บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แหล่งของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำที่นำมาเป็นพ่อแม่พันธุ์ในปัจจุบัน เป็นแม่กุ้งที่จับจากธรรมชาติที่มีการเจริญของรังไข่ระยะที่ 3 และ 4 หรือเป็นกุ้งที่นำมาเลี้ยงให้มีไข่แก่ในบ่อ โดยจะคัดเอากุ้งที่มีขนาด 60 กรัมขึ้นไป (ปิยะพงศ์ โชติพันธ์, 2528) พ่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากธรรมชาติที่มีขนาดเหมาะสมในการนำมาเพาะฟักคือ ขนาดประมาณ 90 – 200 กรัม (ไพฑูรย์ อรรฆยานนท์ และทวี จินดามัยกุล, 2540) แต่ Hall et al. (2000) รายงานว่ากุ้งเพศเมียที่มีน้ำหนักเกิน 150 กรัม เป็นกุ้งที่มีอายุมาก จะให้ไข่น้อยและตายง่าย

เรณู ยาชิโร และสมิง ทรงถาวรทวี (2539) รายงานว่ากุ้งกุลาดำอายุ 4 เดือน สามารถเลี้ยงให้เป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ในระยะเวลาเลี้ยงประมาณ 1 ปี โดยเลี้ยงแบบมีการย้ายบ่อและลดอัตราความหนาแน่นลงเมื่อกุ้งโตขึ้น ทวี จินดามัยกุล (2533) ได้ทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงให้มีไข่แก่ พบว่าแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงหรือบ่อดินสามารถเลี้ยงเป็นแม่พันธุ์ให้มีไข่แก่ได้ โดยแม่พันธุ์กุ้งอายุตั้งแต่ 12 เดือนขึ้นไป สามารถนำมาเลี้ยงให้มีไข่แก่ในบ่อได้เป็นอย่างดี แม่พันธุ์กุ้งขนาด 130 กรัม จากบ่อเลี้ยงให้ปริมาณไข่ 16,500 – 220,000 ฟอง แต่แม่พันธุ์ที่มีอายุน้อยจะให้ปริมาณไข่ และอัตราการฟักออกเป็นตัวต่ำกว่าแม่พันธุ์ที่มีอายุมาก (ศักดิ์ชัย โชติคุณ และคณะ, 2528) นอกจากนี้แม่พันธุ์กุ้งกุลาดำจากบ่อเลี้ยงอายุประมาณ 13 เดือน ยังสามารถเลี้ยงให้มีไข่แก่ได้โดยไม่ต้องตัดตาหรือบีบตา โดยการเลี้ยงให้ได้ขนาดความยาวและน้ำหนักที่เหมาะสม ด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปแล้วเสริมด้วยอาหารสดเป็นเนื้อหอยหรือปลาหมึก ในช่วงของการสืบพันธุ์ (สุพล ตั่นสุวรรณ, 2541) Primavera (1978) รายงานว่ากุ้งที่เลี้ยงในบ่อดินอายุ 5 เดือน สามารถเร่งให้เกิดการพัฒนาของรังไข่ได้แต่ไข่จะไม่ฟัก เฉพาะกุ้งที่มีน้ำหนักมากกว่า 100 กรัมขึ้นไป ถึงจะวางไข่และฟักออกเป็นตัวได้ คณิต ไชยาคำ และคณะ (2541) เลี้ยงกุ้งกุลาดำเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ในบ่อดินที่จังหวัดสตูล รายงานว่าสามารถผสมพันธุ์และวางไข่ได้เป็นอย่างดี สามารถผลิตลูกกุ้งกุลาดำอายุโพสลาวาที่ 20 ที่มีความแข็งแรงและทนทานใกล้เคียงกับลูกกุ้งกุลาดำที่เกิดจากแม่พันธุ์ธรรมชาติ

ปัจจัยที่มีผลต่อความสมบูรณ์เพศ

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อระบบสืบพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์กุ้งได้แก่ สิ่งแวดล้อม พันธุกรรม (Benzie, 1997) รวมทั้ง ระดับและชนิดของฮอร์โมน และสภาวะทางโภชนาการของพ่อแม่พันธุ์ (Millamena et al., 1986; Benzie, 1997; Naessens et al., 1997) และ Harrison, (1990) ระบุว่าปัจจัยทางอาหารเป็นปัจจัยสำคัญของการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ การผสมพันธุ์ คุณภาพของไข่และลูกกุ้ง

1. ปัจจัยสิ่งแวดล้อม

แสง ในธรรมชาติพ่อแม่กุ้งจะอยู่ในทะเลลึกที่มีปริมาณแสงน้อยและมีการส่องทะลุของแสงสีฟ้าและสีเขียวมากกว่าแสงในช่วงความยาวคลื่นชนิดอื่น(Jerlov,1970) ระดับแสงที่ลดลงทำให้การพัฒนาความสมบูรณ์เพศเร็วขึ้นในแม่กุ้งที่ตัดตาและไม่ตัดตา(Hillier, 1984) โดยช่วงเวลาที่ได้รับแสงประมาณ 19 ชั่วโมง จะทำให้การพัฒนาความสมบูรณ์เพศล้มเหลวในกุ้ง *P. monodon* ที่ไม่ได้ตัดตา (Beard and Wickins, 1980)

สมบูรณ์ หลาวประเสริฐ และพิทักษ์ พลขันธ์ (2527) รายงานการศึกษาการพัฒนาของรังไข่กุ้งที่เลี้ยงในบ่อกลางแจ้งและเลี้ยงในที่ร่ม พบว่ากุ้งที่เลี้ยงในบ่อกลางแจ้งมีการสร้างไข่ได้ดีกว่ากุ้งที่เลี้ยงอยู่ในร่ม ส่วนหนึ่งเนื่องมาจากปริมาณความเข้มแสงที่พอเหมาะจะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการพัฒนารังไข่ได้อีกทางหนึ่ง แต่การศึกษาของ Emmerson (1983) พบว่าในการพัฒนาของรังไข่กุ้งนั้น ระดับความเข้มของแสงต้องไม่มากเกินไป ถ้ากุ้งถูกเลี้ยงอยู่กลางแจ้งและได้รับความเข้มของแสงมากๆ การพัฒนาของรังไข่จะไม่ดี และการศึกษาของ Hillier (1984) พบว่าความเข้มของแสงที่ลดลง ประกอบกับการตัดก้านตาและน้ำที่มีความเค็มสูง พอเพียงที่จะชักนำให้แม่กุ้งที่สมบูรณ์เพศมีการพัฒนารังไข่ นำไปสู่การวางไข่ที่มีอัตราการฟักออกเป็นตัวสูง

Primavera and Caballero (1992) ศึกษาผลจากแสงธรรมชาติและแสงสีต่างๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาไข่ของกุ้งกุลาดำ รายงานว่าสีของแสงไม่มีผลต่อการกระตุ้นให้แม่กุ้งมีไข่แก่ นอกจากระดับความเข้มของแสงและระยะเวลาที่ได้รับแสง โดยแสงธรรมชาติจะดีที่สุด ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Caillouet (1972) ที่พบว่ากุ้ง *P. duorarum* ไม่สามารถพัฒนาความสมบูรณ์เพศได้ในบ่อที่มีแสงสีน้ำเงิน เขียว และขาว และ Pudadera and Primavera, (1981) ทดลองใน *P. monodon* ที่ไม่ได้ตัดตาสามารถพัฒนาความสมบูรณ์เพศได้บางส่วนในแสงสีน้ำเงินและแสงธรรมชาติ

อุณหภูมิ กุ้งแต่ละชนิดต้องการอุณหภูมิสำหรับการเจริญเติบโตแตกต่างกันไป โดยทั่วไปแล้วกุ้งจะโตเร็ว ถ้าอุณหภูมิสูง แต่ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปกุ้งก็จะตาย เช่นกุ้ง *P. japonicus* จะตายที่อุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส (Kurata, 1975 อ้างถึงใน บรรจง เทียนส่งรัศมี, 2521)

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการพัฒนาความสมบูรณ์เพศ อยู่ในช่วง 26 – 32 องศาเซลเซียสในเขต Tropical และ 16 – 28 องศาเซลเซียสในเขต Subtropical เช่น กุ้ง *P. japonicus* จะเริ่มพัฒนาความสมบูรณ์เพศที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส (Kanazawa, 1982) Crocos and Kerr (1986) ได้ศึกษาปัจจัยภายนอกต่อการวางไข่ของกุ้ง *P. esculentus* พบว่าการพัฒนาการของรังไข่จะไม่เกิดขึ้น ถ้าเลี้ยงแม่พันธุ์กุ้งในน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส แต่จะพัฒนาได้ดีที่ระดับอุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส และในแม่กุ้งที่ไม่ตัดตา การวางไข่ และจำนวนลูกต่อการวางไข่ จะสูงขึ้นที่อุณหภูมิประมาณ 24 – 26 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบกับแม่กุ้งที่เลี้ยงที่ 20 องศาเซลเซียส (Laubier-Bonichon and Laubier, 1979 cited after Primavera, 1984)

ความเค็ม ความเค็มของน้ำมีส่วนสำคัญในการดำรงชีพของกุ้ง ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการปรับสมดุลของน้ำและเกลือแร่ภายในร่างกาย (osmoregulation) โดยความเค็มจะประกอบด้วยอนุภาคเล็กๆ ของเกลือหลายชนิด เกลือแร่ที่มีมากคือ โปแตสเซียม โซเดียม แมกนีเซียม แคลเซียม และคลอไรด์ ซึ่งเกลือแร่ต่างๆเหล่านี้ จะเป็นตัวที่กุ้งนำเข้าไปในร่างกายและใช้เป็นโครงสร้างของร่างกายภายนอก แต่น้ำกร่อยและน้ำจืดซึ่งมีความเค็มต่ำกว่าน้ำทะเล จะมีความเข้มข้นของเกลือแร่ต่างๆเหล่านี้ลดลง

โดยปกติ กุ้งทุกชนิดในสกุล *Penaeus* ซึ่งเป็นสัตว์ในกลุ่ม euryhaline จะมีการปรับสมดุลของน้ำและเกลือแร่ภายในร่างกายตามความเค็มของน้ำทะเลได้ในช่วงกว้าง (Anggoro and Prayitno, 1999) สาเหตุที่ไม่ค่อยพบกุ้งกุลาดำตัวเต็มวัยหรือกุ้งที่สมบูรณ์เพศ ในบริเวณน้ำกร่อยแถวชายฝั่ง เป็นเพราะกุ้งตัวเต็มวัยปรับสภาพความเข้มข้นของน้ำและเกลือแร่ภายในร่างกายได้น้อยกว่ากุ้งวัยรุ่น แต่การที่กุ้งเคลื่อนที่ออกสู่ทะเลลึก เมื่อเริ่มถึงวัยเจริญพันธุ์นั้น ยังมีเหตุผลอื่นๆ นอกเหนือไปจากปัญหาในเรื่องการปรับสมดุลเช่น เพื่อการพัฒนาการของไข่ เพื่อการวางไข่และเพื่อการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะแรก เพราะในทะเลลึกที่มีความเค็มสูง จะส่งผลในด้านนี้มากกว่าที่ระดับความเค็มต่ำ (Albores and Ochoa, 1992)

กุ้งกุลาดำแม้ว่าจะสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในความเค็มระหว่าง 5 – 40 ppt ก็ตาม แต่กุ้งจะโตช้าลง เมื่อน้ำนั้นมีความเค็มสูงกว่า 36 ppt (บรรจง เทียนส่งรัศมี, 2521)

Hillier (1984) รายงานว่าการตัดก้านตาและความเค็มของน้ำสูงๆ จะชักนำให้แม่กุ้งกุลาดำมีไข่แก่ได้เร็ว แต่ที่ระดับความเค็ม 18 ppt กุ้งจะไม่ค่อยวางไข่และไข่พัฒนาได้เพียงระยะที่

3 (late vitellogenic) ที่ระดับ 30 และ 35 ppt จะมีการพัฒนาการของรังไข่ได้ดีกว่าที่ระดับ 25 ppt และที่ระดับความเค็ม 30 - 31 ppt พบว่าแม่กุ้งมีไข่แก่ 60 เปอร์เซ็นต์ (สุพล ตั่นสุวรรณ และนิเวศน์ เรืองพานิช, 2541) สอดคล้องกับการศึกษาของ สิทธิโชค จันทร์ย่อง (2545) ที่พบว่าแม่กุ้งที่ได้รับการผสมพันธุ์ด้วยวิธีการผสมเทียม และเลี้ยงในน้ำเค็ม 10 ppt พัฒนารังไข่ไม่ถึงระยะที่ 4 แต่แม่กุ้งที่เลี้ยงในน้ำเค็ม 20 และ 30 ppt สามารถพัฒนาไข่จนถึงระยะที่ 4 โดยวางไข่ได้ 43.6 และ 50.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยแม่พันธุ์ที่เลี้ยงในความเค็ม 20 ppt วางไข่ได้ดีแต่ไม่ฟักเป็นนอเพลียส ขณะที่ในความเค็ม 30 ppt สามารถฟักออกเป็นนอเพลียสได้และการศึกษาของ Yano (1984) ในกุ้ง *P. japonicus* ที่ระดับความเค็ม 32 – 34 ppt พบว่าหลังจากกุ้งวางไข่ไปแล้ว 1 เดือน กุ้งจะพัฒนารังไข่อยู่ที่ระยะที่ 2 (early vitellogenic) เท่านั้น ซึ่งถ้าน้ำมีความเค็มมากหรือน้อยเกินไป กุ้งจะมีปัญหาในเรื่องการปรับสมดุลของเกลือในร่างกาย ทำให้รังไข่ไม่พัฒนาหรือไม่เจริญเติบโต (สุพล ตั่นสุวรรณ และนิเวศน์ เรืองพานิช, 2541)

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งควรอยู่ระหว่าง 7.8 – 8.3 ในน้ำทะเลที่มี organic carbon น้อยกว่า 10 – 12 mg/L ทั้งนี้กุ้งจะโตช้าลงและมีอัตราการตายสูง ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำต่ำกว่า 6.4 และถ้าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำต่ำกว่า 5.0 อัตราการตายของกุ้งจะสูงยิ่งขึ้น

ออกซิเจน ออกซิเจนในบ่อจะขึ้นกับอุณหภูมิ อินทรียสาร และแพลงก์ตอนพืชในบ่อ การรักษาปริมาณออกซิเจนในบ่อให้เพียงพอสำหรับกุ้งเป็นสิ่งจำเป็น ตามปรกติแล้วน้ำในบ่อที่เลี้ยงกุ้งไม่ควรจะมีออกซิเจนต่ำกว่า 3 mg/L ซึ่งจะส่งผลให้กุ้งไม่กินอาหารและเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร

แอมโมเนีย แอมโมเนียในบ่อนั้นมีอยู่ในรูปของแอมโมเนีย (NH_3) และในรูปของแอมโมเนียมไอออน (NH^+_4) โดยปรกติแล้วแอมโมเนียมไอออนนั้นไม่เป็นพิษต่อกุ้ง เพราะไม่สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ได้ โดยแอมโมเนียในน้ำจะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความเป็นกรดเป็นด่าง ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำสูงขึ้น แอมโมเนียจะมีประมาณเพิ่มมากขึ้น เช่น ปริมาณแอมโมเนียในน้ำจะเพิ่มขึ้นเป็น 10 เท่า ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างเพิ่มขึ้นจาก 7 เป็น 8

โดยแอมโมเนียที่กุ้งขับออกจะมีปริมาณมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับขนาดของกุ้ง กุ้งขนาดเล็กจะขับแอมโมเนียออกในปริมาณที่สูงกว่ากุ้งขนาดใหญ่ ปริมาณของแอมโมเนียในบ่อกุ้งไม่ควรสูงกว่า 0.10 mg/L (บรรจง,2521)

2. ฮอร์โมน

กุ้งกุลาดำมีอวัยวะที่สร้างฮอร์โมนเรียกว่า X-organ เป็นกลุ่มเซลล์ประสาท (neurosecretory cells) บริเวณสมองหรือก้านตา ทำหน้าที่สร้างฮอร์โมนที่ยับยั้งการลอกคราบ (Molt-Inhibiting Hormone: MIH) และสร้างฮอร์โมนเพศประเภทยับยั้งการเจริญของอวัยวะสืบพันธุ์ (Gonad- Inhibiting Hormone: GIH) โดยจะยับยั้งการเจริญเติบโตของรังไข่ในกุ้งเพศเมีย ดังนั้นถ้าทำลายฮอร์โมนชนิดนี้ก็จะเร่งให้อวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์เจริญเติบโตได้ดี ปัจจุบันใช้วิธีบีบก้านตาของกุ้งกุลาดำเพศเมียเพื่อทำลายเซลล์สร้างฮอร์โมนนี้ ทำให้ไข่แก่เร็วกว่าปกติ นอกจากนี้ยังพบว่า X-organ สร้างฮอร์โมนกระตุ้นการทำงานของอวัยวะสืบพันธุ์ (Gonad Stimulating Hormone-MSH) อีกด้วย (บพิธ จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์, 2540)

เรณู ยาชิโร และคณะ (2535) ทดลองโดยใช้ 17-อัลฟาไฮดรอกซี่โปรเจสเตอโรน (17-α HP) Puberogen(PBG) และปมประสาทส่วนอกของกุ้งกุลาดำที่กำลังพัฒนารังไข่ระยะที่ 2 (TG) ฝังและฉีดให้แม่กุ้งกุลาดำจากทะเลอันดามัน พบว่ากุ้งที่ฉีด 17-αHP และฝัง TG สามารถพัฒนารังไข่ได้ แต่ใน PBG ไม่สามารถพัฒนารังไข่ได้ แสดงว่า Puberogen อาจไม่เหมาะสมในการเร่งการพัฒนารังไข่

3. ปัจจัยทางโภชนาการ

อาหารที่ใช้เลี้ยงพ่อแม่พันธุ์กุ้งจะมีผลต่อคุณภาพของไข่และตัวอ่อน ถ้าอาหารที่ใช้มีคุณภาพสูงก็จะทำให้ตัวอ่อนมีคุณภาพสูงด้วย เพราะลูกกุ้งต้องใช้อาหารจากถุงไข่แดงตั้งแต่เป็นตัวอ่อนจนกระทั่งฟักเป็นตัวระยะนอเพลียนไปจะกระทั่งระยะซูเอีย (Hall et al., 2000) โดยหากคุณภาพของอาหารที่ให้แม่กุ้งในระยะเร่งให้ไข่แก่มีคุณภาพต่ำ จะส่งผลให้รังไข่จะหยุดเจริญและสลายตัวไปในที่สุด แม้ว่ารังไข่จะเจริญถึงระยะที่ 1 หรือ 2 แล้วก็ตาม (บรรจง เทียนส่งรัศมี, 2533)

น้ำหนักของรังไข่ที่สมบูรณ์เพศสามารถเพิ่มขึ้น 4 – 9 เท่า ในเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ และเมื่อได้รับสารอาหารเพียงพอก็จะสะสมในไข่แดง ซึ่งจะส่งเสริมให้การพัฒนาของ ตัวอ่อนและ pre-feeding larvae เป็นปกติ (Ravid et al., 1999) โดยหากได้รับสารอาหารที่ไม่สมดุลหรือไม่เพียงพอจะเป็นสาเหตุให้ความสมบูรณ์เพศลดลงหรือหยุดการพัฒนา(Bray and Lawrence, 1992)

คาร์โบไฮเดรต คาร์โบไฮเดรตไม่มีความสำคัญต่อพ่อแม่พันธุ์กุ้ง แม้ว่าจะเป็นแหล่งพลังงาน โดยส่วนมากจะใช้แป้งในการทำอาหาร คาร์โบไฮเดรตเป็นสารเหนียวที่ดีที่สุดในการสร้างอาหาร (Deshimaru and Yone, 1978)

โปรตีน ความต้องการโปรตีนจะสูงขึ้นเมื่อกุ้งมีความสมบูรณ์เพศหรือมีการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ (Harrison, 1990) โดยอาหารทดลองส่วนมากจะมีระดับโปรตีนประมาณ 50% ซึ่งน้อยกว่าระดับโปรตีนที่พบในอาหารธรรมชาติ (Wouters et al., 2001c)

ในสภาพที่ไม่มีอาหารธรรมชาติควรเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่มีโปรตีน 40-50% สำหรับกุ้งวัยอ่อน(Lee,1971) 45-50% สำหรับกุ้งวัยรุ่นถึงโตเต็มวัย(Alava and Lim, 1983) และ 50-55% สำหรับพ่อแม่กุ้ง (Millamena et al, 1986) นอกจากนี้ มีรายงานว่าเนื้อปลาหมึก เนื้อกุ้ง และเนื้อหอยทะเลมีกรดอะมิโนชนิดจำเป็นครบถ้วนเพียงพอกับความต้องการของกุ้ง(Deshimaru, 1982)

Palacios et al. (2000) สังเกตความแตกต่างของระดับโปรตีนในตับและรังไข่ ระหว่างกุ้งตัวเมียที่มีความสมบูรณ์เพศดีกับกุ้งที่มีความสมบูรณ์เพศปานกลางของแม่พันธุ์ *L.vannamei* ในธรรมชาติ โดยโปรตีนที่ประกอบในตับและรังไข่ของแม่กุ้งที่สมบูรณ์เพศดีมีปริมาณสูงมากกว่าและแม่กุ้งจะไม่วางไข่เมื่อมีระดับโปรตีนในเนื้อเยื่อน้อย

วิตามินและแร่ธาตุ วิตามินมีหน้าที่สังเคราะห์กระบวนการเผาผลาญสารอาหารในร่างกายกุ้ง และมีบทบาทในการดูดซึมสารอาหาร หากขาดวิตามินกระบวนการต่างๆที่มีผลต่อการสร้างพลังงาน การเจริญเติบโต ระบบสืบพันธุ์ หรือระบบภูมิคุ้มกันก็อาจทำงานได้ไม่สมบูรณ์

วิตามินที่ละลายในไขมันได้แก่ A, D และE มีส่วนช่วยในการเติบโตของกุ้ง (He et al., 1992) วิตามิน E มีส่วนส่งเสริมให้จำนวนสเปิร์มปกติและอัตราการสมบูรณ์เพศของ *L. setiferus* สูงขึ้น (Chamberlain, 1988 cited after Wouters et al., 2001c)

Chen (1993) รายงานความต้องการของวิตามิน บี1 บี2 ไนอาซีน และวิตามินซี ในกุ้งกุลาดำที่ต้องการในการดำรงชีวิตคือ 14, 22.5, 6.4 และ2,000 – 2,500 mg/kg ตามลำดับ และวิตามินบี12 ต้องการ 0.2 mg/kg (Shiau and Lung, 1993)

ความสำคัญของเกลือแร่หลักที่มีต่อกุ้ง ดังนี้คือ

<u>โซเดียม</u> จะอยู่ในกล้ามเนื้อประมาณ 80 – 90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นจะพบอยู่ในเลือด กุ้งกุลาดำต้องการโซเดียมสูงขึ้นเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ เพราะต้องนำมาใช้เสริมสร้างความสมบูรณ์ของอวัยวะเพศเพื่อการผสมพันธุ์ โซเดียมจะทำหน้าที่ในการควบคุมสมดุลของเกลือแร่ในตัวกุ้ง (osmotic pressure) ร่วมกับโปแตสเซียม รักษาสมดุลของความเป็นกรดเป็นด่างในตัวกุ้ง และยัง

เป็นส่วนเสริมสร้างการทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาท ถ้าหากมีโซเดียมน้อยเกินไป จะทำให้กุ้งเจริญเติบโตช้าลง เพราะกุ้งจะกินอาหารได้น้อยและใช้ประโยชน์จากโปรตีนลดลง การขาดโซเดียมในกุ้งจะทำให้มีปัญหาเกี่ยวกับการผสมพันธุ์ เนื่องจากอวัยวะเพศจะสมบูรณ์ช้ากว่าปกติ

<u>โปแตสเซียม</u> จะพบอยู่ในเลือดและเซลล์ทั่วไป กุ้งจะมีความต้องการโปแตสเซียมสูง เมื่ออยู่ในระยะที่กำลังสร้างเซลล์เนื้อเยื่อใหม่ๆ เช่น ในระยะที่กุ้งกำลังเจริญเติบโต หน้าที่สำคัญของโปแตสเซียมคือ การรักษาสมดุลของอนุภาคภายในร่างกาย โดยควบคุมการเข้าออกของสารและน้ำภายในเซลล์ ช่วยรักษาความสมดุลของความเป็นกรดเป็นด่างภายในตัว ช่วยกระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อและระบบประสาทและควบคุมการเต้นของหัวใจ

<u>แคลเซียม</u> เป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญของตัวกุ้ง คือเป็นส่วนของโครงสร้างเปลือก โดยปกติแคลเซียมจะสะสมอยู่ในตับ และในเลือด ทำหน้าที่เกี่ยวกับขบวนการเผาผลาญอาหารภายในร่างกาย (metabolism) เกี่ยวกับหัวใจ การแข็งตัวของเลือด ระบบกล้ามเนื้อและระบบประสาท

<u>แมกนีเซียม</u> จะอยู่ในโครงสร้างของร่างกายประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นจะอยู่ในเลือดและเนื้อเยื่อ หน้าที่สำคัญคือการกระตุ้นเอนไซม์หรือน้ำย่อยต่างๆ ให้มีประสิทธิภาพในการทำงานสูงขึ้น ถ้ามีมากเกินไปจะทำให้หัวใจเต้นช้าลง ปกติปริมาณของแมกนีเซียมในเลือดจะค่าต่ำกว่าในน้ำ โดยกุ้งจะขับแมกนีเซียมออกจากร่างกายเพื่อรักษาปริมาณในเลือดให้อยู่ในระดับต่ำกว่าในน้ำ

<u>คลอไรด์</u> เป็นแร่ธาตุที่อยู่ในรูปของเหลวทั้งภายในและภายนอกเซลล์ของกุ้ง มีหน้าที่รักษาความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำย่อย และรักษาระดับของแรงดันออสโมติก และเป็นตัวควบคุมการเข้าออกของสารและน้ำภายในเซลล์ของตัวกุ้ง

ไขมัน ไขมันเป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ มีหน้าที่เป็นโครงสร้างเนื้อเยื่อเซลล์ (biomembrane) เป็นแหล่งพลังงานของร่างกาย รวมทั้งเป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญ เช่น Highly unsaturated fatty acids (HUFA), phospholipids, sterols และพลังงาน ที่จำเป็นสำหรับกุ้งทะเล (Kanazawa et al.,1977) โดยอนุพันธ์ของไขมันมีบทบาทต่อระบบสรีรวิทยาของร่างกายอย่างมาก เช่น ช่วยในการดูดซึมวิตามินที่ละลายในไขมัน และองค์ประกอบของฮอร์โมนบางชนิด เช่น พรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) และสเตอรอยด์(steroid) เป็นต้น โดย Crustaceans มีความสามารถจำกัดในการสังเคราะห์ HUFA (Mourente, 1996) และไม่สามารถสังเคราะห์ sterols (Kanazawa et al., 1988)

ความสมบูรณ์เพศของแม่กุ้งมีความสัมพันธ์กับระดับและชนิดของกรดไขมัน (Harrison,1997) ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Millamena et al.(1993) ที่พบว่าไขมันมีประโยชน์ต่อการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์และการวางไข่ โดยความต้องการไขมันของแม่กุ้งธรรมชาติก่อนถึงวัยเจริญพันธุ์มีความต้องการไขมันเพิ่มขึ้น จาก 5.8 เป็น 17.0 % และจาก 7.5 เป็น 21.9 % ในกุ้งที่ไม่ตัดตาตามลำดับ (ประจวบ , 2543) โดยไขมันจะเข้าสู่กระบวนการ reesterification เพื่อสร้างเป็นไข่แดงในไข่ (Marsden et al., 1997)

ไขมันรวม

จากการศึกษาอาหารทดลองจะพบว่าระดับไขมันรวม ที่ใช้ในการทดลองส่วนมากจะอยู่ที่ประมาณ 10% แม้ในการทดลองบางครั้งจะมีระดับไขมันรวม เท่ากับหรือสูงกว่า 14% จากการรวบรวมข้อมูลของ Wouters et al. (2001c) อาหารที่มีระดับไขมันรวมจะสูงมาก อาจจะมีอิทธิพลต่ออัตราการย่อย โดยเมื่อกุ้งได้รับไขมันรวมสูง จะทำให้กุ้งได้รับพลังงานเพียงพอเมื่อกินไปเล็กน้อย (Aranyakananda and Lawrence, 1994 cited after Wouters et al., 2001c) ทำให้อาจจะขาดสารอาหารที่จำเป็นตัวอื่น(D' Abramo, 1997) โดยอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งควรมีไขมัน 5-10% (Bautista,1986)หรือ 11.7%(Mendoza, 1982) สำหรับกุ้งวัยรุ่น และ 12%(Millamena et al, 1986) สำหรับพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ New (1976) ที่พบว่าปริมาณไขมัน ที่มีความเหมาะสมขั้นต่ำของการเจริญเติบโตของกุ้งต้องมีมากกว่า 10 %

การศึกษาของ Bray et al. (1990) ใน *Litopenaeus stylirostris* โดยให้อาหารที่มีไขมันรวม 3 ระดับคือ 7.8% ,11.1% และ 13.9% ความยาวของนอเพลียสและซูเอียสูงมากในอาหารที่มีระดับไขมันรวม 11.1% โดยอาหารที่ให้จะเป็นหมึก 40% และอาหารทดลอง 60% และในไขมันรวม 11.1% จะได้รับไขมันรวม 10.1% จากอาหารทดลอง

ขั้นตอนแรกในการทำงานของกระบวนการ lipid metabolism จะเริ่มจากการขนส่งไขมันจากตับไปสู่รังไข่โดยผ่านทางเลือด ในการทดลอง *P. japonicus* (Teshima et al., 1988 cited after Wouters et al., 2001b) ใน Penaeid การสะสม total lipid ในรังไข่จะสูงขึ้น เมื่อการสะสม total lipid ในตับลดลง เนื่องจาก total lipid จะถูกส่งไปยังรังไข่ (Wouters et al., 1999)

lipid class

ในการศึกษาทางด้านเคมีชีวภาพของกุ้งธรรมชาติพบ phospholipids, triacylglycerides (TAG)และคลอเรสเตอรอล มากในรังไข่ที่สมบูรณ์เพศ (Wouters et al., 2001c) โดย TAG ที่พบในไข่ จะเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในไข่ และส่งเสริมกระบวนการ embryogenesis การฟักไข่และ

การพัฒนาในนอเพลียส โดย TAG จะมีความสำคัญต่อระบบสืบพันธุ์และคุณภาพของไข่จากการศึกษาของ Palacios et al.(1998)

การศึกษาของ Ravid et al. (1999) พบการเพิ่มขึ้นของ TAG ในรังไข่จาก 1.09% ถึง 39.65% ใน *P.semisulcatus* ซึ่งสอดคล้องกับ การศึกษาของ Wouters et al. (1999) ว่าระดับของ TAG เพิ่มขึ้นจาก 8.30% ถึง 33.81% ในรังไข่ของ *L.vannamei* จากนั้นลดลงเหลือ 20.6% เมื่อกุ้งวางไข่ และพบ 33.5% ในนอเพลียส

อาหารที่ประกอบด้วย Phospholipids จะมีอิทธิพลต่อไข่ของ *L.vannamei* สอดคล้องกับการศึกษาของ Cahu et al.(1994) โดยให้อาหารที่ประกอบด้วย Phospholipids สูงกว่า 2% จะพบ 50% ของ total egg lipid จาก Phospholipids และจะมีความถี่ของการวางไข่และความดกไข่สูง และจากการศึกษาของ Bray et al. (1990) พบว่า พ่อแม่พันธุ์มีความต้องการ phospholipids ในอาหาร โดยจำนวนนอเพลียส การฟักไข่และสเปิร์มของพ่อแม่พันธุ์ *L. stylirostris* ได้รับการส่งเสริมจากอาหารที่ประกอบด้วย 1.5% soybean lecithin

การศึกษาของ Alava et al. (1993) พบว่ารังไข่ที่สมบูรณ์เพศของ *P. japonicus* จะพัฒนาช้าเมื่อได้รับอาหารที่ปราศจาก Phospholipids ซึ่งจะพบ Phospholipids มากในรังไข่ของกุ้ง โดยตัวที่พบมากคือ phosphatidylcholine และ phosphatidylethanolamine (Wouters et al., 1999)

กุ้งไม่มีเอนไซม์ช่วยในการสังเคราะห์คลอเรสเตอรอลจากกรดอะซีติกและเมวาโลนิก (Teshima and Kanasawa, 1971) จึงจำเป็นต้องได้รับคลอเรสเตอรอลจากอาหารเป็นประจำ เพราะคลอเรสเตอรอลมีบทบาทสำคัญในร่างกายหลายประการ โดยเกี่ยวข้องในการสร้างเซลล์ใหม่ น้ำดี วิตามินดี ฮอร์โมนเพศ ฮอร์โมนควบคุมการลอกคราบ การเจริญเติบโต ระบบสืบพันธุ์และความสมบูรณ์เพศ ตามปกติกุ้งได้รับคลอเรสเตอรอล จากอาหารธรรมชาติได้แก่ หมึก และหอย (Kanazawa et al., 1988) เช่น กุ้งลายเสือต้องการคลอเรสเตอรอลในอาหารตั้งแต่ 0.5% (Kanasawa et al,1971) ถึงเกือบ 2% (Deshimaru and Kuroki,1974)

<u>fatty acid</u>

กรดไขมันจัดเป็นกรดคาร์บอกซิลิค(carboxylic acid) ที่มีหมู่ –COOH เพียงหมู่เดียวต่อกับไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) สายยาวตรง กรดไขมันที่พบในธรรมชาติ มักมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นจำนวนคู่ และมักพบในรูปกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) เล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่พบในรูปที่ละลายในไขมัน (saponifiable lipid) กรดไขมันในพืชและสัตว์ทั่วไปมีคาร์บอนระหว่าง 14 - 18 อะตอม แต่ในปลาอาจพบคาร์บอนมากถึง 22 อะตอม (lovell, 1989)

กรดไขมันสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

1. กรดไขมันที่อิ่มตัว (saturated fatty acid)

หมายถึง กรดไขมันที่มีพันธะเดี่ยว ทำให้คาร์บอนในโมเลกุลจับกับไฮโดรเจนเต็มที่ แล้วไม่สามารถจับกับไฮโดรเจนเพิ่มได้อีก กรดไขมันที่อิ่มตัวเมื่อมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเพิ่มขึ้น จะมีจุดหลอมเหลวสูงขึ้น ทำให้เป็นสาเหตุที่สัตว์น้ำย่อยกรดไขมันที่อิ่มตัวได้ไม่ดี และสัมประสิทธิ์การย่อยมีค่าต่ำลง กรดไขมันที่อิ่มตัวส่วนใหญ่จะพบในไขมันหรือน้ำมันจากสัตว์ เช่น น้ำมันวัว น้ำมันหมู เป็นต้น ซึ่งจะมีสภาพเป็นไขหรือแข็งตัวเมื่ออุณหภูมิต่ำลง

2. กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid)

หมายถึง กรดไขมันที่มีพันธะคู่ ทำให้คาร์บอนในโมเลกุลสามารถจับกับไฮโดรเจนเพิ่มได้อีก กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนพันธะคู่เพิ่มขึ้นจะมีจุดหลอมเหลวต่ำลง ทำให้สัตว์น้ำสามารถย่อยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวได้ดีและมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยสูงขึ้น เพราะสัตว์น้ำเป็นสัตว์เลือดเย็นมีอุณหภูมิร่างกายเท่ากับอุณหภูมิน้ำ จึงสามารถย่อยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวซึ่งอยู่ในสภาพของเหลวได้ดี กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวมักพบทั้งในน้ำมันพืช (ยกเว้นน้ำมันมะพร้าว) เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำ น้ำมันข้าวโพด เป็นต้น และน้ำมันจากสัตว์น้ำ เช่น น้ำมันตับปลา น้ำมันปลาหมึก และน้ำมันปลา เป็นต้น

กรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูงที่พบแพร่หลายในองค์ประกอบเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำมีอยู่ 3 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มสามารถสร้างหรือสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่นได้จากสารตั้งต้นโดยการเติมคาร์บอน (elongation) และการเติมพันธะคู่ (desaturation) กรดไขมัน 3 กลุ่มนั้น ได้แก่

1. กลุ่มกรดโอเลอิค (oleic acid series) หรือกลุ่มโอเมกา-9 (*n*-9 หรือ ω-9) กรดไขมันกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็น 18:1 *n* 9 ซึ่งจะนำมาใช้สังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่นๆ เช่น 18:2 *n* 9, 20:1 *n* 9, 20:2 *n* 9 เป็นต้น

2. กลุ่มกรดไลโนเลอิค (linoleic acid series) หรือกลุ่มโอเมกา –6 (*n*-6 หรือ ω-6) กรดไขมันกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็น 18:2 *n* 6 ซึ่งจะนำมาใช้สังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่น เช่น 18:3 *n* 6, 20:3 *n* 6, 20:4 *n* 6 เป็นต้น กรดไขมันเหล่านี้ส่วนใหญ่จะพบมากในน้ำมันจากพืช

3. กลุ่มกรดไลโนเลนิค (linolenic acid series) หรือกลุ่มโอเมกา-3 (*n*-3 หรือ ω-3) กรดไขมันกลุ่มนี้มีสารประกอบตั้งต้นเป็น 18:3 n3 ซึ่งจะนำมาใช้สังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่นๆ เช่น 18:4 *n* 3, 20:3 *n* 3, 20:4 *n* 3, 20:5 *n* 3, 22:5 *n* 3 เป็นต้น กรดไขมันเหล่านี้ส่วนใหญ่พบมากในน้ำมันจากสัตว์น้ำ

สัตว์น้ำต้องการกรดไขมันชนิดจำเป็นสำหรับใช้ในการสร้างฟอสโฟลิปิดในเนื้อเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อทำหน้าที่ให้ความยืดหยุ่น และการควบคุมการซึมผ่านของสารอาหารประเภทไขมัน

(Sire et al,1981) ฟอสโฟลิปิดจากกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูงมีความยืดหยุ่นและควบคุมการซึมผ่านดีกว่าฟอสโฟลิปิดจากกรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวต่ำ ยิ่งกรณีของสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิต่ำ กรดไขมันที่มีความไม่อิ่มตัวสูงยิ่งมีความจำเป็นมากขึ้น(Stickney and Andrews, 1971) สัตว์น้ำเค็มรวมทั้งปลาหลายชนิดและกุ้งลายเสือไม่มีความสามารถในการเพิ่มจำนวนคาร์บอนอะตอมและจำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลของโอเมกา-3 ให้เป็น EPA (eicosapentaenoic acid) หรือ DHA (docosahexaenoic acid) (Kanasawa et al, 1979a) จึงต้องการ EPA หรือ DHA หรือทั้งEPAและ DHA เนื่องจาก EPAและDHA มีความไม่อิ่มตัวสูงกว่าโอเมกา-3 สัตว์น้ำจึงใช้ประโยชน์ได้มากกว่าและต้องการในอาหารน้อยกว่า โดยทั่วไปต้องการน้อยกว่าโอเมกา-3 ประมาณ 1 เท่า โดยมะลิ บุญยรัตผลิน (2530) รายงานว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงเป็นต้นกำเนิดของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตของกุ้ง

แหล่งอาหารของแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ

อาหารพ่อแม่พันธุ์กุ้งโดยทั่วไปแล้วจะเป็นอาหารธรรมชาติ เช่น แม่เพรียง หมึก และ หอย เป็นต้น (Lytle et al. 1990; Naessens et al.,1997) ซึ่งอาหารเหล่านี้อุดมไปด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูง (HUFA)(ตารางที่ 1) อันได้แก่ EPA และ DHA กรดอะราคิโดนิค คลอเลสเตอรอล สเตอรอล ฟอสโฟไลปิด และกรดอะมิโนที่จำเป็น (Chamberlain and Lawrence,1981) ซึ่งจำเป็นสำหรับกุ้งทะเล (Kanazawa et al.,1977)

จากการศึกษาของ Lytle et al. (1990) พบว่าเพรียงเลือดและเพรียงทรายไม่มีความแตกต่างกันในส่วนของระดับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงและเปอร์เซ็นต์รวมของ EPA และDHA ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงทั้งสองมีส่วนช่วยให้กุ้ง *P. vannamei* สมบูรณ์เพศเร็วขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 1 กรดไขมันบางชนิดที่สะสมในอาหารธรรมชาติและอาหารทดลอง

กรดไขมัน	Fresh food			Artificial diet		
	เพรียงเลือด(%)	หอยกาบ(%)	หอยแมลงภู่(%)	อาหารทดลอง(%)		อาหารสำเร็จรูป(%)
16:0	7.5	25.0	13.6	20.7	19.4	29.2
16:1	3.6	5.7	6.1	7.2	3.5	4.6
18:0	6.5	6.8	3.0	4.3	3.3	4.9
18:1	7.1	15.4	4.2	16.5	15.6	15.6
20:4 *n*-6 (ARA)	4.1	2.4	2.7	0.8	1.1	0.3
20:5 *n*-3 (EPA)	29.3	18.1	15.3	8.4	10.0	4.0
22:6 *n*-3 (DHA)	12.9	6.8	17.5	6.7	19.8	13.2
n-3 HUFA	52.0	24.9	33.9	15.1	31.2	17.8
n-3/*n*-6	8.2	1.7	7.9	1.6	3.1	1.5
DHA/EPA	0.4	0.38	1.14	0.8	2.0	3.3
ที่มา	Lytle et al. (1990)	Xu et al. (1994)	Cahu et al. (1995)	Xu et al. (1994)	Cahu et al. (1995)	Wouters et al. (2001c)

บทบาทของกรดไขมันที่มีต่อแม่พันธุ์กุ้งกุลาดำ

จากการศึกษาของ Middleditch et al. (1980) โดยใช้อาหารธรรมชาติพบว่า HUFA มีส่วนช่วยในการสมบูรณ์เพศ Jones et al.(1979) รายงานว่าโอเมกา-3 (18:3*n*-3)และโอเมกา-6 (18:3*n*-6) เป็นกรดไขมันจำเป็นสำหรับกุ้งทะเล (*P. japonicus*, *P. indicus*) ซึ่งสอดคล้องกับการเติบโตของ *P. japonicus* ที่ได้รับอิทธิพลของไขมันซึ่งประกอบด้วย 18:3 (*n*-3), 20:5(*n*-3) และ 22:6 (*n*-3) (Guary et al. 1976) โดย Morris (1973) รายงานว่ากุ้งวัยอ่อนและวัยรุ่นต้องการกรดไขมันชนิดจำเป็นสูงกว่าขนาดโตเต็มวัย

กุ้งที่เลี้ยงด้วยกรดไขมันกลุ่ม *n*-3 จะมีการเจริญเติบโตดีกว่ากุ้งที่ได้รับ *n*-3 ในปริมาณน้อย (Jones et al.,1979) ซึ่งสอดคล้องกับ Read (1981) พบว่าอาหารที่เพิ่มกรดไขมัน 18:3 (*n*-3) หรือ 18:2 (*n*-6) ที่ระดับ 2 % มีผลทำให้การเจริญเติบโตของ *P.indicus* เพิ่มขึ้น และการศึกษาผลของกรดไขมัน 18:2 (*n*-6)และ 18:3 (*n*-3) ต่อการเจริญเติบโตของ *P.japonicus* พบว่าการเจริญเติบโตของกุ้งเพิ่มขึ้นจากการได้รับกรดไขมัน 18:2 (*n*-6) หรือ 18:3 (*n*-3) ในปริมาณ 1%(Kanazawa et

al., 1977) และพบว่า1% ของ 22:6 (*n*:3) มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *P.japonicus* มากกว่า 1% 18:3 (*n*-3) หรือ 1% 18:2 (*n*-6) (Kanazawa et al., 1979b)

โดยทั่วไปแล้วกรดไขมันที่พบมากในรังไข่ที่สมบูรณ์เพศของกุ้ง Penaeid คือ 16:0, 16:1 *n*-7, 18:0, 18:1*n*-9, 20:4*n*-6, 20:5*n*-3และ22:6*n*-3 โดยไขมันในรังไข่จะประกอบด้วย *n*-3 HUFA ในปริมาณสูงกว่าในตับได้แก่ 20:5*n*-3และ22:6*n*-3 ซึ่ง *n*-3 HUFA มีส่วนช่วยส่งเสริมความสมบูรณ์ (Middleditch et al., 1980)

Xu et al.(1994) ทดลองใช้กรดไขมันจากแหล่งต่างๆ(anchovy oil, linseed oil, corn oil และpork lard) ใน *P. chinesis* เพศเมีย โดยอาหารที่ประกอบด้วย anchovy oil จะมีระดับ *n*-3 HUFA ในไข่มากที่สุด และส่งผลให้การสืบพันธุ์ดีขึ้น โดยมีความสัมพันธ์ระหว่างระดับ 20:5*n*-3 ในไข่กับความดกไข่ และระหว่างระดับ 22:6*n*-3 ในไข่กับเปอร์เซ็นต์การฟักไข่ เนื่องจาก 20:5*n*-3 มีบทบาทในการพัฒนารังไข่ และ 22:6*n*-3 ช่วยส่งเสริมในกระบวนการ embryogenesis

การศึกษาของ Cahu et al.(1995) ใน *P. indicus* โดยใช้อาหารที่ประกอบด้วย sunflower oil, cod oil และ fish roe oil ระดับของ *n*-3 HUFA ในไข่จะได้รับอิทธิพลจากระดับ *n*-3 HUFA ไขมันอาหาร ตัวอย่างเช่น ในระดับ 1.44 - 2.49% *n*-3 HUFA ไข่จะมีระดับ *n*-3 HUFA ที่ 3.61 – 3.82% แต่กุ้งที่ได้รับอาหาร 0.56 % *n*-3 HUFA จะวางไข่น้อยกว่า 2.00% *n*-3 HUFA

จากการศึกษาของ Millamena (1989) cited after Marsden et al. (1997) พบว่าอาหารที่ประกอบด้วย ARA EPA และDHA ที่ระดับสูง รวมทั้งสัดส่วนของ *n*-3 : *n*-6 สูง มีผลต่อความสมบูรณ์เพศ ทำให้ การปฏิสนธิ อัตราการฟัก ความถี่ในการวางไข่สูงขึ้น (Lytle et al., 1990) ซึ่ง Fenucci et al. (1981) รายงานว่าอาหารกุ้งทะเลควรมี EPA หรือDHA 0.5-1% ในกรณีที่ใช้โอเมกา-3 และโอเมกา-6 รวมกัน สัดส่วนที่เหมาะสมระหว่างโอเมกา-3 และโอเมกา-6 คือ 2:1

โดยทั่วไปแล้วกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงของ *n*-3 และ *n*-6 ได้มาจากน้ำมันปลาทะเล (Lim et al., 1997) โดยแม่กุ้งทะเล *P. setiferus* จะไม่สร้างไข่หากได้รับอาหารที่ไม่มี EPA และDHA (Middleditch et al,1980) และจะมีอัตราการวางไข่ของ *L.vannamei* จะลดลงเมื่อได้รับอาหารที่ปราศจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง และ phospholipids (Cahu et al., 1994) สอดคล้องกับการศึกษาของ Wouters et al. (1999) โดยทำการศึกษาใน *L.vannamei* ที่ได้รับอาทีเมียที่กินน้ำมันมะพร้าว(ปราศจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง และคลอเรสเตอรอล) ทำให้การปฏิสนธิของไข่ลดลง

การศึกษาของ Rees et al. (1994) พบว่า แม้กุ้งจะสามารถสังเคราะห์อนุพันธุ์ของกรดไลโนลีนิค (n-3) และจากกรดไลโนลีนิคเปลี่ยนเป็น EPA และ DHA แต่ปริมาณกรดไขมันจำเป็นที่สามารถสังเคราะห์ได้ ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ ดังนั้นกุ้งจึงจำเป็นต้องได้ PUFA ชนิดดัง

กล่าวจากอาหาร ซึ่งแหล่งของ HUFA ได้มาจากน้ำมันตับปลาหมึก หรือน้ำมันปลา (ปลาคอดและปลาซาดีน)(Harrison, 1997)

การสะสมไขมันและกรดไขมันในอวัยวะต่างๆ

จากการศึกษาของ Wouters et al.(2001a) ใน *L. vannamei* พบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของไขมันในเนื้อเยื่อของรังไข่ที่สมบูรณ์เพศ แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของระดับไขมันและกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในรังไข่ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Millamena et al.(1993) ใน *P. monodon* พบไขมันและกรดไขมันสะสมใน ตับ กล้ามเนื้อ และอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียในรังไข่ระยะหนึ่งถึงระยะที่สี่ โดยพบในตับประมาณ 22.5% ถึง 34.9% (น้ำหนักแห้ง)และระดับของไขมันที่สะสมในรังไข่ที่สมบูรณ์เพศจะเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระยะที่สมบูรณ์เพศเต็มที่ จาก 5.8% ถึง 17.0% (Millamena et al., 1984 cited after Primavera, 1984)โดยในรังไข่จะพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในกลุ่ม *n*-3 โดยเฉพาะ EPA และ DHA มากกว่าในตับ (Wouters et al., 2001b) ส่วนในรังไข่ที่เจริญเต็มที่ของ *P.japonicus* จะประกอบด้วย ไขมัน 8% (น้ำหนักเปียก) และมี triacylglyceral 27% (Teshima et al., 1982)โดยไขมันที่เก็บไว้จะถูกพัฒนาเป็นไข่ใน *Macrobrachium rosenbergii* ที่ระดับประมาณ 9.4 ถึง 14.4 % (Clarke et al. 1990)

การศึกษาของ Harrison (1990) พบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในอาหารของครัสเตเชียนที่สมบูรณ์เพศ มีผลต่อระบบสืบพันธุ์ โดยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูงที่สำคัญได้แก่ ARA EPA และ DHA สามารถพบในรังไข่ที่สมบูรณ์เพศของกุ้ง Penaeid (Wouters et al.,2001b) ในเนื้อเยื่อ (Millamena et al.,1993) และในกระเพาะอาหาร (Wouter et al., 2001a) Wouters et al. (2001c) ได้ทำการรวบรวมข้อมูลการสะสมของกรดไขมันชนิดต่างๆที่สะสมอยู่ในแม่กุ้งชนิดต่างๆ ดังตารางที่ 2

Colvin(1976) รายงานว่า *P.indicus* ที่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยน้ำมันพืชที่มีกรดไขมัน 18:2 (*n*-6) หรือ 18:2 (*n*-3) กรดไขมันจะไปสะสมในเนื้อเยื่อ

ตารางที่ 2 การสะสมของกรดไขมันบางชนิดในรังไข่ของแม่พันธุ์กุ้งที่เจริญพันธุ์

กรดไขมัน	*L. setiferus*	*M. japonicus*	*L. vannamei*
	Mature ovaries(%)	Mature ovaries(%)	Mature ovaries(%)
16:0	21.2	23.0	19.2
16:1	10.5	20.0	11.2
18:0	8.8	5.3	6.7
18:1	15.2	21.1	16.7
20:4 *n*-6 (ARA)	4.1	3.6	4.8
20:5 *n*-3 (EPA)	9.9	5.9	10.4
22:6 *n*-3 (DHA)	7.0	7.1	7.7
n-3 HUFA	-	-	25.5
n-3/n-6	-	-	2.0
DHA/EPA	0.7	1.2	0.7
ที่มา	Middleditch et al. (1980)	Teshima and Kanazawa (1983)	Wouters et al. (1999)

ระบบสืบพันธุ์ของกุ้งกุลาดำเพศเมีย

กุ้งมีเพศแยกกันอยู่คนละตัว มีอวัยวะเพศอยู่ภายนอกตัว เพศเมียมีรังไข่(ovary) 1 คู่ ท่อนำไข่(oviduct) 1 คู่ และ thelycum รังไข่มีผนัง 3 ชั้น คือ ชั้นเยื่อบุผิว เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และ germinal epithelium

ระบบสืบพันธุ์ประกอบด้วย รังไข่และอัณฑะอยู่ในบริเวณด้านบนของตับและตับอ่อนมีลักษณะเป็น bilateral lobe ประกอบด้วย anterior lobe 1 คู่ อยู่บริเวณกระเพาะอาหารส่วนหน้า และ lateral lobe 5 คู่ คลุมอยู่ด้านบนตับและตับอ่อนบริเวณใต้หัวใจ สำหรับรังไข่จะมี posterior lobe อีก 1 คู่ ซึ่งขยายยาวไปจนเกือบถึง telson โดยวิ่งอยู่ระหว่างเส้นเลือด posterior aorta และลำไส้ และภายในรังไข่จะมีเส้นเลือดขนาดใหญ่ 2-3 เส้น วิ่งผ่านตลอดความยาวของรังไข่ ผนังรังไข่บุด้วย fibrous connective tissue เป็นชั้นหนา ซึ่งจะเจริญเข้าไปด้านใน โดยการพัฒนาของรังไข่สามารถแบ่งออกได้เป็นระยะต่างๆ ดังตารางที่ 3 ภายในรังไข่แบ่งออกเป็นพูเล็กๆจำนวนมาก ท่อนำไข่เปิดออกที่ขาเดินคู่ที่ 3 ในรังไข่มี germinal cell ซึ่งมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วได้เป็น oogonia จะเปลี่ยนแปลงเป็น primary oocyte เคลื่อนออกจาก zone of proliferation เข้าไป

ในแต่ละพู แล้วแบ่งเซลล์ได้เป็น secondary oocyte ซึ่งจะแบ่งเซลล์อีกครั้งหนึ่ง ได้ ootid 4 เซลล์ จากนั้น ootid จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นเซลล์ไข่เพียง 1 เซลล์ และ polar body 3 เซลล์ (อนุตรา อัครจามรม, 2534)

การกระจายของเซลล์ไข่แต่ละระยะในทุกตำแหน่งของรังไข่จะมีปริมาณใกล้เคียง ซึ่งการพัฒนาของเซลล์ในแต่ละพูจะเกิดพร้อมๆกัน และจะพบ oogonia และ immature oocyte ในทุกระยะของการพัฒนาของรังไข่ แม้แต่ระยะที่วางไข่ไปแล้ว ซึ่งจะเป็นเซลล์เริ่มต้นที่จะพัฒนาเพื่อวางไข่ในครั้งต่อไป โดยไข่สามารถแบ่งการพัฒนาออกเป็นระยะต่างๆได้ดังตารางที่ 4

ท่อนำไข่ มีลักษณะเป็นท่อเล็กและสั้น แยกออกจาก lateral lobe คู่ที่ 5 แล้วเปิดออกทาง genital pore ที่ coxa ของขาเดินคู่ที่ 3 ทั้งสองข้าง ผนังท่อบุด้วยเซลล์เยื่อบุรูปร่างสี่เหลี่ยมทรงสูง มีนิวเคลียสอยู่บริเวณฐานเซลล์ ทำหน้าที่หลั่งสารหล่อลื่นให้ไข่ผ่านไปได้สะดวก และด้านนอกหุ้มด้วยเยื่อเกี่ยวพันหนา ในกุ้งขนาดเล็ก ท่อนำไข่จะปิดสนิท ซึ่งจะเริ่มเปิดออกในกุ้งขนาดประมาณ 20 กรัม และเปิดกว้างสุดเมื่อถึงวัยผสมพันธุ์ ส่วนอวัยวะเพศเมียหรือ thelycum ประกอบด้วย seminal receptacle และ thelycum ossicle ซึ่งภายใน seminal receptacle จะมี spermatophore 2 อัน สำหรับเก็บอสุจิหลังผสมพันธุ์แล้ว และจะปล่อยออกในภายหลังพร้อมกับการวางไข่ spermatophore นี้จะบุด้วยเซลล์เยื่อบุที่เรียงตัวกันชั้นเดียวบางๆ และมี cuticle หุ้มอยู่ด้านบนที่มีความหนาไม่เท่ากัน และไม่สามารถแบ่งออกเป็นชั้นได้ชัดเจนเหมือนเปลือก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 การแบ่งระยะการเจริญของรังไข่ของกุ้งกุลาดำเพศเมีย

อนุตรา อัครจามร(2534)	เรณู ยาชิโร่ และคณะ(2535)
ระยะที่ 1 Immature stage หรือ spent stage เป็นระยะเริ่มแรกของการพัฒนาหรือระยะหลังจากวางไข่ไปแล้ว รังไข่มีขนาดเล็ก มีลักษณะเป็นเส้นยาวใสทอดเป็นเส้นตรงตามความยาวลำตัวตั้งแต่บริเวณส่วนหัวถึงหาง ภายในรังไข่พบเฉพาะ oogonia และ immature oocyte เท่านั้น	**ระยะที่** 0 บริเวณหลังของแม่กุ้งจะใสไม่มีรอยสีดำ ระยะที่ 1 จะมีเส้นสีดำเล็กบริเวณกลางหลังของกุ้งยาวทอดถึงหาง
ระยะที่ 2 Early mature stage รังไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยเฉพาะส่วน anterior lobe มีขนาดใหญ่เห็นชัด สีน้ำตาลแกมเทา เซลล์ระยะ oogonia พบน้อยลง ส่วนใหญ่เป็น immature oocyte และ early mature oocyte เห็นเส้นเลือดขนาดใหญ่แทรกอยู่ระหว่างพู	**ระยะที่** 2 จะสังเกตเห็นว่าเส้นสีดำนั้นขยายขนาดใหญ่ขึ้น
ระยะที่ 3 Mature stage รังไข่มีขนาดใหญ่ขึ้นมากและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแกมเขียว พบ mature oocyte (Ov3)มากที่สุด ส่วน oocyte มักแทรกอยู่กลางพู และกลุ่มของ oogonia (Oog) จะเห็นเป็นทางยาวระหว่างพู	**ระยะที่** 3 เส้นทึบเริ่มมีสามเหลี่ยมบริเวณปล้องแรกหรือปล้องที่สองของลำตัว บางคนเรียกว่ารูปผีเสื้อหรือรูปเพชร ส่วนอื่นๆของรังไข่ตามแนวยาวตามลำตัวก็ใหญ่ขึ้นด้วย **ระยะที่** 4 เมื่อรังไข่ตลอดลำตัวทึบขยายเต็มที่เกือบเต็มลำตัว
ระยะที่ 4 Ripe stage ระยะนี้ anterior lobe ขยายใหญ่มากสีเขียวเข้มมากกว่าระยะที่ 3 เซลล์ส่วนใหญ่เป็น mature oocyte และ ripe oocyte ทั้งหมด	**ระยะที่** 5 เป็นระยะที่แม่กุ้งว่างไข่แล้ว สังเกตได้จากเห็นขอบของรังไข่จางๆ แต่ไม่มีส่วนทึบแสง

ตารางที่ 4 การแบ่งระยะของไข่ในรังไข่ของกุ้งกุลาดำเพศเมีย

อนุตรา อัครจามร(2534)	Tan-Fermin and Pudadera (1989)
1) Oogonia เซลล์มีขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลาง 15.63 ± 2.63 ไมครอน เซลล์รูปร่างกลม นิวเคลียสขนาดใหญ่สีขาวและมีนิวคลีโอลัสหลายอันกระจายอยู่ทั่วไป ไซโตพลาสซึมติดสีม่วง เมื่อย้อมด้วย H&E เป็นขอบบางๆรอบนิวเคลียส	**Stage P: Previtellogenic** (stage 0 ovaries) Primary oocytes ใน chromatin nucleolus stage จะใหญ่กว่า oogonia แต่เล็กกว่า oocytes ใน perinucleolus stage และประกอบด้วย nucleoli ตรงกลางเล็กน้อย และมี prominent chromatin material ใน นิวคลีโอพลาสซึม perinucleolar oocytes มี nucleoli จำนวนมาก พบที่ periphery ของนิวคลีโอพลาสซึม ทั้ง chromatin nucleolar และ perinucleolar oocytes มี basophilic cytoplasm ใน follicle cells จะมีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าหรือลูกบาศก์
2) Immature oocyte รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดใหญ่ขึ้นมาก เส้นผ่าศูนย์กลาง 26.92 ± 5.28 ถึง 32.74 ± 8.24 ไมครอน ไซโตพลาสซึม มีปริมาตรเพิ่มขึ้นเห็นชัด นิวเคลียส ขนาดใหญ่มีสีขาว มีนิวคลีโอลัส หลายอันเป็นจุดเล็กๆ ติดสีม่วงกระจายอยู่บริเวณผนังนิวเคลียส เมื่อย้อมด้วย H&E	**Stage V: Vitellogenic** (stage I and II ovaries) ใน primary oocytes มีการสะสม yolk ในไซโตพลาสซึม และพบ chromatin materials กระจายสม่ำเสมอในนิวคลีโอพลาสซึมของ vitellogenic oocytes จำนวนโอโอโกเนียจะมีจำนวนน้อยกว่าใน previous stage และมีการพัฒนาใน oocytes ใน follicle cells จะมีรูปร่างแบนใน yolk oocytes
3) Early mature oocyte เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นมาก เส้นผ่าศูนย์กลาง 77.25 ± 13.09 ไมครอน นิวเคลียสกลม ในนิวเคลียสมีนิวคลีโอลัสหลายอันอยู่ปนกับเม็ดโครมาติน ซึ่งติดสีม่วงเข้มเมื่อย้อมด้วย H&E และเริ่มมี follicle cell เล็กๆมารวมอยู่รอบเซลล์	**Stage C: Cortical rod** (stage III and IV ovaries) ระยะนี้สามารถแบ่งแยกได้โดย oocytes จะมีรูปร่างเป็นทรงกลมหรือกลมยาวที่ peripheral cytoplasm และพบ yolky substances ในไซโตพลาสซึม spherical body พบใกล้ periphery ของ plasma membrane ใน follicle cells จะมีรูปร่างเป็นทรงกลมยาวปลายสองข้างแหลม
4) Mature oocyte เซลล์มีขนาดเพิ่มขึ้นอีก เส้นผ่าศูนย์กลาง 10.64 ± 22.45 ถึง 132.83 ± 22.48 ไมครอน ในไซโตพลาสซึมมี yolk granule ติดสีชมพูอยู่อัดกันแน่น เมื่อย้อมด้วย H&E นิวเคลียสคล้าย early mature oocyte แต่นิวคลีโอลัสมีขนาดเล็กกว่าและมักอยู่ติดผนังนิวเคลียส มี follicle cell อยู่รอบเซลล์	
5) Ripe oocyte เซลล์ขนาดใหญ่ขึ้นอีกเล็กน้อย เส้นผ่าศูนย์กลาง 150 ± 18.21 ไมครอน ในไซโตพลาสซึมมี cortical granule รูปรีติดสีชมพูอ่อน เมื่อย้อมด้วย H&E เรียงเป็นวงรัศมีอยู่ชิดผนังเซลล์ นิวเคลียสมีลักษณะเหมือน mature oocyte follicle cell มีขนาดเล็กลง หลังจากนั้น cortical granule จะยาวขึ้นมีลักษณะเป็นแท่งยาว (rod shape) ซึ่งเป็นระยะเตรียมพร้อมที่จะวางไข่	**Stage S: Spent** (stage V ovaries) ในระยะนี้จะประกอบด้วย primary oocytes มากแต่สามารถแบ่งแยกจาก previtellogenic stage ได้โดย จะพบ yolk substances หรือ cortical rods ของ oocytes หลงเหลืออยู่ ชั้นของ follical cells จะหนาขึ้นเพราะ follical cells จาก oocytes หดตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การกระตุ้นหรือเหนี่ยวนำให้กุ้งถึงวัยเจริญพันธุ์

การตัดก้านตา (eye ablation) การตัดก้านตาของพวก decapod ก็คือการทำลาย X-organ และ sinus gland ซึ่งเป็นที่เก็บและผลิตฮอร์โมนที่ทำหน้าที่ในการยับยั้งการเจริญของรังไข่ (gonad inhibiting hormone : GIH) (สมบูรณ์ หลาวประเสริฐ, 2528) สำหรับกุ้งกุลาดำการตัดก้านตาทำได้หลายวิธี อาจจะใช้กรรไกรตัด หรือใช้มือบีบตาและรีดก้านตาเพื่อให้ของเหลวในก้านตาสูญเสียไป ตัวเมียเมื่ออายุ 8 – 10 เดือน สำหรับบ่อดินมีน้ำหนักประมาณ 80 – 90 กรัม ที่สุขภาพดีและเปลือกแข็ง ตัวเมียต้องไม่มีร่องรอยของการถูกผสม ดูได้จากอวัยวะตัวเมียต้องไม่บวมหรือมีสีขาวขุ่น ซึ่งหมายถึงมีถุงน้ำเชื้อของตัวผู้ค้างอยู่ (ประจวบ หลำอุบล, 2543)

การตัดก้านตานอกจากจะทำให้กุ้งมีการเร่งการพัฒนารังไข่จนสามารถวางไข่ในบ่อแล้วยังอาจส่งผลต่อเนื่องซึ่งจะทำให้กุ้งสามารถวางไข่ต่อไปได้อีก 1 – 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 นี้อาจมีจำนวนของกุ้งน้อยลงไปตามลำดับ ความถี่ในการวางไข่ของแม่กุ้งแต่ละครั้งจะอยู่ในช่วง 2 – 5 วันเป็นส่วนใหญ่และ 7 – 20 เป็นส่วนน้อย (นิเวศน์ เรืองพานิช และคณะ , 2524)

อัตราการรอดตายของกุ้งตัดก้านตา 2 ข้าง ตัดก้านตาข้างเดียวและไม่ตัดก้านตาเลย อยู่ที่ 0, 38 และ 49 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 196 วัน โดยการตัดก้านตาถ้าทำหลังการลอกคราบ(postmolt) จะทำให้กุ้งตายมากกว่าทำระยะระหว่างลอกคราบ (intermolt) แต่ถ้าตัดก้านตาก่อนการลอกคราบ (premolt) จะทำให้ระยะการเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ช้าไป 2 – 4 สัปดาห์ (ประจวบ หลำอุบล, 2543)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย