ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลของการใช้สารฟอร์มาลิน และโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Tetrahymena* sp.

Effect of formalin and potassium permanganate for treatment of *Tetrahymena* sp.

ชื่อนักศึกษา นางสาวอารยา แดงโรจน์

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ดร.ปวีณา ทวีกิจการ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

(ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ 6 เดือน พ.ค. พ.ศ. 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20545

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของการใช้สารฟอร์มาลิน และโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Tetrahymena* sp.

Effect of formalin and potassium permanganate for treatment of *Tetrahymena* sp.

T099168

โดย

นางสาวอารยา แดงโรจน์

ปก.
ฮ 65 อ
อ 15 ย

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 99168
วัน.เดือน.ปี 15 JUN 2009

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของการใช้สารฟอร์มาลิน และโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Tetrahymena* sp.

Effect of formalin and potassium permanganate for treatment of *Tetrahymena* sp.

การใช้ฟอร์มาลิน และโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในการควบคุม และรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Tetrahymena* sp. ทั้งภายในห้องปฏิบัติการ และที่ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคในปลาหางนกยูง ใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นในการทดลองในห้องปฏิบัติการที่ 2,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคในปลาใช้ที่ความหนาแน่น 1,000 เซลล์ต่อมิลิลิตร โดยทำการทดลองความเข้มข้นของฟอร์มาลินที่ 50, 100, 125, 150 และ 200 พีพีเอ็ม พร้อมหน่วยควบคุม ส่วนโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตทำการทดลองที่ระดับความเข้มข้นที่ 5, 10, 15, 20 และ 25 พีพีเอ็ม พร้อมหน่วยควบคุม พบว่าความเข้มข้นของฟอร์มาลินที่ 100, 125, 150 และ 200 พีพีเอ็ม สามารถกำจัดเชื้อได้ภายในเวลา 60, 50, 40 และ 35 นาที ตามลำดับ ส่วนโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความเข้มข้น 10, 15, 20 และ 25 พีพีเอ็ม สามารถกำจัดเชื้อได้ที่เวลา 360 นาที ในทุกๆ ความเข้มข้น

และความสามารถในการทนได้ของปลาหางนกยูงที่ระดับความเข้มข้นที่สามารถกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้พบว่าปลาหางนกยูงสามารถทนต่อสารฟอร์มาลินได้ดีกว่าสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต และในการนำไปใช้พบว่าปลาหางนกยูงสามารถทนสารฟอร์มาลินที่ 100 พีพีเอ็ม ได้นาน 6 ชั่วโมงโดยที่ไม่มีการตาย ส่วนโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ระดับความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม ปลาหางนกยูงจะแสดงอาการกระวนกระวายทนได้นานเพียง 15 นาที อย่างไรก็ตามในการนำไปใช้รักษาปลาที่แสดงอาการติดเชื้อแล้ว พบว่าอัตราการรอดในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารฟอร์มาลินมีค่าสูงกว่ากลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือของบุคคลหลายฝ่าย อันเป็นเหตุที่ทำให้ผู้เขียนมีความรู้สึกสำนึกในบุญคุณ โดยบุคคลที่ผู้เขียนจะกล่าวถึงต่อไปนี้มีส่วนร่วมที่จะทำให้ปัญหาพิเศษของผู้เขียนมีความสมบูรณ์ดังที่เห็น และหากมีสิ่งใดขาดตกบกพร่อง ผู้เขียนต้องขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณอาจารย์ปวีณา ทวีกิจการ เป็นอย่างสูง ซึ่งเป็นที่ปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษ คอยชี้แนะวิธีการทดลอง ให้คำปรึกษา พร้อมทั้งตรวจทาน แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการทำการทดลองตลอดจนปัญหาพิเศษฉบับนี้เสร็จสิ้นอย่างสมบูรณ์ ขอขอบคุณคณาจารย์ทั้งหลายที่สั่งสอน อบรม ให้ความรู้มาตลอด ทำให้ข้าพเจ้าได้มาถึงวันนี้ได้

ขอขอบคุณคุณพ่อรัชดากร แดงโรจน์ และคุณแม่อบจันทร์ อบมาลี ที่ให้กำเนิด เลี้ยงดู อุปการะอย่างดี และอบรม พร้อมสั่งสอนข้าพเจ้า มอบสิ่งดีๆ ทุกสิ่งทุกอย่าง ทั้งเป็นกำลังใจหลัก และส่งเสริมกำลังทรัพย์มาตลอดจนทำให้มีวันนี้ ขอขอบพระคุณอย่างสูง ด้วยความเคารพยิ่ง

ขอขอบคุณพี่วรวิทย์ มณีพิทักษ์สันติ ที่สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ กรมประมง ที่ช่วยสอนเทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Tetrahymena* sp. และให้ความอนุเคราะห์เชื้อ *Tetrahymena* sp. ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอขอบคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ คุณสุดา โสภารักษ์ และคุณแสง ฟักหอม ที่คอยให้การแนะนำ และช่วยเหลือในระหว่างการเตรียมการทำการทดลอง

ขอขอบคุณนางสาวพรประภา คัมภีรัชยา นายภควร การย์บรรจบ นายธนูศักดิ์ บัวหยู นายธรีวัฒน์ จันทระ นายสิทธิโชค สิทธิวัง และนางสาวภวรรณตรี สมบุญโต ที่คอยให้การช่วยเหลือตลอดจนจบการทำปัญหาพิเศษ

อารยา แดงโรจน์

เมษายน 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	19
ผลการทดลองและวิจารณ์	25
สรุปและข้อเสนอแนะ	37
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะปลาหางนกยูงบางสายพันธุ์ที่นิยมเลี้ยง	4
2	อัตราการติดเชื้อ *Tetrhymena* sp. ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน	9
3	อัตราการรอดเฉลี่ยของเชื้อ *Tetrhymena* sp. จากปริมาตร 6 ไมโครลิตร ในระดับความเข้มข้น และระยะเวลาต่างๆ กันของฟอร์มาลิน	27
4	อัตราการรอดเฉลี่ยของเชื้อ *Tetrhymena* sp. จากปริมาตร 6 ไมโครลิตร ในระดับความเข้มข้น และระยะเวลาต่างๆ กันของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาแนต	30
5	เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดเฉลี่ยของปลาหางนกยูง	36

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ผลความเข้มข้นของฟอร์มาลินในการกำจัดเชื้อ *Tetrhymena* sp. ที่ระดับความเข้มข้น โดยตรวจผลการทดลองจากการนับจำนวนเซลล์ (ดูการเคลื่อนที่ และรูปร่างลักษณะของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป) โดยทำการนับเซลล์ภายใน 48 ชั่วโมง	42
2	ผลความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาแนตในการกำจัดเชื้อ *Tetrhymena* sp. ที่ระดับความเข้มข้น โดยตรวจผลการทดลองจากการนับจำนวนเซลล์ (ดูการเคลื่อนที่ และรูปร่างลักษณะของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป) โดยทำการนับเซลล์ภายใน 48 ชั่วโมง	45
3	จำนวนปลาหางนกยูงที่รอดชีวิตจากการติดเชื้อ *Tetrhymena* sp. โดยทำการรักษาด้วยสารฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 14 วัน	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะรูปร่างของเซลล์ *Tetrhymena* sp.	6
2	ลักษณะเซลล์ *Tetrhymena* sp. ในขณะที่ทำการแบ่งเซลล์แบบคอนจูเกชั่น	6
3	รูปร่างของเปอร์แมงกาเนต	13
4	จำนวนเซลล์ *Tetrhymena* sp. ที่รอดเฉลี่ยจากการได้รับสารฟอร์มาลินที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่แตกต่างกัน	26
5	จำนวนเซลล์ *Tetrhymena* sp. ที่รอดเฉลี่ยจากการได้รับสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่แตกต่างกัน	29
6	ลักษณะปกติของเซลล์ *Tetrhymena* sp.	32
7	ลักษณะเซลล์ที่ผิดปกติของเซลล์ *Tetrhymena* sp. ในระยะแรก	32
8	ลักษณะเซลล์ที่ผิดปกติของเซลล์ *Tetrhymena* sp.	32
9	จำนวนปลาหางนกยูงที่รอดชีวิตเฉลี่ยจากการติดเชื้อ *Tetrhymena* sp. ที่ทำการรักษาด้วยฟอร์มาลิน	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ในโลกของสิงมีชีวิตขนาดเล็ก โปรโตซัวเป็นสิงมีชีวิตทีก่อให้เกิดปัญหากับสัตว์น้ำเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะพวกซิลิเอทโปรโตซัว เช่น *Tetrahymena* sp. เป็นโปรโตซัวที่มีการดำรงชีวิตทั้งเป็นอิสระ (free living) และเป็นปรสิต (facultative protozoa) สามารถพบได้ทั้งภายนอก และภายใน โดยเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำอยู่เสมอ ปลาที่มีปรสิตชนิดนี้อาศัยอยู่จะมีลำตัวเป็นรอยด่างขาว ตกเลือด เกล็ดพอง เกล็ดหลุด จนกระทั่งเป็นแผลเปื่อย บางตัวเกิดแผลลึกจนถึงกล้ามเนื้อ ซึ่งอาการเหล่านี้จะเกิดได้ทั่วทั้งตัว และถ้าอาการรุนแรงมากอาจทำให้ปลาตายได้ในระยะเวลาอันสั้น การเคลื่อนที่ของ *Tetrahymena* sp. จะมีลักษณะคล้ายลูกรักบี้หมุนเป็นเกลียว และใช้ซิเลียในการยึดเกาะผิวหนัง หรือเหงือกทำให้เกิดการระคายเคืองจนเป็นแผล นอกจากนี้ในขณะที่ *Tetrahymena* sp. ชอนไชเข้าตัวปลาโดยใช้ซิเลียนี้ก็จะผลิตน้ำย่อยโปรตีน (protease) ออกมาทำลายเนื้อเยื่อปลา ทำให้เคลื่อนที่ไปยังอวัยวะต่างๆ ภายในตัวได้ *Tetrahymena* sp. มีความสามารถพิเศษในการเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วด้วยการแบ่งตัว โดยเฉพาะเมื่อมีเศษอาหาร หรือซากปลาตายที่ก้นบ่อ เนื่องจาก *Tetrahymena* sp. จะกินแบคทีเรียเป็นอาหาร

ความนิยมในการทำฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่นสูงนั้น มักจะเกิดการติดเชื้อโรคได้ง่ายทั้งไวรัส แบคทีเรีย และปรสิต โดยพบว่าโรคที่เกิดจากปรสิตบางชนิดมีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดของสัตว์น้ำเจ้าบ้าน รวมทั้งการติดเชื้อจากปรสิตภายนอกนี้ยังสามารถลุกลามได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นการเกิดโรคอาจส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อเศรษฐกิจส่วนใหญ่ เพราะเมื่อโรคมีการระบาดจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดอัตราการตายที่สูง ดังนั้นธุรกิจการเลี้ยงปลาไม่ว่าจะเป็นปลาสวยงาม หรือการเลี้ยงปลาเพื่อการบริโภค หากผู้เลี้ยงปลามีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับชนิดปรสิตที่เป็นสาเหตุการเกิดโรค รวมทั้งสภาวการณ์ต่างๆ ที่มีผลต่อการรอดชีวิต การตายของเชื้อ วิธีการป้องกัน และการรักษาก็จะช่วยให้ธุรกิจนั้นบรรลุเป้าหมายได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะปัจจุบันปลาหางนกยูงเป็นปลาสวยงามที่ได้รับความนิยมใช้เลี้ยงเป็นปลาสวยงามอย่างแพร่หลายทั่วโลก ปลาหางนกยูงจัดว่าเป็นปลาน้ำจืดขนาดเล็ก มีลักษณะลำตัวยาวเรียวแบนข้างเล็กน้อย ปากเล็ก ริมฝีปากล่างยื่นยาวกว่าริมฝีปากบน มีจวดลายและสีสันที่หลากหลายแตกต่างกันออกไปตามแต่ละสายพันธุ์ ครีบหางใหญ่และแผ่กว้าง โดยเฉพาะปลาเพศผู้ครีบหางจะใหญ่ และยาวเป็นพวงสวยงามกว่าเพศเมีย จึงทำให้ราคาปลาหางนกยูงเพศผู้สูงกว่าเพศเมีย (วันเพ็ญ และสุภรัตน์, 2542; นงนุช และวันเพ็ญ, 2539) ในกลุ่มปลาสวยงามปลาหางนกยูงจัดเป็นปลาชนิดที่ยอมรับการติดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ดีที่สุด และการรักษาในปัจจุบันยังไม่ได้ผลเท่าที่ควร เนื่องจากเชื้อสามารถเข้าสู่ภายในได้ ทำให้เกิดการตายเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนมาก ด้านเกษตรกรบางคนจะใช้วิธีทำลายปลาทั้งบ่อเพื่อเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อ จึงส่งผลให้การประกอบธุรกิจการเพาะพันธุ์ปลาหางนกยูงประสบปัญหาทางด้านการตลาด

การศึกษาการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Tetrahymena* sp. ในห้องทดลองมีจุดประสงค์เพื่อที่จะหาชนิดของสารเคมี และระยะเวลาที่เหมาะสม เพื่อให้การใช้สารเคมีในการรักษาโรคมีประสิทธิภาพและปลอดภัยโดยไม่เป็นอันตรายกับสัตว์น้ำ จากนั้นจึงนำไปทดสอบจริงกับปลาที่มีการติดเชื้อ เพื่อเป็นแนวทางนำไปใช้ได้จริงในการรักษา และควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมของฟอร์มาลิน และโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่สามารถทำลายเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ ภายใน 48 ชั่วโมง
2. เพื่อหาความเป็นไปได้ในการใช้ฟอร์มาลิน และโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่จะทำลายเชื้อ *Tetrahymena* sp. โดยไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของฟอร์มาลิน และโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่สามารถทำลายเชื้อ *Tetrahymena* sp. และแนวทางการนำไปใช้โดยที่ไม่เป็นอันตรายต่อปลาหางนกยูง เพื่อประโยชน์ในการนำไปใช้รักษา และควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ประวัติและลักษณะทางชีววิทยาของปลาหางนกยูง

ปลาหางนกยูงมีชื่อสามัญว่า guppy, millions fish หรือ rainbow fish อยู่ในครอบครัว (Family) Poeciliidac และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Poecilia reticulata* มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้แถบเวเนซูเอล่า หมู่เกาะคาริบเบียนของประเทศบาร์บาโดส และในแถบลุ่มน้ำอเมซอน เป็นปลาที่ออกลูกเป็นตัว (Ovoviviparous fish) ถูกค้นพบครั้งแรกโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมันชื่อ Mr. William C.H.Peters ในธรรมชาติอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืด และน้ำกร่อยที่เป็นแหล่งน้ำนิ่งจนถึงน้ำไหลเรื่อยๆ ที่อาศัยอยู่ที่อุณหภูมิ 22-28 องศาเซลเซียส (71-81 องศาฟาเรนไฮต์) สภาพน้ำมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างประมาณ 7.2-8.0 ปลาเพศผู้มีขนาด 3-5 เซนติเมตร เพศเมียมีขนาด 5-7 เซนติเมตร (วันเพ็ญและศุภรัตน์, 2542) อุปนิสัยของปลาชนิดนี้ รักความสงบ ไม่ก้าวร้าว อาหารของปลาชนิดนี้ ได้แก่ ลูกน้ำ ไรแดง ไรทะเล หนอนแดง และอาหารสำเร็จรูปต่าง ๆ (ภราดร, 2543) ในปัจจุบันนี้ปลาหางนกยูงได้รับความนิยมใช้เลี้ยงเป็นปลาสวยงาม โดยเฉพาะเลี้ยงในตู้กระจกอย่างแพร่หลายทั่วทุกมุมโลก และสามารถเพาะผสมพันธุ์ให้ได้ชนิด หรือให้ได้ประเภทที่มีความสวยงาม และลักษณะเด่นตามความนิยมของตลาดได้โดยไม่ยากนัก ปลาหางนกยูงเป็นปลาที่มีสวยงามมากชนิดหนึ่ง เป็นที่นิยมและรู้จักกันอย่างแพร่หลาย ปลาหางนกยูงจัดเป็นปลาน้ำจืดขนาดเล็ก สีสันของปลาหางนกยูงมีลวดลายสวยงามหลายๆ แบบ (ตารางที่ 1) ปลาหางนกยูงเพศผู้มีแพนหางใหญ่และสีเข้มจัดกว่าเพศเมีย ปลาตัวเมียหางเล็ก สีซีด และท้องอูมอยู่ตลอดเวลา ปลาหางนกยูงที่นิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงาม (Fancy guppy) จัดเป็นปลาที่ได้รับการคัดพันธุ์และปรับปรุงมาจากพันธุ์พื้นเมือง (Wild guppy) ที่พบแพร่กระจายอยู่ในธรรมชาติ ปลาในธรรมชาติเพศเมียมีสีเทา เทาอมน้ำตาล น้ำตาลอ่อนหรือสีเขียวอมน้ำตาล บริเวณท้องมีสีขาวอมเทา ครีบต่างๆ ไม่มีสี ส่วนปลาเพศผู้จะมีจุดสีเขียว เหลือง แดง น้ำเงิน หรือดำ ปรากฏอยู่บริเวณคอดหาง ครีบหางกลม เนื่องจากปลาหางนกยูงมีมากมายหลายหลากสีแตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อมของที่อยู่อาศัย ซึ่งผู้ประกอบธุรกิจการเพาะพันธุ์ปลาหางนกยูงได้พยายามใช้หลักวิชาการทางด้านพันธุกรรม ดำเนินการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ที่มีลักษณะเด่นตามความต้องการมาเพาะพันธุ์ จนสามารถได้ปลาหางนกยูงพันธุ์แปลกๆ และสวยงามอยู่เป็นประจำ ทำให้นักเพาะเลี้ยงสามารถทดลองผสมข้ามพันธุ์ คัดพันธุ์ จนได้ปลาที่มีสีสันสวยงามมากมายหลายสายพันธุ์ ทั้งนี้นอกจากจะมีสีสันสวยงามสะดุดตาแล้ว ยังเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย ทนต่อความเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม และสามารถแพร่ขยายพันธุ์ได้ง่ายอีกด้วย (นงนุช และวันเพ็ญ, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ลักษณะปลาหางนกยูงบางสายพันธุ์ที่นิยมเลี้ยง

สายพันธุ์	ลักษณะและสีของลำตัว	ลักษณะและสีของครีบ	สายพันธุ์ที่นิยมเลี้ยง
คอบร้า (Cobra)	: สีน้ำเงิน ม่วง หรือสีอื่นๆ : มีลวดลายเป็นแถบยาว หรือสันพาดขวาง พาดตามยาว หรือพาดเฉียงทั่วลำตัวตลอดถึงโคนหาง ลวดลายคล้ายหนังงู	: หางรูปสามเหลี่ยม (Delta tail) : รูปพัด (Fan tail) หรือหางบ่วง (Lyre tail) : ครีบหางมีหลากหลาย และหลากสี สอดคล้องกับลำตัว	: Yellow cobra (คอบร้าเหลือง) หรือ King cobra : Red cobra (คอบร้าแดง) : Multicolour (คอบร้าเจ็ดสี)
ทักซิโด้ (Tuxedo)	: ครึ่งตัวด้านท้ายมีสีดำ หรือน้ำเงินเข้ม	: ครีบหลัง และครีบหางหนาใหญ่มีสี และลวดลายเหมือนกัน : ครีบหางมีหลากหลายแบบ	: German tuxedo : Neon tuxedo (สันหลังสีขาวสะท้อนแสง) : Black tuxedo (ครีบหางสีดำ) : Golden tuxedo (ครีบหางสีส้ม) : Bronze tuxedo : Flamingo tuxedo
โมเสด (Mosaic)	: พื้นลำตัวสีเทาอ่อน บริเวณด้านบนสีฟ้าหรือสีเขียว อาจแซมด้วยสีแดง สีชมพู หรือสีขาว	: หางรูปสามเหลี่ยม (Delta tail) ปลายมุมบน และล่างมน บริเวณโคนหางอาจมีสีน้ำเงินเข้ม : ครีบหลังขาวเรียบ หรือชมพูอ่อน หรืออาจมีจุดแต้ม หรือแต้มขนาดเล็ก : ครีบหางมีหลากหลาย	: Red mosaic หรือ Red butterfly หรือชิลี
กร๊าซ (Grass)	: ลำตัวมีหลากสี	: ครีบหางมีจุด หรือแต้มเล็กๆ กระจายไปทั่วตามแนวรัศมีของหาง คล้ายดอกหญ้า	: Glass tail (หญ้าแก้ว) : Glass tail albino (เผือกตาแดง)
นกยูงหางดาบ (Sword tail)	: ลำตัวมีสีเทาฟ้า เขียว แดง ชมพู เหลือง คล้ายหางนกยูงพันธุ์พื้นเมือง (Wild guppy) : อาจมีจุด หรือลวดลายบนลำตัว	: ครีบหางเป็นแฉกคล้ายปลายดาบอาจมีทั้งด้านบน และด้านล่าง หรือด้านใดด้านหนึ่ง	: Double sword (หางกรรไกร) : Top sword (หางดาบบน) : Bottom sword (หางดาบล่าง)

ที่มา : นงนุช และวันเพ็ญ, 2539

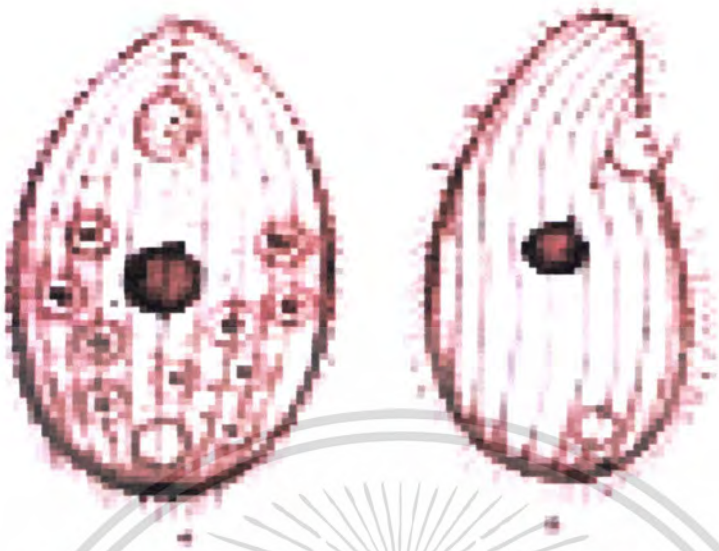
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติและลักษณะทางชีววิทยาของ *Tetrahymena* sp.

Tetrahymena sp. เป็นโปรโตซัวชนิดหนึ่ง จัดจำแนกอยู่ใน Subphylum Ciliophora, Class Ciliata, Order Hymenostomatida, Suborder Tetrahyminena, Genus Tetrahymena เป็นสัตว์เซลล์เดียว รูปไข่ (oval shape) มีขนาดเล็กมากประมาณ 30 - 50 ไมครอน มีขนเล็กๆ (cilia) เรียงเป็นแนวยาวจากด้านหน้าไปด้านท้ายเซลล์ ซึ่งเป็นส่วนที่ช่วยในการเคลื่อนที่ จำนวนแถวของซิเลียมีจำนวนแตกต่างกันตั้งแต่ 30 - 40 แถว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด (species) ลักษณะเด่นของโปรโตซัวในกลุ่มนี้ คือมีร่องปาก (cytostome) อยู่ค่อนมาทางด้านหน้าของเซลล์ และมีขนอยู่โดยรอบคอยพัดโบกสารอาหารเข้าร่องปาก ลักษณะร่องปากมีโครงสร้างเป็นเยื่อบางๆ 4 ชั้น จึงได้ชื่อว่า Tetrahymena {Tetra เป็นภาษาละติน หมายถึงจำนวน 4, hymen เป็นภาษากรีก หมายถึง เนื้อเยื่อ (membrane)} การสืบพันธุ์ทำโดยการแบ่งเซลล์ (binary fission) ซึ่งมีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ มีนิวเคลียส 2 ชนิด มีขนาดและทำหน้าที่ต่างกัน คือ นิวเคลียสขนาดใหญ่ 1 อัน ตั้งอยู่กลางเซลล์ รูปร่างเรียว แต่ไม่คงรูป เรียกว่า macronucleus มีขนาดประมาณ 10 ไมครอน เป็นส่วนที่สำคัญที่สุดของเซลล์ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับขบวนการเผาผลาญสารอาหาร และนิวเคลียสขนาดเล็ก รูปร่างค่อนข้างกลมและมีจำนวนมาก เรียกว่า micronucleus ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ โดยแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรม (genetic material) ระหว่างเซลล์ (ภาพที่ 1 และ 2) การดำรงชีวิตของ *Tetrahymena* sp. ในแหล่งน้ำธรรมชาติ มีทั้งแบบมีชีวิตอิสระ (free-living) โดยกินแบคทีเรียที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำเป็นอาหาร และเป็นปรสิต (facultative protozoa) โดยกัดกินเมือกและเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตอื่นเป็นอาหาร

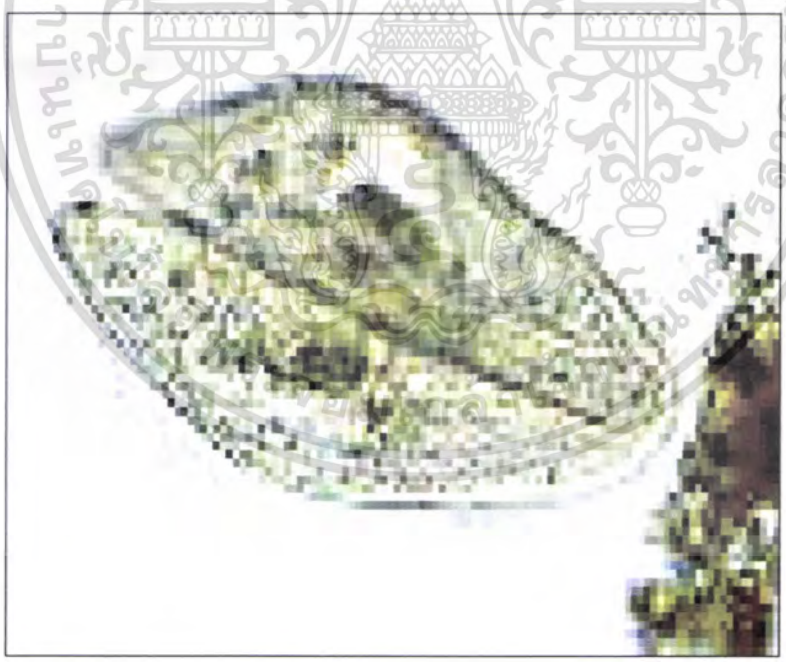
ปัจจุบันประวัติความเป็นมาของโรคที่เกิดจาก *Tetrahymena* sp. เป็นปรสิตที่สร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาหางนกยูงเป็นอย่างมาก การก่อให้เกิดโรคและการแพร่ระบาดของโรคสัตว์น้ำจากโปรโตซัวชนิดนี้ยังไม่มีรายงานแน่ชัด เนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาถึงการเกิดโรคนี้ในประเทศไทยมาก่อน แต่อาจสันนิษฐานได้ว่าอาจปนเปื้อนมากับปลาหางนกยูง หรือสัตว์น้ำอื่นๆ ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศที่มีรายงานการตรวจพบการติดเชื้อโปรโตซัว *Tetrahymena* sp. ในปลาหางนกยูงจำนวนหนึ่งที่นำเข้าจากประเทศสิงคโปร์ไปยังประเทศญี่ปุ่น ซึ่งผู้นำสัตว์น้ำเข้ามาในประเทศไทยควรตระหนักถึงเรื่องนี้ให้มากขึ้น เพราะเมื่อโรคสัตว์น้ำชนิดใหม่ที่มีความรุนแรงของโรคสูงเข้ามาในประเทศ แล้วเกิดการแพร่ระบาด การควบคุมและรักษาโรคเป็นเรื่องยากและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 ลักษณะรูปร่างของเซลล์ *Tetrahymena* sp.

ที่มา : http://www.microscope.org/application/pond-critters/protozoans/crilithora/Tetrahymena.hpm



ภาพที่ 2 ลักษณะของเซลล์ *Tetrahymena* sp. ในขณะที่ทำการแบ่งเซลล์แบบคอนจูเกชั่น

ที่มา : http://www.micro.msc.le.ac.uk/vedio/trichomonas.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะอาการของโรคที่เกิดจาก *Tetrahymena* sp.

ลักษณะอาการภายนอกที่เห็นได้ชัดเจนคือ คือ มีผิวลำตัวซีดหรือมีสีเทาสลับกับสีของผิวปลาปกติ ทำให้ดูเหมือนมีสีผิวด่าง กระจายเป็นแถบๆ ทั่วลำตัว มีแผลเลือดออก (haemorrhage) เกล็ดตั้งพองขึ้น เมื่อปลาป่วยนานขึ้นเกล็ดจะหลุด เกิดแผลในปลาที่มีการติดเชื้อค่อนข้างรุนแรงแล้ว มักมีอาการที่ผิวหนังถูกทำลายจนเป็นแผลหลุมลึกเข้าไปในกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ปลาจะว่ายน้ำช้าลง ซูบผอม บางตัวมีครีบกร่อน เหงือกบวม ซีดและทยอยตายในเวลาต่อมา การตรวจวินิจฉัยโดยละเอียดต้องทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช่แผ่นแก้วบางๆ ขูดบริเวณผิวหนัง และครีบต่างๆ หรือตัดซี่เหงือกวางบนแผ่นสไลด์แล้วตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายอย่างน้อย 10 เท่า เมื่อดึงเกล็ดออกและตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่ามีโปรโตซัวชนิดนี้ซ่อนตัวอยู่ในเนื้อเยื่อใต้เกล็ดเป็นจำนวนมาก

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ

ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของปลาที่ได้รับเชื้อ *Tetrahymena* sp. เปรียบเทียบกับพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลาปกตินั้น พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะต่างๆ ดังนี้

1. ผิวหนังและกล้ามเนื้อ

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพบริเวณผิวหนัง โดยเฉพาะที่สีผิวของปลาเป็นสีเทาขาวมีการเปลี่ยนแปลงคือ เซลล์ผิวหนังชั้นนอก ชั้นกลาง ชั้นใน ถูกทำลายหมดเนื่องจาก *Tetrahymena* sp. ใช้ขนเล็กๆ ที่มีอยู่จำนวนมากรอบๆ ลำตัว เจาะไชผ่านผิวหนังชั้นนอก โดยที่เซลล์ผิวหนังค่อยๆ ถูกทำลายจนทำให้เซลล์ตาย ถ้ามีการอักเสบเพียงเล็กน้อยพบว่าเชื้อจะคืบคลานเข้าไปจนถึงผิวหนังชั้นใน เซลล์ผิวหนังถูกทำลายมากน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของโปรโตซัว ถ้ามีจำนวนมากจะทำให้มีการทำลายเซลล์เนื้อเยื่อเร็วขึ้น อย่างไรก็ตามยังไม่ปรากฏว่าเป็นเหตุให้ปลาตายอย่างเฉียบพลัน จึงเรียกการติดเชื้อแบบนี้ว่าการติดเชื้อแบบเรื้อรัง อัตราการตายของปลาจึงค่อยๆ ทยอยตาย ส่วนปลาที่มีแผลหลุมลึก พบว่ามีการตายของเซลล์กล้ามเนื้อจำนวนมากขณะที่มีการอักเสบบ้างเล็กน้อย

2. เหงือก

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์เหงือก พบว่ามีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิว ซี่เหงือกมากขึ้น และอาการบวมน้ำ ในกรณีที่เหงือกถูกทำลายถึงขั้นรุนแรง ประกอบกับคุณสมบัติของน้ำในบ่อเลี้ยงไม่เหมาะสมจะเป็นสาเหตุให้ปลาตายอย่างเฉียบพลันได้เช่นกัน

3. ช่องท้องและอวัยวะภายในต่าง ๆ

พบเซลล์ของ *Tetrahymena* sp. เข้าไปอยู่ในบริเวณเยื่อบุช่องท้อง ตับ และไตบ้างจำนวนไม่มาก โดยพบในปลาที่มีแผลเป็นหลุมลึกเข้าไปถึงกระดูกสันหลังเท่านั้น ทั้งนี้อาจสันนิษฐานได้ว่า เมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลาเริ่มมีการติดเชื้อโปรโตซัวชนิดนี้ในขั้นรุนแรง เมื่อ *Tetrahymena* sp. สามารถทำลายเซลล์ผิวหนังและกล้ามเนื้อได้แล้ว จะเคลื่อนตัวเข้าไปสู่ช่องท้องผ่านทางกล้ามเนื้อที่ถูกทำลายจนเป็นช่อง ที่มีขนาดพอที่เซลล์ *Tetrahymena* sp. สามารถเคลื่อนที่เข้าไปในช่องท้องและอวัยวะภายในที่สำคัญได้

ผลกระทบของ *Tetrahymena sp.* ต่อปลาหางนกยูง

Tetrahymena sp. เป็นปรสิตในสัตว์น้ำทั้งภายนอก และภายใน พบได้ทั่วไปในน้ำจืด โดยเฉพาะในเมือกที่เคลือบอยู่บนสิ่งมีชีวิตหรือพืชที่ตายแล้ว โดยพบว่า *Tetrahymena* sp. จะเคลื่อนที่คล้ายลูกรักบี้หมุนเป็นเกลียว และใช้ซีเลียในการยึดเกาะผิวหนัง หรือเหงือกจนทำให้ปลาเกิดการระคายเคืองจนเป็นแผล นอกจากนี้ยังสามารถชอนไชเข้าไปในตัวปลา โดยซี้เลียนี้ผลิตน้ำย่อยโปรตีน (protease) ออกมาทำลายเนื้อเยื่อปลา และเคลื่อนที่ไปยังอวัยวะอื่นๆ จากการที่ *Tetrahymena* sp. สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วด้วยการแบ่งตัวในอาหารที่สมบูรณ์ จึงทำให้ปลาที่เป็นโรคเตตระไฮมีเนียตายในระยะเวลาอันสั้น

Hatai *et al.* (2001) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของ *Tetrahymena* sp. ต่อปลาหางนกยูง ในระยะเวลา 14 วัน พบว่าปริมาณเชื้อ *Tetrahymena* sp. ที่ 1×10^3 - 5×10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในปลาหางนกยูงที่ปกติ ปลาหางนกยูงเพศเมียยอมรับเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ดีกว่าปลาหางนกยูงเพศผู้ และในปลาหางนกยูงที่ได้รับบาดเจ็บ ความสามารถในการรับเชื้อของทั้งสองเพศจะไม่แตกต่างกัน

การวินิจฉัยโรค

นำปลาหางนกยูงป่วยเป็นโรคมาตรวจสอบโดยการใช้แผ่นปิดสไลด์ขูดบริเวณเมือกของปลาที่ยังไม่ตายมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบเชื้อที่มีรูปร่างเป็นรูปแพร เคลื่อนที่โดยหมุนเป็นเกลียว เห็นนิวเคลียส 2 ขนาด คือ ขนาดใหญ่ และขนาดเล็ก เมื่อนำไปย้อมเซลล์โดยการตรึงในสไลด์ ซึ่งสามารถแยกชนิดของโปรโตรซัวชนิดนี้ได้ มีขั้นตอนการย้อมสไลด์ 2 แบบ คือ

แบบที่ 1 ย้อมดูภายนอกเพื่อดูซีเลีย ทำได้โดยดูดเชื้อมา 30 ไมโครลิตร ทำการเสมียร์ แล้วรอให้แห้ง หลังจากนั้นใส่ 2 เปอร์เซ็นต์ ซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNo_3$) 9 นาทีท่วมรอยเสมียร์ ล้างออกด้วยน้ำก๊อก 15 วินาที ใส่น้ำก๊อกจนท่วมแผ่นสไลด์ นำไปตากแดดมากกว่า 15 นาที เทน้ำออก รอจนแห้ง นำไปส่องกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 4× เพื่อดูจุดไคมีโทรโซม (สีน้ำตาล) เพื่อดูจุดกำเนิดของซีเลีย

แบบที่ 2 ย้อมดูภายใน เพื่อดูนิวเคลียส ทำได้โดยดูดเชื้อมา 30 ไมโครลิตร ทำการเสมียร์ แล้วรอให้แห้ง หลังจากนั้นแช่ใน 10, 20, 30, 50 และ 70 เปอร์เซนต์เอทานอล ทุกขั้นตอนแช่ 1 นาที และแช่ต่อในสีคาร์มีน (carmine) โดยระยะเวลาขึ้นกับคุณภาพของสี และการติดสีของเซลล์ โดยประมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะแช่ 24 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้จนแห้ง นำไปส่องกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 4 เท่า เพื่อดูจำนวน และลักษณะของนิวเคลียส

ตารางที่ 2 อัตราการติดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เพศ	สภาพปลา	ปรสิต 10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร	จำนวนปลาตายต่อวัน ระยะเวลาหลังจากที่ได้รับเชื้อ (วัน)									จำนวนปลาที่ตาย/จำนวนปลาที่ใช้
			6	7	8	9	10	11	12	13	14	
ผู้	ปกติ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
		5	0	0	1	0	1	0	0	0	1	3/6
	ได้รับบาดเจ็บ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
		1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	3/6
		5	0	2	0	1	1	0	0	1	0	5/6
เมีย	ปกติ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
		1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2/6
		5	0	0	0	1	0	4	1	0	0	3/6
	ได้รับบาดเจ็บ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/6
		1	0	1	2	1	0	0	0	0	0	4/6
		5	0	0	0	3	2	1	0	0	0	6/6

ที่มา : Hatai *et al.* (2001)

สารเคมีบางชนิดที่นิยมนำมาใช้กำจัดโปรโตซัว

1. **ฟอร์มาลิน** (Formalin)

1.1 **คุณสมบัติทางกายภาพ**

ฟอร์มาลิน หรือวงการแพทย์เรียกว่า "น้ำยาดองศพ" ลักษณะทั่วไปของสารละลายฟอร์มาลิน คือ เป็นสารละลายใส ไม่มีสีหรือเทียบได้ไม่เกินแพลทินัมโคบอลต์สเกต (Platinum cobalt scale) เบอร์ 10 เมื่อตรวจสอบตาม ASTMD 1209 มีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว ปราศจากสิ่งแปลกปลอม สามารถจุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

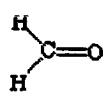
ไฟติด และเป็นโพลิเมอร์แก๊สทีอุณหภูมิห้องและความดันปกติ ความหนาแน่นไอ 1.08 ละลายได้ดีในน้ำ และแอลกอฮอล์ โดยทั่วไปสารละลายฟอร์มาลดีไฮล์ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์มากมาย เช่น ใช้ฆ่าเชื้อโรค (disinfectant) ใช้ดับกลิ่น (deodorant) ใช้ป้องกันไม่ให้ศพเน่าเปื่อย (ภัทรา, 2540)

1.2 คุณสมบัติทางเคมีและทางฟิสิกส์

ฟอร์มาลินมีสูตรโมเลกุล CH_2O มีน้ำหนักโมเลกุล 30.03 เป็นสารละลายที่ประกอบด้วยฟอร์มาลดีไฮล์ 37-40 เปอร์เซ็นต์ แต่จะคิดเป็นฟอร์มาลินเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปกติจะมีเมธานอลผสมอยู่ประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันไม่ให้ฟอร์มาลินเปลี่ยนรูปเป็นพาราฟอร์มาลดีไฮล์ซึ่งเป็นพิษมากกว่าฟอร์มาลินมาก ฟอร์มาลินเป็นสารรีดิวส์อย่างแรง (strong reducing agent) เมื่อถูกอากาศจะถูกออกซิไดซ์ช้าๆ เปลี่ยนเป็นกรดฟอร์มิก (formic acid) มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ประมาณ 2.8-4.5 ฟอร์มาลินมีความสามารถในการรวมตัวกับน้ำ แอลกอฮอล์ (alcohol) และอะซีโตน (acetone) สารดังต่อไปนี้ไม่สามารถใช้ร่วมกับฟอร์มาลินได้ ได้แก่ แอมโมเนีย อัลคาไลด์ (alkaline) แทนนิน (tannin) สารประกอบเหล็ก เจลาติน (gelatin) ไบซัลไฟด์ (bisulfide) เกลือทองแดง เหล็ก เงิน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ไอโอดีน และด่างทับทิม (ภัทรา, 2540; Windholz, 1976) ฟอร์มาลินเมื่อเก็บไว้นานๆ หรือเก็บในที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4.4 องศาเซลเซียส (40 องศาฟาเรนไฮต์) ฟอร์มาลินจะเปลี่ยนรูปไปเป็นพาราฟอร์มาลดีไฮด์ หรือที่เรียกชื่อว่า ไทออกซีเมททิลิน (trioxymethylene) มีลักษณะเป็นตะกอนสีขาว มีความเป็นพิษสูงกว่าฟอร์มาลินมาก (Roberts and Shepherd, 1979; Wellborn, 1979; Kabata, 1985) เพราะจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ

จากการวิจัยพบว่าฟอร์มาลินมีผลไปลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำได้โดยตรง โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นดึงออกจากน้ำแล้วเปลี่ยนเป็นกรดฟอร์มิก ทำให้ pH ลดลง ซึ่งฟอร์มาลินที่ระดับความเข้มสูงๆ สามารถลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลงได้มากกว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำ นอกจากนี้ฟอร์มาลินยังมีผลไปลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำได้ทางอ้อม โดยการฆ่าแพลงก์ตอนพืชบางส่วนทำให้การผลิตออกซิเจนโดยการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชลดลง ในขณะเดียวกันมีการใช้ออกซิเจนเพื่อย่อยสลายแพลงก์ตอนโดยจุลินทรีย์ จึงมีผลทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำลดลงได้มากกว่าปกติ (ชาญวิทย์, 2543)

สูตรโครงสร้างทางเคมีของฟอร์มาลิน และคุณสมบัติบางประการ



สูตรโครงสร้างทางเคมี CH_2O

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิที่ติดไฟเอง (auto-ignition temp.)	80.6 องศาฟาเรนไฮต์
จุดเดือด	-3 องศาฟาเรนไฮต์
ความหนาแน่น	1.0
น้ำหนักโมเลกุล	30.03

1.3 การใช้ฟอร์มาลินในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ฟอร์มาลินจะใช้ในการป้องกัน และกำจัดปรสิตจำพวกโปรโตซัว และโมโนจีน รวมทั้งเชื้อรา และแบคทีเรีย (Wright, 1976; Kabata, 1985) วิธีการที่นิยมใช้ คือการจุ่ม (dip) การแช่ระยะสั้น (short-tembath) และการแช่ระยะยาว (indefinite treatment) การใช้ฟอร์มาลินเพื่อกำจัดปรสิตภายนอกต้องเลือกใช้ในระดับที่เหมาะสมกับขนาด และชนิดของปลา (เต็มดวง, 2529) เนื่องจากปลาที่สัมผัสกับฟอร์มาลินที่ระดับความเข้มข้นสูงถึง 200 พีพีเอ็ม จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อและสรีระ รวมทั้งอาจทำให้ปลาตายได้ (Wedemeyer and Yasutake, 1974; Williums and Wootten, 1981)

การใช้ฟอร์มาลินส่วนใหญ่จะแช่นานตลอดไปให้ฟอร์มาลินสลายตัวไปเอง โดยความเข้มข้นที่ใช้กับบ่อเลี้ยงปลาในการรักษาโรคปลาติดต่อกันเป็นเวลานานจะอยู่ในช่วง 25-50 พีพีเอ็ม แล้วแต่ชนิดของปรสิต (สิทธิ, 2524; กมลพร และสุปราณี, 2526) ในการควบคุมปรสิตมักใช้ฟอร์มาลินที่ระดับความเข้มข้น 125-250 พีพีเอ็ม แช่นาน 60 นาที หรือใช้ความเข้มข้น 25 พีพีเอ็ม แช่ระยะยาว (Wright, 1976) ฟอร์มาลินที่ใช้ในการควบคุมเชื้อราบนไข่ปลามีความเข้มข้นสูงถึง 1600-2000 พีพีเอ็ม แช่นาน 15 นาที (ซลอ, 2528) การใช้ฟอร์มาลินในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำกร่อยจะใช้ฟอร์มาลินเข้มข้น 200-250 พีพีเอ็ม แช่ลูกปลากระพงขาวขนาดเล็กในระยะเวลา 60 นาที เพื่อฆ่าเชื้อโรค (สิริ และเพิ่มศักดิ์, 2528) การอนุบาลลูกกุ้งกุลาดำในบ่อใช้ฟอร์มาลินเข้มข้น 30-50 พีพีเอ็ม ป้องกันและรักษาโรค แต่ควรให้อากาศอย่างเพียงพอ และควรเปลี่ยนสารละลายฟอร์มาลินใหม่ทุกๆ 24 ชั่วโมง เพราะฟอร์มาลินจะสลายตัวได้ดีเมื่อสัมผัสอากาศ (สิทธิ, 2524) นอกจากนี้การใช้ฟอร์มาลินกำจัดโรค และปรสิตในลูกกุ้งนั้น อาจมีผลทำให้ลูกกุ้งลอกคราบช้ากว่าปกติ ได้มีการแนะนำให้ใช้ฟอร์มาลินในการป้องกันและกำจัดโปรโตซัว ได้แก่ อิ๊ค (*Ichthyopthirius multifilis*) เห็บระฆัง (*Trichodina* sp.) *Epistylis* sp. ใช้ในการป้องกัน และกำจัดปลิงใส (Monogenetic trematode) เป็นต้น (กมลพร และสุปราณี, 2526) นอกจากนี้จากการทำการทดลองของ Ponpornpisit *et al.* (2001) ทดลองใช้ฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 พีพีเอ็ม ในการใช้กำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. พบว่าที่ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอร์มาลินสามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 24 ชัวโมง ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม สามารถทำลายเชื้อภายใน 3 ชั่วโมง ส่วนที่ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม สามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 1 ชั่วโมง

นอกจากนี้ฟอร์มาลินยังสามารถนำมาใช้ทำความสะอาดเครื่องใช้ และภาชนะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยใช้ฆ่าเชื้อในน้ำก่อนที่จะใช้ฟักไข่ หรืออนุบาลลูกกุ้ง (ยนต์ และประดิษฐ์, 2530) ใช้ในการเก็บรักษาเนื้อเยื่อ (Humason, 1979) และฆ่าแบคทีเรียรวมทั้งสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในน้ำ (Kabata, 1985)

การตกค้างของฟอร์มาลินในเนื้อเยื่อสัตว์น้ำ เมื่อนำปลาที่ได้รับการสัมผัสกับฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้นสูงๆ มาตรวจปริมาณของฟอร์มาลินในตัวปลา พบว่าไม่มีการตกค้างของฟอร์มาลินที่กล้ามเนื้อ ตับ และกระแสเลือด (Silis, 1979) เช่นเดียวกับการทดลองในกุ้ง (*Penaeus stylirostris*) จึงถือว่าเป็นผลดีในการที่จะไม่ก่อให้เกิดอันตราย หรือเกิดการสะสมของฟอร์มาลินในร่างกายผู้บริโภคสัตว์น้ำที่ผ่านการใช้ฟอร์มาลินในการป้องกัน และกำจัดโรค (Hose and Lightner, 1980)

1.4 ความเป็นพิษของฟอร์มาลินต่อสัตว์น้ำ

ฟอร์มาลินถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในการป้องกัน และกำจัดโรค แต่ผู้ใช้จะต้องมีความระมัดระวังในการเลือกระดับความเข้มข้นให้เหมาะสมกับสัตว์น้ำ

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำ ความเป็นพิษของฟอร์มาลินมีมากใน 24 ชั่วโมงแรก และได้มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงในลูกปลาไน และปลาช่อนที่เหลือรอดตายจากการทดลองพิษเฉียบพลัน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ลูกปลาตะเพียนขาวมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ซี่เหงือก และตับมีไขมันเพิ่มขึ้น (สิริ และเพิมศักดิ์, 2528) การแช่ปลา steelhead trout และ chinook salmon ในฟอร์มาลินความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม นาน 1 ชั่วโมง มีผลทำให้เซลล์บุผิวของซี่เหงือกของปลาทั้ง 2 ชนิด มีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นเกิดการเสื่อมสภาพ และมีการตายของเซลล์บุผิวของซี่เหงือก เหงือกของปลา steelhead trout ถูกทำลายมากกว่าปลา chinook salmon (Wedemeyer and Yasutake, 1974) ส่วนการใช้ฟอร์มาลินที่ระดับความเข้มข้นที่ 200 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในปลา rainbow trout พบว่าเซลล์ตับของปลาเกิดการเสื่อมสภาพของไซโตพลาสซึม (cytoplasmic degeneration) (Williams and Wootten, 1981)

ผลกระทบต่อการเจริญเติบโต พบว่าเมื่อใช้ฟอร์มาลินในระดับความเข้มข้น 25 และ 50 พีพีเอ็ม ติดต่อกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาไน แต่ที่ความเข้มข้น 75 พีพีเอ็ม ใช้ติดต่อกันนาน 4 สัปดาห์ มีผลทำให้ปลาไนเจริญเติบโตช้าลง (เต็มดวง, 2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. **ด่างทับทิม** (Potassium permanganate; $KMnO_4$)

2.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

ด่างทับทิมเป็นเกลือเปอร์แมงกาเนตที่มีโปตัสเซียมเป็นองค์ประกอบ เป็นสารเคมีที่มีลักษณะเป็นผลึกสีม่วงเข้ม เป็นเงาเหมือนโลหะ ปราศจากกลิ่น เมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายสีชมพูถึงสีม่วง ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้น โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นออกซิไดซิ่งรีเอเจนต์ สามารถฆ่าจุลชีพ เช่น แบคทีเรีย และไวรัสได้ มีผู้ที่นิยมนำโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตไปใช้ในการทำความสะอาดผักก่อนบริโภค และใช้ล้างแผลโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อฆ่าเชื้อ การใช้โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในวงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดพยาธิภายนอก เช่น เชื้อรา โปรโตซัว และแบคทีเรียตามผิวหนัง

2.2 คุณสมบัติทางเคมีและทางฟิสิกส์

โปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตเกิดจากแมงกาเนต 1 อะตอม แล้วล้อมรอบด้วยออกซิเจน 4 อะตอม น้ำหนักโมเลกุลของเปอร์แมงกาเนตเท่ากับ 158.04 กรัมต่อโมล รูปร่างของเปอร์แมงกาเนตเป็นแบบ tetrahedral (ภาพที่ 3) โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรง โดยค้นพบครั้งแรกในปี 1659 การที่เป็นตัวออกซิไดซ์จึงมีความสามารถในการรวมตัวกับออกซิเจน โดยจะทำการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจน หรืออิเล็กตรอนจากธาตุองค์ประกอบ

สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Potassium permanganate

ภาพที่ 3 รูปร่างของเปอร์แมงกาเนต

ที่มา : http://www.caruschem.com/permanganate.htm?sec=permanganate

การที่โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นออกซิไดซิ่งรีเอเจนต์นั้น เมื่อละลายในน้ำที่มีปริมาณอินทรียสาร หรือรีดิวซิงเอเจนต์อยู่มากจะทำให้สลายตัวอย่างรวดเร็ว โดยเข้าทำปฏิกิริยากับสารดังกล่าวแล้วก็จะเปลี่ยนรูปไปเป็นแมงกานีสไดออกไซด์ (MnO_2) ซึ่งมีผลทำให้สีของสารละลายเป็นสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชา หรือน้ำตาลแกมเหลือง โดยโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเมื่อละลายน้ำจะแตกตัวให้โปรตัสเซียมไอออน (K^+) และเปอร์แมงกาเนตไอออน (MnO_4^-) ดังสมการที่ (1)

$$KmnO_4 \longrightarrow K^+ + MnO_4^- \quad \text{.....(1)}$$

เปอร์แมงกาเนตไอออนในน้ำจะว่องไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเป็นอย่างมาก โดยหลังจากเข้าทำปฏิกิริยาแล้วจะถูกรีดิวซ์ให้อยู่ในรูปแมงกานีสไดออกไซด์

ในสารละลายที่เป็นกรดจำนวนออกซิเดชั่น (oxidation number) ของแมงกานีสจะมีค่าเป็น +2 ดังสมการที่ (2)

$$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- \longrightarrow Mn^{+2} + 4H_2O \quad \text{..... (2)}$$

ส่วนในสารละลายที่เป็นกลาง หรือเบส แมงกาเนตไอออนจะถูกรีดิวซ์ให้อยู่ในรูปของแมงกานีสไดออกไซด์ดังสมการที่ (3)

$$MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- \longrightarrow Mn^{+2} + 2H_2O \quad \text{..... (3)}$$

เมื่อถูกความร้อนจัดโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตจะสลายตัวให้ออกซิเจนได้โดยตรง ปริมาณออกซิเจนที่ได้จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิดังสมการที่ (4) และ (5)

$$2KMnO_4 \longrightarrow K_2MnO_4 + MnO_2 + O_2 \quad \text{.....(4)}$$

(อุณหภูมิต่ำกว่า 200 องศาเซลเซียส)

$$2KMnO_4 \longrightarrow 2K_2MnO_3 + 2MnO_2 + 3O_2 \quad \text{.....(5)}$$

(อุณหภูมิสูงกว่า 200 องศาเซลเซียส)

ในระยะแรกนั้นเคยเชื่อกันว่าโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเพิ่มออกซิเจน (molecular oxygen) ให้แก่น้ำโดยตรงดังสมการที่ (6) แต่เมื่อพิจารณาจากสมการที่ (8) จะพบว่าปริมาณโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ต้องการใช้เพื่อให้ได้ออกซิเจน 1 พีพีเอ็ม อย่างน้อยจะต้องมีค่าความต้องการเปอร์แมงกาเนตของน้ำ 6.58 พีพีเอ็ม ซึ่งความเข้มข้นระดับนี้อาจทำให้สัตว์น้ำตายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$2KMnO_4 + H2O \longrightarrow 2KOH + 2MnO_2 + 1½O_2 \text{.....(6)}$$

$$MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- \longrightarrow MnO_2 + 2H_2O \text{.....(7)}$$

$$4MnO_4^- + 2H_2O \longrightarrow 4OH^- + 4MnO_2 + 3O_2 \text{.....(8)}$$

Boyd (1982) กล่าวว่าแนวความคิดของ Mathis *et al.* (1962) ไม่ผิดทั้งหมด ทั้งนิเพราะออกซิเจนโมเลกุลสามารถเกิดขึ้นได้ ถ้าน้ำที่เราเติมโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตลงไปมีอินทรียสารแล้วเปลี่ยนรูปเป็นแมงกานีสไดออกไซด์ (สมการที่ 7) ซึ่งจะกลายเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในการเกิดออกซิเจนโมเลกุล (สมการที่ 8)

แต่เนื่องจากว่าปฏิกิริยาในสมการที่ (6) มีโอกาสเกิดได้น้อยมาก โดยเฉพาะในบ่อเลี้ยงปลา เพราะเปอร์แมงกาเนตไอออนที่เติมลงไปจะถูกดึงไปใช้ในการทำปฏิกิริยาหมดเสียก่อน ยกเว้นในกรณีที่เติมโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตลงไปมากเกินพอจนมีเปอร์แมงกาเนตไอออนเหลืออยู่ ปฏิกิริยาในสมการที่ (8) จึงเกิดขึ้นได้ นอกจากนี้ยังพบว่าออกซิเจนที่ได้จากสมการนี้เกิดขึ้นน้อยมากจนแถบวัดไม่ได้ (Boyd, 1982)

คุณสมบัติในการเป็นตัวออกซิไดซ์ที่ดีของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตได้ถูกนำไปใช้ประโยชน์ในการกำจัดอินทรียสารที่มีคุณบัติเป็นตัวรีดิวซ์บางชนิด เช่น เฟอรัสไอออน (Fe^{+2}) แมงกานีสไอออน (Mn^{+2}) ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของน้ำให้ดีขึ้น (Adams, 1960; Humphrey and Eikleberry, 1962; Lay, 1971; Welch, 1963; Willey *et al.*, 1964) ดังสมการต่อไปนี้

$$3Fe(HCO_3)_2 + KMnO_4 + 7H_2O \longrightarrow MnO_2 + 3Fe(OH)_3 + KHCO_3 + 5H_2CO_3 \text{.....(9)}$$

2.3 ความต้องการเปอร์แมงการเนตของน้ำ (potassiumpermanganate Demand; PPD)

ค่า PPD ของน้ำ หมายถึงความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต (พีพีเอ็ม) ที่ถูกใช้ไปในการทำปฏิกิริยากับอินทรียสาร หรือรีดิวซิงเอเจนต์ภายในเวลาที่กำหนด ค่านี้จะแตกต่างกันไปตามสภาพของแหล่งน้ำ โดยจะขึ้นอยู่กับปริมาณอินทรียสาร รีดิวซิงเอเจนต์ และระยะเวลาที่เติมสาร (Boyd, 1979; Tucker, 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาค่า PPD ของน้ำตัวอย่างอาจหาได้โดยวิธีการแบบง่ายของ Boyd (1979) ซึ่งอาศัยหลักการเปรียบเทียบสีของสารละลายโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในน้ำตัวอย่างที่ปรับให้มีความเข้มข้นต่างๆ กันในหลอด Nessler ที่ความเข้มข้นของสารละลายยังเป็นสีชมพูอ่อนในช่วงเวลาที่กำหนด คือ ค่า PPD โดยประมาณของน้ำตัวอย่าง

นอกจากนี้ยังสามารถหาได้โดยวิธีการวัดความเข้มข้นของสี (colorimetric method) ของสารละลายโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหลืออยู่ โดยนำมาทำปฏิกิริยากับน้ำยา Orthotolidine (จะได้สารละลายสีเหลือง) ที่มีความยาวคลื่น 432 นาโนเมตร วิธีการนี้ Engstrom-Heg (1971) ดัดแปลงมาจากวิธีการหาค่าความต้องการคลอรีนของน้ำ (chiorine demand) ของ Loeb and Engstrom-Heg (1970) จากวิธีดังกล่าวยังสามารถคำนวณหาค่าอัตราการสลายตัว และความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ยังเหลืออยู่ในน้ำอีกด้วย

ค่า PPD มีประโยชน์ในการตัดสินใจเลือกใช้โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต ให้มีความเข้มข้นเหลืออยู่ในช่วงที่เราต้องการ ตัวอย่าง เช่น ในการลดความเป็นพิษของโรทีนอน (rotenone) ที่ใช้เบื่อปลาตามแม่น้ำลำธารซึ่งจำเป็นต้องรู้ค่า PPD ของน้ำเพื่อเติมโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตให้มีเหลืออยู่ในน้ำพอที่จะทำปฏิกิริยากับโรทีนอนให้หมดไป มิฉะนั้นพิษของโรทีนอนที่เหลืออยู่อาจทำให้ปลาที่อยู่ปลายแม่น้ำตายได้ ในกรณีนี้ได้มีผู้คิดค้นเครื่องมือผสมโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตลงในลำธารขนาดเล็กที่มีการเก็บตัวอย่างโดยใช้โรทีนอนขึ้น เรียกว่า potassium permangnate dispenser (Schoenecker and Rhodes, 1965) ซึ่งใช้กำลังหมุนใบพัด (peddle wheel) จากการไหลของน้ำ อย่างไรก็ตามเครื่องมือชนิดนี้ยังต้องรอการปรับปรุงอีกมากเพื่อให้เหมาะกับการใช้งานในสนามยิ่งขึ้น (มานพ, 2528)

2.4 การใช้โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

2.4.1 การใช้โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเพื่อป้องกัน และกำจัดโรคสัตว์น้ำ

การใช้โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในการป้องกัน และกำจัดโรคสัตว์น้ำทำกันมาเป็นเวลาช้านานแล้ว คือราวต้น ค.ศ. ที่ 19 (Snieszko and Axelrod, 1970) โดยเริ่มขึ้นในประเทศเยอรมัน ระยะแรกใช้แช่ปลาคาร์พ (carp, *Cyprinus carpio*) ที่มีเห็บปลา (argulus) เป็นปรสิต วิธีการที่นิยมกันมาก คือการเตรียมสารละลายเข้มข้น (stock solution) ของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต 1 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร และนำสารละลายนี้ไปแช่ในอัตราส่วน 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร นาน 30 นาที นอกจากนี้เวลาที่ใช้แช่อาจน้อยลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ต่อมาได้มีการนำโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตมาใช้ในการกำจัดโรคปลา ทั้งที่เกิดจากปรสิตภายนอก และแบคทีเรีย วิธีการที่ใช้ในการกำจัดจะแตกต่างกันออกไป ได้แก่ การจุ่ม (dip treatment) แช่ระยะสั้น (short duration treatment)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือแช่ตลอด (indefinite treatment) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ ชนิดและขนาดของปลา รวมทั้งชนิดของโรคเป็นสำคัญ (Herwig, 1979)

2.4.2 การใช้โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเพื่อปรับคุณสมบัติบางประการในบ่อเลี้ยงปลา

2.4.2.1 ใช้ลดปริมาณสารที่มีคุณสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ ซึ่งสารเหล่านี้จะมีผลทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen) ลดลง ได้แก่ เฟอรัสไอออน (Fe^{+2}) แมงกานีสไอออน (Mn^{+2}) และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) (Adams, 1960; Humphrey and Eikleberry, 1962; Welch, 1963; Willey *et al*., 1964)

2.4.2.2 ใช้ในการแก้ปัญหาเกี่ยวกับรส และกลิ่นของน้ำ ซึ่งเกิดจากสาหร่ายบางชนิด และกำจัดสาหร่ายบางชนิดในน้ำ (Cherry, 1962; Bauer, 1966; Fitzgerald, 1966; Kemp *et al*., 1966; Rauch, 1964)

2.4.2.3 ใช้ในการลดความเป็นพิษของสารบางชนิดในน้ำ ได้แก่ โรทีนอน (Lawrence, 1965) แอนติมัยซิน เอ (Berger *et al*., 1969; Walker, 1967; Marking and Bills, 1975)

2.4.2.4 ใช้ยับยั้งการลดลงของออกซิเจนในบ่อเลี้ยงปลา โดยโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตจะเข้าทำปฏิกิริยากับรีดิวซิงเอเจนต์ และอินทรียสาร ทั้งที่อยู่ในรูปสารละลาย (soluble organic matter) และอนุภาคแขวนลอย (suspended organic matter) (Engstrom-Heg, 1971; Lay, 1971; Boyd, 1982; Spicher and Skrinde, 1983) ซึ่งจะทำให้อัตราการใช้ออกซิเจนในบ่อลดลง

2.5 ความเป็นพิษของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตต่อสิ่งมีชีวิต

แม้ว่าโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตจะถูกนำมาใช้ประโยชน์ได้ดีในกิจกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แต่ก็มีข้อจำกัดอยู่ประการหนึ่งที่ผู้ใช้ต้องระมัดระวังเป็นพิเศษ คือ ความเป็นพิษ และผลข้างเคียงที่เกิดจากการใช้ (Boyd, 1982) โดยความเป็นพิษของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตต่อแบคทีเรียเกิดจากการปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของเปอร์แมงกาเนตไอออน (MnO_4^-) ที่บริเวณผิวเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เป็นผลให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียคุณสมบัติ และหน้าที่ทางสรีรวิทยาไป (Boyd, 1979) โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตจะมีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแกรมบวก (Stearn, 1930; Tucker and Boyd, 1977) นอกจากนี้ยังมีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กอีกหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เช่น สาหร่าย (Kemp *et al*., 1966) รวมทั้งเชื้อรา และปรสิตภายนอกอีกหลายชนิด (Herwig, 1979) สำหรับปลาพบว่าในสภาพน้ำที่สะอาดโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตจะมีความเป็นพิษค่อนข้างสูง (กนกรัตน์, 2538) และความเป็นพิษจะน้อยลงเมื่อแหล่งน้ำมีปริมาณอินทรียสารอยู่มาก (Duijin, 1967)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

99168

ข้อควรระวังในการใช้โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต

การใช้ด่างทับทิมความเข้มข้นสูงในบ่อที่มีแพลงก์ตอนขึ้นอยู่หนาแน่นอาจก่อให้เกิดผลเสีย คือ ทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลง เนื่องจากโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นพิษต่อสาหร่ายโดยตรง ทำให้สาหร่ายตายเป็นจำนวนมาก ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงในบ่อน้ำลดลง ขณะเดียวกันจะดึงออกซิเจนในน้ำไปใช้ในขนวนการเน่าสลายของแพลงก์ตอนพืชที่ตายไปแล้วด้วย (Boyd, 1982)

เนื่องจากเชื่อ *Tetrahymena* sp. เป็นปัญหาต่อวงการการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม โดยเฉพาะปลาหางนกยูงจึงได้มีผู้ที่ทำการทดลองการกำจัด และควบคุมเชื้อ *Tetrahymena* sp. โดยพบว่าในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. จากการทำการทดลองของ Ponpompisit *et al.* (2001) รายงานว่ามีสารเคมี 6 ชนิดที่สามารถใช้กำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ ได้แก่ มาลาไคล์กรีน โซเดียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ฟอร์มาลิน ควินนีนซัลเฟต และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยสารทั้ง 6 ชนิดนี้มีการใช้ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ซึ่งมาลาไคล์กรีนที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็ม มีความสามารถในกำจัดเชื้อได้ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 0.1 ส่วนที่ความเข้มข้นที่ 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็ม สามารถทำลายเชื้อได้ภายในเวลา 3 ชั่วโมง โซเดียมคลอไรด์ทำการทดลองที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 24 ชั่วโมง แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ทำการทดลองที่ความเข้มข้น 0, 50, 10 และ 200 พีพีเอ็ม พบว่าที่ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม ไม่สามารถทำลายเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ แต่ที่ความเข้มข้น 100 และ 200 พีพีเอ็ม สามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 1 ชั่วโมง ฟอร์มาลินได้ทำการทดลองที่ความเข้มข้น 0, 50 100 และ 200 พีพีเอ็ม โดยพบว่าที่ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม ฟอร์มาลินสามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม สามารถทำลายเชื้อภายใน 3 ชั่วโมง ส่วนที่ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม สามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 1 ชั่วโมง ควินนีนซัลเฟตทำการทดลองที่ความเข้มข้นที่ 0, 100, 200 และ 400 พีพีเอ็ม พบว่าที่ความเข้มข้น 400 พีพีเอ็ม เท่านั้นที่สามารถทำลายเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ภายใน 24 ชั่วโมง และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำการทดลองที่ความเข้มข้น 0, 100 200 และ 400 พีพีเอ็ม พบว่าที่ความเข้มข้น 400 พีพีเอ็ม สามารถทำลายเชื้อได้ภายใน 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ขวดแก้วที่ใช้ในการเตรียมอาหาร และเลี้ยงเซลล์
2. centrifuge tube
3. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated Centrifuge ยี่ห้อ Hettich รุ่น Universal 16K)
4. well plate (24 หลุม)
5. micropipette และ tip
6. น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว
7. น้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้ว (ใช้ในการเลี้ยงปลา)
8. สไลด์ และ cover glass
9. cylinder
10. stealing flim
11. FBS (Fetal Bovin serum)
12. P/S (Pennicilin / Steptomycin)
13. ฟอร์มาลิน (บริษัท Analytical Sciences; Analytical reagent A.R., CH_2O Formaldehyde solution 35-40 เปอร์เซ็นต์ โดยมวลต่อปริมาตร)
14. potassiumpermanganate (บริษัท CARLO ERBA REAGENTI; $KmnO_4$)
15. บีกเกอร์ที่ใช้เลี้ยงปลาขนาด 1 ลิตร 9 ใบ
16. ปลาหางนกยูงเพศผู้ 90 ตัว

วิธีการ

แผนการทดลอง

การทำการทดลองนี้ต้องการความเข้มข้นของสารเคมี คือ ฟอร์มาลิน และด่างทับทิมที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ทั้งในห้องปฏิบัติการโดยใช้ความเข้มข้นของฟอร์มาลินและด่างทับทิมที่ระดับต่างๆ กัน 5 ระดับ พร้อมหน่วยควบคุมที่ไม่ทำการใส่สารเคมี แล้วนำไปทดสอบในปลาหางนกยูงที่มีการติดเชื้อ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 1 : การหาความเข้มข้นของสารเคมี และเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ความเข้มข้นของสารเคมี 5 ระดับ พร้อมหน่วยควบคุม ซึ่งในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลองอย่างละ 4 ซ้ำ โดยใช้ well plate ขนาด 24 หลุม ในการทำการทดลองในแต่ละหลุมให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 2,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตรวจผลการทดลองโดยทำการนับเซลล์ที่มีชีวิตภายใน 48 ชั่วโมง โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ขั้นตอนคือ

1.1 การใช้ระดับความเข้มข้นในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ในเบื้องต้น

กำหนดระดับความเข้มข้นของฟอร์มาลินที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 พีพีเอ็ม และระดับความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 พีพีเอ็ม พร้อมหน่วยควบคุม โดยแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

1.2 การใช้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp.

กำหนดระดับความเข้มข้นของฟอร์มาลินที่ 50, 100, 125, 150 และ 200 พีพีเอ็ม และระดับความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ 5, 10,15, 20 และ 25 พีพีเอ็ม พร้อมหน่วยควบคุม แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

การทดลองที่ 2 : การทดสอบความทนได้ของปลาหางนกยูงต่อสารเคมีที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. โดยเลือกความเข้มข้นจากการทำการทดลองที่ 1 ซึ่งใช้ปลาหางนกยูงจำนวน 5 ตัว ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ พร้อมหน่วยควบคุม ตรวจผลการทดลองโดยเฝ้าดูอาการของปลาในน้ำที่มีสารเคมีในระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่ทำในการทดลองที่ 1 หลังจากนั้นนำปลามาเฝ้าดูต่อในน้ำสะอาดเป็นเวลา 2 วัน

การทดลองที่ 3 : การทดลองหาประสิทธิภาพของสารเคมีในการรักษาปลาหางนกยูงที่มีการเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ โดยใช้ความเข้มข้นของสารเคมีที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อ *Tetrahymena* sp. จากการทดลองที่ 1 และ 2 มาทดสอบกับปลาที่มีการติดเชื้อ และเริ่มแสดงอาการ พร้อมหน่วยควบคุม โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นอย่างละ 3 ซ้ำ ในการทำการทดลองที่ 3 นี้ ปลาถูกนำมาทำการทดลองตั้งแต่ปลาเริ่มมีอาการของเชื้อ แล้วจึงทำการใส่สารเคมี และเมื่อปลาแสดงอาการของเชื้อไปแล้ว 2 วัน หลังจากนั้นจึงทำการใส่สารเคมี และเปลี่ยนถ่ายน้ำวันเว้นวัน เฝ้าดูอาการของปลาหางนกยูงเป็นเวลา 14 วัน ในแต่ละหน่วยการทดลองให้ใส่ปลาหางนกยูงเพศ 10 ตัว ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร โดยใส่น้ำ 800 มิลลิลิตร พร้อมกับใส่เชื้อ *Tetrahymena* sp. ประมาณ 1,000 เซลล์ต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20545

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 : การหาความเข้มข้น และเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ในห้องปฏิบัติการ

1.1. การหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ในเบื้องต้น

1.2. การหาระดับความความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp.

ขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อ *Tetrahymena* sp.

1. นำน้ำบ่อผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องอบแรงดันไอน้ำ
2. นำน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่เย็นแล้วมาผสมกับ 5 เปอร์เซ็นต์ FBS (Fetal Bovin serum) และ 1 เปอร์เซ็นต์ P/S (Pennicilin / Steptomycin) อาหารเลี้ยงเชื้อนี้เรียกว่า " APW"
3. ทำการเลี้ยงเชื้อ โดยเลี้ยงเชื้อ *Tetrahymena* sp. 2 มิลลิลิตรต่ออาหาร APW 8 มิลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 4-5 วัน

ขั้นตอนการทดลองใน well plate

1. ทำการคำนวณหาปริมาณของฟอร์มาลิน และด่างทับทิม เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการในกับทำการทดสอบเมื่อมีการใส่ผสมกับปริมาณของเชื้อ
2. นำปริมาณฟอร์มาลิน และด่างทับทิมที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งคำนวณแล้ว มาทำการเติมในอาหาร APW เพื่อทำเป็น stock solution (หมายเหตุ : สารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตก่อนที่จะนำมาทำเป็น stock solution ต้องทำการหาค่า PPD ตามวิธีการของ Boyd (1979) ก่อน แล้วจึงนำค่าความเข้มข้น PPD ในน้ำนั้นมารวมเข้ากันกับความเข้มข้น stock solution ที่กำหนดไว้)
3. นำเชื้อ *Tetrahymena* sp. ที่เลี้ยงในอาหาร APW ไว้มาใส่ใน centrifuge tube ประมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วทำการเติมน้ำกลั่นลงไปในหลอด centrifuge tube จนมีปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร
4. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส ดูดน้ำบริเวณบนๆ หลอด centrifuge tube ออกประมาณ 8 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปในหลอด centrifuge tube อีก จนมีปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง (ทำซ้ำ 2 ครั้ง)
5. ดูดน้ำออกให้เหลือประมาณครึ่งหนึ่งของบริเวณส่วนที่เป็นกรวยของ centrifuge tube

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
จอมบึงเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ราชกระบี่

6. ทำการนับเซลล์ (ดูดเชื้อมา 2 ไมโครลิตร แล้วหยดลงบนสไลด์ โดยทำซ้ำ 3 จุดบนสไลด์เดียวกัน) ใช้ปลายเข็มเขี่ยจุ่ม 1 เปอร์เซ็นต์ฟอร์มาลิน แล้วนำไปแตะบริเวณกลางหยดเชื้อที่ดูดขึ้น เพื่อทำให้เซลล์หยุดการเคลื่อนที่

7. ทำการนับเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ แล้วหาค่าเฉลี่ยจากทั้ง 3 หยด ทำการคำนวณ และเจือจางเชื้อ *Tetrahymena* sp. ให้มีเชื้อ 2,000 ตัวต่อมิลลิลิตร

8. ที่ความเข้มข้นต่างๆ ให้ใส่เชื้อ *Tetrahymena* sp. 1 มิลลิลิตร (ทำการคนเชื้อก่อนที่จะนำมาใส่ well plate) และทำการเติม stock solution ปรับปริมาตรภายใน well plate ให้ได้ 1.5 มิลลิลิตร ทุกระดับความเข้มข้นทำการทดลองอย่างละ 4 ซ้ำ

9. ทำการสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ โดยนำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ก่อนทำการเก็บที่ตู้เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อดูความสม่ำเสมอของเชื้อ ทำการสังเกตผลภายใน 48 ชั่วโมง

การทดลองที่ 2 : การทดสอบความทนได้ของปลาหางนกยูงต่อระดับความเข้มข้นสารเคมีภายในเวลาที่สามารถกำจัด *Tetrahymena* sp. ได้ของสารเคมีทั้ง 2 ชนิด

1. ใช้ปลาหางนกยูงพันธุ์โมเสกเพศผู้ขนาดความยาวประมาณ 2.7–3.2 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 2 กรัม จำนวนบีกเกอร์ละ 5 ตัว โดยใช้น้ำประปาต้มสุกปริมาตร 500 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร จำนวน 3 ซ้ำ พร้อมกลุ่มควบคุม

2. เตรียมสารเคมี โดยการเตรียมความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารเคมีจากการทดลองที่ 1

3. คำนวณปริมาตรของสารเคมีที่ใช้ตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยใช้สูตร $N_1V_1 = N_2V_2$

4. สังเกตพฤติกรรมของปลาจนครบระยะเวลาที่ต้องการทดสอบ

5. ย้ายปลากลับสู่น้ำสะอาดที่ไม่มีสารเคมี แล้วเลี้ยงปลาตามปกติเป็นเวลา 2 วัน เพื่อสังเกตอาการ

การทดลองที่3 : การทดสอบความประสิทธิภาพของสารเคมี และความสามารถในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ของสารเคมี ในปลาที่ติดเชื้อ *Tetrahymena* sp.

1. ทำการดึงเกล็ดปลาออกประมาณ 2–3 เกล็ด เป็นการเหนี่ยวนำให้ปลาเกิดโรค เพื่อให้ปลาเกิดความเครียดง่ายต่อการติดเชื้อ โดยใช้น้ำประปาต้มสุก 15 ลิตร ใส่ในภาชนะพลาสติกขนาด 30 ลิตร ในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ใส่เชื้อ (*Tetrahymena colissi* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เป็นปรสิตทำให้เกิดโรคในปลาหางนกยูง) ลงไปในถังเลี้ยงปลาให้มีความหนาแน่น 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตรเลี้ยงจนกระทั่งปลาติดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ปลาที่ติดเชื้อจะมีลักษณะตัวด่าง เกล็ดหลุด ฯลฯ

3. ย้ายปลาหางนกยูงที่เป็นโรคมาทดลองต่อในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด คือ

4. ใส่สารเคมีตามระดับความเข้มข้น และเวลาที่ทดลองในการทำการทดลองที่ 2 ทำการรักษาด้วยสารเคมี 3 ครั้ง และทำการเปลี่ยนน้ำวันเว้นวัน แล้วเลี้ยงปลาหางนกยูงจนครบ 14 วัน สังเกตอาการ และบันทึกจำนวนปลาที่ตาย

6. ขูดเมือก นำไปตรวจหาเชื้อ *Tetrahymena* sp. เมื่อทำการทดลองครบ 14 วัน หลังจากใส่สารเคมี เพื่อดูประสิทธิภาพของยาในการรักษา

การบันทึกข้อมูล

การทดลองที่ 1

ในการบันทึกข้อมูลจะต้องการบันทึกจำนวนเซลล์ทั้งก่อน และหลังการใส่สารเคมี โดยทำการบันทึกผลภายใน 48 ชั่วโมง บันทึกการรอดชีวิตของเชื้อ *Tetrahymena* sp. โดยทำการเปรียบเทียบกับหน่วยควบคุมทุกๆ 5 นาที จนครบ 60นาที แล้วทำการบันทึกที่ชั่วโมงที่ 6, 12, 24 และ 48

การทดลองที่ 2

1. บันทึกพฤติกรรมของปลา และอัตรารอดตลอดระยะเวลาที่ทดสอบ
2. บันทึกอัตรารอดของปลาหลังการทดสอบแล้วย้ายไปเลี้ยงในน้ำปกติเป็นเวลา 2 วัน

การทดลองที่ 3

1. บันทึกอาการของโรค การตาย และการรอดของปลาหางนกยูงที่ทำการทดลองทุกๆ วัน จนครบ 14 วัน โดยบันทึกอาการของปลาตั้งแต่วันที่ทำการใส่เชื้อลงไปในภาชนะ และหลังจากที่ทำการใส่สารเคมี โดยดูอาการที่ลำตัว เช่น เป็นรอยด่างขาว ตกเลือด เกล็ดพอง เกล็ดหลุด จนกระทั่งเป็นแผลเปื่อย พร้อมกับดูลักษณะและพฤติกรรมการว่ายน้ำของปลา

2. บันทึกระยะเวลาที่ปลามีการตาย และจำนวนปลาที่หายจากโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design; CRD และโปรมแกรม Excel ในการวิเคราะห์ข้อมูล

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

เดือนพฤศจิกายน 2547 ถึงเดือนเมษายน 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองตอนที่ 1 : การหาความเข้มข้น และเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ในห้องปฏิบัติการ

1.1 การหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ในเบื้องต้น

สารฟอร์มาลิน

พบว่าระดับความเข้มข้นของฟอร์มาลินที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 พีพีเอ็ม ไม่สามารถกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้หมดภายใน 48 ชั่วโมง โดยเมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และในทุกระดับความเข้มข้นเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการรอดของเซลล์ไม่แตกต่างกัน

โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต

พบว่าระดับความเข้มข้นที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ไม่มีความสามารถในการกำจัดเชื้อได้ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม สามารถกำจัดเชื้อ Tetrahymena sp. ได้ภายในเวลา 360 นาที โดยเซลล์จะลดลงเรื่อยๆ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

1.2 การหาระดับความความเข็มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp.

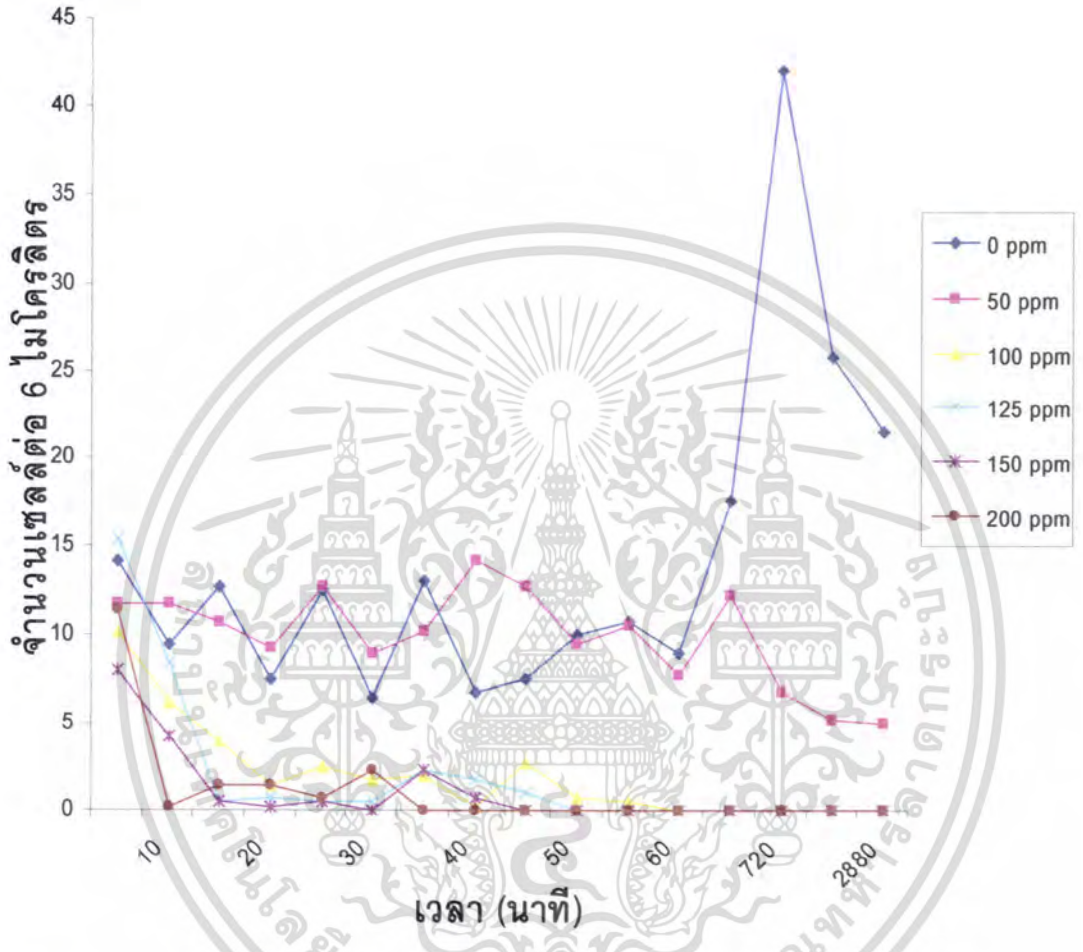
สารฟอร์มาลิน

พบว่าระดับความเข้มข้นของฟอร์มาลินที่สามารถใช้กำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ คือที่ระดับความเข้มข้น 100, 125, 150 และ 200 พีพีเอ็ม โดยพบว่าจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตมีจำนวนน้อยลงเรื่อยๆ และไม่พบเซลล์ที่มีชีวิตตั้งแต่นาทีที่ 60, 50, 40 และ 45 ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 4) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม พบว่าฟอร์มาลินไม่สามารถกำจัดเชื้อได้หมด แต่มีจำนวนลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม โดยพบว่าระดับความเข้มข้นของฟอร์มาลินที่ 50 พีพีเอ็ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมที่เวลา 40, 45, 60, 360, 720 และ 1440 นาที และเมื่อสิ้นสุดการทดลองฟอร์มาลินที่ระดับความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม มีค่าอัตราการรอดเฉลี่ยของเซลล์เท่ากับ 5.33$\pm$0.88 เซลล์ต่อปริมาตร 6 ไมโครลิตร

อย่างไรก็ตามสารฟอร์มาลินที่ระดับความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม จากการทดลองนี้เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 48 ชั่วโมง *Tetrahymena* sp. เซลล์มีจำนวนลดน้อยลง แต่ยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้ ซึ่งจากการทดลองของ Ponpornpisit *et al.* (2001) พบว่าสารฟอร์มาลินที่ระดับนี้ มีความสามารถในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำลายเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ภายใน 24 ชั่วโมง ที่เป็นเช่นนี้อาจจะเนื่องจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน หรือเกิดจากสภาพแวดล้อมอื่นๆ



ภาพที่ 4 จำนวนเซลล์ *Tetrahymena* sp. ที่รอดเฉลี่ยจากการได้รับสารฟอร์มาลินที่ระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 อัตราการอดเฉลี่ยของเชื้อ *Tetrahymena* sp. (6 ไมโครลิตรต่อ 1.5 มิลลิลิตร) ในระดับความเข้มข้น และระยะเลาต่างๆ กันของฟอร์มาลิน

ความเข้มข้นของ	เวลา (นาที)							
ฟอร์มาลิน (ppm.)	5	10	15	20	25	30	35	40
0	$14.67\pm0.88^{abn\text{ค}\text{ง}}$	$8.67\pm3.18^{an\text{ข}\text{ค}}$	$13.33\pm0.67^{an\text{ค}\text{ง}}$	$6.67\pm1.67^{a\text{ข}\text{ค}}$	$11.00\pm4.00^{an\text{ข}\text{ค}\text{ง}}$	$6.33\pm0.67^{a\text{ข}\text{ค}}$	$13.33\pm1.76^{an\text{ข}\text{ง}}$	$5.33\pm1.76^{a\text{ค}}$
50	13.00 ± 1.15^{an}	13.00 ± 1.15^{an}	11.67 ± 2.60^{an}	$7.33\pm0.33^{a\text{ค}}$	13.33 ± 0.88^{an}	7.67 ± 2.67^{an}	10.00 ± 1.53^{an}	16.33 ± 1.86^{bn}
100	10.67 ± 1.67^{bcn}	$6.33\pm0.67^{b\text{ข}}$	$3.67\pm1.20^{b\text{ค}}$	$1.67\pm0.88^{b\text{ง}\text{จ}}$	$2.67\pm0.33^{b\text{ค}\text{ง}}$	$1.67+0.88^{b\text{ง}\text{จ}\text{ฉ}}$	$2.33\pm1.86^{b\text{ง}\text{จ}}$	$0.33\pm0.33^{c\text{ง}\text{จ}}$
125	17.33 ± 2.33^{abcn}	$9.33\pm2.19^{c\text{ข}}$	$0.67\pm0.67^{b\text{ค}}$	$1.00\pm0.58^{b\text{ค}}$	$0.67\pm0.33^{b\text{ค}}$	$0.33\pm0.33^{b\text{ค}}$	$3.00\pm1.00^{b\text{ค}}$	$1.33+0.33^{c\text{ค}}$
150	8.67 ± 3.71^{cdn}	$4.67\pm1.33^{c\text{ข}}$	$0.33\pm0.33^{b\text{ค}}$	$0.33\pm0.33^{b\text{ค}}$	$0.67\pm0.67^{b\text{ค}}$	$0.00\pm0.00^{b\text{ค}}$	$1.67\pm1.20^{b\text{ข}\text{ค}}$	$0.00\pm0.00^{c\text{ค}}$
200	11.33 ± 3.38^{dn}	$0.00\pm0.00^{bc\text{ข}}$	$1.33\pm0.88^{b\text{ข}\text{ค}}$	$1.67\pm0.88^{b\text{ค}}$	$0.67\pm0.33^{b\text{ค}}$	$3.00\pm0.00^{b\text{ข}}$	$0.00\pm1.20^{b\text{ข}}$	$0.00\pm0.00^{c\text{ข}}$

ตารางที่ 3 (ต่อ)

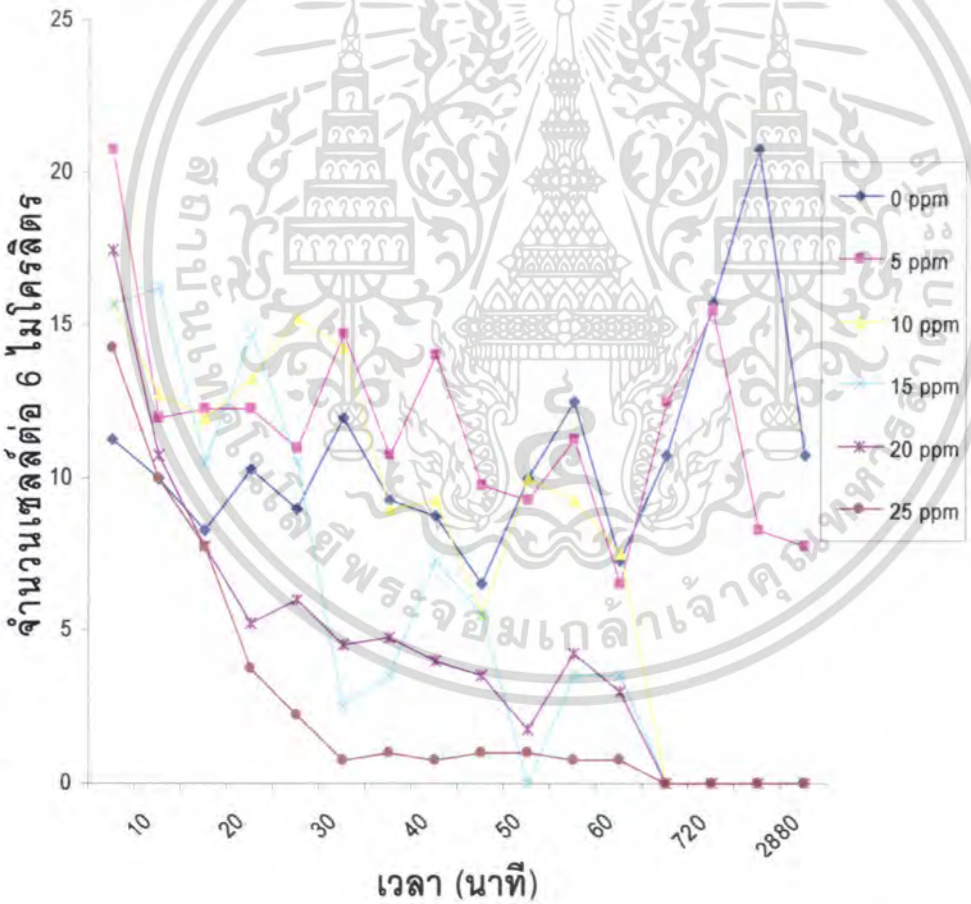
ความเข้มข้นของ	เวลา (นาที)							
ฟอร์มาลิน (ppm.)	45	50	55	60	360	720	1440	2880
0	8.33 ± 1.45^{aบค}	11.00 ± 0.58^{aกบค}	9.00 ± 1.53^{aกบค}	9.00 ± 3.51^{aกบค}	18.67 ± 0.88^{aฆ}	41.67 ± 3.38^{aง}	26.67 ± 4.91^{aจ}	19.67 ± 2.60^{aฉ}
50	12.33 ± 3.71^{bก}	8.33 ± 0.88^{aกบค}	11.67 ± 1.20^{aก}	9.00 ± 1.53^{aค}	12.67 ± 2.33^{bก}	5.33 ± 1.45^{bข}	4.67 ± 0.67^{bข}	5.33 ± 0.88^{bฉข}
100	$3.00+1.15^{cคฆ}$	$1.00+0.58^{bงจฉ}$	$0.33+0.33^{bจฉ}$	0.00 ± 0.00^{bกบคฉ}	0.00 ± 0.00^{cฉ}	0.00 ± 0.00^{cฉ}	0.00 ± 0.00^{cฉ}	0.00 ± 0.00^{cฉ}
125	1.33 ± 1.33^{cค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}
150	0.00 ± 0.00^{cค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}	0.00 ± 0.00^{bค}
200	0.00 ± 0.00^{cข}	0.00 ± 0.00^{bข}	0.00 ± 0.00^{bข}	0.00 ± 0.00^{bข}	0.00 ± 0.00^{bข}	0.00 ± 0.00^{bข}	0.00 ± 0.00^{bข}	0.00 ± 0.00^{bข}

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระยะเวลาเดียวกัน ในระดับความเข้ม
ข้นต่างๆ กัน

ตัวอักษรภาษาไทยที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ในระยะเวลาต่างๆ กัน

สารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต

พบว่าระดับความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่สามารถใช้กำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ คือที่ระดับความเข้มข้น 10, 15, 20 และ 25 พีพีเอ็ม โดยพบว่าจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตมีจำนวนน้อยลงเรื่อยๆ และไม่พบเซลล์ที่มีชีวิตตั้งแต่นาทีที่ 360 ในทุกๆ ระดับความเข้มข้น (ตารางที่ 4 และภาพที่ 5) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 5 พีพีเอ็ม พบว่าโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตไม่สามารถกำจัดเชื้อได้หมด แต่มีจำนวนลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม โดยพบว่าระดับความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ 5 พีพีเอ็ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมที่เวลา 5, 15, 40, 1440 และ 2880 นาที และเมื่อสิ้นสุดการทดลองโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ระดับความเข้มข้น 5 พีพีเอ็ม มีค่าอัตราการรอดเฉลี่ยของเซลล์เท่ากับ 8.00±1.15 เซลล์ต่อปริมาตร 6 ไมโครลิตร



ภาพที่ 5 จำนวนเซลล์ *Tetrahymena* sp. ที่รอดเฉลี่ยจากการรับสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 อัตราการอดเฉลี่ยของเชื้อ *Tetrahymena* sp. (6 ไมโครลิตรต่อ 1.5 มิลลิลิตร) ในระดับความเข้มข้น และระยะเลาต่างๆ กันของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต

ความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต (ppm.)	เวลา (นาที)							
	5	10	15	20	25	30	35	40
0	11.67±1.86$^{\text{กขฃ}}$	10.33±1.86$^{\text{กขฃ}}$	8.00±1.08$^{\text{ขคฅ}}$	10.67±2.73$^{\text{ขคฅฃ}}$	7.67±1.45$^{\text{ขคฅ}}$	12.67±2.60$^{\text{กขฃ}}$	9.67±2.03$^{\text{กขฃ}}$	7.67±0.33$^{\text{กฅ}}$
5	21.00±4.62$^{\text{งจ}}$	12.00±3.06$^{\text{งฉชฃ}}$	13.33±1.86$^{\text{งฉจชฃ}}$	13.67±3.18$^{\text{งฉจชฃ}}$	12.33±1.67$^{\text{งฉจชฃ}}$	16.33±2.73$^{\text{งฉชฃ}}$	12.00±1.73$^{\text{งฉชฃ}}$	15.00±0.58$^{\text{งฉจชฃ}}$
10	14.67±2.40$^{\text{งฉชฌ}}$	10.33±1.33$^{\text{งฉชฌฃ}}$	11.67±0.88$^{\text{งฉจชฌฃ}}$	15.67±0.88$^{\text{งฉชฌฃ}}$	13.67±2.40$^{\text{งฉชฌฃ}}$	15.00±0.58$^{\text{งฉชฌฃ}}$	9.00±1.15$^{\text{งฉชฌฃ}}$	9.67±2.19$^{\text{งฉชฌฃ}}$
15	15.33±1.76$^{\text{งฉชฌฃ}}$	17.00±1.73$^{\text{งฉชฌฃ}}$	9.00±1.53$^{\text{งฉชฌฃ}}$	15.00±2.00$^{\text{งฉชฌฃ}}$	10.33±5.49$^{\text{งฉชฌฃ}}$	3.33±1.45$^{\text{งฉชฌฃ}}$	3.33±1.45$^{\text{งฉชฌฃ}}$	7.33±1.20$^{\text{งฉชฌฃ}}$
20	15.67±1.76$^{\text{งฉชฌฃ}}$	9.33±1.45$^{\text{งฉชฌฃ}}$	7.00±0.58$^{\text{งฉชฌฃ}}$	5.00±0.58$^{\text{งฉชฌฃ}}$	5.67±1.86$^{\text{งฉชฌฃ}}$	5.33±1.45$^{\text{งฉชฌฃ}}$	5.00±0.58$^{\text{งฉชฌฃ}}$	4.00±1.00$^{\text{งฉชฌฃ}}$
25	15.33±0.88$^{\text{งฉชฌฃ}}$	10.00±2.08$^{\text{งฉชฌฃ}}$	7.00±0.58$^{\text{งฉชฌฃ}}$	3.00±1.15$^{\text{งฉชฌฃ}}$	2.67±0.33$^{\text{งฉชฌฃ}}$	1.00±0.58$^{\text{งฉชฌฃ}}$	0.67±0.33$^{\text{งฉชฌฃ}}$	1.00±0.58$^{\text{งฉชฌฃ}}$

ตารางที่ 4 (ต่อ)

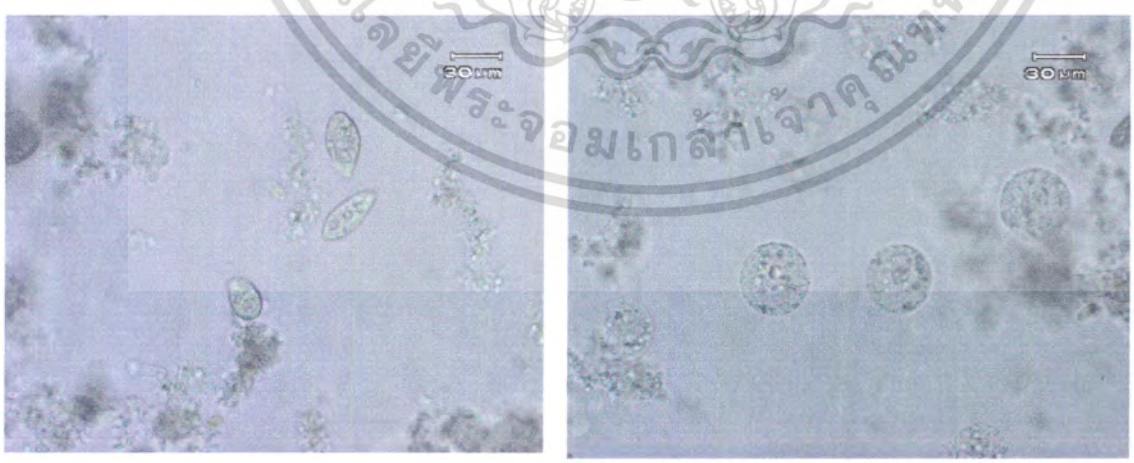
ความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต (ppm.)	เวลา (นาที)							
	45	50	55	60	360	720	1440	2880
0	7.33±1.86^{abn}	8.33±0.88^{anช}	13.33±0.88^{anช}	6.33±3.88^{an}	6.67±0.67^{anช}	18.67±5.78^{aชค}	19.67±3.48^{aค}	11.00±2.89^{anช}
5	10.00±1.15^{bค}	9.33±2.33^{aค}	10.67±1.45^{abชค}	6.33±1.20^{abค}	13.00±1.73^{aช}	15.33±3.18^{aช}	9.00±1.53^{bค}	8.00±1.15^{bค}
10	5.00±3.06^{aคง}	10.00±2.52^{aชง}	9.33±1.33^{bชคง}	7.00±1.00^{aง}	0.00±0.00^{bจ}	0.00±0.00^{bจ}	0.00±0.00^{bจ}	0.00±0.00^{bจ}
15	5.33±2.19^{aค}	0.00±0.00^{bฆ}	3.33+0.88^{cค}	3.33+0.33^{bcค}	0.00±0.00^{bฆ}	0.00±0.00^{bฆ}	0.00±0.00^{bง}	0.00±0.00^{bฆ}
20	3.33±0.88^{acฆง}	0.67±0.33^{bง}	4.67±1.33^{cฆง}	3.00±0.00^{bcฆง}	0.00±0.00^{bง}	0.00±0.00^{bง}	0.00±0.00^{bง}	0.00±0.00^{bง}
25	0.67±0.33^{cงจ}	1.00±1.00^{bงจ}	1.00±0.00^{dงจ}	0.00±0.00^{cงจ}	0.00±0.00^{bจ}	0.00±0.00^{bจ}	0.00±0.00^{cจ}	0.00±0.00^{cจ}

หมายเหตุ : **ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ** ($p<0.05$) **ที่ระยะเวลาเดียวกัน ในระดับความเข้ม**ข้นต่างๆ กัน

ตัวอักษรภาษาไทยที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ในระยะเวลาต่างๆ กัน

จากการทำการทดลองนี้ เมื่อเซลล์ *Tetrahymena* sp. ได้รับทั้งสารฟอร์มาลิน และโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต ในระยะแรกพบว่าเซลล์มีลักษณะยาวรี และมีขนาดเล็กลง จนต้องเพิ่มกำลังขยาย 10 เท่า หลังจากนั้นเซลล์จะค่อยๆ มีขนาดใหญ่ขึ้น และรูปร่างกลม หลังจากนั้นเซลล์จะแตกในที่สุด ซึ่งระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเซลล์เหล่านี้ จะขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสารเคมีที่ทำการทดลอง (ภาพที่ 6-8)

ภาพที่ 6 ลักษณะปกติของเซลล์ *Tetrahymena* sp.



ภาพที่ 7-8 ลักษณะเซลล์ที่ผิดปกติของ *Tetrahymena* sp. เมื่อได้รับสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 : การทดสอบความทนได้ของปลาหางนกยูงต่อระดับความเข้มข้นสารเคมีภายในเวลาที่สามารถกำจัด *Tetrahymena* sp. ได้ของสารเคมีทั้ง 2 ชนิด

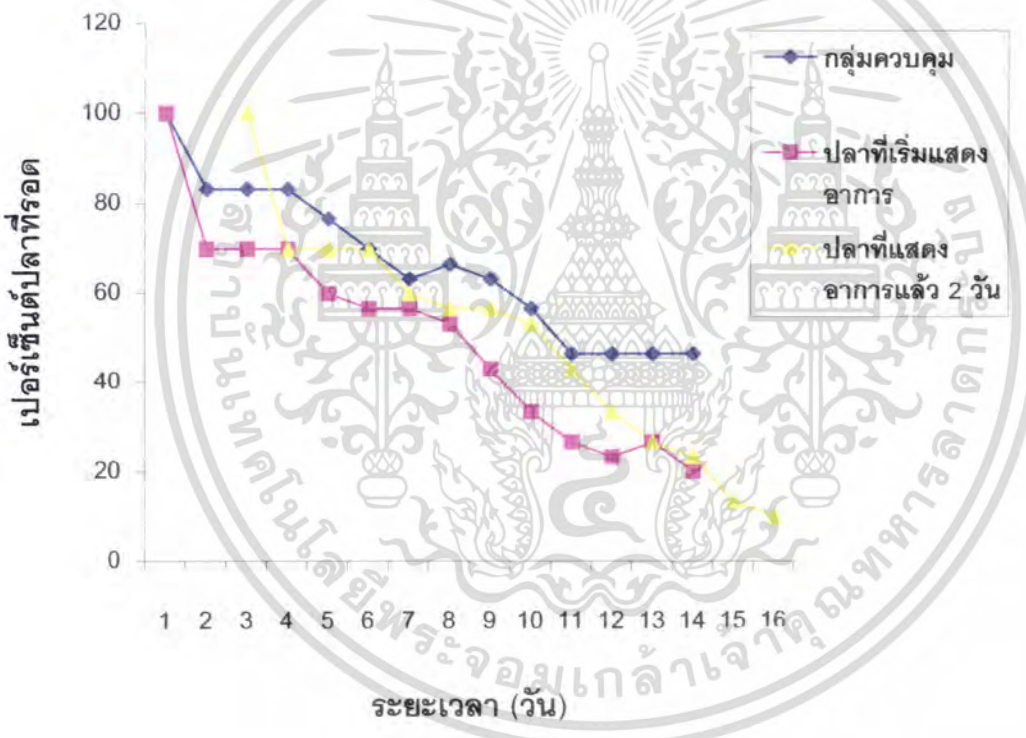
การทำการทดลองความทนได้ของปลาหางนกยูงในการทดลองที่ 2 นี้ ได้เลือกความเข้มข้นของสารเคมีทั้ง 2 ชนิด คือ ฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ซึ่งสามารถกำจัดเชื้อได้ที่เวลา 60 นาที และสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม ซึ่งสามารถกำจัดเชื้อได้ที่เวลาชั่วโมงที่ 6 เนื่องจากสารทั้ง 2 ตัว ที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวสามารถกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ และเป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดจากการทำการทดลองที่ 1 ที่สามารถกำจัดเชื้อได้

ผลจากการทำการทดลองพบว่าสารฟอร์มาลินมีความสามารถในการกำจัด *Tetrahymena* sp. ได้ ที่ระยะเวลา 60 นาที โดยไม่เป็นอันตรายกับปลาหางนกยูงที่ทำการทดลอง ส่วนสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต ปลามีอาการว่ายน้ำผิดปกติ คือว่ายน้ำเร็ว ตื่นตกใจ หลังจากใส่สารไปแล้ว 15 นาที จึงทำการยุติการทดลอง โดยนำปลาที่ทำการทดลองไปเลี้ยงในน้ำสะอาด ดังนั้นสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตจึงไม่มีความเหมาะสมในการรักษาปลาหางนกยูงที่เป็นโรคจากการติดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ได้ ซึ่งความเป็นพิษ และผลข้างเคียงที่เกิดจากการใช้โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปอร์แมงกาเนตไอออน (MnO_4^-) ที่บริเวณผิวเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เป็นผลให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียคุณสมบัติ และหน้าที่ทางสรีรวิทยาไป โดยมักเกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กหลายๆ ชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เช่น สาหร่าย (Kemp *et al.*, 1966) รวมทั้งเชื้อราและปรสิตภายนอกอีกหลายชนิด (Herwig, 1979) สำหรับปลาพบว่าในสภาพน้ำที่สะอาดโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตจะมีความเป็นพิษค่อนข้างสูง (กนกรัตน์, 2538) และความเป็นพิษจะน้อยลงเมื่อแหล่งน้ำมีปริมาณอินทรียสารอยู่มาก (Duijin, 1967) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วการนำสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตมากำจัดปรสิตภายนอกนั้น มักใช้ที่ความเข้มข้น 2-4 พีพีเอ็ม ฉะนั้นอาจจะนำสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตจากการทำการทดลองที่ระดับความเข้มข้น 10 พีพีเอ็ม นี้ไปใช้ในการฆ่าเชื้อบ่อ หรืออุปกรณ์ต่างๆ ที่จะทำการเลี้ยงปลา เพื่อป้องกันเชื้อ *Tetrahymena* sp. แทนการนำสารนี้มาใช้ในการรักษากับตัวปลาโดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 : การทดสอบความประสิทธิภาพของสารเคมี และความสามารถในการ กำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ของสารเคมี ในปลาที่ติดเชื้อ *Tetrahymena* sp.

จากการทำการทดลองในตอนที่ 2 พบว่าสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตไม่มีความเหมาะสมในการนำมารักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Tetrahymena* sp. จึงทำการสร้างแผนการทดลองการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Tetrahymena* sp. ด้วยสารฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม โดยที่ระยะเวลาการเป็นโรคเตตราไฮนีเมียแตกต่างกัน คือ เมื่อปลาหางนกยูงแสดงอาการขับเมือกมากกว่าปกติ ครีบแหว่ง แล้วจึงทำการรักษาด้วยการใส่สารฟอร์มาลิน และเมื่อปลาแสดงอาการของโรคไปแล้ว 2 วัน จึงทำการรักษาด้วยการใส่สารฟอร์มาลิน อัตราการรอดเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงไว้ ดังตารางที่ 5 ภาพที่ 9



ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์ปลาหางนกยูงที่รอดชีวิตเฉลี่ยจากการติดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ที่ทำการรักษาด้วยฟอร์มาลิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งจากการทำการทดลองปลาที่ทำการใส่เชื้อจะแสดงอาการของโรค เมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน แต่จากการทำการศึกษาของ Hatai *et al.* พบว่าจำนวนเซลล์ 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในปลาที่มีการทำให้ได้รับบาดเจ็บจะตายได้ในวันที่ 7 หลังจากที่ได้รับเชื้อ แต่ปลาเพศผู้ปกติจะตายเมื่อปลาได้รับเชื้อแล้ว 8 วัน ส่วนปลาเพศเมียปกติจะตายในวันที่ 9 หลังจากที่ได้รับเชื้อ

ผลการทดลองพบว่าปลาในกลุ่มควบคุมมีอัตราการตายน้อยที่สุด คือเหลือปลาเฉลี่ย 46.67 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มที่ทำการรักษาเมื่อปลาเริ่มแสดงอาการติดเชื้อและปลาที่แสดงอาการแล้ว 2 วัน (ดังตารางที่ 5) ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากปลาถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการติดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ด้วยจำนวนเซลล์ที่น้อยเกินไป (1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) เมื่อทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำวันเว้นวันจึงให้เกิดการลดจำนวนเซลล์ และไม่เกิดความเครียดจากการรักษาด้วยสารเคมี ทำให้ปลาสามารถดำรงชีวิตได้ยาวนานขึ้น

ส่วนในกลุ่มที่ทำการรักษาเมื่อปลาเริ่มแสดงอาการติดเชื้อ และปลาที่แสดงอาการแล้ว 2 วัน พบว่าปลามีการตายอย่างต่อเนื่อง โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดเฉลี่ย 20.00 เปอร์เซ็นต์ และ 10.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ภาคผนวกที่ 3) ซึ่งเกิดจากปลาที่เกิดโรคมีความอ่อนแอมากกว่า เมื่อเทียบกับปลาปกติ หรืออาจเกิดจากปลาที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยการดึงเกล็ดออก ทำให้ปลาเกิดความบอบช้ำ จึงทำให้ความสามารถในการทนได้ต่อสารเคมีที่ทำการทดลองในการทดลองที่ 2 ไม่เหมาะนำมาทดลองในการทดลองที่ 3 ได้ ซึ่งในการทดลองนี้จึงควรลดระยะเวลาในการรักษาลง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองได้นำปลาที่ทำการทดลองไปตรวจดูเซลล์ *Tetrahymena* sp. โดยการขูดเมือกพบว่า ปลาที่ทำการทดลองไม่พบเซลล์ที่ลำตัว และเกล็ด อาจจะเนื่องจากปริมาณเชื้อที่ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคน้อยเกินไป เมื่อทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำจึงเป็นการเจือจางเชื้อ

ฟอร์มาลินถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในการป้องกัน และกำจัดโรค แต่ผู้ใช้จะต้องมีความระมัดระวังในการเลือกระดับความเข้มข้นให้เหมาะสมกับสัตว์น้ำ เพราะอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำ ซึ่งความเป็นพิษของฟอร์มาลินมีมากใน 24 ชั่วโมงแรก และเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นเกิดการเสื่อมสภาพทางเนื้อเยื่อ และมีการตายของเซลล์บุผิวของซี่เหงือก (Wedemeyer and Yasutake, 1974) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้ปลากลุ่มที่ได้รับสารมีการตายมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดเฉลี่ยของปลาหางนกยูง

ระยะเวลา (วัน)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
กลุ่มควบคุม	100.00	83.33	83.33	83.33	76.67	70.00	63.33	66.67	63.33	56.67	46.67	46.67	46.67	46.67[a]	-	-
ปลาที่เริ่มแสดงอาการ	100.00	70.00	70.00	70.00	60.00	56.67	56.67	53.33	43.33	33.33	26.67	23.33	26.67	20.00[b]	-	-
ปลาที่แสดงอาการแล้ว 2 วัน	-	-	100.00	70.00	70.00	70.00	60.00	56.67	56.67	53.33	43.33	33.33	26.67	23.33	13.33	10.00[b]

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สรุป

การทดลองรักษาเรคทเกิดจากเชื้อ *Tetrahymena* sp. ทั้งภายในห้องปฏิบัติการ และในปลาที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรค พบว่าสารฟอร์มาลินที่ระดับความเข้มข้น 100, 125, 150 และ 200 พีพีเอ็ม สามารถกำจัดเชื้อให้ตายหมดได้ภายในเวลา 60, 50, 40, และ35 นาที ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม สามารถลดจำนวนเซลล์ให้น้อยลงได้เท่านั้น

ส่วนสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเนต สามารถกำจัดเชื้อได้ที่ระดับความเข้มข้น 10, 15, 20 และ25 พีพีเอ็ม โดยที่ทุกระดับความเข้มข้นสามารถกำจัดเชื้อได้ภายในเวลา 360 นาที แต่พบว่าไม่มีความเหมาะสมในการรักษาโรคที่เกิดกับปลาหางนกยูงได้ เนื่องจากความเข้มข้นที่กำจัดเชื้อได้สูงเกินกว่าที่ปลาจะทนได้ ซึ่งมีความรุนแรง และมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ทำให้ปลาที่ได้สารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเนตที่ระดับตั้งแต่ 10 พีพีเอ็มเป็นต้นไปตายได้ อย่างไรก็ตามสามารถนำสารนี้มาประยุกต์ใช้ในการป้องกันการเกิดโรคในขั้นตอนการเตรียมบ่อเลี้ยงได้

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองประสิทธิภาพของสารฟอร์มาลิน และสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. พบว่ามีความสามารถในการกำจัดเชื้อได้ โดยฟอร์มาลินที่ 100 พีพีเอ็ม สามารถกำจัดเชื้อได้ที่ 60 นาที แต่ไม่ควรใช้แช่นานเกิน 6 ชั่วโมง แต่ควรทำซ้ำหลายครั้งเพื่อกำจัดเชื้อที่หลุดออกมาจากภายในตัวปลา เนื่องจากปลาที่เกิดโรคจะมีความสามารถทนทานต่อสารเคมี หรือสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้น้อยลง ส่วนสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตเหมาะในการนำมาใช้ฆ่าเชื้อบ่อเลี้ยง และวัสดุอุปกรณ์ในการเลี้ยงปลา เพื่อป้องกันโปรโตซัวชนิดนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกรัตน์ ธานีรัตน์. 2538. การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของด่างทับทิม เกลือแกง และโพวิโดล ไอโอดีนที่มีต่อกบนา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิทยาศาสตร์การประมง, วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(วิทยาศาสตร์การประมง), มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

กมลพร ภาวภูตานนท์ และสุปราณี ชินบุตร. 2526. ปรสิตปลาน้ำจืดของไทย. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 63 น.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2528. โรคปลา. ภาควิชาชีววิทยาประมง, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 227 น.

ชาญวิทย์ พายัพวัฒนวงษ์. 2543. การใช้ฟอร์มาลินควบคุมปริมาณแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* sp. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

เต็มดวง พึ่งขจรบุญ. 2529. ความเป็นพิษและผลของฟอร์มาลินในระดับที่ไม่ทำให้ปลาตายต่อปลาน้ำจืดบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

นงนุช เลาหะวิสุทธ์ และวันเพ็ญ มีนกาญจน์. 2539. หางนกยูง...ราชินีปลาตู้. *วารสารการประมง* 44 (3) : 203-207.

ภราดร ชมพู. 2543. ปลาตู้ ฉบับปลาน้ำจืด. สำนักพิมพ์ไพลิน. 143 น.

ภัทรา ปัญญาวัฒนกิจ. 2540. อันตรายจากฟอร์มัลดีไฮด์. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ* 4(145) : 33-34.

มานพ กาญจนบุรางกูร. 2528. ผลของด่างทับทิมต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำบางชนิด และคุณสมบัติของน้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิทยาศาสตร์การประมง, วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

ยนต์ มุสิก และประดิษฐ์ ชนชื่นชอบ. 2530. ความเป็นพิษของฟอร์มาลินต่อกุ้งทะเล และความเป็นไปได้ในการใช้ฟอร์มาลินกำจัดโรค และปรสิตของกุ้งทะเล, น. 90-95. ใน เอกสารประกอบการสัมมนาการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล ครั้งที่ 1. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วันเพ็ญ มีนกาญจน์ และศุภรัตน์ ฉัตรจริยเวศน์. 2542. สภาวะการเพาะเลี้ยงปลาหางนกยูง (Poecilia reticulata) ในจังหวัดราชบุรี. *วารสารการประมง* 51(1) : 19-29.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สิริ ทุกข์วินาศ และเพิมศักดิ์ เพิงมาก. 2528. พิษเฉียบพลันของฟอร์มาลินต่อลูกกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merquiensis de man*) วัยอ่อน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 29/2528. สถาบันเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จ. สงขลา, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 18 น.

สิทธิ บุณยรัตนผลิน. 2524. สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันและการกำจัดโรคสัตว์น้ำ. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 68 น.

Adams, R.B. 1960. Manganese Removal by Oxidation with Potassium Permanganate. *J.AWWA.* 52: 219–228.

Bauer, C. 1966. Test and Odor Removal at Celina. *J. AWWA.* 58: 113–188.

Berger, B.L., R.E. Lennon and J.W. Hogan. 1969. Laboratory Studies on Antimycin a as a Fish Toxicant. United States Department of the Interior. Fish and Wildlife Service. Leaflet No. 26.

Boyd, C.E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Ponds. Craft Master Printers, Alabama.159p.

Boyd, C.E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Elsevier Scientific Publishing Company, New York. 789P.

Cherry, A.K. 1962. Use of Potassium Permanganate in Water Treatment. *J.AWWA.* 54 : 417–22.

Duijin, C.V. 1967. Disease of Fishes. 2nd ed. Life Books Ltd. London. 1134P.

Engstrom-Heg, R. 1971. Direct Measurement of Potassium Permanganate Demand and Residual Potassium Permanganate. *N.Y. Fish and Games J.* 18 : 117–122.

Fitzgerald, G.P. 1966. Use of Potassium Permanganate Control Problem Algae. *J. AWWA.* 58 : 609–614.

Hatai, K., K. Chukanhom, O. Lawhavinit, C. Hanjavanit, M. Kunitsune and S. Imai. 2001. Some Biological Characteristics of *Tetrahymena colissi* Isolated from Guppy in Thailand. Fish Pathology. 36 :195-199.

Herwig, N. 1979. Handbook of Drugs and Chemicals Used in the Treatment of Fish Disease. Illinois: Charles C. Thomas Publisher. 35p.

Hose, J.E. and D.V. Lightner. 1980. Absence of Formaldehyde Residues in Penaeid Shrimp Exposed to Formalin. Aquaculture 21: 197-201.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Humason, G.L. 1979. Animal Tissue Techniqe. W.H. Freeman and Company San Francisco.

Humphrey, S.B. and M.A. Eikleberry. 1962a. Test and Odor Control Using $KMnO_4$. Water and Sewage Works. 109 : 142–147.

Kabata, Z. 1985. Parasites and Disease of Fish Culture in the Tropics. Taylor & Francis, London. 318p.

Kemp, H.T., R.G. Fuller and R.S. Davidson. 1966. Potassium Permanganate as an Algicide. *J. AWWA.* 58 : 255–263.

Lawrence, J.M. 1965. Preliminary Results on the Use of Potassium Permanganate to Counteract the Effects of Rotenone on Fish. *Prog. Fish-Cult.* 18 : 15–21.

Lay, B.A.1971. Application of Potassium Permanganate in Fish Culture. *Trans. Am. Fish. Soc.* 199(4) : 813–815.

Loeb, H,A. and R. Engstrom-Heg. 1970. Determination of Chlorine Demand. *N.Y. Fish and Games J.* 17 : 138–139.

Marking, L.L. and T.D. Bills. 1975. Toxicity of Potassium Permanganate to Produce Oxygen and Counteract Hydrogen Sulfide in Fish Pond. *Proc. Annual Conf. S.E. Assoc. Game and Fish Comm.* 16 : 357–359.

Mathis, W.P.; L.E. Brady and W.J. Gilbreath. 1962. Preliminary Report on the Use of Potassium Permanganate to Produce Oxygen and Counteract Hydrogen Sulfide in Fish Pond. *Proc. Annual Conf. S.E. Assoc. Game and Fish Comm.* 16: 357-359.

Ponpornpisit A., E. Makoto and M. Hisashi. 2001. Prophylactic Effects of Chemicals and Immunostimulants in Experimental *Tetrahymena* Infections of Guppy. Fish Pathology. 36(1): 1–6.

Rauch, W.D. 1964. Permanganate treatment of water. *Water Wastes Eng.* 11 : 36–41.

Robert, R.J. and C.J. Shepherd. 1979. Handbook of Trout and Salmon Disease. The Whitefriars Press Ltd., London. 172p.

Schoenecker, W. and W. Rhodes. 1965. Potassium permanganate dispenser. *Prog. Fish-Cult.* 27 : 55–56.

Sillis, J.B. 1979. Ressidues of Formalin Undeteched in Fish Exposed to Formalin. *Prog. Fish-Cult.* 41(2): 67-68.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Snieszko, S.F. and Axelrod. 1970. Disease of Fishes Book I. Crustacea as Enemies of Fish. T.F.H. publications. Jersey City, New Jersey.

Spicher, R.G. and R.T. Skrinde. 1983. Potassium Permanganate Oxidation of Organic Contaminants in Water Supplies. *J. AWWA*. 55 : 1174–1194.

Stearn, E.W. and A.E. Stearn. 1930. Differential Action of Oxidizing Agents on Certain Gram-positive and Gram-negative Organisms. *J. Infect. Dis.* 46 : 500–513.

Tucker, C.S. 1984. Potassium Permanganate Demand of Pond Waters. *Prog. Fish-Cult.* 46 : 24–28.

Tucker, C.S. and C.E. Boyd. 1977. Relationships Between Potassium Permanganate Treatments and Quality. *Trans. Am. Fish. Soc.* 196 : 481–488.

Walker, C.R. 1967a. Deactivation of Antimycin. *Prog. Sp. Fish Res. U.S. Bur. Sp. Fish. Wild. Res. Publ.* No. 39 : 173–194.

Wedemeyer, G. and W.T. Yasutake. 1974. Stress of Formalin in Juvenile Spring Chinook Salmon (Oncorhynchus tshawytscha) and Steelhead (Salmo gairdneri). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 31 : 179-184

Welch, W.A. 1963. Potassium Permanganate in Water Treatment. *J. AWWA*. 55 : 735–741.

Wellborn, T.L. 1979. Control and Therapy, pp. 61 - 92. In J.A. Plumb (ed.). Principle Disease of Farm. Raised Catfish. Southern Cooperative Seres No. 225. Alabama, U.S.A.

Windholz, M. 1976. The Merck Index. 9"' ed., *Merck & Co., Inc.*, New Jercy. 1313p.

Willey, B.F.; H. Jenning and F. Muroski. 1964. Removal of Hydrogen Sulfide with Potassium Permanganate. *J. AWWA*. 56 : 474–479.

Willium, H.A. and R.Wootten. 1981. Some Effect of Therapeutic Levels of Formalin and Copper Sulphate on Blood Parameters in Rainbow Trout. Aquaculture 24 : 341-353.

Wright, L.D. 1976. Effect of Malachite Green and Formalin on the Survival of Largemount Bass Eggs and Fly. *Prog. Fish-Cult.* 38(3) : 155-157.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ผลความเข้มข้นของฟอร์มาลินในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ที่ระดับความเข้มข้น โดยตรวจผลการทดลองจากการนับจำนวนเซลล์ (ดูการเคลื่อนที่ และรูปร่างลักษณะของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป) โดยทำการนับเซลล์ภายใน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของฟอร์มาลิน		นาทีที่ 5	นาทีที่ 10	นาทีที่ 15	นาทีที่ 20	นาทีที่ 25	นาทีที่ 30	นาทีที่ 35	นาทีที่ 40	นาทีที่ 45	นาทีที่ 50	นาทีที่ 55	นาทีที่ 60	ชั่วโมงที่ 6	ชั่วโมงที่ 12	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48
กลุ่มควบคุม	T1	13	15	12	5	19	7	10	12	11	12	12	16	19	35	30	15
	T2	16	5	14	5	7	7	16	0	8	11	7	6	20	44	33	20
	T3	15	6	14	10	7	5	14	4	6	10	8	5	17	46	17	24
	T4	13	12	11	10	17	7	12	11	5	7	16	9	14	43	23	27
50 พีพีเอ็ม	T1	13	13	12	7	13	5	12	14	15	7	10	12	15	8	6	4
	T2	11	11	16	8	12	13	11	15	17	8	11	7	8	3	4	5
	T3	15	15	7	7	15	5	7	20	5	10	14	8	15	5	4	7
	T4	8	8	8	15	11	13	11	8	14	13	7	4	11	11	7	4
100 พีพีเอ็ม	T1	14	5	2	3	3	2	0	0	5	2	1	0	0	0	0	0
	T2	9	7	3	2	2	3	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0
	T3	9	7	6	0	3	0	6	1	1	1	0	0	0	0	0	0
	T4	9	6	5	1	2	2	1	0	2	0	1	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

125 พีพีเอ็ม	T1	21	12	2	1	1	1	4	1	4	0	0	0	0	0	0	0
	T2	13	11	0	2	1	0	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	T3	18	5	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	T4	10	6	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
150 พีพีเอ็ม	T1	6	6	1	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T2	16	6	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T3	4	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T4	6	3	1	0	0	0	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0
200 พีพีเอ็ม	T1	18	0	3	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T2	9	0	0	2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T3	7	0	1	3	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T4	12	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 2 ผลความเข้มข้นของโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในการกำจัดเชื้อ *Tetrahymena* sp. ที่ระดับความเข้มข้น โดยตรวจผลการทดลองจาก การนับจำนวนเซลล์ (ดูการเคลื่อนที่ และรูปร่างลักษณะของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไป) โดยทำการนับเซลล์ภายใน 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น ของ $KMnO_4$		นาทีที่ 5	นาทีที่ 10	นาทีที่ 15	นาทีที่ 20	นาทีที่ 25	นาทีที่ 30	นาทีที่ 35	นาทีที่ 40	นาทีที่ 45	นาทีที่ 50	นาทีที่ 55	นาทีที่ 60	ชั่วโมง ที่ 6	ชั่วโมง ที่ 12	ชั่วโมง ที่ 24	ชั่วโมง ที่ 48
กลุ่มควบคุม	T1	13	8	9	9	10	8	6	8	5	8	15	4	6	30	19	11
	T2	14	14	11	16	5	13	10	8	11	10	13	2	8	11	26	6
	T3	8	9	4	7	8	17	13	7	6	7	12	13	6	15	14	16
	T4	10	9	9	9	13	10	8	12	4	15	10	10	23	7	24	10
5 พีพีเอ็ม	T1	13	18	11	8	9	18	15	14	10	14	11	8	10	18	12	6
	T2	29	10	12	19	14	11	12	15	8	7	8	4	13	19	8	10
	T3	21	8	17	14	14	20	9	16	12	7	13	7	16	9	7	8
	T4	20	12	9	8	7	10	7	11	9	9	13	7	11	16	6	7
10 พีพีเอ็ม	T1	16	13	10	14	9	15	9	8	3	5	8	6	0	0	0	0
	T2	10	9	12	17	17	14	7	7	11	13	12	6	0	0	0	0
	T3	18	9	13	16	15	16	11	14	1	12	8	9	0	0	0	0
	T4	19	20	13	6	20	12	9	8	7	10	9	9	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

15 พีพีเอ็ม	T1	18	17	7	11	1	3	3	9	7	0	2	3	0	0	0	0
	T2	16	14	8	17	10	6	6	5	1	0	3	4	0	0	0	0
	T3	12	20	12	17	20	1	1	8	8	0	5	3	0	0	0	0
	T4	17	14	15	14	11	0	4	7	6	0	4	4	0	0	0	0
20 พีพีเอ็ม	T1	13	7	6	5	8	5	4	6	5	1	2	3	0	0	0	0
	T2	19	9	7	4	2	8	5	3	3	1	6	3	0	0	0	0
	T3	15	12	8	6	7	3	6	3	2	0	6	3	0	0	0	0
	T4	23	15	10	6	7	2	4	4	4	5	3	3	0	0	0	0
25 พีพีเอ็ม	T1	14	13	6	3	3	2	0	1	0	3	1	0	0	0	0	0
	T2	17	11	8	1	2	0	1	2	1	0	1	0	0	0	0	0
	T3	15	6	7	5	3	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	T4	11	10	10	6	1	0	2	0	2	1	0	3	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 3 จำนวนปลาหางนกยูงที่รอดชีวิตจากการติดเชื้อ *Tetrahymena* sp. โดยทำการรักษาด้วยสารฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 14 วัน

ระยะเวลา	หน่วยควบคุม			ปลาที่เริ่มมีการติดเชื้อ			ปลาที่ติดเชื้อแล้ว 2 วัน		
(วัน)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
1	10	10	10	10	10	10	-	-	-
2	8	9	9	8	7	8	-	-	-
3	8	8	9	8	7	8	10	10	10
4	8	8	9	7	7	7	6	7	8
5	8	7	8	7	7	7	6	7	8
6	8	6	7	7	7	6	6	7	8
7	7	6	6	6	7	6	5	6	7
8	7	6	7	6	6	6	5	5	7
9	7	5	7	5	6	6	5	5	7
10	6	5	6	5	6	5	5	4	7
11	5	4	5	3	4	4	4	3	6
12	5	4	5	3	3	3	3	2	5
13	5	4	5	2	3	3	3	1	4
14	5	4	5	2	1	3	3	1	3
15	-	-	-	-	-	-	2	0	2
16	-	-	-	-	-	-	2	0	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้