บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

ชีววิทยาของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำ หรือกุ้งกะลาหรือกุ้งม้าลาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Penaeus monodon* Fabricius มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Black Tiger Prawn หรือ Jumbo Tiger Prawn จัดอยู่ในวงศ์ Penaeidae ในขณะมีชีวิตอยู่ลำตัวจะมีสีม่วงแดง มีแถบสีน้ำตาลหรือดำพาดขวางลำตัวเป็นปล้อง ๆ และโคนขาว่ายน้ำจะมีแถบสีเหลืองเป็นปล้อง ๆ หนวดมีสีดำและไม่มีลาย มีเปลือกหัวเกลี้ยงไม่มีขน ฟันกรีด้านบนมี 7 - 8 ซี่ ด้านล่างมี 3 ซี่ กุ้งกุลาดำจัดเป็นกุ้งที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในวงศ์ Penaeidae ถิ่นอาศัยของกุ้งกุลาดำได้แก่ น่านน้ำแถบใต้หวัน ฟิลิปปินส์ ไทย อินโดนีเซีย มาเลเซีย และที่พบมากได้แก่ ออสเตรเลียและอินเดีย กุ้งชนิดนี้อาศัยอยู่ในเขตร้อน สามารถทนอยู่ได้ในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงและความเค็มต่ำ เช่น บริเวณป่าชายเลน กุ้งชนิดนี้มีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ชอบอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีดินทรายปนโคลน กินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์ทั้งที่ตายและมีชีวิตอยู่

กุ้งกุลาดำวางไข่ในทะเล โดยกุ้งที่มีอายุประมาณ 12 -18 เดือน จะวางไข่ในทะเลลึกประมาณ 15 - 30 เมตร ใกล้กับท้องทะเล กุ้งขนาด 70 - 180 กรัม จะวางไข่ครั้งละประมาณ 100,000 - 1,200,000 ฟอง มักจะผสมพันธ์เวลากลางคืน โดยที่ตัวผู้จะสอดอวัยวะเพศที่เรียกว่า พีเทสมา (petesma) เข้าไปในอวัยวะเพศเมียที่เรียกว่า ทีไรคัม (thelycum) พร้อมกับปล่อยถุงน้ำเชื้อเข้าไปเก็บไว้ในถุงเก็บน้ำเชื้อของตัวเมีย เมื่อไข่แก่และสุกเต็มที่ก็จะถูกขับออกมาทางช่องไข่และจะได้รับการผสมกับน้ำเชื้อตัวผู้ซึ่งจะไหลออกจากถุงเก็บน้ำเชื้อทางรูเปิดเล็ก ๆ ที่บริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 ของตัวเมีย แม่กุ้งใช้เวลาวางไข่ครั้งหนึ่ง ๆ ประมาณ 3 - 5 นาที ไข่ที่ผสมแล้วขณะที่ปล่อยสู่น้ำทะเลใหม่ ๆ จะมีลักษณะกลม ไข่จะค่อย ๆ พัฒนาจนฟักเป็นตัว กุ้งวัยอ่อนจะถูกกระแสน้ำพัดเข้าหาฝั่ง เมื่อถึงบริเวณชายฝั่งก็จะอาศัยเลี้ยงตัวอยู่ในบริเวณนี้จนกระทั่งโตเต็มวัยจึงอพยพกลับสู่ทะเลและผสมพันธุ์วางไข่ต่อไป

เชื้อไวรัสที่พบในกุ้งกุลาดำ

ปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งได้ขยายตัวกลายเป็นอุตสาหกรรม มีการพัฒนาปรับปรุงและเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเลี้ยงจากแบบหนาแน่น (intensive culture) ระบบเปิด เปลี่ยนถ่ายน้ำบ่อยมาเป็นระบบกึ่งปิดหรือปิด (closed system) ซึ่งมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเป็นระยะ ๆ เนื่องจากความเสื่อมโทรมของสิ่งแวดล้อมภายนอก ทำให้น้ำเลี้ยงมีการปนเปื้อนของสารเคมีและเชื้อโรคต่าง ๆ รวมทั้งโรคหัวเหลือง การแพร่กระจายของโรคหัวเหลืองมาจากพาหะ (carrier) ได้แก่ กุ้งเคย กุ้งตะกาด กุ้งแชบ๊วยและกุ้งอื่น ๆ ที่ปะปนเข้าสู่บ่อเลี้ยงโดยปนมากับน้ำ และตัวเชื้อไวรัสเองยังสามารถดำรงชีวิตอยู่ในน้ำโดยลำพัง เมื่อเกษตรกรสูบน้ำที่มีเชื้อหัวเหลืองปะปนอยู่ก็อาจทำให้เกิดโรคได้

โรคไวรัสเมื่อเกิดขึ้นแล้วการรักษาจะทำได้ยาก เพราะเชื้อไวรัสจะเพิ่มจำนวนอยู่ภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเท่านั้น ถ้าเชื้อไวรัสมีความรุนแรงมากกุ้งก็จะตายอย่างรวดเร็ว การใช้ยาหรือสารเคมีมักไม่ได้ผลนอกจากใช้ในความเข้มข้นสูง ๆ ทั้งนี้ตัวยาจะแทรกเข้าไปในเซลล์ของกุ้งมีผลต่อการทำลายเชื้อและองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์กุ้งด้วย เมื่อการรักษาไม่ได้ผล แนวทางป้องกันมิให้ไวรัสปะปนเข้าไปในบ่อกุ้ง หรือการสร้างเสริมความแข็งแรงและภูมิต้านทานโรคให้แก่กุ้งน่าจะเป็นวิธีการที่เป็นไปได้ และได้ผลมากกว่า ในระยะ 3 - 4 ปีที่ผ่านมา นอกจากการระบาดของเชื้อไวรัสหัวเหลืองแล้ว ยังมีเชื้อไวรัสอีกหลายชนิดในกุ้งกุลาดำทั้งที่เคยพบมาแล้วและยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนในประเทศ (จิราพร,2537) เชื้อไวรัสต่าง ๆ ที่พบได้แก่

1. โมโนดอนแบคคิวโลไวรัส หรือเอ็มบีวี (Monodon Baculovirus or MBV) เอ็มบีวีเป็นไวรัสในกลุ่มแบคคิวโลไวรัส มีขนาดของอนุภาคยาวประมาณ 265 - 282 นาโนเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 68 - 77 นาโนเมตร และเป็นชนิดที่มีเกราะโปรตีน (proteinaceous crytalline polyhedral inclusion body) หุ้มอนุภาคไวรัส เกราะโปรตีนหรือที่เรียกว่า "อ็อกคลูชั่นบอดี้" (occlusion bodies, OB's) ช่วยให้อนุภาคไวรัสสามารถทนอยู่ในสภาพแวดล้อมได้ดี ไม่ถูกทำลายง่ายเหมือนไวรัสที่อยู่อย่างอิสระ เมื่ออ็อกคูลชั่นบอดี้เหล่านี้ถูกปล่อยออกมาพร้อมกับขี้กุ้งหรือซากกุ้งที่ตายแล้ว ตกลงสู่ก้นบ่อ เชื้อไวรัสนี้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้เป็นเวลานาน 2 - 3 เดือนหรือรอจนกว่าจะมีกุ้งหรือพาหะ ของเชื้อมากินอ็อกคลูชั่นบอดี้เมื่อเข้าสู่ภายในร่างกายก็จะถูกย่อยสลายพร้อมปลดปล่อยอนุภาคไวรัสเข้าสู่ระบบหมุนเวียนไปสู่ตับ/ตับอ่อน

(hepatopancreas) ซึ่งเป็นอวัยวะเป้าหมาย (target organ) เพิ่มจำนวนอนุภาคและสร้างอ๊อกคลูชั่นบอดี้ขึ้นมามากมายในตับ/ตับอ่อน พบเชื้อไวรัสเอ็มบีวีได้ทุกระยะของการเลี้ยงกุ้งแต่พบมากในกุ้งระยะ PL 20 จนถึงอายุ 3 เดือน ระยะที่มีผลกระทบมากที่สุดคือวัยอ่อน กุ้งที่เลี้ยงในบ่อที่มีเชื้อเอ็มบีวีอยู่อาจไม่แสดงอาการป่วยให้เห็น แต่เมื่อใดที่สภาวะแวดล้อมเกิดการเปลี่ยนแปลง กุ้งเกิดความเครียดขึ้น กุ้งจะทยอยตายและตายเพิ่มมากขึ้นทุกวัน ถ้ามีการติดเชื้อแบคทีเรียร่วมด้วยแล้วจะยิ่งมีการตายมากขึ้น

Nash และคณะ (1988) ศึกษาการติดเชื้อแบคคิวโลไวรัสของกุ้งกุลาดำระยะ PL ในประเทศอินโดนีเซีย พบว่าเมื่อได้รับเชื้อแล้วกุ้งจะเกิดการตายสะสมเป็นจำนวนมากกว่า 90 % ภายในเวลา 2 สัปดาห์หลังจากเกิดอาการติดเชื้อ จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาพบลักษณะของการติดเชื้อเอ็มบีวี ทั้งที่คุณภาพน้ำและอาหารดีมาก แต่กุ้งที่เลี้ยงเกิดความเครียดจากการเลี้ยงอย่างหนาแน่นหรือจากปัจจัยอื่นที่นำมาซึ่งการติดเชื้อ Fegan และคณะ (1991) พบเชื้อเอ็มบีวีในตัวอ่อนกุ้งกุลาดำระยะ PL และกุ้งพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำทางภาคใต้ของประเทศไทย โดยการสุ่มจับทั้งตัวผู้และตัวเมียมาศึกษาการเกิดอ๊อกคลูชั่นบอดี้ เป็นเวลา 1 ปี พบว่าเกิดอ๊อกคลูชั่นบอดี้ ในกุ้งตั้งแต่ระยะซูเอี้ย 3 (third zoeal) ขึ้นไป และพบ อ๊อกคลูชั่นบอดี้ ในกุ้ง PL จากฟาร์มเพาะฟักทั้งทางฝั่งทะเลอันดามันและฝั่งอ่าวไทย เป็นไปได้ว่าการเกิด อ๊อกคลูชั่นบอดี้จะพบได้ตั้งแต่กุ้งเล็กในฟาร์มเพาะฟักจนถึงขนาดจับขายได้

2. เฮปพาโตแพนคริเอติกพาโวไลค์ไวรัส หรือเอชพีวี (Hepatopancreatic Parvo-like virus) มีรูปร่างกลม ขนาดเล็กมากประมาณ 22 - 24 นาโนเมตร เป็นไวรัสชนิดดีเอ็นเอ มีรูปร่างเหมือนกับไวรัสในกลุ่มพาโวไวรัส (Parvovirus) พบเชื้อไวรัสชนิดนี้ในกุ้งกุลาดำบ้างประปรายในระยะ 2 - 3 ปีที่ผ่านมา และตรวจพบมากขึ้นในช่วงต้นปี 2537 ในหลายท้องที่ของจังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และสงขลา แต่ยังไม่มีรายงานว่าก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเลี้ยงกุ้งเหมือนเชื้อโรคหัวเหลือง พบเชื้อไวรัสชนิดนี้ในกุ้งที่มีอายุประมาณเดือนครึ่งขึ้นไป กุ้งที่ติดเชื้อจะกินอาหารลดลง ไม่โต และจะทยอยตายไปเรื่อย ๆ มักจะพบพยาธิภายนอก เช่น ซูโอแทมเนียม หรือแบคทีเรียเส้นสาย (filamentous bacteria) เกาะตามตัวหรือระยางค์ ตับ/ตับอ่อนจะบวม ถ้ามีการติดเชื้อแบคทีเรียร่วมด้วยจะเป็นสาเหตุที่ทำให้กุ้งตายมากขึ้น แต่บางครั้งพบว่ากุ้งที่มีเชื้อเอชพีวีอยู่จะไม่แสดงอาการใด ๆ ให้เห็นเช่นเดียวกับกุ้งที่มีเชื้อเอ็มบีวี การตรวจวินิจฉัย จะสังเกตได้จากลักษณะของอินคลูชั่นบอดี้ (inclusion body) ที่เกิดขึ้นภายในนิวเคลียส

ของเซลล์ตับ/ตับอ่อน เมื่อนำมาย้อมสี H&E (Hematoxylin และ Eosin) จะเห็นอินคลูชั่นบอดี้มีลักษณะกลมติดสีน้ำเงิน Flegel และ Sriurairatana (มปป) ตรวจพบอินคลูชั่นบอดี้ มีลักษณะกลม ติดสีน้ำเงิน (Basophillic) ในนิวเคลียสของเซลล์ตับบริเวณ epithelium

3. เชื้อไวรัสหัวเหลืองหรือวายเอชวี (yellow-head baculovirus or YHV) เป็นไวรัสที่มีความรุนแรงมากและก่อให้เกิดความเสียหายแก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมากที่สุดตั้งแต่ปี 2533 จวบจนถึงปัจจุบัน เชื้อวายบีวีมีรูปร่างเป็นแท่งยาวประมาณ 150 - 200 นาโนเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 40 - 50 นาโนเมตร จะพบเชื้อวายบีวีได้ในกุ้งระยะตั้งแต่ PL ที่ปล่อยลงบ่อจนถึงจับขาย แต่พบมากในช่วงอายุ 50 - 70 วัน และจะไม่พบในกุ้งวัยอ่อน ลักษณะอาการของโรคหัวเหลือง คือกุ้งจะกินอาหารมากขึ้นอย่างผิดปกติในระยะแรกและจะค่อย ๆ ลดลง กุ้งจะลอยอยู่ผิวหน้าน้ำ บริเวณส่วนหัวจะมีสีเหลือง โดยเฉพาะตับ/ตับอ่อนจะบวมและมีสีเหลือง เหงือกเหลือง กุ้งจะตายอย่างรวดเร็ว และอาจตายหมดทั้งบ่อภายใน 2 - 3 วันหลังจากเริ่มแสดงอาการให้เห็น

การตรวจวินิจฉัยดูอาการ โดยการสกัดเชื้อไวรัสจากเหงือกกุ้งนำไปฉีดกุ้งปกติและสังเกตการตายภายใน 24 - 48 ชั่วโมง ซึ่งกุ้งจะแสดงอาการหัวเหลืองอย่างเด่นชัด นอกจากนี้อาจจะใช้วิธีย้อมสีเม็ดเลือดเพื่อสังเกตการสลายตัวของเม็ดเลือดที่เรียกว่าพิกโนซิสและแคริโอเร็กซิส (pycnosis และ karyorrhexis) (Supamattaya et. al., 1994) ชลอและคณะ (2536) พบว่าไวรัสที่ทำให้เกิดโรคหัวเหลืองทำลายอวัยวะที่สำคัญของกุ้ง ได้แก่ เหงือก hemocyte และ lymphoid organ เมื่อเหงือกและ hemocyte ถูกทำลายจะทำให้การหายใจไม่สะดวก และภูมิคุ้มกันต่าง ๆ เสีย เนื่องจาก lymphoid organ ถูกทำลายมีผลทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียและเอ็มบีวีได้ในเวลาต่อมา การตายของกุ้งจะรวดเร็วมากกว่าโรคอื่น ๆ เนื่องจากอวัยวะที่สำคัญถูกทำลายมาก เมื่อศึกษาทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อกุ้งที่ป่วยเป็นโรคหัวเหลืองจากบ่อเลี้ยง พบว่ามีการตายของเนื้อเยื่อ (necrosis) อย่างรุนแรงสังเกตเห็น nuclear pycnosis และ karyorrhexis ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ลักษณะเด่นที่พบ คือ พบ necrosis ของ hemocyte ในอวัยวะต่าง ๆ เช่น หัวใจ antennal gland กล้ามเนื้อ ผนังกล้ามเนื้อ ของ midgut และ midgut caeca และใน hemopoietic tissue นอกจากนี้การถ่ายทอดเชื้อโดยฉีดของเหลวจากเหงือกและตับอ่อนของกุ้งป่วย (1:500 dilution) เข้ากุ้งปกติ กุ้งจะเริ่มตายหลังจากฉีดนาน 30 ชั่วโมง และตายหมดภายใน

เวลา 48 ชั่วโมง โดยที่มีกุ้งบางตัวแสดงอาการเหมือนกับกุ้งที่ป่วยเป็นโรคหัวเหลือง ความรุนแรงของการตายจะมากขึ้นตามลำดับหลังจากการถ่ายเชื้อต่อ ๆ ไป การทดลองนำของเหลวจากกุ้งป่วยมาทดสอบกับความร้อน 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วฉีดเข้าไปในกุ้งปกติไม่สามารถทำให้เกิดโรคได้ สิทธิและคณะ (2536) นำเอาตับอ่อนและกล้ามเนื้อของกุ้งที่เป็นโรคหัวเหลืองมาบดแล้วกรองของเหลวที่ได้ผ่านกระดาษกรอง 0.2 ไมครอนฉีดเข้ากุ้งปกติ พบว่ากุ้งปกติตายถึง 100 % ภายในเวลา 3 วัน โดยพบอาการของโรคหัวเหลืองอย่างชัดเจน ในขณะที่กุ้งในชุดควบคุมซึ่งฉีดเฉพาะ LHM (Lobster Hemolymph Medium) ไม่พบการตายตลอดการทดลอง เมื่อนำของเหลวจากตับอ่อนของกุ้งเป็นโรคที่กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 33, 60, 100 และ 120 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 33 และ 60 องศาเซลเซลียส ไม่สามารถทำลายเชื้อที่อยู่ในของเหลวจากตับอ่อนได้ โดยที่ระดับความร้อน 33 องศาเซลเซียส จะมีการตายเร็วกว่าที่ 60 องศาเซลเซียส ส่วนที่ 100 และ 120 องศาเซลเซียส ไม่พบว่ามีการตายเกิดขึ้นหลังจากฉีดเป็นเวลา 10 วัน เช่นเดียวกับชุดควบคุม

เนื่องจากไม่มียาหรือสารเคมีใด ๆ ที่จะใช้รักษาโรคหัวเหลืองได้ ดังนั้นการป้องกันน่าจะเป็นวิธีที่ดีที่สุด โดยการจัดการบ่อที่ดี การเตรียมบ่อ ลดโอกาสการปะปนของตัวนำเชื้อที่จะเข้ามากับน้ำโดยการกรองด้วยอวนสีฟ้าตาถี่ มีบ่อพักน้ำ เลือกซื้อลูกกุ้งที่ได้ขนาดและมีความแข็งแรงให้อาหารที่มีคุณภาพและควรเสริมวิตามินซีลงในอาหาร 1 - 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพื่อเสริมสร้างความแข็งแกร่งให้กับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและคอลลาเจน ในกรณีที่บ่อมีกุ้งที่เป็นโรคอยู่แล้ว ควรป้องกันการระบาดของเชื้อหัวเหลืองโดยลดปริมาณเชื้อในน้ำก่อนระบายน้ำทิ้งด้วยการผสมคลอรีนในอัตรา 50 กิโลกรัม ต่อพื้นที่บ่อ 1 ไร่ ลึก 1 เมตร แช่ทิ้งไว้ 2 - 3 วัน แล้วค่อยระบายออก หลังจากนั้นตากบ่อให้แห้งเพื่อการเลี้ยงกุ้งรุ่นต่อไป (จิราพร, 2537)

4. เชื้อวีเชพหรือวีวี (V-shaped virus) ในช่วงต้นปี 2537 ตรวจพบเชื้อไวรัสชนิดใหม่ในกุ้งกุลาดำที่มีขนาดเล็กกว่าเชื้อวายบีวี มีรูปร่างเป็นแท่งหรือรูปตัววี (v-shaped) มีขนาดอนุภาคยาว 105 - 165 นาโนเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 30 - 50 นาโนเมตร มีผนัง (envelop) ซึ่งตอนกลางจะป่องออก วัดเส้นผ่าศูนย์กลาง ได้ประมาณ 60 - 75 นาโนเมตร เมื่อนำเนื้อเยื่อตับ/ตับอ่อน เหงือกและ lymphoid organ ไปย้อมสี อะคริดีนออเรนจ์ (acridine orange) พบว่าอินคูลชั่น บอดี้ติดสีเขียวอมเหลือง ซึ่งแสดงว่ามีดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบอยู่ พบไวรัสชนิดนี้กระจายอยู่ทั่วไปในอวัยวะดังกล่าวข้างต้น นอกจากนี้ยังพบว่าไวรัสชนิดนี้สามารถทำลายเม็ด

เลือดได้เช่นเดียวกับเชื้อหัวเหลือง ถึงแม้ว่าลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสชนิดนี้จะใกล้เคียงกับเชื้อหัวเหลือง แต่อัตราการตายของกุ้งที่ได้รับเชื้อไวรัสชนิดนี้กลับช้ากว่า กล่าวคือกุ้งจะทยอยตาย และพบเชื้อแบคทีเรียจากกล้ามเนื้อ ตับและตับอ่อนร่วมอยู่ ด้วยเหตุนี้ทำให้ผู้เลี้ยงคิดว่ากุ้งตายเพราะเชื้อแบคทีเรีย แต่การใช้ยาปฏิชีวนะรักษาไม่ได้ผล กุ้งกลับตายเพิ่มมากขึ้น เมื่อนำกุ้งมาเจาะเลือดตรวจดูพบลักษณะการแตกของเม็ดเลือดคล้ายกับที่เกิดจากเชื้อไวรัสหัวเหลือง กุ้งที่ตายจะไม่มีอาการของหัวเหลืองปรากฏ แต่กุ้งจะทยอยตาย 7 - 10 วัน จนหมดบ่อ จากการทดสอบความคงทนของเชื้อชนิดใหม่นี้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน พบว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง สามารถทำลายเชื้อได้ 100 % ดังนั้นการพลิกดินตากบ่อให้ได้รับแสงแดดจัดนาน ๆ จะช่วยลดหรือกำจัดเชื้อที่อาจปะปนอยู่ลงได้ แต่เชื้อมีความคงทนต่อความเป็นกรด-ด่าง (pH) สูงมาก ที่ pH 10 เชื้อก็ยังอยู่ได้เช่นเดียวกับที่ pH 6 ช่วงที่เชื้อเจริญได้ดีคือ pH 7 - 9 (จิราพร, 2537)

5. โรคตัวแดงดวงขาว เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสรูปแท่ง มีขนาดอนุภาคยาวประมาณ 250 - 280 นาโนเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 120 นาโนเมตร พบไวรัสชนิดนี้แพร่กระจายบริเวณเนื้อ เยื่อ epithelium กุ้งที่เป็นโรคจะตายช้ากว่ากุ้งที่เป็นโรคหัวเหลืองประมาณ 5 - 10 วัน โดยใช้เวลาติดเชื้อนานประมาร 45 - 70 วัน

การป้องกันควรเน้นเรื่องการจัดการที่ดี เนื่องจากไม่มียาหรือสารเคมีใดสามารถรักษาได้ แบคทีเรียหรือพยาธิ์ ภายนอกอื่นๆที่จะเข้ามาทำอันตรายก็จะลดลงไปด้วย และควรเลือกกุ้งที่แข็งแรง ให้อาหารเสริม เช่น วิตามินซี หรือสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันอื่นๆจะช่วยให้กุ้งแข็งแรงและมีความต้านทานต่อโรคต่างๆมากยิ่งขึ้น

<u>สารอาหารที่ช่วยเพิ่มความต้านทานโรคในกุ้งทะเล</u>

จากเหตุผลข้างต้นการป้องกันจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจการเสริมวิตามินหรือสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ซึ่งมีการเติมลงไปในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ใช้เลี้ยงกุ้งกุลาดำ อาหารสำเร็จรูปเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารค่อนข้างแน่นอนตามความต้องการของลูกกุ้ง ขนาดของอาหารจะสม่ำเสมอกว่าอาหารธรรมชาติ หาได้ง่ายและมีตลอดเวลาไม่ขึ้นอยู่กับฤดูกาล แต่อาหารสำเร็จรูปก็มีคุณสมบัติด้อยกว่าอาหารธรรมชาติอยู่หลายประการ เช่น คุณค่าทางอาหารบางอย่างสูญเสียไปในขบวนการผลิต อาหารที่ใช้เลี้ยงถ้าให้ปริมาณมากกินไปอาจทำให้น้ำเสีย จึง

ต้องให้อาหารในปริมาณจำกัดแต่ให้บ่อยครั้ง และไม่สามารถคงตัวอยู่ในน้ำได้นานเท่าอาหารในธรรมชาติ จึงมักให้อาหารธรรมชาติควบคู่ไปด้วย แต่ข้อดีอาหารสำเร็จรูปคือ สามารถควบคุมปริมาณได้ค่อนข้างแน่นอน ไม่ยุ่งยากในการเตรียม ไม่ต้องใช้เนื้อที่ในการเพาะเลี้ยงเหมือนอาหารธรรมชาติ เก็บได้นาน และอัตราการแลกเนื้อค่อนข้างแน่นอนทำให้ผู้เลี้ยงสามารถควบคุมผลผลิตได้ง่าย อาหารสำเร็จรูปผลิตจากวัตถุดิบอาหารหลายชนิดเพื่อให้ได้คุณค่าทางโภชนาการครบถ้วนตามความต้องการของกุ้ง นอกจากนั้นยังมีการเติมวิตามิน เกลือแร่ และสารอื่นๆ เพื่อปรับและหรือรักษาคุณภาพของอาหาร บางครั้งอาจมีการเติมยาปฏิชีวนะลงไปในอาหารเพื่อฆ่าเชื้อโรคต่าง ๆ ซึ่งในปัจจุบันมีผู้ผลิตจำหน่ายมากมายให้เลือกใช้ แต่ยาปฏิชีวนะนี้อาจมีผลต่อกุ้งคือ กุ้งชอบกินอาหารน้อยลงเพราะกลิ่นและรสชาติเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ยังมีราคาแพงและเพิ่มต้นทุนการเลี้ยงอีกด้วย

สารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ และนำไปสู่ความแข็งแรงที่จะเป็นเกราะป้องกันโรค ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เกลือแร่ และวิตามิน แต่ในการศึกษานี้สารอาหารที่น่าสนใจในการใช้เป็นสารอาหารเสริมของกุ้ง คือสารอาหารปริมาณน้อย (micronutrint) ได้แก่ วิตามินซี (Vitamin C) กรดไขมัน (Fatty acid, HUFAs) และคาร์โรทินอยด์ที่สำคัญ คือ แอสตาแซนทีน (Astaxanthin)

เนื่องจากกุ้งมีโครงร่างแข็งภายนอก เจริญเติบโตโดยการลอกคราบ มีสารสีเข้ามาเกี่ยวข้อง สารสีที่สำคัญคือ พวกคาร์โรทินอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) พบทั่วไปในธรรมชาติ สังเคราะห์ได้จากเนื้อเยื่อพืช แต่ไม่พบในอาหาร ในเนื้อเยื่อของสัตว์ต้องสร้างสีประเภทนี้โดยการเติมออกซิเจน ไฮโดรคาร์บอน จะได้คาร์โรทินอยด์ที่เรียกว่า บีตา-คาโรทีน (β-carotene)

บีตา-คาโรทีนหรือที่เรียกว่า "คาร์โรทีน (carotene)" ประกอบด้วยออกซิเจนในรูปของ hydroxyl, carboxyl รวมเรียกว่า "xanthophylls" คาร์โรทินอยด์ไม่ละลายในน้ำแต่ละลายในสารละลายไขมันในรูปของ chromoprotein พบคาร์โรทินอยด์ในครัสเตเชียหลายชนิด การแพร่กระจายตามธรรมชาติ คาร์โรทินอยด์ พบได้ทั่วไป โดยเฉพาะ แอสตาแซนทีน (3, 3'-dihydroxy-4, 4-dioxo-β-carotene) พบอย่างกว้างขวางในครัสเตเชียทั้งน้ำทะเลและน้ำจืด ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของคาร์โรทินอยด์ บีตา-คาโรทีน คาร์โรทินอยด์ที่แยกจากธรรมชาติมี 3 สี คือ brown ®,

olive gray (r^+) และ red (r) ตามที่กล่าวมาแล้วสารสำคัญคือ แอสตาแซนทีน ซึ่งพบในครัสเตเซีย 3 รูปแบบ คือ

1.1 Unesterified Astaxanthin

1.2 Esterified Astaxanthin

1.3 อยู่ร่วมกับโปรตีน (conjugated with protein) เรียก Chromoprotein

สองชนิดแรกไม่ละลายน้ำ แต่ chromoprotein ละลายในน้ำ unesterified อยู่ร่วมกับโปรตีน ส่วน esterified จะสะสมที่บริเวณ epidermis ในขณะที่ unesterified astaxanthin จะอยู่ร่วมกับ chromotophores แต่ส่วนประกอบของ astaxanthin protiein (carotenoprotein หรือ chromoprotein) จะอยู่ภายนอก chromatophores หรืออยู่รอบ ๆ เนื้อเยื่อของตัวเองถ้าแอสตาแซนทีน ทำปฏิกิริยากับ potassium butoxide ในที่ไม่มีอากาศจะกลายเป็นสีฟ้า เนื่องจากการรวมตัวกับ โปแตสเซียมและถ้าให้อากาศเข้ามาจะกลายเป็นสีแดง เนื่องจาก astacin (3, 3', 4, 4'-tetraoxo-β-carotene) astacin เป็นคาร์โรทินอยด์ ที่แยกได้จากครัสเตเซียและแอสตาแซนทีนอื่น ๆ ที่พบในสิ่งมีชีวิต โดยการใช้ KOH

สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์แอสตาแซนทีนได้เอง แม้ว่าครัสเตเซียสามารถสะสมแอสตาแซนทีนได้มากจากอาหาร สันนิษฐานว่าสัตว์สามารถ oxidize บีตา-คาโรทีน และวัตถุที่แยกมาจากตัวเดิม เช่น Zeaxanthin (3, 3' dihydroxy-β-carotene) ซึ่งพบในไดอะตอมและซากสัตว์ที่สลายแล้วในน้ำเค็ม แอสตาแซนทีนจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อขนาดของสัตว์ใหญ่ขึ้นนอกจากนี้ปริมาณแอสตาแซนทีนยังขึ้นอยู่กับนิสัยการกินอาหาร ถ้าเปลี่ยนจากกินพืชมาเป็นกินเนื้อจะมีการย่อยสลายอาหารควบคู่กับการขับแอสตาแซนทีน ทำให้ไม่สามารถจะวัดปริมาณได้ เพราะอาจมาจาก oxidation ของ บีตา-คาโรทีน และตัวที่ใกล้เคียง ปัญหาอาจเนื่องมาจาก 1) โครงสร้างที่จะเกาะสารสีระหว่าง บีตา-คาโรทีน หรือ zeaxanthin และแอสตาแซนทีน จะถูกแยกโดย enzyme 2) การกินอาหารที่มี บีตา-คาโรทีน จะสร้างแอสตาแซนทีน ขึ้นส่วนหนึ่ง (ประจวบ, 2537) ในโครงสร้างภายนอกและผิวชั้นบนของครัสเตเซียประมาณ 60 - 90 % ประกอบด้วยรงควัตถุ ที่สำคัญคือแอสตาแซนทีน เป็นตัวหลักให้สารสีแดงประกอบด้วย C40 dihydroxy-diketocarotenoid ในวงการอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีการใช้แอสตาแซนทีน เพิ่มมากขึ้นจุดประสงค์เพื่อเพิ่มอัตรารอด อัตราการเจริญเติบโต และพัฒนาระบบสืบพันธุ์ นอกจากเรื่องสีการศึกษาเมื่อไม่นานนี้ พบว่าแอสตาแซนทีน ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน (Latscha, 1989) ในสัตว์คาร์โรทินอยด์มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับสรีรวิทยาหลายประการ ดังแสดงในตารางที่ 1

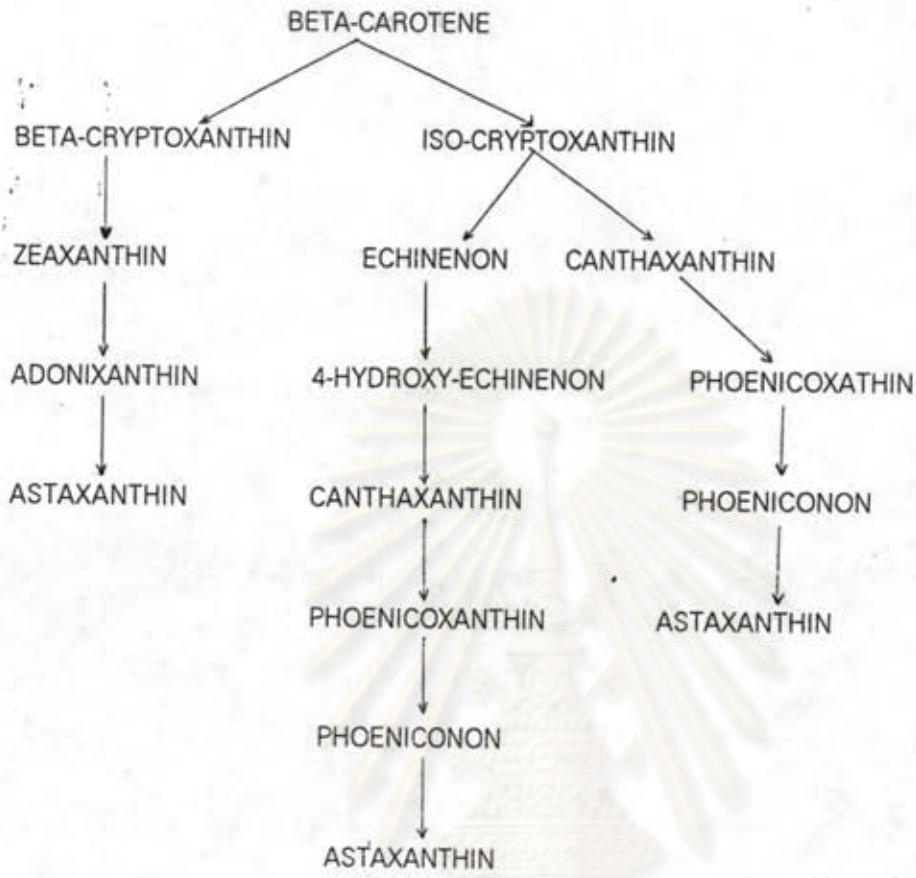
ตารางที่ 1 หน้าที่ของคาร์โรทีนอยด์ในสัตว์

หน้าที่ทางชีวภาพของคาร์โรทีนอยด์ในสัตว์	
การมองเห็นแสง	การขนส่งแคลเซียม
การลดคอลเรสเตอรอล	การทำงานของวิตามินซี
ช่วยในการทำงานของตับ	การใช้ออกซิเจนภายในเซลล์
เป็นตัวรับอิเลคตรอน	ป้องกันมะเร็ง
การเจริญเติบโต	ความคงตัวของโปรตีนและเมมเบรน
รักษาบาดแผล	เป็นตัวออกซิเดชั่นโปรตีน
ความคงตัวของไคติน	ระบบภูมิคุ้มกัน
การรับรังสี	การขนส่งรงควัตถุ
โครงร่างสมอง	ป้องกันเซลล์จากอุณหภูมิสูง
ระบบสืบพันธ์	ระบบต่อมไร้ท่อ
เอ็นไซม์ในการย่อย	ตัวรับสารเคมี
สมดุลย์น้ำ	การปรับสี

ที่มา: Latscha,1990b

จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้น กุ้งไม่สามารถสังเคราะห์คาร์โรทีนอยด์ได้เองแอสตาแซนทีนหรือสารตั้งต้นที่เหมาะสมจะต้องได้รับจากอาหาร แหล่งของรงควัตถุเหล่านี้ต้องมีการใช้อย่างจำกัดและมีประสิทธิภาพในขบวนการเมแทบอลิซึม เพื่อเป็นแอสตาแซนทีนดังแสดงในรูปที่ 1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1 การสังเคราะห์ ASTAXANTHIN จาก BETA-CAROTENE ผ่านสารตัวกลางต่าง ๆ

Tanaka และคณะ (1976) ศึกษาชีวสังเคราะห์ของแอสตาแซนทีน ในกุ้งคุรุม่า *Penaeus japonicus* โดยทำอาหาร 5 สูตร แต่ละสูตรเติมแหล่งแอสตาแซนทีนจากวัตถุดิบต่าง ๆ ได้แก่ อาหารสูตร 1 ซึ่งเป็นอาหารควบคุม (control) artificial diet อาหารสูตร 2 เติม 10% alfalfa อาหารสูตร 3 เติม 10% cron gluten อาหารสูตร 4 เติม 10% สาหร่าย Spirulina และอาหารสูตร 5 เติม 3% canthaxanthin ลงในอาหารควบคุม ใช้เลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 21 วัน ผลที่ได้ กุ้งสามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นใน 10% สาหร่าย Spirulina มาเป็นแอสตาแซนทีนได้ดีที่สุด บีตา-คาโรทีน และ Zeaxanthin 20 มิลลิกรัมต่อกรัมอาหารสามารถเปลี่ยนเป็นแอสตาแซนทีน ในกุ้งได้ 21.0 และ 55.0 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักกุ้ง

สัตว์สามารถสร้าง echinenone, canthaxanthin และ astaxanthin จาก บีตา-คาโรทีน ได้ เช่น ในปู *Portunus trituberculatus* บีตา-คาโรทีนจะถูกเปลี่ยนเป็น echinenone ผ่าน

isocryptoxanthin และ echinenone จะถูกเมแทบอไลซ์ เป็น astaxanthin ผ่าน 4-hydroxy-echinenone, canthaxanthin และ 3-hydroxy-canthaxanthin ในเซลล์ของอวัยวะต่างๆ (Katayama, et al., 1973) ในกุ้งมังกร *Panulirus japonicus* จะพบ canthaxanthin, 4-hydroxy-echinenone, 3-hydroxy-canthaxanthin และ astaxanthin ในเปลือกคลุมหัว ส่วนบีตา-คาโรทีน, β-zeacaratene, echinenone, isocryptoxanthin และ astaxanthin พบในอวัยวะภายใน ในกุ้งมังกรนี้กระบวนการเปลี่ยนบีตา-คาโรทีนเป็น astaxanthin เป็นดังนี้ β-caratene → isocryptoxanthin → echinenone → 4-hydroxy-echinenone → canthaxanthin → 3-hydroxy-canthaxanthin → astaxanthin ซึ่งเหมือนกับในปู *Portunus trituberculatus* (Katayama, et al., 1973) Goodwin (1951) ยืนยันว่า esterified astaxanthin เกิดขึ้นในผิวชั้นบนของกุ้งมังกรและ unesterified เกิดขึ้นในไข่ และไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณ astaxanthin ,ระหว่างกระบวนการการสร้างตัวอ่อน หรือทันทีหลังจากที่ฟักออกจากไข่ Matsuno และคณะ (1973) พบว่าในกุ้งมังกร (*Panulirus japonicus*) มีคาร์โรทินอยด์แพร่กระจายอยู่ในเปลือกคลุมหัว ไข่ ตับอ่อน โดยในเปลือกคลุมหัว และไข่มีแอสตาแซนทีนสะสมอยู่จำนวนมาก ในขณะที่ตับอ่อนมีบีตา-คาโรทีนเป็นตัวเด่น ระบวนการเมแทบอลิซึมที่ศึกษาพบเป็นดังนี้

1) β-carotene → echinenone → canthaxanthin → phoenicoxanthin → astaxanthin

2) zeaxanthin →4-keto-zeaxanthin → astaxanthin

กุ้งกุลาดำวัยรุ่น *Panaeus monodon* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเติมแอสตาแซนทีนและ canthaxanthin 25, 50, 75 และ 100 ส่วนในล้านส่วน และ 50, 100, 150, 200 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ และอาหารควบคุมที่ไม่เติมสารทั้งสองตัวนี้ พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเติมแอสตาแซนทีน 50, 75, และ 100 ส่วนในล้านส่วน และกุ้งที่รับอาหารเติม canthaxanthin 100, 150 และ 200 ส่วนในล้านส่วน จะมีสีเข้มขึ้น แต่แอสตาแซนทีน มีประสิทธิภาพในการเพิ่มความเข้มของสีดีกว่า canthaxanthin และอัตราการเจริญเติบโตที่ดีพบได้ในกลุ่มกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเติม แอสตาแซนทีนและ canthaxanthin ดังกล่าว ระดับคาร์โรทินอยด์ที่เหมาะสมในกุ้งเกี่ยวข้องโดยตรงกับระยะเวลาการเลี้ยงและปริมาณคาร์โรทินอยด์ที่ใส่ลงในอาหาร (Choosuwan, 1991) เมื่อเลี้ยงกุ้งคุรุม่า *Penaeus japonicus* ด้วยอาหารควบคุม อาหารเติมแอสตาแซนทีน อาหารเติมบีตา-คาโรทีน และอาหารเติม canthaxanthin เป็นเวลา 8 สัปดาห์ กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเติมแอสตาแซนทีนจะมีแอสตาแซนทีนสะสมในเนื้อมากกว่าสูตรอาหารที่เติมคาร์โรทินอยด์ชนิดอื่น จะพบแอสตา

แซนทีนในรูปอิสระเหมือน ๆ กันทั้งในกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 4 สูตรและยังมี astaxanthin estersสะสมในเนื้อด้วยและแอสตาแซนทีนมีประสิทธิภาพดีกว่าบีตา-คาโรทีนและ canthaxanthin ในการเพิ่มสารสี เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่เติมแอสตาแซนทีน 5 ระดับคือ 0, 50, 100, 200 และ 400 ส่วนในล้านส่วน ผลที่ได้หลังเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์คือแอสตาแซนทีนในเนื้อกุ้งที่ให้แอสตาแซนทีน 200 ส่วนในล้านส่วนเพิ่มมากขึ้นมากกว่าที่ระดับ 0, 50, 100 และในระดับ 400 จะพบว่าให้ผลเหมือนกัน (Yamada et al,1990)

นอกจากแอสตาแซนทีนแล้ว วิตามินซีก็เป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับสัตว์น้ำ แต่ปลาและครัสเตเซียไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินซี จาก glucose เนื่องจากสัตว์เหล่านี้ขาดเอนไซม์ L-gulonolactone oxidase ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยน glucose ไปเป็นวิตามินซี (Yamamoto et al, 1977) ปริมาณวิตามินซีที่ลูกกุ้งต้องการ คือ ประมาณ 300 - 1000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม (Kanazawa, 1984) วิตามินซีมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการดำรงชีวิตที่สำคัญหลายกระบวนการดังแสดงในตารางที่ 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 หน้าที่และอาการขาดวิตามินซีในสัตว์น้ำ

หน้าที่	อาการเมื่อขาดวิตามินซี
การสร้างคอลลาเจน	หลังแอ่น กระดูกคด
การเจริญเติบโต	การเจริญเติบโตลดลง
ความต้านทานโรค	ความต้านทานโรคลดลง
ความทนต่อภาวะเครียด	ความทนภาวะเครียดลดลง
รักษาบาดแผล	การรักษาบาดแผลช้าลง
การสังเคราะห์ฮอร์โมนลดลง	การลอกคราบช้าลง
ป้องกันออกซิเดชั่น	อัตราการฟักลดลง
เมตาบอลิซึมของไขมัน	อัตราการรอดของตัวอ่อนลดลง
การเปลี่ยนทริปโตรเฟน	เกิดโรคเสี้ยนดำ
เสริมการทำงานของวิตามิน	มีอัตราการตายสูง
การดูดซึมแคลเซียม	การดูดซึมแคลเซียมลดลง
ระบบสืบพันธุ์	ความดกไข่ลดลง

ที่มา Latscha, 1992

อาหารในธรรมชาติจะมีธาตุอาหารอยู่ครบถ้วน เมื่อนำสัตว์เหล่านี้มาเลี้ยงในบ่อเลี้ยงและเลี้ยงด้วยอาหารผสม การเติมธาตุอาหารลงไปในอาหารจึงมีความจำเป็นเพราะว่าอาหารที่นำมาเลี้ยงมักจะขาดวิตามินซี เนื่องจากวิตามินซีมีความคงตัวต่ำสามารถถูกทำลายได้ง่ายโดยความร้อน แสงแดด และออกซิเจนในอากาศ (Latscha, 1992) และมีการสูญเสียในกระบวนการผลิตมากที่สุด ในบางกรณีจึงใช้วิตามินซีเป็นดัชนีแสดงคุณภาพอาหารที่ผ่านกระบวนการผลิตและแปรรูป (Bender, 1978) ปฏิกิริยาการสลายตัวของวิตามินซีจะเป็นแบบ first order reaction โดยขั้นแรก ascorbic acid จะถูก oxidise เป็น dehydroascorbic acid ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการเช่นเดียวกับ ascorbic acid ปฏิกิริยาขั้นนี้เป็นปฏิกิริยาผันกลับได้ จากนั้น dehydroascorbic acid ซึ่งไวต่อความร้อนจะสลายตัวไปได้ง่ายเป็น diketogulonic acid ที่ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการ ในกระบวนการผลิตอาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งวัยอ่อนมีขั้นตอนสำคัญที่เกิด

การสูญเสียวิตามินซีในปริมาณมาก 2 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้นตอนให้ความร้อนและขั้นตอนการทำแห้ง (Desrosier, 1970) จึงควรเติมวิตามินซีลงไปในอาหารมากเกินพอหรือการใช้วิตามินซีในรูปที่เสถียรภาพสูง เช่น ในรูป polyphosphate, mono-phosphate หรือ L-ascorbyl-2-triphosphate เป็นต้น

ระดับของวิตามินซีที่สัตว์น้ำต้องการขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิด สายพันธุ์ อายุ สุขภาพ ที่อยู่อาศัย (ได้แก่ ลักษณะของบ่อ ความหนาแน่น คุณลักษณะของดินและน้ำ) ปัจจัยสารอาหาร (เช่น คุณภาพและคุณลักษณะของอาหาร ปริมาณ ชนิด และวิธีการให้อาหาร) และปัจจัยเสริมอื่นๆ (เช่น มลภาวะ ความเครียด และการใช้ยาปฏิชีวนะ) ระดับวิตามินซีที่พอเพียงสำหรับความต้องการของกุ้งคือ 500 ส่วนในล้านส่วน (Latscha, 1992) ในการต้านทานโรคควรเติมวิตามินลงไปในอัตราส่วน 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (2,000 ส่วนในล้านส่วน) เพื่อเสริมสร้างความแข็งแกร่งให้กับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและคอลลาเจน ซึ่งมีหน้าที่ป้องกันร่างกายกุ้งจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมอื่น ๆ (สิทธิ, 2535)

กุ้ง *Penaeus vannamei* มีอัตราการอดสูงสุดถึง 94 % เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเติม ascorbate-2-polyphosphate 500 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเติม L-ascorbic acid 500 ส่วนในล้านส่วนและอาหารไม่เติมวิตามินซีที่มีอัตราการรอด 74 - 77% (Gabaudan, 1992) ระดับที่เหมาะสมของ L-ascorbyl-2-sulfate (C_2) และ L-ascorbyl-2-monophosphate (C_3-M) ในอาหารคือ 156.97 และ 40.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ตามลำดับ ระดับ L-ascorbic acid (C_1) 2,000มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตที่ดีในกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* แต่อาหารที่ผ่านกระบวนการผลิตและการเก็บ จะมี C_1 คงตัวอยู่ในอาหารน้อย ปริมาณวิตามินซีที่สูญเสียไปประมาณ 67 - 75 % ในขณะที่ C_2 และC_3-M จะเสียไป 21 - 24% (Shiau และ Hsu,1994) ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารเติม L-ascorbic acid-2-phosphate Magnesium (APM) 30, 60 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และอาหารปกติไม่เติมวิตามินซี 3 เดือน พบอัตราการรอดสูงที่สุดในกลุ่ม APM 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และน้ำหนักเพิ่มดีในกลุ่มAPM 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (Machigashira et al, 1991) Menasveta และคณะ (in press) ศึกษาประสิทธิภาพการย่อย L-ascorbyl-2-polyphosphate (AAPP) ในกุ้งกุลาดำ ด้วยอาหาร 3 สูตรคือ อาหารควบคุมไม่เติมวิตามินซี อาหารสูตร 2 เติม AAPP 500 ส่วนในล้านส่วน และอาหารสูตร 3 เติม ascorbic acid coated 500 ส่วนในล้านส่วน

เก็บของเสียของกุ้งมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีไม่พบว่ามีปริมาณวิตามินซีแตกต่างกันและมีปริมาณไม่เกิน 0.01 % ในขณะที่ปริมาณวิตามินซีในตับอ่อนและตัวกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร 1 เป็น 3 และ 8 ส่วนในล้านส่วน อาหารสูตร2 มีวิตามินซี 32 และ 24 ส่วนในล้านส่วน และอาหารสูตร3 มีวิตามินซี 22 และ 7 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับจะเห็นได้ว่ากุ้งกุลาดำสามารถดูดซึมวิตามินซีจาก AAPP มาใช้ได้ดี

ในลูกปลาเทร้า *Oncorhynchus mykiss* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเติม L-ascorbyl polyphosphate ที่ให้ L-ascorbic acid 20 ส่วนในล้านส่วน จะมีอัตราการเจริญเติบโตดี แต่ที่ 320 ส่วนในล้านส่วน จะช่วยเพิ่มอัตราการรอดของลูกปลาที่ได้รับเชื้อ Infectious Hematopoietic Necrosis (IHN) Virus เพราะ ascorbic acid ช่วยชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันในลูกปลาต่อเชื้อไวรัส IHN กลไกที่วิตามินซีช่วยชักนำระบบต้านทานโรคในลูกปลานั้นไม่ได้เกิดในช่วงแรกของการสร้าง antibody ดังนั้นจึงไม่พบความแตกต่างของ antibody ในลูกปลาที่ทำการทดลองนี้ (Anggawati-Satyabudhy et al., 1989)

ในปลาและครัสเตเซียต้องการพลังงานต่ำกว่าสัตว์เลือดอุ่น สัตว์เหล่านี้ต้องการกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงพวก n-3 และสเตอรอยด์เพื่อเพิ่มความสามารถในการดูดซับแร่ธาตุบางตัวที่ละลายอยู่ในน้ำ ปริมาณไขมันในอาหารกุ้งกุลาดำ อยู่ในช่วง 3 - 8% กรดไขมันที่จำเป็นสำหรับกุ้งคือ linoleic acid (18:2n6) linolenic acid (18:3n3) eicosapantaenoic (20:5n-3) และ docosahexaenoic acid (22:6n-3) ซึ่งปริมาณรวมของ 18:2n6 และ 18:3n3 ที่กุ้งต้องการอยู่ในช่วงกว้างตั้งแต่ 16.5 - 43 % ของไขมันทั้งหมด ส่วน 20:5n3และ 22:6n3 อยู่ในช่วง 4.5 - 11.3 % (Deshimaru et al.,1985) ในรังไข่ ตับ และ กล้ามเนื้อ ของกุ้งคุรุม่า เป็นอวัยวะที่มีไขมันสะสมอยู่โดยเฉพาะรังไข่และตับ เป็นอวัยวะที่สำคัญในการเก็บสะสมไขมันในรูป triglycerides ในขณะที่กล้ามเนื้อสะสมไขมันในรูปคลอเรสเตอรอลและ phospholipidsองค์ประกอบกรดไขมันในกุ้งจะเหมือนสัตว์ทะเลอื่น ๆ คือมี palmitic acid และ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงพวก n-3 เป็นตัวหลักทั้งในตัวผู้และตัวเมีย โดยรังไข่จะมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวพวก mono- สูง (Guary et al, 1974) ในกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำที่จับได้จากธรรมชาติและฟาร์มจะมีระดับไขมันสะสมใกล้เคียงกัน คือ 4.35% และ 4.66% ตามลำดับ ในขณะที่ไขมันในตับของกุ้งจากฟาร์มจะมีค่าสูงกว่าคือ กุ้งฟาร์ม 9.36% และกุ้งธรรมชาติ 7.07% ส่วนไขมันในกล้ามเนื้อของกุ้งธรรมชาติจะเป็น phospholipid 70.

triglyceride 2.9 % และ cholesterol 19.84 % ในตับมี triglyceride 9.18% และ phospholipid 56.7% ขณะที่ในกล้ามเนื้อกุ้งฟาร์มมี phospholipid 57.0% triglyceride 8.46% และ cholesterol 24.17% ส่วนในตับมี phospholipid 39.23% และ triglyceride 25..93% อาหารที่เลี้ยงกุ้งฟาร์มมีกรดไขมันจำเป็นที่กุ้งต้องการไม่เพียงพอจึงต้องมีการเติมแหล่งของกรดไขมันในรูปแบบต่าง ๆ กันไป (O'Leary และ Matthews, 1990) เมื่อเลี้ยงกุ้งคุรุม่า ด้วยอาหารเติม oleic acid พบว่าให้อัตราการเจริญช้ามาก และเมื่อเติม linoleic acid (18:2n6) และ linolenic acid (18:3n3) ลงไปการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และรวดเร็วหลังจากให้อาหารควบคุมที่ไม่เติมแหล่งของน้ำมันเป็นเวลา 30 วันแล้วเลี้ยงต่อด้วยอาหารเติม 18:2n6 และ 18:3n3 เห็นได้ว่า 18:2n6 และ 18:3n3 จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง ในด้านคุณค่าทางอาหารสำหรับกุ้งนั้น 18:3n3 มีสูงกว่า 18:2n6 เปรียบเทียบการเลี้ยงกุ้งคุรุม่า ด้วยอาหารเติมน้ำมันสัตว์คือ pollack oil น้ำมันพืช น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil) และหอยสด short neck clam ผลที่ได้คือ น้ำมันถั่วเหลืองให้คุณค่าทางอาหารต่ำกว่าทุกสูตรอาหารและให้กรดไม่อิ่มตัวจำนวนน้อย โดยเฉพาะ20:5n3 และ 22:6 n3 ส่วน pollack oil และ short neck clam ให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวn-3ที่มีประสิทธิภาพจำนวนมาก กล่าวได้ว่าในกุ้งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง 20:5n3 และ 22:6n3 เป็นกรดไขมันที่จำเป็นมากกว่า 18:2 n6 และ 18:3n3 (Kanazawa, et al., 1977)

Rees และคณะ (1994) ทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำ(PL5-PL10)ด้วย *Artemia* ที่เลี้ยงด้วย baker's yeast ผง 100 ส่วนในล้านส่วนผสมกับน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Highly Unsaturated Fatty Acids,HUFA) 5 ความเข้มข้นคือ 0, 100, 200, 300 และ 400 ส่วนในล้านส่วน เพื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตและทดสอบความต้านทานต่อความเครียดที่ระดับความเค็ม 0, 5, 10 ส่วนในพันส่วน ผลที่ได้คือ การเจริญเติบโตไม่ต่างกันในแต่ละกลุ่มทดลอง และอัตรารอดในกลุ่มที่ให้อาหารที่มีน้ำมันเข้มข้น 200 และ 300 ส่วนในล้านส่วน จะดีกว่ากลุ่มควบคุมแต่กลุ่ม 400 ให้ผลไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันที่ได้รับผ่านจาก *Artemia* ไม่ช่วยในการเจริญเติบโต และน้ำมันที่มากเกินไปก็ไม่ให้ประโยชน์ ผลการทดสอบความเครียดที่ระดับความเค็มเท่ากับ 0 ส่วนในพันส่วนให้ผลแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดในกลุ่มควบคุมและกลุ่ม 200 ขึ้นไป Guary และคณะ(1976) ศึกษาผลของอาหารที่ไม่เติมน้ำมันและอาหารที่เติมน้ำมัน tripalmitin, soybean, linseed, sardine และ clam oil ต่อการลอกคราบ การเจริญเติบโต และองค์ประกอบกรดไขมันในกุ้งคุรุม่า ซึ่งน้ำมันที่มีกรดไขมัน กลุ่ม linolenic

เช่น 18:3n3, 20:5n3 และ 22:6n3 ให้ผลการลอกคราบและการเจริญเติบโตที่ดี และเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบกรดไขมันของไขมันในกุ้ง พบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุมมีกรดไขมัน 16:0, 16:1 และ 18:1 มากที่สุดแสดงให้เห็นว่ากุ้งสามารถสังเคราะห์กรดไขมันเหล่านี้ได้ ในกุ้งที่ให้อาหารเติมน้ำมันถั่วเหลือง จะมี linoleic acid(18:2n6) เพิ่มขึ้นมากกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ในกลุ่มกุ้งที่ให้อาหารเติม inseed oil มีอัตราการลอกคราบและอัตราการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่เติมน้ำมันถั่วเหลือง และมี 18:3n3 มาก ส่วนกลุ่มกุ้งที่ได้อาหารเติม tripalmitin มี 16:1n7 มาก ในขณะที่กลุ่มกุ้งที่ให้อาหารเติม 4% sardine oil และ 4% clam oil ที่มี n-3 HUFA สูง ให้ผลการลอกคราบและการเจริญเติบโตดีที่สุดและมีระดับของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง

Erdal และคณะ (1991) เลี้ยงปลาแซลมอน (*Salmo salar*) ด้วยอาหารทดลอง 6 สูตร ที่เติมวิตามินซี 1(อาหารสูตร 2) และ วิตามินซี 2 (อาหารสูตร 3) ในอาหารสูตรปกติ(อาหารสูตร 1ที่เติม menhaden oil) และเติม 50% capelin oil ลงในอาหารสูตร 4 และ5 อาหารสูตร 6 เติม refined fish oil เป็นเวลา 72 วัน หลังจากเลี้ยงไปเป็นเวลา 28 วัน ก็จะให้วัคซีนจากเชื้อ *Yersinia ruckeri* เลี้ยงต่ออีก 44 วัน ปลาอีกกลุ่มหนึ่งหลังจากเลี้ยงอาหารทั้ง 6 สูตรได้ 52 วันจะให้เชื้อ *Vibrio salmonicida* เลี้ยงต่อไป 21 วัน พบว่า อาหารสูตร 3 จะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยมีการเพิ่มจำนวน antibody และมีอัตราการรอดสูงกว่ากลุ่มอื่น แต่วิตามินซีในอาหารสูตร 2 (ปริมาณวิตามินซี 2980 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร) และ 3 (ปริมาณวิตามินซี 4770 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร) ไม่มีผลต่อความแข็งแรงของผนังเซลล์ ส่วนกรดไขมันจำพวก n-3 ในอาหารชักนำให้เพิ่มความแข็งแรงของผนังเซลล์ และกรดไขมันมีผลในการต้านระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้อัตราการรอดชีวิตของปลาค่อนข้างต่ำอย่างมีนัยสำคัญ และระดับของ antibody ต่ำลงหลังจากฉีดวัคซีน

จะเห็นได้ว่าทั้ง แอสตาแซนทีน วิตามินซี และกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงจากน้ำมันปลา มีความสำคัญต่อระบบต่าง ๆ ในร่างกายสัตว์ แม้ไม่ต้องการเป็นจำนวนมากแต่ก็จำเป็นต่อการดำรงชีวิต และในการศึกษาครั้งนี้เราจะศึกษา ผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน เพราะสารอาหารปริมาณน้อยทั้ง 3 ชนิดนี้ สามารถหาซื้อได้ง่าย ผลิตสำเร็จรูป และมีการใช้เติมในอาหารสัตว์อยู่บ้างเพื่อผลทางด้านการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของสัตว์ แต่ในการทดลองนี้เพื่อศึกษาความสามารถของสารอาหารปริมาณน้อยทั้ง 3 ชนิดนี้ในการเพิ่มความต้านทานโรคหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำวัยรุ่น