บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันประเทศไทยได้ส่งเสริมให้มีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มมากขึ้นเพื่อที่จะได้แทนที่การจับสัตว์น้ำจากธรรมชาติที่มีปริมาณลดน้อยลง ได้มีการศึกษาในสัตว์น้ำหลายชนิด โดยเฉพาะกุ้งทะเล ซึ่งเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจของประเทศ ทำรายได้ให้ประเทศปีละมหาศาล การส่งออกของไทยซึ่งเป็นประเทศผู้ส่งออกกุ้งแช่เย็นและแช่แข็งอันดับหนึ่งของโลก (จำนวนกุ้งขาวคิดเป็นร้อยละ 70 เปอร์เซ็นต์ของกุ้งส่งออกภายในประเทศ) สามารถเห็นได้ชัดเจนจากการส่งออกกุ้งไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีปริมาณการส่งออก 391,000 ตัน ในปี 2552 คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 13.9 ของปริมาณการส่งออกทั้งโลกที่มีปริมาณ 1,591,704 ตัน ส่วนประเทศผู้ส่งออกในอันดับรองลงมา ได้แก่ จีน (ร้อยละ 9.7) อินเดีย (ร้อยละ 8.1) เอกวาดอร์ (ร้อยละ 8.0) อินโดนีเซีย (ร้อยละ 6.9) และเดนมาร์ก (ร้อยละ 6.5) ตามลำดับ (ที่มา National Marine Fisheries Service : NMFS : หน่วยงานประมงกลางของสหรัฐอเมริกา)

ด้วยเหตุที่มีความต้องการพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเป็นปริมาณมาก จึงต้องมีการนำเข้าพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวจากต่างประเทศ ดังนั้นรัฐบาลจึงได้มีการส่งเสริมพัฒนากระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อช่วยการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวให้มีศักยภาพเพิ่มมากขึ้น เช่น เกษตรกรที่ทำการเพาะฟักและอนุบาลลูกกุ้งขาวมีความต้องการพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวจำนวนมากมาใช้เพาะพันธุ์ เนื่องจาก กุ้งขาวเป็นกุ้งที่เลี้ยงง่าย มีการเจริญเติบโตเร็วกว่ากุ้งทะเลชนิดอื่น และสามารถขายได้ราคาดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาในการเลี้ยงกุ้งชนิดอื่น ๆ แต่เกิดปัญหาหลักสี่ประการในการเพาะพันธุ์กุ้งขาว ประการแรก คือ การเพาะฟักกุ้งขาวบางครั้งนั้นได้ลูกกุ้งที่มีคุณภาพดีและฟักออกมามากเกินความต้องการของท้องตลาด จึงมีการปล่อยพันธุ์ลูกกุ้งขาวทิ้งสู่สิ่งแวดล้อมทำให้เกิดการสูญเสียทรัพยากรที่มีคุณภาพไปอย่างไร้ประโยชน์ ประการที่สอง คือ ในบางฤดูกาลความสมบูรณ์พันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์กุ้งขาวไม่พร้อมกัน ทำให้ไม่สามารถผสมพันธุ์ได้ ประการที่สาม คือ คุณภาพของลูกกุ้งขาวไม่แน่นอน อันเกิดจาก สเปิร์มหรือไข่ที่นำมาผสมนั้นด้อยคุณภาพ ในบางครั้งทำให้มีอัตราการฟักของลูกกุ้งมีปริมาณน้อย ไม่เพียงพอต่อความต้องการ ทำให้ไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง ขยายพันธุ์ และปรับปรุงพันธุ์ ประการที่สี่ คือ อุณหภูมิในโรงเพาะฟักมีผลต่ออัตราการฟัก ในบางฤดูกาล เช่น ฤดูหนาว พบว่าอัตราการฟักของลูกพันธุ์กุ้งขาวลดน้อยลง ดังรายงานของ Alfaro, Huisman, and Komen (2001) ที่ศึกษาถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับ

การเพาะเลี้ยงเพื่อให้กุ้งขาวฟักได้ดีที่สุด ปัญหาเหล่านี้ควรได้รับการแก้ไข เกี่ยวกับแนวทางที่สามารถควบคุมผลผลิตลูกกุ้งขาวที่มีคุณภาพดีให้มีความสม่ำเสมอได้อย่างไร ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะมีการศึกษาวิธีการที่จะควบคุมผลผลิตลูกกุ้งให้คงที่เพื่อนำมาใช้ในภายหลัง

วิธีการหนึ่งที่จะช่วยสงวนรักษาพันธุ์กุ้งขาวไม่ให้เกิดการขาดแคลนสามารถทำด้วยวิธีการแช่แข็งไข่กุ้งขาว (cryopreservation) ซึ่งอาจเป็นอีกวิธีหนึ่งที่อาจลดการสูญเสียลูกพันธุ์กุ้งขาวแทนที่การปล่อยทิ้งโดยเปล่าประโยชน์ ทั้งยังสามารถรักษาเซลล์สืบพันธุ์กุ้งขาวที่มีคุณภาพสามารถนำไปเพาะฟักขยายพันธุ์เมื่อเกิดภาวะขาดแคลนพันธ์กุ้งขาว หรือสามารถนำไปปรับปรุงพันธุ์ได้ในภายหลัง ซึ่งวิธีการแช่แข็งไข่กุ้งขาวนั้นในขั้นตอนหนึ่งจำเป็นต้องใช้สารไครโอโพรเทคแทนท์ (cryoprotectant) ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้น้ำภายในเซลล์แข็งตัวกลายเป็นเกล็ดน้ำแข็ง (ice crystal) ขณะแช่แข็ง ซึ่งการศึกษาผลของการใช้สารไครโอโพรเทคแทนท์ต่อไข่กุ้งขาวยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด อย่างไรก็ตาม สารไครโอโพรเทคแทนท์ที่ใช้ในกระบวนการแช่แข็งไข่กุ้งขาวนั้น มีทั้งสารที่ออกฤทธิ์ภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่ออัตราการฟักแตกต่างกัน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้สารไครโอโพรเทคแทนท์ที่ใช้ในการแช่แข็งไข่กุ้งขาว โดยเริ่มการศึกษาวิธีการ ชนิดของสาร และความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษที่น้อยต่อไข่กุ้งขาว ซึ่งข้อมูลความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์เหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้แช่แข็งไข่กุ้งขาวได้ต่อไป ดังเช่นงานวิจัยของ Gwo and Lin (1998) ได้ทำการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับวิธีการแช่แข็งในไข่กุ้ง ตัวอ่อนระยะนอเพียส (nauplii) และตัวอ่อนระยะซูเอีย (zoca) ในสารไครโอโพรเทคแทนท์แต่ละชนิด พบว่าระยะการพัฒนา ชนิด ความเข้มข้นของสารไครโอโพรเทคแทนท์ และอัตราการลดอุณหภูมิก่อนนำไปแช่แข็งมีผลโดยตรงต่ออัตราการรอดชีวิตของกุ้งขาวที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาก่อนที่จะนำไปทำการแช่แข็งในถังไนโตรเจนเหลว

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิต่ออัตราการฟักของไข่กุ้งขาวในแต่ละระยะการพัฒนาของไข่กุ้ง ระยะแรกหรือ early-stage (ระยะคลีเวจ), ระยะกลางหรือ mid-stagc (ระยะบลาสตูลา) และระยะสุดท้ายหรือ late-stage (ระยะแกสตรูลา) ซึ่งผลการศึกษาที่ได้จะสามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานของอุณหภูมิเริ่มต้นสำหรับวิธีการลดอุณหภูมิด้วยเครื่องลดอุณหภูมิ (Controlled - rate freezer) ก่อนนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส

2. เพื่อศึกษาผลของชนิด และความเข้มข้นในสารไครโอโพรเทคแทนท์ ต่ออัตราการฟักไข่กุ้งขาวระยะแรกหรือ early-stage (ระยะคลีเวจ), ระยะกลางหรือ mid-stage (ระยะบลาสตูลา) และระยะสุดท้ายหรือ late-stage (หรือระยะ แกสตรูลา) ที่ใช้ในกระบวนการแช่แข็ง ได้แก่ Dimethyl sulfoxide (DMSO), methanol, propylene glycol (1,2-propanediol), acetamide, formamide, sucrose, glycerol, ethanol และ ethylene glycol

สมมุติฐานของการวิจัย

1. อุณหภูมิน้ำมีผลต่ออัตราการฟักของไข่กุ้งขาวที่แตกต่างกัน

2. ชนิด ความเข้มข้น และระยะเวลาที่ใส่สารไครโอโพรเทคแทนท์มีผลต่ออัตราการฟักของระยะไข่กุ้งขาวแตกต่างกัน

3. การพัฒนาของไข่กุ้งในแต่ละระยะ (ระยะแรกหรือระยะคลีเวจ, ระยะกลางหรือระยะบลาสตรูลา และระยะสุดท้ายหรือระยะแกรสตรูลา) มีผลต่อการตอบสนองต่อสารไครโอโพรเทคแทนท์แตกต่างกัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบข้อมูลพื้นฐานของอุณหภูมิเริ่มต้นสำหรับวิธีการลดอุณหภูมิด้วยเครื่องลดอุณหภูมิ (Controlled Rate Freezer) ก่อนนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส

2. ทราบข้อมูลพื้นฐานของสารไครโอโพรเทคแทนท์ จำนวน 9 ชนิด ที่ใช้ในกระบวนการแช่แข็ง ได้แก่ Dimethyl sulfoxide (DMSO), methanol, propylene glycol (1,2-propanediol), acetamide, formamide , sucrose, glycerol, ethanol และ ethylene glycol ในแต่ละความเข้มข้น และแต่ละเวลา ที่มีความเป็นพิษที่ส่งผลต่อการฟักของไข่กุ้งขาว

3. สามารถนำข้อมูลความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในวิธีการแช่แข็งไข่กุ้งขาวซึ่งจะประโยชน์ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยง ปรับปรุงพันธุ์ และกระบวนการอุตสาหกรรมอื่น ๆ ในอนาคตได้

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิที่มีผลต่ออัตราการฟักของตัวอ่อนกุ้งขาว

2. ศึกษาไข่กุ้งขาวในช่วง 3 ระยะ คือ ระยะแรก (early - stage) หรือระยะคลีเวจ (2-3 ชั่วโมงหลังวางไข่), ระยะกลาง (mid-stage) หรือระยะบลาสตูลา (6 - 7 ชั่วโมงหลังวางไข่) และระยะสุดท้าย (late-stage) หรือระยะแกสตรูลา (10-11 ชั่วโมงหลังวางไข่) (Primavera, 1981)

3. ศึกษาความเป็นพิษของสารไครโอโพรเทคแทนท์ จำนวน 9 ชนิด คือ Dimethyl sulfoxide (DMSO), methanol, propylene glycol (1,2-propanediol), acetamide, formamide , sucrose, glycerol, ethanol และ ethylene glycol ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 5%, 10%, 15% และ 20% ในระยะเวลาสมดุลที่ 10 และ 20 นาที