รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแร่ธาตุบางชนิดในพลาสมาของกุ้งขาววัยรุ่น (*Litopenaeus vannamei*) ในสภาวะช็อก

The variations of concentrations of some minerals in plasma of *Litopenaeus vannamei* juvenile under shock condition

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๐

รหัสโครงการ 2560A10802214
สัญญาเลขที่ 74/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแร่ธาตุบางชนิดในพลาสมาของกุ้งขาววัยรุ่น (*Litopenaeus vannamei*) ในสภาวะช็อก

The variations of concentrations of some minerals in plasma of *Litopenaeus vannamei* juvenile under shock condition

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ ประทุมชาติ

ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

มีนาคม 2561

บทคัดย่อ

การวิจัยการเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีในเลือดของกุ้งขาววัยรุ่น (*Litopenaeus vannamei*) ในสภาวะช็อก ใช้กุ้งขาวจากบ่อเลี้ยงความยาวเฉลี่ย 11.3 $\pm$ 1.2 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 10.8 $\pm$ 1.5 กรัม เลี้ยงในน้ำความเค็ม 25 ppt ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design :CRD) แบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง กุ้งที่ปกติและกุ้งสภาพช็อค (อาการตัวเกร็งงอ ลำตัวมีสีขุ่นขาวบางส่วน) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 30 ตัว แล้วจึงทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดกุ้งระยะลอกคราบ D_0 เพื่อตรวจสอบความเข้มข้นโซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส ทองแดง คลอรีน ซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัส โปรตีน และออกซีฮีโมไซยานิน

จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นโซเดียม แคลเซียม แมงกานีส ทองแดง คลอรีน ซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัส และโปรตีนในพลาสมาของกุ้งขาวสภาพก่อนช็อคและที่อยู่ในสภาพช็อคมีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ความเข้มข้นของแมกนีเซียม และออกซีฮีโมไซยานินมีค่าลดลง ($p<0.05$) ขณะที่ความเข้มข้นโพแทสเซียมสูงขึ้น ($p<0.05$) ในพลาสมาของกุ้งขาวสภาพช็อค

Abstract

Physicochemical variation in the hemolymph of white shrimp juvenile (*Litopenaeus vannamei*) under shock condition were studied. Pond-reared shrimp with average size of 11.3 $\pm$ 1.2 cm in total length and 10.8 $\pm$ 1.5 g in total weight were used. They were cultured in 25 ppt. The experiment was divided into 2 sets of normal shrimp (Control) and shrimp shock (partly white and tight body: treatment) as followed Completely Randomized Design (CRD). The five replications (30 shrimps per replication) were operated. The hemolymph of the shrimp samples at stage D_0 were randomly collected for determining concentrations of sodium, potassium calcium magnesium, manganese copper, chlorine, sulphur, phosphorus, protein and oxyhemocyanin.

The results showed that concentration of sodium, calcium, manganese, copper, chlorine, sulphur, phosphorus and protein in plasma of control and treatment groups were not significantly different ($p>0.05$). Concentrations of magnesium and oxyhemocyanin showed significantly ($p<0.05$) lower and potassium showed significantly higher ($p<0.05$) in the plasma of shrimp shock.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญรูป..... ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

บทนำ..... 1

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 2

วิธีการทดลอง..... 12

ผลการทดลอง 14

อภิปรายผลการทดลอง 17

สรุปผลการทดลอง 19

ผลผลิต 19

เอกสารอ้างอิง 20

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ความเข้มข้นโซเดียมและคลอรีนในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค	14
2	ความเข้มข้นทองแดง แมกนีเซียม โปแตสเซียม และแคลเซียมในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค	14
3	ความเข้มข้นแมงกานีสในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค.....	15
4	ความเข้มข้นฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์ในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค	15
5	ความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค.....	16
6	ความเข้มข้นออกซีฮีโมซัยนินในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค	16

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 74/2560

บทนำ

การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลในประเทศไทยที่ผ่านมา กุ้งกุลาดำถือว่าเป็นกุ้งทะเลเพียงชนิดเดียวที่มีการเลี้ยงแบบพัฒนากันอย่างแพร่หลาย ทำให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วส่งผลให้ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกกุ้งกุลาดำรายใหญ่ที่สุดในโลกปี 2543 แต่ต่อมาอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทย ประสบปัญหาหลายอย่างทั้งเรื่อง โตช้า โรคระบาด การกีดกันทางการค้า ส่งผลให้เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งกุลาดำประสพการขาดทุน ประกอบกับช่วงนั้นมีกุ้งสายพันธุ์พื้นเมืองในทวีปอเมริกา คือ กุ้งขาวแปซิฟิก (*Litopeneaus vannamei*) หรือที่เกษตรกรเรียกว่า กุ้งขาวแวนนาไม ได้ถูกนำเข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย และให้ผลผลิตค่อนข้างดี ทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่หันมาเลี้ยงกุ้งขาวที่ได้ผลผลิตดีกว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

ช่วงประมาณ 10 ปีมานี้ กุ้งขาวเป็นกุ้งที่มีการเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย จนอาจกล่าวได้ว่าเป็นผลผลิตส่วนใหญ่ของกุ้งทะเลที่เลี้ยง มีการพัฒนาสายพันธุ์ด้านการเจริญเติบโตที่รวดเร็วมาตามลำดับ อย่างไรก็ตามการเลี้ยงยังคงประสบปัญหาที่คล้าย ๆกัน ได้แก่ การตายอย่างรวดเร็ว (EMS, Early Mortality Syndrome) พฤติกรรมอย่างหนึ่งที่เป็นข้อเสียของกุ้งชนิดนี้คือ การตื่นตกใจง่ายส่งผลทำให้เกิดการช็อก เพราะฉะนั้นในการสุ่มกุ้งขึ้นมาเพื่อตรวจสอบขนาดจึงไม่ควรสุ่มกุ้งขึ้นมาไว้เป็นเวลานาน และบ่อยครั้งที่กุ้งเพียงตื่นตกใจก็มีอาการช็อกได้เหมือนกัน รวมทั้งการเก็บเกี่ยวผลผลิตก็ต้องให้ความระมัดระวัง เพราะเมื่อเกิดการช็อกจะส่งผลทำให้ตัวกุ้งมีอาการเกร็งตัวงอ กล้ามเนื้อมีสีขาวขุ่นซึ่งในตัวที่มีอาการช็อกเป็นรยะเวลานานๆ จะส่งผลต่อการตายของกล้ามเนื้อและเกิดการตายของกุ้งได้ ลักษณะอาการตัวเกร็งลำตัวขาวขุ่นจะส่งผลต่อราคารับซื้อ เนื่องจากความต้องการของตลาดต้องกุ้งที่มีลักษณะลำตัวที่ใสเนื้อไม่มีสีขาวขุ่น

การศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีของกุ้งขาวในสภาวะช็อกยังไม่พบ อีกทั้งยังไม่สามารถอธิบายในเชิงวิทยาศาสตร์ที่ชัดเจน จึงทำให้ผู้เลี้ยงกุ้งต้องแก้ปัญหาเฉพาะหน้าตลอดเวลา ทั้งได้ผลและไม่ได้ผล แต่ปัญหาจากสาเหตุดังกล่าวนี้น่าจะมีปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ไปส่งผลกระทบอย่างฉับพลันต่อกลไกภายในร่างกายกุ้งขาว ทำส่งผลให้เมื่อเกิดอาการการช็อกมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีในตัวกุ้งขาวเป็นอย่างไร การทดลองครั้งนี้จะช่วยทราบถึงว่าเมื่อกุ้งขาวเกิดอาการช็อก กุ้งขาวมีการเปลี่ยนแปลงแร่ธาตุในพลาสมาอย่างไร ซึ่งข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อก่อให้เกิดความเข้าใจการเปลี่ยนแปลงสรีระเคมีของกุ้งขาว และหาแนวทางแก้ปัญหาต่อไปจากพฤติกรรมดังกล่าวยังไม่สามารถบอกได้ว่าในตัวกุ้งขาวมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระเคมีอย่างไร การทดลองครั้งนี้จึงช่วยให้เข้าใจถึงว่ากุ้งที่มีอาการช็อก มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงแร่ธาตุในระบบเลือดอย่างไร มีแร่ธาตุอะไรบ้างที่เสียสมดุล ซึ่งข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปเพื่อเข้าใจถึงสาเหตุการช็อก และเพื่อหาแนวทางแก้ปัญหาดังกล่าวต่อไป

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

องค์ประกอบของสารอนินทรีย์และอินทรีย์ในเลือดกุ้ง

กุ้งทะเลมีโครงสร้างแข็งห่อหุ้มอยู่ภายนอกร่างกาย และมีเจริญเติบโตโดยการลอกคราบ ซึ่งของเสียและไนโตรเจนที่ขับถ่ายออกมามักจะอยู่ในรูปแอมโมเนีย และยังมีความสำคัญกับคุณสมบัติของเลือด โดยองค์ประกอบของเลือดมีทั้งส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ คือ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน (บุญรัตน์ และคณะ, 2546)

1. สารอนินทรีย์ ได้แก่ Na, K, Ca, Mg และ Cl เมื่อพิจารณาที่ปริมาณความเข้มข้น พบว่า Na, Cl และ Mg ของสัตว์ที่อาศัยอยู่ในทะเลมีปริมาณมากกว่าสัตว์ที่อาศัยอยู่ในน้ำจืด ขณะที่ Ca ในเลือดของพวกที่อยู่ในน้ำจืดจะมากกว่าสัตว์ที่อยู่ในทะเล

1.1 Na (โซเดียม)

Na นับว่าเป็นแร่ธาตุที่มีความเข้มข้นสูงมากชนิดหนึ่งในเลือดของครัสเตเชียน แต่จะมีค่าต่ำกว่าน้ำภายนอกเล็กน้อย โดยทำหน้าที่ในการรักษาสมดุลออสโมติก (Osmotic balance) ควบคู่ไปกับ Cl ซึ่งมี K, Mg และ Ca เป็นตัวช่วยปรับ โดยจะรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่างในร่างกายให้สมดุล แล้วยังทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาท การควบคุมสมดุลของ Na ระหว่างภายในและภายนอกเซลล์จะมีความสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์ Na^+/K^+ATPase และ V- ATPase ภายในเหงือก ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้จะเพิ่มขึ้น 2-3 เท่า เมื่อเกิดการเคลื่อนที่เข้าออกของ Na ในกุ้งน้ำจืด *Cherax destructor* (Zare & Greenway, 1998)

1.2 Cl (คลอไรด์)

Cl พบในของเหลวภายในและภายนอกเซลล์สัตว์ สามารถสะสมได้มากกว่า Na และ K มีความเข้มข้นใกล้เคียงกับ Na เป็นธาตุที่มีการเคลื่อนย้ายเร็วเมื่อน้ำภายนอกมีการเปลี่ยนแปลง ช่วยรักษาความดันออสโมติก และยังควบคุมการเข้าออกของสารและน้ำภายนอกเซลล์ Cl เกี่ยวข้องกับการเกิดสมดุลของแคทไอออน (cation) และแอนไอออน (anion) โดยอยู่รวมกับ Na ถ้าอยู่ในสภาพสมดุลการแลกเปลี่ยนของ Mg และ S จะเกิดได้ดี ปริมาณของ Cl ในเลือดของครัสเตเชียนจะเท่ากับน้ำทะเลหรือใกล้เคียงกัน จึงไม่มีปัญหาการปรับสมดุลเหมือนอิออนตัวอื่น ๆ คลอไรด์ยังมีส่วนกระตุ้นน้ำย่อยอะไมเลส (amylase) ให้ทำงานดีขึ้น รักษาความเป็นกรด-ด่างของน้ำย่อยและเป็นส่วนประกอบในน้ำย่อยด้วย (บุญรัตน์ และคณะ, 2546)

1.3 Ca (แคลเซียม)

Ca เป็นส่วนประกอบสำคัญของโครงสร้างภายนอกของพวกครัสเตเชียน ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ตามปกติแล้วจะมีสะสมไว้ในตับโดยอยู่ในรูปของเกลือแคลเซียมฟอสเฟต ($CaPO_4$) อาจจะมีการสะสม Ca ในเลือดและที่ส่วนอื่นของร่างกาย โดยเชื่อมกับโปรตีน สัตว์ต้องควบคุมไม่ให้ระดับของ Ca ในเลือดสูงเกินไป จึงต้องทำการขับออกนอกร่างกายและนำไปสร้างเปลือก หรือเก็บสะสมไว้ในอวัยวะต่าง ๆ (บุญรัตน์ และคณะ, 2546) Ca จะมีการเคลื่อนที่เข้าสู่ร่างกายของครัสเตเชียนในระยะหลังการลอกคราบ และไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระยะคราบแข็ง พบว่า มีการเคลื่อนที่ออกไปสู่น้ำภายนอกในระยะก่อนการลอกคราบ (Zanotto & Wheatly, 2003) เช่นเดียวกับในกุ้ง *P. indicus* ความเข้มข้น Ca ในเนื้อเยื่อเปลือกมีการสะสมสูงที่

ระยะก่อนการลอกคราบและระยะคราบแข็ง และจะลดการสะสมที่ระยะหลังการลอกคราบ (Vijayan & Diwan, 1996)

1.4 K (โพแทสเซียม)

K พบอยู่ในเซลล์ของร่างกายและเลือด โดยความเข้มข้นของ K ในเลือดของครัสเตเชียนอาจสูงหรือต่ำกว่าน้ำทะเลภายนอก (Burton, 1967, 1973, 1975 อ้างโดย Burton, 1995) ซึ่งถ้ามี K ในร่างกายมากเกินไปจะก่อให้เกิดปัญหา จึงต้องขับออกทางต่อมแอนเทนนัล (antennal gland)

1.5 Mg (แมกนีเซียม)

ในครัสเตเชียนทั่วไปที่อาศัยอยู่ในน้ำทะเลจะมีความเข้มข้นของ Mg ภายในร่างกายต่ำกว่าในน้ำทะเลภายนอก Mg อยู่ในโครงสร้างของร่างกายประมาณ 70 % ส่วนอีก 30 % พบในเนื้อเยื่อและเลือด (Burton, 1967, 1973, 1975 อ้างโดย Burton , 1995) ในกุ้ง *P. indicus* การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ Mg ในเนื้อเยื่อมีแนวโน้มคล้ายกับ Ca สันนิษฐานว่า Mg ใช้แทนที่ Ca ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่สำคัญในกระบวนการสร้างเปลือกของครัสเตเชียน แม้ว่า ระดับ Mg ในเปลือกของเดคาพอดในระยะคราบแข็งมีระดับต่ำกว่า 0.55 % (Vijayan & Diwan, 1996) ในขณะที่กุ้ง *P. californiensis* มีระดับ Mg ในเปลือกประมาณ 1.25 % (Huner et al., 1979 อ้างโดย Vijayan & Diwan, 1996)

1.6 P (ฟอสฟอรัส)

P มีความสำคัญต่อการสร้างเปลือกร่วมกับ Ca โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงที่กุ้งมีการสร้างเปลือกใหม่ P ยังเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก และสารประกอบฟอสโฟไลปิดที่สำคัญในร่างกาย เช่น โคเอนไซม์ NADP และ ATP เป็นต้น ซึ่งอยู่ในบริเวณสมองและระบบประสาท (บุญรัตน์และคณะ, 2546)

1.7. Cu (ทองแดง)

เนื่องจาก Cu มีปริมาณต่ำมากในน้ำทะเล จึงทำให้กุ้งได้รับไม่เพียงพอต่อความต้องการต่อขบวนการทางสรีระเคมี เพื่อก่อให้เกิดการเจริญเติบโตสูงสุด การสร้างเนื้อเยื่อจากการสะสมแร่ธาตุ (tissue mineralization) และ enzyme activity อีกทั้งกุ้งต้องใช้ Cu เพื่อเป็นองค์ประกอบของ haemocyanin เพื่อเป็น respiratory pigments หากขาดทองแดง จะพบ Cu ต่ำในเปลือกส่วนหัวกุ้ง เลือด ตับ และหัวใจ พบว่าการเจริญเติบโตของกุ้งขาว *P. vannamei* จะลดลงหากมี Cu ต่ำกว่า 34 mg kg ในอาหาร semi-purified diets (Davis & Lawrence, 1997)

1.8 I and Mn (ไอโอดีนและแมงกานีส)

โดยทั่วไปแล้วไม่ค่อยได้ทำการประเมินถึงความจำเป็นของ I ต่อสรีรวิทยาของกุ้ง การเสริม I 1 mg kg ในอาหาร จึงน่าที่จะเพียงพอที่ไม่ทำให้กุ้งมีอาการขาด ขณะทีปริมาณ Mn ในน้ำทะเลมีค่าต่ำมาก (0.01 mg/l) อีกทั้งขบวนการนำแมงกานิสไปใช้ประโยชน์ในร่างกายยังถูกยับยั้งด้วย phytic acid การเสริมในอาหารจึงเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณา อาการขาด Mn จะทำให้โตช้า การพัฒนาของเปลือกผิดปกติ ลูกวัยอ่อนตายสูง และอัตราการฟักจะต่ำ (Davis & Lawrence, 1997)

2. สารอินทรีย์ คือ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้ความเข้มข้นในเลือดของสัตว์มีความแตกต่างกัน

2.1 คาร์โบไฮเดรต

สารอินทรีย์ในกลุ่มกลูโคสทำหน้าที่ให้พลังงาน สร้างเนื้อเยื่อ และสร้างเป็นไคติน เพื่อใช้เป็นโครงสร้างเปลือก ระดับของกลูโคสมีการเปลี่ยนแปลงในรอบวงจรการลอกคราบและตามการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมภายนอก ในกระบวนการลอกคราบของครัสเตเชียน จะมีการลดระดับของกลูโคสในเลือดลงอย่างมากในระยะที่คราบเริ่มแข็ง เนื่องจากเกิดการสังเคราะห์ไคตินทำให้ระดับกลูโคสลดลง เพราะน้ำตาลในเลือดเป็นองค์ประกอบหลักในการสร้างไคตินในระยะการลอกคราบจึงต้องใช้พลังงานค่อนข้างมาก ดังนั้น ขบวนการเมตาบอลิซึมในเลือดจึงมีความสัมพันธ์กับการลอกคราบเป็นอย่างมาก ถึงแม้ว่ากลูโคสในเลือดจะมาจากการขนส่งระหว่างตับอ่อน แต่ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในเลือดมีความสำคัญมากกว่าในตับ พบว่า การเปลี่ยนแปลงของระดับกลูโคสในตับจะทำให้ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดเปลี่ยนแปลง (Pratoomchat et al., 2002) ปัจจัยอื่น ๆ นอกจากการเปลี่ยนแปลงในระยะลอกคราบที่สามารถทำให้ระดับกลูโคสในเลือดหรือในตับลดลงได้ เช่น ความเครียด การอดอาหาร ฤดูกาล ความเค็มน้ำ อุณหภูมิ วงจรการสืบพันธุ์ และในปูม้า (*P. pelagicus*) ความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตมีค่าสูงที่สุดที่ความเค็ม 15 และ 20 ppt และมีค่าลดลงความเค็ม 7-10 ppt และความเค็ม 25-40 ppt (บุญรัตน์ และคณะ, 2547)

2.2 ไขมัน

ไขมันพบน้อยมาก ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของฟอสโฟไลปิด (phospholipids) และไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) มีความสำคัญต่อการประหยัดการใช้พลังงาน ปริมาณของไขมันมีความสัมพันธ์กับขบวนการสันดาป (catabolism) ของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงในรอบวงจรการลอกคราบและตามการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมภายนอก ปกติ จะมีการเก็บสะสมไขมันไว้ใน midgut gland ในช่วงก่อนการลอกคราบ และจะขับออกมาหลังจากกุ้งมีการลอกคราบเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและโครงสร้างเปลือก (บุญรัตน์ และคณะ, 2547)

2.3 โปรตีน

ปริมาณของโปรตีนในน้ำเลือด (plasma) ของครัสเตเชียนมีปริมาณ 4% ซึ่งนับว่าเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีปริมาณสูงที่สุด เลือดประกอบด้วย ฮีโมไซยานิน (hemocyanin) ซึ่งพบมากที่สุดประมาณ 80-95 % ของโปรตีนทั้งหมดและไฟบริโนเจน (fibrinogen) โปรตีนมีความสำคัญต่อการจัดระเบียบโครงสร้างร่างกายเพื่อการเจริญเติบโต การพัฒนาการ ชีวพลังงาน และสรีระวิทยา เป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิก เอนไซม์ โคเอนไซม์ โครงสร้างพันธุกรรม รวมถึงการควบคุมเมตาบอลิซึม และการถ่ายทอดพลังงาน

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะก่อนการลอกคราบ ในปูทะเล (*Scylla* sp.) พบว่า ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมามีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดในระยะการลอกคราบตอนปลาย (late premolt) ซึ่งเท่ากับ 97 mg/ml และมีค่าต่ำสุดอยู่ที่ 23 mg/ml ในระยะหลังลอกคราบ (post molt) ที่เป็นเช่นนี้ เนื่องมาจากในระยะก่อนการลอกคราบปูมีการดูดกลับสารอินทรีย์ต่าง ๆ จากโครงสร้างเก่าทำให้เลือดมีความเข้มข้นของโปรตีนสูงขึ้น และใน

ระยะลอกคราบปูมีการดูดน้ำเข้าสู่ร่างกายทำให้ระดับความเข้มข้นของโปรตีนในเลือดลดลง นอกจากนี้ ยังเนื่องมาจากการนำโปรตีนไปใช้ในการสร้างโครงสร้างใหม่ด้วย (Pratoomchat *et al*., 2002) ระดับความเข้มข้นของโปรตีนในเลือดจะมีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพความเค็มในธรรมชาติ การศึกษา ในปูทะเลที่ความเค็มน้ำที่แตกต่างกัน พบว่า ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาจะมีระดับต่ำสุดที่ความเค็ม 5 ppt และค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นที่ความเค็ม 10 และ 15 ppt ตามลำดับ จากนั้น มีค่าสูงสุดที่ความเค็ม 20 ppt (บุญรัตน์ และคณะ, 2546) และเช่นเดียวกันกับในปูม้า ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมามีค่าต่ำที่ความเค็ม 7 ppt ก่อนที่มีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ความเค็ม 10-15 ppt แล้วมีค่าลดลง และคงที่ในช่วงที่ความเค็ม 20-40 ppt (บุญรัตน์ และคณะ, 2547)

ระบบการรักษาสมดุลเกลือแร่ (Osmoregulation System)

เมื่อความเข้มข้นของน้ำภายนอกลดลง (ความเค็มน้ำลดลง) จะมีผลต่อการแพร่กระจายของน้ำ และไอออนที่เคลื่อนเข้าและออกจากร่างกายของสัตว์ ผ่านทางพื้นผิวของเยื่อเลือกผ่าน (permeable surface) เมื่อน้ำมีความเค็มลดลงจะทำให้เกิดการแพร่ของน้ำจากภายนอกเข้าสู่ร่างกายสัตว์ แต่สัตว์ที่มีโครงสร้างแข็งภายนอก (exoskeleton) จะไม่สามารถขยายขนาดหรือพองตัวได้ตามปริมาตรที่เพิ่มขึ้นทำให้แรงดันน้ำ (hydostatic presure) ภายในสูงขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นจึงต้องมีการลดความต่างของแรงดันออสโมติก (osmotic gradient) เพื่อให้น้ำแพร่ผ่านเข้าเข้าร่างกายน้อยที่สุด และเพื่อให้การเปลี่ยนแปลงปริมาตรและความดันภายในร่างกายเกิดขึ้นน้อยที่สุด โดยมีกลไกในการรักษาสมดุล 2 ประเภท (พนิดา, 2544) ได้ดังนี้

1. กลไกจำกัด osmoconformity (limiting mechanisms osmoconformity)

ระบบนี้มีจุดมุ่งหมายที่ลดการแพร่ของไอออนและน้ำ เพื่อลดความเข้มข้นและความต่างของแรงดันออสโมติกระหว่างเลือดกับน้ำภายนอก ซึ่งรูปแบบของกลไกนี้จะพบในครัสเตเซียที่อาศัยในทะเล และในน้ำกร่อยที่เป็น osmoconformer

2. กลไกการชดเชย osmoregulation (compensatory mechanisms osmoregulation)

สัตว์ในระบบนี้จะรักษาสภาวะของของเหลวภายในร่างกายให้ความเข้มข้นภายในร่างกายสูงกว่าภายนอก เมื่ออยู่ในน้ำความเค็มต่ำทำให้พวก osmoregulator ไม่ต้องเผชิญกับภาวะที่เกิดกับเนื้อเยื่อภายในร่างกายมากนัก อย่างไรก็ตามปัญหาของการแพร่เข้าของน้ำก็ยังคงมีอยู่ แต่ก็สามารถควบคุมได้โดยลดการยอมให้น้ำเข้า การเพิ่มการขับน้ำออกทางปัสสาวะ (urine) และการเพิ่มการนำเกลือแร่จากน้ำภายนอกเข้าสู่ร่างกายเป็นวิธีการหนึ่งของสัตว์กลุ่มนี้ ทั้งในการรักษาสมดุลแบบ hyperregulation และ hyporegulation จะมีเยื่อบุผิวที่ทำหน้าที่เฉพาะ (specialized boundary epithelia) เหงือกแบบพิเศษ ลำไส้และอวัยวะขับถ่ายที่รับผิดชอบในการขนส่งเกลือแร่แบบใช้พลังงาน (active) ไปสู่น้ำภายนอกหรือนำเข้ามาจากน้ำภายนอก

การรักษาสมดุลไอออน (Ionic Regulation)

เป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่าไอออนที่เป็นองค์ประกอบของเลือดจะมีความแตกต่างกับน้ำภายนอก (Robertson, 1944, 1953, 1960 อ้างโดย Mantel & Farmer,1983) โดยไม่คำนึงถึง

ความสัมพันธ์ของระบบออสโมติก การเปรียบเทียบกันโดยตรงของไอออนที่เป็นองค์ประกอบในน้ำภายนอก ในเลือดและในปัสสาวะ มักทำให้เกิดความผิดพลาดได้เนื่องจากผลกระทบของโปรตีนที่มีมากถึง 10% ในเลือด มีผลให้น้ำที่เป็นองค์ประกอบของของเหลวทั้ง 3 แหล่งไม่เท่ากัน

ความเข้มข้นของโซเดียมและคลอรีนในเลือดมักจะใกล้เคียงกับค่าที่จุดสมดุลเมื่อสัตว์อยู่ในน้ำทะเล และศักย์ไฟฟ้าที่เป็นลบจำนวนเล็กน้อยมักจะถูกนำมานับด้วย ซึ่งที่จุดสมดุลนี้มักจะทำให้ค่าโซเดียมในเลือดมากเกินจริง และมีคลอรีนน้อยกว่าค่าจริงเมื่อเทียบกับน้ำภายนอก มักจะพบว่าโพแทสเซียมในเลือดมีความเข้มข้นมากกว่าในน้ำภายนอก แม้ว่าบางส่วนอาจจะมาจากการปนเปื้อนโดยเซลล์ ถ้ามีการนำเลือดทั้งหมดมาใช้ในการวิเคราะห์ (Mantel & Farmer,1983)

การขนส่งแร่ธาตุในครัสเตเชียน

กระบวนการขนส่งแร่ธาตุในครัสเตเชียนสามารถจำแนกได้ 2 วิธี (Rainbow, 1997)

1. การขนส่งแบบใช้พลังงาน (active transport) ส่วนมากจะเกิดขึ้นกับแร่ธาตุหลัก เช่น โซเดียม และแคลเซียม โดยมีการใช้พลังงานในการขนส่งแร่ธาตุต่างๆ เข้าสู่เซลล์ เช่น กรณีของโซเดียม ที่มีการเคลื่อนที่เข้า-ออกผ่านทางเหงือก โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ ATPase ช่วยควบคุมความแตกต่างของความเข้มข้นระหว่างภายในเซลล์กับน้ำทะเลภายนอก โดยควบคุมช่วงผ่านเข้า-ออกของโซเดียม

2. การแพร่ (passive transport)

2.1 การขนส่งโดยผ่านตัวกลาง (carrier-mediated transport) อิออนของแร่ธาตุจะจับกับโปรตีนที่เยื่อหุ้มเซลล์ และเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในไซโตโซล (cytosol) ที่บริเวณนี้อิออนจะเปลี่ยนมาจับกับโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและเคลื่อนที่เข้าสู่ภายในเซลล์ โดยที่โปรตีนจะถูกดักจับไว้ภายนอกเซลล์ การเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ของอิออนจะเกิดขึ้นจนกระทั่งความเข้มข้นของอิออนภายในเซลล์สูงกว่าภายนอก

2.2 การขนส่งผ่านช่องโปรตีน (protein channels) โดยอิออนจะเคลื่อนที่ผ่านช่องโปรตีนภายในเยื่อหุ้มเซลล์ด้านที่มีขั้ว (hydrophilic cores)

2.3 การขนส่งโดยการแพร่ (passive diffusion) อิออนที่เข้าสู่เซลล์ด้วยวิธีนี้จะเป็นอิออนที่สามารถละลายในไขมันได้ เพราะจะเคลื่อนที่โดยการแพร่ผ่านชั้น lipid bilayer ของเยื่อหุ้มเซลล์

2.4 การขนส่งโดยวิธี (endocytosis) กระบวนการที่เกิดขึ้นเริ่มจากเยื่อหุ้มเซลล์เกิดการเว้าเข้าไปโดยโอบล้อมอิออนต่างๆ ไว้ภายใน จากนั้นอิออนจะถูกเคลื่อนย้ายเข้าสู่ภายในเซลล์

ผลของความเค็มน้ำต่อการเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในร่างกายกุ้ง

การเปลี่ยนแปลงความเค็มน้ำจะส่งผลกระทบต่อระบบสรีรและการเปลี่ยนแปลงของแร่ธาตุภายในตัวสัตว์ ซึ่งสัตว์แต่ละชนิดจะแสดงการตอบสนองที่คล้ายคลึงกันหรือแตกต่างกัน เป็นที่ทราบกันดีว่า โซเดียมและคลอไรด์ มีปริมาณรวมมากกว่า 90% ของแร่ธาตุทั้งหมดในเลือดของครัสเตเชียน จัดว่าเป็นแร่ธาตุที่ช่วยรักษาสมดุลไอออน (ionic regulation) ของเลือด คือ ถ้ามีการเปลี่ยนแปลง

ระดับความเข้มข้นของโซเดียมและคลอไรด์ ก็จะส่งผลให้สมดุลไอออนของเลือดเปลี่ยนแปลงไปด้วย (Castille & Lawrence, 1981; Mantel & Farmer, 1983 อ้างถึงใน Lignot, et al., 2000)

ปูที่สามารถอาศัยอยู่ได้ในความเค็มช่วงกว้าง (euryhaline crabs)โซเดียมและคลอไรด์เป็นไอออนหลักที่มีผลต่อค่าออสโมลาริตี้ของเลือด ความสามารถในการควบคุมการผ่านเข้าออกของไอออน 2 ตัวนี้เป็นตัวบ่งชี้ถึงความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มในปูจำพวกนี้ (Towle, 1993, 1997 อ้างถึงใน Mananes et al., 2002) โดยที่ระดับความเค็มน้ำต่ำ ปูจะแสดงสภาวะ hyperegulation คือ จะมีการดูดซึม Na^+ และ Cl^- จากน้ำภายนอกผ่านทางเหงือกเข้าสู่ร่างกายเพื่อทดแทนไอออนส่วนที่มีการแพร่ออกไปและควบคุมความเข้มข้นของเลือด ซึ่งกระบวนการนี้มีความเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ Na^+-K^+ ATPase Mananes et al. (2002) พบว่า การทำงานของเอนไซม์ Na^+-K^+ ATPase ในเหงือกปู *Cyrtograpsus angulatus* มีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อปูอยู่ในสภาพที่น้ำภายนอกมีความเค็มต่ำกว่าปกติ แต่สำหรับปูบางชนิดเช่น ปู blue crab (*Callinectes sapidus*) มีความสามารถในการควบคุมสมดุลเกลือแร่ดีมาก (osmoregulator) โดยเมื่อทำการทดลองในสภาพที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มอย่างรวดเร็ว (จาก 5 ppt ไปสู่ 35 ppt) และสภาพที่มีการปรับสภาพจากความเค็ม 5 ppt ไปสู่ 35 ppt อย่างช้าๆ พบว่า การทำงานของเอนไซม์ arginine kinase และความเข้มข้นของ arginine phosphate, inorganic phosphate ไม่มีความแตกต่างกัน (Kinsey & Lee, 2003)

ความเค็มน้ำยังมีผลต่อออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเล (*Scylla* sp.) โดยค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดปูทะเลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามระดับความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น (5-40 ppt) ซึ่งเป็นการควบคุมระบบสมดุลเกลือแร่แบบ moderate hyper and hyporegulator โดยจะอยู่ในสภาวะ isosmotic ที่ระดับความเค็มน้ำ 30 ppt (บุญรัตน์ และคณะ, 2546) เช่นเดียวกับปูม้าที่เลี้ยงในน้ำความเค็ม 7 ppt พบว่า มีค่าออสโมลาลิตี้ต่ำที่สุด และความเค็ม 7-32 ppt ปูม้าแสดงสภาวะ hyperregulation โดยจะอยู่ในสภาวะ isosmotic ที่ระดับความเค็มที่ 33 ppt ส่วนความเค็มน้ำ 40 ppt จะค่าออสโมลาลิตี้สูงที่สุด ในระดับความเค็ม 34 -40 ppt ปูม้าแสดงถึงสภาวะที่เป็น hyporegulation (ภาณุ และคณะ, 2551)

เมื่อกุ้งเผชิญความเค็มน้ำต่ำ กุ้งจะตอบสนองโดยการเพิ่มขึ้นของโปรตีนสูงขึ้น และการเพิ่มของโปรตีนยังสัมพันธ์กับการเพิ่มของ oxyhaemocyanin และปริมาณทองแดงที่กุ้ง จำเป็นต้องมีการใช้ออกซิเจนสูงขึ้น ซึ่ง haemocyanin จับตัวกับออกซิเจนแล้วขนส่งเข้าสู่ระบบเลือด (Cheng et al. 2003) อีกทั้ง oxyhaemocyanin ในระบบเลือดเป็นตัวชี้วัดสุขภาพของสัตว์น้ำด้วย (Weiland & Mangum, 2005) เช่นเดียวกันในกุ้งขาวปริมาณ oxyhaemocyanin สูงขึ้นส่งผลทำมีการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้นและมีการขับคาร์บอนไดออกไซด์ออกเมื่อความเค็มต่ำ (Li et al., 2008)

บุญรัตน์ และคณะ (2546) พบว่า ความเค็มมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไกลโคสอะมิโนไกลแคน ออสโมลาลิตี้ โซเดียม คลอไรด์ โพแทสเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส ทองแดง ซัลเฟอร์ และแคลเซียมในพลาสมาปูทะเล (*S. serrata*) โดยพบว่า ระดับความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นตามความเค็มน้ำที่เพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของธาตุส่วนมากในเลือดตามความเค็มนั้นส่งผลให้ปริมาณธาตุที่พบในเปลือกเพิ่มขึ้นอีกด้วย ยกเว้นทองแดง จากการทดลองพบว่า ระดับของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในเลือดของปูทะเลมีระดับลดน้อยลงเมื่อระดับความเค็มของน้ำภายนอก

ลดลง เนื่องมาจากปูมีการปรับสมดุลเกลือแร่โดยรับน้ำภายนอกจากการแพร่เข้ามาอยู่ตลอดเวลา และสัตว์จะมีกลไกขับกรดอะมิโนออกนอกเซลล์หรือการสูญเสียจากเซลล์เข้ามาเก็บในเลือดอยู่ในรูปของโปรตีนหรือมีการสลายของสารอินทรีย์และอนินทรีย์จากเปลือกเก่าเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อเป็นการช่วยเพิ่มระดับออสโมลาลิตี้ภายในเลือดที่เรียกว่า colloid osmotic pressure อย่างไรก็ตาม ปูต้องมีการปรับตัวอย่างมากเพื่อรักษาระดับของความเข้มข้นของเกลือแร่ภายในร่างกายให้มีความสมดุลซึ่งต้องใช้พลังงาน จึงเป็นเหตุให้ปูมีปริมาณของสารต่างๆ รวมทั้งโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไกลโคสอะมิโนไกลแคนในเลือดต่ำกว่าปูที่เลี้ยงในความเค็มสูงขึ้นแต่ไม่เกิน 30 ppt เป็นที่ทราบว่ากลูโคสเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ไกลโคสอะมิโนไกลแคน ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงของกลูโคสหรือคาร์โบไฮเดรตจึงมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไกลโคสอะมิโนไกลแคนด้วย

ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในร่างกายกุ้ง

เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำให้การบริโภคออกซิเจนของกุ้งกุลาดำจะเพิ่มขึ้น ในขณะเดียวกันอัตราบริโภคออกซิเจนจะลดลงเมื่ออุณหภูมิลดลง (จารุวัตน์ และสมนึก, 2532) อุณหภูมิมีผลต่อออสโมติก (osmotic) และสมดุลไอออน (ionic regulation) โดยที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้ระบบสมดุลดีกว่าอุณหภูมิสูง อย่างไรก็ตามสัตว์ในเขตร้อนก็จะรักษาสมดุลเกลือแร่ได้ดีในช่วงอุณหภูมิสูง ในทางตรงกันข้ามสัตว์เขตหนาวก็จะรักษาสมดุลเกลือแร่ได้ดีในช่วงอุณหภูมิต่ำ ความเข้มข้นของโซเดียม ในเลือดมีความสัมพันธ์ในทางตรงข้ามกันกับอุณหภูมิ คือ สัตว์เขตหนาวจะมีความเข้มข้นของโซเดียมสูงขณะที่สัตว์เขตร้อนจะมีความเข้มข้นของโซเดียมต่ำ ซึ่งความแตกต่างของอุณหภูมิยังมีผลต่อกลไกการรับหรือสูญเสียไอออนอีกด้วย ในปู *Callinectes sapidus* พบว่าอุณหภูมิไม่ได้มีผลต่อสมดุลไอออนเพียงอย่างเดียวแต่รวมไปถึงความเค็มด้วย ที่ความเค็มต่ำ (15 ppt) ความเข้มข้นของโซเดียมและคลอไรด์จะสูงที่อุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตามในน้ำทะเลความเข้มข้นของโซเดียมและคลอไรด์จะสูงที่อุณหภูมิสูง (Mantel & Farmer, 1983 อ้างถึง Engel et al., 2001)

อุณหภูมิของน้ำมีผลกระทบโดยตรงต่อการหายใจของสัตว์น้ำ ในน้ำหรืออากาศที่มีอุณหภูมิสูงจะทำให้สัตว์น้ำหายใจเร็ว และมีส่วนสัมพันธ์ในการใช้ออกซิเจนและปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์มากขึ้น ในทางตรงข้ามหากอุณหภูมิต่ำจะมีผลให้สัตว์น้ำหายใจช้าลงและใช้ออกซิเจนน้อย รวมทั้งปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์น้อยลงด้วย ดังนั้นในการลำเลียงพันธุ์สัตว์น้ำจึงมีความจำเป็นที่ต้องเลือกเวลาในการลำเลียงในขณะที่อุณหภูมิต่ำ (ชลอ, 2543)

โครงสร้างเหงือก

โดยทั่วไปช่องเหงือกของเดคาพอดครัสเตเชียน (Decapods crustaceans)จะพบอยู่ใต้คาราเปส (Carapace) ส่วนที่เรียกว่า บราชิโอสเตียไกท์ (branchiostegites) ช่องเหงือกแต่ละอันจะถูกคลุมด้วยผนังคิวติเคิลบาง ๆ (cuticular membrane) ซึ่งเยื่อดังกล่าวทำให้สามารถแยกช่องเหงือกออกจากส่วนเฮปาโตแพนเครียส (hepatopancreas) ที่อยู่ด้านหน้าและส่วนอื่น ๆ ทางด้านหลังคาราเปสได้อย่างชัดเจน สำหรับด้านล่างจะติดผนังลำตัวและมีส่วนของบราคิโอสเตียไกท์รองรับอยู่ด้านนอก ปลายด้านหน้าสุดของช่องเหงือกมีลักษณะเป็นช่องแคบเล็ก ๆ ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นห้อง

ปั้ม (pump chamber) ที่มีสแคปโฟเนกไทต์ (scaphognathite) ทำหน้าที่ปั้มน้ำผ่านเข้า – ออกบริเวณเหงือก

เหงือกของเดคาพอดครัสเตเชียนแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป โดยทั่วไปเหงือกจะมีการเปลี่ยนแปลงให้มีพื้นที่ผิวมากขึ้น เพื่อประโยชน์ในการแลกเปลี่ยนก๊าซ การเปลี่ยนแปลงอาจเกิดจากการโป่งพองของผิวเหงือกออกมาด้านนอก (evagination) และบริเวณที่โป่งพองออกมานี้จะมีแขนงของเส้นเลือดต่าง ๆ มาเลี้ยงมากมาย โดยทั่วไปโครงสร้างของเหงือกเดคาพอดครัสเตเชียนประกอบด้วย 2 ส่วนที่สำคัญคือ (McLaughlin, 1983)

1. ส่วนแกนกลาง (central axis or gill axis) ส่วนนี้จะเป็นที่ตั้งของช่องเลือด (blood channel) ซึ่งมี 2 ชนิดคือ ช่องเลือดออกจากหัวใจ (afferent blood channel) จะนำเลือดจากแอ่งเลือดที่อยู่ใต้เหงือก (infrabranchial sinus) เข้าสู่ซี่เหงือกหรือแผ่นเหงือกแต่ละอันของเหงือกและช่องเลือดไหลเข้าหัวใจ (efferent blood channel) จะนำเลือดจากซี่เหงือกหรือแผ่นเหงือกแต่ละอันของเหงือกเข้าสู่แอ่งเลือดรอบ ๆ หัวใจ (longitudinal septum) กั้นไว้

2. ซี่เหงือก (gill filaments) เป็นส่วนของซี่เหงือกหรือแผ่นเหงือกนั้นเอง แบ่งชนิดเหงือกได้ 3 รูปแบบ คือ

2.1 Dendrobranchiated gill or dendritic gill เหงือกชนิดนี้จะมีส่วนที่ยื่นออกมาทางด้านข้างจำนวน 2 ชุด เรียกส่วนที่แตกออกมานี้ว่า แขนงย่อย (sub – branched) และในแต่ละแขนงดังกล่าว จะมีแขนงย่อย ๆ แตกออกมาอีกมากมาย มีลักษณะค่อนข้างซับซ้อนและอยู่รวมกันเป็นกระจุกแน่น (extensive and complex) ส่วนใหญ่จะพบเหงือกชนิดนี้ในกุ้งกลุ่มที่มีวิวัฒนาการต่ำ (Primitive shrimp) ซึ่งได้แก่พวกกุ้งพีนาอิดีย์ (Penaeidae)

2.2 Phyllobranchiated gill or lamellar gill เหงือกชนิดนี้จะมีส่วนที่ยื่นออกมาทางด้านข้าง จำนวน 2 ชุดเช่นเดียวกับเหงือกชนิดแรก แต่ส่วนที่ยื่นออกมาทางด้านข้างนั้นจะมีลักษณะเป็นแผ่นคล้ายจาน (flattened platelike) แผ่ออกมาสองข้างของแกน มองดูมีลักษณะเป็นแผ่นธรรมดา (sample lamellar) ไม่ซับซ้อนเหมือนเหงือกชนิดแรก ส่วนใหญ่จะพบเหงือกชนิดนี้ในกุ้งกลุ่มวิวัฒนาการสูง ซึ่งได้แก่ พวกคาริดีย์ (Caridae) และปูกลุ่มบราชิยูแรน (Brachyuran) และอาจพบในกลุ่มอะโนมูแรน (Anomurans) บางชนิด

2.3 Trichobranchiated gill or filamentous of gill เหงือกชนิดนี้จะมีลักษณะที่แตกต่างจากเหงือกทั้งสองแบบแรก คือส่วนที่ยื่นออกมาทางด้านข้างนั้นจะมีลักษณะเป็นเส้น (filament) จำนวนมาก เรียงรอบ ๆ แกน ส่วนใหญ่จะพบเหงือกชนิดนี้ในกุ้งกลุ่มสตีโนโปดิเดีย (Stenopodidea) และส่วนใหญ่ของสัตว์ในกลุ่มแมกครูแรน (Macrurans) และกลุ่มอะโนมูแรน

การแลกเปลี่ยนก๊าซบริเวณเหงือก

โดยทั่วไปน้ำที่เข้าสู่เหงือกนั้นจะเกิดขึ้นจากการพัดโบกของสแคปโฟเนกไทต์ (scaphognathite or gill bailer) ของแมกซิลลิเปดคู่ที่ 2 ที่อยู่บริเวณส่วนหัว สำหรับในพวกกุ้งและนาแทน (natants) อื่น ๆ นั้น น้ำสามารถไหลผ่านทุกส่วนของขอบด้านล่างและด้านหลังของคาราเปส (carapace) แล้วไหลออกบริเวณส่วนหัว ในพวกlobster และ Crayfish นั้น ส่วนของคารา

เปสค่อนข้างปิดมิดชิด น้ำจะไหลเข้าเฉพาะทางรูเปิดรอบ ๆ ฐานของขาเดินและทางขอบด้านหลังของคาราเปส ผ่านช่องเหงือกแล้วไหลออกบริเวณส่วนหัวเช่นเดียวกับในพวกกุ้ง ส่วนในพวกปูนั้นจะมีคาราเปสที่ปิดแน่นกว่าพวกอื่น ๆ น้ำจะไหลเข้าบริเวณช่องเปิดที่มีขนาดใหญ่ ที่มีชื่อเรียกว่า “รูเปิดมาย – เอดเวิร์ด (Milne - Edward opening) พบอยู่บริเวณฐานของก้ามหนีบแต่ละข้าง จากนั้นจะผ่านรอบ ๆ เหงือก ลักษณะเป็นรูปตัวยู (U - shaped) แล้วไหลออกบริเวณขอบปาก (buccal frame) สำหรับการไหลของน้ำเข้าสู่ช่องเหงือกนี้จะถูกควบคุมโดยปล้องคอกซา และอิพิพอด (epipod) ของแมกซิลิเปดคู่ที่ 3

กลไกการแลกเปลี่ยนก๊าซบริเวณเหงือกจะเกิดขึ้นหลังจากที่กระแสน้ำจากภายนอกร่างกายของสัตว์ถูกนำเข้าช่องเหงือก โดยน้ำที่ผ่านเข้ามาทางรูเปิดของขาเดินจะผ่านบริเวณฐานของเหงือกไหลเข้าสู่ช่องว่างใต้เหงือก (hypobranchial space) จากนั้นจะไหลผ่านซี่เหงือก ซึ่งแต่ละอันจะมีลักษณะเป็นแผ่นแบนคล้ายใบไม้ บริเวณซี่เหงือกนี้เองจะมีการแลกเปลี่ยนก๊าซ ในระบบสวนทาง (counter current system) เกิดขึ้น โดยทิศทางการไหลของเลือดจะสวนทางกับทิศทางการไหลของน้ำ (Mantel & Farmer, 1983)

การปรับตัวเพื่อการหายใจและลดการสูญเสียน้ำในเดคาพอดครัสเตเชียน

พวกเดคาพอดที่อาศัยในน้ำ ไม่ค่อยมีปัญหาเกี่ยวกับการสูญเสียน้ำมากนัก พวกนี้จึงไม่ค่อยมีการปรับตัวมากนัก จากเหตุผลดังกล่าว สัตว์พวกนี้จึงมีความทนทานน้อย เมื่อต้องเผชิญกับสภาพการขาดน้ำหรือมีน้ำน้อย หากนำสัตว์เหล่านี้ขึ้นมาจากน้ำเพียงไม่นานก็ตาย เนื่องจากไม่สามารถรักษาความชื้นไว้ได้ ในกุ้งนั้นมีเพียงบรานชิโอสเตียไกท์เท่านั้นที่คลุมเหงือกเอาไว้ ส่วนในพวกปูที่อาศัยอยู่ในน้ำจะมีความสามารถในการปรับตัวเพื่อลดอัตราการสูญเสียน้ำได้ดีกว่าพวกกุ้ง เนื่องจากมีเปลือกหุ้มลำตัวที่แข็งแรงกว่า และมีคาราเปส (carapace) ที่ปิดมิดชิด สามารถกันการซึมผ่านน้ำได้ดีกว่า ออกซิเจนที่รับไปจะผ่านโครงสร้างของเหงือกหรือส่วนประกอบของเหงือก โดยออกซิเจนที่รับเข้าไปจะลดลงถ้าไคตินแห้ง ดังนั้นเดคาพอดจึงมีหลายกลไกในการรักษาความชุ่มชื่นในเหงือก (McMahon & Wilkens, 1983)

สภาวะช็อก

สภาวะช็อก หมายถึง ภาวะที่เนื้อเยื่อได้รับการหล่อเลี้ยงด้วยออกซิเจนและสารอาหารนั้นไม่พอเพียงพอต่อการดำรงชีวิตไว้ได้ อีกความนัยหนึ่งว่า ภาวะช็อกเป็นภาวะบกพร่องของระบบไหลเวียนที่ไม่สามรถนำสารอาหารไปยังเซลล์ที่ต้องการได้ รวมทั้งไม่สามารถขจัดของเสียที่เกิดขึ้นจากเซลล์ และเนื้อเยื่อต่าง ๆ (สมเกียรติ และดวงฤดี, 2545)

การตื่นตกใจของสัตว์น้ำ

การตื่นตกใจของสัตว์น้ำมีผลกระทบโดยตรงต่อการลำเลียง การตื่นตกใจทำให้สัตว์น้ำต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจมากขึ้นแล้ว การตื่นตกใจยังทำให้สัตว์น้ำกระโดดและกระแทกกับภาชนะ ในการขนส่งบางครั้งทำให้บาดเจ็บถึงตาย ในการแก้ปัญหาการตื่นเต้นตกใจของสัตว์น้ำโดยเฉพาะพวกปลามีการใช้สารเคมีจำพวกยาสลบ (Anesthetic) ซึ่งมีส่วนช่วยให้สัตว์น้ำเคลื่อนไหวน้อยลงและมี

การหายใจช้าซึ่งยังมีผลให้การใช้ออกซิเจนน้อยลงไปด้วย สารเคมีจำพวกยาสลบที่ใช้กันในปัจจุบัน ได้แก่ Quinaldine ที่มีความเข้มข้น 2–5 ppm MS 222 หรือ Tricane Methane Sulfonate ที่มีความเข้มข้นประมาณ 40 – 50 ppm (เกรียงศักดิ์, 2543) แต่ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังการใช้ยาสลบยังไม่ได้ผลสำเร็จเท่าที่ควร (Coyle *et al.,* 2004)

วิธีการทดลอง

1. สถานที่ทำการทดลอง

เลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*L. vannamei*) ที่โรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ ส่วนการวิเคราะห์แร่ธาตุ โปรตีน และฮีโมซัยยานินในพลาสมาปฏิบัติการที่ภาควิชาวาริชศาสตร์และภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

2. ระยะเวลาดำเนินการทดลอง

ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2560

3. กุ้งทดลอง

ใช้กุ้งขาวจากบ่อเลี้ยง อายุประมาณ 2 เดือน ความยาวเฉลี่ย 11.3 $\pm$ 1.2 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 10.8 $\pm$ 1.5 กรัม จำนวน 500 ตัว

4. วิธีดำเนินการวิจัย การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง

4.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design :CRD) แบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง กุ้งที่ปกติ และกุ้งที่ผ่านการช็อก (จะเกิดอาการตัวเกร็งงอ ลำตัวมีสีขุ่นขาวบางส่วน) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ ซ้ำละ 30 ตัว

4.2 การเตรียมบ่อเลี้ยงและเตรียมน้ำทะเล

นำน้ำทะเลที่เก็บไว้ในบ่อพักน้ำมาปรับความเค็มด้วยน้ำจืดให้ได้ความเค็มน้ำที่ 25 ppt โดยใช้ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 500 ลิตร จำนวน 10 ใบ

4.3 การทำให้กุ้งขาวอยู่ในสภาพช็อค

คัดเลือกกุ้งที่มีระยะลอกคราบ D0 แล้วนำใยฟูที่ใช้กรองน้ำมาวางปิดตัวกุ้งเพื่อกันการบอบช้ำเนื่องจากการดิ้น เป็นระยะเวลา 2-3 นาที (จะเกิดอาการตัวเกร็งงอ ลำตัวมีสีขุ่นขาวบางส่วน) จึงทำการเก็บตัวอย่างเลือด

4.4 การเก็บตัวอย่างเลือดกุ้งขาว

4.4.1 ทำการดูดเลือดกุ้งขาวทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ถูกช็อกโดยใช้เข็มเบอร์ 26 Tuberculin ขนาด 1.0 มิลลิลิตร แทงลงบริเวณโคนขาคู่ที่ 3 หรือ ลงผ่านเยื่อใต้เปลือกคลุมหัว

4.4.2 นำเลือดเก็บไว้ในหลอดทดลอง โดยผสม 30% Tri – sodium citrate เพื่อกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) ลงไปในอัตราส่วน 1:1

4.5 การเตรียมพลาสมาของกุ้งขาว

4.5.1 นำเลือดกุ้งที่ผสม 30% Tri – Sodium citrate ไปปั่นเพื่อตกตะกอนด้วยเครื่อง microcentrifuge เพื่อให้ตกตะกอนรวมตัวกันที่ก้นหลอดด้วยแรงเหวี่ยง 14.000 g ที่อุณหภูมิ 4°C นาน 20 – 25 นาที

4.5.2 ดูดของเหลวส่วนบน (supernatant) ซึ่งก็คือพลาสมาปริมาตร 1 มิลลิลิตรเก็บไว้ใน หลอดทดลองใหม่เพื่อใช้เป็นตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ต่อไป

4.6 การวัดปริมาณของธาตุโซเดียม โพแทสเซียมแคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส ทองแดง คลอรีน ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส

ใช้ autopipette ขนาด 1,000 ไมโครลิตร ดูดตัวอย่างพลาสมากุ้งขาวใส่ Cup โดยด้านล่างหุ้มด้วย prolene film แล้วนำไปวัดปริมาณของธาตุโซเดียม โพแทสเซียมแคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส ทองแดง คลอรีน ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส ด้วยเครื่อง X-ray fluorescent spectrophotometer Oxford ED^{2000} ตามวิธีการของ ตามวิธีการของ Pratoomchat *et al.* (2002)

4.7 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของโปรตีนและ ออกซีฮีโมไซยานิน

4.7.1 การเตรียมพลาสมาและการวิเคราะห์โปรตีน

ก. นำเลือดกุ้งที่ผสม 30 % tri-sodium citrateไปปั่นเพื่อให้ตกตะกอน (ควรทิ้งให้เลือดใน Eppendroff เป็นของเหลวก่อน) ด้วยเครื่อง micro centrifuge เพื่อให้เม็ดเลือดตกตะกอนรวมตัวกันที่ก้นหลอดด้วยแรงเหวี่ยง 14,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานประมาณ 20-25 นาที

ข. แล้วดูดของเหลวส่วนบน (Supernatant) ซึ่งก็คือพลาสมาเก็บไว้ใน Eppendroff ใหม่แล้วเติมสารต่อต้านการทำงานของเอนไซม์ที่มีผลต่อโปรตีน (PMSF : Phenyl methyl sulfonyl fluoride) และเก็บไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ –40 องศาเซลเซียสเพื่อใช้เป็นตัวอย่างวิเคราะห์หาค่าโปรตีน

ค. การวิเคราะห์โปรตีนได้ดัดแปลงจากวิธีของ Lowry (Lowry *et al*., 1951) โดยใช้วิธี Bio-Rad Protein Assay Kit

4.7.2 การวิเคราะห์หาออกซีฮีโมไซยานิน

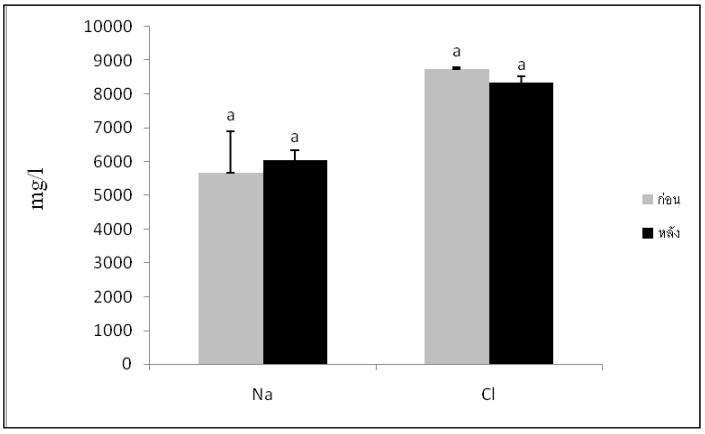
นำเลือดกุ้งที่ผ่านการเก็บนำมาวิเคราะห์หาออกซีฮีโมไซยานินทันทีตามวิธีการของ Cheng & Chen (1999)

4.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

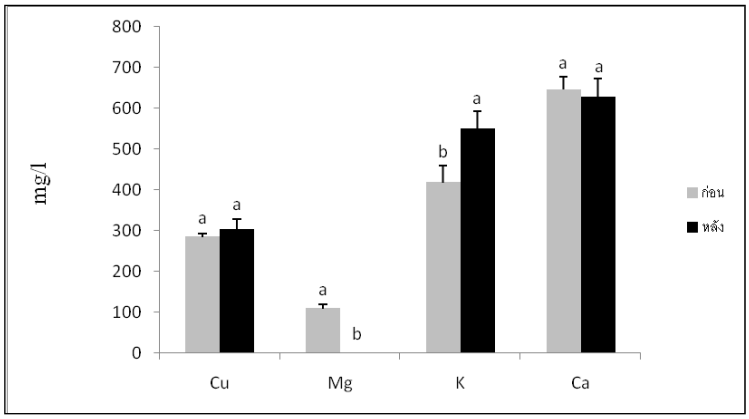
นำข้อมูลปริมาณของธาตุทั้ง 9 ชนิด โปรตีน และออกซีฮีโมไซยานิน ของกุ้งขาวที่อยู่ในสภาพปกติและที่อยู่ในสภาพช็อก มาวิเคราะห์หาความแปรปรวนระหว่างกลุ่มด้วย one – way ANOVA และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม โดยใช้ Waller – Duncan ด้วยโปรแกรม SPSS

ผลการทดลอง

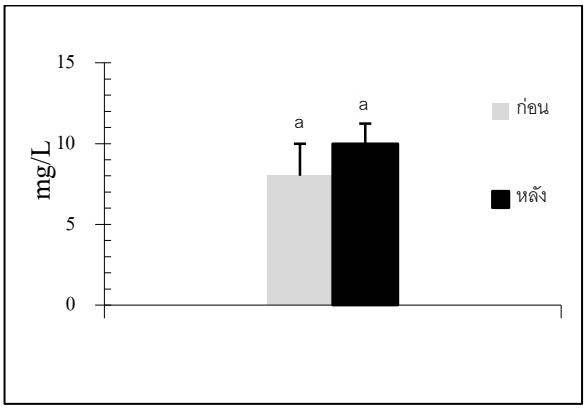
จากการทดลองช็อคกุ้งขาว (*L. vannamei*) โดยเปรียบเทียบสภาพก่อนช็อคและที่อยู่ในสภาพช็อค พบว่าความเข้มข้น Na และ Cl (ภาพที่ 1) Cu และ Ca (ภาพที่ 2) Mn (ภาพที่ 3) P (ภาพที่ 4) S (ภาพที่ 4) และโปรตีน (ภาพที่ 5) ในพลาสมา สภาพก่อนช็อคและที่อยู่ในสภาพช็อค มีค่าเปลี่ยนแปลงไปแต่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ส่วนความเข้มข้น Mg (ภาพที่ 2) มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณความเข้มข้นลดลง ($p<0.05$) มีปริมาณที่น้อยมากจนไม่สามารถตรวจพบได้ในสภาพช็อค oxyhaemocyanin (ภาพที่ 6) มีค่าลดลง ($p<0.05$) เช่นกัน ขณะที่พบ K สูงขึ้น ($p<0.05$) (ภาพที่ 2)



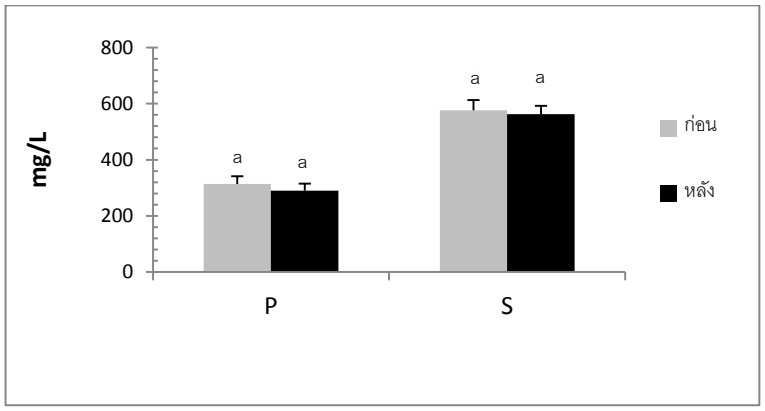
ภาพที่ 1 ความเข้มข้นโซเดียมและคลอรีนในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค (Mean±SE)
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



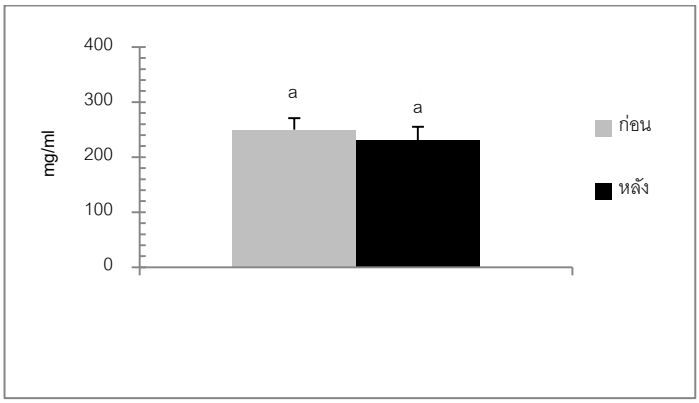
ภาพที่ 2 ความเข้มข้นทองแดง แมกนีเซียม โปแตสเซียม และแคลเซียมในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค (Mean±SE)
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



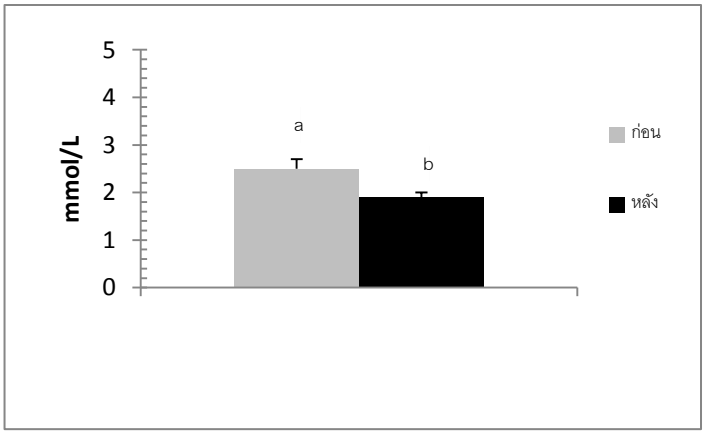
ภาพที่ 3 ความเข้มข้นแมงกานีสในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค (Mean±SE)
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพที่ 4 ความเข้มข้นฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์ในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค (Mean±SE)
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพที่ 5 ความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค (Mean±SE)
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพที่ 6 ความเข้มข้นออกซีฮีโมซัยนินในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) สภาพปกติและสภาพช็อค (Mean±SE)
อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

คุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำจากถังเลี้ยง พบว่าอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ไม่ส่งผลกระทบต่อการเลี้ยงกุ้งขาว กล่าวคือ มีความเค็ม 25 ppt อุณหภูมิ 29.36±0.82 ^{O}C พีเอช (pH) 7.92±0.06 อัลคาไลนิตี้ (Alkalinity) 90.5±4.04 (mg/L) แอมโมเนีย 0.46±0.18 mg/L และออกซิเจนละลายน้ำ (DO) 6.03±0.08 mg/L

อภิปรายผลการทดลอง

1. โซเดียม โพแตสเซียม และคลอรีน

โซเดียม โพแตสเซียม และคลอรีนมีส่วนสำคัญในการรักษาสมดุลสภาพความเป็นกรด – ด่างของร่างกายให้สมดุลหากขาดโซเดียมจะทำให้เลือดมีสภาพเป็นกรด (ประจวบ หลำอุบล, 2537) ในการทดลองจะนำกุ้งขาว (*L. vannamei*) มาทดลองในสภาพที่ปราศจากน้ำและสังเกตอาการการช็อค เมื่อกุ้งอยู่ในสภาพปราศจากน้ำย่อมส่งผลต่อการหายใจของกุ้ง เนื่องจากการหายใจของกุ้งจะใช้กลไกการแลกเปลี่ยนก๊าซที่เหงือก จะเกิดขึ้นหลังจากที่น้ำจากภายนอกร่างกายของสัตว์ถูกนำเข้าช่องเหงือก (Mantel & Farmer, 1983) และการแลกเปลี่ยนแร่ธาตุที่เหงือกด้วย จึงส่งผลต่อการรักษาสมดุลความเป็นกรด – ด่าง ซึ่งสมดุลดังกล่าวในสภาพปกติจะใช้ระบบไบคาร์เนต (HCO^-_3) จากการหายใจและการแลกเปลี่ยนจากน้ำ แต่เมื่อกุ้งขาว (*L. vannamei*) อยู่ในสภาพปราศจากน้ำจะไม่สามารถใช้ระบบไบคาร์เนต (HCO^-_3) ได้ จึงจำเป็นต้องใช้การรักษาสมดุลวิธีอื่นแทนซึ่งจากการทดลองเมื่อกุ้งขาว (*L. vannamei*) อยู่ในสภาพปราศจากน้ำและเมื่อเกิดการช็อคมีการเพิ่มของปริมาณธาตุโซเดียม และโพแทสเซียมในพลาสมา สภาวะดังกล่าวภายในร่างกายจะมีสภาพความเป็นกรด ในการรักษาสมดุลภายในร่างกายจำเป็นต้องปล่อย Na^+ กับ K^+ จากเซลล์ออกมาเพื่อเป็นบัฟเฟอร์ในการรักษาสมดุลความเป็นกรด - ด่างในพลาสมา ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณธาตุโซเดียมและโพแตสเซียมในพลาสมา

การลดลงของคลอรีนในพลาสมานั้น น่าจะเป็นการรักษาสมดุลของความเป็นกรด - ด่างโดยการใช้บัฟเฟอร์ด้วย HCO^-_3 จากภายใน ซึ่งมีการรายงานว่าในระบบลำไส้ของปลาทะเลกระดูกแข็งในการรักษาสมดุลความเป็นกรดในลำไส้จะมีการแลกเปลี่ยน Cl^- กับ HCO^-_3 (Rod et al., 2002) และในปลาที่อยู่ในสภาพไม่มีน้ำจะส่งผลให้ pH ในตัวปลามีค่าที่ลดต่ำลงในการรักษาสมดุลจะมีการปล่อย HCO^-_3 ออกมายังพลาสมา (Claiborne, 1997) ซึ่งในกุ้งขาวเมื่อเกิดการช็อค ความเป็นกรดในพลาสมาจะมีการเพิ่มสูงขึ้นในการรักษาสมดุลจึงดึงเอา Cl^- ในพลาสมาเข้าสู่เซลล์ และปล่อย HCO^-_3 ออกจากเซลล์ จึงส่งผลทำให้ปริมาณคลอรีนในพลาสมาลดลง หรือเป็นไปได้ที่คลอรีนอาจจะถูกขับออกมากับน้ำที่ปล่อยออกมาทางเหงือก อย่างไรก็ตามถึงจะไม่เห็นผลอย่างชัดเจนในกุ้งขาวที่มีสภาพการช็อคเป็นเวลา 3 นาที

2. แคลเซียม และแมกนีเซียม

แคลเซียมมีความสำคัญสำหรับการสร้างเปลือกและการแข็งตัวของเลือด การหดตัวของกล้ามเนื้อ การถ่ายทอดสัญญาณประสาท และการปรับสมดุลแร่ธาตุ (Osmoregulation) และเป็นโคแฟกเตอร์สำหรับเอนไซม์ (Lall, 1989) และสัตว์น้ำส่วนใหญ่สามารถดูดซึมแคลเซียมได้อิสระจากสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยการดูดซึมผ่านทางเหงือก และ epidermis (Deshimaru & Yone, 1978; Lall, 1989; Coote *et al.,* 1996) ซึ่งในการทดลองพบว่ากุ้งขาว (*L. vannamei*) ที่อยู่ในสภาพช็อค มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณแคลเซียมในพลาสมาที่น้อยมาก แสดงให้เห็นว่าในกุ้งเมื่ออยู่ในสภาพช็อคไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความเข้มข้นแคลเซียมในพลาสมา

แมกนีเซียมอยู่ในโครงสร้างของร่างกายประมาณ 70% ส่วนอีก 30% พบในเนื้อเยื่อและเลือด มีหน้าที่กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ช่วยควบคุมการเต้นของหัวใจและการยืดหดตัวของกล้ามเนื้อ (ประจวบ, 2537) ในครัสเตเชียนมีกลไกการขับถ่ายและดูดซึมแมกนีเซียมด้วยเหงือกและ Antennal glands (Lima *et al*., 1997) ซึ่งแมงกนีเซียมนับว่าเป็นแร่ธาตุที่สำคัญต่อขบวนการสร้างเปลือกตลอดวงจรการลอกคราบ (Pratoomchat *et al*., 2002) กุ้งชนิดนี้มีการรักษาระดับแมกนีเซียมในเลือดต่ำกว่าน้ำภายนอกตั้งแต่ความเค็ม 10 ppt เป็นต้นไป ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงใกล้เคียงกับกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) (Tantolo & Fotedar, 2006) ในสภาวะการช็อคการคงสภาพของการทำงานของกล้ามเนื้อให้เป็นปกติ ความจำเป็นของแมกนีเซียมจึงมีความต้องการที่มีสูงขึ้น ซึ่งในสภาวะของการช็อคของกุ้งขาว (*L. vannamei*) แสดงให้เห็นการลดลงของแมกนีเซียมในพลาสมาอย่างมาก เนื่องจากไม่สามารถวัดด้วยด้วยเครื่อง X – ray Fluorescent spectrophotometer เมื่อเปรียบเทียบกับสภาพก่อนช็อคที่มีปริมาณความเข้มข้นของแมกนีเซียมถึง 108.46 mg./l เพราะฉะนั้นการช็อคมีผลอย่างมากต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นแมกนีเซียมในพลาสมา

3. ทองแดง และแมงกานีส

ทองแดงมีส่วนเกี่ยวข้องกับการนำออกซิเจนมาใช้ในกิจกรรมภายในเซลล์ (Lee & Shiau, 2002) ซึ่งกุ้งขาว (*L. vannamei*) ที่อยู่ในสภาพช็อคจะมีการใช้พลังงานเพิ่มมากขึ้นความจำเป็นการใช้ออกซิเจนจึงสูงขึ้นจึงจำเป็นต้องนำทองแดงเข้าสู่ระบบเลือด เพื่อใช้ในกระบวนการหายใจจึงส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นปริมาณความเข้มข้นของทองแดง ถึงแม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม

ส่วนแมงกานีสนั้นตรวจพบว่ามีปริมาณที่น้อยมากในพลาสมา และมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณความเข้มข้นทั้งก่อนช็อคและในสภาพช็อคที่ต่ำมากและมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการช็อคไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงแมงกานีสในพลาสมา

4. โปรตีนและออกซีฮีโมซัยนิน (Oxyhaemocyanin)

โปรตีนในเลือดกุ้งขาวต่ำลงเล็กน้อยในสภาพช็อค แสดงว่ากุ้งเริ่มอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม โดยทั่วไปกุ้งจะพยายามควบคุมสภาพสมดุลนี้เพื่อการอยู่รอด ซึ่งกุ้งจึงต้องใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในการปรับสมดุลเมื่อเผชิญสภาวะผิดปกติ รวมทั้ง oxyhaemocyanin ในสภาวะดังกล่าวนี้กุ้งมีการนำโปรตีนจากเปลือกเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อช่วยเพิ่มระดับออสโมลาลิตี้ภายในเลือด (Mangum & Johansen, 1975) การเพิ่มขึ้นของโปรตีนนั้นสัมพันธ์กับการเพิ่มของ oxyhaemocyanin และปริมาณทองแดงที่กุ้งจำเป็นต้องมีการใช้ออกซิเจนสูงขึ้น ซึ่ง haemocyanin จับตัวกับออกซิเจนแล้วขนส่งเข้าสู่ระบบเลือด (Cheng *et al*., 2003) อีกทั้ง oxyhaemocyanin ในระบบเลือดเป็นตัวชี้วัดสุขภาพของสัตว์น้ำด้วย (Weiland & Mangum, 2005) เช่นเดียวกัน ในกุ้งขาว *L. vannamei* ปริมาณ oxyhaemocyanin สูงขึ้นส่งผลทำมีการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้นและมีการขับคาร์บอนไดออกไซด์ออกเมื่อความเค็มน้ำต่ำ (Li *et al*., 2008) เพราะสัตว์โดยทั่วไปแล้วจะมีอัตราการหายใจสูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่น้ำภายนอกมีการเจือจางลง ซึ่งต้องใช้พลังงานมากนั่นคือระดับที่ความ

เค็มน้ำต่ำ โปรตีนในเลือดซึ่งอยู่รูปของกรดอะมิโน (amino acid) สูงขึ้นเพื่อสนับสนุนกิจกรรมขบวนการเมตาบอลิซึม ในระบบ osmoregulation และการหายใจ (respiration) ซึ่งกุ้งขาว *L. vannamei* มีกลไกการปรับตัวต่อความเค็มต่ำ จะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของ oxyhaemocyanin โดยการรับและบรรจุออกซิเจนในเม็ดเลือด เป็นการเสริมระบบเมตาบอลิซึม ในการปรับสมดุลเกลือแร่ (Li *et al*., 2008) ซึ่งต่างจากเหตุการณ์นี้ซึ่งกุ้งมีสภาพช็อก จึงน่าจะไปมีผลทำให้กุ้งสูญเสียโปรตีนและยังสูญเสียประสิทธิภาพในการลำเลียงออกซิเจน(oxygen-carrying capacity) อีกด้วย จึงทำให้ยากต่อการควบคุมเกลือแร่ให้สมดุลได้ เพราะเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิ รวมทั้งโครงสร้างของอากาศที่เปลี่ยนแปลงไป จึงมีผลทำให้กุ้งอยู่ในสภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia)

สรุปผลการทดลอง

กุ้งที่มีสภาพช็อค พบความเข้มข้นของ แมกนีเซียม และฮีโมซัยนิน ในพลาสมากุ้งขาว (*L. vannamei*) ลดลงอย่างชัดเจน ($p<0.05$) ขณะที่ความเข้มข้นโพแตสเซียมสูงขึ้น ($p<0.05$)

ผลผลิต

คาดว่าจะยื่นจดอนุสิทธิบัตรหรือตีพิมพ์ผลงานในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติภายในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561

เอกสารอ้างอิง

จารุวัฒน์ นภีตะภัฏ และสมนึก กบิลรัมย์, 2532. การเปลี่ยนแปลงอัตราการบริโภคออกซิเจนของ กุ้งกุลาดำ, *Penaeus monodon* (Fabricius), ในความเค็มและอุณหภูมิต่างระดับ. เอกสารวารสารวิชาการที่ 24/2532 สถานีประมงน้ำกร่อย จังหวัดระยอง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง. 31 หน้า

ชลอ ลิ้มสุวรรณ, 2543. กุ้งไทย 2002. โรงพิมพ์เจริญรัฐกาลพิมพ์. 260 หน้า

ชลอ ลิ้มสุวรรณ และพรเลิศ จันทร์รัชชกูล, 2547. การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนาไม. อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงแห่งประเทศไทย. คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 163 หน้า

ประจวบ หลำอุบล. 2537. สรีรวิทยาของกุ้ง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล, คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 293 หน้า.

พนิดา เล้าชาญวุฒิ. 2544. สรีรวิทยาเปรียบเทียบระบบอวัยวะของสัตว์กลุ่มต่างๆ. เอกสารประกอบการสอนรายวิชา 306106 ชีววิยาทั่วไป 1. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บุญรัตน์ ประทุมชาติ บัลลังก์ เนื่องแสง และถนอมศักดิ์ บุญภักดี. 2547. ผลของการเสริมเกลือแร่ในอาหารและการเปลี่ยนแปลงสรีระเคมีของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงระบบพัฒนา. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา. 64 หน้า.

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

ภาณุ แช่มชื่น อรรถพล ธาตุมี และบุญรัตน์ ประทุมชาติ. 2551. ผลของความเค็มต่อการเปลี่ยนแปลงออสโมลาลิตี้ในเลือด ความเข้มข้นของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และคลอรีนในพลาสมาปูม้า (*Portunus pelagicus*). ในการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 (หน้า 119-127). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมเกียรติ วัฒนศิริชัยกุล และดวงฤดี วัฒนศิริชัยกุล. 2545. ภาวะช็อก. กรุงเทพ. 735 หน้า

Burton, R.F. 1995. Cation balance in crustacean haemolymph: relationship to cell membrane potentials and membrane surface charge. Comparative Biochemistry and Physiology Part A. 111, 125-131.

Chen, J.C., Cheng, S.Y. 1993. Hemolymph PCO2, hemocyanin, protein level and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. Aquatic Toxicology 27, 281-292.

Cheng, W., Liu, C.H., and Kuo, C.M. 2003. Effects of dissolved oxygen on hemolymph parameters of fresh water giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Aquaculture 220, 843–856.

Claibone, J.B., 1998. Acid-Base Regulation The physiology of fishes Edition by Evans, D.H. (ed). Academic Press, pp. 177 – 198

Coote, T.A., Hone, P.W., Kenyon, R. and Maguire, G.B., 1996. The effect of different combinations of dietary calcium and phosphorus on the growth of juvenile *Haliotis laevigata.* Aquaculture.. 145: 267 – 279

Coyle, S.D., Durborow, R.M. and Tidwell, J.H., 2004. Anaesthetics in aquaculture. Kentucky State University Aquaculture Research Center.

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

Deshimaru, O. and Yone Y., 1978. Requirement of prawn for dietary minerals. Nippon Suisan Gakkaishi. 44: 210-212

Engel, D. W., Brouwer, M., and Mercaldo, R. A. 2001. Effect of molting and environmental factors on trace metal body-burdens and hemocyanin concentrations in the American lobster, *Homarus americanus*. Marine Environmental Research, *52*, 257-269.

Kinsey, S.T., and Lee, B.C. 2003. The effect of rapid salinity change on in vivo arginine kinase flux in the juvenile blue crab *Callinectes sapidus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, *135*, 521-531.

Lall, S.P. 1989. The minerals. Fish nutrition. 2: J.E. Halver, editor, Academic, Pess, Inc., NewYork

Lee, M. H. and Shiau, S. Y., 2002. Dietary copper requirement of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon* , and effects on non-specific immune responses. Fish and Shellfish Immunology**.** 13 : 259-270

Li, E., Chen, L., Zeng, C., Yu, N., Xiong, Z., Chen, X., and Qin, J.G. 2008. Comparison of digestive and antioxidant enzyme activities, haemolymph oxyhemocyanin contents and hepatopancreas histology of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at various salinities. Aquaculture 274, 80-86.

Li, Y., Li, J. and Wang, O., 2006. The effects of dissolved oxygen concentration and stocking density on growth and non-specific immunity factors in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. Aquaculture 256, 608–616.

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

Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Experimental Biology. 193, 265-275

Mangum, C. P., and Johansen, K. 1975. The colloid osmotic pressures of invertebrate body fluids. Journal of Experimental Biology. 63, 661-671.

Mananes, Lopes A.A., Meligeni, C.D., and Goldemberg, A.L. 2002. Response to environmental salinity of Na^{+}-K^{+} ATPase activity in individual gills of the euryhaline crab *Cyryograpsus angulatus* . Journal of Experimental Biology and Ecology, 274, 75-85.

Mantel, L.H. and Farmer, L.L., 1983. Osmotic and Ionic Regulation. In: Mantel L.H. (Ed.), The Biology of Crustacea. Academic Press, pp. 54 – 143

McLaughlin, P.A., 1983. Internal Anatomy. In: Mantel L.H. (Ed.), The biology of Crustacea. Academic Press, pp.20-25.

McMahon, B.R. and Wilkens, J.L., 1983. Ventilation, perfusion, and oxygen uptake. In: Mantel L.H. (Ed), The biology of Crustacea. Academic Press, pp.290-362.

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

Rainbow, P. S.,1997. Ecophysiology of Trace Metal Uptake in Crustaceans. Estuarine Coastal and Shelf Science. 44 : 169-175

Rod, W.W., Jonathan M.W., and Martin G., 2002. Intestinal bicarbonate secretion by marine teleost fish - why and how. Biochimica et Biophysica Acta.1566 : 182– 193

Tantulo, U. and Foteder, R. 2006. Comparison of growth, osmoregulatoly capacity, ionic regulation and organosomatic indics of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) juveniles reared in potassium fortified inland saline water and ocean water at different salinities. Aquaculture. 258 **:** 594 – 605.

Vijayan, K.K. and Diwan, A. D. 1996. Fluctuations in Ca, Mg and P levels in the hemolymph, muscle, midgut gland and exoskeleton during the moult cycle of the Indian White Prown *Penaeus indicus* (Decapods; Penaeidae) Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 114 (1), 91-97.

Zanotto, F.P., and Wheatly, M.G. 2003. Calcium balance in crustaceans: nutritional aspects of physiological regulation. Comparative Biochemistry and Physiology Part A. 133, 645-660.

Zare, S., and Greenway, P. 1998. The effect of moulting and sodium depletion on sodium transport and the activities of $Na^{+}K^{+}$-ATPase, and V-ATPase in freshwater crayfish *Cherax destructor* (Crustacea: Parastacidae). Comparative Biochemistry and Physiology Part A. 119, 739-745.