

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ค่าโลหิตวิทยาในปลาตุ๊กแกผสม (*Clarias gariepinus* X *Clarias macrocephalus*) และ
ปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

Haematological in hybrid catfish (*Clarias gariepinus* X *Clarias macrocephalus*) and
nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)



T104631

โดย

นางสาว ณัฐวดี ศรีอนันต์ รหัสนักศึกษา 47040596

รพ.
ฉ.๓๕๒๓
๒๕๕๐

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 104631
วัน,เดือน,ปี..... 5 พ.ย. 2552

b. 121๖00๘๘
i.

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520
ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ค่าโลหิตวิทยาในปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus* X *Clarias macrocephalus*)
และ ปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

Haematology in hybrid catfish (*Clarias gariepinus* X *Clarias macrocephalus*) and
nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

ชื่อนักศึกษา นางสาว ณัฐวดี ศรีอนันต์

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีณา ทวีกิจการ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ ๑๐ เดือน พ.ค. พ.ศ. ๒๕๖๑

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ค่าโลหิตวิทยาในปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus* × *Clarias macrocephalus*) และ
ปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

Haematology in hybrid catfish (*Clarias gariepinus* × *Clarias macrocephalus*) and
nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าโลหิตวิทยาในปลาเศรษฐกิจ 2 ชนิด ได้แก่ ปลาดุกลูกผสม (*Clarias gariepinus* × *Clarias macrocephalus*) และ ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในงานวิจัยเพื่อพัฒนาการเลี้ยงในปลาทั้ง 2 ชนิดโดยวิเคราะห์จากปลาชนิดละ 30 ตัวที่อยู่ในช่วงตัวเต็มวัยมีขนาดเฉลี่ย 36.1 ± 2.3 เซนติเมตรในปลาดุกลูกผสม และ มีขนาดเฉลี่ย 25.0 ± 1.3 เซนติเมตรในปลานิล พบว่าปลาทั้งสองชนิดมีค่าโลหิตวิทยา ดังนี้ ค่าฮีมาโตคริตอยู่ระหว่าง 33.02–41.91 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าอยู่ระหว่าง $2.27\text{--}3.50 \times 10^6$ ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ปริมาณเม็ดเลือดขาวมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $6.64\text{--}7.05 \times 10^4$ ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ปริมาณฮีโมโกลบินมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.37–0.53 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ปริมาณพลาสมาเกลูโคสมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.43–0.50 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $1.21\text{--}1.52 \times 10^{-4}$ ต่อลูกบาศก์นาโนเมตร ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดงมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $1.53\text{--}1.74 \times 10^{-6}$ ไมโครกรัมต่อเซลล์ และความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือดมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.0112–0.0126 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยพบว่าค่าโลหิตวิทยาในปลาดุกลูกผสมจะมีแนวโน้มของค่าโลหิตวิทยาโดยทั่วไปสูงกว่าในปลานิลและจากการสังเกต พบว่า เลือดของปลาดุกจะมีสีเข้มกว่าเนื่องจากมีปริมาณเม็ดเลือดแดงมากกว่าปลานิล แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าค่าโลหิตวิทยาบางค่า คือ ปริมาณพลาสมาเกลูโคสในเลือด ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง และ ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่จะมีค่าสูงกว่าปลาดุกลูกผสม นอกจากนี้ยังพบว่าในปลาทั้งสองชนิดมีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Thrombocytes มากที่สุด และ ไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Basophilic granulocytes และ Eosinophilic granulocytes ในระบบหมุนเวียนโลหิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ในการดำเนินการปัญหาพิเศษในครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บวีณา ทวีกิจการ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการดำเนินการปัญหาพิเศษและให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ตีชม และ ให้ปรับปรุงแก้ไขทั้งในระหว่างการทดลองตลอดจนการจัดทำรูปเล่มปัญหา พิเศษ จนทำให้การดำเนินการปัญหาพิเศษในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงลงได้

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และ น้องสาวที่เป็นกำลังใจ และ ให้การสนับสนุนในด้าน ของการศึกษา

ขอขอบคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ คุณนิพนธ์ จิตตำนาน ตลอดจนเจ้าหน้าที่ภาควิชา วิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านอุปกรณ์ และ สัตว์ทดลองในการ ดำเนินการปัญหาพิเศษ ทั้งยังให้การสนับสนุนอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ

ขอบคุณ คุณบุญอนันต์ แจ่มแสงทอง และ เพื่อนๆ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกคน ที่ให้การสนับสนุนทั้งแรงกายและแรงใจในการดำเนินการปัญหาพิเศษในครั้งนี้

นางสาว ญัฐวดี ศรีอนันต์

พฤษภาคม 2551

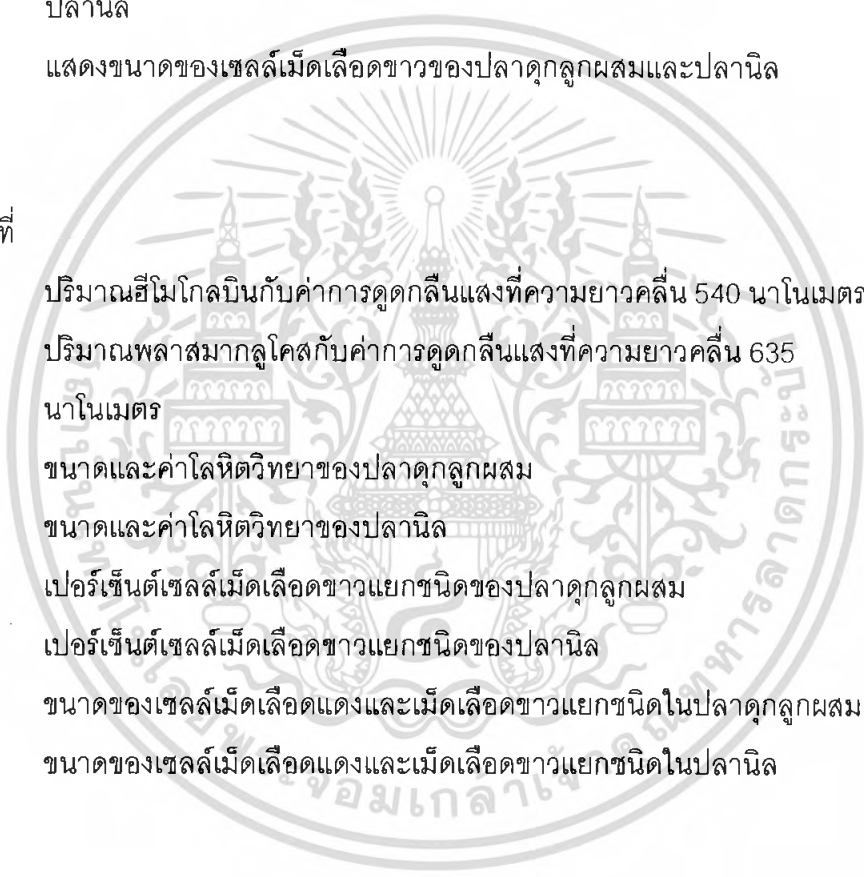
สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการทดลองและวิจารณ์	16
สรุป	22
เอกสารอ้างอิง	23
ภาคผนวก	26



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงค่าโลหิตวิทยาของปลาบางชนิด	6
2	แสดงปริมาณพลาสมาเกล็ดเลือดของปลาจากกลุ่มปลานิล 4 สายพันธุ์	9
3	แสดงค่าโลหิตวิทยาของปลาดุกลูกผสมและปลานิล	17
4	แสดงปริมาณเซลล์และชนิดของเม็ดเลือดขาวที่พบของปลาดุกลูกผสมและปลานิล	18
5	แสดงขนาดของเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาดุกลูกผสมและปลานิล	20
		
ตารางผนวกที่		หน้า
1	ปริมาณฮีโมโกลบินกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร	27
2	ปริมาณพลาสมาเกล็ดเลือดกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร	29
3	ขนาดและค่าโลหิตวิทยาของปลาดุกลูกผสม	30
4	ขนาดและค่าโลหิตวิทยาของปลานิล	32
5	เปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวแยกชนิดของปลาดุกลูกผสม	34
6	เปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวแยกชนิดของปลานิล	36
7	ขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวแยกชนิดในปลาดุกลูกผสม	38
8	ขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวแยกชนิดในปลานิล	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ภาพแสดงรูปร่างและลักษณะเฉพาะของปลาตุ๊กลูกผสม	2
2	ภาพแสดงรูปร่างและลักษณะเฉพาะของปลานิล	4
3	เม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่(E)และที่ยังเจริญไม่เต็มที่(I _m)ในระบบ หมุนเวียนโลหิตของปลาตุ๊กลูกผสมและปลานิล(กำลังขยาย 100X)	20
4	ลักษณะของ Lymphocyte(L) ในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลาตุ๊ก ลูกผสมและปลานิล(กำลังขยาย 100X)	20
5	ลักษณะของ Monocyte(M) ในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลาตุ๊กลูกผสม และปลานิล(กำลังขยาย 100X)	21
6	ลักษณะของ Neutrophilic granulocyte(N) ในระบบหมุนเวียนโลหิต ของปลาตุ๊กลูกผสมและปลานิล(กำลังขยาย 100X)	21
7	ลักษณะของ Thrombocyte(T) ในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลาตุ๊ก ลูกผสมและปลานิล(กำลังขยาย 100X)	21
ภาพผนวกที่		หน้า
1	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮีโมโกลบินกับค่าการดูดกลืน แสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร	28
2	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณพลาสมาเกล็ดเลือดกับค่าการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร	29

คำนำ

ในปัจจุบัน ปลาจัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งของประเทศเพราะไม่ว่าที่แห่งใดก็จะนิยมรับประทานปลาทุกครัวเรือน ทั้งนี้ยังสามารถเพาะเลี้ยงและนำรายได้เข้าสู่ชุมชนได้ทำให้มีความจำเป็นต้องศึกษาวิจัยปัญหาต่างๆที่เกี่ยวข้องเพื่อพัฒนาการเลี้ยงให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น การศึกษาค่าโลหิตวิทยาซึ่งได้แก่ การนับจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต การนับจำนวนความแตกต่างระหว่างชนิดของเม็ดเลือดขาว การวิเคราะห์ปริมาณฮีโมโกลบิน และ ปริมาณพลาสมากลูโคสในเลือด เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญซึ่งจะนำไปสู่การวิจัยทางการเพาะเลี้ยง การขนส่งสัตว์น้ำ การวินิจฉัยโรค และ ในสาขาที่เกี่ยวข้องอื่นๆอีกมากมาย เนื่องจาก ค่าดังกล่าวสามารถบ่งบอกถึงสภาวะการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของปลา เช่น อาหาร สารเคมี รวมถึงการเกิดโรคได้ การเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาจะขึ้นอยู่กับ ชนิด อายุ ความสมบูรณ์เพศ และ สุขภาพของปลาโดยจะมีความสัมพันธ์กับสภาพสิ่งแวดล้อม ทั้งยังบ่งบอกถึงสภาพแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ทำให้สามารถใช้ค่าโลหิตวิทยาเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการตอบสนองของปลาต่อสิ่งทีก่อให้เกิดความเครียด และ เนื่องจากปลาแต่ละชนิดมีค่าโลหิตวิทยาที่แตกต่างกันไม่สามารถนำมาใช้แทนกันได้ ดังนั้น การหาค่าโลหิตวิทยาในปลาที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจจึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการใช้พัฒนาการเลี้ยงในปลาแต่ละชนิดต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อหาค่าจำนวนเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว แต่ละชนิด ค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และ ปริมาณพลาสมากลูโคสในเลือดปลานิลและปลาดุกกลุ่มผสมปกติ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อนำข้อมูลค่าโลหิตวิทยาที่ได้จากการศึกษามาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาวิจัย และพัฒนาในการเพาะเลี้ยง การขนส่ง และ การวินิจฉัยโรคต่อไป

การตรวจเอกสาร

ในปัจจุบัน ปลาตุกและปลานิลจัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อประเทศ เพราะ เป็นสัตว์ที่มีความนิยมอย่างแพร่หลายในการนำมารับประทานและยังสามารถเพาะเลี้ยง และ นำรายได้เข้าสู่ชุมชนได้ ทั้งนี้ด้วย ปัจจัยต่างๆ (เลี้ยงได้ทุกสภาพแวดล้อม อัตราการเจริญเติบโตดี รสชาติที่ดี และ ราคาไม่แพง) นั้นสนับสนุนให้เกิดความต้องการของตลาดเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้น การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของปลาจึงเป็นข้อมูลพื้นฐานที่จำเป็นและ มีส่วนสำคัญในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงซึ่งการศึกษาค่าโลหิตวิทยานั้นเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการบ่งชี้ถึงสภาพทางสรีระวิทยา เช่น อาหาร สารเคมี และ ภาวะการเกิดโรคในปลาได้

ชีววิทยาของปลาดุกลูกผสม

ชีววิทยาของปลาดุกลูกผสม หรือ ปลาดุกบิ๊กอุย หรือ ตุ๊กอุยเทศ (*Clarias gariepinus* X *Clarias macrocephalus*) เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างปลาดุกเทศ หรือ ตุ๊กอุยเทศผู้ และ ปลาดุกอุยเทศเมีย โดยสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด เมื่อเดือน มิถุนายน 2531 ซึ่งผลที่ได้นั้นปลาดุกลูกผสมมีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และ มีความต้านทานโรคได้ดีกว่าปลาดุกชนิดอื่นมากทำให้ในปัจจุบันปลาดุกลูกผสมได้รับความนิยม และ เข้ามามากแทนที่ตลาดปลาดุกด้านไปโดยปริยาย



ภาพที่ 1 ภาพแสดงรูปร่างและลักษณะเฉพาะของปลาดุกลูกผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. แหล่งกำเนิดและการแพร่กระจาย แหล่งกำเนิดปลาดุกจะพบทั่วไปในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศอินเดีย พม่า ไทย ลาว กัมพูชา ฟิลิปปินส์ เวียดนาม และ มาเลเซีย สำหรับประเทศไทยพบปลาดุกในคลอง หนอง บึง ต่างๆทั่วทุกภาคเป็นปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืดทั่วไป

2. ลักษณะเฉพาะและนิสัยของปลาดุก ปลาดุกมีลักษณะที่ต่างจากปลาอื่นอย่างเห็นได้ชัด คือ ผิวหนังหนา ไม่มีเกล็ด รูปร่างเรียวยาว บางชนิดมีแผ่นกระดูก (Bony Plates) คลุมผิวหนังส่วนที่หนวด (Whiskers) มีอวัยวะรับสัมผัสไว้มาก และมีโครงสร้างซึ่งช่วยในการรับเสียง เรียกว่า Weberian Apparatus มีหนวด 4 คู่อยู่ที่ริมฝีปาก ตามีขนาดเล็กมาก ใช้หนวดในการหาอาหาร เพราะ หนวดปลาดุกมีประสาทรับความรู้สึกที่ดีกว่าตา

ครีบหลัง หรือ ครีบอก้านแรกมีลักษณะยื่นแหลม และ อาจจะมีหรือไม่มีลักษณะเป็นฟันเลื่อยก็ได้ ส่วนนี้จะช่วยพยุงร่างกายให้เกาะอยู่ในสภาพต่างๆได้ดี ปลาดุกสามารถสร้างเสียงด้วยการเคลื่อนไหวของครีบทำให้เกิดการกระทบกันของข้อต่อ หรือ การเคลื่อนไหวของถุงลม

ปลาดุกชอบหากินตามหน้าดิน มีนิสัยวางไข่สามารถจะขึ้นมาอยู่บนบกได้นานกว่าปลาชนิดอื่น ๆ รวมถึงสามารถที่จะอาศัยอยู่ในดิน โคลน เลน และ ในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำได้นาน เนื่องจากมีอวัยวะพิเศษช่วยในการหายใจนั่นเอง อาหารที่ปลาดุกชอบกิน ส่วนมากเป็นอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ แต่ถ้านำมาเลี้ยงในบ่อก็สามารถฝึกให้กินอาหารจำพวกพืชได้ รวมถึงสามารถฝึกนิสัยให้ปลาดุกขึ้นมากินอาหารบริเวณผิวน้ำแทนการหาอาหารกินตามหน้าดินได้

การแยกเพศลักษณะที่เห็นได้ชัดเจน คือ บริเวณใกล้ช่องทวารของปลาดุกเพศผู้จะมีอวัยวะเพศเรียวยาวยื่นออกมาหากเป็นปลาดุกเพศเมียอวัยวะเพศจะมีลักษณะค่อนข้างกลมและสั้นกว่าซึ่งมองเห็นได้อย่างชัดเจน ขนาดของปลาดุกที่แยกเพศได้ต้องเป็นปลาที่มีขนาดยาวกว่า 15 เซนติเมตร ฤดูกาลที่ปลาดุกวางไข่จะอยู่ในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนพฤศจิกายน ซึ่งเป็นช่วงที่มีฝนตกชุกในการเพาะพันธุ์ปลาดุกจึงควรกระทำในช่วงดังกล่าว

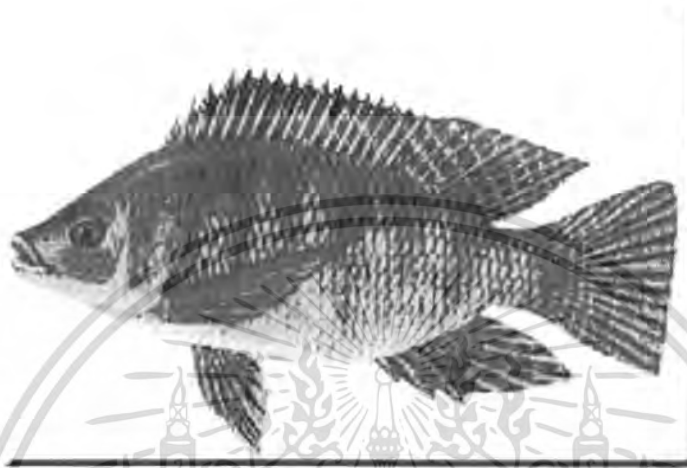
3. ปัญหาและอุปสรรคในการเพาะเลี้ยงปลาดุกลูกผสม

3.1 ส่วนเหลือ้มของตลาดของปลาดุกลูกผสมซึ่งต้องแช่แข็งเพราะผู้บริโภคนิยมบริโภคแบบมีชีวิตทำให้ส่วนเหลือ้มการตลาดสูง

3.2 ตลาดในบ้านเรายังมีการแข่งขันกันสูง เนื่องจากปลาดุกลูกผสมจากแหล่งน้ำธรรมชาติในบางช่วงฤดูเป็นที่ต้องการของตลาดโดยเฉพาะในฤดูฝน ปลาจะมีราคาต่ำเพราะเป็นช่วงที่ปลาดุกลูกผสมล้นตลาดมาจากแหล่งเพาะเลี้ยง และ แหล่งที่หาเองโดยธรรมชาติ ดังนั้น จึงควรดูตลาดและคำนึงถึงฤดูด้วย

ชีววิทยาของปลานิล

ชีววิทยาของปลานิล หรือ Nile tilapia จัดอยู่ใน Kingdom Animalia, Phylum Chordata, Class Actinopterygii, Order Perciformes, Family Cichlidae, Genus *Oreochromis* ชนิดที่พบกันทั่วไปคือ *Oreochromis niloticus*



ภาพที่ 2 ภาพแสดงรูปร่างและลักษณะเฉพาะของปลานิล

ที่มา : www.bloggang.com

1. แหล่งกำเนิดและการแพร่กระจาย ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งมีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ในแอฟริกา พบทั่วไปตามหนอง บึง และ ทะเลสาบในซูดาน อูกานดา แทนแกนยิกา เนื่องจากปลานิลนี้เลี้ยงง่ายและเติบโตเร็วจึงมีผู้สนใจเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย

2. ลักษณะเฉพาะและนิสัยของปลานิล ดังภาพที่ 2 รูปร่าง และ ลักษณะของปลานิลคล้ายปลาหมอเทศมีดังนี้ คือ ริมฝีปากบนและล่างเสมอกันที่บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถวตามลำตัว มีลายพาดขวางจำนวน 9-10 แถบ นอกจากนี้ ลักษณะทั่วไปคือ ครีบหลังมีเพียง 1 ครีบ ประกอบด้วย ก้านครีบแข็ง และ ก้านครีบอ่อนเป็นจำนวนมากครีบกันประกอบด้วย ก้านครีบแข็ง และ อ่อนเช่นกัน มีเกล็ดตามแนวเส้นข้างตัว 33 เกล็ด ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล ตรงกลางเกล็ดมีสีเข้มที่กระดูกแก้มมีจุดสีเข้มอยู่จุดหนึ่ง บริเวณส่วนอ่อนของครีบหลัง ครีบกัน และ ครีบหางนั้นจะมีจุดสีขาว และ สีดำตัดขวางแลดูคล้ายลายข้าวตอกอยู่โดยทั่วไป

การแยกเพศ ตามปกติแล้วรูปร่างลักษณะภายนอกของปลานิลตัวผู้ และ ตัวเมียจะคล้ายคลึงกันมาก แต่จะสังเกตได้โดยการดูอวัยวะเพศที่บริเวณใกล้ช่องทวาร ตัวผู้จะมีอวัยวะเพศลักษณะเรียวยาวยื่นออกมา ส่วนตัวเมียจะมีลักษณะเป็นรูค่อนข้างใหญ่ และ กลม ปลาที่จะดูลักษณะเพศได้ต้องมีขนาดยาวตั้งแต่ 10 เซนติเมตรขึ้นไป ในกรณีที่ปลาโตเต็มที่แล้วอาจสังเกตได้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยการดูสีที่ลำตัว เพราะ ปลาตัวผู้จะมีสีเข้มตรงบริเวณใต้คาง และ ตามลำตัว ต่างกับปลาตัวเมีย และ ยิ่งใกล้ฤดูผสมพันธุ์ สีก็จะยิ่งมีความเข้มยิ่งขึ้น

3. ปัญหาและอุปสรรคในการเพาะเลี้ยงปลานิล คือ ปัญหาการสูญหายของปลา ปัญหาพันธุ์ปลานิลลูกผสม ปัญหาปลานิลราคาต่ำ ปัญหา น้ำท่วม ปัญหา น้ำเสีย ปัญหาปลาไม่โต ปัญหาการขาดแคลนเงินทุน ปัญหาการใช้พื้นที่จำนวนมากเลี้ยงปลานิล ปัญหาภาษีที่ดินมีอัตราสูง ปัญหาดินเปรี้ยว ปัญหาราคาอาหารปลานิลแพง ปัญหาถูกเวนคืนที่ดิน ปัญหาคลองระบายน้ำตื้นเขิน และ ปัญหาเกษตรกรขาดความรู้เกี่ยวกับการเลี้ยงปลานิลซึ่งจำเป็นต้องปฏิบัติให้ถูกต้องตามหลักวิชาการ ตามประเภทของการเลี้ยง และ ขั้นตอนด้วย

นอกจากนี้ปัญหากลิ่นเหม็นโคลนในเนื้อปลานิลยังเป็นอุปสรรคของการส่งออกซึ่งแก้ไขได้โดยการเปลี่ยนน้ำพร้อมทั้งควบคุมคุณภาพน้ำและอาหารที่เลี้ยงในช่วงก่อนจับประมาณ 3 วัน

ค่าโลหิตวิทยาของปลา

ค่าโลหิตวิทยามีความสำคัญในการประเมินสภาพทางสรีรวิทยาของปลาโดยการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ นั้นจะขึ้นอยู่กับ ชนิดของปลา อายุ ความสมบูรณ์เพศ และ สุขภาพของปลา (Vázquez and Guerrero, 2007) ซึ่งค่าดังกล่าวจะมีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการตอบสนองต่อสิ่งทีก่อให้เกิดความเครียดของปลาได้ซึ่งค่าโลหิตวิทยาที่นิยมใช้ในการศึกษา ได้แก่

1. ค่าฮีมาโตคริต (Haematocrit) หรือ pack cell volume (PCV) เป็นอัตราส่วนระหว่างปริมาณเม็ดเลือดแดงต่อปริมาณเลือดทั้งหมด ผลที่ได้จะคิดออกมาในรูปของเปอร์เซ็นต์ค่าฮีมาโตคริตมักใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงความผิดปกติในปลาได้ว่าจะเกิดภาวะโลหิตจางหรือไม่ โดยทั่วไปค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริตจะมีค่าประมาณ 26.05–31.33 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 1) การเปลี่ยนแปลงของค่าฮีมาโตคริตสามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากผลของความเครียดมีผลให้เกิดปริมาณเม็ดเลือดแดงมากเกินไป (polycythemia) (Wedemeyer and Yasutake, 1977 ; Railo *et al.*, 1985) การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการเจริญของอวัยวะสืบพันธุ์ (gonad) ในปลา rainbow trout พบว่า ในปลาเพศผู้จะมีค่าฮีมาโตคริตสูงกว่าในปลาเพศเมีย (Snieszko, 1960) เป็นต้น

2. ปริมาณฮีโมโกลบินในเลือด (Hemoglobin) ฮีโมโกลบินเป็นสารที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงของสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่มีความสำคัญเกี่ยวเนื่องกับขบวนการหายใจของเซลล์ในสิ่งมีชีวิต มีหน่วยเป็น กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรซึ่งปริมาณฮีโมโกลบินในเลือดนั้นก็สามารนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้การเกิดภาวะโลหิตจางได้ (Hesser, 1960) โดยทั่วไปค่าเฉลี่ยปริมาณฮีโมโกลบินในเลือดจะมีค่าประมาณ

0.68–0.79 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร (ดังตารางที่ 1) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮีโมโกลบินในเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากผลของความเครียดในการเก็บตัวอย่างเลือดซ้ำ (Hoffmann and Lommel, 1984) การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากผลของอุณหภูมิน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลต่อการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้เพิ่มสูงขึ้นและก๊าซออกซิเจนลดลงมีผลให้ปริมาณฮีโมโกลบินในเลือดมีค่าเพิ่มสูงขึ้น (Eddy and Morgan, 1969 ; Cameron, 1970 ; Houston and Wide, 1969) เป็นต้น ทั้งนี้ปัจจัยจากเพศ สายพันธุ์ และลักษณะนิสัยของปลาแต่ละชนิดก็เป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้เกิดความแตกต่างกันของปริมาณฮีโมโกลบินในเลือดได้ (Clark *et al.*, 1979 ; Summerfelt, 1967)

3. ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว (Total erythrocyte and leucocyte count) เป็นวิธีการหนึ่งในการศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลาจากการนับด้วยสายตาด้วยเครื่องมือที่มีชื่อว่า Haemocytometer (Counting chamber) มาใช้โดยทั่วไปของค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาวจะมีค่าประมาณ $1.74-3.15 \times 10^6$ ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร และ $1.21-2.15 \times 10^4$ ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ตามลำดับ (ดังตารางที่ 1) โดยในปลาปกติปริมาณเม็ดเลือดแดงจะมีค่าสูงกว่าปริมาณเม็ดเลือดขาว การเปลี่ยนแปลงของปริมาณเม็ดเลือดแดง และ เม็ดเลือดขาวนั้นสามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากผลของความเครียด (Railo *et al.*, 1985 ; Hoffmann and Lommel, 1984) มีผลให้ปริมาณเม็ดเลือดแดง และ เม็ดเลือดขาวมีค่าเพิ่มสูงขึ้น เป็นต้น ทั้งนี้ Blaxhall, 1972 กล่าวว่าปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวจะมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของปลาได้

ตารางที่ 1 แสดงค่าโลหิตวิทยาของปลาบางชนิด (mean \pm S.D.)

ค่าโลหิตวิทยา	ชนิดของปลา			
	<i>Oreochromis hybrid</i>	<i>Morone hybrid</i>	<i>Capoeta trutta</i>	<i>Cichlasoma dimerus</i>
ค่าฮีมาโตคริต (%)	27 - 37	29 - 36	26.05 \pm 2.38	31.33 \pm 4.97
ปริมาณฮีโมโกลบิน (g. /100 ml.)	0.70 - 0.98	0.73 - 0.94	0.79 \pm 0.02	0.68 \pm 0.10
ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง (10^{-4} / mm^3)	1.15 - 1.83	0.78 - 1.02	1.50 \pm 0.02	1.10 \pm 0.38
ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดง (10^{-6} μ g / cell)	0.28 - 0.42	0.19 - 0.25	0.45 \pm 0.02	0.24 \pm 0.08
ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือด (g / 100 ml.)	0.0220 - 0.0290	0.0220 - 0.0270	0.0303 \pm 0.0008	0.0223 \pm 0.0039
ปริมาณเม็ดเลือดแดง ($10^6/mm^3$)	1.91 - 2.83	3.15 - 4.22	1.74 \pm 0.12	3.08 \pm 0.97
ปริมาณเม็ดเลือดขาว ($10^4/mm^3$)	2.15 - 15.47	1.21 - 1.31	1.77 \pm 0.22	1.28 \pm 0.38

เอกสารนี้ดัดแปลงจาก Vázquez and Guerrero (2007) มาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การนับจำนวนความแตกต่างระหว่างชนิดของเม็ดเลือดขาว (Differential white blood cell count) การใช้เม็ดเลือดขาวในการศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลานั้นเนื่องมาจากเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดจะมีหน้าที่ต่อระบบภูมิคุ้มกันโรคในปลาที่แตกต่างกัน ข้อจำกัดของวิธีการนี้คือ ผู้ตรวจนับจะต้องมีประสบการณ์ในการจดจำแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดได้ ชนิดของเม็ดเลือดขาวที่พบในการศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลา ได้แก่

4.1 Lymphocytes เป็นเม็ดเลือดขาวที่ไม่มี granules ภายในไซโตพลาสซึม (agranulocytes) ลักษณะของเซลล์จะมีรูปร่างกลม ขนาดโดยเฉลี่ยในปลา เช่น ปลาช่อนและปลาดุกดำอยู่ระหว่าง 6-11 ไมครอน (กัลยา, 2534 ; ชะลอและคณะ, 2530) ในขณะที่ในปลาชีกเดียว (*Pleuronectes platessa*) และ ปลาทอง (*Carassius auratus*) จะมีขนาดของเซลล์โดยเฉลี่ยเท่ากับ 4×5 ไมครอน และ 8×2 ไมครอน ตามลำดับ (Ellis, 1977) ส่วนของนิวเคลียสมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์เยื่อหุ้มนิวเคลียสไม่เรียบและติดสีม่วงอมน้ำเงิน ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินอ่อน เมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa ในบางครั้งยังพบว่าที่ผิวของ lymphocyte จะมีลักษณะของเท้าเทียม (pseudopodia) ยื่นออกมา และสามารถเคลื่อนที่ผ่านเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและ เยื่อบุผิวได้ lymphocyte มีหน้าที่ในการสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย และ พบว่ามีการพัฒนาจาก haemoblast ในไตส่วนต้น (Andrew, 1965)

4.2 Monocytes เป็นเม็ดเลือดขาวที่มีขนาดใหญ่ที่สุดมีขนาดโดยเฉลี่ยในปลา เช่น ปลาช่อนจะมีขนาดของเซลล์ประมาณ 10-13 ไมครอน (กัลยา, 2534) และ 10-14 ไมครอนในปลาดุกดำ (ชะลอและคณะ, 2530) ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม นิวเคลียสมีรูปร่างไม่แน่นอน และ ติดสีม่วงซึ่งจะพบว่ามีจะอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ ส่วนของไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงิน เมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa จะพบว่าภายในมี vacuole ขนาดใหญ่ นอกจากนี้ Roberts (1978) รายงานว่า monocytes มีหน้าที่ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาภายในร่างกาย และ พบว่าอาจเป็น haemoblast ที่มีขนาดใหญ่ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น macrophages ที่พบได้ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ

4.3 Thrombocytes เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มักพบเป็นจำนวนมากที่สุดในเม็ดเลือดขาวด้วยกันโดยจะมีความเกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด (clotting) (Ellis, 1977) มีขนาดโดยเฉลี่ยในปลา เช่น ปลาช่อนจะมีขนาดของเซลล์ประมาณ $4 \times 8 - 5 \times 10$ ไมครอน (กัลยา, 2534) และ $4 \times 7 - 5 \times 11$ ไมครอนในปลาดุกดำ (ชะลอและคณะ, 2530) ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างหลายแบบ ได้แก่ รูปร่างรียาวมักพบเป็นกลุ่มมีจำนวนมากที่สุดมีนิวเคลียสติดสีน้ำเงินเข้ม ไซโตพลาสซึมมีจำนวนน้อยมากซึ่งจะติดสีชมพูอ่อนล้อมรอบนิวเคลียส รูปร่างแบบกระสวย นิวเคลียสย้อมติดสีน้ำเงินเข้มเกือบเต็มเซลล์มีไซโตพลาสซึมติดสีชมพูหรือน้ำเงินอ่อนยื่นออกมาจากข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้าง ไซโตพลาสซึมด้านข้างของเซลล์มีน้อยมากจนอาจจะมองไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนูญาติเห็นาไปเซบประเษชนดานการค้ำ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เห็น และ รูปร่างแบบค่อนข้างกลมมักจะพบเป็นกลุ่มและมักจะมีรูปร่างเป็นเหลี่ยมบ้างเมื่ออยู่กันเป็นกลุ่มนิวเคลียสจะมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ไฮโดพลาสซึมมีเพียงเล็กน้อย จนอาจจะมองไม่เห็นย้อมติดสีชมพูอ่อนหรือน้ำเงินอ่อน ส่วนนิวเคลียสติดสีที่บ Jordan and Speidel (1924) กล่าวว่า thrombocytes มีการพัฒนามาจาก lymphocytes ขนาดเล็กซึ่งบางครั้งจะพบว่าเซลล์ทั้ง 2 ชนิดนี้มีความคล้ายคลึงกันซึ่งสามารถจำแนกได้โดย thrombocytes จะมีขนาดเล็กกว่า และนิวเคลียสอยู่รวมกันแน่น และมีไฮโดพลาสซึมติดสีฟ้าอ่อน ส่วน lymphocytes จะมีไฮโดพลาสซึมติดสีน้ำเงินอ่อนซึ่งเข้มกว่าของ thrombocytes มาก

4.4 Neutrophilic granulocytes เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่มี granules ภายในไฮโดพลาสซึม (granulocytes) พบเม็ดเลือดขาวชนิดนี้มากรองลงมาจาก thrombocytes มีขนาดโดยเฉลี่ยในปลา เช่น ปลาช่อนจะมีขนาดของเซลล์ประมาณ 8-10 ไมครอน (กัลยา, 2534) และ 9-13 ไมครอนในปลาดุกด้าน (ชลอและคณะ, 2530) neutrophilic granulocytes ที่เจริญเต็มที่แล้วจะมีรูปร่างกลมหรือรี ส่วนไฮโดพลาสซึมติดสีน้ำเงินจาง ภายในมี granules เล็กๆ นิวเคลียสติดสีม่วง เมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa และมีลักษณะแยกเป็นหลายพู ส่วน neutrophilic granulocytes ที่ยังไม่เจริญเต็มที่ในไฮโดพลาสซึมจะเห็น granules ได้ไม่ชัดเจนและส่วนของนิวเคลียสค่อนข้างกลม neutrophilic granulocytes มีนิวเคลียสหลายแบบจึงทำให้มีอีกชื่อเรียกหนึ่งว่า polymorphonuclear leucocyte (PMN) (Ellis, 1977) หน้าที่ของ neutrophilic granulocytes พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการอักเสบ แต่ไม่พบลักษณะของการกินแบบ phagocytosis ที่แน่นอน (Robert, 1978)

4.5 Basophilic granulocytes เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่มี granules ภายในไฮโดพลาสซึม (granulocytes) มีขนาดโดยเฉลี่ยในปลาปกติ เช่น ใน *Leuciscus leuciscus* และ *Cyprinus carpio* จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ granules ประมาณ 0.8 ไมครอน (Ellis, 1977) ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างกลมไม่เรียบ ไฮโดพลาสซึมติดสีน้ำเงินอ่อนมาก ภายในพบ granules ขนาดเล็กสีน้ำเงินเข้ม นิวเคลียสกลมอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ติดสีน้ำเงินเข้ม เมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa หน้าที่ของ Basophilic granulocytes ในปลานั้นยังไม่ปรากฏแน่ชัด แต่พบว่าในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม Basophilic granulocytes จะมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสารสร้างภูมิคุ้มกัน และการเกิดโรคภูมิแพ้ภายในร่างกาย

4.6 Eosinophilic granulocytes เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่มี granules ภายในไฮโดพลาสซึม (granulocytes) พบได้ยาก และมีจำนวนน้อยในระบบหมุนเวียนโลหิตมีขนาดเฉลี่ยในปลาปกติประมาณ 7-10 ไมครอน (Grizzle and Roger, 1976) ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างกลมไม่สม่ำเสมอ นิวเคลียสกลมหรือมีสองพูติดสีน้ำเงินเข้ม ภายในไฮโดพลาสซึมติดสีน้ำเงินอ่อน จะมี granules ขนาดใหญ่ย้อมติดสีแดง เมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa ทั้งนี้ Ellis (1977) กล่าวเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่าจะพบ eosinophilic granulocytes ได้ในเนื้อเยื่อที่มีความเกี่ยวพันในการสร้างเลือด (haemopoietic tissues) และ ในของเหลวภายในเยื่อบุช่องท้อง ทั้งนี้ยังพบว่ามึหน้าทีที่เกี่ยวข้องกับการกลืนกินแบบ phagocytosis เนื้อเยื่อภายในระบบน้ำเหลือง และการอักเสบโดยมีความเป็นไปได้ที่ผลของความเครียด และ ฮอรโมนจะมีผลต่อเม็ดเลือดขาวชนิดนี้

ทั้งนี้ Hesser (1960) กล่าวว่า การเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดนั้น จะมีความสัมพันธ์กับชนิดของการเกิดโรคโดยเฉพาะ

5. ปริมาณพลาสมาไกลูโคสในเลือด (Plasma glucose) เป็นค่าทางโลหิตวิทยาที่มีการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยโดยทั่วไปที่พบในปลา เช่น ในกลุ่มปลานิล 4 สายพันธุ์จะมีค่าประมาณ 0.34 - 0.45 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร (ดังตารางที่ 2) การเปลี่ยนแปลงของปริมาณพลาสมาไกลูโคสในเลือดจะมีสาเหตุมาจากการเกิดความเครียดในปลา เนื่องจากระดับของกลูโคสนั้นจะมีความไวต่อสิ่งทำให้เกิดความเครียด (Silbergeld, 1974)

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณพลาสมาไกลูโคสในเลือดของปลาจากกลุ่มปลานิล 4 สายพันธุ์

ค่าโลหิตวิทยา	สายพันธุ์ของปลานิล			
	<i>Oreochromis aureus</i>	<i>O. mossambicus</i>	<i>O. niloticus</i>	Red <i>O. niloticus</i>
ปริมาณพลาสมาไกลูโคส (mg./100 ml.)	0.34±0.078	0.45±0.13	0.37±0.13	0.45±0.17

ที่มา : ดัดแปลงจาก Cnaani *et al.* (2004)

6. ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง (Mean erythrocyte volume : MEV) เป็นค่าโลหิตวิทยาที่ได้จากการคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงมีหน่วยเป็น ลูกบาศก์นาโนเมตร ค่าเฉลี่ยโดยทั่วไปของปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงมีค่าประมาณ $0.78 - 1.50 \times 10^{-4}$ ต่อลูกบาศก์นาโนเมตร (ดังตารางที่ 1)

7. ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดง (Mean erythrocytic haemoglobin : MEH) คือ ค่าเฉลี่ยปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงเพียงอย่างเดียวซึ่งได้จากการคำนวณจากปริมาณฮีโมโกลบินต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงมีหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อเซลล์ ค่าเฉลี่ยโดยทั่วไปของปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดงมีค่าประมาณ $0.19 - 0.45 \times 10^{-6}$ ไมโครกรัมต่อเซลล์ (ดังตารางที่ 1)

8. ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือด (Mean erythrocytic haemoglobin content : MEHC) คือ ปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในหน่วยปริมาณของเม็ดเลือดแดงซึ่งได้จากการคำนวณจากปริมาณฮีโมโกลบินต่อเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตมีหน่วยเป็น กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยโดยทั่วไปของความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือดมีค่าประมาณ 0.0220 – 0.0303 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร (ดังตารางที่ 1)

ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดง และ ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือด จัดเป็นค่าโลหิตวิทยาที่ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ปริมาณเม็ดเลือดแดง การเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาทั้งสามสามารถมีการเปลี่ยนแปลงได้จากหลายสาเหตุ เช่น การเปลี่ยนแปลงเนื่องมาจากผลของความเครียดจากวิธีการเก็บตัวอย่างเลือดทำให้เกิดการขยายตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงส่งผลให้เกิดการลดลงของค่าโลหิตวิทยาทั้งสาม (Railo *et al.*, 1985) นอกจากนี้ Wells *et al.* (2005) รายงานว่า ปลาจากในเขตภูมิภาคที่ต่างกันจะส่งผลให้ค่าโลหิตวิทยาทั้งสามมีความแตกต่างกันได้

อย่างไรก็ตาม, การศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลาเหล่านี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการศึกษาทางชีววิทยาในปลา เช่น การศึกษาคุณสมบัติของเลือดในปลานิลและปลาดุกลูกผสม หรือ การตรวจสอบถึงความผิดปกติอื่นเนื่องมาจากสาเหตุต่างๆ เช่น การเกิดโรค และ ผลกระทบจากสภาพแวดล้อม เช่น การขาดสารอาหาร เป็นต้นได้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ปลาไนล และ ปลาตุ๊กตุ๊กผสมโตเต็มวัยชนิดละ 30 ตัว
2. เข็มและกระบอกฉีด
3. กล้องจุลทรรศน์
4. 10 % Trisodium citrate
5. 10 % Chinadine หรือ Quinadine
6. สีย้อม Wright & Giemsa
7. สารละลาย buffer pH 6.2 และ pH 6.8
8. Microhaematocrit tube ชนิดที่มีการเคลือบสารกันเลือดแข็งตัว
9. ดินน้ำมันขาว
10. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Refrigerated Centrifuge)
11. สารละลาย Drabkin's reagent
12. สารละลาย Otho – toluidine color reagent
13. เครื่องผสมสาร
14. เตาไฟฟ้า (Hot plate)
15. Diluting pipette
16. Haemocytometer (Counting chamber)
17. เครื่องนับจำนวน
18. สีย้อมเม็ดเลือด Yokoyama's white cell fluid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

แผนการทดลอง

ใช้ปลาตุ๊กตากลุ่มผสมจำนวน 30 ตัว ขนาด 36.1 ± 2.3 เซนติเมตร น้ำหนัก 354.50 ± 89.40 กรัม และ ปลานิลจำนวน 30 ตัว ขนาด 25.0 ± 1.3 เซนติเมตร น้ำหนัก 260.90 ± 46.10 กรัม ทำการพักปลาไว้เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์เพื่อให้ปลาปรับตัวในบ่อซีเมนต์ขนาด 2.13×1.75 เมตร นำมาหาค่าองค์ประกอบทางเลือดครั้งละ 2 – 3 ตัวจนครบ 30 ตัว

วิธีการทดลอง

เมื่อเริ่มต้นการทดลองสลบปลาด้วย 10% chinadine เก็บตัวอย่างเลือดปลาทันทีที่ปลานิ่งด้วยวิธีการดูดเลือดจากเส้นเลือดบริเวณหาง (caudal blood vessels puncture) โดยเคลือบ 10 % trisodium citrate ในกระบอกฉีดยาเพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา ดังนี้

1. การวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต

นำเลือดที่เจาะจากปลาได้ลงใน microhaematocrit tube จำนวน 3 หลอด อุดปลายด้านหนึ่งด้วยดินน้ำมันขาว นำไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (Vázquez and Guerrero, 2007) แล้วทำการคำนวณค่าออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ค่าฮีมาโตคริต} = \frac{[\text{ความยาวของชั้นเม็ดเลือดแดง} \times 100]}{\text{ความยาวของเลือดทั้งหมด}}$$

2. การวิเคราะห์เพื่อแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว

โดยการทำ blood smear นำเลือดจาก microhaematocrit tube มาหยดลงที่ด้านหนึ่งของแผ่นสไลด์ ใช้สไลด์อีกแผ่นวางทำมุม 45 องศาทับสไลด์แผ่นแรก ค่อย ๆ ดึงสไลด์ถอยหลังมาแตะที่เลือดแล้วเกลี่ยให้กระจายทั่วแผ่นสไลด์ ปล่อยเลือดให้แห้งบนสไลด์ที่อุณหภูมิห้องจากนั้นจึงนำไปย้อมด้วยสีย้อม Wright & Giemsa ตามภาคผนวกที่ 1

3. การวิเคราะห์ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว

นำเลือดจาก microhaematocrit tube มาถ่ายลงใน diluting pipette ให้ถึงขีด 0.5 เซตเลือดที่ปลายออกให้หมด ก่อนจุ่มลงในน้ำยา Yokoyama's white cell fluid จนถึงขีด 101 จะได้เลือดที่มีความเจือจางเท่ากับ 1:200 ใช้นิ้วอุดปลายทั้งสองด้านพลิกไปมาซ้ำ ๆ ประมาณ 2 นาที ปล่อยน้ำยาจากไปเปิด 2 – 3 หยดแรกทิ้งไปเพื่อกำจัดน้ำยาส่วนที่ไม่ได้ผสมกับเลือดทิ้งไป จากนั้นนำส่วนปลายด้านล่างมาแตะระหว่าง counting chamber และ cover glass ของเหลวจะไหลเข้าไปในช่องว่างโดย capillary attraction นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้กำลังขยายต่ำหาตารางสีเหลี่ยมจัตุรัสตรงกลาง 25 ช่องให้ได้ก่อน จากนั้นนับจำนวนเม็ดเลือดแดงใน 5 ช่องโดยใช้กำลังขยายสูง ส่วนการนับจำนวนเม็ดเลือดขาว นับเฉพาะสีเหลี่ยมจัตุรัสใหญ่ (16 ช่อง) ที่ตำแหน่งมุมทั้ง 4 แล้วนำไปคำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\text{จำนวนเม็ดเลือดแดง} = \text{จำนวนที่นับได้ 5 ช่อง} \times 5 \times 10 \times 200$$

$$= \frac{\quad}{\quad} 10^6 / \text{mm}^3$$

$$\text{จำนวนเม็ดเลือดขาว} = \text{จำนวนที่นับได้เฉลี่ยต่อช่อง} \times 10 \times 200$$

$$= \frac{\quad}{\quad} 10^4 / \text{mm}^3$$

4. การวิเคราะห์ค่าฮีโมโกลบินในเลือด

โดยใช้วิธี Cyanomethemoglobin (ภาควิชา , 2529) ดังนี้ ใช้เลือดปริมาณ 20 ไมโครลิตรผสมลงในสารละลาย Drabkin's reagent ปริมาณ 4.98 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีจึงนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร คำนวณค่าฮีโมโกลบินเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานตามวิธีของ Wedemeyer and Yasutake (1977) (ตารางผนวกที่ 1 และ ภาพผนวกที่ 1)

5. การวิเคราะห์ค่าพลาสมาทกลูโคสในเลือด

ภายหลังการวิเคราะห์ค่าฮีมาโตคริตให้นำส่วนบนที่เป็นพลาสมาปริมาณ 15 ไมโครลิตรผสมลงในสารละลาย Ortho – toluidine color reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร คำนวณค่าปริมาณทกลูโคสในเลือด เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานตามวิธีของ Hyvarinen and Nikkila (1962) (ตารางผนวกที่ 2 และ ภาพผนวกที่ 2)

6. การวิเคราะห์ค่าปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดง และ ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือด

นำค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ค่าฮีโมโกลบินในเลือด และ ปริมาณเม็ดเลือดแดงมาใช้ในการคำนวณค่าปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดง และ ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือด ดังสูตรต่อไปนี้

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

$$\text{ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดง (}\mu\text{g/cell)} = \frac{\text{ค่าฮีโมโกลบินในเลือด (g/L)}}{\text{ปริมาณเม็ดเลือดแดง (10}^6\text{/mm}^3\text{)}}$$

$$\text{ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือด (g/100 ml)} = \frac{\text{ค่าฮีโมโกลบินในเลือด (g/100ml.)}}{\text{เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต}}$$

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกความยาวรวมทั้งหมดของลำตัว (total length), น้ำหนัก และ เพศของปลา ดุกถูกผสม และ ปลานิลในทุกครั้งที่ทำการศึกษาทดลอง
- บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรเพื่อวิเคราะห์ค่าฮีโมโกลบิน และ ที่ 635 นาโนเมตรเพื่อวิเคราะห์ค่าพลาสมาเกลูโคสในเลือด
- บันทึกเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต
- บันทึกจำนวนของเม็ดเลือดแดง และ เม็ดเลือดขาวที่ได้จากการวิเคราะห์
- บันทึกจำแนกชนิด, ลักษณะ และ ขนาดของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดโดยทำการคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดจากการนับจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งสิ้น 100เซลล์อันประกอบไปด้วย Lymphocytes, Thrombocytes, Monocytes, Neutrophilic granulocytes, Eosinophilic granulocytes และ Basophilic granulocytes
- บันทึกขนาด และ ลักษณะของเม็ดเลือดแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลน้ำหนัก ความยาว และ ข้อมูลค่าทางโลหิตวิทยา มาวิเคราะห์หาค่าทางสถิติด้วยโปรแกรม Microsoft Excel

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชา วิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

เดือน พฤศจิกายน 2550 ถึง เดือน มีนาคม 2551



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์ค่าไลโทท็อกซิคา

จากผลการวิเคราะห์ค่าไลโทท็อกซิคาในปลาตุ๊กตาสวม และ ปลานิล พบว่าในปลาทั้ง 2 ชนิดมีค่าไลโทท็อกซิคา ดังนี้ ค่าฮีมาโตคริตมีค่าโดยเฉลี่ยเท่ากับ 41.91 และ 33.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าโดยเฉลี่ยเท่ากับ 3.50 และ 2.27×10^6 ต่อลูกบาศก์ มิลลิเมตร ตามลำดับ ปริมาณเม็ดเลือดขาวมีค่าโดยเฉลี่ยเท่ากับ 7.05 และ 6.64×10^4 ต่อลูกบาศก์ มิลลิเมตร ตามลำดับ ปริมาณฮีโมโกลบินมีค่าโดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.53 และ 0.37 กรัม ต่อ 100 มิลลิกรัม ตามลำดับ ปริมาณพลาสมาเกลูโคสมีค่าโดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.43 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัม ตามลำดับ ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงมีค่าโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.21 และ 1.52×10^{-4} ต่อลูกบาศก์นาโนเมตร ตามลำดับ ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดงมีค่าโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.53 และ 1.74×10^{-6} ไมโครกรัมต่อเซลล์ ตามลำดับ และ ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือดมีค่าโดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.0126 และ 0.0112 กรัมต่อ 100 มิลลิกรัม ตามลำดับ และ เมื่อนำมาหาค่าทางสถิติพบว่า ค่าฮีมาโตคริต ปริมาณเม็ดเลือดแดงเฉลี่ย ปริมาณฮีโมโกลบิน ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง และ ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือดในปลาทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังตารางที่ 3) อย่างไรก็ตาม พบว่าค่าไลโทท็อกซิคาในปลาตุ๊กตาสวมจะมีแนวโน้มของค่าไลโทท็อกซิคาโดยทั่วไปสูงกว่าในปลานิล ยกเว้นเพียงปริมาณพลาสมาเกลูโคส ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง และ ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดงเท่านั้นที่ปลานิลจะมีค่าสูงกว่าปลาตุ๊กตาสวม ซึ่งจากผลการศึกษาดังกล่าวมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Wells *et al.* (2005) ซึ่งได้ทำศึกษาค่าไลโทท็อกซิคาใน salmontail catfish, *Arius leptaspis* และ tarpon, *Megalops cyprinoides* และ อาจกล่าวได้ว่าปลานิลนั้นจะมีความไวต่อสภาพแวดล้อมได้มากกว่าปลาตุ๊กตาสวมเนื่องจากระดับของเกลูโคสนั้นจะมีความไวต่อสิ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ความเครียดได้ง่าย (Silbergeld, 1974)

ตารางที่ 3 แสดงค่าโลหิตวิทยาของปลาตุ๊กตากลูผสมและปลานิล

ค่าโลหิตวิทยา	ปลาตุ๊กตากลูผสม	ปลานิล
ฮีมาโตคริต (%)	41.91 ± 3.74 ^a	33.02 ± 3.20 ^a
ปริมาณเม็ดเลือดแดง (10 ⁶ /mm ³)	3.50 ± 0.45 ^a	2.27 ± 0.41 ^b
ปริมาณเม็ดเลือดขาว (10 ⁴ /mm ³)	7.05 ± 2.28 ^a	6.64 ± 1.38 ^a
ปริมาณฮีโมโกลบิน (g./100 ml.)	0.53 ± 0.08 ^a	0.37 ± 0.07 ^b
ปริมาณพลาสมาเกล็ดเลือด (mg./100 ml.)	0.43 ± 0.15 ^a	0.50 ± 0.20 ^a
ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง (10 ⁻⁴ /nm ³)	1.21 ± 0.18 ^a	1.52 ± 0.33 ^b
ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดง (10 ⁻⁶ µg / cell)	1.53 ± 0.26 ^a	1.74 ± 0.54 ^a
ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือด (g / 100 ml.)	0.0126 ± 0.0014 ^a	0.0112 ± 0.0019 ^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ; n = 30 ; ตัวเลขยกกำลังแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

2. การวิเคราะห์เพื่อแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว

จากผลการวิเคราะห์เพื่อแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวในปลาตุ๊กตากลูผสม และ ปลานิล พบว่าในปลาทั้ง 2 ชนิดมีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด ดังนี้ Lymphocytes มีจำนวนโดยเฉลี่ยเท่ากับ 10.5 และ 11.0 % ตามลำดับ Monocytes มีจำนวนโดยเฉลี่ยเท่ากับ 5.6 และ 5.7 % ตามลำดับ Thrombocytes มีจำนวนโดยเฉลี่ยเท่ากับ 67.9 และ 67.3 % ตามลำดับ และ Neutrophilic granulocytes มีจำนวนโดยเฉลี่ยเท่ากับ 16.1 และ 16.0 % ตามลำดับ และ เมื่อนำมาหาค่าทางสถิติพบว่า เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวในปลาทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังตารางที่ 4) โดยพบว่า Thrombocytes เป็นชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่พบได้มากที่สุดในระบบหมุนเวียนโลหิตทั้งในปลาตุ๊กตากลูผสมและปลานิล ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ กัลยา, 2534 ; ชลอและคณะ, 2530 ซึ่งได้ทำการศึกษานับจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดในปลาช่อนและปลาดุกด้าน อย่างไรก็ตามในการศึกษาชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวในปลาทั้ง 2 ชนิดไม่พบ Basophilic granulocytes และ Eosinophilic granulocytes ในระบบหมุนเวียนโลหิตซึ่งจากการศึกษาของ Williams and Warner (1976) ได้รายงานพบว่าพบเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้ง 2 ชนิดนี้ในปลา channel catfish

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณเซลล์และชนิดของเม็ดเลือดขาวที่พบของปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิล

ชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว (% ของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมด)	ปลาตุ๊กตุ๊กผสม	ปลานิล
Lymphocytes	10.5 ± 2.71 ^a	11.0 ± 3.58 ^a
Monocytes	5.6 ± 1.89 ^a	5.7 ± 1.58 ^a
Thrombocytes	67.9 ± 4.77 ^a	67.3 ± 6.97 ^a
Neutrophilic granulocytes	16.1 ± 2.16 ^a	16.0 ± 4.17 ^a
Basophilic granulocytes	-	-
Eosinophilic granulocytes	-	-

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ; n = 30 ; ตัวเลขยกกำลังแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

3. การศึกษารูปร่างและขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาว

จากการศึกษารูปร่างและขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งในปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิล พบว่าสามารถจำแนกตามชนิดของเซลล์เม็ดเลือดได้ดังนี้

3.1 เซลล์เม็ดเลือดแดง(Erythrocytes) พบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่แล้ว (mature erythrocytes) จะมีลักษณะเป็นรูปไข่และส่วนของนิวเคลียสอยู่บริเวณตรงกลางเซลล์มีรูปร่างรีหรือเกือบกลมอัดตัวกันอยู่อย่างแน่นเห็นเป็นสีม่วงอมน้ำเงิน ไฮโดรพลาสซึมติดสีชมพูอ่อนเมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa (ดังภาพที่ 3aและb) มีขนาดโดยเฉลี่ยในปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิลเท่ากับ 6.9 X 9.3 และ 7.5 X 10.0 ไมครอน ตามลำดับ ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดแดงที่ยังเจริญไม่เต็มที่ (immature erythrocytes) จะมีลักษณะและขนาดใกล้เคียงกับเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่แล้วโดยมีขนาดเซลล์โดยเฉลี่ยในปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิลเท่ากับ 7.6 X 7.7 และ 8.5 X 8.6 ไมครอน ตามลำดับ เพียงแต่ในส่วนของนิวเคลียสจะมีลักษณะกลมและอัดตัวกันไม่แน่นเหมือนเม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่แล้ว ไฮโดรพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงที่ยังเจริญไม่เต็มที่ที่ติดสีน้ำเงินอ่อนปนเทาเมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa (ดังภาพที่ 3aและb)

3.2 เซลล์เม็ดเลือดขาว (Leucocytes) ที่พบในระบบหมุนเวียนโลหิตในปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิล สามารถจำแนกตามชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ดังนี้

Lymphocytes เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ไม่มี granules อยู่ในไซโตพลาสซึม เซลล์มีรูปร่างกลมและส่วนของนิวเคลียสมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์เยื่อหุ้มนิวเคลียสไม่เรียบและติดสีม่วงอมน้ำเงิน ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินอ่อน เมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa (ดังภาพที่ 4a และ b) มีขนาดโดยเฉลี่ยในปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิลเท่ากับ 5.0×5.1 และ 5.2×5.5 ไมครอน ตามลำดับ (ดังตารางที่ 5)

Monocytes เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในระบบหมุนเวียนโลหิต เซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม นิวเคลียสมีรูปร่างไม่แน่นอนและติดสีม่วง ส่วนของไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงิน เมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa (ดังภาพที่ 5a และ b) มีขนาดโดยเฉลี่ยในปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิลเท่ากับ 7.9×8.0 และ 9.6×9.8 ไมครอน ตามลำดับ (ดังตารางที่ 5)

Neutrophilic granulocytes เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่มี granules อยู่ในไซโตพลาสซึม (granulocytes) เซลล์มีรูปร่างกลม ส่วนไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินจาง ภายในมี granules เล็กๆ นิวเคลียสติดสีม่วง เมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa (ดังภาพที่ 6a และ b) มีขนาดโดยเฉลี่ยในปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิลเท่ากับ 7.5×7.7 และ 7.8×7.9 ไมครอน ตามลำดับ (ดังตารางที่ 5)

Thrombocytes เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีรูปร่างหลายแบบ คือ แบบรียาว แบบค่อนข้างกลม และ แบบกระสวยแต่ที่พบได้มากที่สุดในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิลคือแบบรูปร่างรียาวโดยนิวเคลียสจะติดสีน้ำเงินเข้ม ไซโตพลาสซึมมีจำนวนน้อยมาก ซึ่งจะติดสีชมพูอ่อนล้อมรอบนิวเคลียส เมื่อย้อมด้วย Wright & Giemsa (ดังภาพที่ 7a และ b) มีขนาดโดยเฉลี่ยในปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิลเท่ากับ 3.4×7.3 และ 3.0×7.4 ไมครอน ตามลำดับ (ดังตารางที่ 5)

ทั้งนี้จากผลการศึกษารูปร่างและขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาวในปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิลโดยเมื่อนำมาค่าทางสถิติพบว่า ขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่แล้วและยังเจริญไม่เต็มที่ เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Neutrophilic granulocytes ในปลาทั้งสองชนิดจะมีขนาดของเซลล์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งผลการศึกษาที่มีความสอดคล้องกับ กัลยา, 2534 ; ชลอและคณะ, 2530 ซึ่งได้ทำการศึกษาในปลาช่อนและปลาดุกด้าน

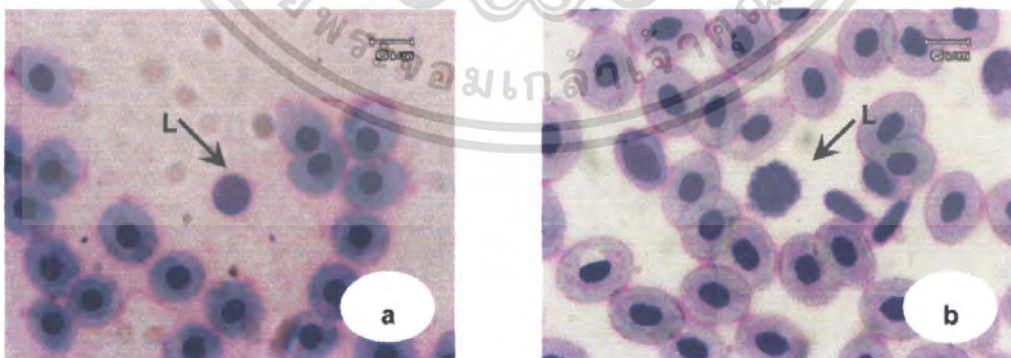
ตารางที่ 5 แสดงขนาดของเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาตุ๊กตุ๊กผสมและปลานิล

ชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว (μm)	ปลาตุ๊กตุ๊กผสม	ปลานิล
Lymphocytes	$5.0 \pm 0.6^a \times 5.1 \pm 0.7^a$	$5.2 \pm 1.0^a \times 5.5 \pm 1.1^b$
Monocytes	$7.9 \pm 0.8^a \times 8.0 \pm 0.8^a$	$9.6 \pm 1.6^a \times 9.8 \pm 1.6^a$
Thrombocytes	$3.4 \pm 0.8^a \times 7.3 \pm 0.9^a$	$3.0 \pm 0.6^a \times 7.4 \pm 1.5^a$
Neutrophilic granulocytes	$7.5 \pm 1.0^a \times 7.7 \pm 1.1^a$	$7.8 \pm 1.3^b \times 7.9 \pm 1.3^b$
Basophilic granulocytes	-	-
Eosinophilic granulocytes	-	-

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ; n = 30 ; ตัวเลขยกกำลังแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

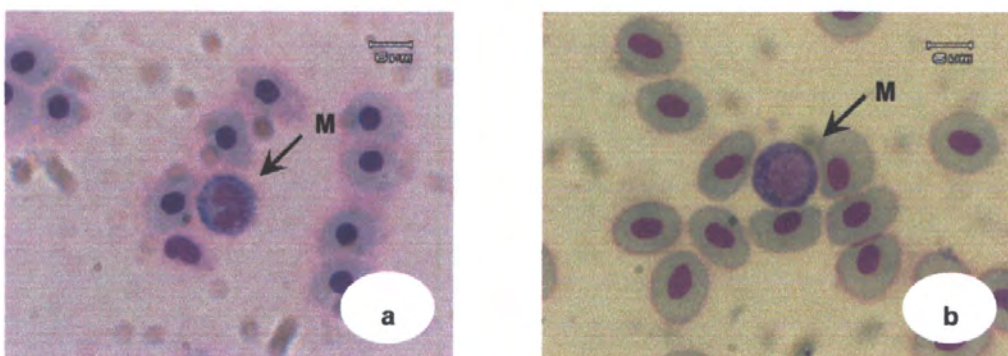


ภาพที่ 3 เม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่แล้ว (E) และ ที่ยังเจริญไม่เต็มที่ (Im) ในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลาตุ๊กตุ๊กผสม(a) และ ปลานิล(b) (กำลังขยาย 100X)

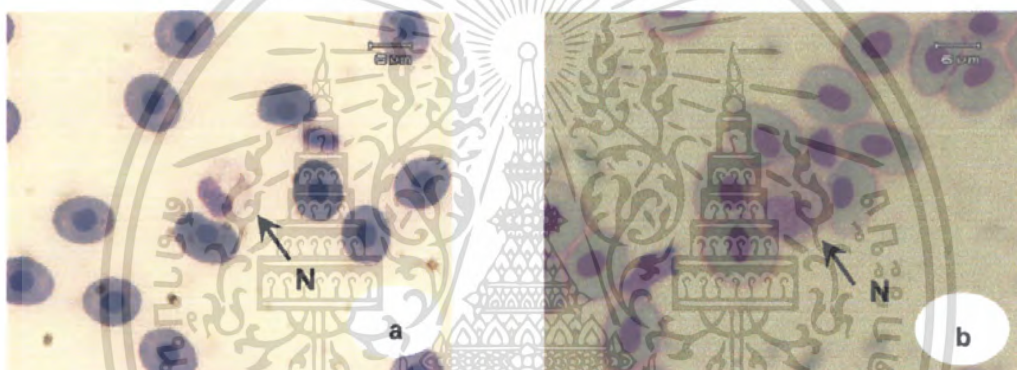


ภาพที่ 4 ลักษณะของ Lymphocyte (L) ในระบบหมุนเวียนโลหิตของ ปลาตุ๊กตุ๊กผสม(a) และ ปลานิล(b) (กำลังขยาย 100X)

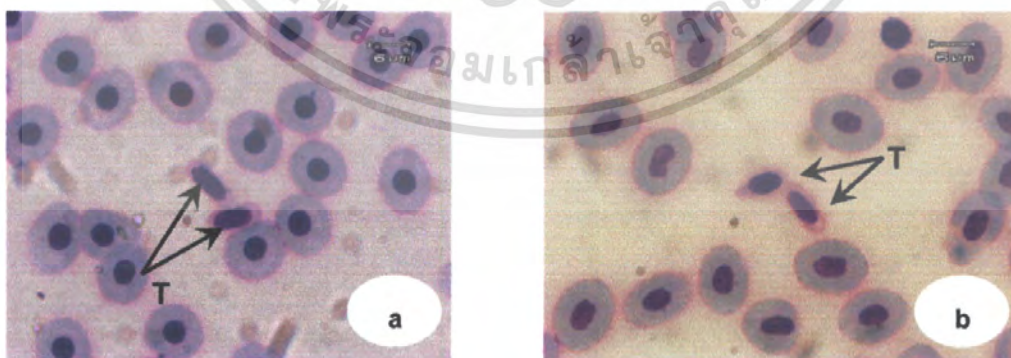
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 ลักษณะของ Monocyte (M) ในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลาดุกลูกผสม(b) และ ปลานิล(a)(กำลังขยาย 100X)



ภาพที่ 6 ลักษณะของ Neutrophilic granulocyte (N) ในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลาดุก ลูกผสม(a) และ ปลานิล(b) (กำลังขยาย 100X)



ภาพที่ 7 ลักษณะของ Thrombocyte (T) ในระบบหมุนเวียนโลหิตของ ปลาดุกลูกผสม(a) และ ปลานิล(b) (กำลังขยาย100X)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

ในภาวะปกติของปลาตุ๊กตากลูผสมขนาด 36.1 ± 2.3 เซนติเมตร และ ปลานิลขนาด 25.0 ± 1.3 เซนติเมตร จะพบว่ามีค่าโลหิตวิทยาในปลาทั้ง 2 ชนิด ดังนี้ ค่าฮีมาโตคริตมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 33.02 – 41.91 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $2.27 - 3.50 \times 10^6$ ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ปริมาณเม็ดเลือดขาวมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $6.64 - 7.05 \times 10^4$ ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ปริมาณฮีโมโกลบินมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.37 – 0.53 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ปริมาณพลาสมาเกล็ดเลือดมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.43 – 0.50 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $1.21 - 1.52 \times 10^{-4}$ ต่อลูกบาศก์นาโนเมตร ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดงมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $1.53 - 1.74 \times 10^{-6}$ ไมโครกรัมต่อเซลล์ และความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในน้ำเลือดมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.0112 – 0.0126 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยพบว่าค่าโลหิตวิทยาในปลาตุ๊กตากลูผสมจะมีแนวโน้มของค่าโลหิตวิทยาโดยทั่วไปสูงกว่าในปลานิล ยกเว้นเพียงปริมาณพลาสมาเกล็ดเลือดในเลือด ปริมาตรเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง และ ปริมาณฮีโมโกลบินเฉลี่ยในเม็ดเลือดแดงเท่านั้นที่ปลานิลจะมีค่าสูงกว่าปลาตุ๊กตากลูผสม นอกจากนี้ ในการศึกษาเพื่อแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวพบว่า Thrombocytes เป็นชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่พบได้มากที่สุดและไม่พบเม็ดเลือดขาวชนิด Basophilic granulocytes และ Eosinophilic granulocytes ในระบบหมุนเวียนโลหิตของปลาตุ๊กตากลูผสมและปลานิล

เอกสารอ้างอิง

- กัลยา จำเริญรัตน์. 2534. การศึกษาการพัฒนาของอวัยวะและลักษณะทางเนื้อเยื่อปกติของปลาช่อน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- ชลอ ลิ่มสุวรรณ ปวีณา กิจสวัสดิ์ และ สุปราณี ชินบุตร. 2530. เนื้อเยื่อปลาดุกด้าน. คณะประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 138 น.
- พิทยา สมุทรเวช. 2537. การเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ปลาน้ำจืด. สำนักพิมพ์ประสานมิตร(ปสม.) จำกัด, กรุงเทพฯ. 79 น.
- ภาคภูมิ ภาชิต. 2539. การศึกษาคุณสมบัติและการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Mycobacterium* sp. ที่แยกได้จากปลาช่อน (*Channa striatus* Fowler). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- Andrew, W. 1965. Comparative Hematology. Grune and Stratton, New York. 188 p.
- Blaxhall, P.C. 1972. The haematological assessment of the health of freshwater fish : A review of selected literature. *J. Fish Biol.* 4 : 593-604.
- Cameron, J.N. 1970. The influence of environmental variables on the haematology of pinfish and striped mullet. *Comp. Biochem. Physiol.* 32 : 175-192.
- Clark, S., D.H. Whitmore, Jr. and R.D. McMahon. 1979. Consideration of blood parameters of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *J. Fish Biol.* 14 : 147-158.
- Cnaani, A., S. Tinman., Y. Avidar., M. Ron and G. Hulata. 2004. Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research* 35 : 1434-1440.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Eddy, F.B. and R.I.G. Morgan. 1969. Some effects of carbondioxide in the blood of rainbow trout, *Salmo gardneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 1 : 361-372.

Ellis, A.E. 1977. The leucocytes of fish: A review. *J. Fish Biol.* 11 : 453-491.

Grizzle, J.M. and W.A. Rogers. 1976. Anatomy and Histology of the channel catfish. Auburn University Agricultural Experiment Station, Auburn, USA. 94p.

Hasser, E.F. 1960. Method for routine fish haematology. *Prog. Fish. Cult.* 22 : 164-171.

Hoffmann, R. and R. Lommel. 1984. Effects of repeated blood sampling on some blood parameters in freshwater fish. *J. Fish Biol.* 24 : 245-251.

Houston, A.H. and M.A. de Wide. 1969. Haematology and blood volume of thermally acclimated brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). *Comp. Biochem. Physiol.* 28 : 877-885.

Hyvarinen. A. and E. Nikkila. 1962. Specific determination of blood glucose with O-toluidine. *Clin. Chem. Acta.* 7 : 140-143.

Jordan, H.E. and C.C. Speidel. 1924. Studies on lymphocytes. 2. The origin and fate of lymphocytes in fish. *J. Morphol.* 38 : 529-546.

Railo, E., M. Nikinmaa and A. Soivio. 1985. Effects of sampling on blood parameters in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 26 : 725-732.

Robert, R.J. 1978. Fish Pathology. Bailliere Tindall, London. 318 p.

Silbergeld, E.K. 1974. Blood glucose : A sensitive indicator of *Aeromonas hydrophila*. *Appl. Microbiol.* 26 : 550-553.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Snieszko, S.F. 1960. Microhaematocrit as a tool in fishery research and management. Spec. Scient. Rep. US. Fish Wildl. Serv., No. 341. 21 p.

Summerfelt, R.C., W.M. Lewis and M.G. Ulrich. 1967. Measurement of some haematological characteristics of the gold fish. *Prog. Fish. Cult.* 29 : 13-20.

Vázquez, G.R. and G.A. Guerrero. 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue&Cell* 39 : 151-160.

Wedemeyer, G.A. and W.T. Yasutake. 1977. Clinical methods for the assessment of the environmental stress on fish health. U.S. Fish. Wildl. Serv. Tech. Pap. 88. 18 p.

Wells. R.M.G., J. Baldwin., R.S. Seymour., K. Christian and T. Brittain. 2005. Red blood cell function and haematology in two tropical freshwater fishes from Australia. *Comp. Biochem. Physiol.* 141 : 87-93.

William, R.W. and M.C. Warner. 1976. Some observation on the stained blood cellular element of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Fish. Biol.* 9 : 491-497.

ภาคผนวก

1. วิธีการย้อมสี Wright & Giemsa

- 1.1 นำสไลด์เลือดจุ่มลงใน methanol 100% นาน 15 นาทีทิ้งไว้ให้แห้ง
- 1.2 หยด Wright stain ลงบนสไลด์เลือดให้ทั่วบริเวณที่ smear ทิ้งไว้ 3–5 นาที
- 1.3 เคาะสีที่เกินทิ้งและหยดด้วย buffer pH 6.8 ให้ทั่วบริเวณที่ smear ทิ้งไว้ 5 นาที
- 1.4 เคาะ buffer pH 6.8 ที่เกินทิ้ง และ หยดด้วยสี Giemsa ให้ทั่วฟิล์มทิ้งไว้ 15 นาที
- 1.5 ฉีดล้างด้วยน้ำกลั่นเบาๆ ลงบนสไลด์
- 1.6 หยด buffer pH 6.2 ลงบนบริเวณที่ smear ทิ้งไว้ 30 วินาทีแล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นทันที

1.7 ชับน้ำออก ทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นจึงทำการ per mount ทิ้งให้แห้งนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x เพื่อจำแนกชนิดและเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดต่อไป

2. การเตรียมสารละลาย Drabkin's reagent ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

Potassium ferricyanide	0.1	กรัม
Potassium cyanide	0.025	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	0.07	กรัม

ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ 500 มล.

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ Cyanmethemoglobin

ละลาย 1 กรัมของฮีโมโกลบินแห้งด้วยสารละลาย Drabkin's reagent ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีจะได้สารละลายของฮีโมโกลบินในรูป Cyanmethemoglobin เก็บสารละลายมาตรฐานนี้ที่อุณหภูมิ 0–5 องศาเซลเซียสจะเก็บไว้ได้นาน 6 เดือน

4. การสร้างกราฟมาตรฐานปริมาณฮีโมโกลบินในเลือด

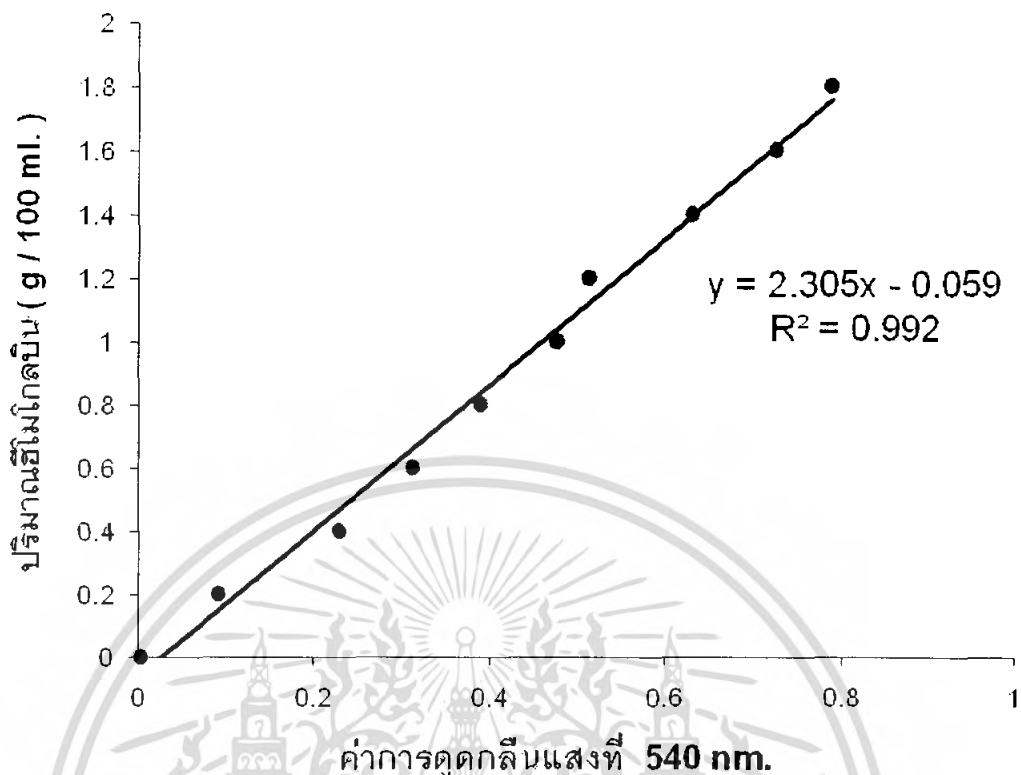
ฮีโมโกลบิน 1 กรัมต่อ 50 มิลลิลิตร ของ Drabkin's reagent ใน 50 มิลลิลิตรของฮีโมโกลบินมาตรฐานมี 1 กรัมฮีโมโกลบินแห้ง เพราะฉะนั้นใน 1 มิลลิลิตรของฮีโมโกลบินมาตรฐานจะมีค่าเท่ากับ 0.02 กรัมของฮีโมโกลบินแห้ง หรือ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การทำกราฟมาตรฐานก็เพื่อนำมาใช้ในการเปรียบเทียบหาความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในตัวอย่างเลือดจากกราฟที่ได้ดังตารางผนวกที่ 1

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณฮีโมโกลบินกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ปริมาณฮีโมโกลบิน (g / 100 ml.)	ค่าการดูดกลืนแสง (540 nm.)
0	0.003
0.2	0.091
0.4	0.229
0.6	0.313
0.8	0.389
1.0	0.478
1.2	0.514
1.4	0.631
1.6	0.725
1.8	0.788

ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละหลอดโดยให้หลอดที่ 1 เป็น blank นำค่าที่ได้ไปทำกราฟมาตรฐานโดยให้แกน X เป็นค่าของการดูดกลืนแสง ส่วนแกน Y เป็นค่าของฮีโมโกลบินในรูปกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร จากกราฟที่ได้จะนำมาใช้สำหรับหาค่าฮีโมโกลบินของตัวอย่างเลือด โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮีโมโกลบินกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

5. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

ชั่งกลูโคส 0.4 กรัมละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับเป็น 100 มิลลิลิตรจะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

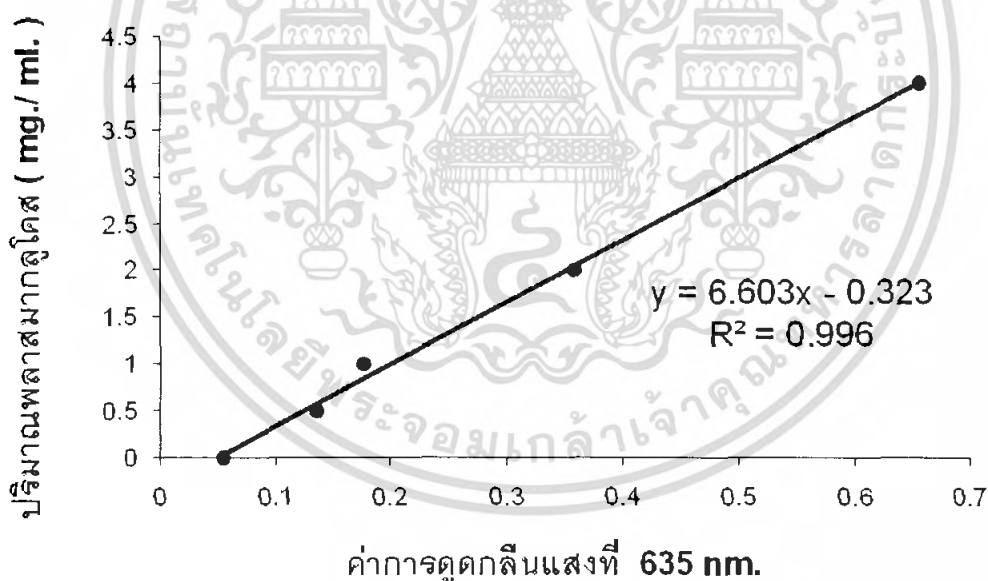
6. การสร้างกราฟมาตรฐานพลาสมากลูโคสในเลือด

เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ 0 , 0.5 , 1 , 2 , 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานกลูโคสในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 15 ไมโครลิตรใส่ในสารละลาย otho-toluidine color reagent 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 635 นาโนเมตร ดังตารางผนวกที่ 2

ตารางผนวกที่ 2 ปริมาณพลาสติกโกลด์กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร

ปริมาณกลุโกลด์ (mg. / ml.)	ค่าการดูดกลืนแสง (635 nm.)
0.0	0.055
0.5	0.136
1.0	0.177
2.0	0.358
4.0	0.655

ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละหลอดโดยให้หลอดที่ 1 เป็น blank นำค่าที่ได้ไปทำกราฟมาตรฐานโดยให้แกน X เป็นค่าของการดูดกลืนแสง ส่วนแกน Y เป็นค่าของปริมาณพลาสติกโกลด์ในรูปมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากกราฟที่ได้จะนำมาใช้สำหรับหาค่าพลาสติกโกลด์ของตัวอย่างเลือด โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน



ภาพผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณพลาสติกโกลด์กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร

ตารางผนวกที่ 3 ขนาดและค่าโลหิตวิทยาของปลาตุ๊กกลมผสม (n = 30)

No.	Sex	Weight (g.)	Lenght (cm.)	RBC (10 ⁶ /mm ³)	WBC (10 ⁴ /mm ³)	Haematocrit (%)	Plasma glucose (mg. / ml.)	Haemoglobin (g. / 100 ml.)	MEV (10 ⁻⁴ / nm ³)	MEH (10 ⁻⁶ µg/cell)	MEHC (g/100 ml.)
1.	Male	383.35	37.0	2.99	4.55	47.56	0.51	0.57	1.59	1.19	0.0120
2.	Female	392.39	35.0	3.55	6.15	47.12	0.30	0.55	1.33	1.54	0.0116
3.	Male	331.49	35.5	2.97	6.70	39.81	0.55	0.48	1.34	1.63	0.0122
4.	Female	366.22	36.0	3.71	10.80	49.99	0.39	0.70	1.35	1.89	0.0140
5.	Male	348.50	34.5	3.31	10.90	45.24	0.36	0.60	1.37	1.81	0.0133
6.	Male	429.32	43.0	3.37	10.10	38.94	0.56	0.53	1.16	1.58	0.0136
7.	Female	422.42	36.0	4.26	9.90	35.85	0.69	0.44	0.84	1.03	0.0122
8.	Female	667.96	39.0	2.40	8.50	40.58	0.65	0.46	1.69	1.91	0.0113
9.	Male	400.56	37.0	3.07	6.90	36.75	0.32	0.40	1.20	1.32	0.0110
10.	Female	402.19	37.0	4.64	14.60	42.38	0.59	0.55	0.91	1.19	0.0131
11.	Male	390.18	39.0	3.11	7.35	40.50	0.50	0.54	1.30	1.74	0.0134
12.	Female	362.68	37.0	3.55	4.70	42.38	0.48	0.40	1.19	1.14	0.0095
13.	Male	341.44	37.0	4.50	6.60	46.19	0.30	0.55	1.03	1.23	0.0119
14.	Male	246.18	36.0	3.19	5.90	38.57	0.61	0.45	1.21	1.41	0.0117
15.	Female	314.73	36.0	3.95	6.95	39.32	0.40	0.56	1.00	1.41	0.0141

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Sex	Weight (g.)	Length (cm.)	RBC (10 ⁶ /mm ³)	WBC (10 ⁴ /mm ³)	Haematocrit (%)	Plasma glucose (mg. /ml.)	Haemoglobin (g./100 ml.)	MEV (10 ⁻⁴ / nm ³)	MEH (10 ⁻⁶ µg/cell)	MEHC (g /100 ml.)
16.	Female	386.45	37.5	3.55	5.50	50.00	0.69	0.73	1.41	2.05	0.0145
17.	Male	349.16	37.5	3.33	5.65	37.98	0.32	0.44	1.41	1.31	0.0115
18.	Female	547.77	39.0	3.82	7.50	41.18	0.61	0.55	1.08	1.44	0.0133
19.	Female	269.24	34.0	3.35	6.95	39.07	0.27	0.57	1.17	1.72	0.0147
20.	Female	257.10	35.0	3.64	7.45	38.80	0.15	0.54	1.07	1.50	0.0140
21.	Female	342.76	35.0	3.77	3.45	43.66	0.31	0.57	1.16	1.52	0.0132
22.	Female	260.69	35.0	3.37	5.50	39.07	0.17	0.54	1.16	1.62	0.0139
23.	Female	222.81	31.5	3.18	6.25	39.62	0.38	0.57	1.25	1.80	0.0145
24.	Female	250.88	32.0	3.27	6.55	41.92	0.27	0.60	1.28	1.84	0.0143
25.	Male	333.43	37.0	3.51	5.65	41.83	0.30	0.56	1.19	1.59	0.0134
26.	Male	291.59	34.0	3.33	5.55	44.02	0.41	0.49	1.32	1.48	0.0112
27.	Male	268.26	35.0	3.43	7.60	39.52	0.49	0.48	1.15	1.40	0.0121
28.	Male	349.90	37.0	3.68	6.85	47.12	0.32	0.48	1.28	1.31	0.0102
29.	Female	345.94	36.0	3.71	5.00	41.15	0.43	0.41	1.11	1.12	0.0101
30.	Male	260.27	33.0	3.48	5.50	41.23	0.45	0.50	1.18	1.45	0.0122
Mean±S.D.		354.53 ± 89.44	36.1 ± 2.3	3.50 ± 0.45	7.05 ± 2.28	41.91 ± 3.74	0.43 ± 0.15	0.53 ± 0.08	1.21 ± 0.18	1.53 ± 0.26	0.0126 ± 0.0014

ตารางผนวกที่ 4 ขนาดและค่าโลหิตวิทยาของปลานิล (n = 30)

No.	Sex	Weight (g.)	Length (cm.)	RBC ($10^6/mm^3$)	WBC ($10^4/mm^3$)	Haematocrit (%)	Plasma glucose (mg./ml.)	Haemoglobin (g./100 ml.)	MEV ($10^{-4}/nm^3$)	MEH ($10^{-6}\mu g/cell$)	MEHC (g/100 ml.)
1.	Female	253.12	25.0	1.29	4.45	32.04	0.81	0.43	2.48	3.31	0.0133
2.	Female	311.16	26.5	2.66	7.05	34.65	0.28	0.35	1.30	1.30	0.0100
3.	Female	258.85	25.0	2.39	8.75	40.77	0.03	0.25	1.71	1.04	0.0061
4.	Female	262.03	26.1	2.29	5.95	29.12	0.26	0.30	1.27	1.29	0.0102
5.	Female	247.39	24.5	2.43	8.30	34.13	0.42	0.43	1.40	1.75	0.0125
6.	Male	199.08	23.5	1.94	5.00	35.10	0.39	0.34	1.81	1.74	0.0096
7.	Female	266.45	25.0	2.17	6.70	39.81	0.47	0.48	1.83	2.23	0.0122
8.	Female	261.35	25.0	2.89	9.15	32.85	0.28	0.36	1.14	1.24	0.0109
9.	Female	186.83	22.5	2.84	7.75	31.73	0.46	0.45	1.12	1.57	0.0140
10.	Female	220.85	24.0	2.78	8.75	37.32	0.31	0.39	1.34	1.39	0.0103
11.	Female	211.42	23.0	2.08	8.35	34.97	0.72	0.45	1.68	2.14	0.0127
12.	Female	208.36	23.5	2.04	6.65	34.80	0.60	0.45	1.71	2.19	0.0128
13.	Female	216.85	24.0	2.00	5.35	32.35	0.64	0.41	1.62	2.06	0.0127
14.	Female	253.10	24.5	2.31	7.10	31.55	0.63	0.35	1.37	1.50	0.0110
15.	Female	253.16	25.0	2.86	7.10	33.81	0.33	0.41	1.18	1.42	0.0120

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

No.	Sex	Weight (g.)	Length (cm.)	RBC (10 ⁸ /mm ³)	WBC (10 ⁴ /mm ³)	Haematocrit (%)	Plasma glucose (mg. /ml.)	Haemoglobin (g./100 ml.)	MEV (10 ⁻⁴ / nm ³)	MEH (10 ⁻⁶ µg/cell)	MEHC (g /100 ml.)
16.	Female	234.69	24.5	2.11	5.55	33.17	0.75	0.33	1.57	1.58	0.0100
17.	Female	234.71	24.0	1.94	5.65	34.78	0.78	0.37	1.79	1.89	0.0106
18.	Female	318.86	27.0	2.01	4.35	32.86	0.77	0.32	1.63	1.59	0.0097
19.	Female	283.04	26.0	1.74	5.50	31.80	0.40	0.37	1.83	2.10	0.0115
20.	Female	329.88	27.0	1.65	4.15	31.28	0.36	0.41	1.90	2.48	0.0131
21.	Female	392.68	28.0	1.80	5.95	32.52	0.77	0.40	1.81	2.21	0.0122
22.	Female	227.73	24.5	2.01	7.35	34.13	0.52	0.51	1.70	2.55	0.0150
23.	Female	306.17	25.0	2.21	7.20	33.00	0.76	0.33	1.49	1.49	0.0099
24.	Female	345.18	27.5	2.52	6.35	31.36	0.42	0.41	1.24	1.62	0.0130
25.	Female	292.20	25.0	2.84	7.30	32.36	0.34	0.34	1.14	1.21	0.0106
26.	Female	228.57	24.5	2.52	6.75	32.06	0.77	0.39	1.27	1.55	0.0122
27.	Female	259.27	24.5	2.11	6.40	26.12	0.48	0.28	1.24	1.34	0.0108
28.	Female	276.97	26.0	2.85	8.65	28.47	0.47	0.33	1.00	1.15	0.0115
29.	Female	239.34	24.0	2.29	8.65	35.60	0.42	0.36	1.55	1.56	0.0100
30.	Female	247.92	24.5	2.61	5.35	26.17	0.42	0.17	1.00	0.65	0.0065
Mean±S.D.		260.91 ± 46.05	25.0 ± 1.3	2.27 ± 0.41	6.64 ± 1.38	33.02 ± 3.20	0.50 ± 0.20	0.37 ± 0.07	1.52 ± 0.33	1.74 ± 0.54	0.0112 ± 0.0019

ตารางผนวกที่ 5 เปอร์เซนต์เซลล์เม็ดเลือดขาวแยกชนิดของปลาตุ๊กแกผสม (n = 30)

No.	Thrombocytes (%)	Lymphocytes (%)	Monocytes (%)	Neutrophils (%)
1.	67.0	10.0	8.0	15.0
2.	62.0	14.0	8.0	16.0
3.	73.0	9.0	4.0	14.0
4.	70.0	9.0	5.0	16.0
5.	72.0	9.0	5.0	14.0
6.	68.0	8.0	6.0	18.0
7.	62.0	14.0	9.0	15.0
8.	76.0	9.0	3.0	12.0
9.	62.0	14.0	7.0	17.0
10.	70.0	12.0	5.0	13.0
11.	70.0	10.0	4.0	16.0
12.	68.0	12.0	5.0	15.0
13.	67.0	11.0	6.0	16.0
14.	63.0	11.0	8.0	18.0
15.	66.0	14.0	3.0	17.0

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

No.	Thrombocytes (%)	Lymphocytes (%)	Monocytes (%)	Neutrophils (%)
16.	63.0	13.0	6.0	18.0
17.	72.0	9.0	3.0	16.0
18.	64.0	13.0	5.0	18.0
19.	71.0	7.0	3.0	19.0
20.	76.0	5.0	3.0	16.0
21.	74.0	9.0	5.0	12.0
22.	64.0	11.0	8.0	17.0
23.	65.0	10.0	7.0	18.0
24.	78.0	6.0	3.0	13.0
25.	70.0	6.0	6.0	18.0
26.	67.0	10.0	4.0	19.0
27.	64.0	11.0	6.0	19.0
28.	65.0	11.0	7.0	17.0
29.	59.0	17.0	6.0	18.0
30.	69.0	10.0	9.0	12.0
Mean±S.D.	67.9 ± 4.77	10.5 ± 2.71	5.6 ± 1.89	16.1 ± 2.16

ตารางผนวกที่ 6 เปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาวแยกชนิดของปลานิล (n = 30)

No.	Thrombocytes (%)	Lymphocytes (%)	Monocytes (%)	Neutrophils (%)
1.	57.0	14.0	8.0	21.0
2.	59.0	16.0	5.0	20.0
3.	66.0	12.0	7.0	15.0
4.	64.0	13.0	5.0	18.0
5.	66.0	12.0	8.0	14.0
6.	60.0	15.0	4.0	21.0
7.	70.0	9.0	6.0	15.0
8.	74.0	5.0	3.0	18.0
9.	65.0	8.0	5.0	22.0
10.	57.0	17.0	3.0	23.0
11.	67.0	9.0	7.0	17.0
12.	75.0	9.0	7.0	9.0
13.	69.0	10.0	6.0	15.0
14.	75.0	7.0	5.0	13.0
15.	65.0	14.0	6.0	15.0

ตารางผนวกที่ 6 (ต่อ)

No.	Thrombocytes (%)	Lymphocytes (%)	Monocytes (%)	Neutrophils (%)
16.	74.0	10.0	5.0	11.0
17.	71.0	7.0	3.0	19.0
18.	62.0	16.0	3.0	19.0
19.	69.0	12.0	7.0	12.0
20.	68.0	12.0	5.0	15.0
21.	57.0	12.0	7.0	24.0
22.	77.0	6.0	5.0	12.0
23.	55.0	17.0	8.0	20.0
24.	80.0	6.0	5.0	9.0
25.	66.0	13.0	5.0	16.0
26.	79.0	5.0	6.0	10.0
27.	62.0	13.0	9.0	16.0
28.	64.0	13.0	6.0	17.0
29.	77.0	7.0	6.0	10.0
30.	69.0	10.0	6.0	15.0
Mean±S.D.	67.3 ± 6.97	11.0 ± 3.58	5.7 ± 1.58	16.0 ± 4.17

ตารางผนวกที่ 7 ขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวแยกชนิดในปลาตุ๊กแกผสม (n = 30)

No.	Immature erythrocytes		Mature erythrocytes		Thrombocytes		Monocytes		Lymphocytes		Neutrophils	
	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)
1.	7.0	7.5	7.0	9.0	3.0	6.5	8.0	8.5	5.0	5.5	8.0	8.1
2.	8.0	8.0	7.0	9.5	3.5	5.5	9.0	9.5	5.0	5.2	7.0	7.0
3.	7.0	7.5	7.0	9.5	2.5	8.0	7.0	8.0	6.0	6.3	8.0	8.0
4.	7.0	7.5	7.0	10.0	4.5	7.0	7.5	7.5	4.5	4.5	9.0	10.0
5.	8.0	8.0	7.0	9.5	4.0	7.5	6.5	6.5	4.5	4.5	8.5	8.5
6.	7.0	7.0	7.0	8.5	3.0	7.5	7.0	7.0	5.0	5.0	7.0	7.5
7.	7.5	8.0	7.5	9.0	3.5	8.0	9.5	9.5	5.5	5.5	6.5	6.5
8.	8.5	8.5	7.5	9.0	4.5	6.5	9.0	9.0	5.0	5.5	7.5	7.5
9.	7.5	7.5	7.0	10.0	3.5	7.0	8.5	8.5	6.0	6.0	5.5	5.5
10.	7.0	7.0	7.0	8.5	4.0	8.0	7.0	7.0	5.0	5.0	6.0	6.5
11.	8.0	8.0	6.5	8.0	3.5	8.0	7.5	7.5	5.0	4.5	8.5	8.5
12.	8.0	8.0	7.0	9.5	4.0	5.5	7.5	7.5	6.0	6.5	7.5	7.5
13.	8.0	8.0	7.0	8.0	4.5	7.5	8.0	8.0	5.5	5.5	7.0	7.0
14.	7.5	7.5	7.0	8.5	4.5	6.5	7.0	7.0	6.0	6.0	8.0	8.0
15.	8.5	8.5	6.5	10.0	4.5	6.0	7.0	7.0	5.0	5.0	7.5	7.5

ตารางผนวกที่ 7 (ต่อ)

No.	Immature erythrocytes		Mature erythrocytes		Thrombocytes		Monocytes		Lymphocytes		Neutrophils	
	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)
16.	7.5	7.5	7.0	9.5	2.0	7.0	8.5	8.5	5.0	5.0	8.0	8.5
17.	8.0	8.0	7.5	11.0	4.0	7.5	8.0	8.0	5.5	5.5	8.5	8.5
18.	8.5	8.5	6.5	10.0	4.5	8.0	8.0	8.0	4.5	4.5	7.0	7.0
19.	7.5	7.5	7.0	9.5	2.0	8.0	8.5	8.5	6.0	6.1	7.0	7.5
20.	8.0	8.0	6.0	8.5	2.0	8.0	8.0	8.0	4.5	4.6	7.5	7.5
21.	8.0	8.0	7.0	8.0	3.5	5.0	8.5	8.5	5.0	5.0	8.0	8.5
22.	7.5	7.5	7.0	9.0	2.5	8.0	9.0	9.0	4.5	4.5	7.5	7.5
23.	7.0	7.0	6.5	9.5	2.5	8.0	8.0	8.0	4.5	4.0	8.5	8.5
24.	8.0	8.0	6.5	9.5	2.5	7.5	9.0	9.0	5.0	5.0	5.5	5.5
25.	7.5	7.5	7.0	10.5	2.5	7.5	8.0	8.0	5.0	5.0	7.0	7.0
26.	8.0	8.0	6.0	9.0	2.5	7.5	7.0	7.5	4.5	4.5	8.0	8.0
27.	7.5	7.5	6.5	10.5	3.5	8.0	7.0	7.5	4.5	4.5	7.5	7.5
28.	8.0	8.0	7.0	9.5	3.5	7.5	8.0	8.0	4.5	4.5	6.5	6.5
29.	8.0	8.0	6.5	10.0	3.0	7.5	7.5	7.5	4.0	4.0	10.0	10.5
30.	8.0	8.0	7.0	8.0	3.0	8.0	8.5	8.5	4.5	4.6	8.0	9.0
Mean	7.7 \pm 0.5	7.8 \pm 0.4	6.9 \pm 0.4	9.3 \pm 0.8	3.4 \pm 0.8	7.3 \pm 0.9	7.9 \pm 0.8	8.0 \pm 0.8	5.0 \pm 0.6	5.1 \pm 0.7	7.5 \pm 1.0	7.7 \pm 1.1
\pm S.D.												

ตารางผนวกที่ 8 ขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวแยกชนิดในปลาชนิด (n = 30)

No.	Immature erythrocytes		Mature erythrocytes		Thrombocytes		Monocytes		Lymphocytes		Neutrophils	
	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)
1.	7.5	7.5	6.5	11.0	2.5	7.0	10.0	10.0	7.0	7.5	9.5	9.5
2.	7.5	7.5	7.5	10.0	2.5	5.0	8.0	8.5	5.0	5.0	10.0	10.0
3.	8.5	8.5	7.5	11.0	3.5	6.0	10.0	10.5	5.5	6.0	9.0	9.0
4.	10.0	10.0	7.5	9.5	2.5	5.5	11.0	12.0	6.5	6.5	8.0	8.0
5.	8.5	8.5	7.5	10.0	2.5	6.0	11.5	12.0	6.5	6.5	7.0	7.0
6.	8.5	8.5	9.5	10.5	2.0	6.0	11.5	11.5	6.5	7.0	8.5	8.5
7.	9.0	9.0	8.0	10.0	3.0	7.0	7.5	7.5	5.0	5.0	9.5	9.5
8.	8.5	8.5	7.0	10.5	2.5	10.5	9.5	9.5	6.5	7.0	8.0	8.0
9.	9.0	9.0	8.0	10.0	2.5	10.0	9.5	9.5	5.5	6.0	7.0	7.0
10.	9.0	9.0	7.5	10.5	4.5	10.0	11.5	11.5	5.0	5.0	10.0	10.0
11.	9.0	9.0	7.5	10.5	4.5	6.0	11.0	11.0	7.0	7.5	10.5	10.5
12.	9.0	9.0	7.5	10.0	3.0	7.0	9.5	9.5	4.5	4.5	9.0	9.0
13.	9.0	9.0	8.5	10.0	2.5	8.5	10.0	10.0	4.5	5.5	8.5	8.5
14.	8.0	9.0	7.5	9.5	3.0	8.5	11.0	11.0	5.5	5.5	6.0	6.5
15.	9.0	9.0	7.5	9.5	4.0	7.0	10.5	10.5	4.5	4.5	7.0	7.0

ตารางผนวกที่ 8 (ต่อ)

No.	Immature erythrocytes		Mature erythrocytes		Thrombocytes		Monocytes		Lymphocytes		Neutrophils	
	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)	Width (μm)	Length (μm)
16.	8.5	8.5	7.0	9.5	3.0	5.0	10.0	10.0	4.5	5.0	8.5	8.5
17.	9.0	9.0	7.0	9.5	3.5	8.0	6.5	6.5	4.5	5.0	8.5	8.5
18.	8.5	8.5	7.5	9.0	3.0	9.5	9.0	9.0	6.0	6.5	7.0	7.5
19.	8.0	8.0	7.0	9.5	3.0	7.5	9.5	9.5	5.5	6.0	6.5	6.5
20.	9.5	9.5	8.0	9.5	3.0	5.5	11.0	11.0	7.0	7.5	5.5	5.5
21.	7.5	7.5	7.0	10.0	3.5	8.0	10.0	10.5	4.0	4.5	5.5	5.5
22.	9.0	9.0	7.0	10.5	3.5	8.0	10.5	11.0	4.0	4.5	6.5	7.0
23.	8.5	8.5	7.0	9.5	3.0	8.5	10.0	10.0	4.5	4.5	6.5	6.5
24.	7.0	7.0	7.0	10.0	3.5	8.0	7.0	7.5	4.5	5.0	8.5	8.5
25.	9.0	9.0	7.0	10.0	2.5	8.0	8.0	8.0	5.5	5.5	7.0	7.0
26.	8.5	8.5	8.0	10.0	2.5	7.0	9.5	9.5	5.0	5.0	6.5	6.5
27.	9.5	9.5	7.0	10.0	2.5	7.5	7.0	7.0	5.0	5.5	8.0	8.0
28.	8.0	8.0	7.5	9.5	2.0	6.0	6.5	6.5	3.5	4.0	7.0	7.0
29.	7.0	7.0	8.0	11.0	3.0	7.0	10.5	10.5	4.0	4.0	7.5	7.5
30.	8.0	8.0	7.0	10.0	3.5	7.0	12.0	12.0	4.5	4.5	7.5	7.5
Mean	8.5 \pm 0.7	8.6 \pm 0.7	7.5 \pm 0.6	10.0 \pm 0.5	3.0 \pm 0.6	7.4 \pm 1.5	9.6 \pm 1.6	9.8 \pm 1.6	5.2 \pm 1.0	5.5 \pm 1.1	7.8 \pm 1.3	7.9 \pm 1.3
\pm S.D.												