



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การประมง

ชีววิทยาประมง

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ปัจจัยคุณภาพน้ำต่อพฤติกรรมการกินอาหารและภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไม
(*Litopenaeus vannamei*)

Water Qualities on Feeding Behavior and Immune Responses of Pacific White Shrimp
(*Litopenaeus vannamei*)

นามผู้วิจัย นางสาวธารทิพย์ นภาอำไพพร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิติ ชูเชิด, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์วราห์ เทพาคูดี, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์อนงค์ จีระภัทร์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สืบสืงจิ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ปัจจัยคุณภาพน้ำต่อพฤติกรรมการกินอาหารและภูมิคุ้มกันของ
กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

Water Qualities on Feeding Behavior and Immune Responses of
Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

โดย

นางสาวธารทิพย์ นภาอำไพพร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

รศ.ทพญ. นภาอำไพพร 2557: ปัจจัยคุณภาพน้ำต่อพฤติกรรมการกินอาหารและภูมิคุ้มกันของ
กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ปรินญาปรัชญาคุณฐิบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)
สาขาวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาชีววิทยาประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิติ ชูเชิด, Ph.D. 116 หน้า

การศึกษาปัจจัยคุณภาพน้ำที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการและในบ่อเลี้ยง การศึกษาการกินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งในห้องปฏิบัติการโดยเลี้ยงกุ้งอย่างละ 15 ตัว (6-8 กรัม) ในตู้กระจกปริมาตร 100 ลิตร (ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน) แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ในการทดลองที่หนึ่ง ผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อพฤติกรรมการกินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของกุ้ง โดยเลี้ยงกุ้งที่อุณหภูมิ 29 ± 1 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วค่อยๆปรับเป็น 24 ± 1 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วค่อยๆปรับเพิ่มอุณหภูมิจนเป็น 29 ± 1 °C ในขณะที่กุ้งในชุดควบคุมจะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 29 ± 1 °C พบว่า กุ้งในชุดการทดลองจะมีพฤติกรรมการกินอาหารที่ช้ากว่ากุ้งในชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม กิจกรรมกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดกุ้งและกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียในน้ำเลือด กุ้งในชุดการทดลองมีค่าต่ำกว่ากุ้งในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่ออุณหภูมิลดลงเป็น 24 ± 1 °C การทดลองที่สอง ควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่ 3 ระดับ (สูงกว่า 4, อยู่ระหว่าง 2-4 และต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่อุณหภูมิปกติ (29 ± 1 °C) พบว่า พฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งในชุดการทดลองที่ออกซิเจนต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดการทดลองที่ 3) กุ้งจะกินอาหารไม่หมด มีปริมาณอาหารเหลือที่ 14.36 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกุ้งในชุดการทดลองที่ออกซิเจนละลายน้ำอยู่ระหว่าง 2-4 (ชุดการทดลองที่ 2) และสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร (ชุดการทดลองที่ 1) การศึกษาการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน พบว่า ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม กระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดกุ้งของกุ้งในชุดการทดลองที่ 3 มีค่าต่ำกว่าชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) การทดลองที่สาม ควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่ 3 ระดับเช่นเดียวกับการทดลองที่สองร่วมกับอุณหภูมิน้ำต่ำ (24 ± 1 °C) พบว่า กุ้งในชุดการทดลองที่ 3 จะมีปริมาณอาหารเหลือสูงที่สุด คือ 74.07 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกุ้งในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 การศึกษาต่อระบบภูมิคุ้มกัน พบว่า ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม กระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดกุ้งของกุ้งในชุดการทดลองที่ 3 มีค่าต่ำกว่ากุ้งในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทุกชุดการทดลองเมื่ออยู่ที่อุณหภูมิ 24 ± 1 °C และการศึกษาประสิทธิภาพการให้อาหารกุ้งขาวแวนนาไมในบ่อเลี้ยง แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง คือ การให้อาหารโดยใช้แรงคนหว่านอาหาร (ชุดการทดลองที่ 1) ใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา (ชุดการทดลองที่ 2) และแบบอัตโนมัติที่ควบคุมการให้อาหารโดยตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง (ชุดการทดลองที่ 3) ชุดการทดลองละ 3 บ่อ แต่ละบ่อมีขนาด 6 ไร่ ใช้กุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาาร์ว 12 เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่น 120,000 ตัวต่อไร่ เลี้ยงนาน 90 วัน พบว่า กุ้งในชุดการทดลองที่ 1 มีอัตราแลกเนื้อสูงที่สุด คือ 1.55 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกุ้งในชุดการทดลองที่ 2 คือ 1.47 และแตกต่างกับกุ้งในชุดการทดลองที่ 3 คือ 1.30 ส่วนอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.18, 0.21 และ 0.24 กรัมต่อวัน ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กุ้งในชุดการทดลองที่ 1 มีน้ำหนักเฉลี่ย 15.12 กรัม น้อยกว่ากุ้งในชุดการทดลองที่ 2 (16.94 กรัม) และชุดการทดลองที่ 3 (21.52 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ผลผลิตทั้งหมด กุ้งในชุดการทดลองที่ 3 (2,407.44 กิโลกรัมต่อไร่) มากกว่ากุ้งในชุดการทดลองที่ 2 (1,739.30 กิโลกรัมต่อไร่) และชุดการทดลองที่ 1 (1,672.00 กิโลกรัมต่อไร่) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยคุณภาพน้ำอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Tanthip Napaumpaiporn 2014: Water Qualities on Feeding Behavior and Immune Responses of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Doctor of Philosophy (Fisheries Science),
Major Field: Fisheries Science, Department of Fishery Biology. Thesis Advisor:
Assistant Professor Niti Chuchird, Ph.D. 116 pages.

The aim of this study was to find the effect of water qualities on feeding behavior and immune responses of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Two sets of experiments were performed, both in laboratory and in grow-out ponds. For laboratory trial, 15 shrimp (6-8 g) were reared in 100-liter aquaria (salinity 25 parts per thousand). Three experiments were studied, the first experiment, the effects of water temperature on feeding behavior and immune responses of shrimp were investigated. Juvenile shrimp were kept continuously at $29\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 24h and slowly switched to $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 24h before slowly switched to $29\pm 1^{\circ}\text{C}$ while control group shrimp were constantly maintained at $29\pm 1^{\circ}\text{C}$. Results showed that temperature had an effect on feeding behavior of shrimp. Shrimp raised in low temperature ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$) had significant slower ($P<0.05$) feeding rate than the control group ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$). The immune parameters including total hemocyte count, percentage phagocytosis and bactericidal activity from treatment group were significantly lower ($P<0.05$) than the control group. In the second experiment, the effects of dissolved oxygen (DO) on feeding behavior and immune responses of shrimp were studied. Juvenile shrimp were kept at three DO levels (above 4, 2-4 and less than 2 mg/l) at normal temperature ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$). Shrimp with DO less than 2mg/l had the highest leftover feed at 14.36% which was significantly higher ($P<0.05$) than the group that was in DO 2-4 and above 4 mg/l. The immune parameters including total hemocyte count and percentage phagocytosis were significantly lower ($P<0.05$) in the group that was in DO less than 2 mg/l. The third experiment was carried out at three DO levels (above 4, 2-4 and less than 2 mg/l) and temperature was maintained at $24\pm 1^{\circ}\text{C}$. Shrimp raised in DO less than 2 mg/l had the highest leftover feed at 74.07% with significant difference ($P<0.05$) from other treatments. The immune parameters including total hemocyte count and percentage phagocytosis were significantly lower ($P<0.05$) in the treatment with DO less than 2mg/l. For farm trial, three different shrimp feeding techniques were studied at shrimp farm in Tha-Chang district, Surat Thani province. The experiment had 3 treatments employing the 3 feeding techniques including manual feeding (technique 1), automatic feeding with time setting (technique 2), and automatic feeding with sound detection (technique 3). Stocking density was 75 post-larvae (PL)/ m^2 and culture period was 90 days. Results showed that the average daily growth (ADG) from techniques 2 and 3 were 0.21 and 0.24 g/day, respectively, which were higher than that obtained from technique 1 (0.18 g/day). The feed conversion ratio (FCR) from techniques 1 to 3 were 1.55, 1.47 and 1.30, respectively. The best mean body weight was found in shrimp fed by technique 3 at 21.52g while the poorest weight was 15.12g found in shrimp fed by technique 1. No significant differences in survival rates were found in all treatments. The yield from techniques 1 to 3 were 1,672.00, 1,739.30 and 2,407.44 kg/rai, respectively. Water quality parameters in the experimental ponds were within the suitable ranges for shrimp culture.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิติ ชูเชิด อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์ ดร. วราห์ เทพาหุดี และ รองศาสตราจารย์ ดร.ชลอ ลิ้มสุวรรณ
ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการให้คำปรึกษาแนะนำในด้านการทดลองและการตรวจแก้ไขข้อมูลต่างๆ
ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้าน จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณบริษัท ไบเออร์ ประเทศไทย จำกัด ที่ให้ทุนสนับสนุนในการศึกษาวิจัยครั้งนี้
ขอขอบพระคุณ ฟาร์มเลี้ยงกิ้งเอกชน ทวีฟาร์ม จังหวัดสุราษฎร์ธานี ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการเก็บ
ข้อมูล และให้คำแนะนำต่าง ๆ ในด้านการเลี้ยงกิ้ง

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เรืองวิษณุ ยืนพันธ์ ประธานการสอบวิทยานิพนธ์
และ รองศาสตราจารย์ ดร. สมชาย หวังวิบูลย์กิจ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

ขอขอบคุณพี่ๆและเพื่อนๆ ทุกคน ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ในการศึกษาวิจัย
ครั้งนี้

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องที่ได้ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการ
ทำงานจนสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

ธารทิพย์ นภาอำไพพร
กุมภาพันธ์ 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	27
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	45
สรุปและข้อเสนอแนะ	90
สรุป	90
ข้อเสนอแนะ	91
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	92
ภาคผนวก	112
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	116

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลผลิตและอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงภายในระยะเวลา 120 วัน	6
2	ความต้องการสารอาหารชนิดต่าง ๆ ของกุ้งขาวแวนนาไม	9
3	แสดงพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	47
4	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	52
5	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	54
6	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมที่สามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harveyi</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	56
7	แสดงพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ ($29 \pm 1^{\circ}\text{C}$)	59
8	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29 \pm 1^{\circ}\text{C}$)	65
9	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29 \pm 1^{\circ}\text{C}$)	66
10	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมสามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harveyi</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29 \pm 1^{\circ}\text{C}$)	68
11	แสดงพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^{\circ}\text{C}$)	71

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
12	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	75
13	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	77
14	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมสามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harveyi</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	79
15	คุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเปรียบเทียบระหว่างการให้อาหารแบบใช้แรงคน การใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และการให้อาหารอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง	84
16	ผลผลิตในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเปรียบเทียบระหว่างการให้อาหารแบบใช้แรงคน การใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลาและการให้อาหารอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง	86
17	ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำกับปริมาณอาหารที่ให้อาหารต่อวัน	88

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วงจรชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไม (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	5
2	การทำงานของสารโปรตีนพอก peroxinectin	22
3	เครื่องให้อาหารปลาด้วยระบบการใช้เสียง (SF-500)	26
4	แผนผังฟาร์มทดลอง	29
5	hydrophone วางอยู่ระหว่างเครื่องให้อาหารทั้ง 2 เครื่อง	29
6	เครื่องให้อาหารกุ้งด้วยระบบการใช้เสียง (SF-200r)	30
7	แสดงตำแหน่งการวางเครื่องให้อาหาร	32
8	Hemacytometer นับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดกุ้ง	38
9	กระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม	40
10	พฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เข้าหาอาหารและกินอาหารอย่างรวดเร็ว	46
11	พฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมส่วนใหญ่ที่อุณหภูมิค่อนข้างต่ำจะกินอาหารช้า	46
12	แสดงเวลาที่อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	48
13	แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปครั้งแรกในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	48
14	แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปเต็มลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	49
15	แสดงเวลาที่เริ่มมีการขับถ่ายของเสียของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	49
16	แสดงเวลาที่กุ้งขาวแวนนาไมกินอาหารหมดในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	50
17	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	53

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ	55
19	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมที่สามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harvey</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในวันที่ 1 (เริ่มต้น)	56
20	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมที่สามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harvey</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในวันที่ 2	57
21	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมที่สามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harvey</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในวันที่ 3	57
22	แสดงเวลาที่อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ	60
23	แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปครึ่งลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ	60
24	แสดงเวลาที่อาหารเต็มลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ	61
25	แสดงเวลาที่เริ่มมีการขับถ่ายของเสียของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ	61
26	แสดงเวลาที่กุ้งขาวแวนนาไมกินอาหารหมด ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ	62
27	แสดงเปอร์เซ็นต์ที่กุ้งขาวแวนนาไมกินอาหารเหลือหลังจากให้ไป 2 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ	62
28	พฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมส่วนใหญ่อยู่บริเวณพื้นตู้ทดลอง มีการเคลื่อนไหวน้อยและกินอาหารช้ากว่ากลุ่มที่มีปริมาณออกซิเจนสูง	63

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
29	พฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนสูงกว่า 4 และอยู่ระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งจะเข้าหาอาหารและกินอาหารอย่างรวดเร็ว	63
30	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$)	65
31	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$)	67
32	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไม (ก่อนการทดลอง) สามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harveyi</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$)	69
33	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไม (หลังการทดลอง) สามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harveyi</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$)	69
34	แสดงเวลาที่อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	72
35	แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปครึ่งลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	72
36	แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปเต็มลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	73
37	แสดงเวลาที่เริ่มมีการขับถ่ายของเสียของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	73
38	แสดงเปอร์เซ็นต์ที่กุ้งขาวแวนนาไมกินอาหารเหลือหลังจากให้ไป 2 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	74

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
39	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	76
40	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	78
41	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไม (ก่อนการทดลอง) สามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harveyi</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	80
42	ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไม (หลังการทดลอง) สามารถลดปริมาณเชื้อ <i>V. harveyi</i> ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$)	80

**ปัจจัยคุณภาพน้ำต่อพฤติกรรมการกินอาหารและภูมิคุ้มกัน
ของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)**

**Water Qualities on Feeding Behavior and Immune Responses of
Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)**

คำนำ

ในปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งทะเลเกือบทั้งหมดจะเป็นกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ซึ่งทำรายได้ให้แก่ประเทศปีละหลายหมื่นล้านบาท เนื่องจากกุ้งชนิดนี้เลี้ยงง่ายกว่ากุ้งกุลาดำ มีการเจริญเติบโตเร็วและสามารถเลี้ยงได้ในอัตราความหนาแน่นสูงเนื่องจากพ่อแม่พันธุ์ได้รับการพัฒนาสายพันธุ์มาเป็นเวลานาน (ชลอ และ พรเลิศ, 2547) ในช่วงแรกของการเลี้ยงกุ้งชนิดนี้มีการให้อาหารและการควบคุมปริมาณอาหารเช่นเดียวกับกุ้งกุลาดำ คือ ใช้คนเดินหว่านอาหารขอบบ่อในกรณีที่มีขนาดเล็ก และพายเรือหว่านอาหารเมื่อบ่อมีขนาดใหญ่ มีการควบคุมการให้อาหารอย่างมีประสิทธิภาพด้วยการใส่อาหารในชามที่วางอยู่รอบบ่อโดยทั่วไปมี 4 ชามต่อบ่อ และตรวจสอบอาหารที่เหลือในชาม เพื่อปรับปริมาณการให้อาหารซึ่งปริมาณอาหารในชามและระยะเวลาในการตรวจสอบจะขึ้นกับน้ำหนักตัวของกุ้งในบ่อ วิธีการที่กล่าวมาแล้วทั้งหมดนี้ มีการปรับปรุงพัฒนามาโดยตลอดเพื่อให้สามารถประเมินผลผลิตในการเลี้ยงได้อย่างแม่นยำ (ชลอ และคณะ, 2554) จากวิธีการดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การจัดการเรื่องการให้อาหารกุ้งเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากอาหารกุ้งเป็นต้นทุนส่วนใหญ่ของการเลี้ยงกุ้ง (Nunes *et al.*, 2006) ปัจจุบันการให้อาหารกุ้งมีการใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมเข้ามาทดแทนแรงงานคนที่น่าวันจะยิ่งหายากตามประเทศที่มีการพัฒนาไปสู่ภาคอุตสาหกรรม โดยการใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมซึ่งมีการพัฒนาทั้งในเรื่องการทำงานของตัวเครื่องและวิธีการปฏิบัติที่ให้ผลดีขึ้นเรื่อย ๆ จนปัจจุบันฟาร์มขนาดกลางและขนาดใหญ่หลายฟาร์มใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแทนคนหว่านอาหารซึ่งให้ผลดีคือ กุ้งมีการเจริญเติบโตดี และอัตราแลกเนื้อต่ำกว่า ทำให้ต้นทุนการผลิตลดลง (ชลอ และคณะ, 2554)

นอกจากการควบคุมการให้อาหารที่เหมาะสมแล้วการควบคุมคุณสมบัติของน้ำให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเป็นปัจจัยที่สำคัญ โดยทั่วไปปัญหาของการเลี้ยงกุ้งจะเกิดในช่วงท้าย ๆ ของการเลี้ยงซึ่งเป็นช่วงที่คุณสมบัติของน้ำบางตัวอยู่ในระดับที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง คือปริมาณออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในระดับที่ต่ำกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะมีผลต่ออัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของกุ้ง (Boyd, 1982) ถึงแม้ว่าเกษตรกรส่วนใหญ่พยายามเพิ่มปริมาณออกซิเจนจากการเพิ่มจำนวนเครื่องให้อากาศหรือเพิ่มจำนวนรอบของการตีน้ำให้เร็วขึ้นแต่ในบางครั้งปัญหาดังกล่าวก็ไม่สามารถรักษาระดับออกซิเจนละลายน้ำให้สูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ เนื่องจากปริมาณออกซิเจนส่วนใหญ่จะถูกใช้ในการหายใจของสิ่งมีชีวิตและการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ ดังนั้นถ้ามีการจัดการเรื่องการให้อาหารอย่างเหมาะสมจะมีการสะสมของปริมาณอาหารที่เหลือในบ่อลดลงทำให้สภาพแวดล้อมในบ่อเหมาะสมสำหรับการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาหาปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของกุ้ง ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในห้องปฏิบัติการแล้วนำผลการศึกษาที่ได้มาศึกษาต่อในระดับฟาร์มโดยทำการศึกษาเปรียบเทียบการให้อาหารแบบใช้คนหว่านอาหาร การให้อาหารโดยใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลาและการให้อาหารโดยใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติซึ่งมีการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์เพื่อตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้งโดยผลการศึกษาที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อปรับปรุงแนวทางการให้อาหารกุ้งให้มีประสิทธิภาพซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิน้ำและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่มีผลต่อพฤติกรรมการกิน1
อาหารและระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ
2. เปรียบเทียบประสิทธิภาพการให้อาหารกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการให้อาหารโดยใช้
แรงคน ใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และแบบอัตโนมัติที่ควบคุมการให้อาหารโดย
ตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง ในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม
3. เพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิน้ำและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่มีผลต่อพฤติกรรมการ
กินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมในฟาร์มเลี้ยง

การตรวจเอกสาร

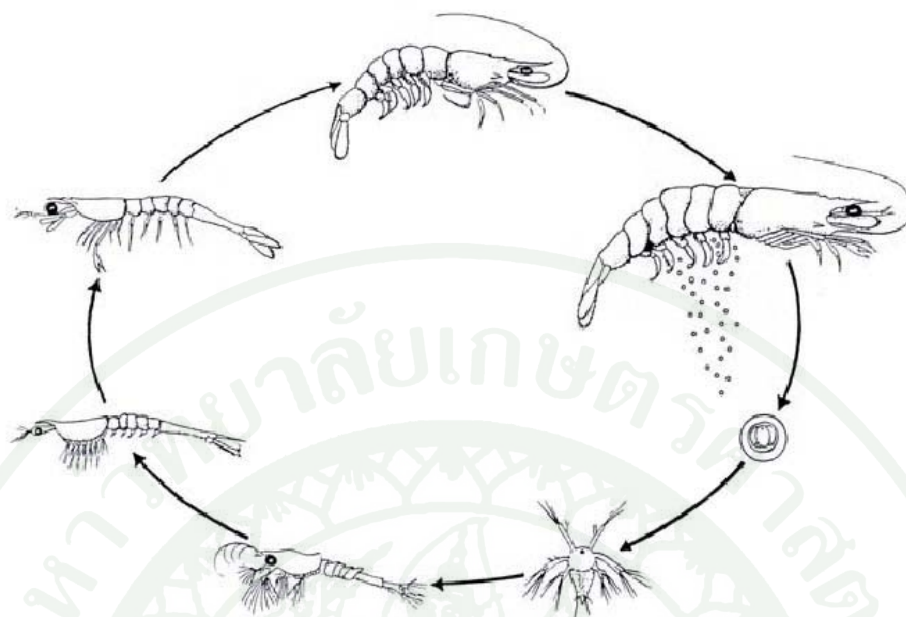
กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*)

1. การแพร่กระจายและแหล่งที่อยู่อาศัยของกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมเป็นกุ้งพันธุ์พื้นเมืองของชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิกบริเวณอเมริกาใต้และกลาง (Rosenberry, 1997) พบได้ทางตอนเหนือของประเทศเม็กซิโกไปจนถึงทางตอนเหนือของประเทศเปรูที่มีอุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส (Holthuis, 1980) กุ้งชนิดนี้เป็น non-grooved species groups ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีการเคลื่อนไหวตลอดเวลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงเวลากลางคืนส่วนในช่วงเวลากลางวันมักจะไม่อยู่ตามบริเวณพื้นดินดังเช่นกุ้งบางชนิด (Boddeke, 1983) โดยกุ้งขาวแวนนาไมสามารถพบได้ในที่เป็นโคลนหรือโคลนปนทรายตามชายฝั่งตั้งแต่ระดับความลึกที่ 1 - 72 เมตร (Dore and Frimodt, 1987) โดยในช่วงฤดูฝนของประเทศเม็กซิโกจะพบกุ้งชนิดนี้ในปริมาณที่มากกว่ากุ้งชนิดอื่น (Tseng, 1987) นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ตามบริเวณแหล่งน้ำที่ได้รับอิทธิพลของน้ำขึ้นและลงของน้ำทะเล (lagoon) ที่มีความเค็มต่ำ (2 – 8 พีพีที) เมื่อโตเต็มวัยจะวางไข่บริเวณนอกชายฝั่ง หลังจากไข่ฟักและเข้าสู่ระยะ postlarvae (ขนาดประมาณ 6 มิลลิเมตร) จะย้ายเข้ามาอยู่ในบริเวณแหล่งน้ำที่ได้รับอิทธิพลของน้ำขึ้นและลงของน้ำทะเล จนกระทั่งเจริญเติบโต เมื่อเข้าสู่ระยะ juvenile (ขนาดประมาณ 10 – 17 เซนติเมตร) กุ้งขาวแวนนาไมจะกลับเข้าสู่น้ำลึกเจริญเข้าสู่ระยะ adult ต่อไป (ภาพที่ 1) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Medina-Reyna (2001) ในประเทศเม็กซิโก พบว่า กุ้งขาวแวนนาไมจะอพยพออกจากทะเลสาบ Mar Muerto เข้าสู่ทะเลลึกเมื่อมีขนาด 70 – 80 มิลลิเมตร

2. การเจริญเติบโตและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในระยะแรกและเจริญเติบโตได้ดีในบ่อดิน (Lawrence *et al.*, 1980) สำหรับในธรรมชาติพบว่ามีความยาว 230 มิลลิเมตร (Dore and Frimodt, 1987) ในบ่อดินเมื่อทำการเลี้ยงจากระยะ postlarvae (5 – 15 วัน) จนกระทั่งได้ขนาดที่ตลาดต้องการ



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) (Lee and Wickins, 1992)

(ประมาณ 20 กรัม) ใช้ระยะเวลา 4 – 6 เดือน โดยที่กุ้งในบ่อเลี้ยงมีความหนาแน่นเฉลี่ย 50,000 – 75,000 ตัว/เฮกแตร์ (Lawrence *et al.*, 1980)

การเจริญเติบโตของกุ้งชนิดนี้ พบว่า มีการเพิ่มขนาดความยาวโดยวัดความยาวของเปลือกหัวอยู่ในช่วง 0.05 – 0.17 เซนติเมตร/วัน และมีการลอกคราบทุก ๆ 12 – 13 วัน (ประมาณ 12.5 วัน) และการเพิ่มขนาดความยาวแต่ละครั้งหลังการลอกคราบโดยเฉลี่ย 0.7 มิลลิเมตร (โดยการวัดความยาวเปลือกส่วนหัว) (Menz and Bowers, 1980) ส่วน Medina-Reyna (2001) กล่าวว่า การเจริญเติบโตของกุ้งขาวแปซิฟิกที่อาศัยอยู่ในทะเลสาบ Mar Muerto ของประเทศเม็กซิโก อยู่ระหว่าง 0.21 – 1.21 มิลลิเมตร/วัน (วัดความยาวตลอดตัว) และเจริญเติบโตได้ดีในช่วงหน้าฝนที่มีความเค็มของน้ำลดลง นอกจากนี้พบว่าอัตราการเจริญเติบโตมักจะสูงมากในระยะแรกของการเลี้ยง และช่วงพระจันทร์เต็มดวง (ข้างขึ้น) จากนั้นจะค่อยๆ ลดลงในช่วงระยะหลังของการเลี้ยง (Rothlisberg, 1998) ในระยะ juvenile กุ้งสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่ออุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 25 – 35 องศาเซลเซียส (Ponce – Palafox *et al.*, 1997) และการเจริญเติบโตจะลดลงเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 23 องศาเซลเซียส (Wyban *et al.*, 1995)

การจัดการระหว่างการเล่น พบว่าการเปลี่ยนถ่ายน้ำมีผลต่อการเจริญเติบโต เมื่อมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 5% ของปริมาณน้ำในบ่อ จะให้ผลต่ออัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด (Martinez–Cordova, 1995) ส่วนการให้อากาศนั้นจะไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตแต่จะมีผลต่อ อัตรารอดและผลผลิตเท่านั้น (Martinez – Cordova, 1997)

อัตราการเจริญเติบโตในระหว่างการเล่นนั้น มีความแตกต่างกันในแต่ละฤดู โดยพบว่าในฤดูฝนหรือฤดูที่สภาพอากาศมีความชื้นมากนั้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่าฤดูที่ฝน ตกน้อยหรือฤดูแล้ง สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลผลิตและอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงภายในระยะเวลา 120 วัน

	ฤดูฝน	ฤดูร้อน
ขนาดเฉลี่ย (กรัม)	> 15	> 10
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/เฮกเตอร์/สัปดาห์)	> 0.88	> 0.5
น้ำหนักรวม/เฮกเตอร์ (กิโลกรัม)	> 700	> 400
จำนวนกุ้ง/เฮกเตอร์ (ตัว)	> 40,000	> 40,000
อัตราแลกเนื้อ ; FCR	< 1.5:1	< 1.5:1

หมายเหตุ : 1 เฮกเตอร์ เท่ากับ 6.25 ไร่

ที่มา: ดัดแปลงจาก Brock and Main (1994)

3. การกินอาหาร

สิ่งที่สำคัญในการเลี้ยงกุ้งคือการให้อาหารอย่างเพียงพอ เพื่อให้กุ้งมีการเจริญเติบโตที่ดี ดังนั้น จึงมีความพยายามที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการให้อาหารด้วยการศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้ง ความต้องการสารอาหารและประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (FAO, 1986) กุ้งขาวแวนนาไมสามารถกินได้ทั้งพืช สัตว์ และซากของสิ่งมีชีวิตที่อยู่บริเวณ กลางน้ำ นอกจากนี้ยังสามารถกินได้ทั้งสิ่งมีชีวิตที่อยู่บริเวณผิวน้ำดินและซากของสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นอีกด้วย

(Martinez-Cordova and Peña-Messina, 2005) โดยที่การกินอาหารของกุ้งนั้นจะแตกต่างกันไปตามอายุ ซึ่งสามารถแยกได้ตามระยะของวัยอ่อนดังนี้

ระยะ nauplius ลูกกุ้งระยะนี้จะไม่กินอาหารจากภายนอก เนื่องจากมีไข่แดง (yolk) ติดอยู่

ระยะ protozoa เป็นกุ้งวัยอ่อนระยะต่อมา เริ่มกินพืชและแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็กเป็นอาหาร ช่วงปลายของวัยอ่อนระยะนี้ จะเริ่มกินแพลงก์ตอนสัตว์เป็นอาหารด้วย

ระยะ mysis วัยอ่อนระยะนี้ จะกินอาหารทั้งที่เป็นแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์

ระยะ postlarva ส่วนมากจะกินแพลงก์ตอนสัตว์เป็นอาหารและเริ่มกินสัตว์ที่ตายแล้ว เนื่องจากลูกกุ้งวัยอ่อนในระยะนี้เตรียมที่จะปรับตัวอาศัยบริเวณผิวดิน

ระยะ juvenile เป็นกุ้งระยะวัยรุ่น มักจะกินสัตว์และพืชที่ตายแล้วเป็นอาหารสามารถกินอาหารได้ทุกชนิด และมักเป็นพวกหากินเวลากลางคืน

การให้อาหารในระหว่างการเลี้ยง Martinez – Cordova *et al.* (1998) กล่าวว่า ในการให้อาหารนั้นสามารถทำได้ 3 วิธี คือ

1. การให้อาหารตามตารางการเจริญเติบโต (feeding tables; FTA) อาหารที่ใช้เป็นอาหารสำเร็จรูป มีการให้ตามอัตราการเจริญเติบโตและน้ำหนักตัวของกุ้งที่เพิ่มขึ้นแต่จะทำให้ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ (Biological Oxygen Demand ; BOD) ฟอสเฟต ไนโตรเจน ไนไตรท์ และแอมโมเนีย จะมีค่าสูง

2. การใช้ถาดให้อาหาร (feeding trays; FT) ใช้ถาดพลาสติกใสอาหารและวางถาดอาหารบนพื้นบ่อ ซึ่งการให้อาหารแบบนี้จะสามารถควบคุมปริมาณอาหารเหลือตกค้างภายในบ่อได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบสุขภาพและการเจริญเติบโตของกุ้งได้ (FAO, 1986)

3. การให้อาหารเสริมธรรมชาติ (complementation of natural food; CNF) โดยมากมักจะเป็นแพลงก์ตอนสัตว์เช่น copepods, polychaete, amphipods, isopods และ molluscs

เป็นต้น ซึ่งรูปแบบการให้อาหารนี้จะทำให้อัตราการแลกเนื้อมีค่าต่ำ และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำช่วงเช้าจะมีค่าสูงกว่าการให้อาหารแบบ FTA

ฟาร์มเลี้ยงกุ้งในแถบเอเชียมีการเลี้ยงกุ้ง 3 แบบ คือ การเลี้ยงแบบความหนาแน่นต่ำ (extensive culture) โดยการเจริญเติบโตของกุ้งขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารธรรมชาติในบ่อเลี้ยง การเลี้ยงแบบความหนาแน่นปานกลาง (semi-intensive culture) อาหารหลักของกุ้งในบ่อยังคงเป็นอาหารธรรมชาติแต่ยังมีการให้อาหารสำเร็จรูปเสริม และการเลี้ยงแบบความหนาแน่นสูง (intensive culture) มีการให้อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว (FAO, 1986) การให้อาหารควรให้จำนวน 4 มื้อต่อวัน (Wyban and Sweeney, 1989) และการให้ในช่วงเวลากลางวันจะให้ผลการเจริญเติบโตที่ดีกว่าการให้ในเวลากลางคืน (Robertson *et al.*, 1993) เนื่องจากในช่วงเวลากลางคืนจะมีการว่ายน้ำเพื่อหาอาหารมากกว่าในช่วงกลางวันโดยที่จะมีการหาอาหารสูงสุดในช่วง 7 ชั่วโมงหลังจากเริ่มมีแสง (Pontes *et al.*, 2006) และปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการกินอาหารของกุ้ง คือ อุณหภูมิซึ่งกุ้งที่เลี้ยงอยู่ในน้ำอุณหภูมิต่ำกว่า 26 องศาเซลเซียสจะกินอาหารลดลง 40-60 เปอร์เซ็นต์ และกุ้งจะกินอาหารในปริมาณที่เหมาะสมในช่วงระหว่าง 28-30 องศาเซลเซียส (ชลอ และคณะ, 2552ก) นอกจากนี้ยังมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ แอมโมเนียและฟิเอช ที่มีผลต่อการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม โดยกุ้งที่เลี้ยงอยู่ในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำกว่า 2 พีพีเอ็ม กุ้งจะไม่กินอาหารและที่ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำเท่ากันกุ้งที่อยู่ในน้ำที่มีฟิเอชสูงจะกินอาหารน้อยกว่ากุ้งที่อยู่ในน้ำที่มีฟิเอชต่ำ (ชลอ และคณะ, 2552ข) เนื่องจากการที่น้ำมีฟิเอชสูงแอมโมเนียจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่เป็นพิษมากขึ้น

4. ความต้องการสารอาหาร

การเลี้ยงกุ้งทะเลในกลุ่ม penaeid อาหารเป็นสิ่งที่มีความสำคัญมากที่สุด (Ezquerria *et al.*, 1998) โดยต้องมีสารอาหารครบถ้วนและราคาถูก ซึ่งมีผลต่อต้นทุนการเลี้ยง โดยต้นทุนค่าอาหารจะมีค่าประมาณ 60% ของต้นทุนทั้งหมด (Akiyama *et al.*, 1992) โปรตีนเป็นสิ่งที่สำคัญในอาหารกุ้งมากที่สุด เนื่องจากสามารถใช้ในการกำหนดต้นทุนเรื่องอาหาร (Akiyama and Dominy, 1991) และการเจริญเติบโตของกุ้งด้วย (Sudaryno *et al.*, 1995) ในกุ้งขาวแวนนาไมนั้น โปรตีนก็เป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตเช่นกัน แต่ถ้ามีปริมาณมากเกินไปก็จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง (Smith *et al.*, 1985) สำหรับความต้องการสารอาหารชนิดต่างๆ ในกุ้งขาวแวนนาไมสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความต้องการสารอาหารชนิดต่าง ๆ ของกุ้งขาวแวนนาไม

สารอาหาร	ความต้องการ	เอกสารอ้างอิง
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)		
ระยะ postlarvae (0.5 กรัม)	30 – 35	Tseng (1987)
ระยะ juvenile (1.4 – 8.5 กรัม)	32	Kureshy and Davis (2002)
วิตามิน (มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม)		
ไพริดอกซิน	80 – 100	He and Lawrence (1991)
วิตามินซี	90 – 120	He and Lawrence (1993)
วิตามินอี	99	He and Lawrence (1993)
เกลือแร่ (เปอร์เซ็นต์)		
แคลเซียม	ไม่จำเป็น	Davis <i>et al.</i> (1993a)
ฟอสฟอรัส	0.35 (0% Ca)	Davis <i>et al.</i> (1993a)
	0.5 – 1.0 (1% Ca)	Davis <i>et al.</i> (1993a)
	1.0 – 2.0 (2% Ca)	Davis <i>et al.</i> (1993a)
ทองแดง	0.0032	Davis <i>et al.</i> (1993b)

5. พฤติกรรมการกินอาหารของสัตว์น้ำ

พฤติกรรมการกินอาหารของปลาสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ช่วงเวลา คือ ปลาที่กินอาหารในช่วงเวลากลางวันและกลางคืน โดยพฤติกรรมการกินอาหารของปลาแต่ละชนิดก็มีความแตกต่างกัน บางชนิดกินอาหารได้ทั้งช่วงเวลากลางวันและกลางคืน บางชนิดกินอาหารได้เฉพาะช่วงเวลากลางวัน หรือกินอาหารได้เฉพาะช่วงเวลากลางคืน ซึ่งการกินอาหารจะเหมือนกันเมื่อเลี้ยงภายใต้สภาวะเดียวกัน (SaÁnchez-VaÁzquez *et al.*, 1995; SaÁnchez-VaÁzquez *et al.*, 1996) พฤติกรรมการกินอาหารจะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะแวดล้อม (SaÁnchez-VaÁzquez *et al.*, 1995) หรือเวลาของการให้อาหารจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำ (Fraser *et al.*, 1993)

พฤติกรรมการกินอาหารโดยทั่วไปแล้ว คาดว่าเกิดภายใต้ปัจจัยภายในตัวสิ่งมีชีวิตแต่ปัจจัยอื่นๆ ทำให้มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารได้ (Boujard and Leatherland, 1992a; Madrid *et al.*, 2001) โดยมีปัจจัยต่าง ๆ คือ การมีแสงและไม่มีแสง (Gibson and Keenleyside, 1966; Boujard and

Leatherland, 1992b) และอุณหภูมิ (Fraser *et al.*, 1993, 1995) ปริมาณออกซิเจน (Thetmeyer *et al.*, 1999) ปริมาณแอมโมเนีย (Beamish and Tandler, 1990) การเกิดคลื่น ((Bégout Anras, 1995; Juell, 1995; Mallekh *et al.*, 1998) แรงลม ปริมาณฝน (Bégout and Lagardère, 1993; Juell, 1995) และ ความขุ่น (Berg and Northcote, 1985; Ang and Petrell, 1997; Mallekh *et al.*, 1998) รวมถึงความหิว และระยะเวลาอดอาหาร (Grove *et al.*, 1978; Ruohonen *et al.*, 1997) การเกิดโรค หรือ ปริมาณ ปรสิตร (Bloch and Larsen, 1993) และปลาสามารถสร้างเสียงได้หลายลักษณะ (Myrberg, 1981) โดยการเปล่งเสียงระหว่างการกัดและเคี้ยวเหยื่อ หรือการล่าเหยื่อ ซึ่งสามารถพบได้ในปลากระดูก เแข็งหลายชนิด เสียงเหล่านี้อาจจะเกิดขึ้นทันทีเมื่อปลาจับเหยื่อ (Kaparang *et al.*, 1998) ซึ่งอาจจะ เกี่ยวข้องกับการกระเด็นของผิวน้ำ (Phillips, 1989) หรืออาจจะเกิดจากแรงดันต่างๆ ภายในปากปลา เมื่อเหยื่อถูกดูดเข้าไป (Muller and Osse, 1984; Lauder, 1985) หรืออาจจะเกิดจากการกระทบกัน ของกระดูกและฟัน (Bordeau, 1982; Colson *et al.*, 1998)

กุ้งเป็นสัตว์ที่กินอาหารได้ทุกชนิดทั้งพืชและสัตว์ กุ้งหาอาหารโดยใช้ประสาทรับ ความรู้สึกทางกลิ่น ที่หนวด ปาก ขาเดิน หัว เหนือก ลำตัว และแพนหาง ดังนั้นอาหารกุ้งจำเป็นต้อง มีสารดึงดูดกุ้งให้กุ้งเคลื่อนที่เข้าหา กุ้งมีลักษณะการจับกินโดยจะใช้ขาเดินคู่ที่ 1 หรือ 2 จับอาหาร กุ้งแล้วถือแพะเพราะปากเป็นแบบกัดแพะ ดังนั้นอาหารจึงต้องมีลักษณะเป็นเม็ดเล็กยาว และไม่ แดกหักง่ายเมื่อจับ โดยธรรมชาติกุ้งเป็นสัตว์ที่หากินเวลากลางคืน แต่กุ้งเลี้ยงสามารถฝึกให้กุ้งกิน เวลาอื่น ๆ ได้ ในการให้อาหารกุ้งจึงต้องปรับให้เข้ากับธรรมชาติของกุ้งโดยหว่านให้ทั่วบ่อ เพื่อให้ กุ้งทุกตัวที่กระจายอยู่กันบ่อจะได้มีโอกาสกินอาหารเท่ากัน เนื่องจากกุ้งไม่ใช่สัตว์สังคมจะอยู่ แยกกัน กินแยกกัน และมีลักษณะยึดครองพื้นที่ (ธรรณชัย, 2546)

พยุง (2543) กล่าวถึงการจัดการเรื่องอาหารในสภาพที่อากาศหนาว ต้องเน้นในเรื่องการ จัดการให้อาหารอย่างมีประสิทธิภาพ เพราะโดยปกติแล้วอากาศหนาวจัด กุ้งจะกินอาหารลดลง หรือ ไม่กินเลย ผู้เลี้ยงจะต้องลดปริมาณอาหารที่ให้ลงมา เพื่อป้องกันอาหารเหลือเป็นของเสียและ เป็นสาเหตุให้กุ้งเครียด ป่วยและตายในที่สุด

6. คุณภาพน้ำบางประการที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

ในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ปัจจัยที่สำคัญที่สุดคือ คุณภาพน้ำ ซึ่งถ้าคุณภาพน้ำ หมายถึงคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ คุณภาพน้ำที่ไม่ดีอาจส่งผลให้กุ้งเกิดโรค หรืออาการที่ผิดปกติได้ เช่น ถ้าอุณหภูมิไม่เหมาะสมก็อาจมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมในระยะ juvenile ได้ (Wyban *et al.*, 1995)

6.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

อุณหภูมิมีความสัมพันธ์โดยตรงกับแสง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจะแปรผันตามความเข้มแสง อุณหภูมิประเทศ กระแสลม ความลึกและสภาพแวดล้อมทั่วไป อุณหภูมิของแหล่งน้ำธรรมชาติในประเทศไทยมีค่าผันแปรอยู่ระหว่าง 23-32 องศาเซลเซียส (ศิริเพ็ญ, 2543) Boyd (1990) อธิบายว่า อุณหภูมิมีผลต่อการละลายของออกซิเจนในน้ำ อุณหภูมิมีผลต่อการเจริญพันธุ์และการวางไข่ของแม่พันธุ์กุ้งขาวแปซิฟิก (Edwards, 1990) ชลอ และคณะ (2552 ก) รายงานว่า อุณหภูมิจะส่งผลต่อการกินอาหารของกุ้งที่อุณหภูมิน้ำต่ำ (24 ± 1 และ 26 ± 1 องศาเซลเซียส) กุ้งกินอาหารในแต่ละมื้อในปริมาณน้อยกว่ากุ้งที่เลี้ยงอุณหภูมิ 30 ± 1 , 32 ± 1 และ 34 ± 1 องศาเซลเซียส นอกจากนี้อุณหภูมิน้ำยังส่งผลต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำด้วย โดยเมื่ออุณหภูมิน้ำสูงขึ้นปริมาณออกซิเจนละลายน้ำจะลดลง นอกจากนี้อุณหภูมิต่ำยังมีผลทำให้สารพิษประเภทต่าง ๆ เช่น ยากำจัดศัตรูพืช โลหะหนัก มีความเป็นพิษรุนแรงขึ้น ทั้งนี้ยังจะช่วยเร่งให้มีการดูดซึมและการแพร่กระจายของสารพิษเข้าสู่ร่างกายได้เร็วและจะทำให้แอมโมเนียในรูปที่เป็นพิษ (un-ionized ammonia) แรกตัวเพิ่มมากขึ้น (Boyd, 1982)

ความเค็มมีผลต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ โดยเฉพาะการควบคุมปริมาณน้ำภายในร่างกาย (ไมตรี และจารูวรรณ, 2528) แต่อย่างไรก็ตามสัตว์น้ำทั่วไปสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพที่เปลี่ยนแปลงได้ ในกุ้งขาวแวนนาไมความเค็มที่สูงกว่า 20 ฟิฟิที จะทำให้กุ้งระยะ juvenile มีอัตราการรอดที่ดี (Ponce-Palaflox *et al.*, 1997) นอกจากนี้ผลของความเค็มและอุณหภูมิมีผลต่ออัตราการรอดตายของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียด้วย (Lester and Pante, 1991) กุ้งขาวแวนนาไมในระยะ postlarva เจริญได้ดีที่ความเค็มประมาณ 20 ฟิฟิที และจะลดลงที่ 5 ฟิฟิที และ 45 ฟิฟิที Brock and Main (1994) กล่าวว่า กุ้งขาวแปซิฟิกสามารถอยู่ได้ในความเค็มที่ 5-35 ฟิฟิที

6.2 คุณสมบัติทางเคมี

ออกซิเจนมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตแต่โดยปกติออกซิเจนจะละลายน้ำได้น้อยกว่าคาร์บอนไดออกไซด์ (1: 200) (ศิริเพ็ญ, 2543) ปริมาณออกซิเจนต่ำสุดที่ไม่ทำให้สัตว์น้ำได้รับอันตรายไม่ควรน้อยกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (Arrignon *et al.*, 1994) ในแหล่งน้ำธรรมชาติที่ปราศจากมลภาวะจะมีค่าออกซิเจนเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูงที่สุดถึง 7 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือมากกว่านี้ในแหล่งน้ำที่ไหลแรง (Traichaiyaporn, 1985) จารุวัฒน์ และสมนึก (2530) กล่าวว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมากกว่า 3.8 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งจะเจริญได้ตามปกติ แต่ถ้าออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในช่วง 1.8-2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งจะไม่มีอาการเจริญเติบโต และเนื่องจากปริมาณออกซิเจนจะลดลงในช่วงกลางคืนจนถึงเช้ามืด จึงจำเป็นต้องมีเครื่องให้อากาศเพื่อเพิ่มออกซิเจนให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเป็นผลให้อัตราการรอดตายเพิ่มขึ้น (Madenjian, 1990) การลดลงของความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายน้ำมีผลต่อการยับยั้งการสังเคราะห์แสงของพืช (Platt *et al.*, 1980) แหล่งของออกซิเจนที่สำคัญในบ่อเลี้ยงจะได้มาจากอากาศ การสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชและการเข้ามกับมวลน้ำที่มีการถ่ายน้ำ ในการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่นหรือกึ่งหนาแน่นจะมีระบบให้อากาศในบ่อ ซึ่งจะเป็นแหล่งให้ออกซิเจนหลัก การสูญเสียออกซิเจนจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำก็จะไปในการทำนองเดียวกับการเสียออกซิเจนไปจากแหล่งน้ำที่เพิ่มเติมขึ้นอีกส่วนหนึ่งก็คือการถ่ายน้ำทั้งทำให้ปริมาณออกซิเจนลดอัตราการผลิตและอัตราการใช้ออกซิเจนในบ่อจากส่วนต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่นทำให้มีการให้อาหารในปริมาณมากจึงมีเศษอาหารตกค้างและมีสิ่งขับถ่ายจากสัตว์น้ำในปริมาณมาก ทำให้ปริมาณรวมของสารอินทรีย์ที่เข้าสู่ระบบในบ่อสูงและเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ การสะสมและการย่อยสลายของสารอินทรีย์ทำให้มีการปลดปล่อยธาตุอาหารลงสู่ น้ำ กระตุ้นให้เกิดการเพิ่มปริมาณของแพลงก์ตอนพืชมีผลทำให้ปริมาณออกซิเจนมีการเปลี่ยนแปลงในรอบวันมีความแตกต่างกันมาก โดยเฉพาะในช่วงกลางคืนจะมีการใช้ออกซิเจนในปริมาณมากซึ่งมีโอกาสเกิดปัญหาการขาดออกซิเจนในตอนเช้ามืดได้ซึ่งจะมีผลต่อสัตว์น้ำและมีการสะสมของพวกสารพิษพวกแอมโมเนียและไนไตรท์ที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ เนื่องจากการย่อยสลายสารดังกล่าวไม่สมบูรณ์จะส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำทั้งในด้านการกินอาหาร การเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายได้ (ชวลิต, 2552)

ฟิโชนของน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งต่อระบบนิเวศของน้ำ ในช่วงที่แพลงก์ตอนพืชมีการสังเคราะห์แสงสูง ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายน้ำจะลดลง แต่ปริมาณ

ออกซิเจนจะเพิ่มขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงทำให้พีเอชของน้ำสูงขึ้นในตอนบ่าย โดยทั่วไปน้ำจากธรรมชาติจะมีพีเอชอยู่ระหว่าง 6-8 หรือ 6-9 และการละลายของสารประกอบบางตัวจะถูกควบคุมด้วยพีเอช และยังมีอิทธิพลต่อสิ่งมีชีวิตด้วย (Benzonik *et al.*, 1984) พีเอชที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งควรมีค่าระหว่าง 7.5-8.5 คือในตอนเช้าซึ่งพีเอชมีค่าต่ำสุดไม่ควรต่ำกว่า 7.5 และในช่วงบ่ายที่มีพีเอชสูงสุดไม่ควรจะสูงกว่า 8.5 แต่ค่าความแตกต่างของพีเอชในรอบวันไม่ควรมากกว่า 0.5 การเปลี่ยนแปลงของพีเอชในบ่อเลี้ยงกุ้งขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น คุณสมบัติของดิน ค่าความเป็นด่าง การผลิตและการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำซึ่งส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับปริมาณแพลงก์ตอนพืช (Tookwinas, 2000 ; ชลอ, 2543 ; ชลอ และ พรเลิศ, 2547)

ความเป็นด่าง (alkalinity) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงปริมาณไอออนของคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) และ ไฮดรอกไซด์ (OH^-) ที่มีอยู่ในแหล่งน้ำ และอาจรวมไปถึงปริมาณของ บอเรต ฟอสเฟต และ ซิลิเกต ในแหล่งน้ำทั่วไปจะมีความเป็นด่างน้อยกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (Durfor and Becker, 1964) ในทะเลสาบน้ำจืด 49 แห่งในประเทศสหรัฐอเมริกา มีค่าความเป็นด่างระหว่าง 1-186 มิลลิกรัมต่อลิตร (Miller *et al.*, 1973) ความเป็นด่างของน้ำที่เหมาะสมในการเลี้ยงสัตว์น้ำควรอยู่ระหว่าง 100-120 มิลลิกรัมต่อลิตร (Boyd, 1982)

ความกระด้าง (hardness) ของน้ำเกิดจากตะกอนของ Ca^{2+} และ Mg^{2+} เป็นส่วนใหญ่ ในแหล่งน้ำจืดทั่วไปจะมีค่าความกระด้างน้อยกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการแบ่งความกระด้างของน้ำจะใช้ปริมาณ CaCO_3 ที่มีอยู่เป็นเกณฑ์ตัดสิน ซึ่งสามารถแบ่งความกระด้างของน้ำได้ดังนี้ (Sawyer and McCorty, 1967)

น้ำอ่อน	0-15	มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3
น้ำค่อนข้างกระด้าง	75-150	มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3
น้ำกระด้าง	150-300	มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3
น้ำกระด้างมาก	> 300	มิลลิกรัมต่อลิตร ของ CaCO_3

สารประกอบไนโตรเจนในแหล่งน้ำมีอยู่หลายรูปแบบ เช่น อยู่ในรูปของแอมโมเนีย ซึ่งโดยปกติแอมโมเนียจะเป็นพิษต่อสัตว์น้ำโดยเฉพาะในรูปของ unionized form หรือ NH_3 ระดับแอมโมเนียที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำไม่ควรเกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรรณิการ์, 2522 และ เปี่ยมศักดิ์, 2539) ในขณะที่องค์การอนามัยโลกได้กำหนดมาตรฐานของแหล่งน้ำให้มีปริมาณ

แอมโมเนียไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Boyd (1982) กล่าวว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ความเป็นพิษของแอมโมเนียก็จะสูงขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ ความเป็นพิษของแอมโมเนียยังขึ้นกับพีเอชด้วย กล่าวคือ เมื่อพีเอชลดลง เปอร์เซ็นต์การแตกตัวของแอมโมเนีย (NH_3) เพิ่มขึ้นทำให้ความเป็นพิษลดลง (มันสิน และ ไพพรรณ, 2536)

ไนโตรเจนเป็นสารประกอบไนโตรเจนอีกรูปแบบหนึ่งซึ่งเกิดจากกระบวนการไนตริฟิเคชัน มันสิน และ ไพพรรณ (2536) รายงานว่า แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องในกระบวนการไนตริฟิเคชันประกอบด้วย แบคทีเรียชนิดที่สร้างอาหารเองได้ จะเปลี่ยนแอมโมเนียไปเป็นไนโตรเจนและเปลี่ยนไนโตรเจนเป็นไนเตรท โดยมีคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน Wetzel (1975) รายงานว่าปริมาณไนโตรเจนส่วนใหญ่ละลายน้ำได้น้อย ยกเว้นกรณีที่ขาดออกซิเจนไนโตรเจนจะเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ โดยไนโตรเจนจะถูกดูดซึมเข้าสู่สัตว์น้ำโดยผ่านทางเหงือกและจะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็ว (Tomasso *et al.*, 1979; Krous *et al.*, 1982)

6.3 คุณสมบัติทางชีวภาพ

แพลงก์ตอนนี้จัดเป็นคุณสมบัติทางชีวภาพของแหล่งน้ำ แพลงก์ตอน คือ สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ลอยอยู่ในน้ำ ไม่มีอวัยวะสำหรับเคลื่อนที่ทวนกระแสน้ำ ซึ่งแบ่งออกเป็น แพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ ภายในเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชจะมีคลอโรฟิลล์ เอ ซึ่งเป็นรงควัตถุสีเขียวที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์แสง จึงนับได้ว่าแพลงก์ตอนพืชมีความสำคัญมากในการผลิตออกซิเจนในน้ำ (Clarke, 1954) คุณสมบัติของคลอโรฟิลล์ เอ จะไม่ละลายน้ำแต่จะละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (Fogg, 1975) ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่พบในแพลงก์ตอนพืชจะมีประมาณ 0.5-1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สามารถบอกถึงมวลชีวภาพของแพลงก์ตอนพืชในแหล่งน้ำได้อย่างคร่าว ๆ ซึ่งจะสัมพันธ์กับปริมาณของแพลงก์ตอนพืชในลักษณะแปรผันตามกัน ปริมาณแพลงก์ตอนพืชจะมากหรือน้อยขึ้นกับคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำด้วย เช่น ถ้าในแหล่งน้ำที่มีความกระด้างมากจะพบสาหร่ายสีเขียวในกลุ่ม Volvocales เช่น *Volvox* และ *Pandorina* (Precott, 1962) ส่วนในแหล่งน้ำที่มีความกระด้างน้อยจะพบแพลงก์ตอนพืชในกลุ่ม desmid เป็นส่วนใหญ่และพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียวบางชนิด (Chapman, 1969) แพลงก์ตอนพืชบางชนิด เช่น *Oscillatoria*, *Spirulina* และ *Polycystis* สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนละลายต่ำ จึงเป็นดัชนีในการประเมินสภาพการเน่าเสียของแหล่งน้ำได้ Peter (1991) กล่าวว่า *Closterium aciculare* จะเจริญได้รวดเร็วในแหล่งน้ำที่มีไนโตรเจนในรูปของ

แอมโมเนีย แต่ไม่สามารถเจริญได้ในรูปของไนโตรเจนอื่น ในขณะที่ McCarthy *et al.* (1977) รายงานว่า แพลงก์ตอนพืชจะนำไนโตรเจนไปใช้ในรูปแบบ แอมโมเนีย ยูเรีย ไนเตรท และไนไตรท์ ตามลำดับ ส่วนแพลงก์ตอนสัตว์โดยทั่วไปแล้วจะพบได้น้อยกว่าแพลงก์ตอนพืช เนื่องจากแพลงก์ตอนสัตว์จะเกิดขึ้นหลังจากแพลงก์ตอนพืชเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์แล้ว และมักจะอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าแพลงก์ตอนพืช (ธีระ, 2535)

7. ระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไมเป็นสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลัง มีระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific immune response) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด (Bachère *et al.*, 2000) โดยจะไม่มีกระบวนการตอบสนองและการสร้างสารน้ำที่เรียกว่า แอนติบอดี (antibody) หรืออิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) เนื่องจากระบบหมุนเวียนเลือดของกุ้งเป็นระบบเปิด (open circulatory system) (Söderhäll *et al.*, 1996) ประกอบด้วย หัวใจ แอ่งเลือดและน้ำเหลือง เลือดจากหัวใจจะไหลเข้าไปในแอ่งเลือด จากนั้นจะไหลไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย อวัยวะในการสร้างเม็ดเลือด เรียกว่า hematopoietic tissue พบที่ตำแหน่งด้านบนของกระเพาะอาหารและโคนขาเดิน พบอยู่เป็นชุด ๆ ภายในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและบริเวณใกล้กับแอ่งเลือด น้ำเลือดกุ้งมีแร่ธาตุคาร์บอน ไนโตรเจน ไฮโดรเจน ซัลเฟอร์และคอปเปอร์ เป็นองค์ประกอบที่สำคัญ โดยแร่ธาตุคอปเปอร์ทำให้น้ำเลือดของกุ้งมีสีน้ำเงิน ในน้ำเลือดกุ้งมีรงควัตถุที่ทำหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนก๊าซ คือ hemocyanin (Ratcliffe *et al.*, 1985) โดยมีประมาณ 60-95 เปอร์เซ็นต์ในน้ำเลือดทั้งหมดซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงตามเพศ ขนาดของตัวกุ้งและวงจรการลอกคราบของตัวกุ้ง (Chen and Cheng, 1993) กุ้งมีกลไกป้องกันตัวเองจากสิ่งแปลกปลอมหรือสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรค โดยมีเม็ดเลือดเป็นศูนย์กลางการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่สำคัญ เกิดจากกิจกรรมของเซลล์เม็ดเลือด น้ำเลือด และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในร่างกาย (Söderhäll and Cerenius, 1992) สามารถแบ่งเป็น 2 กลไก คือ

7.1 กลไกการป้องกันตนเองโดยโครงสร้างภายนอกของร่างกาย (external defence mechanism)

กุ้งมีโครงสร้างแข็งภายนอก (exoskeleton structure) เป็นสารพวก chitin และ chitosan โดยบริเวณเนื้อเยื่อภายใต้โครงสร้างปกคลุมที่เรียกว่า เปลือก จะมีเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการสร้างสารเมือก (mucous) และหลังสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส (protease inhibitor) ที่สร้าง

จากเชื้อก่อโรคได้ นอกจากนี้ในขณะที่กึ่งลอกคราบเพื่อการเจริญเติบโต กุ้งก็จะสามารถกำจัดปรสิตบริเวณผิวหนังออกไปพร้อมกับคราบที่ลอกออก

7.2 กลไกการป้องกันตนเองภายในร่างกาย (internal defence mechanism)

เมื่อสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรคสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ กุ้งจะมีการตอบสนองภายในร่างกาย 2 ระบบ คือ

7.2.1 ระบบภูมิคุ้มกันที่อาศัยเซลล์ (cellular defence mechanism) การทำงานของเซลล์เม็ดเลือดในการทำลายสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย เซลล์เม็ดเลือดที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือด (hemocyte) 3 ชนิด คือ hyaline cell, semi-granular และ large granula (Hose *et al.*, 1987) กระจายทั่วไปตามเนื้อเยื่อ ภายในกระแสเลือด ต่อม้ำเหลือง (lymphoid organ) กล้ามเนื้อหัวใจ hepatopancreas และอวัยวะอื่น ๆ

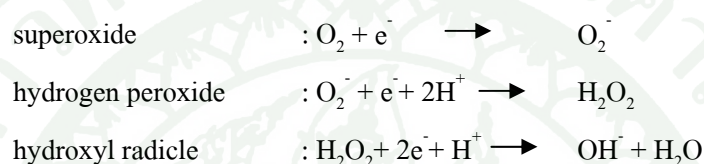
ระบบภูมิคุ้มกันที่อาศัยเซลล์ มีกระบวนการป้องกันและทำลายสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรค โดยมีกระบวนการหลัก ๆ 3 แบบ ได้แก่

1) กระบวนการฟาโกไซโตซิส (phagocytosis)

กระบวนการฟาโกไซโตซิสเป็นด่านแรกในการป้องกันเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมผ่านเข้าสู่ร่างกาย ฟาโกไซต์ (phagocyte) เป็นเม็ดเลือดขาวที่สามารถทำให้สิ่งแปลกปลอมที่เป็นเซลล์หรือสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคได้สลายตัวโดยกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม ตัวอย่างของเม็ดเลือดขาว ได้แก่ macrophages และ granulocytes

กระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมเป็นกระบวนการที่ไม่เฉพาะเจาะจง เริ่มจากการยึดกันระหว่างสิ่งแปลกปลอมกับผิวของเซลล์ หลังจากนั้นผิวของเซลล์จะเว้าเข้าไปเกิดเป็นฟาโกโซม (phagosome) ซึ่งจะสัมผัสกับไลโซโซม (lysosome) ที่อยู่ภายในเซลล์ ภายในไลโซโซมจะบรรจุเอนไซม์หลายชนิดซึ่งทำหน้าที่ย่อยสลาย เรียกว่า acid hydrolases ซึ่งรวมถึงเอนไซม์ DNases, RNases, proteases, phosphatases และ lipases ที่สามารถไปลดขนาดของโมเลกุลสิ่งแปลกปลอมทั้งหลายให้เหลือเป็นหน่วยย่อย

เมื่อเซลล์ฟาโกไซท์รวมกับไลโซโซมจะเกิดเป็นฟาโกไลโซโซม (phagolysosome) และมีการแตกตัวของออกซิเจน (oxygen burst) น้ำตาลที่ถูกเก็บสะสมไว้ที่ใช้ในการสร้าง NADPH จะรวมเข้ากับออกซิเจน เกิดเป็น toxic peroxide (H_2O_2) และ superoxide (O_2^-) การแตกตัวของออกซิเจนสามารถที่จะผลิตออกซิเจนในรูปแบบที่เป็นพิษ จำนวนโมเลกุลทั้งหมดจะมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาสูง และมีการทำลายอนุภาคภายในฟาโกไลโซโซมโดยกลไกทางเคมีอย่างไม่เฉพาะเจาะจง หลังจากทำการย่อยสลายแล้วก็จะปล่อยส่วนที่ถูกทำลายออกมา จากเซลล์การเพิ่มจำนวนอิเล็กตรอน โดยมี NADPH เป็นตัวให้อิเล็กตรอนทำให้เกิดอนุภาคต่าง ๆ ดังสมการ



ภายในไลโซโซมจะมีค่าพีเอชเป็นกรดเพราะเยื่อหุ้มของไลโซโซมจะปั๊มออกซิเจนไฮดรอน (H^+) เข้าไปในไลโซโซม เพื่อที่จะรักษาระดับพีเอชให้ได้ 4.8 ซึ่งเป็นค่าพีเอชที่โปรตีนหลายชนิดเสื่อมสภาพไป (denature) และง่ายต่อการทำให้แตกออก การเป็นกรดนี้จะเป็นการเร่งให้เกิดการสร้างสารประกอบออกซิเจนบางชนิดที่เป็นพิษ เช่น peroxide

ระยะเวลาในการเกิดกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมตั้งแต่เริ่มจนถึงการเกิดฟาโกไลโซโซมและการกระตุ้นการเกิดกระบวนการแตกตัวของออกซิเจนจะใช้เวลาหลายชั่วโมง เวลาสำหรับการแตกตัวของอนุภาคสิ่งแปลกปลอมจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของสิ่งแปลกปลอม ระดับของการกระตุ้นเซลล์ที่ทำหน้าที่กลืนกินสิ่งแปลกปลอม บางครั้งกระบวนการนี้สามารถเกิดได้ในเวลาไม่กี่ชั่วโมงหรืออาจใช้เวลาเป็นวัน (Terry, 2001)

2) โนดูล์ฟอร์มเมชัน (nodule formation) และเอนแคปซูลชัน (encapsulation)

กระบวนการ nodule formation

nodule formation เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรคที่มีขนาดเล็กบุกรุกเข้ามาเป็นจำนวนมากเกินกว่าความสามารถที่กระบวนการกลืนกินจะกำจัดได้ (Jiravanichpaisan *et al.*, 1994) โดยจะมีการล้อมสิ่งแปลกปลอมโดยเซลล์เม็ดเลือด ทำให้เกิดเป็น

ชุดก้อน (nodule) จะเกิดขึ้นเพื่อป้องกันไม่ให้สิ่งแปลกปลอมกระจายทั่วร่างกาย มักพบการสร้าง nodule ที่เหงือก และ hepatopancreas

กระบวนการ encapsulation

encapsulation เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นเมื่อสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรคที่มีขนาดใหญ่กว่า 10 ไมโครเมตร (Lackie, 1980) เช่น เชื้อรา หนองตัวกลม ไข่ของปรสิต และสัตว์เซลล์เดียวขนาดใหญ่ จนเซลล์เม็ดเลือดเดียวไม่สามารถกำจัดได้

7.2.2 ระบบภูมิคุ้มกันที่ป้องกันสิ่งแปลกปลอมโดยอาศัยสารน้ำ มีการทำงานต่อหรือพร้อมกับระบบภูมิคุ้มกันที่อาศัยเซลล์ โดยเซลล์เม็ดเลือดของกุ้งจะมีการผลิตสารโปรตีนทำหน้าที่ช่วยในการจดจำและเข้าจับกับโมเลกุลของสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อก่อโรค ซึ่งมีชื่อเรียกว่า pattern recognition protein (PRPs) มีน้ำหนักประมาณ 100 กิโลดาลตัน (kDa) จะไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือดโดย PRPs มีชื่อเรียกต่างกันตามความสามารถในการจับกับโมเลกุลของเชื้อก่อโรค เช่น ถ้า PRPs จับกับโมเลกุลของเบต้ากลูแคนซึ่งสามารถสกัดได้จากผนังเซลล์ของยีสต์และ hyphae ของเชื้อรา จะมีชื่อเรียกว่า β -glucan binding protein (Vargas-Albores and Yepiz-Plascencia, 2000) ในส่วนของเปปติโดกลัยแคนสามารถสกัดได้จากผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก จะมีชื่อเรียกว่า peptidoglycan binding protein และไลโปโพลีแซคคาไรด์สามารถสกัดได้จากผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ จะมีชื่อเรียกว่า lipopolysaccharide (หัยชาญ, 2545) โดยโมเลกุลของสารเบต้ากลูแคน ไลโปโพลีแซคคาไรด์ และ เปปติโดกลัยแคน เรียกรวม ๆ pathogen associated molecular pattern (PAMPs) เมื่อ PAMPs แต่ละชนิดเข้ามาในกระแสเลือด กุ้ง โมเลกุลของ PRPs จะเคลื่อนที่เข้าไปจับกับ PAMPs ส่งผลให้ได้เป็น โมเลกุลเชิงซ้อน (protein complex) ได้แก่ β -1,3-glucan-binding protein complex (Sritunyalucksana *et al.*, 1999), lipopolysaccharide-binding protein complex และ peptidoglycan-binding protein complex (หัยชาญ, 2545) โมเลกุลเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจะไปกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดให้เคลื่อนที่เข้ามา ซึ่งบนผิวของเซลล์เม็ดเลือดชนิด semi-granular cell และ large granular cell มีส่วนรองรับแบบจำเพาะซึ่งสามารถรองรับโมเลกุลเชิงซ้อนและกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ degranulation ของเม็ดเลือด ซึ่งภายในกรานูลจะประกอบไปด้วยเอนไซม์และสารประกอบโปรตีนต่าง ๆ ได้แก่ เอนไซม์ transglutaminase (TGase), lectin, peroxinectin, protein released และเอนไซม์ในกระบวนการ prophenoloxidase activating system โดยสารทั้งหมดที่หลั่งออกมากระตุ้นให้เกิดกระบวนการต่าง ๆ ดังนี้

1) การแข็งตัวของเลือด

การแข็งตัวของเลือดเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญทั้งในสัตว์ที่กระดูกสันหลังและไม่มีกระดูกสันหลังเพื่อที่จะป้องกันการสูญเสียเลือดจากบาดแผล เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นโดยเม็ดเลือดชนิด hyaline cell ซึ่งมีแกรนูลอยู่ภายใน เมื่อแกรนูลถูกปล่อยออกมาแล้วแตกออกสารเคมีที่ถูกปล่อยออกมาจะไปกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของ coagulogen ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดการจับตัวเป็นก้อน โดยเป็นโปรตีนหลักเกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือดซึ่งอยู่ในน้ำเลือดของครัสเตเชียหลายชนิด ทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือด การที่เลือดไม่สามารถแข็งตัวได้อาจเกิดจากการที่เม็ดเลือดมีปริมาณลดลงจากการติดเชื้อจุลินทรีย์

การแข็งตัวของเลือดเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญเพื่อที่จะป้องกันการสูญเสียเลือดจากบาดแผล โดยเอนไซม์ transglutaminase จะไปกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด (clotting protein) ซึ่งไหลเวียนอยู่ในน้ำเลือดของกุ้ง (วัชรียา, 2547) โดย transglutaminase จะทำงานร่วมกับ calcium ion กระตุ้น clotting protein monomer ส่งผลให้เกิดกระบวนการทางชีวเคมี ได้เป็นสารที่เกิดการจับตัวเป็นก้อน (clot polymer) ทำให้เม็ดเลือดเกิดการแข็งตัว (blood clotting) ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

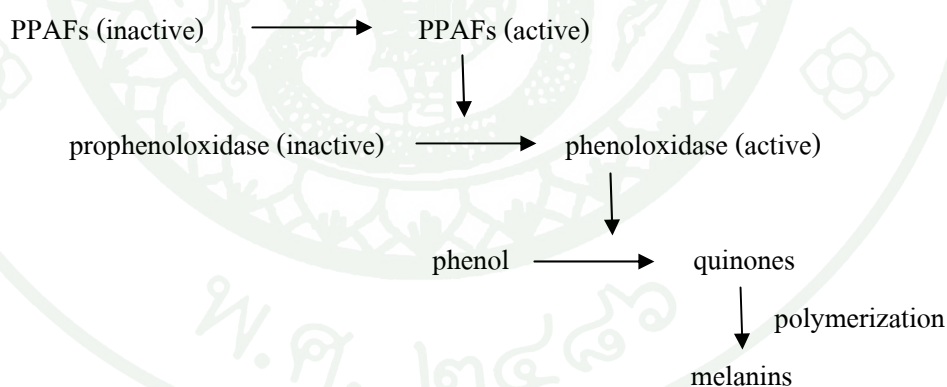


2) ระบบโปรฟินอลออกซิเดสแอคติเวตติ้งซิสเต็ม

เอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase) เป็นเอนไซม์ที่เกิดจากการกระตุ้นระบบโปรฟินอลออกซิเดส (prophenoloxidase) ของครัสเตเชียโดยไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide ; LPS) เปปติโดกลัยแคน (peptidoglycan ; PG) และเบต้ากลูแคน (β -1,3-glucan) ซึ่งเป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ฟีนอลออกซิเดสจะไปออกซิไดส์สารกลุ่มฟีนอล (phenol) ให้เป็นสารประกอบควิโนน (quinone) แล้วเปลี่ยนไปเป็นเมลานินได้ในที่สุดหน้าที่ของเมลานินจะช่วยในการยับยั้งหรือป้องกันการเจริญเติบโตของพวกเชื้อแบคทีเรีย สาร

ต่อต้านแบคทีเรีย (antibacterial substance) เป็นสารประกอบชั้นสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการของระบบโปรฟีโนลออกซิเดส เช่นเดียวกับเอนไซม์ฟีโนลออกซิเดส รวมทั้งคุณสมบัติในการป้องกันการเจริญเติบโตของพวกแบคทีเรียและเชื้อรา (Smith and Chisholm, 1992; Bachère *et al.*, 1995)

ระบบโปรฟีโนลออกซิเดสแอคติเวตติ้งซิสเต็มเป็นกระบวนการที่สำคัญในการทำลายสิ่งแปลกปลอมและควบคุมการกระจายของเชื้อโรคภายในตัวกุ้ง เมื่อเกิดกระบวนการ degranulation ซึ่งส่งผลให้เกิดการหลั่งสารพวก proenzyme และ substrates ได้แก่ เอนไซม์ prophenoloxidase ซึ่งเป็นสารที่ยังอยู่ในรูปที่ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้ (inactive) จะต้องถูกกระตุ้นด้วยสารที่เรียกว่า serine proteinase (SP) หรือเรียกว่า prophenoloxidase activating factor/enzyme (PPAFs) (Söderhäll and Cerenius, 1998) และมีการทำงานร่วมกับแคลเซียมไอออน ส่งผลให้เอนไซม์ prophenoloxidase สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้ (active) โดยเปลี่ยนเป็นสารที่เรียกว่า เอนไซม์ phenoloxidase (PO) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยเอนไซม์ phenoloxidase สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารฟีโนลให้เปลี่ยนเป็นสารควิโนนและเกิดกระบวนการ polymerization ของสารควิโนน เกิดเป็นสาร melanin มีอีกชื่อเรียกว่า melanin formation หรือ melanization ดังสมการ



โดยเอนไซม์ prophenoloxidase อยู่ในแกรนูลในไซโทพลาซึมของเม็ดเลือดถึง 90 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงในซีรัมของกุ้ง (Perazzolo and Barracco, 1997) และมีการแพร่กระจายอยู่ในเนื้อเยื่อหลายส่วนของตัวกุ้ง จากการศึกษาของ Söderhäll and Smith (1983) ได้ทำการแยกเซลล์เม็ดเลือดของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนหลายชนิดโดยใช้สารละลาย percoll 60 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเซลล์เม็ดเลือดชนิด granular cell มีค่าเอนไซม์ prophenoloxidase สูงถึง $1,249.51 \pm 313.36$ หน่วยต่ออนาที่

ต่อมิลลิกรัมโปรตีน ส่วนใน hyaline cell มีค่าเอนไซม์ prophenoloxidase ก่อนข้างต่ำ คือ 198.95 ± 78.75 หน่วยต่อนาที่ต่อมิลลิกรัมโปรตีน

ทวิศักดิ์ (2547) รายงานว่าค่าเอนไซม์ prophenoloxidase ในกึ่งกลาดำมีการเพิ่มขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้นของกึ่ง โดยกึ่งกลาดำอายุ 1-4 เดือน พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 14.22 – 36.44 หน่วยต่อนาที่ต่อมิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งจากการทดลองพบว่ากึ่งกลาดำอายุ 4 เดือน มีปริมาณเอนไซม์ prophenoloxidase สูงที่สุด

3) สารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (bactericidin)

ชัยชาญ (2545) รายงานว่าสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียถูกชักนำให้มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อได้รับสารกระตุ้น พบได้ในส่วนของซีรัมและส่วนใสของเซลล์เม็ดเลือดที่แตก มีความจำเพาะต่อเชื้อบางชนิดและไม่ทนต่อความร้อน

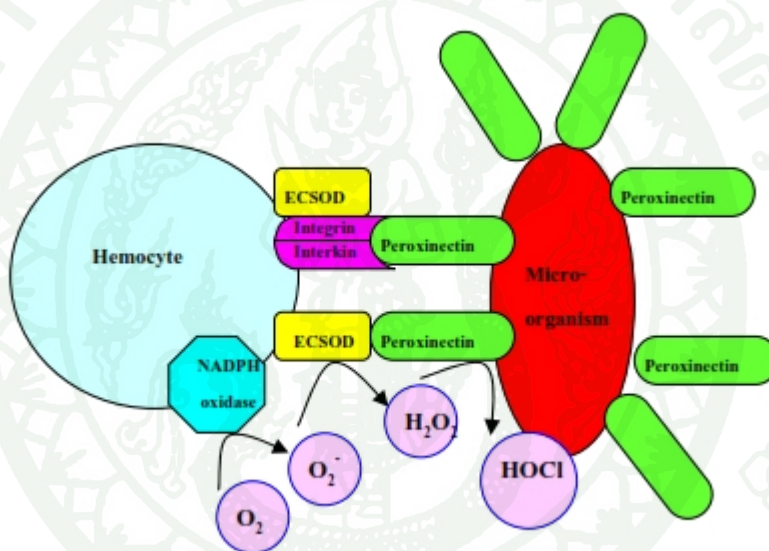
4) แอ็กกลูตินิน (agglutinin)

พบในน้ำเลือดของครัสเตเชียน agglutinin เป็นสารที่ก่อให้เกิดการจับตัวของสิ่งแปลกปลอม นอกจากนี้แล้วยังมีหน้าที่เป็น opsonin กระตุ้นกระบวนการ phagocytosis ของเซลล์ด้วย (Vargas-Albores, 1995)

5) การหลั่งสารโปรตีนพวก peroxinectin

เป็นสารที่คล้ายไซโตไคน์ (cytokine-like factors) ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ทำหน้าที่ช่วยในการประสานงาน (พชรวดี, 2549) ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยสาร peroxinectin เป็นสารโปรตีนมีขนาดโมเลกุลประมาณ 89.1 kDa (Liu *et al.*, 2004) จะทำหน้าที่เป็นสาร opsonin เคลือบบนผนังเซลล์ของเชื้อก่อโรคที่อยู่ในกระแสเลือด โดยจะกระตุ้นให้เซลล์เม็ดเลือดเคลื่อนที่เข้าและเกิดกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือด nodule formation และ encapsulation โดยช่วยในการยึดติดระหว่างเซลล์เม็ดเลือดกับเชื้อก่อโรคและช่วยให้เซลล์เม็ดเลือดเกิดกระบวนการ degranulation มากขึ้น ส่งผลให้เอนไซม์และสารโปรตีนต่าง ๆ ภายในแกรนูโลกปล่อยออกมามากขึ้น โดยเฉพาะเอนไซม์ในกระบวนการ prophenoloxidase activating system

บนผนังเซลล์ของเม็ดเลือดกุ้งมีส่วนรองรับ (receptor) แบบจำเพาะกับสาร peroxinectin ที่เรียกว่า integrin, interkin และ extracellular superoxide dismutase (ECSOD) ทำหน้าที่เป็นส่วนรองรับของเซลล์เม็ดเลือดชนิด hyaline cell ทำให้เกิดกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมและมีการหลั่งเอนไซม์ NADPH oxidase ออกสู่ผิวเซลล์เม็ดเลือด มีการใช้ออกซิเจนสูงมากภายนอกเซลล์ ได้ผลผลิตเป็น reactive oxygen intermediates (ROI) ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ superoxide anion, hydrogen peroxide และ hypochlorous acid (HOCl) ที่มีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อโรค โดยเฉพาะ hypochlorous acid ซึ่งมีสภาพเป็นกรดรุนแรง ส่งผลให้ผนังเซลล์เชื้อแบคทีเรียแตกออกได้ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การทำงานของสารโปรตีนพวก peroxinectin

ที่มา : ชยพร (2552)

6) การหลั่งสารโปรตีน (protein released)

เป็นสารโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการต่อต้านแบคทีเรียที่เรียกว่าแอนติไมโครบียัลเพปไทด์ (antimicrobial peptide) มีการหลั่งสารอย่างรวดเร็วเมื่อเกิดกระบวนการ degranulation ของเซลล์เม็ดเลือดและมีการตอบสนองอย่างรวดเร็วต่อแบคทีเรีย โดยมีขนาดโมเลกุลโปรตีนประมาณ 6.5 kDa สารโปรตีนบางชนิดที่หลั่งออกมานั้นมีความจำเพาะต่อเชื้อแบคทีเรียบางชนิดมาก เช่น

□ – 2 macroglobulin (□-2M) ทำหน้าที่ในการยับยั้งหรือทำให้พิษจากเชื้อก่อโรคเป็นกลาง (neutralization) รวมทั้งยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ proteinase (เอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีน) ของเชื้อก่อโรคและทำหน้าที่ในการควบคุมการสร้าง proteinase ในกระบวนการ prophenoloxidase activating system อีกด้วย (Aspan *et al.*, 1990)

lysosome C type ทำหน้าที่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยทำลายระบบ osmoregulation ของผนังเซลล์แบคทีเรีย ส่งผลให้ผนังเซลล์แบคทีเรียถูกทำลาย

penedin เป็นสารโปรตีนที่มีประจุบวก (cationic antibacterial peptide) ทำหน้าที่เข้าไปเคลือบบนผนังเซลล์เชื้อก่อโรค ส่งผลให้ประจุจากเชื้อก่อโรคมีสถานะเป็นกลางและหมดความสามารถในการก่อโรค (Destoumieux *et al.*, 1997)

crustin ทำหน้าที่เข้าไปเคลือบบนผนังเซลล์ทำให้เกิดการจับกันเป็น nodule เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย (Cuthbertson *et al.*, 2002)

สารโปรตีนพวก protein released สามารถพบได้ทั้งส่วนของน้ำ ซีรัมและในสารละลายเม็ดเลือดที่แตก (hemocyte lysate supernatant)

8. ปัจจัยที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้ง

สภาพแวดล้อมในการเลี้ยงกุ้งที่ไม่เหมาะสมเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลให้กุ้งเกิดความเครียด ส่งผลให้การตอบสนองทางด้านภูมิคุ้มกันของกุ้งลดลง กุ้งเกิดสภาวะการติดเชื้ออย่างรุนแรง โดยคุณภาพน้ำที่สำคัญที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไม ได้แก่

1) ความเป็นกรดเป็นด่างหรือพีเอชของน้ำ ถ้าการเปลี่ยนแปลงมากในรอบวันหรือมีค่าต่ำหรือสูงเกินไปจะส่งผลให้ความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเล็ดลอดลง แต่จะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดเลือดรวมและความว่องไวของเอนไซม์ phenoloxidase (กิจการและคณะ, 2543)

2) ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ ในสภาวะที่ออกซิเจนที่ละลายน้ำต่ำจะมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งและพฤติกรรมการดำรงชีวิตโดยกุ้งจะเคลื่อนที่ช้าลงเพื่อลดกิจกรรมการใช้ออกซิเจนในร่างกายและจะว่ายน้ำสู่วิวน้ำเพื่อรับออกซิเจน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำต่ำส่งผลให้ปริมาณเม็ดเลือดรวม ความว่องไวของเอนไซม์ phenoloxidase ค่าความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเล็ดลอดและความสามารถของเม็ดเลือดในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมลดลงซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Seidman and Lawrence (1986) พบว่าที่ระดับออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรส่งผลให้กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วยและกุ้งขาวแวนนาไมมีอัตราการเจริญเติบโตและน้ำหนักตัวลดลง

3) ผลของอุณหภูมิต่อระบบภูมิคุ้มกัน พบว่าในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียส) มีผลให้ปริมาณเม็ดเลือดรวม ความว่องไวของเอนไซม์ phenoloxidase และค่าความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเล็ดลอดต่ำกว่ากุ้งที่เลี้ยงในสภาวะที่อุณหภูมิสูง (30 องศาเซลเซียส) จากการศึกษาของ Yu (1993) เมื่ออุณหภูมิต่ำลงและมีการเลี้ยงกุ้งในอัตราความหนาแน่นที่สูงส่งผลให้ค่าเฉลี่ยของเม็ดเลือดรวมลดลงซึ่งทำให้อัตราการหายใจและน้ำหนักตัวลดลง โดยกุ้งที่เลี้ยงในตู้ทดลองที่มีอุณหภูมิค่อนข้างต่ำและมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในรอบวันมากส่งผลให้กุ้งเกิดความเครียดและมีผลต่อโปรตีนในซีรัมได้ในที่สุด

4) ความเค็มมีผลต่อกุ้งขาวแวนนาไม เนื่องจากความเค็มน้ำที่เปลี่ยนแปลงไปส่งผลต่อความเข้มข้นของแร่ธาตุในน้ำ ในน้ำที่มีความเค็ม 25 พีพีที มีค่า osmolality ใกล้เคียงกับในตัวกุ้ง โดยกุ้งขาวแวนนาไมมีค่า isosmotic point (IOP) เท่ากับน้ำเค็ม 24.7 พีพีที จึงทำให้กุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็ม 25 พีพีทีไม่ต้องมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ส่งผลให้พลังงานและสารอาหารที่ได้รับนำไปใช้ในการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ซึ่งแตกต่างจากกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำหรือสูงเกินไป กุ้งต้องนำพลังงานที่ได้มาใช้ในการปรับตัวเป็นส่วนใหญ่ส่งผลให้เหลือพลังงานที่ใช้ในการเจริญเติบโตมีน้อยลง

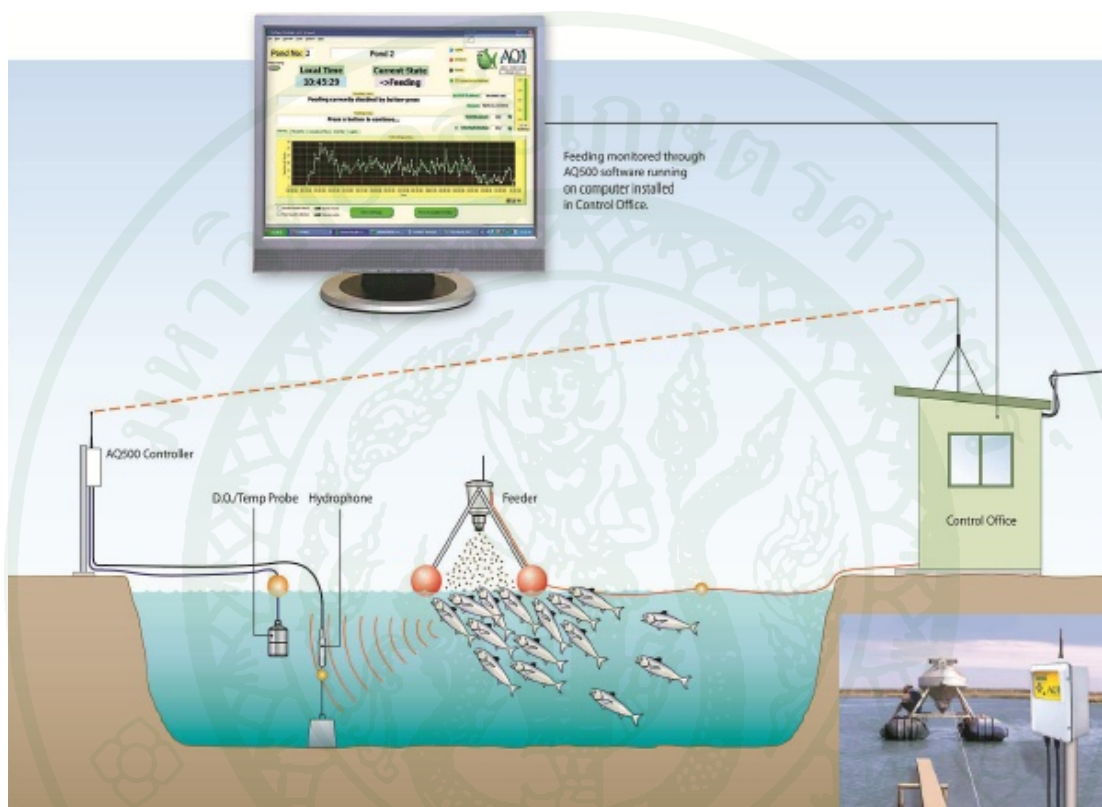
9. เครื่องให้อาหารอัตโนมัติในสัตว์น้ำ

ปัจจัยหลักในการพิจารณาพฤติกรรมการกินอาหาร คือ อัตราการให้อาหารต่อวัน จำนวนมื้ออาหารต่อวัน และระยะห่างระหว่างการให้อาหารในแต่ละมื้อ (Talbot, 1993) ซึ่งทุกปัจจัยมีผลต่อการประเมินอัตราการให้อาหาร มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และขนาดของสัตว์น้ำ (Grayton and Beamish, 1977; Chua and Teng, 1978; Noeske-Hallin *et al.*, 1985; Boujard and Leatherland, 1992; Boujard *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 1998; Azzaydi *et al.*, 1999) การให้อาหารที่เข้มงวดมีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันในเรื่องของการเจริญเติบโตต่ำและส่งเสริมให้เกิดการแข่งขันกินอาหาร (McCarthy *et al.*, 1992) หรือป้องกันในเรื่องปริมาณอาหารที่ให้มากเกินไปจนไปเพิ่มปริมาณของเสียในการเลี้ยง (Thorpe and Cho, 1995) และเพิ่มอัตราการแลกเนื้อ (Talbot *et al.*, 1999) นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลา ปริมาณ และวิธีการที่เลือกใช้ในการให้อาหารปลา มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมของฝูงปลา (Grant 1990; Adams *et al.*, 1998) และเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการกินตามธรรมชาติของปลาซึ่งการควบคุมการให้อาหาร ส่งเสริมให้ปลาเกิดความเครียดและอ่อนแอ (Wedemeyer, 1997) และเพิ่มการแข่งขันของปลา (Kadri *et al.*, 1997)

เครื่องให้อาหารอัตโนมัติโดยระบบการตรวจจับเสียง

การเลี้ยงสัตว์น้ำที่ผ่านมาพบว่าเป็นการยากที่จะตรวจสอบว่ารูปแบบการให้อาหารที่เหมาะสมและพฤติกรรมการกินของปลาที่เลี้ยงในเชิงพาณิชย์ว่าเป็นอย่างไร แต่ผลที่ได้สามารถที่จะนำไปใช้เพื่อนำไปปรับปรุงใช้กับการเลี้ยงเชิงพาณิชย์ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นได้ มีระบบตรวจสอบการกินอาหารของปลาในการเลี้ยงปลาแซลมอน (*Salmo salar*) (Blyth *et al.*, 1993, 1997) และนอกจากนี้ระบบยังมีการปรับปรุงและพัฒนาเพื่อใช้กับปลาชนิดอื่นๆ (Blyth *et al.*, 1997; Kadri *et al.*, 1998) โดยในปัจจุบันมีเครื่องให้อาหารอัตโนมัติและเก็บอาหารเหลืออัตโนมัติหลายระบบ เช่น ระบบใช้กล้องวิดีโอ ระบบอากาศเก็บอาหารเหลือ ระบบการเพิ่มจำนวนเม็ดอาหาร และระบบโซนาร์ ระบบต่างๆเหล่านี้ได้ถูกพัฒนามาใช้ในการให้อาหารปลา ซึ่งจะทำให้เกษตรกรสามารถควบคุมปริมาณอาหารที่ให้ปลาได้เพียงพอและไม่เหลือเป็นของเสียในบ่อมากเกินไป (Blyth *et al.*, 1993; Juell *et al.*, 1993; Ang and Petrell 1997) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาระบบควบคุมการให้อาหารปลาด้วยการใช้เสียงการกินอาหารของปลา (Sound feeding system; SF 500) โดยใช้เครื่องมือตรวจจับเสียงการกินอาหารของปลาที่เรียกว่า Hydrophone โดยจะมีการควบคุมปริมาณอาหารที่ปล่อยออกจากเครื่องให้อาหารด้วยความดังของเสียงการกินของปลา (ภาพที่ 3) ซึ่งได้มีการนำมา

ให้กับการเลี้ยงปลาทูน่า (Blue fin tuna) และปลา rainbow trout ที่เลี้ยงในกระชังในทะเล นอกจากนี้
ในปัจจุบันได้มีการทดลองดัดแปลงมาใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (Sound feeding system; SF200)
เลี้ยงได้กุ้งกุลาดำมีขนาดเฉลี่ย 39.7 กรัม และมีอัตราการแลกเนื้อ 1.42 (AQ1System, 2012)



ภาพที่ 3 เครื่องให้อาหารปลาด้วยระบบการใช้เสียง (SF-500)

ที่มา: AQ 1 System (2010)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ปัจจัยของอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

การทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม

1.1 การศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อพฤติกรรมการกินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม

1.1.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำกุ้งขาวแวนนาไมขนาดเฉลี่ย 5-7 กรัม จากฟาร์มเลี้ยงเอกชนมาปรับสภาพก่อนเริ่มการทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน โดยนำมาเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1 ลูกบาศก์เมตร ในน้ำความเค็ม 25 พีพีที เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปโดยให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน ในเวลา 08.00 น. 12.00 น. และ 16.00 น. มีเครื่องให้อากาศอย่างเพียงพอ มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนเพื่อควบคุมคุณสมบัติของน้ำให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม

1.1.2 การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองในตู้ทดลองขนาด 40x70x40 เซนติเมตร ซึ่งบรรจุน้ำที่มีความเค็ม 25 พีพีที ปริมาตร 50 ลิตร จำนวน 12 ตู้ ตู้ละ 15 ตัวและเปิดเครื่องให้อากาศตลอดเวลา โดยให้หัวทรายอยู่บริเวณมุมตู้ข้างใดข้างหนึ่งเพื่อจะไม่รบกวนการฟุ้งกระจายของอาหารที่จะให้ในแต่ละมือ แบ่งเป็นชุดการทดลองได้ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ควบคุมอุณหภูมิของน้ำให้อยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียส สังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้ และ ศึกษากระบวนการภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้

ชุดการทดลองที่ 2 ควบคุมอุณหภูมิของน้ำให้อยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียส ใน วันแรก ส่วนวันที่ 2 ปรับลดอุณหภูมิเป็น 24 ± 1 องศาเซลเซียสโดยใช้น้ำแข็งที่บรรจุใน ถังพลาสติกและวันที่ 3 ปรับเพิ่มอุณหภูมิให้อยู่ที่อุณหภูมิปกติ คือ 29 ± 1 องศาเซลเซียส สังเกต พฤติกรรมการกินอาหารของกิ้งทุกวัน จำนวน 3 ตัว และ ศึกษาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง ของกิ้งขาวเวนนาไม่ จำนวน 3 ตัว

1.1.3 การให้อาหาร

หลังจากปรับสภาพกิ้งเสร็จแล้วจึงเริ่มทำการทดลอง โดยดูดตะกอนและสิ่ง ข้นถ่ายทั้งหมดออกจากตู้ เพื่อป้องกันกิ้งกินตะกอนและสิ่งข้นถ่ายของกิ้งเอง ในเวลา 18.00 น. จด ให้อาหารกิ้ง จนกระทั่งในวันถัดไปจึงเริ่มให้อาหารมื้อแรก โดยปริมาณอาหารที่ให้ใช้ตามวิธีของ ชลอ และ พรเลิศ (2547) โดยกิ้งขาวเวนนาไม่ขนาดน้ำหนัก 5 ± 1 กรัม ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป 5.3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน โดยแบ่งเป็นวันละ 3 มื้อ มื้อละ 1.77 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว มี การดูดตะกอนและสิ่งข้นถ่ายของกิ้งอีกครั้งหนึ่ง ก่อนการให้อาหารมื้อถัดไป โดยพยายามไม่ให้ ระบายกิ้ง ดังนั้นก่อนการให้อาหารมื้อแรกกิ้งทุกชุดการทดลองไม่มีอาหารอยู่ในทางเดินอาหารเลย จึงเริ่มให้อาหาร อาหารมื้อแรกของการทดลองที่เวลา 8.00 น. และมื้อที่สองเวลา 12.00 น. และมื้อ สดท้ายเวลา 16.00 น. โดยทุกครั้งก่อนการให้อาหารทุกมื้อจะดูดตะกอนและสิ่งข้นถ่ายออก ทำการ ทดลองเป็นเวลา 3 วัน เพื่อสังเกตและจดบันทึกพฤติกรรมการกินอาหาร ระยะเวลาการกินอาหาร ระยะเวลาเคลื่อนที่ของอาหารในลำไส้ ระยะเวลาในการข้นถ่ายของเสีย และปริมาณอาหารที่เหลือ จากการให้อาหารเป็นเวลา 2 ชั่วโมงของกิ้งแต่ละชุดการทดลอง

1.1.4 การศึกษาภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกิ้งขาวเวนนาไม่

สุ่มกิ้งตัวละ 6 ตัว โดยคัดเลือกจากบริเวณขาเดินคู่ที่ 3 ของกิ้ง ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 25 G ซึ่งภายในบรรจุสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) นำเลือดที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณของเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของกระบวนการกลืนกินสิ่ง แปรกลปลอมของเม็ดเลือดกิ้ง (phagocytic activity) กิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือด ตาม วิธีดังนี้

1.1.4.1 การตรวจนับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้ง

- คูดเลือดจากบริเวณขาเดินคู่ที่ 3 ของกุ้งปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร โดยในหลอดชนิดขบารุสสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด 1 มิลลิลิตร อัตราส่วนคือ 1:2 ใส่ลงในน้ำแข็งเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการแข็งตัวของเลือดช้าลง

- ใช้ micropipette คูดสารละลายเลือดกุ้งจำนวน 20 ไมโครลิตร แล้วนับจำนวนเซลล์โดยใช้ hemacytometer (ภาพที่ 4)

- คำนวณปริมาณเม็ดเลือดเป็นจำนวนเซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร โดยหาค่าได้จาก

ปริมาตรของ hemacytometer = กว้าง x ยาว x สูง

= 0.2 มิลลิเมตร x 0.2 มิลลิเมตร x 0.1 มิลลิเมตร

= 0.02 เซนติเมตร x 0.02 เซนติเมตร x 0.01 เซนติเมตร

= 0.000004 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ 0.000004 มิลลิลิตร

= 4×10^{-6} มิลลิลิตร

จำนวนเซลล์เม็ดเลือดต่อมิลลิเมตร = เซลล์เม็ดเลือดที่นับได้ $\times 4 \times 10^6$ $\times$ ค่า dilution ของน้ำเลือด



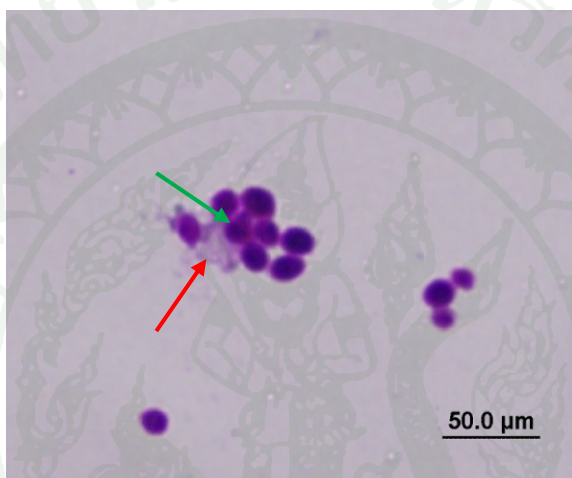
ภาพที่ 4 Hemacytometer นับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดกุ้ง

1.1.4.2 กิจกรรมของกระบวนการกลั่นกรองสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดกึ่งตามวิธีของ Itami *et al.* (1994) โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้

- เจาะเลือดจากแอ่งเลือด โดยใช้สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ในอัตราส่วน (เลือดกึ่ง : สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด) 1: 2 โดยดูดเลือดกึ่ง 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดฉีดยาที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด 1 มิลลิลิตร
- หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อแยกเซลล์เม็ดเลือดกึ่ง โดยนำส่วนใสด้านบนทิ้ง ทำการล้างตะกอนเม็ดเลือดโดยเติม shrimp saline 2-3 มิลลิลิตร โดยใช้ปิเปตดูดขึ้นลงเบา ๆ เพื่อให้สารละลายเข้ากัน
- หมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง
- ละลายตะกอนเม็ดเลือดใน shrimp saline 1 มิลลิลิตร และใช้ปิเปตดูดขึ้นลงเบา ๆ เพื่อให้สารละลายเข้ากัน
- นำสารละลายที่ได้ผสมกับ trypan blue ในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้ trypan blue 50 ไมโครลิตร และสารละลายเม็ดเลือด 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำมา 50 ไมโครลิตร นับจำนวนเม็ดเลือดกึ่งใน hemacytometer แล้วนำมาคำนวณให้ได้เซลล์ประมาณ 1×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร
- นำสารละลายเซลล์เม็ดเลือดปริมาตร 200 ไมโครลิตรเลี้ยงบน cover glass โดย spread ทิ้งไว้ 20 นาที
- ล้างด้วย shrimp saline 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที
- หยอดสารละลาย heat-killed yeast 2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- ล้างด้วย shrimp saline 5 ครั้ง
- หยอดน้ำยา fixative 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที
- ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง
- ทิ้งไว้ให้แห้ง 20-60 นาที
- ย้อมด้วยสี Giemsa stain 5 นาที
- ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง
- ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งข้ามคืน
- ทำสไลด์ถาวรโดยใช้น้ำยา permount

นำไปวิเคราะห์ข้อมูลโดยการนับจำนวนเซลล์ โดยสุ่มนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด 200 เซลล์ในแต่ละ cover glass นับเซลล์เม็ดเลือดที่กินเซลล์ยีสต์และไม่กินเซลล์ยีสต์เข้าไป (ภาพที่ 5) คำนวณค่าได้จาก

เปอร์เซ็นต์ของเซลล์เม็ดเลือดกึ่งที่เกิดกระบวนการ = $\frac{\text{จ.น.เซลล์เม็ดเลือดที่กินเซลล์ยีสต์เข้าไป}}{\text{จ.น. เซลล์เม็ดเลือดทั้งหมด}} \times 100$
การกลืนกินสิ่งแปลกปลอม (% phagocytosis)



ภาพที่ 5 กระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม บริเวณที่ถูกครีส์แดงชี้ คือ เซลล์เม็ดเลือดของกุ้งขาว แวนนาไมที่เกิดกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม และบริเวณที่ถูกครีส์เขียวชี้ คือ เซลล์ยีสต์ (bar = 50 μm)

1.1.4.3 กิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้งตามวิธีของกิจการและคณะ (2543 ข)

- เตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* บริสุทธิ์ โดยนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมงบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง
- เตรียมสารละลายเชื้อ *V. harveyi* โดยนำเชื้อที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB เป็นเวลา 24 ชั่วโมงมาปั่นล้างด้วยน้ำเกลือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเทส่วนใสทิ้งแล้วนำตะกอนที่ได้มาละลายในน้ำเกลือที่ปลอดเชื้อที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยเตรียมน้ำเกลือ

ประมาณ 10 มิลลิลิตร (หรือมากพอที่จะใช้ในการทดลองนั้น ๆ) จากนั้นนำสารละลายเชื้อที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร ให้ได้ค่า OD ประมาณ 0.08-0.1 บันทึกค่า OD ที่เลือกใช้

- เจาะเลือดจากแองเกล็ด โดยใช้สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ในอัตราส่วน 1:1 ดูดเลือดกึ่ง 1 มิลลิลิตร ในหลอดฉีดยาที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดปริมาณ 1 มิลลิลิตร

- นำมาแยกซีรัมออกจากเม็ดเลือดกึ่ง โดยหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 1,000 rpm นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสด้านบนมาใช้

- นำซีรัมมาเจือจางโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวเจือจางในระดับ 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 และ 1:32 โดยปรับปริมาตรในการเจือจางให้ได้หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร

- นำสารละลายเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ในข้อ 2 มาเติมในหลอดทดลองที่เจือจางซีรัมในแต่ละความเข้มข้นไว้แล้ว เติมสารละลายเชื้อแบคทีเรียปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรและบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

- นำส่วนผสมแต่ละหลอดมานับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ทำการเจือจางส่วนผสมแต่ละหลอด โดยใช้น้ำเกลือปลอดเชื้อที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ ใช้วิธี spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile salts Sucrose agar (TCBS agar) จดบันทึกค่าของการเจือจางซีรัมที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 3 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2.6 เปอร์เซ็นต์ 0.5 มิลลิลิตร รวมกับสารละลายแบคทีเรีย 0.1 มิลลิลิตร

1.1.5 การควบคุมคุณสมบัติของน้ำ

ระหว่างทำการทดลองมีการควบคุมคุณสมบัติของน้ำให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกึ่ง ได้แก่ ความเค็มเท่ากับ 25 พีพีที ความเป็นกรดเป็นด่างหรือพีเอชอยู่ระหว่าง 7.5-8.0 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ มากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นด่างอยู่ระหว่าง 100-150 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนียมีค่าน้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรและไนโตรที่มีค่าน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.1.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในด้านพฤติกรรมการกินอาหาร วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (Oneway-ANOVA) และการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละชุดการทดลองโดยวิเคราะห์ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม กิจกรรมของกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดกึ่ง และกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกึ่ง โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลอง โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

1.2 การศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของกิ้งขาววนนาไม้และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงที่ระดับออกซิเจนต่างกันที่อุณหภูมิปกติ

1.2.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 1.1.1

1.2.2 การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองในตู้ทดลองจำนวน 18 ตู้ ตู้ละ 15 ตัว แบ่งเป็นชุดการทดลองได้ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ควบคุมระดับออกซิเจนให้มากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกิ้งขาววนนาไม้ จำนวน 3 ตู้ และ ศึกษา ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกิ้งขาววนนาไม้ จำนวน 3 ตู้

ชุดการทดลองที่ 2 ควบคุมระดับออกซิเจนให้อยู่ในช่วง 2-3 มิลลิกรัมต่อลิตร สังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกิ้งขาววนนาไม้ จำนวน 3 ตู้ และ ศึกษา ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกิ้งขาววนนาไม้ จำนวน 3 ตู้

ชุดการทดลองที่ 3 คือ ตู้ที่ควบคุมระดับออกซิเจนให้น้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้ และ ศึกษาระบบภูมิคุ้มกันแบบ ไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้

1.2.3 การให้อาหาร

ให้เช่นเดียวกับข้อ 1.1.3

1.2.4 การศึกษาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.1.4

1.2.5 การควบคุมคุณสมบัติของน้ำ

ควบคุมเช่นเดียวกับข้อ 1.1.5

1.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในด้านพฤติกรรมการกินอาหาร วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (Oneway-ANOVA) และการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลระหว่างชุดการทดลองโดยวิเคราะห์ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม กิจกรรมของกระบวนกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดกุ้ง และกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลอง โดยใช้วิธี Paired-Samples T-Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

1.3 การศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมและระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงที่ระดับออกซิเจนต่างกันร่วมกับอุณหภูมิต่ำ

1.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 1.1.1

1.3.2 การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองในตู้ทดลองจำนวน 18 ตู้ ตู้ละ 15 ตัว แบ่งเป็นชุดการทดลองได้ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ควบคุมระดับออกซิเจนให้มากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 24 ± 1 องศาเซลเซียส สังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้ และ ศึกษาาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้

ชุดการทดลองที่ 2 ควบคุมระดับออกซิเจนให้อยู่ในช่วง 2-3 มิลลิกรัมต่อลิตร และควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 24 ± 1 องศาเซลเซียส สังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้ และ ศึกษาาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้

ชุดการทดลองที่ 3 ควบคุมระดับออกซิเจนให้น้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 24 ± 1 องศาเซลเซียส สังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้ และ ศึกษาาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม จำนวน 3 ตู้

1.3.3 การให้อาหาร

ให้เช่นเดียวกับข้อ 2.1.3

1.3.4 การศึกษาาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

ทำเช่นเดียวกับข้อ 2.1.4

1.3.5 การควบคุมคุณสมบัติของน้ำ

ควบคุมเช่นเดียวกับข้อ 1.1.5

1.3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในด้านพฤติกรรมการกินอาหาร วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (Oneway-ANOVA) และการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลระหว่างชุดการทดลองโดยวิเคราะห์ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม กิจกรรมของกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดกึ่ง และกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกึ่ง โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลอง โดยใช้วิธี Paired-Samples T-Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

2. ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการให้อาหารกึ่งขาวแวนนาไมระหว่างการให้อาหารโดยใช้แรงคน ใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และเครื่องให้อาหารแบบอัตโนมัติที่ควบคุมการให้อาหารโดยตรวจจับเสียงการกินอาหารของกึ่ง

เป็นการนำข้อมูลพฤติกรรมการกินอาหารกึ่งในห้องปฏิบัติการจากการทดลองที่ 1 มาประยุกต์ในฟาร์มเลี้ยงกึ่ง ทำการศึกษาในฟาร์มเลี้ยงกึ่งเอกชน อำเภอท่าฉาง จังหวัดสุราษฎร์ธานี ประกอบด้วยบ่อเลี้ยงกึ่งจำนวน 9 บ่อ แต่ละบ่อมีพื้นที่ 6 ไร่ มีความลึกเฉลี่ย 1.40 เมตร (ภาพที่ 6) และปูพื้นบ่อทั้งหมดด้วยโพลีเอททิลีน ระยะเวลาในการเลี้ยง 90 วัน โดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 บ่อ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ให้อาหารด้วยการหว่าน

การให้อาหารจะใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับกึ่งขาวแวนนาไมที่มีปริมาณโปรตีน 38 เปอร์เซ็นต์ ให้อาหารวันละ 4 มื้อ เวลา 7.00, 11.00, 15.00 และ 19.00 นาฬิกา โดยนำอาหารลงเรือและหว่านลงในบ่อเลี้ยงบริเวณแนวหว่านอาหารซึ่งมีระยะห่างจากขอบบ่อประมาณ 1-2 เมตร คนที่

ให้อาหารจะพายเรือหว่านอาหารไปรอบ ๆ จากนั้นนำอาหารใส่ช่อ 4 ช่อสำหรับตรวจสอบและประเมินการกินอาหารของกุ้งเพื่อปรับอาหารเพิ่มหรือลดในมื้อต่อไป ตามวิธีการให้อาหารของชลอและพรเลิศ (2547)

ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาหารด้วยเครื่องอัตโนมัติแบบตั้งเวลา

การให้อาหารจะใช้เครื่องให้อาหารที่มีลักษณะเป็นถังทรงกระบอกขนาด 150 กิโลกรัม ที่ใช้กระแสไฟฟ้า 210 VAC, 3 เฟส จากบริษัทอินเทลฟิลด์ 2 เครื่อง วางในตำแหน่งแนวเดียวกัน โดยมีระยะห่างกันมากกว่าระยะที่อาหารถูกหว่านออกมา อาหารจะมีการหว่านออกมาจากเครื่องตั้งแต่วันที่ 7.00 ถึง 19.00 นาฬิกา มีการตรวจสอบปริมาณอาหารด้วยช่อทุก 2 ชั่วโมง สำหรับการตั้งเวลาในการให้อาหารจะตามการกินอาหารของกุ้งที่ประเมินได้จากการตรวจสอบช่อ ซึ่งใช้ช่อ 2 ช่อ แขนบนสะพานติดตั้งเครื่องหว่านอาหาร โดยช่อแรกวางห่างจากเครื่องให้อาหารประมาณ 1.5 เมตร ส่วนช่อที่สอง ห่างจากเครื่องให้อาหารประมาณ 5-6 เมตร สำหรับเกณฑ์ในการปรับอาหารมีดังนี้คือ ทุกครั้งที่ยกช่อเพื่อตรวจสอบการกินอาหารต้องไม่พบอาหารเหลือในช่อทั้งสองช่อจึงจะเพิ่มปริมาณอาหารครั้งละ 5 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าพบอาหารเหลือในช่อใดช่อหนึ่งจะปรับลดอาหารลงทันที 5 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 ให้อาหารด้วยเครื่องอัตโนมัติโดยใช้การตรวจจับเสียงการกินของกุ้ง

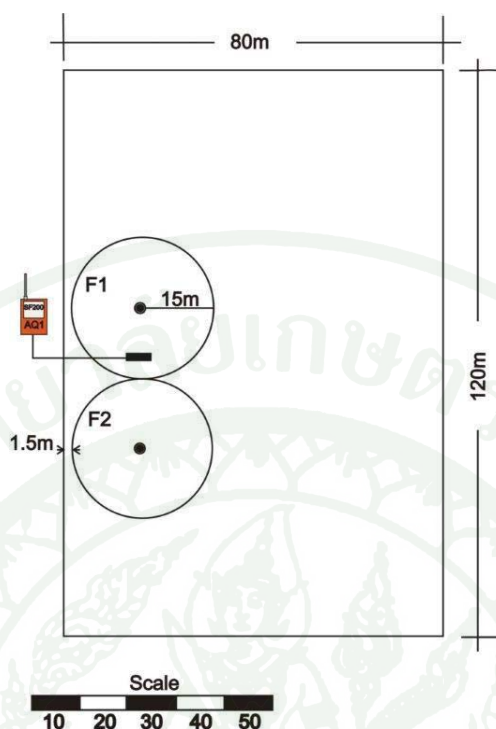
ให้อาหารกุ้งโดยติดตั้งเครื่อง AQ1 เพื่อควบคุมปริมาณอาหารและเวลาที่ปล่อยอาหารออกมาจากเครื่องให้อาหารอัตโนมัติซึ่งขึ้นกับเสียงจากการกินอาหารของกุ้ง โดยใช้อุปกรณ์ hydrophone เป็นตัวรับเสียงดังกล่าว ในแต่ละบ่อจะมี hydrophone 1 ตัว เพื่อควบคุมการทำงานของเครื่องให้อาหาร 2 เครื่อง hydrophone วางอยู่ในตำแหน่งห่างจากตัวเครื่องให้อาหารที่อยู่ในตำแหน่งดีที่สุดภายในบ่อประมาณ 5 เมตร (ภาพที่ 7) ราคาต่อที่ติดตั้งต่อบ่อประมาณ 300,000 บาท และ hydrophone จะมีการตรวจเช็ค 1-2 ครั้งตลอดระยะเวลาการเลี้ยง เพื่อตรวจสอบว่าไม่มีสิ่งต่างๆ เกาะหรือห่อหุ้มจนมีผลต่อการทำงาน ข้อมูลทั้งหมดจะประมวลผ่านคอมพิวเตอร์ที่ติดตั้งใกล้กับตัวส่งสัญญาณวิทยุ (radio base station) ที่ติดตั้งบนเสาอากาศสูงประมาณ 15 เมตร ที่รับสัญญาณจากทุกบ่อทดลอง โดยแต่ละบ่อสามารถที่จะควบคุมจากระยะห่างไกลจากบ่อผ่านอินเทอร์เน็ตเข้าสู่ software เพื่อ update ผลการประเมินพารามิเตอร์ต่าง ๆ (ภาพที่ 8) ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำและอุณหภูมิโดยจะมีการบันทึกอย่างต่อเนื่อง (ทุก ๆ 10 - 30 นาที) โดย Oxyguard 420

DO/temperature probe ที่ติดตั้งไว้ในบ่อในชุดการทดลอง มีการทำความสะอาด membrane probe สำหรับวัดออกซิเจนละลายน้ำทุกวันในตอนเช้าเวลา 7 นาฬิกา เพื่อให้แน่ใจได้ว่าการวัดมีความแม่นยำในระหว่างที่ทำการศึกษา ในขณะที่ความแม่นยำของ hydrophone ดีที่สุดคือระยะที่ใกล้กับ probe คือมีรัศมีโดยรอบประมาณ 10 เมตร ซึ่งอาจจะแตกต่างกันบ้างขึ้นอยู่กับระดับเสียงโดยรวมในบ่อ ซึ่งส่วนใหญ่จะมาจากจำนวนและความใกล้เครื่องให้อากาศที่ทำงานอยู่ในขณะนั้น

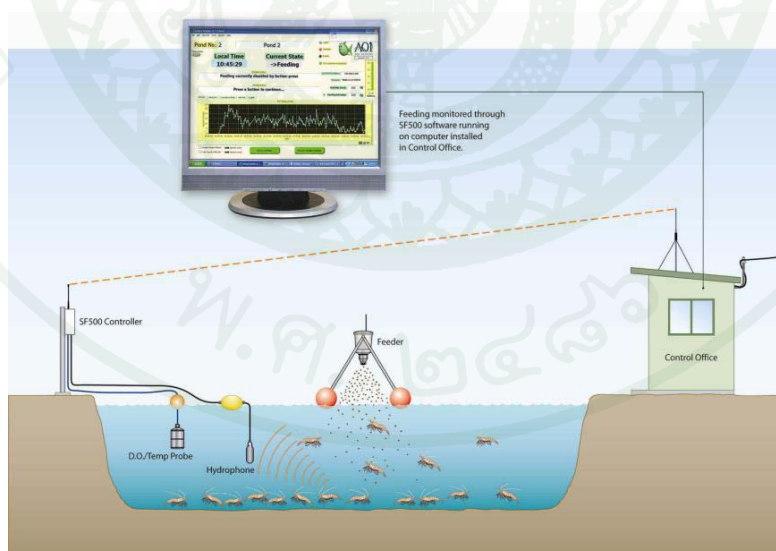


ภาพที่ 6 แผนผังทวีฟาร์ม (TWF7) บ่อชุดทดลองทั้ง 3 กลุ่ม โดยเครื่องหมายสีเหลืองแทนชุดการทดลองที่ 1 (แบบหวาน) สีเขียวแทนชุดการทดลองที่ 2 (ให้อาหารด้วยเครื่องให้อัตโนมัตินแบบตั้งเวลา) และสีแดงแทนชุดการทดลองที่ 3 (ให้อาหารด้วยเครื่องอัตโนมัติโดยใช้การตรวจจับเสียง)

ที่มา: Google (2012)



ภาพที่ 7 hydrophone วางอยู่ระหว่างเครื่องให้อาหารทั้ง 2 เครื่อง



ภาพที่ 8 เครื่องให้อาหารกึ่งด้วยระบบการใช้เสียง (SF-200r)

ที่มา: AQ 1 System (2011)

การเตรียมบ่อ

หลังจากการจับกุ้งในรอบการเลี้ยงที่ผ่านมาแล้ว นำเครื่องให้อากาศที่ใช้ในบ่อเลี้ยงทั้งหมดขึ้นจากบ่อ จากนั้นทำการฉีดเลนหรือดูดเลนเพื่อทำความสะอาด แล้วตากบ่อทิ้งไว้ประมาณ 1 เดือน

การเตรียมน้ำ

สูบน้ำจากคลองสาธารณะที่อยู่ทางด้านข้างของฟาร์มเข้าไปในบ่อพักน้ำ และบ่อเลี้ยงทุกบ่อประมาณ 1.4 เมตร โดยผ่านฝักกรอง 2 ชั้นเพื่อป้องกันลูกปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ เข้าไปในบ่อ หลังจากนั้นฆ่าเชื้อในน้ำโดยเติมสารคลอรีนลงไปบ่อประมาณ 50 กิโลกรัมต่อไร่ และเปิดเครื่องให้อากาศให้คลอรีนละลายและผสมกันทั้งบ่อ หลังจากนั้น 1 สัปดาห์จึงนำลูกกุ้งมาปล่อยลงเลี้ยงในบ่อ

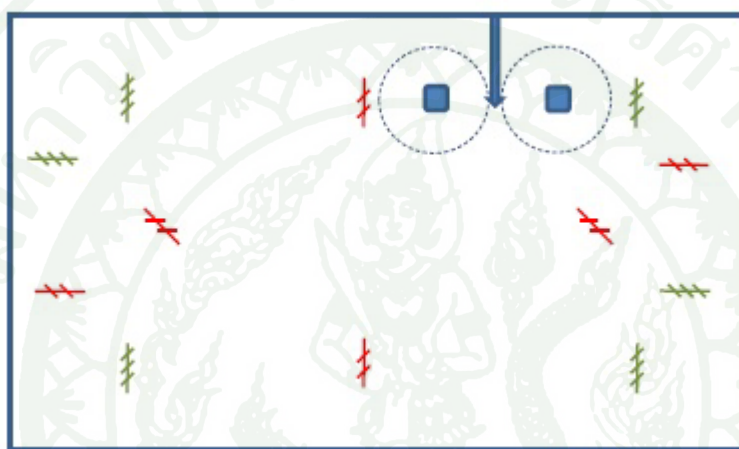
การปล่อยลูกกุ้ง

นำลูกกุ้งขาวแวนนาไมที่ผ่านการตรวจด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction หรือ PCR) แล้วว่าปลอดจากเชื้อไวรัสดวงขาว (white spot syndrome virus; WSSV) โรคทอรา (Taura syndrome virus; TSV) และโรคผิวหนัง (infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus; IHNV) มาปล่อยลงในบ่อเลี้ยง ในอัตราความหนาแน่น 120,000 ตัวต่อไร่ (80 ตัวต่อตารางเมตร)

เครื่องให้อากาศ

บ่อทดลองแต่ละบ่อจะมีเครื่องให้อากาศแขวนยาวจำนวน 12 เครื่อง ขนาดมอเตอร์ 2 แรงม้า ติดตั้งใบพัดตีน้ำ 12 ใบ 6 เครื่อง โดยมีความเร็วของใบพัดตีน้ำ 100 รอบต่อนาที ส่วนอีก 6 เครื่องติดตั้งใบพัดตีน้ำ 18 ใบ โดยมีความเร็วของใบพัดเป็น 70 รอบต่อนาที การเปิดเครื่องให้อากาศแต่ละช่วงเวลาจะขึ้นอยู่กับปริมาณผลผลิตรวมของกุ้งในบ่อและช่วงเวลาในแต่ละวัน เนื่องจากในตอนกลางวันจะมีการผลิตออกซิเจนละลายน้ำจากการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชโดยเฉพาะในระยะแรกที่เพิ่งปล่อยลูกกุ้ง การเปิดเครื่องให้อากาศเพียง 2 เครื่องก็เพียงพอที่จะทำให้ระดับ

ออกซิเจนละลายน้ำมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรในช่วงกลางวันและเปิด 4 เครื่อง ในตอนกลางคืนก็เพียงพอที่จะรักษาระดับออกซิเจนมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรเช่นเดียวกันซึ่งเป็นระดับที่เป็นเป้าหมาย เมื่อผลผลิตก้างเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงจะมีการเปิดเครื่องให้อากาศเพิ่มขึ้น คือต่ำสุด 4 เครื่องในตอนกลางวัน และ 12 เครื่องในตอนกลางคืน ตำแหน่งการวางเครื่องให้อากาศแสดงไว้ในภาพที่ 9



ภาพที่ 9 แสดงตำแหน่งการวางเครื่องให้อากาศ เครื่องหมาย  แสดงใบพัด 12 วง ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาทีและเครื่องหมาย  แสดงใบพัด 18 วง ความเร็วรอบ 70 รอบต่อนาที

การเลี้ยงและการจัดการทั่วไป

ในช่วงเดือนแรกของการเลี้ยงจะไม่มี การเปลี่ยนถ่ายน้ำ แต่จะมีการเติมน้ำที่ละ 10 เปอร์เซ็นต์ จากบ่อพักน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เริ่มมีการถ่ายน้ำออกจากบ่อเมื่อกุ้งมีอายุประมาณ 60 วัน น้ำที่ถ่ายออกมาจะเก็บไว้ในบ่อพักน้ำ ในระหว่างการเลี้ยงจะไม่มี การระบายน้ำออกสู่ภายนอกฟาร์ม

ระหว่างการเลี้ยงมีการควบคุมคุณภาพน้ำ โดยเฉพาะพีเอชให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม คือ 7.5-8.5 โดยการเติมวัสดุปูนในกรณีพีเอชต่ำ และมีการเติมแร่ธาตุที่สำคัญในการเลี้ยงกุ้งให้มี

อัตราส่วนที่เหมาะสมตลอดระยะเวลาในการเลี้ยง นอกจากนี้ยังมีการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกเพื่อ
ย่อยสลายของเสียภายในบ่อ

วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำในระหว่างทำการทดลอง

วิเคราะห์คุณภาพน้ำที่สำคัญ ๆ ดังนี้

1. คุณภาพน้ำที่ทำการวิเคราะห์ทุกวัน ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ พีเอช ปริมาณออกซิเจน
ละลายน้ำ โดยเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อทำการวิเคราะห์ในช่วงเช้าและช่วงบ่าย

- อุณหภูมิของน้ำในการทดลองที่ 1 และ 2 วัดโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์
- ส่วนการทดลองที่ 3 จะใช้หัววัดอัตโนมัติ (probe) ที่ติดตั้งมากับระบบ
- พีเอชของน้ำใช้ pH meter HANNA HI 9026
- ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในการทดลองที่ 1 และ 2 วัดโดยใช้ DO meter รุ่น OxyGuard Handy Alpha ส่วนการทดลองที่ 3 จะใช้หัววัดอัตโนมัติ (probe) ที่ติดตั้งมากับระบบ

2. คุณภาพน้ำที่ทำการวิเคราะห์ทุกสัปดาห์ จะทำการเก็บตัวอย่างน้ำในบ่อเลี้ยง หลังจาก
ปล่อยกุ้งจนกระทั่งจับกุ้ง โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำด้วยขวดเก็บน้ำในช่วงเช้า และนำตัวอย่างน้ำไป
วิเคราะห์หาค่าต่างๆ

- ความเป็นด่าง โดยวิธี titration method ตามวิธีของ American Public Health Association [APHA] (2012)
- ความกระด้าง โดยวิธี EDTA titration method ตามวิธีของ APHA
- แอมโมเนียรวม โดยวิธี phenol-hypochloride method ตามวิธีของ APHA
- ไนไตรท์ โดยวิธี colorimetric method ตามวิธีของ APHA

การเก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่ให้กึ่งตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

เก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่ให้ในแต่ละวัน โดยการจดบันทึกปริมาณอาหารแยกเป็นมื้อต่อวันจนถึงสิ้นสุดการเลี้ยงพร้อมทั้งจดบันทึกปริมาณอาหารเหลือในขอ

การสูมน้ำหนัก

เริ่มสูมน้ำหนักเมื่อกึ่งมีอายุ 30 วัน ด้วยแหดถั่วแล้วนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งและนำมาคำนวณหาค่าน้ำหนักเฉลี่ยของกึ่งในแต่ละบ่อหลังจากนั้นสูมกึ่งทุกสัปดาห์จนกระทั่งจับขาย

การจับกึ่ง

การจับกึ่งโดยการเปิดประตูน้ำแล้วใช้อวนดักบริเวณด้านนอกของบ่อ หลังจากนั้นจึงใช้อวนลากกึ่งที่เหลือในบ่อ หลังจากจับกึ่งบันทึกผลผลิตกึ่งในแต่ละบ่อ คำนวณหาอัตราแลกเนื้อ อัตราการเติบโตต่อวัน น้ำหนักเฉลี่ย อัตรารอดตาย และผลผลิตทั้งหมดต่อไร่

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลคุณสมบัติของน้ำ และผลผลิตกึ่งขาวแวนนาไมจากบ่อตลอดระยะเวลาการเลี้ยงนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบโดยวิธี One-way Analysis of Variances ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยการใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป

3. ปัจจัยของอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกึ่ง ขาวแอนนาไมในฟาร์มเลี้ยง

ทำการศึกษาในชุดการทดลองที่ให้อาหารด้วยเครื่องอัตโนมัติโดยใช้การตรวจจับเสียงการกินอาหารของกึ่ง เนื่องจาก ปริมาณอาหารจะถูกปล่อยจากเครื่องให้อาหารขึ้นอยู่กับการต้องการอาหารของกึ่งซึ่งจะมีความแม่นยำมากกว่าการให้อาหารโดยการหว่านและการให้อาหารด้วยเครื่องอัตโนมัติแบบตั้งเวลา อีกทั้งข้อมูลออกซิเจนที่ละลายน้ำ และอุณหภูมิ น้ำ มีการบันทึกอย่างต่อเนื่อง โดย Oxyguard 420 DO/Temperature probe ที่ติดตั้งไว้ในบ่อชุดการทดลอง

การเก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่ให้กึ่งตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

เก็บข้อมูลปริมาณอาหารที่ให้ในแต่ละวัน โดยมีการบันทึกปริมาณอาหารและเวลาที่ปล่อยอาหารออกมาจากเครื่องให้อาหารอัตโนมัติซึ่งขึ้นกับเสียงจากการกินอาหาร ข้อมูลทั้งหมดจะประมวลผ่านคอมพิวเตอร์ที่ติดตั้งใกล้กับตัวส่งสัญญาณวิทยุ

การเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำ

เก็บข้อมูลคุณภาพน้ำทุกวัน ดังนี้ ออกซิเจนละลายน้ำช่วงเช้าและบ่าย (มีการบันทึกโดย Oxyguard 420 DO/Temperature probe) อุณหภูมิ น้ำ (มีการบันทึกโดย Oxyguard 420 DO/Temperature probe) พีเอชช่วงเช้าและบ่าย ความเป็นด่าง ความกระด้าง แอมโมเนียรวม และไนไตรท์

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลคุณสมบัติของน้ำ และปริมาณอาหารที่ให้ในแต่ละวันตลอดระยะเวลาการเลี้ยงของชุดการทดลองที่ใช้การตรวจจับเสียงการกินอาหารของกึ่งมาวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์แบบ Correlation ตามวิธี Pearson Product Moment Correlation Coefficient โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ปัจจัยของอุณหภูมิน้ำและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของ กุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ

1.1 การศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อพฤติกรรมการกินอาหารและระบบ ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม

1.1.1 ผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาว แวนนาไม

จากการทดลองพบว่า กุ้งในชุดการทดลองที่ 1 ที่ควบคุมอุณหภูมิน้ำให้อยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาในการทดลองเมื่อเริ่มให้อาหาร กุ้งจะเริ่มเข้าหาอาหารและกินอาหารอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 10) ตั้งแต่อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้จนอาหารหมดทั้งสามวัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยอาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้ในช่วง 5.64-6.24 นาที อาหารเข้าไปครึ่งหนึ่งของลำไส้ในช่วง 11.65-13.14 นาที อาหารเต็มลำไส้ระหว่างเวลา 20.68-21.76 นาที และเริ่มมีการขับถ่ายของเสียในช่วง 22.26-30.78 นาที ซึ่งสอดคล้องกับชโล และคณะ (2552) ส่วนกุ้งในชุดการทดลองที่ 2 ที่ควบคุมอุณหภูมิน้ำในวันที่ 1 ให้อยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียส ในวันที่ 2 ลดอุณหภูมิเป็น 24 ± 1 องศาเซลเซียส และวันที่ 3 เพิ่มอุณหภูมิเท่ากับวันแรก ตลอดการทดลองตั้งแต่อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้จนอาหารหมด ในวันแรกและวันสุดท้ายเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ 1 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ในวันที่ 2 ของชุดการทดลองที่ 2 พบว่ากุ้งจะกินอาหารช้ากว่าทำให้อาหารหมดที่เวลา 125 นาที (ภาพที่ 11) เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 12-16)

อุณหภูมิของน้ำระหว่าง 28-30 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่กุ้งขาวแวนนาไมกินอาหารและใช้เวลาในการย่อยอาหารเหมาะสม โดยเฉพาะถ้าปริมาณออกซิเจนละลายน้ำสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรสอดคล้องกับทัศนีย์ (2555) ถ้าอุณหภูมิของน้ำระหว่าง 24-26 องศาเซลเซียส ควรจะต้องลดปริมาณอาหารประมาณ 40-60 เปอร์เซ็นต์ (ชโล และคณะ, 2552) ในช่วงที่อุณหภูมิของน้ำต่ำมาก การลดปริมาณอาหารจะลดการสูญเสียจากอาหารที่เหลือได้ ดังนั้นการให้อาหารที่เหมาะสมกับอุณหภูมิในช่วงนั้น ๆ จะทำให้ต้นทุนในการเลี้ยงไม่สูงเกินไป



ภาพที่ 10 พฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เข้าหาอาหารและกินอาหารอย่างรวดเร็ว

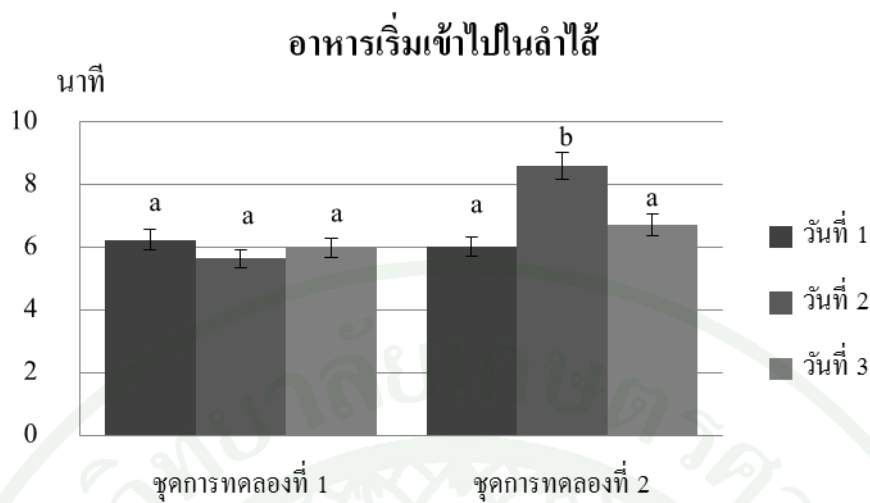


ภาพที่ 11 พฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมส่วนใหญ่ที่อุณหภูมิล้นข้างต่ำจะกินอาหารช้า

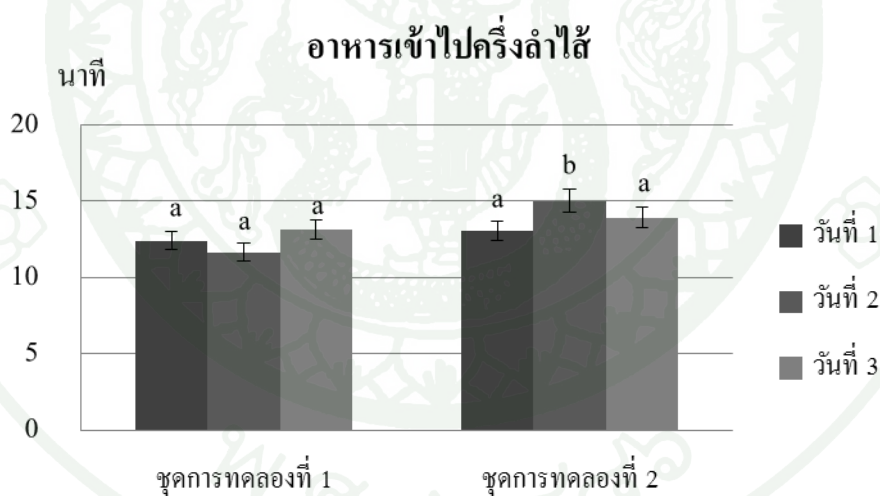
ตารางที่ 3 แสดงพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

พฤติกรรมการกินอาหาร/ระยะเวลา ที่ใช้ระหว่างการกิน (นาท)	ชุดการทดลองที่ 1 (อุณหภูมิน้ำตลอดทั้ง 3 วัน เท่ากับ 29±1 องศาเซลเซียส)			ชุดการทดลองที่ 2 (มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ วันที่ 1 วันที่ 2 และวันที่ 3 คือ 29±1, 24±1 และ 29±1 องศาเซลเซียส)		
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
อาหารที่เริ่มเข้าไปในลำไส้	6.24 ± 0.91 ^a	5.64 ± 0.34 ^a	5.97 ± 0.34 ^a	6.02 ± 0.61 ^a	8.61 ± 0.54 ^b	6.71 ± 0.52 ^a
อาหารเข้าไปครึ่งหนึ่งของลำไส้	12.42 ± 0.15 ^a	11.65 ± 0.37 ^a	13.14 ± 1.64 ^a	13.06 ± 1.20 ^a	15.04 ± 0.41 ^b	13.94 ± 1.49 ^a
อาหารเต็มลำไส้	21.75 ± 2.51 ^a	20.68 ± 0.35 ^a	21.76 ± 0.59 ^a	20.45 ± 0.96 ^a	23.47 ± 0.11 ^b	21.82 ± 0.42 ^a
เริ่มมีการขับถ่ายของเสีย	30.78 ± 5.81 ^a	22.26 ± 0.97 ^a	24.64 ± 1.36 ^a	26.07 ± 1.82 ^a	33.53 ± 0.54 ^b	24.36 ± 1.07 ^a
อาหารหมด	98.0 ± 1.00 ^a	96.33 ± 2.52 ^a	91.05 ± 1.85 ^a	95.67 ± 1.53 ^a	125.00 ± 3.01 ^b	92.62 ± 1.51 ^a

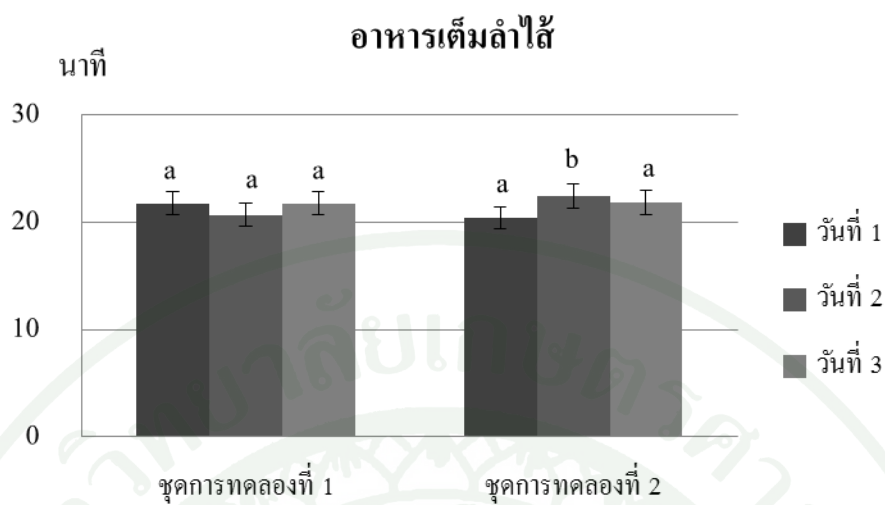
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



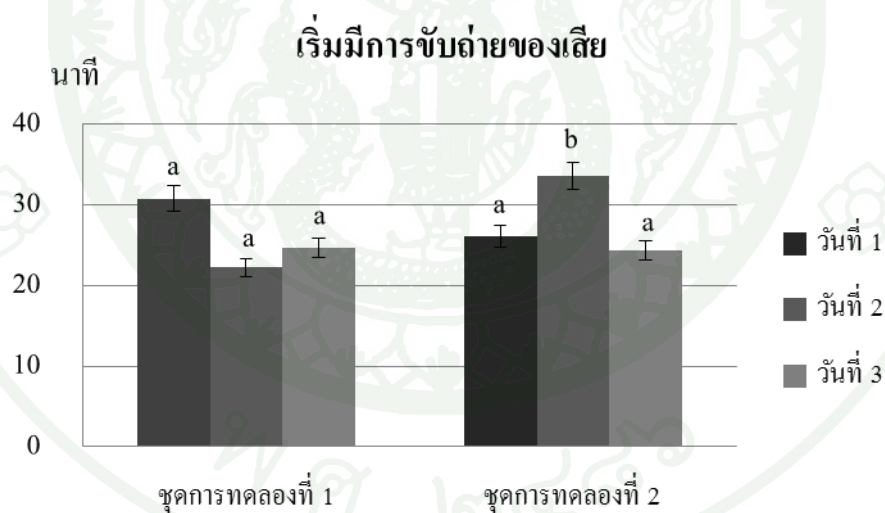
ภาพที่ 12 แสดงเวลาที่อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้ของกิ้งขาววนนาไมที่เลี้ยงในสถานะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ



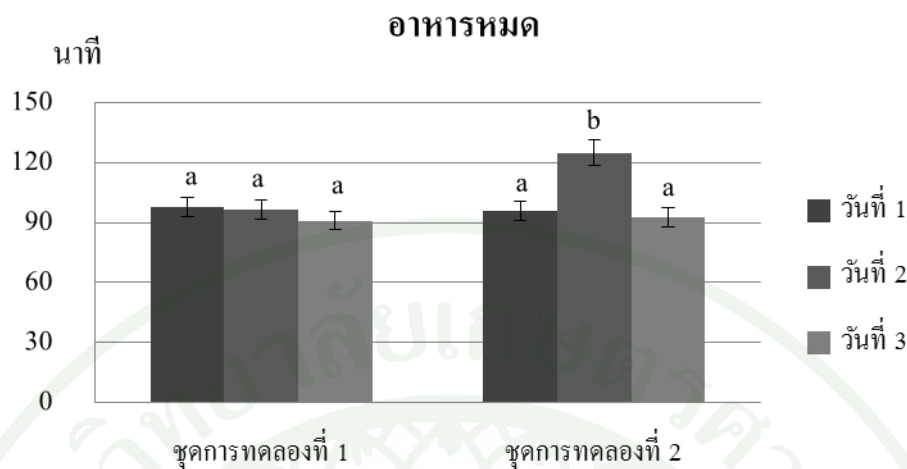
ภาพที่ 13 แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปครั้งแรกในลำไส้ของกิ้งขาววนนาไมที่เลี้ยงในสถานะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ



ภาพที่ 14 แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปเต็มลำไส้ของกิ้งก่าหางนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ



ภาพที่ 15 แสดงเวลาที่เริ่มมีการขับถ่ายของเสียของกิ้งก่าหางนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ



ภาพที่ 16 แสดงเวลาที่กุ้งขาวแวนนาไมกินอาหารหมดในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

1.2 ผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม

จากการศึกษาทางด้านการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิโดยวิเคราะห์ปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดกุ้ง และกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง ได้ผลการทดลองดังนี้

- การตรวจนับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้ง

หลังจากทดลองให้กุ้งขาวอยู่ในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ พบว่า กุ้งในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียส ตลอดการทดลองมีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 6.25×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ภายในชุดการทดลองนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนกุ้งในชุดการทดลองที่ 2 ที่ควบคุมอุณหภูมิในวันที่ 1 ให้อยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียส ในวันที่ 2 ลดอุณหภูมิเป็น 24 ± 1 องศาเซลเซียส และวันที่ 3 เพิ่มอุณหภูมิให้เท่ากับวันแรก มีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมในวันที่ 1 เท่ากับ 6.39×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 2 ที่ 0, 6 และ 12 ชั่วโมง เท่ากับ 4.05×10^6 , 4.35×10^6 และ 4.41×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

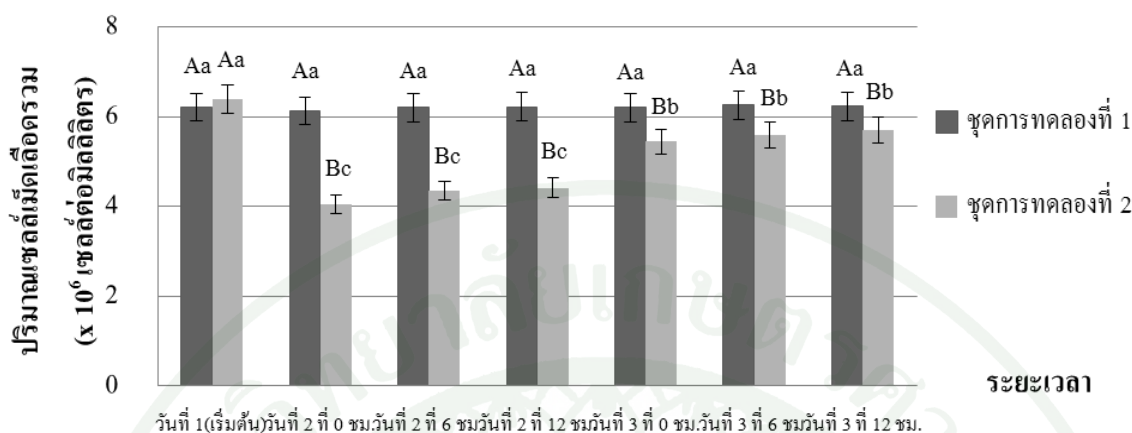
ตามลำดับ ส่วนปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมในวันที่ 3 ที่ 0, 6 และ 12 ชั่วโมง เท่ากับ 5.44×10^6 , 5.59×10^6 และ 5.70×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนชุดการทดลองที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ยกเว้นในวันที่ 1 ซึ่งเป็นวันเริ่มต้นการทดลอง (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 17)

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าในชุดที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (ชุดการทดลองที่ 2) ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมจะลดจำนวนลงเมื่ออุณหภูมิต่ำลงและจะค่อย ๆ เริ่มกลับมาคงที่เมื่ออุณหภูมิอยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียสซึ่ง Pan *et al.* (2007) รายงานว่า เมื่ออุณหภูมิลดลงจะทำให้ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไมลดลงในวันแรก และจะเริ่มคงที่หลังจากนั้น 3 วัน ที่อุณหภูมิ 21 หรือ 27 องศาเซลเซียส ปริมาณเม็ดเลือดรวม และกิจกรรมของเอนไซม์ Phenoloxidase จะลดลงเมื่ออุณหภูมิของน้ำลดลงจาก 19 – 4 องศาเซลเซียส (Gomez-Jimenez *et al.*, 2000) และ กุ้งสีฟ้า (*Litopenaeus stylirostris*) ที่เลี้ยงในน้ำที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมลดลงเมื่อเทียบกับกุ้งที่เลี้ยงในอุณหภูมิที่ 27 องศาเซลเซียส (Moullac and Haffner, 2000) เนื่องจากกุ้งเป็นสัตว์เลือดเย็น อุณหภูมิของตัวกุ้งจะเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิของน้ำ ซึ่งจะมีผลโดยตรงต่ออัตราเมตาบอลิซึมและมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางชีวภาพของตัวกุ้งด้วย

ตารางที่ 4 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม ($\times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	
	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2
	(อุณหภูมิตลอดการทดลองคือ $29 \pm 1^\circ\text{C}$)	(อุณหภูมิวันที่ 1 วันที่ 2 และวันที่ 3 คือ 29 ± 1 , 24 ± 1 และ $29 \pm 1^\circ\text{C}$)
วันที่ 1 (เริ่มต้น)	$6.21 \pm 0.60^{\text{Aa}}$	$6.39 \pm 0.24^{\text{Aa}}$
วันที่ 2 ที่ 0 ชั่วโมง	$6.12 \pm 0.53^{\text{Aa}}$	$4.05 \pm 0.87^{\text{Bc}}$
วันที่ 2 ที่ 6 ชั่วโมง	$6.20 \pm 0.28^{\text{Aa}}$	$4.35 \pm 0.82^{\text{Bc}}$
วันที่ 2 ที่ 12 ชั่วโมง	$6.22 \pm 0.35^{\text{Aa}}$	$4.41 \pm 0.76^{\text{Bc}}$
วันที่ 3 ที่ 0 ชั่วโมง	$6.20 \pm 0.15^{\text{Aa}}$	$5.44 \pm 0.29^{\text{Bb}}$
วันที่ 3 ที่ 6 ชั่วโมง	$6.25 \pm 0.79^{\text{Aa}}$	$5.59 \pm 0.56^{\text{Bb}}$
วันที่ 3 ที่ 12 ชั่วโมง	$6.23 \pm 0.59^{\text{Aa}}$	$5.70 \pm 0.66^{\text{Bb}}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แตกต่างกันในแนวนอน และอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กแตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 17 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

- กิจกรรมของกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดกุ้ง

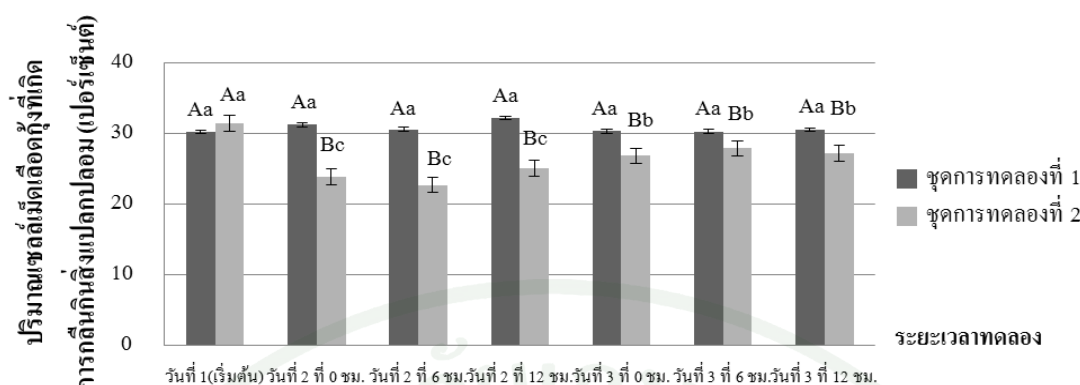
หลังจากทดลองให้กุ้งขาวอยู่ในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ พบว่า กุ้งในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียส ตลอดการทดลองมีเซลล์เม็ดเลือดที่กลืนกินสิ่งแปลกปลอมเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 32.23 เปอร์เซ็นต์ ภายในชุดการทดลองนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนกุ้งในชุดการทดลองที่ 2 ที่ควบคุมอุณหภูมิในวันที่ 1 ให้อยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียส ในวันที่ 2 ลดอุณหภูมิเป็น 24 ± 1 องศาเซลเซียส และวันที่ 3 เพิ่มอุณหภูมิให้เท่ากับวันแรก มีเซลล์เม็ดเลือดที่กลืนกินสิ่งแปลกปลอมในวันที่ 1 เท่ากับ 31.44 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 2 ที่ 0, 6 และ 12 ชั่วโมง เท่ากับ 23.89, 22.72 และ 25.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเซลล์เม็ดเลือดที่กลืนกินสิ่งแปลกปลอมในวันที่ 3 ที่ 0, 6 และ 12 ชั่วโมง เท่ากับ 26.87, 27.89 และ 27.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนชุดการทดลองที่ 1 และ 2 มีเพียงวันที่ 2 ที่ 0, 6 และ 12 ชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 5 และ ภาพที่ 18) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าในชุดที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (ชุดการทดลองที่ 2) เปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดที่กลืนกินสิ่งแปลกปลอมจะลดจำนวนลง

เมื่ออุณหภูมิต่ำลงและจะค่อย ๆ เริ่มกลับมาคงที่เมื่ออุณหภูมิอยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม

ตารางที่ 5 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

ระยะเวลาทดลอง	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม (เปอร์เซ็นต์)	
	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2
	(อุณหภูมิตลอดการทดลองคือ $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$)	(อุณหภูมิวันที่ 1 วันที่ 2 และวันที่ 3 คือ 29 ± 1 , 24 ± 1 และ $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$)
วันที่ 1 (เริ่มต้น)	$30.22 \pm 1.58^{\text{Aa}}$	$31.44 \pm 1.25^{\text{Aa}}$
วันที่ 2 ที่ 0 ชั่วโมง	$31.26 \pm 2.45^{\text{Aa}}$	$23.89 \pm 1.01^{\text{Bc}}$
วันที่ 2 ที่ 6 ชั่วโมง	$30.59 \pm 1.56^{\text{Aa}}$	$22.72 \pm 1.90^{\text{Bc}}$
วันที่ 2 ที่ 12 ชั่วโมง	$32.23 \pm 1.49^{\text{Aa}}$	$25.06 \pm 1.72^{\text{Bc}}$
วันที่ 3 ที่ 0 ชั่วโมง	$30.33 \pm 1.94^{\text{Aa}}$	$26.87 \pm 1.10^{\text{Bb}}$
วันที่ 3 ที่ 6 ชั่วโมง	$30.28 \pm 2.73^{\text{Aa}}$	$27.89 \pm 1.83^{\text{Bb}}$
วันที่ 3 ที่ 12 ชั่วโมง	$30.56 \pm 2.56^{\text{Aa}}$	$27.23 \pm 3.25^{\text{Bb}}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แตกต่างกันในแนวนอน และอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กแตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



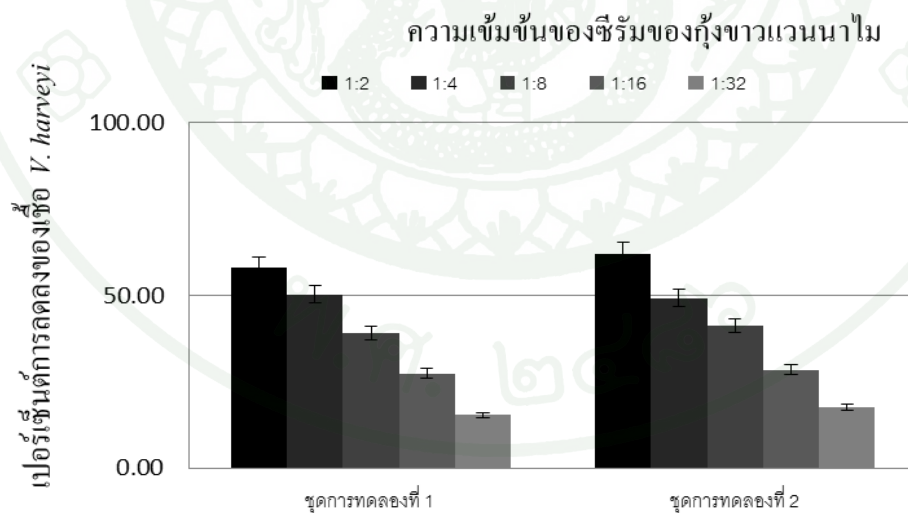
ภาพที่ 18 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสถานะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

- กิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง

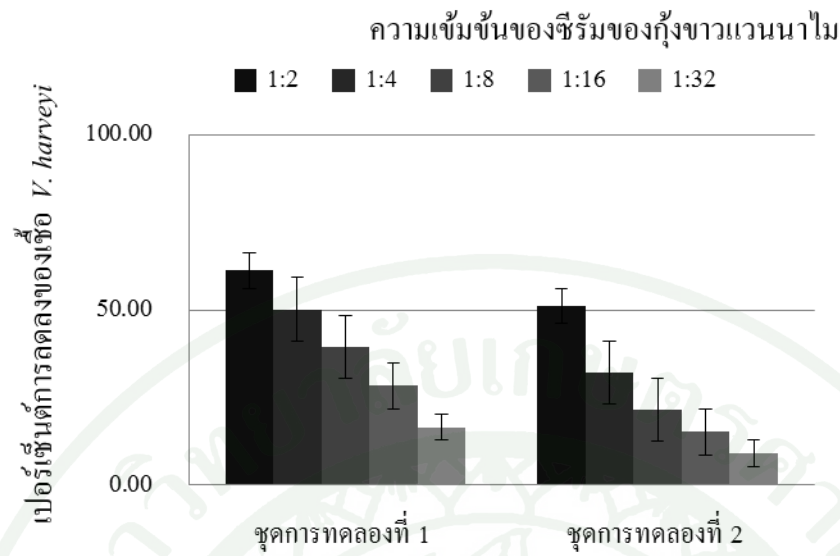
หลังจากทดลองให้กุ้งขาวแวนนาไมอยู่ในสถานะที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ พบว่ากุ้งในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 29 ± 1 องศาเซลเซียส ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้งตลอดการศึกษา (ตารางที่ 6 และภาพที่ 19) โดยมีค่าอัตราส่วนการเจือจางของซีรัมเท่ากับ 1:4 ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 ที่มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ พบว่าวันที่ 1 มีค่าอัตราส่วนการเจือจางของซีรัมที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 1:4 ต่างจากค่าในวันที่ 2 เมื่อลดอุณหภูมิลงซึ่ง มีค่าเท่ากับ 1:2 (ภาพที่ 20) และในวันที่ 3 ของการทดลอง พบว่า กุ้งในชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอัตราส่วนการเจือจางของซีรัมที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียเพิ่มมาที่ 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 1:4 (ภาพที่ 21) เมื่ออุณหภูมิต่ำกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของเม็ดเลือดกุ้งจะลดต่ำลงหลังจากนั้นจะเริ่มกลับมาคงที่ และปัจจัยที่ได้ศึกษา (ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม เซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม และกิจกรรมการทำลายแบคทีเรีย) จะมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอุณหภูมิ (Pan *et al.*, 2007)

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมที่สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ

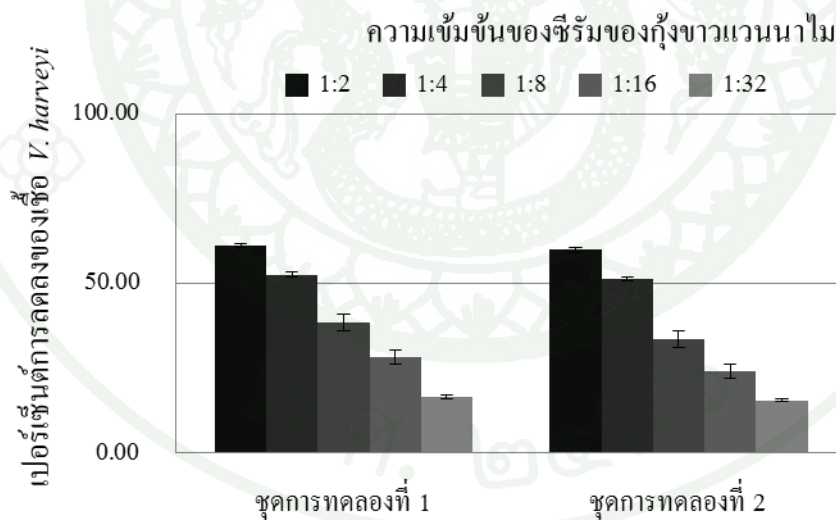
ระยะเวลาทดลอง	ความเข้มข้นของซีรัมที่เชื้อ <i>V. harveyi</i> ที่ลดลง	
	ชุดการทดลองที่ 1 (อุณหภูมิตลอดการทดลองคือ $29\pm 1^{\circ}\text{C}$)	ชุดการทดลองที่ 2 (อุณหภูมิวันที่ 1 วันที่ 2 และวันที่ 3 คือ 29 ± 1 , 24 ± 1 และ $29\pm 1^{\circ}\text{C}$)
วันที่ 1 (เริ่มต้น)	1:4	1:4
วันที่ 2 ที่ 0 ชั่วโมง	1:4	1:2
วันที่ 2 ที่ 6 ชั่วโมง	1:4	1:2
วันที่ 2 ที่ 12 ชั่วโมง	1:4	1:2
วันที่ 3 ที่ 0 ชั่วโมง	1:4	1:4
วันที่ 3 ที่ 6 ชั่วโมง	1:4	1:4
วันที่ 3 ที่ 12 ชั่วโมง	1:4	1:4



ภาพที่ 19 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมที่สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในวันที่ 1 (เริ่มต้น)



ภาพที่ 20 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมที่สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในวันที่ 2



ภาพที่ 21 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมที่สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในวันที่ 3

1.2 การศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของกึ่งขาวเวนนาไมและระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงที่ระดับออกซิเจนต่างกันที่อุณหภูมิปกติ

1.2.1 ผลของระดับออกซิเจนต่างกันที่อุณหภูมิปกติต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกึ่งขาวเวนนาไม

จากการทดลอง พบว่ากึ่งในชุดการทดลองที่ 2 ที่ควบคุมออกซิเจนละลายน้ำให้อยู่ในช่วง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มมีอาหารเข้าไปในลำไส้ที่เวลา 9.36 นาที่ ซ้ำกว่ากึ่งในชุดการทดลองที่ 1 ที่ทดลองซึ่งมีปริมาณออกซิเจนสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรตลอดเวลา ส่วนกึ่งในชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงโดยมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กึ่งจะกินอาหารซ้ำกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ เมื่อพิจารณาระยะเวลาการกินอาหารทั้งหมดของกึ่งพบว่าในชุดการทดลองที่ 2 กึ่งจะกินอาหารหมดภายในเวลา 112 นาที่ ซ้ำกว่ากึ่งในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งสามารถกินอาหารหมดภายในเวลา 90 นาที่ ส่วนกึ่งในชุดการทดลองที่ 3 กึ่งกินอาหารไม่หมดและเหลือปริมาณอาหารหลังจากให้ 2 ชั่วโมง เท่ากับ 14.30 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากชุดการทดลองที่ 1 และ 2 จะไม่มีอาหารเหลือหลังจากให้ 2 ชั่วโมง (ตารางที่ 7 และ ภาพที่ 22-27)

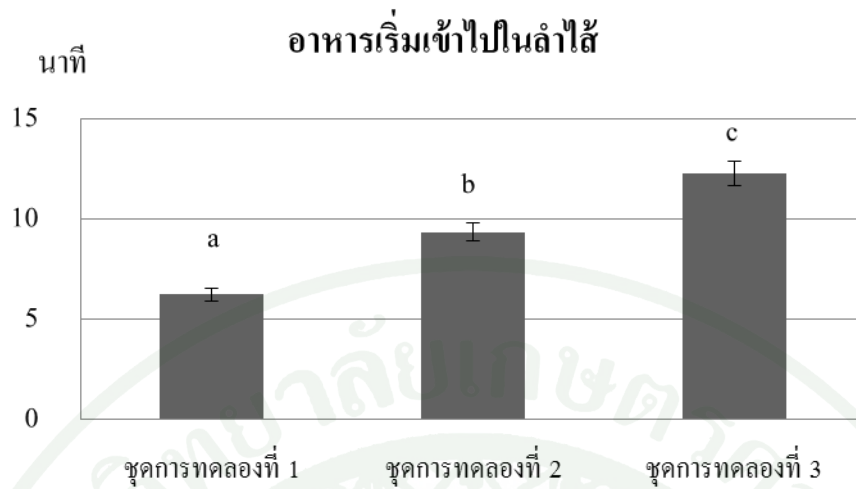
จากการศึกษาพฤติกรรมของกึ่งขาวเวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ากึ่งจะเริ่มอยู่บริเวณพื้นตู้ทดลอง มีการเคลื่อนไหวน้อยกว่ากึ่งในกลุ่มที่มีปริมาณออกซิเจนสูงกว่า (ภาพที่ 28) นอกจากนี้ยังพบว่าในขณะที่กึ่งกินอาหารจะจับอาหารและว่ายขึ้นไปกินบริเวณผิวน้ำและกึ่งในชุดการทดลองนี้จะกินอาหารได้น้อยทำให้มีอาหารเหลือเป็นจำนวนมากซึ่งต่างจากกึ่งที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และอยู่ระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อเริ่มให้อาหารกึ่งจะเข้าหาอาหารอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 29) สอดคล้องกับการศึกษาของทศนีย์ (2555) ซึ่งรายงานว่ากึ่งที่เลี้ยงในน้ำที่มีระดับออกซิเจนสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะกินอาหารได้ดี เจริญเติบโตดีและมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ดีกว่ากึ่งที่เลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำกว่า ตามปกติในการเลี้ยงกึ่งขาวเวนนาไมโอกาสที่จะมีออกซิเจนต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะพบบ่อยในบ่อที่มีกึ่งหนาแน่น โดยเฉพาะช่วงท้ายของการเลี้ยงที่มีปริมาณแพลงก์ตอนพืชอย่างหนาแน่น มักจะพบว่าประมาณเที่ยงคืนจนถึงเช้ามืด ปริมาณออกซิเจนจะลดลงจนอยู่ในระดับที่ต่ำมากมีผลต่อการกินอาหารและสุขภาพของกึ่ง (ชลอ และพรเลิศ, 2547) แต่ในการทดลองนี้ใช้กึ่งสุขภาพดีและแข็งแรงในการทดลองเมื่อปรับให้ออกซิเจน

ค่อย ๆ ลด กุ้งจะสามารถปรับตัวและกินอาหารได้เกือบเท่ากับกลุ่มที่มีออกซิเจนสูงกว่าซึ่งจะต่างจากบ่อเลี้ยงจริงที่มีออกซิเจนต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในตอนเช้ามีด พื้นบ่อมักจะสกปรกมีการสะสมของสารอินทรีย์มาก กุ้งจะกินอาหารช้าและลดลงมาก มีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายมากกว่าการทำในห้องปฏิบัติการ

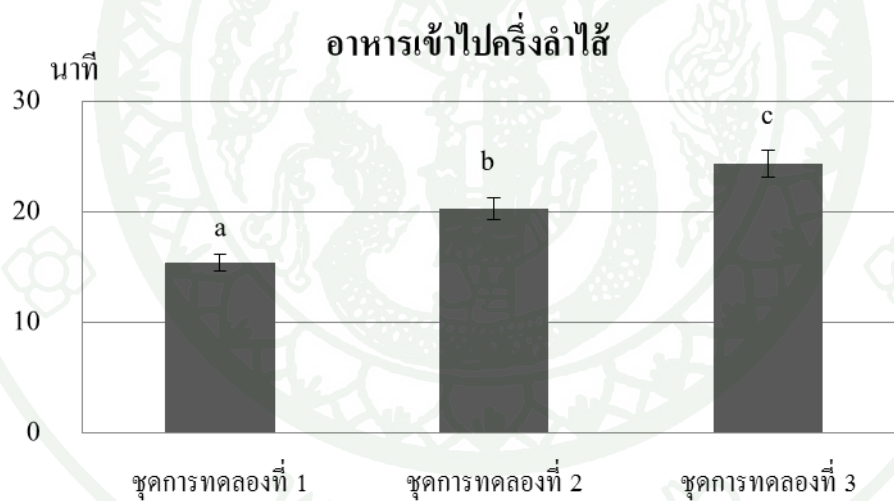
ตารางที่ 7 แสดงพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ (29 ± 1 °C)

พฤติกรรมการกินอาหาร/ ระยะเวลาที่ใช้ระหว่าง การกินอาหาร (นาท)	ชุดการทดลองที่ 1 (DO>4มิลลิกรัม/ ลิตร)	ชุดการทดลองที่ 2 (DO 2-4 มิลลิกรัม/ ลิตร)	ชุดการทดลองที่ 3 (DO<2 มิลลิกรัม/ ลิตร)
อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้	6.24 ± 0.01^a	9.36 ± 0.04^b	12.29 ± 0.17^c
อาหารเข้าไปครึ่งลำไส้	15.40 ± 0.18^a	20.32 ± 0.18^b	24.38 ± 0.22^c
อาหารเต็มลำไส้	27.17 ± 0.55^a	32.38 ± 0.23^b	37.33 ± 0.17^c
เริ่มมีการขับถ่ายของเสีย	33.24 ± 0.30^a	36.66 ± 0.51^b	42.22 ± 0.28^c
อาหารหมด	90.60 ± 0.62^a	111.88 ± 1.71^b	อาหารไม่หมด
อาหารเหลือหลังจากให้ 2 ชั่วโมง (เปอร์เซ็นต์)	0^a	0^a	14.36 ± 1.84^b

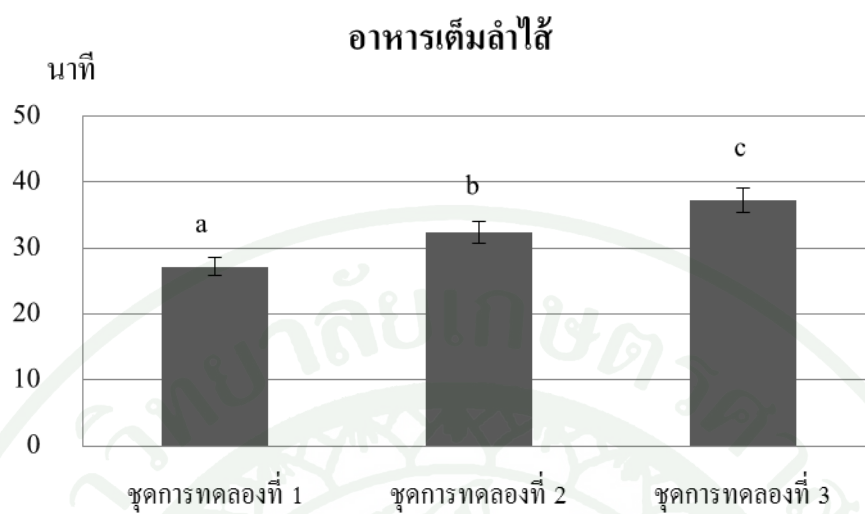
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในแนวนอน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



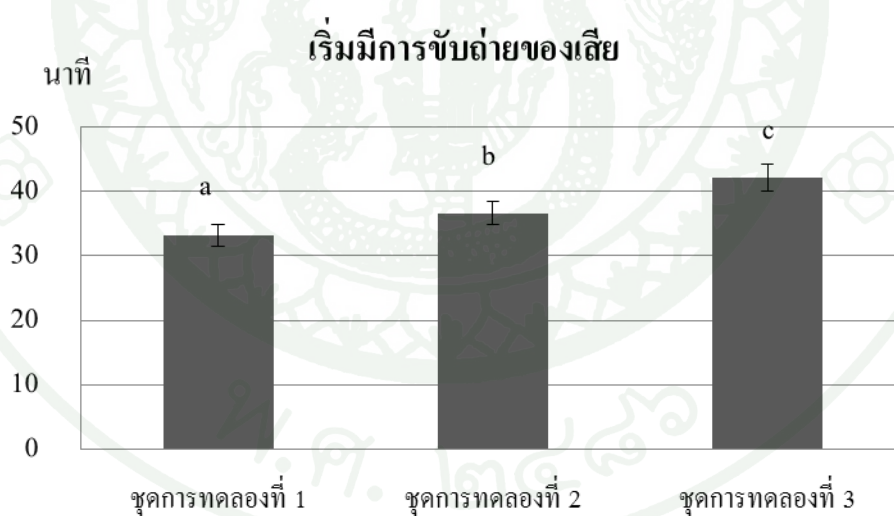
ภาพที่ 22 แสดงเวลาที่อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ



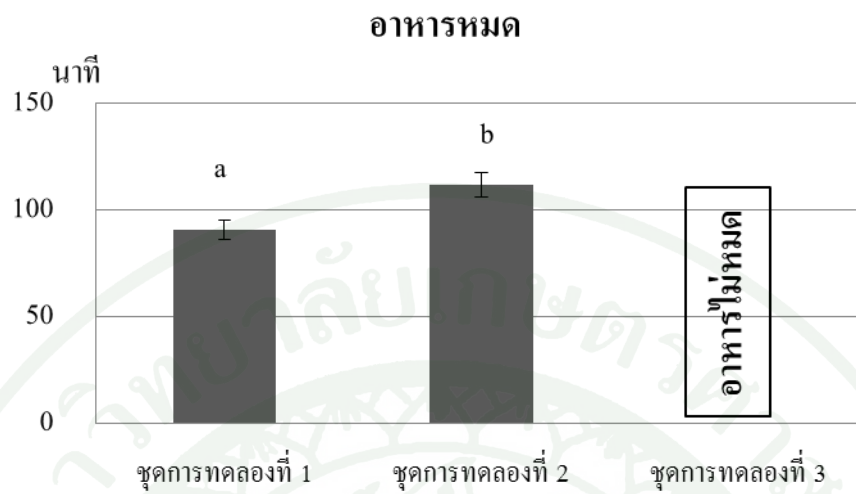
ภาพที่ 23 แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปครั้งแรกในลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ



ภาพที่ 24 แสดงเวลาที่อาหารเต็มลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ



ภาพที่ 25 แสดงเวลาที่เริ่มมีการขับถ่ายของเสียของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ



ภาพที่ 26 แสดงเวลาที่กึ่งขาวเอนนาไม่กินอาหารหมด ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ



ภาพที่ 27 แสดงเปอร์เซ็นต์ที่กึ่งขาวเอนนาไม่กินอาหารเหลือหลังจากให้ไป 2 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิปกติ



ภาพที่ 28 พฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมส่วนใหญ่อยู่บริเวณพื้นตู้ทดลอง มีการเคลื่อนไหวน้อย และกินอาหารช้ากว่ากลุ่มที่มีปริมาณออกซิเจนสูง



ภาพที่ 29 พฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนสูงกว่า 4 และอยู่ระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งจะเข้าหาอาหารและกินอาหารอย่างรวดเร็ว

1.2.2 ผลของระดับออกซิเจนต่างกันที่อุณหภูมิปกติต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม

จากการศึกษาทางด้านการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกันทั้ง 3 ระดับ โดยวิเคราะห์ปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดกุ้ง และกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง ได้ผลการทดลองดังนี้

- การตรวจนับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้ง

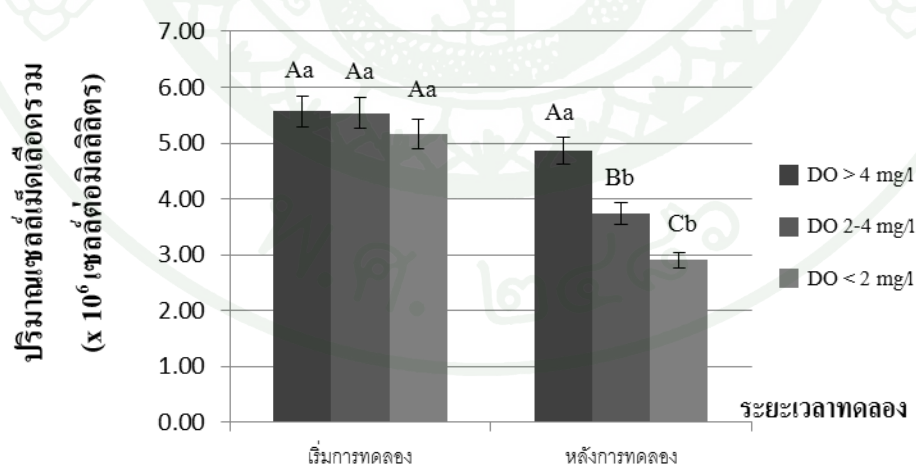
หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ พบว่า ก่อนการทดลองกุ้งในชุดการทดลองที่ 1 (ออกซิเจนละลายน้ำมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) ชุดการทดลองที่ 2 (ออกซิเจนละลายน้ำ ระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และชุดการทดลองที่ 3 (ออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม เท่ากับ 5.57×10^6 , 5.54×10^6 และ 5.16×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยหลังการทดลอง กุ้งในชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 4.86×10^6 , 3.74×10^6 และ 2.90×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และพบว่า หลังการทดลองกุ้งในชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมแตกต่างจากกุ้งก่อนการทดลอง (ตารางที่ 8 และ ภาพที่ 30)

ในสภาวะที่ออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำจะมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งโดยปริมาณออกซิเจนที่ละลายต่ำลงจะส่งผลให้ปริมาณเม็ดเลือดรวมลดลงสอดคล้องกับทัศนีย์ (2555) อีกทั้งความสามารถของเม็ดเลือดในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมและค่าความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดลดลง (กิจการ และคณะ, 2543 ; Martinez – Palacios *et al.*, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่า ระดับออกซิเจนที่ละลายน้ำต่ำกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งผลให้กุ้งกุลาดำ กุ้งแชบ๊วย และกุ้งขาวแวนนาไมมีอัตราการเจริญเติบโตและน้ำหนักตัวลดลงด้วย (Seidman and Lawrence, 1986)

ตารางที่ 8 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29 \pm 1^\circ\text{C}$)

ระยะเวลาในการทดลอง	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม ($\times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)		
	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
	(DO > 4 mg/l)	(DO 2-4 mg/l)	(DO < 2 mg/l)
เริ่มการทดลอง	$5.57 \pm 0.50^{\text{Aa}}$	$5.54 \pm 0.17^{\text{Aa}}$	$5.16 \pm 1.06^{\text{Aa}}$
หลังการทดลอง	$4.86 \pm 0.96^{\text{Aa}}$	$3.74 \pm 0.60^{\text{Bb}}$	$2.90 \pm 0.34^{\text{Cb}}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แตกต่างกันในแนวนอน และอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 30 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29 \pm 1^\circ\text{C}$)

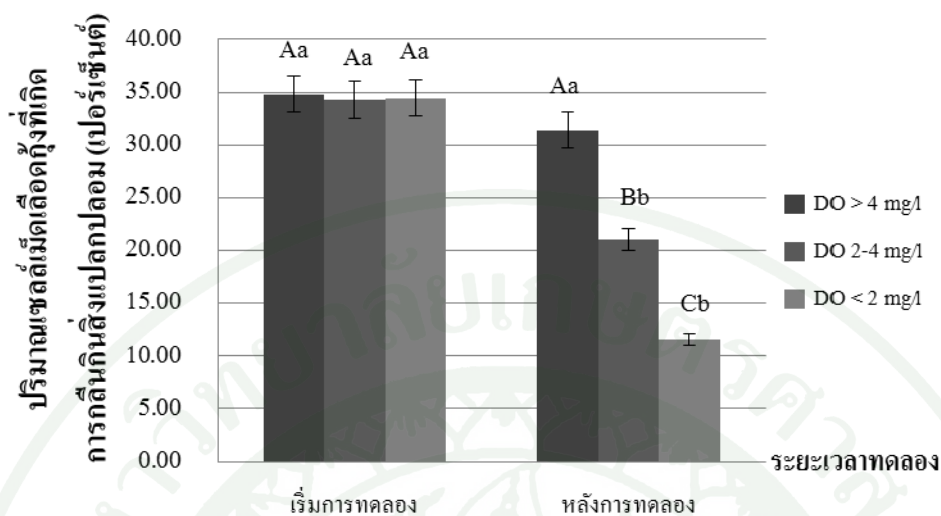
- กิจกรรมของกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดกึ่ง

หลังจากทดลองเลี้ยงกุ้งขาวในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่างกัน 3 ระดับ พบว่า ก่อนการทดลอง กุ้งในชุดการทดลองที่ 1 (ออกซิเจนละลายน้ำมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) ชุดการทดลองที่ 2 (ออกซิเจนละลายน้ำระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และชุดการทดลองที่ 3 (ออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีค่าเฉลี่ยเซลล์เม็ดเลือดกึ่งที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมใกล้เคียงกัน คือ 34.78, 34.28 และ 34.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่หลังการทดลอง กุ้งในชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 31.39, 21.00 และ 11.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยทั้ง 3 ชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และพบว่าหลังการทดลองกุ้งในชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 มีเซลล์เม็ดเลือดกึ่งที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมแตกต่างจากกุ้งในชุดก่อนการทดลอง (ตารางที่ 9 และ ภาพที่ 31)

ตารางที่ 9 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29 \pm 1^{\circ}\text{C}$)

ระยะเวลาในการทดลอง	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม (เปอร์เซ็นต์)		
	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
	(DO > 4 mg/l)	(DO 2-4 mg/l)	(DO < 2 mg/l)
เริ่มการทดลอง	$34.78 \pm 3.34^{\text{Aa}}$	$34.28 \pm 2.87^{\text{Aa}}$	$34.44 \pm 4.45^{\text{Aa}}$
หลังการทดลอง	$31.39 \pm 4.62^{\text{Aa}}$	$21.00 \pm 1.50^{\text{Bb}}$	$11.56 \pm 5.26^{\text{Cb}}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แตกต่างกันในแนวนอน และอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 31 ปริมาณเชื้อราที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29 \pm 1^{\circ}\text{C}$)

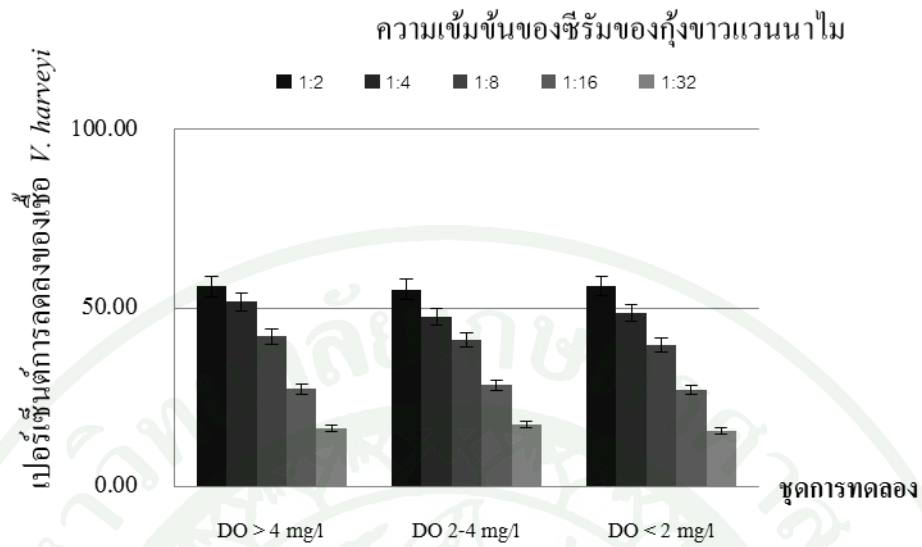
- กิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง

หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ พบว่า ก่อนการทดลอง กุ้งในชุดการทดลองที่ 1 (ออกซิเจนละลายน้ำมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) ชุดการทดลองที่ 2 (ออกซิเจนละลายน้ำระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และชุดการทดลองที่ 3 (ออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีค่าอัตราส่วนการเจริญของซีรัมที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 1:4 ไม่มีความแตกต่างกัน แต่หลังการทดลอง กุ้งในชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 มีค่าอัตราส่วนการเจริญต่ำที่สุดของซีรัมที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ที่ 1:2 (ตารางที่ 10 และ ภาพที่ 32-33)

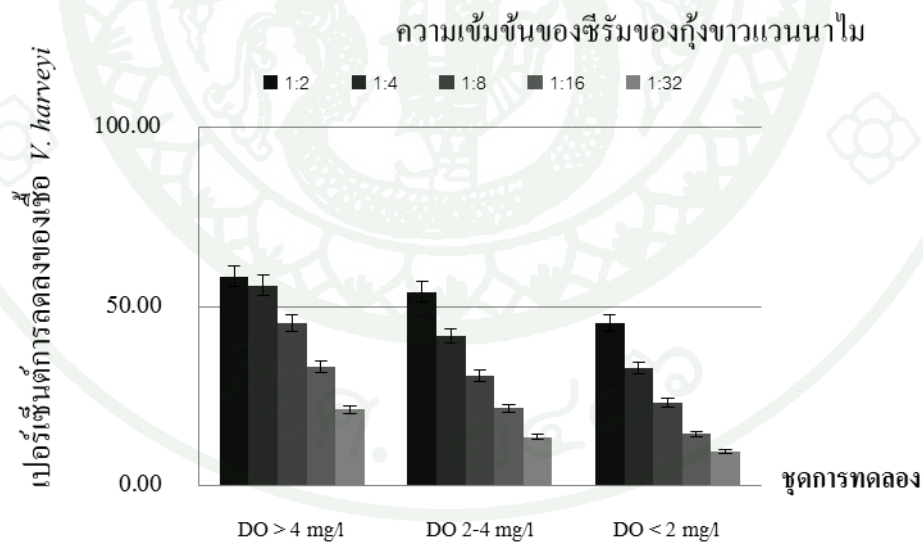
ตารางที่ 10 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไมสามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$)

ระยะเวลา ในการทดลอง	ความเข้มข้นของซีรัมที่ เชื้อ <i>V.harveyi</i> ที่ลดลง		
	ชุดการทดลองที่ 1 (DO > 4 mg/l)	ชุดการทดลองที่ 2 (DO 2-4 mg/l)	ชุดการทดลองที่ 3 (DO < 2 mg/l)
เริ่มการทดลอง	1:4	1:4	1:4
หลังการทดลอง	1:4	1:2	1:2

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แตกต่างกันในแนวนอน และอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กแตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 32 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไม (ก่อนการทดลอง) สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$)



ภาพที่ 33 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไม (หลังการทดลอง) สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิปกติ ($29\pm 1^{\circ}\text{C}$)

1.3 การศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมและระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงที่ระดับออกซิเจนต่างกันร่วมกับอุณหภูมิต่ำ

1.3.1 ผลของระดับออกซิเจนต่างกันที่อุณหภูมิต่ำต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม

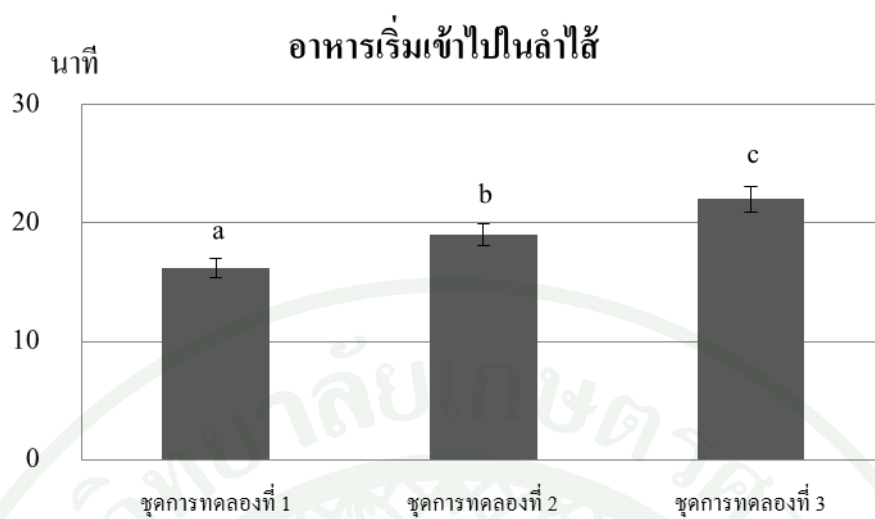
จากการทดลองผลของปริมาณออกซิเจนที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ในน้ำที่มีอุณหภูมิ 24 ± 1 องศาเซลเซียสในห้องปฏิบัติการ พบว่า กุ้งในชุดการทดลองที่ 1 ควบคุมออกซิเจนละลายน้ำสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 2 มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้ที่เวลา 16.16, 19.00 และ 22.01 นาที ตามลำดับ อาหารเข้าไปครึ่งหนึ่งของลำไส้ เท่ากับ 26.86, 29.80 และ 33.27 นาที ตามลำดับ อาหารเต็มลำไส้อยู่ที่ 54.10, 57.58 และ 64.59 นาที ตามลำดับ หลังจากนั้นเริ่มมีการขับถ่ายที่ 84.88, 89.44 และ 102.46 นาที ตามลำดับ โดยที่กุ้งทุกชุดการทดลองกินอาหารไม่หมดทั้งสิ้นและเหลืออาหารหลังจากให้ไปแล้ว 2 ชั่วโมง เท่ากับ 27.78, 59.26 และ 74.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 11 และ ภาพที่ 34-38)

จากการศึกษาพฤติกรรมของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรที่อุณหภูมิ 24 ± 1 องศาเซลเซียส พบว่า มีกุ้งบางส่วนอยู่นิ่งบริเวณพื้นตู้ทดลอง เมื่อเริ่มให้อาหารกุ้งจะค่อย ๆ เคลื่อนเข้าหาอาหาร ในขณะที่กุ้งมีการจับอาหารทุกตัวทำให้มีอาหารเหลือซึ่งต่างจากกุ้งที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนอยู่ในช่วง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะพบว่าเมื่อมีการให้อาหารกุ้งจะยังไม่เข้าหาอาหารในทันที บางตัวมีการจับอาหาร บางส่วนไม่เข้าจับอาหารเลยทำให้กุ้งในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 เหลืออาหารเป็นจำนวนมากสอดคล้องกับชโล และคณะ (2552) โดยอุณหภูมิของน้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม การใช้ออกซิเจน การเจริญเติบโต และอัตราการตาย เมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้นทำให้อัตราการใช้ออกซิเจน อัตราการขับถ่ายของเสียในรูปของแอมโมเนีย และอัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้น (Wyban *et al.*, 1995; Lin *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2001)

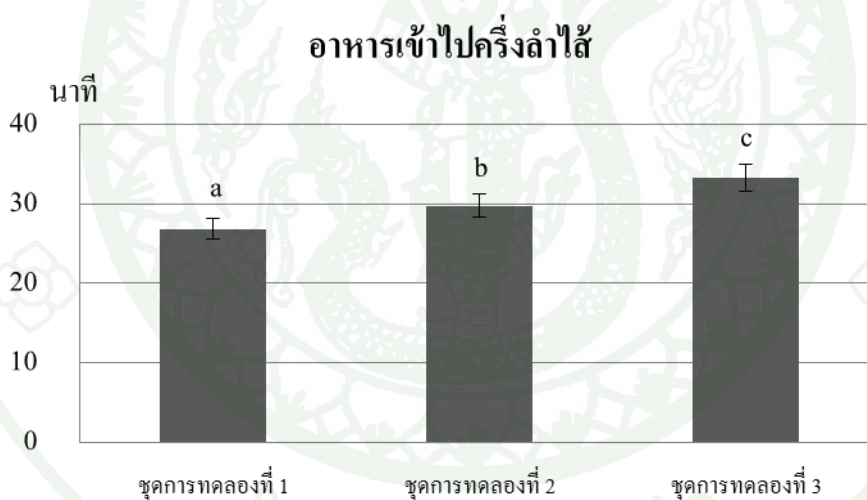
ตารางที่ 11 แสดงพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิต่ำ (24 ± 1 °C)

พฤติกรรมการกินอาหาร/ ระยะเวลาที่ใช้ระหว่าง การกินอาหาร (นาท)	ชุดการทดลองที่ 1 (DO>4มิลลิกรัม/ลิตร)	ชุดการทดลองที่ 2 (DO 2-4 มิลลิกรัม/ลิตร)	ชุดการทดลองที่ 3 (DO<2 มิลลิกรัม/ลิตร)
อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้	16.16 ± 0.11^a	19.00 ± 0.53^b	22.01 ± 0.46^c
อาหารเข้าไปครึ่งลำไส้	26.86 ± 0.33^a	29.80 ± 0.59^b	33.27 ± 0.77^c
อาหารเต็มลำไส้	54.10 ± 0.55^a	57.58 ± 0.45^b	64.59 ± 0.43^c
เริ่มมีการขับถ่ายของเสีย	84.88 ± 0.67^a	89.44 ± 0.52^b	102.46 ± 0.60^c
อาหารเหลือหลังจากให้ 2 ชั่วโมง (เปอร์เซ็นต์)	27.78 ± 7.60^a	59.26 ± 6.79^b	74.07 ± 3.21^c

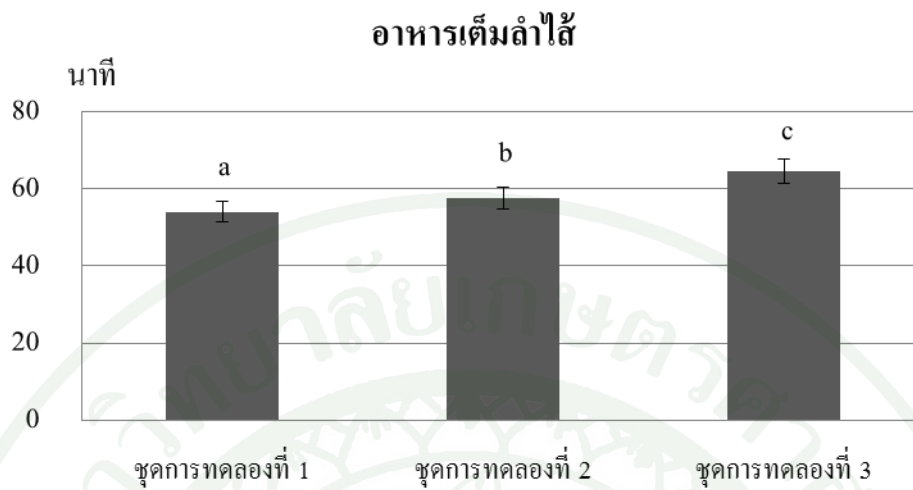
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรแตกต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



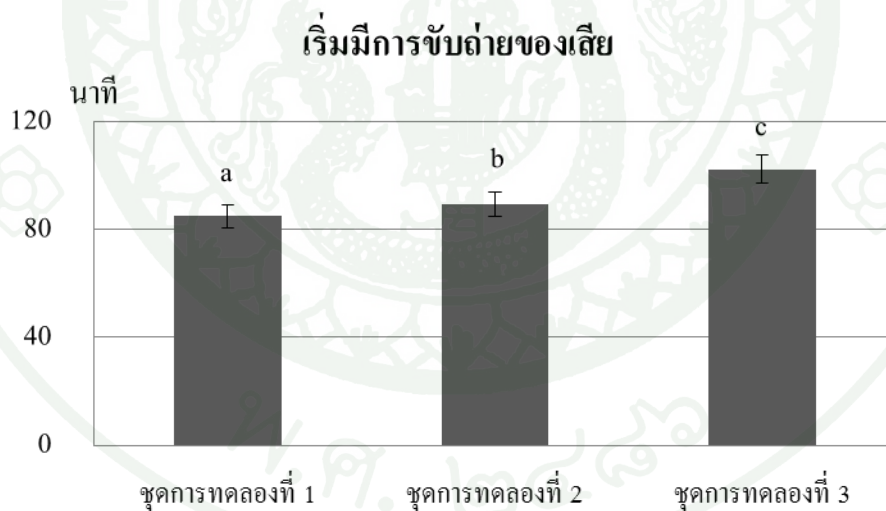
ภาพที่ 34 แสดงเวลาที่อาหารเริ่มเข้าไปในลำไส้ของกิ้งก่าหางนาไมที่เลี้ยงในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิห้อง (24 ± 1 °C)



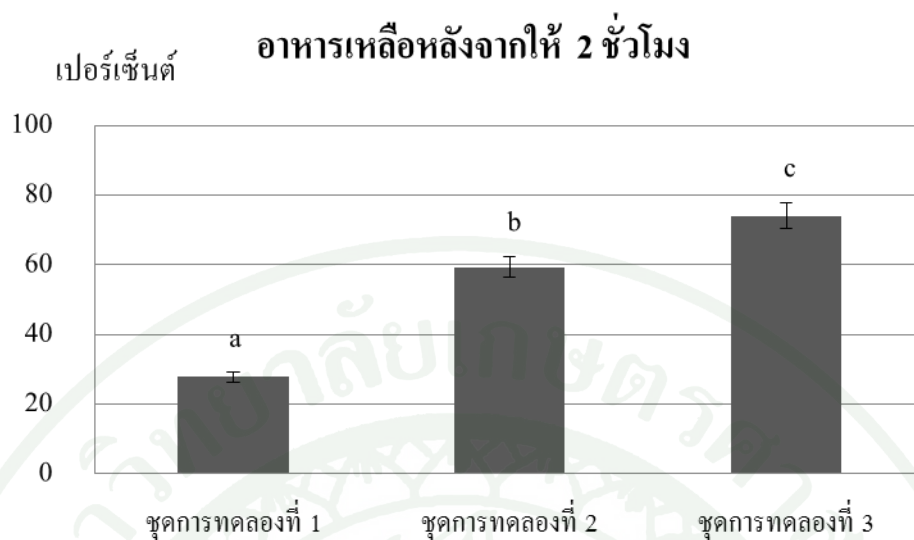
ภาพที่ 35 แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปครึ่งลำไส้ของกิ้งก่าหางนาไมที่เลี้ยงในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิห้อง (24 ± 1 °C)



ภาพที่ 36 แสดงเวลาที่อาหารเข้าไปเต็มลำไส้ของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ (24 ± 1 °C)



ภาพที่ 37 แสดงเวลาที่เริ่มมีการขับถ่ายของเสียของกุ้งขาวแวนนาไมที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิต่ำ (24 ± 1 °C)



ภาพที่ 38 แสดงเปอร์เซ็นต์ที่กึ่งขาวเวนนาไม่กินอาหารเหลือหลังจากให้ไป 2 ชั่วโมง ในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^\circ\text{C}$)

1.3.2 ผลของระดับออกซิเจนต่างกันที่อุณหภูมิต่ำต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกึ่งขาวเวนนาไม่

จากการศึกษาทางด้านการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของกึ่งขาวเวนนาไม่ที่เลี้ยงในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกันทั้ง 3 ระดับ ที่อุณหภูมิ $24 \pm 1^\circ\text{C}$ โดยวิเคราะห์ปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดกึ่ง และกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกึ่ง ได้ผลการทดลองดังนี้

- การตรวจนับปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกึ่ง

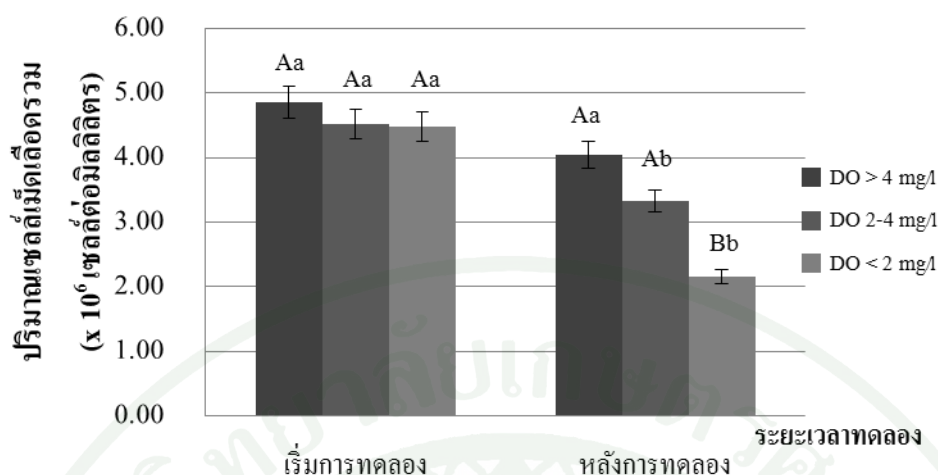
หลังจากเลี้ยงกึ่งขาวในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) พบว่าก่อนการทดลองกึ่งในชุดการทดลองที่ 1 (ออกซิเจนละลายน้ำมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) ชุดการทดลองที่ 2 (ออกซิเจนละลายน้ำระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และชุดการทดลองที่ 3 (ออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมไม่แตกต่าง เท่ากับ 4.86×10^6 , 4.52×10^6 และ 4.48×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่หลังการทดลอง กึ่งใน

ชุดการทดลองที่ 1 มีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมเท่ากับ 4.04×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับกึ่งในชุดการทดลองที่ 2 มีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม เท่ากับ 3.33×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกึ่งในชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งมีปริมาณเซลล์เม็ดเลือด เท่ากับ 2.16×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และพบว่าหลังการทดลองกึ่งในชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมแตกต่างจากกึ่งก่อนการทดลอง (ตารางที่ 12 และ ภาพที่ 39) โดยในสภาวะอุณหภูมิของน้ำดำร่วมกับออกซิเจนที่ต่ำลงจะมีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมลดลง การปรับลดออกซิเจนให้เหลือ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ใน 24 ชั่วโมงจะทำให้ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมลดลง 7.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกึ่งในกลุ่มที่ได้รับออกซิเจนที่เหมาะสม (Moullac et al., 1998)

ตารางที่ 12 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^\circ\text{C}$)

ระยะเวลาในการทดลอง	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม ($\times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)		
	ชุดการทดลองที่ 1 (DO > 4 mg/l)	ชุดการทดลองที่ 2 (DO 2-4 mg/l)	ชุดการทดลองที่ 3 (DO < 2 mg/l)
เริ่มการทดลอง	$4.86 \pm 0.56^{\text{Aa}}$	$4.52 \pm 0.45^{\text{Aa}}$	$4.48 \pm 0.88^{\text{Aa}}$
หลังการทดลอง	$4.04 \pm 1.20^{\text{Aa}}$	$3.33 \pm 1.34^{\text{Ab}}$	$2.16 \pm 0.57^{\text{Bb}}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แตกต่างในแนวนอน และ อักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กแตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 39 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งขาวแวนนาไม ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^\circ\text{C}$)

- กิจกรรมของกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดกุ้ง

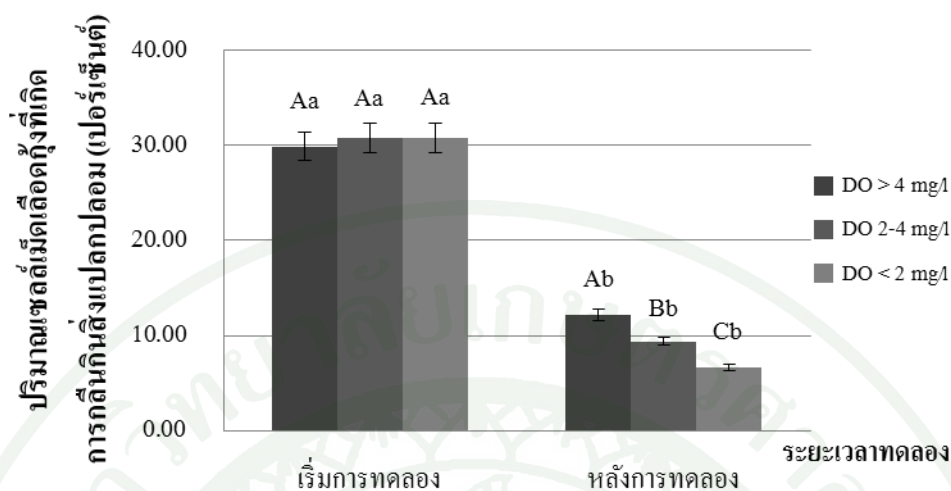
หลังจากเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่างกัน 3 ระดับที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^\circ\text{C}$) พบว่า ก่อนการทดลอง กุ้งในชุดการทดลองที่ 1 (ออกซิเจนละลายน้ำมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) ชุดการทดลองที่ 2 (ออกซิเจนละลายน้ำระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และชุดการทดลองที่ 3 (ออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีเซลล์เม็ดเลือดกุ้งที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมใกล้เคียงกัน เท่ากับ 29.89, 30.78 และ 30.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนหลังการทดลอง กุ้งในชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 12.17, 9.39 และ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งสามชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และทุกชุดการทดลองหลังการทดลองมีเซลล์เม็ดเลือดกุ้งที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมแตกต่างจากชุดก่อนการทดลอง (ตารางที่ 13 และ ภาพที่ 40)

จากการทดลองพบว่าปริมาณออกซิเจนที่ต่างกันในอุณหภูมิของน้ำที่ต่ำจะส่งผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม การใช้ออกซิเจน ทำให้ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมลดลง และ Moullac and Haffner (2000) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมจะทำให้สัตว์เกิดความเครียด โดยเฉพาะสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน โดยกระบวนการการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันจะลดลง

ตารางที่ 13 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงใน
สถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^\circ\text{C}$)

ระยะเวลาในการทดลอง	ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอม (เปอร์เซ็นต์)		
	ชุดการทดลองที่ 1 (DO > 4 mg/l)	ชุดการทดลองที่ 2 (DO 2-4 mg/l)	ชุดการทดลองที่ 3 (DO < 2 mg/l)
เริ่มการทดลอง	$29.89 \pm 3.72^{\text{Aa}}$	$30.78 \pm 4.21^{\text{Aa}}$	$30.78 \pm 4.29^{\text{Aa}}$
หลังการทดลอง	$12.17 \pm 1.90^{\text{Ab}}$	$9.39 \pm 1.41^{\text{Bb}}$	$6.67 \pm 2.00^{\text{Cb}}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แตกต่างกันในแนวนอน และ อักษร
ภาษาอังกฤษตัวเล็กแตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 40 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของกุ้งขาวแวนนาไม ที่เลี้ยงในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^{\circ}\text{C}$)

- กิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง

หลังจากการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในสถานะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^{\circ}\text{C}$) พบว่า ก่อนการทดลองกุ้งในชุดการทดลองที่ 1 (ออกซิเจนละลายน้ำมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) ชุดการทดลองที่ 2 (ออกซิเจนละลายน้ำอยู่ระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และชุดการทดลองที่ 3 (ออกซิเจนละลายน้ำน้อยกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีค่าอัตราส่วนการเจือจางของซีรัมที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ คือ 1:4 ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งหลังการทดลองกุ้งในชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอัตราส่วนในการเจือจางของซีรัมที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอยู่ที่ 1:2 และในชุดการทดลองที่ 3 มีอัตราส่วนในการเจือจางของซีรัมที่สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 50 เปอร์เซ็นต์ มากกว่า 1:2 (ตารางที่ 14 และ ภาพที่ 41-42)

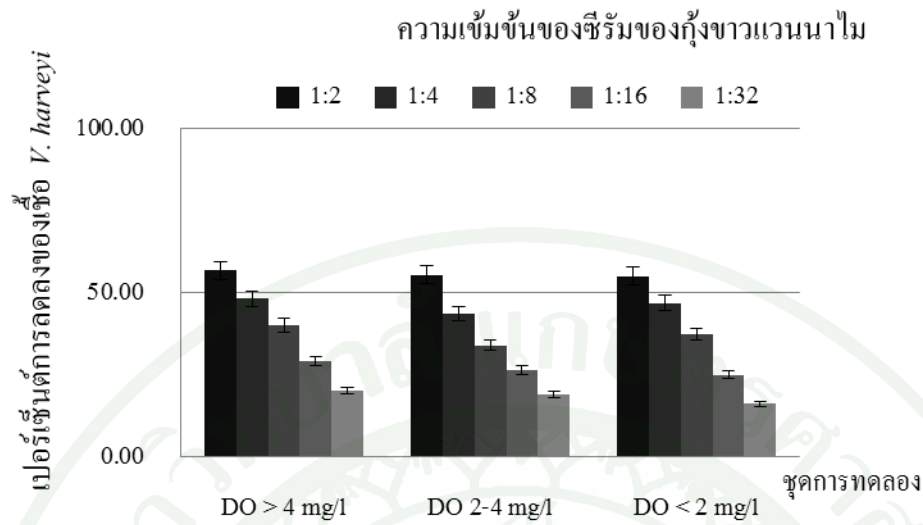
ในการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจะมีผลต่อการลดลงของกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของน้ำเลือด โดย Pan *et al.* (2007) ทดลองทำผลของอุณหภูมิต่อภูมิคุ้มกัน พบว่ากิจกรรมการทำลายแบคทีเรียต่ำสุดคือชั่วโมงที่ 12 ในกลุ่มที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 18 และ 21

องศาเซลเซียส จะต่ำสุดที่ชั่วโมงที่ 24 หลังจากนั้น 3 วัน กิจกรรมการทำลายแบคทีเรียของทุกกลุ่ม จะเริ่มคงที่ และได้ทำการทดลองที่อุณหภูมิสูงปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองในขณะที่ทดลองที่อุณหภูมิต่ำ พบว่ากิจกรรมการทำลายแบคทีเรียในกลุ่มทดลองลดลง

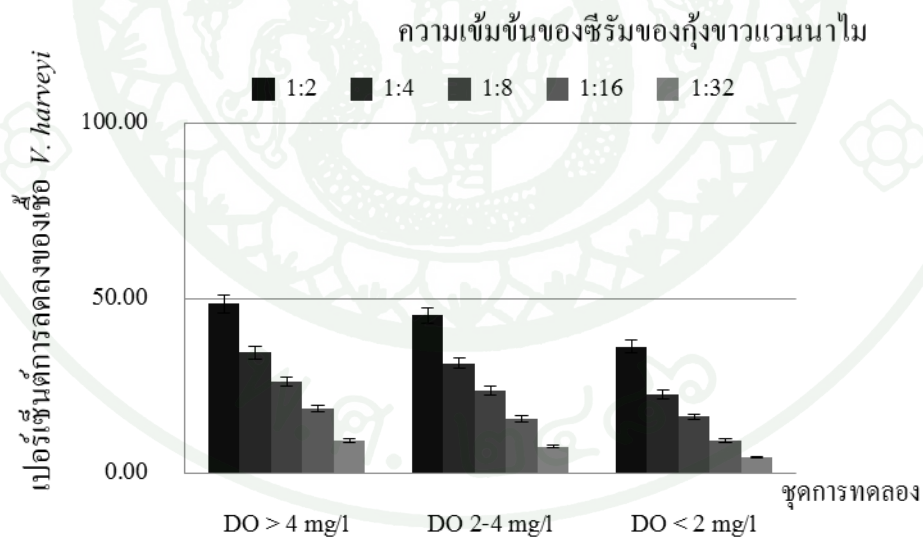
ตารางที่ 14 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไม่สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^\circ\text{C}$)

ระยะเวลาในการทดลอง	ความเข้มข้นของซีรัมที่ เชื้อ <i>V.harveyi</i> ที่ลดลง		
	ชุดการทดลองที่ 1 (DO > 4 mg/l)	ชุดการทดลองที่ 2 (DO 2-4 mg/l)	ชุดการทดลองที่ 3 (DO < 2 mg/l)
เริ่มการทดลอง	1:4	1:4	1:4
หลังการทดลอง	1:2	1:2	>1:2

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แตกต่างกันในแนวนอน และอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กแตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 41 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไม (ก่อนการทดลอง) สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^\circ\text{C}$)



ภาพที่ 42 ความเข้มข้นของซีรัมของกุ้งขาวแวนนาไม (หลังการทดลอง) สามารถลดปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่อุณหภูมิต่ำ ($24 \pm 1^\circ\text{C}$)

2. ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการให้อาหารกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการให้อาหารโดยใช้แรงคน ใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และเครื่องให้อาหารแบบอัตโนมัติที่ควบคุมการให้อาหารโดยตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง

2.1 คุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

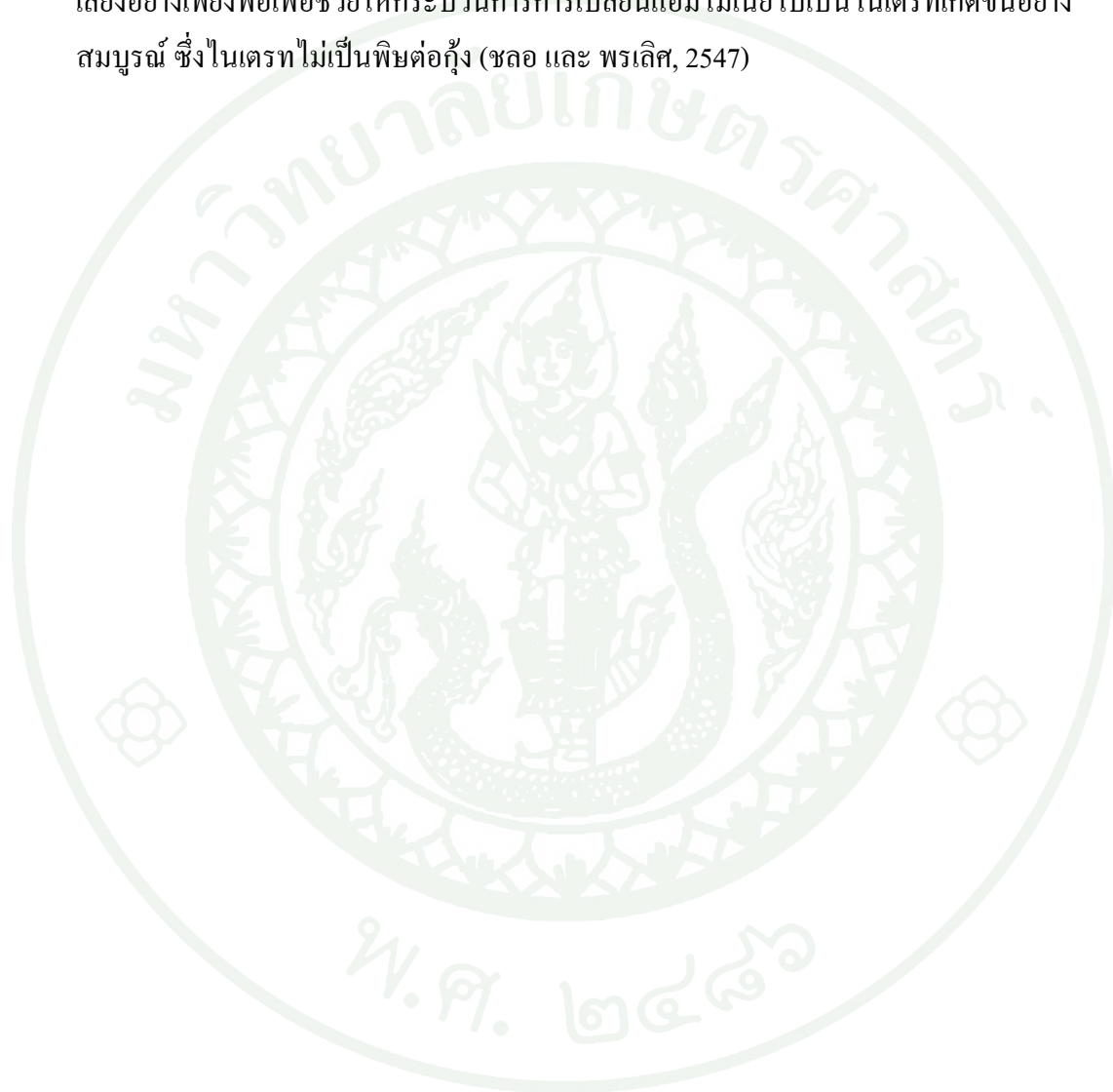
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคุณภาพน้ำต่าง ๆ ได้แก่ พีเอชทั้งเช้าและบ่าย ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำทั้งเช้าและบ่าย ค่าอุณหภูมิ ความเค็ม ค่าความเป็นด่างและค่าความกระด้างของน้ำ ระหว่างกลุ่มทดลองที่ให้อาหารแบบใช้แรงคน กลุ่มใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และกลุ่มที่ให้อาหารอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 15) โดยค่าเฉลี่ยของพีเอชช่วงเช้า เท่ากับ 7.61, 7.51 และ 7.55 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของพีเอชช่วงบ่าย เท่ากับ 8.06, 8.01 และ 8.08 ตามลำดับ สอดคล้องกับ Boyd and Tucker (1998) รายงานค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งอยู่ในช่วง 7.5-8.5 ในขณะที่ค่าปริมาณของออกซิเจนเฉลี่ยที่ละลายน้ำช่วงเช้า เท่ากับ 5.71, 5.43 และ 5.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยออกซิเจนในช่วงบ่าย เท่ากับ 6.39, 6.09 และ 6.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าปริมาณออกซิเจนในตอนเช้าซึ่งเป็นช่วงที่มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำน้อยที่สุดในรอบวันของบ่อที่ทำการศึกษาอยู่ในระดับที่สูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่าการจัดการเรื่องเครื่องให้อาหารของฟาร์มมีความเหมาะสม เพราะสามารถให้ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำอย่างเพียงพอตลอดเวลา สอดคล้องกับรายงานของ Boyd (1987) ชลอ และ พรเลิศ (2547) รายงานว่า บ่อเลี้ยงกุ้งที่มีปริมาณออกซิเจนตอนกลางคืนถึงเช้ามีคอยู่ในระดับต่ำประมาณ 2-3 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือต่ำกว่านี้ กุ้งจะมีการเจริญเติบโตช้าและมีอัตราการรอดตายต่ำ อัตราแลกเปลี่ยนสูง ในขณะที่บ่อที่มีปริมาณออกซิเจนสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร กุ้งจะมีการเจริญเติบโตดีกว่า (จึงมีความจำเป็นในการเปิดเครื่องให้อากาศเพื่อช่วยในการเพิ่มออกซิเจนให้อยู่ในระดับที่สูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรตลอดเวลา ซึ่งจะช่วยให้อัตราการรอดตายของกุ้งเพิ่มขึ้นด้วย (Madenjian, 1990) สำหรับค่าเฉลี่ยอุณหภูมิของน้ำในแต่ละกลุ่มมีค่าเท่ากับ 27.05, 27.41 และ 27.71 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยความเค็ม มีค่าเท่ากับ 10.12, 10.63 และ 11.08 พีพีที ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของค่าความเป็นด่าง หรือ อัลคาไลน์ดีตี เท่ากับ 79.00, 79.00 และ 79.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยความกระด้างของน้ำ มีค่าเท่ากับ 2,159.50, 2,135.79 และ 2,195.14 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาถึงค่าเฉลี่ยของแอมโมเนียรวมและไนไตรท์ ระหว่างกลุ่มทดลองที่ให้อาหารแบบใช้แรงคน กลุ่มใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และกลุ่มที่ให้อาหารอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง พบว่า มีค่าเฉลี่ยแอมโมเนียรวมเท่ากับ 0.61, 0.35 และ 0.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ ค่าเฉลี่ยของไนไตรท์ เท่ากับ มีค่าเท่ากับ 0.015, 0.009 และ 0.008 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยของคุณภาพน้ำดังกล่าวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยที่การให้อาหารแบบใช้แรงคนมีค่าแอมโมเนียรวมและไนไตรท์มากกว่าการให้อาหารแบบใช้เครื่องอัตโนมัติทั้งแบบตั้งเวลาและตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง อย่างไรก็ตามเนื่องจากการจัดการที่ดีในฟาร์มซึ่งเน้นการให้มีปริมาณของออกซิเจนที่ละลายน้ำสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นหลักในทุกบ่อเลี้ยงจึงส่งผลให้ค่าคุณภาพน้ำ มีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ชลอ และ พรเลิศ, 2547)

ในปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจะมีการเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นที่สูงมาก ปริมาณการให้อาหารที่สูงตามไปด้วยทำให้คุณภาพน้ำเสื่อมโทรมลงตามระยะเวลาในการเลี้ยง เนื่องมาจากสิ่งขับถ่ายของกุ้งและอาหารที่กุ้งกินไม่หมด นอกจากนี้สารอาหารอินทรีย์ที่มาจากอาหารกุ้งยังมีส่วนในการเพิ่มสารอินทรีย์คาร์บอนจำนวนมากให้กับน้ำซึ่งต้องใช้ออกซิเจนจำนวนมากในการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ โดยการย่อยสลายของอาหารกุ้งในบ่อถูกควบคุมด้วยปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ พีเอช ออกซิเจน ความเค็ม และส่วนประกอบของอาหารกุ้ง การย่อยสลายสารอินทรีย์ในอาหารกุ้งเกิดขึ้นได้ดีเมื่อมีอุณหภูมิที่เหมาะสม (15-35 องศาเซลเซียส) และพีเอชที่เป็นกลางซึ่งเบคทีเรียทั่วไปจะเจริญได้ดี และต้องมีการควบคุมไม่ให้พีเอชสูงเกินค่าที่เหมาะสมเมื่อพีเอชสูงขึ้นจะทำให้แอมโมเนียเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่เป็นพิษมากขึ้น (Losordo *et al.*, 1992 ; Masser *et al.*, 1992) แอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถทำให้กุ้งตายได้ภายในระยะเวลา 10 ชั่วโมง นอกจากนี้ปริมาณแอมโมเนียยังส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งขาวแวนนาไมด้วย (Liu and Chen, 2004)

ดังนั้นในการเลี้ยงกุ้งในช่วงท้ายปริมาณของเสียและสารอินทรีย์ที่มีการสะสมมากขึ้นส่งผลให้มีปริมาณแอมโมเนียในปริมาณมากเนื่องจากการย่อยสลายของเศษอาหารที่เหลือและซากแพลงก์ตอนที่ตาย เกษตรกรจึงควรควบคุมระดับพีเอชไม่ให้สูงมากเพื่อป้องกันความเป็นพิษจากแอมโมเนีย โดยควบคุมปริมาณการให้อาหารที่เหมาะสมไม่ให้มีอาหารเหลือ

นอกจากนั้นอาจจะมีการเติมจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียที่สามารถนำแอมโมเนียไปใช้ ในขณะเดียวกันแบคทีเรียในกลุ่มนี้ต้องการใช้ออกซิเจนเพื่อการเผาผลาญและการสร้างพลังงาน ถ้าในน้ำขาดออกซิเจนจะทำให้แอมโมเนียเปลี่ยนเป็นไนไตรท์และไนเตรทไม่สมบูรณ์ (ชลอ และ พรเลิศ, 2547; Boyd, 1982; Wickins, 1985) ดังนั้นควรมีเครื่องให้อากาศในช่วงท้ายของการเลี้ยงอย่างเพียงพอเพื่อช่วยให้กระบวนการการเปลี่ยนแอมโมเนียไปเป็นไนเตรทเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ซึ่งไนเตรทไม่เป็นพิษต่อกุ้ง (ชลอ และ พรเลิศ, 2547)



ตารางที่ 15 คุณภาพน้ำในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเปรียบเทียบระหว่างการให้อาหารแบบใช้แรงคน การใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และ การให้อาหารอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง

คุณภาพน้ำ		ใช้แรงคนในการหว่านอาหาร		ใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา		ใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกิน	
		พิสัย	ค่าเฉลี่ย±SD	พิสัย	ค่าเฉลี่ย±SD	พิสัย	ค่าเฉลี่ย±SD
พีเอช	เช้า	7.40-8.10	7.61 ± 0.21 ^a	7.30-8.03	7.51 ± 0.19 ^a	7.20-8.17	7.55 ± 0.26 ^a
	บ่าย	7.67-8.67	8.06 ± 0.22 ^a	7.70-8.47	8.01 ± 0.21 ^a	7.80-8.57	8.08 ± 0.20 ^a
ออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เช้า	4.90-7.30	5.71 ± 0.74 ^a	4.60-7.60	5.43 ± 0.88 ^a	4.50-7.20	5.34 ± 0.80 ^a
	บ่าย	5.50-8.40	6.39 ± 0.91 ^a	5.10-8.30	6.09 ± 0.83 ^a	5.40-7.80	6.32 ± 0.68 ^a
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)		26.53-28.40	27.05 ± 0.26 ^a	26.53-28.40	27.41 ± 0.70 ^a	26.70-28.90	27.71 ± 0.81 ^a
ความเค็ม (พีพีที)		9.00-11.33	10.12 ± 0.58 ^a	10.00-12.50	10.63 ± 0.75 ^a	10.50-11.67	11.08 ± 0.30 ^a
ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)		62.00-103.00	79.00 ± 10.73 ^a	62.00-103.00	79.00 ± 10.73 ^a	64.00-101.00	79.07 ± 12.92 ^a
ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)		1900-2333	2159.5±111.8 ^a	1900-2267	2135.79 ± 112.14 ^a	2000-2433	2195.14±144.34 ^a
แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		0.03-1.33	0.61 ± 0.13 ^b	0.00-1.40	0.35 ± 0.11 ^a	0.00-1.40	0.33 ± 0.12 ^a
ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		0.01-0.04	0.015 ± 0.001 ^b	0.00-0.05	0.009 ± 0.001 ^a	0.01-0.04	0.008 ± 0.001 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

2.2 ผลผลิตในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม

ผลการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการให้อาหารกุ้งขาวแวนนาไม ระหว่างการให้อาหารแบบใช้แรงงานคนหว่าน การใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และ การใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง ตลอดระยะเวลาในการเลี้ยงแสดงไว้ใน ตารางที่ 16 พบว่า อัตราแลกเนื้อเฉลี่ยเท่ากับ 1.55, 1.47 และ 1.30 ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งการให้อาหารด้วยเครื่องอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้งมีอัตราแลกเนื้อต่ำที่สุด สำหรับ อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 0.18, 0.21 และ 0.24 กรัมต่อวันและอัตราการรอดตายเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มมีค่าเท่ากับ 71.57, 72.06 และ 74.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของกุ้งในแต่ละกลุ่มมีค่าเท่ากับ 15.12, 16.94 และ 21.52 กรัม ตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มที่ให้อาหารแบบใช้แรงงานคนหว่าน กับกลุ่มที่ใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และกลุ่มที่ใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง ในขณะที่ปริมาณผลผลิตรวมเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 1,672.00, 1,739.30 และ 2,407.44 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างแต่ละกลุ่มการศึกษา

การให้อาหารโดยใช้เครื่องให้อัตโนมัติทั้งแบบตั้งเวลาและแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้งสามารถควบคุมปริมาณการให้อาหารได้ดี ซึ่งแตกต่างจากการให้อาหารแบบหว่านโดยที่ในการหว่านแต่ละครั้งอาหารจะกระจายตัวได้น้อยกว่าทำให้อาหารส่วนใหญ่จมอยู่ในน้ำเป็นเวลานานทำให้สูญเสียกลิ่นที่จะดึงดูดการกินของกุ้ง เป็นสาเหตุให้กุ้งกินอาหารนั้นลดลงทำให้เกิดการสะสมของสารอินทรีย์ภายในบ่อ นอกจากนี้อาหารบางส่วนถูกพัดไปบริเวณขานเลนทำให้กุ้งไม่สามารถกินอาหารเหล่านั้นได้ ดังนั้นการให้อาหารแบบหว่านจึงมีอัตราแลกเนื้อที่ค่อนข้างสูงสอดคล้องกับพงศธร (2556) นอกจากนั้นปริมาณอาหารที่เหลืออยู่ที่ก้นบ่อนั้นจะส่งผลให้ปริมาณแอมโมเนียเพิ่มสูงขึ้นรวมทั้งปริมาณแบคทีเรียในกลุ่มวิบริโอด้วยซึ่งจะมีผลต่อสุขภาพของกุ้ง (Limsuwan, 2011) ดังนั้นหากเกษตรกรมีการควบคุมคุณภาพน้ำให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงและควบคุมปริมาณอาหารให้เหมาะสมต่อความต้องการของกุ้งจะทำให้มีการเจริญเติบโตที่ดี อัตราการรอดตายสูง และอัตราแลกเนื้อต่ำ สามารถช่วยในการลดต้นทุนการผลิตได้

ตารางที่ 16 ผลผลิตในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเปรียบเทียบระหว่างการให้อาหารแบบใช้แรงคน การใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลาและการให้อาหารอัตโนมัติแบบตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง

ผลผลิตกุ้ง	ใช้แรงงานคนในการ หว่านอาหาร	ใช้เครื่องให้อาหาร อัตโนมัติแบบตั้งเวลา	ใช้เครื่องให้อาหาร อัตโนมัติแบบตรวจจับ เสียงการกิน
อัตราแลกเนื้อ	1.55 ± 0.03^a	1.42 ± 0.06^b	1.30 ± 0.04^c
อัตราการเจริญเติบโต (กรัมต่อวัน)	0.18 ± 0.02^a	0.21 ± 0.04^a	0.24 ± 0.03^a
น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	15.12 ± 2.68^c	16.94 ± 1.21^b	21.52 ± 4.31^a
ผลผลิตทั้งหมด (กิโลกรัมต่อไร่)	$1,672.00 \pm 128.17^c$	$1,739.30 \pm 105.36^b$	$2,407.44 \pm 144.49^a$
อัตรารอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	71.57 ± 3.85^a	72.06 ± 2.05^a	74.58 ± 2.34^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3. ปัจจัยของอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของ กุ้งขาวแวนนาไมในฟาร์มเลี้ยง

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณอาหารที่ให้ต่อวัน มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอุณหภูมิของน้ำ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 มีค่า $r = 0.269$ (มีความสัมพันธ์กัน 26.9%) นอกจากนั้นปัจจัยทาง คุณภาพน้ำตัวอื่น ๆ ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่ให้ต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 17 แต่ เนื่องจากการจัดการของฟาร์มในด้านการควบคุมปริมาณออกซิเจนละลายน้ำมีการจัดการที่ดีทำให้ ปริมาณออกซิเจนอยู่ในระดับที่มากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอนี้จึง ทำให้ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณอาหารที่ให้ต่อวัน

เนื่องจากกุ้งเป็นสัตว์เลือดเย็น อุณหภูมิของตัวกุ้งจะเปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ ของน้ำและมีผลต่อการกินอาหารมาก อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม อยู่ระหว่าง 28-30 องศาเซลเซียส (ชลอ และคณะ, 2552) เมื่ออุณหภูมิต่ำกุ้งจะกินอาหารช้าลงและ ลดลง ในทางกลับกันถ้าอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น กุ้งจะมีการกินอาหารเร็วขึ้นและมากขึ้น การจับถ่าย ก็จะเร็วมากขึ้น นอกจากอุณหภูมิในน้ำที่มีผลต่อการกินอาหารของกุ้ง ยังมีออกซิเจนละลายน้ำซึ่งมี ผลต่อการย่อยอาหารของกุ้ง ดังนั้นหากมีปริมาณออกซิเจนต่ำจะทำให้กุ้งกินอาหารลดลง (กรม ประมง, 2546) ในสถานะที่ออกซิเจนละลายน้ำต่ำจะส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันและพฤติกรรมการ ดำรงชีวิตของกุ้งอีกด้วย โดยกุ้งจะเคลื่อนที่ช้าลงเพื่อลดกิจกรรมการใช้ออกซิเจนในร่างกายและจะ ว่ายน้ำสู่วิวน้ำเพื่อรับออกซิเจน

ตารางที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำกับปริมาณอาหารที่ให้ต่อวัน

	ปริมาณอาหารที่ให้ต่อวัน
อุณหภูมิของน้ำ	
Pearson Correlation	0.269
Sig. (2-tailed)	0.023*
N	96
ออกซิเจนละลายน้ำ	
Pearson Correlation	0.029
Sig. (2-tailed)	0.812
N	96
พีเอชของน้ำ	
Pearson Correlation	-0.019
Sig. (2-tailed)	0.875
N	96

ตารางที่ 17 (ต่อ)

ปริมาณอาหารที่ให้ต่อวัน	
ค่าความเป็นต่าง	
Pearson Correlation	-0.103
Sig. (2-tailed)	0.602
N	28
ค่าความกระด้าง	
Pearson Correlation	0.043
Sig. (2-tailed)	0.827
N	28
แอมโมเนียรวม	
Pearson Correlation	0.106
Sig. (2-tailed)	0.590
N	28
ไนไตรท์	
Pearson Correlation	0.216
Sig. (2-tailed)	0.269
N	28

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไมในห้องปฏิบัติการ พบว่า กุ้งที่เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 24 ± 1 องศาเซลเซียสจะมีพฤติกรรมการกินอาหารที่ช้ากว่ากุ้งที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 29 ± 1 องศาเซลเซียส รวมถึงปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมและกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียในน้ำเลือดก็มีปริมาณที่ลดลง ในส่วนของกุ้งที่เลี้ยงในสภาวะที่ระดับออกซิเจนต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าจะกินอาหารไม่หมด ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมและกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียในน้ำเลือดลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่เลี้ยงในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนระหว่าง 2-4 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยกุ้งที่เลี้ยงในสภาวะที่ระดับออกซิเจนต่างกัน ร่วมกับอุณหภูมิค่าจะมีพฤติกรรมการกินที่ช้ามากถึงแม้จะอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร อีกทั้งปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดที่เกิดการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมและกิจกรรมการทำลายแบคทีเรียในน้ำเลือดก็จะลดลงมากเมื่อเทียบกับกุ้งในอุณหภูมิปกติ ($29 \pm 1^{\circ}\text{C}$)

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการให้อาหารกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างการให้อาหารโดยใช้แรงงานคน ใช้เครื่องให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลา และแบบอัตโนมัติที่ควบคุมการให้อาหารโดยตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง พบว่า การให้อาหารด้วยเครื่องอัตโนมัติแบบการตรวจจับเสียงการกินอาหารจะให้อัตราแลกเนื้อ น้ำหนักเฉลี่ย และผลผลิตทั้งหมด ดีกว่าการให้อาหารด้วยการใช้แรงงานคนหว่านและการให้อาหารอัตโนมัติแบบตั้งเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สำหรับผลการศึกษาคูณภาพน้ำที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม โดยการใช้การตรวจจับเสียงการกินอาหารของกุ้ง พบว่า อุณหภูมิของน้ำมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณอาหารที่ให้อาหารทุกวัน แสดงว่า อุณหภูมิของน้ำมีผลโดยตรงกับพฤติกรรมการกินอาหารของกุ้ง ถ้าอุณหภูมิน้ำต่ำกุ้งจะกินอาหารลดลง

ข้อเสนอแนะ

สำหรับแนวทางการให้อาหารของเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งทั่วไปนั้นควรมีการพิจารณาปรับปริมาณการให้อาหารกุ้งให้สอดคล้องกับอุณหภูมิของน้ำในบ่อเลี้ยงด้วยเช่นในช่วงที่อุณหภูมิของน้ำต่ำในตอนเช้า และในช่วงที่อากาศหนาว ควรพิจารณาลดปริมาณอาหารที่ให้กุ้งลง เพื่อลดการสูญเสียจากอาหารที่เหลือในแต่ละมื้อเพราะกุ้งจะกินอาหารน้อยมาก นอกจากนี้ผู้เลี้ยงกุ้งควรควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรตลอดระยะเวลาการเลี้ยงซึ่งจะช่วยให้กุ้งแข็งแรงมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ดีและทำให้ได้ผลผลิตที่ดีอีกด้วย

ปัจจุบันเครื่องให้อาหารอัตโนมัติมีหลายแบบ หลายรุ่น ซึ่งแต่ละชนิด มีองค์ประกอบและการทำงานแตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งต่อไปอาจจะต้องทำการศึกษาถึงระดับการทำงานของแต่ละแบบ แต่ละชนิดถึงผลที่จะทำได้ประสิทธิภาพในการเลี้ยงสูงที่สุด

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กิจการ ศุภมาตย์, วุฒิพร พรหมขุนทอง, ชุตินา ตันติกิตติ และ Rudolf Hoffmann. 2543 ก.

ภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ: II. เซลล์และเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสิ่งแปลกปลอม
ในกุ้งกุลาดำ. ว.สงขลานครินทร์. ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22 (ฉบับพิเศษ) :
581-588.

_____, อุษณีย์ เอกปนิธานพงศ์, Toshiaki Itami และ จิราพร เกสรจันทร์. 2543 ข. ระบบ
ภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ: I. เทคนิคในการศึกษาระบบภูมิคุ้มกันโรคและองค์ประกอบ
เลือดในกุ้งกุลาดำ. ว.สงขลานครินทร์. ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22 (ฉบับพิเศษ)
: 567-580.

กรมประมง. 2546. ระเบียบและการปฏิบัติการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกรามตามมาตรฐาน จี เอ พี พ.ศ.
2546. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง, กรุงเทพฯ.

กรรณิการ์ สิริสิงห์. 2522. เคมี่ของน้ำ: น้ำโสโครกและการวิเคราะห์. โรงพิมพ์บริษัท
สารมวลชนจำกัด, กรุงเทพฯ.

จารุวัฒน์ นกิตะภักฏ และ สมนึก กบิลรัมย์. 2530. การบริโภคออกซิเจนเปรียบเทียบของกุ้ง
กุลาดำ *Penaeus monodon* Fabricius ที่ถูกบีบตาและปกติ. เอกสารวิชาการ ฉบับที่
13/2530 สถานีกรมประมงน้ำจืดร้อย จังหวัดระยอง, กรมประมง, ระยอง.

ชลอ ลิมสุวรรณ. 2543. กุ้งไทย 2000 คู่ความยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม. โรงพิมพ์เจริญ
รัตน์ การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

_____, และ พรเลิศ จันทร์รัชกุล. 2547. อุศนากรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย.
สนับสนุนการจัดการพิมพ์โดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เพื่อเฉลิมพระเกียรติ
พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดช เนื่องในวโรกาสพระราชพิธีมหามงคล
เฉลิมพระชนมพรรษา 5 ธันวาคม พ.ศ.2547. บริษัทเมจิค พับบลิชชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ.

ชลอ ลัมสุวรรณ, นิติ ชูเชิด, สุธี วงศ์มณีประทีป, สาธิต ประเสริฐศรี, เกศินี หลายสุทธิสาร,
 ปัทมา วิริยพัฒนทรัพย์, จริยวดี สุริยพันธุ์ และ แก้วดา ลัมเฮง. 2552ก. ผลของอุณหภูมิต่อ
 การกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม. เอกสารเผยแพร่ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.
 คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____, สาธิต ประเสริฐศรี, สุธี วงศ์มณีประทีป, เกศินี หลายสุทธิสาร,
 ปัทมา วิริยพัฒนทรัพย์, แก้วดา ลัมเฮง และ ทิพวรรณ ไกรวิลาส. 2552ข. ผลของระดับ
 ออกซิเจน แอมโมเนีย และพีเอชต่อการกินอาหารของกุ้งขาวแวนนาไม. เอกสารเผยแพร่
 ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____, เอกอนันต์ ขวเบญจพล, นิติ ชูเชิด, วราห์ เทพาหุดี, จริยวดี สุริยพันธุ์,
 เกศินี หลายสุทธิสาร, ปาจริย จือเหลียง และ ชารทิพย์ นภอำไพพร. 2554. การใช้เครื่อง
 ให้อาหารอัตโนมัติในการเลี้ยงกุ้งทะเล. เอกสารเผยแพร่ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.
 คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชวลิต อัครกหสิน. 2552. ประสิทธิภาพของระบบฉีดออกซิเจนแบบใหม่ในการเลี้ยงกุ้งขาว
 แวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชัยชาญ ไตรศรีศิลป์. 2545. ฟีนอลออกซิเดสที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ
Penaeus monodon. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ทัศนีย์ นวลชัย. 2555. ผลของระดับออกซิเจน แอมโมเนีย และพีเอชต่อการกินอาหาร การ
 เจริญเติบโต การรอดตาย ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของกุ้งขาวแวนนาไม
 (*Litopenaeus vannamei*) และความต้านทานต่อเชื้อ *Vibrio harveyi*. วิทยานิพนธ์ปริญญา
 เอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทวีศักดิ์ ศรีชนะ. 2547. องค์ประกอบบางประการของระบบภูมิคุ้มกันในน้ำเลือดของกุ้งกุลาดำ

(*Penaeus monodon* Fabricius) ที่ระยะต่าง ๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธีระ เล็กชลุทข. 2535. นิเวศวิทยาแหล่งน้ำ. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.

ธรรมรัตน์ สว่างวรรณ. 2546. การผลิตอาหารกุ้งกุลาดำวัยอ่อนจากของเหลือทิ้งปลาช่อน.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวด. 2539. แหล่งน้ำกับปัญหามลภาวะ. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
กรุงเทพฯ.

พรวดี เลาหะมงคลรักษ์. 2549. การใช้วิตามินซีเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พยุง ภัทรกุลชัย. 2543. เกล็ดกุ้งกุลาดำและเลี้ยงผ่านหนาว ซึ่งต้องคุมอาหาร. สัตว์น้ำ 12 (136) :
3-10.

พงศ์ธร ยิ่งยวด. 2556. ประสิทธิภาพของระบบเครื่องให้อาหารอัตโนมัติต่อการเจริญเติบโตและ
การรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในฟาร์มเลี้ยง. วิทยานิพนธ์
ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มันสิน ดันทุลเวศม์ และ ไพพรรณ พรประภา. 2536. การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัด
น้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่นๆ. เล่ม 1. การจัดการคุณภาพน้ำ. คณะ
วิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ จารุวรรณ สมศิริ. 2528. **คุณสมบัติของน้ำและวิธีการวิเคราะห์สำหรับการวิจัยทางการประมง**. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง, กรุงเทพฯ.

วัชรียา ภูริวิโรจน์กุล. 2547. ระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้ง, น. 48-64. ใน **การฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การวินิจฉัยและการป้องกันโรคสัตว์น้ำ**. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศิริเพ็ญ ตรีไชยาพร. 2543. **การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

อนันตชัย เชื้อนธรรม. 2542. **หลักการวางแผนการทดลอง**. ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Adams, C.E., F.A. Huntingford, J.F. Turnbull and C. Beattie. 1998. Alternative competitive strategies and the cost of food acquisition in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture** 167: 17-26.

Akiyama, D.M. Dominy and W.G. Dominy. 1991. **Penaeid Shrimp Nutrition for the Commercial Feed Industry**. American Soybean Association and Oceanic Institute, Waimanalo, USA.

Akiyama, D.M., Dominy, W.G. Dominy and A. Lawrence. 1992. Penaeid shrimp nutrition, pp. 535-567. In A.W. Fast and L.J. Lester, eds. **Marine Shrimp Culture Principles and Practices**. Elsevier Amsterdam, London, New York, Tokyo.

Ang, K.P. and R.J. Petrell. 1997. Control of feed dispensation in seacages using underwater video monitoring: effects on growth and food conversion. **Aquac.Eng.** 16: 45-62.

American Public Health Association (APHA). 2012. **Standard Method for the Examination of Water and Wastewater**. 22th edition. American Public Health Association. Washington, D.C.

AQ 1 System. 2010. **SF500 Sound Feeding System : Finfish Feeding Control using Passive Acoustics in Ponds**. Available Source:
http://www.aqlsystems.com/uploaded/271/13510009_10sf500broc_lores.pdf, January 28, 2012.

_____. 2011. **SF200 Sound Feeding System : Shrimp Feeding Control using Passive Acoustics**. Available Source:
http://www.aqlsystems.com/uploaded/271/13510041_30sf200brochurelores.pdf, January 28, 2012.

Aspan, A., M. Hall and K. Soderhall. 1990. The effect of endogeneous proteinase inhibitors on the prophenoloxidase activating enzyme, a serine proteinase from crayfish haemocytes. **Insect Biochem.** 20: 485-492.

Azzaydi, M., F. J. Marti'nez, S. Zamora, F. J. Sa'nchez-Va'zquez and J. A. Madrid. 1999. Effect of meal size modulation on growth performance and feeding rhythms in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Aquaculture.** 170: 253–266.

Bachère, E., E. Mialhe and J. Rodriguez. 1995. Identification of defence effectors in the haemolymph of crustaceans with particular reference to the shrimp *Penaeus japonicas* (Bate): prospects and applications. **Fish Shellfish Immunol.** 5: 597-612.

Bachère, E., D. Destoumieux and P. Bulet. 2000. Penaeidins, antimicrobial peptide of shrimp: a comparison with other effect of innate immunity. **Aquaculture** 191: 71-88.

Beamish, F.W.H., and A. Tandler. 1990. Ambient ammonia, diet and growth in lake trout. **Aquat. Toxicol.** 17, 155–156.

Bégout, M.L. and J.P. Lagardère. 1993. Acoustic telemetry: a new technology to control fish behaviour in culture conditions. vol. 18, pp. 167–175. *In*: Barnabé, G. and P. Kestemont., eds. **Production, Environment and Quality, Bordeaux Aquaculture '92. Ghent, Belgium, EAS Spec.**

_____. 1995. Demand feeding behaviour of sea bass kept in ponds: diel and seasonal patterns, and influences of environmental factors. **Aquacult. Int.** 3, 186–195.

Berg, L. and T.G. Northcote. 1985. Changes in territorial, gill flaring, and feeding behaviour in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) following short term pulses of suspended sediment. **Can.J. Fish. Aquat. Sci.** 42, 1410–1417.

Bloch, B. and J.L. Larsen. 1993. An Iridovirus-like agent associated with systemic infection in cultured turbot *Scophthalmus maximus* fry in Denmark. **Dis. Aquat. Org.** 15, 235–240.

Blyth, P.J., G.J. Purser and J.F. Russell. 1993. Detection of feeding rhythms in seacaged Atlantic salmon using new feeder technology. pp. 209-216. *In*: H. Reinertsen, L.A. Dahle, L. Jorgensen and K. Tvinnereim., eds. **Fish Farming Technology.** Balkema, Rotterdam.

_____, G.J. Purser and J.F. Russell. 1993. Detection of feeding rhythms in sea-caged Atlantic salmon using new feeder technology. pp. 209-216. *In*: H. Reinertsen, L.A. Dahle, L. Jorgensen and K. Tvinnereim., eds. **Fish Farming Technology.** Balkema, Rotterdam.

Blyth, P.J., G.J. Purser and J.F. Russell. 1997. Progress in fish production technology and strategies with emphasis on feeding. **Suisanzoshoku** 45, 151-161.

Boddeke, R. 1983. Survival strategies of penaeid shrimps and their significance for shrimp culture, pp. 514–523. *In* **proceeding of the First International Conference on Warmwater Aquaculture, February 1983**. Honolulu, Hawai.

Boujard, T. and J. F. Leatherland. 1992a. Circadian rhythms and feeding time in fishes. **Environ. Biol. Fish.** 35, 109–131.

_____. 1992b. Demand feeding behaviour and diel patterns of feeding activity in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes. **J. Fish Biol.** 40, 535–544.

Boyd, C.E. 1982. **Water Quality Management for Fish Pond Culture**. Elsevier Sci. Publ.Co.,Amsterdam, Netherlands.

_____. 1987. **Evaluation of Water Quality and Water Quality Management Techniques for Backishwater Aquaculture in Ponds in Thailand**. Report for the Asian Development Bank, Manila, Philippines. 29 pp.

_____ and C.S. Tucker. 1998. **Pond aquaculture Water Quality Management**. Kluwer Academic Publishers, Massachusettes.

_____. 1990. **Water Quality in Ponds for Aquaculture**. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama.

- Brezonik, P.L., T.L. Crismon and R.L. Schulze. 1984. "Planktonic communities in Florida softwater lakes of varying pH." **Can. J. Fish Aquat. Sci.** 41 (1): 46-56.
- Brock, and K. Main. 1994. **A Guide to the Common Problems and Diseases of Cultured *Penaeus vannamei***. Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu.
- Chapman, V.J. 1969. **The Algae**. St. Martin's Press, Macmillan.
- Chen, C.S., B. Huang, H. Ye, Z.D.H. Ji and S.H. Wary. 2001. Effect of temperature on growth, feed intake and survival rate in *Penaeus vannamei* under different temperature conditions. **Journal of Jimei University, China** 6(4) : 296-300.
- Chen, J.C. and S.Y. Cheng. 1993. Studies on hemocyanin and haemolymph protein levels of *Panaeus japonicas* based on sex, size and molting cycle. **Comp. Biochem. Physiol.** 106: 293-296.
- Chua, T.E. and S.K. Teng. 1978. Effect of feeding frequency on the growth of young estuary grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsk.) culture in floating net-cages. **Aquaculture**. 14, 31-47.
- Clarke, G.L. 1954. **Elements of Ecology**. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Cuthbertson, B.J., E.F. Shepard, R.W. Chapman and P.S. Gross. 2002. Diversity of the penaeidin antimicrobial peptides in two shrimp species. **Immunogenetics** 54: 442-445.
- Davis, D.A., A.L. Lawrence and D.M. Gatlin. 1993a. Response of *Penaeus vannamei* to dietary calcium, phosphorus and calcium : phosphorus ratio. **J. World Aquacult. Soc.** 24: 504-515.

Davis, D.A., A.L. Lawrence and D.M. Gatlin. 1993b. Dietary copper requirement of *Penaeus vannamei*. **Nip. Sui. Gakk.** 59: 117-122.

Destoumieux, D., P. Bulet, D. Loew, A.V. Dorsselaer, J. Rodriguez and E. Bachere. 1997. Penaeidins, a new family of antimicrobial peptides isolated from the shrimp *Penaeus vannamei* (Decapoda). **J. Biol.Chem.** 272: 28398-28406.

Dore, I. and C. Frimodt. 1987. **An Illustrated Guide to Shrimp of the World.** Osprey Books, Huntington, New York.

Durfor, C.N. and E. Becker. 1964. **Public Water Supplies of the 100 Largest Cities in the United States, 1962.** Geological Survey Water-Supply, USA.

Edwards, C.E. 1990. Field experiments on growth and mortality of *Penaeus vannamei* in a Mexican coastal lagoon complex. **Estuarine Coastal Mar, Sci.** 5: 107-121.

Ezquerro, J.M., F.L. Garcia-Carreno and O. Carrillo. 1998. *In vitro* digestibility of dietary protein sources for white shrimp (*Penaeus vannamei*). **Aquaculture.** 163: 123-136.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1986. **Shrimp culture : pond design, operation and management.** Available Source : <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC210E/AC210E10.htm>, January 6, 2012.

Fogg, G.E. 1975. **Algal Cultures and Phytoplankton Ecology.** The University of Wisconsin Press, Wisconsin.

Fraser, N.H.C., N.B. Metcalfe and J.E. Thorpe. 1993. Temperature dependent switch between diurnal and nocturnal foraging in salmon. **P. Roy. Soc. Lond. B. Biol.** 252, 135–139.

_____, J. Heggenes, N.B. Metcalfe and J.E. Thorpe. 1995. Low summer temperatures cause juvenile Atlantic salmon to become nocturnal. **Can. J. Zool.** 73, 446–451.

Google. 2012. **Google แผนที่**. Available Source: <http://maps.google.co.th/maps?hl=th&tab=wl>, January 28, 2012.

Gibson, R.J. and M.H.A. Keenleyside. 1966. Responses to light of young Atlantic salmon (*Salmo salar*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). **J. Fish. Res. Board Can.** 23, 1007–1024.

Gomez-Jimenez, S., R.F. Uglow and T. Gollas-Galvan. 2000. The effects of cooling and emersion on total hemocyte count and phenoloxidase activity of the spiny lobster *Panulirus interruptus*. **Fish Shellfish Immunol.** 10(7) : 631-635.

Grant, J.W.A. 1990. Aggressiveness and the foraging behavior of young-of-the-year brook charr (*Salvelinus fontinalis*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 47, 915-920.

Grayton, B. D. and F. W. H. Beamish. 1977. Effects of feeding frequency on food intake, growth and body composition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquaculture.** 11, 159–172.

Grove, D.J., L.G. Loizides and J. Nott. 1978. Satiation amount, frequency of feeding and gastric emptying rate in *Salmo gairdneri*. **J. Fish Biol.** 5, 507–516.

He, H. and A.L. Lawrence. 1991. **Estimation of Dietary Pyridoxine Requirement for the Shrimp, *Penaeus vannamei***. Paper presented at the 22nd annual conference, World Aquaculture Society, San Juan, Puerto Rico.

Holthuis, L.B. 1980. FAO Species Catalogue, Vol. 1, **Shrimps and Prawns of the World**.
Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Hose, J.E., G.E. Martin, V.A. Nguyen, J. Lucas and T. Rusentein. 1987. Cytochemical features of shrimp hemocyte. **Biol. Bull. Mar. Biol.** 173 (1): 178-187.

Itami, T., Y. Takahashi, E. Tsuchihira, H. Igasu and M. Kondo. 1994. Enhancement of disease resistance of kuruma prawn *Penaeus japonicus* and increase in phagocytic activity of prawn hemocytes after oral administration of β -1,3-glucan (Schizophyllan). **In Proceeding of the Third Asian Fisheries Forum Singapore 26-30 October 1992**. The Asian Fisheries Society Manila, Philippines.

Jiravanichpaisan, P., T. Miyazaki and C. Limsuwan. 1994. Histopathology, biochemistry and pathogenicity of *Vibrio harveyi* infecting black tiger prawn, *Penaeus monodon*. **J. Aquat. Anim. Health.** 6: 27-35.

Juell, J.E., D. Furevik and A. Bjordal. 1993. Demand feeding in salmon farming by hydroacoustic food detection. **Aquac. Eng.** 12: 155-167.

_____. 1995. The behaviour of Atlantic salmon in relation to efficient cage rearing. **Rev. Fish Biol. Fish.** 12, 1-18.

Kadri, S., N.B. Metcalfe, F.A. Huntingford and J.E. Thorpe. 1997. Daily feeding rhythms in Atlantic salmon I: feeding and aggression in parr under ambient environmental conditions. **J. Fish Biol.** 50. 267-272.

_____, P.J. Blyth and J.F. Russell. 1998. Feed optimization in finfish culture using an integrated 'feedback' system. **Suisanzoshoku** 46, 423-426.

- Krous, S.R., U.S. Blazer and T.L. Meade. 1982. Effect of acclimation time on nitrite movement across the gill epithelia of rainbow trout: The role of "chloride cells" **Prog. Fish-Cult.** 44: 126-130.
- Kureshy, N. and D.A. Davis. 2002. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture.** 204: 125-143.
- Lackie, A.M. 1980. Invertebrate immunity. **Parasitology** 80: 393-412.
- Lawrence, A.L., J.P. McVey and J.V. Huner. 1980. Penaeid shrimp culture, pp. 127-157. In J.V. Huner and E.E. Brown, eds. **Crustacean and Mollusk Aquaculture in the United States.** The AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut.
- Lee, D.O.C. and J.F. Wickins. 1992. **Crustacean Farming.** Blackwell Scientific Publication, London.
- Lester, L.J. and J.R. Pante. 1991. Penaeid temperature and salinity response. 23: 515-534. In : A.W. Fast and L.J. Lester (eds.). **Marine Shrimp Culture Principles and Practices.** Elsevier Amsterdam.
- Limsuwan, C. 2011. Automatic feeding machines in black tiger shrimp farming or Pacific white shrimp farming. **The practical Asian aquaculture.** 2, 6-9.
- Lin, X.T., X.G. Liang, J. Wu, Y.X. Qu and M.F. Chen. Effect of temperature on metabolism of parent female of *Macrobrachium rosenbergii*. **Journal of Ecology of China** 18(3) : 15-18.

- Liu, C.H., W. Cheng, C.M. Kuo, J.C. Chen. 2004. Molecular cloning and characterization of a cell adhesion molecule, Peroxinectin from the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish Shellfish Immunol.** 17: 13–26.
- _____ and J.C. Chen. 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. **Fish Shellfish Immunol.** 16: 321-334.
- Losordo, T.M., M.P. Masser and J. Racocy. 1992. Recirculating aquaculture tank production systems. A overview of critical conservations. **Southern Regional Aquaculture Centre Publication** no: 45. Stoneville, MS, 6 pp.
- Madenjian, C.P. 1990. Patterns of oxygen production and consumption in intensively managed shrimp ponds. **Aquac. Eng.** 21: 407-417.
- Madrid, J.A., T. Boujard and F.J. Sánchez-Vázquez. 2001. Feeding rhythms. pp. 189–215. *In*: Houlihan, D.F., T. Boujard, M. Jobling., eds. **Food Intake In Fish**. Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Mallekh, R., J.P. Lagardère, M.L. Bégout Anras and J.Y. Lafaye. 1998. Variability in appetite of turbot *Scophthalmus maximus* under intensive rearing conditions: the role of environmental factors. **Aquaculture** 165, 123–138.
- Martinez-Cordova, L.R. 1995. Culture of white shrimp *Penaeus vannamei* in reduced water exchange ponds in Sonora, Mexico. **World Aquac.** 26: 47-48.

Martinez-Cordova, L.R., L.G. Ross and V.L. Jimenez. 1996. The effects of temperature and body weight on the oxygen consumption of *Penaeus vannamei* Boone, 1931.

J. Aquacult. Trop. 11(1) : 59-65.

_____. 1997. Effect of aeration rate on growth, survival and yield of white shrimp *Penaeus vannamei* in low water exchange ponds. **Aquac. Eng.** 16: 85-90.

_____, M.A. Porchas-Cornejo, H. Villarreal-Colemnares, J.A. Calderon-Perez and J. Naranjo-Paramo. 1998. Evaluation of three feeding strategies on the culture of white shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931 in low water exchange ponds. **Aquac. Eng.** 17: 21-28.

_____ and E. Pena-Messina. 2005. Biotic communities and feeding habits of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) and *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson 1974) in monoculture and polyculture semi-intensive ponds. **Aquac.Res.** 36: 1075-1084.

Masser, M.P., J. Rakocy and T.M. Losordo. 1992. Recirculating aquaculture tank production system. Management of recirculating systems. **Southern Regional Centre Publication** no: 452 stoneville, MS, 12p.

McCarthy, J.J., W.R. Taylor and J.L. Taft. 1977. Nitrogenous nutrition of the plankton in Chesapeake bay. Part 1. nutrition availability and phytoplankton preferences. **Limnol. Oceanogr.** 22: 996-1,001.

Menz, A. and A.B. Bowers. 1980. Experiments on the growth of *Penaeus vannamei* Boone. **J. Exp. Mar. Bio. Eco.** 48: 99-111.

Medina-Reyna, C.E. 2001. Growth and Emigration of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in the Mar Muerto Lagoon, Southern Mexico. **The ICLARM Quart.** : 30-34.

Miller, W.E., T.E. Maloney and J.C. Greene. 1973. “ Algal productivity in 49 lake water as determined by algal assays” **Water Reserch.** 8: 677-679.

Moullac, G.L., C. Soyez, D. Saulnier, D. Ansquer, J.C. Avarre and P. Lavy. 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to Vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. **Fish & Shellfish Immunology** 8 : 621-629.

Moullac, G.L. and P. Haffner. 2000. Environmental factors affecting immune response in crustacean. **Aquaculture** 191 : 121-131.

Noeske-Hallin, T. A., R. E. Spieler., N. C. Parker and M. A. Suttle. 1985. Feeding time differentially affects fattening and growth of channel catfish. **J. Nutr.** 115, 1228–1232.

Nunes, A.J.P., M.V.C. Sá, E.A. Carvalho and H.S. Neto. 2006. Growth performance of the white Shrimp *Litopenaeus vannamei* reared under time- and rate-restriction feeding regimes in a controlled culture system. **Aquaculture.** 253 : 646-652.

Pan, L.Q., F. Bo, J.L. Xu and L. Jing. 2007. The effect of temperature on selected immune parameters of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **J. World Aquac. Soc.** 38(2) : 326-332.

Perazzolo, L.M. and M.A. Barracco. 1997. The prophenoloxiase activating system of the shrimp *Penaeus paulensis* and associated factors. **Dev. Comp. Immunol.** 21: 385-395.

- Peter, F.M. 1991. Ammonia dependency in *Closterium aciculure* T. west, a plankton desmid from alkaline, eutrophic waters. **J. Plankton Res.** 13: 913-922.
- Platt, T., C.L. Callegos and W.G. Harris. 1980. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. **J. Mar. Res.** 38 (4): 687-701.
- Ponce-Palafox, J., C.A. Martine-Palasios and L.G. Ross. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. **Aquaculture.** 157: 107-115.
- Pontes, C.S., M.F. Arruda, A.A.L. Menezes and P.P. Lima. 2006. Daily activity pattern of the marine shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) juveniles under laboratory conditions. **Aquac.Res.** 37: 1001-1006.
- Precott, G.W. 1962. **Algae of the Western Great Lakes Area.** Wm, Brown Company Publication, USA.
- Ratcliffe, N.A., A.F. Rowley, S.W. Fitzgerald and C.P. Rhodes. 1985. Invertebrate immunity: basic concepts and recent advances. **Inter. Rev. Cytology.** 97: 183 - 350.
- Robertson, L., A.L. Lawrence and F.L. Castille. 1993. Effect of feeding frequency and feeding time on growth of *Penaeus vannamei* (Boone). **Aquac. Fish. Manage.** 24: 1-6.
- Rosenberry, B. 1997. **World Shrimp Farming 1997.** Shrimp News International, San Diego.
- Rothlisberg, P.C. 1998. Aspects of penaeid biology and ecology of relevance to aquaculture: a review. **Aquaculture.** 164: 49-65.

- Ruohonen, K., D.J. Grove and J.T. McIlroy. 1997. The amount of food ingested in a single meal by rainbow trout offered chopped herring, dry and wet diets. **J. Fish Biol.** 51, 93–105.
- SaÁnchez-VaÁzquez, F.J., J.A. Madrid and S. Zamora. 1995. Circadian rhythms of feeding activity in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.: dual phasing capacity of diel demand-feeding pattern. **Journal of Biological Rhythms** 10, 256-266.
- _____, F.J., J.A. Madrid, S. Zamora, M. Iigo and M. Tabata. 1996. Demand feeding and locomotor circadian rhythms in the goldfish, *Carassius auratus*: dual and independent phasing. **Physiol. & Behav.** 60, 665-674.
- Sawyer, C.N. and P.L. McCorty. 1967. **Chemistry for Sanitary Engineers.** Mc.Graw-Hill Book Co., New York.
- Seidman, E.R. and A.L. Lawrence. 1986. Growth, feed digestibility, and proximate body composition of *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* growth at different dissolved oxygen levels. **J. World Maricult. Soc.** 16: 333-346.
- Smith, L.L., P.G. Lee, A.L. Lawrence and K. Strawn. 1985. Growth and digestibility by three sizes of *Penaeus vannamei* Boone: effects of dietary protein level and protein source. **Aquaculture.** 46: 85-96.
- Smith, V.J. and J.R.S. Chisholm. 1992. Non-cellular immunity in crustaceans. **Immunol.** 2 (1): 1-31.
- Söderhäll, K. and L. Cerenius. 1992. Crustacean immunity. *Annu. Rev.* **J. Fish. Dis.** 2: 3–23.
- _____, and L. Cerenius. 1998. Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. **Curr. Opin. Immunol.** 10: 23-28.

- Söderhäll, K. and V.J. Smith. 1983. Separation of the haemocyte populations of *Carcinus maenus* and other marine decapods, and prophenoloxidase distribution. **Dev. Comp. Immunol.** 7: 229–239.
- _____, L. Cerenius and M.W. Johansson. 1996. **The prophenoloxidase activating system in Invertebrates.** pp. 229-253. *In* New directions in invertebrate immunology. SOS publications, Fair Harven.
- Sritunyalucksana, K., L. Cerenius and K. Söderhäll. 1999. Molecular cloning and characterization of prophenoloxidase in the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. **Dev. Comp. Immunol.** 23(3): 179 - 186.
- Sudaryno, A., M.J. Hoxey., S.G. Kailis. and L.H. Evans. 1995. Investigation of alternative protein sources in practical diets for juvenile shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture.** 134: 313-323.
- Talbot, C. 1993. Some biological and physical constraints to the design of feeding regimes for salmonids in intensive cultivation. pp. 19-26. *In* : H. Reinertsen, L.A. Dahle, L. Jorgensen and K. Tvinnereim., eds. **Fish Farming Technology.** Balkema, Rotterdam.
- Terry, T. 2001. **Phagocytosis and bacterial pathogens.** Available Source: <http://www.sp.uconn.edu/terry/Common/phago053.html>, September 6, 2011.
- Thetmeyer, H., U. Waller, K.D. Black, S. Inselmann and H. Rosenthal. 1999. Growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under hypoxic and oscillating oxygen conditions. **Aquaculture** 174, 355–367.

- Tomasso, J.R., B.A. Simco and K.B. Davis. 1979. Chloride inhibition of nitrite induced methemoglobinemia in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **J. Fish. Res. Board. Canada.** 36: 1,141-1,144.
- Tookwinas, S. 2000. **Closed-Recirculation Shrimp Farming System. Southeast Asian Fisheries Development Center.** Association of Southeast Asian Nations.
- Traichaiyaporn, S. 1985. **Selected Physico-Chemical and Biological Characteristics of Lake Katugday, Buhi, Gamarines Sur, Philippines.** Ph.D. Dissertation. UPLB.
- Tseng, W.Y. 1987. **Shrimp Mariculture, A Practical Manual.** Department of Fisheries, The university of Papua New Guinea, Port Moresby, Papua New Guinea.
- Vargas-Albores, F. 1995. The defense system of brown shrimp (*Penaeus californiensis*): Humoral recognition and cellular response. **J.Mar.Biotechnol.** 3: 153-156.
- _____ and G. Yepiz-Plascencia. 2000. Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response. **Aquaculture** 191: 13-21.
- Wang, N., R. S. Hayward, and D. B. Noltie. 1998. Effect of feeding frequency on food consumption, growth, size variation, and feeding pattern of age-0 hybrid sunfish. **Aquaculture.** 165, 261–267.
- Wedemeyer, G.A. 1997. Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. *In: Fish Stress and Health in Aquaculture* (ed. by G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter and C.B. Schreck), pp. 35-72. Cambridge University Press, Cambridge.

Wetzel, R.G. 1975. **Limnology**. W.B. Saunder CO., Philadelphia.

Wickins, J.F. 1985. Ammonia production and oxidation during the culture of marine prawns and lobsters in laboratory recirculation systems. **Aquac. Eng.** 4: 155-174.

Wyban, J.A. and J.N. Sweeney. 1989. Intensive shrimp growout trials in a round pond. **Aquaculture**. 76: 215-225.

_____, W.A. Walsh and D.M. Godin. 1995. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific White Shrimp. **Aquaculture**. 138: 267-279.

Yu, J. 1993. Hemocyte classification, density and percentage of the prawn *Penaeus japonicus*. **J. Ocean-Oniv. Qingdao-Qingdao-Haiyang-Dao-xeu-Xuedao**. 23(1): 107-114.



การเตรียมสารเคมี

1. ส่วนผสม M-199 (อาหารเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือด) (กิจการ และคณะ, 2543 ข) จำนวน 100 มิลลิลิตร

M-199 สั่งซื้อจากบริษัท ใช้จำนวน	50 มิลลิลิตร
Salt mixture	10 มิลลิลิตร
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	10 มิลลิลิตร
CaCl ₂ · 2H ₂ O	10 มิลลิลิตร
L-glutamine	1 มิลลิลิตร
Hepes	0.238 กรัม
L-cystein	5 กรัม

De-ionized water ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นตัวทำละลายสาร (ทุกตัวที่ใช้เตรียมสารเคมี)

วิธีการเตรียมสารเคมีแต่ละตัว คือ

1.1 M-199 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ส่วนที่เหลือเก็บไว้ใช้ได้ เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส) โดยวิธีเตรียมคือใช้ M-199 1 ซองกับ NaHCO₃ 2.2 กรัม ละลายด้วยน้ำ De-ionized water ปรับปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน

1.2 Salt mixture ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย

โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.4 กรัม
MgCl ₂ · 6H ₂ O	3.3 กรัม
MgSO ₄ · 7H ₂ O	3.0 กรัม
NaH ₂ PO ₄ · 2 H ₂ O	0.05 กรัม

ปรับปริมาตรด้วย De-ionized water ให้ได้ 100 มิลลิลิตร

1.3 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ละลายโซเดียมคลอไรด์ 11 กรัม ในน้ำ De-ionized water ปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

1.4 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ละลาย $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.9 กรัม ในน้ำ De-ionized water ปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

1.5 L-glutamine ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

L-glutamine 0.015 กรัม ผสมกับน้ำ De-ionized water 1 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร

1.6 Hepes จำนวน 0.238 กรัม

1.7 L-cystein จำนวน 5 กรัม

วิธีการเตรียม K-199 จำนวน 100 มิลลิลิตร โดยนำสารละลายจากข้อ 1.1-1.7 ผสมกันตามลำดับ ปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำ De-ionized water ปรับพีเอชด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ให้พีเอชอยู่ในช่วง 7.3-7.6 กรองด้วยหัวกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตรใน Laminar flow

2. Shrimp saline

โซเดียมคลอไรด์	28.4 กรัม
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.0 กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.0 กรัม
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2.25 กรัม
โพแทสเซียมคลอไรด์	0.7 กรัม
Glucose (Dextrose)	1.0 กรัม
Hepes	2.38 กรัม

ผสมสารทั้งหมดในน้ำ De-ionized water 1 ลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง 0.22 ไมโครเมตรในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และอบให้แห้ง เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การเตรียม Heat-killed yeast

Baker's yeast

0.9 เปอร์เซนต์ โซเดียมคลอไรด์

Shrimp saline

นำ Baker's yeast ละลายใน 0.9 เปอร์เซนต์โซเดียมคลอไรด์ ตั้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการล้าง yeast ด้วย shrimp saline ที่ 3,000 รอบต่อนาที 5 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที โดยใช้อัตราส่วนระหว่าง shrimp saline : yeast เท่ากับ 1: 1 หลังจากนั้นละลายด้วย shrimp saline เพื่อให้ได้สารละลายที่มีเซลล์จำนวน 5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวธารทิพย์ นภาอำไพพร
เกิดวันที่	20 ตุลาคม 2529
สถานที่เกิด	เขตป้อมปราบฯ จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วท.ม (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงาน	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-