ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าฯ

23117

ปัญหาพิเศษ

T099370

เรื่อง

ผลของ Dexamethasone และ 2-Phenoxythanol ต่อปริมาณคลอไรด์ไอออนในเลือดของปลานิล

Effect of Dexamethasone and 2-Phenoxyethanol on Blood Chloride Ion in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

โดย

นาย อานนท์ เหล่าฉัตรนารายณ์

วพ.
อ623ผ
2549

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

.b.....
.i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลของ Dexamethasone และ 2-Phenoxythanol ต่อปริมาณคลอไรด์ไอออน ในเลือดของปลานิล

Effect of Dexamethasone and 2-Phenoxyethanol on Blood Chloride Ion in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

ชื่อนักศึกษา นายอานนท์ เหล่าฉัตรนารายณ์

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร. ปวีณา ทวีกิจการ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา .....

(ดร. ปวีณา ทวีกิจการ)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ ศักดิ์ชัย ชูโชติ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 21 **เดือน** พ.ค. **พ.ศ.** 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของ Dexamethasone และ 2-Phenoxythanol ต่อปริมาณคลอไรด์ไอออนในเลือดของปลานิล

Effect of Dexamethasone and 2-Phenoxyethanol on Blood Chloride Ion in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

จากการศึกษาผลของ Dexamethasone และ 2-phenoxyethanol ที่มีต่อระดับของคลอไรด์ไอออน (Cl^-) ในเลือดของปลานิล ขนาด 330± 20.38 กรัม และอัตราการรอดตาย หลังจากได้รับความเครียดจากการกักขังอย่างหนาแน่น โดยวิเคราะห์ระดับของคลอไรด์ในเลือดด้วยวิธีของ Whitehorn (1920) พบว่าหลังจากทำให้ปลาเครียดโดยการกักขังอย่างหนาแน่นเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปริมาณคลอไรด์เฉลี่ยในปลาภาวะปกติ (Normal) , กลุ่มควบคุม (Control) , กลุ่มที่ได้รับ Dexamethasone (DEX) และ กลุ่มที่ใช้ 2- Phenoxyethanol (2-PHE) มีค่า 1.81±0.12 , 0.70±0.03 , 1.16±0.04 และ 0.98±0.05 มิลลิกรัมต่อเลือด 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มปลาปกติกับกลุ่มทดลองพบว่าทั้ง 3 กลุ่มมีปริมาณคลอไรด์เฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มภาวะปกติอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ และจากการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม พบว่ากลุ่มควบคุมจะมีค่าแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ Dexamethasone และ กลุ่มที่ใช้ 2- Phenoxyethanol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่กลุ่มที่ได้รับ Dexamethasone และ กลุ่มที่ใช้ 2- Phenoxyethanol จะมีค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ หลังจากการทดลองเลี้ยงปลาต่อเป็นเวลา 2 สัปดาห์พบว่าทุกกลุ่มการทดลองมีอัตรารอด 100 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้จะไม่สามารถสำเร็จไปได้ด้วยดีถ้าไม่ได้ความช่วยเหลือจาก อาจารย์ปวีณา ทวีกิจการ ซึ่งให้คำแนะนำ ชี้แนะแนวทางและเป็นที่ปรึกษาให้ตลอดการทดลอง รวมทั้งการตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องและปัญหาต่างๆ ในการทำปัญหาพิเศษ จึงขอขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ และการสั่งสอนมาตลอดมา จนข้าพเจ้าประสบความสำเร็จ และขอขอบคุณ นางสาวบุปพา จงพัฒน์ เป็นอย่างมากในการให้คำแนะนำช่วยเหลือ และวิธีการต่างๆในการทดลองครั้งนี้ ซึ่งทำให้การทดลองครั้งนี้ประสบผลสำเร็จ ขอขอบคุณ นายนภพล เผ่ามนัส ในความช่วยเหลือทางด้านอุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ ขอขอบคุณ นายนิพนธ์ จิตตำนาน ที่ช่วยจัดหาปลาในการทดลองครั้งนี้ และขอบคุณนายสมเกียรติ ใบตานี ในการให้ความช่วยเหลือตลอดการทดลอง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และเพื่อนๆทุกคนในภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง ในความช่วยเหลือและให้กำลังใจ และสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนและกำลังใจเสมอมา

นายอานนท์ เหล่าฉัตรนารายณ์

พฤษภาคม 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการทดลองและวิจารณ์	13
สรุปและข้อเสนอแนะ	16
เอกสารอ้างอิง	17
ภาคผนวก	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคอร์ติซอลและคลอไรด์ในเลือดปลา walleyes ในสภาวะต่างๆ	4
2	ปริมาณคลอไรด์ (มิลลิกรัม ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร) ของแต่ละกลุ่มทดลอง	14

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ปริมาตร KCNS ที่ใช้ในการไตเตรทหาปริมาณคลอไรด์ในเลือดปลาของแต่ละกลุ่มทดลอง	20
2	ปริมาตรคลอไรด์มิลลิกรัมต่อเลือด 1 มิลลิลิตร ของแต่ละกลุ่มทดลองหลังถูกทำให้เครียดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างทางเคมีของคอร์ติซอล	3
2	ค่าเฉลี่ยของปริมาณคอร์ติซอลในเลือด(ng/mL) ของปลา walleyes ในการทดลองที่สภาวะและสถานที่ต่างกัน	4
3	ค่าเฉลี่ยของระดับคลอไรด์ในเลือด(mEq/L)ของปลา walleyes ในการทดลองที่สภาวะและสถานที่ต่างกัน	5
4	กลไกการทำงานของคอร์ติซอล	5
5	สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Dexamethasone	10
6	ปริมาตรคลอไรด์ (มิลลิกรัม ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร) ของแต่ละกลุ่มทดลอง	14
7	ปริมาตรคลอไรด์เฉลี่ย (มิลลิกรัม ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร) ของแต่ละกลุ่มทดลอง	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการขยายตัวของตลาดปลาสวยงามอย่างต่อเนื่อง การขนส่งจึงเข้ามามีบทบาทมากขึ้น ซึ่งปลาสวยงามจำเป็นต้องมีการดูแลเอาใจใส่เพื่อให้มีคุณภาพและลักษณะที่ดี แต่การขนส่งปลาสวยงามนั้นยังมีปัญหาในการรักษาคุณภาพของปลาหลังจากการขนส่ง เพราะการขนส่งอาจจะทำให้ปลาบอบช้ำและเกิดความเครียดได้จึงมีการพัฒนาวิธีการขนส่งที่ลดความเครียดขณะขนส่ง เช่น การใช้ยาสลบการใช้ยาสลบและสารเคมีบางชนิด ซึ่ง ยาสลบที่ใช้ในการขนส่งปลาสวยงามที่นิยมใช้กันมีหลายชนิด เช่น 2-phenoxyethanol , Quinaldine sulphate , Benzocaine เป็นต้น และเนื่องจาก 2-phenoxyethanol เป็นยาสลบที่มีราคาค่อนข้างถูกจึงนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ ซึ่งปริมาณที่ใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของสัตว์น้ำ โดยจะใช้ความเข้มข้นที่ทำให้ปลาสลบในระยะ sedation เพื่อลดกิจกรรมของปลาระหว่างการขนส่ง ช่วยในการรักษาคุณภาพน้ำและไม่ให้ปลาเกิดอาการตื่นกลัว นอกจากนี้ยังได้มีการนำฮอร์โมนสังเคราะห์ Dexamethasone มาใช้ในการขนส่งปลาสวยงามเพื่อช่วยลดความเครียดที่เกิดขึ้นระหว่างการขนส่ง

Dexamethasone เป็นที่รู้จักกันว่าเป็นสารกดภูมิคุ้มกัน มีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในคนและสัตว์ เป็นส่วนผสมในยาที่เกี่ยวกับฮอร์โมนต่อมไร้ท่อระบบสืบพันธุ์ และยาที่เกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันสามารถใช้ทั้งการผสมในอาหาร การฉีดเข้าร่างกาย หรือการแช่ในกรณีเป็นสัตว์น้ำ ในสัตว์น้ำโดยทั่วไปจะใช้การแช่และฉีดเข้าร่างกาย ซึ่งจะฉีดเข้าส่วนบริเวณเนื้อเยื่อช่องท้องปลา ในต่างประเทศได้มีการนำ Dexamethasone มาใช้กับปลาในการขนส่งหรือหลังการกระทบกระเทือนเพื่อระงับความเครียดและการตกใจของปลาที่เกิดจากการขนส่ง ซึ่งจะทำให้ปลาตายหรือมีคุณภาพแย่ลง โดยอาจมีการใช้ร่วมกับยาสลบเพื่อทำให้ปลาทำกิจกรรมน้อยลง ลดการสูญเสียไอออนในร่างกาย เนื่องจากเมื่อปลาเกิดความเครียดจะทำให้เกิดการสูญเสียไอออนในร่างกายออกมาสู่ภายนอก ทำให้สมดุลของไอออนในร่างกายเสียไปซึ่งไอออนที่สำคัญคือโซเดียม (Na^+)และคลอไรด์ (Cl^-) ที่มีหน้าที่หลักในการควบคุมสมดุลน้ำในร่างกายผ่านทางเหงือก ในปลาน้ำจืดนั้นหากมีการสูญเสียไอออนทั้งสองชนิด อาจเป็นสาเหตุของการตายได้ เพราะปลาจะไม่สามารถควบคุมสมดุลในร่างกายได้ ปัจจุบันในประเทศไทยได้มีการนำ Dexamethasone มาใช้เพื่อลดการตกใจหรือช็อคจากการขนส่งในปลาสวยงามที่มีราคาแพง แต่การใช้สารนี้ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย เนื่องจากขาดข้อมูลในประสิทธิภาพของสารชนิดนี้อย่างชัดเจน ในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาประสิทธิภาพของ Dexamethasone และ 2-Phenoxyethanol ในการลดความเครียดของปลาโดยจะตรวจวัดจากปริมาณคลอไรด์ (Cl^-) ไอออนในเลือด ซึ่งข้อมูลที่ได้ น่าจะเป็นประโยชน์เพื่อใช้ในการจัดการเรื่องการขนส่งปลามีชีวิตขนาดใหญ่ที่มีราคาแพง ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของ Dexamethasone และ 2-phenoxyethanol ที่มีต่อระดับของคลอไรด์ไอออน (Cl^-) ในเลือดของปลาและอัตราการรอดตายหลังการทดลอง

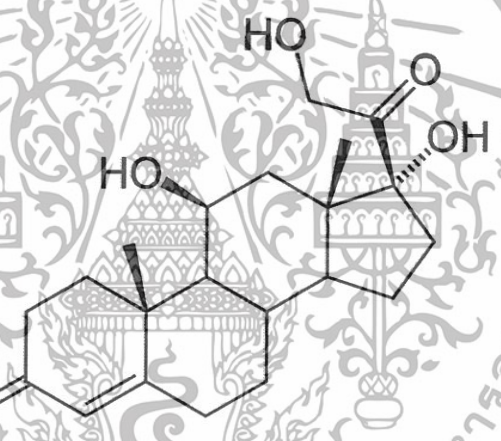
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับการใช้ Dexamethasone และ 2-phenoxyethanol ในปลา
2. เพื่อนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการขนส่งปลาสวยงามให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ความเครียดเป็นอาการที่ปรากฏในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด โดยมีสาเหตุจากกระทำจากภายนอกส่งผลกระทบต่อจิตใจหรือระบบการทำงานภายในร่างกาย แต่ร่างกายจะมีการปรับตัวโดยการหลั่งฮอร์โมนประเภท corticosteroid เพื่อควบคุมการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ ในสภาวะที่เกิดความเครียดหากเวลาไม่นานก็จะไม่มีผลเสียมากนักเนื่องจากการปรับตัวของร่างกาย แต่ในรายที่มีอาการเรื้อรัง จะทำให้ฮอร์โมนที่เกี่ยวกับความเครียดคือ คอร์ติซอล (ภาพที่ 1)เพิ่มสูงขึ้น และจะมีผลต่อขบวนการต่างๆของร่างกาย เช่น อัตราการเต้นของหัวใจ ความดันเลือด และระบบทางเดินอาหาร เพื่อปรับร่ายกายต่อสภาวะนั้นซึ่งเมื่อเกิดขึ้นอย่างเฉียบพลันหรือนานๆส่วนใหญ่แล้วจะเกิดผลเสียมากกว่าผลดี เพราะถ้ามีระดับสูงมากจะยับยั้งกระบวนการระบบสืบพันธุ์ ภูมิคุ้มกัน การเจริญเติบโต การสูญเสียกล้ามเนื้อ การทำงานของระบบทางเดินอาหารผิดปกติ และอาจส่งผลต่อการทำงานของสมองได้ (Iwama et al.,2004)



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของคอร์ติซอล
ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/cortisol (April, 2007)

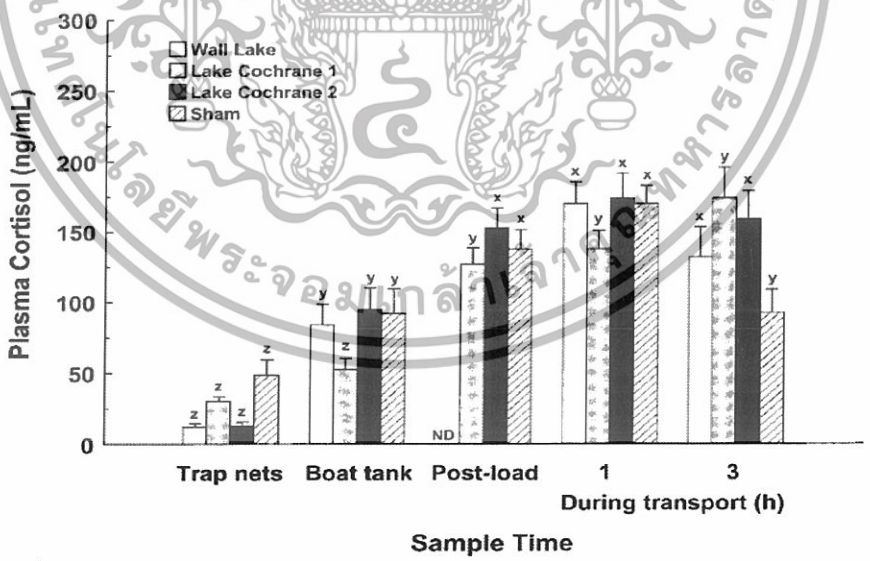
ความเครียดยังมีผลต่อการควบคุมสมดุลในร่างกายโดยไอออนที่สำคัญคือโซเดียม (Na^+)และคลอไรด์ (Cl^-) ที่มีหน้าที่หลักในการควบคุมสมดุลน้ำในร่างกายผ่านทางเหงือกในปลาน้ำจืดนั้นหากมีการสูญเสียไอออนทั้งสองชนิด อาจเป็นสาเหตุของการตายได้ เพราะปลาจะไม่สามารถควบคุมสมดุลในร่างกายได้ (McDonald and Milligan 1997) ได้มีการทดลองของ Barton and Haukene (2003) ในการวิเคราะห์ คอร์ติซอลและคลอไรด์ในเลือดของปลาในสภาวะต่างๆ พบว่า ปลาที่เกิดความเครียดจากการถูกดักจับและปลาที่ถูกขนส่ง จะมีระดับของคอร์ติซอลในเลือดเพิ่มขึ้นและมีระดับของคลอไรด์ในเลือดลดลง(ตารางที่ 1, ภาพที่ 3 และ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคอร์ติซอลและคลอไรด์ในเลือดปลา walleyes ในสภาวะต่างๆ

Location and sample	Plasma cortisol (ng/mL)	Plasma chloride(meq/L)
South Dakota		
Resting	2.13	93.7
Trap net	22.2 z	82.2 z
Boat tank	74 y	74.1 y
1 h Transport	156 x	66.6 x
3 h Transport	131 w	57.8 w
Minnesota		
Before loading	18.2 z	95.2 z
After loading	148 y	88.7 z
1 h post-Transport	184 x	77.6 y
3 h post-Transport	186 x	68.3 x
24 h post-Transport	29.1 z	74.3 y

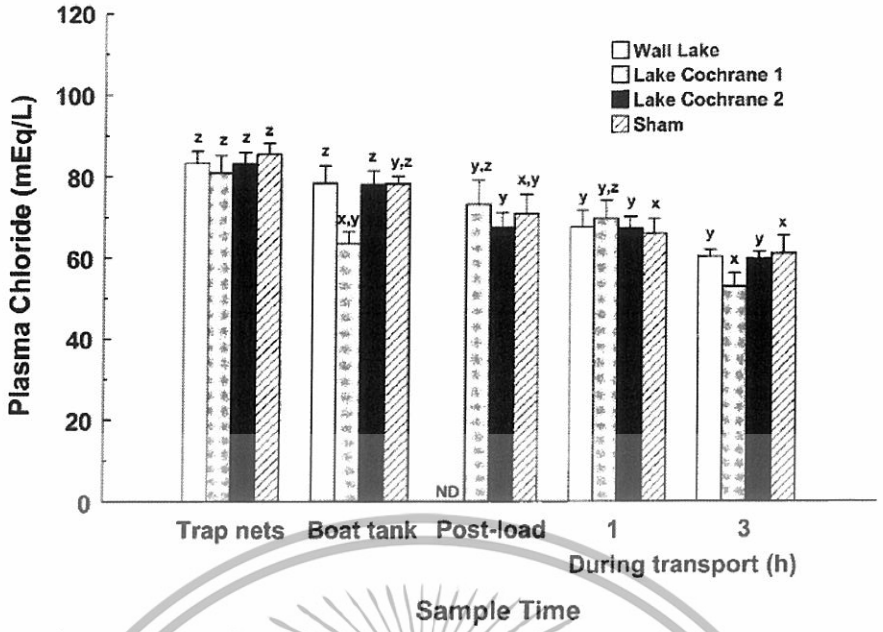
ที่มา : Bruce and Haukene (2003)



ภาพที่ 2 ค่าเฉลี่ยของปริมาณคอร์ติซอลในเลือด(ng/mL) ของปลา walleyes ในการทดลองที่สภาวะและสถานที่ต่างกัน

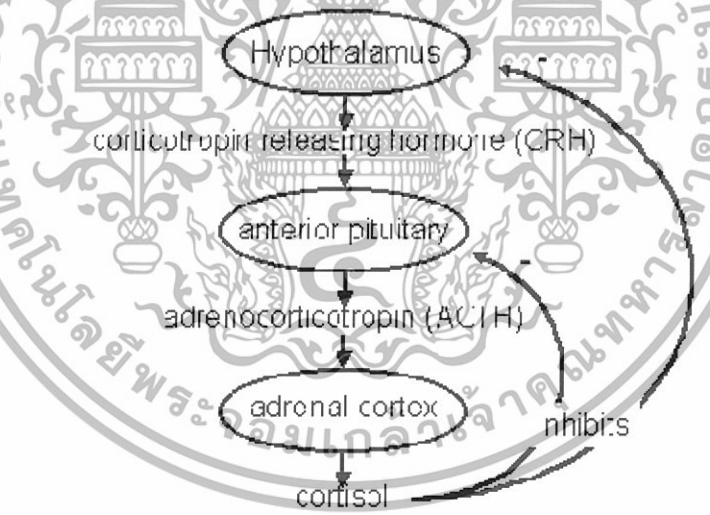
ที่มา : Bruce and Haukene (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ค่าเฉลี่ยของปริมาณคลอไรด์ในเลือด(mEq/L)ของปลา walleyes ในการทดลองที่สภาวะและสถานที่ต่างกัน

ที่มา : Bruce and Haukene (2003)



ภาพที่ 4 กลไกการทำงานของคอร์ติซอล

ที่มา : http://faculty.clintoncc.suny.edu/endocrin.htm (April, 2007)

คอร์คิซอล (cortisol)

เป็นฮอร์โมนที่หลั่งจากต่อมไร้ท่อ ที่ถูกกระตุ้นจากต่อมใต้สมอง โดยเมื่อเกิดความเครียดร่างกายจะหลั่งฮอร์โมน adrenaline ทำให้หัวใจเต้นเร็วขึ้น แรงดันเลือดเพิ่มสูงขึ้น อัตราไหลของเลือดเร็วขึ้น ต่อมใต้สมองจะหลั่ง ฮอร์โมนไปกระตุ้นยังต่อมไร้ท่อให้สร้างคอร์ติซอล เพื่อให้ไปควบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำงานของระบบต่างๆในร่างกายให้เป็นปกติ ซึ่งหากเป็นระยะสั้น จะไม่มีผลต่อร่างกายมากนัก แต่ในระยะยาวคอร์ติซอลจะส่งผลกระทบต่างๆต่อร่างกายเช่น ลดภูมิต้านทาน ส่งผลต่อระบบสืบพันธุ์ และการควบคุมสมดุลในร่างกาย ฯลฯ

สาเหตุของความเครียด

ความเครียดในปลาเกิดได้จากหลายสาเหตุโดยทั่วไปคือ แอมโมเนียในน้ำเพิ่มขึ้น, ไนไตรท์เพิ่มขึ้น, ออกซิเจนน้อยลง, ปลาตัวอื่นทำร้าย, เลี้ยงปลาหนาแน่นเกินไป สาเหตุเหล่านี้เกิดจากสภาพแวดล้อมในที่เลี้ยง และยังมีสาเหตุที่เกิดจากมนุษย์คือ การจับปลา การย้ายตู้ การขนส่ง การใส่ยารักษา ทุกสาเหตุจะทำให้ปลาเกิดความเครียดขึ้นอยู่ว่าจะเป็นแบบเรื้อรังหรือรุนแรงเฉียบพลัน Svobodova et al. (1990) ได้ทำการทดลองแสดงว่าการขนส่งสามารถก่อให้เกิดความเครียดแก่ปลาได้ โดยวัดความเครียดจากระดับความเข้มข้นของ คอร์ติซอล ซึ่งหลังจากขนส่งปลาโดยบรรจุในถุงพลาสติกเป็นเวลา 10 ชั่วโมง พบว่าตัวอย่างเลือดที่วิเคราะห์ได้มีความเข้มข้นของ คอร์ติซอล ลดลงและมีความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มขึ้นซึ่งแสดงว่าการขนส่งก่อให้เกิดความเครียดแก่ปลาได้และจากการทดลองเดียวกันพบว่าการจับปลาสามารถก่อให้เกิดความเครียดได้เช่นเดียวกัน สาเหตุที่ทำให้เกิดความเครียดจากการขนส่งในปลาได้แก่ (McGee and Cichra,1997)

1. การเสียดสีของปลาที่เกิดระหว่างการจับหรือการขนส่ง เมือกปลาที่หลุดไปจากการเสียดสีนี้จะทำให้ปลาติดเชื้อได้ง่ายขึ้น ถ้าหากมีเกล็ดปลาหลุดไปจะเป็นการเพิ่มการติดเชื้อโรค

2. การขนส่งปลาด้วยความหนาแน่นสูง ซึ่งปริมาณออกซิเจนจะลดลงอย่างรวดเร็วขณะที่แอมโมเนียและคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มมากขึ้นซึ่งจะเป็นอันตรายต่อปลาได้และการที่ปลาขาดออกซิเจนมักทำให้ปลาเครียดและเกิดโรคตามมา

3. การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง หากมีการเปลี่ยนแปลงกะทันหันก็จะเป็นอันตรายต่อปลาได้โดยเฉพาะลูกปลา ปลาสามารถทนการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างได้ไม่เกิน 2 โดยจะอยู่ที่ช่วงประมาณ 6-9

4. การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำ ไม่ควรให้น้ำที่มีอุณหภูมิแตกต่างจากน้ำที่ปลาอาศัยอยู่มากนักควรค่อยๆผสมน้ำใหม่ลงไปเพื่อให้ปลาปรับตัว

5. สภาพอากาศระหว่างขนส่ง ไม่ควรย้ายปลาในเวลากลางวันโดยเฉพาะใช้ภาชนะขนาดเล็กเพราะอุณหภูมิน้ำจะเปลี่ยนแปลงได้ง่าย ควรจะย้ายหรือจับปลาในช่วงที่อากาศค่อนข้างเย็น

ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้จะทำให้สัตว์น้ำ เกิดความเครียดขณะขนส่งและเกิดการเปลี่ยนแปลงมากเช่น ค่าฮีมาโตคริทในเลือดเพิ่มขึ้นจากการบีบตัวของม้าม และเสียสมดุลของแรงดัน osmotic ทำให้ในปลาน้ำจืดจะเสียคลอไรด์ไอออน (Cl^-)และโซเดียมไอออน (Na^+)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะที่บ่งชี้ว่าปลาเกิดความเครียด

1. ปลาว่ายอยู่บริเวณผิวน้ำหรืออยู่ใกล้กับเครื่องให้อากาศเป็นตัวแสดงให้เห็นว่าออกซิเจนในน้ำไม่เพียงพอคุณภาพน้ำไม่เหมาะสม
2. ปลาไม่ยอมกินอาหาร
3. ปลาหลบซ่อนตัวอยู่ตลอดเวลา ไม่ออกมาให้เห็น อาจเกิดจากการถูกรุกราน จากปลาตัวอื่น
4. ปลาเกิดอาการตื่นกลัวอยู่ตลอดเวลา
5. ปลามีการติดเชื้อจาก ปรสิต เชื้อรา หรืออื่นๆ

ผลของความเครียดในปลา

ในกรณีที่เกิดความเครียดเพียงช่วงเวลาสั้นๆจะส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของอัตราเต้นของหัวใจ, ความดันเลือด, อัตราการหายใจ ปลาจะสามารถปรับตัวให้ร่างกายกลับเข้าสู่สภาวะปกติได้ ความเครียดจะทำให้ร่างกายปลาหลั่งฮอร์โมน คอร์ติซอล ที่ซึ่งจะมีผลเสียต่อร่างกายหลายด้านเช่น การเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และในรายที่เรื้อรังจะทำให้ภูมิต้านทานลดต่ำลง ติดเชื้อได้ง่ายจากพวก ปรสิต, แบคทีเรีย, และเชื้อรา ซึ่งจะทำให้ปลาอ่อนแอและตายลง ในส่วนของปลาน้ำจืดจะมีผลทำให้ระดับของคลอไรด์ไอออนในร่างกายลดลงซึ่งจะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ปลาขาดสมดุลของไอออนในร่างกายและตายได้ (McDonald and Milligan 1997)

ความเครียดที่เกิดขึ้นในปลาเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนคอร์ติซอลโดยตรง ภาวะความเครียดที่เกิดขึ้นมีผลโดยตรงต่อการรอดตาย ระบบภูมิคุ้มกัน การเจริญเติบโต การรักษาสมดุลเกลือแร่ในปลา ตลอดจนการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ โดยคอร์ติซอลจะมีผลต่อการเพิ่มระดับกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด เพื่อสลายเป็นพลังงานในการลดภาวะเครียด และมีผลต่อเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรท และจะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ Gluconeogenesis ที่จะเปลี่ยนโปรตีนให้เป็นกลูโคสที่ตับ และยังมีผลต่อการลด การสังเคราะโปรตีนในเนื้อเยื่อต่างๆ รวมทั้งยังเพิ่มการสลายโปรตีน เพื่อนำไปสลายเป็นพลังงาน นอกจากนี้คอร์ติซอล ยังมีผลต่อเมตาบอลิซึมของไขมัน โดยไปลดการสังเคราะห์ไขมันจากคาร์โบไฮเดรท และทำให้มีการสลายเอากรดไขมันอิสระออกจากกล้ามเนื้อทำให้มีกรดไขมันอิสระในเลือดเพิ่มสูงขึ้นและถูกนำไปใช้เป็นพลังงานแทนกลูโคส ซึ่งจะช่วยในการสลายกรดไขมันมาใช้เป็นพลังงานฉุกเฉินการหลั่งของคอร์ติซอล อาศัยการควบคุมจากระบบประสาท โดยที่ภาวะเครียดต่างๆ มีผลต่อศูนย์ประสาทในสมอง กระตุ้นให้หลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล และจะส่งผลให้เกิดเมตาบอลิซึมภายในร่างกายเพื่อลดความเครียด โดยวิชัยและคณะ (2539) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนคอร์ติซอลและองค์ประกอบไอออน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในพลาสมาระหว่างการขนส่งปลาพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งการขนส่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดความเครียด พบว่าการเปลี่ยนแปลงของคอร์ติซอลและกลูโคสในพลาสมามีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 15 – 90 นาที การขนส่งทำให้เกิดภาวะเครียดและเกิดขบวนการ glycogenlysis โดยไปสลาย glycogen ในตับมาเป็นกลูโคส เพื่อสลายมาเป็นพลังงานในการลดความเครียดที่เกิดขึ้นและพบว่าการลดลงของคอร์ติซอลและกลูโคสสู่ภาวะปกติจะใช้เวลา 1 – 2 วัน

การกำจัดความเครียด

การจะช่วยรักษาปลาจากความเครียดขั้นแรกต้องเข้าใจถึงสาเหตุของความเครียดของปลาว่าเกิดจากอะไร หากเกิดจากสภาพแวดล้อมในตู้เช่นเรื่องคุณภาพน้ำให้เปลี่ยนถ่ายน้ำ และให้อาหารที่สดสะอาด เพื่อรักษาคุณภาพน้ำ และดูแลสุขภาพปลาให้ดี นอกจากนี้ยังมีการใช้ยาในการระงับการหลั่งฮอร์โมนกลุ่มคอร์ติซอล เพื่อลดอาการเครียดเรื้อรัง โดยยาที่มีการใช้ในปัจจุบันตัวอย่างเช่น Dexamethasone, Prednisone และ Hydrocortisone สำหรับในระหว่างการขนส่งปลานิยมเติมสารเพื่อลดความเครียดแก่ปลา สารที่นิยมเติมลงไปในน้ำแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

1.ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) เพื่อลดอัตราการเสี่ยงในการเกิดโรค และเพื่อป้องกันการพัฒนาของแบคทีเรียขณะขนส่ง การใช้ยาปฏิชีวนะนี้เป็นวิธีที่ต้องมีการควบคุมในการใช้เป็นพิเศษเพื่อป้องกันการดื้อยา

2. สารที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพน้ำ(water quality stabilizer) เพื่อให้คุณภาพน้ำคงที่ระหว่างการขนส่งเช่น สารควบคุมความเป็นกรดด่าง ,สารกำจัดแอมโมเนีย, น้ำแข็ง,เกลือแกง

3. ยากล่อมประสาท (sedatives) หรือยาสลบ ทำให้ปลาอยู่ในระยะ sedation หรือสลบอ่อนๆเพื่อลดการทำกิจรรมของปลา ทำให้ปลามีอัตราเมตาบิลิซึมลดลงยาสลบที่นิยมใช้ได้แก่ 2-phenoxyethanol, benzocaine และ chloroform

การใช้ 2-phenoxyethanol เป็นยาสลบในปลา

2-phenoxyethanol นิยมใช้ เป็นยาสลบในปลาทั้งในปลาน้ำจืดและน้ำเค็มเนื่องจากเมื่อผสมกับน้ำเค็มแล้วไม่ทำให้ค่าความเป็นกรดด่างเปลี่ยนแปลงไปเหมือนยาสลบชนิดอื่น เช่น benzocaine การใช้ 2-phenoxyethanol เพื่อเป็นยาสลบในปลานั้นจะต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสมซึ่งโดยทั่วไปแล้วจะให้ปลาสลบอยู่ในระยะ sedation เท่านั้น อาการสลบของปลาจะแตกต่างไปตามอายุ, ชนิด, สภาพของปลา และปัจจัยสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของ 2-phenoxyehanol

1. ปลามีการสลบเร็ว
2. มีระยะฟื้นตัวเร็ว
3. ทำให้มีปลาตายในระหว่างการสลบและหลังการสลบน้อยมาก
4. สะดวกในการใช้เนื่องจากสามารถละลายในน้ำได้
5. มีราคาที่ค่อนข้างถูก

ข้อเสียของ 2-phenoxyethanol

1. ทำให้เนื้อเยื่อที่บอบบางเกิดการระคายเคืองได้
2. การทำให้สลบต้องใช้ความเข้มข้นสูง
3. ความเข้มข้นที่ปลอดภัยที่ใช้ในการสลบมีขอบเขตในช่วงแคบ

ระยะการสลบ

Ross(1979) ได้แบ่งระยะการสลบในปลาออกเป็น 4 ระยะได้แก่

ระยะที่ 1 sedation ว่ายน้ำเชื่องช้า หายใจช้าลง สูญเสียการตอบสนองจากการกระตุ้นภายนอกบางส่วน

ระยะที่ 2 Loss of equilibrium ว่ายน้ำเสียการทรงตัว ไม่เป็นธรรมชาติ ในที่สุดจะหยุดการว่ายน้ำ แต่ปลายังคงตอบสนองต่อการกระตุ้น

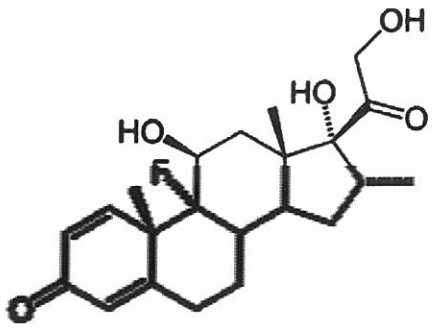
ระยะที่ 3 Anesthesia ไม่ว่ายน้ำ ไม่มีการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นจากภายนอก

ระยะที่ 4 Medullary collapse หยุดหายใจ ตาย

Dexamethasone

Dexamethasone เป็นฮอร์โมนสังเคราะห์ ที่อยู่ในกลุ่มของฮอร์โมน corticosteroids ซึ่งเป็นสารชนิด steroids (ภาพที่ 2) เป็นสารที่ยังไม่นิยมใช้กันมากนัก เนื่องจากการใช้ต้องมีความระมัดระวังและจะเกิดผลกระทบกับปลาได้ง่าย หากใช้ไม่ถูกต้อง ในปัจจุบันมีการใช้กันเพื่อรักษาปลาที่เกิดความเครียดอย่างรุนแรงจากการขนส่ง เพื่อลดระดับการสร้างฮอร์โมนในปลา ความเข้มข้นที่ใช้ทั่วไปคือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรแช่ 1 ชั่วโมง หรือใช้ด้วยการฉีดเข้าท้องที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักปลา (Drury, 2005) แต่การใช้ Dexamethasone ก็มีผลเสียต่อปลาหากใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Dexamethasone

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/Dexamethasone (April, 2007)

ผลเสียของ Dexamethasone จากการใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม

มีผลทำให้ปลามีการติดเชื้อปรสิตได้ง่ายขึ้น โดย Nielsen and Buchmann (2003) ได้ทำการทดลองโดยการแบ่งปลาเป็น 5 กลุ่มโดย 3 กลุ่มจะแช่ Dexamethasone ในระดับที่ต่างกันและ 1 กลุ่มจะฉีดยาเข้าช่องท้องอีก 1 กลุ่มเป็นกลุ่มควบคุม ทำให้ติดเชื้อโดยการวาง *Gyrodactylus derjavini* ที่ครีบก้น พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของปรสิตอย่างต่อเนื่องในทุกกลุ่มและสูงที่สุดเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ จากนั้นจะค่อยๆลดลง การใช้ Dexamethasone นั้นจะมีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งจากรายงานของ Walsh et al. (2002) พบว่าการใช้ Dexamethasone ในปลาจะทำให้มีการตายของเซลล์ที่ทำงานเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน และเซลล์เม็ดเลือดขาว การใช้ Dexamethasone หากใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสมจะทำให้มีผลกระทบต่างๆ ตามมาเช่น ทำให้ปลามีความไวต่อการติดเชื้อมากขึ้น (Nielsen and Buchmann, 2003), ชักนำให้เกิดการตายของเซลล์ (Walsh et al., 2002) ซึ่งจะทำให้ปลามีการลดการเจริญเติบโต อ่อนแอและติดโรคได้ง่าย ดังนั้นการใช้ Dexamethasone จึงควรใช้ในปริมาณที่เหมาะสมและดูแลปลาให้ดีหลังจากการใช้ยา เช่น การใส่ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันการติดเชื้อและให้อาหารที่สดสะอาด เพื่อให้ปลาแข็งแรง (Johnson, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ปลานิลขนาดประมาณ 300 – 400 กรัม
2. สาร Dexamethasone
3. ยาสลบ 2-phenoxyethanol
4. กระชังเลี้ยงปลาขนาดเล็กสำหรับเลี้ยงปลาต่อตัว
5. เข็มฉีดยาและหลอดฉีดยา
6. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คลอไรด์ในเลือดปลา
7. เครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์

วิธีการ

แผนการทดลอง

การทดลองนี้จะแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ใช้ยา Dexamethasone และกลุ่มที่ใช้ยาสลบ 2-phenoxyethanol กลุ่มละ 3 ตัว หลังจากให้ปลาได้รับความเครียดโดยอยู่กันอย่างหนาแน่นเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำปลามาเจาะเลือดวิเคราะห์หาปริมาณ Cl^- ในเลือดทีละตัว ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

วิธีการทดลอง

1. **การเตรียมการทดลอง**

1.1 เลี้ยงปลานิลขนาด 330± 20.38 กรัมในกระชังโดยแยกเลี้ยงกระชังละ 1 ตัวเพื่อป้องกันความเครียดในการจับปลามาทดลองที่จะส่งผลต่อปลาตัวอื่น เลี้ยงปรับสภาพให้ชินกับสถานที่ทดลองอย่างน้อย 2 สัปดาห์ และงดให้อาหารปลาก่อนการทดลอง 2 วัน

1.2 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- Silver nitrate [$AgNO_3$ (M/35.46)]
- Potassium sulfocyanate [KCNS (M/35.46)]
- Ferric ammonium sulfate [$FeNH_4(SO_4)_2$]
- Nitric acid [HNO_3 specific gravity 1.42]

2. **วิธีการทดลอง**

นำปลาที่เตรียมไว้มาหาปริมาณคลอไรด์ ในเลือดก่อนการทดลองจำนวน 3 ตัว

2.1 กลุ่มควบคุม นำปลาที่ต้องการทดลองมากักขังในภาชนะพลาสติกขนาด 57 x 25 เซนติเมตร โดยมีการให้อากาศเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นวางยาสลบปลาด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2-phenoxyethanol ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปดูดเลือดวิเคราะห์หา Cl^- ในเลือด

2.2 กลุ่ม Dexamethasone ฉีด Dexamethasone เข้าช่องท้องของปลาด้วยความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักปลา นำมากักขังในภาชนะพลาสติกขนาด 57 x 25 เซนติเมตร โดยมีการให้อากาศเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จึงวางยาสลบปลาด้วย 2-phenoxyethanol ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปดูดเลือดวิเคราะห์หาคลอไรด์ในเลือด

2.3 กลุ่ม 2-phenoxethanol นำปลามากักขังในภาชนะพลาสติกขนาด 57 x 25 เซนติเมตร แช่ใน 2-phenoxyethanol ให้อยู่ในระยะ sedation ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง จึงวางยาสลบปลาด้วย 2-phenoxyethanol ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปดูดเลือดวิเคราะห์หา Cl^- ในเลือด

หลังจากทดลองนำปลาไปเลี้ยงต่อในกระชังเดิมเพื่อดูอัตรารอด

การบันทึกข้อมูล

บันทึกปริมาณ Cl^- หลังการทดลองในปลาแต่ละตัว และอัตราการรอดของปลาภายหลังการทดลองในแต่ละกลุ่มทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำปริมาณ KNCS ที่ใช้ไตไตรทของแต่ละกลุ่มทดลองมาคำนวณหาค่า Cl^- โดยใช้สูตร

(ปริมาณ KNCS ที่ไตเตรทกับ Blank – ปริมาณ KSCN ที่ใช้ไตเตรต) x 2

= ปริมาณ Cl mg.ต่อเลือด 1 ml (ดัดแปลงจาก Whitehorn, 1920)

และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยกับกลุ่มควบคุม ด้วยวิธีทางสถิติแบบ CRD

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง ตึกเจ้าคุณทหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

ระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2550 – เดือน เมษายน พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาผลของ Dexamethasone และ 2-phenoxyethanol ที่มีต่อระดับของคลอไรด์ไอออน (Cl^-) ในเลือดของปลาและอัตราการรอดตายหลังทดลอง พบว่าในปลาปกติ (Normal) , กลุ่มควบคุม (Control) , กลุ่มที่ได้รับ Dexamethasone (DEX) และ กลุ่มที่ใช้ 2-Phenoxyethanol (2-PHE) เมื่อถูกทำให้เครียดโดยเลี้ยงอย่างหนานแน่น 3 ชั่วโมง มีปริมาณคลอไรด์เฉลี่ย 1.81$\pm$0.12 , 0.70$\pm$0.03 , 1.16$\pm$0.04 และ 0.98$\pm$0.05 มิลลิกรัมต่อเลือด 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2, ภาพที่ 6 และ7) โดยเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มปลาปกติกับกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ได้รับ Dexamethasone และ กลุ่มที่ใช้ 2- Phenoxyethanol พบว่าทั้ง 3 กลุ่มมีปริมาณคลอไรด์เฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มปลาปกติ อย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Barton and Haukene (2003) ที่ได้ทำการทดลองวัดพลาสม่าคลอไรด์ ในปลา Walleyes ขณะขนส่งพบว่า พลาสม่าคลอไรด์มีการลดลงประมาณ 19% ขณะที่ทำการขนส่งปลาไป 1 ชั่วโมง และลดลงอีก 30% เมื่อทำการขนส่งไป 3 ชั่วโมง

และจากการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุม , กลุ่มที่ได้รับ Dexamethasone และ กลุ่มที่ใช้ 2- Phenoxyethanol พบว่ากลุ่มควบคุมจะมีค่าแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ Dexamethasone และ กลุ่มที่ใช้ 2- Phenoxyethanol ในทางสถิติ แต่กลุ่มที่ได้รับ Dexamethasone และ กลุ่มที่ใช้ 2- Phenoxyethanol จะมีค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ortuno et al. (2002) ที่พบว่าการใช้ 2-phenoxyethanol สลบปลาให้ปลาอยู่ในระยะ sedation จะช่วยลดความเครียดในปลาได้โดยวัดจากระดับของคอร์ติซอล ซึ่งจะส่งผลให้ปลาลดการสูญเสียคลอไรด์ไอออนในร่างกายได้ นอกจากนี้ Marsigliante et al. (2000) ได้ทดลองผลของ Dexamethasone ต่อการทำงานของ pavement cell และ chloride cell ในเหงือกปลาซึ่งมีหน้าที่ในการควบคุมการดูดซึมและขับไอออนในร่างกายพบว่า Dexamethasone จะช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ Na^+/K^+ ATPase ที่เป็นตัวควบคุมในการรักษาระดับของไอออนในร่างกายปลาน้ำจืด

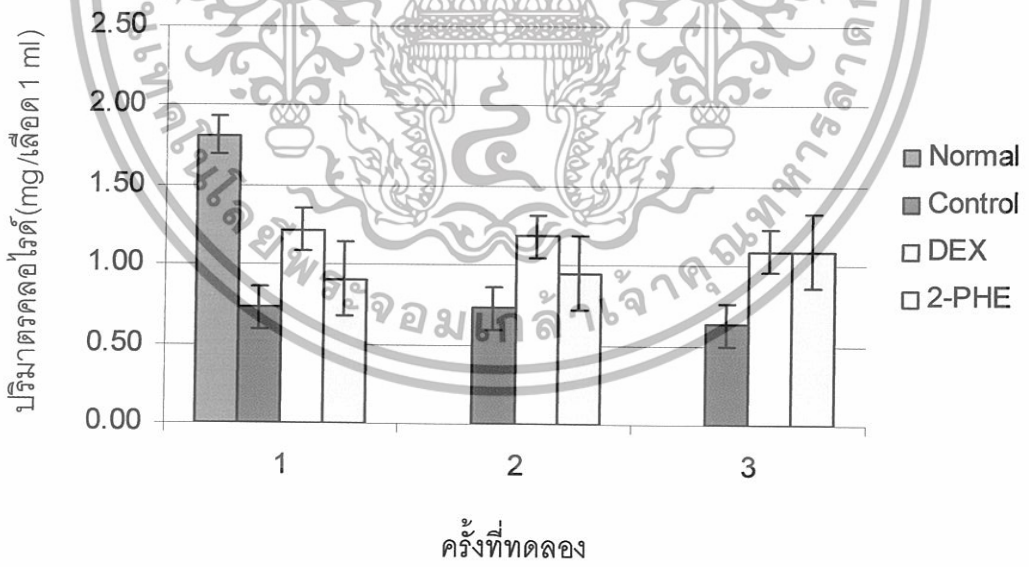
และจากการสำรวจอัตราการรอดของปลาหลังจากการทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์พบว่าไม่มีการตายของปลาในทุกกลุ่มการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ปริมาณคลอไรด์ (มิลลิกรัม ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร) ของแต่ละกลุ่มทดลอง

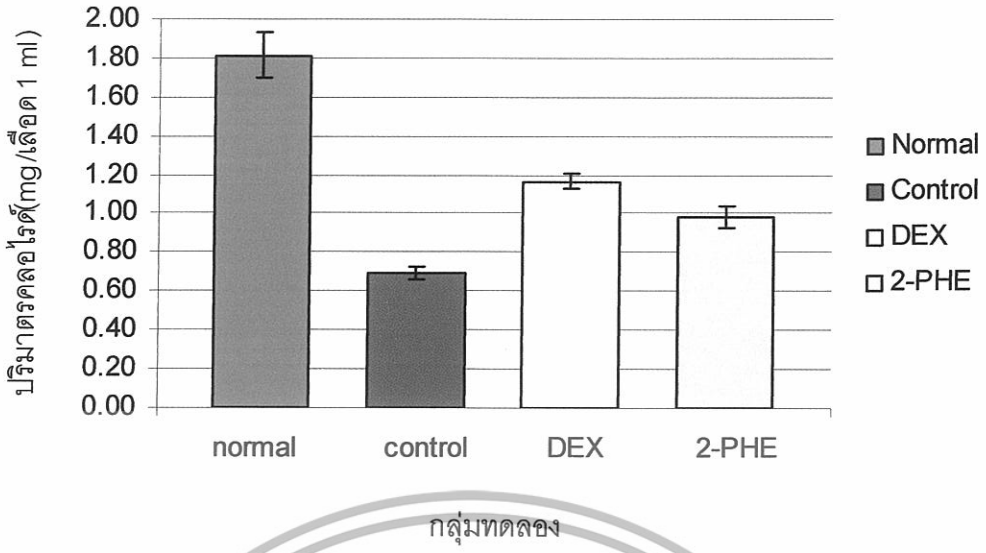
ครั้งที่ทดลอง	กลุ่มทดลอง			
	Normal	Control	DEX	2-PHE
ครั้งที่ 1	1.81±0.12	0.73±0.13	1.22±0.20	0.91±0.29
ครั้งที่ 2	-	0.73±0.18	1.18±0.13	0.95±0.23
ครั้งที่ 3	-	0.63±0.24	1.09±0.12	1.09±0.23
เฉลี่ย	1.81 ± 0.12^{a}	0.70 ± 0.03^{b}	1.16 ± 0.04^{c}	0.98 ± 0.05^{c}

อักษรที่ไม่เหมือนกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 6 ปริมาณคลอไรด์ (มิลลิกรัม ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร) ของแต่ละกลุ่มทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 ปริมาณคลอไรด์เฉลี่ย (มิลลิกรัม ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร) ของแต่ละกลุ่มทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

ปริมาณคลอไรด์ ในเลือดของปลานิลภาวะปกติจะมีค่า 1.81±0.12 มิลลิกรัมต่อเลือด 1 มิลลิลิตร และจะมีค่าลดลงเนื่องจากการถูกทำให้เครียดในทุกกลุ่มการทดลอง แต่ในส่วนของกลุ่มที่ได้รับ Dexamethasone และกลุ่มที่ใช้ 2-Phenoxyethanol จะมีผลให้ปลาสูญเสียคลอไรด์ในเลือดน้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยสารทั้ง 2 จะให้ค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ในส่วนของอัตราการรอดหลังการทดลองพบว่าการใช้ Dexamethasone และ 2-Phenoxyethanol นี้ไม่ทำให้มีปลาตายในระหว่างการทดลอง

การใช้ Dexamethasone และ 2-Phenoxyethanol ในปลาที่ถูกทำให้เครียดจะช่วยให้ปลารักษาระดับคลอไรด์ในเลือดได้ ซึ่งหมายถึงการช่วยลดระดับความความเครียดในปลาทำให้มีอัตรารอดสูง และคุณภาพดี

ข้อเสนอแนะ

1. วิธีการวิเคราะห์คลอไรด์ในการทดลองครั้งนี้ยังมีความไม่เที่ยงตรงมากนักเนื่องจากต้องใช้การเตรียมสารให้มีความเข้มข้นที่พอดีและการไตเตรตให้ได้สีที่ใกล้เคียงกันควรใช้ผู้สังเกตคนเดียวเพื่อทำให้ได้ค่าที่แม่นยำมากขึ้น และสามารถใช้แทนวิธีการวัดปริมาณคลอไรด์ในเลือดโดยวิธีอื่น เช่นการใช้ chloride analyzer ซึ่งมีราคาแพง

2.จากการทดลองครั้งนี้พบว่า Dexamethasone และ 2-Phenoxyethanol ให้ผลไม่แตกต่างกัน ในการขนส่งจริงจึงควรใช้ Dexamethasone เพราะมีราคาถูกกว่า 2-phenoxyethanol

3. ในการขนส่งอาจใส่เกลือลงในน้ำเพื่อช่วยลดความเครียดให้แก่ปลาได้ในระดับหนึ่งและลดการขับคลอไรด์ไอออนออกจากร่างกายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เอกสารอ้างอิง

ไม่ปรากฏผู้แต่ง. 2550. Cortisol. April 2007. http://en.wikipedia.org/wiki/cortisol

ไม่ปรากฏผู้แต่ง. 2550. Dexamethasone. April 2007. http://en.wikipedia.org/wiki/dexamethasone

วิชัย วัฒนกุล, เรณู ยาชิโรและพิษณุ นาอนันต์. 2539. การเปลี่ยนแปลงคอร์ติซอล และองค์ประกอบ ไอออนในพลาสมาระหว่างการลำเลียงพ่อแม่พันธุ์ปลาทะเล 4 ชนิด. รายงานการสัมมนา วิชาการประจำปี 2539. กรมประมง. 153 – 156 น.

Barton, B. A. and A. H. Haukenes 2003. Plasma cortisol and chloride stress responses in juvenile walleyes during capture, transport and stocking Procedures. North American Journal of Aquaculture 65: 210–219

Drury, R. R. 2005. Aquarium Fish and the Veterinarian. Exotic Animal Medicine Symposium No.1993: 1-14

Johnson, E. 2007. How does one use Dex or manage a shock scenario?. May 2007. http://www.fishdoc.net/faq

Iwama, G. K., L. O. B. Afonso and M. M. Vijayan 2004. AquaNet Workshop on Fish Welfare. 1-9 p.

Marsigliante, S., A. Muscella, S. Vilella and C. Storelli. 2000. Dexamethasone modulates the activity of the eel branchial Na^+/K^+ ATPase in both chloride and pavement cell. Life Sciences 66(18): 1663-1673.

McDonald, G., and L. Milligan. 1997. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. Pages 119–144 In G. K. Iwama, A. D. Pickering, J. P. Sumpter, and C. B. Schreck, editors. Fish stress and health in aquaculture. Cambridge University Press, Society for Experimental Biology Seminar Series 62,

Mcgee, M. and C. Cichra. 1997. Fish handling and transport. April 2007. http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_FA019 .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nielsen, C. V. and K. Buchman. 2003. Increased susceptibility of Atlantic salmon *Salmo Salar* to infection with *Gyrodactylus derjavini* induced by dexamethasone bath treatment. Journal of Helminthology 77: 65-68

Ortuno, J., M. Angeles Esteban and J. Meseguer 2002. Effects of phenoxyethanol on the innate immunesystem of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) exposed to crowding stress. Veterinary Immunology and Immunopathology 89: 29–36

Ross, L. G. and J. A. Geddes. 1979. Sedation of warm water fish species in aquaculture research. Aquaculture. 16: 183-186

Svobodova, Z., P. Kalap, L. Dusek, BVykusova, J. Kolarova and D. Jaaouskova. 1990. The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. Acta. Vet. Brno. 68: 265 – 274

Walsh, C. J., J. T. Wyffels, A. B. Bodine and C. A. Luer. 2002. Dexamethasone-induced apoptosis in immune cells from peripheral circulation and lymphomyeloid tissues of juvenile clearnose skates, *Raja eglanteria*. Developmental and Comparative Immunology 26: 623-633.

Whitehorn, J. C. 1920. A system of blood analysis. II. Simplifield method for the determination of chloride in blood or plasma. The Jounal of Biological Chemistry 449

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

วิธีการวิเคราะห์คลอไรด์ ด้วยวิธีของ Whitehorn (1920)

นำเข็ดฉีดยาดูดสาร ammonium oxalate 0.1 ml ให้เคลือบภายในหลอดเพื่อกันเลือดแข็งตัว

ตัวอย่างเลือด	1	ml
เติมน้ำ	17	ml
10 % Na tungstate	1	ml
2/3 N H_2SO_4	1	ml

↓

เขย่าจะได้สารสีน้ำตาลนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง

↓

นำสารที่กรอง	10	ml
เติม $AgNO_3$	5	ml

↓

เติม nitric acid	5	ml

เขย่าและทิ้งไว้ 5 นาที

↓

ใช้ spatula เติม ferric ammonium sulfate ประมาณ 0.3 กรัม

↓

นำไปไตเตรทกับ sulfocyanate จนได้จุดยุติสีแดงอมส้ม

↓

นำค่าที่ได้ไปคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการแปลงหน่วยจาก milliequivalent per liter (meq/l) เป็น mg/l (ppm)
ทำได้โดยใช้สูตร

$$meq/l = mg/l \ / \ equivalent\ weight$$

โดย $equivalent\ weight = atomic\ weight / valence$

ตัวอย่างเช่น equivalent weight of Cl = 35.45 / 1

ดังนั้น Cl 93.7 meq/l x 35.45 = 3321.665 mg/l หรือ ppm

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณ KCNS ที่ใช้ในการไตเตรทของแต่ละกลุ่มทดลอง ในการทดลองผลของ Dexamethasone และ 2-Phenoxyethanol ต่อระดับคลอไรด์ในเลือดปลานิล

ปลาที่ทดลอง	กลุ่มทดลอง			
	Normal	Control	DEX	2-PHE
ตัวที่ 1	6	6.7	6.3	6.9
ตัวที่ 2	5.8	6.9	6.6	6.6
ตัวที่ 3	6.1	6.7	6.3	6.4
เฉลี่ย	6.0±0.09	6.8±0.07	6.4±0.10	6.6±0.15
ตัวที่ 4	-	6.9	6.5	6.6
ตัวที่ 5	-	6.6	6.3	6.8
ตัวที่ 6	-	6.8	6.5	6.4
เฉลี่ย	-	6.8±0.09	6.4±0.07	6.6±0.12
ตัวที่ 7	-	6.9	6.5	6.5
ตัวที่ 8	-	7	6.4	6.3
ตัวที่ 9	-	6.6	6.6	6.7
เฉลี่ย	-	6.8±0.12	6.5±0.06	6.5±0.12

สูตรคำนวณคลอไรด์ในเลือด

(Blank – ปริมาณ KCNS ที่ใช้ไตเตรท) x 2 x 0.68 = ปริมาณ Cl (mg/เลือด 1 ml)

โดย Blank หมายถึงปริมาณของ KCNS ที่ทำปฏิกิริยากับ $AgNO_3$
ซึ่งในการทดลองครั้งนี้เท่ากับ 7.3

2 คือค่าที่ได้จากการเจือจางตัวอย่างเลือดในการทดลองลง 2 เท่า

0.68 คือค่าที่ได้จากการปรับความเข้มข้นของสาร KCNS ที่ทำปฏิกิริยากับ $AgNO_3$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 ปริมาณคลอไรด์มิลลิกรัมต่อเลือด 1 มิลลิลิตร ของแต่ละกลุ่มทดลองหลังจากถูกทำให้เครียดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยคำนวณจากสูตร ในการทดลองผลของ Dexamethasone และ 2-Phenoxyethanol ต่อระดับคลอไรด์ในเลือดปลานิล

ปลาที่ทดลอง	กลุ่มทดลอง			
	Normal	Control	DEX	2-PHE
ตัวที่ 1	1.77	0.82	1.36	0.54
ตัวที่ 2	2.04	0.54	0.95	0.95
ตัวที่ 3	1.63	0.82	1.36	1.22
เฉลี่ย	1.81±0.12	0.73±0.09	1.22±0.14	0.91±0.20
ตัวที่ 4	-	0.54	1.09	0.95
ตัวที่ 5	-	0.95	1.36	0.68
ตัวที่ 6	-	0.68	1.09	1.22
เฉลี่ย	-	0.73±0.12	1.18±0.09	0.95±0.16
ตัวที่ 7	-	0.54	1.09	1.09
ตัวที่ 8	-	0.41	1.22	1.36
ตัวที่ 9	-	0.95	0.95	0.82
เฉลี่ย	-	0.63±0.16	1.09±0.08	1.09±0.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้