นิทรรศการผลงานวิจัย
ของคณาจารย์

การพัฒนาชุดตรวจสอบไวรัสหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำ*

ผศ.ดร.ชัยณรงค์ วงศ์ธีรทรัพย์
ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์

ภูมิหลัง

มาถึงปัจจุบันนี้ สินค้าทางการเกษตรที่นำหน้าแซงขึ้นมานั่งแท่นผลผลิตที่มียอดมูลค่าการส่งออกสูงสุดของประเทศก็คือ **"กุ้งกุลาดำ"** และพระเอกคนใหม่ของเราก็ยังติดหนึ่งในอันดับสินค้าส่งออกของไทยอีกด้วย ทั้งนี้อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำนับว่ามีศักยภาพมากกว่าอุตสาหกรรมทางเกษตรอื่น ๆ ทั้งหมด เห็นได้จากในช่วงสามทศวรรษที่ผ่านมาอัตราการเจริญเติบโตของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยได้มีการขยายตัวมาโดยตลอดจากเดิมใน พ.ศ. 2515 จำนวนฟาร์มเพาะเลี้ยงในประเทศไทยมีเพียง 1,154 ฟาร์ม ครอบคลุมพื้นที่เพาะเลี้ยง 56,602 ไร่ มีจำนวนผลผลิตที่ส่งออก 991 ตัน คิดเป็นมูลค่า 20.5 ล้านบาทพอถึงในปี พ.ศ. 2524 จำนวนฟาร์มทั้งหมดทั่วประเทศเพิ่มขึ้นเป็น 25,000 ฟาร์ม การส่งออกกุ้งของประเทศนับเป็นอันดับหนึ่งของโลก คิดเป็นมูลค่ากว่า 50,000 ล้านบาท จากผลผลิต 220,000 ตัน และก่อให้เกิดการจ้างแรงงานมากถึง 150,000 คน ในปี 2543 นี้ มีรายงานว่าจะสามารถส่งออกกุ้งกุลาดำได้ถึง 100,000 ล้านบาท

แต่ใช่ว่าอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะเป็นไปด้วยความราบรื่น ในช่วงปี พ.ศ. 2536 – 2537 ได้เกิดเหตุการณ์ที่ส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำซึ่งกำลังดำเนินไปได้อย่างงดงามในประเทศไทย นั่นคือ การเกิดโรคระบาด ซึ่งทำให้กุ้งที่เลี้ยงไว้ตายลง โรคระบาดที่ก่อให้เกิดความเสียหายมากตัวหนึ่งคือ โรคไวรัสหัวเหลือง

สำหรับกุ้งที่ติดเชื้อไวรัสหัวเหลืองนั้นจะสังเกตได้ว่าหัวของกุ้งจะมีสีเหลืองอ่อนแตกต่างจากกุ้งปรกติอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งบางครั้งเหงือกจะกลายเป็นสีเหลืองด้วย กุ้งจะกินอาหารน้อยลงจนกระทั่งตายภายในเวลาเพียง 2 – 3 วัน ฟาร์มที่ประสบกับโรคระบาดนี้จะเห็นได้ในวันแรกว่า กุ้งจะว่ายอยู่ที่ผิวน้ำและมีตายให้เห็นบ้างประปราย แต่วันต่อมาจำนวนกุ้งที่ตายจะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด จนกระทั่งตายจนหมดบ่อได้ในวันต่อมา

หมายเหตุ : รางวัลการเสนอผลงานการวิจัยดีเด่นจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ปี 2543*

การพัฒนาชุดตรวจสอบไวรัสหัวเหลือง

คณะผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการพัฒนาชุดตรวจสอบไวรัสหัวเหลืองโดยวิธี RT – PCR (Reverse Transcription – PCR) ซึ่งใช้กรรมวิธีโคลนสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส (RNA) จาก cDNA ของเชื้อไวรัสซึ่งได้พัฒนาให้เป็นวิธีที่มีความไว และความจำเพาะสูง สามารถนำไปประยุกต์เพื่อตรวจสอบภาคสนามได้

เดิมวิธีการตรวจหาเชื้อไวรัสนั้นคือการใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดูว่าตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบนั้นมีเชื้อหรือไม่ แต่วิธีนี้มีข้อเสียหลายประการ ทั้งการที่ตัวอย่างจำเป็นต้องมีเชื้อไวรัสอยู่พอสมควรจึงจะตรวจพบ และเป็นวิธีที่ใช้เวลามากในการส่องดูตัวอย่างทีละตัวอย่าง

คณะวิจัยจึงได้ทดลองใช้วิธีใหม่ที่เรียกว่า RT – PCR ซึ่งเป็นวิธีทางพันธุวิศวกรรม โดยใช้หลักการชีวเคมี RT - PCR เป็นเทคนิคใหม่ในการเพิ่มปริมาณ สารพันธุกรรม ให้เป็นล้านล้านเท่าในเวลาเพียง 2 – 3 ชั่วโมง วิธีการนี้เป็นการสังเคราะห์แบบวงจรในหลอดทดลอง ซึ่งมีข้อดีตรงที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบหาเชื้อไวรัสตั้งแต่ที่มีปริมาณน้อย ๆ ในขณะที่กุ้งยังไม่แสดงอาการของโรค นอกจากนี้การตรวจด้วยวิธี RT – PCR ยังให้ผลที่ถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว คือใช้เวลาเพียงหนึ่งวันเท่านั้นและสามารถทดสอบได้คราวละหลาย ๆ ตัวอย่าง

ประโยชน์และการประยุกต์ใช้

เทคโนโลยีที่ได้พัฒนาขึ้นเป็นประโยชน์อย่างมากต่อเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ โดยได้นำเทคโนโลยีนี้ไปใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัสหัวเหลืองในพื้นที่ต่าง ๆ และในการติดตามการเพาะเลี้ยงกุ้งของกลุ่มเกษตรกรต่าง ๆ อีกทั้งยังได้ประยุกต์ใช้เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสหัวเหลืองในพ่อ แม่ พันธุ์กุ้ง และตรวจหาสิ่งมีชีวิตที่เป็นพาหะของเชื้อ เทคโนโลยีที่พัฒนาขึ้นนี้จึงเป็นประโยชน์อย่างมากในการลดความเสี่ยงจากการติดเชื้อไวรัสหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำ

เอกสารอ้างอิง

1. Cowley JA., Dimmock CM., Wongteerasupaya, C., Boonsaeng V., Panyim S., Flegel TW., and Walker PJ. **Yellow head virus from Thailand and gill-associated virus from Australia are closely related but distinct prawn viruses.** *Dis Aquat Org* 39,1999 ; 153-157

2. Wongteerasupaya, C., Boonsaeng, V., Panyim, S. Tassanakajon, A., Bonsirm Withyachumnarnkul, B., and T.W. Flegel. **Delection of yellow – head virus (YHV) of *Penaeus monodon* by RT – PCR amplification**. *Dis Aquat Org* 31, 1997 ; 181 – 186

3. Wongteerasupaya, **C.,** Wongwisansri, S., Boonsaeng, V., Panyim, S., Pratanpipat, P., Nash, G. L., Wihyachumnarnkul, B., and Flegel, T.W. **DNA fragment *Penaeus monodon* baculovirus PmNOBII gives positive *in situ* hybridization with viral infections in 6 penaeid shrimp species.** ***Aquaculture*** 143, 1996 ; 23 – 32

4. Wongteerasupaya, C., Sriurairatana, S., Vickers, J.E., Boonsaeng, V., Akarajarmorn, A., Panyim, S., Tassanakajon, A., Withyachumnarnkul, B., and Flegel. T.W. **Yellow – head virus of *Penaeus monodon* is and RNA virus.** *Dis Aquat Org* 22, 1995; 45 –50

5. Wongteerasupaya, C., Vicker, J.E. Sriurairatana, S., Akarajarmorn, A., Boonsaeng, V., Panyim,S., and Flegel, T.W.**A. nonocclu5ded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal orgin and causes high motality in the black tiger prawn, *Penaeus monodon.*** *Dis Aquat Org* 21,1995 ; 69 -77