ผลของความเค็มและไนไตรท์ต่อค่าออสโมลาลิตี้ของเลือด และการดูดซึมไนไตรท์เข้าสู่กระแสเลือดของกุ้งขาวแวนนาไม

Effects of Salinity and Nitrite on Hemolymph Osmolality and Nitrite Uptake of Hemolymph of White- Leg Shrimp, *Litopenaeus vannamei* Boone, 1931

นงนุช ตั้งเกริกโอฬาร* และ กฤษดา ทองเทียม
ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Nongnud Tangkrock-olan* and Kridsada Thongtiam
Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาผลของความเค็มและไนไตรท์ต่อค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดและการดูดซึมไนไตรท์เข้าสู่กระแสเลือดของกุ้งขาวแวนนาไม กุ้งขาวที่ใช้ทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ย 12.42±1.69 กรัม และความยาวเฉลี่ย 11.25±0.78 เซนติเมตร ทำการทดลองโดยเลี้ยงกุ้งขาวในน้ำที่มีความเค็ม 4 ระดับคือ 5, 10, 20 และ 30 ppt และมีความเข้มข้นไนไตรท์ในน้ำเท่ากับ 40 ppm ทำการวัดค่าออสโมลาลิตี้ และปริมาณไนไตรท์ในเลือดที่เวลา 24, 48 และ 96 ชั่วโมง พบว่าค่า ออสโมลาลิตี้ มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเค็มของน้ำที่เพิ่มมากขึ้น ที่ความเค็ม 5 ppt ค่าออสโมลาลิตี้ของกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P<0.05$) โดยมีค่าออสโมลาลิตี้ เท่ากับ 579±7 และ 515±22 mOsm/kg ที่เวลา 48 ชั่วโมง และเท่ากับ 580±4 และ 509±22 mOsm/kg ตามลำดับ ที่เวลา 96 ชั่วโมง ส่วนการสะสมไนไตรท์ในเลือดพบว่าไนไตรท์มีการสะสมมากที่สุดที่ความเค็ม 5 ppt และเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลามากขึ้นปริมาณการสะสมไนไตรท์จะลดลงเมื่อความเค็มน้ำสูงขึ้น ปริมาณไนไตรท์ในเลือดที่เวลา 96 ชั่วโมง เท่ากับ 20.74±2.226, 13.50±1.86, 4.57±1.54 และ 2.98±1.08 ppm ที่ความเค็ม 5, 10, 20 และ 30 ppt ตามลำดับ ซึ่งที่ความเค็ม 5 และ 10 ppt มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ที่ความเค็ม 20 และ 30 ppt ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) จากการศึกษาเป็นไปได้ว่าการเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มต่ำจะมีโอกาสประสบปัญหาความเป็นพิษจากไนไตรท์มากกว่าการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มสูง

คำสำคัญ : ความเค็ม ไนไตรท์ ออสโมลาลิตี้ของเลือด กุ้งขาวแวนนาไม

Corresponding author. Email: nongnud@buu.ac.th

Abstract

Hemolymph osmolality and nitrite uptake to hemolymph of white-leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) were studied. The average body weigth and length of shrimps used in this experiment were 12.42±1.69 g and 11.25±0.78 cm, respectively. The white-leg shrimps were reared in four different salinities (5, 10, 20 and 30 ppt) with the concentration of nitrite at 40 ppm in each salinity. Osmolalities of hemolymph and nitrite uptake to hemolymph were measured at 24, 48 and 96 hour. The result showed that osmolality of hemolymph increased with salinities. At 5 ppt, the osmolality at 48 hour and 96 hour of the control group (579±7 and 580±4 mOsm/kg, respectively) were significantly higher than that of the experimental groups (515±22 and 509±22 mOsm/kg respectively) ($P<0.05$). The result on nitrite uptake to hemolymph showed that the highest concentration of nitrite in hemolymph was at 5 ppt. The hemolymph nitrite increased with times but decreased with increasing salinities. At 96 hour, the hemolymph nitrite levels were 20.74±2.26, 13.50±1.86, 4.57±1.54 and 2.98±1.08 ppm at salinities of 5, 10, 20 and 30 ppt, respectively. Hemolymh nitrite levels at 5 ppt and 10 ppt were significantly different ($P<0.05$); however, at 20 ppt and 30 ppt the hemolymph nitrate levels were not significantly different ($P>0.05$). It is possible that culturing of white-leg shrimp at low salinity may encounter more toxicity from nitrite than those of culturing at high salinity.

Keywords : salinity, nitrite, hemolymph, osmolality, white-leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*

บทนำ

กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นสายพันธุ์กุ้งทะเลในกลุ่มกุ้งขาวแปซิฟิก มีการแพร่กระจายตามชายฝั่งทะเลของประเทศเม็กซิโก จนถึงชายฝั่งทะเลของประเทศเปรู ลูกกุ้งวัยอ่อนจะอาศัยอยู่บริเวณน้ำตื้นชายฝั่งใกล้ปากแม่น้ำหรือป่าชายเลน เมื่อโตเต็มที่จะกลับทะเลเพื่อสืบพันธุ์ กุ้งขาวแวนนาไมมีความแข็งแรง เจริญเติบโตรวดเร็ว มีความต้านทานโรคสูง และทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้ในช่วงกว้าง ซึ่งทำให้มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก คอสตาริกา เปรู โคลัมเบีย (Tseng, 1988) สำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ในเอเชียเริ่มเมื่อประมาณปีพ.ศ. 2539 โดยไต้หวันเป็นประเทศแรกที่เพาะเลี้ยงกุ้งขาวชนิดนี้ (Briggs *et al*, 2004) สำหรับในประเทศไทย เริ่มมีการนำกุ้งขาวชนิดนี้มาเลี้ยงในปี 2541 (Senanan *et al*, 2007) แต่เนื่องจากการจัดหาพันธุ์กุ้งขณะนั้นมีความยากลำบากและมีราคาแพง ทำให้ไม่ค่อยได้รับความสนใจเท่าที่ควร แต่ต่อมาการเลี้ยงกุ้งกุลาดำตกต่ำและประสบปัญหาการเลี้ยงไม่โต กุ้งขาวแวนนาไมจึงได้รับความสนใจอีกครั้งหนึ่ง และปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมจึงเป็นทางเลือกใหม่ของการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลของประเทศไทย

ปัจจุบันการเลี้ยงกุ้งแบบพัฒนามีการปล่อยกุ้งที่ระดับความหนาแน่นสูงและเลี้ยงในความเค็มที่ต่ำ มีการให้อาหารในปริมาณมาก ทำให้ในบ่อเลี้ยงกุ้งมีปริมาณเศษอาหารที่เหลือและของเสียที่เกิดจากการขับถ่ายของกุ้งเพิ่มปริมาณมากขึ้น โดยเฉพาะสารประกอบไนโตรเจนที่มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากมีการสะสมแอมโมเนียในปริมาณที่ค่อนข้างสูง ซึ่งแอมโมเนียเป็นสารที่ไม่คงตัว สามารถเปลี่ยนรูปเป็นไนไตรท์ และไนเตรทได้ตามกระบวนการไนตริฟิเคชั่น (nitrification) ไนไตรท์ซึ่งเป็นผลผลิตขั้นกลาง (intermediate product) จะเป็นพิษต่อสัตว์น้ำอย่างมาก (สิริทุกข์วินาศ, 2528 และอุษา ลี้ประเสริฐ, 2530) โดยจะเข้าไปจับกับเม็ดเลือดของสัตว์น้ำซึ่งทำให้เม็ดเลือดอยู่ในรูปที่ไม่สามารถรับออกซิเจนส่งไปให้เซลล์ต่างๆ ของร่างกายได้ ทำให้ร่างกายขาดออกซิเจนและตายในที่สุด (Armstrong *et al*, 1976) นอกจากนี้การเลี้ยงกุ้งในน้ำที่มีความเค็มต่ำยังส่งผลต่อระบบควบคุมสมดุลน้ำและอิออนภายในร่างกายของกุ้ง ทำให้ระดับความเข้มข้นหรือค่าออสโมลาลิตี้ (osmolality) ของเลือดเปลี่ยนแปลงไป (Gardiner, 1972) กุ้งต้องมีการปรับสรีรวิทยาให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในน้ำที่มีความเค็มที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการปรับตัวดังกล่าวทำให้กุ้งต้องใช้พลังงานในการดำรงชีวิตมากกว่าปกติ ดังนั้นอาจส่งกระทบผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้ง (อรุณี ผดุงขวัญ, 2544) โดยเฉพาะกุ้งที่เลี้ยงในบ่อที่มีความหนาแน่นสูง (Appelbaum *et al*, 2002)

ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาถึงผลของความเค็มและไนไตรท์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้และไนไตรท์ของเลือดของกุ้งขาวแวนนาไม ข้อมูลที่ได้มาสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานและเข้าใจการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของกุ้งขาวชนิดนี้ เพื่อเป็นประโยชน์และข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาคุณสมบัติของน้ำและพัฒนาการเลี้ยงกุ้งขาวให้มีประสิทธิภาพต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สัตว์ทดลอง

สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง คือ กุ้งขาวแวนนาไม ขนาดโตเต็มวัยจำนวน 240 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 12.42±1.69 กรัม และความยาวเฉลี่ย 11.25±0.78 เซนติเมตร โดยนำกุ้งมาจากฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในจังหวัดจันทบุรี มาพักไว้ในถังไฟเบอร์กลาสบริเวณโรงเพาะฟัก ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา กุ้งที่นำมาถูกเลี้ยงอยู่ในน้ำที่มีความเค็มประมาณ 18 ppt (ความเค็มน้ำที่ฟาร์ม) จากนั้นค่อย ๆ ปรับกุ้งให้อยู่ในความเค็ม 5, 10, 20, และ 30 ppt กุ้งจะถูกปล่อยให้ปรับสภาพ (acclimation) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ในแต่ละความเค็ม ก่อนนำมาทำการทดลอง

การเตรียมน้ำที่ใช้ในการทดลอง

นำน้ำทะเลจากบ่อเก็บน้ำเค็มของภาควิชาวาริชศาสตร์ ซึ่งมีความเค็มประมาณ 30 ppt มาทำการเจือจาง ให้ได้ความเค็ม 5, 10, 20 และ 30 ppt ตามลำดับ น้ำที่ระดับความเค็ม 5, 10, 20 และ 30 ppt ที่เตรียมได้นั้นจะถูกนำมาวัดค่าความเค็มโดยละเอียดอีกครั้งหนึ่ง โดยใช้เครื่องวัดความเข้มข้นของสารละลายชนิดไอระเหย (Vapour pressure osmometer) ซึ่งค่าความเค็มของน้ำทะเลที่ได้จะมีหน่วยเป็นมิลลิออสโมลต่อกิโลกรัม (mOsm/kg) น้ำทะเลที่มีระดับความเค็มต่างๆ ที่เตรียมได้นี้ ส่วนหนึ่งจะถูกใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาวเพื่อปรับสภาพ และอีกส่วนหนึ่งจะถูกนำมาเตรียมน้ำที่มีความเข้มข้นของไนไตรท์เท่ากับ 40 ppm สำหรับเลี้ยงกุ้งขาวในการทดลองเกี่ยวกับผลของความเค็มและไนไตรท์ต่อค่าออสโมลาลิตี้และการดูดซึมไนไตรท์เข้าสู่กระแสเลือดของกุ้งขาวต่อไป

การเลี้ยงกุ้งขาวในน้ำที่ระดับความเค็มต่างๆ ที่มีความเข้มข้นของไนไตรท์ 40 ppm

นำน้ำระดับความเค็มต่างๆ ที่เตรียมไว้มาเติมสารละลายไนไตรท์ในระดับความเข้มข้นที่กำหนด เพื่อให้ได้น้ำที่ระดับความเค็มต่างๆ ที่มีความเข้มข้นของไนไตรท์ 40 ppm จากนั้นนำน้ำที่เตรียมได้ใส่ในขวดโหลแก้วขนาด 15 ลิตร ใส่น้ำในปริมาตร 5 ลิตร และใส่กุ้งขาว 3 ตัวต่อขวดโหล ทำการทดลองที่ความเค็ม 5, 10, 20 และ 30 ppt โดยทดลองความเค็มละ 10 ซ้ำ พร้อมกับมีกลุ่มควบคุม (ไม่ใส่สารละลายไนไตรท์) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ การทดลองนี้ใช้วิธีชีววิเคราะห์แบบกึ่งน้ำนิ่ง (semi – static bioassay) โดยเปลี่ยนน้ำทุก 24 ชั่วโมง ในปริมาตร 3 ใน 4 ส่วนของน้ำทั้งหมดแล้วเติมสารละลายไนไตรท์ที่ระดับความเข้มข้นที่กำหนดไว้เพื่อให้น้ำที่ใช้ทดลองมีความเข้มข้นของไนไตรท์ 40 ppm ตลอดการทดลอง

การวัดค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดของกุ้งขาว

นำกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่ระดับความเค็มต่างๆ ที่มีความเข้มข้นของไนไตรท์ 40 ppm และกลุ่มควบคุมมาทำการเจาะเลือดที่เวลา 24, 48 และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ โดยทำการเจาะเลือดกุ้งที่บริเวณโคนขาเดินคู่ที่ 3 เมื่อได้เลือดแล้วใส่ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง แล้วใช้ปิเปตอัตโนมัติ ขนาด 10 ไมโครลิตร ดูดเลือดจากหลอดเก็บตัวอย่าง หยดลงในเครื่องวัดความเข้มข้นของสารละลายชนิดไอระเหย อ่านค่าที่ได้จากเครื่อง ซึ่งค่าดังกล่าวเป็นค่าความเข้มข้นหรือค่าออสโมลาลิตี้ของเลือด จากนั้นนำน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงกุ้งขาวในแต่ละความเค็มมาวัดค่าความเข้มข้นเช่นเดียวกัน

การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ ในเลือดของกุ้งขาว

นำเลือดกุ้งส่วนที่เหลือจากการวัดค่าออสโมลาลิตี้มา 50 µl ใส่ลงในหลอดเก็บตัวอย่างหลอดใหม่ ทำการตกตะกอนโปรตีนในน้ำเลือดโดยการเติม 0.5 M TCA ในอัตราส่วน 1:3 (น้ำเลือด:TCA) หรือในปริมาณ 150 µl นำไปปั่นแยกที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดส่วนใส่มา 50 µl เจือจางด้วยน้ำกลั่น 100 เท่า หรือใส่น้ำกลั่นในปริมาตร 4.8 ml แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในน้ำตามวิธีของ Strickland and parsons (1972) วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร นำผลที่ได้มาคำนวณหาปริมาณไนไตรท์ในเลือด

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งที่วัดได้ที่ความเค็ม 5, 10, 20 และ 30 ppt ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใส่สารไนไตรท์ที่เวลา 96 ชั่วโมงมาหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำที่ใช้เลี้ยงและค่าออสโมลาลิตี้ของเลือด นำข้อมูลของค่าออสโมลาลีตี้ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใส่สารละลายไนไตรท์ในแต่ละความเค็มน้ำที่เวลา 24, 48 และ 96 ชั่วโมง มาวิเคราะห์หาความแปรปรวนระหว่างกลุ่มด้วย ONE-WAY ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Duncan's new Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรม SPSS for window

นำข้อมูลปริมาณไนไตรท์ที่อยู่ในเลือดของกุ้งขาว ที่ระดับความเค็ม 5, 10, 20 และ 30 ppt. และที่เวลา 24, 48 และ 96 ชั่วโมง มาเปรียบเทียบ จากนั้นหาความแตกต่างของไนไตรท์ในเลือดกุ้งที่ความเค็มต่างๆ เวลา 24, 48 และ 96 ชั่วโมง โดย ONE-WAY ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Duncan's new Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรม SPSS for window

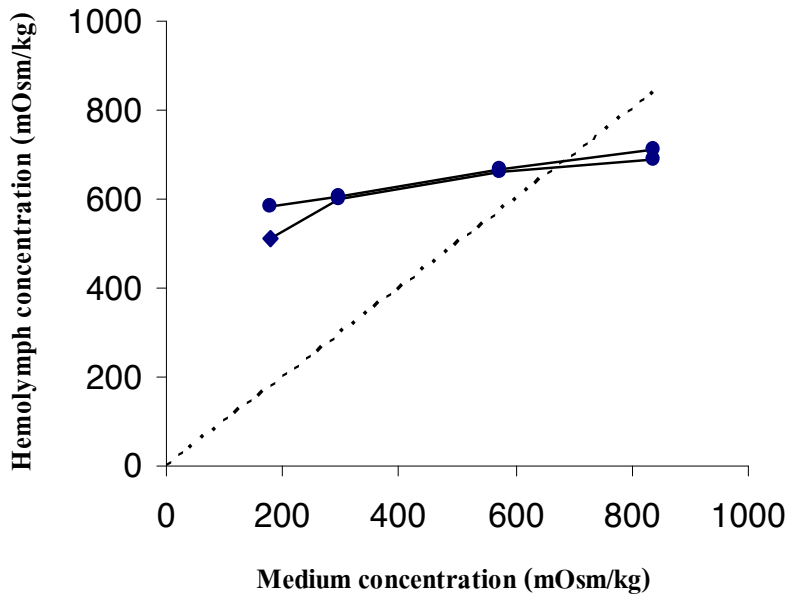
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าระดับความเค็มของน้ำมีผลต่อความสามารถในการควบคุมสมดุลของเลือดของกุ้งขาวและส่งผลต่อการดูดซึมไนไตรท์เข้าสู่กระแสเลือดซึ่งสามารถเห็นได้จากค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดและปริมาณไนไตรท์ที่สะสมในเลือดของกุ้งที่ลดลงหรือเพิ่มขึ้นแตกต่างกัน โดยพบว่า ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งในกลุ่มไนไตรท์นั้นจะมีค่าลดลงมากกว่าค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งในกลุ่มควบคุมเมื่อระดับความเค็มน้ำมีค่าต่ำ ส่วนปริมาณไนไตรท์ในเลือดจะสะสมเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นและการสะสมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเค็มลดลง

ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดของกุ้งขาว ที่ระดับความเค็มต่างๆ ที่เวลา 24, 48 และ 96 ชั่วโมง

พบว่าค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดของกุ้งขาวทั้งของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใส่สารละลายไนไตรท์ของแต่ละความเค็มน้ำมีค่าออสโมลาลิตี้ที่ลดลงเมื่อความเค็มลดลง ซึ่งค่าออสโมลาลิตี้ของทุกกลุ่มทดลองมีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่เวลาที่ 24 ชั่วโมง ดังนั้นค่าออสโมลาลิตี้ที่ 24, 48 และ 96 ชั่วโมง ของทุกกลุ่มทดลองจึงมีค่าไม่แตกต่างกันมาก อย่างไรก็ตามพบว่าค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งขาวในกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำที่มีสารละลายไนไตรท์ ทุกระดับความเค็มมีแนวโน้มต่ำกว่าค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งขาวในกลุ่มควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 1

จากตารางจะเห็นว่าค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งขาวระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มไนไตรท์ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 580±14 และ 525±43 mOsm/kg ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 5 ppt มีค่าเท่ากับ 638±2 และ 618±24 mOsm/kg ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำที่ใช้ในการทดลองกับค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งขาวแวนนาไมที่เวลา 96 ชั่วโมง (● = กลุ่มควบคุม; ◆ = กลุ่มไนไตรท์)

ตารางที่ 1 ค่าออสโมลาลิตี้ (mOsm/kg) ของเลือดกุ้งขาวแวนนาไมที่ระดับความเค็มและเวลาต่างๆ กัน ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำที่ใส่ไนไตรท์ความเข้มข้น 40 ppm

ออสโมลาลิตีของน้ำ (mOsm/kg)	เวลา (ชั่วโมง)	ออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้ง (mOsm/kg)	
		กลุ่มควบคุม	กลุ่มไนไตรท์
178 (5 ppt)	24	580±14	525±43
	48	579±7	515±22*
	96	581±4	509±22*
297 (10 ppt)	24	638±2	618±24
	48	604±5	600±12
	96	605±5	600±13
573 (20 ppt)	24	657±27	651±24
	48	665±31	660±11
	96	665±8	660±9
837 (30 ppt)	24	717±28	692±10
	48	716±38	693±28
	96	713±24	687±27

หมายเหตุ : เครื่องหมาย * แสดงว่ามีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ที่ระดับความเค็ม 10 ppt และมีค่าเท่ากับ 657±27, 651±24 mOsm/kg ที่ระดับความเค็ม 20 ppt ตามลำดับ และมีค่าเท่ากับ 717±28 และ 692±10 mOsm/kg ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 30 ppt ซึ่งจากการทดสอบทางสถิติพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มไนไตรท์ในแต่ละความเค็ม

ที่เวลา 48 ชั่วโมง ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งขาวระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มไนไตรท์มีค่าเท่ากับ 579±7 และ 515±22 mOsm/kg ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 5 ppt มีค่าเท่ากับ 604±5 และ 600±12 mOsm/kg ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 10 ppt และมีค่าเท่ากับ 665±31, 660±11 mOsm/kg ที่ระดับความเค็ม 20 ppt ตามลำดับ มีค่าเท่ากับ 716±38 และ 693±28 mOsm/kg ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 30 ppt ซึ่งจากการทดสอบทางสถิติพบว่า ที่ 5 ppt กลุ่มควบคุมกับกลุ่มไนไตรท์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนความเค็มอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างกัน

ที่เวลา 96 ชั่วโมง ค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งขาวระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มไนไตรท์ มีค่าเท่ากับ 581±4 และ 509±22 mOsm/kg ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 5 ppt มีค่าเท่ากับ 605±5 และ 600±13 mOsm/kg ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 10 ppt มีค่าเท่ากับ 665±8 และ 660±9 mOsm/kg ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 20 ppt และมีค่าเท่ากับ 713±24 และ 687±27 mOsm/kg ตามลำดับ ที่ระดับความเค็ม 30 ppt ซึ่งจากการทดลสอบทางสถิติพบว่า ที่ 5 ppt กลุ่มควบคุมกับกลุ่มไนไตรท์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนความเค็มอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างกัน

Chen และ Lin (1994) ได้ทำการทดลองเลี้ยงกุ้งขาวจีน *Penaeus chinensis* โดยปรับสภาพที่ 30 ppt เป็นเวลา 2 สัปดาห์ก่อนการทดลองเลี้ยงในระดับความเค็มที่ 10, 20, 30, และ 40 ppt แล้วนำมาเจาะเลือดหาค่าออสโมลาลิตี้ ที่เวลา 1, 2, 5 และ 10 วัน พบว่าระดับความเค็มน้ำที่ใช้เลี้ยง มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้ในเลือดของกุ้ง *Penaeus chinensis* โดยที่ 25 ppt เป็นจุดสมดุลของความเข้มข้น (isoosmotic) ระหว่างเลือดของกุ้งและน้ำที่ใช้ในการเลี้ยง และกุ้ง *P. chinensis* จะปรับตัวเป็น hyper-osmotic regulation ที่ความเค็มต่ำกว่าจุด isoosmotic และจะปรับตัวเป็น hypo-osmotic regulation ที่ความเค็มสูงกว่าจุด isoosmotic ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในกุ้งขาวที่ได้ในครั้งนี้ โดยพบว่าระดับความเค็มน้ำที่ใช้เลี้ยงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้ในเลือดของกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* เช่นเดียวกันโดยมีจุดสมดุลของความเข้มข้น (isoosmotic) ระหว่างเลือดของกุ้งและน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงอยู่ที่ประมาณ 650 mOsm/kg หรือประมาณ 23 ppt และกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* จะปรับตัวเป็น hyper-osmotic regulation ที่ความเค็มต่ำกว่าจุด isoosmotic และจะปรับตัวเป็น hypo-osmotic regulation ที่ความเค็มสูงกว่าจุด isoosmotic เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 1) สำหรับผลการศึกษาที่เกี่ยวกับความเป็นพิษของไนไตรท์ที่มีต่อความสามารถในการควบคุมสมดุลของของเหลวในกุ้งขาวพบว่า ที่ระดับความเค็มต่ำมากๆ ซึ่งจากการทดลองคือที่ระดับ 5 ppt นั้น กุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีสารละลายไนไตรท์ 40 ppm จะมีความสามารถในการควบคุมความเข้มข้นของเลือดลดลงมากกว่ากุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่ไม่มีสารละลายไนไตรท์ ดังเห็นได้จากความแตกต่างกันทางสถิติของค่าออสโมลาลิตี้ของเลือดกุ้งขาวระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใส่ลารละลายไนไตรท์ที่ระดับความเค็ม 5 ppt ส่วนที่ระดับความเค็มอื่นๆ ที่สูงขึ้น นั้นไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ความเค็มที่ลดลงต่ำมากๆ เช่น ที่ระดับความเค็ม 5 ppt นั้น อาจเป็นความเค็มที่ต่ำเกินไป ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของกุ้งขาว ทำให้ร่างกายของกุ้งอ่อนแอลง และเมื่อมีไนไตรท์ละลายอยู่ในน้ำ อาจทำให้ไนไตรท์แสดงความเป็นพิษต่อกุ้งขาวสูงกว่าปกติ ส่งผลให้ความสามารถในการควบคุมความเข้มข้นของเลือดต่ำกว่าปกติ

ปริมาณไนไตรท์ในเลือดกุ้งขาวที่ระดับความเค็มต่างๆ ที่เวลา 24, 48 และ 96 ชั่วโมง

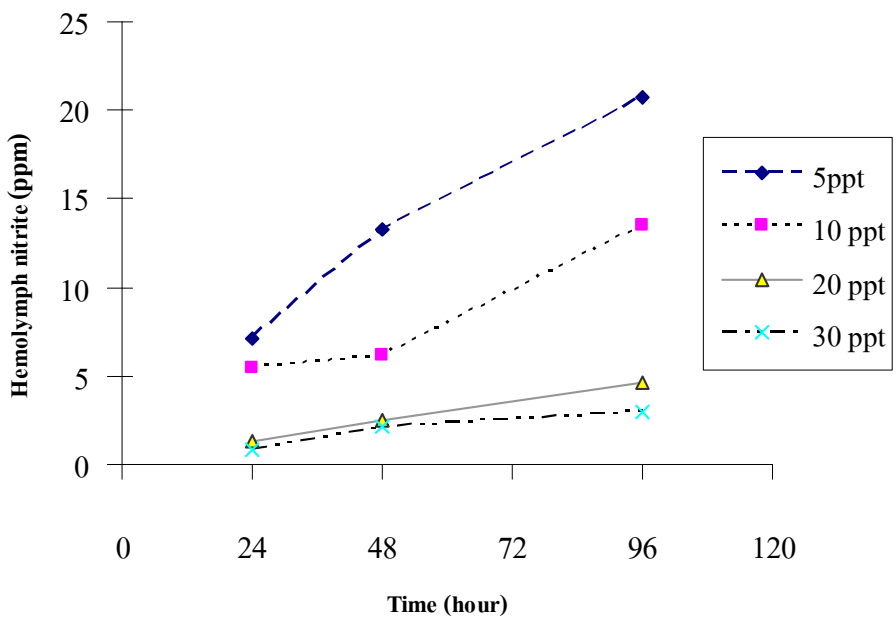
พบว่าระดับความเค็มน้ำที่ใช้ในการทดลอง แต่ละระดับมีผลต่อการดูดซึมไนไตรท์ไว้ในกระแสเลือดของกุ้งขาวที่ความเค็มต่ำพบว่า มีการสะสมไนไตรท์ไว้ในกระแสเลือดมากกว่าที่ความเค็มสูงและจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลามากขึ้น โดยที่ระดับความเค็ม 5 ppt ที่ 96 ชั่วโมง มีการสะสมไนไตรท์ในเลือดมากที่สุด และที่ความเค็ม 30 ppt ที่ 24 ชั่วโมงมีการสะสมน้อยที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 2 ภาพที่ 2

จากตารางที่ 1 จะเห็นว่าปริมาณไนไตรท์ในเลือดกุ้งขาวในกลุ่มควบคุมที่เวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.38±0.02, 0.39±0.38, 0.46±0.15 และ 0.37±0.08 ppm ที่ความเค็ม 5, 10, 20 และ 30 ppt ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน และจากการทดสอบทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ส่วนในกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำที่มีไนไตรท์ 40 ppm มีค่าเท่ากับ 7.15±1.91, 5.45±0.37, 1.31±0.24 และ 0.87±0.20 ppm

ตารางที่ 2 ปริมาณไนไตรท์ (ppm) ในเลือดกุ้งขาวแวนนาไม ที่ระดับความเค็มและเวลาต่างๆ กันของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำที่ใส่ไนไตรท์ความเข้มข้น 40 ppm

ความเค็ม (ppt)	24 (ชม)		48 (hr)		96 (hr)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มไนไตรท์	กลุ่มควบคุม	กลุ่มไนไตรท์	กลุ่มควบคุม	กลุ่มไนไตรท์
5	0.38±0.02 [a]	7.15±1.91 [a]	0.41±0.08 [ab]	13.28±2.52 [a]	0.42±0.01 [abc]	20.74±2.26 [a]
10	0.39±0.38 [a]	5.45±0.37 [b]	0.40±0.17 [ab]	6.19±0.48 [b]	0.39±0.03 [abc]	13.50±1.86 [b]
20	0.46±0.15 [a]	1.31±0.24 [cd]	0.32±0.04 [cd]	2.47±0.73 [cd]	0.36±0.04 [abcd]	4.57±1.54 [cd]
30	0.37±0.08 [a]	0.87±0.20 [cd]	0.31±0.03 [cd]	2.14±1.06 [cd]	0.30±0.06 [d]	2.98±1.08 [cd]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์ในเลือดของกุ้งขาวแวนนาไมกลุ่มที่เลี้ยงในน้ำที่มีไนไตรท์ความเข้มข้น 40 ppm ที่ระดับความเค็มและเวลาต่างๆ กัน

และจากการทดสอบทางสถิติ พบว่าที่ 20 ppt กับ 30 ppt ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่ที่ 5 ppt กับ 10 ppt มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 2) และที่ความเค็มทั้งสองก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่เลี้ยงที่ความเค็ม 20 ppt และ 30 ppt

ที่ 48 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มน้ำ 5, 10, 20 และ 30 ppt ในกลุ่มควบคุมมีค่าปริมาณไนไตรท์ในเลือดเท่ากับ 0.41±0.01, 0.40±0.17, 0.32±0.04 และ 0.31±1.06 ppm ตามลำดับ ซึ่งที่ 20 ppt กับ 30 ppt ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับกลุ่มที่เลี้ยงที่ความเค็ม 5 ppt และ 10 ppt และที่ 5 ppt กับ 10 ppt ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (ดังแสดงในตารางที่ 2) ส่วนในกลุ่มเลี้ยงในน้ำที่มีไนไตรท์ 40 ppm มีค่าเท่ากับ 13.28±2.52, 6.19±0.48, 2.47±0.73 และ 2.14±1.06 ppm ตามลำดับ ซึ่งที่ 20 ppt กับ 30 ppt ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างกับที่ 5 ppt กับ 10 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 2)

ที่ 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็มน้ำ 5, 10, 20 และ 30 ppt ในกลุ่มควบคุมมีค่าปริมาณไนไตรท์ในเลือดเท่ากับ 0.42±0.01, 0.39±0.03, 0.36±0.04 และ 0.30±0.06 ppm ตามลำดับ ซึ่งที่ 5, 10 และ 20 ppt ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่ที่ 5 และ 10 ppt มีค่าสูงกว่าที่ 30 ppt อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนที่ 20 ppt กับ 30 ppt ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ส่วนในกลุ่มเลี้ยงในน้ำที่มีไนไตรท์ 40 ppm มีค่าปริมาณไนไตรท์ในเลือดเท่ากับ 20.74±2.26, 13.50±1.86, 4.57±1.54 และ 2.98±1.08 ppm ตามลำดับ ซึ่งที่ 20 ppt กับ 30 ppt ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับ 5 ppt และ 10 ppt (ตารางที่ 2)

Cheng และ Chen (2001) ทำการศึกษาโดยเลี้ยงกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii* ที่อยู่ในระยะวัยรุ่น (juvenile) ในน้ำที่ระดับความเค็ม 25 ppt ที่มีความเข้มข้นของไนไตรท์ 4 ระดับคือ 0, 2, 5 และ 10 ppm พบว่า ปริมาณไนไตรท์ในเลือดมีค่าสัมพันธ์กับปริมาณไนไตรท์ที่มากขึ้น หลังจากนั้น 24 ชั่วโมงจึงใส่คลอไรด์ลงไปเพื่อให้น้ำมีความเข้มข้นของคลอไรด์เท่ากับ 15, 33 และ 50 ppm จากนั้นทำการตรวจวัดปริมาณไนไตรท์ในเลือด พบว่าปริมาณไนไตรท์ในเลือดมีค่าน้อยเมื่อปริมาณคลอไรด์ในน้ำมาก ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า โดยปกติกุ้งจะมีการควบคุมสมดุลของของเหลวในร่างกาย (osmoregulation) โดยพยายามดึงคลอไรด์เข้าสู่เซลล์เมื่อความเข้มข้นของคลอไรด์ในน้ำลดลง เช่น ในกรณีที่อยู่ในน้ำที่ความเค็มต่ำ มันจะพยายามรักษาคลอไรด์ไว้ รวมทั้งรักษาไอออนอื่นๆ ไว้ให้มากที่สุด โดยมีการขับถ่ายไอออนออกจากร่างกายน้อยลง เป็นสาเหตุให้มีการสะสมไนไตรท์ไว้ในร่างกายพร้อมๆ กันไปด้วย ซึ่งตรงข้ามกับสภาพแวดล้อมที่มีคลอไรด์มากคือ ความเค็มสูง ซึ่งถ้ามากเกินไปมันจะขับถ่ายคลอไรด์ส่วนเกินออกนอกร่างกาย ไนไตรท์จึงถูกขับออกจากร่างกายไปด้วย (Cheng and Chen, 2001)

สรุปผลการทดลอง

1. ความเค็มน้ำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาลิตี้ในเลือดกุ้งขาว ลิโทพีเนียส แวนนาไม โดยระดับความเค็มน้ำต่ำสุดที่ 5 ppt ค่าออสโมลาลิตี้จะมีค่าต่ำสุด เมื่อระดับความเค็มน้ำสูงขึ้นก็จะส่งผลให้ค่าออสโมลาลิตี้สูงขึ้นตามไปด้วย และสูงสุดที่ 30 ppt

2. ไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 40 ppm มีผลต่อค่าความเข้มข้นของเลือดกุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำที่ระดับความเค็ม 5 ppt ที่เวลา 48 และ 96 ชั่วโมง โดยทำให้ค่าความเข้มข้นของเลือดมีค่าลดลงมากกว่าปกติ

3. ความเค็มน้ำมีผลต่อการดูดซึมไนไตรท์เข้าสู่กระแสเลือดของกุ้งขาว ลิโทพีเนียส แวนนาไม โดยระดับความเค็มน้ำต่ำสุดที่ 5 ppt จะมีการสะสมของปริมาณไนไตรท์ในเลือดมากที่สุด แต่การสะสมจะลดลงเมื่อความเค็มของน้ำสูงขึ้น และการสะสมจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลามากขึ้น

4. ที่ความเค็ม 20 ppt กุ้งจะเริ่มขับถ่ายไนไตรท์ออกนอกร่างกายได้ดีเพราะจากการทดลอง ที่ 20 ppt ปริมาณไนไตรท์ในเลือดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ 30 ppt ซึ่งเป็นความเค็มที่ใกล้เคียงกับน้ำทะเลปกติ

5. การเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มต่ำจะมีโอกาสประสบปัญหาความเป็นพิษจากไนไตรท์มากกว่าการเลี้ยงกุ้งที่ระดับความเค็มสูง

เอกสารอ้างอิง

สิริ ทุกข์วินาศ (2528). พิษเฉียบพลันของไนไตรท์และแอมโมเนียต่อลูกสัตว์น้ำชายฝั่งวัยอ่อนบางชนิด. *รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2528*. สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดสงขลา, กรมประมง.

อรุณี ผดุงขวัญ (2544) อิทธิพลของความเค็มระดับต่ำที่มีต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และสรีรวิทยาการหายใจของลูกกุ้งกุลาดำวัยอ่อน (*Penaeus monodon Fabricius*). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวาริชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา. 72 หน้า.

อุษา ลี้ประเสริฐ (2530). พิษเฉียบพลันของแอมโมเนียและไนไตรท์ต่ออาร์ทีเมียที่ระดับความเค็มต่างกัน. ปริญญานิพนธ์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.

Appelbaum, S., Garada, J., & Mishra, J.K. (2002) Growth and survival of the white leg shrimp (*litopenaeus vannamei*) reared intensively in the brackish water of the Israeli Negev Desert. *The Israeli Journal of Aquaculture- Bamidgeh, 54*(1), 41-48.

Armstrong, D.A., Stepheson, M.J., & Knight, A.W. (1976). Acute Toxicity of Nitrite to Lavae of the Malaysia. Prawn, *Macrobrachium rosenbergii, Aquaculture, 9*, 39-46.

Briggs, M., Funge-Smith, S., Subasinghe, R., & Phillips, M. (2004). Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. FAO Regional Office for Asia and the Pacific. RAP Publication 2004/10:1–12.

Cheng, S.Y., & Chen, J.C. (2001) Join action of elevated ambiente and nitrie on hemolymph nitrogenous compounds and nitrogen excretion of tiger shrimp *Penaeus monodon, Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C, 131:303-314.

Chen, J.C., & Lin, J.L. (1994). Osmolality and chloride concentration in the hemolymph of subadult *Penaeus chinesis* subjected to different salinity levels. *Aquaculture* 125: 167-174.

Gardiner, M.S. (1972) Excretion : Ionic and Osmotic Regulation. *In* : The Biology of Invertebrates. McGraw-Hill, New York. 499-595 pp.

Senanan, W., Tangkrock-olan, N., Panutrakul, S., Barnette, P., Wongwiwatanawute, C., Niphonkit, N., & Anderson, D.J. (2007). The presence of the Pacific Whiteleg Shrimp (Litopenaeus vannamei, Boone, 1931) in the Wild in Thailand. *Journal of Shellfish Research, 26*(4), 1187-1192.

Strickland, J.D.H., & Parsones, T.R. (1972). A practical handbook of seawater analysis. *Fisheries Research Board of Canada Bulletin*, Ottawa, 310.

Tseng, W.Y. (1988). *Shrimp Mariculture A Practical Manual (2nd ed.).* W.S. Aquaculture, Cannan International Pty. Ltd., Brisbane, Australia. 282 pp.