บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของบีเทนต่อการเจริญเติบโต

จากผลการศึกษาการเจริญเติบโตของกุ้งขาว ในการทดลองที่ 1 ซึ่งใช้อาหารแตกต่างกัน 5 สูตร เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มเฉลี่ยต่อตัวของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารที่ผสมบีเทนทั้ง 4 ระดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ที่อาหารผสมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างทางสถิติจากชุดควบคุม เบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าอาหารผสมบีเทน 4 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว ซึ่งจากรายงานหลายชิ้นระบุว่าบีเทนมีคุณสมบัติเป็นสารดึงดูดการกินอาหาร (Vitanen *et al*., 1994; Coman *et al*., 1996; Knights, 1996; Harpaz, 1997; Papatryphon and Soares, 2000) ทำให้กุ้งกินอาหารได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Dy Penaflorida และ Virtanen (1996) ได้ทำการทดลองโดยการเสริมบีเทนในกุ้งกุลาดำที่ระดับ 0,1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่ผสมบีเทนระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเติบโตจำเพาะและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าชุดการทดลองอื่น แต่ไม่พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติในส่วนของอัตราการรอดตายของกุ้งทุกชุดการทดลอง รวมทั้งปริมาณอาหารที่กุ้งกินเข้าไปด้วย (Smith *et al*., 2005) และในการทดลองของ Felix และ Sudharsan (2004) รายงานว่ากุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารผสมบีเทนที่ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 วัน มีน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ปริมาณอาหารที่กิน อัตรารอดตายสูงที่สุด (80 เปอร์เซ็นต์) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำกว่าชุดควบคุม

จากการศึกษาของ Ung และ Junilla (1988) ซึ่งใช้บีเทนร่วมกับกรดอะมิโน 5 ชนิด คือ ไกลซีน, อะลานีน, ไอโซลิวซีน, ลิวซีน และ แวลีน ที่ระดับ 0, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ในกุ้งกุลาดำเป็นระยะเวลา 60 วัน เพื่อดูการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย พบว่า กุ้งกุลาดำที่ได้รับบีเทนร่วมกับกรดอะมิโน 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อตัวและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าชุดควบคุม เช่นเดียวกับการทดลองของ Vilmaz (2005) ที่เปรียบเทียบอาหารที่แตกต่างกัน 5 ชนิด ได้แก่ TS-trout starter, ATS-artemia and trout starter, AS-

alanine supplemented, BS-betaine supplemented และ ABSD-alanine และ betaine supplemented diet โดยผสมในอาหารสำหรับลูกปลาดุกแอฟริกัน (*Clarias gariepinus*) อายุ 10 วัน โดยเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าลูกปลาดุกแอฟริกันที่ได้รับอาหารผสมบีเทนอย่างเดียว และอาหารผสมบีเทนร่วมกับอะลานีน มีน้ำหนักตัวสุดท้าย อัตรารอด และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าชุดควบคุม ผลงานวิจัยทั้ง 2 ชิ้นข้างต้น สนับสนุนผลการทดลองในครั้งนี้ได้อย่างชัดเจน ดังนั้นการผสมบีเทนในสูตรอาหารจึงน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสม เนื่องจากบีเทนมีคุณสมบัติเป็นผู้ให้หมู่เมธิล (Methyl donor) ในวัฏจักรของเมทไธโอนีนซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์อาหารของสัตว์ (Scott, 1986)

จากผลการทดลองที่ 1 เมื่อนำอาหารสูตรผสมบีเทนที่ให้ค่าการเจริญเติบโตของกุ้งขาวดีที่สุด (4 เปอร์เซ็นต์) มาใช้ในการเลี้ยงกุ้งในที่ความเค็ม 2 ระดับ คือ 2 พีพีที และ 25 พีพีที โดยมีสูตรอาหารเปรียบเทียบ อีก 2 สูตร คือ กลุ่มควบคุม (ไม่ผสมบีเทน) และอาหารผสมบีเทน 8 เปอร์เซ็นต์) กลับพบว่าในแต่ละระดับความเค็ม อาหารทั้ง 3 สูตรได้ให้ผลการเจริญเติบโตที่ต่างกันแต่อย่างใด ขณะที่เมื่อความเค็มต่างกัน กลับให้ผลการเจริญเติบโตที่ต่างกัน กล่าวคือที่ระดับความเค็มสูง (25 พีพีที) จะให้ผลการเจริญเติบโตของกุ้งขาวดีกว่าที่ระดับความเค็มต่ำ (2 พีพีที) ในทุกสูตรอาหาร (ดังตารางที่ 16)

ผลการทดลองครั้งนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกับผลการศึกษาของของ Saoud และ Davis (2005) ที่ได้ทดลองผสมบีเทนที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารของกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 0.5 พีพีที และ 50 พีพีที ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเสริมบีเทนไม่มีผลต่ออัตรารอด และการเจริญเติบโตของกุ้งขาวที่เลี้ยงทั้งในความเค็ม 0.5 พีพีที และ 50 พีพีที แต่กลับพบว่าความเค็มมีผลต่ออัตราการรอด และการเจริญเติบโต โดยกุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 50 พีพีที มีอัตราการรอดตายสูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในความเค็ม 0.5 พีพีที แต่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้ากว่ากุ้งที่เลี้ยงในความเค็ม 0.5 พีพีที เช่นเดียวกับการทดลองของ Chuaychuwong และคณะ (1998) ซึ่งผสมบีเทนปริมาณ 0-2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเลี้ยงกุ้งกุลาดำขนาด 0.75 กรัม ระยะเวลา 15 สัปดาห์ ที่เลี้ยงในความเค็ม 8 พีพีที และ 25 พีพีที พบว่าบีเทนไม่มีผลต่ออัตราการรอดและการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงทั้งในความเค็ม 8 พีพีที และ 25 พีพีที

จากการผลการศึกษาในครั้งนี้ และผลการวิจัย 2 ชิ้นดังกล่าว ชี้ให้เห็นชัดว่าการผสมบีเทนในสูตรอาหารอย่างเดียวไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว ขณะที่ความเค็มจะเป็นปัจจัยหลักในการให้ความแตกต่างในการเจริญเติบโตเนื่องมาจากกุ้งขาวเป็นสัตว์ที่อาศัยในสภาพแวดล้อมที่เป็นทะเลเปิดซึ่งมีระดับความเค็มของน้ำค่อนข้างสูง (Yano *et al*., 1998) และน้ำที่มีความเค็มสูงจะมีปริมาณของแร่ธาตุที่สำคัญในการเจริญเติบโตของกุ้ง ได้แก่โพแทสเซียม, แมกนีเซียม,

โซเดียม, คลอไรด์ และแคลเซียมค่อนข้างสูง ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตและการปรับสมดุลเกลือแร่ในตัวกุ้ง หากปริมาณโซเดียมหรือเกลือต่าง ๆ ไม่เพียงพอหรือน้อยเกินไปจะทำให้การใช้ประโยชน์จากโปรตีนลดลงส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงด้วย นอกจากนี้การทำหน้าที่ควบคุมประจุต่าง ๆ ในร่างกายในสภาวะที่ปริมาณคลอไรด์ต่ำ อาจมีผลให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการผสมพันธุ์หรือทำให้กุ้งเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ช้าลง ประจวบ (2537) นอกจากนี้ Roy และคณะ (2006) ศึกษาพบว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำจะมีการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าปกติ แต่เมื่อมีการเพิ่มโพแทสเซียมลงไปแล้ว มีผลให้น้ำหนักตัว เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเพิ่มสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโพแทสเซียม ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าการนำกุ้งขาวมาเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงจากสภาพเดิมมาก กุ้งต้องใช้พลังงานในการปรับตัวให้เข้าสภาพแวดล้อมใหม่มากกว่านำพลังงานมาใช้สำหรับการเจริญเติบโต สอดคล้องกับการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกุ้งที่เลี้ยงในน้ำความเค็มต่ำที่มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่สูงกว่ากุ้งขาวที่เลี้ยงน้ำความเค็มสูง เนื่องจากกุ้งขาวมีการกินอาหารในปริมาณที่มากเพื่อนำไปเปลี่ยนแปลงเป็นพลังงาน โดย Gomez-Jimenez และคณะ (2004) กล่าวว่าความเค็มมีผลต่ออัตราการเผาผลาญอาหารให้เป็นพลังงาน (metabolic rate) ของกุ้งขาวโดยเมื่ออยู่ในน้ำที่ความเค็มต่ำจะมีความต้องการออกซิเจนและมีเมตาบอลิซึมมากกว่าที่ความเค็มสูง (Gaudy and Sloane, 1981) เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Spanopoulos-Hernandez และคณะ (2005) โดยศึกษาในกุ้งขาว *L. stylirostris* เพื่อดูความต้องการออกซิเจนจากความเค็มและอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่าทั้งอุณหภูมิและความเค็มมีผลต่อความต้องการใช้ออกซิเจนของกุ้ง โดยระดับความเค็มที่เหมาะสมอยู่ที่ 30 พีพีที และถือเป็นจุดสมดุลของกุ้งที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ความต้องการออกซิเจนและอัตราการใช้ออกซิเจนนี้มีความผันแปรตามปัจจัยภายนอกที่เกิดขึ้น ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิ ความเค็ม น้ำหนักตัว และอาหาร ถ้าหากว่ามีปริมาณออกซิเจนต่ำเกินไปก็อาจจะส่งผลต่อการกินอาหาร การเจริญเติบโต และการสืบพันธุ์ได้ ในขณะที่ Diaz และคณะ (2001) อ้างโดย Gomez-Jimenez *et al*., (2004) พบว่ากุ้งลอปสเตอร์และกุ้งขาวระยะวัยรุ่นที่อาศัยในน้ำที่มีความเค็มต่ำจะมีอัตราการสลายโปรตีนและขับถ่ายแอมโมเนียสูงขึ้นเพื่อนำพลังงานมาใช้ในกระบวนการปรับความดันออสโมติกในตัวให้เหมาะสม

4.2 ผลของบีเทนต่อความต้านทานโรค

จากการศึกษาผลของบีเทนต่อความต้านทานโรควิบริโอในกุ้งขาวพบว่ากุ้งขาวที่กินอาหารที่ผสมบีเทนมีแนวโน้มของอัตราการรอดตายและมีความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดสูงกว่ากุ้งขาวที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม เช่นเดียวกับการทดลองของ Marja

และ Erkki (1993) ได้ศึกษาการใช้ไดเมทธิลไกลซีนและไตรเมทธิลไกลซีน (betaine) เพื่อเปรียบเทียบการกระตุ้นการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันของปลาแซลมอนโดยฉีดเชื้อ *V. anguillarum* เข้าไป พบว่า ปลาที่ได้รับบีเทนมีระบบภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะเจาะจงสูงขึ้นกว่าชุดควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อ เช่นเดียวกับการทดลองของ Cosquer และคณะ (2004) ที่ได้ทดลองใช้บีเทนในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 15 สายพันธุ์และแบคทีเรียแกรมลบ โดยเปรียบเทียบองค์โครงสร้างของบีเทน 4 โครงสร้าง พบว่ามี 2 โครงสร้างที่สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียลงได้ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่าเซลล์มีการปลดปล่อยสารจำพวก ไนโตรเบนซิล อัลดีไฮน์ (nitrobenzyl aldehyde) จากกระบวนการเมทาบอลิซึม นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมบีเทนร่วมกับสารชนิดอื่นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้อีกด้วยโดย Liu และคณะ (2004) ทดลองนำบีเทนและไคโตซานมาใช้ในการยับยั้งแบคทีเรีย 5 ชนิดพบว่าการใช้ บีเทนร่วมกับไคโตซานมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามการใช้ไคโตซานเพียงชนิดเดียวไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิด *Candida albicans* ได้ และการใช้บีเทนเพียงชนิดเดียวไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ได้เช่นกัน นอกจากนี้ในการทดลองของ Lindstedt และคณะ (1990) ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและอัตราการสังเคราะห์ระหว่างน้ำกับสารประกอบที่ละลายน้ำของบีเทนและสารประกอบแอมโมเนีย พบว่าเมื่อมีการเพิ่มพีเอชให้สูงขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและอัตราการสังเคราะห์ระหว่างน้ำกับสารประกอบที่ละลายในน้ำเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย โดยที่พีเอช 6 สารบีเทนที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในระยะเวลา 3 นาทีสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้สูงสุด เนื่องจากบีเทนไปกระตุ้นการทำงานของเซลล์ให้มีการปลดปล่อยไนโตรเจนออกไซด์ และกระตุ้นการจับกินของเม็ดเลือดขาวขนาดใหญ่ (Warskulat *et al*, 1998) ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อโรคของระบบภูมิคุ้มกันมีความสามารถในการทำงานได้ดียิ่งขึ้น การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเกิดมาจากการเพิ่มขึ้นในสายของอะตอมคาร์บอน ซึ่งบีเทนที่เสริมเข้าไปจะช่วยให้ในส่วนที่ไม่ชอบน้ำของผนังเซลล์แบคทีเรียมีจำนวนคาร์บอนเพิ่มขึ้นจึงทำให้การทำงานของสารลดแรงตึงผิวทำงานได้ดียิ่งขึ้น โดยสารลดแรงตึงผิวจะไปมีผลเปลี่ยนแปลงที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้สารต่าง ๆ ภายในเซลล์รั่วไหลออกมา (นงลักษณ์, 2541)

4.3 ผลของบีเทนต่อระบบสมดุลของเหลวในกุ้งขาว

ในการเสริมบีเทนที่ระดับแตกต่างกัน ในความเค็มปกติ พบว่าไม่มีความแตกต่างในส่วนของปริมาณเม็ดเลือดรวม ปริมาณกลูโคส และปริมาณโปรตีนในน้ำเลือด แต่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มพบว่าเม็ดเลือดรวม ปริมาณกลูโคส และปริมาณโปรตีนในน้ำเลือด มีการเปลี่ยนแปลงไป สอดคล้องกับการทดลองของ Yu (1993) ที่รายงานว่าปริมาณเม็ดเลือดรวมของกุ้งมีการเปลี่ยนแปลงไปในสภาวะแวดล้อม ส่วนปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของกุ้งขาวมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นทั้งในส่วนของกุ้งที่เสริมและไม่ได้เสริมบีเทน ซึ่งปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดนี้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสภาวะความเครียดของกุ้งได้เป็นอย่างดี (กิจการ และคณะ, 2543ข.) แต่ในบางสภาวะพบว่าความเครียดมีผลทำให้น้ำตาลในเลือดลดต่ำลงได้ โดย Santos และ Nery (1987) ศึกษาพบว่าปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดของปู *C. granulata* จะลดต่ำลงอย่างรวดเร็วเมื่อถูกย้ายจากน้ำทะเลความเค็ม 30 พีพีที มาเลี้ยงในน้ำจืด และในส่วนของปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาวมีแนวโน้มที่จะลดลง เนื่องจากร่างกายเปลี่ยนโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโนอิสระเพื่อช่วยในการรักษาสภาพของเซลล์ให้คงที่อยู่ได้ (Lima และคณะ, 1997) ซึ่งสอดคล้องกับ Vargas-Albors และคณะ (1998) ซึ่งพบว่ากุ้ง *P. californiensis* ที่อาศัยอยู่ในสภาพของอุณหภูมิและความเค็มของน้ำที่สูงและต่ำกว่าปกติจะมีผลให้ปริมาณโปรตีนลดต่ำลงได้ เช่นเดียวกับ Rodriguez (1981) ศึกษาพบว่าความเค็มของน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนในน้ำเลือดของกุ้งขาว *L. vannamei* และกุ้งน้ำเงิน *P. stylirostris* ลดต่ำลง

เมื่อพิจารณาค่าของออสโมลาริตี้ รวมทั้งค่าโซเดียมและคลอไรด์ในน้ำเลือดของกุ้งขาว ที่เลี้ยงในความเค็ม 15 พีพีที ทั้งชุดควบคุมและชุดที่ได้รับบีเทนไม่มีความแตกต่างกันกันทางสถิติ (p>0.05) แต่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มสูงขึ้น พบว่าค่าออสโมลาริตี้ โซเดียมและคลอไรด์ มีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้น แต่ไม่พบว่าค่าออสโมลาริตี้ โซเดียมและคลอไรด์ของกุ้งที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมและชุดที่ได้รับบีเทนมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่กุ้งขาวเป็นสัตว์ที่อาศัยอยู่ในช่วงกว้าง (euryhaline) ทำให้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้โดยง่าย (poikilosmotic) (ประจวบ, 2537) สอดคล้องกับการศึกษาของ Jahn และคณะ (2006) ที่ศึกษาการปรับตัวของปูพันธุ์ *Chasmagnathus granulata* โดยทำการเปลี่ยนแปลงความเค็มจาก 20 พีพีที เป็น 35 พีพีที พบว่าปูสายพันธุ์นี้มีการสร้างและสะสมบีเทนจากโคลีน โดยสารทั้งสองชนิดนี้มีส่วนช่วยในการปรับสมดุลของของเหลวในร่างกายของปูให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ โดยทำการสังเคราะห์บีเทนจากโคลีนโดยใช้โคลีนเป็นสารตั้งต้น หลังจากนั้นก็จะปล่อยไปในกระแสเลือดเพื่อนำไปเก็บไว้ในเซลล์ ซึ่งเซลล์จะนำไปใช้ในกระบวนการต่าง ๆ ของร่างกายที่เกี่ยวข้อง ส่วนในกรณีของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในความเค็มปกติ และเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มก็สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้ โดยค่าของออสโม

ลาริตี้และคลอไรด์จะกลับเข้าสู่สภาวะปกติเมื่อเวลาผ่านไป 1 ถึง 2 วัน และระบบ ต่าง ๆ ภายในร่างกายจะเข้าสู่สภาวะปกติเมื่อเวลาผ่านไป 7 ถึง 10 วัน (Ferraris และคณะ, 1986)