

กุ้งกุลาดำ

ประมวลองค์ความรู้
เพื่อการกระตุ้น
ความสมบูรณ์เพศในโรงเรือน



ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รชนิมุข ศิริญสัจจาเลิศ
คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

กึ่งกุลาดำ

ประมวลองค์ความรู้
เพื่อการกระตุ้นความสมบูรณ์เพศในโรงเรือน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รชนิมุข ศิริญสัจจาเลิศ

ชื่อเรื่อง : กุ้งกุลาดำ ประมวลองค์ความรู้เพื่อการกระตุ้น
 ความสมบูรณ์เพศในโรงเรียน

ผู้เขียน : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ

จัดทำโดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ
 คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

พิมพ์ครั้งที่ 1 มิถุนายน พ.ศ.2564

จำนวน 500 เล่ม

ออกแบบและพิมพ์ บริษัท เกียรติคุณครีเอชั่น จำกัด
 58 ถ.บ้านบึง-บ้านค่าย ต.บ้านบึง อ.บ้านบึง จ.ชลบุรี

ข้อมูลทางบรรณานุกรมของหอสมุดแห่งชาติ

National Library of Thailand Cataloging in Publication Data

รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ.

 กุ้งกุลาดำ ประมวลองค์ความรู้เพื่อการกระตุ้นความสมบูรณ์
 เพศในโรงเรียน.- ชลบุรี :
 เกียรติคุณครีเอชั่น, 2564.
 203 หน้า.

1. กุ้งกุลาดำ -. การเลี้ยง. . ชื่อเรื่อง.

639.543

ISBN 978-616-582-724-9

คำนำ

กุ้งฟิเนียส (Penaeid shrimp) เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ทางทะเลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากที่สุด เนื่องจากกุ้งเป็นสัตว์น้ำที่มีรสชาติเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว มีมูลค่าต่อหน่วยสูงและเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศมากขึ้นเรื่อย ๆ จึงได้รับความสำคัญอย่างยิ่งทั้งในประเทศและทั่วโลก จากความต้องการกุ้งในตลาดโลกที่ไม่มีข้อจำกัดทางด้านศาสนา ส่งผลให้มีการใช้ประโยชน์จากประชากรกุ้งในธรรมชาติ ในขณะที่การทำประมงกุ้งจากทรัพยากรธรรมชาติกำลังได้ผลผลิตลดลงเนื่องจากการใช้ประโยชน์มากเกินไป ในบริบทนี้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้กลายเป็นทางเลือกเดียวที่มีประสิทธิภาพในการสนับสนุนและขยายอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งทั่วโลก ซึ่งเป็นธุรกิจที่ประเทศส่วนใหญ่ให้ความสำคัญอย่างมากเนื่องจากมีผลกำไรสูง

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เป็นสัตว์น้ำเฉพาะถิ่นที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยกำลังประสบปัญหาด้านการผลิตลูกพันธุ์กุ้งที่มีคุณภาพ สาเหตุสำคัญประการหนึ่ง คือ การไม่เจริญพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในโรงเพาะเลี้ยง จึงไม่สามารถผลิตลูกพันธุ์กุ้งที่มีคุณภาพจากพ่อแม่พันธุ์ที่มาจากโรงเพาะเลี้ยงได้ ที่ผ่านมาเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งจึงหันมาเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) แทนการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ แต่ราคาของกุ้งขาวแวนนาไมในท้องตลาดค่อนข้างต่ำ มีการแข่งขันสูงกับประเทศอื่นที่มีศักยภาพในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม เช่น เวียดนาม สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนจีน เป็นต้น และยังต้องนำเข้าพ่อแม่พันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกสายพันธุ์แล้วจากต่างประเทศ เนื่องจากกุ้งขาวแวนนาไมไม่ใช่กุ้งประจำถิ่นของประเทศไทย ในขณะที่ตลาดโลกยังมีความต้องการบริโภคกุ้งกุลาดำขนาดใหญ่ซึ่งมีราคาสูง ดังนั้นอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำจึงยังเป็นที่สนใจ และดึงดูดใจให้เกษตรกรพยายามพัฒนาผลผลิตและการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ปัจจุบันการใช้เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อศึกษาชีววิทยาและกลไกระดับโมเลกุลของการพัฒนารังไข่ในกัญญาดำเพศเมีย จึงเป็นเป้าหมายสำคัญในการช่วยทำนายและเร่งความสมบูรณ์เพศของกัญญาดำในฟาร์มได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการผลิตผลงานทางวิชาการ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 คณะเทคโนโลยีทางทะเล ที่สนับสนุนงบประมาณการผลิตหนังสือบางส่วนให้แก่ผู้เขียน เนื้อหาสำคัญในหนังสือเล่มนี้ได้กล่าวถึงความสำคัญทางด้านสรีรวิทยาชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์และวิธีการกระตุ้นความสมบูรณ์เพศของกัญญาดำในโรงเรือน โดยผู้เขียนได้รวบรวมเนื้อหาจากงานวิจัยของตนเองและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และสืบค้นเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงกัญทะเลของประเทศไทย นิสิตนักศึกษา และนักวิชาการที่เกี่ยวข้องในด้านนี้

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ
เดือนธันวาคม พ.ศ. 2563

คำนิยาม

[illegible]

၁။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်
 ၂။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်
 ၃။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်
 ၄။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်
 ၅။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်
 ၆။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်
 ၇။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်
 ၈။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်
 ၉။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်
 ၁၀။ နေပြည်တော်ရှိ နေပြည်တော်

John Lewis
Cousin of the author
and author of the book.

คำนิยม

การศึกษาชีววิทยาด้านระบบสืบพันธุ์ของกิ้งกูดดำ กระบวนการพัฒนารังไข่ของแม่พันธุ์กิ้งกูดดำ การเหนี่ยวนำให้แม่พันธุ์กิ้งกูดดำสมบูรณ์เพศด้วยกระบวนการและเทคโนโลยีต่าง ๆ รวมทั้งการปรับปรุงพันธุ์กรรมโดยอณูพันธุศาสตร์ ต้องใช้เวลาดำเนินงานและลงมือปฏิบัติด้วยความวิริยะ อุตสาหะ และการสั่งสมประสบการณ์จากการวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่องของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ ทำให้สามารถผลิตเป็นผลงานคุณภาพ “กิ้งกูดดำ ประมวลองค์ความรู้ เพื่อการกระตุ้นความสมบูรณ์เพศในโรงเรือน” เล่มนี้

ขอชื่นชมผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ ที่มุ่งมั่นใช้ความรู้ความสามารถจากการทำวิจัย การนำผลงานวิจัยมาบูรณาการสำหรับการเรียนการสอน และการถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่เกษตรกร และผู้ประกอบการด้านการเพาะเลี้ยงกิ้งกูดดำ ที่สามารถทำให้เกิดประโยชน์เชิงประจักษ์ และขอเป็นกำลังใจในการทำวิจัยเพื่อผลิตผลงานที่มีคุณภาพอย่างต่อเนื่อง

จากการสร้างผลงานและคุณประโยชน์ที่ผ่านมา ขอให้ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รชนิมุข หิรัญสัจจาเลิศ ประสบความสำเร็จในการผลิตผลงานวิชาการ เพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกิ้งกูดดำ และดำรงตำแหน่งทางวิชาการในระดับสูงขึ้นต่อไป

ดร.บัลลังก์ เนื่องแสง

พฤษภาคม ๒๕๖๔

สารบัญ

บทกึ่	หน้า
บทที่ 1 การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (<i>Penaeus monodon</i>) ในประเทศไทย	1
1.1 การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา	3
1.2 ปัญหาและอุปสรรคของการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำจากการวิเคราะห์ในช่วงปี พ.ศ. 2562	8
1.3 แนวทางแก้ไขปัญหาลอุปสรรค และข้อเสนอแนะ	9
1.4 สรุป	10
บทที่ 2 ลักษณะทั่วไปและวงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ	13
2.1 อนุกรมวิธานของกุ้งกุลาดำ	14
2.2 ลักษณะทั่วไปของกุ้งกุลาดำ	14
2.3 การแพร่กระจาย	16
2.4 แหล่งที่อยู่อาศัย และวงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ	19
2.5 นิสัยการกินอาหารของกุ้งกุลาดำ	22
2.6 สรุป	23
บทที่ 3 ชีววิทยาด้านระบบสืบพันธุ์ของกุ้งกุลาดำ	25
3.1 อวัยวะสืบพันธุ์ของกุ้งกุลาดำเพศผู้	27
3.2 อวัยวะสืบพันธุ์ของกุ้งกุลาดำเพศเมีย	31
3.3 สรุป	37
บทที่ 4 กระบวนการพัฒนารังไข่ของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ	39
4.1 ฟอลลิเคิลเซลล์ (follicle cells)	40
4.2 กระบวนการไวเทลโลเจเนซิส (vitellogenesis) ของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ	42
4.3 การควบคุมการสืบพันธุ์ (regulation of reproduction)	52
4.4 สรุป	55

บทที่	หน้า
บทที่ 5 การกระตุ้นหรือเหนี่ยวนำให้กึ่งกลาดำเพศเมียสมบูรณ์เพศด้วยวิธีการตัดก้านตา	61
5.1 วิธีการกระตุ้นหรือเหนี่ยวนำให้กึ่งทะเลถึงวัยเจริญพันธุ์ด้วยวิธีการตัดก้านตา	61
5.2 ผลของการตัดก้านตาต่อฮอร์โมนและปัจจัยต่าง ๆ	65
5.3 ผลของการตัดก้านตาต่อการพัฒนาของเซลล์ไข่ในกึ่งกลาดำ	71
5.4 สรุป	73
บทที่ 6 การกระตุ้นหรือเหนี่ยวนำให้กึ่งกลาดำเพศเมียสมบูรณ์เพศด้วยการควบคุมการหลั่งฮอร์โมน	79
6.1 ฮอร์โมนสเตียรอยด์ (Steroidal Hormones)	79
6.2 วิธีการกระตุ้นหรือเหนี่ยวนำให้กึ่งพีเนียสถึงวัยเจริญพันธุ์ด้วยการใช้ฮอร์โมนเพศ	88
6.3 การใช้อาหารผสมฮอร์โมนสำหรับพ่อแม่พันธุ์กึ่งเพื่อกระตุ้นการเจริญพันธุ์	90
6.4 สารสื่อประสาท	96
6.5 สรุป	97
บทที่ 7 การกระตุ้นหรือเหนี่ยวนำให้กึ่งกลาดำเพศเมียสมบูรณ์เพศด้วยวิธีการใช้วิธีการแทรกแซงการแสดงออกของยีน	105
7.1 วิธีการกระตุ้นหรือเหนี่ยวนำให้กึ่งทะเลถึงวัยเจริญพันธุ์ด้วยการใช้วิธีการแทรกแซงการแสดงออกของยีน (Molecular Signal Interventional Approach, RNA interference)	106
7.2 การกระตุ้นกระบวนการไวเทิลโลเจเนซิสของกึ่งโดยการยับยั้งการสร้างฮอร์โมนบริเวณก้านตา	110
7.3 การยับยั้งการแพร่ของเชื้อไวรัสจากแม่พันธุ์สู่ลูกพันธุ์ด้วยการใช้วิธีการแทรกแซงการแสดงออกของยีน	114
7.4 สรุป	117

บทที่	หน้า
บทที่ 8 การศึกษาลักษณะและโครงสร้างของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ของกิ้งกูดำ	121
8.1 การกำหนดเพศในกิ้งกูดำ	122
8.2 ความแตกต่างระหว่างเพศของกิ้งกูดำ	124
8.3 ยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ในกิ้งกูดำ	125
8.4 สรุป	137
บทที่ 9 การจับคู่ผสมพันธุ์และการวางไข่ของกิ้งกูดำ	143
9.1 การจับคู่เพื่อผสมพันธุ์ของกิ้งกูดำ	144
9.2 การวางไข่และการพัฒนาของไข่เป็นตัวอ่อน	145
9.3 ตัวอ่อนระยะต่างๆ ของกิ้งกูดำ	150
9.4 สรุป	154
บทที่ 10 อนุพันธุศาสตร์เพื่อการปรับปรุงพันธุกรรมของกิ้งกูดำ	157
10.1 ข้อมูลพันธุกรรมเชิงปริมาณ (Quantitative Genetic Information)	157
10.2 ความแตกต่างระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอและเครื่องหมายระดับการแสดงออกของยีน	162
10.3 เครื่องหมายพันธุกรรมแบบข่มสมบูรณ์ (Dominant Marker) และเครื่องหมายพันธุกรรมแบบข่มร่วม (Co-dominant Marker)	163
10.4 แผนที่การเชื่อมโยงทางพันธุกรรม (Genetic linkage maps)	166
10.5 สรุป	170
บทส่งท้าย	175
ดัชนีคำค้น	179
ประวัติผู้เขียน	

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1-1	การประกาศนโยบาย 'FISH TO 2030' ของธนาคารโลกร่วมกับ FAO 2
ภาพที่ 1-2	กราฟแสดงปริมาณผลผลิตกุ้งทะเลจากการเพาะเลี้ยงแบบพัฒนา แยกตามชนิดกุ้ง (กุ้งกุลาดำและกุ้งขาวแวนนาไม) และภูมิภาค ระหว่างปี พ.ศ. 2558-2562 6
ภาพที่ 1-3	ปริมาณผลผลิตกุ้งกุลาดำจากการเพาะเลี้ยงแบบพัฒนา ปริมาณ และมูลค่าการส่งออก ปี พ.ศ. 2557-2562 7
ภาพที่ 1-4	กุ้งกุลาดำอายุ 4-5 เดือน ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดระนอง (A) และที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดจันทบุรี (B) 7
ภาพที่ 1-5	ภาพถ่ายแสดงลักษณะบ่อเลี้ยงกุ้งทะเลขนาดประมาณ 1 ไร่ ในตำบลสนามไทย อ.นายายอาม จ.จันทบุรี (A และ B) และ บ่อเลี้ยงกุ้งทะเล ขนาดประมาณ 5 ไร่ ใน อ.กาญจนดิษฐ์ จ.สุราษฎร์ธานี (C และ D) 8
ภาพที่ 2-1	แสดงส่วนต่างๆ พร้อมคำเรียกทางอนุกรมวิธานของกุ้งฟีนีส (A) และลักษณะทางกายภาพภายนอกของกุ้งกุลาดำ อายุ ประมาณ 5 เดือน (B) 17
ภาพที่ 2-2	การแพร่กระจายของประชากรกุ้งกุลาดำตามธรรมชาติทั่วโลก 18
ภาพที่ 2-3	แผนภูมิต้นไม้ที่แสดงถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ระหว่างประชากรของกุ้งกุลาดำแต่ละพื้นที่ ที่วิเคราะห์โดย ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ บนตำแหน่ง PMO920, PMT1700, ZFP และ DSI 18
ภาพที่ 2-4	วงจรชีวิตของกุ้งกุลาดำ 21
ภาพที่ 2-5	วงจรชีวิต (วงนอก) ลักษณะที่อยู่อาศัย (วงกลาง) และรูปแบบ การใช้ชีวิต (วงใน) ของกุ้งกุลาดำ 22
ภาพที่ 2-6	ไดอะตอม <i>Chaetoceros</i> sp. ที่เป็นอาหารสำคัญของลูกกุ้งใน บ่ออนุบาลที่ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (A) และ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (B) 23



สารบัญภาพ

	หน้า	
ภาพที่ 3-1	กึ่งกลาดำอายุ 4 เดือนจากการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในบ่อดิน และการเก็บเกี่ยวผลผลิตกึ่งกลาดำเพื่อนำไปผลิตเป็นพ่อแม่พันธุ์กึ่งกลาดำในโรงเรือน	26
ภาพที่ 3-2	การพัฒนาของพีแทสมาของกึ่งกลาดำเพศผู้	28
ภาพที่ 3-3	อวัยวะสืบพันธุ์ภายในของกึ่งกลาดำเพศผู้	28
ภาพที่ 3-4	ภาพแสดงการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ของกึ่งกลาดำเพศผู้จากระยะ spermatid I (StI) ไปจนถึงระยะ spermatid III (StIII)	30
ภาพที่ 3-5	การพัฒนาของทีไลค์ของกึ่งกลาดำเพศเมีย	32
ภาพที่ 3-6	ภาพวาดเส้นที่ลงสีจริงของรังไข่ (ซ้าย) และการรักษาพยาธิสภาพของรังไข่ (ขวา) ระยะที่ I (A) II (B) III (C) และ IV (D) ในกึ่งกลาดำเพศเมียขนาดแม่พันธุ์	32
ภาพที่ 3-7	สีของรังไข่ในระยะที่ I (A) (ดัดแปลงจาก Hall et al., 2003) และการตรวจสอบรังไข่ระยะที่ I ของแม่พันธุ์กึ่งกลาดำในโรงเพาะฟักโดยใช้ไฟฉาย (B)	33
ภาพที่ 3-8	สีของรังไข่ในระยะที่ II (A) (ดัดแปลงจาก Hall et al., 2003) และการตรวจสอบรังไข่ระยะที่ II ของแม่พันธุ์กึ่งกลาดำในโรงเพาะฟักโดยใช้ไฟฉาย (B)	34
ภาพที่ 3-9	สีของรังไข่ในระยะที่ III (A) (ดัดแปลงจาก Hall et al., 2003) และการตรวจสอบรังไข่ระยะที่ III ของแม่พันธุ์กึ่งกลาดำในโรงเพาะฟักโดยใช้ไฟฉาย (B)	35
ภาพที่ 3-10	สีของรังไข่ในระยะที่ IV (A) (ดัดแปลงจาก Hall et al., 2003) และการตรวจสอบรังไข่ระยะที่ IV ของแม่พันธุ์กึ่งกลาดำในโรงเพาะฟักโดยใช้ไฟฉาย (B)	35
ภาพที่ 4-1	โครงสร้างของรังไข่ เซลล์ไข่ และถุงไข่หรือฟอลลิเคิลเซลล์ที่ห่อหุ้มเซลล์ไข่ระยะต่างๆ ในกึ่งกลาดำ	42

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 4-2	ภาพกำลังขยาย 400 เท่า ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง แสดงรังไข่ระยะที่ยังไม่มีการพัฒนาของกึ่งกุลาดำ	46
ภาพที่ 4-3	ภาพกำลังขยาย 100 (A) และ 400 เท่า (B) ภายใต้ กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแสดงรังไข่ระยะฟัรวเทิลโลเจนิคของ กึ่งกุลาดำ	47
ภาพที่ 4-4	ภาพกำลังขยาย 100 (A) และ 400 เท่า (B) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงแสดงรังไข่ระยะไวเทิลโลเจนิคตอนต้นของกึ่งกุลาดำ	47
ภาพที่ 4-5	ภาพกำลังขยาย 100 (A) และ 400 เท่า (B) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงแสดงรังไข่ระยะไวเทิลโลเจนิคตอนปลายของกึ่งกุลาดำ	48
ภาพที่ 4-6	ภาพกำลังขยาย 100 (A) และ 400 เท่า (B) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงแสดงรังไข่ระยะคอร์ติคอลรอดตอนต้นของกึ่งกุลาดำ	48
ภาพที่ 4-7	ภาพกำลังขยาย 100 (A) และ 400 เท่า (B) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงแสดงรังไข่ก่อนระยะคอร์ติคอลรอดตอนปลายของ กึ่งกุลาดำ	49
ภาพที่ 4-8	ภาพกำลังขยาย 100 (A) และ 400 เท่า (B) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงแสดงรังไข่ระยะสุดท้าย ระยะคอร์ติคอลรอดตอน ปลายของกึ่งกุลาดำ	49
ภาพที่ 4-9	การศึกษาการพัฒนาของรังไข่ระยะต่าง ๆ ของกึ่งกุลาดำด้วย กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscopy) โดยย้อมสีด้วย อีมาท็อกซิลินและอีโอซิน	50
ภาพที่ 4-10	การเปรียบเทียบแผนผังของวิถีที่ควบคุมกระบวนการ ไวเทิลโลเจเนซิสในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของคริสต์เตียนและ สัตว์น้ำมีกระดูกสันหลัง	55
ภาพที่ 5-1	วิธีการตัดก้านตา หรือบีบก้านตากึ่งกุลาดำ	62
ภาพที่ 5-2	รูปแบบที่เสนอเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของรังไข่โดยการ ตัดก้านตาในกึ่งกุลาดำ	65
ภาพที่ 5-3	ภาพแสดงปัจจัยภายนอกและภายในที่ควบคุมการสืบพันธุ์ของ คริสต์เตียน	70

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 5-4	ภาพกำลังขยาย 400 เท่าภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง แสดงรังไข่ที่ย้อมสี Hymatoxylin และ Eosin 71
ภาพที่ 5-5	เปอร์เซ็นต์ (ค่าเฉลี่ย±SE) ของไข่ระยะพรีไวเทิลโลเจนิค (PO), ระยะสะสมไข่แดง (YO) และระยะคอร์ติคอลลอด (CO) และไข่ที่อยู่ในระยะเสื่อมสลายหรือฟ่อ (AO) 72
ภาพที่ 6-1	เส้นทางการผลิต ecdysone ในครัสเตเชียน ในระหว่างกระบวนการไวเทิลโลเจเนซิส 82
ภาพที่ 6-2	วิธีการสังเคราะห์เอสตราไดออลจากคอเลสเตอรอลของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังไฟล์มอาร์โทรพoda 84
ภาพที่ 6-3	โครงสร้างของฮอร์โมนสเตียรอยด์ Vertebrate-type Sex Steroids ในสัตว์มีกระดูกสันหลังที่พบในครัสเตเชียนด้วย 87
ภาพที่ 6-4	แผนภาพเสนอการมีส่วนร่วมในการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ต่างๆ ในระหว่างการพัฒนารังไข่ของแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำ โดยใช้การอนุมานจากโปรไฟล์ การแสดงออกของยีนแต่ละยีน 90
ภาพที่ 6-5	ค่าดัชนีเซลล์สืบพันธุ์ (GSI) ของแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำ วันที่ 7 (a), วันที่ 14 (b), วันที่ 28 (c) และวันที่ 35 (d) ของแต่ละชุดการทดลอง ตามลำดับ 92
ภาพที่ 6-6	ลักษณะทางเนื้อเยื่อของเซลล์ตับ/ตับอ่อนของแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำ ด้วยการย้อมสี Hymatoxylin และ Eosin 93
ภาพที่ 6-7	การพัฒนารังไข่ของแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำที่ระยะที่ I (A) และ II (B) ที่ได้จากการทดลอง 96
ภาพที่ 7-1	โครงสร้างของ siRNA และ shRNA 106
ภาพที่ 7-2	กลไกของ RNAi ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการแสดงออกของยีน 107
ภาพที่ 7-3	วันและจำนวนครั้งของการวางไข่ของแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำจากธรรมชาติ หลังจากการตัดก้านตา การฉีดด้วยสารละลาย Tris/NaCl และการฉีดด้วย GIH-dsRNA โดยระยะเวลาลอกคราบแสดงด้วยลูกศรสีเทา 111

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 7-4	แผนผังแสดงการทำงานของฮอริโมน VIH ในการควบคุม XO-SG complex (a) และการทำงานของฮอริโมน 17เบต้า-เอสตราไดโอดอล ในรังไข่ของกึ่งที่ได้รับการยับยั้ง U0126 (b)
ภาพที่ 7-5	การยับยั้งการถอดรหัสยีน GIH บริเวณก้านตาของกึ่งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียที่เสริมด้วยอาร์เอ็นเอสายคู่ของ GIH
ภาพที่ 7-6	แบบจำลองการทำงานของวิธี RNAi ที่ใช้ในการควบคุมการแสดงออกของยีนในกึ่งกุลาดำ
ภาพที่ 7-7	แผนผังของการป้องกันไวรัสในกึ่งฟิเนียสโดยใช้วิธี siRNA เพื่อต่อต้านการรุกรานของไวรัสที่มีสารพันธุกรรมแบบอาร์เอ็นเอ (RNA virus) (A) หรือไวรัสที่มีสารพันธุกรรมแบบดีเอ็นเอ (DNA virus) (B)
ภาพที่ 8-1	คาริโอไทป์ของกึ่งกุลาดำที่พบจำนวนโครโมโซม $2n = 88$ เซลล์มีขนาด 5 ไมโครเมตร
ภาพที่ 8-2	น้ำหนักตัวเฉลี่ยของกึ่งกุลาดำในวันที่ 150 ของการเลี้ยงระหว่างกึ่งกุลาดำดิพลอยด์ ($2n$) และทริพลอยด์ ($3n$)
ภาพที่ 8-3	ระบบสืบพันธุ์แบบปิดในกึ่งฟิเนียส
ภาพที่ 8-4	ขั้นตอนสำคัญ 3 ขั้นตอนของการหาลำดับเบสโดยวิธีแซงเกอร์ (Sanger sequencing)
ภาพที่ 8-5	การสร้างฐานข้อมูลจีโนมด้วยวิธี bridge amplification (A) และการหาลำดับเบส โดยอาศัยหลักการการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ ร่วมกับการใช้ reversible dye terminators (B)
ภาพที่ 8-6	การแสดงออกของยีน PmVtg1 ระหว่างการพัฒนารังไข่แต่ละระยะในแม่พันธุ์ กึ่งกุลาดำปกติ (intact) และกึ่งกุลาดำที่ถูกตัดก้านตา (unilateral eyestalk-ablated)
ภาพที่ 8-7	การแสดงออกของโปรตีน (A-F) และยีน (G-L) PmVtg1 ระหว่างการพัฒนา รังไข่แต่ละระยะในแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำโดยใช้เทคนิค Immunohistochemistry และ <i>in situ</i> hybridization ตามลำดับ

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 9-1	พฤติกรรมกรเข้าประกบและการผสมพันธุ์ของกิ้งกูดำ
ภาพที่ 9-2	ระบบอนุบาลลูกกิ้งในโรงเพาะฟัก
ภาพที่ 9-3	ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสดงให้เห็นถึงปฏิกิริยาของแท่งโปรตีนคอร์ติคอลลดบริเวณเปลือกไขกิ้งกูดำ
ภาพที่ 9-4	ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอตั้งแต่ไข่ได้รับการผสม (1-19) จนฟักออกมา
ภาพที่ 9-5	ตัวอ่อนระยะต่าง ๆ ของกิ้งกูดำ
ภาพที่ 9-6	ภาพวาดทั้ง 6 ชั้น ของลูกกิ้งกูดำวัยอ่อนระยะที่ 1 เมื่อลูกกิ้งหันด้านข้าง (A) และขณะหายใจท้อง (B)
ภาพที่ 9-7	ภาพวาดทั้ง 3 ชั้น ของลูกกิ้งกูดำวัยอ่อนระยะที่ 2
ภาพที่ 9-8	ภาพวาดทั้ง 3 ชั้น ของลูกกิ้งกูดำวัยอ่อนระยะที่ 3
ภาพที่ 9-9	ภาพวาดของลูกกิ้งกูดำระยะโพสต์ลามาที่ 1
ภาพที่ 10-1	ตัวอย่างการกระจายความเสี่ยง ที่มีความชุก 30% และอัตราพันธุกรรม 10% (ซ้าย) และอัตราพันธุกรรมเทียบกับความแม่นยำในการทำนาย (ขวา)
ภาพที่ 10-2	การเปรียบเทียบความแตกต่างด้านความสัมพันธ์กับลักษณะทางชีววิทยาและความยากง่ายของการตรวจสอบระหว่างเครื่องหมายพันธุกรรมระดับต่าง ๆ สรุปโดยผู้เขียน
ภาพที่ 10-3	เปรียบเทียบรูปแบบเครื่องหมายโมเลกุลแบบ Co-dominant Marker และ Dominant Marker
ภาพที่ 10-4	แนวคิดเกี่ยวกับจุดแข็งและจุดอ่อนของเทคนิคทางเครื่องหมายโมเลกุลที่แตกต่างกัน
ภาพที่ 10-5	แผนที่การเชื่อมโยงทางพันธุกรรมของกิ้งกูดำเพศผู้ (ซ้าย) และเพศเมีย (ขวา)

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1-1	ปริมาณผลผลิตกึ่งกุลาดำจากการเพาะเลี้ยงแบบพัฒนา ปริมาณ และมูลค่าการส่งออกกึ่งกุลาดำทั้งหมด (แช่เย็นจนแข็ง มีชีวิต สดแช่เย็นและสำหรับทำพันธุ์) ระหว่างปี พ.ศ. 2556-2562	5
ตารางที่ 1-2	ปริมาณผลผลิตกึ่งทะเลจากการเพาะเลี้ยงแบบพัฒนาแยกตาม ชนิดกึ่ง (กึ่งกุลาดำและกึ่งขาวแวนนาไม) และภูมิภาคระหว่างปี พ.ศ. 2558-2562	5
ตารางที่ 1-3	ปริมาณผลผลิตรวมของกึ่งทะเลจากการเพาะเลี้ยงแบบพัฒนา (กึ่งกุลาดำและกึ่งขาวแวนนาไม) แยกตามภูมิภาคระหว่างปี พ.ศ. 2558-2562	6
ตารางที่ 2-1	ระยะการพัฒนาแต่ละระยะ รูปแบบการใช้ชีวิต และถิ่นที่อยู่ อาศัยของกึ่งกุลาดำ	21
ตารางที่ 4-1	สรุปคำอธิบายทางพยาธิวิทยาของกระบวนการสร้างเซลล์ สืบพันธุ์เพศเมียในกึ่งกุลาดำ	51
ตารางที่ 4-2	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และดัชนีรังไข่ของเซลล์ไข่แต่ละระยะ ของกึ่งกุลาดำธรรมชาติ	52
ตารางที่ 4-3	ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (HUFA) (%) ของอาหารสดที่ใช้ เป็นอาหารสดสำหรับพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำ	53
ตารางที่ 5-1	เส้นผ่านศูนย์กลาง (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE) ของไข่ระยะฟิวเทิลโลเจนิค (PO), ระยะสะสมไข่แดง (YO) และระยะคอร์ติคอลลอด (CO) ใน แม่พันธุ์กึ่งกุลาดำจากธรรมชาติและในโรงเรือน (L1 และ L2)	72
ตารางที่ 6-1	สรุปการพบสเต็มยรอยดีในสัตว์มีกระดูกสันหลังที่สามารถกระตุ้น การพัฒนารังไข่ในกึ่งกุลาดำ	86

สารบัญตาราง

ตารางที่ 6-2	ตัวอย่างการคำนวณส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ใช้ทำอาหาร กระตุ้นความสมบูรณ์เพศของกุ้งกุลาดำในโรงเรือน	94
ตารางที่ 6-3	คุณภาพของการวางไข่ของกุ้งกุลาดำที่มีการตัดก้านตาหนึ่งข้าง และที่ฉีดด้วยสารซีโรโทนิน	97
ตารางที่ 7-1	สรุปส่วนประกอบสำคัญของวิธีการใช้วิธีการแทรกแซง การแสดงออกของยีน (RNAi)	108
ตารางที่ 7-2	โปรตีนสำคัญในกุ้งพีเนียสที่เกี่ยวข้องกับวิธีการแทรกแซง การแสดงออกของยีน	115
ตารางที่ 7-3	สรุปรายงานการศึกษา siRNA และยีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับ การต้านเชื้อไวรัสในกุ้งพีเนียส	116
ตารางที่ 8-1	การเปรียบเทียบผลลัพธ์ของเทคโนโลยีการวิเคราะห์ลำดับเบส ยุคที่สอง	128
ตารางที่ 8-2	ทรานสคริปต์ที่เกี่ยวข้องกับเพศหรือความแตกต่างระหว่างเพศที่ พบในห่อสมุดยีนของรังไข่กุ้งกุลาดำ	132
ตารางที่ 8-3	ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระตุ้นการพัฒนารังไข่หรือกระตุ้น การสมบูรณ์เพศ และแสดงออกจำเพาะในรังไข่ของกุ้งกุลาดำ	137
ตารางที่ 9-1	การดำรงชีวิตแต่ละช่วงวัยของกุ้งกุลาดำ	154
ตารางที่ 10-1	ภาพโดยรวมของค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะต่างๆ ในสัตว์บก	159
ตารางที่ 10-2	ค่าเฉลี่ยความสามารถในการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (ค่าช่วง) สำหรับการคัดเลือกลักษณะที่ต้องการในฟาร์มเพาะเลี้ยง กุ้งกุลาดำ	160
ตารางที่ 10-3	ข้อมูลสรุปเกี่ยวกับแผนที่พันธุกรรมของกุ้งกุลาดำในเพศเมีย (f) หรือเพศผู้ (m)	169

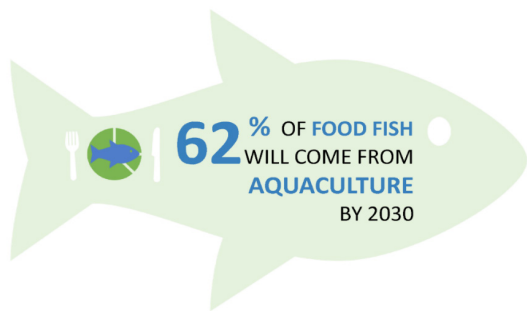




- บทที่ 1 -

การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ในประเทศไทย Aquaculture of the giant tiger shrimp *Penaeus monodon* in Thailand

องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations หรือ FAO) คาดการณ์ว่าประชากรโลกจะขยายตัวขึ้นอีก 36% ในขณะที่ผลผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการทำประมงจะเพิ่มขึ้นเพียง 30% ธนาคารโลก (The World Bank) ร่วมกับ FAO จึงได้ประกาศนโยบาย 'FISH TO 2030' ไว้ว่าภายในปี ค.ศ. 2030 ผลผลิตสัตว์น้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต้องมีสูงถึง 62% จากผลผลิตสัตว์น้ำที่ใช้บริโภคทั่วโลก จึงจะเพียงพอต่อความต้องการบริโภคโปรตีนของประชากรโลก (The World Bank, 2013) (ภาพที่ 1-1) ซึ่งแสดงให้เห็นความสำคัญของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในปัจจุบันและอนาคต ด้วยความต้องการอาหารที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มากขึ้น การใช้ทรัพยากรตามธรรมชาติอาจเพิ่มสูงขึ้นจนเป็นอุปสรรคต่อความยั่งยืนของทรัพยากร เช่น อัตราการเกิดที่ต่ำลงของสัตว์น้ำ อัตราการตายจากโรคที่เกิดจากสารเคมีหรือปริมาณออกซิเจนที่ต่ำลง การทำประมงที่ขาดคุณภาพ อัตราการเกิดทดแทนที่ลดลง โดยการใช้ความรู้ทางพันธุศาสตร์อาจสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและการพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้อย่างยั่งยืน การใช้สัตว์น้ำที่ได้รับการพัฒนาหรือปรับปรุงพันธุกรรมแล้ว มีความสำคัญอย่างมากที่จะทำให้บรรลุเป้าหมายดังกล่าว จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและปริมาณการผลิตสัตว์น้ำภายในพื้นที่จำกัดได้



ภาพที่ 1-1 การประกาศนโยบาย ‘FISH TO 2030’ ของธนาคารโลกร่วมกับ FAO
ที่มา: ดัดแปลงจาก Food and Agriculture Organization of the United Nations

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ถือว่า เป็นกิจกรรมที่ประสบความสำเร็จมากที่สุดในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของประเทศไทย อย่างไรก็ตาม ผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยเริ่มลดลงในปี ค.ศ. 2002 เนื่องจากการระบาดของโรคกุ้งภายในฟาร์ม การเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทยยังต้องอาศัยแม่พันธุ์จากธรรมชาติ เนื่องจากลูกกุ้งกุลาดำที่ได้จากการเพาะฟักในฟาร์ม มีคุณภาพไม่ดีเท่าลูกกุ้งที่ได้จากพ่อแม่พันธุ์ตามธรรมชาติ และพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในฟาร์มมีอัตราความสมบูรณ์เพศต่ำมาก ส่งผลให้ลูกกุ้งแคระแกร็น (น้ำหนัก 3-4 กรัม เมื่ออายุ 4 เดือน) และไม่ต้านทานต่อโรคกุ้ง ดังนั้น จึงมีความต้องการพ่อแม่พันธุ์จากธรรมชาติมาผลิตลูกกุ้งกุลาดำให้เพียงพอต่อความต้องการของกำลังผลิต ส่งผลให้มีการจับกุ้งกุลาดำจากธรรมชาติมาใช้อย่างสิ้นเปลือง

นอกจากนี้สาเหตุการตายของกุ้งในระหว่างการเลี้ยงส่วนใหญ่ มาจากการติดเชื้อโรคตัวแดงจุดขาว (White Spot Syndrome Virus, WSSV) ซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัส เนื่องจากการระบาดแบบรุนแรงและรวดเร็ว (epizootic) จนถึงปัจจุบันนี้ ยังไม่มีมาตรการในการรักษาอย่างมีประสิทธิภาพ จึงกลายเป็นข้อจำกัดที่สำคัญในการขยายตัวของการเพาะเลี้ยงกุ้งทั่วโลก ดังนั้นโรคที่มีอยู่และอุบัติใหม่ในระบบการผลิตกุ้ง จำเป็นต้องใช้แนวทางการจัดการสุขภาพที่ครอบคลุม การควบคุมโรคกุ้งจะต้องได้รับการพิจารณาตั้งแต่การนำเข้าพ่อแม่พันธุ์หรือโดยการพัฒนาแม่พันธุ์ปลอดโรค/ต้านทานโรค (Specific Pathogen Free/ Specific Pathogen Resistant) ตามแนวทางการจัดการที่ดี (Good Management Practices, GMP) และมาตรการรักษาความปลอดภัยทางชีวภาพ (bio-security) การควบคุมโรคและการจัดการด้านสุขภาพ

ด้วยการใช้ยาและสารเคมีหลายชนิด โดยเกษตรกรไม่คำนึงถึงปริมาณการใช้ อาจส่งผลต่อการส่งออกกุ้งไปต่างประเทศ การพัฒนายารักษาโรคด้วยการใช้โพรไบโอติก และวัคซีนที่มีประสิทธิภาพ จึงมีความจำเป็นเร่งด่วนในการพัฒนา นอกจากนี้ยังต้องมีการรณรงค์ให้ความรู้ในวงกว้างเพื่อให้ความรู้แก่เกษตรกรรายย่อยด้วย

ปัญหาสำคัญอีกประการหนึ่งที่ขัดขวางการเพิ่มประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงกุ้งเชิงพาณิชย์ คือ การควบคุมการสืบพันธุ์ของกุ้งฟิเนิสเพศเมียซึ่งมีความซับซ้อนสูง (Chang et al., 1992) สภาพแวดล้อมที่หลากหลายสามารถส่งผลกระทบต่อปัจจัยของการผลิตฮอร์โมนควบคุมการสืบพันธุ์ที่แตกต่างกัน ความเข้าใจในกระบวนการควบคุมการสืบพันธุ์ โดยการเพิ่มพูนความรู้ด้านระบบต่อมไร้ท่อ (endocrine system) ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมระบบสืบพันธุ์ทั้งภายในและภายนอกของครัสเตเชียน จึงเป็นส่วนหนึ่งที่มีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อการเพาะเลี้ยงกุ้งอย่างยั่งยืน และได้ผลผลิตที่เพียงพอต่อความต้องการบริโภค สามารถนำไปสู่การทราบวิธีการที่หลากหลาย ในการกระตุ้นการสมบูรณ์เพศของครัสเตเชียนได้ (Charniaux-Cotton and Payen, 1988)

1.1 การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนา

การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลเป็นอุตสาหกรรมการผลิตวัตถุดิบด้านอาหารที่มีความสำคัญระดับโลก โดยมีการขยายตัวอย่างมากตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 และในปี ค.ศ. 2003 ผลผลิตจากฟาร์มเลี้ยงกุ้งมีปริมาณสูงถึง 1.6 ล้านตัน เนื่องจากการผลิตกุ้งเพื่อการบริโภคมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการผลิตแหล่งโปรตีนให้กับประชากรโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศที่กำลังพัฒนา ในประเทศไทย มีการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาภายใต้ระบบใบกำกับเคลื่อนย้ายสินค้าสัตว์น้ำ (MD: Movement Document) หลักๆ อยู่ใน 3 ภูมิภาค คือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ (ทั้งตอนบน และตอนล่างฝั่งอันดามันและอ่าวไทย) เมื่อพิจารณาผลผลิตกุ้งทะเลแยกตามภูมิภาคการเลี้ยงพบว่า ในรอบปี พ.ศ. 2562 ผลผลิตกุ้งส่วนใหญ่อยู่ที่ภาคใต้ตอนบน (26.19%) รองลงมา คือ ภาคตะวันออก (25.34%) ภาคใต้ตอนล่างฝั่งอันดามัน (17.21%) ภาคใต้ตอนล่างฝั่งอ่าวไทย (16.19%) และภาคกลาง (15.08%) กรมประมงโดยกลุ่มเศรษฐกิจการประมง กองนโยบายและยุทธศาสตร์พัฒนาการประมง คาดการณ์ว่าการส่งออกกุ้งทะเลของประเทศไทยจะมีปริมาณประมาณ 180,000 – 200,000 ตัน อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี พ.ศ. 2561 เนื่องจากความต้องการกุ้งในตลาดโลกมีความคงที่จากภาวะเศรษฐกิจโลกโดยรวม ที่มีการชะลอตัวและปัจจัยลบจากราคากุ้งของไทยที่สูงกว่าคู่แข่งในตลาดโลก