สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

เรื่อง การศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลานิล (Oreochromis niloticus) แบบรายตัวที่เลี้ยงในความหนาแน่นแตกต่างกัน

Study on hematological parameter of individually Nile tilapia (Oreochromis niloticus) reared in different stocking density.

T104583

โดย

นางสาวรัชดา ทัศมากร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 104583
วัน,เดือน,ปี 5 พ.ย. 2552

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

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลานิล (Oreochromis niloticus) แบบรายตัวที่เลี้ยงในความหนาแน่นแตกต่างกัน

Study on hematological parameter of individually Nile tilapia (Oreochromis niloticus) reared in different stocking density.

ชื่อนักศึกษา นางสาวรัชดา ทัศมากร

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ดุสิต เอื้ออำนวย
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา .....

(อาจารย์ดุสิต เอื้ออำนวย)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ ๑๕ เดือน พ.ค. พ.ศ ๒๕๕๒

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

เรื่อง การศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลานิล (Oreochromis niloticus) แบบรายตัวที่เลี้ยงในความหนาแน่นแตกต่างกัน

Study on hematological parameter of individually Nile tilapia (Oreochromis niloticus) reared in different stocking density.

การศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) แบบติดตามรายตัว ที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในความหนาแน่นสูง หลังจากการเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ พบว่าปลานิลในกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 45.99 ± 12.76 กรัม ความยาวเฉลี่ย 12.29 ± 0.53 เซนติเมตร ส่วนในกลุ่มหนาแน่นสูงมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 31.43 ± 4.67 กรัม ความยาวเฉลี่ย 11.96 ± 0.77 เซนติเมตร ค่าฮีมาโตคริตเฉลี่ยเท่ากับ 28.23 และ 28.15 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ปริมาณเม็ดเลือดแดงเฉลี่ยเท่ากับ 1.43×10^6 / mm^3 และ 1.44×10^6 / mm^3 ตามลำดับ ส่วนปริมาณเม็ดเลือดขาวเท่ากับ 1.69×10^4 / mm^3 และ 2.55×10^4 / mm^3 ตามลำดับ โดยปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อศึกษาจากฟิลม์สเมียร์เลือดได้ค่าร้อยละของเม็ดเลือดขาว กลุ่มควบคุมพบ lymphocyte เท่ากับ 43.86 ± 6.4%, neutrophils เท่ากับ26.06 ± 6.99 % , monocyte เท่ากับ 18.86 ± 4.87 % และ thrombocytes เท่ากับ14.66 ± 6.22 % ส่วนในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบหนาแน่นจะมีค่าร้อยละของเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte เท่ากับ 33.92 ± 2.06%, neutrophils เท่ากับ 27.48 ± 1.77% , monocyte เท่ากับ 20.54 ± 2.85 % และ thrombocytes เท่ากับ12.70 ± 1.46 เม็ดเลือดขาวชนิด thrombocytes ของปลานิลทั้ง 2 กลุ่มนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte, neutrophils และ monocyte มีค่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ เนื่องมาจากได้รับความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำในด้านการทดลองอันเป็นประโยชน์ต่อการใช้ทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ ตลอดจนการเรียบเรียงและช่วยตรวจทานแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและใคร่ขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์เป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ดุสิต เอื้ออำนวย ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาในระหว่างการดำเนินการทำปัญหาพิเศษ และคุณชลดา มีอนันต์ ที่คอยให้การช่วยเหลือในการดำเนินการปัญหาพิเศษอยู่ตลอดระยะเวลาของการศึกษา ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คุณบุปผา จงพัฒน์ คุณนภพล เผ่ามนัส ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำในด้านการทดลอง อำนวยความสะดวกในเรื่องของอุปกรณ์เป็นอย่างดีมาโดยตลอดการทดลอง

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาและครอบครัวของข้าพเจ้าที่คอยเป็นกำลังใจให้เสมอมาตลอดจนเพื่อนสนิททุกคนที่ช่วยเหลือให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้าน

นางสาว รัชดา ทัศมากร

พฤษภาคม 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	16
ผลการทดลองและวิจารณ์	23
สรุปและข้อเสนอแนะ	28
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าฮีมาโตคริตและค่าชีวเคมีของปลานิล *Oreochromis niloticus* ที่เลี้ยงในระบบ semi-intensive	9
2	ค่าโลหิตวิทยาที่เลี้ยงด้วยระบบหนาแน่น	13
3	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่เลี้ยงที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบความหนาแน่นสูง	23
4	ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลติดมีการติดตามรายตัว ที่เลี้ยงด้วยระบบหนาแน่นและไม่หนาแน่น	25
5	ปริมาณเปอร์เซนต์เฉลี่ยของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดที่พบในระบบไหลเวียนโลหิตของปลานิลทั้งในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยระบบหนาแน่น	26

ตารางผนวกที่		หน้า
1	น้ำหนัก ความยาวและค่าโลหิตวิทยาของปลานิล(*Oreochromis niloticus*) ที่อยู่ในกลุ่มควบคุม (control)	33
2	น้ำหนัก ความยาวและค่าโลหิตวิทยาของปลานิล(*Oreochromis niloticus*) ที่อยู่ในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบหนาแน่น (density)	34
3	เปอร์เซนต์และชนิดของเม็ดเลือดขาวที่พบแต่ละชนิดในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่อยู่ในกลุ่มควบคุม (control)	35
4	เปอร์เซนต์และชนิดของเม็ดเลือดขาวที่พบแต่ละชนิดในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่อยู่ในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบหนาแน่น (density)	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	รูปร่างและลักษณะเฉพาะของปลานิล (*Oreochromis niloticus*)	2
2	แผนภาพส่วนประกอบของระบบการเลี้ยงและแสดงทิศทางของระบบหมุนเวียนน้ำในการเลี้ยง	17
3	ลักษณะองค์ประกอบของ counting chamber ที่ใช้ในการนับปริมาณความหนาแน่นของเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง	18
4	ตารางบน counting chamber เมื่อดูจากกล้องจุลทรรศน์ (W) พื้นที่นับเม็ดเลือดขาวและ (R) พื้นที่นับเม็ดเลือดแดง	19
5	ลักษณะการทำการสเมียร์เลือดบางบนแผ่นสไลด์	20
6	น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลที่เลี้ยงที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบความหนาแน่นสูง	23
7	ความยาวเฉลี่ยของปลานิลที่เลี้ยงที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบความหนาแน่นสูง	24
8	ลักษณะเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด (กำลังขยาย 100X)	
9	ลักษณะเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดและเม็ดเลือดแดง (กำลังขยาย 100X)	

ภาพผนวกที่		หน้า
1	อุปกรณ์และสีย้อม Wright & Giemsa	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปัจจุบันธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้มีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว เนื่องจากประชากรมีจำนวนเพิ่มขึ้น ทำให้มีความต้องการบริโภคสัตว์น้ำจึงสูงขึ้น เกษตรกรจึงนิยมเลี้ยงกันมาก เนื่องจาก เพื่อให้เพียงพอกับความต้องการความต้องการที่สูงขึ้นเรื่อยๆ ปัจจุบันปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาเศรษฐกิจที่นิยมเลี้ยงและบริโภคกันมากที่สุดในประเทศไทย เพราะปลานิลเป็นปลาที่สามารถเลี้ยงง่าย ขยายพันธุ์รวดเร็ว โตเร็ว ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม ที่สำคัญมีรสชาติดี ตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศมีความต้องการสูง ทำให้รูปแบบการเลี้ยงมีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง จนเป็นระบบการเลี้ยงเชิงพาณิชย์มากขึ้น ปลานิลจัดเป็นปลาที่กินอาหารจำพวกพืช สามารถแพร่ขยายพันธุ์ได้ในบ่อเลี้ยงและแหล่งน้ำทั่วไปทั้งหนอง บึง และทะเลสาบ จึงทำให้มีการวิจัยเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์และการพัฒนาการเลี้ยงให้ได้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการและมีคุณภาพตรงตามความต้องการของทั้งผู้บริโภคและเกษตรกร เช่นการปรับปรุงพันธุ์ การทดลองเลี้ยงปลาที่ความหนาแน่นต่างๆ เป็นต้น ทางกรมประมงเองได้ดำเนินการปลาเพื่อให้ได้ปลานิลที่มีลักษณะสายพันธุ์ที่ดีและตรงกับความต้องการของผู้บริโภค เป็นที่ต้องการของตลาด จากการขยายตัวเพื่อให้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการทำให้เกิดปัญหาด้านการเลี้ยงที่ยังไม่มีรูปแบบที่แน่นอน ปัญหาสายพันธุ์ซึ่งมีความหลากหลายยังไม่คงที่ ตลอดจนปัญหาทางด้านแหล่งทุนและการสนับสนุนทางวิชาการซึ่งยังไม่แพร่หลายถึงผู้เลี้ยง และที่สำคัญคือ ปัญหาการสูญเสียปลานิลอันเนื่องมาจากโรค ซึ่งในปัจจุบันนี้กำลังเป็นปัญหาที่ก่อให้เกิดการขาดทุนหรือไม่คุ้มทุนในการประกอบการ ซึ่งโรคที่พบในปลานิลมีสาเหตุหลายประการ เช่น โรคที่เกิดจากปรสิตภายนอก เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา เป็นต้น ซึ่งการสังเกตเกี่ยวกับความผิดปกติของปลานั้นทำได้ยาก เพื่อป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้น การตรวจวินิจฉัยโรคในห้องปฏิบัติการโดยการตรวจค่าโลหิตวิทยาของปลา จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถบ่งบอกสุขภาพสัตว์น้ำและ ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวินิจฉัยสาเหตุของโรคที่เกิดขึ้นได้

วัตถุประสงค์ในการศึกษา

เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาในเลือดปลานิลแบบรายตัวที่เลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่เลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน สำหรับการตรวจสุขภาพปลานิลที่สามารถวินิจฉัยนำไปใช้ได้ง่ายและไม่ต้องทำลายชีวิตปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ในปัจจุบันปลานิลเป็นปลาที่ได้รับความนิยมในการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศและต่างประเทศ ทั้งนี้เนื่องจากเป็นปลาที่มีการพัฒนาสายพันธุ์จนมีลำตัวหนา มีส่วนของกล้ามเนื้อใหญ่ สามารถแล่เป็นชิ้น (Fillet) ส่งขายตลาดต่างประเทศ ทำให้สามารถปรุงแต่งเป็นอาหารได้หลายชนิด นอกจากนี้ยังเป็นปลาที่สามารถขยายพันธุ์ได้ง่ายและมีการเจริญเติบโตดี เนื่องจากปัจจุบันผลผลิตปลานิลยังไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาด ดังนั้นเกษตรกรส่วนใหญ่จึงเร่งเพิ่มกำลังการผลิตต่อหน่วยพื้นที่ โดยการปล่อยปลาในอัตราที่หนาแน่นมาก หากฟาร์มใดขาดการจัดการที่ดี ทำให้เกิดความเครียดซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคตามมา

ชีววิทยาปลานิล

ภาพที่ 1 รูปร่างและลักษณะเฉพาะของปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

ที่มา: www.thaifishingguide.com

อาณาจักร Animalia

ไฟลัม Chordate

ชั้น Actinopterygii

อันดับ Perciformes

วงศ์ Cichlidae

สกุล Oreochromis

สปีชีส์ O. niloticus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งอยู่ในตระกูลซิคลิดี (Cichlidae) มีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ในทวีปแอฟริกา พบทั่วไปตามหนอง บึง และทะเลสาบ ในประเทศซูดาน ยูกันดา แทนแกนยีกา ซึ่งปลาชนิดนี้เจริญเติบโตเร็วและเลี้ยงง่าย เหมาะสมที่จะนำมาเพาะเลี้ยงในบ่อได้เป็นอย่างดี จึงได้รับความนิยมและเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในทวีปเอเชีย และแม้แต่ในสหรัฐอเมริกาก็นิยมเลี้ยงปลาชนิดนี้กันมาก ลักษณะรูปร่างของปลานิลนั้นจะคล้ายคลึงกับปลาหมอเทศ แต่ว่าปลานิลจะมีลักษณะที่พิเศษกว่าคือ ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน ที่บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว ที่มีรูปร่างลำตัวแบบแบนข้างสีเทาอมน้ำตาล มีแถบดำจำนวน 9-10 แถบ พาดตามแนวขวางของลำตัว ครีบหลังเป็นตอนเดียวยาว มีก้านครีบแข็งที่ตอนหน้าจำนวน 15-18 ก้าน และมีก้านครีบอ่อนจำนวน 12-14 ก้าน ครีบก้นมีก้านครีบแข็งจำนวน 3 ก้านและก้านครีบอ่อน 9-10 ก้าน ครีบหางและครีบก้นมีจุดขาวและเส้นสีดำเป็นลายตามขวาง นอกจากนี้ยังพบจุดดำจำนวน 2 จุด ที่บริเวณตอนปลายของแผ่นกระดูกปิดกระพุ้งแก้มและที่ตอนปลายครีบหลัง

ปลานิลเป็นปลาที่ชอบอยู่รวมเป็นฝูง ในแหล่งน้ำจืด ปลานิลเป็นปลาที่มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างมากคือระหว่าง 11-42 องศาเซลเซียส และสามารถทนต่อน้ำที่มีความเค็มได้สูงถึง 20 พีพีที ทำให้ปัจจุบันมีการนำปลาชนิดนี้ไปเลี้ยงในน้ำกร่อย ปลานิลเป็นปลาที่กินอาหารได้ทั้งพืชและสัตว์ ปลานิลสามารถผสมพันธุ์วางไข่ได้ตลอดทั้งปี โดยปลาเพศผู้มีหน้าที่สร้างรังในการวางไข่ผสมพันธุ์ เมื่อมีการผสมพันธุ์แล้ว ปลานิลเพศเมียจะอมไข่และฟักไข่อยู่ในปาก

กรมประมงโดยสถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำได้นำปลานิลสายพันธุ์แท้มีชื่อว่าปลานิลพันธุ์จิตรลดาไปดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ได้ปลานิลสายพันธุ์ใหม่ จำนวน 3 สายพันธุ์ ดังนี้

1. ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 1 เป็นปลานิลที่ปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งทดสอบพันธุ์แล้วพบว่า มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าปลานิลพันธุ์ที่เกษตรกรเลี้ยง 22%

2. ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2 เป็นปลานิลที่พัฒนาพันธุ์มาจากปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา มีลักษณะเด่นคือ ส่วนหัวเล็ก ลำตัวกว้าง สีขาวนวล เนื้อหนาและแน่นรสชาติดี ปลานิลพันธุ์ที่เกษตรกรเลี้ยง 45%

3. ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 3 เป็นปลานิลที่ปรับปรุงพันธุ์มาจากการนำปลานิลพันธุ์ผสมลักษณะเด่นคือ ส่วนหัวเล็ก ลำตัวกว้าง สีเหลืองนวล เนื้อหนาและแน่น รสชาติดี ให้ผลผลิตต่อไร่สูงกว่าปลานิลพันธุ์ที่เกษตรกรเลี้ยง 40%

อัตราส่วนที่ปล่อยพ่อแม่ปลาลงเพาะพันธุ์ ปริมาณพ่อแม่ปลาที่จะนำไปปล่อยในบ่อเพาะ 1 ตัว4 ตารางเมตร หรือไร่ละจำนวน 400 ตัว ควรปล่อยในอัตราส่วนพ่อปลา 2 ตัว/แม่ปลา 3 ตัว เนื่องจากได้สังเกตจากพฤติกรรมในการผสมพันธุ์ของปลาชนิดนี้ ปลาตัวผู้มีสมรรถภาพที่จะผสมพันธุ์กับปลาตัวเมียอื่น ๆ ได้อีก ดังนั้นการเพิ่มอัตราส่วนของปลาตัวเมียให้มากขึ้นคาดว่าจะได้ลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลานิลเพิ่มขึ้นส่วนการเพาะปลานิลในกระชังใช้อัตราส่วนของปลา 6 ตัว/ตารางเมตร โดยใช้ตัวผู้ 1 ตัว/ตัวเมีย 3-4 ตัว การเพาะปลานิลแต่ละรุ่นจะใช้เวลาประมาณ 2 เดือน จึงเปลี่ยนพ่อแม่ปลารุ่นใหม่ต่อไป ในการเลี้ยงปลานิลจะให้ได้ผลดีเป็นที่พอใจจึงจำเป็นต้องปฏิบัติให้ถูกต้องตามหลักวิชาการ ตามประเภทของการเลี้ยง เนื่องจากแนวโน้มในการเลี้ยงปลานิลในอนาคตนั้นจะมีสูงขึ้น เพราะปลานิลเป็นปลาที่ตลาดผู้บริโภคยังมีความต้องการสูงขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากจำนวนประชากรมีอัตราการเจริญเติบโตสูง จึงส่งผลต่อแนวโน้มการเลี้ยงปลาชนิดนี้ให้มีแนวโน้มที่ดีโดยไม่ต้องกังวลปัญหาด้านการตลาด เนื่องจากเป็นปลาที่มีราคาดี ไม่มีอุปสรรคเรื่องโรคระบาด และยังเป็นที่นิยมบริโภคและเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในทั่วทุกภูมิภาค เพราะว่าปลานิลนั้นสามารถที่จะนำมาประกอบอาหารได้หลากหลายรูปแบบ ซึ่งในปัจจุบันนี้ได้มีการพัฒนาอุตสาหกรรมปลานิลให้มีความหลากหลายมากขึ้น เพื่อเป็นการมีมูลค่าสูงขึ้นมีการพัฒนาปลานิลให้กลายเป็นสินค้าที่สามารถส่งออกไปสู่ตลาดต่างประเทศในลักษณะของปลาแล่เนื้อ ตลาดที่สำคัญ ๆ อาทิ ประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อิตาลี เป็นต้น ดังนั้น การเลี้ยงปลานิลให้มีคุณภาพ ปราศจากกลิ่นโคลนย่อมจะส่งผลดีต่อการบริโภค การจำหน่ายและการให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าในที่สุด

ปลานิลเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังที่อยู่ในระดับวิวัฒนาการต่ำสุด แต่ปลาก็มีระบบภูมิคุ้มกันดีพอที่จะป้องกันเชื้อโรคชนิดต่าง ๆ ปลาที่อาศัยในน้ำที่เย็นจัด ไม่จำเป็นต้องมีระบบภูมิคุ้มกันดีมากเนื่องจากในสภาวะดังกล่าวการเจริญของจุลินทรีย์จะไปได้ช้า ส่วนปลาที่ชอบอยู่รวมกันเป็นฝูงและปลาที่อาศัยในเขตร้อนจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีระบบภูมิคุ้มกันที่ดีกว่า ดังนั้นปลาในแต่ละชนิดและแต่ละแหล่งอาศัยจะมีความแตกต่างในการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกัน เชื้อโรคไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา ปรสิต ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์มี 2 ชนิด ซึ่งรวมไปถึงปลาด้วย ระบบภูมิคุ้มกันประกอบระบบภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำกับระบบการตอบสนองแบบเซลล์เลือดของปลานิลมีส่วนประกอบของเลือดพบว่าประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นของเหลว และส่วนที่เป็นเซลล์ซึ่งในกระแสเลือดประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือด ส่วนที่เป็นของเหลวเรียกว่า พลาสมาซึ่งมีส่วนประกอบทางชีวเคมีหลายชนิดสำหรับในปลาที่โตเต็มวัยแล้วเม็ดเลือดนั้นจะเกิดจากเยื่อบุภายในเส้นเลือด และยังมีบริเวณสร้างเม็ดเลือดจากแหล่งอื่นๆ ด้วย คือ ม้าม โดยม้ามจะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนนอก มีสีแดง สร้างเม็ดเลือดและเกล็ดเลือด ส่วนภายในจะมีสีขาว สร้างเม็ดน้ำเหลืองและแกรนูโลไซต์ ซึ่งจำนวนเม็ดเลือดและชนิดของเม็ดเลือดที่พบในปลาแต่ละชนิดนั้นจะมีค่าแตกต่างกันไป เช่น ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และปลาแซลมอน (*Solmo salar*) ในช่วงวัยอ่อนนั้นจะมีปริมาณเม็ดเลือดแดงมากที่สุดรองลงมาก็คือเม็ดเลือดขาวชนิด Thrombocytes และ Lymphocytes (Ezzat *et al.*, 1974 ซึ่งมีลักษณะแตกต่างจากปลาดุกที่มีเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil มากรองลงมาจากเม็ดเลือดแดง(Grizzle and Rogers, 1976) นอกจากนี้จำนวนเม็ดเลือดแดงที่พบนั้นสามารถมีการเปลี่ยนแปลงได้ตลอดเวลา ขึ้นอยู่กับสภาวะที่แตกต่างกันตามแหล่งที่อยู่อาศัย (Vuren and Hattingh, 1978) ปลาที่อยู่ในสภาพที่ขาดแคลนอาหารจะพบว่ามี Thrombocytes และ Neutrophil มากกว่าปลาปกติ (Mahajan and Dheer, 1983) ส่วนในช่วงฤดูสืบพันธุ์และการวางไข่ ในปลาเพศผู้จะมีจำนวน Lymphocytes ลดลง แต่ส่วนของ Monocytes นั้นจะมีปริมาณ

เอกสารนี้มีไว้เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มมากขึ้น แต่สำหรับในปลาเพศเมียนั้นมีผลเป็นไปในทางกลับกันคือ มีจำนวน Lymphocytes เพิ่มมากขึ้นในขณะที่ Monocytes จะมีจำนวนลดลงนั่นเอง นอกจากนี้ยังพบว่าปลาทั้งสองเพศนี้จะมีจำนวนเม็ดเลือดขาวลดลงต่ำสุดในช่วงฤดูหนาว (Ahmad and Banerjee, 1984)

เม็ดเลือดปลาแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ Reticulocytes เป็นเม็ดเลือดแดงที่ยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ Reticulocytes นี้มีการพัฒนามาจาก haemoblasts ที่พบตอนต้นของไตและม้าม (Mahajan และ Dheer, 1980 a) ส่วนใหญ่จะพบได้ในระบบหมุนเวียนเลือดในร่างกายและในบริเวณไต ม้าม เซลล์ที่พบมีลักษณะรูปร่างใกล้เคียงกันกับเม็ดเลือดแดงที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว แต่ว่านิวเคลียสส่วนมากที่พบจะมีขนาดใหญ่กว่าไซโตพลาสซึม เมื่อทำการย้อมด้วยสี Wright – Giemsa จะติดสีน้ำเงินอ่อนปนเทา สามารถพบเม็ดเลือดแดงได้มากที่สุดในระบบหมุนเวียนเลือด มีลักษณะเป็นรูปไข่ ขนาดความกว้างโดยเฉลี่ยแล้วประมาณ 6-7 ไมครอน ขนาดความยาวประมาณ 10-12 ไมครอน ส่วนของนิวเคลียสจะมีตำแหน่งอยู่ตรงกึ่งกลางเซลล์มีลักษณะเป็นรูปวงรีเกือบจะกลม เมื่อทำการย้อมด้วยสี Wright – Giemsa จะติดสีม่วงอมน้ำเงิน ไซโตพลาสซึมจะติดสีชมพูอ่อน เม็ดเลือดแดงมีหน้าที่ในการลำเลียงออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์เข้าและออกในเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ เซลล์เม็ดเลือดปลามี 2 กลุ่มคือ

Erythrocytes ประกอบด้วยฮีโมโกลบิน (haemoglobin) ซึ่งเป็นตัวที่ทำให้เม็ดเลือดแดงดูดซึมเอาแก๊สออกซิเจนได้มากกว่าน้ำ เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา ปกติจะมีรูปไข่มีความยาว 7-36 ไมครอน จำนวนของเม็ดเลือดแดงก็ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา คือ ปลาที่ว่ายน้ำเร็วจะมีเม็ดเลือดแดงมากกว่าปลาที่ว่ายช้า เช่น ปลาอินทรี มีเม็ดเลือดแดง 3 ล้านเซลล์ต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงมีหน้าที่ในการขนส่งของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ในฮีโมโกลบิน เม็ดเลือดแดง

Leucocytes เม็ดเลือดขาวของปลาที่พบในแต่ละชนิดนั้นจะมีจำนวนชนิดและรูปร่างที่แตกต่างกัน ส่วนใหญ่มีรูปไข่หรือทรงกลม มีปริมาณ 20,000-150,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดส่วนใหญ่จะมีหน้าที่สำคัญในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่และเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกายและยังเป็นระบบภูมิคุ้มกันโรคของปลาอีกด้วย โดยแต่ละคุณสมบัติเฉพาะของตัวเองและเป็นที่ดังนั้นยากที่จะให้คำอธิบายโดยละเอียดของคุณลักษณะเม็ดโลหิตขาวโดยการกล่าวขวัญแต่ละเซลล์ประเภทรายบุคคล ในปลาโดยรวมจำนวนแตกต่างกัน ซึ่งจากการศึกษา phagocytosis ของเม็ดเลือดขาวในปลาเทร้าต์และปลาแซลมอลนั้นพบว่าเม็ดเลือดขาวจะมีการโอบล้อมอนุภาคหรือสิ่งแปกปลอมเข้าไว้ภายในเซลล์ (Nesje *et al.*,1981) เม็ดเลือดขาวหรือที่เรียกว่า (Leukocytes หรือ White blood cell) ที่พบในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลานั้นแบ่งออกเป็นชนิดต่างๆ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.ชนิดที่มีแกรนูล (granulocyte) เซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูล มีประมาณ 4-40 % ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 ไมครอน มีหลายชนิดขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาการติดสีสามารถแบ่งแยกได้เป็น เซลล์ neutrophil, eosinophil และ basophil ซึ่งการแบ่งชนิดจะขึ้นอยู่กับการติดสีย้อมของเม็ดแกรนูลที่ต่างกัน neutrophil จะเป็นเซลล์ที่เด่นในเลือดปลา เซลล์นี้จะไม่ไวต่อการจับกินสิ่งแปลกปลอมเมื่อเทียบกับ monocyte/macrophage เซลล์ neutrophil ของปลานั้นจะฆ่าแบคทีเรียโดยการปล่อยเอนไซม์จำพวก hydrolytic และ oxidizing ดังนั้นทำให้เกิด อาการของตกเลือดในปลาที่ติดเชื้อได้

Neutrophil เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูล ในไซโตพลาสซึ่มจะพบมากในระบบหมุนเวียนเลือดของปลา รองลงมาจาก Thrombocytes ซึ่ง Neutrophil ที่เจริญเต็มที่แล้วจะมีลักษณะเป็นวงกลมหรือวงรี ที่มีขนาดประมาณ 8-10 ไมครอน เมื่อทำการย้อมสีด้วย Wright – Giemsa พบว่าไซโตพลาสซึมจะติดสีน้ำเงินจางๆ ภายในประกอบด้วยแกรนูล 2 ชนิด ในไซโตพลาสซึม คือ ชนิดที่มีขนาดและชนิดที่มีขนาดใหญ่ ส่วนนิวเคลียสจะติดสีม่วง และมีลักษณะเป็นหลายพู ส่วน Neutrophil ที่ยังมีการเจริญไม่เต็มที่นั้นจะพบแกรนูลในไซโตพลาสซึมได้ไม่ชัดเจน และพบว่านิวเคลียสนั้นจะมีรูปร่างที่หลากหลาย บางครั้งจึงเรียกว่า polymorphonuclear leukocyte (Ellis, 1977) หน้าที่สำคัญของ Neutrophil คือกำจัดบัคเตรี ทำลายเชื้อแบคทีเรียหรือสิ่งแปลกปลอมที่เป็นเม็ดเล็กๆ เมื่อมีเชื้อจุลินทรีย์เข้าสู่ร่างกายจะถูก Neutrophil จับ และ (phagocytosis) เข้าไปในไซโตพลาสม์ (cytoplasm) ซึ่งมีแกรนนูลของ Neutrophil คือ ไลโซโซมส์ (lysosomes) อยู่ และไลโซโซมส์จะทำหน้าที่ในการปล่อยน้ำย่อยเหล่านี้ออกมาย่อยเชื้อจุลินทรีย์และสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดเล็กๆ เหล่านี้ ถ้ามีการติดเชื้อแบคทีเรียหรือได้รับบาดเจ็บจะทำให้ Neutrophil เพิ่มสูงขึ้น (Roberts, 1978) มีรายงานว่า Neutrophil ที่พบในปลาบางชนิดนั้นจะมีเท้าเทียมเล็กๆยื่นออกมาเพื่อทำหน้าที่ในการจับกินสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ในกระแสเลือด (Doggett and Harris, 1989)

Basophils เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูล มีลักษณะกลม เป็นเซลล์ที่ขรุขระ และเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ นิวเคลียสจะลักษณะคล้ายเกือกม้าอยู่ทางด้านใดด้านหนึ่งของเม็ดเลือด จะประกอบไปด้วย 2 พู ประมาณ 0.5 – 1 % ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด(Ellis, 1997 ; Rowley *et.al.*, 1988) มีขนาดประมาณ 0.8 ไมครอน เมื่อทำการย้อมด้วยด้วย Wright – Giemsa พบว่าไซโตพลาสซึมจะติดสีน้ำเงินจางๆ ส่วนแกรนูลจะติดสีน้ำเงินเข้ม Basophils ทำหน้าที่ ตอบสนองในเรื่องของการสร้างภูมิคุ้มกันในร่ายกายเพื่อตอบสนองต่อเชื้อโรค นอกจากนี้ยังสร้างสารเฮปาริน (Heparin) ซึ่งเป็นสารป้องกันมิให้เลือดในร่างกายแข็งตัว และ สร้างฮีสตามิน (Histamine) ช่วยขยายผนังของหลอดเลือดออกอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Eosinophils เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูล ส่วนใหญ่เราจะพบประมาณ 1 – 6 % ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมดในระบบไหลเวียนโลหิตของปลามีขนาดเฉลี่ยประมาณ 7-10 ไมครอน (Grizzle and Roger, 1976) Eosinophils จะมีลักษณะรูปร่างกลมๆ มีขนาดใหญ่ บริเวณผิวภายนอกมีลักษณะขรุขระ เมื่อทำการย้อมสีด้วย Wright – Giemsa จะพบว่าไซโตพลาสซึมจะติดสีน้ำเงินจางๆ ซึ่งภายในไซโตพลาสซึมจะประกอบไปด้วยแกรนูลส่วนนิวเคลียสจะมีลักษณะเป็นเซลล์โค้งงออยู่กึ่งกลางเซลล์ มีอยู่ 2 พู และจะติดสีน้ำเงินเข้ม ทำหน้าที่ เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกริยาภูมิแพ้ และ การติดเชื้อจากหนอนพยาธิ โดยที่เซลล์ Eosinophils ช่วยควบคุมการอักเสบด้วยการหลั่งเอนไซม์ เช่น histamine และ leukotrienes ไปย่อยสลายสารสื่อกลางทางเคมีในกระบวนการอักเสบ นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกันการ phagocytosis ซึ่งจากการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาส่วนใหญ่จะไม่ค่อยพบเม็ดเลือดขาวชนิด Eosinphils และ Basophils

2. ชนิดที่ไม่มีแกรนูล (agranulcocyte) เป็นเม็ดเลือดขาวที่ไม่มีแกรนูลภายในไซโตพลาสซึม มีจำนวนมากที่สุด ประกอบด้วยเม็ดเลือดขาวหลายชนิดซึ่งจะมีขนาดแต่กต่างกันไป เม็ดเลือดที่ไม่มีแกรนูลประกอบไปด้วย Lymphocytes , Thrombocytes และ Monocytes

Lymphocytes เป็นเม็ดเลือดขาวที่ไมมีแกรนูลในไซโตพลาสซึม เซลล์มีลักษณะรูปร่างกลมมีขนาดประมาณ 6-11 ไมครอน จะมีนิวเคลียสขนาดใหญ่ รูปร่างเว้าแหว่งอยู่เกือบเต็มเซลล์ เมื่อทำการย้อมด้วยสี Wright – Giemsa จะติดสีม่วงอมน้ำเงิน ในส่วนของไซโตพลาสซึมจะติดสีน้ำเงินอ่อน ซึ่งบางครั้งจะพบ vacuoles อยู่ภายใน นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณผิวของ Lymphocytes จะมีลักษณะคล้ายเท้าเทียมยื่นออกมาและสามารถเคลื่อนที่ผ่านเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้ Lymphocytes มีหน้าที่ในการสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย (Andrew, 1965) และมีการพัฒนามาจาก Haemoblasts จากบริเวณส่วนต้นของไต (Harder, 1975)

Thrombocytes มีจำนวนมาก มีรูปร่างรี เป็นเม็ดเลือดขาวที่มีลักษณะรูปร่างหลายแบบได้แก่ รูปร่างค่อนข้างรียาว รูปร่างค่อนข้างกลม และรูปร่างทรงกระสวย (Elli, 1976) มีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดอื่นๆ Groman (1982) ได้รายงานไว้ว่า Thrombocytes นั้นเป็นเม็ดเลือดขาวที่พบมากที่สุด สำหรับ Thrombocytes นั้นมีพัฒนาการมาจาก Lymphocytes (Jordan and Speidel, 1924) ซึ่งบางครั้งพบว่า Thrombocytes ที่มีรูปร่างกลมนั้นจะมีลักษณะคล้ายคลึงกับ Lymphocytes แต่ถึงอย่างไรก็ตามเราสามารถที่จะแยกเซลล์ทั้ง 2 ชนิดนี้ออกจากกันได้โดยใช้ขนาดเป็นตัววัด เนื่องจากว่า Thrombocytes จะมีขนาดเล็กกว่า Lymphocytes เมื่อทำการย้อมสีด้วย Wright – Giemsa นิวเครียสที่พบมีขนาดใหญ่มากเกือบเต็มเซลล์จะติดสีน้ำเงินเข้ม พบไซโตพลาสซึมน้อยมากและจะติดสีฟ้าอ่อนรอบๆส่วนของนิวเคลียส ลักษณะนิวเคลียสจะอยู่อัดกันแน่นและมีไซโตพลาสซึมติดสีฟ้าอ่อน ส่วน Lymphocytes นั้นจะมีไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินอ่อนซึ่งจะเข้มกว่าของ Thrombocytes มาก Thrombocytes ทำหน้าที่ทำให้เลือดแข็งตัวเวลามี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บาดแผล โดยเมื่อเกิดบาดแผลขึ้นเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายกับเกล็ดเลือดจะปล่อยสารธรอมโบพลาสติน (thromboplastin) ไปทำปฏิกิริยากับสารในพลาสมาจับกันเป็นร่างแห เม็ดเลือดจะมาติดร่างแห เกิดก้อนแข็งขึ้นอุดรูบาดแผลเป็นการห้ามเลือด เส้นร่างแห จะยึดกับผนังหลอดเลือดและเนื้อเยื่อข้างๆ แล้วหดตัวรัดแน่นทำให้บาดแผลเชื่อมติดกัน

Monocytes เป็นเม็ดเลือดขาวที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในระบบหมุนเวียนเลือด มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 10-13 ไมครอน ลักษณะเม็ดเลือดค่อนข้างกลม นอกจากนี้ในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลานั้นยังพบว่ามี Haemoblasts จำนวนมากซึ่งเซลล์ก็มีลักษณะค่อนข้างกลมเช่นเดียวกัน เมื่อทำการย้อมสีด้วย Wright – Giemsa พบว่านิวเคลียสจะติดสีม่วง อยู่ด้านในด้านหนึ่งของเซลล์เม็ดเลือด มีลักษณะรูปร่างไม่แน่นอน ส่วนไซโตพลาสซึมจะติดสีน้ำเงิน ภายในจะมีแวคิวโอลขนาดใหญ่ Haemoblasts ที่พบเหล่านี้จะมีการพัฒนาไปเป็นเม็ดเลือดชนิดต่างๆนั่นเอง (Grizzle and Rogers, 1976) Haemoblasts จะมีลักษณะคล้ายคลึงกับ Monocytes มาก เพียงแต่ว่ามีในเม็ดเลือดปลาจะมีนิวเคลียสที่มีขนาดใหญ่กว่า ซึ่งมีรายงานมาว่า Monocytes ที่พบนั้นอาจเป็น Haemoblasts ที่มีขนาดใหญ่ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น Macrophages ที่สามารถพบเห็นได้ในเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ (Roberts, 1975)

ค่าทางเคมีในเลือดปลาสามารถบ่งบอกความผิดปกติทางสรีรวิทยา (Hé lé ne and Gé rard, 1996)และความผิดปกติทางพยาธิวิทยา เนื่องจากเมื่อปลาได้รับความเครียด หรืออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดการกระตุ้นให้มีการเพิ่มของคอร์ติซอล (cortisol) ในกระแสเลือด ซึ่งโน้มนำให้มีการเพิ่มขึ้นของอัตราเมตาบอลิซึมของเซลล์ และค่าทางเคมีในเลือดชนิดต่างๆ (Mazeaud and Donaldson, 1977) ในการตรวจวินิจฉัยสุขภาพจากตัวอย่างเลือดปลานิลซึ่งการสร้างเลือดในสัตว์เลือดอุ่น เม็ดเลือดเกิดจากไขกระดูก ม้าม และต่อมน้ำเหลือง แต่ในปลามีอวัยวะหลายอย่างทำหน้าที่นี้ ในปลาที่โตเต็มวัยแล้วเม็ดเลือดยังคงเกิดจากเยื่อบุภายในเส้นเลือดและยังมีบริเวณสร้างเม็ดเลือดจากแหล่งอื่นๆ ด้วยดังนั้นค่าทางเคมีในเลือดจึงสามารถนำมาใช้ในการประเมินสุขภาพปลา (Biaxhall and Daisley, 1973) และความผิดปกติที่เกิดขึ้นได้ ปัจจุบันค่าทางเคมีในเลือดของปลาในประเทศไทยยังมีการศึกษาอยู่เป็นจำนวนน้อย ยิ่งไปกว่านั้นค่าทางเคมีในเลือดของปลาต่างประเทศที่มีรายงานส่วนใหญ่จะแตกต่างกันจากปลาที่มีในประเทศไทย ปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลทำให้ค่าทางเคมีในเลือดเปลี่ยนแปลง ได้แก่ ชนิด อายุ (Harikrishnan *et al.*, 2003) เพศ ความสมบูรณ์ (Ezzat *et al.*, 1974) อุณหภูมิ ความเค็ม (Rao, 1969) การจับบังคับ (Ellsaesser and Clem, 1986) การวางยาวิธีการตรวจ ผู้ตรวจ (Hardig and Hoglund, 1983) วิธีการเก็บรักษาตัวอย่าง (Korcock *et al.*, 1988)การมีพยาธิภายนอก (Kaneko, 1983) ได้รับสารพิษ (Luskova *et al.*, 2002) และการที่ปลามีอาการป่วย(Waagbo *et al.*, 1988) ทำให้ใช้ประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคปลา หรือเพื่อการศึกษาค้นคว้าต่อไปในอนาคต ดังนั้น การศึกษานี้ได้ทำการประเมินความเจริญเติบโตและความแตกแตกต่างของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่เลี้ยงในความหนาแน่นปกติและในความหนาแน่นสูงซึ่งค่าโลหิตวิทยานั้นมีความสามารถเปลี่ยนแปลงระดับองค์ประกอบต่างๆในตัวอย่างเลือดได้ตามชนิดของปลา อายุ ขนาด ระยะเวลาในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สืบพันธุ์ และสภาพความสมบูรณ์ของร่างกาย (Blaxhall ,1972) ในการจัดการสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลนั้นต้องจัดการเลี้ยงให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมเพื่อไม่ให้ปลาเกิดความเครียด อาจส่งผลต่อระดับเลือด Blaxhall , (1972) กล่าวว่าค่าโลหิตวิทยามีความสำคัญต่อการตอบสนองต่อการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อม ในกรณีที่ใช้ปลาเป็นสัตว์ทดลอง ค่าโลหิตวิทยาต่างๆ เหล่านี้จะเป็นดัชนีชี้วัดสภาพการเลี้ยงดูและการอยู่อาศัยได้ (Gabriel *et al.*,2004) การประเมินค่าโลหิตวิทยานั้นจะต้องมีการประเมินค่าต่างๆดัง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1. ค่าฮีมาโตคริตและค่าชีวเคมีของปลานิล *Oreochromis niloticus* ที่เลี้ยงในระบบ semi-intensive

Parameters	Mean	Range
Erythrocytes (10^6/mm^3)	6.93 ± 8.28	0.7-28
Hemoglobin (g/dl)	10.52 ± 3.09	6.58-15.98
Hematocrit (%)	31.85 ± 8.45	15-45
MCV (μ^3)	148.80 ± 153.19	12.36-528.57
MHC (pg)	40.74 ± 34.19	3.07-120.86
MCHC (%)	35.24 ± 14.92	19.84-87.73
Glucose (mg/dl)	60.32 ± 20.22	22.7-107
Total protein (g/dl)	3.06 ± 0.65	1.81-3.98

ที่มา: Vallada (1988)

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของค่าทางเคมีในเลือด (Blood chemistry)บางตัว ที่จำเป็นในการตรวจเพื่อบ่งบอกและประเมินสุขภาพในปลาน้ำจืดได้เท่านั้น ซึ่งข้อมูลเหล่านี้ยังสามารถเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอ้างอิงสำหรับปลาวงศ์ปลาตะเพียน หรือปลาคาร์พในประเทศไทย และใช้ประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคปลา หรือเพื่อการศึกษาค้นคว้าต่อไปในอนาคต ดังนั้น การศึกษานี้ได้ทำการประเมินความเจริญเติบโตและความแตกแตกต่างของค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่เลี้ยงในความหนาแน่นปกติและในความหนาแน่นสูงซึ่งค่าโลหิตวิทยานั้นมีความสามารถเปลี่ยนแปลงระดับองค์ประกอบต่างๆในตัวอย่างเลือดได้ตามชนิดของปลา อายุ ขนาด ระยะเวลาในการสืบพันธุ์ และสภาพความสมบูรณ์ของร่างกาย (Blaxhall,1972) ในการจัดการสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิลนั้นต้องจัดการเลี้ยงให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมเพื่อไม่ให้ปลาเกิดความเครียด Blaxhall , (1972)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจค่าโลหิตวิทยา

Complete Blood Count (CBC) เป็นการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด Hb การตรวจหาปริมาณฮีโมโกลบินหรือ เปอร์เซนต์ของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นเทียบกับปริมาตร ของเลือดทั้งหมด ค่านี้ใช้บอกภาวะโลหิตจาง หรือ ข้น ของเลือด ค่าฮีมาโตคริต ที่เพิ่มมากขึ้นจะพบได้ในภาวะช็อค ขาดน้ำอย่างรุนแรง หรือในภาวะที่มีจำนวนเม็ดเลือดเพิ่มขึ้น และพบค่าฮีมาโตคริตต่ำได้ในผู้เป็นโลหิตจาง มะเร็งเม็ดเลือด หรือภาวะมีเลือดออกรุนแรง

1. ปริมาณฮีโมโกลบิน (Hemoglobin,Hb) การตรวจหาปริมาณฮีโมโกลบิน ฮีโมโกลบินมีหน้าที่นำออกซิเจนไปสู่เซลล์ และนำคาร์บอนไดออกไซด์จากเซลล์ ค่าฮีโมโกลบินที่ลดลงอาจเกิดจากการเสียเลือด และการขาดสารอาหาร

2. ความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit, Hct) หรือเปอร์เซนต์ของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นเทียบกับปริมาตรของเลือดทั้งหมด ค่าฮีมาโตคริต ที่เพิ่มมากขึ้นจะพบได้ในภาวะช็อค ขาดน้ำอย่างรุนแรง หรือในภาวะที่มีจำนวนเม็ดเลือดเพิ่มขึ้น และพบค่าฮีมาโตคริตต่ำได้ในผู้เป็นโลหิตจาง หรือภาวะมีเลือดออกรุนแรง

3. การตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาว (White Blood Cell Count, WBC) หรือ ปริมาณเม็ดเลือดขาวทุกชนิดในเลือดรวมกัน ถ้าจำนวน WBC ต่ำมาก อาจจะเกิดจากโรคที่มีภูมิต้านทานต่ำบางอย่าง หรือ เกิดจากการติดเชื้อไวรัสบางประเภท หรือ โรคที่มีการสร้างเม็ดเลือดผิดปกติ ถ้า WBC มีจำนวนสูงมาก อาจจะเกิดจากการติดเชื้อพวกแบคทีเรีย

4. การนับแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว (WBC differential count) จะรายงานออกมาเป็นเปอร์เซนต์ของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ดังนั้นรวมกันทั้งหมดทุกชนิดจะต้องได้ 100 เปอร์เซนต์พอดี ซึ่งตัวสำคัญหลักๆ ดังนี้

Lymphocyte ประกอบด้วย 89-98% ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด มีอยู่ 2 ประเภทคือ

1. พวกที่กำเนิดมาจากต่อมไทมัส ซึ่งเป็นแหล่งกลางของปฏิกิริยาทางอิมมูน เป็นตัวส่งลิมโฟไซต์ออกไปให้กำเนิดแก่ลิมโฟไซต์ในอวัยวะน้ำเหลืองอื่นๆ

2. พวกที่กำเนิดมาจากต่อมน้ำเหลือง (lymph nodesและ lymphoid tissue) ของระบบทางเดินอาหาร ทำหน้าที่สร้างแอนติบอดี และควบคุมภาวะไวเกินจากภูมิคุ้มกันส่วนเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเมื่อเกิดความเครียด

อุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (Goldberg *et al.*, 2002) ทำให้การดูแลควบคุมโรคปลาจึงมีการพัฒนามากขึ้นด้วย (Lovell 1998; สภาวิจัยแห่งชาติ 1999) ตลอดจนการพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ๆเพื่ออำนวยความสะดวกในการใช้ปรับปรุงระบบการเพาะเลี้ยงปลาด้วยความหนาแน่นสูง (Losordo et.al 1999; Summerfelt *et al.*, 2001) เนื่องจากในปัจจุบันความต้องการบริโภคปลาเพิ่มขึ้นมาก ฟาร์มปลาจึงต้องเร่งปรับปรุงเทคโนโลยีที่ใช้ในการเลี้ยงเพื่อสามารถที่จะเลี้ยงปลาด้วยความหนาแน่นสูงขึ้น เพื่อตอบสนองความต้องการทางตลาดทำให้บางฟาร์มมีความต้องการ ที่มีประสิทธิภาพอยบริหารจำเป็นสำหรับความหนาแน่นสูงระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำ การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่เกิดขึ้นนั้นเป็นการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมของปลาที่เกิดความเครียด ซึ่งสิ่งแวดล้อมเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมากในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Ellis *et.al.*, 2002) ในกรณีที่มีการเลี้ยงปลาด้วยความหนาแน่นสูงทำให้ปลาเกิดความเครียด จะมีผลต่อการเจริญเติบโตและเป็นอันตรายต่อสุขภาพของปลา Ashley (2007) กล่าวไว้ว่าความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาแต่ละชนิดนั้นอาจแตกต่างกันไป ส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับการออกแบบระบบในการเลี้ยง (Ellis *et al.*, 2002) ความหนาแน่นของ stock ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมาก ในระบบการเลี้ยงปลาในเชิงพานิชย์จึงควรที่จะคำนึงถึงสุขภาพของปลา (Spoolder *et al.*, 2003) มีรายงานว่าในการเลี้ยงปลาที่ความหนาแน่นไม่เหมาะสมนั้นนอกจากจะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตแล้วยังส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ของปลาอีกด้วย (Barton and Iwama, 1991) นอกจากนี้ก่อให้เกิดสภาวะเครียดในปลาเนื่องจากปลาจะประสบกับภาวะที่ต้องใช้พลังงานในการปรับตัวเองให้อยู่รอดในสภาพที่เลวร้าย ส่งผลให้ปลามีสุขภาพอ่อนแอและยอมรับเชื้อโรคต่าง ๆ ได้ง่าย และส่งผลนำไปสู่การตายของปลาในรูปแบบต่าง ๆ ในที่สุดและระบบเผาผลาญพลังงงาน ทำให้ส่งผลเสียต่อระบบอื่นๆในร่างกาย (Lemarié *et al.*, 2004) การศึกษาปัญหาความหนาแน่นในการเลี้ยงจึงต้องศึกษาผลของคุณภาพน้ำนอกจากนี้ยังมีความเครียดที่เกิดจากการกักขัง (Ruane *et al.*,2001) อีกด้วย ในปัจจุบันการเลี้ยงปลาจึงจำเป็นที่จะต้องมีการประเมินความเครียดเพื่อเป็นข้อมูลทางสุขภาพของปลา เช่น มีการตรวจคุณสมบัติทางเคมีของเลือด เช่น มีการตรวจคุณสมบัติทางเคมีของเลือด การเปลี่ยนแปลงระดับคอลติซอลในพลาสมารวมทั้งชีวเคมีและค่าโลหิต (Hull Dethloff *et al.*, 1999) เป็นต้น ระบบไหลเวียนโลหิตของปลาจะไวต่อการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อมภายนอกมาก ซึ่งผลการตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอกจะปรากฏให้เห็นจากการเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยา จำนวนและชนิดของเม็ดเลือดในกระแสโลหิต Weinreb (1958) และ Eliis *et al.*, (1969) และพบว่าลักษณะความเครียดที่เกิดขึ้นนั้นจะเป็นตัวกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาและปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

lymphocytes และ neutrophil รวมทั้งเกล็ดเลือดด้วย (thrombocytes) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้จะมีการควบคุมโดยต่อมใต้สมองและต่อมหมวกไต นอกจากนี้ Jakowska (1956) และ Gardner and Yevich (1969) ยังพบว่าเม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil จะเพิ่มมากขึ้นเมื่อปลาเกิดการติดเชื้อโรคและเมื่อเกิดสภาวะเครียดอันเนื่องมีผลมาจากสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม ปัจจุบันอากาศในแหล่งน้ำและสิ่งแวดล้อมรอบๆตัวเรานั้นมีการปนเปื้อนสารพิษในปริมาณสูง ที่เกิดจากการตกค้างของสารพิษและสารเคมีที่ใช้ในกิจกรรมของมนุษย์ ซึ่งสารพิษเหล่านี้ล้วนเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำทั้งสิ้น เพราะปลาเป็นสัตว์ที่ไวต่อมสภาวะมาก การเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาและค่าโลหิตวิทยาจึงใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ที่ถึงมลพิษได้ดีทีเดียว Weinreb (1958) และ Eliis *et al.*, (1969) ได้ทำการศึกษาและรายงานว่าค่าโลหิตวิทยาของปลาและการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆในกระแสเลือดปลาจะไวต่อสิ่งเร้าภายนอกมาก ดังนั้นในการศึกษาลักษณะโครงสร้างปกติของเม็ดเลือดของปลานั้นจึงจัดเป็นพื้นฐานที่สำคัญในการจะทำการศึกษาและทดลองโดยใช้ปลาเป็นสัตว์ทดลอง Weinreb (1958) และ Eliis *et al.*, (1969) รายละเอียดโครงสร้างเม็ดเลือดขาวและลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดในกระแสโลหิตของปลานิล Oreochromis nilotica เป็นแบบรายตัวที่เลี้ยงในระบบความหนาแน่นที่แตกต่างกัน พบว่า ลักษณะโครงสร้างในเม็ดเลือดของปลานิลส่วนใหญ่จะพบเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytes, monocyte และ neutrophil มีทั้งชนิดที่เจริญเต็มที่และยังเจริญไม่เต็มที่ ส่วนเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่ที่พบจะเป็น mature red blood cell โดย Weinreb (1958) และ Eliis *et al.*, (1969) กล่าวว่าปลาส่วนใหญ่สามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แตกต่างไปจากสภาวะตามธรรมชาติที่ปลาอาศัยอยู่ อย่างไรก็ตามไม่ได้หมายความว่าปลาจะมีสุขภาพดีหรืออาศัยได้ตลอดช่วงชีวิต อย่างเช่น การเลี้ยงปลาในสิ่งแวดล้อมที่เย็นกว่า (หรือร้อนกว่า) ช่วงที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตทำให้อวัยวะต่างๆ ทำงานมากขึ้นเพื่อช่วยให้ปลาดำรงชีวิตอยู่ได้ นั่นคือ สภาพแวดล้อมเช่นนั้นส่งให้ปลาอยู่ภายใต้ความเครียดที่เพิ่มขึ้น ความเครียดที่เพิ่มสูงขึ้นลดความสามารถของปลาในการต่อสู้กับโรคและรักษาตัวเอง (เช่น ถ้าครีบฉีกขาดหรือปรสิตต่างๆ ที่เข้าไปในถังพร้อมกับปลาที่เพิ่งซื้อมาใหม่ๆ) นอกจากนั้นความ เครียดยังลดความสามารถของปลาในการผสมพันธุ์และวงจรชีวิตตามธรรมชาติจะสั้นลง ตามปกติความเครียดเพียงเล็กน้อยไม่ทำให้ปลาตายแต่ด้วยความเครียดที่เพิ่มขึ้นทำให้ความสามารถในการต่อสู้จัดการกับโรคลดลง ดังนั้นหนึ่งในเป้าหมายสำคัญส่วนใหญ่ของผู้เลี้ยงปลา คือ กำจัดแหล่ง ที่มาต่างๆ ของความเครียดที่อาจเป็นไปได้

สาเหตุของความเครียด มีหลายๆปัจจัยที่นำไปสู่การสร้างความเครียดของปลา การลดแหล่งความเครียดของปลาโดยจัดการที่อยู่อาศัยที่เหมาะสม ซึ่งปลานิลแต่ละตัวมีความทนต่อภาพแวดล้อมแตกต่างกัน (Suresh and Lin,1992) ถ้าปลาอยู่ในสภาวะที่มีความเครียดทำให้ค่าโลหิตวิทยาเปลี่ยนแปลง ดูได้จาก (ตารางที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ค่าโลหิตวิทยาที่เลี้ยงด้วยระบบหนาแน่น

Hematological parameters in the blood	Mean ±SD
Erythrocytes (RBC) ($1 \times 10^6 l^{-1}$)	1.25 ± 0.15
Hematocrit (Ht) value (%)	35.0 ± 3.0
Hemoglobin (Hb) level ($g\ l^{-1}$)	65.5 ± 2.5
Red cell volume (MCV) (fl)	320.0 ± 15.0
Red cell hemoglobin (MCH) (pg)	67.5 ± 2.0
Cellular hemoglobin concentration (MCHC) ($g\ l^{-1}$)	187.5 ± 2.5
Leukogram (%):	
neutrophils	8.5 ± 1.5
acidophils	2.0 ± 0.5
basophils	0.75 ± 0.15
lymphocytes	86.5 ± 2.5
monocytes	2.5 ± 0.5
Leukocyte ($UL^{-1} \times 10^3$)	28.5 ± 2.5

ที่มา:(Racicot *et al.*, 1975 ; Rehulka,1998).

ความเครียดเกิดได้จากหลายสาเหตุ ดังนี้

1. ความเครียดที่เกิดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต การเปลี่ยนแปลงสภาวะของน้ำโดยทันทีทันใด ปลาส่วนใหญ่มีความสามารถจำกัดในการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะของน้ำ การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำโดยทันทีทันใดสร้างความเครียดให้กับปลา การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำที่มีผลต่อความเครียดของปลา ได้แก่

1.1 สารประกอบไนโตรเจน (แอมโมเนีย ไนไตรท์ และไนเตรท) สารประกอบไนโตรเจนมีระดับความเป็นพิษแตกต่างกันและสร้างความเครียดได้ที่ทุกระดับความเข้มข้น (Wagner *et al.*,1995) แอมโมเนียมีความเป็นพิษและสร้างความเครียดต่อสัตว์น้ำที่ความเข้มข้นต่ำ ดังนั้นตู้เลี้ยงปลาที่ดีจะต้องมีหน่วยกรองชีวภาพที่เปลี่ยนเป็นไนไตรท์ (และไนเตรท)ได้เร็ว ไนเตรทแม้ว่ามีความเป็นพิษน้อยกว่าแอมโมเนียหรือไนไตรท์แต่ไนเตรทก็สร้างความเครียดให้กับปลาได้ด้วย ดังนั้น Wagner *et al.*, (1995) กล่าวว่าต้องมีการกำจัดไนเตรทส่วนที่เกินออก

1.2 อุณหภูมิของน้ำ อุณหภูมิของน้ำต้องเหมาะสมกับชนิดปลาที่เลี้ยง Cripps and Bergheim ,2000) การเลี้ยงปลาในน้ำที่ร้อนหรือเย็นเกินไปจะสร้างความเครียดให้กับปลา

1.3 ค่าความกระด้างของน้ำ ปลาบางชนิดชอบอาศัยอยู่ในน้ำอ่อน มากกว่าน้ำกระด้าง การเลี้ยงปลาที่ชอบน้ำอ่อนในน้ำกระด้างสร้างความเครียดให้กับปลา และปลาบางชนิดชอบน้ำที่เป็นกรด หรือน้ำที่เป็นด่าง หรืออาศัยอยู่ได้ที่ค่าพีเอชเป็นกลาง ปลาบางชนิดอาศัยอยู่ในน้ำกร่อยซึ่งน้ำมีความเค็มของเกลือเล็กน้อย และบางชนิดก็ทนความเค็มได้ในช่วงกว้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ออกซิเจนต่ำ ปลาต้องการออกซิเจนและปลาบางชนิดทนต่อออกซิเจนต่ำได้มากกว่าชนิดอื่น น้ำที่มีออกซิเจนไม่เพียงพอสร้างความเครียดให้กับปลา (Losordo *et al.*, 1999) เป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่ออุณหภูมิของเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลง

1.5 การเลี้ยงปลาผสมรวมกัน ไม่ใช่ปลาทุกชนิดจะเลี้ยงรวมกับปลาอื่นได้ดี การเลี้ยงปลาขนาดต่างกันรวมกันทำให้ปลาขนาดใหญ่จะกินปลาที่มีขนาดเล็ก ปลาที่มีนิสัยรักสงบจะเกิดความเครียดได้หากเลี้ยงร่วมกับปลาที่มีนิสัยก้าวร้าว ปลาบางชนิดมีนิสัยรวมฝูงกันในธรรมชาติ การเลี้ยงปลาไว้เพียงตัวเดียวทำให้ปลารู้สึกไม่สะดวกสบายหรือปลอดภัย

1.6 การความเครียดจากการกักขัง ในการเลี้ยงปลาในพื้นที่จำกัดถังที่เล็กเกินไปเพิ่มความเครียดให้กับปลาซึ่งบ่อยครั้งที่นำไปสู่ความก้าวร้าวระหว่างปลา ปริมาณพื้นที่ที่ต้องการอาจเปลี่ยน แปลงตามช่วงการผสมพันธุ์

2. อาหารมีคุณภาพไม่ดี นอกจากสภาพแวดล้อมแล้วความเครียดของปลายังเกิดจากอาหารที่มีคุณภาพต่ำ และผู้เลี้ยงควรหลีกเลี่ยงอาหารเก่าซึ่งวิตามินและแร่ธาตุอื่นๆได้สลายไปแล้ว อาหารเก่ารวมถึงอาหารที่เก็บไว้ในที่ร้อน หรือสัมผัสกับอากาศ(ไม่ได้ปิดผนึก) เป็นต้น

3. การรักษาโรค การรักษาโรคด้วยการเติมยาลงในถังเลี้ยงปลาบ่อยครั้งให้ผลเลวร้ายกว่าโรคซึ่งมีมาแต่เดิม ยาที่ฆ่าแบคทีเรีย ปรสิต และอื่นๆ อาจฆ่าแบคทีเรียพวก nitrifying หรือเป็นพิษกับปลา ตัวอย่าง ปลาบางชนิดไม่ทนต่อต่อยาบางประเภทที่ทุกระดับความเข้มข้น การเติมยาดัง -กล่าวอาจทำให้ปลาอ่อนแอสู่จุดที่ยอมรับต่อโรคซึ่งมีมาแต่เดิม

4. การเติมน้ำที่มีคลอรีน การเติมน้ำที่มีคลอรีนหรือคลอรามีนลงในถังเลี้ยงปลาสร้างความเป็นพิษให้กับปลา ในการเติมน้ำลงในถังเลี้ยงปลาจึงต้องแน่ใจว่าน้ำนั้นไม่มีคลอรีนหรือคลอรามีนเหลืออยู่

มีหลายๆปัจจัยที่นำไปสู่การสร้างความเครียดของปลา การลดแหล่งความเครียดของปลาโดยจัดการที่อยู่อาศัยที่เหมาะสม ซึ่งปลาแต่ละตัวสามารถทนความเครียดได้ขึ้นอยู่กับชนิด อายุและขนาด ปลาที่มีความเครียดจะอ่อนแอ ป่วยเป็นโรค และการที่น้ำมีคุณภาพไม่ดี มีเชื้อโรค ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันโรคของปลาลดต่ำลง

อาการของปลาที่มีความเครียด

1. ปลาอยู่บริเวณผิวน้ำอ้าปากเพื่อหายใจ ชี้ให้เห็นว่า ปลาได้รับออกซิเจนไม่เพียงพอ (บริเวณผิวน้ำมีความเข้มข้นของออกซิเจนสูงที่สุด) สาเหตุที่อาจเป็นไปได้ เช่น มีความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของออกซิเจนต่ำเนื่องจากน้ำหมุนเวียนไม่ดี สารพิษทำลายเหงือก ระดับของแอมโมเนียหรือไนไตรท์สูง เป็นต้น

2. ปลาไม่กินอาหารหรือกินอาหารไม่ดุเหมือนที่ผ่านมา

3. ปลาหลบซ่อนอยู่ตลอดเวลาและไม่มายังที่สามารถเห็นปลาได้ สาเหตุที่อาจเป็นไปได้ ปลาที่มีนิสัยดุร้ายมีที่หลบซ่อน(พืชน้ำ ไม้ เป็นต้น)ซึ่งทำให้ปลารู้สึกปลอดภัยไม่เพียงพอ

4. ครีบเปื่อย ไม่สามารถรักษาให้หายได้ รอยแหว่งเล็กน้อยถือเป็นสิ่งปกติและลดได้อย่างรวดเร็ว แต่ถ้าปลาไม่สามารถทำได้ระดับความเครียดอาจกดดันระบบภูมิคุ้มกันของปลา

5. ปลาเป็นโรค ระบบภูมิคุ้มกันโรคของปลาที่ดีป้องกันปลาจากการเจ็บป่วยในสถานที่ใหม่ ดังนั้นการเจ็บป่วยของปลาคือ อาการของปลาที่อยู่ในสภาวะเครียด

ดังนั้นในการเลี้ยงปลานิลเราควรคำนึงถึงสุขภาพของปลานิลที่เลี้ยงด้วยว่าอยู่ในสภาวะเหมาะสมหรือไม่เพราะนอกจากจะไปมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตแล้ว ปัจจัยต่างๆเหล่านี้ยังส่งผลไปถึงระบบโลหิตวิทยาอีกด้วย ในการศึกษานี้ต้องการที่จะศึกษาความหนาแน่นในการเลี้ยงปลาที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่มีการศึกษารายตัวเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสุขภาพปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ปลานิล ขนาด 200-300 กรัม จำนวน 10 ตัว
2. กล้องจุลทรรศน์
3. เครื่องนับเม็ดเลือด
4. Haemocytometer หรือ Coynting chamber
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Refrigerated Cetrifuge)
6. เครื่องกวนสาร (Magnetic sterer และ Magnetic bar)
7. เข็มและกระบอกฉีดยาขนาดเล็ก
8. Diluting pipette
9. สายยาง
10. Microhaematocrit tube
11. 10% Trisodium citrate
12. สีย้อมเม็ดเลือด Yokoyama's white cell fluid
13. สีย้อมเม็ดเลือด Wright & Giemsa strain
14. สารละลาย buffer pH 6.2 และ pH 6.8
15. แผ่นดินน้ำมัน
16. ลูกยาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

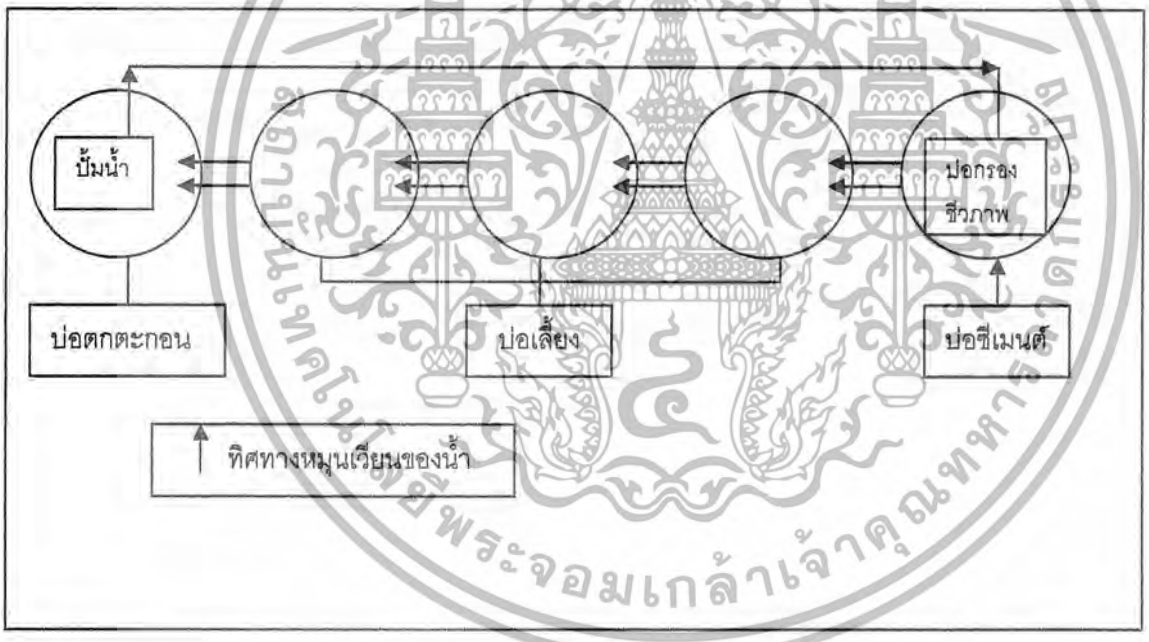
สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

วิธีการ

แผนการทดลอง

แบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ปลาที่เลี้ยงในความหนาแน่นสูง คือ (High Density) 125 ตัว/เมตร^{3}และกลุ่มควบคุม (Normal Density) ที่เลี้ยงในความหนาแน่น 50 ตัว/เมตร^3 เลี้ยงในระบบหมุนเวียนน้ำ ที่มีบ่อตกตะกอน และบ่อกรองของเสีย โดยที่ไม่เปลี่ยนน้ำในระหว่างการเลี้ยง 3 เดือน มีการกำจัดตะกอนที่ก้นบ่อตกตะกอนออก 2 วัน/ครั้ง และเติมน้ำเข้าไปให้ได้ปริมาตรเท่าเดิม

หมายเหตุ : ในระหว่างการเลี้ยงจะใช้ระบบพักน้ำเพื่อให้ตกตะกอนและระบบกรองชีวภาพช่วยในการรักษาคุณภาพน้ำ และมีการให้ออกซิเจนอย่างเพียงพอ ตลอดการทดลองนี้ โดยระบบกรองน้ำจะพักน้ำจากบ่อเลี้ยงปลาเพื่อให้เกิดการตกตะกอนของสารแขวนลอยและสารประกอบพวกโลหะหนัก ก่อนนำน้ำไปบำบัดโดยการกรองก่อนนำกลับเข้าไปในบ่อเลี้ยงปลาอีกครั้งดัง (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แผนภาพส่วนประกอบของระบบการเลี้ยงและแสดงทิศทางของระบบหมุนเวียนน้ำในการเลี้ยง

ที่มา : ภราดรและณัฐพงษ์ (2008)

104583

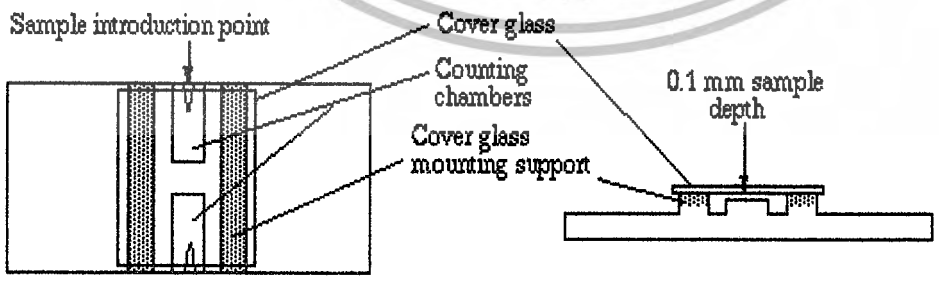
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา

ขั้นตอนเริ่มต้นในการทำการทดลองคือ เตรียมเช็คอุปกรณ์ที่จะใช้ในการตรวจตัวอย่างเลือดปลา เช่นการเขียนชื่อบนแผ่นสไลด์ และนำมาเช็ดทำความสะอาดด้วย methyl alcolhol เพื่อกำจัดคราบไขมันต่างๆ จึงจะเริ่มการทดลองโดยการนำปลาที่จะใช้ในการทดลองมาทำการสลบด้วย 10% chinadine และทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากบริเวณคอดหาง(caudal blood vessels) ตามเทคนิคของ (Ostrander, 2000)โดยใช้เข็มฉีดยาขนาดเล็กและกระบอกฉีดยาที่ทำการเคลือบสาร 10% trisodium citrate เพื่อกันการแข็งตัวของเลือด ซึ่งจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดมาประมาณ 0.2-0.3 ml (เนื่องจากปลามีขนาดเล็ก) นำเลือดที่ได้มาใส่ในหลอด microhaematocrit tube เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาดังต่อไปนี้

1. วิเคราะห์ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว

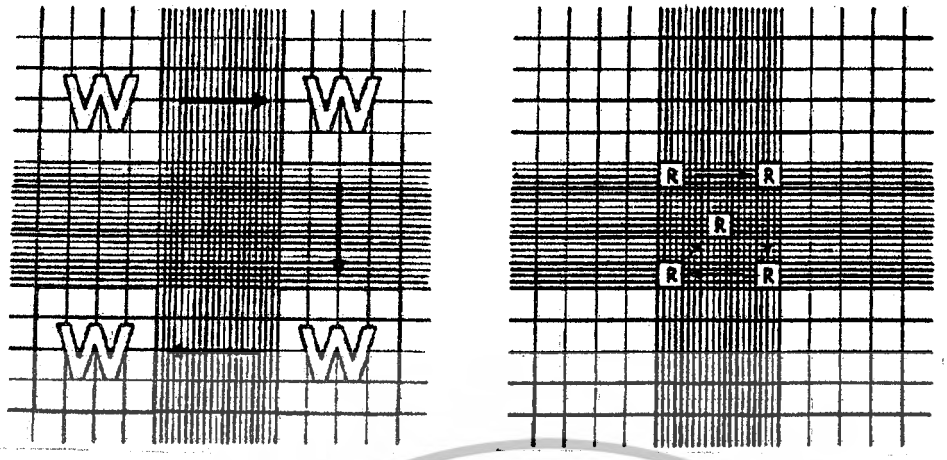
นำหลอด Diluting pipette ที่สะอาดมาดูดตัวอย่างเลือดจาก Microhaematocrit tube จนถึงขีด 0.5 ใช้ทิชชูเช็ดเลือดที่ติดปริเวณปลาย Diluting pipette แล้วนำมาดูดน้ำยา Yokoyama's white cell fluid จนถึงขีด 101 ใช้นิ้วอุดหลายหลอดทั้งสองข้างแล้วเขย่าไปมาช้าๆ เพื่อให้เลือดและน้ำยาผสมกันประมาณ 2 นาที จะได้เลือดที่มีความเจือจางเท่ากับ 1:200 จากนั้นให้ปล่อยน้ำยาจากหลอด 2-3 หยดแรกทิ้งไปเพื่อป้องกันน้ำยาที่ยังไม่ได้ผสมกันหรืออาจยังผสมไม่ทั่วถึงนั่นเอง นำปลายหลอดมาแตะบริเวณ cover glass เพื่อให้น้ำยาค่อยๆๆซึมกระจายไปทั่วแผ่น counting chamber (ซึ่งเราจะต้องทำอย่างระมัดระวังเนื่องจากว่า counting chamber จะเป็นรอยได้ง่าย ซึ่งมีผลต่อการใช้ในครั้งต่อๆไป) Blaxhal and Daisley (1973) จากนั้นให้นำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายต่ำเพื่อหาตารางสี่เหลี่ยมจัตุรัสตรงกลาง 25 ช่องให้ได้เสียก่อน จึงจะปรับเป็นกำลังขยายสูงเพื่อที่จะใช้ในการนับจำนวนเม็ดเลือดแดงและจำนวนเม็ดเลือดขาว ซึ่งเม็ดเลือดแดงนั้นเราจะนับทั้งหมด 5 ช่อง ส่วนเม็ดเลือดขาวนั้นจะนับ 4 ช่องดังภาพที่แสดงนี้



ภาพที่ 3 ลักษณะองค์ประกอบของ counting chamber ที่ใช้ในการนับปริมาณความหนาแน่นของเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง

ที่มา : www.microscopyu.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 ตารางบน counting chamber เมื่อดูจากกล้องจุลทรรศน์ (W) พื้นที่นับเม็ดเลือดขาวและ (R) พื้นที่นับเม็ดเลือดแดง

ที่มา : www.animal.ufl.edu/hansen/protocols/hemacyt2a.

แล้วจึงจะนำค่าทั้งหมดที่ได้นั้นมาทำการคำนวณตามสูตรดังนี้

จำนวนเม็ดเลือดแดง = จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ทั้งหมด 5 ช่อง x 5x 10 x 200

= ..... 10^6 / mm^3

จำนวนเม็ดเลือดขาว = จำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้เฉลี่ยต่อช่อง x 10 x 200

= ..... 10^4 / mm^3

2. วิเคราะห์ค่าเปอร์เซนต์ค่าฮีมาโตคริต

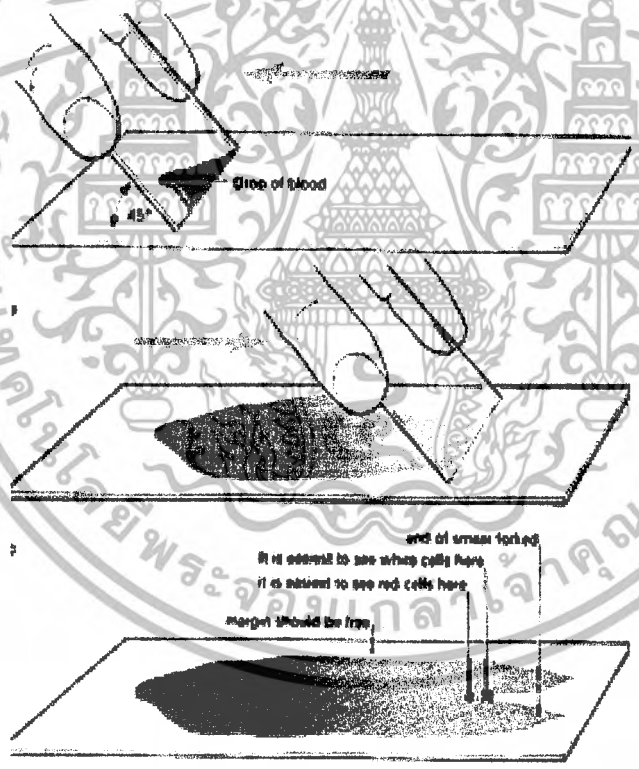
นำตัวอย่างเลือดที่เก็บไว้ในหลอด Microhaematocrit tube จนถึงขีดแดงจำนวน 2 หลอด ห้ามใส่มากหรือน้อยเกินไป เช็ดทำความสะอาดเลือดที่เปื้อนข้างหลอด แล้วนำปลายข้างหนึ่งไปอุดด้วยดินน้ำมัน ซึ่งต้องระวังอย่าให้เลือดไหลลงไปในดินน้ำมันเพราะว่าจะทำให้ดินน้ำมันหลุดออกขณะที่นำเข้าเครื่อง Microcentrifuge จากนั้นจึงนำไปปั่นในเครื่อง Microcentrifuge โดยวางหลอด Microhaematocrit tube ให้ปลายที่อุดดินน้ำมันออกทางด้านนอกและต้องวางให้สมดุลกันปิดฝาแน่น โดยใช้เวลาปั่นนาน 15 นาที ที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที ด้วยอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำออกมาอ่านค่าโดยใช้ PCV reading chart ซึ่งเป็นฝาของหัว Haematocrit นั่นเอง โดยวางหลอด Microhaematocrit tube ให้อยู่ในแนวตั้งฉาก ให้ปลายด้านบนอยู่ที่ขีด 100 และปลายด้านล่างอยู่ที่ขีด 0 ค่าPCV ที่อ่านได้จะเป็นเปอร์เซนต์หรือลิตร/ลิตร (L/L) ถ้าในกรณีที่ไม่ใช้ PCV reading chart ในการวัด ก็ต้องทำการคำนวนค่าให้ออกมาเป็นเปอร์เซนต์ตามสูตรดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{เปอร์เซนต์ค่าฮีมาโตคริต} = \frac{[\ \text{ความยาวของชั้นเม็ดเลือดแดง} \times 100\ ]}{\text{ความยาวของน้ำเลือดทั้งหมด}}$$

3. วิเคราะห์เพื่อแยกชนิดเม็ดเลือดขาว

นำตัวอย่างเลือดที่เก็บไว้ในหลอด มาทำ blood smear การเตรียมสเมียร์เลือด เริ่มจากการหยดเลือดลงบนแผ่นสไลด์ที่ด้านใดด้านหนึ่งของสไลด์ แล้วใช้ตัวไถมาแตะที่ด้านหน้าของหยดเลือด โดยให้ตัวไถทำมุม 30-45 องศากับแผ่นสไลด์ แล้วไถตัวไถไปข้างหน้าด้วยความเร็วสม่ำเสมอ จะเกิดเป็นสเมียร์เลือด โดยสเมียร์เลือดที่ดีนั้นควรจะมีความยาวประมาณ 3-4 เซนติเมตร และปลายฟิล์มมน หลังจากนั้นจึงนำมา fixed ด้วย methyl alcolhol จึงจะย้อมสี Wright & Giemsa ตามตารางภาคผนวกที่ 1 จึงจะทำการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวได้



ภาพที่ 5 ลักษณะการทำการสเมียร์เลือดบางบนแผ่นสไลด์

ที่มา : www.practicalbiology.org.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. วิเคราะห์ค่าปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง

โดยการนำค่าเปอร์เซนต์ฮีมาโตคริตที่และปริมาณเม็ดเลือดแดงที่หาได้มาใช้ในการคำนวณหาค่าปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง ตามสูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง}(nm^3) = \frac{\text{เปอร์เซนต์ค่าฮีมาโตคริต} \times 10}{\text{ปริมาณเม็ดเลือดแดง}(10^6 / mm^3)}$$

การบันทึกข้อมูล

1.ทำการบันทึกรหัส I.D ของTag ที่ติดในปลาแต่ละตัว และบันทึกขอมูลน้ำหนัก ความยาว ของปลาแต่ละตัวอย่างละเอียด ในทุกครั้งที่จะทำการทดลอง

2. บันทึกจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวที่นับได้จากการวิเคราะห์ อย่างละเอียด

3. บันทึกเปอร์เซนต์ค่าฮีมาโตคริต ของปลาแต่ละตัวในแต่ละซ้ำ

4. บันทึกจำนวนชนิดเม็ดเลือดขาวที่พบในปลาแต่ละตัว ลักษณะ รูปร่าง และบันทึกเปอร์เซนต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดที่พบจากการนับทั้งหมด 100 เซลล์ ซึ่งจะประกอบไปด้วย Lymphocytes ,Neutrophils, Monocytes ,Thrombocytes, eosinophil และ basophil

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้ น้ำหนัก ความยาว และข้อมูลทางค่าโลหิตวิทยา มาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการใช้โปรแกรม SPSS

1. แจกแจงความถี่ และค่าร้อยละ ของข้อมูลสถานภาพของกลุ่มตัวอย่าง

2. วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน(Standard Deviation) เพื่อศึกษาระดับความเครียดและวิธีเผชิญความเครียดของกลุ่มตัวอย่าง

3.ใช้สถิติทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (t-test) และการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One –way Analysis of Variance : ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับความเครียดและความแตกต่างของวิธีเผชิญความเครียดของกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

4.ใช้สถิติทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (t-test) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างกันระหว่างระดับความเครียด ซึ่งกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

เดือนธันวาคม 2551 ถึงเดือนมีนาคม 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

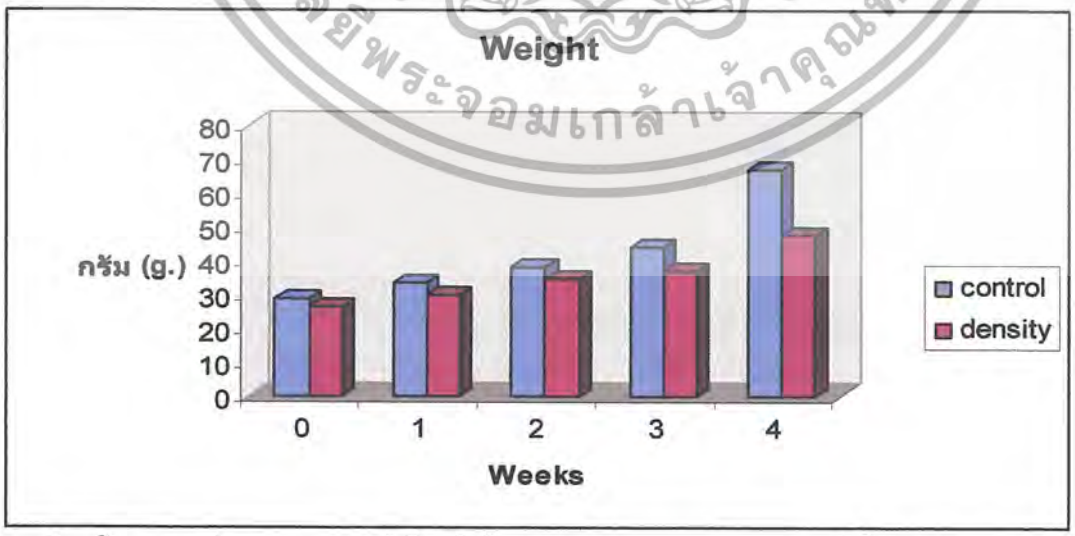
1. **การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยน้ำหนักและความยาว**

การศึกษาค่าเฉลี่ยน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่เลี้ยงที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบความหนาแน่นสูง ปลานิลในกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 45.99 ± 12.76 กรัม ความยาวเฉลี่ย 12.29 ± 0.53 เซนติเมตร ส่วนในกลุ่มหนาแน่นสูงมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 31.43 ± 4.67 กรัม ความยาวเฉลี่ย 11.96 ± 0.77 เซนติเมตร เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักและความยาวของปลานิลทั้ง 2 กลุ่มนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักและความยาวของปลานิลที่เลี้ยงที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบความหนาแน่นสูง

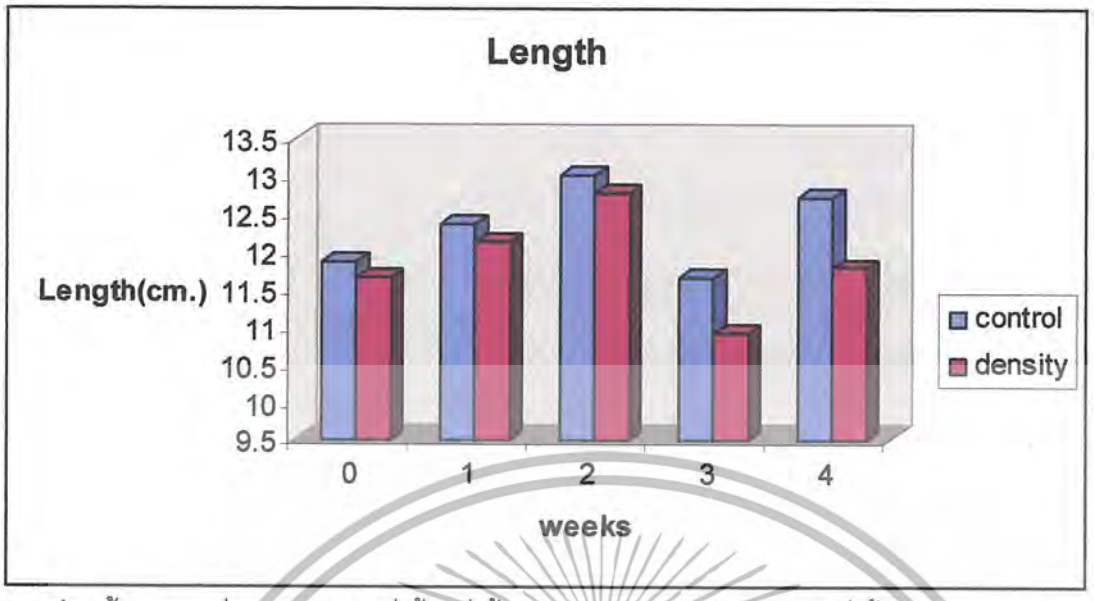
การเจริญเติบโต	Control	Density
น้ำหนัก (g.)	45.99 ± 12.76 [a]	31.43 ± 4.67 [a]
ความยาว (cm.)	12.29 ± 0.53 [a]	11.96 ± 0.77 [a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน; n=10 ;ตัวเลขยกำลัง a,b แสดงให้เห็นค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$)



ภาพที่ 6 น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลที่เลี้ยงที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบความหนาแน่นสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลที่เลี้ยงที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบความหนาแน่นสูง

2.การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา

จากการทดลองจะสรุปผลได้ว่าค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่ติดตามรายตัวที่เลี้ยงในระบบหนาแน่นและไม่ความหนาแน่นนั้นมีค่าฮีมาโตคริตเฉลี่ยเท่ากับ 25.26 และ 25.95 เปอร์เซนต์ตามลำดับ มีปริมาณเม็ดเลือดแดงเฉลี่ยเท่ากับ 1.35×10^{6} ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร และ 1.33×10^{6} ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนปริมาณเม็ดขาวเฉลี่ยเท่ากับ 2.37×10^{4} ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร และ 1.84×10^{4} ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ และปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.93×10^{-4} และ 1.71×10^{-4} ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำมาเปรียบเทียบค่าทางสถิติจะพบว่า จากการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลานิลที่มีการติดตามรายตัวพบว่าปริมาณเม็ดขาวเฉลี่ย (WBC) ที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มหนาแน่นนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังตารางที่ 2) ซึ่งค่าโลหิตวิทยาของปลานิลส่วนใหญ่ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เลี้ยงในระบบหนาแน่นนั้นจะมีค่าโลหิตวิทยาแปรผันตามกันและพบว่ามีค่าขึ้นๆ ลงๆ ตามระยะเวลา ซึ่งการศึกษานี้จะมีความสอดคล้องกับทฤษฎีของ Racicot et al. (1975) ที่ได้ทำการศึกษา ซึ่งอาจกล่าวได้การเปลี่ยนแปลค่าโลหิตวิทยาและสารเคมีในปลานิลนั้นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ เนื่องจากปลานิลเป็นปลาอีกชนิดหนึ่งที่มีความไวต่อการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นความเครียดที่เกิดจากการติด FRID TAG ปลานิลนั้น ความเครียดจากการถูกกักขัง และการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นจากสภาพแวดล้อม ซึ่งสิ่งต่างๆเหล่านี้ล้วนมีส่วนที่ทำให้ค่าโลหิตวิทยามีการเปลี่ยนแปลงได้ เช่นเดียวกับการทดลองของ Gabriel et al. (2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ Blaxhall , (1972) ที่ได้ทำการศึกษาระดับความเครียดที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดโดยตรง

ตารางที่ 4 ค่าโลหิตวิทยาของปลานิลติดมีการติดตามรายตัว ที่เลี้ยงด้วยระบบหนาแน่นและไม่หนาแน่น

ค่าฮีมาโตคริต	Control	Density
ปริมาณความหนาแน่นเม็ดเลือดแดง (10^6 / mm^3)	1.35 ± 0.20 [a]	1.33 ± 0.17 [a]
ปริมาณความหนาแน่นเม็ดเลือดขาว (10^4 / mm^3)	2.37 ± 0.61 [a]	1.84 ± 0.21 [b]
ค่าฮีมาโตคริต (%)	25.26 ± 3.5 [a]	25.95 ± 1.49 [a]
ปริมาตรเฉลี่ยเม็ดเลือดแดง(10^{-4} / mm^3)	1.93 ± 0.18 [a]	1.71 ± 0.34 [a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน; n=10 ;ตัวเลขยกกำลัง a,b แสดงให้เห็นค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P>0.05)

2. การวิเคราะห์เพื่อแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว

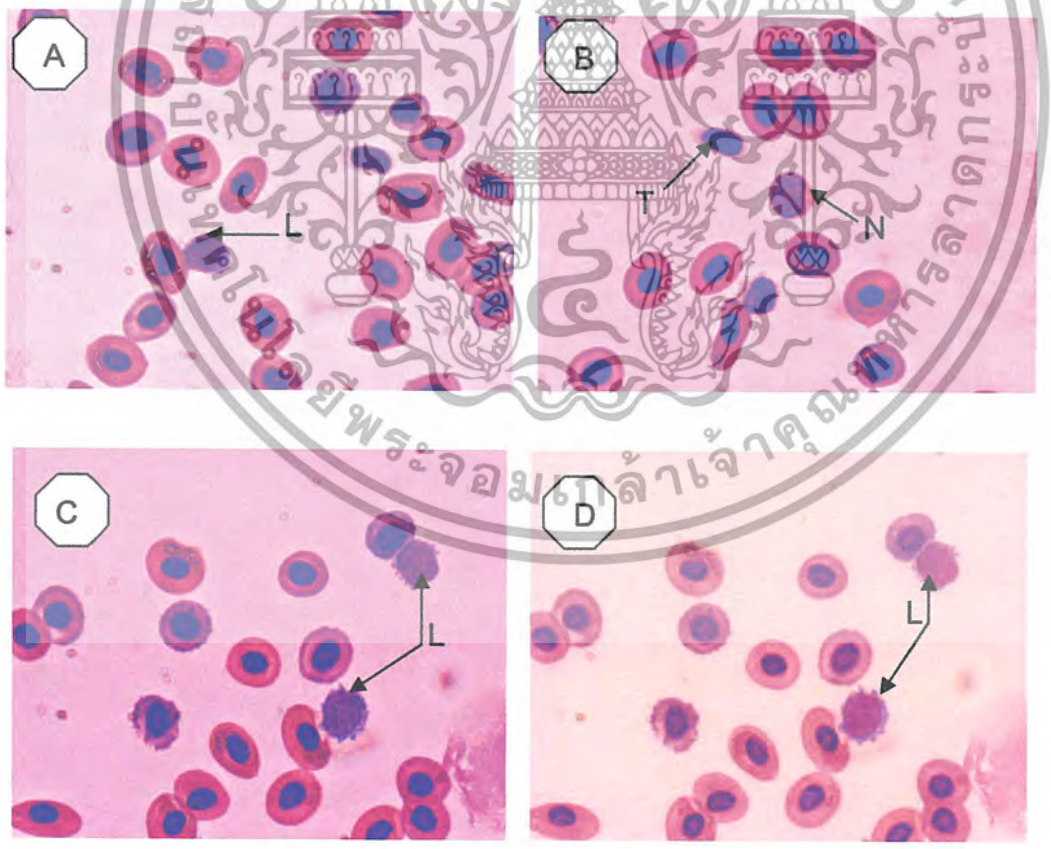
จากการวิเคราะห์ผลการทดลองตรวจค่าโลหิตวิทยาในปลานิลที่เลี้ยงในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบหน่าแน่นนั้นพบว่าปลานิลที่เลี้ยงทั้ง 2 ระบบนี้จะมีชนิดเม็ดเลือดขาวที่พบเหมือนกันคือ พบเม็ดเลือดขาว 4 ชนิด ประกอบไปด้วย lymphocytes ,neutrophils, monocytes ,thrombocytes ซึ่งในกลุ่มควบคุมมีเปอร์เซนต์เฉลี่ยเท่ากับ 43.86 % , 26.06% , 18.86% และ 14.66 % ตามลำดับ ในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยระบบหนาแน่นมีเปอร์เซนต์เฉลี่ยเท่ากับ 33.92 % , 27.48 % , 20.54 % และ 12.70 % และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่าเม็ดเลือดขาวชนิด thrombocytes ของปลานิลทั้ง 2 กลุ่มนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยที่เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte, neutrophils และ monocyte จะมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาสถิติ ($p<0.05$) (ดังตารางที่ 4) โดยที่เม็ดเลือขาวที่เราพบสูงที่สุดในระบบไหลเวียนโลหิตของปลานิลทั้ง 2 กลุ่มนี้คือเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytes นอกจากนี้ยังพบว่าพบว่าในระบบไหลเวียนโลหิตของปลานิลทั้ง 2 กลุ่มนี้จะไม่พบเม็เลือดขาวชนิด eosinophil และ basophil ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ (ณัฐวดี ศรีอนันต์ ,2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ปริมาณเปอร์เซนต์เฉลี่ยของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดที่พบในระบบไหลเวียนโลหิตของปลานิลทั้งในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยระบบหนาแน่น

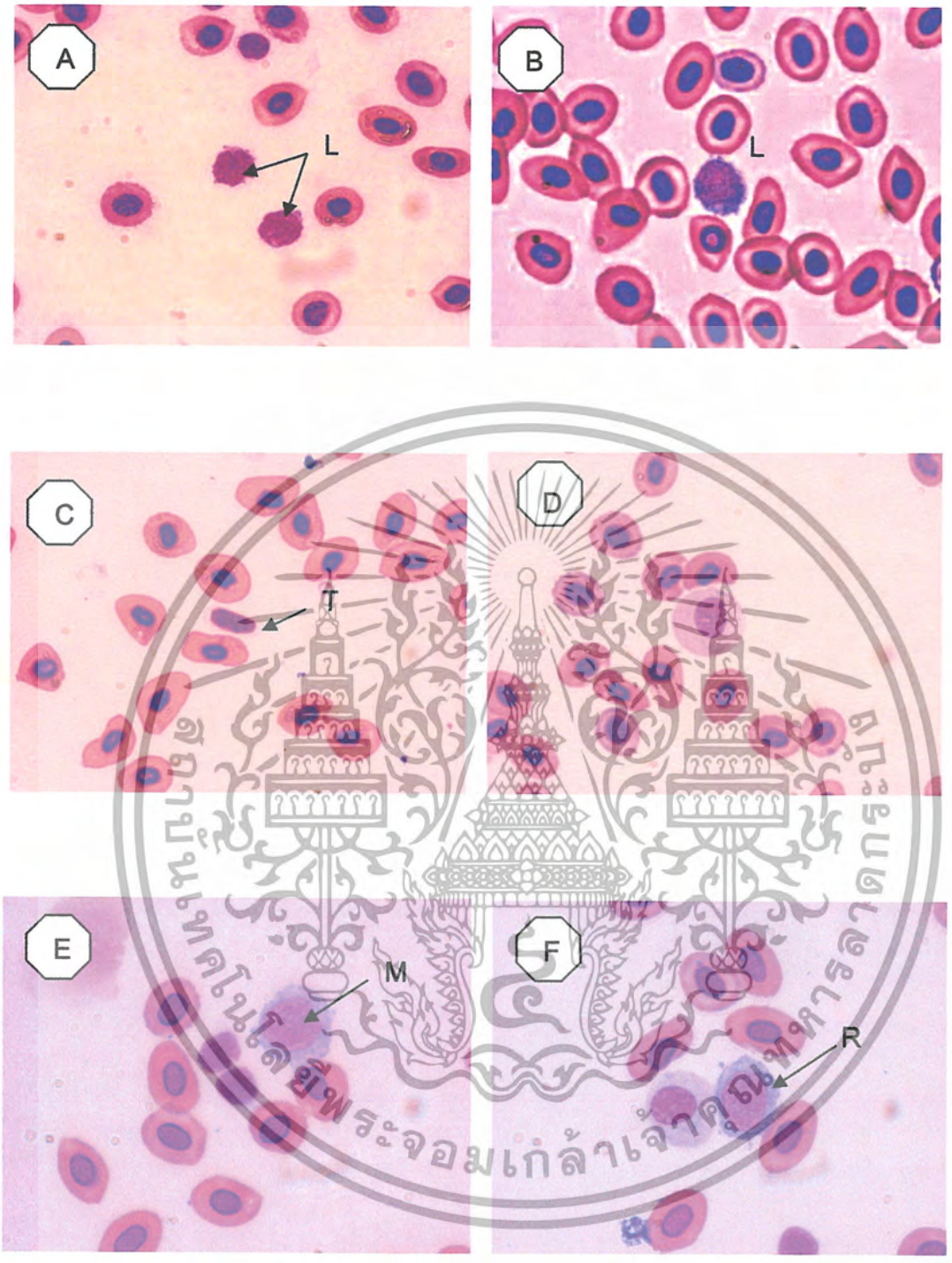
ชนิดเม็ดเลือดขาว (% ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด)	Control	Density
Lymphocytes	43.86 ± 6.4 [a]	33.92 ± 2.06 [a]
Neutrophils	26.06 ± 6.99 [a]	27.48 ± 1.77 [a]
Monocytes	18.86 ± 4.87 [a]	20.54 ± 2.85 [a]
Thrombocytes	14.66 ± 6.22 [a]	12.70 ± 1.46 [b]
Eosinophils	-	-
Basophils	-	-

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน n=10 ;ตัวเลขยกกำลัง a,b แสดงให้เห็นค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P>0.05)



ภาพที่ 8 ลักษณะเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด; L = Lymphocytes , N = Neutrophils , M = Monocytes และ T = Thrombocytes (กำลังขยาย 100X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 ลักษณะเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดและเม็ดเลือดแดง ; L = Lymphocytes , N = Neutrophils , M = Monocytes และ T = Thrombocytes R = Mature red blood cell (กำลังขยาย 100X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

ปลานิลที่เลี้ยงกลุ่มควบคุมมีขนาด 45.99 ± 12.76 กรัม ยาว 12.29 ± 0.53 เซนติเมตร และในกลุ่มหนาแน่นสูงมีขนาด 31.43 ± 4.67 กรัม ยาว 11.96 ± 0.77 เซนติเมตร พบว่าค่าโลหิตวิทยาของปลาทั้ง 2 กลุ่มนี้มีค่าฮีมาโตคริตเฉลี่ยเท่ากับ 28.15 - 28.23 เปอร์เซนต์ ปริมาณเม็ดเลือดแดงเฉลี่ยเท่ากับ1.43-1.44 x $10^6/mm^3$ ปริมาณเม็ดเลือดขาวเท่ากับ 1.69 - 2.55 x $10^4/mm^3$ ในการศึกษาจากฟิลม์สเมียร์เลือดได้ค่าร้อยละของเม็ดเลือดขาวพบว่า Lymphocyte เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่พบมากที่สุดแต่จะไม่พบเม็ดเลือดขาวชนิด Eosinophils และ Basophils ในกระแสโลหิตของปลานิล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

อรรถกร ปาละสุวรรณ. 2548. ความสำคัญของการตรวจเลือด.สำหรับออกรายการคลินิคสุขภาพ ณ สถานีวิทยุจุฬา2.

Ajani,F.2008. Hormonal and haematological responses of Clarias gariepinus (Burchell 1822) to ammonia toxicity. African Journal of Biotechnology.19 : 3466-3471.

Biaxhall,P. C. and Daisley K. W. 1973. Routine hematological method for use with fish blood.J. Fish biology. 5: 771-781.

Bittencourt,N.R., Molinari,L.M.,Scoaris.D.O., Pedroso.R.B., Nakamura. C. V., Nakamura.T.U., Abreu Filho.B.A. and Filho.B.P.D. 2003.Haematological and biochemical values for Nile tilapia Oreochromis niloticus cultured in semi-intensive system . Acta Scientiarum. Biological Sciences. Maringá. 25 : 385-389.

Ezzat, A. A., Shaban M. B. and Farghaly A. M. 1974. Studies on the blood characteristic of Tilapia Zilli (Gervais) I. Blood cells. J. Fish biology. 6 :1-12.

Luskova,V., Svoboda M. and Kolarova J. 2002. The effect of Diazinon on Blood Plasma Biochemistryin Carp (Cyprinus carpio L.). ACTA Vet. 71 : 117-123.

Mohammed, A. K. and Sambo. A. B. 2008.Haematological Assessment of the Nile Tilapia Oreochromis nilotica Exposed to sublethal Concentrations of Portland Cement Powder in Solution. International Journal of Zoologcal Research. 4 : 48-52.

Ranzani-Paiva.M.J.T , Felizardo.N.N and Luque.J. L. 2005. Parasitological and hematological analysis of Nile tilapia Oreochromis niloticus Linnaeus, 1757 from Guarapiranga reservoir, Sã SãSã São Paulo State, Brazil Maringá. Acta Sci. Biol. Sci. 27 : 231-237

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ramesh.M. and Saravanan.M. 2008. Haematological and Biochemical responses in a freshwater fish Cyprinus carpio exposed to chlorpyrifos . International Journal of integrative Biology .no.1.92 p.

Raquel.S.C., Yanis.C.T., Mercedes. M.P. and Felipe. A. V.2005. Características morfológicas y citoquímicas de las células de la sangre periférica de Oreochromis aureus S. Cichlidae (Cytochemical and morphologic aspects of the peripheral blood cells of *Oreochromis aureus S.*, Cichlidae). Revista Electrónica de Veterinaria REDVET . No.10.

Siwicki A.K., Zakêœ.Z., Trapkowska.S.,Kowalska. A., Kazuñ.K., Gabski.E. 2003. Selected hematological and biochemical parameters of Pikeperch *Sander Lucioperca* (L.) form intensive culture. Archivesof Polish Fisheries.11 : 17-22.

Tavares-Dias.M. and Barcellos.J.F.M. 2005. Peripheral Blood Cell Of The Armored Catfish Hoplosternum littorale Hancock, 1828 : A Orphological And Cytochemical Study. Braz. J. morphol. Sci. 22 : 215-220.

Tavares-Dias.M., Moraes.F.R. and Matins .M.L.2008. Hematological Assesment in Four Brazilian Teleost fish With Parasitic Infections, Collected In Feefishing From Franca,Aao Paulo, Brazil . B. Inst. Pesca, São Paulo. 34 : 189 – 196.

Trenzado .C.E., Morales. A.E. and Higuera. M.d.l.2006. Physiological effects of crowding in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss, selected for low and high stress responsiveness. Aquaculture 258 : 583–593.

UEDA,I.K., EGAMI,M.I., SASSO,W.d.S. and MATUSHIMA,E.R. Cytochemical aspects of the peripheral blood cells of Oreochromis (Tilapia) niloticus. (Linnaeus, 1758) (Cichlidae, Teleostei) - Part II.2001. Braz. J. vet. Res. anim. Sci. São Paulo. 38: 273-277.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

1. การเตรียมยาสลบ

สารเคมีที่ใช้ :

1.1 Chinaldine

1.2 Acetone

วิธีเตรียม

นำสาร Chinaldine 5 มิลลิลิตร ผสมกับ Acetone 45 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 1:9 ซึ่งต้องทำในตู้ดูดควัน (Hood) เท่านั้น

2. การเตรียม stock สี Wright & Giemsa

สารเคมีที่ใช้

2.1 0.3% Wright stain

2.2 0.1% Giemsa stain

2.3 3% glycerine

2.4 97% Methanol

ภาพที่ 1 อุปกรณ์และสีย้อม Wright & Giemsa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการย้อมสี Wright & Giemsa

3.1 นำสไลด์เลือดที่แห้งแล้วจุ่มลงใน methanol 100% นาน 15 นาทีจากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งสนิทก่อนแล้วจึงย้อมสี

3.2 นำสไลด์จุ่มลงในสี Wright stain เป็นเวลา 15 นาที

3.3 นำออกมาทิ้งไว้ชักครู่จึงนำไปล้างด้วย buffer pH 6.2 - 6.8

3.4 นำลงไปจุ่ม Giemsa strain เป็นเวลานาน 5-10 นาที

3.5 นำไปล้างผ่าน buffer pH 6.8

3.6 นำมาล้างออกอีกครั้งด้วยน้ำกลั่น

3.7 ทิ้งไว้สไลด์ให้แห้งสนิท จึงนำสไลด์มาทำเพอร์เมาท์ (permount) ทิ้งไว้ให้แห้งจึงสามารถนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100X เพื่อทำการจำแนกเปอร์เซนต์ของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดได้

3.การเตรียม phosphate buffer pH 6.8

สารเคมีที่ใช้เตรียม:

3.1 KH_2PO_4

3.2 Na_2HPO_4

3.3 น้ำกลั่น

วิธีเตรียม

สารละลาย A ชั่ง KH_2PO_4 4.55 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร

สารละลาย B ชั่ง Na_2HPO_4 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร

เวลาจะใช้นำสารละลาย A 50.8 มล. ผสมกับสารละลาย B 49.2 มล. เขย่าให้เข้ากัน จะได้ phosphate buffer มี pH ประมาณ 6.8

หมายเหตุ การเตรียมสารละลาย Wright & Giemsa กรองสีก่อนทุกครั้งที่จะทำการที่จะใช้และเขย่าขวดก่อนการกรองเพื่อไม่ให้สีตกตะกอน **อุปกรณ์ที่** อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมควรแห้งและสะอาด อุปกรณ์ที่ใช้แล้วควรทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นทุกชิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 น้ำหนัก ความยาวและค่าโลหิตวิทยาของปลานิล(*Oreochromis niloticus*) ที่อยู่ในกลุ่มควบคุม (control)

No.	RFID Tagging	Length (cm.)	Weigth (g.)	RBC ( )	WBC ( )	Hct ( )	MEV ( )
1	1333	19.65	32.75	1.22	2.24	24.47	16.066
2	1455	14.18	59.47	1.53	1.7	30.3	21.436
3	1346	19.65	55.17	1.66	1.54	32.5	22.104
4	1384	12.48	35.94	1.28	1.38	25.66	15.348
5	1475	12.8	41.02	1.42	1.6	28.23	17.014
Mean ± S.D.		15.75 ± 3.61	44.87 ± 11.83	1.42 ± 0.17	1.69 ± 0.32	28.23 ± 3.28	18.39 ± 3.14

ตารางผนวกที่ 2 น้ำหนัก ความยาวและค่าโลหิตวิทยาของปลานิล(*Oreochromis niloticus*) ที่อยู่ในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบหนาแน่น (density)

No.	RFID Tagging	Length (cm.)	Weigth (g.)	RBC()	WBC	Hct	MEV
1	1453	13.88	48.26	1.53	2.72	30.145	19.3
2	1411	14.12	42.786	1.47	2.58	25.392	7.26
3	1046	11.62	31.84	1.52	2.62	30.11	15.54
4	1084	12.14	33.65	1.63	2.55	32.55	16.5
5	1464	7.48	19.39	1.1	2.29	22.54	10.56
Mean ± S.D.		11.84 ± 2.6	35.18 ± 11.08	1.45 ± 0.20	2.55 ± 0.15	28.14 ± 4.07	13.83 ± 4.84

31

ตารางผนวกที่ 3 เปอร์เซนต์และชนิดของเม็ดเลือดขาวที่พบในแต่ละชนิดในปลานิล(*Oreochromis niloticus*) ที่อยู่ในกลุ่มควบคุม (control)

No.	RFID Tagging	Lymphocytes	Neutrophils	Monocytes	Thrombocytes	Eosinophils	Basophil
1	1333	35	26	26	13	0	0
2	1455	43	23	23	11	0	0
3	1346	44	24	20	12	0	0
4	1384	48	23	18	11	0	0
5	1475	40	25	25	10	0	0
Mean ± S.D.		42 ± 4.84	24.2 ± 3.36	22.4 ± 1.14	11.4 ± 1.14	0	0

ตารางผนวกที่ 4 เปอร์เซนต์และชนิดของเม็ดเลือดขาวที่พบในแต่ละชนิดในปลานิล(*Oreochromis niloticus*) ที่อยู่ในกลุ่มที่เลี้ยงในระบบหนาแน่น (density)

No.	RFID Tagging	Lymphocytes	Neutrophils	Monocytes	Thrombocytes	Eosinophils	Basophil
1	1453	40	30	18	16	0	0
2	1411	41	28	18	16	0	0
3	1046	41	29	16	14	0	0
4	1084	42	26	17	15	0	0
5	1464	40	31	15	14	0	0
Mean ± S.D.		40.8 ± 0.83	28.8 ± 1.92	16.8 ± 1.30	15.0 ±1.00	0	0