รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของซีลีเนียมต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด การต้านทานความเครียด และความต้านทานโรคในกุ้งขาว

Effect of selenium on growth performance, survival, stress tolerance and disease resistance in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

รศ.ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง

Wutiporn Phromkunthong

บุญกอบ วิริยพงศ์สุธี

Boonkob Viriyapongsutee

รายงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจาก งบประมาณประจำปี พ.ศ. 2551

ผลของซีลีเนียมต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด การต้านทานความเครียด และความต้านทานโรคในกุ้งขาว

วุฒิพร พรหมขุนทอง[1*] และบุญกอบ วิริยพงศ์สุธี[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง โดยศึกษาถึงการใช้ประโยชน์จากซีลีเนียมในอาหารสำหรับกุ้งขาว การทดลองที่ 1 ทำการทดลองในตู้กระจกประกอบด้วย 9 ชุดการทดลอง โดยเปรียบเทียบการใช้ประโยชน์ของซีลีเนียมใน 2 รูปแบบคือในรูปแบบอินทรีย์ (ซีลีโนเมทไธโอนิน, SeMet) และอนินทรีย์ (โซเดียมซีลีไนท์, NaSe) ที่ระดับ 0 (สูตรควบคุม), 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 ppm การทดลองใช้กุ้งขาวขนาด 2 กรัม และ 7 กรัม สำหรับการทดลองที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ระยะเวลาที่ใช้ทดลอง 8 สัปดาห์เท่ากัน จากผลการทดลองในการทดลองที่ 1 พบว่า NaSe ที่ระดับ 0.5 ppm และ SeMet ที่ระดับ 1.0 ppm ส่งผลในแง่การเจริญเติบโตดีที่สุดในแต่ละรูปแบบ และพบว่าการเสริมซีลีเนียมทั้ง 2 รูปแบบในอาหารช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันความต้านทานต่อความเครียด และทำให้สุขภาพของกุ้งขาวดีกว่ากุ้งในชุดควบคุม แต่หากเพิ่ม NaSe และ SeMet ขึ้นไปถึงระดับ 3.0 และ 5.0 ppm ในอาหารตามลำดับ มีแนวโน้มที่ก่อให้เกิดพิษในกุ้งขาว โดยจะพบอาการผิดปกติของอวัยวะสร้างเม็ดเลือด 60 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนกุ้งในชุดที่ได้รับซีลีเนียมในรูปแบบและระดับที่กล่าวมาข้างต้น ดังนั้นจึงทำการทดลองที่ 2 โดยทดลองในกระชัง เลือกใช้ NaSe ที่ระดับ 0.5 ppm และ SeMet ที่ระดับ 1.0 ppm เปรียบเทียบกับอาหารสูตรที่ไม่เสริมซีลีเนียม และเพิ่มวิตามินอีที่ระดับ 0.1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพื่อเปรียบเทียบผลของการเสริมและไม่เสริมวิตามินอีต่อการนำซีลีเนียมไปใช้ประโยชน์ จากผลการทดลองพบมีแนวโน้มว่าการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ในกุ้งที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมซีลีเนียมทั้ง 2 รูปแบบให้ผลดีกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ไม่เสริมซีลีเนียม เช่นเดียวกับสุขภาพ ความต้านทานโรค และความเครียดจากการขนส่ง ในด้านการใช้ประโยชน์พบว่ากุ้งสามารถใช้ประโยชน์ SeMet ได้ดีกว่า NaSe ดังจะเห็นได้จากซีลีเนียมที่สะสมในตัวกุ้งซึ่งมีค่าสูงกว่า และการเสริมวิตามินอีในอาหารช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารซึ่งจะส่งผลให้การเจริญเติบและสุขภาพของกุ้งขาวดีขึ้นอีกด้วย จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่าสามารถพัฒนาสูตรอาหารสำหรับกุ้งขาวที่ให้ผลด้านการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้อาหาร และภูมิคุ้มกันที่ดี โดยใช้ SeMet ที่ระดับ 1.0 ppm หรือ NaSe ที่ระดับ 0.5 ppm และเสริมวิตามินอีลงในอาหาร

คำสำคัญ : กุ้งขาว, ซีลีโนเมทไธโอนิน, โซเดียมซีลีไนท์, วิตามินอี, ภูมิคุ้มกัน, ความเครียด

[1]Ph.D. (Aquatic Animal Nutrition) รองศาสตราจารย์, [2]วท.ม. เทคโนโลยีชีวภาพ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

*Corresponding e-mail: wutipornp@yahoo.com

Effect of selenium on growth performance, survival, stress tolerance and disease resistance in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

Wutiporn Phromkunthong[1]* Boonkob Viriyapongsutee[2]

Abstract

This study was divided into two parts. Selenium was used in feeds of Pacific white shrimp. In the trial 1, it comprised of nine treatments in which the effects of organic selenium (selenomethionine, SeMet) or inorganic selenium (sodium selenite, NaSe) on growth and health parameters were demonstrated. Both selenium forms were included in shrimp feeds at 0, 0.5, 1, 3 and 5 ppm. This experiment was conducted in glass aquaria and it lasted 8 weeks. Pacific white shrimp of average body weight of 2 and 7 g employed in the trials 1 and 2, accordingly. After 8 weeks of the feeding period, shrimp received NaSe at 0.5 ppm or SeMet at 1 ppm provided the highest growth performance. Moreover, the supplementation of NaSe or SeMet in shrimp feeds enhanced immune response as well as stress resistance in shrimps. However, the additional high doses of both selenium forms at 3 or 5 ppm showed adverse effects as an abnormality (60%) of hemopoietic tissue occurred. To further the trial 2 we chose the best dose of both selenium forms, and the study was conducted in net cages. Also, vitamin E was added at 0.1 g/kg feed into the feed in order to see if it had any positive effects in conjunction with selenium. The results from this study indicated that the supplementation of both selenium forms gave better growth and feed efficacy compared to the shrimp which received feed without selenium supplementation. The same trend also demonstrated good health conditions, disease resistance and shrimp resistance to transportation stress. The shrimp can utilize SeMet better than NaSe as the selenium content in those shrimps was higher. The results from this study indicated that the combination of vitamin E and the inclusion of SeMet and NaSe at the levels of 1 ppm and 0.5 ppm, respectively provided positive effects on growth as well as feed utilization and immune response.

Keywords : Pacific white shrimp, selenomethionine, sodium selenite, vitamin E, immune response, stress

[1]Ph.D. (Aquatic Animal Nutrition), Associate Professor, [2]M.Sc. Biotechnology Aquatic Animal Health Research Center, Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University

*Corresponding author: E-mail address: wutipornp@yahoo.com

กิตติกรรมประกาศ

ขออุทิศคุณความดีของงานวิจัยเรื่องนี้แด่รองศาสตราจารย์ ดร.กิจการ ศุภมาตย์ ผู้ล่วงลับ โดยท่านเป็นผู้ริเริ่มโครงการวิจัยจนกระทั่งได้รับการสนับสนุนเงินวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีพ.ศ. 2551 และขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ให้การสนับสนุนงบประมาณที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ และขอบคุณนายนัทท์ นันทพงศ์ ที่ช่วยตรวจทานต้นฉบับงานวิจัย

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	-ii-
Abstract	-iii-
กิตติกรรมประกาศ	-iv-
สารบัญ	-v-
รายการตาราง	-vi-
รายการภาพ	-vii-
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 บทนำต้นเรื่อง	1
1.2 ตรวจเอกสาร	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	11
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	11
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	
2.1 วัสดุ	13
2.2 อุปกรณ์	13
2.3 วิธีการดำเนินการวิจัย	14
การทดลองที่ 1	15
การทดลองที่ 2	21
2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	27
3. ผลการทดลอง	28
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	49
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	57
เอกสารอ้างอิง	59

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ปริมาณซีลีเนียมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำแต่ละชนิด	7
2. เปรียบเทียบปริมาณของซีลีเนียมที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำแต่ละชนิด	12
3. ส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบในอาหารทดลองการทดลองที่ 1	16
4. คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองสำหรับการทดลองที่ 1 (% dry as basis)	17
5. ปริมาณการเสริมซีลีเนียมแต่ละชนิดในอาหารทดลองและปริมาณซีลีเนียมที่วิเคราะห์ได้ในอาหารทดลอง	17
6. ส่วนประกอบ ปริมาณวัตถุดิบ และองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองที่ 2	26
7. การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการรอดตายของกุ้งขาว ที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	30
8. ปริมาณเม็ดเลือดรวม โปรตีนในเลือด กลูโคสในเลือด และกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสของกุ้งขาว ที่ได้รับอาหารในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	31
9. กิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสในน้ำเลือด (hemolymph) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	32
10. เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดตายของกุ้งขาวในการทดลองที่ 1 หลังจากการฉีดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว เป็นเวลา 10 วัน	33
11.ลักษณะความผิดปกติของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	36
12. การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตรารอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 2 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	41
13. ประสิทธิภาพการใช้อาหารของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 2 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	42
14. องค์ประกอบเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 2 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	43
15. องค์ประกอบทางเคมีในตัวกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 2เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	45
16. อัตรารอดตายของกุ้งขาวภายหลังจากการทดสอบความต้านทานเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในการทดลองที่ 2	46
17. อัตรารอดตายของกุ้งขาวภายหลังจากการทดสอบความต้านทานความเครียดจากการขนส่งในการทดลองที่ 2	47
18. ปริมาณซีลีเนียมในตัวกุ้งขาวภายหลังได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	48

รายการภาพ

ภาพที่	หน้า
1. โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบซีลีเนียมต่าง ๆ	5
2. อัตรารอดหลังจากการฉีดเชื้อ *Streptococus* sp. ของปลากะพงขาวที่ให้อาหารที่เสริมซีลีเนียมร่วมวิตามินอี	9
3. อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของกุ้งขาวเนื่องจากความเครียดจากการขนส่ง ภายหลังได้รับอาหารในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	34
4. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซีลีเนียมในอาหารกับปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารในการทดลองที่ 1 เป็นเวลา 8 สัปดาห์	35
5. เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารชุดควบคุม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบเซลล์เม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างปกติ	37
6. เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 มก./กก. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีการขยายตัวของอินเตอร์สติเทียล ไซนัส (interstitial sinus) มากขึ้น (ศรชี้) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดจับตัวกันอย่างหลวมๆ	37
7. เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 5.0 มก./กก. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีการขยายตัวของช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (interstitial space; A) และอินเตอร์สติเทียล ไซนัส (interstitial sinus; B) มากขึ้น	38
8. เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 5.0 มก./กก. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีการขยายตัวของช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (interstitial space) มากขึ้น (ศรชี้) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดจับตัวกันอย่างหลวมๆ	38

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) เป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีการเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในแถบลาตินอเมริกา อเมริกา และบางประเทศในทวีปเอเชีย สำหรับประเทศไทยเริ่มมีการนำกุ้งขาวเข้ามาเลี้ยงตั้งแต่ปีพ.ศ. 2541 (ปิยะบุตร, 2545) เนื่องจากประสบปัญหาเรื่องโรคในกุ้งกุลาดำและได้หยุดเลี้ยงไประยะหนึ่ง แต่ในปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งขาวนิยมเลี้ยงมากกว่ากุ้งกุลาดำ เนื่องจากมีความทนทาน แข็งแรง เจริญเติบโตเร็ว และให้ผลผลิตดี และมีการเลี้ยงกุ้งขาวเป็นรูปแบบของการเลี้ยงด้วยความหนาแน่นสูงเพื่อเพิ่มผลผลิต จึงส่งผลกระทบต่อตัวกุ้งโดยทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากกุ้งเกิดความเครียดและอ่อนแอสามารถติดโรคได้ง่าย ทำให้เกษตรกรใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีต่างๆ มาใช้ในระบบการเลี้ยง เกิดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะและสารเคมีในแหล่งน้ำและตัวสัตว์น้ำ ส่งผลให้เกิดปัญหาการดื้อยาของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งยากต่อการควบคุมและรักษา

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; Rotruck *et al*., 1973) ปัจจุบันมีการนำซีลีเนียมไปใช้ในวงการปศุสัตว์ เพื่อเสริมสร้างภูมิต้านทานให้กับสัตว์ ช่วยป้องกันการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคกล้ามเนื้อขาว (white muscle disease) ในวัวและแกะ (Schubert *et al*., 1961) และโรคท้องมาน (exudative diathesis) ในไก่ (Cantor *et al*., 1975) เป็นต้น และได้มีการนำซีลีเนียมมาประยุกต์ใช้โดยการเสริมในอาหารสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อัตรารอด และเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน โดยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในปลาค่อนข้างมากกว่าสัตว์น้ำชนิดอื่นเช่น ปลาเทร้าท์ (Hilton *et al*., 1980) ปลากดอเมริกัน (Gatlin and Wilson, 1984) ปลาแซลมอน (Bell and Cowey, 1989) และปลาเก๋า (Lin and Shiau, 2005) ในขณะที่การศึกษาทางด้านนี้ในสัตว์น้ำจำพวกครัสเตเซียน (crustacean) โดยเฉพาะกุ้งนั้นยังมีการศึกษาน้อยและข้อมูลทางด้านนี้ยังไม่ชัดเจนมากนัก

1.2 ตรวจเอกสาร

1.2.1 กุ้งขาว

1.2.1.1 ชีววิทยาของกุ้งขาว

กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*, Boon 1931) เป็นครัสเตเซียกลุ่มเดคาพอดา (decapoda) ซึ่งได้มีการจัดอนุกรมวิธานของกุ้งขาวไว้ดังนี้

อนุกรมวิธานของกุ้งขาว (Holthuis, 1980)

Phylum Arthropoda

Class Crustacea

Order Decapoda

Family Penaeidae

Genus *Penaeus*

Subgenus *Litopenaeus*

Species *vannamei*

1.2.1.2 ถิ่นที่อยู่อาศัย

กุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม หรือที่เรียกกันว่า "กุ้งขาวหรือกุ้งแวนนาไม" ค้นพบโดย Boone ในปี ค.ศ. 1931 มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) ส่วนชื่อทาง FAO รับรองเป็นภาษาอังกฤษ white leg shrimp ชื่อภาษาฝรั่งเศส *Crevette pattes* blanches ชื่อภาษาสเปน *Camaron patiblance* ส่วนชื่อสามัญ และชื่อทางการค้ามีหลายชื่อเรียกตามแหล่งที่พบหรือตามลักษณะเด่นทางกายภาพที่ปรากฏให้เห็นเป็นภาษาต่าง ๆ ได้แก่ ชื่อภาษาอเมริกา west coast white shrimp หรือ white leg shrimp ชื่อภาษาเม็กซิกัน *Camaron blanco* ชื่อภาษาโคลัมเบีย *Camaron caf* หรือ *Camaron blanco* ชื่อภาษาเปรู *Camoron blanco* หรือ langostino (ปิยะบุตร, 2545) สามารถแบ่งกลุ่มของกุ้งขาวในสายพันธุ์พีเนียสออกเป็น 2 กลุ่มหลักๆ ตามถิ่นที่อยู่อาศัยของซีกโลก คือ กุ้งขาวตะวันตก (western coast white shrimp) ได้แก่ กุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม (*L. vannamei*) กุ้งน้ำเงิน (*P. stylitoris*) และกุ้งขาวตะวันออกได้แก่ กุ้งแชบ๊วย (*P. merguiensis*) กุ้งขาวอินเดีย (*P. indicus*) และกุ้งขาวจีน (*P. chinensis* หรือ *P. orientalis*) (ปิยะบุตร, 2545)

1.2.1.3 การแพร่กระจาย

ถิ่นที่อยู่อาศัยของกุ้งขาว (*L. vannamei*) อาศัยอยู่ตามแนวชายฝั่ง ป่าชายเลนพื้นโคลน และลึกลงไปจนถึงความลึกประมาณ 72 เมตร ของอ่าวโซโนรา ประเทศเม็กซิโกเรื่อยต่ำลงมาตามแนวชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิกจนกระทั่งถึงตอนเหนือของประเทศเปรู ปัจจุบันมีการแพร่กระจายไปหลายพื้นที่ เช่น ประเทศจีนและไต้หวัน (ภิญโญ, 2545)

1.2.1.4 ลักษณะทั่วไป

กุ้งขาวมีลำตัว 6 ปล้อง ส่วนหัว 1 ปล้อง ส่วนหาง 1 ปล้อง หน้าอกใหญ่ลักษณะลำตัวขาวใส ขาสีขาว หางมีสีแดง โดยเฉพาะบริเวณปลายหางจะมีสีแดงเข้ม กรีจะมีแนวตรงปลายงุ้มลงเล็กน้อย เมื่อโตขึ้นฟันกรีด้านบนจะมี 8 ซี่ และด้านล่าง 2 ซี่ ความยาวของกรีจะยาวกว่าลูกตาไม่มาก มีเมือกมาก ซึ่งไม่เหมือนกับกุ้งขาวบางชนิด ที่สามารถสังเกตเห็นได้ว่ามีเมือกน้อยลำตัวค่อนข้างแห้งเร็วเมื่อนำขึ้นมาจากน้ำ และที่สังเกตได้เด่นชัดที่สุดคือลำไส้ของกุ้งชนิดนี้ จะโตเห็นได้ชัดกว่ากุ้งขาวชนิดอื่น ๆ กุ้งขาวตัวที่โตสมบูรณ์เต็มที่จะมีขนาดเล็กกว่ากุ้งกุลาดำ โดยความยาวจากปลายกรีหัวจนถึงกรีหางประมาณ 230 มิลลิเมตร น้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 120 กรัม (ปิยะบุตร, 2545; ภิญโญ, 2545)

กุ้งขาวเป็นสายพันธุ์กุ้งทะเลที่มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก กัวเตมาลา นิคารากัว คอสตาริกา ปานามา โคลัมเบีย เอกวาดอร์ และเปรู กุ้งสายพันธุ์นี้มีความแข็งแรงและทนทานจึงมีการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติได้กว้างไกล ในแถบแนวชายฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิก ตั้งแต่เม็กซิโกถึงเปรู เนื่องจากภูมิภาคในแถบนี้ที่ระดับความลึกจากเส้นแนวชายฝั่งลงไปประมาณ 72 เมตรหรือ 235 ฟุต มีพื้นท้องทะเลเป็นเหมือนโคลนที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโต และเป็นแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์ ประเทศเอกวาดอร์เป็นประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ที่มีฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้ง ลูกกุ้ง และพ่อแม่พันธุ์ (ภิญโญ, 2545)

1.2.1.5 การกินอาหาร

กุ้งขาวชอบกินอาหารประเภทกึ่งจมกึ่งลอยทั้งพืชและสัตว์ แต่จะมีนิสัยการกินสัตว์เป็นอาหาร อาหารในช่วงแรกเป็นสัตว์ขนาดเล็กเช่น พวกหอย ครัสเตเซีย และเพรียง ที่อาศัยอยู่ในดินหรือบนพื้นผิวดินก้นบ่อ จะกินพืชและซากพืชบ้างในระยะวัยรุ่น (juvenile) โดยจะว่ายน้ำเข้ามาจับอาหารกลางน้ำเป็นส่วนใหญ่ กรณีน้ำตื้นสามารถมองเห็นกุ้งหากินกึ่งว่ายกึ่งคลานตามพื้นบ่อ การเคลื่อนไหวเป็นไปอย่างรวดเร็ว เป็นกุ้งที่ขยันหาอาหาร โดยสามารถย่อยอาหารได้เร็วและย่อยสมบูรณ์ในระยะเวลา 4-6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (ภิญโญ, 2545; Goddard, 1996)

1.2.1.6 การสืบพันธุ์

การสืบพันธุ์เริ่มตั้งแต่ตัวผู้และตัวเมียอายุ 9 เดือนขึ้นไป และมีน้ำหนักตัวเริ่มต้นของตัวผู้ 35 กรัม ตัวเมีย 40 กรัมขึ้นไป โดยกุ้งตัวเมียจะมีอวัยวะเพศแบบเปิด (open thelycum) ซึ่งเมื่อเวลาผสมพันธุ์ตัวผู้จะสลัดเอาถุงน้ำเชื้อเข้าไปเก็บไว้ในอวัยวะเพศของตัวเมีย ถุงน้ำเชื้อจะมีปีกบาง ๆ และมีสารเหนียวติดมาด้วย จะปิดอวัยวะเพศของตัวเมีย โดยมีสารเหนียวที่ปีกบาง ๆ เป็นตัวทำให้เกาะติด อวัยวะเพศจะมีสีขาวจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และน้ำตาลอมเขียวในช่วงวางไข่ การผสมพันธุ์ของกุ้งขาวชนิดนี้สามารถผสมพันธุ์ได้โดยไม่ต้องรอให้ตัวเมียลอกคราบคือ จะผสมพันธุ์ในช่วงคราบแข็งได้ (intermolt) หลังจากการผสมพันธุ์ 2-3 ชั่วโมง แม่กุ้งจะเริ่มวางไข่ในตอนเย็นการเกี้ยวพาราสีและผสมพันธุ์จะมีขึ้นในช่วงบ่าย การวางไข่จะสังเกตจากอาการของแม่กุ้งที่ว่ายน้ำเร็วขึ้นสลับกับการกระโดดเป็นครั้งคราว

การวางไข่จะใช้เวลาประมาณ 1-3 นาที ในขณะผสมพันธุ์ตัวผู้จะอยู่ข้างล่างโดยใช้ขาเดินกอดตัวเมียไว้ในแนวขนานกัน (ภิญโญ, 2545)

1.2.1.7 ความต้องการสารอาหาร

ความต้องการสารอาหารในกุ้งขาวเหมือนกับกุ้งทะเลชนิดอื่น โดยมีความต้องการสารอาหารแตกต่างกันไปขึ้นกับวัยและขนาดของกุ้ง ในกุ้งขาวที่โตเต็มวัยมีความต้องการโปรตีนประมาณ 32 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกุ้งวัยอ่อนมีความต้องการโปรตีนประมาณ 36 เปอร์เซ็นต์ ความต้องการไขมันประมาณ 5-8 เปอร์เซ็นต์โดยมีความต้องการกรดไขมันจำเป็นพวก ลิโนเลอิก (18:2n-6) 0.4 เปอร์เซ็นต์ ลิโนลินิก (18:3n-3) 0.3 เปอร์เซ็นต์โดยเฉพาะ Eicosapentaenoic acids (20:5n-3, EPA) 0.4 เปอร์เซ็นต์ และ Decosahexaenoic acids (22:6n-3, DHA) 0.4 เปอร์เซ็นต์ (Akiyama *et al.*, 1991) และมีความต้องการกรดไขมันชนิด HUFA (Kanazawa *et al.*, 1985) ความต้องการคาร์โบไฮเดรตประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ โดยทั้งไขมันและคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงาน นอกจากนี้ยังมีแร่ธาตุที่จำเป็นเช่น ฟอสฟอรัสและแคลเซียม กุ้งขาวมีความต้องการฟอสฟอรัสประมาณ 0.34-2 เปอร์เซ็นต์ (Davis *et al.*, 1993; Pan *et al.*, 2005) และมีความต้องการแคลเซียมประมาณ 0.5-2 เปอร์เซ็นต์ โดยสัดส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่เหมาะสมสำหรับกุ้งกุลาดำคือ 2:1 หรือ 1:1 (Penaflorida, 1999) และกุ้งขาวคือ 1:1 (Deshimaru and Yone, 1978; Li *et al.*, 1986; Davis and Gatlin, 1996; Cheng *et al.*, 2006) การได้รับแร่ธาตุพวกแคลเซียมและฟอสฟอรัสในระดับที่เหมาะสมจะช่วยบำรุงตับทำให้กุ้งแข็งแรง โตเร็ว มีระบบไหลเวียน ระบบประสาท และระบบภูมิคุ้มกันโรคดี

1.2.2 ซีลีเนียม

1.2.2.1 ซีลีเนียม (selenium)

ซีลีเนียม ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1817 โดย Jons Jacob Berzelius ซึ่งซีลีเนียมได้ชื่อมาจากคำในภาษากรีก Selene ซึ่งแปลว่า พระจันทร์ (McKenzie *et al.*, 1998; Dodig and Ivana, 2004)

1.2.2.2 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

ซีลีเนียม เป็นแร่ธาตุชนิดหนึ่งมีสัญลักษณ์ทางเคมีว่า Se มีเลขอะตอมและมวลอะตอมเท่ากับ 34 และ 78.96 กรัมต่อโมล ตามลำดับ ในตารางธาตุจัดอยู่ในหมู่ที่ 6 โดยอยู่ระหว่างธาตุกำมะถัน (sulphur) และเทลลูเรียม (tellurium) และคาบที่ 4 อยู่ระหว่างธาตุสารหนู (arsenic) และโบรมีน (bromine)

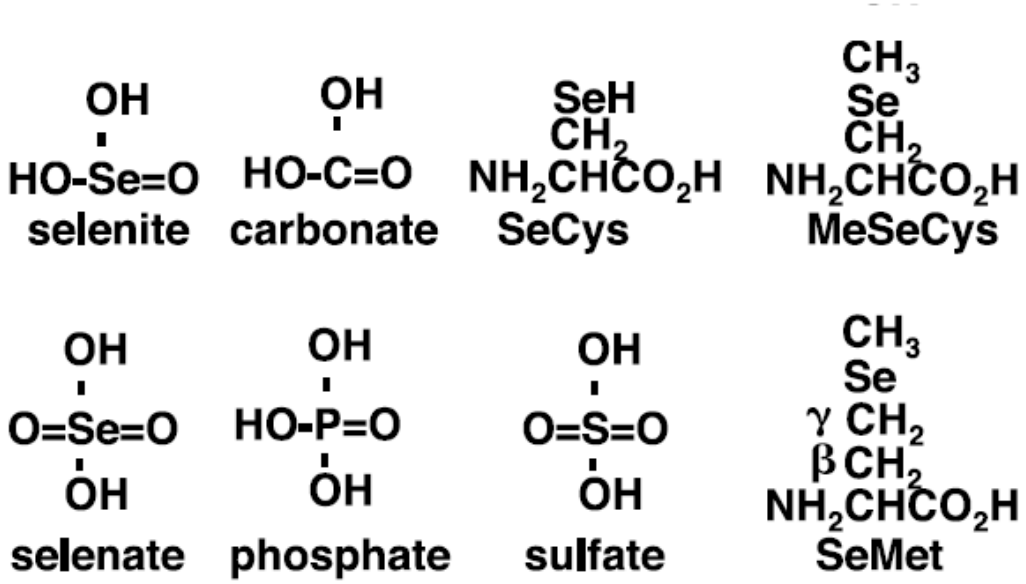
ซีลีเนียมเป็นอโลหะ (methaloid) มีสีเทาถึงดำ ไม่มีกลิ่น มีจุดหลอมเหลวที่ 220.5 องศาเซลเซียส และมีจุดเดือดเท่ากับ 684.9 องศาเซลเซียส (กรมควบคุมมลพิษ, 2542; McDowell, 1992; Brown and Arthur, 2001; Dodig and Ivana, 2004)

1.2.2.3 ชนิดของซีลีเนียม

ซีลีเนียมเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับมนุษย์และสัตว์ โดยถูกจัดให้เป็นองค์ประกอบธาตุที่มีความจำเป็นแต่ต้องการปริมาณน้อย (Schwarz and Foltz, 1958; Hilton *et al*., 1980) สามารถพบได้ทั้งในแหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์ ดังนี้ (Andreotti, 2003; Dodig and Ivana, 2004)

1) ซีลีเนียมในรูปของสารอินทรีย์ ได้แก่ ซีลีโนเมทไธโอนีน (selenomethionine), ซีลีโนซิสเตอีน (selenocysteine) และซีลีโนยีสต์ (selenoyeast) เป็นต้น (ภาพที่ 1) ซึ่งมีความใกล้เคียงกับอนุพันธ์ของซัลเฟอร์ที่เป็นที่รู้จักคือ เมทไธโอนีน (methionine) และซิสเตอีน (cysteine) เป็นต้น

2) ซีลีเนียมในรูปของสารอนินทรีย์ ได้แก่ โซเดียมซีลีไนท์ (sodium selenite) โซเดียมซีลีเนท (sodium selenate) ไฮโดรเจนซีลีไนด์ (hydrogen selenide) ซีลีเนียมซัลไฟด์(selenium sulfide) และซีลีเนียมซัลเฟต (selenium sulfate) (ภาพที่ 1) ซึ่งมีความสอดคล้องกับรูปอนินทรีย์ของซัลเฟอร์ คือ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซัลไฟด์ และซัลเฟต เป็นต้น



ภาพที่ 1. โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบซีลีเนียมรูปแบบต่าง ๆ

ที่มา : Suzuki (2005)

1.2.2.4 แหล่งที่พบของซีลีเนียม

ในธรรมชาติสามารถพบซีลีเนียมได้ทั้งในดิน อากาศ น้ำและในอาหาร เป็นต้น (Ermakov and Kovalskij, 1974) ทั้งนี้ปริมาณของซีลีเนียมที่สะสมอยู่แต่ละพื้นที่นั้นมีปริมาณไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับปริมาณซีลีเนียมที่สะสมอยู่ในดินทำให้พืชที่เพาะปลูกบนดินเหล่านั้นดูดซึมซีลีเนียมได้และเป็นอาหารของสัตว์ต่อไป ทำให้แต่ละพื้นที่มีปริมาณซีลีเนียมที่แตกต่างกัน (Sirichakwal *et al*., 2005) ซึ่งจะแบ่งได้

1) ดินและหิน สามารถพบซีลีเนียมได้ในดินและหิน เช่น ดินทราย หินปูน และแผ่นหิน พบว่ามีการสะสมของซีลีเนียมอยู่ระหว่าง 0.1-2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และอาจมีปริมาณซีลีเนียมสูงถึง 1,200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Andreotti, 2003) แต่ละพื้นที่มีการสะสมซีลีเนียมในปริมาณที่แตกต่างกัน เช่นประเทศจีนมีซีลีเนียมสะสมในดินเฉลี่ย 0.112 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และพบสูงสุดเพียง 7.865 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Sun *et al*., 1985)

2) อากาศ ซีลีเนียมสะสมอยู่ในอากาศทั้งจากการหายใจของสิ่งมีชีวิตและจากมลภาวะ โดยทั่วไปพบว่ามีในปริมาณต่ำกว่า 10 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (US NAS/NRC, 1976 อ้างโดย Andreotti, 2003) และจากการศึกษาของ Hashimoto และ Winchester (1967) พบว่าซีลีเนียมที่ล่องลอยในอากาศบริเวณเขตตัวเมืองมีอยู่ประมาณ 0.3-1.6 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าในเขตพื้นที่อุตสาหกรรม ก๊าซพิษดังกล่าวฯ คือ ก๊าซไฮโดรเจนซีลีไนท์ (Hydrogen selenite) ซึ่งเป็นก๊าซไม่มีสี (Ermakov and Kovalskij, 1974)

3) อาหารและน้ำ ซีลีเนียมพบในอาหารสำหรับบริโภคได้แก่ อาหารทะเล เนื้อสัตว์ ไข่ ผัก และผลไม้ รวมทั้งหัวหอมและกระเทียม ซึ่งปริมาณซีลีเนียมในเนื้อสัตว์ ผักและผลไม้ชนิดต่าง ๆ ในแต่ละพื้นที่ของแต่ละประเทศไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับปริมาณซีลีเนียมที่มีอยู่ในพื้นดินที่ใช้ปลูกพืช การกินกันตามลำดับห่วงโซ่อาหารของผู้บริโภครวมทั้งการกินของสัตว์ใหญ่กินสัตว์เล็กด้วย ดังนั้นปริมาณซีลีเนียมที่มีอยู่ในพืชและสัตว์แต่ละชนิดจึงแตกต่างกัน (Dodig and Ivana, 2004; Sirichakwal *et al*., 2005) สำหรับในประเทศไทย Sirichakwal และคณะ (2005) ได้ศึกษาปริมาณซีลีเนียมที่พบในอาหารไทยทั้งพืชผัก ผลไม้และในเนื้อสัตว์พวกวัว สุกร ไก่ ฯลฯ รวมทั้งสัตว์ทะเลพวกหมึก กุ้ง ปูและหอย เป็นต้น ดังตารางที่ 1 นอกจากนี้พบว่าอาหารที่มีโปรตีนสูงจะมีปริมาณซีลีเนียมสะสมอยู่มาก และอาหารที่มีโปรตีนต่ำจะมีปริมาณซีลีเนียมสะสมอยู่น้อยกว่า ส่วนซีลีเนียมซึ่งพบในแหล่งน้ำอยู่ในรูปเกลือซีลีเนียมอนินทรีย์ (Inorganic selenium salt) ประมาณ 2-3 ไมโครกรัมต่อลิตร (Ermakov and Kovalskij, 1974)

4) การเกษตรและอุตสาหกรรม ในด้านเกษตรกรรมพบซีลีเนียมในส่วนผสมของยากำจัดศัตรูพืชและยาฆ่าเชื้อรา ด้านอุตสาหกรรมการผลิต ได้แก่ โรงงานทำเหมืองแร่ โรงงานถลุงแร่ และ

โรงงานสกัดโลหะหนัก ส่วนอุตสาหกรรมการบริโภค ได้แก่ การทำแก้ว (การฟอกสี) อุปกรณ์อิเล็กโทรนิค หมึกพิมพ์ และสีย้อม (US NAS/NRC, 1976 อ้างโดย Andreotti, 2003) เป็นต้น

1.2.3 ประโยชน์ของซีลีเนียมและวิตามินอีต่อสัตว์น้ำ

1.2.3.1 ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต

ในสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความต้องการซีลีเนียมสำหรับใช้ในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เช่น ปลาเทร้าท์ต้องการซีลีเนียมสำหรับใช้ในการเจริญเติบโต เท่ากับ 0.15-0.38 มก./กก. (Hilton *et al.*, 1980) ปลากดอเมริกันต้องการปริมาณ 0.25 มก./กก. (Gatlin and Wilson, 1984) ปลาเก๋าต้องการปริมาณ 0.79 มก./กก. (Lin and Shiau, 2005) และกุ้งขาววัยอ่อนต้องการปริมาณ 0.2-0.4 มก./กก. (Davis, 1990 อ้างโดย วุฒิพร, 2541) เป็นต้น (ตารางที่ 1)

จากการศึกษาของ Wang และคณะ (2007) พบว่าการเสริมซีลีเนียมในอาหารที่ระดับ 0.55 มก./กก. ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของปลาคาร์พ (*Carassius auratus gibelio*) ได้ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม สอดคล้องกับ จุไลวรรณ (2551) ทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้น 18.8 กรัม โดยเสริมซีลีเนียมในรูปต่างๆ ร่วมกับวิตามินอีพบว่า การเสริมของซีลีโนเมทไธโอนีน 1.0 มก./กก. ร่วมกับวิตามินอี 1.0 มก./กก. ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด แตกต่างจากชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 1 ปริมาณซีลีเนียมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำแต่ละชนิด

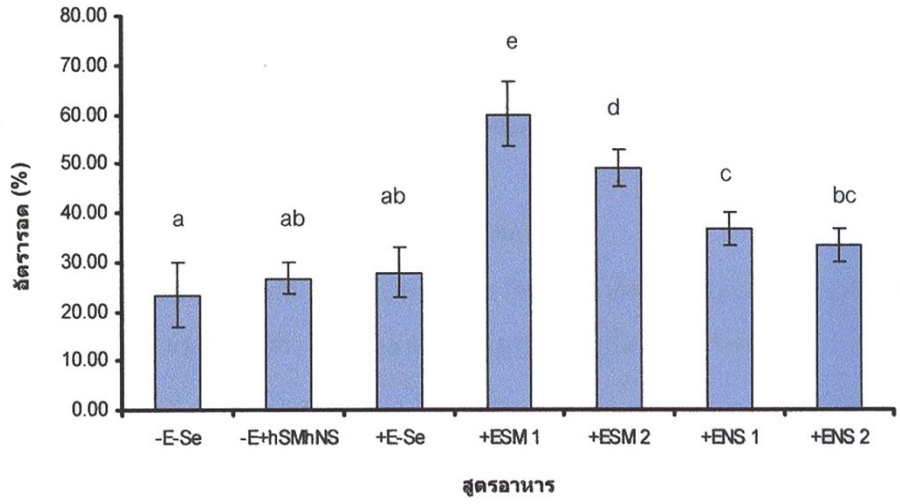
ชนิดของปลา	น้ำหนัก (กรัม)	ชนิดซีลีเนียม	ปริมาณ (มล./ กก.)	ที่มา
ปลาเทร้าท์	1.3	โซเดียมซีลีไนท์	0.15-0.38	Hilton และคณะ (1980)
ปลากดอเมริกัน	78-85	โซเดียมซีลีไนท์	0.25	Gatlin และ Wilson, (1984)
	1.7	โซเดียมซีลีไนท์	0.28	Wang และ Lovell, (1997)
	1.7	ซีลีโนเมทไธโอนีน	0.09	Wang และ Lovell, (1997)
ปลาแซลมอน	68	ซีลีโนเมทไธโอนีน	-	Bell และ Cowey (1989)
ปลาเก๋า	12.2	ซีลีโนเมทไธโอนีน	0.79-1.23	Lin และ Shiau, (2005)
ปลากะพงขาว	18.8	ซีลีโนเมทไธโอนีน	1.0	จุไลวรรณ (2551)
กุ้งขาวจีน	-	ซีลีเนียม	0.44	Wang และคณะ (1994) อ้างโดย Wang และคณะ (2006)
กุ้งขาว	-	ซีลีเนียม	0.2-0.4	Davis (1994) อ้างโดย วุฒิพร (2541)

สำหรับสัตว์น้ำในกลุ่มครัสเตเซียนจากการศึกษาของ Davis (1990) อ้างโดย วุฒิพร (2541) พบว่ากุ้งขาวัยอ่อน (*L. vannamei*) มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อได้รับอาหารกึ่งบริสุทธิ์เสริมซีลีเนียม 0.2-0.4 มก./กก. สอดคล้องกับการศึกษาในกุ้งขาวจีน (*P. chinensis*) พบว่าการเสริมซีลีเนียมในอาหารที่ระดับ 0.44 มก./กก. เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและพบว่าการเสริมซีลีเนียมที่ระดับ 1.25 มก./กก. ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อกุ้งขาวจีน (Wang และคณะ, 1994 อ้างโดย Wang และคณะ, 2006) ดังตารางที่ 2 แสดงเห็นได้ว่าสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความต้องการซีลีเนียมสำหรับใช้ในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันและขึ้นกับชนิดของสารประกอบซีลีเนียมว่าอยู่รูปของสารประกอบชนิดใด จากการทดลองศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการนำไปใช้ประโยชน์ (bioavailability) ของซีลีเนียมอินทรีย์และอนินทรีย์ในอาหารปลากดอเมริกัน *(Ictalurus punctatus)* ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 1.70 กรัม โดยให้กินอาหารที่เสริมโซเดียมซีลีไนท์ ซีลีโนเมทไธโอนีน และซีลีโนยีสต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 9 พบว่าปลาต้องการซีลีเนียมจากซีลีโนเมทไธโอนีนสำหรับใช้ในการเจริญเติบโตน้อยที่สุดเท่ากับ 0.09 มก./กก. รองลงมาคือ ซีลีโนยีสต์ (0.11 มก./กก.) และโซเดียมซีลีไนท์ (0.28 มก./กก.) ตามลำดับ และพบว่าซีลีโนเมทไธโอนีนและซีลีโนยีสต์มีการสะสมซีลีเนียมในตับและกล้ามเนื้อได้มากกว่าโซเดียมซีลีไนท์ (Wang and Lovell, 1997)

1.2.3.2 เพิ่มอัตรารอด

ซีลีเนียมสามารถช่วยให้การทำงานในระบบต่าง ๆ ทำงานได้ดีขึ้นเมื่อทำงานร่วมกับสารแอนติ-ออกซิแดนท์อื่น ๆ โดยเฉพาะวิตามินอี เนื่องจากวิตามินอีทำหน้าที่ป้องกันการเกิดสารเปอร์ออกไซด์ ในขณะที่ซีลีเนียมทำหน้าที่กำจัดสารเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นให้หมดไป ซึ่งพบว่าสัตว์น้ำที่ได้รับปริมาณซีลีเนียมร่วมกับวิตามินอีที่เหมาะสมมีผลช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ได้มากขึ้น (NRC, 1980)

จากการทดลองของ Poston และคณะ (1976) พบว่าการเสริมโซเดียมซีลีไนท์ 0.1 ไมโครกรัม/กรัม ร่วมกับวิตามินอี 0.5 ไอยู/กรัม ช่วยลดอัตราการตายของปลาแซลมอน และสามารถป้องกันโรคกล้ามเนื้อบกพร่อง (muscular dystrophy) ในปลาที่มีน้ำหนักเริ่มต้น 0.9 กรัมได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hilton และคณะ (1980) ที่เสริมโซเดียมซีลีไนท์และวิตามินอี เท่ากับ 0.07 ไมโครกรัม/กรัม และ 0.4 ไอยู/กรัม ตามลำดับ พบว่าสามารถช่วยลดอัตราการตายของปลาแซลมอนได้ สอดคล้องกับ จุไลวรรณ (2551) หลังจากทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวน้ำหนักเริ่มต้น 18.8 กรัม โดยให้อาหารที่เสริมซีลีเนียมในรูปของโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 0.5, 1.0, 2.0 มก./กก. ร่วมกับวิตามินอี 1.0 มก./กก.เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีการฉีดเชื้อ *Streptococcus* sp. เพื่อศึกษาความต้านทานโรคพบว่า การเสริมซีลีเนียมในรูปของซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1.0 มก./กก. ร่วมกับวิตามินอี 1.0 มก./กก.มีอัตรารอดของปลาสูงถึง 60 % ซึ่งแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 อัตรารอดหลังจากการฉีดเชื้อ *Streptococcus* sp. ของปลากะพงขาวที่ให้อาหารที่เสริมซีลีเนียมร่วมวิตามินอี

ที่มา : จุไลวรรณ (2551)

1.2.4 โทษของซีลีเนียมต่อสัตว์น้ำ

1.2.4.1 การขาดซีลีเนียมในสัตว์น้ำ

ปริมาณความต้องการซีลีเนียมของปลาแต่ละชนิดพบว่าอยู่ในช่วง 0.1-1.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Hilton *et al*., 1980; Gatlin and Wilson, 1984; Wang and Lovell, 1997; Lin and Shiau, 2005) (ตารางที่ 1) ลักษณะอาการที่แสดงให้เห็นว่าปลาได้รับซีลีเนียมในปริมาณที่ต่ำกว่าความต้องการหรือขาดซีลีเนียมคือ ทำให้การเจริญเติบโตลดลง เกิดภาวะโลหิตจาง (anemia) เซลล์เม็ดเลือดแดงมีขนาดไม่เท่ากัน (anisocytosis) และมีรูปร่างผิดปกติ (poikilocytosis) อาการท้องบวมน้ำ (exudative diathesis) กล้ามเนื้อลีบ (muscular dystrophy) และอัตราการตายเพิ่มขึ้น (Poston et al, 1976; Bell *et al*., 1985)

อย่างไรก็ตาม ปลาที่ได้รับซีลีเนียมต่ำกว่าความต้องการหรือขาดซีลีเนียม สามารถมีอาการปกติได้ เมื่อเสริมวิตามินอีในปริมาณที่เหมาะสม จากการศึกษาในปลาเทร้าท์ที่มีน้ำหนักเริ่มต้น 1.28 กรัม พบว่าปลาจะเจริญเติบโตเป็นปกติและไม่แสดงอาการของโรคขาดซีลีเนียม ถ้าได้รับซีลีเนียมรูปของโซเดียมซีลีไนท์ในอาหารเท่ากับ 0.07 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และวิตามินอี 400 ไอยู/กิโลกรัม เป็นต้น (Hilton *et al*., 1980) สอดคล้องกับ Poston และคณะ (1976) ได้ศึกษาการทำงานร่วมกันของซีลีเนียมและวิตามินอีต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาแซลมอน (*Salmo salar*) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมซีลีเนียมในรูปของโซเดียมซีลีไนท์ (0.1 มก./กก.) และวิตามินอีในรูปของ DL-α-tocopheral acetate (0.5 ไอยู/กรัม) สามารถช่วยลดอัตราการตายของปลาแซลมอนได้ มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสเพิ่มขึ้น และไม่พบความผิดปกติทางด้านเนื้อเยื่อของอวัยวะต่าง ๆ

1.2.4.2 ความเป็นพิษของซีลีเนียมต่อสัตว์น้ำ

การที่สัตว์น้ำได้รับซีลีเนียมในปริมาณเกินกว่าความต้องการของร่างกาย พบว่าก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายสัตว์น้ำ (Hilton *et al*., 1980; Gatlin and Wilson, 1984; Lemly, 1997) Gatlin และ Wilson (1984) ได้มีการทดลองความต้องการซีลีเนียมในรูปของโซเดียมซีลีไนท์ในปลาเทร้าท์และปลากดอเมริกัน ตามลำดับ พบว่าปริมาณของซีลีเนียมที่ทำให้เกิดอันตรายต่อปลาเทร้าท์และปลากดอเมริกันมีค่าเท่ากับ 13 และ 15 มก./กก. ตามลำดับ โดยจะมีผลทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง ว่ายน้ำควงสว่านไม่สัมพันธ์กันและมีอัตราการตายสูง ส่วนปลาเทร้าท์ที่ได้รับซีลีเนียมที่ระดับ 3 มก./กก. เป็นเวลา 20 สัปดาห์ พบว่าปลาไม่แสดงอาการผิดปกติ แต่อาจจะเกิดการสะสมซีลีเนียมไว้ที่เนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกายได้ถ้าหากได้รับเป็นเวลานาน ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับปลาเทร้าท์ที่ได้รับซีลีเนียมที่ความเข้มข้น 1.25 มก./กก. พบว่าไม่มีการสะสมของซีลีเนียมในเนื้อเยื่อปลา และจากการทดลองของ Wang และคณะ (2006) ได้ศึกษาระดับของซีลีเนียมและปริมาณไนไตรท์ (nitrite) ที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันภายในของเซลล์กุ้งขาว (*L. vannamei*) พบว่าการเสริมซีลีเนียมที่ระดับ 1 มก./กก. ทำให้เพิ่มปริมาณไนไตรท์ในแหล่งน้ำ ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษและความเครียดต่อตัวสัตว์น้ำ ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกายลดลง สอดคล้องกับการทดลองของ Wang และคณะ (1994) อ้างโดย Wang และคณะ (2006) ได้ทดลองศึกษาในกุ้งขาวจีน (*P. chinensis*) พบว่าระดับของซีลีเนียมที่ทำให้เกิดความเป็นพิษเท่ากับ 1.25 มก./กก. โดยสาเหตุที่ทำให้เกิดความเป็นพิษเกิดจากซีลีเนียมเข้าไปปฏิสัมพันธ์ (interaction) กับกรดอะมิโน (sulfer-contianing amino acid) โดยจะไปหยุดการทำงานของระบบเอนไซม์ นอกจากนี้การเสริมซีลีเนียมในระดับสูงเกินไปยังส่งผลต่อการสร้างเม็ดเลือด จากการศึกษาผลของซีลีโนเมทไธโอนีนและโซเดียมซีลีไนท์ในกุ้งขาว (*L. vannamei*) ของธวัชชัย (2551) พบว่าการเสริมซีลีเนียมทั้ง 2 แหล่งที่ระดับ 5.00 ppm ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดลดลง และพบว่าการเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 ppm และ 5.00 ppm และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 5.00 ppm ส่งผลให้อวัยวะสร้างเม็ดเลือดจับตัวกันอย่างหลวมๆ ทำให้ความสามารถในการสร้างเม็ดเลือดลดลง เช่นเดียวกับ Chung และคณะ (2006) พบว่าอวัยวะสร้างเม็ดเลือดเป็นเป้าหมายแรกเมื่อเกิดความเป็นพิษของซีลีเนียม สอดคล้องกับ Ig และคณะ (1991) รายงานว่าระดับที่เหมาะสมต่อสัตว์น้ำอยู่ในช่วง 1.00 – 3.00 ppm และระดับที่ก่อให้เกิดพิษต่อสัตว์น้ำอยู่ที่ระดับ 3.00 – 5.00 ppm

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาถึงผลของซีลีเนียมที่ระดับต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดและสุขภาพในกุ้งขาว จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะพัฒนาการเลี้ยงกุ้งขาวในประเทศไทยให้มีคุณภาพและเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้น ส่งผลให้เกิดการยกระดับรายได้ของเกษตรกรให้สูงขึ้น รวมทั้งสามารถพัฒนาการผลิตอาหารกุ้งให้มีคุณภาพสูงขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการลดปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในการเลี้ยงกุ้ง ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการเลี้ยงและการส่งออกผลผลิตกุ้งไปยังต่างประเทศ ส่งผลให้การเลี้ยงกุ้งของไทยเป็นไปอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

การทดลองนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของระดับซีลีเนียมในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดและสุขภาพของกุ้งขาวที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของระดับซีลีเนียมในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดและสุขภาพของกุ้งขาวที่เลี้ยงในกระชัง

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของซีลีเนียมต่อการเจริญเติบโตและอัตรารอดของกุ้งขาว โดยทดลองในห้องปฏิบัติการและในกระชัง

2. เพื่อศึกษาผลของซีลีเนียมต่อความต้านทานโรคและการต้านทานความเครียดในกุ้งขาว โดยทดลองในห้องปฏิบัติการและในกระชัง

3. เพื่อศึกษาผลของซีลีเนียมต่อการสะสมในตัวกุ้งขาว

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ทำให้ทราบถึงคุณสมบัติของซีลีเนียมในแง่ที่เป็นการช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต หรือช่วยลดความเครียดในกุ้งขาว และสามารถที่จะนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเฉพาะกุ้งขาว รวมไปถึงการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำให้มีคุณภาพเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเลี้ยงและยกระดับผลผลิตกุ้งเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นการช่วยให้การเลี้ยงกุ้งในประเทศไทยมีการพัฒนาสู่ความยั่งยืนต่อไปในอนาคต

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบปริมาณของซีลีเนียมที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำแต่ละชนิด

ชนิดสัตว์น้ำ	ชนิดซีลีเนียม	ปริมาณ (มก./กก.)	อาการ	ที่มา
ปลากด อเมริกัน	โซเดียมซีลีไนท์	15	ลดอัตราการเจริญเติบโต และทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตัวสัตว์น้ำ	Gatlin และ Wilson (1984)
ปลาเทร้าท์	โซเดียมซีลีไนท์	13	อัตราการเจริญเติบโตลดลง กินอาหารน้อย ว่ายน้ำควงสว่านไม่สัมพันธ์กัน มีอัตราการตายสูงขึ้น	Hilton และคณะ (1980)
		10	ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตัวสัตว์น้ำ อัตราการเจริญเติบโตลดลง กินอาหารลดลง และเกิดการตายจำนวนมาก	Goettl และ Davies (1978)
		3	ทำให้เกิดการสะสมซีลีเนียมในเนื้อเยื่อและอาจทำให้เกิดความเป็นพิษได้เมื่อได้รับเป็นระยะเวลานาน	Hilton และคณะ (1980)
		1.25	ไม่มีการสะสมของซีลีเนียมในเนื้อเยื่อปลา (รักษาสมดุลซีลีเนียมในร่างกาย)	Hilton และคณะ (1980)
กุ้งขาวจีน	ซีลีเนียม	1.25	หยุดการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตัวสัตว์น้ำ	Wang และคณะ (1994) อ้างโดย Wang และคณะ(2006)
		1	เพิ่มปริมาณไนไตรท์ในแหล่งน้ำ ทำให้เกิดความเป็นพิษและความเครียดต่อตัวสัตว์น้ำ ส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันลดลง	Wang และคณะ (2006)
กุ้งขาว	โซเดียมซีลีไนท์	3.0	อวัยวะสร้างเม็ดเลือดจับตัวกันอย่างหลวมๆ ส่งผลให้การสร้างเม็ดเลือดลดลง	ธวัชชัย (2551)
	ซีลีโนเมทไธโอนีน	5.0		

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

2.1 วัสดุ

2.1.1 กุ้งทดลอง

กุ้งขาวระยะโพสลาวาร์ 15 (PL-15) จำนวน 20,000 ตัว สำหรับการทดลองที่ 1 และ 100,000 ตัวสำหรับการทดลองที่ 2 จากฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งเอกชนที่มีสุขภาพดี ปราศจากเชื้อไวรัส และแบคทีเรียก่อโรค

2.1.2 สารเคมี

1.2.1 ซีลีเนียมอนินทรีย์ คือ โซเดียมซีลีไนท์ (sodium selenite)

1.2.2 ซีลีเนียมอินทรีย์ คือ ซีลีโนเมทไธโอนีน (selenomethionine)

1.2.3 วิตามินอี (vitamin E)

1.2.4 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารทดลอง

1.2.5 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของอาหารทดลอง

1.2.6 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

2.2 อุปกรณ์

2.2.1 อุปกรณ์เลี้ยงกุ้ง

2.2.1.1 ตู้กระจกขนาด 20 x 84 x 20 นิ้ว

2.2.1.2 กระชังขนาด 1 x 1 x 1.5 เมตร

2.2.1.3 กระป๋องบรรจุอาหารและยอสำหรับให้อาหารกุ้ง

2.2.1.4 อุปกรณ์ขนย้ายกุ้ง ได้แก่ สวิง และขันพลาสติก

2.2.2 อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพน้ำ

2.2.2.1 อุปกรณ์วัดอุณหภูมิน้ำคือ เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)

2.2.2.2 อุปกรณ์วัดความเค็มคือ เครื่องวัดความเค็ม (salinometer)

2.2.2.3 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คือ เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH-meter)

2.2.2.4 อุปกรณ์วัดค่าความเป็นด่าง (alkalinity) และความกระด้าง (hardness)ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ บีกเกอร์ ปิเปต กระบอกตวง ลูกยาง ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ บิวเรต และชุดจับบิวเรต

2.2.3 อุปกรณ์เตรียมอาหารทดลอง

2.2.3.1 เครื่องเตรียมอาหารทดลองของ Hobart Model AT 200 ประกอบด้วยชุดผสมอาหารแบบมีใบพัด และชุดเครื่องอัดเม็ดอาหาร

2.2.3.2 อุปกรณ์ชั่งตวงวัสดุอาหาร ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่งของ Sartorius รุ่น Basic และเครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ของ Sartorius รุ่น Research กระบอกตวง บิกเกอร์ มีดตัดอาหาร

2.2.3.3 ถาดเตรียมอาหารและตู้อบอาหาร

2.2.3.4 ตู้แช่แข็งใช้สำหรับเก็บอาหารทดลอง

2.2.4 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

2.2.4.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ ขวดชั่ง (weighing bottle) ตู้อบ (hot air oven) ของ Memmert โถดูดความชื้น (desiccators) เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

2.2.4.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ เครื่องย่อย (digestion apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Kjeldatherm เครื่องกลั่น (distillation apparatus) ของ Gerhardt รุ่น Vapodest I หลอดย่อยโปรตีน (digestion tube) กระบอกตวง บีกเกอร์ บิวเรต และขวดรูปชมพู่

2.2.4.3 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน รุ่น Soxtec System HT6 ไส้กรองสาร ถ้วยสกัดสาร ตู้อบ โถอบแห้ง โถดูดความชื้น และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.2.4.4 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible) เตาเผา (muffle furnace) ของ Gallenkamp โถดูดความชื้น (desiccator) และเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.2.5 อุปกรณ์วิเคราะห์ซีลีเนียม

2.2.5.1 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.2.5.2 เตาร้อน (hot plate)

2.2.5.3 บีกเกอร์

2.2.5.4 ขวดรูปชมพู่

2.2.5.5 กระดาษกรองสารและกรวยกรอง

2.2.5.6 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

2.2.5.7 เครื่อง ICP รุ่น Optical Emission Spectrophotometer (Optima 4300 DV) Perkin Elmer Instruments

2.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

การทดลองในครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 : ผลของระดับซีลีเนียมในรูปของซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดและสุขภาพของกุ้งขาวที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

การทดลองที่ 2 : ผลของระดับซีลีเนียมในรูปของซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดและสุขภาพของกุ้งขาวที่เลี้ยงในกระชังบ่อดิน

การทดลองที่ 1: ผลของระดับซีลีเนียมในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตรารอด และสุขภาพของกุ้งขาวที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

1. การเตรียมกุ้งทดลอง

เตรียมกุ้งทดลองโดยนำกุ้งขาวขนาด 1.5- 2 กรัมต่อตัว ที่มีสุขภาพดี ปราศจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรียโดยทำการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี PCR แล้วมาเลี้ยงปรับสภาพในบ่อซีเมนต์ที่บรรจุน้ำทะเล 5 ตัน ก่อนที่จะทำการชั่งน้ำหนักกุ้งเริ่มต้นแล้วปล่อยเลี้ยงในตู้ทดลองที่มีขนาด 20x84x20 นิ้ว คุณภาพน้ำที่ใช้ควรมีค่าใกล้เคียงกับสภาพบ่อทดลองให้มากที่สุด โดยมีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) เท่ากับ 80-120 ส่วนในล้าน และพีเอช ช่วง 7.5-8.5 ทำการเลี้ยงกุ้งเพื่อปรับสภาพอย่างน้อย 1 สัปดาห์

2. อาหารทดลอง

ในการทดลองมีสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งทดลองทั้งหมด 9 สูตร แตกต่างกันที่ชนิดและระดับของซีลีเนียมที่เสริมในแต่ละชุดการทดลอง (ตารางที่ 3) องค์ประกอบทางเคมีของอาหารในแต่ละชุดทดลองมีระดับโปรตีน 31.28±1.07 - 32.20±0.27 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 8.50±0.40 – 10.55±0.34 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 6.14±0.31 - 6.66±0.14 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 4.15±0.04 - 7.73±0.07 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) (ตารางที่ 4) และพลังงานประมาณ 370 กิโลแคลอรี่ต่อ 100 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันที่ชนิดของซีลีเนียมคือ อาหารที่เสริมโซเดียมซีลีไนท์และอาหารที่เสริมซีลีโนเมทไธโอนีน ที่ระดับ 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (มก./กก.) ตามลำดับ และอาหารชุดควบคุมที่ไม่ได้เสริมซีลีเนียมในอาหาร เริ่มต้นการทำอาหารทดลองด้วยการผสมวัตถุดิบอาหารทดลองในแต่ละสูตรในเครื่องผสมอาหารจนวัตถุดิบเข้ากันดี ผสมสารละลายซีลีเนียมที่ได้คำนวณไว้ที่ระดับต่าง ๆ ผสมกับน้ำกลั่นในสัดส่วนที่กำหนด (ตารางที่ 3) โดยผสมให้เข้ากันแล้วนำมาอัดเม็ด และนำมานึ่งเป็นระยะเวลา 5 นาที และนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนแห้งดีแล้วนำอาหารทดลองแต่ละสูตรมาเคลือบเม็ดอาหารด้วยน้ำมันปลา 1.2 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีการของ วุฒิพร และอัจฉริยา (2548) และบรรจุลงถุงพลาสติกเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในอาหารทดลองวิเคราะห์ด้วยวิธี ICP-OES (Inductively Couple Plasma-Optical Emission Spectrophotometer) รุ่น Optima 4300 DV ยี่ห้อ Perkin Elmer Instrument

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบและปริมาณวัตถุดิบในอาหารทดลองการทดลองที่ 1

วัตถุดิบ	สูตรอาหาร (%)								
	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	24.58	24.58	24.58	24.58	24.58	24.58	24.58	24.58
หวีท กลูเต้น	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
วิตามินและแร่ธาตุผสม[1]	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
รวม	100	100	100	100	100	100	100	100	100
ปริมาณซีลีเนียมจากการคำนวณ									
โซเดียมซีลีไนท์ (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

[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 bisulfile (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 4 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองสำหรับการทดลองที่ 1 (% dry as basis)[1]

ชุดทดลอง	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 ppm)	31.28±1.07	9.35±0.36	6.66±0.14	5.61±0.03
3 (Na-se 1.0 ppm)	31.63±0.08	9.79±0.86	6.41±0.03	6.32±0.04
4 (Na-se 3.0 ppm)	31.63±0.22	9.64±0.29	6.46±0.03	5.25±0.02
5 (Na-se 5.0 ppm)	31.79±0.89	9.52±0.86	6.36±0.07	5.63±0.03
6 (Se-met 0.5 ppm)	31.69±0.74	10.43±0.16	6.14±0.31	7.73±0.07
7 (Se-met 1.0 ppm)	32.10±0.49	10.55±0.34	6.41±0.03	5.67±0.01
8 (Se-met 3.0 ppm)	31.85±0.66	10.08±0.33	6.34±0.08	5.89±0.06
9 (Se-met 5.0 ppm)	32.20±0.27	9.75±1.22	6.53±0.04	4.15±0.04

[1]ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 5 ปริมาณการเสริมซีลีเนียมแต่ละชนิดในอาหารทดลองและปริมาณซีลีเนียมที่วิเคราะห์ได้ในอาหารทดลอง

ชุดการทดลอง	โซเดียมซีลีไนท์ 100 ppm (ml)	ซีลีโนเมทไธโอนีน 100 ppm (ml)	ปริมาณซีลีเนียมในอาหาร (ppm)
1 (Control)	-	-	1.76
2 (Na-se 0.5 ppm)	25	-	2.44
3 (Na-se 1.0 ppm)	50	-	3.08
4 (Na-se 3.0 ppm)	150	-	5.33
5 (Na-se 5.0 ppm)	250	-	7.41
6 (Se-met 0.5 ppm)	-	25	2.12
7 (Se-met 1.0 ppm)	-	50	3.03
8 (Se-met 3.0 ppm)	-	150	5.56
9 (Se-met 5.0 ppm)	-	250	8.52

3. แผนการทดลองและการเก็บรวบรวมข้อมูล

ศึกษาการเจริญเติบโตวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 9 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองมี 5 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด การทดสอบความเครียดจากการขนส่ง (transporting stress test) ความต้านทานโรคไวรัสตัวแดงดวงขาว และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

3.1 การเจริญเติบโตและอัตรารอดตาย

ชั่งน้ำหนักกุ้งทุก 2 สัปดาห์ โดยนำกุ้งทั้งหมดของแต่ละตู้มาชั่งน้ำหนักแล้วหารด้วยจำนวนตัวที่เหลือ สังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร จากนั้นเก็บรวบรวมข้อมูลและทำการวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ อัตราการรอดตาย (survival rate) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (% weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (กรัมต่อตัวต่อวัน) ตามวิธีการของ Jantrarotai และคณะ (1994) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ตามวิธีการของ Dupree และ Sneed (1966) ดังสมการ

เปอร์เซ็นต์การรอดตาย (survival rate) (เปอร์เซ็นต์) จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การรอดตาย (survival rate)} = \frac{\text{จำนวนกุ้งสิ้นสุดการทดลอง (ตัว)}}{\text{จำนวนกุ้งเริ่มต้นการทดลอง (ตัว)}} \times 100$$

การเจริญเติบโต คำนวณตามวิธีของ Jantrarotai และคณะ (1994) จากสมการ

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain, WG) (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{น้ำหนักกุ้งสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)} - \text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)}} \times 100$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) (เปอร์เซ็นต์/วัน) จากสมการ

$$= \frac{(\ln \text{น้ำหนักกุ้งสิ้นสุดการทดลอง(กรัม)} - \ln \text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้นการทดลอง(กรัม)})}{\text{ระยะเวลา (วัน)}} \times 100$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio) คำนวณตามวิธีของ Dupree และ Sneed (1966) จากสมการ

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กุ้งกินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง (กรัม)}}$$

อัตราการกินอาหาร (rate of feed intake) (เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน) คำนวณตามวิธีของ Yone และ Fujii (1975) จากสมการ

$$\text{อัตราการกินอาหาร} = \frac{F \times 100}{\frac{W_0 + W_1}{2} \times \frac{N_0 + N_1}{2} \times T}$$

F = น้ำหนักอาหารแห้งที่กุ้งกิน (กรัม)
W_0 = น้ำหนักกุ้งเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)
W_1 = น้ำหนักกุ้งเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม)
N_0 = จำนวนกุ้งเริ่มต้น (ตัว)
N_1 = จำนวนกุ้งสุดท้าย (ตัว)
T = ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง (วัน)

3.2 ศึกษาผลของซีลีเนียมต่อสุขภาพของกุ้งขาว

เก็บตัวอย่างกุ้งในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากสิ้นสุดการทดลอง โดยสุ่มกุ้งขาวจากทุกชุดการทดลองๆ ละ 10 ตัวเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) และเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) สำหรับกุ้งที่เหลือทำการศึกษาความต้านทานความเครียด และศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา

3.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

- ปริมาณเม็ดเลือดรวมทั้งหมด (total haemocyte count) ตามวิธีการของ กิจการ และสิทธิ (2538)

- ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือด (protein in hemolymph) ตามวิธีการของ Lowry และคณะ (1951)

- ปริมาณน้ำตาลในเลือด (blood glucose) ตามวิธีการของ Hyvarinen และ Nikkila (1962)

3.2.2 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) และเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase)

- การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) โดยวิธีการดัดแปลงจาก Smith และ Soderhall (1983)

- การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ในน้ำเลือด (hemolymph) ของกุ้งขาวแต่ละชุดการทดลองโดยใช้ชุดทดสอบทางการค้า (Cayman, USA) ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสสามารถทำการวิเคราะห์โดยอาศัยปฏิกิริยา NADPH oxidation (β-Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate) ร่วมกับปฏิกิริยา GSSG

reduction ที่มีเอนไซม์ glutathione reductase (GR) มากเกินพอ โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร

3.2.3 การทดสอบความต้านทานโรคไวรัสตัวแดงดวงขาว

หลังจากสัปดาห์ที่ 8 นำกุ้งขาวในแต่ละชุดการทดลอง มาทดสอบความต้านทานโรคไวรัส ตัวแดงดวงขาว จำนวน 10 ตัวต่อตู้ทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ จากนั้นฉีดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวให้กับกุ้งในแต่ละชุดการทดลอง โดยมีความเข้มข้นของเชื้อ 10^{-6} เท่า โดยทำการเจือจางด้วยสารละลาย PBS (phosphate buffer saline, pH 7.4) ซึ่งเป็นค่าเจือจางของเชื้อที่ทำให้กุ้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การตายของกุ้งทดลองในแต่ละชุดการทดลอง เป็นระยะเวลา 10 วัน

3.2.4 การทดสอบความเครียดจากการขนส่ง (transporting stress test)

วิธีการทดสอบดัดแปลงจาก Mercier และคณะ (2006) โดยนำกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีเนียมในแต่ละชุดการทดลอง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มาทดสอบความต้านทานความเครียดโดยนำกุ้งในแต่ละชุดการทดลองจำนวน 10 ตัว ใส่ในถุงพลาสติกขุ่นขนาด 12x24 นิ้ว ที่บรรจุน้ำทะเลความเค็ม 25 พีทีที ปริมาตร 5 ลิตร และอัดออกซิเจนในแต่ละถุงให้มีปริมาณเท่ากันจากนั้นมัดปากถุงด้วยยางให้แน่น เขย่า 2-3 ครั้ง แล้ววางถุงไว้บนพื้น ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การตายของกุ้งทดลองใน แต่ละชุดการทดลองทุกชั่วโมง ระยะเวลาในการทดลองทั้งสิ้น 12 ชั่วโมง

3.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อของกุ้งขาวในสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง ชุดการทดลองละ 5 ตัว เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา ตามวิธีของ Bell และ Lighter (1988) โดยฉีดน้ำยาเดวิดสันบริเวณหัวใจ ตับ ส่วนหัว และกล้ามเนื้อลำตัวให้ทั่ว แล้วตัดส่วนหัวกุ้งออกเป็นสองซีก นำกล้ามเนื้อลำตัวดองในขวดที่บรรจุน้ำยาเดวิดสัน ให้น้ำยาเดวิดสันท่วมตัวอย่างเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำยาดองซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อได้ทั่วถึง ตัวอย่างที่นำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ คือ เนื้อเยื่อตับและตับอ่อน (hepatopancreatic tissue) เนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphoid cell) เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (hemopoietic tissue) เหงือก (gill) และกล้ามเนื้อ (muscle) หลังจาก 72 ชั่วโมง เปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำไปผ่านขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อตามวิธีการมาตรฐานของ Humason (1979) โดยใช้เครื่อง Automatic Tissue Processor ซึ่งเป็นการผ่านแอลกอฮอล์ระดับความเข้มข้นต่างๆ จาก 50 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เพื่อดึงน้ำออกจากเซลล์ แล้วผ่านไอโซโพรพิลและไซลีน หลังจากนั้นนำเนื้อเยื่อมาผ่านขั้นตอนการฝังชิ้นเนื้อลงในพาราพลาส (embedding) แล้วตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่องไมโครโตม ให้มีความหนาประมาณ 3-5 ไมครอน ย้อมสีฮีมาทอกไซลินและอีโอซิน (Hematoxylin & Eosin; H&E) (Bancroft, 1967) จากนั้นนำตัวอย่างมาตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อโดยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (Olympus AX 70) และบันทึกภาพโดยกล้องถ่ายภาพดิจิตอล Olympus DP-25

การทดลองที่ 2: ผลของรูปแบบและระดับความเข้มข้นของซีลีเนียมในอาหารที่มีการเสริมวิตามินอีต่อการเจริญเติบโต ความเครียด และสุขภาพของกุ้งขาวที่เลี้ยงในกระชัง

การทดลองที่ 2 เป็นการนำผลการทดลองที่ดีที่สุดจากชุดการทดลองที่ 1 โดยพิจารณาเลือกรูปแบบและระดับความเข้มข้นของแหล่งซีลีเนียมจากข้อมูลการเจริญเติบโต ความต้านทานเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว และความเครียดจากการขนส่ง พบว่าโซเดียมซีลีไนท์ (NaSe) และซีลีโนเมทไธโอนีน (SeMet) ที่ระดับ 0.5 และ 1.0 ppm ตามลำดับ ให้ผลการทดลองในข้อมูลส่วนที่กล่าวมาแล้วข้างต้นดีที่สุด และในการทดลองครั้งนี้ได้ศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของการเสริมวิตามินอีที่ระดับ 0.1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมกับไม่เสริมวิตามินอีในอาหารกุ้งที่มีการเสริมแหล่งของซีลีเนียมในข้างต้นและไม่เสริมแหล่งของซีลีเนียมในการทดลองครั้งนี้

1. การเตรียมกุ้งทดลอง

นำกุ้งขาวระยะโพสลาวาร์ 15 จำนวน 100,000 ตัว จากฟาร์มเพาะเลี้ยงกุ้งเอกชนที่มีสุขภาพดี ปราศจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรียก่อโรค มาอนุบาลในบ่อซีเมนต์ขนาดความจุน้ำทะเล 5 ตัน โดยในช่วงสัปดาห์แรกให้อาร์ทีเมียเป็นอาหาร จากนั้นปรับพฤติกรรมการกินโดยให้กินอาหารทดลองชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียมสลับกับการให้อาร์ทีเมียมื้อต่อมื้อ วันละ 6 มื้อ จากนั้นค่อยๆ ลดปริมาณและจำนวนมื้อที่ให้อาร์ทีเมียลงโดยให้อาหารเม็ดในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น จนกระทั่งกุ้งเกิดความเคยชินกับอาหารเม็ด ระหว่างการอนุบาลเปลี่ยนถ่ายน้ำวันละ 50 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำทั้งหมดในบ่อทุกวัน จนกุ้งได้ขนาดประมาณ 5-6 กรัม จึงสุ่มกุ้งทดลองขนาด 6.9 กรัม ลงกระชังขนาด 1.5x1.5x3 เมตร ความหนาแน่น 100 ตัว/กระชัง จำนวน 30 กระชัง และเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารทดลองชุดควบคุม เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อปรับพฤติกรรมกุ้งให้เคยชินกับอาหารทดลองและกระชังก่อนเริ่มทำการทดลอง

2. การเตรียมอาหารทดลอง

นำวัตถุดิบอาหารสำหรับเตรียมอาหารทดลองที่ผ่านการร่อนจากตะแกรงขนาด 30 เมช (mesh) ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเพื่อนำข้อมูลมาใช้ในการสร้างสูตรอาหาร โดยคำนวณให้อาหารทดลองมีโปรตีน 32 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 9 เปอร์เซ็นต์ และพลังงาน 3,700 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 1 กิโลกรัมใกล้เคียงกันทุกสูตร อาหารทดลองเป็นอาหารเม็ดจมที่เตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ โดยกำหนดรูปแบบและความเข้มข้นของซีลีเนียมที่ให้ผลดีที่สุดจากชุดการทดลองที่ 1 ได้แก่เปรียบเทียบกับการเสริมและไม่เสริมวิตามินอี (รายละเอียดสูตรอาหารแสดงในตารางที่ 6) ขั้นตอนการเตรียมอาหารดำเนินการโดยชั่งวัตถุดิบอาหารตามสูตรที่คำนวณไว้ นำส่วนผสมทั้งหมดยกเว้นน้ำมันมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร Hobart Mixer Model A200T ประมาณ 15 นาที จึงเติมน้ำมันลงไป ผสมต่อโดยใช้เวลาประมาณ 10 นาที เมื่อส่วนผสมเข้ากันดีจึงเติมน้ำกลั่นประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัตถุดิบทั้งหมด จากนั้นนำวัตถุดิบเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหาร ผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3

มิลลิเมตร โดยตัดเม็ดอาหารให้มีขนาดใกล้เคียงกัน อบอาหารที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง บรรจุใส่ถุงพลาสติก เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกระทั่งใช้งาน

3. แผนการทดลองและการเก็บรวบรวมข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบแฟคตอเรียล (Factorial design; Completely Randomized Design: CRD) โดยกำหนดปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 คือชนิดและระดับความเข้มข้นของซีลีเนียม และปัจจัยที่ 2 คือ การเสริมและไม่เสริมวิตามินอี แบ่งการทดลองออกเป็น 6 ชุดการทดลองๆ 5 ซ้ำ แหล่งของซีลีเนียมที่ใช้คือโซเดียมซีลีไนท์ (NaSe) และซีลีโนเมทไธโอนีน (SeMet) ที่ระดับ 0.5 และ 1.0 ppm ตามลำดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียม และการเสริมหรือไม่เสริมวิตามินอี เพื่อศึกษาถึงการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด ความต้านทานโรคไวรัสตัวแดงดวงขาว และความเครียดจากการขนส่ง (transporting stress test)

3.1 ศึกษาผลของซีลีเนียมและวิตามินอีต่อการเจริญเติบโตในกุ้งขาว

ชั่งน้ำหนักกุ้งทุก 2 สัปดาห์ โดยนำสุ่มกุ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ (10 ตัว) จากแต่ละกระชังมาชั่งน้ำหนัก สังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร จากนั้นเก็บรวบรวมข้อมูลและทำการวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ อัตราการรอดตาย (survival rate) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (% weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (กรัมต่อตัวต่อวัน) ตามวิธีการของ Jantrarotai และคณะ (1994) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ตามวิธีการของ Dupree และ Sneed (1966) ดังสมการ

เปอร์เซ็นต์การรอดตาย (survival rate) (เปอร์เซ็นต์) จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การรอดตาย (survival rate)} = \frac{\text{จำนวนกุ้งสิ้นสุดการทดลอง (ตัว)}}{\text{จำนวนกุ้งเริ่มต้นการทดลอง (ตัว)}} \times 100$$

การเจริญเติบโต คำนวณตามวิธีของ Jantrarotai และคณะ (1994) จากสมการ

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain, WG) (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{น้ำหนักกุ้งสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)} - \text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)}} \times 100$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) (เปอร์เซ็นต์/วัน) จากสมการ

$$= \frac{(\ln \text{น้ำหนักกุ้งสิ้นสุดการทดลอง(กรัม)} - \ln \text{น้ำหนักกุ้งเริ่มต้นการทดลอง(กรัม)})}{\text{ระยะเวลา (วัน)}} \times 100$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio) คำนวณตามวิธีของ Dupree และ Sneed (1966) จากสมการ

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กุ้งกินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง (กรัม)}}$$

อัตราการกินอาหาร (rate of feed intake) (เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน) คำนวณตามวิธีของ Yone และ Fujii (1975) จากสมการ

$$\text{อัตราการกินอาหาร} = \frac{F \times 100}{\frac{W_0 + W_1}{2} \times \frac{N_0 + N_1}{2} \times T}$$

F = น้ำหนักอาหารแห้งที่กุ้งกิน (กรัม)
W_0 = น้ำหนักกุ้งเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)
W_1 = น้ำหนักกุ้งเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม)
N_0 = จำนวนกุ้งเริ่มต้น (ตัว)
N_1 = จำนวนกุ้งสุดท้าย (ตัว)
T = ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง (วัน)

3.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกุ้ง

สุ่มตัวอย่างกุ้งก่อนการทดลองจำนวน 20 ตัว นำไปวิเคราะห์หาความชื้นในตัวกุ้งทันทีและนำตัวอย่างกุ้งไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวกุ้งได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าตามวิธีการของ AOAC (1990) เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างกุ้งจากแต่ละกระชังๆ ละ 20 ตัว ไปวิเคราะห์หาความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า จากนั้นนำค่าโปรตีนที่ได้ไปคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio, PER) ตามวิธีการของ Zeitoun และคณะ (1973) จากสมการ

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio, PER)} = \frac{\text{น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่กุ้งกิน (กรัม)}} \times 100$$

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (apparent net protein utilization, ANPU) ตามวิธีการของ Robinson and Wilson (1985) จากสมการ

$$\text{การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ} = \frac{(\%\text{โปรตีนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \%\text{ โปรตีนเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่กุ้งกินตลอดการทดลอง (กรัม)}} \times 100$$

3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

สุ่มกุ้งขาวจากทุกกระชังในแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 10 ตัว เจาะเลือดบริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 1 ml จากนั้นนำไปวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังนี้

- ปริมาณเม็ดเลือดรวมทั้งหมด (total haemocyte count) ตามวิธีการของ กิจการ และสิทธิ (2538)

- ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือด (protein in hemolymph) ตามวิธีการของ Lowry และคณะ (1951)

- ปริมาณน้ำตาลในเลือด (blood glucose) ตามวิธีการของ Hyvarinen และ Nikkila (1962)

3.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) และเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase)

สุ่มกุ้งขาวจากทุกกระชังในแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 10 ตัว วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) โดยวิธีการดัดแปลงจาก Smith และ Soderhall (1983) และวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ในน้ำเลือด (hemolymph) ของกุ้งขาวแต่ละชุดการทดลองโดยใช้ชุดทดสอบทางการค้า (Cayman, USA) ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสสามารถทำการวิเคราะห์โดยอาศัยปฏิกิริยา NADPH oxidation (β-Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate) ร่วมกับปฏิกิริยา GSSG reduction ที่มีเอนไซม์ glutathione reductase (GR) มากเกินพอ โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร

3.5 ศึกษาผลของซีลีเนียมและวิตามินอีต่อสุขภาพของกุ้งขาว

3.5.1 การทดสอบความต้านทานโรค (Disease resistance)

ทดสอบความต้านทานต่อเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว (WSSV) สุ่มกุ้งจากกระชังในแต่ละชุดการทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 ชุดการทดลองละ 30 ตัว แบ่งออกเป็น 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว ใส่ในตู้ทดลองขนาด 20x48x20 นิ้ว ความจุน้ำ 250 ลิตร จากนั้นนำสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้จากศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวารินศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มาเจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.4 ให้ได้ปริมาณเชื้อเป็น 10^{-1}-10^{-10} เท่า เก็บเชื้อที่เจือจางแล้วในน้ำแข็ง นำสารละลายเชื้อที่เจือจาง 10^{-3} ฉีดเข้าตัวกุ้งบริเวณกล้ามเนื้อตัวละ 0.1 มิลลิลิตร สังเกตและบันทึกจำนวนกุ้งที่ตายในแต่ละวันภายหลังการฉีดเชื้อ

3.5.2 ศึกษาผลของซีลีเนียมต่อความต้านทานความเครียดในกุ้งขาว

การทดสอบความเครียดจากการขนส่ง (Transporting stress test)

สุ่มกุ้งจากกระชังในแต่ละชุดการทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 ชุดการทดลองละ 30 ตัว แบ่งออกเป็น 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว มาทดสอบความต้านทานความเครียดโดยใช้วิธีการทดสอบที่ดัดแปลงจาก Mercier และคณะ (2006) โดยใส่ในถุงพลาสติกขนาด 12x24 นิ้ว ที่บรรจุน้ำทะเลปริมาตร 5 ลิตร และอัดออกซิเจนในแต่ละถุงให้มีปริมาณเท่ากันในแต่ละถุง มัดปากถุงด้วยยางให้แน่น เขย่า 2-3 ครั้ง แล้ววางถุงไว้บนพื้น ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การตายของกุ้งทดลองในแต่ละชุดการทดลองทุกชั่วโมง ระยะเวลาในการทดลองทั้งสิ้น 6 ชั่วโมง

ตารางที่ 6 ส่วนประกอบ ปริมาณวัตถุดิบ และองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองที่ 2

วัตถุดิบอาหาร (กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม)	ชุดการทดลอง					
	Control -E	Control +E	NaSe0.5 -E	NaSe0.5 +E	SeMet1.0 -E	SeMet1.0 +E
วัตถุดิบพื้นฐาน[1]	660	660	660	660	660	660
แป้งข้าวเจ้า	248.8	248.7	248.7	248.7	248.7	248.7
เลซิติน	20	20	20	20	20	20
น้ำมันปลา	20	20	20	20	20	20
น้ำมันถั่วเหลือง	20	20	20	20	20	20
วิตามินซี	1	1	1	1	1	1
วิตามินและแร่ธาตุผสม[2]	25	25	25	25	25	25
โคเลสเตอรอล	5	5	5	5	5	5
บีเอชที	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
วิตามินอี	0	0.1	0	0.1	0	0.1
โซเดียมซีลีไนท์ (NaSe)	0	0	0.0005	0.0005	0	0
ซีลีโนเมทไธโอนีน (SeMet)	0	0	0	0	0.001	0.001
องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง, % (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)						
โปรตีน	32.06 $\pm$ 0.53	32.61 $\pm$ 0.62	32.50 $\pm$ 0.65	32.90 $\pm$ 0.48	32.95 $\pm$ 0.89	32.09 $\pm$ 0.37
ไขมัน	8.98 $\pm$ 0.10	8.13 $\pm$ 0.17	8.08 $\pm$ 0.72	9.15 $\pm$ 1.21	7.39 $\pm$ 0.18	8.61 $\pm$ 0.72
เถ้า	6.51 $\pm$ 0.09	6.55 $\pm$ 0.06	6.47 $\pm$ 0.06	6.61 $\pm$ 0.04	6.61 $\pm$ 0.02	6.56 $\pm$ 0.18
ซีลีเนียม (มก./กก.อาหาร)	1.477	1.622	1.947	1.989	2.352	2.656

[1]วัตถุดิบพื้นฐาน (%) : ปลาป่น 150; กากถั่วเหลือง 215; หมึกป่น 65; แป้งสาลี 200; หวีท กลูเต้น 30

[2]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 bisulfile (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

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการของ Duncan's Multiple Range Test จากนั้นนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของข้อมูลด้วยการวิเคราะห์การถดถอย (Regression Analysis) และเปรียบเทียบค่าการใช้ประโยชน์ได้จากโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนตามวิธีการของ Littell และคณะ (1995)

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS General Linear Models (GLM) (SPSS version 16.0, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) โดยการใช้การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบ 2 ทาง (two-way ANOVA) เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอี หากพบว่ามีอิทธิพลร่วม (interaction) ระหว่าง 2 ปัจจัย จะวิเคราะห์ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นจากแต่ละปัจจัย (one-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างที่เกิดขึ้นด้วยวิธี Duncan's new Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Duncan, 1995)

บทที่ 3

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

1. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว

1.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

จากการทดลองพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนทุกระดับความเข้มข้น เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป (ตารางที่ 7) 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 ขณะเดียวกันกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับอื่นๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05)

1.2 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตราการรอดตาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าการเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1.0 มก./กก. ทำให้กุ้งขาวมีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 356.69 ± 25.13 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกุ้งขาวที่ได้รับการเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนระดับ 3.0 มก./กก. ที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 323.09±3.24 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การเสริมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนในระดับอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 7) ส่วนอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 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. ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดในน้ำเลือดมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 165.86±6.41 x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 มก./กก. ซึ่งมีค่าเท่ากับ

161.50±14.62 x10^{5}เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 8) นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมซีลีเนียมลงในอาหารทั้งสองรูปนั้นมีผลทำให้ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกุ้งที่ไม่ได้รับการเสริมซีลีเนียม

ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาว พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 3.0 มก./กก. มีปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดสูงสุดเท่ากับ 149.03±6.41 มิลลิกรัมต่อลิตร และ กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 0.5 พีพีเอ็มมีปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดต่ำสุดเท่ากับ 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 8)

ส่วนปริมาณกลูโคสในเลือดและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสพบว่าปริมาณกลูโคสในเลือดและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อปรียบเทียบกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการรอดตายของกุ้งขาว ที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	อัตราการเปลี่ยน อาหารเป็นเนื้อ	ปริมาณอาหาร ที่กุ้งกิน (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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 5 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05)

ตารางที่ 8 ปริมาณเม็ดเลือดรวม โปรตีนในเลือด กลูโคสในเลือด และกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอล ออกซิเดสของกุ้งขาว ที่ได้รับอาหารในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดทดลอง	ปริมาณเม็ดเลือดรวม ($x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	โปรตีนในเลือด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กลูโคสในเลือด (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)	PO activity (unit/min/mg.prot.)
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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ppm)	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 ($p>0.05$)

3. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสในน้ำเลือด (hemolymph) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองเสริมโซเดียมซีลีไนท์มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส ในน้ำเลือด อยู่ระหว่าง 4.2 ± 1.1 ถึง 4.9 ± 2.0 นาโนโมล NADPH/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งมีค่าที่ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ในขณะที่กุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส ในน้ำเลือดอยู่ระหว่าง 4.5 ± 1.3 ถึง 7.4 ± 2.0 นาโนโมล NADPH/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งมีค่าที่มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นตามระดับของซีลีโนเมทไธโอนีน (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 กิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสในน้ำเลือด (hemolymph) ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดทดลอง	เอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (nmol NADPH/min/mg protein)
1 (Control)	6.0 ± 1.5^{ab}
2 (Na-se 0.5 ppm)	4.9 ± 1.0^{a}
3 (Na-se 1.0 ppm)	4.9 ± 2.0^{a}
4 (Na-se 3.0 ppm)	4.3 ± 1.3^{a}
5 (Na-se 5.0 ppm)	4.2 ± 1.1^{a}
6 (Se-met 0.5 ppm)	4.5 ± 1.3^{a}
7 (Se-met 1.0 ppm)	6.0 ± 2.0^{ab}
8 (Se-met 3.0 ppm)	7.4 ± 1.8^{b}
9 (Se-met 5.0 ppm)	7.4 ± 2.0^{b}

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

4. การทดสอบความต้านทานโรคไวรัสตัวแดงดวงขาว

การศึกษาผลของโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนต่อความต้านทานโรคไวรัสตัวแดงดวงขาว หลังจากได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1 มก./กก. มีอัตราการรอดตายสูงที่สุด คือ 36.67±5.80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ ที่ระดับ 0.5 มก./กก. มีอัตราการรอดตาย คือ 33.33±5.80 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกุ้งขาวที่ได้อาหารทดลองชุดควบคุม (0 มก./กก.) ไม่สามารถมีชีวิตรอด หลังจากการฉีดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว เป็นเวลา 10 วัน (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดตายของกุ้งขาวในการทดลองที่ 1 หลังจากการฉีดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว เป็นเวลา 10 วัน

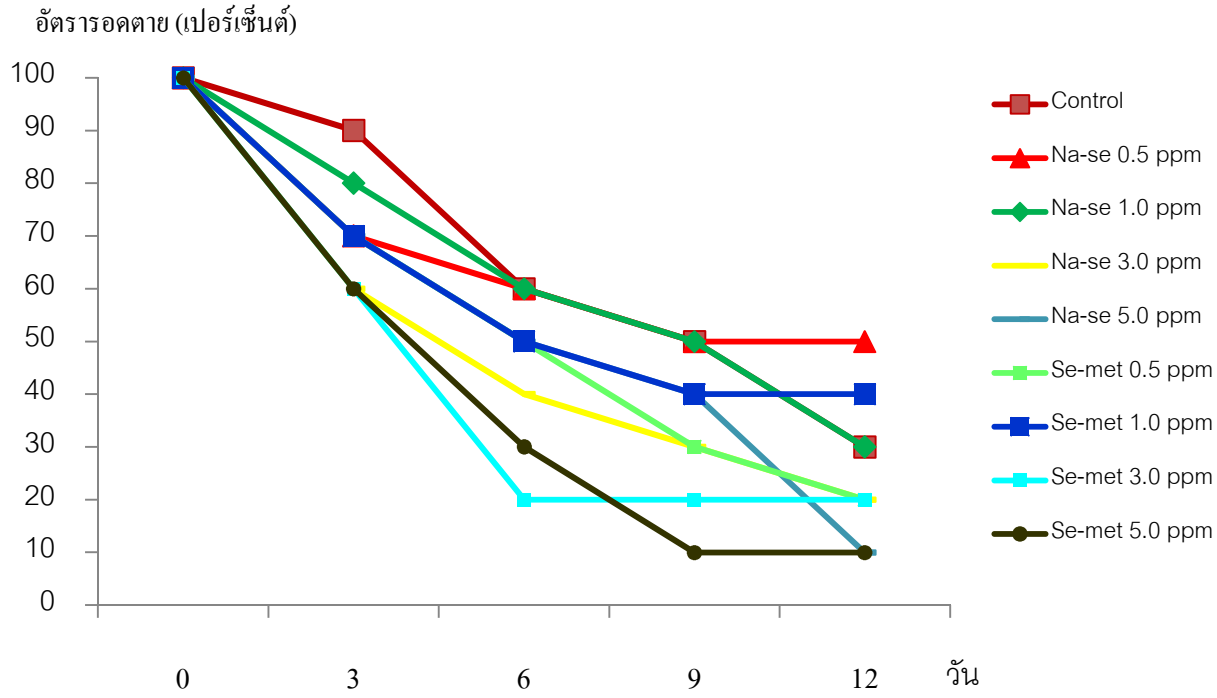
ชุดทดลอง/วัน	เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดตายของกุ้งขาวแต่ละชุดทดลอง[1]										
	0	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
1 (Control)	100±0	90.00±10.00^{b}	86.67±5.80^{c}	80.00±10.00^{ab}	66.67±5.80^{abc}	46.67±5.80^{a}	33.33±5.80^{a}	26.67±5.80^{a}	20.00±10.00^{ab}	6.70±5.80^{a}	0.00±0.00^{a}
2 (Na-se 0.5 ppm)	100±0	93.33±5.80^{b}	90.00±0.00^{c}	80.00±10.00^{ab}	73.33±5.80^{bc}	60.00±17.32^{abc}	53.33±11.54^{bc}	50.00±17.32^{bc}	40.00±10.00^{cd}	40.00±10.00^{c}	33.33±5.80^{e}
3 (Na-se 1.0 ppm)	100±0	86.67±5.80^{ab}	86.67±5.80^{c}	76.67±5.80^{ab}	73.33±11.54^{bc}	66.67±5.80^{bc}	56.67±5.80^{bc}	56.67±5.80^{c}	36.67±5.80^{bcd}	20.00±0.00^{ab}	16.67±5.80^{cd}
4 (Na-se 3.0 ppm)	100±0	83.33±5.80^{ab}	83.33±5.80^{bc}	73.33±5.80^{ab}	66.67±5.80^{abc}	56.67±5.80^{abc}	46.67±5.80^{abc}	43.33±5.80^{abc}	23.33±5.80^{abc}	13.33±5.80^{ab}	13.33±5.80^{ab}
5 (Na-se 5.0 ppm)	100±0	76.67±5.80^{a}	76.67±5.80^{ab}	66.67±5.80^{a}	53.33±5.80^{a}	50.00±0.00^{ab}	43.33±5.80^{ab}	26.67±5.80^{a}	20.00±10.00^{ab}	10.00±10.00^{ab}	6.70±5.80^{ab}
6 (Se-met 0.5 ppm)	100±0	83.33±5.80^{ab}	83.33±5.80^{bc}	73.33±5.80^{ab}	60.00±10.00^{ab}	56.67±11.54^{abc}	40.00±10.00^{ab}	33.33±5.80^{ab}	16.67±5.80^{a}	13.33±5.80^{ab}	10.00±0.00^{bc}
7 (Se-met 1.0 ppm)	100±0	90.00±0.00^{b}	90.00±0.00^{c}	86.67±5.80^{ab}	76.67±5.80^{c}	70.00±10.00^{c}	63.33±15.3^{c}	56.67±11.54^{c}	53.33±15.27^{c}	46.67±5.80^{c}	36.67±5.80^{e}
8 (Se-met 3.0 ppm)	100±0	83.33±5.80^{ab}	76.67±5.80^{ab}	73.33±5.80^{b}	66.67±5.80^{abc}	50.00±0.00^{ab}	40.00±10.00^{ab}	33.33±5.80^{ab}	33.33±5.80^{abc}	23.33±5.80^{b}	23.33±5.80^{d}
9 (Se-met 5.0 ppm)	100±0	83.33±5.80^{ab}	73.33±5.80^{a}	66.67±5.80^{a}	63.33±5.80^{abc}	56.67±5.80^{abc}	53.33±5.80^{bc}	40.00±10.00^{abc}	23.33±11.54^{abc}	20.00±10.00^{ab}	13.33±5.80^{bc}

[1]ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 3 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05)

5. การทดสอบความเครียดจากการขนส่งของกุ้งขาวที่ได้รับซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์

การศึกษาผลของโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนต่อความต้านทานความเครียดใน กุ้งขาว หลังจากได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 0.5 มก./กก. มีอัตราการรอดตายสูงที่สุด คือ 50 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1.0 มก./กก. มีอัตราการรอดตาย คือ 40 เปอร์เซ็นต์ กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 5.0 มก./กก. มีอัตราการรอดตายต่ำที่สุด คือ 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกุ้งขาวที่ได้อาหารทดลองชุดควบคุม (0 มก./กก.) และเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 1.0 มก./กก. มีอัตราการรอดตายเท่ากัน คือ 30 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3)



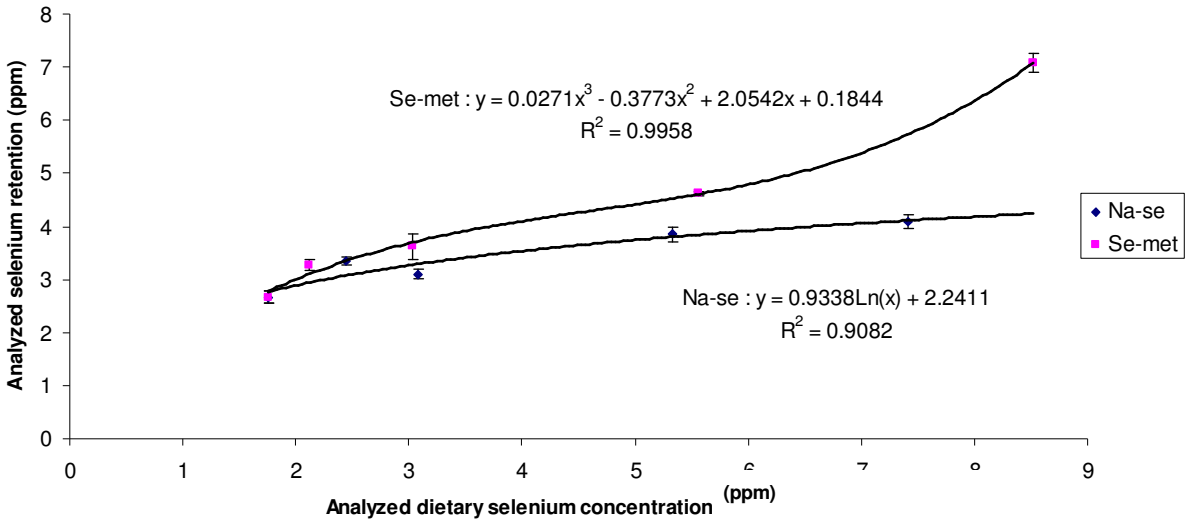
ภาพที่ 3 อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของกุ้งขาวเนื่องจากความเครียดจากการขนส่ง ภายหลังได้รับอาหารในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

6. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวกุ้งขาวและการใช้ประโยชน์ได้ (bioavailability)

การวิเคราะห์หาปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวกุ้งขาวและความสามารถในการใช้ประโยชน์ของซีลีเนียม พบว่ามีปริมาณซีลีเนียมสะสมในตัวกุ้งขาวเริ่มต้นก่อนการทดลอง เท่ากับ 2.55±0.11 มก./กก. น้ำหนักแห้ง หลังจากกุ้งขาวได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 มก./กก. เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีปริมาณซีลีเนียมสะสมในตัวกุ้งขาวเพิ่มขึ้นตามระดับของซีลีเนียมที่เสริมในอาหาร แสดงสมการสหสัมพันธ์ความสัมพันธ์แบบโพลิโนเมียล

(polynomial) ของปริมาณซีลีเนียมที่มีอยู่ในอาหารต่อปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารทดลอง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีเนียมอนินทรีย์ในรูปของโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 0 (1.76), 0.5 (2.44), 1.0 (3.08), 3.0 (5.33) และ 5.0 (7.41) มก./กก. มีผลต่อการสะสมซีลีเนียมในตัวเป็นความสัมพันธ์แบบเส้นโค้งลอการิทึม (logarithmic) มีค่า R^2 = 0.91 และกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีเนียมอินทรีย์ในรูปของซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 (1.76), 0.5 (2.12), 1.0 (3.03), 3.0 (5.56) และ 5.0 (8.52) มก./กก. มีผลต่อการสะสมซีลีเนียมเป็นความสัมพันธ์แบบเส้นโค้งกำลังสาม (cubic) มีค่า R^2 = 0.99 (ภาพที่ 4)

ค่าการใช้ประโยชน์ได้ของซีลีเนียมต่อตัวกุ้งขาว พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีน มีค่าการใช้ประโยชน์ได้ของซีลีเนียมเพิ่มเป็น 346.34 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณซีลีเนียมในอาหารกับปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวกุ้งขาว หลังจากได้รับอาหารในการทดลองที่ 1 เป็นเวลา 8 สัปดาห์

7. 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 มก./กก. ตรวจพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อบริเวณอวัยวะสร้างเม็ดเลือดเพียง 40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11) ความผิดปกติที่เกิดขึ้นพบว่ามีการขยายตัวของช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อสร้างเม็ด

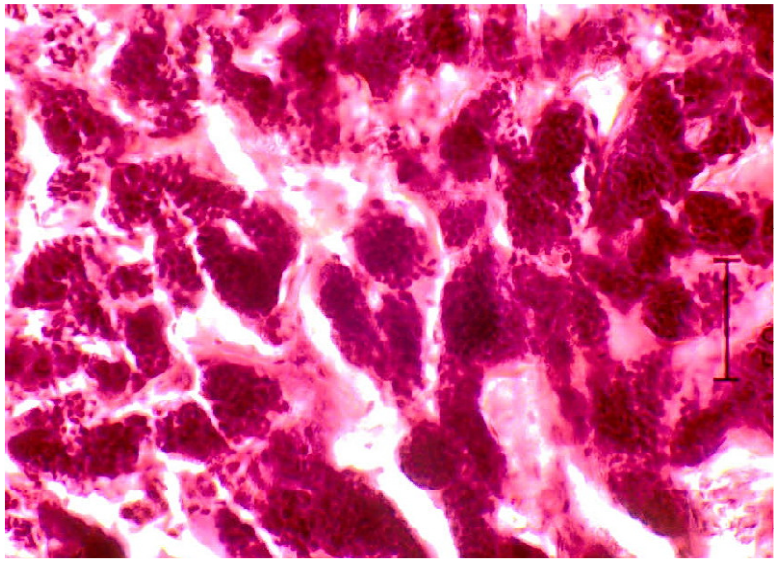
เลือด (interstitial space) และอินเตอร์สติเทียล ไซนัส (interstitial sinus) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดในอวัยวะสร้างเม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างหลวม ๆ (ภาพที่ 6-8) เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (ภาพที่ 5) ส่วน กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับอื่น ๆ พบว่าอวัยวะสร้างเม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างหนาแน่นและโครงสร้างต่าง ๆ ของเซลล์ปกติ จากการทดลองไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับอ่อน ต่อมน้ำเหลือง เหงือก และกล้ามเนื้อลำตัวในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับต่าง ๆ

ตารางที่ 11 ลักษณะความผิดปกติของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารในการทดลองที่ 1 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

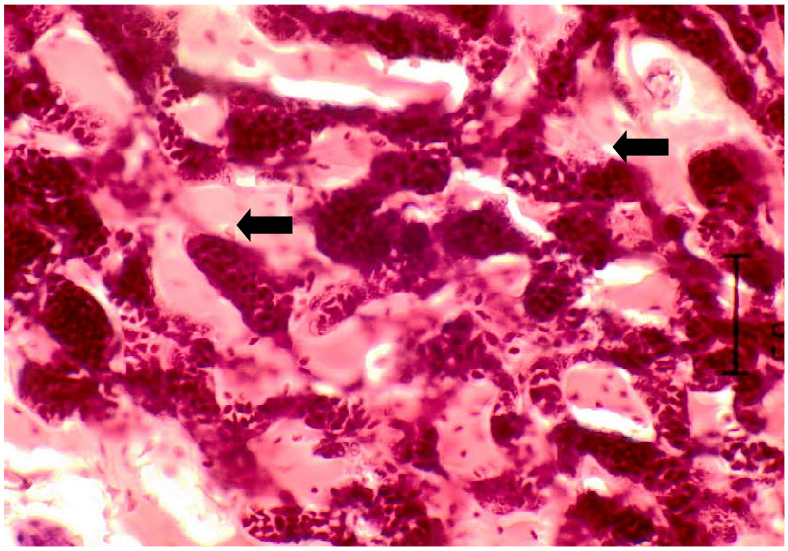
ชุดการทดลอง	ตับและตับอ่อน	ต่อมน้ำเหลือง	อวัยวะสร้างเม็ดเลือด
1 (Control)	N	N	N
2 (Na-se 0.5 ppm)	N	N	N
3 (Na-se 1.0 ppm)	N	N	N
4 (Na-se 3.0 ppm)	N	N	P (60%)
5 (Na-se 5.0 ppm)	N	N	P (60%)
6 (Se-met 0.5 ppm)	N	N	N
7 (Se-met 1.0 ppm)	N	N	N
8 (Se-met 3.0 ppm)	N	N	N
9 (Se-met 5.0 ppm)	N	N	P (40%)

N : Normal P : Pathological change; severe loose contact of hemopoietic tissue

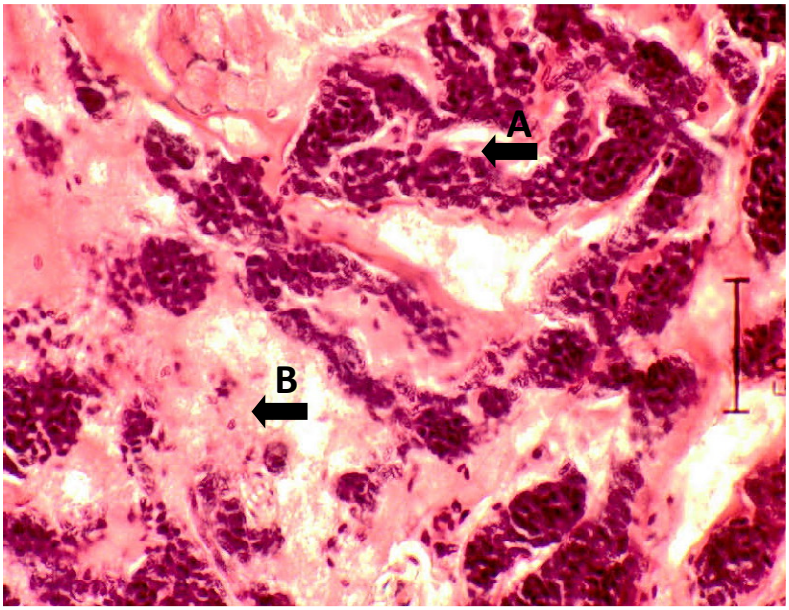
[1]% ความผิดปกติ = (จำนวนกุ้งผิดปกติ/จำนวนกุ้งทั้งหมด) X 100



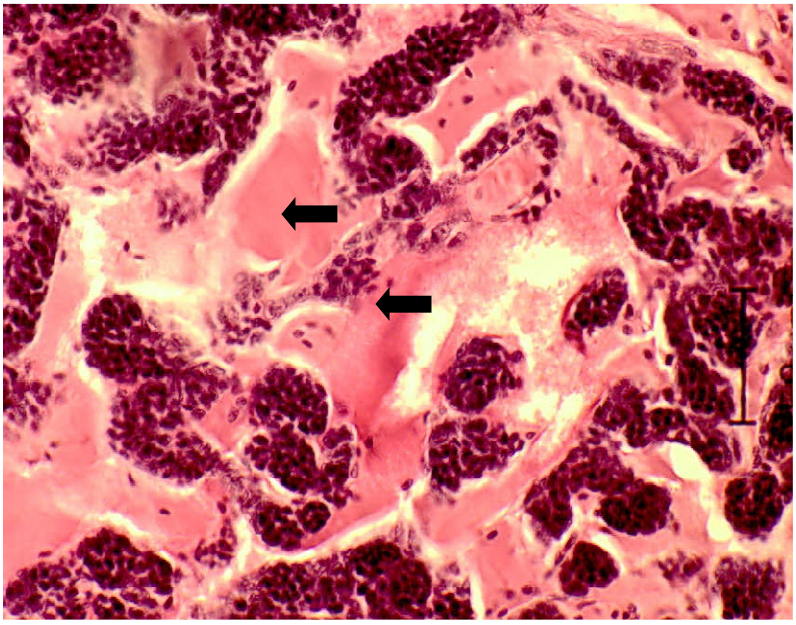
ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารชุดควบคุม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบเซลล์เม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างปกติ (H&E, Bar = 50 µm)



ภาพที่ 6 เนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือดกุ้งขาวหลังจากได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 มก./กก.เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีการขยายตัวของอินเตอร์สติเทียล ไซนัส (interstitial sinus) มากขึ้น (ศรชี้) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดจับตัวกันอย่างหลวมๆ (H&E, Bar = 50 µm)



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

การทดลองที่ 2

1. การเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน และอัตรารอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

กุ้งขาวมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นต่อตัวอยู่ในช่วง 6.94-6.95 กรัม หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารทดลองแต่ละสูตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ไม่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมที่เสริมลงในอาหารและวิตามินอี โดยกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตร NaSe0.5+วิตามินอี มีการเจริญเติบโตที่ดี ดังจะเห็นได้จากค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะซึ่งแสดงผลไปในแนวทางเดียวกันและมีค่าสูงที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) กับชุดการทดลองอื่นๆ รองลงมาคือกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตร SeMet1.0+วิตามินอี และเมื่อเปรียบเทียบภายในอาหารสูตรที่เหมือนกันในแต่ละสูตรพบว่า การเสริมวิตามินอีลงในอาหารมีแนวโน้มช่วยเพิ่มการเจริญเติบเติบโตให้แก่กุ้งขาวได้ดีกว่าไม่เสริม แม้จะไม่มีความแตกต่างทางสถิติก็ตาม (p>0.05) (ตารางที่ 12)

ปริมาณอาหารที่กุ้งกินตลอดการทดลองไม่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมที่เสริมลงในอาหารและวิตามินอี แต่พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้เสริมซีลีเนียม (ชุดควบคุม) กินอาหารในปริมาณที่มากกว่ากุ้งที่ได้รับการเสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่ง (p<0.05) กุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุมกินอาหารคิดเป็น 2.52 เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่งพบว่าไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่กุ้งกิน เช่นเดียวกับการเสริมหรือไม่เสริมวิตามินอีก็ไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่กุ้งกินเช่นกัน (ตารางที่ 12)

ในส่วนของอัตรารอดตาย ไม่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมที่เสริมลงในอาหารและวิตามินอี กุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตร NaSe0.5 ไม่เสริมวิตามินอีมีอัตรารอดตายสูงที่สุดคือ 72.20 $\pm$ 10.18 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (p>0.05) และกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่เสริมวิตามินอีเพียงอย่างเดียวแต่ไม่เสริมซีลีเนียมมีอัตรารอดตายต่ำที่สุด คือ 66.00 $\pm$ 3.80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)

2. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งที่ได้รับอาหารทั้ง 6 สูตรในการทดลองครั้งนี้ ไม่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหาร แต่พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่ง (p<0.05) และกุ้งที่ได้รับอาหารที่เสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่งมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างกัน (p>0.05) โดยวิตามินอีที่เสริมลงในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (p>0.05) (ตารางที่ 13)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิให้ผลในแนวทางเดียวกันคือ กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิต่ำ

กว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่ง (p<0.05) และกุ้งที่ได้รับอาหารที่เสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่งมีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิไม่แตกต่างกัน (p>0.05) ทั้งนี้วิตามินอีที่เสริมลงในอาหารไม่มีผลต่อค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิในการทดลองครั้งนี้ (p>0.05) (ตารางที่ 13)

3. องค์ประกอบเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งที่ได้รับอาหารทั้ง 6 สูตรพบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหาร โดยกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมที่ไม่มีการเสริมวิตามินอี (Control-E) และสูตร SeMet1.0+ E มีปริมาณเม็ดเลือดรวมต่ำที่สุด (p<0.05) (ตารางที่ 14)

โปรตีนในน้ำเลือดและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ไม่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหาร โดยกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมที่ไม่มีการเสริมวิตามินอี (Control-E) มีค่าโปรตีนในน้ำเลือดและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสต่ำที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (p>0.05) และมีแนวโน้มที่การเสริมซีลีเนียมลงในอาหารช่วยเพิ่มระดับโปรตีนในเลือดและส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสให้ดีขึ้นกว่าการไม่ใส่ซีลีเนียมในอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมวิตามินอีมีแนวโน้มที่ช่วยให้โปรตีนในน้ำเลือดและกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสมีค่าเพิ่มขึ้น (p>0.05) (ตารางที่ 14)

กลูโคสในเลือดไม่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหาร กุ้งที่ได้รับอาหารสูตร SeMet1.0 ทั้งที่เสริมและไม่เสริมวิตามินอีมีปริมาณกลูโคสในเลือดสูงกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารในชุดการทดลองอื่นๆ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) แต่วิตามินอีส่งผลต่อค่ากลูโคสในเลือด โดยพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมวิตามินอีส่งผลให้ค่ากลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้น (p<0.05)

กิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหาร โดยกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมที่มีการเสริมวิตามินอี (Control+E) มีค่าต่ำที่สุด ส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารสูตร SeMet1.0+E มีค่าสูงที่สุด (p<0.05) และในกุ้งที่มีการเสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่ง พบว่าเมื่อมีการเสริมวิตามินอีลงไปส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสมีค่าเพิ่ม (p<0.05) สูงขึ้น (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 12 การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตรารอดตายของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 2 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดการทดลอง	วิตามินอี	น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (กรัม)		น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น[2]	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ[3]	ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน[4]	อัตรารอดตาย[5]
		เริ่มต้น	สุดท้าย	(%)	(%/วัน)	(%/ตัว/วัน)	(%)
Control	-	6.95±0.01^{ax}	10.90±0.46^{ax}	56.93±6.74^{ax}	0.75±0.07^{ax}	2.52 ± 0.11^{bx}	66.60±11.63
	+	6.95±0.01^{ax}	10.92±0.43^{ax}	57.16±6.24^{ax}	0.76±0.07^{ax}	2.52 ± 0.08^{bx}	66.00±3.80
NaSe0.5	-	6.95±0.00^{ax}	10.81±0.61^{ax}	55.62±8.80^{ax}	0.73±0.09^{ax}	2.36 ± 0.09^{ax}	72.20±10.18
	+	6.95±0.0^{ax}	11.35±0.84^{ax}	63.34±12.16^{ax}	0.81±0.12^{ax}	2.29 ± 0.06^{ax}	66.40±9.91
SeMet1.0	-	6.94±0.01^{ax}	11.14±0.40^{ax}	60.51±6.01^{ax}	0.80±0.05^{ax}	2.31 ± 0.05^{ax}	71.40±6.26
	+	6.94±0.01^{ax}	11.24±0.35^{ax}	61.90±5.00^{ax}	0.80±0.05^{ax}	2.34 ± 0.09^{ax}	69.40±10.85
ซีลีเนียม		NS	NS	NS	NS	P<0.05	NS
วิตามินอี		NS	NS	NS	NS	NS	NS
ซีลีเนียมxวิตามินอี		NS	NS	NS	NS	NS	NS

[1]ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[2]น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%) = [(น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย(กรัม)-น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น(กรัม)/น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น(กรัม)] x 100

[3]อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/วัน) = [(ln(น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย(กรัม))-ln(น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น(กรัม))/จำนวนวันที่เลี้ยง(วัน)] x 100

[4]ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน (กรัม/ตัว/วัน) = ปริมาณอาหารที่กุ้งกินทั้งหมด(กรัม)/(จำนวนกุ้ง(ตัว) x จำนวนวันที่เลี้ยง(วัน))

[5]อัตรารอดตาย (%) = (จำนวนกุ้งหลังทดลอง(ตัว) /จำนวนกุ้งก่อนทดลอง(ตัว)) x 100

ตารางที่ 13 ประสิทธิภาพการใช้อาหารของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 2 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดการทดลอง	วิตามินอี	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ[2]	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน[3]	การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ[4] (เปอร์เซ็นต์)
Control	-	4.06±0.38^{bx}	0.77±0.08^{ax}	15.94±1.75^{ax}
	+	4.02±0.32^{bx}	0.77±0.06^{ax}	16.48±1.05^{ax}
NaSe0.5	-	3.69±0.28^{ax}	0.84±0.06^{bx}	20.99±1.44^{bx}
	+	3.42±0.25^{ax}	0.89±0.07^{bx}	20.06±1.23^{bx}
SeMet1.0	-	3.37±0.20^{ax}	0.90±0.05^{bx}	21.08±1.12^{bx}
	+	3.43±0.27^{ax}	0.91±0.07^{bx}	20.95±1.90^{bx}
ซีลีเนียม		P<0.05	P<0.05	P<0.05
วิตามินอี		NS	NS	NS
ซีลีเนียมxวิตามินอี		NS	NS	NS

[1]ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[2]อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ = ปริมาณอาหารที่กุ้งกินทั้งหมด(กรัม)/น้ำหนักกุ้งที่เพิ่มขึ้น(กรัม)

[3]ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน = น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกุ้ง / น้ำหนักโปรตีนที่กุ้งกิน

[4]การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (%) = (โปรตีนในตัวกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – โปรตีนในตัวกุ้งเมื่อเริ่มต้นการทดลอง) / น้ำหนักโปรตีนที่กุ้งกินตลอดการทดลอง

ตารางที่ 14 องค์ประกอบเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 2 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดการทดลอง	วิตามินอี	ปริมาณเม็ดเลือดรวม (x 10^7เซลล์/มล.)	โปรตีนในน้ำเลือด (มก./ล.)	กลูโคสในเลือด (มก.%)	กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (ยูนิต/นาที/มก.โปรตีน)	กิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (นาโนโมล NADPH/นาที/มก.โปรตีน)
Control	-	1.05±0.22^{a}	142.80±28.71^{ax}	8.65±6.35^{ax}	2.05±1.08^{ax}	18.34±9.36^{ab}
	+	1.51±0.43^{b}	151.40±22.00^{ax}	16.21±1.92^{ay}	3.59±1.24^{ax}	14.77±4.19^{a}
NaSe0.5	-	1.44±0.28^{b}	149.28±38.31^{ax}	6.05±3.96^{ax}	3.92±3.33^{ax}	21.90±14.47^{ab}
	+	1.27±0.25^{ab}	152.92±22.20^{ax}	17.64±1.79^{ay}	4.05±2.98^{ax}	28.53±6.83^{bc}
SeMet1.0	-	1.35±0.38^{ab}	174.76±25.35^{ax}	17.94±11.76^{ax}	3.25±1.79^{ax}	19.36±4.26^{ab}
	+	1.05±0.35^{a}	160.36±17.79^{ax}	18.85±5.02^{ay}	3.60±2.56^{ax}	37.18±8.93^{c}
ซีลีเนียม		NS	NS	NS	NS	P<0.05
วิตามินอี		NS	NS	P<0.05	NS	P<0.05
ซีลีเนียมxวิตามินอี		P<0.05	NS	NS	NS	P<0.05

[1]ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4. องค์ประกอบทางเคมีในตัวกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

องค์ประกอบทางเคมีในตัวกุ้งขาวภายหลังได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ไม่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหารต่อความชื้นและปริมาณโปรตีนภายในตัว ซึ่งไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) โดยความชื้นมีค่าอยู่ในช่วง 76.90 $\pm$ 0.26 ถึง 78.46 $\pm$ 1.18 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโปรตีนมีค่าอยู่ในช่วง 73.78 $\pm$ 0.88 ถึง 75.12 $\pm$ 0.26 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 15)

ไขมันภายในตัวกุ้ง พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหาร โดยพบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตร SeMet1.0+E มีค่าสูงที่สุด (p<0.05) และในกุ้งที่มีการเสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่ง พบว่าเมื่อมีการเสริมวิตามินอีลงไปส่งผลให้ไขมันภายในตัวกุ้งมีค่าเพิ่มสูงขึ้น (p<0.05) ต่างจากในชุดควบคุมที่พบว่าเมื่อมีการเสริมวิตามินอีลงในอาหารทำให้กุ้งมีไขมันภายในตัวลดลง (p<0.05) (ตารางที่ 15)

เถ้าภายในตัวกุ้ง ไม่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหาร แต่รูปแบบของซีลีเนียมที่ใส่จากทั้ง 2 แหล่งมีผลต่อเถ้าในตัวกุ้ง ซึ่งจะมีค่าสูงกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุม(ตารางที่ 15)

5. อัตรารอดตายของกุ้งขาวภายหลังจากการทดสอบความต้านทานเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว

ภายหลังกุ้งขาวได้รับเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาว 10^{-3} เท่าจากการฉีดเข้ากล้ามเนื้อพบว่า ภายในระยะเวลา 7 วันหลังจากได้รับเชื้อไม่พบว่ามีกุ้งที่รอดตายในทุกชุดการทดลอง โดยกุ้งเริ่มมีการตายในวันที่ 2 ในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารสูตร NaSe0.5+E และ SeMet 1.0+E เมื่อเข้าสู่วันที่ 3 และวันที่ 4 พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตร Control-E มีการตายสูงที่สุด (p<0.05) ส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารสูตร SeMet 1.0 ทั้งที่มีการเสริมและไม่เสริมวิตามินอีมีอัตรารอดตายสูงที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกุ้งที่ได้รับอาหารสูตร NaSe0.5 ทั้งที่มีการเสริมและไม่เสริมวิตามินอี เมื่อเข้าสู่วันที่ 5 พบว่ากุ้งในชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมวิตามินอีในอาหารตายหมด (ตารางที่ 16)

6. **อัตรารอดตายของกุ้งขาวภายหลังจากการทดสอบความต้านทานความเครียดจากการขนส่ง**

ภายหลังการทดสอบความเครียดจากการขนส่งไม่พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหาร โดยกุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมวิตามินอีมีอัตรารอดตายต่ำที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ (p>0.05) และตายหมดภายในชั่วโมงที่ 3 ส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารสูตร SeMet1.0 ทั้งที่มีการเสริมและไม่เสริมวิตามินอีมีอัตรารอดตายสูงที่สุด ภายในชั่วโมงที่ 6 ไม่พบว่ามีกุ้งรอดตายในกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมและสูตร NaSe0.5 ในขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตร SeMet1.0 ที่มีการเสริมวิตามินอีตายหมดเช่นกัน แต่ที่ไม่มีการเสริมวิตามินอีพบมีกุ้งรอดตาย (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 15 องค์ประกอบทางเคมี (%) ในตัวกุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองในการทดลองที่ 2เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์[1]

ชุดการทดลอง	วิตามินอี	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า
Initial shrimp		79.44 ± 0.45	67.14 ± 0.14	5.48 ± 0.21	12.84 ± 0.03
Control	-	78.46 ± 1.18^{ax}	73.78 ± 0.88^{ax}	6.55 ± 0.32^{b}	11.49 ± 0.02^{ax}
	+	78.13 ± 1.51^{ax}	74.03 ± 0.97^{ax}	5.57 ± 0.60^{a}	11.24 ± 0.04^{ax}
NaSe0.5	-	76.90 ± 0.26^{ax}	75.06 ± 0.74^{ax}	5.71 ± 0.20^{ab}	12.20 ± 0.05^{bx}
	+	77.62 ± 0.83^{ax}	74.57 ± 0.74^{ax}	6.51 ± 0.49^{b}	12.88 ± 0.03^{bx}
SeMet1.0	-	77.12 ± 0.96^{ax}	74.16 ± 0.92^{ax}	5.32 ± 0.17^{a}	11.85 ± 0.09^{bx}
	+	77.60 ± 0.81^{ax}	75.12 ± 0.26^{ax}	7.42 ± 0.67^{c}	12.27 ± 0.04^{bx}
ซีลีเนียม		NS	NS	NS	P<0.05
วิตามินอี		NS	NS	P<0.05	NS
ซีลีเนียมxวิตามินอี		NS	NS	P<0.05	NS

[1]ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 16 อัตรารอดตายของกุ้งขาวภายหลังจากการทดสอบความต้านทานเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวในการทดลองที่ 2[1]

ชุดการทดลอง	วิตามินอี	อัตราการรอดตายของกุ้งขาว (เปอร์เซ็นต์) ในช่วงระยะเวลาทดลอง						
		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6	วันที่ 7
Control	-	100.00±0.00^{ax}	100.00±0.00^{ax}	56.67±5.77^{a}	20.00±10.00^{ax}	0.00±0.00^{ax}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00
		(10,10,10)[2]	(10,10,10)	(6,6,5)	(3,2,1)	(0,0,0)	(0,0,0)	(0,0,0)
	+	100.00±0.00^{ax}	100.00±0.00^{ax}	80.00±0.00^{b}	33.33±5.77^{ax}	3.33±5.77^{ax}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00
		(10,10,10)	(10,10,10)	(8,8,8)	(4,3,3)	(0,1,0)	(0,0,0)	(0,0,0)
NaSe0.5	-	100.00±0.00^{ax}	100.00±0.00^{ax}	80.00±10.00^{b}	46.67±15.28^{bx}	3.33±5.77^{ax}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00
		(10,10,10)	(10,10,10)	(7,8,9)	(3,5,6)	(0,0,1)	(0,0,0)	(0,0,0)
	+	100.00±0.00^{ax}	96.67±5.77^{ax}	83.33±11.55^{b}	50.00±0.00^{bx}	6.67±5.77^{ax}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00
		(10,10,10)	(9,10,10)	(7,9,9)	(5,5,5)	(0,1,1)	(0,0,0)	(0,0,0)
SeMet1.0	-	100.00±0.00^{ax}	100.00±0.00^{ax}	83.33±5.77^{b}	46.67±5.77^{bx}	10.00±0.00^{ax}	6.67±5.77^{b}	0.00±0.00
		(10,10,10)	(10,10,10)	(9,8,8)	(5,4,5)	(1,1,1)	(1,1,0)	(0,0,0)
	+	100.00±0.00^{ax}	96.67±5.77^{ax}	83.33±5.77^{b}	50.00±10.00^{bx}	6.67±5.77^{ax}	0.00±0.00^{a}	0.00±0.00
		(10,10,10)	(9,10,10)	(9,8,8)	(6,5,4)	(1,0,1)	(0,0,0)	(0,0,0)
ซีลีเนียม		NS	NS	P<0.05	P<0.05	NS	P<0.05	NS
วิตามินอี		NS	NS	P<0.05	NS	NS	NS	NS
ซีลีเนียมxวิตามินอี		NS	NS	P<0.05	NS	NS	P<0.05	NS

[1]ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[2]จำนวนกุ้งที่รอดตายในแต่ละซ้ำของชุดการทดลอง จำนวนกุ้ง 10 ตัว/ซ้ำ (ซ้ำที่ 1,ซ้ำที่ 2,ซ้ำที่ 3)

ตารางที่ 17 อัตรารอดตายของกุ้งขาวภายหลังจากการทดสอบความต้านทานความเครียดจากการขนส่งในการทดลองที่ 2[1]

ชุดการทดลอง	วิตามินอี	อัตรารอดตายของกุ้งขาว (เปอร์เซ็นต์) ในช่วงระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
		ชั่วโมงที่ 1	ชั่วโมงที่ 2	ชั่วโมงที่ 3	ชั่วโมงที่ 4	ชั่วโมงที่ 5	ชั่วโมงที่ 6
Control	-	13.33±5.77^{ax}	3.33±5.77^{ax}	0.00±0.00^{ax}	0.00±0.00^{ax}	0.00±0.00^{ax}	0.00±0.00^{ax}
		(1,1,2)[2]	(0,1,0)	(0,0,0)	(0,0,0)	(0,0,0)	(0,0,0)
	+	20.00±10.00^{ax}	10.00±10.00^{ax}	6.67±5.77^{ax}	3.33±5.77^{ax}	3.33±5.77^{ax}	0.00±0.00^{ax}
		(3,1,2)	(2,0,1)	(1,0,1)	(0,0,1)	(0,0,1)	(0,0,0)
NaSe0.5	-	13.33±5.77^{ax}	6.67±5.77^{ax}	6.67±5.77^{abx}	6.67±5.77^{ax}	3.33±5.77^{ax}	0.00±0.00^{ax}
		(1,2,1)	(1,0,1)	(1,0,1)	(1,0,1)	(0,0,1)	(0,0,0)
	+	30.00±10.00^{ax}	6.67±5.77^{ax}	3.33±5.77^{abx}	3.33±5.77^{ax}	0.00±0.00^{ax}	0.00±0.00^{ax}
		(2,3,4)	(0,1,1)	(0,1,0)	(0,1,0)	(0,0,0)	(0,0,0)
SeMet1.0	-	30.00±10.00^{ax}	10.00±10.00^{ax}	10.00±0.00^{cx}	10.00±0.00^{ax}	10.00±0.00^{bx}	3.33±5.77^{ax}
		(2,3,4)	(1,1,1)	(1,1,1)	(1,1,1)	(1,1,1)	(0,1,0)
	+	26.67±5.77^{ax}	10.00±10.00^{ax}	10.00±0.00^{cx}	6.67±5.77^{ax}	6.67±5.77^{bx}	0.00±0.00^{ax}
		(3,3,2)	(1,1,1)	(1,1,1)	(1,1,0)	(1,1,0)	(0,0,0)
ซีลีเนียม		NS	NS	P<0.05	NS	P<0.05	NS
วิตามินอี		NS	NS	NS	NS	NS	NS
ซีลีเนียมxวิตามินอี		NS	NS	NS	NS	NS	NS

[1]ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[2]จำนวนกุ้งที่รอดตายในแต่ละซ้ำของชุดการทดลอง จำนวนกุ้ง 10 ตัว/ซ้ำ (ซ้ำที่ 1,ซ้ำที่ 2,ซ้ำที่ 3)

7. **ปริมาณซีลีเนียมในตัวกุ้งขาวภายหลังจากได้รับอาหารแต่ละชุดการทดลอง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์**

หลังจากกุ้งทดลองได้รับอาหารสูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าในกุ้งที่ได้รับอาหารสูตรควบคุมมีปริมาณซีลีเนียมสะสมในตัวต่ำที่สุด ในขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตร SeMet1.0 ทั้งที่มีการเสริมและไม่เสริมวิตามินอีมีปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวสูงที่สุด มีแนวโน้มที่การเสริมวิตามินอีในอาหารจะส่งผลให้กุ้งมีปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวเพิ่มมากขึ้น ยกเว้นในกุ้งที่ได้รับอาหารสูตร NaSe0.5 ที่มีการเสริมวิตามินอีมีปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวต่ำกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมวิตามินอี (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 ปริมาณซีลีเนียมในตัวกุ้งขาวภายหลังได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	วิตามินอี	ปริมาณซีลีเนียมในตัวกุ้งขาว (มก./กก.น้ำหนักตัว)
Control	-	1.597
	+	1.622
NaSe0.5	-	1.837
	+	1.642
SeMet1.0	-	2.055
	+	2.352

ค่าที่แสดงเกิดจากการรวมตัวอย่างกุ้งในแต่ละชุดการทดลองแล้วทำการวิเคราะห์

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

1. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว

ซีลีเนียมจัดเป็นแร่ธาตุรองที่จำเป็น (essential micronutrient) หรือต้องการในปริมาณน้อยในการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ จากรายงานที่ผ่านมาของ Wang และคณะ (1994) อ้างโดย Wang และคณะ (2006) พบว่ากุ้งขาวจีน (*P. chinensis*) มีความต้องการซีลีเนียมในการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.44 มก./กก. ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ David (1990) ที่มีการใช้อาหารกึ่งบริสุทธิ์ที่เสริมซีลีเนียมเข้มข้น 0.2-0.4 มก./กก. ให้กุ้งขาววัยอ่อน (*L. vannamei*) กินเป็นอาหารและพบว่าซีลีเนียมที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวทำให้กุ้งขาวเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม เช่นเดียวกับงานทดลองในครั้งนี้ที่ศึกษาระดับความเข้มข้นของซีลีเนียมในรูปแบบของโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่เสริมในอาหารให้กุ้งขาวกินนั้นพบว่าการเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1.0 มก./กก. มีแนวโน้มทำให้กุ้งขาวเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดการทดลองอื่นๆ เมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในแต่ละชุดการทดลอง เมื่อได้รับอาหารทดลองนาน 8 สัปดาห์ ในขณะที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ปริมาณอาหารที่กุ้งกินและอัตราการรอดตายในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

จากการวัดปริมาณของซีลีเนียมในอาหารที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียมพบว่ามีความเข้มข้นของซีลีเนียม 1.76 ± 0.24 มก./กก. ทั้งนี้เนื่องมาจากวัตถุดิบที่ใช้ทำอาหารโดยทั่วไป ได้แก่ ปลาป่น กากถั่วเหลือง แป้งข้าวจ้าวและแป้งสาลีนั้นมีปริมาณซีลีเนียมสะสมอยู่แล้วและมีในสัดส่วนที่เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ นอกจากนี้ยังได้ทำการวัดปริมาณของซีลีเนียมในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งนั้นพบว่าน้ำที่ใช้เลี้ยงมีซีลีเนียมอยู่ในช่วง 3.08 ± 0.12 มก./ล ดังนั้นกุ้งขาวที่เลี้ยงในบ่อสามารถได้รับซีลีเนียมทั้งจากแหล่งอาหารและแหล่งน้ำอาจมีปริมาณเพียงพอสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตของกุ้งขาวหากไม่มีการเสริมซีลีเนียมในอาหารเลย แต่หากเกิดสภาวะความเครียดจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ซีลีเนียมที่มีอยู่อาจไม่เพียงพอสำหรับการตอบสนองต่อความเครียดและการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาวได้

2. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อองค์ประกอบเลือดในกุ้งขาว

การเสริมซีลีเนียมทั้งสองรูปแบบที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ มีผลทำให้ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดและโปรตีนในน้ำเลือดกุ้งขาวเพิ่มสูงขึ้น โดยพบว่ากุ้งขาวที่ได้รับซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 3.0 มก./กก. ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดสูงสุด รองลงมาเป็นกุ้งขาวที่ได้รับโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 มก./กก. เช่นเดียวกัน และเมื่อได้รับความเข้มข้นสูงกว่านี้พบว่าเม็ดเลือดมีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าหากกุ้ง

ขาวได้รับซีลีเนียมมากเกินไปทำให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายได้ เป็นที่ทราบกันดีว่าเซลล์เม็ดเลือดเป็นเซลล์หลักที่ทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันทั้งระดับเซลล์และสารน้ำของสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชีย (Soderhall and Cerenius, 1992) ซึ่งรวมถึงการทำงานของเอนไซม์ บางชนิดที่มีซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ เอนไซม์ในกลุ่มของ Se peroxidase เช่น เอนไซม์ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ที่ตรวจพบในพลาสมา ระบบทางเดินอาหารและผนังเซลล์ ซึ่งมีคุณสมบัติและโครงสร้างที่แตกต่างกัน (Arthur, 1997) ส่วนใหญ่ซีลีเนียมที่อยู่ในพลาสมาจะอยู่ในรูปของซีลีโนซิสทีอีน (selenocysteine) ในบริเวณ active site ของโปรตีน ซึ่งเรียกว่า ซีลีโนโปรตีน (selenoprotein) (Brown and Arthur, 2001) เมื่อร่างกายอยู่ในสภาวะที่จำเป็นหรือไม่เหมาะสม ซีลีเนียมที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของซีลีโนซิสทีอีนจะมีการแตกตัวได้ดีและทำงานเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Arthur, 1997) เพื่อช่วยให้การทำงานของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเพิ่มสูงขึ้นในการต่อต้านกับสิ่งแปลกปลอมหรือกำจัดอนุมูลอิสระออกไป ดังนั้นการเสริมซีลีเนียมลงไปในอาหารให้สัตว์น้ำอาจมีส่วนช่วยในการทำงานในกระบวนการดังกล่าวได้ทันท่วงทีและมีจำนวนเพียงพอต่อความต้องการ

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

3. ผลของโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนต่อความต้านทานความเครียดและโรคไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งขาว

ซีลีโนโปรตีนเป็นโมเลกุลที่เป็นผลผลิตโดยตรงจากการนำซีลีเนียมจากอาหารไปใช้ประโยชน์ ปริมาณซีลีเนียมที่สัตว์ได้รับจะทำให้ปริมาณซีลีเนียมในโปรตีนเพิ่มขึ้น (Kohrl *et al*., 2000) สารชีวโมเลกุลที่สำคัญหลายชนิดมีส่วนประกอบของซีลีโนโปรตีน โดยเฉพาะเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (Gladyshev *et al*., 1998) ซึ่งมีรายงานว่าเอนไซม์ชนิดนี้จะมีการตอบสนองโดยตรงกับปริมาณของซีลีโนโปรตีน (Kryukov *et al*., 2002) เอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสมีลักษณะเป็น tetrameric protein ประกอบด้วย 4 สับยูนิต ซึ่งแต่ละสับยูนิตจะมีส่วนของซีลีโนซิสทีอีนในตำแหน่งของแอกทีฟ (active site) โดยทั่วไปจะพบเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสได้ในเนื้อเยื่อต่างๆ ที่มีความเสียหาย อันเนื่องมาจากการเกิดออกซิเดทีฟสเตรส (oxidative stress) (Kohrl *et al*., 2000) เอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสมีหน้าที่ในการแคตตาไลซ์ (catalyzes) ในปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) และเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) ดึงไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ในน้ำ และเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสยังช่วยป้องกันการเกิด lipid peroxidase และความเสียหายของเซลล์ได้ (Rotruck *et al*., 1973) ดังนั้นซีลีโนโปรตีนและเอนไซม์ทั้งสองชนิด จึงมีผลช่วยต้านทานความเครียดที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation stress) ภายในเซลล์ได้

และผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารทดลองเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนมีค่าของกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสในน้ำเลือดเพิ่มขึ้นตามระดับของซีลีโนเมทไธโอนีน ซึ่งกุ้งขาวที่ได้อาหารเสริมซีลีเนียมทั้งสองชนิดในระดับที่เหมาะสมจะทำให้กุ้งขาวมีความทนต่อความเครียดจากการขนส่งและความต้านทานโรคไวรัสตัวแดงดวงขาวเพิ่มขึ้น จากค่าอัตราการรอดตายพบว่าอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 1.0 มก./กก.และโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 0.5 มก./กก. มีค่าอัตราการรอดตายสูงและรองลงมากว่าชุดทดลองอื่นๆ ที่เสริมซีลีเนียมในระดับที่แตกต่างกัน

4. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวกุ้งขาวและการใช้ประโยชน์ได้ (bioavailability)

การวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวกุ้งขาว หลังจากได้รับอาหารเสริมซีลีเนียมทั้ง 2 ชนิดที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งขาวมีปริมาณซีลีเนียมสะสมในตัวเพิ่มขึ้นตามระดับของซีลีเนียมที่เสริมในอาหาร เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ของปริมาณซีลีเนียมที่เสริมอาหารกับการสะสมซีลีเนียมในตัวกุ้งขาว พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนมีความสัมพันธ์กับการสะสมซีลีเนียมในร่างกาย (R^2= 0.99) เช่นเดียวกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ (R^2= 0.91) โดยซีลีเนียมจะสะสมทั้งในเลือดและในเนื้อเยื่อในรูปของซีลีโนโปรตีนชนิดต่างๆ ซึ่งจะมีหน้าที่ในทางชีววิทยาที่แตกต่างกัน (Arthur, 1997) โดยซีลีโนโปรตีนที่สำคัญได้แก่ ซีลีโนเอนไซม์ (selenoenzyme) เอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส ซีลีโนโปรตีนดับเบิลยู (selenoprotein W) จะสะสมในเนื้อเยื่อ และซีลีโนโปรตีนพี (selenoprotein P) มีบทบาทในการขนส่งซีลีเนียมภายในเลือด

ในด้านการใช้ประโยชน์ได้ (bioavailability) ของซีลีเนียมจากการศึกษาการเก็บสะสมของซีลีเนียมในตัวกุ้งขาว พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีน มีค่าการใช้ประโยชน์ได้เพิ่มสูงขึ้นเป็น 346.34 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองอื่นๆ ที่รายงานว่าซีลีเนียมอินทรีย์ในรูปของซีลีโนเมทไธโอนีนมีค่าการใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าซีลีเนียมอนินทรีย์ในรูปของโซเดียมซีลีไนท์ (Lavander, 1983) อาจเป็นผลจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของซีลีเนียมที่จะเปลี่ยนรูปเป็นซีลีโนโปรตีน (selenoprotein) ของซีลีเนียมอินทรีย์ และอนินนทรีย์มีความแตกต่างกัน โดยซีลีเนียมอินทรีย์คือ ซีลีโนเมทไธโอนีน (selenomethionine) จะสามารถเปลี่ยนรูปได้โดยผ่านกระบวนการ 2 กระบวนการคือ 1) การเปลี่ยนไปเป็นซีลีโนซิสเตอีน (selenocysteine) โดยกระบวนการ *trans*-selenation และจะกลายเป็นไฮโดรเจนซีลีไนด์ (hydrogen selenide; H_2Se) โดยอาศัยเอนไซม์ β-lyase (Beilstein and Whanger, 1992) และ 2) การเปลี่ยนโดยอาศัยกระบวนการ transamination-decarboxylation (Mitchell and Benevenga, 1978) ต่างจากซีลีเนียมอินทรีย์ที่จะเปลี่ยนรูปผ่านกระบวนการเดียวคือ ซีลีไนท์ (selenite) ซึ่งการเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนซีลีไนด์ จะต้องใช้สารตัวกลางคือ ซีลีโนไดกลูตาไธโอน (selenodiglutathione; GS-Se-SG) และกลูตาไธโอนซีลีโนเปอร์ซัลไฟด์ (glutathione selenopersulfide; GS-SeH) เพื่อเปลี่ยนให้เป็นซีลีโนโปรตีน ตามลำดับ (Ig *et al*., 1991; Abdulah *et al*., 2005; Suzuki, 2005)

การศึกษาของ Wang และ Lovell (1997) ได้เปรียบเทียบความสามารถในการนำไปใช้ประโยชน์ของซีลีเนียมอินทรีย์และอนินทรีย์ในอาหารปลากดอเมริกัน (*Ictalurus punctatus*) ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 1.70 กรัม โดยให้กินอาหารที่เสริมโซเดียมซีลีไนท์ ซีลีโนเมทไธโอนีน และซีลีโน-ยีสต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 9 พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนมีค่าการใช้ประโยชน์ได้สูงที่สุดเท่ากับ 336 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ซีลีโนยีสต์ 269 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียม ซีลีไนท์ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากซีลีโนเมทไธโอนีนและกรดอะมิโนเมทไธโอนีนมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกันมาก ทำให้สามารถเข้ารวมตัวกับโปรตีนโดยการแทนที่พื้นที่ของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนได้ แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่ซีลีโนเมทไธโอนีนสามารถสะสมในเนื้อเยื่อได้ดีกว่าโซเดียม ซีลีไนท์ซึ่งเป็นสารประกอบอนินทรีย์ อย่างไรก็ตามก็พบว่าหากได้รับซีลีโนเมทไธโอนีนเกินกว่าระดับที่ร่างกายต้องการสามารถก่อให้เกิดพิษได้ (Wasculewski and Sunde, 1998; Patterson and Levander, 1997 อ้างโดย Wang *et al*., 2007) จากการทดลองศึกษาที่ผ่านมาพบว่าซีลีโนเมทไธโอนีนนิยมเสริมในอาหารสัตว์มากกว่าซีลีเนียมในรูปอื่น เนื่องจากมีความสามารถในการนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีและมีระดับความเป็นพิษต่ำกว่าซีลีเนียมในรูปอื่นๆ (Griffiths *et al*., 1976; Schrauzer, 1998 อ้างโดย Wang *et al*., 2007)

5. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อของกุ้งขาว

การเสริมซีลีเนียมระดับต่าง ๆ ในการทดลองครั้งนี้พบว่าตรวจพบความผิดปกติของอวัยวะสร้างเม็ดเลือดในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 3.0 และ 5.0 มก./กก. และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 5.0 มก./กก. ลักษณะความผิดปกติที่เกิดขึ้น ได้แก่ มีการขยายตัวของช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อสร้างเม็ดเลือด (interstitial space) และอินเตอร์สติเทียล ไซนัส (interstitial sinus) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดในอวัยวะสร้างเม็ดเลือดมีการจับตัวกันอย่างหลวม ๆ (loose contact) และ เมื่อพิจารณาจากองค์ประกอบเลือดพบว่าเมื่อกุ้งขาวได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนในระดับที่สูง ปริมาณเม็ดเลือดทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงในขณะที่ความผิดปกติของอวัยวะสร้างเม็ดเลือดเพิ่มสูงขึ้น ชี้ให้เห็นว่าการเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับความเข้มข้น 5.0 มก./กก. ทำให้เกิดความเป็นพิษต่ออวัยวะสร้างเม็ดเลือดของกุ้งขาวได้ ในขณะที่การเสริมโซเดียมซีลีไนท์ซึ่งเป็นสาร อนินทรีย์นั้นทำให้กุ้งขาวเป็นพิษได้ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่าคือ 3.0 มก./กก. เท่านั้น โดยมีอวัยวะสร้างเม็ดเลือดเป็นอวัยวะเป้าหมาย สอดคล้องกับรายงานของ Chung และคณะ (2006) พบว่าระบบอวัยวะสร้างเม็ดเลือด (hematopoietic) เป็นอวัยวะเป้าหมายแรกเมื่อเกิดความเป็นพิษของซีลีเนียม

ในสัตว์บกมีรายงานระดับของซีลีเนียมที่ใช้ในอาหารโดยทั่วไปมีค่าอยู่ในช่วง 1.0 - 3.0 มก./กก. และระดับที่ก่อให้เกิดพิษอยู่ในช่วง 3.0 - 5.0 มก./กก. (Ig *et al*., 1991) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองศึกษาในครั้งนี้ โดยพบว่าระดับที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษของซีลีเนียมต่อตัวกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีเนียมมีค่าอยู่ในช่วง 3.0 - 5.0 มก./กก. อย่างไรก็ตามโครงสร้างและรูปแบบของซีลีเนียมที่ใช้มีผลต่อความเข้มข้นที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อกุ้งขาวได้แตกต่างกัน ซึ่งจากการทดลองข้างต้นพอจะสรุปได้ว่าซีลีเนียมที่อยู่ในรูปของอนินทรีย์หรือโซเดียมซีลีไนท์สามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษ ได้มากกว่าซีลีเนียมที่อยู่ในรูปอินทรีย์หรือซีลีโนเมทไธ

โอนีนเมื่อได้รับในปริมาณที่เท่ากัน (> 3.0 มก./กก.) ทั้งนี้ข้อสันนิษฐานที่เป็นไปได้อาจเนื่องมาจากโซเดียมซีลีไนท์มีการแตกตัวได้ง่ายและรุนแรงกว่าซีลีโนเมทไธโอนีน และขณะเดียวกันซีลีโนเมทไธโอนีนจัดเป็นสารประกอบจำพวกกรดอะมิโนโปรตีน ดังนั้นเป็นไปได้ที่กุ้งขาวสามารถนำไปใช้ในการเติบโตหรือกระบวนการเมทาบอลิซึมได้ทันที ซึ่งทำให้ซีลีเนียมที่แตกตัวออกจากโมเลกุลนั้นมีจำนวนน้อยกว่า โซเดียมซีลีไนท์ ส่งผลให้ความเป็นพิษที่เกิดขึ้นในกุ้งขาวต่ำลง และจากผลการทดลองที่ได้สามารถนำซีลีเนียมโดยเฉพาะซีลีเนียมที่มีอยู่ในรูปของอินทรีย์ไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาวได้ เนื่องจากมีแนวโน้มในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและสร้างภูมิคุ้มกันในกุ้งขาวได้ ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาการเลี้ยงกุ้งขาวให้มีประสิทธิภาพและเพิ่มผลผลิตของกุ้งขาวได้ในอนาคต

การทดลองที่ 2

ซีลีเนียมจัดเป็นแร่ธาตุที่มีความจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase, GPx) ที่ทำหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายต่อเยื่อหุ้มเซลล์และโครงสร้างอื่นๆในร่างกาย (Hardy, 1999) เช่นเดียวกับวิตามินอีที่จัดว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (Huang and Huang, 2004; Lee and Shiau, 2004) จากการทดลองในครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของการเจริญเติบโตในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีซีลีเนียมจากแหล่งต่างๆ ซึ่งตรงกับงานวิจัยที่ได้ทดลองในสัตว์อีกหลายชนิดเช่น กุ้งขาว (ธวัชชัย, 2551) วัวนม (Lacetera *et al*., 1996) ไก่เนื้อ (Payne and Southern, 2005) และเมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตระหว่างกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมแหล่งของซีลีเนียมและวิตามินอีกับกุ้งในชุดควบคุมที่ไม่มีการเสริมสารอาหารทั้ง 2 ชนิดก็ไม่พบความแตกต่างเช่นเดียวกัน ทั้งนี้เพราะกุ้งขาวที่เลี้ยงในกระชังในบ่อดินสามารถได้รับซีลีเนียมทั้งจากแหล่งของอาหารและแหล่งน้ำ ซึ่งอาจมีปริมาณเพียงพอสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตแม้ว่าจะไม่มีการเสริมซีลีเนียมในอาหารเลย จากรายงานความต้องการซีลีเนียมในกุ้งขาวของ Davis (1990) ที่มีการใช้อาหารกึ่งบริสุทธิ์ที่เสริมซีลีเนียมเข้มข้น 0.2-0.4 มก./กก. ให้กุ้งขาวมีการเจริญเติบโตที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในการทดลองครั้งนี้จากการวัดปริมาณซีลีเนียมในอาหารสูตรควบคุมที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียมพบว่ามีความเข้มข้นของซีลีเนียม 1.48 มก./กก.อาหาร เพราะในวัตถุดิบที่ใช้ทำอาหารเช่น ปลาป่น กากถั่วเหลือง แป้งข้าวจ้าว และแป้งสาลี มีซีลีเนียมอยู่ในระดับหนึ่ง โดยเฉพาะปลาป่นซึ่งมีซีลีเนียมอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง (Gabrielsen and Opstvedt, 1980) อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่มีเสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่งมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียม นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณอาหารที่กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียมกินมีปริมาณที่สูงกว่ากุ้งในชุดการทดลองที่ได้รับซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่งเมื่อเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน แต่มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่สูงกว่า แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการใช้อาหารในสูตรที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียมที่ต่ำกว่า อีกทั้งการเสริมวิตามินอีก็มีส่วนช่วยให้กุ้งมีการเจริญเติบโตดีขึ้นอีกด้วย สอดคล้องกับการทดลองของ He และ Lawrence (1993) ซึ่งศึกษาในกุ้งขาวและพบว่าวิตามินอีที่ระดับ 99 มก./กก. อาหาร ทำให้กุ้งขาว มีการ

เจริญเติบโตที่ดี และ Thorarinson และคณะ (1994) พบว่าการเสริมวิตามินอีร่วมกับซีลีเนียมทำให้ปลา Chinook salmon และปลาเทร้า มีการเจริญเติบโตที่ดี

ผลการเจริญเติบโตของกุ้งขาวจากการทดลองเลี้ยงในตู้ทดลอง (ห้องปฏิบัติการ จากการทดลองที่ 1) ด้วยอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับกุ้งขาวที่เลี้ยงในกระชังที่แขวนในบ่อดินในการทดลองครั้งนี้ พบว่าการเจริญเติบโต (น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว, น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) มีค่าต่ำกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยแวดล้อมที่ควบคุมได้ยากกว่าในห้องปฏิบัติการ ซึ่งในช่วงที่ทำการทดลองมีฝนตกอย่างหนักทำให้ความเค็มในบ่อมีค่าต่ำกว่าค่าความเค็มที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งอยู่ในช่วงเวลาหนึ่งของการทดลอง อย่างไรก็ตามได้มีการปรับปรุงและแก้ไขจนคุณภาพน้ำอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งอีกครั้ง
ซีลีเนียมมีส่วนช่วยให้การทำงานในระบบต่างๆ ทำงานได้ดีขึ้นเมื่อทำงานร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆ โดยเฉพาะวิตามินอีซึ่งพบว่า สัตว์น้ำที่ได้รับปริมาณซีลีเนียมร่วมกับวิตามินอีที่เหมาะสมมีผลช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (GSH) ได้มากขึ้นเพื่อป้องกันเซลล์และผนังเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายโดยกระบวนการเปอร์ออกซิเดทีฟ (Thorarinsson *et al*., 1994) ซึ่งเม็ดเลือดเป็นเซลล์หลักที่ทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำในกลุ่มครัสเตเซีย (Soderhall and Cerenius, 1992) โดยปริมาณเม็ดเลือดที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งทำงานได้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น และซีลีโนโปรตีนซึ่งสังเคราะห์ขึ้นภายในร่างกายจากซีลีเนียมที่ได้รับจากอาหาร เป็นสารชีวอินทรีย์ที่มีบทบาทหน้าที่ในกระบวนการต่างๆ เช่น redox signaling, immunomodulation (Surai, 2002) ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่เสริมซีลีเนียมและวิตามินอีสูงกว่ากุ้งที่ไม่ได้เสริมทั้งซีลีเนียมและวิตามินอี ซึ่งซีลีโนโปรตีนก็เป็นส่วนประกอบจำนวนมากในโครงสร้างของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส และ thioredoxin reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในสิ่งมีชีวิต (Gladyshev *et al*., 1998; Liu *et al*., 2007) Wise และคณะ (1993) รายงานว่าต้องมีการเพิ่มปริมาณซีลีเนียมให้มากกว่าปริมาณที่ใช้ในการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกันจึงจะทำงานได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้เพราะกุ้งที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียมมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากกุ้งที่ได้รับอาหารที่เสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่ง แต่ด้านการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานความเครียดนั้นกุ้งที่ได้รับอาหารที่เสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่งมีค่าสูงกว่า นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาการเสริมซีลีเนียมร่วมกับวิตามินอีในโคนมพันธุ์ผสมโฮลสไตน์ ฟรีเซี่ยนพบว่า การเสริมซีลีเนียมกับวิตามินอีในอาหารทำให้เพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาว เปอร์เซ็นต์ของกระบวนการฟาโกไซโทซิส (% phagocytosis) และเปอร์เซ็นต์การฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของเม็ดเลือดขาว จากการทดลองครั้งนี้พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่งและเสริมวิตามินอีมีความต้านทานต่อความเครียดจากเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวและความเครียดจากการขนส่งได้ดีกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมสารอาหารทั้ง 2 ชนิด สอดคล้องกับรายงานของ Wang และคณะ (1997) ที่พบว่าปลากดอเมริกันมีความต้านทานต่อการติดเชื้อ *E. ictaluri* เมื่อได้รับอาหารเสริมซีลีเนียม โดยปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียมมีอัตราการตายถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการตายลดลงเมื่อเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนใน

ปริมาณมากกว่าที่ปลาใช้ในการเจริญเติบโต และจากรายงานของ Liu และคณะ (2007) ที่ทำการทดลองผลของการเสริมวิตามินอีในอาหารสำหรับกุ้งขาวต่อการต้านทานความเครียดจากความเค็มพบว่า กุ้งที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมวิตามินอีสามารถทนต่อความเครียดจากความเค็มได้ดีกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับวิตามินอี

ปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวกุ้งขาวแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการใช้ประโยชน์ของซีลีเนียมจากอาหารที่กุ้งได้รับทั้งนี้ซีลีเนียมที่อยู่ในรูปอินทรีย์เช่น ซีลีโนเมทไธโอนีนเป็นรูปที่สัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าซีลีเนียมที่อยู่ในรูปอนินทรีย์เช่น โซเดียมซีลีไนท์ดังรายงานที่ศึกษาในปลาแอตแลนติกแซลมอน (Bell and Cowey 1989; Lorentzen *et al*., 1994) และปลากดอเมริกัน (Wang and Lovell, 1997) ไก่เนื้อ (Payne and Southern, 2005) Zhan และคณะ (2007) รายงานการสะสมของซีลีเนียมรูปแบบต่างๆในสุกรพบว่าซีลีเนียมในรูปแบบซีลีโนเมทไธโอนีนสามารถสะสมในตับ ตับอ่อน และกล้ามเนื้อได้ดีกว่าซีลีเนียมในรูปแบบโซเดียมซีลีไนท์สอดคล้องกับรายงานของ Ehlig และคณะ (1967) ซึ่งเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ selenite และซีลีโนเมทไธโอนีนโดยให้แกะกินวันละ 0.4 มก./วัน พบว่าแกะที่ได้รับซีลีเนียมในรูปแบบซีลีโน-เมทไธโอนีนมีการสะสมของซีลีเนียมในอวัยวะต่างๆสูงกว่า selenite Griffiths และคณะ (1976) รายงานค่าครึ่งชีวิตของซีลีเนียม 2 รูปแบบคือ ซีลีโนเมทไธโอนีนและโซเดียมซีลีไนท์จากการติดฉลากด้วย ^{75}Se ในมนุษย์พบว่า ซีลีโนเมทไธโอนีนมีค่าครึ่งชีวิตในร่างกายมนุษย์สูงกว่าโซเดียมซีลีไนท์ประมาณ 2.7 เท่า (261 วันและ 96 วัน ตามลำดับ)

การศึกษาทางด้านโภชนศาสตร์สำหรับมนุษย์ในปัจจุบันมุ่งเน้นถึงผลของสารอาหารต่อสุขภาพเป็นสำคัญ ซึ่งทั้งซีลีเนียมและวิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่ช่วยให้สุขภาพของคนและสัตว์ดีขึ้น จากรายงานการศึกษาหลายฉบับระบุตรงกันว่าหากมนุษย์ได้รับซีลีเนียมในปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยลดความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็ง โรคที่เกี่ยวข้องกับกล้ามเนื้อและโรคหัวใจ (Salonen *et al*., 1982; Spallholz *et al*., 2004; Brinkman *et al*., 2006) กุ้งจัดเป็นแหล่งของซีลีเนียมที่มีคุณภาพสำหรับมนุษย์เพราะดูดซึมได้ง่ายและมีค่าชีวภาพพร้อมใช้ (bioavailability) สูง จากรายงานของ Bügel และคณะ (2001) พบว่าซีลีเนียมที่มีในตัวกุ้งถูกดูดซึมและนำไปใช้ประโยชน์ได้ถึง 86 เปอร์เซ็นต์ซึ่งสูงกว่าปลาแมคเคอแรลที่ถูกดูดซึมและนำไปใช้ประโยชน์ได้เพียง 66 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองในครั้งนี้พบว่า กุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ใช้ซีลีเนียมจากแหล่งของซีลีเนียมอินทรีย์ (selenomethionine) มีปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวสูงกว่ากุ้งที่ได้รับอาหารสูตรที่ใช้ซีลีเนียมจากแหล่งอนินทรีย์ (sodium selenite) การสะสมของซีลีเนียมในตัวกุ้งซึ่งจะมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับค่าชีวภาพพร้อมใช้ (bioavailability) ของซีลีเนียม สอดคล้องกับการศึกษาของธวัชชัย (2551) ถึงการเก็บสะสมของซีลีเนียมในตัวกุ้งขาวที่ได้รับซีลีเนียมจากแหล่งของซีลีเนียมอินทรีย์ (ซีลีโนเมทไธโอนิน) และจากแหล่งอนินทรีย์ (โซเดียมซีลีไนท์) พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีน มีค่าการใช้ประโยชน์ได้เพิ่มสูงขึ้นเป็น 346.34 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wang และ Lovell (1997) ได้เปรียบเทียบความสามารถในการนำไปใช้ประโยชน์ของซีลีเนียมอินทรีย์และอนินทรีย์ในอาหารปลากดอเมริกัน (*Ictalurus punctatus*) ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 1.70 กรัม โดยให้กินอาหารที่เสริมโซเดียมซีลีไนท์ ซีลีโนเมทไธโอนีน และซีลีโน-ยีสต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 9

พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนมีค่าการใช้ประโยชน์ได้สูงที่สุดเท่ากับ 336 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ซีลีโนยีสต์ 269 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียม ซีลีไนท์ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในการทดลองอื่นๆ ก็รายงานตรงกันว่าซีลีเนียมอินทรีย์ในรูปของซีลีโนเมทไธโอนีนมีค่าการใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าซีลีเนียมอนินทรีย์ในรูปของโซเดียมซีลีไนท์ (Lavander, 1983) สาเหตุอาจเนื่องมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของซีลีเนียมที่จะเปลี่ยนรูปเป็นซีลีโนโปรตีน (selenoprotein) ของซีลีเนียมอินทรีย์และอนินนทรีย์ที่มีความแตกต่างกัน โดยซีลีเนียมอินทรีย์จะสามารถเปลี่ยนรูปได้โดยผ่านกระบวนการ 2 กระบวนการคือ 1) การเปลี่ยนไปเป็นซีลีโนซิสเตอีน (selenocysteine) โดยกระบวนการ *trans*-selenation และจะกลายเป็นไฮโดรเจนซีลีไนด์ (hydrogen selenide; H_2Se) โดยอาศัยเอนไซม์ β-lyase (Beilstein and Whanger, 1992) และ 2) การเปลี่ยนโดยอาศัยกระบวนการ transamination-decarboxylation (Mitchell and Benevenga, 1978) ต่างจากซีลีเนียมอินทรีย์ที่จะเปลี่ยนรูปผ่านกระบวนการเดียวคือ ซีลีไนท์ (selenite) ซึ่งการเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจนซีลีไนด์ จะต้องใช้สารตัวกลางคือ ซีลีโนไดกลูตาไธโอน (selenodiglutathione; GS-Se-SG) และกลูตาไธโอนซีลีโนเปอร์ซัลไฟด์(glutathione selenopersulfide; GS-SeH) เพื่อเปลี่ยนให้เป็นซีลีโนโปรตีน ตามลำดับ (Ig *et al*., 1991; Abdulah *et al*., 2005; Suzuki *et al*., 2005) ซีลีโนเมทไธโอนีนและกรดอะมิโนเมทไธโอนีนมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกันมาก ทำให้สามารถเข้ารวมตัวกับโปรตีนโดยการแทนที่พื้นที่ส่วนที่เป็นโปรตีนในอวัยวะต่างๆได้ดี แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่ซีลีโนเมทไธโอนีนสามารถสะสมในเนื้อเยื่อได้ดีกว่าโซเดียมซีลีไนท์ซึ่งเป็นสารประกอบอนินทรีย์ อย่างเช่นผลการทดลองในครั้งนี้ อย่างไรก็ตามก็พบว่าหากได้รับซีลีโนเมทไธโอนีนเกินกว่าระดับที่ร่างกายต้องการสามารถก่อให้เกิดพิษได้ (Wasculewski and Sunde, 1998; Patterson and Levander, 1997 อ้างโดย Wang *et al*., 2007) จากการทดลองศึกษาที่ผ่านมาพบว่าซีลีโนเมทไธโอนีนนิยมเสริมในอาหารสัตว์มากกว่าซีลีเนียมในรูปอื่น เนื่องจากมีความสามารถในการนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีและมีระดับความเป็นพิษต่ำกว่าซีลีเนียมในรูปอื่นๆ (Griffiths *et al*., 1976; Schrauzer, 1998 อ้างโดย Wang *et al*., 2007)

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

การทดลองที่ 1

จากการศึกษาผลของซีลีเนียมอินทรีย์และอนินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของกุ้งขาว สามารถสรุปได้ดังนี้

1. กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์ที่ระดับ 0.5 ppm และซีลีโนเมทไธโอนินที่ระดับ 1.0 ppm ส่งผลในแง่การเจริญเติบโตดีที่สุดในแต่ละรูปแบบ ส่วนประสิทธิภาพการใช้อาหาร ปริมาณอาหารที่กุ้งกิน อัตรารอดตายในระหว่างการทดลองไม่พบว่ามีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมซีลีเนียมจากทั้ง 2 แหล่ง

2. กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมซีลีโนเมทไธโอนินมีปริมาณซีลีเนียมที่สะสมในตัวสูงกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมโซเดียมซีลีไนท์

3. การเสริมซีลีเนียมทั้ง 2 รูปแบบในอาหารช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน ความต้านทานต่อความเครียด และทำให้สุขภาพของกุ้งขาวดีกว่ากุ้งชุดควบคุม แต่พบว่าหากเพิ่มโซเดียมซีลีไนท์และซีลีโนเมทไธโอนินขึ้นไปถึงระดับ 3.0 และ 5.0 ppm ในอาหารตามลำดับ มีแนวโน้มที่ก่อให้เกิดพิษในกุ้งขาว โดยจะพบอาการผิดปกติของอวัยวะสร้างเม็ดเลือด

การทดลองที่ 2

ซีลีเนียมและวิตามินอีเป็นสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อระบบภูมิคุ้มกันและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ การไม่เสริมซีลีเนียมในอาหารโดยให้กุ้งได้รับซีลีเนียมที่มีอยู่ในวัตถุดิบก็เพียงพอต่อการเจริญเติบโต แต่จากข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมซีลีเนียมไม่ว่าจะเป็นในรูปแบบอินทรีย์ (ซีลีโนเมทไธโอนีน) หรือในรูปอนินทรีย์ (โซเดียมซีลีไนท์) มีส่วนช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันและสุขภาพของกุ้งดีขึ้น ซึ่งเหมาะสมและสอดคล้องกับสภาพการเลี้ยงในปัจจุบันที่เน้นการเลี้ยงในรูปแบบที่หนาแน่นเพื่อเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่ให้สูงขึ้น อีกทั้งการเสริมวิตามินอีที่เสริมลงในอาหารก็มีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารและสุขภาพให้สูงขึ้นอีกด้วย

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการทดลองโดยใช้อาหารบริสุทธิ์หรือกึ่งบริสุทธิ์เพิ่มเติม เพราะในวัตถุดิบที่ใช้ผลิตอาหารมีซีลีเนียมอยู่ ทำให้กุ้งได้รับซีลีเนียมจากส่วนนี้ด้วยแทนที่จะได้รับจากแหล่งของซีลีเนียมอินทรีย์และอนินทรีย์ที่เสริมลงในอาหาร

2. ระยะเวลาที่ทดลองควรขยายออกไปให้มากกว่า 8 สัปดาห์ เพราะซีลีเนียมเป็นแร่ธาตุจำเป็นที่กุ้งต้องการในปริมาณน้อย ทำให้การสะสมหรือการแสดงออกของกุ้งที่ได้รับซีลีเนียมเกิดได้ช้าและต้องอาศัยเวลา

3. เนื่องจากแหล่งของซีลีเนียมและวิตามินอีที่เสริมลงในอาหารส่งผลดีต่อสุขภาพของกุ้งขาว จึงควรทดลองเพิ่มเติมในด้านของความเครียดจากปัจจัยต่างๆ เช่นอัตราการปล่อยที่หนาแน่น การเปลี่ยนแปลงความเค็ม หรือสารพิษที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารและอาหาร เป็นต้น เพื่อให้ข้อมูลเข้ากับสถานการณ์การเพาะเลี้ยงกุ้งขาวในปัจจุบันที่เน้นการเลี้ยงระบบหนาแน่นยิ่งยวด มีสภาพแวดล้อมและฤดูกาลที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลา และมักประสบกับปัญหาสารพิษที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารและอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้ง

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. 2542. เอกสารข้อมูลความปลอดภัยเคมีภัณฑ์ (MNSDA). ศูนย์ข้อมูลวัตถุอันตราย และเคมีภัณฑ์. เข้าถึงได้จาก http://msds.pcd.go.th/searchName.asp?vID=200. เข้าถึงเมื่อ 13 ธันวาคม 2549.

กิจการ ศุภมาตย์ และ สิทธิ บุณยรัตผลิน. 2538. การศึกษาภูมิคุ้มกันโรคและแนวทางการใช้วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียและไวรัสในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*). รายงานการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

จุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์. 2551. ผลของซีลีเนียมต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาว. สงขลา: วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์.

ธวัชชัย อาหน่าย. 2551. ผลของซีลีเนียมอนินทรีย์และอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของกุ้งขาว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวาริชศาสตร์. 94 หน้า

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

ภิญโญ เกียรติภิญโญ. 2545. วิธีปฏิบัติสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาว แอล. แวนนาไม. สมุทรปราการ:สำนักพิมพ์เมืองเกษตรแม็กกาซีน.

วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2541. โภชนาศาสตร์สัตว์น้ำ. เอกสารคำสอน วิชา 530-433. ภาควิชาวาริช-ศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

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

Abdulah, R., Miyazaki, K., Nakazawa, M. and Koyama, H. 2005. Chemical forms of selenium for cancer prevention. J. Trace Elem. Med. Biol. 19, 141-150.

Akiyama, D.M., Dominy, W.G. and Lawrence, A.L. 1991. Penaeid shrimp nutrition for commercial feed industry. *In*: Proceedings of the Aquaculture and Feed Processing and Nutrition Workshop. (Eds. Akiyama, D.M. and Tan, R.H.). Singapore. pp. 80-98.

Andreotti, G. 2003. Selenium. PubH 242 : Environment and Occupational Toxicology. Available from http://www.gwu.edu/~macche/presentations/Selenium.pdf. accessed on 12 December 2006.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis 15th Edition. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.

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.

Bancroft, J.D. 1967. Histochemical Techniques. London: Butterworths.

Beilstein, M.A., and Whanger, P.D. 1992. Selenium metabolism and glutathione peroxidase activity in cultured human lymphoblasts. Effects of transsulfuration defects and pyridoxal phosphate. Biol. Trace. Elem. Res. 35, 105-118.

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.

Bell, J.G., Cowey, C.B. and Adron, J.W. 1985. Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Br. J. Nutr. 53, 149-157.

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

Brinkman, M., Buntinx, F., Muls, E. and Zeegers, M.P. 2006. Use of selenium in chemoprevention of bladder cancer. Lancet Oncol. 7, 766 – 774.

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

Bügel, S.H., Sandström, B. and Larsen, E.H. 2001. Absorption and retention of selenium from shrimps in man. J. Trace Elements Med. Biol. 14, 198 – 204.

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, 1 96-105.

Cheng, K., Hu, C., Liu, Y., Zheng, S. and Qi, X. 2006. Effects of dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water. Aquaculture 251, 472-483.

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. Toxicol. Letters 160, 143-150.

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

Davis, D. A. and Gatlin III, D. M. 1996. Dietary mineral requirements of fish and marine crustaceans. Rev. Fish. Sci. 4, 75–99.

Davis, D. A., Lawrence, A. L. and Gatlin, D. M. 1993. Response of *Penaeus vannamei* to dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio. J. World Aquac. Soc. 204, 504 – 515.

Deshimaru, O. and Yone, Y. 1978. Requirement of prawn for dietary minerals. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 44, 907– 910.

Dodig, S. and Ivana, C. 2004. The facts and controversies about selenium. Acta. Pharm. 54, 241-276.

Duncan, D.B. 1995. Multiple-range and multiple F tests. 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.

Ehlig, C.F., Hogue, D.E., Allaway, W.H. and Hamm, D.J. 1967. Fate of selenium from selenite or selenomethionine with or without vitamin E in lambs. J. Nutr. 92, 121–126.

Ermakov, V.V. and Kovalskij, V.V. 1974. The Biological Importance of Selenium. Moscow: Nauka Publishing House.

Gabrielsen, B.O. and Opstvedt, O. 1980. Availability of selenium in fish meal in comparison with soybean meal, corn gluten meal and selenomethionine relative to selenium in sodium selenite for restoring glutathione peroxidase activity in selenium-depleted chicks. J. Nutr. 22, 1096-1100.

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

Gladyshev, V.N., Jeang, K.T., Wootton, J.C. and Hatfield, D. L. 1998. A new human selenium-containing protein. Purification, characterization, and cdna sequence. J. Biol. Chem. 273, 8910-8915.

Goddard, S. 1996. Feed Management in Intensive Aquaculture. New York: Thomson Publishing.

Goettl, J.P.Jr. and Davies, P.H. 1978. Water Pollution Studies. Job Progress Report, Federal Aid Project F-33-R-13. Colorado: Colorado Division of Wildlife, Fort Collins.

Griffiths, N.M., Stewart, R.D.H. and Robinson, M.R. 1976. The metabolism of [^{75}Se] selenomethionine in four women. British J. Nutr. 35, 373–382.

Hardy, R.W. 1999. Problems and opportunities in fish feed formulation. Aquaculture magazine 25, 1-3.

Hashimoto, Y. and Winchester, J.W. 1967. Selenium in the atmosphere. Environ. Sci. Technol., 1, 338-340.

He, A. and Lawrence, L. 1993. Vitamin E requirement of *Penaeus vannamei*. Aquaculture 118, 245-255.

Hilton, J.W., Hodson, P.V. and S.J. Slinger. 1980. Some effects of vitamin E and selenium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Nutr. 110, 2527-2535.

Holthuis, L. B. 1980. Shrimps and Prawns of the World: An Annotated Catalogue of Species of Interest to Fisheries. FAO Fisheries Synopsis 125, 152 – 271.

Huang, C.H. and Huang. S.L. 2004. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, fed oxidized oil. Aquaculture 237, 381–389.

Humason, G.L. 1972. Animal Tissue Technique, 4th. ed. 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.

Ig, C., Hayes, C., Budnick, R.M. and Ganther, H.E. 1991. Chemical form of selenium , critical metabolism, and cancer prevention. Cancer Res. 51, 595-600.

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.

Kanazawa, A., Teshima, S. and Sakamoto, M. 1985. Effects of dietary lipids, fatty acids, and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. Aquaculture 50, 39– 49.

Kohrl, J., Brigelius-Flohe, R., Bock, A., Gartner, R., Meyer, O. and Flohe, L. 2000. Selenium in biology: Facts and medical perspectives. Biol. Chem. 381, 849-864.

Kryukov, G.V., Kumar, R.A., Koc, A., Sun, Z. and Gladyshev, V.N. 2002. Selenoprotein R. is a zinc-containing stereo-specific methionine sulfoxide reductase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 4245–4250.

Lacetera, N., Bernabucci, U., Ronchi, B. and Nardone, A. 1996. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offsprings. Amer. J. Vet. Res. 57, 1776-1780.

Lavander, O.A. 1983. Considerations in the design of selenium bioavailability studies. Fed. Proc. 1, 1721-1725.

Lemly, A.D. 1997. A Teratogenic deformity index for evaluating impacts of selenium on fish populations. Ecotoxicol. Environ. Saf. 37, 259-266.

Lee, M.H. and Shiau, S.Y. 2004. Vitamin E requirements of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses. Fish Shellfish Immunol. 16, 475-485.

Li, A.J., Huang, B.C., Lou, W.F. and Xu, J.M., 1986. The effects of dietary calcium, phosphorus and Ca/P ratio on the growth and development of prawn (*Penaeus orientalis*). J. Shandong Coll. 16, 10– 17.

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

Littell, R.C., Lewis, A.J. and Henry, P.R. 1995. Statistical evaluation of bioavailability assays. In: Bioavailability of Nutrients for Animals Amino acids, Minerals, and Vitamins(Ammerman, C.B., Baker, D. and Lewis, A. eds), Aacdemic Press, San Diego, CA. pp. 5-33.

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.

Liu, Y., Wang, W.N., Wang, A.L., Wang, J.M. and Sun, R.Y. 2007. Effects of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) exposed to acute salinity changes. Aquaculture 265, 351–358.

Lorentzen, M., Maage, A. and Julshamn, K. 1994. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 121, 359-367.

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.

McDowell, L.R. 1992. Minerals in Animal and Human Nutrition. California: Academic Press.

McKenzie, R.C., Teresa, S.R. and Geoffrey, J.B. 1998. Selenium: an essential element for immune function. Immunol. Today 19, 342-345.

Mercier, L., Palacios, E., Campa-Cordova, A.I., Tovar-Ramirez, D., Hernandez-Herrera, R. and Racótta, I.S. 2006. Metabolic and immune responses in Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to a repeated handing stress. Aquaculture 258, 633-640.

Mitchell, A.D. and Benevenga, N.J. 1978. The role of transamination in methionine oxidation in the rat. J. Nutr. 108, 67-78.

NRC (National Research council). 1980. Mineral Tolerance of Domestic Animal. Washington, DC: National Academy Press.

Pan, Q., Chen, X. Y., Li, F., Bi, Y. Z. and Zheng, S. X. 2005. Response of juvenile *Litopenaeus vannamei* to varying levels of calcium phosphate monobasic supplemented to a practical diet. Aquaculture 248, 97-102.

Payne, R.L. and Southern, L.L. 2005. Comparison of inorganic and organic selenium sources for broilers. Poult. Sci. 84, 898-902.

Penaflorida, V. D. 1999. Interaction between dietary levels of calcium and phosphorus on growth of juveniles shrimp, *Penaeus monodon*. Aquaculture 172, 281– 289.

Poston, H.A., Combs, G.F. and Leibovitz, L. 1976. Vitamin E and selenium interrelations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological and biochemical deficiency signs. J. Nutr. 106, 892-904.

Robinson, E., H. and Wilson, R., P. 1985. Nutrition and feeding. *In*: Channel Catfish Culture. Tucker, C.S. (ed.). Development in Aquaculture and Fisheries Science, 15, pp. 323-404.

Rotruck, 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.

Salonen, J.J., Alfthan, G., Huttunen, J.K., Pikkarainen, J. and Puska, R. 1982. Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in matched-pair longitudinal study. Lancet 2, 175-179.

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.

Schwarz, K. and Foltz, C.M. 1958. Factor 3 activity of selenium compounds. J. Biol. Chem. 233, 245-251.

Sirichakwal, P.P., Puwastien, P., Polngam, J. and Kongkachuichai, R. 2005. Selenium content of Thai foods. J. Food Comp. Anal. 18, 47-59.

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.

Spallholz, J.E., Palace, V.P. and Reid, T.W. 2004. Methioninase and selenomethionine but not Se-methylselenocysteine generate methylselenol and superoxid in an *in vitro* chemiluminasecent assay : implications for the nutritional carcinostatic activity of selenoamino acids. J. Biochem. Pharmar. 67, 547-554.

Sun, S., Zhai, F., Zhou, L. and Yang, G. 1985. The bioavailability of soil selenium in Keshan disease and high selenium areas. Chinese J. End. Dis. **4**, 21-28.

Surai, P.F. 2002. Selenium. *In*: Natural Antioxidants in Avian Nutrition Reproduction. Nottingham: Nottingham University Press.

Suzuki, K.T. 2005. Metabolomics of selenium: Se metabolites based on speciation studies. J. Health Sci. 51, 107-114.

Thorarinsson, R., Landolt, M.L., Elliott, D.G., Pascho, R.J. and Hardy, R.W. 1994. Effect of dietary vitamin E and selenium on growth, survival and the prevalence of *Renibacterium salmoninarum* infection in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture 121, 343-358.

Wang, C. and Lovell, R.T. 1997. Organic selenium source selenomethionine and selenoyeast have higher bioavailability than an inorganic selenium source sodium selenite in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture 152, 223-234.

Wang, C., Lovell, R. and Klesius, P. 1997. Response to *Edwardsiella ictaluri* challenge by channel catfish fed organic and inorganic sources of selenium. J. Aquat. Anim. Health 9, 172-179.

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

Wang, W.N., Wang, A.L. and Zhang, Y.J. 2006. Effect of dietary higher level of selenium and nitrite concentration on the cellular defence response of *Penaeus vannamei*. Aquaculture 266, 558-563.

Wise, D. J., Tomasso, J. R., Gatlin, D. M., Bai, S. C. and Blazer, V. S. 1993. Effects of dietary selenium and vitamin E on red blood cell, peroxidation, glutathione peroxidase activity, and macrophage superoxide anion production in channel catfish. J. Aquat. Anim. Health 5, 177-182.

Yone, Y. and Fujii, M. 1975. Studies on Nutrition of red sea bream-XI: Effect of ω 3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. Bull. Jpn. Soc. Fish 41, 73-77.

Zeitoun, I. H., Jack, P. I., Halver, I. E. and Ullrey. 1973. Influence of salinity on protien requirements of rainbow trout, italia fingerling. J. Fish.Res. Board Can. 30, 1867-1873.

Zhan, X., Wang, M., Zhao, R., Li, W. and Xu, Z. 2007. Effects of different selenium source on selenium distribution, loin quality and antioxidant status in finishing pigs. Animal Feed Science and Technology 132, 202–211.