ผลของ hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น และการคืนสภาพหลังจากได้รับออกซิเจน

นางสาววิจิตรา กลิ่นเจริญ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปีการศึกษา 2554

EFFECTS OF HYPOXIA ON HAEMATOLOGY AND BLOOD BIOCHEMISTRY IN FLOWER HORN FISHES AND RECOVERY AFTER TREATMENT WITH OXYGEN

Wichitta Klincharoen

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Animal Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2011

ผลของ hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นและการคืนสภาพหลังจากได้รับออกซิเจน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

_____

(รศ. ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง)
ประธานกรรมการ

_____

(ผศ. น. สพ. ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

_____

(ผศ. น. สพ. ดร.บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์)
กรรมการ

_____

(ผศ. ดร.สุรินทร บุญอนันธนสาร)
กรรมการ

_____

(อ. ดร.อมรรัตน์ โมพี)
กรรมการ

_____

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปีจำนงค์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

_____

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิจิตรา กลิ่นเจริญ : ผลของ hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาว - เวอร์ฮอร์นและการคืนสภาพหลังจากได้รับออกซิเจน (EFFECTS OF HYPOXIA ON HAEMATOLOGY AND BLOOD BIOCHEMISTRY IN FLOWER HORN FISHES AND RECOVERY AFTER TREATMENT WITH OXYGEN) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น. สพ. ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์, 105 หน้า.

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นและการคืนสภาพหลังจากได้รับออกซิเจน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง (1) เพื่อศึกษาค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น (2) เพื่อศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น และ (3) เพื่อศึกษาผลของการเติม O_2 หลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

การทดลองที่ 1 ศึกษาค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงอยู่ในปัจจุบัน จำนวนทั้งหมด 15 ตัว ซึ่งมีลักษณะภายนอกทั่วไปสมบูรณ์แข็งแรง การว่ายน้ำ และการกินอาหารเป็นปกติ ปลามีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 100 - 150 g อายุประมาณ 1.5 ปี แบบคละเพศ เลี้ยงปลาในตู้กระจกสำหรับเลี้ยงปลาขนาด 36 x 93 x 47.5 ซม. จากการตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น พบว่ามีค่า DO เท่ากับ 5.53 ± 0.07 mg/l, อุณหภูมิ (Temperature) 28.43 ± 0.09^{o}C, ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) อยู่ที่ 7.65 ± 0.09, ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) 153 ± 29.44 mg/l และค่าความกระด้างของน้ำ (Hardness) อยู่ที่ 110 ± 10.00 mg/l จากการศึกษาผลของค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นซึ่งประกอบด้วย White blood cell count (WBC) Red blood cell count (RBC) Mean cell volume (MCV) Mean cell hemoglobin (MCH) Mean cell hemoglobin concentration (MCHC) Hematocrit (Ht) และ Hemoglobin concentration (Hb) มีค่าเท่ากับ 3.15 ± 0.64x10^{3} cell/µl 1.73 ± 0.32x10^{6} cell/µl 110.20 ± 26.69 fl 37.88 ± 5.17 pg 34.64 ± 4.92 g/dl 22.30 ± 3.88% และ 7.50 ± 1.74 g/dl ตามลำดับ และจากการศึกษาผลของค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น ประกอบด้วย Glucose Cholesterol Alanine amino transferase (ALT) Aspartate aminotransferase (AST) Blood urea nitrogen (BUN) และ Creatine kinase (CK) มีค่าเท่ากับ 56.34 ± 6.63 mg/dl 177.71 ± 19.50 mg/dl 4.58 ± 1.84 U/l 30.71 ± 10.80 U/l 1.22 ± 0.27 mg/dl และ 752.52 ± 286.28 U/l ตามลำดับ

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงอยู่ในปัจจุบัน จำนวนทั้งหมด 75 ตัว มีน้ำหนักเฉลี่ย 100 - 150 g อายุ 1.5 ปี ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia โดยการลดปริมาณ O_2 ลงด้วยการแทนที่ของ N_2 เป็นระยะเวลา

0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลให้ระดับของ O_2 ในน้ำลดลง 5.53, 1.94, 1.36, 0.84 และ 0.78 ตามลำดับ เมื่อเกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะภายนอก, พฤติกรรมของปลาและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น อีกทั้งยังพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ย WBC Hb Ht MCV MCH AST ALT BUN และ CK เพิ่มสูงขึ้นชั่วโมงที่ 72 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และจากการทดลองยังพบอีกว่าระดับของ Glucose ในกระแสเลือดสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 12 24 48 และลดลงในชั่วโมงที่ 72 จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่า ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถขาด O_2 ได้นานไม่เกิน 48 ชั่วโมง เพราะจะส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นได้

การทดลองที่ 3 จากการศึกษาการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยของ WBC, RBC, Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC, Glucose, ALT, AST, Cr, Cholesterol และ CK ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะเป็นปกติได้ แต่ในทางตรงกันข้ามกลับพบว่าระดับของ BUN ในกระแสเลือดของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นไม่สามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่า เมื่อปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นขาด O_2 ได้นานไม่เกิน 48 ชั่วโมง จึงจะสามารถกลับคืนสู่ภาวะปกติได้ภายใน 1 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

WICHITTA KLINCHAROEN : EFFECTS OF HYPOXIA ON HAEMA - TOLOGY AND BLOOD BIOCHEMISTRY IN FLOWER HORN FISHES AND RECOVERY AFTER TREATMENT WITH OXYGEN. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PAKANIT KUPITTAYANANT, Ph.D., 105 PP.

HAEMATOLOGY/BLOOD CHEMISTRY/FISH/FLOWER HORN

The aims of this study were to investigate the effects of hypoxia on haematology and blood biochemistry in Flower Horn fishes and their recovery after treatment with oxygen. Three studies were carried out: (1) the haematology and blood biochemistry in Flower Horn fishes, (2) the effects of hypoxia on haematology and blood biochemistry in Flower Horn fishes, (3) the effects of hypoxia on hematology and blood biochemistry in Flower Horn fishes and their recovery after treatment with oxygen.

The first experiment was to investigate the haematology and blood biochemistry parameters in Flower Horn fishes. A total of 15 Flower Horn fishes were kept in holding tanks of 36 x 93 x 47.5 cm. The average weight of the Flower Horn fish was 100 - 150 g, they were aged 1.5 years, healthy and both sexes were used in this study. The conditions of the water quality for this study included dissolved oxygen (DO), temperature, pH, alkalinity and hardness at 5.53 ± 0.07 mg/l, 28.43 ± 0.09^{o}C, 7.65 ± 0.09, 153 ± 29.44 mg/l and 110 ± 10.00 mg/l, respectively. The results of haematology in Flower Horn fishes included a White blood cell count (WBC), a Red blood cell count (RBC), the Mean cell volume (MCV), the Mean cell hemoglobin (MCH), the Mean cell hemoglobin concentration (MCHC), Hematocrit (Ht), and the Hemoglobin concentration (Hb) was 3.15 ± 0.64x10^{3} cell/µl, 1.73 ± 0.32x10^{6} cell/µl,

110.20 ± 26.69 fl, 37.88 ± 5.17 pg, 34.64 ± 4.92 g/dl, 22.30 ± 3.88% and 7.50 ± 1.74 g/dl, respectively. Average values of blood chemistry of Glucose, Cholesterol, Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST), Blood urea nitrogen (BUN) and Creatine kinase (CK) was 56.34 ± 6.63 mg/dl, 177.71 ± 19.50 mg/dl, 4.58 ± 1.84 U/l, 30.71 ± 10.80 U/l, 1.22 ± 0.27 mg/dl and 752.52 ± 286.28 U/l, respectively.

The second experiment was to investigate the effect of hypoxia on haematology and blood biochemistry in Flower Horn fishes. A total of 75 Flower Horn fish at 1.5 years of age and average weight of Flower Horn fish was 100 - 150 g. Hypoxia was induced by substituted the amount of dissolved O_2 in water by N_2 for 0, 12, 24, 48 and 72 hours. The results of DO decreased 5.53, 1.94, 1.36, 0.84 and 0.78, respectively. Exposing hypoxia changes in external characteristics, behavior, water quality and the value of WBC, Hb, Ht, MCV, MCH, AST, ALT, BUN and CK was significantly increased compared with the control group. Moreover, it was also showed that glucose level was increased in 12 and 24 hours but significantly decreased in 72 hours. The study can be concluded that exposing hypoxia not longer than 48 hours can cause serious damage in Flower Horn fishes.

The third experiment was to investigate the effect of hypoxia on haematology and blood biochemistry recovery after treatment with oxygen for one week. The results value of WBC, RBC, Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC, Glucose, ALT, AST, Cr, Cholesterol and CK in Flower Horn fishes can be recovery to a normal status. In contrast, the results value of BUN cannot be recovery to a normal status.

The study can be concluded that exposing hypoxia longer 48 hours need time to recovery to a normal status more than a week.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ทั้งด้านวิชาการและด้านการดำเนินงานวิจัย จากบุคคลและกลุ่มบุคคลต่าง ๆ ได้แก่

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น. สพ. ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ สพ. ญ. ดร.ศจีรา คุปพิทยานันท์ ที่ได้ให้คำปรึกษาและแนวคิดที่เป็นประโยชน์ทั้งในด้านวิชาการและด้านการดำเนินการวิจัย ตลอดจนคำแนะนำในการเขียนตรวจแก้วิทยานิพนธ์และสนับสนุนค่าใช้จ่ายต่าง ๆ ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น. สพ. ดร.บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการเขียนและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชา

ขอขอบคุณพี่บุคลากรประจำอาคารเครื่องมือ 3 และอาคารเฉลิมพระเกียรติ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ในการทำวิจัย ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณสุวิสา พรานไพร คุณณรงค์เดช วงศ์ดี คุณนันทิกา นามวิจิตร คุณบังอร บำรุงพงษ์ คุณสุพรรณี ไก่นิล คุณสุกัญญา บุตรพรม และ คุณสาคร ทองหล้า ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดา มารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้าตลอดมา จนทำให้ประสบความสำเร็จในชีวิต

วิจิตรา กลิ่นเจริญ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ฎ
สารบัญภาพ ..... ฐ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฒ

บทที่

1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการทำวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 3
1.3 สมมติฐานของการวิจัย 3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3
1.5 คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย 4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4
1.7 สถานที่ทำการทดลอง 4
1.8 ระยะเวลาในการทดลอง 4
2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5
2.1 บทนำ 5
2.2 ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 6
2.3 คุณภาพน้ำ (Water quality) 7
2.4 Hypoxia 10
2.5 โลหิตวิทยาและชีวเคมีโลหิต 13
2.6 รายการอ้างอิง 19

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 23
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 23
3.2 สารเคมี 24
3.3 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 24
3.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง 24
3.3.2 การเตรียมน้ำและการวัดคุณภาพของน้ำในตู้สัตว์ทดลอง 24
3.3.3 การสังเกตลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา 25
3.3.4 การเก็บตัวอย่างเลือดปลา 25
3.3.5 การตรวจวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา 26
3.3.6 การตรวจวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของโลหิต 29
3.3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล 31
3.3.8 สถานที่ทำการทดลอง 31
3.3.9 ระยะเวลาทำการทดลอง 31
3.4 การศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 31
3.4.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง 31
3.4.2 การวิเคราะห์ข้อมูล 32
3.4.3 สถานที่ทำการทดลอง 32
3.4.4 ระยะเวลาทำการทดลอง 32
3.5 ศึกษาผลของการเติม O_2 เข้าไปในปลาหลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติ 32
3.5.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง 32
3.5.2 การวิเคราะห์ข้อมูล 33
3.5.3 สถานที่ทำการทดลอง 33
3.5.4 ระยะเวลาทำการทดลอง 33
3.6 รายการอ้างอิง 33

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 34
4.1 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 34
4.1.1 ผลของการตรวจลักษณะภายนอก,พฤติกรรมและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 34
4.1.2 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 35
4.1.3 ผลการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 36
4.2 การศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 36
4.2.1 ผลของการตรวจลักษณะภายนอก, พฤติกรรมและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิต 36
4.2.2 ผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 40
4.2.3 ผลของ Hypoxia ต่อค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 41
4.3 ศึกษาผลของการเติม O_2 เข้าไปในปลาหลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติ 43
4.3.1 ผลของการศึกษาคุณภาพน้ำ, ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอรฮอร์นเมื่อ กลับคืนเข้าสู่สภาวะปรกติหลังเกิด Hypoxia 43
4.3.2 ผลของการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปรกติหลังเกิด Hypoxia 49
4.3.3 ผลของการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนกลับเข้าสู่สภาวะปรกติหลังเกิด Hypoxia 52
5 อภิปรายผลการทดลอง 55
5.1 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 55
5.1.1 ผลของการตรวจลักษณะภายนอก, พฤติกรรมและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 55
5.1.2 ผลของการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 55
5.1.3 ผลของการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 56

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.2 การศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 59
5.2.1 ผลของการตรวจลักษณะภายนอก, พฤติกรรมและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 59
5.2.2 ผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 61
5.2.3 ผลของ Hypoxia ต่อค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 62
5.3 การศึกษาผลของการเติม O_2 เข้าไปในปลาหลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติ 66
5.3.1 ผลของการศึกษาคุณภาพน้ำ, ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปรกติหลังเกิด Hypoxia 66
5.3.2 ผลของการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปรกติหลังเกิด Hypoxia 68
5.3.3 ผลของการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปรกติหลังเกิด Hypoxia 69
5.4 อภิปรายผลการทดลองทั้งหมด 70
5.5 รายการอ้างอิง 72
6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 77
6.1 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 77
6.2 การศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 78
6.3 การศึกษาผลของการเติม O_2 เข้าไปในปลาหลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติ 79
6.4 ข้อเสนอแนะ 80
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก ระดับพฤติกรรมของปลาและขั้นตอนการตรวจวัดตัวอย่างของเลือดปลา 81
ประวัติผู้เขียน 105

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ระดับต่ำสุดของออกซิเจนที่ทำให้ปลาชนิดต่าง ๆ ตาย 8
2.2 ค่า plasma chemistry ที่มีความหนาแน่นสูง (120 g/L) และความหนาแน่นต่ำ (4.3 g/L) ของปลา Tilapia 15
2.3 ค่าโลหิตวิทยาของปลา Tilapia 16
4.1 คุณภาพน้ำในการศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 34
4.2 ผลของการตรวจลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 35
4.3 ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 35
4.4 ผลของค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงอยู่ในปัจจุบัน 36
4.5 ผลของการตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 39
4.6 ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาในการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 39
4.7 ผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 42
4.8 ผลของ Hypoxia ต่อค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 43
4.9 ผลของคุณภาพน้ำของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia 46
4.10 ผลของลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia 47
4.11 ผลของการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia 51
4.12 ผลของการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia 54
ก.1 ปริมาณอาหารที่ปลากินเหลือ 82
ก.2 ลักษณะการว่ายของน้ำปลา 83
ก.3 ระดับการลอยตัวของตัวปลา 83

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ก.4 สีของเหงือกปลา 84
ก.5 ลักษณะสีของปลา 84
ก.6 ลักษณะเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวปลา 84
ก.7 ชนิดที่ส่งตรวจที่เหมาะสมในการตรวจในแต่ละการทดสอบ 100

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 6
2.2 ลักษณะและชนิดของเม็ดเลือดขาวในปลา Tilapia 17
3.1 บริเวณของการเจาะเลือดตรงตำแหน่งของ Caudal Vein 26
3.2 แสดงพื้นที่การนับเม็ดเลือดขาว (W) และเม็ดเลือดแดง (R) 28
3.3 ส่วนประกอบแถบน้ำยาแห้งของ Reaction part (ก) และ ส่วนประกอบภาพ Measuringchamber (ข) 31
4.1 แสดงลักษณะแผลที่ลำตัวและบริเวณปากของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น 38
ก.1 การติดตั้งอุปกรณ์ต่าง ๆ และการจัดปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเข้าตู้เลี้ยงปลาสำหรับทำการทดลอง 85
ก.2 การตรวจคุณภาพน้ำและการเก็บตัวอย่างเลือดปลาเพื่อนำมาวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิต 86
ก.3 ขั้นตอนและวิธีการตรวจค่า Ht 88
ก.4 การทำงานเครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Hycel Diagnotics 89
ก.5 ขั้นตอนและวิธีการตรวจค่า Hb 90
ก.6 ขั้นตอนการนับ WBC และ พื้นที่การนับเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ในช่อง W ที่มุมทั้ง 4 ของแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด 92
ก.7 ขั้นตอนการนับ RBC และ พื้นที่การนับเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ในช่อง R ที่มุมทั้ง 5 ของแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด 94
ก.8 ส่วนประกอบของเครื่อง Reflotron 96
ก.9 ส่วนประกอบของแถบน้ำยาแห้งก่อนการทดสอบ (ก) หลังการทดสอบ (ข) และส่วนประกอบของแถบน้ำยาแห้ง 1 = Plasma separating layer, 2 = Plasma reservoir, 3 = Reagent layer(s) และ 4 = Magnetic tape 97
ก.10 ความยาวคลื่นแสงของ LED 97
ก.11 ส่วนประกอบภายใน measuring chamber 98
ก.12 ระบบการตรวจวัดของเครื่อง Reflotron 99

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

ก.13 ขั้นตอนการตรวจวัดของเครื่อง Reflotron..... 101
ก.14 ข้อความที่แสดงบนจอเครื่องและความหมายของเครื่อง Reflotron..... 102

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ALT	=	Alanine aminotransferase
AST	=	Aspartate aminotransferase
BUN	=	Blood urea nitrogen
CK	=	Creatine kinase
Cr	=	Creatinine
CPK	=	Creatine phosphokinase
CRD	=	Complete Random Design
DO	=	Dissolved Oxygen
EDTA	=	Ethylenediamine tatraacitic acid
GOT	=	Glutamate-oxaloacetatetran saminase
GPT	=	Glutamate-pyruvate transaminase
Hb	=	Hemoglobin concentration
Ht	=	Hematocrit
MCHC	=	Mean cell hemoglobin concentration
MCH	=	Mean cell hemoglobin
MCV	=	Mean cell volume
PCr	=	Phosphocreatine
RBC	=	Red blood cell count
WBC	=	White blood cell count

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการทำวิจัย

การประกอบธุรกิจปลาสวยงามของประเทศไทยเป็นธุรกิจหนึ่งที่น่าจับตามอง เนื่องจากเป็นธุรกิจที่ลงทุนต่ำและให้ผลตอบแทนระยะสั้นอย่างสม่ำเสมอ อีกทั้งปลาสวยงามยังมีบทบาทที่สำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทยมากยิ่งขึ้น รวมถึงในยุคปัจจุบันนี้ท่ามกลางเศรษฐกิจที่ผันผวน การแข่งขันในการดำรงชีวิตสูงขึ้นทำให้คนทำงานมีเวลาพักผ่อนน้อยลง ส่งผลให้คนหันมาให้ความนิยมเลี้ยงปลาสวยงามเพื่อก่อให้เกิดความเพลิดเพลินมากยิ่งขึ้น สามารถหามาเลี้ยงได้ง่าย เลี้ยงในพื้นที่จำกัดได้ โดยนับว่าเป็นงานอดิเรกที่ได้รับความนิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย เมื่อมีความต้องการในการเลี้ยงปลาสวยงามเป็นจำนวนมากในประเทศ จากการจำหน่ายในประเทศก็นำไปสู่การส่งออกที่มากขึ้น มูลค่าการซื้อขายปลาสวยงามในปีหนึ่ง ๆ มากกว่า 2,000 ล้านบาท ต่อปี นอกจากนี้ประเทศไทยยังจัดว่าเป็นประเทศที่มีความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากร ทั้งด้านภูมิศาสตร์ ภูมิประเทศ สภาพอากาศ แหล่งน้ำและความสมบูรณ์ทางธรรมชาติซึ่งถือว่าเป็นปัจจัยพื้นฐานที่ประเทศไทยค่อนข้างได้เปรียบกว่าประเทศอื่น ๆ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยผลักดันให้ไทยก้าวไปอยู่ในระดับประเทศผู้ส่งออกปลาสวยงามที่สำคัญของโลก ด้วยเหตุนี้จึงทำให้การประกอบธุรกิจปลาสวยงามขยายตัวอย่างรวดเร็ว ปัจจุบันประเทศไทยเป็นอันดับที่ 7 ของโลกในธุรกิจการส่งออกปลาสวยงามและมีแนวโน้มการส่งออกเพิ่มขึ้น ประเทศไทยส่งออกปลาสวยงามไปสู่ประเทศต่าง ๆ มากกว่า 50 ประเทศทั่วโลก ประเทศที่นำเข้าปลาสวยงามจากประเทศไทย 3 อันดับแรก ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ซึ่งเป็นตลาดที่มีการนำเข้าปลาสวยงามเป็นตลาดใหญ่ที่สุดในโลกโดยมีมูลค่านำเข้าจากประเทศไทยมากที่สุดถึง 40.8 ล้านเหรียญสหรัฐ รองลงมาคือตลาดยุโรปมีมูลค่าการนำเข้าทั้งสิ้นปีละ 82 ล้านเหรียญสหรัฐ และอันดับ 3 คือตลาดญี่ปุ่น โดยมีมูลค่าการนำเข้าประมาณ 39 ล้านเหรียญสหรัฐ ลักษณะของปลาสวยงามที่ประเทศญี่ปุ่นนำเข้าส่วนใหญ่จะเป็นปลาสวยงามที่มีคุณภาพสูง ราคาสูง นอกจากนั้นยังมีประเทศในกลุ่มตะวันออกกลางอีกด้วย อย่างไรก็ตามในการดำเนินธุรกิจการส่งออกปลาสวยงามนั้นประเทศไทยมีคู่แข่งทางการค้าที่สำคัญของไทยในตลาดการค้าการส่งออกปลาสวยงามนั้นมีจำนวนไม่น้อยที่ดำเนินการส่งออกปลาสวยงามเพื่อนำเงินตราเข้าสู่ประเทศ ด้วยกระบวนการจัดการในแต่ละแบบที่แตกต่างกัน แต่ประเทศคู่แข่งขันที่ยังถือว่าเป็นประเทศหลักของการแข่งขันนั่นคือ ผู้ส่งออกในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น สิงคโปร์ มาเลเซีย และอินโดนีเซีย ทั้งนี้เนื่องจากประเทศเหล่านี้มีปลาสวยงามที่มีลักษณะคล้ายคลึง

กับของไทย มีการตรวจคุณภาพปลาและคุณภาพในการขนส่ง มีการจัดตั้งสมาคมผู้ส่งออกที่เป็นรูปร่างมีการวางรากฐานของระบบการส่งออกที่สมบูรณ์ จึงทำให้ธุรกิจปลาสวยงามของประเทศเพื่อนบ้านเหล่านี้กลายเป็นคู่แข่งที่สำคัญของไทย นอกจากนี้ยังมีอีกหลายประเทศที่กำลังพัฒนาธุรกิจด้านนี้ เช่น ศรีลังกา ฮาวาย และจาไมก้า เป็นต้น

การที่ไทยจะส่งออกปลาสวยงามให้ประสบความสำเร็จได้ในอนาคตนั้น จึงต้องมีการพัฒนาคุณภาพของปลาสวยงาม, พัฒนาทางด้านการค้าต่างประเทศ, การศึกษาความแตกต่างของสินค้า, ช่องทางการจำหน่าย, การกำหนดราคาตามความเหมาะสม, เพิ่มองค์ความรู้ด้านกระบวนการจัดการการวางแผนกลยุทธ์ทางการตลาดให้แก่กลุ่มผู้ประกอบการที่ต้องการส่งออกปลาสวยงามเพื่อนำไปสู่การเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันและการเพิ่มส่วนแบ่งทางการตลาดให้มากขึ้น แม้ว่านักเพาะพันธุ์ในประเทศไทยนั้นจะพัฒนาศักยภาพด้านการพัฒนาสายพันธุ์ขึ้นมาสู่อันดับต้น ๆ ของโลกได้แล้วก็ตาม แต่องค์ความรู้ด้านงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับปลาสวยงามก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่นำไปสู่ความสำเร็จในการประกอบธุรกิจปลาสวยงาม อย่างไรก็ตาม อาจกล่าวได้ว่างานวิจัยที่จะพัฒนาคุณภาพของปลาสวยงามมีจำนวนน้อยในประเทศไทยเมื่อเทียบกับสัตว์เศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ ยังมีงานวิจัยอีกหลายด้านเกี่ยวกับปลาสวยงามที่ยังต้องการศึกษาเพิ่มเติม เช่นปัญหาของการขาดออกซิเจน (O_2) ในน้ำเวลาไฟดับหรือการขาด O_2 ในระหว่างการขนส่งปลา เนื่องจากการขนส่งปลาสวยงามไปยังตลาดต่างประเทศต้องใช้ระยะเวลาประมาณ 48 - 72 ชั่วโมง ถ้ามีการขาด O_2 ในระหว่างการขนส่งปลาซึ่งจะส่งผลให้ปลาตายหรือสุขภาพอ่อนแอในระยะยาวได้ หรืองานวิจัยพื้นฐานด้านชีววิทยา เช่นค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีโลหิต ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะวิจัยเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่จำเป็นดังกล่าว โดยจะศึกษาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นซึ่งเป็นปลาสวยงามชนิดหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มปลาหมอสี ครอสบรีด ที่ได้รับความนิยมสูงทั้งในบรรดาผู้เลี้ยงในต่างประเทศที่ได้นำเข้าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น และในประเทศไทยอยู่ในขณะนี้ เนื่องจากปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเป็นปลาลูกผสมระหว่างปลาไตรมาคู (*Amphilophun trimaculatus*) เรดเดวิล (*Amphilophus citrinellles*) และซินสไปรุ่ม (*Vieja synspilum*) ซึ่งผู้เลี้ยงจะนำปลาที่มีลักษณะที่ดีมาผสมกัน เช่น ลักษณะของสีสันที่โดดเด่น ความกว้างของลำตัว ขนาดของโหนกปลา มุกของปลา ซึ่งลักษณะเด่นเหล่านี้เป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่ปลาได้ ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นตามท้องตลาดทั่วไปจึงเป็นปลาลูกผสมที่ผลิตจากปลาลูกผสมที่มีลักษณะเด่นข้างต้น ดังนั้นค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตที่ได้จะเป็นตัวแทนของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นลูกผสมที่นิยมเลี้ยงอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตจะสามารถบอกถึงสุขภาพของร่างกายของสัตว์หลังจากเกิดภาวะ Hypoxia ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยจะทำให้ทราบถึงพื้นฐานทางชีววิทยาและสรีรวิทยาของปลาดังกล่าว สามารถนำไปใช้ในงานวิจัยขั้นต่อไป ช่วยทำให้สามารถเพิ่มผลผลิตและการจัดการทรัพยากรปลาสวยงามได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงอยู่ในปัจจุบัน

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์-ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงอยู่ในปัจจุบัน

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของการเติม O_2 หลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1.3.1 ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับปลาในตระกูลที่ใกล้กัน เช่น ปลาหมอตาล (*Helostoma temmicki)*

1.3.2 การเกิด Hypoxia ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นส่งผลให้ค่า ALT, AST, CK และ BUN เพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากอวัยวะภายในเกิดความผิดปกติจากการเกิด Hypoxia

1.3.3 การเติม O_2 หลังจากเกิด Hypoxia ทำให้ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลากลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้

1.3.4 การเติม O_2 หลังจากเกิด Hypoxia หลังจุดวิกฤตยาวนานขึ้น ส่งผลให้ค่าบางค่าไม่สามารถกลับคืนเป็นปกติได้

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 ศึกษาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นซึ่งมีต้นกำเนิดมาจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่าง ไตรมา-คู (Trimacul) เรดเดวิล (Red devil) และซินสไปรุ่ม (Synspilum) โดยพิจารณาจากค่าต่อไปนี้

- ค่าโลหิตวิทยา ประกอบด้วย Hematocrit (Ht), Red blood cell count (RBC), White blood cell count (WBC), Hemoglobin concentration (Hb), Mean cell volume (MCV), Mean cell hemoglobin (MCH) และ Mean cell hemoglobin concentration (MCHC)

- ค่าชีวเคมีของโลหิต ประกอบด้วย Glucose, Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST), Creatine kinase (CK), Blood urea nitrogen (BUN), Creatinine (Cr) และ Cholesterol

1.4.2 ศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีโลหิตโดยการแทนที่ O_2 ในน้ำด้วย N_2

1.4.3 ศึกษาผลของการเติม O_2 กลับเข้าไปในปลาหลังจากเกิด Hypoxia ต่อการคืนสู่สภาวะปกติของค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีโลหิตโดยการใช้ปั้มอากาศ

1.5 คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

โลหิตวิทยา, ชีวเคมีของโลหิต, ปลา, ฟลาวเวอร์ฮอร์น

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ได้ทราบค่ามาตรฐานในการอ้างอิงค่าชีวเคมีของเลือดและโลหิตวิทยาในปลาฟลาว - เวอร์ฮอร์น

1.6.2 ได้ข้อมูลพื้นฐานของการเปลี่ยนแปลงของค่าชีวเคมีของเลือดและโลหิตวิทยาในภาวะที่เกิด Hypoxia และการคืนสภาพหลังจากได้รับ O_2 เพื่อที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นได้ต่อไป

1.6.3 เป็นประโยชน์ต่อผู้เลี้ยงปลา, ผู้ประกอบธุรกิจปลาสวยงาม, สัตวแพทย์, นักวิชาการ, ประมง หรือใช้ในการวินิจฉัยโรคและเพื่อเพิ่มผลผลิตปลาสวยงาม

1.6.4 ได้ตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการ

1.7 สถานที่ทำการทดลอง

อาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและอาคารเฉลิมพระเกียรติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.8 ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทดลองในช่วงเดือน 15 สิงหาคม 2552 ถึง 10 พฤศจิกายน 2553

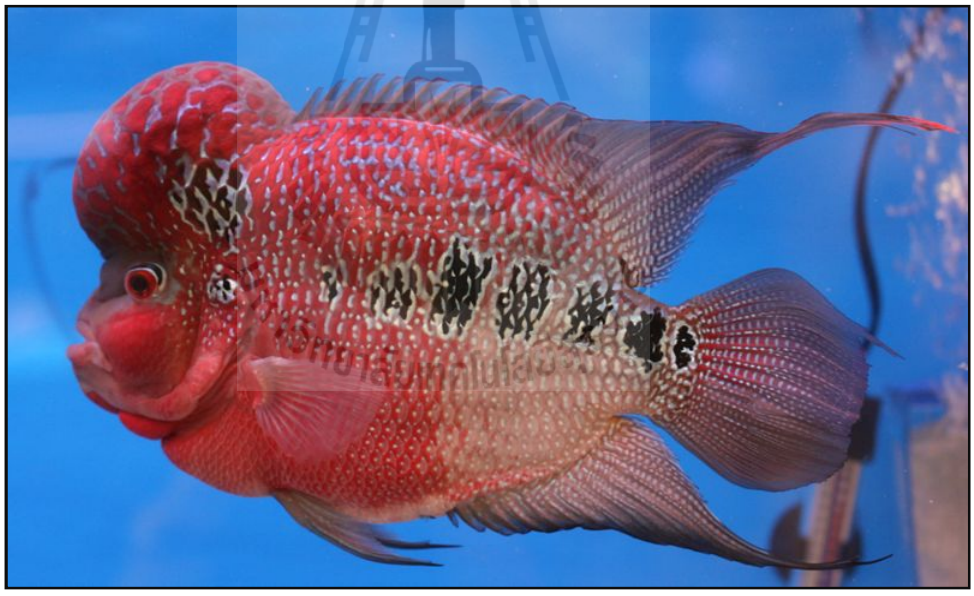
บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

ในปัจจุบันนี้ในประเทศไทยเป็นประเทศกำลังพัฒนาและมีอัตราการขยายตัวทางเศรษฐกิจ การขยายตัวทางเศรษฐกิจนี้ส่วนหนึ่งมาจากการส่งออกสินค้าต่าง ๆ ไปยังต่างประเทศ จะเห็นได้ว่าการส่งออกมีความสำคัญต่อประเทศไทยเป็นอย่างมากและปลาสวยงามก็เป็นสิ้นค้าชนิดหนึ่งที่มีการส่งออกไปขายยังตลาดต่างประเทศและมีความต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ถึงแม้ว่าในช่วงที่เกิดวิกฤติด้านเศรษฐกิจตกต่ำ แต่การส่งออกปลาสวยงามก็ยังคงเป็นสิ้นค้าอีกชนิดหนึ่งที่ยังคงสามารถส่งออกไปยังตลาดต่างประเทศได้ดี เนื่องจากปลาที่จำหน่ายในตลาดโลกร้อยละ 90 คือปลาสวยงามที่เป็นปลาน้ำจืด ส่วนที่เหลือร้อยละ 10 จะเป็นปลาสวยงามที่เป็นปลาทะเล ดังนั้นจึงทำให้ประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกรายใหญ่ลำดับที่ 7 ของโลก การที่ประเทศไทยสามารถส่งออกปลาสวยงามเป็นจำนวนมากได้ เนื่องจาก ธุรกิจปลาสวยงามของไทยมีความพร้อมของสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม มีแหล่งน้ำที่อุดมสมบูรณ์ อีกทั้งยังเป็นธุรกิจที่ลงทุนต่ำมีผลตอบแทนระยะสั้น และการที่ปลาสวยงามเป็นที่นิยมเพราะประชาชนส่วนใหญ่หันมาเลี้ยงปลาสวยงามมากขึ้น เพื่อเลี้ยงเป็นงานอดิเรก, เพื่อการพักผ่อนหย่อนใจ, ให้ความเพลิดเพลิน, ความสุขใจ, รวมทั้งเป็นการให้ความรู้และยังช่วยลดความเครียดได้เป็นอย่างดี ในการที่ไทยจะส่งออกปลาสวยงามให้ประสบความสำเร็จนั้น จึงต้องมีการพัฒนาคุณภาพปลาสวยงามรวมกับการพัฒนาด้านอื่น ๆ อาจกล่าวได้ว่างานวิจัยที่จะพัฒนาคุณภาพของปลาสวยงามมีจำนวนน้อยในประเทศไทย เมื่อเทียบกับสัตว์เศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ ยังมีงานวิจัยอีกหลายด้านเกี่ยวกับปลาสวยงามที่ยังต้องการศึกษาเพิ่มเติม เช่นปัญหาของการขาดออกซิเจน (O_2) ในน้ำเวลาไฟดับหรือการขาด O_2 เวลาที่มีการขนส่งปลาสวยงามภายในต่างประเทศและต่างประเทศนั้นเป็นเรื่องสำคัญ เพราะหากมีปริมาณ O_2 ละลายอยู่ในน้ำไม่เพียงพอซึ่งจะส่งผลต่อพฤติกรรมของปลา สุขภาพอ่อนแอในระยะยาวจนกระทั่งในที่สุดเมื่อถึงจุดวิกฤตจะทำให้ปลาตายได้ อีกทั้งงานวิจัยทางด้านพื้นฐานชีววิทยา เช่น ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีโลหิตยังมีน้อยอยู่ งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดทำการวิจัยเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลดังกล่าว โดยทำการศึกษาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นซึ่งเป็นปลาสวยงามชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันเป็นอย่างมากเนื่องจากปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีลักษณะของสีที่โดดเด่นเฉพาะตัว

2.2 ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น (Flower horn) เป็นปลาหมอสีผสมข้ามสายพันธุ์ อยู่ในวงศ์ปลาหมอสี มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Cichlidae ที่มีต้นกำเนิดจากมาเลเซีย การพัฒนาสายพันธุ์ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมาอย่างต่อเนื่องจากฟาร์มต่าง ๆ ทั่วไปโดยใช้เวลาถึง 15 ปี จนมาถึงปัจจุบันที่เราเรียกกันว่า ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นโดยฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อ 15 ปีที่แล้วชาวมาเลย์เรียกว่าหลอฮั่นมีลักษณะเป็นปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่มีสีฟ้า หรือเหลืองอมเขียว, มีคอสีแดง, มีครีบที่ยาวหรือสั้นบ้าง, มีรูปร่างที่ตัวหนากว้างและหัวโหนก หลังจากนั้นอีกหลายปีต่อมาได้มีการนำปลาหลอฮั่นมาพัฒนา โดยต้องการให้ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นนั้นมีมุกตามลำตัว หลังจากการพัฒนาเรื่องมุกของปลาแล้วก็เริ่มพัฒนาต่อในเรื่องของรูปทรงของปลา ส่วนมากต้องการปลาที่มีรูปร่างที่สั้นลง และต้องการให้ครีบของปลานั้นใหญ่ขึ้นและสวยขึ้น เมื่อดูโดยรวมแล้วปลาจะดูมีรูปร่างที่ใหญ่ขึ้น ซึ่งปลาที่มีรูปร่างสั้นลำตัวหนา และครีบแผ่เต็มแนบพอดีกับหาง Rachap lathong aquarium Thailand (www.rac - haplathong.com, 2004) ดังแสดงในภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น
ที่มา : Flowerhorn (www.flowerhorn.asia. (2004)).

ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเริ่มเข้ามาในประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ. 2543 และได้รับความนิยมอย่างมากจนถึงปัจจุบันเนื่องจากฟลาวเวอร์ฮอร์นมีลักษณะเฉพาะตัว คือมีหัวโหนกใหญ่ รูปร่าง สีสัน ลวดลายโดดเด่นสวยงามดังแสดงในรูปที่ 2.1 และด้วยลักษณะนิสัยที่ตื่นตัว อยากรู้อยากเห็นมีความสัมพันธ์

อย่างใกล้ชิดกับผู้เลี้ยงในเวลาอันรวดเร็ว จึงทำให้เป็นที่น่าสนใจของนักสะสมพันธุ์ปลาสวยงาม ทั่วไปเชื่อกันว่าปลาที่นำมาข้ามสายพันธุ์จนถือกำเนิดเป็นฟลาวเวอร์ฮอร์นนั้น เป็นปลาหมอสีพันธุ์ใหญ่จากอเมริกากลางและอเมริกาใต้ 3 สายพันธุ์ คือ ไตรมาคู (*Amphilophus trima culatus*) เรดเด - วิล (*Amphilophus citrinellles)* และซินสไปรุ่ม *(Vieja synspilum*) ซึ่งปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นนั้นเป็นปลาหมอสีลูกผสมข้ามชนิด นิยมเรียกในภาษาไทยว่า ปลาหมอสีครอสบรีด อีกทั้งยังเป็นที่นิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงามในประเทศไทยและประเทศอื่น ๆ ในทวีปเอเชียและยุโรป

2.3 คุณภาพน้ำ (Water quality)

หมายถึง สภาพของน้ำที่สามารถทำให้สัตว์น้ำอาศัยอยู่ได้อย่างปลอดภัย มีการเจริญเติบโต แพร่ขยายพันธุ์ได้ มีความแข็งแรง ทนทาน และปราศจากโรค คุณภาพน้ำเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญ เติบโต, การเกิดโรคและปรสิต หากน้ำมีคุณภาพที่ดีก็จะทำให้ผู้เลี้ยงประสบผลสำเร็จ แต่หากคุณสมบัติของน้ำไม่ดีพออาจจะทำให้เกิดความเสียต่อปลาที่เลี้ยงได้ เช่น มีผลต่อการเจริญเติบโตช้าหรือเร็ว, เกิดการตาย, เกิดโรคระบาดตลอดจนมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ เป็นต้น คุณภาพน้ำจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสารต่าง ๆ ที่ละลายปะปนอยู่ในน้ำ คุณสมบัติของน้ำมีรายละเอียดดังนี้

1. คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำ คือ ลักษณะทางภายนอกที่แตกต่างกันไป เช่นความใส, ความขุ่น, กลิ่น, สี, ของแข็งทั้งหมด, การนำไฟฟ้าและอุณหภูมิ ฯลฯ ในการทำวิจัยครั้งนี้จะขอกล่าวรายละเอียดในหัวข้ออุณหภูมิเท่านั้น

อุณหภูมิ (Temperature) คือแสงแดดที่ส่องกระทบพื้นผิวน้ำ ได้แสงแดดที่มาจากดวงอาทิตย์โดยตรงกับแสงสะท้อน ซึ่งเป็นแสงแดดที่ส่องกระทบสิ่งเจือปนในบรรยากาศแล้วสะท้อนลงสู่พื้นผิวน้ำ แสงเมื่อกระทบพื้นผิวน้ำ ส่วนหนึ่งจะส่องทะลุผ่านลงไปในน้ำ แสงอีกส่วนหนึ่งจะสะท้อนกลับ แสงส่วนที่ส่องผ่านลงไปในน้ำ ส่วนมากถูกดูดกลืนโดยน้ำ ส่วนที่เหลือจะแพร่กระจายในน้ำ แสงส่วนที่ถูกดูดกลืนจะเปลี่ยนรูปจากพลังงานแสงเป็นพลังงานความร้อน พลังงานความร้อนเมื่อสะสมอยู่ในน้ำมากพอ ก็จะทำให้น้ำร้อนขึ้นหรืออุณหภูมิสูงขึ้น อุณหภูมิของน้ำเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่มีอิทธิพลโดยตรงและโดยอ้อมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ โดยปกติอุณหภูมิของน้ำจะแปรเปลี่ยนตามอุณหภูมิของอากาศ ซึ่งขึ้นอยู่กับฤดูกาล, ระดับความสูงและสภาพภูมิประเทศ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงอาทิตย์, กระแสลม, ความลึก, ปริมาณสารแขวนลอยหรือความขุ่นและสภาพแวดล้อมทั่ว ๆ ไปของแหล่งน้ำในประเทศไทยอุณหภูมิจะผันแปรในช่วงระหว่าง 23 - 32^{o}C การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจะค่อย ๆ เป็นไปอย่างช้า ๆ สัตว์น้ำโดยเฉพาะปลาซึ่งจัดอยู่ในพวกสัตว์เลือดเย็น ซึ่งไม่สามารถรักษาอุณหภูมิของร่างกายให้คงที่เหมือนสัตว์เลือดอุ่น ร่างกายของสัตว์น้ำจะเปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิของน้ำและสภาพแวดล้อม

ที่มันอยู่อาศัย แต่ต้องอยู่ในขอบเขตที่เหมาะสม ปลาจะทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในช่วงจำกัด เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นกิจกรรมต่าง ๆ ในการดำรงชีวิตจะสูงขึ้น และเมื่ออุณหภูมิลดลงกิจกรรมต่าง ๆ เหล่านั้นก็ลดลงไปด้วยซึ่งกล่าวว่าอัตราขบวนการเมตาโบลิซึม (Metabolic rate) ของสิ่งที่มีชีวิตจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 - 3 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น $10^{o}C$ และลดลงในทำนองเดียวกัน

2. คุณสมบัติทางด้านเคมีของน้ำ คือ ลักษณะทางเคมีของน้ำ ประกอบด้วย ความเป็นกรดเป็นด่าง, ความกระด้าง, ไนโตรเจน, ไนไตรท์, ไนเตรท, ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำและบีโอดี ฯลฯ ในการทำวิจัยครั้งนี้จะขอกล่าวรายละเอียดในหัวข้อคุณสมบัติทางด้านเคมีของน้ำบางตัวเท่านั้น ซึ่งประกอบไปด้วยดังนี้

ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved Oxygen) เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการดำรงชีวิต เนื่องจากสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ย่อมต้องการออกซิเจนเพื่อการหายใจและเจริญเติบโต ออกซิเจนในน้ำขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยเช่น อุณหภูมิ, ระดับความสูงและความเค็ม ออกซิเจนละลายในน้ำได้น้อยเมื่ออุณหภูมิสูง และน้ำที่มีความเค็มสูงจะมีออกซิเจนละลายอัตราความเข้มข้นเท่ากับออกซิเจนในบรรยากาศเรียกว่า จุดอิ่มตัว (Saturation Level) ดังนั้นสัตว์น้ำจะเสี่ยงต่อการขาดแคลนออกซิเจนมากกว่าสัตว์บก ผลของออกซิเจนที่มีต่อสัตว์น้ำ ปลาใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเพื่อการหายใจ ดังนั้นปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ จึงมีผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของปลาในด้านต่าง ๆ ได้แก่ พฤติกรรมของปลาและการปรับตัวของปลา, การเจริญเติบโต, การตาย เป็นต้น ได้มีการรายงานของระดับต่ำสุดของออกซิเจนละลายในน้ำที่ทำให้ปลาชนิดต่าง ๆ ตายได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ระดับต่ำสุดของออกซิเจนที่ทำให้ปลาชนิดต่าง ๆ ตาย

ชนิดของปลา	ปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (มก/ล.)
ปลาทอง	0.1-2.0
ปลาเฉา	0.2-0.6
ปลาไน	0.2-0.8
ปลาลิ่น	0.3-1.1
ปลายี่สกเทศ	0.7
ปลาสลิด	1.6-3.8
ปลาสวาย	1.1-2.4
ปลานิล	0.8-1.2
ปลาตะเพียนขาว	0.4-1.1

ที่มา: ไมตรี ดวงสวัสดิ์ (มปป.)

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เป็นการวัดปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนที่มีอยู่ในน้ำเพื่อเป็นเครื่องแสดงให้เราทราบว่าน้ำนั้นมีคุณสมบัติเป็นกรดหรือด่าง หากน้ำมีค่า pH ต่ำกว่า 7 แสดงว่า น้ำนั้นมีสภาพเป็นกรด แต่ถ้ามี pH มากกว่า 7 ขึ้นไป แสดงว่าน้ำมีสภาพเป็นด่าง การผันแปรในรอบวันของ pH มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับของความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์ของน้ำ (ความเป็นด่างทั้งหมด) และอัตราการสังเคราะห์แสงและอัตราการหายใจ แหล่งน้ำที่ eutrophic และมีความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์ของน้ำ pH ในตอนเช้าลดต่ำลงถึง 6 และสูงกว่า 11 ในช่วงบ่าย (Boyd and Tucker, 1998) สำหรับบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ค่า pH ของน้ำถูกควบคุมด้วยกระบวนการเดียวกันกับแหล่งน้ำธรรมชาติ แต่ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำกระบวนการของสิ่งมีชีวิตมีผลต่อค่าพีเอชมากกว่ากระบวนการอื่น ๆ ค่า pH ที่เหมาะสมต่อสัตว์น้ำจะอยู่ระหว่าง 6.5 - 9.0 ค่า pH ที่ต่ำและสูงเกินไปสามารถทำให้สัตว์น้ำตายและเกิดความเครียด

ความเป็นด่าง (Alkalinity) สภาพด่างในน้ำเป็นการวัดความสามารถของน้ำในการสะเทินกรดแก่จนเป็นกลาง สภาพด่างจึงเป็นความสามารถของน้ำที่จะรับ H^+ เพื่อทำให้กรดมีสภาพเป็นกลาง Alkalinity มีผลเกี่ยวกับคุณสมบัติด้านอื่น ๆ เช่น pH และ Hardness คุณสมบัติของค่า Alkalinity ต่อแหล่งน้ำเป็นตัวการควบคุมมิให้ pH เปลี่ยนแปลงเร็วเกินไปหากปรากฏว่าแหล่งน้ำมีค่า Alkalinity ต่ำแสดงว่ามี buffering capacity น้อย ค่า Alkalinity มีค่าแตกต่างกันไป มีค่าตั้งแต่ 25 - 500 mg/l แหล่งน้ำเสียชุมชนหรือจากโรง งานอุตสาหกรรมอาจมีค่าเป็น Alkalinity สูง เกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำควรมีค่า Alkalinity ระหว่าง 100 - 120 mg/l เราสามารถปรับค่า Alkalinity ให้สูงขึ้นโดยใส่ปูนขาว (Liming) การลด Alkalinity และ Hardness จะทำได้ยากไม่นิยมกระทำกัน

ความกระด้าง (Hardness) ความกระด้างของน้ำ (Water hardness) หมายถึง ปริมาณของเกลือ, แคลเซี่ยมและแมกนีเซี่ยม ที่ละลายอยู่ในน้ำ ความกระด้างของน้ำแบ่งออกได้ 2 ประเภท คือ ความกระด้างชั่วคราว (Temporary hardness) โดยเกิดจากสารละลายของ calcium หรือ magnesium bicarbonate เมื่อถูกความร้อนจะตกตะกอนกลายเป็นหินปูน (carbonate) ส่วนความกระด้างถาวร (permanent hardness) เกิดจากสารละลายพวก calcium หรือ magnesium carbonate และความกระด้างรวมของน้ำ Total hardness หมายถึง ผลรวมของความกระด้างชั่วคราวและถาวร โดยอยู่ในรูปของ calcium carbonate ค่าความกระด้างของน้ำมีค่าตั้งแต่ 0 - 100 mg/l ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของแหล่งน้ำ เราสามารถแบ่งระดับความกระด้างของน้ำได้ดังนี้ ความกระด้าง 0 - 75 mg/l น้ำอ่อน, ความกระด้าง 75 - 150 mg/l กระด้างปานกลาง, ความกระด้าง 150 - 300 mg/l น้ำกระด้างและความกระด้าง 300 mg/l ขึ้นไป น้ำกระด้างมาก ความกระด้างโดยตัวของมันเองไม่ถือว่าเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำ แต่ความกระด้างของน้ำมีความสัมพันธ์กับ Alkalinity และ pH น้ำกระด้างยัง

ช่วยลดความเป็นพิษของสารพิษหลายชนิด เช่น โลหะหนัก (heavy metal) ได้แก่ ปรอท ตะกั่วและแคดเมี่ยม ฯลฯ น้ำกระด้างปานกลางหรือสูงเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ ส่วนน้ำกระด้างอ่อนหรือน้ำฝนไม่เหมาะสมต่อการนำมาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เราสามารถเพิ่มความกระด้างของน้ำได้โดยการเติมปูนขาว เช่นเดียวกันกับค่า pH ของน้ำ

3. คุณสมบัติทางชีวภาพ หมายถึง ดัชนีคุณภาพน้ำที่ผันแปรเนื่องจากสิ่งมีชีวิตในน้ำทำให้มีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ทั้งทางตรงและอ้อม เช่น แพลงก์ตอนพืชและสัตว์ (Plankton), แบคทีเรีย (Bacteria), พืชน้ำ (Aquatic Macrophytes), เชื้อโรค (Pathogens) ฯลฯ ในการทำวิจัยครั้งนี้จะขอไม่กล่าวรายละเอียดในคุณสมบัติทางชีวภาพ

2.4 Hypoxia

Hypoxia (ภาวะพร่องออกซิเจน) หมายถึง ภาวะที่ร่างกายได้รับออกซิเจนไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย เป็นสาเหตุให้การทำงานของร่างกายและสมองบกพร่อง โดยแบ่งตามสาเหตุได้เป็น 4 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย

1. Hypoxic Hypoxia (ภาวะพร่องออกซิเจนซึ่งร่างกายได้รับออกซิเจนน้อย) คือ ภาวะพร่องออกซิเจนที่พบได้บ่อยที่สุด เกิดขึ้นเนื่องจากความกดดันของออกซิเจนในถุงลมปอดลดลง มักเกิดขึ้นจากการขึ้นไปอยู่ในที่สูงซึ่งความกดบรรยากาศลดลง ทำให้ความกดดันย่อยของออกซิเจนลดลงด้วย จึงอาจเรียกภาวะพร่องออกซิเจนแบบนี้ว่า ภาวะพร่องออกซิเจนจากระยะสูง (Altitude Hypoxia) นอกจากนี้แล้ว อาจเกิดจากการกลั้นหายใจ, โรคหอบหืด, อากาศที่หายใจมีก๊าซอื่นปะปนอีกทั้งพื้นที่ซึ่งใช้ในการแลกเปลี่ยนก๊าซระหว่างปอดกับกระแสโลหิตลดลง เช่น ปอดบวม, ปอด - แฟบ, มีลมในช่องปอด, จมน้ำ, และออกซิเจนไม่สามารถซึมผ่านจากถุงลมปอดไปสู่กระแสโลหิตได้สะดวก เช่น ปอดบวม, จมน้ำและโรคเยื่อไฮยาลีน เป็นต้น

2. Hypemic Hypoxia (ภาวะพร่องออกซิเจนซึ่งมีสาเหตุมาจากเลือด) เป็นภาวะพร่องออกซิเจนที่เกิดจากความบกพร่องในการนำพาออกซิเจนไปสู่เซลล์ต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น จำนวนเม็ดเลือดแดงในกระแสโลหิตลดลงจากโรคโลหิตจางหรือการเสียเลือด ภาวะผิดปกติของสารเฮโมโกลบิน (Hemoglobin) ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถจับออกซิเจนได้ตามปกติตลอดจนการที่ร่างกายได้รับยาหรือสารพิษบาง อย่างที่ทำให้สารเฮโมโกลบินหรือเม็ดเลือดแดงเกิดความบกพร่องในการจับออกซิเจน เช่น ยากลุ่มซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamides) สารไซยาไนด์ (Cyanide) หรือก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (Carbon Monoxide) เป็นต้น

3. Stagnant Hypoxia (ภาวะพร่องออกซิเจนซึ่งมีสาเหตุมาจากการคั่งของกระแสโลหิต) เป็นภาวะพร่องออกซิเจน ที่เกิดขึ้นจากความบกพร่องในการไหลเวียนของกระแสโลหิต เช่น การลดลงของปริมาณแรงดันเลือดจากหัวใจ เนื่องจากโรคหัวใจล้มเหลว เป็นต้น

4. Histotoxic Hypoxia (ภาวะพร่องออกซิเจนซึ่งมีสาเหตุมาจากภาวะเป็นพิษของเซลล์) เป็นภาวะพร่องออกซิเจน ซึ่งเกิดขึ้นจากการที่เซลล์ต่าง ๆ ของร่างกายไม่สามารถนำ เอาออกซิเจนไปใช้ได้เนื่องจากได้รับสารพิษ เช่น แอลกอฮอล์, ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์และสารไซยาไนด์ เป็นต้น (อมร แสงสุพรรณ และ ธีระภาพ เสนะวงษ์, 2538)

ในทางการผลิตสัตว์น้ำ Hypoxia หมายถึง ภาวะที่ค่าของออกซิเจนลดต่ำลงกว่าปกติโดยมีความเข้มข้นของ O_2 อยู่ในช่วง 2 - 3 mg/l (ปกติประมาณ 5 - 7 mg/l) ถ้าปริมาณของ O_2 ลดลงจนถึง 0 จะเรียกว่า Anoxia ปริมาณ O_2 จัดว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งในการเลี้ยงสัตว์น้ำ เป็นสิ่งที่จำเป็นในการดำรงชีวิตของปลา รวมทั้งสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังที่ใช้ O_2 ในการหายใจ การลดลงของปริมาณ O_2 หรือการเกิด Hypoxia ตามธรรมชาติเป็นปรากฏการณ์ทางนิเวศวิทยาที่ซับซ้อนที่เกิดจากการรวมกันของหลาย ๆ ปัจจัย เช่นสภาพแวดล้อมทางกายภาพ, เกิดจากตัวของน้ำ, ความแรงและการไหลของน้ำ, ลม, พายุ, กิจกรรมของมนุษย์และปริมาณสารอาหาร เช่น โนโตรเจนและฟอส - ฟอรัสบางครั้งอาจรวมถึง ซิลิกา, เหล็ก, สังกะสี และแมกนีเซียม ซึ่งสารอาหารเหล่านี้มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เมื่อมีสารอาหารเหล่านี้ในปริมาณที่มากทำให้มีการไหลของน้ำและการรวมตัวของน้ำไม่ดี ทำให้เป็นสาเหตุของการเพิ่มจำนวนของแพลงตอนและไดอะตอมอย่างรวดเร็วและมีการใช้ออกซิเจนในปริมาณมากขึ้นทำให้ปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำลดลง หรือ ปริมาณสารอาหารอาจจะมาจากการปล่อยน้ำเสียรวมถึงภาคเกษตรกรรมเป็นต้น แต่ในทางตรงกันข้าม การเกิด Hypoxia ในผู้เลี้ยงหรือผู้ที่ประกอบธุรกิจเลี้ยงปลาสวยงามอาจเกิดจากการขาด O_2 เมื่อไฟดับหรือ เกิดจากการที่เติม O_2 ไม่เพียงพอในระหว่างการขนส่งหรือลำเลียงปลาสวยงามเพื่อจำหน่ายภายในประเทศและส่งออกต่างประเทศ

มีการรายงานวิจัยพบว่าการเกิดภาวะ Hypoxia มีผลต่อการตายของจำนวนปลา, ลดอัตราการเจริญเติบโต, มีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการกระจายตัวของปลา, ลดความหลากหลายของปลาและมีการเปลี่ยนแปลงของอาหารของปลา (Beritbure, 2002)

Landry, Steele, Manning, and Cheek (2007) ได้รายงานว่าการเกิด Hypoxia (1.34 ± 0.45 mg/l DO) เป็นระยะเวลา 1 เดือน ในปลา *Fundulus grandis* ทำให้ส่งผลต่อการสืบพันธุ์ของปลาโดยที่มีความดกของไข่, การเจริญเติบโตและความสมบูรณ์เพศลดลง ปลาเพศเมียวางไข่ช้ากว่ากลุ่มควบคุม อีกทั้งยังพบอีกว่าการเกิด Hypoxia ทำมีการลงลดของ Estradiol-17β และ11-Ketotestosterone ถึงแม้ว่าการเกิด Hypoxia จะไม่ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของ Testosterone ก็ตาม

Pichavent et al. (2000) ได้ทำการศึกษาในปลา *Scophthalmus maximus* จากการทดลองพบว่าการเกิด Hypoxia (3.35 ± 0.30 mg/l DO) เป็นระยะเวลาทั้งหมด 45 วัน ส่งผลให้มีการเจริญเติบโต การกินอาหารและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลง สาเหตุดังกล่าวอาจเป็นเพราะปลาได้มีการลดการใช้พลังงานเพื่อรักษาพลังงานไว้และมีการรักษาปริมาณออกซิเจนในเนื้อเยื่อ โดยรวมแล้วจากการทดลอง ปลา *Scophthalmus maximus* สามารถปรับตัวเพื่อให้ดำรงชีวิตอยู่ได้

Shimps, Rice, and Osborne (2005) ได้รายงานว่าในช่วงฤดูร้อนในทางตอนเหนือของ Carolina มีการ Hypoxia ขึ้นบ่อย ทำให้ส่งผลต่ออัตราการตายและจำนวนของปลาลดลง ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองการเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในปลา *Leiostomus xanthurus* และ *Brevoortia tyrannus* พบว่าปลามีอัตราการตายเป็น 100% ที่ 2 - 6 ชั่วโมง โดยมี O_2 เข้มข้น 0.6 ppm นอกจากนี้จากการทดลองยังพบอีกว่าอัตราการตายนั้น ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของการเกิด Hypoxia, ระยะเวลาของการเกิด Hypoxia, อุณหภูมิ, ชนิดของปลาและขนาดของปลา ซึ่งปลา *Brevoortia tyrannus* จะทนต่อการเกิด Hypoxia ได้ดีกว่าปลา *Leiostomus xanthurus* อีกทั้งปลาขนาดใหญ่จะทนต่อการเกิด Hypoxia ได้ดีกว่าปลาขนาดเล็ก

Lewis et al. (2007) ได้รายงานไว้ว่า O_2 เป็นตัวบ่งชี้ถึงอัตราของ metabolic และ การสังเคราะห์โปรตีนในเนื้อเยื่อ เขาได้พบว่าปลา *Astronotus ocellatus* มีการเปลี่ยนแปลงอัตราของ metabolic ลดลงถึง 50% เมื่อเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง (0.67 ± 0.01 mg/l DO) และยังพบอีกว่ามีการลดลงของการสังเคราะห์โปรตีนที่ตับ, หัวใจและเหงือกของปลาถึง 50 - 60% อีกทั้งยังพบอีกว่ามีระดับของ Lactate ในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้น เป็นตัวบ่งบอกถึงการเกิด anaerobic metabolism และการที่ metabolic ลดต่ำลงเนื่องจากต้องการรักษาพลังงาน ATP ไว้เพื่อใช้ในการให้มีชีวิตอยู่ในสภาวะ Hypoxic

Affonso et al. (2002) ได้ทำการศึกษาผลของการเกิด Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและ metabolism ในปลา *Colossoma macropomum* พบว่าการเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 12 - 48 ชั่วโมง ส่งผลให้ระดับของ Hb, RBC สูงขึ้นและลดลงเมื่อเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง ในทางตรงกันข้ามพบว่า Hypoxiaไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ Ht, MCV, MCH และ MCHC ในทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการเกิด Hypoxia นั้นส่งผลให้ระดับของ Methemoglobin, Lactate, Glycogen และ Glucose สูงขึ้นเมื่อเกิด Hypoxia จากผลการทดลองสามารถอธิบายได้ว่าปลา *Colossoma macropomum* จะมีการปรับตัวเพื่อให้ทนต่อสภาวะการเกิด Hypoxia โดยกระบวนการ anaerobic metabolism เป็นระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น

วีณา เคยพุดซา, มาลินี กิตกำธร, เกสร สะดู่ และ อัจฉริยา ไศละสูต (2550) ได้ทำการทดลองในปลาดุกความยาวเฉลี่ย 10.8 ± 1.4 ซม. น้ำหนักเฉลี่ย 8.1 ± 2.1 กรัม จำนวน 400 ตัว เพื่อศึกษาผลของ Hypoxia ระยะสั้น (DO 0 ppm, 3 ชั่วโมง) และระยะยาว (DO 3 - 4 ppm, 90 วัน) ที่มีผลต่อการ

เจริญเติบโตและค่าทางโลหิตวิทยาพบว่าในปลาดุกที่เกิด Hypoxia ระยะสั้นมีการเปลี่ยนแปลงของค่า Ht, Phosphatase (AlkP), Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), Glutamic pyruvictran saminase (GPT), Blood urea nitrogen (BUN), Creatinine, Glucose และ Cortisol แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติและปลาดุกที่เกิด Hypoxia ระยะยาว พบว่าเมื่อนำค่าทางโลหิตวิทยาเทียบกับปลาดุกในกลุ่มพบว่า Cortisol มีแนวโน้มสูงขึ้นเนื่องจากความเครียดที่ปลาได้รับค่าของ AlkP และ GOT มีแนวโน้มสูงขึ้นเนื่องจากการทำงานของกระดูกและกล้ามเนื้อขณะที่มีการเจริญเติบโต

2.5 โลหิตวิทยาและชีวเคมีโลหิต

ค่าโลหิตวิทยา (Hematology) เลือดเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของระบบไหลเวียนเลือดของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งทำงานร่วมกันอย่างมีระบบ เพื่อจัดหาปัจจัยพื้นฐานที่จำเป็นสำหรับเซลล์ในร่างกาย ทำให้เซลล์สามารถดำรงชีพ และทำหน้าที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อันเป็นผลให้ร่างกายของสิ่งมีชีวิตนั้นสามารถดำรงชีพอยู่ได้อย่างปกติ เลือดจัดเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ชนิดหนึ่งที่ไหลเวียนอยู่ในหลอดเลือด ดังนั้นความหมายของคำว่า โลหิตหรือเลือด หมายถึง ของเหลวที่มีส่วนประกอบต่าง ๆ ได้แก่ น้ำ, แร่ธาตุ, ไวตามิน, ฮอร์โมนและสารประกอบทางชีวเคมีอื่น ๆ ซึ่งมีความสำคัญต่อเซลล์ทั่วไปในร่างกาย (ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์, 2541) เช่นเดียวกับเลือดของปลาที่ประกอบด้วยส่วนที่เป็นของเหลว เรียกว่าน้ำเลือดและส่วนที่เป็นของแข็งเรียกว่า เม็ดเลือดมีหลายชนิด เม็ดเลือดแดง (Erythrocyte) เม็ดเลือดขาว (Leuko-cyte) และเกล็ดเลือด (Platelet) ภายในเม็ดเลือดแดงจะมีสารที่มีความสามารถในการนำออกซิเจน เรียกว่า ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ยกเว้นในปลาบางชนิดที่ไม่มีเม็ดเลือดแดงและไม่มีฮีโมโกลบิน ได้แก่ปลา cefish หรือปลา white croco-dile ที่อาศัยอยู่ในขั้วโลกใต้ เลือดของปลาเหล่านี้จะไม่มีสี เลือดของลูกปลาไหล *(Leptocephalus)* ก็ไม่มีสีเช่นเดียวกัน สำหรับในปลา Lamprey เม็ดเลือดแดงก็ไม่มีฮีโมโกลบินเช่นเดียวกัน น้ำเลือดในปลา (plasma) เป็นของเหลวใสไม่มีเซลล์แยกออกจากเม็ดเลือด ช่วยละลายเกลือแร่ ดูดซึมอาหาร รับของเสียจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ รวมทั้งเอนไซม์และก๊าซ โปรตีนในน้ำเลือดของปลาจะเปลี่ยนแปลงและแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับการกินอาหารของปลา, ชนิดของอาหารและประเภทของอาหารที่ให้ปลากิน สารโปรทรอมบิน (Prothrombin) ในน้ำเลือดของปลากระดูกอ่อนจะต่ำกว่าในปลากระดูกแข็งซึ่งสารเหล่านี้จะช่วยให้เลือดแข็งตัว (blood clot) และพบว่าในปลากระดูกแข็งจะมีสารนี้น้อยกว่าในสัตว์ชั้นสูงอื่น ๆ แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าเลือดปลาจะแข็งตัวเร็วกว่าเลือดสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น ๆ ซึ่งเข้าใจว่าการที่เลือดของปลาแข็งตัวเร็วกว่านั้นอาจเนื่องมาจากธรรมชาติของเอนไซม์ทรอมโบคีเนส (Thrombo kinase) ที่มีลักษณะพิเศษซึ่งพบในน้ำเลือดของปลาเท่านั้น และยังมีเอนไซม์หลายชนิดที่ยังสามารถแยกออกได้จากน้ำเลือดของปลาประกอบด้วย เอนไซม์ไลเปส (Lipase) และ คาร์บอนิกแอนไฮเดรส (Carbonic anhydrase) ส่วนเม็ดเลือด-แดง (Red blood cell) ใน

ปลามีสีเหลืองแดงและมีนิวเคลียส พบในปลาเกือบทุกชนิด (ยกเว้นปลาบางชนิดที่มีการแลกเปลี่ยนก๊าซกับสภาพแวดล้อมโดยการแพร่) เม็ดเลือดแดงมีจำนวนมากที่สุดในบรรดาเม็ดเลือดทั้งหมด ประมาณ 20,000 ถึง 3,000,000 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เมื่อเจริญเต็มที่แล้วมีลักษณะเป็นรูปไข่ มีความยาวประมาณ 7 - 36 ไมโครเมตร (1 ไมโครเมตร = 0.001 มิลลิเมตร) ซึ่งแตกต่างจากเม็ดเลือดคนที่มีลักษณะกลมและมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.9 ไมโครเมตร ความกลมของเม็ดเลือดในปลาแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของปลา เม็ดเลือดแดงของปลาฉลามคล้ายกับปลาไหลทะเลและของปลาทูประกอบ ด้วยเซลล์ที่ยังเจริญไม่เต็มที่อีก 20% ในขณะที่ปลาอื่น ๆ จะมีอัตราส่วน % เม็ดเลือดแดงที่เจริญเร็วมากกว่านี้ การนำพาออกซิเจนของเม็ดเลือดแดงขึ้นกับสารประกอบเหล็ก ปริมาณ Hb และเม็ดสี (Respiratory pigment) ปริมาณของ Hb ในเลือดของปลามีการเปลี่ยนแปลงไปตามจำนวนของเม็ดเลือดแดง จำนวนออกซิเจนที่ถูกนำพาในแต่ละครั้งประมาณ 95% ของระดับอิ่มตัวปริมาณของเหล็กในเลือดและจำนวนเม็ดเลือดแดงเปลี่ยนแปลงไปตามจังหวะของชีวิตและความคล่องแคล่วของปลา ปลาอาจหมดความรู้สึกเมื่อมีจำนวนเม็ดเลือดแดงน้อยเกินไป แต่มันก็สามารถสร้างเม็ดเลือดแดงขึ้นมาทดแทนได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเกิดการเสียเลือดขึ้น เม็ดเลือดขาว (White blood cell) มีลักษณะเป็นสีขาวหรือไม่มีสีส่วนใหญ่เป็นทรงกลม หรือรูปไข่ มีจำนวนระหว่าง 20,000 ถึง 150,000 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร แบ่งออกเป็นหลายชนิด คือ Glanulocyte มีประมาณ 4 - 40% สามารถแบ่งได้อีกหลายชนิดขึ้นกับปฏิกิริยาการติดสีย้อม ได้แก่ Neutrophil, Acidophil และ Basophil โดย Neutrophil ทำหน้าที่ย่อยแบคทีเรียที่บุกรุกเข้ามา ชนิด Acidophil ทำหน้าที่ช่วยในการกินเชื้อโรค ส่วนชนิด Basophil พบจำนวนน้อยและยังไม่ทราบหน้าที่ที่แน่ชัด Agranular leucocyte มีลักษณะเป็นรูปไข่เป็นชนิดที่พบมากที่สุด Monocyte มีลักษณะเหมือนกับ Agranulocyte แต่มีขนาดเล็กกว่าช่วยในการป้องกันเชื้อโรค Lymphocyte ช่วยในการสร้างภูมิคุ้มกัน Thrombocyte หรือ Blood platelet บางครั้งเรียกว่าเกล็ดเลือดมีจำนวนมาก มีรูปร่างต่าง ๆ กัน บางชนิดรูปร่างกลม บางชนิดรูปร่างรี มีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดชนิดอื่น ๆ มีหน้าที่ช่วยให้เลือดแข็งตัว (วิมล เหมะจันทร, 2540) ค่าของโลหิตวิทยาจัดว่าเป็นดัชนีชี้วัดที่สำคัญถึงสุขภาพของร่างกาย, ความสมบูรณ์ของร่างกาย, ความทนทานและการปรับตัวของสัตว์ให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ (ชาญวิทย์ วัชรพุกก์, 2539; Yousef, 1990; Brown and Barbara, 1993) สัตวแพทย์ได้ใช้ค่าเหล่านี้เพื่อเป็นตัวประกอบการวินิจฉัยโรคและเพื่อประเมินความสมบูรณ์ของร่างกาย

ชีวเคมีโลหิต (Blood chemistry) คือองค์ประกอบทางเคมีของเลือด ระดับของสารต่าง ๆ ในเลือด การเปลี่ยนแปลงของระดับสารต่าง ๆ เหล่านี้ สามารถบอกได้ว่าสัตว์ได้รับความเครียดหรือมีการอดอาหาร (Castellini Judith and Castellini Michael, 1993; DE Swart et al. 1995; Thompson, Tollit, Corpe, Reid, and Ross, 1997; Rea, Castellini, Fadely, and Loughlin, 1998) สัตวแพทย์ได้ใช้ค่าเหล่านี้เพื่อประกอบการวินิจฉัยโรคและเพื่อประเมินความสมบูรณ์ของร่างกายเช่นเดียวกับค่าทาง

โลหิตวิทยา มีการรายงานวิจัยเพื่อตรวจหาโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาหลายชนิด ส่วนใหญ่จะเป็นปลาที่นิยมบริโภคหรือในปลาที่ใกล้จะสูญพันธุ์ที่เลี้ยงไว้เพื่อการอนุรักษ์ (Wells et al. 2005; Peruzzi et al. 2005; Ballarin et al. 2004; Filho et al. 1992) วัตถุประสงค์ของการตรวจวัดนั้นเพื่อให้ได้ทราบถึงค่าพื้นฐาน สามารถนำมาใช้อ้างอิงหรือตรวจสอบหรือวินิจฉัยความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับปลาชนิดนั้น ๆ ได้ จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยมีดังนี้

Hrubec, Cardinale, and Smith, (2000) ได้ทำการทดลองในปลา Cultured Tilapia (*Oreoc - hromis Hybrid*) เพื่อศึกษาค่าของโลหิตและพลาสมาเคมีของปลา โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างที่มีความหนาแน่นต่ำ (4.3 g/l) และความหนาแน่นสูง (120 g/l) เป็นระยะเวลา 15 เดือน พบว่าจากการศึกษาค่า Plasma chemistry ที่ทำการเปรียบเทียบระหว่างความหนาแน่นสูงและต่ำได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ค่า Plasma chemistry ที่มีความหนาแน่นสูง (120 g/l) และความหนาแน่นต่ำ (4.3 g/l) ของปลา Tilapia

Analyte	**Low-density systems**		**high-density systems**	
	Range*	**Median**	**Range***	**Median**
Total protein (g/dl)	2.3-3.6	2.9	2.9-6.6	3.9
Albumin (g/dl)	1.0-1.6	1.2	1.3-2.6	1.8
Globulins (g/dl)	1.3-2.1	1.6	1.6-4.2	2.1
Creatinine (mg/dl)	0.0-0.1	0	0.1-0.5	0.2
Total bilirubin (mg/dl)	16-38	26	0.0-0.3	0.2
ALP (U/l)	16-38	26	15-39	22
AST (U/l)	5-124	18	9-102	26
Sodium (mEq/l)	140-156	150	139-160	151
Potassium (mEq/l)	3.2-4.3	3.9	3.5-5.4	4.3
Chloride (mEq/l)	136-147	141	128-142	136
Calcium (mg/dl)	10.5-19.0	11.8	13.6-69.4	31.0
Magnesium (mg/dl)	2.3-2.8	2.5	1.9-3.5	2.5
Phosphorus (mg/dl)	3.5-7.2	4.6	5.5-22.1	9.1
Glucose (mg/dl)	39-96	52	30-69	46
Cholesterol (mg/dl)	64-299	156	110-318	189

ที่มา: Hrubec et al. (2000)

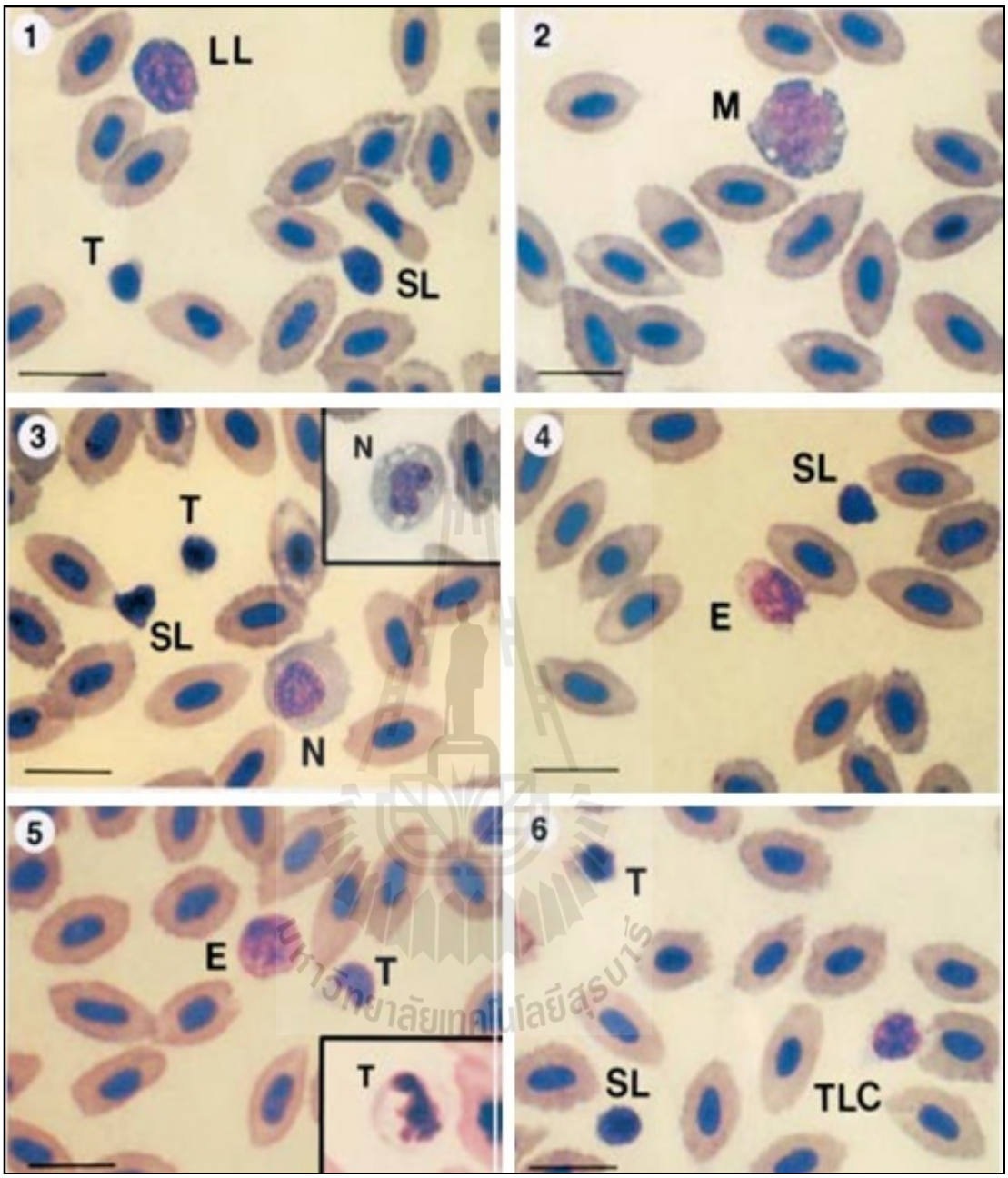
จากตารางที่ 2.2 พบว่าระดับความเข้มข้นของโปรตีนและระดับของ Phosphorus ในปลาที่เลี้ยงในสภาพที่มีความหนาแน่นสูงจะมีความเข้มข้นของโปรตีนและระดับของ Phosphorus สูงกว่าปลาที่เลี้ยงในสภาพที่มีความหนาแน่นต่ำ และจากการศึกษาค่าของโลหิตวิทยาได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ค่าโลหิตวิทยาของปลา Tilapia

Analyte	**Reference Interval**	**Median**
PCV (%)	27-37	33
Hemoglobin (g/dl)	7.0-9.8	8.2
MCV (fl)	115-183	135.7
MCH (pg)	28.3-42.3	34.9
MCHC (g/dl)	22-29	25.7
Plasma protein (g/dl)	4.8-7.8	6.1
RBC ($x10^6$/µl)	1.91-2.83	2.31
WBC (/µl)	21,559-154,690	75,659
Small lymphocytes (/µl)	6,776-136,390	61,164
Large lymphocytes (/µl)	2,852-30,833	10,720
Neutrophils (/µl)	557-9,873	1,805
Monocytes (/µl)	400-4,286	1,520
Eosinophils (/µl)	35-1,645	334
TLC (/µl)	35-4,336	972
Thrombocytes (/µl)	25,068-85,216	52,762

ที่มา: Hrubec et al. (2000)

จากตารางที่ 2.3 พบว่าในระบบไหลเวียนของปลา Tilapia จะมีเซลล์เม็ดเลือดอยู่ 3 ชนิด คือเซลล์เม็ดเลือดแดง, เซลล์เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือด เซลล์เม็ดเลือดแดงจะมีขนาด 7.0 - 12.9 µm และมีนิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีอยู่ทั้งหมด 6 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย Small lymphocytes, Large lymphocytes, Neutrophils, Monocytes, Eosinophils และ Thrombocyte-like cells ดังแสดงในภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ลักษณะและชนิดของเม็ดเลือดขาวในปลา Tilapia (Hrubec et al. 2000), หมายเหตุ : Small lymphocyte (SL), Neutrophil (N), Large lymphocyte (LL), Eosinophil (E) Thrombocyte-like-cell (TLC), thrombocyte (T), Monocyte (M)

Wells, Baldwin, Seymour, Christian, and Brittain (2005) ได้ทำการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาในเขตร้อนชื้นของประเทศออสเตรเลีย ซึ่งปลาที่ทำการศึกษาคือ *Arius leptaspis* และ ปลา *Megalops cyprinoids* ทำการวัดคุณภาพของน้ำที่เวลา 08.30 น. ในทุก ๆ 5 ชั่วโมง ต่อเนื่องจนเช้าทำ

การวัดค่าเฉลี่ยความอิ่มตัวของอากาศ ลึกจากพื้นผิว 10 เซนติเมตร ได้ 39.4 ± 6.5% วัดอุณหภูมิได้ 24.8 ± 2.7°C ที่ความลึกของน้ำ 1.5 เมตร ทำการวัดค่าเฉลี่ยความอิ่มตัวของอากาศได้ 9.7 ± 6.6% และอุณหภูมิ 24.3 ± 1.9°C และ pH ได้ 5.0 ± 0.2 เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเจาะเลือดที่บริเวณเส้นเลือด Caudal vein และนำไปตรวจค่าโลหิตวิทยาพบว่าในปลา Arius leptaspis มีค่า Hb เท่ากับ 90.9 ± 12.0 g/l, ค่า Ht เท่ากับ 39.3 ± 2.5%, ค่า MCHC เท่ากับ 233.1 ± 26.8 g/l, ค่า RCB เท่ากับ 1.17 ± 0.12x10^6 cell/µl, ค่า MCV เท่ากับ 342.0 ± 21.1 fl, ค่า MCH ได้เท่ากับ 74.3 ± 3.1 pg และค่า O_2 capacity เท่ากับ 12.2 ± 1.6 ml ส่วนในปลา Megalops cyprinoids เมื่อทำการเจาะเลือดทำการตรวจค่าโลหิตวิทยาพบว่ามีค่า Hb เท่ากับ 117.0 ± 10.8 g/l, ค่า Ht เท่ากับ 47.7 ± 5.2%, ค่า MCHC เท่ากับ 246.5 ± 18.8 g/l, ค่า RCB เท่ากับ 2.11 ± 0.44x10^6 cell/µl, ค่า MCV เท่ากับ 219.1 ± 18.2 fl, ค่า MCH เท่ากับ 53.4 ± 1.8 pg และค่า O_2 capacity เท่ากับ 15.6 ± 1.2 ml

นันทริกา ชันซื่อ และ มนทกานติ์ วงศ์ภากร (2006) ได้ทำการศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิคของปลาหมอตาล (*Helostoma temmicki)* โดยมีลักษณะภายนอกสมบูรณ์แข็งแรง คละเพศ จำนวนทั้งหมด 50 ตัว จากการศึกษาพบว่ามีค่า RBC เท่ากับ 3.19 ± 0.11x10^6cell/µl ค่า PCV เท่ากับ 35.56 ± 8.06% ค่า Hb < 5 g/dl จำนวน WBC เท่ากับ 79.73 ± 7.43x10^3cell/µl ค่าร้อยละแยกตามประเภทของเม็ดเลือดขาว ได้แก่ Lymphocyte, Monocyte, Thrombocyte, Neutrophil,B, Eosinophil อยู่ในช่วง 46 - 88%, 12 - 26%, 0 - 11%, 0 - 25%, 0 - 28% และ 0 - 3% ตามลำดับ ผลของการตรวจค่าทางเคมีคลินิคของเลือดปลาหมอตาลพบว่ามีระดับของ Alanine aminotransferase (ALT) เท่ากับ 65.22 ± 28.14 U/l, Aspartate aminotransferase (AST) เท่ากับ 221.44 ± 52.19 U/l, Blood urea nitrogen (BUN) < 2 g/dl และ Creatinine < 5 g/dl

ธเนศ ชินวราภรณ์, สกนธ์ จันทรอัมพร, อัมพล ทองสิมา, นันทริกา ชันซื่อ, ธีรศักดิ์ มาตาเดิม, อมรัตน์ ทัศนกิจ และ อัจฉริยา ไศละสูต (2003) ได้ทำการศึกษาข้อมูลพื้นฐานทางโลหิตวิทยาและค่าทางสรีรวิทยาของปลาเสือตอพบว่า มี PCV เท่ากับ 24.4 ± 5.6%, RBC เท่ากับ 4.0 ± 0.9x10^6 cell/µl และ WBC เท่ากับ 32.4 ± 10.3x10^3 cell/µl ค่าร้อยละแยกตามประเภทของเม็ดเลือดขาว ดังนี้ Lymphocyte เท่ากับ 85.8 ± 4.6%, Monocyte เท่ากับ 10.1 ± 4.2%, Granulocyte เท่ากับ 4.1 ± 3.2% ค่าเคมีของเลือดได้ค่าดังนี้ AST เท่ากับ 36.2 ± 10.78 U/l, ALT เท่ากับ 10.28 ± 6.53 U/ l, Glucose เท่ากับ 41.4 ± 18.25 mg/dl, BUN เท่ากับ 10.36 ± 1.64 mg/dl, Total protein เท่ากับ 3.54 ± 0.53 g/dl, Albumin เท่ากับ 0.66 ± 0.73 g/dl และ Globulin เท่ากับ 2.88 ± 0.76 g/dl จากการศึกษาเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าผลที่ได้มีความแตกต่างกันในรายละเอียดของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้ง 3 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย Monocyte, Lymphocyte และ Granulocyte

นันทริกา ชันซื่อ และ สมหวัง พิมลบุตร (2007) จากการศึกษาค่าทางเคมีในเลือดของปลาน้ำจืดในวงศ์ปลาตะเพียนโดยไม่คำนึงถึงเพศและอายุ ที่เลี้ยงในกระชังตามธรรมชาติ โดยใช้ปลา 3 วงศ์ย่อย 8 สายพันธุ์ ได้แก่ Subfamily Cyprininae ได้แก่ ปลาตะเพียนทอง (*barbodes altus*) ปลาตะเพียนขาว (*Barbodes gonionotus*) ปลากะแห (*Barbodes schwanenfeldi*) ปลายี่สกทอง (*Probarbus jullieni Sauvag*) ปลาหางไหม้ (*Balantiochelos melanopterus*) และปลากาดำ (*Morulius chrysophekadian*), Subfamily Alburninaeได้แก่ปลาแปบควาย (*Paralaubuca riveroi*) และ Subfamily Danioninae ได้แก่ ปลาสะนาก (*Raiamas guttatus*) จากผลการศึกษาพบค่ามีค่า Glucose เท่ากับ 53.31 ± 34.44 mg/dl, ค่า Amylase enzyme เท่ากับ 401.55 ± 408.92 U/l, ค่า AST เท่ากับ 166.36 ± 83.15 U/l, ค่า ALT เท่ากับ 20.88 ± 15.30 U/l, ค่า Gamma Glutanyl Transpeptidase (GGT) เท่ากับ 22.10 ± 22.69 U/l และค่า Creatinine เท่ากับ 0.5 mg/dl จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าที่ได้เกือบทุกค่ามีความแตกต่างกันระหว่างสายพันธุ์อย่างมาก จึงควรนำผลที่ได้ไปอ้างอิงเพื่อการวินิจฉัยและประเมินสุขภาพในปลาชนิดเดียวกันเท่านั้น

2.6 รายการอ้างอิง

ชาญวิทย์ วัชรพุกก์ (2539). **สรีรวิทยาสภาพแวดล้อมของสัตว์เลี้ยงในเขตร้อน**. ภาควิชาสัตวบาล, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 347.

ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์ (2541). **โลหิตวิทยาของสัตว์เลี้ยงและวิธีการวิเคราะห์**. ภาควิชาสัตวศาตร์, คณะเกษตรศาตร์, มหาวิทยาลัยขอยแก่น, ขอนแก่น. 105.

ธเนศ ชินวราภรณ์, สกนธ์ จันทรอัมพร, อัมพล ทองสิมา, นันทริกา ชันซื่อ, ธีรศักดิ์ มาตาเดิม, อมรัตน์ ทัศนกิจ และ อัจฉริยา ไศละสูต (2003). ข้อมูลพื้นฐานทางโลหิตวิทยาและค่าทางสรีรวิทยาของปลาเสือต่อ. **เวชชสารสัตวแพทย์**. 33 : 29-36.

นันทริกา ชันซื่อ และ มนทกานติ์ วงศ์ภากร. (2006). ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกของเลือดปลาหมอตาลในบ่อเพาะเลี้ยงจังหวัดสุพรรณบุรี. **Thai-NIAH eJournal**. 1 : 108-115.

นันทริกา ชันซื่อ และ สมหวัง พิมลบุตร (2007). การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับค่าทางเคมีในเลือดของปลาน้ำจืดในวงศ์ปลาตะเพียนหรือปลาคาร์พ (Family Cyprinidae). **สัตวแพทยสาร**. 58 : 22-31.

ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น. (2004) [On line]. Available. www.rachaplathong.com.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์.(มปป.). **การควบคุมคุณสมบัติของน้ำในบ่อเลี้ยงปลา**. ฝ่ายวิจัยสิ่งแวดล้อมสัตว์น้ำ. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ. กรมประมง, กรุงเทพฯ. 23 น.

วิมล เหมะจันทร (2540). **ชีววิทยาปลา**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 107-110.

วีณา เคยพุดซา, มาลินี กิตกำธร, เกสร สะดู่, และ อัจฉริยา ไศละสูต. (2550). ผลของออกซิเจนละลายในน้ำต่ำระยะสั้น (DO 0 ppm, 3 ชั่วโมง) และ ออกซิเจนละลายในน้ำต่ำระยะยาว (DO 3-4 ppm, 90 วัน) ต่อค่าทางโลหิตวิทยาของปลาดุก.**วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 21 : 13-23.

อมร แสงสุพรรณ และ ธีระภาพ เสนะวงษ์. (2538). ภาวะพร่องออกซิเจน (HYPOXIA). **สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ**. 20. [ออนไลน์]. ได้จาก: http://kanchanapisek.or.th/kp6 /New/sub /book /book.php?book=20&chap=8&page=chap8.htm.

Affonso, E. G., Polez, V. L. P., Corre, C. F., Mazon, A. F., Araujo, M. R. R., Moraes, G., and Rantin, F. T. (2002). Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 133 : 375-382.

Ballarin, L., Dall Oro, M., Bertotto, D., Libertini, A., Francescon, A., and Barbaro, A. (2004). Haematological parameters in Umbrina cirrosa (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Moleccular & Integrative Physiology**. 138(1) : 45-51.

Beritbure. D. 2002. Effects of Hypoxia, and the Balance between Enrichment, on Coastal Fishes and Fisheries. **Estuaries**. 25 : 767-781.

Boyd, C. E., and C. S. Tucker. (1998). **Pond aquaculture water quality management**. Norwell, Massachusetts.1-700.

Brown, H., and Barbara, P. (1993). **Hematology: Principles and Procedures**. 6th edition, Lea & Febiger, Philadelphia.

Castellini, J. M., and Castellini, M. A. (1993). Estimation of splenic volume and its relationship to long-duration apnea in seals. **Physiological Zoology**. 66 : 619-627.

DE Swart, R. L., Ross, P. S., Vedder, L. J., Bionk, F. B. T. J., Reijnders, P. J. H., Mulder, P. G. H., and Ostersaus, A. D. M. E. (1995). Haematology and clinical chemistry values for harbour seals (Phoca vitulina) fed environmentally contaminated herring remain within normal ranges. **Canadian Journal of Zoology**. 73 : 2035-2043.

Filho, D. W., Eble, G. J., Kassner, G., Caprario, F. X., Dafre, A. L., and Ohira, M. (1992). Comparative hematology in marine fish. **Comparative Biochemistry and Phsiology Part A:Physiology**. 102(2) : 311-321.

Flowerhorn. (2011). [On line]. Available. www.flowerhorn.asia.

Hrubec, T. C., Cardinale, J. L., and Smith, S. A. (2000). Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (Oreochromis Hybrid). **Veterinary Clinical Pathology**. 29 : 7-12.

Landry, C. A., Steele, S. L., Manning, S., and Cheek, A. O. (2007). Long term hypoxia suppresses reproductive capacity in the estuarine fish, *Fundulus grandis*. **Comparative Biochemis try and Physiology**. 148 : 317-323.

Lewis, J. M., Costa1, I., Val, A. L., Almeida-Val , V. M. F., Gamperl, A. K., and Driedzic ,W. R. (2007). Responses to hypoxia and recovery: repayment of oxygen debt is not associated with compensatory protein synthesis in the Amazonian cichlid, *Astronotus ocellatus.* **The Journal of Experimental Biology**. 210 : 1935-1943.

Peruzzi, S., Varsamos, S., Chatain, B., Faevel, C., Menu, B., Falguiere, J. C., Severe, A., and Flik, G. (2005). Haematological and physiology characteristics of diploid and triploid sea bass, Dicentrachus labrax L. **Aquaculture**. 224(1-4) : 359-367.

Pichavent, K., Person-L-R, J., Le Bayon, N., Severe, A., Le Roux, A., Quemener, L., Maxime, V., Nonnotte, G., and Boeuf, G. (2000). Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot. **Aquaculture**. 188 : 103-114.

Rea, L. D., Castellini, M. A., Fadely, B. S., and Loughlin, T. R. (1998). Health status of young Alaska Steller sea lion pups as indicated by blood chemistry and hematology. **Compa rative Biochemistry and Physiology**. 120 : 617-623.

Shimps, E. L., Rice, J. A., and Osborne, J. A. (2005). Hypoxia tolerance in two juvenile estuary-dependent fishes. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. 325 : 146-162.

Thompson, P. M., Tollit, D. J., Corpe, H. M., Reid, R. J., and Ross, H. M. (1997). Changes in haematological parameters in relation to prey switching in a wild population of harbour seals. **Functional Ecology**. 11 : 743-750.

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. **Comparative Biochemistry and Physiology**.141 : 87-93.

Yousef, H. M. (1990). Studies on adaptation of Friesian cattle. In Phillips, C., and D. Piggins (eds.). **Farm Animals and the Enivironment** (pp. 74-78). C.A.B. International, Wallingford, UK.

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

การศึกษาค่าโลหิตวิทยา, ค่าชีวเคมีของโลหิตและศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยา, ค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นและการคืนสภาพหลังจากได้รับออกซิเจน โดยทำการทดลองในห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์สัตว์ อาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและอาคารเฉลิมพระเกียรติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยมีวัสดุอุปกรณ์และสารเคมีพร้อมทั้งวิธีการดำเนินงานวิจัยตามลำดับดั้งนี้

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

1) Terumo Syringe 3 ml
2) Nipro Hypodermic Needle (23Gx1 1/2)
3) Microcentrifuge tube
4) Micropipettes
5) Centrifug
6) Microhematocrit centrifuge
7) Microhematocrit reader
8) Capillary tube
9) WBC pipette
10) RBC pipette
11) Compound microscope
12) Bigger
13) Volumetic flask
14) Reflotron GOT
15) Reflotron CK
16) Reflotron Glucose
17) Reflotron Cholesterol
18) Aquarium pump (AP1600)
19) Fish tank (36 x 93 x 47.5 cm.)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2 สารเคมี

1) Hematon
2) Hemalyse Hemaref II
3) Hemaref II
4) Ethylenediamine tatraacitic acid
5) Sodium chloride
6) Sodium sulfate
7) Sodium phosphate
8) Potassium phosphate
9) Formaline 37%
10) Methyl violet
11) Glacial acetic acid

3.3 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

3.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น จำนวนทั้งหมด 15 ตัว อายุประมาณ 1.5 ปี ที่มีลักษณะของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นภายนอกทั่วไปสมบูรณ์และแข็งแรง การว่ายน้ำและการกินอาหารเป็นปกติ คละเพศ มีความยาวเฉลี่ย 18.14 เซนติเมตร ความกว้างเฉลี่ย 6.71 เซนติเมตร และมีน้ำหนักเฉลี่ย 116.38 กรัม นำมาเลี้ยงในห้องทดลองเพื่อปรับสภาพแวดล้อมและให้คุ้นกับอาหารเป็นระยะเวลา 3 เดือน ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 2 เวลา ประกอบไปด้วยโปรตีน 56% ทำการให้อาหารทุก ๆ วัน วันละ 2 เวลา เช้าและเย็น คือช่วงเวลา 8.00 น. และ 16.00 น. ทำการสุ่มแบ่งปลา 1 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ตัว เลี้ยงปลาในตู้กระจกสำหรับเลี้ยงปลาขนาด 36 x 93 x 47.5 เซนติเมตร จัดสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นกรด - ด่าง(pH) อยู่ระหว่าง 7 - 7.8, อุณหภูมิ (Temperature) 27 - 32^{o}C, ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) 100 - 200 มก/ล, ค่าความกระด้างของน้ำ (Hardness) ที่ 80 - 200 มก/ล และปริมาณ O_2 ที่ละลายในน้ำในช่วง 5 - 7 มก/ล ตรวจคุณภาพน้ำก่อนเก็บตัวอย่างเลือดปลาเพื่อนำมาวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิต

3.3.2 การเตรียมน้ำและการวัดคุณภาพของน้ำในตู้สัตว์ทดลอง

น้ำที่นำมาใช้ในการเลี้ยงปลาตลอดการทดลองเป็นน้ำประปาที่ผ่านการกรองด้วยเครื่องกรองน้ำชนิดแขวนบรรจุด้วยผงคาร์บอน หลังจากนั้นทำการพักน้ำไว้เพื่อกำจัดคลอรีนเป็นระยะเวลาทั้งหมด 3 วัน ในการวัดคุณภาพน้ำ Temperature, pH และ ปริมาณ O_2 ที่ละลายในน้ำ โดย

ใช้เครื่องวัดคุณภาพน้ำรุ่น CyberScan DO300 ส่วนค่า Alkalinity และ Hardness ใช้น้ำยาที่ใช้ในการทดสอบ Alkalinity (Alkalinity Titrant solution, Aquamate 8540) และ Hardness (Total Hardness - Teat)

3.3.3 การสังเกตลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา

สังเกตลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาซึ่งประกอบด้วยพฤติกรรมการกินอาหาร, ลักษณะของการว่ายน้ำ, ระดับของการลอยตัวของตัวปลา, จำนวนครั้งของการขยับตัวของฝาปิดแผ่นเหงือก (นับเป็นจำนวนครั้งใน 1 นาที), ดูสีของเหงือก, สีของลำตัว, ดูลักษณะเมือกที่ออกมาปกคลุมเหงือกและลำตัวปลา (ภาคผนวก ก.)

3.3.4 การเก็บตัวอย่างเลือดปลา

นำปลาทดลองมาวางยาสลบด้วย 2-phenoxyethanol ขนาด 0.05 มิลลิลิตรต่อลิตร บัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล และคณะ (2004) ในถังพลาสติกทีมีน้ำพอท่วมตัวปลาสังเกตอาการของปลาดังนี้ คือ ปลาจะตะแคงข้าง, มีการเคลื่อนไหวน้อย, หายใจช้าลงและมีการตอบสนองช้า เมื่อปลาแสดงอาการดังที่กล่าวมาในข้างต้นแล้ว ทำการชั่งน้ำหนัก, วัดความกว้าง, ความยาวและดูลักษณะภายนอก สีของเหงือกปลา สีของลำตัว หลังจากนั้นทำการจับปลาวางบนถาดผ่าตัด คลุมตาปลาด้วยผ้าขนหนูผืนเล็กที่เปียกน้ำพอหมาด ๆ ใช้เข็มสอดตรงบริเวณใกล้เส้นข้างลำตัวของปลาเบา ๆ จนรู้สึกว่ากระทบกับกระดูก Vertebrae ซึ่งจะเป็นตำแหน่งของ Caudal Vein ดังแสดงในภาพที่ 3.1 เลือดจะไหลเข้าตามเข็มขณะเลือดไหลไม่ควรเคลื่อนไหวเข็มเพราะจะทำให้เลือดหยุดไหลและอาจจะทำให้เส้นเลือดของปลาแตกได้ โดยเลือดที่ได้จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เก็บไว้ใน Microcentrifuge tube ตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3 ชั่วโมง เลือดจะเริ่มตกตะกอนบางส่วน นำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 rpm นาน 10 นาที จะได้ส่วนซีรั่มแยกออกจากเม็ดเลือด ใช้ Micropipettes ดูดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นซีรั่มใส่ Microcentrifuge tube แล้วเก็บไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ -20°C เพื่อรอนำไปวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของโลหิตต่อไป เลือดที่เจาะส่วนที่สอง แบ่งใส่หลอด Microcentrifuge tube ที่มี (Ethylenediaminete- traacetic acid: EDTA) 1.0% เคลือบหลอด Microcentrifuge tube เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด ทำการเก็บเลือดไว้ที่อุณหภูมิที่ 4°C เพื่อนำไปตรวจค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของเลือดต่อไป

ภาพที่ 3.1 บริเวณของการเจาะเลือดตรงตำแหน่งของ Caudal Vein

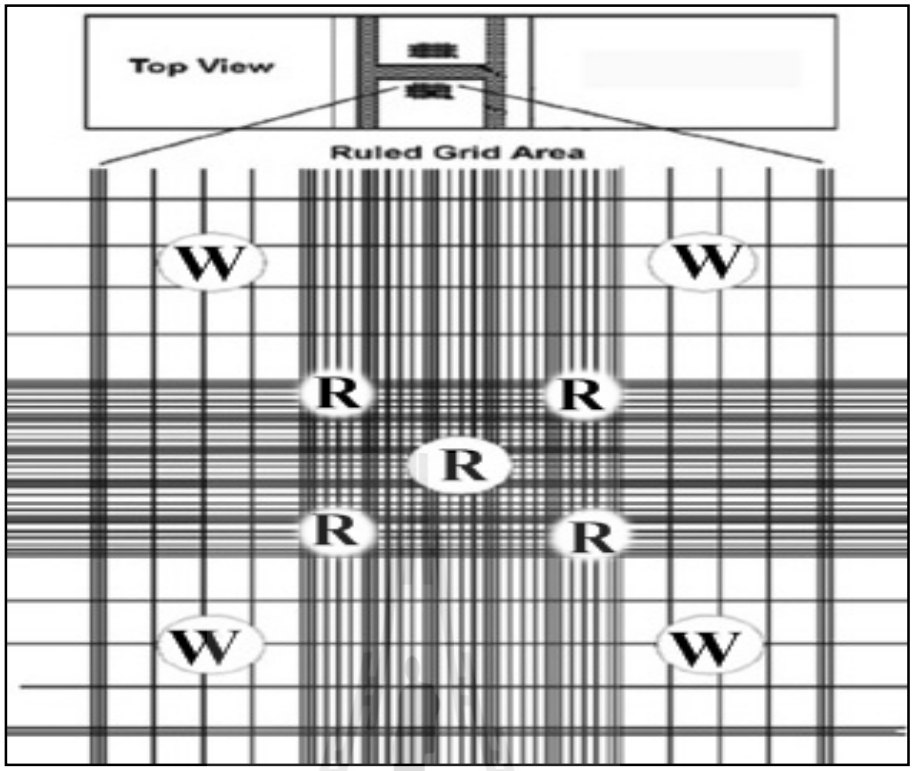
3.3.5 การตรวจวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา

Hematocrit (Hct) นำเลือดที่มี (Ethylenediaminete traacetic acid: EDTA) 1.0% บรรจุอยู่นำมาทำการตรวจวัดค่า Hematocrit (Hct) ด้วย Capillary tube โดยใช้หลอดแก้วจุ่มลงในเลือดภายในหลอดเก็บเลือดแล้วเอียงเล็กน้อยและใช้ปลายนิ้วแตะที่ปลายหลอดเลือด เลือดจะถูกดูดเข้าหลอดแก้วด้วยแรงตึงผิวของหลอด Capillary tube ให้ได้เลือดปริมาณสามส่วนสี่ของความยาวหลอด Capillary tube ปิดปลายด้วยดินน้ำมัน นำไปปั่นด้วยเครื่อง Microhematocrit centrifuge ที่ความเร็ว 11,500 - 15,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที นำมาอ่านค่าโดยนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานสำหรับอ่านค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นโดยกำหนดโดยสำนักงานมาตรฐานทางโลหิตวิทยานานาชาติ

Hemoglobin concentration (Hb) ทำการตรวจวัดโดยเครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ (Hycel HC510) ตามวิธีของ Bentley et al. (1993) และ Buttarello et al. (1992) โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ที่เกิดขึ้นระหว่างขั้วไฟฟ้า (electrode) 2 ขั้ว ซึ่งถูกแยกจากกันแต่กระแสไฟฟ้าจะส่งผ่านถึงกันได้ทางช่อง (Aperture) ความต่างศักย์จะเปลี่ยนไปเมื่อมีเซลล์เม็ดเลือดไหลผ่านช่องนี้ โดยเซลล์เม็ดเลือดจะเป็นฉนวนไฟฟ้ารบกวนการไหลของกระแสไฟฟ้า จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ของขั้วไฟฟ้าเกิดขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ที่เกิดขึ้นในแต่ละครั้ง เมื่อเซลล์เม็ดเลือดไหลผ่านช่อง Aperture จะถูกบันทึกไว้เพื่อคำนวณจำนวนเม็ดเลือด

นำตัวอย่างเลือดปลาที่ได้ไปผ่านเข็มดูดเลือดที่เครื่องเจือจางเซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Hycel Diagnotics เครื่องจะดูดเลือดเข้าไปประมาณ 40 ไมโครลิตร(กดปุ่มที่อยู่บนเครื่อง 1 ครั้ง สังเกตไฟจะขึ้นสีเขียว) นำถ้วยพลาสติกสำหรับเจือจางเซลล์เม็ดเลือดมาตรฐานสำหรับใช้กับเครื่อง Hycel Diagnotics มารองรับเลือดที่จะได้รับการเจือจาง เครื่องเจือจางเซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Hycel Diagnotics จะทำการเจือจางเลือดด้วยน้ำยาเจือจางเลือด Hematon ที่ต่อเข้ากับเครื่องโดยเมื่อเจือจางเสร็จจะมีอัตราส่วนความเข้มข้นของเลือดต่อน้ำยาเจือจางเลือด Hematon เท่ากับ 1:250 (กดปุ่มที่อยู่บนเครื่อง 1 ครั้ง สังเกตไฟสีแดง) หยดน้ำยาทำลายเม็ดเลือดแดง 6 หยดหรือประมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในเลือดที่เจือจางที่มีอยู่ถ้วยพลาสติกสำหรับเจือจางเซลล์เม็ดเลือดมาตรฐาน ทำการผสมน้ำยาทำลายเม็ดเลือดแดงกับเลือดที่เจือจางแล้วให้เข้ากัน โดยการแกว่งเบา ๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 วินาที นำเลือดที่ทำการผสมน้ำยาทำลายเม็ดเลือดแดงกับเลือดที่เจือจางแล้วมาผ่านเข้าเครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Hycel Diagnotics โดยเลือก Mode ที่ใช้สำหรับตรวจวัดความเข้มข้นของ Hb เครื่องจะทำการตรวจวัดให้โดยอัตโนมัติ ซึ่งจะได้ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกบินออกมาเสร็จสิ้นขบวนการวัด ทำการล้างเครื่องด้วยน้ำยาล้างทำความสะอาดเครื่อง Hemaref II ที่ต่อเข้ากับเครื่อง โดยเลือก Mode ที่ใช้สำหรับการล้างทำความสะอาดเครื่องทุกครั้งเมื่อทำการตรวจวัดเสร็จแต่ละตัวอย่าง

White blood cell count (WBC) ทำการนับ WBC ด้วยวิธี Manual method อาศัยหลักการเจือจางเม็ดเลือดด้วย Pipette นับเม็ดเลือดขาว โดยเริ่มต้นด้วยการดูดตัวอย่างเลือดจากหลอดเก็บเลือดเข้า Pipette ถึงขีด 0.5 พอดี ทำการดูดน้ำยาเจือจางเลือดด้วยน้ำยานับเม็ดเลือดขาวตามสูตร Natt Herrick's stain ของ Edward (2000) ถึงขีดปริมาตร 11 จับ Pipette โดยปิดปลายทั้งสองข้างด้วยหัวแม่มือและนิ้วกลางสะบัดข้อมือกลับไปมาเป็นระยะเวลา 3 - 5 นาที เพื่อผสมเลือดและน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดเข้าด้วยกันจึงทำให้เม็ดเลือดขาวมีการกระจายตัวและไม่เกาะเป็นกลุ่ม หยดตัวอย่างเลือดของปลาในหลอด Pipette ทิ้ง 3 - 4 หยดทิ้ง เพราะส่วนนี้จะเป็นส่วนที่ไม่มีการผสมระหว่างน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดขาวกับเลือดของปลา จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 2 - 3 นาที เพื่อให้เซลล์เม็ดอยู่กับที่และกระจายทั่วแผ่นหลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดไปนับด้วย Hemocytometer หรือ Counting chamber ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์กำลังขยายต่ำ (40x) ในช่อง W ทั้ง 4 มุม ดังแสดงในภาพที่ 3.2 นำจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดรวมกัน คำนวณเป็นเม็ดเลือดขาวทั้งหมดต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (cu mm^3) โดยคำนวณจากจำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้ทั้งหมด 4 ช่อง (W) x 2.5(1.0 / 0.4) x 20(1:20)



ภาพที่ 3.2 แสดงพื้นที่การนับเม็ดเลือดขาว (W) และเม็ดเลือดแดง (R)
ที่มา : Harisha. (2007).

Red blood cell count (RBC) ทำการนับ RBC ด้วยวิธี Manual method อาศัยหลักการเจือจางเม็ดเลือดด้วย Pipette นับเม็ดเลือดแดง เมื่อนำตัวอย่างเลือดมาทำการเจือจางด้วยน้ำยา น้ำยาสามารถทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวได้อย่างสมบูรณ์จะเหลือแต่เม็ดเลือดแดง น้ำยาที่ใช้คือ Gowers's solution โดยใช้ Pipette ดูดตัวอย่างเลือดที่จะทำการวิเคราะห์ให้ถึงขีด 0.5 แล้วเช็ดปลาย Pipette ให้แห้ง ดูดน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดแดง Gower's solution ให้ถึง 101 แล้วเขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน หยดส่วนผสมบนปลาย Pipette ทิ้งก่อนประมาณ 3 - 5 หยด แล้วหยดลงบนแผ่นตารางนับเม็ดเลือดประมาณ 2 - 3 แล้วปิดทับด้วยกระจกให้กระจายทั่วแผ่น ตั้งทิ้งไว้ 2 - 3 นาที เพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดอยู่กับที่และกระจายตัวทำการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดู ภายใต้กำลังขยายต่ำสุดแล้วเปลี่ยนเป็นกำลังขยาย 40X ในช่อง R นับทั้ง หมด 5 ช่อง ดังแสดงในภาพที่ 3.2 โดยนับเฉพาะเซลล์ที่อยู่ในช่องและที่ทับเส้นด้านบนและด้านขวานำผลที่ได้มารวมกันคำนวณกลับเป็นจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดงต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (cu mm^3) โดยคำนวณจากจำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ทั้งหมด 5 ช่อง (R) x 200(1 : 200 dilution) x 50(10 / 0.02)

Mean Corpuscular Volume (MCV) หมายถึง ปริมาตรโดยเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงซึ่งมีหน่วยเป็นเฟมโตลิตร (femtoliter, fl หรือ 10^{15} ลิตร) เป็นค่าที่นำมาใช้ในการแยกชนิดของภาวะเลือดจางตามลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดแดง ดังสมการ

$$\text{MCV (fl)} = \frac{\text{Hematocrit (\%)} \times 10}{\text{Red cell count } (\times 10^{12}/\text{I})}$$

Mean Corpuscular Haemoglobin (MCH) หมายถึง น้ำหนักของ Hbโดยเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง มีหน่วยเป็น พิโคกรัม (pictogram, pg หรือ 10^{-12} กรัม) สามารถคำนวณได้จากความสัม - พันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ Hb และ RBC ดังสมการ

$$\text{MCH (pg)} = \frac{\text{Hemoglobin (g/dl)} \times 10}{\text{Red cell count } (\times 10^{12}/\text{I})}$$

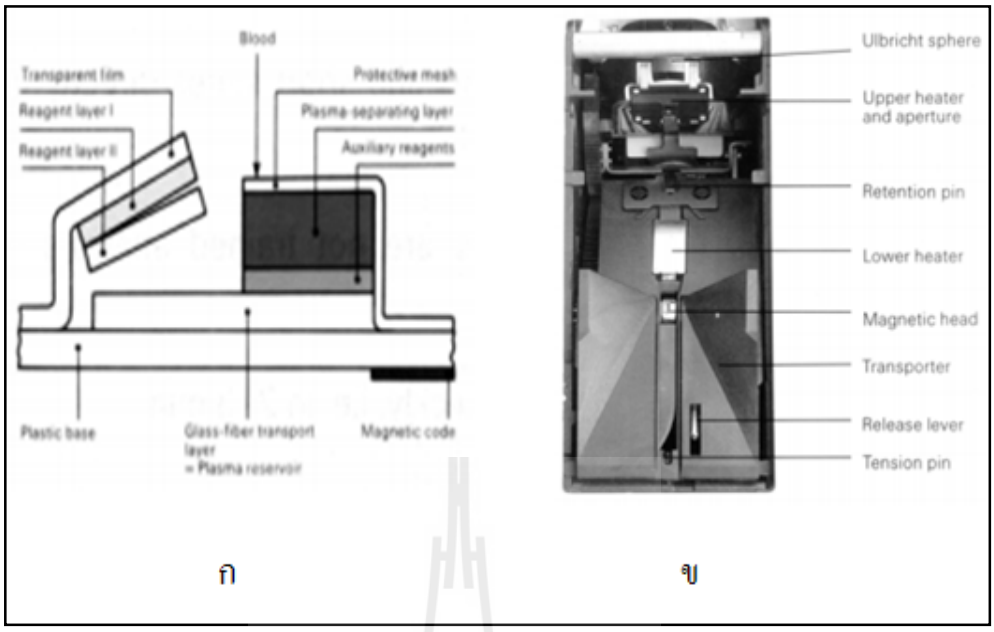
Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC) ความเข้มข้นของ Hb ต่อหน่วยปริมาตรของเม็ดเลือดแดง ซึ่งมีหน่วยเป็นกรัมต่อเดซิลิตร (g/dl) และสามารถคำนวณได้จากความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของเปอร์เซ็นต์ Ht และ ความเข้มข้นของ Hb ดังสมการ

$$\text{MCHC (g/dl)} = \frac{\text{Hemoglobin (g/dl)} \times 100}{\text{Hematocrit (\%)}}$$

3.3.6 การตรวจวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของโลหิต

นำซีรั่มที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของโลหิตซึ่งประกอบด้วยค่า Glucose, Creatine kinase (CK), ค่าของ Glutamate-oxaloacetatetran saminase (GOT) หรือ AST และ Cholesterol โดยใช้เครื่องตรวจวัดอัตโนมัติ Reflotron system รุ่น Reflotron® IV (Roche Diagno stics Corporation, Indianapolis, Germany) Reflotron เป็นเครื่องสำหรับตรวจวัดระดับสารชีวเคมีในเลือดกึ่งอัตโนมัติ (Semi-automated) ชนิดน้ำยาแห้ง (Dry-chemistry system) กล่าวคือไม่ใช้น้ำยาเคมีเหลว (Liquid reagent) ในการตรวจวัด และอาศัยหลักการสะท้อนและดูดกลืนแสงของสาร (Light reflection and absorption) ส่วนหลักในการทำงานของเครื่องที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบสามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วน ได้แก่ Reaction part และ Measuring part โดย Reaction part เป็นแถบพลาสติกที่ประกอบด้วยแผ่นบรรจุน้ำยาแห้ง (Dry reagents) ที่ใช้ทำปฏิกิริยากับสารเคมีเฉพาะในตัวอย่างที่ต้องการตรวจวัด โดย

แถบหนึ่ง ๆ จะใช้กับการทดสอบเดียวและเป็นแถบเฉพาะสำหรับสารที่ต้องการตรวจวัดแต่ละชนิดแยกกัน ดังแสดงในภาพที่ 3.3 ส่วนที่สองคือ Measuring part เป็นการตรวจวัดระบบ Photometric measurement ที่อาศัยหลักการ Light reflection and absorption โดยใช้แหล่งกำเหนิดแสง (Light source) เป็นชนิด Light Emitting Diode; LED ซึ่งสามารถให้แสงที่ใช้ในการตรวจวัดได้ 3 ความยาวคลื่น ได้แก่ 567, 642 และ 951 nm และ มีตัวตรวจรับแสง (Light detector) เป็นชนิด photodiodes จำนวน 2 ตัว ได้แก่ Reference detector และ Measuring detector ส่วนระบบคำนวณและประมวลผลเป็นแบบ Electronics ที่ทำงานร่วมกับรหัสคำสั่งต่าง ๆ ในแถบแม่เหล็กบนแถบน้ำยาแห้ง ดังแสดงในภาพที่ 3.3 โดยขั้นตอนการตรวจวัดเริ่มจาก เลือกอุณหภูมิและหน่วยที่จะใช้ตรวจวัด โดยเลือกปุ่ม TIME SELECTOR และ UNIT ELECTOR ตามลำดับ แล้วทำการเปิดเครื่องโดยเลื่อนปุ่ม POWER ไปตำแหน่ง ON รอเครื่องทดสอบระบบและปรับอุณหภูมิของ Measuring chamber ตามที่เลือกจนหน้าจอเครื่องแสดง เลือกแถบน้ำยาแห้งให้ตรงตามการตรวจวัดที่ต้องการแล้วดึงแผ่นฟรอยที่ปิดอยู่ออกระวังอย่าให้มือจับถูกแถบแม่เหล็กที่ด้านล่างของแถบน้ำยาแห้ง ใช้ Micropipette ดูดตัวอย่างซีรั่มปริมาตร 32 ไมโครลิตร แล้วปล่อยลงบนแถบน้ำยาแห้งบริเวณแผ่นกรองเม็ดเลือดสีแดง (Plasma separating mat) แล้วทิ้งไว้ประมาณ 10 วินาที เพื่อรอให้ซีรั่มถูกกรองซึมผ่านมาเก็บกักที่บริเวณ Plasma reservoir เปิดฝาเครื่องส่วน Measuring chamber โดยเลื่อนฝาขึ้นด้านบน แล้วใส่แถบน้ำยาแห้งที่หยดเลือดแล้วนั้นเข้าไปในเครื่องโดยสอดแถบแนบขึ้นไปตามแนวร่องจนกระทั่งได้ยินเสียงคลิ๊กแสดงว่าแถบน้ำยาเข้าตำแหน่งที่เหมาะสมแล้วจึงเลื่อนฝาปิดลง โดยสังเกตจอของเครื่องจะแสดงเวลาในการตรวจวัดเป็นวินาทีบนจอและนับเวลาตรวจวัดถอยหลังเมื่อครบเวลาการตรวจวัดเสร็จสมบูรณ์เครื่องจะรายงานผลการตรวจวัดบนหน้าจอเครื่องทำการเปิดฝาส่วน Measuring chamber แล้วดึงเอาแถบน้ำยาที่ตรวจวัดเสร็จแล้วออกทิ้ง เมื่อทำการตรวจวัดเสร็จแล้วให้ปิดเครื่องโดยเลื่อนปุ่ม POWER กลับไปที่ตำแหน่ง OFF (วิธีการตรวจวัดอย่างละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.) และแบ่งซีรั่ม 200 µl เพื่อส่งตรวจ BUN และ ALT ด้วยเครื่อง BioSystems A15 (A15 BioSystems autoanalyzer) โดยหลักการ Urease/kinetic และ IFCC withoutpyr - P ตามลำดับ



ภาพที่ 3.3 ส่วนประกอบแถบน้ำยาแห้งของ Reaction part (ก) และ Measuringchamber (ข)
ที่มา : พิทัย กาญบุตร (2544).

3.3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลที่ได้นำมาวิเคราะห์ทางสถิติหา ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard devia - tion) และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error of sample mean) โดยใช้โปรแกรม microsoft excel 2007

3.3.8 สถานที่ทำการทดลอง

อาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและอาคารเฉลิมพระ - เกียรติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.3.9 ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทดลองในช่วงเดือน 15 สิงหาคม 2552 ถึง 10 พฤศจิกายน 2553

3.4 การศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ - ฮอร์น

3.4.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

สุ่มซื้อปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น จากตลาดนัดสวนจตุจักร จำนวน 75 ตัว โดยให้มีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 100 - 150 กรัม สุ่มแบ่งปลาที่ซื้อออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ตัว เลี้ยงปลาใน

ตู้กระจกสำหรับเลี้ยงปลาขนาด 36 x 93 x 47.5 ซม. จัดสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นกรด - ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 7 - 7.8, อุณหภูมิ 27 - 32°C, ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) 100 - 200 มก/ล, ค่าความกระด้างของน้ำที่ 80 - 200 มก/ล และปริมาณ O_2 ที่ละลายในน้ำในช่วง 5 - 7 มก/ล ให้อาหารสำเร็จรูปวันละ 2 เวลา ตรวจคุณภาพน้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยปลากลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมซึ่งให้ O_2 ปกติ ส่วนกลุ่มที่ 2, 3, 4, และ 5 ได้รับ N_2 แทน O_2 เป็นเวลา 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง ตามลำดับ และ มีการวัดปริมาณ O_2 ทุกครั้งที่ให้ N_2 ตามระยะเวลาที่กำหนด และทำการเก็บเลือด เพื่อนำไปตรวจค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของเลือดต่อไปส่วนการเตรียมน้ำและการวัดคุณภาพของน้ำในตู้สัตว์ทดลอง การสังเกตลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา การเก็บตัวอย่างเลือดปลา การตรวจวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา และการตรวจวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของโลหิต ทำตามการทดลองที่ (3.3.2, 3.3.3, 3.3.4, 3.3.5, 3.3.6)

3.4.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบ Complete Random Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance; ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows 10.0 ในการทดสอบในทางสถิติ

3.4.3 สถานที่ทำการทดลอง

อาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและอาคารเฉลิมพระ - เกียรติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.4.4 ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทดลองในช่วงเดือน 15 สิงหาคม 2552 ถึง 10 พฤศจิกายน 2553

3.5 ศึกษาผลของการเติม O_2 หลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติ

3.5.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

สุ่มแบ่งปลาที่ซื้อออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ตัว จำนวน 60 ตัว เลี้ยงปลาในตู้กระจกสำหรับเลี้ยงปลาขนาด 36 x 93 x 47.5 ซม. จัดสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นกรด - ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 7 - 7.8, อุณหภูมิ 27 - 32°C, ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) 100 - 200 มก/ล, ค่าความกระด้างของน้ำที่ 80 - 200 มก/ล และปริมาณ O_2 ที่ละลายในน้ำในช่วง 5 - 7 มก/ล ให้อาหารสำเร็จรูปวันละ 2 เวลา เช้าและเย็น คือช่วงเวลา 8.00 น. และ 16.00 น. ตรวจคุณภาพน้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ที่มีการเจาะเลือดปลา โดยปลากลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมซึ่งให้ O_2 ปกติ ส่วนกลุ่มที่ 2, 3 และ 4 ได้รับ N_2 แทน O_2 เป็นเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับหลังจากที่ครบตามกำหนด มีการเปลี่ยนจากการให้ N_2 แทนด้วย O_2 และ เป็นระยะ 1 สัปดาห์ เมื่อครบตามระยะเวลาทำการเก็บเลือด เพื่อนำไปตรวจค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของเลือดต่อไปส่วนการเตรียมน้ำและการวัดคุณภาพของน้ำในตู้

สัตว์ทดลอง การสังเกตลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา การเก็บตัวอย่างเลือดปลา การตรวจวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา และ การตรวจวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของโลหิต ทำตามการทดลองที่ (3.3.2, 3.3.3, 3.3.4, 3.3.5, 3.3.6)

3.5.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบ Complete Random Design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Analysis of Variance; ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows 10.0 ในการทดสอบในทางสถิติ

3.5.3 สถานที่ทำการทดลอง

อาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและอาคารเฉลิมพระ - เกียรติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.5.4 ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทดลองในช่วงเดือน 15 สิงหาคม 2552 ถึง 10 พฤศจิกายน 2553

3.6 รายการอ้างอิง

บัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล, คมกริช พิมพ์ภักดี และ อุไร เต็งเจริญกุล (2004). ระดับของยาสลบ quinaldine sulfate และ 2-phenoxyethanol ในการนำสลบควบคุมระดับการสลบและขนาดยาที่ทำให้ปลานิลวัยรุ่นลูกผสมตาย 50 เปอร์เซ็นต์. **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอยแก่น**. 49-58.

พิทัย กาญบุตร (2544). **คู่มือการใช้ Reflotron เครื่องตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดแบบ Dry Chemistry**. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 1-17.

Bentley, SA., A. Jounson and CA. Bishop.(1993). A parallel evaluation of four automated hematology analyzers. **Am**. **J**. **Clin**. **Patbol**. 100 : 626-632.

Buttarello, M., M. Gadotti and C. Lorenz. (1992). Evaluation of four automated hematology analyzers: a comparative study of differentia counts (imprecision and inaccuracy). **Am**. **J**. **Clin**. **Patbol**. 97 : 345-352.

Edward, J. N. (2000). **Fish disease diagnosis and treatment**. State Avenue,Ames : Blackwell Publishing Professional.

Harisha, S**.** (2007). Cell count by hemocytometer or measuring volume. [On line]. Available: http://www.globalspec.com/reference/54403/203279/exercise-6-cell-count-by-hemocytometer-or-measuring-volume.

Terry, W.C. (1995). Avian hematology and cytology (2nd ed). **TechBook**., Florida.

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

4.1.1 ผลของการตรวจลักษณะภายนอก, พฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการศึกษาลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันที่ทำการคละเพศ วัดความยาวเฉลี่ย 18.14 เซนติเมตร ความกว้างเฉลี่ย 6.71 เซนติเมตร และมีน้ำหนักเฉลี่ย 116.38 กรัม พบว่าในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นไม่พบสิ่งผิดปกติใด ๆ รวมทั้งปรสิตภายนอกและการเป็นโรค จากการตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีค่า DO เท่ากับ 5.53 ± 0.07 mg/l อุณหภูมิ (Temperature) 28.43 ± 0.09^{o}C ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) อยู่ที่ 7.65 ± 0.09 ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) 153 ± 29.44 mg/l และค่าความกระด้างของน้ำ (Hardness) อยู่ที่ 110 ± 10.00 mg/l (ตารางที่ 4.1) นอกจากนี้จากการตรวจลักษณะภายนอกพบว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น มีการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือก 60.67 ± 4.62 ครั้ง/นาที การกินอาหารเป็นปกติหมดภายใน 1 นาที นอกจากนี้ลักษณะของการว่ายน้ำเป็นปกติและระดับของการลอยตัวของปลาอยู่ที่บริเวณกลางน้ำถึงผิวน้ำ สีลำตัวของปลาดูเป็นธรรมชาติ เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวนั้นเป็นปกติคือมีลักษณะมีเมือกใสและมีสีของเหงือกปกติสีแดงสดเข้ม (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.1 คุณภาพน้ำในการศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

Parameter(units)	Mean	SD	Range
DO (mg/l)	5.53	0.07	5.53-5.57
Temperature (^{o}C)	28.43	0.09	28.37-28.53
pH	7.65	0.09	7.57-7.74
Alkalinty (mg/l)	153.00	29.44	136.00-187.00
Hardness (mg/l)	110.00	10.00	100.00-120.00

หมายเหตุ : Dissolved Oxygen (DO)

ตารางที่ 4.2 ผลของการตรวจลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

Parameter (units)	ผลการทดลอง
การขยับของฝาปิดแผ่นเหงือก (ครั้ง/ นาที)	60.67 ± 4.62
การกินอาหาร	กินอาหารปกติหมดภายใน 1 นาที
ลักษณะของการว่ายน้ำหรือการทรงตัวของปลา	ปกติ
ระดับของการลอยตัวของปลา	บริเวณกลางน้ำถึงผิวน้ำสลับไปมา
สีของเหงือก	ปกติสีแดงสดเข้ม
สีลำตัวของปลา	ปกติ (ดูเป็นธรรมชาติ)
เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัว	ปกติมีเมือกใส

4.1.2 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการศึกษาผลของค่าโลหิตวิทยาประกอบด้วย WBC, RBC, Hb, Ht, MCV, MCH และ MCHC ของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันพบว่าในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีค่าของจำนวน WBC เท่ากับ 3.15 ± 1.10x10^3 cell/µl จำนวนของ RBC เท่ากับ 1.73 ± 0.32x10^6 cell/µl ปริมาณของ Hb เท่ากับ 7.50 ± 1.74 g/dl ค่าของ Ht เท่ากับ 22.30 ± 3.88% ค่าของ MCV เท่ากับ 110.20 ± 46.22 fl ค่าของ MCH เท่ากับ 37.88 ± 8.95 pg และค่าของ MCHC เท่ากับ 34.64 ± 8.52 g/dl (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

Parameter (units)	Mean	SD	Range
WBC (x10^3 cell/µl)	3.15	1.10	1.18-4.30
RBC (x10^6 cell/µl)	1.73	0.32	1.07-3.45
Hb (g/dl)	7.50	1.74	4.05-9.55
Ht (%)	22.30	3.88	16.50-30.00
MCV (fl)	110.20	46.22	62.11-224.76
MCH (pg)	37.88	8.95	22.98-48.72
MCHC (g/dl)	34.64	8.52	19.76-47.75

หมายเหตุ : White blood cell count (WBC), Red blood cell count (RBC), Hemoglobin concentra - tion (Hb), Hematocrit (Ht), Mean cell volume (MCV), Mean cell hemoglobin (MCH), Mean cell hemoglobin concentration (MCHC), Femtoliter =10^{-15}(fl)

4.1.3 ผลการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการศึกษาผลของค่าชีวเคมีของโลหิตประกอบด้วย Glucose, CK, ALT, AST, BUN และ Cholesterol ของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันพบว่าในปลาฟลาวเวอร์ - ฮอร์นมีค่าของระดับ Glucose ในกระแสเลือดเท่ากับ 56.34 ± 11.48 mg/dl ระดับของ CK ในกระแสเลือดเท่ากับ 752.52 ± 495.86 U/l มีระดับของเอ็นไซม์ ALT ในกระแสเลือดเท่ากับ 4.58 ± 3.18 U/l ระดับของเอ็นไซม์ AST ในกระแสเลือดเท่ากับ 30.71 ± 18.71 U/l มีระดับของ BUN ในกระแสเลือดเท่ากับ 1.22 ± 0.46 mg/dl และระดับของ Cholesterol ในกระแสเลือดเท่ากับ 177.71 ± 33.78 mg/dl (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 ผลของค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงอยู่ในปัจจุบัน

Parameter (units)	Mean	SD	Range
Glucose (mg/dl)	56.34	11.48	32.50-82.30
CK (U/l)	752.52	495.86	156.20-1868.00
ALT (U/l)	4.58	3.18	1.00-10.00
AST (U/l)	30.71	18.71	9.37-59.50
BUN (mg/dl)	1.22	0.46	0.17-2.10
Cholesterol (mg/dl)	177.71	33.78	131.00-252.00

หมายเหตุ : Creatine kinase (CK), Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST), Blood urea nitrogen (BUN)

4.2 การศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ - ฮอร์น

4.2.1 ผลของการตรวจลักษณะภายนอก, พฤติกรรมและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิต

จากการศึกษาลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันได้ทำการคละเพศ วัดความยาวเฉลี่ย 18.14 เซนติเมตร ความกว้างเฉลี่ย 6.71 เซนติเมตร และมีน้ำหนักเฉลี่ย 116.38 กรัม ก่อนการทดลองพบว่าในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นไม่พบสิ่งผิดปกติใด ๆ รวมทั้งปรสิตภายนอกและการเป็นโรค ดังนั้นจึงเป็นตัวบ่งชี้ว่าปลาที่นำมาเลี้ยงเหมาะสมแก่การนำมาทดลอง จากการตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาเพื่อศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่ได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าระดับ

ของค่า DO ในกลุ่ม Control มีค่าเท่ากับ 5.53 mg/l ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงของค่ามาตรฐานที่เหมาะสมแก่การนำมาเลี้ยงปลาทดลอง แต่เมื่อเราให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าระดับของ DO ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 1.94 mg/l เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และยังพบอีกว่าในการเติม N_2 ลงไปเรื่อย ๆ ส่งผลให้มีการลดลงของระดับ DO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จนกระทั่งครบระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 5.53, 1.94, 1.36, 0.84 และ 0.78 mg/l ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่ในทางกลับกันจากการทดลองเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าไม่มีผลต่อระดับของ Alkalinity นอกจากนี้การเติม N_2 ลงไปในตู้ปลายังส่งผลให้ระดับของ Hardness ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ชั่วโมงที่ 48 และ 72 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 110, 70 และ 80 mg/l ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control อีกทั้งยังส่งผลต่อระดับของ Temperature เมื่อทำการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าระดับของ Temperature ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control มีค่าเท่ากับ 28.43, 27.93, 27.39, 27.42 และ 28.01^{o}C ตามลำดับ นอกจากนี้จากการทดลองเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองพบว่าระดับของ pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ชั่วโมงที่ 24 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.65 และ 7.40 ตามลำดับ แต่ในทางตรงกันข้ามไม่พบว่าเมื่อทำการเติม N_2 ลงไปเป็นระยะเวลา 12, 48 และ 72 ชั่วโมง ไม่พบความแตกต่างทางสถิติต่อระดับของ pH (ตารางที่ 4.5) และหลังจากที่มีการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาเพื่อแทนที่ O_2 ในน้ำเป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนครั้งในการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกในชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 60.67, 80.00, 78.60 และ 78.33 ครั้ง/นาที ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในชั่วโมงที่ 12 ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control อีกทั้งจากการศึกษาการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาเป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ยังส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ของอัตราการตายที่ชั่วโมง 72 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 6.67 และ 46.67% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ในทางกลับกันจากการศึกษาครั้งนี้กลับพบว่าในการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของอัตราการตายสูงขึ้นแต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และจากการศึกษาผลของการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาเป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าส่งผลให้ปลามีการกินอาหารลดลงและมีอาหารเหลือในตู้ปลา 1 - 5 เม็ด ในชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 24 ปลากินอาหารเหลือมากยิ่งขึ้นจนกระทั่งชั่วโมงที่ 48 และ 72 ส่งผลให้ปลาไม่มีการกินอาหารเลย รวมทั้งการว่ายน้ำที่มีการว่ายน้ำช้าลงและจนกระทั่งชั่วโมงที่ 72 ปลาไม่มีการว่ายน้ำครีบของปลาห่อและนิ่งอยู่ก้นตู้ อีกทั้งระดับของการลอยตัวของปลาเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลให้ปลามีการเปลี่ยนของระดับการลอยตัวจากชั่วโมงที่ 12 ถึง 24 ปลา

เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจากบริเวณผิวน้ำ กลางน้ำถึงก้นน้ำไปเป็นก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมาและเมื่อได้รับ N_2 นานมากขึ้นเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีระดับการลอยตัวเปลี่ยนจากก้นน้ำสลับกับผิวน้ำไปเป็นผิวน้ำเป็นเวลานานและมีอาการอ้าปาก ยิ่งไปมากกว่านั้นยังพบอีกว่าเมื่อมีการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ส่งผลทำให้ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีระดับการลอยตัวอยู่ที่ก้นน้ำและปลามีลักษณะหงายท้องสลับไปมา จากการทดลองยังพบอีกว่า เมื่อปลาได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลต่อสีของเหงือกปลาจากกลุ่มของ Control ที่มีลักษณะสีของเหงือกปลาเป็นสีแดงเข้มเป็นปกติ แต่กลับพบว่าเมื่อให้ N_2 ไปจนกระทั่งครบ 72 ชั่วโมง ปลามีการเปลี่ยนแปลงลักษณะสีของเหงือกปลาจากสีแดงเข้มสดไปเป็นสีแดงอ่อนลงในชั่วโมงที่ 24 ถึง 72 และจากการทดลองยังพบว่าสีของลำตัวของปลามีลักษณะไปในทิศทางเดียวกับลักษณะสีของเหงือกปลา คือเมื่อให้ N_2 เป็นระยะเวลาถึง 72 ชั่วโมงปลาจะมีลักษณะสีของลำตัวปลาซีดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ยิ่งไปกว่านั้นยังพบอีกว่าเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีเพิ่มขึ้นเมื่อเราให้ N_2 เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control (ตารางที่ 4.6) อีกทั้งเมื่อสิ้นสุดการทดลองยังพบอีกว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีลักษณะเป็นแผลที่บริเวณปากและลำตัวดังแสดงในภาพที่ 4.1

ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะแผลที่ลำตัวและบริเวณปากของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อสิ้นสุดการทดลองของการเติม N_2

ตารางที่ 4.5 ผลของการตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

Parameter	Experimental time (Mean ± SEM)				
	N_2 0 h	N_2 12 h	N_2 24 h	N_2 48 h	N_2 72 h
DO (mg/l)	5.53 ± 0.02[a]	1.94±0.13[b]	1.36 ± 0.10[c]	0.84±0.12[d]	0.78±0.07[d]
Alkalinity (mg/l)	153.00±17.00	141.67±5.67	147.33±5.67	141.67±5.67	147.33±24.70
Hardness (mg/l)	110.00±5.77[a]	93.33±3.33[ab]	90.00± 15.28[ab]	70.00±5.77[b]	80.00±5.77[b]
Temperature (^{o}C)	28.43±0.05[a]	27.93±0.04[b]	27.39±0.13[c]	27.42±0.06[c]	28.01±0.07[b]
pH	7.65±0.05[ab]	7.50±0.03[bc]	7.40±0.04[c]	7.66±0.14[ab]	7.77±0.02[a]

หมายเหตุ : [a,b,c] ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$), Dissolved Oxygen (DO)

ตารางที่ 4.6 ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาในการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา	Experimental time (Mean ± SEM)				
	N_2 0 h	N_2 12 h	N_2 24 h	N_2 48 h	N_2 72 h
การขยับของฝาปิดแผ่นเหงือก (ครั้ง/นาที)	60.67±2.67[b]	63.33±1.45[b]	80.00±4.36[a]	78.60±2.40[a]	78.33±4.10[a]
อัตราการตาย (เปอร์เซ็นต์)	6.67±6.67[b]	13.33±6.67[ab]	20.00±11.55[ab]	20.00±11.55[ab]	46.67±13.33[a]
การกินอาหาร	0	1	3	4	4
ลักษณะของการว่ายน้ำ	0	1	2	3	4
ระดับของการลอยตัว	0	1	1	3	4
สีของเหงือกปลา	0	0	1	1	1
สีของลำตัวของปลา	0	0	1	1	1
เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวปลา	0	0	1	3	4

หมายเหตุ : [a,b,c] ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$), (การกินอาหาร) = ปกติ ไม่มีอาหารเหลือ (0), มีอาหารเหลือ 1 - 5 เม็ด (1), มีอาหารเหลือ 6 -10 เม็ด (2), มีอาหารเหลือ 11 - 15 เม็ด (3), ไม่กินอาหาร คือมีอาหารเหลือ 16 - 20 เม็ด (4) (ลักษณะของการว่ายน้ำ) = ปกติอย่างสม่ำเสมอ (0), ว่ายช้าลงไม่ต่อเนื่อง (1),

ว่ายช้าลงและครีบห่อ (2), ไม่ว่ายน้ำครีบห่อเริ่มมีการทรงตัวอยู่กับที่นาน (3), ไม่มีการว่ายน้ำนิ่งอยู่ก้นตู้ปลา (4) (ระดับของการลอยตัว) = ปกติ คืออยู่ที่บริเวณผิวน้ำ กลางน้ำและใต้น้ำสลับขึ้นลงไปมา (0), ก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมา (1), ก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมาอย่างช้า ๆ (2), อยู่ที่บริเวณผิวน้ำเป็นเวลานานและปลามีอาการอ้าปาก (3), ก้นน้ำและนอนตะแคงไปมาเริ่มหงายท้อง (4) (สีของเหงือกปลา) = ปกติมีสีแดงสดเข้ม (0), สีแดงอ่อนลง (1) (สีของลำตัวของปลา) = ปกติ ดูเป็นธรรมชาติ (0), มีสีซีดลง ดูไม่เป็นธรรมชาติ (1) (เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวปลา) = ปกติ คือลักษณะของเมือกจะใส (0), เมือกมากขึ้นยืดเหนียวใส (1), เมือกมากขึ้นเหนียวใสถึงขาวขุ่น (2), เมือกมากขึ้นเหนียวใสถึงขาวขุ่น มีกลิ่นคาว (3), เมือกมากขึ้นยืดเหนียวมีสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนมและมีกลิ่นคาว (4)

4.2.2 ผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเก็บตัวอย่างเลือดของปลาเพื่อตรวจหาค่าโลหิตวิทยา จากการทดลองพบว่าเมื่อมีการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีระดับค่าเฉลี่ยของ White blood cell count (WBC) เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 3.02 และ $7.63x10^3$ cell/µl ตามลำดับเมื่อเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่าการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่พบความแตกทางทางสถิติของค่าเฉลี่ย WBC เมื่อเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และจากการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยของ Red blood cell count (RBC) เมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยของ RBC ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 1.63, 1.54, 1.52, 1.75 และ $1.85x10^6$ cell/µl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ที่ 72 ชั่วโมง และค่าเฉลี่ยของปริมาณ Hemoglobin concentration (Hb) เมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณ Hb ในกระแสเลือดพบว่าชั่วโมงที่ 12, 24 และ 48 มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นกว่ากลุ่ม Control แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณ Hb เมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยของปริมาณ Hb ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 7.33 และ 9.63 g/dl ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และค่าเฉลี่ยของปริมาณ Hematocrit (Ht) เมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณ Ht ในกระแสเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 24.37, 27.87, 28.63, 30.37 และ 29.13% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และค่าเฉลี่ยของ

Mean cell volume (MCV) เมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยของ MCV ในกระแสเลือดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เท่ากับ 156.11, 178.95, 188.61, 173.48 และ 169.79 fl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control นอกจากนี้จากการทดลองเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ยังพบอีกว่าค่าเฉลี่ยของ Mean cell hemoglobin (MCH) เมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยของ MCH ในกระแสเลือดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เท่ากับ 45.75, 52.09, 52.93, 48.58 และ 52.41 pg ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และนอกจากนี้ยังพบอีกว่าค่าเฉลี่ยของ Mean cell hemoglobin concentration (MCHC) เมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยของ MCHC ในกระแสเลือดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) มีค่าเท่ากับ 29.83, 29.15, 28.07, 28.16 และ 34.96 ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control (ตารางที่ 4.7)

4.2.3 ผลของ Hypoxia ต่อค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการศึกษาค่าทางชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น เมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลามาตรวจค่าโลหิตวิทยา พบว่าระดับของ Glucose ในกระแสเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ชั่วโมงที่ 12 และ 24 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control มีค่าเท่ากับ 59.49, 72.60 และ 76.38 mg/dl ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าชั่วโมงที่ 72 ระดับ Glucose ในกระแสเลือดกลับลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เท่ากับ 72.60, 76.38, 64.01 และ 44.66 mg/dl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง และจากการทดลองได้ตรวจค่าเอนไซม์ Creatine kinase (CK) พบว่ากลุ่มที่มีการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมงไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ระดับของเอนไซม์ CK ในกระแสเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เท่ากับ 682.02, 2071.92, 1990.54 และ 2014.59 U/l ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และนอกจากนี้ยังพบอีกว่าค่าเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) ชั่วโมงที่ 12, 24 และ 48 มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้นกว่ากลุ่ม Control แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control อย่างไรก็ตามพบว่าชั่วโมงที่ 72 ระดับของ ALT ในกระแสเลือดมีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เท่ากับ 3.72 และ 8.22 U/l ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control อีกทั้งจากการทดลองตรวจค่าโลหิตวิทยายังพบอีกว่าระดับเอนไซม์ Aspartate aminotrans ferase (AST) เมื่อมีการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นมากกว่ากลุ่ม Control แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามพบว่าชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ระดับของเอนไซม์ AST ในกระแส

เลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 27.34, 49.22, 63.85 และ 53.23 U/l ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และเมื่อตรวจค่า Blood urea nitrogen (BUN) พบว่าชั่วโมงที่ 12 และ 24 ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่กลับพบว่าชั่วโมงที่ 72 ระดับของ BUN ในกระแสเลือดมีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 1.11 และ 2.67 mg/dl เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control นอกจากนี้ยังพบอีกว่าค่า Cholesterol ในกระแสเลือดจากกลุ่มที่มีการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ซึ่งมีระดับของ Cholesterol ในกระแสเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 176.68, 151.93, 147.80, 152.08 และ 141.98 mg/dl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.7 ผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

Hematology	**Experimental time (Mean ± SEM)**				
	N_2 (0 h)	**N_2 (12 h)**	**N_2 (24 h)**	**N_2 (48 h)**	**N_2 (72 h)**
WBC ($x10^3$ cell/µl)	3.02 ± 0.52^{b}	2.96 ± 0.19^{b}	3.00 ± 0.41^{b}	3.45 ± 0.39^{b}	7.63 ± 2.06^{a}
RBC ($x10^6$ cell/µl)	1.63 ± 0.35^{ab}	1.54 ± 0.13^{b}	1.52 ± 0.05^{ab}	1.75 ± 0.04^{ab}	1.85 ± 0.15^{a}
Hb (g/dl)	7.33 ± 0.32^{b}	8.43 ± 0.44^{ab}	8.03 ± 0.41^{b}	8.50 ± 0.15^{ab}	9.63 ± 0.48^{a}
Ht (%)	24.37 ± 0.48^{b}	27.87 ± 0.44^{a}	28.63 ± 0.60^{a}	30.37 ± 1.57^{a}	29.13 ± 0.95^{a}
MCV (fl)	156.11±38.51	178.95±17.09	188.61±12.18	173.48±14.05	169.79±11.73
MCH (pg)	45.76±4.97	52.09±3.39	52.93±5.59	48.58±1.46	52.41±6.27
MCHC (g/dl)	29.83 ± 4.17^{ab}	29.15 ± 0.89^{b}	28.07 ± 2.62^{b}	28.16 ± 2.99^{b}	34.96 ± 1.49^{a}

หมายเหตุ : ^{a,b,c} ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$), White blood cell count (WBC), Red blood cell count (RBC), Hemoglobin concentra - tion (Hb), Hematocrit (Ht), Mean cell volume (MCV), Mean cell hemoglobin (MCH), Mean cell hemoglobin concentration (MCHC), Femtoliter $=10^{-15}$(fl)

ตารางที่ 4.8 ผลของ Hypoxia ต่อค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

Blood	**Experimental time (Mean ± SEM)**				
chemistry	**N_2 (0 h)**	**N_2 (12 h)**	**N_2 (24 h)**	**N_2 (48 h)**	**N_2 (72 h)**
Glucose (mg/dl)	59.49±3.49^{c}	72.60±0.90^{ab}	76.38±3.24^{a}	64.01±5.37^{bc}	44.66±2.59^{d}
CK (U/l)	682.02±107.24^{b}	1283.02±147.06^{ab}	2071.92±565.85^{a}	1990.54±231.76^{a}	2014.59±164.80^{a}
ALT (U/l)	3.72±0.49^{b}	5.11±1.15^{ab}	6.52 ±1.25^{ab}	6.61±0.87^{ab}	8.22 ±1.35^{a}
AST (U/l)	27.34±4.29^{b}	32.18±5.62^{b}	49.22±1.63^{a}	63.85±7.37^{a}	53.23±1.39^{a}
BUN (mg/dl)	1.11±0.15^{b}	1.16±0.07^{b}	1.18±0.16^{b}	2.13±0.07^{a}	2.67±0.45^{a}
Cholesterol (mg/dl)	176.68±6.87^{a}	151.93±2.98^{b}	147.80±3.22^{b}	152.08±2.17^{b}	141.98±8.69^{b}

หมายเหตุ : ^{a,b,c,d} ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$), Creatine kinase (CK), Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST), Blood urea nitrogen (BUN)

4.3 ศึกษาผลของการเติม O_2 หลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติ

4.3.1 ผลของการศึกษาคุณภาพน้ำ, ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ - ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

จากการทดลองในจุดประสงค์ที่ 2 ทำให้เราทราบว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถทนต่อการเกิดภาวะ Hypoxia ได้นาน 48 ชั่วโมง จากข้อมูลดังกล่าวจึงนำมาสู่การทดลองในจุดประสงค์ที่ 3 เพื่อศึกษาว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนสู่สภาวะปกติได้หรือไม่ จากการทดลองวัดคุณภาพน้ำที่ใช้ในการศึกษาการเติม O_2 เข้าไปในตู้ปลาหลังเกิดภาวะ Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น พบว่าเมื่อทำการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ส่งผลให้มีการลดลงของระดับ DO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 5.15, 1.36, 1.14 และ 1.04 mg/l ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองตามจุดประสงค์ที่ 2 เพื่อยืนยันว่าได้เกิดภาวะ Hypoxia แน่นอน หลังจากนั้นมีการเติม O_2 ลงในน้ำเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ระดับของ DO เพิ่มสูงขึ้นเทียบเท่ากับกลุ่ม Control อีกทั้งยังพบว่าเมื่อทำการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ส่งผลให้ระดับของ Alkalinity ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 136 และ 96 mg/l เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็

ตาม ยังพบอีกว่าหลัง จากทำการเติม N_2 เป็นระยะ เวลา 12 และ 48 ชั่วโมง ไม่ส่งผลต่อระดับของ Alkalinity และเมื่อเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงระดับของ Alkalinity เทียบเท่ากับกลุ่ม Control และจากการวัดระดับของ Hardness พบว่าผลของการเติม N_2 ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ Hardness หลังจากนั้นทำการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ทำให้ระดับของ Hardness อยู่ในช่วงมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 86.67 mg/l จากการทดลองพบว่าเมื่อทำการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของค่า Temperature แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ส่งผลให้ค่า Temperature ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อทำการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง เท่ากับ 28.87 และ 28.33^{o}C ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และจากการวัดระดับของ pH พบว่าการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าส่งผลให้ระดับของ pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 7.73 และ 7.51 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ถึงอย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีแนวโน้มค่าเฉลี่ยของระดับ pH ลดลงแต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 4.9) นอกจากนี้เมื่อทำการวัดลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาหลังจากให้ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าปลามีการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกสูงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 58.87 และ 74.67 ครั้ง/นาที เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control อีกทั้งมีแนวโน้มค่าเฉลี่ยของการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกสูงมากขึ้นในชั่วโมงที่ 12 และ 24 เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยของการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติเทียบเท่ากับกลุ่ม Control นอกจากนี้จากการวัดอัตราการตายพบว่าเมื่อเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่ามีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้นแต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ และเมื่อมีการให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ค่าเฉลี่ยของอัตราการตายไม่แตกต่างจากค่าเฉลี่ยของกลุ่ม Control อีกทั้งการจากการศึกษาลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาจากการเติม O_2 เข้าไปในปลาหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น พบว่าเมื่อให้ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ส่งผลให้ปลากินอาหารลดลงเหลือ 1 - 5 เม็ด ในชั่วโมงที่ 12 จนกระทั่งชั่วโมงที่ 24 ปลากินอาหารลดลงเรื่อย ๆ เหลือ 6 - 10 เม็ด และในชั่วโมงที่ 48 ส่งผลให้ปลาไม่มีการกินอาหาร หลังจากให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ปลามีการกินอาหารปกติเทียบเท่าได้กับกลุ่ม Control และจากการวัดลักษณะของการว่ายน้ำของปลาพบว่าเมื่อทำการเติม N_2 ลงในตู้ปลาส่งผลให้ปลามีลักษณะการว่ายน้ำช้าลงไม่ต่อเนื่องในชั่วโมงที่ 12 และจนกระทั่งชั่วโมงที่ 24 ปลามีลักษณะการว่ายน้ำช้าลงและครีบห่อจนถึงชั่วโมงที่ 48 ปลาไม่มีการว่ายน้ำครีบของปลาห่อทรงตัวอยู่กับที่ แต่เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ปลากลับคืนสู่สภาวะปกติซึ่งเทียบเท่ากับกลุ่ม Control อีกทั้งเมื่อทำการวัดระดับการลอยตัวของปลาพบว่าจากการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาเป็น

ระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ทำให้ปลามีการเปลี่ยนแปลงของระดับการลอยตัวจากบริเวณกลางน้ำ ผิวน้ำและก้นน้ำไปเป็นก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมาชั่วโมงที่ 12 และ 24 เมื่อให้ N_2 นานมากขึ้นเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปลามีระดับการลอยตัวจากก้นน้ำสลับกับผิวน้ำไปเป็นที่ผิวน้ำเป็นเวลานานและปลามีอาการอ้าปาก ในทางกลับกันเมื่อทำการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ปลากลับคืนสู่สภาวะปกติเทียบได้กลับกลุ่ม Control นอกจากนี้เมื่อวัดสีของเหงือกปลา พบว่าหลังจากที่ทำการเติม N_2 เป็นระ ยะเวลา 0 และ 12 ชั่วโมงพบว่าสีของเหงือกปลาเป็นสีแดงสดเข้มจนกระทั่งให้ N_2 เป็นระยะเวลา 24 และ48 ชั่วโมง ส่งผลให้สีของเหงือกปลาเปลี่ยนเป็นสีแดงอ่อนลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control หลังจากมีการเติม O_2 ลงไปในน้ำเป็นระยะ เวลา 1 สัปดาห์ ทำให้ปลามีลักษณะสีของเหงือกเป็นสีแดงสดเข็มเป็นปกติ และจากการทดลองยังพบว่าสีของลำตัวของปลามีลักษณะไปในทิศทางเดียวกับลักษณะสีของเหงือกปลา คือเมื่อให้ N_2 เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงพบว่าสีลำตัวของปลามีสีซีดลงแต่อย่างไรก็ตามการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ไม่ส่งผลให้เกิดมีการเปลี่ยนแปลงสีของลำตัวในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นและเมื่อให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ส่งผลให้สีของลำตัวของปลากลับคืนสู่สภาวะปกติสีดูเป็นธรรมชาติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ยิ่งไปกว่านั้นยังพบอีกว่ามีเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเพิ่มสูงขึ้นและมีลักษณะเหนียวใสถึงขาวขุ่น เมื่อทำการให้ N_2 ลงในน้ำเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จนกระทั่ง 48 ชั่วโมง เมือกมากขึ้นและมีกลิ่นคาว เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมงไม่มีผลต่อเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวของปลาฟลาว - เวอร์ฮอร์นและเมื่อให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ปลามีเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเป็นปกติเทียบได้กับกลุ่ม Control (ตารางที่ 4.10)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.9 ผลของคุณภาพน้ำของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

Parameter	N_2 (0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)	O_2 1 week			
					N_2 (0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)
DO (mg/l)	5.15±0.14^{a}	1.36±0.04^{b}	1.14±0.10^{bc}	1.04±0.01^{c}	5.15±0.05^{a}	5.25±0.05^{a}	5.20±0.06^{a}	5.12±0.12^{a}
Alkalinity (mg/l)	136.00±9.82^{ab}	136.00±19.63^{ab}	96.33±5.67^{b}	113.33±11.33^{b}	124.67±5.67^{ab}	164.33±11.33^{a}	136.00±17.00^{ab}	122.00±10.00^{ab}
Hardness (mg/l)	63.33±3.33^{c}	70.00±10.00^{bc}	63.33±3.33^{c}	66.67±3.33^{c}	73.33±3.33^{abc}	86.67±3.33^{a}	83.33±3.33^{ab}	86.67±3.33^{a}
Temperature (^{o}C)	28.87±0.18^{a}	28.26±0.07^{ab}	28.34±0.18^{ab}	28.30±0.32^{ab}	28.59±0.22^{ab}	28.13±0.03^{b}	28.56±0.21^{ab}	28.33±0.23^{ab}
pH	7.73±0.01^{ab}	7.51±0.04^{c}	7.57±0.04^{bc}	7.54±0.07^{bc}	7.82±0.08^{a}	7.74±0.02^{ab}	7.60±0.06^{bc}	7.59±0.11^{bc}

หมายเหตุ : ^{a,b,c} ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$), Dissolved Oxygen (DO)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.10 ผลของลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา	Experimental time (Mean ± SEM)							
	N_2 (0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)	O_2 1 week			
					N_2 (0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)
การขยับของฝาปิดแผ่นเหงือก 1 นาที	58.87 ± 0.44^{bc}	60.65 ± 6.5^{bc}	69.07 ± 5.81^{ab}	74.67 ± 3.40^{a}	59.87 ± 1.35^{bc}	52.07 ± 5.13^{c}	57.20 ± 1.8^{bc}	54.93 ± 1.41^{c}
อัตราการตาย	6.67±6.67	13.33±13.33	20.00±11.55	33.33±11.55	6.67± 6.67	6.67± 6.67	6.67±6.67	8.33 ± 8.33
การกินอาหาร	0	1	2	4	0	0	0	0
ลักษณะของการว่ายน้ำ	0	1	2	3	0	0	0	0

หมายเหตุ : ^{a,b,c} ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$), (การกินอาหาร) = ปกติ ไม่มีอาหารเหลือ (0), มีอาหารเหลือ 1 - 5 เม็ด (1), มีอาหารเหลือ 6 -10 เม็ด (2), มีอาหารเหลือ 11 - 15 เม็ด (3), ไม่กินอาหาร คือมีอาหารเหลือ 16 - 20 เม็ด (4), (ลักษณะของการว่ายน้ำ) = ปกติอย่างสม่ำเสมอ (0), ว่ายช้าลงไม่ต่อเนื่อง (1), ว่ายช้าลงและครีบห่อ (2), ไม่ว่ายน้ำครีบห่อเริ่มมีการทรงตัวอยู่กับที่นาน (3), ไม่มีการว่ายน้ำ นิ่งอยู่ก้นตู้ปลา (4), (ระดับของการลอยตัว) = ปกติ คืออยู่ที่บริเวณผิวน้ำ กลางน้ำและใต้น้ำสลับขึ้นลงไปมา (0), ก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมา (1), ก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมาอย่างช้า ๆ (2), อยู่ที่บริเวณผิวน้ำเป็นเวลานานและปลามีอาการอ้าปาก (3), ก้นน้ำและนอนตะแคงไปมาเริ่มหงายท้อง (4), (สีของเหงือกปลา) = ปกติมีสีแดงสดเข้ม (0), สีแดงอ่อนลง (1), (สีของลำตัวของปลา) = ปกติ ดูเป็นธรรมชาติ (0), มีสีซีดลง ดูไม่เป็นธรรมชาติ (1), (เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวปลา) = ปกติ คือลักษณะของเมือกจะใส (0), เมือกมากขึ้นยืดเหนียวใส (1), เมือกมากขึ้นเหนียวใสถึงขาวขุ่น (2), เมือกมากขึ้นเหนียวใสถึงขาวขุ่น มีกลิ่นคาว (3), เมือกมากขึ้นยืดเหนียวมีสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนมและมีกลิ่นคาว (4)

ตารางที่ 4.10 ผลของลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia (ต่อ)

ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา	Experimental time							
	N_2 (0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)	O_2 1 week			
					N_2 (0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)
ระดับของการลอยตัว	0	1	3	3	0	0	0	0
สีของเหงือกปลา	0	0	1	1	0	0	0	0
สีของลำตัวของปลา	0	0	1	1	0	0	0	0
เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัว	0	0	2	3	0	0	0	0

หมายเหตุ : [a,b,c] ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$), (การกินอาหาร) = ปกติ ไม่มีอาหารเหลือ (0), มีอาหารเหลือ 1 - 5 เม็ด (1), มีอาหารเหลือ 6 -10 เม็ด (2), มีอาหารเหลือ 11 - 15 เม็ด (3), ไม่กินอาหาร คือมีอาหารเหลือ 16 - 20 เม็ด (4), (ลักษณะของการว่ายน้ำ) = ปกติอย่างสม่ำเสมอ (0), ว่ายช้าลงไม่ต่อเนื่อง (1), ว่ายช้าลงและครีบห่อ (2), ไม่ว่ายน้ำครีบห่อเริ่มมีการทรงตัวอยู่กับที่นาน (3), ไม่มีการว่ายน้ำ นิ่งอยู่ก้นตู้ปลา (4), (ระดับของการลอยตัว) = ปกติ คืออยู่ที่บริเวณผิวน้ำ กลางน้ำและใต้น้ำสลับขึ้นลงไปมา (0), ก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมา (1), ก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมาอย่างช้า ๆ (2), อยู่ที่บริเวณผิวน้ำเป็นเวลานานและปลามีอาการอ้าปาก (3), ก้นน้ำและนอนตะแคงไปมาเริ่มหงายท้อง (4), (สีของเหงือกปลา) = ปกติมีสีแดงสดเข้ม (0), สีแดงอ่อนลง (1), (สีของลำตัวของปลา) = ปกติ ดูเป็นธรรมชาติ (0), มีสีซีดลง ดูไม่เป็นธรรมชาติ (1), (เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวปลา) = ปกติ คือลักษณะของเมือกจะใส (0), เมือกมากขึ้นยืดเหนียวใส (1), เมือกมากขึ้นเหนียวใสถึงขาวขุ่น (2), เมือกมากขึ้นเหนียวใสถึงขาวขุ่น มีกลิ่นคาว (3), เมือกมากขึ้นยืดเหนียวมีสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนมและมีกลิ่นคาว (4)

4.3.2 ผลของการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

จากการศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยของ WBC มีแนวโน้มสูงขึ้นที่ชั่วโมงที่ 12 และ 48 แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติอีกทั้งยังพบอีกว่าค่าเฉลี่ยของ WBC มีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 2.06 ± 0.12 และ $3.06 \pm 0.08 \times 10^3$ cell/µl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control หลังจากนั้นเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเติม O_2 ลงในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าการเติม O_2 ลงในน้ำส่งผลให้ค่าของโลหิตวิทยาสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้ โดยมีค่าเฉลี่ยของ WBC เท่ากับ 2.06 ± 0.12, 2.08 ± 0.08, 2.53 ± 0.22, 2.84 ± 0.45 และ $2.53 \pm 0.42 \times 10^3$ cell/µl ตามลำดับ ซึ่งเห็นได้ว่าไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และจากการศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อปลาได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยของ RBC เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ชั่วโมงที่ 12 และ 48 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.46 ± 0.04, 1.68 ± 0.04 และ $1.73 \pm 1.10 \times 10^6$ cell/µl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามกลับพบว่าในชั่วโมงที่ 24 มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ย RBC เพิ่มสูงขึ้นแต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยของ RBC มีค่าเท่ากับ 1.46 ± 0.04, 1.41 ± 0.07, 1.45 ± 0.02, 1.35 ± 0.05 และ $1.27 \pm 0.07 \times 10^6$ cell/µl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าค่าเฉลี่ยของ RBCได้กลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติ เช่นเดียวกับค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ Hematocrit จะเห็นได้ว่าเมื่อเกิดภาวะ Hypoxia ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ Hematocrit นั้นสูงขึ้นจากกลุ่ม Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 23.50 ± 2.08 และ 32.70 ± 0.85 ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control และยังพบอีกว่าค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ Hematocrit มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นชั่วโมงที่ 12 และ 24 แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control หลังจากนั้นเมื่อมีการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์พบว่าค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ Hematocrit ได้ลดลงและไม่มีความแตกต่างจากกลุ่ม Control มีค่าเท่ากับ 23.50 ± 2.08, 22.32 ± 3.25, 23.69 ± 1.79, 24.53 ± 4.02 และ 25.00 ± 0.84 ตามลำดับ รวมทั้งจากการทดลองในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะ เวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณของ Hemoglobin นั้นเพิ่มสูงขึ้นจากกลุ่ม Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ชั่วโมงที่ 12 และ 48 มีค่าเท่ากับ 6.52 ± 0.28, 8.10 ± 0.16 และ 8.33 ± 0.01 g/dl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามในชั่วโมงที่ 24 ถึงจะมีแนวโน้มปริมาณของ Hemoglobin นั้นเพิ่มสูงขึ้นแต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control เมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเติม O_2 เข้าลงไปในตู้

ปลาทดลองหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าการเติม O_2 ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยของ Hemoglobin กลับคืนเข้าสู่ระดับปกติ คือค่าเฉลี่ยของปริมาณ Hemoglobin ได้ลดลงไม่แตกต่างจากกลุ่ม Control เท่ากับ 6.52 ± 0.28, 6.60 ± 0.32 , 6.57 ± 0.18 , 5.96 ± 0.62 และ 6.53 ± 0.56 ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าการเกิดภาวะ Hypoxia ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า MCV, MCH และ MCHC และเมื่อมีการเติม O_2 ลงไปก็ส่งผลเช่นเดียวกันคือไม่มีการเปลี่ยนแปลงต่อค่าเฉลี่ยของ MCV, MCH และ MCHC เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control (ตาราง 4.11)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.11 ผลของการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

Hematology	Experimental time (Mean ± SEM)							
	N_2 (0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)	O_2 1 week			
					N_2(0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)
WBC ($x10^3$cell/µl)	2.06±0.12^{b}	2.65±0.27^{ab}	3.06±0.08^{a}	2.28±0.16^{ab}	2.08±0.08^{b}	2.53±0.22^{ab}	2.84±0.45^{ab}	2.50±0.42^{ab}
RBC ($x10^6$ cell/µl)	1.46±0.04^{cd}	1.68±0.04^{ab}	1.52±0.02^{bc}	1.73±1.10^{a}	1.41±0.07^{cd}	1.45±0.02^{cd}	1.35±0.05^{cd}	1.27±0.07^{d}
Ht (%)	23.50±2.08^{b}	28.90±2.50^{ab}	29.40±2.33^{ab}	32.70±0.85^{a}	22.32±3.25^{b}	23.69±1.79^{b}	24.53±4.02^{ab}	25.00±0.84^{ab}
Hb (g/dl)	6.52±0.28^{bc}	8.10±0.16^{a}	7.54±0.04^{ab}	8.33±0.01^{a}	6.60±0.32^{bc}	6.57±0.18^{bc}	5.96±0.62^{c}	6.53±0.56^{bc}
MCV (fl)	161.12±15.95	172.21±21.60	194.30±17.61	190.04±8.71	160.63±29.59	163.60±15.56	185.15±36.18	197.31±14.24
MCH (pg)	44.79±3.21	48.18±1.07	49.71±0.77	48.49±2.87	47.22±4.31	45.25±1.72	44.68±5.77	51.19±3.24
MCHC (g/dl)	28.16 ±2.45	28.74±3.06	25.96±2.08	25.50±0.64	30.39±2.81	27.96±1.64	25.02±2.38	26.09±1.74

หมายเหตุ : ^{a,b,c} ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$), White blood cell count (WBC), Red blood cell count (RBC), Hemoglobin concentration (Hb), Hematocrit (Ht), Mean cell volume (MCV), Mean cell hemoglobin (MCH), Mean cell hemoglobin concentration (MCHC), Femtoliter $=10^{-15}$(fl)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.3.3 ผลของการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนกลับเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

จากการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่ามีแนวโน้มของระดับ Glucose ในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 12 และ 24 แต่ไม่พบความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) และในทางตรงกันข้ามกลับพบว่ามีแนวโน้มค่าเฉลี่ยของระดับ Glucose ในกระแสเลือดลดลงในชั่วโมงที่ 48 แต่ก็ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกัน หลังจากนั้นเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองหลังเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับ Glucose มีค่าที่ใกล้เคียงกับกลุ่ม Control ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control มีค่าเท่ากับ 55.56 ± 1.39, 50.37 ± 3.99, 53.98 ± 8.43, 48.39 ± 2.96 และ 51.79 ± 0.05 mg/dl ตามลำดับ แต่ในทางกลับกันกลับพบว่าการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงระดับค่าเฉลี่ยของ CK สูงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ชั่วโมง 12, 24 และ 48 มีค่าเท่ากับ 714 ± 56.1, 1425.32 ± 52.48, 1762.67 ± 101.7 และ 1954.00 ± 294.48 U/l ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control หลังจากนั้นได้ทำการการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่ามีการลดลงของระดับ CK ในกระแสเลือดใกล้เคียงกับกลุ่ม Control โดยไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 714 ± 56.11, 1057.53 ± 17.83, 908.66 ± 95.45, 952.41 ± 155.59 และ 1003.22 ± 70.57 U/l ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของค่าเอนไซม์ ALT สูงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ชั่วโมงที่ 48 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.31 ± 0.67 และ 4.33 ± 0.24 U/l เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control อีกทั้งยังพบอีกว่ามีแนวโน้มของค่าเอนไซม์ ALT เพิ่มสูงมากขึ้นในชั่วโมงที่ 12 และ 24 แต่ก็ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ หลังจากนั้นได้ทำการการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ระดับของค่าเอนไซม์ ALT ลดลงจนกระทั่งใกล้เคียงกับกลุ่ม Control ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าของ ALT เท่ากับ 2.31 ± 0.67, 2.73 ± 0.64, 2.78 ± 0.62, 3.17 ± 0.17 และ 3.31 ± 0.39 U/l ตามลำดับ อีกทั้งจากการทดลองศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ยังพบอีกว่าการเกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ AST โดยที่ทำให้ระดับของเอนไซม์ AST เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ชั่วโมง 24 และ 48 มีค่าเท่ากับ 39.9 ± 8.2, 71.26 ± 14.14 และ 73.29 ± 9.79 U/l ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ในทางกลับกันการเมื่อมีการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นมากกว่ากลุ่ม Control แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ

(P>0.05) หลังจากนั้นได้ทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของระดับของเอนไซม์ AST ลดลงและไม่แตกต่างจากกลุ่ม Control โดยทีค่าเท่ากับ 39.9 ± 8.20, 55.53 ± 0.94, 39.59 ± 8.85, 40.82 ± 4.06 และ 47.33 ± 5.50 U/l ตามลำดับ ในทางกลับกันจากการทดลองพบว่าค่าของ BUN เมื่อมีการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia พบว่าค่าเฉลี่ยของค่า BUN มีแนวโน้มสูงขึ้นแต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติและเมื่อมีการให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ เป็นผลให้ระดับของเอนไซม์ BUN มีการเปลี่ยนแปลงจากกลุ่ม Control โดยที่มีค่าเฉลี่ยสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่ 48 ชั่วโมง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.42 ± 0.02 และ 3.03 ± 0.22 mg/dl ตามลำดับ และจากการทดลองศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ยังพบอีกว่าการเกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลต่อปลาโดยมีการเปลี่ยนแปลงของระดับของ Cr คือส่งผลทำให้ระดับของ Cr ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่ชั่วโมง 12, 24 และ 48 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.40 ± 0.03, 0.87±0.09, 1.17±0.07 และ 0.97±0.09 mg/dl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบ Control และยังพบอีกว่าเมื่อมีการให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ เป็นผลให้ระดับของ Cr มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) อีกทั้ง จากการทดลองศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ยังพบอีกว่าการเกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับของ Cholesterol โดยส่งผลทำให้ระดับของ Cholesterol ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่ชั่วโมง 12, 24 และ 48 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 175.22 ± 1.68, 153.00 ± 8.54, 140.78 ± 3.06 และ 159.11 ± 5.53 mg/dl ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบ Control และยังพบอีกว่าเมื่อมีการให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ เป็นผลให้ระดับของ Cholesterol มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มสูงขึ้นเมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าเท่ากับ 175.22 ± 1.68, 174.50 ± 4.77, 161.28 ± 1.30, 167.21 ± 2.19, และ 167.83 ± 2.35 ตามลำดับเมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control (ตาราง 4.12)

ตารางที่ 4.12 ผลของการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

Blood chemistry	Experimental time (Mean ± SEM)							
	N_2 (0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)	O_2 1 week			
					N_2 (0 h)	N_2 (12 h)	N_2 (24 h)	N_2 (48 h)
Glucose (mg/dl)	55.56±1.39^{abc}	65.68±0.85^{a}	62.54±0.51^{ab}	52.21±1.80^{bc}	50.37±3.99^{c}	53.98±8.43^{bc}	48.39±2.96^{c}	51.79±0.05^{bc}
CK (U/l)	714.00±56.11^{d}	1425.32±52.48^{bc}	1762.67±101.75^{ab}	1954.00±294.48^{a}	1057.53±17.83^{cd}	908.66±95.45^{d}	952.41±155.59^{d}	1003.22±70.57^{d}
ALT (U/l)	2.31±0.67^{b}	3.89±0.11^{ab}	3.83±0.73^{ab}	4.33±0.24^{a}	2.73±0.64^{ab}	2.78±0.62^{ab}	3.17±0.17^{ab}	3.31±0.39^{ab}
AST (U/l)	39.90±8.20^{b}	52.97±5.33^{ab}	71.26±14.14^{a}	73.29±9.79^{a}	55.53±0.94^{ab}	39.59±8.85^{b}	40.82±4.06^{b}	47.33±5.50^{ab}
BUN (mg/dl)	2.42±0.02^{b}	2.60±0.19^{ab}	2.69±0.07^{ab}	2.96±0.33^{ab}	2.44±0.11^{b}	2.56±0.10^{ab}	2.69±0.05^{ab}	3.03±0.22^{a}
Cr(mg/dl)	1.40±0.03^{ab}	0.87±0.09^{d}	1.17±0.07^{bcd}	0.97±0.09^{cd}	1.23±0.17^{bcd}	1.33±0.03^{abc}	1.63±0.22^{a}	1.23±0.12^{bcd}
Cholesterol (mg/dl)	175.22±1.68^{a}	153.00±8.54^{cd}	140.78±3.06^{d}	159.11±5.53^{bc}	174.50±4.77^{a}	161.28±1.30^{abc}	167.21±2.19^{ab}	167.83±2.35^{ab}

หมายเหตุ : ^{a,b,c} ในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$), Creatine kinase (CK), Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST), Blood urea nitrogen (BUN), Creatinine (Cr)

บทที่ 5
อภิปรายผลการทดลอง

5.1 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

5.1.1 ผลของการตรวจลักษณะภายนอก, พฤติกรรมและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลา - ฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการศึกษาลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันที่ทำการคละเพศ พบว่าในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นไม่พบสิ่งผิดปกติใด ๆ รวมทั้งปรสิตภายนอกและการเป็นโรค จากการตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีค่า DO เท่ากับ 5.53 ± 0.07 mg/l, อุณหภูมิ (Temperature) 28.43 ± 0.09^{o}C, ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) อยู่ที่ 7.65 ± 0.09, ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) 153 ± 29.44 mg/l และค่าความกระด้างของน้ำ (Hardness) อยู่ที่ 110 ± 10.00 mg/l นอกจากนี้จากการตรวจลักษณะภายนอกของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น พบว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกอยู่ที่ 60.67 ± 4.62 ครั้ง/นาที การกินอาหาร, ลักษณะของการว่ายน้ำหรือการทรงตัวของปลา, สีลำตัวของปลา, เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวนั้นปกติ ระดับของการลอยตัวของปลาอยู่บริเวณกลางน้ำถึงผิวน้ำ มีสีของเหงือกสีแดงสด และ จากการศึกษาคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาพบว่าคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์เดียวกับที่ใช้เลี้ยงปลาทั่วไปซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Wurt and Durborow (1992) ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นตัวบ่งชี้ว่าคุณภาพน้ำที่ได้เหมาะสมแก่การนำมาเลี้ยงปลาทดลอง

5.1.2 ผลของการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการศึกษาผลของค่าโลหิตวิทยาประกอบด้วย WBC, RBC, Hb, Ht, MCV, MCH และ MCHC ของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันพบว่าในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีค่าของจำนวน WBC เท่ากับ 3.15 ± 1.10x10^{3} cell/µl จำนวนของ RBC เท่ากับ 1.73 ± 0.32x10^{6} cell/µl ปริมาณของ Hb เท่ากับ 7.50 ± 1.74 g/dl ค่าของ Ht เท่ากับ 22.30 ± 3.88% และค่าของ MCV เท่ากับ 110.20 ± 46.22 fl รวมทั้งค่าของ MCH เท่ากับ 37.88 ± 8.95 pg และค่าของ MCHC เท่ากับ 34.64 ± 8.52 g/dl เช่นเดียวกับการทดลองของ ธเนศ ชินวราภรณ์ และคณะ (2003) พบว่าค่าโลหิตวิทยาของปลาเสือต่อ (*Datnioides microlepis Bleeker*) มีค่า WBC, RBC และ Ht เท่ากับ 32.4 ± 10.30x10^{3} cell/µl, 4.00 ± 0.9x10^{6} cell/µl และ 24.40 ± 5.60% ตามลำดับ รวมทั้งจากการทดลองของ นันทริกา ชันซื่อ และ มนทการติ์ วงค์ภากร (2006) ได้ศึกษาค่าโลหิตวิทยาในปลาหมอตาลพบว่ามีค่า WBC,

RBC, Hb และ Ht มีค่าเท่ากับ 79.73 ± 7.43x10^3 cell/µl, 3.19 ± 0.11x10^6 cell/µl, < 5 g/dl และ 35.56 ± 8.06% ตามลำดับ นอกจากนี้ Hrubec, Cardinale, and Smith, (2000) ได้ทดลองเลี้ยงปลา Tilapia (*Oreochromis Hybrid*) แบบหนาแน่นจำนวน 40 ตัว พบว่ามีค่า WBC, RBC, Hb, Ht, MCV, MCH และ MCHC เท่ากับ 21.56 - 154.69x10^3 cell/µl, 1.91 - 2.83x10^6 cell/µl, 7.0 - 9.8 g/dl, 27 - 37%, 115 - 183 fl, 28.3 - 42.3 pg และ 22 - 29 g/dl ตามลำดับ และจากการทดลองของ ส่งศรี มหาวัสดิ์ และ รุ่งกานต์กล้าหาญ (2003) มีการรายงานผลการทดลองของค่าโลหิตของปลาในลุ่มน้ำเขื่อนป่าสักชลสิทธิ์จำนวน 7 ชนิด คือ ปลากระแห (*Puntius schwanenfeldi*), ปลาสร้อย (*Labiobarbus spiropleura*), ปลากระมัง (*Puntius proctozysron*), ปลาหมอช้างเหยียบ (*Pristolepis fasciatus*), ปลาตะเพียน (*Puntus gonionotus*), ปลากระดี่ (*Trichogaster trichopterus*) และปลาช่อน (*Channa striata*) โดยพบว่ามีค่า RBC, Ht และ Hb เท่ากับ 0.85 - 4.84x10^6 cell/µl, 11.4 - 51.7% และ 3.7 - 17.3 g/dl ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าจากการทดลองศึกษาหาค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นอยู่ใน ช่วงค่ามาตรฐานซึ่งได้สอดคล้องกับการรวบรวมเอกสารงานวิจัยของ Feldman, Zinkl and Jain (2000) เกี่ยวกับค่าโลหิตวิทยาของปลาพบว่าช่วงของค่า WBC, RBC, Hb, Ht, MCV, MCH และ MCHC คือ 10.10 - 282.00x10^3 cell/µl, 0.77 - 4.96x10^6 cell/µl, 1.5 - 15 g/dl, 17 - 52%, 81 - 553 fl, 14.40 - 106 pg และ 5.60 - 38.00 g/dl ตามลำดับ ถึงแม้ว่าจากการทดลองศึกษาหาค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีค่า WBC ที่ต่ำกว่าช่วงมาตรฐานแต่ก็มีค่าที่สอดคล้องกับการทดลองของ Guijarro, Patino, Piillos, Isorna, Pedro, Alonso-Gomen, Alonso-Bedate and Delgado (2003) ที่ได้พบว่าในปลา Tench (*Tinca tinca*) มีค่า WBC อยู่ในช่วง 3.08 - 19.27x10^3/µl ดังนั้นความแตกต่างของค่าโลหิตวิทยาอาจขึ้นอยู่กับ, ขนาด, ความยาว, น้ำหนักและที่สำคัญคือ Species ภายใน Species ของปลา (ส่งศรี มหาสวัสิ์, 2532)

5.1.3 ผลของการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการศึกษาผลของค่าชีวเคมีของโลหิตประกอบด้วย Glucose, CK, ALT, AST, BUN และ Cholesterol ของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันพบว่าในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีค่าของระดับ Glucose ในกระแสเลือดเท่ากับ 56.34 ± 11.48 mg/dl ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hrubec et al. (2000) ที่พบว่าในปลา Tilapia (*Oreochromis Hybrid*) มีระดับของ Glucose ในกระแสเลือดอยู่ในช่วง 30 - 69 mg/dl รวมทั้งจากการทดลองของ ธเนศ ชินวราภรณ์ และคณะ (2003); นันทริกา ชันชื่อ และ สมหวัง พิมลบุตร (2007) ; Ottolenghi, Puviani, Ricci, Brighenti and Morsiani (1995) ที่พบว่า Glucose ในกระแสเลือดของปลาเสือตอ,Family Cyprinidar,ปลา *Ictalurus melas* และ *Ictalurus punctatus* มีระดับของ Glucose ในกระแสเลือดของปลามีค่าเท่ากับ 41.40 ± 18.25 mg/l, 53.31 ± 34.44 mg/dl, 32.50 ± 0.70 ถึง 47.80 ± 2.20 mg/dl ตามลำดับ Glucose คือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นแหล่งของพลังงานที่สำคัญในร่างกายโดย Glucose ในเลือดจะอยู่ในรูป

Monosaccharide และโดยปกติระดับของ Glucose ในเลือดจะอยู่ในช่วงปกติก่อนได้รับอาหารในแต่ละมื้อ และที่สำคัญ Glucose ที่ได้มาจากกระบวนการย่อยสลายสารอาหารในร่างกายจะถูกนำมาสังเคราะห์เป็นพลังงานภายในร่างกาย ซึ่ง Glucose จะลดลงจากกระแสเลือดโดยถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานของเซลล์และเนื้อเยื่อทั่วร่างกายและจะถูกนำไปเก็บสะสมในรูปไกลโคเจนในเซลล์ตับเมื่อพลังงานในร่างกายมีมากเกินความต้องการ การควบคุมปริมาณน้ำตาลในร่างกายนั้นเกิดจากการประสานการทำงานกันระหว่างอินซูลินซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ทำหน้าที่ลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยระดับน้ำตาล Glucose ในเลือดจะเป็นตัวบ่งบอกถึงสภาวะสมดุลของน้ำตาลในร่างกาย Morales, Cardenete, Abellan, and Garcia-Rejon (2005) ถือว่า Glucose เป็นดัชนีของ Secondary stress response ทั้งในภาวะ Acute และ Chronic stress และจากการศึกษาผลของค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น พบว่ามีระดับของ CK ในกระแสเลือดเท่ากับ 752.52 ± 495.86 U/l ซึ่งมีค่าที่ต่ำกว่าจากการรายงานผลการทดลองของ Shahsavani, Mohri and Kanani (2010) ที่พบว่าระดับของ CK ในกระแสเลือดของปลา *Acipenser stellatus* มีค่าเท่ากับ 6,596.05 ± 1,807.19 U/l CK นั้นพบในไมโตคอนเดรียและในไซโตปลาสซึมของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั่วร่างกายเป็นเอนไซม์ที่พบในกล้ามเนื้อหัวใจ กล้ามเนื้อลายและสมอง ซึ่งทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาดังสมการ

$$\text{สมการ : ATP + Cr} \xrightleftharpoons{\text{CK}} \text{ADP + PCr}$$

เนื่องจากเอนไซม์ CK เป็นของเสียที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมจึงใช้สำหรับการตรวจการบาดเจ็บของหัวใจ กล้ามเนื้อลายและสมองเพราะ CK มีมากในอวัยวะเหล่านี้ และจากการศึกษาผลของค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีระดับของเอ็นไซม์ ALT และ AST ในกระแสเลือดเท่ากับ 4.58 ± 3.18 U/l และ 30.71 ± 18.71 U/l ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของธเนศ ชินวราภรณ์ และคณะ (2003) พบว่าในปลาเสือตอมีค่า ALT และ AST ในกระแสเลือดเท่ากับ 10.28 ± 6.53 U/l และ36.20 ± 10.78 U/l ตามลำดับ และจากการทดลองของ Rakovac, Perovic, Hacmanjek,Popovic, Lipej,and Sostaric (2005) พบว่าปลา *Dicentrarchus labrax* มีระดับ ALT และ AST ในกระแสเลือดเท่ากับน้อยกว่า 5 U/l และ 45.00 U/l ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม นันทริกา ชันชื่อ และคณะ (2007) พบว่าระดับ ALT และ AST ในกระแสเลือดของปลาหมอตาลมีค่าเท่ากับ 65.22 ± 28.14 U/l และ 221.44 ± 52.19 U/l ตามลำดับ ALT หรือ Glutamate pyruvate transaminase (GPT)

ทำหน้าที่กระตุ้นปฏิกิริยาการย้ายหมู่ α -amino ของ Alanine ไปให้ α-Ketoglutarate ได้ผลิตภัณฑ์เป็น Pyruvate และ Glutamate ดังสมการ

สมการ : Alanine + α- Ketoglutarate $\xrightleftharpoons{ALT}$ Pyruvate + Glutamate

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับเช่นเดียวกับ AST หรือ Glutamate-oxaloacetatetran saminase (GOT) เป็นเอนไซม์ที่พบในตับ Trumble, Castellini, Mau, and Castellini (2006) หัวใจและกล้ามเนื้อทำหน้าที่กระตุ้นปฏิกิริยาการย้ายหมู่ α - amino จาก glutamate ไปให้ oxaloacetate ได้ผลิตภัณฑ์เป็น Aspatate และ α - Ketoglutarate ดังสมการ

สมการ : Glutamate + Oxaloacetate $\xrightleftharpoons{AST}$ Aspatate + α- Ketoglutarate

AST เป็นเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ตับ, ไต, ตับอ่อนและกล้ามเนื้อ เราสามารถตรวจพบระดับของเอนไซม์ AST ในเลือดที่สูงขึ้นได้จากกรณีที่มีเนื้อเยื่อในร่างกายถูกทำลายไม่ว่าจะเป็นเนื้อเยื่อหัวใจและตับ แต่ในทางกลับกันการขาดวิตามินบีและการตั้งท้องจะทำให้ระดับของเอ็นไซม์ AST ในเลือดลดลง โดยปกติการวัดระดับของเอ็นไซม์ AST ในเลือดจะใช้ในการประเมินการทำงานของตับ โดยการนำไปพิจารณาร่วมกับการตรวจวัดระดับของเอ็นไซม์ ALT ในเลือดเพื่อดูพยาธิสภาพของตับ Geoffery. (1998) จากการศึกษาผลของค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น มีระดับของ BUN ในกระแสเลือดเท่ากับ 1.22 ± 0.46 mg/dl ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของนันทริกา ชันซื่อ และ มนทการติ์ วงค์ภากร (2006) ที่พบว่าในปลาหมอตาลมีระดับของ BUN น้อยกว่า 2 mg/l แต่อย่างไรก็ตาม ธเนศ ชินวราภรณ์ และคณะ (2003) กลับพบว่าในปลาเสือตอมีค่า BUN เท่ากับ 10.36 ± 1.64 mg/dl ซึ่ง BUN เป็นของเสียที่เกิดจากการเผาผลาญโปรตีน ถูกขับถ่ายโดยไต BUN ในพลาสมาเป็นตัวที่บ่งชี้ปริมาณโปรตีนในสัตว์ Coppo. (2004) และเป็นตัวชี้วัดการทำหน้าที่ของไตร่วมกับ Creatinine ซึ่ง BUN เป็นสารตั้งต้นที่จะเปลี่ยนเป็น Creatinine ในกล้ามเนื้อและถูกกรองที่ไตส่วน BUN ที่เหลือจะถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะค่า BUN ที่สูงขึ้นบ่งชี้ว่าไตทำงานไม่ดี ทานอาหารประเภทโปรตีนมากเกินไป, ยาบางชนิด, ดื่มน้ำน้อยไป, เลือดออกในลำไส้เล็ก หรือการกรองของไตได้ลิ้มเหลวมากกว่า 50% ค่าที่ต่ำบ่งชี้ว่าขาดอาหาร, การดูดซึมอาหารไม่ดี, การทำงานของตับล้มเหลว และจากการศึกษาผลของค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นพบว่าระดับของ Cholesterol ในกระแสเลือดเท่ากับ 177.71 ± 33.78 mg/dl ซึ่งสอดคล้องกับ

การทดลองของ Rakovac et al. (2005) พบว่าในกระแสเลือดของปลา *Dicentrarchus labrax* มีระดับ Cholesterol ในกระแสเลือดเท่ากับ 141.92 mg/l อีกทั้ง Hrubec et al. (2000) พบว่าในปลา Tilapia (*Oreochromis Hybrid*) มีระดับของ Cholesterol ในกระแสเลือดเท่ากับ 110.00 - 318.00 mg/l Cholesterol เป็นไขมันที่มีอยู่ในร่างกายทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ภายในร่างกาย และเป็นสารผสมของโปรตีนภายในเลือดรวมทั้งเป็นสารตั้งต้นในการสร้างฮอร์โมนจำพวก Steroid hormone, Glucocorticoid ที่สำคัญยังเป็นองค์ประกอบของน้ำดี ในการสังเคราะห์ Cholesterol นั้น พบว่า Cholesterol ถูกสังเคราะห์ขึ้นที่ตับ ในทางการแพทย์ถ้าหากพบว่าระดับ Cholesterol ในเลือดสูงเกินไปจะเกิดการสะสมในหลอดเลือดจะทำให้มีความเสี่ยงสูงในการเกิดเส้นเลือดหัวใจตีบตัน รวมทั้งโรคอ้วนตามมาได้

5.2 การศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ - ฮอร์น

5.2.1 ผลของการตรวจลักษณะภายนอก, พฤติกรรมและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการทดลองพบว่าหลังจากการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นและได้ตรวจคุณภาพน้ำรวมทั้งลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาก่อนทำการทดลอง พบว่าคุณภาพน้ำและลักษณะภายนอกของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเป็นปกติดีซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมแก่การนำมาเลี้ยงปลาเพื่อทำการทดลองโดยที่คุณภาพน้ำมีค่าของ DO เท่ากับ 5.53 mg/l, Alkalinity 153.00 mg/l, Hardness 110 mg/l, Temperature 28.43^{o}C และ pH เท่ากับ 7.65 คุณภาพน้ำดังกล่าวสามารถทำให้สัตว์น้ำอาศัยได้อย่างปลอดภัย มีการเจริญเติบโต มีความแข็งแรง ทนทานและปราศจากของโรค หลังจากนั้นเมื่อทำการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำ โดยที่ระดับเฉลี่ยของค่า DO ลดลง เนื่องจากว่าได้เกิดการแทนที่ของ O_2 ในน้ำด้วย N_2 ค่า DO นั้นเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณ O_2 ที่ละลายอยู่ในน้ำ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดเพื่อใช้ในการหายใจและเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ค่า DO ที่เป็นปกติจะอยู่ในช่วง 5 - 7 mg/dl จากการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อทำการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาที่ใช้ในการทดลอง ส่งผลให้ระดับของ DO ลดลงเหลือ 0.78 mg/dl ซึ่งเป็นค่าที่บ่งชี้ว่าเกิดภาวะ Hypoxia มีการรายงานของ Landry et al. (2007) พบว่าในช่วงฤดูร้อนจะมีการเปลี่ยนแปลงของระดับ O_2 (DO <2 mg/l) ในแหล่งน้ำระยะยาว ซึ่งส่งผลให้ปลา *Fundulus grandis* มีการเจริญเติบโตที่ลดลงและส่งผลให้การสืบพันธุ์ของปลาตัวเมียลดลง จากการทดลองพบว่าหลังจากการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นได้ทำการตรวจวัดระดับของ Alkalinity พบว่ามีแนวโน้ม

ของค่าเฉลี่ยลดลงแต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิต ($p>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลต่อระดับของ Hardness ลดลง ชั่วโมงที่ 48 และ 72 ซึ่ง Hardness เป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณของเกลือ, แคลเซียมและแมกนีเซี่ยมที่ละลายอยู่ในน้ำ Hardness ของน้ำจะมีค่าปกติอยู่ในช่วง 75 - 150 mg/l จะเห็นได้ว่าจากการทดลองเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาส่งผลให้ค่า Hardness ต่ำกว่าช่วงมาตรฐาน คือชั่วโมงที่ 48 การที่มี Hardness ต่ำกว่าช่วงมาตรฐานซึ่งจะไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำและนอกจากนี้จากการทดลองยังพบอีกว่า การให้ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลให้ pH ลดลงที่ 24 ชั่วโมง pH เป็นตัวบ่งบอกถึงความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนที่มีอยู่ในน้ำเพื่อเป็นเครื่องที่แสดงให้เราทราบว่าน้ำมีคุณสมบัติเป็นกรดเป็นด่างโดยทั่วไปความเป็นกรดด่างมีค่าอยู่ระหว่าง 0 - 14 และระดับที่เหมาะสมแก่การนำมาเลี้ยงสัตว์น้ำจะอยู่ในช่วง 6.5 - 9.0 จาการทดลองจะเห็นได้ว่าการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ pH ลดลง แต่อย่างไรก็ตาม pH ที่ลดลงยังอยู่ในช่วงที่ไม่เป็นอันตรายแก่ปลาที่ใช้ในการทดลอง ปลาแต่ละชนิดนั้นจะมีความทนทานต่อ pH ได้แตกต่างกันหากน้ำมีสภาพการเป็นกรดมากเกินไปจะทำให้ปลามีผิวหนังซีดขุ่นขาวปลาจะว่ายไปมาอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ปลาจะพยายามฮุบอากาศและพยายามกระโดดไปมาในที่สุดจะทำให้ปลาตายได้ หากน้ำมีสภาพความเป็นด่างจะทำให้ครีบของปลากร่อนและเกิดการระคายเคืองขึ้นที่เหงือกได้เช่นเดียวกัน และหลังจากการทดลองเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ได้ทำการตรวจลักษณะภายนอกพบว่ามีการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ชั่วโมง 24, 48 และ 72 การที่อัตราการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกเพิ่มขึ้นนี้ อาจเกิดเนื่องจากปลาพยายามปรับสภาพภายในร่างกายของปลาเพื่อให้ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่อยู่รอบตัวโดยมีความสัมพันธ์กับระดับ O_2 ที่ได้รับ เมื่อระดับ O_2 ลดต่ำลง จึงทำให้อัตราการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกเพิ่มสูงขึ้นเพื่อให้ O_2 สามารถผ่านเหงือกของปลาเข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือดได้มากขึ้น และจากการทดลองมีอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้นที่ 72 ชั่วโมง อีกทั้งจากการศึกษาผลของการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาเป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าส่งผลให้ปลามีการกินอาหารลดลงและมีอาหารเหลือในชั่วโมงที่ 12 และ ชั่วโมงที่ 24 จนกระทั่ง 48 และ 72 ชั่วโมง ปลาไม่มีการกินอาหารเลย รวมทั้งการว่ายน้ำที่มีการว่ายน้ำช้าลงและจนกระทั่งชั่วโมงที่ 72 ปลาไม่มีการว่ายน้ำครีบของปลาห่อ รวมทั้งระดับของการลอยตัวของปลาเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลให้ปลามีการเปลี่ยนของระดับการลอยตัวจากชั่วโมงที่ 12 ถึง 24 ปลาเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจากบริเวณกลางน้ำถึงผิวน้ำไปเป็นก้นน้ำสลับกับผิวน้ำและเมื่อได้รับ N_2 นานมากขึ้นเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีระดับการลอยตัวเปลี่ยนจากก้นน้ำสลับกับผิวน้ำไปเป็นผิวน้ำ ที่เป็นเช่นนี้เพราะปลาต้องการฮุบอากาศเพื่อหายใจที่บริเวณผิวน้ำ ยิ่งไปกว่านั้นยังพบอีกว่าเมื่อมีการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ส่งผลทำให้ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีระดับการลอยตัวอยู่ที่ก้นน้ำและปลามีลักษณะหงายท้องสลับไปมา ซึ่งจากการ

ทดลองยังพบอีกว่า เมื่อปลาได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลต่อสีของเหงือกปลาจากกลุ่มของ Control ที่มีลักษณะสีของเหงือกปลาเป็นสีแดงเข้ม แต่กลับพบว่าเมื่อให้ N_2 ไปจนกระทั่งครบ 72 ชั่วโมง ปลามีลักษณะสีของเหงือกปลามีสีซีดลงเป็นสีแดง จากการทดลองยังพบว่าสีของลำตัวของปลามีลักษณะไปในทิศทางเดียวกับลักษณะสีของเหงือกปลา คือเมื่อให้ N_2 เป็นระยะเวลาถึง 72 ชั่วโมงปลาจะมีลักษณะสีของลำตัวปลาซีดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ยิ่งไปกว่านั้นยังพบอีกว่าเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีเพิ่มขึ้นเมื่อเราให้ N_2 เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แสดงให้เห็นว่าปลามีการผลิตเมือกเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื่อโรคหรือการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเมื่อเกิดภาวะ Hypoxia โดยในเมือกของปลามีเอมไซม์ย่อยสลายโปรตีน, กรดไซอะลิคและระดับความเป็นกรดด่างที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ สามารถยับยั้งและการเกาะติดของปรสิตบนผิวหนังภายนอกได้ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการลดลงของระดับ O_2 ในน้ำ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะภายนอก, พฤติกรรมและคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น ซึ่งความเข้มข้นของระดับ O_2 ที่ลดต่ำลงนั้นก่อให้เกิดความเครียดทางสรีรวิทยาและอาจส่งผลให้ปลาตายได้ในที่สุด ซึ่งทำให้การเจริญเติบโต ความสมบูรณ์พันธุ์และบริเวณที่อาศัยของฝูงปลาเปลี่ยนแปลงไป Tonn and Magnuson (1982); Doudoroff and Shumway (1970); Breitburg (1992)

5.2.2 ผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการทดลองพบว่า หลังจากการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น ส่งผลทำให้จำนวนของค่าเฉลี่ยของ WBC ในกระแสเลือดสูงขึ้นที่ชั่วโมงที่ 72 WBC ที่สูงขึ้นนั้นอาจมีสาเหตุมาจากการเติม N_2 ลงไปในน้ำ ซึ่งส่งผลให้ระดับของ O_2 ในน้ำลดลง การลดลงของระดับ O_2 ในน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งของการเกิดความเครียด ในสภาวะปกติเมื่อปลาเกิดความเครียดปลาจะเกิดการปรับตัวเป็นระยะเวลาหนึ่ง อย่างไรก็ตามเมื่อได้รับความเครียดเป็นเวลานานทำให้เกิดความไม่สมดุลของฮอร์โมนในร่างกายของปลา ทำให้ไปยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันและส่งผลให้มีการติดเชื้อได้ง่ายขึ้นและจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าลักษณะภายนอกของตัวปลาจะมีการอักเสบบวมแดงเป็นแผลที่บริเวณปากและลำตัวของปลาดังแสดงในภาพที่ 4.1 ในบทที่ 4 ดังนั้นร่างกายจะสร้างเม็ดเลือดขาวมาเกาะบริเวณแผลโดยกัดกินเชื้อโรคและของเสียที่เกิดขึ้นในตัวปลา ทำให้ปริมาณของเม็ดเลือดขาวสูงขึ้นจากกลุ่ม Control และจากการทดลองส่งผลทำให้ค่าเฉลี่ยของ RBC ในกระแสเลือดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control อีกทั้งยังพบอีกว่ากลุ่มที่มีการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยของ RBC ในกระแสเลือดของปลาเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hall et al. (1926) และ Hall. (1928) พบว่าในการเกิดภาวะ Hypoxia ในปลา *Brevoortia tyrannus* มีค่าเฉลี่ยของ RBC ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้จากการทดลองยังพบอีกว่ามีค่าเฉลี่ยของปริมาณ Hb และ Ht

สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ซึ่งได้สอดคล้องกับการทดลองของ Soivio et al. (1974); Hall et al. (1926); Hall. (1928); Kirk. (1974); Swift and Lloyd. (1974) และ Wells et al. (1989) ได้พบว่าในการเกิดภาวะ Hypoxia ในปลา *Salmo gairdneri* และ *Ictalurus punctatus* มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณ Hb และ Ht สูงขึ้น และจากการทดลองของ Mattesson et al. (2001) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงค่า Ht ของปลามักเกิดจากความเครียด (Stressor) จากหลายปัจจัย ปัจจัยที่พบบ่อยคือการอดอาหาร Blaxhall. (1972) การจับและการขนส่ง Hattingh and Van Pletzen. (1974) การติดเชื้อแบคทีเรีย Barham et al. (1980) การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างฉับพลัน Munkittrick and Leatherland. (1983) การชักนำจากสารเคมี Benfey and Biron. (2000); Mattsson et al. (2001) และความเครียดแบบเฉียบพลันมีผลทำให้ Ht เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของ Ht จะส่งผลให้เซลล์เม็ดเลือดแดงบวมโดยอาจมีสาเหตุมาจากพลาสมามีปริมาณลดลง เม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อสัตว์อยู่ในภาวะเครียด ม้ามจะปล่อยเม็ดเลือดแดงออกสู่กระแสเลือดมากกว่าปกติ เพื่อเพิ่มการขนส่งออกซิเจนและมีการขยายตัวของหลอดเลือด ทำให้การไหลเวียนของเลือดและการขนส่งออกซิเจนดีขึ้น ในการทดลองยังพบว่าหลังจากการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีผลทำให้จำนวนของค่าเฉลี่ยของ MCV, MCH และ MCHC มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบ Control ซึ่งได้สอดคล้องกับการทดลองของ Affonso et al. (2002) ได้พบว่าเมื่อเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ส่งผลให้ MCHC สูงขึ้น จากการทดลองข้างต้นที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าจากการทดลองเติม N_2 ส่งผลให้เม็ดเลือดแดงเพิ่มสูงขึ้น จึงน่าจะส่งผลทำให้ MCHC เพิ่มขึ้น ซึ่งจากการรายงานของ Soivio et al. (1973) ได้ทำการทดลองโดยให้ปลาขาดออกซิเจน (Hypoxia) พบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงมีลักษณะบวม เป็นเหตุให้ค่าปริมาณของ Ht เพิ่มสูงขึ้นเนื่องจาก Hb เป็นโปรตีนที่มีมากที่สุดในเม็ดเลือดแดงทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจน O_2 จากเหงือกไปให้เซลล์ต่าง ๆ ทั่วร่างกาย นำเอาของเสียที่เกิดจากการใช้พลังงานออกจากร่างกาย คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และยิ่งมีการใช้พลังงานมากขึ้นในการพยายามปรับตัวให้เข้าสู่ภาวะปกติมากเท่าใดการแลกเปลี่ยนก๊าซภายในร่างกายก็ยิ่งสูงขึ้น ดังนั้นการทำหน้าที่ของ Hb ภายในเม็ดเลือดก็ยิ่งเพิ่มขึ้น

5.2.3 ผลของ Hypoxia ต่อค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

Glucose คือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในร่างกายโดย Glucose ในเลือดจะอยู่ในรูป Monosaccharide และโดยปกติระดับของ Glucose จะอยู่ในระดับปกติในเลือดในช่วงก่อนได้รับอาหารในแต่ละมื้อซึ่งจะอยู่ที่ระดับ 5 mmol/l ในร่างกายมนุษย์และที่สำคัญ Glucose ที่ได้มาจากกระบวนการย่อยสลายสารอาหารในร่างกายจะถูกนำมาสังเคราะห์เป็นพลังงานภายในร่างกาย ซึ่ง Glucose จะลดลงจากกระแสเลือดโดยถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานของเซลล์และเนื้อเยื่อทั่วร่างกาย และจะถูกนำไปเก็บสะสมในรูปไกลโคเจนในเซลล์ตับเมื่อพลังงานในร่างกายมีมากเกินความต้องการ การควบคุมปริมาณน้ำตาลในร่างกายนั้นเกิดจากการประสานการ

ทำงานกันระหว่างอินซูลิน ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ทำหน้าที่ลดระดับน้ำตาลในเลือดซึ่งระดับน้ำตาล Glucose ในเลือดจะเป็นตัวบ่งบอกถึงสภาวะสมดุลของน้ำตาลในร่างกาย โดยถ้ามีระดับ Glucose สูง จะพบในโรคเบาหวาน นอกจากนี้ระดับน้ำตาล Glucose ในเลือดยังสามารถที่จะบ่งบอกถึงการทำงานของตับอ่อนได้อีกด้วย เนื่องจากตับอ่อนเป็นตัวที่ทำหน้าที่ในการผลิตฮอร์โมนอินซูลิน ซึ่งถ้ามีความผิดปกติของระดับน้ำตาลในเลือด ระดับน้ำตาล Glucose ในเลือดก็จะสูงขึ้นเนื่องจากไม่สามารถที่จะควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ สำหรับค่าของ Glucose นั้น Morales et al. (2005) ถือว่า Glucose เป็นดัชนีของ Secondary stress response ทั้งในภาวะ Acute และ Chronic stress จากการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อระดับของ Glucose ในกระแสเลือดในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น จากการทดลองพบว่าระดับ Glucose ในกระแสเลือดสูงขึ้นชั่วโมงที่ 12 และ 24 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ที่เป็นเช่นนี้อาจมีสาเหตุมาจากภาวะความเครียดที่เกิดขึ้นในปลาเมื่อเกิดภาวะ Hypoxia ซึ่งเกิดจากการหลั่งของฮอร์โมน Catecholamine คือ Adrenaline, Noradrenaline และ ฮอร์โมน Glucocorticoid คือ Cortisol ความเครียดที่เกิดขึ้นในปลากระดูกแข็งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน Catecholamine และ Cortisol โดยตรง ซึ่งฮอร์โมนทั้งสองตัวนี้ จะมีผลต่อการเพิ่มระดับ Glucose เข้าสู่กระแสเลือดเพื่อสลายเป็นพลังงานในการลดภาวะเครียด และมีผลต่อเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรทและจะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ Gluconeogenesis ที่จะเปลี่ยนโปรตีนให้เป็นกลูโคสที่ตับ และยังมีผลต่อการลดการสังเคราะห์โปรตีนในเนื้อเยื่อต่าง ๆ นอกจากนี้จากการทดลองยังพบอีกว่าชั่วโมงที่ 72 ระดับ Glucose ในกระแสเลือดกลับลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง แต่ในทางกลับกันพบว่า จากการทดลองของ Affonso et al. (2002) พบว่าในปลา *Colossoma macropomum* เมื่อเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 12 - 96 ชั่วโมง จะทำให้ระดับของ Glucose ในกระแสเลือดสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ดังนั้นจากการทดลองจึงเป็นไปได้ว่าการลดลงของระดับ Glucose ในกระแสเลือดของปลาที่เกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง เกิดจากการใช้ Glucose เป็นแหล่งพลังงานในร่างกาย ซึ่งเมื่อมีการใช้สูงมากขึ้นเป็นเวลานานจะส่งให้ระดับ Glucose ในกระแสเลือดของปลาลดลงได้เช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามในทางกลับกันจากการทดลองของ วีณา และคณะ (2007) กลับพบว่า ระดับของ Glucose ในกลุ่มภาวะ Hypoxia มีแนวโน้มไม่แตกต่างจากกลุ่ม Control จึงกล่าวได้ว่า การเลี้ยงปลาในน้ำที่มี O_2 ละลายในน้ำต่ำ ๆ เป็นระยะเวลา 90 วัน ไม่อาจใช้ Glucose เป็นดัชนีบอกว่าปลาดุกเครียดได้ ควรจะใช้ค่าของ Cortisol เป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงความเครียดของปลาทั้งในภาวะ Acute และ Chronic stress

Creatine kinase (CK) หรืออีกชื่อหนึ่งคือ Creatine phosphokinase (CPK) ที่พบในไมโตคอนเดรียและในไซโตปลาสซึมของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทั่วร่างกาย เป็นเอนไซม์ที่พบในกล้ามเนื้อลาย กล้ามเนื้อหัวใจและสมอง โดยจะทำงานร่วมกับ Phosphocreatine (PCr) ซึ่ง CK จะเร่งปฏิกิริยาการ

เติมหมู่ฟอสเฟต จาก PCr ให้แก่ ADP เพื่อสร้าง ATP ส่วนในเวลาที่กล้ามเนื้อมีการพัก CK ก็จะช่วยในการเติมหมู่ฟอสเฟตให้แก่ Creatine เพื่อสร้าง PCr ดังสมการ

$$\text{สมการ : ATP + Cr} \xrightleftharpoons{\text{CK}} \text{ADP + PCr}$$

เนื่องจากเอนไซม์ CK เป็นของเสียที่เกิดจากกระบวนการเมตตาบอลิซึมจึงใช้สำหรับการตรวจการบาดเจ็บของหัวใจ กล้ามเนื้อลายและสมองเนื่องจากเอนไซม์ CK มีมากในอวัยวะเหล่านี้ และจากการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อระดับของเอนไซม์ CK ในกระแสเลือดในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นจากการทดลองพบว่าระดับ เอนไซม์ CK ในกระเลือดที่ 12 ชั่วโมงไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามพบว่าชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ระดับของเอนไซม์ CK ในกระแสเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ที่เป็นเช่นนี้อาจมีสาเหตุมาจากเซลล์กล้ามเนื้อลาย, หัวใจและสมองเกิดการบาดเจ็บ ส่งผลให้ CK ไหลออกสู่กระแสเลือด ตามปกติ CK จะพบน้อยในกระแสเลือดดังนั้นการเพิ่มขึ้นของระดับ CK ในการแสเลือดจึงเป็นตัวบ่งชี้ว่าเซลล์กล้ามเนื้อลาย, หัวใจและสมอง กำลังถูกทำลายหรืออาจเป็นไปได้ว่าปลามีการติดเชื้อในกระแสโลหิต เพราะจากผลการทดลองปลามีอาการเป็นแผลที่ปากและลำตัว จึงส่งผลกระทบต่อกล้ามเนื้อลาย, หัวใจและสมอง และยิ่งไปกว่านั้นจากการรายงานการทดลองของ Lehmann et al. (2003) พบว่าในระหว่างการเกิดภาวะ Hypoxia ได้มีเอนไซม์ CK เพิ่มสูงขึ้นซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองนี้ อีกทั้ง Yasunori, Takeshi, Yosuke and Hiromi (2003) ได้ทำการทดลองในปลา *Paralichthys olivaceus* พบว่าเมื่อเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง ส่งผลให้ระดับของ เอนไซม์ CK สูงขึ้นเช่นเดียวกัน

Alanine aminotransferase (ALT) หรือ Glutamate-pyruvate transaminase (GPT) ทำหน้าที่กระตุ้นปฏิกิริยาการย้ายหมู่ α - amino ของ alanine ไปให้ α- Ketoglutarate ได้ผลิตภัณฑ์เป็น Pyruvate และ Glutamate ดังสมการ

$$\text{สมการ : Alanine + } \alpha\text{- Ketoglutarate} \xrightleftharpoons{\text{ALT}} \text{Pyruvate + Glutamate}$$

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ แต่ในขณะที่อยู่ในภาวะของการสลายกรดอะมิโนอยู่นั้น เอนไซม์ ALT จะเร่งปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดไปในทิศทางไปข้างหน้า คือให้มีการสร้าง Glutamate และ Pyruvate ขึ้นมามากขึ้น ดังนั้นจึงอาจจะกล่าวได้ว่า Glutamate เป็นกรดอะมิโนที่ทำหน้าที่สะสม

ไนโตรเจนจาก Alanine แล้วจึงเกิดปฏิกิริยากำจัดไนโตรเจนต่อเนื่องจาก Glutamate เป็นกรดอะมิโนที่สามารถผ่านเข้าไปในไมโตรคอลเดรียซึ่งเป็นแหล่งที่เกิดวัฏจักรยูเรียเพื่อกำจัดไนโตรเจนส่วนเกินได้ หรือส่งไนโตรเจนไปสังเคราะห์สารอื่นต่อดังที่กล่าวไว้ในตอนต้นนั้นเอง ถึงแม้ระดับเอนไซม์ ALT จะมีอยู่ทั่วร่างกาย แต่จะพบ Activity สูงสุดที่ตับ เอนไซม์ ALT จึงเป็นดัชนีบ่งชี้ที่มีประโยชน์ที่สุดทางคลินิคในการวินิจฉัยโรคตับเฉียบพลันชนิดที่มีการทำลายเซลล์ตับ เมื่อเซลล์ตับถูกทำลายเอนไซม์ ALT จะถูกปล่อยออกมาจากเซลล์เข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งถ้าพบว่าระดับเอนไซม์ ALT ในเลือดลดต่ำลงกว่าปกติ อาจมีสาเหตุมาจากการสะสมไขมันในตับแต่ในทางกลับกันระดับของเอนไซม์ ALT ในเลือดสูงขึ้นเมื่อมีระดับ Alcohol ในร่างกายสูงขึ้น, ตับถูกทำลาย, มีการติดเชื้อที่ไต, มีสารพิษเข้าไปที่ร่างกายและการเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายเป็นต้น และจากการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อระดับของเอนไซม์ ALT ในกระแสเลือดในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น จากการทดลองพบว่าระดับเอนไซม์ ALT ในกระเลือดชั่วโมงที่ 12, 24 และ 48 มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นกว่ากลุ่ม Control แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าชั่วโมงที่ 72 ระดับของ ALT ในกระแสเลือดมีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control อาจมีสาเหตุมาจากการที่ตับของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นนั้นทำงานหนักมากเกินไปหรือตับอาจถูกทำลายรวมทั้งเกิดความผิดปกติของตับในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

Aspartate aminotransferase (AST) หรือ Glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT) ซึ่งถูกสร้างขึ้นในไมโตรคอลเดรียของเซลล์ เป็นเอนไซม์ที่พบในตับ Trumble et al. (2006) หัวใจและกล้ามเนื้อ โดยจะทำหน้าที่กระตุ้นปฏิกิริยาการย้ายหมู่ α - amino จาก Glutamate ไปให้ Oxaloacetate ได้ผลิตภัณฑ์เป็น Aspatate และ α - Ketoglutarate ดังสมการ

สมการ : Glutamate + Oxaloacetate $\xrightleftharpoons{\text{AST}}$ Aspatate + α- Ketoglutarate

เนื่องจาก AST เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในเซลล์ เมื่อเซลล์เหล่านั้นได้รับความเสียหายย่อมทำให้เอนไซม์ AST ถูกปล่อยออกมาจากเซลล์และทำให้ระดับของเอนไซม์ AST ในซีรั่มเพิ่มสูงขึ้น เราสามารถตรวจพบระดับของเอนไซม์ AST ในเลือดที่สูงขึ้นได้จากกรณีที่มีเนื้อเยื่อในร่างกายถูกทำลายไม่ว่าจะเป็นเนื้อเยื่อหัวใจและตับ แต่ในทางกลับกันการขาดวิตามินบีและการตั้งท้องจะทำให้ระดับของเอ็นไซม์ AST ในเลือดลดลง โดยปกติการวัดระดับเอ็นไซม์ AST ในเลือดจะใช้ในการประเมินการทำงานของตับ โดยการนำไปพิจารณาร่วมกับการตรวจวัดระดับเอ็นไซม์ ALT ในเลือดเพื่อดูพยาธิสภาพของตับ Geoffery (1998) และจากการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อระดับของเอนไซม์ AST ในกระแสเลือดในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น จากผลการทดลองพบว่าระดับเอนไซม์ AST ที่ระยะเวลา

12 ชั่วโมง มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นมากกว่ากลุ่ม Control แต่ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามพบว่าชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 ระดับของเอนไซม์ AST ในกระแสเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control อาจเป็นไปได้ว่าเกิดความผิดปกติในหัวใจ, ตับ, และกล้ามเนื้อของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

Blood Urea Nitrogen (BUN) เป็นของเสียที่เกิดจากการเผาผลาญโปรตีนถูกขับถ่ายโดยไต ซึ่ง BUN ในพลาสมาเป็นตัวที่บ่งชี้ปริมาณโปรตีนในสัตว์ Coppo. (2004) และเป็นตัวชี้วัดการทำหน้าที่ของไตร่วมกับ Creatinine ซึ่ง BUN นั้นเป็นสารตั้งต้นที่จะเปลี่ยนเป็น Creatinine ในกล้ามเนื้อและถูกกรองที่ไตส่วน BUN ที่เหลือจะถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ ค่า BUN ที่สูงขึ้นบ่งชี้ว่าไตทำงานไม่ดี, ทานอาหารประเภทโปรตีนหรือยาบางชนิดมากเกินไป, ดื่มน้ำน้อยไป, เลือดออกในลำไส้เล็กหรือการกรองของไตได้ลิ้มเหลวมากกว่า 50%, ค่าที่ต่ำบ่งชี้ว่าขาดอาหาร, การดูดซึมอาหารไม่ดี, การทำงานของตับล้มเหลว ในการศึกษาผลของ Hypoxia ต่อระดับของ BUN ในกระแสเลือดในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น จากการทดลองพบว่าระดับ BUN ชั่วโมงที่ 12 และ 24 ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตามพบว่าชั่วโมงที่ 72 ระดับของ BUN ในกระแสเลือดมีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อทำการเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากความผิดปกติในการทำงานของไตเกิดขึ้นในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

5.3 การศึกษาผลของการเติม O_2 หลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติ

5.3.1 ผลของการศึกษาคุณภาพน้ำ, ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ - ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

จากการทดลองพบว่าหลังจากการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นและได้ตรวจคุณภาพน้ำรวมทั้งลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาก่อนทำการทดลอง พบว่าคุณภาพน้ำและลักษณะภายนอกปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเป็นปกติดี ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมแก่การนำมาเลี้ยงปลาเพื่อทำการทดลองโดยที่คุณภาพน้ำมีค่า DO เท่ากับ 5.15 ± 0.14 mg/l, Alkalinity 136.00 ± 9.82 mg/l , Hardness 63.33 ± 3.33 mg/l, Temperature 28.87 ± 0.18^{o}C และ pH เท่ากับ 7.73 ± 0.01 คุณภาพน้ำดังกล่าวสามารถทำให้สัตว์น้ำอาศัยได้อย่างปลอดภัย มีการเจริญเติบโต มีความแข็งแรงและปราศจากโรค หลังจากนั้นเมื่อทำการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำโดยที่ระดับเฉลี่ยของค่า DO ลดลง เนื่องจากว่าเกิดการแทนที่ของ O_2 ในน้ำด้วย N_2 ค่า DO นั้นเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณ O_2 ที่ละลายอยู่ในน้ำ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดเนื่องจากต้องใช้ในการหายใจและเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ค่า DO ที่เป็นปกติจะอยู่ในช่วง 5 - 7 mg/dl จากการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อทำการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองส่งผลให้ระดับของ DO ลดลงเหลือ 1.04 mg/dl ซึ่งเป็นค่าที่บ่งชี้ว่าเกิดภาวะ Hypoxia

หลังจากนั้นเมื่อมีการให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ระดับของ DO เพิ่มสูงขึ้นเทียบเท่ากับกลุ่ม Control ซึ่งเป็นตัวที่บ่งบอกว่าในน้ำมี O_2 ละลายอยู่เป็นปกติ อีกทั้งยังพบว่าเมื่อทำการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ส่งผลให้ระดับของ Alkalinity ลดลง ที่ 24 ชั่วโมง หลังจากเกิดภาวะ Hypoxia ได้ทำการเติม O_2 ลงในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงระดับของ Alkalinity เทียบเท่ากับกลุ่ม Control รวมถึงการวัดระดับของ Hardness พบว่าเมื่อเกิดภาวะ Hypoxia ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ Hardness หลังจากนั้น ได้ทำการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ทำให้ระดับของ Hardness อยู่ในช่วงมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 86.67 mg/l นอกจากนี้เมื่อทำการวัดลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาหลังจากให้ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าปลามีการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกสูงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ชั่วโมงที่ 48 อีกทั้งมีแนวโน้มค่าเฉลี่ยของการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกสูงมากขึ้นชั่วโมงที่ 12 และ 24 แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยของการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติเทียบเท่ากับกลุ่ม Control นอกจากนี้จากการวัดอัตราการตายเมื่อเกิดภาวะ Hypoxia พบว่ามีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้นแต่ไม่มีผลแตกต่างทางสถิติและเมื่อให้การเติม O_2 เข้าไปในปลาหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia พบว่าค่าเฉลี่ยของทุกการทดลองไม่แตกต่างจากค่าเฉลี่ยของกลุ่ม Control และจากการศึกษาลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาจากการเติม O_2 เข้าไปในปลาหลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น พบว่าเมื่อให้ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ส่งผลให้ปลากินอาหารลดลงที่ชั่วโมงที่ 12 จนกระทั่งชั่วโมงที่ 24 และ 48 ส่งผลให้ปลาไม่มีการกินอาหาร หลังจากให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ปลามีการกินอาหารปกติเทียบเท่าได้กับกลุ่ม Control และ จากการวัดลักษณะของการว่ายน้ำของปลาพบว่าเมื่อการเติม N_2 ลงไปตู้ปลาพบว่าส่งผลให้ปลามีลักษณะการว่ายน้ำช้าลงในชั่วโมงที่ 12 และจนกระทั่งชั่วโมงที่ 24 และ 48 ปลาไม่มีการว่ายน้ำครีบของปลาห่อแต่เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ปลากลับคืนสู่สภาวะปกติซึ่งเทียบเท่ากับกลุ่ม Control อีกทั้งเมื่อวัดระดับการลอยตัวของปลาพบว่าจากการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาเป็นระยะเวลาเป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ทำให้ปลามีการเปลี่ยนแปลงของระดับการลอยตัวจากบริเวณกลางน้ำถึงผิวน้ำไปเป็นก้นน้ำสลับกับผิวน้ำชั่วโมงที่ 12 และเมื่อให้ N_2 นานมากขึ้นเป็นระยะเวลา 24 จนกระทั่งนานถึง 48 ชั่วโมงพบว่าปลามีระดับการลอยตัวจากก้นน้ำสลับกับผิวน้ำไปเป็นที่ผิวน้ำในทางกลับกันเมื่อทำการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ปลากลับคืนสู่สภาวะปกติเทียบได้กลับกลุ่ม Control นอกจากนี้เมื่อวัดสีของเหงือกปลาพบว่าหลังจากที่ทำการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0 และ12 ชั่วโมง พบว่าสีของเหงือกปลาเป็นสีแดงเข้มจนกระทั่งให้ N_2 เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ส่งผลให้สีของเหงือกปลาเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control หลังจากมีการเติม O_2 ลงไปในน้ำ

เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ทำให้ปลามีลักษณะสีของเหงือกเป็นสีแดงเข้มปกติและจากการทดลองยังพบว่าสีของลำตัวของปลามีลักษณะไปในทิศทางเดียวกับลักษณะสีของเหงือกปลาคือเมื่อให้ N_2 เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงพบว่าสีลำตัวของปลามีสีซีดลงแต่อย่างไรก็ตามการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมงไม่ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงสีของลำตัวในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นอย่างไรก็ตาม เมื่อให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ส่งผลให้สีของลำตัวของปลากลับคืนสู่สภาวะปกติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ยิ่งไปกว่านั้นยังพบอีกว่าเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีเพิ่มขึ้นเมื่อเราให้ N_2 เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมงไม่มีผลต่อเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นและเมื่อให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ปลามีเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเป็นปกติเทียบได้กับกลุ่ม Control ดังนั้น จากการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ สามารถทำให้คุณภาพของน้ำ, ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมงได้

5.3.2 ผลของการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

จากการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าจำนวนของ WBC มีจำนวนเพิ่มสูงขึ้นอาจมีสาเหตุมากจากการเติม N_2 ลงไปในน้ำซึ่งส่งผลให้ระดับของ O_2 ในน้ำลดลง การลดลงของระดับ O_2 ในน้ำเป็นปัจจัยหนึ่งของการเกิดความเครียดในสภาวะปกติเมื่อปลาเกิดความเครียดปลาจะเกิดการปรับตัวเป็นระยะเวลาหนึ่ง อย่างไรก็ตามเมื่อได้รับความเครียดเป็นเวลานานทำให้เกิดความไม่สมดุลของฮอร์โมนในร่างกายของปลาทำให้ไปยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันและส่งผลให้มีการติดเชื้อได้ง่ายขึ้นและจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าลักษณะภายนอกของตัวปลาจะมีการอักเสบ บวมแดงเป็นแผลที่ปากปลา ดังนั้นร่างกายจะสร้างเม็ดเลือดขาวมาเกาะบริเวณแผลโดยกัดกินเชื้อโรคและของเสียที่เกิดขึ้นในตัวปลาทำให้ปริมาณของเม็ดเลือดขาวสูงขึ้นจากกลุ่ม Control หลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นเวลา 48 ชั่วโมงหลังจากนั้นได้มีการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้จำนวน WBC มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่ม Control โดยที่ไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าในระยะเวลา 1 สัปดาห์ จำนวน WBC ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถที่กลับคืนเข้าสู่สภาวะเป็นปกติได้ นอกจากนี้การเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวน RBC เพิ่มสูงขึ้นและเมื่อมีการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์

พบว่ามีการลดลงของจำนวน RBC ในกระแสเลือดใกล้เคียงกับกลุ่ม Control โดยที่ไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวชี้วัดว่า ภายใน 1 สัปดาห์ ในการขาด O_2 เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จำนวนของ RBC ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ อีกทั้งจากการทดลองเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ Hematocrit หลังจากนั้นได้มีการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ Hematocrit ได้ลดลงจนกระทั่งไม่มีความแตกต่างจากกลุ่ม Control ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวชี้วัดว่าภายในระยะเวลา 1 สัปดาห์ ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ Hematocrit ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้จากทดลองเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของ Hemoglobin เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยของ Hemoglobin ได้ลดลงไม่แตกต่างจากกลุ่ม Control ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวชี้วัดว่าภายใน 1 สัปดาห์ ในการขาด O_2 เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยระดับของ Hemoglobin ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองค่าโลหิตวิทยาในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าการเกิดภาวะ Hypoxia ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า MCV, MCH และ MCHC และเมื่อมีการเติม O_2 ลงไปก็ส่งผลเช่นเดียวกันคือไม่มีการเปลี่ยนแปลงต่อค่าเฉลี่ยของ MCV, MCH และ MCHC เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ดังนั้นจากการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อทำการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์สามารถทำให้ค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับสู่สภาวะปกติหลังเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมงได้

5.3.3 ผลของการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia

จากการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าจากการทดลองเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของระดับ Glucose ลดลงโดยมีค่าที่ใกล้เคียงกับกลุ่ม Control ซึ่งไม่มีผลแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ว่าในระยะเวลา 1 สัปดาห์ ระดับ Glucose ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถที่กลับคืนเข้าสู่สภาวะเป็นปกติได้ นอกจากนี้การเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงระดับค่าเฉลี่ยของ CK สูงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งระดับ CK ที่สูงขึ้นนั้นอาจจะเป็นไปได้ว่ามีการบาดเจ็บของหัวใจ กล้ามเนื้อลายและสมองในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่ามีการลดลงของระดับ CK ในกระแสเลือดใกล้เคียงกับกลุ่ม Control โดยที่ไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวชี้วัดว่า ภายใน 1 สัปดาห์ ในการขาด O_2 เป็นระยะเวลา

48 ชั่วโมง ระดับ CK ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ อีกทั้งจากการทดลองเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของค่าเอนไซม์ ALT สูงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเป็นไปได้ว่าอวัยวะบางแห่งในตัวปลาโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ตับได้รับผลกระทบจากการขาด O_2 มีการทำงานหนักหรือมีการบาดเจ็บเกิดขึ้น หลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นเวลา 48 ชั่วโมงหลังจากนั้นได้มีการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ระดับของค่าเอนไซม์ ALT ลดลงใกล้เคียงกับกลุ่ม Control โดยที่ไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ ระดับของ ALT ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ รวมทั้งจากการทดลองค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น หลังจากนั้นเมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนดทำการเติม O_2 เข้าไปในปลาหลังจากเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ยังพบอีกว่าการเกิดภาวะ Hypoxia ส่งต่อระดับของเอนไซม์ AST ส่งผลให้มีค่าเฉลี่ยของ AST สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเอนไซม์ AST ที่สูงขึ้นนั้น อาจจะมีสาเหตุจากความเสียหายของตับ, เม็ดเลือดแดง, หัวใจ, กล้ามเนื้อ, ตับอ่อน หรือ ไต ก็อาจเป็นไปได้ หลังจากนั้นได้มีการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวชี้วัดว่าภายใน 1 สัปดาห์ ในการขาด O_2 เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ระดับของเอนไซม์ AST ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ และนอกจากนี้จากการทดลองตรวจค่าของ Cholesterol พบว่าเมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia โดยการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าส่งผลให้ระดับของ Cholesterol ลดลง ยังพบอีกว่าเมื่อมีการให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ เป็นผลให้ระดับของ Cholesterol มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวชี้วัดว่าภายใน 1 สัปดาห์ ในการขาด O_2 เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ระดับของ Cholesterol ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ ในทางกลับกันจากการทดลองพบว่าค่า BUN เมื่อมีการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Hypoxia พบว่าค่าเฉลี่ยของค่า BUN มีแนวโน้มสูงขึ้นแต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติและเมื่อมีการให้ O_2 ลงไปในตู้ปลาทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ เป็นผลให้ระดับของเอนไซม์ BUN มีการเปลี่ยนแปลงจากกลุ่ม Control โดยที่มีค่าเฉลี่ยสูงขึ้นอาจเป็นไปได้ว่าภายใน 1 สัปดาห์ ในการขาด O_2 เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ระดับของ BUN ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นไม่สามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นในการเลี้ยงปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นไม่ควรที่จะขาด O_2 นาน 48 ชั่วโมง

5.4 อภิปรายผลการทดลองทั้งหมด

จาก 3 จุดประสงค์การทดลองทั้งหมด พบว่าลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาเป็นปกติ ไม่พบสิ่งแปลกปลอมใด ๆ รวมถึงคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลา อีกทั้งค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตซึ่งอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับปลาสวยงามหรือปลาตระกูลใกล้เคียงกัน เช่น ปลาเสือ

ต่อ, ปลาหมอตาลและ ปลานิล ซึ่งค่าที่ได้นั้นสามารถนำไปใช้เป็นค่ามาตรฐานในการอ้างอิงข้อมูลพื้นฐานของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นได้

เมื่อเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง อย่างต่อเนื่อง ทำให้มีการลดลงของระดับ DO จากค่ามาตรฐาน 5.53 mg/l เป็น 1.94 mg/l เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกบางอย่าง เช่น มีการกินอาหารเหลือ 1 - 5 เม็ด มีการว่ายน้ำช้าลงและระดับการลอยตัวของปลาอยู่ที่ผิวน้ำกับก้นน้ำสลับไปมา มีค่าของ Ht เพิ่มสูงขึ้นจากกลุ่มควบคุมและค่ามาตรฐาน จาก 22.30 เป็น 27.87% และมีระดับของ Glucose เพิ่มสูงขึ้นจากกลุ่มควบคุมและค่ามาตรฐานเช่นเดียวกัน คือ จาก 56.34 เป็น 72.60 mg/dl จะเห็นได้ชัดเจนว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นพยายามปรับสมดุลเพื่อให้ทนต่อการเกิดภาวะ Hypoxia มีการดึง Glucose ออกมาใช้เป็นแหล่งพลังงานและมีการสลาย Cholesterol เป็นแหล่งพลังงานด้วยเช่นเดียวกัน จึงส่งผลให้ Cholesterol ลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกลับกลุ่มควบคุมและค่ามาตรฐานจาก 177.71 เป็น 151.93 mg/dl การที่ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปในน้ำ 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ระดับ DO, ค่า Ht, Glucose และ Cholesterol กลับคืนเป็นปกติไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและค่ามาตรฐาน

เมื่อเกิด Hypoxia ยาวนานขึ้นเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ส่งผลให้ระดับ DO ลดลงเหลือ 1.36 mg/l มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกรุนแรงมากขึ้น เช่น มีการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและค่ามาตรฐาน จาก 60.67 เป็น 80.00 ครั้ง/นาที จะเห็นได้ว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นพยายามที่จะเพิ่มการแลกเปลี่ยน O_2 ให้มากขึ้น อีกทั้งยังลดกระบวนการ metabo - lism มีการว่ายน้ำช้าลง ครีบห่อ สีของตัวปลาและสีของเหงือกปลาซีดจากกลุ่มควบคุม เริ่มมีปริมาณเมือกที่ขับออกมามากขึ้น มีการกินอาหารเหลือ 11-15 เม็ด นอกจากนี้ ระดับของ Ht, Glucose, CK, AST เพิ่มสูงขึ้นจากกลุ่มควบคุมและค่ามาตรฐาน จากจุดนี้ จะเห็นได้ว่าเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของระดับ CK และ AST หมายความว่ามีการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ, กล้ามเนื้อลาย, ตับและไตมากขึ้นจนเกิดความผิดปกติของกล้ามเนื้อ และยังพบอีกว่าระดับของ Cholesterol ยังลดต่ำลงเรื่อย ๆ เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปในน้ำเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้ระดับ DO, ค่า Ht, Glucose CK, AST และ Cholesterol กลับคืนเป็นปกติอย่างสมบูรณ์ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและค่ามาตรฐาน

เมื่อเกิด Hypoxia ยาวนานขึ้นเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง อย่างต่อเนื่อง ทำให้มีการลดลงของระดับ DO จากค่ามาตรฐาน 5.53 mg/l เป็น 0.84 mg/l มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกรุนแรงมากขึ้น ไม่มีการกินอาหารเลย มีการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกสูงมากขึ้น แต่ไม่มีการว่ายน้ำครีบห่อ เริ่มมีการทรงตัวอยู่กับที่นาน ๆ สีของเหงือกและลำตัวซีดลง มีการขับเมือกมากขึ้นโดยมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่น และมีกลิ่นคาว นอกจากนี้การเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ยังส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของระดับ Ht, CK, AST เพิ่มสูงขึ้นจากกลุ่มควบคุมและค่ามาตรฐานและมีระดับของ Cholesterol ยังลดต่ำลงเรื่อย ๆ อีกทั้งยังพบอีกว่ามีการเพิ่มขึ้นของค่า BUN เพิ่มสูงขึ้น หมายความว่า

เกิด Hypoxia ยาวนานขึ้นเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ส่งผลให้มีการทำงานของไตมากขึ้นและเกิดความผิดปกติที่ไต เมื่อทำการเติม O_2 ลงไปในน้ำเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าลักษณะภายนอกและค่าโลหิตวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไปแต่สามารถกลับคืนเป็นปกติได้อย่างไรก็ตามมีค่าชีวเคมีบางค่ายังไม่สามารถกลับคืนเป็นปกติได้ คือ BUN จากจุดนี้ จึงทำให้ทราบว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นขาด O_2 ได้นานไม่เกิน 48 ชั่วโมง เพราะจะเกิดความเสียหายต่อไตได้ ยิ่งไปกว่านั้นจากการทดลอง เมื่อเกิด Hypoxia ยาวนานยิ่งขึ้นเป็นระยะเวลาถึง 72 ชั่วโมง ส่งผลให้ระดับ DO ลดลงเหลือ 0.87 mg/l ทำให้มีอัตราการตายสูงถึง 46.67% มีการเปลี่ยนแปลงทั้งลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา อีกทั้งค่าโลหิตวิทยาอาทิ เช่น การเพิ่มขึ้นของ RBC, WBC, Ht, Hb และ MCHC ที่สูงขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมและค่ามาตรฐาน รวมถึงค่าชีวเคมีของโลหิต คือ ระดับของ CK, AST, ALT และ BUN เพิ่มสูงขึ้นมากจากค่ามาตรฐานด้วยเช่นกัน ชี้ให้เห็นว่า การทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกายของปลาได้ทำงานผิดปกติไปหรือเกิดความเสียหายอย่างรุนแรง และจากการทดลองระดับของ Cholesterol และ Glucose ยังลดต่ำลงเรื่อย ๆ เมื่อนำค่าที่สำคัญบางค่าที่เป็นตัวบ่งชี้ว่าเกิดความเสียหายต่ออวัยวะต่าง ๆ มาทำการวิเคราะห์หาแนวโน้ม ด้วยการวิเคราะห์ Trend Analysis ในโปรแกรม SPSS for Windows 10.0 พบว่า ระดับของ ALT, AST, CK เพิ่มสูงขึ้นแบบเส้นตรง (linear) และระดับของ BUN เพิ่มสูงขึ้นแบบเส้นโค้ง กำลังสอง (quadratic)

การเกิด Hypoxia เป็นระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถที่จะกลับคืนสู่ภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ถ้าเกิด Hypoxia นานเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นยังมีค่าชีวเคมีของโลหิตบางค่า อาทิ เช่น BUN ยังไม่สามารถกลับเป็นภาวะปกติได้ ดังนั้นจากการทดลองจึงสรุปได้ว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถขาด O_2 ได้นานไม่เกิน 48 ชั่วโมง ในสถานการณ์ปกติ ค่า DO เท่ากับ 0.84 mg/l

5.5 รายการอ้างอิง

ธเนศ ชินวราภรณ์, สกนธ์ จันทรอัมพร, อัมพล ทองสิมา, นันทริกา ชันซื่อ, ธีรศักดิ์ มาตาเดิม, อมรัตน์ ทัศนกิจ และ อัจฉริยา ไศละสูต (2003). ข้อมูลพื้นฐานทางโลหิตวิทยาและค่าทางสรีรวิทยาของปลาเสือต่อ. **เวชชสารสัตวแพทย์**. 33 : 29-36.

นันทริกา ชันซื่อ และ มนทกานติ์ วงศ์ภากร. (2006). ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกของเลือดปลาหมอตาลในบ่อเพาะเลี้ยงจังหวัดสุพรรณบุรี. **Thai-NIAH eJournal**. 1 : 108-115.

นันทริกา ชันซื่อ และ สมหวัง พิมลบุตร (2007). การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับค่าทางเคมีในเลือดของปลาน้ำจืดในวงศ์ปลาตะเพียนหรือปลาคาร์พ (Family Cyprinidae). **สัตวแพทยสาร**. 58 : 22-31.

วีณา เคยพุดซา, มาลินี กิตกำธร, เกสร สะดู่, และ อัจฉริยา ไศละสูต (2007). ผลของออกซิเจนละลายในน้ำต่ำระยะสั้น (DO 0 ppm, 3 ชั่วโมง) และออกซิเจนละลายในน้ำต่ำระยะยาว (DO 3-4 ppm, 90 วัน) ต่อค่าทางโลหิตวิทยาของปลาดุก. **วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 1-21.

ส่งศรี มหาสวัสิ์ (2532). **เอกสารประกอบการสอนวิชาสรีรวิทยาของสัตว์น้ำ**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 185.

ส่งศรี มหาสวัสิ์ และ รุ่งกานต์ กล้าหาญ (2546). สรีรวิทยาของปลาในลุ่มน้ำเขื่อนป่าสักชลสิทธิ. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาตร์** ครั้งที่ 41 : สาขาประมง. หน้า 344-351.

อมรัตน์ ทัศนกิจ และ อัจฉริยา ไศละสูต. (2003). ข้อมูลพื้นฐานทางโลหิตวิทยา และค่าทางสรีรวิทยาของปลาเสือตอ. **เวชชสารสัตวแพทย์**. 33(4) : 29-36.

Affonso, E. G., Polez ,V. L., Correa, C. F., Mazon, A. F., Araujo, M. R., Moraes, G., and Rantin, F. T. (2002) .Blood parameters and metabolites in the teleost fish Colossoma macropomum exposed to sulfide or hypoxia. **Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol**. 133 : 375-382.

Barham, W. T., Smit, G. L., and Schoonbee, H. J. (1980). The haematological assessment of bacterial injection in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. **Journal of Fish Biology**. 17 : 275-281.

Benfey, T. J., and Biron, M. (2000). Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). **Aquaculture**. 184 : 167-176.

Blaxhall, C. P. (1972). The haematological assessment of the health of freshwater fish. **Journal of Fish Biology**. 4 : 593-604.

Breitburg, D. L. (1992). Episodic hypoxia in Chesapeake Bay: interacting effects of recruitment, behavior, and physical disturbance. **Ecol. Mono**. 62 : 525-546.

Coppo, J. A. (2004). Biochemistry demonstration of malnutrition state in early weaned half-bred Zebu calves. **Revista de Investigaciones Aropecuarias**.33 : 81-100.

Doudoroff, P., and Shumway, D. L. (1970). Dissolved oxygen requirements of freshwater fishes. **Bibliography**. 276-291.

Feldman, B. F., Zinkl, J. G., and Jain, N. C. (2000). Hematology of fish. **Veterinary Hematology**. 1120-1125.

Geoffery, Z. (1998). **Biochemistry** (4th ed.). Wm. C. Bromn Publishers. Fish. Tech. Pap. FAO United Nations 86 : 291 pp.

Guijarro, A. I., Patino, M. A. L., Piillos, M. L., Isorna, E., Pedro, N. D., Alonso-Gomen, A. L., Alonso-Bedate, M., and Delgado, M. J. (2003). Seasonal changes in hematology and metabolic resources in the tench. **Journal of Fish Biology**. 62 : 803-815.

Hall, F. G. (1928). Blood concentration in marine fishes. **Journal of Biological Chemistry**. 76:623-631.

Hall, F.G., Gray, I. E., and Lepkovsky, S. (1926). The influence of asphyxiation on the blood constituents of marine fishes. **Journal of Biological Chemistry**. 67 : 549-554.

Hattingh, A. J. J., and Van Pletzen. (1974). The influence of capture and transportation on some blood parameters of fresh water fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part A. 49 : 607-609.

Hrubec, T. C., Cardinale, J. L., and Smith, S. A. (2000). Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (Oreochromis Hybrid). **Veterinary Clinical Pathology**. 29 : 7-12.

Kirk, W. L. (1974). The effects of hypoxia on certain blood and tissue electrolytes of channel catfish, ictalurus punctatus (Rafinesque). **Transactions of the American Fisheries Society**.103 : 593-600.

Landry, C. A., Steele, S. L., Manning, S., and Cheek, A. O. (2007). Long term hypoxia suppresses reproductive capacity in the estuarine fish, *Fundulus grandis*. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 148 : 317-323.

Lehmann, D., Johnson, A., Levine, J., and Law, J. (2003). Hypoxia as a source of oxygen radical damage in Atlantic Menhaden. **The Society of Environmental Toxicology and Chemistry**.

Mattsson, K., Lehtinen, K. J., and Tana, J. (2001). Effects of pulp mill effluents and restricted diet on growth and physiology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 49 : 144-154.

Morales, A. E., Cardenete, G., Abellan, E., and Garcia-Rejon L. (2005). Stress-related physio logical responses to handling in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758). **Aquaculture Research**. 36 : 33-40.

Munkittrick, R. K., and Leatherland, J. F.(1983). Haematocrit values in feral goldfish, *Carassius auratus* L., as indicators of the heath of the population. **Journal of Fish Biology**. 23 : 153-161.

Muusze, B., Marcon, J., Thillart, G., and Almeida-Val,V. (1998). Hypoxia tolerance of amazon fish respirometry and energy metabolism of the cichlid *Astronotus Ocellatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A** .120 : 151-156.

Ottolenghi, C., Puviani, A. C., Ricci, D., Brighenti, L., and Morsiani, E. (1995). The effect of high temperature on blood glucose level in two teleost fish (*Ictalurus melas* and *Ictalurus punctatus*), **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**. 11 : 229-235.

Rakovac, R. C., Perovic, I. S., Hacmnjek, M., Popovic, N. T., Lipej, Z., and Sostaric, B. (2005). Blood Chemistry and Histological Proerties of Wild and Cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in the North Adriatic Sea. **Veterinary Research Communication**. 29 : 677-687.

Shahsavani, D., Mohri, M., and Gholipour Kanan, H. (2010). Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. **Fish Physiol Biochem**. 36 : 39-43.

Soivio, A., Westman, K., and Nyholm, K. (1974). The influence of changes in oxygen tension on the hematocrit value of blood samples from asphyxic rainbow trout *(Salrno gairdneri)*. **Aquaculture**. 3 : 395-401.

Soldatov, A. A. (1995). The effect of hypoxia on red blood cells of flounder: a morphologic and autoradiographic study. **Journal of Fish Biology**. 48 : 321-328.

Swift, D. J., and Lloyd, R. (1974). Changes in urine flow and haematocrit value of rainbow trout Salmo gairdneri (Richardson) exposed to hypoxia. **Journal of Fish Biology**. 6 : 379-387.

Torres, J. J., and Somero, G. N. (1988). Vertical distribution and metabolism in Antarctic mesopelagic fishes. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 90B : 521-528.

Trumble, S. J., Castellini, M. A., Mau, T. L., and Castellini, J. M. (2006). Dietary and seasonal influences on blood chemistry and hematology in captive harbor seals. **Marine mammal science**. 22(1) : 104-123.

Well, R. M. G., Grigg, G. C., Beard, L. A., and Summers, G. (1989). Hypoxia responses in a fish from a stable environment:blood oxygen transport in the Antarctic fish Pagothenia borchgrevinko. **Journal of Experimental Biology**. 141 : 97-111.

Wurt, W. A., and Durborow, R. M. (1992). Interactions of pH, carbon dioxide, alkalinity and hardness in fish ponds. SRAC Publication, Kentucky, USA. No. 464. 4 p.

Yasunori, I., Takeshi, K., Yosuke,Y., and Hiromi, O. (2003). Ontogenic changes in tolerance to hypoxia and energy metabolism of larval and juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 352 : 42-49.

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

6.1 การศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น

จากการศึกษาลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบัน ที่ทำการคละเพศ พบว่าในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นไม่พบสิ่งผิดปกติใด ๆ รวมทั้งปรสิตภายนอกและการเป็นโรคปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือก อยู่ที่ 60.67 ± 4.62 ครั้ง/นาที การกินอาหาร ลักษณะของการว่ายน้ำหรือการทรงตัวของปลา สีลำตัวของปลา เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวนั้นปกติ ระดับของการลอยตัวของปลาอยู่บริเวณกลางน้ำถึงผิวน้ำ มีสีของเหงือกสีแดงสด และจากการตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นอยู่ในช่วงปกติตามมาตรฐานโดยมีค่า DO เท่ากับ 5.53 ± 0.07 mg/l อุณหภูมิ (Temperature) 28.43 ± 0.09^{o}C ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) อยู่ที่ 7.65 ± 0.09 ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) 153 ± 29.44 mg/l และค่าความกระด้างของน้ำ (Hardness)อยู่ที่ 110 ± 10.00 mg/l จากการศึกษาผลของค่าโลหิตวิทยา WBC, RBC, Hb, Ht, MCV, MCH และ MCHC ของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันพบว่าในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีค่าของจำนวน WBC ท่ากับ 3.15 ± 1.10 x10^{3} cell/µl จำนวนของ RBC เท่ากับ 1.73 ± 0.32x10^{6} cell/µl จำนวนของปริมาณ Hb เท่ากับ 7.50 ± 1.74 g/dl จำนวนของปริมาณ Ht เท่ากับ 22.30 ± 3.88% จำนวนของปริมาณ MCV เท่ากับ 110.20 ± 46.22 fl จำนวนของปริมาณ MCH เท่ากับ 37.88 ± 8.95 pg และจำนวนของปริมาณ MCHC เท่ากับ 34.64 ± 8.52 g/dl จากการศึกษาผลของค่าชีวเคมีของโลหิตมี Glucose, CK, ALT, AST, BUNและ Cholesterol ของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นิยมเลี้ยงในปัจจุบันพบว่าในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีค่าของระดับ Glucose ในกระแสเลือดเท่ากับ 56.34 ± 11.48 mg/dl ระดับของ CK ในกระแสเลือดเท่ากับ 752.52 ± 495.86 U/l มีระดับของเอ็นไซม์ ALT ในกระแสเลือดเท่ากับ 4.58 ± 3.18 U/l ระดับของเอ็นไซม์ AST ในกระแสเลือดเท่ากับ 30.71 ± 18.71 U/l มีระดับของ BUN ในกระแสเลือดเท่ากับ 1.22 ± 0.46 mg/dl และระดับของ Cholesterol ในกระแสเลือดเท่ากับ 177.71 ± 33.78 mg/dl ซึ่งค่าที่ได้นั้นสามารถนำไปใช้เป็นค่ามาตรฐานในการอ้างอิงข้อมูลพื้นฐานของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นได้

6.2 การศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาว - เวอร์ฮอร์น

ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะ เวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง สามารถสรุปได้ว่าจากการศึกษาลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น หลังจากที่มีการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาเป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนครั้งในการขยับของฝาปิดแผ่นเหงือกชั่วโมงที่ 24, 48 และ 72 สูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามพบว่าชั่วโมงที่ 12 ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ จาการทดลองยังส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ของอัตราการตายที่ชั่วโมง 72 สูงขึ้น ในทางกลับกันจากการศึกษาครั้งนี้กลับพบว่าในการเติม N_2 เป็นระยะเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติของเปอร์เซ็นต์อัตราการตาย อีกทั้งจากการศึกษาผลของการเติม N_2 ลงไปในตู้ปลาเป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าส่งผลให้ปลามีการกินอาหารลดลงที่ชั่งโมงที่ 12 จนกระทั้งชั่วโมงที่ 24 , 48 และ 72 ส่งผลให้ปลาไม่มีการกินอาหาร รวมทั้งการว่ายน้ำที่มีการว่ายน้ำช้าลงและจนถึงชั่วโมงที่ 72 ปลาไม่มีการว่ายน้ำครีบของปลาห่อ อีกทั้งระดับของการลอยตัวของปลาเมื่อได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48และ 72 ชั่วโมง ส่งผลให้ปลามีการเปลี่ยนของระดับการลอยตัวจากชั่วโมงที่ 12 ถึง 24 ปลาเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงจากบริเวณกลางน้ำถึงผิวน้ำไปเป็นก้นน้ำสลับกับผิวน้ำและเมื่อได้รับ N_2 นานมากขึ้นเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีระดับการลอยตัวเปลี่ยนจากก้นน้ำสลับกับผิวน้ำไปเป็นผิวน้ำ ยิ่งไปกว่านั้นยังพบอีกว่าเมื่อมีการให้ N_2 เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ส่งผลทำให้ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีระดับการลอยตัวอยู่ที่ก้นน้ำและปลามีลักษณะหงายท้องสลับไปมา จากการทดลองยังพบอีกว่า เมื่อปลาได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลต่อสีของเหงือกปลาจากกลุ่มของ Control ที่มีลักษณะสีของเหงือกปลาเป็นสีแดงเข้มเป็นปกติ แต่กลับพบว่าเมื่อให้ N_2 ไปจนกระทั้งครบ 72 ชั่วโมง ปลามีลักษณะสีของเหงือกปลามีสีซีดลงเป็นสีแดง และจากการทดลองยังพบว่าสีของลำตัวของปลามีลักษณะไปในทิศทางเดียวกับลักษณะสีของเหงือกปลา คือเมื่อให้ N_2 เป็นระยะเวลาถึง 72 ชั่วโมง ปลาจะมีลักษณะสีของลำตัวปลาซีดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ยิ่งไปกว่านั้นยังพบอีกว่าเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวของ ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีเพิ่มขึ้นเมื่อเราให้ N_2 เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง จากการตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลาเพื่อศึกษาผลของ Hypoxia ต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่ได้รับ N_2 เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าระดับของค่า DO ในกลุ่ม Control มีค่าเท่ากับ 5.53 mg/l แต่เมื่อเราให้ N_2 เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าระดับของ DO ลดลงอย่าง เท่ากับ 1.94 mg/l และยังพบอีกว่าในการเติม N_2 ลงไปเรื่อยๆส่งผลให้มีการลดลงของระดับ DO จนกระทั้งครบระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 5.53, 1.94, 1.36, 0.84 และ

0.78 mg/l ตามลำดับ แต่ในทางกลับกันจากการทดลองเติม N_2 เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าไม่มีผลต่อระดับของ Alkalinity นอกจากนี้การเติม N_2 ลงไปในตู้ปลายังส่งผลให้ระดับของ Hardness ลดลง ชั่วโมงที่ 48 และ 72 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 110, 70 และ 80 mg/l และการเกิดภาวะ Hypoxia ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นนั้นส่งผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยา โดยส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนของ RBC และมีการเพิ่มขึ้นของ WBC ที่ระยะเวลา 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกลับกลุ่ม control นอกจากนี้การเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ยังส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของค่า Hb, Ht, MCV, MCH และ MCHC เมื่อเปรียบเทียบกลับกลุ่ม Control และการเกิดภาวะ Hypoxia ยังส่งผลต่อค่าชีวเคมีของโลหิต โดยส่งผลทำให้ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นมีระดับเอ็นไซม์ CK และ AST ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นที่ระยะเวลา 24, 48 และ72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกลับกลุ่ม Control นอกจากนี้ยังส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับ BUN ในกระแสเลือดที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง อีกทั้งยังมีการเพิ่มขึ้นของระดับเอ็นไซม์ ALT ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกลับกลุ่ม Control ในทางกลับกันยังพบอีกว่าการเกิดภาวะ Hypoxia ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นนั้นส่งผลทำให้มีการลดลงของระดับ Cholesterol ในกระแสเลือดที่ระยะเวลา 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกลับกลุ่ม Control แต่ในทางตรงกันข้ามการเกิดภาวะ Hypoxia ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับ Glucose ในกระแสเลือดที่ชั่วโมงที่ 12 และ 24 และมีการลดลงของระดับ Glucose ที่ชั่วโมงที่ 72 และ จากข้อมูลที่ได้มาจะเห็นได้ว่าเมื่อเกิดภาวะ Hypoxia ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำ ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา, ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิต โดยมีลักษณะที่แสดงอาการผิดปกติตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 ขึ้นไป โดยมีค่า DO เท่ากับ 0.84 mg/l จึงถือว่าเป็นโอกาสที่จะนำไปใช้ในการขนส่งหรือวงการเพาะเลี้ยงปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น จากข้อมูลดังกล่าวจึงนำมาทำการทดลองในจุดประสงค์ที่ 3 เพื่อศึกษาว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนสู่สภาวะปกติได้จริงหรือไม่

6.3 การศึกษาผลของการเติม O_2 เข้าไปในปลาหลังจากเกิด Hypoxia ต่อการกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติ

ผลของการศึกษาคุณภาพน้ำ ลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าหลังจากที่ทำการเติม O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ส่งผลให้คุณภาพน้ำซึ่งประกอบด้วย DO, Alkalinity, Hardness, Temperature และ pH อยู่ในช่วงปกติโดยไม่แตกต่างจากกลุ่ม Control อีกทั้งลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นก็เป็น ไปในทิศทางเดียวกันคือกลับคืนสู่สภาพปกติภายใน 1 สัปดาห์ ได้แก่ การขยับของฝาปิดแผ่นเหงือก, การกินอาหาร, อัตราการตาย, ลักษณะของการว่ายน้ำ, ระดับของการลอยตัว, สีของเหงือกปลา, สีของลำตัวของปลาและเมือกที่ปกคลุมเหงือกกับลำตัว

จากการทดลองผลของการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิดภาวะ Hypoxia สามารถสรุปได้ว่าจำนวนของ WBC, RBC, Ht, Hb, MCV, MCH, MCHC ในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นสามารถกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 1 สัปดาห์ และนอกจากนี้จากการศึกษาค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเมื่อกลับคืนเข้าสู่สภาวะปกติหลังเกิดภาวะ Hypoxia เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง สามารถสรุปได้ว่า Glucose , CK, ALT, AST, Cr, Cholesterol เป็นไปทิศทางเดียวกันคือกลับคืนสู่สภาพปกติภายใน 1 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณ BUN นั้นเพิ่มสูงขึ้นยังไม่กลับคืนสู่สภาวะปกติ หลังจากที่มีการให้ O_2 เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ดังนั้นจากการทดลองจึงสรุปได้ว่าปลาฟลาวเวอร์ฮอร์ สามารถขาด O_2 ได้นานไม่เกิน 48 ชั่วโมง หรือมีค่า DO ไม่เกิน 1.04 mg/l

6.4 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษามาทั้งหมดทำให้ทราบว่าค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิตในปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นซึ่งสามารถใช้เป็นค่ามาตรฐานอ้างอิงในการทำวิจัยและเพื่อใช้ในธุรกิจการเลี้ยงปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นซึ่งจากผลของงานวิจัยบ่งชี้ให้เห็นว่าภาวะการขาด O_2 (Hypoxia) ส่งผลให้เกิดผลกระทบต่อตัวปลาจากน้อยไปมาก โดยพบว่าปลาสามารถทนต่อภาวะนี้ได้นานไม่เกิน 48 ชั่วโมงเท่านั้น จึงจะไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นในระยะยาว และ ในการศึกษาต่อไปในอนาคตควรที่จะศึกษาค่า Cortisol ร่วมด้วยเพื่อเป็นตัวยืนยันที่แน่ชัดว่าเกิดความเครียดแน่นอน อีกทั้งในการศึกษาต่อไปในอนาคตควรนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้ไปทดลองใช้จริงในการบรรจุหีบห่อและขนส่งจริงร่วมด้วย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

ระดับพฤติกรรมของปลาและขั้นตอนการตรวจวัดตัวอย่างของเลือดปลา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. การสังเกตลักษณะภายนอกและพฤติกรรมของปลา

การขยับตัวของฝาปิดแผ่นเหงือก

การขยับตัวของฝาปิดแผ่นเหงือกในปลา เป็นตัวบ่งบอกได้ถึงสุขภาพของปลาว่าเป็นอย่างไร ปลาที่หายใจเร็วขึ้น อาจเกิดจากสาเหตุจากร่างกายปลาต้องดึงเอา O_2 ที่มีอยู่ในน้ำมาใช้ในปริมาณมากกว่าปกติ ดังนั้นระบบการหายใจของปลาจะทำงานมากกว่าปกติ อาการเหล่านี้อาจเกิดได้จากสาเหตุ ปลากัดกัน ปลาตกใจ ปลากินอาหารและการขาด O_2 ในน้ำ ปลาที่หายใจช้าลงหรือทิ้งช่วงเป็นระยะ อาจเกิดจากระบบหายใจทำงานช้าลง เนื่องจากปลาป่วย (ใกล้ตาย) การน็อกน้ำหรืออยู่ในช่วงระยะเวลาปลานอนหลับ จากการทดลองในครั้งนี้ได้สังเกตการปิด-เปิดของแผ่นปิดเหงือกและการอ้าปากของปลา โดยนับจำนวนการเปิด-ปิดของแผ่นเหงือกในเวลา 1 นาที วิธีการนับจะนับจากการเปิดและปิดจะนับเป็น 1 ครั้ง นับไปเรื่อย ๆ จนครบ 1 นาที

การกินอาหาร

การเฝ้าสังเกตพฤติกรรมและการกินอาหารของปลา จะมีส่วนช่วยในการตรวจสอบเบื้องต้นว่า ปลาเกิดปัญหาหรือไม่ จากการทดลองในครั้งนี้ทำการให้อาหารปลาในอัตรา 5% ของน้ำหนักตัวปลา สังเกตการกินอาหารเป็นเวลา 10 - 20 นาที แล้วพิจารณาการกินอาหารของปลาอย่างสม่ำเสมอหรือไม่ หลังจากนั้นทำการนับจำนวนเม็ดอาหารปลาที่เหลือในตู้ปลา และให้เกณฑ์ดังแสดงในตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 ปริมาณอาหารที่ปลากินเหลือ

ปริมาณของอาหารที่ปลากิน	ค่าระดับพฤติกรรมของปลา
ปกติ ไม่มีอาหารเหลือ	0
มีอาหารเหลือ 1 - 5 เม็ด	1
มีอาหารเหลือ 6 - 10 เม็ด	2
มีอาหารเหลือ 11 - 15 เม็ด	3
ไม่กินอาหาร คือมีอาหารเหลือ 16 - 20 เม็ด	4

ลักษณะของการว่ายน้ำ

สังเกตว่าลักษณะของการว่ายน้ำผิดปกติไปจากเดิมหรือไม่ ลำตัวสั่นและมีลักษณะการว่ายน้ำส่ายลำตัวอย่างรุนแรงหรือไม่ ลักษณะทิศทาง มีความกระตือรือร้น มีการพยุงตัวและการทรงตัวได้ดีหรือไม่ ลำตัวแข็งหรือการทรงตัวอยู่กับที่นานเกินผิดปกติหรือไม่ การขยับของครีบอกและท้อง

ต่อเนื่องหรือไม่ ครีบของปลามีลักษณะห่อหรือกางมากเกินไปไหม มีปลาที่ว่ายเบียดเสียดถูกับพื้นหรือขอบของตู้ปลาหรือไม่ซึ่งอาจจะติดเชื้อปรสิต และมีการให้เกณฑ์ดังแสดงในตารางที่ ก.2

ตารางที่ ก.2 ลักษณะการว่ายของน้ำปลา

ลักษณะของการว่ายน้ำ	ค่าระดับพฤติกรรมของปลา
ปกติอย่างสม่ำเสมอ	0
ว่ายช้าลงไม่ต่อเนื่อง	1
ว่ายช้าลงและครีบห่อ	2
ไม่ว่ายน้ำครีบห่อเริ่มมีการทรงตัวอยู่กับที่นาน	3
ไม่มีการว่ายน้ำ นิ่งอยู่ก้นตู้ปลา	4

ระดับการลอยตัวของตัวปลา

ระดับการลอยตัวของตัวปลา โดยสังเกตการลอยตัวของปลา อยู่ที่ระดับบริเวณผิวน้ำ กลางน้ำหรือใต้น้ำสลับขึ้นลงไปมาของตู้เลี้ยงปลาและการว่ายน้ำต้องว่ายได้อย่างอิสระมีความผิดปกติไปจากเดิมหรือเปล่า และให้เกณฑ์ดังแสดงในตารางที่ ก.3

ตารางที่ ก.3 ระดับการลอยตัวของตัวปลา

ระดับการลอยตัวของตัวปลา	ค่าระดับพฤติกรรมของปลา
ปกติ คืออยู่ที่บริเวณผิวน้ำ กลางน้ำและใต้น้ำสลับขึ้นลงไปมา	0
ก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมา	1
ก้นน้ำสลับกับผิวน้ำขึ้นลงไปมาอย่างช้าๆ	2
อยู่ที่บริเวณผิวน้ำเป็นเวลานานและปลามีอาการอ้าปาก	3
ก้นน้ำและนอนตะแคงไปมาเริ่มหงายท้อง	4

ดูสีของเหงือก

เหงือกมีส่วนสำคัญอย่างยิ่งต่อสุขภาพความเป็นอยู่ของปลา อะไรก็ตามที่ลดประสิทธิภาพการทำงานของเหงือกจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพของปลาทั้งในแบบฉับพลันและผลในระยะยาว จากการทดลองนี้ดูความผิดปกติของเหงือกปลาโดยสังเกตจากสีของเหงือกปลา ดูเป็นธรรมชาติ มีสีแดงสดเข้มหรือสีแดงอ่านลงออกแกรมน้ำตาลหรือไม่ โดยมีการให้เกณฑ์ดังแสดงในตารางที่ ก.4

ตารางที่ ก.4 สีของเหงือกปลา

ลักษณะสีของเหงือก	ค่าระดับพฤติกรรมของปลา
ปกติมีสีแดงสดเข้ม	0
สีแดงอ่อนลง	1

สีของลำตัว

สังเกตความผิดปกติสีของตัวปลา โดยดูสีของตัวปลาว่าปกติเป็นธรรมชาติสดใสหรือไม่ บริเวณผิวของตัวปลาเกิดบาดแผลหรือการบวมอักเสบหรือเปล่า และมีการให้เกณฑ์ดังแสดงในตารางที่ ก.5

ตารางที่ ก.5 ลักษณะสีของปลา

ลักษณะสีของลำตัว	ค่าระดับพฤติกรรมของปลา
ปกติ ดูเป็นธรรมชาติ	0
มีสีซีดลง ดูไม่เป็นธรรมชาติ	1

เมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวปลา

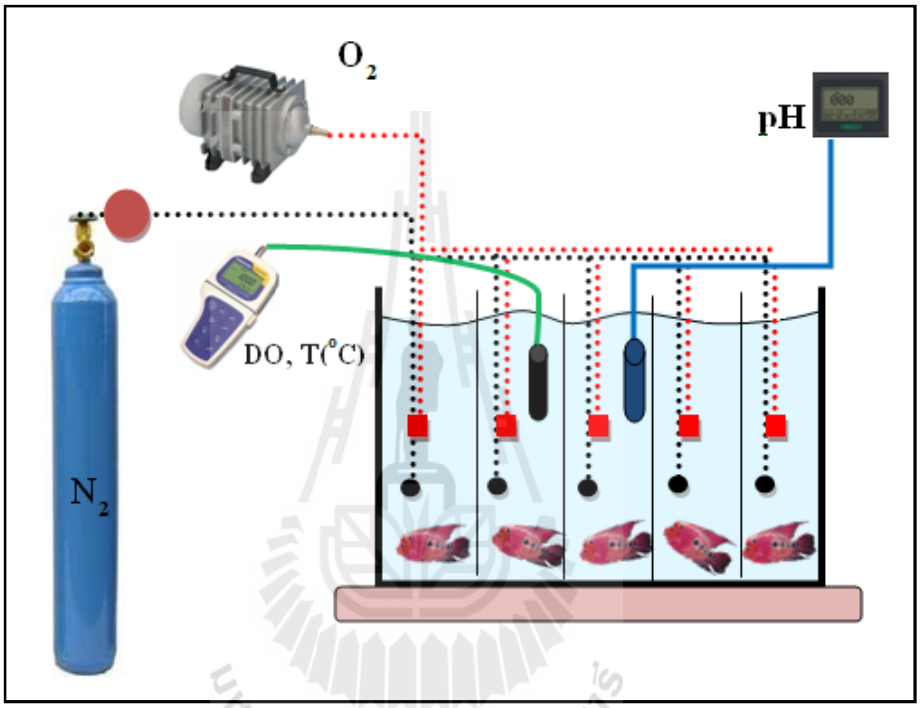
ลักษณะเมือกของปลาทั่วไปมักจะไม่มีสีหรือใส ทำหน้าที่ในการดักจับจุลชีพไม่ให้เคลื่อนที่เข้าสู่เนื้อเยื่อ การผลิตเมือกของปลาจะเพิ่มขึ้น เมื่อมีการตอบสนองต่อการติดเชื้อโรคหรือการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ จากการทดลองนี้จะสังเกตว่าลักษณะของเมือกปลาที่ทำการทดลองมีความผิดปกติไปจากเดิมหรือไม่ โดยพิจารณาจากลักษณะดังต่อไปนี้ สีของเมือกปลา การเพิ่มขึ้นของปริมาณเมือกและกลิ่นของเมือก มีการให้เกณฑ์ดังแสดงในตารางที่ ก.6

ตารางที่ ก.6 ลักษณะเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวปลา

ลักษณะเมือกที่ปกคลุมเหงือกและลำตัวปลา	ค่าระดับพฤติกรรมของปลา
ปกติ คือลักษณะของเมือกจะใส	0
เมือกมากขึ้นยืดเหนียวใส	1
เมือกมากขึ้นเหนียวใสถึงขาวขุ่น	2
เมือกมากขึ้นเหนียวใสถึงขาวขุ่น มีกลิ่นคาว	3
เมือกมากขึ้นยืดเหนียวมีสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนมและมีกลิ่นคาว	4

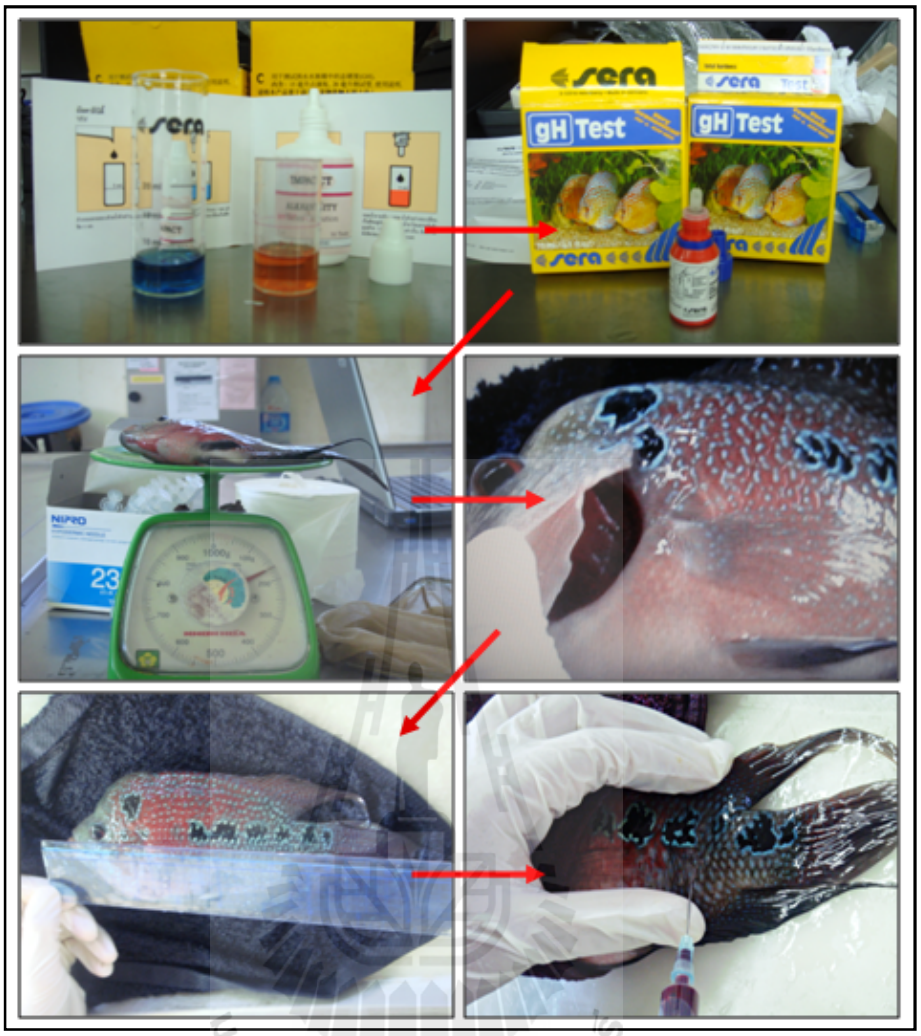
2. การเตรียมสัตว์ทดลองและการเก็บตัวอย่างเลือดจากสัตว์ทดลอง

ปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่นำมาทดลองมีอายุประมาณ 1.5 ปีที่ ตรวจดูลักษณะภายนอกทั่วไปต้องสมบูรณ์และแข็งแรง การว่ายน้ำและการกินอาหารเป็นปกติ คละเพศ มีความยาวเฉลี่ย 18.14 เซนติเมตร ความกว้างเฉลี่ย 6.71 เซนติเมตร และมีน้ำหนักเฉลี่ย 116.38 กรัม ทำการสุ่มแบ่งปลาแล้วนำมาเลี้ยงปลาในตู้กระจกสำหรับเลี้ยงปลาขนาด 36 x 93 x 47.5 เซนติเมตร ดังแสดงในภาพที่ ก.1



ภาพที่ ก.1 การติดตั้งอุปกรณ์ต่าง ๆ และการจัดปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นเข้าตู้เลี้ยงปลาสำหรับทำการทดลอง

ทำการปรับสภาพแวดล้อมและให้คุ้นกับอาหารเป็นระยะเวลา 3 เดือน ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 2 เวลา ประกอบไปด้วยโปรตีน 56% ทำการให้อาหารทุก ๆ วัน วันละ 2 เวลา เช้าและเย็น คือช่วง 8.00 น. และ 16.00 น. จัดสภาพแวดล้อมที่มีความเป็นกรด - ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 7 - 7.8, อุณหภูมิ (Temperature) 27 - 32°C, ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) 100 - 200 มก/ล, ค่าความกระด้างของน้ำ (Hardness) ที่ 80 - 200 มก/ล และปริมาณ O_2 ที่ละลายในน้ำในช่วง 5 - 7 มก/ล ตรวจคุณภาพน้ำก่อนเก็บตัวอย่างเลือดปลา หลังจากนั้นทำการชั่งน้ำหนัก, มีการตรวจลักษณะภายนอก, วัดความกว้างความยาวของลำตัวปลาและเก็บตัวอย่างเลือดปลา เพื่อนำมาวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิต ดังแสดงในภาพที่ ก.2



ภาพที่ ก.2 การตรวจคุณภาพน้ำและการเก็บตัวอย่างเลือดปลาเพื่อนำมาวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของโลหิต

นำปลาทดลองมาวางยาสลบด้วย 2-phenoxyethanol ขนาด 0.05 มิลลิลิตรต่อลิตร (บัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล และคณะ (2004) ในถังพลาสติกที่มีน้ำพอท่วมตัวปลาสังเกตอาการของปลาดังนี้ คือ ปลาจะตะแคงข้าง, มีการเคลื่อนไหวน้อย, หายใจช้าลงและมีการตอบสนองช้า เมื่อปลาแสดงอาการดังที่กล่าวมาในข้างต้นแล้ว ทำการชั่งน้ำหนัก, วัดความกว้าง, ความยาวและดูสีของเหงือกปลา หลังจากนั้นทำการจับปลาวางบนถาดผ่าตัด คลุมตาปลาด้วยผ้าขนหนูผืนเล็กที่เปียกน้ำพอหมาด ๆ ใช้เข็มเบอร์ 23Gx1^{1}/2 สอดตรงบริเวณใกล้เส้นข้างลำตัวของปลาเบา ๆ จนรู้สึกว่ากระทบกับกระดูก Vertebrae ซึ่งจะเป็นตำแหน่งของ Caudal Vein เลือดจะไหลเข้าตามเข็มขณะเลือดไหลไม่ควรเคลื่อนไหวเข็มเพราะจะทำให้เลือดหยุดไหลได้ โดยเลือดที่ได้จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เก็บไว้ใน Microcentrifuge tube ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิของห้องประมาณ 3 ชั่วโมง เลือดจะเริ่มตกตะกอน

บางส่วน นำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 rpm นาน 10 นาที จะได้ส่วนซีรั่มแยกออกจากเม็ดเลือด ใช้ Micropipettes ดูดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นซีรั่มใส่ Microcentrifuge tube แล้วเก็บไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ -20°C เพื่อรอนำไปวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของโลหิต เลือดที่เจาะส่วนที่สองแบ่งใส่หลอด Microcentrifuge tube ที่มี (Ethylenediaminete traacetic acid : EDTA) 1.0% เคลือบหลอด Microcentrifuge tube เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด ทำการเก็บเลือดไว้ที่อุณหภูมิที่ 4°C เพื่อนำไปตรวจค่าโลหิตวิทยาและชีวเคมีของเลือดต่อไป

3. การตรวจวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา

3.1 Hematocrit (Ht)

ค่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น เป็นค่าที่สอดคล้องสัมพันธ์กับค่า Hb เป็นการนำเม็ดเลือดแดงมาวางซ้อนอัดกันโดยเทียบกับปริมาณเลือดทั้งหมด เพื่อบอกว่าเลือดมีความเข้มข้นเพียงพอหรือไม่ ถ้า Ht เพิ่มมากขึ้นจะพบได้ในภาวะช็อค ขาดน้ำอย่างรุนแรง หรือในภาวะที่มีจำนวนเม็ดเลือดเพิ่มขึ้น และพบค่า Ht ต่ำได้ในผู้ที่เป็นโลหิตจาง มะเร็งเม็ดเลือด หรือภาวะมีเลือดออกรุนแรง

3.1.1 หลักการ

น้ำเลือดปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นที่ผสมกับ EDTA ที่เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด ปั่นเลือดในหลอดที่มีความสม่ำเสมอด้วยอัตราเร็วและเวลาคงที่ ใช้หลักการปั่นเหวี่ยงทำให้เม็ดเลือดอัดแน่น วัดความสูงของปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น แล้วคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของปริมาตรเลือดทั้งหมด

3.1.2 วิธีการ

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากปลาฟลาวเวอร์ฮอร์นใส่ใน Microcentrifuge tube ที่ผสม EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือดปลา ใช้หลอด Capillary tube ดูดเลือดจาก Microcen - trifuge tube โดยให้หลอด Capillary tube เอียงเล็กน้อยและใช้ปลายนิ้วแตะที่ปลายหลอด จะเกิดแรงตึงผิวของหลอด Capillary tube ทำให้เลือดไหลเข้าหลอดเองจนได้ปริมาณสามส่วนสี่ของความยาวของหลอด Capillary tube ทำการปิดปลายด้านหนึ่งด้วยดินน้ำมัน นำไปวางในเครื่อง Microhema - tocrit centrifuge ให้ปลายหลอด Capillary tube ที่ปิดดินน้ำมันอยู่ด้านนอกชิดขอบยางของเครื่อง ปิดฝาเครื่องทำการปั่นด้วยความเร็ว 11,500 - 15,000 รอบเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นทำการอ่านค่าโดยนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ทำการกำหนดโดยสำนักงานโลหิตวิทยานานาชาติ วางหลอด Capillary tube ที่ปั่นแล้ว ให้รอยต่อดินน้ำมันตรงตำแหน่ง 0 และตำแหน่งสูงสุดของของเหลวอยู่ตรงกับตำแหน่งที่ 100% แล้วจึงวัดส่วนของเม็ดเลือดแดงเป็น % ดังแสดงในภาพที่ ก.3

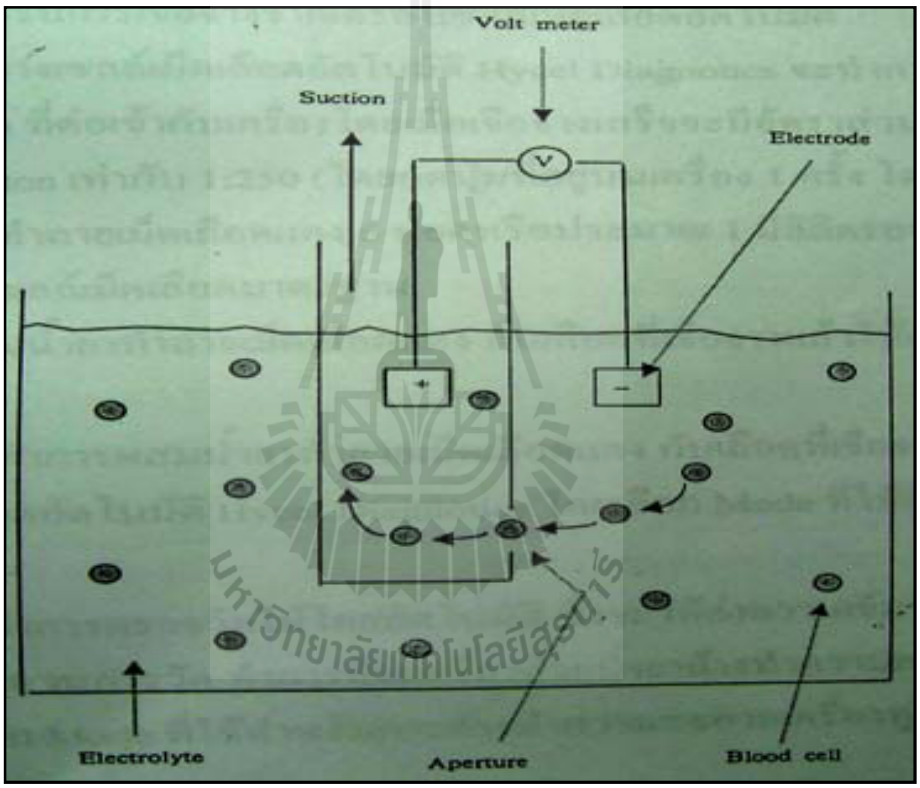
ภาพที่ ก.3 ขั้นตอนและวิธีการตรวจค่า Ht

3.2 Hemoglobin concentration (Hb)

เป็นโปรตีนที่มีมากที่สุดในเม็ดเลือดแดง ทำหน้าที่สำคัญในการขนส่งออกซิเจน (O_2) จากปอดไปให้เซลล์ต่าง ๆ ทั่วร่างกาย ในหนึ่งโมเลกุลของฮีโมโกลบินจะประกอบด้วยสายโกบินเปปไทด์ 4 สาย แต่ละสายจะจับคู่กับฮีม 1 โมเลกุลที่ประกอบไปด้วยสารสีแดงคือพอร์ไพริน (porphyrin) และเหล็ก (iron atoms) ที่เป็นตัวจับกับ O_2 โดย Hb 1 กรัม สามารจับกับ O_2 ได้ 1.34 มิลลิลิตร ดังนั้นประสิทธิภาพในการจับกับ O_2 จึงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ Ht ที่มีอยู่ในเลือดโดยตรงมากกว่าจะขึ้นกับจำนวนเม็ดเลือดแดง การทดสอบ Ht ในเลือดมีประโยชน์อย่างมากในการตรวจสอบสภาวะเลือดจางที่มีผลต่อการทำหน้าที่ในการขนส่ง O_2 และนอกจากนี้ยังสามารถช่วยประเมินความรุนแรงของภาวะเลือดจางและติดตามการรักษาโรคเลือดจาง การตรวจวัดความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเลือดโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Hycel Diagnotics (Hycel Diagnotics, Le Rheu., France) ตามวิธีของ Bentley et al. (1993) และ Buttarello et al. (1992)

3.2.1 หลักการ

อาศัยการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ที่เกิดขึ้นระหว่างขั้วไฟฟ้า (electrode) 2 ขั้ว ซึ่งถูกแยกจากกันแต่กระแสไฟฟ้าจะส่งผ่านถึงกันได้ทางช่อง (aperture) ความต่างศักย์จะเปลี่ยนไป เมื่อมีเซลล์เม็ดเลือดไหลผ่านช่องนี้ โดยเซลล์เม็ดเลือดจะเป็นฉนวนไฟฟ้ารบกวนการไหลของกระแสไฟฟ้า จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ของขั้วไฟฟ้าเกิดขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ที่เกิดขึ้นในแต่ละครั้งเมื่อเซลล์เม็ดเลือดไหลผ่านช่อง aperture จะถูกบันทึกไว้เพื่อคำนวณจำนวนเม็ดเลือด ดังแสดงในภาพที่ ก.4

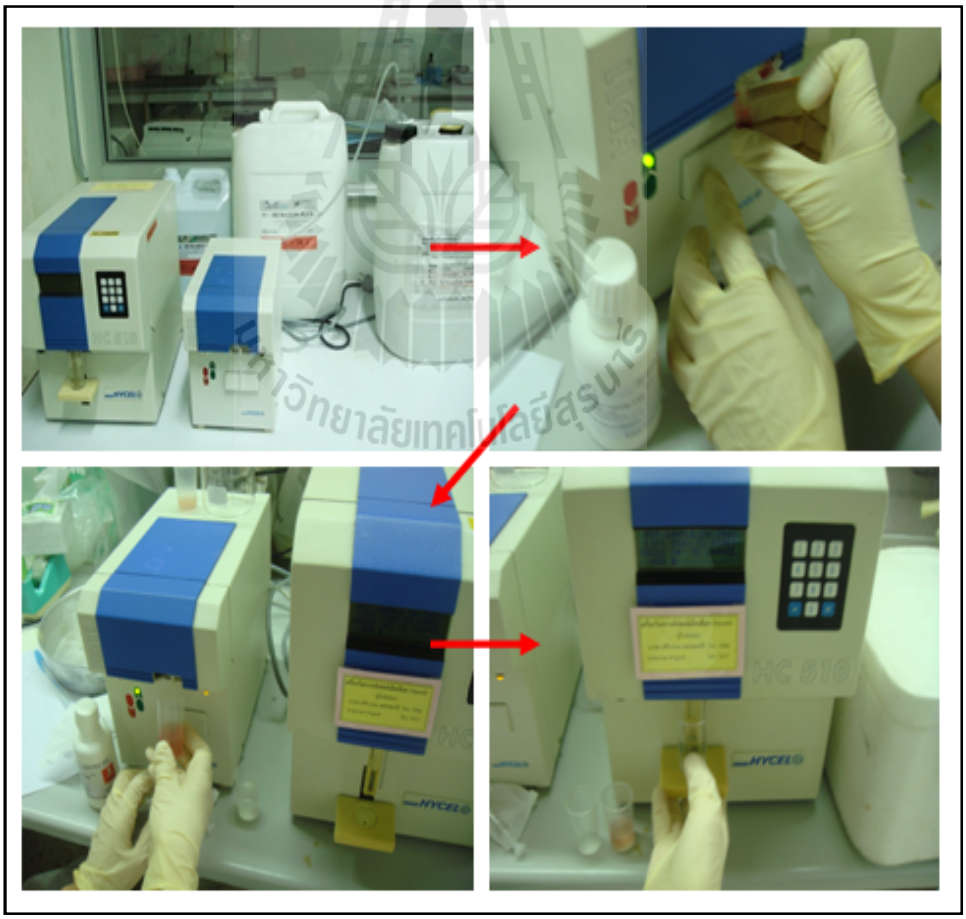


ภาพที่ ก.4 การทำงานเครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Hycel Diagnotics

3.1.2 วิธีการ

ผสมเลือดตัวอย่างที่มีกับ EDTA ให้เข้ากัน แล้วนำไปผ่านเข็มสำหรับดูดเลือดที่เครื่องเจือจางเซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Hycel Diagnotics (Hycel Diagnotics, Le Rheu., France) โดยเครื่องจะดูดเลือดเข้าไปประมาณ 40 ไมโครลิตร (กดปุ่มที่อยู่บนเครื่อง 1 ครั้ง สังเกตไฟจะขึ้นสีเขียว) นำถ้วยพลาสติกสำหรับเจือจางเซลล์เม็ดเลือดมาตรฐานสำหรับใช้กับเครื่อง Hycel Diagnotics มารองรับเลือดที่จะได้รับการเจือจางจากเครื่องเซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ เครื่องเจือจางเซลล์เม็ดเลือด

อัตโนมัติ Hycel Diagnotics จะทำการเจือจางเลือดด้วยน้ำยาเจือจางเลือด Hematon ที่ต่อเข้ากับเครื่องโดยเมื่อเจือจางเสร็จจะมีอัตราส่วนความเข้มข้นของเลือดต่อน้ำยาเจือจางเลือด Hematon เท่ากับ 1 : 250 (กดปุ่มที่อยู่บนเครื่อง 1 ครั้ง สังเกตไฟสีแดง) หยดน้ำยาทำลายเม็ดเลือดแดง 6 หยด หรือประมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในเลือดที่เจือจางที่มีอยู่ถ้วยพลาสติกสำหรับเจือจางเซลล์เม็ดเลือดมาตรฐาน ทำการผสมน้ำยาทำลายเม็ดเลือดแดงกับเลือดที่เจือจางแล้วให้เข้ากัน โดยการแกว่งเบา ๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 วินาที นำเลือดที่ทำการผสมน้ำยาทำลายเม็ดเลือดแดง กับเลือดที่เจือจางแล้วมาผ่านเข้าเครื่องวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Hycel Diagnotics โดยเลือก Mode ที่ใช้สำหรับตรวจวัดความเข้มข้นของ Hb เครื่องจะทำการตรวจวัดให้โดยอัตโนมัติ ซึ่งจะได้ค่าความเข้มข้น Hb เสร็จสิ้นขบวนการวัด ทำการล้างเครื่องด้วยน้ำยาล้างทำความสะอาดเครื่อง Hemaref II ที่ต่อเข้ากับเครื่องโดยเลือก Mode ที่ใช้สำหรับการล้างทำความสะอาดเครื่องทุกครั้งเมื่อทำการตรวจวัดเสร็จแต่ละตัวอย่าง ดังแสดงในภาพที่ ก.5



ภาพที่ ก.5 ขั้นตอนและวิธีการตรวจค่า Hb

3.3 White blood cell count (WBC)

WBC มีหน้าที่หลัก คือป้องกันและทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย การนับ WBC ด้วยวิธี Manual method อาศัยหลักการเจือจางเม็ดเลือดด้วย Pipette นับเม็ดเลือดขาว แล้วทำการนับบนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์และทำการคำนวณ

3.3.1 หลักการ

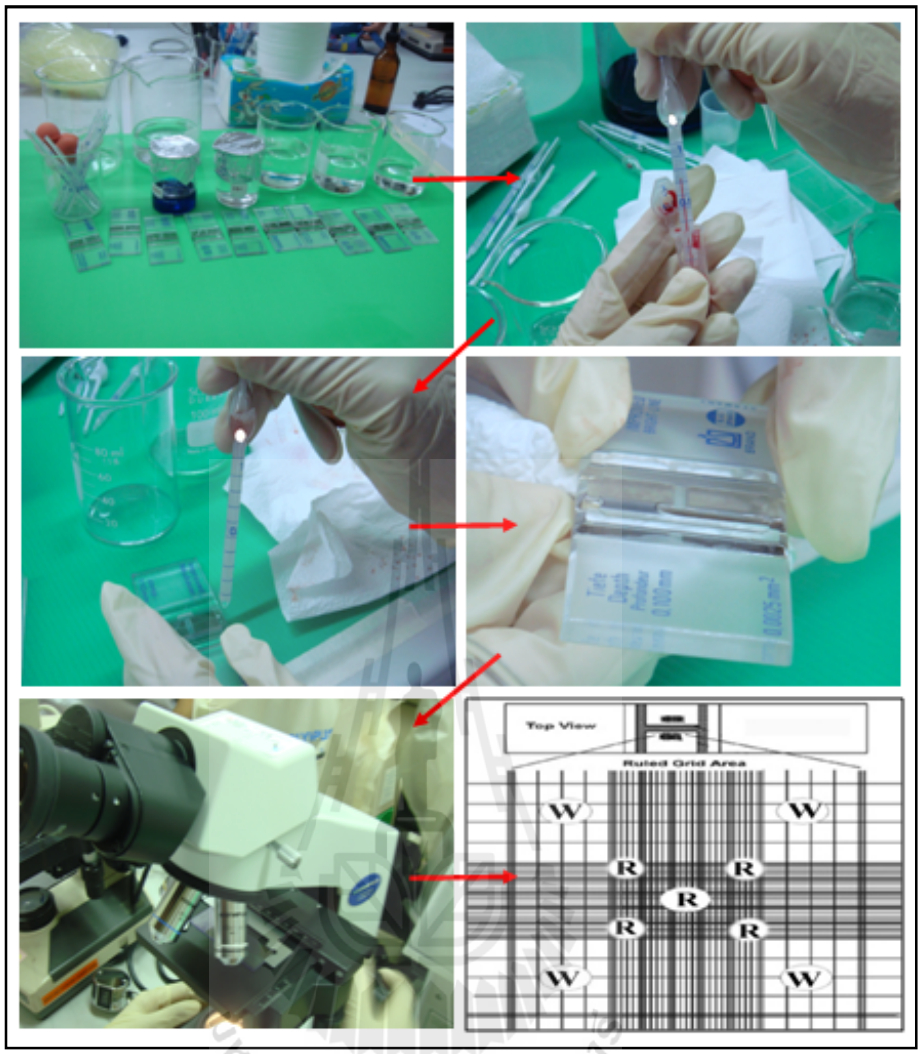
เมื่อเจือจางเลือดด้วยน้ำยานับเม็ดเลือดขาว ซึ่งน้ำยาจะคงสภาพเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงที่มีนิวเคลียสเหมือนกันไว้ได้ในสัดส่วนที่เหมาะสม ซึ่งขนาดเม็ดเลือดขาวโดยทั่วไปจะมีขนาดใหญ่ กว่าเม็ดเลือดแดงประมาณสองเท่า จำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้บนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือดซึ่งทราบปริมาณที่แน่นอน จะสามารถคำนวณกลับไปเป็นจำนวนเม็ดเลือดขาวในเลือดได้

3.3.2 วิธีการ

ผสมเลือดที่สารป้องกันเลือดแข็งตัวให้เข้ากันแล้วดูดเลือดจากหลอดเก็บเลือด Pipette นับเม็ดเลือดขาว ให้ถึงขีด 0.5 พอดี ขณะดูดเลือดให้ Pipette อยู่ในลักษณะเกือบเป็นแนวตั้ง ดูดน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดขาวถึงขีด 11 โดยยังคงให้ Pipette อยู่ในลักษณะเกือบเป็นแนวตั้ง โดยใช้สูตรของ Natt Herrick 's stain ประกอบด้วย

Sodium chloride	3.88 g
Sodium sulfate	2.50 g
Sodium phosphate	1.74 g
Potassium phosphate	0.25 g
Formaline 37%	7.50 g
Methyl violet	0.10 g
ปรับปริมาตร	1000 ml

จับ Pipette ให้อยู่ในแนวราบ และใช้นิ้วปิดปลาย Pipette ไว้ แล้วถอดลูกยางเบอร์ 6 หรือ อุปกรณ์ดูดเลือดด้วย Pipette ขนาดเล็กออก จับ Pipette โดยปิดปลายทั้งสองข้างด้วยหัวแม่มือและนิ้วกลางแล้วสะบัดข้อมือกลับไปกลับมาประมาณ 3 - 5 นาที หรือเครื่องเขย่าผสมเม็ดเลือดเพื่อผสมเลือดและน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดให้เข้ากัน ทำให้เม็ดเลือดขาวมีการกระจายตัวดีไม่เกาะเป็นกลุ่ม หยดสารละลายจาก Pipette 3 - 4 หยด ทิ้งไปเพราะส่วนนี้จะอยู่ที่ก้าน Pipette ซึ่งไม่ได้ผสมกับเลือด หยดสารละลายต่อไปลงตรงร่องแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด นับจำนวนเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำ (10x) ในช่อง W ที่มุมทั้ง 4 ที่แผ่นแก้วนับเม็ดเลือด นำจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดมาบวกรวมกัน แล้วนำค่าเม็ดเลือดขาวที่บวกได้มาคำนวณเป็นเม็ดเลือดขาวทั้งหมดต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (cu mm3) ดังแสดงในภาพที่ ก.6



ภาพที่ ก.6 ขั้นตอนการนับ WBC และ พื้นที่การนับเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ในช่อง W ที่มุมทั้ง 4 ของแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด

3.3.3 การคำนวณ

จำนวนเม็ดเลือดขาวต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร

= จำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้ทั้งหมด 4 ช่อง (W) x 2.5(1.0/0.4)x20(1:20)

3.4 Red blood cell count (RBC)

ทำการตรวจนับเม็ดเลือดแดง RBC ด้วยวิธี manual method อาศัยการเจือจางเลือดก่อน Pipette นับเม็ดเลือดแดง (Red cell pipette) แล้วทำการนับบนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด (Hemocy - tometer) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์และทำการคำนวณ

3.4.1 หลักการ

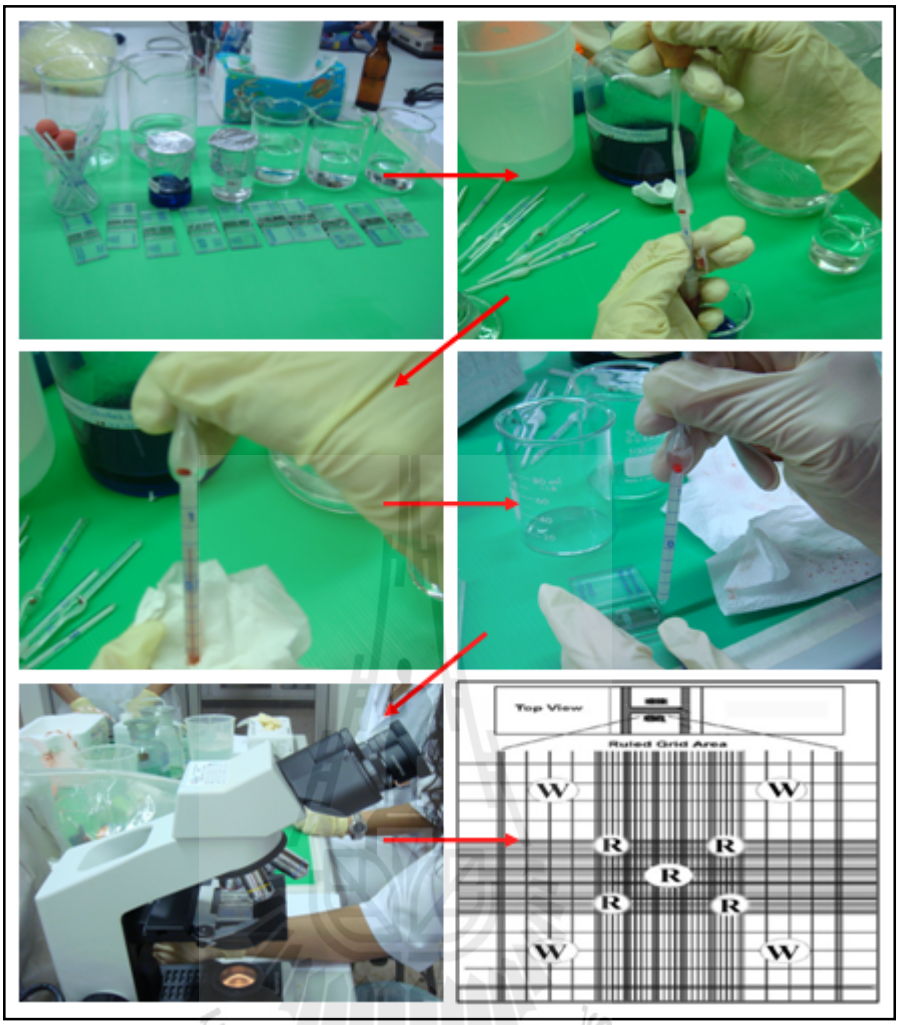
เจือจางเลือดให้มีเม็ดเลือดแดงพอเหมาะที่จะนับได้สะดวกด้วยน้ำยา Gowers 's solution ซึ่งน้ำยาสามารถคงสภาพเม็ดเลือดแดง ไม่ให้เหี่ยว บวมหรือแตกและน้ำยาสามารถทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวได้อย่างสมบูรณ์จะเหลือแต่เม็ดเลือดแดง ขนาดของเม็ดเลือดแดงโดยทั่วไปจะมีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดขาวประมาณสองเท่า จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้บนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือดซึ่งทราบปริมาณที่แน่นอน จะสามารถคำนวณกลับไปเป็นจำนวนเม็ดเลือดแดงในเลือดได้

3.4.2 วิธีการ

ผสมเลือดที่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัวให้เข้ากัน แล้วทำการดูดเลือดจากหลอดเก็บตัวอย่างเลือดเข้า Pipette นับเม็ดเลือดแดง ให้ปริมาณถึงขีด 0.5 พอดี ขณะดูดเลือดให้ Pipette อยู่ในลักษณะเกือบเป็นแนวตั้ง ดูดน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดแดงถึงขีด 101 โดยยังคงให้ Pipette อยู่ในลักษณะเกือบเป็นแนวตั้ง เพื่อป้องกันการเกิดฟองอากาศในกระเปาะ Pipette โดยใช้สูตรน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดแดงของ Gowers 's solution ประกอบ ด้วย

Sodium sulfate	12.5 g
Glacial acetic acid	33.3 ml
ปรับปริมาตร	200 ml

จับ Pipette ให้อยู่ในแนวราบ และใช้นิ้วปิดปลาย Pipette ไว้ แล้วถอดลูกยางเบอร์ 6 หรือ อุปกรณ์ดูดเลือดด้วย Pipette ขนาดเล็กออกจับ Pipette โดยปิดปลายทั้งสองข้างด้วยหัวแม่มือและนิ้วกลางแล้วสะบัดข้อมือกลับไปกลับมาประมาณ 3 - 5 นาที หรือเครื่องเขย่าผสมเม็ดเลือด เพื่อผสมเลือดและน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดให้เข้ากัน หยดสารละลายจาก Pipette 3 - 4 หยด แรกทิ้งไปบนกระดาษทิชชูที่สะอาด เพราะส่วนนี้จะอยู่ที่ก้าน Pipette ไม่ได้ผสมกับเลือด หยดสารละลายต่อไปลงตรงร่องแผ่นแก้วนับเม็ดเลือดที่ปิดกระจกปิดทับมาตรฐานไว้เรียบร้อยแล้วทั้งสองด้าน โดยให้ Pipette ทำมุมกับแผ่นแก้วนับเม็ดเลือดประมาณ 45 องศา ใช้นิ้วชี้ปิดปลายด้านบนของ Pipette ไว้ เพื่อควบคุมให้สารละลายออกจาก Pipette เข้าสู่แผ่นแก้วนับเม็ดเลือดพอดี จากนั้นตั้งทิ้งไว้ประมาน 3 นาที เพื่อให้เม็ดเลือดแดงหยุดนิ่ง นับจำนวนเม็ดเลือดแดงด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำ (10x - 40x) ในช่อง R ทั้ง 5 ช่อง ของแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด นับจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดมาบวกรวมกัน แล้วคำนวณเป็นจำนวนเม็ดเลือดแดงต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (cu mm3) ดังแสดงในภาพที่ ก.7



ภาพที่ ก.7 ขั้นตอนการนับ RBC และ พื้นที่การนับเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ในช่อง R ที่มุมทั้ง 5 ของแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด

3.4.3 การคำนวณ

จำนวนเม็ดเลือดแดงต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร

= จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ทั้งหมด 5 ช่อง (R) x 200(1 : 200 dilution) x 50(10/0.02)

3.5 การคำนวณดัชนีเม็ดเลือดแดง (Red Cell indices)

3.5.1 Mean Corpuscular Volume (MCV)

MCV หมายถึงปริมาตรโดยเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง มีหน่วยเป็นเฟมโตลิตร (femtoliter, fl หรือ10^{-15} ลิตร) เป็นค่าที่นำมาใช้ในการแยกชนิดของภาวะเลือดจางตามลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดแดงคำนวณได้ดังนี้

$$\text{MCV (fl)} = \frac{\text{Hematocrit (\%) x 10}}{\text{Red cell count (x10}^{12}\text{/I)}}$$

3.5.2 Mean Corpuscular Haemoglobin (MCH)

MCH หมายถึงน้ำหนักของ Hbโดยเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดง มีหน่วยเป็น พิโคกรัม (pictogram, pg หรือ 10^{-12} กรัม) เป็นค่าที่นำมาควบคุมคุณภาพการทดสอบของห้องปฏิบัติการ %CV ของค่า MCH จากวิธี manual มีค่า %CV = 10% ค่า MCH มักมีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกันกับค่า MCV โดยที่หากสูงมักจะสูงด้วยกัน หรือหากต่ำก็จะต่ำด้วยกัน คำนวณได้ดังนี้

$$\text{MCH (pg)} = \frac{\text{Hemoglobin (g/dl) x 10}}{\text{Red cell count (x10}^{12}\text{/I)}}$$

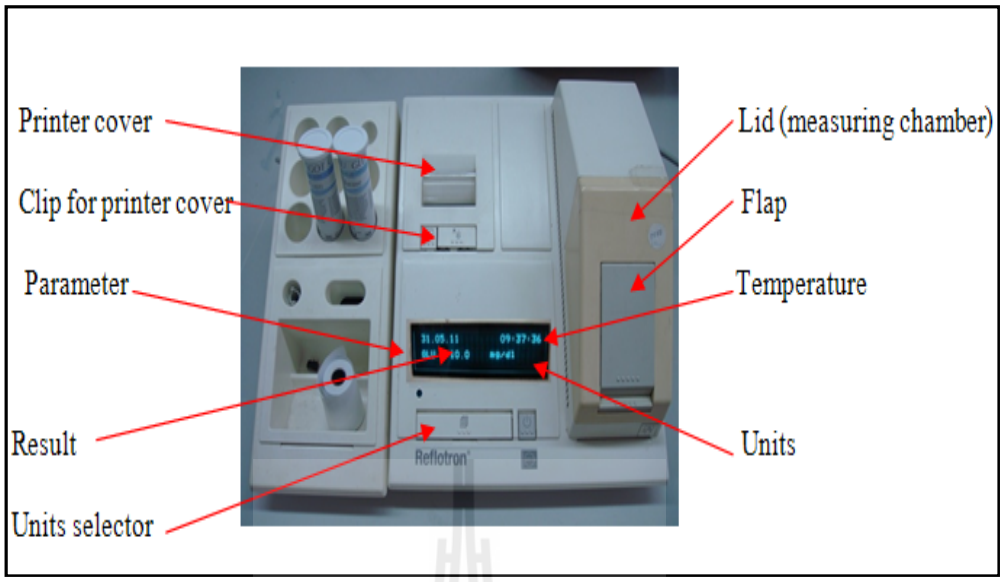
3.5.3 Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC)

MCHC หมายถึง ความเข้มข้นของ Hemoglobin ต่อหน่วยปริมาตรของเม็ดเลือดแดง มีหน่วยเป็นกรัมต่อเดซิลิตร (g/dl) เป็นค่าที่นำมาควบคุมคุณภาพการทดสอบของห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกันกับค่า MCH และช่วยในการวินิจฉัยภาวะ spherocytosis คำนวณได้ดังนี้

$$\text{MCHC (g/dl)} = \frac{\text{Hemoglobin (g/dl) x 100}}{\text{Hematocrit (\%)}}$$

4. การตรวจวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของโลหิต

Reflotron เป็นเครื่องสำหรับตรวจวัดระดับสารชีวเคมีในเลือดที่ผลิตโดยบริษัท Boehringer mannheim, Germany ซึ่งมีส่วนประกอบของเครื่องดังแสดงในภาพที่ ก.8 เป็นเครื่องกึ่งอัตโนมัติ (semi-automated) ชนิดน้ำยาแห้ง (dry-chemistry system) กล่าวคือไม่ใช้น้ำยาเคมีเหลว (liquid reagent) ในการตรวจวัดและอาศัยหลักการสะท้อนและดูดกลืนแสงของสาร (light reflection and absorption) ซึ่งได้มีการพัฒนามาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1974 เครื่อง Reflotron สามารถตรวจวัดระดับสารชีวเคมีได้ในตัวอย่างทั้งที่เป็นเลือดรวม (whole blood) ซีรั่มและพลาสมา นอกจากนี้ยังสามารถตรวจวัดในปัสสาวะได้ด้วยส่วนหลักในการทำงานของเครื่องที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบสามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วน ได้แก่ reaction part และ measuring part ดังแสดงในภาพที่ ก.9



ภาพที่ ก.8 ส่วนประกอบของเครื่อง Reflotron

1. Reaction part (Reagent carrier strip)

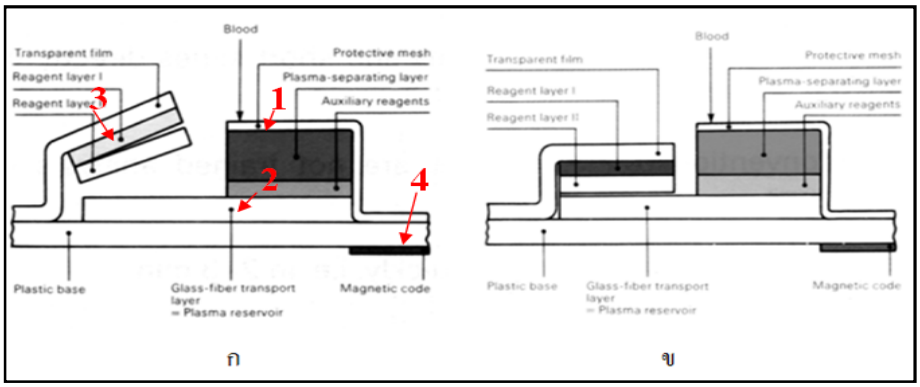
เป็นแถบพลาสติกที่ประกอบด้วยแผ่นบรรจุน้ำยาแห้ง (dry reagents) ที่ใช้ทำปฏิกิริยากับสารเคมีเฉพาะในตัวอย่างที่ต้องการตรวจวัด โดยแถบหนึ่ง ๆ จะใช้กับการทดสอบเดียวและเป็นแถบเฉพาะสำหรับสารที่ต้องการตรวจวัดแต่ละชนิดจะแยกกัน แถบน้ำยานี้ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 4 ส่วน ดังแสดงในภาพที่ ก.9

1.1 Plasma separating layer เป็นส่วนที่ทำด้วยวัสดุใยแก้วทำหน้าที่กรองเอาเม็ดเลือดออกไว้แล้วปล่อยให้ส่วนพลาสมาผ่านแล้วไหลไปเก็บในส่วน plasma reservoir ต่อไปในส่วนนี้อาจมีแผ่นสารเคมีเสริมพิเศษ (auxiliary reagents) ด้วยแล้วแต่ชนิดการตรวจวัด

1.2 Plasma reservoir เป็นส่วนที่ทำด้วยวัสดุใยแก้วเช่นกันทำหน้าเก็บกักพลาสมาที่ผ่านการกรองแล้วไว้เพื่อทำปฏิกิริยากับน้ำยาแห้งต่อไป

1.3 Reagent layer(s) เป็นส่วนที่บรรจุน้ำยาแห้งที่จะใช้ทำปฏิกิริยากับสารเคมีที่ต้องการตรวจ วัดในพลาสมา ในส่วนนี้ยังประกอบด้วยสารที่เป็น indicator ซึ่งเป็นตัวสำคัญที่จะถูกทำให้เปลี่ยนเป็นสารสีโดยผลผลิตของปฏิกิริยาที่ตรวจวัดระหว่างน้ำยาแห้งกับสารที่ต้องการวัดส่วนนี้อาจประกอบด้วยแผ่นน้ำยาแห้งหลายแผ่นขึ้นกับชนิดการตรวจวัด

1.4 Magnetic tape เป็นแถบแม่เหล็กที่บรรจุด้วยข้อมูลและรหัสคำสั่งต่าง ๆ ที่ใช้กับเครื่องและจำเป็นในการตรวจวัดและประมวลผลการตรวจวัด ได้แก่ รหัสบอกชนิดของการตรวจวัด, ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาตรวจวัด, ความยาวคลื่นของแสงที่ใช้ในการตรวจวัดและ factor ที่ใช้ในการคำนวณเพื่อเปลี่ยนหน่วยการตรวจวัดระหว่าง SI unit กับ conventional unit

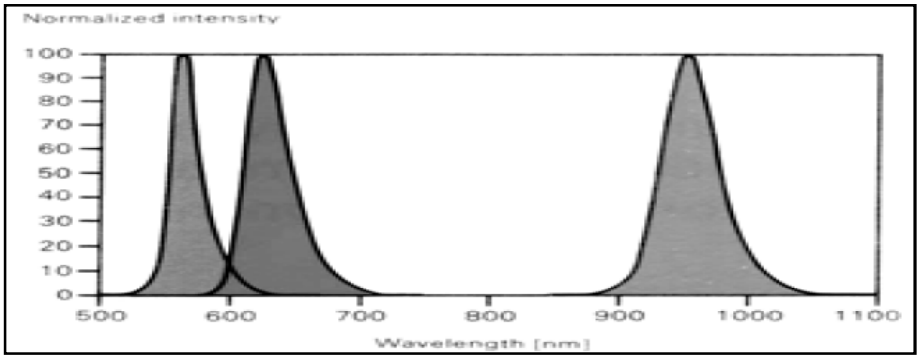


ภาพที่ ก.9 ส่วนประกอบของแถบน้ำยาแห้งก่อนการทดสอบ (ก) หลังการทดสอบ (ข) และ ส่วนประกอบของแถบน้ำยาแห้ง 1 = Plasma separating layer, 2 = Plasma reservoir, 3 = Reagent layer(s) และ 4 = Magnetic tape

ที่มา : พิทัย กาญบุตร (2544)

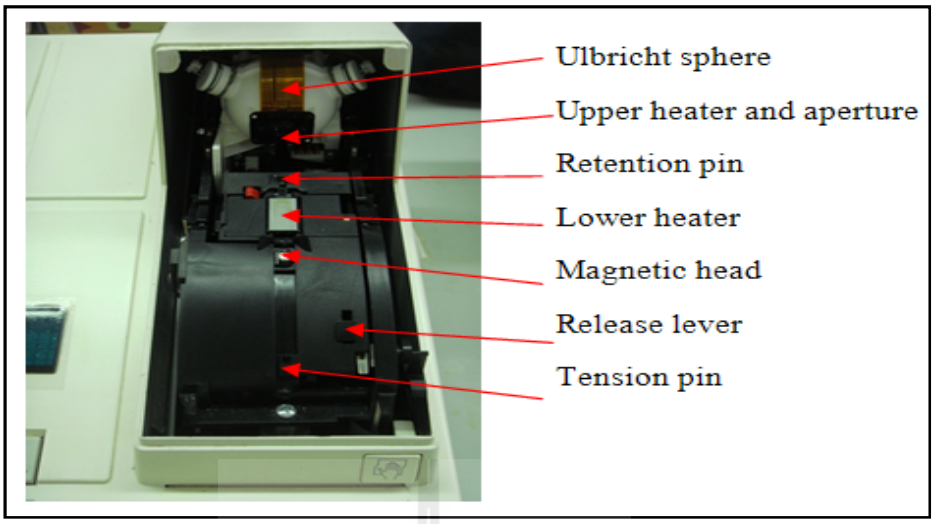
2. Measuring part (Detection and calculation)

เป็นการตรวจวัดระบบ Photometric measurement ที่อาศัยหลักการ light reflection and absorption โดยใช้แหล่งกำเนิดแสง (light source) เป็นชนิด Light Emitting Diode; LED ซึ่งสามารถให้แสงที่ใช้ในการตรวจวัดได้ 3 ความยาวคลื่น ได้แก่ 567, 642 และ 951 nm ดังแสดงในภาพที่ ก.10 และมีตัวตรวจรับแสง (light detector) เป็นชนิด photodiodes จำนวน 2 ตัว ได้แก่ reference detector และ measuring detector ส่วนระบบคำนวณและประมวลผลเป็นแบบ electronics ที่ทำงานร่วมกับรหัสคำสั่งต่าง ๆ ในแถบแม่เหล็กบนแถบน้ำยาแห้ง ดังแสดงในภาพที่ ก.11



ภาพที่ ก.10 ความยาวคลื่นแสงของ LED

ที่มา : พิทัย กาญบุตร (2544)



ภาพที่ ก.11 ส่วนประกอบภายใน measuring chamber

4.1 หลักการตรวจวัด

เมื่อหยดเลือดรวมลงบนส่วน plasma separating mat ของแถบน้ำยาแห้งแล้ว เฉพาะส่วนพลาสมาเท่านั้นจะถูกกรองผ่านแผ่นกรองใยแก้วลงไปเก็บกักไว้ในส่วน plasma reservoir เพื่อรอการทดสอบต่อไป เมื่อใส่แถบน้ำยานั้นเข้าไปในเครื่องส่วน measuring chamber เครื่องจะเริ่มอ่านข้อมูลจำเพาะของการทดสอบและคำสั่งอื่น ๆ จากแถบแม่เหล็กด้านล่างของแถบน้ำยาแห้งแล้วเริ่มทำงานตามลำดับ กล่าวคือส่วน reagent layer จะถูกกดให้ทับลงบนส่วน plasma reservoir เพื่อให้น้ำยาแห้งทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการตรวจวัดในพลาสมา หลังการเกิดปฏิกิริยาจะได้ผลผลิตเป็นสารที่สามารถเปลี่ยน indicator จากสารที่ไม่มีสีเป็นสารที่มีสี (dye complex) ทั้งนี้ปริมาณหรือความเข้มข้นของสารที่ตรวจวัดได้จะแปรตามความเข้มของสารสีที่เกิดขึ้น เมื่อครบเวลาที่ตรวจวัดแล้วส่วน detection parts จะเริ่มทำงานโดย LED จะให้แสงตามความยาวคลื่นแสงที่จำเพาะกับการทดสอบออกมากระจายอยู่ในส่วน ulbricht sphere ที่มีผิวด้านในฉาบเป็นมันวาวสะท้อนแสงได้ดี ดังแสดงในภาพที่ ก.12 โดยที่แสงส่วนหนึ่งจะสะท้อนไปตกกระทบบน reference detector (Dn) โดยตรงซึ่งจะวัดความเข้มแสงที่ตกกระทบเป็น I_0 และมีค่าความเข้มเท่ากับแสงที่เปล่งออกจาก LED ส่วน measuring detector (D) จะทำหน้าที่วัดความเข้มของแสงที่สะท้อนกลับมาจากส่วน test area ซึ่งอยู่ด้านล่างของ Ulbricht sphere โดยวัดค่าความเข้มของแสงเป็น I ซึ่งค่า I นี้จะมีค่าน้อยกว่า I_0 เสมอเนื่องจากสารสีที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีบนบริเวณ test area จะสามารถดูดกลืนแสงบางส่วนไว้ได้ก่อนที่จะสะท้อนแสงกลับออกไปตกบน measuring detector ขณะเดียวกันเครื่องก็จะคำนวณค่า reflectance; R ของสีที่เกิดขึ้นจากอัตราส่วนของ I และ I_0 จากนั้นในขั้นตอนสุดท้าย

เครื่องจะคำนวณค่าความเข้มข้นของสารที่ตรวจวัดได้ออกมาโดยอาศัยสมการของ Kubelka-Munk formula ดังนี้

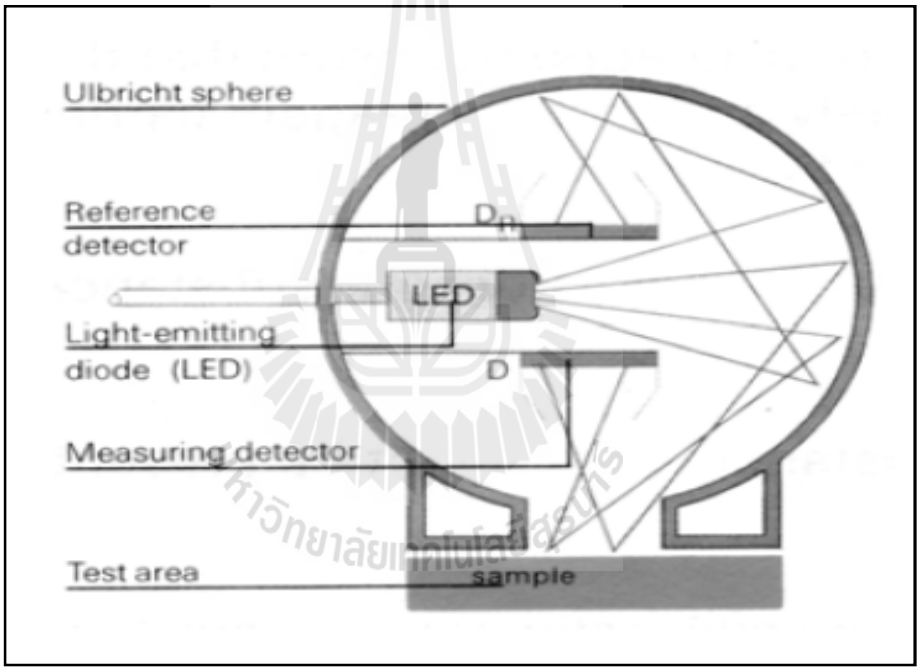
$$C = -(S/\varepsilon) + (S/2\varepsilon)R + (S/2\varepsilon)R^{-1}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้นของสารที่ตรวจวัด (concentration)

S = ค่าสัมประสิทธิ์การกระจายของแสง (Scattering coefficient)

R = ค่าสัดส่วนการสะท้อนของแสง (Reflectance)

ε = ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง (Absorption coefficient)



ภาพที่ ก.12 ระบบการตรวจวัดของเครื่อง Reflotron

ที่มา : พิทัย กาญบุตร (2544)

4.2 สิ่งส่งตรวจ และชนิดการตรวจวัด

เครื่อง Reflotron สามารถตรวจวัดสารเคมีหรือสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ในสิ่งส่งตรวจหลายชนิดนอกเหนือจากเลือดรวม ได้แก่ ซีรั่ม พลาสมา และปัสสาวะได้ด้วย ส่วนชนิดของการตรวจวัดจะสามารถตรวจได้เฉพาะการตรวจวัดที่บริษัทผลิตแถบน้ำยาแห้งเท่านั้นดังตารางที่ ก.7 และเครื่อง Reflotron ก็ไม่สามารถใช้ร่วมกับแถบน้ำยาของบริษัทผู้ผลิตอื่นได้

ตารางที่ ก.7 ชนิดที่ส่งตรวจที่เหมาะสมในการตรวจในแต่ละการทดสอบ

	Heparinized blood	Heparinized plasma	EDTA blood	EDTA plasma	Serum	Urine*	Fresh blood
Amylase	✓	✓			✓		✓
Bilirubin	✓	✓			✓		✓
Cholesterol	✓	✓	✓	✓	✓		✓
CK	✓	✓			✓		✓
Creatinine	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
GGT	✓	✓	✓	✓	✓		✓
Glucose	✓	✓	✓	✓	✓		✓
AST	✓	✓			✓		✓
ALT	✓	✓			✓		✓
ALP	✓	✓			✓		✓
HDL-cholesterol				✓			
Potassium		✓			✓		
Pancreatic Amylase	✓	✓			✓	✓	✓
Triglyceride	✓	✓	✓		✓		✓
Urea/BUN	✓	✓	✓		✓		✓
Uric acid	✓	✓			✓		✓
Hemoglobin	✓		✓				✓

ที่มา : พิทัย กาญบุตร (2544)

4.3 ขั้นตอนการตรวจวัด

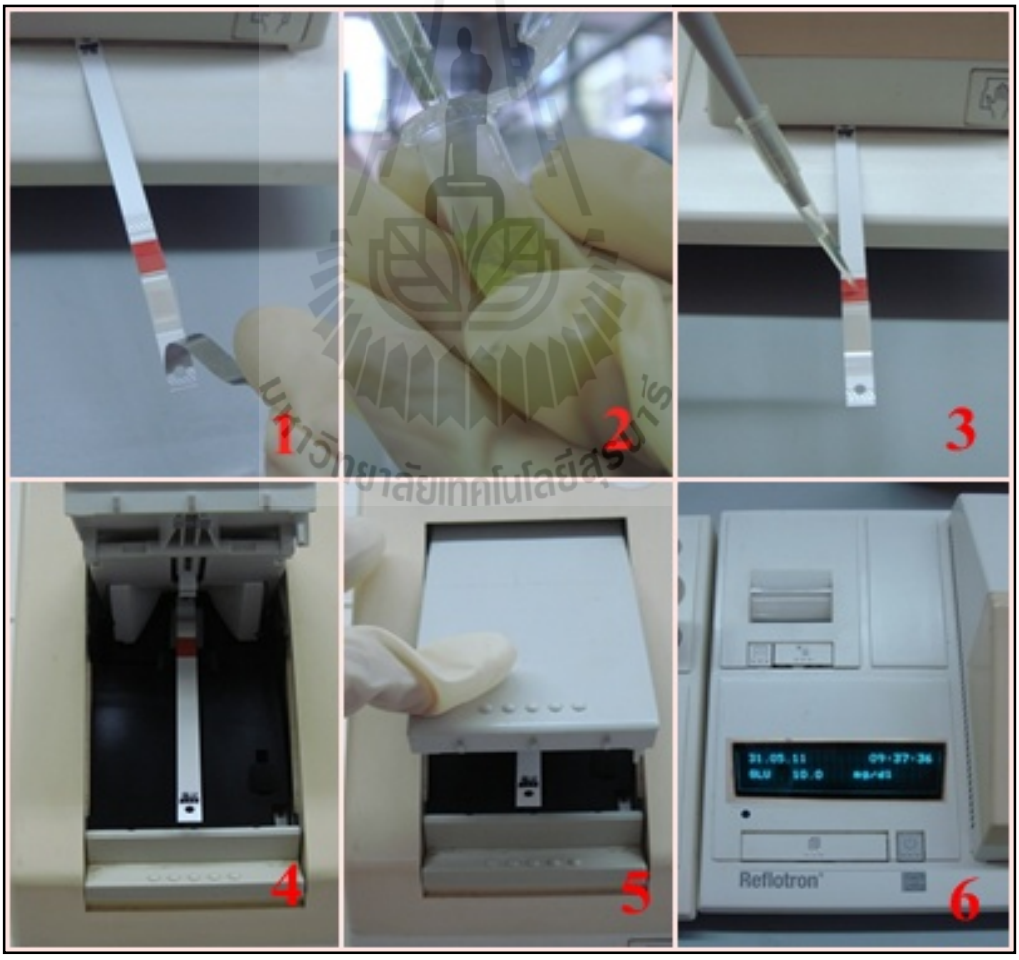
1. เลือกอุณหภูมิและหน่วยที่จะใช้ตรวจวัด โดยเลื่อมปุ่ม TIME SELECTOR และ UNIT SELECTOR ตามลำดับ แล้วเปิดเครื่องโดยเลื่อนปุ่ม POWER ไปตำแหน่ง ON รอเครื่องทดสอบระบบและปรับอุณหภูมิของ measuring chamber ตามที่เลือกจนหน้าจอของเครื่องแสดง READY

2. เลือกแถบน้ำยาแห้งให้ตรงตามการตรวจวัดที่ต้องการแล้ว ดึงแผ่นฟรอยที่ปิดอยู่ออก ระวังอย่าให้มือจับถูกแถบแม่เหล็กที่ด้านล่างของแถบน้ำยาแห้ง

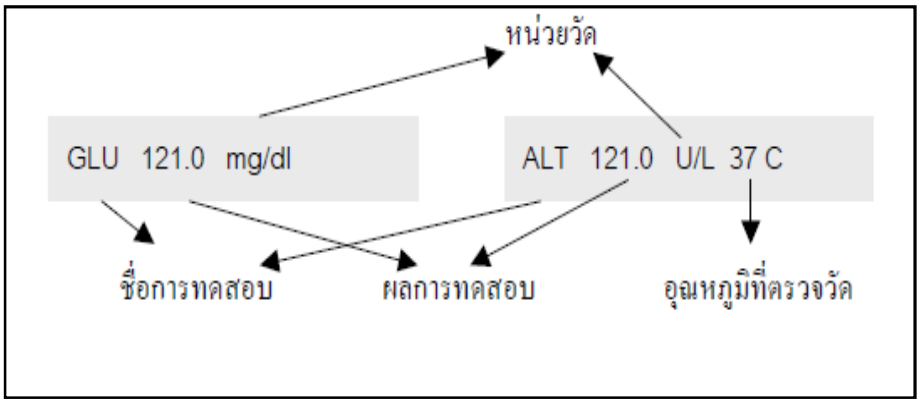
3. ใช้ micro-pipette ดูดตัวอย่างเลือดรวมหรือซีรั่มปริมาตร 32 ไมโครลิตร แล้วปล่อยลงบนแถบน้ำยาแห้งบริเวณแผ่นกรองเม็ดเลือดสีแดง (plasma separating mat) แล้วทิ้งไว้ประมาณ 10 วินาที เพื่อรอให้พลาสมาถูกกรองแล้วซึมผ่านมาเก็บกักที่บริเวณ plasma reservoir

4. เปิดฝาเครื่องส่วน measuring chamber โดยเลื่อนฝาขึ้นด้านบนแล้วใส่แถบน้ำยาแห้งที่หยดเลือดแล้วนั้นเข้าไปในเครื่องโดยสอดแถบแนบขึ้นไปตามแนวร่องจนกระทั่งได้ยินเสียงคลิ๊กแสดงว่าแถบน้ำยาเข้าตำแหน่งที่เหมาะสมแล้วจึงเลื่อนฝาปิดลง โดยสังเกตจอของเครื่องจะแสดง PLS CLOSE FLAP

5. จากนั้นเครื่องจะแสดงเวลาในการตรวจวัดเป็นวินาทีบนจอและนับเวลาตรวจวัดถอยหลัง เมื่อครบเวลาการตรวจวัดเสร็จสมบูรณ์เครื่องจะรายงานผลการตรวจวัดบนหน้าจอเครื่อง ดังแสดงในภาพที่ ก.13 และ ก.14



ภาพที่ ก.13 ขั้นตอนการตรวจวัดของเครื่อง Reflotron



ภาพที่ ก.14 ข้อความที่แสดงบนจอเครื่องและความหมายของเครื่อง Reflotron

ที่มา : พิทัย กาญบุตร (2544)

6. เปิดฝาส่วน measuring chamber แล้วดึงเอาแถบน้ำยาที่ตรวจวัดเสร็จแล้วออกทิ้ง และถ้ามีการทดสอบอื่น ๆ อีกให้ทำการตรวจวัดการทดสอบต่อไปได้โดยทำตามขั้นตอนที่ 2 - 5

7. เมื่อทำการตรวจวัดเสร็จเรียบร้อยแล้วให้ทำการปิดเครื่องโดยเลื่อนปุ่ม POWER กลับไปที่ตำแหน่ง OFF

4.4 แถบน้ำยาแห้งสำเร็จรูป Reflotron Test

แถบน้ำยาที่ผลิตในปัจจุบันมีทั้งหมด 17 การทดสอบ (ตารางที่ 7) ในที่นี้จะกล่าวถึงรายละ -เอียดหลักการการทดสอบเป็นบางการทดสอบเท่านั้นที่เกี่ยวกับการวิจัยในครั้งนี้

4.4.1 Glucose

ใช้ในการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดเพื่อการวินิจฉัย, การรักษา หรือติดตามผลการ รักษาโรคเบาหวาน การตรวจควรเจาะเก็บเลือดสัตว์ตรวจหลังจากให้สัตว์งดน้ำและอาหารมาแล้วอย่างน้อย 4 - 6 ชั่วโมง (fasting blood) D - glucose ในพลาสมาจะถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนในอากาศในสภาวะที่มีเอนไซม์ glucose oxidase ; GOD ในแถบน้ำยาได้เป็น δ - D - glucolonolactone และ H_2O_2 แล้ว H_2O_2 จะไปออกซิไดซ์ Tretramethylbenzidine; TMB ซึ่งเป็น indicator โดยใช้เอนไซม์ peroxidase; POD ในแถบน้ำยาเกิดเป็นสารสีความเข้มข้นของกลูโคสที่วัดได้จะแปรผันตามความเข้มของสารสีที่เกิดขึ้นโดยเครื่องจะวัดความเข้มของสีที่แสงความยาวคลื่น 642 nm หลังจากเริ่ม ตรวจวัดเป็นเวลา 140 วินาที ช่วงการตรวจวัด 10 - 600 mg% สิ่งที่ส่งตรวจ Heparinized blood หรือ EDTA blood โดยต้องตรวจภายใน 10 - 20 นาที หากแยกเป็นพลาสมาหรือเก็บเป็น NaF - blood สามารถเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C ได้ 24 - 48 ชั่วโมง ถ้าเป็นซีรั่มต้องแยกเก็บซีรั่ม

ออกจาก clootted blood เพื่อตรวจภายในเวลา 30 นาที และ ตัวอย่างซีรั่มนั้นสามารถเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C ได้ 24 - 48 ชั่วโมง

4.4.2 Blood urea nitrogen (BUN)

ยูเรียเป็นผลผลิตหลักจากกระบวนการเมทาบอลิซึมเพื่อย่อยทำลายโปรตีนและถูกขับออกจากร่างกายทางไตโดยผ่าน glomerular filtration ประมาณ 40 - 50% และถูกดูดกลับได้ที่ส่วน tubule การวัดระดับยูเรีย หรือ blood urea nitrogen (BUN) ในกระแสเลือดสามารถบ่งบอกความเสียหายของไตได้ ดังนั้นจึงใช้ระดับของยูเรีย หรือ BUN ในเลือดเพื่อการวินิจฉัย, การรักษาหรือติดตามผลการรักษาโรคไตและจะให้ผลดียิ่งขึ้นหากแปรผลร่วมกับระดับ creatinine ในเลือด หลักการตรวจวัดยูเรียในพลาสมาจะถูกไฮโดรไลส์โดยเอนไซม์ urease ในแถบน้ำยา ได้เป็น ammonium carbonate แล้วสลายเป็น NH_3 และ CO_2 ในสภาวะที่เป็นด่าง จากนั้น NH_3 จะซึมผ่านเข้าไปในชั้น indicator และเปลี่ยนสีของ indicator จากสีเหลืองเป็นสีเขียวและสีน้ำเงินในที่สุด ความเข้มข้นของ urea ที่วัดได้จะแปรผันตามความเข้มของสารสีที่เกิดขึ้นโดยเครื่องจะวัดความเข้มของสีที่แสงความยาวคลื่น 642 nm หลังจากเริ่มตรวจวัดเป็นเวลา 190 วินาที ช่วงการตรวจวัด 20 - 300 mg% สิ่งที่ส่งตรวจ Heparinized blood หรือ EDTA blood โดยต้องตรวจภายใน 8 ชั่วโมง หากแยกพลาสมาแล้วสามารถเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C ได้ไม่เกิน 72 ชั่วโมง ถ้าเป็นซีรั่ม หากไม่ตรวจทันทีสามารถเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C ได้ไม่เกิน 72 ชั่วโมง

4.4.3 Aspatate aminotransferase (AST)

GOT (Glutamate oxalo-acetate transminase) หรือ AST (aspatate aminotrans - ferase) เป็นเอนไซม์ที่พบมากในเซลล์ตับ และเซลล์กล้ามเนื้อ นอกจากนี้ยังพบในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจด้วยการตรวจวัด activity ของ GOT ในเลือดสามารถบ่งบอกความเสียหายของอวัยวะดังกล่าวได้ ในสัตว์เล็ก เช่น สุนัข และ แมว พบว่า GOT จำเพาะกับตับและกล้ามเนื้อลาย แต่ในสัตว์ใหญ่เช่น ม้าและวัว GOT จะจำ เพาะกับกล้ามเนื้อลายมากกว่าตับ ดังนั้นข้อบ่งชี้การตรวจวัดจึงขึ้นกับชนิดสัตว์ด้วย ทั้งนี้การตรวจวัด GPT, ALP และ GGT ร่วมด้วยจะทำให้การแปรผลมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น หลักการตรวจวัด α-ketoglutarate และ alanine sulphinate ในแถบน้ำยาจะถูกเปลี่ยนเป็น pyruvate และ glutamate โดยเอนไซม์ GOT ในพลาสมา pyruvate ที่เกิดขึ้นจะถูกย่อยต่อโดยเอนไซม์ pyruvate oxidase ในแถบน้ำยาได้เป็น acetyl phosphate, CO_2 และ H_2O_2 แล้ว H_2O_2 จะไปออกซิไดซ์ indicator โดยใช้เอนไซม์ peroxidase; POD ในแถบน้ำยาจากสารไม่มีสีเกิดเป็นสารสีน้ำเงิน activity ของ GOT ที่วัดได้จะแปรผันตาม kinetic ของสีที่เกิดขึ้นโดยเครื่องจะวัดที่แสงความยาวคลื่น 567 nm โดยใช้เวลาตรวจวัด 140 วินาที ช่วงการตรวจวัด 5 - 1500 U/l ที่ 37°C สิ่งที่ส่งตรวจ Heparinized blood โดยต้องตรวจภายใน 1 ชั่วโมง หากแยกพลาสมาแล้วสามารถเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C ได้ไม่เกิน 72 ชั่วโมง ถ้าเป็นซีรั่ม หากไม่ตรวจทันทีสามารถเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C ได้ไม่เกิน 72 ชั่วโมง

4.4.4 Creatine kinase (CK)

CK เป็นเอนไซม์ที่พบมากในเซลล์กล้ามเนื้อลาย กล้ามเนื้อหัวใจ สมองและกล้ามเนื้อ การตรวจวัด activity ของ CK ในเลือดสามารถช่วยวินิจฉัยโรคเกี่ยวกับกล้ามเนื้อและโรคกล้ามเนื้อหัวใจมีการถูกทำลายได้ การตรวจวัด activity ของ CK ในเลือดควรทำภายใน 24 ชั่งโมงที่พบพยาธิสภาพเนื่องจากระดับเอนไซม์จะลดลงสู่ระดับปกติได้เร็วมากโดยทั่วไปจะลดลงปกติภายใน 3 - 5 วันหลังมีการเกิดพยาธิสภาพซึ่งอาจทำให้การแปรผลคลาดเคลื่อน หลักการตรวจวัด creatine phosphate และ adenosine diphosphate ; ADP ในแถบน้ำยาจะถูกเปลี่ยนเป็น creatine และ adenosine diphosphate; ATP โดยเอนไซม์ CK ในพลาสมา ATP ที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกับ glycerol โดยอาศัยเอนไซม์ glycerol kinase ในแถบน้ำยาได้เป็น glycerol triphosphate และ ADP จากนั้น glycerol triphosphate จะทำ ปฏิกิริยากับ O_2 โดยอาศัยเอนไซม์ glycrolphosphat oxidase ได้ dihydroxyacetone และ H_2O_2 แล้ว H_2O_2 ร่วมกับเอนไซม์ peroxidase; POD ในแถบน้ำยาจะไปออกซิไดซ์ indicator จากสารไม่มีสีเกิดเป็นสารสีน้ำเงิน activity ของ CK ที่วัดได้จะแปรผันตาม kinetic ของสีที่เกิดขึ้นโดยเครื่องจะวัดที่แสงความยาวคลื่น 642 nm โดยใช้เวลาตรวจวัด 190 วินาที ช่วงการตรวจวัด 24.4 - 2400 U/l ที่ 37°C สิ่งที่ส่งตรวจ Heparinized blood โดยต้องตรวจภายใน 8 ชั่วโมง หากแยกพลาสมาแล้ว สามารถเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C ได้ไม่เกิน 7 วัน ถ้าเป็นซีรั่ม หากไม่ตรวจภายใน 8 - 24 ชั่วโมงสามารถเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C ได้ไม่เกิน 7 วัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้เขียน

นางสาววิจิตรา กลิ่นเจริญ เกิดเมื่อวันที่ 15 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2527 ที่จังหวัดกาญจนบุรี เริ่มการศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนบ้านแก่งระเบิด อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี ศึกษาระดับมัธยมศึกษาที่โรงเรียนไทรโยคน้อยวิทยา อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัย - เทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา เมื่อปี พ.ศ. 2549 จากนั้นศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ปีการศึกษา 2550 ถึงปัจจุบัน นอกจากนี้ในระหว่างการศึกษาได้ตีพิมพ์บทความวิจัยเต็มรูปแบบในวารสารวิชาการระดับชาติ/นานาชาติ : Pakanit Kupittayanant and Wichitta Kinchareon. (2011). Hematological and Biochemical Responses of the Flowerhorn Fish to Hypoxia. Journal of Animal and Veterinary Advances. 10(20) : 2631-2638.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี