

**สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง**

ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็ก (Radio Frequency Identification Tag) ต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ การเติบโต และความเครียด ในปลาอุกลูกผสม (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*)

EFFECTS OF RFID TAG (RADIO FREQUENCY IDENTIFICATION TAG) IMPLANTATION ON PATHOLOGICAL CHANGES, GROWTH AND STRESS RESPONSE OF HYBRID CATFISH (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*), NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) AND GIANT FRESHWATER PRAWN (*Macrobrachium rosenbergii*)



ชลด้า มีอนันต์  
CHONLADA MEEANAN

จพ.  
5 22/๗  
๒๕๕๓

สง. 117031  
เลขทะเบียน  
วัน,เดือน,ปี 21 ส.ค. 2554

b. 12332276  
i.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2553 KMITL-2010-AG-M-081-065

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EFFECTS OF RFID TAG (RADIO FREQUENCY IDENTIFICATION TAG)  
IMPLANTATION ON PATHOLOGICAL CHANGES, GROWTH AND STRESS  
RESPONSE OF HYBRID CATFISH (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*), NILE  
TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) AND GIANT FRESHWATER PRAWN  
(*Macrobrachium rosenbergii*)**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN ANIMAL PRODUCTION TECHNOLOGY AND FISHERIES  
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**2010**

**KMITL-2010-AG-M-081-065**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 2010**

**FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็ก (Radio Frequency Identification Tag) ต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ การเติบโต และความเครียด ในปลาคูกลูกผสม (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และกึ่งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*)

นักศึกษา

นางสาวชลดา มือนันต์

รหัสประจำตัว

51065901

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา

เทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง

หลักสูตร

วิทยาศาสตรจารย์ประมง

พ.ศ.

2553

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. ปวีณา ทวีกิจการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ผศ. รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์

ดร. ชัยชนะ มิตรพันธ์

## บทคัดย่อ

การประเมินศักยภาพการใช้อาร์เอฟไอดีแท็กที่ผลิตภายในประเทศโดยใช้สัตว์น้ำเศรษฐกิจ 3 ชนิด คือ ปลาคูกลูกผสม ปลานิล และกึ่งก้ามกราม เป็นตัวแทนเพื่อศึกษาดำเนินการฝังที่เหมาะสมและผลที่อาจมีต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ การเจริญเติบโต และความเครียดที่เกิดขึ้น หลังจากการฝังแท็ก ในปลาคูกลูกผสมและปลานิลได้ทำการทดลองฝังแท็กที่บริเวณกล้ามเนื้อโคนครีบหลังทางด้านหัว กลางครีบหลัง และโคนครีบท้าย ตามลำดับ ส่วนในกึ่งก้ามกรามบริเวณที่ทดลองฝังแท็ก คือ กล้ามเนื้อเหนื่อรอยต่อปล้องที่ 1 (ด้านข้างของทางเดินอาหาร) และรอยต่อระหว่างปล้องที่ 2 กับ 3 ผลการศึกษาในปลาพบว่าบริเวณกลางครีบหลังแสดงผลกระทบทางเนื้อเยื่อและมีการตายน้อยที่สุด นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในบริเวณที่ฝังแท็กของปลาทั้งสองชนิดทุกตำแหน่งและทุกขนาดเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยพบการเสื่อมของเซลล์กล้ามเนื้อมีลักษณะเป็นช่องว่าง (hydropic degeneration) และเกิดการตาย (necrosis) เป็นแห่งๆ ร่วมกับการอักเสบ หลังจากนั้นพบการแทรกตัวเข้ามาของ fibroblast cells รวมทั้งเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเรียงตัวกันแน่นขึ้น

ในวันที่ 5 และเนื้อเยื่อจะกลับเข้าสู่สภาพปกติ มีเพียงเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางๆ รอบรูที่ฝังแท็ก ในวันที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และเืองอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21 ในขณะที่กึ่งก้ามกรามพบว่าบริเวณกล้ามเนื้อเหนือรอยต่อระหว่างปล้องที่ 2 และ 3 (ด้านข้างของทางเดินอาหาร) แสดงผลกระทบทางเนื้อเยื่อเช่นเดียวกับบริเวณปล้องที่ 1 และมีการตายเนื้อที่น้อยที่สุด โดยมีระยะเวลาการสลายแผลมากกว่า 45 วัน จากผลการศึกษานี้ จึงได้ทำการฝังแท่งบริเวณกลางทริบหลังในปลาและกล้ามเนื้อเหนือรอยต่อปล้องที่ 1 ในกึ่งก้ามกรามขนาดเริ่มต้น  $4.76 \pm 0.97$   $3.43 \pm 0.69$  และ  $5.68 \pm 1.48$  กรัม (ในปลาคุณลูกผสม ปลานิลและกึ่งก้ามกรามตามลำดับ) เพื่อทดสอบผลของการฝังแท่งต่อการเติบโต โดยทำการเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ผลการศึกษพบว่าสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิด ทั้งกลุ่มที่ฝังแท่งและกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักและความยาวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การทดลองสุดท้ายเป็นการศึกษาผลของการฝังแท่งต่อการตอบสนองของความเครียดในสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิด หลังการฝังแท่งที่เวลา 3 6 12 24 และ 72 ชั่วโมง พบว่าในปลาคุณลูกผสมและปลานิล มีปริมาณคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่เวลา 3 ชั่วโมง ( $P < 0.05$ ) และลดลงกลับสู่ระดับปกติภายใน 72 ชั่วโมง ในขณะที่ปริมาณกลูโคสในปลาคุณลูกผสม ที่เวลา 6 ชั่วโมง และในปลานิลปริมาณกลูโคสเพิ่มขึ้นที่เวลา 3 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และกลับสู่ระดับปกติภายใน 72 ชั่วโมง และไม่พบความแตกต่างทางสถิติของค่า osmolality ในเลือดของปลาทั้ง 2 ชนิดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ( $p > 0.05$ ) ส่วนในกึ่งก้ามกรามพบว่าปริมาณคลอไรด์ในน้ำเลือด ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่ปริมาณโซเดียมในน้ำเลือดลดลงที่เวลา 3 ชั่วโมง และค่อยๆ เพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับก่อนการทดลองภายใน 72 ชั่วโมง จึงสามารถสรุปได้ว่าการฝังอาร์เอฟไอดีแท่งไม่ส่งผลกระทบต่อการเติบโต แต่อาจส่งผลให้เกิดความเครียดในระยะสั้น

<b>Thesis Title</b>	Effects of RFID tag (Radio Frequency Identification Tag) implantation on pathological changes, growth and stress response of Hybrid Catfish, ( <i>Clarias macrocephalus</i> x <i>C. gariepinus</i> ) Nile tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) and Giant Freshwater Prawn ( <i>Macrobrachium rosenbergii</i> )
<b>Student</b>	Miss. Chonlada Meeanan
<b>Student ID</b>	51065901
<b>Degree</b>	Master of Science
<b>Program</b>	Fisheries Science
<b>Division</b>	Animal Production Technology and Fisheries
<b>Year</b>	2010
<b>Thesis Advisor</b>	Assist.Prof. Dr. Praveena Taveekijakarn
<b>Thesis Advisor</b>	Assist.Prof. Rungtawan Panakulchaiwit Dr. Chaichana Mitrpant

### ABSTRACT

Studied on suitable tag location and effects of implantation of Thailand produced RFID tags on pathological change, growth and physiological stress were carried out in three Thailand's economical finfish and shellfish, namely, Hybrid Catfish, (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*), Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). For the studies on the most suitable tag location, RFID tags were implanted into 3 locations (anterior and middle points of the dorsal fin and at the anal fin for fishes and into first abdominal segment (nearby intestinal) and next to the second abdominal segment for Giant Freshwater Prawn. Results indicated that the most suitable location for RFID tag implantation in fish is middle points of dorsal fin and between second and third abdominal segment in shrimp because they had lowest mortality and the significant of their pathological changes were not observed. In the first stage of response after implanted, muscles surrounding of tag implantation area of the animals revealed hydrophic degeneration following focal necrosis and the infiltration of many inflammatory cells. Five days after implantation, connective tissue and fibroblast cells became encapsulated necrotic area. Fish tissue around implanted tag was completely repaired 21

day after implanted whereas it took over 45 days for shrimp. The second experiment aimed to test effect of RFID tag on growth of the fishes and shrimp. RFID tags were implanted to fishes and shrimp (initial weight of  $4.76 \pm 0.97$ ,  $3.43 \pm 0.69$  and  $5.68 \pm 1.48$  grams, for Hybrid catfish, Nile tilapia and Giant freshwater prawn, respectively) at the most suitable location according to the results obtained from the first experiment. Animals were reared for 8 weeks under semi-closed recirculating water system. Results of the studied showed that growth of tagged animals did not statistically difference when compared with control groups ( $p < 0.05$ ). The last experiment was the determination of stress response of animals after tag implantation. Blood were sampled from tested animals (initial weight of  $17.58 \pm 3.40$ ,  $472.65 \pm 176.80$  and  $30.59 \pm 8.73$  grams for Hybrid Catfish, Nile tilapia and Giant Freshwater Prawn, respectively) at 3, 6, 12, 24, and 72 hours after tag implantation. The results showed that cortisol concentration in blood of Hybrid Catfish and Nile tilapia significantly increased at 3 hours ( $p < 0.05$ ) and returned to pre-stress level at 72 hours after implantation. In hybrid catfish, it was found that the level of glucose in sampled blood reduced within 6 hours whilst glucose level in Nile tilapia increased significantly within 3 hours after implanted. Glucose level in blood of both fishes returned to a steady state within 72 hours. The osmolarity in blood sample of hybrid catfish and Nile tilapia and chloride level in giant freshwater prawn did not significant difference with control group ( $p > 0.05$ ). The sodium level in blood sample of shrimp was reduced within 3 hour and gradually increased to a steady state within 72 hours after tag implantation. Based on results from the studied, it can be concluded that the most suitable location for RFID tag implantation in fish is middle points of the dorsal fin and for shrimp is between second and third abdominal segment. The tag implantation does not have significant effects on the growth in fish and shellfish, but short-term stress may occur shortly after implanted.

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา พวีรกิจการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และดร.รัชชนะ มิตร์พันธ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำ และคำปรึกษาในการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ศุภิต เอื้ออำนวย อาจารย์ผู้ร่วมวิจัยโครงการ การบริหารจัดการฟาร์มพ่อแม่พันธุ์สัตว์น้ำเศรษฐกิจด้วยเทคโนโลยีอาร์เอฟไอดี: กรณีศึกษากุ้งก้ามกราม ปลานิล และปลาชุก ที่คอยให้คำปรึกษา และจัดเตรียมระบบทดลองให้ลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ขอบคุณพี่ชาย และพี่สาว ที่ให้คำปรึกษาและให้การสนับสนุนที่สำคัญแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

กราบขอบพระคุณ กรรมการสอบ โครงร่างและรูปเล่มวิทยานิพนธ์ และคณาจารย์หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่ให้ความรู้ คำปรึกษา ตรวจสอบแก้ไข ตลอดจนสอบถามความก้าวหน้าวิทยานิพนธ์อย่างสม่ำเสมอ พร้อมแนะนำเทคนิควิธีค้นคว้าในการทดลองที่เป็นประโยชน์อย่างมาก

ขอบคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ คุณนภพล เผ่าพันธ์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือในการเตรียมเครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ และคำแนะนำที่ดีตลอดมา

ขอบคุณพี่ๆ เพื่อนและน้องๆ ปรียญาโท และตรี ที่คอยช่วยเหลือ และให้คำปรึกษาและคอยเป็นกำลังใจเสมอมา

สุดท้ายขอขอบพระคุณ ทุนการศึกษาจากโครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) สำนักพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ขอขอบคุณ โปรแกรมเทคโนโลยีระบุลักษณะด้วยคลื่นวิทยุ (Program RFID Technology) ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (NT-B-22-FR-23-50-07) ที่ได้ให้การสนับสนุนงบประมาณ ในการดำเนินงานวิจัย ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการศึกษา และบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้ให้ทุนวิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

หากวิทยานิพนธ์นี้มีคุณค่าและมีประโยชน์ต่อการศึกษาค้นคว้าของผู้ที่สนใจ ผู้เขียนขออุทิศให้นุภาพาริและผู้มีพระคุณทุกท่าน ส่วนความผิดพลาดและข้อบกพร่องใดๆ ผู้เขียนขอน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

ชลดา มีอนันต์

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ .....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	XI
สารบัญภาพ .....	XII
บทที่ 1 บทนำ .....	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ .....	3
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	
2.1 การติดตามรายตัวในสัตว์น้ำโดยการฝังแท็ก.....	4
2.1.1 แท็กภายนอก.....	4
2.1.2 แท็กภายใน.....	4
2.1.3 อิเล็กทรอนิกส์แท็ก.....	5
2.2 เทคโนโลยีอาร์เอฟไอดี (Radio Frequency Identification).....	7
2.2.1 แผ่นป้ายระบุข้อมูลหรือเรียกว่าแท็ก (อาร์เอฟไอดีแท็ก).....	8
2.2.1.1 พาสซีฟอาร์เอฟไอดีแท็ก.....	8
2.2.1.2 แอกทีฟอาร์เอฟไอดีแท็ก.....	8
2.2.2 เครื่องอ่านสัญญาณหรือตัวอ่านข้อมูล.....	8
2.3 หลักการทำงานเบื้องต้นของระบบอาร์เอฟไอดี.....	9
2.4 ผลกระทบจากการฝัง transmitter tag และ transponder tag ในสัตว์น้ำ...	9
2.4.1 ผลกระทบต่ออัตราการตายและการเจริญเติบโต.....	10
2.4.2 ผลกระทบต่อการติดเชื้อและการสมานแผล.....	12
2.4.3 ผลต่อความเครียด.....	13
2.4.3.1 การเปลี่ยนแปลงฮอร์โมน.....	15

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.3.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสในเลือด (Plasma glucose).....	19
2.4.3.3 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบไอออนในน้ำเลือด.....	20
2.4.3.4 การตอบสนองความเครียดในกิ้ง.....	21
<b>บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....</b>	
3.1 สัตว์ทดลอง.....	24
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี.....	25
3.2.1 อุปกรณ์.....	25
3.2.2 สารเคมี.....	26
3.3 วิธีการดำเนินงาน.....	27
3.3.1 การทดลองที่ 1: การวิเคราะห์หาผลของการฝังอาร์เอฟไอดี แท็กต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาตุ๊กตูกผสม ปลานิล กึ่งก้ำกรม ในตำแหน่ง และขนาดที่แตกต่างกัน.....	27
3.3.1.1 การฝังอาร์เอฟไอดีแท็กในปลาตุ๊กตูกผสม.....	28
3.3.1.2 การฝังอาร์เอฟไอดีแท็กในปลานิล.....	28
3.3.1.3 การฝังอาร์เอฟไอดีแท็กในกึ่งก้ำกรม.....	29
3.3.1.4 การเลี้ยงสัตว์น้ำหลังได้รับการฝังแท็ก.....	29
3.3.1.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์เนื้อเยื่อ.....	30
3.3.1.6 การบันทึกผลการทดลอง.....	30
3.3.2 การทดลองที่ 2: การวิเคราะห์หาผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็ก ต่อกระดูกโตของปลาตุ๊กตูกผสม ปลานิล และกึ่งก้ำกรม ขนาดประมาณ 10 เซนติเมตร.....	31
3.3.2.1 การศึกษาในปลาตุ๊กและปลานิล.....	31
3.3.2.2 การศึกษาในกึ่งก้ำกรม.....	31
3.3.2.3 การเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำ.....	32
3.3.2.4 การบันทึกผลการทดลอง.....	32

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.3 การทดลองที่ 3 : การวิเคราะห์ที่หาผลของการฝังอาร์เอฟไอดีเท็ก ต่อความเครียดในปลาตุ๊กตูกผสม ปลานิล และ กุ้งก้ามกราม.....	32
3.3.3.1 การวิเคราะห์การตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลใน ปลาตุ๊ก และปลานิล.....	33
3.3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในปลาตุ๊ก และ ปลานิล.....	33
3.3.3.3 การวิเคราะห์ค่า Osmolarity ในปลาตุ๊ก และ ปลานิล.....	34
3.3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณไอออนในเลือดของกุ้งก้ามกราม....	34
3.3.3.5 การวิเคราะห์ผลการทดลอง.....	34
3.4 สถานที่ทำการวิจัย.....	34
3.5 ระยะเวลาในการทำวิจัย.....	35
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์</b>	
4.1 ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีเท็กต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลา ตุ๊กตูกผสม ปลานิล และกุ้งก้ามกราม ในตำแหน่งและขนาดที่แตกต่าง กัน.....	36
4.1.1 ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีเท็กต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของ ปลาตุ๊กตูกผสม.....	36
4.1.1.1 ผลทางเนื้อเยื่อในปลาตุ๊กที่ขนาดแตกต่างกัน.....	36
4.1.1.2 ผลทางเนื้อเยื่อในปลาตุ๊กที่ฝังเท็กในตำแหน่งแตกต่าง กัน.....	41
4.1.1.3 อัตราการตายในปลาตุ๊กตูกผสมที่ขนาดแตกต่างกัน ภายหลังการฝังเท็ก.....	44
4.1.2 ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีเท็กต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของ ปลานิล.....	45
4.1.2.1 ผลทางเนื้อเยื่อในปลานิลที่ขนาดแตกต่างกัน.....	45
4.1.2.2 ผลทางเนื้อเยื่อในปลานิลที่ตำแหน่งแตกต่างกัน.....	46
4.1.2.3 อัตราการตายในปลานิลฝังเท็กที่ขนาดแตกต่างกัน.....	51

## สารบัญ (ต่อ)

4.1.3	ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีที่เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของ กุ้งก้ามกราม.....	53
4.1.3.1	ผลทางเนื้อเยื่อในกุ้งก้ามกรามที่ขนาดแตกต่างกัน.....	53
4.1.3.2	ผลทางเนื้อเยื่อในกุ้งก้ามกรามที่ตำแหน่งแตกต่างกัน.....	54
4.1.3.3	อัตราการตายในกุ้งก้ามกรามที่ขนาดแตกต่างกันหลังการ ฝังแท็ก.....	55
4.2	ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีที่เกี่ยวกับการเติบโตของปลาอุกลูกผสม ปลา นิล และกุ้งก้ามกราม ขนาดประมาณ 10 เซนติเมตร.....	62
4.2.1	ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีที่เกี่ยวกับการเติบโตของปลาอุกลูกผสม....	62
4.2.2	ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีที่เกี่ยวกับการเติบโตของปลานิล.....	64
4.2.3	ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีที่เกี่ยวกับการเติบโตของกุ้งก้ามกราม.....	66
4.3	ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีที่เกี่ยวกับความเครียดในปลาอุกลูกผสม ปลานิล และกุ้งก้ามกราม.....	67
4.3.1	การตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลาอุก และปลานิล.....	67
4.3.1.1	การตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลาอุก.....	67
4.3.1.2	การตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลานิล.....	68
4.3.2	ปริมาณกลูโคสในปลาอุก และปลานิล.....	71
4.3.2.1	ปริมาณกลูโคสในปลาอุก.....	71
4.3.2.2	ปริมาณกลูโคสในปลานิล.....	72
4.3.3	ค่า osmolality ในปลาอุก และ ปลานิล.....	74
4.3.3.1	ค่า osmolality ในปลาอุก.....	74
4.3.3.2	ค่า osmolality ในปลานิล.....	74
4.3.4	ปริมาณไอออนในเลือดของกุ้งก้ามกราม.....	76
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>		
5.1	สรุป.....	79
5.2	ข้อเสนอแนะ.....	80
<b>บรรณานุกรม.....</b>		<b>81</b>

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

### ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อ.....	88
ภาคผนวก ข. การเตรียมสารเคมีและสีย้อมตัวอย่างเนื้อเยื่อ.....	91
ภาคผนวก ค. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส.....	93
ประวัติผู้เขียน.....	96



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา **x** ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาในปลา Tambaqui ที่ทดสอบความเครียดโดยการจับขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 40 นาที.....	17
4.1	ระยะเวลาการสมานแผล (วัน) ในปลาอุกที่ฝังแท็กในตำแหน่งและขนาดที่แตกต่างกัน.....	37
4.2	ระยะเวลาการสมานแผล (วัน) ของปลานิลที่ฝังแท็กในขนาดและตำแหน่งที่แตกต่างกัน.....	46
4.3	ระยะเวลาการสมานแผล (วัน) ในกึ่งก้ามกรามที่ฝังแท็กในตำแหน่งและขนาดที่แตกต่างกัน.....	54
4.4	น้ำหนักและความยาวของกึ่งก้ามกรามที่ฝังแท็ก และกลุ่มควบคุม.....	67



## สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	รูปแบบต่างๆ ของแท็กภายนอก.....	5
2.2	ลักษณะของ Transponder tags (สรจี).....	6
2.3	ลักษณะของ Satellite tag (สรจี).....	7
2.4	เปอร์เซ็นต์ของผลกระทบในค้ำนต่างๆ จากการฝัง Transmitter tag.....	10
2.5	การเกิด General Adaptive Syndrome (GAS) ของปลา.....	15
2.6	แผนภาพการหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลเมื่อได้รับความเครียด.....	16
2.7	การเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลา <i>Oreochromis niloticus</i> ที่ทดสอบความเครียด โดยการจับด้วยสวิงและนำขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 30 วินาที.....	18
2.8	การเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอล เมื่อทดสอบความเครียดในปลา coral trout โดยการจับและการขนส่ง.....	18
2.9	องค์ประกอบของ neuroendocrine tissues ในก้ำนตาของ crustaceans.....	22
3.1	ตำแหน่งการฝังแท็กในปลาตุ๊กตูกผสม ปลานิล และกึ่งก้ำมกรรม.....	27
4.1	ลักษณะแผลภายนอกในปลาตุ๊กตูกผสมที่เวลา 1 3 5 และ 7 วัน หลังการฝังแท็ก.....	37
4.2	การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาตุ๊กตูกผสมหลังจากฝังแท็ก ก.) ที่ 24 ชั่วโมงพบมัดกล้ามเนื้อเกิด hydrophic degeneration (HD) ข.) ที่ 3 วัน พบ inflammatory cells (IF) จำนวนมากรอบรูที่ฝังแท็ก (T).....	38
4.3	การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาตุ๊กตูกผสมหลังจากฝังแท็ก ก.) ที่ 5 วัน พบ fibroblast cells (FB) และ inflammatory cells (IF) ข.) ที่ 7 วันพบ fibroblast cells (FB) รอบรูที่ฝังแท็ก (T).....	39
4.4	การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาตุ๊กตูกผสมหลังจากฝังแท็ก ก.) ที่ 14 วัน พบ granulation tissue (GT) และ ข.) ที่ 21 วัน พบ connective tissue (CT) รอบรูฝังแท็ก (T) และกล้ามเนื้อกลับสู่สภาพปกติ.....	40

## สารบัญญภาพ(ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
4.5	ลักษณะเนื้อเยื่อในปลาตุ๊กตูกผสมขนาดความยาวเฉลี่ย $8.36 \pm 0.60$ เซนติเมตร ที่ 21 วันหลังการฝังแท็กเข้ากล้ามเนื้อ ก.) ลักษณะการสมานแผลเกิดเนื้อเยื่อแกรนูลชันเรียงตัวกันแบบแน่น (GT) รอบรูที่ฝังแท็ก (T) และ ข.) กระบวนการอักเสบหลังการฝังแท็กใกล้บริเวณกระดูก.....	42
4.6	ลักษณะเนื้อเยื่อของปลาตุ๊กตูกผสมขนาดเฉลี่ย $8.36 \pm 0.60$ เซนติเมตร ก.) ลักษณะผิวหนังและชั้นกล้ามเนื้อปกติประกอบด้วยชั้น epidermis (E) dermis (D) hypodermis (H) และ muscle (M) ข.) ลักษณะการสมานแผลเสร็จสมบูรณ์หลังการฝังแท็กเข้ากล้ามเนื้อ ที่ 21 วัน พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียงตัวกันแน่น (CT) รอบรูแท็ก (T) และ ค.) ลักษณะการอักเสบ (IF) ยังเห็นชัดเจนเมื่อฝังแท็กใกล้กับชั้น dermis ที่ 21 วัน.....	43
4.7	ลักษณะการตายของปลาตุ๊กตูกผสมที่เกิดจากโรคคอดัมนารีสหลังการทดลองฝังแท็กเบื้องต้นก่อนทำการทดลองจริง.....	44
4.8	ลักษณะแผลภายนอกในปลาชนิดที่เวลา 1 3 5 และ 7 วัน หลังการฝังแท็ก...	45
4.9	การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลาชนิดหลังการฝังแท็ก ก.) ที่ 24 ชั่วโมง พบการเสื่อมของเซลล์เห็นเป็นช่องว่างในมัดกล้ามเนื้อ (vacuole degeneration) ข.) วันที่ 3 เกิดกระบวนการอักเสบ (IF) บริเวณฝังแท็ก.....	47
4.10	การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลาชนิดหลังการฝังแท็ก ก.) วันที่ 5 พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (CT) เรียงตัวกันหลวมๆ รอบรูบริเวณที่ฝังแท็ก (T) และ กล้ามเนื้อที่เสื่อมลดลง ข.) วันที่ 7 พบการอักเสบ (IF) ร่วมกับการเกิดกล้ามเนื้อใหม่ (M) เพิ่มมากขึ้น รอบรูบริเวณที่ฝังแท็ก (T).....	48
4.11	การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลาชนิดหลังการฝังแท็ก ก.) วันที่ 14 พบเนื้อเยื่อแกรนูลชัน (GT) เรียงตัวกันแน่นขึ้น และมัดกล้ามเนื้อที่สร้างขึ้นมาใหม่แทรกเข้ามาแทนที่บริเวณที่มีการอักเสบซึ่งมีพื้นที่ลดลง และกล้ามเนื้อที่เสื่อมเกือบเป็นปกติ ข.) วันที่ 21 การสมานแผลสมบูรณ์พบมัดกล้ามเนื้อมีลักษณะปกติ รอบรูที่ฝังแท็ก (T).....	49

## สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.12	การสมานแผลหลังการฝังแท็ก 14 วัน ในปลานิลที่ขนาดแตกต่างกัน ก.) ปลานิลขนาดเล็กพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (CT) เรียงตัวกันบาง ๆ และกล้ามเนื้อเจริญขึ้นมาแทน โดยสมบูรณ์ ข.) ปลานิลขนาดกลางพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (CT) เรียงตัวกันแน่นขึ้นรอบรูที่ฝังแท็ก (T) และมีกล้ามเนื้อที่สร้างขึ้นมาใหม่แทรกเข้ามาแทนที่กล้ามเนื้อที่เสื่อมแต่ยังคงมีการอักเสบอยู่ (ครีซี) ค.) ปลานิลขนาดใหญ่พบการสร้างกล้ามเนื้อใหม่ที่เสื่อมไปแต่ยังคงพบลักษณะการอักเสบอยู่ (ครีซี).....	50
4.13	การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกึ่งก้ามกรามหลังการฝังแท็ก ก.) ที่ 24 ชั่วโมงพบการเสื่อมของเซลล์กล้ามเนื้อ (MD) เห็นเป็นช่องว่าง รอบรูที่ฝังแท็ก (T) ข.) ที่ 3 วันพบ heamocyte (ครีซี) แทรกเข้ามาบริเวณที่มีการเสื่อมของเนื้อเยื่อจำนวนมากขึ้น ร่วมกับการอักเสบ (IF).....	56
4.14	การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกึ่งก้ามกรามหลังการฝังแท็ก ก.) ที่ 5 วันเนื้อเยื่อเกิดการเสื่อมเป็นบริเวณกว้างขึ้น รอบรูที่ฝังแท็ก (T) ร่วมกับการอักเสบ (IF) โดยที่แทรกเข้ามาของ heamocyte ข.) วันที่ 7 รอบบริเวณที่ฝังแท็ก (T) พบ fibroblast (FB) เรียงตัวกันแทนที่บริเวณกล้ามเนื้อที่เสื่อม.....	57
4.15	การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกึ่งก้ามกรามหลังการฝังแท็ก ก.) วันที่ 14 พบ fibroblast (FB) เรียงตัวกันแทนที่บริเวณกล้ามเนื้อที่เสื่อมและเรียงตัวกันแน่นขึ้นเรื่อยๆ บริเวณรอบรูที่ฝังแท็ก (T) ข.) วันที่ 21 พบ fibroblast เรียงตัวกันแน่นเพิ่มขึ้น.....	58
4.16	การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกึ่งก้ามกรามหลังการฝังแท็ก ก.) วันที่ 28 พบ fibroblast (FB) เรียงตัวกันแน่นเพิ่มขึ้นบริเวณรอบรูที่ฝังแท็ก (T) จนสมานแผลสมบูรณ์ในวันที่ 45 ข.) ที่ 45 วัน พบกล้ามเนื้อใหม่ (NM) เข้ามาแทนที่กล้ามเนื้อที่เสื่อมและล้อมรอบบริเวณรูที่ฝังแท็กด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางอย่าง (CT).....	59

## สารบัญญภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.17	เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกิ่งก้ำมกรามหลังการฝังแท่งกานาน 45 วัน ก.) กิ่งก้ำมกรามขนาดเล็กการสมานแผลสมบูรณ์ และ ข.) กิ่งก้ำมกรามขนาดใหญ่ การสมานแผลยังไม่เสร็จสมบูรณ์.....	60
4.18	น้ำหนักเฉลี่ยของปลาคุกลูกผสมที่ฝังแท่งเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลา 8 สัปดาห์.....	63
4.19	ความยาวเฉลี่ยของปลาคุกที่ฝังแท่งเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลา 8 สัปดาห์.....	63
4.20	น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลที่ฝังแท่งเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลา 8 สัปดาห์.....	64
4.21	ความยาวเฉลี่ยของปลานิลที่ฝังแท่งเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในเวลา 8 สัปดาห์.....	65
4.22	การเปลี่ยนแปลงปริมาณคอรีซอลในปลาคุกหลังการฝังแท่งที่เวลาต่างๆ.....	68
4.23	การเปลี่ยนแปลงปริมาณคอรีซอลในปลานิลหลังการฝังแท่งที่เวลาต่างๆ.....	69
4.24	การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดปลาคุกหลังการฝังแท่งและกลุ่มควบคุม.....	71
4.25	การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดปลานิลหลังการฝังแท่งและกลุ่มควบคุม.....	72
4.26	ค่า osmolality ในเลือดปลาคุกหลังการฝังแท่งและกลุ่มควบคุม.....	74
4.27	ค่า osmolality ในเลือดปลานิลหลังการฝังแท่งและกลุ่มควบคุม.....	75
4.28	ปริมาณพลาสมาโซเดียมในกิ่งก้ำมกรามหลังการฝังแท่งที่เวลาต่างๆ.....	76
4.29	ปริมาณพลาสมาคลอไรด์ในกิ่งก้ำมกรามหลังการฝังแท่งที่เวลาต่างๆ.....	77

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำถือว่าเป็นธุรกิจหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจกันอย่างแพร่หลาย และมีการขยายตัวอย่างต่อเนื่อง โดยมีปัจจัยสนับสนุนหลายประการ ได้แก่ สภาพแวดล้อม และแหล่งน้ำถูกทำลายทำให้การจับสัตว์น้ำจากธรรมชาติไม่แน่นอนและมีแนวโน้มลดลง มีการนำเทคโนโลยีที่ทันสมัยมายกระดับกิจกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่างๆ และเกิดองค์ความรู้ใหม่ในการเพาะและขยายพันธุ์ชนิดสัตว์น้ำที่หลากหลายมากขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของพื้นที่ใหม่ที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ โดยเฉพาะประเทศในกลุ่มแอฟริกา ก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งเสริมให้อุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงมีการขยายตัวและมีการแข่งขันกันมากขึ้น โดยเฉพาะในปลานิล ซึ่งจากข้อมูลของ FAO ได้รายงานว่ามีในปี 2003 ประเทศไทยอยู่ในอันดับ 1 ใน 5 ที่มีการผลิตปลานิลมากที่สุดในโลก โดยมีปริมาณการผลิตถึง 97,000 ตัน รองลงมาคือปลาดุกซึ่งมีปริมาณการผลิต 86,475 ตัน ของการผลิตทั้งหมดในประเทศไทย นอกจากนี้ปลานิลยังมีคู่แข่งสำคัญเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญอีกชนิดหนึ่ง และมีบทบาททางเศรษฐกิจภายในประเทศเช่นเดียวกัน โดยทางภาครัฐได้พยายามส่งเสริมวิจัย เพื่อให้มีการผลิตเป็นสินค้าส่งออก อย่างไรก็ตามตลาดส่งออกของไทยต้องเผชิญกับการแข่งขันอย่างรุนแรงเพื่อแย่งชิงส่วนแบ่งตลาด ซึ่งมีประเทศจีนเป็นผู้ครอบครองตลาดส่วนใหญ่ เนื่องจากตลาดนำเข้าสินค้าสัตว์น้ำที่สำคัญของโลกซึ่งมีประเทศผู้นำเข้าที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา และสหภาพยุโรป ซึ่งมีมาตรฐานคุ้มครองผู้บริโภคสูงทำให้ประเทศไทยจำเป็นต้องมีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงให้ได้สัตว์น้ำคุณภาพที่มีต้นทุนการผลิตต่ำ และมีคุณสมบัติตรงตามเงื่อนไขของประเทศผู้นำเข้า

ดังนั้นการจัดการพ่อแม่พันธุ์และการปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงจึงเป็นสิ่งที่จำเป็น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณและคุณภาพของผลผลิตให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดสากลซึ่งให้ความสำคัญกับมาตรฐานสินค้า และต้องสามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ทุกขั้นตอนการผลิต แต่ที่ผ่านมาการได้มาของข้อมูลในด้าน แหล่งที่มาของพ่อแม่พันธุ์ ระยะเวลาที่ผลิต และขยาย ซึ่งเป็นข้อมูลหลักที่สำคัญนั้นทำได้ยาก อีกทั้งนักปรับปรุงพันธุ์สัตว์น้ำมักประสบปัญหาการติดตามข้อมูลรายตัว ทำให้การวิจัยทางด้านการประมงต้องใช้จำนวนตัว และจำนวนซ้ำของสัตว์น้ำเป็นจำนวนมากแต่สามารถนำเสนอเพียงข้อมูลที่เป็นเฉพาะค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดการทดลองเท่านั้น ซึ่งไม่สามารถระบุข้อมูลเป็นรายตัวได้ หรือหากทำได้ก็จำเป็นต้องเพิ่มพื้นที่ในการแยกเลี้ยง ทำให้เป็นอุปสรรคในการดูแลจัดการและเก็บข้อมูล ทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจต่อการ

แก้ปัญหาดังกล่าวคือการติดเครื่องหมายหรือเรียกว่าแท็กในสัตว์น้ำ (tagging) โดยแบ่งออกเป็น 3 รูปแบบหลักๆ ได้แก่ แท็กภายนอก (external tag) เป็นแท็กที่ใช้ฝังภายนอกตัวสัตว์น้ำ สามารถมองเห็นได้ชัดเจนสามารถตรวจสอบได้ง่าย โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือเฉพาะในการตรวจสอบ มีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันไปตามวัตถุประสงค์และชนิดสัตว์ที่ฝังแท็ก แต่มีข้อเสียคือหลุดหายง่าย และแผลบริเวณฝังแท็กมักมีการติดเชื้อ ส่งผลให้แผลหายช้า (Davenport *et al.*, 1999) แบบที่สองแท็กภายใน (internal tag) เป็นแท็กที่ฝังเข้าไปภายในร่างกายของสัตว์น้ำเช่น เป็นพลาสติกขนาดเล็กที่มีรหัสสามารถฝังบริเวณด้านหลังของตา หรือเป็นสีที่ฉีดเข้าไปภายในตัวสัตว์น้ำ แท็กชนิดนี้ไม่ต้องใช้เครื่องมือเฉพาะในการตรวจสอบเช่นกัน และแบบที่สามเป็นอิเล็กทรอนิกส์แท็ก (electronic tag) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแท็กที่ฝังภายในตัวสัตว์น้ำอาจจะโดยการผ่าแล้วฝังเข้าไป หรือการฉีดเข้าไปในร่างกาย ซึ่งต้องมีเครื่องอ่านเฉพาะในการตรวจสอบ โดยเฉพาะอิเล็กทรอนิกส์แท็กที่ใช้สัญญาณคลื่นวิทยุความถี่ต่ำนั้นนิยมนำมาใช้ในการติดตามรายตัวในสัตว์น้ำ เนื่องจากมีขนาดเล็กและราคาไม่แพงมาก เช่น การติดเครื่องหมายแบบอาร์เอฟไอดี (Radio Frequency Identification) ที่เป็นเทคโนโลยีระบุวัตถุและส่งผ่านข้อมูลด้วยคลื่นความถี่วิทยุ ตัวแท็กมีขนาดเล็ก (รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ, 2551) ปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีดังกล่าวมาประยุกต์ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศเช่น Panakulchaiwit (2007) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคโนโลยีอาร์เอฟไอดีเพื่อการติดตามรายตัวในปลานิลและปลาสด ซึ่งอาร์เอฟไอดีแท็ก นั้นเป็นแท็กขนาดเล็ก จึงส่งผลกระทบต่อตัวสัตว์น้ำในด้านต่างๆ น้อยกว่าการใช้แท็กภายนอก ซึ่งบาดแผลที่เกิดขึ้นนั้นหายช้าและมีอัตราการตายสูงกว่าการใช้แท็กขนาดเล็ก (Davenport *et al.*, 1999) นอกจากนี้งานวิจัยต่างประเทศได้รายงานหลากหลายวิธีเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลรายตัวเช่น Caceci *et al.* (1999) ได้ทำการศึกษาการฝัง Passive Integrated Transponder (PIT) tag ชนิดแก้ว ขนาด 14x2 มิลลิเมตร และ 5x2 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นแท็กที่ใช้คลื่นความถี่วิทยุในการอ่านสัญญาณเช่นเดียวกับอาร์เอฟไอดีแท็กในกึ่งกัมมการเพื่อศึกษาอัตราการรอด ผลกระทบต่อเส้นเลือดและเส้นประสาทรวมทั้งการเคลื่อนที่ของกุ้ง

ปัจจุบันประเทศไทยสามารถผลิตอาร์เอฟไอดีแท็ก ได้เองและมีราคาต่ำกว่าที่สั่งซื้อจากต่างประเทศ จึงเหมาะแก่การนำมาใช้ติดตามรายตัวในสัตว์น้ำเพื่อปรับปรุงพันธุ์เป็นอย่างยิ่ง หากแต่ยังขาดข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับผลกระทบต่อสัตว์น้ำในด้านต่าง ๆ ดังนั้นเพื่อสนับสนุนให้มีการใช้เทคโนโลยี อาร์เอฟไอดีของคนไทยอย่างแพร่หลาย จึงจำเป็นต้องศึกษาข้อมูลเบื้องต้นต่างๆ ในสัตว์น้ำที่ได้รับการฝัง อาร์เอฟไอดีแท็ก ได้แก่ การศึกษาอัตราการรอด อัตราการเจริญเติบโต และผลกระทบต่อความเครียด รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ โดยชนิดของสัตว์น้ำจืดที่เลือกศึกษา คือ ปลานิล ปลาดุก และกึ่งกัมมการ ซึ่งเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และใช้เป็นตัวแทนของปลาที่มีเกล็ดปกคลุม และไม่มีเกล็ดปกคลุม รวมทั้งสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ตามลำดับ นอกจากนี้ยังศึกษาดำเนินการที่เหมาะสมในการฝังแท็ก ในสัตว์น้ำทั้งสามชนิดที่มีขนาดและตำแหน่ง

การฝังที่แตกต่างกัน เพื่อให้ได้มาซึ่งวิธีการปฏิบัติที่ดีในการใช้เทคโนโลยีอาร์เอฟไอดีแท็กกับสัตว์ นำให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด อันจะเป็นประโยชน์ต่อการบริหารจัดการฟาร์มพ่อแม่พันธุ์สัตว์น้ำ รวมทั้งประโยชน์ในการตรวจสอบย้อนกลับ เพื่อสนับสนุนการส่งออกสัตว์น้ำของประเทศ

## 1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 ศึกษาหาตำแหน่งที่เหมาะสมของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาคุณลักษณะ ปลาชนิด และกุ้งก้ามกราม ที่ขนาดแตกต่างกัน

1.2.2 ศึกษาผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็ก ต่อการเจริญเติบโต ในปลาคุณลักษณะ ปลาชนิด และกุ้งก้ามกราม

1.2.3 ศึกษาผลกระทบของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็ก ต่อความเครียด ในปลาคุณลักษณะ ปลาชนิด และกุ้งก้ามกราม

## 1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ทราบถึงผลกระทบของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กต่อการเติบโต ความเครียด และผลกระทบทางเนื้อเยื่อ ในสัตว์น้ำเศรษฐกิจทั้งสามชนิด คือ ปลาคุณลักษณะ ปลาชนิด และกุ้งก้ามกราม อันจะเป็นประโยชน์ในการตัดสินใจประยุกต์ใช้อาร์เอฟไอดีแท็กในการพัฒนาจัดการฟาร์มพ่อแม่พันธุ์หรือการทดลองอื่นๆ ซึ่งเป็นการนำเทคโนโลยีสมัยใหม่มาใช้ เพื่อลดปัญหาเรื่องสถานที่แยกเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ โดยการคิดเครื่องหมายด้วยระบบอาร์เอฟไอดี และนำมาพัฒนาการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้ผลผลิต ที่มีคุณภาพและเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค ทั้งในและต่างประเทศ ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาเศรษฐกิจของชาติให้ดีขึ้นตามไปด้วย รวมทั้งส่งเสริมการใช้เทคโนโลยีอาร์เอฟไอดีที่ผลิตโดยคนไทยในสัตว์น้ำอย่างแพร่หลาย

## บทที่ 2

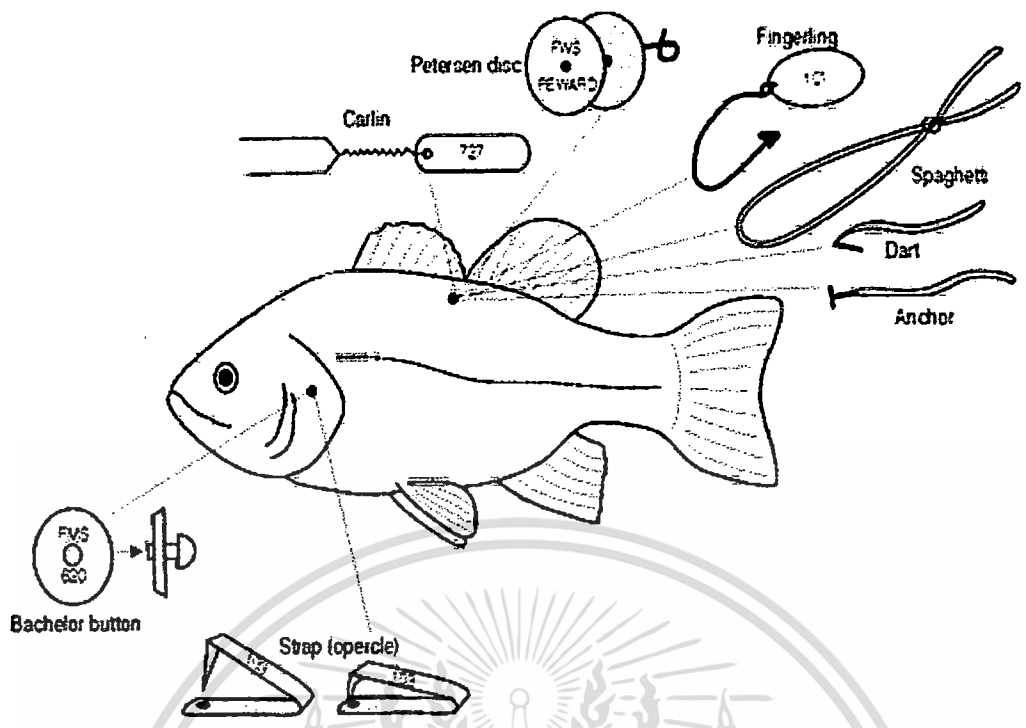
### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 การติดตามรายตัวในสัตว์น้ำโดยการฝังแท็ก

การติดตามรายตัวในสัตว์น้ำมีวัตถุประสงค์เพื่อระบุลักษณะเฉพาะตัวหรือกลุ่มของสัตว์น้ำ ซึ่งมีการพัฒนามานานอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลรายตัวเช่น ชนิด แหล่งที่มาหรือที่อยู่ อาศัย ขนาดของปลาในแต่ละตัวที่มีการคิดเครื่องหมาย โดยแท็กที่ใช้ฝังในสัตว์น้ำนั้นมีหลายชนิด สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

2.1.1 แท็กภายนอก (external tag) เป็นแท็กที่ใช้ฝังภายนอกตัวสัตว์น้ำ สามารถมองเห็นได้ชัดเจน สามารถตรวจสอบได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือที่เฉพาะในการตรวจสอบ แท็กชนิดนี้มีรูปร่างลักษณะแตกต่างกันไปตามวัตถุประสงค์และชนิดสัตว์ที่ฝังแท็ก มีการประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวาง สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายรูปแบบทั้งการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ การศึกษาพฤติกรรม และการประเมินกลุ่มประชากรสัตว์น้ำ (Davenport *et al.*, 1999) เป็นต้น ซึ่งปัญหาของการใช้แท็กชนิดนี้คือหลุดหายได้ง่าย และแผลบริเวณที่ฝังแท็กมักมีการติดเชื้อ ตัวอย่างแท็กที่ใช้ เช่น Petersen disc, Carlin, Fingerling, Spaghetti, Dart, Anchor, Bachelor button และ Strap tag (ภาพที่ 2.1) (Hastein *et al.*, 2001)

2.1.2 แท็กภายใน (internal tag) เป็นแท็กที่ฝังเข้าไปภายในร่างกายของสัตว์น้ำ เช่น Visible implant tag (VIT) ซึ่งเป็นแท็กขนาดเล็กที่ใส่เข้าไปบริเวณด้านหลังของตาซึ่งมีสีส้มและรหัสแตกต่างกันไป โดยข้อเสียของแท็กชนิดนี้คือ หลุดหายระหว่างทำการทดลองมากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าแท็กชนิดนี้ใช้ได้ดีในปลาหลายชนิดเช่น Rainbow trout, Chinook salmon, Coho Salmon, Pumpkinseed และ Orange Trout Darter นอกจากนี้ยังมี Visible implant fluorescent filaments (VIF) และ Visible implant fluorescent elastomers (VIE) ที่ฝังเข้าไปในบริเวณเดียวกับ VIT เพียงแต่สามารถมองเห็นได้ด้วยแสงฟลูออเรสเซนต์ (Hastein *et al.*, 2001)



ภาพที่ 2.1 รูปแบบต่างๆ ของแท็กภายนอก

ที่มา: Hastein *et al.* (2001)

2.1.3 อิเล็กทรอนิกส์แท็ก (electronic tag) ส่วนใหญ่จะเป็นแท็กที่ฝังภายในตัวสัตว์อาจจะ โดยการผ่าแล้วฝังเข้าไป หรือการฉีดเข้าไปในร่างกาย เช่น ทางช่องท้อง กล้ามเนื้อบริเวณต่างๆ บนร่างกายเพื่อสามารถใช้ในการระบุตัวสัตว์น้ำที่ศึกษา (รุ่งตะวัน พนากุลชัชวณิช และคณะ, 2551) อิเล็กทรอนิกส์แท็กได้พัฒนาให้มีประโยชน์หลายด้านโดยเน้นการศึกษาทางพฤติกรรม และแหล่งที่อยู่อาศัยของปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Davenport *et al.*, 1999) ซึ่งข้อมูลที่ได้จะอยู่ในรูป อิเล็กทรอนิกส์ สามารถเชื่อมต่อกับระบบของคอมพิวเตอร์ เป็นการง่ายในการเก็บรวบรวมและ วิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ แต่การอ่านรหัสจากตัวแท็กนั้น ต้องมีเครื่องอ่านที่เฉพาะ โดยการส่งสัญญาณออกมา (Hastein *et al.*, 2001) อิเล็กทรอนิกส์แท็กมีอยู่หลายประเภทเช่น Transmitter tag, Transponder tag, Data Storage tag (DST tag), Satellite tag, Popup tag, และ Chat tag เป็นต้น โดยชนิดที่นิยมใช้ในสัตว์น้ำได้แก่

Transponder tag เป็นการติดเครื่องหมายสัตว์น้ำโดยอาศัยกลุ่มของช่องสัญญาณสื่อสาร อาจจะเป็นสัญญาณวิทยุหรือสัญญาณดาวเทียม เช่น Sonar Transponding tag สำหรับ สัญญาณคลื่นวิทยุความถี่ต่ำที่นิยมใช้ในการติดตามตัวในสัตว์น้ำ เช่น Passive Integrated

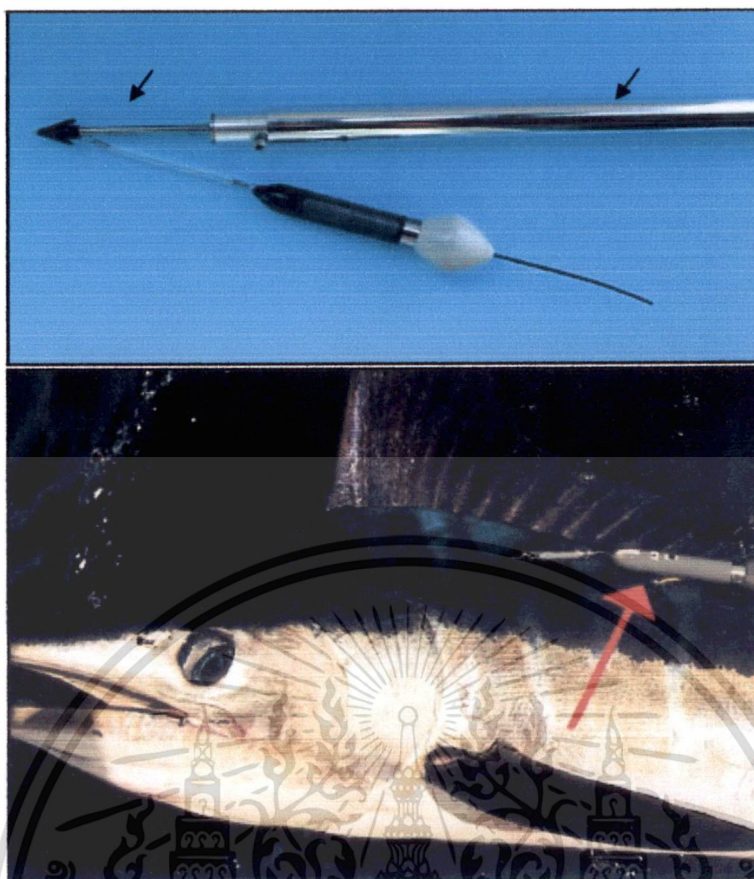
Transponder (PIT) tag และ อาร์เอฟไอดีแท็ก เป็นต้น ซึ่งแท็กทั้งสองชนิดนี้ต่างกันเพียงแหล่งที่ผลิตจึงมีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไป แต่มีรูปร่างลักษณะและการทำงานคล้ายกัน คือ ประกอบด้วยแท่งแก้วสองแท่งที่มีแถบแม่เหล็กไฟฟ้าและไมโครชิปติดอยู่ภายใน สามารถตรวจสอบการทำงานโดยใช้เครื่องอ่าน (Tag reader) ที่คลื่นวิทยุความถี่ 125 หรือ 400 กิโลเฮิรตซ์ โดยสามารถส่งคลื่นได้ระยะทาง 10-15 เซนติเมตร แท็กชนิดนี้มีขนาดความยาวตั้งแต่ 11 ถึง 28 มิลลิเมตร และกว้าง 2.1 ถึง 3.5 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2.2) โคयरห้สบนแท็กนั้นจะมีรูปแบบที่แตกต่างกันออกไปในแต่ละประเทศหรือแต่ละบริษัทผู้ผลิต ข้อดีของแท็กชนิดนี้คือ มีขนาดเล็กง่ายต่อการฝังในตัวสัตว์น้ำ และมีลักษณะการใช้งานที่กว้างสามารถใช้กับสัตว์น้ำได้หลากหลาย ทั้งในด้านชนิดและขนาดของตัวสัตว์น้ำ มีอายุการใช้งานที่ยาวนาน และมีความแม่นยำสูงมากในการระบุรายตัว แต่มีข้อจำกัดในการใช้งานคือ ไม่สามารถใช้ติดตามในระยะไกล เพื่อการศึกษาด้านพฤติกรรมได้



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของ Transponder tag (ครีซี)

Transmitter tag เป็นแท็กที่มีการพัฒนาขึ้นมาใหม่เพื่อให้มีความเหมาะสมกับชนิดของปลามากยิ่งขึ้นมีการใส่แบตเตอรี่ไว้เพื่อจับสัญญาณ และมีเครื่องตรวจจับ (sensor) สามารถบันทึกความลึก ทิศทางการว่ายน้ำความเร็ว และอัตราการเต้นของหัวใจ โดยนิยมใช้ในการศึกษาด้านพฤติกรรมและทางสรีรวิทยาของปลา มีการออกแบบไมโครชิปขึ้นมาเพื่อให้ใช้อย่างเฉพาะเจาะจงกับชนิดของแท็ก นั้นๆ และยังมีสวิตช์เปิดการทำงานเมื่ออยู่ในสภาวะที่ต้องการให้ทำงานได้ด้วย ส่วนมากแล้วแท็กชนิดนี้จะมีขนาดใหญ่ และต้องใช้ความชำนาญในการฝังเข้าไปในตัวสัตว์ (ภาพที่ 2.3) อย่างไรก็ตามแท็กที่มีในปัจจุบันได้ถูกพัฒนาขึ้นมาหลายรูปแบบเพื่อการใช้งานที่หลากหลาย ซึ่งแท็กแต่ละชนิดมีข้อดีข้อเสีย และมีความเหมาะสมกับการใช้งานแตกต่างกันไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 ลักษณะของ Satellite tag (สรูสี)

ที่มา : [http://www.pier.org/op\\_tags\\_p\\_satellite.shtml](http://www.pier.org/op_tags_p_satellite.shtml)

## 2.2 เทคโนโลยี อาร์เอฟไอดี (Radio Frequency Identification)

เทคโนโลยีอาร์เอฟไอดีย่อมาจากคำว่า Radio Frequency Identification เป็นเทคโนโลยีที่แสดงเอกลักษณ์ของวัตถุหรือบุคคลด้วยความถี่วิทยุ ค้นพบในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ที่ได้ใช้เรดาร์ในการตรวจจับและเตือนเครื่องบินที่กำลังเข้ามา แต่ปัญหาคือเรดาร์ไม่สามารถแยกแยะได้ว่าเป็นเครื่องบินฝ่ายไหน แต่ฝ่ายเยอรมันได้พบว่าเมื่อนักบินๆ หมุนตัวแล้วทำให้การสะท้อนเรดาร์เปลี่ยนไป จึงเป็นต้นกำเนิดอาร์เอฟไอดี แบบที่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการสะท้อนคลื่นวิทยุ จากนั้นเทคโนโลยีอาร์เอฟไอดีได้ถูกพัฒนาขึ้นมาตั้งแต่ปี 1980 เพื่อแทนระบบบาร์โค้ด โดยมีจุดเด่นคือสามารถอ่านข้อมูลจากป้ายได้หลายๆ ป้ายแบบไร้สัมผัส อ่านได้แม้ในสภาพที่ทัศนวิสัยไม่ดี ทนต่อความเปียกชื้นและแรงสั่นสะเทือน และสามารถอ่านข้อมูลได้ด้วยความเร็วสูง นอกจากนี้ยังมีส่วนต่อกับคอมพิวเตอร์ทำให้ได้ข้อมูลอยู่ในรูปอิเล็กทรอนิกส์ เช่น เป็นชนิดไฟล์ที่ใช้ได้กับโปรแกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครซอฟฟอสฟอสในปัจจุบัน ทำให้ง่ายต่อการรวบรวมข้อมูล เทคโนโลยีนี้ได้เข้ามามีบทบาทต่อการบริหารและจัดการธุรกิจและอำนวยความสะดวกในการดำเนินชีวิตอย่างมาก ประเทศไทยเริ่มมีการนำมาใช้งาน ได้จริงหรือทดสอบการใช้งานบ้างแล้วในกิจกรรมต่างๆ เช่น บัตรรถโดยสาร ได้ดิน การทดสอบในการตรวจสอบย้อนกลับในอุตสาหกรรมอาหาร (Food Tracability) จัดการสินค้าคงคลัง และการกระจายสินค้า เป็นต้น ซึ่งเห็นได้ว่าเทคโนโลยีอาร์เอฟไอดีมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันของประเทศ (ศูนย์อิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ, 2549) โดยมีองค์ประกอบ 2 ส่วนหลักๆ คือ

2.2.1 แผ่นป้ายระบุข้อมูลหรือเรียกว่าแท็ก (อาร์เอฟไอดีแท็ก) มีชื่อเรียกเป็นทางการว่า Transponder หรือ Transmitter และ Responder ที่ใช้ติดกับวัตถุต่างๆ ใช้บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับวัตถุชิ้นนั้น โครงสร้างภายในแท็กประกอบด้วยชิป และขดลวด ซึ่งทำหน้าที่เหมือนเสาอากาศที่คอยรับและส่งสัญญาณ ซึ่งแท็กประเภทนี้มี 2 ชนิดใหญ่ ๆ คือ

2.2.1.1 พาสซีฟอาร์เอฟไอดีแท็ก แท็กชนิดนี้ทำงานได้โดยไม่ต้องอาศัยแหล่งจ่ายไฟใดๆ ไม่มีแบตเตอรี่ในตัว เพราะภายในมีวงจรกำเนิดไฟฟ้าในตัวอยู่ ทำให้การอ่านข้อมูลทำได้ไม่ไกลนัก ระยะการสื่อสารข้อมูลที่ทำให้สูงสุดประมาณ 1 เมตร มีหน่วยความจำขนาดเล็ก (ทั่วไปประมาณ 32 – 128 บิต) มีขนาดเล็กและน้ำหนักเบา ราคาต่อหน่วยต่ำ

2.2.1.2 แอ็กทีฟอาร์เอฟไอดีแท็ก แท็กชนิดนี้จะใช้แหล่งจ่ายไฟจากแบตเตอรี่ขนาดเล็ก มีหน่วยความจำภายในขนาดใหญ่ได้ถึง 1 เมกะไบต์ มีระยะการสื่อสารข้อมูลที่ทำให้สูงสุดถึง 6 เมตร แม้ว่าแท็กชนิดนี้จะมีข้อดีอยู่หลายประการแต่ก็มีข้อเสียอยู่ด้วยเหมือนกัน เช่น มีราคาต่อหน่วยแพง มีขนาดค่อนข้างใหญ่ และมีระยะเวลาในการทำงานที่จำกัด

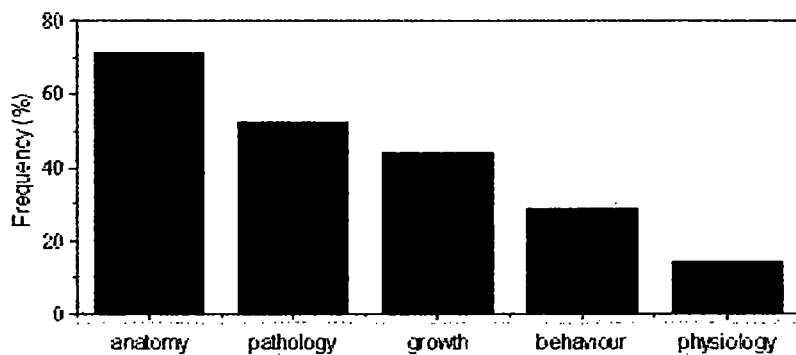
2.2.2 เครื่องอ่านสัญญาณหรือตัวอ่านข้อมูล (อาร์เอฟไอดี reader หรือ interrogator) มีชื่อเรียกเป็นทางการว่า Transceiver หรือ Transmitter และ Receiver หน้าที่ของเครื่องอ่านคือ การเชื่อมต่อเพื่ออ่านข้อมูลจากแท็ก ด้วยคลื่นสัญญาณความถี่วิทยุ ภายในเครื่องอ่านจะประกอบด้วยเสาอากาศที่ทำจากขดลวดทองแดง เพื่อใช้รับส่งสัญญาณภาครับและภาคส่งสัญญาณวิทยุ วงจรควบคุมการอ่านเขียนข้อมูล ซึ่งมักจะเป็นวงจรจำพวกไมโครคอนโทรลเลอร์ และส่วนของการติดต่อกับคอมพิวเตอร์ (ศูนย์อิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ, 2549)

## 2.3 หลักการทำงานเบื้องต้นของระบบอาร์เอฟไอดี

การทำงานเบื้องต้นของระบบอาร์เอฟไอดีนั้น ตัวอ่านข้อมูลจะปล่อยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ออกมาตลอดเวลา และคอยตรวจจับว่ามีแท็กเข้ามาอยู่ในบริเวณสนามแม่เหล็กไฟฟ้าหรือไม่ หรือ อีกนัยหนึ่งก็คือคอยตรวจจับว่ามีการผสมของคลื่นสัญญาณ (modulate) เกิดขึ้นหรือไม่ เมื่อมีแท็ก เข้ามาอยู่ในบริเวณสนามแม่เหล็กไฟฟ้า แท็กจะได้รับพลังงานไฟฟ้าที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเพื่อให้แท็กเริ่มทำงาน และจะส่งข้อมูลในหน่วยความจำที่ผ่านการผสมกับคลื่น พหุพาหะแล้วออกมาทางสายอากาศที่อยู่ภายในแท็ก คลื่นพหุพาหะที่ถูกส่งออกมาจากแท็กจะเกิดการ เปลี่ยนแปลงแอมพลิจูด ความถี่ หรือเฟส ขึ้นอยู่กับวิธีการผสมของคลื่นสัญญาณ ตัวอ่านข้อมูลจะ ตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของคลื่นพหุพาหะแปลงออกมาเป็นข้อมูลแล้วทำการถอดรหัสเพื่อนำข้อมูล ไปใช้งานต่อไป (รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ, 2551)

## 2.4 ผลกระทบจากการฝัง transmitter tag และ transponder tag ในสัตว์น้ำ

electronic tag แท็กบางชนิด เช่น transponder tag และ transmitter tag เป็นแท็กที่ต้องฝังเข้าไป ภายในร่างกาย ซึ่งวิธีการและตำแหน่งในการฝังจะแตกต่างกันไปตามขนาดของแท็ก และชนิด ของสัตว์น้ำที่ต้องการฝัง ส่วนใหญ่แล้วแท็กในกลุ่มนี้มีขนาดเล็ก จึงมีผลต่อสัตว์น้ำค่อนข้างน้อย ทั้งด้านพฤติกรรม และการเติบโต แต่การฝังแท็กชนิดนี้ยังมีข้อจำกัดคือต้องใช้ความชำนาญในการ ฝัง และบางครั้งการฝังแท็กเข้าช่องท้องอาจมีการเปลี่ยนตำแหน่งของแท็กทำให้การอ่านรหัสทำได้ ยากขึ้น (รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ และคณะ, 2551) อย่างไรก็ตามสิ่งที่ควรคำนึงถึงในการฝังแท็กกับ สัตว์น้ำนั้นต้องไม่เป็นอันตรายหรือเป็นอันตรายน้อยที่สุดกับตัวสัตว์ ผลกระทบส่วนใหญ่ที่เกิดจาก การฝังแท็กคือ การเกิดบาดแผล และความเครียด อันเนื่องมาจากขั้นตอนการฝัง ซึ่งอาจทำให้เกิด การติดเชื้อบริเวณแผล และถ้าไม่สามารถควบคุม โรคได้จะส่งผลต่อการตายตามมา นอกจากนี้ ความเครียดอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตและความสามารถในการสืบพันธุ์ได้ (ภาพที่ 2.4) ดังนั้นใน ขั้นตอนการฝังแท็กควรระมัดระวังและดูแลสัตว์น้ำเพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้เกิดความเครียดขึ้นได้ (Davenport *et al.*, 1999)



ภาพที่ 2.4 เปอร์เซ็นต์ของผลกระทบในด้านต่างๆ จากการฝัง Transmitter tag

ที่มา: Davenport *et al.* (1999)

#### 2.4.1 ผลกระทบต่ออัตราการตายและการเจริญเติบโต

อัตราการตายหลังจากการฝังแท็ก เป็นสิ่งสำคัญและควรพิจารณาเป็นอันดับแรก แต่การฝังแท็กในกลุ่ม transponder tag นั้นไม่ค่อยพบการตายที่สูงมากนัก เช่น McKenzie *et al.* (2006) ทดลองฝัง PIT tag ขนาด 23 และ 12 มิลลิเมตร ในปลา Snapper อายุประมาณ 3 ปี หลังจาก 4 เดือน พบการตายเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ ในปลาที่ฝังแท็กขนาด 12 มิลลิเมตร เท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Moser *et al.* (2005) ที่ทดลองฝัง transmitter tag (ขนาด 9X30 มิลลิเมตร น้ำหนัก 5 กรัม) ในปลา English Sole (น้ำหนัก 200 กรัม) ด้วยการผ่าตัดและเย็บแผล แต่ไม่พบการตายในปลาที่ได้รับการฝังแท็กดังกล่าว ถึงอย่างไรก็ตามยังมีรายงานเกี่ยวกับการตายเนื่องจากการฝังแท็กชนิดนี้อยู่ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการตายคือ วิธีการฝัง ลักษณะของแท็ก ขนาด และชนิดสัตว์น้ำ รวมถึงสิ่งแวดล้อมที่เป็นปัจจัยสำคัญเช่นกัน ดังการทดลองของ Baras *et al.* (2000) ที่ฝัง PIT tag ในปลา Eurasian Perch ขนาดเฉลี่ย  $4.95 \pm 0.79$  กรัม ด้วยวิธีแตกต่างกัน พบว่าการฝังโดยใช้มีดกรีดบริเวณที่ฝังแท็กก่อนแล้วหลังจากนั้นฝังแท็กด้วยเข็ม มีอัตราการตายน้อยที่สุด 24.2 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การฝังโดยการฉีดด้วยเข็ม มีอัตราการตายมากที่สุดคือ 40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังแนะนำว่าแผลที่เกิดจากการผ่าตัดฝังแท็กมีความเสี่ยงในการติดเชื้อ ซึ่งการเย็บแผลในบริเวณที่ฝังแท็กจะช่วยลดอัตราการตายลงได้ เพราะช่วยให้การสมานแผลในชั้น epidermis รวดเร็วขึ้น หรือไม่เช่นนั้นอาจใช้ยาต้านจุลชีพป้ายบริเวณแผลที่ผ่าตัดแทนการเย็บเพราะการเย็บแผลอาจใช้

เวลามากกว่า และเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Moser *et al.* (2005) และ McKenzie *et al.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2006) ที่พบอัตราการตายหลังการฝังแท็กน้อยกว่านั้น เนื่องมาจากขนาดของปลาที่ฝังแตกต่างกัน โดยปลา Eurasian Perch ที่พบการตายมากกว่าเนื่องจากมีขนาดเพียง 4 กรัม เท่านั้น เมื่อเทียบกับ ปลา Snapper ที่มีอายุถึง 3 ปี ซึ่ง Davenport *et al.* (1999) ได้อธิบายถึงสาเหตุและระยะเวลาการตาย ในการฝังแท็กต่างชนิดกันว่า การฝังอิเล็กทรอนิกส์แท็ก แบบภายนอกจะใช้เวลาเป็นสัปดาห์ถึงจะพบการตาย และสาเหตุเนื่องมาจากสัตว์ไม่สามารถสมานแผลได้ แต่การฝังอิเล็กทรอนิกส์แท็ก แบบภายในจะพบการตายภายในระยะเวลาเป็นชั่วโมง หรือเป็นวัน ซึ่งมีสาเหตุมาจากฝังถูกอวัยวะสำคัญและแผลติดเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Winter *et al.* (2005) ที่ทดลองฝัง PIT tag ในปลา European Eel พบการตายในกลุ่มที่ฝังแท็กและกลุ่มควบคุม 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ความล้มเหลว ซึ่งมีสาเหตุจากการติดเชื้อรา *Saprolegnia sp.*

นอกจากปลาแล้วยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการฝังแท็กในสัตว์ชนิดอื่น เช่น กุ้ง โดย Buric *et al.* (2008) ได้ศึกษาการฝัง PIT tag ขนาด 12X2.1 มิลลิเมตร ในกุ้ง crayfish บริเวณท้องใต้ผิวชั้นนอกพบว่าอัตราการตายน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ และได้แนะนำว่าควรใช้แท็กชนิดนี้กับกุ้งที่โตเต็มวัยหรือมีขนาดใหญ่ แต่ในทางตรงกันข้ามเมื่อฝัง PIT tag ในเม่นทะเล พบว่าเม่นในกลุ่มที่ฝังแท็กมีอัตราการตายมากกว่ากลุ่มควบคุม 30 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากอัตราการบริโภคอาหารน้อยลงหลังจากการฝังแท็กจะเห็นได้ว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อการรอดในสัตว์น้ำที่ฝังแท็กนั้นมีหลากหลายประเภท ทั้งขนาดของแท็ก ชนิดของสัตว์น้ำ และสิ่งแวดล้อม ซึ่งส่วนมากแล้วจะเกิดจากความเครียดและแผลติดเชื้อ

การฝังแท็กในสัตว์น้ำสิ่งที่จะต้องคำนึงถึงอีกประการหนึ่งคือ ผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ไม่ว่าจะเป็นการฝังแท็กเพื่อใช้เป็นสัตว์ทดลอง หรือการฝังเพื่อวัตถุประสงค์แล้วปล่อยลงสู่ธรรมชาติ มีการศึกษาจำนวนมาก เกี่ยวกับผลกระทบด้านการเจริญเติบโตจากการฝังแท็กภายในตัวสัตว์น้ำ ซึ่งพบว่าแท็กขนาดเล็กนั้นไม่ค่อยส่งผลต่อการเจริญเติบโต และสามารถชดเชยการเจริญเติบโต (catch up growth) ได้ ภายใน 2 สัปดาห์ เมื่อทดลองฝัง PIT tag ในปลา Eurasian Perch (Baras *et al.* 2000) ซึ่งสอดคล้องกับ Ombredane *et al.* (1998) ที่พบว่าการฝัง PIT tag ในปลา Brown Trout (*Salmo trutta* L.) ที่มีความยาวถึงส่วนเว้าหาง (fork length) 55 ถึง 127 มิลลิเมตร ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และมีรายงานว่าแท็กชนิดนี้มีผลต่อการเจริญเติบโตใน 20 วันแรกหลังการ

ติดแท็ก ซึ่งกระบวนการสมานแผลนั้นอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตในระยะแรกได้ เห็นได้ว่าการฝังแท็กนั้นส่งผลกระทบต่อทางด้านลบต่อการเจริญเติบโตน้อยมาก หรือเพียงระยะเวลาสั้น ๆ เท่านั้น อาจเนื่องมาจากแท็กนั้นมีขนาดเล็กและส่งผลให้เกิดความเครียดแบบเฉียบพลัน ซึ่งความเครียดดังกล่าวนี้ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตในระยะสั้นเท่านั้น Iwama *et al.* (1997)

#### 2.4.2 ผลกระทบต่อการติดเชื้อและการสมานแผล

เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าขั้นตอนการฝังแท็กนั้นทำให้เกิดการบาดเจ็บบริเวณที่ฝังแท็ก และพบว่ามีอาการสมานแผลในภายหลัง ดังการทดลองของ Baras *et al.* (2000) ที่ฝัง PIT tag ในปลา Eurasian Perch ด้วยวิธีแตกต่างกันพบว่ามีการ encapsulated รอบแท็กประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ และแผลภายนอกจากการผ่าตัดฝังแท็กใช้เวลาสมานแผลประมาณ 1 สัปดาห์ ซึ่งวิธีการฝังนั้นจะมีผลกระทบต่อหายของบาดแผลและการติดเชื้อจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ซึ่งการสมานแผลภายนอกมีความสำคัญต่อความเครียดที่เกิดขึ้นในปลาได้ โดยกระบวนการสมานแผลนั้นเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการดูดซับของเสียและการสร้างชิ้นใหม่ของเนื้อเยื่อ สามารถเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับชนิดปลา ช่วงอายุ กระบวนการเมทาบอลิซึม และอุณหภูมิ แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาวิธีการฝังเข้าไปภายในช่องท้องพบว่าแท็กมีการเคลื่อนที่ซึ่งอาจเกิดอันตรายต่ออวัยวะภายในได้ สำหรับการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อภายในพบว่า มีการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบริเวณรอบรูที่ฝังแท็กซึ่งพบในปลา Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) และ Snapper (*Pagrus auratus*) โดย Brill *et al.* (1997) และ McKenzie *et al.* (2006) กล่าวว่า ระยะเวลาการสมานแผลขึ้นกับชนิดของแท็กด้วย นอกจากนี้ Bauer and Loupal (2006) ได้ทดลองฝัง Transmitter tag ที่มีเสายื่นออกภายนอก ในปลา Common Carp พบว่าหลังจาก 4 เดือน การสมานแผลยังไม่สมบูรณ์ และเสร็จสมบูรณ์โดยพบเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน (granulation tissue) หลังจาก 1 ปี ซึ่งใช้เวลานานกว่าการฝังแท็กขนาดเล็ก เนื่องจากเนื้อเยื่อได้รับบาดเจ็บอย่างรุนแรง ทั้งเซลล์ดั้งเดิมและเนื้อเยื่อโครงสร้างไม่สามารถซ่อมแซมการสร้างเซลล์ดั้งเดิมขึ้นใหม่ได้ ในภาวะเช่นนี้จะมีการซ่อมแซมโดยแทนที่เนื้อเยื่อเสียหายด้วยส่วนที่ไม่ใช่เซลล์ดั้งเดิม (non regenerated parenchymal cell) ภายใน 24 ชั่วโมง โดยการงอกขยายของไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) และเซลล์ผนังหลอดเลือดที่เรียกว่า เนื้อเยื่อแกรนูเลชัน (granulation tissue)

เนื้อเยื่อแกรนูเลชัน จะมีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อสีชมพูอ่อน ซึ่งเราจะพบได้บริเวณใต้สะเก็ดของแผลที่ผิวหนัง เมื่อตรวจทางกล้องจุลทรรศน์ จะมีลักษณะเป็นการงอกขยายของไฟโบร بلاสท์ และหลอดเลือดฝอยที่ละเอียดอ่อนผนังบางสร้างขึ้นใหม่ในโครงสร้างนอกเซลล์ (extracellular matrix) เนื้อเยื่อแกรนูเลชันจะสะสมโครงสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากขึ้นจนปรากฏเป็นไฟโบรซิส (fibrosis) ซึ่งในขบวนการนี้เริ่มจากการเกิดเนื้อเยื่อแกรนูเลชันและกลายเป็นแผลเป็น (อนุเทพ รังสีพิพัฒน์, 2548)

การซ่อมแซมเนื้อเยื่อและอวัยวะที่ได้รับบาดเจ็บเสียหาย เป็นขบวนการพื้นฐานที่ธรรมชาติสร้างให้กับสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ สัตว์วิวัฒนาการต่ำจะมีความสามารถในการซ่อมแซมได้สูง เช่น ครีนิไลต์เดือนดินลูกของมิคมตัดแบ่งครึ่ง จะสามารถสร้างส่วนที่ขาดให้สมบูรณ์ได้ทั้ง 2 ส่วน สำหรับในสัตว์วิวัฒนาการสูง การซ่อมแซมเนื้อเยื่อจะประกอบด้วย การซ่อมแซม 2 แบบคือ การซ่อมแซมด้วยการเกิดเนื้อเยื่อใหม่ของเซลล์เดิม (parenchymal cell) เรียกว่า รีเจเนอเรชัน (regeneration) และการซ่อมแซมโดยการเพิ่มจำนวนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เข้าไปแทนที่เนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บสูญหายไป (repair by connective tissue) โดยทั่วไปการซ่อมแซมจะประกอบด้วย 2 แบบ แต่แบบไหนจะมากกว่ากัน ย่อมขึ้นกับชนิดของสัตว์ อวัยวะที่ได้รับบาดเจ็บและลักษณะการบาดเจ็บเป็นสำคัญ

เมื่อมีการบาดเจ็บ การสมานแผลของเนื้อเยื่อนั้นจะเกิดการเคลื่อนย้ายและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เช่น fibroblast ซึ่งต่อมาจะเปลี่ยนเป็น เนื้อเยื่อแกรนูเลชัน ทำให้แผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กลง การสมานแผลนั้นเป็นการผลิตคอลลาเจน (collagen) ในบริเวณที่เกิดการบาดเจ็บ และเซลล์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการสมานแผลนั้นคือ myofibroblasts ซึ่งเซลล์เหล่านี้มีความสามารถในการบีบหดตัว และการสะสมคอลลาเจนบริเวณรอบแผล ในขณะที่ fibroblast ในกระบวนการสมานแผลจะสร้างขึ้นใหม่ จากนั้นจะกลายเป็นเนื้อเยื่อปกติที่อยู่ในบริเวณที่เกิดการสมานแผล (Agarwal *et al.*, 2006)

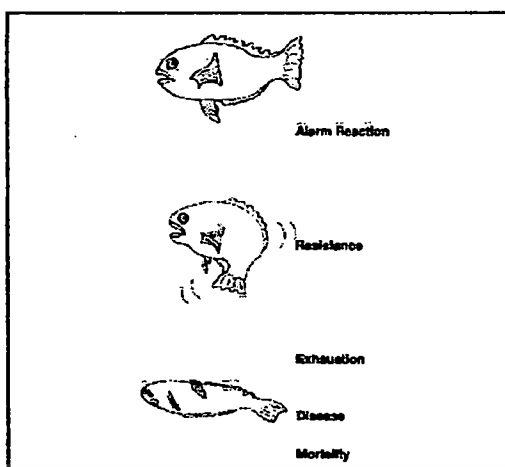
#### 2.4.3 ผลต่อความเครียด

ความเครียดเป็นสภาวะที่สัตว์ไม่สามารถรักษาสภาพทางสรีระให้ปกติได้ เนื่องจากปัจจัยหลายอย่าง (Floyd, 1990) หรือสิ่งใดๆ ก็ตามที่มากระตุ้นร่างกาย ซึ่งร่างกายจะตอบสนองและปรับตัว เพื่อให้กลับสู่สภาวะสมดุล (homeostasis) (Force, 2005) สามารถจัดระดับของการตอบสนองความเครียดออกเป็น 2 ระดับ คือ การตอบสนองความเครียดปฐมภูมิ (primary responses) คือการตอบสนองเบื้องต้น หลังได้รับความเครียด ซึ่งเป็นการตอบสนองของ

ฮอร์โมน ประกอบด้วยฮอร์โมน คอร์ติซอล (cortisol) และแคทีโกลามีน (catecholamine) ที่ปล่อยเข้าสู่ระบบหมุนเวียน และการตอบสนองความเครียดทุติยภูมิ (secondary responses) การตอบสนองความเครียดทุติยภูมิ นั้นเป็นการตอบสนองที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี และสรีระเมื่อได้รับความเครียด ซึ่งเป็นผลจากการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนในการตอบสนองขั้นปฐมภูมิ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในเลือด รวมถึงค่าโลหิตวิทยาด้วย เช่น การเปลี่ยนแปลงของกลูโคสในเลือด ซึ่งนิยมใช้เป็นตัวชี้วัดความเครียด

ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับผลของการติดแท็กต่อความเครียดพบว่ายังมีน้อยและไม่ชัดเจน อย่างไรก็ตามมีรายงานเกี่ยวกับการประเมินสภาวะทางสรีระวิทยาของปลา Snapper (*Pagrus auratus*) ที่ฝังแท็กเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างของระดับคอร์ติซอล กลูโคส ฮีมาโตคริต และฮีโมโกลบิน ระหว่างกลุ่มที่ฝังแท็กและไม่ฝังแท็ก (Mckenzie *et al.* 2006) โดยทั่วไปแล้วขั้นตอนการติดแท็กจะต้องไม่เกิดอันตราย หรือเกิดอันตรายน้อย และต้องไม่ก่อให้เกิดความเครียดนาน จากขั้นตอนการจับปลาขึ้นมาเพื่อติดแท็ก ซึ่งการจับปลานั้นสามารถส่งผลต่อการเกิดความเครียดแบบเฉียบพลันได้ (Martins *et al.* 2004) เมื่อปลาได้รับความเครียดจะมีการตอบสนองเพื่อรักษาตัวให้อยู่ในสภาวะที่สมดุล (homeostasis) โดยการตอบสนองแบ่งเป็น 3 ระยะเรียกว่า General Adaptive Syndrome (GAS) เป็น ปฏิกิริยาการที่พบมีการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนที่บริเวณไต ต่อความเครียดระยะยาว ซึ่งมีลำดับขั้นตอนดังนี้ (ภาพที่ 2.5)

**Alarm reaction:** ในขั้นนี้ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้นเนื่องจากการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล แหล่งของน้ำตาลหรือกลูโคสที่ได้มานั้นมาจากไกลโคเจนในตับ ซึ่งสลายมาเพื่อเพิ่มพลังงานมาใช้ในกิจกรรมต่าง ๆ ในยามฉุกเฉิน เช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลน้ำในร่างกายทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นแร่ธาตุภายในร่างกาย ในปลาน้ำจืดปลาจะได้รับน้ำจากภายนอกเข้าสู่ตัวปลามากเกินไปแต่ในปลาทะเลจะสูญเสียเข้าสู่สภาพแวดล้อมจึงทำให้ปลาเสียพลังงานในการรักษาสมดุลน้ำภายในร่างกาย มีการหายใจเพิ่มขึ้น ความดันเลือดเพิ่มสูงขึ้นและมีการปล่อยเม็ดเลือดแดงเข้าสู่ระบบหมุนเวียน เกิดการยับยั้งกระบวนการอักเสบหรือกระบวนการทางภูมิคุ้มกันเนื่องจากการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisol)



ภาพที่ 2.5 การเกิด General Adaptive Syndrome (GAS) ของปลา

ที่มา: Floyd (1990)

**Resistance:** สัตว์สามารถปรับตัวต่อความเครียดแต่เป็นในช่วงระยะเวลาที่จำกัด  
ระยะนี้ปลาอาจมีลักษณะภายนอกปกติอยู่ แต่มีการสูญเสียพลังงานมากเนื่องจากความต้องการเพื่อ  
การปรับสมดุลภายในตัว

**Exhaustion:** เนื่องจากความเครียดมีความรุนแรงและยาวนานเกินไปทำให้  
สูญเสียพลังงานมากจนหมดไม่สามารถปรับตัวได้ ร่างกายอ่อนแอส่งผลต่อการเกิดโรคและการตาย  
ตามมา (Floyd, 1990)

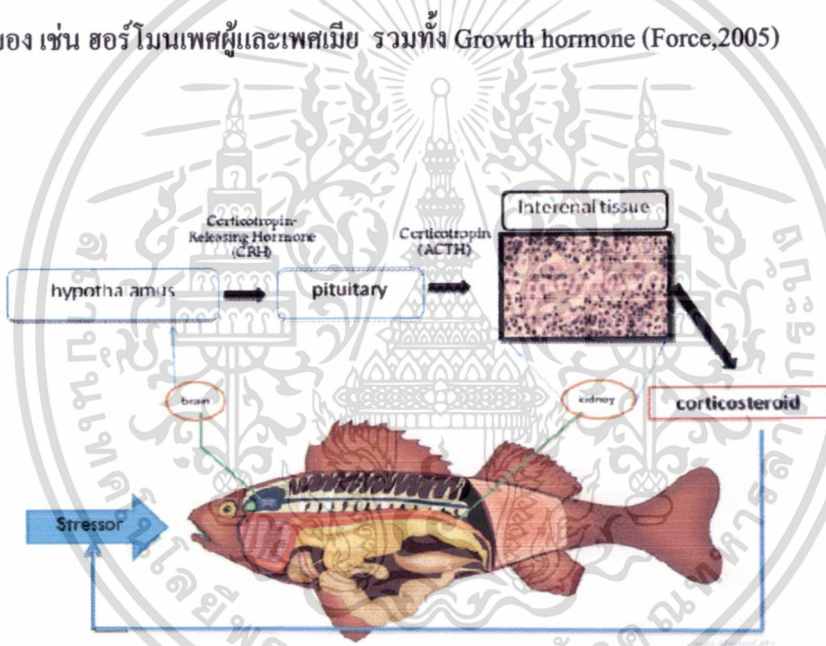
โดยความเครียดสามารถส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาได้ดังนี้

2.4.3.1 การเปลี่ยนแปลงฮอร์โมน: การตอบสนองของฮอร์โมนต่อความเครียด  
ในปลา มีฮอร์โมน 2 ชนิดที่เข้ามาเกี่ยวข้องคือ คอร์ติซอล (cortisol) และแคทีโกลามีน  
(catecholamine)

#### 2.4.3.1.1 การเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนคอร์ติซอล

ความเครียดในปลาช่วงการตอบสนองขั้นปฐมภูมิ  
(primary response) จะมีการตอบสนองของฮอร์โมน adrenergic response ซึ่งพบว่าการตอบสนอง  
นี้มีผลให้ฮอร์โมนคอร์ติซอลในเลือดเพิ่มขึ้น การตอบสนองดังกล่าวเกิดจาก ขบวนการตอบสนอง

ข้ออิง hypothalamo-pituitary-interrenal (HPI) response (Iwama *et al.*, 1997) โดยเมื่อร่างกายได้รับการกระตุ้นแล้วหลังฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องคือ corticotrophin-releasing hormone (CRH) ที่หลั่งจาก hypothalamus ออกมากระตุ้นต่อมใต้สมอง (pituitary) ส่งผลให้เกิดการหลั่ง Adrenocorticotrophic hormone (ACTH) ไปกระตุ้นไตบริเวณ interrenal tissue ให้หลั่ง corticosteroid ออกมา ดังภาพที่ 2.6 เมื่อฮอร์โมนคอร์ติซอลหลั่งออกมา มีผลให้น้ำตาลในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ทำให้เซลล์สามารถสร้างพลังงาน ซึ่ง Kubulay and Uluky (2002) ได้แนะนำว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลเหนี่ยวนำให้เกิดขบวนการ gluconeogenesis และ Hur *et al.* (2006) กล่าวว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มสูงขึ้นทำให้น้ำตาลในเลือดสูงขึ้นเนื่องจากขบวนการ gluconeogenesis เช่นกัน นอกจากนี้พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลระดับสูง มีผลทำให้ลดการผลิตเซลล์เม็ดเลือดขาวจึงลดความสามารถในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ผลสรุปคือทำให้ลดความต้านทานโรค และยังยับยั้งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง เช่น ฮอร์โมนเพศผู้และเพศเมีย รวมทั้ง Growth hormone (Force, 2005)



ภาพที่ 2.6 แผนภาพการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเมื่อได้รับความเครียด

จากการศึกษาความเครียดในปลา Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) โดยนำขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 1 นาที พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มภายใน 15 นาที และกลับสู่ระดับเดิมที่ 48 ชั่วโมง ซึ่งการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล เป็นการตอบสนองทั่วไปเมื่อร่างกายได้รับความเครียดเพื่อปรับตัวให้อยู่ในสภาวะสมดุล (homeostasis) (Biller *et al.*, 2008)

Favares *et al.* (2001) ได้ศึกษาการตอบสนองความเครียดในปลา Tambaqui (*Colossoma macropomum*) โดยการจับขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 40 วินาที พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอล เพิ่มขึ้นหลังได้รับความเครียดซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นในปลากระดุกแข็ง 13 ชนิด เมื่อได้รับความเครียดจากการขนส่ง (ตารางที่ 2.1)

Hur *et al.* (2006) พบว่าปลา olive flounder มีระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังได้รับความเครียดแบบต่างๆ และมีค่าสูงที่สุดหลังการกักขัง 25.5±4.4 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อทดสอบความเครียดในปลา coral trout โดยการจับและการขนส่ง พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอล สูงขึ้นที่ 15 นาที จนถึง 4 ชั่วโมง และลดลงที่ 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 2.8) แต่ยังไม่เท่ากับระดับควบคุม (Frisch and Anderson, 2000)

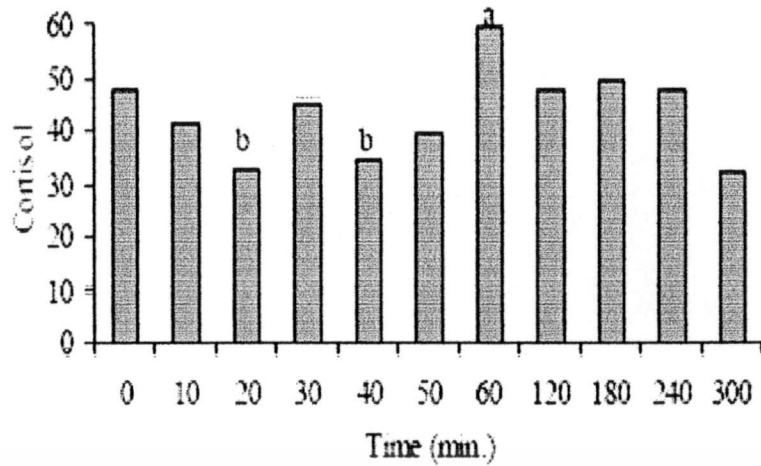
ตารางที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาในปลา Tambaqui ที่ทดสอบความเครียดโดยการจับขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 40 นาที

ค่าโลหิตวิทยา	ก่อนได้รับ ความเครียด	หลังได้รับ ความเครียด	F-test
น้ำตาลในเลือด (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	116.7±30.8	166.9±62.0	15.24**
ฮอร์โมนคอร์ติซอลในเลือด(นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร)	182.1±47.7	333.8±95.9	58.20**
จำนวนเม็ดเลือดแดง (10 <sup>6</sup> ต่อไมโครลิตร)	2.830±0.56	1.868±0.36	73.54**
ฮีโมโกลบิน (กรัมต่อเดซิลิตร)	11.3±0.9	8.4±1.0	138.4**
ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	41.6±6.9	29.8±3.0	71.13 <sup>ns</sup>

ns=not significant(p>0.05); \*\*= significant (p>0.01)

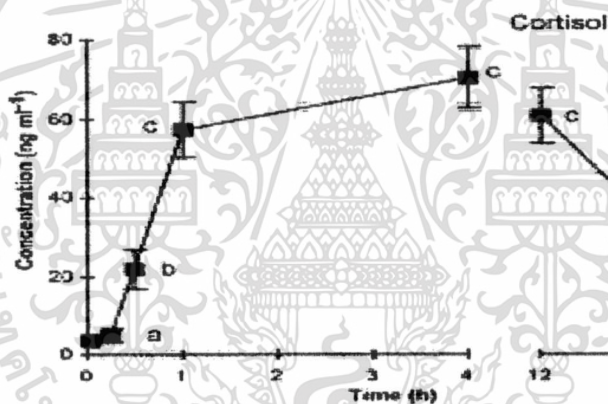
ที่มา: คัดแปลงจาก Favares *et al.* (2001)

Martins *et al.* (2004) ทดสอบความเครียดในปลา *Oreochromis niloticus* โดยการจับด้วยสวิงและนำขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 30 วินาที พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นหลังได้รับความเครียด ที่เวลา 60 นาที (ภาพที่ 2.7)



ภาพที่ 2.7 การเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลา *Oreochromis niloticus* ที่ทดสอบความเครียดโดยการจับด้วยสวิงและนำขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 30 วินาที

ที่มา: Martins *et al.* (2004)



ภาพที่ 2.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอล เมื่อทดสอบความเครียดในปลา coral trout โดยการจับและการขนส่ง

ที่มา: Frisch and Anderson (2000)

Fast *et al.* (2008) ได้ทดสอบความเครียดในปลา Atlantic salmon โดยการนำขึ้นบนอากาศเป็นเวลา 15 วินาที พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอล สูงขึ้นที่ 1 และ 3 ชั่วโมง หลังได้รับความเครียดและ Kubulay and Uluky (2002) ได้ทดลองความเครียดในปลา Rainbow trout โดยการกักขัง จับ และขนส่ง พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุด ที่ระดับ 3.02 ไมโครกรัมต่อเคซิลิตร

#### 2.4.3.1.1 การเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนแคทีโคลามีน (catecholamine)

หรืออะดรีนาลีน (adrenalin)

Iwama *et al.* (2004) กล่าวว่าในการตอบสนองต่อความเครียด พบว่ามีการหลั่งฮอร์โมนแคทีโคลามีนจาก Chromaffin tissue ซึ่งอยู่บริเวณไตส่วนหน้าของปลากระดูกแข็ง การหลั่งฮอร์โมนดังกล่าวเกิดจากการกระตุ้นของระบบประสาทเมื่อได้รับความเครียด โดยปลาในกลุ่ม Salmonid มีปริมาณฮอร์โมนอะดรีนาลีนประมาณ 20-70 มิลลิโมลต่อลิตร ซึ่งฮอร์โมนแคทีโคลามีนมีผลทำให้กลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับความเครียด เพราะเมื่อมีการหลั่งฮอร์โมนนี้จะทำให้เกิดการสลายไกลโคเจนและเกิดภาวะกลูโคสในเลือดสูง (hyperglycemia) แต่ฮอร์โมนแคทีโคลามีนนั้นสลายไปจากระบบหมุนเวียนได้อย่างรวดเร็วหลังได้รับความเครียด (ภายใน 30 นาที) แต่ยังคงเหลือระดับกลูโคสในเลือดไว้ ซึ่งเป็นผลจากการหลั่งของแคทีโคลามีนในขณะที่ฮอร์โมนคอร์ติซอลจะมีผลกับระดับกลูโคสในเลือดเช่นกัน แต่มีผลหลังจากการหลั่งฮอร์โมนแคทีโคลามีนดังนั้นจึงไม่นิยมใช้ฮอร์โมนแคทีโคลามีนเป็นตัววัดความเครียด

#### 2.4.3.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสในเลือด (Plasma glucose)

ฮอร์โมนแคทีโคลามีนมีผลทำให้กลูโคสในระบบเลือดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ฮอร์โมนคอร์ติซอลมีส่วนทำให้เกิดกระบวนการ gluconeogenesis โดยการสลายของไกลโคเจนและหลั่งออกมาเพื่อใช้ในกิจกรรมของเซลล์ในขณะที่ได้รับความเครียดแบบเฉียบพลัน (Hoffmayer and Glenn, 2001) มีการทดลองจับปลาฉลาม Atlantic sharpnose shark พบว่ากลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้น อยู่ในช่วง 60-90 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร แต่ระดับกลูโคสที่เวลาเริ่มต้นทดลองจะขึ้นกับปริมาณอาหารที่ได้รับก่อนหน้าที่ได้รับความเครียด และ Frisch and Anderson (2000) กล่าวว่าภาวะกลูโคสในเลือดสูง (hyperglycaemia) เป็นลักษณะที่เกิดขึ้นบ่อยครั้งในปลาเมื่อได้รับความเครียด และพบว่ากลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้นภายใน 15 นาที หลังจากการจับจากธรรมชาติจึงกล่าวได้ว่าฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้มีผลทำให้กลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้น โดยฮอร์โมนแคทีโคลามีนจะหลั่งออกมาก่อนและตามด้วยฮอร์โมนคอร์ติซอล ซึ่งการเพิ่มขึ้นของกลูโคสในเลือด เป็นประโยชน์ต่อปลาเมื่อได้รับความเครียด โดยปริมาณกลูโคสเป็นสารตั้งต้นในการสร้างพลังงานให้แก่ร่างกายเพื่อช่วยในการปรับตัวให้อยู่ในสภาวะสมดุลเมื่อได้รับความเครียด Kubulay and Uluky (2002) พบว่าหลังได้รับความเครียดระดับกลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้นซึ่งการ

วัดระดับกลูโคส ในเลือดนั้นง่ายมีราคาถูกและนิยมใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การตอบสนองความเครียดขั้นทุติยภูมิ (secondary response)

ซึ่ง Tavares *et al.* (2001) ได้ทดสอบความเครียดในปลา Tambaqui โดยการจับเป็นเวลา 40 นาที พบว่าปริมาณกลูโคสเพิ่มขึ้นหลังได้รับความเครียด การเพิ่มขึ้นดังกล่าวเนื่องจากการหลั่งฮอร์โมนแคทีโกลามีน และสนับสนุนให้มีการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลในเวลาต่อมาและมีผลต่อการเพิ่มระดับกลูโคสในเลือด และ Martins *et al.* (2004) ทดสอบความเครียดในปลา Tilapia โดยการจับด้วยสวิงและนำขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 30 วินาที พบว่ากลูโคสเพิ่มขึ้นหลังได้รับความเครียด ที่เวลา 60 นาที เช่นกัน

#### 2.4.3.3 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบไอออนในน้ำเลือด

Iwama *et al.* (1997) กล่าวว่าความเครียดมีผลต่อสมดุลคลอไรด์และโซเดียมไอออนในน้ำเลือด พบว่าปริมาณคลอไรด์ในน้ำเลือดจะลดลง เมื่อได้รับความเครียดซึ่งถ้าต่ำกว่า 90 mEq/l จะมีอันตรายถึงชีวิต ความเครียดมีผลต่อสมดุลแร่ธาตุในปลา เช่น ในปลาน้ำจืด การจับปลาทำให้โซเดียมไอออนลดลง และ โพแทสเซียมเพิ่มขึ้น เนื่องจากการหลั่งฮอร์โมนแคทีโกลามีน ทำให้เหงือกเปิดพื้นที่ในการแลกเปลี่ยนก๊าซมากขึ้น ทำให้โซเดียมออกสู่ภายนอกได้มากขึ้น จึงส่งผลให้โซเดียมในร่างกายลดลง Varsamos *et al.* (2005) กล่าวว่าในปลากระดุกแข็งที่โตเต็มวัยจะต้องรักษาระดับ osmolality ในเลือดที่ 300 มิลลิออสโมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นระดับที่ปกติ โดย Hoffmayer and Parsons (2001) ได้ทดสอบความเครียดในปลา Atlantic sharpnose shark โดยการจับด้วยเบ็ดจากธรรมชาติ พบว่า plasma osmolality ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่เวลา 30-45 นาที แต่ที่ 70 นาที มีค่าเพิ่มขึ้น 6 เปอร์เซ็นต์ เป็นไปได้ว่าปลาชลามเมื่อได้รับความเครียด มีผลให้น้ำเคลื่อนที่ออกจากเลือดส่งผลให้ปริมาณแล็กแทท ภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น หรือ โซเดียมเข้าสู่เลือดเพิ่มขึ้น

จากการทดลองของ Biller *et al.* (2008) ทดสอบความเครียดในปลา Pacu โดยนำขึ้นเหนือน้ำ 1 นาที 2 ครั้ง ในแต่ละครั้งที่นำขึ้นเหนือน้ำมีระยะเวลาห่างกัน 24 ชั่วโมง พบว่าโซเดียมในร่างกายเพิ่มขึ้นภายหลังได้รับความเครียด 24 ชั่วโมง โพแทสเซียม ลดลงหลัง 24 ชั่วโมง และแลคเตทลดลง 5 นาที หลังได้รับความเครียด และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องภายหลัง

30 นาที จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่ามีการรบกวนสมดุลของแร่ธาตุเพราะโซเดียมในร่างกายเพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างกับการทดลองในปลาน้ำจืดอื่นๆ ที่พบว่า โซเดียมลดลงและ โพแทสเซียมเพิ่มขึ้น เมื่อทดสอบความเครียดจากการขนส่ง อย่างไรก็ตามระดับโพแทสเซียมต่ำลงเมื่อนำปลาขึ้นเหนือน้ำครั้งที่ 2 ซึ่งความสัมพันธ์ของโพแทสเซียมกับความเครียดนี้ยังไม่มีความชัดเจน แต่เคยมีรายงานว่าโพแทสเซียมในปลา small mouth bass สูงขึ้นเมื่อขนส่ง และอาจสูงขึ้นจนทำให้เซลล์แตกได้ เพราะมีรายงานว่าเกิด hemolysis ของเลือด ซึ่งสังเกตได้จากน้ำเลือดเปลี่ยนสีไปเป็นสีแดง ในปลาที่ได้รับความเครียด แต่เนื่องจากปลาที่ทดลองมีขนาดเล็ก ดังนั้นการทดลองนี้จำเป็นต้องวัดค่าการเปลี่ยนแปลงต่างๆ จากทั้งตัวปลา (whole-body) ไม่ได้วัดจากระบบเลือด จึงไม่สามารถชี้วัดการแลกเปลี่ยนโพแทสเซียมระหว่างเลือดและน้ำเลือดได้ ซึ่งการวัดปริมาณโพแทสเซียมจากทั้งตัวปลานั้นอาจจะไม่พบความแตกต่างได้ ถ้าไม่มีการสูญเสียโพแทสเซียมจากในร่างกายออกสู่น้ำภายนอก

จากการทดลองนี้กล่าวว่าการที่แคลเซียมลดลง เมื่อปลา pacu ได้รับความเครียดจากการนำขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 1 นาที ในขณะที่ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้น เห็นได้ว่า แคลเซียมมีการเคลื่อนที่ออกจากร่างกายไปสู่ร่างกายนอกเมื่อมีการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ซึ่งปริมาณแคลเซียมไม่นิยมใช้วัดความเครียด แต่มีความสำคัญในขบวนการทางสรีรวิทยาเช่น การควบคุมสมดุลการผ่านเข้าออกของน้ำ การกระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อและการทำงานในระบบประสาท การนำเข้าของแคลเซียมนี้มีอิทธิพลกับเหงือกภายใต้การทำงานของฮอร์โมนแคลซิโทนิน (calcitonin) และ โพรแลกติน (prolactin) นอกจากนี้พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอล มีผลต่อการรับแคลเซียมเข้าร่างกาย และเกิดภาวะ hypercalcaemic ในปลาด้วย

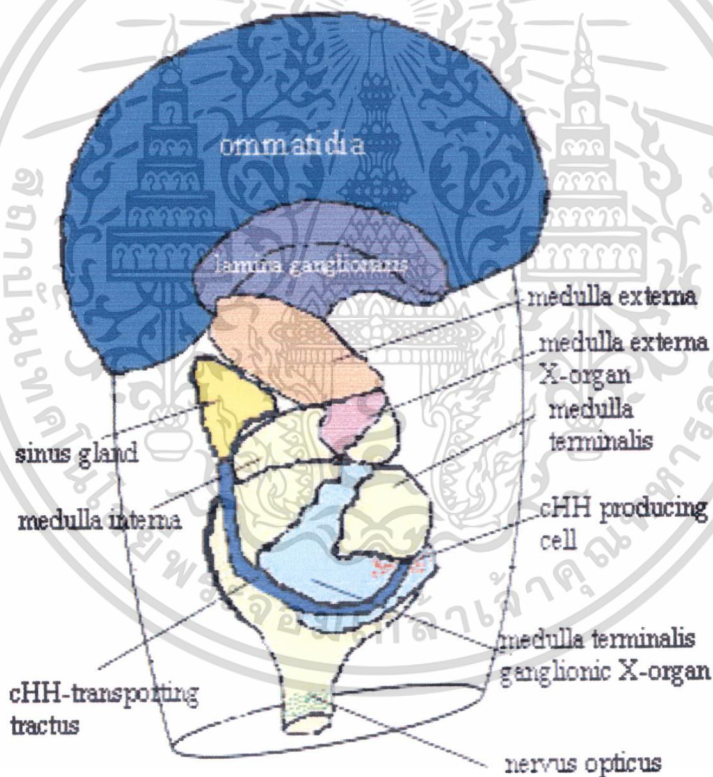
#### 2.4.3.4 การตอบสนองความเครียดในกุ้ง

กุ้งจัดอยู่ในไฟลัม Arthropoda ชั้น Crustacea ซึ่งอยู่ในกลุ่มสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง การตอบสนองต่อความเครียดจึงแตกต่างจากสัตว์มีกระดูกสันหลัง กุ้งไม่มีการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเหมือนกับสัตว์มีกระดูกสันหลัง เนื่องจากมีวิวัฒนาการต่ำกว่า

สภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) นั้นเป็นการตอบสนองโดยทั่วไปเมื่อได้รับความเครียด ซึ่งเกิดขึ้นในสัตว์น้ำหลายชนิด รวมทั้งสัตว์ในกลุ่ม crustaceans ด้วย สัตว์กลุ่มนี้ เมื่อได้รับความเครียดจะมีการตอบสนองของฮอร์โมน crustacean hyperglycemic

hormone (CHH) มีผลทำให้กลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้น (Lorenzon, 2005) โดยฮอร์โมน CHH สังเคราะห์มาจาก medulla terminalis X-organ ที่บริเวณก้านตา และขนส่งไปยัง sinus gland ซึ่งเป็นแหล่งเก็บ CHH และจะหลั่งออกมาในภายหลังเมื่อมีการกระตุ้นจากความเครียด (ภาพที่ 2.9) เรียกเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่ในการหลั่งฮอร์โมนว่า neuroendocrine tissues (Reddy and Sainath, 2009)

นอกจากการวัดความเครียดจากฮอร์โมน CHH และปริมาณกลูโคสในเลือดแล้ว ยังสามารถวัดความเครียดได้จากโปรตีนความเครียด เช่น heat shock proteins (HSPs) ที่พบว่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับความเครียด (Chang *et al.*, 1999) และการเปลี่ยนแปลงทางสรีระก็สามารถวัดความเครียดได้เช่นกัน Bromberg *et al.* (1995) ได้ทดลองเปลี่ยนแปลงความเค็มและใช้การเปลี่ยนแปลงของไอออนในเลือดปู (*Chasmagnathus granulata*) เป็นตัวชี้วัด การตอบสนองทางสรีระที่เกิดขึ้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม



ภาพที่ 2.9 องค์ประกอบของ neuroendocrine tissues ในก้านตาของ crustaceans  
ที่มา: Lorenzon (2005)

Cheng *et al.* (2003) ได้ทดลองความเครียดที่เกิดจากสภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) ที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเท่ากับ 2.75 และ 1.75 มิลลิกรัม ออกซิเจนต่อลิตร ในกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) พบว่าหลังได้รับสภาวะการขาดออกซิเจนภายใน 24 ชั่วโมง ปริมาณ hemolymph osmolality,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  และ  $\text{Cl}^-$  มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และยังคงอยู่ที่ระดับเดิม ซึ่งค่าดังกล่าวต่ำกว่าในสภาวะที่ปกติที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 4.75-7.75 มิลลิกรัมออกซิเจนต่อลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### 3.1 สัตว์ทดลอง

3.1.1 ปลาตุ๊กตากลุ่มผสมจากศูนย์ปรับปรุงพันธุกรรมน้ำจืด บริษัทเครือเจริญโภคภัณฑ์ จำกัด (มหาชน) เพื่อใช้เป็นตัวแทนปลาขนาดเล็ก และจากฟาร์มปลาบางบ่อ เพื่อเป็นตัวแทนปลาขนาดกลางและใหญ่ โดยขนาดเล็ก มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย  $4.76 \pm 0.968$  กรัม และความยาว  $8.36 \pm 0.597$  เซนติเมตร ปลาขนาดกลาง มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย  $10.35 \pm 2.471$  กรัม และความยาว  $11.11 \pm 0.839$  เซนติเมตร และปลาขนาดใหญ่ มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย  $17.58 \pm 3.389$  กรัม และความยาว  $13.60 \pm 0.872$  เซนติเมตร ตามลำดับ

3.1.2 ปลานิลจาก KMITL FISH TECH FARM 3 ขนาด ขนาดเล็ก มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย  $3.43 \pm 0.685$  กรัม ความยาว  $5.5 \pm 0.69$  เซนติเมตร ขนาดกลาง มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย  $55.47 \pm 14.860$  กรัม ความยาว  $13.80 \pm 1.024$  เซนติเมตร และขนาดใหญ่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย  $472.65 \pm 176.8$  กรัม ความยาว  $29.90 \pm 3.420$  เซนติเมตร ตามลำดับ

3.1.3 กุ้งก้ามกรามจากฟาร์มในเครือเจริญโภคภัณฑ์อาหารสัตว์น้ำ ที่ จังหวัดราชบุรี และ นครปฐม 2 ขนาด คือ ขนาดเล็ก มีน้ำหนักเฉลี่ย  $2.67 \pm 0.597$  กรัม และความยาว  $6.57 \pm 0.406$  เซนติเมตร และขนาดใหญ่ มีน้ำหนักเฉลี่ย  $30.59 \pm 8.726$  กรัม และความยาว  $10.70 \pm 0.799$  เซนติเมตร ตามลำดับ

## 3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

### 3.2.1 อุปกรณ์

- 3.2.1.1 บ่อซีเมนต์ขนาด 1X1X1 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 15 บ่อ
- 3.2.1.2 กระชังขนาด 2X2X2 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 6 กระชัง
- 3.2.1.3 ถังพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 0.8X1.24X0.5 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 9 ถัง
- 3.2.1.4 อุปกรณ์ขังวัด
- 3.2.1.5 อาหารปลาชนิดเม็ดลอยน้ำสำหรับปลากินพืช ยี่ห้อ เบทาโก Bio 642  
อาหารปลาชนิดเม็ดลอยน้ำสำหรับปลากินเนื้อ ยี่ห้อ เบทาโก MASTER 531  
อาหารกุ้ง ยี่ห้อสตาร์ฟีด
- 3.2.1.6 สไลด์และกระจกปิดสไลด์
- 3.2.1.7 หลอดทดลองขนาด 10 ml
- 3.2.1.8 แท่นทำความร้อน (Hot plate)
- 3.2.1.9 หลอดดูดเลือดขนาด 1 ml และเข็มขนาด 1 นิ้ว
- 3.2.1.10 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ยี่ห้อ MILTON ROY รุ่น spectronic 401 และเซมิคิวเวต
- 3.2.1.11 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ยี่ห้อ Hettich รุ่น Universal 16 R
- 3.2.1.12 หลอดพลาสติก eppendrop ขนาด 1.5 ml
- 3.2.1.13 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไอออนด้วยวิธี Ion Selective Electode (ISE) รุ่น ILYTE. 6878
- 3.2.1.14 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลด้วยวิธี chemiluminescent enzyme immunoassay รุ่น IMMULITE/IMMULITE 1000 cortisol
- 3.2.1.15 เครื่องตัดชิ้นเนื้อ ยี่ห้อ Microm รุ่น HM 335E
- 3.2.1.16 เครื่องเตรียมเนื้อเยื่อ (tissue processor) ยี่ห้อ Leica รุ่น TP 1020
- 3.2.1.17 อ่างทำความร้อนชนิดควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Bio-optica รุ่น 17-2000
- 3.2.1.18 หม้อต้มพาราฟิน (paraffin bath) ยี่ห้อ Medax รุ่น 47311
- 3.2.1.19 เครื่องอุ่นสไลด์ (slide warmer) ยี่ห้อ Fisher Scientific รุ่น 77
- 3.2.1.20 แท่นทำความเย็น (cold plate) ยี่ห้อ Bio-optica รุ่น PF100

- 3.2.1.21 เครื่องวัดค่า osmolality (Cryoscopic osmometer) ยี่ห้อ GONOTEC รุ่น ÖSMOMAT 030
- 3.2.1.22 กล้องจุลทรรศน์ชนิดกำลังขยายต่ำและชนิดกำลังขยายสูง
- 3.2.1.23 อาร์เอฟไอดีแท็กชนิดแคปซูลแก้วขนาดยาว 10 มิลลิเมตรและกว้าง 2 มิลลิเมตร และเครื่องอ่าน

### 3.2.2 สารเคมี

- 3.2.2.1 บัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน 10 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก)
- 3.2.2.2 สารละลาย Ortho-toluidine color reagent
- 3.2.2.3 สารกันเลือดแข็งตัว trisodiumcitrate 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์
- 3.2.2.4 ยาสลับสำหรับปลา MS-222
- 3.2.2.5 สีย้อม H & E (ภาคผนวก)
- 3.2.2.6 แอลกอฮอล์สำหรับกระบวนการทางเนื้อเยื่อ (ภาคผนวก)
- 3.2.2.7 น้ำกลั่น

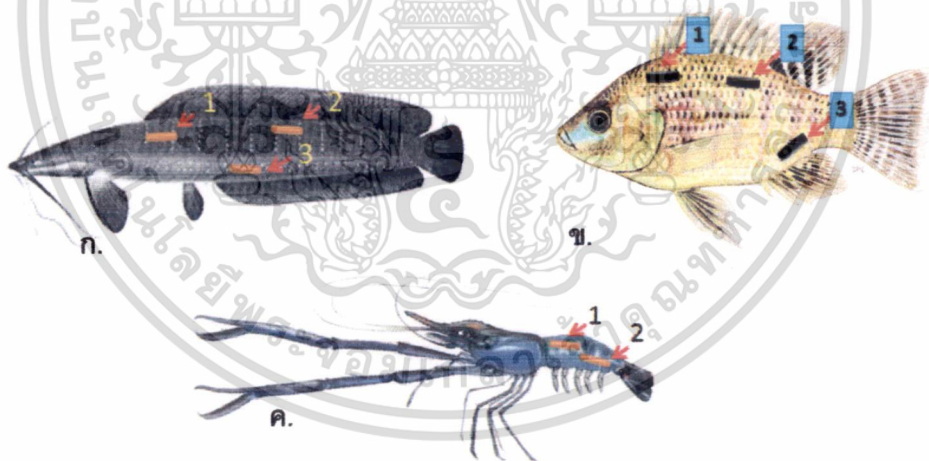
### 3.3 วิธีการดำเนินงาน

#### 3.3.1 การทดลองที่ 1: การวิเคราะห์หาผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาตุ๊กตูกผสม ปลานิล กุ้งก้ามกราม ในตำแหน่ง และขนาดที่แตกต่างกัน

การจัดการทดลอง ให้กลุ่มคือขนาดของสัตว์น้ำที่แตกต่างกัน และปัจจัยที่ศึกษา คือ การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำที่ได้รับผลกระทบจากการฝังแท็กในตำแหน่งที่แตกต่างกัน

ตำแหน่งที่ฝังแท็กในปลาตุ๊กและปลานิล มี 3 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งที่ 1 บริเวณโคนครีบหลังทางด้านหัว ตำแหน่งที่ 2 บริเวณกลางโคนครีบหลัง และตำแหน่งที่ 3 บริเวณโคนครีบท้าย ตามลำดับ

ตำแหน่งที่ฝังแท็กในกุ้งก้ามกรามมี 2 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งที่ 1 บริเวณกล้ามเนื้อเหนือรอยต่อปล้องที่ 1 (ด้านข้างของทางเดินอาหาร) และตำแหน่งที่ 2 บริเวณด้านข้างตัวก่อนมาทางด้านท้ายลำตัว รอยต่อระหว่างปล้องที่ 2 กับ 3 ตามลำดับ (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 ตำแหน่งการฝังแท็กในปลาตุ๊กตูกผสม ปลานิล และกุ้งก้ามกราม

### 3.3.1.1 การฝังอาร์เอฟไอดีแท็กในปลาอุกอุกผสม

3.3.1.1.1 นำปลาอุกอุกผสม 3 ขนาด จากศูนย์ปรับปรุงพันธุ์กรรมน้ำจืด บริษัทเครือเจริญโภคภัณฑ์ จำกัด (มหาชน) และจากฟาร์มเอกชน อำเภอ บางบ่อ นำปลามาพักที่ KMITL FISH TECH FARM จากนั้นคัดปลาเป็น 3 ขนาด คือ กลุ่มที่ 1 ปลาขนาดเล็ก มีน้ำหนักตัวประมาณ  $4.76 \pm 0.97$  กรัม และความยาว  $8.36 \pm 0.60$  เซนติเมตร กลุ่มที่ 2 ปลาขนาดกลาง มีน้ำหนักตัวประมาณ  $10.35 \pm 2.47$  กรัม และความยาว  $11.11 \pm 0.84$  เซนติเมตร และกลุ่มที่ 3 ปลาขนาดใหญ่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย  $17.58 \pm 3.39$  กรัม และความยาว  $13.60 \pm 0.87$  เซนติเมตร ตามลำดับ

3.3.1.1.2 แยกเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด  $0.8 \times 1.24 \times 0.5$  เมตร ปริมาตรน้ำ 350 ลิตร ให้อาหาร 2 เวลา (8.00 และ 16.00 น.) พักไว้อย่างน้อยหนึ่งสัปดาห์ เพื่อปรับสภาพให้พร้อมก่อนทำการทดลอง

3.3.1.1.3 เตรียมวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ ได้แก่ แท็กชนิดที่เป็นแคปซูลแก้ว ขนาด  $2 \times 10$  มิลลิเมตร เครื่องอ่านอาร์เอฟไอดีแท็ก (tag reader) แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ปากคีบ และสำลีโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ

3.3.1.1.4 ในการฝังแท็ก ทำการสลบปลาดุกที่อดอาหารเป็นเวลา 2 วัน ในถังด้วย MS-222 ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้ผ้าชิ้นขนาดเล็ก ปิดที่บริเวณส่วนหัว และใช้นิ้วกดบริเวณส่วนหาง ฝังอาร์เอฟไอดีแท็กตามตำแหน่งในปลาแต่ละขนาดๆ ละ 30 ตัว รวม 270 ตัว ตามภาพที่ 3.1 ก

### 3.3.1.2 การฝังอาร์เอฟไอดีแท็กปลานิล

3.3.1.2.1 นำปลานิล 3 ขนาด จาก KMITL FISH TECH FARM โดยกลุ่มที่ 1 ปลาขนาดเล็ก มีน้ำหนักตัวประมาณ  $3.43 \pm 0.69$  กรัม ความยาว  $5.5 \pm 0.69$  เซนติเมตร กลุ่มที่ 2 ปลาขนาดกลาง มีน้ำหนักตัวประมาณ  $55.47 \pm 14.86$  กรัม ความยาว  $13.80 \pm 1.02$  เซนติเมตร และกลุ่มที่ 3 ปลาขนาดใหญ่ มีน้ำหนักตัวประมาณ  $472.65 \pm 176.80$  กรัม ความยาว  $29.90 \pm 3.42$  เซนติเมตร นำปลานิลพักในถังพลาสติกขนาด  $0.8 \times 1.24 \times 0.5$  เมตร ปริมาตรน้ำ 350 ลิตร อย่างน้อย 1 สัปดาห์ เพื่อปรับสภาพให้พร้อมก่อนทำการทดลอง

3.3.1.2.2 ทำการฝังแท็กด้วยวิธีการเช่นเดียวกับ 3.3.1.1.2 – 3.3.1.1.4 โดยฝังอาร์เอฟไอดีแท็กตามตำแหน่ง ในปลาแต่ละขนาดๆ ละ 30 ตัว รวม 270 ตัว (ภาพที่ 3.1 ข)

### 3.3.1.3 การฝังอาร์เอฟไอดีแท็กในกุ้งก้ามกราม

3.3.1.3.1 นำลูกพันธุ์กุ้งก้ามกราม จากฟาร์มในเครือเจริญโภคภัณฑ์อาหาร สัตว์น้ำ ที่ จ. ราชบุรี กลุ่มที่ 1 มีน้ำหนักประมาณ  $2.67 \pm 0.60$  กรัม และความยาว  $6.57 \pm 0.41$  เซนติเมตร และกลุ่มที่ 2 มีน้ำหนักประมาณ  $30.59 \pm 8.73$  กรัม และความยาว  $10.70 \pm 0.80$  เซนติเมตร ตามลำดับ นำกุ้งพักไว้ในบ่อพลาสติกขนาด  $0.8 \times 1.24 \times 0.5$  เมตร ปริมาตรน้ำ 350 ลิตร อย่างน้อย 1 สัปดาห์ เพื่อปรับสภาพให้พร้อมก่อนทำการทดลอง

#### 3.3.1.3.2 เตรียมวัสดุอุปกรณ์ตาม 3.3.1.1.3

3.3.1.3.3 จับกุ้งที่พร้อมจะฝังแท็กสลบในถังน้ำเย็นที่ปรับอุณหภูมิประมาณ 15 องศาเซลเซียส ด้วยน้ำแข็งหลังจากนั้นฝังอาร์เอฟไอดีแท็กตามตำแหน่งในกุ้งแต่ละขนาดๆ ละ 30 ตัว รวม 120 ตัว ตามภาพที่ 3.1 ค

3.3.1.3.4 เทคนิคการฝังนั้นจะวางกุ้งไว้บนวัสดุที่แข็ง เนื่องจากถ้าวางบนผ้าชั้นที่สะอาดหรือวัสดุอ่อนนุ่ม กุ้งจะใช้ก้ามหนีบไว้แน่นอาจทำให้ก้ามหลุดได้ ปักปลายเข็มลงลึกประมาณ 2 มิลลิเมตร ก่อนกดเพื่อดันให้แท็กฝังไปในกล้ามเนื้อกุ้ง ในการฝังควรระวังแท็กจะโดนระบบทางเดินอาหารที่อยู่ด้านบนและระบบประสาทที่อยู่ทางด้านล่าง และควรไม่ให้เกินปล้องที่ 3 (โดยเฉพาะในกุ้งขนาดเล็ก ประมาณ 2 กรัม) เนื่องจากบริเวณดังกล่าวกุ้งจะขดตัวเพื่อเคลื่อนที่

### 3.3.1.4 การเลี้ยงสัตว์น้ำหลังได้รับการฝังแท็ก

3.3.1.4.1 หลังจากฝังแท็กแล้ว สัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิดจะถูกนำมาเลี้ยงไว้ในถังพลาสติกขนาด  $0.8 \times 1.24 \times 0.5$  เมตร ปริมาตรน้ำ 350 ลิตร ให้ออกซิเจนตลอดเวลา โดยการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามนั้นจะมีการใช้วัสดุกำบังและมุ้งอวนพลาสติก เพื่อป้องกันการกัดกินกันเองระหว่างลอกคราบ ในขณะที่ปลาคูกและปลานิลนั้นจะเลี้ยงในกระชังขนาด  $60 \times 40 \times 50$  เซนติเมตร โดยแขวน

ไว้ในถังพลาสติกขนาดดังกล่าว แต่ละกระชังจะเลี้ยงปลาที่ฝังแท็กในตำแหน่งเดียวกัน เพื่อความสะดวกในการสุ่มตัวอย่างปลาที่ฝังแท็กในการศึกษาเนื้อเยื่อ

3.3.1.4.2 ในกึ่งก้ามกรามงคอาหารวันแรก และไม่เปลี่ยนถ่ายน้ำในสัปดาห์แรก แต่ในปลาอุกและปลานิลเปลี่ยนน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ทุกๆ 2 วัน รวมทั้งเติมเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และต่างทับทิมความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สลับกันไปในแต่ละวัน ในช่วง 3 วันแรก เพื่อป้องกันการติดเชื้อ

3.3.1.4.3 ให้อาหารแบบเต็มอิ่มวันละ 2 เวลา คือ 8.00 และ 16.00 น. หลังจากสัปดาห์แรก เปลี่ยนถ่ายน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ ในทุกๆ สัปดาห์ ตลอดการเลี้ยง 45 วัน

3.3.1.4.4 สุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิดที่ได้รับการฝังแท็กแล้วจำนวน 8 ครั้ง สุ่มเก็บครั้งละ 3 ตัวที่ตำแหน่งและขนาดต่างๆ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างครั้งแรกภายหลังการฝังแท็กนาน 24 ชั่วโมง และครั้งต่อไปที่เวลา 3 5 7 14 21 28 และ 45 วัน ตามลำดับ

### 3.3.1.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์เนื้อเยื่อ

เก็บตัวอย่างที่ขนาดและตำแหน่งต่างกันครั้งละ 3 ตัว ตามระยะเวลาต่างๆ เพื่อวิเคราะห์ทางพยาธิสภาพ โดยจับสัตว์น้ำด้วยความระมัดระวัง นำปลามาสลบด้วย MS-222 ที่ความเข้มข้นประมาณ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตัดกล้ามเนื้อบริเวณโดยรอบที่มีการฝังแท็กและสิ่งแท็กออก เก็บรักษาสภาพชิ้นเนื้อใน 10 เปอร์เซ็นต์ buffer formalin หลังจากรักษาสภาพอย่างน้อย 24 ชั่วโมง นำชิ้นเนื้อไปผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อตามวิธีการของ Humason (1979) และ Culling (1974) ตัดเนื้อเยื่อที่ความหนา 4-5 ไมโครเมตร ทำการย้อมสี Hematoxylin และ Eosin (H&E) นำสไลด์เนื้อเยื่อไปวิเคราะห์ทางพยาธิสภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

### 3.3.1.6 การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกอัตราการตาย ระยะเวลาการสมานแผลภายนอก และเทคนิคในการฝังแท็ก เพื่อนำข้อมูลพื้นฐานไปประกอบการตัดสินใจในการเลือกตำแหน่งการฝังที่เหมาะสมในสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิด ต่อไป

### 3.3.2 การทดลองที่ 2 : การวิเคราะห์หาผล ของการฝังอาร์เอพีดีแท็กต่อการเติบโตของปลาอุกถูกผสม ปลานิล และกึ่งก้ามกราม ขนาดประมาณ 10 เซนติเมตร

การจัดชุดการทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม คือไม่ได้รับการฝังแท็ก และกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ได้รับการฝังแท็ก ในทุกชนิดของสัตว์ทดลอง เลือกตำแหน่งการฝังที่ดีที่สุดโดยดูจากระยะเวลาของการสมานแผล และอัตราการตาย จากการทดลองที่ 3.3.1

#### 3.3.2.1 การศึกษาในปลาอุกและปลานิล

3.3.2.1.1 ใช้ลูกพันธุ์ปลาอุกถูกผสมจากศูนย์ปรับปรุงพันธุ์กรรมน้ำจืด บริษัท โภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) อ. วังน้อย จ. พระนครศรีอยุธยา มาพักไว้ที่ KMITL FISH TECH FARM อนุบาลจนได้น้ำหนักตัวประมาณ  $4.76 \pm 0.97$  กรัม และความยาว  $8.36 \pm 0.60$  เซนติเมตร และใช้ลูกพันธุ์ปลานิลจาก KMITL FISH TECH FARM ที่มีขนาดน้ำหนักตัวเริ่มต้น  $3.43 \pm 0.69$  กรัม ความยาว  $5.5 \pm 0.69$  เซนติเมตร พักปลาไว้นาน 1 สัปดาห์ เพื่อปรับสภาพให้เข้ากับที่ทดลอง

3.3.2.1.2 ฝังแท็กตามวิธี จากการทดลองที่ 3.3.1 ในตำแหน่งที่เหมาะสมที่สุด จำนวน 30 ตัว และกลุ่มควบคุม 30 ตัว ในสัตว์น้ำทั้ง 2 ชนิด

3.3.2.1.3 เลี้ยงปลาทั้ง 2 กลุ่ม รวมกันอย่างละ 10 ตัวในบ่อซีเมนต์ขนาด  $1 \times 1 \times 1$  เมตร ปริมาตรน้ำ 1000 ลิตร จำนวน 3 บ่อ

3.3.2.1.4 เปลี่ยนถ่ายน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ ทุกสัปดาห์ ให้อาหารแบบเต็มอิ่ม 2 เวลา คือ 8.00 และ 16.00 น. เลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน

#### 3.3.2.2 การศึกษาในกึ่งก้ามกราม

3.3.2.2.1 นำลูกพันธุ์กึ่งก้ามกราม จากฟาร์มในเครือเจริญโภคภัณฑ์อาหาร สัตว์น้ำ ที่ จ. ราชบุรี มาพักไว้ 4 สัปดาห์ จนได้ขนาดน้ำหนักประมาณ  $5.68 \pm 1.48$  กรัม และความยาวทั้งตัว  $8.1 \pm 0.88$  เซนติเมตร

3.3.2.2.2 ฟังอาร์เอฟไอดีแท็กในตำแหน่งที่เหมาะสมที่สุด ตามวิธีการฟังจากการทดลองที่ 3.3.1.3 จำนวน 30 ตัว และกลุ่มควบคุม 30 ตัว กุ้งก้ามกรามที่ฟังแท็ก จะพักไว้จนกว่าจะมีกาสमानแผลเสร็จสิ้น

3.3.2.2.3 เลี้ยงกุ้งก้ามกรามทั้ง 2 กลุ่ม รวมกันอย่างละ 10 ตัว ในบ่อซีเมนต์ขนาด 1x1x1 เมตร ปริมาณน้ำ 1000 ลิตร จำนวน 3 บ่อ

3.3.2.2.4 เปลี่ยนถ่ายน้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ ทุกสัปดาห์ ให้อาหารแบบเต็มอิ่ม 2 เวลา คือ 8.00 และ 16.00 น. เลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน

### 3.3.2.3 การเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำ

เก็บบันทึกข้อมูลคุณภาพน้ำพื้นฐาน ได้แก่ ค่าพีเอช ด้วย pH meter ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และอุณหภูมิ ด้วย DO meter ก่อนการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

### 3.3.2.4 การบันทึกผลการทดลอง

3.3.2.3.1 บันทึกการตายของสัตว์น้ำที่ได้รับการฟังแท็กและกลุ่มควบคุมทุกวัน

3.3.2.3.2 บันทึกน้ำหนัก ความยาว และอัตราการรอด ด้วยระบบพีชเทคฟาร์ม ที่เวลา 15 30 45 และ 60 วัน ตามลำดับ

### 3.3.2.4 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแตกต่างของการเติบโตในสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิด ที่เลี้ยงในแต่ละกลุ่มการทดลอง ด้วยโปรแกรม SYSTAT Version.5.02 (Systat, Inc., 1990)

## 3.3.3 การทดลองที่ 3: การวิเคราะห์หาผลของการฟังอาร์เอฟไอดีแท็กต่อความเครียดในปลาตุ๊กตาผสม ปลานิล และ กุ้งก้ามกราม

การจัดชุดการทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม คือไม่ได้รับการฟังแท็ก และกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ได้รับการฟังแท็ก ในทุกชนิดของสัตว์ทดลอง เลือกตำแหน่งการฟังที่ดีที่สุดจากระยะเวลาของการสมานแผล และอัตราการรอดตาย จากการทดลองที่ 3.3.1

### 3.3.3.1 การวิเคราะห์การตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลาตุก และปลานิล

3.3.3.1.1 นำปลาตุกลูกผสมจากฟาร์มเอกชน อำเภอ บางบ่อ มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย  $17.58 \pm 3.40$  กรัม ความยาว  $13.60 \pm 0.87$  เซนติเมตร พักไว้หนึ่งสัปดาห์ เพื่อปรับสภาพให้พร้อมก่อนทำการทดลอง ฟังแท้กตามวิธีเดียวกันกับการทดลองที่ 3.3.1 จำนวน 20 ตัว พร้อมกลุ่มควบคุม 20 ตัว

3.3.3.1.2 สุ่มปลานิลจาก KMITL FISH TECH FARM ขนาดน้ำหนักตัวเฉลี่ย  $472.65 \pm 176.80$  กรัม ความยาว  $29.90 \pm 3.42$  เซนติเมตร นำมาพักในบ่อหนึ่งสัปดาห์ เพื่อปรับสภาพให้พร้อมก่อนทำการทดลอง ฟังแท้กตามวิธีเดียวกันกับการทดลองที่ 3.3.1 จำนวน 20 ตัว พร้อมกลุ่มควบคุม 20 ตัว ในบ่อซีเมนต์ขนาด  $1.73 \times 2.73 \times 0.93$  เมตร ปริมาตรน้ำ 2300 ลิตร

3.3.3.1.3 สุ่มสัตว์น้ำทั้ง 2 ชนิด หลังได้รับการฟังแท้ก ครั้งละ 3 ตัวเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดก่อนการฟังแท้กและหลังฟังแท้กที่เวลา 3 6 12 24 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ เก็บตัวอย่างเลือดด้วยเข็มฉีดยาที่มีสารกันเลือดแข็งตัว (heparin) บริเวณ caudal vein ภายใน 1 นาที ให้ได้ปริมาตรเลือดประมาณ 1 มิลลิลิตร เลือดที่ได้นำมาเก็บไว้ในหลอดพลาสติก eppen dorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ในที่เย็นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว  $10000 \times g$  15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำส่วนใสด้านบนเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณคอร์ติซอลโดยใช้พลาสมาจำนวน 10 ไมโครลิตร และทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี chemiluminescent enzyme immunoassay ตามวิธีการของ Singh *et al.* (1997) ด้วยเครื่อง IMMULITE/IMMULITE 1000 cortisol

### 3.3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในปลาตุก และ ปลานิล

นำพลาสมาที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงตามข้อ 3.3.3.1 ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ผสมในสารละลาย Ortho-toluidine color reagent 3.5 มิลลิลิตร นำไปต้ม ในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง อ่านค่า optical density ที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร และนำไปคำนวณค่ากลูโคส จากกราฟมาตรฐาน ตามวิธีการของ Schreck and Moyle (1990)

### 3.3.3.3 การวิเคราะห์ค่า Osmolarity ในปลาตาก และ ปลานิล

นำพลาสมา ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงตามข้อ 3.3.3.1 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงใน eppendorf ขนาด 200 ไมโครลิตร นำไปวัดค่า Osmolarity ด้วยเครื่อง Cryoscopic Osmometer รุ่น OSMOMAT 030 ยี่ห้อ GONOTEC

### 3.3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณ ไอออนในเลือดของกุ้งก้ามกราม

สุ่มกุ้งก้ามกรามขนาดใหญ่ น้ำหนักเฉลี่ย  $30.59 \pm 8.73$  กรัม ความยาว  $10.70 \pm 0.80$  เซนติเมตร นำกุ้งพักไว้อย่างน้อยหนึ่งสัปดาห์เพื่อปรับสภาพให้พร้อมก่อนทำการทดลอง ฟังแท็กตามวิธีเดียวกันกับการทดลองที่ 3.3.1.3 จำนวน 20 ตัว พร้อมกลุ่มควบคุม 20 ตัว สุ่มกุ้งก้ามกรามที่ได้รับการฟังแท็ก ครั้งละ 3 ตัวเพื่อเก็บตัวอย่างเลือด ก่อนการฟังแท็กและหลังฟังแท็กที่เวลา 3 6 12 24 และ 72 ชั่วโมง ด้วยเข็มฉีดยาที่มีสารกันเลือดแข็งตัว (30 เปอร์เซ็นต์ Trisodiumcitrate) ตามระยะเวลาที่กำหนด จับกุ้งด้วยความระมัดระวังและเจาะเลือดบริเวณแอ่งเลือด ให้ได้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร กระบวนการเก็บตัวอย่างเลือดควรให้เสร็จสิ้นภายใน 1 นาที หลังจากการจับ นำเลือดมาเก็บไว้ในหลอดพลาสติก eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ในที่เย็นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13000 xg 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเก็บไว้ในที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณ ไอออนในน้ำเลือดด้วยวิธี Ion Selective Electrode (ISE) (Cheng *et al.*, 2003) ด้วยเครื่อง ILYTE. 6878

### 3.3.3.5 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณคอร์ติซอล กลูโคส และ osmolality ในปลาตากและปลานิล และปริมาณ ไอออน ในกุ้งก้ามกราม ที่เลี้ยงในแต่ละกลุ่มการทดลอง ด้วยโปรแกรม SYSTAT Version.5.02 (Systat, Inc., 1990)

## 3.4 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการ หลักสูตรวิชาวิทยาศาสตร์การประมง สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 3.5 ระยะเวลาในการทำวิจัย

1 ปี 6 เดือน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีที่เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาตุ๊กตุ๊กผสม ปลานิล และกุ้งก้ามกราม ในตำแหน่ง และขนาดที่แตกต่างกัน

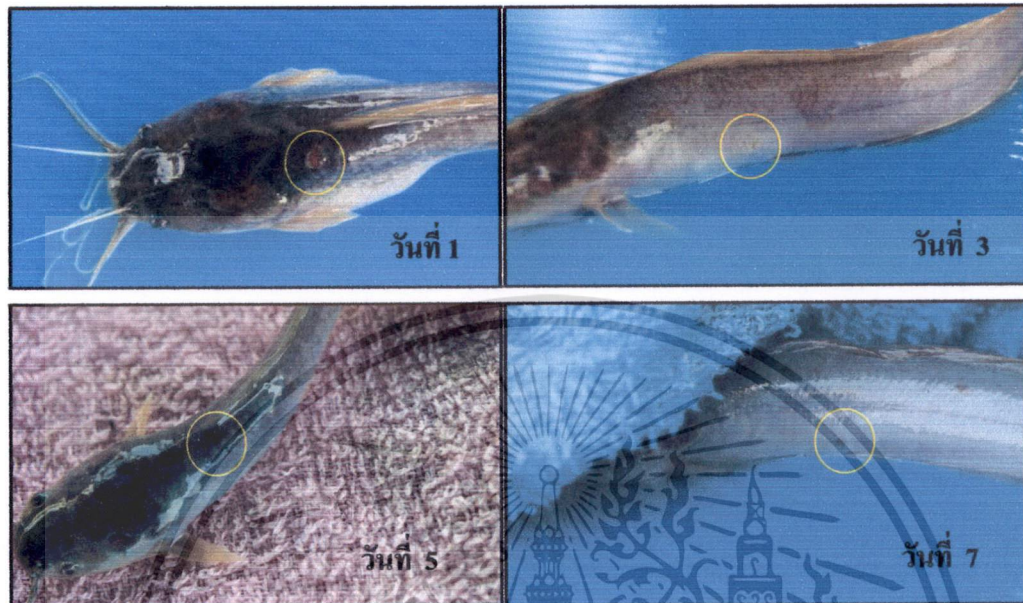
##### 4.1.1 ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีที่เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาตุ๊กตุ๊กผสม

##### 4.1.1.1 ผลทางเนื้อเยื่อในปลาตุ๊กที่ขนาดแตกต่างกัน

จากการศึกษาผลการฝังที่เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลาตุ๊กตุ๊กผสม ขนาดความยาวเฉลี่ย  $8.36 \pm 0.60$   $11.11 \pm 0.84$  และ  $13.60 \pm 0.87$  เซนติเมตร ในตำแหน่งที่ แตกต่างกัน เป็นเวลา 45 วัน พบว่าเปลี่ยนแปลงของแผลภายนอกพบว่า หลังการฝังแท็กแผลมี ลักษณะถลอกเห็นเป็นสีแดงในบริเวณที่ถูกเข็มฝัง จนถึงวันที่ 3 รอยถลอกสีแดงเริ่มสมานติดกัน เห็นเป็นรอยคล้ำ แต่ยังคงเห็นรอยแผลที่เกิดจากการฝังอยู่ ในวันที่ 6 และ 7 ไม่เห็นร่องรอยของ แผลที่ฝัง แต่ในปลาบางตัวยังคงพบรอยคล้ำบริเวณที่ฝังอยู่บ้าง (ภาพที่ 4.1) พบว่าการหายของแผล ภายนอกมีลักษณะเดียวกันในทุกตำแหน่งการฝัง

ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงแผลภายในที่เกิดจากการฝังแท็ก เป็นไปในทิศทาง เดียวกันในปลาทุกขนาดดังนี้ ที่ 24 ชั่วโมง บริเวณกล้ามเนื้อรอบรูที่ฝังแท็ก เกิดการเสื่อมของมัด กล้ามเนื้อเห็นเป็นช่องว่าง (hydrophic degeneration) และเกิดการตายของมัดกล้ามเนื้อเป็นแห่งๆ (necrosis) พบการตกเลือด ในบริเวณรอบๆ ที่มีการตายของเนื้อเยื่อ เนื่องจากเส้นเลือดถูกทำลายจาก การฝังแท็กเริ่มมีเม็ดเลือดขาวชนิด macrophages เข้ามาเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 4.2 ก) วันที่ 3 พบ inflammatory cells จำนวนมากแทรกเข้ามาบริเวณที่มีการตายของเนื้อเยื่อร่วมกับมี macrophages มากินเซลล์กล้ามเนื้อที่ตายและเริ่มพบ fibroblast cells เกิดขึ้นแทนที่บริเวณที่กล้ามเนื้อตาย (ภาพที่ 4.2 ข) วันที่ 5 เซลล์กล้ามเนื้อที่ตายถูกแทนที่ด้วย fibroblast cells มากขึ้นเห็นเป็นใยกล้ามเนื้อ ยังคงพบเศษเซลล์ที่ตายแล้ว และ inflammatory cells ปะปนอยู่บ้าง และพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) บางๆ ล้อมรอบรูที่ฝังแท็ก (ภาพที่ 4.3 ก) วันที่ 7 บริเวณรอบรูฝังแท็ก ไม่พบมัด กล้ามเนื้อที่ตายและถูกแทนที่ด้วย fibroblast cells (อาจมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน บางๆ ล้อมอยู่บ้าง) มี ลักษณะเป็นเส้นใยกล้ามเนื้อมากขึ้น และยังคงพบ inflammatory cells ปะปนอยู่เล็กน้อยแต่จำนวน ลดลง (ภาพที่ 4.3 ข) วันที่ 14 พบเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน (granulation tissue) ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ fibroblast และเส้นเลือดฝอย เรียงตัวกันแน่นขึ้นและมีมัดกล้ามเนื้อที่สร้างขึ้นใหม่ แทรกเข้ามา แทนที่กล้ามเนื้อที่ตายเห็นเป็นกล้ามเนื้อที่สมบูรณ์เกือบรอบรูฝังแท็ก ไม่พบ inflammatory cells

(ภาพที่ 4.4 ก) จนถึงวันที่ 21 เหลือเพียงเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) บางๆ ล้อมรอบรูฟุ้งแท้และพบว่าการสมานแผลสมบูรณ์แล้ว (ภาพที่ 4.4ข)

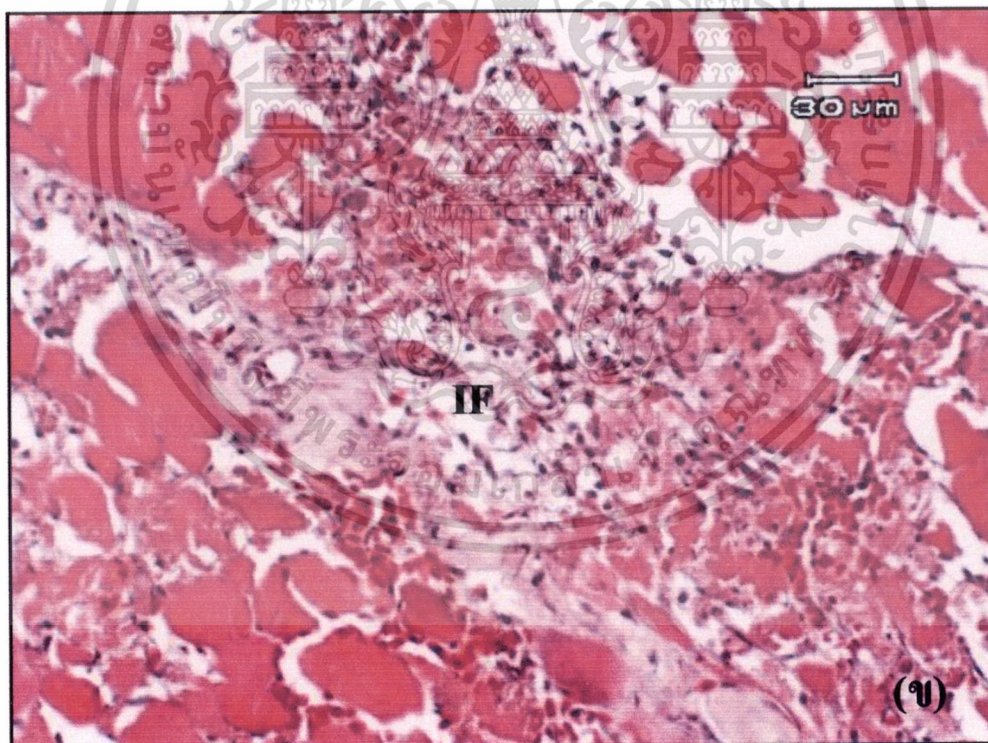


ภาพที่ 4.1 ลักษณะแผลภายนอกในปลาคูกลูกผสมที่เวลา 1 3 5 และ 7 วัน หลังการฟุ้งแท้

ตารางที่ 4.1 ระยะเวลาการสมานแผล (วัน) ในปลาคูที่ฟุ้งแท้ในตำแหน่งและขนาดที่แตกต่างกัน

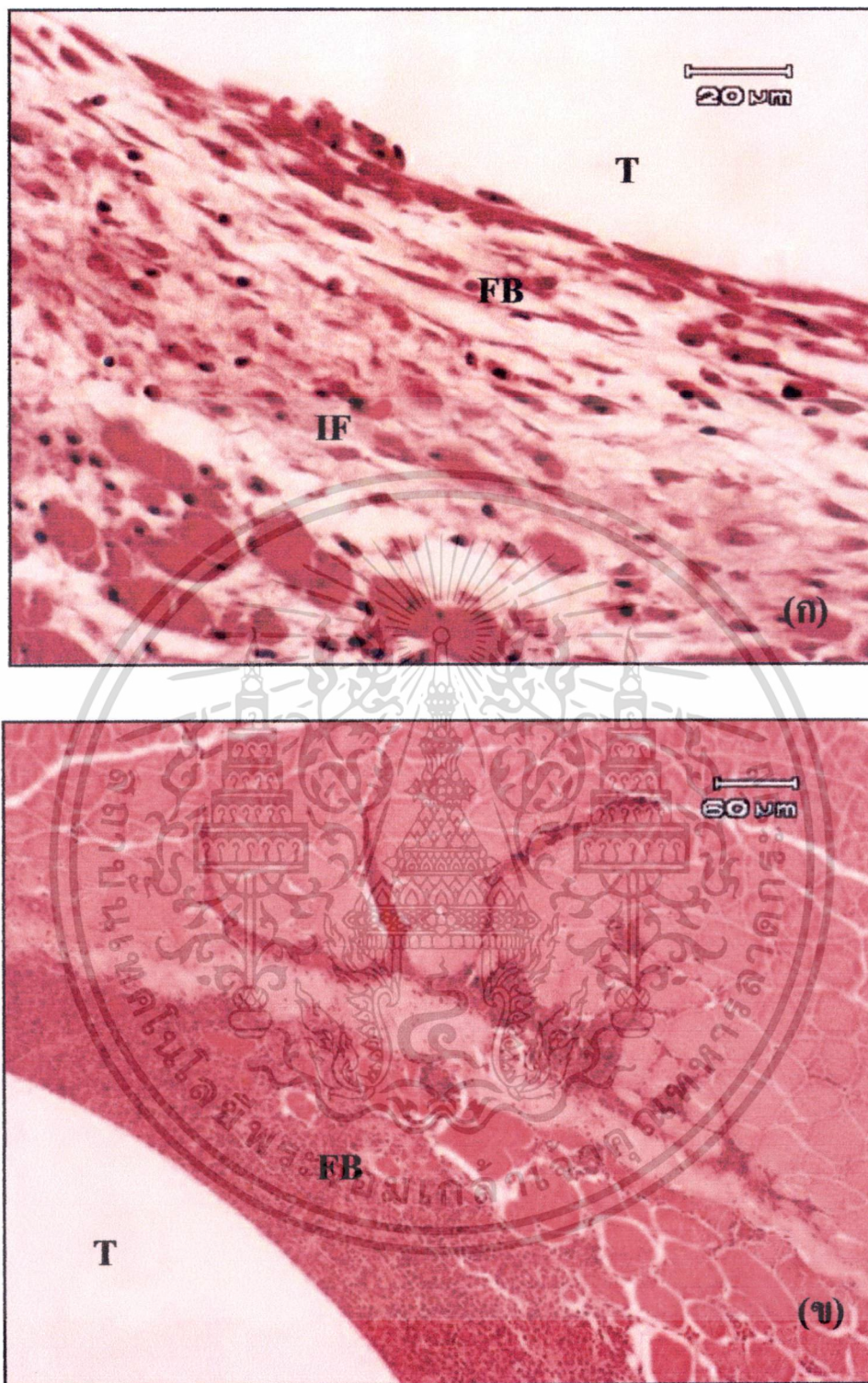
	ขนาดความยาว (เซนติเมตร)		
	ตำแหน่งการฟุ้งแท้	บริเวณโคนครีบท้อง	บริเวณกลางครีบท้อง
ขนาดความยาว (เซนติเมตร)	$8.36 \pm 0.601$	$11.11 \pm 0.84$	$3.60 \pm 0.87$
บริเวณโคนครีบท้อง	21	28	21
บริเวณกลางครีบท้อง	21	21	21
บริเวณโคนครีบก้น	21	21	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



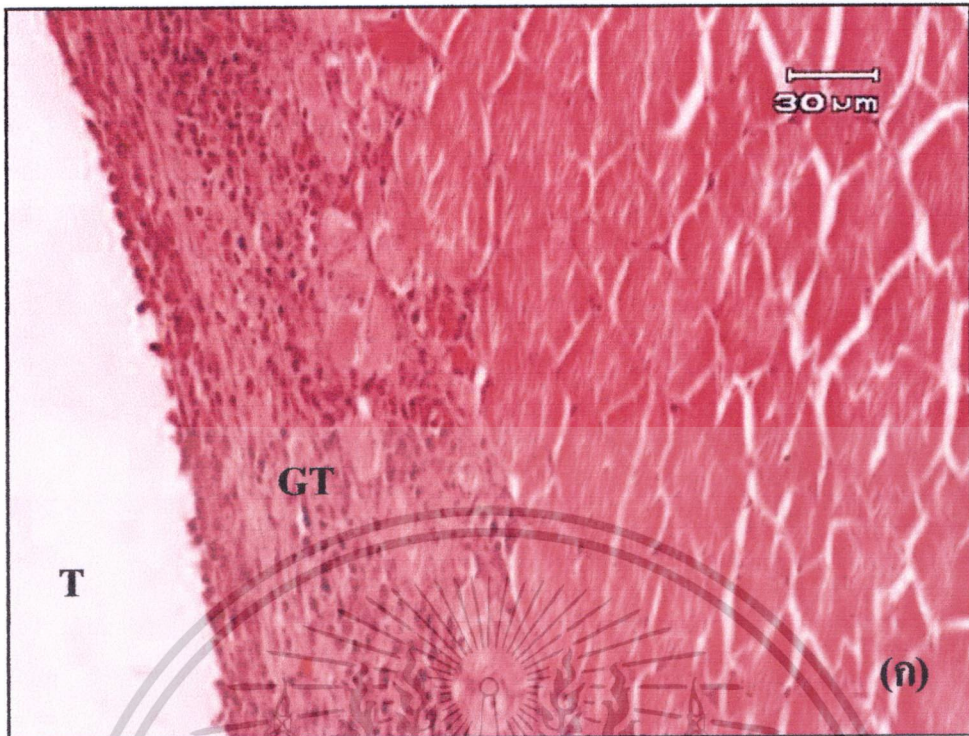
ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาคูกลูกผสมหลังจากฝังแท็ก ก.) ที่ 24 ชั่วโมงพบมัดกล้ามเนื้อเกิด hydropic degeneration (HD) ข.) ที่ 3 วัน พบ inflammatory cells (IF) จำนวนมากรอบรูที่ฝังแท็ก (T)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาตุ๊กตาผสมหลังจากฟิงแตก ก.) ที่ 5 วันพบ fibroblast cells (FB) และ inflammatory cells (IF) ข.) ที่ 7 วันพบ fibroblast cells (FB) รอบรูที่ฟิงแตก (T)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



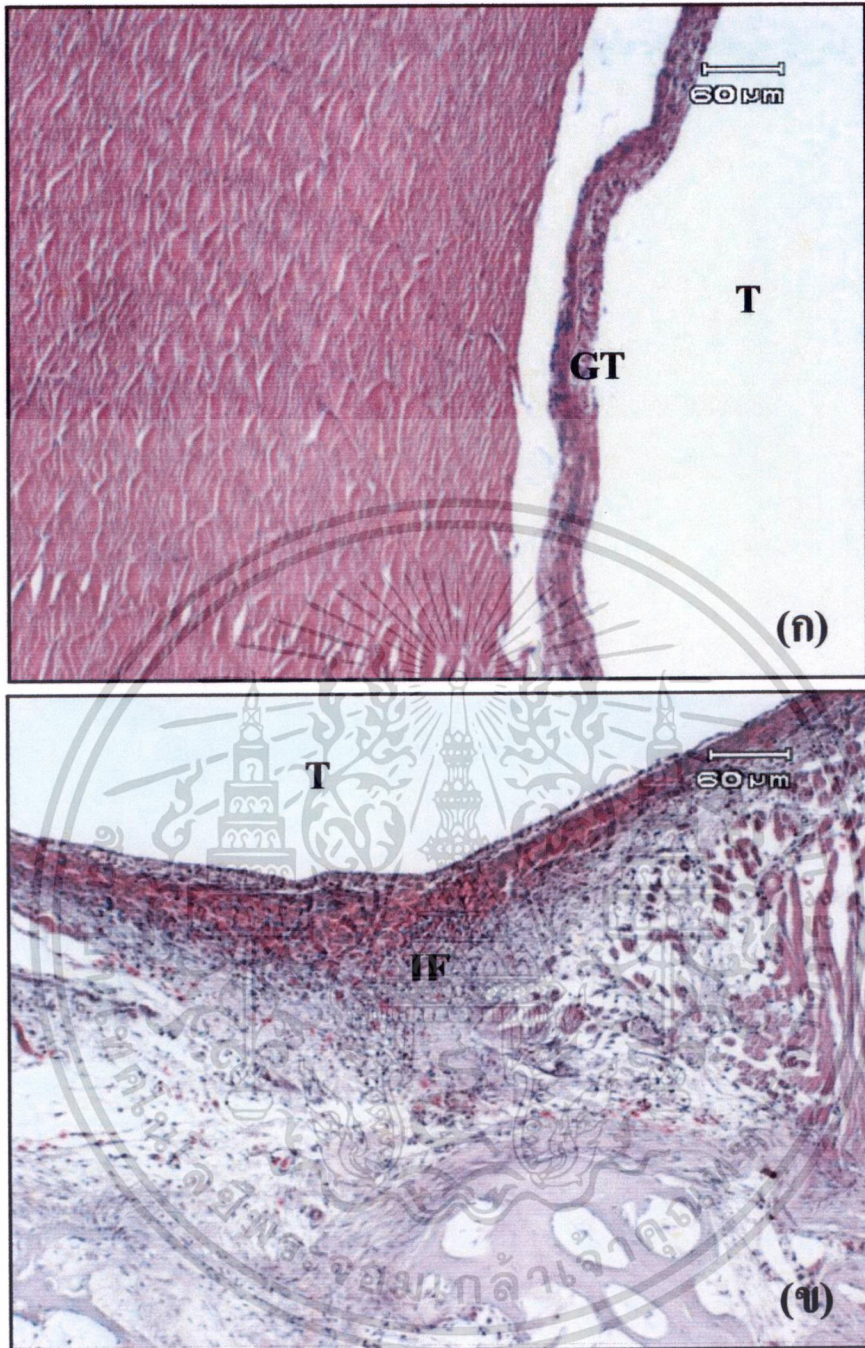
ภาพที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาตุ๊กตุ๊กผสมหลังจากฝังแท็ก ก.) ที่ 14 วัน พบ granulation tissue (GT) และ ข.) ที่ 21 วัน พบ connective tissue (CT) รอบรูฝังแท็ก (T) และกล้ามเนื้อกลับสู่สภาพปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.1.2 ผลทางเนื้อเยื่อในปลาอุกที่ฝังแท็กในตำแหน่งแตกต่างกัน

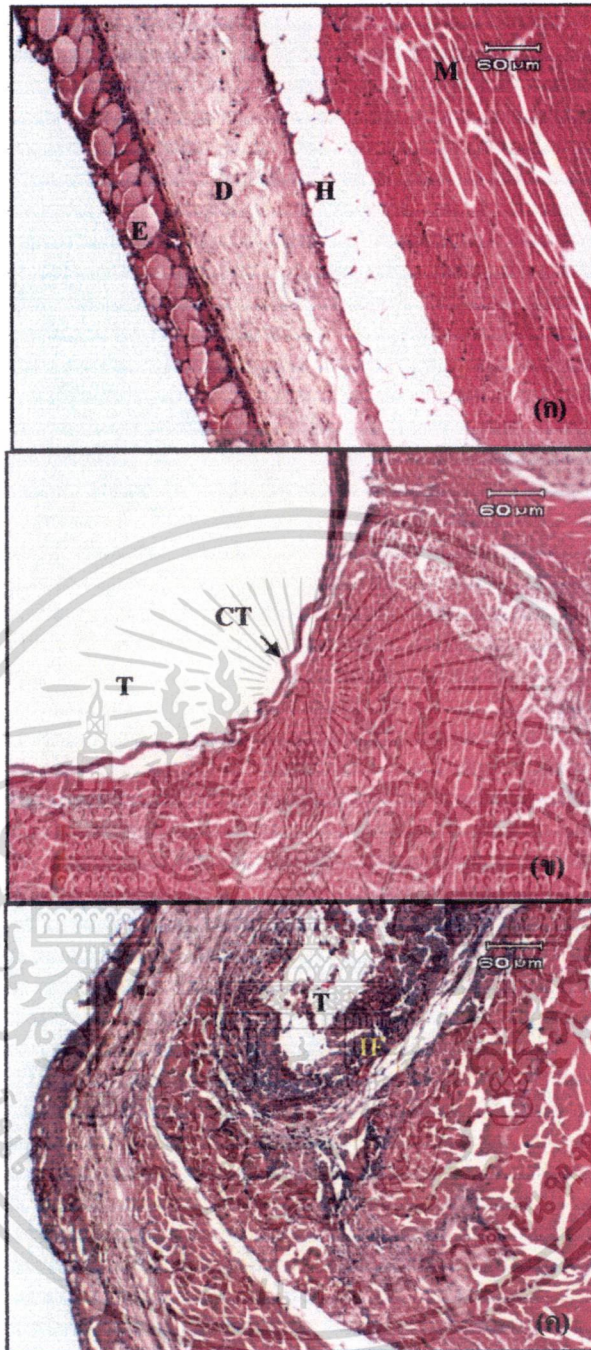
จากการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาในขนาดและตำแหน่งที่แตกต่างกัน 3 บริเวณ คือ กล้ามเนื้อบริเวณหน้าครีบทหลัง กลางครีบทหลัง และโคนครีบทก้น พบว่าการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อบริเวณแผลภายในของปลาอุกขนาดความยาวเฉลี่ย  $13.60 \pm 0.87$  เซนติเมตร มีการสมานแผลเสร็จสมบูรณ์หลังจากฝังแท็ก 21 วัน ในทุกตำแหน่งการฝัง ส่วนที่ขนาดความยาวเฉลี่ย  $11.11 \pm 0.84$  เซนติเมตร พบว่าการสมานแผลเสร็จสมบูรณ์หลังจากฝังแท็ก 21 วัน ที่กล้ามเนื้อกลางครีบทหลัง และโคนครีบทก้น ส่วนการฝังกล้ามเนื้อบริเวณหน้าครีบทหลังพบการสมานแผลช้ากว่าเล็กน้อย ขณะที่ปลาขนาด  $8.36 \pm 0.60$  เซนติเมตร พบว่าการสมานแผลเสร็จสมบูรณ์หลังจากฝังแท็ก 21 วัน ในทุกตำแหน่งการฝัง ซึ่งโดยภาพรวมแล้วการสมานแผลจะเสร็จสมบูรณ์ในวันที่ 21 หลังการฝังแท็กเหมือนกัน (ตารางที่ 4.1)

นอกจากนี้บางตัวอย่างของปลาขนาด  $8.36 \pm 0.60$  เซนติเมตร พบว่าการฝังเข้ากล้ามเนื้อบริเวณ โคนครีบทก้นแท็กมีโอกาสฝังชิดกับกระดูกทำให้การสมานแผลช้ากว่าปกติ (ภาพที่ 4.5) และยังพบว่าการฝังแท็กในบริเวณชั้น dermis ทำให้แผลหายช้ากว่าการฝังในชั้นกล้ามเนื้อ (ภาพที่ 4.6) ถึงแม้ว่าการสมานแผลในชั้น epidermis ซึ่งเป็นชั้นที่ติดกับ dermis จะใช้เวลารวดเร็วกว่าเนื่องจากเซลล์ในชั้นดังกล่าวเป็นเซลล์ชนิดไม่คงตัว (labile cell) มีความสามารถในการแบ่งตัวสูง การแบ่งตัวเกิดขึ้นใหม่ได้ตลอดเวลาจึงทำให้แผลภายนอกปิดภายใน 7 วัน (อนุเทพ รังสีพิพัฒน์, 2548) ในขณะที่การฝังแท็กในบริเวณชั้น dermis แผลหายช้ากว่าชั้นกล้ามเนื้อเนื่องจากในชั้น dermis มีเส้นเลือดมาหล่อเลี้ยงน้อย จึงทำให้การสมานแผลใช้เวลานานกว่าในกล้ามเนื้อที่มีทั้งเส้นเลือดและเส้นประสาทจำนวนมาก (Chinabut *et al.*, 1991) โดยกระบวนการสมานแผลนั้นเกี่ยวข้องกับการอักเสบร่วมด้วย ซึ่งกระบวนการดังกล่าวเป็นการทำงานของเม็ดเลือดขาวที่ต้องเดินทางผ่านท่อเลือดเข้าสู่บริเวณที่เกิดการบาดเจ็บ



ภาพที่ 4.5 ลักษณะเนื้อเยื่อในปลาคูกลูกผสมขนาดความยาวเฉลี่ย  $8.36 \pm 0.60$  เซนติเมตร ที่ 21 วันหลังการฝังแท็กเข้ากล้ามเนื้อ ก.) ลักษณะการสมานแผลเกิดเนื้อเยื่อแกรนูเลชันเรียงตัวกันแบบแน่น (GT) รอบรูที่ฝังแท็ก (T) และ ข.) กระบวนการอักเสบหลังการฝังแท็กใกล้บริเวณกระดูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 ลักษณะเนื้อเยื่อของปลาคูกลูกผสมขนาดเฉลี่ย  $8.36 \pm 0.60$  เซนติเมตร ก.) ลักษณะผิวหนังและชั้นกล้ามเนื้อปกติประกอบด้วยชั้น epidermis (E) dermis (D) hypodermis (H) และ muscle (M) ข.) ลักษณะการสมานแผลเสร็จสมบูรณ์หลังการฟิงแท็กเข้ากล้ามเนื้อ ที่ 21 วัน พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่เรียงตัวกันแน่น (CT) รอยบุแท็ก (T) และ ค.) ลักษณะการอักเสบ (IF) ยังเห็นชัดเจนเมื่อฟิงแท็กใกล้กับชั้น dermis ที่ 21 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.1.3 อัตราการตายในปลาอุกกลุ่มผสมที่ขนาดแตกต่างกันภายหลังการฝังแท็ก

การศึกษาอัตราการตายหลังการฝังแท็กเป็นเวลา 45 วัน ไม่พบการตายในปลาอุกทั้ง 3 ขนาดคือ  $8.36 \pm 0.60$   $11.11 \pm 0.84$  และ  $13.60 \pm 0.87$  เซนติเมตร เนื่องจากปลาที่ได้รับการฝังแท็กนั้นได้รับการดูแลอย่างถูกต้องและเหมาะสมด้วยการให้อาหารเช้า (แช่ค้างทับทิม 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และการเปลี่ยนถ่ายน้ำที่เพียงพอซึ่งจากการทดลองฝังแท็กเบื้องต้นในปลาอุกขนาดความยาวเฉลี่ย  $10.40 \pm 0.22$  เซนติเมตร ก่อนทำการทดลองจริงพบว่าการตายเกิดขึ้น โดยได้ทดลองฝังแท็กในกลัมน้ำบริเวณหน้าครีบหลังจำนวน 50 ตัว จากนั้นเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน เพื่อสังเกตอาการหลังการฝังแท็ก ซึ่งพบว่าปลาอุกที่ได้รับการฝังแท็กมีการตาย 12 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลากลุ่มที่ไม่ได้รับการฝังแท็กมีการตายน้อยกว่าคือ 4 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสังเกตลักษณะการตายในปลาทั้งสองกลุ่มพบว่า ผิวตัวเปื่อย และครีบกร่อนซึ่งเป็นการตายที่เกิดจากโรคคอลลัมเนริส (ภาพที่ 4.7) เห็นได้ว่าการตายหลังการฝังแท็กนั้นขึ้นอยู่กับการดูแลรักษาสุขภาพของปลา โดยเฉพาะต้องรักษาความสะอาดเพื่อป้องกันการเกิดโรค ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Winter *et al.* (2005) ที่ทดลองฝัง PIT tag ในปลา European eel พบการตายในกลุ่มที่ฝังแท็กและกลุ่มควบคุม 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีสาเหตุจากการติดเชื้อรา *Saprolegnia sp.*



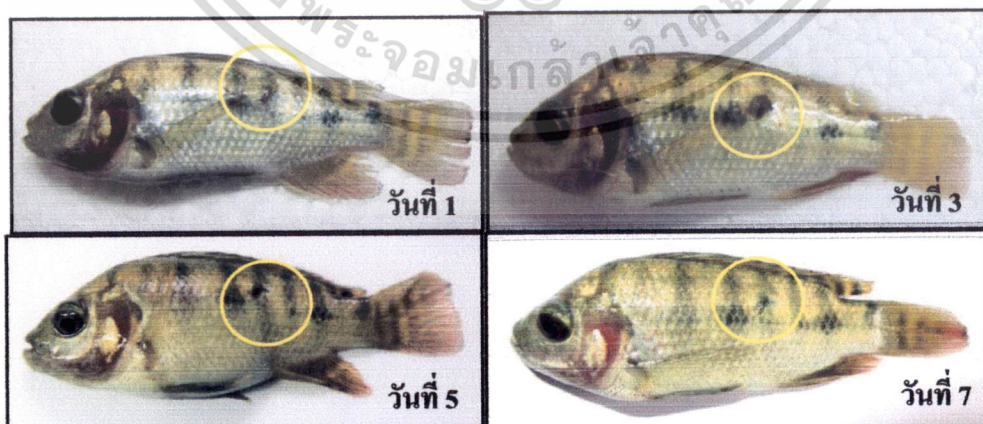
ภาพที่ 4.7 ลักษณะการตายของปลาอุกกลุ่มผสมที่เกิดจากโรคคอลลัมเนริสหลังการทดลองฝังแท็กเบื้องต้นก่อนทำการทดลองจริง

#### 4.1.2 ผลของการฝังอาร์เอพีไอตีแก่ต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาไนล์

##### 4.1.2.1 ผลทางเนื้อเยื่อในปลาไนล์ที่ขนาดแตกต่างกัน

จากการศึกษาผลการฝังแก่ต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลาไนล์ที่มีขนาดแตกต่างกันคือ  $5.5 \pm 0.69$   $13.80 \pm 1.02$  และ  $29.90 \pm 3.42$  เซนติเมตร และฝังในตำแหน่งที่แตกต่างกัน จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงของแผลภายนอกพบว่า หลังการฝังแก่มีลักษณะถลอกและเก็ดหลุด เห็นเป็นสีแดงของชั้นกล้ามเนื้อในบริเวณที่ถูกเข็มฝัง จนถึงวันที่ 3 รอยถลอกสีแดงเริ่มสมานติดกัน เห็นเป็นรอยข้ำ แต่ยังคงเห็นรอยแผลที่เกิดจากการฝังอยู่ จนถึงวันที่ 7 แต่พบเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งแผลได้สมานปิดแล้วแต่ยังไม่มีการเกิดมาหุ้ม (ภาพที่ 4.8) พบว่าการหายของแผลภายนอกมีลักษณะเดียวกันในทุกตำแหน่งการฝัง

นอกจากนี้พบว่า การเปลี่ยนแปลงของแผลภายในเป็นไปในลักษณะเดียวกัน คือ ที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการฝังแก่พบการเสื่อมของเซลล์เห็นเป็นช่องว่างในมัดกล้ามเนื้อ (vacuole degeneration) บริเวณรอบรูที่ฝัง พบ inflammatory cells บ้างเล็กน้อย และเกิดการตาย (necrosis) ของเซลล์กล้ามเนื้อร่วมกับอาการตกเลือดบริเวณรอบๆ ที่มีการตายของเนื้อเยื่อเนื่องจากเส้นเลือดถูกทำลายจากการฝัง (ภาพที่ 4.9 ก) จากนั้นวันที่ 3 พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันแทรกเข้ามาในบริเวณที่มีการเสื่อมของเนื้อเยื่อและกล้ามเนื้อปกติจำนวนมาก ส่วนบริเวณที่มีการตายของเนื้อเยื่อพบ inflammatory cells และ macrophages แทรกเข้ามาจำนวนมาก (ภาพที่ 4.9 ข) ในวันที่ 5 ถึง 14 เกิดเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน ซึ่งประกอบด้วย กระบวนการอักเสบ การสร้างเส้นเลือดฝอย และเกิดการแทรกเข้ามาของ fibroblast และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (ภาพที่ 4.10 ก, ข และ 4.11 ก) จนแผลหายสนิทในวันที่ 21 (ภาพที่ 4.11 ข) โดยพบการเกิดกล้ามเนื้อใหม่แทนที่บริเวณที่มีการตายของเนื้อเยื่ออย่างสมบูรณ์ ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงนี้พบในปลาทั้ง 3 ขนาด



ภาพที่ 4.8 ลักษณะแผลภายนอกในปลาไนล์ที่เวลา 1 3 5 และ 7 วัน หลังการฝังแก่

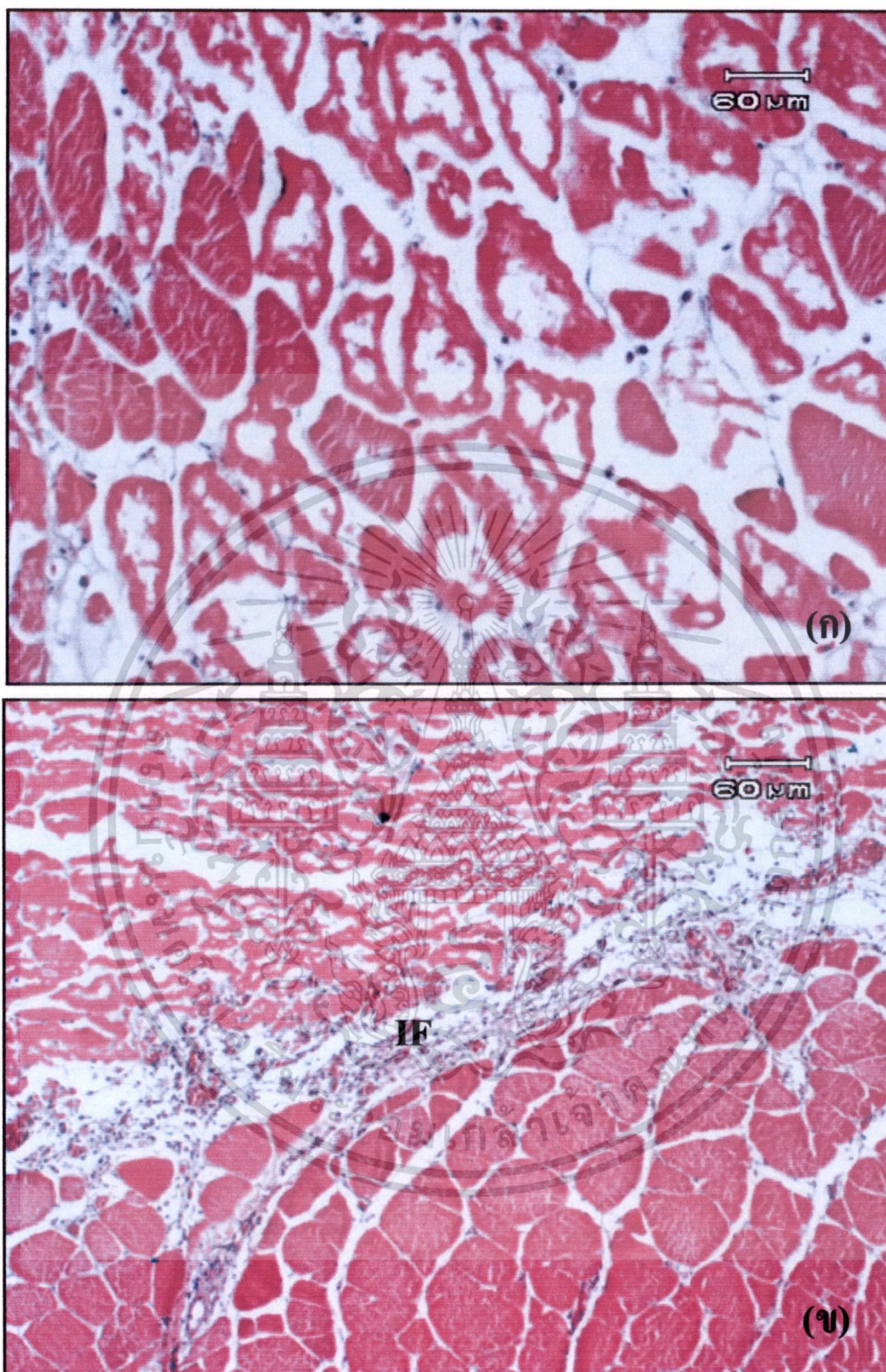
อย่างไรก็ตามพบว่าในปลานิลขนาดเล็กแม้ว่ามีลักษณะการสมานแผลเกิดขึ้น เช่นเดียวกับปลานิลขนาดกลางและขนาดใหญ่ แต่มีแนวโน้มเร็วกว่าปลาทั้งสองขนาด โดยในวันที่ 14 หลังจากการฟุ้งแท็กนั้น มีปลานิลบางตัวที่สามารถสมานแผลได้เกือบสมบูรณ์ (ตารางที่ 4.2) เมื่อเทียบกับวันที่ 14 ของปลานิลขนาดใหญ่และขนาดกลาง (ภาพที่ 4.12 และ 4.13)

ตารางที่ 4.2 ระยะเวลาการสมานแผล (วัน) ของปลานิลที่ฟุ้งแท็กในขนาด และตำแหน่งที่แตกต่างกัน

ตำแหน่งการฟุ้งแท็ก	ขนาดความยาว (เซนติเมตร)		
	5.50±0.69	13.80±1.02	29.90±3.42
บริเวณ โคนครีบหลัง	14	21	21
บริเวณ กลางครีบหลัง	14	21	21
บริเวณ โคนครีบกัน	14	21	21

#### 4.1.2.2 ผลทางเนื้อเยื่อในปลานิลที่ตำแหน่งแตกต่างกัน

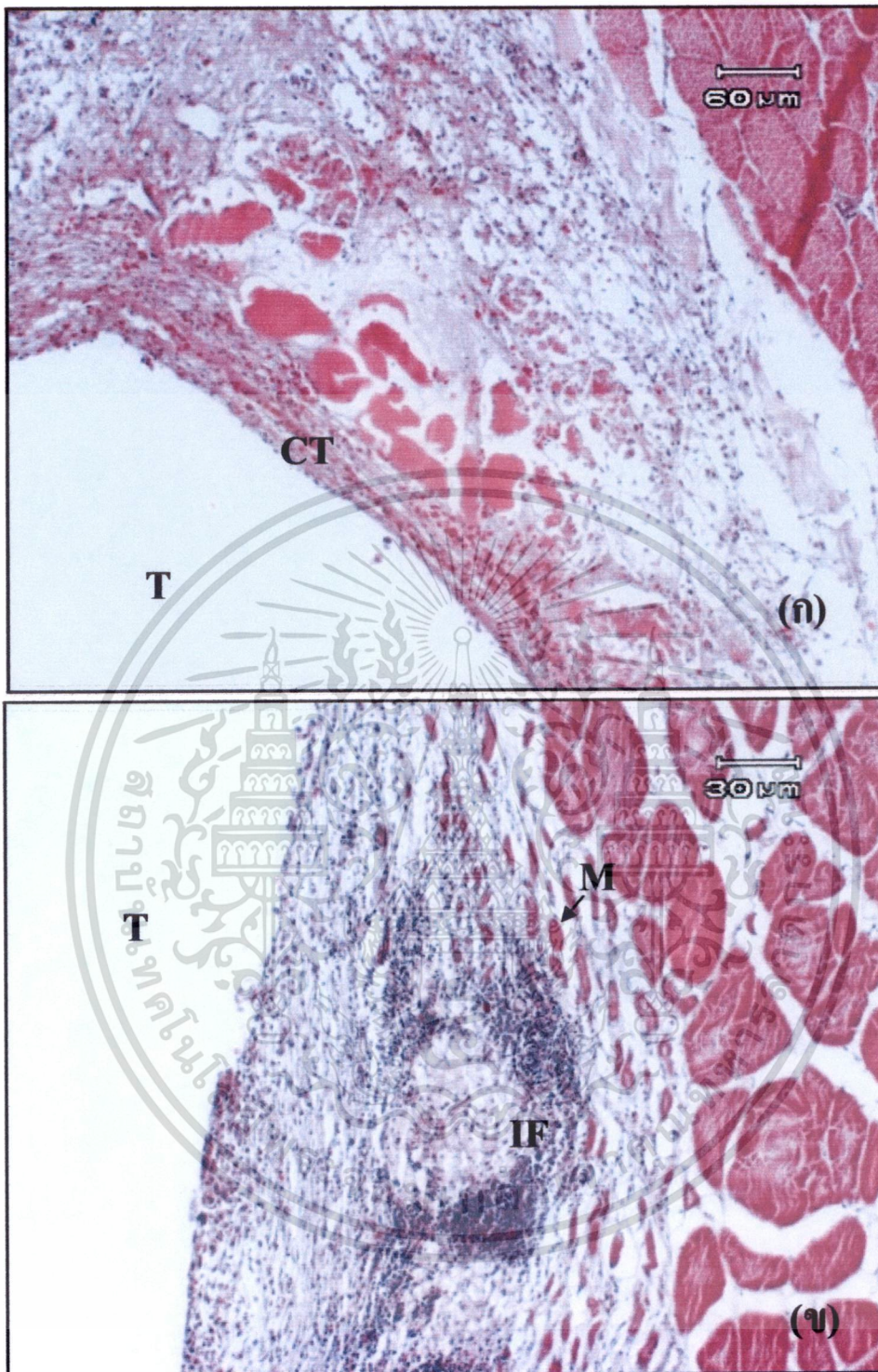
จากการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงแผลภายในของปลานิลที่ขนาดและตำแหน่งการฟุ้งที่แตกต่างกัน 3 บริเวณ คือ บริเวณ โคนครีบหลังทางด้านหัว บริเวณกลาง โคนครีบหลัง และบริเวณ โคนครีบกัน พบแนวโน้มในปลานิลขนาดเล็กมีการสมานแผลเสร็จสมบูรณ์หลังจากฟุ้งแท็ก 14 วัน ของทุกตำแหน่งที่ฟุ้ง (ตารางที่ 4.2) ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงแผลภายในของปลานิลขนาดกลางและขนาดใหญ่มีการสมานแผลเสร็จสมบูรณ์หลังจากฟุ้งแท็กนาน 21 วัน ในทุกตำแหน่งการฟุ้ง (ภาพที่ 4.12)



**ภาพที่ 4.9** การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลานิลหลังการฝังแท็ก ก.) ที่ 24 ชั่วโมง พบการเสื่อมของเซลล์เห็นเป็นช่องว่างในมัดกล้ามเนื้อ (vacuole degeneration) ข.) วันที่ 3 เกิด

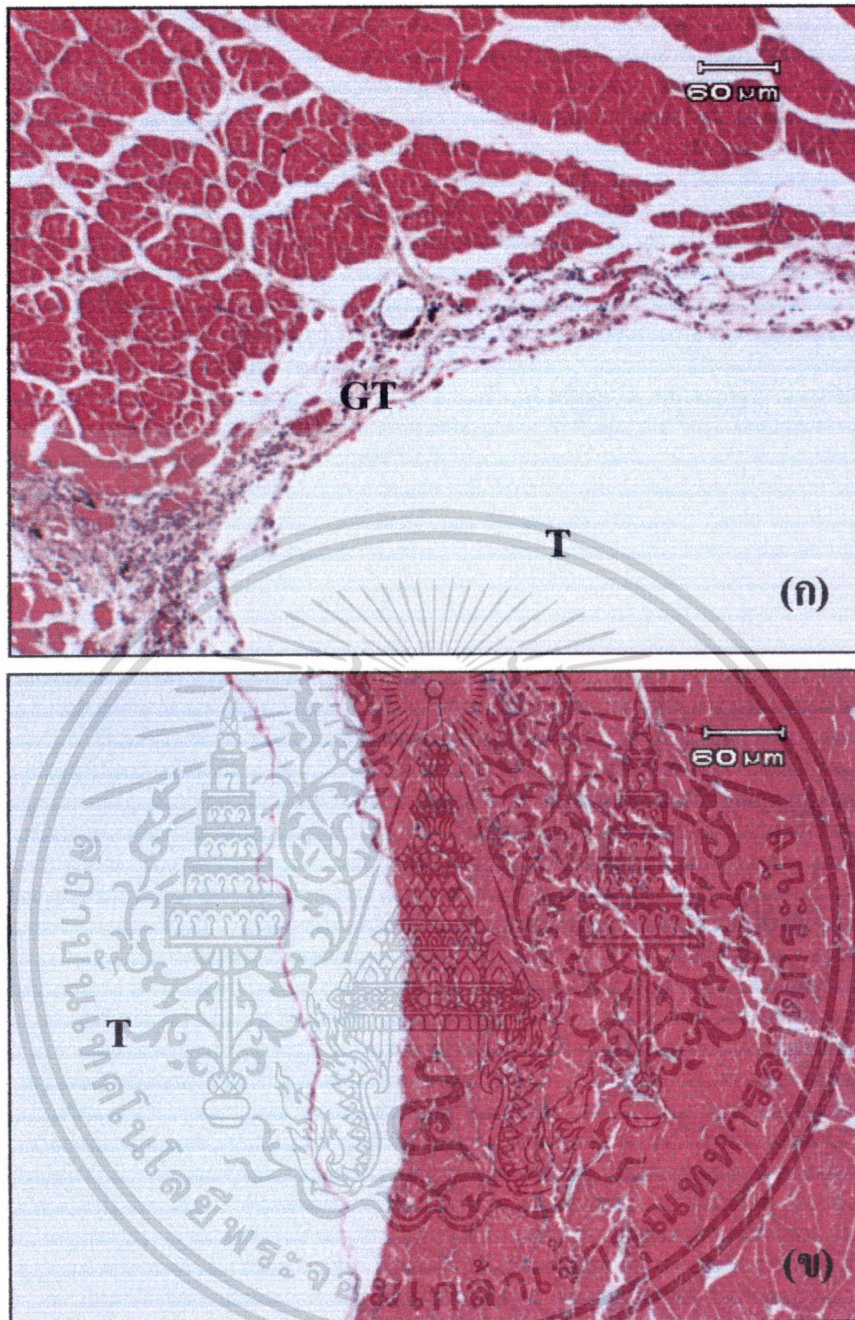
กระบวนการอักเสบ (IF) บริเวณฝังแท็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



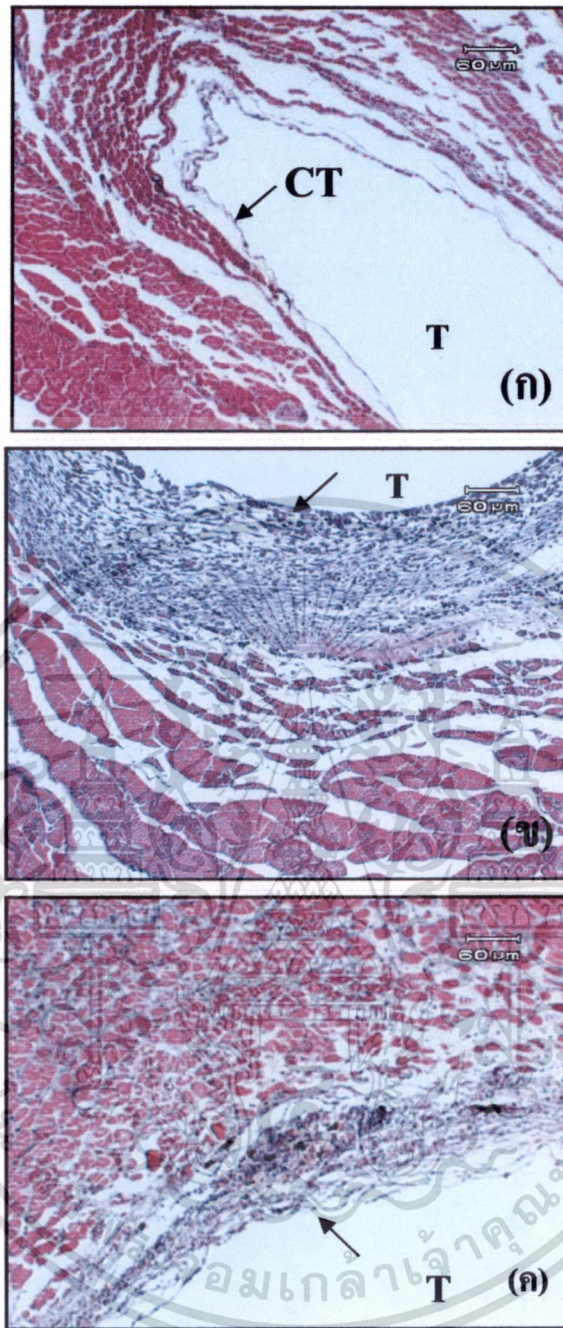
**ภาพที่ 4.10** การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลานิลหลังการฝังแท็ก ก.) วันที่ 5 พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (CT) เรียงตัวกันหลวมๆ รอบรูบริเวณที่ฝังแท็ก (T) และกล้ามเนื้อที่เสื่อมลดลง ข.) วันที่ 7 พบการอักเสบ (IF) ร่วมกับการเกิดกล้ามเนื้อใหม่ (M) เพิ่มมากขึ้น รอบรูบริเวณที่ฝังแท็ก (T)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพที่ 4.11** การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลานิสหลังการฝังแท็ก ก.) วันที่ 14 พบเนื้อเยื่อแกรนู-  
เลชัน (GT) เรียงตัวกันแน่นขึ้น และมีคดกล้ามเนื้อที่สร้างขึ้นใหม่ แทรกเข้ามา  
แทนที่บริเวณที่มีการอักเสบซึ่งมีพื้นที่ลดลง และกล้ามเนื้อที่ล้อมเกือบเป็นปกติ  
ข.) วันที่ 21 การสมานแผลสมบูรณ์พบมีคดกล้ามเนื้อที่มีลักษณะปกติ  
รอบรูที่ฝังแท็ก(T)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพที่ 4.12** การสมานแผลหลังการฝังแท็ก 14 วัน ในปลานิลที่ขนาดแตกต่างกัน ก.) ปลานิลขนาดเล็กพบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (CT) เรียงตัวกันบาง ๆ และกล้ามเนื้อเจริญขึ้นมาแทนโดยสมบูรณ์ ข.) ปลานิลขนาดกลาง พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (CT) เรียงตัวกันแน่นขึ้นรอบรูที่ฝังแท็ก (T) และมีกล้ามเนื้อที่สร้างขึ้นใหม่แทรกเข้ามาแทนที่กล้ามเนื้อที่เสื่อมแต่ยังคงมีการอักเสบอยู่ (สรชี) ค.) ปลานิลขนาดใหญ่พบการสร้างกล้ามเนื้อใหม่แทนที่เสื่อมไปแต่ยังคงพบลักษณะการอักเสบอยู่ (สรชี)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.2.3 อัตราการตายในปลาฉีดฟุ้งแท็กที่ขนาดแตกต่างกัน

การศึกษาอัตราการตายหลังการฉีดแท็กเป็นเวลา 45 วัน ไม่พบการตายในปลาฉีดขนาด  $5.5 \pm 0.69$   $13.80 \pm 1.02$  และ  $29.90 \pm 3.42$  เซนติเมตร เนื่องจากปลาได้รับการดูแลอย่างถูกต้องและเหมาะสมหลังการฉีดแท็กด้วยการให้ยาฆ่าเชื้อ (แช่ต่างแท็บทิม 4 มิลลิกรัมต่อลิตร) และการเปลี่ยนถ่ายน้ำที่เพียงพอ ซึ่งจากการทดลองฉีดแท็กเบื้องต้นในปลาฉีดขนาดความยาวเฉลี่ย  $5.76 \pm 0.72$  เซนติเมตร ก่อนทำการทดลองจริงพบว่าการตายเกิดขึ้น โดยได้ทดลองฉีดแท็กในกลุ่มเนื้อบริเวณโคนครีบหลังจำนวน 40 ตัว จากนั้นเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน เพื่อสังเกตอาการหลังการฉีดแท็กซึ่งพบว่าปลาฉีดที่ได้รับการฉีดแท็กมีการตาย 7.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลาฉีดที่ไม่ได้รับการฉีดแท็กไม่พบการตาย เมื่อสังเกตลักษณะการตายของปลาฉีดพบว่า แผลบริเวณที่ฉีดแท็กมีลักษณะช้ำและมีรอยคล้ำยังไม่ทราบสาเหตุการตายที่แน่ชัดว่าเกิดจากการติดเชื้อโรคนิวโมซีส อาจเป็นไปได้ว่าปลาในขนาดประมาณ 5 เซนติเมตร นั้นมีขนาดเล็กเกินไปเนื่องจากปลาฉีดมีช่วงตัวสั้นกว่าในปลาฉีด (ภาพที่ 4.8) และแท็กก่อให้เกิดบาดแผลใหญ่เกินกว่าที่ปลาขนาด 5 เซนติเมตร จะทนได้เนื่องจากแผลหายช้าเกินไปส่งผลต่อการติดเชื้อตามมาซึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้ปลาตายได้

จากผลของการฉีดแท็กต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อปลาฉีดและปลาฉีดพบว่า มีลักษณะสอดคล้องกับการทดลองของ McKenzie *et al.* (2006) ที่ทดลองฉีดแท็กชนิด PIT ขนาด 12 มิลลิเมตร และ 23 มิลลิเมตร ภายในช่องท้องปลา snapper พบว่าบริเวณที่ฉีดแท็กเซลล์เม็ดเลือดขาวเกิดการเสื่อม (myodegeneration) และเกิดการอักเสบซึ่งเซลล์หลักที่ทำงานในกระบวนการนี้คือ macrophages, eosinophilic granular cell และ lymphocyte ที่พบย่อยในชั้น dermis และ hypodermis จากนั้นมีการสมานแผลโดยทั่วไป และพบว่าแท็กถูกล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหรือเนื้อเยื่อไขมันภายในช่องท้องและเช่นเดียวกับ Bauer and Loupal (2007) ที่ทดลองฉีด telemetry transmitters (ยาว 59 มิลลิเมตร กว้าง 11 มิลลิเมตร น้ำหนัก 4.6 กรัม) ในปลา common carp ซึ่งพบว่าเกิดเนื้อเยื่อแกรนูเลชันล้อมรอบ transmitters tag

ซึ่งอนุเทพ รังสีพิพัฒน์ (2548) ได้อธิบายการหายของแผลว่าเป็นสิ่งที่ซับซ้อนแต่เป็นกระบวนการที่เป็นระบบ คือเมื่อมีการเกิดบาดแผลจะมีการชักนำให้เกิดการอักเสบในการบาดเจ็บระยะเริ่มแรก และเกิดการรีเจนเนอเรชันของเซลล์ดั้งเดิม (parenchymal cell) จากนั้น

เกิดการย้ายถิ่นฐานและงอกขยายของเซลล์ดั้งเดิมและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เกิดการสังเคราะห์โปรตีนของโครงสร้างนอกเซลล์ จากนั้นแปรรูปองค์ประกอบย่อยของเซลล์ดั้งเดิมและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ซึ่งมีเป้าหมายสู่การหายของแผลซึ่งสอดคล้องกับ Agarwal *et al.* (2006) ที่กล่าวว่า เมื่อมีการเกิดการบาดเจ็บการสมานแผลของเนื้อเยื่อนั้นจะเกิดการเคลื่อนย้ายและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เช่น fibroblast ซึ่งต่อมาจะเปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน ทำให้แผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กลง และการสมานแผลนั้นจะเป็นการผลิตคอลลาเจน (collagen) ในบริเวณที่เกิดการบาดเจ็บ และเซลล์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการสมานแผลนั้นคือ myofibroblasts ซึ่งเซลล์เหล่านี้จะมีความสามารถในการยึดหดตัวและเกิดการสะสมคอลลาเจนบริเวณรอบแผล ส่วน fibroblast ในกระบวนการสมานแผลที่สร้างขึ้นมานั้นจะกลายเป็นเนื้อเยื่อปกติแทนที่บริเวณที่เกิดการเสียหายของเนื้อเยื่อ

จากภาพที่ 4.3 และ 4.4 พบว่าการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อภายในสอดคล้องกับการทดลองของ Mckenzie *et al.* (2006) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลา snapper หลังจากฝังแท็กชนิด PIT เป็นที่สังเกตว่าในปลาคูบบางตัวนั้นการฝังเข้ากล้ามเนื้อบริเวณโคนครีบก้นซึ่งเป็นบริเวณที่มีมัดกล้ามเนื้อน้อยทำให้มีโอกาสฝังเข้าใกล้บริเวณกระดูก ส่งผลให้การสมานแผลช้ากว่าปกติเมื่อเทียบกับการฝังห่างจากกระดูก โดยการเลือกตำแหน่งการฝังทั้งสามตำแหน่งนั้นเป็นบริเวณกล้ามเนื้อทั้งสิ้น ซึ่งทิศทางการฝังจะขนานกับการเรียงตัวของมัดกล้ามเนื้อซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกระบอกโดยมี sarcolemma เป็นเยื่อหุ้มเซลล์กล้ามเนื้อแต่ละมัดอยู่ (Chinabut *et al.* 1991) ซึ่งการฝังแท็กในทิศทางดังกล่าวนั้นเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อจะถูกทำลายเนื่องจากการฝึ้นน้อยกว่าการฝึ้นตั้งฉากกับการเรียงตัวของเซลล์กล้ามเนื้อ นอกจากนี้การฝังในทิศทางดังกล่าวไม่มีผลต่อการอ่านรหัสของเครื่องอ่านกับตัวแท็ก เนื่องจากอาร์เอฟไอดีแท็กประกอบด้วยแท่งแก้วสองแท่งที่มีแถบแม่เหล็กไฟฟ้าและไมโครชิปติดอยู่ภายใน ซึ่งการตรวจสอบการทำงานโดยใช้เครื่องอ่านแท็กที่คลื่นวิทยุความถี่ 125 หรือ 400 กิโลเฮิรตซ์ ซึ่งสามารถส่งคลื่นได้ระยะทาง 10-15 เซนติเมตร จึงไม่เป็นปัญหาต่อการอ่านรหัสแท็กแต่อย่างใด

จากแนวโน้มการหายของบาดแผลพบว่าปลาชนิดในขนาด  $5.5 \pm 0.69$  เซนติเมตร ใช้เวลาการสมานแผลเร็วกว่าในปลาขนาดใหญ่กว่า เป็นที่รู้กันดีว่าปลาขนาดเล็กมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าปลาที่มีขนาดใหญ่กว่า เนื่องจากมีกิจกรรมเมตาบอลิซึม มีการใช้พลังงานมากกว่า และเซลล์ในปลาขนาดเล็กยังมีกิจกรรมสูงกว่าในปลาขนาดใหญ่ (Xie *et al.* 1997) จึงส่งผลให้กระบวนการสมานแผลเกิดขึ้นรวดเร็วตามไปด้วย

สำหรับอัตราการตายจากการฝังแท่งรวมถึงการหลุดของแท่ง ทั้งในปลาอุก และในปลานิลพบว่าการฝังแท่งในปลาความยาวตั้งแต่ 10 เซนติเมตร ขึ้นไปไม่เกิดปัญหาดังกล่าว ถึงแม้ว่าผู้ที่ฝังจะไม่มี ความชำนาญในการฝังก็ตาม เนื่องจากปลามีชั้นกล้ามเนื้อที่หนาจึงไม่ทำให้แท่งหลุดได้ง่าย โดยเฉพาะในปลาที่ไม่มีเกล็ดมีชั้นผิวหนังที่ยึดหยุ่นมากกว่าปลามีเกล็ด จากการสังเกตระหว่างการทดลองพบว่า ผิวหนังของปลาอุกมีความยึดหยุ่นรับกับแท่งที่ฝังเข้าไป ทำให้ยากแก่การหลุดแต่ปัญหาหนึ่ง ที่พบในการฝังแท่งในปลาอุกคือ ปลามีพฤติกรรมการตอดแผล บริเวณที่ฝังแท่งกันเอง ซึ่งอาจส่งผลต่อการหลุดของแท่ง ได้ถ้าฝังแท่งไม่ลึกถึงชั้นกล้ามเนื้อ

ในขณะที่การฝังแท่งในปลาทั้งสองชนิดในขนาดเล็ก (ความยาว 5 เซนติเมตร สำหรับปลานิล และ 10 เซนติเมตร สำหรับปลาอุก) พบว่าเกิดปัญหาการตายและการหลุดของแท่ง โดยจากการทดลองเบื้องต้นเพื่อฝึกการฝังแท่งและหาวิธีการที่เหมาะสม พบว่า ในช่วงแรกที่มีการฝังแท่งในปลานิลขนาดเล็ก การฝังบริเวณ โคนครีบท้องและกลางครีบท้อง มีการตาย 7.50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การฝังบริเวณ โคนครีบท้องมีการตายถึง 17.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการหลุดของแท่ง พบว่าการฝังบริเวณ โคนครีบท้องมีการหลุดมากที่สุดถึง 45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นผลมาจากบริเวณดังกล่าวมีชั้นกล้ามเนื้อน้อยที่สุด ส่วนในปลาอุกพบว่าทุกบริเวณการฝังพบการตายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นการตายเนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียคอลลัมเนริสทั้งสิ้น โดยปลาอุกที่ตายมีลักษณะขับเมือกมากตัวเปื่อย อย่างไรก็ตามเมื่อทำการทดลองฝังแท่งในปลาอุกอีกครั้งพบว่าไม่มีการตายและพบการหลุดของแท่งต่ำกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ในทุกตำแหน่งการฝัง ซึ่งจากการทดลองฝังแท่งเบื้องต้นก่อนการทดลองจริงทำให้ทราบว่า การตายที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลเนื่องมาจากการฝังแท่ง โดยเฉพาะการติดเชื้อหลังการฝัง นอกจากนี้ปัจจัยที่ส่งผลต่อการตายและการหลุดของแท่งในปลาทั้งสองชนิด ขึ้นอยู่กับความชำนาญในการฝังรวมถึงวิธีปฏิบัติในระหว่างการฝังแท่งนั้นจำเป็นต้องรวดเร็วและระมัดระวังให้เกิดการบอบช้ำน้อยที่สุด และการดูแลรักษาปลาหลังจากที่ได้รับการฝังแท่งต้องมีความสะอาดเนื่องจากปลาได้รับบาดเจ็บจากแผลที่ฝังแท่ง ซึ่งเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้

#### 4.1.3 ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท่งต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของกึ่งก้ามกราม

##### 4.1.3.1 ผลทางเนื้อเยื่อในกึ่งก้ามกรามที่ขนาดแตกต่างกัน

จากการศึกษาผลการฝังแท่งต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของกึ่งก้ามกราม 2 ขนาด คือ ความยาว  $6.57 \pm 0.41$  และ  $10.70 \pm 0.80$  เซนติเมตร ในตำแหน่งที่แตกต่างกันคือ บริเวณกล้ามเนื้อเหนือบรอกปล้องที่ 1 (ด้านข้างของทางเดินอาหาร) และบริเวณด้านข้างตัวก่อนมาทางด้านท้ายลำตัวรอยต่อระหว่างปล้องที่ 2 กับ 3 พบว่าการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อที่เกิดจากการ

ฟุ้งแตกเป็นไปในลักษณะเดียวกัน โดยภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง หรือวันแรกของการฟุ้งแตกนั้น กล้ามเนื้อรอบๆ บริเวณที่ฟุ้งแตกเกิดการเสื่อมของเซลล์กล้ามเนื้อ (myodegeneration) เกิดการตายเป็นแห่งๆ มี heamocyte แทรกเข้ามาเล็กน้อยและพบ haemolymph ในช่องที่ฟุ้งแตก เมื่อสังเกตจากภายนอกพบว่ากล้ามเนื้อบริเวณรอบการฟุ้งแตก มีลักษณะขุ่น (ภาพที่ 4.13ก) ในวันที่ 3 ถึงวันที่ 5 พบว่าเนื้อเยื่อเกิดการเสื่อมเป็นบริเวณกว้างขึ้นและพบ heamocyte แทรกเข้ามาบริเวณที่มีการเสื่อมของเนื้อเยื่อจำนวนมากขุ่น (ภาพที่ 4.13ข และ ภาพที่ 4.14ก) วันที่ 7 บริเวณรอบรูฟุ้งแตกพบ fibroblast เรียงตัวกันแทนที่บริเวณกล้ามเนื้อที่เสื่อมและเรียงตัวกันแน่นขึ้นเรื่อย ๆ (ภาพที่ 4.14ข) วันที่ 14 พบว่ามีการเรียงตัวของ fibroblast มากขึ้นและยังคงพบ heamocyte แทรกอยู่ในบริเวณที่เกิดการเสื่อม (ภาพที่ 4.15ก) เช่นเดียวกับวันที่ 21 ที่ยังพบการเรียงตัวของ fibroblast ที่แทรกด้วย heamocyte (ภาพที่ 4.15ข) จนถึง 45 วัน แต่มีจำนวนน้อยลง (ภาพที่ 4.16ก,ข) นอกจากนี้ยังพบว่ากล้ามเนื้อในกึ่งขนาดเล็กหรือกึ่งที่มีอายุน้อยมีการสมานแผลเสร็จสมบูรณ์ในช่วงเวลาทำการทดลอง 45 วัน ในขณะที่กึ่งขนาดใหญ่พบกระบวนการสมานแผลมีเสร็จสมบูรณ์ในบางตัวเท่านั้น ส่วนที่เหลือการสมานแผลยังไม่เสร็จสมบูรณ์ในช่วงกำหนดเวลาของการศึกษา (ภาพที่ 17 ก, ข)

ตารางที่ 4.3 ระยะเวลาการสมานแผล (วัน) ในกึ่งก้ามกรามที่ฟุ้งแตกในตำแหน่งและขนาดที่แตกต่างกัน

ตำแหน่งการฟุ้งแตก	ความยาวกึ่งก้ามกราม (เซ็นติเมตร)	
	10.70±0.79	6.57±0.40
กล้ามเนื้อเหนือรอยต่อปล้องที่ 1	>45	45
กล้ามเนื้อด้านข้างตัวก่อนมาทางด้านท้ายลำตัว	>45	45
รอยต่อระหว่างปล้องที่ 2 กับ 3		

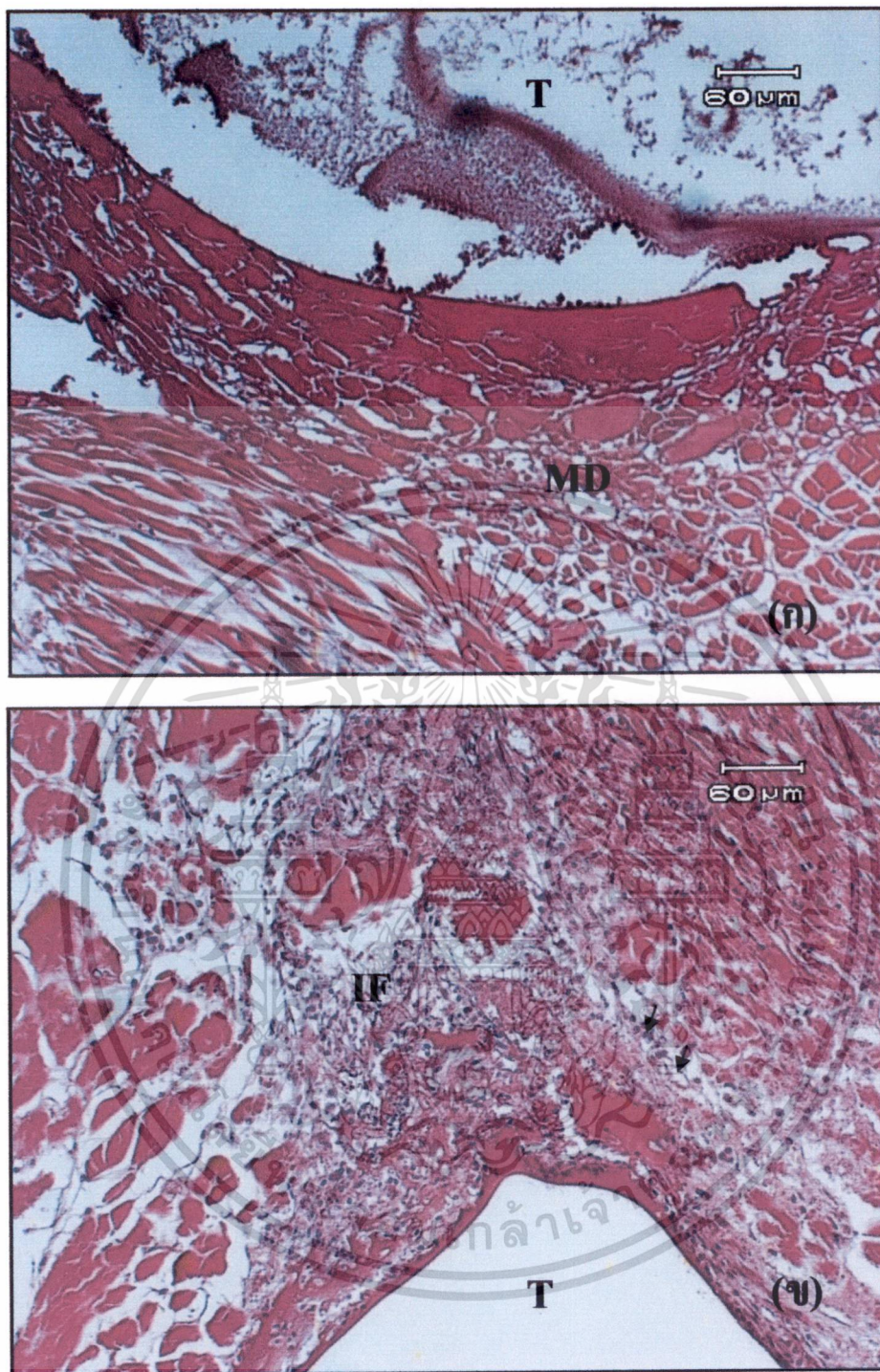
#### 4.1.3.2 ผลทางเนื้อเยื่อในกึ่งก้ามกรามที่ตำแหน่งแตกต่างกัน

จากการศึกษาผลการฟุ้งแตกต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในก้ามกราม ในตำแหน่งที่แตกต่างกันทั้ง 2 ตำแหน่งดังกล่าว พบว่าการสมานแผลไม่มีความแตกต่างกันในทุกตำแหน่งการฟุ้ง แต่ระยะเวลาในการสมานแผลมีความแตกต่างกันเล็กน้อย ดังตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Caceci *et al.* (1999) ที่ทดลองฟุ้งแตกชนิดแก้วขนาด 5 X 2 มิลลิเมตร ในกึ่งก้ามกราม หลังจากฟุ้งแตกเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งมีการลอกคราบ

3 ครั้ง พบว่าเกิด fibroblast และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันล้อมรอบแท่งนอกจากนี้ยังพบ heamocyte แทรกเข้ามาบริเวณที่มีการเสื่อมของเนื้อเยื่อจำนวนมากขึ้นและพบ hemolymph บริเวณรอบรูแท่ง แต่ไม่พบการอักเสบเช่นเดียวกับการทดลองนี้ที่กึ่งกำกรวมใช้ระยะเวลาในการสมานแผลตั้งแต่ 45 วันขึ้นไปซึ่งนานกว่าในปลาที่ใช้ระยะเวลาในการสมานแผลเพียง 21 วันเท่านั้น

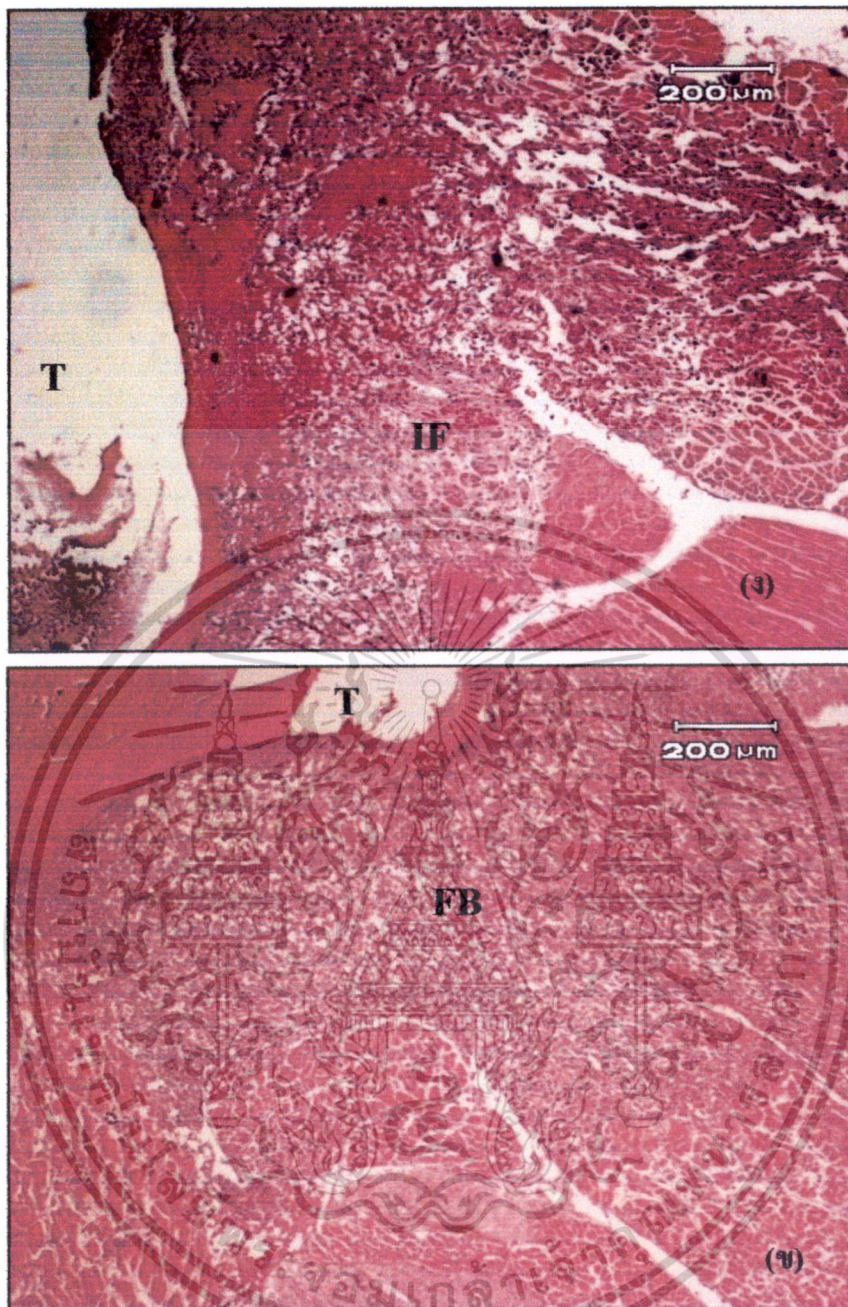
#### 4.1.3.3 อัตราการตายในกึ่งกำกรวมที่ขนาดแตกต่างกันหลังการฝังแท่ง

หลังจากการฝังแท่งเป็นเวลา 45 วัน พบว่าในกึ่งขนาด  $10.70 \pm 0.80$  เซนติเมตร ที่ฝังในบริเวณ ด้านข้างตัวก่อนมาทางด้านท้ายลำตัว รอยต่อระหว่างปล้องที่ 2 กับ 3 ไม่พบการตาย ในขณะที่การฝังบริเวณกล้ามเนื้อเหนือรอยต่อปล้องที่ 1 (ด้านข้างของทางเดินอาหาร) มีการตาย 11.12 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บตัวอย่างกึ่งเพื่อมาวิเคราะห์ทางเนื้อเยื่อพบว่าใน กึ่งบางตัวแท่งที่ฝังบริเวณ กล้ามเนื้อเหนือรอยต่อปล้องที่ 1 (ด้านข้างของทางเดินอาหาร)มีการเคลื่อนเข้าไปในบริเวณหัวซึ่งเป็นตำแหน่งที่อยู่ของอวัยวะต่างๆ ที่สำคัญเช่น หัวใจ กระเพาะอาหาร รวมทั้งตับและตับอ่อน ซึ่งในกรณีนี้จะส่งผลให้การฝังในตำแหน่งดังกล่าวมีการตายมากกว่าตำแหน่งอื่น นอกจากนี้พบว่าลักษณะมัดกล้ามเนื้อในกึ่งจะหลวมทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของแท่งได้ง่ายเมื่อมีการฝังแท่ง ซึ่งแตกต่างจากลักษณะกล้ามเนื้อของปลาที่แน่นว่าทำให้การเคลื่อนที่ของแท่งเกิดขึ้นได้ยาก



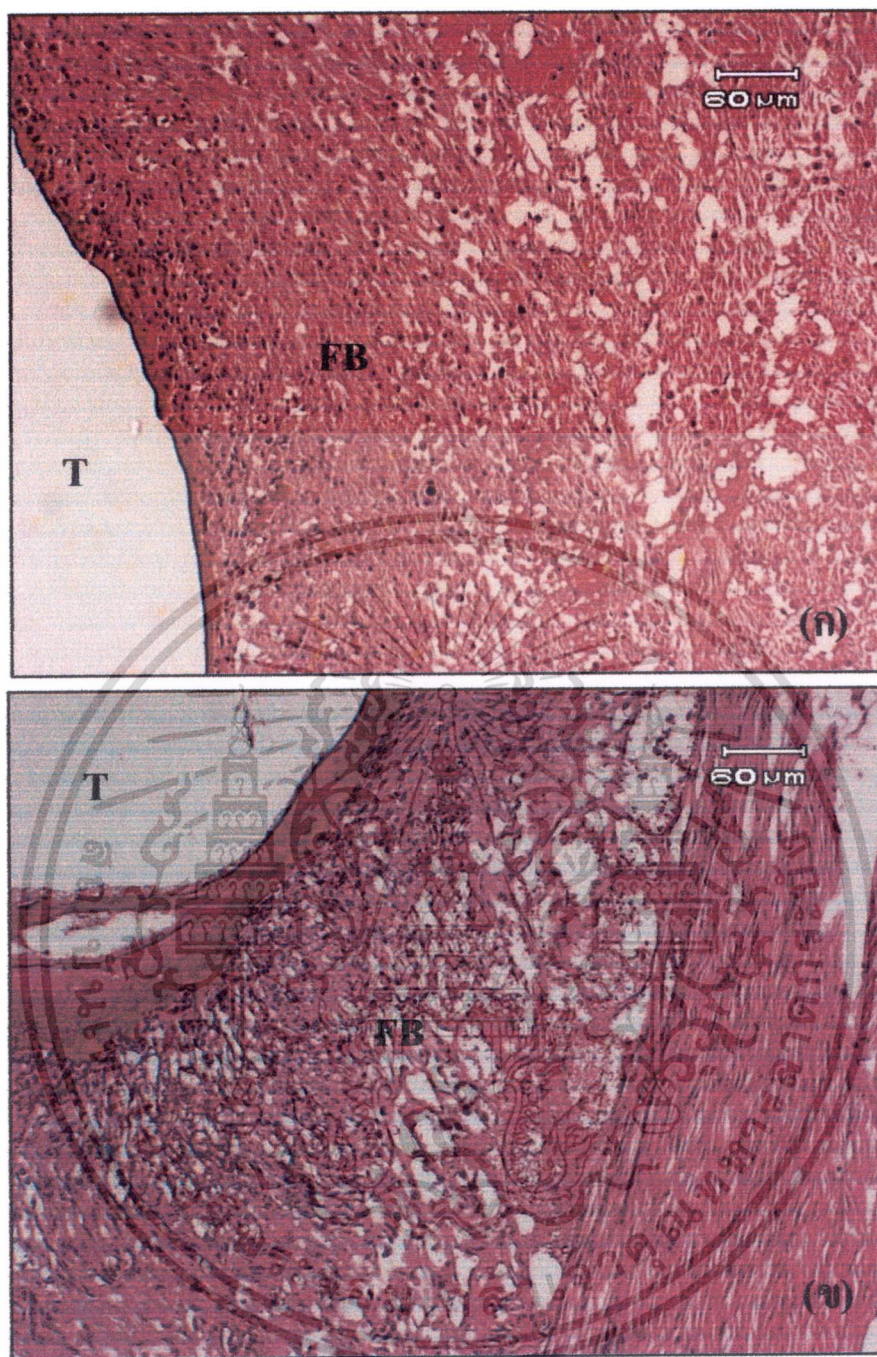
**ภาพที่ 4.13** การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกึ่งกำกรวมหลังการฝังแท็ก ก.) ที่ 24 ชั่วโมง พบการเสื่อมของเซลล์กล้ามเนื้อ (MD) เห็นเป็นช่องว่าง รอบรูที่ฝังแท็ก (T) ข.) ที่ 3 วัน พบ hemocyte (ศรชี้) แทรกเข้ามาบริเวณที่มีการเสื่อมของเนื้อเยื่อจำนวนมากขึ้นร่วมกับการอักเสบ (IF)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



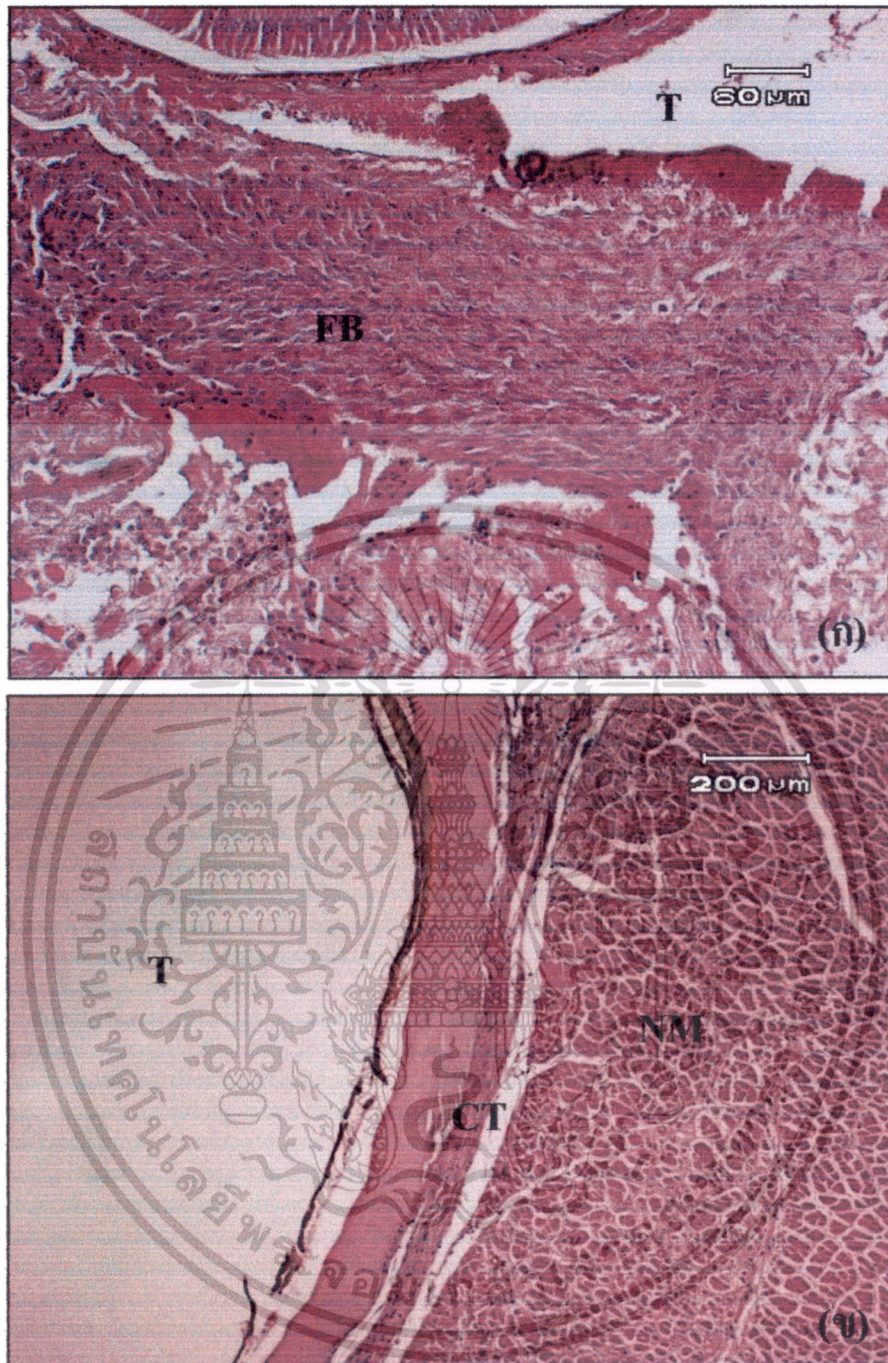
**ภาพที่ 4.14** การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกึ่งกำกรวมหลังการฝังแท็ก ก.) ที่ 5 วัน เนื้อเยื่อเกิดการเสื่อมเป็นบริเวณกว้างขึ้น รอบรูที่ฝังแท็ก (T) ร่วมกับการอักเสบ (IF) โดยการแทรกเข้ามาของ heamocyte ข.) วันที่ 7 รอบบริเวณที่ฝังแท็ก (T) พบ fibroblast (FB) เรียงตัวกันแทนที่บริเวณกล้ามเนื้อที่เสื่อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



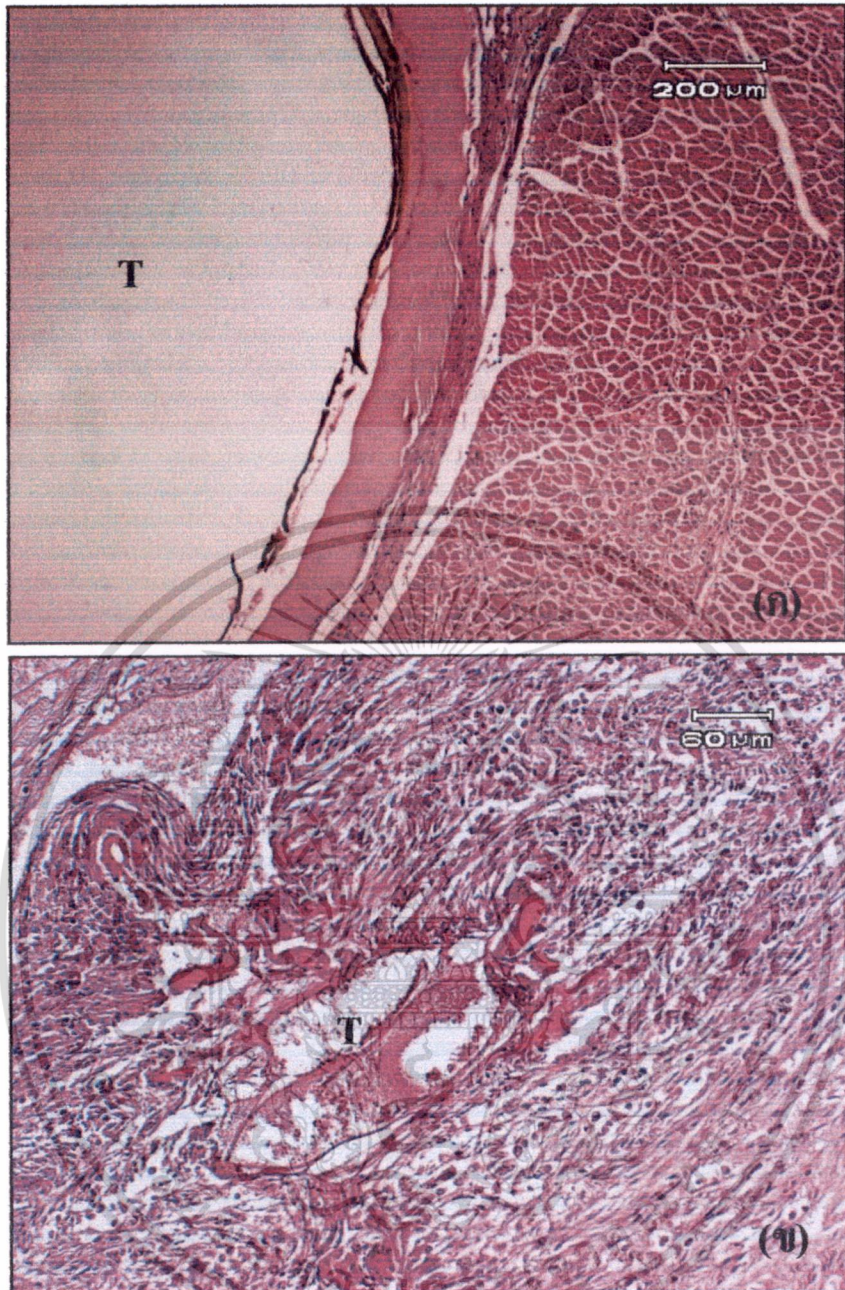
ภาพที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกึ่งก้ำมกรหลังการฝังแท็ก ก.) วันที่ 14 พบ fibroblast (FB) เรียงตัวกันแทนที่บริเวณกล้ามเนื้อที่เสื่อมและเรียงตัวกันแน่นขึ้นเรื่อยๆ บริเวณรอบรูที่ฝังแท็ก (T) ข.) วันที่ 21 พบ fibroblast เรียงตัวกันแน่นเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.16 การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกึ่งกล้ามเนื้อหลังการฟิงแท็ก ก.) วันที่ 28 พบ fibroblast (FB) เรียงตัวกันแน่นเพิ่มขึ้นบริเวณรอบรูที่ฟิงแท็ก (T) จนสมานแผลสมบูรณ์ในวันที่ 45 ข.) ที่ 45 วัน พบกล้ามเนื้อใหม่ (NM) เข้ามาแทนที่กล้ามเนื้อที่เสื่อมและล้อมรอบบริเวณรูที่ฟิงแท็กด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางๆ (CT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.17 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อในกึ่งกำมกรามหลังการฝังแท่งกานาน 45 วัน ก.) กึ่งกำมกรามขนาดเล็กการสมานแผลสมบูรณ์ และ ข.) กึ่งกำมกรามขนาดใหญ่ การสมานแผลยังไม่เสร็จสมบูรณ์

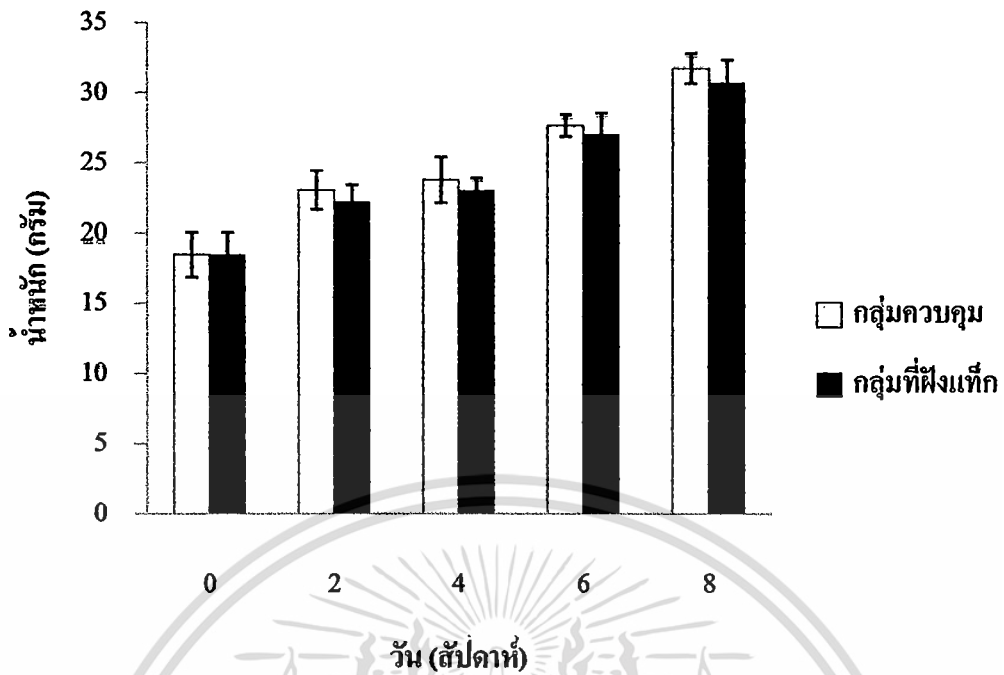
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับในกุ้งก้ามกรามความยาว  $6.57 \pm 0.41$  เซนติเมตร พบว่ามีอัตราการตายถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ในทั้ง 2 ตำแหน่งการฝัง ทำให้เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อได้เพียง 14 วัน และที่สิ้นสุดการทดลองเท่านั้น คือที่ 45 วัน เนื่องจากตัวอย่างไม่เพียงพอที่จะเก็บตัวอย่างในวันที่ 21 และ 28 และเนื่องจากกุ้งในขนาดประมาณ 5-6 เซนติเมตร มีจำนวนน้อยจึงไม่สามารถทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง เพราะการใช้กุ้งขนาดดังกล่าวต้องรอฤดูกาลเพาะฟักในปีถัดไป ซึ่งจากการทดลองนี้ทำให้ทราบที่สามารถฝังอาร์เอฟไอดีแท็กในกุ้งก้ามกรามขนาด 10 เซนติเมตร ขึ้นไปได้ แต่ในกุ้งที่ความยาวน้อยกว่า 6.57 เซนติเมตร ยังไม่เหมาะสมต่อการฝังแท็กเนื่องจากมีขนาดเล็กเกินไป ดังนั้นควรมีการศึกษาการฝังแท็กในกุ้งขนาดเล็กเพิ่มเติม ถึงขนาดที่เหมาะสมต่อการฝังแท็ก อัตราการตาย และวิธีการฝังเพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่ออัตราการตาย โดย Buric *et al.* (2008) ศึกษาการฝัง PIT tag ขนาด  $12 \times 2.1$  มิลลิเมตร ในกุ้ง crayfish บริเวณท้องใต้ผิวหนังนอกพบว่าอัตราการตายน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ และได้แนะนำว่าควรใช้แท็กชนิดนี้กับกุ้งที่โตเต็มวัยหรือมีขนาดใหญ่ นอกจากนี้ Caceci *et al.* (1999) ยังกล่าวว่ากุ้งขนาดความยาว 17 และ 22 เซนติเมตร ที่ได้รับการฝัง PIT tag ที่ไม่ได้ลอกคราบ และตายใน 7 วัน พบว่ามีแผลเปื่อยในบริเวณที่ฝัง และหลังจากนำซากมาพิสูจน์ยังพบการอักเสบบริเวณแผลที่เกิดจากการฝังแท็ก และแผลบริเวณนั้นเกิดการตายขึ้น ซึ่งเหมาะกับการเป็นที่อยู่ของแบคทีเรีย และได้แนะนำว่า แผลภายนอกในบริเวณที่ฝังแท็กนั้นเป็นช่องทางของแบคทีเรียที่เข้ามาในร่างกายและนำไปสู่การติดเชื้อได้ จากการทดลองนี้เห็นว่าสามารถใช้อาร์เอฟไอดีแท็กในกุ้งขนาดประมาณ 10 เซนติเมตร ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสามารถใช้อาร์เอฟไอดีแท็กเป็นตัวเลือกหนึ่งในการระบุรหัสแบบรายตัวแทนวิธีแบบเก่าที่นิยมใช้ในกุ้ง เช่น การใช้สารสีในการระบุลักษณะแบบรายตัว โดยการใช้สารสีนั้นจะสามารถมองเห็นได้จากภายนอก ซึ่งการปรากฏของสีที่ฉีดเข้าไปจะจางไปเมื่อสัตว์โตขึ้น นอกจากนี้ความหลากหลายของสีมีจำกัด ทำให้ใช้จำแนกได้จำนวนน้อย (Olsen and Vollestad, 2001) หรือใช้แยกสัตว์ทดลองออกเป็นกลุ่มๆ ได้เท่านั้น ไม่สามารถจำแนกแบบรายตัวได้แบบการใช้อาร์เอฟไอดีแท็ก ที่ใช้ 1 แท็ก ต่อ 1 รหัส ซึ่งสามารถใช้งานได้หลายรูปแบบโดยไม่มีข้อจำกัด

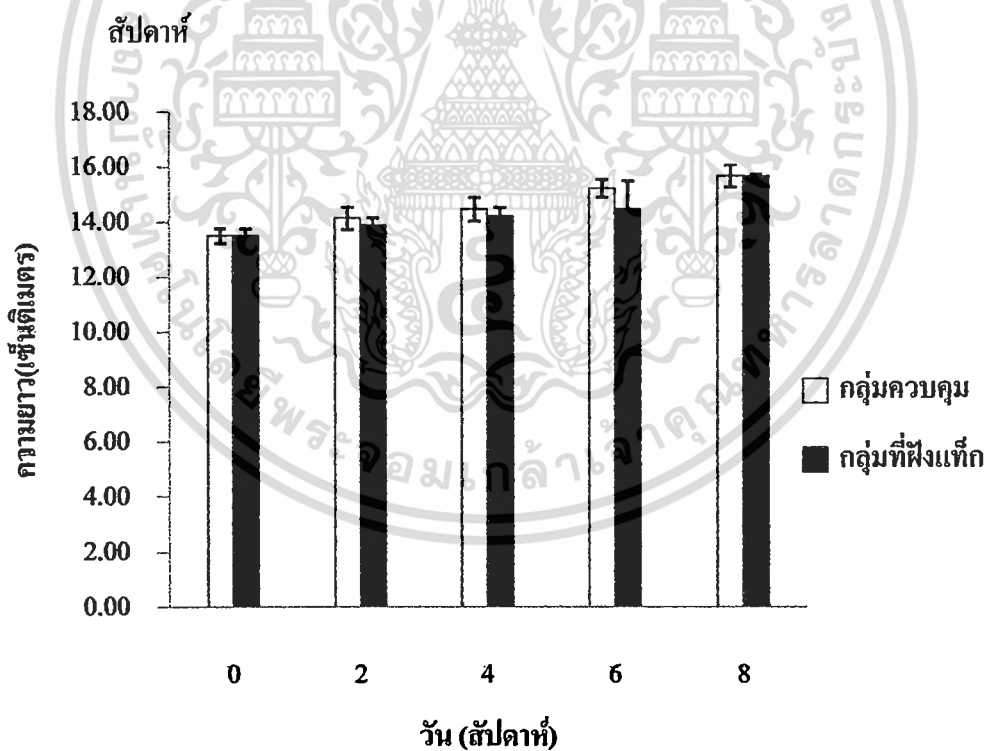
## 4.2 ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กต่อการเติบโตของปลาอุกถูกผสม ปลาชนิด และกึ่ง ก้ามกราม ขนาดประมาณ 10 เซนติเมตร

### 4.2.1 ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กต่อการเติบโตของปลาอุกถูกผสม

จากการทดลองผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กต่อการเติบโตในปลาอุกถูกผสม โดยเลือกตำแหน่งการฝังที่ผลหายเร็ว และสะดวกที่สุดในการทำงานจากการทดลองที่ 1 โดยตำแหน่งที่เลือกคือ กล้ามเนื้อบริเวณกลางครีบหลัง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดย มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น  $18.46 \pm 1.60$  กรัม และมีความยาวทั้งตัวเฉลี่ย  $13.50 \pm 0.27$  เซนติเมตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลาในกลุ่มที่ฝังแท็กและกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักเฉลี่ย  $30.80 \pm 1.59$  และ  $31.79 \pm 1.07$  กรัม และมีความยาวทั้งตัวเฉลี่ย  $15.67 \pm 0.07$  และ  $15.68 \pm 0.40$  เซนติเมตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 4.18 และ 4.19 ในช่วงตั้งแต่สัปดาห์ที่สองเป็นต้น ไปการเติบโตในด้านน้ำหนักและความยาวของปลาอุกถูกผสมของทั้งสองกลุ่มทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องไปในทิศทางเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าทั้งสองในแต่ละสัปดาห์ พบความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ตลอดระยะเวลาการศึกษา แสดงให้เห็นว่าการฝังแท็กมีผลน้อยต่อการเติบโตในปลาอุกถูกผสม โดยตลอดระยะเวลาการเลี้ยงพบว่ามีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.85-7.01 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในช่วง 4.96-7.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25.12-29.61 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าคุณสมบัติน้ำที่วัดได้ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองอยู่ในช่วงที่เหมาะสมและไม่มีผลต่อการดำรงชีวิตในปลาอุก



ภาพที่ 4.18 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาอุกอุกผสมที่ฟุ้งแท้กเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในเวลา 8

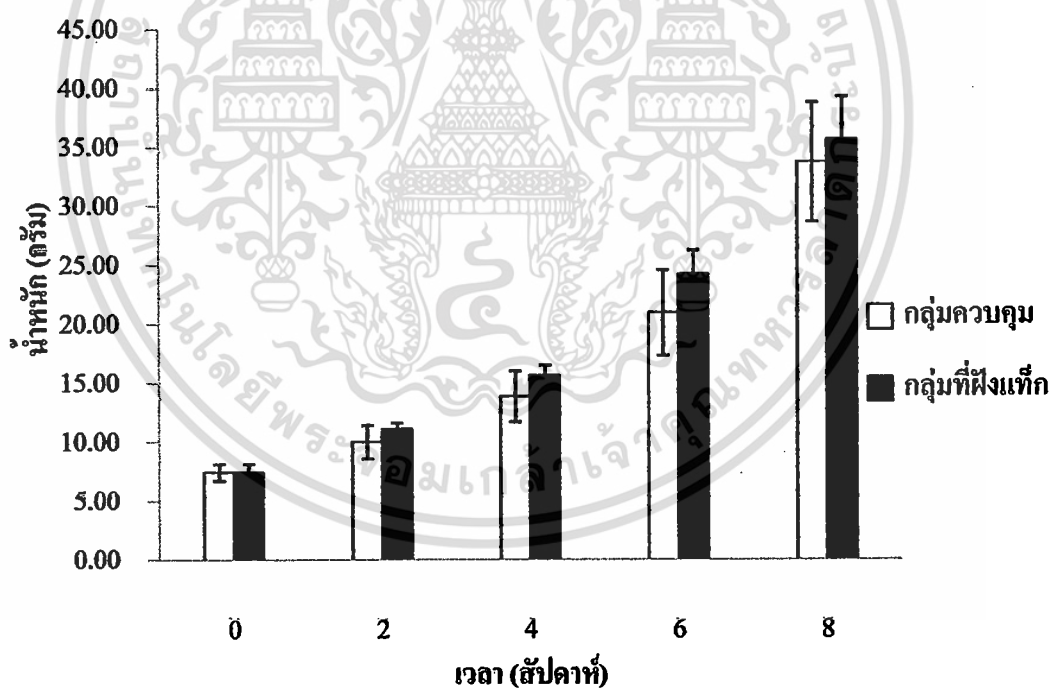


ภาพที่ 4.19 ความยาวเฉลี่ยของปลาอุกที่ฟุ้งแท้กเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในเวลา 8 สัปดาห์

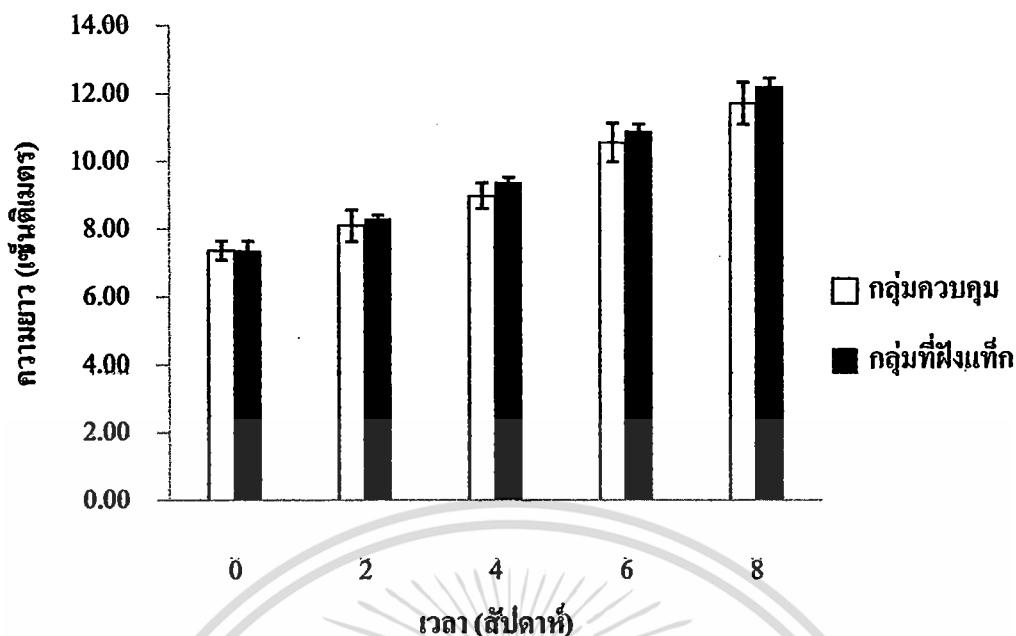
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2.2 ผลของการฝังอาร์เอฟไอเคิ่กต่อการเติบโตของปลานิล

จากการทดลองเปรียบเทียบการเติบโตในปลานิลที่ฝังแท่งกับกลุ่มควบคุมโดยเลือกตำแหน่งการฝังที่แผลหายเร็ว และสะดวกที่สุดในการทำงาน คือ กล้ามเนื้อบริเวณกลางครีบหลัง ในปลานิลน้ำหนักเฉลี่ย  $7.46 \pm 0.70$  กรัม และความยาวทั้งตัวเฉลี่ย  $7.37 \pm 0.28$  เซนติเมตร โดยใช้ระยะเวลาการศึกษาทั้งสิ้น 8 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลานิลในกลุ่มที่ได้รับการฝังแท่งและกลุ่มควบคุม มีน้ำหนักเฉลี่ย  $35.71 \pm 3.36$  และ  $33.77 \pm 5.09$  กรัม และมีความยาวเฉลี่ย  $12.23 \pm 0.25$  และ  $11.73 \pm 0.62$  เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งค่าน้ำหนักและความยาวเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ในตลอดระยะเวลาการทดลอง ดังภาพที่ 4.20 และ 4.21 ซึ่งในช่วงระยะเวลาการเลี้ยงพบว่ามีความพีเอชอยู่ในช่วง 7.53-8.08 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในช่วง 6.08-7.13 มิลลิกรัมต่อลิตร และอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25.46-27.13 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าคุณสมบัติน้ำที่วัดได้ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองอยู่ในช่วงที่เหมาะสมและไม่มีผลต่อการดำรงชีวิตในปลานิล



ภาพที่ 4.20 น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลที่ฝังแท่งเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 4.21 ความยาวเฉลี่ยของปลานิลที่ฝังแท็กเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในเวลา 8 สัปดาห์

เนื่องจากในปลานิลขนาดประมาณ 7 เซนติเมตร และปลาตุ๊กตาสวยที่มีความยาวประมาณ 10-13 เซนติเมตร นั้นอยู่ในช่วงอายุที่กำลังพัฒนาการเติบโต น่าจะได้รับผลกระทบจากการฝังแท็กมากกว่าปลานิลขนาดใหญ่ นอกจากนี้หากการฝังแท็กไม่กระทบต่อการเจริญเติบโตของปลานิลเล็กจะทำให้การนำไปใช้เพื่อการจัดการฟาร์มมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้นจึงเลือกปลานิลขนาดดังกล่าวมาทดลองผลกระทบต่อการฝังแท็กต่อการเติบโต

ซึ่งจากการทดลองในปลาตุ๊กตาและปลานิล นั้นสอดคล้องกับการทดลองของ Baras *et al.* (2000) ที่กล่าวว่าแท็กขนาดเล็กนั้นส่งผลต่อการเจริญเติบโตน้อยมาก และสามารถชดเชยการเจริญเติบโต (catch up growth) ได้ภายใน 2 สัปดาห์ เมื่อทดลองฝัง PIT tag ในปลา Eurasian Perch นอกจากนี้ Ombredane *et al.* (1998) พบว่าการฝัง PIT tag ในปลา Brown Trout (*Salmo trutta* L.) ที่มีความยาวถึงส่วนเว้าหาง (fork length) 55-127 มิลลิเมตร ไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และมีรายงานว่าแท็กชนิดนี้มีผลต่อการเจริญเติบโตใน 20 วัน แรกหลังการติดแท็กเท่านั้น ซึ่งเกิดจากระบวนการสมานแผลนั้นส่งผลต่อการเจริญเติบโตในระยะแรก และอาจเนื่องจากการฝังแท็กขนาดเล็กก่อให้เกิดความเครียดแบบเฉียบพลัน ซึ่งความเครียดดังกล่าวนี้

ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตในระยะสั้นเท่านั้น Iwama *et al.* (1997) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการฝังแท็กนั้นส่งผลกระทบต่อทางด้านลบต่อการเจริญเติบโตน้อยมากหรือเพียงระยะเวลาสั้นๆ เท่านั้น

#### 4.2.3 ผลของการฝังอาร์เอฟไอคือแท็กต่อการเติบโตของกุ้งก้ามกราม

จากการเลือกตำแหน่งที่ฝังง่ายและสะดวกเพียง 1 ตำแหน่ง จากผลทางเนื้อเยื่อเพื่อทำการศึกษาผลของการฝังอาร์เอฟไอคือแท็กต่อการเจริญเติบโต โดยตำแหน่งการฝังแท็กที่เลือก คือ บริเวณกล้ามเนื้อเหนือรอยต่อปล้องที่ 1 (ด้านข้างของทางเดินอาหาร) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยใช้กุ้งขนาดน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น  $4.58 \pm 1.03$  กรัม และ  $4.22 \pm 0.50$  กรัม ความยาวทั้งตัว  $7.26 \pm 0.511$  เซนติเมตร และ  $6.94 \pm 0.50$  เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ากุ้งที่ได้รับการฝังแท็กและกลุ่มควบคุม มีน้ำหนัก  $8.82 \pm 1.73$  กรัม และ  $8.62 \pm 1.73$  กรัม มีความยาว  $9.94 \pm 1.96$  เซนติเมตร และ  $9.56 \pm 1.27$  เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งค่าทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (ตารางที่ 4.4) ตลอดช่วงระยะเวลาการเลี้ยงพบว่า มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.70-8.20 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในช่วง 4.60-6.50 มิลลิกรัมต่อลิตร และอุณหภูมิอยู่ในช่วง 27.00-28.00 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าคุณสมบัติน้ำที่วัดได้ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองอยู่ในช่วงที่เหมาะสมและไม่มีผลต่อการดำรงชีวิตในปลานิลแสดงให้เห็นว่า การฝังอาร์เอฟไอคือแท็กไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตในกุ้งก้ามกราม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Navarro *et al.* (2006) ที่ทำการทดลองติดแท็กชนิด PIT tag เป็นแคปซูลแก้วขนาดประมาณ 10x2 มิลลิเมตร ในปลา gilthead seabream (*Sparus auratus L.*) พบว่าแท็กไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตในปลา gilthead seabream (*Sparus auratus L.*) ซึ่งต่างจากการศึกษาของ Dubula *et al.* (2005) ที่ทดลองฝังแท็กชนิด Plastic T-bar anchor tags ความยาว 50 มิลลิเมตร ในกุ้ง rock lobster (*Jasus lalandii*) พบว่าการฝังแท็กในช่วง pre-moult ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตในทางลบ

ตารางที่ 4.4 น้ำหนักและความยาวของกึ่งก้ามกรามที่ฝังแท็ก และกลุ่มควบคุม

สัปดาห์ที่	น้ำหนัก (กรัม)		ความยาว (เซนติเมตร)	
	กลุ่มที่ฝังแท็ก	กลุ่มควบคุม	กลุ่มที่ฝังแท็ก	กลุ่มควบคุม
0	4.58±1.03 <sup>a</sup>	4.22±0.50 <sup>a</sup>	7.26±0.511 <sup>a</sup>	6.94±0.50 <sup>a</sup>
2	5.37±1.09 <sup>a</sup>	4.86±1.01 <sup>a</sup>	7.73±0.65 <sup>a</sup>	7.24±0.16 <sup>a</sup>
4	8.82±1.73 <sup>a</sup>	8.62±1.73 <sup>a</sup>	9.94±1.96 <sup>a</sup>	9.56±1.27 <sup>a</sup>

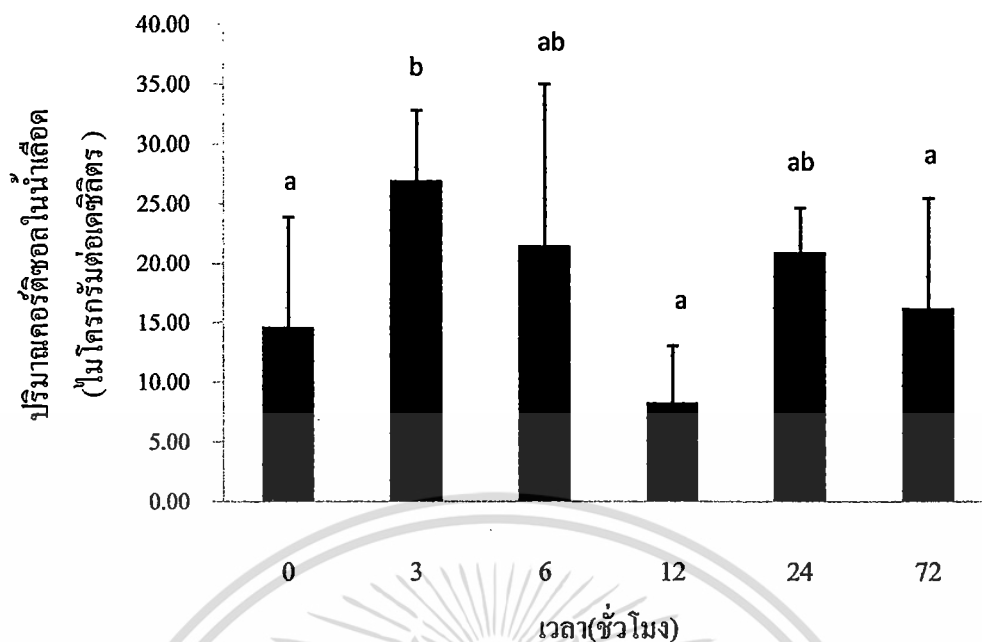
\*อักษรที่ต่างกัน ในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

### 4.3 ผลของการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กต่อความเครียดในปลาอุกอุกผสม ปลานิล และ กึ่งก้ามกราม

#### 4.3.1 การตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลาอุก และปลานิล

##### 4.3.1.1 การตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลาอุก

ปลาอุกอุกผสมความยาว 13.60±0.87 เซนติเมตร หลังการฝังแท็กนาน 3 ชั่วโมง พบว่าปริมาณคอร์ติซอลมีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่าที่กลุ่มควบคุม (ก่อนการฝังแท็ก) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 27.00±5.85 และ 14.67±9.26 ไมโครกรัมต่อเซซีลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณคอร์ติซอลเริ่มลดลงและมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมตั้งแต่ 6 ชั่วโมงจนถึงสุดการทดลองที่ 72 ชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม (P > 0.05) (ดังภาพที่ 4.22) และพบว่าระดับของฮอร์โมนคอร์ติซอลในการทดลองนี้มีค่าใกล้เคียงกับของปลาอุกอุกผสม (*Clarias gariepinus* Burchell x *C. macrocephalus* Gunther) ที่มีรายงานก่อนหน้านี้ในสภาวะปกติอยู่ในช่วงประมาณ 13-15 ไมโครกรัมต่อเซซีลิตร (Koeypudsa *et al.*, 2006)



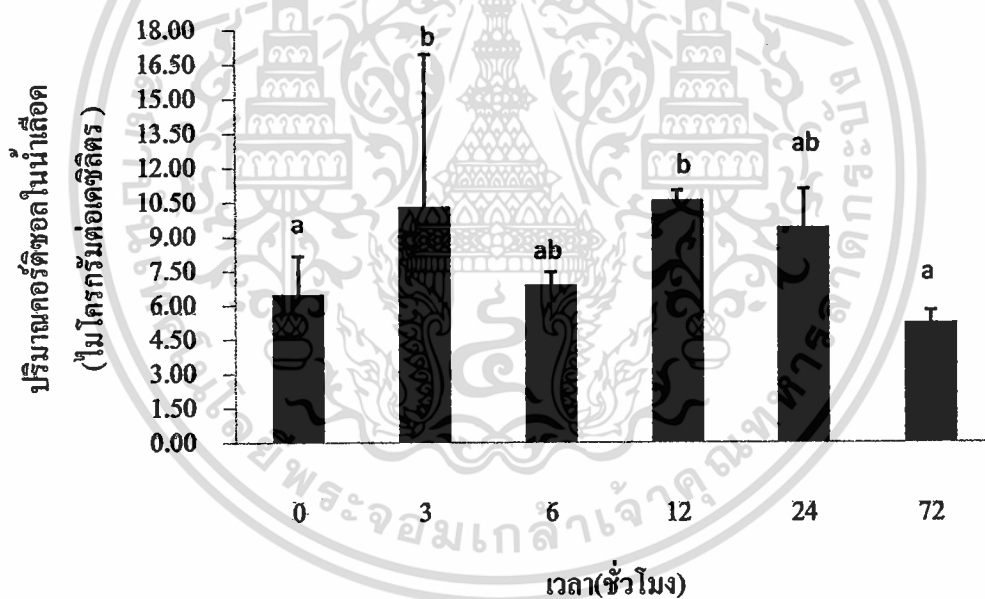
ภาพที่ 4.22 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ในปลาดุกหลังการฟึ่งแช่ก ที่เวลาต่างๆ

#### 4.3.1.2 การตอบสนองของฮอร์โมนคลอโรฟิลล์ในปลานิล

ปลานิลความยาว  $29.90 \pm 3.42$  เซนติเมตร หลังการฟึ่งแช่กนาน 3 ชั่วโมง พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์มีค่าเพิ่มขึ้นสูงกลุ่มควบคุม (ก่อนการฟึ่งแช่ก) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $10.30 \pm 6.64$  และ  $6.47 \pm 1.68$  ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ และที่เวลา 6 ชั่วโมง ปริมาณคลอโรฟิลล์ ลดลงมีค่าใกล้เคียงกลุ่มควบคุมและเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งที่เวลา 12 ชั่วโมง มีค่า  $6.90 \pm 0.56$  และ  $10.60 \pm 0.42$  ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ จากนั้นลดลงที่เวลา 24 และ 72 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามแม้ว่าหลังจาก 6 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนขึ้นลงบ้างแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) กับระดับก่อนการฟึ่งแช่ก (ภาพที่ 4.23) และพบว่าระดับของฮอร์โมนคลอโรฟิลล์ในปลานิลที่มีรายงานก่อนหน้านี้ในสภาวะปกติอยู่ในช่วงประมาณ 4-8 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร เช่นเดียวกัน (Barreto and Volpato, 2006; Papoutsoglou *et al.*, 2001) ซึ่งค่าสอดคล้องกับผลทดลองนี้ในกลุ่มควบคุม

จากผลการทดลองของการฟึ่งอาร์เอฟไอดีแท้ต่อการตอบสนองของฮอร์โมนคลอโรฟิลล์ทั้งในปลาดุกลูกผสมและปลานิล แสดงให้เห็นว่าการฟึ่งแช่กมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์เฉพาะในช่วงแรกคือที่ 3 ชั่วโมง และไม่เกิน 24 ชั่วโมง หลังการ

ฝังกแท็ก ซึ่งแสดงว่าการฝังกแท็กทำให้เกิดความเครียดแบบเฉียบพลันซึ่ง Iwama *et al.* (1997) แนะนำว่าความเครียดในปลาช่วงการตอบสนองขั้นปฐมภูมิ (primary response) จะมีการตอบสนองของฮอร์โมนเรียกว่า adrenergic response ซึ่งพบว่ามีผลให้ฮอร์โมนคอร์ติซอลในเลือดเพิ่มขึ้นซึ่งฮอร์โมนดังกล่าวมีความสำคัญต่อการตอบสนองความเครียด โดยทำให้น้ำตาลในเลือดสูงขึ้นเนื่องจากการสลายไกลโคเจนในตับ โดยกระบวนการ gluconeogenesis ทำให้เซลล์สามารถสร้างพลังงานมาใช้ในกิจกรรมต่างๆ ในยามฉุกเฉินการตอบสนองดังกล่าวนี้เกิดจากกระบวนการ hypothalamo-pituitary-interrenal (HPI) response โดยเมื่อปลาได้รับความเครียดมีฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องคือ corticotrophin-releasing hormone หรือ CRH ที่หลั่งออกมากระตุ้นต่อมใต้สมอง (pituitary) ส่งผลให้เกิดการหลั่ง ACTH ไปกระตุ้นไตบริเวณ interrenal tissue และหลั่ง corticosteroid ออกมา



ภาพที่ 4.23 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคอร์ติซอลในปลานิลหลังการฝังกแท็ก ที่เวลาต่างๆ

ซึ่งในวิธีการฝังกแท็กนั้นจะประกอบด้วยการกักขังก่อนการฝังก การนำปลาขึ้นเหนือน้ำในช่วงที่ทำการฝังก และก่อให้เกิดบาดแผล กระบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดความเครียดได้ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Feldhaus (2006) ที่ทดลองฝังก PIT tag (ขนาด 11.5 x 2.1 มิลลิเมตร) ในปลา Redband Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss gairdneri*) พบว่าหลัง

การฝังแท็กส่งผลให้ปริมาณคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นที่เวลา 2 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการฝังแท็ก และได้สรุปว่าการฝัง PIT tag ในปลาชนิดนี้ ส่งผลให้เกิดการตอบสนองของคอร์ติซอลในระยะสั้นเท่านั้น (น้อยกว่า 24 ชั่วโมง) ซึ่งการตอบสนองระยะสั้นที่เกิดขึ้นนั้นน่าจะมีความเกี่ยวข้องกับวิธีการฝัง และการนำปลาขึ้นเหนือน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานผลของการจับปลาขึ้นเหนือน้ำต่อการตอบสนองความเครียดของฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลาหลายชนิดเช่น Fast *et al.* (2008) ได้ทดสอบความเครียดในปลา Atlantic salmon โดยการนำขึ้นบนอากาศเป็นเวลา 15 วินาที พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงขึ้นที่ 1 และ 3 ชั่วโมง หลังได้รับความเครียดและกลับสู่ระดับปกติใช้เวลา 6 ชั่วโมง นอกจากนี้ Martins *et al.* (2004) ทดสอบความเครียดในปลา *Oreochromis niloticus* โดยการจับด้วยสวิงและนำขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 30 วินาที พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นหลังได้รับความเครียด 60 นาที และกลับสู่ระดับปกติที่ 120 นาที จากการศึกษาของ Biller *et al.* (2008) ในปลา Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) โดยนำขึ้นเหนือน้ำเป็นเวลา 1 นาที พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มภายใน 15 นาที และกลับสู่ระดับเดิมที่ 48 ชั่วโมง กล่าวว่าการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลเป็นการตอบสนองทั่วไปเมื่อร่างกายได้รับความเครียดเพื่อปรับตัวให้อยู่ในสภาวะสมดุล (homeostasis) และ Tavares *et al.* (2001) ได้ศึกษาทดสอบความเครียดในปลา Tambaqui (*Colossoma macropomum*) โดยการจับเป็นเวลา 40 นาที พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นหลังได้รับความเครียดจากเดิมมีค่า  $182.1 \pm 47.7$  เพิ่มเป็น  $333.8 \pm 95.9$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Hur *et al.* (2006) พบว่าในปลา olive flounder ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังได้รับความเครียดแบบต่าง ๆ และมีค่าสูงที่สุดหลังการกักขังเท่ากับ  $25.5 \pm 4.4$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อทดสอบความเครียดในปลา coral trout โดยการจับและการขนส่ง พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงขึ้นที่ 15 นาที จนถึง 4 ชั่วโมง และลดลงที่ 72 ชั่วโมง

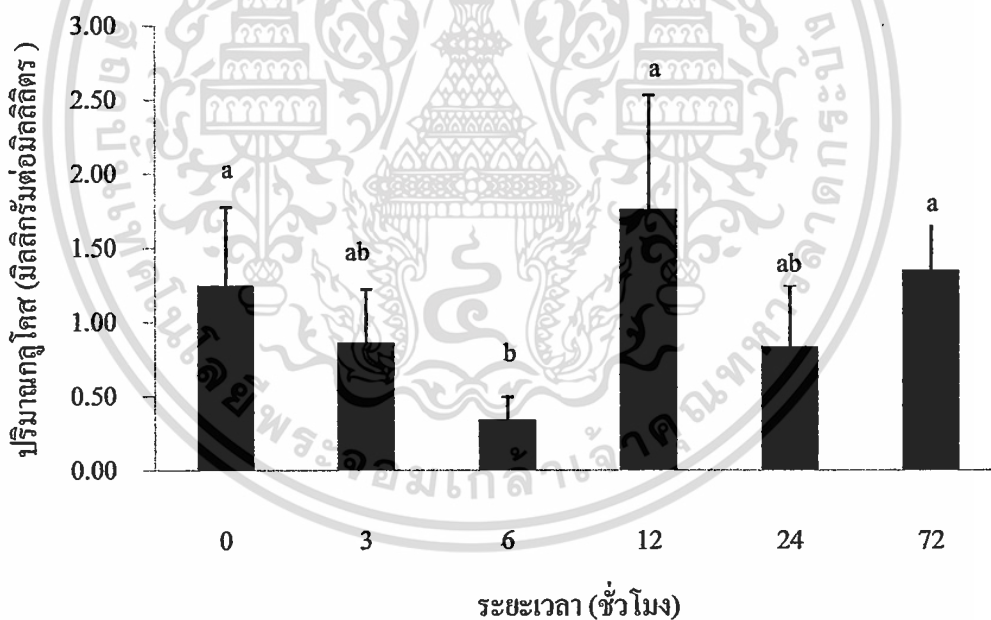
จากผลการทดลองการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กต่อการตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอล พบว่าค่าที่ได้มีความแปรปรวนสูงมากทั้งในปลานิลและในปลาดุก ซึ่งปลาแต่ละชนิดจะมีระดับของฮอร์โมนนี้แตกต่างกันออกไป ดังการทดลองของ Pottinger *et al.* (1999) ที่ทดลองใช้ฮอร์โมนคอร์ติซอลเป็นดัชนีชี้วัดความสามารถในการตอบสนองความเครียดในปลา rainbow trout เพศเมียเพื่อคัดเลือกปลาที่มีการตอบสนองดีและไม่ดี โดยการติดแท็กในปลาทุกตัว จำนวน 20 ตัว และให้ได้รับความเครียดจากการกักขังจากนั้นนำปลาทุกตัวมาวัดระดับคอร์ติซอลทุกเดือนเป็นเวลา 5 เดือนพบว่า ปลามีการตอบสนองที่แตกต่างกันมาก โดยค่าต่ำสุดและสูงสุดคือ 29.72 และ 159.22 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดลองนี้ทำให้ทราบถึงความแปรปรวนของ

การตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอล ถึงแม้ว่าจะเป็นปลาที่มีเพศ ขนาด และได้รับความเครียดเหมือนกัน แต่การตอบสนองนั้นอาจไม่เท่ากัน ซึ่งส่วนหนึ่งมีผลมาจากยีนส์

#### 4.3.2 ปริมาณกลูโคสในปลาอุก และปลานิล

##### 4.3.2.1 ปริมาณกลูโคสในปลาอุก

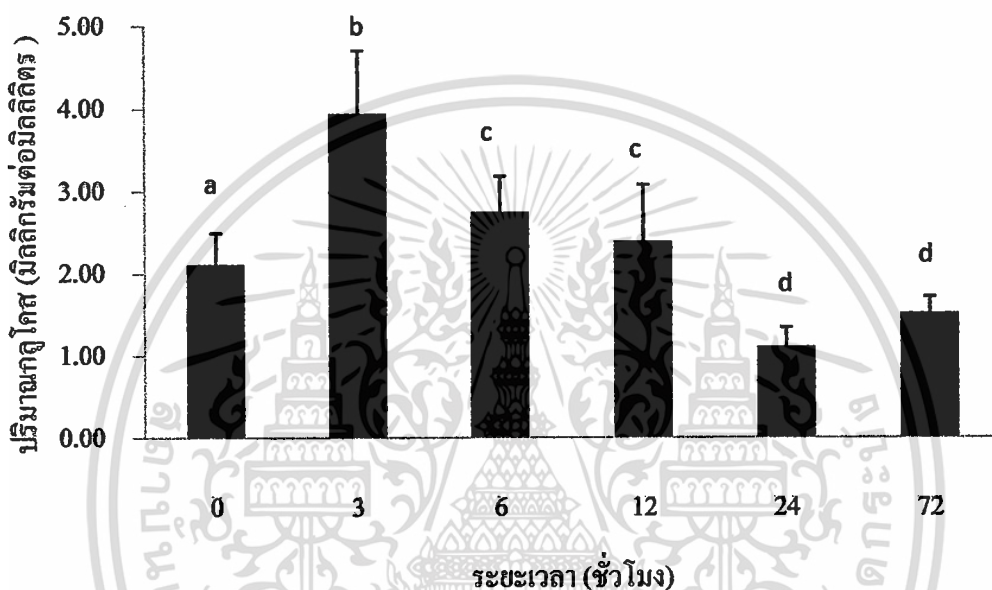
จากการทดลองฝังแท่งในปลาอุกพบว่ก่อนการฝังแท่ง (กลุ่มควบคุม) และหลังการฝังแท่งที่เวลา 3 6 12 24 และ 72 ชั่วโมง พบว่าระดับกลูโคสในน้ำเลือดลดลงในช่วง 6 ชั่วโมงแรกหลังการฝังและเพิ่มสูงขึ้นภายหลังจาก 12 ชั่วโมง โดยมีค่าเท่ากับ  $1.25 \pm 0.52$   $0.86 \pm 0.35$   $0.34 \pm 0.15$   $1.76 \pm 0.77$   $0.84 \pm 0.41$  และ  $1.35 \pm 0.31$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่เวลา 6 ชั่วโมงหลังการฝังแท่งระดับกลูโคสลดลงต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับช่วงเวลาอื่นๆ (ภาพที่ 4.24)



ภาพที่ 4.24 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสในน้ำเลือดปลาอุกหลังการฝังแท่งและกลุ่มควบคุม

#### 4.3.2.2 ปริมาณเกลือโคสในปลาชนิด

จากการทดลองฟุ้งแช่ในปลาชนิดพบว่าก่อนการฟุ้งแช่ (กลุ่มควบคุม) และหลังการฟุ้งแช่ที่เวลา 3 6 12 24 และ 72 ชั่วโมง มีระดับเกลือโคสในน้ำเลือดเท่ากับ  $2.11 \pm 0.38$   $3.94 \pm 0.76$   $2.74 \pm 0.43$   $2.39 \pm 0.08$   $1.10 \pm 0.23$  และ  $1.51 \pm 0.20$  มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.25) โดยที่เวลา 3 ชั่วโมง หลังการฟุ้งแช่ที่ระดับเกลือโคสเพิ่มขึ้นมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) จากนั้นเปลี่ยนแปลงลดลงจนถึงเวลา 72 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.25 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือโคสในน้ำเลือดปลาชนิดหลังการฟุ้งแช่และกลุ่มควบคุม

จากการทดลองฟุ้งแช่ในปลาชนิดพบว่าปริมาณเกลือโคสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ในช่วงเวลา 72 ชั่วโมง ตลอดการทดลองหลังการฟุ้งแช่ เว้นแต่ที่เวลา 6 ชั่วโมง ที่ปริมาณเกลือโคสลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งยังคงอยู่ในระดับที่ปกติจากการทดลองที่ผ่านมาในปลา channel catfish ในสภาวะปกติซึ่งมีปริมาณเกลือโคสในช่วง 0.5-0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Small, 2004; Davis *et al.*, 2002) นอกจากนี้มีรายงานว่าปลาชนิดในสภาวะปกติมีปริมาณเกลือโคสประมาณ 0.57-1.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (วีณา เกษพุดชา และคณะ 2550) นอกจากนี้จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่าปริมาณเกลือโคสในเลือดปลาชนิดที่ระดับปกติมีค่าประมาณ 0.94-0.96 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (น้ำหนักเฉลี่ย  $67.36 \pm 17.68$  กรัม) (Karsi *et al.*, 2005) หรือ 99.1 มิลลิโมลต่อลิตร (น้ำหนักเฉลี่ย  $35.2 \pm 1.08$  กรัม) (Delaney and Klesius, 2004)

เมื่อเทียบกับการทดลองนี้ ซึ่งมีค่ากลูโคสในน้ำเลือดมากกว่าอยู่ในช่วง 1.10 - 3.94 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อาจเนื่องจากเป็นปลาชนิดที่มีขนาดใหญ่กว่า ( $472.65 \pm 176.80$  กรัม)

การลดลงของปริมาณกลูโคสที่พบทั้งในปลาอุกและปลานิล จากการทดลองนี้ สามารถเกิดขึ้นได้ภายใต้สภาวะเครียดซึ่งสอดคล้องกับ Porchas *et al.* (2009) ที่แนะนำว่าการตอบสนองของปริมาณกลูโคสที่น้อยหรือการลดลงหลังได้รับความเครียด เกิดได้จากปลามีการใช้พลังงานมากและรวดเร็วไปกับการรักษาสภาวะร่างกายให้อยู่สภาพปกติ และปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงคือ การเคลื่อนที่ของปลา (เช่น การว่ายน้ำ) ในขณะที่ทำการทดลอง ซึ่งมีผลกับการใช้พลังงานเช่นเดียวกันและพบได้ในการทดลองนี้โดยพฤติกรรมของปลาอุกภายหลังการฟุ้งแท็กนั้นมีการว่ายน้ำไปมามากกว่าปกติ นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของความเครียดของปริมาณกลูโคสนั้นยังขึ้นอยู่กับ อาหารที่ได้รับ ช่วงอายุของสัตว์ และ ฤดูกาล เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อปริมาณการสะสมของไกลโคเจนในตับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับปริมาณกลูโคสที่ถูกสลายออกมาจากตับเมื่อมีการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล และแคทีโคลามีน เป็นไปได้ว่าในปลาขนาดใหญ่ น่าจะมีการสะสมไกลโคเจนมากกว่าในปลาขนาดเล็ก นอกจากนี้ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณกลูโคสขึ้นอยู่กับปริมาณการหลั่งของฮอร์โมนคอร์ติซอล และฮอร์โมนแคทีโคลามีนด้วย อย่างไรก็ตามการตอบสนองของปริมาณกลูโคสทั้งในปลาอุกและปลานิลยังคงอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับที่รายงานไว้

จากผลการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลและกลูโคสภายหลังการฟุ้งแท็กในปลาอุกและปลานิล แสดงให้เห็นว่าความเครียดที่ได้รับจากการฟุ้งเกิดขึ้นในระยะสั้น และมีความรุนแรงน้อยทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกลูโคสเพียงเล็กน้อย และเกิดขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง เท่านั้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของระดับกลูโคสในน้ำเลือดนั้นสามารถเป็นดัชนีชี้วัดความเครียดได้เช่นกัน โดยการหลั่งกลูโคสนั้นเกิดจากการทำงานของฮอร์โมน 2 ชนิด ได้แก่ ฮอร์โมนคอร์ติซอล ที่ทำให้เกิดกระบวนการ gluconeogenesis ทำให้เกิดการสลายกลูโคส และหลั่งออกมาทางระบบหมุนเวียน ในขณะที่ฮอร์โมนแคทีโคลามีนจะหลั่งออกมาทำให้เกิดกระบวนการ phosphorylation ของเอนไซม์ glycogen phosphorylase ส่งผลให้เกิดกระบวนการ glycogenolysis และหลั่งกลูโคสออกมาในระบบหมุนเวียนเลือด เพื่อใช้ในกิจกรรมของเซลล์ในขณะที่ได้รับความเครียดแบบเฉียบพลัน (Porchas *et al.*, 2009; Hoffmayer and Parsons, 2001) นอกจากนี้ Frisch and Anderson (2000) กล่าวว่าภาวะกลูโคสในเลือดสูง (hyperglycaemia) เป็นลักษณะที่เกิดขึ้นบ่อยครั้งในปลาเมื่อได้รับความเครียด โดยพบได้ภายใน 15 นาที จากการจับจากธรรมชาติ และ Kubulay and Uluky (2002) กล่าวว่าภาวะระดับกลูโคสในเลือดนั้นง่ายมีราคาถูก จึงเหมาะสมใช้วัดการตอบสนองความเครียดขั้นทุติยภูมิ (secondary response)

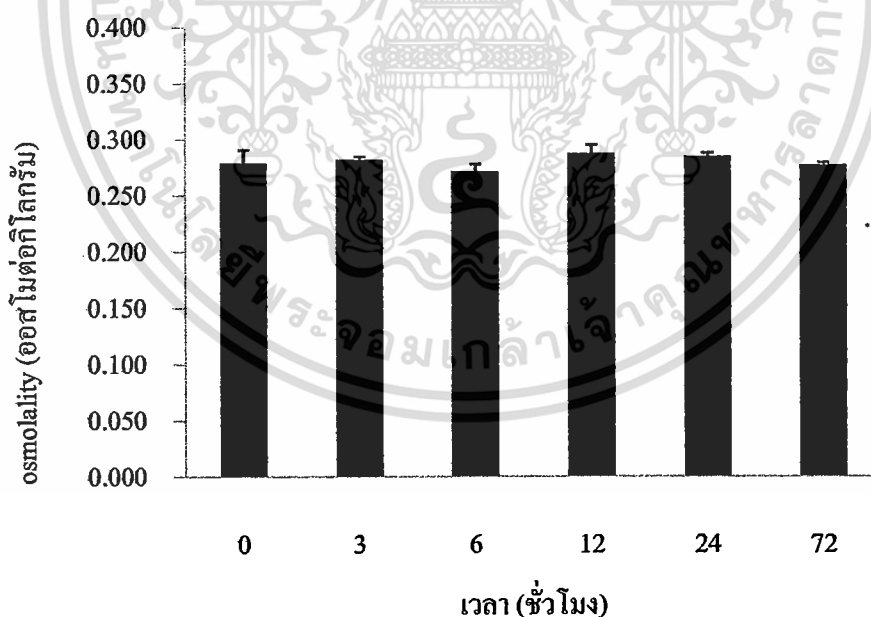
### 4.3.3 ค่า osmolality ในปลาอุกและ ปลานิล

#### 4.3.3.1 ค่า osmolality ในปลาอุก

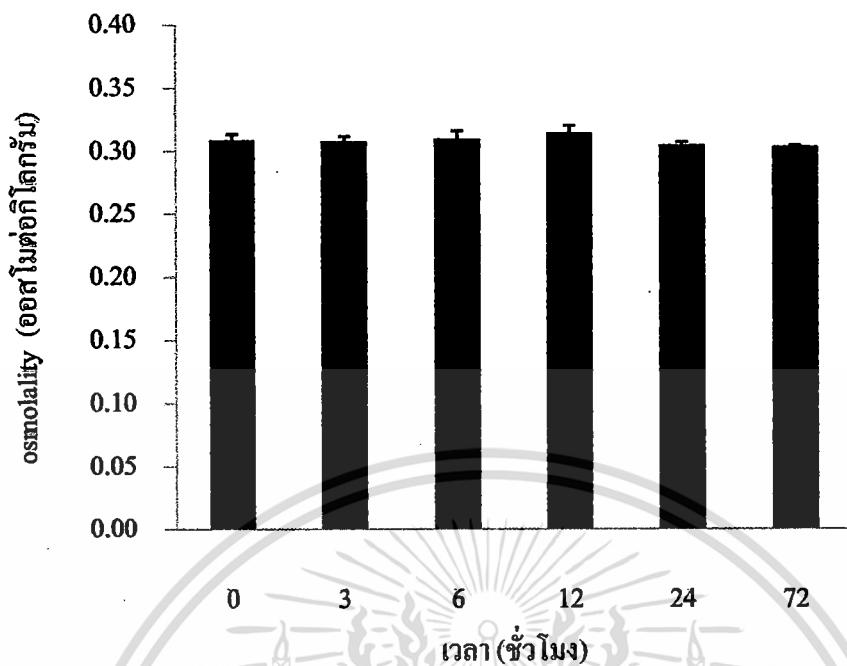
จากการทดลองฝังแท็กในปลาอุกพบว่าก่อนการฝังแท็ก (กลุ่มควบคุม) และหลังการฝังแท็กที่เวลา 3 6 12 24 และ 72 ชั่วโมง ค่า osmolality มีค่าเท่ากับ  $0.279 \pm 0.012$   $0.283 \pm 0.003$   $0.272 \pm 0.007$   $0.288 \pm 0.008$   $0.286 \pm 0.003$  และ  $0.278 \pm 0.002$  ออสโมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ตลอดช่วงเวลา หลังการฝังแท็ก (ภาพที่ 4.26)

#### 4.3.3.2 ค่า osmolality ในปลานิล

จากการทดลองฝังแท็กในปลาอุกพบว่าก่อนการฝังแท็ก(กลุ่มควบคุม)และ หลังการฝังแท็กที่เวลา 3 6 12 24 และ 72 ชั่วโมง ค่า osmolality มีค่าเท่ากับ  $0.309 \pm 0.004$   $0.308 \pm 0.004$   $0.310 \pm 0.006$   $0.315 \pm 0.006$   $0.305 \pm 0.002$  และ  $0.304 \pm 0.001$  ออสโมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ตลอดช่วงเวลา หลังการฝังแท็ก (ภาพที่ 4.27)



ภาพที่ 4.26 ค่า osmolality ในเลือดปลาอุกหลังการฝังแท็กและกลุ่มควบคุม

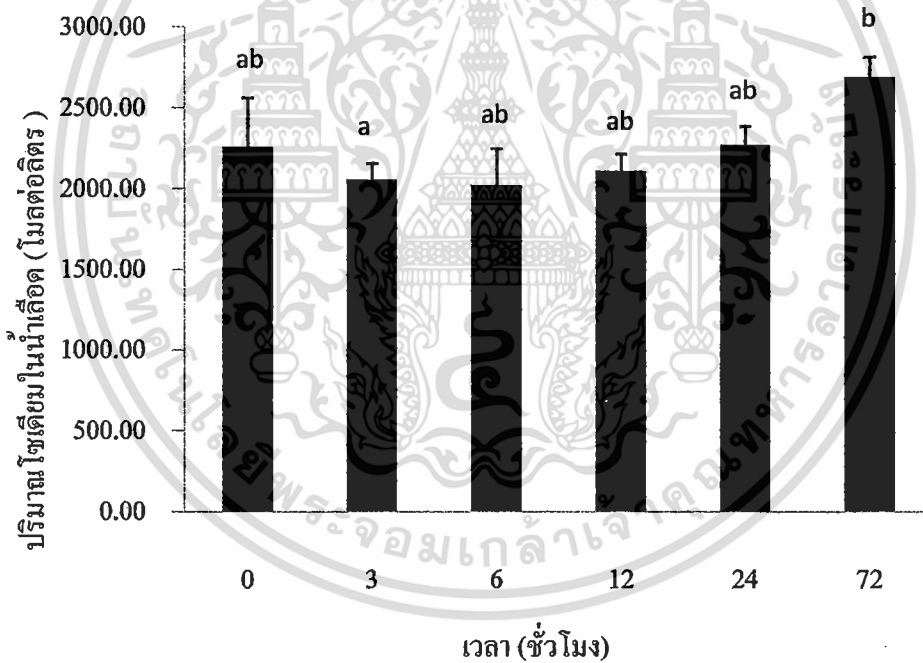


ภาพที่ 4.27 ค่า osmolality ในเลือดปลาหลังการฝังแท็กและกลุ่มควบคุม

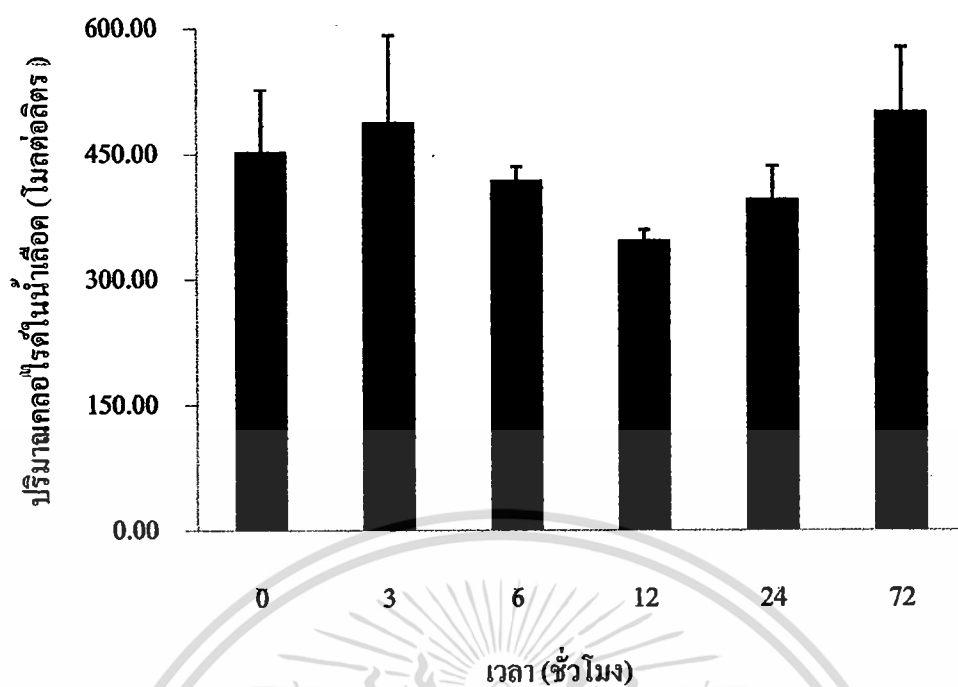
จากการทดลองฝังแท็กในปลาและปลานิลทั้งในกลุ่มที่ได้รับการฝังแท็กและในกลุ่มควบคุม พบว่าเลือดมีค่า osmolality อยู่ในช่วง 0.271 - 0.288 และ 0.304 - 0.315 ออสโมต่อกิโลกรัม ซึ่งสอดคล้องกับ Varsamos *et al.* (2005) ที่กล่าวว่าในปลากระดุกแข็งที่โตเต็มวัยจะต้องรักษาระดับ osmolality ในเลือดที่ 0.300 ออสโมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นระดับที่ปกติ แสดงให้เห็นว่าการฝังอาร์เอฟไอดีแท็กไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมดุลไอออนภายในร่างกาย อาจเนื่องมาจากความเครียดที่ได้รับเป็นความเครียดระยะสั้นและมีความรุนแรงน้อยมาก จึงไม่รบกวนสมดุลไอออน ซึ่ง Iwama *et al.* (1997) กล่าวว่าความเครียดนั้นมีผลต่อสมดุลคลอไรด์และโซเดียมไอออนในน้ำเลือดได้เช่นกัน โดยกล่าวว่าปริมาณคลอไรด์ในน้ำเลือดจะต่ำ เมื่อได้รับความเครียดซึ่งถ้าต่ำกว่า 0.09 โมลต่อลิตร จะมีอันตรายถึงชีวิตเนื่องจากความเครียดทำให้มีการหลั่งฮอร์โมนแคทีโคลามีนทำให้เหงือกเปิดพื้นที่ในการแลกเปลี่ยนก๊าซมากขึ้น ทำให้โซเดียมออกสู่ภายนอกได้มากขึ้น จึงส่งผลให้โซเดียมในร่างกายลดลง และทำให้ค่า osmolality ลดต่ำลงด้วย (Biller *et al.*, 2008) จะเห็นได้ว่าความเครียดนั้นสามารถเป็นเหตุ การตายของสัตว์น้ำได้ซึ่งไม่พบในการศึกษานี้

#### 4.3.4 ปริมาณไอออนในเลือดของกึ่งก้ามกราม

กึ่งก้ามกรามน้ำหนักเฉลี่ย  $30.59 \pm 8.73$  กรัม ที่ก่อนได้รับการฟุ้งแห้งและภายหลังการฟุ้งแห้งเป็นเวลา 3 6 12 24 และ 72 ชั่วโมง มีปริมาณโซเดียมในน้ำเลือดเท่ากับ  $2263.04 \pm 302.63$   $2026.60 \pm 16.12$   $2114.80 \pm 12.00$   $2275.40 \pm 38.85$  และ  $2694.27 \pm 76.14$  โมลต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.28) และมีปริมาณคลอไรด์ในน้ำเลือดเท่ากับ  $2263.04 \pm 302.63$   $2061.07 \pm 100.25$   $2026.60 \pm 226.56$   $2114.80 \pm 106.03$   $2275.40 \pm 114.28$  และ  $2694.27 \pm 126.24$  โมลต่อลิตร (ภาพที่ 4.29) โดยปริมาณโซเดียมในน้ำเลือดลดลงที่เวลา 3 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เวลา 6 ชั่วโมงจนถึง 72 ชั่วโมง หลังการฟุ้งแห้ง ในขณะที่มีปริมาณคลอไรด์ในน้ำเลือดลดลงต่ำสุดที่เวลา 12 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามค่าการเปลี่ยนแปลงนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ตลอดการทดลอง



ภาพที่ 4.28 ปริมาณพลาสมาโซเดียมในกึ่งก้ามกรามหลังการฟุ้งแห้งที่เวลา ต่าง ๆ



ภาพที่ 4.29 ปริมาณพลาสมากลอไครต์ในกึ่งก้ามกรามหลังการฝังแท็กที่เวลาต่างๆ

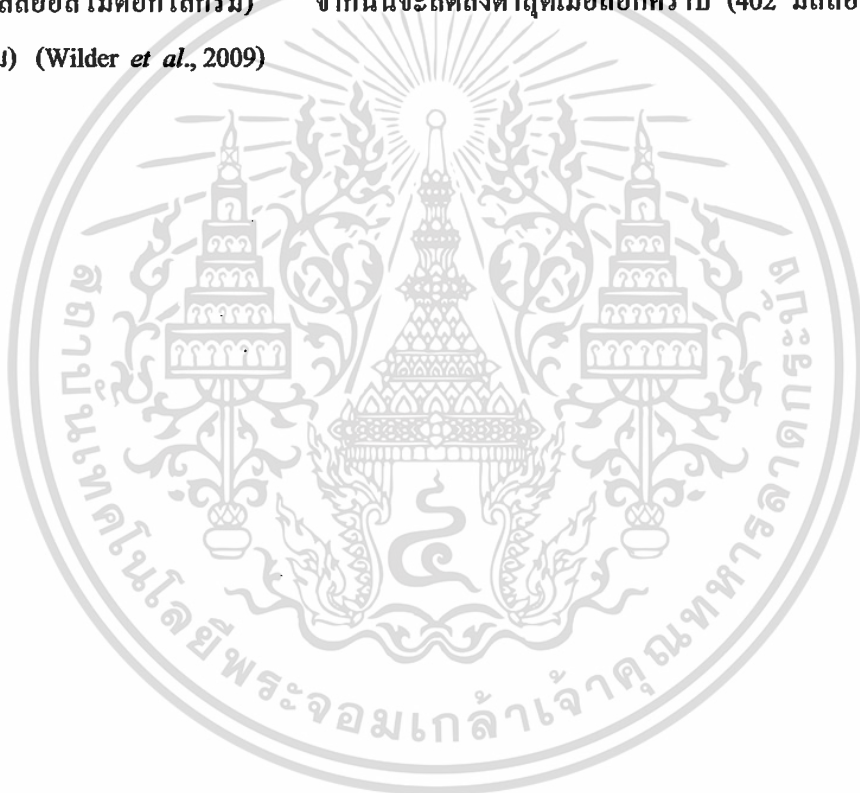
จากผลการทดลองนี้พบว่า การฝังแท็กไม่มีผลในการรบกวนสมดุลแร่ธาตุของกึ่งก้ามกราม โดย Iwama *et al.* (1997) กล่าวว่า ความเครียดมีผลต่อสมดุลไอออน โดยเฉพาะนิยมนวัดปริมาณกลอไครต์ และ โซเดียมในน้ำเลือด ซึ่งพบว่าปริมาณกลอไครต์ในน้ำเลือดจะต่ำลงเมื่อได้รับความเครียดและไม่พบในการทดลองนี้

กึ่งก้ามกรามจัดอยู่ในกลุ่ม Crustacea ซึ่งเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง การตอบสนองต่อความเครียดจึงแตกต่างจากสัตว์มีกระดูกสันหลัง กึ่งไม่มีก้ามหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลเหมือนกับสัตว์มีกระดูกสันหลังเนื่องจากมีวิวัฒนาการต่ำกว่า การตอบสนองความเครียดในสัตว์กลุ่มนี้จะเป็นการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลในเลือด โดยเฉพาะสถานะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) ซึ่งเกิดขึ้นในสัตว์น้ำหลายชนิด รวมทั้งสัตว์ในกลุ่ม crustaceans ด้วย สัตว์กลุ่มนี้เมื่อได้รับความเครียดจะมีการตอบสนองของฮอร์โมน crustacean hyperglycemic hormone (CHH) มีผลทำให้กลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้น (Lorenzon, 2005) โดยฮอร์โมน CHH สังเคราะห์มาจาก medulla terminalis X-organ ที่บริเวณก้านตา และขนส่งไปยัง sinus gland ซึ่งเป็นแหล่งเก็บ CHH และจะหลั่งออกมาภายหลังเมื่อถูกกระตุ้นจากความเครียดเรียกเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่ในการหลั่ง

ฮอร์โมนว่า neuroendocrine tissues (Reddy and Sainath, 2009) ซึ่งในการทดลองนี้ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ฮอร์โมนชนิดนี้เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายสูง

นอกจากการวัดความเครียดจากฮอร์โมน CHH และปริมาณกลูโคสในเลือดแล้วยังสามารถวัดความเครียดได้จากการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของสัตว์ เช่น Bromberg *et al.* (1995) ได้ทดลองเปลี่ยนแปลงความเค็มและใช้การเปลี่ยนแปลงของไอออนในเลือดปู (*Chasmagnathus granulata*) เป็นตัวชี้วัด การตอบสนองทางสรีระที่เกิดขึ้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม

นอกจากนี้ยังมีอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงไอออนในเลือดกุ้งก้ามกราม คือ ระยะเวลาลอกคราบ พบว่าหลังการลอกคราบหรือในสภาวะปกติจะมีค่า osmolality เท่ากับ 420 มิลลิออสโมต่อกิโลกรัม และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนสูงสุดที่ระยะกลางก่อนการลอกคราบ (500 มิลลิออสโมต่อกิโลกรัม) จากนั้นจะลดลงต่ำสุดเมื่อลอกคราบ (402 มิลลิออสโมต่อกิโลกรัม) (Wilder *et al.*, 2009)



## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุป

การฝังอาร์เอฟไอดีแท็กในปลาคุณลักษณะและปลานิลที่มีขนาดและฝังในตำแหน่งที่แตกต่างกันนั้น พบว่า ผลภายนอกของปลาทั้งสองชนิดนั้นหายภายในสัปดาห์แรก และการสมานแผลภายในสมานเสร็จสมบูรณ์ภายใน 21 วัน ซึ่งตำแหน่งการฝังที่เหมาะสมที่สุดคือกล้ามเนื้อบริเวณกลางโคนครีบหลัง เนื่องจากเป็นส่วนที่มีกล้ามเนื้อมาก ซึ่งในปลานิลขนาดเล็กมีการสมานแผลภายในหายเร็วกว่าปลานิลขนาดกลางและขนาดใหญ่ ในขณะที่ปลาคุณใช้ระยะเวลาสมานแผลเท่ากันทุกขนาด โดยข้อควรระวังในการฝังแท็ก คือ ควรฝังให้เลยชั้น dermis เข้าไปถึงกล้ามเนื้อ ในแนวขนานกับมัดกล้ามเนื้อ และควรระมัดระวังไม่ฝังแท็กชิดกระดูก เพราะจะทำให้แผลหายช้า

ในขณะที่การฝังแท็กในกุ้งก้ามกรามที่ขนาดและตำแหน่งแตกต่างกัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของบาดแผลภายในจะหายช้ากว่าในปลานิลและปลา ซึ่งพบว่ามีเพียงกุ้งบางส่วนสามารถสมานแผลได้เสร็จสิ้นภายใน 45 วัน หลังการฝังแท็ก โดยตำแหน่งการฝังที่เหมาะสมที่สุดคือกล้ามเนื้อด้านข้างตัวก่อนมาทางด้านท้ายลำตัว รอยต่อระหว่างปล้องที่ 2 กับ 3

สามารถใช้อาร์เอฟไอดีแท็กในการติดตามรายตัวในกุ้งก้ามกราม ปลานิล และปลาคุณได้ เนื่องจากสัตว์น้ำที่ได้รับการฝังแท็กนั้นเติบโต ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการฝังแท็ก และขนาดของสัตว์น้ำที่ใช้ศึกษาครั้งนี้ไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดตาย แต่ขึ้นอยู่กับความชำนาญของผู้ฝังแท็กและการดูแลสัตว์น้ำหลังการฝังแท็ก

การฝังแท็กมีผลสร้างความเครียดในระยะสั้นต่อสัตว์น้ำทั้ง 3 ชนิด ซึ่งถือว่าการตอบสนองดังกล่าวเป็นการเกิดความเครียดแบบเฉียบพลัน โดยความเครียด ไม่มีส่งผลกระทบต่ออัตราการเติบโต ดังนั้นจากการศึกษานี้จึงพบว่าสามารถประยุกต์ใช้อาร์เอฟไอดีแท็กในกิจกรรมการทดลองหรือการพัฒนาปรับปรุงพ่อแม่พันธุ์สัตว์น้ำต่อไปได้

## 5.2 ข้อเสนอนี้

จากข้อมูลการสมานแผลที่ได้จึงควรพักปลาทดลองที่ได้รับการฝังแท็กในน้ำที่สะอาดเป็นเวลาอย่างน้อย 21 วัน สำหรับในกุ้งนั้นควรพักอย่างน้อย 45 วัน เพื่อให้สัตว์มีการสมานแผลเสร็จสมบูรณ์และป้องกันการติดเชื้อ ก่อนที่จะนำสัตว์ที่ได้รับการฝังแท็กไปใช้ศึกษาหรือทดลองต่อไป

ซึ่งเทคนิคการฝังแท็กในปลาคุณและปลานิล คือระยะเวลาตั้งแต่นำปลาขึ้นเหนือน้ำจนฝังเสร็จควรใช้เวลาไม่เกิน 2 นาที การดูแลรักษาหลังการฝังควรนำปลามาพักไว้ในถังน้ำที่สะอาดให้ออกซิเจนตลอดเวลา เปลี่ยนน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ทุกๆ 2 วัน รวมทั้งเค็มเกลือ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และล้างทับทิมความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สลับกันไปในแต่ละวัน ในช่วง 3 วันแรกเพื่อป้องกันการติดเชื้อ ส่วนการฝังแท็กในกุ้งก้ามกราม หลังจากฝังแท็กแล้ว ควรแยกเลี้ยงแต่ละตัว เพื่อหลีกเลี่ยงการกินกันเองในช่วงลอกคราบ หลังการฝังไม่ควรเปลี่ยนถ่ายน้ำในสัปดาห์แรกเพื่อป้องกันการลอกคราบและกินกันเอง

การนำเทคโนโลยีอาร์เอฟไอดีมาประยุกต์ใช้สำหรับระบบการจดทะเบียนพ่อ-แม่พันธุ์สัตว์น้ำ จะช่วยควบคุมคุณภาพของการผลิตลูกพันธุ์ และสามารถคัดแยกสัตว์น้ำด้วยคุณภาพออกไปจากระบบการเพาะเลี้ยง และเป็นการลดความเสี่ยงของเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำลงในกรณีสัตว์น้ำสวยงามซึ่งมีมูลค่าการตลาดสูง ต้องการลูกพันธุ์ที่มีคุณสมบัติและลักษณะเด่นตรงตามความต้องการของตลาด สมควรศึกษาความเหมาะสมกับการนำระบบอาร์เอฟไอดีมาใช้ในการผลิตควบคู่กับการถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อให้ได้รับการยอมรับของทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้อง

## บรรณานุกรม

- อนุเทพ รังสีพิพัฒน์(ผู้รวบรวม). 2548. พยาธิวิทยาทั่วไปทางสัตวแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: หสน. ปอยท์ กราฟิค
- รุ่งตะวัน พนากุลชัยวิทย์ คุณิต เอื้ออำนวย ปวีณา ทวีกิจการ และ สรัญญา พันธุ์พฤษ. 2551. การใช้เทคโนโลยี RFID ในสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี: ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
- วีณา เกษพุดชา มาลินี กิดกำธร เกสร สะอู่ และ อัจฉริยา ไสละสูต. 2550. ผลของออกซิเจนละลายในน้ำต่ำระยะสั้น (DO 0 ppm, 3 ชั่วโมง) และ ออกซิเจนละลายในน้ำต่ำระยะยาว (DO 3-4 ppm, 90 วัน) ต่อค่าทางโลหิตวิทยาของปลาดุก. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์. 21(1) : 13-23.
- ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ และ กรมปศุสัตว์. 2549. รายงานการศึกษา แนวทางการกำหนดรหัสประจำตัวสัตว์ของประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ร่วมกับ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ. 2549. รู้จักกับเทคโนโลยีอาร์เอฟไอดี. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี: งานประชาสัมพันธ์ นิทรรศการและสิ่งพิมพ์ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.
- Agarval, C., Britton, Z. T., Alaseirli, D. A., LI, Y. and WANG, J. H. C. 2006. "Healing and Normal Fibroblasts Exhibit Differential Proliferation, Collagen Production,  $\alpha$ -SMA Expression, and Contraction". *Annals of Biomedical Engineering*. 34(4) : 653-659.
- Baras, E., Christell, M., Mare, H., Patrick, K. and Charles, M. 2000. "The effect of PIT tags on growth and physiology of age-0 cultured Eurasian perch *Perca fluviatilis* of variable size". *Aquaculture*. 185 : 159-173.

- Bauer, C. and Loupal, G. 2007. "Common carp tissue reactions to surgically implanted radio tags with external antennas". *Journal of Fish Biology*. 70 : 292-297.
- Barreto, R. E. and Volpato, G. L. 2006. "Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors". *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*: 1-8.
- Brill, R., Katherine, C. and Pierre, K. 1997. "Test of the feasibility and effects of long-term intramuscular implantation of archival in pelagic fish using scale model tags and captive juvenile Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*)". Southwest Fisheries Science Center. Administrative Report H-97-11.
- Biller, J. D., Bendhack, F., Takahashi, L. S. and Urbinati E. C. 2008. "Stress responses in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to repeated air exposure". *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 30 : 89-93.
- Bromberg, E., Santos, E. A. and Bianchini, A. 1995. "Osmotic and Ionic Regulation in *Chasmagnathus granulata* DANA, 1851 (Decapoda, Grapsidae) During Hyposmotic stress". *Nauplius Rio Grande*. 3 : 83-99.
- Buric, M., Kozák, P. and Vich, P. 2008. "Evaluation of different marking methods for spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*)". *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 389.
- Caceci, T., Smith, S. A., Toth, T. E. Duncan, R. B. and Walker, S. C. 1999. "Identification of individual prawns with implanted microchip transponders". *Aquaculture*. 18 : 41-51.
- Change, E. S., Change, S. A., Keller, R., Reddy, P. S., Snyder, M. J. and Spees, J. L. 1999. "Quantification of Stress in Lobsters: Crustacean Hyperglycemic Hormone, Stress Proteins, and Gene Expression". *American Zoologist*. 39 : 487-495.
- Cheng, W., Liu, C. H. and Kuo, C. M. 2003. "Effects of dissolved oxygen on hemolymph parameters of freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man)". *Aquaculture*. 220 : 843-856.

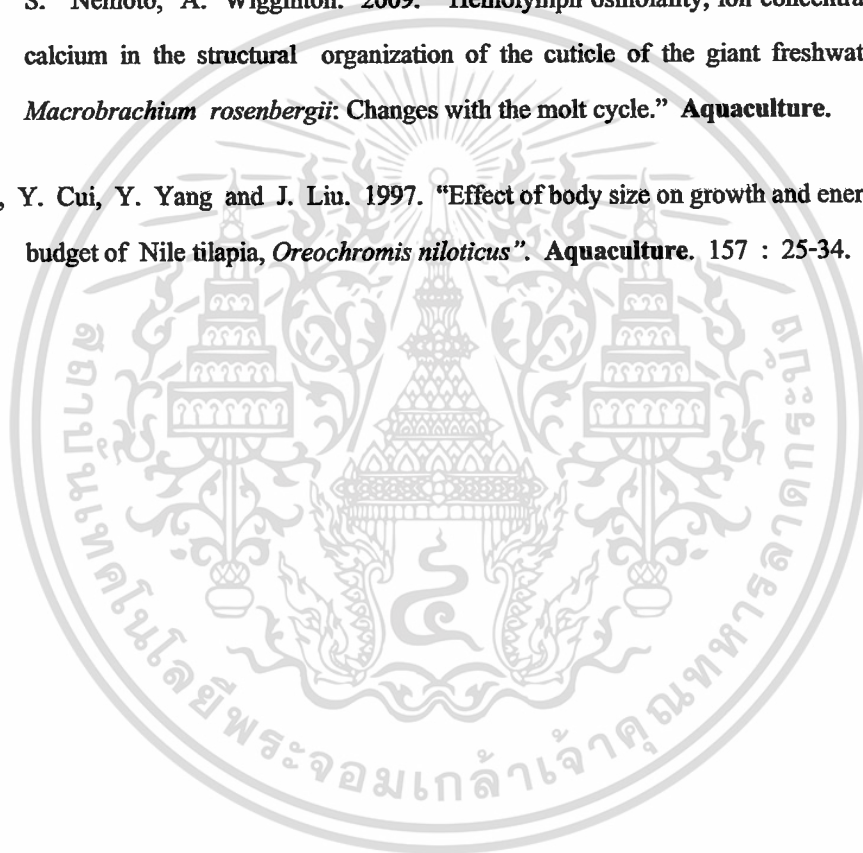
- Chinabut, S., C. Limsuwan and P. Kitsawat. 1991. **Histology of the Walking catfish, *Clarias batrachus***. Bangkok.
- Culling, C. F. A. 1974. **Handbook of Histological and Histochemical Techniques, (including museum technique) 3<sup>rd</sup> ed.** London: Butterworths.
- Davenport, J., Baras, E., Fabi, G. and Jonsson G. 1999. **"Concerted Action "Improvements of Tagging Methods for Stock Assessment and Research in Fisheries" (CATAG)". Final Report Fair. CT.96.1394 CATAG.**
- Davis, K. B., Griffin, B. R. and Gray, W. L. 2002. "Effect of handling stress on susceptibility of channel catfish *Ictalurus punctatus* to *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus infection". **Aquaculture**. 214 : 55-66.
- Delaney, M. A. and P. H. Klesius. 2004. "Hypoxic conditions induce Hsp70 production in blood, brain and head kidney of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.)." **Aquaculture**. 236 : 633-644.
- Dubula, O., Groeneveld, J. C., Santos, J., van Zyl, D. L., Brouwer, S. L., van den Heever N. and McCuea, S. A. 2005. "Effects of tag-related injuries and timing of tagging on growth of rock lobster, *Jasus lalandii*". **Fisheries Research**. 74 : 1-10.
- Fast, M. D., Hosoya, S., Johnson, S. C. and Afonso, L. O. B. 2008. "Cortisol response and immune-related effects of Atlantic salmon (*Salmo salar Linnaeus*) subjected to short- and long-term stress". **Fish & Shellfish Immunology**. 24 : 194-204.
- Feldhaus, J. W. 2006. "Heat Shock Proteins and Physiological Stress in Redband Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss gairdneri*) in the South Fork John Day River, Oregon." Master of Science Thesis of Oregon State University.
- Force, M. 2005. "Stress, Life, and Cortisol". **The Elements of Health** : 1-12.
- Floyd, R. F. 1990. **"Stress - Its Role in Fish Disease"**. Florida : University of Florida IFAS Extension.

- Frisch, A. J. and Anderson, T. A. 2000. "The response of coral trout (*Plectropomus leopardus*) to capture, handling and transport and shallow water stress". **Fish Physiology and Biochemistry**. 23 : 23-34.
- Hoffmayer, E. R. and Parsons, G. R. 2001. "The physiological response to capture and handling stress in the Atlantic sharpnose shark, *Rhizoprionodon terraenovae*". **Fish Physiology and Biochemistry**. 25 : 277-285.
- Hur, J. W., Park, I. S. and Chang, Y. J. 2006. "Physiological responses of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, to a series stress during the transportation process". **Ichthyological Research**. 54 : 32-37.
- Humason, G. L. 1979. **Animal tissue Techniques**. San Francisco: W. H. Freeman and Company.
- Hastein, T., Hill, B. J., Berthe, F. and Lightner, O. V. 2001. "Traceability of aquatic animals". **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**. 20 (2) : 564-583.
- Iwama, G. K., Afonso, L. O. B. and Vijayan, M. M. 2004. "Stress in Fish". **Aqua Net Workshop on Fish Welfare** : 1-9.
- Iwama, G. K., Pickering, A. D. Sumpter, J. P. and Schreck, C. B. 1997. **Fish Stress and Health in Aquaculture** : Cambridge. Cambridge University press.
- Karsi, A., H. Y. Yildiz and G. Tarih. 2005. "Secondary Stress Response of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, After Direct Transfer to Different Salinities." **Tarim Bilimleri Dergisi**. 11 (2) :139-141.
- Koeypudsa, W., Kitkamthorn, M. and Tangtrongpiros, J. 2006. "Impact of Acute Anoxia on Stress in Hybrid Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell x *C. macrocephalus* Gunther)". **Journal of Scientific Research of Chulalongkorn University**. 31(2) : 127-132.
- Kubulay, A. and Uluky G. L. 2002. "The Effects of Acute Stress on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)". **Turkish Journal of Zoology**. 26 : 249-254.

- Lorenzon, S. 2005. "Hyperglycemic stress response in Crustacea". **Invertebrate Survival Journal**. 2 : 132-141.
- Martins, M. L., Nomura, D. T., Myiazaki, D. M. Y., Pilarsky, F., Ribeiro, K., Castro, M. P. and Campos, C. F. M. 2004. "Physiological and haematological response of *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) exposed to single and consecutive stress of capture". **Acta Scientiarum Animal Sciences**. 26(4) : 449-456.
- Mckenzie, J., Diggles, B., Tubbs, L., Poortenaar, C., Parkinson, D., Webster, K. and Miller, N. 2006. "An evaluation of a new type of plastic coated PIT tag for tagging snapper (*Pagrus auratus*)". **New Zealand Fisheries Assesysment Report**. 8 : 1-39.
- Moser, L. M., Myers, M. S., Burke, B. J. and Neill, S. M. 2005. "Effects of surgically-implanted transmitters on survival and feeding behavior of adult English sole. Aquatic telemetry: advances and applications". 269 -274. **Proceedings of the Fifth Conference on Fish Telemetry held in Europe 9-13 June. Italy**
- Navarro, A., Oliva, V., Zamorano, M. J., Ginés, R., Izquierdo, M. S., Astorga, N. and Afonso, J. M. 2006. "Evaluation of PIT system as a method to tag fingerlings of gilthead seabream (*Sparus auratus* L.): Effects on growth, mortality and tag loss". **Aquaculture**. 257 : 309-315.
- Olsen, M. E. and Vollestad, L. A. 2001. "An Evaluation of Visible Implant Elastomer for Marking Age-0 Brown Trout". **North American Journal of Fisheries Management**. 21 : 967-970.
- Ombredane, D., Bagliniere, J. L. and Marchand, F. 1998. "The effects of Passive Integrated Transponder tags on survival and growth of juvenile brown trout (*Salmo trutta* L.) and their use for studying movement in a small river". **Hydrobiologia**. 371/372 : 99-106.
- Panakulchaiwit, R. 2007. "Application of RFID Technology for Individual Identification of Aquatic Animal". 782-285. **In The International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology (ICEAST 2007) on November 21-23, 2007 at Swissotel Le Concorde. Bangkok.**

- Papoutsoglou, S. E., Miliou, H., Karakatsouli, N. P., Tzitzinkis, M. and Chadio, S. 2001. "Growth and physiological changes in scaled carp and blue tilapia under behavioral stress in mono- and polyculture rearing using a recirculated water system". *Aquaculture International* 9 : 509–518.
- Porchas, M. M., Corvoda, L. R. M. and Enriquez, R. R. 2009. "Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress?". *Pan-American Journal of Aquatic Science*. 4 (2) : 158-178.
- Pottinger, T. G. and T. R. Carrick. 1999. "A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female rainbow trout". *Aquaculture*. 175 : 351–363.
- Reddy, P. S., Sainath, S. B. 2009. "Hyperglycemic hormone in freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* : Purification from eyestalk nervous tissue and quantification by ELISA in hemolymph following various stresses". *Aquaculture* 286 : 290–295.
- Schereck, C. B. and Moyle, P. B. 1990. **Method for Fish Biology**. Maryland : Exxon Company.
- Singh, A. K., Jiang, Y., White, T. and Spassova, D. 1997. "Validation of nonradioactive chemiluminescent immunoassay methods for the analysis of thyroxine and cortisol in blood samples obtained from dogs, cats, and horses". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 9 : 261-268.
- Small, B. C. 2004. "Effect of iso Eugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors". *Aquaculture*. 238 : 469–481.
- Tavares, M., Sandrim, E. F. S., Moraes, F. R. and Carneiro, P. C. F. 2001. "Physiological response of "Tambaqui" *Colossoma macropomum* (Characidae) to acute stress". *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*. 27 (1) : 43 – 48.

- Varsamos, S., C. Nebel and G. Charmantier. 2005. "Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review". *Comparative Biochemistry and Physiology*. 141 : 401–429.
- Winter, V. H., Jansen, H. M., Adam, B. and Schwevers, U. 2005. "Behavioural effects of surgically implanting transponders in European eel, *Anguilla Anguilla*. Aquatic telemetry: advances and applications". 278-295. **Proceedings of the Fifth Conference on Fish Telemetry held in Europe. Ustica, 9-13 June. Italy.**
- Wilder, M. N., D. T. T. Huong, S. Jasmani, V. Jayasankar, T. Kaneko, K. Aida, T. Hatta, S. Nemoto, A. Wigginton. 2009. "Hemolymph osmolality, ion concentrations and calcium in the structural organization of the cuticle of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: Changes with the molt cycle." *Aquaculture*.
- Xie, S., Y. Cui, Y. Yang and J. Liu. 1997. "Effect of body size on growth and energy budget of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*". *Aquaculture*. 157 : 25-34.





ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ก.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อ

เนื่องจากเนื้อเยื่อปกติไม่สามารถนำมาทำการตัดดูโครงสร้างของเซลล์ได้ ดังนั้นเนื้อเยื่อที่นำมาศึกษาต้องผ่านขั้นตอนการขจัดน้ำ และผ่านขบวนการแทรกพาราฟินในเนื้อเยื่อ การเตรียมตัวอย่างมีขั้นตอนในการเตรียมดังนี้

### ก.1.1 การขจัดน้ำภายในเนื้อเยื่อและแทรกพาราฟิน

นำตัวอย่างถูกปลากัดที่ทำการแช่ในน้ำยา buffer formalin 10 % นาน 24 ชั่วโมง มาแช่น้ำ โดยให้น้ำไหลผ่านอย่างช้าๆ นาน 2-4 ชั่วโมง และนำชิ้นเนื้อตัวอย่างใส่ใน คลับใส่เนื้อเยื่อ ถ้าตัวอย่างมีขนาดใหญ่ ให้ทำการตัดแต่งชิ้นเนื้อเยื่อจนได้ขนาดที่พอเหมาะ กับขนาดของคลับใส่เนื้อเยื่อ หลังจากนั้นนำตัวอย่างผ่านขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. แช่ตัวอย่างใน 50 % แอลกอฮอล์ นาน 1 ชั่วโมง
2. แช่ตัวอย่างใน 70 % แอลกอฮอล์ นาน 1 ชั่วโมง
3. แช่ตัวอย่างใน 80 % แอลกอฮอล์ นาน 1 ชั่วโมง
4. แช่ตัวอย่างใน 95 % แอลกอฮอล์ นาน 1 ชั่วโมง
5. แช่ตัวอย่างใน 100 % แอลกอฮอล์(ครั้งที่ 1) นาน 1 ชั่วโมง
6. แช่ตัวอย่างใน 100 % แอลกอฮอล์(ครั้งที่ 2) นาน 1 ชั่วโมง
7. แช่ตัวอย่างใน 100 % แอลกอฮอล์(ครั้งที่ 3) นาน 1 ชั่วโมง
8. แช่ตัวอย่างใน bioclear (ครั้งที่ 1) นาน 1 ชั่วโมง
9. แช่ตัวอย่างใน bioclear (ครั้งที่ 2) นาน 1 ชั่วโมง
10. แช่ตัวอย่างใน melted paraffin (ครั้งที่ 1) นาน 1 ชั่วโมง
11. แช่ตัวอย่างใน melted paraffin (ครั้งที่ 2) นาน 1 ชั่วโมง
12. นำตัวอย่างใส่ใน โมลสแตนเลส เดิมพาราฟิน จนเต็ม ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้องก่อน

นำไปใส่ในช่องแช่แข็ง เมื่อเย็นจนได้ที่แกะตัวอย่างออกจากกระถงโลหะจะได้แท่งพาราฟินที่มีเนื้อเยื่อปลาแทรกอยู่

### ก.1.2 การย้อมสีตัวอย่าง

นำแท่งพาราฟินที่มีเนื้อเยื่อปลาอยู่ภายใน ไปทำการตัดด้วยเครื่องไมโครทอม ที่ความหนา 4-5 ไมครอน และวางบนแผ่นสไลด์ นำแผ่นสไลด์ที่ได้ไปย้อมสีตามขั้นตอนเทคนิคการย้อมสี hematoxylin และ eosin (H&E) ตามวิธีของ Humanson (1979) ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

- |     |                                   |        |
|-----|-----------------------------------|--------|
| 1.  | แช่ xylene I                      | 3 นาที |
| 2.  | แช่ xylene II                     | 3 นาที |
| 3.  | แช่ absolute alcohol I            | 2 นาที |
| 4.  | แช่ absolute alcohol II           | 2 นาที |
| 5.  | แช่ 95% alcohol                   | 2 นาที |
| 6.  | แช่ 70% alcohol                   | 2 นาที |
| 7.  | ให้น้ำไหลผ่านน้ำอย่างช้าๆ         | 5 นาที |
| 8.  | แช่ hematoxylin                   | 3 นาที |
| 9.  | ให้น้ำไหลผ่านน้ำอย่างช้าๆ         | 5 นาที |
| 10. | แช่ในน้ำที่เติม แอมโมเนีย 2-3 หยด | 3 นาที |
| 11. | ให้น้ำไหลผ่านน้ำอย่างช้าๆ         | 5 นาที |
| 12. | แช่ 50% alcohol                   | 2 นาที |
| 13. | แช่ 70% alcohol                   | 2 นาที |
| 14. | แช่ eosin                         | 6 นาที |
| 15. | แช่ 95% alcohol                   | 1 นาที |
| 16. | แช่ absolute alcohol I            | 2 นาที |
| 17. | แช่ absolute alcohol II           | 2 นาที |
| 18. | แช่ absolute alcohol III          | 2 นาที |
| 19. | แช่ xylene I                      | 3 นาที |
| 20. | แช่ xylene II                     | 3 นาที |
| 21. | แช่ xylene III                    | 3 นาที |
| 22. | ปิดกระจกสไลด์                     |        |



ภาคผนวก ข.

การเตรียมสารเคมีและถ้าย้อมตัวอย่างน้อยเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ข.1 สารเคมีที่ใช้สำหรับแช่ตัวอย่าง

### ข.1.1 สารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง (10 % buffer formalin)

1. 37-40 % Formalin
2. น้ำกลั่น
3. sodium phosphate, monobasic
4. sodium phosphate, dibasic

### ข.1.2 สารเคมีสำหรับย่อยกระดูก (Decalcification solution)

1. aluminum chloride
2. hydrochloric acid
3. formic acid
4. น้ำกลั่น

## ข.2 สีย้อมตัวอย่างเนื้อเยื่อ

### ข.2.1 การเตรียม Mayer's hematoxylin

1. hematoxylin crystals
2. sodium iodide
3. potassium aluminum sulfate
4. citric acid
5. chloral hydrate
6. น้ำกลั่น

### ข.2.2 การเตรียม Eosin

1. eosin
2. 70% ethyl alcohol
3. glacial acetic acid



**ภาคผนวก ก.**  
**การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ค.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

ชั่งกลูโคส 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

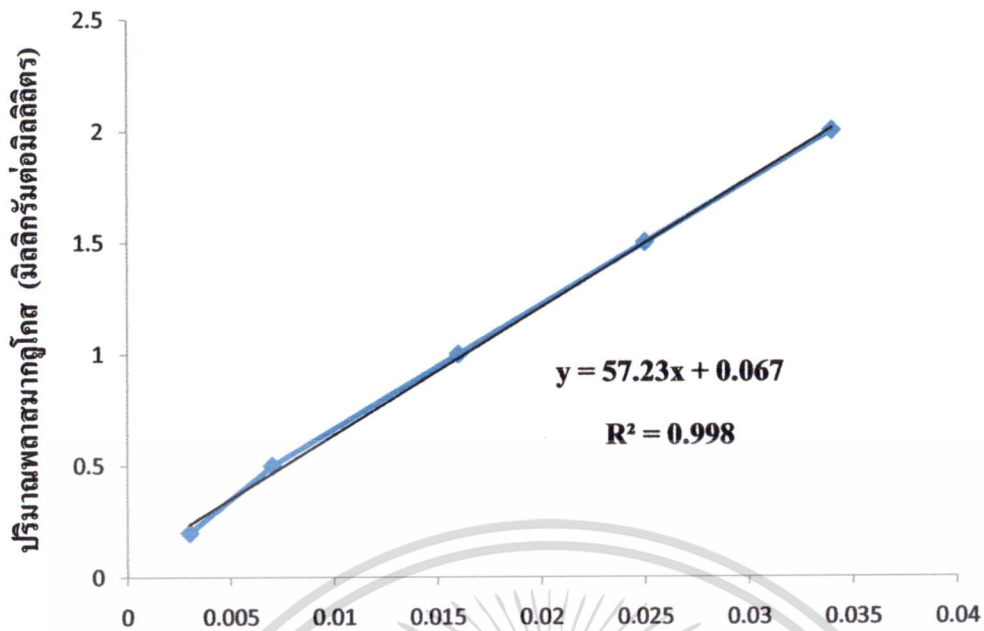
### ค.2 การสร้างกราฟมาตรฐานพลาสมากลูโคสในเลือด

เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ 0 0.2 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานกลูโคสในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 15 ไมโครลิตร ใส่ในสารละลาย otho-toluidine color reagent 1 มิลลิลิตร คัมในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 635 นาโนเมตร ดังตารางผนวกที่ 1

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณพลาสมากลูโคสกับค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร

ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (635 นาโนเมตร)
0.2	0.003
0.5	0.007
1	0.016
1.5	0.025
2	0.034

ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงของแต่ละหลอดโดยให้หลอดที่ 1 เป็น blank นำค่าที่ได้ไปทำกราฟมาตรฐาน โดยให้แกน X เป็นค่าของการดูดกลืนแสง และแกน Y เป็นค่าของปริมาณกลูโคสในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากกราฟมาตรฐานจะได้สมการเส้นตรงที่นำมาใช้สำหรับหาค่าพลาสมากลูโคสในตัวอย่างเลือด (ภาพผนวกที่ 1)



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณพลาสติกคลุมกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – นามสกุล นางสาวชลดา มีอนันต์  
 วัน เดือน ปีเกิด 8 กันยายน พ.ศ.2528 ที่จังหวัดฉะเชิงเทรา  
 ที่อยู่ 114/2 ม.9 ตำบลหมอนทอง อำเภอบางน้ำเปรี้ยว จังหวัดฉะเชิงเทรา  
 ประวัติการศึกษา 2550 วิทยาศาสตรบัณฑิต (ประมง) คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้