



สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ผลของความหนาแน่นต่อการแสดงออกของฮีตช็อกโปรตีน 70

ในปลานิลที่เลี้ยงในระบบปิดแบบผสมผสานในแนวตั้ง

Effect of Stocking Density on Heat Shock Protein 70 in Nile Tilapia (*Tilapia niloticus*)

Reared in Vertical Integrated Closed System

โดย

นางรุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์

นายดุสิต เอื้ออำนวย

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH

QP

552

H43

เลขหมู่..... 762.1 P

เลขทะเบียน..... 116879

วันเดือนปี..... 16 ส.ค. 2554

สนับสนุนโดย

งบประมาณเงินรายได้เพื่อการวิจัยคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มี
การนำไปใช้.....

1872848x

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของความหนาแน่นต่อการแสดงออกของฮีตช็อกโปรตีน 70 (HSP70) ในปลานิลแบบติดตามรายตัวที่เลี้ยงในระบบ VICS (Vertical Integrated Closed System) โดยความหนาแน่นที่ศึกษามี 2 ระดับ คือ หนาแน่นต่ำ 40 ตัว และความหนาแน่นสูง 80 ตัวต่อระบบ VICS ให้อาหารแบบเต็มอัมวันละ 2 มื้อ เลี้ยงนาน 10 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลานิลที่เลี้ยงในความหนาแน่นต่ำมีการแสดงออกของยีน HSP70 ต่อยีน β -actin ในช่วงเริ่มต้น กลาง และสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.95 ± 0.017 , 0.95 ± 0.034 และ 1.02 ± 0.000 ตามลำดับ และปลานิลที่เลี้ยงในความหนาแน่นสูงมีการแสดงออกของยีน HSP70 ต่อยีน β -actin ในช่วงเริ่มต้น กลาง และสิ้นสุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.94 ± 0.050 , 0.98 ± 0.032 และ 0.97 ± 0.029 ตามลำดับ โดยทั้ง 3 ช่วงเวลาดังกล่าวมีการแสดงออกของยีน HSP70 ต่อยีน β -actin แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และพบว่าปลานิลที่เลี้ยงในระดับความหนาแน่นต่ำและสูงมีอัตราการรอดตายประมาณ 98 และ 91 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับการเติบโตของลักษณะน้ำหนักตัวเฉลี่ยของปลานิลที่เลี้ยงในความหนาแน่นต่ำและสูงในสัปดาห์ที่ 10 เท่ากับ 86.6 ± 23.31 และ 57.4 ± 13.81 กรัมตามลำดับ และความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 16.3 ± 1.09 และ 14.1 ± 1.20 เซนติเมตรตามลำดับ โดยการเติบโตของทั้ง 2 ลักษณะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่คุณภาพน้ำ ได้แก่ ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด ไนโตรที่ ไนเตรท ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ล้วนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ผลพลอยได้จากระบบ VICS ที่เลี้ยงปลานิลในระดับความหนาแน่นต่ำและความหนาแน่นสูงมีปริมาณผักบุ้งเท่ากับ 3.2 และ 3.4 กิโลกรัมตามลำดับ

ดังนั้น ระบบ VICS สามารถเลี้ยงปลานิลได้ในระดับความหนาแน่นสูงถึง 80 ตัวต่อระบบ หรือประมาณ 580 ตัวต่อตารางเมตร ถึงแม้จะส่งผลกระทบต่ออัตราการเติบโตของลักษณะน้ำหนักและความยาวตัว แต่ไม่ส่งผลกระทบต่อแสดงออกของ HSP70 ในปลานิลที่เลี้ยงนาน 10 สัปดาห์ รวมทั้งยังมีผลพลอยได้จากระบบ คือ ผักปลอดสารพิษสำหรับการบริโภค

ABSTRACT

Study the effect of density on Heat Shock Protein 70 by individually tagging in Nile tilapia (*Tilapia niloticus*) reared in the Vertical Integrated Closed System (VICS). Two levels of stocking density were tested in VICS. The lower stocking density of Nile tilapia was 40 option per VICS and the higher stocking of Nile tilapia was and high density 80 option per VICS. The VICS system provides an add-lib 2 pellet food per day. The timing for 10 weeks at the end of conditioning trials. Found that the density of expression of HSP70 showed that HSP70 gene expression ratio to β -actin genes in early and mid-end testing of castings, fish rearing in a low density was equal to 0.95 ± 0.017 , 0.95 ± 0.034 and 1.02 ± 0.000 , respectively, and castings, fish rearing in high density was equal to 0.94 ± 0.050 , 0.98 ± 0.032 and 0.97 ± 0.029 , respectively, in each time difference not significant statistically ($P > 0.05$). The survival rate at low density and high survival rate of approximately 98 and 91 percent, respectively. The growth characteristics of the average weight of castings, fish rearing in low density and high in the 10 week were equal 86.6 ± 23.31 and 57.4 ± 13.81 g, respectively. The average length was equal to 16.3 ± 1.09 and 14.1 ± 1.20 cm, respectively. The growth rate of weight and length of Nile tilapia in two stocking density were showed statistically significant ($p < 0.05$). While water quality, all include ammonia, nitrite, nitrate, dissolved oxygen in two levels of stocking density were showed statistically significant ($p < 0.05$). The water convolvulus was the by product from the VICS at low stocking density and high stocking density were equal 3.2 and 3.4 kg, respectively.

Therefore, the VICS can improve to rearing at high density of the system 80 or an estimated 580 per square meter. Although rates will affect the growth characteristics of both weight and body length. But not affecting the expression of HSP70 on track for 10 weeks.

คำสำคัญ (Keywords) ของโครงการวิจัย

ปลานิล ความหนาแน่น ระบบเลี้ยงปลาแบบผสมผสานในแนวตั้ง อิทธิพล/ผล สีที่ช็อคขึ้น

Nile Tilapia, Stocking Density, Vertical Integrated Closed System and Heat Shock Protein 70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
สารบัญ	v
สารบัญภาพ	vii
บทนำ	1
สำรวจเอกสาร	5
วิธีดำเนินการวิจัย	7
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	11
สรุปผลการทดลอง	19
เอกสารอ้างอิง	21
ภาคผนวก	23



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณยีน <i>hsp70</i> และ β -actin	9



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ระบบการอ่าน ชั่งน้ำหนัก ด้วยโปรแกรมพิชเทคฟาร์ม	2
2	ชุดการเลี้ยง VICs, ก. และ รูปแบบการหมุนเวียนของน้ำ, ข.	3
3	ตัวอย่างชนิดของเครื่องอ่านที่ผลิตในเมืองไทย เครื่องอ่าน IET โมเดล HL-163u / HL-164u (ก), เครื่องอ่าน โมเดล SKD7001 V1.0 (ข), และเครื่องอ่านโมเดล SIC-Pi10-07 (ค)	5
4	ตัวอย่างแถบการแสดงผลของยีน Hsp70 ในตับ ที่ความหนาแน่น 100 กิโลกรัม ต่อตารางเมตร	6
5	แผนการทดลอง	10
6	แถบการแสดงผลของยีน HSP70 ในเนื้อเยื่อเหงือกในช่วงเริ่มต้น (S1,S2) ช่วง กลาง(M1,M2) และช่วงสิ้นสุดการทดลอง (F1,F2) ที่ระดับความหนาแน่น 40 ตัว	11
7	แถบการแสดงผลของยีน HSP70 ในเนื้อเยื่อเหงือกในช่วงเริ่มต้น (S1,S2) ช่วง กลาง(M1,M2) และช่วงสิ้นสุดการทดลอง (F1,F2) ที่ความหนาแน่น 80 ตัว	12
8	ผลการเติบโตของการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและความหนาแน่นสูง	13
9	น้ำหนักรวมเริ่มต้นและหลังสิ้นสุดการทดลอง รวมทั้งปริมาณอาหารที่ให้ ทั้งหมด (กรัม) ของปลานิลที่เลี้ยงในระบบ VIC แต่ละชุดการทดลอง	13
10	ปริมาณแอมโมเนียรวมของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยง ปลานิลแบบหนาแน่นสูง	14
11	ปริมาณไนโตรท-ไนโตรเจนของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นสูง	14
12	ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจนของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นสูง	15
13	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นสูง	16
14	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นสูง	16
15	ผลผลิตของผักที่ทำการปลูกในชุดการทดลองที่เลี้ยงปลานิลความหนาแน่นต่ำ และความหนาแน่นสูง	17

บทนำ

ส่วนใหญ่การเลี้ยงสัตว์น้ำล้วนมีข้อจำกัดเกี่ยวกับพื้นที่สำหรับการเลี้ยง โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรณีปลา นิล ซึ่งเป็นสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจที่มีความสำคัญเป็นอันดับหนึ่งมีมูลค่าการซื้อ-ขายกว่า 7,000 ล้านบาท และมีมูลค่าส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศกว่า 2,000 ล้านบาท รวมทั้งเป็นแหล่งโปรตีนราคาถูกของผู้บริโภคทุกระดับ ซึ่งนิยมเลี้ยงในกระชังและได้ก่อให้เกิดผลกระทบต่อแม่น้ำลำคลอง ทำให้น้ำเน่าเสีย เพราะเศษอาหารที่ปลากินไม่หมดและของเสียที่ปลาขับถ่ายออกมา ดังนั้นรูปแบบการเลี้ยงที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Environmental friendly) จึงเป็นสิ่งที่ทุกประเทศให้ความสนใจ ควบคู่กับการจัดการเรื่องสุขภาพหรือสวัสดิภาพของปลา (Animal welfare) ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง รวมทั้งสัตว์น้ำนั้นต้องสามารถสอบย้อนกลับได้ตลอดเวลา (Traceability) หรือการผลิตสัตว์น้ำแบบ EAT (Environmental friendly + Animal welfare + Traceability) เพื่อสร้างความมั่นใจต่อผู้บริโภค

การจัดการน้ำเสียที่เกิดขึ้นในระหว่างการเลี้ยงปลา (Zero waste) ด้วยการนำน้ำที่ผ่านการเลี้ยงมาบำบัดด้วยวัสดุกรองน้ำ ได้แก่ ก้อนกรวด ถ่าน เปลือกหอย และอื่นๆ รวมทั้งสามารถประยุกต์ใช้วัสดุกรองดังกล่าวในการปลูกพืชผัก เพื่อให้พืชผักดึงดูดธาตุอาหารต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำ ภายใต้รูปแบบการทำเกษตรแบบผสมผสาน ซึ่งรูปแบบดังกล่าวสามารถดำเนินการได้ทั้งในแนวตั้งหรือในแนวราบ ซึ่งการทำเกษตรแบบผสมผสานนับว่าเป็นการใช้ประโยชน์สูงสุดจากทุกส่วนของกิจกรรมที่เกิดขึ้น และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในสภาพการเลี้ยงหลากหลายพื้นที่ นอกจากผลผลิตสัตว์น้ำที่เกษตรกรจะได้รับแล้ว ยังมีผลพลอยได้ คือ ผักปลอดสารพิษ ทั้งเพื่อการบริโภคในครัวเรือนและเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรอีกด้วย

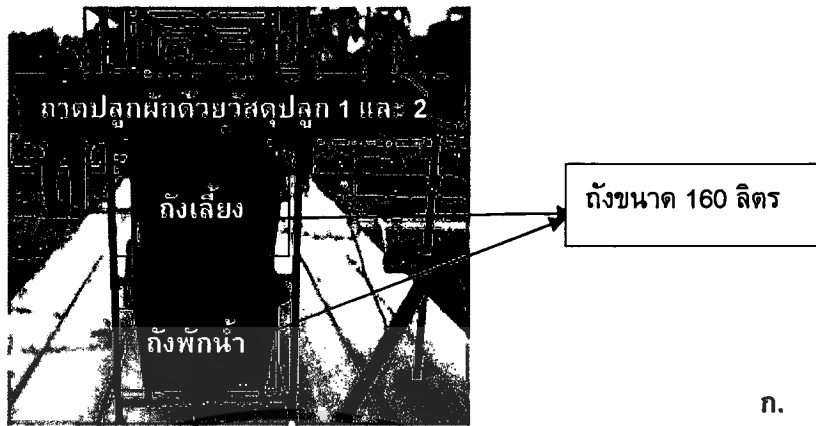
จากองค์ความรู้ที่คณะวิจัยได้ศึกษาวิจัยและพัฒนาอย่างต่อเนื่องที่ KMITL FISH TECH FARM เริ่มตั้งแต่การนำระบบบ่งชี้สิ่งของด้วยคลื่นวิทยุหรือระบบ RFID (Radio Frequency Identification: RFID) หรือเทคโนโลยี RFID โดยใช้ RFID Tag ผังในสัตว์น้ำ เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงสายพันธุ์และการติดตามรายตัว รวมทั้งพัฒนาระบบพืชเทคโนโลยีฟาร์มขึ้นมา (ภาพที่ 1) เพื่ออำนวยความสะดวกในการบันทึกข้อมูลแบบรายตัว เมื่อต้องการบันทึกข้อมูลรายตัวในสัตว์น้ำก็สามารถเชื่อมต่อกับระบบฟาร์ม ทั้งภายใต้ระบบ FTF-HH และ FTF-HN (รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และอภิรักษ์ ชนชยานนท์, 2552) แล้วนำสัตว์น้ำชนิดดังกล่าวที่ได้รับการฝัง RFID Tag มาอ่านด้วยเครื่องอ่าน (RFID Reader) เมื่อขังน้ำหนักรายตัว ข้อมูลน้ำหนักรายตัวจะส่งผ่านสายเชื่อมต่อกับหน้าจอของโปรแกรม และยังสามารถป้อนข้อมูลอื่น ๆ ที่ต้องการได้ ทำให้ข้อมูลการเติบโตมีความถูกต้องและแม่นยำ รวมทั้งลดเวลาในการบันทึกข้อมูล



ภาพที่ 1 ระบบการอ่าน ชั่งน้ำหนัก ด้วยโปรแกรมพีชเทคโนโลยี

ภายใต้พื้นที่ฟาร์มที่มีอยู่อย่างจำกัด คณะวิจัยได้พัฒนาระบบ VICS (Vertical Integrated Closed System) ขึ้นมา ซึ่งเป็นระบบเลี้ยงปลาแบบผสมผสานในแนวตั้งด้วยระบบปิดและใช้พืชผักในการบำบัดน้ำ โดยต้นแบบที่ได้พัฒนาขึ้น เหมาะสำหรับการใช้งานกลางแจ้ง ระบบ VICS ตามภาพที่ 2 ก. ภายในระบบมี ปริมาณน้ำหมุนเวียนประมาณ 320 ลิตร โดยมีส่วนประกอบของระบบ VICS ได้แก่ (1) ถังขนาด 160 ลิตร จำนวน 2 ถัง (ปริมาตรน้ำประมาณ 140 ลิตรต่อถัง) ถังด้านบนใช้สำหรับเลี้ยงปลา และด้านล่างสำหรับการ พักน้ำ (2) ถาดปลูกพืชผักมีจำนวน 2 ถาด (65x81x20 เซนติเมตร ระดับน้ำสูงประมาณ 4 เซนติเมตร) (3) บั๊มน้ำ จะช่วยปั๊มน้ำจากบ่อพักน้ำมายังวัสดุกรองน้ำที่มีการใช้ประโยชน์ด้วยการปลูกพืชผัก นอกจากนี้ ระบบ VICS ยังมีการติดตั้งเครื่องผลิตโอโซนช่วยในการบำบัดน้ำด้วย สำหรับการไหลเวียนของน้ำใน ระบบ VICS ประกอบด้วย บั๊มน้ำจะดูดมวลน้ำจากถังพักน้ำไปยังถาดที่บรรจุวัสดุกรองคือกรวดและถ่าน สำหรับปลูกผัก แล้วน้ำจะไหลผ่านชั้นวัสดุดังกล่าวมาสู่ถังด้านล่าง ผ่านระบบกรองที่มีการบำบัดน้ำ ด้วยโอโซน มายังถังพักน้ำแล้วบั๊มน้ำสู่อ่างวัสดุกรองปลูกผักอีกครั้ง เป็นลำดับ (ภาพที่ 2 ข.)

ผักที่ปลูกบนวัสดุกรองจะได้รับธาตุอาหารจากสิ่งขับถ่ายของเสียจากปลาที่เลี้ยง เศษอาหารที่เน่าเสีย ในระบบ ทำให้คุณภาพน้ำดีตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ระบบ VICS จึงความเหมาะสมกับพื้นที่กลางแจ้ง พื้นที่มีขนาดจำกัด ประโยชน์ทั้งในแง่ของการเลี้ยงสัตว์น้ำร่วมปลูกผักปลอดสารพิษสำหรับการบริโภคใน ครัวเรือน รวมทั้งมีส่วนสนับสนุนเทคโนโลยี RFID ในกิจกรรมการเลี้ยง ตั้งแต่ปลูกปลาจนกระทั่งถึงพ่อแม่ พันธุ์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ โดยทุกขั้นตอนการเพาะเลี้ยงจะสามารถตรวจสอบย้อนกลับได้



ก.



ข.

ภาพที่ 2 ชุดการเลี้ยง VICS, ก. และ รูปแบบการหมุนเวียนของน้ำ, ข.

อย่างไรก็ตาม เพื่อส่งเสริมและสนับสนุนพัฒนาการเลี้ยงสัตว์น้ำในระบบ VICS ไปสู่การปฏิบัติที่ดี (Best Practice) คณะวิจัยจึงได้ทดลองผลของความหนาแน่นต่อการแสดงออกของ HSP70 และลักษณะเชิงปริมาณ (Quantitative Traits) อื่น ๆ ได้แก่ อัตราการรอดตาย อัตราการเติบโต โดยเฉพาะอย่างยิ่งการแสดงออกของ HSP70 ในสัตว์น้ำที่สามารถใช้ติดตามความเครียดได้ตลอดช่วงเวลาการเลี้ยง ความเครียด (Stress) คือสภาวะที่สิ่งมีชีวิตได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมทั้งภายนอกและภายในอย่างกะทันหัน เช่น การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ สภาวะการขาดออกซิเจน การด้านพยาธิวิทยา หรือแม้กระทั่งการฝัง RFID Tag เข้าสู่ร่างกาย ช่วงเวลาในการบันทึกข้อมูล เป็นต้น โดยร่างกายมีกลไกตอบสนองต่อความเครียดในรูปแบบแตกต่างกันออกไป เพื่อปรับตัวให้เข้าสู่สภาวะสมดุล (Homeostasis) การตอบสนองต่อความเครียดในรูปแบบของโปรตีนความเครียด (Stress Protein) หรือ Heat Shock Proteins (HSPs) ทำหน้าที่ในการคงสภาพของโปรตีนภายในเซลล์ให้ทำหน้าที่ได้ตามปกติ ช่วยในการย่อยโปรตีนที่เสื่อมสภาพ เป็นต้น (Basu et al. 2002, Fairfield, 2004) ดังนั้นการใช้ HSP จึงสามารถบ่งชี้สภาวะความเครียดจากการฝัง RFID Tag (รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ, 2551) ในทำนองเดียวกันสามารถใช้ HSP จึงสามารถบ่งชี้สภาวะความเครียดในปลาชนิดที่เลี้ยงในระบบ VICS ที่ระดับความหนาแน่นแตกต่างกันได้ เพื่อจะข้อเสนอแนะใน

ผลงานวิจัยนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานานาชาติ ไม่สามารถเผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ผลของความหนาแน่นต่อการแสดงออกของฮีตช็อกโปรตีน 70
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงในปลาชนิดที่เลี้ยงในระบบปิดแบบผสมผสานในแนวตั้ง

การเลี้ยงปลานิล ที่คำนึงสวัสดิภาพและเกิดความเครียดน้อยที่สุด รวมทั้งมีส่วนร่วมสนับสนุนโครงการวิจัยของนักศึกษาระดับปริญญาตรีของหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตการประมงต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของความหนาแน่นต่อการแสดงออกของโปรตีนความเครียดในปลานิล

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ใช้ปลานิลสายพันธุ์ KMITL FISH TECH FARM นำมาเลี้ยงระดับความหนาแน่นต่ำและสูงในระบบ VICS แล้วตรวจหาการแสดงออกของโปรตีนความเครียดที่เป็นผลจากระบบดังกล่าว



สำรวจเอกสาร

อาร์เอฟไอดี (RFID) เป็นระบบระบุเอกลักษณ์หรือลักษณะของวัตถุด้วยคลื่นความถี่วิทยุ ระบบอาร์เอฟไอดีมีองค์ประกอบหลัก 2 ส่วน ส่วนที่ 1 คือ อาร์เอฟไอดีแท็ก (RFID tag) หรือ ทรานสปอนเดอร์ (Transponder) คือ อุปกรณ์ระบุรหัสตัวสัตว์ที่ประกอบด้วย รหัสประเทศ ชนิดสัตว์ จังหวัด ปี และรหัสตัวประจำตัวหรือกลุ่ม ส่วนที่ 2 คือ เครื่องสำหรับอ่านเขียนข้อมูลในอาร์เอฟไอดีแท็ก (Reader/Interrogator) และยังเป็นส่วนสำคัญของการติดต่อกับคอมพิวเตอร์ ดังนั้นการนำอาร์เอฟไอดีแท็ก ซึ่งเป็นแท็กเพื่อติดตามรายตัวในสัตว์น้ำนั้น เพื่อจะบ่งบอกถึงต้นตอหรือสายพันธุ์สัตว์น้ำชนิดนั้น ๆ ผลิตเมื่อไหร่ และเกิดจากการผสมพันธุ์ของพ่อและแม่ตัวไหน หรือแม้กระทั่งข้อมูลการเติบโตแบบรายตัว (รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และ ดุสิต เอื้ออำนวย, 2552) เพื่อการปรับปรุงพันธุ์จึงมีความจำเป็น และได้ช่วยให้เกิดความสะดวกในการบริหารจัดการการเลี้ยงหรือแม้กระทั่งจัดการพ่อแม่พันธุ์เป็นอย่างดี ซึ่ง Panakulchaiwit (2007) ได้ศึกษาในปลาชนิดขนาดใหญ่และปลาชนิดขนาดเล็กที่ติดตามรายตัวด้วยการฝังอาร์เอฟไอดีแท็ก โดยใช้โปรแกรมที่พัฒนาขึ้นเพื่ออำนวยความสะดวกในการอ่านรหัสอัตโนมัติเพียงอย่างเดียว ต่อไปได้พัฒนาโปรแกรมพีชเทคฟาร์ม เวอร์ชัน 2.0 ที่มีความสามารถในการบันทึกทั้งรหัสประจำตัวสัตว์และน้ำหนักอัตโนมัติได้ ภายใต้การเชื่อมต่ออุปกรณ์ต่างๆ ได้แก่ (1) เครื่องคอมพิวเตอร์ (2) RFID Tags แบบ Passive ความถี่ย่าน 134.2 KHz ขนาดประมาณ 10-13 mm X 2mm (3) Handheld Reader Model: SIC-Pi10-07หรือ HL-163u / HL-164u ตามภาพที่ 3 และ (4) เครื่องชั่ง AND รุ่น EK-6100i หรือ ACU รุ่น ECM-SERIES (รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ, 2551)



ก บ ค

ภาพที่ 3 ตัวอย่างชนิดของเครื่องอ่านที่ผลิตในเมืองไทย เครื่องอ่าน IET โมเดล HL-163u / HL-164u (ก), เครื่องอ่าน โมเดล SKD7001 V1.0 (ข), และเครื่องอ่าน โมเดล SIC-Pi10-07 (ค)

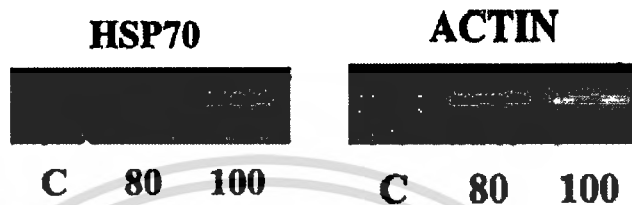
สำหรับการศึกษาโปรตีนความเครียดในปลานั้น พบว่ามีการศึกษาระดับโปรตีน ลำดับเบส โครงสร้างของยีน Encodind Heat shock proteins และระดับความเครียดที่มีความสัมพันธ์กับ mRNA (Basu et al. 2002) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการโคลนยีน Hsp70 ในปลา Zebrafish (*Danio rerio*) (Lele et al. 1997), Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) (Molina et al. 2000) และ Pufferfish (*Fug rubripes*) (Lim and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ผลของความหนาแน่นต่อการแสดงออกของฮีตช็อคโปรตีน 70

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงในปลาตินที่เขียนในระบบปิดแบบผสมผสาน ในแนวตั้ง

Brenner, 1999) นอกจากนี้ Gomati *et al.* (2004) ได้ศึกษาการแสดงออกของยีนความเครียดหรือ Heat shock proteins ในปลากระพง (*Dicentrarchus labrax*, L.) ที่เลี้ยงความหนาแน่น 10, 80 และ 100 กิโลกรัมต่อตารางเมตร พบว่าที่ความหนาแน่น 80 และ 100 กิโลกรัมต่อตารางเมตร จะพบแถบของยีน HSP70 เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ตัวอย่างแถบการแสดงออกของยีน Hsp70 ในตัวปลาที่ความหนาแน่น 100 กิโลกรัมต่อตารางเมตร
ที่มา : Gomadi *et al.* (2004)

ดังนั้น เพื่อให้สอดคล้องกับจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่อการทดลอง มีข้อเสนอแนะให้คำนึงถึงสวัสดิภาพสัตว์ และสัตว์ที่ใช้ทดลองควรเกิดความเครียดน้อยที่สุด รวมทั้งใช้ระบบการชั่งวัดอัตโนมัติเข้ามาช่วยในระหว่างการทำกรทดลอง (Hästein *et al.*, 2005) ในการทดลองครั้งนี้ใช้วิธีติดตามการเติบโตแบบรายตัวด้วยการฝัง RFID Tag ตามวิธีของ รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ (2551) โดยมีเป้าหมายของการทดลองครั้งนี้คือ เพื่อให้ได้แนวทางการปฏิบัติที่ดีของการเลี้ยงปลานิลใน VICS จึงได้ศึกษาระดับความหนาแน่นที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงปลานิล และการศึกษาการแสดงของโปรตีนความเครียด ด้วยวิธีการติดตามการเติบโตแบบรายตัว

วิธีดำเนินงานวิจัย

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองทำ 2 ซ้ำ (ภาพที่ 5)
 ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงปลานิลในระดับความหนาแน่นต่ำ คือ 40 ตัวต่อระบบ VICS
 ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงปลานิลในระดับความหนาแน่นสูง คือ 80 ตัวต่อระบบ VICS

วิธีการทดลอง

1. เตรียมระบบ VICS จำนวน 4 ชุด

ทำความสะอาดถังเลี้ยงปลาและใส่น้ำ รวมทั้งถอด/แปลงปลุกผัก แล้วเติมน้ำสะอาดให้เต็มทั้งระบบ รวมทั้งเปิดปั้มน้ำและระบบโอโซน เพื่อทำการหมุนเวียนน้ำควบคู่กับการบำบัดน้ำ พักน้ำไว้นานประมาณ 3 วัน ในการทดลองครั้งนี้มีการเติมน้ำประมาณ 10-30 เปอร์เซ็นต์ของทุกสัปดาห์ทดแทนส่วนที่น้ำหายไปจากระบบ สำหรับอุณหภูมิระหว่างการทดลองมีค่าระหว่าง 27-32 องศาเซลเซียส

2. เตรียมปลาที่ใช้ในการทดลอง

เตรียมปลานิลจาก KMITL'S FISH TECH FARM ขนาด 24.80 – 27.83 กรัมจำนวน 240 ตัว มาปรับสภาพนาน 3 วัน แล้วสุ่มฝัง RFID tags จำนวน 40 ตัว ตามวิธีของรุ่งตะวัน และคณะ (2551) พักปลาไว้ในถังนาน 1 สัปดาห์ เพื่อให้แผลภายนอกหายสนิท

3. การทดลองระบบ

(1) สุ่มปลานิลที่ฝัง RFID tag ปล่อยลงในแต่ละระบบ VICS จำนวน 10 ตัวต่อชุด แล้วสุ่มปลาที่เหลือปล่อยลงในจำนวน 30 และ 70 ตัว ตามลำดับ เพื่อให้ได้ระดับความหนาแน่นที่ 40 และ 80 ตัวต่อระบบ VICS

(2) ให้อาหารปลานิลด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป (มีระดับประมาณโปรตีน 35%) แบบเต็มอิ่มวันละ 2 เวลา (เช้า 08.00 น. และเย็น 17.00 น.)

(3) หลังจากเลี้ยงปลานานประมาณ 1 สัปดาห์ แซ่เมล็ดผักบุ้งในผ้าเปียกน้ำ แล้วนำมาหว่าน (ประมาณ 15 กรัมต่อภาค)

(4) ทดลองระบบนาน 10 สัปดาห์ (รอบการปลูกผักบุ้งประมาณ 2 รอบ)

การศึกษาตอบสนองของ HSP70

1. การสกัด total RNA

สุ่มปลานิลที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองจำนวน 2 ตัวต่อชุดการทดลอง มาตัดเนื้อเยื่อเหงือกน้ำหนัก 0.1 กรัม ใส่ในไมโครเซ็นทริฟิวจขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วทำการบดเนื้อเยื่อด้วยแท่งแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้

เอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่ไปโดยไม่ได้รับความเห็นชอบจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเลี้ยงปลานิลของกรมประมง
 ผลของงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเลี้ยงปลานิลของกรมประมง
 ไม่ว่ากรรมใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงในปลานิลที่เลี้ยงในระบบปิดแบบผสมผสานในแนวตั้งใช้

ละเอียด จากนั้น ทำการสกัด total RNA ด้วย QIAzol[®] Lysis Reagent (Qiagen, Germany) โดยการเติมน้ำยา QIAzol[®] Lysis Reagent ในหลอดเนื้อเยื่อ แล้วทำการบดซ้ำด้วยน้ำยาอีกรอบ นำปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ย้ายสารละลายไปใส่ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์หลอดใหม่ เติมหอโรฟอร์มปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที และนำปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารละลาย 3 ชั้น ชั้นแรกสีชมพู เป็นส่วนของ Organic solvent ชั้นที่ 2 สีขาวขุ่น เป็นส่วนของ DNA และชั้นที่ 3 สีไม่มีสี เป็นส่วนของ total RNA ดูดส่วนใสชั้นที่ 3 ปริมาตร 650 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์หลอดใหม่ แล้วเติมไอโซโพรพานอลปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อตกตะกอน RNA นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้น ดูดไอโซโพรพานอลออกให้หมด เติมหอโรฟอร์ม 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ดูดหอโรฟอร์มออกให้หมด แล้วทำให้ RNA แห้งด้วยการคว่ำบนกระดาษทิชชู ละลาย total RNA ด้วยน้ำที่ปราศจาก RNase ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และนำสารละลาย RNA ไปวิเคราะห์หาปริมาณ และคุณภาพด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร จากนั้นนำผลที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลาย total RNA จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นของ total RNA (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)} = A_{260} \times 40 \times \text{dilution factor}$$

คุณภาพของ RNA พิจารณาจากค่า A_{260}/A_{280} เพื่อประเมินความบริสุทธิ์ของ total RNA เทียบกับโปรตีนที่ปนเปื้อนอยู่ หลังจากการสกัดแยกตามลำดับ total RNA ที่มีความบริสุทธิ์สูงจะมีค่า A_{260}/A_{280} เท่ากับ 1.8-1.9 เก็บสารละลาย total RNA ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2. การเพิ่มปริมาณยีน *hsp70* ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส (polymerase chain reaction; PCR)

ทำปฏิกิริยา PCR ของยีน *hsp70* โดยใช้ gDNA เป็นแม่พิมพ์ และใช้ 2x PCR Enzyme Master Mix soln. (Intron Biotechnology, Korea) กับคู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับยีน *hsp70* ของปลานิลและปลาดุกตามตารางภาคผนวกที่ 9 ด้วยเครื่อง DNA thermal cycler (Hybaid Touchdown, UK) ซึ่งส่วนประกอบของปฏิกิริยา PCR 50 ไมโครลิตร ประกอบด้วย gDNA 1.5 ไมโครกรัม 2x PCR Enzyme Master Mix 25 ไมโครลิตร และไพรเมอร์ Forward และ Reverse อย่างละ 10 พิโคโมล โดยตั้งสถานะในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 3 ขั้นตอน ดังนี้ (1) Initial denaturation 94 °C เวลา 5 นาที (2) Denaturation 94 °C เวลา 30 วินาที Annealing 55 °C เวลา 30 วินาที Extention 72 °C เวลา 1 นาที จำนวน 30 รอบ และ (3) Final extension 72 °C เวลา 5 นาที ส่วน total RNA ที่สกัดได้จะนำมาเปลี่ยนเป็น cDNA และทำการเพิ่มปริมาณยีน *hsp70* และยีน β -actin ด้วยชุด QIAGEN[®] Onestep RT-PCR Kit (Qiagen, Germany) กับไพรเมอร์ตามตารางที่ 1 ด้วยเครื่อง DNA thermal cycler โดยส่วนประกอบของปฏิกิริยา PCR 25 ไมโครลิตร

ประกอบด้วย total RNA 5 ไมโครกรัม dNTP mix 10 นาโนโมล ไพรเมอร์ Forward และ Reverse อย่างละ 12.5 พิโคโมล และ Qiagen RT-PCR enzyme mix 1 ไมโครลิตร โดยตั้งอุณหภูมิและเวลา 4 ขั้นตอน ดังนี้ (1) 50 °C เวลา 30 นาที (2) Initial denaturation 94 °C เวลา 15 นาที (3) Denaturation 94 °C เวลา 30 วินาที Annealing 55 °C เวลา 30 วินาที Extension 72 °C เวลา 1 นาที จำนวนรอบ 30 รอบ และ (4) Final extension 72 °C เวลา 10 นาที สำหรับปลานิล ส่วนปลาอุกจะเปลี่ยนแปลงช่วง annealing เป็น 60 °C และจำนวนรอบ เป็น 35 รอบ จากนั้นตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยอะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิสที่มีความเข้มข้นอะกาโรส 1.5 เปอร์เซ็นต์ ย้อมด้วย Gelstar nucleic acid gel stain (BioWhittaker Molecular Applications, USA) หรือ Ethidium bromide แล้วนำไปถ่ายภาพภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต

ตารางที่ 1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณยีน *hsp70* และ β -actin

Primers	Primer sequence (5'-3')	PCR product size (bp)
Nile Tilapia (FF28049155139527)		
HSP70F	GAGTCCTACGCCTTCAACATGA	529
HSP70R	ATCTTCAGGGCCTCTTTAGTCC	
β -actinF	GGTCATCACCATTGGCAATG	306
β -actinR	ACTGAAGCCATGCCAATGAG	

3. การวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส

เตรียมอะกาโรสเจล 1.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยชั่งอะกาโรส 0.3 กรัมในพลาสติกที่มีบัฟเฟอร์ Tris-boric-EDTA 20 มิลลิลิตร ให้ความร้อนเพื่อให้อะกาโรสละลายเป็นเนื้อเดียวกันในตู้ไมโครเวฟ ทิ้งไว้ให้ได้อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมเจลสตาร์ในอัตราส่วนเจลสตาร์ 1 ส่วนต่ออะกาโรส 100 ส่วน เทใส่แม่พิมพ์ทิ้งไว้ให้แข็งแล้วนำเจลมาวางบนอ่าง (chamber) เทบัฟเฟอร์ Tris-boric-EDTA ลงไปในอ่างจนท่วมเจล หยอดดีเอ็นเอมาตรฐานและดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาที่ผสมสีย้อม ลงไป ให้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาที นำเจลไปส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต

การบันทึกข้อมูล

(1) สุ่มปลานิลจำนวน 2 ตัว ในแต่ละระดับความหนาแน่นมาตรวจหา HSP70 เริ่มต้นทดลอง หลังทดลองนาน 5 สัปดาห์ และสิ้นสุดการทดลอง

(2) นำปลานิลที่ฝัง RFID Tag มาทำการสลบในถังพลาสติกที่มีน้ำประมาณ 10 ลิตร ด้วย MS222 ที่ระดับความเข้มข้น 200 หนึ่งในล้านในล้านส่วน หลังจากปลาสลบแล้วนำมาบันทึกรหัส น้ำหนักและความ

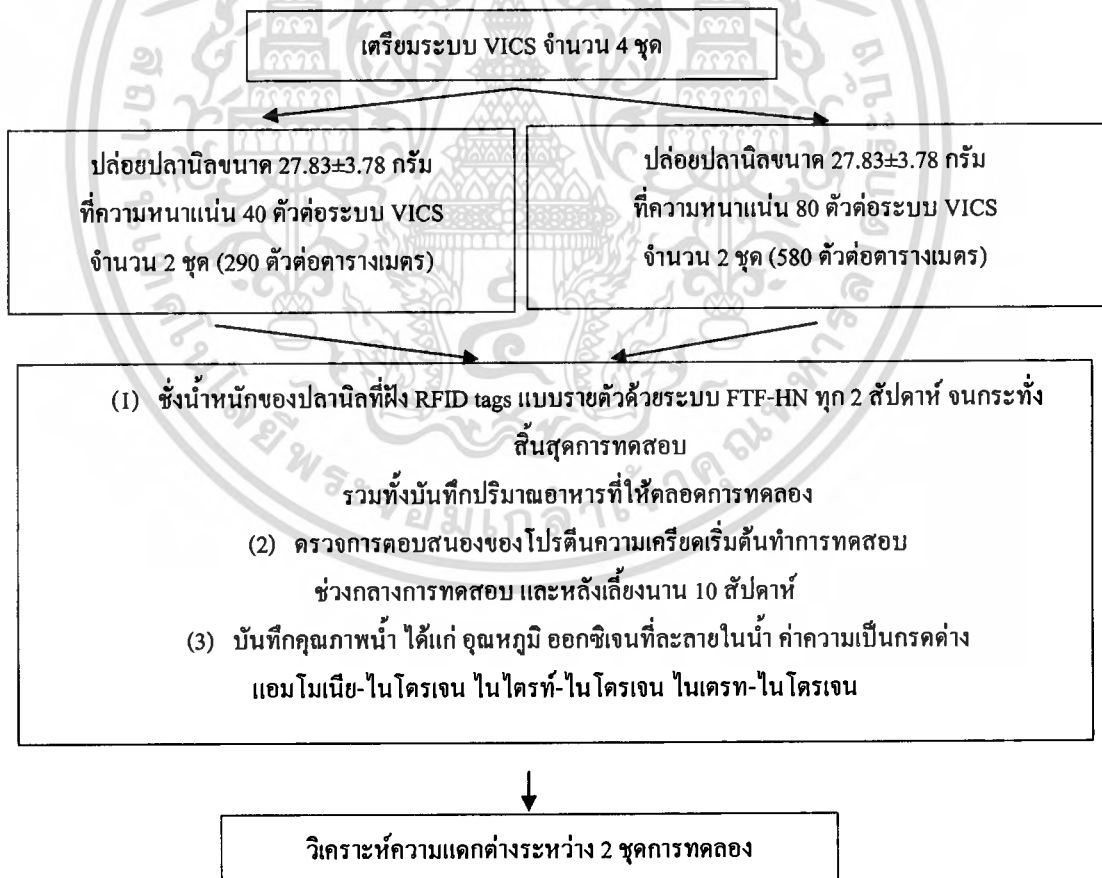
ยาวเป็นรายตัวด้วยระบบ FTF-HN (รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และอภิรักษ์ ธนชยานนท์, 2552) ทุก ๆ 2 สัปดาห์

(3) บันทึกปริมาณอาหารที่ปลานิลกินในแต่ละสัปดาห์ รวมทั้งน้ำหนักผักบุงที่ผลิตได้ในระหว่างการเลี้ยงปลานิล

การวิเคราะห์ข้อมูล

(1) วิเคราะห์ Heat Shock Proteins ในปลานิล โดยวัดปริมาณความเข้มข้นของแถบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยโปรแกรม Gentoool by Syngene (Lab focus) โดยวิเคราะห์จากข้อมูลพื้นฐานจาก 100 bp Ladder (Invitrogen, USA) และข้อมูลที่ได้นำไปคำนวณค่าอัตราส่วนระหว่าง HSP70 ต่อฮีน β -actin ด้วยโปรแกรม SYSTAT Version.5.02 (Systat, Inc., 1990)

(2) วิเคราะห์ความแตกต่างของการเติบโตปลานิลที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองหลังจากเลี้ยงนาน 10 สัปดาห์ และอัตราการเติบโตรายวัน ด้วยโปรแกรม SYSTAT Version.5.02 (Systat, Inc., 1990)



ภาพที่ 5 แผนการทดลอง

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่น 2 ระดับคือ 40 และ 80 ตัวต่อระบบ VICS โดยให้อาหารเต็มอิ่มวันละ 2 เวลาคือ 8:30 และ 16:00 น. ใช้ระยะเวลาในการทดลองเลี้ยง 10 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองให้ผลดังนี้

(1) ผลของการตอบสนองความเครียดของปลานิลที่ความหนาแน่นต่างกัน

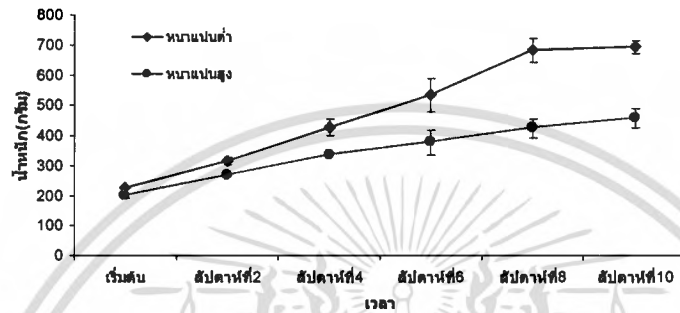
จากปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณยีน HSP70 และกลุ่มยีน β -actin ด้วยเทคนิค RT-PCR ในเนื้อเยื่อเหงือก แสดงได้ตามภาพที่ 6 และ 7



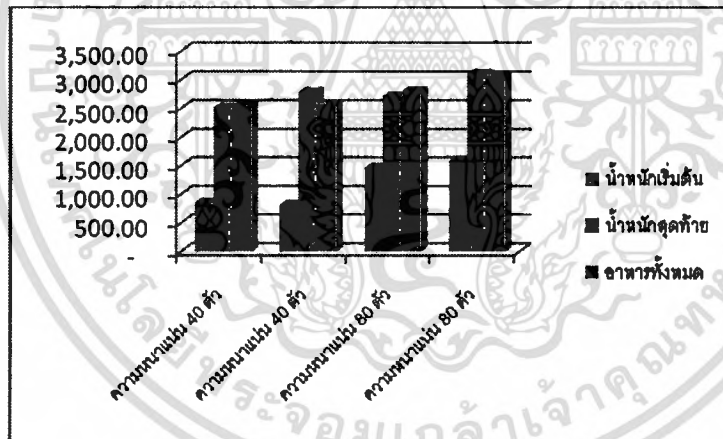
ภาพที่ 6 แถบการแสดงออกของยีน HSP70 ในเนื้อเยื่อเหงือกในช่วงเริ่มต้น (S1,S2) ช่วงกลาง(M1,M2) และช่วงสิ้นสุดการทดลอง (F1,F2) ที่ระดับความหนาแน่น 40 ตัว

จากภาพที่ 6 และ 7 เมื่อวัดความแตกต่างระหว่างการแสดงออกของยีน HSP70 ต่อยีน β -actin โดยเทคนิค Semi-quantitative RT-PCR พบว่าอัตราส่วนระหว่างยีน HSP70 ต่อยีน β -actin ในเนื้อเยื่อเหงือก ในช่วงเริ่มต้น กลาง และสิ้นสุดการทดลองของปลานิลที่เลี้ยงในความหนาแน่นต่ำ มีค่าเท่ากับ 0.95 ± 0.02 , 0.95 ± 0.03 และ 1.02 ± 0.00 และปลานิลที่เลี้ยงในความหนาแน่นสูง 0.94 ± 0.05 , 0.98 ± 0.03 และ 0.97 ± 0.03 ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของการแสดงออกของยีน พบว่ามีการแสดงออกของยีน HSP70 ในช่วงเริ่มต้น กลาง และสิ้นสุดการทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในขณะที่ Gonati *et al.* (2004) ศึกษาการแสดงออกของยีน ซึ่งเกี่ยวข้องกับยีนความเครียดหรือ Heat shock proteins ในปลากะพง (*Dicentrarchus labrax*, L.) ที่เลี้ยงความหนาแน่นต่างกันด้วยเทคนิค RT-PCR โดยเลี้ยงปลากะพงที่ความหนาแน่น 10, 80 และ 100 กิโลกรัมต่อตารางเมตร พบว่าที่ความหนาแน่น 80 และ 100 กิโลกรัมต่อตารางเมตร พบแถบของยีน HSP70 เพิ่มขึ้นโดยใช้ยีน Cytoplasmic β -actin เป็นยีน

การเลี้ยงปลานิลในระบบ VICS พบว่าน้ำหนักเริ่มต้นของปลานิลในแต่ละชุดการทดลอง น้ำหนักสุดท้าย และน้ำหนักอาหารที่ให้แต่ละชุดการทดลอง มีค่าตามภาพที่ 9 และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลที่เลี้ยงในระบบ VICS ที่ระดับความหนาแน่นต่ำและสูงมีค่าเท่ากับ 1.41 ± 0.17 และ 2.13 ± 0.14 ตามลำดับ ดังนั้นแนวโน้มของปลานิลที่เลี้ยงในระดับความหนาแน่นต่ำมีการเติบโตดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลที่เลี้ยงในระดับความหนาแน่นสูงของระบบเดียวกันนั้น



ภาพที่ 8 ผลการเติบโตของการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและความหนาแน่นสูง



ภาพที่ 9 น้ำหนักรวมเริ่มต้นและหลังสิ้นสุดการทดลอง รวมทั้งปริมาณอาหารที่ให้ทั้งหมด (กรัม) ของปลานิลที่เลี้ยงในระบบ VIC แต่ละชุดการทดลอง

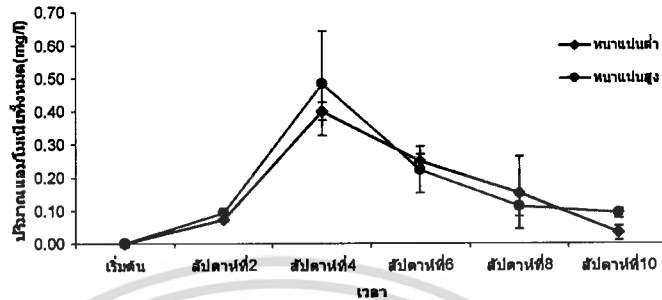
(3) ผลของคุณภาพน้ำในระบบที่เลี้ยงปลานิลความหนาแน่นต่างกัน

(3.1) ปริมาณแอมโมเนียรวม (Total ammonia nitrogen)

จากการทดลองเลี้ยงปลานิลในระบบ VICS ที่ความหนาแน่นต่ำและความหนาแน่นสูง พบว่าค่าปริมาณแอมโมเนียรวมจะอยู่ในช่วง 0.00 ถึง 0.40 และ 0.00 ถึง 0.48 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีค่า Unionized ammonia อยู่ในช่วง 0.0001 ถึง 0.0026 และ 0.0003 ถึง 0.0034 mg/L ตามลำดับ โดยเริ่มต้นใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรแจกจ่ายไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 หมายความว่าทุกสิ่งทุกอย่างที่ปรากฏในเอกสารนี้เป็นของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงในปลานิลที่เลี้ยงในระบบปิดแบบผสมผสานในแนวคิด

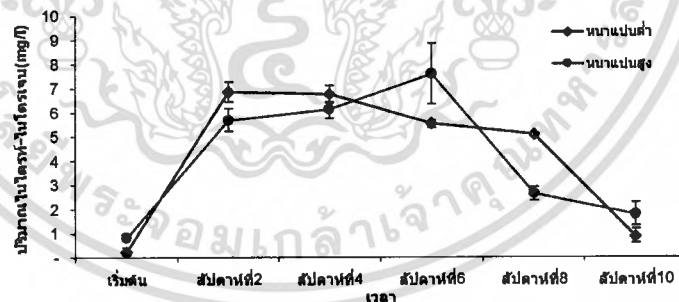
ระบบไม่มีปริมาณแอมโมเนียรวม ต่อจากนั้นเริ่มเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 4 และค่อยๆลดลงในสัปดาห์ต่อมาเป็นต้นไป เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและความหนาแน่นสูง พบว่าปริมาณแอมโมเนียรวมเฉลี่ยเท่ากับ 0.03 ± 0.03 และ 0.09 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 ปริมาณแอมโมเนียรวมของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยง ปลานิลแบบหนาแน่นสูง

(3.2) ปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจน (nitrite-nitrogen)

จากการทดลองการเลี้ยงปลานิลในระบบ VICS ที่ความหนาแน่นต่ำและที่ความหนาแน่นสูง พบว่าปริมาณไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.25 ถึง 6.85 และ 0.83 ถึง 7.61 mg/L ตามลำดับ (ภาพที่ 41) โดยมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสัปดาห์ที่ 6 (ภาพที่ 11) และลดลงในสัปดาห์ต่อไป โดยในระบบที่เลี้ยงปลานิลความหนาแน่นต่ำและความหนาแน่นสูงมีปริมาณไนไตรท์เฉลี่ยเท่ากับ 0.88 ± 0.28 และ 1.79 ± 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าแตกต่างกันไม่มีความสำคัญ ($p > 0.05$)

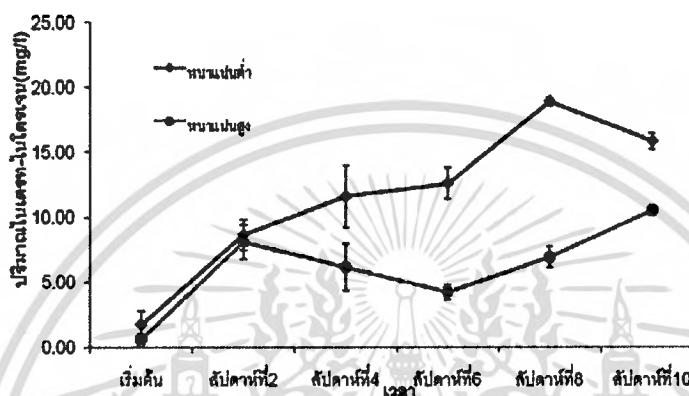


ภาพที่ 11 ปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจนของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นสูง

(3.3) ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน (nitrate-nitrogen)

จากการทดลองพบว่าค่าไนเตรทของระบบที่เลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและความหนาแน่นสูงอยู่ในช่วง 1.72 ถึง 18.86 และ 0.6 ถึง 10.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 12) โดยเมื่อเริ่มการทดลองที่ทำการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและที่ความหนาแน่นสูงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.72 ± 1.05 และ

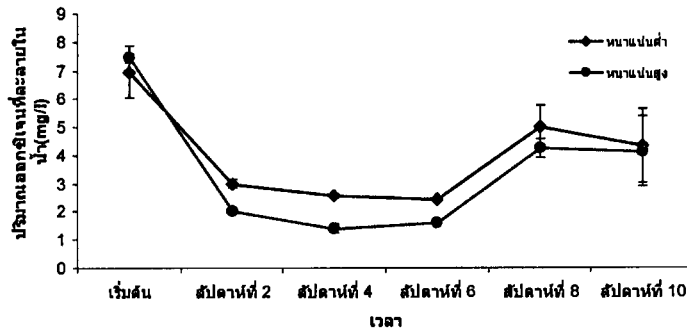
0.6 ± 0.41 มิลลิกรัมต่อลิตร ระบบที่ทำการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำมีปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 8 และลดลงในสัปดาห์ต่อไป และระบบที่ทำการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นสูงมีปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 6 และลดลงในสัปดาห์ต่อไป เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีปริมาณไนโตรเจนเฉลี่ยเท่ากับ 15.80 ± 0.61 และ 10.50 ± 0.38 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทั้ง 2 ชุดการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 6 ถึงสัปดาห์ที่ 8



ภาพที่ 12 ปริมาณไนโตรเจน-ไนโตรเจนของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นสูง

(3.4) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved oxygen)

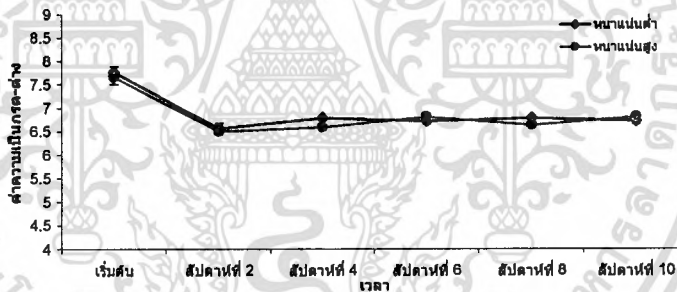
จากการศึกษาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำของทั้งสองชุดการทดลองคือ ชุดการทดลองที่ 1 คือ การเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำและชุดการทดลองที่ 2 คือการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นสูง โดยเริ่มต้นมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเฉลี่ยเท่ากับ 6.96 ± 0.91 และ 7.43 ± 0.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 13) และมีแนวโน้มลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 6 ต่อจากนั้นได้ทำการเพิ่มออกซิเจนในระบบจึงทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 8 และ 10 เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในทุก 2 สัปดาห์ของทั้งสองชุดการทดลอง พบว่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และพบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.05 ± 1.60 และ 3.47 ± 2.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับการทดลองของ yang *et al.* (1996) ที่เลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นในบ่อซีเมนต์ ให้ผลว่าชุดการทดลองที่มีความหนาแน่นสูงจะมีระดับออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่ต่ำเมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่มีความหนาแน่นต่ำจะมีปริมาณออกซิเจนที่สูงกว่า ต่อจากนั้นทำการเพิ่มออกซิเจนเข้าไปในระบบทั้งสองชุดการทดลองหลังจากสัปดาห์ที่ 6 จะพบได้ว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเพิ่มขึ้นจากเดิมในสัปดาห์ที่ 8 และสัปดาห์ที่ 10 แสดงให้เห็นดังภาพที่ 10 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่เหมาะสมเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสัตว์ที่กำหนดไม่ควรต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไมตรีและจารุวรรณ, 2528)



ภาพที่ 13 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นสูง

(3.5) ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH)

จากการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่ความหนาแน่นต่ำและสูงไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.89 ± 0.44 และ 6.84 ± 0.42 ตามลำดับ ภาพที่ 14 แสดงให้เห็นถึงค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีการลดลงในช่วงแรกแล้วก็ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในสัปดาห์ต่อมาซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างนั้นอยู่ในช่วงที่มีความเหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำ คืออยู่ระหว่าง 6.5 ถึง 9.0 (ไมตรีและจาวรรณ, 2528)

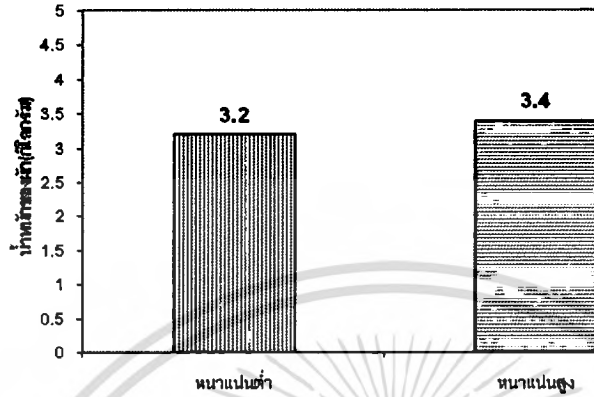


ภาพที่ 14 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นต่ำ และชุดการเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นสูง

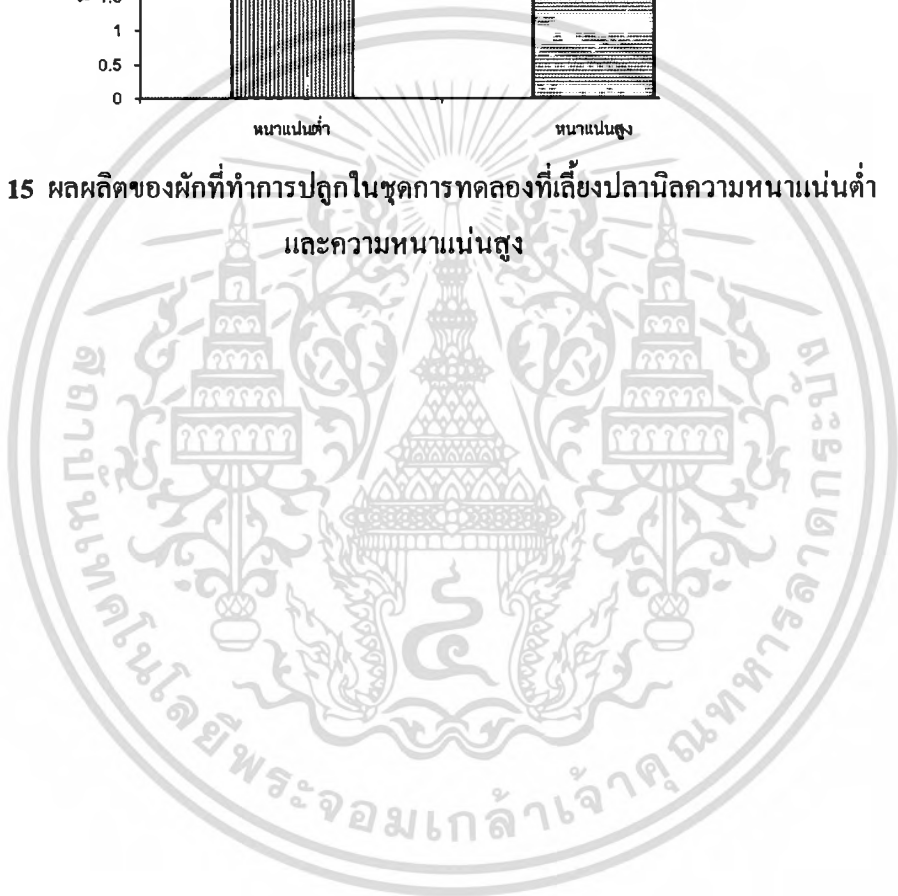
(4) ผลพลอยได้ของผักบุงจากการเลี้ยงในระบบ VICS

ผลพลอยได้ (By Product) จากการเลี้ยงปลานิลร่วมกับการปลูกผักบุงนั้น พบว่าชุดที่เลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและความหนาแน่นสูง มีผลพลอยได้ของน้ำหนักผักทั้งหมดเท่ากับ 3.2 และ 3.4 กิโลกรัม (ผลผลิตผักบุง 2 รอบ ๆ ละประมาณ 30 วัน) (ภาพที่ 15) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอาหารปลาที่ให้ในการเลี้ยง 2 ระดับความหนาแน่นมีค่าประมาณ 5 และ 6 กิโลกรัม ตามลำดับ หรือสัดส่วนของผลผลิตผักต่อปริมาณอาหารที่ให้กับปลานิลในระบบในรอบเดือนของการเลี้ยงในระบบ VICS ทั้ง 2 ระดับความหนาแน่นประมาณ 0.6 หรือปริมาณอาหารที่ให้ในระบบประมาณ 1 กิโลกรัม จะมีผลพลอยได้คือผักบุงประมาณ 0.6

กิโลกรัม หรือค่าอาหารปลาประมาณ 10 บาท จะได้มีผลพลอยได้จากการจำหน่ายผักนึ่งประมาณ 30 บาท (ผักนึ่งกิโลกรัมละ 50 บาท)



ภาพที่ 15 ผลผลิตของผักที่ทำกรปลูกในชุดการทดลองที่เลี้ยงปลานิลความหนาแน่นต่ำ และความหนาแน่นสูง



สรุปผลการทดลอง

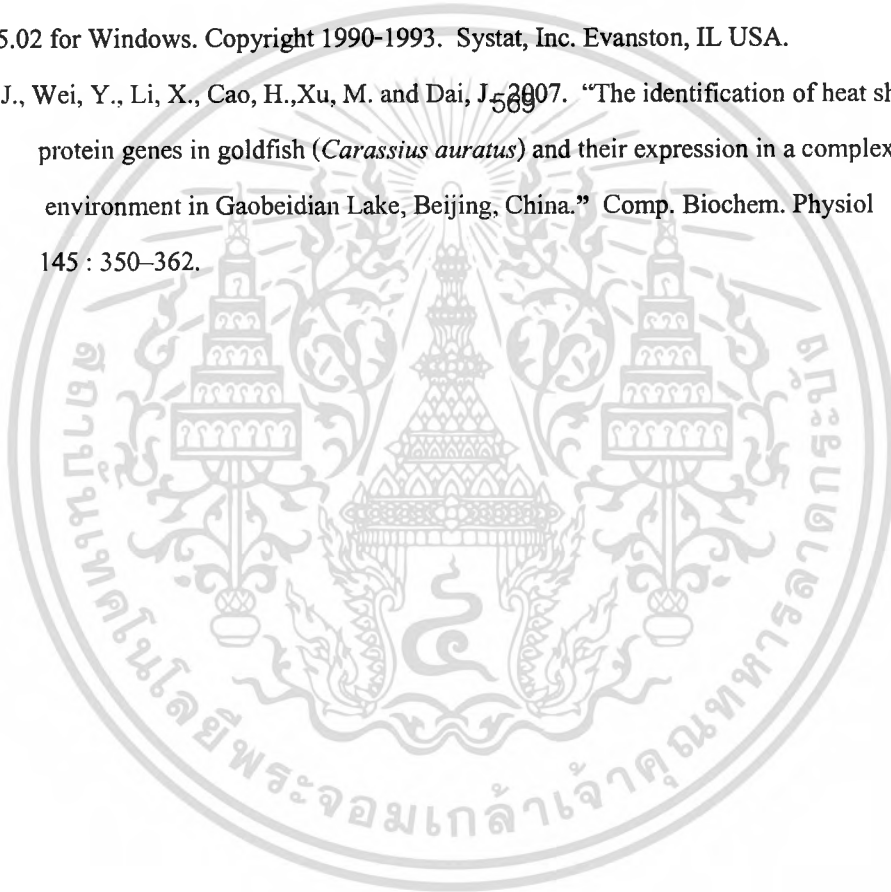
จากผลการทดลองเลี้ยงปลานิลที่มีความหนาแน่น 40 และ 80 ตัวต่อระบบ VICS ถึงแม้พบว่าอัตราการเติบโตของการเลี้ยงปลานิลทั้งสองหนาแน่นมีความแตกต่างกัน แต่ในทางตรงข้ามกับการตอบสนองของโปรตีนความเครียดไม่พบความแตกต่างกัน รวมถึงผลของคุณภาพน้ำทั้งออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่าความเป็นกรดค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไนไตรท์-ไนโตรเจน ไนเตรท-ไนโตรเจน ก็เช่นเดียวกัน ดังนั้นระบบ VICS สามารถเลี้ยงปลานิลขนาด 25-28 กรัม ได้ในระดับความหนาแน่นสูง คือ 80 ตัวต่อระบบ VICS หรือประมาณ 580 ตัวต่อตารางเมตร และสามารถเลี้ยงได้นานกว่า 10 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามควรมีการเพิ่มความหนาแน่นให้มากขึ้นเพื่อศึกษาถึงการแสดงออกของยีนความเครียดอันเป็นผลจากความหนาแน่นของการเลี้ยงปลานิลในระบบ VICS ดังกล่าว



เอกสารอ้างอิง

- กาญจนา คิ้วงปันทา. 2547. การตรวจสอบการตอบสนองต่อความเครียดในกึ่งฤดูดำโดยใช้การตรวจวัด heat shock proteins และระดับน้ำตาลในเลือด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ ดุสิต เอื้ออำนวย ปวีณา ทวีกิจการ และชลลดา มือนันต์. 2551. การศึกษาวิธีการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กในปลาอุกบึกอุย. การประชุมวิชาการประมง ครั้งที่ 3 “เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ” 8-9 พฤศจิกายน มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และดุสิต เอื้ออำนวย. 2552. การใช้ระบบพีชเทคฟาร์มบันทึกข้อมูลแบบรายตัวในปลานิล [*Oreochromis niloticus*, Linn.]. ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 วันที่ 17-20 มีนาคม 2552.
- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ ดุสิต เอื้ออำนวย ปวีณา ทวีกิจการ และสรัญญา พันธุ์พฤษ. 2551. การใช้เทคโนโลยี RFID ในสัตว์น้ำ. ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ และคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. ฝ่ายสื่อสิ่งพิมพ์และมัลติมีเดีย สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และอภิรักษ์ รัตนานนท์. 2552. สวิตช์ปลาอัจฉริยะ. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- Airaksinen, S., Rabergh, S., Sistonen, C.M. and Nikinmaa, M. 1998. “Effects of heat shock and hypoxia on protein synthesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cells.” J. Exp. Biol. 201 : 2543–2551.
- Basu, N. , Todgham, A.E., Ackerman, P.A., Bibeau, M.R., Nakan,o K., Schulte, P.M. and Iwamaa, G. K. 2002. “Heat shock protein genes and their functional significance in Fish.” Gene. 295 : 173–183.
- Bridges, R. 2005. “Federation of British Aquatic Societies.” [Online]. Available : <http://www.fbas.co.uk/STRESS.html>. 13/1/2010.
- Fairfield, D. A. 2004. “Heat shock transcription factor1 (HSF1) and the stress response in the auditory system.” Ph.D. Thesis, Michigan University. Michigan.
- Gornati, R. , Papis, E. , Rimoldi, S. , Terova, G. , Saroglia, M. and Bernardini, G. 2004. “Rearing density influences the expression of stress-related genes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.)” Gene. 34 : 111 –118.

- Iwana, J.K. , Mathilakath, M. V. ,Rob, B. F. and Paige, A. A. 1999. "Heat Shock Proteins and Physiological Stress in Fish." AMER. ZOOL. 39 : 901-909.
- Lim, E.H., Brenner, S. 1999. "Short-range linkage relationships, genomic organization and sequence comparisons of a cluster of five hsp70 genes in *Fugu rubripes*." Cell. Mol.Life Sci. 55 : 668–678.
- Lele Z., Engel S. and Krone P.H. 1997. "Hsp47 and hsp70 gene expression is differentially regulated in a stress- and tissue-specific manner in zebrafish embryos." Dev. Genet. 21 : 123–133.
- Systat 5.02 for Windows. Copyright 1990-1993. Systat, Inc. Evanston, IL USA.
- Wang, J., Wei, Y., Li, X., Cao, H., Xu, M. and Dai, J. 2007. "The identification of heat shock protein genes in goldfish (*Carassius auratus*) and their expression in a complex environment in Gaobeidian Lake, Beijing, China." Comp. Biochem. Physiol 145 : 350–362.



ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงน้ำหนักเฉลี่ยของปลา (กรัม) ของการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นสูง (ค่าเฉลี่ย \pm ค่ามาตรฐาน)

สัปดาห์	น้ำหนักเฉลี่ยของปลา(กรัม)	
	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นต่ำ	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นสูง
เริ่มต้น	27.83 \pm 3.78	24.80 \pm 4.16
2	39.39 \pm 3.66	33.31 \pm 5.94
4	53.36 \pm 8.09	42.08 \pm 7.64
6	66.58 \pm 13.16	47.08 \pm 10.66
8	85.17 \pm 18.93	53.04 \pm 12.66
10	86.56 \pm 22.57	57.38 \pm 13.37

ตารางภาคผนวกที่ 2 ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด (mg/l) ของการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นสูง (ค่าเฉลี่ย \pm ค่ามาตรฐาน)

สัปดาห์	ปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด	
	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นต่ำ	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นสูง
เริ่มต้น	0.00	0.00
2	0.08 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01
4	0.40 \pm 0.03	0.048 \pm 0.20
6	0.25 \pm 0.02	0.22 \pm 0.08
8	0.15 \pm 0.13	0.11 \pm 0.01
10	0.03 \pm 0.03	0.09 \pm 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 3 ปริมาณไนโตรเจน-ไนโตรเจนเฉลี่ย (mg/l) ของการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและ การเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นสูง (ค่าเฉลี่ย \pm ค่ามาตรฐาน)

สัปดาห์	ปริมาณไนโตรเจน-ไนโตรเจน	
	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นต่ำ	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นสูง
เริ่มต้น	0.25 \pm 0.15	0.83 \pm 0.06
2	6.85 \pm 0.41	5.70 \pm 0.47
4	6.76 \pm 0.37	6.12 \pm 0.33
6	5.53 \pm 0.15	7.61 \pm 1.23
8	5.09 \pm 0.05	2.64 \pm 0.27
10	0.88 \pm 0.28	1.79 \pm 0.46

ตารางภาคผนวกที่ 4 ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจนเฉลี่ย (mg/l) ของการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำและ การเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นสูง (ค่าเฉลี่ย \pm ค่ามาตรฐาน)

สัปดาห์	ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน	
	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นต่ำ	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นสูง
เริ่มต้น	1.72 \pm 1.05	0.60 \pm 0.41
2	8.62 \pm 2.91	8.07 \pm 1.32
4	11.56 \pm 3.20	6.13 \pm 1.79
6	12.58 \pm 2.81	4.21 \pm 0.57
8	18.86 \pm 5.78	6.88 \pm 3.99
10	15.80 \pm 0.61	10.50 \pm 0.38

ตารางภาคผนวกที่ 5 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเจลีย์ (mg/l) ของการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำ และการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นสูง (ค่าเฉลี่ย \pm ค่ามาตรฐาน)

สัปดาห์	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved oxygen)	
	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นต่ำ	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นสูง
เริ่มต้น	6.96 \pm 0.91	7.46 \pm 0.13
2	3.01 \pm 0.13	2.00 \pm 0.00
4	2.55 \pm 0.07	1.40 \pm 0.14
6	2.44 \pm 0.02	1.59 \pm 0.01
8	5.03 \pm 0.74	4.24 \pm 0.34
10	4.33 \pm 1.31	4.14 \pm 1.25

ตารางภาคผนวกที่ 6 ปริมาณค่าความเป็นกรดเป็นด่างเจลีย์ (pH) ของการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่ำ และการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นสูง (ค่าเฉลี่ย \pm ค่ามาตรฐาน)

สัปดาห์	ค่าความเป็นกรด -ด่าง (pH)	
	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นต่ำ	เลี้ยงปลานิลหนาแน่นสูง
เริ่มต้น	7.77 \pm 0.12	7.65 \pm 0.14
2	6.57 \pm 0.11	6.50 \pm 0.04
4	6.79 \pm 0.02	6.60 \pm 0.00
6	6.72 \pm 0.06	6.82 \pm 0.01
8	6.79 \pm 0.02	6.66 \pm 0.05
10	6.72 \pm 0.06	6.82 \pm 0.01