สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

2 (2)

ผลของการเสริมเกลือแร่ในอาหารและการเปลี่ยนแปลงสรีรเคมีของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงระบบพัฒนา

Effects of Minerals supplementation in diet to physiochemical changes in the intensive pond-reared *Penaeus monodon*.

นายบุญรัตน์ ประทุมชาติ นายบัลลังก์ เนื่องแสง และ นายฉนอมศักดิ์ บุญภักดี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

A0005137
30 ส.ค. 2548
190659

ภาควิชาวาริชศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของความเค็มน้ำ 4 ระดับ (0.5, 10, 20 และ 30 ส่วนในพัน) และเสริมเกลือแร่ 0%, 1% และ 3% ในอาหาร ต่อการเจริญเติบโต ระยะเวลาลอกคราบ การรอดตาย และคุณลักษณะของเปลือกกุ้งกุลาดำ (ความแข็งแรง ความขรุขระ สี และความวาว) และการเปลี่ยนแปลงของ ออสโมลาลิตี้ แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม คลอรีน โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แมงกานีส ทองแดง และกำมะถัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโนไกลแคนในพลาสมาและเปลือกของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) วัยรุ่นที่เลี้ยงในบ่อซิเมนต์ และทำการเลี้ยงกุ้งด้วยการเสริมและไม่เสริมเกลือแร่ในอาหารในบ่อดินแบบพัฒนาความเค็มน้ำต่ำ

จากการทดลองพบว่าการเสริมเกลือแร่ในอาหารกุ้งส่งผลให้มีค่าออสโมลาลิตี้ ระดับความเข้มข้นของโซเดียม คลอรีน โปแตสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ฟอสฟอรัส แมงกานีส ทองแดง กำมะถัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโนไกลแคนมากขึ้น ($P<0.05$) ทั้งในเลือด และแร่ธาตุในเปลือกกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อซิเมนต์และบ่อดิน โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นมีปัจจัยจำกัดมาจากความเค็มน้ำ รวมทั้งการเสริมเกลือแร่ในที่ระดับความเค็มต่าง ๆ ยังมีผลต่อการเจริญเติบโต ระยะเวลาลอกคราบ ความแข็งแรงเปลือก ความขรุขระของเปลือกกุ้งกุลาดำอีกด้วย ($P<0.05$) ขณะที่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีและความแวววาวของเปลือกกุ้ง ($P>0.05$) จากการทดลองชี้ให้เห็นถึงความจำเป็นของการเสริมเกลือแร่ถึงระดับ 3 % สำหรับการเลี้ยงกุ้งในน้ำความเค็มต่ำกว่า 10 ppt และลดระดับเกลือแร่ลงได้หากระดับความเค็มน้ำที่ใช้เลี้ยงสูงเพิ่มขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ABSTRACT

Effects of 4 levels of salinity (0.5, 10, 20 and 30 ppt) and 3 levels of minerals supplement in feed (0%, 1% and 3%) on growth, molting period, survival rate, and strengthen, roughness, color and luster of cuticle of juvenile shrimp (*Penaeus monodon*) that cultured in concrete pond and in earthen pond under low salinity were studied. In additions, variations of osmolality, Ca, Mg, Na, Cl, K, P, Mn, Cu, S, protein, carbohydrate and glycosminoglycans concentrations in plasma and cuticle of shrimp were also examined.

The results showed that osmolality, concentrations of Ca, Mg, Na, Cl, K, P, Mn, Cu, S, protein, carbohydrate and glycosminoglycans in plasma and cuticle of *P. monodon* were significantly affected ($P < 0.05$) by level of minerals supplement in feed. The level of salinity was limiting factor for the significant variations of these values. Furthermore, growth, molting period, survival rate, strengthen and roughness of cuticle (except for color and luster) were also affected ($P<0.05$) by the supplementation level of minerals in diet under different salinity. This indicated that minerals supplementation up to 3% in feed is necessary for low salinity shrimp culture (<10 ppt) and the supplementation level can be decreasing when cultured in higher salinity.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ช

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค

สารบัญ.....ง

สารบัญตาราง.....จ

สารบัญรูป.....ฉ

บทที่

1. บทนำ..... 1
2. วิธีการทดลอง..... 3
3. เอกสารที่เกี่ยวข้อง.....16
4. ผลการทดลอง.....24
5. อภิปรายผลการทดลอง..... 47

สรุปผลการทดลอง.....60

เอกสารอ้างอิง.....61

คำนิยม.....64

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 เปรียบเทียบออสโมลาลิตี้ของเลือด และสัดส่วนของค่าออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดกุ้งกับน้ำภายนอก ของกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารผสมเกลือแร่และไม่ผสมเกลือแร่ ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 5 ระดับ.....25

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1 เปรียบเทียบสัดส่วนของค่าออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดกุ้งกับน้ำภายนอกของกุ้งกุลาดำ ที่ให้อาหารผสมเกลือแร่และไม่ผสมเกลือแร่ ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 5 ระดับ.....25

2-13 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแร่ธาตุ แคลเซียม แมกนีเซียม โปตัสเซียม โซเดียม คลอรีน ทองแดง แมงกานีส ฟอสฟอรัส กำมะถัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และ ไกลโคสมิโนไกลแคน ในพลาสมากุ้งกุลาดำที่ให้อาหารเสริมเกลือแร่ และไม่เสริมเกลือแร่ ของการเลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 0.5-30 ppt ในบ่อซิเมนต์.....29

14-22 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแร่ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม โปแตสเซียมโซเดียม คลอรีน ทองแดง แมงกานีส ฟอสฟอรัส กำมะถัน ในเปลือกกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารเสริมเกลือแร่ และไม่เสริมเกลือแร่ของการเลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 0.5-30 ppt ในบ่อซิเมนต์.....32

23 แสดงการเพิ่มขึ้นของขนาดกุ้งกุลาดำในการลอกคราบครั้งที่ 1 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม เกลือแร่และไม่เสริมเกลือแร่ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ในบ่อซิเมนต์ 34

24 แสดงการเพิ่มขึ้นของขนาดกุ้งกุลาดำในการลอกคราบครั้งที่ 2 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม เกลือแร่และไม่เสริมเกลือแร่ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ในบ่อซิเมนต์ 34

25-29 แสดงการตายคราบแข็ง ก่อนการลอกคราบ ระหว่างการลอกคราบ หลังการลอกคราบ การตายรวมทั้งหมด ของกุ้งกุลาดำที่ได้เลี้ยงด้วยอาหารผสมเกลือแร่และไม่ผสมเกลือแร่ ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ระยะเวลา 1 เดือน 35

30-34 แสดงระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่ลอกคราบครั้งที่ 1, 2, และ 3 %ความแข็งแรงของเปลือก %ความขรุขระของเปลือก ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่ และไม่เสริมเกลือแร่ในอาหารภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ.....38

35 เปรียบเทียบสัดส่วนของค่าออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดกุ้งกับน้ำภายนอกของกุ้งกุลาดำที่ ให้อาหารผสมเกลือแร่และไม่ผสมเกลือแร่ ที่ระดับความเค็มต่ำ ในฟาร์มเลี้ยงกุ้งแบบ หนาแน่นบ่อดิน.....39

36-47 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแร่ธาตุ แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม คลอไรด์ ทองแดง ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แมงกานีส กำมะถัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและ ไกลโคสมิโนไกลแคน ในพลาสมากุ้งกุลาดำที่ให้อาหารเสริมเกลือแร่และไม่เสริมเกลือแร่ ของการเลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 0.5-30 ppt ในบ่อซิเมนต์.....42

48-56 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแร่ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม โปตัสเซียม โซเดียม คลอไรด์ ทองแดง แมงกานีส ฟอสฟอรัส กำมะถัน ในเปลือกกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารเสริมเกลือแร่ และไม่เสริมเกลือแร่ของการเลี้ยงที่ความเค็มน้ำต่ำในบ่อดิน.....45

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

57 การเปลี่ยนแปลงออสโมลาลิตี้ (Osmolality)ในเลือดกุ้งที่ปรับสภาพความเค็มน้ำระหว่าง 0.3-45 ppt.....46

58 สัดส่วนออสโมลาลิตี้ (Osmolality) ระหว่างเลือดกุ้งกับน้ำภายนอกที่ปรับสภาพความเค็มน้ำระหว่าง 0.3-45 ppt.....46

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 1
บทนำ

การเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศเป็นอย่างมาก จะเห็นได้จากสามารถนำรายได้เข้าประเทศโดยรวมเป็นเงินประมาณ 50,000 ล้านบาทต่อปี เนื่องจากว่าพื้นที่เลี้ยงส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของเกษตรกรรายย่อย จึงก่อให้เกิดการกระจายรายได้เป็นอย่างดี การเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำก่อให้เกิดกิจกรรมต่อเนื่องอย่างกว้างขวางได้แก่ อาชีพประมงจับพ่อแม่พันธุ์จากธรรมชาติ การเพาะขยายพันธุ์ลูกกุ้งระยะนอเพลียส (nauplius) การอนุบาลลูกกุ้งจนได้กุ้งโพสลาวา (post larvae) กุ้งชำ การบรรจุลูกกุ้งและการลำเลียง การเลี้ยงกุ้ง การจับ การเตรียมบ่อ จนกระทั่งเข้าสู่ห้องเย็น

กุ้งกุลาดำ นับว่าเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสูงมากที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย ด้วยเหตุที่มีมลภาวะทางน้ำและมีการสะสมของเชื้อโรคบริเวณชายฝั่งอย่างต่อเนื่อง ทำให้ผลผลิตกุ้งกุลาดำส่วนใหญ่มาจากแหล่งเลี้ยงที่ห่างจากฝั่งทะเลและใช้ระดับความเค็มต่ำ อย่างไรก็ตาม ลักษณะเปลือกไม่สมบูรณ์หลังลอกคราบ การลอกคราบไม่สมบูรณ์ และความเครียดสำหรับกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำนั้นมักจะประสบปัญหาอยู่เสมอ ซึ่งเป็นไปได้ที่อาจจะมีสาเหตุมาจากแร่ธาตุบางชนิดที่มีอยู่ในอาหารและในน้ำความเค็มต่ำมีระดับไม่เพียงพอหรือไม่สมดุลต่อการสร้างเปลือก

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า การเจริญเติบโตของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนนั้นมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับการลอกคราบ ในทำนองเดียวกันความสำเร็จในการลอกคราบก็ขึ้นอยู่กับการปรับตัวด้านสรีรวิทยา อิออนของสารอนินทรีย์จะมีการเชื่อมโยงใกล้ชิดกับสารประกอบอินทรีย์ระหว่างมีกระบวนการสร้างเปลือก ดังนั้นความสำเร็จในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในสภาพความเค็มน้ำต่ำขึ้นอยู่กับความเข้าใจเกี่ยวกับการตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อสิ่งแวดล้อมภายนอก การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในเลือดนับว่าเป็นดัชนีที่มีประโยชน์ การรักษาสมดุลของอิออนระหว่างชั้นเลือดและเปลือกผ่านทางชั้นเอพิเดอมิสมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อกระบวนการสร้างเปลือกตลอดวงจรการลอกคราบ อัตราการเจริญเติบโตของสัตว์ในกลุ่มครัสเตรเชียนจะลดลงหากได้รับอาหารที่ไม่ได้เสริมแร่ธาตุ เพราะฉะนั้นการใช้อาหารสำเร็จรูปที่ปราศจากการเสริมแร่ธาตุ รวมถึงแร่ธาตุที่มีการผลิตเองจากธรรมชาติอาจจะไม่เพียงพอต่อความต้องการของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในระบบพัฒนาและน้ำความเค็มต่ำ

ด้วยเหตุที่มีการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องความต้องการแร่ธาตุในอาหารและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรเคมีในสัตว์กลุ่มครัสเตเชียนทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งกุ้งกุลาดำนั้นมีน้อยมาก หรือไม่พบว่ามีการศึกษาแนวประยุกต์ของการใช้เกลือแร่ร่วมกับการสรีระเคมีในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในระบบพัฒนาและน้ำความเค็มต่ำ ดังนั้นควรศึกษาวิจัยอย่างเร่งด่วนถึงความจำเป็นของการเสริมเกลือแร่ในอาหารของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในระบบพัฒนาและน้ำความเค็มต่ำ มากกว่านั้นการวัดการตอบสนองทางด้านสรีรวิทยาควรที่จะทำการศึกษาด้วยเพื่อก่อให้เกิดความเข้าใจมากขึ้นถึงกระบวนการในระดับเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเปลือก

เนื่องจากยังขาดความชัดเจนของข้อมูลความสำคัญของแร่ธาตุทั้งพื้นฐานและแนวประยุกต์ต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำของประเทศไทย งานวิจัยครั้งนี้จะก่อให้เกิดความเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในทางสรีระเคมีของกุ้งในรอบวงจรลอกคราบ เสริมสร้างความเข้าใจเชิงวิทยาศาสตร์ถึงกลไกการสร้างเปลือกกุ้งกุลาดำ เป็น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ดัชนีที่บอกถึงความสำคัญหรือจำเป็นของแร่ธาตุและสารอาหารเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการลอกคราบ การสร้างเปลือกใหม่ และการเจริญเติบโต ความจำเป็นของการใช้แร่ธาตุเพื่อเสริมในอาหารสำเร็จรูปของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำแบบพัฒนาที่ความเค็มน้ำต่ำ ซึ่งจะก่อให้เกิดความชัดเจนมากขึ้นในวิธีการเลี้ยงและมีประโยชน์ในการพัฒนาด้านอาหารที่ควรพิจารณานำเอาแร่ธาตุเสริมลงไปในขั้นตอนผลิตอาหาร ทำให้ทราบถึงการขาดแคลนของชนิดแร่ธาตุและสารอินทรีย์ของกุ้งกุลาดำที่มีเปลือกนิ่มเปลือกไม่สมบูรณ์แข็งแรง งานวิจัยด้านการใช้เกลือแร่เสริมในอาหารกุ้งทะเลพอมีจะปรากฏอยู่บ้างในกุ้งขาวแต่ยังคงมีน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทย จึงมีความจำเป็นมากที่จะต้องทำการวิจัยอย่างเร่งด่วน ช่วยเสริมการเพิ่มผลผลิต เพื่อตอบสนองความต้องการด้านการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ทำรายได้สูงให้กับประเทศไทยเป็นอย่างมาก

ทิศทางการวิจัยนี้น่าที่จะช่วยแก้ปัญหาตรงจุดและพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีได้ทันทีสู่เกษตรกร เพื่อแก้ปัญหาเกี่ยวกับกุ้งลอกคราบได้ไม่ดี ลอกคราบแล้วเปลือกนิ่มไม่แข็งแรง เปลือกไม่สมบูรณ์ กุ้งเติบโตช้า ลดการเสี่ยงต่อการกินกันเอง และไม่ทำให้เสียราคาเมื่อเก็บเกี่ยว ที่มักจะประสบปัญหาอย่างมากในปัจจุบัน นอกจากนี้สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ในการเรียน การสอน และการค้นคว้าวิจัยด้านชีววิทยา สรีรวิทยาของสัตว์น้ำและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 2
การทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

1. ระบบสมดุลเกลือแร่ (Osmoregulation)

ในสัตว์ครัสเตเชียนพวก euryhaline เช่น ปู *Carcinus maenas* จะสามารถทนต่อสภาพสิ่งแวดล้อมทางด้านความเค็มน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปได้ซึ่งสภาพนี้เรียกว่า "hyperregulation" และ "hyporegulation" สัตว์เหล่านี้มีความสามารถที่จะรักษาระดับความเข้มข้นของเลือดให้คงที่ในระหว่างที่สัตว์มีการปรับตัวต่อความเค็มน้ำที่เปลี่ยนแปลงไป เซลล์จะมีการต้านต่อ osmotic stress ซึ่งจะมากเท่าใดนั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการควบคุมความเข้มข้นในเลือด (Gilles และ Pequeux, 1981) การควบคุมระดับความเข้มข้นของเลือดภายในร่างกายกับน้ำภายนอกนั้นมีอยู่ 2 รูปแบบ ดังนี้

1.1 Hyperregulation

สิ่งมีชีวิตที่อาศัยในน้ำจืดหรือน้ำทะเลที่มีความเจือจางกว่าเลือดของมัน จะต้องเผชิญกับการแพร่เข้าของน้ำภายนอกร่างกายและการสูญเสียไอออนออกไปสู่สิ่งแวดล้อม แต่ก็สามารถลดภาวะเหล่านี้ได้โดยการลดการนำน้ำและไอออนผ่านเข้าออกโดยการลดขนาดของเยื่อเลือกผ่านให้มีขนาดเล็กลง ซึ่งตามปกติแล้วพวก osmoconformer จะมีการยอมให้สารผ่านเข้าออกได้มากกว่าพวก osmoregulator และจะมีการเปลี่ยนแปลงการยอมให้สารผ่านเข้าออกน้อยเมื่อน้ำภายนอกมีความเค็มลดลง

ในแอมฟิปอด amphipods ได้แก่ *Gammarus duebeni*, *G. pulex*, *G. lacustris*, *G. zaddachi* และ *G. tigrinis* จะลดการยอมให้โซเดียมผ่านเมื่ออยู่ในสภาวะที่ความเค็มน้ำลดลง (Shaw และ Sutcliffe, 1961, Sutcliffe, 1967a,b, 1968 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) ใน moderate regulator เช่น ปู *C. maenas* (Shaw, 1961 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) แสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงการยอมให้สารผ่านเข้าออกน้อย ส่วนในพวก strong regulator เช่น กุ้ง *Palaemonetes* sp. พบว่าอัตราการสูญเสียเกลือแร่ผ่านทางพื้นผิวภายนอกจะลดลงเป็นเวลาสั้นๆ เมื่อนำไปอยู่ในน้ำความเค็มต่ำ ส่วนพวก hyperregulator จะลดการยอมให้น้ำผ่านเข้าออกเมื่อต้องเผชิญกับน้ำความเค็มต่ำ

ปู *Rhithropanopeus harrisi* ซึ่งเป็น hyperosmotic regulator ที่น้ำความเค็มต่ำและเป็น isosmotic ภายใต้สภาวะความเค็มน้ำปกติ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของน้ำที่ผ่านเข้าออกร่างกายเพิ่มขึ้น 145% ต่อชั่วโมง เมื่ออยู่ในน้ำความเค็ม 45% น้ำทะเล การแลกเปลี่ยนโดยการแพร่จะลดลงเหลือ 70% ต่อชั่วโมง และเมื่ออยู่ในน้ำความเค็ม 1% น้ำทะเล การแลกเปลี่ยนการแพร่จะลดลงเหลือ 10% ต่อชั่วโมง (Smith, 1967 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) และยังพบรูปแบบเช่นนี้ในปู *Uca pugilator* และ *Callinectes sapidus* (Hannan และ Euans, 1973, Robertson, 1982 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

ใน moderate hyperregulator เช่น *C. maenas* ที่มีการยอมให้น้ำแพร่ผ่านเข้าออกได้มากแสดงให้เห็นว่ามีการยอมให้น้ำผ่านลดลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำจาก 263% ต่อชั่วโมงในน้ำทะเลปกติ เป็น 176%

ต่อชั่วโมงในน้ำความเค็ม 40% น้ำทะเล รวมทั้งไอโซปอด (isopod *S. serratum*) ที่อาศัยในเขตน้ำขึ้นน้ำลง มีการลดการยอมให้น้ำผ่านเข้าออกจาก 820% ต่อชั่วโมง เมื่ออยู่ในน้ำทะเลเป็น 200% ต่อชั่วโมงในความเค็ม 50% น้ำทะเล ซึ่งเกิดขึ้นภายใน 30 นาทีเท่านั้น และยังพบว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีการลดความเข้มข้นของโซเดียมและคลอรีนในน้ำภายนอกด้วย (Smith, 1970, Thuet, 1978 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983)

1.2 Hyporegulation

เมื่อสัตว์อยู่ในน้ำที่มีความเค็มสูง สัตว์จะมีการปรับตัวโดยทำให้ของเหลวในร่างกายมีความเข้มข้นต่ำกว่าภายนอกเพราะที่ระดับความเค็มน้ำสูงจะมีเกลือแร่เข้าสู่ร่างกายโดยมาพร้อมกับน้ำปริมาณที่มาก ดังนั้นสัตว์จะมีปรับให้มีความเข้มข้นที่น้อยลงโดยการขับเกลือแร่ออกและรักษาน้ำไว้ให้ได้มากที่สุด ซึ่งเป็นการยากที่จะวัดการยอมให้ผ่านของไอออนได้อย่างแม่นยำ เพราะมักจะมีการแลกเปลี่ยนองค์ประกอบของไอออนที่ไหลออกจากร่างกายอยู่ตลอดเวลา

ในสัตว์ที่มีความสามารถอย่างมากในการปรับระดับสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายจะแสดงภาวะ hyperosmotic เป็นการกระตุ้นการรับน้ำเข้าภายในตัว ซึ่งจะแพร่ผ่านเข้าสู่ลำไส้และจะพยายามรักษาเกลือแร่ไว้ภายในตัวให้มากที่สุดเพื่อปรับสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายเมื่อสภาวะสิ่งแวดล้อมมีความเข้มข้นเกลือแร่ต่ำกว่าภายในตัว (Passano, 1960) และในสัตว์ที่สามารถปรับสมดุลเกลือแร่ได้ไม่ดีนักจะมีค่าออสโมลาลิตี้ต่ำ ทำให้ระบบการแพร่ผ่านเข้าออกของแร่ธาตุต่างๆ ไม่ค่อยสมบูรณ์ ทำให้ต้องใช้พลังงานอย่างมากในการปรับสมดุล (Mykles, 1980) การปรับสมดุลนี้จะเป็นตัวรักษาค่าความดันออสโมติกภายในร่างกายให้มีความสัมพันธ์กันอย่างคงที่กับสภาพแวดล้อมภายนอก ซึ่งก็คือการปรับระดับค่าความเข้มข้นภายในร่างกายให้มีค่าสูงหรือต่ำกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอกที่อาศัยอยู่ การปรับสมดุลดังกล่าวเพื่อให้สิ่งมีชีวิตสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้เมื่อสิ่งแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลง จะพบได้ในสิ่งมีชีวิตพวกครัสเตเชียน ซึ่งมีรูปแบบการปรับสมดุลแตกต่างกันออกไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด

ครัสเตเชียนที่อาศัยในน้ำกร่อยส่วนมากจะปรับสภาพสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายให้สูงกว่าน้ำภายนอก (hyperosmotic) ระดับความเข้มข้นของเกลือแร่ในเลือดจะสูงกว่าน้ำที่อาศัยอยู่ สัตว์ที่อาศัยในน้ำจืด น้ำทะเล เช่นกุ้งน้ำจืด กุ้งทะเล (Caridea และ Penaeids) ปู (Grapsid และ Xanthid) รวมทั้งสัตว์ชนิดอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ในน้ำกร่อย พบว่าเลือดจะอยู่ในสภาวะ hyposmotic กับน้ำทะเลปกติและจะปรับสภาพเป็นสภาวะ hyperosmotic เมื่ออยู่ในความเค็มน้ำที่ต่ำลง การรักษาระดับ hyposmotic ในสภาพปกติของปู (Grapsid) และกุ้งบางชนิดทำได้ 2 ทางคือ ทางแรกการดูดน้ำจะเป็นแบบค่อยเป็นค่อยไป ทางที่ 2 การดื่มน้ำเข้าไปโดยตรง ในเวลาเดียวกันจะขับเกลือที่มากเกินออกมาทางเหงือก

ส่วนใหญ่แล้วสัตว์พวกครัสเตเชียนที่อาศัยอยู่ในน้ำเค็มนั้น ในเลือดของสัตว์จะมีชนิดและปริมาณของอิออนใกล้เคียงกับของน้ำทะเล ซึ่งส่วนใหญ่แล้วประกอบด้วยโซเดียมและคลอรีน และแรงดันออสโมติกของเลือดก็มาจากอิออนสองตัวนี้เช่นกัน นอกจากนั้นก็มีพวกอิออนอื่นๆ บ้าง เช่น แมกนีเซียม ซัลเฟต และแคลเซียมอิออน เป็นต้น แต่จะมีอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะแมกนีเซียมในเลือดของครัสเตเชียนจะมีอยู่น้อยกว่าในน้ำทะเลมาก ถึงแม้องค์ประกอบของอิออนรวมในเลือดกับในน้ำทะเลจะต่างกันบ้าง แต่มันก็สามารถควบคุมให้อยู่ในภาวะสมดุลได้ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของอิออนรวมในเลือดกุ้ง อันเนื่อง

มาจากการปรับตัวทางด้านสรีรวิทยาต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำภายนอก อิออนตัวที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นคือ โซเดียม และคลอรีนอิออน ส่วนอิออนตัวอื่นๆ นั้นจะมีปริมาณค่อนข้างคงที่หรือเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (Potts และ Parry, 1964)

อิออนรวมที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นเมื่อความเค็มเปลี่ยนแปลง เป็นอิออนรวมที่อยู่ในของเหลวภายนอกเซลล์ (extracellular fluid) ซึ่งได้แก่เลือดนั่นเอง เลือดนี้จะหมุนเวียนไปทั่วร่างกายโดยการสูบฉีดของหัวใจ ปริมาตรของของเหลวนี้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับว่ากุ้งและปูอยู่ในระยะใดของกระบวนการลอกคราบ องค์ประกอบของของเหลวภายในตัวจะค่อนข้างคงที่ ส่วนอวัยวะที่ใช้ในการปรับสมดุลของของเหลวในร่างกายสัตว์เหล่านี้มี 3 แห่งคือ green gland หรือ maxillary gland เป็นอวัยวะที่คอยควบคุมปริมาณเกลือ เหงือกควบคุมอิออนพวก monovalents เช่น โซเดียม คลอรีน และโปแตสเซียมอิออน ส่วนลำไส้เล็กจะเป็นตัวควบคุมปริมาณอิออนพวก divalence เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม และซัลเฟตอิออน เป็นต้น (Potts และ Parry, 1964)

2. อิทธิพลของความเค็มน้ำต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแร่ธาตุหลักในเลือดกุ้ง

2.1 โซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียม

ระดับความเค็มน้ำภายนอกมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของธาตุโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียมในพลาสมาปูทะเล โดยที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt ปริมาณของธาตุโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียม มีความเข้มข้นต่ำที่สุด และจะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อความเค็มน้ำสูงขึ้น จนธาตุทั้ง 3 ชนิดมีความเข้มข้นสูงสุดที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt

จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าปริมาณของธาตุโซเดียมมีค่าความเข้มข้นสูงที่สุดทุกระดับความเค็มน้ำเมื่อปรียบเทียบกับธาตุอื่นๆ คลอรีน และโปแตสเซียมมีค่ารองลงมาตามลำดับ ซึ่งปริมาณรวมของธาตุทั้ง 3 นี้มีมากกว่า 90% ของแร่ธาตุทั้งหมดในเลือด จึงจัดได้ว่าเป็นธาตุที่ช่วยรักษาสมดุลออสโมติกของเลือด (osmoregulator) กล่าวคือ ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของธาตุโซเดียม คลอรีน และ โปแตสเซียม ก็จะส่งผลให้ค่าออสโมลาลิตี้ (osmolality) ของเลือดเปลี่ยนแปลงไปด้วย รวมทั้งในครัสเตเซียนชนิดอื่นๆ ได้แก่ ปู *E. sinensis* และ *C. maenas* (Gilles และ Pequeux, 1981) เนื่องจากแร่ธาตุทั้ง 3 ชนิดนี้มีความเข้มข้นสูงมากและมีการเคลื่อนย้ายระหว่างอวัยวะต่างๆ และระหว่างภายในกับภายนอกร่างกายอย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงนับว่ามีบทบาทต่อระบบปรับสมดุลเกลือแร่ในเลือด โดยเฉพาะอย่างยิ่งโซเดียมและคลอรีน ดังนั้นปริมาณของแร่ธาตุดังกล่าวจึงเพิ่มขึ้นตามความเค็มน้ำสัมพันธ์กับค่าออสโมลาลิตี้ เนื่องจากการแพร่เข้ามาผ่านทางเหงือก (influx) ของน้ำทะเลภายนอก

ความเข้มข้นของโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียมในเลือดสัตว์จะมีค่าสูงขึ้นตามระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น และอยู่ในสภาวะ hypertonic ซึ่งพบได้ในครัสเตเซียนหลายชนิด เช่น ปู *C. sapidus* (Henry และ Cameron, 1982), ปู *O. quadrata* (Santos และ Moreira, 1999), ปู *C. magister* (Wheatly, 1985), ปูน้ำจืด *H. transversa* (Greenway, 1981), กุ้ง *C. crangon* (Hagerman และ Uglow, 1982) รวมทั้งกุ้ง Penacid หลายชนิด (Castille และ Lawrence, 1981b อ้างโดย Cawthorne et al., 1983) ส่วนกุ้งมังกร *P. longipes* มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโซเดียมและคลอรีนในเลือดเป็นไปตามความเค็มน้ำภายนอก แต่ความเข้มข้นของโปแตสเซียม

ในเลือดจะแปรผกผันกับความเค็มน้ำภายนอก (Dall, 1974) ซึ่งต่างไปจาก mysid *L. mediterranea* ที่เมื่ออยู่ในน้ำความเค็มต่ำจะมีความเข้มข้นของโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียมในเลือดเท่ากับน้ำภายนอกและมีความเข้มข้นลดลงเมื่อน้ำภายนอกมีความเค็มสูงขึ้น (Lucu, 1978) หรือในกุ้ง *B. sandiegonensis* และ *S. woottoni* (Gonzalez et al., 1996) รวมทั้งกุ้ง *P. pugio* (Knowlton และ Kirby, 1984) ที่สามารถรักษาระดับความเข้มข้นของโซเดียมให้คงที่เมื่อน้ำภายนอกเปลี่ยนแปลงความเค็มไปในช่วง 1-40 ppt จากรายงานในปู blue crab *C. sapidus* พบว่า ที่ระดับความเค็มน้ำต่ำกว่า 26 ppt ค่าออสโมติกและไอออนต่างๆ ระหว่างเลือดกับน้ำทะเลจะมีค่าอัตราส่วนเพิ่มขึ้นเมื่อปูมีการอพยพไปสู่ที่น้ำความเค็มต่ำ (Mantel, 1967 อ้างโดย deFur, 1990) มีพฤติกรรมเช่นเดียวกันกับครัสเตเชียนที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำกร่อยและน้ำทะเล ซึ่งเมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น

ที่ระดับความเค็มน้ำต่ำเลือดสัตว์จะมีปริมาณของโซเดียม, คลอรีน และโปแตสเซียมต่ำเพราะน้ำภายนอกที่มีความเจือจางจะแพร่เข้าสู่ร่างกาย และแร่ธาตุต่าง ๆ ในร่างกายก็จะแพร่ออกสู่น้ำภายนอก เพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายให้อยู่ในระดับที่มีความสมดุล สัตว์จึงต้องมีการปรับตัวให้อยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายสูงกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอก จึงต้องมีการดึงพลังงานมาใช้อย่างมากในการรักษาระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุต่างๆ โดยมีกลไกการขับน้ำออกจากร่างกาย เพราะน้ำภายนอกที่มีความเจือจางจะแพร่เข้าไปในร่างกายอยู่ตลอดเวลาตามหลักการของออสโมซิส (osmosis) ในขณะเดียวกันก็จะมีการดูดกลับเกลือแร่ไว้ภายในร่างกาย และลดการสูญเสียเกลือแร่ออกจากร่างกายโดยการลดขนาดของเยื่อเลือกผ่านให้เล็กลงและเพิ่มการเก็บสะสมปัสสาวะ ปรับระดับแรงดันน้ำ (hydrostatic pressure) ภายในร่างกายให้อยู่ในสภาวะปกติ (Mantel และ Farmer, 1983)

ถึงแม้ว่าสัตว์จะมีกลไกต่างๆ ในการปรับสมดุลเกลือแร่ดังที่กล่าวมา แต่ภายใต้สภาวะความเค็มน้ำต่ำมากๆ ทำให้ต้องสูญเสียแร่ธาตุต่าง ๆ ภายในร่างกายออกสู่สิ่งแวดล้อม และต้องรับน้ำภายนอกจากการแพร่เข้ามาอยู่ตลอดเวลา จึงเป็นเหตุให้มีปริมาณของแร่ธาตุต่างๆ ในเลือดต่ำกว่าที่ความเค็มน้ำที่สูง ซึ่งจะทำให้สัตว์เกิดความเครียด ร่างกายอ่อนแอ ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงและอาจจะทำให้อัตราการตายเพิ่มขึ้นได้ ดังเช่นที่พบในครัสเตเชียนหลายชนิด (Kirkpatrick และ Jones, 1985 ; Gelin *et al.*, 2001)

2.2 แคลเซียม

แคลเซียมเป็นแร่ธาตุที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างเปลือก โดยเป็นองค์ประกอบหลักของเปลือกปูทะเล (Pratoomchat *et al.*, 2002a) ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณที่ค่อนข้างต่ำในเลือด ระดับการเปลี่ยนแปลงของแคลเซียมในเลือดคล้ายกับ 3 ธาตุแรก คือมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเค็มของน้ำภายนอกเพิ่มสูงขึ้น

ตามที่ทราบกันโดยทั่วไปว่า ครัสเตเชียนเมื่อย้ายจากที่น้ำความเค็มสูงไปสู่ที่น้ำความเค็มต่ำ จะทำให้ค่า pH ของเลือดมีค่าสูงขึ้น (metabolic alkalosis) เนื่องจากเมื่อความเค็มน้ำต่ำลง ค่า pH ของน้ำก็จะเปลี่ยนแปลงแบบแปรผันตรงกัน โดยจะมีค่า pH ต่ำลง คือมีสภาพเป็นกรดมากขึ้น (มี H^+ มากขึ้น) และคาดว่าน่าจะมีผลทำให้เลือดกุ้งมีสภาพเป็นกรดด้วย ซึ่งสภาพที่เป็นกรดนี้จะมีผลต่อการละลายของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) จากเปลือกเก่ามาในรูปของแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) และไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) จึงทำให้มีปริมาณของแคลเซียม

อิออน และไบคาร์บอเนตในเลือดสูงขึ้น (Machado *et al.*, 1988) เมื่อเลือดปูมีไบคาร์บอเนตสูงขึ้น ก็จะส่งผลให้มีค่า pH สูงขึ้น (Henry และ Cameron, 1982)

ไม่เพียงแต่แคลเซียมและไบคาร์บอเนต สารอินทรีย์อื่นๆ ก็มีการละลายเข้าสู่กระแสเลือดด้วย ได้แก่ แอมโมเนีย (NH_3) เพราะสัตว์จะต้องทำการปรับสภาพความสมดุลของเกลือแร่อย่างมากเมื่อความเค็มน้ำภายนอกมีระดับต่ำหรือสูงเกินไป (osmotic stress) จึงส่งผลให้มีกิจกรรมการใช้พลังงาน และมีการขับถ่ายของเสียซึ่งอยู่ในรูปของแอมโมเนียมากขึ้น ซึ่งพบในครัสเตเชียนหลายชนิด (Mangum *et al.*, 1976 ; Regnault, 1984 ; Rosas *et al.*, 1999) ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการ deamination (การขจัดเอาหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ออกจากสารประกอบ) ของกรดอะมิโนอิสระภายในเซลล์เพื่อนำไปใช้รักษาสมดุลปริมาตรของเซลล์ ทำให้ระดับของแอมโมเนียในเลือดสูงขึ้น เช่นในปู *C. sapidus* (Mangum *et al.*, 1976) รวมทั้งการลดลงของไฮโดรเนียมไอออน (H^+) ในเลือด จากการเกิดพันธะกับแอมโมเนีย ซึ่งเกิดในปฏิกิริยา catabolism ของกรดอะมิโนอิสระเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียม (NH_4^+) ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เลือดมีค่า pH สูงขึ้นด้วย (Weiland และ Mangum, 1975)

ด้วยสาเหตุต่างๆ ดังกล่าวนี้ ที่ระดับความเค็มน้ำต่ำ ความเข้มข้นของแคลเซียมในเลือดน่าจะมีสูงกว่าที่น้ำความเค็มสูง แคลเซียมจะถูกดูดซึมกลับจากเปลือกเข้าสู่ระบบเลือด เพราะในน้ำความเค็มต่ำจะมีแคลเซียมอยู่น้อยเมื่อเทียบกับในน้ำความเค็มสูง ดังจะเห็นได้จากรายงานของ Haefner (1964) ที่พบความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงระหว่างน้ำหนักเปลือกปู *C. sapidus* ระยะหลังลอกคราบ (postmolt) กับความเค็มน้ำภายนอก โดยพบว่าปูที่อยู่ในน้ำความเค็ม 10 ppt จะมีน้ำหนักเปลือกน้อยกว่าปูที่อยู่ในน้ำความเค็ม 30 ppt และได้อธิบายว่าความแตกต่างของน้ำหนักเปลือกปูมีสาเหตุจากการสะสมแคลเซียมที่มากขึ้นในเปลือกปูที่อยู่ในน้ำความเค็มสูง ซึ่งที่น้ำความเค็มสูงจะมีแคลเซียมสำหรับปูมาก ปูจึงมีการดึงไปเก็บสะสมในการสร้างเปลือกได้มาก ส่งผลให้มีน้ำหนักเปลือกมากกว่าที่น้ำความเค็มต่ำ นอกจากนี้ Travis และ Friberg (1963) ก็ได้อธิบายเอาไว้ว่า ปริมาณของแคลเซียมที่สะสมใน exocuticles และ endocuticles ของ crayfish *O. virilis* นั้น ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแคลเซียมอิออนในน้ำภายนอก คือถ้าน้ำภายนอกมีความเค็มสูง ก็จะมีแคลเซียมอิออนปริมาณสูงและทำให้มีการสะสมแคลเซียมใน exocuticles และ endocuticles มากขึ้น และแม้ว่าแคลเซียมบางส่วนจะมีการสะสมไว้ในเลือดและ midgut gland ของสัตว์ก่อนที่จะลอกคราบอยู่ก่อนแล้ว แต่แคลเซียมส่วนใหญ่ที่ใช้ในการทำให้เปลือกแข็งขึ้นก็ได้รับมาจากน้ำทะเลภายนอก (Hecht, 1914, Travis, 1955 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983)

หลังจากที่แคลเซียมเคลื่อนย้ายและมีการสะสมมากขึ้นเรื่อยๆ ในระบบเลือด ก็อาจจะทำให้เกิดความเป็นพิษสำหรับปูทะเลได้ถ้ามีแคลเซียมปริมาณมากเกินไป ดังนั้นสัตว์จึงต้องพยายามขับแคลเซียมออกจากเลือดไปสู่อวัยวะอื่นๆ เพื่อลดความเข้มข้นลง เช่น midgut gland, hepatopancreas และเก็บสะสมเอาไว้ช่วงระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นเมื่อปูทะเลเข้าสู่ระยะ D_3 (ระยะก่อนลอกคราบตอนปลาย ; late premolt stage) ก็จะดึงแคลเซียมเหล่านั้นออกมาใช้สำหรับเป็นโครงสร้างของคิวติเคิลใหม่ที่จะสร้างเป็นเปลือกต่อไป ดังการอธิบายถึงการแพร่กระจายของแคลเซียมในร่างกายสัตว์นั้น สามารถแบ่งได้เป็น 4 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 จะอยู่ในน้ำภายนอกร่างกายนั่นเอง ซึ่งจัดเป็นแหล่งแคลเซียมหลักสำหรับสัตว์น้ำที่จะดึงไปสะสมที่เปลือก (Travis, 1953, Dall, 1965 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) โดยแคลเซียมจะเข้าสู่ตัวปูโดยผ่านทางเหงือกและเก็บรักษาเอาไว้ใน

เลือด (Flemister, 1958, Dall, 1965 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) ดังนั้นเลือดจึงเป็นแหล่งของแคลเซียมส่วนที่ 2 จากนั้นส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์ในเลือด โดยเฉพาะแคลเซียม จะถูกดึงจากเลือดด้วยกลไกแบบใช้พลังงาน (active transport) เข้าสู่ hypodermal cells และนำไปเก็บในเปลือกซึ่งจัดเป็นส่วนที่ 3 ต่อไป (Drach, 1939, Travis, 1955, Waterman, 1960, Haefner, 1964 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) สำหรับแหล่งของแคลเซียมส่วนที่ 4 ก็คือ midgut gland ซึ่งจะเป็นส่วนที่เก็บสะสมแคลเซียมในช่วงระยะก่อนลอกคราบ (Glynn, 1968) จึงจัดเป็นแหล่งแคลเซียมสำรองที่จะจ่ายให้แก่เปลือกโดยผ่านทางเลือดในช่วงเวลาที่เหมาะสม คือช่วงระยะหลังลอกคราบ ดังนั้นการเคลื่อนที่ของแคลเซียมจากน้ำภายนอกเข้าสู่เปลือกสัตว์ จึงขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ของส่วนต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น และความเข้มข้นของแคลเซียมในเลือดที่ความเค็มน้ำแตกต่างกันก็น่าจะได้รับผลกระทบจากปริมาณการสะสมในเปลือกเป็นส่วนสำคัญ

มีหลักฐานจากงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ carbonic anhydrase จะมีความเข้มข้นสูงขึ้นใน epidermis ครัสเตเรเซียนที่อยู่ในน้ำความเค็มต่ำ หรือที่อยู่ในระยะก่อนลอกคราบตอนปลายและระยะหลังลอกคราบ (Henry และ Kormanik, 1985) เพราะว่าเอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของแคลเซียมเพื่อการสร้างเปลือก นอกจากนี้การที่เลือดปูทะเลที่น้ำความเค็มต่ำมีปริมาณแคลเซียมในเลือดต่ำ ก็อาจจะมีสาเหตุมาจากการที่น้ำภายนอกมีความเค็มต่ำจะทำให้ระดับ pH ในเลือดสูงขึ้น ผลที่ตามมาคือแร่ธาตุที่มีประจุลบและบวกจะมีโอกาสจับตัวกันและตกตะกอน (precipitation) ได้มากขึ้น ซึ่งเป็นการรวมตัวกันเกิดเป็นสารประกอบเพื่อทำการสร้างเปลือกใหม่ เพราะเป็นช่วงที่ปูเข้าสู่ระยะก่อนลอกคราบ (premolt, D_1) ปัจจัยดังกล่าวเป็นการเอื้ออำนวยต่อการสร้างเปลือกใหม่ เพราะการสร้างเปลือกของครัสเตเรียนโดยทั่วไปจะเป็นไปได้ดีในสภาวะที่ของเหลวในร่างกาย โดยเฉพาะเลือดมีสภาวะเป็นด่างเล็กน้อย โดยการนำเอาโปรตีน – คาร์โบไฮเดรตไปใช้ในการสร้างเปลือกใหม่ (sclerotinization) ที่ยังคงเป็นชั้นของ epicuticle ในระยะ D_1 และจะมีการนำสารอินทรีย์ดังกล่าวมาทำการสร้างเปลือกร่วมกับแคลเซียมคาร์บอเนตต่อไป (calcification) ในระยะก่อนลอกคราบตอนปลาย (stage D_2-D_3) (Pratoomchat *et al.*, 2002a) จากสภาวะดังกล่าวนี้ แคลเซียมอาจจะจับตัวกับโปรตีนหรือสารอื่นๆ ที่มีประจุลบในเลือด ดังเช่นที่พบในปู *G. lateralis* มีแคลเซียมทั้งหมดในเลือด 22 mmol แต่พบว่าเป็นแคลเซียมที่จับตัวอยู่กับโปรตีนถึง 13.4 mmol (Skinner *et al.*, 1965 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) รวมทั้งที่พบในครัสเตเรียนชนิดอื่นๆ เช่น *E. asiatica*, crayfish *A. pallipes*, *O. limusus* (Sitaramaiah และ Krishnan, 1966, Greenaway, 1972, Andrews, 1976 อ้างโดย Mantel และ Farmer, 1983) และแคลเซียมที่เกิดพันธะกับสารอื่นนี้จะถูกดึงเข้าสู่คิวติเคิลหรือตกตะกอนชั่วคราว ส่งผลให้ระดับแคลเซียมในเลือดที่น้ำความเค็มต่ำมีปริมาณลดน้อยลงก็เป็นได้ และถ้าเหตุการณ์เป็นอย่างนี้จริง ที่ระดับความเค็มน้ำต่ำอาจจะช่วยกระตุ้นให้สัตว์มีการสร้างเปลือกใหม่ได้ดีกว่า ส่งผลให้มีการลอกคราบเร็วกว่าที่ความเค็มน้ำสูง เหตุการณ์นี้พบได้ในปูทะเล*S. serrata* ที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำ (5 ppt) ใช้เวลาในการลอกคราบสั้นกว่าปูทะเลที่เลี้ยงในน้ำความเค็มสูง (25 และ 32 ppt) (บุญรัตน์, 2545)

ในบางกรณีความเข้มข้นของแคลเซียมในเลือดสัตว์ที่เลี้ยงในน้ำความเค็มน้ำสูงเกินระดับที่เหมาะสมของสัตว์ชนิดนั้น อาจจะมีค่าต่ำกว่าระดับความเค็มน้ำที่ต่ำกว่าหรือเหมาะสม อาจเนื่องมาจากสัตว์ที่อาศัยในน้ำความเค็มสูง แคลเซียมจากน้ำภายนอกมีโอกาสแพร่เข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากตามความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น ดังพบ

ในปู *C. sapidus*, กุ้ง *Metapenaeus* sp. (Travis, 1953, Flemister, 1958, Dall, 1965 อ้างโดย Price Sheets และ Dendinger, 1983) แต่สัตว์จำเป็นต้องพยายามปรับสมดุลแคลเซียมไม่ให้สูงเกินไปในระบบเลือดเพื่อไม่ให้ร่างกายไม่ได้รับอันตราย จึงพยายามขับแคลเซียมออกจากร่างกาย

3. ปัจจัยที่กระตุ้นให้มีการลอกคราบและการเจริญเติบโต

การเจริญเติบโตของกุ้งมี 2 ขั้นตอนที่เกี่ยวเนื่องคือการเพิ่มขนาดตัวแล้วตามด้วยการเพิ่มน้ำหนักขึ้น จนกระทั่งสมบูรณ์เต็มที่แล้วจึงมีการลอกคราบเพื่อขยายขนาดต่อไปเป็นวงจรอย่างนี้เรื่อยไป ซึ่งการเจริญเติบโตและการลอกคราบจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ที่เชื่อมโยงกันและมีความสัมพันธ์กันเป็นระบบ

การทำงานของระบบประสาทที่ควบคุมการลอกคราบ ในการลอกคราบของกุ้งจะถูกควบคุมโดยระบบประสาทส่วนกลาง และระบบต่อมไร้ท่อ โดยระบบประสาทส่วนกลางจะมี X-organ sinus gland complex ที่ทำหน้าที่หลั่งฮอร์โมนยับยั้งการลอกคราบ (molt-inhibiting hormone) จาก neurosecretory cell บริเวณ medulla terminalis ส่งผ่านไปเก็บสะสมที่ sinus gland บริเวณกลางก้านตาโดย neurosecretary tract ในรูปของเม็ดเล็ก ๆ (granule) จากนั้นจะถูกปล่อยเข้าสู่กระแสเลือด ในระยะนี้สัตว์จะไม่มีการลอกคราบจนกระทั่งมีปัจจัยต่าง ๆ มากระตุ้นให้เกิดการลอกคราบ ได้แก่ ปัจจัยภายนอกซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการลอกคราบ เช่น แสง อุณหภูมิ และอาหาร เป็นต้น ปัจจัยภายในเช่น การสะสมสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ไว้จนเพียงพอ ต่อการสร้างเปลือกใหม่ ระบบประสาทส่วนกลางจึงเริ่มสั่งการให้มีขบวนการลอกคราบเกิดขึ้น ฮอร์โมนยับยั้งการลอกคราบในกระแสเลือดจะเริ่มลดลงและส่งผลให้ต่อมไร้ท่ออีกชนิดหนึ่งคือ Y-organ จะหลั่งฮอร์โมนลอกคราบ (molting hormone หรือ ecdysone) ซึ่งควบคุมขบวนการทางสรีรวิทยาต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องต่อการลอกคราบ เช่น กระบวนการ apolysis ซึ่งเป็นกระบวนการที่เนื้อเยื่อชั้น epidermis หดตัวจากเปลือกเก่าเพื่อที่จะสร้างเปลือกใหม่ การสร้างขนใหม่ (setagenesis) กลไกการดูดซึมเอาสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์จากเปลือกเก่ามาเก็บสะสมไว้ที่แกสโตลิท (gastrolith) ตับ (hepatopancreas) และเลือดเพื่อเตรียมสร้างเปลือกใหม่

เมื่อทุกอย่างเข้าสู่ระยะการลอกคราบซึ่งเป็นระยะที่มีการกระตุ้นระบบต่าง ๆ เริ่มต้นจาก osmotic pressure ในเลือดจะสูงขึ้นเปลือกจะเริ่มปรืออกน้ำจะเริ่มเข้าสู่ทางเดินอาหารและแพร่เข้าสู่เลือด โดย hydrostatic pressure ทำให้สัตว์มีปริมาตรเพิ่มขึ้น สามารถที่จะสลัดเปลือกเก่าหลุดออกไป เมื่อสลัดคราบหลุดแล้วรยางค์ส่วนต่าง ๆ จะเริ่มแข็งแต่การดูดน้ำเข้าสู่ตัวยังคงมีอยู่จนถึงระยะหลังลอกคราบ (stage A) จากนั้นจึงมีการดึงเอาแคลเซียมมาใช้สร้างเปลือกให้แข็ง และเนื้อเยื่อมีการเจริญตามขนาดที่เปลี่ยนแปลงไปและน้ำหนักของกุ้งจะเพิ่มขึ้น (Passano, 1960)

ดังนั้นการลอกคราบของสัตว์จำพวกครัสตาเซียน (crustacean) เช่น กุ้ง ปู มีความเกี่ยวข้องกับเมตาโบลิซึม (metabolism) ในร่างกายและมีอิทธิพลมาจากการเปลี่ยนแปลงจากสิ่งแวดล้อมภายนอก สิ่งเร้าจากภายในไปกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางให้เข้าสู่ระยะก่อนการลอกคราบ (premolt) ตามด้วยการเปลี่ยนแปลงปริมาณและคุณภาพของฮอร์โมน ร่วมด้วยปัจจัยจากภายนอกจึงก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเพื่อตอบสนองการกระทำของฮอร์โมนเพื่อกิจกรรมการลอกคราบ

3.1 ปัจจัยภายในร่างกาย (Endogeneous Factor)

ปัจจัยภายในที่มีความสำคัญและมีผลต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตได้แก่ ลักษณะทางพันธุกรรม ซึ่งมีผลต่อระบบฮอร์โมน (hormone) และกระบวนการสร้างและทำลายในร่างกายซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์ที่อยู่ในวัยอ่อน (juvenile) ส่วนใหญ่จะมีการใช้พลังงานซึ่งได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) เพื่อการเจริญเติบโตเป็นอันดับแรกก่อนที่จะมีการนำพลังงานที่เหลืออยู่ไปใช้ซ่อมแซมส่วนต่างๆ ที่สึกหรอภายในร่างกาย

ปัจจัยต่อมาได้แก่ความแตกต่างระหว่างเพศผู้และเพศเมีย เนื่องจากเพศเมียจะนำพลังงานส่วนหนึ่งไปใช้เพื่อการสร้างไข่และการสืบพันธุ์ในช่วงวัยเจริญพันธุ์ มีผลทำให้อัตราการเจริญของเพศเมียอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าในเพศผู้มาก ปัจจัยภายในสุดท้ายที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ได้แก่ การสูญเสียรยางค์ เมื่อสัตว์สูญเสียรยางค์ แทนที่จะใช้พลังงานเพื่อการเจริญเติบโตกลับต้องใช้พลังงานที่มีอยู่นำไปสร้างรยางค์ใหม่ (regeneration) ขึ้นมาแทนส่วนที่ขาดหายไป จึงทำให้สัตว์ที่มีการสูญเสียรยางค์ไปนั้นมีการเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่

การเริ่มต้นการลอกคราบขึ้นอยู่กับการสะสมของสารอินทรีย์ที่เพียงพอแล้ว จึงส่งข้อมูลให้ระบบประสาทส่วนกลางเริ่มทำงาน การอดอาหารหรือหยุดกินจะชะลอการลอกคราบที่ถูกควบคุมโดยระบบนี้รวมไปถึงการสั่งการเมื่อเกิดความจำเป็นเมื่อใช้อินทรียวัตถุที่สำรองไว้เพื่อประโยชน์ด้านอื่น เช่น การพัฒนาการของอวัยวะสืบพันธุ์ในฤดูผสมพันธุ์ สัตว์จำพวกครัสตาเซียนที่มีไข่ติดท้องจะหยุดการลอกคราบ ในทางตรงกันข้ามการสูญเสียรยางค์ส่วนต่าง ๆ จะกระตุ้นให้มีการลอกคราบเร็วขึ้นแม้สภาพแวดล้อมจะไม่เอื้ออำนวยก็ตาม รวมไปถึงการตัดก้านตาก็จะมีส่วนเร่งให้มีการลอกคราบเช่นกัน (Passano, 1960) ซึ่งควบคุมโดยระบบฮอร์โมน

3.2 ปัจจัยภายนอกร่างกาย (Exogeneous Factor)

3.2.1 อุณหภูมิ

โดยปกติกุ้งจะมีระยะเวลาลอกคราบภายใต้อุณหภูมิสูงสั้นกว่าที่อุณหภูมิต่ำ เนื่องจากขบวนการเมตาโบลิซึม จะมีผลโดยตรงต่ออุณหภูมิ พบว่าปูไข่จะหยุดการลอกคราบที่อุณหภูมิ 17-18 องศาเซลเซียส ปูนา จะหยุดการลอกคราบถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 34 องศาเซลเซียส และถ้าอุณหภูมิต่ำกว่าที่อยู่อาศัยก็จะไม่ลอกคราบเช่นเดียวกัน อุณหภูมิน้ำมีผลต่อการลอกคราบของปูทะเล โดยถ้าอุณหภูมิน้ำสูงขึ้น ก้านตาจะมีบทบาทจำกัดหรือเป็นตัวเร่งให้มีการลอกคราบหรือขยายเวลาการลอกคราบแต่ละครั้งออกไป ซึ่งหมายถึงกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ภายในร่างกายจะถูกเร่งให้เพิ่มขึ้นด้วย (Passano, 1960) โดยที่อุณหภูมิของน้ำทะเลที่ปูทะเลสามารถอาศัยอยู่ได้จะอยู่ในช่วง 12 – 35 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิน้ำต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส จะทำให้กิจกรรมต่างๆ ของปูทะเลโดยเฉพาะอย่างยิ่งการกินอาหารจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการเติบโต (ชลธี, 2539)

3.2.2 ความเข้มแสงและช่วงของแสง

ความเข้มแสงและช่วงแสงมีผลต่อการลอกคราบของครัสเตเซียน กล่าวคือ ถ้าได้รับแสงความเข้ม 10 ลักซ์ (lux) เป็นเวลานานจะทำให้ปูใช้ระยะเวลาการลอกคราบนานหลายเดือนถึงแม้ว่าจะมีการเลี้ยงเป็นอย่างดี นอกจากนี้เมื่อนำปูที่อยู่ในระยะก่อนการลอกคราบ (premolt) ที่อยู่ในสภาพมืดมาให้ได้รับแสงทันทีปูก็จะชะงักการลอกคราบ (Waterman, 1960) รวมทั้งระยะเวลาการได้รับแสงสว่างมีผลต่อการลอกคราบของปูทะเล (*S.*

serrata) เช่นกัน โดยปูทะเลเลี้ยงในสภาพที่มืดอยู่ตลอดเวลาจะใช้ระยะเวลาในการลอกคราบสั้นและมีปูทะเลที่ลอกคราบมีจำนวนสูงกว่ากลุ่มของปูทะเลที่ได้รับแสงตลอดเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแสงเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ตามปกติ (ชุดควบคุม) (บุญรัตน์, 2545) และการให้แสงที่ผิดปกติไปจากธรรมชาติมีผลยับยั้งต่อการเจริญเติบโตและลอกคราบในระยะซูเอีย โพสลาวา และระยะวัยรุ่นในกุ้ง *Palaemon elegans* (Dalley, 1980)

3.2.3 ความเค็มน้ำ

อิทธิพลของความเค็มน้ำนั้นมีผลกระทบโดยตรงต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำกร่อย เพราะเกี่ยวเนื่องกับขบวนการควบคุมเกลือแร่ (osmoregulation) ความเค็มน้ำมีผลต่อการลอกคราบของปูทะเล (*S. serrata*) กล่าวคือ ระยะเวลาที่ปูทะเลใช้ในการลอกคราบที่ระดับความเค็มน้ำ 5 และ 20 ppt จะใช้ระยะเวลาในการลอกคราบสั้นกว่าที่ระดับความเค็มน้ำ 32 ppt และขนาดความกว้างกระดองที่เพิ่มขึ้นหลังลอกคราบที่ระดับความเค็มน้ำ 20 และ 32 ppt มีมากกว่าที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt รวมทั้งอัตราการตายหลังลอกคราบที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt จะสูงที่สุด (บุญรัตน์, 2545)

ความเค็มมีอิทธิพลต่อการเจริญของลูกปูทะเล (*S. serrata*) ในระยะโซเอีย (Zoea stage) จะมีอัตราการรอดตายสูงเมื่ออยู่ที่ระดับความเค็มไม่ต่ำกว่า 17.5 ppt ลูกปูในระยะเมกาโลปา (Megalopa stage) มีอัตราการเจริญเติบโต 11-12 วัน เมื่ออยู่ในระดับความเค็ม 29-34 ppt แต่หากความเค็มลดลงอยู่ในช่วง 21-27 ppt ปูจะใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตเพียง 7-8 วัน แต่เมื่อลูกปูเข้าระยะที่เป็นตัวปู (crab stage) จะอาศัยอยู่ในระดับความเค็มช่วง 21-22 ppt ดีกว่า 25-26 ppt และ 30-31 ppt นอกจากนั้นสำหรับน้ำทะเลที่มีความเค็มต่ำปูทะเลจะมีการเจริญเติบโตได้ไม่ดีนัก เนื่องจากระบบควบคุมสมดุลเกลือแร่ (osmoregulation) และแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ภายในร่างกายไม่สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมของน้ำที่มีความเค็มที่ต่ำมาก ๆ ได้เป็นเวลานาน

3.2.4 ปริมาณอาหาร

อาหารเป็นปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่ง เนื่องจากอาหารเป็นแหล่งวัตถุดิบและแหล่งพลังงาน มีความจำเป็นต่อการลอกคราบของกุ้ง โดยที่ปริมาณอาหารที่ใช้บริโภคนั้นถ้ามีปริมาณสารอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการของปูทะเล จะมีผลทำให้ระยะเวลาในการลอกคราบนานขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจะลดลง

3.2.5 พีเอช

โดยทั่วไปแล้ว pH ของเลือดกุ้งมีค่าประมาณ 8.2 หากน้ำภายนอกเป็นกรด คาดว่าน่าจะมีผลทำให้เลือดปูมีสภาพเป็นกรดด้วย ขบวนการที่ก่อให้เกิดสภาพความเป็นกรดอ่อน ๆ ในระบบเลือดไม่ใช่เพียงแค่นี้ แต่อาจจะมีผลมาจากสภาพที่ขาดออกซิเจนที่ละลายน้ำหรือมีปริมาณลดลง (respiratory acidosis) หรือในกรณีมีกุ้งมีการเคลื่อนไหวมากเกินไปซึ่งต้องใช้พลังงานมากทำให้เกิดสภาวะเป็นกรดได้เช่นเดียวกัน (metabolic acidosis) ได้ ซึ่งสภาพเป็นกรดจะมีผลต่อการละลายแคลเซียมคาร์บอเนตจากเปลือกเก่ามาอยู่ในรูปของ Ca^{2+} และ HCO^{-}_{3} จึงทำให้มีปริมาณ Ca^{2+} และ HCO^{-}_{3} ในเลือดสูงขึ้น (Machado *et al.*, 1988) ไม่เพียงแต่ Ca^{2+} และ HCO^{-}_{3} ยังมีสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์อื่น ๆ ละลายเข้าสู่กระแสเลือดด้วย เพื่อมาสร้างสภาวะสมดุลในระบบเลือดให้เป็นกลาง จึงมีผลทำให้เกิดขบวน decalcification เร็วขึ้น หมายความว่าน่าจะส่งผลให้กุ้งรับรู้ถึงความพร้อมในการลอกคราบเร็วขึ้น ขณะที่น่าจะให้ผลในทางตรงกันข้ามหากน้ำภายนอกมีสภาพเป็นด่าง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. องค์ประกอบทางเคมีของเปลือก

โครงสร้างของเปลือกกุ้งหรือปู ประกอบด้วยเส้นใยโดยมี chitin-protein เป็นโครงสร้างหลัก (Glynn, 1968) โดยโปรตีนจะพบมากในชั้น epicuticle และส่วนของไคตินพบมากในชั้น exocuticle และ endocuticle (Travis, 1965; Vigh and Dendinger, 1982; Roer and Dillaman, 1984; Pratoomchat *et al.*, 2002b) ซึ่งสารตั้งต้นของไคตินก็คือคาร์โบไฮเดรต (Knowles และ Carlisle, 1956)

สารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญของเปลือกตลอดวงจรการลอกคราบคือ ไคติน อย่างไรก็ตามองค์ประกอบกลุ่มโปรตีนจะเพิ่มสูงช่วงหลังลอกคราบ ซึ่งเป็นการเพิ่มความแข็งแรง ในการสร้างชั้น epicuticle และ exocuticle หลังจากมีการลอกคราบใหม่ๆ ซึ่ง NaOH-protein มีความสำคัญต่อ sclerotization และ HCl-protein สำหรับช่วยเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเปลือกในลำดับต่อมา (Pratoomchat *et al.*, 2002a) โดยทั่วไปแล้วองค์ประกอบของเปลือกสัตว์ครัสเตเชียน ปูและกุ้งจะมีแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นองค์ประกอบหลัก และมีแมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม โปตัสเซียมเป็นองค์ประกอบรองลงมา ขณะที่มีไคตินเป็นองค์ประกอบหลักของสารอินทรีย์ โดยมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบรองลงมา

5. ความสำคัญของแร่ธาตุในอาหารกุ้ง

แร่ธาตุเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในโครงสร้างเปลือก และเนื้อเยื่อที่อ่อนนุ่ม (soft tissues) เช่น sulfer ในโปรตีน Zn ใน carboxypeptidase (metalloprotein) รวมทั้ง เป็นองค์ประกอบ cofactor และ หรือ activators ในเอนไซม์ หลายชนิด เช่น alkaline phosphatase, แร่ธาตุที่ละลายได้ดี (Ca, P, Na, K, และ Cl) จะทำหน้าที่ในระบบ osmoregulation สมดุลเกลือแร่ระหว่างร่างกายสัตว์กับสิ่งแวดล้อม) รวมทั้งบำรุงรักษาความสมดุลความเป็นกรดด่าง (acid-base balance) และความต่างศักย์ของเนื้อเยื่อ (membrane potential) นับว่ายังคงมีงานวิจัยน้อยมากที่เกี่ยวกับความต้องการแร่ธาตุ (dietary mineral requirements) ของครัสเตเชียนที่อาศัยในทะเล

จากการศึกษาพบว่าสารอนินทรีย์มีความสำคัญต่อการใช้ผสมในอาหารทั้งกึ่งบริสุทธิ์ (semi-purified diet) และอาหารที่ผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม พบว่าในอาหารกึ่งบริสุทธิ์ที่มีแร่ธาตุอุดมสมบูรณ์ (19.5% เถ้า) จะส่งผลให้กุ้ง *Penaeus japonicus* โตดีมาก และอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งวัยรุ่น *P. vannamei* จะลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่ปราศจากการเสริมเกลือแร่ (mineral supplement) อาจเป็นไปได้ว่าในอาหารมีแร่ธาตุไม่เพียงพอต่อความต้องการของครัสเตเชียน ถึงแม้ว่าสัตว์น้ำจะสามารถรับแร่ธาตุบางส่วนจากน้ำที่เลี้ยงก็ตาม

5.1 แร่ธาตุหลัก (Macro Mineral)

5.1.1 แคลเซียม (Calcium)

ปลาและกุ้ง สามารถดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดจากน้ำ เช่น แคลเซียม อาจจะพบการดูดซึมทั้งหมดหรือบางส่วนจากน้ำ (Desshimaru *et al.*, 1978 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) จึงไม่จำเป็นต้องเสริมแคลเซียมในอาหารเลี้ยงกุ้ง *P. vannamei* (Davis *et al.*, 1993 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) แต่บางครั้งพบว่าสัตว์น้ำ

อาจมีการขาดแคลเซียมเมื่อนำไปเลี้ยงในน้ำที่มีแคลเซียมต่ำ (Robinson *et al.*, 1984, 1986, 1987 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณแคลเซียมในอาหารจะมากน้อยเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับความปฏิสัมพันธ์ (interact) ระหว่างสารอาหารอื่น ๆ มากกว่าความต้องการแคลเซียมในอาหาร

5.1.2 ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

เนื่องจากในแหล่งน้ำธรรมชาติมีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำ (Boyd, 1981) การดูดซึมฟอสฟอรัสของสัตว์น้ำจากน้ำจืดหรือน้ำเค็มโดยทั่วไปยังมีไม่เพียงพอ ดังนั้นฟอสฟอรัสในอาหารสัตว์น้ำจึงมีความสำคัญ เบื้องต้นพบว่าครัสเตเชียนมีความต้องการฟอสฟอรัสในอาหาร 1-2 % (Kitabayashi *et al.*, 1971; Deshimaru และ Yone, 1978; Kanasawa *et al.*, 1984 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) ในกุ้ง *P. japonicus* สูงกว่าปลาซึ่งต้องการฟอสฟอรัสประมาณ 0.3-0.8% (National Research Council, 1993 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) ที่ต้องการสูงในกุ้งมีผลมาจากเนื่องจากกุ้งมีความจำเป็นต้องใช้ฟอสฟอรัสในการสร้างเปลือกตลอดวงจรการลอกคราบ Cazon (1982) อ้างโดย Davis และ Lawrence (1997) รายงานว่ากุ้งที่ให้หอยแมลงภู่ซึ่งมีฟอสฟอรัสต่ำ 0.7% เป็นอาหารจะมีผลทำให้การเจริญเติบโตลดลง สอดคล้องกับการใช้อาหารกึ่งบริสุทธิ์ที่มีระดับฟอสฟอรัส 0.41% และ 0.56% เลี้ยงกุ้ง *P. vannamei* และ *P. japonicus* จะทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง (Civera และ Guillanme, 1989 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) นอกจากนี้ความต้องการของฟอสฟอรัสในกุ้งยังขึ้นอยู่กับปริมาณแคลเซียมในอาหารอีกด้วย ดังการทดลองได้ใช้สัดส่วนระหว่างแคลเซียมและฟอสฟอรัส อัตราส่วน 0.56 ต่อ 1.10 จะทำให้กุ้งวัยรุ่น (*Hormarus americanus*) มีการเจริญเติบโตดีหากสัดส่วนเพิ่มเป็น 1.55 หรือมากกว่าจะมีผลทำให้การสร้างเปลือกชั้น endocuticle ผิดปรกติ โดยทั่วไปอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ได้ถูกแนะนำให้ใช้ในอาหารกุ้ง *P. japonicus* (Kitabayashi *et al.*, 1971; Kanazawa *et al.*, 1984 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) การเสริมแคลเซียม 0.34% ของฟอสฟอรัสจะยับยั้งการนำไปใช้ประโยชน์ของฟอสฟอรัสในกุ้ง (phosphorus availability) ดังนั้นระดับแคลเซียมที่ผสมในอาหารไม่ควรเกิน 2.3% การกำหนดการดูดซึมของฟอสฟอรัส (apparent phosphorus availability, APA) จากแหล่งวัตถุดิบหลายชนิดในกุ้งและการสูญเสียหรือเจือจางจากอาหารควรที่จะทำการประเมินแหล่งสารอาหารในเทอมของสารอาหาร เศรษฐศาสตร์ และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม Davis และ Arnold (1994) ใช้ chromic oxide เป็น markerในการพิจารณา APA ของ inorganic phosphorus และผลของการเติมแคลเซียมต่อ APA ในกุ้ง *P. vannamei* ปรากฏดังนี้ขณะที่ (Davis *et al.*, 1993 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997)

Calcium phosphate monobasic	46.3%
Calcium phosphate dibasic	19.1%
Calcium phosphate tribasic	9.9 %
Potassium phosphate monobasic	68.1%
Sodium phosphate monobasic	68.2%

ค่า APA ของอาหารที่ใช้ Sodium phosphate monobasic เป็นแหล่งฟอสฟอรัสจะถูกลด activity โดย calcium lactate (50% APA) แต่ไม่มีปัญหาที่ใช้ calcium carbonate (65.5% APA) หรือ calcium chrolide (68.2% APA) การปรากฏของ phytase จะไปยับยังการใช้แคลเซียมและฟอสฟอรัส เนื่องจากการเกิดสาร

ประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำในระบบย่อยอาหารในกุ้ง *P. japonicus* และ *P. vannamei* การใช้ประโยชน์ phytase อย่างไรก็ดีกุ้ง *P. japonicus* สามารถใช้ประโยชน์ phytase P ได้ถึง 47.3% และ 8.4% ในกุ้ง *P. vannamei* (Civera *et al.*,1990 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) การเติม phytase 1.5% ในอาหารจะทำให้ลดการใช้ฟอสฟอรัสและสังกะสีในกุ้ง ในกุ้ง *P. vannamei* (Davis *et al.* 1993b, อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997)

5.1.3 โซเดียม โปตัสเซียม และคลอไรด์ (Sodium, Potassium and Chrolide)

โซเดียม โปตัสเซียม และคลอไรด์ นับว่าเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อกระบวนทางสรีรวิทยา การแสดงอาการขาด โซเดียมและคลอไรด์ไม่เคยพบในปลา อย่างไรก็ตามพบว่าในปลา red drum (*Sciaenops ocellatus*) จะโตดีขึ้นเมื่อเติมโซเดียมคลอไรด์ในอาหาร เมื่อเลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มต่ำ (Holsapple, 1990 อ้างโดย Davis และ Lawrence, 1997) ถึงแม้ว่าประโยชน์ทางสรีรวิทยายังไม่ชัดเจนนัก แต่การเติมโซเดียมคลอไรด์ในอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโตในกุ้งที่เลี้ยงความเค็มต่ำแน่นอน

5.1.4 แมกนีเซียม (Magnesium)

แมกนีเซียม มีความสำคัญต่อกุ้งทะเลในแง่เป็นตัวที่ช่วยปรับสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกาย ความต่างศักย์ของเนื้อเยื่อ การสร้างเปลือก และการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด เป็นแร่ธาตุที่พบปริมาณสูงในน้ำทะเล (1,350 mg/l) โดยทั่วไปแล้วกุ้งและปูที่ดำรงชีวิตอยู่ในทะเลจะพยายามขับแมกนีเซียมออกจากร่างกายเพื่อให้มีความเข้มข้นต่ำกว่าน้ำภายนอก ดังนั้นจึงเป็นข้อเท็จจริงที่ว่ากุ้งทะเลที่เลี้ยงในน้ำความเค็มสูงอยู่แล้วจะไม่ขาดแร่ธาตุชนิดนี้ อย่างไรก็ดีพบว่ากุ้งขาวแวนาเม (*P. vannamei*) จะมีการเจริญเติบโตดีที่สุดหากมีการเสริมแมกนีเซียม 1.2 g/Kg ในอาหาร แต่จะมีการเริญเติบโตลดน้อยลงหากมีในอาหารมากเกิน 0.4 g/Kg สรุปได้ว่าในอาหารควรมีแมกนีเซียมอยู่ในระดับ 0.25-4 g /Kg จะส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของกุ้งทะเล (Davis และ Lawrence, 1997)

5.2 แร่ธาตุรอง (Micro Mineral)

5.2.1 ทองแดง

เนื่องจากทองแดงมีปริมาณต่ำมากในน้ำทะเล จึงทำให้กุ้งได้รับไม่เพียงพอต่อความต้องการต่อขบวนการทางสรีระเคมี เพื่อก่อให้เกิดการเจริญเติบโตสูงสุด การสร้างเนื้อเยื่อจากการสะสมแร่ธาตุ (tissue mineralization) และ enzyme activity อีกทั้งกุ้งต้องใช้ทองแดงเพื่อเป็นองค์ประกอบของ haemocyanin เพื่อเป็น respiratory pigments หากขาดทองแดง จะพบปริมาณทองแดงต่ำในเปลือกส่วนหัวกุ้ง เลือด ตับ และหัวใจ พบว่าการเจริญเติบโตของกุ้งขาว *P. vannamei* จะลดลงหากมีปริมาณทองแดงต่ำกว่า 34 mg kg ในอาหาร semi-purified diets (Davis และ Lawrence, 1997)

5.2.2 เหล็ก

ธาตุเหล็กมีความสำคัญต่อ lipid oxidation อาการขาดในกุ้งไม่ค่อยพบมากนักในกุ้ง หากมีมากเกินไปจะมีผลเสียทำให้การเจริญเติบโตลดลง ซึ่งเคยพบในกุ้ง *P. japonicus* เนื่องจากไปเพิ่ม lipid oxidation และไปลดความเสถียรของ ascorbic acid โดยทั่วไปแล้วไม่จำเป็นต้องเสริม (Davis และ Lawrence, 1997)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5.2.3 ไอโอดีนและแมงกานีส

โดยทั่วไปแล้วไม่ค่อยได้ทำการประเมินถึงความจำเป็นของไอโอดีนต่อสรีรวิทยาของกุ้ง การเสริมปริมาณไอโอดีน 1 mg kg ในอาหาร จึงน่าที่จะเพียงพอที่ไม่ทำให้กุ้งมีอาการขาด ขณะทีปริมาณแมงกานิสในน้ำทะเลมีค่าต่ำมาก (0.01 mg/l) อีกทั้งขบวนการนำแมงกานิสไปใช้ประโยชน์ในร่างกายยังถูกยับยั้งด้วย phytic acid การเสริมในอาหารจึงเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณา อาการขาดแมงกานิสจะทำให้โตช้า การพัฒนาของเปลือกผิดปกติ ลูกวัยอ่อนตายสูง และอัตราการฟักจะต่ำ (Davis และ Lawrence, 1997)

5.2.4 ซิลีเนียม

ซิลีเนียมเป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ glutathion peroxidase ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะทำหน้าที่เปลี่ยน hydrogen peroxide ไปเป็นน้ำ และlipid hydroperoxides ไปเป็น lipid alcohols และช่วยป้องกันเซลล์จากการทำลายของ peroxidase ร่วมกับไวตามินอีทำหน้าที่ antioxidant เพื่อป้องกัน polyunsaturated phospholipids ใน cellular membranes จากการทำลายของ peroxidative อาการขาดซิลีเนียมคือทำให้การพัฒนาของเปลือกผิดปกติ พบว่ากุ้ง juvenile *P. vannamei* จะโตดีที่สุดหากมีการเสริมซิลีเนียมลงไป 0.2-0.4 mg /kg อย่างไรก็ดีในอาหารสำเร็จรูปจะพบว่ามีปริมาณเพียงพอหากใช้ปลาป่นเป็นส่วนประกอบมากกว่า 15% และควรระมัดระวังที่ต้องเสริมซิลีเนียมเกิน 0.3 mg/kg เนื่องจากมีแนวโน้มเป็นพิษ (Davis และ Lawrence, 1997)

5.2.5 สังกะสี

ซิลีเนียมเป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ glutathion peroxidase ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะทำหน้าที่เปลี่ยน hydrogen peroxide ไปเป็นน้ำ และlipid hydroperoxides ไปเป็น lipid alcohols และช่วยป้องกันเซลล์จากการทำลายของ peroxidase ร่วมกับไวตามินอีทำหน้าที่ antioxidant เพื่อป้องกัน polyunsaturated phospholipids ใน cellular membranes จากการทำลายของ peroxidative อาการขาดซิลีเนียมคือทำให้การพัฒนาของเปลือกผิดปกติ เพื่อทำให้ขบวนการสร้างเนื้อเยื่อเป็นไปได้อย่างปกติในกุ้ง *P. vannamei* จึงควรมีสังกะสี 33 mg /kg ในอาหาร การนำธาตุนี้จากอาหารมาใช้ประโยชน์ได้ต่ำ การเสริมจึงมีความจำเป็น อีกทั้งการนำสังกะสีไปใช้ประโยชน์ในร่างกายยังมีความสัมพันธ์ตรงกันข้ามกับปริมาณของ tricalcium phosphate และ phytase ก็ยังไปลดการนำไปใช้ของสังกะสีอีกทางหนึ่งด้วย (Davis และ Lawrence, 1997)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 3
วิธีการทดลอง

1. ศึกษาสรีรเคมีในเปลือกกุ้งกุลาดำที่มีเปลือกไม่สมบูรณ์จากบ่อเลี้ยงแบบพัฒนาที่น้ำความเค็มต่ำ

1.1 การรวบรวมกุ้งกุลาดำ และการตรวจสอบระยะลอกคราบ

ทำการรวบรวมกุ้งกุลาดำที่มีลักษณะของเปลือกไม่สมบูรณ์จากบ่อเลี้ยงแบบพัฒนาที่ความเค็มต่ำ ประมาณ 1-5 ppt อายุ 3-4 เดือน ขนาดประมาณ 10-20 กรัม จำนวน 200 ตัว อย่างไรก็ตามต้องทำการตรวจสอบระยะการลอกคราบจากบริเวณปลายแพนหาง (uropods) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ประกอบด้วยเพื่อเป็นการยืนยันว่าไม่เป็นกุ้งเพิ่งผ่านการลอกคราบมา

1.2 วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี (รายละเอียดดังข้อ 2.9-2.11)

2 ศึกษาผลของการใช้แร่ธาตุเสริมในอาหารกุ้งกุลาดำต่อสรีรเคมีในน้ำเลือดและเปลือกของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ร่วมกับการเสริมแร่ธาตุในอาหารในบ่อซิเมนต์

2.1 การรวบรวมและการเตรียมกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง

รวบรวมกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงระบบพัฒนาอายุประมาณ 3 เดือน ความยาวเฉลี่ย 10 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 13 กรัม ที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง จากบ่อเลี้ยงระบบพัฒนา จำนวน 960 ตัว

2.2 การเตรียมบ่อเลี้ยง

2.2.1 ล้างและแช่บ่อซีเมนต์ด้วยคลอรีน (Cl) ระดับความเข้มข้น 50-100 ppm ทิ้งไว้ 1 คืน

2.2.2 ล้างบ่อด้วยน้ำสะอาดอีกครั้งหนึ่ง

2.3 การเตรียมน้ำใช้เลี้ยง

วัดความเค็มน้ำที่บ่อพักน้ำเค็ม แล้วปรับด้วยน้ำจืดให้ได้ความเค็มที่ระดับ 0.5, 10, 20 และ 30 ส่วนในพันส่วน ในบ่อซีเมนต์ที่เตรียมไว้

2.4 การวางแผนการทดลอง

การทดลองแบ่งออกได้เป็น 12 ชุดการทดลองแบบ Computely Randmized Design (CRD) ตามระดับความเค็มน้ำ 0.5, 10, 20 และ 30 ppt และระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุที่เพิ่มในอาหารสำเร็จรูป 1%,

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3% และที่ไม่ได้เพิ่มแร่ธาตุ โดยสุ่มกุ้งกุลาดำลงบ่อเพื่อทำการทดลองความหนาแน่น 80 ตัว/บ่อ จากนั้นทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 15 วัน

2.5 การเลี้ยงและการให้อาหาร

ให้อาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คืออาหารสำเร็จรูปเสริมแร่ธาตุ 1%, 3% และไม่เสริมแร่ธาตุ โดยอาหารสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลองมีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 38% ไขมันไม่ต่ำกว่า 5% ความชื้นไม่มากกว่า 11 % กากไม่มากกว่า 3%และแร่ธาตุที่นำมาเสริมในอาหารสำเร็จรูปประกอบด้วย

แร่ธาตุหลัก

Calcium (Ca)	21.57	%
Phosphorus (P)	12.45	%
Potassium (K)	8.51	%
Magnesium (Mg)	4.75	%
Sodium (Na)	1.58	%
Chloride (Cl)	2.63	%
Sulfur (S)	0.045	%

แร่ธาตุรองในรูปของคีเลตอัตราส่วนของธาตุต่อกรดอะมิโนเท่ากับ 1:1

Iron (Fe)	0.098	%
Copper (Cu)	0.140	%
Cobalt (Co)	0.010	%
Zinc (Zn)	0.370	%
Selenium (Se)	0.001	%
Manganese (Mn)	0.040	%
Molibdenum (Mo)	0.005	%
Aluminium (Al)	0.025	%
Iodide (I)	0.003	%

โดยชั่งเกลือแร่มา 20 กรัม และ 60 กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงนำไปฉีดพ่นอาหารให้ทั่ว เพื่อเตรียมอาหารที่มีเกลือแร่ 1% และ 3% ตามลาดับ ตากทิ้งไว้ให้แห้ง 1 คืน แล้วฉีดพ่นสารประกอบไคโตซาน เพื่อทำการเคลือบเม็ดอาหาร ตากทิ้งไว้จนแห้ง ประมาณ 1 วัน จากนั้นจึงเก็บใส่ถุง ส่วนอาหารควบคุม ทำการนำอาหารสำเร็จรูปมาฉีดพ่นเคลือบเม็ดอาหารด้วยสารประกอบไคโตซาน ตากทิ้งไว้จนแห้ง ประมาณ 1 วัน จากนั้นจึงเก็บใส่ถุง

ในแต่ละระดับความเค็มน้ำ โดยจะให้ 5% ของน้ำหนักตัว โดยแบ่งให้ 6 ชั่วโมงต่อครั้ง ดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณ 50 % ทุกวัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.6 การตรวจสอบคุณภาพน้ำ

ในระหว่างการทดลองทำการวัดคุณภาพน้ำทุก 2 วัน ได้แก่ อุณหภูมิ, ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (D.O.), pH, Conductivity ด้วยเครื่องมือวัดคุณสมบัติของน้ำ (YSI Incorporated model # 85/10) ไนไตรท์และแอมโมเนีย ด้วยเครื่องมือวัดไนไตรท์และแอมโมเนีย (C203 Multiparameter Ion Specifie Meter)

2.7 การเก็บตัวอย่างเลือดกุ้งกุลาดำ

2.7.1 คัดเลือกกุ้งที่มีระยะลอกคราบ C, D0, D1 มาจำนวนเท่า ๆ กันในแต่ละการทดลอง

2.7.2 ทำการดูดเลือดกุ้งกุลาดำโดยใช้เข็ม เบอร์ 21 Tuberculin ขนาด 1.0 มิลลิลิตร แทงลงผ่านเยื่อใต้เปลือกคลุมหัว (carapace)

2.7.3 นำเลือดเก็บไว้ใน Eppendroff โดยผสม 10% tri- sodium citrate เพื่อกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) ลงไปในอัตราส่วน 1: 1 (ใช้เลือด 0.7 มิลลิลิตร : 10% tri- sodium citrate 0.7 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากัน

2.8 การเตรียมพลาสมาของกุ้งกุลาดำ

2.8.1 นำเลือดกุ้งที่ผสม 10% tri- sodium citrate (ข้อ 2.7.2) ไปปั่นเพื่อให้ตกตะกอนด้วยเครื่อง microcentrifuge เพื่อให้ตกตะกอนรวมตัวกันที่ก้นหลอดด้วยแรงเหวี่ยง 14,000 g ที่ อุณหภูมิ 4°C นาน 20-25 นาที

2.8.2 ดูดของเหลวส่วนบน (supernatant) ซึ่งก็คือพลาสมาปริมาตร 1 มิลลิลิตรเก็บไว้ใน eppendroff ใหม่เพื่อใช้เป็นตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ต่อไป และอีกส่วนหนึ่งเพื่อไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอมิโนไกลแคน

2.9 การวัดปริมาณของธาตุในพลาสมาและในเปลือก

ใช้ autopipette ขนาด 1,000 ไมโครลิตร ดูดตัวอย่างพลาสมากุ้งกุลาดำใส่ cup โดยด้านล่างหุ้มด้วย prolene film แล้วนำไปวัดปริมาณของธาตุโซเดียม คลอรีน โปแตสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส แมงกานิส ทองแดง ซัลเฟอร์ และด้วยเครื่อง X- ray fluorescent spectrophotometer Oxford ED ^{2000} ตามวิธีการของ Pratoomchat et al. (2002) จะได้ปริมาณของแร่ธาตุต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นมีหน่วยเป็น mg/l แล้วนำมาคำนวณเปลี่ยนหน่วยให้เป็น mmol/l

หลังจากเก็บเลือดแล้ว จึงทำการแกะเปลือกปูทะเลแต่ละตัวของแต่ละการทดลอง นำมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ นำเปลือกที่ล้างแล้วไปอบในตู้อบด้วยอุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเปลือกที่อบแล้วมาชั่งรอบแรก บันทึกน้ำหนัก แล้วนำไปชั่งต่ออีก 2 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักแห้งคงที่ นำเปลือกกุ้งแต่ละตัวที่อบแห้ง (คราบ) แล้วมาบดในโกร่งบด (ceramic mortar)ให้ละเอียด แล้วนำไปบดผ่านผ้ากรองขนาด 150 µm. แล้วนำไปชั่งให้ได้ 1 กรัม เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุด้วยเครื่อง X- ray fluorescent spectrophotometer ED^{2000}ต่อไป โดยเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (Deccicator)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.10 การเก็บเลือดกุ้งเพื่อวัดออสโมลาลิตี้ (Osmolality)

คัดเลือกกุ้งที่มีระยะลอกคราบ C, D0, D1 จำนวนเท่า ๆ กันจากแต่ละกาทดลองมาทำการดูดเลือดกุ้งกุลาดำโดยใช้เข็ม เบอร์ 21 Tuberculin ขนาด 1.0 มิลลิลิตร แทงลงผ่านเยื่อใต้เปลือกคลุมหัว (carapace) จากนั้นใช้ไมโครปิเปต 100 µl ดูดเลือดใส่ Eppendroff แล้วนำไปวัดระดับ osmolality ด้วยเครื่อง Freezing point osmometer (Slamed 1000) จะได้ความเข้มข้นของเลือดซึ่งมีหน่วยเป็น mOsm/kg.H_2O

2.11 การวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสมิโนไกลแคน

2.11.1 โปรตีน

การวิเคราะห์โปรตีนได้ดัดแปลงจากวิธีของ Lowry (Lowry *et al.*, 1951)

ก) เตรียม Stock Solution โดยใช้ Bovine Serum Albumin 2.5 mg ในน้ำกลั่น 5.0 ml (เตรียมในวันที่ทำการวัด)

ข) เตรียมตัวอย่าง (3 ซ้ำ) โดยใช้พลาสมาของเลือดกุ้งกุลาดำ 35 µl เติมน้ำกลั่น 8,965 µl (เป็นการ dilute พลาสมา 256 เท่า) แล้วใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 2 ml

ค) เตรียม blank (เตรียมเช่นเดียวกับตัวอย่าง) แต่ใช้น้ำกลั่น(ผสม tri-sodium citrate) แทนพลาสมาของเลือดกุ้งกุลาดำ แล้วใส่หลอดทดลองหลอดละ 2 ml เช่นกัน

ง) ในแต่ละหลอด (ในข้อ ก-ค) เติมสารละลาย C 4.0 mlหลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที เติม Folin Reagent 0.4 ml แล้วเขย่าทันที (ด้วย Vortex Mixer)

จ) เก็บหลอดทดลองไว้ในที่มืดนาน 30 นาที จึงนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 nm

สารละลาย

สารละลาย A ; 2 % Na_2CO_3 ในน้ำกลั่น

สารละลาย B ; 0.5 % $CuSO_4.5H_2O$ ใน 1 % sodium tatrate

การเตรียมสารละลาย C (สารละลาย A : สารละลาย B = 50:1)

หมายเหตุ

สารละลาย B , สารละลาย C และFolin Reagent ต้องเตรียมในวันที่ทำการวัด

2.11.2 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตดัดแปลงจากวิธีของ Dubois (Dubois *et al.*, 1965)

ก) เตรียม Stock Solution โดยใช้กลูโคส 2.5 mg ในน้ำกลั่น 5.0 ml (เตรียมในวันที่ทำการวัด) เพื่อทำกราฟมาตรฐาน (Standard Curve)

ข) เตรียมตัวอย่าง (3 ซ้ำ) โดยใช้พลาสมาของเลือดกุ้งกุลาดำ 200 µl เติมน้ำกลั่น 800 µl (เป็นการ dilute พลาสมา 4 เท่า) แล้วใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 1 ml

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ค) เตรียม blank (เตรียมเช่นเดียวกับตัวอย่าง) แต่ใช้น้ำกลั่น (ผสม tri-sodium citrate) แทนพลาสมาของเลือดกุ้งกุลาดำ แล้วใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 1 ml เช่นกัน

ง) ในแต่ละหลอด (ในข้อ ก-ค) เติมสารละลาย phenol 25 µl

จ) หลังจากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2.5 ml (เนื่องจากปฏิกริยาจะเกิดรุนแรงจึงค่อยๆ หยดลงที่ผิวหน้าของของเหลว)

ฉ) เขย่าหลอดทันทีโดยใช้ Vortex Mixer แล้วพักทิ้งไว้นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

ช) เขย่าหลอดอีกครั้งโดยใช้ Vortex Mixer แล้วพักทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที หรือ มากกว่านั้นจนกว่าสีจะคงที่

ซ) นำสารละลายที่ได้ไปทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

2.11.3 ไกลโคสอมิโนไกลแคน (Glycosaminoglycan)

การวิเคราะห์ไกลโคสอมิโนไกลแคนได้ดัดแปลงจากวิธีการของ Whiteman (Whiteman *et al.*, 1973)

ก) เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยนำ chondroitin sulfate เพื่อทำกราฟมาตรฐาน (Standard Curve)

ข) เตรียมตัวอย่าง (3 ซ้ำ) โดยใช้พลาสมากุ้งกุลาดำ 30 µl เติมน้ำกลั่น 600 µl (เจือจาง 30 เท่า) แล้วใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 200 µl

ค) เตรียม Blank (เตรียมเช่นเดียวกับตัวอย่าง) แต่ใช้น้ำกลั่น (ผสม tri-sodium citrate)แทนพลาสมาของเลือดกุ้งกุลาดำ แล้วใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 200 µl เช่นกัน

ง) เติม precipitating solution 4 ml ลงในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง

จ) นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5000 g เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ตกตะกอนรวมกันที่ก้นหลอด

ฉ) เทส่วน supernatant ทิ้ง แล้วคว่ำหลอดบนกระดาษซับ เติม ethanol 8 ml เขย่าทันที เพื่อให้ตะกอนละลาย โดยใช้ Vortex Mixer

ช) นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งด้วยความเร็ว 5000 g นาน 15 นาที เทส่วน supernatant ทิ้ง แล้วคว่ำหลอดบนกระดาษซับ

ซ) เติม SDS solution 4 ml ลงไป เขย่าหลอดทันที เพื่อให้ตะกอนละลาย โดยใช้ Vortex Mixer

ฌ) ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 678 nm ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

สารละลาย

โซเดียมอะซีเตต 0.5 M (pH=5.8)

แมกนีเซียมคลอไรด์ 2 M

Alcian blue 8GX-300 1 %

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Sodium dodecyl sulfate 7.5 %

หมายเหตุ

การเตรียม precipitating solution ควรเตรียมวันที่ทำการทดลอง

3 ศึกษาผลของการใช้แร่ธาตุเสริมในอาหารกุ้งกุลาดำต่อการลอกคราบ การเจริญเติบโต คุณภาพเปลือกของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำระดับความเค็มน้ำแตกต่างกันในบ่อซิเมนต์

3.1 สัตว์ทดลอง

ในการทดลองครั้งนี้ได้นำกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงแบบพัฒนาที่ความเค็ม3-5 ppt อายุประมาณ 3 เดือน ขนาดความยาวเฉลี่ย 10 เซนติเมตร จำนวน 900 ตัว มาทำการปรับสภาพกุ้งตามระดับความเค็มน้ำ 5, 10, 20 และ 30 ppt

3.2 การเตรียมน้ำ

เตรียมน้ำทะเลลงบ่อพักน้ำที่เตรียมไว้ วัดความเค็มแล้วปรับความเค็มด้วยน้ำจืดให้ได้ระดับความเค็มน้ำที่ระดับ 5,10,20 และ 30 ppt ทำการให้อากาศตลอดเวลา

3.3 ชุดการทดลอง

แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 12 ชุดการทดลอง ตามระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ได้แก่ 5,10,20 และ 30 ppt และระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุที่เพิ่มในอาหารสำเร็จรูป 2ระดับ ได้แก่ 1% , 3% และที่ไม่ได้เพิ่มแร่ธาตุในอาหาร โดยแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ (สูตรอาหารดังข้อ 2.5)

3.4 การเลี้ยงและการให้อาหาร

ทุกชุดการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ขนาด 1x1x1 ลูกบาศก์เมตร ระดับน้ำสูง 60 เซนติเมตรใส่หัวทราย 2 จุดบริเวณกลางบ่อ จำนวนบ่อละ 25 ตัว (ทุกตัวมีการติดหมายเลข) นำท่อ PVC มาทำเป็นที่หลบซ่อนให้กุ้งกุลาดำในแต่ละบ่อ ให้อาหาร 5% ของน้ำหนักตัวกุ้งวันละ 4 ครั้ง ทำการดูดตะกอนทุกวันและทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50% ทุกวัน

3.5 การตรวจสอบคุณภาพน้ำ

ทำการสุ่มวัดคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงก่อนและหลังถ่ายน้ำโดยวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ pH อุณหภูมิ ไนไตรท์ และแอมโมเนียตลอดการเลี้ยง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.6 การบันทึกข้อมูล

ระหว่างการทำการทดลองทุกๆ วัน ทำการบันทึกผลการลอกคราบของกุ้งแต่ละตัว ระยะเวลาที่ใช้ลอกคราบ จำนวนกุ้งตายและลักษณะที่ตาย ขนาดความยาวที่ยาวขึ้นหลังการลอกคราบ ตรวจคุณภาพจากลักษณะทางกายภาพโดยการดูความแข็งแรง ความขรุขระของผิวเปลือกกุ้ง สีของเปลือกกุ้ง และความวาวของเปลือกกุ้ง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของจำนวนกุ้งที่ทำการตรวจวัด

4. ศึกษาผลของการใช้แร่ธาตุเสริมในอาหารกุ้งกุลาดำต่อสรีรเคมีในน้ำเลือดและเปลือกของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำที่ให้อาหารเสริมแร่ธาตุในบ่อดินแบบพัฒนา

4.1 การเตรียมบ่อเลี้ยง

บ่อดินสำหรับเลี้ยงกุ้งขนาด 4 ไร่ ที่อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม จำนวน 6 บ่อ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ เลี้ยงกุ้งที่ความหนาแน่น 50 ตัว/ตารางเมตร

4.2 การวางแผนการทดลอง

การทดลองแบ่งออกได้เป็น 3 ชุดการทดลองแบบ Completly Randomized Design (CRD) ตามระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุที่เพิ่มในอาหารสำเร็จรูป 1%, 3% และที่ไม่ได้เพิ่มแร่ธาตุ ของการเลี้ยงกุ้งในน้ำความเค็มต่ำ 2.5 ppt

4.3 การเลี้ยงและการให้อาหาร

ให้อาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คืออาหารสำเร็จรูปเสริมแร่ธาตุ 1%, 3% และไม่เสริมแร่ธาตุ โดยจะให้ 5% ของน้ำหนักตัว โดยแบ่งให้ 5 ชั่วโมงต่อครั้ง สำหรับอาหารที่ใช้เลี้ยงเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 2.5

4.4 การรวบรวมและการเตรียมกุ้งกุลาดำที่ใช้ในการทดลอง

รวบรวมกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงระบบพัฒนาอายุประมาณ 3 เดือน ความยาวเฉลี่ย 10 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 13 กรัม ที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง จำนวน 200 ตัว/ซ้ำ เพื่อมาเก็บเลือดและเปลือกเพื่อทำการศึกษาข้อมูลทางสรีระเคมีต่อไป

4.5 การตรวจสอบคุณภาพน้ำ

ในระหว่างการทดลองทำการวัดคุณภาพน้ำทุก 2 วัน ได้แก่ อุณหภูมิ, ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (D.O.), pH, Conductivity ด้วยเครื่องมือวัดคุณสมบัติของน้ำ (YSI Incorporated model # 85/10) ไนไตรท์และแอมโมเนีย ด้วยเครื่องมือวัดไนไตรท์และแอมโมเนีย (C203 Multiparameter Ion Specifie Meter)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

4.6 การเก็บตัวอย่างเลือด การเตรียมพลาสมา และการวัดองค์ประกอบทางเคมีในเลือดและเปลือกกุ้งกุลาดำ

ปริมาณของธาตุในพลาสมาและในเปลือก การวิเคราะห์โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสมิโนไกลแคน ในพลาสมา การวัดออสโมลาลิตี้ (Osmolality)ของเลือด ตามข้อ 2.7-2.11

5. การเปลี่ยนแปลงออสโมลาลิตี้ (Osmolality)ในเลือดกุ้งที่ปรับสภาพความเค็มน้ำ

5.1 คัดเลือกกุ้งกุลาดำขนาด 10 กรัม ความยาว 8 เซนติเมตร อายุ 4 เดือน ที่มีระยะลอกคราบ C, D0, D1 มาเลี้ยงในถังโดยทำการปรับความเค็มน้ำจาก 0.1-40 ppt ภายใต้การปรับสภาพความเค็มน้ำช่วง 0.1-45 ส่วนในพัน ทำการปรับความเค็มน้ำเพิ่มหรือลดในอัตราชั่วโมงละ 1 ppt ยกเว้นการลดลงระหว่าง 2-0.1 ppt จะลดลงชั่วโมงละ 0.5 ppt วัดระดับ osmolality ด้วยเครื่อง Freezing point osmometer (Slamed 1000)

5.2 ทำการดูดเลือดกุ้งกุลาดำโดยใช้เข็ม เบอร์ 21 Tuberculin ขนาด 1.0 มิลลิลิตร แทงลงผ่านเยื่อใต้เปลือกคลุมหัว (carapace) จากนั้นใช้ไมโครปิเปต 100 µl ดูดเลือดใส่ Eppendroff แล้วนำไปวัดระดับ osmolality ด้วยเครื่อง Freezing point osmometer (Slamed 1000) จะได้ความเข้มข้นของเลือดซึ่งมีหน่วยเป็น mOsm/kg.H_2O

5.3 นำข้อมูลที่ได้มาทำการเขียนกราฟเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างออสโมลาลิตี้ของน้ำภายนอกและในเลือดกุ้งกุลาดำ

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลจำนวนกุ้งกุลาดำที่ลอกคราบ ระยะเวลาที่ลอกคราบ ขนาดความยาวที่ยาวขึ้นหลังการลอกคราบ อัตราการตายในแต่ละชุดการทดลองในสภาพต่าง ๆ ความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตที่ได้ในเลือด ธาตุโซเดียม คลอรีน โปแตสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส กำมะถัน ทองแดง และแมงกานีส ในเลือดและเปลือก ของปูที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่าง ๆ มาวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of variance) มาวิเคราะห์หาความแปรปรวนระหว่างกลุ่มด้วย Two-way ANOVA และนำมาหาค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้วิธี Duncan New' Multiple Rang Test ด้วย โปรแกรม SPSS

190659

บทที่ 4
ผลการทดลอง

1.ผลของการใช้แร่ธาตุเสริมในอาหารกุ้งกุลาดำต่อสรีรเคมีในน้ำเลือดและเปลือกของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ร่วมกับการเสริมแร่ธาตุในอาหารในบ่อซิเมนต์

1.1 เลือด

1.1.1 ค่าออสโมลาลิตี้

จากการตรวจสอบค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งและน้ำภายนอกระหว่างกุ้งที่ทำการเลี้ยงในน้ำความเค็มแตกต่างกันด้วยการเสริมแร่ธาตุและไม่เสริมในสภาพบ่อทดลอง พบว่าค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งและน้ำภายนอกของกุ้งที่ได้รับเกลือแร่เสริม 1% และ 3 % จะมีค่าสูงกว่าเมื่อกุ้งที่ไม่ได้กินอาหารผสมเกลือแร่ ยกเว้นที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt (ตารางที่ 1 และรูปที่ 1)โดยพบมีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มน้ำ 1-10 ppt และลดลงใกล้เคียงกับการให้เสริมที่ 1 % เมื่อเลี้ยงที่ความเค็ม 20 ppt ขณะที่ภายใต้ระดับความเค็ม 30 ppt กุ้งชุดควบคุมให้ค่าสูงกว่าชุดให้เกลือแร่ทั้ง 2 ระดับ (ตารางที่ 1 และรูปที่ 1)

1.1.2 แคลเซียม

ความเค็มน้ำไม่มีผลต่อระดับแคลเซียมในเลือด โดยการเสริมเกลือแร่ 1% เลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มน้ำ 0.5 ppt มีผลทำให้ระดับแคลเซียมในเลือดสูงขึ้นและสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ขณะที่การเสริมเกลือแร่ไม่มีผลต่อระดับแคลเซียมในเลือดหากเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10 และ 20 ppt ขณะที่การเสริมเกลือแร่จะมีผลทำให้ระดับแคลเซียมในเลือดลดน้อยลง หากเลี้ยงกุ้งในน้ำความเค็ม 30 ppt (รูปที่ 2)

1.1.3 แมกนีเซียม

การเลี้ยงกุ้งช่วงความเค็มน้ำ 0.5 – 20 ppt นั้น การเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้แมกนีเซียมในเลือดมีค่าสูงขึ้น โดยกุ้งที่เสริมเกลือแร่ 3% มีปริมาณแมกนีเซียมสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ขณะที่การเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็ม 30 ppt การเสริมเกลือแร่ 1 % จะส่งผลให้มีระดับแมกนีเซียมในเลือดสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 3)

1.1.4 โปแตสเซียม

การเปลี่ยนแปลงของโปแตสเซียมในเลือดไม่มีอิทธิพลมาจากความเค็มน้ำ การเสริมเกลือแร่ในกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำกลับส่งผลให้ปริมาณโปแตสเซียมลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่หากเลี้ยงกุ้งในน้ำความเค็ม 10 ppt แล้วการเสริมเกลือแร่ 1 % ส่งผลให้โปแตสเซียมมีระดับสูงสุดในเลือดและสูงกว่ากลุ่มควบคุมและการเสริมเกลือแร่ 3% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และการเสริมเกลือแร่มากขึ้นส่งผลให้โปแตสเซียมเพิ่มมากขึ้นในน้ำ ความเค็มสูง 30 ppt (รูปที่ 4)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบออสโมลาลิตี้ของเลือด และสัดส่วนของค่าออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดกุ้งกับน้ำภายนอกของกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารผสมเกลือแร่และไม่ผสมเกลือแร่ ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 5 ระดับ

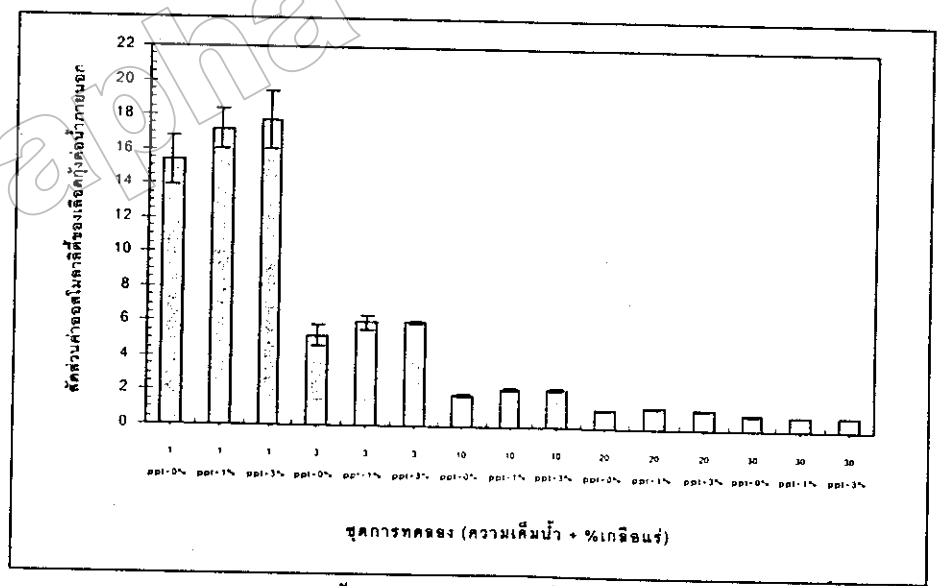
ชุดการทดลอง ความเค็มน้ำ ppt + (% เกลือแร่)	ออสโมลาลิตี้ของน้ำ (mosm)	ออสโมลาลิตี้ของเลือด (mosm)	สัดส่วนออสโมลาลิตี้ (เลือด:น้ำ)
1 + (0)	34	523 ±48	15.39 ±1.42 [b]
1 + (1)	32	550 ±37	17.19 ±1.16 [ab]
1 + (3)	29	515 ±48	17.74 ± 1.67 [a]
3 + (0)	94	491 ±56	5.23 ±0.59 [b]
3 + (1)	90	539±38	5.99 ± 0.42 [a]
3 + (3)	89	535 ±16	6.02 ±0.07 [a]
10 + (0)	330	529 ±26	1.87 ±0.08 [b]
10 + (1)	315	565 ±30	2.21 ± 0.10 [a]
10 + (3)	320	620 ±31	2.23 ±0.10 [a]
20 + (0)	590	552 ±26	1.11 ± 0.04 [b]
20 + (1)	583	657 ±28	1.29 ±0.05 [a]
20 + (3)	576	544 ±37	1.18 ±0.07 [a]
30 + (0)	842	653 ±19	0.89 ± 0.02 [a]
30 + (1)	883	651 ±28	0.85 ±0.03 [a]
30 + (3)	884	620 ±13	0.83 ±0.02 [a]

Mean ± S.E (n=10-20)

*ค่าทางสถิติเปรียบเทียบภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ

อักษรที่เหมือนกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรที่ต่างกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



รูปที่ 1 เปรียบเทียบสัดส่วนของค่าออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดกุ้งกับน้ำภายนอกของกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารผสมเกลือแร่และไม่ผสมเกลือแร่ ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 5 ระดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.1.5 โซเดียม

ระดับความเค็มน้ำสูงขึ้นมีผลทำให้ระดับโซเดียมในเลือดเพิ่มขึ้น การเสริมแร่ธาตุ 3% ส่งผลให้ปริมาณโซเดียมในเลือดเพิ่มสูงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ของกุ้งที่เลี้ยงด้วยความเค็มน้ำ 0.5 ppt ขณะที่การเสริมเกลือแร่ที่ระดับ 1 % มีผลทำให้ระดับโซเดียมในเลือดเพิ่มขึ้นสูงสุด และสูงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) หากเลี้ยงในที่ความเค็มน้ำ 10–30 ppt และมีแนวโน้มลดลงหากให้เกลือแร่เสริม 3% (รูปที่ 5)

1.1.6 คลอรีน

ความเข้มข้นของคลอรีนในเลือดเพิ่มขึ้นแปรผันตามตามความเค็มที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยการเสริมเกลือแร่ 1 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำต่ำ (0.5 และ 10 ppt) ส่งผลให้คลอรีนในเลือดสูงเพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มที่เสริมเกลือแร่ 3 % และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) หากเลี้ยงในที่ความเค็มน้ำ 20–30 ppt ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีแนวโน้มลดลงหากให้เกลือแร่เสริม (รูปที่ 6)

1.1.7 ทองแดง

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของทองแดงในเลือดไม่ขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำ โดยภาพรวมการเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับทองแดงในเลือดสูงขึ้น การเสริมเกลือแร่ 1 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10 ppt ส่งผลให้ทองแดงในเลือดสูงเพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ขณะที่ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) หากเลี้ยงในที่ความเค็มน้ำ 0.5, 20 และ 30 ppt (รูปที่ 7)

1.1.8 แมงกานีส

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแมงกานีสในเลือดขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำ การเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับแมงกานีสในเลือดสูงขึ้นของการเลี้ยงกุ้งช่วงความเค็มน้ำ 0.5-20 ppt โดยพบว่าการเสริมเกลือแร่ 3 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10 ppt ส่งผลให้แมงกานีสในเลือดสูงกว่ากลุ่มกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีแนวโน้มลดลงหากให้เกลือแร่เสริมในกุ้งที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 20 และ 30 ppt (รูปที่ 8)

1.1.9 ฟอสฟอรัส

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเลือดขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำ การเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับฟอสฟอรัสในเลือดสูงขึ้นโดยพบว่าการเสริมเกลือแร่ 1-3 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10-20 ppt ส่งผลให้ฟอสฟอรัสในเลือดสูงกว่ากลุ่มกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีแนวโน้มลดลงหากให้เกลือแร่ 3% เสริมในกุ้งที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 30 ppt (รูปที่ 9)

1.1.10 กำมะถัน

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเลือดไม่ขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำ การเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับฟอสฟอรัสในเลือดสูงขึ้นสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 0.5 ppt กล่าวคือกุ้งกลุ่มที่ให้เกลือแร่ 3% พบฟอสฟอรัสในเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีแนวโน้มลดลงหากให้เกลือแร่ 3% เสริมในกุ้งที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 10-30 ppt (รูปที่ 10)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.1.11 โปรตีน

ระดับความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาได้สมการเส้นตรง โปรตีน (mg/l) = -35.487 + 354.914Abs. (r^2 = 0.99) ระดับความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาของกุ้งกุลาดำ มีอิทธิพลมาจากความเค็มน้ำที่ใช้เลี้ยง โดยจะเห็นชัดเจนว่าที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt พบระดับโปรตีนโดยภาพรวมสูงสุด ซึ่งในแต่ละความเค็มนั้น การเสริมเกลือแร่ (ความเค็มน้ำ 0.5-10 ppt) ส่งผลช่วยทำให้ระดับโปรตีนสูงขึ้น พบว่า การเสริมเกลือแร่ 3 % ส่งผลให้โปรตีนมีค่าสูงสุดของการเลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 10 ppt ในทางตรงกันข้ามการเสริมเกลือแร่ที่มากเกินไปมีผลทำให้ระดับโปรตีนลดลงหากเลี้ยงในความเค็มน้ำสูงกว่า 20 ppt ถึง 30 ppt (รูปที่ 11)

1.1.12 คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตได้จากสมการเส้นตรง คาร์โบไฮเดรต (mg/l) = 0.752 + 60.03Abs (r^2 = 0.99) ซึ่งความเค็มมีผลต่อระดับคาร์โบไฮเดรตในพลาสมาของกุ้งกุลาดำ ระดับคาร์โบไฮเดรตมีค่าสูงสุดในกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 30 ppt โดยการเสริมเกลือแร่ 1-3 % ส่งผลให้ระดับคาร์โบไฮเดรตในพลาสมากุ้งเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าสูงสุดเมื่อเสริมเกลือแร่ 3 % ในกุ้งเลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 0.5-10 ppt ขณะที่ไม่พบว่ามีความแตกต่างกันที่ความเค็ม 20 ppt ($P>0.05$) และมีค่าลดน้อยลงหากมีการเสริมเกลือแร่มากขึ้น ที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ซึ่งการเสริมเกลือแร่ 3 % จะทำให้คาร์โบไฮเดรตมีค่าต่ำที่สุดและต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 12)

1.1.13 ไกลโคสอะมิโนไกลแคน

ความเข้มข้นไกลโคสอะมิโนไกลแคนในพลาสมาได้จากสมการเส้นตรง ไกลโคสอะมิโนไกลแคน (mg/l) = -0.003 + 0.179Abs (r^2=0.99) การเสริมระดับเกลือแร่ในอาหารมีส่วนทำให้ระดับไกลโคสอะมิโนไกลแคนมีค่าสูงขึ้นในพลาสมาของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในความเค็มน้ำ 0.5-20 ppt ซึ่งให้ผลสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) หากเลี้ยงในความเค็มต่ำ 0.5-10 ppt ขณะที่ส่งผลในทางตรงกันข้ามของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็มสูง 30 ppt (รูปที่ 13)

1.2 เปลือก

1.2.1 แคลเซียม

ระดับของแคลเซียมในเปลือกมีการเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างกัน ถึงแม้ว่าจะมีการเสริมเกลือแร่ในอาหารเมื่อเลี้ยงที่ความเค็ม 0.5-20 ppt แต่จะมีปริมาณสูงขึ้นตามระดับการเสริมเกลือแร่ในน้ำความเค็ม 30 ppt โดยพบว่า แคลเซียมในเปลือกของกุ้งกลุ่มที่เสริมเกลือแร่จะสูงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 14)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 2-13 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแร่ธาตุ แคลเซียม (รูปที่ 2) แมกนีเซียม (รูปที่ 3) โปตัสเซียม (รูปที่ 4) โซเดียม (รูปที่ 5) คลอรีน (รูปที่ 6) ทองแดง (รูปที่ 7) แมงกานีส (รูปที่ 8) ฟอสฟอรัส (รูปที่ 9) กำมะถัน (รูปที่ 10) โปรตีน (รูปที่ 11) คาร์โบไฮเดรต (รูปที่ 12) และไกลโคสมิโนไกลแคน (รูปที่ 13)ในพลาสมากุ้งกุลาดำที่ให้อาหารเสริมเกลือแร่ และไม่เสริมเกลือแร่ของการเลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 0.5-30 ppt ในบ่อซิเมนต์

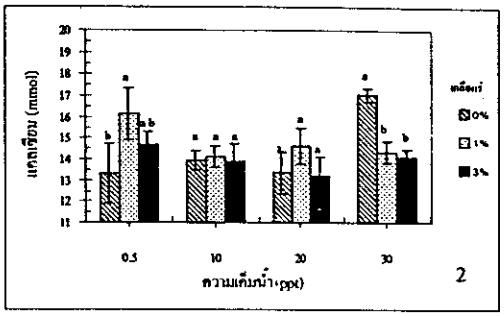
Mean ± S.E แร่ธาตุ (n= 6-11) โปรตีน (n = 7-11) คาร์โบไฮเดรต (n = 6-9) ไกลโคสอะมิโนไกลแคน (n = 6-9)

*ค่าทางสถิติเปรียบเทียบภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ

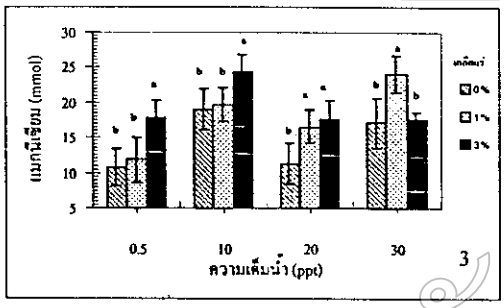
อักษรที่เหมือนกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรที่ต่างกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

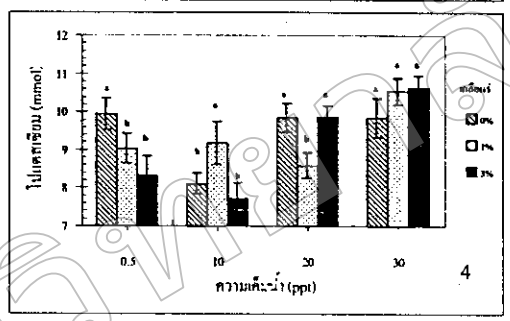
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



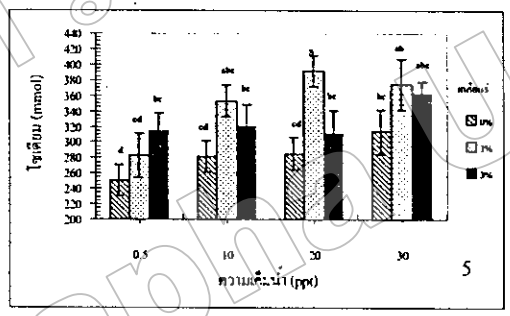
2



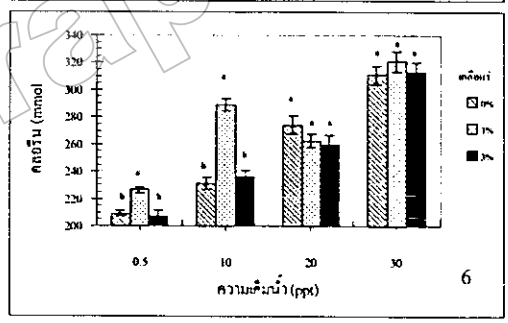
3



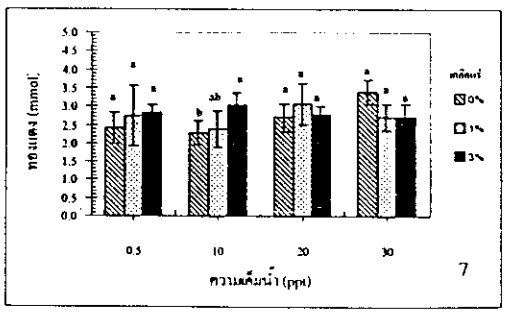
4



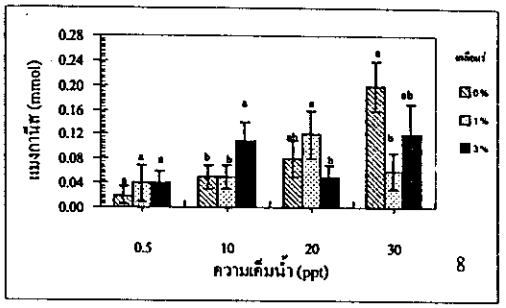
5



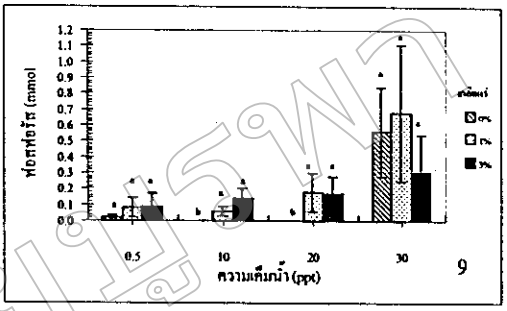
6



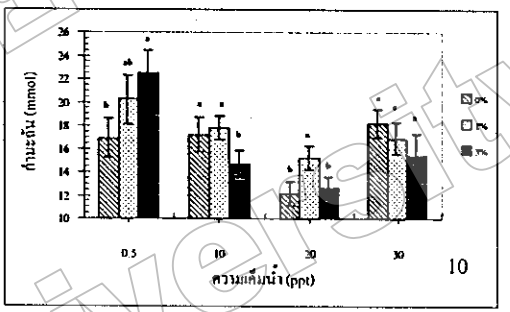
7



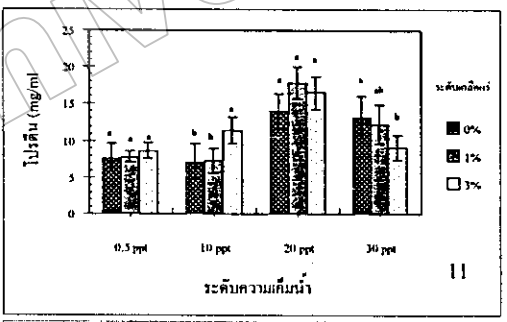
8



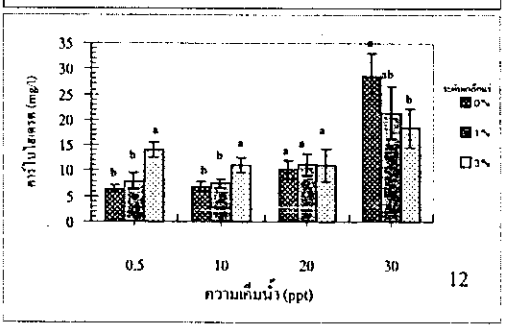
9



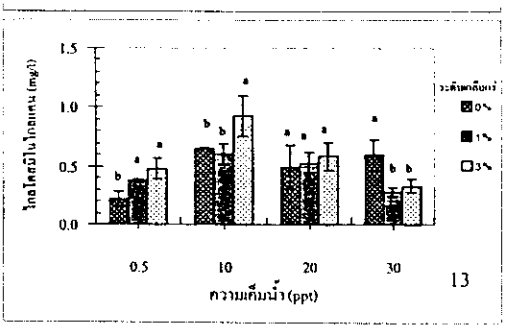
10



11



12



13

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2.2 แมกนีเซียม และโปแตสเซียม

ความเค็มน้ำมีผลต่อระดับการเปลี่ยนแปลงของแมกนีเซียมและโปแตสเซียมในเปลือกกุ้ง โดยการเสริมเกลือแร่ในอาหารเลี้ยงกุ้งมีผลทำให้แร่ธาตุทั้ง 2 ชนิดในเปลือกเพิ่มมากขึ้นของการเลี้ยงทุกระดับความเค็มน้ำ โดยทั่วไปมีค่ามากขึ้นตาม%การเสริมเกลือแร่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) (รูปที่ 15 และ รูปที่ 16)

1.2.3 โซเดียม

ระดับความเค็มน้ำสูงขึ้นมีผลทำให้ระดับโซเดียมในเปลือกเพิ่มขึ้น การเสริมแร่ธาตุ 3% ส่งผลให้ปริมาณโซเดียมในเปลือกเพิ่มสูงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ของกุ้งที่เลี้ยงด้วยความเค็มน้ำ 0.5-10 ppt ขณะที่ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ของการเลี้ยงในน้ำความเค็ม 20–30 ppt (รูปที่ 17)

1.2.4 คลอรีน

ความเข้มข้นของคลอรีนในเปลือกเพิ่มขึ้นแปรผันตามความเค็มที่เพิ่มขึ้น โดยการเสริมเกลือแร่ 1 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำต่ำ (0.5 10 และ 30 ppt) ส่งผลให้คลอรีนในเปลือกสูงเพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 18)

1.2.5 ทองแดง

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของทองแดงในเปลือกมีอิทธิพลมาจากความเค็มน้ำ โดยภาพรวมการเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับทองแดงในเปลือกสูงขึ้น โดยการเสริมเกลือแร่ 3 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10 ppt ส่งผลให้ทองแดงในเปลือกสูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 19)

1.2.6 แมงกานีส

การเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับแมงกานีสในเปลือกสูงขึ้นของการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 0.5 และ30 ppt โดยพบว่าการเสริมเกลือแร่ 1 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 0.5 ppt และการเสริมเกลือแร่ 1 และ 3 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 30 ppt ส่งผลให้แมงกานีสในเปลือกสูงกว่ากลุ่มกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 20)

1.2.7 ฟอสฟอรัส

การเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับฟอสฟอรัสในเปลือกสูงขึ้นโดยพบว่าการเสริมเกลือแร่ 1-3 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 0.5 และ 20 ppt ส่งผลให้ฟอสฟอรัสในเปลือกสูงกว่ากลุ่มกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีแนวโน้มลดลงหากให้เกลือแร่ เสริมในกุ้งที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 30 ppt (รูปที่ 21)

1.2.8 ก้ามะถัน

การเสริมเกลือแร่ 3% สำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10 ppt และการเสริมเกลือแร่ 1-3% สำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 30 ppt มีส่วนทำให้ระดับฟอสฟอรัสในเปลือกสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 22)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 14-22 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแร่ธาตุแคลเซียม (รูปที่ 14) แมกนีเซียม (รูปที่ 15) โปแตสเซียม (รูปที่ 16) โซเดียม (รูปที่17) คลอรีน (รูปที่18) ทองแดง (รูปที่ 19) แมงกานีส (รูปที่ 20) ฟอสฟอรัส (รูปที่ 21) กำมะถัน (รูปที่ 22)ในเปลือกกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารเสริมเกลือแร่ และไม่เสริมเกลือแร่ของการเลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 0.5-30 ppt ในบ่อซิเมนต์

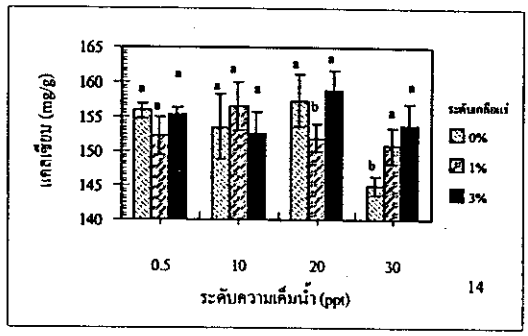
Mean ± S.E (n= 12-20)

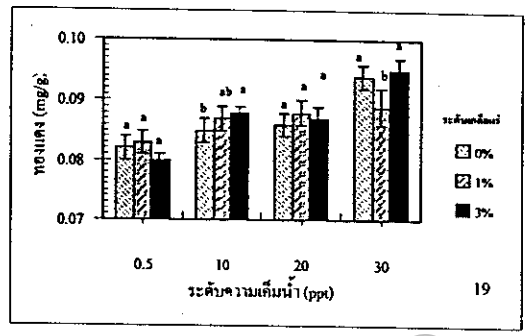
*ค่าทางสถิติเปรียบเทียบภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ

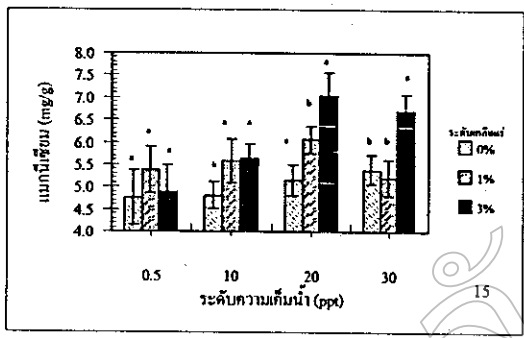
อักษรที่เหมือนกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

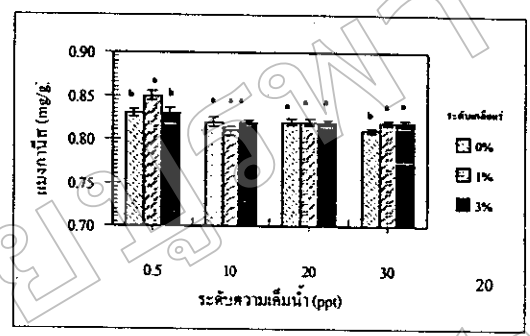
อักษรที่ต่างกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

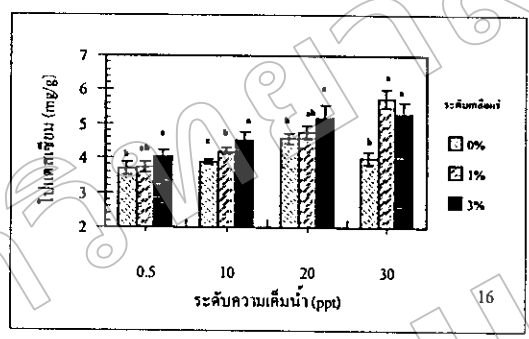
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

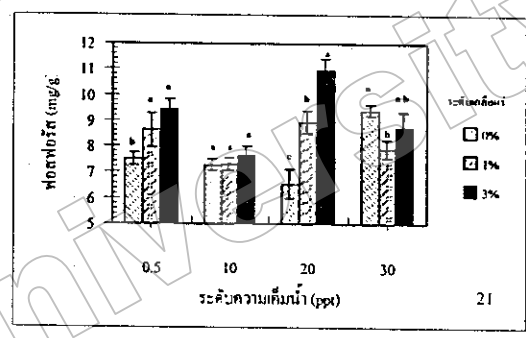


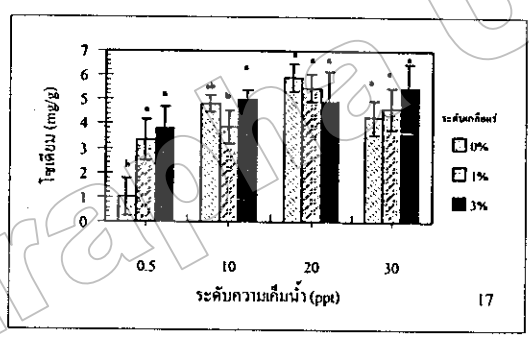


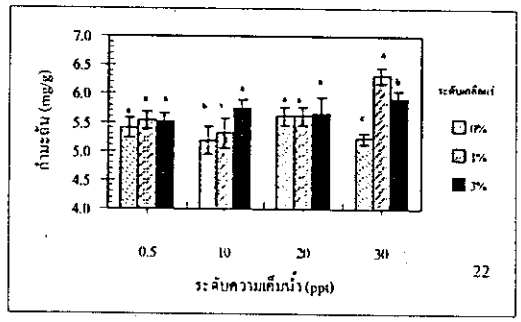


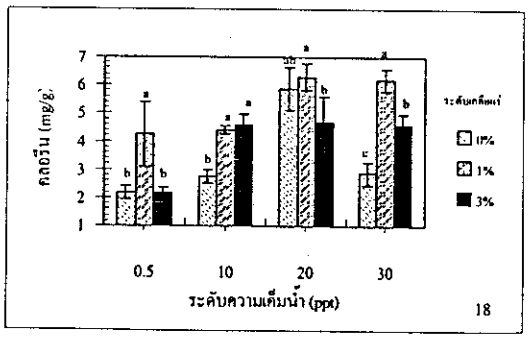












มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ผลของการใช้แร่ธาตุเสริมในอาหารกุ้งกุลาดำต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย ระยะเวลาการลอกคราบ และลักษณะของเปลือก ของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ร่วมกับการเสริมแร่ธาตุในอาหารในบ่อซิเมนต์

2.1 การเจริญเติบโต

เมื่อพิจารณาทั้งระดับความเค็มน้ำและการเสริมเกลือแร่ ในการลอกคราบครั้งที่ 1 พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในระดับน้ำความเค็ม 10 ppt โดยเสริมเกลือแร่ 3% มีการเพิ่มขนาดสูงที่สุด โดยสูงกว่ากุ้งที่เสริมเกลือแร่ 1% และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ของการลอกคราบทั้ง 2 ครั้ง การเลี้ยงกุ้งในความเค็มน้ำ 20 ppt การเสริมเกลือแร่ 1% มีผลทำให้การเพิ่มขนาดสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับเกลือแร่ 3% และกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่กุ้งจะมีขนาดเล็กลงหากเพิ่มเกลือแร่ในอาหาร 3% ในการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็ม 30 ppt ของการลอกคราบครั้งที่ 2 ขณะที่ไม่พบความแตกต่างกันของการเลี้ยงกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 20 และ30 ppt ในช่วงของการลอกคราบครั้งที่ 1 ($P>0.05$) (รูปที่ 23 และ 24)

2.2 การตายตามระยะลอกคราบ

2.2.1 การตายคราบแข็ง

การเสริมเกลือแร่ไม่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การตายระยะคราบแข็งของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 5-30 ppt แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (รูปที่ 25)

2.2.2 การตายก่อนการลอกคราบ

การเสริมเกลือแร่ไม่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การตายก่อนการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 5-30 ppt แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (รูปที่ 26)

2.2.3 การตายระหว่างลอกคราบ

การเสริมเกลือแร่ไม่มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การตายก่อนการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำ 5-30 ppt แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (รูปที่ 27)

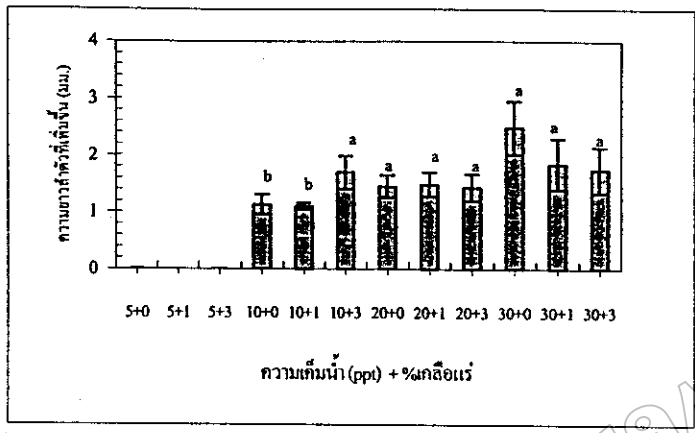
2.2.4 การตายหลังการลอกคราบ

การตายหลังการลอกคราบของกุ้งกุลาดำลดลงหากมีการเสริมเกลือแร่ในอาหาร 3% ของการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มน้ำ 10 ppt โดยจะมีการตายต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ขณะที่ไม่มีผลอย่างใดที่การเลี้ยงระดับความเค็มน้ำอื่นๆ (รูปที่ 28)

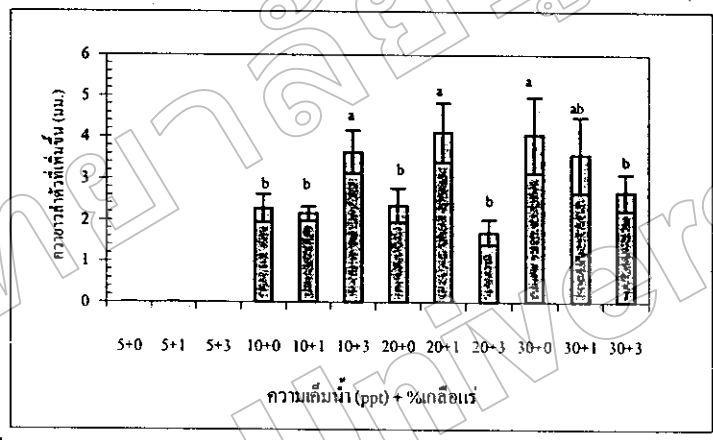
2.2.5 การตายรวมทั้งหมด

การเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt ในบ่อซีเมนต์มีผลทำให้กุ้งมีการตาย 100% ขณะที่เปอร์เซ็นต์การตายของกุ้งจะลดลงเมื่อมีการเสริมเกลือแร่ในอาหารในการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มน้ำ 10-30 ppt โดยมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การตายรวมทั้งหมดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่การเสริมระดับ 3 % ของการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10-20 ppt และ 1% ที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt โดยต่ำกว่ากุ้งชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 29)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 23 แสดงการเพิ่มขึ้นของขนาดกุ้งกุลาดำในการลอกคราบครั้งที่ 1 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่และไม่เสริมเกลือแร่ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ในบ่อซิเมนต์



รูปที่ 24 แสดงการเพิ่มขึ้นของขนาดกุ้งกุลาดำในการลอกคราบครั้งที่ 2 ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่และไม่เสริมเกลือแร่ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ในบ่อซิเมนต์

Mean ± S.E

*ค่าทางสถิติเปรียบเทียบภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ

อักษรที่เหมือนกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรที่ต่างกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

รูปที่ 25-29 แสดงการตายคราบแข็ง (รูปที่ 25) ก่อนการลอกคราบ (รูปที่ 26) ระหว่างการลอกคราบ (รูปที่ 27) หลังการลอกคราบ (รูปที่ 28) การตายรวมทั้งหมด (รูปที่ 29) ของกุ้งกุลาดำที่ได้เลี้ยงด้วยอาหารผสมเกลือแร่และไม่ผสมเกลือแร่ภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ ระยะเวลา 1 เดือน

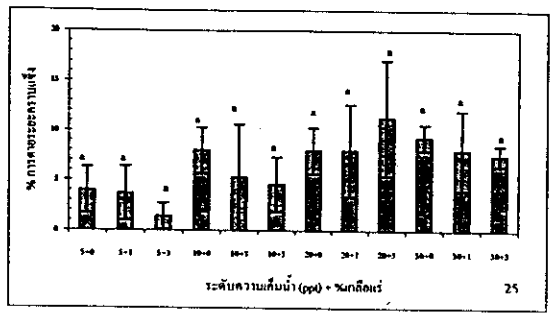
Mean ± S.E

*ค่าทางสถิติเปรียบเทียบภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ

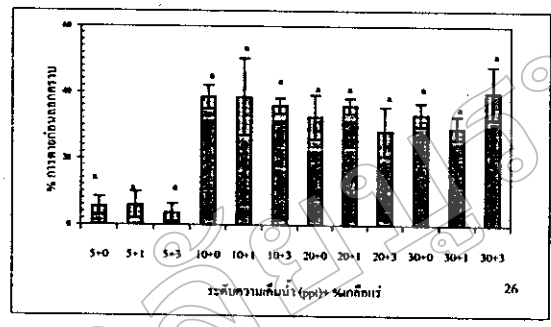
อักษรที่เหมือนกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรที่ต่างกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

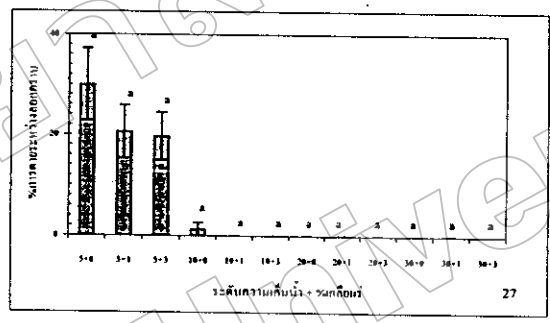
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



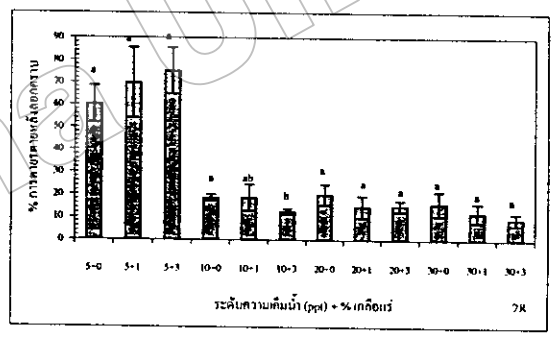
25



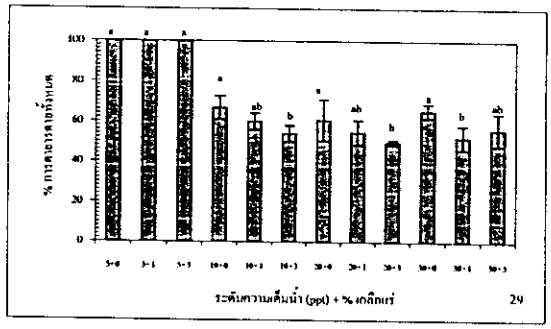
26



27



28



29

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.3 ระยะเวลาการลอกคราบ

จากการพิจารณาระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำ ทั้ง 3 ครั้ง พบว่า การเสริมเกลือแร่ให้กับกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 10 ppt กุ้งจะมีแนวโน้มในการใช้ระยะเวลาลอกคราบสั้นลง แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (รูปที่ 30-32) ขณะที่มีผลทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการลอกคราบสั้นลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 20 ppt กล่าวคือ ชุดที่ได้เสริมเกลือแร่ในอาหาร 3 % ใช้ระยะเวลาในการลอกคราบสั้นกว่ากุ้งชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ของการลอกคราบครั้งที่ 2 และ3 (รูปที่ 31-32) ในทางตรงกันข้ามหากมีการเสริมเกลือแร่เพิ่มมากขึ้นในอาหารเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 30 ppt จะมีผลทำให้กุ้งใช้ระยะเวลาในการลอกคราบยาวนานขึ้น โดยพบว่า กุ้งกลุ่มที่ได้รับเกลือแร่ 3% จะใช้ระยะเวลาในการลอกคราบยาวมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ของการลอกคราบทั้ง 3 ครั้ง (รูปที่ 30-32)

2.4 ลักษณะทางกายภาพของเปลือกกุ้งกุลาดำ

จากการศึกษาพบว่า ระดับความเค็มของน้ำและการเสริมเกลือแร่ในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีและความแวววาวของเปลือกกุ้ง กล่าวคือจะมี ความแวววาว 100% และ สีดำที่แถบสีพาดลำตัว 100% ทุกการทดลองซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ส่วนของ % ความแข็งแรงของเปลือก พบว่าการเสริมเกลือแร่ 1%และ 3 % ส่งผลให้ความแข็งแรงของเปลือกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) หากเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10 ppt แต่การเสริมแร่ธาตุ 1% และ 3 % ในอาหารจะส่งผลให้กุ้งมี % ความแข็งแรงเปลือกสูงมากขึ้นและสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่การเลี้ยงในน้ำความเค็ม 20 และ 30 ppt (รูปที่ 33)

กุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำต่ำ (10 ppt) นั้นพบว่า การเสริมเกลือแร่ในอาหารจะมีส่วนทำให้ % ความขรุขระของผิวเปลือกกุ้งลดน้อยลง โดยการเสริมเกลือแร่ 3 % จะส่งผลให้ % ความขรุขระต่ำกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ขณะที่การเสริมเกลือแร่ให้ผลไม่แตกต่างกันในการเลี้ยงกุ้งในความเค็มน้ำ 20 และ 30 ppt ($P>0.05$) (รูปที่ 34)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 30-34 แสดงระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำที่ลอกคราบครั้งที่ 1 (รูปที่ 30) 2 (รูปที่ 31) 3 (รูปที่ 32) %ความแข็งแรง (รูปที่ 33) %ความขรุขระของเปลือก (รูปที่ 34) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่และไม่เสริมเกลือแร่ในอาหารภายใต้ระดับความเค็มน้ำ 4 ระดับ

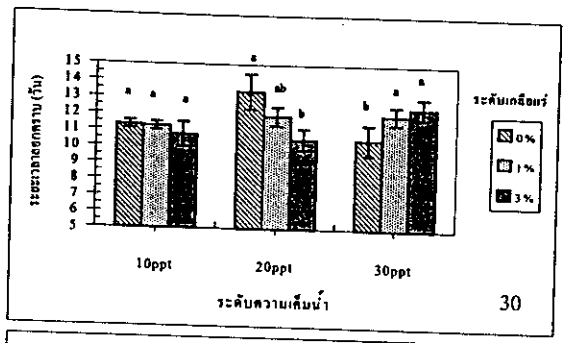
Mean ± S.E

*ค่าทางสถิติเปรียบเทียบภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ

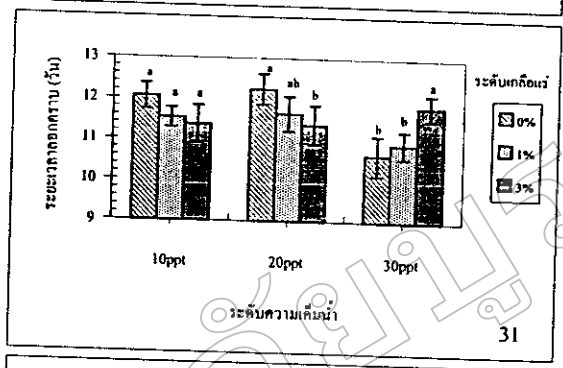
อักษรที่เหมือนกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรที่ต่างกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

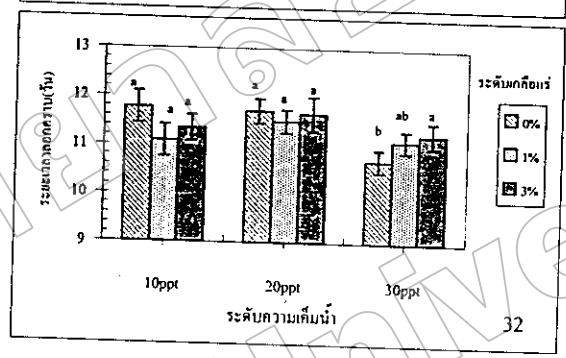
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



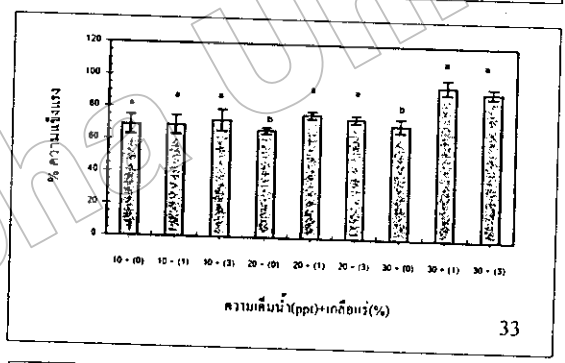
30



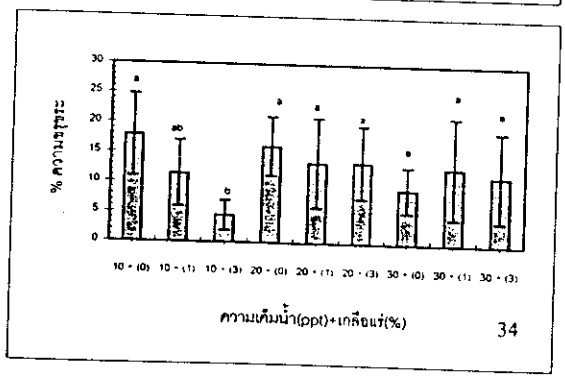
31



32



33



34

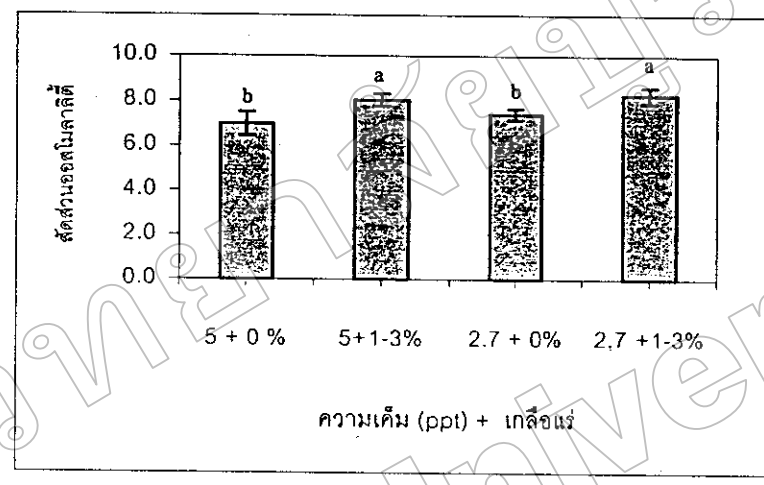
มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

3.ผลของการใช้แร่ธาตุเสริมในอาหารกุ้งกุลาดำต่อสรีรเคมีในน้ำเลือดและเปลือกของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำร่วมกับการเสริมแร่ธาตุในอาหารในบ่อดิน

3.1 เลือด

3.1.1 ค่าออสโมลาลิตี้

จากการตรวจสอบค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งและน้ำภายนอกระหว่างกุ้งที่ทำการเลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำด้วยการเสริมแร่ธาตุและไม่เสริมในสภาพบ่อดิน พบว่าค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งและน้ำภายนอกของกุ้งที่ได้รับเกลือแร่เสริม 1-3 % จะมีค่าสูงกว่ากุ้งที่ไม่ได้กินอาหารผสมเกลือแร่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (รูปที่ 35)



รูปที่ 35 เปรียบเทียบสัดส่วนของค่าออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดกุ้งกับน้ำภายนอกของกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารผสมเกลือแร่และไม่ผสมเกลือแร่ ที่ระดับความเค็มต่ำ ในฟาร์มเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่นบ่อดิน

Mean ± S.E (n= 50)

*ค่าทางสถิติเปรียบเทียบภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ

อักษรที่เหมือนกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรที่ต่างกันภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3.1.2 แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม คลอไรด์ ทองแดง และฟอสฟอรัส

การเสริมเกลือแร่ 1% และ 3% เลี้ยงกุ้งในความเค็มน้ำต่ำ 2.7 ppt ในบ่อดินระบบหนาแน่นไม่มีผลทำให้ระดับแคลเซียม (รูปที่ 36) แมกนีเซียม (รูปที่ 37)โซเดียม (รูปที่ 38) คลอไรด์ (รูปที่ 39) ทองแดง (รูปที่ 40) ฟอสฟอรัส (รูปที่ 41) ในเลือดกุ้งสูงกว่าในเลือดกุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (รูปที่ 42)

3.1.3 โปแตสเซียม แมงกานีส และกำมะถัน

การเสริมเกลือแร่ 3% ให้กุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำ 2.7 ppt มีผลทำให้ปริมาณของโปแตสเซียม (รูปที่ 43) แมงกานีส (รูปที่ 44) กำมะถัน (รูปที่ 45) มีระดับสูงสุดในเลือดและสูงกว่ากลุ่มที่มีการเสริมเกลือแร่ 1 % และ กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.1.4 โปรตีน

ระดับความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาได้สมการเส้นตรง โปรตีน (mg/l) = -35.487 + 354.914Abs. (r^2 = 0.99) ระดับความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาของกุ้งกุลาดำที่เสริมเกลือแร่ 1% และ 3% มีค่าสูงกว่ากุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P <0.05*) (รูปที่ 46)

3.1.5 คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตได้จากสมการเส้นตรง คาร์โบไฮเดรต (mg/l) = 0.752 + 60.03Abs (r^2 = 0.99) ระดับคาร์โบไฮเดรตมีค่าสูงสุดในกุ้งที่เลี้ยงโดยการเสริมเกลือแร่ 3 % โดยมีค่าสูงกว่ากุ้งชุดเสริมเกลือแร่ 1 % และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*) (รูปที่ 47)

3.1.6 ไกลโคสอะมิโนไกลแคน

ความเข้มข้นไกลโคสอะมิโนไกลแคนในพลาสมาได้จากสมการเส้นตรง ไกลโคสอะมิโนไกลแคน (mg/l) = -0.003 + 0.179Abs (r^2=0.99) การเสริมระดับเกลือแร่ในอาหารมีส่วนทำให้ระดับไกลโคสอะมิโนไกลแคนมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P<0.05*) มีค่าสูงสุดในกุ้งที่เลี้ยงโดยการเสริมเกลือแร่ 3 % (รูปที่ 48)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 36-47 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแร่ธาตุ แคลเซียม (รูปที่ 36) แมกนีเซียม (รูปที่ 37)โซเดียม (รูปที่ 38) คลอไรด์ (รูปที่ 39) ทองแดง (รูปที่ 40) ฟอสฟอรัส (รูปที่ 41) โปแตสเซียม (รูปที่ 42) แมงกานีส (รูปที่ 43) กำมะถัน (รูปที่ 44) โปรตีน (รูปที่ 45) คาร์โบไฮเดรต (รูปที่ 46) และไกลโคสมิโนไกลแคน (รูปที่ 47)ในพลาสมากุ้งกุลาดำที่ให้อาหารเสริมเกลือแร่ และไม่เสริมเกลือแร่ของการเลี้ยงที่ความเค็มน้ำ 0.5-30 ppt ในบ่อซิเมนต์

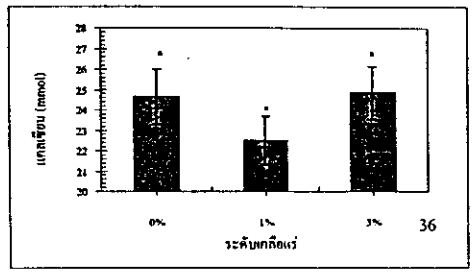
Mean $\pm$ S.E แร่ธาตุ (n= 10-12) โปรตีน (n = 12-15) คาร์โบไฮเดรต (n = 12-15) ไกลโคสอะมิโนไกลแคน (n =12-15)

*ค่าทางสถิติเปรียบเทียบภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ

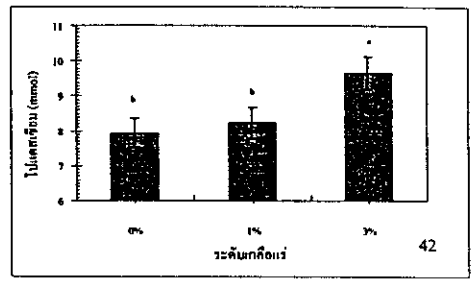
อักษรที่เหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อักษรที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

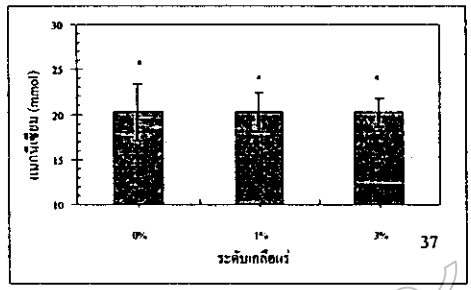
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



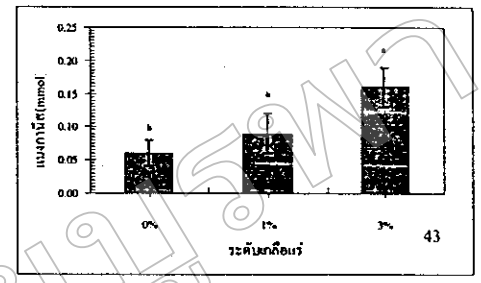
36



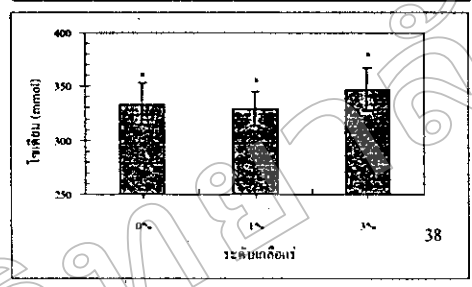
42



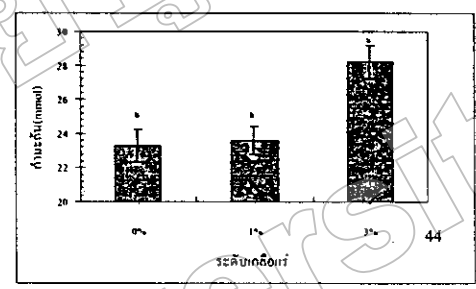
37



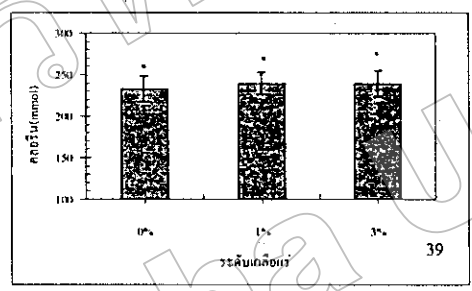
43



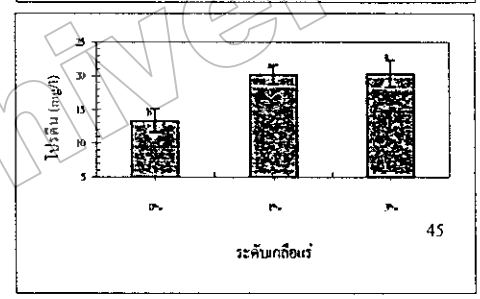
38



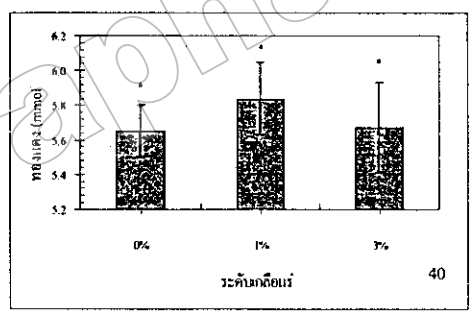
44



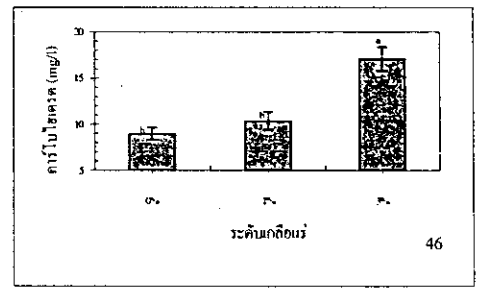
39



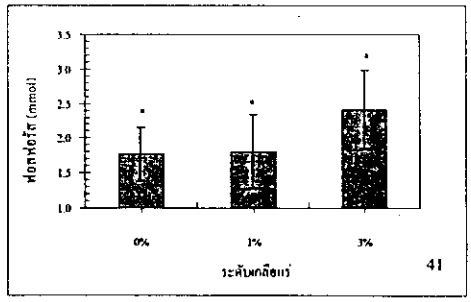
45



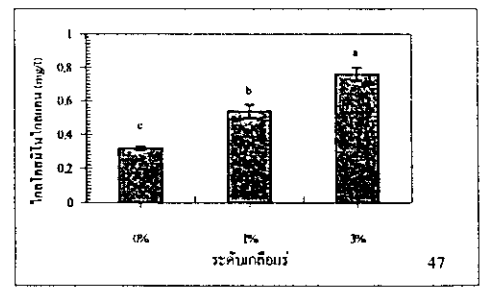
40



46



41



47

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.2 เปลือก

3.2.1 แคลเซียม แมกนีเซียม และโปแตสเซียม

การเสริมเกลือแร่เลี้ยงกุ้งในความเค็มน้ำต่ำ 2.7 ppt ในบ่อดินระบบหนาแน่นมีแนวโน้มทำให้ระดับแคลเซียม (รูปที่ 48) แมกนีเซียม (รูปที่ 49) และโปแตสเซียม (รูปที่ 50) เพิ่มมากขึ้น โดยที่การเสริมเกลือแร่ 3% ส่งผลทำให้ระดับโปแตสเซียมเพิ่มขึ้นสูงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3.2.2 โซเดียม ทองแดง แมงกานีส และฟอสฟอรัส

การเสริมเกลือแร่เลี้ยงกุ้งในความเค็มน้ำต่ำ 2.7 ppt ในบ่อดินระบบหนาแน่นไม่ได้ส่งผลให้ระดับโซเดียม (รูปที่ 51) ทองแดง (รูปที่ 52) แมงกานีส (รูปที่ 53) และฟอสฟอรัส (รูปที่ 54) ในเปลือกกุ้งสูงกว่าในกุ้งกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

3.2.3 คลอรีน และกำมะถัน

การเสริมเกลือแร่เลี้ยงกุ้งในความเค็มน้ำต่ำ ในบ่อดินระบบหนาแน่นทำให้ระดับคลอรีน (รูปที่ 55) และกำมะถัน (รูปที่ 56) เพิ่มมากขึ้น โดยที่การเสริมเกลือแร่ 3% ส่งผลทำให้แร่ธาตุทั้ง 2 ชนิดเพิ่มขึ้นสูงมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4. การเปลี่ยนแปลงออสโมลาลิตี้ (Osmolality)ในเลือดกุ้งที่ปรับสภาพความเค็มน้ำ

นำกุ้งกุลาดำระยะคราบแข็ง (C stage) และก่อนลอกคราบตอนต้น (D0-D1 stages) ภายใต้การปรับสภาพความเค็มน้ำช่วง 0.1-45 ส่วนในพัน ทำการปรับความเค็มน้ำเพิ่มหรือลดในอัตราชั่วโมงละ 1 ส่วนในพัน ยกเว้นการลดลงระหว่าง 2-0.1 ส่วนในพัน จะลดลงชั่วโมงละ 0.5 ส่วนในพัน พบว่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งกุ้งกุลาดำจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามความเค็มน้ำภายนอกที่เพิ่มขึ้นช่วงความเค็มน้ำ 0.1-3 ppt และเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อยหรือเกือบจะคงที่จากระดับความเค็มน้ำ 3-22 ppt โดยจะแสดงสภาวะออสโมลาลิตี้สูงกว่าน้ำภายนอกตลอดเวลา (hyper-osmotic regulation) จนมีค่าเท่ากับน้ำภายนอกที่ระดับความเค็มน้ำ 23 ppt (iso-osmotic regulation) และยังคงมีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อความเค็มน้ำสูงขึ้น แต่อยู่ในสภาวะต่ำกว่าน้ำภายนอก (hypo-osmotic regulation) (รูปที่ 57) เมื่อนำมาหาสัดส่วนออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งต่อน้ำภายนอกแล้ว พบว่าค่าจะลดลงอย่างต่อเนื่องชัดเจนจากความเค็มน้ำภายนอก 0.1- 6 ppt และจะลดลงทีละน้อยหลังจากนั้น (รูปที่ 58)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

รูปที่ 48-56 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแร่ธาตุแคลเซียม (รูปที่ 48) แมกนีเซียม (รูปที่ 49) โปตัสเซียม (รูปที่ 50) โซเดียม (รูปที่ 51) คลอไรด์ (รูปที่ 52) ทองแดง (รูปที่ 53) แมงกานีส (รูปที่ 54) ฟอสฟอรัส (รูปที่ 55) กำมะถัน (รูปที่ 56) ในเปลือกกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารเสริมเกลือแร่ และไม่เสริมเกลือแร่ของการเลี้ยงที่ความเค็มน้ำต่ำในบ่อดิน

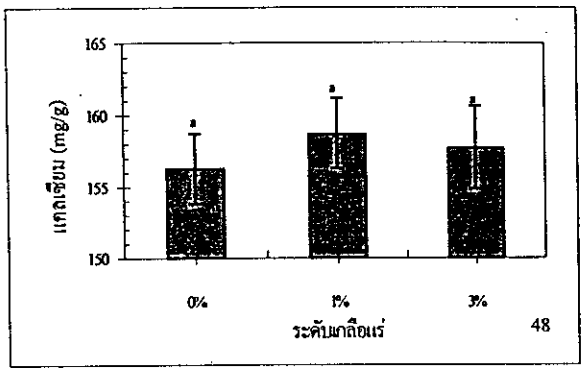
Mean ± S.E (n= 15-20)

*ค่าทางสถิติเปรียบเทียบภายในแต่ละระดับความเค็มน้ำ

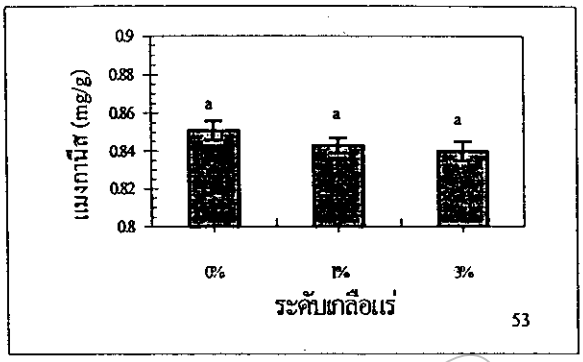
อักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

อักษรที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

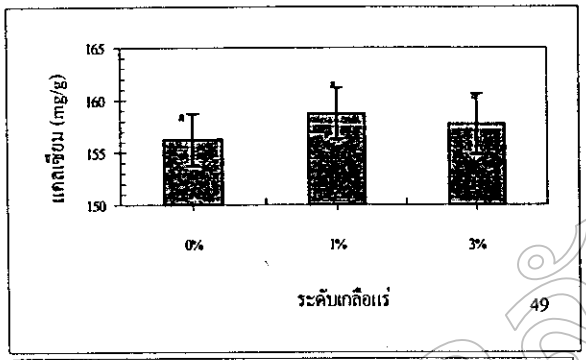
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



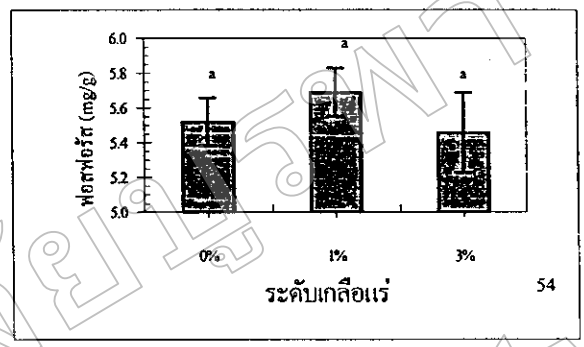
48



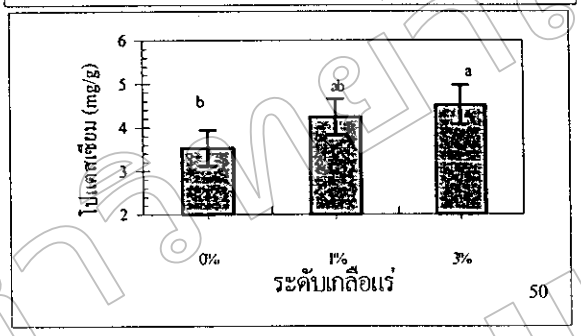
53



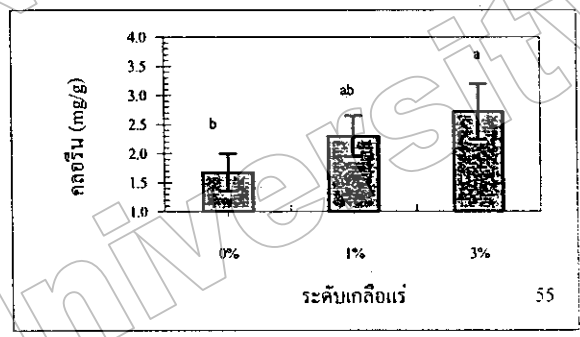
49



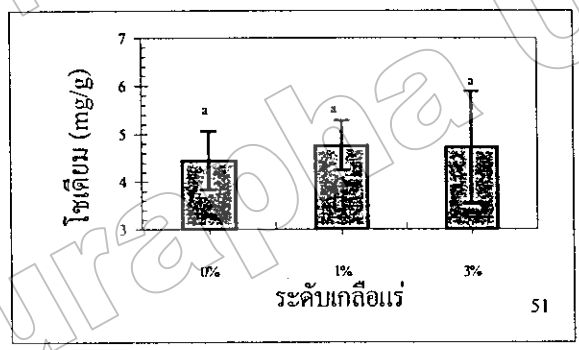
54



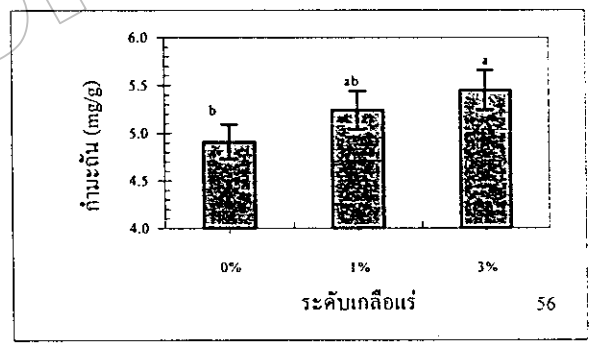
50



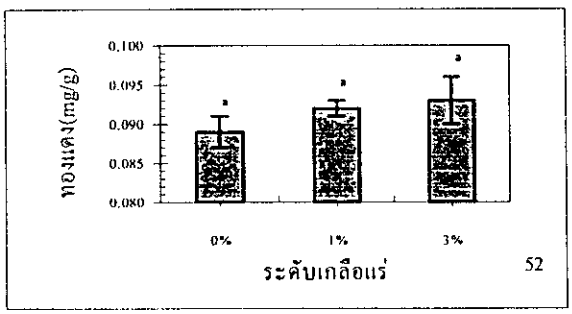
55



51

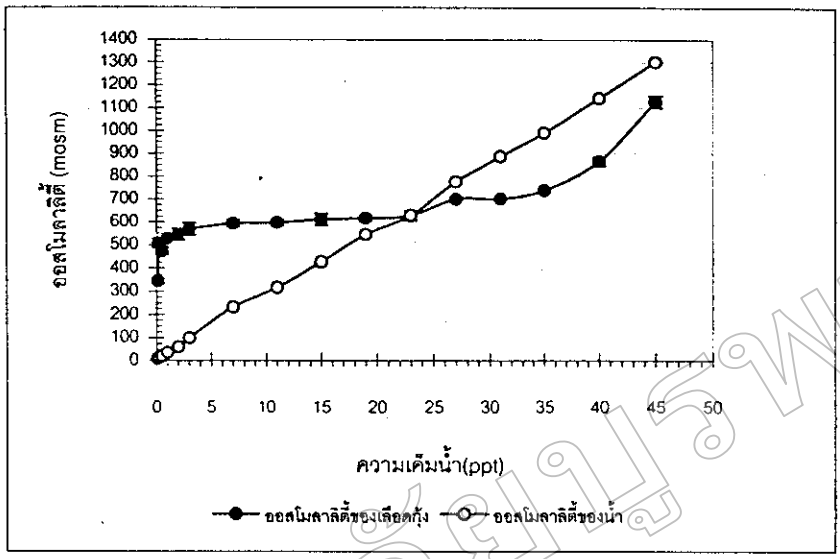


56

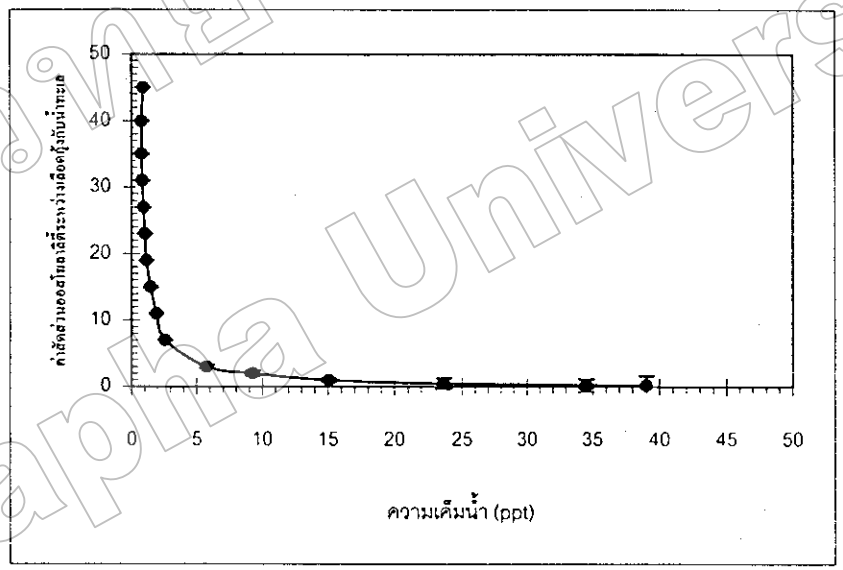


52

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



รูปที่ 57 การเปลี่ยนแปลงออสโมลาลิตี้ (Osmolality)ในเลือดกุ้งที่ปรับสภาพความเค็มน้ำระหว่าง 0.3-45 ppt



รูปที่ 58 สัดส่วนออสโมลาลิตี้ (Osmolality) ระหว่างเลือดกุ้งกับน้ำภายนอกที่ปรับสภาพความเค็มน้ำระหว่าง 0.3-45 ppt

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทที่ 5
อภิปรายผลการทดลอง

1. ธาตุโซเดียม โปแตสเซียม และคลอรีน

ระดับของความเค็มน้ำมีอิทธิพลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของธาตุโซเดียม คลอรีน และโปแตสเซียม ในพลาสมาของกุ้งกุลาดำ โดยพบว่าปริมาณของธาตุทั้ง 3 ชนิด จะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อมีระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น โดยมีค่าสูงที่สุดเมื่อระดับความเค็มน้ำ 30 ppt โซเดียมเป็นธาตุที่พบในความเข้มข้นสูงที่สุดในทุกระดับความเค็มน้ำโดยมีค่า 282 – 350 mmol/l ซึ่งใกล้เคียงกับครัสเตเชียนอีกหลายชนิด เช่น ปู *Cancer magister* (Wheatly, 1985), ปู *C. sapidus* (Henry และ Cameron, 1982), ปู *Ocypode quadrata* (Santos และ Moreira, 1999), ปูน้ำจืด *Holthuisana transversa* (Greenway, 1981), กุ้ง *Crangon crangon* (Hagerman และ Uglow, 1982) ตามด้วยคลอรีน และโปแตสเซียม รองลงมาตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของธาตุเหล่านี้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้ (Osmolality) โดยที่ระดับความเค็มน้ำต่ำมีโอกาสจะส่งผลให้ค่าออสโมลาลิตี้มีค่าต่ำและเมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้นค่าออสโมลาลิตี้ก็เพิ่มขึ้นด้วย อย่างไรก็ดีในกุ้งกุลาดำจะมีการพยายามปรับค่า ออสโมลาลิตี้ให้คงที่ถึงแม้ว่าความเค็มจะลดลงก็ตาม ซึ่งใกล้เคียงแต่ไม่เหมือนกันเสียทีเดียวกับ การศึกษาในปูทะเล *(Scylla serrata)* ในรายงานของนิศาลักษณ์ (2543) ที่พบว่าปูทะเลที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 5 ppt มีค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดต่ำที่สุดและมีค่าสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น จนมีค่าสูงสุดที่ระดับความเค็มน้ำ 40 ppt ทั้งนี้รวมถึงสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนชนิดอื่นๆ ได้แก่ ปู *E. sinensis* และ *C. maenas* (Giller และ Pequeux, 1981)

ที่ระดับความเค็มน้ำ 0.5 ppt ปริมาณของธาตุโซเดียม คลอรีนและโปแตสเซียม ในพลาสมาของกุ้งกุลาดำมีความเข้มข้นต่ำกว่าที่ระดับความเค็มน้ำอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของบุญรัตน์และคณะ (2546) ที่พบว่าปริมาณของโซเดียม คลอรีนและโปแตสเซียมในพลาสมาปูทะเล (*S. serrata*) มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt และสูงสุดที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt ด้วยสภาพความเค็มน้ำที่ต่ำ (0.5 ppt) กุ้งกุลาดำมีการสูญเสียแร่ธาตุอยู่ตลอดเวลาจึงต้องมีการปรับตัวโดยอาศัยกลไกออสโมซิส (osmosis) เพื่อจะรักษาความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายให้สูงกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการดึงพลังงานมาใช้ในการรักษาระดับความเข้มข้นของแร่ธาตุต่างๆ โดยการขับน้ำออกจากร่างกาย เพราะน้ำภายนอกที่มีความเจือจางจะแพร่เข้าไปในร่างกายอยู่ตลอดเวลาและในขณะเดียวกันก็จะมีการดูดกลับเกลือแร่ภายในร่างกายและลดการสูญเสียเกลือแร่ออกจากร่างกายโดยการลดขนาดของเยื่อเลือกผ่านให้เล็กลงและเพิ่มการเก็บสะสมปัสสาวะ ซึ่งมีแร่ธาตุต่างๆเป็นองค์ประกอบให้มีปริมาตรคงที่ และปรับระดับแรงดันน้ำ (hydrostatic pressure) ภายในร่างกายให้อยู่ในสภาวะปกติ (Mantel และ Farmer,1983)

เนื่องจากระดับความเค็มน้ำที่สูงหรือต่ำจนเกินไป ทำให้กุ้งมีการปรับความเข้มข้นของโซเดียม คลอรีน และโปแตสเซียมในเลือดให้สัมพันธ์กับระดับน้ำภายนอก โดยจะรักษาสภาพร่างกายให้อยู่ในสภาวะ hypertonic เช่นเดียวกับที่พบในครัสเตเชียนหลายชนิด เช่น ปู *C. sapidus* (Henry และ Cameron, 1982), ปู *O.*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

quadrata (Santos และ Moreira, 1999), ปู *C. magister* (Wheatly, 1985), ปูน้ำจืด *H. transversa* (Greenway, 1981), กุ้ง *C. crangon* (Hagerman และ Uglow, 1982) รวมทั้งกุ้ง Penaeid หลายชนิด (Castille และ Lawrence, 1981 อ้างโดย Cawthorne et al., 1983) ส่วนกุ้งมังกร *P. longipes* โปแตสเซียมในเลือดจะแปรผกผันกับความเค็มน้ำภายนอก (Dall, 1974) mysid *L. mediterranea* เมื่ออยู่ในน้ำความเค็มสูงขึ้นจะมีความเข้มข้นของโซเดียม คลอรีน และโปแตสเซียมในเลือดเท่ากับน้ำภายนอก (Lucu, 1978) ซึ่งต่างไปจากกุ้ง *B. sandiegonensis, S. woottonis* (Gonzalez et al., 1996) กุ้ง *P. pugio* (Knowlton และ Kirby, 1984) ที่สามารถรักษาระดับความเข้มข้นของโซเดียมให้คงที่เมื่อภายนอกเปลี่ยนแปลงความเค็มไปในช่วง 1- 40 ppt และมีความเข้มข้นลดลงเมื่อน้ำภายนอก จากรายงานในปู *C. sapidus* พบว่าเมื่อปูมีการอพยพไปสู่ที่น้ำความเค็มต่ำกว่า 26 ppt ค่าออสโมติกและไอออนต่างๆ ระหว่างเลือดกับน้ำทะเลจะมีค่าอัตราส่วนเพิ่มขึ้น (Mantel, 1967 อ้างโดย deFur, 1990) ซึ่งเมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น ค่าสัดส่วนหรือความต่างออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดปูกับน้ำทะเลจะมีค่าลดลงเรื่อยๆ (Mantel และ Farmer, 1983) ครัสเตเซียนที่อาศัยอยู่ในเขตน้ำกร่อยและน้ำทะเลรวมทั้งค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลกับน้ำภายนอกมีค่าใกล้เคียงกันที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt (นิศาลักษณ์, 2543)

ความเข้มข้นของโซเดียมและคลอรีนมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น และที่ระดับความเค็มน้ำต่ำ (0.5 –10 ppt) การเสริมเกลือแร่ 1% ในอาหาร ส่งผลให้มีความเข้มข้นของโซเดียมและคลอรีนสูงขึ้น เนื่องจากระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นมีการละลายของธาตุโซเดียมและคลอรีนที่จำเป็นในขบวนการรักษาสมดุลเกลือแร่เพิ่มมากขึ้นด้วยทำให้ที่ระดับความเค็มน้ำสูงมีการสะสมธาตุทั้งสองชนิดมากกว่าที่ระดับน้ำความเค็มต่ำเช่นเดียวกับปู *O. quadrata* ที่พบว่าระดับของ Na^+ ในเลือดมีการแปรผันตามความเค็มของน้ำภายนอก (Santos และ Moreira, 1999) ในกุ้งมังกร *P. longipes* ก็พบว่ามีปริมาณ Na^+ และ Cl^- แปรผันตามระดับความเค็มของน้ำเช่นเดียวกัน (Dall, 1974) แต่เมื่อความเค็มสูงขึ้นแล้ว (20 – 30 ppt) ดูเหมือนว่าการเสริมเกลือแร่มีความจำเป็นน้อย

ที่ระดับความเค็มน้ำ 0.5-10 ppt เมื่อมีการให้อาหารเสริมเกลือแร่ส่งผลให้มีปริมาณโซเดียมและคลอรีนสูงกว่าที่ไม่ให้อาหารเสริมเกลือแร่ เนื่องจากปริมาณของแร่ธาตุที่ละลายอยู่ในน้ำมีน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของกุ้งกุลาดำ ดังนั้นกุ้งจึงต้องมีการปรับปริมาณแร่ธาตุภายในตัวเพื่อการอยู่รอด ดังนั้นการเสริมเกลือแร่ลงไปในอาหารมีส่วนช่วยในการชดเชยและสร้างสภาวะสมดุลของเกลือแร่ในร่างกายได้ดีขึ้น

เมื่อพิจารณาร่วมกันระหว่างความเค็มกับการเสริมเกลือแร่ในอาหาร พบว่าไม่มีความกระจ่างชัดในความเข้มข้นของโปแตสเซียม เนื่องจากผลการทดลองที่ระดับความเค็มน้ำ 0.5 ppt ดูเหมือนไม่มีความจำเป็นต้องเสริมเกลือแร่ แต่ที่ระดับความเค็มน้ำสูงกว่าหรือเท่ากับ 10 ppt กุ้งมีโอกาสตอบสนองในทางบวกในการเสริมเกลือแร่ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกุ้งมีการใช้โปแตสเซียมในขบวนการ Na – K pump ในการสร้างสภาวะสมดุลเกลือแร่ภายในตัวอย่างรวดเร็ว ซึ่งถ้าเปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้นของโปแตสเซียมกับโซเดียมจะเห็นได้ว่า โปแตสเซียมในเลือดกุ้งนั้นมีอิทธิพลหลักมาจากความเค็มน้ำภายนอกมาก ซึ่งการเสริมเกลือแร่ลงไปที่ 85 g/kg ในอาหารนั้น ดูเหมือนว่าจะจำเป็นในการเลี้ยงกุ้งที่น้ำความเค็มต่ำ แต่กลับให้ผลในทางตรงข้าม ทั้งนี้อาจเกิดจากการสร้างสภาวะสมดุลของโปแตสเซียมในร่างกายกุ้งให้เหมาะสมในสภาวะความเค็มต่ำๆ นั้น อาจ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จะมีข้อจำกัดที่ระดับหนึ่ง ขึ้นอยู่กับ Na^+ ในเลือดอีกด้วย ซึ่งจะเห็นว่ามีค่าผกผันกันที่ความเค็ม 0.5 ppt ขณะที่เมื่อกุ้งอยู่ในน้ำความเค็มสูงขึ้น กุ้งมีโอกาสยอมรับมากขึ้นในการเสริมโปแตสเซียมลงในอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากจุดสมดุลย์ของการสมดุลเกลือแร่เปลี่ยนไปจึงทำให้ยิ่งเสริมก็ส่งผลบวกมากยิ่งขึ้น

เนื่องจากระดับความเค็มน้ำที่สูงหรือต่ำจนเกินไป ทำให้กุ้งมีการปรับความเข้มข้นของโปแตสเซียมในเลือดให้สัมพันธ์กับระดับน้ำภายนอก โดยจะรักษาสภาพร่างกายให้อยู่ในสภาวะ hypertonic เช่นเดียวกับที่พบในครัสเตเซียนหลายชนิด เช่น ปู *C. sapidus* (Henry และ Cameron, 1982), ปู *O. quadrata* (Santos และ Moreira, 1999), ปู *C. magister* (Wheatly, 1985), ปูน้ำจืด *H .transversa* (Greenway, 1981), กุ้ง *C. crangon* (Hagerman และ Uglow, 1982) รวมทั้งกุ้ง Penaeid หลายชนิด (Castille และ Lawrence, 1981 อ้างโดย Cawthorne *et al.*, 1983) ส่วนกุ้งมังกร *P. longipes* ของโปแตสเซียมในเลือดจะแปรผกผันกับความเค็มน้ำภายนอก (Dall, 1974) mysid *L.mediterranea* เมื่ออยู่ในน้ำความเค็มจะมีความเข้มข้นของโปแตสเซียมในเลือดเท่ากับน้ำภายนอกมีความเค็มสูงขึ้น (Lucu, 1978) ซึ่งต่างไปจากกุ้ง *B. Sandiegonensis, S. woottonis* (Gonzalez *et al.*, 1996) กุ้ง *P. pugio* (Knowlton และ Kirby, 1984) ที่สามารถรักษาระดับความเข้มข้นของโซเดียมให้คงที่เมื่อภายนอกเปลี่ยนแปลงความเค็มไปในช่วง 1-40 ppt และมีความเข้มข้นลดลงเมื่อน้ำภายนอก โปแตสเซียมส่วนใหญ่ สัตว์จะนำมาใช้เพื่อรักษาระบบสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกาย ในกุ้งกุลาดำก็เช่นกัน แต่การที่พบว่าการเสริมแร่ธาตุและความเค็มน้ำเกื้อกูลกันให้มีการสะสมโปแตสเซียมในเปลือกกุ้งมากยิ่งขึ้นของการศึกษานี้ เป็นการชี้ให้เห็นถึงความสมบูรณ์ในการสร้างเปลือกได้ หรืออย่างน้อยก็เป็นการเตรียมการสะสมไว้ให้มากพอในยามวิกฤตที่จะต้องนำมาใช้ในทางสรีระเคมีของร่างกายกุ้งก็เป็นได้

2. ธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม

แคลเซียมเป็นแร่ธาตุหลักที่สำคัญในการสร้างเปลือกของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเซียน (Pratoomchat *et al.*, 2002) พบว่ามีปริมาณค่อนข้างต่ำในเลือดและจากการทดลองปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมมีค่าคงที่เมื่อความเค็มน้ำเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้อาจจะเป็นไปได้ว่ากุ้งกุลาดำจะพยายามรักษาระดับของแคลเซียมและแมกนีเซียมให้คงที่ในระบบเลือด หากมีมากเกินไปจะพยายามขับออกนอกร่างกายไปเก็บไว้ในอวัยวะจำเพาะหรือเร่งนำไปใช้ในการสร้างเปลือก ดังนั้นปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมที่พบในเลือดจึงมีปริมาณไม่สูงนักจะพบอยู่ในช่วง 13 – 16 mmol/l, 11 – 22 mmol/l ตามลำดับ ซึ่งจะมีค่าใกล้เคียงกับครัสเตเซียนชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิดเช่นปู *C. sapidus*, ปู *C. magister* และปู *C. maenas* (Mantel และ Farmer,1983)

โดยทั่วไปสัตว์ในกลุ่มครัสเตเซียน จะมีค่า pH ในเลือดแปรผกผันกับระดับความเค็มน้ำภายนอก กล่าวคือเมื่อระดับความเค็มน้ำภายนอกลดลง ค่า pH ในเลือดจะมีค่าเพิ่มขึ้น ที่เป็นเช่นนี้เพราะเมื่อน้ำภายนอกมีความเค็มต่ำ ส่งผลให้ค่า pH ในน้ำต่ำลงคือน้ำภายนอกจะมีสภาพเป็นกรดมากขึ้น (มี H^+ มากขึ้น) และเนื่องจากกุ้งกุลาดำมีระบบออสโมซิส (osmosis) ที่ช่วยในการรักษาความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกาย ซึ่งระบบจะมีการรับน้ำภายนอกเข้าสู่ร่างกายตลอดเวลา ดังนั้นเมื่อน้ำภายนอกมีสภาพเป็นกรดจึงมีผลต่อการละลายของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) จากเปลือกเก่ามาอยู่ในรูปของแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) และไบ

คาร์บอเนต (HCO^{-}_{3}) จึงทำให้ปริมาณของแคลเซียมอิออน และ ไบคาร์บอเนตในเลือดสูงขึ้น (Machado et al., 1988)

แคลเซียมและแมกนีเซียมเป็นแร่ธาตุที่สำคัญสำหรับการสร้างเปลือก จึงพบอยู่ในระบบเลือดน้อยมาก การเสริมเกลือแร่ 1 % ในระดับความเค็มน้ำ 0.5 ppt ส่งผลให้มีความเข้มข้นของแคลเซียมสูงขึ้น แต่ที่ระดับความเค็มน้ำอื่นๆ การเสริมเกลือแร่ไม่มีผล และที่ระดับน้ำต่ำกว่า 20 ppt การเสริมเกลือแร่ 3 % จะส่งผลให้มีความเข้มข้นของแมกนีเซียมสูงกว่าที่ไม่มีการเสริมเกลือแร่หรือเสริมเกลือแร่เพียง 1% จึงมีความเป็นไปได้ว่าที่ระดับความเค็มน้ำต่ำ (0.5–10 ppt) จำเป็นต้องเสริมเกลือแร่เพื่อทำให้มีระดับมากและเหมาะสมต่อขบวนการสร้างเปลือกและขบวนการทางชีวเคมีอย่างอื่นๆ และการเสริมที่มากเกินไปนั้นอาจจะมีผลเสียได้ อย่างไรก็ดี การสะสมแคลเซียมในระบบเลือดมีน้อยอยู่แล้วจึงไม่สามารถเห็นความแตกต่างได้ชัดเจน แต่ถ้ามีการศึกษาความเข้มข้นของแร่ธาตุทั้งสองในเปลือกจะเห็นถึงผลของการเสริมเกลือแร่ในอาหารได้ดีกว่า จากการทดลองพบว่าปริมาณของแคลเซียม แมกนีเซียม และโปแตสเซียม ในเปลือกกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) พบว่ามีปริมาณของแร่ธาตุทั้งสองที่สะสมในเปลือกมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นตามระดับความเค็มน้ำและการเสริมเกลือแร่ในอาหาร แต่ที่ระดับความเค็มน้ำสูง (30 ppt) ความเข้มข้นของแคลเซียม, แมกนีเซียมในเปลือกจะแปรผกผันกับระดับการเสริมเกลือแร่ในอาหาร ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากมีปริมาณของแคลเซียมกับแมกนีเซียมที่มากเกินความต้องการ ดังนั้นกุ้งจึงขับออกมาร่วมกับปัสสาวะและอุจจาระ

จากการพิจารณาทุกระดับความเค็มน้ำและการเสริมแร่ธาตุในอาหารหรือไม่เสริมในการเลี้ยงกุ้งแล้วพบว่าไม่ส่งผลให้ปริมาณแคลเซียมในเปลือกเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนนักหากเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่ระดับความเค็มน้ำ 0.5 – 10 ppt อย่างไรก็ดีที่ระดับความเค็มน้ำ 20 - 30 ppt นั้น ดูเหมือนว่าการเสริมแร่ธาตุในอาหารมีส่วนทำให้กุ้งได้รับแร่ธาตุแคลเซียมเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมแร่ธาตุ จึงเป็นการชี้ให้เห็นว่าในการเลี้ยงกุ้งในความเค็มน้ำต่ำนั้น มีโอกาสในการขาดแคลเซียมต่ำ แต่กลับเกิดขึ้นในการเลี้ยงกุ้งในน้ำความเค็มสูง การเสริมแร่ธาตุในอาหารจึงทำให้มีแคลเซียมสูงตามไปด้วย นั้นหมายความว่าแคลเซียมในน้ำความเค็มสูงมีปริมาณที่ต่ำกว่าในน้ำความเค็มต่ำ อาจมีผลเนื่องจากเกิดการตกตะกอนของเกลือแคลเซียม เนื่องจากในน้ำทะเลมีปริมาณประจุของแร่ธาตุที่ละลายในน้ำสูง จึงทำให้กุ้งมีโอกาสได้รับต่ำไปด้วยหรือการเข้าภายในร่างกายของประจุบวกมีการแข่งขันกันสูงมากขึ้นในการเลี้ยงในน้ำความเค็มสูง หรืออาจเนื่องจากมีแร่ธาตุอื่นในปริมาณมาก เช่น แมกนีเซียม, โปแตสเซียม และ สทรอนเซียม (Mantel และ Farmer, 1983) ดังจะเห็นได้ว่า จากการทดลองนี้ที่ว่าจะพบปริมาณของแมกนีเซียมและโปแตสเซียมในปริมาณที่สูงขึ้นในเปลือกกุ้งหากเลี้ยงในน้ำความเค็มที่สูงขึ้น จึงส่งผลให้มีปริมาณของแคลเซียมลดลง

แคลเซียมเป็นแร่ธาตุหลักที่สำคัญในการสร้างเปลือกของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน (Pratoomchat *et al.*, 2002) พบว่า ปริมาณแคลเซียมในเปลือกจะแปรผกผันกับในพลาสมาของกุ้งกุลาดำ สอดคล้องกับรายงานในเลือดซึ่งมีปริมาณค่อนข้างต่ำ และจากการทดลองปริมาณแคลเซียมมีความเข้มข้นลดลงเมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น (0.5 – 20 ppt) แต่ที่ความเค็มน้ำ 30 ppt จะมีปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้นอีกครั้ง เช่นเดียวกันกับการเสริมแร่ธาตุในอาหาร เมื่อมี%แร่ธาตุเพิ่มขึ้นปริมาณแคลเซียมจะลดลงแต่ไม่แตกต่างอย่างชัดเจนนัก เนื่องจากแคลเซียมมีการนำไปใช้ในขบวนการสร้างเปลือก ดังนั้นปริมาณแคลเซียมที่พบในเลือดจึงมีปริมาณไม่สูงนักจะพบอยู่ใน

ช่วง 13 – 16 mmol เท่านั้น ซึ่งจะสัมพันธ์กับการปรับpHในเลือด โดยพบว่าสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนจะมีค่าpH ในเลือดแปรผกผันกับระดับความเค็มน้ำภายนอก กล่าวคือเมื่อระดับความเค็มน้ำภายนอกลดลง ค่าpHในเลือดจะมีค่าเพิ่มขึ้น ที่เป็นเช่นนี้เพราะเมื่อน้ำภายนอกมีความเค็มต่ำ ส่งผลให้ค่าpHในน้ำต่ำลงคือน้ำภายนอกจะมีสภาพเป็นกรดมากขึ้น (มี H^+ มากขึ้น) และเนื่องจากกุ้งกุลาดำมีระบบออสโมซิส (osmosis) ที่ช่วยในการรักษาความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกาย ซึ่งระบบจะมีการรับน้ำภายนอกเข้าสู่ร่างกายตลอดเวลา ดังนั้นเมื่อน้ำภายนอกมีสภาพเป็นกรดจึงมีผลต่อการละลายของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) จากเปลือกเก่าและคิวติเคิลมาอยู่ในรูปของแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) และไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) จึงทำให้ปริมาณของแคลเซียมอิออน และไบคาร์บอเนตในเลือดสูงขึ้น (Machado *et al.*, 1988) เมื่อในเลือดมีไบคาร์บอเนตสูงขึ้นจึงส่งผลให้มีค่า pH สูงขึ้น (Henry และ Cameron, 1982)

ปริมาณแมกนีเซียมและโปแตสเซียมในเปลือกกุ้งกุลาดำมีค่าแปรผันตามเปอร์เซ็นต์การเสริมแร่ธาตุในอาหารอย่างชัดเจน ชี้ให้เห็นว่าการเสริมเกลือแร่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมกนีเซียมและโปแตสเซียมในอาหารนั้นเป็นเรื่องที่น่าพิจารณาเพื่อที่จะทำให้เปลือกกุ้งมีความแข็งแรงมากขึ้น ความเค็มน้ำยังส่งผลกระทบอย่างชัดเจนต่อการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของปริมาณแมกนีเซียมและโปแตสเซียมในเปลือกกุ้ง

การเสริมแร่ธาตุในอาหารมีโอกาสช่วยลดการขาดแมกนีเซียมและโปแตสแซียมในขบวนการสร้างเปลือกให้สมบูรณ์มากขึ้นในกุ้งกุลาดำได้ทุกระดับความเค็มน้ำ ดังนั้นการเสริมแร่ธาตแมกนีเซียมและโปแตสเซียมในอาหารจึงเป็นเรื่องที่แนะนำ

ความเข้มข้นของธาตุแมกนีเซียมและโปแตสเซียมในเปลือกแปรผันตามความเข้มข้นในพลาสมาของกุ้งกุลาดำ ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับความเค็มน้ำและการเสริมแร่ธาตุในอาหาร เป็นการชี้ให้เห็นว่าการเสริมแมกนีเซียมและโปแตสเซียมในระดับ 85 g/kg และ 47.5 g/kg ในอาหารกุ้งมีความเหมาะสมในการสร้างเปลือกกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำทุกระดับ

ในกุ้ง *Penaeus indicus* แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแมกนีเซียมในเนื้อเยื่อต่างๆ คล้ายคลึงกับแคลเซียม ซึ่งสันนิษฐานว่า แมกนีเซียมใช้แทนที่แคลเซียมซึ่งเป็นแร่ธาตุที่สำคัญในการสร้างเปลือกของครัสเตเชียน แม้ว่าระดับแมกนีเซียมในเปลือกของเดคาพอดในระยะคราบแข็งมีระดับต่ำกว่า 0.5% (Dall, 1965, Huner et al, 1979 อ้างโดย Vijayan และ Diwan, 1996) รายงานว่า ระดับแมกนีเซียมในเปลือกของกุ้ง *Penaeus californiensis* มีระดับอยู่ที่ 1.25% เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้ง *P. indicus* ความเข้มข้นของแมกนีเซียมที่ต่ำบ่งบอกถึงความสำคัญค่อนข้างน้อยของแมกนีเซียมที่เป็นองค์ประกอบโครงสร้างของเปลือกครัสเตเชียน (Vijayan และ Diwan, 1996) ขณะที่ในกุ้งกุลาดำมีประมาณ 0.5 – 0.6% ของการศึกษานี้ อย่างไรก็ดีถึงแม้ว่าจะมีความเข้มข้นต่ำในเปลือก แต่แมกนีเซียมก็นับว่าเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อขบวนการสร้างเปลือกตลอดวงจรการลอกคราบที่ขาดไม่ได้ (Pratoomchat *et al.*, 2002a,b)

3. ทองแดง

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของทองแดงในเลือดไม่ขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำ โดยภาพรวมการเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับทองแดงในเลือดสูงขึ้นที่การเสริมเกลือแร่ 1% ในอาหารและเพิ่มสูงมากขึ้นในเปลือก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ที่การเสริมเกลือแร่ 3% สำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10 ppt แต่ไม่มีผลทำให้ระดับทองแดงเพิ่มมากขึ้นทั้งในเลือดและในเปลือกของการเลี้ยงกุ้งในบ่อดินที่ระดับความเค็มน้ำต่ำ จึงดูเหมือนว่าการเสริมเกลือแร่จะมีส่วนช่วยทำให้ทองแดงมีมากขึ้นในระบบของกุ้งกุลาดำนี้ มีความเป็นได้ที่อาจจะตอบสนองในทางบวกที่ระดับความเค็มน้ำ 10 ppt

4. แมงกานีส ฟอสฟอรัส และกำมะถัน

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแมงกานีสในเลือดขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำ การเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับแมงกานีสในเลือดสูงขึ้นของการเลี้ยงกุ้งช่วงความเค็มน้ำ 0.5-20 ppt โดยพบว่าการเสริมเกลือแร่ 3 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10 ppt ส่งผลให้แมงกานีสในเลือดสูงกว่ากลุ่มกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีความจำเป็นลดลงหากเลี้ยงในความเค็มน้ำ 20 และ 30 ppt

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเลือดขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำ การเสริมเกลือแร่มีส่วนทำให้ระดับฟอสฟอรัสในเลือดและในเปลือกสูงขึ้นโดยพบว่าการเสริมเกลือแร่ 1-3 % ในอาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 10-20 ppt ส่งผลให้ฟอสฟอรัสในเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยมีความจำเป็นลดลงหากเลี้ยงในความเค็มน้ำ 30 ppt ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่มีความจำเป็นต้องเสริมในอาหาร เนื่องจากกุ้งไม่สามารถดูดซึมได้จากน้ำและกุ้งยังมีข้อจำกัดในการดึงเอาไปใช้จากวัตถุดิบอาหารอีกด้วย (Davis และ Lawrence, 1997)

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกำมะถันในเลือดไม่ขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำ การเสริมเกลือแร่1-3% มีส่วนทำให้ระดับกำมะถันในเลือดสูงขึ้นทั้งในเลือดและในเปลือกสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำต่ำกว่า 10 ppt โดยมีความจำเป็นลดลงหากเลี้ยงกุ้งในความเค็มน้ำสูง

1. ออสโมลาลิตี้

จากการนำกุ้งกุลาดำ มาปรับตัวภายใต้สภาพความเค็มน้ำช่วง 0.1-45 ส่วนในพัน กุ้งจะแสดงสภาวะออสโมลาลิตี้สูงกว่าน้ำภายนอกตลอดเวลา (hyper-osmotic regulation) ที่ความเค็มน้ำต่ำ โดยกุ้งจะพยายามรักษาระดับเกลือแร่ไว้ในร่างกายให้คงที่ตลอดเวลา จึงเป็นการบอกถึงว่าการเลี้ยงกุ้งในสภาวะความเค็มที่ต่ำมากเกินไปนั้นจะมีผลทำให้กุ้งมีความเครียด และใช้พลังงานสูงมากขึ้นในการรักษาสมดุลย์ หรืออาจก่อให้เกิดการละลายจากเปลือกเก่าได้อีกทางหนึ่งด้วยเนื่องจากในสภาวะนี้เลือดจะมีสภาพเป็นกรดอ่อนเนื่องจาก respiratory และ metabolic acidosis จนมีค่าเท่ากับน้ำภายนอกที่ระดับความเค็มน้ำ 23 ppt (iso-osmotic regulation) จึงนับว่าเป็นระดับความเค็มที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้ง และยังคงมีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อความเค็มน้ำสูงขึ้น แต่อยู่ในสภาวะต่ำกว่าน้ำภายนอก (hypo-osmotic regulation) ก็ให้ผลในทำนองเดียวกันกับการเลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำ

จากการตรวจสอบค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งและน้ำภายนอกระหว่างกุ้งที่ทำการเลี้ยงในน้ำความเค็มแตกต่างกันด้วยการเสริมแร่ธาตุและไม่เสริมในสภาพบ่อทดลอง พบว่าค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งและน้ำภายนอกของกุ้งที่ได้รับเกลือแร่เสริม 1% และ 3 % จะมีค่าสูงกว่าเมื่อกุ้งที่ไม่ได้กินอาหารผสมเกลือแร่ ยกเว้นที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt และค่าสัดส่วนออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งและน้ำภายนอกระหว่างกุ้งที่

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ทำการเลี้ยงในน้ำความเค็มน้ำต่ำในบ่อดินด้วยการเสริมแร่ธาตุจะมีค่าสูงกว่ากุ้งที่ไม่ได้กินอาหารผสมเกลือแร่ด้วยเช่นเดียวกัน จึงเป็นดัชนีชี้ให้เห็นถึงกุ้งสามารถนำแร่ธาตุจากการผสมในอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ดี

6. โปรตีน ไกลโคสมิโนไกลแคน และคาร์โบไฮเดรต

ความเค็มน้ำและการเสริมแร่ธาตุในอาหารมีผลกระทบโดยอ้อมต่อความเข้มข้นของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในเลือดกุ้ง ระดับความเข้มข้นของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในพลาสมามีความเข้มข้นต่ำสุดที่ระดับความเค็มน้ำ 0.5 ppt และจะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อความเค็มสูงขึ้นจนมีระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt และ 30 ppt ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานในพลาสมาของปูทะเล (*Scylls* sp.) พบว่าระดับความเข้มข้นของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตต่ำที่สุดที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt และจะค่อย ๆ สูงขึ้นที่ระดับความเค็มน้ำสูงขึ้น (บุญรัตน์ และคณะ, 2546) ซึ่งระดับน้ำภายนอกยิ่งมีระดับต่ำมากเท่าใดโอกาสที่สัตว์จะสูญเสียแร่ธาตุและอินทรีย์สารโมเลกุลขนาดเล็กย่อมมีมากเท่านั้น น้ำจะผ่านเข้าไปในตัวสัตว์มากขึ้น สภาวะการณ์ดังกล่าวนี้สัตว์น้ำจะต้องมีกลไกในการควบคุมสภาพสมดุลนี้เพื่อการอยู่รอด โดยจะต้องลดการสูญเสียด้วยการลดการผ่านเข้าออกของเมมเบรน รวมทั้งต้องนำเอาแร่ธาตุจากภายนอกเข้ามาใหม่อีกระหว่างที่สูญเสียแร่ธาตุออกไป อีกทั้งสัตว์จะต้องทำการขับน้ำออกจากร่างกายให้ได้มากที่สุดเพราะน้ำที่เจือจางภายนอกจะพยายามเข้าไปในร่างกายตามหลักของการออสโมซีส (osmosis) ขณะเดียวกันก็ต้องรักษาระดับแร่ธาตุภายในร่างกายให้ได้มากที่สุด ทำให้ต้องใช้พลังงานในการขับน้ำออกและการรักษาสมดุลจึงทำให้เหลือโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตน้อยมากซึ่งส่งผลต่อพลังงานที่จะนำมาใช้ในการสร้างเปลือกและกล้ามเนื้อน้อยเนื่องจากกุ้งต้องใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญและสำรองด้วยคาร์โบไฮเดรต ในสภาพดังกล่าวนี้สัตว์อาจจะมีกลไกขับกรดอะมิโน (amino acid) ออกนอกเซลล์หรือการสูญเสียจากเซลล์เข้ามาเก็บในเลือดอยู่ในรูปของโปรตีนหรือมีการสลาย (dissolution) ของสารอินทรีย์และอนินทรีย์จากเปลือกเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อช่วยเพิ่มระดับออสโมลาลิตี้ภายในเลือด (Mangum และ Johansen, 1975) การเพิ่มขึ้นของโปรตีนนั้นสัมพันธ์กับการเพิ่มของ haemocyanin และปริมาณทองแดงที่สัตว์จำเป็นต้องมีการใช้ออกซิเจนสูงขึ้น เพราะสัตว์โดยทั่วไปแล้วจะมีอัตราการหายใจสูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่น้ำภายนอกมีการเจือจางลง ซึ่งไม่มีความสัมพันธ์กับการลำเลียงโซเดียมอิออน (Na^+) เพื่อปรับระดับออสโมลาลิตี้ ซึ่งต้องใช้พลังงานมาก นั่นคือระดับที่ความเค็มน้ำต่ำโปรตีนในเลือดจะสูงขึ้นเพื่อสนับสนุนกิจกรรมดังกล่าวขณะที่ให้ผลตรงกันข้ามกับ *Libinia marginata* ที่เป็นกลุ่ม stenohaline คือระดับโปรตีนจะลดลง (Pequeux *et al.*, 1979) ซึ่งสามารถพบได้ในสัตว์อีกหลายชนิดทั้งในกลุ่ม euryhaline และ semiterrestrial ที่ระดับออสโมลาลิตี้และโปรตีนในเลือดไม่มีความสัมพันธ์กัน การที่ระดับโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตมีค่าแปรผันตามระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้นนั้นอาจจะเป็นไปได้ที่ว่าปัจจัยอื่นเข้ามามีบทบาทสูงมากกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวเนื่องกับขบวนการเมตาบอลิซึม ที่ต้องมีการใช้พลังงานเพื่อปรับสภาวะสมดุลเกลือแร่ภายในร่างกายซึ่งสัตว์จะมีความเครียดที่แตกต่างกัน

เมื่อมีการเสริมแร่ธาตุในอาหารแล้วนำมาใช้ในการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มต่ำ (0.5-10 ppt)โดยการเสริมแร่ธาตุที่ความเข้มข้นสูง (3 %) จะส่งผลให้ความเข้มข้นของโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโน

ไกลแคนมีค่าสูงขึ้นจึงมีโอกาสเกิดความคล่องตัวในการสร้างเปลือกและกล้ามเนื้อ ระยะเวลาที่ใช้ในการลอกคราบจะสั้นลงและเปลือกกุ้งจะมีความสมบูรณ์

ส่วนที่ระดับน้ำความเค็มสูง (20 ppt และ 30 ppt) การเสริมเกลือแร่ในอาหารไม่ส่งผลให้ความเข้มข้นของโปรตีน, คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโนไกลแคนเพิ่มขึ้นแต่อย่างใดเพราะที่ระดับน้ำความเค็มสูงจะมีความเข้มข้นของแร่ธาตุและสารอินทรีย์มีในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของกุ้ง เมื่อได้รับมากเกินความจำเป็นมันก็จะขับออกมาจากร่างกาย

เมื่อพิจารณาถึงระดับความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคนที่ระดับความเค็มน้ำร่วมกับการเสริมแร่ธาตุในอาหารจะพบว่าระดับความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคนมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเสริมแร่ธาตุในอาหาร 3 % โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเค็มน้ำต่ำกว่า 20 ppt และพบว่าที่ระดับความเค็มน้ำ 10 ppt จะเหลือไกลโคสอะมิโนไกลแคนอยู่มาก ซึ่งการเพิ่มแร่ธาตุที่ระดับความเค็มนี้ทำให้ความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคนเพิ่มขึ้น จึงมีโอกาสที่กุ้งจะนำไปสร้างเปลือกและเนื้อเยื่อได้ดีก็เป็นได้ เนื่องจากไกลโคสอะมิโนไกลแคนเป็นตัวเหนี่ยวนำในการสร้างเปลือกกุ้งและเป็น mucopolysaccharide จึงมีความเกี่ยวโยงกันกับปริมาณของคาร์โบไฮเดรต โดยน้ำตาลในเลือดเป็นตัวหลักในการสร้างไคตินและคิวติเคิลที่เกิดขึ้นใหม่สำหรับการสร้างเปลือกซึ่งต้องใช้พลังงานค่อนข้างมาก โดยปริมาณน้ำตาลในเลือดจะลดต่ำลง เพราะมีการใช้น้ำตาลเป็นจำนวนมากในการสังเคราะห์ไคตินขึ้นมาใหม่และดูดเข้าไปเป็นองค์ประกอบของคิวติเคิลเก่า เมื่อกลูโคสต่ำลงจึงทำให้ไกลโคสอะมิโนไกลแคนต่ำลงด้วย (Pratoomchat *et al.*, 2002a) แต่จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคนต่ำมากจึงทำให้ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงชัดเจน

7. การเพิ่มขึ้นของขนาดกุ้ง

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า การเพิ่มเกลือแร่ในอาหารมีส่วนช่วยให้ขนาดของกุ้งเพิ่มขึ้นต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่จะเห็นได้ว่า กุ้งที่ได้รับเกลือแร่เสริมในอาหารมีโอกาสเจริญเติบโตได้ดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเกลือแร่ การที่กุ้งที่ได้รับเกลือแร่เสริม 1-3% ลงไปในอาหารนั้นอาจทำให้กุ้งได้รับแร่ธาตุมากเกินพอเพื่อเก็บในร่างกายกุ้ง สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณของธาตุโซเดียม คลอรีน โปแตสเซียม และแคลเซียมในพลาสมากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่ 1% และ 3% การที่กุ้งมีแร่ธาตุสะสมอยู่อย่างมากพอนั้น ทำให้กุ้งมีความสำเร็จในการลอกคราบมากขึ้น มีการสูญเสียพลังงานต่ำกว่าระหว่างการละลายและการดึงกลับหรือการนำจากน้ำภายนอกจึงมีโอกาสนำแร่ธาตุมาทำการสร้างเปลือกได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น การที่กุ้งสูญเสียพลังงานเพื่อการควบคุมระบบสมดุลเกลือแร่ของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่นั้นกุ้งจะสูญเสียพลังงานค่อนข้างต่ำ จะเห็นได้จากปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญที่สะสมอยู่ในพลาสมาของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่มีค่าสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมเกลือแร่

เมื่อวิเคราะห์ที่ระดับความเค็มน้ำซึ่งเป็นปัจจัยภายนอกที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต โดยไม่ได้สนใจว่าจะมีอิทธิพลมาจากอาหารเสริมเกลือแร่ชี้ให้เห็นว่า ที่ความเค็มน้ำระดับสูงขึ้นกุ้งมีโอกาสเพิ่มขนาดได้ดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงอยู่ในระดับน้ำความเค็มต่ำ โดยผลการลอกคราบทุกครั้งของกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 30 ppt มีการเจริญเติบโตดีที่สุด พบว่า กุ้งกุลาดำจัดเป็นกุ้งที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ในน้ำทะเลที่มีช่วงความเค็มกว้าง (euryhaline) คือ

มีระดับความเค็มอยู่ในระหว่าง 0-70 ppt แต่จะเจริญเติบโตได้ดีในช่วงความเค็มน้ำ 15-30 ppt (นิเวศน์, 2530) ทั้งนี้อาจจะเป็นข้อได้เปรียบของกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำสูงนั้นกุ้งอาจจะมีโอกาสได้รับแร่ธาตุจากน้ำภายนอกได้มากกว่าในระดับน้ำความเค็มต่ำ โอกาสที่จะนำแร่ธาตุเพื่อนำไปใช้ในการสร้างเปลือก (calcification) ซึ่งเห็นได้จากปริมาณของธาตุโซเดียม คลอรีน โปแตสเซียม และแคลเซียมในพลาสมากุ้งที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำแตกต่างกัน พบว่า ปริมาณของธาตุโซเดียม คลอรีน และโปแตสเซียม สัมพันธ์กับระดับของความเค็มน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งระดับของความเค็มน้ำมีอิทธิพลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของธาตุโซเดียม คลอรีน และโปแตสเซียม ในพลาสมาของกุ้งกุลาดำ โดยพบว่าปริมาณของธาตุทั้ง 3 ชนิด จะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อมีระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น ส่วนแคลเซียมซึ่งเป็นแร่ธาตุหลักที่สำคัญในการสร้างเปลือกของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน พบว่า ปริมาณแคลเซียมมีความเข้มข้นลดลงเมื่อระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้นแต่ที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ก็ส่งผลให้มีปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้นอีกครั้ง ถึงแม้ว่าจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เนื่องจากแคลเซียมมีการนำไปใช้ในขบวนการสร้างเปลือก เมื่อปริมาณแคลเซียมในเลือดมีอยู่สูงกระบวนการสร้างเปลือกก็สามารถดำเนินไปด้วยดี รวดเร็ว การมีขนาด ความแข็งของเปลือก และความสมบูรณ์จึงมีมากกว่า การที่กุ้งได้รับธาตุอาหารมากเกินพอนั้น กุ้งไม่จำเป็นต้องสูญเสียพลังงานเพื่อการควบคุมระบบสมดุลเกลือแร่จะเห็นได้จากปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญที่สะสมอยู่ในพลาสมาของกุ้ง จะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อมีระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น แสดงในเห็นว่ากุ้งมีอินทรีย์สารเหล่านี้มากเกินพอต่อการเจริญเติบโต และเหลือมากพอต่อการสร้างเปลือกร่วมกับอนินทรีย์สาร และสร้างเปลือกใหม่ภายใต้เปลือกเก่าได้เร็วขึ้น

เมื่อวิเคราะห์ทั้งระดับความเค็มน้ำและการเสริมเกลือแร่ พบว่าการเพิ่มเกลือแร่ที่ระดับ 3% ในอาหารมีแนวโน้มช่วยให้กุ้งมีขนาดเพิ่มดีขึ้นหากเลี้ยงในสภาวะความเค็มน้ำต่ำกว่า 10 ppt ขณะที่การเสริมเกลือแร่ 1% เหมาะสำหรับการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็ม 20 ppt และไม่มีความจำเป็นนักสำหรับการเลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำสูงกว่า 20 ppt เนื่องจากกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำสูงนั้นอาจจะมีโอกาสได้รับแร่ธาตุจากน้ำภายนอกได้โดยตรงมากกว่าในระดับน้ำความเค็มต่ำ โดยไม่จำเป็นต้องใช้เกลือแร่ที่ผสมในอาหาร

8. เปอร์เซ็นต์การตาย

ถึงแม้ว่าข้อมูลจะไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเค็มน้ำ 5 ppt การเสริมเกลือแร่ในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งส่งผลให้กุ้งมีแนวโน้มของอัตราการตายลดลงในช่วงคราบแข็ง ก่อนลอกคราบ และระหว่างลอกคราบ โดยสูงสุดที่ระดับ 3% มากกว่า 1 เท่าตัวในระยะคราบแข็ง และระยะระหว่างการลอกคราบ แต่ส่วนมากกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มนี้จะตายระหว่างลอกคราบและหลังลอกคราบ อาจมีสาเหตุมาจากการที่มีปริมาณของเกลือแร่ในน้ำเข้าไปได้ง่ายและอย่างรวดเร็ว เนื่องจากน้ำภายนอกมีความเข้มข้นต่ำ ขณะที่กุ้งพยายามสร้างสภาวะ osmotic pressure ให้สูงกว่าน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lignot *et al.* (2000) ที่ว่าค่าความแตกต่าง ออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดของครัสเตเชียนและสิ่งแวดล้อมภายนอกจะสูงมากขึ้น เมื่อความเค็มน้ำต่ำลงจนทำให้กุ้งปรับสรีระทางร่างกายไม่ทัน ก่อให้เกิดสภาวะการสูญเสียแร่ธาตุในระบบมากเกินไปชั่วคราว เนื่องจากการเจือจางด้วยน้ำก็อาจจะมีส่วนทำให้กุ้งช็อก และสูญเสียความสามารถในการลอกคราบ ภายหลังผ่านการลอกคราบแล้วกุ้งส่วน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

มากไม่สามารถกำจัดน้ำออกจากร่างกายได้ดีนัก เนื่องจากน้ำภายนอกมีความเข้มข้นต่ำ ทำให้ของเหลวภายในร่างกายเจือจางมากเกินไป ซึ่งจะไปมีผลต่อระบบสรีระและเซลล์ ประกอบกับความสามารถในการดึงแร่ธาตุมาใช้ในการสร้างเปลือกได้ช้า เนื่องจากมีปริมาณสะสมอยู่ในร่างกายต่ำ ปริมาณของธาตุโซเดียม โปแตสเซียม ในเปลือกกุ้งจะมีความเข้มข้นสูงขึ้นเมื่อเลี้ยงในระดับความเค็มน้ำเพิ่มขึ้น หรือตลอดเวลากุ้งต้องใช้พลังงานสูงมากเพื่อทำการปรับสภาพสมดุลแร่ธาตุภายในร่างกายตลอดเวลาและอย่างหนัก เนื่องจากน้ำภายนอกมีความเค็มต่ำเกินไป ก็อาจจะมีส่วนทำให้กุ้งเกิดสภาวะเครียดสะสม ถึงแม้ว่าจะไม่มีผลในระยะก่อนลอกคราบ แต่ขณะลอกคราบนั้นนับว่าเป็นจุด critical stage จึงทำให้กุ้งตายได้ และขึ้นอยู่กับสุขภาพของกุ้งด้วย จากการศึกษาปูที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำต่ำกว่า 5 ppt จะส่งผลให้ปูไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้นาน เนื่องจากระบบการควบคุมสมดุลเกลือแร่ และแรงดันออสโมซิสในร่างกาย (osmoregulation) ไม่สามารถทนกับสภาพแวดล้อมของน้ำที่มีความเค็มต่ำมากๆ เป็นเวลานานๆ ทำให้ปูอ่อนแอและตายในที่สุด (ชลธี, 2539) การที่กุ้งเลี้ยงไม่ตายในที่ความเค็มต่ำในสภาพการเลี้ยงจริงนั้น กุ้งสามารถนำแร่ธาตุจากพื้นดินมาใช้ได้จึงทำให้กุ้งมีการตายลดลงหรือมีผลกระทบน้อยลง แต่ในระยะยาวในสภาวะการเลี้ยงหนาแน่น แร่ธาตุย่อมที่จะถูกใช้ไปจนเหลือน้อยลง จึงน่าจะมีผลต่อการรอดตายได้หรือการเจริญเติบโตได้ในภายหลัง เพื่อให้มีความสมดุลของแร่ธาตุในร่างกายกุ้งควรที่จะทำการเสริมเกลือแร่ในอาหารเพื่อช่วยบรรเทาอาการขาดแร่ธาตุที่มีอยู่อย่างจำกัดในสภาพการเลี้ยงความเค็มต่ำ การสูญเสียพลังงานอันเนื่องมาจากการปรับตัวทางสรีระอย่างหนักเพื่อไม่ให้สูญเสียเกลือแร่ภายใน ร่างกาย จึงทำให้กุ้งตายในระหว่างลอกคราบ สูงมากในน้ำความเค็ม 5 ppt และไม่มีแร่ธาตุสะสมเพียงพอในการสร้างเปลือกใหม่ช่วงหลังลอกคราบ จึงมีโอกาสทำให้กุ้งตายหลังการลอกคราบสูงในน้ำความเค็มต่ำกว่า 10 ppt

ที่ระดับความเค็มน้ำ 10 ppt การเสริมแร่ธาตุในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งในระดับน้ำความเค็มนี้ส่งผลให้กุ้งมีอัตราการตายลดลงในช่วงคราบแข็ง และระหว่างลอกคราบ และหลังลอกคราบ โดยช่วงกุ้งคราบแข็ง กุ้งมีการตายลดลงประมาณ 1 เท่าตัวเมื่อเสริมแร่ธาตุระดับ 3% และไม่พบว่ามีกุ้งตายระหว่างการลอกคราบเมื่อเสริมแร่ธาตุ 1-3% และช่วงหลังลอกคราบกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่ 3% มีการตายลดลง 6% และในระยะก่อนลอกคราบพบว่ากุ้งมีอัตราการตายใกล้เคียงกัน และสูงมากกว่าการเลี้ยงที่ระดับความเค็มสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าที่ระดับความเค็มน้ำต่ำกุ้งต้องมีการปรับสมดุลเกลือแร่ในร่างกายให้มาก ดังที่ทราบมาแล้วว่าค่าความต่างออสโมลาลิตี้ระหว่างเลือดกับสิ่งแวดล้อมภายนอกจะสูงมากขึ้นเมื่อความเค็มน้ำต่ำลง สภาวะการณ์ดังกล่าวอาจจะส่งผลให้กุ้งมีความเครียดและมีความเครียดมากขึ้นเมื่อความเค็มน้ำภายนอกต่ำเกินไป ซึ่งคาดการได้ว่าหากระดับความเค็มน้ำต่ำกว่า 10 ppt น่าจะทำให้กุ้งมีการตายมากขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ ธานินทร์ (2543) ซึ่งศึกษาการตายของปูทะเลที่เลี้ยงในระดับความเค็มน้ำต่างกัน พบว่า ปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็ม 5 ppt มีแนวโน้มการตายในระยะก่อนการลอกคราบสูง เนื่องจากการปรับตัวของปูทะเลกับความเค็มน้ำ การตายจะลดลงเมื่อความเค็มน้ำสูงขึ้นจนถึงความเค็มน้ำ 20 ppt และเริ่มมีการตายปรากฏขึ้นอีกทีที่ระดับความเค็มน้ำ 25 ppt และชี้ให้เห็นถึงข้อได้เปรียบของการเลี้ยงที่ความเค็มต่ำอย่างหนึ่งคือกุ้งมีระยะเวลาในการลอกคราบสั้น ดังมีรายงานที่กล่าวว่า ปู *C. altimanus* ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 3 ppt ระยะลอกคราบ (Intermolt) จะสั้นกว่าปูที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 21 และ 30 ppt (Spivak, 1999)การที่กุ้งใช้ระยะเวลาในการการลอกคราบสั้นกว่าที่ระดับน้ำความเค็มสูงมีสาเหตุมาจากอาจจะมีปริมาณของแร่ธาตุเข้าไปในร่างกายได้ง่ายและอย่างรวดเร็ว เนื่องจากน้ำภาย

นอกมีความเค็มต่ำ ขณะที่กุ้งพยายามสร้างสภาวะ osmotic pressure ให้สูงกว่าน้ำ แต่กุ้งที่เลี้ยงที่ความเค็มต่ำจะทำได้ต่ำกว่าการเลี้ยงที่ระดับน้ำความเค็มสูงๆ เนื่องจากกลไกการปรับสมดุลเกลือแร่ไม่จำเป็นต้องสูง เพื่อให้มีความสมดุลของแร่ธาตุในร่างกายกุ้ง ควรที่จะทำการเสริมในอาหารเพื่อช่วยบรรเทาอาการขาดแร่ธาตุที่มีอยู่อย่างจำกัดในสภาพการเลี้ยงความเค็มต่ำ เพื่อลดความเครียด ลดการสูญเสียพลังงานอันเนื่องมาจากการปรับตัวทางสรีระอย่างหนักเพื่อไม่ให้สูญเสียเกลือแร่ภายในร่างกาย ลดการตายของกุ้งระยะครบแข็ง ระหว่างการลอกคราบ และระยะหลังการลอกคราบ ควรเสริมเกลือแร่ในอาหารที่ระดับ 3%

ที่ระดับความเค็มน้ำ 20 ppt กุ้งมีอัตราการตายไม่แตกต่างกันในระยะครบแข็ง ระยะก่อนลอกคราบ ระหว่างลอกคราบ และระยะหลังการลอกคราบ เป็นการบ่งบอกถึงระดับความเค็มที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งมากกว่าระดับความเค็มที่ต่ำกว่านี้ เห็นได้ชัดเจนว่ากุ้งไม่มีปัญหาเรื่องการตายระหว่างลอกคราบเลย อย่างไรก็ดี การตายของกุ้งระยะหลังลอกคราบลดลงเมื่อทำการเสริมแร่ธาตุ 1-3% จึงส่งผลให้ภาพรวมกุ้งมีอัตราการตายลดลง หมายถึงว่ากุ้งที่ได้รับแร่ธาตุเพิ่ม มีข้อได้เปรียบในเรื่องของการสร้างเปลือกหลังจากกุ้งลอกคราบ ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่ากุ้งได้รับแร่ธาตุมากเกินพอเพื่อเก็บสะสมในร่างกายกุ้ง และสูญเสียพลังงานต่ำกว่าระหว่างการละลายและดึงกลับหรือการนำจากน้ำภายนอก จึงมีโอกาสมาทำการสร้างเปลือกได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น แต่จะพบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่ 3% ที่ระดับความเค็มนี้ มีเปอร์เซ็นการตายระยะครบแข็งสูงสุด สาเหตุจากที่ระดับความเค็มน้ำสูงกุ้งต้องมีการปรับออสโมลาลิตี้ให้สูงกว่าน้ำภายนอก เนื่องจากน้ำภายนอกที่มีความเค็มสูงนั้นจะมีความเข้มข้นของเกลือแร่สูง ประกอบกับมีการเสริมเกลือแร่ลงไปในอาหารอีก 3% การจะปรับตัวให้มีค่าออสโมลาลิตี้ภายในให้สูงกว่าน้ำภายนอกและการดึงน้ำเข้าไปภายในตัว กุ้งต้องปรับค่าออสโมลาลิตี้ให้สูงมากขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากเกิดความต่างของค่า Hydrostatic pressure ส่งผลให้กุ้งที่เลี้ยงที่ความเค็มสูงตายในระยะครบแข็งมากที่สุด ดังนั้นการที่จะทำการเสริมในอาหารเพื่อช่วยการสร้างเปลือกให้ได้รวดเร็วและสมบูรณ์มากขึ้นควรเพิ่มเกลือแร่ที่ระดับ 1% ในระดับความเค็มนี้

ที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt การตายของกุ้งระยะหลังลอกคราบลดลงเมื่อทำการเสริมแร่ธาตุ 1-3% จึงส่งผลให้ภาพรวมกุ้งมีอัตราการตายลดลง หมายถึงว่ากุ้งที่ได้รับแร่ธาตุเพิ่ม มีข้อได้เปรียบในเรื่องของการสร้างเปลือกหลังจากกุ้งลอกคราบ ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่ากุ้งได้รับแร่ธาตุมากเกินพอเพื่อเก็บสะสมในร่างกายกุ้งและสูญเสียพลังงานต่ำกว่าระหว่างการละลายและดึงกลับหรือการนำเข้ามาจากน้ำภายนอก จึงมีโอกาสนำมาทำการสร้างเปลือกได้อย่างมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น มีข้อสังเกตว่ากุ้งมีการตายระยะก่อนลอกคราบมากขึ้นเมื่อได้รับแร่ธาตุเสริม 3% ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะว่ากุ้งมีความเข้มข้นของแร่ธาตุภายในร่างกายมากจนอาจจะต้องพยายามกำจัดออก ซึ่งจากการทดลองพบว่ากุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ร่วมกับการเสริมเกลือแร่ในอาหาร 3 % มีปริมาณของธาตุแคลเซียมในพลาสมาต่ำกว่ากุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ร่วมกับการเสริมเกลือแร่ในอาหาร 1% และที่ไม่ได้เสริมเกลือแร่ แต่ปริมาณแคลเซียมที่สะสมอยู่ในเปลือกกุ้งที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ร่วมกับการเสริมเกลือแร่ในอาหาร 3 % มีสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ร่วมกับการเสริมเกลือแร่ในอาหาร 1% และที่ไม่ได้เสริมเกลือแร่ แสดงว่ากุ้งไม่จำเป็นต้องใช้แคลเซียมจากน้ำภายนอก เนื่องจากกุ้งจะดูดเกลือแร่จากเปลือกแทน เมื่อกุ้งได้รับเกลือแร่จากน้ำประกอบกับการที่เสริมลงไปในอาหารอีกกุ้งอาจจะขับเกลือแร่เหล่านี้ออก ขณะเดียวกันก็พยายามนำน้ำเข้าสู่ร่างกายในช่วงใกล้ลอกคราบ จึงอาจก่อให้เกิดปัญหา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ด้านสรีระและสูญเสียพลังงานมากจนอาจสร้างปัญหาในระยะก่อนลอกคราบได้ ปริมาณโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ที่สะสมอยู่ในพลาสมาซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ร่วมกับการเสริมเกลือแร่ในอาหาร 3 % มีปริมาณโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในพลาสมาต่ำกว่ากุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt ร่วมกับการเสริมเกลือแร่ในอาหาร 1% และที่ไม่ได้เสริมเกลือแร่ ดังนั้นการที่จะทำการเสริมในอาหารเพื่อช่วยการสร้างเปลือกให้ได้รวดเร็วและสมบูรณ์มากขึ้นควรเพิ่มเกลือแร่ที่ระดับ 1% ในระดับความเค็มนี้

9. ระยะเวลาการลอกคราบ

Limsuwan (1991) รายงานถึงระยะเวลาการลอกคราบของกุ้งกุลาดำในบ่อเลี้ยงแบบพัฒนา โดยกุ้งกุลาดำขนาดน้ำหนัก 10-15 กรัม มีระยะเวลาที่ใช้ในการลอกคราบ 9-10 วัน ขณะที่การศึกษาของ จิราภรณ์ (2533)พบว่า กุ้งกุลาดำขนาดน้ำหนัก 8.02-9.32 กรัม มีระยะเวลาที่ใช้ในการลอกคราบครั้งที่ 1 ไปยังการลอกคราบครั้งที่ 2 มีระยะเวลาที่ใช้ในการลอกคราบ 20.40±3.58 วัน ในการศึกษาครั้งนี้ กุ้งกุลาดำขนาดน้ำหนักประมาณ 10 กรัม มีระยะเวลาการลอกคราบ 11 – 12 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำขนาดใกล้เคียงกันที่เลี้ยงในบ่อแบบพัฒนา พบว่า กุ้งกุลาดำในบ่อมีระยะเวลาในการลอกคราบน้อยกว่าการทดลองในห้องปฏิบัติการ ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจาก สภาพแวดล้อมที่กุ้งอาศัยต่างกัน มีผลกระทบต่อความพร้อมของระบบต่อมไร้ท่อที่ผลิตฮอร์โมนเกี่ยวข้องกับการลอกคราบ ตลอดจนความสมบูรณ์ ของระบบสรีรวิทยาภายในร่างกายกุ้ง (Passano,1960 ; Smithและ Dall, 1985)

การเสริมเกลือแร่ในอาหารมีส่วนอย่างมากต่อระยะเวลาที่กุ้งใช้ในการลอกคราบ โดยการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มน้ำต่ำกว่า 20 ppt นั้น การเสริมแร่ธาตุในอาหารที่ระดับ 3 % จะมีส่วนช่วยทำให้กุ้งมีระยะการลอกคราบสั้นลงอย่างชัดเจน ทั้งนี้น่าจะเป็นเพราะว่าการเสริมเกลือแร่ลงในอาหารเป็นการช่วยเสริมสร้างขบวนการสร้างเปลือก (Calcification) ได้รวดเร็วขึ้น อีกทั้งเป็นแร่ธาตุที่อยู่ในสภาพที่ใช้งานและดูดซึมได้ ดังนั้นในเมื่อกุ้งมีขบวนการสร้างเปลือกได้ดีขึ้น จึงทำให้มีความสมบูรณ์เร็วขึ้น กุ้งจึงมีการเจริญเติบโตได้เร็ว และพร้อมที่จะลอกคราบมากขึ้น ทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการลอกคราบสั้นลง ดังที่ทราบมาแล้วแร่ธาตุหลักที่ใช้ในการสร้างเปลือกนั้น คือ แคลเซียม การใช้แคลเซียมจากน้ำและจากอาหารเป็นได้ไม่ดีนัก นอกจากนี้การใช้ P ในกุ้งยังจำเป็นต้องเสริมลงไปในอาหารอีกด้วย และธาตุปริมาณน้อย เช่น ทองแดง และแมงกานีส มีปริมาณน้อยในน้ำอยู่แล้วและที่กุ้งยากจะดูดซึมนำไปใช้ได้อีก ความเค็มน้ำที่ต่ำลงก็ส่งผลทำให้ระดับแร่ธาตุในน้ำลดน้อยลง ได้แก่ โซเดียม คลอรีน แมกนีเซียม และโปแตสเซียม ซึ่งนับว่าเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อขบวนการทางสรีระเคมีร่างกายกุ้งหรือสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนอย่างมาก (Pratoomchat *et al*., 2002a,b) ดังนั้นในการเสริมแร่ธาตุลงไปในอาหารที่ระดับความเค็มหนึ่งที่เหมาะสม จึงน่าจะส่วนช่วยให้กุ้งมีการลอกคราบอย่างสมบูรณ์และรวดเร็วขึ้น เมื่อลอกคราบได้เร็วขึ้นก็มีส่วนทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้นตามลำดับ

เมื่อกุ้งมีปริมาณธาตุอาหารที่มากเกินพอที่ใช้สำหรับการเจริญเติบโตแล้วกุ้งจะไม่ต้อง สูญเสียพลังงานเพื่อควบคุมระบบสมดุลเกลือแร่ในสภาพน้ำความเค็มต่ำ ปริมาณอินทรีย์สารที่มีมากเกินพอต่อการสร้างเปลือก ซึ่งเห็นจากปริมาณของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตที่มีค่าสูงในกลุ่มที่กุ้งได้รับเกลือแร่ ส่งผลให้กุ้งมีความพร้อม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ในการลอกคราบเร็วขึ้น ในขณะเดียวกันเมื่อมีการสะสมเกลือแร่ที่มากเกินไปสัตว์น้ำจะต้องสูญเสียพลังงานในการขับถ่าย หรือพลังงานในการปรับระบบสมดุลเกลือแร่ในร่างกาย ทำให้สัตว์เกิดความเครียดและร่างกายไม่พร้อมต่อการลอกคราบในครั้งต่อไป จึงส่งผลให้กุ้งมีระยะเวลาในการลอกคราบนานขึ้น

อย่างไรก็ดีการเสริมแร่ธาตุในการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มน้ำ 30 ppt นั้นส่งผลชัดเจนทำให้กุ้งใช้ระยะเวลาการลอกคราบนานขึ้น สัณนิษฐานได้ว่า กุ้งได้รับแร่ธาตุเกินความจำเป็นทำให้สูญเสียพลังงานในการขับแร่ธาตุออกมาจากร่างกาย และเกิดความไม่สมดุลย์ทางสรีระเคมีในร่างกาย (หรืออาจเกิดจากการที่ระดับแร่ธาตุที่มากนี้ก่อให้เกิดสภาวะการสร้างมากกว่าทำลาย) ทำให้ระยะการลอกคราบเลื่อนออกไป

10. คุณลักษณะของเปลือกกุ้งกุลาดำ

ถึงแม้ว่าข้อมูลเรื่องการเกิดสีและความแวววาวในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำความเค็มและการเสริมระดับเกลือแร่ต่างๆ จะไม่มีความแตกต่างกัน แต่จากการวิจัย กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมเกลือแร่ มีลักษณะของเปลือกกุ้งที่ดีกว่า กล่าวคือ การที่กุ้งมีความแข็งแรงและมีผิวขรุขระน้อยกว่าและกุ้งที่ไม่ได้รับอาหารเสริมเกลือแร่ โดยเรื่องของความแข็งแรงนั้นจะเห็นผลชัดเจนมากในการเลี้ยงที่ระดับความเค็มสูง 20 – 30 ppt ขณะที่ความขรุขระจะส่งผลได้ชัดเจนในน้ำความเค็มต่ำ (10 ppt) อาจเนื่องมาจาก ถ้าปริมาณเกลือแร่หรือสารอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต จะทำให้การลอกคราบที่เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ทำให้กุ้งมีโอกาสขาดแร่ธาตุที่จำเป็นหลายชนิดหรือความไม่สมดุลย์ของแร่ธาตุหลายชนิด เพราะกุ้งข้อจำกัดในการใช้แร่ธาตุหลายชนิดจากอาหารหรือการดูดซึมจากน้ำ เพื่อนำมาใช้ในการสร้างเปลือกให้สมบูรณ์ขึ้น ตามที่ทราบมาแล้วว่าถ้าก่อนการลอกคราบต้องมีการสะสมสารอินทรีย์และอนินทรีย์จากเปลือกเก่าเพื่อนำมาเก็บไว้ใช้หลังการลอกคราบ (Pratoomchat *et al.*, 2002a) หากมีการขาดแร่ธาตุในระบบน้ำที่ใช้เลี้ยงหลังจากที่กุ้งผ่านการลอกคราบหลายครั้ง ตลอดการเลี้ยง จึงทำให้มีโอกาสขาดแร่ธาตุได้ ส่งผลให้ปริมาณแร่ธาตุในเปลือกมีค่าลดลง ทำให้เปลือกไม่แข็งแรงและไม่สมบูรณ์ เกิดลักษณะเปลือกบางนิ่ม (thinning)โดยเฉพาะอย่างยิ่งในน้ำความเค็มต่ำ ซึ่งตรงกับรายงานของ สุริยะ (2540) ดังนั้นการเสริมเกลือแร่ในอาหารจึงน่าจะมีส่วนช่วยให้ขบวนการสร้างเปลือกสมบูรณ์ขึ้น โดยจะใช้ปริมาณมากน้อยเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับระดับความเค็มน้ำ

หากกุ้งที่มีอินทรีย์สารมากเกินพอหรือสมบูรณ์ต่อการเจริญเติบโตและเหลือมากพอต่อการสร้างเปลือกร่วมกับอนินทรีย์สาร จึงมีโอกาสสร้างเปลือกใหม่ภายใต้เปลือกเก่าเร็วขึ้น จึงส่งผลให้กุ้งมีความพร้อมในการลอกคราบเร็วขึ้น เมื่อลอกคราบแล้วหลังสภาวะการลอกคราบของกุ้งยังคงมีปริมาณสารอาหารมากพอที่จะทำให้กุ้งสร้างเปลือกใหม่ให้มีความแข็งแรงอย่างรวดเร็ว เมื่อกุ้งมีโอกาสที่จะทำให้ตัวเองมีความสมบูรณ์อย่างรวดเร็วก็ย่อมทำให้สามารถรอดพ้นจากการถูกกินจากตัวอื่น ส่งผลให้อัตราการรอดสูงขึ้นอีกด้วย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สรุปผลการทดลอง

1) การเสริมเกลือแร่ในอาหารมีความจำเป็นมากสำหรับการเลี้ยงกุ้งในน้ำความเค็มต่ำ ซึ่งความต้องการแร่ธาตุในแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำ โดยภาพรวมแล้วความจำเป็นในการเสริมเกลือแร่ในอาหารลดลงหากเลี้ยงกุ้งกุลาดำในน้ำความเค็มสูงขึ้น สูตรเกลือแร่ที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้มีทั้งที่อยู่ในรูปสารประกอบและคีเลต ซึ่งกุ้งสามารถดูดซึมนำไปใช้ในระบบร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2) การเสริมเกลือแร่ในอาหารมีผลต่อ การรอดตาย ระยะเวลาการลอกคราบ คุณลักษณะทางกายภาพของเปลือกในแง่ของความแข็งแรงและความขรุขระซึ่งจะแสดงผลแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความเค็มน้ำที่ใช้เลี้ยงและระดับเกลือแร่ที่เสริม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เอกสารอ้างอิง

ชลธี ชีวเศรษฐธรรม. 2539. การเพาะเลี้ยงปูทะเล (*Scylla serrata Forskal*). แผนกเทคโนโลยีการประมง, ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรม, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี, 129 หน้า.

ธานินทร์ ก่ำสี. 2543. ผลของความเค็มน้ำต่อการลอกคราบของปูทะเล (*Scylla sp.*). ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา, 41 หน้า.

นิศาลักษณ์ ขอสกุล. 2543. อิทธิพลของความเค็มน้ำต่อออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเล (*Scylla sp.*). ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา, 34 หน้า

นิเวศน์ เรืองพานิช. 2530. ปัญหาการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำและแนวทางการแก้ไขปัญหา. เอกสารประกอบการสัมนาวิชาการ สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพและเทคโนโลยีชีวภาพครั้งที่ 1. เมืองพัทยา, 10 หน้า.

บุญรัตน์ ประทุมชาติ 2545 ผลของความเค็มและระยะเวลาที่ได้รับแสงสว่างต่อระยะเวลาลอกคราบของปูทะเล *Scylla serrata* รายงานการประชุมวิชาการทรัพยากรทางน้ำ จ. เชียงใหม่.

บุญรัตน์ ประทุมชาติ พิชาญ สว่างวงศ์ และจอร์จ มาชาโด 2546 ผลของความเค็มน้ำต่อขบวนการลอกคราบและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรเคมีของปูทะเล(*Scylla serrata*) รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพา 78หน้า

สุริยะ จันทร์แก้ว. 2540. ผลของแอมโมเนียและความเค็มที่มีต่อการเจริญเติบโต ระยะเวลาการลอกคราบ และปริมาณแคลเซียมในเปลือกของกุ้งกุลาดำ . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 57 หน้า.

Cawthorne, D.F., Beard, T., Davenport, J. and J.F. Wickins. 1983. Responses of juvenile *Penaeus monodon* Fabricus to natural and artificial sea waters of low salinity. Aquacul. 32 : 165 – 174.

Dall, W. 1974. Osmotic and ionic regulation in the Western rock lobster *Panulirus longipes* (Milne-Edwards). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 15 : 97 – 125.

Dalley R. 1980. Effect of Non - Circadian light / dark cycles on the growth and moulting of *Palaemon elegans* reared in the laboratory. Mar. Biol. 56: pp. 71-78.

Davis, D.A. and A.L. Lawrence 1997. Minerals :In Crustacean Nutrition Advances in World Aquaculture Vol 6. D'Abramo L.R. et al. (Eds) P. 150-163.

deFur. 1990. Respiration during ecdysis at low salinity in blue crabs, *Callinectes sapidus* Rathbun. Bull. Mar. 46(1) : 48 – 54.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and ralated substances. Anal. Chem. 28(3), 350-356.

Gelin, A., Crivelli, A.J., Rosecchi, E. and P. Karambrun. 2001. Can salinity change affect reproductive success in the brown shrimp *Crangon crangon*. J. Crust. Biol. 21(4) : 905 – 911.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Gilles, R. and A. Pequeux. 1981. Cell regulation in Crustacean : Relation between mechanism for controlling the osmolality of extracellular and intracellular fluids. J. Exp. Zool. 215 : 351 – 362.

Gonzalez, R.J., Drazen, J., Hathaway, S., Bauer, B. and M. Simovich. 1996. Physiological correlates of water chemistry requirements in fairy shrimps (Anostraca) from Southern California. J. Crust. Biol. 16(2) : 315 – 322.

Greenway, P. 1981. Sodium regulation in freshwater/land crab *Holthuisana transversa*. J. Comp. Physiol. (B). 142 : 451 – 456.

Glynn, J.P. 1968. Study on the ionic, protein and phosphate change associated with the moult cycle of *Homarus valgaris*. Comp. Biochem. Physiol. 26 : 937-947.

Haefner, P.A. 1964. Hemolymph calcium fluctuations as related to environmental salinity during ecdysis of the blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun. Physiol. Zool. 37 : 247 – 258.

Hagerman, L. and R.F. Uglow. 1982. Effects of hypoxia on osmotic and ionic regulation in the brown shrimp *Crangon crangon* (L.) from brackish water. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 63 : 93 – 104.

Henry, R.P. and J.N. Cameron. 1982. Acid-base in *Callinectes sapidus* during acclimation from high to low salinity. J. Exp. Biol. 101 : 255 – 264.

Henry, R.P. and G.A. Kormanik. 1985. Carbonic anhydrase activity and calcium deposition during the molt cycle of the blue crab *Callinectes sapidus*. J. Crust. Biol. 5 : 234 – 241.

Kirkpatrick, K. and M.B. Jones. 1985. Salinity tolerance and osmoregulation of a prawn, *Palaemon affinis* Milne Edwards (Caridea : Palaemonidae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 93 : 61 – 70.

Knowles, F.G.W. and Carlisle, D.B. 1956. Endocrine control in the Crustacea. Biol. Rev. 31:396-473.

Knowlton, R.E. and D.F. Kirby. 1984. Salinity tolerance and sodium balance in the prawn *Palaemonetes pugio* Holthus, in relation to other Palaemonetes spp. Comp. Biochem. Physiol. (A). 77A : 425 – 430.

Lignot, J.-H., Spanings-Pierrot, C. Charmantier, G.. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. Aquaculture 191: 209-245

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275.

Lucu, C. 1978. Sodium balance and salinity tolerance of the mysid *Leptomysis mediterranea*. In : Physiology and Behavior of Marine Organisms. McLusky, D.S. and A.J. Berry (eds), Pergamon Press, New York, pp. 95 – 103.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Machado, J., Coimbra, J., SA, C., and Cadoso, I. 1988. Shell Thickning in *Anodonata cygnea* by Induced Acidosis. Comp. Biochem. Physiol. 19A (4) : 645 – 651.

Mangum, C. P. and Johansen, K. 1975. The colloid osmotic pressures of invertebrate body fluids. J. Exp. Biol. 63: 661-671.

Mangum, C.P., Silverthorn, S.U., Harris, J.L., Towle, D.W. and A.R. Krall. 1976. The relationship between blood pH, ammonia excretion, and adaptation to low salinity in the blue crab, *Callinectes sapidus*. J. Exp. Zool. 195 : 129 – 136.

Mantel, L.H. and L.L. Farmer. 1983. Osmotic and ionic regulation. In : The Biology of Crustacea (vol 5) : Internal anatomy and physiological regulation, Mantel, L.H. (ed), Academic Press, New York, pp. 53 – 61.

Mykles, D.L. 1980. The mechanism of fluid absorption at ecdysis in lobster *Homarus americanus*, and Dungeness crab *Cancer magister*. J Exp.Biol. 84: 89-101.

Passano, L.M. 1960. Molting and its control. In : The Physiology of Crustacea. Vol. 1, Waterman T.H. (ed), Academic Press, New York, pp. 437 – 536.

Pequeux, A., Vallota, A., and Gilles, R. 1979. Blood proteins as related to osmoregulation in crustacea. Comp. Biochem. Physiol. A64 : 433-435.

Potts, W.T.W. and Parry, G. 1964. Osmotic and ionic regulation in animals: *In*: International series of monographs on pure and applied biology, Kerkut, G.A. (Ed.), Pergamon press, Oxford, 423 pp.

Pratoomchat, B., Sawangwong, P., Pakkong, P. and J. Machado. 2002a. Organic and inorganic compound variations in haemolymph, epidermal tissue and cuticle over the molt cycle in *Scylla serrata* (Decapoda). Comp. Biochem. Physiol. 131A : 243 – 255.

Pratoomchat, B., Sawangwong, P. Guedes, R., Reis, M.D.L. and J. Machado. 2002b. Cuticle ultrastructure changes in the crab *Scylla serrata* over the molt cycle J Exp. Zool. 293(4): 414-426.

Price Sheets W.C. and J.E. Dendinger. 1983. Calcium deposition into the cuticle of the blue crab, *Callinectes sapidus*, related to external salinity. Comp Biochem. Physiol. 74A : 903 – 907.

Regnault, M. 1984. Salinity-induced changes in ammonia excretion rate of the shrimp *Crangon crangon* over a winter tidal cycle. Mar. Ecol. Prog. Ser. 20 : 119 – 125.

Rosas, C., Martinez, E., Gaxiola, G., Brito, R., Sanchez, A. และ L.A. Soto. 1999. The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmotic pressure of *Penaeus setiferus* (Linnaeus) juveniles. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 234 : 41 – 57.

Santos, M.C.F. and G.S. Moreira. 1999. Time Course of osmoionic compensations to acute salinity exposure in the ghost crab *Ocypode quadrata* (Fabricius, 1787). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 235 : 91 – 104.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

190659

Smith , D.M. and W.D. Dall. 1985. Molting Stag of the tiger prawn *Penaeus esculentus* . In PC. Rothlisberg, B.T. Hill and D.J. Staples(eds.).Second Australina National Prawn Seminar NPS 2. Cleveland, Australia: 56-70.

Spivak, E.D. 1999. Effects of reduced salinity on juvenile growth of two co-occuring congeneric grapsid crabs. Mar. Biol. 134 : 249 – 257.

Travis, D.F. and U. Friberg. 1963. The deposition of skeletal structures in the crustacea. VI. Microradiographic studies on the exoskeleton of crayfish *Orconectes virilis* Hagen. J. Ultrastruct. Res. 9 : 285 – 301.

Vijayan K.K. and A.D. Diwan . 1996. Fluctuations in Ca,Mg and P Levels in the hemolymph , muscle , midgut gland and exoskeleton during the moult cycle of the Indian White Prawns, *Penaeus indicus* (Decapods ; Penaeidae) Comp. Biochem. Physiol. 114A(1) : 91-97.

Waterman, H.T. 1960. Physiology of crustacea. Academic press, New York, vol.1, pp. 97-153.

Weiland, A.L. and Mangum, C.P. 1975. The influence of environmental salinity on hemocyanin function in the blue crab *Callinectes sapidus.* J Exp Biol 193: 265-274.

Wheatly, M.G. 1985. The role of the antennal gland in ion and acid-base regulation during hyposaline exposure of the Dungeness crab *Cancer margister* (Dana). J. Comp. Physiol. 155 : 445 – 454.

Whiteman, P. 1973. The quantitative determination of glycosaminoglycans in urine with alcian blue 8GX. Biochem. J. 131: 351-357.

คำนิยม

ขอขอบคุณงบประมาณแผ่นดินที่ได้สนับสนุนการวิจัยนี้ และภาควิชาวารีชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการทดลอง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University