้งกุลาดำ ที่เกิดจากเชื้อ *Vibrio harveyi*” หรือ Application of passive immunization for the control of luminous disease in black tiger shrimp caused by *Vibrio harveyi* จากการแข่งขันโครงการรางวัล นวัตกรรมแห่งประเทศไทยครั้งที่ 5 (พ.ศ. 2548) สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพชีวภาพ โดยมี ผศ.ดร.รัชณี องประยูร อาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต

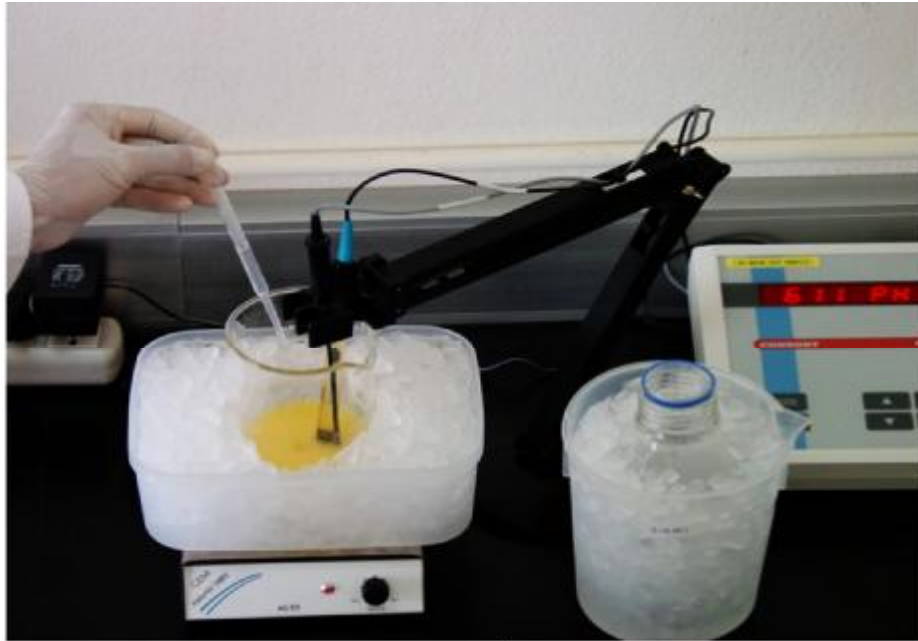
กำแพงแสน เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา

สืบเนื่องจากกุ้งกุลาดำเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ที่สร้างรายได้ให้แก่ประเทศไทยปีละหลายหมื่นล้านบาท มีมูลค่าการส่งออกติดอันดับ 1 ใน 10 แรกของสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย และส่งออกได้เป็นอันดับหนึ่งของโลกหลายปีติดต่อกัน ในเชิงธุรกิจการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้ถูกจัดเป็นธุรกิจที่ให้ผลตอบแทนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับธุรกิจอื่นทางด้านการเกษตร แต่การเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนานั้น ต้องปล่อยพันธุ์กุ้งกุลาดำอย่างหนาแน่นและมีการให้อาหารที่มากไปทั้งปริมาณและคุณภาพ ทำให้เกิดของเสียในรูปอินทรีย์และอนินทรีย์สารจำนวนมากภายในบ่อเลี้ยง ทั้งที่มาจากของเสียหรือสิ่งขับถ่ายจากตัวกุ้งเอง รวมถึงอาหารเหลือส่วนเกินที่กุ้งไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมทั้งทางด้านชีวภาพ เคมีและกายภาพ

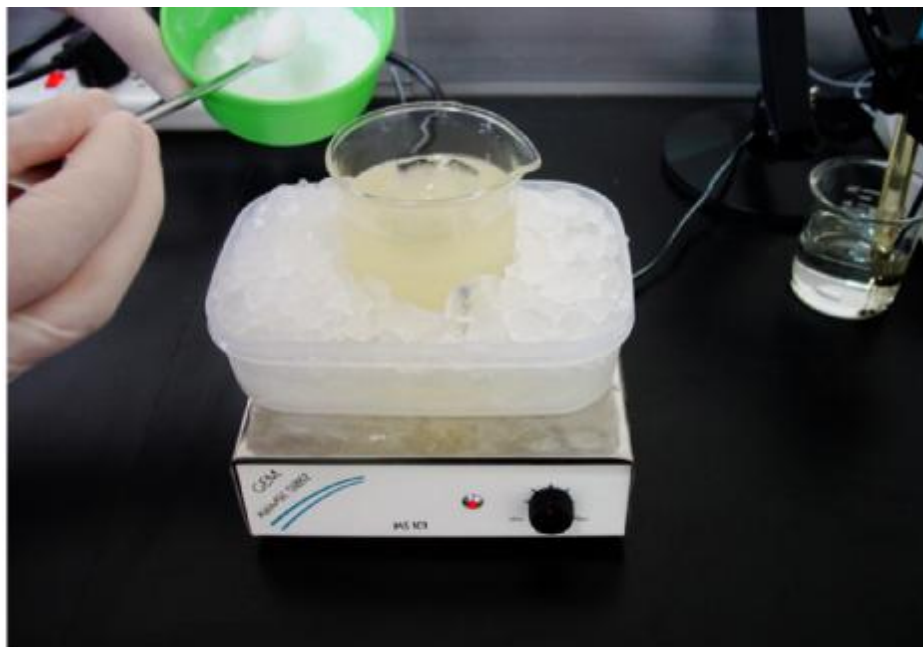


การฉีดระดับภูมิคุ้มกัน ด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* ความเข้มข้น 2×10^8 CFU/ml โดยฉีดใต้ผิวหนัง (Subcutaneous, SC) ปริมาณคือ 1 ml

อยู่เสมอๆ ทำให้กุ้งต้องมีการปรับตัวบ่อยครั้งจนเป็นสาเหตุให้เกิดความเครียดและอ่อนแอ เป็นเหตุโน้มนำให้เกิดปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งตามมา คือ ปัญหาการเกิด โรคและปรสิต โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียและไวรัส ซึ่งแบคทีเรียที่พบบ่อยและเป็นปัญหาสำคัญได้แก่แบคทีเรียในสกุล (*Vibrio spp.*) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Vibrio harveyi* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเรืองแสงทั้งลูกกุ้งในโรงเพาะฟักและกุ้งขนาดใหญ่ที่เลี้ยงในบ่อดิน



การกำจัดไขมันในไข่แดงโดยเจือจางไข่แดงในน้ำกลั่นที่ pH 5.0 ปริมาตร 10 เท่า

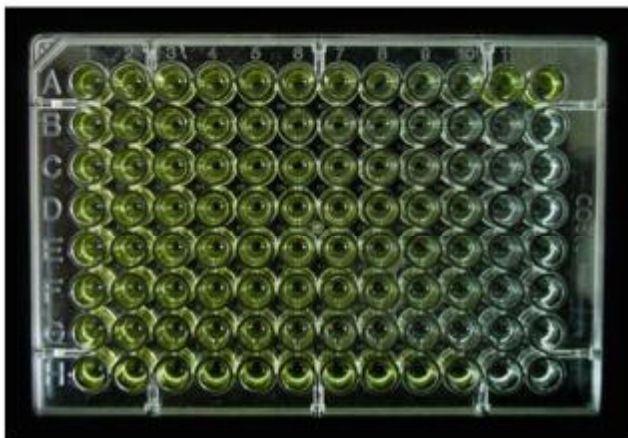


การวัดตะกอนแอนติบอดี (IgY) โดยเติมเกลืออมโมเนียมซัลเฟต ปริมาณ 390 g/L

นายกวิน บุญโยกุล กล่าวว่า จากปัญหาที่เกิดขึ้น นักวิทยาศาสตร์ได้พยายามค้นคว้าและวิจัยเพื่อหาวิธีต่างๆ เช่น การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน การพัฒนาการใช้สมุนไพร การใช้วัคซีน รวมถึงความพยายามนำเอาความรู้ทางด้านวิทยาภูมิคุ้มกันมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อป้องกันโรคโดยการใช้ไข่ไก่ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของแอนติบอดี ให้สัตว์กินเข้าไปในร่างกายเพื่อให้สัตว์ทดลองได้รับภูมิคุ้มกันที่จำเพาะเจาะจงโดยตรง ผลการทดลองที่ได้อยู่ในระดับที่น่า

พอใจ การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะผลิตแอนติบอดีซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อ *V. harveyi* ที่ก่อให้เกิดโรค
เรืองแสงในกุ้งกุลาดำโดยใช้ไข่ไก่เป็นแหล่งผลิตแอนติบอดีเพื่อนำมาใช้ในการควบคุมโรคโดย วิธี **Passive immunization**

“จากการตรวจสอบไตเตอร์ของแอนติบอดีที่แยกได้จากไข่แดงทำโดยวิธี **Enzyme-linked immunosorbent assay**



การอ่านค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีที่แยกได้จากไข่แดงโดยวิธี ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ นำแอนติบอดีจากไข่ไก่ไปใช้
ควบคุมเชื้อ *V. harveyi* ที่เลี้ยงบนอาหาร TCBS พบว่า
สามารถยับยั้งการเจริญของ เชื้อแบคทีเรียเมื่อ
เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนการโดยฉีดเข้า
กล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำขนาด 10-15 กรัม หลังจากผ่านไป
1 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกลุ่มที่ได้รับแอนติบอดีมีอัตราการ
รอดตายสูงกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมประมาณ 62%
ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอัตราการรอดตายเพียง 25%
นอกจากนี้การเปรียบเทียบผลของการเสริมแอนติบอดี
ในอาหารกุ้งวัยอ่อนระยะ **Postlarvae20** พบว่าภายหลัง

ได้รับอาหารเป็นเวลา 3 วัน กุ้งในกลุ่มที่ได้รับแอนติบอดี 15 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการรอดตายที่ 7 วัน
ภายหลังการแช่ด้วยแบคทีเรีย *V. harveyi* สูงที่สุด และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับแอนติบอดี 7 กรัมต่อ
อาหาร 1 กิโลกรัม”

ด้าน ผศ.ดร.รัชณี ชงประยูร อาจารย์ที่ปรึกษา กล่าวว่า ธุรกิจการเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย
เนื่องจากความต้องการของตลาดโลกสูงขึ้น มีการเติบโตอย่างต่อเนื่องถึง 2.5% ต่อปี สำหรับประเทศไทยมีแนวโน้มของ
การผลิตกุ้งทะเลเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จากข้อมูลในอดีต จนกระทั่งปี พ.ศ. 2534 ประเทศไทยส่งออกกุ้งเป็นอันดับหนึ่งของโลก
ด้วยผลผลิต 162,069 ตัน และเพิ่มขึ้นเป็น 225,514 ตัน และ 263,445 ตัน ในปี พ.ศ. 2536 และ 2537 ในปี พ.ศ. 2540 มี
ผลผลิตกุ้งทะเล 227,560 ตันและปริมาณกุ้งส่งออกในปี 2545 ทั้งหมดจำนวน 212,091 ตัน มูลค่าประมาณ 73,947 ล้านบาท
นอกจากนี้ธุรกิจการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำยังมีบทบาทสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจในด้านอื่น เช่น การสร้างงาน การ
กระจายรายได้และการพัฒนาอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ เป็นต้น



การเพาะเชื้อกุ้งกุลาดำบริเวณใต้ขาเดินคู่ที่ 3 โดยใส่เข็ม 24G ขนาด 1 ml ที่ผสม 10% Trisodiumcitrate 0.3 ml

จากรายงานตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบัน พบว่าโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำนี้ ได้สร้างความเสียหายให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งเป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นพื้นที่การเลี้ยงแถบชายฝั่งทะเลทั้งฝั่งอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน จากปัญหาดังกล่าว เกษตรกรมักใช้ยาต้านจุลชีพในการป้องกันและรักษาโรคในอัตราที่สูง อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวมักได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร และยังก่อให้เกิดผลเสียตามมามากมาย เช่นการทำลายแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ นอกจากนี้การใช้ยาที่ผิดวิธียังทำให้เชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคมักมีการพัฒนาตัวเองกลายเป็นสายพันธุ์ที่ต้านทานยา ทำให้การใช้ยามักไม่ได้ผล นอกจากนี้การขาดความรู้ความเข้าใจในการใช้ยาและสารเคมีที่ถูกต้องของเกษตรกรผู้เลี้ยง ยังส่งผลทำให้มีการตกค้างของสารเหล่านั้นในเนื้อกุ้ง ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเกิดผลเสียอย่างมากในด้านการส่งออก โดยประเทศผู้นำเข้ากุ้งจากประเทศไทยมักใช้เป็นข้ออ้างเพื่อเป็นการกีดกันทางการค้าอยู่เสมอๆ

ผลจากการวิจัยนี้จะเป็นแนวทางสำคัญที่จะใช้ป้องกันโรคที่มีประสิทธิภาพ รวมทั้งการป้องกันรักษาโรคกุ้งชนิดอื่นที่สำคัญๆ ได้ต่อไปในอนาคต สามารถนำไปสู่การพัฒนาการผลิตโดยใช้เทคโนโลยีในระดับอุตสาหกรรมเพื่อผลิตให้ได้ปริมาณเพียงพอกับความต้องการและแปรรูปเพื่อให้อยู่ในสภาพที่ใช้ได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถลดต้นทุนการผลิตในส่วนของการใช้ยาและสารเคมีลงได้ และยังเป็นการสร้างเชื่อมั่นให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยง รวมถึงผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศว่ากุ้งที่ได้จากขบวนการผลิตของไทยเป็นกุ้งที่ปลอดภัยจากการใช้ยาและสารเคมี ทำให้กุ้งกุลาดำของไทยสามารถส่งไปขายยังตลาดโลกได้อย่างต่อเนื่อง สร้างความแข็งแกร่งให้แก่ธุรกิจที่เกี่ยวข้องทั้งระบบ ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ยั่งยืนในที่สุด



การฉีด Neutralization antibody เข้ากล้ามเนื้อ (Intramuscular injection) บริเวณลำตัวปล้องที่ 4 ปริมาตร 0.1 ml