บทที่ 1

บทนำ

จากกระแสความตื่นตัวในเรื่องความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร (Food Safety) ในประเทศพัฒนามีเพิ่มมากขึ้น เรื่องความปลอดภัยในอาหารจึงถูกหยิบยกมาใช้เป็นมาตรการกีดกันทางการค้า หนึ่งในสินค้าส่งออกของไทยซึ่งได้รับผลกระทบจากมาตรการกีดกันทางการค้าดังกล่าว ได้แก่ ผลิตภัณฑ์จากกุ้ง ผลิตภัณฑ์จากกุ้งของไทยอยู่ในชั้นแนวหน้า มีความปลอดภัย และได้มาตรฐานตามสากล ภาพรวมการส่งออกกุ้งของไทยเพิ่มขึ้น โดยไทยส่งออกกุ้งไปต่างประเทศทั้งหมด 47,471 ตัน คิดเป็นมูลค่า 15,869 ล้านบาท เพิ่มจากช่วงเดียวกันในปี 2545 คิดเป็นปริมาณเพิ่มขึ้น 10.35 เปอร์เซ็นต์ ส่วนมูลค่าเพิ่มขึ้น 8.04 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าภาพรวมการส่งออกกุ้งของไทยจะเพิ่มขึ้น แต่การส่งกุ้งเข้าตลาดสหภาพยุโรป (อียู) ซึ่งเป็นตลาดใหญ่ที่สุดยังคงลดลงทั้งปริมาณและมูลค่าโดยไทยสามารถส่งเข้าได้เพียง 842 ตัน คิดเป็นมูลค่า 204 ล้านบาทลดลงจากช่วงเดียวกันของปี 2545 ประมาณ 65.55 และ 67.87 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ(กรมศุลกากร, 2546) สืบเนื่องจากการที่สหภาพยุโรปตรวจพบคลอแรมฟินิคอลจากสินค้ากุ้งทรายกระป๋อง (Sand Shrimp) ของไทย โดยอียูกำหนดว่าต้องไม่พบสารตกค้างดังกล่าวเลยในเนื้อกุ้ง (Zero Tolerance) ปัจจุบันนักวิชาการได้แนะนำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งหันมาใช้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก และสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากธรรมชาติแทนการใช้สารปฏิชีวนะ เนื่องจากพบว่าโพรไบโอติกและสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากธรรมชาติ ทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมแวดล้อมดีขึ้น(Raa, 1996; Sakai, 1999; Rengpipat, 2000)

นอกจากนั้นการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันมีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะ ปลา ซึ่งมีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางการค้ากันอย่างกว้างขวาง เช่น การศึกษาของ Skjermo (2005) ซึ่งเปรียบเทียบการใช้บีตากลูแคนที่สกัดจากสาหร่ายทะเล (*Chaetoceros mülleri* (Glucan CM)) กับบีตากลูแคนทางการค้า (Macrogard®) ต่อการรอดชีวิตของปลาคอดวัยอ่อน พบว่ากลุ่มที่ให้อาหารผสม Glucan CM มีการรอดชีวิต การเจริญเติบโต สูงกว่ากลุ่ม Macrogard® และกลุ่มควบคุม นอกจากนั้นยังพบ *Vibrio* spp. ปริมาณมากของกุ้งกลุ่ม Macrogard® ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุม ในขณะที่กลุ่ม Glucan CM พบ *Vibrio* spp. เกาะบริเวณทางเดินอาหารน้อยที่สุด

Gildberg และ Mikkelsen (1998) ศึกษาการใช้ แลกติกแอสิดแบคทีเรีย *Carnobacterium divergens* ที่แยกได้จากลำไส้ของปลาคอด และปลาแซลมอล และสารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันผสมในอาหารเลี้ยงปลาคอด หลังการทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ชักนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio*

anguillarum พบว่าหลังการชักนำให้เกิดโรค 12 วัน ปลาคอด และปลาแซลมอลวัยอ่อนกลุ่มที่ให้แลกติกแอสิดแบคทีเรียผสมกับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีการตายสะสมต่ำที่สุด

Salinas และคณะ (2005) ศึกษาการใช้ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis* และ *Bacillus subtilis,* ผสมในอาหารเลี้ยงปลาทะเล โดยให้เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าการทำงานของระบบกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอม (phagocytic activity) และ cytotoxic activity ของปลาในกลุ่มทดลองสูงกว่ากลุ่มควบคุม และหลังจากนั้นหยุดให้อาหารผสมเชื้อดังกล่าว 1 สัปดาห์ พบว่ามีการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันลดลง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียดังกล่าวไม่สามารถทนอยู่ในระบบทางเดินอาหารของปลาได้

ดังนั้นการศึกษาหาสารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน เพื่อป้องกัน และกำจัดสิ่งแปลกปลอมให้กับสัตว์น้ำที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำซึ่งเป็นเศรษฐกิจของไทย เนื่องจากการเลี้ยงง่าย ให้ผลตอบแทนสูงในระยะเวลาสั้น คือ ประมาณ 4 เดือน (เอกสารประกอบการสัมมนา, 2542.) จากการศึกษาพบสารที่มีคุณสมบัติกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ได้แก่ บีตากลูแคน (Guoding และคณะ , 1997) เพพทิโดไกลแคน (Itami และคณะ, 1998) วัคซีนจากแบคทีเรีย (Teunissen และคณะ, 1998) สารสี Astaxanthine(Boonyaratpalin และคณะ, 2000) วิตามินซี (López และคณะ, 2003) และโพรไบโอติก (Rengpipat และคณะ, 2000) เป็นต้น

กุลาดำ หรือกุ้งกะลา หรือกุ้งม้าลาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* Fabricius และมีชื่อภาษาอังกฤษว่า Tiger prawn หรือ Giant tiger prawn กุ้งชนิดนี้เป็นกุ้งที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในวงศ์ Penaeidae ลำตัวมีสีม่วงแดง มีแถบสีน้ำตาลดำขวางลำตัวเป็นปล้องๆ โคนขาว่ายน้ำมีแถบสีเหลืองเป็นปล้องๆ เปลือกหัวเกลี้ยงไม่มีขน หนวดมีสีดำไม่มีลาย ฟันกรีด้านบนมี 7-8 ซี่ ด้านล่างมี 3 ซี่ ร่องด้านข้างกรีทั้งสองข้างมีลักษณะแคบและยาวไม่ถึงฟันกรีอันสุดท้าย ขาเดินคู่ที่ 5 ไม่มีระยางค์อันนอก ชอบอาศัยในบริเวณน้ำลึก ห่างจากชายฝั่งและชอบพื้นทะเลที่เป็นดินทราย สามารถทนอยู่ได้ในที่มีอุณหภูมิสูง และความเค็มต่ำ กุ้งจะเจริญเติบโตรวดเร็วบริเวณป่าชายเลน ถิ่นอาศัยของกุ้งกุลาดำได้แก่ น่านน้ำแถบไต้หวัน ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และพบมากที่ออสเตรเลีย และอินเดีย(วัลลภ คงเพิ่มพูน, 2534)

ระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำเป็นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่เฉพาะเจาะจง มีทั้งกิจกรรมที่เกิดขึ้นโดยเซลล์ ได้แก่ การแข็งตัวของเลือด (hemolymph clotting) กระบวนการกลืนทำลายหรือฟาโกไซโทซิส (phagocytosis) การสร้างโนดูล (nodule formation) การห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอม (encapsulation) และระบบโพรฟีนอลออกซิเดส (prophenoloxidase system) กิจกรรมที่เกิดขึ้นโดยสารน้ำ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (antibacterial activity) แอคกลูตินิน (agglutinin) สารคล้ายไซโตไคน์ (cytokine-like factors) โมดูเลเตอร์(modulators) สารที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด (clotting factors) โดยเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ ได้แก่ต่อมน้ำเหลือง (lymphoid organ) อวัยวะสร้างเม็ดเลือด (hemopoietic tissue) รวมทั้งอวัยวะต่างๆ ที่มีเซลล์จับกิน

กระจายอยู่ โดยอวัยวะสร้างเม็ดเลือดของกุ้งจะอยู่ใกล้กับหลอดเลือดเออร์ต้าส่วนหน้า (anterior aorta) ใต้กรี ซึ่งมีทั้งลักษณะ กลม และลอนยาวเล็กๆกระจายอยู่ (Supamattaya และ คณะ, 2000)

จากการศึกษาพบว่าการทำงานของเซลล์แต่ละชนิดจะมีหน้าที่ในการทำลายสิ่งแปลกปลอมแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่1

ตารางที่ 1 การทำงานของเซลล์แต่ละชนิดในระบบภูมิคุ้มกัน

ชนิดของ Haemocyte	การทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน
ไฮยาลิน	ฟาโกไซโทซิส
เซมิกรานูล	การห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอม ฟาโกไซโทซิส ระบบการเก็บและการหลั่งเอนไซม์โพรฟีนอลออกซิเดส
กรานูล	ระบบการเก็บและการหลั่งเอนไซม์โพรฟีนอลออกซิเดส

(ที่มา: Johanssan และคณะ, 2000)

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของการใช้ เซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย โพรไบโอติกแบคทีเรีย และ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางการค้า ต่อ อัตราการเจริญเติบโต ความสามารถในการต้านทานต่อการเกิดโรคและ การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้สารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำที่สามารถผลิตได้เองนำมาทดแทนการใช้สารปฏิชีวนะ และสารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ขอบเขตงานวิจัยของสิ่งที่นำมาทดสอบ

1. บีตากลูแคน (β-glucan) เชิงพาณิชย์ ในปริมาณที่กำหนดตามคู่มือการใช้ 2 กรัม/กิโลกรัม
2. เซลล์ที่ไม่มีชีวิตของโพรไบโอติกแบคทีเรีย *Bacillus* สายพันธุ์ S11(BS11) ในปริมาณที่เหมาะสมหลังทำงานวิจัย
3. โพรไบโอติกแบคทีเรีย *Bacillus* สายพันธุ์ S11(BS11) ในปริมาณ 10^{10} CFU/gของอาหารกุ้ง (Rengpipat, 1998)