



## ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล)

### ปริญญา

วิทยาศาสตร์ทางทะเล

วิทยาศาสตร์ทางทะเล

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การเปลี่ยนแปลงสารเมแทบอลิคในน้ำเลือดและการตอบสนองภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในระบบโรงเรือนกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ

Hemolymph Metabolic Variables and Immune Response of Black Tiger Shrimp

Broodstock (*Penaeus monodon* Fabricius) Cultured in Indoor Semi-Closed System

นามผู้วิจัย นายชัชวาล อินทรมนตรี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุรียัน ธีฎกิจจานุกิจ, Dr.Scient. )

กรรมการ

( อาจารย์วิสุทธิ์ วีระพิริยะกุล, Ph.D. )

กรรมการ

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราห์ เทพาคูดี, Ph.D. )

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุนันท์ ภัทรจินดา, วท.ม. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเปลี่ยนแปลงสารเมแทบอลิคในน้ำเลือดและการตอบสนองภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงให้  
เป็นพ่อแม่พันธุ์ในระบบโรงเรือนกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ

Hemolymph Metabolic Variables and Immune Response of Black Tiger Shrimp Broodstock  
(*Penaeus monodon* Fabricius) Cultured in Indoor Semi-Closed System

โดย

นายชัชวาล อินทรมนตรี

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อขอความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรบัณฑิตทางทะเล)

พ.ศ. 2552

ชัชวาล อินทมนตรี 2552: การเปลี่ยนแปลงสารเมแทบอลิคในน้ำเลือดและการตอบสนองภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในระบบโรงเรือนกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทางทะเล) สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ประชานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุริยัน รัชฎกิจจานุกิจ, Dr.Scient. 106 หน้า

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารเมแทบอลิค การตอบสนองภูมิคุ้มกันในน้ำเลือด และคุณภาพน้ำของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ โดยคัดเลือกกุ้งที่เลี้ยงจากบ่อดินมาแล้วเป็นระยะเวลา 4 เดือน ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย  $15.67 \pm 0.42$  กรัม มาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายในโรงเรือนที่ความหนาแน่น 6 ตัวต่อตารางเมตร ด้วยอาหารสดชนิดเพรียงเลือด (*Glycera dibrandriata*) หอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) และหมึกกล้วย (*Loligo oplescens*) เพื่อประเมินค่าพารามิเตอร์สารเมแทบอลิค ภูมิคุ้มกัน อัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ และคุณสมบัติน้ำ ทุก 30 วัน เป็นเวลานาน 8 เดือน พบว่าภายใต้ระบบการเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำสามารถควบคุมคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำไม่น้อยกว่า 8 เดือน คือ อุณหภูมิ  $25-28.5$  องศาเซลเซียส ความเค็ม 13-34 ส่วนในพัน ความเป็นกรด-ด่าง 7.4-8.3 ความเป็นค่ารวม 52-199 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ  $5.3-10.6$  มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนียรวม  $0.003-0.090$  มิลลิกรัมต่อลิตร และไนโตรที่  $0.006-0.483$  มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วงอายุกุ้ง 138-173 วัน คาดว่ากุ้งเผชิญกับสภาวะเครียด เกิดจากการปรับสภาพในสิ่งแวดล้อมใหม่ สังเกตได้จากระดับกลูโคส และปริมาณโปรตีนรวมเพิ่มขึ้น จำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมลดลง และตายสูงสุดที่ 12.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นในช่วง 201-381 วันของอายุกุ้ง ซึ่งเป็นช่วงที่กุ้งสามารถปรับสภาพเข้ากับระบบการเลี้ยงภายในบ่อทดลองได้ดี การเปลี่ยนแปลงของกลูโคส ไตรกลีเซอไรด์ คลอเรสเตอรอล โปรตีนรวม จำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวม และกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสคั้งที่ ทำให้กุ้งสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ ยิ่งกว่านั้นยังบ่งชี้ได้ว่าการสะสมสารอาหารเพื่อการเจริญพันธุ์ โดยไตรกลีเซอไรด์ และคลอเรสเตอรอลเพิ่มขึ้นตามอายุของกุ้ง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองกุ้งมีน้ำหนักเฉลี่ย 64.13 กรัม และ 73.82 กรัม ของกุ้งเพศผู้และเมียตามลำดับ ซึ่งมีแนวโน้มเจริญเติบโตได้ขนาดเจริญพันธุ์

Chatchawal Intramontree 2009: Hemolymph Metabolic Variables and Immune Response of Black Tiger Shrimp Broodstock (*Penaeus monodon* Fabricius) Cultured in Indoor Semi-Closed System. Master of Science (Marine Science), Major Field: Marine Science, Department of Marine Science. Thesis Advisor: Associate Professor Suriyan Tunkijjanukij, Dr.Scient. 106 pages.

To study on the variable of some haemolymph metabolic, immune response and water quality of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) juvenile, those were reared to be broodstock in concrete tanks under indoor semi-closed system. The study was started from *P. monodon* at an average weight of  $15.67 \pm 0.42$  g, which were cultured in a earthen pond for 4 months. Those were selected to culture in concrete tanks at the density of 6 shrimps/m<sup>2</sup>. All of those were fed with fresh food such as blood worm (*Glycera dibrandriata*), green mussel (*Perna viridis*) and squid (*Loligo oplescens*). The parameters of metabolic, immune, water quality and growth rate were evaluated at 30 days interval for 8 months. Results showed that under indoor semi-closed system, water quality could be controlled to the appropriated level, namely, temperature 25-28°C, salinity 13-14 ppt, pH 7.4-8.3, alkalinity 52-199 mg/l, dissolved oxygen 5.3-10.6 mg/l, total ammonia-N 0.003-0.090 mg/l and nitrite-N 0.006-0.483 mg/l, for culturing shrimp for at least 8 month. During 138-173 day-old, it could be expected that the shrimp were exposed to stress status from acclimation, those observed from higher concentrations of glucose and total protein, lower concentration of total hemocytes count in hemolymph and high mortality rate at 12.5%. During 201-381 day-old, where they were familiar to the new habitat and able to adjust to the culture system within concrete tanks. Therefore the glucose, triglyceride, cholesterol, total proteins, total hemocyte count and phenol oxidase activity were stable. There could also observe in normally growth. Moreover it can be addressed that the accumulation of energy sources for maturation (triglyceride and cholesterol) are increasing as time increased. At the end of this study, average weights of male and female shrimps were 64.13g and 73.82 g, respectively, where those trend to grow to maturation size.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรียัน รัชฎกิจจานุกิจ ประธานกรรมการ อาจารย์ ดร.วิสุทธิ์ วีระกุลพิริยะ กรรมการวิชาเอก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราห์ เทพาหุดี กรรมการวิชาการ ศาสตราจารย์ ดร.สุชุม เล้าใจ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย และ ดร.จิราพร เกษรจันทร์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและความรู้เกี่ยวกับการทำงานวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างดี และขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านของภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาชีววิทยาประมง และภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้

ขอขอบคุณขอขอบคุณสถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่สำหรับทำงานวิจัย พร้อมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจและกำลังใจ ขอขอบพระคุณโรงพยาบาลสงขลา ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเลือดกุ้ง

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่คุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้อบรมและให้กำลังใจผู้วิจัยมาตลอดในทุกเรื่อง

ชัชวาล อินทมนตรี

มีนาคม 2552

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	18
อุปกรณ์	18
วิธีการ	19
ผลและวิจารณ์	25
ผล	25
วิจารณ์	43
สรุปและข้อเสนอแนะ	51
สรุป	51
ข้อเสนอแนะ	52
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	53
ภาคผนวก	64
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	106

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อาหารและการให้อาหารกึ่งทดลอง	21
2	วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติน้ำ	21
3	น้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโต และการรอดชีวิตของกึ่งกุลาคำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	42
4	ปริมาณการตายของกึ่งกุลาคำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	42
ตารางผนวกที่		
1	การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาคำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบการเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ	65
2	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับกลูโคสในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาคำเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	66
3	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับกลูโคสในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาคำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	67
4	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับแลคเตทในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาคำเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	68
5	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับแลคเตทในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาคำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	69

### สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
6	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับไตรกลีเซอไรด์ในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาดำเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	70
7	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับไตรกลีเซอไรด์ในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาดำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	71
8	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับคลอเรสเตอรอลในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาดำเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	72
9	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับคลอเรสเตอรอลในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาดำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	73
10	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนรวมในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาดำเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	74
11	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนรวมในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาดำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	75
12	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมในน้ำเลือด (เซลล์/ลบ.มม.) ของกึ่งกุลาดำเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	76
13	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมในน้ำเลือด (เซลล์/ลบ.มม.) ของกึ่งกุลาดำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	77

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
14	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (หน่วย/นาทึ/มิลลิกรัมโปรตีนรวม) ในกึ่งกลาดำเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	78
15	ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (หน่วย/นาทึ/มิลลิกรัมโปรตีนรวม) ในกึ่งกลาดำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	79
16	ผลน้ำหนัก ของกึ่งกลาดำเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	80
17	ผลของน้ำหนัก ของกึ่งกลาดำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอด	81
18	การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับกลูโคสระหว่างกึ่งกลาดำเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง	82
19	การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับแลคเตทระหว่างกึ่งกลาดำเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง	85
20	การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับไตรกลีเซอไรด์ระหว่างกึ่งกลาดำเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง	88
21	การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับคลอเรสเตอรอลระหว่างกึ่งกลาดำเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อคอนซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง	91
22	การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนรวมระหว่างกึ่งกลาดำเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง	94

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
23	การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมระหว่างกึ่ง กุลาดำเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบ กึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง	97
24	การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ระหว่างกึ่งกุลาดำเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง	100
25	การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำหนักระหว่างกึ่งกุลาดำเพศผู้กับเพศ เมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ของแต่ละช่วงเวลาทดลอง	104

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กลไกการตอบสนองความเครียดของสัตว์น้ำ	14
2	แผนผังระบบการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ	20
3	ชนิดวัสดุ (Polyethylene block) ใช้เป็นหน่วยบำบัดชีวภาพ (biological filter)	21
4	การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง	26
5	การเปลี่ยนแปลงความเค็มของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง	27
6	การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง	28
7	การเปลี่ยนแปลงความเป็นต่างรวมของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง	29
8	การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง	30
9	การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียรวมของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง	31
10	การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์ของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง	32
11	ระดับกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือน ระหว่างสองเพศในแต่ละช่วงเวลา	33
12	ระดับแลคเตทในน้ำเลือดในน้ำเลือดของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน ระหว่างสองเพศในแต่ละช่วงเวลา	34
13	ระดับไตรกลีเซอไรด์ในน้ำเลือดของกุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน ระหว่างสองเพศของแต่ละช่วงเวลา	35

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	ปริมาณคลอเรสเตรอลในน้ำเลือดของกึ่งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน ระหว่างสองเพศของแต่ละช่วงเวลา	36
15	ปริมาณโปรตีนรวมในน้ำเลือดของกึ่งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่าง สองเพศของแต่ละช่วงเวลา	37
16	จำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมในน้ำเลือดของกึ่งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่ง ปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ย ระหว่างสองเพศของแต่ละช่วงเวลา	38
17	กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในน้ำเลือดของกึ่งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน เปรียบเทียบความแตกต่าง ค่าเฉลี่ยระหว่างสองเพศของแต่ละช่วงเวลา	39
18	การเจริญเติบโตของกึ่งกุลาดำเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	40
19	การเจริญเติบโตของกึ่งกุลาดำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน	41

# การเปลี่ยนแปลงสารเมแทบอลิคในน้ำเลือดและการตอบสนองภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในระบบโรงเรือนกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ

## Hemolymph Metabolic Variables and Immune Response of Black Tiger Shrimp Broodstock (*Penaeus monodon* Fabricius) Cultured in Indoor Semi-Closed System

### คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในบริเวณเขตร้อนชื้น (Tropical zone) มีพื้นดินติดกับชายฝั่งทะเลทั้งสองด้านคือ ฝั่งทะเลอ่าวไทย และอันดามัน ซึ่งเป็นลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์ทะเลเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะกุ้งกุลาดำ (บรรจง, 2524) ซึ่งเป็นสัตว์ที่นิยมเลี้ยงกันแพร่หลาย จากคุณสมบัติที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้ดี เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (ระยะการเลี้ยงประมาณ 3-4 เดือน) และเป็นที่นิยมในการบริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ โดยตลอดช่วงทศวรรษที่ผ่านมาทั้งเกษตรกรและนักวิชาการได้พยายามศึกษาและพัฒนาวิธีการเลี้ยงมาอย่างต่อเนื่อง และประสบความสำเร็จในการเลี้ยงระดับหนึ่ง ซึ่งส่งผลให้มีการขยายตัวอย่างรวดเร็วของอุตสาหกรรมเลี้ยงกุ้งทะเล จึงมีความต้องการลูกพันธุ์เพื่อนำไปเลี้ยงในปริมาณมาก ทำให้มีการจับพ่อแม่พันธุ์จากแหล่งน้ำธรรมชาติในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้คุณภาพและปริมาณของพ่อแม่พันธุ์ในธรรมชาติลดลง ซึ่งพบว่าในปัจจุบันศักยภาพในการผลิตกุ้งกุลาดำลดลง (อัตราการรอดต่ำ การเจริญเติบโตช้า) ส่วนหนึ่งคาดว่ามาจากพ่อแม่พันธุ์ที่ไม่มีคุณภาพ นอกจากนี้ยังเกิดการแพร่ระบาดของโรค เกิดการสูญเสียในปริมาณมาก ทั้งนี้รวมถึงเกิดจากการถ่ายทอดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว จากแม่พันธุ์ไปสู่ลูกพันธุ์ (จิราพร และคณะ, 2543)

อนึ่ง การพัฒนาพ่อแม่พันธุ์ที่ได้จากการเลี้ยงได้เริ่มให้ความสนใจมากยิ่งขึ้น เพื่อจะสามารถควบคุมคุณภาพและปริมาณของแม่พันธุ์ให้ได้ลูกพันธุ์ที่มีคุณภาพ รวมทั้งปรับปรุงพันธุ์ที่เจริญเติบโตดี ด้านทานโรคสูง และปราศจากโรคบางชนิด (Benzie, 1997) นอกจากนี้ Browdy (1998) ได้เสนอแนะไว้ว่า คุณลักษณะของพ่อแม่พันธุ์ส่งผลต่อคุณภาพของลูกพันธุ์ ขณะที่ทิว (2533) ได้ทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อเลี้ยง พบว่าแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดิน สามารถเลี้ยงเป็นแม่พันธุ์ให้มีไข่แก่ได้ ซึ่งต่อมาได้มีการพัฒนาปรับปรุงวิธีการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งได้มีการนำ

กึ่งในระยะเต็มวัยจากบ่อดินมาขุนให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ โดยวิสุทธิ และฐานันดร (2545) พบว่ามีการพัฒนาของกลุ่มเซลล์สืบพันธุ์ของแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำ อย่างไรก็ตามการที่จะเลี้ยงกึ่งให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในที่คุมขัง มักพบปัญหาต่าง ๆ มากมาย เช่น ระหว่างการเลี้ยงเกิดการตายเปอร์เซ็นต์ของกึ่งที่ให้ไข่แก่อยู่ในระดับต่ำ รวมทั้งเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียได้ง่าย ส่วนหนึ่งเกิดมาจากการนำกึ่งมาเลี้ยงในที่คุมขังกึ่งมักจะเกิดความเครียด ระบบภูมิคุ้มกันลดลง กระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่าง ๆ ในร่างกายเปลี่ยนไป เช่น มีระดับกลูโคสในเลือดเพิ่มสูง (Perazzolo *et al.*, 2002) และการเจริญเติบโตช้า จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการที่ทำความเข้าใจถึงกระบวนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการเลี้ยงในที่คุมขัง เพื่อหาแนวทางและวิธีการในการผลิตพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำจากพ่อแม่พันธุ์กึ่งที่เลี้ยงขึ้นเอง (domesticated broodstock) ให้ได้คุณภาพที่เทียบเท่ากับพ่อแม่พันธุ์ที่ได้จากธรรมชาติ

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อประเมินสถานะทางโภชนาการของกึ่งกุลาคำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ตลอดระยะเวลาของการเลี้ยง
2. เพื่อประเมินสถานะทางสุขภาพของกึ่งกุลาคำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ตลอดระยะเวลาของการทดลอง
3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำระหว่างเลี้ยงในบ่อเลี้ยงกึ่งกุลาคำเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ภายใต้ระบบการเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ

## การตรวจเอกสาร

### 1. ชีววิทยาและการแพร่กระจายของกึ่งกุลาคำ

กึ่งกุลาคำ (*Penaeus monodon* Fabricius) เป็นกึ่งทะเลชนิดหนึ่งที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ในความเค็มช่วงกว้าง (Euryhaline) ตั้งแต่ 5-35 ส่วนในพัน ระดับความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคือ 10-30 ส่วนในพัน แต่ระดับที่สมดุลน้ำและเกลือแร่ (iso-osmotic) เท่ากับ 750 mOsm/kg คือที่ความเค็ม 25 ส่วนในพัน (Bailey-Brock and Moss, 1992) ลักษณะของกึ่งกุลาคำมีเปลือกเรียบ เป็นมันเงา และไม่มีขนเล็ก ๆ ที่เปลือก กรณีลักษณะเป็นซั้งทั้งด้านบนและด้านล่าง โดยด้านบนจะมี 6-8 ซั้ง และด้านล่างมี 2-4 ซั้ง ปกติจะพบด้านบน 7 ซั้ง และด้านล่าง 3 ซั้ง ในขณะที่มีชีวิต ลำตัวมีสีม่วงแดงที่มีแถบสีดำหรือสีน้ำตาลพาดขวางเป็นปล้อง ๆ โคนขาว่ายน้ำมีแถบสีสลับ หนวดสีน้ำตาลเข้มไม่มีลาย (บรรจง, 2524)

ถิ่นที่อยู่อาศัยของกึ่งกุลาคำพบได้ตั้งแต่เส้นแวงที่ 30 ถึง 155 องศาตะวันออกและเส้นรุ้งที่ 35 องศาเหนือถึง 35 องศาใต้ พบเป็นจำนวนมากที่บริเวณแถบเขตร้อน เช่น ประเทศอินโดนีเซีย มาเลเซีย ไทย และฟิลิปปินส์ เป็นต้น (บรรจง, 2524)

วงชีวิตของกึ่งกุลาคำเริ่มจากพ่อแม่กึ่งที่มีอายุประมาณ 18-24 เดือน ที่โตเต็มวัยและมีความสมบูรณ์ทางเพศ แล้วจะเริ่มว่ายน้ำไปที่ระดับความลึกประมาณ 20-70 เมตร ในบริเวณที่เหมาะสม หลังจากนั้นจะผสมพันธุ์และวางไข่โดยแม่กึ่งจะวางไข่ครั้งละประมาณ 248,000 – 811,000 ฟอง ขนาดของไข่เฉลี่ย 0.29 มิลลิเมตร ไข่ที่ได้รับการผสมจะฟักเป็นตัวอ่อนระยะนาเพลียส (nauplius larvae) ภายในเวลา 11-15 ชั่วโมง จากนั้นอีก 3 วัน จะเข้าสู่ระยะ zoea และพัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะ mysis ระยะนี้ใช้เวลา 4 วัน โดยจะเริ่มเข้าสู่ชายฝั่ง จากนั้นกึ่งวัยอ่อน (post larva) จะถูกกระแสน้ำพัดเข้าสู่ชายฝั่งใช้เวลาประมาณ 1-3 สัปดาห์ ในช่วงนี้กึ่งจะมีการปรับตัวเพื่อให้เข้ากับความเค็มที่มีการเปลี่ยนแปลงลดลง ภายในร่างกายกึ่งจะมีการปรับสมดุลของน้ำกับภายนอกอยู่ตลอดเวลา และเจริญเติบโตเป็นระยะวัยรุ่นบริเวณป่าชายเลน เมื่อมีอายุและขนาดใหญ่ขึ้นจะค่อย ๆ อพยพลงสู่ที่ลึกเพื่อรอการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป (ปิยะพงศ์, 2528)

## 2. การเลี้ยงกึ่งกุดาคำให้เป็นพ่อแม่พันธุ์

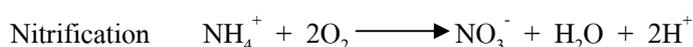
Primavera (1978) ได้รายงานการเลี้ยงกึ่งกุดาคำให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในประเทศฟิลิปปินส์ พบว่ากึ่งที่เลี้ยงในบ่อดินมีอายุ 12 เดือน สามารถเร่งให้เกิดการพัฒนาของรังไข่ได้ แต่ไข่จะไม่ฟัก เฉพาะกึ่งที่มีน้ำหนักมากกว่า 100 กรัมขึ้นไปถึงจะวางไข่ และฟักออกเป็นตัวได้ ในประเทศไทยได้ ทำศึกษาการเลี้ยงกึ่งกุดาคำขนาดของวัยเจริญพันธุ์ในบ่อดิน เพื่อทดแทนพ่อแม่พันธุ์ที่จับมาจาก แหล่งน้ำธรรมชาติ สามารถเลี้ยงในบ่อดินให้ได้ขนาดวัยเจริญพันธุ์และเมื่อนำกึ่งที่ได้มาผสมพันธุ์ กึ่งสามารถวางไข่และให้ลูกพันธุ์ที่มีอัตราการอดในระดับหนึ่ง (บรรจง, 2524 ; สมบูรณ์ และพิทักษ์ ; นิเวศน์ และคณะ, 2528) นอกจากนี้ ทวี (2533) ได้ทดลองเลี้ยงกึ่งกุดาคำจากบ่อดินให้มีไข่แก่ พบว่า แม่พันธุ์กึ่งที่มีอายุตั้งแต่ 12 เดือนขึ้นไปสามารถให้ไข่แก่ Menasveta *et al.*, (1991) ได้นำระบบการ เลี้ยงแบบปิดหมุนเวียนน้ำมาใช้ในการเลี้ยงกึ่งให้มีการพัฒนารังไข่และให้ลูกพันธุ์ เรณูและสมิง (2539) ปรับปรุงการเลี้ยงโดยนำกึ่งที่มีอายุ 4 เดือน จากบ่อเลี้ยงแบบพัฒนามาเลี้ยงแบบย้ายบ่อ และลดอัตราการความหนาแน่นลงเมื่อกึ่งมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งจะทำให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ในระยะเวลาเลี้ยง ประมาณ 1 ปี ขณะที่ทวีและไพฑูรย์ (2540) ได้ทำการเปรียบเทียบคุณภาพของพ่อแม่พันธุ์ที่ได้จาก ธรรมชาติกับที่ได้จากการเลี้ยง พบว่าพ่อแม่พันธุ์ที่ได้จากการเลี้ยงยังมีคุณภาพไม่เทียบเท่าพ่อแม่ พันธุ์ที่ได้จากธรรมชาติ โดยเฉพาะในด้านปริมาณความดกของไข่ ซึ่งในเวลาต่อมา สุธล (2545) ทดลองเลี้ยงกึ่งในบ่อดินเป็นระยะเวลา 13 เดือน ด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป และเสริมด้วยอาหารสด ประเภท เนื้อหอย หมึก สามารถทำให้กึ่งพัฒนาเป็นไข่แก่ได้โดยไม่ต้องบิบหรือตัดก้านตา ให้ไข่ เฉลี่ยประมาณ 217,350 ฟองต่อแม่ อัตราการฟัก 32.13 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าแม่พันธุ์ที่ได้จาก ธรรมชาติ คือให้ไข่เฉลี่ยแม่ละ  $1.234 \times 10^6 - 2.029 \times 10^6$  ฟอง ต่อมาสิทธิโชค (2545) นำกึ่งมาเลี้ยง ในบ่อซีเมนต์ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ พบว่ากึ่งที่เลี้ยงในที่มีความเค็มต่ำกว่า 20 ส่วนในพัน การพัฒนา ของรังไข่ไม่ถึงระยะที่ 3 ส่วนกึ่งที่เลี้ยงในที่มีความเค็ม 30 ส่วนในพัน กึ่งสามารถพัฒนารังไข่จนถึง ระยะไข่แก่ ซึ่งสอดคล้องกับการการศึกษาของ Bray and Lawrence (1998) ที่ประสบความสำเร็จใน การนำกึ่งกุดาคำมาเลี้ยงในที่มีความเค็มสูงให้ได้ลูกพันธุ์ นอกจากนี้วิสุทธิ และฐานันดร (2545) นำกึ่ง จากบ่อเลี้ยงมาขุนให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์เมื่อเลี้ยงได้ 8 เดือนปรากฏว่ามีการพัฒนาของ กลุ่มเซลล์สืบพันธุ์ในรังไข่และอวัยวะของกึ่ง

### 3. ปัจจัยที่มีผลต่อความสมบูรณ์เพศของกุ้งกุลาดำ

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อระบบสืบพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์กุ้งได้แก่ สิ่งแวดล้อม พันธุกรรม (Benzie, 1997) ระดับและชนิดของฮอร์โมน รวมทั้งสภาวะทางโภชนาการของพ่อแม่พันธุ์ (Racotta *et al.* 2003) Menasveta *et al.* (1993) ได้ให้ความสำคัญกับปัจจัยทางอาหาร และฮอร์โมนมีบทบาทที่สำคัญกว่าปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม ขณะที่ Izquierdo *et al.* (2001) เสนอแนะว่าปัจจัยอาหารเป็นปัจจัยสำคัญของการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ การผสมพันธุ์ คุณภาพของไข่ และลูกพันธุ์

#### 3.1 ปัจจัยสิ่งแวดล้อม

คุณภาพน้ำ เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญต่อความสำเร็จหรือไม่ในการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของกุ้งทะเล (Bray and Lawrence, 1998) เนื่องจากกุ้งส่วนใหญ่ที่มีการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ มักจะพบในบริเวณฝั่งที่น้ำมีคุณภาพดี ซึ่งเป็นบริเวณที่ไกลฝั่งออกไป ในขณะที่บริเวณชายฝั่งเป็นบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำสูง เนื่องจากการปนเปื้อนของสารเคมี การเกษตร อุตสาหกรรม และน้ำทิ้งชุมชน หรือมีเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค (แบคทีเรีย ไวรัส) ซึ่งจะมีผลต่อสุขภาพของกุ้งที่จะเป็นพ่อแม่พันธุ์ในลำดับต่อไป Menasveta *et al.* (2001) ได้เสนอระบบการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์แบบปิดหมุนเวียน ภายในระบบประกอบด้วยขบวนการเคลื่อนย้ายสารประกอบไนโตรเจนออกจากระบบ นั่นคือขบวนการไนตริฟิเคชัน (nitrification: เปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนเตรท) ซึ่งเป็นการทำงานของแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Nitobacter* sp. และ *Nitrosomonas* sp. และขบวนการดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification: เปลี่ยนไนเตรทเป็นก๊าซไนโตรเจน) เป็นการทำงานของแบคทีเรีย denitrifying bacteria ได้แก่ *Thiocallus aenitriticans*, *Pseudomonas* sp. แสดงดังสมการ



นอกจากนี้ Menasveta *et al.* (1991) ได้นำระบบกรองชีวภาพ (Biological filter) นำมาบำบัดน้ำในระหว่างการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ แต่ความสามารถของกุ้งในการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ และให้ลูกพันธุ์มีคุณภาพต่ำกว่าจากพ่อแม่พันธุ์ที่ได้จากแหล่งธรรมชาติ

คุณสมบัติของคุณภาพน้ำที่มีผลต่อการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของกุ้งประกอบด้วย

- แสง (Light) ในธรรมชาติพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจะอยู่ในทะเลลึกที่มีปริมาณแสงน้อยและมีการส่องของแสงสีฟ้า และสีเขียว มากกว่าแสงในช่วงความยาวคลื่นชนิดอื่น (Jerlov, 1970) ระดับแสงที่ลดลงทำให้การพัฒนาความสมบูรณ์เพศเร็วขึ้น ทั้งในแม่พันธุ์กุ้งที่ตัดก้านตาและไม่ตัดก้านตา (Hillier, 1984) โดยช่วงเวลาที่ได้รับแสงประมาณ 19 ชั่วโมง จะทำให้การพัฒนาความสมบูรณ์เพศล้มเหลวในกุ้ง *P. monodon* ที่ไม่ได้ตัดตา (Beard and Wickins, 1980) ขณะที่ Primavera and Caballero (1992) ศึกษาผลจากแสงธรรมชาติและแสงสีต่าง ๆ ที่มีผลต่อการพัฒนารังไข่ของกุ้งกุลาดำ รายงานว่าสีของแสงไม่มีผลต่อการกระตุ้นให้แม่กุ้งมีไข่แก่ นอกจากระดับความเข้มของแสง และระยะเวลาที่ได้รับแสง โดยแสงธรรมชาติจะดีที่สุด ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Caillouet (1972) ที่พบว่ากุ้ง *P. duorarum* ไม่สามารถพัฒนาความสมบูรณ์เพศได้ในบ่อที่มีแสงสีน้ำเงิน เขียว และขาว และ Pudadera and Primavera (1981) ทดลองใน *P. monodon* ที่ไม่ได้ตัดก้านตาสามารถพัฒนาความสมบูรณ์เพศได้บางส่วนในแสงสีน้ำเงินและแสงธรรมชาติ

- อุณหภูมิ (Temperature) กุ้งแต่ละชนิดต้องการอุณหภูมิสำหรับการเจริญเติบโตแตกต่างกันไป โดยทั่วไปแล้วกุ้งจะโตเร็ว ถ้าอุณหภูมิสูง แต่ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปก็จะทำให้กุ้งตายได้ เช่น กุ้ง *P. japonicus* จะตายที่อุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส (บรรจง, 2524) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการพัฒนาความสมบูรณ์เพศอยู่ในช่วง 26-32 องศาเซลเซียส ในเขต Tropical และ 16-28 องศาเซลเซียส ในเขต Subtropical เช่น กุ้ง *P. japonicus* จะเริ่มพัฒนาความสมบูรณ์เพศที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส

- ความเค็ม (Salinity) จะเกี่ยวข้องกับการปรับสมดุลของน้ำและเกลือแร่ภายในร่างกาย (osmoregulation) (Lignot *et al.*, 2000) โดยความเค็มจะประกอบด้วยอนุภาคเล็ก ๆ ของเกลือหลายชนิด เช่น โปแตสเซียม โซเดียม แมกนีเซียม แคลเซียม และคลอไรด์ (มนูวดี, 2532) โดยปกติกุ้งในสกุล *Penaeus* ซึ่งเป็นสัตว์ในกลุ่ม Euryhaline จะมีการปรับสมดุลของน้ำและเกลือแร่ภายในร่างกายตามความเค็มของน้ำทะเลได้ในช่วงกว้าง (Anggoro and Prayitno, 1999) สำหรับกุ้งกุลาดำมักจะไม่มีพบตัวเต็มวัยหรือกุ้งที่สมบูรณ์เพศ ในบริเวณน้ำกร่อย หรือบริเวณชายฝั่ง เนื่องจากกุ้งตัวเต็มวัยปรับสภาพความเข้มข้นของน้ำและเกลือแร่ภายในร่างกายได้น้อยกว่ากุ้งวัยรุ่น สิทธิโชค และประจวบ (2544) พบว่าแม่กุ้งที่ได้รับการผสมพันธุ์ด้วยวิธีการผสมเทียม และเลี้ยงในน้ำเค็ม 10 ส่วนในพัน พัฒนารังไข่ไม่ถึงระยะ 4 แต่แม่กุ้งที่เลี้ยงในน้ำเค็ม 20 และ 30 ส่วนในพัน สามารถพัฒนาไข่จนถึงระยะที่ 4 โดยวางไข่ได้ 43.6 และ 50.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

### 3.2 ปัจจัยทางด้านฮอร์โมน

บริเวณตาหรือก้านตาของกิ้งกูดามีอวัยวะสร้างฮอร์โมน เรียกว่า X-organ ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ประสาท (neurosecretory cells) ทำหน้าที่สร้างฮอร์โมนที่ยับยั้งการลอกคราบ (Molt-Inhibiting Hormone: MIH) และสร้างฮอร์โมนเพศประเภทยับยั้งการเจริญของอวัยวะสืบพันธุ์ (Gonad-Inhibiting Hormone : GIH) โดยจะยับยั้งการเจริญเติบโตของรังไข่ในกิ้งกูดเพศเมีย ดังนั้นการทำลายฮอร์โมนชนิดนี้ก็จะเร่งให้อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์เจริญเติบโตได้ดี ปัจจุบันใช้วิธีบีบหรือตัดตาของกิ้งกูดเพศเมียเพื่อทำลาย X-organ และ Sinus gland ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการเก็บและผลิตฮอร์โมนยับยั้งการเจริญของรังไข่ นอกจากนี้ยังพบว่า X-organ สร้างฮอร์โมนกระตุ้นการทำงานของอวัยวะสืบพันธุ์ (Gonad Stimulating Hormone : GSH) อีกด้วย (Fingerman, 1997)

### 3.3 ปัจจัยทางด้านอาหาร

อาหารที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กิ้งกูดจะมีผลต่อคุณภาพของไข่และตัวอ่อน ถ้าอาหารที่ใช้มีคุณภาพสูงก็จะทำให้ตัวอ่อนมีคุณภาพสูงด้วย เพราะลูกกิ้งกูดต้องใช้อาหารจากถุงไข่แดงตั้งแต่เป็นตัวอ่อนจนกระทั่งฟักเป็นตัวระยะนอเพเลียส (Racotta *et al.*, 2003) อาหารพ่อแม่พันธุ์กิ้งกูดโดยทั่วไปแล้วจะเป็นอาหารที่มาจากแหล่งธรรมชาติ เช่น เปรียงเลือด หมึก หอย เป็นต้น (Lytle *et al.*, 1990) ซึ่งอาหารเหล่านี้อุดมไปด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (HUFA) ได้แก่ EPA และ DHA กรดอะโรมาติกโคคลอเลสเตอรอล สเตอรอล ฟอสโฟไลปิด และกรดอะมิโนที่จำเป็น ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับกิ้งกูดทะเล (Chamberlain and Lawrence, 1981)

## 4. ภาวะทางโภชนาการ

### 4.1 สารอาหารคาร์โบไฮเดรต

กิ้งกูดเหมือนกับสัตว์ทั่วไปที่ไม่สามารถสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตได้ดังเช่นพืช ทำให้กิ้งกูดต้องได้รับคาร์โบไฮเดรตจากพืช ซึ่งสังเคราะห์จากการสังเคราะห์แสง บทบาทและหน้าที่ของคาร์โบไฮเดรตมีความสำคัญอย่างมากทั้งนี้ เพราะคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ (เวียง, 2543)

คาร์โบไฮเดรตที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ จะมีโมเลกุลขนาดเล็กลงจนได้เป็นน้ำตาลซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กที่สุด หลังจากนั้นจะถูกดูดซึมผ่านผนังท่อทางเดินอาหารเพื่อนำไปทำหน้าที่ต่าง ๆ กล่าวคือ เป็นองค์ประกอบของเซลล์หรือนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) รวมทั้งจะถูกนำไปเผาผลาญให้ได้พลังงานออกมาเพื่อร่างกายนำไปใช้ในชีวิตประจำวัน ประกอบด้วย 2 ขบวนการ คือ ขบวนการสลายกลูโคส และขบวนการสังเคราะห์กลูโคส

การสลายกลูโคส เป็นการนำกลูโคสมาเผาผลาญเพื่อให้ได้พลังงานออกมา (ATP และ NADH) การสลายกลูโคสเกิดขึ้นได้เนื่องจากการทำงานของขบวนการไกลโคลิซิส (glycolysis) และขบวนการเพ็นโตสฟอสเฟต (pentose phosphate pathway)

ขบวนการไกลโคลิซิส ซึ่งเป็นขบวนการหลักที่ให้พลังงานแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน (พัชรา, 2544)

ขั้นตอนที่หนึ่ง สลายกลูโคสเป็นกลีเซอรอลดีไฮด์ 3-ฟอสเฟต (glyceraldehyde 3-phosphate)

ขั้นตอนที่สอง เปลี่ยนกลีเซอรอลดีไฮด์ 3-ฟอสเฟต เป็นไพรูเวท

ขั้นตอนที่สาม เปลี่ยนไพรูเวทเป็นอะซิติกโคเอนไซม์เอ โดยถ้าเป็นในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนหรือขาดออกซิเจน พบว่าไพรูเวทจะเปลี่ยนเป็นแลคเตท (lactate) หรืออะซิเตท (acetate) หรือเอทานอล (ethanol) แต่ถ้าในสภาพที่มีออกซิเจน พบว่าไพรูเวทจะเปลี่ยนเป็นอะซิติกโคเอนไซม์เอ แล้วเข้าสู่วัฏจักรไทร์คาร์บอกซิลิกต่อไปเพื่อเผาผลาญให้ได้พลังงานจำนวนมากออกมา

ขบวนการเพ็นโตสฟอสเฟตจะเริ่มจาก สารตั้งต้นซึ่งได้แก่ กลูโคส 6-ฟอสเฟต จะถูกเปลี่ยนไปเป็นไรบูโรส 5-ฟอสเฟต (ribulose 5-phosphate) จากนั้นไรบูโรส 5-ฟอสเฟตจะเปลี่ยนรูปเป็นไรโบส 5-ฟอสเฟต (ribose 5-phosphate) และไซลูลูโลส 5-ฟอสเฟต (xylulose 5-phosphate) ซึ่งต่อมาจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลอื่น ๆ อีกหลายชนิด และในที่สุดก็จะได้ฟรุกโตส 6-ฟอสเฟต และกลีเซอรอลดีไฮด์ 3-ฟอสเฟต เข้าไปพร้อมกับขบวนการไกลโคลิซิสในการเผาผลาญพลังงานออกมา ในสภาพที่อดอาหาร (starvation) สัตว์จะนำเอาไกลโคเจนที่สะสมอยู่ในตับมาใช้เป็นแหล่งพลังงานสำรองเป็นลำดับแรกก่อนไขมัน

การสังเคราะห์กลูโคส เป็นการนำไพรูเวทมาสังเคราะห์ย้อนกลับให้ได้กลูโคสโดยใช้พลังงานจำนวนมากซึ่งสามารถกระทำได้โดยการย้อนปฏิกิริยาในขบวนการไกลโคลิซิส และขบวนการเพนโตสฟอสเฟต

#### 4.2 สารอาหารโปรตีน

เป็นองค์ประกอบหลักในเนื้อเยื่อซึ่งมีมากถึง 65-75 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้ง) กุ้งได้รับโปรตีนจากการบริโภคเท่านั้น เมื่อโปรตีนถูกย่อยให้กลายเป็นโมเลกุลเล็ก ๆ ที่เรียกว่ากรดอะมิโน (amino acid) จะถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดที่บริเวณลำไส้เล็ก กรดอะมิโนที่ได้รับนี้จะถูกสังเคราะห์ขึ้นเป็นโปรตีนชนิดใหม่ โปรตีนหรือกรดอะมิโนนี้เป็นสิ่งจำเป็นที่จะต้องได้รับเพราะกุ้งต้องใช้ในการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย และใช้ในการเติบโตและสืบพันธุ์ (Izquierdo and Fernandex-Palacios, 2001)

โปรตีนเป็นสิ่งจำเป็นและสำคัญที่สุดต่อการเติบโตของกุ้งกุลาดำ และเมื่อพลังงานจากแหล่งโปรตีนที่จะนำไปใช้ไม่เพียงพอ กุ้งจะใช้แหล่งพลังงานจากไขมันและคาร์โบไฮเดรตตามลำดับ พลังงานที่ได้รับจากโปรตีนนี้จะนำไปใช้ในส่วนของการดำรงชีวิตเพื่อให้อยู่รอดก่อน หลังจากนั้นจะนำไปใช้ในการเติบโต Guillaume *et al.* (2001) กล่าวว่าสำหรับกุ้งกุลาดำในระยะวัยอ่อนอาหารที่มีโปรตีนสูงจะทำให้มีอัตราการรอดและการเติบโตที่ดี ได้แก่ สาหร่าย และอาร์ทีเมีย กุ้งกุลาดำระยะวัยรุ่นมีความต้องการระดับของโปรตีนประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ และในรายงานของ Shiau (1998) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำระยะวัยรุ่นในระดับโปรตีน 40-50 เปอร์เซ็นต์ จะมีการเติบโตและอัตราการรอดดีที่สุดในระดับคาร์โบไฮเดรต 20 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 5-10 เปอร์เซ็นต์ ความต้องการโปรตีนของกุ้งวัยรุ่นมีมากกว่าในตัวเต็มวัย เนื่องจากกุ้งในช่วงก่อนถึงระยะตัวเต็มวัยจะมีการอพยพออกจากนอกฝั่งเข้ามายังชายฝั่ง ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของความเค็มอยู่ตลอดเวลา ดังนั้น กุ้งจึงต้องการพลังงานในการปรับสมดุลของน้ำ

#### 4.3 สารอาหารไขมัน

เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ มีหน้าที่เป็นโครงสร้างเนื้อเยื่อเซลล์ (biomembrane) เป็นแหล่ง

พลังงานของร่างกาย รวมทั้งเป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญ เช่น highly unsaturated fatty acid (HUFA), phospholipids, sterols และพลังงานที่จำเป็นสำหรับกุ้งทะเล (Kanazawa *et al*, 1977)

ไขมันที่สัตว์น้ำกินเข้าไปส่วนใหญ่อยู่ในรูปไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ย่อยไขมันจนได้เป็นกรดไขมัน (fatty acid) ซึ่งมีหน่วยเล็กที่สุด และจะถูกดูดซึมผ่านผนังท่อทางเดินอาหารเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในร่างกายโดยปฏิกิริยาทางชีวเคมี เช่น นำไปผลิตฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ หรือเอนไซม์บางชนิด และนำไปสะสมในอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกายเพื่อทำหน้าที่ได้ตามปกติ เช่น บริเวณเรตินา เส้นประสาท สมอง ตับและกล้ามเนื้อ เป็นต้น รวมทั้งจะถูกนำไปเผาผลาญให้เกิดพลังงานเพื่อดำรงชีพหรือการเจริญเติบโต ซึ่งประกอบด้วยขบวนการสลายกรดไขมันและสังเคราะห์กรดไขมัน

การสลายกรดไขมัน (fatty acid oxidation) หรือการเผาผลาญกรดไขมัน เป็นการนำกรดไขมันมาออกซิไดซ์เพื่อให้ได้พลังงานออกมาโดยอาจเกิดได้ทั้งในไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และเพอร์ออกซิโซม (peroxisome)

การสังเคราะห์กรดไขมัน (fatty acid synthesis) เป็นการนำอะซิติลโคเอนไซม์เอ (acetyl-Co A) ที่ได้จากการสลายกรดไขมัน กรดไขมัน หรือกลูโคส มาใช้ในการสร้างหรือสังเคราะห์กรดไขมันเพื่อเป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อเซลล์ของสัตว์น้ำ การสังเคราะห์จะเกิดขึ้นในไซโทพลาสซึม (วีรพงษ์, 2535)

## 5. ระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชีย

Soderhall and Cerenius (1992) ได้รายงานสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชีย (crustacean) ไม่มีระบบภูมิคุ้มกันโรคแบบเฉพาะเจาะจง ซึ่งเป็นการทำงานโดยแอนติบอดี (antibody) แต่การป้องกันของสัตว์น้ำกลุ่มนี้เป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-specific immune response) สามารถแบ่งระบบภูมิคุ้มกันโรคของกุ้ง ออกเป็น 2 ชนิด คือ

5.1 ระบบภูมิคุ้มกันที่อาศัยเซลล์ (cellular immunity) ในระบบนี้จะมีเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญคือ เซลล์เม็ดเลือด 3 ชนิด คือ hyaline cell, semi granular cell, large granular cell ที่เป็นอิสระ และเซลล์จับกินที่อยู่กับที่ (fix phagocyte) กระจายอยู่ตามเนื้อเยื่อ ต่อมน้ำเหลือง กล้ามเนื้อหัวใจ

และอวัยวะอื่น ๆ ซึ่งมีวิธีการหลายวิธี ได้แก่ การจับกินเชื้อโรค (phagocytic activity) และการห่อหุ้มล้อมตัวเชื้อหรือสิ่งแปลกปลอม (nodule formation and encapsulation)

5.2 ระบบภูมิคุ้มกันในน้ำเลือด (humoral immunity) ระบบนี้เกิดจากการทำงานของหลาย ๆ ปฏิกริยา เช่น การเกิดการแข็งตัวของเลือด (blood clotting) การเกิดเมลานิน (melanin formation) และ Opsonization ระบบที่สำคัญคือ กิจกรรรมเอนไซม์โปรฟีนอลออกซิเดส (prophenol oxidase activation system) และเลคติน (lectin) ซึ่งคอยดักจับสิ่งแปลกปลอม

## 6. การตอบสนองต่อความเครียดของสัตว์น้ำ

สัตว์มีการตอบสนองต่อสิ่งเร้า (stimulus) แล้วมีปฏิกิริยาตอบโต้ต่อสิ่งกระตุ้นนั้น จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะสมดุลของร่างกาย (homeostasis) ซึ่งจะมีการตอบสนองทั้งทางกายภาพและทางสรีระต่อสถานะการเกิดความเครียด โดยการหลั่งฮอว์โมน catecholamine และ corticosteroid จะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลง metabolic rate ของร่างกาย เช่น ระดับของกลูโคสและกรดไขมันในเลือดสูงขึ้น สมดุลแร่ธาตุและเกลือแร่ในร่างกายเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ยังมีผลทำให้เกิดการกดระบบภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) ของร่างกาย ซึ่งทำให้สัตว์อ่อนแอ มีภูมิคุ้มกันโรคร้าย เกิดการติดเชื้อได้ง่าย รวมถึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมต่าง ๆ อีกด้วย สาเหตุของความเครียด ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม (อุณหภูมิ ความขุ่นใส พิเศษมลภาวะต่าง ๆ) ระบบการเลี้ยง (การเลี้ยงในกระชัง วิธีการขนส่ง การรักษาโรค) และความเครียดเกิดจากการติดเชื้อ (แบคทีเรีย ไวรัส และปรสิต) (Wedemeyer, 1996)

โดยทั่วไปกระบวนการตอบสนองความเครียดของสัตว์มีแนวโน้มที่คล้าย ๆ กัน ไม่ว่าจะความเครียดจะเกิดจากระบบการเลี้ยง การเปลี่ยนแปลงทางคุณสมบัติเคมีของน้ำ หรือปัจจัยทางพฤติกรรม ซึ่งสามารถอธิบายตามทฤษฎีการตอบสนองต่อความเครียดของสิ่งมีชีวิตที่เรียกว่า General Adaptation syndrome (GAS) โดยแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ (Selye, 1973)

ขั้นตอนที่ 1 เป็นการตอบสนองโดยการหลั่งฮอว์โมนที่ก่อให้เกิดความเครียด คือ catecholamine และ corticosteroid

ขั้นตอนที่ 2 เป็นขั้นตอนการปรับตัวเพื่อต่อต้านความเครียดที่เกิดขึ้น

ขั้นตอนที่ 3 เป็นขั้นตอนสุดท้ายของการปรับตัว ถ้าหากสัตว์น้ำสามารถปรับตัวได้ก็จะกลับคืนสู่สภาพปกติ แต่ถ้าหากปรับตัวไม่ได้อาจทำให้ร่างกายเกิดความผิดปกติ และอาจตายได้ในที่สุด

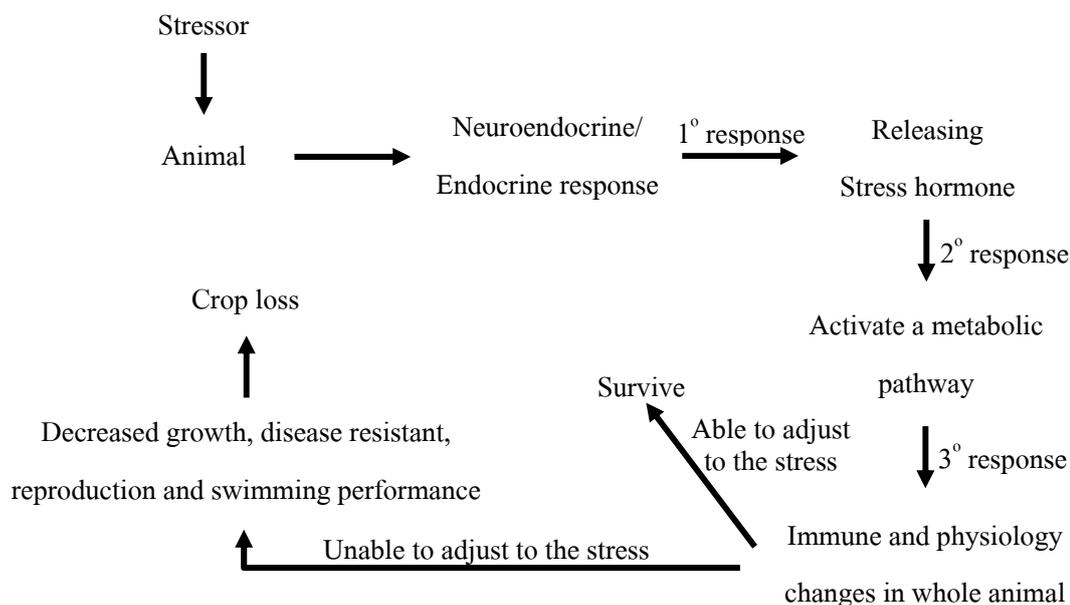
ขณะที่ Wedemeyer (1996) ได้แบ่งขั้นตอนการตอบสนองต่อความเครียดของสัตว์น้ำ ที่มีกระดูกสันหลังได้ 3 ขั้นตอน ดังนี้ (ภาพที่ 1)

1. Primary effect เป็นการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนในร่างกาย เมื่อร่างกายได้รับสิ่งกระตุ้นที่ก่อให้เกิดความเครียด ร่างกายจะมีการตอบสนอง โดยการหลั่งสาร catecholamine และ corticosteroid ในพลาสมา รวมถึงปริมาณของ adrenalin และ noradrenaline หลังจากนั้น 2-3 นาที จะเกิดอาการขาดออกซิเจนในเลือด มีอาการกระวนกระวาย

2. Secondary effect เป็นการเปลี่ยนแปลงของสรีระ เพื่อตอบสนองกับปริมาณของฮอร์โมนที่เพิ่มขึ้นในร่างกาย โดยจะมีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น การสลายไกลโคเจน (glycogen) ที่ตับ ทำให้มีระดับกลูโคสในเลือดสูง มีการสลายไขมันในร่างกาย และมีผลต่อระบบสมดุลเกลือแร่ในร่างกาย นอกจากนี้ corticosteroid ยังมีผลต่อการกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้สัตว์น้ำอ่อนแอเกิดการติดเชื้อได้ง่าย

1.3 Tertiary effect เป็นการเปลี่ยนแปลงของร่างกายที่เป็นผลจาก Secondary effect เช่น เกิดการตายของเนื้อเยื่อ หรือร่างกายอ่อนแอจนเกิดการติดเชื้อ

การตอบสนองในระดับ Tertiary effect มีความสัมพันธ์กับการเลี้ยงสัตว์น้ำ คือ ทำให้ความต้านทานโรคของสัตว์น้ำลดลง และมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน เมื่อระดับของ cortisol ซึ่งเป็นสารที่พบเป็นส่วนใหญ่ของ corticosteroid เพิ่มขึ้น (Pickering, 1981) การเพิ่มขึ้นของ cortisol ในระบบหมุนเวียนเลือด มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลากระดูกแข็ง โดยจะทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวลดลง มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-specific immune responses) คือ ยับยั้งกิจกรรม respiratory burst (Stave and Robertson, 1985) ยับยั้งกระบวนการ phagocytosis (Ainsworth *et al.*, 1991) ทำให้การเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวช้าลง เมื่อมีการฉีด cortisol เข้าสู่ร่างกาย (MacArthur and Fletcher, 1985) นอกจากนี้ cortisol ยังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (specific immune responses) คือ มีผลต่อการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอม ในการสร้างแอนติบอดี



ภาพที่ 1 กลไกการตอบสนองต่อความเครียดของสัตว์น้ำ

ที่มา : Wedemeyer (1996)

การวัดการตอบสนองต่อความเครียด เป็นการวัดการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของสัตว์น้ำ สามารถทำได้โดยการ Challenge เปรียบเทียบกับการตอบสนองในสภาวะปกติต่อสิ่งกระตุ้นหลายๆ แบบ ซึ่งสามารถวัดได้จาก

1. การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนที่ก่อให้เกิดความเครียด ได้แก่ ฮอร์โมน catecholamine และ corticosteroid ซึ่งสามารถวัดในรูปของฮอร์โมน cortisol, adrenalin และ noradrenalin นอกจากนี้ยังสามารถวัดปริมาณของฮอร์โมน adenocorticotropic (ACTH) ที่หลั่งมาจาก adenohypophysis ซึ่งเป็นตัวกระตุ้น hypothalamus ให้หลั่งฮอร์โมนที่ก่อให้เกิดความเครียดออกมา

2. การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของสัตว์น้ำ ได้แก่

- 2.1 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของเลือด เช่น ภาวะการเกิด hyperglycemia, hyperlacticemia, hypochloremia, leucopenia และการแข็งตัวของเลือด

2.2 การเปลี่ยนแปลงในระดับของเนื้อเยื่อ เช่น ปริมาณไกลโคเจนในตับลดลง และ ปริมาณวิตามินซีในไตลดลง

2.3 การเปลี่ยนแปลงของสารเมแทบอลิคต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น สมดุลของไนโตรเจน และความต้องการออกซิเจนเพิ่มขึ้น รวมถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณไอออนในเลือด

3. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดกับพฤติกรรมของสัตว์น้ำ เช่น การเจริญเติบโต การพัฒนารูปร่าง ความสามารถในการสืบพันธุ์ลดลง ความต้านทานโรคลดลง และระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ รวมทั้ง อัตรารอดต่ำ

Hall and van Ham (1998) แสดงให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำ *P. monodon* ระดับกลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้นภายหลังจากที่ระดับออกซิเจนลดลง และคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น ขณะที่ Racotta and Palacios (1998) ซึ่งให้เห็นว่าเมื่อทำการคัดเลือกกุ้ง (*Litopenaeus vannamei*) ซ้ำอีกครั้งซึ่งทำให้กุ้งเครียดปริมาณของกลูโคสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและรุนแรง Perazzolo *et al.* (2002) ทำการประเมินค่าทางด้านภูมิคุ้มกันของกุ้ง *Farfantepenaeus paulensis* ต่อความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสภาพสิ่งแวดล้อม โดยทำการเลี้ยงที่ความเค็มต่ำ เหนี่ยวน้ำให้กุ้งหลังน้ำเชื้อในเพศผู้ และตัดตาในกุ้งเพศเมีย พบว่าค่าจำนวนเม็ดเลือดรวม และปริมาณโปรตีนในซีรัมลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเสนอแนะค่าจำนวนเม็ดเลือดรวม และปริมาณโปรตีนในซีรัม เป็นดัชนีที่บ่งบอกการเกิดความเครียดในกุ้งได้ดี

Racotta and Hernandez-Herera (2000) ได้สังเกตว่ากุ้งที่อยู่ในที่กักขังจะมีผลต่อการเก็บสะสมอาหารสำรอง พบว่าปริมาณโปรตีน ไตรกลีเซอรอล และคลอเรสเตอรอลในเลือดลดลง Ramos *et al.* (1996) ได้พิสูจน์ให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของเมตาบอลิซึมในเลือด สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกสภาวะโภชนาการ เนื่องด้วยเลือดทำงานร่วมกับกล้ามเนื้อ และต่อมที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหาร รวมทั้งอวัยวะเก็บสะสมอาหาร ไตรกลีเซอรอลมีบทบาทเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ เมื่อกุ้งเกิดความเครียด (เลี้ยงกุ้งในที่คุมขัง) ปริมาณของไตรกลีเซอรอลจะลดลง เนื่องจากเกิดขบวนการ Ketogenesis ในการนำไตรกลีเซอรอลจากกล้ามเนื้อมาใช้ทดแทน หรืออาจมีการย่อยสลายกรดอะมิโน สำหรับคลอเรสเตอรอล ซึ่งกุ้งไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ การลดลงของคลอเรสเตอรอลในน้ำเลือด หมายความว่าคลอเรสเตอรอลในอาหารมีไม่เพียงพอ ส่วนแลคเตทสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกความเครียดได้ด้วยเช่นกัน เนื่องจากแลคเตทเป็นผลผลิตขั้นสุดท้ายของขบวนการสลาย

คาร์โบไฮเดรตแบบไม่ใช่ออกซิเจน ซึ่งมักจะเกิดขึ้นในช่วงที่กุ้งเกิดความเครียด กุ้งจะใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงาน ในวิถีทางนี้แลคเตทจะถูกผลิตออกมา และเข้าสู่วัฏจักรกรดคาร์บอกซิลิก (Sanchez *et al.*, 2001)

Sanchez *et al.* (2001) กล่าวว่ากุ้ง *Carcinus maenas* มีปริมาณเม็ดเลือดลดลงทันทีหลังจากติดเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งให้เห็นว่าเกิดการกระตุ้นของปฏิกิริยาฟาโกไซโตซิสอย่างรุนแรง ในกุ้ง *L. stylirostris* ที่อยู่ในสภาพขาดออกซิเจน (ความเครียดเกิดจากขาดออกซิเจน) ค่าเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส เพิ่มขึ้น Lee and Wickins (1992) พบว่าความเครียดทำให้สัตว์น้ำเกิดการติดเชื้อได้ง่าย และทำให้ในสัตว์น้ำป่วยเป็นโรคเนื่องมาจากความสามารถในการต้านทานการติดเชื้อแบคทีเรียลดลง

กิจการ และคณะ (2543ก) ศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการต่อองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ พบว่า ในสภาพที่ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำต่ำกว่าปกติ คือ มีค่าเท่ากับ 6.0 จะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณเม็ดเลือดรวม และกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส แต่มีผลให้ค่าความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดลดลงแตกต่างจากชุดควบคุมที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างปกติ คือมีค่าเท่ากับ 7.8 จากการศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ที่มีต่อระบบภูมิคุ้มกันพบว่าในสภาวะที่ออกซิเจนที่ละลายน้ำต่ำ (0.9-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีผลให้ปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ค่าความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือด และความสามารถของเม็ดเลือดในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมลดลง เมื่อเทียบกับสภาวะที่มีออกซิเจนละลายน้ำปกติ (5.0-5.8 มิลลิกรัมต่อลิตร) ขณะที่ผลของอุณหภูมิต่อระดับภูมิคุ้มกันพบว่า ในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียส) มีผลให้ปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และค่าความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดลดลงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่เลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิสูง (30 องศาเซลเซียส)

กิจการ และคณะ (2543ข) ยังได้ทำการศึกษาองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งบนพื้นฐานของ เพศ ขนาด และวงจรการลอกคราบ พบว่าปริมาณเม็ดเลือดเลือดรวม เอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส โปรตีนในซีรัม ของกุ้งเพศผู้และเพศเมียแต่ละขนาดไม่มีความแตกต่างกัน แต่พบว่าระยะการลอกคราบของกุ้งจะมีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดในระบบไหลเวียนโดยกุ้งที่อยู่ในระยะก่อนลอกคราบ (pre-molt, D-stage) ปริมาณเม็ดเลือดในระบบไหลเวียนสูงกว่ากุ้งในระยะที่คราบแข็ง (intermolt, C-stage) และระยะหลังลอกคราบ (postmolt, A-stage) ตามลำดับ เช่นเดียวกับความว่องไวของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และโปรตีนในซีรัมในกุ้งระยะก่อนลอกคราบจะมีค่าสูงสุด

และมีค่าต่ำสุดในระยะหลังลอกคราบ ส่วนปริมาณน้ำตาลในเลือดบนพื้นฐานของเพศ ขนาด และ วงจรการลอกคราบพบว่าไม่แตกต่างกัน การเพิ่มหรือลดลงของปริมาณน้ำตาลในเลือดถือเป็นดัชนี ที่แสดงให้เห็นถึงสถานะเครียดในกิ้งได้ประการหนึ่ง

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. บ่อคอนกรีตขนาด 8.4 x 1.86 x 1 ลูกบาศก์เมตร มีความจุสูงสุด 15 ตัน จำนวน 4 บ่อ
2. หน่วยบำบัดน้ำแบบแช่ (submerged bio-filter)
3. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำ
  - 3.1 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
  - 3.2 เครื่องวัดออกซิเจน (oxygen meter : YSI model 57)
  - 3.3 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
  - 3.4 เครื่องวัดความเค็ม (refractosalinometer)
4. หลอดชนิดยา ขนาด 1 มิลลิลิตร
5. เข็มชนิดยา เบอร์ 25G ความยาว ½ นิ้ว
6. หลอดทดลอง (microtube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
7. กว๊องจุลทรรศน์
8. ภาดหลุมทดลอง (microplate) ชนิด 96 หลุม
9. เครื่องปั่นเหวี่ยง
10. เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง
11. เครื่องวัดสารเมแทบอลิคอัตโนมัติ (ยี่ห้อ DABE BEHRING)
12. เครื่องวัดเทียบแสงในภาดหลุม (microplate reader ยี่ห้อ Bio-Tex-ELx 800)
13. เครื่องวัดปริมาณเม็ดเลือด (hemocytometer)
14. สารเคมี
  - 14.1 Formalin
  - 14.2 Sodium Oxalate
  - 14.3 Sodium Chloride
  - 14.4 Potassium Chloride
  - 14.5 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid : HEPES
  - 14.6 Ethylene Diamine Tetraacetic Acid Salt : EDTA-Na<sub>2</sub>
  - 14.7 Sodium Cacodylate

14.8 Calcium Chloride

14.9 Lactate Oxidase

14.10 Horseradish Peroxidase

14.11 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) : ABTS

14.12 Trypsin

14.13 L-3, 4-dihydrophenal alanine : L-DOPA

## วิธีการ

### 1. การเตรียมการทดลอง

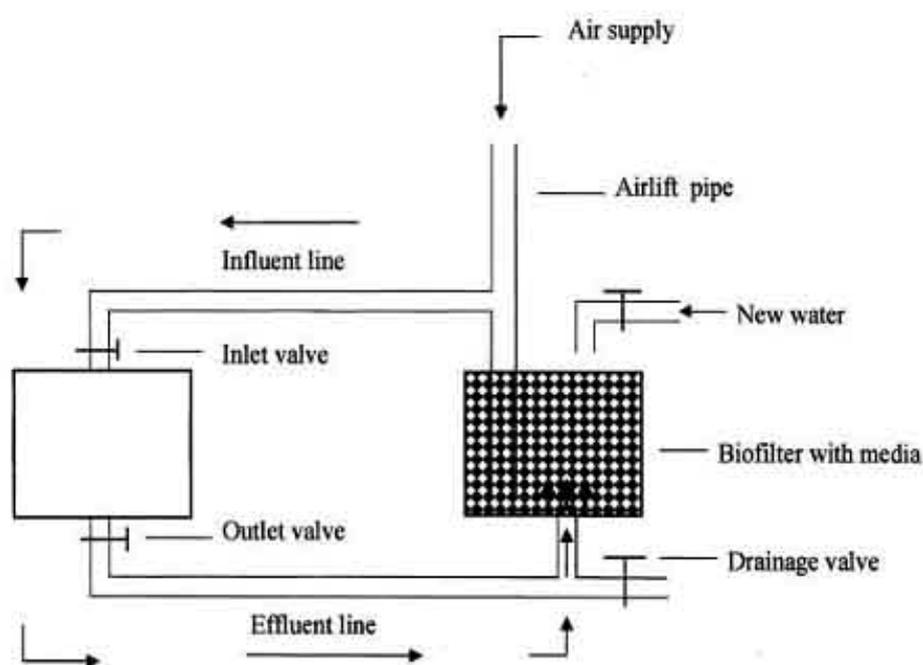
นำกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) อายุ 120 วัน น้ำหนักเฉลี่ย  $15.67 \pm 0.42$  กรัมต่อตัว จำนวน 240 ตัว จากฟาร์มเลี้ยงของเอกชนในพื้นที่จังหวัดสงขลา ที่ได้จากพ่อแม่พันธุ์เดียวกัน โดยคัดเลือกเฉพาะกุ้งที่มีความแข็งแรง ไม่มีอาการของโรค รวมทั้งปราศจากเชื้อแบคทีเรีย และไวรัส มาเลี้ยงในโรงเรือนทดลองของสถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา เป็นระยะเวลา 240 วัน ในบ่อซีเมนต์ขนาด  $8.4 \times 1.8 \times 1$  ลูกบาศก์เมตร จำนวน 3 บ่อ กุ้งถูกสุ่มลงบ่อทดลองอย่างอิสระ ปล่อยกุ้งที่ความหนาแน่นเท่ากับ 6 ตัวต่อตารางเมตร จำนวนทั้งสิ้น 72 ตัว ที่สัดส่วนระหว่างเพศผู้กับเพศเมียเท่ากับ 1 ต่อ 1

### 2. ระบบการเลี้ยง

ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ (semi-closed water system ; ภาพที่ 2) เป็นระบบการเลี้ยงเพื่อผลิตพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ ในบ่อคอนกรีตสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด  $8.4 \times 1.8 \times 1$  ลูกบาศก์เมตร ความจุสูงสุด 15 ตัน จำนวน 3 บ่อ เชื่อมต่อกับบ่อบำบัดขนาด  $8.4 \times 1.8 \times 1$  ลูกบาศก์เมตร ความจุสูงสุด 15 ตัน จำนวน 1 บ่อ ที่บรรจุหน่วยบำบัดชีวภาพแบบแช่ (submerged bio-filter ; ภาพที่ 3) ใช้วัสดุแห่ง Polyethylene block สีดำ จำนวน 80 แห่ง (ขนาด  $55 \times 55 \times 60$  ตารางเซนติเมตร) แต่ละแห่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร ยาว 60 เซนติเมตร เป็นวัสดุที่ช่วยเพิ่มพื้นที่ในการยึดเกาะของจุลินทรีย์ที่ช่วยในการกำจัดของเสีย ซึ่งจะทำการหมุนเวียนน้ำตลอดเวลาของการเลี้ยงระหว่างบ่อเลี้ยงกับ

บ่อบำบัดโดยใช้เครื่องสูบน้ำแบบจุ่ม (อัตราการไหลของน้ำ 24 ลิตรต่อนาที) ในการควบคุมการไหลของน้ำ

ในบ่อเลี้ยงแต่ละบ่อแบ่งออกเป็น 3 บล็อกโดยใช้ตะแกรงพลาสติกเป็นตัวกั้น เพื่อง่ายต่อการจัดการเลี้ยง มีการจัดการเลี้ยงที่เหมือนกัน คือใช้น้ำจากการบำบัดหมุนเวียน เดิมออกซิเจนตลอดเวลา น้ำที่ใช้เลี้ยงผ่านการกรอง (20 ไมครอน) ส่วนเศษอาหารเหลือและสิ่งขับถ่าย ถูกดูดทิ้งวันละครั้ง นอกจากนี้ใช้ฟ้ายางพลาสติกสีดำคลุมทับบ่อเพื่อป้องกันไม่ให้กุ้งตื่นตกใจ



ภาพที่ 2 แผนผังระบบการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ (semi-closed system) ประกอบด้วยหน่วยบำบัด (bio-filter with media) กับบ่อเลี้ยง (shrimp tanks)

### 3. อาหารและการให้อาหาร

ใช้อาหารสดในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ประกอบด้วย เพรียงเลือด (*Glycera dibrandriata* : blood worm) หอยแมลงภู่ (*Perna viridis* : green mussel) และหมึกกล้วย (*Loligo oplescens* : squid) โดยให้อาหารในอัตรา 10 เปอร์เซ็นต์อาหารต่อน้ำหนักตัวต่อมื้อ วันละ 3 มื้อ คือ เช้า (9:00 น.) เที่ยงวัน (12:00 น.) และ เย็น (18:00 น.) (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 3 ชนิดวัสดุ (Polyethylene block) ใช้เป็นหน่วยบำบัดชีวภาพ (biological filter)

ตารางที่ 1 อาหารและการให้อาหารกึ่งทดลอง

ชนิดอาหาร (%อาหาร/น้ำหนักตัว)		
เวลา 09:00 น.	เวลา 15:00 น.	เวลา 21:30 น.
เพรียงเลือด (10%)	หมึกกล้วย (10%)	หอยแมลงภู่ (10%)

ดัดแปลงจาก : วิสุทธิ และฐานันดร (2545)

#### 4. การจัดการคุณภาพน้ำ

ตรวจสอบคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาเลี้ยงการเลี้ยง โดยทำการตรวจวัดค่าคุณภาพน้ำ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติ

ค่าคุณภาพน้ำ	วิธีวิเคราะห์
อุณหภูมิ	เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer)
ความเค็ม (ส่วนในพันส่วน)	เครื่องวัดความเค็ม (refractosalinometer)
ความเป็นกรด-ด่าง	เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
ความเป็นด่าง (mg/l)	ไตเตรท (APHA, AWWAPCF, 1980)
ออกซิเจนละลาย (mg/l)	เครื่องวัดออกซิเจน YSI รุ่น 57
แอมโมเนียรวม (mg/l)	Modified indophenal (Sasaki and Sawada, 1980)
ไนไตรท์ (mg/l)	Diazotization (Bendschneider and Robinson, 1952)

## 5. การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างกึ่งในบ่อทดลอง ก่อนเริ่มทำการเก็บตัวอย่างปล่อยให้กึ่งปรับสภาพความพร้อมเป็นระยะเวลา 10 วัน แล้วจึงจะเริ่มทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง ทุก 30 วัน ที่อายุกึ่ง 138, 173, 201, 235, 264, 292, 322, 354 และ 381 วัน โดยดำเนินการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 9:00-11:00 น. จะสุ่มตัวอย่างเฉพาะกึ่งที่อยู่ในระยะลอกคราบ intermolt มีสภาพของเปลือกแข็งและสุขภาพแข็งแรง จำนวน 8 ตัวต่อครั้งจากบ่อเลี้ยง โดยแยกเป็นเพศผู้และเมียอย่างละ 4 ตัว

การเจาะและเก็บตัวอย่างน้ำเลือด โดยงดการให้อาหารเป็นระยะเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง ทุกครั้งก่อนทำการสุ่มตัวอย่าง เพื่อป้องกันความผิดพลาดจากอาหารที่กึ่งกินเข้าไป (Hall and van Ham, 1998) นำกึ่งมาเก็บตัวอย่างเลือดโดยสอดเข็มฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร หัวเข็มขนาด 25G ความยาว ½ นิ้ว ที่มีสารละลายชะลอการแข็งตัวของเลือด (5% sodium oxalate ใน saline solution: 450 mM NaCl, 10 mM KCl, 10 mM HEPES, pH 7.3) (Rocotta and Hernandez-Herrera, 2000) ตรงตำแหน่งแฉ่งเลือดที่ร่างกายเดินคู่ที่ 3 คูดเลือดประมาณ 500 ไมโครลิตรต่อตัว เลือดกึ่งแต่ละตัวถูกแบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอด ดังนี้

หลอดที่ 1 เติมสารละลายป้องกันการแข็งตัวของเลือด (45 mM KCl, 10 mM HEPES, 10 mM EDTA- $\text{Na}_2$ , pH 7.3, 850 mOsm  $\text{Kg}^{-1}$ ) กับน้ำเลือดที่อัตราส่วน 1:2 (น้ำเลือด : สารละลายป้องกันการแข็งตัวของเลือด) นำไปปั่นเหวี่ยงทันทีที่ความเร็วรอบ 800xg เป็นเวลา 3 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส และแยกเอาของเหลวด้านบนใช้สำหรับศึกษาสารเมตาบอไลต์ (กลูโคส แลคเตท คลอเรสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์) และโปรตีนรวม ส่วนเซลล์เม็ดเลือดที่อยู่ด้านล่างถูกทำให้เป็นสารแขวนลอยอีกครั้งด้วยสารละลาย Cacodylate buffer (10 mM cacodylate, 10 mM  $\text{CaCl}_2$ , pH 7.0) แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 600xg เป็นเวลา 3 นาที เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนออกซิเดส (Hernandez-Lopez *et al.*, 1996)

หลอดที่ 2 เติมฟอร์มอลิน 10 เปอร์เซ็นต์กับน้ำเลือดที่อัตราส่วน 1:1 ใช้สำหรับศึกษาจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวม

ภายหลังจากเก็บตัวอย่างน้ำเลือดแล้ว กึ่งจะถูกนำไปชั่งน้ำหนัก เพื่อหาค่าอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน

## 6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารเมแทบอลิค

วิเคราะห์ปริมาณกลูโคส คอเลสเทอรอล และไตรกลีเซอไรด์ จากพลาสมาที่เจือจางด้วยสารละลายป้องกันการแข็งตัวของเลือด ด้วยเครื่องวัดสารเมแทบอลิคอัตโนมัติ (ยี่ห้อ DABE BEHRING) ตามวิธี Enzymatic and Colormetric ที่ประยุกต์มาจาก Bergmeyer and Burnt (1974) ส่วนแยกเขต วิเคราะห์ด้วยวิธีที่แนะนำโดย Lin *et al.* (1999) โดยเติมพลาสมาที่เจือจางด้วยสารละลายป้องกันการแข็งตัวของเลือดจำนวน 5 ไมโครลิตร ลงในภาดหลุมทดลองชนิด 96 หลุม ต่อจากนั้นเติม 200 ไมโครลิตรของสารละลายผสม Lactate oxidase:Horseradis Peroxidase: ABTS อัตราส่วน 1:1:5 (v/v/v) หลังจากนั้นนำไปบ่ม 10-30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จึงนำไปอ่านค่า Optical density (OD) ที่ 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader (ยี่ห้อ Bio-Tex-ELx 800) ค่าที่ได้ นำมาคำนวณค่า โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (Lactate standard)

## 7. ศึกษาการตอบสนองภูมิคุ้มกัน

ปริมาณโปรตีนรวมในน้ำเลือด (total protein) วิเคราะห์ด้วยเครื่องยี่ห้อ DABE BEHRING โดยวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีของ Bradford (1976)

จำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวม (Total Hemocyte Count: THC) นำเลือดกึ่งที่เจือจางด้วยสารละลายสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด จำนวน 20 ไมโครลิตร มาตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และคำนวณปริมาณเม็ดเลือดที่นับได้เป็นปริมาณเซลล์ต่อมิลลิเมตร ตามวิธีของ Soderhall and Smith (1983) ดังนี้

$$\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่นับได้} \times \text{สัดส่วนการเจือจาง}}{\text{ปริมาตรเลือดทั้งหมดที่นับ}}$$

กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอกซิเดส (phenoloxidase activity : PO) วิเคราะห์ด้วยวิธี Hemocyte centrifugation ซึ่งแนะนำโดย Hernandez-Lopez *et al.* (1996) โดยนำตัวอย่างน้ำเลือดที่เจือจางด้วยสารป้องกันการแข็งตัว ปริมาตร 200 ไมโครลิตร มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 800xg เป็นเวลา 3 นาที นำส่วนที่เป็นของเหลวทิ้งไป ส่วนของเซลล์เม็ดเลือดที่ได้นำมาล้างด้วยสารละลายคาโคดิลเลทบัฟเฟอร์ (cacodylate buffer, pH 7.0: 10 mM sodium cacodylate, 10 mM CaCl<sub>2</sub>) 200

ไมโครลิตร จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 15,900 x g เป็นเวลา 20 วินาที แยกส่วนของเหลวด้านบนซึ่งเป็นแหล่งของโปรตีนออกออกซิเดส มาวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสต่อไป

วิธีวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส โดยนำตัวอย่างโปรตีนออกออกซิเดสที่สกัดได้ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในภาชนะหลอดทดลองแล้วเติม 50 ไมโครลิตรของสารละลายทริปซิน (100 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ในสารละลายคาโคดีเลทบัฟเฟอร์) นำมาบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลาย L-DOPA (3 มิลลิกรัมต่อลิตร) 50 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ทุก ๆ 2 นาที ด้วยเครื่อง Microplate Reader (ยี่ห้อ Bio-TEK-ELx 800) ค่า Optical density (OD) ที่วัดได้นำมาคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) แสดงเป็นค่าหน่วยต่อนาที โดยกำหนดให้ 1 หน่วย คือความสามารถของกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสที่สามารถเปลี่ยน L-DOPA เป็นโดปามีน (Dopamine) มีลักษณะเป็นสารละลายสีแดง ด้วยการดูดกลืนแสง 0.001 ต่อ นาทีต่อโปรตีนรวม

$$1 \text{ หน่วยของกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส} = \Delta OD_{492} / \text{นาที} / \text{โปรตีนรวม}$$

## 8. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลมาสารเมแทบอลิซึม การตอบสนองภูมิคุ้มกัน และอัตราการเจริญเติบโต แสดงเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.D. (standard deviation) โดยแยกเพศตามระยะเวลาทดลองเลี้ยงกุ้ง นำมาเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างสองเพศ โดยใช้การทดสอบ T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

## 9. สถานที่ทำการทดลอง

สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง ตำบลพะวง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา

## ผลและวิจารณ์

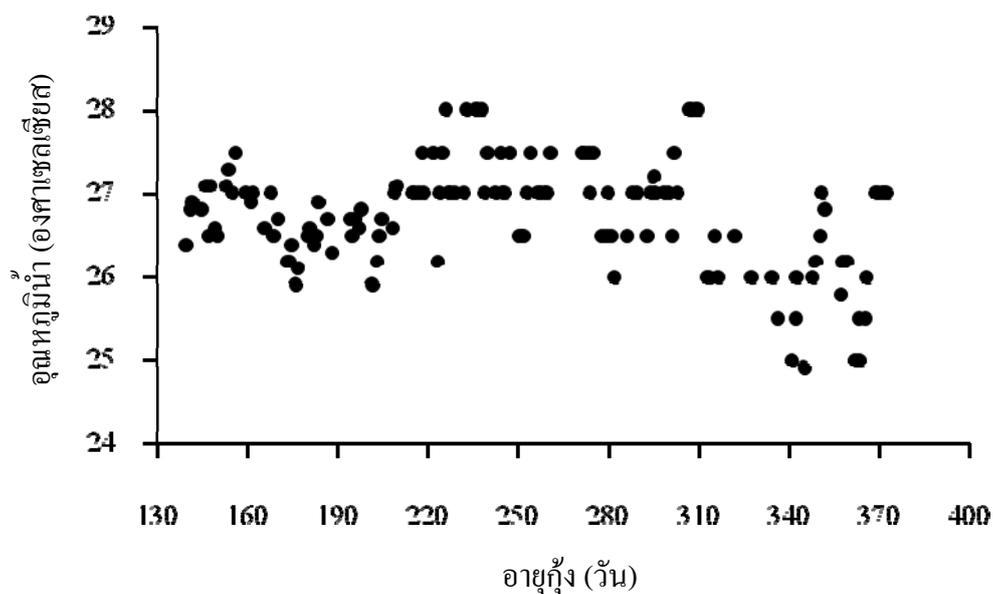
### ผล

จากการทดลองนำกุ้งกุลาดำ ซึ่งได้มาจากกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินอายุ 120 วัน น้ำหนักเฉลี่ย  $15.67 \pm 0.42$  กรัมต่อตัว ลงเลี้ยงในบ่อดีเมนต์ ขนาดขนาด  $8.4 \times 1.8 \times 1$  ลูกบาศก์เมตร จำนวน 3 บ่อ ที่ความหนาแน่น 6 ตัวต่อตารางเมตร ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ให้อาหารสดชนิดเพรียงเลือด (*Glycera dibrandriata* : blood worm) หอยแมลงภู (*Perna viridis* : green mussel) และหมึกกล้วย (*Loligo oplescens* : squid) ตลอดระยะเวลา 8 เดือน ตั้งแต่เดือนมิถุนายน ถึงมกราคมของการเลี้ยง โดยทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ ระดับสารเมแทบอลิค การตอบสนองภูมิคุ้มกัน อัตราการเจริญเติบโต และการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำตลอดการทดลอง ซึ่งผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

### 1. การเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำ

#### 1.1 อุณหภูมิ

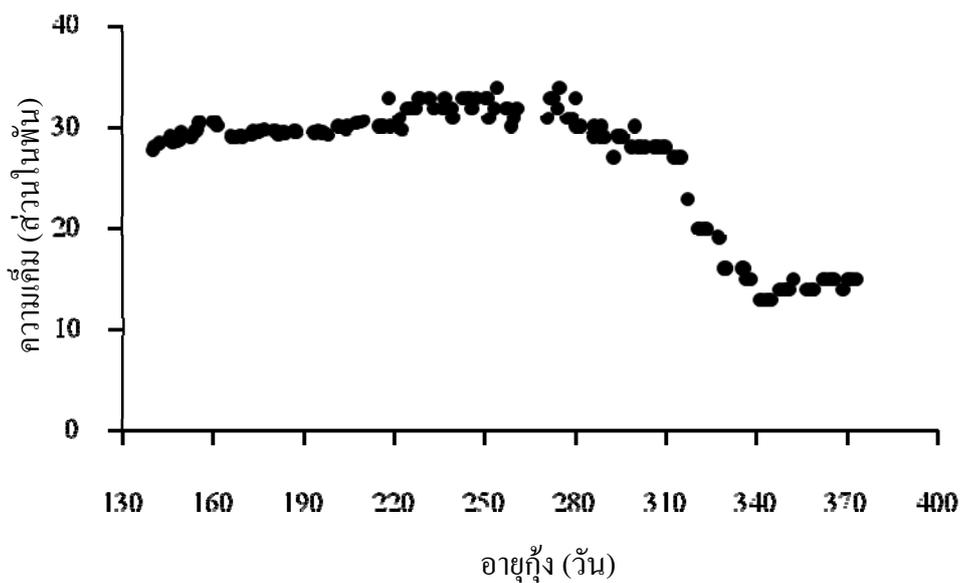
จากการตรวจวัดอุณหภูมิในบ่อดินตลอดระยะเวลาของการเลี้ยง พบว่าอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบ ที่ค่าต่ำสุด 25 องศาเซลเซียส และสูงสุด 28.5 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $27 \pm 0.655$  องศาเซลเซียส ที่อายุกุ้ง 361 วัน และ 293 วัน ตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง

## 1.2 ความเค็ม

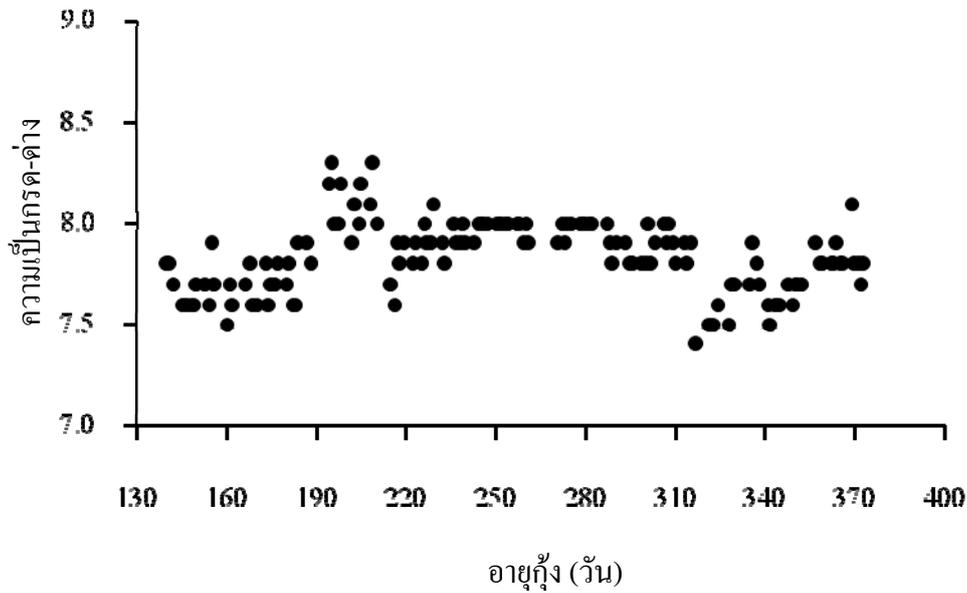
ความเค็มของน้ำในการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำในครั้งนี้ พบว่าอยู่ในช่วง 7-27 ส่วนในพัน เป็นช่วงที่ค่อนข้างมีความผันแปรสูง โดยมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงระยะเวลาของการเลี้ยง กล่าวคือ ในช่วงระหว่าง 138-314 วันของอายุกึ่ง ความเค็มน้ำให้ค่าที่ค่อนข้างเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (27-34 ส่วนในพัน) เมื่อเปรียบเทียบกับช่วง 315-381 วันของอายุกึ่ง (13-27 ส่วนในพัน) ตลอดการทดลองเลี้ยงความเค็มน้ำมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $26 \pm 6.58$  ส่วนในพัน (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงความเค็มของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาคำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง

### 1.3 ความเป็นกรด-ด่าง

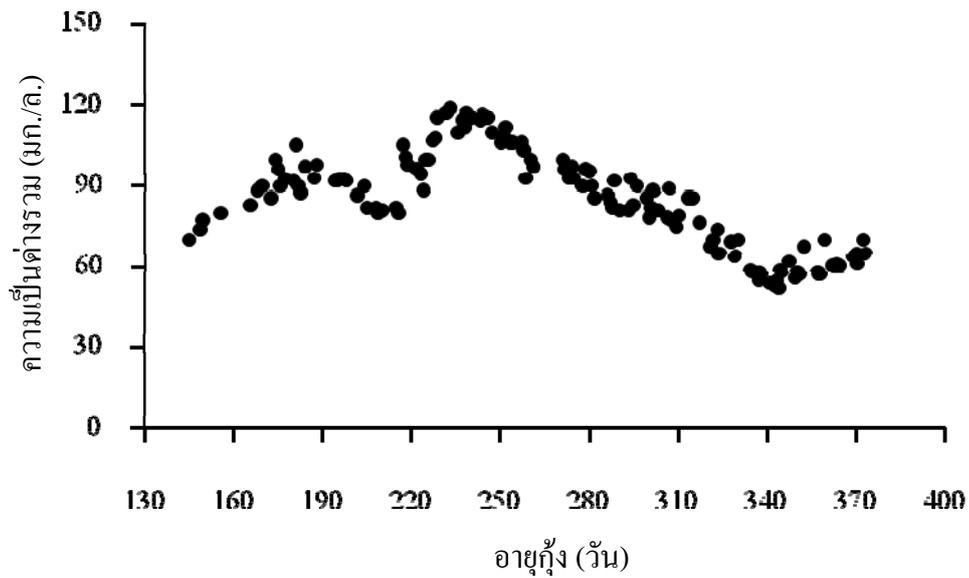
ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง พบว่า น้ำในบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาคำมีการเปลี่ยนแปลงขึ้นและลงในช่วง 7.4-8.3 ซึ่งเป็นช่วงที่แคบโดยให้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $7.8 \pm 0.175$  ในช่วงอายุกึ่งระหว่าง 194-208 วันของการเลี้ยง ในขณะที่ช่วงอายุกึ่งของการเลี้ยงที่ 218-314 วัน ให้ค่าที่ค่อนข้างมีการเปลี่ยนแปลงน้อย ส่วนในช่วงอายุกึ่ง 316-341 วันของการเลี้ยงให้ค่าที่มีแนวโน้มต่ำสุด (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง

#### 1.4 ความเป็นค่ารวม

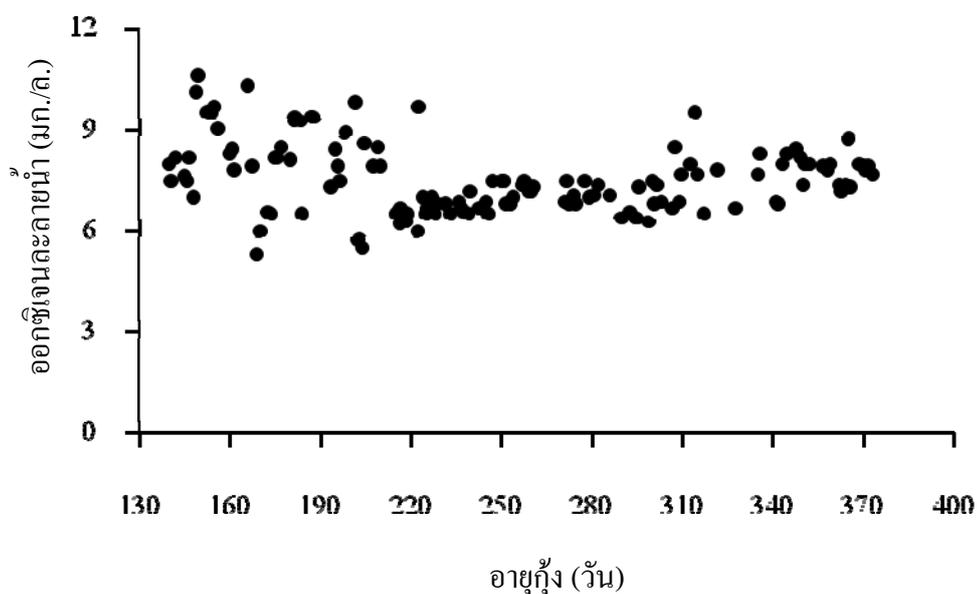
ค่าความเป็นค่ารวมของน้ำในบ่อทดลองตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลองเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 52-119 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $85.6 \pm 17.716$  มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเป็นในลักษณะลดลงและเพิ่มสูงในบางช่วงเวลากว่าคือในช่วงอายุกุ้ง 138-233 วันของระยะเวลาเลี้ยงมีความผันแปรที่ค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้น (90-119 มิลลิกรัมต่อลิตร) แต่ในระยะเวลาตั้งแต่อายุกุ้ง 233 วัน จนถึงสิ้นสุดของการทดลองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง (119-61 มิลลิกรัมต่อลิตร) (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงความเป็นต่างรวมของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง

#### 1.5 ปริมาณออกซิเจนละลายออกซิเจนในน้ำ

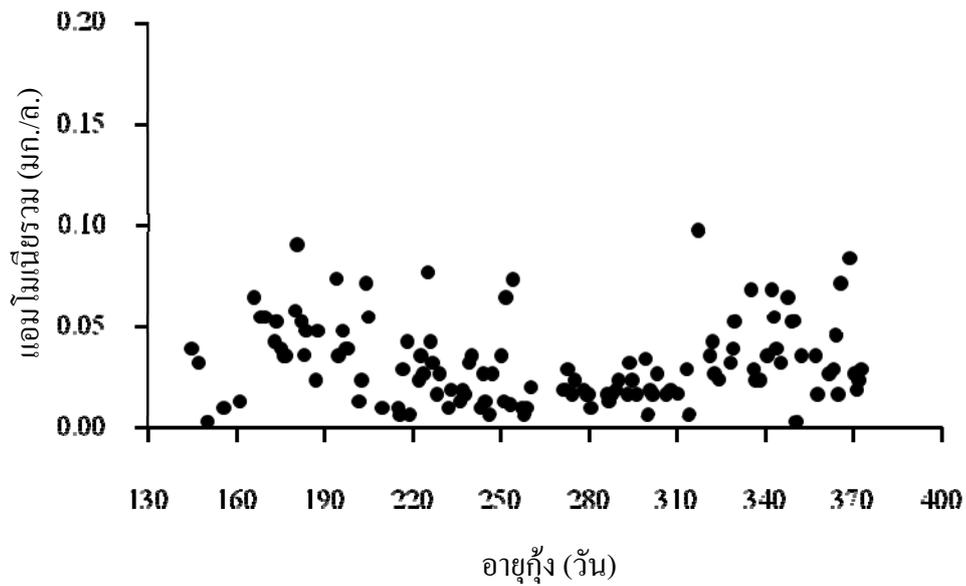
ค่าเฉลี่ยปริมาณออกซิเจนละลายออกซิเจนในน้ำของระบบการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของการทดลองครั้งนี้มีค่าเท่ากับ  $7.5 \pm 1.021$  มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้ค่าสูงสุดเท่ากับ 10.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อายุกึ่ง 149 วัน ส่วนค่าต่ำสุดเท่ากับ 5.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อายุกึ่ง 168 วัน จากภาพที่ 8 สังเกตได้ว่าความผันแปรสูงเกิดขึ้นในช่วงแรกของการทดลอง ส่วนในช่วงระยะเวลาเลี้ยงตั้งแต่ 213 วันของการทดลองถึงสิ้นสุดของการทดลองความผันแปรที่น้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงต้นของการทดลอง



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง

#### 1.6 ปริมาณแอมโมเนียรวม

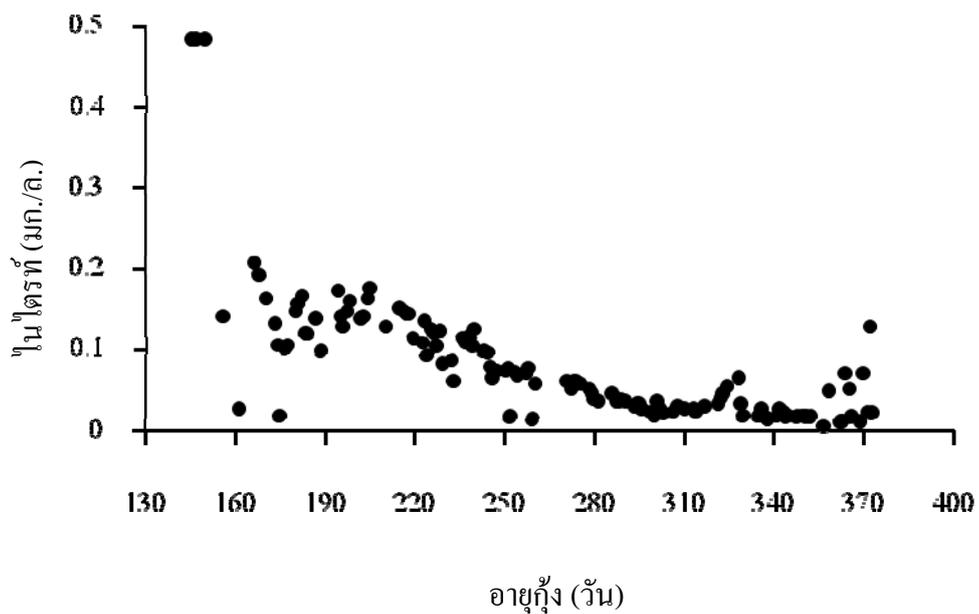
สารประกอบไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียรวม ตลอดการทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.031 \pm 0.019$  มิลลิกรัมต่อลิตร โดยช่วงเริ่มต้น (อายุกุ้ง 138-198 วัน) และช่วงปลาย (อายุกุ้ง 318-348 วัน) ของการทดลองเลี้ยง มีแนวโน้มปริมาณแอมโมเนียมีค่าสูงกว่าช่วงกว้าง (อายุกุ้ง 199-317 วัน) ของการทดลอง ให้ค่าสูงสุด 0.091 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าต่ำสุด 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนียรวมของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง

#### 1.7 ปริมาณไนไตรท์

ในช่วง 0-60 วัน ของการทดลอง มีการสะสมของไนไตรท์ในน้ำในปริมาณสูงกว่าช่วงอื่น ซึ่งอยู่ระหว่าง 0.019-0.483 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ช่วงอายุกุ้ง 198-298 วันของการทดลอง ปริมาณไนไตรท์มีแนวโน้มที่ค่อย ๆ ลดต่ำลง ส่วนในช่วงเวลาถัดมาจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ปริมาณของ ไนไตรท์ในน้ำมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก คืออยู่ในช่วง 0.006-0.071 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 10)

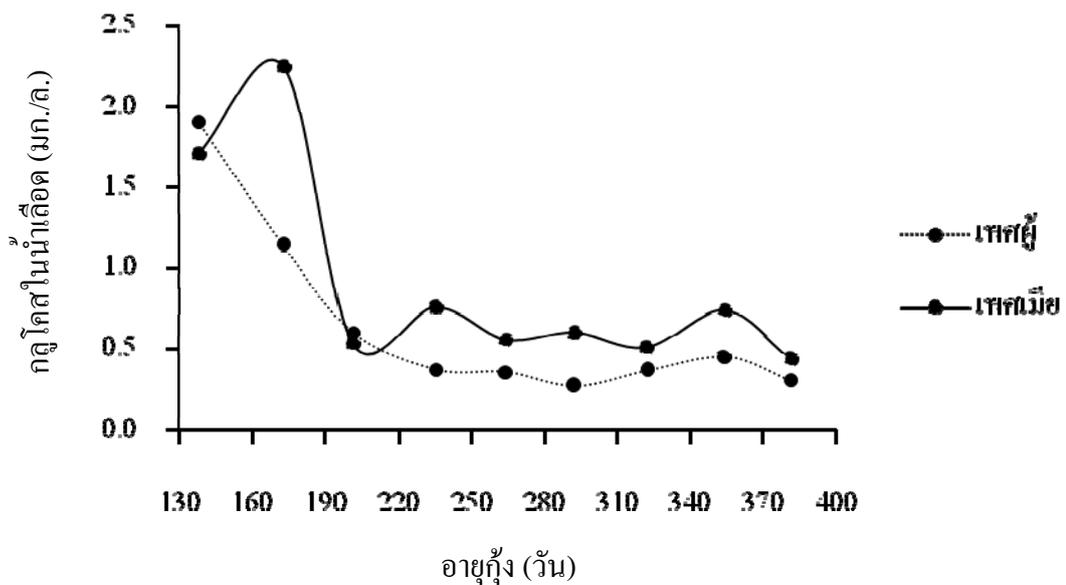


**ภาพที่ 10** การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ตลอดระยะเวลา 8 เดือนของการทดลอง

## 2. การเปลี่ยนแปลงสารเมแทบอลิคในน้ำเลือด

### 2.1 ระดับกลูโคส

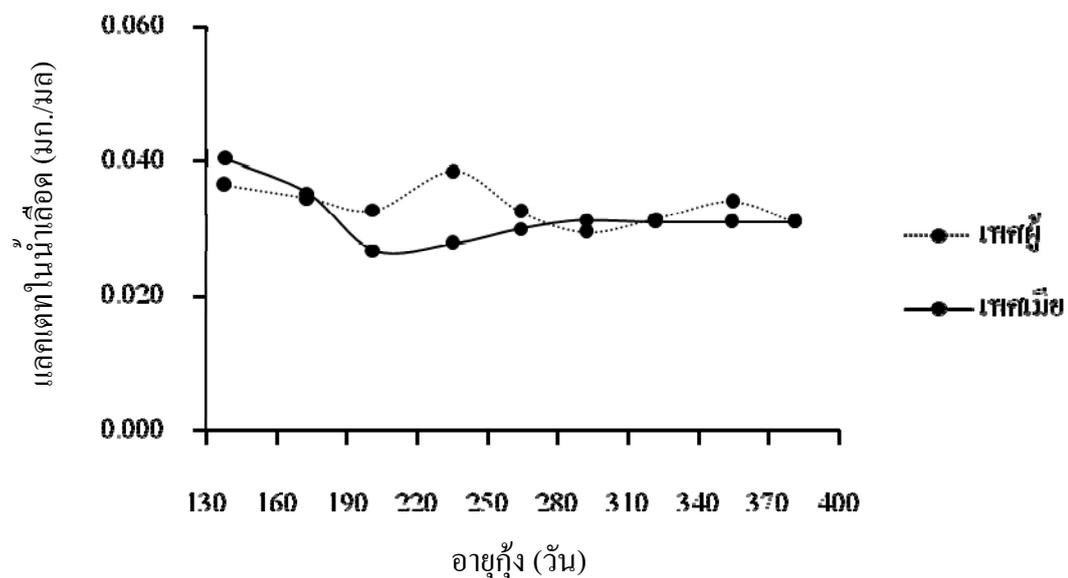
ระดับกลูโคสในน้ำเลือดแตกต่างกันตามช่วงอายุกึ่ง กล่าวคือ ในเพศผู้และเพศเมียให้ค่าสูงในช่วงอายุ 138 และ 173 วัน หลังจากนั้นในช่วงระหว่าง 201 ถึง 381 วัน ระดับกลูโคสมีแนวโน้มเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศผู้กับเมีย พบว่าตลอดการเลี้ยงส่วนใหญ่ระดับกลูโคสในเพศเมียมีค่าสูงกว่าเพศผู้ ยกเว้นในระยะเริ่มต้นของการทดลองที่ระดับกลูโคสในเพศผู้สูงกว่าเพศเมีย โดยค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.636 \pm 0.546$  และ  $0.897 \pm 0.636$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) (ภาพที่ 11 และตารางภาพผนวกที่ 18)



ภาพที่ 11 ระดับกลูโคสในน้ำเลือดของกึ่งเพศผู้และเพศเมียที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ระบบกึ่งปิด หมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

## 2.2 ระดับแลคเตท

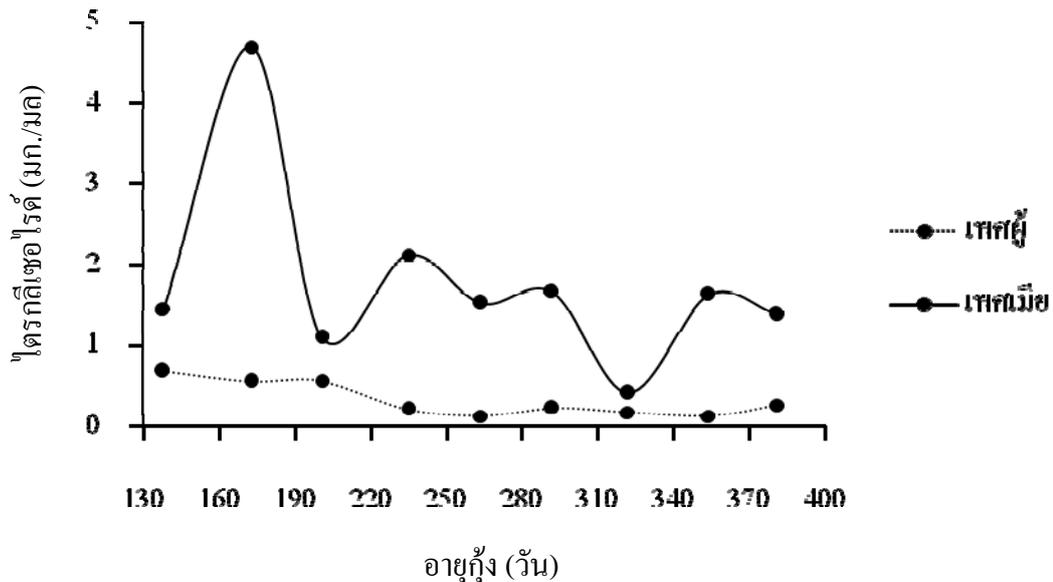
ตลอดการทดลองระดับแลคเตทในน้ำเลือด มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากทั้งสองเพศ ในแต่ละช่วงอายุมีค่า 0.037, 0.034, 0.032, 0.039, 0.033, 0.030, 0.031, 0.034 และ 0.031 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของกึ่งเพศผู้ และ 0.04, 0.035, 0.027, 0.028, 0.030, 0.031, 0.031, 0.031, 0.031 และ 0.031 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของกึ่งเพศเมีย ตามอายุกึ่ง 138, 173, 201, 235, 264, 292, 322, 354 และ 381 วัน ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.033 และ 0.032 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเพศผู้และเมีย ตามลำดับ นอกจากนี้ไม่พบความแตกต่างระหว่างเพศทั้ง 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ของแต่ละช่วงอายุ (ภาพที่ 12 และตารางภาคผนวกที่ 19)



ภาพที่ 12 ระดับแลคเตทในน้ำเลือดในน้ำเลือดของกึ่งเพศผู้และเมียที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

### 2.3 ระดับไตรกลีเซอไรด์

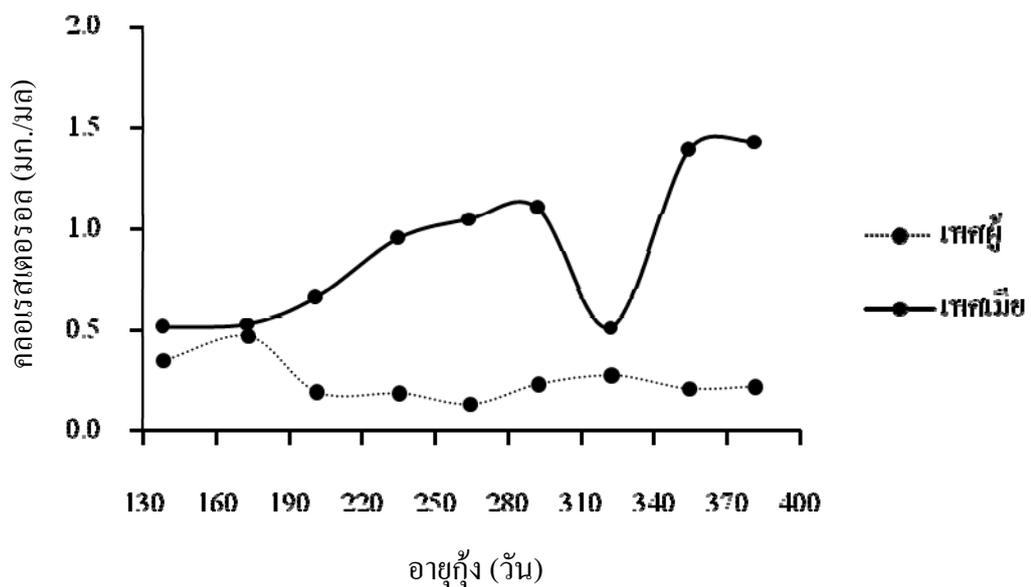
ตลอดระยะเวลาของการเลี้ยง ระดับไตรกลีเซอไรด์ในน้ำเลือดของกุ้งทั้งสองเพศมีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกัน ในกุ้งเพศผู้มีการเปลี่ยนแปลงน้อยเมื่อเทียบกับกุ้งเพศเมีย กล่าวคือกุ้งเพศผู้ให้ค่าอยู่ในช่วง 0.12-69 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสูงสุดเท่ากับ 0.69 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่อายุ 138 วัน และให้ค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมที่อายุ 354 วัน ขณะที่กุ้งเพศเมียให้ค่าสูงสุดเท่ากับ 4.70 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ 173 วัน และต่ำสุดเท่ากับ 0.41 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ 322 วัน โดยกุ้งเพศเมียมีแนวโน้มระดับไตรกลีเซอไรด์มีค่าสูงกว่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ทุกช่วงอายุ นอกจากนี้ยังสังเกตได้ว่าในช่วงกุ้งอายุ 322 วัน ระดับไตรกลีเซอไรด์ของกุ้งทั้งสองเพศลดลงอย่างชัดเจน หลังจากนั้นระดับไตรกลีเซอไรด์ปรับระดับค่อย ๆ เพิ่มขึ้นและคงที่ (ภาพที่ 13 และตารางภาคผนวกที่ 20)



ภาพที่ 13 ระดับไตรกลีเซอไรด์ในน้ำเลือดของกุ้งเพศผู้และเมียที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

## 2.4 ระดับคลอเรสเตอรอล

ระดับคลอเรสเตอรอลในน้ำเลือดมีความแตกต่างระหว่างเพศ พบว่ากึ่งเพศเมียมีระดับคลอเรสเตอรอลสูงกว่ากึ่งเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (ภาพที่ 14 และตารางภาคผนวกที่ 21) ของแต่ละช่วงอายุ ยกเว้นช่วงกึ่งอายุ 138 และ 173 วัน ที่ไม่แสดงความแตกต่าง นอกจากนี้สังเกตได้ว่าในกึ่งเพศเมียมีแนวโน้มว่าระดับคลอเรสเตอรอลค่อย ๆ สูงขึ้นตามช่วงอายุกึ่ง โดยให้ค่าสูงสุดเท่ากับ 1.43 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่อายุกึ่ง 381 วัน แต่ในช่วงอายุกึ่ง 322 วัน ระดับคลอเรสเตอรอลของทั้งสองเพศลดระดับลงอย่างชัดเจน

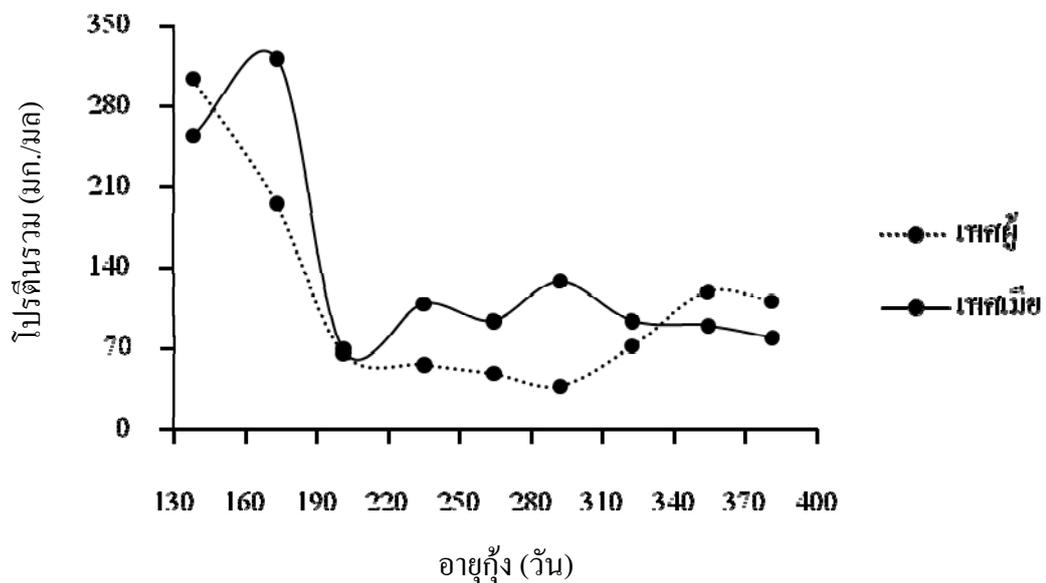


ภาพที่ 14 ปริมาณคลอเรสเตอรอลในน้ำเลือดของกึ่งเพศผู้และเมียที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

### 3. การตอบสนองภูมิคุ้มกัน

#### 3.1 ปริมาณโปรตีนรวม

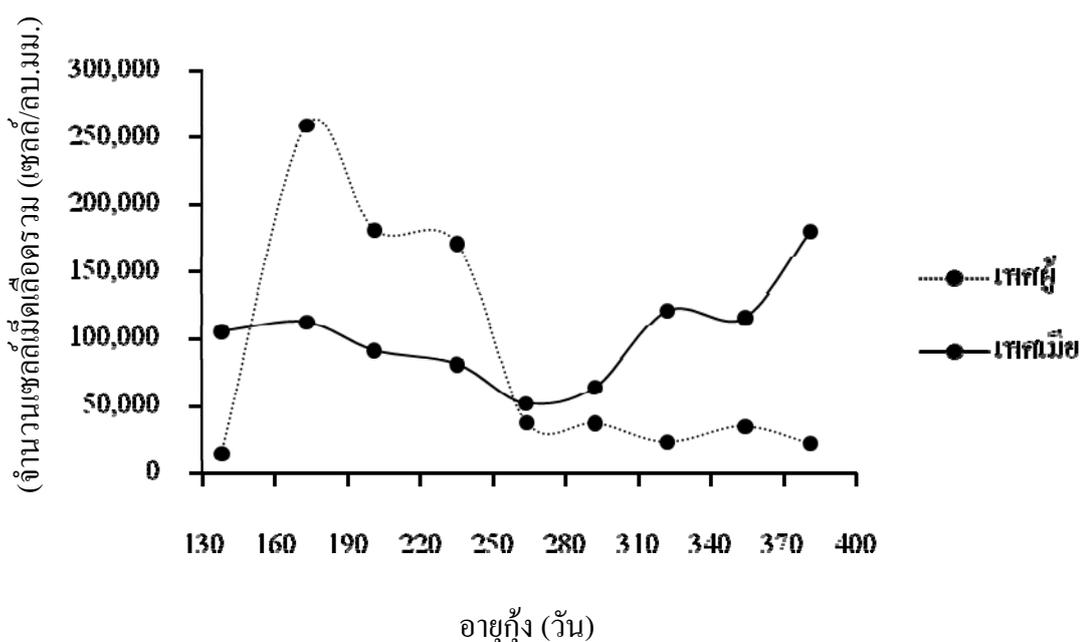
การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนรวมมีแนวโน้มว่ามีปริมาณสูงในช่วงเริ่มต้นของการทดลอง คือในช่วงที่กุ้งมีอายุ 173-138 วัน ของกุ้งทั้งสองเพศ หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนรวมค่อย ๆ ลดลงและค่อนข้างคงที่ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่างเพศทั้งสองตลอดการทดลอง ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) (ภาพที่ 15 และตารางภาคผนวกที่ 22)



ภาพที่ 15 ปริมาณโปรตีนรวมในน้ำเลือดของกุ้งเพศผู้และเมียที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

### 3.2 จำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวม

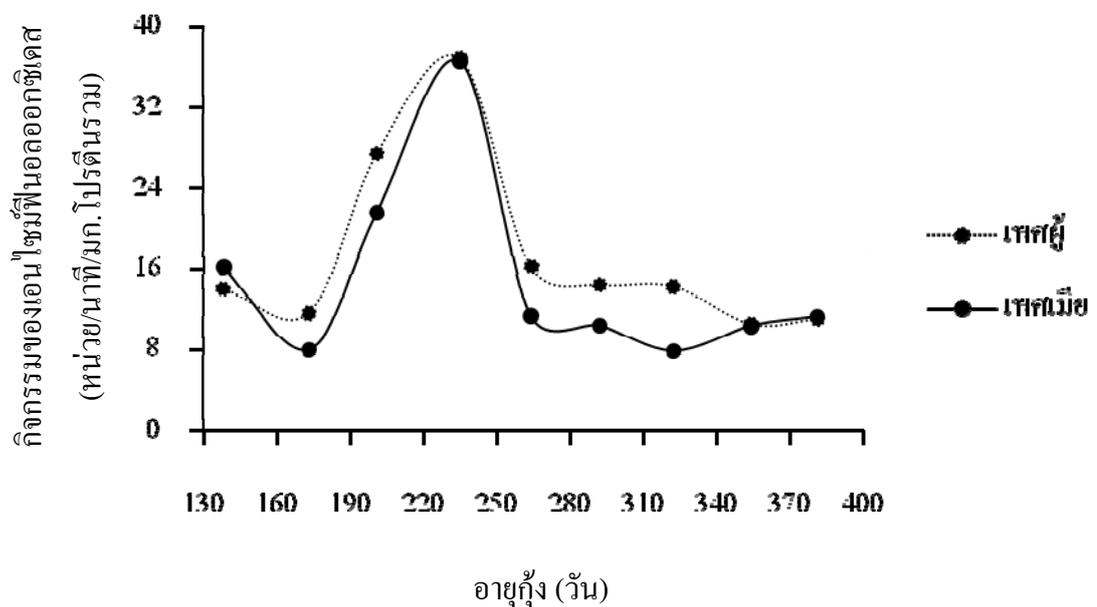
ตลอด 240 วันของการทดลอง ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวมมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมากโดยเฉพาะในช่วงแรกของการทดลอง (กึ่งอายุ 173 วัน) ให้ค่าที่สูงที่สุดทั้งกึ่งเพศผู้และเมีย คือ 259,087 และ 112,312 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ ในอายุกึ่ง 201-381 วันของกึ่งเพศผู้มีแนวโน้มค่อย ๆ ลดต่ำลงและเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ส่วนกึ่งเพศเมียเช่นเดียวกันที่ลดต่ำลง แต่ในช่วงปลายมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่เพิ่มสูงขึ้น โดยเฉลี่ยจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมของกึ่งเพศผู้และเพศเมียเท่ากับ  $844,450 \pm 92,821$  และ  $102,085 \pm 39,114$  เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่างเพศทั้งสอง แสดงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) (ภาพที่ 16 และตารางภาคผนวกที่ 23)



ภาพที่ 16 จำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมในน้ำเลือดของกึ่งเพศผู้และเมียที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

### 3.3 กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส

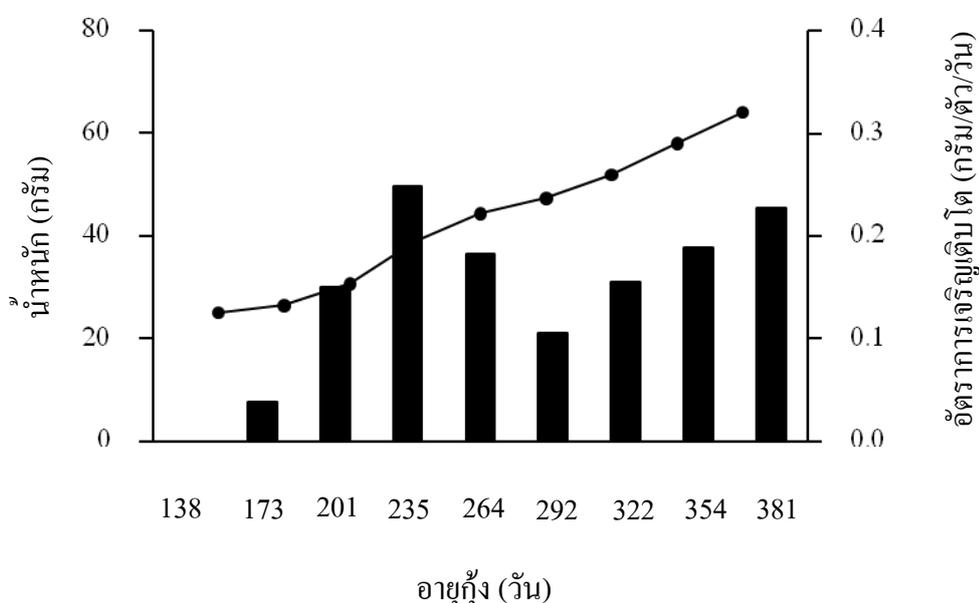
กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในเซลล์เม็ดเลือดของกิ้งกูดาคำไม่มีความแตกต่างระหว่างเพศ (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $17.392 \pm 8.921$ ,  $14.866 \pm 9.245$  หน่วยต่อนาทีต่อมิลลิกรัมโปรตีนของกิ้งเพศผู้และเมีย ตามลำดับ) ( $P > 0.05$ ) ทั้งสองเพศมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ค่อย ๆ สูงขึ้น ซึ่งให้ค่าสูงสุดเท่ากับ 36.93 และ 36.67 หน่วยต่อนาทีต่อมิลลิกรัมโปรตีนเมื่อกิ้งอายุ 235 วัน หลังจากนั้นลดระดับลงที่มีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างคงที่ (ภาพที่ 17 และตารางภาคผนวกที่ 24)



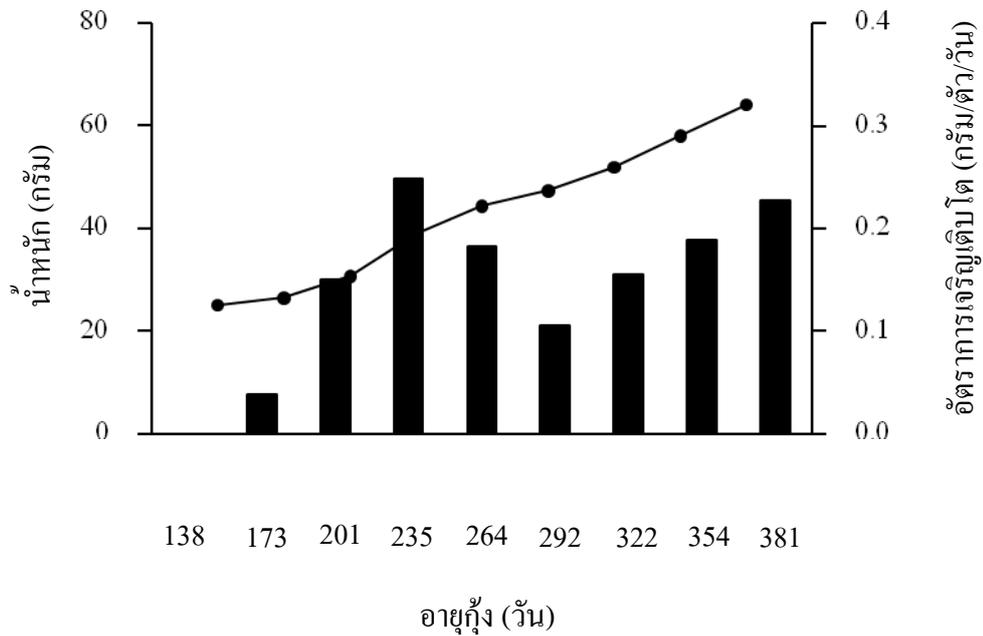
ภาพที่ 17 กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสในน้ำเลือดของกิ้งเพศผู้และเมียที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

#### 4. การเจริญเติบโต

การเจริญเติบโตของกึ่งกุลาค่าที่ทำการทดลองในครั้งนี้ พบว่าที่ระยะเริ่มต้นของการเลี้ยงกึ่งทั้งสองเพศมีน้ำหนักเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกันคือ  $25.09 \pm 0.886$  และ  $26.93 \pm 0.833$  กรัม ของกึ่งเพศผู้และเมีย ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาของการเลี้ยงผ่านไปจะสังเกตว่าน้ำหนักของกึ่งจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นตามการเปลี่ยนของเวลาที่เพิ่มขึ้น ณ ที่สิ้นสุดของการทดลองกึ่งเพศผู้มีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยกว่ากึ่งเพศเมีย ( $64.13 \pm 2.869$  และ  $73.82 \pm 6.102$  กรัม ตามลำดับ ; ตารางที่ 3) เช่นเดียวกับอัตราการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ยของกึ่งเพศผู้แสดงค่าต่ำกว่ากึ่งเพศเมีย (0.162 และ 0.195 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ; ตารางที่ 3) เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเจริญเติบโตตามช่วงเวลาต่าง ๆ พบว่าในช่วงอายุกึ่ง 138 (เริ่มต้นของการทดลอง) ถึง 173 วัน อัตราการเจริญเติบโตของกึ่งต่ำสุดพบทั้งสองเพศ มีค่าเท่ากับ 0.038 และ 0.010 กรัมต่อตัวต่อวัน ของกึ่งเพศผู้และเมีย ตามลำดับ ในช่วงอายุกึ่ง 201 ถึง 235 วัน กึ่งทั้งสองเพศแสดงค่าอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด คือ 0.248 และ 0.341 กรัมต่อตัวต่อวัน ของกึ่งเพศผู้และเมีย ตามลำดับ (ภาพที่ 18, 19 และตารางผนวกที่ 25) และมีแนวโน้มว่าในช่วงท้าย ๆ ของการทดลองอัตราการเจริญเติบโตของทั้งสองเพศมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับในช่วงแรก ๆ ของการทดลอง



**ภาพที่ 18** การเจริญเติบโตของกึ่งกุลาค่าเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน ( ● น้ำหนัก, ■ อัตราการเจริญเติบโต)



**ภาพที่ 19** การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน ( ● น้ำหนัก, ■ อัตราการเจริญเติบโต)

## 5. การรอดตาย

จากการนำกุ้งกุลาดำที่ได้มาจากการเลี้ยงในบ่อดินที่อายุประมาณ 120 วัน มาเลี้ยงต่อในบ่อคอนกรีตจำนวน 72 ตัว ที่ความหนาแน่น 6 ตัวต่อตารางเมตร เป็นเพศผู้และเมียที่สัดส่วนเท่ากัน พบว่ากุ้งส่วนใหญ่ตายในช่วงอายุ 138-173 วันของการเลี้ยง ที่ 12.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นพบการตายของกุ้งน้อยมาก เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่ากุ้งมีอัตราการรอดตาย 84.72 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3, 4) โดยมีกุ้งดำลาดำเหลือรอดจำนวนทั้งสิ้น 61 ตัว เป็นกุ้งเพศผู้ 32 ตัว เพศเมีย 29 ตัว และคิดเป็นกุ้งเพศผู้และเมีย 88.8 และ 80.5 เปอร์เซ็นต์ ของกุ้งที่เหลือรอด

ตารางที่ 3 น้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโต และการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์  
ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

ลักษณะทางเพศ	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)	อัตราการ เจริญเติบโตเฉลี่ย (กรัม/ตัว/วัน)	อัตราการรอด (%)
เพศผู้	25.09	64.13	0.16	88.80
เพศเมีย	26.93	73.82	0.19	80.50

ตารางที่ 4 ปริมาณการตายของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่ง  
ปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

อายุกุ้ง (วัน)	ปริมาณการตาย (ตัว)	
	เพศผู้	เพศเมีย
138	2	3
173	2	2
201	0	0
235	0	1
264	0	0
292	0	0
322	1	0
354	0	0
381	0	0
รวม	5	6

## วิจารณ์

จากการทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำให้ได้ขนาดของวัยเจริญพันธุ์ โดยนำกุ้งกุลาดำระยะเต็มวัยจากบ่อดินที่มีอายุประมาณ 120 วัน ขนาดเฉลี่ย 25 กรัม มาเลี้ยงต่อไปในบ่อซีเมนต์ขนาด ขนาด 8.4 x 1.8 x 1 ลูกบาศก์เมตร ภายใต้ระบบการเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียน ระบบการเลี้ยงนี้ประกอบด้วยบ่อเลี้ยงเชื่อมต่อกับบ่อบำบัดน้ำ ที่บรรจุหน่วยชีวภาพแบบแช่ (submerged bio-filter) ซึ่งเป็นระบบการเลี้ยงที่คล้ายกับของยูทช และคณะ (2550) และพุทช และคณะ (2550) ในการผลิตกุ้งกุลาดำให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการควบคุมสภาวะแวดล้อม และจัดการเลี้ยงในระยะยาว จนกุ้งมีความพร้อมและพัฒนาการเจริญพันธุ์ได้เอง โดยในครั้งนี้ได้ทำการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลา 8 เดือน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ และสรีรวิทยาของกุ้งกุลาดำ

### 1. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ

อุณหภูมิน้ำ (temperature) พบว่าในระบบการเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียนที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้สามารถควบคุมอุณหภูมิน้ำ อยู่ในช่วง 27-29 องศาเซลเซียส การเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเป็นไปตามระยะเวลาของการเลี้ยง (ฤดูกาล) ซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ เนื่องจากเป็นการทดลองกลางแจ้ง (outdoor) ไม่มีหลังคาปกคลุม ไม่สามารถป้องกันน้ำฝนในฤดูฝนได้ อาจมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในกลุ่มคริสเตียนอื่น ๆ เช่นในการศึกษาของ Mugnier and Soyez (2005) พบว่าในสภาพอุณหภูมิที่ 22 องศาเซลเซียส ทำให้ขบวนการเมแทบอลิซึมของกุ้งสีน้ำเงิน (*Litopenaeus stylirostris*) ลดลง และจากรายงานของ Martinez-Palacios *et al.* (1996) พบว่าที่ระดับอุณหภูมิของน้ำ 20 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นระดับที่ต่ำกว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การดำรงชีวิตของกุ้งขาว (*P. vanamei*) ในธรรมชาติ มีผลทำให้กุ้งมีอัตราการหายใจและน้ำหนักตัวลดลง โดยเฉพาะในสภาวะที่ค่าออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในการพัฒนาความสมบูรณ์เพศของกุ้งทะเลในเขต Tropical อยู่ในช่วง 26-32 องศาเซลเซียส (บรรจง, 2524) ดังนั้นอุณหภูมิน้ำตลอดระยะเวลาของการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในการทดลองนี้จึงไม่น่าจะส่งผลกระทบต่อการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ของกุ้ง

ความเค็ม (salinity) จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการปรับสมดุลของน้ำและเกลือแร่ (osmoregulation) ภายในร่างกาย (Lignot *et al.*, 2000) ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำครั้งนี้ความเค็มของน้ำอยู่ในช่วง 34-15 ส่วนในพัน มีความผันแปรสูงในช่วงอายุกุ้ง 322-381 วัน ความเค็มอยู่ในช่วง 13-34 ส่วนในพัน

ทั้งนี้ เป็นผลมาจากน้ำที่ใช้ในการเติมในระหว่างเลี้ยงมีความเค็มลดลง เนื่องจากในช่วงปลายของการทดลองเป็นช่วงที่ฝนตกชุก (ฤดูฝน) จึงส่งผลต่อระดับความเค็มของน้ำเป็นอย่างมาก แต่กุ้งกุ้งสามารถปรับตัวให้สามารถดำรงอยู่ได้ เนื่องจากกุ้งกุลาดำเป็นสัตว์ในกลุ่ม Euryhaline ที่มีความสามารถมีการปรับสมดุลของน้ำและเกลือแร่ภายในร่างกายตามความเค็มของน้ำทะเลได้ในช่วงกว้าง (Anggoro and Prayitno, 1999) สำหรับการพัฒนาระบบสืบพันธุ์กุ้งกุลาดำมักจะไม่มีพบตัวเต็มวัยหรือกุ้งที่สมบูรณ์เพศ ในบริเวณน้ำกร่อย หรือบริเวณชายฝั่ง Bray and Lawrence (1998) ได้เสนอแนะว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในที่ความเค็มสูง (38-52 ส่วนในพัน) ประสบความสำเร็จในการพัฒนาให้กุ้งเจริญพันธุ์และให้ลูกพันธุ์ จากลักษณะของความเค็มที่มีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่ค่อย ๆ ลดลงในช่วงปลายของการทดลองน่าจะส่งผลต่อการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของกุ้ง ซึ่งสิทธิโชค (2545) พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ที่ระดับความเค็มต่ำกว่า 20 ส่วนในพัน การพัฒนาของรังไข่ไม่ถึงระยะที่ 3 ส่วนกุ้งที่เลี้ยงในที่ความเค็ม 30 ส่วนในพัน กุ้งพัฒนารังไข่จนถึงระยะไข่แก่

ความเป็นด่างรวม (alkalinity) พบว่า มีการลดลงของค่าความเป็นด่างรวมอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาเลี้ยง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 85.60 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเฉพาะในช่วงปลายของการทดลอง ค่าความเป็นด่างรวมค่อยๆ ลดต่ำลง เนื่องจากความเค็มของน้ำที่ลดลง และระบบบำบัดน้ำที่มีหน่วยกรองชีวภาพที่ต้องใช้อนุมูลไบคาร์บอเนต และคาร์บอเนตของความเป็นด่างรวม เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน สำหรับกระบวนการไนตริฟิเคชัน (พุทธ และคณะ, 2543) แต่เมื่อนำมาพิจารณา ร่วมกับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างน้อยในช่วงระหว่าง 7.4-8.3 แสดงให้เห็นว่าบทบาทในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ของค่าความเป็นด่างรวมยังคงอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้ง

ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ (dissolved oxygen) Seidman and Lawrence (1986) พบว่าที่ระดับออกซิเจนในน้ำต่ำกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลให้กุ้งกุลาดำ และกุ้งแชบ๊วยมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง และรายงานของ Martinez-Palacios *et al.* (1996) พบว่าที่ระดับของออกซิเจนละลายน้ำต่ำกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลทำให้กุ้งขาว (*P. vannamei*) มีอัตราการหายใจเพื่อแลกเปลี่ยนออกซิเจนลดลง และทำให้น้ำหนักตัวลดลง ขณะที่ค่าเฉลี่ยออกซิเจนละลายของระบบการเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำในการทดลองครั้งนี้เท่ากับ  $7.5 \pm 1.021$  มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงเห็นว่าภายใต้ระบบการเลี้ยงเช่นนี้ สามารถควบคุมออกซิเจนให้เพียงพอต่อความต้องการออกซิเจนของกุ้งกุลาดำได้

สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compound) ในรูปของแอมโมเนียรวมมีค่าเฉลี่ย 0.031 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนในรูปของไนไตรท์ที่มีปริมาณ 0.083 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ซึ่งเป็นลักษณะของการเปลี่ยนแปลงเชิงปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนในระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ ซึ่งให้เห็นว่า ระบบหมุนเวียนที่นำมาใช้ในครั้งสามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้ง โดยเปลี่ยนสารประกอบไนโตรเจนรูปที่เป็นพิษมาก (แอมโมเนีย และไนไตรท์) ให้อยู่ในรูปของสารประกอบที่เป็นพิษน้อย (ไนเตรท) แต่ในช่วงต้นจะมีการสะสมของไนไตรท์สูงกว่าในช่วงอื่น เนื่องจากในช่วงนี้ระบบการบำบัดชีวภาพยังประสิทธิภาพน้อย สอดคล้องกับการศึกษาของพุทธ และคณะ (2550) ที่พบว่าในช่วงแรกของระบบบำบัดน้ำแบบชีวภาพมีประสิทธิภาพในการบำบัดค่า

## 2. การเปลี่ยนแปลงสารเมแทบอลิคในน้ำเลือด

กลูโคสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่สำคัญ คือเป็นสารเมแทบอลิคที่ให้พลังงาน เพื่อร่างกายนำไปใช้ในชีวิตรประจำวันและเป็นองค์ประกอบของเซลล์หรือนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ในการศึกษาครั้งนี้กุ้งเพศเมียระดับกลูโคสเฉลี่ยในน้ำเลือดสูงกว่ากุ้งเพศผู้ ( $0.636 \pm 0.546$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของกุ้งเพศเมีย และ  $0.336 \pm 0.636$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของกุ้งเพศผู้) ซึ่งค่าที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องและมีความใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการศึกษาของ Pascual *et al.* (2003) พบว่าระดับกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งขาว (*L. vannamei*) ที่เลี้ยงในสภาวะต่างกัน คือในบ่อดิน และโรงเรือนให้ค่าที่แตกต่างกัน กุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินมีค่าเท่ากับ 0.420 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนกุ้งที่เลี้ยงโรงเรือน มีค่า 0.310 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ยังมีการ และคณะ (2543ก) พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในบ่อดินมีค่าระดับกลูโคสแตกต่างจากกุ้งที่ห้องปฏิบัติการ และยังพบว่าเพศ ขนาดของกุ้งไม่มีผลต่อระดับกลูโคสในน้ำเลือด (กิจการ และคณะ, 2543ค) นอกจากนี้ Lorenzo *et al.* (2005) ได้รายงานว่าระดับน้ำตาลในเลือดของสัตว์กลุ่มครัสเตเชียถูกควบคุมโดยฮอร์โมน Crustacean hyperglycemic ซึ่งฮอร์โมนชนิดนี้ตอบสนองต่อภาวะเครียด ส่งผลทำให้เกิดการหลั่งของกลูโคสออกสู่กระแสเลือดมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้ระดับกลูโคสในน้ำเลือดเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเกิดภาวะเครียด และเมื่อพิจารณาจากข้อมูลที่ได้พบว่าในช่วงที่กุ้งอายุ 138-173 วัน ซึ่งเป็นช่วงแรกของการทดลองระดับกลูโคสในน้ำเลือดมีค่าสูงกว่าช่วงอื่น เนื่องจากเป็นช่วงที่กุ้งปรับสภาพให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sanchez *et al.* (2001) ที่ทำการประเมินสารเมแทบอลิคในน้ำเลือดของกุ้ง *L. setiferus* เพศผู้ ที่ได้รับผลกระทบจากการปรับสภาพให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ พบว่าระดับกลูโคสในน้ำเลือดเพิ่มขึ้น และเมื่อกุ้งทดลองอายุ 201-381 วัน ระดับกลูโคสในน้ำเลือด

ลดลงและคงสภาพเกือบคงที่ไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ลักษณะเช่นนี้สันนิษฐานได้ว่าในช่วงเริ่มต้นของการทดลอง กุ้งกุลาดำที่ทำการเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำเผชิญกับสภาวะเครียด คาดว่ามีสาเหตุมาจากการตอบสนองต่อสภาพสิ่งแวดล้อมใหม่ จึงทำให้ระดับกลูโคสในน้ำเลือดเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อกุ้งปรับสภาพได้ ระดับกลูโคสในน้ำเลือดจึงลดลงและคงสภาพคงที่

แลคเตทเป็นดัชนีที่ดีในการบ่งชี้ภาวะเครียดในกุ้ง เนื่องจากแลคเตทเป็นผลผลิตขั้นสุดท้ายของกระบวนการสลายคาร์โบไฮเดรตแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic) ซึ่งมักเกิดขึ้นในช่วงที่กุ้งเกิดความเครียดอย่างต่อเนื่องหรือรุนแรง (Racotta and Palacios, 1998) จากผลการทดลองสังเกตได้ว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณแลคเตทในน้ำเลือดน้อยมาก (0.039-0.030 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของกุ้งเพศผู้ และ 0.040-0.027 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของกุ้งเพศเมีย) และไม่พบความแตกต่างระหว่างเพศ จึงน่าจะเป็นไปได้ว่าระดับความรุนแรงและความต่อเนื่องของภาวะเครียดที่เกิดขึ้นในขณะที่ทำการทดลองอยู่ในระดับต่ำ การเปลี่ยนแปลงของแลคเตทในน้ำเลือด จึงไม่พบความแตกต่างของปริมาณแลคเตททั้งสองชุดทดลองเมื่อนำมาเปรียบเทียบ สอดคล้องกับการทดลองของ Pascual *et al.* (2003) ทำการเลี้ยงกุ้งขาวในโรงเรือนพบว่าระดับแลคเตทมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (0.014-0.015 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ไตรกลีเซอไรด์เป็นกรดไขมันที่มีบทบาทและหน้าที่เกี่ยวกับพลังงาน และการสืบพันธุ์ (Mourente and Rodriguez, 1997) จากผลการทดลองระดับไตรกลีเซอไรด์ในกุ้งเพศผู้มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และมีปริมาณน้อยกว่ากุ้งเพศเมียทุกช่วงอายุ Wouters *et al.* (2001) รายงานว่า กุ้งในกลุ่ม Penaeid ช่วงของการเจริญของไข่ม้วนพบกรดไขมันในรังไข่ ที่ประกอบด้วยไขมันชนิด n-3 HUFA (20:5n-3 และ 22:6n-3) สูง จึงเป็นไปได้ว่ากุ้งกุลาดำเพศเมียที่ทำการทดลองมีความต้องการระดับไตรกลีเซอไรด์ ในระดับที่สูงกว่ากุ้งเพศผู้ เพื่อเก็บสะสมไว้เพื่อการสร้างไข่ ส่วนในช่วงอายุกุ้ง 322 วัน สังเกตได้ว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ลดต่ำสุดทั้งสองเพศ มีความเป็นไปได้ว่าในช่วงนี้กุ้งมีการดึงสารอาหารไตรกลีเซอไรด์ใช้เป็นพลังงานในช่วงที่แหล่งพลังงานหลักไม่เพียงพอ ในการต้านทานความเครียดซึ่งเป็นช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงความเค็มของน้ำที่ลดลงอย่างฉับพลัน ภาวะเครียดที่เกิดขึ้นกุ้งมีความต้องการพลังงานที่สูงขึ้น จึงเกิดขบวนการวิถีทาง Ketogenesis ในการนำไตรกลีเซอไรด์จากกล้ามเนื้อมาใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนส่วนที่ใช้ในการต้านทานต่อภาวะเครียดที่เกิดขึ้น (Selye, 1973) สอดคล้องกับการศึกษาของ Josep and Philip (2007) พบว่าเมื่อทำการย้ายกุ้งกุลาดำจากที่ความเค็ม 30 ส่วนในพัน มายังความเค็ม 0 ส่วนในพัน ระดับไขมันรวมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

คลอเรสเตอรอลเป็นสารอาหารที่สัตว์กลุ่มครึ่งเตเชียนไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ จำเป็นต้องได้รับสารอาหารจากการกิน (Pascual *et al.*, 2003) จากข้อมูลได้แสดงให้เห็นความแตกต่างของระดับคลอเรสเตอรอลระหว่างเพศ โดยเพศผู้ให้ค่าต่ำกว่าเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ของทุกช่วงระยะเวลาเลี้ยง เป็นไปได้ว่ากึ่งกุลาค่าเพศเมียมีการสะสมคลอเรสเตอรอลเพื่อเตรียมความพร้อมในการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ เนื่องจากคลอเรสเตอรอลมีบทบาทที่สำคัญคือ เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สเตอรอยด์ฮอร์โมน ฮอร์โมนกลุ่มนี้ยังครอบคลุมถึง Gonad stimulating Hormone ซึ่งเป็นฮอร์โมนกระตุ้นให้การทำงานของอวัยวะสืบพันธุ์ในสัตว์กลุ่มครึ่งเตเชียน (Fingerman, 1997) ดังนั้นในช่วงระหว่างการเลี้ยงตั้งแต่เริ่มแรก กึ่งกุลาค่าเพศเมียมีการเก็บสะสมคลอเรสเตอรอลไว้เพื่อพัฒนาระบบเจริญพันธุ์ สอดคล้องกับอาหารที่กึ่งได้รับ ซึ่งเป็นอาหารสดชนิดเพรียงเลือด หอยแมลงภู่ และหมึกกล้วย อาหารเหล่านี้มีปริมาณของไขมันสูง เวียง (2543) รายงานว่าเพรียงเลือด และหมึกมีไขมัน 5.25 และ 3.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Pascual *et al.* (2003) ที่ได้ทำการศึกษเปรียบเทียบสภาวะการเลี้ยงกึ่งขาว (*L.vannamei*) ในระบบโรงเรือนกับในบ่อดิน พบว่ากึ่งที่เลี้ยงในบ่อดินระดับคลอเรสเตอรอลในเนื้อเยื่อเพิ่มสูงกว่ากึ่งที่เลี้ยงในโรงเรือน เนื่องจากในบ่อดินจะมีอาหารมีชีวิต เช่น แพลงก์ตอน สัตว์หน้าดิน ที่มีคลอเรสเตอรอลเป็นองค์ประกอบในเนื้อเยื่อสูง จึงทำให้ปริมาณคลอเรสเตอรอลสูงกว่า นอกจากนี้ปิยหนู (2551) พบว่าในตัวเพรียงมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และยังพบฮอร์โมน Methyl farnesoate, Progesterone (เสาวลักษณ์, 2548), Prostaglandin E<sub>2</sub> (เอกชัย, 2548) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่มีความสำคัญต่อระบบสืบพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์กึ่งทะเล ในเพศผู้ไม่พบการสะสมของคลอเรสเตอรอลตลอดการเลี้ยงระดับคลอเรสเตอรอลเปลี่ยนแปลงน้อยมากอยู่ในช่วง 0.69-0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม แสดงว่าในกึ่งเพศผู้มีความต้องการคลอเรสเตอรอลน้อยกว่าเพศเมีย นอกจากนี้ยังสังเกตได้ว่าในช่วงกึ่งเพศเมียอายุ 322 วัน ระดับคลอเรสเตอรอลเปลี่ยนแปลงลดลง ซึ่งเป็นช่วงที่เกิดการเปลี่ยนแปลงลดลงของความเค็มน้ำ จึงน่าจะเป็นไปได้ว่ากึ่งมีการดึงสารอาหารคลอเรสเตอรอลมาใช้เป็นแหล่งพลังงานเพื่อดำเนินงานภาวะเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของความเค็มของน้ำ เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของไตรกลีเซอไรด์

ผลของการเปลี่ยนแปลงของสารเมแทบอลิคในน้ำเลือดบ่งชี้ได้ว่าในช่วงอายุกึ่งทดลอง 138-173 วันของการเลี้ยงกึ่งเผชิญกับสภาวะเครียดที่ต้องปรับสภาพในสภาวะสิ่งแวดล้อมใหม่ สังเกตได้จากระดับกลูโคสสูงขึ้น หลังจากนั้นระดับสารเมแทบอลิคดังกล่าวอยู่ในระดับค่อนข้างเปลี่ยนแปลงน้อย และมีการลดลงอีกครั้งของไตรกลีเซอไรด์ และคลอเรสเตอรอลในช่วงกึ่งอายุ

322 วัน เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงลดลงของความเค็ม ส่วนทางด้านสภาวะโภชนาการมีแนวโน้มว่ากุ้งเริ่มมีการสะสมสารอาหารไตรกลีเซอไรด์ และคลอเรสเตอรอลโดยเฉพาะในกุ้งเพศเมีย

### 3. การตอบสนองภูมิคุ้มกัน

โปรตีนเป็นสิ่งจำเป็นที่กุ้งจะต้องได้รับ เพราะกุ้งต้องใช้ในการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย การเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และนำไปสร้างสารที่ควบคุมการทำงานของร่างกาย หรือสารประกอบชีวเคมีที่สำคัญ เช่น ฮอโมน เอนไซม์ สารต้านทานโรค สารพันธุกรรม และสารสื่อประสาท (วีรพงศ์, 2535) ในการทดลองครั้งนี้ พบว่าปริมาณโปรตีนรวมในน้ำเลือดสูงในช่วงกุ้งอายุ 138-173 วัน จากลักษณะปริมาณที่เพิ่มขึ้นนี้น่าจะเป็นไปได้ว่า กุ้งกุลาดำมีการตอบสนองต่อสภาพสิ่งแวดล้อมใหม่ภายในบ่อเลี้ยงทดลอง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบโปรตีนในพลาสมาในลักษณะเพิ่มขึ้น ซึ่งไม่เป็นไปในทางเดียวกันกับการศึกษาของ Perazzolo *et al.* (2002) ที่ได้ทำการพิสูจน์ให้เห็นว่ากุ้ง *Farfantepenaeus paulensis* มีการปรับสภาพในสิ่งแวดล้อมใหม่ โดยการตอบสนองภูมิคุ้มกันของค่าโปรตีนรวมต่ำกว่าสภาพปกติ ซึ่งไม่เหมือนกับที่พบในการทดลองครั้งนี้ในกุ้งกุลาดำ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาสารประกอบโปรตีนในพลาสมา ซึ่งมีสารประกอบชนิดต่าง ๆ หลายชนิด การเพิ่มขึ้นของโปรตีนรวม อาจเป็นการเพื่อขึ้นของสารชนิดอื่นที่มีใช้สารภูมิคุ้มกัน ขณะที่จำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมของกุ้งทั้งสองเพศให้ค่าต่ำสุด น่าจะตอกย้ำถึงภาวะเครียดที่เกิดขึ้นในช่วงนี้ทำให้กุ้งอ่อนแอ ซึ่งเป็นช่วงที่พบการตายของกุ้งมากที่สุด เท่ากับ 13.8 เปอร์เซ็นต์ของทั้งสองเพศ และสอดคล้องกับระดับกลูโคสที่เพิ่มสูง นอกจากนี้จำนวนเซลล์เม็ดเลือดยังแสดงระดับที่ต่ำในช่วงอายุกุ้ง 264-322 วัน อีกด้วย ซึ่งเป็นช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงลดลงของความเค็มน้ำ ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส เพิ่มสูงสุดช่วงอายุกุ้ง 235 วัน จากลักษณะเช่นนี้น่าจะเป็นไปได้ว่าภายใต้ระบบการเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำที่ประกอบด้วยหน่วยบำบัดชีวภาพ โดยมีจุลชีพช่วยในการบำบัดน้ำ ทำให้จุลชีพมีโอกาสนับเป็นเข้าสู่ตัวกุ้ง การตอบสนองของกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสจึงเพิ่มขึ้น ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีบทบาทสำคัญในการกำจัดจุลชีพที่แปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย นอกจากนี้ยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับการรับรู้ถึงสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย (Soderhall, 1982) จะถูกกระตุ้นให้เพิ่มขึ้นได้เมื่อได้รับสาร Lipopolysaccharide หรือ  $\beta$ -1, 3-glucan ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Soderhall and Cerenius, 1992; Sritunyalucksana *et al.*, 1999) จากลักษณะเช่นนี้น่าจะเป็นไปได้ว่าภายใต้ระบบการเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำที่ประกอบด้วยหน่วยบำบัดชีวภาพ โดยมีจุลชีพช่วยในการบำบัดน้ำ ทำให้จุลชีพมีโอกาสนับเป็นเข้าสู่ตัวกุ้ง การตอบสนองของกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสจึงเพิ่มขึ้น

เช่นเดียวการศึกษาของกิจการและคณะ (2543ก) พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อกึ่งกลูตาเมาต์เผชิญกับสภาวะได้รับเชื้อจุลินทรีย์ และเป็นช่วงเวลาเดียวกันกับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมลดลง ดังนั้นฐานได้ว่าเกิดการแตกสลายของเซลล์เม็ดเลือด ส่งผลให้มีการปลดปล่อยเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส

#### 4. การเจริญเติบโตและการรอดตาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลองกึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 64.13 และ 73.81 กรัม ของกึ่งเพศผู้และเพศเมีย ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับการเจริญเติบโตของการผลิตพ่อแม่พันธุ์กึ่งกลูตาเมาต์จากบ่อคอนกรีต (วิสุทธิ และฐานันดร, 2545) และตรงกับการศึกษาของบุญรัตน์ และเฉลิมชัย (2540) พบว่าในธรรมชาติอัตราการเจริญเติบโตของกึ่งกลูตาเมาต์เพศเมียจะสูงกว่าเพศผู้ แต่เมื่อนำการเจริญเติบโตของการศึกษานี้มาเปรียบเทียบกับกึ่งกลูตาเมาต์ที่ผลิตให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อดินจะพบว่าการเจริญเติบโตต่ำกว่า กล่าวคือ ธนาวุฒิ และคณะ (2543) รายงานว่ากึ่งกลูตาเมาต์ที่เลี้ยงในบ่อดินที่อายุ 367 วัน น้ำหนักเฉลี่ยของกึ่งเพศผู้เท่ากับ 78.99 กรัม และเพศเมีย 100.45 กรัม ส่วนกอบศักดิ์ และวิลาสินี (2549) พบว่ากึ่งกลูตาเมาต์ที่เลี้ยงในบ่อดินที่อายุ 390 วัน น้ำหนักเฉลี่ยของเพศผู้เท่ากับ 78.20 กรัม และ 84.50 กรัมของเพศเมีย

จากผลการศึกษาที่ได้พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของกึ่งกลูตาเมาต์ที่ทำการทดลองในบ่อซีเมนต์ในครั้งนี้มีค่าเฉลี่ยโดยน้ำหนักเท่ากับ 0.162 และ 0.195 กรัมต่อตัวต่อวัน ของกึ่งเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของวิสุทธิ และฐานันดร (2545) ที่ทำการทดลองเลี้ยงกึ่งในบ่อซีเมนต์ แต่ต่ำกว่าที่รายงานไว้โดย สุพล (2545) พบว่ากึ่งกลูตาเมาต์มีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.295 กรัมต่อตัวต่อวัน ที่เลี้ยงในบ่อดิน สาเหตุที่ทำให้ค่าที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้ต่ำกว่านั้นอาจเนื่องมาจากความถี่ในการให้อาหารน้อยกว่าการศึกษาที่กล่าวข้างต้นประมาณ 1 มื้อ นอกจากนี้ยังสังเกตได้ว่ามีบางช่วงของการทดลองที่อัตราการเจริญเติบโตที่ลดลง คือในช่วงอายุกึ่ง 173 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่กึ่งมีการปรับสภาพให้เข้ากับแวดล้อมในบ่อซีเมนต์ และในช่วง 264-292 วัน ที่มีการเปลี่ยนแปลงลดลงของความเค็มน้ำ

อัตราการรอดตายของกึ่งกลูตาเมาต์ที่ทำการทดลองเลี้ยงประมาณ 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่ของการตายเกิดขึ้นในช่วงแรกของการทดลอง คือ 0-42 วัน ซึ่งค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงอื่น ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองของวิสุทธิ และฐานันดร (2545) พบว่ากึ่งกลูตาเมาต์ที่นำมาขุนให้เป็นพ่อแม่

แม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์มีอัตราการตาย 25 เปอร์เซ็นต์ ที่อายุกุ้ง 360 วัน ภายใต้ระบบการจัดการน้ำแบบเปิด ส่วนสาเหตุของการตาย เนื่องจากในช่วงแรกกุ้งเผชิญสภาวะที่ต้องปรับตัวให้เข้ากับสภาพสิ่งแวดล้อมใหม่ จึงเกิดการตอบสนองต่อภาวะเครียด สอดคล้องกับระดับกลูโคสในน้ำเลือดที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งระดับกลูโคสสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาวะเครียดของสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน (Sanchez *et al.*, 2001 ; Joseph and Philp, 2007) นอกจากนี้ยังสามารถสังเกตคุณลักษณะภายนอกที่พบว่ากุ้งมีสีแดงตามรอยก้นต่าง ๆ เช่นเดียวกับรายงานของ Pascual *at al.* (2003) พบว่ากุ้ง *Litopenaeus setiferus* ที่อยู่ในสถานะอุณหภูมิน้ำสูงระดับกลูโคสสูงขึ้น และรอยก้นเป็นสีแดง แต่อย่างไรก็ตามหลังจากช่วงนี้ไปแล้วการตายลดลง โดยเฉพาะในช่วงอายุกุ้ง 354-381 วัน ไม่พบการตายของกุ้ง เมื่อสิ้นสุดการทดลองอัตราการตายเท่ากับ 22.22 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากการศึกษาของ ธนาวุฒิและคณะ (2543) และ ไวยพจน์และจิรานุวัฒน์ (2547) ที่มีอัตราการตาย 64.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อายุกุ้ง 367 วัน และ 63.7 เปอร์เซ็นต์ ที่อายุกุ้ง 355 วัน ตามลำดับ ซึ่งเป็นการเลี้ยงในบ่อดิน

จากผลที่ได้ในครั้งนี้ แสดงว่าระบบการเลี้ยงกุ้งกุลาดำภายใต้ระบบโรงเรือนกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของการศึกษาครั้งนี้สามารถลดการตายของกุ้งที่เกิดขึ้นในช่วงระหว่างการเลี้ยงได้ แต่อย่างไรก็ตามค่าการเจริญเติบโตยังคงต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งที่เลี้ยงในบ่อดิน แต่อย่างไรก็ตามขนาดของกุ้งที่ได้สามารถนำมากระดุนให้เกิดการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ ซึ่งสมิง (2539) สุพล (2545) และธนาวุฒิและคณะ (2543) รายงานว่ากุ้งกุลาดำที่เหมาะสมสำหรับการนำมาเพาะพันธุ์ควรมีอายุ 8-10 เดือน และมีน้ำหนักไม่น้อยกว่า 70 กรัม

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

1. คุณลักษณะทางโภชนาการของกึ่งกลูตาดีตลดการเลี้ยง พบว่าระดับกลูโคส มีค่าเพิ่มสูงในช่วงอายุกึ่ง 138-173 วัน บ่งชี้ได้ว่ากึ่งเผชิญกับสภาวะเครียด คาดว่าเกิดจากการปรับสภาพในสิ่งแวดล้อมใหม่ แต่ในช่วงเวลาต่อมาจะค่อย ๆ ลดระดับต่ำลงและคงอยู่ในระดับเกือบคงที่ แสดงว่ากึ่งกลูตาดีตที่เลี้ยงในบ่อคอนกรีตภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำสามารถปรับตัวให้เข้าสภาพสิ่งแวดล้อมในสภาพการเลี้ยงเช่นนี้ได้ และยังพบอีกว่าเมื่ออายุกึ่ง 322 วัน เกิดการเปลี่ยนแปลงลดลงของความเค็มน้ำส่งผลให้ระดับไตรกลีเซอไรด์ และคลอเรสเตอรอลในน้ำเลือดลดต่ำลง โดยกึ่งมีการสลายสารอาหารที่เก็บสะสมในรูปของไตรกลีเซอไรด์ และคลอเรสเตอรอลเปลี่ยนเป็นกลูโคสเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในการต้านทานต่อสภาพการเปลี่ยนแปลงลดลงของความเค็มน้ำ เมื่อพิจารณาแยกเพศ กึ่งเพศเมียแสดงระดับ ไตรกลีเซอไรด์ และคลอเรสเตอรอลที่สูงกว่ากึ่งเพศผู้ตลอดการทดลอง ซึ่งคลอเรสเตอรอลมีบทบาทที่สำคัญในการสร้างไขของกึ่งเพศเมีย
2. การตอบสนองภูมิคุ้มกัน แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าในช่วงกึ่งอายุ 138-173 วัน สุขภาพของกึ่งอ่อนแอ สังเกตได้จากปริมาณจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมต่ำสุด ซึ่งเป็นช่วงที่พบการตายของกึ่งมากที่สุด แต่เมื่อเวลาผ่านไปกึ่งสามารถปรับสภาพได้ดี การตอบสนองภูมิคุ้มกันของกึ่งดีขึ้น โดยพบว่าปริมาณโปรตีนรวม จำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวม และกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสปรับเข้าสู่ระดับที่มีการเปลี่ยนแปลงลดน้อยลง
3. จากการศึกษาคุณภาพน้ำตลอดการทดลอง พบว่าการเลี้ยงกึ่งกลูตาดีตเพื่อพัฒนาเป็นพ่อแม่พันธุ์ด้วยระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ มีประสิทธิภาพเพียงพอในการปรับปรุงคุณภาพน้ำ ซึ่งอาจเป็นแนวทางหนึ่งในการควบคุมสภาพแวดล้อม และจัดการเลี้ยงในระยะยาว จนกึ่งมีความพร้อมและพัฒนาการเจริญพันธุ์ได้เอง แต่มีคุณภาพน้ำบางตัวแปรที่จำเป็นต้องจัดการไม่ให้เกิดความผันแปรสูง คือ อุณหภูมิ และความเค็มของน้ำ
4. เมื่อสิ้นสุดการทดลองการเจริญเติบโตของกึ่งอายุ 381 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ย 64.13 และ 73.81 กรัม ของกึ่งเพศผู้และเพศเมีย ตามลำดับ ซึ่งเป็นขนาดที่ยังไม่เหมาะสมสำหรับการที่จะนำมาใช้เพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ที่ดีจำเป็นต้องเลี้ยงอีกระยะหนึ่ง

### ข้อเสนอแนะ

1. ระบบการเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กึ่งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ภายใต้การเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำที่ใช้ในการศึกษาครั้ง ถึงแม้ว่าจะสามารถใช้ควบคุมของเสีย และสามารถพัฒนาให้กึ่งกุลาดำพร้อมเป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ แต่ก็ยังไม่ใช่ระบบที่มีการจัดการที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากพบการตายของกึ่งประมาณ 22.22 เปอร์เซ็นต์ มีความผันแปรของน้ำคุณสมบัติน้ำ โดยเฉพาะความเค็ม ดังนั้นระบบโรงเรือนควรเป็นโรงเรือนปิดที่สามารถป้องกันการผันแปรความเค็มของน้ำได้
2. ข้อมูลที่ได้จากการศึกษา จัดเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับสรีรวิทยาการพัฒนากของกึ่งกุลาดำเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ ในการทดลองเลี้ยงกึ่งกุลาดำให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในลำดับต่อไป ควรมีการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการ คัดเลือกอาหารให้เหมาะสมยิ่งขึ้น เพื่อให้ได้กึ่งกุลาดำที่มีคุณภาพดีในการผลิตเป็นลูกพันธุ์ และควรยืดระยะเวลาการเลี้ยงให้มากกว่านี้เพื่อจะได้พ่อแม่พันธุ์ที่มีความสมบูรณ์มากที่สุด
3. การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อภาวะเครียด ที่มีสาเหตุจากปัจจัยความเครียดที่ไม่ต่อเนื่องหรือไม่รุนแรง ไม่มีจำเป็นที่จะต้องใช้แลคเตทเป็นดัชนีบ่งชี้ภาวะเครียดที่เกิดขึ้น

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กอบศักดิ์ เกตุเหมือน และวิลาสินี คงเล่ง. 2549. การศึกษาการผลิตพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อดิน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 18/2549 สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง. กรุงเทพฯ. 21 หน้า.

กิจการ ศุภมาตย์, จรีพร เรืองศรี, สุภฎา คีรีรัฐนิคม และนเรศ ช่วยยุค. 2543ก. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ : IV. การศึกษาค่าปกติของระบบภูมิคุ้มกันและองค์ประกอบเลือดในกุ้งกุลาดำ. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22 (ฉบับพิเศษ) : 597-603.

กิจการ ศุภมาตย์, จรีพร เรืองศรี, สุภฎา คีรีรัฐนิคม และนเรศ ช่วยยุค. 2543ข. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ : V. ผลของอุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำและความเป็นกรด-ด่างของน้ำต่อระบบภูมิคุ้มกันโรและองค์ประกอบเลือดในกุ้งกุลาดำ. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22 (ฉบับพิเศษ) : 605-613.

กิจการ ศุภมาตย์, จรีพร เรืองศรี, สุภฎา คีรีรัฐนิคม และนเรศ ช่วยยุค. 2543ค. ระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำ : VII. องค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันโรคในกุ้งกุลาดำบนพื้นฐานของเพศ ขนาด และวงจรการลอกคราบ. วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22 (ฉบับพิเศษ) : 623-632.

จิราพร เกษรจันทร์, สุดา ตันทวนิช, เรวัตร์ คงประดิษฐ์ และสรารุช ศรีวัฒนารัตน. 2543. ศึกษาความเป็นไปได้ในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวจากพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำสู่ลูกกุ้ง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 5/2543 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลฝั่งอ่าวไทย สถาบันวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล กรมประมง. กรุงเทพฯ. 16 หน้า.

ทวี จินดามัยกุล. 2533. การทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำจากนากุ้งให้มีไข่แก่. เอกสารวิชาการฉบับที่ 32/2533 ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งภูเก็ต กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. กรมประมง. กรุงเทพฯ. 16 หน้า.

\_\_\_\_\_ และไพฑูรณ์ อรรถยานนท์. 2540. การเปรียบเทียบผลผลิตนอเพ็ลีสกึ่งกูดาค้าจากแม่กึ่งสามแหล่งวางไข่. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 22/2540 สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา กรมประมง. 27 หน้า

ชนาวุฒิ กล่าวเกลี้ยง, วาลูกา กฤตวรรษนันต์, ธวัชชัย ทองน้อย และอิสมะแอน อิศหมาย. 2543. การเลี้ยงกึ่งกูดาค้าให้ได้ขนาดพ่อแม่พันธุ์ในบ่อดิน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 49/2543 ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งนราธิวาส กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 13 หน้า

นิเวศน์ เรืองพานิช, สุจินต์ มณีวงศ์, ฐานันดร ทัดตานนท์, ประกิต ไกรสิงห์เดชา, ไพฑูรณ์ อรรถยานนท์, สุนิตย์ โรจนพิทยากุล และไพบูลย์ บุญลิปตานนท์. 2528. ทดลองเร่งกึ่งกูดาค้าให้มีไข่แก่ในบ่อซีเมนต์โดยใช้กึ่งจากแหล่งน้ำบริเวณชายฝั่งและจากทะเลสาบสงขลา. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 8/2528 สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดสงขลา กรมประมง. 12 หน้า

บรรจง เทียนส่งรัมย์. 2524. หลักการเลี้ยงกึ่งทะเล. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

บุญรัตน์ ประทุมชาติ และเฉลิมชัย สุวรรณรักษ์. 2540. ลักษณะแตกต่างของเพศ สัดส่วนเพศและพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ของกึ่งกูดาค้าจากบ่อเลี้ยงแบบพัฒนา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 15/2540 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง. 12 หน้า

ปิยนุช นุชบุญช่วย. 2551. การสังเคราะห์สารคล้ายฮอร์โมน-เซสควิเทอร์พีนอยด์ และไอโคซานอยด์จากเนื้อเยื่อแม่เพรียงทราย (*Perinereis* sp.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปิยะพงศ์ โชติพันธ์. 2528. การเลี้ยงกึ่ง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

พัชรา วีระกะลัศ. 2544. พลังงานและเมแทบอลิซึม. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

- พุทธ ส่องแสงจินดา, ชัชวาล อินทรมนตรี และลักขณา ละอองศิริวงศ์. 2543. การบริโภค ออกซิเจนในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีผลผลิตต่างกัน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 4/2543 ศูนย์วิจัย การเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลฝั่งอ่าวไทย กรมประมง. 13 หน้า
- , สุนิตย์ โรจนพิทยากุล, เยาวนิตย์ ดนยดล และวลีรัตน์ มุสิกะสังข์. 2550. การศึกษา วิธีการผลิตพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำด้วยระบบหมุนเวียนในบ่อซีเมนต์. สารวิชาการเพาะเลี้ยง สัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 22-27.
- ขงยุทธ ปรีดาลัมพะบุตร, นิยม ละอองศิริวงศ์, ภาสกร ถมพลกรัณ, อรัญญา อัสวอารีย์ และ ประมัยพร ศรีอรุณ. 2550. เปรียบเทียบการผลิตพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในระบบ ฟาร์มทะเลกับการเลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียน. สารวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรม ประมง. 17-21.
- เรณู ยาชิโร และสมิง ทรงถาวรทวี. 2539. การเลี้ยงกุลาดำเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์โดยวิธีลดความ หนาแน่นและการย้ายบ่อ. เอกสารวิชาการฉบับที่ 14/2539 สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์ น้ำชายฝั่ง กรมประมง. กรุงเทพฯ. 9 หน้า
- วิสุทธิ วีระกุลพิริยะ และฐานันตร์ ทัดตานนท์. 2545. ความเป็นไปได้ในการผลิตพ่อแม่พันธุ์กุ้ง กุลาดำจากบ่อซีเมนต์, น. 1-11. ใน รายงานการประชุมกุ้งแห่งชาติ ครั้งที่ 4 ศูนย์พันธุ์ วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.
- วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2535. อาหารปลา. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.
- เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2543. โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ไวพจน์ เครือเสนห์ และจิราวุฒัน์ ชูเพชร. 2547. การเพาะเลี้ยงพันธุ์กุ้งกุลาดำจากพ่อแม่พันธุ์ที่ เลี้ยงในบ่อดิน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 55/2547 ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งภูเก็ต กรมประมง. 16 หน้า

สมบูรณ์ หลาวประเสริฐ และพิทักษ์ พลจันทร์. 2527. เปรียบเทียบการสร้างไข่ของกุ้งกุลาดำตัดตาที่เลี้ยงในบ่อกลางแจ้งและที่ร่ม. เอกสารวิชาการฉบับที่ 8/2527 สถานีประมงน้ำกร่อยจังหวัดระยอง กองประมงน้ำกร่อย กรมประมง. กรุงเทพฯ. 28 หน้า

สิทธิโชค จันทร์ช้อย และประจวบ หล้าอุบล. 2544. พัฒนาการของรังไข่และการวางไข่ของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อดินร่วนที่ 1 ในความเค็มต่างระดับ. น. 516-522. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. วันที่ 5-7 กุมภาพันธ์. รายงานผลการวิจัยสาขาสัตวศาสตร์ สาขาสัตวแพทยศาสตร์ และสาขาประมง.

\_\_\_\_\_. 2545. ผลของความเค็มต่างระดับและเกลือแร่บางชนิดต่อการพัฒนารังไข่และการวางไข่ของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุพล ต้นสุวรรณ. 2545. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำรุ่นที่ 2 ให้เป็นพ่อแม่พันธุ์รุ่นที่ 3 ในบ่อดิน. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 14/2545 ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งนราธิวาส กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง. 13 หน้า

เสาวลักษณ์ เอี่ยมไผ่. 2548. ผลของการสกัดโปรเจสเทอโรน และ 17 แอลฟา-ไฮดรอกซีโปรเจสเทอโรนจากแม่เพรียงทราย *Perinereis* sp. ต่อการเจริญของเซลล์ไข่กุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เอกชัย ดวงใจ. 2548. การสกัดฮอร์โมนโปรสเตกาเกลนดินจากแม่เพรียงทรายและผลของการสกัดฮอร์โมนต่อการพัฒนาของไข่แม่กุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Anggoro, S. and S.B Prayitno. 1999. Osmotic Works, Na-K-ATPase Activity and Feed Efficiency of Tiger Shrimp Juveniles (*Penaeus monodon* Fabricus). **Aquaculture**. 75 : 53-61.

Ainsworth, J.A., C. Dexiang and P.R. Waterstrat. 1991. High Physiological Concentrations of Cortisol *in vivo* can Initiate Phagocyte Suppression. **J. Aquat. Anim. Health**. 3 : 41-47.

- APHA, AWWAWPCF (American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation). 1980. **Standard method for the examination of Water and Wastewater**. (ed) 15<sup>th</sup>. New York, American Public Health Publishers.
- Baily-Brock, J.H. and S. M. Moss. 1992. Penaeid Taxonomy, Biology and Zoogeography. pp. 9-28. *In* : Fast, A.W. and L.J. Lester. **Marine shrimp culture : principles and practices**. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Beard, T. W. and J. F. Wickins. 1980. Breeding of *Penaeus monodon* Fabricius in Laboratory Recirculation Systems. **Aquaculture**. 20 : 79-89.
- Bendschneider, K. and J.R. Robinson. 1952. A New Spectrophotometric Method for The Determination of Nitrite in Seawater. **J.Mar.Res.** 11 : 87-96.
- Benzie, J.A.H. 1997. A Review of The Effect of Genetics and Environment on The Maturation and Larval Quality of the Giant Tiger Prawn *Penaeus monodon*. **Aquaculture**. 155 : 69-85.
- Bergmeyer, H.H. and E. Burnt. 1974. **Method of Enzymatic Analysis**, 2<sup>nd</sup>. pp. 1205-1212. New York, USA.
- Bradford, M. 1976. A Refined and Sensitive Method for the Quantization of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. **Anal. Biochem.** 72 : 248-254.
- Bray, W.A. and A.L. Lawrence. 1992. **Reproduction of *Penaeus* Species in Captivity**. pp. 93-170. *In* : Fast, A., and L.J. Lester (Eds.), *Marine Shrimp Culture : Principles and Practices*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.

- \_\_\_\_\_ and A.L. Lawrence. 1998. Successful Reproduction of *Penaeus monodon* Following Hypersaline Culture. **Aquaculture**. 159 : 275-282.
- Browdy, C.L. 1998. Recent Developments in Penaeid Broodstock and Seed Production Technologies : Improving the Outlook for Superior Captive Stocks. **Aquaculture**. 164 : 3-21.
- Chamberlain, G.W. and A.L. Lawrence. 1981. Maturation, Reproduction and Growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* Fed Natural Diets. **Journal of the World Aquaculture Society**. 21 : 209-224.
- Fingerman, M. 1997. Crustacean Endocrinology : A Restrospective, Prospective and Introspective Analysis. **Physio. Zool**. 70 : 257-269.
- Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot an D.R. Metailler. 2001. **Nutrition and Feeding of Fish and crustaceans**. Cornwall, UK.
- Hall, M.R. and E.H. van Ham. 1998. The Effects of Different Types of Stress on Blood Glucose in the Giant Tiger Prawn *Penaeus monodon*. **Journal of the World Aquaculture Society**. 29 : 290-299.
- Hernandez-Lopez, J., T. Gollar-Galvan and F. Vargas-Albores. 1996. Activation of the Prophenoloxidase System of the Brown Shrimp (*Penaeus aciforniensis* Holmes). **Comp. Biochem. Physiol.** 113C : 61-66.
- Hillier, A.G. 1984. Artificial Conditions Influencing the Maturation and Spawning of Subadult *Penaeus monodon* (Fabricius). **Aquaculture**. 36 : 179-184.
- Izquierdo, M.S., H. and A.G.J. Fernandez-Palacios. 2001. Effect of Broodstock Nutrition on Reproductive Performance of Fish. **Aquaculture**. 197 : 25-42.

- Jerlov, N.G. 1970. Light: general introduction. pp. 95-102. *In* : O. Kine (ed.), **Marine ecology**. Wiley Interscience, London.
- Joseph, A. and R. Philip. 2007. Acute Salinity Stress Alters the Haemolymph Metabolic Profile of *Penaeus monodon* and Reduces Immunocompetence to White Spot Syndrome Virus Infection. **Aquaculture**. 272 : 87-97.
- Kanazawa, A., S. Tokiwa, M. Kayama and M. Hirata. 1977. Essential Fatty Acids in the Diet of Prawn- I. Effects of Linoleic and Linolenic Acids on Growth. **Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries**. 43 : 1111-1114.
- Lee, D.O. and J.F. Wickins. 1992. **Crustacean farming**. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Lignot, J.-H., C. Spanings-Pierrot and G. Charmantier. 2000. Osmoregulatory Capacity as a Tool in Monitoring the Physiological condition and the Effect of Stress in Crustaceans. **Aquaculture**. 191 : 209-245.
- Lin, C.-Y., S.-H. Chen, G.-H. Kou and C.-M. Kuo. 1999. An Enzymatic Microassay for Lactate Concentration in Blood and Hemolymph. **Acta Zoologica Taiwanica**. 10 : 91-101.
- Loernzo, S., P. Edomi, P.G. Gioliani, R. Mettulo and E.A. Ferero. 2005. Role of Biogenic Amines and CHH in the Crustacean Hyperglycemic Stress Response. **The Journal of Experimental Biology**. 208 : 3341-3347.
- Lytle, J.S., T.F. Lytle and J.T. Ogle. 1990. Polyunsaturated Fatty Acid Profiles as a Comparative Tool in Assessing Maturation Diets of *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**. 89 : 287-299.
- MacArthur, J.I. and T.C. Fletcher. 1985. **Phagocytosis in fish**, pp. 29-46. In Manning, M.J. and M.F. Tatner (eds.). *Fish Immunology*. Academic Press, London.

- Martinez-Palacios, C.A., 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 : 59-65.
- Menasveta, P., A.W. Fast, S. Piyatiratitivorakul and S. Rungsupa. 1991. An Improved, Closed Seawater Recirculation Maturation System for Giant Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius). **Aquacultural Engineering.** 10 : 173-181.
- \_\_\_\_\_, S. Piyatiratitivorakul, S. Rungsupa, N. Moree and A.W. Fast. 1993. Gonadal Maturation and Reproductive Performance of Giant Tiger Prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) from the Andaman Sea and Pond-Reared Sources in Thailand. **Aquaculture.** 116 : 191-198.
- \_\_\_\_\_, T. Panritdam, P. Sihanonth, S. Powtongsook, B. Chuntapa and P. Lee. 2001. Design and Function of a Closed, Recirculating Seawater System with Denitrification for the Culture of Black Tiger Shrimp Broodstock. **Aquacultural Engineering.** 25 : 35-49.
- Mourente, G. and Rodriguez, A. 1997. Effects of Salinity and Dietary DHA (22:6n-3) Content on Lipid Composition and Performance of *Penaeus kerathurus* Postlarvae. **Mar. Biol.** 128 : 289-298.
- Mugnier, C. and C. Soyez. 2005. Response of the Blue Shrimp *Litopenaeus stylirostris* to Temperature Decrease and Hypoxia in Relation to Molt Stage. **Aquaculture.** 244 : 315-322.
- Pascual, C., G. Gaziola and C. Rosas. 2003. Blood Metabolites and Hemocyanin of the White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* : The Effect of Culture Conditions and Comparison with Other Crustacean Species. **Mar. Biol.** 142 : 735-745.

- Perazzolo, L.M., R. Gargioni, P. Oglian and Barracco, M.A.A. 2002. Evaluation of Some Hemato-Immunological Parameters in the Shrimp *Farfantepenaeus paulensis* Submitted to Environmental and Physiological Stress. **Aquaculture**. 214 : 19-33.
- Primavera, J.H. 1978. Induces Maturation and Spawning in Five-Month-Old *Penaeus monodon* Fabricius by Eyestalk Ablation. **Aquaculture**. 13 : 355-359.
- \_\_\_\_\_ and R.M.V. Caballero. 1992. Light Color and Ovarian Maturation in Unablated and Ablated Giant Tiger Prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). **Aquaculture**. 108 : 247-256.
- Pudadera, R.A. and J.H. Primavera. 1981. Effect of Light Quality and Eyestalk Ablation on Ovaria Maturation in *Penaeus monodon*. **J. Biol.** 10 : 231-240.
- Racotta, I.S. and E. Palacios. 1998. Hemolymph Metabolic Variables in Response to Experimental Manipulation Stress and Serotonin Injection in *P. vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**. 29 : 351-356.
- \_\_\_\_\_ and R. Hernandez-Herrera. 2000. Metabolic Responses of the White Shrimp, *Penaeus vannamei*, to Ambient Ammonia. **Comp Biochem Physiol**. 125A : 437-443.
- \_\_\_\_\_, E. Palacios, R. Hernández-Herrera, A. Bonilla, C.I. Pérez-Rostro and J. L. Ramírez. 2003. Criteria for Assessing Larval and Postlarval Quality of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931). **Aquaculture**. 233 : 181-195.
- Ramos, L., C. Vazquez, M. Oliva, E. Garcia and I. Fernandez. 1996. Variations in the Total Lipids Content, Lipids and Fatty Acids Class During the Ovarian Maturation in the *Penaeus schmitti* and *P. notialis*. **Rev. Invest. Mar.** 17 : 157-165.

- Sanchez, A., C. Pascual, F. Vargas-Albores, G.L. Moullac and C. Rosas. 2001. Hemolymph Metabolic Variables and Immune Response in *Litopenaeus setiferus* Adult Males : The Effect of Acclimation. **Aquaculture**. 198 : 13-28.
- Sasaki, K. and Y. Sawada. 1980. Determination of Ammonia in Estuary. **Bull. Jpn. Soc. of Sci. Fish.** 46 : 319-321.
- 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. **Journal of the World Aquaculture Society**. 16 : 333-346.
- Selye, H. 1973. The Evolution of the Stress Concept. **Am. Sci.** 61 : 692-699.
- Shiau, S-Y. 1998. Nutrient Requirements of Penaeid Shrimps. **Aquaculture**. 164 : 77-93.
- Soderhall, K. 1982. Prophenoloxidase Activation System and Melanization a Recognition Mechanism of Arthropods. **Dev. Comp. Immunol.** 6 : 601-611.
- \_\_\_\_\_ and L. Cerenius. 1992. Crustacean Immunity. **Annual Rev. of Fish Diseases**. 3-23.
- \_\_\_\_\_ and V.J. Smith. 1983. Separation of the Haemocyte Populations of *Caricinus maenas* and other Marine Decapods and Phenoloxidase Distribution. **Dev. Comp. Immunol.** 7 : 229-239.
- Sritunyaluksana, K., L. Cerenius and K. Soderhall. 1999. Molecular Cloning and Characterization of Prophenoloxidase in the Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*, **Dev. Comp. Immunol.** 23 : 179-186.
- Stave, J.W. and B.S. Robertson. 1985. Hydrocortisone Suppresses the Chemiluminescent Response of Stripped Bass Phagocytes. **Dev. Comp. Immunol.** 9 : 77-84.

Wedemeyer, G.A. 1996. **Physiology of Fish on Intensive Culture Systems**. Chapman and Hall, New York.

Wouters, R., Lavens, P. and J. Nieto. 2001. Penaeid Shrimp Broodstock Nutrition: An Updated Review on Research and Development. **Aquaculture**. 202 : 1-21.

ภาคผนวก

**ตารางผนวกที่ 1** การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำของบ่อเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำในบ่อซีเมนต์ ภายใต้ระบบการเลี้ยงแบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำ

คุณภาพน้ำ	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	25	28.5	26.8	0.655
ความเค็ม (ส่วนในพัน)	13	34	26.7	6.588
ความเป็นกรด-ด่าง	7.4	8.3	7.8	0.175
ความเป็นด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	52	119	85.6	17.716
ออกซิเจนละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	5.300	10.600	7.500	1.021
แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.003	0.090	0.031	0.020
ไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	0.006	0.483	0.083	0.082

**ตารางผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับกัญโคสในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกัญโคสที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบ  
กึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน**

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
M1	2.16	0.54	0.42	0.18	0.31	0.21	0.24	0.69	0.48	
M2	1.35	1.71	0.24	0.31	0.45	0.27	0.48	0.39	0.05	
M3	2.43	1.26	0.81	0.57	0.12	0.31	0.15	0.21	0.48	
M4	1.68	1.05	0.93	0.42	0.54	0.29	0.60	0.51	0.21	
ค่าต่ำสุด	1.35	0.54	0.24	0.18	0.12	0.21	0.15	0.21	0.05	
ค่าสูงสุด	2.43	1.71	0.93	0.57	0.54	0.31	0.60	0.69	0.48	
ค่าเฉลี่ย	1.905	1.140	0.600	0.370	0.355	0.270	0.367	0.450	0.305	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.483	0.486	0.324	0.166	0.184	0.043	0.208	0.202	0.212	

**ตารางผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับกัญโคตในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุดคำพศเมยทีเลียให้ป็นพ่อแม่พันธุ์ในซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน**

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
F1	0.99	1.71	0.60	0.57	0.78	0.99	0.48	1.05	0.39	
F2	2.43	1.26	0.66	0.45	0.57	0.60	0.21	0.61	0.33	
F3	1.98	3.24	0.45	1.08	0.51	0.39	0.62	0.72	0.39	
F4	1.44	2.79	0.42	0.93	0.36	0.42	0.72	0.57	0.63	
ค่าต่ำสุด	0.99	1.26	0.42	0.45	0.36	0.39	0.21	0.57	0.33	
ค่าสูงสุด	2.43	3.24	0.66	1.08	0.78	0.99	0.72	1.05	0.63	
ค่าเฉลี่ย	1.71	2.252	0.532	0.757	0.555	0.600	0.507	0.737	0.435	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.628	0.919	0.116	0.296	0.174	0.276	0.221	0.217	0.133	

**ตารางผนวกที่ 4** ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับแลคเตทในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกุงกุลดาเพศผู้ที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์เนบอติแมนต์ภายใต้ระบบ  
กึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
M1	0.037	0.034	0.034	0.045	0.037	0.037	0.023	0.023	0.016	
M2	0.047	0.032	0.022	0.031	0.042	0.039	0.050	0.013	0.016	
M3	0.027	0.039	0.04	0.044	0.028	0.027	0.032	0.070	0.050	
M4	0.035	0.033	0.035	0.034	0.023	0.015	0.021	0.030	0.042	
ค่าต่ำสุด	0.027	0.032	0.022	0.031	0.023	0.015	0.021	0.013	0.016	
ค่าสูงสุด	0.047	0.039	0.04	0.045	0.042	0.039	0.050	0.070	0.050	
ค่าเฉลี่ย	0.036	0.035	0.032	0.038	0.032	0.029	0.031	0.034	0.031	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.008	0.003	0.007	0.007	0.008	0.011	0.013	0.024	0.017	

**ตารางผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับแลคเตทในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุลาค่าเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบ  
กึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน**

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
F1	0.033	0.057	0.020	0.019	0.036	0.033	0.016	0.035	0.023	
F2	0.018	0.028	0.025	0.036	0.029	0.023	0.070	0.037	0.043	
F3	0.060	0.029	0.014	0.031	0.022	0.044	0.024	0.029	0.027	
F4	0.050	0.027	0.048	0.025	0.033	0.025	0.014	0.023	0.031	
ค่าต่ำสุด	0.018	0.027	0.014	0.019	0.022	0.023	0.014	0.023	0.023	
ค่าสูงสุด	0.060	0.057	0.048	0.036	0.036	0.044	0.070	0.037	0.043	
ค่าเฉลี่ย	0.040	0.035	0.026	0.027	0.030	0.031	0.031	0.031	0.031	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.018	0.015	0.014	0.008	0.006	0.009	0.026	0.006	0.008	

**ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับไตรกลีเซอไรด์ในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุกาตำพสุที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน**

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
M1	0.72	0.54	0.21	0.18	0.12	0.15	0.02	0.12	0.30	
M2	0.92	0.54	0.03	0.18	0.04	0.27	0.18	0.06	0.02	
M3	0.46	0.54	0.69	0.18	0.03	0.06	0.18	0.01	0.30	
M4	0.64	0.6	1.32	0.30	0.30	0.42	0.30	0.30	0.45	
ค่าต่ำสุด	0.46	0.54	0.03	0.18	0.03	0.06	0.02	0.01	0.02	
ค่าสูงสุด	0.92	0.60	1.32	0.30	0.30	0.42	0.30	0.30	0.45	
ค่าเฉลี่ย	0.685	0.555	0.563	0.210	0.123	0.225	0.10	0.123	0.200	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.191	0.030	0.577	0.060	0.125	0.156	0.114	0.127	0.211	

ตารางผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับ "ตรรกิติเซอไรด์ในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกลตาตาเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
F1	1.16	1.53	1.32	0.51	1.20	1.47	0.48	1.86	1.68	
F2	0.85	1.95	1.35	1.89	2.40	1.14	0.24	0.48	1.20	
F3	0.36	5.67	0.66	2.94	0.87	1.95	0.33	1.86	1.89	
F4	3.45	9.63	1.05	3.12	1.62	2.10	0.60	2.34	0.75	
ค่าต่ำสุด	0.36	1.53	0.66	0.51	0.87	1.14	0.24	0.48	0.75	
ค่าสูงสุด	3.45	9.63	1.35	3.12	2.40	2.10	0.60	2.34	1.89	
ค่าเฉลี่ย	1.455	4.695	1.095	2.115	1.523	1.665	0.412	1.635	1.38	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	1.370	3.779	0.320	1.120	0.661	0.441	0.159	0.803	0.510	

**ตารางผนวกที่ 8** ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับคลอเรสเตรอลในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุกาคาเพอผู้ที่เกี่ยวข้องให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
M1	0.32	0.54	0.21	0.18	0.21	0.24	0.15	0.21	0.21	0.21
M2	0.24	0.45	0.09	0.15	0.15	0.21	0.15	0.21	0.21	0.01
M3	0.34	0.54	0.18	0.18	0.09	0.21	0.51	0.12	0.12	0.48
M4	0.50	0.35	0.30	0.24	0.09	0.27	0.30	0.30	0.30	0.18
ค่าต่ำสุด	0.24	0.35	0.09	0.15	0.09	0.21	0.15	0.12	0.12	0.01
ค่าสูงสุด	0.50	0.54	0.30	0.24	0.21	0.27	0.51	0.30	0.30	0.48
ค่าเฉลี่ย	0.350	0.470	0.195	0.187	0.135	0.232	0.277	0.210	0.210	0.220
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.109	0.090	0.086	0.037	0.057	0.028	0.170	0.073	0.073	0.194

**ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับลอเรสเทอร์รอดในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกุดำพศิมยที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อคอนซีเมนต์  
ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน**

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)								
	138	173	201	235	264	292	322	354	381
F1	0.71	0.17	0.93	0.39	0.81	0.75	0.33	1.65	1.79
F2	0.45	0.42	0.42	1.04	1.32	1.29	0.45	0.54	0.94
F3	0.63	0.59	0.54	1.33	0.57	0.87	0.51	1.32	1.34
F4	0.27	0.94	0.75	1.04	1.50	1.50	0.75	2.04	1.65
ค่าต่ำสุด	0.27	0.17	0.42	0.39	0.57	0.75	0.33	0.54	0.94
ค่าสูงสุด	0.71	0.94	0.93	1.33	1.50	1.50	0.75	2.04	1.79
ค่าเฉลี่ย	0.515	0.530	0.660	0.950	1.050	1.102	0.510	1.387	1.430
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.196	0.323	0.225	0.397	0.433	0.351	0.176	0.637	0.376

**ตารางผนวกที่ 10** ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนรวมในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกลตาตาเพศผู้เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
M1	342	108	54	36	48	39	42	123	96	
M2	225	216	36	72	15	45	30	108	102	
M3	360	207	135	69	84	30	156	132	132	
M4	291	255	39	48	48	39	60	114	114	
ค่าต่ำสุด	225	108	36	36	15	30	30	108	96	
ค่าสูงสุด	360	255	135	72	84	45	156	132	132	
ค่าเฉลี่ย	304.5	196.500	66.000	56.250	48.750	38.25	72.000	119.250	111.000	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	60.523	62.570	46.669	17.212	28.182	6.185	57.341	10.500	15.875	

**ตารางผนวกที่ 11** ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนรวมในน้ำเลือด (มก./มล.) ของกึ่งกลาคาเพคเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)								
	138	173	201	235	264	292	322	354	381
F1	144	252	57	84	126	156	105	135	81
F2	342	387	72	129	75	117	45	78	129
F3	297	342	72	114	60	135	144	36	48
F4	237	306	78	108	114	108	81	111	60
ค่าต่ำสุด	144	252	57	84	60	108	45	36	48
ค่าสูงสุด	342	387	78	129	126	156	144	135	129
ค่าเฉลี่ย	255.000	321.750	69.750	108.750	93.750	129.000	93.750	90.000	79.500
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	85.592	57.099	8.958	108.715	31.309	21.213	41.596	42.919	35.707

**ตารางผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมในน้ำเลือด (มก./ลบ.มม.) ของกึ่งกุกดาแพทย์ผู้เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์**

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
M1	8,025	20,550	13,650	7,050	37,000	21,150	8,400	25,050	10,875	
M2	3,375	56,1000	486,000	17,1000	29,000	7,500	27,000	21,900	16,200	
M3	12,000	396,000	165,000	255,000	45,000	4,425	27,900	11,775	10,800	
M4	33,200	58,800	58,900	250,000	37,000	45,000	52,000	78,000	49,000	
ค่าต่ำสุด	3,375	20,550	13,650	7,050	29,000	4,425	8,400	11,775	10,800	
ค่าสูงสุด	33,200	396,000	486,000	255,000	45,000	45,000	52,000	78,000	49,000	
ค่าเฉลี่ย	14,150	259,087	180,887	170,762	37,000	36,394	22,750	34,181	21,719	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	13,180.1	262,622.2	213,069.1	115,724.3	6,531.9	30,653.3	22,286.1	29,756.4	18,362.4	

**ตารางผนวกที่ 13** ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมในน้ำเลือด (มก./ลบ.มม.) ของกึ่งกลางค่าพหุคูณที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อ  
 ซึ่งเมตต์ภายใต้ระบบเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
F1	4,350	5,100	7,650	6,300	48,000	7,275	13,125	12,075	12,975	
F2	9,450	16,800	9,525	7,500	39,000	21,000	4,275	14,925	1,200	
F3	16,125	7,350	6,300	7,950	67,000	6,150	16,500	3,825	2,625	
F4	390,000	420,000	340,000	300,000	52,000	220,000	450,000	432,000	680,000	
ค่าต่ำสุด	4,350	5,100	6,300	6,300	39,000	6,150	4,275	3,825	1,200	
ค่าสูงสุด	390,000	420,000	340,000	300,000	67,000	220,000	450,000	432,000	680,000	
ค่าเฉลี่ย	104,981	112,313	90,869	80,438	51,500	63,606	120,975	115,706	183,106	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	19,0073.6	205,187.6	166,092.7	14,6376.6	11,676.1	104,480.8	219,410.5	210,915.0	331,329.5	

**ตารางผนวกที่ 14** ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (หน่วยนาทิ/มิลลิกรัมโปรตีนรวม) ในกึ่งฤดูจำเพาะผู้เลี้ยงให้  
เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

รหัสตัวอย่าง	อายุกุ้ง (วัน)								
	138	173	201	235	264	292	322	354	381
F1	15.57	15.05	26.94	19.06	25.68	18.09	16.70	15.05	11.64
F2	13.64	6.78	26.85	54.59	11.75	19.23	7.89	6.78	9.55
F3	15.23	12.65	29.09	34.98	9.75	11.54	18.97	5.24	12.07
F4	11.93	11.93	27.09	39.07	17.89	9.03	13.56	14.98	10.91
ค่าต่ำสุด	11.93	6.78	26.85	19.06	9.75	9.03	7.89	5.24	9.55
ค่าสูงสุด	15.57	15.05	29.09	54.59	25.68	19.23	18.97	15.05	12.07
ค่าเฉลี่ย	14.092	11.602	27.492	36.93	16.27	14.47	14.28	10.513	11.04
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	1.669	3.480	1.069	14.604	7.17	18.09	4.803	5.236	1.104

**ตารางผนวกที่ 15** ผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (หน่วย/นาที่/มิลลิกรัมโปรตีนรวม) ในกึ่งฤดูค่าเพศเมียที่เลี้ยงให้  
เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

รหัสตัวอย่าง	อายุกุ้ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
F1	21.57	5.24	17.23	56.49	12.28	9.20	6.80	7.94	7.14	
F2	15.67	7.94	27.29	22.58	10.33	8.28	9.06	12.66	15.48	
F3	10.36	9.90	20.30	34.39	11.74	12.24	8.69	9.97	13.45	
F4	17.02	8.90	21.71	33.2	11.13	11.92	7.1	10.90	9.09	
ค่าต่ำสุด	10.36	5.24	17.23	22.58	10.33	8.28	6.80	7.94	7.14	
ค่าสูงสุด	21.57	9.90	27.29	56.49	12.28	12.24	9.06	12.66	15.48	
ค่าเฉลี่ย	16.15	7.99	21.63	36.67	11.37	10.41	7.91	10.37	11.29	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	4.611	2.003	4.210	14.24	0.838	1.969	1.128	1.964	3.84	

ตารางผนวกที่ 16 ผลน้ำหนัก ของกึ่งกลางค่าพหุคูณที่เฉลี่ยให้เป็นพอมเม้นต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอดระยะเวลา 8 เดือน

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)								
	138	173	201	235	264	292	322	354	381
M1	25.02	26.94	32.01	39.05	45.08	46.27	50.38	60.38	65.64
M2	26.24	26.09	30.34	38.25	44.09	47.27	58.75	62.12	64.47
M3	24.08	25.82	29.30	43.37	43.24	45.31	49.92	58.75	60.00
M4	25.01	26.85	30.82	35.53	45.00	50.40	48.75	50.75	66.42
ค่าต่ำสุด	24.08	25.82	29.30	35.53	43.24	45.31	48.75	50.75	60.00
ค่าสูงสุด	26.24	26.94	32.01	43.37	45.08	50.40	58.75	62.12	66.42
ค่าเฉลี่ย	25.09	26.43	30.62	39.05	44.35	47.31	51.95	58.00	64.13
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.886	0.555	1.120	3.250	0.867	2.208	4.585	5.025	2.869

ตารางผนวกที่ 17 ผลของน้ำหนัก ของกึ่งกลางค่าเฉลี่ยที่เฉลี่ย ให้เป็นพ้อยเมนต์ภายในข้อสมมติภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำตลอด

รหัสตัวอย่าง	อายุกึ่ง (วัน)									
	138	173	201	235	264	292	322	354	381	
F1	27.03	27.28	28.00	52.64	45.90	55.30	55.50	56.75	78.87	
F2	28.05	27.22	38.00	52.30	47.03	51.12	63.76	66.50	79.07	
F3	26.11	30.30	34.15	24.80	48.88	45.50	59.12	68.20	67.02	
F4	26.54	24.34	34.07	50.87	50.24	56.39	57.21	73.90	70.30	
ค่าต่ำสุด	26.11	24.34	28.00	24.80	45.90	45.50	55.50	56.75	67.02	
ค่าสูงสุด	28.05	30.30	38.00	52.64	50.24	56.36	63.76	73.90	79.07	
ค่าเฉลี่ย	26.93	27.29	33.56	45.15	48.01	52.078	58.90	66.34	73.82	
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.833	2.435	4.13	13.59	1.927	4.938	3.563	7.132	6.102	

**ตารางผนวกที่ 18** การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับกลูโคสระหว่างกึ่งกลางค่าเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง

อายุกึ่ง 138 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	1.905	0.483	0.241	Equal	-0.492	6.0	0.640
Female	4	1.710	0.628	0.314	Unequal	-0.492	5.6	0.641

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.69$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.6766

อายุกึ่ง 173 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	1.140	0.485	0.242	Equal	2.140	6.0	0.076
Female	4	2.252	0.919	0.459	Unequal	2.140	4.6	0.091

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.58$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.3226

อายุกึ่ง 201 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.600	0.324	0.162	Equal	-0.392	6.0	0.708
Female	4	0.532	0.115	0.057	Unequal	-0.392	3.8	0.716

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 7.82$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.1251

อายุกึ่ง 235 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.370	0.165	0.082	Equal	2.283	6.0	0.062
Female	4	0.757	0.296	0.148	Unequal	2.283	4.7	0.075

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.21$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.3643

ตารางผนวกที่ 18 (ต่อ)

อายุกึ่ง 264 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.355	0.183	0.091	Equal	1.583	6.0	0.164
Female	4	0.555	0.174	0.087	Unequal	1.583	6.0	0.164

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.11$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.9362$

อายุกึ่ง 292 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.270	0.043	0.021	Equal	2.362	6.0	0.056
Female	4	0.600	0.276	0.138	Unequal	2.362	3.1	0.096

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 40.82$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0125$

อายุกึ่ง 322 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.367	0.208	0.104	Equal	0.9209	6.0	0.392
Female	4	0.507	0.221	0.110	Unequal	0.9209	6.0	0.392

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.13$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.9229$

อายุกึ่ง 354 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.450	0.201	0.100	Equal	1.9359	6.0	0.101
Female	4	0.737	0.217	0.108	Unequal	1.9359	6.0	0.101

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.16$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.9045$

ตารางผนวกที่ 18 (ต่อ)

อายุกึ่ง 381 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.305	0.212	0.106	Equal	1.0375	6.0	0.339
Female	4	0.435	0.133	0.066	Unequal	1.0375	5.0	0.346

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 2.55$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.4626

**ตารางผนวกที่ 19** การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับแลคเตอระหว่างกึ่งกลางค่าเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง

อายุกึ่ง 138 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.036	0.008	0.0049	Equal	0.369	6.0	0.724
Female	4	0.040	0.018	0.009	Unequal	0.369	4.1	0.730

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 5.09$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.2146$

อายุกึ่ง 173 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.035	0.003	0.002	Equal	0.101	6.0	0.923
Female	4	0.035	0.015	0.007	Unequal	0.1010	3.3	0.926

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 21.82$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0307$

อายุกึ่ง 201 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.032	0.007	0.003	Equal	-0.718	6.0	0.499
Female	4	0.026	0.014	0.007	Unequal	-0.718	4.5	0.508

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.79$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.3025$

อายุกึ่ง 235 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.038	0.007	0.003	Equal	-2.109	6.0	0.079
Female	4	0.027	0.008	0.003	Unequal	-2.109	6.0	0.080

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.09$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.9439$

## ตารางผนวกที่ 19 (ต่อ)

## อายุกึ่ง 264 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variiances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.032	0.008	0.004	Equal	-0.476	6.0	0.651
Female	4	0.030	0.006	0.003	Unequal	-0.476	5.4	0.653

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 2.01$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.5812

## อายุกึ่ง 292 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variiances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.029	0.011	0.005	Equal	0.240	6.0	0.818
Female	4	0.031	0.009	0.004	Unequal	0.240	5.9	0.818

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.33$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.8199

## อายุกึ่ง 322 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variiances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.031	0.013	0.006	Equal	-0.033	6.0	0.974
Female	4	0.031	0.026	0.013	Unequal	-0.033	4.4	0.974

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.97$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.2873

## อายุกึ่ง 354 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variiances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.034	0.024	0.012	Equal	-0.232	6.0	0.823
Female	4	0.031	0.006	0.003	Unequal	-0.232	3.4	0.829

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 15.62$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.0492

ตารางผนวกที่ 19 (ต่อ)

อายุกึ่ง 381 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.031	0.017	0.008	Equal	0.017	6.0	0.986
Female	4	0.0311	0.008	0.004	Unequal	0.017	4.5	0.986

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.86$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.2962

**ตารางผนวกที่ 20** การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับไตรกลีเซอไรด์ระหว่างกึ่งกลางค่าเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง

อายุกึ่ง 138 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.685	0.191	0.095	Equal	1.113	3.1	0.345
Female	4	1.455	1.370	0.685	Unequal	1.113	6.0	0.308

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 51.62$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0088$

อายุกึ่ง 173 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.555	0.030	0.015	Equal	2.191	6.0	0.071
Female	4	4.695	3.779	1.889	Unequal	2.190	3.0	0.116

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 9999.99$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0001$

อายุกึ่ง 201 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.563	0.577	0.288	Equal	1.615	6.0	0.158
Female	4	1.095	0.320	0.160	Unequal	1.615	4.7	0.172

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.25$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.3587$

อายุกึ่ง 235 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.210	0.060	0.030	Equal	3.172	3.0	0.050
Female	4	2.115	1.120	0.599	Unequal	3.172	6.0	0.019

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 399.75$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0004$

## ตารางผนวกที่ 20 (ต่อ)

## อายุกึ่ง 264 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.123	0.125	0.063	Equal	4.165	6.0	0.006
Female	4	1.523	0.661	0.330	Unequal	4.165	3.2	0.023

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 27.93$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0216$

## อายุกึ่ง 292 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.225	0.156	0.078	Equal	6.154	6.0	0.001
Female	4	1.665	0.441	0.221	Unequal	6.154	3.7	0.005

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 8.01$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.1212$

## อายุกึ่ง 322 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.170	0.114	0.057	Equal	2.467	6.0	0.048
Female	4	0.412	0.159	0.079	Unequal	2.467	5.5	0.053

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.93$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.6038$

## อายุกึ่ง 354 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.123	0.127	0.063	Equal	3.723	6.0	0.002
Female	4	1.635	0.803	0.401	Unequal	3.723	3.1	0.032

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 40.19$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0127$

ตารางผนวกที่ 20 (ต่อ)

อายุกึ่ง 381วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.200	0.211	0.106	Equal	4.278	6.0	0.005
Female	4	1.380	0.510	0.255	Unequal	4.278	4.0	0.013

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 5.83$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.1818

**ตารางผนวกที่ 21** การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับคลอเรสเตอรอลระหว่างกึ่งกลางค่าเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง

อายุกึ่ง 138 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.350	0.109	0.054	Equal	1.470	6.0	0.192
Female	4	0.515	0.196	0.098	Unequal	1.470	4.7	0.206

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.24$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.3596

อายุกึ่ง 173 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.470	0.090	0.045	Equal	0.357	6.0	0.733
Female	4	0.530	0.323	0.161	Unequal	0.357	3.5	0.741

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 12.74$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.0652

อายุกึ่ง 201 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.195	0.086	0.04330127	Equal	3.8451	6.0	0.0085
Female	4	0.660	0.225	0.11291590	Unequal	3.8451	3.9	0.0201

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 6.80$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.1497

อายุกึ่ง 235 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.187	0.037	0.01887459	Equal	3.8186	6.0	0.0088
Female	4	0.950	0.397	0.19878799	Unequal	3.8186	3.1	0.0309

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 110.92$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.0029

## ตารางผนวกที่ 21 (ต่อ)

## อายุกึ่ง 264 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.135	0.057	0.02872281	Equal	4.1862	6.0	0.0058
Female	4	1.050	0.433	0.21667949	Unequal	4.1862	3.1	0.0237

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 56.91$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.0077

## อายุกึ่ง 292 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.232	0.028	0.01436141	Equal	4.9284	6.0	0.0026
Female	4	1.102	0.351	0.17594388	Unequal	4.9284	3.0	0.0157

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 150.09$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.0018

## อายุกึ่ง 322 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.277	0.170	0.08518363	Equal	1.8948	6.0	0.1069
Female	4	0.510	0.176	0.08831761	Unequal	1.8948	6.0	0.1070

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.07$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.9540

## อายุกึ่ง 354 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.210	0.073	0.03674235	Equal	3.6724	6.0	0.0104
Female	4	1.387	0.637	0.31852198	Unequal	3.6724	3.1	0.0339

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 75.15$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.0051

ตารางผนวกที่ 21 (ต่อ)

อายุกึ่ง 381 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.220	0.194	0.09721111	Equal	5.7061	6.0	0.0013
Female	4	1.430	0.376	0.18845866	Unequal	5.7061	4.5	0.0035

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.76$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.3056

**ตารางผนวกที่ 22** การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณ โปรีดินรวมระหว่างกึ่งกลางค่าเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง

อายุกึ่ง 138 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	304.500	60.523	30.261	Equal	-0.944	6.0	0.381
Female	4	255.000	85.592	42.796	Unequal	-0.944	5.4	0.386

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 2.00$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.5836

อายุกึ่ง 173 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	196.500	62.570	31.285	Equal	2.957	6.0	0.025
Female	4	321.750	57.099	28.549	Unequal	2.957	6.0	0.026

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.20$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.8840

อายุกึ่ง 201 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	66.000	46.669	23.335	Equal	0.158	6.0	0.880
Female	4	69.750	8.958	4.479	Unequal	0.158	3.2	0.884

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 27.14$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.0225

อายุกึ่ง 235 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	56.250	17.212	8.606	Equal	4.130	6.0	0.0061
Female	4	108.750	18.715	9.357	Unequal	4.130	6.0	0.0063

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.18$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.8938

## ตารางผนวกที่ 22 (ต่อ)

## อายุกึ่ง 264 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	48.750	28.182	14.091	Equal	2.136	6.0	0.076
Female	4	93.750	31.309	15.6540	Unequal	2.136	5.9	0.077

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.23$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.8668$

## อายุกึ่ง 292 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	38.250	6.185	3.092	Equal	8.214	6.0	0.0002
Female	4	129.000	21.213	10.607	Unequal	8.214	3.5	0.003

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 11.76$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0727$

## อายุกึ่ง 322 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	72.000	57.341	28.670	Equal	0.614	6.0	0.562
Female	4	93.750	41.596	20.798	Unequal	0.614	5.5	0.564

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.90$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.611$

## อายุกึ่ง 354 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	119.250	10.500	5.250	Equal	-1.324	6.0	0.234
Female	4	90.000	42.918	21.459	Unequal	-1.324	3.4	0.267

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 16.71$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0448$

ตารางผนวกที่ 22 (ต่อ)

อายุกึ่ง 381 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	111.000	15.875	7.937	Equal	-1.612	6.0	0.158
Female	4	79.500	35.707	17.854	Unequal	-1.612	4.1	0.180

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 5.06$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.2160

**ตารางผนวกที่ 23** การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์เม็ดเลือดรวมระหว่างกึ่ง  
 กลาคำเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่ง  
 ปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง

อายุกึ่ง 138 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variiances	T	DF	Prob> T
Male	4	14150.000	13180.051	6590.025	Equal	0.953	6.0	0.377
Female	4	104981.250	190073.660	95036.830	Unequal	0.953	3.0	0.410

For  $H_0$ : Variiances are equal,  $F' = 207.97$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.0011

อายุกึ่ง 173 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variiances	T	DF	Prob> T
Male	4	259087.500	262622.296	131311.148	Equal	-0.880	6.0	0.412
Female	4	112312.500	205187.622	102593.811	Unequal	-0.880	5.7	0.414

For  $H_0$ : Variiances are equal,  $F' = 1.64$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.6950

อายุกึ่ง 201 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variiances	T	DF	Prob> T
Male	4	180887.500	213069.145	106534.572	Equal	-0.666	6.0	0.529
Female	4	90868.750	166092.764	83046.382	Unequal	-0.666	5.7	0.531

For  $H_0$ : Variiances are equal,  $F' = 1.65$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.6924

อายุกึ่ง 235 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variiances	T	DF	Prob> T
Male	4	170762.500	115724.351	57862.175	Equal	-0.968	6.0	0.370
Female	4	80437.500	146376.656	73188.328	Unequal	-0.968	5.7	0.372

For  $H_0$ : Variiances are equal,  $F' = 1.60$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.7088

## ตารางผนวกที่ 23 (ต่อ)

## อายุกึ่ง 264 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	37000.000	6531.972	3265.986	Equal	2.167	6.0	0.073
Female	4	51500.000	11676.186	5838.093	Unequal	2.167	4.7	0.086

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.20$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.3655$

## อายุกึ่ง 292 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	36393.750	30653.346	15326.673288	Equal	0.499	6.0	0.635
Female	4	63606.250	104480.824	52240.412174	Unequal	0.499	3.5	0.647

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 11.62$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0739$

## อายุกึ่ง 322 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	22750.000	22286.094	11143.047	Equal	0.890	6.0	0.407
Female	4	120975.000	219410.565	109705.282	Unequal	0.890	3.1	0.437

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 96.93$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0035$

## อายุกึ่ง 354 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	34181.250	29756.409	14878.204	Equal	0.765	6.0	0.473
Female	4	115706.250	210915.027	105457.513	Unequal	0.765	3.1	0.498

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 50.24$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0092$

ตารางผนวกที่ 23 (ต่อ)

อายุกึ่ง 381 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	21718.750	18362.363	9181.181	Equal	0.948	6.0	0.379
Female	4	180106.250	333419.559	166709.779	Unequal	0.948	3.0	0.412

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 329.70$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.0006

**ตารางผนวกที่ 24** การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ระหว่างกึ่งฤดูค่าเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง

อายุกึ่ง 138 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	14.092	1.669	0.834	Equal	0.841	6.0	0.433
Female	4	16.155	4.614	2.307	Unequal	0.841	3.8	0.451

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 7.64$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.1289$

อายุกึ่ง 173 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	11.602	3.480	1.740	Equal	-1.796	6.0	0.122
Female	4	7.995	2.003	1.002	Unequal	-1.796	4.8	0.135

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.02$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.3885$

อายุกึ่ง 201 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	27.492	1.069	0.534	Equal	-2.698	6.0	0.035
Female	4	21.632	4.209	2.104	Unequal	-2.698	3.4	0.066

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 15.49$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0498$

อายุกึ่ง 235 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.187	0.038	0.018	Equal	3.818	6.0	0.009
Female	4	0.950	0.397	0.198	Unequal	3.818	3.1	0.031

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 110.92$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0029$

## ตารางผนวกที่ 24 (ต่อ)

## อายุกึ่ง 264 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.135	0.057	0.028	Equal	4.186	6.0	0.006
Female	4	1.050	0.433	0.216	Unequal	4.186	3.1	0.027

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 56.91$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0077$

## อายุกึ่ง 292 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	1.102	0.351	0.175	Equal	4.928	3.0	0.016
Female	4	0.232	0.028	0.014	Unequal	4.928	6.0	0.003

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 150.09$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0018$

## อายุกึ่ง 322 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.277	0.170	0.085	Equal	1.894	6.0	0.106
Female	4	0.510	0.176	0.088	Unequal	1.894	6.0	0.107

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.07$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.9540$

## อายุกึ่ง 354 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	1.387	0.637	0.318	Equal	3.672	3.1	0.034
Female	4	0.210	0.073	0.036	Unequal	3.672	6.0	0.010

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 75.15$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0051$

ตารางผนวกที่ 24 (ต่อ)

อายุกึ่ง 381 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	0.220	0.194	0.0971	Equal	5.706	6.0	0.001
Female	4	1.430	0.376	0.188	Unequal	5.706	4.5	0.004

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 3.76$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.3056

**ตารางผนวกที่ 25** การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำหนักระหว่างกึ่งกลางค่าเพศผู้กับเพศเมียที่เลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ภายใต้ระบบกึ่งปิดหมุนเวียนน้ำของแต่ละช่วงเวลาทดลอง

อายุกึ่ง 138 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	25.087	0.885	0.442	Equal	-3.032	6.0	0.023
Female	4	26.932	0.834	0.417	Unequal	-3.032	6.0	0.023

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.13$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.9241$

อายุกึ่ง 173 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	26.425	0.555	0.277	Equal	-0.689	6.0	0.516
Female	4	27.285	2.433	1.216	Unequal	-0.689	3.3	0.536

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 19.23$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0368$

อายุกึ่ง 201 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	30.617	1.124	0.562	Equal	-1.371	6.0	0.219
Female	4	33.555	4.132	2.066	Unequal	-1.371	3.4	0.254

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 13.51$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0602$

อายุกึ่ง 235 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	39.050	3.250	1.625	Equal	-0.873	6.0	0.416
Female	4	45.152	13.589	6.794	Unequal	-0.873	3.3	0.441

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 17.48$  DF = (3,3) Prob> $F' = 0.0420$ For

## ตารางผนวกที่ 25 (ต่อ)

## อายุกึ่ง 264 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	44.352	0.867	0.433	Equal	-3.463	6.0	0.013
Female	4	48.012	1.927	0.963	Unequal	-3.463	4.2	0.024

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 4.94$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.222

## อายุกึ่ง 292 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	47.312	2.208	1.104	Equal	-1.761	6.0	0.128
Female	4	52.077	4.938	2.469	Unequal	-1.761	4.2	0.150

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 5.00$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.219

## อายุกึ่ง 322 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	51.950	4.584	2.292	Equal	-2.393	6.0	0.053
Female	4	58.897	3.562	1.781	Unequal	-2.393	5.7	0.056

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 1.66$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.6888

## อายุกึ่ง 354 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	58.000	5.025	2.512	Equal	-1.911	6.0	0.104
Female	4	66.337	7.132	3.566	Unequal	-1.911	5.4	0.110

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 2.01$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.579

ตารางผนวกที่ 25 (ต่อ)

อายุกึ่ง 381 วัน

SEX	N	Mean	StdDev	StdError	Variances	T	DF	Prob> T
Male	4	64.132	2.869	1.434	Equal	-2.872	6.0	0.028
Female	4	73.815	6.101	3.050	Unequal	-2.872	4.3	0.042

For  $H_0$ : Variances are equal,  $F' = 4.52$  DF = (3,3) Prob>F' = 0.24

## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายชัชวาล อินทมนตรี
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 24 มีนาคม 2513
สถานที่เกิด	จังหวัดพัทลุง
ประวัติการศึกษา	ระดับปริญญาตรี คณะประมง วิชาเอกชีววิทยาประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นักวิชาการประมงชำนาญการ
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง ต.พะวง อ.เมือง จ.สงขลา 90100
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	ผลงานวิชาการประมงดีเด่น สาขาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ชายฝั่ง ปี 2542
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-