บทความวิจัย

ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931)

Effects of Inorganic and Organic Selenium on Growth Performances and Health of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931)

ธวัชชัย อาหน่าย นักศึกษาหลักสูตร วท.ม. สาขาวาริชศาสตร์
Thawatchai Arnai M.Sc. (Aquatic Science)
ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
Aquatic Animal Health Research Center, Department of Aquatic Science,
Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University

สุณีย์ หวันเหล็ม นักศึกษาหลักสูตร ปร.ด. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
Sunee Wanlem Ph.D. (Biotechnology)
สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร
Department of Industrial Biotechnology, Faculty of Agro-Industry,
Prince of Songkla University

กิจการ ศุภมาตย์
Kidchakan Supamattaya Dr.rer.nat (Aquatic Animal Disease)
ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
Aquatic Animal Health Research Center, Department of Aquatic Science,
Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University

คำสำคัญ : โซเดียมซีลีไนท์, ซีลีโนเมทไธโอนีน, กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส, กุ้งขาว
Keyword : Sodium selenite, Selenomethionine, Glutathione peroxidase, *Litopenaeus vannamei*

Thaksin.J., Vol.11 (1) January - June 2008

Abstract

The effects of inorganic and organic selenium (sodium selenite and selenomethionine) were studied on growth performance and health of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Sodium selenite and selenomethionine were fortified in diets at 0 (control), 0.5, 1.0, 3.0 and 5.0 mg/kg, given to juveniles of average initial weight 2.22 ± 0.02 g. reared in 20x48x20 inches^3 in glass tanks containing 250 l seawater. Completely randomized design was employed in the experiment with 9 treatments and 5 replications each. At the conclusion of 8-weeks feeding period, the juveniles given 1.0 mg/kg selenomethionine-fortified feed showed significantly (p<0.05) higher weight gain of compared to those given 3.0 mg/kg sodium selenite-fortified feed while no significant difference were noted for other treatments. However, No significant (p>0.05) difference was noted in specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), feed consumption and survival rate when sodium selenite and selenomethionine at rearing concentrations were fortified in the feeds. Juvenile given 3.0 mg/kg fortification of sodium selenite and selenomethionine showed total hemocyte count of 161.50 ± 14.62 and 165 ± 6.41 x 10^5 cell/ml, respectively; protein in hemolymph 143.31 ± 5.26 and 149.03 ± 6.41 mg/l, respectively; which were higher than in the control (82.93 ± 6.29 x 10^5 cell/ml and 124.96 ± 6.31 mg/l, respectively) No significant difference was recorded for blood glucose and phenoloxidase activity in all treatments. Histopathological examinations revealed that 3.0 mg/kg sodium selenite and 5.0 mg/kg fortification caused 60 % aberration, i.e., enlargement of interstitial space in hemopoietic tissue and interstitial sinus leading to loose contact of blood cell in hemopoietic tissue. Selenomethionine at 5.0 mg/kg fortification produced 40 % aberration while no anomaly were detected in hepatopancreas tissue, lymphoid tissue, gill and body musculature in shrimp given feeds with rearing levels of sodium selenite and selenomethionine fortification. In conclusion fortifications of sodium selenite and selenomethionine in the feed have no effects on growth although optimal selenium fortification enhances the immune system. Furthermore, the toxicity to the juveniles white shrimp was occurred when it uses high concentration of fortified sodium selenite and selenomethionine with hemopoietic tissues.

บทคัดย่อ

ทดลองเสริมซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ ในรูปของโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีน ตามลำดับ ในอาหารต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของกุ้งขาวที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 มก./กก. ตามลำดับ เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลอง 9 ชุดการทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ กุ้งขาวที่ใช้ในการทดลองเริ่มต้นมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 2.22 ± 0.02 กรัม และจากการทดลองพบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1.0 มก./กก. มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 มก./กก. อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนชุดการทดลองอื่นๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน และอัตราการรอดตายในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาค่าองค์ประกอบเลือดพบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ (3.0 มก./กก.) และซีลีโนเมทไธโอนีน (3.0 มก./กก.) มีปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 161.50 ± 14.62 x10^5 และ 165.86 ± 6.41 x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และโปรตีนในน้ำเลือด (143.31 ± 5.26 และ 149.03 ± 6.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) มากกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (82.93 ± 6.29 x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ

124.96 ± 6.31 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ส่วนปริมาณกลูโคสในเลือดและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในแต่ละชุดการทดลองและชุดควบคุม การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อของกุ้งขาว หลังจากได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่าง ๆ โดยกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 และ 5.0 มก./กก. มีความผิดปกติ 60 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน โดยพบว่ามีการขยายตัวของช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (interstitial space) และอินเตอร์สติเทียล ไซนัส (interstitial sinus) ของเนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด ทำให้เซลล์เม็ดเลือดในอวัยวะสร้างเม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างหลวม ๆ และกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 5.0 มก./กก. มีความผิดปกติ 40 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับอ่อน ต่อมน้ำเหลือง เหงือก และกล้ามเนื้อลำตัวในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่าง ๆ จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าการเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต แต่มีผลในด้านการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวเมื่อได้รับซีลีเนียมในปริมาณที่เหมาะสม และพบว่าการเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับสูง ๆ ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อตัวกุ้งขาว โดยมีอวัยวะเป้าหมายคือ อวัยวะสร้างเม็ดเลือด

บทนำ

กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีการเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในแถบลาตินอเมริกา อเมริกาเหนือและบางประเทศในทวีปเอเชีย สำหรับประเทศไทยเริ่มมีการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2541 (ปิยะบุตร, 2545) เนื่องจากประสบปัญหาเรื่องโรคในกุ้งกุลาดำและได้หยุดเลี้ยงไประยะหนึ่ง แต่ในปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งขาวนิยมเลี้ยงมากกว่ากุ้งกุลาดำ เนื่องจากมีความทนทานแข็งแรง เจริญเติบโตเร็ว และให้ผลผลิตดี เป็นต้น ทำให้มีการเลี้ยงกุ้งขาวที่ความหนาแน่นสูงเพื่อเพิ่มผลผลิตจึงส่งผลกระทบต่อตัวกุ้งขาว โดยทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากกุ้งเกิดความเครียดและอ่อนแอสามารถติดโรคได้ง่าย ทำให้เกษตรกรใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีต่าง ๆ มาใช้ในระบบการเลี้ยงกุ้งทำให้เกิดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะและสารเคมีในแหล่งน้ำและตัวสัตว์น้ำ ส่งผลให้เกิดปัญหาการดื้อยาของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งยากต่อการควบคุมและรักษาโรคได้

ซีลีเนียมเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับมนุษย์และสัตว์ โดยจัดเป็นธาตุที่มีความจำเป็นแต่ต้องการในปริมาณน้อย (essential trace element) ที่สำคัญต่อการทำงานและระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ ซีลีเนียมเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ทำหน้าที่เปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และลิปิด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (lipid hydroperoxide) เป็นน้ำและลิปิดแอลกอฮอล์ ตามลำดับ ดังนั้นหน้าที่สำคัญของเอนไซม์นี้คือ ป้องกันการถูกทำลายของเซลล์อันเนื่องมาจากสารเปอร์ออกไซด์ (peroxide) (Little *et al*., 1970; Rutruck *et al*., 1973) ปัจจุบันมีการนำซีลีเนียมไปใช้ในวงการปศุสัตว์ เพื่อเสริมสร้างภูมิต้านทานให้กับสัตว์ ช่วยป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคกล้ามเนื้อขาว (white muscle disease) ในวัวและแกะ (Schubert *et al*., 1961) และโรคท้องมาน (exudative diathesis) ในไก่ (Cantor *et al*., 1975) เป็นต้น และได้มีการนำซีลีเนียมมาประยุกต์ใช้ โดยการเสริมในอาหารสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อัตรารอด และเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน โดยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในปลาค่อนข้างมากกว่าสัตว์น้ำชนิดอื่น เช่น ปลาเทร้าท์ (*Salmo gairdneri*) (Hilton *et al*., 1980) ปลาดุกอเมริกัน (*Ictalurus punctatus*) (Gatlin and Wilson, 1984) ปลาแซลมอน (*Salmo salar*) (Bell and Cowey, 1989) และปลาเก๋า (*Epinephelus malabaricus*) (Linn and Shiau, 2005) ในขณะที่การศึกษาทางด้านนี้ในสัตว์น้ำจำพวกครัสเตเชียน (crustacean) โดยเฉพาะกุ้งนั้นยังมีการศึกษาน้อยและข้อมูลทางด้านนี้ยังไม่ชัดเจนนัก

ดังนั้นการศึกษาผลของซีลีเนียมต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และสุขภาพในกุ้งขาว จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะพัฒนาการเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทยให้มีคุณภาพและเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้น ส่งผลให้เกิดการยกระดับรายได้ของเกษตรกรให้สูงขึ้น รวมทั้งสามารถพัฒนาการผลิตอาหารกุ้งให้มีคุณภาพสูงขึ้น และผลประโยชน์ที่ได้รับยังรวมไปถึงอุตสาหกรรมการผลิตอาหารกุ้งด้วย นอกจากนี้ยังเป็นการลดปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในการเลี้ยงกุ้ง ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการเลี้ยงและการส่งออกผลผลิตกุ้งไปยังต่างประเทศ ส่งผลให้การเลี้ยงกุ้งของไทยเป็นไปอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. กุ้งทดลอง

กุ้งขาวระยะโพสลาวาร์ 15 จำนวน 20,000 ตัว จากฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งที่มีสุขภาพดี ปราศจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรียก่อโรค นำมาอนุบาลจนได้ขนาดประมาณ 2.22 ± 0.02 กรัม และสุ่มกุ้งไปเลี้ยงในตู้ทดลอง จำนวน 20 ตัว/ตู้ ใช้ตู้ทดลองขนาด 20x48x20 นิ้ว ความจุน้ำ 250 ลิตร และเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารทดลองชุดควบคุม เป็นเวลา 1สัปดาห์เพื่อปรับพฤติกรรมกุ้งให้เคยชินกับอาหารทดลองและตู้กระจก ระบบน้ำที่ใช้เป็นระบบน้ำใช้แล้วทิ้ง ตรวจวัดคุณภาพน้ำทุกวันตลอดช่วงระยะเวลาทดลอง ได้แก่ อุณหภูมิ (26 - 29 องศาเซลเซียส) ความเค็ม (22-30 ส่วนในพันส่วน)ส่วนค่าอัล-คาไลท์(80-120มก./ล.)พีเอช(7.33-8.34) ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ (5.6 - 8.2 มก./ล.) ไนไตรท์ (0.00 - 0.13 มก./ล.) และแอมโมเนีย (0.03 - 0.28 มก/ล)

2. อาหารทดลอง

ในการทดลองมีสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งทดลองทั้งหมด 9 สูตร แตกต่างกันที่ชนิดและระดับของซีลีเนียมที่เสริมในแต่ละชุดการทดลอง (ตารางที่ 1) องค์ประกอบทางเคมีของอาหารในแต่ละชุดทดลองมีระดับโปรตีน 31.28±1.07 - 32.20±0.27 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 8.50±0.40 - 9.96±0.32 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 6.14±0.31 - 6.66±0.14 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 4.15±0.04 - 7.73±0.07 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) และพลังงานประมาณ 370 กิโลแคลอรี่ต่อ 100 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันที่ชนิดของซีลีเนียมคือ อาหารที่เสริมโซเดียมซีลีไนท์และอาหารที่เสริมซีลีโนเมทไธโอนีน ที่ระดับ 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 มก./กก. ตามลำดับ และอาหารชุดควบคุมที่ไม่ได้เสริมซีลีเนียมในอาหาร เริ่มต้นการทำอาหารทดลองด้วยการผสมวัตถุดิบอาหารทดลองในแต่ละสูตรในเครื่องผสมอาหารจนวัตถุดิบเข้ากันดี ผสมสารละลายซีลีเนียมที่ได้คำนวณไว้ที่ระดับต่างๆ ผสมกับน้ำกลั่นในสัดส่วนที่กำหนด โดยผสมให้เข้ากันแล้วนำมาอัดเม็ด และนำมานึ่งเป็นระยะเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้งดีแล้วนำอาหารทดลองแต่ละสูตรมาเคลือบเม็ดอาหารด้วยน้ำมันปลา 1.2 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีการของ วุฒิพร และอัจฉริยา (2548) และบรรจุลงถุงพลาสติกเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในอาหารทดลองวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง ICP-OES (Inductively Couple Plasma-Optical Emission Spectrophotometer) รุ่น Optima 4300 DV ยี่ห้อ Perkin Elmer Instrument

3. แผนการทดลองและการเก็บรวบรวมข้อมูล

ในการศึกษาการเจริญเติบโตจะวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design, CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 9 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองมี 5 ซ้ำ ๆ ละ 20 ตัว เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

3.1 ข้อมูลศึกษาการเจริญเติบโตและอัตรารอดตาย

เก็บรวบรวมข้อมูลและทำการวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโต ดังนี้

3.1.1 น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัว (% weight gain) ตามวิธีการที่รายงานจาก Tapia-Salazar และคณะ (2004)

ตารางที่ 1. ส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบในอาหารแต่ละชุดการทดลอง

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร (กรัม/100 กรัม))								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
ปลาป่น	15	15	15	15	15	15	15	15	15
หมึกป่น	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5
กากถั่วเหลือง	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5
แป้งสาลี	20	20	20	20	20	20	20	20	20
แป้งข้าวเจ้า	24.58	24.08	23.58	21.58	19.58	24.08	23.58	21.58	19.58
วีตกลูแตน	3	3	3	3	3	3	3	3	3
เลซิติน	2	2	2	2	2	2	2	2	2
น้ำมันปลา	2	2	2	2	2	2	2	2	2
น้ำมันถั่วเหลือง	2	2	2	2	2	2	2	2	2
วิตามินซี	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
วิตามินและแร่ธาตุผสม1	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
โคลีนคลอไรด์	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
โคเลสเตอรอล	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
บีเอชที	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
โซเดียมซีลีไนด์ (มก./กก.)	0	0.5	1.0	3.0	5.0	0	0	0	0
ซีลีโนเมทไธโอนีน (มก./กก.)	0	0	0	0	0	0.5	1.0	3.0	5.0
รวม	100	100	100	100	100	100	100	100	100

[1]Vitamin and mineral mixture supplemented per kilogram feed : Thiamine (B_1) 10 mg; Riboflavin (B_2) 20 mg; Pyridoxine (B_5) 10 mg; Cyanocobalamin (B_{12}) 2 mg; Retinal (A) 4,000 IU; Cholecalciferrol (D_3) 2,000 IU; Menadione sodium bisulfite (K_3) 80 mg; Folic acid 5 mg; Calcium pantothenate 40 mg; Inositol 400 mg; Niacin 150 mg; DL-alpha-tocopherol (E) 50 IU; Choline chloride 6,000 mg; Ascorbic acid (C) 500 mg; Biotin 1 mg; NaCl 0.25 g; $MgCO_3$ 3.75 g; $FeSO_4$ 0.72 g; $(CH_3COO)_2$ $Ca.5H_2O$ 0.88 g; $ZnSO_4.7H_2O$ 0.088 g; $MnSO_4.4H_2O$ 0.040 g; $CuSO_4.5H_2O$ 0.008 g; $CoCl_2.6H_2O$ 0.00025 g; $KIO_3.6H_2O$ 0.00075 g

ตารางที่ 2. คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง (% dry as basis)

ชุดการทดลอง	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ความชื้น
1 (Control)	31.70 ± 1.63	8.50 ± 0.40	6.55 ± 0.02	4.31 ± 0.05
2 (Na-se 0.5 mg/kg)	31.28 ± 1.07	9.35 ± 0.36	6.66 ± 0.14	5.61 ± 0.03
3 (Na-se 1.0 mg/kg)	31.63 ± 0.08	9.79 ± 0.86	6.41 ± 0.03	6.32 ± 0.04
4 (Na-se 3.0 mg/kg)	31.63 ± 0.22	9.64 ± 0.29	6.46 ± 0.03	5.25 ± 0.02
5 (Na-se 5.0 mg/kg)	31.79 ± 0.89	9.52 ± 0.86	6.36 ± 0.07	5.63 ± 0.03
6 (Se-met 0.5 mg/kg)	31.69 ± 0.74	9.62 ± 0.15	6.14 ± 0.31	7.73 ± 0.07
7 (Se-met 1.0 mg/kg)	32.10 ± 0.49	9.96 ± 0.32	6.41 ± 0.03	5.67 ± 0.01
8 (Se-met 3.0 mg/kg)	31.85 ± 0.66	9.48 ± 0.31	6.34 ± 0.08	5.89 ± 0.06
9 (Se-met 5.0 mg/kg)	32.20 ± 0.27	9.75 ± 1.22	6.53 ± 0.04	4.15 ± 0.04

3.1.2 อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Food conversion rate: FCR) ตามวิธีการที่รายงานจาก Dupree และ Sneed (1996)

3.1.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate: SGR) ตามวิธีการที่รายงานจาก Jantrarotai และคณะ (1994)

3.1.4 ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (กรัม/ตัว/วัน)

3.1.5 อัตรารอด (%) ตามวิธีการที่รายงานจาก Jantrarotai และคณะ (1994)

3.2 ศึกษาผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อองค์ประกอบเลือดของกุ้งขาว

เก็บตัวอย่างกุ้งในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากสิ้นสุดการทดลอง โดยสุ่มกุ้งขาวจากทุกชุดการทดลอง ๆ ละ 10 ตัว เพื่อวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบเลือดของกุ้งขาว คือ

- ปริมาณเม็ดเลือดรวมทั้งหมด (total haemocyte count) ตามวิธีการของกิจการ และสิทธิ (2538)
- ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือด (protein in hemolymph) ตามวิธีการของ Lowry และคณะ (1951)
- ปริมาณน้ำตาลในเลือด (blood glucose) ตามวิธีการของ Hyvarinen and Nikkila (1962)
- การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) โดยวิธีการดัดแปลงจาก Smith and Soderhall (1983)

3.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อของกุ้งขาวในสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง ชุดการทดลองละ 5 ตัว เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา ตามวิธีของ Bell and Lightner (1998) โดยใช้น้ำยาดองเดวิดสัน (Davidson's fixative reagent) ฉีดเข้าในส่วนตับอ่อนและลำตัวในขณะที่กุ้งขาวยังมีชีวิตเพื่อป้องกันการสลายตัวของเนื้อเยื่อ หลังจากดองน้ำยาดังกล่าวเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จึงนำมาผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อทำเป็นสไลด์ถาวรตามวิธีการของ Humason (1979) และตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (Olympus AX 70) และบันทึกภาพโดยกล้องถ่ายภาพดิจิตอล Olympus DP-25

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลของพารามิเตอร์ต่างๆ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนANOVAแบบทางเดียว(onewayANOVA) (Steel and Torrie, 1980) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการของ Duncan's Multiple Range Test (Duncan, 1955)

ผลการทดลอง

1. ผลของการเสริมซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว

1.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

จากการทดลองพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนทุกระดับความเข้มข้น เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป (ตารางที่ 3) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1.0 มก./กก. มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายเท่ากับ 10.14±0.29 กรัมต่อตัว ซึ่งมากกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 มก./กก. อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยมีค่าเท่ากับ 9.35±0.05 กรัมต่อตัว ขณะเดียวกันกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับอื่น ๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

1.2 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตราการรอดตาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าการเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1.0 มก./กก. ทำให้กุ้งขาวมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 356.69± 25.13 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกุ้งขาวที่ได้รับการเสริมโซเดียมซีลีไนท์ระดับ 3.0 มก./กก. ที่มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 323.09±3.24 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การเสริมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนในระดับอื่น ๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 3) ส่วนอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหาร

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดการทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (กรัมต่อตัวต่อวัน)	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)
1 (Control)	2.22 ± 0.01^{a}	9.73 ± 0.36^{ab}	338.18 ± 17.88^{ab}	2.48 ± 0.07^{a}	2.07 ± 0.11^{a}	0.27 ± 0.02^{a}	91.67 ± 2.89^{a}
2 (Na-se 0.5 mg/kg)	2.22 ± 0.02^{a}	9.84 ± 0.19^{ab}	343.78 ± 9.97^{ab}	2.44 ± 0.07^{a}	2.12 ± 0.12^{a}	0.28 ± 0.01^{a}	88.33 ± 2.89^{a}
3 (Na-se 1.0 mg/kg)	2.22 ± 0.02^{a}	9.74 ± 0.29^{ab}	338.53 ± 9.16^{ab}	2.45 ± 0.14^{a}	2.14 ± 0.24^{a}	0.28 ± 0.02^{a}	90.00 ± 5.00^{a}
4 (Na-se 3.0 mg/kg)	2.21 ± 0.01^{a}	9.35 ± 0.05^{a}	323.09 ± 3.24^{a}	2.45 ± 0.16^{a}	2.11 ± 0.25^{a}	0.26 ± 0.03^{a}	93.33 ± 7.64^{a}
5 (Na-se 5.0 mg/kg)	2.21 ± 0.00^{a}	9.88 ± 0.37^{ab}	347.71 ± 15.50^{ab}	2.51 ± 0.09^{a}	2.02 ± 0.10^{a}	0.27 ± 0.02^{a}	91.67 ± 7.64^{a}
6 (Se-met 0.5 mg/kg)	2.22 ± 0.02^{a}	10.02 ± 0.19^{ab}	353.38 ± 13.66^{ab}	2.54 ± 0.11^{a}	1.95± 0.15^{a}	0.26± 0.01^{a}	91.67 ± 2.27^{a}
7 (Se-met 1.0 mg/kg)	2.22 ± 0.02^{a}	10.14± 0.29^{b}	356.69 ± 25.13^{b}	2.48 ± 0.07^{a}	2.07 ± 0.12^{a}	0.28 ± 0.03^{a}	88.33 ± 7.64^{a}
8 (Se-met 3.0 mg/kg)	2.21 ± 0.01^{a}	9.61 ± 0.05^{ab}	332.93 ± 17.73^{ab}	2.43 ± 0.07^{a}	2.11 ± 0.11^{a}	0.27 ± 0.03^{a}	91.67 ± 2.89^{a}
9 (Se-met 5.0 mg/kg)	2.21 ± 0.00^{a}	9.98 ± 0.37^{ab}	349.71 ± 18.72^{ab}	2.56 ± 0.02^{a}	1.87 ± 0.04^{a}	0.25 ± 0.02^{a}	93.33 ± 2.88^{a}

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05)

เป็นเนื้อ ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน และอัตราการรอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่าง ๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

2. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อองค์ประกอบเลือดของกุ้งขาว

กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 มก./กก. เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 3.0 มก./กก. ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 165.86±6.41 x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 มก./กก. มีค่าเท่ากับ 161.50± 14.62 x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4) นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมซีลีเนียมลงในอาหารทั้งสองรูปนั้นมีผลทำให้ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อเทียบกับกุ้งที่ไม่ได้รับการเสริมซีลีเนียม

ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาว พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 3.0 มก./กก. มีปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดสูงสุดเท่ากับ 149.03±6.41 มิลลิกรัมต่อลิตร และกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 0.5 พีพีเอ็ม มีปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดต่ำสุดเท่ากับ 105.10±4.27 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดเท่ากับ 124.96±6.31 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าต่ำกว่าชุดที่เสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 1.0 – 5.0 มก/กก และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.5 – 5.0 มก./กก. (ตารางที่ 4)

ส่วนปริมาณกลูโคสในเลือดและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสพบว่าปริมาณกลูโคสในเลือดและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (ตารางที่ 4)

3. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อของกุ้งขาว

จากการศึกษาความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับอ่อน (hepatopancreas) ต่อมน้ำเหลือง (lymphoid organ) อวัยวะสร้างเม็ดเลือด (hemopoietic tissue) เหงือก (gills) และกล้ามเนื้อ (muscle) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีเนียม พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 และ 5.0 มก./กก. มีความผิดปกติของเนื้อเยื่อบริเวณอวัยวะสร้างเม็ดเลือดเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ และกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 5.0 พีพีเอ็ม ตรวจพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อบริเวณอวัยวะสร้างเม็ดเลือดเพียง 40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นพบว่ามีการขยายตัวของช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (interstitial space) และอินเตอร์สติเทียล ไซนัส (interstitial sinus) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดในอวัยวะสร้างเม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างหลวมๆ (ภาพที่ 5 - 7) เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุม(ภาพที่4)ส่วนกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับอื่น ๆ พบว่าอวัยวะสร้างเม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างหนาแน่นและโครงสร้างต่าง ๆ ของเซลล์ปกติ และจากการทดลองไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับอ่อน ต่อมน้ำเหลือง เหงือก และกล้ามเนื้อลำตัวในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่าง ๆ

ตารางที่ 4 ค่าองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีเนียมที่ระดับแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมด (x10^5เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	โปรตีนในน้ำเลือด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กลูโคสในเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)	PO activity (unit/min/mg.protein)
1 (Control)	82.92 ± 6.29^{a}	124.96 ± 6.31^{b}	22.80 ± 6.78^{a}	3.93 ± 0.70^{a}
2 (Na-se 0.5 mg/kg)	109.86 ± 7.37^{b}	105.10 ± 4.27^{a}	22.69 ± 4.03^{a}	4.01 ± 0.79^{a}
3 (Na-se 1.0 mg/kg)	143.50 ± 12. 50^{c}	137.52 ± 8.41^{c}	24.85 ± 4.18^{a}	3.85 ± 1.30^{a}
4 (Na-se 3.0 mg/kg)	161.50 ± 14.62^{d}	143.31 ± 5.26^{cd}	25.50 ± 2.38^{a}	4.15 ± 1.40^{a}
5 (Na-se 5.0 mg/kg)	143.71 ± 5.45^{c}	146.54 ± 9.86^{cd}	22.91 ± 6.73^{a}	3.79 ± 0.63^{a}
6 (Se-met 0.5 mg/kg)	148.50 ± 10.67^{c}	144.41 ± 4.63^{cd}	25.95 ± 5.07^{a}	4.08 ± 1.24^{a}
7 (Se-met 1.0 mg/kg)	154.79 ± 13.75^{cd}	145.15 ± 7.47^{cd}	24.33 ± 4.86^{a}	4.20 ± 1.25^{a}
8 (Se-met 3.0 mg/kg)	165.86 ± 6.41^{d}	149.03 ± 6.41^{d}	24.63 ± 3.38^{a}	4.88 ± 1.47^{a}
9 (Se-met 5.0 mg/kg)	143.07 ± 10.17^{c}	145.23 ± 7.90^{cd}	25.07 ± 7.86^{a}	4.46 ± 1.28^{a}

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 10 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 5 ปริมาณซีลีเนียมในอาหารทดลองและที่สะสมในตัวกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารเสริม โซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	ปริมาณซีลีเนียมในอาหาร (มก/กก.)	ปริมาณซีลีเนียมในกุ้งขาว (มก/กก.)
1 (Control)	1.76 ± 0.24	2.67 ± 0.12
2 (Na-se 0.5 mg/kg)	2.44 ± 0.08	3.34 ± 0.08
3 (Na-se 1.0 mg/kg)	3.08 ± 0.11	3.10 ± 0.10
4 (Na-se 3.0 mg/kg)	5.33 ± 0.07	3.85 ± 0.15
5 (Na-se 5.0 mg/kg)	7.41 ± 0.12	4.09 ± 0.13
6 (Se-met 0.5 mg/kg)	2.12 ± 0.19	3.28 ± 0.10
7 (Se-met 1.0 mg/kg)	3.03 ±0.06	3.62 ± 0.24
8 (Se-met 3.0 mg/kg)	5.56 ±0.06	4.62 ± 0.04
9 (Se-met 5.0 mg/kg)	8.52 ± 0.03	7.08 ± 0.18

ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ
กุ้งขาวเริ่มทดลองมีปริมาณซีลีเนียมในตัว อยู่เท่ากับ 2.55 ± 0.11 mg/kg DCW

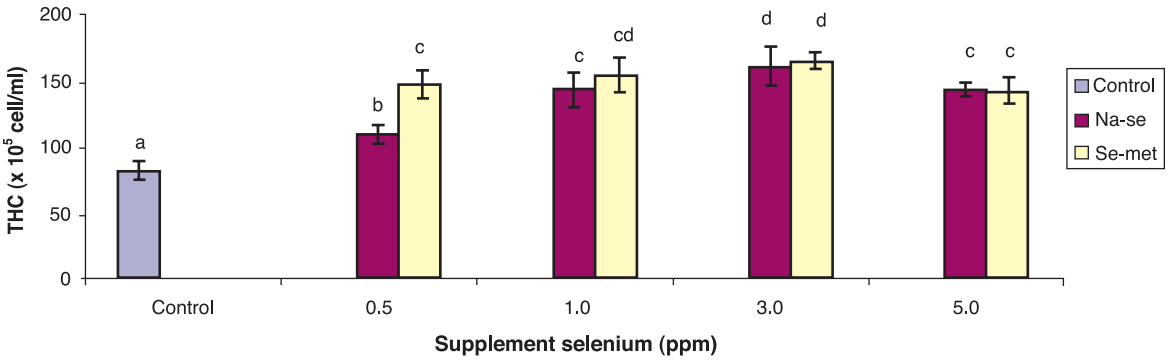
ตารางที่ 6 ลักษณะความผิดปกติของกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีน ที่ระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดการทดลอง	ตับและตับอ่อน	ต่อมน้ำเหลือง	อวัยวะสร้างเม็ดเลือด
1 (Control)	N	N	N
2 (Na-se 0.5 mg/kg)	N	N	N
3 (Na-se 1.0 mg/kg)	N	N	N
4 (Na-se 3.0 mg/kg)	N	N	P (60%)
5 (Na-se 5.0 mg/kg)	N	N	P (60%)
6 (Se-met 0.5 mg/kg)	N	N	N
7 (Se-met 1.0 mg/kg)	N	N	N
8 (Se-met 3.0 mg/kg)	N	N	N
9 (Se-met 5.0 mg/kg)	N	N	P (40%)

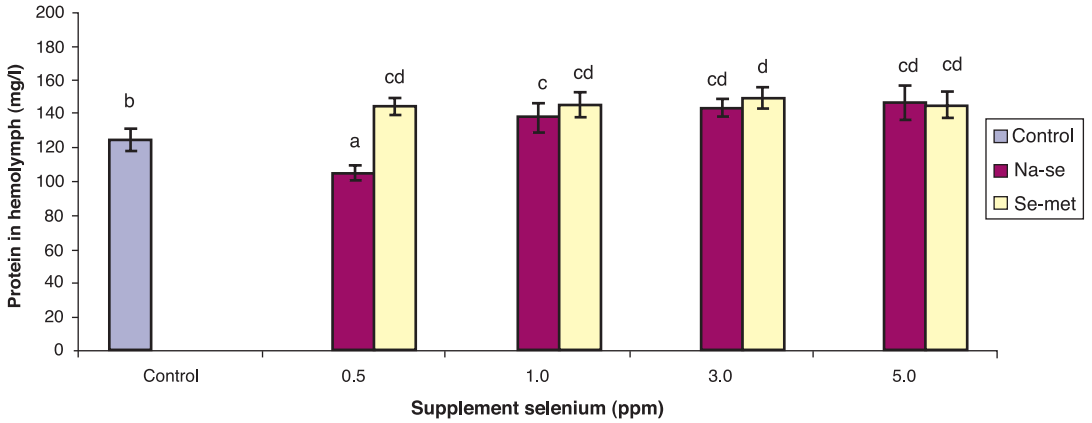
N: Normal

P: Pathological change; severe loose contact of hemopoietic tissue

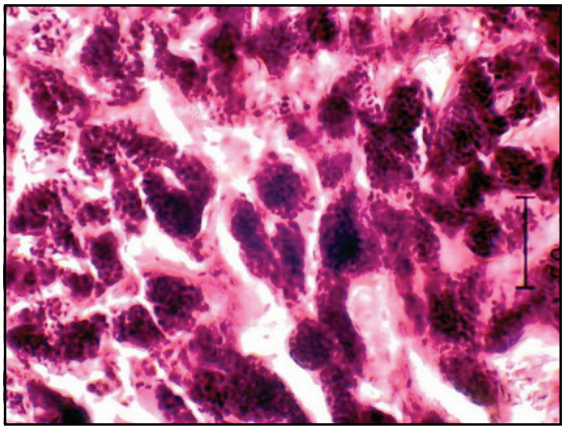
[1]% ความผิดปกติ = (จำนวนกุ้งผิดปกติ/จำนวนกุ้งทั้งหมด) X 100



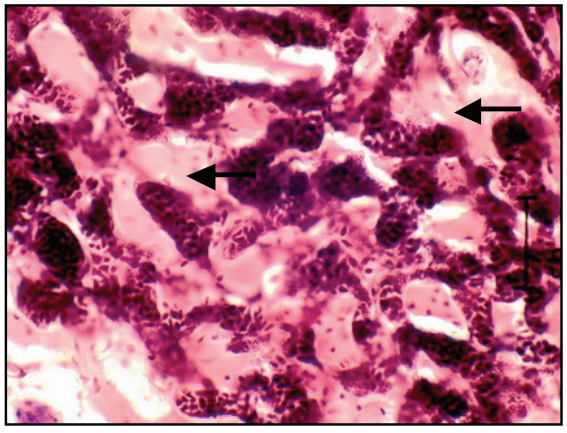
ภาพที่ 2. ปริมาณเม็ดเลือดรวมทั้งหมด (Total hemocyte count; THC) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 3. โปรตีนในน้ำเลือด (Protein in hemolymph) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์



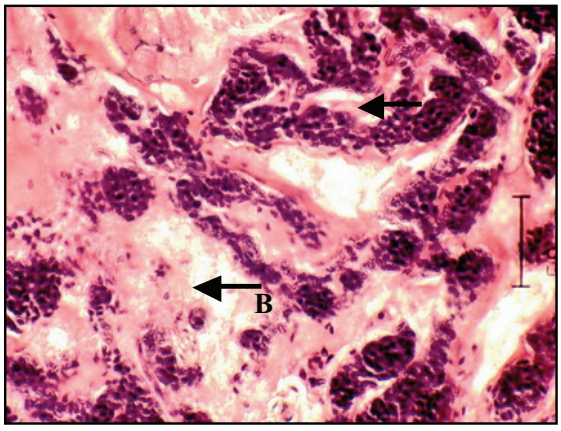
ภาพที่ 4



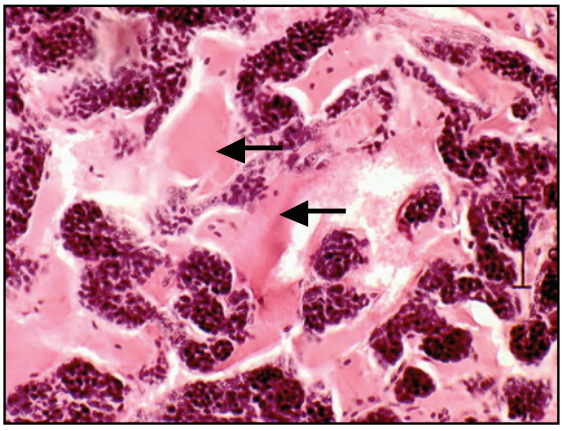
ภาพที่ 5

ภาพที่ 4. เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารชุดควบคุม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบเซลล์เม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างปกติ (H&E, Bar = 50 µm)

ภาพที่ 5. เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 มก./กก. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีการขยายตัวของอินเตอร์สติเทียล ไซนัส (interstitial sinus) มากขึ้น (ศรชี้) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดจับตัวกันอย่างหลวม ๆ (H&E, Bar = 50 µm)



ภาพที่ 6



ภาพที่ 7

ภาพที่ 6. เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 5.0 มก./กก. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีการขยายตัวของช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (interstitial space; A) และอินเตอร์สติเทียล-ไซนัส (interstitial sinus; B) มากขึ้น (ศรชี้) (H&E, Bar = 50 µm)

ภาพที่ 7. เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 5.0 มก./กก. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีการขยายตัวของช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (interstitial space) มากขึ้น (ศรชี้) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดจับตัวกันอย่างหลวม ๆ (H&E, Bar = 50 µm)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว

ซีลีเนียมจัดเป็นแร่ธาตุรองที่จำเป็น (essential micronutrient) หรือต้องการในปริมาณน้อยในการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ จากรายงานที่ผ่านมาของ Wang และคณะ (1994) พบว่ากุ้งขาวจีน (*P. chinensis*) มีความต้องการซีลีเนียมในการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.44 มก./กก. (Wang และคณะ, 2006) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Davis (1990) ที่มีการใช้อาหารกึ่งบริสุทธิ์ที่เสริมซีลีเนียมเข้มข้น 0.2-0.4 มก./กก. ให้กุ้งขาววัยอ่อน (*L. vannamei*) กินเป็นอาหาร และพบว่าซีลีเนียมที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวทำให้กุ้งขาวเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุมเช่นเดียวกับงานทดลองในครั้งนี้ที่ศึกษาระดับความเข้มข้นของซีลีเนียมในรูปแบบของโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่เสริมในอาหารให้กุ้งขาวกินนั้นพบว่าการเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1.0 มก./กก. มีแนวโน้มทำให้กุ้งขาวเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ เมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในแต่ละชุดการทดลอง เมื่อได้รับอาหารทดลองนาน 8 สัปดาห์ ในขณะที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ปริมาณอาหารที่กุ้งกินและอัตราการรอดตายในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05)

จากการวัดปริมาณของซีลีเนียมในอาหารที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียมพบว่ามีความเข้มข้นของซีลีเนียม 1.76±0.24 มก./กก. (ตารางที่ 5) ทั้งนี้เนื่องมาจากวัตถุดิบที่ใช้ทำอาหารโดยทั่วไป ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง แป้งข้าวเจ้าและแป้งสาลีนั้นมีปริมาณซีลีเนียมสะสม

อยู่แล้ว และมีในสัดส่วนที่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ยังได้ทำการวัดปริมาณของซีลีเนียมในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งนั้นพบว่าน้ำเลี้ยงมีซีลีเนียมอยู่ในช่วง 3.08±0.12 มก./ล. ซึ่งค่าดังกล่าวถือว่าซีลีเนียมในน้ำเลี้ยงมีปริมาณค่อนข้างสูง ดังนั้นกุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อสามารถได้รับซีลีเนียมทั้งจากแหล่งอาหารและแหล่งน้ำ อาจมีปริมาณเพียงพอสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตของกุ้งขาวหากไม่มีการเสริมซีลีเนียมในอาหารเลย แต่หากเกิดสภาวะความเครียดจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ซีลีเนียมที่มีอยู่อาจไม่เพียงพอสำหรับการตอบสนองต่อความเครียดและการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวได้

2. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อองค์ประกอบเลือดในกุ้งขาว

การเสริมซีลีเนียมทั้งสองรูปแบบที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ มีผลทำให้ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดและโปรตีนในน้ำเลือดกุ้งขาวเพิ่มสูงขึ้น โดยพบว่ากุ้งขาวที่ได้รับซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 3.0 มก./กก. ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดสูงสุด รองลงมาเป็นกุ้งขาวที่ได้รับโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 มก./กก. เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4) และเมื่อได้รับความเข้มข้นสูงกว่านี้พบว่าปริมาณเม็ดเลือดมีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าหากกุ้งขาวได้รับซีลีเนียมมากเกินไปทำให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายได้ เป็นที่ทราบกันดีว่าเซลล์เม็ดเลือดเป็นเซลล์หลักที่ทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันทั้งระดับเซลล์และสารน้ำของสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชีย (Soderhall and Cerenius, 1992) ซึ่งรวมถึงการทำงานของเอนไซม์บางชนิดที่มีซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบได้แก่ เอนไซม์ในกลุ่มของ Se peroxidase เช่น เอนไซม์-กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ที่ตรวจพบในพลาสมา ระบบทางเดินอาหารและผนังเซลล์ ซึ่งมีคุณสมบัติและโครงสร้างที่แตกต่างกัน (Arthur และคณะ, 1997) ส่วนใหญ่ซีลีเนียมที่อยู่ในพลาสมาจะอยู่ในรูปของซีลีโนซิสทีอีน (selenocysteine) ในบริเวณ active site ของโปรตีน ซึ่งเรียกว่า ซีลีโนโปรตีน (selenoprotein) (Brown and Arthur, 2001) เมื่อร่างกายอยู่ในสภาวะที่จำเป็นหรือไม่เหมาะสม ซีลีเนียมที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของซีลีโนซิสทีอีน จะมีการแตกตัวได้ดีและทำงานเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Arthur, 1997) เพื่อช่วยให้การทำงานของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเพิ่มสูงขึ้นในการต่อต้านกับสิ่งแปลกปลอมหรือกำจัดอนุมูลอิสระออกไป ดังนั้นการเสริมซีลีเนียมลงไปในอาหารให้สัตว์น้ำอาจมีส่วนช่วยในการทำงานในกระบวนการดังกล่าวได้ทันท่วงทีและมีจำนวนเพียงพอต่อความต้องการ

อย่างไรก็ตามควรพิจารณาโครงสร้างและองค์ประกอบของโมเลกุลที่อาจมีผลต่อการนำไปใช้ของสัตว์น้ำได้แตกต่างกัน ดังรายงานของ Wang และคณะ (2007) ทดลองศึกษาในปลาคาร์พ (*Carassius auratusgibelio*) ที่ให้อาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนระดับ 0.55 มก./กก. เปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุม เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนมีกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอน-เปอร์ออกซิเดสในพลาสมาเท่ากับ 13.7±0.86 U/ml ซึ่งมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ (11.5±1.05 U) และอาหารชุดควบคุม (5.8±0.67 U) ตามลำดับ

3. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อของกุ้งขาว

การเสริมซีลีเนียมระดับต่าง ๆ ในการทดลองครั้งนี้พบว่าตรวจพบความผิดปกติของอวัยวะสร้างเม็ดเลือดในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 และ 5.0 มก./กก. และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 5.0 มก/กก ลักษณะความผิดปกติที่เกิดขึ้นได้แก่ มีการขยายตัวของช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (interstitial space) และอินเตอร์สติเทียล ไซนัส (interstitial sinus) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดในอวัยวะสร้างเม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างหลวม ๆ (loose contact) และเมื่อพิจารณาจาก

องค์ประกอบเลือดพบว่าเมื่อกุ้งขาวได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนในระดับที่สูง ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงในขณะที่ความผิดปกติของอวัยวะสร้างเม็ดเลือดเพิ่มสูงขึ้น ชี้ให้เห็นว่าการเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 5.0 มก./กก. ทำให้เกิดความเป็นพิษต่ออวัยวะสร้างเม็ดเลือดของกุ้งขาวได้ ในขณะที่การเสริมโซเดียมซีลีไนท์ซึ่งเป็นสารอนินทรีย์นั้นทำให้กุ้งขาวเป็นพิษได้ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 3.0 มก./กก. เท่านั้น โดยมีอวัยวะสร้างเม็ดเลือดเป็นอวัยวะเป้าหมาย สอดคล้องกับรายงานของ Raisbeck (2000) พบว่าระบบอวัยวะสร้างเม็ดเลือด (hematopoietic) เป็นอวัยวะเป้าหมายแรกเมื่อเกิดความเป็นพิษของซีลีเนียม (Chung และคณะ, 2006)

ในสัตว์บกมีรายงานระดับของซีลีเนียมที่ใช้ในอาหารโดยทั่วไปมีค่าอยู่ในช่วง 1.0 - 3.0 มก./กก. และระดับที่ก่อให้เกิดพิษอยู่ในช่วง 3.0 - 5.0 มก./กก. (Ip and Ganther 1990) ซึ่งการทดลองศึกษาในครั้งนี้ได้ใช้ระดับซีลีเนียมในช่วงดังกล่าวเช่นกันและพบว่าระดับที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษของซีลีเนียมต่อตัวกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีเนียมมีค่าอยู่ในช่วง 3.0 - 5.0 มก./กก. อย่างไรก็ตาม โครงสร้างและรูปแบบของซีลีเนียมที่ใช้มีผลต่อความเข้มข้นที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อกุ้งขาวได้แตกต่างกัน จากการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าซีลีเนียมที่อยู่ในรูปของอนินทรีย์หรือโซเดียมซีลีไนท์สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษได้มากกว่าซีลีเนียมที่อยู่ในรูปอินทรีย์หรือซีลีโนเมทไธโอนีนเมื่อได้รับในปริมาณที่เท่ากัน (> 3.0 พีพีเอ็ม) ทั้งนี้ข้อสันนิษฐานที่เป็นไปได้อาจเนื่องมาจากโซเดียมซีลีไนท์มีการแตกตัวได้ง่ายและรุนแรงกว่าซีลีโนเมทไธโอนีน และขณะเดียวกันซีลีโนเมทไธโอนีนจัดเป็นสารประกอบจำพวกกรดอะมิโนโปรตีน ดังนั้นเป็นไปได้ที่กุ้งขาวสามารถนำไปใช้ในการเติบโตหรือขบวนการเมทาบอลิซึมได้ทันที ซึ่งทำให้ซีลีเนียมที่แตกตัวออกจากโมเลกุลนั้นมีจำนวนน้อยกว่าโซเดียมซีลีไนท์ ส่งผลให้ความเป็นพิษที่เกิดขึ้นในกุ้งขาวต่ำลง และจากผลการทดลองที่ได้สามารถนำซีลีเนียมโดยเฉพาะซีลีเนียมที่อยู่ในรูปของอินทรีย์ไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาวได้ เนื่องจากมีแนวโน้มในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและสร้างภูมิคุ้มกันในกุ้งขาวได้ ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาการเลี้ยงกุ้งขาวให้มีประสิทธิภาพและเพิ่มผลผลิตของกุ้งขาวได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทเชื่อมโยงกับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ อ.วุฒิกรณ์ จิตติวรรณ คุณหิรัญ กังแฮ คุณจิรวัฒน์ ทัดแก้ว คุณกิตติชนม์ อุเทนะพันธุ์ คุณมีชัย แก้วศรีทอง และคุณสุเชษฐ์ หมู่สิกะเภรี ที่ได้ให้คำชี้แนะ และนายธัชนนท์ พันภัย ที่มีส่วนร่วมในระหว่างการทดลองตลอดมา

เอกสารอ้างอิง

กิจการ ศุภมาตย์ และ สิทธิ บุณยรัตผลิน. 2538. การศึกษาภูมิคุ้มกันโรคและแนวทางการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียและไวรัสในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*). รายงานการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. หน้า 1-17.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2545. ศาสตร์ของกุ้งขาว ลิโทพีเนียส แวนนาไม (ตอนที่ 1). ว. สัตว์น้ำ. 158: 87-90.

วุฒิพร พรหมขุนทอง และ อัจฉริยา มูสโกภาศ. 2548. ผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มการใช้วัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* Linn.) ว. สงขลานครินทร์ วทท. (ฉบับพิเศษ 1) 27: 151-170.

Arthur, J.R. 1997. Non-glutathione Peroxidase Functions of Selenium. In Biotechnology in the Food Industry. (Lyons, T.P. and Jacques, K.A., Eds). pp. 143-154. Nottingham: Nottingham University Press.

Bell, T.A. and Lighter, D.V. 1988. A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. Baton Rouge, Louisiana: World Aquaculture Society.

Bell, J.G. and Cowey, C.B. 1989. Digestibility and bioavailability of dietary selenium from fishmeal, selenite, selenomethionine and selenocystine in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 81: 61-68.

Brown, K.M. and Arthur, J.R. 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a review. Public Health Nutrition 4: 593-599.

Cantor, A.H., Scott, M.L. and Noguchi, T. 1975. Biological availability of selenium in feedstuffs and selenium compounds for prevention of exudative diathesis in chicks. J. Nutr 105: 96-105.

Chung, Y.W., Kim, T.S., Lee, S.Y., Lee, H.S., Choi, Y., Kim, N., Min, B., Jeong, D. and Kim, I.C. 2006. Selenite-induced apoptosis of osteoclasts mediated by the mitochondrial pathway. Toxicology Letters 160: 143-150.

Davis, D.A. 1990. Dietary Mineral Requirement of *Penaeus vannamei* Evaluation of The Essentiality For Thirteen Minerals And The Requirements For Calcium, Phosphorus, Copper, Iron, Zinc And Selenium. Ph.D. Dissertation, Texas A&M University, College Station TX, USA.

Duncan, D.B. 1955. Multiple-rage and multiple F test. Biometrics 11: 1-42.

Dupree, H.K. and Sneed, K.P. 1966. Response of Channel Catfish Fingerling to Different Levels of Major Nutrients in Purified Diets. U.S. Bureau of Sports Fish and Wildlife. Tech. Pap. No. 9.

Gatlin III, D.M. and Wilson, R.P. 1984. Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. J. Nutr. 114: 627-633

Hilton, J.W., Hodson, P.V. and Slinger, S.J. 1980. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Nutr. 110: 2527-2535.

Humason, G. 1979. Animal Tissue Techniques (4th edition). San Francisco: W.H. Freeman and Company.

Hyvarinen, A. and Nikkila, E. 1962. Specific determination of blood glucose with o-toluidine. Clinica. Chimica. Acta. 7: 140-143.

Ip, C. and Ganther, H.E. 1990. Activity of methylated forms of selenium in cancer prevention. Cancer Res. 50: 1206-1211.

Jantrarotai, W., Sitasit, P. and Rajchapakdee, S. 1994. The optimum carbohydrate to lipid ratio in hybrid Clarias catfish (*Clarias macrocephalus x C. gariepinus*) diets containing raw broken rice. Aquaculture 27: 43-54.

Linn, Y.H. and Shiau, S.Y. 2005. Dietary selenium requirement of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture 250: 356-363.

Little, C., Olinescu, R., Reid, K.G. and O' Brien, P.J. 1970. Properties and regulation of glutathione peroxidase. J. Biol. Chem. 245: 3632-3636.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randell, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

Rutruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D. and Hockstra, W.G. 1973. Selenium: biochemical role as a component of GSH-Px. Science 179: 588-590.

Schubert, J.R., Muth, O.H., Oldfield, J.E. and Remmert, L.F. 1961. Experimental results with selenium in white muscle disease of lams and calves. Federation Proc. 20: 689-694.

Smith, V.J. and Soderhall, K. 1983. β-1,3 Glucan activation of crustacean haemocytes *in vitro* and *in vivo*. Biol. Bull. 164: 299-314.

Soderhall, K. and Cerenius, L. 1992. Crustacean immunity. Annu. Rev. of Fish Dis. 2: 3-23.

Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principle and Procedures of Statistics. 2nd edition. New York: McGraw Hill.

Tapia-Salazar, M., Cruz-Suarez, L. E., Ricque-Marie, D., Pike, I. H., Smith, T. K., Harris, A., Nygard, E. and Opstvedt, J. 2004. Effect of fishmeal made from stale versus fresh herring and of added crystalline biogenic amines on growth and survival of blue shrimp *Litopenaeus styliro stris* fed practical diets. Aquaculture 242: 437-453.

Wang, A.L., Wang, W.N., Liu, C.Q., Wang, S.A., Wang, R.D. and Ma, Z.Q. 1994. Effect of selenium concentrations in feed on the growth and selenium contents of Penaeus chinensis. J. Fish. China. 18: 245-280

Wang, Y., Han, J., Li, W. and Xu, Z. 2007. Effect of different selenium source on growth performance, muscle, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (Carassius auratus gibelio). Anim. Feed Sci. Technol. 134: 243-251.