อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

1. การเจริญเติบโต

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า การเสริมทองแดงในอาหารไม่มีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตในส่วนของน้ำหนัก และอัตราแลกเนื้อของกุ้งทั้ง 5 ชุดการทดลอง โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Lee *et al.* (2002) ที่ได้ทำการศึกษาการเสริมทองแดงตามความต้องการของกุ้งกุลาดำระยะวัยรุ่น (*P. monodon*) และผลการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่ไม่เฉพาะเจาะจง โดยทำการเสริมทองแดงในอาหารที่ 7 ระดับ คือ 0 (ชุดควบคุม), 10, 20, 30, 40, 80 และ 160 mg/kg ซึ่งพบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นจะสูงที่ระดับทองแดง 10, 20 และ 30 mg/kg และจะลดต่ำลงเมื่อระดับทองแดงในอาหารมากขึ้น และจากการศึกษาของ Kanazawa *et al.* (1984) อ้างโดย Lee *et al.* (2002) พบว่าในกุ้ง *P. japonicus* ที่ให้อาหารที่เสริมทองแดง 30 mg/kg เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นไม่มีความแตกต่างกับกุ้งที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้เสริมทองแดง และจากการศึกษาของ Chen *et al.* (2001) ที่ได้ทำการศึกษาพิษของคอปเปอร์ซัลเฟตที่มีผลต่ออัตรารอดตาย การเจริญเติบโต การลอกคราบ และการให้อาหาร ของกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) โดยทำการเสริมคอปเปอร์ซัลเฟตในน้ำที่ 5 ระดับ คือ 0 (ชุดควบคุม), 0.45, 0.90, 1.80 และ 4.50 mg/l และเลี้ยงเป็นระยะเวลา 75 วัน ซึ่งพบว่าน้ำหนักและความยาวของชุดควบคุมมีค่าสูงที่สุดและสูงกว่าชุดการทดลองที่เสริมคอปเปอร์ซัลเฟต 0.90, 1.80 และ 4.50 mg/l อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และจากการทดลองพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเสริมทองแดง 100 mg/kg มีความยาวเพิ่มขึ้นสูงสุดโดยสูงกว่าชุดการทดลองที่ให้อาหารเสริมทองแดง 150 mg/kg และชุดควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทองแดงจะมีผลต่อความยาวของกุ้ง ถ้ากุ้งได้รับทองแดงมากหรือน้อยจนเกินไปจะทำให้มีการเจริญเติบโตในส่วนความยาวลดลง

2. อัตราการรอดตาย

การเสริมทองแดงมีผลต่ออัตราการรอดตาย โดยที่กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมทองแดงมีอัตรารอดตายสูงสุดและสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมทองแดง 50 mg/kg และ200 mg/kg อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Lee *et al.* (2002) พบว่าระดับทองแดงในอาหารที่ 10 mg/kg และ 20 mg/kg จะทำให้กุ้ง *P. monodon* มีอัตรารอดตายสูง ซึ่งถ้าเสริมทองแดงมากกว่านี้จะทำให้อัตราการรอดตายลดลง และจากการศึกษาของ Chen *et al.* (2001) พบว่า ในการเสริมคอปเปอร์ซัลเฟตในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำอัตรารอดตายของชุดควบคุมและกุ้งที่ได้รับการเสริมคอปเปอร์ซัลเฟต 0.45 mg/l จะมีค่าสูงที่สุด ส่วนกุ้งที่ได้รับการเสริมคอปเปอร์ซัลเฟต 4.50 mg/l จะตายหมดที่ 30 วัน

การที่กุ้งได้รับทองแดงมากเกินไปแล้วตาย มีสาเหตุจากการที่กุ้งได้รับทองแดงมากเกินไป จะสร้างเมือกขึ้นมาปกคลุมบริเวณเหงือกทำให้เกิดการระคายเคือง อีกทั้งยังเป็นการขัดขวางการทำงานของเหงือก และทองแดงยังเก็บสะสมอยู่ในรูปของกรดแล็คติกอีกด้วย เนื่องจากทองแดงเป็นตัวจำกัดในการแลกเปลี่ยนก๊าซที่ใช้ในกระบวนการหายใจที่ทำงานร่วมกับกล้ามเนื้อภายในเซลล์ที่ขาดออกซิเจน จึงมีกลไกในการทำให้กุ้งตาย (Frias *et al.*, 2003)

3. การลอกคราบ

การเสริมทองแดงในอาหารไม่มีผลต่อการลอกคราบของกุ้ง เนื่องจากกุ้งนำแร่ธาตุโซเดียม คลอรีน โปแตสเซียม และแคลเซียมในพลาสมาไปใช้ในการสร้างเปลือก ซึ่งแร่ธาตุแคลเซียมเป็นแร่ธาตุหลักที่สำคัญในการสร้างเปลือกของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน เมื่อปริมาณแคลเซียมในเลือดมีสูงกระบวนการสร้างเปลือกก็สามารถดำเนินไปได้ด้วยดี รวดเร็ว การมีขนาด ความแข็งของเปลือก และความสมบูรณ์จึงมีมากกว่า (บุญรัตน์ ประทุมชาติ และคณะ, 2546) และจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่ากุ้งใช้ระยะเวลาในการลอกคราบสั้น เนื่องมาจากการเลี้ยงกุ้งที่น้ำความเค็มต่ำ ดังมีรายงานที่กล่าวว่า ปู *C. altimanus* ที่เลี้ยงในความเค็มน้ำ 3 ppt ระยะลอกคราบ (Intermolt) จะสั้นกว่าปูที่เลี้ยงระดับความเค็ม 20 และ 30 ppt (Spivak, 1999 อ้างโดย บุญรัตน์ ประทุมชาติ และคณะ, 2546)

4. โปรตีนและทองแดงในพลาสมา

การเสริมทองแดงในอาหารมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนในเลือดเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจมีสาเหตุเนื่องจากว่าในฮีโมไซยานินมีองค์ประกอบของโปรตีน และทองแดงเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งถ้าเสริมทองแดงเข้าไปก็จะเป็นการเหนี่ยวนำให้มีการสร้างฮีโมไซยานินมากขึ้น ดังนั้นถ้ามีปริมาณฮีโมไซยานินมากก็จะทำให้มีปริมาณโปรตีนมากขึ้นด้วย โดยจะเห็นชัดว่าชุดการทดลองที่เสริมทองแดง 200 mg/kg จะพบระดับโปรตีนสูงสุด ($p<0.05$) ซึ่งในแต่ละชุดการทดลอง การเสริมทองแดงในอาหารส่งผลช่วยทำให้ระดับโปรตีนในพลาสมาสูงขึ้น และปริมาณทองแดงในพลาสมาชุดการทดลองที่เสริมทองแดง 150 mg/kg จะพบระดับทองแดงในพลาสมาสูงสุด ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุม ($p<0.05$) ปริมาณทองแดงในพลาสมามีความสัมพันธ์กับการทดสอบความเครียด โดยถ้ามีปริมาณทองแดงในพลาสมาสูงกุ้งจะสามารถทนต่อสภาพที่มีออกซิเจนต่ำได้ดีกว่ากุ้งที่มีปริมาณทองแดงในพลาสมาต่ำ เนื่องจากทองแดงเป็นองค์ประกอบของฮีโมไซยานิน ซึ่งเป็นรงค์วัตถุเกี่ยวกับการหายใจ (Cuzon *et al.*, 2004) การที่กุ้งได้รับอาหารเสริมทองแดง 200 mg/kg มีปริมาณทองแดงในพลาสมาต่ำกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเสริมทองแดง 150 mg/kg ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการสะสมทองแดงที่กุ้งได้รับในอาหารมากเกินไป โดยกุ้งจะขับทองแดงส่วนเกินจากการสร้างฮีโมไซยานินออก เพื่อรักษาสมดุลภายในร่างกาย จากการทดลองนี้พบว่าปริมาณทองแดงในพลาสมามีปริมาณต่ำกว่าปริมาณสูงสุดที่กระทรวงสาธารณสุขอนุญาตให้พบในอาหาร โดยคำนึงถึงความปลอดภัยและต้องไม่เกินค่าสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคประจำวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) สามารถบริโภคอาหารที่มีทองแดงได้วันละ 2 มิลลิกรัม แต่ไม่เกิน 3 มิลลิกรัมต่อวัน โดยการทดลองของ Mendez *et al.* (2001) พบว่า ปริมาณทองแดงในกล้ามเนื้อของกุ้งจะมีปริมาณน้อยกว่าปริมาณทองแดงที่พบในตับ โดยที่ปริมาณทองแดงในตับและในเลือดจะปริมาณใกล้เคียงกัน การที่ปริมาณทองแดงในกล้ามเนื้อมีปริมาณน้อยกว่าในเลือดนั้น แสดงให้เห็นว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเสริมทองแดงจากการทดลองนี้ จะมีปริมาณทองแดงในพลาสมากุ้งขาวอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งที่ระดับน้ำที่มีความเค็ม 10 ppt ถือว่าเป็นการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มต่ำ การที่จะเลี้ยงกุ้งอยู่ในสภาวะความเค็มไม่เหมาะสมนั้นจะส่งผลกระทบต่อแรงดันออสโมติกของกุ้ง ก่อให้เกิดความเครียดและลดความต้านทานโรคลง ในการเลี้ยงกุ้งความเค็มน้ำต่ำนั้น โปรตีนถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงกุ้ง เนื่องจากกุ้งต้องการที่จะใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงาน เพื่อใช้ในการปรับความสมดุลของแร่ธาตุภายในร่างกาย และในกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งในการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มน้ำต่ำนั้นยังส่งผลให้ความเข้มข้นของทองแดงในเลือดมีค่ามากกว่าที่ระดับน้ำความเค็มสูง เนื่องจากกุ้งใช้พลังงานมากขึ้นในการควบคุมสมดุลเกลือแร่ จึงจำเป็นที่ต้องนำ

ทองแดงเข้าสู่ระบบเลือดเพื่อไปใช้ในขบวนการหายใจซึ่งสัมพันธ์กับการจับออกซิเจน และเกี่ยวข้องกับการนำออกซิเจนมาใช้ในกิจกรรมภายในเซลล์ด้วย (Lee and Shiau, 2002) จากการที่กุ้งใช้โปรตีนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ ในสภาพดังกล่าวนี้สัตว์อาจจะมีกลไกการขับกรดอะมิโน (amino acid) ออกนอกเซลล์หรือการสูญเสียจากเซลล์เข้ามาเก็บในเลือดอยู่ในรูปโปรตีนหรือมีการสลาย (dissolution) ของสารอินทรีย์และอนินทรีย์จากเปลือกเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อช่วยเพิ่มระดับออสโมลานิตีภายในเลือด (Mangum and Johansen, 1975)

5. การทนทานต่อการขาดออกซิเจน

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า การเสริมทองแดงในอาหารช่วยให้กุ้งสามารถทนต่อสภาวะขาดออกซิเจนได้เป็นระยะเวลาที่นานขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่จะเห็นได้ว่า กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมทองแดงสามารถทนต่อสภาวะที่ขาดออกซิเจนได้ดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมทองแดง การที่กุ้งได้รับอาหารเสริมทองแดง 200 mg/kg ลงไปในอาหารนั้นอาจทำให้กุ้งได้รับทองแดงมากเกินพอเพื่อเก็บในร่างกายกุ้ง การที่กุ้งมีธาตุทองแดงสะสมอยู่อย่างมากพอ ทำให้กุ้งสามารถนำออกซิเจนสำรองที่อยู่ภายในรงค์วัตถุที่ใช้ในการหายใจ (respiratory pigment) (Vernberg, 1971) มาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในสภาพที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำกุ้งจะตอบสนองต่อการลดลงของปริมาณออกซิเจนมากกว่าที่จะตอบสนองต่อความต้องการปริมาณออกซิเจนที่เพิ่มขึ้น (Mc.Mahon and Wilkens, 1983) การปรับตัวตอบสนองภาวะการขาดแคลนออกซิเจนนั้นเป็นการปรับตัวของระบบหมุนเวียนโลหิต และระบบระบายน้ำผ่านเหงือก ตลอดจนระบบลำเลียงออกซิเจน การปรับตัวอย่างฉับพลันเกิดขึ้นด้วยการเพิ่มปริมาณน้ำให้ไหลผ่านเหงือกมากขึ้นเพื่อให้สอดคล้องกับการที่ออกซิเจนลดปริมาณลงในแต่ละหน่วยปริมาตรของน้ำ การเคลื่อนที่หรือว่ายน้ำของกุ้งเป็นการตอบสนองในรูปแบบหนึ่งที่สามารถทำให้ปริมาณน้ำไหลผ่านเหงือกมากขึ้น ระดับการตอบสนองนี้อาจจะขึ้นอยู่กับความรุนแรงของสภาวะการขาดแคลนออกซิเจนรวมทั้งพลังงานที่สูญเสียไปในการเคลื่อนที่นั้น ซึ่งพลังงานที่สูญเสียไปมีปริมาณมากและเป็นข้อจำกัดของการปรับตัวในลักษณะนี้เนื่องจากผลลัพธ์ของการสูญเสียพลังงานไปมากจะย้อนกลับมาเป็นความต้องการบริโภคออกซิเจนเพิ่มขึ้นในขบวนการเมตาบอลิซึมที่สูงขึ้นนั่นเอง

ดังนั้นถ้าปริมาณออกซิเจนในน้ำยังลดลงต่ำลงกว่าเดิมต่อไปอีก กลวิธีการปรับตัวของกุ้งจะต้องเปลี่ยนไปเป็นการสงวนพลังงานโดยหยุดการเคลื่อนไหว ซึ่งในระยะเวลาต่อมาอาจจะเริ่มใช้ออกซิเจนสำรองจากแหล่งกักตุนภายในร่างกาย เช่น จากฟองอากาศของรงค์วัตถุที่ใช้ในการหายใจ (Vernberg, 1971) หรือเริ่มดึงพลังงานจากเนื้อเยื่อออกมาโดยกระบวนการ anaerobic respiration เพื่อรักษาชีวิตไว้ก่อน ขบวนการปรับตัวทั้งหมดน่าจะเป็นไปตามนี้ เมื่อพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างระดับการบริโภคออกซิเจนกับปริมาณออกซิเจนของกุ้ง เช่น กุ้งกุลาดำ (จารุวัฒน์ นภีตะภัฏ และสมนึก กบิลรมย์, 2529)

การที่กุ้งได้รับอาหารที่เสริมทองแดงสามารถช่วยกระตุ้นให้กุ้งมีระดับออกซิเจนภายในระบบเลือดสูงมากขึ้น จึงน่าส่งผลทำให้ความเข้มข้นของออกซีฮีโมไซยานินสูงขึ้นกว่าชุดควบคุมและเมื่อเลี้ยงนานขึ้นก็ส่งผลให้มีออกซีฮีโมไซยานินเพิ่มขึ้นตามลำดับ แสดงว่ากุ้งมีการเพิ่มประสิทธิภาพการลำเลียงออกซิเจน (oxygen-carrying capacity) ในเลือดดีขึ้น (Taylor and Anstiss, 1999; Cheng et al., 2003) รวมถึงเป็นการกระตุ้นการใช้ออกซิเจน (oxygen uptake) (Li et al., 2008) ชี้ให้เห็นว่ากุ้งชุดทดลองมีข้อได้เปรียบทางสรีระร่างกายหลายประการด้วยเหตุผลข้างต้น นอกจากจะทำให้กุ้งทนทานต่อการสลบในสภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) มากกว่าชุดควบคุม และทนต่อระดับออกซิเจนที่ละลายน้ำต่ำสุดมากกว่า จึงเป็นข้อได้เปรียบของการเลี้ยงกุ้งซึ่งมีโอกาสสูงใน

การเผชิญกับสภาวะการขาดออกซิเจนอย่างเฉียบพลัน (acute hypoxia) และการขาดออกซิเจนเรื้อรัง (chronic hypoxia) กล่าวคือกุ้งที่ได้รับการเสริมทองแดงมีความทนทานมากกว่าและลดความเสี่ยงจากการเสียหาย เพราะว่าการเลี้ยงกุ้งช่วงเดือนที่ 3 และ 4 นั้นสภาพพื้นบ่อเริ่มมีการหมักหมมมาก โอกาสที่กุ้งมีสภาวะขาดออกซิเจนอย่างเฉียบพลันสูงโดยเฉพาะช่วงเช้ามืด หรือโอกาสการขาดอย่างเรื้อรังมีค่อนข้างมาก ข้อเท็จจริงของการดำเนินการให้มี DOสูงกว่า 5 mg/l ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมกับการเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่น (Cheng et al., 2003) เนื่องจากมีผลต่อการเจริญเติบโตและทางสรีระเคมีของกุ้งนั้น เป็นเรื่องที่ไม่ง่ายนักในสภาพการเลี้ยงจริงของเกษตรกรของประเทศไทย เนื่องจากการจัดการ DOยังอยู่ในความสนใจเพียงเกษตรกรบางกลุ่ม เกษตรกรจำนวนมากยังขาดความเข้าใจเรื่องความสำคัญและปัจจัยจำกัดของออกซิเจนต่อการเจริญเติบโต ดังเช่นพบว่าหาก DO ต่ำกว่า 2 mg/l จะมีผลทำให้กุ้งขาว (*L. vannamei*) และกุ้งกุลาดำ (*P. monodon*) ลดลง (Seidman and Lawrence, 1985) รวมทั้งการบริโภคออกซิเจน (oxygen consumption) ของกุ้ง Chinese (*Fenneropenaeus chinensis*) มีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อระดับ DO แต่มีความสัมพันธ์เชิงลบกับความหนาแน่นของการเลี้ยงกุ้ง (Li et al., 2006) หากเกิดสภาวะการขาดออกซิเจน (hypoxia) ยังส่งผลการหายใจ (Rosas et al., 2002; Wu et al., 2002) ความดันออสโมติค (Charmantier et al., 1994; Cheng et al., 2003) ความถี่ของการลอกคราบ (Clark, 1986) มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการรอดในที่สุดในกุ้ง penaeid (Seidman and Lawrence, 1985; Aquacop et al., 1988; Allan and Maguire, 1991)

สรุปผลการทดลอง

1. การเสริมทองแดงในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว
2. อัตราการรอดตายของกุ้งที่ได้รับอาหารเสริมทองแดงต่ำกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารไม่เสริมทองแดง
3. อาหารเสริมทองแดงไม่มีผลต่อการลอกคราบของกุ้งขาว
4. ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาผันตามระดับทองแดงในอาหาร
5. กุ้งที่ได้รับอาหารเสริมทองแดง 150 mg/kg สามารถทนในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำต่ำที่สุดและเป็นระยะเวลานานที่สุด