



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการสถานภาพการผลิตสัตว์น้ำพื้นเมือง
ของจังหวัดชัยนาท

โดย ศ.ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร และคณะ

กันยายน 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการสถานภาพการผลิตสัตว์น้ำพื้นเมืองของจังหวัดชัยนาท

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. ศ.ดร.อุทัยรัตน์ ณ นคร	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2. รศ.ดร.สมพร อีสวิลานนท์	คณะเศรษฐศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
3. รศ.ดร.ยนต์ มุสิก	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. รศ.ดร.ประทีป ตาบทิพย์วรรณ	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
5. รศ.ดร.นนทวิทย์ อารีชัยน	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
6. อ.สุนทราภรณ์ ลิ้มสกุล	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
7. ผศ.ดร.เรืองวิชัย ยืนพันธ์	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
8. รศ.ดร.สุภาวดี พุ่มพวง	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
9. รศ.ดร.อรพินท์ จินตสถาพร	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
10. ผศ.พงศ์เชษฐา พิชิตกุล	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
11. ดร.ประพันธ์ศักดิ์ ศรีระภูมิ	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
12. รศ.ดร.วราห์ เทพาหุดี	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
13. อ.สรณัฐ ศิริสว	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
14. นายสุบรรณ เสถียรจิตร	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
15. นายฉัตรชัย ไทยทุ่งจีน	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
16. อ.กรณิการ์ พันพอน	วิทยาลัยเกษตรกรรมสิงห์บุรี
17. นายวรวิทย์ พรหมปากดี	ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท กรมประมง

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สัญญาเลขที่ RDG5120040
โครงการ “สถานภาพการผลิตสัตว์น้ำพื้นเมืองของจังหวัดชัยนาท”
รายงานฉบับสมบูรณ์

EXECUTIVE SUMMARY

Chainat province has high potential for agriculture because more than 60% of the area is irrigated. There are three rivers running across the province, indicating its potential for aquacultural activities. However, annual fisheries production including aquaculture has been relatively low, despite the province's reputation for a high diversity in fish species. Therefore, aquaculture of the local fish species should be promoted subject to consideration of suitable species, market demand and the possible impact on wild populations. This study aimed to 1) understand the present situation regarding aquaculture and fish marketing in Chainat and 2) study aquacultural/fisheries activities based on people's knowledge of the conservation of fish biodiversity.

The results from the survey showed that: 1) aquacultural activities were carried out all year round, 2) people had limited knowledge of aquaculture, 3) the most important obstacle to rearing local species was their slow growth and 4) only 2% of the farmers cultured local fish species. The species reared in cages were: striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*, ปลาทราย), giant gouramy (*Osphronemus goramy*, ปลาแรด), Pla Kod Kaang (*Macrones wyckioides*, ปลากดคัง or ปลากดแก้ว), spot pangasius (*Pangasius larnaudii*, ปลาเทโพ) and Pla Sang Ka Wart (*Pteropangasius pleurotaenia*, ปลาสังกะวาด). The species cultured in ponds were: striped catfish, Thai silver barb (*Barbodes gonionotus*, ปลาดตะเพียนขาว), snakehead (*Channa striatus*, ปลาช่อน), snakeskin gouramy (*Trichogaster pectoralis*, ปลาสลิด) and climbing perch (*Anabas testudinius*, ปลาหมอ).

There are only three main retail fish markets in Chainat, which cater for the majority of large-size fish brought in from other provinces while local fish were of the small-size species available in highly fluctuating quantities. The fish retailers stated that the highest demand was for Pla Kod Kaang among the freshwater fish species.

The study identified three aquacultural/fisheries activities that may impact conservation: fish-trapping ponds and Kram (artificial fish shelters where fish are subsequently caught) operating in shallow or in deep water. The fish trapping ponds contained massive aggregations of fingerlings of riverine and swamp fish, which may impact the conservation of freshwater fish, while the other activities seemed to have minor impacts.

Pla Daeng (*Phalacrodon bleekeri*) is among the flag-ship species for restocking. The study investigated the genetic alteration of Pla Daeng cultured in the Center for Fisheries Research and Development, Chainat province using the newly developed microsatellite markers. Genetic deterioration of the hatchery stocks was identified, while a nearby wild population was still healthy with regard to genetic diversity and there had been no genetic contributions made by the hatchery fish to their wild counterparts. Consequently, the study recommended not releasing this species into the wild.

This study also attempted to understand the obstacles to rearing local fish and found that the major problems are slow growth, the lack of a wholesale market and insufficient amounts of both fingerlings and suitable feed. However, the results from a meeting between farmers, students and lecturers of the Department of Aquaculture identified five research topics according to the necessity of the research, time constraints and available expertise. The research topics and a brief summary of the results are:

(1) Anatomy of sexual dimorphism in Pla Daeng and histology of the testis: Pla Daeng showed apparent sexual dimorphism during the spawning season. Females and males were differentiated by the shape of the urogenital papilla, roughness of the serrated spines of the pectoral fins and the existence of mucus glands behind the pectoral fins in females. Histology of the testis showed spermatogenic cells in all stages.

(2) A preliminary experiment on the effects of methyl testosterone (MT) on the fertility of the spermatozoa of Pla Daeng: A dose of 10 mg/kg MT orally applied to male brooders of Pla Daeng at 5 to 7 wk tended to increase the concentration of spermatozoa compared with the control. The sperm of the MT-treated groups enhanced the hatching success of the eggs compared with the control group, when they were used as concentrated milt (no dilution). However, due to the small number of fish samples as well as the variation in egg quality in the study, further study is needed.

(3) An on-farm experiment on the effects of stocking density on the growth and survival of Pla Kod Kaang (*Macrone wyckioides*): The farmers in Chainat province stock Pla Kod Kaang in cages at a high density (40 fish/m²), which may be responsible for the very low growth rate of this species. An experiment was conducted to rear Pla Kod Kaang in cages (3 x 5 m and 2 m in depth) with 20 and 40 fish/m² on three farms (where each farm represented a replication) for 14.5 mth. It was found that fish at the low stocking density had lower survival rates than those at the high stocking density ($P < 0.05$) while the growth rate was not affected.

(4) Pathogenic organisms responsible for the diseases outbreak of Nile tilapia cultured in cages in Chainat and Angthong provinces: Although Nile tilapia is an introduced species, due to its economic importance, the farmers in Chainat province convinced the researchers to include this species in the study. A farm in Angthong was included in order to determine if there was any variation in pathogens between the areas. The survey was made on two- and one-cage culture farms in Chainat and Angthong, respectively, which were facing a disease outbreak (during May and June 2009). The results showed that the pathogens responsible for the disease outbreaks were *Streptococcus agalactiae* in Chainat, while *Flavobacterium* spp were identified at the Angthong farm and that they were most sensitive to Amoxycillin and Enrofloxacin, containing respectively *S. agalactiae* and *Flavobacterium*.

(5) Effects of probiotics on resistance to a bacterial pathogen (*Aeromonas hydrophila*) and growth of Clown featherback (*Chitala ornata*) fingerlings: The probiotics developed by the Department of Aquaculture (AQHBS02) have enhanced resistance to *A. hydrophila* by Clown featherback fingerlings (2-3 inches long) over the control when orally applied at either 1, 3 or 5 g/kg feed, while no effects on growth were observed. Enhanced resistance was detected 14 d after the application.

Notably, two of the five topics (numbers 4 and 5) were conducted by the undergraduate students of the Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาสถานะภาพปัจจุบันของการเลี้ยงและการตลาดปลาพื้นเมืองในจังหวัดชัยนาท และเพื่อศึกษากิจกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ หรือกิจกรรมประมงที่ใช้ภูมิปัญญาชาวบ้าน ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อการอนุรักษ์ความหลากหลายของปลา ผลการศึกษาแสดงว่า กิจกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทำได้ตลอดปี โดยมีการใช้ภูมิปัญญาชาวบ้านน้อยมาก อุปสรรคสำคัญที่สุดที่ทำให้มีการเลี้ยงปลาพื้นเมืองน้อย ก็คือการเจริญเติบโตที่ต่ำ มีเกษตรกรเพียง 2% ที่เลี้ยงปลาพื้นเมือง (เลี้ยงในกระชัง 5 ชนิด และในบ่อดิน 5 ชนิด) ผลจากการสำรวจตลาดและผู้บริโภค (ภัตตาคาร) แสดงว่า ปลาจาด้าง (*Macrone wyckioides*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดที่ตลาดต้องการมากที่สุด เมื่อทำการสำรวจ กิจกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ หรือการประมงที่อาจมีผลกระทบต่อการอนุรักษ์ พบว่าการขุดบ่อล่อปลา อาจมีผลต่อการอนุรักษ์ เพราะเป็นที่รวบรวมลูกปลานขนาดเล็ก ส่วนการทำประมงรำมีผลต่อการอนุรักษ์น้อย ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เครื่องหมายพันธุกรรม microsatellite ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาแดง (*Phalacrodon bleekeri*) พบว่าปลาแดงประชากรโรงเพาะฟัก ซึ่งเลี้ยงไว้ผลิตลูกปลาสำหรับปล่อย มีพันธุกรรมที่เสื่อมโทรมลงมาก เมื่อเทียบกับประชากรธรรมชาติ ในแหล่งเดียวกัน ในขณะเดียวกันก็พบว่าปลาแดงที่ปล่อยลงแหล่งน้ำ ไม่ได้มีส่วนในพันธุกรรมของประชากรธรรมชาติเลย ในส่วนของความพยายามที่จะใช้เทคโนโลยีที่มีอยู่เพื่อแก้ปัญหาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของจังหวัดชัยนาท นิสิตระดับปริญญาตรี ของภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้ทำการวิจัย 2 จาก 5 หัวข้อ (หัวข้อ 4 และ 5) ต่อไปนี้ ได้แก่ (1) กายวิภาคของความแตกต่างระหว่างเพศและมิชวิทยาของอวัยวะปลาแดง; (2) การทดลองเบื้องต้นในการใช้ฮอร์โมน testosterone เพิ่มความสมบูรณ์ของเชื้อตัวผู้ของปลาแดง (3) การทดลองผลของอัตราความหนาแน่นต่ออัตราการรอดและการเจริญเติบโตของปลาจาด้างที่เลี้ยงในฟาร์มเกษตรกร (4) การศึกษาเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในปลานิลที่เลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดชัยนาท และอ่างทอง; (5) ผลของแบคทีเรียโปรไบโอติก ต่อความต้านทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และการเจริญเติบโตของปลาทราย

ABSTRACT

This study aimed to understand the present status of aquaculture and marketing of local fish species in Chainat and to study aquacultural/fisheries activities based on the people's knowledge relating to conservation of fish biodiversity. The results showed that aquacultural activities were performed all year round with people having only limited knowledge. The most important obstacle to rearing local species was their slow growth with only 2% of the farmers culturing local fish species (5 species each for cage and pond culture). The fish retailers stated that the highest freshwater fish demand was for Pla Kod Kaang (*Macrone wyckioides*). Aquacultural/fisheries activities that may impact conservation were explored and it was found that the fish-trapping ponds may impact conservation of freshwater fish species because the ponds were aggregation sites for fish fingerlings, while Kram (artificial fish shelters where fish are subsequently caught) may have a minor impact. In this study, based on newly developed microsatellite primers, genetic deterioration was reported in two hatchery stocks of Pla Daeng (*Phalacronotus bleekeri*) being used to produce fingerlings for restocking. No genetic contributions of the hatchery fish were detected in their wild counterparts. In attempts to employ technology to ease aquaculture problems occurring in Chainat province, five research topics were identified, with three (numbers 4, 5 and 6) being conducted by undergraduate students of the Department of Aquaculture. The topics were: (1) the anatomy of sexual dimorphism in Pla Daeng and histology of the testis; (2) a preliminary experiment on the effects of methyl testosterone (MT) on the fertility of Pla Daeng spermatozoa; (3) an on-farm experiment on the effects of stocking density on growth and survival of Pla Kod Kaang (*Macrone wyckioides*); (4) pathogenic organisms responsible for disease outbreaks of Nile tilapia cultured in cages in Chainat and Angthong provinces; and (5) the effects of probiotic bacteria on resistance to a bacterial pathogen (*Aeromonas hydrophila*) and growth of Clown featherback (*Chitala ornata*) fingerlings.

เนื้อหางานวิจัย

1. คำนำและที่มาของปัญหา

ชัยนาทเป็นอีกจังหวัดหนึ่งของประเทศไทย ที่มีศักยภาพสูงในด้านการเกษตร ทั้งนี้เพราะมีพื้นที่ในเขตชลประทานมากถึง 777,991 ไร่ หรือคิดเป็นร้อยละ 61.87 ของพื้นที่การเกษตรทั้งหมด จังหวัดชัยนาทมีแม่น้ำไหลผ่าน 3 สาย โดยมีผลผลิตสำคัญคือข้าว สำหรับการประมง และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนั้น มีปริมาณการผลิตไม่มากนัก (ผลผลิตจากการเพาะเลี้ยง 6,064.49 ตัน; กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง, 2553 และจากการจับ 1,378.84 ตัน ในปี 2551; ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง, 2553) ในขณะที่จังหวัดชัยนาทเคยมีชื่อเสียงในเรื่องความหลากหลายของชนิดปลา โดยเคยเป็นแหล่งของปลากะโห้ (*Catlocarpio siamensis*) และปลาม้า (*Boesemania microlepis*) เป็นต้น จากข้อมูลเหล่านี้แสดงถึงศักยภาพในเบื้องต้นที่จะพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ให้เป็นอาชีพทางเลือกของเกษตรกร ทั้งนี้ควรจะเน้นการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองของจังหวัดชัยนาท

อย่างไรก็ตามแนวคิดดังกล่าวเป็นเรื่องละเอียดอ่อน และมีข้อควรคำนึงหลายประการ เช่น ชนิดสัตว์น้ำที่ควรเลี้ยง ความต้องการของตลาด ปลาที่นำมาเลี้ยงต้องไม่มีผลเสียต่อความหลากหลายทางชีวภาพ หากสามารถเลือกชนิดที่สามารถใช้วัสดุอาหารที่มีอยู่ในท้องถิ่นได้ ก็จะสอดคล้องกับปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียงยิ่งขึ้น ฯลฯ

จากการศึกษาการผลิตปลาแรดในจังหวัดอุทัยธานี ในปีการผลิต 2548-49 พบว่าหากเกษตรกรประกอบอาชีพเลี้ยงปลาแรดเพียงอย่างเดียวจะประสบภาวะขาดทุน จำเป็นต้องมีอาชีพหลักอย่างอื่น และเลี้ยงปลาแรดเป็นอาชีพเสริมจึงจะได้กำไร (สาทิต จัตรชัยพันธ์ และคณะ, 2551) ข้อมูลนี้เป็นข้อเตือนใจได้อย่างดีว่า การวางแผนใดๆเกี่ยวกับอาชีพของเกษตรกร ต้องการการวิจัยอย่างเป็นระบบ เพื่อให้ได้ข้อมูลทุกแง่มุม

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาข้อมูลเชิงวิเคราะห์ เกี่ยวกับสถานการณ์การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองในจังหวัดชัยนาท demand และ supply ของสัตว์น้ำพื้นเมือง นอกจากนั้นการศึกษานโยบายที่ท้องถิ่นเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จะช่วยให้เข้าใจวิถีชีวิตของชาวจังหวัดชัยนาท และจะสามารถแนะนำการเลี้ยงปลาที่สอดคล้องกับวิถีชีวิต และภูมิปัญญา ตลอดจนทรัพยากรชีวภาพ ซึ่งจะทำให้เกิดความยั่งยืนของอาชีพต่อไป

นอกจากนั้นแล้วโครงการนี้ยังมีวัตถุประสงค์ในการส่งเสริมให้ผลิต มีส่วนร่วมในการวิจัย เป็นการสร้างความแข็งแกร่งให้กำลังคนด้านการวิจัยเป็นอย่างดี

สาทิต จัตรชัยพันธ์, อุทัยรัตน์ ณ นคร, สมพร อิศวิลานนท์ และชิตชนก นิยมไทย. 2551. การวิเคราะห์เศรษฐกิจการผลิตปลาแรดจังหวัดอุทัยธานี ปีการผลิต 2548/2549. น.329-339, ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 (สาขาประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

2. วัตถุประสงค์

- 2.1 เพื่อศึกษาสถานภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมือง ตลอดจนสมภาวะการตลาด ของจังหวัด ชัยนาท
- 2.2 เพื่อศึกษากิจกรรมการเพาะเลี้ยงปลาโดยภูมิปัญญาชาวบ้านที่เชื่อมโยงกับการอนุรักษ์ ความหลากหลายทางชีวภาพ

วัตถุประสงค์เชิงกิจกรรม

- (1) เพื่อรวบรวมข้อมูลการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองในจังหวัดชัยนาท ทั้งในแง่ชนิด ปริมาณ รูปแบบการเลี้ยง ฤดูกาล ภูมิปัญญาท้องถิ่นในการเลี้ยงสัตว์น้ำ
- (2) เพื่อศึกษาปริมาณการบริโภคสัตว์น้ำพื้นเมือง แหล่งที่มา และความผันแปรตามฤดูกาล
- (3) เพื่อศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ที่มีผลดีต่อการอนุรักษ์ เช่นการเลี้ยงปลาในนาข้าว หรือการขุดบ่อปล่อยปลาในนาข้าว
- (4) ศึกษาความหลากหลายทางชนิด และความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาบางชนิด
- (5) เพื่อศึกษาปัญหาในการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมือง และแนวทางแก้ไข

3. อุปกรณ์และวิธีการ

- 3.1 การรวบรวมข้อมูลการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองในจังหวัดชัยนาท ทั้งในแง่ชนิด ปริมาณ รูปแบบการเลี้ยง ฤดูกาล ภูมิปัญญาท้องถิ่นในการเลี้ยงสัตว์น้ำ

ทำการสัมภาษณ์เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จำนวน 26 รายจากจำนวนที่ลงทะเบียนทั้งหมด 32 ราย เพื่อเก็บข้อมูล โดยใช้แบบสอบถามประกอบ การประมวลและนำเสนอข้อมูล ทำโดยวิธี สติติเชิงพรรณนา

- 3.2 การศึกษาปริมาณการบริโภคสัตว์น้ำพื้นเมือง แหล่งที่มา และความผันแปรตามฤดูกาล

ทำการสัมภาษณ์ผู้ค้าปลาพื้นเมือง จำนวน 16 ราย ในเขตอำเภอเมือง (จากตลาดทุกแห่งที่มีในจังหวัด ซึ่งมีอยู่ 3 แห่ง: ตลาดเช้าบริเวณเขื่อนเจ้าพระยา 6 ราย; ตลาดนัดบริเวณเขื่อนเจ้าพระยา 4 ราย; ตลาดภาษีซุง 6 ราย) โดยใช้แบบสอบถาม ระหว่างวันที่ 14 ธันวาคม 2551 – 3 กุมภาพันธ์ 2552 ทำการประมวลและนำเสนอข้อมูล ทำโดยวิธี สติติเชิงพรรณนา

- 3.3 การศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ที่มีผลดีต่อการอนุรักษ์ เช่นการเลี้ยงปลาในนาข้าว หรือการขุดบ่อปล่อยปลาในนาข้าว

ทำการสำรวจกิจกรรมปล่อยปลา และการทำการประมงโดยใช้กรำ เก็บข้อมูลโดยการ สัมภาษณ์จากปล่อยปลา 15 ราย (จากจำนวน 19 ราย) กรำน้ำตื้น 40 ราย (จาก 53 ราย) และกรำน้ำลึก 2 ราย (จาก 2 ราย) สรรวจข้อมูลเกี่ยวกับวิธีดำเนินการ ฤดูกาล ชนิดปลาที่จับได้ ปริมาณผลผลิต

3.4 การศึกษาความหลากหลายทางชนิด และความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาบางชนิด

จากข้อมูลในข้อ 3.2 พบว่าศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดชัยนาท มีกิจกรรมการอนุรักษ์ปลาไทย 3 ชนิด ได้แก่ ปลาแดง ปลาดุก ปลาตะโกก ปลากระทิง โดยการเพาะพันธุ์ และปล่อยลงแม่น้ำเจ้าพระยา ส่วนหนึ่งนำไปให้เกษตรกรเลี้ยง ผู้วิจัยได้เลือกที่จะศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาแดง [*Phalacrotonotus bleekeri* (Günther, 1864)] เนื่องจากเป็นปลามีราคาดี เป็นที่นิยมของผู้บริโภค ประกอบกับศูนย์ได้เก็บรักษาพ่อแม่พันธุ์ไว้ ถึง 2 รุ่น ทำให้มีประเด็นการศึกษาที่ชัดเจน และจะเป็นประโยชน์กับกิจกรรมการอนุรักษ์ต่อไป

3.5 การศึกษาปัญหาในการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมือง และแนวทางแก้ไข

จัดการประชุม โดยเชิญเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มาให้ข้อมูลปัญหาอุปสรรคในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมือง จากนั้นเดินทางไปเยี่ยมฟาร์มเลี้ยงปลาในกระชังจำนวน 2 ฟาร์ม และฟาร์มที่เลี้ยงในบ่อดินจำนวน 2 ฟาร์มเพื่อรับทราบปัญหาทั้งนี้โดยมีนิสิตชั้นปีที่ 4 ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ร่วมประชุมกับเกษตรกรด้วย เมื่อได้ข้อมูลปัญหา อุปสรรคแล้ว นำมาปรึกษาร่วมกันระหว่างนิสิตและอาจารย์ จากนั้นจึงกำหนดประเด็นปัญหาในการวิจัย นอกจากนั้นได้ประชุมร่วมกับศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดชัยนาท เพื่อรับทราบกิจกรรมที่วิจัยเกี่ยวกับปลาพื้นเมือง ปัญหาและอุปสรรค นำข้อมูลที่ได้มาประกอบการตั้งโจทย์วิจัย

โจทย์วิจัยที่นำมาทำการวิจัยประกอบด้วย

- 3.5.1 กายวิภาคของความแตกต่างระหว่างเพศและมิวติยาของอวัยวะปลาแดง
- 3.5.2 การทดลองเบื้องต้นในการใช้ฮอร์โมน Methyl testosterone เพิ่มความสมบูรณ์ของเชื้อตัวผู้ของปลาแดง
- 3.5.3 การทดลองผลของอัตราความหนาแน่นต่ออัตราการรอดและการเจริญเติบโตของปลากดคังที่เลี้ยงในฟาร์มเกษตรกร
- 3.5.4 การศึกษาเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในปลานิลที่เลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดชัยนาท และอ่างทอง
- 3.5.5 ผลของแบคทีเรียโปรไบโอติกต่อความต้านทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และการเจริญเติบโตของปลากลาย

4. ผลการศึกษา

4.1 การรวบรวมข้อมูลการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองในจังหวัดชัยนาท ทั้งในแง่ชนิด ปริมาณ รูปแบบการเลี้ยง ฤดูกาล ภูมิปัญญาท้องถิ่นในการเลี้ยงสัตว์น้ำ

เกษตรกรจังหวัดชัยนาท มีการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองน้อย คิดเป็น 2% (32 ราย จากจำนวนที่ขึ้นทะเบียนฟาร์ม 1,589 ราย) แต่ละรายเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองหลายชนิด (มากกว่า 3 ชนิดขึ้นไป) โดยเกษตรกรทั้งหมดเลี้ยงปลาที่ไม่ใช่ปลาพื้นเมืองเป็นหลัก (เช่น ปลานิล ปลาทับทิม ปลาดุกกลุณผสม) สัตว์น้ำพื้นเมืองที่เลี้ยงประกอบด้วยปลา 9 ชนิด และสัตว์น้ำอื่น ๆ ได้แก่ กุ้งก้ามกราม โดยเกษตรกรที่เลี้ยงปลาในกระชังเลี้ยงปลาไทย 5 ชนิด (ปลาสวาย ปลาแรด ปลากดคัง ปลาเทโพ และปลาสังกะวาด) และเกษตรกรที่เลี้ยงปลาในบ่อ เลี้ยงปลาไทย 5 ชนิด (ปลาดูเพียนขาว ปลาช่อน ปลาสวาย ปลาสลิด และปลาหมอ) สามารถจำแนกเกษตรกรตามวิธีการเลี้ยง และชนิดปลาที่เลี้ยง ได้ดังปรากฏในตารางที่ 1 และ 2 โดยเกษตรกรรายหนึ่งอาจจะเลี้ยงปลาได้หลายชนิด

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลการเลี้ยงปลาพื้นเมืองในกระชังของเกษตรกรจังหวัดชัยนาท (หมายเหตุ: กระชังขนาด 25 ตารางเมตร)

ชนิดปลา	จำนวนราย	ระยะเวลาในการเลี้ยง (เดือน)	อัตราการปล่อย (ตัว/กระชัง ¹)	ขนาดที่จับขาย (กก/ตัว)	ราคาขาย (บาท/กก)
ปลาสวาย	2	24	1000-1500	2	30-35
ปลาแรด	2	24	2000	0.8	50-60
ปลากดคัง	4	24-36	1000-1500	1.5	120
ปลาเทโพ	3	14-18	1500-2000	2	60
ปลาสังกะวาด	5	12	2000	0.1-0.2	60-65

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลการเลี้ยงปลาพื้นเมืองในบ่อดินของเกษตรกรจังหวัดชัยนาท (หมายเหตุ: ¹ บ่อขนาด 1 ไร่; ² ฟาร์มส่วนใหญ่ปล่อยเป็นชนิดเสริม)

ชนิดปลา	จำนวนราย	ระยะเวลาในการเลี้ยง (เดือน)	อัตราการปล่อย (ตัว/บ่อ ¹)	ขนาดที่จับขาย (กก/ตัว)	ราคาขาย (บาท/กก)
ตะเพียนขาว	9	6	3000	0.7	25-35
ช่อน	6	12	3000	1.5-2	80-100
สวาย	1	6	2000	1-2	25-35
สลิด ²	4	6	2000	คละ	50-60
หมอ ²	3	6	2000	คละ	50

เกษตรกรผู้เลี้ยงปลา มีอายุเฉลี่ย 53.5 ปี แบ่งเป็นเพศชาย 69.2 เปอร์เซ็นต์ เพศหญิง 30.8 เปอร์เซ็นต์ ผู้เลี้ยงปลาเกือบทั้งหมดล้วนประกอบอาชีพอื่นควบคู่ไปด้วย มีเพียง 23.1 เปอร์เซ็นต์ที่ยึดอาชีพเลี้ยงปลาเป็นอาชีพหลักเพียงอาชีพเดียว โดยผู้เลี้ยงปลาประกอบอาชีพเกษตรกร 34.6 เปอร์เซ็นต์ รับจ้าง 32.2 เปอร์เซ็นต์ และอื่นๆ 33.2 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยงปลานั้น 84.6 เปอร์เซ็นต์ ใช้แรงงานในครัวเรือน มีเพียง 15.6 เปอร์เซ็นต์ที่ใช้แรงงานจ้าง

รูปแบบการเลี้ยงเป็นการเลี้ยงปลาในกระชัง 65.4 เปอร์เซ็นต์ (21 ราย) และเลี้ยงปลาในบ่อดิน 34.6 เปอร์เซ็นต์ (11 ราย) (ภาพการเลี้ยงปลาในกระชัง และบ่อดิน แสดงในภาพที่ 1 และ 2 ตามลำดับ) การเลี้ยงปลาในกระชังนั้นผู้เลี้ยงปลามีกระชังเฉลี่ย 3.7 กระชังต่อราย ขนาดกระชังเฉลี่ย 25 ตารางเมตร ส่วนผู้เลี้ยงปลาในบ่อดินมีจำนวนบ่อเฉลี่ย 5 บ่อต่อราย ขนาดเฉลี่ย 1600 ตารางเมตร แหล่งพันธุ์ปลา ส่วนใหญ่ซื้อจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดชัยนาท (30.8 เปอร์เซ็นต์) 23.1 เปอร์เซ็นต์ ของเกษตรกร ซื้อปลาจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดนครสวรรค์ และเกษตรกร 46.1 เปอร์เซ็นต์ ซื้อปลาจากฟาร์มรายย่อยหลายแห่ง

เกษตรกรจะขายปลาในสองรูปแบบเท่านั้น โดยส่วนใหญ่ (69.2 เปอร์เซ็นต์) ขายให้กับผู้ซื้อที่มารับซื้อที่ฟาร์ม โดยเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาอีก 30.8 เปอร์เซ็นต์จะนำผลผลิตไปขายที่ตลาดเอง



ภาพที่ 1 แสดงกระชังเลี้ยงปลาขนาดเฉลี่ยของเกษตรกรจังหวัดชัยนาท



ภาพที่ 2 แสดงบ่อเลี้ยงปลาขนาดเฉลี่ยของเกษตรกรจังหวัดชัยนาท

เกษตรกรมีปัญหาในการเลี้ยงปลาไทยดังนี้

- (1) ปลาไทย (ชนิดที่มีราคาดี) โตช้า ทำให้ต้องใช้เวลานานมาก บางชนิดอาจถึง 2 ปี (เช่นปลากดคัง ปลาดุก) (จำนวน 24 ราย)
- (2) ไม่มีตลาดค้าส่ง (จำนวน 21 ราย)
- (3) ขาดแคลนลูกปลา (จำนวน 11 ราย)
- (4) ขาดอาหารที่เหมาะสม (จำนวน 9 ราย)

อย่างไรก็ตาม ข้อมูลจากแบบสอบถามสามารถสรุปได้ในขั้นต้นว่า ชนิดปลาที่ควรเลี้ยงแตกต่างกันระหว่างการเลี้ยงในบ่อ และในกระชัง โดยในบ่อ ควรเลี้ยงปลาช่อน (*Channa striatus*) และปลาดุกเพียนขาว (*Barbodes gonionotus*) เพราะรอบการผลิตสั้น (6 เดือน) และเกษตรกรมีความรู้ในการเลี้ยงแบบต้นทุนต่ำอยู่แล้ว โดยให้เศษผัก เป็นอาหาร และเลี้ยงปนกับปลาอื่นๆ ส่วนในกระชังควรเลี้ยงปลาสังกะวาด (*Pangasius macronema*) เนื่องจากรอบการผลิตสั้น (1 ปี) ความต้องการของตลาดสูง (ทราบจากเกษตรกร) นอกจากนั้นปลาเทโพ (*Pangasius larnaudii*) ก็เป็นปลาชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะแม้รอบการผลิตจะค่อนข้างยาว (14-18 เดือน) แต่ยังสั้นกว่าปลาอื่นๆหลายชนิดและขายได้ราคาค่อนข้างดี (กิโลกรัมละ 60 บาท) ทั้งสองชนิดนี้สามารถเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดได้

แต่เมื่อทำการสำรวจทางด้านอุปสงค์ โดยสัมภาษณ์เจ้าของภัตตาคารจำนวน 7 ร้าน จากจำนวนทั้งหมด 16 ร้าน (การท่องเที่ยวแห่งประเทศไทย, 2552) และจากแบบสอบถามแม่ค้าปลาจำนวน 12 ราย ได้ข้อมูลตรงกันคือปลากดคัง (*Macrones wyckioides*) เป็นปลาที่ตลาดต้องการมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ปลาม้า (*Boesemania microlepis*) ปลาลิ่ง (*Pangasius conchophilus*) ผู้วิจัยจึงได้พูดคุยกับเกษตรกรในประเด็นชนิดปลาที่ควรเลี้ยงนี้ พบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่ต้องการเลี้ยงปลากดคัง เพราะเป็นปลาที่ค่อนข้างทนทาน ราคาดีมาก (กิโลกรัมละ 150-220 บาท) มีปัญหาเพียง 2 ประการคือ หาลูกพันธุ์ยาก และระยะการเลี้ยงนานถึง 2 ปี อย่างไรก็ตามพบว่าเกษตรกรปล่อยปลาหนาแน่นมาก (1000 ตัวต่อกระชังขนาด 5 x 5 ตารางเมตร ลึก 2 เมตร หรือ 20 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร) หากลดอัตราการปล่อยอาจทำให้เจริญเติบโตดีขึ้นได้ จึงได้ทำการทดลองเลี้ยงปลากดคังในฟาร์มเกษตรกร โดยเลี้ยงในความหนาแน่นต่ำ ซึ่งได้รายงานผลไว้ในรายงานฉบับนี้แล้ว

ฤดูกาล: เกษตรกรในจังหวัดชัยนาท เลี้ยงปลาตลอดปี เช่นเดียวกับเกษตรกรในท้องที่อื่นๆ อย่างไรก็ตามการเลี้ยงจะมีปัญหามากในช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาว (เดือนตุลาคม – พฤศจิกายน) ซึ่งเป็นเวลาเดียวกับฤดูน้ำหลาก โดยปลาจะเป็นโรคได้ง่าย และอาจตายทีละมากๆ

ภูมิปัญญาชาวบ้านในการเลี้ยงปลา: ข้อมูลจากแบบสอบถามทำให้ทราบถึงภูมิปัญญาท้องถิ่นดังนี้

- (1) เกษตรกร 1 ราย (นายสายชล วีระนนท์) ใช้เปลือกมะกรูดโรยในกระชังปลาทับทิม พบว่าสามารถรักษาอาการเป็นแผลตามตัว (ซึ่งอาจเกิดจากปรสิตได้)
- (2) เกษตรกร 1 ราย (นายประจวบ แจ่มเนตร) ใช้ “ลูกหญ้า” ซึ่งเป็นเศษเมล็ดวัชพืชที่ได้จากการสีข้าวมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงปลาดุกและปลาดูบในบ่อดิน พบว่าปลาเจริญเติบโตดี
- (3) เกษตรกร 1 ราย (นายปรีชา ชะเอม) พบว่าเมื่อนำกระชังแช่ต่างทับทิมก่อนการเลี้ยงปลา ทำให้ปลาเป็นโรคน้อยลง

4.2 การศึกษาปริมาณการบริโภคสัตว์น้ำพื้นเมือง แหล่งที่มา และความผันแปรตามฤดูกาล

พบว่าตลาดซื้อขายปลาที่สำคัญของจังหวัดชัยนาท ได้แก่ 3 ตลาดหลัก คือ

- (1) ตลาดเข้าบริเวณเขื่อนเจ้าพระยา (ขายทุกวัน ยกเว้นวันอาทิตย์) (ภาพที่ 3)
- (2) ตลาดนัดบริเวณเขื่อนเจ้าพระยา (ขายเฉพาะวันอาทิตย์)
- (3) ตลาดภาษีซุง (ขายทุกวัน) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 3 แสดงตลาดซื้อขายปลาบริเวณเขื่อนเจ้าพระยา



ภาพที่ 4 แสดงตลาดซื้อขายปลา ตลาดภาษีซุง

ปริมาณปลาที่เข้าสู่ตลาดประมาณวันละ 2,000 กิโลกรัม และ ประมาณ 80% เป็นปลาพื้นเมือง เช่น ปลาสวาย ปลาเทโพ ปลากดคัง ปลาขนาดใหญ่เหล่านี้ เกือบทั้งหมดมาจากแหล่งอื่น (จังหวัด นครสวรรค์ พิชณุโลก ประเทศพม่า และประเทศกัมพูชา) ซึ่งมีนางปัทมา แสงสุวรรณ เป็นผู้ค้าส่ง ก่อน ส่งต่อไปให้กับแม่ค้าในจังหวัดชัยนาท ส่วนปลาพื้นเมืองที่ผลิตได้จากจังหวัดชัยนาทเป็นปลาขนาดเล็ก เช่น ปลาแดง ปลาสังกะวาด ปลาเนื้ออ่อน และปลากray เป็นต้น โดยมีปริมาณไม่มากนัก และไม่แน่นอน

ฤดูกาล ปลาที่มีการเพาะเลี้ยง เช่นปลาสวาย ปลาเทโพ ปลากดคัง มีเข้าสู่ตลาดตลอดปี (อาจ พบได้ไม่ทุกวัน เนื่องจากปริมาณมีไม่มากนัก) ส่วนปลาที่จับจากธรรมชาติ เช่น ปลาแดง ปลาสังกะวาด ปลาเนื้ออ่อน และปลากray มีเฉพาะบางฤดูกาล ส่วนใหญ่จะมีในช่วงที่มีการจับปลาจากกร้า

4.3 การศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ที่มีผลต่อการอนุรักษ์

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เกษตรกรมีการเพาะเลี้ยงปลาไทยไม่มากนัก และการเพาะเลี้ยง เหล่านั้นแทบจะไม่มีผลต่อการอนุรักษ์ กล่าวคือเลี้ยงเพียงแค่อิงขนาดตลาด ปลายังไม่เจริญพันธุ์จึงไม่ สามารถใช้ปลาเหล่านั้นมาเป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ จึงได้ทำการสำรวจกิจกรรมการประมงที่อาจมีผลต่อการ อนุรักษ์แทน พบว่าในเขตจังหวัดชัยนาท มีกิจกรรมการประมงที่เข้าข่ายอยู่ 3 ประเภท ได้แก่ บ่อล่อปลา กร้าน้ำตื้น และกร้าน้ำลึก กิจกรรมทั้งสามประเภทนี้จำเป็นต้องขออนุญาตจากกรมประมง แต่ละกิจกรรม มีรายละเอียดดังนี้

4.3.1 บ่อล่อปลา ชาวนาบางส่วนจะทำการขุดบ่อเพื่อกักเก็บน้ำไว้ใช้ โดยอาศัยช่วงที่ น้ำท่วมโดยเปิดทางน้ำเข้า จากนั้นเมื่อน้ำเต็มบ่อ จะทำการปิดทางน้ำไม่ให้ออก และกักเก็บน้ำดังกล่าวไว้ ใช้ยามต้องการ ซึ่งผลพลอยได้หลังจากการสูบน้ำออก คือ ปลาที่ตกค้างอยู่ภายในบ่อ เกษตรกรจึงเรียก บ่อประเภทนี้ว่า “บ่อล่อปลา” จากการสำรวจข้อมูลของชาวนาที่ขุดบ่อล่อปลาในพื้นที่จังหวัดชัยนาท จำนวน 15 ราย (จากทั้งหมด 19 ราย) พบว่าชาวนามีบ่อเฉลี่ยคนละ 1.75 บ่อ และล้วนเป็นบ่อที่ขุดมา นานแล้วทั้งสิ้น เฉลี่ยบ่ออายุ 18.67 ปี ขนาดเฉลี่ย 925 ตารางเมตร ลึกเฉลี่ย 3 เมตร โดยชาวนาแต่ละ รายจะเริ่มทำการลดน้ำในช่วงเดือนพฤศจิกายนไปจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ โดยชนิดปลาที่ได้นั้นไม่

แตกต่างกัน สามารถจำแนกได้ดังนี้ ปลาช่อน 34.61 เปอร์เซ็นต์ ปลากระดี่ 26.92 เปอร์เซ็นต์ ปลาหมอ 23.07 เปอร์เซ็นต์ และปลาชนิดอื่นๆ (ปลาดตะเพียน ปลาสวาย ปลาสลิด ปลาแขยง ปลาสร้อย) 15.38 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นผลผลิตเฉลี่ย 0.17 กิโลกรัมต่อตารางเมตร โดยปลาที่จับได้ส่วนใหญ่เป็นลูกปลานานาชนิด (ภาพที่ 5) ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นลูกปลาแม่น้ำ เช่นปลาสวาย ปลาแขยง ปลานานาชนิดที่พบเป็นปลาที่อาศัยตามหนองบึง (เช่นปลาช่อน ปลาหมอ ปลาไหล ปลาหลด) โดยพบลูกปลาประเภทหลังเช่นเดียวกัน แสดงว่าพื้นที่บริเวณบ่อดักปลา เป็นแหล่งอนุบาลลูกปลาที่สำคัญ



ภาพที่ 5 แสดงปลาที่จับได้จากบ่อดักปลา

จากข้อมูลที่ได้แสดงว่าพื้นที่แถบนี้จะเป็นแหล่งเลี้ยงตัวของปลาแม่น้ำหลายชนิด ซึ่งลูกปลาจะแพร่กระจายตามน้ำขึ้นมาบริเวณท้องนาในช่วงน้ำหลาก เมื่อน้ำลดก็จะติดอยู่ในนา และหากินเจริญเติบโตอยู่ระยะหนึ่ง ลูกปลาเหล่านี้หากสามารถนำไปปล่อยคืนสู่แม่น้ำได้ ก็จะเจริญเติบโตขยายพันธุ์ได้ต่อไป ผู้รับผิดชอบ (เช่นกรมประมง หรือ องค์การปกครองส่วนท้องถิ่น) ควรหาแนวทาง เช่นอาจซื้อลูกปลาไปปล่อย หรือจัดทำโครงการให้ชาวบ้านมีส่วนร่วมในการปล่อยลูกปลาเหล่านี้ อย่่างไรก็ตาม จำเป็นต้องให้ความรู้และอุปกรณ์อำนวยความสะดวกแก่ชาวบ้าน จึงจะสามารถขนย้ายลูกปลาเหล่านั้นได้อย่างได้ผล

4.3.2 กร่ำ (จันทา) คือ เครื่องมือประมงชนิดหนึ่ง ทำโดยนำฟุ่ไม้มากองรวมกันในน้ำ เพื่อล่อให้ปลามาอาศัย ซึ่งชาวประมงในจังหวัดชัยนาททั้งหมด ใช้กั้งตันมะขามเนื่องจากเหตุผลที่ว่า ไม่มีหนามทำให้ไม่พันกับอวน จึงมีความเหนียวทนทาน มีความยืดหยุ่นสูง ไม่เปราะหัก หลังเก็บกู้แล้วสามารถนำกลับมาใช้ได้หลายครั้ง เมื่อวางกร่ำลงในน้ำแล้วจะใช้ไม้หลักปักยึดไว้มิให้กั้งมะขามถูกกระแสน้ำพัดพาไป จากนั้นจะทำการให้อาหารเป็นระยะเพื่อล่อให้มีปลามาอาศัยมากขึ้น จากนั้นเมื่อมีปลาจำนวนมากพอ (สังเกตจากปริมาณปลาที่มากินอาหาร) จะทำการล้อมจับด้วยอวน

จากการสำรวจชาวประมงในพื้นที่จังหวัดชัยนาท สามารถแบ่ง กร่ำออกเป็น 2 ประเภทตามระดับน้ำที่ทำการวางกร่ำล่อปลา คือ

(1) **กรำน้ำตื้น** ชาวประมงที่ทำการวางกรำน้ำตื้น จะวางกรำที่ระดับน้ำประมาณ 1-2 เมตร (ภาพที่ 6) เนื่องจากระดับน้ำตื้นจะสะดวกในการล้อมจับปลา โดยการใช้ไม้หลักไปปักลงในแม่น้ำ (ภาพที่ 7) เพื่อเป็นที่ยึดไม้ให้กิ่งไม้ซึ่งจะนำไปวางเป็นร่มเงาให้ปลาลอยไปตามน้ำ การจับทำโดยการลากอวนโดยใช้แรงงานคน (ภาพที่ 8) จากการสำรวจข้อมูลจากชาวประมงผู้วางกรำล่อปลาน้ำตื้นจำนวน 42 ราย (จากทั้งหมด 53 ราย) พบว่า ชาวประมงมีกรำเฉลี่ยรายละ 2.33 (± 1.39) กรำ มีขนาดเฉลี่ย 275 (± 45) ตารางเมตร โดยปกติชาวประมงจะเริ่มทำการวางกรำล่อปลาในเดือนพฤศจิกายน ไปจนถึงเดือนพฤษภาคม เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่กรมประมงอนุญาตให้ประกอบกิจกรรมดังกล่าวได้ แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระดับน้ำในแต่ละปีด้วย หากระดับน้ำสูงเกินไปก็ไม่สามารถวางกรำประเภทนี้ได้ โดยในปี พ.ศ.2551 ชาวประมงในพื้นที่ใต้เขื่อนเจ้าพระยา จังหวัดชัยนาทเริ่มวางกรำได้ช่วงเดือนมกราคม ถึงเดือนพฤษภาคม ปริมาณปลาที่จับได้จากกรำน้ำตื้นเฉลี่ยครั้งละ 458.36 (± 241.66) กิโลกรัมต่อกรำ แบ่งเป็นสัดส่วนดังนี้ ปลาสวาย 82.09 เปอร์เซ็นต์ ปลาสวาย 5.74 เปอร์เซ็นต์ ปลาตะเพียน 3.29 เปอร์เซ็นต์ ปลาสังกะวาด 2.87 เปอร์เซ็นต์ และอื่นๆ 6.01 เปอร์เซ็นต์ (เช่น ปลาหมอ ปลากระดี่ ปลาสร้อย ปลาหลด ปลากระทุงเหว ปลาหมอช้างเหยียบ เป็นต้น) ซึ่งหลังการล้อมจับแต่ละครั้งจะทำการล่อเช่นเดิมอีก โดยเว้นระยะเวลาเฉลี่ย 23 วันต่อรอบ หรือประมาณ 5.86 ครั้งต่อปี คิดเป็นผลผลิตสัตว์น้ำเฉลี่ย 2,685.98 ($\pm 1,416.13$) กิโลกรัมต่อกรำต่อปี



ภาพที่ 6 แสดงกรำน้ำตื้น (บริเวณแม่น้ำเจ้าพระยา อำเภอสรรพยา จังหวัดชัยนาท)



ภาพที่ 7 แสดงไม้หลักที่ใช้ปักเพื่อยึดกิ่งมะขาม (วัสดุล่อ) ไม่ให้กระน้ำพัดพาไป



ภาพที่ 8 แสดงการจับปลาจากกร้าน้ำตื้น

(2) **กร้าน้ำลึก** จะวางที่ระดับน้ำ 3 เมตรขึ้นไป โดยวางในช่วงเดียวกับกร้าน้ำตื้น (ช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึงเดือนพฤษภาคม) โดยล่อมจับปลาทุกๆประมาณ 30 วัน หรือประมาณปีละ 5 ครั้ง การล่อมจับต้องใช้เรืออย่างน้อย 3 ลำ และใช้อวนล่อมจับ (ภาพที่ 9) แต่แต่ละครั้งใช้แรงงานจำนวนมาก และผู้ดำเนินการต้องมีความชำนาญมาก จากข้อจำกัดดังกล่าวประกอบกับ พื้นที่ที่เหมาะสมมีไม่มาก ทำให้มีผู้ประกอบการน้อยราย โดยในจังหวัดชัยนาทมีชาวประมงที่ทำการวางกร้าน้ำลึกเพียง 2 ราย มีขนาดเฉลี่ย 500 ตารางเมตร ผลผลิตรวมเฉลี่ยครั้งละ 960 (± 150) กิโลกรัม แบ่งเป็น ปลาสร้อย

41.66 เปอร์เซ็นต์ ปลาสังกะวาด 20.83 เปอร์เซ็นต์ ปลาตะเพียน 10.42 เปอร์เซ็นต์ ปลาตะเพียนทอง 6.25 เปอร์เซ็นต์ และอื่นๆ 20.83 เปอร์เซ็นต์ (ปลาแดง ปลาทราย ปลาฉลาด ปลาแปบ ปลาตะโกก ปลาช่อน ปลาคางเบื่อน ปลาหนวดพราหมณ์ ปลากดคัง เป็นต้น; ภาพปลาแสดงในภาคผนวก) คิดเป็นผลผลิตสัตว์น้ำเฉลี่ย 4,800 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี



ภาพที่ 9 แสดงการจับปลาจากกร้าน้ำลึก

ผลกระทบของกร้าต่อการอนุรักษ์: กร้าแต่ละชนิดมีผลกระทบต่อการอนุรักษ์ต่างกัน กร้าน้ำตื้นซึ่งมีผลผลิตส่วนใหญ่เป็นปลาสร้อย มีผลกระทบต่อการอนุรักษ์น้อยหรือไม่มีเลย เนื่องจากการวางกร้า ไม่ได้ทำอันตรายแก่ปลามากจนผิดธรรมชาติ ในทำนองเดียวกันปลาที่จับได้ก็มีคุณค่าต่อการอนุรักษ์น้อย เพราะส่วนมากเป็นปลาสร้อยซึ่งยังมีชุกชุมอยู่ โอกาสในการรวบรวมปลาหายากเพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์จึงแทบไม่มีเลย ส่วนกร้าน้ำลึก ไม่น่ามีผลคุกคามต่อความชุกชุมของปลาเช่นเดียวกัน แต่กร้าน้ำลึกนี้อาจเป็นแหล่งที่สามารถรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลาหายากได้ เช่น ปลาทราย ปลาตะโกก ปลาหนวดพราหมณ์ เป็นต้น จึงน่าจะเป็นผลดีต่อการอนุรักษ์ ดังนั้นผู้รับผิดชอบจึงควรรีบทำการรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลาเหล่านี้ก่อนที่มันจะหมดไป

4.4 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาบางชนิด

อุทัยรัตน์ ณ นคร อัญลักษณ์ วชิรไชยการ วรวิทย์ พรหมปากดี

ปลาแดง [*Phalacrotonus bleekeri* (Günther, 1864)] เป็นปลาที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค โดยแม่น้ำเจ้าพระยา ในจังหวัดชัยนาทเป็นแหล่งสำคัญของปลาแดง ปัจจุบันปลาแดงมีปริมาณลดลงมาก กรมประมงจึงมีโครงการเพาะพันธุ์ปลาแดงเพื่อปล่อยลงในแม่น้ำ ในปัจจุบัน ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท มีพ่อแม่พันธุ์ปลาแดงอยู่ 2 รุ่น พ่อแม่พันธุ์เหล่านี้ใช้ในการผลิตลูกปลาเพื่อปล่อยปีละประมาณ 10,000 ตัว การจัดการพ่อแม่พันธุ์ยังไม่ได้นำหลักการทางพันธุศาสตร์มาใช้ ทำให้น้ำเป็นห่วง

ว่า พ่อแม่พันธุ์อาจมีฐานพันธุกรรมแคบ เมื่อนำลูกที่ได้ไปปล่อยลงแหล่งน้ำ อาจทำให้ประชากรในธรรมชาติเสื่อมโทรมลง จึงศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพ่อแม่ปลาเหล่านี้ เพื่อวางแผนการจัดการพ่อแม่พันธุ์ที่เหมาะสมต่อไป

การศึกษาใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นสำหรับปลาแดงโดยเฉพาะ ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมที่นำมาใช้ประโยชน์ในด้านการประมง และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำกันมากในปัจจุบัน เนื่องจากไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอมีเป็นจำนวนมาก และกระจายอยู่ทั่วทั้งจีโนม รวมถึงมีความหลากหลายของอัลลีลสูง ข้อได้เปรียบอีกประการหนึ่งคือไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ คือ มีความละเอียด (resolution) ในการตรวจสอบความแตกต่างที่อาจมีเพียงเล็กน้อย เช่น ความแตกต่างระหว่างประชากรโรงเพาะฟัก และประชากรในธรรมชาติ นอกจากนี้ยังมีการแสดงออกแบบข่มร่วม (codominant) ซึ่งจะทำให้ได้ข้อมูลทางพันธุกรรมที่ละเอียดกว่าเครื่องหมายพันธุกรรมที่มีการแสดงออกแบบข่มสมบูรณ์ (dominant) นอกจากนี้ไมโครแซทเทลไลท์ที่มีจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่งสูงจะสามารถประมาณค่าระยะห่างทางพันธุกรรมได้อย่างแม่นยำ การศึกษาไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอได้รับความนิยมนำมาใช้ในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร การจำแนกสต็อก การตรวจสอบพ่อแม่พันธุ์เมื่อเทียบกับเครื่องหมายพันธุกรรมชนิดอื่น เนื่องจากมีความหลากหลายสูงทำให้ได้ข้อมูลที่ละเอียด อีกทั้งมีข้อได้เปรียบทางด้านเทคนิคที่ใช้ดีเอ็นเอตัวอย่างในปริมาณน้อยจากเลือดหรือครีบปลาในการศึกษา จึงไม่ต้องฆ่าปลาที่นำมาเป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์

การศึกษาดังนี้ได้พัฒนาไพรเมอร์เพื่อศึกษาความหลากหลายไมโครแซทเทลไลท์ ของปลาแดงขึ้นเป็นครั้งแรก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นไพรเมอร์ที่สามารถทำปฏิกิริยาได้พร้อมๆ กันหลายคู่ (multiplex PCRs) ทำให้ประหยัดเวลาและสารเคมี จากนั้นใช้ไพรเมอร์ที่พัฒนาขึ้นศึกษาความเปลี่ยนแปลงของความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาแดงในโรงเพาะฟักเทียบกับปลาในธรรมชาติ

ทำการเก็บตัวอย่าง ปลาแดงในธรรมชาติจำนวน 39 ตัว ปลาจากโรงเพาะฟักซึ่งเป็นพ่อแม่พันธุ์อายุประมาณ 10 ปี (ฟักเป็นตัวในปี 2542) จำนวน 39 ตัว และปลาจากโรงเพาะฟักอายุประมาณ 2 ปี (ฟักเป็นตัวในปี 2550) จำนวน 40 ตัว ซึ่งการพัฒนาไพรเมอร์สำหรับไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในปลาแดงเพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยพัฒนาไพรเมอร์ขึ้นมาทั้งหมด 7 คู่ (ตารางที่ 3) เนื่องจากไพรเมอร์หนึ่งคู่มี linkage ระหว่างคู่ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ไม่เหมาะสมกับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม จึงเลือกใช้ไพรเมอร์ที่ไม่ link กันจำนวน 6 คู่ ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาแดง

ตารางที่ 3 ชื่อไพรเมอร์ ลำดับเบสซ้ำ ลำดับเบสของไพรเมอร์ ผลผลิตที่ได้จริง จำนวนอัลลีล และ เฮตเทอโรไซโกซิตี ค่าจากการคำนวณ ของไมโครแซทเทลไลท์ 7 ตำแหน่งที่พัฒนาจากปลาแดง

ชื่อไพรเมอร์	ลำดับเบสซ้ำ	ลำดับเบสของไพรเมอร์	ผลผลิตที่ได้จริง	จำนวนอัลลีล	เฮตเทอโรไซโกซิตี (การคำนวณ)
PBL10	(GT) ₂₅	F 5'GGCTCAGTTATAAACCCGACA3'	181-223	17	0.902

		R 5'AGGATGACCCTCATCACTCTG3'			
PBL06	(GA) ₉ N(GA) ₉	F 5'CCATCTAGTAGGGGTCCGTA3'	133-171	14	0.906
		R 5'TAGCTTGTGCGGTTTTCTGA3'			
PBL17	(GAA) ₈	F 5'TGTAAGCAAAGCTGTGAGCAA3'	220-235	5	0.588
		R 5'GGCGGGCAACAAAAGTTTAAT3'			
PBL21	(GT) ₉	F 5'TCTGAAGCCGCCTTTTAGTT3'	204-250	24	0.927
		R 5'GAAGGATCCACTGCCTGGTA3'			
PBL24	(GA) ₁₅	F 5'TGTGTGTTCTGACATGGGAAA3'	242-276	15	0.893
		R 5'CCCAATGGAAAAATAGGAACAA3'			
PBL26	(GA) ₆₃	F 5'CCAGTCCAGGTATAACAAGCAG3'	235-279	18	0.848
		R 5'AGGAACATGTTTGGGTCTCG3'			
PBL33	(CT) ₂₄	F 5'CTCAGAGGCCTCACAGCATT3'	156-194	16	0.889
		R 5'AATCGCGTTTCTTTGCATT3'			

ผลการศึกษาโดยสรุป พบว่าพ่อแม่ปลาในโรงเพาะฟักทั้งสองรุ่น มีความหลากหลายทางพันธุกรรมไม่ต่างกัน (ตารางที่ 4) แต่ความหลากหลายของอัลลีลต่ำกว่าปลาในธรรมชาติ ค่า effective population size (N_e) [ซึ่งหมายถึงจำนวนพ่อแม่พันธุ์ที่มีส่วนร่วมในองค์ประกอบทางพันธุกรรมของประชากรอย่างแท้จริง และเป็นค่าที่แปรผันแบบผกผันกับอัตราการผสมเลือดชิด ($\Delta F = 1/2N_e$)] จึงสะท้อนถึงความยั่งยืนของประชากร มีค่าเท่ากับ 213 ในประชากรธรรมชาติ และมีค่าต่ำมากในประชากรพ่อแม่พันธุ์ ($N_e = 39$ และ 9 ในประชากรพ่อแม่พันธุ์ปี 2542 และ 2550 ตามลำดับ) การที่ความหลากหลายของประชากรโรงเพาะฟักลดต่ำลงดังนี้ ทำให้เกิดความกังวลว่าปลาที่ปล่อยลงในธรรมชาติอาจมีผลทำให้ความหลากหลายของปลาในธรรมชาติลดลงแล้ว อย่างไรก็ตามเมื่อนำข้อมูลของปลาธรรมชาติมาเทียบกับประชากรพ่อแม่พันธุ์ทั้งสองชุด และตัวประชากรธรรมชาติเอง เพื่อคำนวณว่าปลาโรงเพาะฟักมีส่วนในพันธุกรรมของปลาธรรมชาติหรือไม่ เพียงใด ผลการศึกษาพบว่า ประชากรโรงเพาะฟักไม่มีส่วนให้พันธุกรรมแก่ประชากรธรรมชาติเลย แสดงว่าปลาแดงที่ปล่อยลงแม่น้ำเจ้าพระยา คงจะไม่ได้ผสมพันธุ์กับปลาธรรมชาติ ซึ่งอาจเนื่องมาจากมีอัตราการรอดต่ำเกินไป

ผลจากการศึกษาจึงได้ข้อเสนอนี้ว่า เนื่องจากปลาธรรมชาติมีความหลากหลายสูงอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นต้องปล่อยปลาโรงเพาะฟักลงในแม่น้ำอีก ในทางตรงกันข้ามการปล่อยปลาจากพ่อแม่สองชุดนี้ลงไป หากมีจำนวนมากพอ อาจมีผลให้ปลาธรรมชาติสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งหมายความว่าปลาจะสูญเสียความสามารถในการปรับตัวในสภาพที่สิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป

ผลการศึกษาโดยละเอียด แสดงไว้ในภาคผนวก (ต้นฉบับเพื่อส่งตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ)

ตารางที่ 4 ความหลากหลายทางพันธุกรรม และค่า F_{IS} ของพ่อแม่พันธุ์ปลาแดง 2 รุ่น และปลาแดง

ประชากรธรรมชาติ; หมายถึง: n = จำนวนตัวอย่าง; A = ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่ง; A_e = ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่งถ่วงด้วยความถี่อัลลีล; H_o = ค่าเฉลี่ยเฮเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต; H_e = ค่าเฉลี่ยเฮเทอโรไซโกซิตีจากการคำนวณ; r_{xy} = ค่าเฉลี่ยความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างปลาแต่ละตัวในแต่ละประชากร

ประชากร	<i>n</i>	<i>A</i>	<i>A_e</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>r_{xy}</i>
		13.00 ±				
ธรรมชาติ	39	4.65 ^a	7.29 ± 2.67 ^a	0.84 ± 0.14 ^a	0.84 ± 0.12 ^a	-0.0257
พ่อแม่รุ่น 2542	39	8.00 ± 2.00 ^b	4.83 ± 1.61 ^b	0.75 ± 0.11 ^a	0.79 ± 0.07 ^a	-0.0154
พ่อแม่รุ่น 2550	40	7.17 ± 1.84 ^b	3.80 ± 1.39 ^b	0.70 ± 0.23 ^a	0.70 ± 0.15 ^a	-0.0277
Overall	118	9.39 ± 3.16	5.31 ± 1.79	0.76 ± 0.07	0.78 ± 0.07	

4.5 การศึกษาปัญหาในการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมือง และแนวทางแก้ไข

4.5.1 กายวิภาคของความแตกต่างระหว่างเพศและมิถุนวิทยาของอันทะปลาแดง

วิกรม รังสินธุ์ วรวิทย์ พรหมปากดี อุทัยรัตน์ ณ นคร

คำนำ

ปลาแดงเป็นปลาพื้นเมืองชนิดหนึ่งที่เป็นที่นิยมของชาวไทย ผลผลิตปลาแดงส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ ทั้งนี้เพราะยังไม่สามารถพัฒนาเทคโนโลยีการเลี้ยงปลาแดง ให้สามารถมีผลผลิตเพียงพอที่จะเลี้ยงเป็นอาชีพได้ การผลิตปลาแดงยังมีปัญหาตลอดเส้นทางการผลิต นับตั้งแต่การเพาะพันธุ์ การอนุบาล และการเลี้ยง ทั้งนี้เพราะขาดข้อมูลเบื้องต้นเชิงลึก ที่จะเป็พื้นฐานนำไปประยุกต์ได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งศึกษากายวิภาคและมิถุนวิทยาของปลาแดง โดยเน้นปลาเพศผู้ ซึ่งพบว่ามีปัญหาในเรื่องความสมบูรณ์ของน้ำเชื้ออยู่

วัตถุประสงค์

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์จำเพาะเพื่อทราบกายวิภาคเชิงเปรียบเทียบของปลาแดงทั้งสองเพศ และศึกษา มิถุนวิทยาของระบบสืบพันธุ์ของปลาแดงเพศผู้

อุปกรณ์และวิธีการ

ความแตกต่างระหว่างเพศ

นำปลาแดงพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งมีอายุประมาณ 2 ปี จำนวนเพศละ 2 ตัว สังเกตความแตกต่างระหว่างเพศของลักษณะภายนอก และลักษณะอื่นๆที่แสดงความแตกต่างระหว่างเพศ บันทึกและแสดงผลโดยการบรรยาย

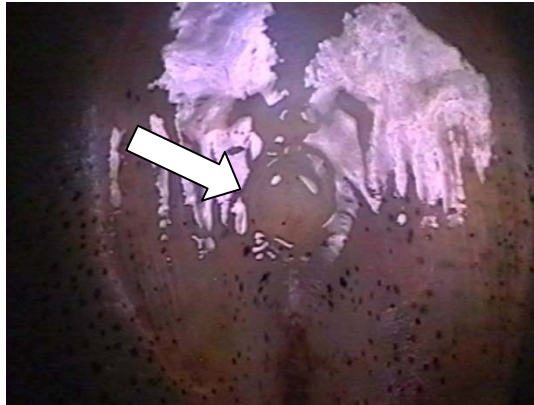
การศึกษามิถุนวิทยาของอันทะ

นำอันทะปลาแดง มาแช่ในน้ำยา Bouin's จากนั้นตรึงใน 50% Isopropyl alcohol แล้วนำไปฝังในพาราฟิน ตัดด้วยเครื่อง microtome หลังจาก mount บนสไลด์แล้วย้อมด้วยสี Haematoxylin-eosin เพื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ต่อไป

ผลการศึกษา

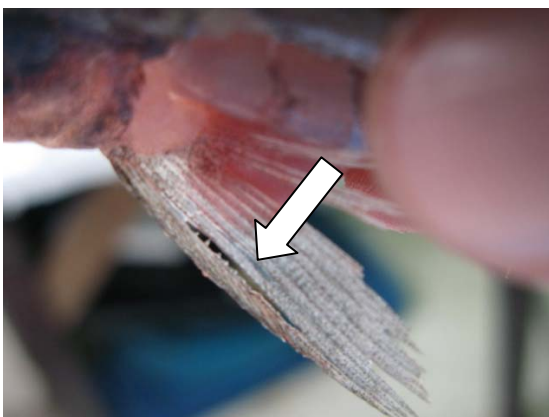
ความแตกต่างระหว่างเพศ

- (1) ความแตกต่างของติ่งเพศ (genital papilla) ในปลาแดงเพศเมียมีติ่งเพศที่กลม ส่วนปลาแดงเพศผู้มีติ่งเพศลักษณะรูปไข่ (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 แสดงติ่งเพศ (สรชี้) ของปลาแดงเพศเมีย (ภาพซ้าย) และเพศผู้ (ภาพขวา)

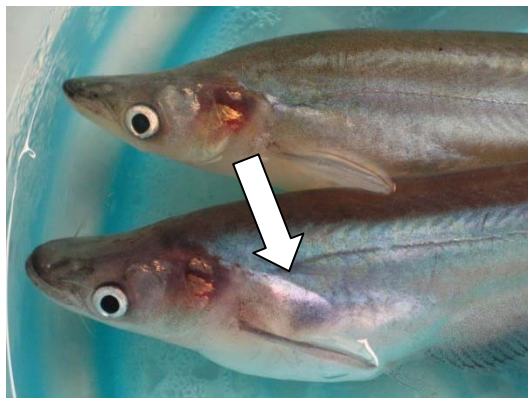
- (2) ก้านครีบก้างของครีบอกซึ่งมีลักษณะหยักด้านในของก้านครีบ (serrated spine) พบว่าปลาแดงเพศผู้มีขนาดของหนามดังกล่าวใหญ่กว่าปลาแดงเพศเมีย (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 หนามที่พบเรียงตัวอยู่ทางด้านในของครีบอก (สรชี้) ของปลาแดงเพศเมีย (ภาพซ้าย) และเพศผู้ (ภาพขวา)

- (3) ต่อมเมือกที่อยู่ทางด้านท้ายของครีบอก พบได้ในปลาแดงเพศเมื่อนั้น (ภาพที่ 12) สำหรับช่องเปิดที่นำเมือกออกมาจากต่อม สามารถพบได้ในตำแหน่งขอบด้านท้ายของ opercular flap โดยสมมุติฐานจากตำแหน่งของช่องเปิด เมือกดังกล่าวน่าจะถูกพัดพาไปพร้อมกับน้ำที่ไหลผ่านออกมาจาก

opercular cavity ในขณะที่หายใจ และเมื่อทำการรีดเพื่อให้ต่อมขับเมือกออกมา พบว่าในปลาที่มีชีวิต หรือในปลาที่ตายยังไม่สนิทจะไม่สามารถรีดเมือกดังกล่าวออกมาได้ แต่เมื่อปล่อยให้ปลาทายสนิท จะสามารถรีดเมือกดังกล่าวออกมาได้จำนวนมาก ตามภาพที่ 13



ภาพที่ 12 แสดงตำแหน่งของต่อมเมือกที่พบอยู่ทางด้านท้ายของครีบอก (ครี) ซึ่งพบได้ในปลาแดงเพศเมียเท่านั้น (ภาพล่าง) ส่วนเพศผู้ (ภาพบน) ไม่มีต่อมดังกล่าว



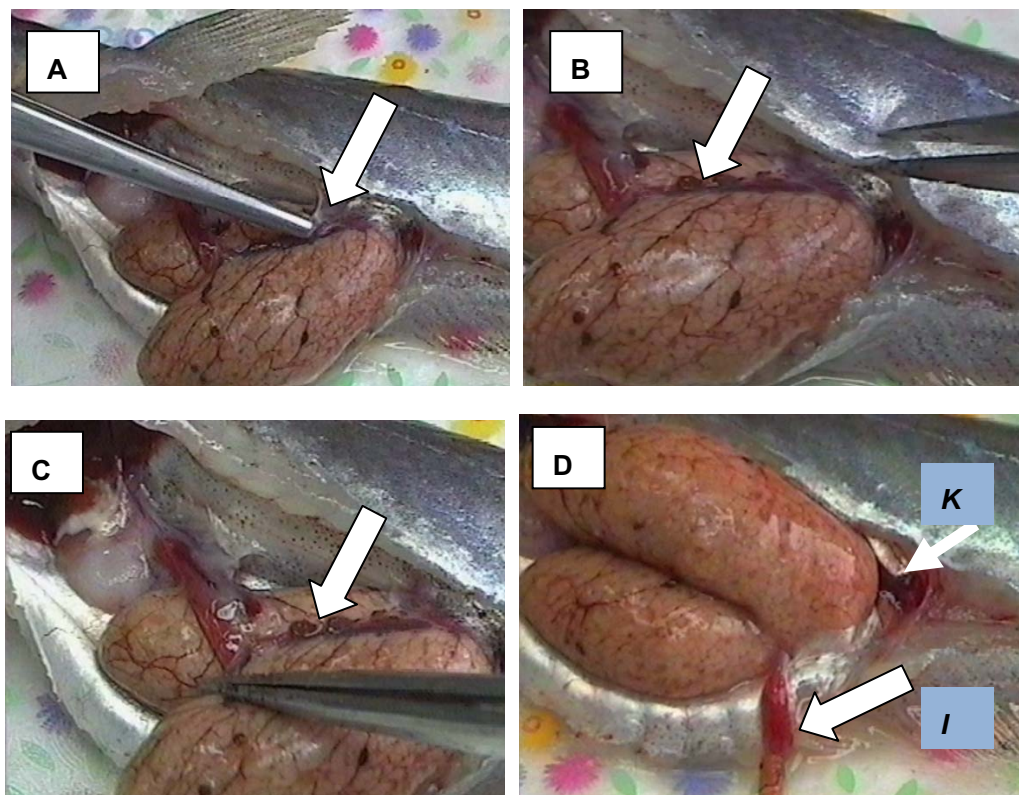
ภาพที่ 13 ภาพเมือกจากต่อมเมือก

ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ภายใน: รังไข่

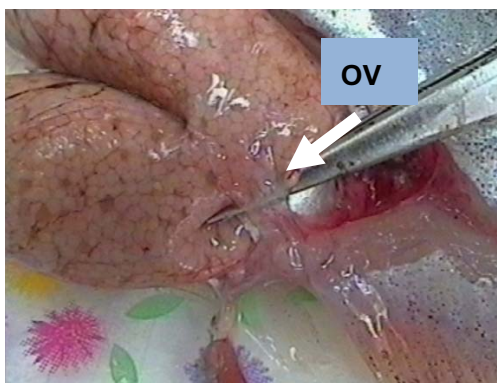
รังไข่ของปลาแดงมีขนาดใหญ่เต็มช่องท้อง ซึ่งตัวอย่างที่ได้ในเดือนกรกฎาคม พบว่ามีไข่สุกจำนวนมาก และสามารถพบไข่ในระยะแรกๆของการพัฒนาที่มีขนาดเล็กปะปนอยู่ทั่วไป รูปร่างของรังไข่ประกอบด้วยรังไข่จำนวน 2 ข้างมีปลายด้านหน้าแยกออกจากกัน ส่วนปลายด้านท้ายเชื่อมตัวรวมกัน และเป็นที่น่าสังเกตอยู่ 2 ประการคือ รังไข่ทางด้านบนจะเชื่อมตัวติดกันคิดเป็นความยาวประมาณ 3 ใน 4 ของความยาวรังไข่ รังไข่จะถูกยึดให้อยู่ในช่องท้องโดยมี mesovarium จับยึดอยู่ทางด้านท้ายของรังไข่ (ภาพที่ 14 A) โดยมีหลอดเลือด posterior intestinal vein ทอดตัวผ่าน (ภาพที่ 14 B, C) และ ส่วนปลายทางด้านท้ายของรังไข่จะมีไตประกอบอยู่ทั้ง 2 ด้าน (ภาพที่ 14 D) ส่วนทางด้านล่างของรังไข่ไม่มี

แนวที่เชื่อมรวมตัวกันของรังไข่ทั้ง 2 ข้าง แต่จะสามารถพบท่อทางเดินอาหารส่วนปลายทอดตัวผ่ากลางระหว่างรังไข่เพื่อไปเปิดออกยังรูทวาร

ที่ช่วงปลายของรังไข่ รังไข่ทั้งสองจะเชื่อมต่อกัน และมีท่อนำไข่ (oviduct) นำไข่ที่สุกแล้วออกไปยัง urogenital papilla (ภาพที่ 15)



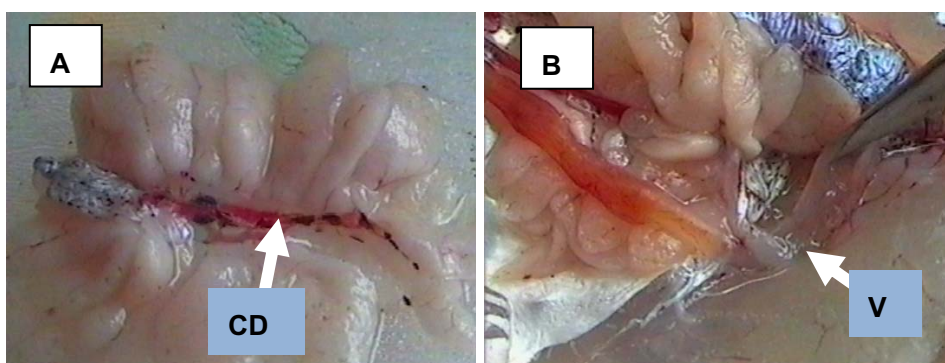
ภาพที่ 14 แสดงภาพรังไข่ และอวัยวะอื่นๆ ที่พบในช่องท้องของปลาแดง A. แสดง mesovarium (ศรชี้) ; B. และ C. แสดง posterior intestinal vein (ศรชี้) และ D. แสดงตำแหน่งของไต และลำไส้ (I = intestine, K = kidney)



ภาพที่ 15 แสดงภาพท่อนำไข่ (OV = oviduct) ของปลาแดง

ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ภายใน: อัณฑะ

อัณฑะของปลาแดง มีขนาดเล็ก ประกอบด้วยพู่จำนวนมากในแต่ละข้างของอัณฑะ ซึ่งแต่ละพูจะมีน้ำเชื้ออยู่ภายในในความเข้มข้นที่ต่างกัน (ภาพที่ 16) โดยสังเกตจากความขุ่นใสที่แตกต่างกัน สำหรับระบบท่อสืบพันธุ์เพศผู้ทำหน้าที่นำส่งน้ำเชื้อออกภายนอกร่างกายประกอบด้วยท่อรวบรวมน้ำเชื้อ (collecting duct) ที่ทอดตัวอยู่ในแนวกลางตัวของอัณฑะในแต่ละข้าง ตามภาพ 16B ซึ่งทำหน้าที่รวบรวมน้ำเชื้อจากแต่ละพูของอัณฑะ ไปเปิดรวมกันที่ท่อนำน้ำเชื้อ vas deferens ซึ่งเป็นท่อเดี่ยว เพื่อนำน้ำเชื้อออกสู่ภายนอกผ่านช่องปิดที่ปลายติดเพศ โดยมีท่อนำปัสสาวะเดินทางทอดตัวผ่านเข้าไปยังติ่งเพศด้วยกัน (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 แสดงภาพอัณฑะของปลาแดง (A.) แสดงตำแหน่งของ collecting duct (CD); (B.) แสดงตำแหน่งของ vas deferens (V) และอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทางมิถุนวิทยาของอัณฑะปลาแดง

อัณฑะปลาแดงประกอบด้วยเซลล์สืบพันธุ์ทุกระยะ ตั้งแต่ระยะแรกคือ spermatogonia ซึ่งเป็นเซลล์ขนาดค่อนข้างใหญ่มองเห็นนิวเคลียสขนาดเล็กชัดเจน spermatocyte เป็นเซลล์ที่เริ่มแบ่งตัวจึงมีขนาดเล็กลงกว่า spermatogonia นิวเคลียสจึงติดสีเข้ม ส่วน spermatids เป็นระยะที่มีการแบ่งเซลล์แบบ

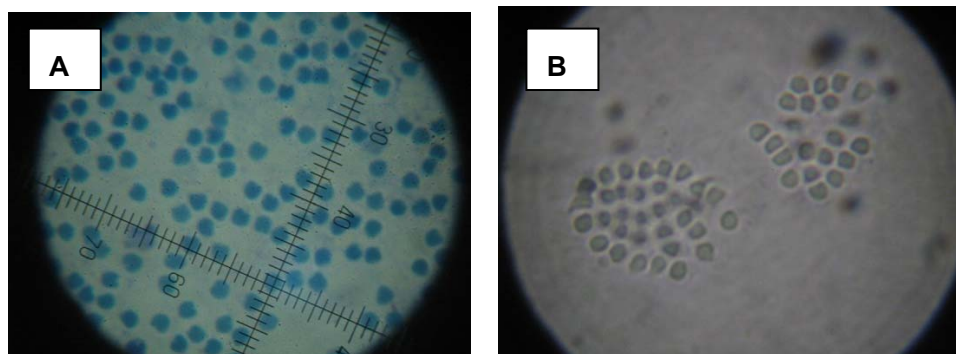
meiosis เสร็จสิ้นแล้ว แต่ยังไม่พัฒนาเป็น spermatozoa เซลล์จะมีขนาดเล็กและมองเห็นขอบเซลล์ไม่ชัด พบ spermatozoa ซึ่งมีลักษณะกลมติดสีเข้ม จำนวนไม่มากนัก (ภาพที่17)



ภาพที่ 17 แสดงเนื้อเยื่ออัณฑะของปลาแดงที่กำลังขยาย 1000 เท่า SG = spermatogonia, SC = spermatocyte, ST= spermatid, SZ=spermatozoa

ลักษณะของเชื้อตัวผู้ของปลาแดง

เชื้อตัวผู้ของปลาแดง มีส่วนหัวที่มีรูปร่างรี อย่งไรก็ตามเมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์ อาจเห็นรูปร่างต่าง ๆ กัน ขึ้นกับมุมมอง เส้นผ่าศูนย์กลางของส่วนหัวน้ำเชื้อมีขนาดประมาณ $1.5-2.0 \times 10^{-3}$ มิลลิเมตร และพบว่ามีหางยาวมาก น้ำเชื้อที่ไม่ผ่านการย้อมสี จะอยู่เป็นกลุ่มๆ (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 แสดงภาพของตัวน้ำเชื้อที่ผ่านการย้อมสี Giemsa (ภาพ A) น้ำเชื้อที่ไม่ได้ย้อมสี (ภาพ B)

วิจารณ์ผล

ปลาแดงที่เจริญพันธุ์แล้ว และอยู่ในฤดูผสมพันธุ์มีลักษณะภายนอกแตกต่างกันชัดเจน ทั้งนี้จากข้อมูลของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท พบว่านอกฤดูผสมพันธุ์ จะแยกเพศได้ยากมาก พบ

ลักษณะที่พิเศษ คือเพศเมียมีต่อมเมือก ซึ่งอาจสัมพันธ์กับการสืบพันธุ์ของปลาแดง เมื่อนำเมือกที่หลั่งออกมาจากต่อมไปผสมกับน้ำ พบว่าเมือกสามารถละลายในน้ำได้ดีมาก และใช้เมือกในปริมาณเพียง 0.01 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต่อ น้ำ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร พบว่าสามารถทำให้น้ำเป็นเมือกเหนียวได้ทั้งมวลของน้ำ และเมื่อนำสารละลายเมือกดังกล่าวไปกระตุ้นน้ำเชื้อ พบว่าสามารถกระตุ้นน้ำเชื้อให้เคลื่อนที่ได้ดี แสดงว่าเมือกดังกล่าวไม่ได้ส่งผลต่อคุณสมบัติของน้ำ ซึ่งคาดว่าเมือกดังกล่าวน่าจะทำหน้าที่เพียงทำให้เกิดโครงข่ายของโมเลกุลในลักษณะ polymer เท่านั้น ส่วนการใช้ประโยชน์จากเมือกที่สร้างมาจากต่อม ที่มีคุณสมบัติที่สามารถทำให้น้ำในปริมาณมากเกิดเป็นเมือกเหนียวได้นั้นสามารถพบได้ในปลา Hagfish ซึ่งหลังเมือกจำนวนมากออกมาเพื่อป้องกันตัว โดยเมือกจะรบกวนกระบวนการแลกเปลี่ยนก๊าซของ gill lamella ของปลา หรืออาจทำหน้าที่เป็น scent organ เพื่อสื่อสารกับเพศตรงกันข้าม หรือ ใช้ในกระบวนการสร้างรังเพื่อปกป้องไข่ที่ผ่านการวางไข่ไปแล้ว ซึ่งต้องทำการศึกษากันต่อไป

จากลักษณะทางมิวชีววิทยาแสดงว่า ปลาแดงที่นำมาศึกษามีปริมาณเชื้อตัวผู้ค่อนข้างน้อย ซึ่งอาจเป็นธรรมชาติของปลาชนิดนี้ หรืออาจแสดงถึงความไม่สมบูรณ์ของปลาชนิดนี้

การศึกษาดังนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้น ที่ทำให้มองเห็นประเด็นการศึกษาที่จะทำต่อไปได้อาทิเช่น บทบาทของต่อมเมือก หรือความสมบูรณ์ของอวัยวะ เป็นต้น

4.5.2 การทดลองเบื้องต้นในการใช้ฮอร์โมน testosterone เพิ่มความสมบูรณ์ของน้ำเชื้อปลาแดง

วิกรม รัชสินธุ์ วรวิทย์ พรหมปากดี อุทัยรัตน์ ณ นคร

คำนำ

ปลาแดง (*Phalacrodon bleekeri*) เป็นปลาน้ำจืดที่พบในแม่น้ำลำคลองทั่วประเทศ ปลาชนิดนี้เป็นที่นิยมอย่างสูงของผู้บริโภคชาวไทย จึงทำให้มีการจับปลาชนิดนี้มาก ประกอบกับสภาวะแวดล้อมที่เสื่อมโทรมลงโดยทั่วไป มีผลให้ปริมาณปลาแดงในธรรมชาติลดน้อยลง กรมประมงได้ทำการวิจัยจนสามารถเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ได้โดยศูนย์วิจัยพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท และนำลูกปลาที่ผลิตได้ ไปปล่อยลงแหล่งน้ำธรรมชาติ เพื่อการอนุรักษ์ อย่างไรก็ตามอัตราความสำเร็จในการเพาะพันธุ์ยังไม่ดีนัก

ในปัจจุบันศูนย์วิจัยพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท เพาะพันธุ์ปลาแดงได้โดยการฉีดฮอร์โมนผสมเทียม และเนื่องจากมีน้ำเชื่อน้อย ปลาตัวผู้จะถูกฆ่า และนำอวัยวะมาบดกับน้ำเกลือ อย่างไรก็ตาม พบว่าอัตราการอัตราก่อนขังต่ำ และไม่แน่นอน จากการตรวจตัวอย่างน้ำเชื้อของพ่อปลาแดง พบว่ามีน้ำเชื้อในปริมาณน้อยมาก นอกจากนั้นยังสังเกตว่า เชื้อตัวผู้มีหางยาวเป็นพิเศษ ผู้วิจัยจึงทดลองเร่งความสมบูรณ์ของน้ำเชื้อ โดยการให้พ่อปลากินอาหารผสม methyl testosterone (MT) ในความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นทดลองนำน้ำเชื้อไปผสมกับไข่ที่รีดได้จากปลาตัวเมีย นอกจากนั้นยังทดลองความเข้มข้นของน้ำเชื้อที่เหมาะสมในการผสมเทียม การทดลองนี้ทำระหว่างวันที่ 2 กันยายน – ตุลาคม 2552

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ทราบถึงผลของฮอร์โมน Methyl testosterone ต่อประสิทธิภาพของน้ำเชื้อ
2. เพื่อให้ทราบถึงผลของระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อต่อความสำเร็จของการผสมเทียม

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาทดลองและการให้ฮอร์โมน

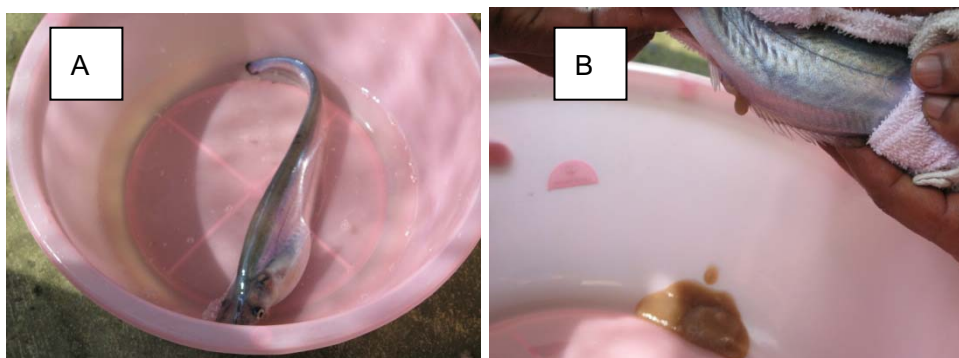
ปลาทดลองเป็นพ่อแม่พันธุ์ปลาแดง อายุประมาณ 2 ปี นำปลาเพศผู้จำนวน 60 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่มให้ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน Methyl testosterone ในอัตรา 0, 5 หรือ 10 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม โดยให้ปลาได้รับฮอร์โมนนาน 7 สัปดาห์ เลี้ยงปลาทดลองแต่ละชุด ในบ่อคอนกรีต ขนาด 2 x 2 ตารางเมตร ให้อาหารเนื้อปลาสด โดยให้กินจนอิ่ม วันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น ระบบน้ำเป็นแบบไหลผ่านตลอด

การทดลองระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อ

การฉีดฮอร์โมนปลาเพศผู้: คัดเลือกปลาเพศผู้จากทุกกลุ่มการทดลองจำนวนกลุ่มการทดลองละ 2 ตัว นำมาฉีดฮอร์โมนกระตุ้นจำนวน 1 ครั้ง ล้วงหน้าก่อนทำการผ่าตัดเพื่อเก็บอวัยวะเป็นระยะเวลานาน 6 ชั่วโมง นอกจากนั้นทำการชั่งน้ำหนักตัว และชั่งน้ำหนักอวัยวะ เพื่อนำไปหาค่า GSI

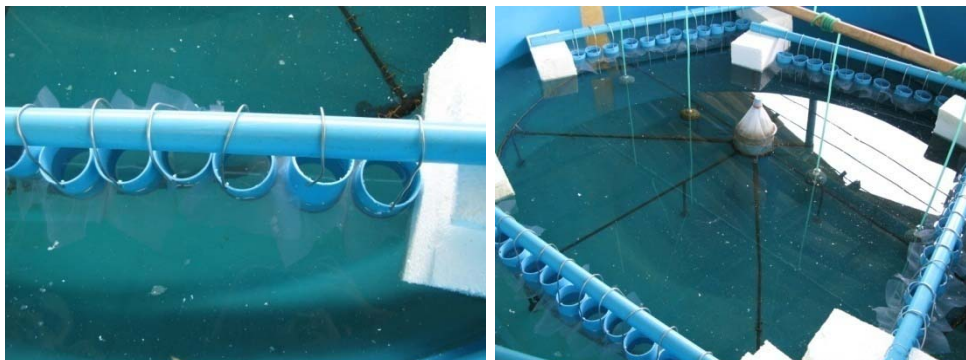
การฉีดฮอร์โมนปลาเพศเมีย: คัดเลือกปลาแดงเพศเมียจำนวน 5 ตัว ที่คาดว่าจะมีการพัฒนาไข่ ในระยะสุดท้ายมาทำการฉีดฮอร์โมนกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ ซึ่งตามปกติปลาแดงเพศเมียจะสามารถรีดไข่ได้ภายหลังจากการฉีดเข็มแรกประมาณ 12 ชั่วโมง

เมื่อแม่ปลาพร้อมจะวางไข่ นำแม่ปลามาจับน้ำออกให้แห้ง แล้วรีดไข่ลงในจานแก้ว จากนั้นแบ่งไข่ปลาโดยใช้ไมโครปิเปต ส่วนละ 150 ไมโครลิตร (จำนวนไข่ประมาณ 100 - 200 ฟอง) ตัวละ 3 ส่วน (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 ภาพแม่ปลาแดง (A) และการรีดไข่ (B)

นำไข่แต่ละส่วน ผสมกับน้ำเชื้อที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้น ในปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วเขย่าไข่ให้เข้ากับน้ำเชื้อนาน 30 วินาที กระตุ้นให้เกิดการปฏิสนธิโดยเติมน้ำ และเขย่าให้เข้ากันนาน 30 วินาที จากนั้นนำไข่ที่ปฏิสนธิแล้วไปเทใส่กระบอกลูกแพะฟัก (ภาพที่ 20)

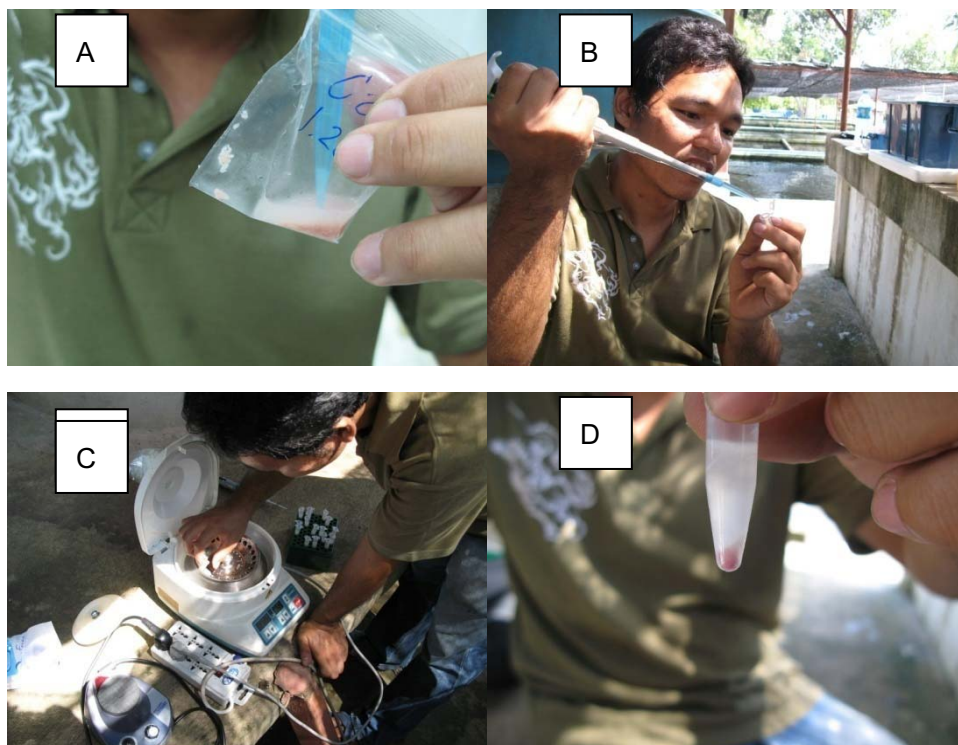


ภาพที่ 20 ภาพแสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะฟัก ประกอบด้วยท่อ PVC ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 นิ้ว สูง 7 เซนติเมตร ใช้ผ้าโอลอนซึ่งปิดส่วนปลายทางด้านล่าง ส่วนปลายทางด้านบนเจาะรูสำหรับสอดหลอดเพื่อแขวนกับราวท่อ PVC

การเตรียมน้ำเชื้อ

เตรียมน้ำเชื้อที่ใช้ผสมเทียม โดยผ้าทองปลานำถุงน้ำเชื้อมาชั่งน้ำหนัก จากนั้นตัดและรีดน้ำเชื้อลงใน petri disc เจือจางน้ำเชื้อ 3 ระดับคือ น้ำเชื้อเข้มข้น (ไม่ผสมน้ำเกลือ) น้ำเชื้อเจือจางในน้ำเกลือในสัดส่วน 1:10 (น้ำเชื้อ:น้ำเกลือ) และน้ำเชื้อเจือจางในน้ำเกลือในสัดส่วน 1:100 โดยมีวิธีการเตรียมโดยละเอียดดังนี้

เติมน้ำเกลือ 0.85% ในอัตรา 5 มิลลิตร/อันทะ 1 กรัม ตัดอันทะเป็นชิ้นเล็ก และขยี้ในถุงชิป แล้วดูดส่วนที่เป็นสารละลายไปปั่นที่ความเร็ว 2000 รอบ/นาที นาน 5 นาที เพื่อแยกตัวน้ำเชื้อออกจากเซลล์ชนิดอื่นๆ จากนั้นดูดส่วนใสทิ้ง แล้วเติมน้ำเกลือกลับลงไปให้ได้ปริมาตรเท่าเดิม จะทำให้ได้น้ำเชื้อเข้มข้นที่คัดแยกเซลล์สืบพันธุ์ในระยะอื่นๆออกไปแล้ว นำน้ำเชื้อเข้มข้นที่ได้ ไปเจือจางด้วยน้ำเกลือในอัตราส่วน 1:9 จะได้น้ำเชื้อที่มีความเข้มข้น 1:10 น้ำเชื้อที่มีความเข้มข้น 1:10 มาทำการเจือจางด้วยน้ำเกลืออีกครั้งในอัตราส่วน 1:10 จะได้น้ำเชื้อที่มีความเข้มข้น 1:100 (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 ภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมน้ำเชื้อปลาแดง A. ตัดอวัยวะเป็นชิ้นเล็กๆ ในถุงพลาสติก ขยี้เบาๆ B. ใช้ไปเปิดดูดน้ำเชื้อใส่ในหลอด เอฟเฟนดอร์ฟ C. นำไปปั่นเพื่อแยกเซลล์ spermatozoa ออกจากเซลล์น้ำเชื้อในระยะอื่นๆ D. ดูดส่วนใสทิ้ง แล้วเติมน้ำเกลือกลับลงไปให้ได้ปริมาตรเท่าเดิม

การเก็บข้อมูล

นับอัตราการฟักของลูกปลาที่ฟักในแต่ละกระบอกเพาะฟักที่ระยะเวลาหลังการปฏิสนธิ 24 ชั่วโมง โดยแยกเป็นลูกปลาที่มีลักษณะพิการ และลูกปลาปกติ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับจำนวนไข่ทั้งหมด

ผลการทดลอง

ปลาแดงเพศผู้ที่ได้รับ ฮอโมน Methyl testosterone ทั้ง 2 ระดับ (5 และ 10 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) จะมีค่า GSI [Gonadosomatic index = (น้ำหนักอวัยวะ/น้ำหนักตัว) x 100] ต่ำกว่าปลาที่ไม่ได้รับฮอโมน ตามตารางที่ 5 แต่เมื่อพิจารณาจากลักษณะของสีของอวัยวะพบว่า ในกลุ่มการทดลองที่ได้รับฮอโมนในระดับ 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะมีสีขุนขาวมากกว่ากลุ่มการทดลองอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนของ spermatozoa ของกลุ่มการทดลองที่ได้รับฮอโมนในระดับ 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งจะมีจำนวนของ spermatozoa ต่อปริมาตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรมากที่สุด ส่วนในกลุ่มการทดลองที่ได้รับฮอโมนในระดับ 10 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะมีความหนาแน่นของ spermatozoa ที่ต่ำที่สุด ตามตารางที่ 5 และมีข้อสังเกตอยู่ประการหนึ่งเกี่ยวกับรูปร่างของอวัยวะ

ซึ่งในกลุ่มควบคุมการทดลองที่ไม่ได้รับฮอร์โมนจะมีจำนวนแขนงของอวัยวะมากกว่ากลุ่มการทดลองที่ได้รับฮอร์โมน

ตารางที่ 5 แสดงค่า GSI และความเข้มข้นของน้ำเชื้อของปลาทดลอง ภายหลังได้รับ Methyl testosterone 7 สัปดาห์ (หน่วยความเข้มข้นของน้ำเชื้อ = 10^6 เซลล์ต่อ 1 ลูกบาศก์ เซนติเมตร)

Treatment	GSI	Sperm conc.
0 mg	2.06±0.30	184.0±50.90
5 mg	1.46±0.23	227.0±19.79
10 mg	1.44±0.05	157.5±9.19

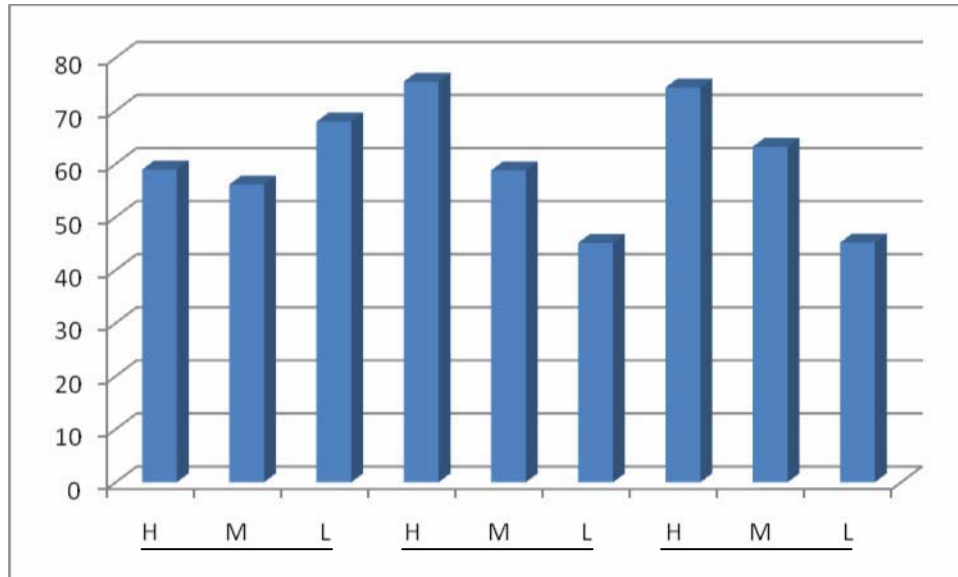
ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ และอัตราการฟัก

ปลาเพศผู้ที่ได้รับ Methyl testosterone 5 มก./อาหาร 1 กก. มีแนวโน้มจะให้น้ำเชื้อที่เข้มข้นที่สุด เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มการทดลองที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด พบว่าน้ำเชื้อที่ได้จากกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับฮอร์โมนมีอัตราการฟักของลูกปลาค่อนข้างต่ำกว่าชุดที่ได้รับฮอร์โมน (58.9 เปอร์เซ็นต์) ส่วนน้ำเชื้อที่ได้จากกลุ่มทดลองให้ฮอร์โมนที่ 5 และ 10 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีแนวโน้มให้อัตราฟักในระดับสูงกว่าและมีค่าใกล้เคียงกันโดยมีค่าเท่ากับ 75.49 ± 6.09 และ 74.39 ± 10.29 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และ น้ำเชื้อที่ได้จากกลุ่มทดลองที่ให้ฮอร์โมนจะมีแนวโน้มให้อัตราการฟักที่ลดลงตามความเข้มข้นของน้ำเชื้อที่ลดลงตามลำดับ ในขณะที่น้ำเชื้อที่ได้จากกลุ่มควบคุมการทดลองที่ไม่ได้รับฮอร์โมนการเจริญของน้ำเชื้อยังส่งผลที่ไม่สัมพันธ์กันกับอัตราการฟักของลูกปลา (ตารางที่ 6 ภาพที่ 22)

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นของน้ำเชื้อที่เจริญ 3 ระดับ (หน่วยความเข้มข้นของน้ำเชื้อ = 10^6 เซลล์ต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ของปลาแดงที่ได้รับ Methyl testosterone 3 ระดับ (0, 5 หรือ 10 มก./กก.) และอัตราการฟักเมื่อผสมน้ำเชื้อนี้กับไข่ของปลาแดงเพศเมีย

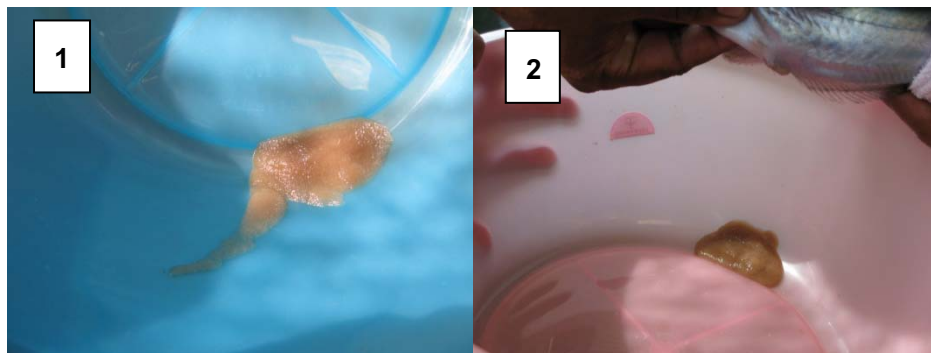
MT dose	Dilution	Sperm conc.	Hatching%
0 mg/kg	High	184±50.9	58.90±0.50
	medium	18.9±11.1	56.09±0.22
	low	1.3±0.8	67.95±6.98
5 mg/kg	High	227.0±19.8	75.49±6.09
	medium	27.65±1.2	58.75±10.95
	low	2.37±0.0	45.12±10.71
10 mg/kg	High	157.5±9.2	74.39±10.29

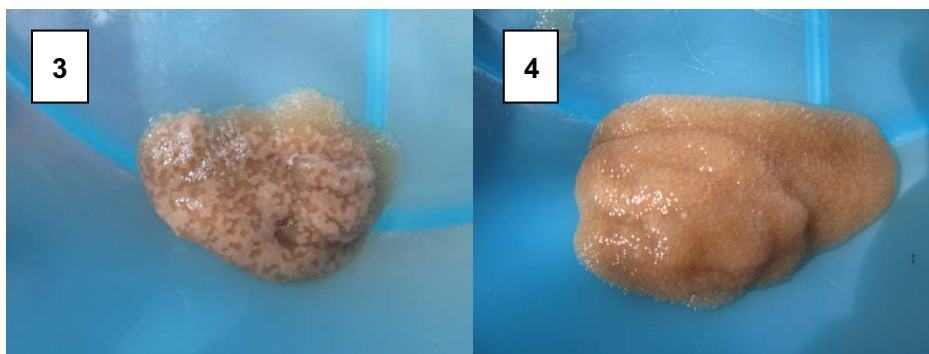
medium	12.5±0.4	63.23±5.03
low	1.6±1.8	45.15±14.89



ภาพที่ 22 อัตราการฟักจากการผสมไข่กับน้ำเชื้อปลาแดงที่ได้รับ Methyltestosterone ในอัตรา 0, 5 หรือ 10 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม และน้ำเชื้อเจือจาง 3 ระดับ H, M และ L = เข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ตามลำดับ

ผลอัตราการฟักแสดงให้เห็นถึงผลของคุณภาพของไข่ที่มีผลต่ออัตราการฟักของลูกปลาโดยตรง โดยไข่ที่ได้จากแม่ปลาแต่ละตัว มีสีและความหนืดของไข่แตกต่างกันตามภาพที่ 23 โดยไข่ที่ได้จากแม่ปลาตัวที่ 2 ที่ให้อัตราการฟักที่ดีที่สุด มีสีของไข่เป็นสีน้ำตาลเข้ม และมีความหนืดน้อย ส่วนไข่ที่ให้อัตราการผสมติดต่ำจะเป็นไข่ที่มีสีที่ซีดกว่าและมีความหนืดมาก และเป็นที่น่าสังเกตว่าในไข่ในมีสีที่ซีดกว่ามักจะมีไข่ที่ไม่สุก ที่มีสีขาวขุ่นปนอยู่ด้วย ซึ่งจะสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนในไข่ที่ได้จากแม่ปลาตัวที่ 3 ที่มีไข่ที่ไม่สุกปนมาในปริมาณมาก ซึ่งไข่ที่มีสีซีด เมื่อนำไปผสมกับน้ำเชื้อและกระตุ้นให้เกิดการปฏิสนธิ จะเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่นภายใน 30 นาที ซึ่งถือว่าการแสดงให้เห็นถึงสภาพความไม่พร้อมของไข่ปลาที่ เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วมาก ซึ่งในปลาทั่วไป จะทำการนับจำนวนปฏิสนธิในเวลาประมาณ 6-8 ชั่วโมง





ภาพที่ 23 สีของไข่ปลาจากแม่ปลาจำนวน 4 ตัว ซึ่งแม่ปลาตัวที่ 2 ให้ผลอัตราการฟักที่ดีที่สุด

สรุป

การทดลองนี้แสดงถึงความเป็นไปได้ที่จะเร่งความสมบูรณ์ของเชื้อตัวผู้ของปลาแดงด้วยการให้ฮอร์โมน Methyl testosterone (5 mg/kg feed) อย่างไรก็ตามควรมีการทดลองเพิ่มเติมเกี่ยวกับอัตราที่เหมาะสม แม้การทดลองครั้งนี้ยังให้ข้อมูลที่ไม่สามารถทดสอบทางสถิติได้ เนื่องจากจำนวนปลาทดลองมีน้อยเกินไป แต่ทำให้ได้แนวทางที่จะทดลองเพิ่มเติมต่อไปได้ นอกจากนี้ยังให้ข้อสังเกตที่เป็นประโยชน์กับการทดลองต่อไป เช่น การขยี้ก้อนตะกอนอาจทำให้เชื้อตัวผู้เสียหาย เนื่องจากเชื้อมีหางยาว ควรใช้วิธีการตัดแล้วนำไปปั่นด้วย centrifuge แทน; ข้อสังเกตเกี่ยวกับสีของไข่ที่สมบูรณ์ ฯลฯ

4.5.3 การทดลองเลี้ยงปลากดคังในอัตราความหนาแน่นต่างกันในฟาร์ม

เกษตรกร

ฉัตรชัย ไทยทุ่งฉิน สุบรรณ เสถียรจิตร ประพันธ์ศักดิ์ ศิริชะภูมิ อุทัยรัตน์ ณ นคร

คำนำ

ปลากดคัง (*Macrones wyckioides*) เป็นปลาพื้นเมืองที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค กรมประมงสามารถเพาะอนุบาลปลากดคังได้สำเร็จตั้งแต่ พ.ศ. 2532 (สุทธิชัย ฤทธิธรรมและอุบลรัตน์ สุนทรรัตน์ 2533) และเริ่มมีการทดลองเพื่อพัฒนาการเลี้ยงปลากดคังนับแต่นั้นมา จากผลการทดลองพบว่า การเลี้ยงปลากดคังในกระชังขนาด 25 ตารางเมตร ลึก 2 เมตร ตรึงกระชังในอ่างเก็บน้ำแม่ถาง จังหวัดแพร่ ปล่อยปลาในอัตรา 16 ตัว/ตารางเมตร (8 ตัว/ลูกบาศก์เมตร) ให้อาหารเม็ดสำหรับปลาดุก เลี้ยงนาน 10

เดือน ได้ปลาขนาดตัวละ 1-1.2 กิโลกรัม ผลผลิตรวม 400 กิโลกรัม/กระชัง (วิศนุพร รัตนตรัยวงศ์ และคณะ 2537) ถ้าเลี้ยงด้วยกระชังขนาดเดียวกันในบ่อดิน ปล่อยปลา 30 ตัว/ตารางเมตร เลี้ยงด้วยเนื้อปลาบดเป็นหลัก เลี้ยงนาน 6 เดือน ได้ปลาขนาดตัวละ 0.4 – 0.5 กิโลกรัม ผลผลิต 300 – 400 กิโลกรัม ส่วนการเลี้ยงในบ่อดินได้ผลไม่ดีเท่าการเลี้ยงในกระชัง แม้อัตรารอดจะดีกว่า แต่ปลาโตช้ากว่ามาก (รวบรวมโดย วิศนุพร รัตนตรัยวงศ์, 2542)

ในจังหวัดชัยนาท มีเกษตรกรหลายรายที่ทดลองเลี้ยงปลากดคัง พบว่ามีการเจริญเติบโตต่ำมาก ทำให้ต้องใช้เวลานานถึงประมาณ 2 ปี จึงจะได้ขนาดตลาด ซึ่งมีผลให้ต้นทุนสูง จากการเก็บข้อมูลเบื้องต้นพบว่า เกษตรกรปล่อยปลาในความหนาแน่นค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับอัตราปล่อยที่กรมประมงแนะนำไว้ (เกษตรกรปล่อยประมาณ 40 ตัว/ตารางเมตร) ดังนั้นจึงทำการทดลอง เปรียบเทียบการปล่อยปลาในอัตราปล่อยที่ต่ำกว่าอัตราปล่อยของเกษตรกรครึ่งหนึ่ง กับการปล่อยในอัตราปกติ โดยทำการทดลองในฟาร์มเกษตรกร ซึ่งผลการทดลองที่ได้ เกษตรกรจะสามารถนำไปใช้ได้ทันที นอกจากนั้นแล้วระหว่างการทดลองนักวิจัยยังสามารถให้คำแนะนำในการเลี้ยงแก่เกษตรกร ซึ่งเป็นประโยชน์กับเกษตรกรเป็นอย่างยิ่ง

สำหรับความสัมพันธ์ของอัตราปล่อยกับอัตราการเจริญเติบโต จะแตกต่างกันไปตามชนิดปลา โดยปลาที่มีนิสัยรวมฝูงจะเจริญเติบโตดีในอัตราความหนาแน่นสูง และการเจริญเติบโตจะลดลงที่อัตราความหนาแน่นต่ำ (Papoutsoglou *et al.*, 1998; Gardeur *et al.*, 2001) การทดลองในปลาชนิดเดียวกันก็สามารถให้ผลของอัตราปล่อยแตกต่างกัน เมื่อทดลองในสภาพการเลี้ยงแตกต่างกัน เช่นถ้าเลี้ยงในกระชังในแม่น้ำ เมื่อเพิ่มอัตราปล่อย การเจริญเติบโตอาจไม่ลด เนื่องจากคุณภาพน้ำไม่ลดลงเพราะน้ำมีการถ่ายเทดี (Yilmaz and Arabaci, 2010) แต่เมื่อทดลองเลี้ยงในบ่อ การเพิ่มอัตราปล่อยให้สูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตลดลง

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของการลดอัตราการปล่อยเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของปลากดคังที่เลี้ยงในกระชังในฟาร์มเกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาทดลอง

ลูกปลากดคังอายุ 1 เดือน (ขนาด 2-3 ซม.) ที่ซื้อจากวิวัฒน์ฟาร์ม จังหวัดพิษณุโลก จำนวน 6000 ตัว (ฟาร์มละ 2000 ตัว) นำมาอนุบาลในแต่ละฟาร์มนานประมาณ 1 เดือน (9 เมษายน – 13

พฤษภาคม 2552) จนได้ขนาดความยาว 8-10 ซม. (น้ำหนัก 5.3 – 10.4 กรัม) ซึ่งเป็นขนาดที่สามารถลงปล่อยในกระชังเลี้ยงได้

สถานที่ทดลอง

ทำการทดลองในฟาร์ม 3 ฟาร์ม (ภาพที่ 24) มีรายชื่อตามตารางที่ 7 โดยคัดเลือกจากฟาร์มที่เคยเลี้ยงปลากดคังอยู่ก่อนแล้ว และให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูล

ตารางที่ 7 ชื่อฟาร์ม ที่อยู่ ความยาว และน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยของปลากดคังเมื่อเริ่มการทดลอง

ชื่อฟาร์ม	ที่อยู่	ความยาวเริ่มต้น (ซม.)	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)*
ฟาร์มที่ 1 คุณประมวล รุ่งทอง	เลขที่ 70 หมู่ 4 ตำบลท่าชัย อำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท	8.00 ± 1.14	5.49
ฟาร์มที่ 2 คุณประยูร ช้างทอง	เลขที่ 4 หมู่ 1 ตำบลหนองน้อย อำเภอดงสิงห์ จังหวัดชัยนาท	8.52 ± 1.28	7.87
ฟาร์มที่ 3 คุณสุวิทย์ พรหมจาก	เลขที่ 12 หมู่ 4 ตำบลท่าชัย อำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท	9.73 ± 0.89	10.02

* น้ำหนักเฉลี่ย = น้ำหนักรวม/จำนวนตัว

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design โดยให้แต่ละฟาร์มเป็นซ้ำ (block) ในแต่ละฟาร์มมีปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่อาจต่างกันได้แก่ ขนาดลูกปลาเมื่อเริ่มทดลอง คุณสมบัติน้ำ และการจัดการ ปล่อยปลาทดลองในกระชังขนาด กว้าง 3 เมตร ยาว 5 เมตร ลึก 2 เมตร ขนาดตา 1 ซม. และเมื่อเลี้ยงได้นาน 6 เดือน เปลี่ยนเป็นกระชังขนาดเดียวกัน แต่ใช้อวนขนาดตา 3 ซม. จนสิ้นสุดการทดลอง ปล่อยลูกปลาในอัตรา 300 และ 600 ตัว/กระชัง ให้อาหาร เม็ดสำหรับปลาดุก ปริมาณโปรตีน 30% ให้อาหารวันละ 3 ครั้ง (เช้า เทียง และเย็น) ในระยะ 2 เดือนแรกของการทดลอง หลังจากนั้นให้วันละ 2 ครั้ง (เช้า และเย็น) โดยให้กินจนอิ่ม



ภาพที่ 24 ฟาร์มที่ทำการทดลอง 1. ฟาร์มคุณประมวล รุ่งทอง 2. ฟาร์มคุณประยูร ช้างทอง
3. ฟาร์มคุณสุวิทย์ พรหมจาก

การเก็บข้อมูล

ทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวปลาทดลองเดือนละ 1 ครั้ง โดยสุ่มปลามากระชังละ 30% ยกเว้นในบางเดือนซึ่งสภาพอากาศไม่เหมาะสม หรือปลากำลังมีอาการของโรค ก็จะเว้นไม่ชั่งวัด อย่างไรก็ตามเมื่อเลี้ยงได้ 7 เดือน เกษตรกรได้ขอให้ลดความถี่ของการชั่งวัดลง เป็น 2 เดือนต่อครั้ง เพื่อลดความเครียดของปลา เก็บข้อมูลคุณภาพน้ำในกระชังและนอกกระชังในวันที่ชั่งวัด สำนวจอาการของโรค เมื่อพบปลาที่มีอาการของโรค นำตัวอย่างปลามาตรวจโรคและปรสิต ณ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นับจำนวนปลาที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลองและคำนวณอัตราการรอด

การวิเคราะห์ข้อมูล

ทดสอบการกระจายของข้อมูล พบว่าข้อมูลทุกชุด มีการกระจายแบบปกติ วิเคราะห์ความแปรปรวนตามวิธี Analysis of Variance โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS, 2003)

ผลการทดลอง

ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 8 เมื่อเริ่มทดลองปลาทดลองมีอายุ 2 เดือน เมื่อเลี้ยงไปได้ 1 เดือน ปลาทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่น 300 ตัว/กระชังมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่น 600 ตัว/กระชัง แต่ปลาทั้ง 2 ชุดมีความยาวไม่แตกต่างกัน

ในเดือนที่ 2 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 4 เดือน) ปลาชุดที่ปล่อยด้วยอัตรา 300 ตัว/กระชัง มีความยาวมากกว่า ชุดอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชัง แต่ในด้านน้ำหนัก ชุดอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชังกลับมีน้ำหนักสูงกว่า

ในเดือนที่ 3 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 5 เดือน) ปลาทั้งสองชุดการทดลอง มีขนาดไม่แตกต่างกันทั้งด้านความยาวและน้ำหนัก

ในเดือนที่ 4 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 6 เดือน) ปลาชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง มีน้ำหนักตัวสูงกว่าชุด 600 ตัว/กระชัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ความยาวของปลาทั้งสองชุดไม่แตกต่างกัน

ในเดือนที่ 5 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 7 เดือน) ปลาทั้งสองชุดการทดลอง มีขนาดไม่แตกต่างกันทั้งด้านความยาวและน้ำหนัก

ในเดือนที่ 6 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 8 เดือน) ปลาชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง มีความยาวสูงกว่าชุด 600 ตัว/กระชัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปลากลุ่ม 600 ตัว/กระชังกลับมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยสูงกว่าปลาชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง

ในเดือนที่ 8 และ 10 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 10 และ 12 เดือน) ปลาทั้งสองชุดการทดลอง กลับมีขนาดไม่แตกต่างกันทั้งด้านความยาวและน้ำหนัก มีข้อสังเกตว่าในเดือนที่ 10 นั้น ได้ข้อมูลผลการทดลองเพียง 2 ฟาร์มเท่านั้น เนื่องจากฟาร์มที่ 3 (คุณสุวิทย์ พรหมจาก) มีปลาตายอย่างผิดสังเกต และมีอาการเป็นโรค จึงไม่ได้ชั่งวัดปลาในฟาร์มนี้

การทดลองสิ้นสุดในวันที่ 8 มิถุนายน 2553 ซึ่งปลามีอายุ 14.5 เดือน ปลาในชุดที่ปล่อย 600 ตัว/กระชัง มีความยาว และน้ำหนักสูงกว่าชุดที่ปล่อยในอัตรา 300 ตัว/กระชัง อย่างไรก็ตาม เนื่องจากสังเกตว่าปลาในฟาร์มที่ 3 มีการเจริญเติบโตในช่วง 2 เดือนสุดท้ายสูงมากผิดปกติ จึงทดลองนำข้อมูลจากฟาร์มที่ 3 ออกจากการวิเคราะห์ จึงมีผลให้ค่าเฉลี่ยทั้งน้ำหนักและความยาวไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างชุดทดลอง (ตารางที่ 8)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาทดลองมีอัตราการรอดค่อนข้างต่ำ โดยชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชังมีอัตราการรอดต่ำกว่า 600 ตัว/กระชัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (อัตราการรอดเท่ากับ $43.00 \pm 10.61\%$ และ $47.50 \pm 2.12\%$ ตามลำดับ) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ความยาว (ซม.) น้ำหนัก (กรัม) และอัตราการรอด ของปลากดคังที่ทดลองเลี้ยงในกระชังขนาด 25 ตารางเมตร ลึก 2 เมตร ด้วยอัตราปล่อย 2 อัตรา คือ 300 ตัว/กระชัง และ 600 ตัว/กระชัง

ลักษณะ	ความยาว (ซม.)		น้ำหนัก (กรัม)		อัตราการรอด (%)	
อัตราปล่อย	300 ตัว/กระชัง	600 ตัว/กระชัง	300 ตัว/กระชัง	600 ตัว/กระชัง	300 ตัว/กระชัง	600 ตัว/กระชัง
อายุ						
3 เดือน (มิ.ย. 52)	13.96 ^a (2.77)	14.08 ^a (2.77)	33.73 ^a (21.77)	31.26 ^b (14.90)	-	-
4 เดือน (ก.ค.52)	16.98 ^a (2.57)	17.52 ^b (2.11)	67.10 ^a (25.27)	63.23 ^b (25.51)	-	-
5 เดือน (ส.ค.52)	20.34 ^a (3.64)	20.84 ^a (2.75)	90.45 ^a (50.07)	95.42 ^a (42.13)	-	-
6 เดือน (ก.ย.52)	24.50 ^a (4.19)	23.71 ^a (2.69)	179.96 ^a (77.35)	155.95 ^b (57.91)	-	-
7 เดือน (ต.ค.52)	26.39 ^a (4.20)	26.42 ^a (3.07)	214.06 ^a (110.85)	194.72 ^a (75.67)	-	-
8 เดือน (พ.ย.52)	26.86 ^a (4.08)	26.79 ^b (3.67)	207.30 ^a (104.13)	255.87 ^b (105.50)	-	-
10 เดือน (ม.ค.53)	31.75 ^a (4.31)	32.50 ^a (3.57)	354.98 ^a (161.00)	379.70 ^a (132.28)	-	-
12 เดือน* (มี.ค.53)	37.87 ^{a*} (3.79)	33.07 ^{b*} (6.31)	554.00 ^{a*} (172.86)	488.46 ^{a*} (173.01)	-	-
14.5 เดือน (8 มิ.ย. 53)	38.10 ^a (3.31)	39.83 ^b (3.92)	573.14 ^a (187.69)	705.16 ^b (227.91)	43.00 ^a (10.61)	47.50 ^b (2.12)
14.5 เดือน**	37.40 ^a (3.18)	36.15 ^a (3.01)	535.32 ^a (190.32)	496.45 ^a (113.68)	-	-

หมายเหตุ * ข้อมูลเมื่ออายุ 12 เดือน มีเพียง 2 ซ้ำเนื่องจากปลาในฟาร์มที่ 3 มีอาการป่วยจึงไม่ชั่งวัด

** ไม่รวมข้อมูลจากฟาร์มที่ 3

อัตราการเจริญเติบโตของปลาที่ปล่อยในอัตรา 300 และ 600 ตัว/กระชัง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มแตกต่างกันในแต่ละฟาร์ม โดยมีค่า ADG ในชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง อยู่ระหว่าง 0.93 - 1.30 กรัม/วัน (เฉลี่ย 1.12 ± 0.16 กรัม/วัน) และชุดอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชัง มีค่า ADG ระหว่าง 1.00 - 1.74 กรัม/วัน (เฉลี่ย 1.42 ± 0.37 กรัม/วัน) ภาพปลาทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง แสดงไว้ในภาพที่ 25



ภาพที่ 25 ปลาทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

โรคและปรสิตที่พบระหว่างการเลี้ยง

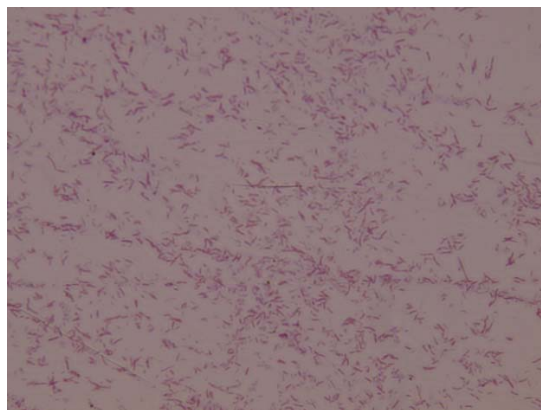
จากการศึกษาสาเหตุของการเกิดโรคในปลากดัง ซึ่งเลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดชัยนาท ในช่วงเดือน มีนาคม ปี 2553 พบว่าโรคที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายกับปลากดที่เลี้ยงในกระชังคือ เชื้อแบคทีเรีย โดยสามารถแบ่งออกเป็น 2 ระยะคือ

1. โรคที่เกิดกับลูกปลากดขนาดปลานิ้ว

อาการของปลาเป็นโรคที่พบ ภายนอกจะมีการท้องบวม ครีบหูและครีบท้องกร่อนและตกเลือด เมื่อทำการตรวจวินิจฉัยปรสิตภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เนื้อเยื่อจากบริเวณดังกล่าว ไม่พบปรสิตภายนอกแต่อย่างใด เมื่อผ่าดูอวัยวะภายในแล้วพบว่าตับมีสีซีด ไม่มีอาหารในลำไส้ เมื่อทำการเชื้อบริเวณ ตับและม้าม ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) แล้ว สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีโคโลนีขนาดใหญ่สีเหลืองครีม (ภาพที่ 26) เมื่อนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น สามารถเคลื่อนที่ในน้ำได้อย่างรวดเร็ว แบคทีเรียชนิดนี้เมื่อนำไปย้อมสีแกรม พบว่าติดสีแดงแสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 26 โคโลนีของแบคทีเรีย ที่แยกจากตับและม้ามของปลากดคันที่ป่วย และเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA)



ภาพที่ 27 แบคทีเรียที่แยกจากตับและม้ามของปลากดคังที่ป่วย เมื่อย้อมสีแกรม พบว่าติดสีแดง แสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

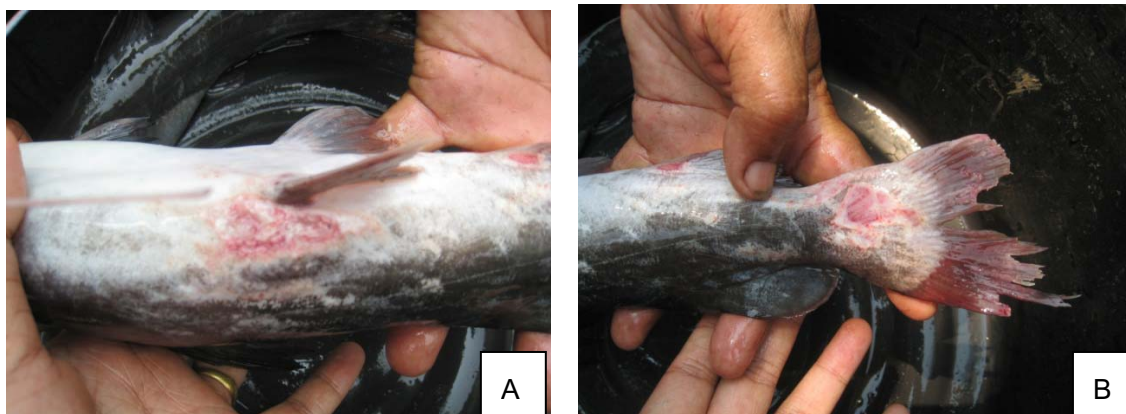
เมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้คือ เชื้อ *Aeromonas hydrophila* และเมื่อทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะที่มีอยู่ในตำหรับ ซึ่งกรมประมงอนุญาตให้ใช้ พบว่าเชื้อมีความไวต่อยา Enrofloxacin มากที่สุด รองลงมาคือ Trimethoprim/sulfamethoxazole ขณะที่ยา Oxytetracycline และ Amoxicillin เชื้อจะมีความสามารถในการต้านยาทั้งสองชนิดนี้ได้สูง

2. โรคที่เกิดกับปลากดขนาด 400-1000 กรัม

อาการของปลาที่เป็นโรคพบว่า ปลาที่เป็นโรคจะแสดงอาการว่ายเชื่องช้าบนผิวน้ำ ตัวมีสีคล้ำ เมื่อนำมาตรวจดูลักษณะความผิดปกติภายนอกแล้วพบว่า ปลาที่ป่วยจะมีแผลตามลำตัว ครีบหาง ครีบท้องกร่อนอย่างชัดเจน บางตัวมีแผลหลุมลึก มีกลิ่นเหม็น โดยเฉพาะส่วนหาง (ภาพที่ 28) เมื่อทำการตรวจดูปรสิตร่างภายนอก ในบริเวณ เหงือก แผลและครีบท้อง พบว่าปลาบางตัวมีปลิงใส (Monogene) เกาะอยู่บริเวณเหงือกเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 29) เมื่อทำการเชยเชื้อบริเวณ ตับและม้าม ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) และ Shieh medium แล้ว สามารถแยกเชื้อแบคทีเรีย ที่มีรูปร่างเป็นแท่งยาว (Long rod) (ภาพที่ 30) สามารถเคลื่อนที่ในน้ำได้แบบพลิกตัวไปมา แบคทีเรียชนิดนี้เมื่อนำไปย้อมสีแกรม พบว่าติดสีแดง แสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

เมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้คือ เชื้อ *Flavobacterium* และเมื่อทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะที่มีอยู่ในตำหรับ ซึ่งกรมประมงอนุญาตให้ใช้ พบว่าเชื้อมีความไวต่อยา Enrofloxacin มากที่สุด รองลงมาคือ Amoxicillin, Trimethoprim/sulfamethoxazole และ Oxytetracycline ตามลำดับ

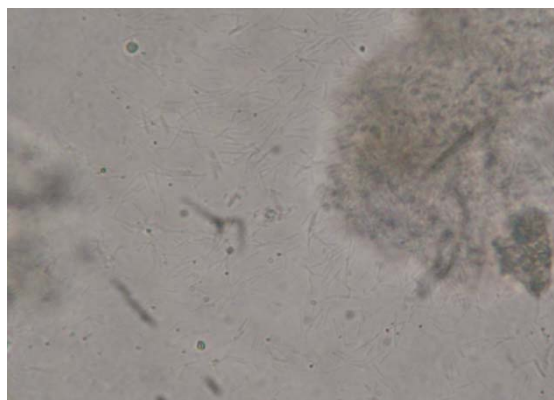
การเกิดโรค เกิดอย่างสุ่ม ไม่จำเพาะเจาะจงว่าจะเป็นปลาที่ปล่อยในอัตราใด



ภาพที่ 28 ภาพแสดงแผลตามลำตัว (A) ครีบทหาง (B) ของปลากดคังที่ป่วย



ภาพที่ 29 ภาพแสดงปลิงใส (Monogene) ที่เกาะอยู่บริเวณเหงือกของปลากดคัง



ภาพที่ 30 ภาพแสดงเชื้อ *Flavobacterium* ที่แยกจาก ดับและม้ามของปลากดคังที่ป่วย
วิจารณ์ผล

การทดลองครั้งนี้ มีจุดเด่นคือเป็นการทดลองที่ทำในสภาพการเลี้ยงของเกษตรกรจริงๆ ผลการทดลองแสดงว่าการจัดการในฟาร์มเกษตรกรมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของปลากดคัง อย่างไรก็ตาม โมเดลในการวิเคราะห์ได้แยกอิทธิพลของฟาร์ม (ซ้ำ) ออกจากผลของสิ่งทดลองแล้ว ผลการทดลองในแต่ละช่วงเวลาให้ผลแตกต่างกัน โดยการชั่งวัดในช่วงแรกๆ ปลาที่อัตราปล่อยต่ำ มีการเจริญเติบโตสูงกว่า ชุดที่ปล่อยหนาแน่น แต่ในการชั่งวัดครั้งสุดท้าย แสดงว่าปลาในชุดการทดลองอัตราปล่อย 600 ตัว/

กระชัง มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่า ความผันแปรของผลการชั่งวัด อาจเป็นผลจากการสุ่ม เนื่องจากปลาในชุด อัตราปล่อยเดียวกัน มีขนาดแตกต่างกันมาก (SD ในเดือนที่ 14.5 = ± 187.69 และ ± 227.91 กรัม ในชุดที่ปล่อยในอัตรา 300 และ 600 ตัว/กระชัง ตามลำดับ) จึงทำให้สรุปได้เพียงว่าการปล่อยในอัตราปล่อยที่หนาแน่นกว่าไม่ได้ทำให้ปลากดคังมีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อเทียบกับชุดที่ปล่อยในอัตราที่ต่ำกว่า ผลของอัตราปล่อยต่อการเจริญเติบโต แตกต่างกันไปตามชนิดปลา โดยพบว่าในปลา Senegalese sole (*Solea senegalensis*) มีการเจริญเติบโตลดลง เมื่ออัตราปล่อยเพิ่มขึ้น (Sánchez *et al.*, 2010) สาเหตุที่อัตราปล่อยสูงทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง อาจเป็นผลจากการที่ชุดที่มีความหนาแน่นสูงมีคุณภาพน้ำต่ำลง ในกรณีที่คุณภาพน้ำไม่แตกต่างกัน และปลาได้รับอาหารเพียงพอ การเจริญเติบโตอาจแตกต่างกันเนื่องจาก ผลทางสังคม เช่นความก้าวร้าว ฯลฯ (Papoutsoglou *et al.*, 1998; Bolasina *et al.*, 2006)

ในทางกลับกัน ปลาที่มีลักษณะนิสัยรวมฝูง (schooling) จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าในอัตราปล่อยที่สูงกว่า เช่นปลา sea bass (*Dicentrarchus labrax*) (Papoutsoglou *et al.*, 1998; Gardeur *et al.*, 2001) และ Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) (Jørgensen *et al.*, 1993) ส่วนปลา Dover sole (*Solea solea*) ซึ่งเลี้ยงที่อัตราปล่อยระหว่าง 0.5 และ 12 กิโลกรัม/ตารางเมตร จะเจริญเติบโตดีที่สุดที่อัตราปล่อย 7.4 กิโลกรัม/ตารางเมตร (Schram *et al.*, 2006) ปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) เจริญเติบโตดีที่สุดที่ความหนาแน่นสูงสุด (44 ตัว/ลบ.ม. เทียบกับอัตราปล่อย 36 และ 40 ตัว/ลบ.ม.) โดยมีอัตราการรอดไม่แตกต่างกัน (Yilmaz and Arabaci, 2010) สำหรับปลากดคังนั้น แม้จะไม่พบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับนิสัยการรวมฝูง แต่เกษตรกรสังเกตว่าปลาชนิดนี้ จะกินอาหารเป็นฝูง และจะลดการกินอาหารถ้าเลี้ยงในความหนาแน่นต่ำ (ประยูร ช้างทอง การติดต่อส่วนตัว) การศึกษานี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่าในปลาบางชนิด การปล่อยในอัตราต่ำเกินไป ก็จะทำให้เจริญเติบโตได้ไม่ดี ทั้งนี้ Salas-Leiton *et al.* (2010) รายงานว่า ปลา Senegalese sole ซึ่งเลี้ยงในความหนาแน่นสูงแม้จะมีระดับ blood cortisol (ซึ่งแสดงถึงระดับความเครียด) และการแสดงออกของยีนเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต (IGF-I, IGF1a และ IGFII) ต่ำลง แต่ไม่กระทบกับการเจริญเติบโต

ปลาที่ปล่อยในอัตราสูง (600 ตัว/กระชัง) มีอัตราการรอดสูงกว่าชุดที่อัตราปล่อยต่ำกว่า ผลการทดลองนี้แสดงว่าอัตราปล่อยที่สูงขึ้นไม่ได้ทำให้คุณภาพน้ำด้อยลงจนเป็นอุปสรรคต่อการดำรงชีวิต ซึ่งคุณภาพน้ำจากการทดลองนี้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของปลาลดลดการทดลอง นอกจากนั้น มีความเป็นไปได้ว่า การอยู่รวมกลุ่มอย่างหนาแน่น อาจมีผลให้ปลาลดการใช้พลังงานลง เช่น ปลา sea bass ที่เลี้ยงเป็นฝูงจะลดอัตราการสับัดหางลง 9-14% ซึ่งมีผลลดการใช้ออกซิเจนลง 9-23% (Herskin and Steffensen, 1998) Montero *et al.* (1999) รายงานว่า gilthead seabream ที่เลี้ยงอย่างหนาแน่นจะเพิ่มความสามารถในการรับออกซิเจนของเม็ดเลือด ในระยะที่มันต้องใช้พลังงานมาก โดยอัตราการเจริญเติบโตไม่ลดลง สิ่งเหล่านี้อาจเป็นสาเหตุให้ปลาชุดที่ปล่อยหนาแน่นกว่ามีอัตราการรอดสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเจริญเติบโตไม่ลดลง อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้แตกต่างจากรายงานของ ซึ่งพบว่าการอนุบาลปลากดคังในกระชัง (ขนาดปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 31-44 กรัม) โดย

ปล่อยในอัตรา 100, 200 และ 400 ตัว/ลบ.ม. ปลามีการเจริญเติบโตลดลงตามอัตราความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่อัตราการรอดมีแนวโน้มลดลง แม้จะไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติ (โยธิน เทอดวงศ์วรกุล และณัฐพงศ์ วรณพัฒน์, 2549)

การเจริญเติบโตของปลากดคังในการทดลองนี้ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับรายงานของ วิศณุพร รัตนตรัยวงศ์ (2542) ซึ่งกล่าวว่าการเลี้ยงปลากดคังในกระชังอวนขนาด 5 x 5 x 2 ลบ.ม. ปล่อยลูกปลากดคังขนาด 4 นิ้ว ในอัตรา 400 ตัว/กระชัง (8 ตัว/ลบ.ม.) ให้อาหารเม็ดปลาทุกวันละ 2 ครั้ง ระยะเวลาการเลี้ยง 10 เดือน ได้ผลผลิตปลา 400 กิโลกรัม/กระชัง ปลาขนาดเฉลี่ย 1.0-1.2 กิโลกรัม/ตัว ความแตกต่างของการเจริญเติบโตอาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุ ได้แก่ อัตราปล่อยที่ต่างกัน (การทดลองนี้ปล่อยในอัตรา 10 และ 20 ตัว/ลบ.ม.) คุณภาพน้ำซึ่งในรายงานของวิศณุพรเป็นการเลี้ยงในอ่างเก็บน้ำ ซึ่งน่าจะมีคุณภาพน้ำดีกว่าในแม่น้ำที่ทำการทดลองครั้งนี้ อย่างไรก็ตามรายงานไม่ได้กล่าวถึงอัตราการรอดหนึ่งโดยทั่วไป เกษตรกรในจังหวัดชัยนาท จะปล่อยปลาในอัตราความหนาแน่นที่สูงกว่านี้ (1000 ตัว/กระชัง) (ประยูร ช่างทอง, การติดต่อส่วนตัว) โดยใช้เวลาเลี้ยงนานถึง 2 ปี จึงจะได้ปลาขนาดประมาณ 1-2 กิโลกรัม

ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่ได้ชั่งน้ำหนักผลผลิตรวม เนื่องจากเกษตรกรประสงค์จะเลี้ยงปลาต่อไปจนครบ 2 ปี จึงหลีกเลี่ยงการจับปลาขึ้นมาชั่ง โดยพบว่าการรบกวนปลาเช่นนี้ จะมีผลทำให้ปลาเครียดมากกว่าการเลี้ยงอย่างหนาแน่นเสียอีก (Braun *et al.*, 2010)

สำหรับการเกิดโรคและปรสิตนั้น ไม่รุนแรง และเกิดอย่างสุ่ม ไม่จำเพาะเจาะจง โดยทั่วไป เชื้อสาเหตุเหล่านี้ เช่น *Aeromonas hydrophila* เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในน้ำ จะก่อปัญหาที่ต่อเมื่อปลาเกิดอ่อนแอหรือการเกิดโรคแบบฉวยโอกาส โดยเฉพาะในช่วงที่คุณสมบัติน้ำไม่เหมาะสม (Decostere *et al.*, 1999; Chopra *et al.* 2000; Zhang *et al.* 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงที่คุณภาพน้ำมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเฉียบพลัน เช่น มีน้ำหลาก ซึ่งจะเห็นได้จากสีน้ำเปลี่ยนเป็นสีขุ่นเป็นสีน้ำตาล หรือช่วงที่อากาศเปลี่ยนแปลงมีฝนตกหรือฟ้าครึ้มติดต่อกัน 2-3 วัน หรือช่วงรอยต่อระหว่างฤดู โดยเฉพาะช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาว ซึ่งช่วงดังกล่าวถือเป็นช่วงวิกฤติที่มักพบว่าปลาจะเกิดโรคเสมอ อันเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดภาวะความเครียด ซึ่งเป็นสาเหตุโน้มนำให้เกิดโรคในที่สุด และเป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่อปลาแสดงอาการป่วยแล้วการรักษาด้วยยาและสารเคมีโดยทั่วไปมักจะได้ผล เนื่องจากเมื่อปลาป่วยแล้ว ส่วนใหญ่จะไม่กินอาหารและเริ่มทยอยตายเรื่อย ๆ และหนักขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งนี้ขึ้นกับสุขภาพของปลาเองและคุณภาพน้ำในแม่น้ำในขณะนั้น การให้ยาซึ่งนอกจากจะไม่ได้ผลแล้วยังทำให้เสียค่าใช้จ่ายสำหรับยาและสารเคมีที่มีราคาแพงมากอีกด้วย ดังนั้นเกษตรกรจึงควรตระหนักถึงการเลี้ยงในระยะนี้ให้มาก และควรสร้างมาตรการป้องกันมากกว่าเช่นการเสริมภูมิคุ้มกันให้กับปลาที่เลี้ยงให้มีความแข็งแรงอยู่เสมอ โดยการเสริมวิตามิน ซี 3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้ปลากินติดต่อกัน 5-7 วัน ร่วมกับการแขวนเกลือแกง 2-3 กิโลกรัมต่อกระชัง ควบคู่กันกับการเสริมแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในอาหารให้ปลากินอยู่เสมอ ๆ โดยเฉพาะเมื่อเริ่มมีความผิดปกติเกิดขึ้นกับสภาพแวดล้อมที่จะทำให้ปลาเกิดความเครียด และต้องหมั่นดูแลสิ่งแวดล้อมในพื้นที่การเลี้ยงให้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้หากปลาเริ่มแสดงอาการผิดปกติควร

หรือลดปริมาณการให้อาหารให้น้อยลงพอปลากินหมด เนื่องจากหากให้อาหารในปริมาณมากเกินไปจะเป็นส่วนที่เร่งให้ปลาป่วยมากขึ้น และควรนำตัวอย่างปลาที่ป่วยไปให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องตรวจวินิจฉัยเพื่อเลือกยาที่สามารถควบคุมเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือในเบื้องต้นอาจเลือกใช้ยาที่มีในตำหรับซึ่งกรมประมงอนุญาตให้ใช้ เช่น Oxytetracyclin, Enrofloxacin หรือ ยาในกลุ่มซัลฟา ในอัตรา 3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 5-7 วัน และควรตระหนักเสมอว่าควรใช้ยาในช่วงที่เหมาะสม โดยเฉพาะช่วงแรก ๆ ของการเกิดโรค จะทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและมีประสิทธิผลสูงสุด

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ผลการทดลองแสดงว่า การลดอัตราการปล่อยปลากดคังลง ไม่มีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ในทางตรงกันข้ามกลับทำให้อัตราการอดต่ำลงกว่าชุดที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่นสูง ดังนั้นเกษตรกรอาจเพิ่มอัตราการปล่อยได้อีก อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาต่อไปว่าจะสามารถปล่อยได้หนาแน่นที่สุดเท่าใด
2. ปลากดคังมีขนาดที่แตกต่างกันมาก อาจแก้ไขได้ด้วยการคัดขนาดปลาเป็นระยะ ๆ ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไปว่าจะได้ผลเช่นไร
3. ปลากดคังที่เลี้ยงในกระชังเกิดโรคบ้าง โดยเชื้อสาเหตุเป็นแบคทีเรียแกรมลบ และพบปรสิตบ้าง จึงควรดูแลให้ปลามีสุขภาพดีอยู่เสมอ และควรทดลองใช้เทคโนโลยีเพิ่มภูมิคุ้มกันต่อโรค เช่น การให้อาหารเสริม หรือ การใช้ โปรไบโอติกส์ ซึ่งจำเป็นต้องมีการทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- โยธิน เทอดวงศ์วรกุล และณัฐพงศ์ วรรณพัฒน์, 2549. การอนุบาลปลากดแก้ว (*Hemibagrus wyckii* Chaux & Fang, 1949) ในกระชังที่ระดับความหนาแน่นต่างกันในอ่างเก็บน้ำเขื่อนอุบลรัตน์. เอกสารวิชาการฉบับที่ 77/2549. สำนักงานวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง.
- วิศณุพร รัตนธัยวงศ์. 2542. การเพาะเลี้ยงปลากดคัง. วารสารฟาร์มมิ่ง 5 (33). ดาวน์โสดจาก http://www.nicaonline.com/articles1/site/view_article.asp?idarticle=109 วันที่ 27 กันยายน 2553.
- วิศณุพร รัตนธัยวงศ์ สมนึก คงรัตน์ ยงยุทธ ทักษิณ พัทธา เพ็ญนภาภรณ์. 2537. การเพาะพันธุ์ปลากดแก้ว. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2537. กรมประมง. หน้า 458 – 464.
- สุทธิชัย ฤทธิธรรมและอุบลรัตน์ สุนทรรัตน์. 2533. การเพาะพันธุ์ปลากดแก้ว. หน้า 66-71, ใน รายงานประจำปี 2532 สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเลย, กองประมงน้ำจืด กรมประมง.
- Bolasina, S., Tagawa, M., Yamashita, Y., Tanaka, M. 2006. Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 259, 432–443.
- Braun, N., de Lima, R.L., Baldisserotto, B., Dafre, A.L., de Oliveira Nuñez, A.P. 2010. Growth, biochemical and physiological responses of *Salminus brasiliensis* with different stocking densities and handling. Aquaculture 301, 22–30.

- Chopra, A.K., Xu, X., Ribardo, D., Gonzalez, M., Kuhl, K., Peterson, J.W., Houston, C.W. 2000. The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* induces proinflammatory cytokine production and activates arachidonic acid metabolism in macrophages. *Infect. Immun.* 68, 2808-2818.
- Decostere, A., Haesebrouck, F., Turnbull, J.F., Charlier, G. 1999. Influence of water quality and temperature on adhesion of high and low virulence *Flavobacterium columnare* strains to isolated gill arches. *J. Fish Diseases* 22, 1-11.
- Gardeur, J., Lemarié, G., Coves, D., Boujard, T. 2001. Typology of individual growth in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resour.* 14, 223-231.
- Herskin, J., Steffensen, J.F. 1998. Energy saving in sea bass swimming in a school: Measurement of tail beat frequency and oxygen consumption at different swimming speed. *J. Fish Biol.* 53, 366-376.
- Jørgensen, E.H., Christiansen, J.S., Jobling, M. 1993. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 110, 191-204.
- Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robiana, L., Vergara, J.M. 1999. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiol. Biochem.* 20, 53-60.
- Papoutsoglou, S.E., Tziha, G., Vrettos, X., Athanasiou, A. 1998. Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system. *Aquacult. Eng.* 18, 135-144.
- SAS. 2003. SAS OnlineDoc 9.1.3. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Salas-Leiton, E., Anguis, V., Martin-Antonio, B., Crespo, D., Planas, J.V., Infante, C., Cañavate, J.P., Manchado, M. 2010. Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): potential effects on the immune response. *Fish & Shellfish Immunol.* 28, 296-302.
- Sánchez, P., Ambrosio, P.P., Flos, R. 2010. Stocking density and sex influence individual growth of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 300, 93-10.
- Schram, E., Heul, J.V.D., Kamstra, A., Verdegem, M.C.J., 2006. Stocking density- dependent growth of Dover sole (*Solea solea*). *Aquaculture* 252, 339-347.
- Yilmaz, Y., Arabaci, M. 2010. The influence of stocking density on growth and feed efficiency in gilthead seabream, *Sparus auratus*. *J. Anim. Vet. Adv.* 9(8), 1280-1284.
- Zhang Y.L., Ong C.T., Leung, K.Y. 2000. Molecular analysis of genetic differences between virulent and avirulent strains of *Aeromonas hydrophila* isolated from diseased fish. *Microbiology* 146, 999-1009.

(ผลการศึกษานี้จะนำเสนอในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ประจำปี 2554)

4.5.4 การศึกษาเชื้อที่เป็นสาเหตุของการก่อโรคในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ในพื้นที่จังหวัดชัยนาท และอ่างทอง

สุนันต์ สุวรรณแก้วมณี สมรักษ์ จันทร์ภิรมย์ กฤษณ์ ทิพย์ภาละ ณัฐวุฒิ ปานแย้ม นำ
โชค บุรณานนท์ จีรภา วรรณโก (นิสิตปริญญาตรี)

บทคัดย่อ

การศึกษาเชื้อที่เป็นสาเหตุของการก่อโรคในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ในพื้นที่จังหวัดอ่างทองและชัยนาท โดยการศึกษาปรสิตภายนอกและทำการแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Cross streak เพื่อแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค และทำการตรวจสอบประสิทธิภาพของยาในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยการทดสอบ Sensitivity test เพื่อหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) โดยการใช้ E-test (Biomerieux, Sweden) ซึ่งเป็นนวัตกรรมใหม่ในการหาค่าความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ รวมถึงการตรวจสอบชนิดและปริมาณเม็ดเลือดในปลานิล จากการศึกษาพบว่าลักษณะของปลาเป็นโรคที่พบส่วนใหญ่เหงือกจะมีสีซีดคล้ำ ครีบอกและครีบก้นดกเลือด ตัวดำงับ และม้ามบวม กระจกตาโต บางตัวมีลักษณะของโรคติดเชื้อ จากการศึกษาโดยการแยกเชื้อแบคทีเรียพบเชื้อที่มีความแตกต่างกัน 2 กลุ่มใหญ่ ๆ โดย เมื่อนำแบคทีเรียที่แยกได้นี้มาตรวจสอบการดื้อยา พบว่ากลุ่มแรกเป็นแบคทีเรียติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลมขนาดเล็ก (coccus) และทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีแล้วพบว่า เป็นเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ซึ่งมีความไวต่อยา Amoxycillin มากที่สุด กลุ่มที่ 2 เป็นเชื้อเชื้อ *Flavobacterium* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อนยาวสามารถเคลื่อนที่มา ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งเมือก ผิวหนังและตับของปลานิล ซึ่งมีความไวต่อยาชนิด Enrofloxacin มากที่สุด ผลการตรวจสอบเม็ดเลือดพบว่าปลาเป็นโรคที่เลี้ยงในกระชังในทั้ง 2 พื้นที่ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาที่ป่วยจะมีปริมาณเกล็ดเลือดลดลงอย่างมาก ถึงไม่มีเมื่อเปรียบเทียบกับปลาปกติ ในขณะที่สัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิด Monocyte และ Lymphocyte มีสัดส่วนเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับปลาปกติ

คำนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วมาก ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีและมีความต้านทานโรคสูง สามารถเลี้ยงได้ในความหนาแน่นสูงจึงเป็นที่นิยมในการเพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวาง (ยุพินท์ และพันธ์ศักดิ์, 2543) ปัจจุบันการเลี้ยงปลานิลในกระชังสามารถสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรจึงทำให้เกษตรกรมีความสนใจในการเลี้ยงปลานิลในกระชังมากขึ้น จากการที่มีการนิยมเลี้ยงมากขึ้น ทำให้เกิดปัญหาคุณภาพน้ำเสื่อมโทรมจึงเป็นเหตุให้เกิดปัญหาการระบาดของโรคหลายชนิดตามมา โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ปลาเกิดการตายที่รุนแรง เนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียนั้นสามารถแพร่กระจายไปยังปลาตัวอื่น ๆ ได้อย่างรวดเร็ว และก่อให้เกิดการตายจำนวนมาก โดยโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบเช่น โรคที่เกิดจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างสั้นตรง ไม่สร้างสปอร์ โดยเชื้อจะเข้าทำลายที่ผิวหนัง เหงือกและสามารถเข้าทางแผลได้ จากนั้นแพร่เข้าสู่กระแสเลือด การแสดงอาการที่รุนแรงเฉียบพลัน ปลาจะป่วยและตายเร็วมาก บางครั้งไม่ปรากฏอาการให้เห็นภายนอกชัดเจน ด้วย

ภาวะเลือดเป็นพิษ อวัยวะภายในจะมีเลือดคั่ง ลำไส้ส่วนปลายตกเลือด เยื่อบุช่องท้องและกล้ามเนื้อเป็นจุด ๆ อาการรุนแรงแบบเฉียบพลันที่มีอาการท้องบวม เกิดตั้งแต่ 1-2 วันหลังมีอาการ นอกจากนี้อาจจะพบว่าปลาแสดงอาการที่เป็นแผลเรื้อรังตามตัว เป็นต้น (Sarder *et al.* 2001; ชาญณรงค์, 2550) นอกจากนี้ยังพบโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีรูปร่างกลมขนาดเล็ก (Cocci) อาจอยู่เป็นเชลล์เดี่ยว ๆ หรือต่อเป็นสายยาว ตั้งแต่ 2 เชลล์ขึ้นไป แบคทีเรียกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ทำให้เชลล์เม็ดเลือดแดงแตก และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ปลานิลตายในปัจจุบัน เนื่องจากเข้าไปทำลายอวัยวะภายใน การแสดงอาการปลาจะว่ายน้ำช้า ลักษณะการว่ายน้ำเปลี่ยนไป ตาโปน มีแผลบวมบนข้อบริเวณโคนครีบหลัง ภายในช่องท้องมีสีเหลือง ตับมีสีซีด เกิดอาการตกเลือดและอักเสบ ถูมน้ำดี ไต และม้ามบวมโต (ชาญณรงค์, 2550) และในปัจจุบันยังพบโรคที่เกิดจากเชื้อ *Flavobacterium* spp. ที่ก่อให้เกิดโรคคอรันนาเรียส (Columnaris disease) ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Flavobacterium columnare* ลักษณะอาการ ปลามักมีแผลตามตัว หางกุด มีตะกอนสีเหลืองบริเวณแผล อาจมีเกล็ดหลุดเป็นแถบๆ มองดูเหมือนแผลไฟไหม้และน้ำร้อนลวก บริเวณเหงือกพบการตายเป็นหย่อม ๆ สีน้ำตาลอย่างชัดเจน (สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ, มปป.)

การศึกษารั้วนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ หาสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายที่แท้จริงของโรคที่เกิดในปลานิลในปัจจุบัน ในพื้นที่จังหวัดอ่างทองและชัยนาท ซึ่งเป็นพื้นที่ ๆ มีการเลี้ยงปลานิลอย่างแน่นพื้นที่หนึ่งของประเทศไทย รวมทั้งยังทำการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะที่มีใช้สำหรับยา เพื่อจะนำไปเป็นข้อมูล สำหรับเกษตรกรในการวางแผนใช้ยาและสารเคมีในการป้องกันรักษาโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

นอกจากนั้นยังศึกษาการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของเม็ดเลือด ซึ่งได้มีนักวิทยาศาสตร์พยายามศึกษาหาความสัมพันธ์ และนำมาใช้เป็นดัชนี เพื่อบ่งถึงสภาพความผิดปกติ โดยเฉพาะความผิดปกติที่มีสาเหตุมาจากโรคแบคทีเรีย (Jiri *et al.*, 2007)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและแยกชนิดของแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลานิลที่เลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดอ่างทอง และชัยนาท
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของยาที่อนุญาตให้ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อการยับยั้งเชื้อที่แยกได้จากปลานิล
3. เพื่อศึกษาพยาธิสภาพของชนิดและปริมาณของเม็ดเลือดในปลานิลที่เกิดโรค

อุปกรณ์และวิธีการ

สถานที่เก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างปลานิลทับทิมในฟาร์ม 3 แห่ง ในเขตพื้นที่ตำบลไชโย อำเภochaโย จังหวัดอ่างทอง เก็บที่พิกัดทางภูมิศาสตร์ที่ตำแหน่ง $14^{\circ} 44' 58.33'' \text{ N}$; $100^{\circ} 26' 55.19'' \text{ E}$ เก็บปลาที่มีน้ำหนักประมาณ 800 กรัมจำนวน 8 ตัว

จังหวัดชัยนาท ทั้งสองฟาร์มตั้งอยู่ที่ ตำบลเที่ยงแท้ อำเภอสรรคบุรี โดยฟาร์มที่ 1 มีพิกัดทางภูมิศาสตร์ที่ตำแหน่ง $15^{\circ} 02.67' \text{ N}$; $100^{\circ} 10.69' \text{ E}$ ฟาร์มที่ 2 ที่ตำแหน่ง $15^{\circ} 02.89' \text{ N}$; $100^{\circ} 10.54' \text{ E}$ แต่ละฟาร์มเก็บปลาขนาดประมาณ 800 กรัม จำนวนฟาร์มละ 4 ตัว

การตรวจวินิจฉัยเพื่อหาสาเหตุของการเกิดโรคในปลานิล

การศึกษาในส่วนนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างของปลานิลที่ป่วย ซึ่งเลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดอ่างทองและจังหวัดชัยนาท โดยทำการศึกษาดังนี้

1.1 การตรวจวินิจฉัยโรคปรสิตภายนอก

ทำการลงเก็บตัวอย่างในพื้นที่เป้าหมาย เมื่อพบปลาที่ป่วยให้นำปลาตัวอย่างขึ้นมา จากนั้นใช้กรรไกรตัดส่วน เหงือก ครีบ เกล็ดหรือบริเวณที่มีบาดแผลมาทำ Wet mount โดยวางบนสไลด์ แล้วหยดน้ำให้ท่วม ปิดด้วย Cover slip แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 4x, 10x และ 40x ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการบันทึกผล

1.2 การตรวจวินิจฉัยโรคแบคทีเรีย

1.2.1 หลังจากทำการตรวจวินิจฉัยในข้อ 1.1 เสร็จแล้ว นำปลาตัวอย่างมาทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic techniques) โดยใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เช็ดทำความสะอาดภายนอกตัวปลา หลังจากนั้น ใช้กรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อผ่าช่องท้องของปลา อย่างระมัดระวัง สังเกตอวัยวะภายใน แล้วใช้ Loop ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เชี่ยตัวอย่างที่ ดับ ม้ามและไต แล้วนำไปเชี่ย (Streak) บน Plate อาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิด TSA และ Shieh's medium agar

1.2.2 นำ Plate อาหารเลี้ยงเชื้อ ไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ $30-37^{\circ} \text{ C}$ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการสังเกตและบันทึกลักษณะของแบคทีเรียที่เกิดขึ้น

1.3 การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

นำแบคทีเรียที่ได้ในข้อ 1.2 มา จำแนกชนิดมาย้อมสีแกรมแล้วตรวจดูลักษณะการติดสีและตรวจสอบลักษณะทางสัญญาณวิทยาไปพร้อมกัน ทำการทดสอบชนิดเชื้อของแบคทีเรีย ที่ได้โดยทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป EPI 20E และ EPI 20 Strep โดยตรวจสอบผลที่ได้กับฐานข้อมูล Biomerix

1.4 การทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะโดยการหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

การทดลองในส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถของยาในตำหรับที่กรมประมงอนุญาตให้ใช้ ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งได้แก่ ได้แก่ Enrofloxacin (EN), Trimethoprin / Sulfamethoxazole (S), Amoxicillin (AM) และ Oxytetracycline เพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้ไปให้เกษตรกรวางแผนในการใช้ยาและสารเคมีเพื่อป้องกันโรคในนาค

การทดลองทำโดยแยกเชื้อแบคทีเรียจากปลาที่ป่วยด้วยวิธี cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ Shieh Medium (SM) และ Trypticase Soy Agar (TSA) นำโคโลนีเดี่ยวๆมาเชียบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 3 °C ที่งัวข้ามคืน นำเชื้อที่ได้มาเตรียมสารละลายแบคทีเรียโดยใช้เกลือแกง 0.85% ให้ความขุ่นของเชื้อประมาณ 10^9 CFU/ml นำสารละลายแบคทีเรียที่ได้มาเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำแผ่นยา E-test (บริษัท Biomerieux, Sweden) ของยาที่อนุญาตให้ใช้ในสัตว์น้ำ 3 ชนิด ได้แก่ Enrofloxacin (EN) , Trimethoprin / Sulfamethoxazole (S) และ Amoxicillin (AM) นำ plate อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแผ่นยาไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วทำการอ่านค่า MIC ที่ได้เทียบกับค่า MIC มาตรฐานของบริษัท ถ้าค่า MIC ยิ่งน้อยแสดงว่ายามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี (ตารางที่ 9)

วิธีการตรวจหา Clear zone ในยา Oxytetracycline (OT)

แยกเชื้อเหมือนดังข้อ 1.2.1 จากนั้นทำการทดสอบโดยใช้แผ่นทดสอบ Susceptibility discs ชนิด Oxytetracycline (OT 30) ความเข้มข้น 30 µg ซึ่งเป็นแผ่นกลม นำมาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อขึ้นแล้ว เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัด Clear zone นำไปเทียบกับตาราง Antibiotic standard diameter clear zone ถ้า Clear zone ยิ่งกว้างแสดงว่าเชื้อมีความไวต่อยามาก (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 9 ค่า Summary of E-test Performance, Interpretive Criteria and Quality Control Ranges

Antibiotic	Code	Performance	N	%EA	Interpretive criteria	S ≤	I	R ≥
MIC µg/mL					MIC µg/mL			
Amoxicillin	AC	<i>S. pneumoniae</i>	200	98	<i>S. pneumoniae</i>	2	4	8
0.016 – 2.56					Nonmeningitis			
Enrofloxacin	EF	Aerobes	36	100	CLSI M31 – A2;2002			
0.002 – 32								
Trimethoprim*/	TS	Aerobes	543	99	Aerobes	2	-	4
sulfamethoxazole		<i>H. influenza</i>	393	95	<i>Haemophilus spp.</i>	0.5	1-2	4
(1/19)		<i>S. pneumoniae</i>	314	97	<i>S. pneumoniae</i>	0.5	1-2	4
0.002 – 32*								

ตารางที่ 10 แสดงค่า Antibiotic standard diameter clear zone * หมายเหตุ: S คือ Sensitivity (Sensitive) คือ เชื้อโรคมีความไวต่อยาที่ทำการทดสอบดี I คือ Intermediate คือ เชื้อโรคมีความไวต่อยาที่ทำการทดสอบปานกลาง I คือ Intermediate คือเชื้อโรคมีความไวต่อยาที่ทำการทดสอบปานกลาง

Antibiotic name	Abbreviation	$\leq R$ (mm)	$\leq I$ (mm)	$\geq S$ (mm)
Amoxycilin	AML 10	13	14 - 20	21
Polymyxin B	PB 300	8	9 - 11	12
Oxolinic acid	OA 2	13	14 - 18	19
Ampicilin	AMP 10	11	12 - 13	14
Oxytetracyclin	OT 10	14	15 - 18	19

1.5 การศึกษาปริมาณและชนิดเม็ดเลือดของปลาที่ป่วย

ดูดเลือดปลาที่ป่วยด้วยกระบอกฉีดยาที่กลั้วสารป้องกันการแข็งตัว (heparin) แล้ว โดยเจาะบริเวณ Caudal vein ให้ได้เลือดปลาอย่างน้อย 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำเลือดที่ได้ปริมาตร 15 ไมโครลิตร มาหยดลงบนสไลด์แก้ว ปิดด้วย Cover slip เคลือบเลือดให้ได้ฟิล์มบาง ๆ ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปย้อมด้วยชุด DipQuick ดังนี้คือ ย้อมใน 95% Methanol 10 วินาที จากนั้นย้ายไปย้อมด้วย Eosin 10 วินาที ตามด้วย Methylin blue 30 วินาที

จากนั้นตากสไลด์ให้แห้ง แล้วนำไปตรวจนับปริมาณและชนิดเม็ดเลือด ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ให้ครบพื้นที่ 3 ฟิลด์ที่แตกต่างกันของเลนส์วัตถุ ซึ่งได้แก่ เม็ดเลือดทั้งหมด (Total blood cell), เม็ดเลือดแดง (Red blood cell; RBC), Monocytes และ เกล็ดเลือด (Platelet) โดยมีหน่วยนับเป็นเซลล์

ผลการศึกษา

การตรวจวินิจฉัยลักษณะอาการของปลาที่ป่วย ได้ผลดังนี้

ฟาร์มจากจังหวัดอ่างทอง

ตัวที่ 1 พบเห็บระฆังที่เหงือกและเมือก เหงือกปลามีตะกอนจับ ครีบหางกร่อน กุ้งน้ำดีบวม

ตัวที่ 2 เหงือกคล้ำ กุ้งน้ำดีบวม ตับเขียวมาก

ตัวที่ 3 พบปลิงใสบริเวณเหงือก ครีบหลุดลอกมาก มีน้ำในท้อง กุ้งน้ำดีบวม ตับมีรอยเนื่อตาย

ตัวที่ 4 กุ้งน้ำดีบวม มีน้ำที่ตับ มีรอยเนื่อเยื่อตายที่ตับ

ตัวที่ 5 พบเห็บระฆังที่เหงือก กุ้งน้ำดีบวม

ตัวที่ 6 มีน้ำที่ตับ หางกร่อน ตกเลือดที่ลำตัว

ตัวที่ 7 เหงือกซีด กุ้งน้ำดีและตับบวมมาก ตกเลือดกระจายตามตัว ที่บริเวณโคนหางมีแผล หางเปื่อย มีรอยต่างบริเวณลำตัว

ตัวที่ 8 ดับไม่มวม หางเปื่อย เหงือกปกติ ตกเลือดที่ลำตัว

ผลการแยกเชื้อจากปลาเป็นโรค

ผลการเชื้อปลาเป็นโรคในพื้นที่จังหวัดอ่างทองพบเชื้อ *Flavobacterium columnare*

ลักษณะโคโลนี กลม ขอบหยัก เซลล์เป็นท่อนยาว เคลื่อนที่แบบ Gliding movement ติดสีแดง ผลการย้อมแกรมเป็น Grams'-ve

ผลการทดสอบ Sensitivity test ของเชื้อชนิดต่างๆที่ได้จากการเชื้อจากตัวอย่างในจังหวัดอ่างทองแสดงในตารางที่ 11 โดยพบว่าจากตารางแสดงผลการทดสอบ Sensitivity test ทำให้ทราบว่าเชื้อ *Flavobacterium columnare* ที่พบในจังหวัดอ่างทอง มีความไวต่อยาชนิด Enrofloxacin ที่สุด เนื่องจาก มีค่า MIC น้อยที่สุด รองลง คือ ยา Trimethoprim/sulfamethoxazole ($\mu\text{g/ml}$) ขณะที่ ยา Oxytetracycline และ Amoxycillin ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ คือเชื้อต้านทานยาทั้ง 2 ชนิดนี้

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบ Sensitivity test ของเชื้อชนิดต่างๆที่ได้จากการเชื้อจากตัวอย่างในจังหวัดอ่างทอง

ชนิดยา	ความไวต่อยา
Oxytetracycline (cm)	1.2/R
Enrofloxacin ($\mu\text{g/ml}$)	0.004/S
Trimethoprim/sulfamethoxazole ($\mu\text{g/ml}$)	0.064/S
Amoxycillin ($\mu\text{g/ml}$)	1.0/R

นอกจากนี้จากการศึกษาพยาธิสภาพของปลาที่ป่วย โดยสังเกตจากชนิดและจำนวนของเม็ดเลือดของปลาที่ป่วยพบว่า ปลาที่ป่วยส่วนใหญ่ จะมี เกล็ดเลือด Platelets และ Lymphocytes ต่ำ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ผลการศึกษาปริมาณและอัตราส่วนเม็ดเลือดของปลาที่เป็นโรคในจังหวัดอ่างทอง

ตัวที่	Total	RBC	Monocyte	Lymphocyte	Platelets
1	667.0	69.0	26.0	4.0	1.0
2	107.0	98.0	1.0	1.0	0.0
3	156.0	95.0	3.0	2.0	0.0
4	779.0	84.0	14.0	2.0	0.0
5	870.0	88.0	10.0	2.0	0.0
6	597.0	97.0	2.0	0.0	1.0
7	665.0	96.0	2.0	2.0	0.0
8	605.0	92.0	5.0	3.0	0.0
ค่าเฉลี่ย	555.8	89.9	7.9	2.0	0.3
SD	277.3	9.7	8.6	1.2	0.5

จังหวัดชัยนาท

การตรวจปลาจากฟาร์มที่ 1 (ขณะเก็บตัวอย่างนั้นพบว่า น้ำในแม่น้ำที่ใช้เลี้ยงมีสีขุ่นและไหลเอ่อขึ้นสูง ปลาที่เลี้ยงในกระชังของเกษตรกรมีอาการว่ายน้ำเฉื่อยชาลอยที่ผิวน้ำและมีปลาลอยตายขึ้นมาให้เห็นเป็นระยะๆ) ได้ผลดังนี้

ตัวที่ 1 ท้องบวม ตกเลือดที่ครีบทอง หางมีลักษณะต่างและกร่อน มีน้ำในช่องท้อง มีผังผืดหุ้มที่อวัยวะภายใน ลำไส้มีน้ำและมีลักษณะอักเสบ ม้ามบวม

ตัวที่ 2 ครีบทองกร่อน โคนครีบทกเลือด ท้องบวม พบปลิงสีที่เหงือก ไขมันเต็มท้อง ตับและม้ามบวม ลำไส้อักเสบ ถุงน้ำดีบวม

ตัวที่ 3 ปลา มีลักษณะดีซ่าน เหงือกซีด เลือดจาง ท้องบวม มีน้ำในช่องท้อง ถุงน้ำดีบวม 100% ที่ม้ามมีจุดหนอง ม้ามไม่เรียบ พบปลิงสีและเห็บระฆังที่เหงือก อวัยวะภายในทั้งหมดมีสีเหลือง มีรอยเนื่อตาย

ตัวที่ 4 ท้องบวม เหงือกมีเลือดตก มีตะไคร่ติดที่เหงือก แก้มตกเลือด โคนครีบทกเลือด เกิดหลุด ท้องบวมและตกเลือด

ผลการแยกเชื้อจากปลาเป็นโรค

ผลจากการศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ในจังหวัดชัยนาทฟาร์มที่ 1 (ตารางที่ 13) พบว่าแบคทีเรียดังกล่าวสามารถขึ้นได้ผลอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ และสามารถแยกได้ทั้งหมด 5 Isolates โดยพบว่ามี โคโลนีมีสีขาวขุ่น ขนาดเล็ก ย้อมติดสีม่วง เชลล์รูปร่างกลมต่อกันเป็นเส้นสาย เมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางเคมีแล้วทำให้ทราบว่าเป็นแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae*

ตารางที่ 13 แสดงลักษณะโคโลนี และลักษณะเชลล์ของแบคทีเรียที่พบในปลาที่เป็นโรคที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 1

ชนิดเชื้อโรค	ลักษณะโคโลนีแบคทีเรีย	ลักษณะเชลล์แบคทีเรีย	Grams'stain
Isolated F11	โคโลนีขาวขุ่นเป็นจุดขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเชลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams' +ve
Isolated F12	โคโลนีขาวขุ่นเป็นจุดขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเชลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams'+ve
Isolated F13	โคโลนีขาวขุ่นเป็นจุดขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเชลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams'+ve
Isolated F14	โคโลนีใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีแดงเชลล์เป็นท่อนสั้น ๆ	Grams'-ve
Isolated F15	โคโลนีขาวขุ่นเป็นจุดขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเชลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams'+ve

การทดสอบ Sensitivity test ได้ผลดังตารางที่ 14 ทำให้ทราบว่าเชื้อที่พบในจังหวัดชัยนาทฟาร์มที่ 1 มีความไวต่อยา Amoxycilin มากที่สุด (ค่า MIC น้อยที่สุด) โดยเชื้อในทุก Isolates มีการตอบสนองต่อยา Amoxycilin โดยมีค่าการยอมรับยาที่ดีมาก ขณะที่ยาชนิดอื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็น Enrofloxacin, Trimethoprim/sulfamethoxazole (µg/ml) และ Oxytetracycline นั้น เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการต้านทานยาเหล่านี้ได้ มีเพียงบาง Isolate เท่านั้นที่ยอมรับยาเหล่านี้ได้ดี

ผลการตรวจเลือด แสดงว่า ปลาที่เป็นโรคในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 1 จำนวน 3 ตัว (ปลาตัวอื่นอีกหนึ่งตัวไม่สามารถเจาะเลือดได้) มีอัตราส่วนของเกล็ดเลือดต่ำมาก โดยในบางตัวอย่างจะไม่พบเกล็ดเลือดในปลาที่เป็นโรคเลย (ตารางที่ 15) ส่วนเม็ดเลือดแดง monocyte และ lymphocyte มีค่าเฉลี่ย 93.3 ± 2.5 , 3.7 ± 2.1 และ 2.3 ± 3.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 14 แสดงผลการทดสอบ Sensitivity test ของเชื้อชนิดต่างๆที่ได้จากการเขี่ยเชื้อที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 1

ชนิดเชื้อโรค	Minimal Inhibitory Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
	Oxytetracycline (cm)	Enrofloxacin ($\mu\text{g/ml}$)	Trimethoprim/sulfamethoxazole ($\mu\text{g/ml}$)	Amoxycillin ($\mu\text{g/ml}$)
Isolated F11	2.0/S	1.5/S	4/R	0.032/S
Isolated F12	1.8/I	2/S	6/R	0.094/S
Isolated F13	1.2/R	2/S	2/I	0.094/S
Isolated F14	3.2/S	0.25/S	0.094/S	0.125/S
Isolated F15	1.4/R	6/I	R	0.032/S

ตารางที่ 15 ผลการศึกษาปริมาณและอัตราส่วนเม็ดเลือดของปลาที่เป็นโรคในจังหวัดชัยนาทฟาร์มที่ 1

ตัวที่	Total	RBC	Monocyte	Lymphocyte	Platelets
1	585.0	93.0	6.0	1.0	0.0
2	974.0	91.0	3.0	6.0	0.0
3	1166.0	96.0	2.0	0.0	2.0
ค่าเฉลี่ย	908.3	93.3	3.7	2.3	0.7
SD	296.0	2.5	2.1	3.2	1.2

ผลการตรวจปลาตัวอย่างจากฟาร์มที่ 2 พบว่า

- ตัวที่ 1 ลูกตาปลา มีลักษณะขุ่นมัว ตกลีดอกที่โคนครีบทู ลำไส้ไม่มีอาหาร ตับมีลักษณะตกลีดอก ถุงน้ำดีบวมและซีด
- ตัวที่ 2 ปลา มีไขมันที่ช่องท้องเยอะ ตับมีสีซีดมาก และมีลักษณะตกลีดอก
- ตัวที่ 3 ครีบทูมีลักษณะต่างและตกลีดอก หางกร่อน ข้างในลำตัวมีอาการตกลีดอก ตับซีด ไขมันดีโต ลำไส้อักเสบ
- ตัวที่ 4 ไขมันดีมีสีเหลือง ลำไส้ไม่มีอาหาร ตับตกลีดอก
- ตัวที่ 5 ม้ามโต ตับตกลีดอก

ผลการแยกเชื้อจากปลาเป็นโรค

ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียพบว่า แบคทีเรียที่แยกได้ทั้งสิ้น 5 Isolates จะมีโคโลนีมีสีขาวขุ่น ขนาดเล็ก ย้อมติดสีม่วง เชลล์รูปร่างกลมต่อกันเป็นเส้นสาย (ตารางที่ 16) เช่นเดียวกับที่พบในฟาร์มที่ 1 และเมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีแล้วทำให้ทราบว่าเป็นแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae*

ตารางที่ 16 ลักษณะโคโลนี และลักษณะเชลล์ของแบคทีเรียที่พบในปลาที่เป็นโรคที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 2

ชนิดเชื้อโรค	ลักษณะโคโลนีแบคทีเรีย	ลักษณะเชลล์แบคทีเรีย	Grams'stain
Isolated F26	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีแดงเชลล์เป็นท่อนสั้น ๆ	Grams'-ve
Isolated F27	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเชลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams' +ve
Isolated F28	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีแดงเชลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams' +ve
Isolated F29	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีแดงเชลล์เป็นท่อนสั้น ๆ	Grams'-ve
Isolated F210	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเชลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams' +ve

ผลของการทดสอบ Sensitivity test ที่ในตารางที่ 17 ทำให้ทราบว่าเชื้อที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 2 มีความไวต่อยา ต่อยาปฏิชีวนะทุกชนิด โดย Amoxycillin จะเป็นยาปฏิชีวนะที่มีความไวมากที่สุด รองลงมา คือ Trimethoprim/sulfamethoxazole, Enrofloxacin และ Oxytetracycline ตามลำดับ

ตารางที่ 17 แสดงผลการทดสอบ Sensitivity test ของเชื้อชนิดต่าง ๆ ที่ได้จากการเชื้อเชื้อที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 2

ชนิดเชื้อโรค	Minimal Inhibitory Concentration (μ g/ml)			
	Oxytetracycline	Enrofloxacin	Trimethoprim/ sulfamethoxazole	Amoxycillin
Isolated F26	2.5/S	0.032/S	0.094/S	0.10/S
Isolated F27	2.3/S	1.0/S	0.25/S	0.032/S
Isolated F28	2.5/S	0.75/S	0.19/S	0.032/S
Isolated F29	2.8/S	0.75/S	0.25/S	0.25/S
Isolated F210	2.2/S	0.75/S	0.38/S	0.047/S

ผลการตรวจเลือด พบว่าปลาที่เป็นโรคในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 2 มีจำนวนของ Lymphocytes และเกล็ดเลือดต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน (1.4 ± 1.7 และ 0.2 ± 0.4 ตามลำดับ) และมีค่าโดยในปลาที่ป่วยบางตัวนั้นแทบไม่พบเกล็ดเลือดหรือไม่พบเลย (ตารางที่ 18) ส่วนค่า RBC และ monocyte มีค่า 1.4 ± 1.7 และ 0.2 ± 0.4 ตามลำดับ

ตารางที่ 18 ผลการศึกษาปริมาณและอัตราส่วนเม็ดเลือดของปลาที่เป็นโรคในจังหวัดชัยนาทฟาร์มที่ 2

ตัวที่	Total	RBC	Monocyte	Lymphocyte	Platelet
1	589.0	96.0	4.0	0.0	0.0
2	762.0	97.0	2.0	1.0	0.0
3	1238.0	95.0	4.0	0.0	1.0
4	734.0	95.0	3.0	2.0	0.0
5	562.0	91.0	5.0	4.0	0.0
ค่าเฉลี่ย	777.0	94.8	3.6	1.4	0.2
SD	272.1	2.3	1.1	1.7	0.4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาสาเหตุของการเกิดโรคในปลานิลซึ่งเลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดชัยนาทและอ่างทอง ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน 2552 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการเกิดโรคและทำให้เกิดความเสียหายกับเกษตรกรที่เลี้ยงปลานิลอย่างหนัก พบว่าโรคที่เป็นสาเหตุที่ทำให้ปลานิลที่เลี้ยงในกระชังตายคือ เชื้อแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคใน 2 จังหวัดเป็นชนิดที่แตกต่างกัน

ในจังหวัดชัยนาทพบเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลาอย่างหนัก แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแกรมบวกเซลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสายโดยปลาที่เป็นโรคชนิดนี้จะมีลักษณะ ครีบหูและครีบหางตกเลือด ท้องบวม มีน้ำในช่องท้องตบยวบยัดำมืดม้ามบวม ถูมน้ำดีโต และบางตัวมีอาการของโรคดีซ่าน คือ ตัวเหลืองและตับอักเสบ ตาโปน วายน้ำเชื่องช้าที่ผิวหนัง หรือบางตัวจะวายควงส่วานที่ผิวหนังเช่นกัน โดยทั่วไปแล้วเชื้อชนิดนี้ จะมีการระบาดในช่วงหน้าร้อนตั้งแต่เดือนเมษายนต่อเนื่องไปถึงกรกฎาคมของทุกปีและจะหยุดระบาดในช่วงเข้าสู่ฤดูฝน เชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่พบนี้เมื่อนำไปทดสอบแล้วพบว่ามีความไวต่อยาทุกตัวในตำรับยาที่กรมประมงอนุญาตให้ใช้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งยา Amoxycillin ซึ่งจากการศึกษาของ Al-Sweih *et al.* (2003) พบว่ายานในกลุ่ม Penicillin, Ampicillin และ Cephalothin จัดเป็นกลุ่มยาที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* แต่อย่างไรก็ตามยากลุ่มดังกล่าวก็ไม่ได้อยู่ในกลุ่มยาปฏิชีวนะที่กรมประมงอนุญาตให้ใช้แต่อย่างใด

อย่างไรก็ตามจากการสอบถามเกษตรกรกลับพบว่า การใช้ยาดังกล่าวไม่สามารถรักษาปลาที่ป่วยได้หน้าซ้ำยังทำให้เกิดการตายอย่างหนักตามมาอีกด้วย ที่เป็นเช่นนี้ น่าจะเป็นสาเหตุมาจากเมื่อปลาเกิดโรคแบคทีเรียเหล่านี้แล้วหรือป่วยมากแล้ว ปลาส่วนใหญ่มิจะกินอาหาร ดังนั้นถึงแม้ว่าเกษตรกรจะผสมยาที่มีในตำรับให้อาหารให้ปลากินก็ไม่สามารถรักษาปลาให้หายได้ ดังนั้นเกษตรกรควรจะเน้นการป้องกันโรค เช่นการเสริมวิตามิน บางชนิดเช่น วิตามิน ซี ควบคู่กับการแขวนถุงเกลือภายในกระชังปลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงที่สภาวะอากาศไม่เหมาะสม เช่นอากาศร้อนติดต่อกัน ฝนตกติดต่อกัน หรือมีน้ำไหลหลากอย่างต่อเนื่อง จะสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคได้ ส่วนการให้ยาปฏิชีวนะให้ได้ผลนั้น ควรผสมยาให้ปลาในขณะที่ปลายังกินอาหารอยู่ คือ ช่วงที่ปลาเริ่มป่วย (พบปลา

จำนวน 1-3% ของปลาที่เลี้ยงป่วย) จะทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะที่อยู่ในตำรับยาได้ผลดีในการรักษายิ่งขึ้น

ส่วนในฟาร์มในจังหวัดอ่างทอง พบเชื้อสาเหตุคือ แบคทีเรียชนิดฟลาโวแบคทีเรีย (*Flavobacterium columnare*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถพบในเมือกของปลาที่เป็นโรค โดยปลาที่เป็นโรคจะมีลักษณะตัวต่าง ครีบหุบและครีบหางกร่อนและตกเลือด ถูงน้ำดีบวม ซึ่งโดยทั่วไปแล้วพบว่าการระบาดในปลาขนาดเล็กและก่อโรคในปลาที่เป็นลักษณะภายนอก (External infection) เท่านั้น อย่างไรก็ตามในปัจจุบันในรายงานหลาย ๆ รายงานก็ทำให้ทราบว่าเชื้อชนิดนี้ก็สามารถก่อให้เกิดโรคภายในระบบร่างกาย (Systemic infection) ในปลาหลาย ๆ ชนิด เช่นกัน (Decostere *et al.*, 1998; Jirí and Bohumil, 2007; Soto *et al.*, 2008)

เมื่อนำไปทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะพบว่า เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีความไวต่อยา Enrofloxacin มากที่สุด รองลงมา คือ Trimethoprim/sulfamethoxazole ขณะที่ยา Oxytetracycline และ Amoxycillin ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิดนี้ได้ ซึ่ง Decostere *et al.* (1998) ได้รายงานการทดสอบความไวของยาต่อเชื้อ *Flavobacterium columnare* พบว่า ยาในกลุ่มที่มีค่า MIC ในระดับต่ำและมีความไวต่อเชื้อชนิดนี้คือ Chloramphenicol, Erythromycin, Furazolidone, Kanamycin, Lincomycin, Nalidixic acid, Oxytetracycline และ Streptomycin ขณะที่ยาที่มีค่า MIC อยู่ในช่วงสูงและไม่สามารถยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ คือ Colistin, Sulfamethoxazole และ Neomycin เช่นเกี่ยวกับการศึกษาของ Kubilay *et al.* (2008) ที่ได้รายงานการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะ โดยการใช้ ATB-Vet strips พบว่ายาที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Flavobacterium columnare* ได้อย่างมีประสิทธิภาพได้แก่ Chloramphenicol, Oxytetracycline, Furazolidone, Nitrofurantoin, Erythromycin, Streptomycin, Penicillin, Amoxicillin และ Cephalothin ส่วนยาที่สามารถควบคุม เชื้อชนิดนี้ได้ ได้แก่ Colistin และ Oxacillin เป็นต้น

นอกจากนี้จากการศึกษาพยาธิสภาพของปลาที่ป่วย โดยสังเกตจากจำนวนและปริมาณเม็ดเลือด พบว่าปลาที่เป็นโรคเลือดปลาที่เป็นโรคไม่ว่าจะมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียชนิดใด ปลาที่ป่วยจะมีปริมาณเม็ดเลือดน้อยลง และมีอัตราส่วนเม็ดเลือดชนิด Monocyte เพิ่มขึ้น และมีเกล็ดเลือดน้อยลงเมื่อเทียบกับปลาปกติ โดยเฉพาะเกล็ดเลือดนั้นในปลาที่ป่วยจะพบน้อยมากจนถึงไม่มีเลย ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเกล็ดเลือดจะมีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือด ซึ่งการที่มีปริมาณลดน้อยลงไปอาจส่งผลทางลบต่อสุขภาพปลาได้ นอกจากนี้การลดลงของเกล็ดเลือดนี้อาจใช้เป็นดัชนีเพื่อบ่งชี้ถึงสุขภาพของปลา โดยเฉพาะปลาที่ป่วยและมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียได้อีกด้วย ซึ่งจากการศึกษาของ Martins *et al.* (2009) ได้ทำการการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลภายหลังที่มีการติดเชื้อ *Enterococcus* sp. พบว่าภายหลังจากปลาได้รับเชือดังกล่าวแล้วเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Total white blood cells) และ Lymphocytes จะมีแนวโน้มสูงขึ้น และแตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งให้ผลในทางกลับกันกับปริมาณของ Monocytes ที่พบว่าปลาที่ได้รับเชื้อแบคทีเรียจะมีปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดชนิดนี้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับปลาในกลุ่ม

ควบคุม แต่จะมีแนวโน้มสูงขึ้นในท้าย ๆ ของการทดลอง นอกจากนี้ Zaki *et al.* (2008) ยังพบว่าปลา นิลที่มีการติดเชื้อรา *Saprolegnia parasitica* จะส่งผลต่อค่า พารามิเตอร์ในเลือดของปลาโดยตรง โดย พบว่าภายหลังจากที่ปลาได้รับเชื้อแล้วเป็นเวลา 7 วัน ปริมาณเม็ดเลือดแดง, ปริมาณ Hemoglobin, creatinine, sodium, potassium, insulin and glucose จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับปลาปกติ ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้และการรายงานข้างต้นสามารถชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่า การเปลี่ยนแปลงของ องค์ประกอบของเลือดจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเกิดโรค และอาจเป็นส่วนสำคัญในการนำเอาไป เป็นดัชนีที่บ่งถึงภาวะการเกิดโรค ซึ่งสามารถนำเอาไปศึกษาเพื่อหาทางในการป้องกันรักษาโรคในปลา นิลต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

- ชาญณรงค์ รอดคำ. 2550. โรคสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย, น. 319-326. ใน ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ครั้งที่ 33. ภาควิชาจุลชีววิทยา , คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ยุพินท์ วิวัฒน์ชัยเศรษฐ์ และ พันธิศักดิ์ ไชยบุตร. 2543. การเลี้ยงปลานิล. เอกสารคำแนะนำ. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด. มปป. โรคปลานิล. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Al-Sweih, N., Jamal, M. Kurdia, M., Abduljabar, R., Rotimi, V. 2005. Antibiotic Susceptibility Profile of Group B Streptococcus (*Streptococcus agalactiae*) at the Maternity Hospital, Kuwait. Med. Princ. Pract. 14, 260-263.
- Decostere, A., Haesebrouck, F., Devriese, L.A. 1998. Characterization of four *Flavobacterium columnare* (*Flexibacter columnaris*) strains isolated from tropical fish. Vet. Microbiol. 62, 35-45.
- Jirí, R., Bohumil, M. 2007. Blood parameters in brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill, 1815), affected by columnaris disease. Aquacult. Res. 38, 1182-1197.
- Kubilay, A., Altun, S., Diler, Ö., Ekici, S. 2008. Isolation of *Flavobacterium columnare* from cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in Turkey. Turkish J. Fisheries Aquat. Sci. 8, 165-169.
- Martins, M.L., Vieira, F.N., Jerônimo, G.T., Mouriño, J.L.P., Dotta, G., Speck, G.M., Bezerra, A.J.M., Pedrotti, F.S., Buglione-Neto, C.C., Pereira, G. 2009. Leukocyte response and phagocytic activity in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. Fish Physiol. Biochem. 35, 219-222.
- Soto, E., Mauel, M.J., Karsi, A., Lawrence, M.L. 2008. Genetic and virulence characterization of *Flavobacterium columnare* from channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Appl. Microbiol. 5, 1302-1310.
- Sarder, M.I., Thompson, R.K.D., Penman, D.J., McAndrew, B.J. 2001. Immune responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) clones: I. Non-specific responses. Dev. Com. Immunol. 25, 37-46.
- Zaki, M.S., Fawzi, O.M., El-Jackey, J. 2008. Pathological and biochemical studies in *Tilapia nilotica* infected with *Saprolegnia parasitica* and treated with potassium permanganate. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 3, 677-680.

4.5.5 ผลของการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและการ ต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของปลากลาย

กฤษณ์ ทิพย์ภาระ จีรภา วรรณโก ญัฐวุฒิ ปานแย้ม นำโชค บุรณานนท์ สม
รักษ์ จันทรภิรมย์ สุขนิรันดร์ สุวรรณแก้วมณี (นิสิตปริญญาตรี)

คำนำ

ปลากลาย (*Chitala ornata*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ประชาชนชอบบริโภค เนื่องจากเนื้อปลากลายมีรสชาติดีสามารถนำมาปรุงอาหารได้หลายชนิด เช่น ทอดมันปลากลาย ลูกชิ้นปลากลาย เชิงปลากลายทอดกระเทียม เป็นต้น ทำให้ราคาจำหน่ายปลากลายในท้องตลาดค่อนข้างมีราคาแพงประมาณกิโลกรัมละ 70-80 บาท ส่วนเนื้อปลาชุกครากิโลกรัมละ 220 บาท อีกทั้งปลากลายขนาดเล็กมีลักษณะสวยงามเป็นที่ต้องการของตลาดปลาสวยงามทั้งภายในและภายนอกประเทศ ปลากลายที่นำมาจำหน่ายส่วนใหญ่เป็นปลาจากแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งมีปริมาณลดลงทุกปี (กรมประมง, 2536) ดังนั้นเกษตรกรโดยเฉพาะกลุ่มที่อาศัยในพื้นที่ภาคกลางเริ่มสนใจหันมาเลี้ยงปลากลายเป็นจำนวนมากและสร้างรายได้จากการขายผลผลิตอย่างเป็นล่ำเป็นสัน อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญในการเลี้ยงที่พบในปัจจุบันคือ ในช่วงแรกของการปล่อยเลี้ยงและปลาขนาดตลาด มักพบปัญหาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ซึ่งทำให้ปลาระยะดังกล่าวตายเป็นจำนวนมาก การใช้ แบคทีเรียโปรไบโอติก (probiotic) น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการป้องกันรักษาโรคแบคทีเรียดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

“โปรไบโอติก” หมายถึง “จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อบริโภคในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพผู้บริโภค” (Reid *et al.* 2003) กลไกจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับโปรไบโอติกส์ ได้แสดงให้เห็นว่า โปรไบโอติกส์ เหล่านี้จะช่วยให้สุขภาพของผู้บริโภคดีขึ้น โดยแบคทีเรียเหล่านี้จะสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิด ซึ่งได้แก่ bacteriocins, lysozymes, protease, และ hydrogen peroxide เป็นต้น ซึ่งจะมีผลลดต่อสภาพแวดล้อมของเชื้อก่อโรคต่าง ๆ นอกจากนี้ probiotic แบคทีเรียสามารถเกิดกระบวนการแย่งชิงสารอาหารที่จำเป็น ยึดครองแหล่งที่อยู่อาศัย การรับเอาสารอินทรีย์ที่ละลายอยู่ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียเข้าไปโดยตรง และรวมถึงการทำให้เกิดการควบคุมปฏิสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมและการพัฒนาภูมิคุ้มกันต้านทานในการตอบสนองที่เป็นประโยชน์ ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย

การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลการให้แบคทีเรีย โปรไบโอติก สายพันธุ์ AQHBS02 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งน้ำตามธรรมชาติ และได้ผ่านการตรวจสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* มาแล้วในระดับห้องปฏิบัติการ (ประพันธ์ศักดิ์ ศรีษะภูมิ การติดต่อบริษัท) แก่ปลากลายขนาดความยาวประมาณ 3-4 นิ้ว ซึ่งเป็นขนาดที่มักพบว่ามีปัญหาที่เกิดจาก

เชื้อ *A. hydrophila* เสมอๆ และศึกษาผลในด้านความต้านทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* และการเจริญเติบโตของปลากลาย หลังได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

วัตถุประสงค์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ 2 ประการ คือ

1. เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของแบคทีเรียโปรไบโอติก AQSB02 ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลากลาย (*Chitala ornata*)
2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมของโปรไบโอติกต่อการต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลากลายทดลอง

นำปลากลายขนาด 2-3 นิ้ว (น้ำหนักประมาณ 1.8 กรัม) มาเลี้ยงใน ตู้ปลาขนาด 80 ลิตร จำนวน 24 ตู้ๆ ละ 20 ตัว ณ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อปรับสภาพของปลาให้คุ้นเคยกับสภาพการทดลอง โดยทำการเลี้ยงไว้ระยะเวลา 7 วัน ระหว่างนี้ให้อาหารปลาดุกโปรตีน 30% ในอัตรา 3% ต่อน้ำหนักตัว วันละสองเวลา (8.00 น. และ 16.00 น.)

การเตรียมโปรไบโอติก AQSB02 และการให้อาหาร

นำโปรไบโอติก AQSB02 ซึ่งพัฒนาขึ้นโดย ดร.ประพันธ์ศักดิ์ ศรีษะภูมิ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มาผสมกับอาหารปลาดุกขนาดเล็ก (Hi grade) โดยจัดความเข้มข้นของแบคทีเรียโปรไบโอติกตามกลุ่มของปลากลายให้ได้รับอาหารผสมแบคทีเรีย โปรไบโอติก 3 ระดับ คือ 1, 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยนำแบคทีเรียในปริมาณที่ต้องการผสมกับสารละลายเกลือแกง 0.85% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และคลุกเคล้ากับอาหาร (1 กิโลกรัม) ให้ทั่ว จากนั้นนำไปผึ่งลมให้แห้ง ส่วนอาหารชุดควบคุม เตรียมโดยผสมอาหารกับน้ำเกลือ 100 มิลลิลิตร โดยไม่ผสมแบคทีเรีย โปรไบโอติก

ให้อาหารปลากลายวันละ 2 ครั้ง ที่ระดับ 3% ของน้ำหนักตัว โดยทำการเปลี่ยนน้ำทุกวันในระหว่างช่วงการทดลองนาน 28 วัน ปรับปริมาณอาหารให้สอดคล้องกับน้ำหนักตัวและการรอดตาย ตรวจสอบปริมาณอาหารที่กินและการรอดตายด้วยตาเปล่าทุกเช้า โดยวัดความยาวและชั่งน้ำหนักปลาด้วยเครื่องชั่งแบบดิจิตอลทุกสัปดาห์

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อ *A. hydrophila* มาเขียนบน TSA plate ให้ได้โคโลนีเดี่ยว แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ข้ามคืน จากนั้นเชื้อโคโลนีเดี่ยว 1-2 โคโลนีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เสร็จแล้วนำไปเขย่าเลี้ยงให้ได้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นใช้น้ำเกลือ 0.85% ปรับความเข้มข้นของเชื้อ *A. hydrophila* ให้อยู่ที่ 10^9 CFU/ml

แล้วนำไปใส่ลงในตู้ทดลอง ที่ใส่ปลาทดลองไว้แล้ว โดยให้ได้ความเข้มข้นของ *A. hydrophila* สุดท้ายเป็น 10^6 CFU/ml โดยคำนวณตามปริมาตรน้ำในตู้เลี้ยงปลาทรายได้ดังนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

$$10^9 V_1 = 10^6 \times 30,000 \text{ ml}$$

$$N_1 = 30 \text{ ml / ตู้ปลา 1 ตู้}$$

การทดสอบความต้านทานต่อเชื้อ *A. hydrophila*

เมื่อเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมโปรไบโอติก ครบ 1 เดือนแล้ว นำปลาทดลองกลุ่มการทดลองละ 15 ตัว ใส่เข้ามาใส่ในตู้เลี้ยงปลา นำสารละลายของเชื้อ *A. hydrophila* มาใส่ในตู้ หลังจากนั้นบันทึกอัตราการตายของปลาในแต่ละกลุ่มในทุก ๆ วัน จนครบ 14 วัน เพื่อนำไปคำนวณหาค่าอัตราการตายสะสม และเมื่อพบว่าปลาทดลองมีอาการผิดปกติหรือใกล้ตายให้นำปลาไปแยกเชื้อในอาหาร TSA เพื่อเป็นการยืนยันผลของการติดเชื้อต่อไป

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลอง (ความยาวและน้ำหนัก ตลอดจนอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน-Average daily gain: ADG ในแต่ละสัปดาห์ อัตราการตายสะสมภายหลังแช่ในเชื้อ *A. hydrophila*) โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ Duncan's new multiple range test (DMRT) การวิเคราะห์ทำโดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows version 11.5

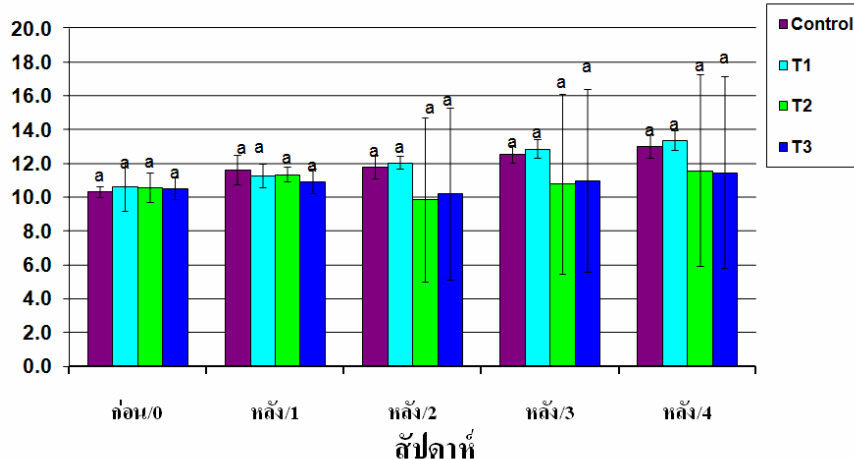
ผลการทดลอง

ผลการเสริมโปรไบโอติก AQSB02 ต่อการเจริญเติบโตของปลาทราย

ความยาวเฉลี่ยของปลาทรายในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการทดลองที่ 28 วัน ของปลากลุ่มควบคุมและกลุ่มการทดลองที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 34) โดยพบว่าแนวโน้มของความยาวของปลาในแต่ละกลุ่มมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในแต่ละสัปดาห์ที่ทำการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองความยาวของปลาในแต่ละกลุ่มมีค่าความยาวเป็น 13 ± 0.7 , 13.4 ± 0.6 , 11.6 ± 5.7 และ 11.5 ± 5.7 ในชุดที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมตามลำดับ

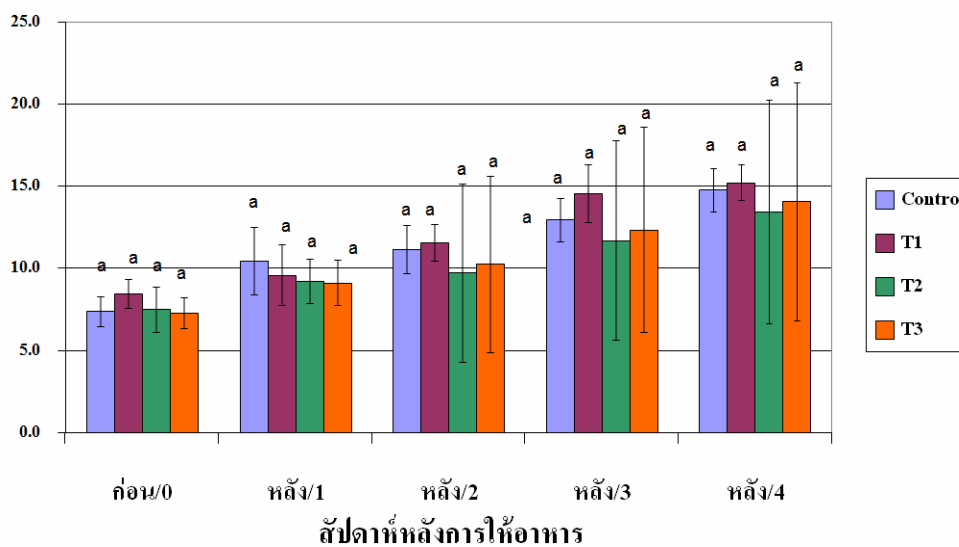
ในทำนองเดียวกัน น้ำหนักของปลาทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติตลอดการทดลอง ($P > 0.05$) (ภาพที่ 35) เมื่อสิ้นสุดการทดลองปลาทดลองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น จากน้ำหนักเริ่มต้น 7.3 ± 0.9 - 8.4 ± 0.9 กรัม เพิ่มขึ้นเป็น 14.8 ± 1.3 , 15.2 ± 1.1 , 13.4 ± 6.8 และ 14.2 ± 7.2 กรัม ในชุดที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ

ความยาว (เซนติเมตร)



ภาพที่ 34 ความยาวของปลากลาย ที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ในระดับ 0 (control), 1 (T1), 3 (T2) และ 5 (T3) กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันและกำกับบนแท่งกราฟในแต่ละช่วงเวลาแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

น้ำหนัก (กรัม)



ภาพที่ 35 น้ำหนักของปลากลาย ที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ในระดับ 0 (control), 1 (T1), 3 (T2) และ 5 (T3) กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันและกำกับบนแท่งกราฟในแต่ละช่วงเวลาแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงค่า อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน (ADG) พบว่า ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง ปลาในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 มีแนวโน้มของการเพิ่มน้ำหนักต่อวันสูงขึ้นตามระดับแบคทีเรีย โปรไบโอติกที่เพิ่มขึ้น โดยมีค่าเป็น 0.24 ± 0.12 , 0.32 ± 0.20 และ 0.40 ± 0.03 กรัม/วัน ในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 1, 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมตามลำดับ ในขณะที่ กลุ่มควบคุมมีค่า ADG เป็น 0.19 ± 0.10 กรัม/วัน เท่านั้น อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ค่า ADG ของปลาในแต่ละกลุ่มมีแนวโน้มลดลง และไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกสัปดาห์ ($P > 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาในแต่ละกลุ่มจะมีค่า ADG เป็น 0.24 ± 0.07 , 0.19 ± 0.12 , 0.26 ± 0.02 และ 0.26 ± 0.11 ในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมตามลำดับ (ตารางที่ 19)

ผลของแบคทีเรีย โปรไบโอติก ต่ออัตราการอด

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาทดลองทุกกลุ่มมีอัตราการตายค่อนข้างต่ำ และไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการตาย 21.0 ± 4.2 , 20.0 ± 10.0 , 21.0 ± 6.6 และ $22.0 \pm 9.3\%$ ตามลำดับ

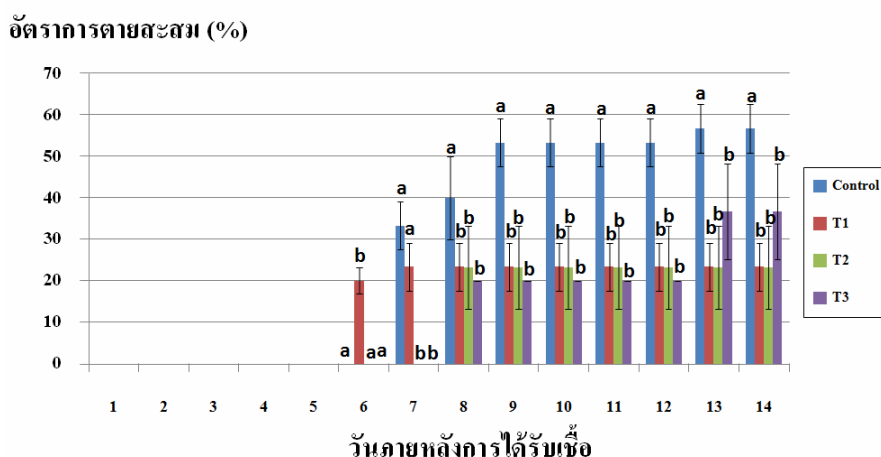
ตารางที่ 19 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (Average Daily Gain, ADG) (กรัม) ของปลาทดลองซึ่งได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน (ค่าเฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ $P > 0.05$)

ชุดการทดลอง	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
0 กรัม/กิโลกรัม	0.18 ± 0.04	0.19 ± 0.10	0.23 ± 0.11	0.24 ± 0.07
1 กรัม/กิโลกรัม	0.15 ± 0.09	0.24 ± 0.12	0.38 ± 0.09	0.19 ± 0.12
3 กรัม/กิโลกรัม	0.20 ± 10.06	0.32 ± 0.20	0.29 ± 0.17	0.26 ± 0.02
5 กรัม/กิโลกรัม	0.23 ± 0.04	0.40 ± 0.03	0.31 ± 0.12	0.26 ± 0.11

ผลของแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ต่อความต้านทานต่อ *A. hydrophila*

ในระยะ 5 วันแรกของการแช่ปลาทดลองในสารละลายเชื้อ *A. hydrophila* ยังไม่พบปลาตาย ในวันที่ 6 กลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในอัตรา 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เริ่มมีปลาตาย โดยมีค่าอัตราการตายสะสมเป็น $20.0 \pm 3.14\%$ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับปลากลุ่มอื่น ๆ ที่มีอัตราการตายในวันนี้เป็น 0.0% ($P < 0.05$) ในวันที่ 7 ของการแช่เชื้อ ปลาในกลุ่มควบคุมเริ่มตายจำนวนมาก โดยมีอัตราการตายสะสมเป็น $33.3 \pm 5.8\%$ ขณะที่กลุ่มที่ได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติกในอัตรา 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นเป็น $23.3 \pm 5.8\%$ ซึ่งทั้งสองกลุ่มนี้มีอัตราการตายสะสมแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มทดลองที่รับแบคทีเรียโปรไบโอติกในอาหารในอัตรา 3 และ 5 กรัม/อาหาร

1 กิโลกรัม ซึ่งยังไม่มีปลาตาย ($P < 0.05$) ในวันที่ 8 ของการทดลองพบปลาตายในทุกกลุ่ม โดยกลุ่มควบคุมมีอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้นเป็น $40.0 \pm 10.0\%$ ซึ่งสูงกว่าปลาที่ได้รับแบคทีเรียในอาหารทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าอัตราการตายสะสมในช่วงนี้เป็น 23.3 ± 5.8 , 23.3 ± 10.0 และ $20.0 \pm 10\%$ ในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติกในระดับ 1, 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ หลังจากวันที่ 9 ของการได้รับเชื้อ *A. hydrophila* เป็นต้นไป อัตราการตายของปลาที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ทุกๆ กลุ่มมีค่าค่อนข้างคงที่ และแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม จนสิ้นสุดการทดลอง โดยพบว่าปลาในแต่ละกลุ่มจะมีอัตราการตายสะสมที่สิ้นสุดการทดลองในวันที่ 14 เป็น 56.7 ± 5.8 , 23.3 ± 5.8 , 23.3 ± 10 และ $36.7 \pm 11.5\%$ ตามลำดับ ($P < 0.05$) (ภาพที่ 36)



ภาพที่ 36 อัตราการตายสะสมของปลาในแต่ละกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ในระดับ 0 (control), 1 (T1), 3 (T2) และ 5 (T3) กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันและกำกับบนแท่งกราฟในแต่ละช่วงเวลาแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปัจจุบันการใช้แบคทีเรียโปรไบโอติก กำลังเป็นที่สนใจของทั้งนักวิจัยและผู้บริโภคสินค้าและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรอย่างมาก เนื่องจากปัจจุบันประเด็นความปลอดภัย (Food safety) กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในหมู่ผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากที่ผ่านมากการผลิตสัตว์ทั้งในส่วนของสัตว์บกและสัตว์น้ำ ได้มีการใช้ยาและสารเคมีเพื่อการป้องกันรักษาโรคอย่างกว้างขวาง ซึ่งการกระทำดังกล่าวได้ก่อให้เกิดผลกระทบที่รุนแรงทั้งทางตรงและทางอ้อม ทั้งต่อผู้บริโภค สภาพแวดล้อม รวมถึงทัศนคติของผู้บริโภค ไม่ว่าจะเป็นปัญหาการตกค้างของยาและสารเคมีในผลผลิต รวมไปถึงการทำลายจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในสภาพแวดล้อม ซึ่งยังทำให้เกษตรกรต้องเพิ่มต้นทุนในการผลิตอย่างมาก ดังนั้นนักวิจัยหลาย ๆ กลุ่มจึงพยายามค้นคว้าและพยายามหาแบคทีเรียที่มีประโยชน์และไม่ก่อโทษมาผสมในอาหารเพื่อให้สัตว์เลี้ยงกิน โดยใช้หลักโปรไบโอติกนั่นเอง

ผลของการศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่า แบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 นี้สามารถเพิ่มความต้านทานให้ปลาทรายทดลองสามารถต้านทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้อย่างชัดเจนและเป็นที่น่าสนใจ ถึงแม้ว่าจะไม่สามารถทำให้อัตราการเจริญของปลาเพิ่มขึ้นก็ตาม ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาในปลาเก๋า (*Epinephelus coioides*) ที่พบว่าปลาที่ได้รับโปรไบโอติก ไม่ทำให้เพิ่มการเจริญเติบโต แม้ว่าการแลกอาหารเป็นเนื้อ จะดีขึ้น (FCR ต่ำลง) และปลาเก๋าที่ได้รับโปรไบโอติกส์ มีค่าทางภูมิคุ้มกัน เช่น Phagocytic activity และ Phagocytic index สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ ซึ่งแสดงถึงความต้านทานโรคที่ดีกว่า (Sun *et al.*, 2010) อย่างไรก็ตาม ในปลาบางชนิด เช่น ปลาเรนโบว์เทราท์ การได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้น ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีขึ้น และค่าอัตราแลกเนื้อต่ำลง (Merifield *et al.*, 2010) เช่นเดียวกับที่พบในปลาทอง (Dhanaraj *et al.*, 2010)

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงความปลอดภัย พบว่าภายหลังจากการให้อาหารผสมแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ตั้งแต่ 1 จนถึง 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลาถึง 28 วัน ก็ไม่ทำให้ปลาทดลองเกิดความผิดปกติแต่อย่างใด และยังคงมีอัตราการเจริญเติบโตที่เป็นไปตามปกติเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม ในการทดลองนี้มีอัตราการตายของปลาทดลองต่ำมาก อย่างไรก็ตามการที่อัตราการตายของปลาทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน แสดงว่าการได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติก ไม่มีผลร้ายต่อปลาทดลอง

การที่แบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 สามารถเสริมความต้านทานต่อเชื้อโรค *A. hydrophila* ได้ อาจเป็นผลมาจาก แบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 นี้ มีคุณสมบัติอย่างใดอย่างหนึ่งตามคุณสมบัติของโปรไบโอติกที่ดี ตามที่ Gatesoupe (1999) ได้อธิบายไว้ เช่น แบคทีเรีย AQHBS02 นี้ อาจมีความสามารถในการยึดเกาะลำไส้ได้ หรือสามารถอยู่ในลำไส้ได้ชั่วระยะเวลาหนึ่ง และทำให้เจ้าบ้านแข็งแรง สามารถต้านทานโรค หรือแบคทีเรีย โปรไบโอติกนี้ อาจมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ทำให้ปลาที่ได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติก มีการตอบสนองและต่อต้านเชื้อโรสดังกล่าวได้ เป็นอย่างดี นอกจากนี้ กลไกที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ แบคทีเรีย AQHBS02 อาจจะสามารถสร้างสารออกมายับยั้งการเจริญหรือแก่งแย่งกับ *A. hydrophila* ในการดำรงชีวิตในทางเดินอาหารของปลาได้เป็นอย่างดี ซึ่งควรจะต้องมีการทดลองพิสูจน์เพื่อให้ทราบกลไกการทำงานของเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 นี้ในการศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2536. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. งานเอกสารคำแนะนำ กองส่งเสริมการประมง. กรมประมง. หน้า 43.
- Dhanaraj, M., Haniffa, M. A., Singh, S.V. A., Arockiaraj, A.J., Ramakrishnan, C.M., Seetharaman, S., Arthimanju, R. 2010. Effect of probiotics on growth performance of Koi carp (*Cyprinus carpio*). J. Applied Aqua. 22, 202-209.
- Gatesoupe, F.J. 1991. *Bacillus* sp. Spore: A new tool against early bacterial infection in turbot larvae, *Scophthalmus maximus*. pp. 409-411. In P. Lavens, P. Sorgeloos, E. Jasper and F. Ollevier (eds.) LARVI, 91, Fish and Crustacean Larviculture Symposium.

- Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180, 147-165.
- Merifield, D.L., Bradley, G., Baker, R.T.M., Davies, S.J. 2010. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) II. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria post antibiotic treatment. *Aquacult. Nutrit.* 16, 496-503.
- Sun, Y.-Z., Yang, H.-L., Ma, R.-L., Lin, W.-Y. 2010. Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunol.* 29, 803-809.
- Reid, G., Sanders, M.E., Gaskins, H.R., Gibson, G.R., Mercenier, A., Rastall, M.B., Rowland, I., Cherbut, C., Klaenhammer, T.R. 2003. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. *J. Clin. Gastroenterol.* 37, 105-108.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1

แบบสอบถามผู้เลี้ยงปลา: ในกระชัง

วันที่.....

เล่มที่.....

โครงการ “สถานภาพการผลิตสัตว์น้ำพื้นเมืองของจังหวัดชัยนาท”

ชื่อ.....ที่อยู่.....

กรณีเลี้ยงชนิดเดียวต่อกระชัง

1. เลี้ยงปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท

จำนวน.....ตัว/กระชัง จำนวน.....กระชัง ขนาดกระชัง.....ตร.ม. ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน

น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./กระชัง ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

O อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

O อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

O ฟีช ผัก ได้แก่..... ปริมาณ.....

O อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

2. เลี้ยงปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท

จำนวน.....ตัว/กระชัง จำนวน.....กระชัง ขนาดกระชัง.....ตร.ม. ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน

น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./กระชัง ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

O อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

O อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

O ฟีช ผัก ได้แก่..... ปริมาณ.....

O อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

3. เลี้ยงปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท

จำนวน.....ตัว/กระชัง จำนวน.....กระชัง ขนาดกระชัง.....ตร.ม. ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน

น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./กระชัง ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

O อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

O อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

O ฟีช ผัก ได้แก่..... ปริมาณ.....

O อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

4. เลี้ยงปลา..... ซื้อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท

จำนวน.....ตัว/กระชัง จำนวน.....กระชัง ขนาดกระชัง.....ตร.ม. ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน

น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./กระชัง ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

O อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

O อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

O ฟีช ผัก ได้แก่..... ปริมาณ.....

O อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

กรณีเลี้ยงรวม

กระชังที่..... ขนาดกระชัง.....ตร.ม. เลี้ยงปลาจำนวน.....ชนิด

1. ปลา..... ซื้อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท

จำนวน.....ตัว/กระชัง ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./กระชัง

ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

2. ปลา..... ซื้อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท

จำนวน.....ตัว/กระชัง ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./กระชัง

ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

O ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

3. ปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา..... ซม. ราคาตัวละ..... บาท
 จำนวน..... ตัว/กระชัง ระยะเวลาเลี้ยง..... เดือน น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้..... กก./กระชัง
 ขายให้กับ.....
 ราคาจำหน่าย ☐ ปลาขนาด..... ซีด ราคา..... บาท/กก.
☐ ปลาขนาด..... ซีด ราคา..... บาท/กก.
☐ ปลาขนาด..... ซีด ราคา..... บาท/กก.
4. ปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา..... ซม. ราคาตัวละ..... บาท
 จำนวน..... ตัว/กระชัง ระยะเวลาเลี้ยง..... เดือน น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้..... กก./กระชัง
 ขายให้กับ.....
 ราคาจำหน่าย ☐ ปลาขนาด..... ซีด ราคา..... บาท/กก.
☐ ปลาขนาด..... ซีด ราคา..... บาท/กก.
☐ ปลาขนาด..... ซีด ราคา..... บาท/กก.
5. ปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา..... ซม. ราคาตัวละ..... บาท
 จำนวน..... ตัว/กระชัง ระยะเวลาเลี้ยง..... เดือน น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้..... กก./กระชัง
 ขายให้กับ.....
 ราคาจำหน่าย ☐ ปลาขนาด..... ซีด ราคา..... บาท/กก.
☐ ปลาขนาด..... ซีด ราคา..... บาท/กก.
☐ ปลาขนาด..... ซีด ราคา..... บาท/กก.

ข้อมูลทั่วไป

1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง
2. อายุ..... ปี
3. ระดับการศึกษา ☐ ประถมศึกษา ☐ มัธยมศึกษา
☐ ปวช. , ปวส. ☐ ป.ตรี
☐ สูงกว่า ป.ตรี
4. สมาชิกในครัวเรือน..... คน
5. แรงตร.ม.เลี้ยงปลา ☐ ใช้แรงงานในครัวเรือน..... คน ☐ แรงงาน จ้างเลี้ยง..... คน
6. เหตุผลในการเลี้ยงปลา ☐ ขายง่ายรายได้ดี ☐ เลี้ยงตามเพื่อนบ้าน
☐ หน่วยตร.ม.ของรัฐบาลสนับสนุน ☐ เลี้ยงง่ายต้นทุนต่ำ
☐ อื่นๆระบุ.....
7. ประสบการณ์เลี้ยงปลา..... ปี
8. ปัญหาอุปสรรค และแนวทางแก้ปัญหาในการเลี้ยงปลาที่พบ
☐ พันธุ์ปลา.....

☐ อาหาร

☐ โรค ช่วงเดือนที่เป็น

☐ น้ำท่วม ช่วงเดือน

○ น้ำเสีย เพราะ.....

.....

○ การจำหน่ายผลผลิต เพราะ.....

.....

○ คັตรูปปลา เพราะ.....

.....

การเลี้ยงปลาในกระชัง

1. ลักษณะของกระชัง

○ เลี้ยงในกระชังในแม่น้ำ.....

○ เลี้ยงในกระชังลำคลองธรรมชาติ

○ เลี้ยงในกระชังในบ่อของตนเอง

2. ประเภทของกระชัง ○ โครงสร้างเหล็ก ○ โครงสร้างแพลูกบวบ

3. กรรมสิทธิ์ที่ดินของกระชัง ○ ของตนเอง

○ ญาติ

○ เช่า ค่าเช่าเดือนละ.....บาท

○ อื่นๆระบุ.....

4. วัสดุตาข่ายที่ท่านใช้ ขนาด.....ซม.

5. อายุการใช้งานของอวน.....ปี

6. ท่านทำความสะอาดตาข่ายกระชังระหว่างการเลี้ยงหรือไม่

○ ทำความสะอาด.....ครั้ง/เดือน

○ ไม่ทำความสะอาด

7. วิธีการทำความสะอาดตาข่ายกระชัง

○.....

○.....

○.....

พันธุ์ปลา การให้อาหาร และการดูแลสุขภาพโรคปลา

1. ท่านเพาะปลาได้หรือไม่ ○ ได้ คือ.....

○ ไม่ได้ เพราะ.....

2. อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

○ อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

○ อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

○ อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

○ ฟีช ไดแก..... ปริมาณ.....

○ อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

3. ความบ่อยครั้งในการให้อาหาร.....ครั้ง/วัน เวลา ○ เช้า ○ กลางวัน ○ เย็น

4. ปลาที่เลี้ยงตายด้วยอาการเกิดโรคหรือไม่

- ☐ ไม่มีป่วย (ข้ามไปข้อ 8) ☐ มีป่วยตาย โดยปลามีแผลตามตัว
☐ มีป่วยตาย โดยปลาตาบวม ☐ มีป่วยตาย โดยปลาท้องบวม
☐ มีป่วยตาย เกิดดั่ง ☐ อื่นๆระบุ.....

5. ท่านบำบัดรักษาอย่างไร

- ☐ ใช้สารเคมี ชื่อ.....ปริมาณ.....กก./กระชัง
☐ ใช้เกลือ.....ปริมาณ.....กก./กระชัง
☐ อื่นๆระบุ.....ปริมาณ.....กก./กระชัง

การแปรรูปสินค้าปลาเพิ่มมูลค่า

1. การแปรรูปปลาที่ตายระหว่างเลี้ยง

- ☐ แปรรูปทำ ☐ ปลาไร้ ☐ ทำปลาทากเกลือ ☐ อื่นๆระบุ.....
☐ ไม่แปรรูป ☐ นำไปฝังดิน ☐ ตักให้ปลาอื่นกิน ☐ ทิ้ง.....

ภาคผนวกที่ 2

แบบสอบถามผู้เลี้ยงปลา: ในบ่อดิน

วันที่.....

เล่มที่.....

โครงการ “สถานภาพการผลิตสัตว์น้ำพื้นเมืองของจังหวัดชัยนาท”

ชื่อ.....ที่อยู่.....

กรณีเลี้ยงชนิดเดียวต่อบ่อ

1. เลี้ยงปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา..... ซม. ราคาตัวละ..... บาท

จำนวน..... ตัว/บ่อ จำนวน..... บ่อ ขนาดบ่อ..... งาน ระยะเวลาเลี้ยง..... เดือน

น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้..... กก./บ่อ ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย

O ปลาขนาด..... ขีด ราคา..... บาท/กก.

O ปลาขนาด..... ขีด ราคา..... บาท/กก.

O ปลาขนาด..... ขีด ราคา..... บาท/กก.

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

O อาหารเม็ด..... ช่วงอายุ..... ปริมาณ..... กก./วัน

ราคากระสอบละ..... บาท ขนาดกระสอบละ..... กก.

O อาหารเม็ด..... ช่วงอายุ..... ปริมาณ..... กก./วัน

ราคากระสอบละ..... บาท ขนาดกระสอบละ..... กก.

O ฟีช ผัก ได้แก่..... ปริมาณ.....

O อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

2. เลี้ยงปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา..... ซม. ราคาตัวละ..... บาท

จำนวน..... ตัว/บ่อ จำนวน..... บ่อ ขนาดบ่อ..... งาน ระยะเวลาเลี้ยง..... เดือน

น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้..... กก./บ่อ ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย

O ปลาขนาด..... ขีด ราคา..... บาท/กก.

O ปลาขนาด..... ขีด ราคา..... บาท/กก.

O ปลาขนาด..... ขีด ราคา..... บาท/กก.

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

O อาหารเม็ด..... ช่วงอายุ..... ปริมาณ..... กก./วัน

ราคากระสอบละ..... บาท ขนาดกระสอบละ..... กก.

O อาหารเม็ด..... ช่วงอายุ..... ปริมาณ..... กก./วัน

ราคากระสอบละ..... บาท ขนาดกระสอบละ..... กก.

O ฟีช ผัก ได้แก่..... ปริมาณ.....

O อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

3. เลี้ยงปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา..... ซม. ราคาตัวละ..... บาท

จำนวน..... ตัว/บ่อ จำนวน..... บ่อ ขนาดบ่อ..... งาน ระยะเวลาเลี้ยง..... เดือน

น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้..... กก./บ่อ ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย

O ปลาขนาด..... ขีด ราคา..... บาท/กก.

○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

○ อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

○ อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

○ ฟิช ผัก ได้แก่..... ปริมาณ.....

○ อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

4. เลี้ยงปลา..... ซื้อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท
จำนวน.....ตัว/บ่อ จำนวน.....บ่อ ขนาดบ่อ.....งาน ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน

น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./บ่อ ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย

○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

○ อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

○ อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน

ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

○ ฟิช ผัก ได้แก่..... ปริมาณ.....

○ อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

กรณีเลี้ยงรวม

บ่อที่.... ขนาดบ่อ.....งาน เลี้ยงปลา.....ชนิด

1. ปลา..... ซื้อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท
จำนวน.....ตัว/บ่อ ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./บ่อ

ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย ○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

2. ปลา..... ซื้อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท

จำนวน.....ตัว/บ่อ ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./บ่อ

ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย ○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

○ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

3. ปลา..... ซื้อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท

จำนวน.....ตัว/บ่อ ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./บ่อ

ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย ☐ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.
☐ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.
☐ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

4. ปลา..... ชื่อลูกปลาจาก..... ขนาดลูกปลา.....ซม. ราคาตัวละ.....บาท
 จำนวน.....ตัว/บ่อ ระยะเวลาเลี้ยง.....เดือน น้ำหนักของผลผลิตปลาที่ได้.....กก./บ่อ
 ขายให้กับ.....

ราคาจำหน่าย ☐ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.
☐ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.
☐ ปลาขนาด.....ขีด ราคา.....บาท/กก.

อาหารที่ใช้เลี้ยงปลา

☐ อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน
 ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

☐ อาหารเม็ด.....ช่วงอายุ.....ปริมาณ.....กก./วัน
 ราคากระสอบละ.....บาท ขนาดกระสอบละ.....กก.

☐ ฟีช ผัก ได้แก่..... ปริมาณ.....

☐ อื่นๆ ระบุ..... ปริมาณ.....

ข้อมูลทั่วไป

1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ.....ปี

3. ระดับการศึกษา ☐ ประถมศึกษา ☐ มัธยมศึกษา
☐ ปวช. , ปวส. ☐ ป.ตรี
☐ สูงกว่า ป.ตรี

4. สมาชิกในครัวเรือน.....คน

5. แรงงานเลี้ยงปลา ☐ ใช้แรงงานในครัวเรือน.....คน ☐ แรงงานจ้างเลี้ยง.....คน

6. เหตุผลในการเลี้ยงปลา ☐ ขายง่ายรายได้ดี ☐ เลี้ยงตามเพื่อนบ้าน
☐ หน่วยงานของรัฐสนับสนุน ☐ เลี้ยงง่ายต้นทุนต่ำ
☐ อื่นๆระบุ.....

7. ประสบการณ์เลี้ยงปลา.....ปี

8. ปัญหาอุปสรรค และแนวทางแก้ปัญหาในการเลี้ยงปลาที่พบ

☐ พันธุ์ปลา.....
☐ อาหาร.....
☐ โรค ช่วงเดือนที่เป็น.....
☐ น้ำท่วม ช่วงเดือน.....
☐ น้ำเสีย เพราะ.....
☐ การจำหน่ายผลผลิต เพราะ.....
☐ ศัตรูปลา เพราะ.....

การเลี้ยงปลาในบ่อดิน

1. กรรมสิทธิ์ที่ดินของบ่อปลา ☐ ของตนเอง
☐ ญาติ
☐ เช่า
☐ อื่นๆระบุ.....
2. ใช้น้ำ ☐ น้ำบาดาล ☐ น้ำจากแม่น้ำ ☐ อื่นๆระบุ.....
3. ระดับน้ำในบ่อดินลึกจากพื้นบ่อ.....เมตร
4. ใช้สารเคมีปรับปรุงสภาพบ่อหรือไม่
☐ ใช้สารเคมีชื่อ.....ปริมาณที่ใช้.....กก./ไร่
☐ ไม่ใช้
5. ลอกเลนปรับปรุงสภาพบ่อหรือไม่ ☐ ลอกเลน ☐ ไม่ลอก
6. ตากบ่อปลาหลังการจับ.....เดือน
7. การเปลี่ยนถ่ายน้ำในบ่อดิน.....ครั้ง/สัปดาห์
8. ทำนดูลบ่อดิน ☐ ยกคันบ่อให้สูงเพื่อป้องกันน้ำท่วม
☐ ป้องกันด้วยตาข่ายกันศัตรูปลาและป้องกันปลาออกกรณีน้ำท่วม
☐ อื่นๆ ระบุ.....

พันธุ์ปลา การให้อาหาร และการดูแลรักษาโรคปลา

1. ทำนเพาะปลาได้หรือไม่ ☐ ได้ คือ.....
☐ ไม่ได้ เพราะ.....
2. ความบ่อยครั้งในการให้อาหาร.....ครั้ง/วัน เวลา ☐ เช้า
☐ กลางวัน
☐ เย็น
3. ปลาที่เลี้ยงตายด้วยอาการเกิดโรคหรือไม่
☐ ไม่มีป่วย (ข้ามไปข้อ 8) ☐ มีป่วยตาย โดยปลามีแผลตามตัว
☐ มีป่วยตาย โดยปลาดาบวม ☐ มีป่วยตาย โดยปลาท้องบวม
☐ มีป่วยตาย เกล็ดตั้ง
☐ อื่นๆระบุ.....
4. ทำนบำบัดรักษาอย่างไร
☐ ใช้สารเคมี ชื่อ.....ปริมาณ.....กก./บ่อ
☐ ใช้เกลือ.....ปริมาณ.....กก./บ่อ
☐ อื่นๆระบุ.....ปริมาณ.....กก./บ่อ
5. ก่อนปล่อยน้ำทิ้งทำนบำบัดน้ำเสียหรือไม่
☐ บำบัด โดย.....☐ ไม่บำบัด
6. แหล่งปล่อยน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลา
☐ พื้นที่นาที่ว่าง ☐ สวนผลไม้ สวนครัว ☐ นาข้าว
☐ แหล่งน้ำธรรมชาติ ☐ คลองชลประทาน
7. การแปรรูปปลาที่ตายระหว่างเลี้ยง
☐ แปรรูปทำ ☐ ปลาร้า ☐ ทำปลาตากเกลือ ☐ อื่นๆระบุ.....
☐ ไม่แปรรูป ☐ นำไปฝังดิน ☐ ตักให้ปลาอื่นกิน ☐ ทิ้ง.....

ภาคผนวกที่ 3

แบบสอบถามกร่ำ

ฉบับที่.....

วันที่...../...../.....

ชื่อ-สกุล.....

ที่อยู่ บ้านเลขที่..... หมู่..... บ้าน..... ตำบล..... อำเภอ.....

อ..... เบอร์โทรศัพท์.....

1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ.....ปี 3. ประสบการณ์ในการทำร่ำล่อปลา.....ปี

4.อาชีพหลัก ☐ ค้าขาย ☐ ทำการเกษตร (สวน นาข้าว)☐ รับจ้าง ☐ เลี้ยงปลา☐ รับราชการ ☐ อื่นๆระบุ.....5.อาชีพรอง ☐ ค้าขาย ☐ ทำการเกษตร (สวน นาข้าว)☐ รับจ้าง ☐ เลี้ยงปลา☐ รับราชการ ☐ อื่นๆระบุ.....

6.ขนาดกร่ำ.....งาน

7.เดือนที่ทำการล่อปลา

☐ มกราคม ☐ กุมภาพันธ์ ☐ มีนาคม ☐ เมษายน☐ พฤษภาคม ☐ มิถุนายน ☐ กรกฎาคม ☐ สิงหาคม☐ กันยายน ☐ ตุลาคม ☐ พฤศจิกายน ☐ ธันวาคม

8.เดือนที่ทำการลดน้ำจับปลา

☐ มกราคม ☐ กุมภาพันธ์ ☐ มีนาคม ☐ เมษายน☐ พฤษภาคม ☐ มิถุนายน ☐ กรกฎาคม ☐ สิงหาคม☐ กันยายน ☐ ตุลาคม ☐ พฤศจิกายน ☐ ธันวาคม

9.ช่วงระยะเวลาตั้งแต่เริ่มล่อจนถึงลดน้ำเพื่อจับปลา.....วัน

10.วัสดุล่อ ☐ ไม่มี ☐ มี คือ.....11.อาหารล่อ ☐ ไม่มี ☐ มี คือ.....

12.ชนิดปลาที่ได้

1. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

2. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

3. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

4. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

5. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

6. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

7. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

8. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

9. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

10. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

11. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

12. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
13. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
14. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
15. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
16. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
17. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
18. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
19. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
20. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
21. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
22. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
23. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
24. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
25. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
26. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
27. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
28. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
29. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
30. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
31. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
32. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

13.การขายผลผลิต

- ☐ ขายสด ☐ ทำปลาร้า
☐ ทำปลาเกล็ด ☐ ทำปลาเผา
☐ ไม่ขายกินเอง ☐ ไม่ขาย และนำไปเลี้ยงต่อ
☐ อื่นๆ ระบุ.....

ภาคผนวกที่ 4

แบบสอบถามบ่อล่อปลา

ฉบับที่.....

วันที่...../...../.....

ชื่อ-สกุล.....

ที่อยู่ บ้านเลขที่..... หมู่..... บ้าน.....ตำบล.....อำเภอ.....

อ..... เบอร์โทรศัพท์.....

1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ.....ปี 3. ประสบการณ์ในการทำบ่อล่อปลา.....ปี

4.อาชีพหลัก ☐ ค้าขายปลา ☐ ทำการเกษตร (สวน นาข้าว)☐ รับจ้าง ☐ เลี้ยงปลา☐ รับราชการ ☐ อื่นๆระบุ.....5.อาชีพรอง ☐ ค้าขายปลา ☐ ทำการเกษตร (สวน นาข้าว)☐ รับจ้าง ☐ เลี้ยงปลา☐ รับราชการ ☐ อื่นๆระบุ.....

6.ขนาดบ่อ.....งาน

7.เดือนที่ทำการล่อปลา

☐ มกราคม ☐ กุมภาพันธ์ ☐ มีนาคม ☐ เมษายน☐ พฤษภาคม ☐ มิถุนายน ☐ กรกฎาคม ☐ สิงหาคม☐ กันยายน ☐ ตุลาคม ☐ พฤศจิกายน ☐ ธันวาคม

8.เดือนที่ทำการลดน้ำจับปลา

☐ มกราคม ☐ กุมภาพันธ์ ☐ มีนาคม ☐ เมษายน☐ พฤษภาคม ☐ มิถุนายน ☐ กรกฎาคม ☐ สิงหาคม☐ กันยายน ☐ ตุลาคม ☐ พฤศจิกายน ☐ ธันวาคม

9.ช่วงระยะเวลาตั้งแต่เริ่มล่อจนถึงลดน้ำเพื่อจับปลา.....วัน

10.วัสดุล่อ ☐ ไม่มี ☐ มี คือ.....11.อาหารล่อ ☐ ไม่มี ☐ มี คือ.....

12.ชนิดปลาที่ได้

1. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

2. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

3. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

4. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

5. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

6. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

7. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

8. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

9. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

10. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

11. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

12. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
13. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
14. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
15. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
16. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
17. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
18. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
19. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
20. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
21. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
22. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
23. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
24. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
25. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
26. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
27. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
28. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
29. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
30. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
31. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก
32. ปลา..... จำนวน.....กิโลกรัม ราคา.....บาท/กก

13.การขายผลผลิต

- ☐ ขายสด ☐ ทำปลาร้า
☐ ทำปลาเกล็ด ☐ ทำปลาเผา
☐ ไม่ขายกินเอง ☐ ไม่ขาย และนำไปเลี้ยงต่อ
☐ อื่นๆ ระบุ.....

ภาคผนวกที่ 5

แบบสอบถามผู้ค้า

ฉบับที่.....

วันที่...../...../.....

โครงการศึกษาสถานภาพการผลิตสัตว์น้ำพื้นเมืองของจังหวัดชัยนาท

ชื่อ-สกุล.....

ที่อยู่ เลขที่..... หมู่..... ถนน..... ตำบล..... อำเภอ..... เบอร์โทรศัพท์บ้าน..... เบอร์โทรศัพท์มือถือ.....

ข้อมูลทั่วไป1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ.....ปี

3. ชนิดปลาที่ขาย.....

4. อาชีพหลัก ☐ ค้าขายปลา ☐ ทำการเกษตร(สวน นาบัว นาข้าว)☐ รับจ้าง ☐ เลี้ยงปลา☐ รับราชการ ☐ อื่นๆระบุ.....5. อาชีพรอง ☐ ค้าขายปลา ☐ ทำการเกษตร(สวน นาบัว นาข้าว)☐ รับจ้าง ☐ เลี้ยงปลา☐ รับราชการ ☐ อื่นๆระบุ.....

6. ประสบการณ์ในการทำอาชีพค้าปลา.....ปี

7. ท่านทำการค้าปลาแบบใด

☐ ค้าส่ง (ตอบข้อ A,B)☐ ขายปลีกรายวัน☐ อื่นๆ ระบุ.....

A. หากท่านค้าส่ง ท่านส่งให้แหล่งใดบ้าง

☐ ค้าส่งต่างประเทศ ได้แก่ประเทศ.....☐ ค้าส่งต่างจังหวัด ได้แก่.....☐ ค้าส่งภายในจังหวัด จำนวน.....ราย

B. ท่านค้าส่งปลาลักษณะใด

☐ สดมีชีวิต☐ สดแช่แข็งสุญญากาศ☐ แปรรูป☐ อื่นๆระบุ.....

8. ท่านรับซื้อปลาจากแหล่งใด

☐ จากผู้เลี้ยงปลาโดยตรง☐ จากกลุ่มสหกรณ์ผู้เลี้ยงปลา☐ จากคนกลางรับซื้อ ชื่อ.....

9. ราคาซื้อจากผู้เลี้ยง.....บาท/กก. จำนวน.....ตัว/กก.

10. ท่านจำหน่ายปลาประเภท

☐ สดมีชีวิต☐ สดไม่มีชีวิต☐ อื่นๆระบุ.....

11. ขนาดปลาที่จำหน่าย

11.1 ขนาดปลา.....ที่จำหน่าย

☐ ตัวขนาดใหญ่ 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท

- ☐ ตัวขนาดกลาง 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดเล็ก 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
- 11.2 ขนาดปลา.....ที่จำหน่าย
- ☐ ตัวขนาดใหญ่ 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดกลาง 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดเล็ก 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
- 11.3 ขนาดปลา.....ที่จำหน่าย
- ☐ ตัวขนาดใหญ่ 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดกลาง 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดเล็ก 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
- 11.4 ขนาดปลา.....ที่จำหน่าย
- ☐ ตัวขนาดใหญ่ 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดกลาง 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดเล็ก 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
- 11.5 ขนาดปลา.....ที่จำหน่าย
- ☐ ตัวขนาดใหญ่ 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดกลาง 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดเล็ก 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
- 11.6 ขนาดปลา.....ที่จำหน่าย
- ☐ ตัวขนาดใหญ่ 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดกลาง 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
☐ ตัวขนาดเล็ก 1 ตัว หนัก.....กรัม ราคา.....บาท/กก. ช่วงราคา.....บาท
12. หากปลาที่จำหน่ายตาย ท่านจะแปรรูปหรือไม่
- ☐ แปรรูปโดยทำ.....
☐ ไม่แปรรูป
13. ผู้บริโภคนิยมปลาขนาดใด
- ☐ ขนาดใหญ่ ☐ ขนาดกลาง ☐ ขนาดเล็ก
14. ผู้บริโภคนิยมปลาแบบใด
- ☐ สดมีชีวิต ☐ สดตายยังไม่แปรรูป
☐ ตายแปรรูปโดยทอด ☐ อื่นๆระบุ.....
15. ท่านมีอุปกรณ์ช่วยให้ปลามีชีวิตในถังจำหน่ายหรือไม่
- ☐ มี ระบุ.....
☐ ไม่มี
16. หากปลาที่จำหน่ายตาย-ขายไม่หมด ท่านดำเนินการอย่างไร
- ☐ แช่แข็งขายวันพรุ่งนี้
☐ แปรรูปทำ.....
☐ อื่นๆระบุ.....

ภาคผนวกที่ 4

ภาพปลาที่เกี่ยวข้องกับโครงการบางส่วน

ปลาสร้อย



ปลาซังกะวาด



ปลาตะโกก (ภาพบน)ปลา
คางเบื่อน (ภาพล่าง)



ปลาแดง



ปลากราย (ภาพบน)

ปลาม้า (ภาพล่าง)



ปลาหลด (ภาพจาก

http://www.fisheries.go.th/sf-chiangrai/fish_thai/fishRiverKOK.htm)



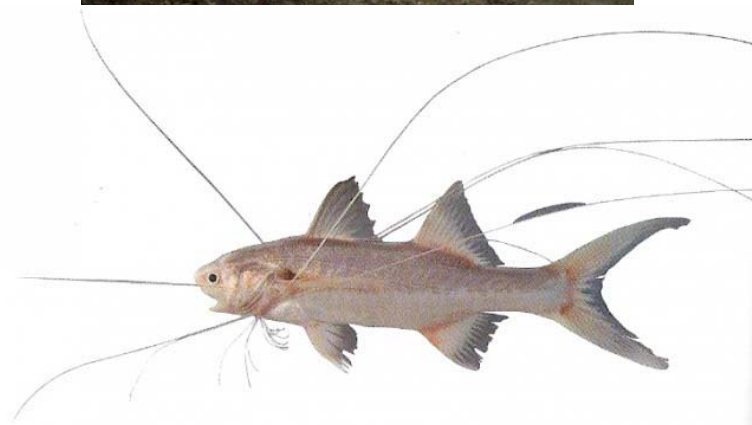
ปลาแปบ



ปลาหนวดพราหมณ์

(ภาพจาก

<http://www.google.co.th/imglanding>)



ปลากดคัง



ปลาลีง



ปลาตะเพียนขาว (ภาพจาก
http://www.fisheries.go.th/sf-chiangrai/fish_thai/fishRiverKOK.htm)



ปลาตะเพียนทอง (ภาพจาก
http://www.fisheries.go.th/sf-chiangrai/fish_thai/fishRiverKOK.htm)



ปลาหมอช้างเหยียบ
(ภาพจาก
http://www.fisheries.go.th/sf-chiangrai/fish_thai/fishRiverKOK.htm)



ภาคผนวกที่ 5

บทความสำหรับการเผยแพร่

5.1 Loss of genetic variation of *Phalacrodon bleekeri* (Günther, 1864) in the hatchery stocks as revealed by the newly developed multiplex PCR microsatellites

Anyalak Wachirachaikarn^a, Warangkana Prakoon^a, Thuy T.T. Nguyen^{b,c}, Worawit Prompakdee^d, Uthairat Na-Nakorn^{e*}

^a Interdisciplinary Program in Genetic Engineering, Graduate School, Kasetsart University, Bangkok, Thailand

^b School of Life and Environmental Sciences, Geelong Campus at Waurn Ponds, Geelong, VIC 3217, Australia

^c Victorian AgriBioSciences Centre, Department of Primary Industries, Bundoora, VIC 3083, Australia

^d Chainat Fisheries Research and Development Institute, Chainat Province, Thailand
Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok, Thailand

^e Center for Advanced Studies in Agriculture and Food, National Research University Program, Kasetsart University, Bangkok, Thailand 10900

*Corresponding author

E mail: ffisum@ku.ac.th; Tel. & Fax: 66 2 5610990

1.INTRODUCTION

The global aquatic environmental deterioration and overexploitation of aquatic resources has led to the decline of fish stocks (e.g. Atlantic salmon, *Salmo salar*, Grandjean et al., 2009). As a consequence, stock augmentation has been practiced worldwide with variations of success [see Connor et al., 2004; e.g., for examples, successful cases of steelhead in the Carp River, Michigan (Daugherty et al., 2003). There are concerns on adverse impacts on genetic diversity of wild populations if the hatchery reared fish were released and interbred with the wild counterparts [e.g. dilution of wild genetic variation; loss of genetic integrity of the wild populations (e.g. Madeira et al., 2005); decline of adaptability of the recipient populations due to break down of coadaptive gene complexes (e.g. Clifford et al., 1998; Cooke and Philipp, 2005; Araki et al., 2007).

Southeast Asia, one of the world hotspots of freshwater fishes is now facing threats on species extinction and decline of abundance of many native species. To cope with this problem, restocking has been widely practiced for conservation and enhancing fishery production. Recently, concerns on adverse impacts of this practice have been raised. However, there has been only limited studies on this issue, for examples, Kamonrat (1996) based on microsatellite markers, found that the released of hatchery reared silver barb, *Puntius gonionotus* has resulted in decline of genetic variation between populations but not the genetic variation within populations.

In this study the change of genetic variation of the captive stocks of *Phalacrodon bleekeri* (Günther, 1864) (synonym: *Kryptopterus bleekeri*) over 5 generations was evaluated. *P. bleekeri* or Pla Daeng in Thai, inhabiting rivers, streams, lakes and impoundment in Cambodia, Laos, Thailand and Vietnam (Froese and Pauly, 2010), is of high value and the production is solely from artisanal fisheries. Due to the decline of abundance of many native

fishes in the Chaophraya River in Thailand, the restocking programs have been established and *P. bleekeri* is among the target species. At present two generations of broodstock were maintained in the Chainat Fisheries Research and Development Institute, Chainat Province, and were used for producing fingerlings for restocking. Therefore, it is of great interest to evaluate genetic alteration of the captive broodstocks over generations of captive breeding relative to the wild populations. The information obtained from this study is essential for recommendations on necessity of the stock enhancement program. Simultaneously recommendation on broodstock management will be provided. More importantly, in this study microsatellite primers specific to *P. bleekeri* were developed to enable multiplex PCR which would save the expenses and time for the analyses.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Sample collection

Samples of caudal fin clip (approximately 20 g) of *Phalacrodon bleekeri* were collected from 39 and 40 samples each of the third generation broodstock (spawned in 1999: 1999-broodstock) and the fifth generation broodstock (spawned in 2006: 2006-broodstock) of Chainat Fisheries Research and Development Institute, respectively. These stocks were originated from wild fish collected from Chaophraya River below Chaophraya Dam at the location adjacent to the Chainat Fisheries Research and Development Institute and were maintained without re-introduction of the wild fish. The samples of 39 wild *Phalacrodon bleekeri* were collected from Chaophraya River at the location where the founders of the captive stocks have been collected. The fin clips were preserved in 90% Ethanol until DNA extraction was performed.

2.2 DNA extraction

DNA extraction was performed according to the method described by Taggart et al. (1992) with slight modification. The DNA samples were used for development of microsatellite primers and subsequent scoring of microsatellite loci.

2.3 Development of microsatellite primers and Multiplex PCR

The protocols employed here were as described in Na-Nakorn et al. (2010). In brief, genomic DNA derived from *Phalacrodon bleekeri* were digested with *Rsa*I then ligated to 21 bp and 25 bp *Mlu*I adapters. Next it was purified using QIAquick PCR purification kit (Qiagen) and amplified. The PCR conditions and primer sequence were as reported in Edwards et al., (1996). For enrichment of microsatellites, 100 ng of ligated, denatured DNA was hybridised to repeated oligonucleotides {(GACA)₉, (GATA)₉, (AAAT)₉, (GATG)₉, (CAA)₁₄, (CA)₂₀, (GT)₅, (AAT)₁₄, (CT)₁₅, (AAG)₁₄} bound to the filter membranes. Following hybridisation the filters were washed, the bound DNA was eluted and amplified following Edwards et al. (1996). The enriched DNA products were cloned using the pGEM[®]-T easy vector system I kit (Promega). Then the plasmids were transformed into *E. coli* JM109. The white colonies were selected in the presence of X-gal and IPTG in LB agar with ampicillin. Then DNA sequencing was performed using BIG DYE 3.1 terminator mix on an ABI 377 Sequencer (Applied Biosystems).

The PRIMER v.3 program (Rozen and Skaletsky, 2000), based upon the guideline for multiplex primer design (Multiplex PCR Handbook 09/2002, Qiagen), was used to design primers. Then a 5' end of forward primers were labeled with NED, PET, FAM, VIC fluorescent dyes (Applied Biosystems) based upon allelic size range. Next, each primer pair was individually applied to amplify each of five DNA samples to corroborate correct amplification, allele size range and microsatellite identification before using all primers together in a multiplex PCR. All PCR reactions contained 10 ng of DNA, 0.5 units of DreamTaq DNA polymerase (Fermentas), 1.5 mM of MgCl₂, 0.2 mM of each dNTP and 0.5 μM of each primer in the manufacturer's buffer. The reaction profile was 95 °C for 3 min, 35

cycles of 94 °C for 45 s, 57 °C for 45 s, and 72 °C for 60 s, followed by 10 min at 72 °C. PCR reactions were performed using PX2 Thermal cycler (ThermoScientific). Then the amplicons were analyzed in 1% agarose gel electrophoresis and visualized by SYBR[®] Gold (Invitrogen) staining. Those microsatellite markers that did not amplify individually were discarded from the multiplex reaction. Two robust multiplex PCRs were developed based on allelic size range and fluorescent dye labeling. The individual DNA samples were amplified in the multiplex PCR using QIAGEN[®] Multiplex PCR kit (QIAGEN), PCR conditions and reactions followed by QIAGEN[®] Multiplex PCR handbook February 2008

(<http://www1.qiagen.com/literature/protocols/QIAGENMultiplexPCR.aspx>). The PCR products were detected by 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) machine and demonstrated allelic size using Genemapper[®] software v.4.0 (Applied Biosystems).

2.3 Data analyses

The Genepop version 4.0 (Rousset, 2008) was employed to test whether genotypic distributions of each population conform to Hardy-Weinberg equilibrium (HWE). Exact P values were estimated using the Markov chain method (dememorization: 1000; batches: 100; iterations per batch: 1000) (Guo and Thompson, 1992). Then inbreeding coefficient was calculated using FSTAT 1.2 (Goudet, 1995). Next, parameters describing genetic variation within a population, allele frequencies, average number of alleles per locus, and observed and expected heterozygosities, were calculated using Popgene version 1.32 (Yeh et al., 2000). The differences of genetic variation among populations were tested using the t -test (Archie, 1985). For all multiple tests, P values were corrected using a sequential Bonferroni correction (Hochberg, 1988; Rice, 1989). The average pairwise genetic relatedness (r_{xy} ; Ritland estimator) among individuals within populations was calculated using KINGROUP version 2_090501 (Konovalov et al., 2004). Effective population size (N_e) was estimated using N_e Estimator version 1.3 (Peel, 2004).

To test the occurrence of significant reduction of effective population size (a recent bottleneck), the program Bottleneck version 1.2.02 (Cornuet and Luikart, 1997) was used. The independent segregation of genotypes (linkage disequilibrium) was tested using the exact test (Markov chain: dememorization: 1000; batches: 100; iterations per batch: 1000) (Guo and Thompson, 1992) facilitated by Genepop version 4.0 (Rousset, 2008).

Then F statistics (F_{ST} , F_{IT} and F_{IS}) were calculated using FSTAT version 2.9.3.2 (Goudet, 2001) and tested against zero by a bootstrapping method to determine the existence of population differentiation. Differences in distributions of allele frequencies between populations were tested using Fisher's exact test in Genepop version 4.0 (Rousset, 2008). Cavalli-Sforza and Edwards' (1967) genetic distances between population pairs were calculated using the program PHYLIP version 3.63 (Felsenstein, 1993).

To elucidate the contributions of the hatchery populations to the genepool of the wild population, the multilocus genotypes of individuals in the wild population were assigned to the two hatchery populations and the wild population itself using GeneClass2 (assignment threshold: 0.05; Criteria for computation: Bayesian method of Rannala and Mountain, 1997; resampling algorithm: Paetkau et al., 2004; minimum number of simulated individuals: 1,000) (Piry et al., 2004).

3. RESULTS

3.1 Microsatellites of *Phalacrocorax bleakeri*

Among 30 sequenced positive clones, 10 clones contained microsatellites among which 10 sequences allowed for successful primer design of which two robust multiplex PCR panels were successful. They comprised hexaplex (*PBL06*, *PBL10*, *PBL16*, *PBL21*, *PBL28*, *PBL33*) and tetraplex panels (*PBL14*, *PBL17*, *PBL24*, *PBL26*). However, when those primers were tested across large number of samples (> 50 samples) only seven primers produced unambiguous and reproducible microsatellite profiles. The useful primers comprised five

microsatellites with perfect dinucleotide motifs (*PBL10*, 21, 24, 26 and 33); one each with imperfect dinucleotide (*PBL06*) and perfect trinucleotide motifs (*PBL17*). Overall these microsatellites possessed high polymorphisms (number of alleles per locus = 14 – 24; expected heterozygosity- $H_e = 0.848 - 0.927$), except for *PBL17* of which number of alleles per locus = 5 and $H_e = 0.588$).

Sixteen alleles observed in the wild population were missing in the hatchery populations. On the other hand, 10 alleles found in any hatchery populations were not observed in the wild population, among which *PBL178-235* ($p = 0.438, 0.231$) and *PBL24-242* ($p = 0.213, 0.115$) were observed at high allele frequencies.

All loci conformed to Hardy-Weinberg equilibrium in wild population ($n = 39$), whereas homozygote excess was observed in one of the broodstock populations at four loci (*PBL10*, 17, 24 and 33), in both of the populations at *PBL26*. Distortion of genetic equilibrium was observed at two pairs of loci (*MBL06* - *MBL21* and *MBL21* x *MBL33*) in wild population; three pairs of loci in the 1999-broodstock (*MBL06* - *MBL21*, *MBL10* - *MBL21* and *MBL24* - *MBL33*); at eight pairs in 2006-broodstock (*MBL06* - *MBL17*, *MBL06* - *MBL21*, *MBL10* - *MBL17*, *MBL10* - *MBL21*, *MBL10* - *MBL26*, *MBL17* - *MBL21*, *MBL17* - *MBL26* and *MBL21* - *MBL26*). Notably, the linkage between *MBL06* - *MBL21* was significant in all three populations. Therefore we decided to remove one of them from the analysis. We found that removing either *MBL06* or *MBL21* from the analysis gave similar results. As such, *MBL21* was removed from further analyses.

3.2 Hardy-Weinberg equilibrium of populations across loci

Genotype distribution of the wild population conformed to Hardy-Weinberg equilibrium at all loci while the departure from HWE towards homozygote excess was observed in the 1999-broodstock at *MBL24* and *MBL26*. Heterozygote excess was significant in the 2006-broodstock at three loci (*MBL10*, *MBL17* and *MBL33*) and homozygote excess at *MBL26*. Overall, the exact tests showed that only the wild population conformed to HWE and the captive stocks showed homozygote excess (sequential Bonferroni correction).

3.3 Genetic variation and genetic relatedness within populations

Genetic variation based on six loci was showed in table 2. Allele diversity (mean number of alleles per locus - A and average effective number of alleles per locus - A_e) of the wild population is almost 1.5 times higher than both yearclasses of broodstock and the difference is supported by the Archie's t -test. We did not calculate allelic richness because the sample sizes were almost equal (39 – 40 individuals/population). Heterozygosities were not different among the brooders and the wild population although the trend was towards reduction of heterozygosities in the broodstock relative to the wild population.

3.4 Genotype disequilibrium

Based on six microsatellite loci (without *MBL21*), non random association was observed at one loci pair each in the wild population (*MBL10* x *MBL33*) and the 1999-broodstock (*MBL06* x *MBL24*). While in the 2006-broodstock, four loci pairs (*MBL06* x *MBL17*, *MBL10* x *MBL17*, *MBL10* x *MBL26*, *MBL17* x *MBL26*) showed significant genotype disequilibrium.

3.5 Genetic diversity between populations and genetic distance

F_{ST} was 0.086 and the confident interval (95%) was 0.130 – 0.052, hence indicated significant genetic differentiation among populations. Every population pair was significantly different as revealed by differences in distributions of allele frequencies between populations and the pairwise F_{ST} . Both pairwise F_{ST} and genetic distance showed the highest significant differentiation between wild and the 2007 broodstock ($D = 0.103$; $F_{ST} = 0.152$), followed by

wild and 1999 broodstock ($D = 0.083$; $F_{ST} = 0.083$) and the most similar populations were between the two broodstock yearclasses ($D = 0.026$; $F_{ST} = 0.052$).

3.6 Effective population size (N_e)

N_e estimated from linkage disequilibrium showed that the wild population had relatively high N_e ($N_e = 213.7$; C.I._{95%} = 106.2 – 3101.7) whereas those of the two captive stocks were very low ($N_e = 39.4$; C.I._{95%} = 28.4 – 59.6 for the 1999-broodstock; and $N_e = 9.5$; C.I._{95%} = 8.0 – 11.3 for the 2007 broodstock). The method based on heterozygote excess showed $N_e = \text{infinity}$ in every population.

3.7 Contributions of the hatchery populations as revealed by the Bayesian assignment

The Bayesian assignment assigned all of the wild individuals to its own population at a score of 100. None were assigned to the hatchery populations. Thus this implied no contributions of the hatchery populations to the wild populations.

4. DISCUSSION

4.1 Microsatellite

We developed the first primer sets for *P. bleekeri*, which could be run in the multiplex PCRs. Six loci contained dinucleotide motifs thus they showed high polymorphisms (O'Connell and Wright, 1997) comparing to the microsatellites of other teleosts (e.g. number of alleles per locus = 4.50 ± 2.72 of *Epinephelus lanceolatus* (Zeng et al., 2008); 3.42 ± 0.90 of *E. septemfasciatus* (Zhao et al., 2009); 10.08 ± 4.54 of *E. fuscoguttatus* (Lo and Yue, 2007); 10.20 ± 3.79 of *Plectropomus maculatus* (Zhu et al., 2005); 22.28 ± 10.39 of *E. guttatus* (Ramírez et al., 2006); 10.00 ± 12.73 of *Cromileptes altivelis* (Na-Nakorn et al., 2010)). Their high polymorphisms allow for high efficacy in parentage analyses (O'Connell and Wright, 1997; Liu and Cordes, 2004) while they performed very well in the population genetic study (e.g. every locus conformed to HWE in wild population despite of relatively low sample size, $n = 39$, this study). In addition, due to their capability of multiplex PCRs, thus they would allow for saving of time and cost relative to single PCR (e.g., Neff et al., 2000; Navarro et al., 2008), with improved precision (Navarro et al., 2008).

4.2 genetic variation of the broodstocks

It was obvious that both broodstock yearclasses of which levels of genetic variation within populations was not different, lost allele diversity relative to the wild stock, while decline of heterozygosities are not significant. This clearly demonstrated the effect of genetic drift caused by founder effect (using small number of individuals as founders) which is characterized by loss of alleles with minimal effect to heterozygosities (Allendorf and Phelps, 2001). Although the initial number of founders were relatively large (approximately 200 fish, Sonthipan Phasukdee, pers.comm.) but only small portion had contributed to the subsequent generations due to the limited success of hatchery operations (e.g. broodstock maturation, induced breeding, nursing of fry, etc.). Notably, decline of N_e was not only a matter of broodstock number, but also mating scheme (Falconer and Mackay, 1996; see also Fiumera et al., 2004), increase variance of family size (Falconer and Mackay, 1996) which partly due to limited success of induced breeding which is common in early domesticated fish, e.g. *Cromileptes altivelis* (Na-Nakorn et al., 2010).

The 2007 broodstock, despite of in-significant statistical comparison, showed the declining trend of genetic variation (allele diversity reduced by 10.37% and expected heterozygosity reduced by 11.39%) relative to the 1999 broodstock. This is in accordance with the previous studies in many fish species base on either low polymorphic and highly polymorphic markers, for examples, 12% lower mean number of alleles per locus (isozymes) and 17% lower heterozygosity of domesticated stocks of Atlantic salmon (*Salmo salar*) than in wild stocks (Skaala et al., 2005);

Moreover, the information from genetic disequilibrium apparently showed that N_e of the 2007 broodstock was 75.89% reduced comparing with the 1999 broodstock.

4.3 Genetic impacts of the restocking

The prior release of *P. bleekeri* fingerlings into the Chaophraya River did not contribute to the genepool of the wild population as revealed by the Bayesian assignment. Failure of the stock enhancement program of *P. bleekeri* may mainly owe to too small numbers of released fingerlings ($\approx 10,000$ fingerlings/year, Worawit Prompakdi, pers. comm.). In general, the released fingerlings had low survival rates [e.g. 1.5 and 13.8% in white sea bass, *Atractoscion nobilis*, Hervas et al. (2010)]. Therefore, the successful restocking programs needed large numbers of released fingerlings, e.g. the most successful stock enhancement reported for scallops and shrimp involved releasing of hundreds of millions to billions of juveniles each year (Uki, 2006; Wang et al., 2006a). In addition, measures should be established to enhance survival and hence genetic contributions of the released fish, e.g. proper fisheries measures to avoid harvest of immature fish (reviews by Bartley and Bell, 2008), restoration of habitat which was reported as very effective to recreate new populations of Atlantic salmon (Grandjean et al., 2009).

4.4 Is restocking necessary and whether the present hatchery stocks are appropriate for the restocking program?

Although the relationship between effective population size (N_e) and a census size (N_c) varied between species (Frankham, 2001; see also Osborne et al., 2010), N_e reflects the sustainability of a population because it inversely determines genetic drift which mainly responsible for decline of allele diversity, and also the increment of inbreeding rate ($\Delta F = 1/2N_e$) (Falconer and Mackay, 1996; Allendorf and Luikart, 2007). N_e of 213.7 individuals of the wild population was in the range recommended by Franklin (1980). This author suggested the minimum short term N_e of 50 individuals to sustain the population, whereas the long-term N_e was recommended at 500 individuals. This recommendation was based on the idea that inbreeding occurring at less than 1% ($\Delta F < 1\%$) could be balanced by natural selection.

Although H_e which relates to N_e was not low in the hatchery populations ($H_e = 0.70$ - 0.79), the LD based N_e were low (39.4 and 9.5 in the 1999 and 2007 broodstocks, respectively). The low N_e coupled with low allele diversity suggested these hatchery stocks are not the populations of choice for the restocking program because they may have low adaptability in natural habitats (Allendorf and Phelps, 2001; Allendorf and Luikart, 2007). Moreover, evidence from a salmonid indicated rapid decline of reproductive success of hatchery fish relative to the wild counterpart (Araki et al., 2007), thus this supported the failure scenario for these hatchery populations in the wild. An additional reason for not releasing these hatchery populations into the wild is that if they ever survive and hybridize with the wild population they will deteriorate genetic variation of the wild population due to their low genetic variation revealed in the present study.

References

- Araki, H., Cooper, B., Blouin, M.S. 2007. Genetic effects of captive breeding cause a rapid, cumulative fitness decline in the wild. *Science* 318: 100 -103.
- Bartley, D.M., Bell, J.D. 2008. Restocking, stock enhancement, and sea ranching: arenas of progress. *Rev. Fisheries Sci.* 16: 357 - 365.
- Cooke, S. J. and Philipp, D.P. 2005. Influence of local adaptation and interstock hybridization on the cardiovascular performance of largemouth bass *Micropterus salmoides*. *J. Exper. Biol.* 208: 2055-2062.

- Fiumera, A.C., Porter, B.A., Looney, G., Asmussen, M.A., Avise, J.C. 2004. How to keep numbers up and inbreeding down in supplemented stocks: Maximizing offspring production while maintaining genetic diversity in supplemental breeding programs of highly fecund managed species. *Conserv. Biol.* 18: 94-101.
- Franklin, I.R. 1980. Evolutionary changes in small populations. Pp. 135-149 in Soulé, M.E. and B.A. Wilcox, eds. *Conservation Biology: an Evolutionary-Ecological Perspective*. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hervas S, Lorenzen K, Shane MA & Drawbridge MA. 2010. Quantitative assessment of a white sea bass (*Atractoscion nobilis*) stock enhancement program in California: Post-release dispersal, growth and survival. *Fish. Res.* 105: 237-243.
- Grandjean, F., Verne, S., Cherbonnel, C., Richard, A. 2009. Fine-scale genetic structure of Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers: effects of restocking and natural recolonization. *Freshwater Biology* 54: 417-433.
- Madeira, M.J., Gómez-Moliner, B.J., Barbé, A.M. 2005. Genetic introgression on fish populations caused by restocking programmes. *Biol. Invasions* 7: 117 - 125.
- McGinnity, P., Prodohl, P., Ferguson, K., Hynes, R., O'Maoileidigh, N., Baker, N., Cotter, D., O'Hea, B., Cooke, D., Rogan, G., Taggart, J., and Cross, T. 2003. Fitness reduction and potential extinction of wild populations of Atlantic salmon, *Salmo salar*, as a result of interactions with escaped farm salmon. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 270: 2443e2450. Cited after Bekkevold, D., Hansen, M. M., and Nielsen, E. E. 2006. Genetic impact of gadoid culture on wild fish populations: predictions, lessons from salmonids, and possibilities for minimizing adverse effects. *ICES J. Marine Science*, 63: 198-208.
- Osborne, M.J., Davenport, S.R., Hoagstrom, C.W., Turner, T.F. 2010. Genetic effective size, N_e , tracks density in a small freshwater cyprinid, Pecos bluntnose shiner (*Notropis simus pecosensis*). *Mol. Ecol.* 19: 2832-2844.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet, J.-M., Paetkau D, Baudouin, L., Estoup, A. (2004) GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *J. Hered.* 95: 536-539.
- Taggart, J.B., Hynes, R.A., Prodöhl, P.A., Ferguson, A., 1992. A simplified protocol for routine total DNA isolation from salmonid fishes. *J. Fish Biol.* 40: 963-965.

5.2 ผลของการลดอัตราการปล่อยเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของปลากดคังในฟาร์ม

เกษตรกร

ฉัตรชัย ไทยทุ่งนิน สุบรรณ เสถียรจิตร ประพันธ์ศักดิ์ ศิริชะภาภูมิ อุทัยรัตน์ ณ นคร
ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำนำ

ปลากดคัง (*Macrones wyckioides* Fang & Chau, 1949) เป็นปลาพื้นเมืองที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค กรมประมงสามารถเพาะอนุบาลปลากดคังได้สำเร็จตั้งแต่ พ.ศ. 2532 (สุทธิชัย ฤทธิธรรมและอุบลรัตน์ สุนทรรัตน์ 2533) และเริ่มมีการทดลองเพื่อพัฒนาการเลี้ยงปลากดคังนับแต่นั้นมา จากผลการทดลองพบว่า การเลี้ยงปลากดคังในกระชังขนาด 25 ตารางเมตร ลึก 2 เมตร ตีรั้วกระชังในอ่างเก็บน้ำแม่ถาง จังหวัดแพร่ ปล่อยปลาในอัตรา 16 ตัว/ตารางเมตร (8 ตัว/ลูกบาศก์เมตร) ให้อาหารเม็ดสำหรับปลาดุก เลี้ยงนาน 10 เดือน ได้ปลาขนาดตัวละ 1-1.2 กิโลกรัม ผลผลิตรวม 400 กิโลกรัม/กระชัง (วิศนุพร และคณะ 2537) ถ้าเลี้ยงด้วยกระชังขนาดเดียวกันในบ่อดิน ปล่อยปลา 30 ตัว/ตารางเมตร เลี้ยงด้วยเนื้อปลาสดเป็นหลัก เลี้ยงนาน 6 เดือน ได้ปลาขนาดตัวละ 0.4 – 0.5 กิโลกรัม ผลผลิต 300 – 400 กิโลกรัม ส่วนการเลี้ยงในบ่อดินได้ผลไม่ดีเท่าการเลี้ยงในกระชัง แม้อัตรารอดจะดีกว่า แต่ปลาโตช้ากว่ามาก (รวบรวมโดย วิศนุพร, 2542)

ในจังหวัดชัยนาท มีเกษตรกรหลายรายที่ทดลองเลี้ยงปลากดคัง พบว่ามีการเจริญเติบโตต่ำมาก ทำให้ต้องใช้เวลาเลี้ยงนานถึงประมาณ 2 ปี จึงจะได้ขนาดตลาด ซึ่งมีผลให้ต้นทุนสูง จากการเก็บข้อมูลเบื้องต้นพบว่า เกษตรกรปล่อยปลาในความหนาแน่นค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับอัตราปล่อยที่กรมประมงแนะนำไว้ (เกษตรกรปล่อยประมาณ 40 ตัว/ตารางเมตร) ดังนั้นจึงทำการทดลอง เปรียบเทียบการปล่อยปลาในอัตราปล่อยที่ต่ำกว่าอัตราปล่อยของเกษตรกรครึ่งหนึ่ง กับการปล่อยในอัตราปกติ โดยทำการทดลองในฟาร์มเกษตรกร ซึ่งผลการทดลองที่ได้ เกษตรกรจะสามารถนำไปใช้ได้ทันที นอกจากนั้นแล้วระหว่างการทดลองนักวิจัยยังสามารถให้คำแนะนำในการเลี้ยงแก่เกษตรกร ซึ่งเป็นประโยชน์กับเกษตรกรเป็นอย่างยิ่ง

สำหรับความสัมพันธ์ของอัตราปล่อยกับอัตราการเจริญเติบโต จะแตกต่างกันไปตามชนิดปลา โดยปลาที่มีนิสัยรวมฝูงจะเจริญเติบโตดีในอัตราความหนาแน่นสูง และการเจริญเติบโตจะลดลงที่อัตราความหนาแน่นต่ำ (Papoutsoglou *et al.*, 1998; Gardeur *et al.*, 2001) การทดลองในปลาชนิดเดียวกันก็สามารถให้ผลของอัตราปล่อยแตกต่างกัน เมื่อทดลองในสภาพการเลี้ยงแตกต่างกัน เช่นถ้าเลี้ยงในกระชังในแม่น้ำ เมื่อเพิ่มอัตราปล่อย การเจริญเติบโตอาจไม่ลด เนื่องจากคุณภาพน้ำไม่ลดลงเพราะน้ำมีการถ่ายเทดี (Yilmaz and Arabaci, 2010) แต่เมื่อทดลองเลี้ยงในบ่อ การเพิ่มอัตราปล่อยให้สูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตลดลง

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของการลดอัตราการปล่อยเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของปลากดคังในฟาร์ม
เกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาทดลอง

ลูกปลากดคังอายุ 1 เดือน (ขนาด 2-3 ซม.) ที่ซื้อจากวิวัฒน์ฟาร์ม จังหวัดพิษณุโลก จำนวน 6000 ตัว (ฟาร์มละ 2000 ตัว) นำมาอนุบาลในแต่ละฟาร์มนานประมาณ 1 เดือน (9 เมษายน – 13 พฤษภาคม 2552) จนได้ขนาดความยาว 8-10 ซม. (น้ำหนัก 5.3 – 10.4 กรัม) ซึ่งเป็นขนาดที่สามารถลงปล่อยในกระชังเลี้ยงได้

สถานที่ทดลอง

ทำการทดลองในฟาร์ม 3 ฟาร์ม มีรายชื่อตามตารางที่ 1 โดยคัดเลือกจากฟาร์มที่เคยเลี้ยงปลากดคังอยู่ก่อนแล้ว และให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูล

ตารางที่ 1 ชื่อฟาร์ม ที่อยู่ ความยาว และน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยของปลากดคังเมื่อเริ่มการทดลอง

ชื่อฟาร์ม	ที่อยู่	ความยาวเริ่มต้น (ซม.)	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)*
ฟาร์มที่ 1 คุณประมวล รุ่งทอง	เลขที่ 70 หมู่ 4 ตำบลท่าชัย อำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท	8.00 ± 1.14	5.49
ฟาร์มที่ 2 คุณประยูร ช้างทอง	เลขที่ 4 หมู่ 1 ตำบลหนองน้อย อำเภอดอนสังข์ จังหวัดชัยนาท	8.52 ± 1.28	7.87
ฟาร์มที่ 3 คุณสุวิทย์ พรหมจาก	เลขที่ 12 หมู่ 4 ตำบลท่าชัย อำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท	9.73 ± 0.89	10.02

* น้ำหนักเฉลี่ย = น้ำหนักรวม/จำนวนตัว

วิธีทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design โดยให้แต่ละฟาร์มเป็นซ้ำ (block) ในแต่ละฟาร์มมีปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่อาจต่างกันได้แก่ ขนาดลูกปลาเมื่อเริ่มทดลอง คุณสมบัติน้ำ และการจัดการ ปล่อยปลาทดลองในกระชังขนาด กว้าง 3 เมตร ยาว 5 เมตร ลึก 2 เมตร ขนาดตา 1 ซม. และเมื่อเลี้ยงได้นาน 6 เดือน เปลี่ยนเป็นกระชังขนาดเดียวกัน แต่ใช้อวนขนาดตา 3 ซม. จนสิ้นสุดการ

ทดลอง ปล่อยลูกปลาในอัตรา 300 และ 600 ตัว/กระชัง ให้อาหาร เม็ดสำหรับปลาดุก ปริมาณโปรตีน 30% ให้อาหารวันละ 3 ครั้ง (เช้า เทียง และเย็น) ในระยะ 2 เดือนแรกของการทดลอง หลังจากนั้นให้วันละ 2 ครั้ง (เช้า และเย็น) โดยให้กินจนอิ่ม

การเก็บข้อมูล

ทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวปลาทดลองเดือนละ 1 ครั้ง โดยสุ่มปลามากระชังละ 30% ยกเว้นในบางเดือนซึ่งสภาพอากาศไม่เหมาะสม หรือปลากำลังมีอาการของโรค ก็จะเว้นไม่ชั่งวัด อย่างไรก็ตามเมื่อเลี้ยงได้ 7 เดือน เกษตรกรได้ขอให้ลดความถี่ของการชั่งวัดลง เป็น 2 เดือนต่อครั้ง เพื่อลดความเครียดของปลา เก็บข้อมูลคุณภาพน้ำในกระชังและนอกกระชังในวันที่ชั่งวัด สำรวจอาการของโรค เมื่อพบปลาที่มีอาการของโรค นำตัวอย่างปลามาตรวจโรคและปรสิต ณ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นับจำนวนปลาที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลองและคำนวณอัตราการรอด

การวิเคราะห์ข้อมูล

ทดสอบการกระจายของข้อมูล พบว่าข้อมูลทุกชุด มีการกระจายแบบปกติ วิเคราะห์ความแปรปรวนตามวิธี Analysis of Variance โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS, 2003)

ผลการทดลอง

ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 2 เมื่อเริ่มทดลองปลาทดลองมีอายุ 2 เดือน เมื่อเลี้ยงไปได้ 1 เดือน ปลาทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่น 300 ตัว/กระชังมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่น 600 ตัว/กระชัง แต่ปลาทั้ง 2 ชุดมีความยาวไม่แตกต่างกัน

ในเดือนที่ 2 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 4 เดือน) ปลาชุดที่ปล่อยด้วยอัตรา 300 ตัว/กระชัง มีความยาวมากกว่า ชุดอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชัง แต่ในด้านน้ำหนัก ชุดอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชังกลับมีน้ำหนักสูงกว่า

ในเดือนที่ 3 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 5 เดือน) ปลาทั้งสองชุดการทดลอง มีขนาดไม่แตกต่างกันทั้งด้านความยาวและน้ำหนัก

ในเดือนที่ 4 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 6 เดือน) ปลาชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง มีน้ำหนักตัวสูงกว่าชุด 600 ตัว/กระชัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ความยาวของปลาทั้งสองชุดไม่แตกต่างกัน

ในเดือนที่ 5 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 7 เดือน) ปลาทั้งสองชุดการทดลอง มีขนาดไม่แตกต่างกันทั้งด้านความยาวและน้ำหนัก

ในเดือนที่ 6 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 8 เดือน) ปลาชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง มีความยาวสูงกว่าชุด 600 ตัว/กระชัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปลากลุ่ม 600 ตัว/กระชังกลับมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยสูงกว่าปลาชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง

ในเดือนที่ 8 และ 10 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 10 และ 12 เดือน) ปลาทั้งสองชุดการทดลอง กลับมีขนาดไม่แตกต่างกันทั้งด้านความยาวและน้ำหนัก มีข้อสังเกตว่าในเดือนที่ 10 นั้น ได้ข้อมูลผลการทดลองเพียง 2 ฟาร์มเท่านั้น เนื่องจากฟาร์มที่ 3 (คุณสุวิทย์ พรหมจาก) มีปลาตายอย่างผิดสังเกต และมีอาการเป็นโรค จึงไม่ได้ชั่งวัดปลาในฟาร์มนี้

การทดลองสิ้นสุดในวันที่ 8 มิถุนายน 2553 ซึ่งปลามีอายุ 14.5 เดือน ปลาในชุดที่ปล่อย 600 ตัว/กระชัง มีความยาว และน้ำหนักสูงกว่าชุดที่ปล่อยในอัตรา 300 ตัว/กระชัง อย่างไรก็ตาม เนื่องจากสังเกตว่าปลาในฟาร์มที่ 3 มีการเจริญเติบโตในช่วง 2 เดือนสุดท้ายสูงมากผิดปกติ จึงทดลองนำข้อมูลจากฟาร์มที่ 3 ออกจากการวิเคราะห์ จึงมีผลให้ค่าเฉลี่ยทั้งน้ำหนักและความยาวไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดทดลอง

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาทดลองมีอัตราการรอดค่อนข้างต่ำ โดยชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชังมีอัตราการรอดต่ำกว่า 600 ตัว/กระชัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (อัตราการรอดเท่ากับ $43.00 \pm 10.61\%$ และ $47.50 \pm 2.12\%$ ตามลำดับ)

อัตราการเจริญเติบโตของปลาที่ปล่อยในอัตรา 300 และ 600 ตัว/กระชัง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มแตกต่างกันในแต่ละฟาร์ม โดยมีค่า ADG ในชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง อยู่ระหว่าง 0.93 - 1.30 กรัม/วัน (เฉลี่ย 1.12 ± 0.16 กรัม/วัน) และชุดอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชัง มีค่า ADG ระหว่าง 1.00 - 1.74 กรัม/วัน (เฉลี่ย 1.42 ± 0.37 กรัม/วัน)

ตารางที่ 2 ความยาว (ซม.) และน้ำหนัก (กรัม) ของปลากดคังที่ทดลองเลี้ยงในกระชังขนาด 25 ตารางเมตร ลึก 2 เมตร ด้วยอัตราปล่อย 2 อัตรา คือ 300 ตัว/กระชัง และ 600 ตัว/กระชัง

ลักษณะ	ความยาว (ซม.)		น้ำหนัก (กรัม)		อัตราการรอด (%)	
	300 ตัว/ กระชัง	600 ตัว/ กระชัง	300 ตัว/ กระชัง	600 ตัว/ กระชัง	300 ตัว/ กระชัง	600 ตัว/ กระชัง
อายุ						
3 เดือน (มิ.ย. 52)	13.96 ^a (2.77)	14.08 ^a (2.77)	33.73 ^a (21.77)	31.26 ^b (14.90)	-	-
4 เดือน (ก.ค. 52)	16.98 ^a (2.57)	17.52 ^b (2.11)	67.10 ^a (25.27)	63.23 ^b (25.51)	-	-
5 เดือน (ส.ค. 52)	20.34 ^a (3.64)	20.84 ^a (2.75)	90.45 ^a (50.07)	95.42 ^a (42.13)	-	-
6 เดือน (ก.ย. 52)	24.50 ^a	23.71 ^a	179.96 ^a	155.95 ^b	-	-

	(4.19)	(2.69)	(77.35)	(57.91)		
7 เดือน (ต.ค. 52)	26.39 ^a	26.42 ^a	214.06 ^a	194.72 ^a	-	-
	(4.20)	(3.07)	(110.85)	(75.67)		
8 เดือน (พ.ย. 52)	26.86 ^a	26.79 ^b	207.30 ^a	255.87 ^b	-	-
	(4.08)	(3.67)	(104.13)	(105.50)		
10 เดือน (ม.ค. 53)	31.75 ^a	32.50 ^a	354.98 ^a	379.70 ^a	-	-
	(4.31)	(3.57)	(161.00)	(132.28)		
12 เดือน* (มี.ค. 53)	37.87 ^{a*}	33.07 ^{b*}	554.00 ^{a*}	488.46 ^{a*}	-	-
	(3.79)	(6.31)	(172.86)	(173.01)		
14.5 เดือน (8 มิ.ย. 53)	38.10 ^a	39.83 ^b	573.14 ^a	705.16 ^b	43.00 ^a	47.50 ^b
	(3.31)	(3.92)	(187.69)	(227.91)	(10.61)	(2.12)
14.5 เดือน**	37.40 ^a	36.15 ^a	535.32 ^a	496.45 ^a	-	-
	(3.18)	(3.01)	(190.32)	(113.68)		

* ข้อมูลเมื่ออายุ 12 เดือน มีเพียง 2 ซ้ำเนื่องจากปลาในฟาร์มที่ 3 มีอาการป่วยจึงไม่ชั่งวัด

** ไม่รวมข้อมูลจากฟาร์มที่ 3

โรคและปรสิตที่พบระหว่างการเลี้ยง

จากการศึกษาสาเหตุของการเกิดโรคในปลากดคัง ซึ่งเลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดชัยนาท ในช่วงเดือนปี 2552 พบว่าโรคที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายกับปลากดที่เลี้ยงในกระชังคือ เชื้อแบคทีเรีย โดยสามารถแบ่งออกเป็น 2 ระยะคือ

1. โรคที่เกิดกับลูกปลากดขนาดปลานิ้ว

อาการของปลาเป็นโรคที่พบ ภายนอกจะมีการท้องบวม ครีบทู่และครีบท้องกร่อนและตกเลือด ไม่พบปรสิตภายนอก แต่ตรวจพบ เชื้อ *Aeromonas hydrophila* และเมื่อทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะที่มีอยู่ในตำหรับ ซึ่งกรมประมงอนุญาตให้ใช้ พบว่าเชื้อมีความไวต่อยา Enrofloxacin มากที่สุด รองลงมาคือ Trimethoprim/sulfamethoxazole ขณะที่ยา Oxytetracycline และ Amoxycillin เชื้อจะมีความสามารถในการต้านยาทั้งสองชนิดนี้ได้สูง

2. โรคที่เกิดกับปลากดขนาด 400-1000 กรัม

อาการของปลาที่เป็นโรคพบว่า ปลาที่เป็นโรคจะแสดงอาการว่ายเชื่องช้าบนผิวน้ำ ตัวมีสีคล้ำ ปลาที่ป่วยจะมีแผลตามลำตัว ครีบทู่ ครีบท้องกร่อนอย่างชัดเจน บางตัวมีแผลหลุมลึก มีกลิ่นเหม็น โดยเฉพาะส่วนหาง ปลาบางตัวมีปลิงใส (Monogene) เกาะอยู่บริเวณเหงือกเป็นจำนวนมาก พบแบคทีเรียแกรมลบ คือเชื้อ *Flavobacterium* บริเวณตับและม้าม และเมื่อทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะที่มีอยู่ในตำหรับ ซึ่งกรมประมงอนุญาตให้ใช้ พบว่าเชื้อมีความไวต่อยา Enrofloxacin มากที่สุด รองลงมาคือ Amoxycillin, Trimethoprim/sulfamethoxazole และ Oxytetracycline ตามลำดับ

การเกิดโรค เกิดอย่างสุ่ม ไม่จำเพาะเจาะจงว่าจะเป็นปลาที่ปล่อยในอัตราใด

วิจารณ์ผล

การทดลองครั้งนี้ มีจุดเด่นคือเป็นการทดลองที่ทำในสภาพการเลี้ยงของเกษตรกรจริง ๆ ผลการทดลองแสดงว่าการจัดการในฟาร์มเกษตรกรมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของปลากดัง อย่างไรก็ตาม โมเดลในการวิเคราะห์ได้แยกอิทธิพลของฟาร์ม (ซ้ำ) ออกจากผลของสิ่งทดลองแล้ว ผลการทดลองในแต่ละช่วงเวลาให้ผลแตกต่างกัน โดยการชั่งวัดในช่วงแรกๆ ปลาที่อัตราปล่อยต่ำ มีการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดที่ปล่อยหนาแน่น แต่ในการชั่งวัดครั้งสุดท้าย แสดงว่าปลาในชุดการทดลองอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชัง มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่า ความผันแปรของผลการชั่งวัด อาจเป็นผลจากการสุ่ม เนื่องจากปลาในชุดอัตราปล่อยเดียวกัน มีขนาดแตกต่างกันมาก (SD ในเดือนที่ 14.5 = ± 187.69 และ ± 227.91 กรัม ในชุดที่ปล่อยในอัตรา 300 และ 600 ตัว/กระชัง ตามลำดับ) จึงทำให้สรุปได้เพียงว่าการปล่อยในอัตราปล่อยที่หนาแน่นกว่าไม่ได้ทำให้ปลากดังมีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อเทียบกับชุดที่ปล่อยในอัตราที่ต่ำกว่า ผลของอัตราปล่อยต่อการเจริญเติบโต แตกต่างกันไปตามชนิดปลา โดยพบว่าในปลา Senegalese sole (*Solea senegalensis*) มีการเจริญเติบโตลดลง เมื่ออัตราปล่อยเพิ่มขึ้น (Sánchez *et al.*, 2010) สาเหตุที่อัตราปล่อยสูงทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง อาจเป็นผลจากการที่ชุดที่มีความหนาแน่นสูงมีคุณภาพน้ำต่ำลง ในกรณีที่คุณภาพน้ำไม่แตกต่างกัน และปลาได้รับอาหารเพียงพอ การเจริญเติบโตอาจแตกต่างกันเนื่องจาก ผลทางสังคม เช่นความก้าวร้าว ฯลฯ (Papoutsoglou *et al.*, 1998; Bolasina *et al.*, 2006)

ในทางกลับกัน ปลาที่มีลักษณะนิสัยรวมฝูง (schooling) จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าในอัตราปล่อยที่สูงกว่า เช่นปลา sea bass (*Dicentrarchus labrax*) (Papoutsoglou *et al.*, 1998; Gardeur *et al.*, 2001) และ Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) (Jørgensen *et al.*, 1993) ส่วนปลา Dover sole (*Solea solea*) ซึ่งเลี้ยงที่อัตราปล่อยระหว่าง 0.5 และ 12 กิโลกรัม/ตารางเมตร จะเจริญเติบโตดีที่สุดที่อัตราปล่อย 7.4 กิโลกรัม/ตารางเมตร (Schram *et al.*, 2006) ปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) เจริญเติบโตดีที่สุดที่ความหนาแน่นสูงสุด (44 ตัว/ลบ.ม. เทียบกับอัตราปล่อย 36 และ 40 ตัว/ลบ.ม.) โดยมีอัตราการรอดไม่แตกต่างกัน (Yilmaz and Arabaci, 2010) สำหรับปลากดังนั้น แม้จะไม่พบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับนิสัยการรวมฝูง แต่เกษตรกรสังเกตว่าปลาชนิดนี้ จะกินอาหารเป็นฝูง และจะลดการกินอาหารถ้าเลี้ยงในความหนาแน่นต่ำ (ประยูร ช้างทอง การติดต่อส่วนตัว) การศึกษานี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่าในปลาบางชนิด การปล่อยในอัตราต่ำเกินไป ก็จะทำให้เจริญเติบโตได้ไม่ดี ทั้งนี้ Salas-Leiton *et al.* (2010) รายงานว่า ปลา Senegalese sole ซึ่งเลี้ยงในความหนาแน่นสูงแม้จะมีระดับ blood cortisol (ซึ่งแสดงถึงระดับความเครียด) และการแสดงออกของยีนเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต (IGF-I, IGF1a และ IGFII) ต่ำลง แต่ไม่กระทบกับการเจริญเติบโต

ปลาที่ปล่อยในอัตราสูง (600 ตัว/กระชัง) มีอัตราการรอดสูงกว่าชุดที่อัตราปล่อยต่ำกว่า ผลการทดลองนี้แสดงว่าอัตราปล่อยที่สูงขึ้นไม่ได้ทำให้คุณภาพน้ำด้อยลงจนเป็นอุปสรรคต่อการดำรงชีวิต ซึ่งคุณภาพน้ำจากการทดลองนี้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของปลาตลอดการทดลอง

นอกจากนั้น มีความเป็นไปได้ว่า การอยู่รวมกลุ่มอย่างหนาแน่น อาจมีผลให้ปลาลดการใช้พลังงานลง เช่น ปลา sea bass ที่เลี้ยงเป็นฝูงจะลดอัตราการสับตางลง 9-14% ซึ่งมีผลลดการใช้ออกซิเจนลง 9-23% (Herskin and Steffensen, 1998) Montero *et al.* (1999) รายงานว่า gilthead seabream ที่เลี้ยงอย่างหนาแน่นจะเพิ่มความสามารถในการรับออกซิเจนของเม็ดเลือด ในระยะที่มันต้องใช้พลังงานมาก โดยอัตราการเจริญเติบโตไม่ลดลง สิ่งเหล่านี้อาจเป็นสาเหตุให้ปลาชุดที่ปล่อยหนาแน่นกว่ามีอัตราการรอดสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเจริญเติบโตไม่ลดลง อย่างไรก็ตามผลการศึกษาค้างนี้แตกต่างจากรายงานของ ซึ่งพบว่าการอนุบาลปลากดค้างในกระชัง (ขนาดปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 31-44 กรัม) โดยปล่อยในอัตรา 100, 200 และ 400 ตัว/ลบ.ม. ปลาที่มีการเจริญเติบโตลดลงตามอัตราความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่อัตราการมีแนวโน้มลดลง แม้จะไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติ (โยธิน เทอดวงศ์วรกุล และณัฐพงศ์ วรณพัฒน์, 2549)

การเจริญเติบโตของปลากดค้างในการทดลองนี้ ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับรายงานของ วิศนุพร รัตนธัยวงศ์ (2542) ซึ่งกล่าวว่าการเลี้ยงปลากดค้างในกระชังอวนขนาด 5 x 5 x 2 ลบ.ม. ปล่อยลูกปลากดค้างขนาด 4 นิ้ว ในอัตรา 400 ตัว/กระชัง (8 ตัว/ลบ.ม.) ให้อาหารเม็ดปลาทุกวันละ 2 ครั้ง ระยะเวลาการเลี้ยง 10 เดือน ได้ผลผลิตปลา 400 กิโลกรัม/กระชัง ปลาขนาดเฉลี่ย 1.0-1.2 กิโลกรัม/ตัว ความแตกต่างของการเจริญเติบโตอาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุ ได้แก่ อัตราปล่อยที่ต่างกัน (การทดลองนี้ปล่อยในอัตรา 10 และ 20 ตัว/ลบ.ม.) คุณภาพน้ำซึ่งในรายงานของวิศนุพรเป็นการเลี้ยงในอ่างเก็บน้ำ ซึ่งน่าจะมีคุณภาพน้ำดีกว่าในแม่น้ำที่ทำการทดลองครั้งนี้ อย่างไรก็ตามรายงานไม่ได้กล่าวถึงอัตราการรอดหนึ่งโดยทั่วไป เกษตรกรในจังหวัดชัยนาท จะปล่อยปลาในอัตราความหนาแน่นที่สูงกว่านี้ (1000 ตัว/กระชัง) (ประยูร ช้างทอง, การติดต่อส่วนตัว) โดยใช้เวลาเลี้ยงนานถึง 2 ปี จึงจะได้ปลาขนาดประมาณ 1-2 กิโลกรัม

ในการศึกษาค้างนี้ ไม่ได้ชั่งน้ำหนักผลผลิตรวม เนื่องจากเกษตรกรประสงค์จะเลี้ยงปลาต่อไปจนครบ 2 ปี จึงหลีกเลี่ยงการจับปลาขึ้นมาชั่ง โดยพบว่าการรวบรวมปลาเช่นนี้ จะมีผลทำให้ปลาเครียดมากกว่าการเลี้ยงอย่างหนาแน่นเสียอีก (Braun *et al.*, 2010)

สำหรับการเกิดโรคและปรสิตนั้น ไม่รุนแรง และเกิดอย่างสุ่ม ไม่จำเพาะเจาะจง โดยทั่วไป เชื้อสาเหตุเหล่านี้ เช่น *Aeromonas hydrophila* เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในน้ำ จะก่อปัญหาเมื่อปลาเกิดอ่อนแอหรือการเกิดโรคแบบฉวยโอกาส โดยเฉพาะในช่วงที่อุณหภูมิไม่เหมาะสม (Decostere *et al.*, 1999; Chopra *et al.* 2000; Zhang *et al.* 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงที่คุณภาพน้ำมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเฉียบพลัน เช่น มีน้ำหลาก ซึ่งจะเห็นได้จากสีน้ำเปลี่ยนเป็นสีขุ่นเป็นสีน้ำตาล หรือช่วงที่อากาศเปลี่ยนแปลงมีฝนตกหรือฟ้าครึ้มติดต่อกัน 2-3 วัน หรือช่วงรอยต่อระหว่างฤดู โดยเฉพาะช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาว ซึ่งช่วงดังกล่าวถือเป็นช่วงวิกฤติที่มักพบว่าปลาจะเกิดโรคเสมอ อันเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดภาวะความเครียด ซึ่งเป็นสาเหตุโน้มนำให้เกิดโรคในที่สุด และเป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่อปลาแสดงอาการป่วยแล้วการรักษาด้วยยาและสารเคมีโดยทั่วไปมักจะไม่ได้ผล เนื่องจากเมื่อปลาป่วยแล้ว ส่วนใหญ่จะไม่กินอาหารและเริ่มทยอยตายเรื่อย ๆ และหนักขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งนี้ขึ้นกับสุขภาพของปลาเองและ

คุณภาพน้ำในแม่น้ำในขณะนั้น การให้ยาซึ่งนอกจากจะไม่ได้ผลแล้วยังทำให้เสียค่าใช้จ่ายสำหรับยาและสารเคมีที่มีราคาแพงมากอีกด้วย ดังนั้นเกษตรกรจึงควรตระหนักถึงการเลี้ยงในระยนี้ให้มาก และควรสร้างมาตรการป้องกันมากกว่าเช่นการเสริมภูมิคุ้มกันให้กับปลาที่เลี้ยงให้มีความแข็งแรงอยู่เสมอ โดยการเสริมวิตามิน ซี 3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้ปลากินติดต่อกัน 5-7 วัน ร่วมกับการแขวนเกลือแกง 2-3 กิโลกรัมต่อกระชัง ควบคู่กันกับการเสริมแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในอาหารให้ปลากินอยู่เสมอ ๆ โดยเฉพาะเมื่อเริ่มมีความผิดปกติเกิดขึ้นกับสภาพแวดล้อมที่จะทำให้ปลาเกิดความเครียด และต้องหมั่นดูแลสิ่งแวดล้อมในพื้นที่การเลี้ยงให้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้หากปลาเริ่มแสดงอาการผิดปกติควรลดหรือลดปริมาณการให้อาหารให้น้อยลงพอปลากินหมด เนื่องจากหากให้อาหารในปริมาณมากเกินไปจะเป็นส่วนที่เร่งให้ปลาป่วยมากขึ้น และควรนำตัวอย่างปลาที่ป่วยไปให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องตรวจวินิจฉัยเพื่อเลือกยาที่สามารถควบคุมเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือในเบื้องต้นอาจเลือกยาที่มีในตำหรับซึ่งกรมประมงอนุญาตให้ใช้ เช่น Oxytetracyclin, Enrofloxacin หรือ ยาในกลุ่มซัลฟา ในอัตรา 3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 5-7 วัน และควรตระหนักเสมอว่าควรใช้ยาในช่วงที่เหมาะสม โดยเฉพาะช่วงแรก ๆ ของการเกิดโรค จะทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและมีประสิทธิผลสูงสุด

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ผลการทดลองแสดงว่า การลดอัตราการปล่อยปลากดคังลง ไม่มีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ในทางตรงกันข้ามกลับทำให้อัตรารอดต่ำลงกว่าชุดที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่นสูง ดังนั้นเกษตรกรอาจเพิ่มอัตราการปล่อยได้อีก อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาต่อไปว่าจะสามารถปล่อยได้หนาแน่นที่สุดเท่าใด
2. ปลาทดลองมีขนาดที่แตกต่างกันมาก อาจแก้ไขได้ด้วยการคัดขนาดปลาเป็นระยะ ๆ ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไปว่าจะได้ผลเช่นไร
3. ปลากดคังที่เลี้ยงในกระชังเกิดโรบบ้าง โดยเชื้อสาเหตุเป็นแบคทีเรียแกรมลบ และพบปรสิบบ้าง จึงควรดูแลให้ปลามีสุขภาพดีอยู่เสมอ และควรทดลองใช้เทคโนโลยีเพิ่มภูมิคุ้มกันต่อโรค เช่น การให้อาหารเสริม หรือ การใช้ โปรไบโอติกส์ ซึ่งจำเป็นต้องมีการทดลองต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (ฝ่ายเกษตร) ภายใต้โครงการ “สถานภาพการผลิตสัตว์น้ำพื้นเมืองของจังหวัดชัยนาท” (สัญญาเลขที่ RDG5120040) โดยมี ศ.อุทัยรัตน์ ณ นคร เป็นหัวหน้าโครงการ และขอบคุณเกษตรกรผู้ร่วมโครงการ ตลอดจนบุคลากรของภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- โยธิน เทอดวงศ์วรกุล และณัฐพงศ์ วรรณพัฒน์, 2549. การอนุบาลปลากดแก้ว (*hemibagrus wyckioides* Chaux & Fang, 1949) ในกระชังที่ระดับความหนาแน่นต่างกันในอ่างเก็บน้ำเขื่อนอุบลรัตน์. เอกสารวิชาการฉบับที่ 77/2549. สำนักงานวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง.
- วิศณุพร รัตนตรัยวงศ์. 2542. การเพาะเลี้ยงปลากดคัง. วารสารฟาร์มมิ่ง 5 (33). ดาวน์โอดจาก http://www.nicaonline.com/articles1/site/view_article.asp?idarticle=109 วันที่ 27 กันยายน 2553.
- วิศณุพร รัตนตรัยวงศ์ สมนึก คงรัตน์ ยงยุทธ ทักษิณ พัทยา เพ็ญภาภรณ์. 2537. การเพาะพันธุ์ปลากดแก้ว. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2537. กรมประมง. หน้า 458 – 464.
- สุทธิชัย ฤทธิธรรมและอุบลรัตน์ สุนทรรัตน์. 2533. การเพาะพันธุ์ปลากดแก้ว. หน้า 66-71, ใน รายงานประจำปี 2532 สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเลย, กองประมงน้ำจืด กรมประมง.
- Bolasina, S., Tagawa, M., Yamashita, Y., Tanaka, M., 2006. Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 259, 432–443.
- Braun, N., de Lima, R.L., Baldissierotto, B., Dafre, A.L., de Oliveira Nuñez, A.P. 2010. Growth, biochemical and physiological responses of *Salminus brasiliensis* with different stocking densities and handling. *Aquaculture* 301, 22–30.
- Chopra A.K., Xu X., Ribardo D., Gonzalez M., Kuhl K., Peterson J.W. and Houston, C.W. 2000. The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* induces proinflammatory cytokine production and activates arachidonic acid metabolism in macrophages. *Infect. Immun.* 68, 2808-2818.
- Decostere, A., Haesebrouck, F., Turnbull, J.F., and G. Charlier. 1999. Influence of water quality and temperature on adhesion of high and low virulence *Flavobacterium columnare* strains to isolated gill arches. *J. Fish Diseases* 22: 1-11.
- Gardeur, J., Lemarié, G., Coves, D., Boujard, T. 2001. Typology of individual growth in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resour.* 14, 223-231.
- Herskin, J., Steffensen, J.F. 1998. Energy saving in sea bass swimming in a school: Measurement of tail beat frequency and oxygen consumption at different swimming speed. *J. Fish Biol.* 53, 366-376.
- Jørgensen, E.H., Christiansen, J.S., Jobling, M. 1993. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 110, 191-204.
- Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robiana, L., Vergara, J.M. 1999. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiol. Biochem.* 20. 53-60.

- Papoutsoglou, S.E., Tziha, G., Vrettos, X., Athanasiou, A., 1998. Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system. *Aquacult. Eng.* 18, 135–144.
- SAS (2003) SAS OnlineDoc 9.1.3. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Salas-Leiton, E., Anguis, V., Martin-Antonio, B., Crespo, D., Planas, J.V., Infante, C., Cañavate, J.P., Manchado, M. 2010. Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): potential effects on the immune response. *Fish & Shellfish Immunology* 28, 296-302.
- Sánchez, P., Ambrosio, P.P., Flos, R. 2010 Stocking density and sex influence individual growth of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 300, 93–10.
- Schram, E., Heul, J.V.D., Kamstra, A., Verdegem, M.C.J., 2006. Stocking density- dependent growth of Dover sole (*Solea solea*). *Aquaculture* 252, 339–347.
- Yilmaz, Y., Arabaci, M. 2010. The influence of stocking density on growth and feed efficiency in gilthead seabream, *Sparus auratus*. *J. Anim. Vet. Adv.* 9(8), 1280-1284.
- Zhang Y.L., Ong C.T. & Leung K.Y. 2000. Molecular analysis of genetic differences between virulent and avirulent strains of *Aeromonas hydrophila* isolated from diseased fish. *Microbiology* 146, 999-1009.

กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์

วันที่ 24 มีนาคม 2553

ดร.ประพันธ์ศักดิ์ ศรีษะภูมิ ไปพบเกษตรกรทั้ง 3 ฟาร์มที่ร่วมโครงการเลี้ยงปลากดัง แนะนำวิธีการให้ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันและรักษาโรค ซึ่งแม้จะทำการชั่งวัดปลาทดลองไปแล้ว แต่เกษตรกรจะเลี้ยงปลาต่อไปให้ครบ 2 ปี ข้อมูลนี้จึงเป็นประโยชน์กับเกษตรกรมาก

วันที่ 11 พฤษภาคม 2553

คณะผู้ร่วมโครงการได้เข้าร่วมการประชุมวิชาการ “จากฐานความรู้สู่การพัฒนาจังหวัดชัยนาท” ครั้งที่ 2 ณ ห้องประชุมราชาวดี โรงแรมชัยนาทธานี โดยคณะผู้ร่วมโครงการได้บรรยายผลการศึกษาศถานภาพการผลิตสัตว์น้ำพื้นเมืองของจังหวัดชัยนาทโดยสรุป แจกเอกสาร ถ่ายทอดข้อมูล ให้คำแนะนำ รวมถึงตอบคำถามเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาจากจังหวัดชัยนาทจำนวน 45 ราย โดยเกษตรกรผู้ปลาที่เข้าร่วมสัมมนาแบ่งเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ

1) เกษตรกรผู้เริ่มเลี้ยงปลา และไม่เคยเลี้ยงปลาแต่มีความสนใจในอาชีพเลี้ยงปลา มีต้องการคำแนะนำด้านการเลี้ยง คณะผู้ร่วมโครงการจึงนำเสนอข้อมูลการเลี้ยงปลาไทย การวิเคราะห์ถึงจุดแข็งและจุดอ่อนของปลาแต่ละชนิด เพื่อประยุกต์ในการเลี้ยงของเกษตรกรแต่ละคนที่มีปัจจัยพื้นฐานในการเลี้ยงปลาที่แตกต่างกัน เช่น เกษตรกรที่มีบ่อดินอยู่เดิมก็แนะนำให้เลี้ยงปลาช่อน และปลาตะเพียนขาว ส่วนเกษตรกรที่มีกระชังควรเลี้ยงปลาสังกะวาด และปลาเทโพ เนื่องจากข้อมูลของโครงการฯ ระบุว่ามีความเป็นไปได้ในเชิงธุรกิจกว่าปลาชนิดอื่นๆ เป็นต้น

2) เกษตรกรผู้มีประสบการณ์ในการเลี้ยงปลา แต่ประสบปัญหาโรคระบาด คณะผู้ร่วมโครงการจึงนำอธิบายถึงปัจจัยต่างๆที่ทำให้เกิดโรค อาการที่บ่งชี้ถึงภาวะการเป็นโรค และให้ข้อมูลการใช้ยารักษาโรคที่ถูกต้อง ประกอบกับเสริมประเด็นการใช้โปรไบโอติกในการรักษาโรค ทั้งนี้คณะผู้ร่วมโครงการได้นำเสนอข้อมูลงานวิจัยเรื่อง “ผลของการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและการต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของปลากดัง” เพื่อให้เกษตรกรมีความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับหลักการทำงานของโปรไบโอติกในการรักษาโรคปลาดียิ่งขึ้น

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ และกิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
1. เพื่อศึกษาสถานการณ์ภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในพื้นที่เมือง ตลอดจนสถานการณ์การตลาดของจังหวัดชัยนาท	1.1 เพื่อรวบรวมข้อมูลการเลี้ยงสัตว์น้ำในพื้นที่เมืองในจังหวัดชัยนาท ทั้งในแง่ชนิด ปริมาณ รูปแบบการเลี้ยง ฤดูกาล ภูมิปัญญาท้องถิ่นในการเลี้ยงสัตว์น้ำ 1.2 เพื่อศึกษาปริมาณการบริโภคสัตว์น้ำในพื้นที่เมือง แหล่งที่มา และความผันแปรตามฤดูกาล	1.1 ศึกษาข้อมูลการเลี้ยงปลาพื้นเมือง โดยการสัมภาษณ์ ร่วมกับ การใช้แบบสอบถาม โดยสัมภาษณ์เกษตรกรเลี้ยงปลาในกระชัง 21 ราย และเลี้ยงปลาในบ่อดิน 11 ราย 1.2 เก็บข้อมูลโดยการสัมภาษณ์ ร่วมกับ การใช้แบบสอบถาม กับผู้ค้าจำนวน 16 ราย ในตลาดสำคัญในจังหวัดชัยนาท 3 แห่ง	1.1 ได้ข้อมูลชนิดปลาที่เลี้ยง ปัญหาอุปสรรค พบว่าเกษตรกรในจังหวัดชัยนาท เลี้ยงปลาพื้นเมืองเพียง 2% โดยส่วนใหญ่เลี้ยงในกระชัง (21 ราย) ที่เหลือเลี้ยงในบ่อดิน (11 ราย) เกษตรกรไม่นิยมเลี้ยงปลาพื้นเมือง เพราะโตช้า ไม่มีตลาดขายส่ง ขาดลูกปลา และขาดอาหารที่เหมาะสม 1.2 ได้ข้อมูลแหล่งที่มาของปลาพื้นเมืองในตลาด ซึ่งส่วนใหญ่มาจากต่างจังหวัดปลาที่ผลิตในจังหวัดชัยนาท จะมีมากจากปลาที่จับจากร้า
2. เพื่อศึกษากิจกรรมการเพาะเลี้ยงปลาโดยภูมิปัญญาชาวบ้านที่เชื่อมโยงกับการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพ	2.1 เพื่อศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ที่มีผลต่อการอนุรักษ์ เช่น การเลี้ยงปลาในนาข้าว หรือการขุดบ่อปล่อยปลาในนาข้าว	2.1 เก็บข้อมูลโดยการสัมภาษณ์ร่วมกับ การใช้แบบสอบถาม กับชาวประมงผู้ประกอบอาชีพขุดบ่อปล่อยปลา 15 ราย (จากทั้งหมด 19 ราย) กร้านี้ได้ 42 ราย (จากทั้งหมด 53 ราย) และกร้าน้ำลึก 2 ราย	2.1 ได้ข้อมูลระยะเวลา และชนิดปลาที่จับได้ พบว่าการขุดบ่อปล่อยปลาอาจมีผลกับการอนุรักษ์ เพราะปลาที่จับได้ส่วนใหญ่เป็นลูกปลาแม่น้ำ จึงควรมีมาตรการ การนำลูกปลาไปปล่อยในแม่น้ำเพื่อการอนุรักษ์ ส่วนการจับด้วยกร้า ไม่มีผลเสียต่อการอนุรักษ์ โดยกร้าน้ำลึกอาจมีประโยชน์แก่การเป็นแหล่งที่รวบรวมพ่อแม่พันธุ์

ตารางเปรียบเทียบ (ต่อ)

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
2.2 ศึกษาความหลากหลายทางชนิด และ ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ ปลาบางชนิด 2.3 เพื่อศึกษาปัญหาในการเลี้ยงสัตว์น้ำ พันธุ์ และแนวทางแก้ไข	2.2 ศึกษาความหลากหลายของปลาแดง และพัฒนาเครื่องมือโครแซเทลไลต์ จำนวน 7 คู่ที่สามารถวิเคราะห์ ในแบบ multiplex 2.3 ประชุมร่วมกันระหว่าง เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาในจังหวัดชัยนาท นักวิจัย และนิสิตภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ประกอบกับข้อมูลจากการสัมภาษณ์ ร่วมกับการใช้แบบสอบถาม	2.2 ศึกษาความหลากหลายของปลาแดง และพัฒนาเครื่องมือโครแซเทลไลต์ จำนวน 7 คู่ที่สามารถวิเคราะห์ ในแบบ multiplex 2.3 ประชุมร่วมกันระหว่าง เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์น้ำ พันธุ์ และนักวิจัย จำนวน 5 โครงการเพื่อแก้ไขปัญหา โดย (1) โครงการศึกษากายวิภาคความแตกต่าง ระหว่างเพศ และการใช้ methyltestosterone เพื่อเร่งความสมบูรณ์ของน้ำเชื้อปลาแดง ทำให้ได้ แนวทางการผสมเทียมปลาแดงให้ได้ผลดีมากขึ้น ซึ่งจะประโยชน์กับการพัฒนาเทคโนโลยีการ เลี้ยงปลาชนิดนี้ต่อไป	2.2 ตลอดโครงการได้ผลดังนี้ (1) ได้เครื่องมือพันธุกรรมไมโครแซเทลไลต์ เฉพาะสำหรับปลาแดง ซึ่งยังไม่เคยมีการพัฒนามา ก่อน ปรกการสำคัญคือสามารถทำงานได้ในระบบ multiplex คือทำปฏิกิริยาร่วมกันได้ดีหลายคู่ โดยไม่รบกวนกัน เครื่องหมายนี้ได้ฝากไว้ใน ฐานข้อมูล GenBank ซึ่งนักวิชาการทั่วโลก สามารถใช้ได้ (2) ได้ข้อมูลที่จะเสนอต่อกรมประมงเพื่อเป็น นโยบายในการปล่อยปลาชนิดนี้ (3) ได้รายงานเพื่อตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติ 1 เรื่อง 2.3 รับรู้ปัญหาของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ พันธุ์ และนักวิจัย จำนวน 5 โครงการเพื่อแก้ไขปัญหา โดย (1) โครงการศึกษากายวิภาคความแตกต่าง ระหว่างเพศ และการใช้ methyltestosterone เพื่อเร่งความสมบูรณ์ของน้ำเชื้อปลาแดง ทำให้ได้ แนวทางการผสมเทียมปลาแดงให้ได้ผลดีมากขึ้น ซึ่งจะประโยชน์กับการพัฒนาเทคโนโลยีการ เลี้ยงปลาชนิดนี้ต่อไป

ตารางเปรียบเทียบ (ต่อ)

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
			(2) การทดลองในปลากดคัง ได้ข้อมูลว่าความหนาแน่นที่เกษตรกรใช้เลี้ยงอยู่เหมาะสมแล้ว ข้อมูลเกี่ยวกับโรคและวิธีการดูแล ได้เอกสารสำหรับเผยแพร่ 1 เรื่อง (3) การทดลองในปลานิล ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการรักษาโรคโดยตรง (ถึงแม้ปลานิลจะไม่ใช้ปลาพื้นเมือง แต่ขณะเก็บข้อมูลเพื่อศึกษาปลาพื้นเมือง เกษตรกรประสบปัญหาปลานิลเป็นโรคอย่างรุนแรงจึงจำเป็นต้องให้ความช่วยเหลือ) (4) การทดลองใช้แบคทีเรียโปรไบโอติกในปลากาย ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเทคโนโลยีการเลี้ยงปลาทชนิดนี้ต่อไป

คำชี้แจงต่อข้อเสนอแนะในการปรับปรุงรายงาน

1. ควรแก้ไขคำผิด เช่น	แก้ไขตามที่แนะนำแล้ว
2. หน้า 35 ย่อหน้า 2 ในส่วนผลการทดลองควรเขียนใหม่ให้ถูกต้อง เนื่องจากข้อมูลมีความขัดแย้งกับผลที่แสดงในตาราง โดยปลาในฟาร์มที่ 3 เมื่อป่วยตาย และไม่มีการชั่งวัดขนาด จะไม่สามารถบอกได้ว่าปลาในฟาร์มที่ 3 มีการเจริญเติบโตในช่วง 2 เดือนสุดท้ายสูงมากผิดปกติ	รายงานเขียนถูกต้องแล้ว ในระยะหลังของการทดลอง ชั่งวัดทุก 2 เดือน ฟาร์มที่ 3 ไม่ได้ชั่งวัดขณะอายุ 12 เดือน แต่ชั่งวัดเมื่ออายุ 14.5 เดือน
3. หน้า 46 ควรเพิ่มเติมสถานที่ และวิธีการเก็บตัวอย่างของจังหวัดชัยนาทให้เหมือนกับจังหวัดอ่างทอง	เพิ่มเติมแล้ว
4. หน้า 53 ควรอธิบายให้ชัดเจนว่า ช่วงที่ปลาป่วยในช่วง 1-3% แรกหมายความว่าอย่างไร	แก้ไขเป็น “ช่วงที่ปลาเริ่มป่วย (พบปลาจำนวน 1-3% ของปลาที่เลี้ยงป่วย)”
5. ควรปรับปรุงการเขียน executive summary	ได้ปรับปรุงตามคำแนะนำและให้ผู้ทรงคุณวุฒิ (ชาว New Zealand) ตรวจสอบแก้ไขแล้ว