บทที่ 1
บทนำ

ามสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

กุ้งกุลาดำเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่ทำรายได้เข้าสู่ประเทศไทยสูงมากและให้ผลตอบ นแก่ผู้เลี้ยงมากกว่าการทำธุรกิจด้านอื่นๆ ทำให้มีผู้สนใจเลี้ยงกุ้งกุลาดำอย่างกว้างขวาง อดแนวชายฝั่งที่ติดทะเลและแหล่งน้ำกร่อยและน้ำจืดเป็นต้น ทำให้สะภาพแหล่งน้ำเสื่อง มภาพลงประกอบกับผู้เลี้ยงปล่อยจำนวนกุ้งในอัตราความหนาแน่นต่อพื้นที่สูงมากจึงเป็น จัยโน้มเอียงให้เกิดโรคระบาดอย่างกว้างขวาง เช่น โรคหัวเหลือง โรคตัวแดง โรคเสี้ยนดำ าติดเชื้อจากแบคทีเรียในกุ้งอายุหนึ่งถึงสองเดือนเป็นต้น การลดอัตราการตายของกุ้ง าดำที่เกิดจากการติดเชื้อประเภทต่างๆ จำเป็นต้องเข้าใจความรู้พื้นฐานในเรื่องกลไกการ บสนองต่อสิ่งกระตุ้น ระบบการป้องกันตัวเองต่อสิ่งกระตุ้นต่างๆ ระบบภูมิคุ้มกันพื้นฐาน ดับเซลล์ของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจะแตกต่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมอย่างมาก ะกอบกับการหมุนเวียนของเลือดในกุ้งเป็นแบบระบบเปิดซึ่งง่ายต่อการเปลี่ยนแปลงของ บบสรีระวิทยาเมื่อสิ่งแวดล้อมภายนอกมีการเปลี่ยนแปลง เป็นที่รู้กันทั่วไปว่าระบบการ ุนเวียนของเลือดในกุ้งมีหน้าที่ตอบสนองและขจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย อย่างดี ยม นอกจากนั้นเซลล์เม็ดเลือดยังมีบทบาทที่สำคัญในระบบภูมิคุ้มกันซึ่งมีหลักฐานการ เลองที่ตรวจสอบปริมาณเซลล์เม็ดเลือดมีการเปลี่ยนแปลงที่มีจำนวนเพิ่มขึ้นหลังจากฉีด รแปลกปลอม (Lipopolysaccharide) เข้าสู่ร่างกายของกุ้ง *Peneaus japonicus* equeira etal, 1996) แสดงให้เห็นว่า เซลล์เม็ดเลือดของกุ้งสามารถจำแนกเซลล์ของ เองออกจากสิ่งแปลกปลอมที่มาจากภายนอกร่างกาย เซลล์เม็ดเลือดของกุ้งถูกผลิตและ งดปล่อยออกมาจากเนื้อเยื่อที่เรียกว่า Hematopoietic tissue (HPT) ซึ่งมีหลักฐานจาก ยงานของ Hose etal, 1992 ที่ศึกษาการผลิตและปลดปล่อยเซลล์เม็ดเลือดจาก HPT หว่างการลอกคราบของกุ้ง *Sicyonia ingentis* ซึ่งพบว่าปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่ปลด ง่อยมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับระยะการลอกคราบ และรายงานของ Le Moullac al., 1997 พบว่าปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดในระยะก่อนการลอกคราบ ่อเปรียบเทียบกับระยะ Intermolt ในกุ้ง *P. stylirostris* และจะไวต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย

Vibriosis ในระยะก่อนการลอกคราบ นอกจากนี้เซลล์เม็ดเลือดของกุ้งยังมีหน้าที่อื่นๆ ในการ
กำจัดสิ่งแปลกปลอมเช่น ทำการกินสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดเล็กกว่าขนาดของตัวเอง
(Phagocytosis) ถ้ามีขนาดใหญ่กว่าตัวเองจะทำการขจัดสิ่งแปลกปลอมที่เรียกว่า
Encapsulation และ Nodule formation วิธีอื่นๆ ที่กุ้งต่อต้านสิ่งแปลกปลอมได้แก่ Melanin
formation, Cytotoxicity, และ the proPO-system(Prophenoloxidase activating
system) มีการรายงานว่าปริมาณเซลล์เม็ดเลือดในกุ้งก้ามกรามจะเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการ
เปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำ เมื่อทดลองให้กุ้งก้ามกรามติดเชื้อแบคทีเรียชนิด
Enterococcus (Cheng and Chen, 2000) การติดเชื้อจากแบคทีเรีย Vibriosis ในกุ้ง
กุลาดำมีการศึกษาและรายงานว่าเป็นโรคที่มีปัญหาต่อการเลี้ยงกุ้งอย่างมากโดยเฉพาะพื้นที่
ส่วนกลางของประเทศไทย ชนิดของแบคทีเรียคือ *Vibrio parahaemoliticus*, *V.*
anguillarum, *V. vulnificus*, *V. damsela*, และ *V. alginolyticus* (Nash, etal., 1992) ความ
พยายามในการศึกษาภูมิคุ้มกันโรคและแนวทางการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียและ
ไวรัสในกุ้งกุลาดำยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร ซึ่งค่าความว่องไว (Phagocytosis) ของ
เม็ดเลือดสูงขึ้นเล็กน้อยจากค่าปกติ ซึ่งการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยนี้ไม่มีผลต่อความต้านทานโรคใน
กุ้งที่ได้รับวัคซีนแตกต่างจากไม่ได้รับการแช่กุ้งด้วยวัคซีน(กิจการและสิทธิ 1995)

อย่างไรก็ตามการศึกษาและทดลองในกุ้งยังคงไม่เพียงพอต่อการแก้ปัญหาหรือยับยั้ง
การตายของกุ้งที่เลี้ยงในฟาร์ม งานวิจัยฉบับนี้พยายามที่จะศึกษาชนิดและปริมาณของเซลล์
เม็ดเลือดมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไรและมีความสัมพันธ์กับการลอกคราบระยะต่างๆ และ
หลังจากการติดเชื้อแบคทีเรียชนิด *V. alginolyticus* จากข่าวกุ้งประจำเดือนเมษายนของปี
2540 รายงานว่าโรค Vibriosis ที่เกิดโทษต่อกุ้งอย่างรุนแรงเป็นแบคทีเรียโคโลนีสีเขียว เมื่อ
เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะชนิด TCBS มากกว่าชนิดที่เป็นโคโลนี สีเหลือง ในการทดลอง
ครั้งนี้จะใช้ชนิดโคโลนีสีเหลืองเพราะว่าเมื่อกุ้งได้รับเชื้อแล้ว กุ้งจะไม่ตายอย่างเฉียบพลันแต่
ระบบภูมิคุ้มกันและระบบเลือดจะมีการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย ดังนั้นจึง
สามารถศึกษาระบบการเปลี่ยนของเลือดได้ ซึ่งผลของการศึกษาครั้งนี้จะทำให้ทราบชนิด
และปริมาณของเม็ดเลือดที่มีบทบาทต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำและเปลี่ยนแปลงไป
อย่างไรในสภาวะที่ติดเชื้อ ทั้งนี้หลังจากทราบการเปลี่ยนแปลงในระบบเลือดของกุ้งที่มีความ
อ่อนแอแล้วจะสามารถหาแนวทางการป้องกันการตายของกุ้งกุลาดำต่อไป

ฤดุประสงค์ของโครงการปีที่หนึ่ง

- เพื่อจัดจำแนกชนิดของเม็ดเลือดและปริมาณเม็ดเลือดในกระแสเลือดของกุ้งกุลาดำในสภาพปกติไม่มีการติดเชื้อตามระยะลอกคราบ
- เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ชนิดและปริมาณของเม็ดเลือดกุ้งกุลาดำที่อาจเปลี่ยนแปลงไปเมื่อกุ้งมีการติดเชื้อแบคทีเรีย *V. alginolyticus*

ระโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับในการศึกษาเบื้องต้นในปีที่หนึ่ง

- ทราบถึงระบบภูมิคุ้มกันพื้นฐานระดับเซลล์ของกุ้งกุลาดำ
- เพื่อหาแนวทางการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียในระหว่างการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ