

## บทที่ 1

### บทนำ

ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) เป็นปลาทะเลเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่สามารถปรับตัวให้อยู่ในน้ำจืดหรือน้ำกร่อยได้ จัดเป็นปลาน้ำจืดหรือน้ำกร่อยขนาดใหญ่ เนื้อปลากะพงขาวมีโปรตีนสูง รสชาติอร่อยจึงได้รับความนิยมจากผู้บริโภคอย่างแพร่หลาย นอกจากจำหน่ายให้ตลาดภายในประเทศแล้วตลาดต่างประเทศก็ได้มีการนำเข้า อาทิ มาเลเซีย สิงคโปร์ ฯลฯ (ยุพินท์ วิวัฒน์ชัย เศรษฐ์, 2542) อนาคตของการเลี้ยงปลากะพงขาวยังคงได้รับความสนใจเพราะเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย ไม่ยุ่งยาก มีราคาที่ไม่สูงและไม่ต่ำเกินไป ภาวะการตลาดยังสามารถขยายได้ต่อไปอีก อย่างไรก็ตามการเลี้ยงปลากะพงขาวเพื่อขายเป็นปลาบริโภคนั้น อาจจะมีการเกิดความเครียด ทำให้สุขภาพปลาอ่อนแอลง เป็นผลให้เกิดโรคตามมา ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเสียหายจำนวนมากได้

ปัจจุบันในอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาทั้งต่างประเทศและประเทศไทยเอง ได้มีการนำแบคทีเรียหรือยีสต์บางชนิดมาผสมอาหารเพื่อกระตุ้นหรือเสริมภูมิคุ้มกันให้กับปลาที่เลี้ยง ซึ่งแบคทีเรียและยีสต์จะพบได้ทั่วไปในธรรมชาติรวมทั้งในทะเล แบคทีเรียและยีสต์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ยีสต์บางชนิดมีคุณสมบัติของการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunostimulatory properties) บางชนิดเป็นแหล่งสารอาหารโปรตีน ไขมัน และ วิตามิน (Kutty และ Phillip, 2008) และเนื่องจากยีสต์มีคุณสมบัติในด้านการเจริญเติบโตสามารถขยายพันธุ์ในปริมาณมากได้อย่างรวดเร็ว ทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ จึงมีการใช้ยีสต์ในอุตสาหกรรมอาหารกันอย่างแพร่หลาย แต่ในการนำแอคติโนมัยซีส ยีสต์ทะเลหรือสารสกัดจากแบคทีเรียทะเลมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำมาผลิตอาหารโดยวิธีการตรึงยังมีการศึกษาไม่มาก สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลได้ทำการวิจัยจำแนกชนิดยีสต์ทะเลระยะหนึ่ง (Srivibool et al, 2011) และได้ทดลองสกัดสารจากยีสต์ทะเลเหล่านี้ พบว่ามีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์น้ำ antioxidant สารสี กรดไขมันที่จำเป็นแก่ร่างกาย และสารที่ช่วยในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น เมมเบรนจากยีสต์ เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้เหมาะที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยง

นอกจากนี้จากงานวิจัยของคณะผู้วิจัย (สุพรรณิ ลีโทชวลิต และคณะ, 2554) พบว่าเมื่อทำการฉีดวัคซีนเชื้อตายของโปรโตซัว *Cryptocaryon irritans* เข้าสู่ปลาทดลอง พบว่าวัคซีนนี้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลาต่อโรคจุดขาวน้ำเค็มได้มากขึ้น แต่หากต้องการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาทะเลสวยงามที่มีขนาดเล็ก การนำวัคซีนหรือยีสต์ฉีดเข้าสู่ตัวปลาอาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อปลาได้ ดังนั้นเพื่อเป็นการกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้แก่ปลาโดยวิธีการกินจึงเป็นวิธีที่ปลอดภัยและไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อปลาสวยงามขนาดเล็ก แต่การให้วัคซีนโดยวิธีการให้กินนั้น วัคซีนอาจจะถูกทำลายในกระเพาะอาหารก่อนจะถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ทั้งหมดที่ลำไส้หากใช้วัสดุและเทคนิคไม่เหมาะสม ซึ่งในปัจจุบันนี้มีเทคนิควิธีการตรึงเพื่อที่จะตรึงสารที่สำคัญไว้ภายใน และไม่ให้อาหารหลุดออกมาภายนอกก่อนเวลาที่ต้องการ ดังนั้นในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จึงได้พยายามใช้เทคนิคการตรึงในการผลิตอาหารสำเร็จรูป ในรูปแบบต่างๆ เช่น microsphere diets, microencapsulated diets หรือ microparticulated diets (Lazo, 2000; Teshima, Ishikawa

และ Koshio, 2000; Koven, et al, 2001; Kolkovski, S. 2004) หรือการใช้เทคนิคการตรึงในการ ป้องกันรักษาโรค เช่น การพัฒนาวัคซีนรักษาโรคโดยวิธีการให้กิน แทนการแช่ หรือการใช้สารเคมี รักษาโรค (Polk et al, 1994)

ในโครงการนี้คณะผู้วิจัยได้ทดสอบการตรึงยีสต์และโปรโตซัวเมื่อทำการทดสอบการรื้อไหล ของสารที่สำคัญพบว่าเทคนิคการตรึงนี้สามารถใช้ได้กับยีสต์และโปรโตซัวที่ใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ดังนั้นเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ขั้นต่อไป คณะผู้วิจัยจะทำการผลิตอาหารด้วยเทคนิคการตรึงเพื่อนำ อาหารนั้นมาทดลองให้ปลากะพงขาวกิน และทำการตรวจสอบภูมิคุ้มกันระหว่างทำการเลี้ยงด้วย อาหารดังกล่าว และระหว่างการเผชิญเชื้อ *Cryptocaryon irritans*

### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

วัตถุประสงค์ทั่วไปในการศึกษาคือการผลิตวัคซีนจากปรสิต *Cryptocaryon irritans* และ จุลินทรีย์อื่นที่มีประโยชน์ โดยเทคนิคการตรึง เพื่อใช้ในการป้องกันโดยวิธีการให้กิน โดยมี วัตถุประสงค์หลักคือ

1. เพื่อผลิตวัคซีนจากปรสิต *Cryptocaryon irritans* ระยะ theront และจากยีสต์ *Pichia* sp. ที่แยกได้จากน้ำทะเล
2. เพื่อเตรียมอาหารที่เสริมวัคซีนโดยเทคนิคการตรึงสารอาหารไม่ให้ละลายออกมาในน้ำ และอาหารนั้นไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ
3. เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อปรสิต *Cryptocaryon irritans* โดยใช้อาหารที่เสริม วัคซีนทดสอบในปลาเศรษฐกิจ

### ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. งานเก็บรวบรวมปรสิต *Cryptocaryon irritans* และทำการเลี้ยงปรสิตระยะต่างๆ ให้ได้ปริมาณมากเพื่อใช้ผลิตวัคซีน
2. เตรียมวัคซีนจากปรสิตระยะ trophont เชื้อตาย และยีสต์ โดยใช้เทคนิคการตรึง (encapsulation)
3. งานผลิตอาหารเสริมวัคซีนสำหรับใช้ในการเลี้ยงปลา
4. งานทดสอบอาหารที่ผลิตได้ในข้อ 3 สำหรับเลี้ยงปลากะพง
5. ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในซีรัมของปลาเมื่อได้รับอาหารที่เสริมวัคซีนในข้อ 4 ตรวจสอบปริมาณโปรตีน ปริมาณไลโซไซม์ และตรวจวัดระดับแอนติบอดี (IgM) ในซีรัม โดย เทคนิค ELISA
6. ศึกษาารูปแบบของแอนติบอดีโดยเทคนิคฟอลโอะครีลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (SDS-PAGE)
7. ตรวจสอบอัตราการรอดของปลาจากการทดสอบการเผชิญเชื้อ *Cryptocaryon irritans* ระยะ theront ในปลากะพงขาวที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากอาหารที่มีวัคซีน