



ผลกระทบจากการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนีย ต่อการเจริญเติบโต เมแทบอลิซึม
ออสโมเรกูเลชันและอัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว
(*Lates calcarifer*)

Impact of Elevated Ammonia Concentration on Growth, Metabolism,
Osmoregulation and Survival Rates of Asian Seabas
(*Lates calcarifer*)

ริฎวาน ศอติห้วงศ์สกุล

Ridwan Solehwongsakul

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Applied Biology
Prince of Songkla University

2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลกระทบจากการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนีย ต่อการเจริญเติบโต
 เมแทบอลิซึม ออสโมเรกูเลชันและอัตราการอยู่รอด ของปลากระพงขาว
 (*Lates calcarifer*)

ผู้เขียน นายริฎวาน ศอติหังศ์สกุล

สาขาวิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อิศระ อินตะนัย)

.....ประธานกรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ อธิป ลิขิตลิลิต)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อิศระ อินตะนัย)

.....กรรมการ
 (ดร. นิรัติศัย เพชรสุภา)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์

.....
 (รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(3)

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วน
ช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อิศระ อินตะนัย)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ

(นายริฎวาน ศอลีห้วงศ์สกุล)

นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ

(รวิฐาน ศอลีห้วงศ์สกุล)

นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ชื่อวิทยานิพนธ์	ผลกระทบจากการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนีย ต่อการเจริญเติบโต เมแทบอลิซึม ออสโมเรกูเลชันและอัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว (<i>Lates calcarifer</i>)
ผู้เขียน	นายวิภูวาน ศอลิหังศ์สกุล
สาขาวิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2559

บทคัดย่อ

การศึกษาผลกระทบจากการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนีย ต่อการเจริญเติบโต เมแทบอลิซึม ออสโมเรกูเลชันและอัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ในระยะจิวไนล์ น้ำหนักเฉลี่ย 24 ± 0.5 กรัม ความยาวเฉลี่ย 12.7 ± 0.5 เซนติเมตร พบว่าค่า LC_{50} ที่เวลา 96 ชั่วโมงของแอมโมเนีย มีค่าเท่ากับ 2.45 มิลลิกรัมต่อลิตร การทดลองเลี้ยงปลาในแอมโมเนียความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) , 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลต่อการเจริญเติบโต ออสโมเรกูเลชัน และเมแทบอลิซึมในปลากะพงขาว ต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ การเจริญเติบโตวัดจาก อัตราการกินอาหาร น้ำหนัก ความยาว ความกว้าง และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลา พบว่า ทำให้ค่าดังกล่าวลดลง 67.4, 52.9, 78.7, 75 และ 75% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังส่งผลต่อออสโมเรกูเลชันโดยการเพิ่มขึ้นของออสโมลาลิตีในเลือด สำหรับเมแทบอลิซึม พบความผิดปกติที่แอมโมเนียระดับนี้ ทำให้อัตราการหายใจ และอัตราการขับแอมโมเนียลดลงจากชุดควบคุม 60.6 และ 39.3% ตามลำดับและพบว่าอัตราการหายใจ และอัตราการขับแอมโมเนียมีความสัมพันธ์กับอัตราการกินอาหารของปลาการวัด ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และปริมาณกลูโคสในเลือด พบว่าแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลาไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แต่ที่ความเข้มข้นดังกล่าวทำให้ปลาปริมาณกลูโคสสูงกว่าชุดควบคุม 66.7 % อัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาวในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองลดลงจากชุดควบคุม 7.6 % การศึกษานี้ยังพบว่าแอมโมเนียมีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลากะพงขาว พบว่าปลาในชุดควบคุมมีค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลาต่ำที่สุด และรองลงมาคือปลาในชุดการทดลอง

(6)

ขณะที่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลาเท่ากับ 1.16, 1.18, 1.21 และ 1.37 ตามลำดับ

Prince of Songkla University
Pattani Campus

Thesis Title	Impact of Elevated Ammonia Concentration on Growth, Metabolism, Osmoregulation and Survival Rates of Asian Seabass (<i>Lates calcarifer</i>)
Author	Mr. Ridwan Solehwongsakul
Major Program	Applied in Biology
Academic Year	2016

ABSTRACT

The effects of elevated ammonia concentration on growth, metabolism, osmoregulation and survival rates of juvenile Asian seabasses (*Lates calcarifer*) were studied, the average initial weight was 24 ± 0.5 g. and 12.7 ± 0.5 cm in total length. Ammonia toxicity for 96 h (LC_{50}) was 2.45 mg/l. Asian seabasses were exposed to various ammonia concentrations ranging from 0 (control test), 0.02, 0.024 and 0.24 mg/l for a period of 8 weeks. The results showed that ammonia concentration at 0.24 mg/l had direct effects on growth, osmoregulation and metabolism of Asian seabass. The growth was estimated by food consumption rate, weight, length, width and specific growth rate. The study found that these parameters decreased from the highest ammonia concentration (0.24 mg/l) by 67.4, 52.9, 78.7, 75 and 75%, respectively, when compared with control group. The osmoregulation was also affected by increasing plasma osmolality. On the evaluation of metabolism, there were metabolic abnormality by evaluating respiration rate and ammonia excretion rate. Moreover, these parameters decreased at the highest ammonia concentration (0.24 mg/l) by 60.6 and 39.3%, respectively, compared to control group. The respiration rate and ammonia excretion rate were related to food consumption rate. The haematocrit at the highest ammonia concentration showed no differences from the control. However, blood glucose of fish exposed in this concentration was higher than that of the control group by 66.7%. In

In addition, the survival rate of Asian seabass fish at the end of the experiment statistically decreased from the control group by 7.6%. Finally, the condition factor (K) of Asian seabass fish in the control group was lowest with the values of 1.16, 1.18, 1.21, and 1.37 at 0, 0.0024, 0.024, and 0.24 mg/l of ammonia concentration, respectively.

Prince of Songkla University
Pattani Campus

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อิศระ อินตะนัย ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษางานวิจัย และคอยให้คำแนะนำในการแก้ไขปัญหาในการวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนคอยตรวจสอบความถูกต้องของ งานวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุก ๆ ท่านและบุคลากรแผนกชีววิทยา ที่ประสิทธิประสาทวิชาความรู้ ให้แก่ผู้วิจัยและให้ความช่วยเหลือและเอื้ออำนวยอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้และเพื่อเป็น ความรู้ในการประกอบอาชีพหรือการดำรงชีวิตในอนาคตต่อไป

ขอขอบพระคุณและขอบคุณบิดามารดาและน้อง ๆ ในครอบครัวซึ่งเป็นกำลังใจที่สำคัญในการทำ วิทยานิพนธ์ครั้งนี้และขอขอบคุณเพื่อน ๆ นักศึกษา ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการทำงานตลอดมา

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ได้ ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ริฎวาน ศอลีห์วงศ์สกุล

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
ABSTRACT	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
สารบัญตาราง	(12)
สารบัญภาพ	(13)
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 ความเป็นมา	1
1.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
1.3. ความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำ	10
1.4. วัตถุประสงค์	16
1.5. ขอบเขตของการวิจัย	16
1.6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	17

สารบัญ (ต่อ)

2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	18
2.1 วัสดุและอุปกรณ์	18
2.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	19
2.3.การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	34
3. ผลการศึกษา	35
4. วิจัยรณผลการศึกษา	55
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	65
บรรณานุกรม	66
ภาคผนวก	76
ประวัติผู้เขียน	100

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1.1 ผลของแอมโมเนียต่อการเจริญเติบโต เมแทบอลิซึม และการกินอาหาร ของกุ่มปลาชนิดอื่น ๆ	14
2.1 คุณภาพน้ำของปลาบริเวณแหล่งศึกษา	21
3.1 คุณภาพน้ำที่ทำการทดลอง	35
3.2 การเปรียบเทียบการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำ ต่อการเจริญเติบโต เมแทบอลิซึม ออสโมเรกูเลชัน และ อัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว ทั้ง 8 สัปดาห์	54
4.1 ค่า Lethal Concentration (LC ₅₀) ของแอมโมเนียต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ	56
ตารางภาคผนวก ก	หน้า
ตารางภาคผนวกที่ 1 คุณภาพน้ำที่เลี้ยงปลากะพงขาวในระยะเวลา 8 สัปดาห์	77
ตารางภาคผนวกที่ 2 อัตราการกินอาหาร (feed intake) ของปลากะพงขาวในความเข้มข้นของ แอมโมเนีย 8 สัปดาห์	79.
ตารางภาคผนวกที่ 3 น้ำหนักของปลากะพงขาวในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์	81
ตารางภาคผนวกที่ 4 ความกว้างของปลากะพงขาวในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์	83
ตารางภาคผนวกที่ 5 ความยาวของปลากะพงขาวในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์	85
ตารางภาคผนวกที่ 6 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลากะพงขาว ในความเข้มข้นของ แอมโมเนีย 8 สัปดาห์	87
ตารางภาคผนวกที่ 7 อัตราการขับแอมโมเนียของปลากะพงขาวในความเข้มข้นของ แอมโมเนีย 8 สัปดาห์	88

สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 ลักษณะของปลากะพงขาว	6
1.2 การเลี้ยงปลากะพงขาวในบ่อดิน อ.ยะหริ่ง จ.ปัตตานี	8
1.3 การเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังตามแหล่งน้ำธรรมชาติ อ.เมือง จ.ปัตตานี	8
1.4 กระบวนการการรักษาสมดุลของปลาเพื่อขับแอมโมเนียออกจากร่างกาย	13
2.1 อาหารเม็ดสำหรับปลากะพงขาวจากบริษัท เอเซีย นีฟิต จำกัด	21
2.2 การชั่งน้ำหนักสำหรับปลากะพงขาว	24
2.3 การวัดขนาดของปลากะพงขาว โดยใช้เวอร์เนียมิเตอร์	25
2.4 วิธีการวัดอัตราการหายใจ	26
2.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์โดยวิธี Azide Modification of indometric method	27
2.6 เครื่อง spectrophotometer เพื่อนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร	29
2.7 เครื่องปั่นไมโครฮีมาโตคริต	31
2.8 เก็บตัวอย่างเลือดที่เหงือกปลากะพงขาว	32
2.9 เครื่องออสโมมิเตอร์ (Advanced Instrument Inc., 3320) วิเคราะห์ออสโมลาลิตี้น้ำและเลือด	33
3.1 อัตราการตายของปลากะพงขาวที่เวลา 96 ชั่วโมง	36
3.2 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการกินอาหารของปลากะพงขาว	37
3.3 ผลของแอมโมเนียต่อน้ำหนักปลากะพงขาว	39
3.4 ผลของแอมโมเนียต่อความกว้างของปลากะพงขาว	40
3.5 ผลของแอมโมเนียต่อความยาวของปลากะพงขาว	41
3.6 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลากะพงขาว	43
3.7 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการแลกเนื้อของปลากะพงขาว	44
3.8 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการหายใจของปลากะพงขาว	46

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3.9 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการขับแอมโมเนียของปลากะพงขาว	48
3.10 ผลของแอมโมเนียต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลากะพงขาว	49
3.11 ผลของแอมโมเนียต่อปริมาณกลูโคสในเลือดของปลากะพงขาว	50
3.12 ผลของแอมโมเนียต่อออสโมลาลิตีต่อปลากะพงขาว	52
3.13 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว	53
4.1 แบบจำลองการขับถ่ายที่เหงือกของปลาน้ำเค็ม (Wehrauch <i>et al.</i> , 2009)	61
ภาพผนวก ข	หน้า
ภาพผนวกที่ 1 การจับปลากะพงขาวเพื่อเก็บตัวอย่างโดยไปซื้อพันธุ์ปลา ที่ฟาร์มเลี้ยงปลา ที่อำเภอชะอำ จังหวัดปัตตานี	90
ภาพผนวกที่ 2 การขนส่งพันธุ์ปลากะพงขาวในถังที่มีออกซิเจน มาที่หน่วยวิจัยและเพาะฟักสัตว์ น้ำ ตำบล สะกอม อำเภอเทพา จังหวัดสงขลา เพื่อทำการทดลอง	91
ภาพผนวกที่ 3 ลักษณะพันธุ์ปลากะพงขาว ระยะจูวีไนล์น้ำหนักเฉลี่ย 24 ± 0.5 กรัม	92
ภาพผนวกที่ 4 การปรับสภาพปลากะพงขาว	93
ภาพผนวกที่ 5 การสุ่มเก็บตัวอย่างปลากะพงขาวจากบ่อต้องใช้สวิงตักปลาทุกครั้ง	94
ภาพผนวกที่ 6 ก่อนเก็บตัวอย่างเลือดที่เหงือก ต้องสงบปลาแล้วนำไปวางบนผ้าเย็น	95
ภาพผนวกที่ 7 การเจาะเลือดปลาเพื่อเก็บตัวอย่างเลือด จะเจาะบริเวณเส้นเลือดดำที่เหงือกที่ 2	96
ภาพผนวกที่ 8 ลักษณะหลอดเก็บเลือดปลากะพงขาวที่เคลือบด้วยสารเฮปาริน	97
ภาพผนวกที่ 9 เครื่องอ่านฮีมาโตคริต	98
ภาพผนวกที่ 10 ปลาที่เหลือจากการทดลอง ปล่อยลงสู่ทะเล	99

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมา

ปัจจุบันการเจริญเติบโตทางเศรษฐกิจ การพัฒนาเทคโนโลยีและการขยายตัวของภาคอุตสาหกรรม ทำให้มีการปล่อยของเสียออกสู่สิ่งแวดล้อมเกินขีดจำกัด ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่มีความรุนแรงและยากต่อการแก้ไข สาเหตุหนึ่งในผลกระทบนั้นคือ การปนเปื้อนของแอมโมเนียในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากอุตสาหกรรมที่ใช้แอมโมเนียเป็นวัตถุดิบในการผลิต เช่น นำมาใช้เป็นสารนำความเย็นในระบบทำความเย็นโดยเฉพาะโรงงานน้ำแข็งและอุตสาหกรรมห้องเย็น เมื่อรั่วไหลสู่ธรรมชาติจึงส่งผลต่อสิ่งแวดล้อม เช่น ในปีพ.ศ. 2550 เคยประสบปัญหา เมื่อสารแอมโมเนียกว่า 200 ลิตรรั่วลงสู่ลำน้ำสาธารณะจาก หจก. ร้อยเอ็ดค้าปลา ต.เหนือเมือง อ.เมือง จ.ร้อยเอ็ด ส่งผลทำให้น้ำเน่าเสียทำให้ปลาตาย สัตว์เลี้ยงและชาวบ้านไม่สามารถใช้น้ำได้ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาการป้องกันและจัดการภัยพิบัติ, 2555)

แอมโมเนียพบได้ทุกสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบนิเวศ ที่มีการย่อยสลายทั้งพืชและสัตว์ การขับของเสียของสัตว์น้ำ รวมไปถึงการระเบิดของภูเขาไฟ (Randall and Tsui., 2002) แอมโมเนียที่ถูกปล่อยออกมาสู่แหล่งน้ำปริมาณมาก ๆ มักมาจากภาคอุตสาหกรรม และของเสียจากการเกษตร เป็นผลทำให้เกิดผลผลิตที่สามารถทำลายอินทรีย์วัตถุที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบได้ (Miron *et al.*, 2008) และถูกชะล้างลงสู่แหล่งน้ำได้ แอมโมเนียจัดเป็นแก๊สมลพิษที่มีบทบาทสำคัญในการเร่งปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) ของระบบนิเวศ (Krupa, 2003) ทำให้เกิดโลกร้อนขึ้น ส่งผลทำให้สาหร่ายและวัชพืชเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วทำให้น้ำเน่าเสียและออกซิเจนในน้ำน้อย อย่างไรก็ตาม ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ แอมโมเนียได้จากการขับถ่ายของสัตว์น้ำเป็นหลัก Ip *et al.* (2001) รายงานว่า การขับถ่ายของสารประกอบไนโตรเจนส่วนใหญ่ (ประมาณ 90%) เกิดขึ้นโดยผ่านทางเหงือกในภาพของแอมโมเนียไม่แตกตัว (NH_3) ซึ่งมีสัดส่วนประมาณ 2.5-3% ของปริมาณอาหารที่กินเข้าไปในแต่ละตัว แอมโมเนียในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำยังได้จากสิ่งขับถ่ายที่เป็นของแข็งซึ่งส่วนใหญ่จะถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วโดยแบคทีเรีย นอกจากนี้แอมโมเนียอาจมาจากอาหารเหลือตกค้าง

ในแหล่งน้ำแอมโมเนียเป็นผลผลิตที่ได้มาจากการขับถ่ายของสัตว์น้ำ เช่น ปลา กุ้ง ปู ก่อให้เกิดกระบวนการไนตริฟิเคชัน (nitrification) ซึ่งเป็นกระบวนการออกซิเดชันของสิ่งมีชีวิต โดยเปลี่ยนจากแอมโมเนียไปเป็นไนตริกเพื่อลดความเป็นพิษของแอมโมเนีย อย่างไรก็ตาม เมื่อกระบวนการไนตริฟิเคชัน สูญเสียความสมดุลไป ทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจน และผลผลิตในกระบวนการนี้สูงจนเป็นสาเหตุของการตายของปลา (Svobodova *et al.*, 2005). อย่างไรก็ตามเมื่อนำปลาไปเลี้ยงในระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ไม่ทำให้ปลาตายมีผลทำให้ปลากินอาหารและมีการเจริญเติบโตลดลง (Eddy, 2005; Pinto *et al.*, 2007) และอาจจะมีผลต่อการทำงานของระบบต่อมไร้ท่ออีกด้วย (Spencer *et al.*, 2008) นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจเนื่องจากความเป็นพิษของแอมโมเนียนั้นเกิดจากสัตว์น้ำอยู่ในแอมโมเนียที่ต่ำเป็นเวลานานมากกว่าการอยู่ในความเข้มข้นของแอมโมเนียที่สูงมาก ๆ ที่ทำให้ตายโดยทันที เมื่อแอมโมเนียในน้ำสูงเกินไปทำให้สัตว์น้ำขับถ่ายแอมโมเนียได้น้อย และทำให้ระดับแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นเป็นผลทำให้ พิเอซของเลือดสูงขึ้นซึ่งเป็นผลเสียต่อปฏิกิริยาต่าง ๆ ของเอนไซม์ (Ren *et al.*, 2016)

โดยทั่วไปสัตว์น้ำจะมีความทนทานต่อการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียในเลือดมากกว่าสัตว์บก นอกจากนี้ความทนทานยังขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ ปลากระดูกแข็งจะมีความเข้มข้นของแอมโมเนียในเลือดระหว่าง 0.05-1 มิลลิโมลต่อลิตร และแอมโมเนียที่ความเข้มข้น 11.2 ไมโครโมลต่อลิตร ทำให้ปลาปากท่อในระยะจิวีไนล์ มีอัตราการกินอาหารและการเจริญเติบโตลดลง (Schram, *et al.*, 2014) สารประกอบไนโตรเจนที่ปลาขับออกมา ส่วนใหญ่เป็นแอมโมเนีย จากการศึกษาของ Braun and Perry (2010) พบว่า ปลาแฮ็กแคซีฟีก (*Eptatretus stontii*) ขับยูเรียประมาณ 30 % และขับแอมโมเนีย ประมาณ 70 %

นอกจากนี้แอมโมเนียยังส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ เช่น การเจริญเติบโตที่ลดลง (Atwood *et al.*, 2000) และการเสื่อมสภาพของโครงสร้างเนื้อเยื่อ ระบบภูมิคุ้มกัน การสืบพันธุ์ ประสิทธิภาพของออสโมลาลิตี การทำงานเซลล์ และสารเคมีในเลือด (McKenzie *et al.*, 2003) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียไอออนที่มีสภาพแบบเรื้อรังพบว่า มีผลต่อการกระตุ้นกล้ามเนื้อ (Taylor, 2000) และอาจจะมีผลทำให้เกิดอาการโคม่า การชักกระตุก และ สุดท้ายทำให้ปลาตาย (Ip *et al.*, 2001) แอมโมเนียที่มีผลต่อการลดการเจริญเติบโตนั้นได้ถูกรายงานในปลาหลายสปีชีส์ เช่น

ปลา ปลาเทร้าต์ (*Bidyanus bidyanus*) (France *et al.*, 2000), ปลากะพงยุโรป (*Dicentrarchus labrax*) (Lemarie *et al.*, 2004), ปลาแอตแลนติกค็อด (*Gadus morhua*) (Foss *et al.*, 2004) และยังพบว่าปลาวูล์ฟฟิช (*Anarhichas minor*) อยู่ในแอมโมเนียระดับความเข้มข้น 0.17 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงในสัปดาห์ที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Foss *et al.*, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าปลาในระยะตัวอ่อนมีการตอบสนองต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียได้มากกว่าปลาระยะตัวเต็มวัย (Amado *et al.*, 2010)

แอมโมเนีย ได้มาจากเมแทบอลิซึมของสัตว์ จากการสลายอาหารที่สัตว์กินเข้าไป สารละลายแอมโมเนีย-ไนโตรเจนจะอยู่ในสภาพของสารที่ไม่แตกตัว (NH_3) และสารที่แตกตัว (NH_4^+) NH_3 มีความเป็นพิษมากกว่า NH_4^+ และ NH_3 สามารถแพร่ผ่านชั้นไขมันของเซลล์เหงือกได้ง่าย สัดส่วนของ NH_3 และ NH_4^+ ในน้ำขึ้นอยู่กับ ความเค็ม อุณหภูมิ และ สภาพ กรด-เบส ของน้ำ แอมโมเนียที่มีมากเกินไปจะมีผลต่อระบบประสาท เช่น เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของตัวเชื่อมของสมองและเลือด (Blood-Brain Barrier) ขัดขวางการขนส่ง กรดอะมิโน ควบคุมการไหลเวียนเลือดสู่สมอง การหลั่งสารสื่อประสาทข้างลงโดยเฉพาะอย่างยิ่ง กลูตาเมต และ แอสปาเตต เป็นสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงเซลล์แอสโตรไซต์ และเซลล์ประสาท (Romano and Zeng, 2007) นอกจากนี้แอมโมเนียเป็นสารที่มีพิษมากกว่าสารประกอบไนโตรเจนอย่างอื่น ซึ่งปลาต้องขับออกในปริมาณมากและแอมโมเนียยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต และ ไขมันในสมองและเนื้อเยื่ออื่นๆ อีกด้วย

Romano and Zeng (2007) พบว่าปูทะเลเมื่ออยู่ในแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 0.48 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ระดับออสโมลาริตี้ในเลือดและ Cl^- เพิ่มขึ้น หลังจาก 2 สัปดาห์ และ ดั้งที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่าแอมโมเนียมีบทบาทสำคัญในด้านมลพิษของสิ่งแวดล้อมทางน้ำเป็นอย่างมากเนื่องจากพบได้ทั่ว ๆ ไป ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลกระทบของแอมโมเนียต่อปลากะพงขาว จากการสำรวจแอมโมเนียในแม่น้ำยะหริ่ง อำเภอยะหริ่ง จังหวัดปัตตานี พบว่ามีระดับค่าแอมโมเนียระหว่าง 0.01-0.5 มิลลิโมลต่อลิตรในแหล่งน้ำ ซึ่งเกินกว่าค่ามาตรฐานของแอมโมเนียที่ระบุไว้ห้ามเกิน 0.1 มิลลิโมลต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2547) ซึ่งอาจเป็นอันตรายหรือชะลอการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวได้

1.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 ชีววิทยาของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) และสภาพการเลี้ยงปัจจุบัน

1.2.1.1 อนุกรมวิธานของปลากะพงขาว และ การแพร่กระจาย

ปลากะพงขาวเป็นปลากระดูกแข็งชนิดหนึ่งในทะเลสามารถปรับตัวให้อยู่ในน้ำจืดหรือน้ำกร่อยได้ จัดอยู่ในวงศ์ ลาติดี (Latidae) มีชื่อสามัญว่า Asian Seabass มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lates calcarifer* รูปร่างลำตัวหนา ด้านข้างแบน หัวโตจอยปากค่อนข้างยาวและแหลม นัยน์ตาโต ปากกว้างยึดหดได้ มุมปากอยู่เลยไปทางหลังนัยน์ตา การจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน มีดังต่อไปนี้

Phylum Chordata

Class Actinopterygi

Order Perciformes

Family Latidae

Genus *Lates*

Species *Lates calcarifer*

ปลากะพงขาวกระจายทั่วไปในชายฝั่งทะเลของทวีปเอเชียไปจนถึงตอนเหนือของออสเตรเลีย เป็นปลาที่อพยพไปมาระหว่างทะเลกับน้ำจืด โดยพ่อแม่ปลาจะว่ายจากชายฝั่งเข้ามาวางไข่ในป่าชายเลนหรือปากแม่น้ำ จนกระทั่งลูกปลาฟักและเติบโตแข็งแรงดีแล้ว จึงจะว่ายกลับสู่ทะเล บางครั้งพบอยู่ไกลจากทะเลนับเป็นร้อย ๆ กิโลเมตร เช่นที่ แม่น้ำโขง เป็นปลากินเนื้อ อาหารได้แก่ สัตว์น้ำต่าง ๆ ปลา, กุ้ง ที่มีขนาดเล็กกว่า เป็นปลาเศรษฐกิจที่กรมประมงส่งเสริมให้เลี้ยง เกษตรกรนิยมผลิตลูกปลาชนิดนี้ส่งไปจำหน่ายยังประเทศมาเลเซียและไต้หวัน เนื้อมีรสชาติดี นำมาประกอบอาหารได้หลายประเภท

สถานีวิจัยประมงศรีราชา (2546) รายงานว่า ปลากะพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยขนาดใหญ่ที่สุดในประเทศไทย เจริญเติบโตได้ดีในน้ำกร่อยและน้ำจืด จัดได้ว่าเป็นปลาประเภท 2

น้ำ คือในช่วงชีวิตของปลากะพงขาวจะมีการเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างแหล่งน้ำจืด และน้ำเค็ม ปลากะพงขาวขนาดใหญ่จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่ห่างไกลออกไปจากฝั่งมากนัก พบมากบริเวณปากแม่น้ำลำคลอง ปากทะเลสาบและปากอ่าวบริเวณที่เป็นป่าชายเลน ที่มีน้ำเค็มท่วมถึง โดยจะพบอยู่ทั่ว ๆ ไปในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นับตั้งแต่พม่า ไทย มาเลเซีย เวียดนาม และแถบชายฝั่งทะเลของจีน ก็พบปลาชนิดนี้เช่นเดียวกัน สำหรับประเทศไทยเรานั้นพบปลากะพงขาว ตามชายฝั่งทะเลโดยเฉพาะบริเวณปากแม่น้ำใหญ่ ๆ ที่มีทางออกติดต่อกับทะเลที่มีป่าชายเลนขึ้นปกคลุมทางจังหวัดตราด จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ สมุทรสงคราม เป็นต้น

ปลากะพงขาวจะผสมพันธุ์และวางไข่ในน้ำทะเลที่มีความเค็มประมาณ 28-32 พีพีที ในทะเลที่มีความลึกไม่เกิน 2 เมตร หลังจากนั้นไข่จะถูกพัดพาเข้าสู่บริเวณชายฝั่ง และฟักออกเป็นตัว ลูกปลากะพงขาวที่ฟักออกเป็นตัว จะดำรงชีวิตในน้ำกร่อยและในน้ำจืด จนมีอายุได้ 2-3 ปี มีน้ำหนักประมาณ 3-5 กิโลกรัม จะเคลื่อนตัวออกสู่ทะเล เพื่อทำการผสมพันธุ์ และวางไข่ต่อไป การรีดไข่ปลากะพงขาวตัวเมียได้ประมาณตัวละ 150-200 มิลลิลิตร (250,000-400,000 ฟอง) (สวัสต์ดี และ สุจินต์, 2517)

1.2.1.2 ลักษณะทั่วไป

ปลากะพงขาว มีลักษณะลำตัวค่อนข้างยาวและหนาแบนข้างเล็กน้อย บริเวณไหล่โค้งมน ส่วนตัวลาดชันและเว้า ส่วนของขากรรไกรล่างยื่นยาวกว่าขากรรไกรบนเล็กน้อย ปากกว้าง ขอบปากบนเป็นแผ่นใหญ่ แยกเป็นแนวตอนต้น และตอนท้ายอย่างชัดเจน บริเวณส่วนปากยึดหดได้บ้าง ช่องปากเฉียงลงด้านล่างเล็กน้อย มีฟันเล็กละเอียดบนขากรรไกรบน และล่างและที่เพดานปาก ฟันเป็นฟันเขี้ยวอยู่บนขากรรไกรบนและล่าง ขอบกระดูกแก้มเป็นหนามแหลม ขอบกระดูกกระพุ้งเหงือกแข็งและคม คอดหางมีขนาดใหญ่และแข็งแรง เกล็ดใหญ่มีขอบหยักเป็นหนามเมื่อลูบจะสากมือ ครีบหลังอันแรกมีก้านครีบเป็นหนามแข็ง ปลายแหลม อันที่สองเป็นครีบบอ่อนมีขนาดใกล้เคียงกัน ครีบใหญ่ปลายกลมมน พื้นลำตัวสีขาวยเงินปนน้ำตาล แนวสันท้องสีขาวยเงิน มีขนาดความยาวประมาณ 20-40 เซนติเมตร พบใหญ่สุดถึง 2 เมตรหนักได้ถึง 60 กิโลกรัม โดยปลาที่พบในทะเลจะมีขนาดใหญ่กว่าปลาที่พบในน้ำจืด ตาของปลาชนิดนี้มีขนาดกลาง ไม่มีเยื่อที่เป็นไขมันหุ้ม แผ่นปิดเหงือกมีขนาดใหญ่ มีขอบ

หลังเป็นหนามแหลม 4 ซี่ และเรียงต่อด้วยซี่เล็ก ๆ จัดตามแนวหลัง ด้านบนส่วนหัว และบนแผ่นเหงือก มีเกล็ดขนาดต่าง ๆ กัน เกล็ดบริเวณลำตัวค่อนข้างใหญ่ ด้านหลังมีสีเทาเงินหรือเขียวปนเทา ส่วนท้องมีสีเงินแกมเหลือง บริเวณด้านข้างของลำตัวมีสีเงิน ครีบหลัง ครีบกัน ครีบหาง จะมีสีเทาปนดำบาง ๆ มีครีบหลัง 2 ตอน ตอนแรกอยู่ตรงตำแหน่งของครีบท้อง มีก้านครีบแข็ง ที่แหลมคมขนาดใหญ่ 7-8 ก้าน เชื่อมต่อกันด้วยเยื่อบาง ๆ ครีบหลังตอนที่ 2 แยกจากตอนแรกอย่างเห็นได้ชัด มีก้านครีบแข็ง 1 ก้าน ก้านครีบอ่อนมีปลายแตกแขนงมี 10-11 ก้าน ครีบหูและครีบอกยาว ไม่ถึงรูกัน ครีบกันมีตำแหน่งใกล้เคียงกับครีบหลังตอนที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 3 ก้าน ก้านครีบอ่อน 7-8 ก้าน ข้องหางสั้น ครีบหางค่อนข้างกลมเส้นข้างตัวโค้งไปตามแนวสันหลัง มีเกล็ดบนเส้นข้างตัว 52-61 เกล็ด (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งระยอง, 2558) (ภาพที่ 1.1)



ภาพที่ 1.1 ลักษณะของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

1.2.1.3 การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว

ปลากะพงขาวเป็นปลาที่สังเกตเพศได้ยาก แต่ก็สามารถสังเกตเพศได้จากลักษณะภายนอกของตัวปลา โดยปลาเพศผู้จะมีลักษณะลำตัวยาวเรียกว่าเพศเมีย ลำตัวมีส่วนลึกที่น้อยกว่าปลาเพศเมีย และมีน้ำหนักตัวน้อยกว่าปลาเพศเมียที่มีขนาดลำตัวยาวเท่ากัน ในปลาเพศเมียนั้น เมื่อถึงฤดูวางไข่ในช่วงเดือนพฤษภาคม-กันยายน ส่วนท้องจะอวบอ้วน สังเกตได้ชัดเจน เมื่อเวลาเอามือคลำที่ท้องจะมีไข่ไหลออกมา โดย การรวบรวมลูกพันธุ์ปลาจากแหล่งน้ำธรรมชาตินั้น การรวบรวมลูกปลาในแต่ละครั้งพบว่ามีปัญหาหลาย ๆ ด้าน เช่น ลูกปลาที่รวบรวมได้ในแต่ละครั้งมีจำนวนที่ไม่แน่นอน ปริมาณลูกปลาที่รวบรวมได้มีปริมาณที่ไม่มากพอกับความต้องการเลี้ยง ดังนั้นแหล่งลูกพันธุ์ที่สำคัญได้แก่ พันธุ์ลูกปลาจากโรงเพาะฟักปลากะพงขาวของสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง หรือศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งของกรมประมง หรือโรงเพาะฟักปลากะพงขาวของเอกชน (สถานีวิจัยประมงศรีราชา, 2546)

1) การเลือกสถานที่สร้างบ่อ

การเลี้ยงปลากะพงขาว ผู้เลี้ยงจะต้องพิจารณาถึงสถานที่ในการสร้างบ่อ เพื่อให้ความเหมาะสมกับสภาพของปลาที่เลี้ยง สิ่งสำคัญที่ผู้เลี้ยงควรพิจารณามีดังนี้

1.1) ดิน คุณสมบัติของดินที่เหมาะสมที่จะใช้ในการสร้างบ่อเลี้ยง ควรจะเป็นบ่อดินเหนียวหรือดินเหนียวปนทราย เนื่องจากดินทั้งสองประเภทนี้สามารถกักน้ำได้ตามต้องการ

1.2) แหล่งน้ำ สถานที่ที่ดีและเหมาะสมควรอยู่ใกล้แหล่งน้ำเป็นสำคัญ เพราะในการเลี้ยงปลาจะต้องมีการถ่ายเปลี่ยนน้ำอยู่เสมอ ๆ ต้องมีน้ำใช้ตลอดปี คุณภาพของน้ำจะต้องดี และมีความเหมาะสม

1.3) แหล่งชุมชน สถานที่เลี้ยงปลากะพงขาวที่ดีควรอยู่ใกล้แหล่งชุมชนพอสมควร แต่จะอยู่ห่างไกลจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการปล่อยน้ำเสียลงในแม่น้ำลำคลอง เนื่องจากมลพิษต่าง ๆ มีผลต่อการเลี้ยงปลากะพงขาว (สถานีวิจัยประมงศรีราชา, 2546)



ภาพที่ 1.2 การเลี้ยงปลากะพงขาวในบ่อดิน อ.ยะหริ่ง จ.ปัตตานี



ภาพที่ 1.3 การเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังตามแหล่งน้ำธรรมชาติ อ.เมือง จ.ปัตตานี

1.2.2 งานวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว

สุนิตย์ และ คณະ (2547) ศึกษาการเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารสำเร็จภาพที่มีระดับโปรตีนต่ำ (38.30%) สลับกับอาหารสำเร็จภาพที่มีระดับโปรตีนปกติ (45.48%) เปรียบเทียบกับการให้อาหารสำเร็จภาพที่มีระดับโปรตีนปกติอย่างเดียว และการให้ปลาหลังเขียว โดยปล่อยปลากะพงขาวน้ำหนักเฉลี่ย 115.6 ± 0.1 กรัม ความยาวเฉลี่ย 20.7 ± 1.0 เซนติเมตร ลงเลี้ยงในกระชังลอยขนาด $2 \times 2 \times 2$ ลูกบาศก์เมตร กระชังละ 80 ตัว จำนวน 9 กระชัง แบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ หลังจากทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จภาพที่มีโปรตีนต่ำสลับกับโปรตีนปกติให้ผลกำไรสูงสุด 1,146.23 บาท/กระชัง ในขณะที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จภาพโปรตีนปกติและที่เลี้ยงด้วยปลาหลังเขียวได้กำไร 807.97 และ 684.26 บาท/กระชัง ตามลำดับ ผลการทดลองครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า การเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยวิธีให้อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนต่ำสลับกับโปรตีนปกติมีผลผลิตสูงกว่าการให้อาหารสำเร็จรูปที่มีโปรตีนปกติ

สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร (2557) ศึกษาการเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง ปลากะพงขาวในกระชังเฉลี่ย 1,310 ตัว จำนวนกระชังในการเลี้ยงปลากะพงขาวต่อครั้งเฉลี่ย 9 กระชัง ขนาดกระชังที่ใช้ในการเลี้ยงปลากะพงขาวของเกษตรกร ขนาด $4 \times 5 \times 2.77$ ลูกบาศก์เมตร เฉลี่ย 55.40 ลูกบาศก์เมตร อาหารที่ใช้ในการเลี้ยง ปลากะพงขาวส่วนใหญ่ใช้ปลาเบ็ด ร้อยละ 85.98 รองลงมาใช้อาหารเม็ด ร้อยละ 8.41 และอื่นๆ ร้อยละ 9.35 เกษตรกรใช้ปลาเบ็ดเป็นอาหารในการเลี้ยง เนื่องจากราคาต่ำกว่าอาหารเม็ดและสามารถหาซื้อได้ง่ายในท้องถิ่น ระยะเวลาในการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังของเกษตรกรเฉลี่ย 8.43 เดือน น้ำหนักปลากะพงขาวในกระชังเฉลี่ย 0.9 กิโลกรัมต่อตัว เกษตรกรนิยมเลี้ยงปลาน้ำหนักประมาณ 0.5 - 1.00 กิโลกรัม อัตราการรอดเฉลี่ย ร้อยละ 42.14 เป็นอัตราการรอดต่ำเนื่องจากเกิดภาวะน้ำเสียที่เกิดจากการปล่อยน้ำเสียของโรงงานแหล่งชุมชน และบ่อกักผลผลิตเฉลี่ย 496.55 กิโลกรัมต่อกระชัง

สุจินต์ และ ประชิต (2558) ศึกษาการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังในลอน พบว่าปลากะพงขาวทั้งหมดที่เริ่มทดลอง จำนวน 450 ตัว ตรวจนับครั้งสุดท้ายได้จำนวน 423 ตัว

เหลือรอด 94% ได้ผลผลิตน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นทั้งหมด 542.815 กิโลกรัม และ อัตราการแลกเนื้อ (FCR) 7.22 น้ำหนักปลาจะพวงขาวเริ่มแรกเท่ากับ 200-300 กรัม เลี้ยง 1 ปีได้น้ำหนัก 1.3 - 1.6 กิโลกรัม

1.3 ความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำ

1.3.1 ความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อการเจริญเติบโต

ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียที่เพิ่มขึ้นในน้ำสามารถชักนำภัยอันตรายต่างๆ ให้เกิดต่อสัตว์น้ำได้ เนื่องจากความเป็นพิษของแอมโมเนียจะมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางของสัตว์น้ำ (Ip *et al.*, 2001) นอกจากนี้ แอมโมเนียยังมีผลต่อการแลกเปลี่ยนแก๊สผ่านเหงือก การสูญเสียสมดุล การหดตัวของกล้ามเนื้อ การเสียสมดุลของอออน และเกิดภาวะประสาทตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นไวผิดปกติ (hyperexcitability) ในสัตว์น้ำ (Pan *et al.*, 2001; Roumieh *et al.*, 2013) โดยทั่วไปจะสามารถพบแอมโมเนียในน้ำได้ 2 ภาพแบบ (ionized form, NH_4^+ และ un-ionized form, NH_3) ด้วยเหตุนี้จึงสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของสัตว์น้ำได้อย่างง่ายดายเนื่องจากความสามารถในการละลายในไขมัน และแอมโมเนียในภาพของ NH_3 จะมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำมากกว่า NH_4^+ (Armstrong *et al.*, 2012) ความเป็นพิษของแอมโมเนียส่งผลต่อตัวชี้วัดทางสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ pH ความเค็ม และ ความเข้มข้นของออกซิเจน (Lemarie *et al.*, 2004) โดยทั่วไปแล้วอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะชักนำให้ความเป็นพิษต่อของสัตว์น้ำเพิ่มขึ้นไปด้วย เนื่องจากอัตราการแพร่และปฏิกิริยาเคมีที่เพิ่มขึ้น (Takasusuki *et al.*, 2004)

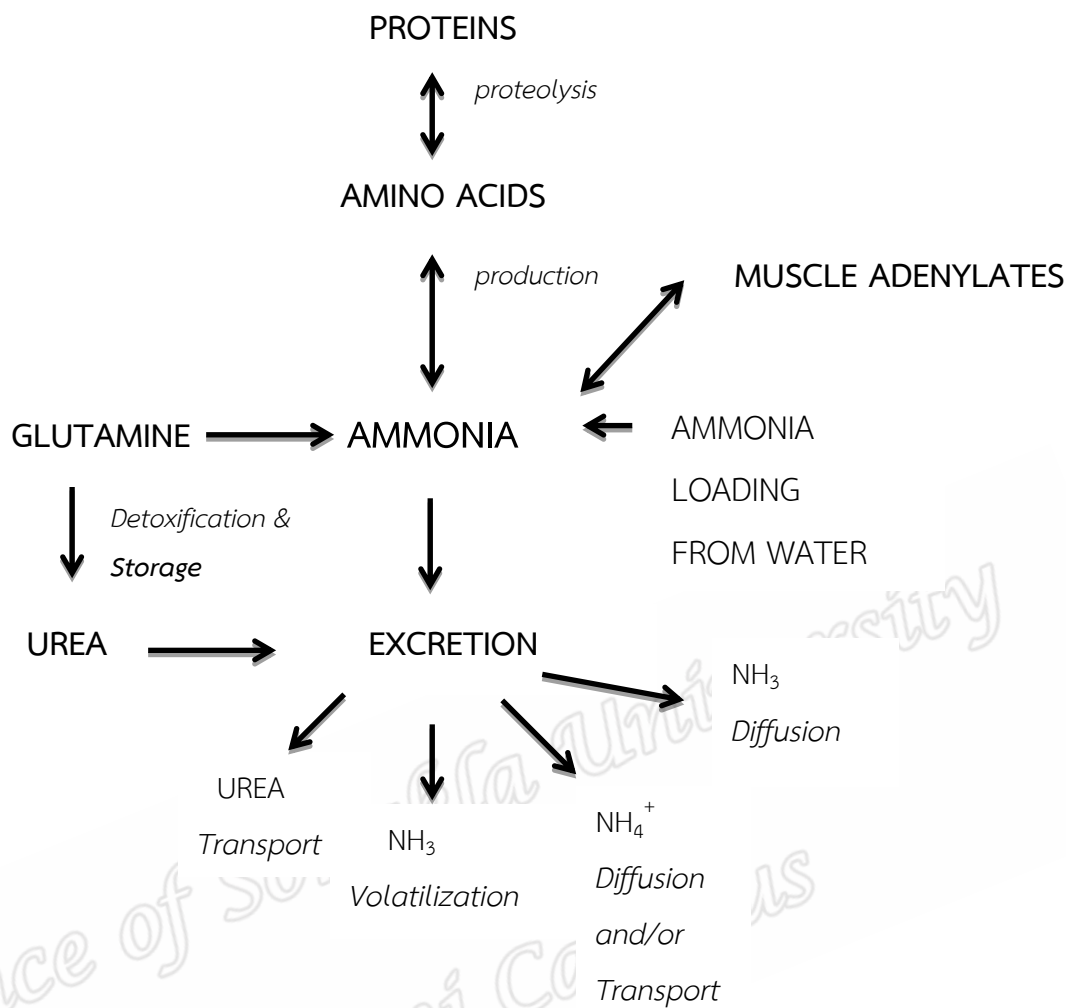
แอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นมีผลเสียอื่นๆ เช่น เซลล์เม็ดเลือดแดงและเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่ผลิตเซลล์เม็ดเลือดแดงถูกทำลาย ลดความสามารถในการลำเลียงออกซิเจนของเลือด เหงือกเสียหาย ทำให้เนื้อเยื่อมีความต้องการออกซิเจนเพิ่มขึ้น (Lawson, 1995) แต่ผลของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำเป็นที่รู้กันว่าทำให้สัตว์น้ำกินอาหารลดลง ลดการเจริญเติบโต หรือลดความสามารถด้านภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ เป็นต้น สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียมีหลายปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนีย เช่น ออกซิเจนละลาย ความเป็นพิษของแอมโมเนียเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณออกซิเจนละลาย

ลดลง เช่น Wajsbrodt *et al.* (1991) พบว่า เมื่อออกซิเจนละลายน้อยกว่า 85% ของจุดอิ่มตัวทำให้ปลากะพงแดง (*Sparus aurata*) มีความไวต่อแอมโมเนียมากขึ้น พิเอชของน้ำมีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียโดยเปลี่ยนสมดุลของแอมโมเนียทั้งสองภาพ เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นทำให้เพิ่มสัดส่วนของแอมโมเนียไม่แตกตัวซึ่งเป็นภาพที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ระดับแอมโมเนียที่ผันแปร ในการเลี้ยงสัตว์น้ำแอมโมเนียผันแปรทุก ๆ ชั่วโมงเนื่อง จากความผันแปรของระดับการขับถ่ายแอมโมเนีย จากการวิจัยพบว่า สัตว์น้ำทนต่อระดับแอมโมเนียที่คงที่ได้ดีกว่าระดับที่ผันแปร จากการศึกษาการเคลื่อนไหว (exercise) ของ Randall and Tsui (2002) พบว่า ปลาที่ว่ายน้ำมีระดับแอมโมเนียในร่างกายสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับขณะพักซึ่งระดับแอมโมเนียที่เพิ่มขึ้นนี้เกิดจากการย่อยสลายของอะดีนิลเลต (adenylate) เป็นอินโนซินโมโนฟอสเฟต (inosinemonophosphate, IMP) และ แอมโมเนียมไอออน NH_4^+ นอกจากนี้ Randall and Tsui (2002) ยังพบว่าภาวะความเครียดทำให้มีสัตว์น้ำสร้างแอมโมเนียเพิ่มขึ้น ซึ่งภาวะเครียดนี้อาจเกิดจากมีสัตว์น้ำหนาแน่นเกินไป ปลาที่เครียดไวต่อแอมโมเนียในน้ำมากกว่าปลาที่ไม่เครียด นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ อีกหลายประการที่มีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำ เช่น การให้อาหาร ระยะและขนาดของสัตว์น้ำ และความคุ้นเคย (acclimation) เป็นต้น ขณะเดียวกัน MacIntyre *et al.* (2008) ได้รายงานว่าการลดภัยของแอมโมเนียต่อปลาส่วนมากได้จากการทดลองกับปลาเทราห์หรือปลาแซลมอน นอกจากนั้นปลาในเขตอบอุ่นทนทานต่อแอมโมเนียสูงกว่าปลาในเขตอบอุ่น และปลาน้ำจืดทนทานต่อแอมโมเนียสูงกว่าปลาทะเล ข้อมูลเกี่ยวกับผลของแอมโมเนียต่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังมีจำกัดมาก ๆ เดิมนั้นเกณฑ์หรือค่ามาตรฐานของแอมโมเนียต่อปลาแสดงเป็น mg-NH_3 ต่อมาองค์การด้านสิ่งแวดล้อมของอเมริกา (U.S.EPA) อ้างตาม IP *et al.* (2001) แนะนำให้ใช้ความเข้มข้นแอมโมเนียรวมเป็น mg-N/l แสดงความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำ เพราะจากการวิเคราะห์ข้อมูลความเป็นพิษของแอมโมเนียรวมต่อสัตว์น้ำชี้ว่าความเป็นพิษแอมโมเนียรวมไม่เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ และผลการวัดแอมโมเนียที่วัดได้เป็นแอมโมเนียรวม แต่การวัดพีเอชของน้ำก็ยังจำเป็นอยู่เพราะพีเอชเป็นตัวกำหนดความเป็นพิษของแอมโมเนียที่สำคัญ จากรายงานพบว่า เกณฑ์และค่ามาตรฐานความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำสามารถใช้ค่าแอมโมเนียทั้งในภาพแอมโมเนียรวมและแอมโมเนียอิสระ MacIntyre *et al.* (2008) ได้แนะนำค่าความเข้มข้น

ที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำที่มีแอมโมเนียรวม และแอมโมเนียอิสระ (NH_3) ไว้ไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ

Wajsbrodt *et al.* (1991) รายงานว่าค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมและแอมโมเนียอิสระ ($\text{NH}_3\text{-N}$) ที่ปลอดภัยสำหรับปลากระพงแดง (*Sparus aurata*) ไม่เกิน 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 0.064 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ Frances *et al.* (2000) ได้กำหนดค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ปลอดภัยของปลาซิลเวอร์เพิร์ช (*Bidyanus bidyanus*) ในภาพของแอมโมเนียอิสระ เป็น 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับในปลาทะเลมีข้อมูลเกี่ยวกับความเป็นพิษของแอมโมเนียน้อยมาก (Rodrigues *et al.*, 2007)

การเพิ่มระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียในสิ่งแวดล้อมมีผลทำให้เกิดการขับถ่ายน้อยลง ผลสุดท้ายทำให้ระดับแอมโมเนียในร่างกายเพิ่มขึ้นทำให้ปลาเกิดอาการชักกระตุกและตาย นอกจากนี้ในปลาหลายชนิดมีกระบวนการการขับแอมโมเนียออกจากร่างกาย แอมโมเนียเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายจากโปรตีนที่ย่อยสลายเป็นกรดอะมิโน และแอมโมเนียสามารถเปลี่ยนสภาพกลายเป็นกลูตามีนแล้วเกิดกระบวนการขับสารพิษออกจากร่างกายผ่านการเก็บอยู่ในภาพของยูเรีย นอกจากนี้การขับถ่ายแอมโมเนียเกิดขึ้นได้หลายภาพแบบ หนึ่งในนั้นก็คือขับออกมาอยู่ในภาพ ยูเรีย การระเหยภาพในภาพ NH_3 หรือ เกิดการแพร่อยู่ในภาพของ NH_4^+ และการแพร่ของ NH_3 กระบวนการรักษาสมดุลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียได้อธิบาย ภาพที่ 1.4



ภาพที่ 1.4 กระบวนการการรักษาสมดุลของปลาเพื่อขับแอมโมเนียออกจากร่างกาย
(Randall, D.J. *et al.*, 2002)

โสมลดา (2547) ศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อลูกปลากะพงขาวขนาด 3.7 นิ้วโดยทดลองในน้ำนิ่ง ในเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ในห้องที่ไม่ได้ควบคุมอุณหภูมิ เมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมโปรบิท พบว่า ค่า LC_{50} ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงในภาพของอันอออนไนซ์แอมโมเนียอิสระ เป็น 1.28, 1.14, 0.96 และ 0.78 ppm ตามลำดับ ที่ความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) โดยมีค่าความเข้มข้นที่ปลอดภัย ไม่เกิน 0.064, 0.057, 0.048 และ 0.039 ppm ตามลำดับ

Rodrigues *et al.* (2007) ศึกษาพิษเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อปลาช่อนทะเลระยะจูวีไนล์ พบว่า ค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย 1.13 มิลลิกรัมต่อลิตร (NH_3-N) เมื่อ

คูณด้วยค่าแฟคเตอร์ 0.05 จะได้เป็นค่าที่ปลอดภัยต่อปลาช่อนทะเลซึ่งเท่ากับ 0.057 มิลลิกรัมต่อลิตร จากข้อมูลเหล่านี้จะเห็นได้ว่า ค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำเมื่อวัดเป็นแอมโมเนียทั้งหมด และแอมโมเนียอิสระ อยู่ระหว่าง 1.0-1.2 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 0.05-0.06 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ

จากรายงานที่ผ่านมาได้มีการศึกษาผลของแอมโมเนียต่อการเจริญเติบโต เมแทบอลิซึม และการกินอาหารของกลุ่มปลาหลากหลายชนิด (ดังแสดงในตารางที่ 1.1)

ตารางที่ 1.1 ผลของแอมโมเนียต่อการเจริญเติบโต เมแทบอลิซึม และการกินอาหารของกลุ่มปลาชนิดต่าง ๆ

ชนิดของปลา	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	ผลการทดลอง	อ้างอิง
Atlantic cod, <i>Gadus morhua</i>	0.06	ทำให้การเจริญเติบโตลดลง	Foss <i>et al.</i> (2004)
spotted wolffish	0.13	ทำให้การเจริญเติบโตลดลง	Foss <i>et al.</i> , (2003)
silver perch, <i>Bidyanus bidyanus</i>	0.36	ทำให้การเจริญเติบโตลดลง	Frances <i>et al.</i> , (2000)
Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	0.26	ทำให้การเจริญเติบโตลดลง	El-Shafai <i>et al.</i> , (2004)
African catfish (<i>Clarias gariepinus</i>)	0.34	ทำให้การเจริญเติบโตและการ กินอาหารลดลง	Schram <i>et al.</i> , (2010)
gold fish (<i>Carassius auratus L.</i>)	1	ทำให้อัตราการหายใจลดลง	Sinha <i>et al.</i> , (2012)

1.3.2 พิษของแอมโมเนียต่อเมแทบอลิซึมและออสโมเรกูเลชัน

กระบวนการเมแทบอลิซึมหมายถึง กระบวนการสร้างและสลายหรือ เป็นกลุ่มปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในเซลล์สิ่งมีชีวิตเพื่อค้ำจุนชีวิต กระบวนการเหล่านี้ทำให้สิ่งมีชีวิตเจริญเติบโตและเจริญพันธุ์ คงไว้ซึ่งโครงสร้าง และสนองต่อสิ่งแวดล้อม เช่น กระบวนการหายใจ กระบวนการขับแอมโมเนีย กระบวนการย่อยสลายสารอาหาร เป็นต้น เอนไซม์มีความสำคัญต่อเมแทบอลิซึมเพราะเอนไซม์กระตุ้นปฏิกิริยาเคมีที่ต้องอาศัยพลังงานและเกิดขึ้นเองไม่ได้ในสิ่งมีชีวิต

ความเป็นพิษของแอมโมเนียอยู่ในภาพแอมโมเนียอิสระ (NH_3) ที่สามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเหงือกได้ เนื่องจากไม่มีประจุ และสามารถละลายในไขมัน ปลาจะสามารถขับแอมโมเนียในภาพของ NH_3 ออกสู่น้ำได้โดยผ่านทางเยื่อหุ้มเหงือก ซึ่งอาศัยการแพร่ตามความแตกต่างของความเข้มข้น (Nawata *et al.*, 2007)

อย่างไรก็ตามปริมาณของแอมโมเนียในสิ่งแวดล้อมที่สูงนั้นเป็นตัวทำให้การขับแอมโมเนียผ่านทางเหงือกลดลง ในทางกลับกันแอมโมเนียสามารถแพร่เข้ามาสู่ในร่างกายได้ มีผลทำให้ระดับแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งมีผลกระทบต่อความเป็นพิษในปลาทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง (Lemarie *et al.*, 2004) และ Pinto *et al.* (2007) ได้รายงานว่าแอมโมเนียมีผลทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตที่ลดลง Benli *et al.* (2008) กล่าวว่ามีการศึกษาอย่างแพร่หลายเกี่ยวกับพิษของแอมโมเนียทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรังจากปลาสายพันธุ์ต่าง ๆ และพบว่า การสะสมของแอมโมเนียในพลาสมามีส่วนเกี่ยวข้องที่ทำให้ความเร็วในการว่ายน้ำของปลากลุ่ม salmonids นั้นลดลง Wicks *et al.* (2002) และ Beaumont *et al.* (2000) รายงานว่า เมื่อระดับของ NH_4^+ เพิ่มขึ้นจะทำให้กระบวนการเผาผลาญในปลาเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งมีผลมาจากอิทธิพลของวิถีเมแทบอลิซึม (metabolic pathways) ที่ทำให้กล้ามเนื้อที่ยังเจริญไม่เต็มที่เกิดความอ่อนล้า Sinha *et al.* (2012) พบว่าสภาวะที่มีปริมาณของแอมโมเนียในสิ่งแวดล้อมสูงพบว่าระดับแอมโมเนียทั้งในพลาสมาและกล้ามเนื้อ จะทำให้มีการสะสมแลคเตตในเลือดเพิ่มสูงขึ้นนอกจากนี้ Sinha *et al.* (2015) รายงานว่า ปลากระพงขาว ที่เลี้ยงในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเค็ม 32 พีพีที ทำให้อัตราการขับแอมโมเนีย การทำงานของ Na^+/K^+ -ATPase ที่เหงือก

และ ความเข้มข้นของ Na^+ ในพลาสมาเพิ่มขึ้น ส่วนความเข้มข้นของ Cl^- และ K^+ ในพลาสมา ไม่มีการเปลี่ยนแปลง สำหรับความเค็มที่ 2.5 พีพีที ทำให้เกิดการยับยั้งการขับแอมโมเนียและ ค่าของออสโมลาลิตีในเลือดลดลง Sinha *et al.* (2014) พบว่าในช่วงที่ได้รับแอมโมเนียและความเครียดจากความเค็มที่เปลี่ยนไป ทำให้เกิดเมแทบอลิซึมอยู่ในภาพของการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น อาจเกี่ยวข้องกับความต้องการพลังงานเพื่อควบคุมระดับไอออนและ สำหรับการขับ NH_4^+ ในกรณีที่ปลาอยู่ในสภาพที่มีแอมโมเนีย และที่มีความเค็มที่ลดลง แต่สาเหตุที่แท้จริงสำหรับการเปลี่ยนเป็นการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนนั้นยังไม่แน่ชัดและ อาจจะเป็นไปได้ว่าปลาที่รับแอมโมเนียเป็นเวลานานรวมถึงความเครียดจากความเค็มที่ทำให้การละลายออกซิเจนในน้ำต่ำลงทั้งสองสภาพแวดล้อมดังกล่าวเป็นสาเหตุให้เหงือกของปลาถูกทำลาย นอกจากนี้ Zimmer *et al.* (2010) รายงานว่าการดูดซึม Na^+ ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับการขับถ่ายแอมโมเนียหลังกินอาหาร ในปลาเทราท์ระยะจูวีไนล์ ในขณะที่ Kumai and Perry (2011) และ Lin *et al.* (2012) รายงานถึงภาวะที่มีพีเอชต่ำอย่างเรื้อรัง เป็นสาเหตุทำให้มีระดับ Na^+ และการขับถ่ายแอมโมเนียที่เพิ่มขึ้น ในปลาฆ่าตาย และ ปลาชีว

ข่าวสาร

1.4 วัตถุประสงค์

ศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียต่อ การเจริญเติบโต ออสโมเรกูเลชัน เมแทบอลิซึม และ อัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

- 1) ศึกษาความเข้มข้นของแอมโมเนีย ใช้ปลากะพงขาวจากบ้านดาโต๊ะ อำเภอยะหริ่ง จังหวัดปัตตานี ขนาดปลากะพงขาว ประมาณ 10.16 ± 0.5 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 24 ± 0.5 กรัมเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิห้อง ความเค็ม 34 พีพีที แล้วหาค่า Lethal concentration (LC_{50}) ที่เวลา 96 ชั่วโมง
- 2) ศึกษาการเจริญเติบโตโดยการวัดความกว้าง ความยาว น้ำหนัก และ อัตราการกินอาหาร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์
- 3) ศึกษาเมแทบอลิซึมโดยการวัดปริมาณบริโภคออกซิเจน (Oxygen consumption) อัตราการขับแอมโมเนีย วัดปริมาณกลูโคสในเลือด

- 4) ศึกษาออสโมเรกูเลชันโดยการวัด ออสโมลาลิตีในเลือดเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์และ อัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาวเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

- 1) ทราบถึงความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต เมแทบอลิซึม ออสโมเรกูเลชัน และ อัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว
- 2) ทราบถึงการตอบสนองและพฤติกรรมของปลากะพงขาว เมื่ออยู่ในสารละลายแอมโมเนีย
- 3) เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประเมินความเสี่ยงต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียในสัตว์น้ำ เพื่อใช้ในการป้องกันและแก้ไข ตลอดจนกำหนดมาตรฐานของน้ำในสิ่งแวดล้อม ตลอดจนระดับของสารมลพิษที่เป็นภัยต่อสัตว์น้ำที่ประชาชนบริโภค
- 4) เพื่อนำผลที่ได้จากการทดลองไปเผยแพร่แก่ผู้เลี้ยงเพื่อให้ผู้เลี้ยงนำไปปรับใช้ในการเลี้ยง ปลากะพงขาวเพื่อให้เพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและพัฒนาการของปลากะพงขาว

Prince of Songkla University
Pattani Campus

บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

รายการ	ยี่ห้อ
2.1.1 วัสดุ	
ปลากะพงขาว (<i>Lates calcarifer</i>) ได้ความอนุเคราะห์จากเกษตรกร จังหวัดปัตตานี	
2.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	
ดิจิตอลเวอร์เนีย DC-515	Lutron, Taiwan
ไมโครปิเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร	Thermo scientific, India
ไมโครไซริงก์ ขนาด 10 ไมโครลิตร	Hamilton Bonaduz AG, Switzerland
กระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร	Yamaguchi, Japan
ขวดไวแอลขนาด 20 มิลลิลิตร	Nipro, Thailand
เข็มฉีดยา 1 มิลลิเมตร	Yamaguchi, Japan
เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง	Mettler Toledo, Thailand
ตู้กระจกขนาด 30x40x22 ลูกบาศก์เซนติเมตร	ชลเจริญกระจกอลูมิเนียม, ไทย
สวิงตักปลา	-
กระดาษฟอยล์	ยูนิฟอยด์, ไทย
อาหารเม็ดสำหรับปลากะพงขาว	เอเซีย ฟีด จำกัด
เครื่องแก้ว	Fluka, Thailand
Capillary tube ขนาด 0.1 x 7.5 ซม. ²	Hirschmann Laborgerate, Germany
ซีฟิ่งสำหรับดูดหลอดแคปิลลารี	Hirschmann Laborgerate, Germany
เครื่องปั่นเหวี่ยงไมโครฮีมาโตคริต	NUVE, Turkey
เครื่องอ่านไมโครฮีมาโตคริต	NUVE, Turkey

2.1.3 สารเคมี

แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	Ajax Finechem, New Zealand
Alkali-iodide-azide reagent	Ajax Finechem, New Zealand
กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)	Merck, Germany
น้ำแป้ง	
โซเดียมไทโอซัลเฟต ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)	Ajax Finechem, New Zealand
กรดไนตริก (HNO_3)	Becthai Bangkok Equipment & Chemical, Thailand
โซเดียมซาลิไซเลต ($\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{COONa}$)	Ajax Finechem, New Zealand
โซเดียมซิติเรท ($\text{HOC}(\text{COONa})(\text{CH}_2\text{COONa})_2$)	Ajax Finechem, New Zealand
โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl)	Ajax Finechem, New Zealand
แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)	Merck, Germany
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	Merck, Germany
โพแทสเซียมเพอร์โรไซยาไนด์ ($\text{K}_4\text{F}_6(\text{CN})_6$)	M & B, Germany
Glucose oxidase kit (Sigma kit 510-A)	Sigma-aldrich, Thailand

2.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

2.2.1 การเก็บตัวอย่างข้อมูลการเพาะเลี้ยงปลากระพงขาวในจังหวัดปัตตานี

เก็บข้อมูลคุณภาพของน้ำบริเวณแหล่งเลี้ยงปลากระพง อำเภอยะหริ่ง จังหวัดปัตตานีทุก ๆ เดือน ช่วงเวลา 10.00 - 11.00 น. ข้อมูลที่เก็บประกอบไปด้วยข้อมูลพื้นฐานทั่วไปของผู้ประกอบอาชีพเลี้ยงปลากระพงขาวและคุณภาพน้ำโดยทั่วไป ได้แก่ ความเป็นกรดเบส (pH), ความเค็ม, อุณหภูมิ, ความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำ และ ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) เป็นต้น เก็บข้อมูลด้านการเลี้ยงปลากระพงขาวเช่น ความหนาแน่นของปลากระพงขาว อาหารที่ใช้เลี้ยงปลากระพงขาว ผลผลิตที่ได้จากการเลี้ยง อัตราการอยู่รอด การเจริญเติบโตรวมทั้งระยะเวลาในการเลี้ยงก่อนนำไปจำหน่าย

2.2.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำในการเลี้ยงปลาในห้องปฏิบัติการ

น้ำที่ใช้ในการเลี้ยง เป็นน้ำทะเล บ่อที่ใช้เลี้ยงเป็นบ่อซีเมนต์ขนาด 5×5×3 ลูกบาศก์เมตร พักสัตว์ทดลองหลังการเคลื่อนย้ายจากฟาร์มมาอยู่ในน้ำความเค็ม 34±1 พีพีที ที่เตรียมไว้ 2 วัน เพื่อให้ปลากะพงขาวปรับตัว และคุ้นเคยกับสภาพในห้องทดลอง ตัวอย่างปลามาจากศูนย์เพาะฝักปลากะพงขาว จากบ้านดา โต้ะ อำเภอยะหริ่ง จังหวัด ปัตตานี ความยาวทั้งหมด (Total length) ประมาณ 10.16 ±0.5 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยระหว่าง 24 ±0.5 กรัม จำนวน 540 ตัว การให้อาหารวันละ 1 ครั้ง ซึ่งเป็นอาหารเม็ด (0.0966 กรัมต่อเม็ด) (ภาพที่ 2.1) อัตราการให้อาหาร 10 % ของน้ำหนักตัว (432 กรัมต่อวัน) ให้อากาศอย่างดีประกอบด้วยเครื่องปั๊มต่อเข้ากับหินทราย 4 ตัวตามมุมบ่อ โดยมีอัตราการไหลมีความเร็วขนาด 13 เซนติเมตร/วินาที ค่า pH ของน้ำประมาณ 7 ±1 อุณหภูมิประมาณ 28±1 องศาเซลเซียส ศึกษาการเจริญเติบโต เมแทบอลิซึม ออสโมลาลิตี และอัตราการอยู่รอดทุกสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ก่อนทำการทดลองให้ปลาดอาหารเป็นระยะเวลา 1 วัน เพื่อไม่ให้ปลากะพงขาวมีการขับถ่ายระหว่างการทดลองและไม่มีปัจจัยทางด้านอาหารมาเกี่ยวข้อง หลังจากนั้นย้ายปลาไปยังบ่อทดลอง 4 บ่อ ๆ ละ 135 ตัว แต่ละบ่อมีแอมโมเนียความเข้มข้น 0, 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ 2.1 อาหารเม็ดสำหรับปลากะพงขาวจากบริษัท เอเชียน ฟีด จำกัด

คุณภาพของน้ำบริเวณแหล่งศึกษาจัดเป็นน้ำที่มีคุณภาพดี มีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำประมาณ 6 ค่าความเป็นกรดเบส ประมาณ 7 ความเค็มน้ำทะเล 33 พีพีที อุณหภูมิประมาณ 28 องศาเซลเซียส วัดตั้งแต่เดือน พฤศจิกายน-ธันวาคม (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 คุณภาพน้ำของปลาบริเวณแหล่งศึกษา

ตัวแปรที่วัด	สถานที่	ออกซิเจนในน้ำ (มก.ต่อลิตร)	พีเอช	ความเค็ม (พีพีที)	อุณหภูมิ (°C)
ปัตตานี, อำเภอยะหริ่ง		6.57±0.03	6.9±0.07	32.7±0.4	28.5±0.4

2.2.3 การนำปลาไปอยู่ในสารละลายแอมโมเนีย

สารละลายแอมโมเนียที่ใช้คือ แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ในการทดลองเบื้องต้น นำปลาไปหาความทนทานแอมโมเนีย (ค่า Lethal concentration, LC_{50}) ที่เวลา 96 ชั่วโมง ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่า ค่า LC_{50} ของปลากะพงขาวที่มีต่อสารละลายแอมโมเนีย เท่ากับ 2.45 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อทดสอบผลของแอมโมเนียในน้ำต่อปลากะพงขาว กำหนดความเข้มข้นของแอมโมเนียเป็น 3 ความเข้มข้นโดยเจือจางสารละลายแอมโมเนีย เป็น 10 เท่า (Chen *et al.*, 2009) ได้ความเข้มข้นของแอมโมเนียในการทดลองคือ 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเตรียมได้จากสารละลายตั้งต้นความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ น้ำปราศจากไอออน (DI) เป็นตัวทำละลาย เป็นสารละลายตั้งต้น จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1, C_2 =$ ความเข้มข้นของสารละลายก่อนและหลังเติมน้ำ

$V_1, V_2 =$ ปริมาตรของสารละลาย ก่อนเติมน้ำ และหลังเติมน้ำ (cm^3)

เก็บตัวอย่างน้ำที่ใช้ทำการทดสอบปลากะพงขาวก่อนและหลังทดลองเพื่อนำไปหาความเข้มข้นของแอมโมเนียจากเครื่อง AAS (Frame Atomic Absorption Spectrophotometer) เพื่อทดสอบความถูกต้อง

2.2.4 อัตราการเจริญเติบโต (Growth rate)

ในการทดลองใช้ปลากะพงขาวระยะวัยรุ่นขนาดประมาณ 10.16 เซนติเมตร ใส่ในสารละลายแอมโมเนีย ที่ระดับความเข้มข้นที่กำหนด ความเข้มข้นละ 10 ตัว ทำ 3 ซ้ำ โดยใส่สัตว์ทดลองในบ่อพลาสติกปริมาตร 50 ลิตรและใส่สารละลายแอมโมเนียลงไปปริมาตร 200 มิลลิลิตร เปลี่ยนน้ำทุก ๆ 3 วัน โดยใช้หลอดหยดดูดมูลและดูดสารละลายแอมโมเนียออก จากนั้นเติมสารละลายแอมโมเนียลงไปให้มีปริมาตรเท่าเดิม วิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตโดยการชั่งน้ำหนักปลากะพงขาวและวัดขนาดปลากะพงขาว 8 สัปดาห์ วัดขนาดของปลากะพงขาว โดยใช้เวอร์เนียมิเตอร์ (Salazar *et al.*, 2006) (ภาพที่ 2.2 และ 2.3) การคำนวณอัตราการเจริญเติบโตโดยใช้สูตร (Azaza, 2008) ดังนี้

2.2.4.1 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (Average growth rate, AGR)

$$AGR = \frac{(W_1 - W_0) + (W_2 - W_1)}{N} \quad (\%/วัน)$$

AGR = อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (%/วัน)

W_0 = น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)

W_1 = น้ำหนักสัปดาห์ที่ 1 (กรัม)

W_2 = น้ำหนักสัปดาห์ที่ 2 (กรัม)

N = จำนวนวัน

2.2.4.2 อัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate, SGR)

$$SGR = (\ln(W_t) - \ln(W_0)) \times \frac{100}{t} \quad (\%/วัน)$$

SGR = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/วัน)

W_t = น้ำหนักปลาสุดท้าย (กรัม)

W_0 = น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม)

t = เวลาทั้งหมดของการทำทดลอง (ชั่วโมง)

2.2.4.3 ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลา (condition factor, K)

นำตัวอย่างปลามาชั่งและวัดความยาวเพื่อคำนวณค่า K ตามวิธีการของ Swingle and Shell, (1971) โดยใช้สูตร

$$K = 100 W/L^3$$

K = ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลา

โดยที่ W = น้ำหนักตัวปลา (กรัม)

L = ความยาวตัวปลา (เซนติเมตร)

100 = ค่าคงที่เพื่อใช้ปรับให้ได้ค่าเป็นเลขจำนวนเต็ม 1 หลัก

2.2.4.4 อัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR) คำนวณใช้สูตรดังนี้

$$FCR = \frac{TFI}{(W_t - W_0)}$$

FCR = อัตราการแลกเนื้อ

TFI = อาหารปลาที่กิน (กรัม/ปลา)

W_t = น้ำหนักปลาแต่ละตัวที่วันสุดท้าย

W_0 = น้ำหนักปลาแต่ละตัวที่เริ่มต้น



ภาพที่ 2.2 การชั่งน้ำหนักสำหรับปลากะพงขาว



ภาพที่ 2.3 การวัดขนาดของปลากะพงขาว โดยใช้เวอร์เนียมิเตอร์

2.2.5 การทดลอง : ผลของแอมโมเนียต่อเมแทบอลิซึม

2.2.5.1 การวัดอัตราการหายใจ (oxygen consumption rate, OCR)

ก่อนวัดอัตราการหายใจให้ปลาอดอาหารก่อน 1 วัน สุ่มตัวอย่าง 10 ตัวแต่ละตัวใส่ลงในท่อ PVC ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร ท่อวัดอัตราการหายใจเป็นท่อปลายเปิดแต่มีฝาปิด 2 ด้าน (ภาพที่ 2.4) โดยแต่ละด้านจะต่อกับสายยางที่มีการป้องกันไม่ให้น้ำและอากาศซึมออก สายยางด้านหนึ่งจะปล่อยให้ น้ำไหลผ่าน และอีกด้านจะต่อเข้ากับเครื่องปั้มน้ำ ก่อนการทดลองให้ปลาอยู่ในท่อวัดอัตราการหายใจที่ปิดฝาทั้งสองด้านและเปิดเครื่องปั้มน้ำ 30 นาที เพื่อให้ปลาปรับสภาพ และมีน้ำไหลเวียนเข้าไปในท่อหลังจากนั้น ปลาจะอยู่ในระบบปิด 1 ชั่วโมง อัตราการหายใจวัดจากออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ที่หายไปก่อนปิดและหลังปิดฝาในเวลา 1 ชั่วโมง และทำการทดลองชุดควบคุมอีก 1 ชุดที่ปราศจากปลาในท่อวัดอัตราการหายใจ เพื่อให้แน่ใจว่าออกซิเจนที่หายไปมาจากปลาอย่างเดียว



ภาพที่ 2.4 วิธีการวัดอัตราการหายใจ

การวัดอัตราการหายใจดัดแปลงมาจากวิธีวิเคราะห์โดยวิธี Azide Modification of indometric method หรือ Winker (APHA et al., 1985) โดยมีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

1) เก็บตัวอย่างน้ำด้วยขวดบีโอดี (ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ) เติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4$) และสารละลายอัลคาไลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อย่างละ 1 มิลลิลิตร โดยให้ละลายไปเป็ดจุ่มใต้ผิวน้ำตัวอย่าง ปิดจุกขวดโดยไม่ให้มีฟองอากาศเหลืออยู่ที่คอขวดบีโอดี เขย่าขวดขึ้นลงประมาณ 15 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณครึ่งขวด

2) เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงไป 1 มิลลิลิตร ปิดจุกขวดบีโอดี แล้วเขย่าขวดบีโอดีโดยคว่ำขวดขึ้นลงจนกระทั่งตะกอนละลายหมด

3) นำสารละลายจากข้อ 2 มา 200 มิลลิลิตร แล้วมาไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮโอซัลเฟต จนสารละลายมีสีเหลืองอ่อนเติมน้ำแบ่ง 2-3 หยด (สีสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน) แล้วไตเตรทต่อจนสารละลายกลายเป็นสีขาวใส (ทิ้งให้สารละลายมีสีขาวใสอย่างน้อย 20 วินาที) บันทึกปริมาตร (มิลลิลิตร) ของสารละลาย

มาตรฐานโซเดียมไฮโอซัลเฟตที่ใช้ไป (มิลลิลิตร) ซึ่งเท่ากับปริมาณ มิลลิกรัมต่อลิตรของแก๊สออกเจน (ภาพที่ 2.5)



ภาพที่ 2.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์โดยวิธี Azide Modification of indometric method (APHA *et al.* 1985)

แล้วนำมาวิเคราะห์อัตราการหายใจจาก วิธีของ Chen *et al.* (2009) ดังนี้

$$\text{OCR} = \frac{[(DO_0 - DO_t)V]}{t} \quad (\text{มิลลิกรัมต่อชั่วโมง})$$

โดย

OCR หมายถึง อัตราการหายใจ (มิลลิกรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง)

DO_0 = DO ของน้ำเริ่มการทดสอบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

DO_t = DO ของน้ำหลังการทดสอบในเวลา 1 ชั่วโมง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตรของท่อวัดอัตราการหายใจ (ลิตร)

t = ระยะเวลาที่ปลาอยู่ในท่อวัดอัตราการหายใจระบบปิด (1 ชั่วโมง)

2.2.5.2 อัตราการขับแอมโมเนีย (Ammonia excretion rate, (AER))

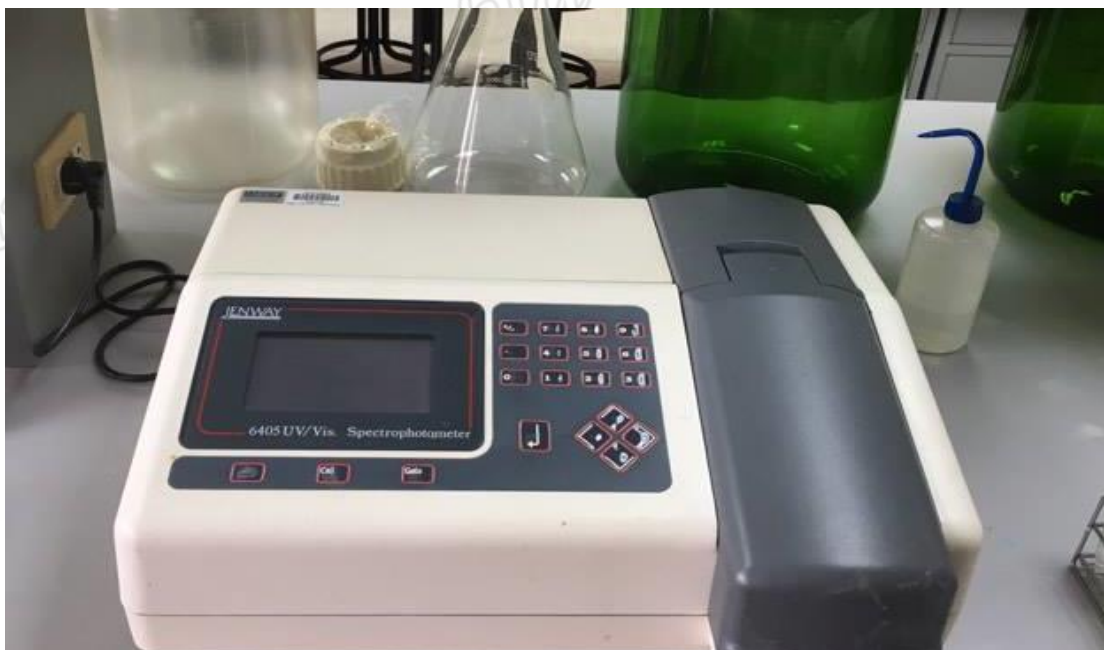
การวิเคราะห์อัตราการขับแอมโมเนียทดลองควบคุมกับวิเคราะห์อัตราการหายใจ โดยเก็บตัวอย่างน้ำในขวดปริมาณ 120 มิลลิลิตร เพื่อวัดอัตราการขับแอมโมเนีย ตามวิธี Salicylate method (Verdouw *et al.*, 1978) สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ประกอบไปด้วย 1) 40 % Sodium salicylate 2) 2 % $K_4Fe(CN)_6$ + 10 % Sodium citrate 3) 1.93 % Hypochlorite solution 4) แอมโมเนียมาตรฐาน 1.65 g dH_2O วิธีการทดลองมีดังนี้

- 1) นำน้ำตัวอย่าง 7 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ให้ได้มากกว่า 10.4
- 2) เตรียมสารละลายแอมโมเนียมาตรฐานความเข้มข้น 25, 50, 75, 100, 125 และ 150 ไมโครกรัมต่อลิตร ในแต่ละความเข้มข้น นำมา 3.5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นอีก 3.5 มิลลิลิตร
- 3) blank ใช้ น้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร
- 4) เติม 1 มิลลิลิตร 40 เปอร์เซ็นต์ Sodium salicylate, 0.4 มิลลิลิตร 1.93 เปอร์เซ็นต์ Sodium hypochlorite และ 1 มิลลิลิตร 2 % $K_4Fe(CN)_6$ + 10 % Sodium citrate ลงไปในน้ำตัวอย่างรวมทั้งสารละลายมาตรฐาน
- 5) เขย่าหลอดให้สารรวมเป็นเนื้อเดียวกัน และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที นำตัวอย่างไปวัดความยาวคลื่น ด้วยเครื่อง spectrophotometer ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (ภาพที่ 2.6) แล้วคำนวณแอมโมเนีย โดยเทียบกับค่ามาตรฐาน นำค่าแอมโมเนียในน้ำ ก่อนปิด

และหลังปิดเครื่องวัดอัตราการหายใจมาวิเคราะห์อัตราการขับแอมโมเนีย ตามวิธีของ Chen *et al.* (2009)

$$\text{AER} = \frac{[(N_t - N_0)V]}{t} \text{ (ไมโครโมลต่อชั่วโมง)}$$

โดย AER = อัตราการขับแอมโมเนีย (ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมต่อชั่วโมง)
 N_t และ N_0 = ความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำ (ไมโครโมล/ลิตร) ก่อนปิด
 และหลังปิดท่อวัดอัตราการหายใจในเวลา 1 ชั่วโมง
 V = ปริมาตรของท่อวัดอัตราการหายใจ (ลิตร)
 t = ระยะเวลาที่ปลาอยู่ในท่อวัดอัตราการหายใจระบบปิด (1 ชั่วโมง)



ภาพที่ 2.6 เครื่อง spectrophotometer เพื่อนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

2.2.5.3 วัด ฮีมาโตคริต (haematocrit)

- 1) ใช้หลอดฉีดยาขนาด 25 G ที่ฉาบด้วยเฮปารินสำหรับดูดเลือดจาก
 เหยือกปลาฉีดเข้าไปในหลอดคะปิลลารี (Capillary) ให้ได้ปริมาณเลือดประมาณ
 2/3-3/4 ของความยาว Capillary tube หรือประมาณ 50 μ l
- 2) ปิดปลายข้างหนึ่งด้วยขี้ผึ้งสำหรับอุดหลอดแคปปีลารี ระวังอย่าให้
 ผิวหน้าขี้ผึ้งเอียง
- 3) นำไปปั่นโดยใช้เครื่องปั่นไมโครฮีมาโตคริต ที่ความเร็ว 11,500-15,000
 รอบ/นาที นาน 5 นาที (ภาพที่ 2.7)
- 4) นำไปอ่านค่าด้วยเครื่องอ่านฮีมาโตคริต โดยให้รอยต่อระหว่างขี้ผึ้งและ
 เลือดเป็นตำแหน่งศูนย์ 0 และให้ปริมาตรเลือด ทั้งหมดเป็น 100% อ่าน
 ผลจุดตัดระหว่างชั้นเม็ดเลือดขาวกับเกล็ดเลือด (Buffy coat)
 ถ้าไม่มีเครื่องอ่าน สามารถวัดใช้ไม้บรรทัดแล้วคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (\%)} = \frac{\text{ความสูงของชั้นเม็ดเลือด (มม.)} \times 100}{\text{ความสูงของหลอดคะปิลลารี (มม.)}}$$



ภาพที่ 2.7 เครื่องปั่นไมโครฮีมาโตคริต

2.2.5.4 วัดปริมาณกลูโคสในเลือด (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)

การวัดปริมาณกลูโคสในเลือดโดยใช้วิธี Glucose oxidase method (Sigma kit 510-A)

- 1) ใส่เลือด 100 μ l ลงใน microfuge tube และใส่น้ำ Deionized water (DI) 900 μ l
- 2) ตูดสารละลายจากข้อ (1) 5 μ l ลงใน micro-cuvette จากนั้นใส่น้ำ DI ลงในแต่ละ micro-cuvette
- 3) เติม Combined Enzyme-Color Reagent Solution 1 ml ลงใน cuvette จำนวน 8 cuvette
- 4) นำไป incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25-35 นาที หรือที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45 นาที หมายเหตุ: ไม่ควรให้สารละลายสัมผัสกับแสงแดด
- 5) นำ micro-cuvette ที่มีสารละลายแต่ละ cuvette ไปอ่านค่าความเข้มชั้นของแสงที่ 450 nm. ควรทำการอ่านภายใน 30 นาที ถ้าหากค่า ความเข้มชั้นของแสงมากกว่า 0.9 ควรทำการเจือจางตัวอย่างและวัดอีกครั้ง

2.2.6 การทดลอง : ผลของแอมโมเนียต่อออสโมเรกูเรชัน

เก็บตัวอย่างเลือดปลาแต่ละตัวที่เหงือกปลา โดยใช้หลอดฉีดยาขนาด

1 มิลลิลิตร ที่เคลือบด้วยเฮปารินพร้อมเข็มฉีดยาขนาด 25 G ก่อนเจาะเลือดสลับปลาด้วย 50 มิลลิกรัมต่อลิตร MS-222 (tricane metrane sulfonate) ในขณะที่เก็บน้ำ 3 หลอดๆ ละ 20 มิลลิลิตร เพื่อหาค่าออสโมลาริตีและไอออนในน้ำควบคุมไปกับตัวอย่างเลือดเก็บตัวอย่างเลือดตัวละ 1 มิลลิลิตร ข้อมูลที่ต้องวิเคราะห์ทันที ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นหรือค่าฮีมาโตคริต ออสโมลาลิตี ในน้ำและเลือด ตัวอย่างน้ำที่เหลือนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์เลือดในวันต่อไป (ภาพที่ 2.8) ตัวอย่างเลือดที่เหลือนำไปปั่นเหวี่ยงทันทีที่ความเร็วรอบ 14,000 g ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปเก็บไว้ในหลอดที่มีฝาปิดใสในภาชนะที่บรรจุน้ำแข็งแล้วนำไปเก็บในตู้แช่แข็ง ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์เลือดในวันต่อไป ได้แก่ วิเคราะห์กลูโคสในเลือด

2.2.6.1 ออสโมลาลิตี (มิลลิออสโมลต่อกิโลกรัม)

ใช้ตัวอย่างเลือดและตัวอย่างน้ำ 20 ไมโครลิตร วิเคราะห์ออสโมลาลิตีโดยใช้เครื่อง ออสโมมิเตอร์ (Advanced Instrument Inc., 3320) (ภาพที่ 2.9)



ภาพที่ 2.8 เก็บตัวอย่างเลือดที่เหงือกปลากะพงขาว



ภาพที่ 2.9 เครื่องออสโมมิเตอร์ (Advanced Instrument Inc., 3320) วิเคราะห์ออสโมลาลิตี้น้ำและเลือด

2.2.7 การทดลอง : การวัดอัตราการอยู่รอด

บันทึกจำนวนปลากะพงขาวที่ตายในแต่ละวัน คำนวณหาอัตราการอยู่รอดในทุกสัปดาห์ ตามวิธีของ Salazar *et al*, (2006)

$$\text{อัตราการอยู่รอด (\%)} = \frac{\text{จำนวนปลากะพงขาวที่มีชีวิต}}{\text{จำนวนปลากะพงขาวทั้งหมด}} \times 100$$

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ปรากฏในตารางหรือกราฟอยู่ในภาพค่าเฉลี่ย ($X \pm S.D.$) โดยวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ส่วนวิเคราะห์ความเป็นพิษของโลหะหนัก ใช้ค่ามัธยฐานความเป็นพิษ (Median lethal concentration, LC_{50}) และการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมโพรบิท (Probit Analysis) ที่ช่วงระดับความเชื่อมั่น 95 %

Prince of Songkla University
Pattani Campus

บทที่ 3

ผลการทดลอง

การศึกษาผลกระทบจากการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียต่อการเจริญเติบโต
เมแทบอลิซึม และ อัตราการอยู่รอดของปลากระพงขาว (*Lates calcarifer*) มีผลการทดลองดังนี้

3.1 คุณภาพน้ำในบ่อทดลอง

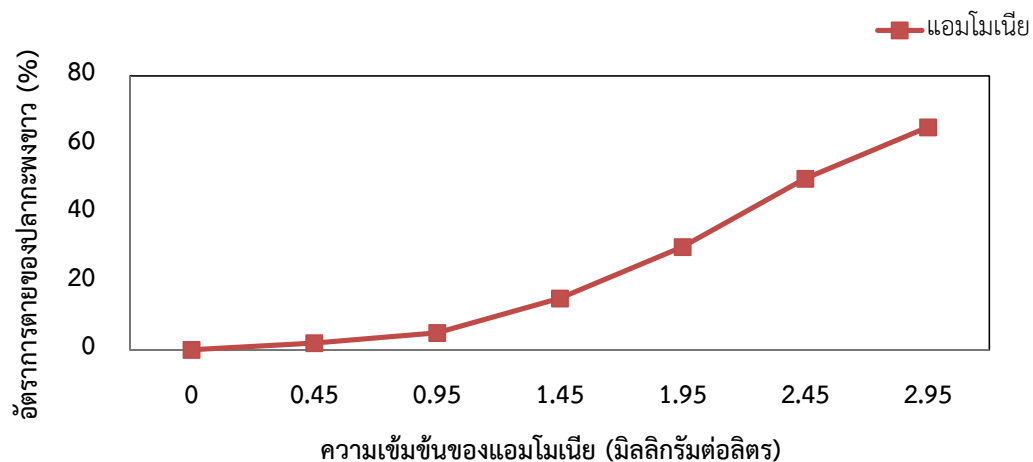
คุณภาพน้ำที่หน่วยวิจัยและเพาะพักสัตว์น้ำ อำเภอสะกอม จังหวัดสงขลา มีปริมาณ
ออกซิเจนละลายในน้ำประมาณ 6 ค่าความเป็นกรดเบส ประมาณ 7 ความเค็มน้ำทะเล 33 พีพีที
อุณหภูมิประมาณ 28 องศาเซลเซียส วัดตั้งแต่เดือน พฤศจิกายน-ธันวาคม พบว่าตัวแปรที่วัดทั้ง 4
บ่อ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 คุณภาพน้ำที่ทำการทดลอง

ตัวแปรที่วัด	บ่อที่ 1 (ชุดควบคุม)	บ่อที่ 2 (0.0024 mg/l)	บ่อที่ 3 (0.024 mg/l)	บ่อที่ 4 (0.24 mg/l)
ออกซิเจนในน้ำ (มก.ต่อลิตร)	6.58±0.5	6.57±0.5	6.52±0.5	6.55±0.5
พีเอช	7±0.5	7±0.8	7±0.6	7±0.6
ความเค็ม (พีพีที)	33±1	33±1	33±1	33±0.5
อุณหภูมิ (°C)	28.5±0.5	28.6±0.4	28.5±0.5	28.5±0.4

3.2 ค่าความเป็นพิษของแอมโมเนีย (Lethal Concentration LC₅₀)

จากการทดลองหาค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ทำให้ปลากระพงขาวตายในเวลา 96 ชั่วโมง
พบว่ามีความเข้มข้น 2.45 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3.1)

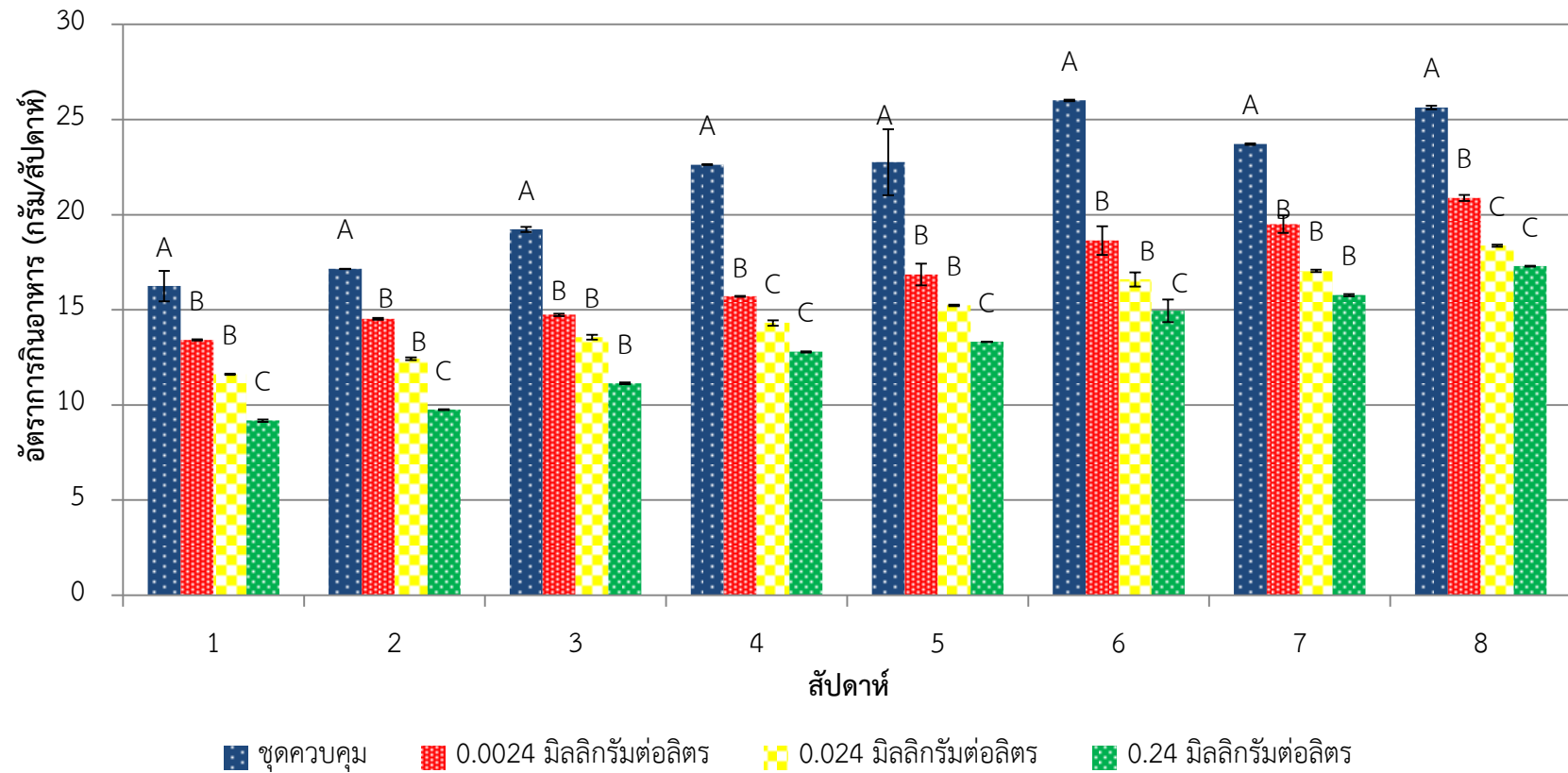


ภาพที่ 3.1 อัตราการตายของปลากะพงขาว ที่เวลา 96 ชั่วโมง (chen *et al.*, 2009)

3.2 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการเจริญเติบโต

3.2.1 อัตราการกินอาหาร (Feed intake)

จากการทดลองเรื่องผลของแอมโมเนียต่ออัตราการกินอาหารของปลากะพงขา พบว่าปลาที่เลี้ยงในแอมโมเนียความเข้มข้นสูงสุด 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีอัตราการกินอาหารลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับทุกระดับความเข้มข้นอัตราการกินอาหารความเข้มข้น 0.0024 และ 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างกันยกเว้น สัปดาห์ที่ 3, 4 และ 8 อัตราการกินในชุดควบคุมมีค่าสูงสุดตลอดระยะเวลาการศึกษา เมื่อเปรียบเทียบกับทุกระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย (ภาพที่ 3.2)



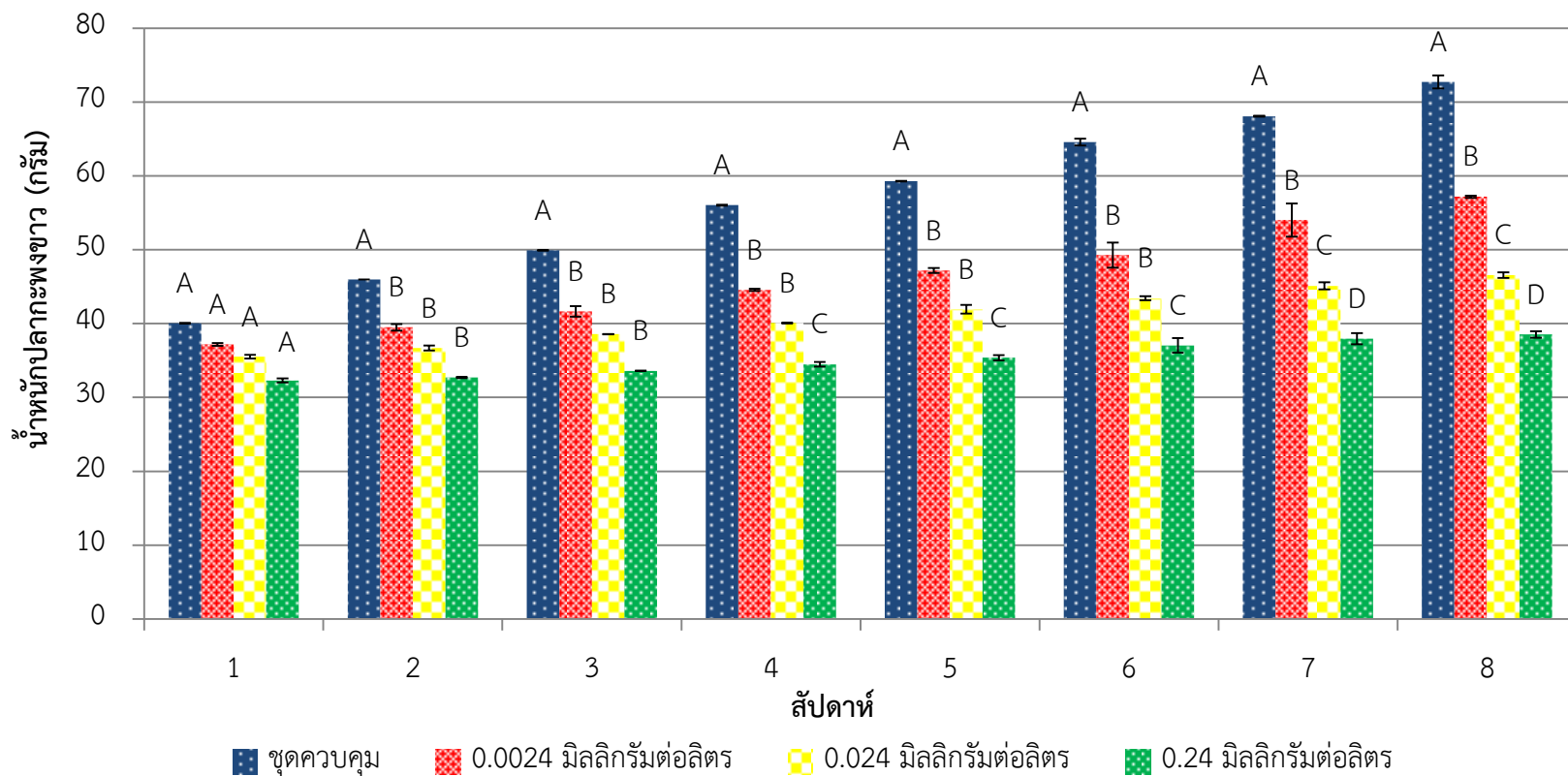
ภาพที่ 3.2 ผลของแอมโนเนียต่ออัตราการกินอาหารของปลากะพงขาว ที่ความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ชุดควบคุม อักษรที่ต่างกัน A, B และ C หมายถึงต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการกินอาหารแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.03$)

3.2.2 น้ำหนัก

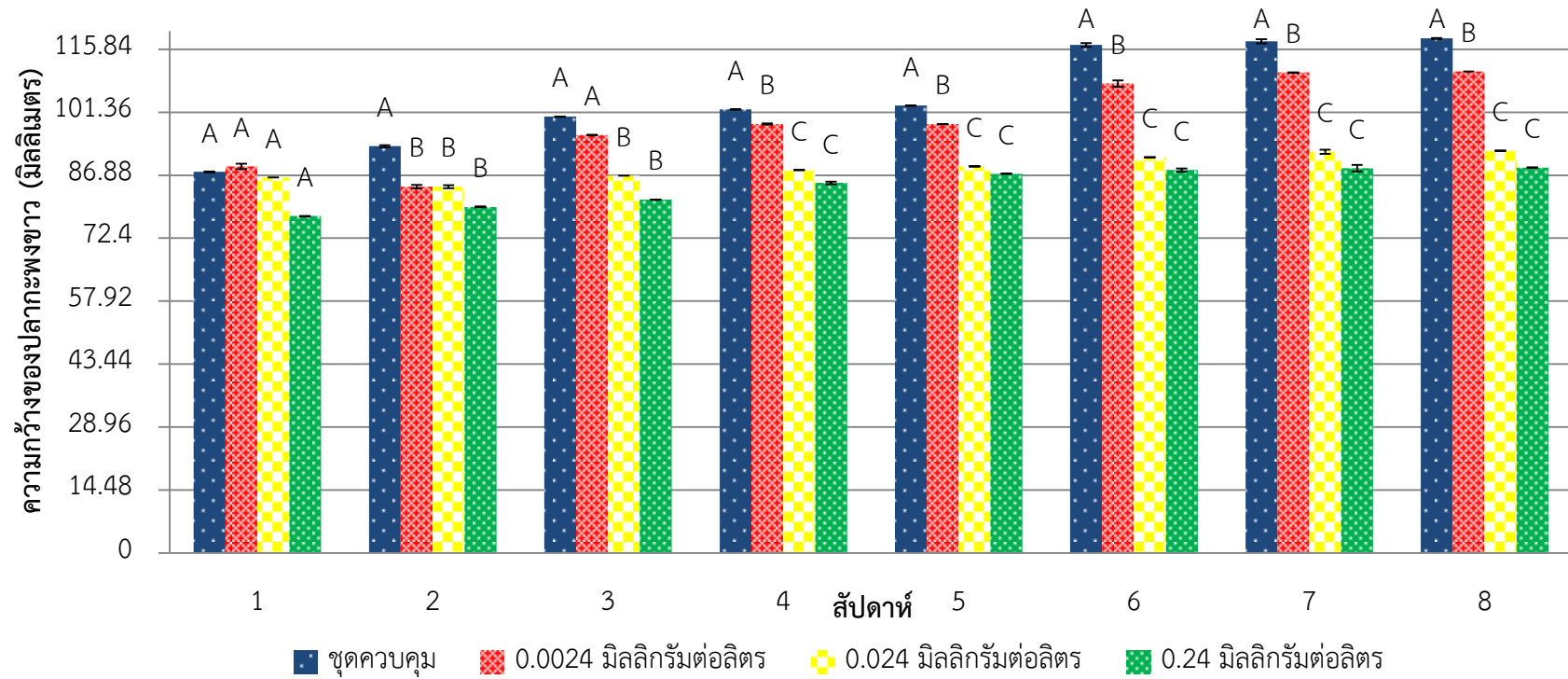
ผลของแอมโมเนียต่อน้ำหนักของปลากะพงขาว พบว่าแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ปลากะพงขาวมีน้ำหนักเปียกลดลงต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.0024 และ 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ยกเว้นสัปดาห์ที่ 7 และ 8 น้ำหนักเปียกของปลากะพงขาวที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์สามสัปดาห์แรกระดับแอมโมเนียที่ความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรเริ่มมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักในสัปดาห์ที่สี่เป็นต้นไป ตลอดทุกสัปดาห์ ยกเว้นสัปดาห์แรกน้ำหนักเฉลี่ยของปลาที่อยู่ในแอมโมเนียทุกระดับความเข้มข้นมีน้ำหนักน้อยกว่าปลาในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 3.3)

3.2.3 ความกว้างและความยาว

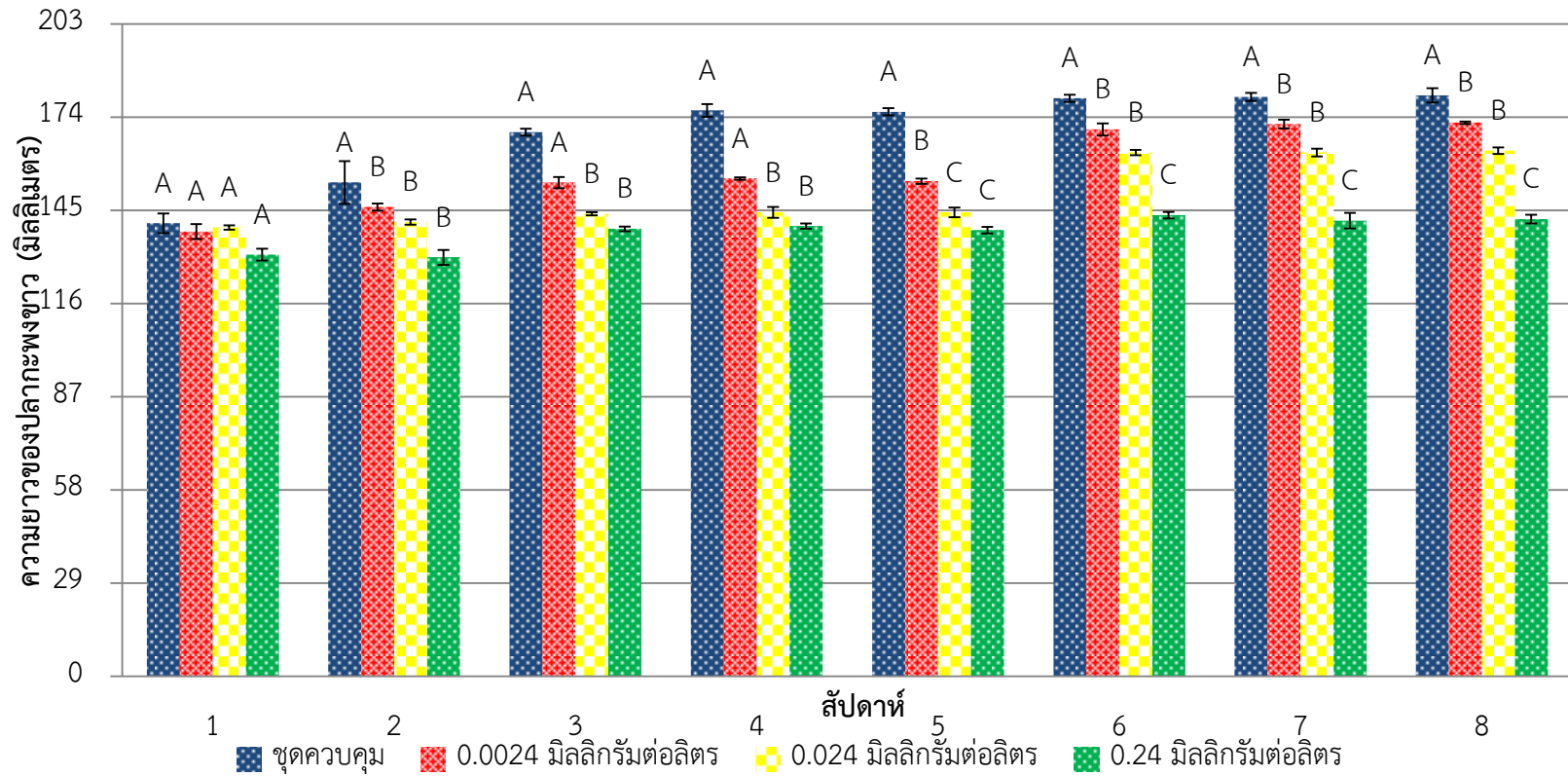
แอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ความกว้างของปลากะพงขาวเริ่มลดลงในสัปดาห์ที่ 2 เป็น 8.3, 8.3 และ 13 % ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และในสัปดาห์ที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ระดับ 0.0024 กับ 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่าความกว้างของปลากะพงขาวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ระดับ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีความกว้างลดลง 16% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และพบว่าความกว้างของปลากะพงขาวที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.024 กับ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนความยาวของปลากะพงขาวพบว่าแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ปลากะพงขาวเริ่มมีความยาวลดลงในสัปดาห์ที่ 2 เป็น 5, 8.3 และ 15% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของแอมโมเนียในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ระดับ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีความยาวลดลง 21.1% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 3.4 และ 3.5)



ภาพที่ 3.3 ผลของแอมโมเนียต่อน้ำหนักปลากะพงขาวที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A, B, C และ D ที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีน้ำหนักลดลงจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.01$)



ภาพที่ 3.4 ผลของแอมโมเนียต่อความกว้างของปลากะพงขาว ที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A, B และ C ที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีความกว้างลดลงจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.003$)



ภาพที่ 3.5 ผลของแอมโมเนียต่อความยาวของปลากะพง ที่ระดับความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A, B และ C ที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีความยาวลดลงจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.003$))

3.2.4 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

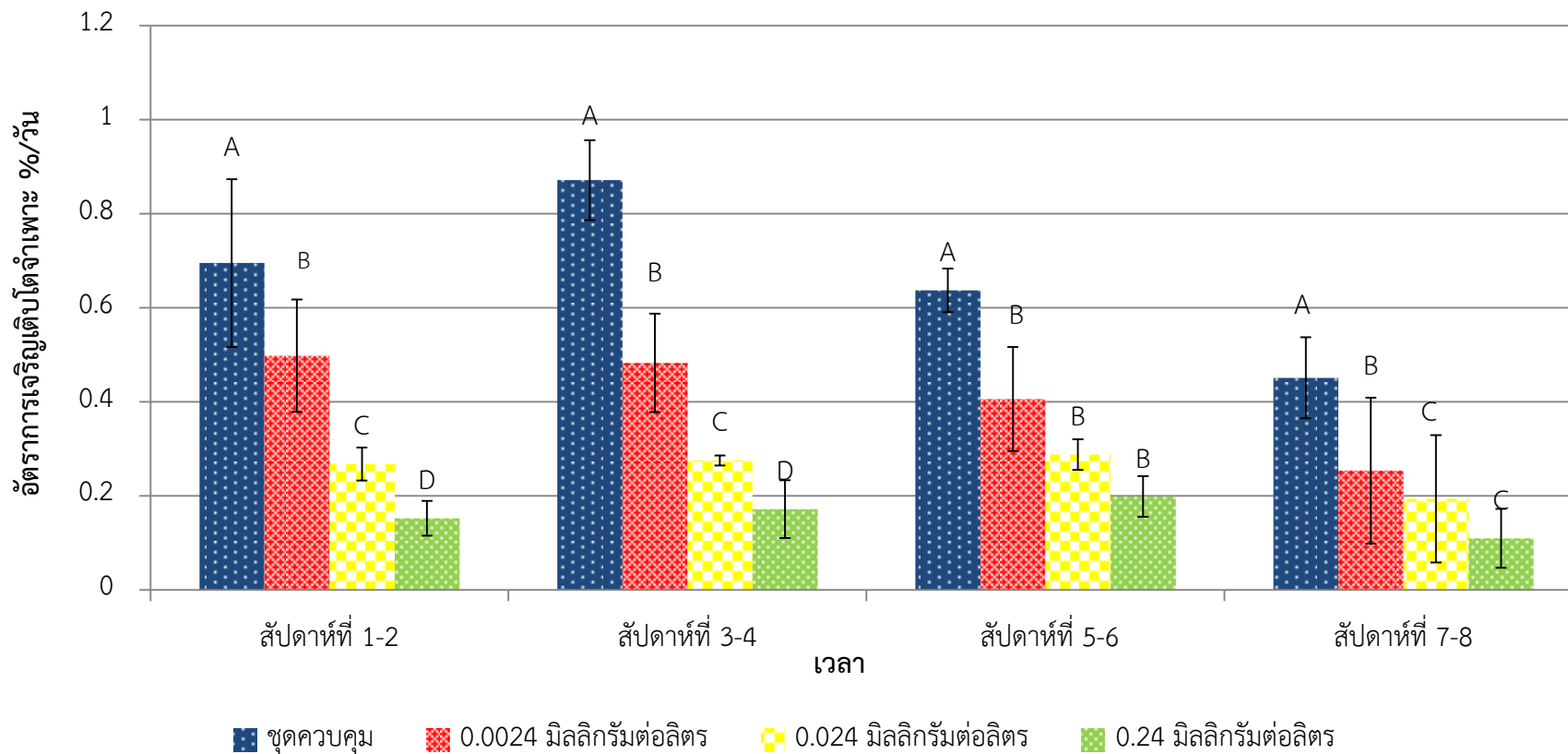
ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลากะพงขาว พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในสัปดาห์ที่สอง ในชุดควบคุมมีค่าสูงสุดและรองลงมาคือในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลงเป็น 33.3, 66.5 และ 83.3% ตามลำดับ และในสัปดาห์ที่ 5-6 การเจริญเติบโตจำเพาะที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาลดลง 75 % เมื่ออยู่ในแอมโมเนียเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในสัปดาห์ที่ 7-8 (ภาพที่ 3.6) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยในชุดควบคุม มีค่าสูงสุดเป็น 0.66 %/วัน (ตารางที่ 3.2)

3.2.5 ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลา

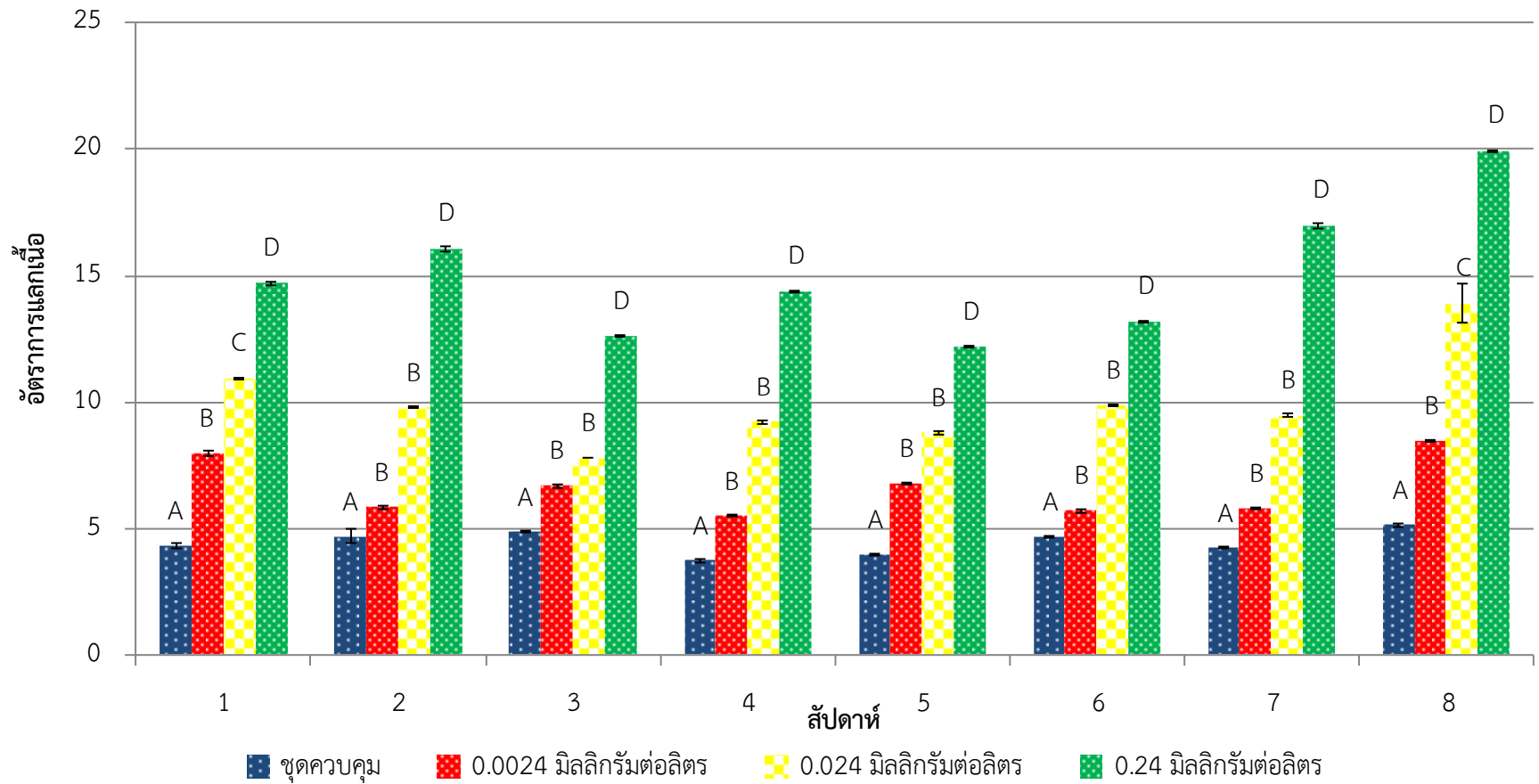
ผลของแอมโมเนียต่อค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลากะพงขาว พบว่าปลาที่อยู่ในชุดควบคุมมีค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลาดีที่สุดและรองลงมาคือในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลามีค่าเท่ากับ 1.16, 1.18, 1.21 และ 1.37 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 3.2)

3.2.6 อัตราการแลกเนื้อ

ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการแลกเนื้อของปลากะพงขาว พบว่าแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ค่า FCR สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และรองลงมาคือ 0.024 และ 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า FCR สัปดาห์แรกในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร สูงกว่าชุดควบคุม 45.5, 60.5 และ 70.7% ตามลำดับ ค่า FCR ของปลาที่สัปดาห์ที่ 2 ถึง 7 พบว่าแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 0.0024 และ 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนสัปดาห์ที่ 8 พบว่าแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ ค่า FCR ของปลากะพงขาวมีค่าที่สูงมากกว่าชุดควบคุม 74.3% (ภาพที่ 3.7) อัตราการแลกเนื้อเฉลี่ย เมื่อปลาอยู่ในแอมโมเนียระดับ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร (ในตารางที่ 3.2)



ภาพที่ 3.6 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลากะพงขาว แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A, B และ C ที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลงจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.002$)

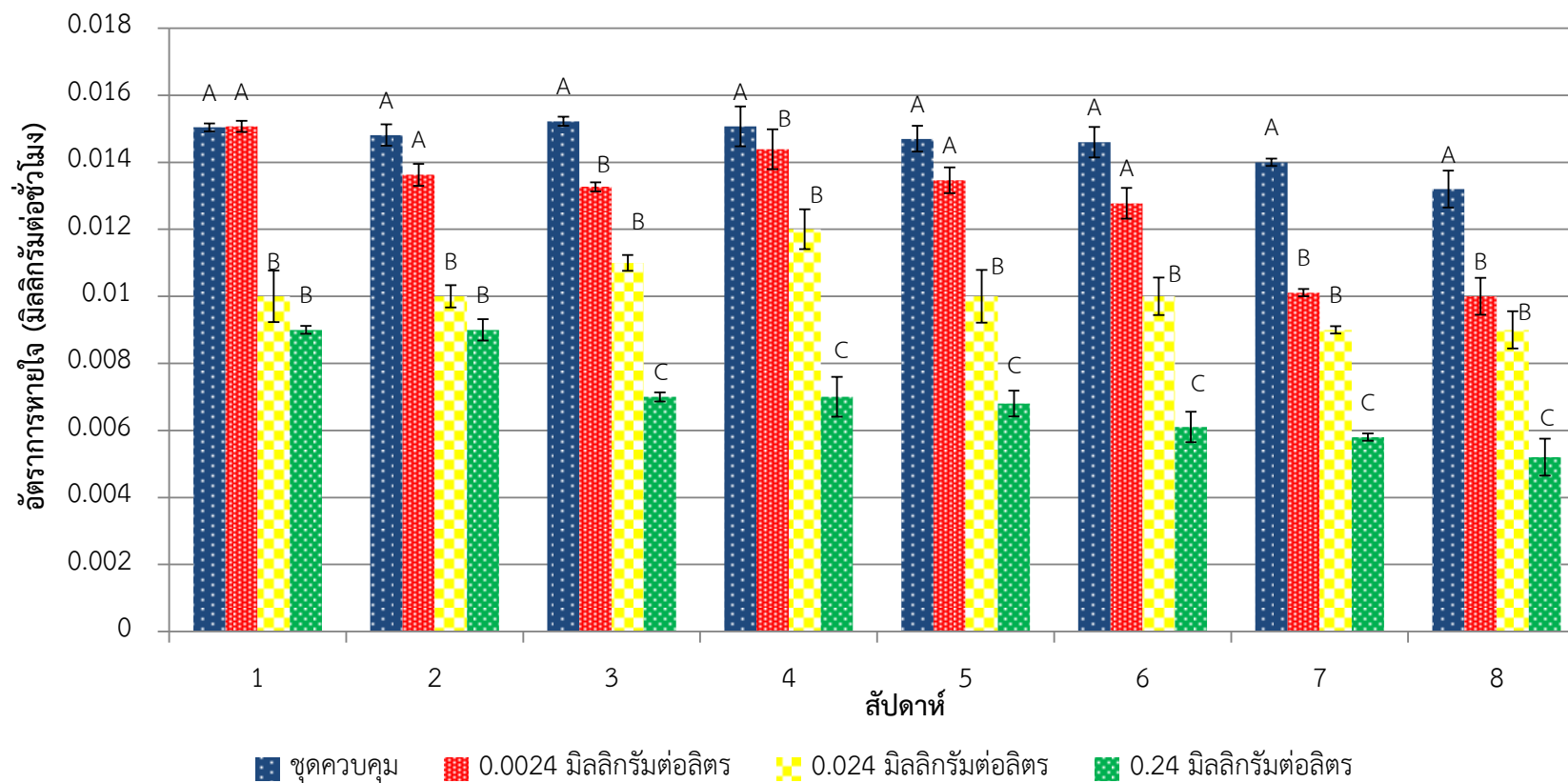


ภาพที่ 3.7 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการแลกเนื้อของปลากะพงขาว ที่แอมโมเนีย ความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A, B, C และ D ที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการแลกเนื้อเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.05$)

3.3 ผลของแอมโมเนียต่อเมแทบอลิซึม

3.3.1 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการหายใจ

ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการหายใจของปลากระพงขาว พบว่าแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ปลามีอัตราการหายใจต่ำสุด เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024 และ 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบว่าใน 2 สัปดาห์แรกปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการหายใจไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และเมื่อเปรียบกับชุดควบคุมในสัปดาห์ที่ 2 พบว่าแอมโมเนียความเข้มข้น 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ปลากระพงขาวมีอัตราการหายใจลดลง 32.4 และ 39.1 % และนอกจากนี้ยังพบว่าระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.0024 และ 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการหายใจที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติในสัปดาห์ที่ 3, 4, 7 และ 8 และในสัปดาห์ที่ 8 ยังพบว่า แอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลทำให้อัตราการหายใจของปลากระพงขาวลดลง 60.6 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แอมโมเนียทุกระดับความเข้มข้นทำให้อัตราการหายใจของปลาต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 3.8)



ภาพที่ 3.8 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการหายใจของปลากะพงขาว ที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A, B และ C ที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการหายใจลดลงจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.004$)

3.3.2 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการขับแอมโมเนีย

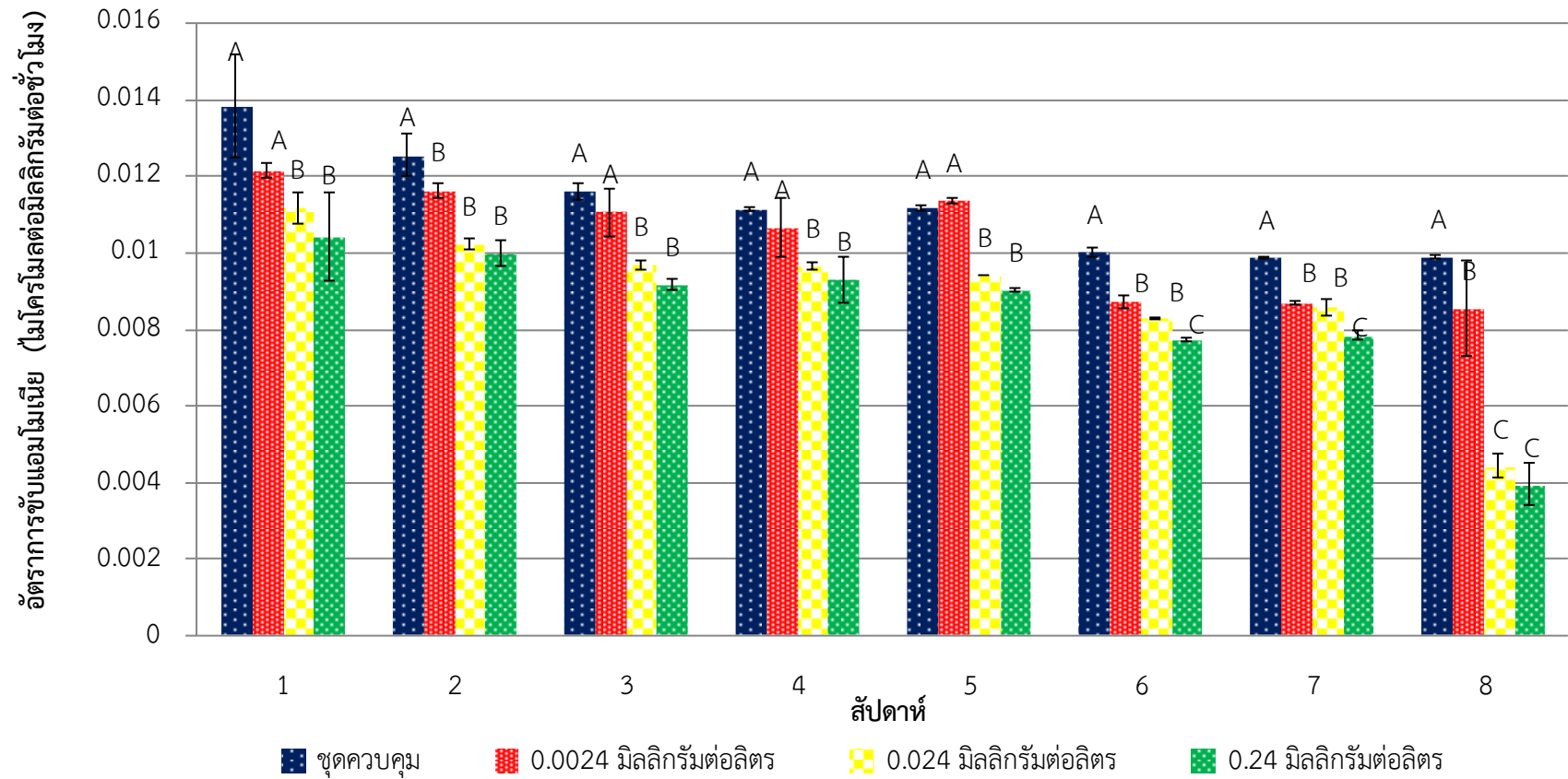
ผลการทดลองของแอมโมเนียต่ออัตราการขับแอมโมเนียของปลากะพงขาว พบว่าในสัปดาห์แรกที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้อัตราการขับแอมโมเนียลดลง 19.5 และ 24.6% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการขับแอมโมเนียไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 6 และ 7 และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการขับแอมโมเนียของปลากะพงขาวในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการขับแอมโมเนียต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$) (ภาพที่ 3.9)

3.3.3 ผลของแอมโมเนียต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

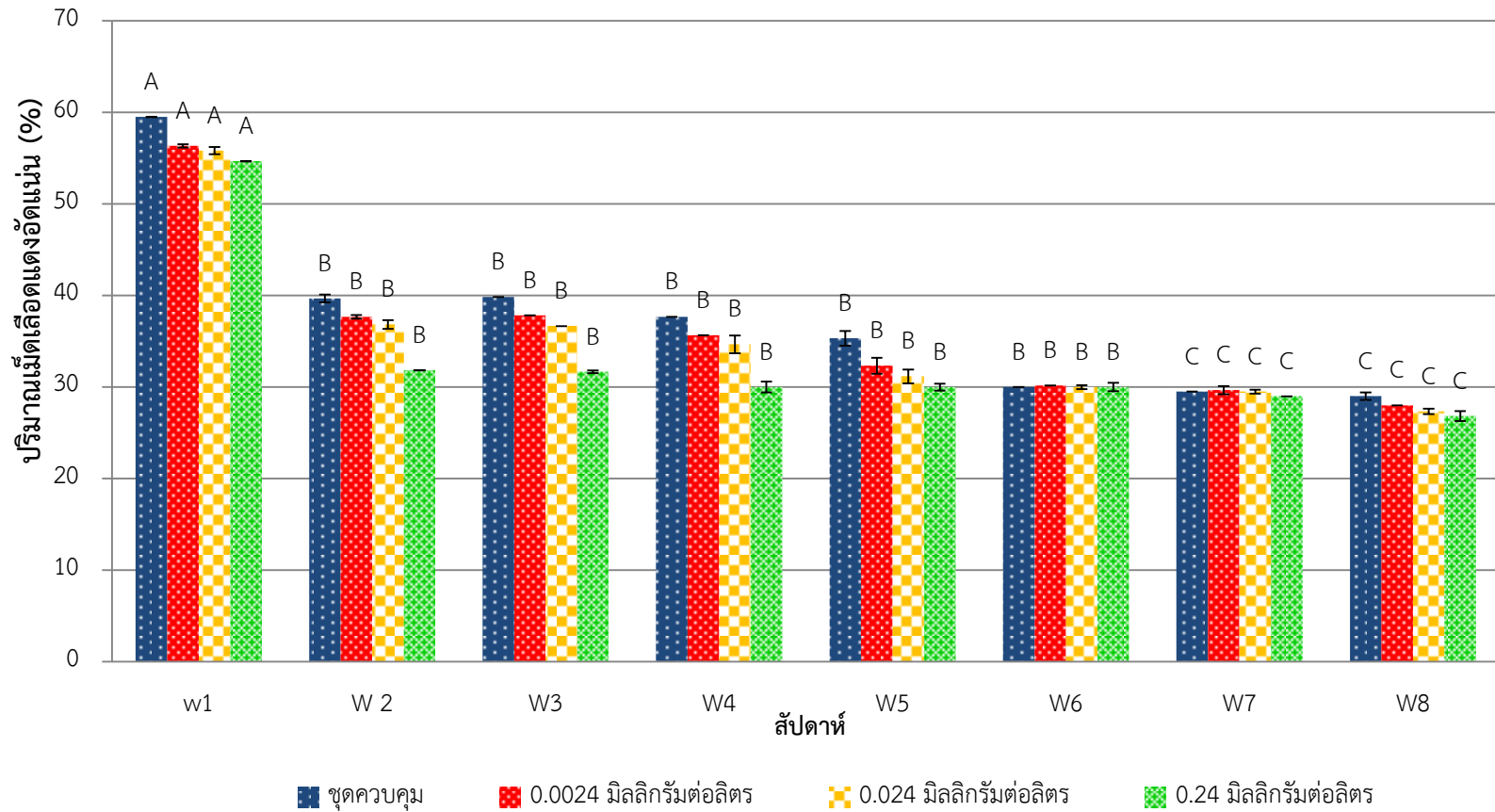
ผลของแอมโมเนียต่อปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลากะพงขาว พบว่าปลาที่เลี้ยงในแอมโมเนียในสัปดาห์แรกมีเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูงกว่าทุกสัปดาห์ และสัปดาห์ 2 ถึง 6 ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าใน 2 สัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง คือ สัปดาห์ที่ 7 และ 8 มีปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นต่ำกว่าสัปดาห์ที่ 1 ถึง 6 ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และในชุดควบคุม มีปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 3.10)

3.3.4 ผลของแอมโมเนียต่อปริมาณกลูโคสในเลือด

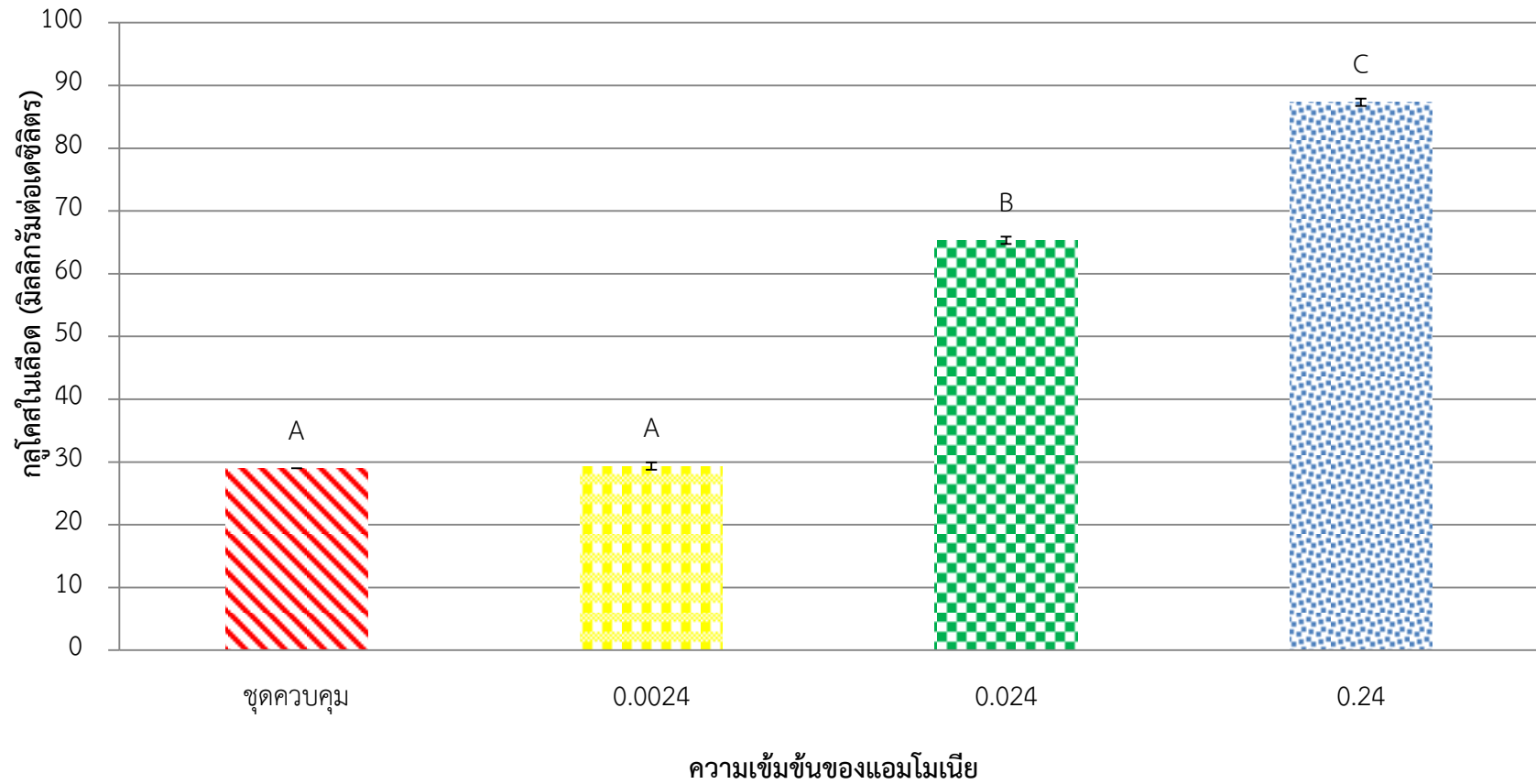
ผลของแอมโมเนียต่อปริมาณกลูโคสในเลือดของปลากะพงขาว *L. calcarifer* พบว่าแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้ปลาที่มีปริมาณกลูโคสในเลือดสูงสุดและรองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่าเพิ่มขึ้น 3.01 และ 2.25 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่เลี้ยงในแอมโมเนียแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาณกลูโคสในเลือดไม่แตกต่างกันจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ภาพที่ 3.11)



ภาพที่ 3.9 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการขับแอมโมเนียของปลากะพงขาว ที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A, B และ C ที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการขับแอมโมเนียลดลงจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.003$)



ภาพที่ 3.10 ผลของแอมโมเนียต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลากะพงขาว ที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A, B และ C ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาณเม็ดเลือดแดงไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม ($p=0.1$)



ภาพที่ 3.11 ผลของแอมโมเนียต่อปริมาณกลูโคสในเลือดของปลากะพงขาว ที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุมหลังจากสัปดาห์ที่ 8 อักษร A, B และ C ที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีปริมาณกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.003$)

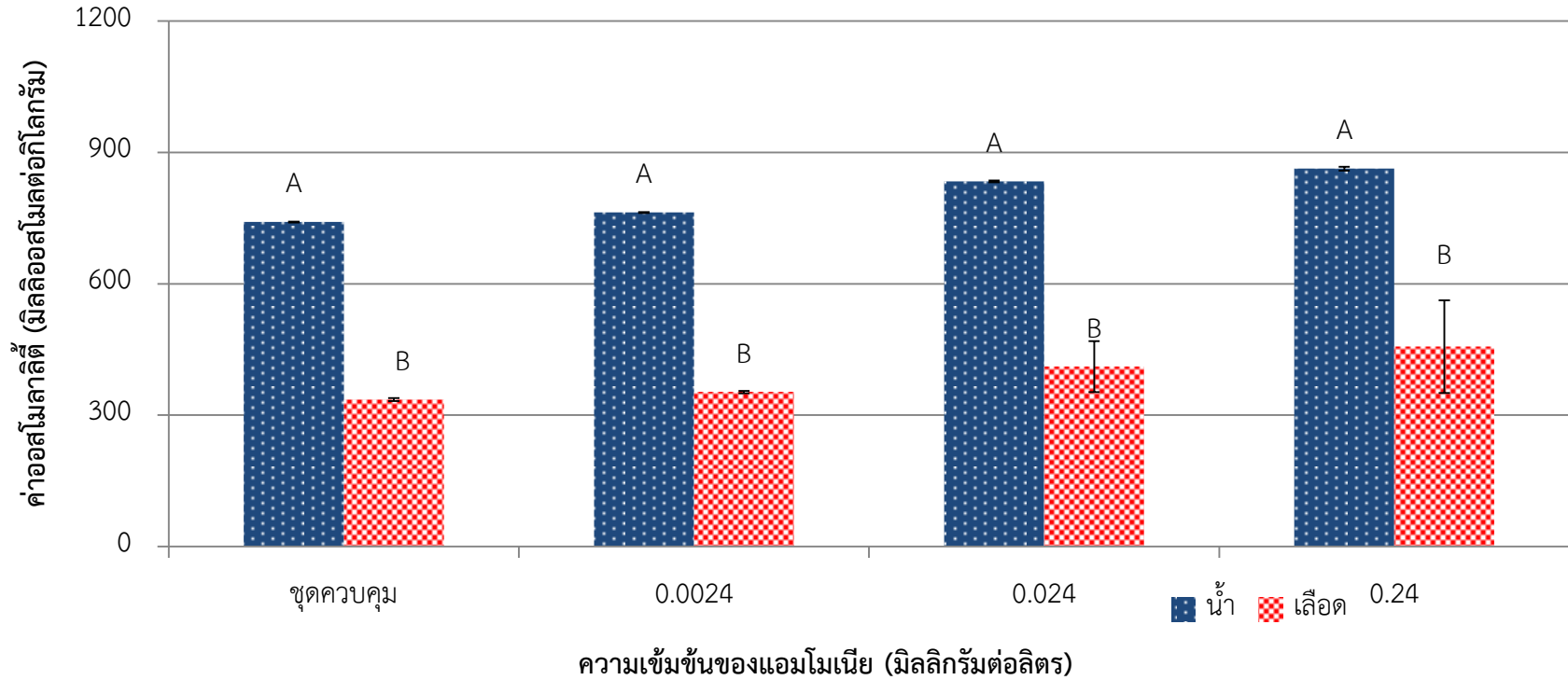
3.4 ผลของแอมโมเนียต่อค่าออสโมลาลิตีในเลือดของปลากะพงขาว

ผลของแอมโมเนียต่อค่าออสโมลาลิตีในเลือดของปลากะพงขาวที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่าค่าออสโมลาลิตีในเลือดของปลากะพงขาว มีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ($p > 0.05$) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างผลของแอมโมเนียต่อค่าออสโมลาลิตีในเลือดของปลากะพงขาวพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่ามีผลทำให้ค่าออสโมลาลิตีในเลือดแตกต่าง 49 และ 60 % และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 3.12)

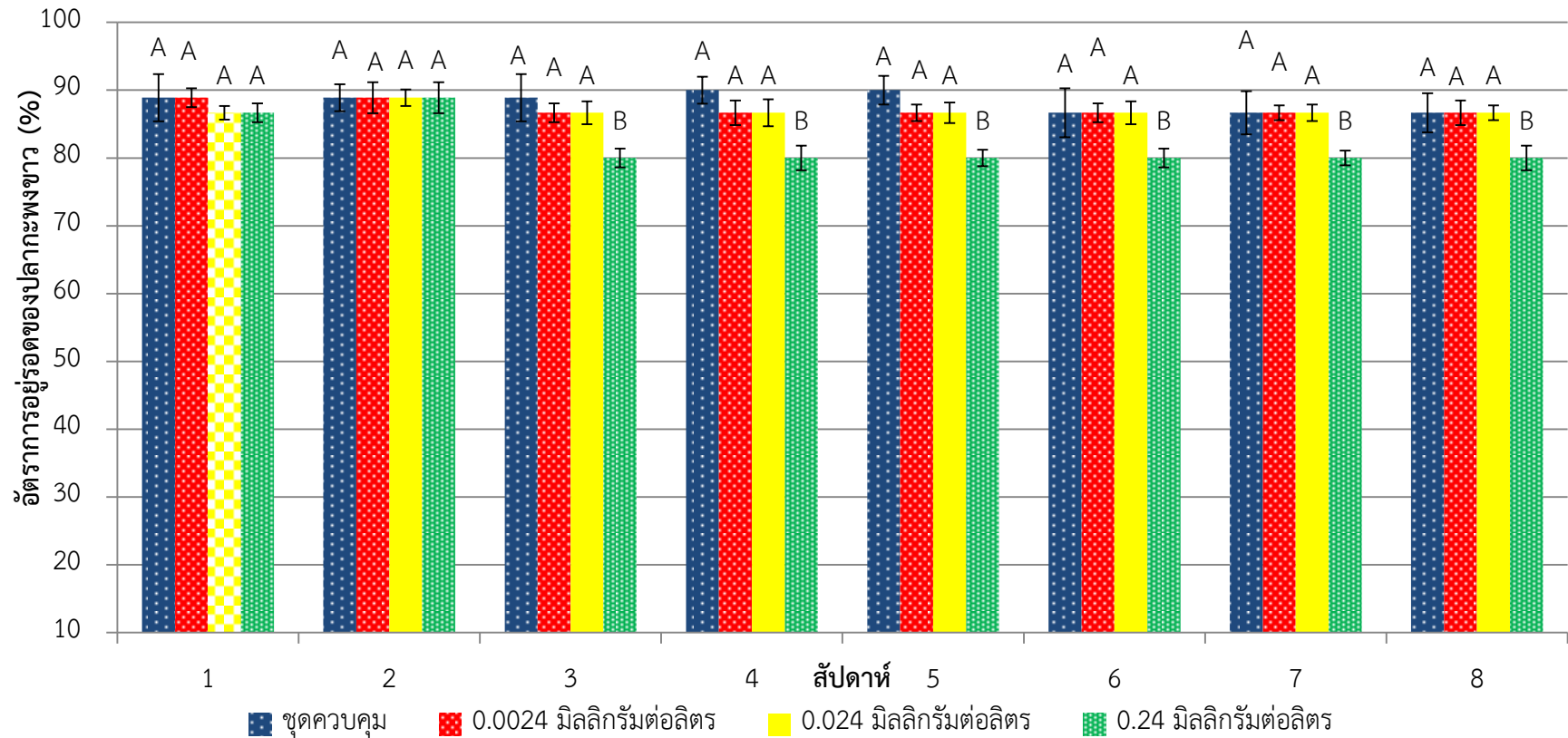
3.5 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว

ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว พบว่าที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้อัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 เป็นต้นไป เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงในแอมโมเนียความเข้มข้นอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่า ใน 3 สัปดาห์แรกปลากะพงขาวที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรและชุดควบคุม อัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างในทางสถิติ ($p > 0.05$) ในขณะที่สัปดาห์ที่ 8 พบว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้อัตราการอยู่รอดลดลง 7.6 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 3.13)

จากการศึกษาครั้งนี้ได้สรุปผลกระทบของการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียต่อปัจจัยต่าง ๆ ตั้งแต่สัปดาห์เริ่มต้นจนถึงสัปดาห์สุดท้ายใน (ดังตารางที่ 3.2)



ภาพที่ 3.12 ผลของแอมโมเนียต่อออสโมลาลิตี้ต่อปลากะพงขาว ภายหลังจากสัปดาห์ที่ 8 ที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A, และ B ที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นตั้งแต่ 0.0024-0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่าออสโมลาลิตี้ไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.1$)



ภาพที่ 3.13 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว ที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม อักษร A และ B ที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการอยู่รอดลดลงจากชุดควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 ($p = 0.01$)

ตารางที่ 3.2 การเปรียบเทียบการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำ ต่อการเจริญเติบโต
เมแทบอลิซึม ออสโมเรกูเลชัน และ อัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว ทั้ง 8 สัปดาห์

พารามิเตอร์ (8 สัปดาห์)	ความเข้มข้นของแอมโมเนีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
	ชุดควบคุม	0.0024	0.024	0.24	P-value
น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม)	40.04±0.04	37.17±0.20	35.51±0.25	32.29±0.27	0.1
น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม)	72.73±0.86	57.17±0.16	46.58±0.37	38.52±0.43	0.01
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)	32.69±0.82	20±0.04	11.07±0.12	6.23±0.16	0.01
ความกว้างเฉลี่ยเริ่มต้น (มิลลิเมตร)	87.63±0.01	88.90±0.17	86.36±0.11	77.47±0.01	0.09
ความกว้างเฉลี่ยสุดท้าย (มิลลิเมตร)	118.32±0.01	110.74±0.56	92.54±0.01	88.64±0.01	0.003
ความยาวเฉลี่ยเริ่มต้น (มิลลิเมตร)	140.97±0.01	138.43±0.01	139.70±0.01	131.23±0.01	0.06
ความยาวเฉลี่ยสุดท้าย (มิลลิเมตร)	180.80±0.01	172.29±0.01	163.57±0.01	142.28±0.01	0.003
อัตราการกินอาหารเฉลี่ย (กรัม)	21.66±0.08	16.87±0.11	14.89±0.06	13.02±0.01	0.03
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/วัน)	0.66 (a)	0.41 (b)	0.25 (c)	0.15 (d)	0.002
ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์,	1.16 (a)	1.18 (a)	1.21 (b)	1.37 (c)	0.00
อัตราการแลกเนื้อ	4.83 (a)	6.58 (b)	9.96 (b)	16.27 (c)	0.05
อัตราการหายใจ (มิลลิกรัมต่อชั่วโมง)	0.01 (a)	0.01 (a)	0.01 (a)	0.006 (b)	0.004
อัตราการขับแอมโมเนีย (ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมต่อ ชั่วโมง)	0.011 (a)	0.010 (a)	0.008 (b)	0.008 (b)	0.003
เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)	36.76 (a)	35.60 (a)	34.12 (a)	33 (a)	0.1
กลูโคส (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	29 (a)	29.33 (a)	65.33 (b)	87.33 (c)	0.003
ออสโมลาลิตี (มิลลิออสโมลต่อ กิโลกรัม)	335.33 (a)	352.66 (a)	410.66 (a)	456.33 (a)	0.1
อัตราการอยู่รอด (%)	88.33 (a)	87.22 (a)	86.94 (a)	81.94 (b)	0.01

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการศึกษา

4.1 ผลของแอมโมเนียต่อการเจริญเติบโต

4.1.1 อัตราการกินอาหาร

แอมโมเนียในน้ำส่งผลต่อการกินอาหารของสัตว์น้ำ และมีรายงานหลายฉบับพบว่าปลาหลายชนิดมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงในบ่อเลี้ยงที่มีแอมโมเนียสูง (Dosdat *et al.*, 2003; Person-Le Ruyet *et al.*, 2003) ซึ่งมีสาเหตุมาจากการสะสมแอมโมเนีย เพิ่มขึ้น และมีการขับออกจากร่างกายน้อยลง (Wilkie, 2002) อาจส่งผลกระทบต่อความผิดปกติทางสรีรวิทยาของปลา ระดับของแอมโมเนียในปลาสามารถเพิ่มขึ้นส่งผลต่อความเครียด และสภาวะสมดุลของร่างกาย (see review by Barton, 2002) สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าปลาที่อยู่ในระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลทำให้อัตราการกินอาหารลดลงอย่างนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการกินอาหารในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม และสอดคล้องกับการศึกษาในปลาปลาซีกเดียว (*Solea senegalensis*) ซึ่งพบว่า NH_3 มีผลทำให้ปลามีอัตราการกินอาหารลดลง (Schram *et al.*, 2010) และเป็นที่ยืนยันว่าปลาสามารถผลิตแอมโมเนียได้จากกระบวนการแคตาบอลิซึมของร่างกายโดยกินอาหารที่อยู่ในสภาพของโปรตีน (Husson *et al.*, 2003) แล้วขับแอมโมเนียออกจากร่างกายได้โดยการขับผ่านเหงือกปลา (Wilkie, 2002) จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นสูงทำให้ปลาขับแอมโมเนียออกจากร่างกายลดลงซึ่งเป็นผลทำให้มีการสะสมแอมโมเนียในเลือดและเนื้อเยื่อ (Wright *et al.*, 2007) ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงการสะสมแอมโมเนียในเลือด ปลาจะลดการผลิตแอมโมเนียในร่างกายโดยการลดการกินอาหาร (Randall and Tsui, 2002, Lemarie *et al.*, 2004) อัตราการกินอาหารที่ลดลงในการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนการศึกษาของ Schram *et al.*, (2010) ที่พบว่าแอมโมเนียมีผลต่อประสาทส่วนกลางและการทำงานของตัวรับ NMDA (N-Methyl-D-aspartic Acid) ซึ่งทำหน้าที่ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น (excitability) ในปลาที่มีการสะสมของแอมโมเนียทั้งในเลือด และในเนื้อเยื่อต่างๆ เช่น สมอง ตับ กล้ามเนื้อ (Montfort *et al.*, 2000) ทำให้ไม่อยากกินอาหาร จากรายงานที่ผ่านมาได้มีการศึกษาระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียต่อค่า Lethal Concentration (LC_{50}) ในสิ่งมีชีวิต

หลากหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีค่า LC₅₀ ที่ระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน

ตารางที่ 4.1 ค่า Lethal Concentration (LC₅₀) ของแอมโมเนียต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ

ชนิดของสิ่งมีชีวิต	ระดับความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อ้างอิง
Meagre (<i>Argyrosomus regius</i>)	0.7	Mehmet <i>et al</i> , (2016)
Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	1.46	Joyce and David, (2006)
Rainbow trout, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	0.3-0.6	Thurston and Russo, (2004)
mud crabs, <i>Scylla serrata</i> .	95.35	Romano and Zeng, (2007)
Asian Seabass (<i>Lates calcarifer</i>)	2.4	This study

สำหรับในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าปลากะพงขาวจะมีค่า LC₅₀ คือ 2.45 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.1.2 น้ำหนัก ความกว้าง ความยาว และ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ

จากการทดลองพบว่าปลากะพงขาว ที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีน้ำหนักเปียกลดลงต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ปลาที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีแอมโมเนียเป็นระยะเวลาเวลานานทำให้มีน้ำหนัก ความกว้าง และความยาวลดลงเช่นกัน เช่นในปลากะพงยุโรประยะจูวีไนล์ (*Dicentrarchus labrax*) (Dosdat *et al.*, 2003; Lemarie *et al.*, 2004), ปลาค็อด (*Gadus morhua*) (Foss *et al.*, 2004) และปลาซีกเดียว (*Solea senegalensis*) (Pinto *et al.*, 2007) ในสภาพแวดล้อมที่มีแอมโมเนียสูง ปลาจึงต้องใช้พลังงานในการจัดสารพิษเพิ่มขึ้น พลังงานที่ใช้ในการเจริญเติบโตลดลงหรือในภาวะที่กินอาหารหรืออดอาหาร ร่างกายจะใช้พลังงานจากแหล่งอาหารสำรอง เช่น ไกลโคเจนในกล้ามเนื้อ จึงทำให้น้ำหนักลดลงสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Schram *et al.*, (2010) พบว่าอัตราการกินอาหารและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเมื่อเทียบกับชุดควบคุมลดลงถึง 58 % และ 57% ตามลำดับ เมื่อปลาดูรัสเซียอยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 1084 μM ซึ่งให้เห็นว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น

เช่นนี้ต้องใช้พลังงานมากในการรักษาระดับความเข้มข้นของ NH_4^+ ในเลือดให้อยู่ในระดับต่างๆ ในน้ำที่มีแอมโมเนียสูง (Wood, 2004; Madison *et al.*, 2009)

4.1.3 ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลา

ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์เป็นสัดส่วนระหว่างน้ำหนักและความยาวของปลา เพื่อบ่งบอกถึงค่าสมมาตรของปลากระดูกแข็ง โดยน้ำหนักตัว เพศ และฤดูกาลมีผลโดยตรงต่อค่า K ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้จึงทำให้ค่า K เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามค่า K มีความแปรปรวนนั้นขึ้นอยู่กับน้ำหนักของตัวปลา โดยค่า K เป็นหนึ่งในตัวชี้วัดคุณภาพปลา และนอกจากนี้หากค่า K มีค่าเข้าใกล้ 1 แสดงให้เห็นว่าปลากะพงขาว มีความสมบูรณ์ (Swingle and Shell, 1971) จากผลการทดลองพบว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้ค่า K สูงสุด คือ 1.37 และในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.024, 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดควบคุม ค่า K มีค่าเท่ากับ 1.21, 1.18 และ 1.16 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Mohanty *et al.*, (2014) พบว่าค่า K ในปลากะพงขาว ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 0.90-1.11

4.1.4 อัตราการแลกเนื้อ

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อหรืออัตราการแลกเนื้อ (Food conversion ratio, FCR) หมายความว่า การให้ปริมาณของอาหารต่อการเจริญเติบโตของสัตว์หรือการเพิ่มน้ำหนักตัว ยิ่งอาหารน้อยแต่ได้เนื้อมากยิ่งดี ดังนั้นค่า FCR ยิ่งต่ำยิ่งดีต่อเกษตรกร เนื่องจากเป็นตัวชี้วัดว่าสัตว์เลี้ยงมีสุขภาพที่ดี (Christine *et al.*, 2017) จากผลการทดลองพบว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ FCR สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และรองลงมาคือ 0.024 และ 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการแลกเนื้อในสัปดาห์แรกที่ปลาอยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร สูงกว่าปลาในชุดควบคุม 45.5, 60.5 และ 70.7% ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Schram *et al.* (2010) ซึ่งพบว่า ปลาตุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus*) ที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นสูงสุด (1084 μM) ทำให้ค่า FCR มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้น 4, 14, 38 และ 176 μM El-Shafai *et al.*, (2004) พบว่า FCR ของปลานิล (*Oreochromis andersoni*) เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแอมโมเนีย นอกจากนี้ Dosdat *et al.*, (2003) พบว่าหลังจากวันที่ 20 ของการทดลอง ปลากะพงยุโรป (*Dicentrarchus labrax*) ที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.53–16.11 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ค่า FCR เพิ่มขึ้นเช่นกัน จากผลการทดลองดังกล่าวเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม สังเกตว่าค่า FCR มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย แอมโมเนียในระดับความเข้มข้นสูงส่งผลทำให้ค่า FCR เพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลมาจากน้ำหนักลดลง

4.2 ผลของแอมโมเนียต่อเมแทบอลิซึม

4.2.1 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการหายใจ

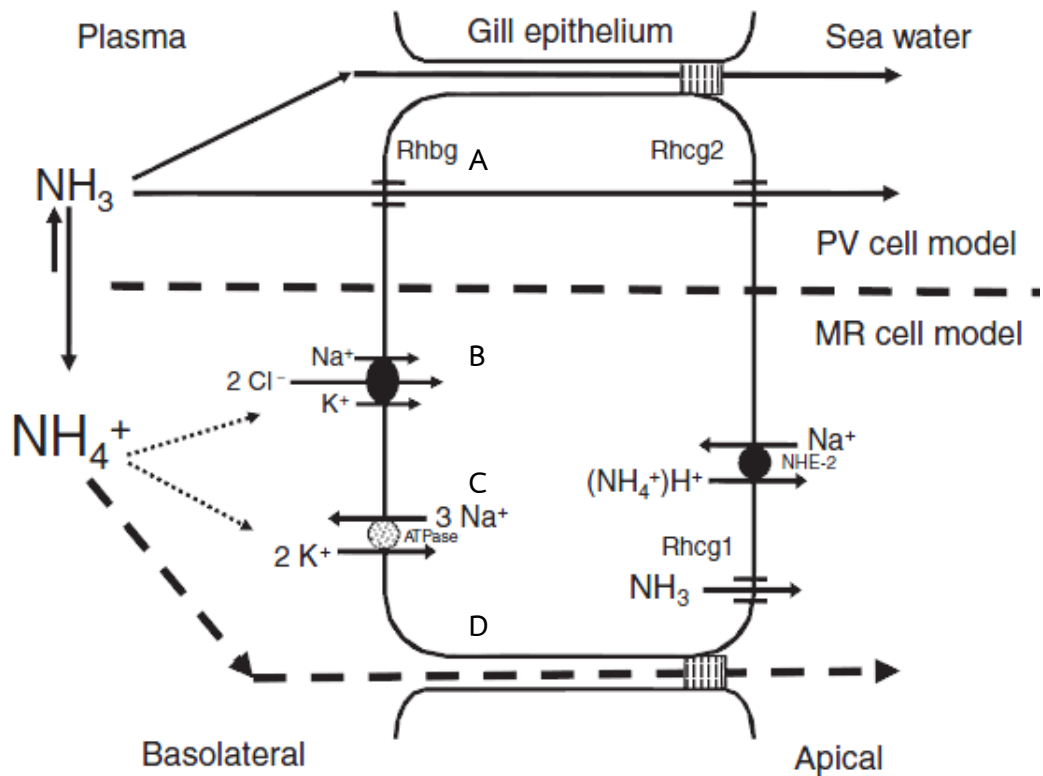
วิธีการตรวจสอบความผิดปกติของกระบวนการเมแทบอลิซึมส่วนใหญ่จะใช้วิธีการวัดอัตราการหายใจหรือการวัดอัตราการบริโภคออกซิเจน ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่าย และเหมาะสำหรับการทดลอง การหายใจของสิ่งมีชีวิตเป็นกระบวนการที่นำแก๊สออกซิเจนไปสันดาปกับกลูโคส ไขมันและโปรตีน เพื่อให้ได้พลังงานที่อยู่ในภาพ ATP (Adenosine Triphosphate) ไปยังเซลล์ต่าง ๆ เมื่อเซลล์มีเมแทบอลิซึมสูง อัตราการหายใจก็จะสูงขึ้นด้วย จากการศึกษาครั้งนี้แอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้นสูง 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสาเหตุทำให้อัตราการหายใจของปลากะพงขาว ลดลง 60.6 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากภาวะการอดอาหาร ขณะเดียวกัน Saravanan *et al.*, (2013) พบว่าอัตราการกินอาหารจะเพิ่มตามอัตราการหายใจ เช่นมีการเผาผลาญสูงขึ้น โดยแอมโมเนียในสิ่งแวดล้อมจะไม่มีผลต่ออัตราการหายใจในปลาที่อดอาหาร เนื่องจากปลาเหล่านี้มีการปรับตัวโดยไม่จำเป็นต้องใช้พลังงานเสริมเพื่อรักษาสสมดุลของระดับแอมโมเนียภายใน ดังนั้น การเพิ่มอัตราการหายใจมักพบว่าเป็นการปรับตัวของปลาเองในระยะสั้นๆ ซึ่งมีความเชื่อมโยงกับการเพิ่มการระบายออกซิเจนมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าภายใต้สภาวะที่มีแอมโมเนียจะส่งผลทำให้มีอัตราการหายใจสูงขึ้น โดยมีความเชื่อมโยงกับภาวะการหายใจถี่ (hyperventilation) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Foss *et al.*, (2003) พบว่าอัตราการหายใจเพิ่มขึ้นตามระดับของแอมโมเนีย และพบว่าเมื่อปลาอยู่ภายใต้สภาวะที่มีแอมโมเนียสูงที่สุด อัตราการหายใจจะสูงกว่าชุดควบคุมถึง 1.5 เท่า สอดคล้องกับ Foss *et al.* (2002) ที่พบว่าอัตราการหายใจมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงแรกๆ เพิ่มขึ้นแต่อย่างไรก็ตาม อัตราการหายใจจะกลับสู่สภาวะปกติโดยเร็วหลังจากมีการปรับตัวต่อภาวะความเป็นพิษในช่วงแรก นอกจากนี้แล้วยังพบว่าหนึ่งในสาเหตุที่ทำให้ปลากะพงขาว มีอัตราการหายใจลดลงในระดับความเข้มข้นสูง 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร อาจเนื่องเซลล์เหงือกปลาถูกทำลาย ส่งผลทำให้มีแลกเปลี่ยนออกซิเจนต่ำ สอดคล้องกับการศึกษาในปลาอื่น ๆ อีกหลายชนิด เช่น ปลาทอง (Benli *et al.*, 2008), ปลานิล (Benli *et al.* 2008) และ ปลาตุ๊ก (Miron *et al.*, 2008) อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024 และ 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการหายใจในสัปดาห์ที่ 3, 4, 7 และ 8 ไม่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากที่ระดับเข้มข้นของแอมโมเนียดังกล่าวปลาสามารถปรับตัวได้ สอดคล้องกับการศึกษาในปลานิล (Richard, 2009) ที่พบว่าระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียไม่มีผลต่ออัตราการหายใจหลังจาก 48 ชั่วโมง และพบว่ามี การปรับตัวต่อเมแทบอลิซึม โดยการชดเชยอัตราการหายใจ แต่อย่างไรก็ตาม อัตราการหายใจจะมากขึ้นหลังจาก 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับปลาในชุดที่ไม่ได้ปรับตัว ซึ่งให้เห็นความเป็นไปได้ว่ามีการชดเชยอัตราการหายใจจะเพิ่มขึ้นเพื่อเป็นการตอบสนองความต้องการทางสรีรวิทยาของปลา และจากผลการทดลองพิสูจน์ว่า ปลานิลได้มีการปรับตัวในสภาวะที่มีแอมโมเนียเพิ่มขึ้นภายใน 48 ชั่วโมง การ

ปรับตัวของปลาเป็นเรื่องที่น่าสนใจเช่นการศึกษาของ Richard, (2009) พบว่าปลานิลที่ไม่ได้ปรับตัว อาจจะทนต่อแอมโมเนียในระยะ 35 วันแรก เมื่อนำปลาไปเลี้ยงในความเข้มข้นของแอมโมเนียในระดับกลาง นอกจากนี้ Wood, (2004) และ Ip *et al*, (2001) ได้ศึกษาต่อในปลาเทราท์และแนะนำว่าการปรับตัวอาจจะมีผลต่อการยับยั้งการผกผันของเมแทบอลิซึมของไนโตรเจน

4.2.2 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการขับแอมโมเนีย

แอมโมเนียเป็นสารพิษต่อปลาเป็นอย่างมากหากมีการสะสมในร่างกาย ในสภาพสิ่งแวดล้อมที่มีแอมโมเนียเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยก็ส่งผลกระทบต่อตัวปลา แอมโมเนียเป็นของเสียที่เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย ซึ่งมีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (Nitrogenous wastes) เกิดจากการสลายสารโปรตีนและกรดนิวคลีอิก แอมโมเนีย (Ammonia; NH_3) มีความเป็นพิษสูง มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี จะกำจัดออกในภาพของแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) สิ่งมีชีวิตบางชนิดสามารถเปลี่ยนแอมโมเนียให้อยู่ในสภาพที่เป็นพิษน้อยลง เช่น ยูเรีย (Urea) หรือกรดยูริก (Uric acid) โดยกระบวนการขจัดสารพิษออกมาจากเลือดโดยอาศัยการขับออกจากร่างกายผ่านเหงือกโดยต้องใช้พลังงานเคมีในร่างกาย (McDonalda *et al.*, 2012) ดังนั้นการทดลองเรื่องผลของแอมโมเนียต่ออัตราการขับแอมโมเนียสามารถเป็นตัวชี้วัดความผิดปกติของเมแทบอลิซึมได้ จากผลการทดลองพบว่า ในสัปดาห์แรกปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร อัตราการขับแอมโมเนียลดลง 19.5 และ 24.6% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรอัตราการขับแอมโมเนียไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 6 และ 7 ในสัปดาห์ที่ 8 ปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรอัตราการขับแอมโมเนียที่ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Sinha *et al*, (2012) พบว่าปลาทองที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นสูง (ตั้งแต่วันที่ 4 เป็นต้นไป) ทำให้แอมโมเนียในเลือดปลาที่อดอาหารสูงขึ้น ซึ่งสาเหตุอาจมาจากการที่ปลาเหล่านี้ไม่สามารถขับแอมโมเนียได้อย่างเต็มที่ โดยการทดลองแสดงให้เห็นว่า ปลาที่กินอาหารสามารถขับแอมโมเนียที่สูงขึ้น ในขณะที่อัตราการขับแอมโมเนียจะลดลงในปลาที่อดอาหาร โดยระหว่างปลาที่กินอาหารกับปลาอดอาหารล้วนมาจากปัจจัยภายนอกโปรตีนที่กินเข้าไปจะถูกไฮโดรไลซ์กลายเป็นกรดอะมิโนซึ่งจะถูกดูดซึม และจะถูกนำไปใช้เพื่อสังเคราะห์โปรตีนต่อไป ถ้าหากปริมาณกรดอะมิโนมากเกินไปจะทำให้มีการผลิตแอมโมเนียสูงขึ้นด้วย และ Weihrauch *et al.* (2009) พบว่าสัตว์น้ำส่วนใหญ่มีการรักษาระดับแอมโมเนียในร่างกายในระดับที่ต่ำ โดยการขับแอมโมเนียส่วนเกินโดยตรง ผลจากการเพิ่มแอมโมเนียส่งผลทำให้มีการสะสมแอมโมเนียในร่างกายเพิ่มขึ้นทำให้การขับถ่ายเพิ่มขึ้น การขับแอมโมเนียนั้นจะเพิ่มขึ้นตามการกินอาหาร ดังนั้นจะเห็นได้ว่าอัตราการกินอาหารมีผลต่ออัตราการขับแอมโมเนีย นอกจากนี้ เหงือกปลาเป็น

อวัยวะหลักในการขับถ่ายแอมโมเนีย (Wilkie, 2002; Weihrauch *et al.*, 2009) เนื่องจากว่าเหงือกปลา มีพื้นที่ผิวขนาดใหญ่ โดยมีเลือดไปเลี้ยง ที่ส่งออกมาจากหัวใจ 100 % มีอัตราการระบายอากาศมาก ระยะการแพร่สั้นเนื่องจากมีผนังบางมีจำนวนมาก (Evans *et al.*, 2005). อย่างไรก็ตามเนื้อเยื่อเหงือกก่อให้เกิดอัตราการเผาผลาญสูง คิดเป็น 10% ของความต้องการออกซิเจนทั้งหมดในปลา กระดูกแข็งเพื่อรักษาสมดุล การเผาผลาญเพื่อในการขับแอมโมเนียใช้น้อยที่สุด (Evans *et al.*, 2005) ปลาจะมีการกำจัดของเสียโดยส่วนใหญ่แอมโมเนียถูกขับออกมาทางช่องเหงือก เป็นส่วนที่แพร่ต่อจากเลือดไปยังน้ำ (Wilkie, 2002; Evans *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียทำให้การขับถ่ายลดลง ปลาบางชนิดลดอัตราการผลิตแอมโมเนียจากกรดอะมิโน เพื่อจะชะลอตัวในการผลิตแอมโมเนียภายในร่างกาย (Ip *et al.*, 2001, 2004; Lim *et al.*, 2001) นอกจากนี้ Schram *et al.*, (2014) และยังพบว่าปลาที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นสูง ๆ ส่งผลทำให้ขับแอมโมเนียลดลงอย่างมีอย่างสำคัญ ปลาน้ำเค็มสามารถขับแอมโมเนียได้โดยผ่านวิธีการแพร่ NH_3 และ NH_4^+ โดยจะผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์บริเวณเหงือก คือเซลล์บริเวณด้านที่ติดกับเลือด (Basolateral) และ เซลล์บริเวณด้านที่ติดกับน้ำ (Apical) (ภาพที่ 4.1) กลไกการขับแอมโมเนียจากเลือดเป็นไปตามสมมุติฐานของ Weihrauch *et al.* (2009) สามารถแบ่งได้เป็นสองโมเดล คือ 1. PV cell model (Pavement cell) และ 2. MR cell model (Mitochondria rich cell) สำหรับ PV model จะกล่าวถึง NH_3 ซึ่งอยู่ในรูปของก๊าซไม่มีประจุจะสามารถแพร่จากเลือดผ่านเหงือกสู่น้ำโดยตรง (A) โดย NH_3 แพร่เข้าสู่ในเซลล์เหงือกผ่านไกลโคโปรตีน Rhbg และขับออกผ่าน Rhcg2 ของเซลล์ pavement cells (PV cells) และในส่วนของ MR cell model เมื่อ NH_3 เกิดการรวมตัวกับ H^+ กลายเป็น NH_4^+ (Nakada *et al.*, 2007) การขับ NH_4^+ ออกนอกเซลล์เกิดขึ้นได้สามรูปแบบ โดยรูปแบบแรก Na^+ , K^+ , 2Cl^- จากเลือดจะเข้าไปในเซลล์ร่วมกัน (co-transport) โดย NH_4^+ จะเข้าไปร่วมด้วย (B) จากนั้นจะไปแทนที่ H^+ ซึ่งได้แลกเปลี่ยนกับ Na^+ (exchanger) ซึ่งมีโปรตีน NHE-2 ทางด้านที่ติดกับน้ำ รูปแบบที่สอง NH_4^+ เข้าไปแทนที่ 2K^+ ซึ่งแลกเปลี่ยนกับ 3Na^+ โดยผ่านกลไก Na^+/K^+ -ATPase exchanger (C) และรูปแบบที่สาม NH_4^+ ยังผ่านเหงือกเข้าสู่ช่องว่างของเซลล์ (gap junction) (D) การเข้าไปของ NH_4^+ แบบร่วมกันและแบบแลกเปลี่ยนจะเกิดขึ้นที่ MR cell (Mitochondria rich cell)



ภาพที่ 4.1 แบบจำลองการขับถ่ายที่เหงือกของปลาน้ำเค็ม (Weihrauch *et al.*, 2009)

4.2.3 ผลของแอมโมเนียต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

การวัดปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นเป็นส่วนหนึ่งของการตรวจความสมบูรณ์ของเลือด ซึ่งเป็นวิธีการตรวจสอบเพื่อบอกความผิดปกติของปริมาณเม็ดเลือดแดง จากผลการทดลองพบว่า ปลาที่เลี้ยงในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร และในชุดควบคุมในสัปดาห์ที่ 2-6 และ 7-8 มีปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($p > 0.05$) เป็นไปได้ว่า ปลามีการปรับสภาพเพื่อทำให้การหายใจเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Shin *et al.*, (2016) พบว่า ปลาโกเรียน ร็อคฟิช (*Sebastes schlegeli*) ที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.1, 0.5, and 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากสัปดาห์ที่ 2-4 ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($p > 0.05$ ซึ่งเป็นไปได้ว่ามีความเกี่ยวข้องกับปรับตัวของปลา

4.2.4 ผลของแอมโมเนียต่อกลูโคสในเลือด

การวัดปริมาณกลูโคสในเลือดถือเป็นการตรวจสอบความผิดปกติของเมแทบอลิซึมของร่างกายโดยทั่วไป กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานแห่งแรกสำหรับเซลล์ ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการใช้พลังงานของสิ่งมีชีวิต การรักษาภาวะสมดุลในร่างกายเพื่อรักษาระดับน้ำตาลในเลือด เกี่ยวข้องกับหลายระบบที่ทำงานร่วมกัน เช่น ฮอร์โมน, กลูคาγον, คอร์ติซอล และ catecholamine จะทำให้ระดับกลูโคสในเลือดเพิ่มมากขึ้น ส่วนอินซูลินทำให้ระดับกลูโคสในเลือดลดลง การศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้ปลาที่มีปริมาณกลูโคสในเลือดสูงสุด และรองลงมาที่ระดับความเข้มข้น 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่าเพิ่มขึ้น 3.01 และ 2.25 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณกลูโคสในเลือดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Metwally, M.A.A. and Wafeek, M, (2004) ที่พบว่าปลาอยู่ใน NH_4Cl ในความเข้มข้นต่างกันทำให้ระดับกลูโคสในเลือดของปลานิลทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นที่รู้กันดีว่าแอมโมเนียมีผลทำให้ระดับของ catecholamine เพิ่มขึ้น จึงเกิดการกระตุ้นกระบวนการ glycogenolysis และ glyconeogenesis ซึ่งมีผลทำให้ระดับของกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า คอร์ติโคสเตียรอยด์ ตอบสนองต่อแอมโมเนียที่มีความเข้มข้นสูงๆ นอกจากนี้ Davis *et al*, (2003) พบว่า ปลากระมัง (*Sciaenops ocellatus*) ที่อยู่ในแอมโมเนียความเข้มข้นสูงๆ ทำให้ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้น ความเครียดเป็นอีกเหตุผลที่จะชักนำทำให้ระดับกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นอีกด้วยซึ่งพบในปลาหลายสายพันธุ์ (Rotllant *et al* 2001, Skjervold *et al.*, 2000) ไกลโคเจนทำหน้าที่เก็บกักพลังงานของสัตว์ โดยเปรียบเสมือนกับแหล่งกักเก็บพลังงานหลักที่อยู่ภายในของกลูโคสในร่างกาย เมื่อได้รับความเข้มข้นของแอมโมเนียในช่วงสั้นๆและนานทำให้ไกลโคเจนในกล้ามเนื้อนั้นลดลง (Cui *et al.*, 2017)

4.3 ผลของแอมโมเนียต่อค่าออสโมลาลิตีในและเลือด

4.4.1 ผลของแอมโมเนียต่อค่าออสโมลาลิตีในเลือด

จากผลการทดลองพบว่าออสโมลาลิตีที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ออสโมลาลิตีของเลือดปลาที่เลี้ยงในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่าไม่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม ($p > 0.05$) อาจจะมีสาเหตุมาจากแอมโมเนียที่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่ส่งผลต่อค่าออสโมลาลิตีของเลือดปลากระพงขาว นอกจากนี้ยังพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.024 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลทำให้ค่าออสโมลาลิตีในเลือดเพิ่มขึ้น 49 และ 60 % และเมื่อเปรียบเทียบกับชุด

ควบคุมและแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตร ออสโมลาลิตีในเลือดปลาที่เลี้ยงในแอมโมเนียความเข้มข้น 0.0024 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำและเลือดแตกต่างกัน 45 และ 46.1% ความแตกต่างระหว่างค่าออสโมลาลิตีในเลือดกับน้ำอาจจะเนื่องมาจากการปรับสภาพของร่างกาย ในสภาวะที่ออสโมลาลิตีภายนอกและภายในแตกต่างกัน จะส่งผลโดยตรงกับการใช้พลังงานเพื่อการรักษาสมดุล และเกิดสภาวะเครียด ทำให้กลูโคสจะถูกใช้เพื่อนำมาชดเชยการสูญเสียเกลือแร่ และใช้เป็นพลังงานในการปรับสมดุลเกลือแร่ (osmoregulation) ด้วยกระบวนการใช้พลังงาน (active transport) และการนำสารอินทรีย์จำพวกกรดอะมิโน และกลูโคสมาใช้เป็นพลังงาน เพื่อควบคุมระบบสมดุลเกลือแร่ในร่างกายให้อยู่ในระดับคงที่ และเหมาะสมกับการดำรงชีวิต นั้นจะส่งผลยังเป็นการเพิ่มระดับออสโมลาลิตีภายในเลือด (colloidal osmotic pressure) ให้สูงขึ้นอีกด้วย (Zwingmann and Leibfritz, 2005) นอกจากนี้ Romano and Zeng, (2007) พบว่าปูดำ (*Scylla serrata*) จะมีการใช้พลังงานเพื่อปรับสภาพความสมดุลเกลือแร่อย่างมากเมื่อความเค็มน้ำภายนอกมีระดับต่ำหรือสูงเกินไป (osmotic stress) ทำให้แอมโมเนียในเลือดสูงขึ้นอีกด้วยและสารอินทรีย์จำพวกกรดอะมิโน และกลูโคสมาใช้เป็นพลังงานอย่างมากจากเปลือกและเนื้อเยื่อ เพื่อควบคุมระบบสมดุลเกลือแร่ในร่างกายให้อยู่ในระดับคงที่และเหมาะสมกับการดำรงชีวิต อีกทั้งกรดอะมิโนและกลูโคสดังกล่าวยังส่งผลทำให้มีการเพิ่มระดับออสโมลาลิตีภายในเลือด (colloidal osmotic pressure) ให้สูงขึ้นอีกด้วยนอกจากนี้แล้วยังสามารถปรับออสโมลาลิตีได้ดีโดยไม่เกิดการสูญเสียพลังงานในการควบคุมสมดุลแร่ธาตุ จึงส่งผลให้สามารถนำพลังงานไปใช้ในการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ

4.4 ผลของแอมโมเนียต่ออัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาว

จากผลการทดลองผลของแอมโมเนียต่ออัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาวพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรและชุดควบคุม มีอัตราการอยู่รอดไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ยกเว้นที่แอมโมเนียความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัม แตกต่างจากชุดควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4-8 และพบว่าในสัปดาห์ที่ 8 ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้อัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาวลดลง 7.6 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากผลการทดลองดังกล่าวอาจจะมีสาเหตุมาจากความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ทำการทดลองดังกล่าวได้ผ่านการหาค่า LC_{50} ซึ่งได้เจือจาง เป็น 10 เท่า (Chen *et al.*, 2009) ได้ค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียใช้ใน

การทดลองคือ 0.0024, 0.024, 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ปลามีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดที่สูง และในความเข้มข้นแอมโมเนียสูง 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลทำให้ปลาอัตราการอยู่รอดลดลงเพียง 7.6 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การตายของปลาอาจจะเนื่องจากสาเหตุอื่น ๆ อีก เช่น ปริสิตหรือเชื้อโรคอื่น ๆ

Prince of Songkla University
Pattani Campus

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าแอมโมเนียที่ความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้การเจริญเติบโต ออสโมเรกูเลชัน และ เมแทบอลิซึมในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ผิดปกติโดยการตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลากะพงขาววัดจาก อัตราการกินอาหาร น้ำหนัก ความยาว ความกว้างและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้ปลากะพงขาวมีอัตราการกินอาหาร น้ำหนัก ความยาว ความกว้างและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะลดลงจากชุดควบคุม 67.4, 52.9, 78.7, 75 และ 75% ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลา พบว่าปลาที่อยู่ในชุดควบคุมมีค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลาดีที่สุด 1.16 และรองลงมาจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแอมโมเนีย 1.18, 1.21 และ 1.37 ตามลำดับและอัตราการแลกเปลี่ยนเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม 74.3 % นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อออสโมเรกูเลชันของอีกด้วย โดยมีการตรวจวัดจากค่าออสโมลาลิตี้น้ำและเลือด โดยพบว่าทำให้ค่าออสโมลาลิตี้น้ำและเลือดแตกต่างกัน 60 % ส่วนค่าออสโมลาลิตี้น้ำและเลือดในชุดควบคุมแตกต่างกัน 45 % นอกจากนี้ยังตรวจสอบความผิดปกติของเมแทบอลิซึมในร่างกายซึ่งเป็นการตรวจสอบค่าทางอ้อมโดยการวัดอัตราการหายใจและอัตราการขับแอมโมเนีย และพบว่าแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรส่งผลให้อัตราการหายใจและอัตราการขับแอมโมเนียลดลงจากชุดควบคุม 60.6 และ 39.3% ซึ่งอัตราการหายใจและอัตราการขับแอมโมเนียมีความสัมพันธ์กับอัตราการกินอาหารของปลากะพงขาว นอกจากนี้ยังตรวจสอบปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและปริมาณกลูโคสในเลือด พบว่าแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้นสูง 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรทำให้ปลากะพงขาวมีปริมาตรเม็ดแดงอัดแน่นไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และที่ความเข้มข้นดังกล่าวทำให้ปลากะพงขาวมีปริมาณกลูโคสสูงกว่าชุดควบคุม 66.7 % และนอกจากนี้พบว่าอัตราการอยู่รอดของปลากะพงขาวในสัปดาห์ที่ 8 ในแอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้น 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตรส่งผลให้อัตราอยู่รอดของปลากะพงขาวลดลงจากชุดควบคุม 7.6 %

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการทดลองยังไม่สามารถตรวจสอบได้ว่า แอมโมเนียมีผลต่อเนื้อเยื่ออื่น ๆ ไตบ่งว่าจะมีการศึกษาทางด้านพยาธิวิทยา โดยการตรวจเนื้อเยื่อเห็อกเพิ่มเติม
2. ทำการศึกษาผลของสารพิษชนิดอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อปลากะพงขาว

บรรณานุกรม

- กองควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2547. มาตรฐานคุณภาพน้ำ. สืบค้นจาก: http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water05.htm [21 กันยายน 2555].
- สถานีประมงศรีราชา. 2546. การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว. สืบค้นจาก: http://www.ku.ac.th/emagazinejuly46/agri/fish_kapong.ht [21 ตุลาคม 2557].
- สวัสดิ์ วงศ์สมนึก และ สุจินต์ มณีวงศ์. 2517. การทดลองเพาะพันธุ์ปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) โดยวิธีผสมเทียม. รายงานผลการปฏิบัติงานทางวิชาการประจำปี 2516-2517. สถานีประมงสงขลา, กรมประมง. หน้า 62-83.
- สุจินต์ มณีวงศ์ และประชิต พงศ์สุวรรณ. 2558. การเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังในลอน. รายงานประจำปี 2514, 2515. สงขลา: กรมประมง สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง.
- สุนิตย์ โจรนพิทยากุล เจนจิตต์ คงกำเนิด และอัครา ไชยมงคล. 2547. การเลี้ยงปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (Bloch) ด้วยอาหารสำเร็จภาพที่มีระดับโปรตีนต่ำสลับกับอาหารที่มีระดับโปรตีนปกติต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร: เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 9/2547. สงขลา: กรมประมง สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง.
- สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. เศรษฐกิจการผลิตและการตลาดปลากะพงขาวในกระชัง. เอกสารวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เลขที่ 106.
- โสมลดา ประเสริฐสม. 2547. พิษเฉียบพลันของแอมโมเนียต่อลูกปลากะพงขาว, *Lates calcarifer* (BLOCH). เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 10/2547. สงขลา: กรมประมง สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง.
- ศูนย์พัฒนาประมงพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนังอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 2555. การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว. สืบค้นจาก: <http://www.fisheries.go.th/images/aqua/Lates%20calcarifer.jpg> [22 สิงหาคม 2558].
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาการป้องกันและจัดการภัยพิบัติ. 2555. แอมโมเนีย: ก๊าซพิษที่ควรหาแนวทางรับมือ. สืบค้นจาก: <http://dpm.nida.ac.th/main/index.php/articles/chemical-hazards/item/82-B8%AD> [18 มิถุนายน 2558].

- ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งระยอง. 2558. การเพาะเลี้ยงปลากะพงขาว. สืบค้นจาก:
<http://webcache.googleusercontent.com/search?qwww.fisheries.go.th/cf-rayong/index.php> [3 ตุลาคม 2558].
- Amado, L. and Monserrat, J. 2010. Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: why and how. *Environment International*. 36, 226–235.
- APHA, AWWA and WPCE. 1985. Standard Method for Examination of Water and Waste Water. Sixteen edition. American Public Health Association, Washington D.C. 1268 p.
- Armstrong, B.M., Lazorchak, J.M., Murphy, C.A., Haring, H.J., Jensen, K.M. and Smith, M.E. 2012. Determining the effects of ammonia on fathead minnow (*Pimephales promelas*) reproduction. *Science of the Total Environment*. 420, 127–133.
- Atwood, H.L., Tomasso Jr., J.R., Ronan, P.J., Barton, B.A. and Renner, K.J. 2000. Brain monoamine concentrations as predictors of growth inhibition in channel catfish exposed to ammonia. *Journal of Aquatic Animal Health*. 12, 69–73.
- Azaza, M. S., Mensi, J., Ksouri, M., Dhraief, N., Brini, B. and Abdelmouleh, A. 2008. Growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed with diets containing graded levels of green algae ulva meal (*Ulva rigida*) reared in geothermal waters of southern Tunisia. *Journal of applied ichthyology*. 24, 202–207
- Kraïem, M. M. 2008. A primary of life history. *The Philippine Journal of Science*. 73, 437-454.
- Barton, B.A. 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *International Journal for Computational Biology*. 42, 517–525.
- Beaumont, M.W., Butler, P.J. and Taylor, E.W. 2000. Exposure of brown trout, *Salmo trutta*, to a sub-lethal concentration of copper in soft acidic water: effects upon muscle metabolism and membrane potential. *Aquatic Toxicology*. 51, 259-272.
- Benli, A.C.K., Koksul, G. and Ozkul, A. 2008. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere*. 72, 1355-1358.

- Braun, M.H. and Perry, S.F. 2010. Ammonia and urea excretion in the Pacific hagfish *Eptatretus stoutii*: Evidence for the involvement of Rh and UT proteins. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 157, 405-415.
- Chen, X., Lu, C.Y. and Ye, Y. 2009. Effects of Cd and Zn on oxygen consumption and ammonia excretion in sipuncula (*Phascolosoma esculenta*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72, 507-515.
- Christine, J., Sydenhama, b., Ha, H., Truonga, c., Amy, F., Mossa,, Peter, H. and Sellea, Sonia, Yun Liua. 2017. Fishmeal and maize starch inclusions in sorghum-soybean meal diets generate different responses in growth performance, nutrient utilisation, starch and protein digestive dynamics of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 227, 32-41.
- Cui, Y., Ren, X., Li, J., Zhai, Q., Feng, Y., Xu, Y. and Ma, L. 2017. Effects of ammonia-N stress on metabolic and immune function via the neuroendocrine system in *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*. doi: 10.1016/j.fsi.2017.03.028.
- Danielle McDonald, M., Kathleen, M.Gilmour, b. and Walsh, J.Patrick. 2012. New insights into the mechanisms controlling urea excretion in fish gills. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 184, 241- 248.
- Davis, K.B., B.R. Griffin and W.L. Gray, 2003. Effect of dietary cortisol on resistance of channel catfish to infection by *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus disease. *Aquaculture*, 218: 121-131.
- Dosdat, A., Person-Le Ruyet, J., Covès, D., Dutto, G., Gasset, E., Le Roux, A. and Lemarié, G. 2003. Effect of chronic exposure to ammonia on growth, food utilisation and metabolism of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquatic Living Resources*. 16, 509-520.
- Eddy, F.B. 2005. Ammonia in estuaries and effects on fish. *Journal of Fish Biology*. 67, 1495-1513.
- El-Shafai, S.A., El-Gohary, F.A., Nasr, F.A., van der Steen, N.P. and Gijzen, H.J., 2004. Chronic ammonia toxicity to duckweed-fed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 232, 117-127

- Evans, D. H., Piermarini, P. M., and Choe, K. P. 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological Reviews*. 85, 97–177.
- Foss, A., Evensen, T.H. and Øiestad, V., 2002. Effects of hypoxia and hyperoxia on growth and food conversion efficiency in the spotted wolffish *Anarhichas minor* (Olafsen). *Aquaculture Research*. 33, 437–444.
- Foss, A., Røsnes, B.A. and Øiestad, V., 2003. Graded environmental hypercapnia in spotted Wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen): effects on growth, food conversion efficiency and nephrocalcinosis. *Aquaculture* 220, 607–617.
- Foss, A., Vollen, T. and Øiestad, V. 2003. Growth and oxygen consumption in normal and O₂ supersaturated water, and interactive effects of O₂ saturation and ammonia on growth in spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen). *Aquaculture* 224, 105–116.
- Foss, A., Siikavuopio, S. I., Saether, B. S and Evensen, T. H., 2004 Effect of chronic ammonia exposure on growth in juvenile Atlantic cod. *Aquaculture* 237, 179–189.
- Frances, J., Nowak, B.F. and Allan, G.L. 2000. Effects of ammonia on juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*. 183, 95-103.
- Husson, A., Brasse-Lagnel, C. and Fairand, A. 2003. Argininosuccinate synthetase from the urea cycle to the citrulline-NO cycle. *European Journal of Biochemistry*. 270, 1887–1899.
- Ip, Y.K., Chew, S.F. and Randall, D.J. 2001. Ammonia toxicity, tolerance and excretion. In : Wright, P.A., Anderson, P.M. (Eds.) *Fish Physiology, Nitrogen Excretion*. 20, 109-148.
- Ip, Y. K., Chew, S. F., and Randall, D. J. (2004). Five tropical fishes, six different strategies to defend against ammonia toxicity on land. *Physiological and Biochemical Zoology*. 77, 768–782.
- Joyce, J.E. and David, J.P. 2006. Un-ionized Ammonia Exposure in Nile Tilapia: Toxicity, Stress Response, and Susceptibility to *Streptococcus agalactiae*. *North American Journal of Aquaculture* 68, 23–33.

- Krupa, S.V. 2003. Effects of atmospheric ammonia (NH₃) on terrestrial vegetation: a review. *Environmental Pollution*. 124, 179–221.
- Kumai, Y. and Perry, S.F. 2011. Ammonia excretion via Rhcg1 facilitates Na⁺ uptake in larval zebrafish, *Danio rerio*, in acidic water. *American Journal of Physiology*. 301, R1517–R1528.
- Lawson, T.B. 1995. *Fundamentals of Aquaculture Engineering*. Chapman & Hall, New York. 355 pp.
- Lemarie, G., Dosdat, A., Coves, D., Dutto, G., Gasset, E. and Ruyet, J.P. 2004. Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*. 229, 471-491.
- Lim C. B., Chew, S. F., Anderson, P. M., and Ip, Y. K. 2001. Mudskippers (*Periophthalmodon schlosseri* and *Boleophthalmus boddarti*) reduce the rates of protein and amino acid catabolism to slow down internal ammonia build up during aerial exposure in constant darkness. *Journal of Experimental Biology*. 204,1605-1614.
- Lin, C-C., Lin, L.Y., Hsu, H.H., Thermes, V., Prunet, P., Horng, J.L. and Hwang, P.P. 2012. Acid secretion by mitochondrion-rich cells of medaka (*Oryzias latipes*) acclimated to acidic freshwater. *American Journal of Physiology*. 302, R283 – R291.
- MacIntyre, C.M., Ellis, T., North, B.P. and Turnbull, J.F. 2008. The Influences of Water Quality on the Welfare of Farmed Rainbow Trout: A Review; In *Fish Welfare*. Blackwell Publishing Ltd, Singapore. pp. 150-159.
- Madison, B.N., Dhillon, R.S., Tufts, B.L. and Wang, Y.S. 2009. Exposure to low concentrations of dissolved ammonia promotes growth rate in walleye *Sander vitreus*, *Journal of Fish Biology*. 74, 872–890.
- McKenzie, D.J., Peterson, D.W., Peterson, D.L., and Thornton, P.E. 2003. Climatic and biophysical controls on conifer species distributions in mountain forests of Washington State, USA. *Journal of Biogeography*. 30, 1093–1108.
- Mehmet, K., Mustafa, T., Murat C.S. and Havva, T. 2016. Acute toxicity of ammonia in Meagre (*Argyrosomus regius* Asso, 1801) at different temperatures. *Aquaculture Research*. 47, 3593–3598

- Metwally, M.A.A. and Wafeek, M. 2004. Effect of ammonia toxicity on carbohydrate metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). World Journal of Fish and Marine Sciences 6 (3), 252-261.
- Miron, D.S., Moraes, B., Becker, A.G., Crestani, M., Spanevello, R., Loro, V.L., Baldissarotto, B. 2008. Ammonia and pH effects on some metabolic parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). Aquaculture. 277,192–196.
- Mohanty, A. K., Nayak, L. and Bhatta, K.S. 2014. Length-weight relationship and relative condition factor of Asian seabass, *Lates calcarifer* (bloch) from Chilika Lagoon, Odisha. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies. 1(6): 222-224
- Nakada, T., Westhoff, C.M., Kato, A. and Hirose, S. 2007. Ammonia secretion from fish gill depends on a set of Rh glycoproteins. The FASEB Journal. 21, 1067–1074.
- Nawata, C.M., Hung, C.C.Y., Tsui, T.K.N., Wilson, J.M. and Wright, P.A. 2007. Ammonia excretion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): evidence for Rh glycoprotein and H⁺-ATPase involvement. Physiological Genomics. 31, 463-474.
- Pan, C.H., Chien, Y.H. and Wang, Y.J. 2011. Antioxidant defence to ammonia stress of characins (*Hyphessobrycon eques* Steindachner) fed diets supplemented with carotenoids. Aquaculture Nutrition. 17, 258–266.
- Person-Le Ruyet, J., Lamers, A., Le Roux, A., Sévère, A., Boeuf, G. and Mayer-Gostan, N. 2003. Long-term ammonia exposure of turbot: effects on plasma parameters. Journal of Fish Biology. 62, 879–894.
- Pinto, W., Aragao, C., Soares, F., Dinis, M.T. and Conceicao, L.E.C. 2007. Growth, stress response and free amino acid levels in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) chronically exposed to exogenous ammonia. Aquaculture Research. 38, 1198-1204.
- Randall, D.J. and Tsui, T.K.N. 2002. Ammonia toxicity in fish. Marine Pollution Bulletin. 45, 17-23.

- Ren, Q., Li, M., Yuan, L., Song, M., Xing, X., Shi, G., Meng, F. and Wang, R. 2016. Acute ammonia toxicity in crucian carp *Carassius auratus* and effects of taurine on hyperammonemia. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 190, 9–14.
- Richard, J. M. 2009. Effects of Ammonia on Growth and Metabolism in Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Kingston, Ontario, Canada Queen's University.
- Rodrigues, V.R., Schwarz, H.M, Delbos, B.C. Delbos and Sampaio, A.L. 2007. Acute toxicity and sublethal effects of ammonia and nitrite for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*. 27, 553-557.
- Romano, N. and Zeng, C. 2007. Ontogenic changes in tolerance to acute ammonia exposure and associated gill histological alterations during early juvenile development of the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus*. *Aquaculture* 266, 246-254.
- Rotllant, J., Balm, P.H., Perez-Sanchez, J., Wendelaar-Bonga S.E. and Tort, L. 2001. Pituitary and interrenal function in Gilthead Sea bream (*Sparus aurata* L., *Teleostei*) after handling and confinement stress. *General and Comparative Endocrinology*., 121, 333-342.
- Roumieh, R., Barakat, A., Abdelmeguid, N.E., Ghanawi, J. and Saoud, I.P. 2013. Acute and chronic effects of aqueous ammonia on marbled spinefoot rabbitfish, *Siganus rivulatus* (Forsskal 1775). *Aquaculture Research*. 44, 1777–1790.
- Salazar, L., Estrada, E.V. and Velasques, E.S. 2006. Effect of the exposure to *Fasciola hepatica* on life history traits of *Lymnaea cousin*. *Experimental Parasitology*. 144, 77-83.
- Saravanan, S., Geurden, I., Figueiredo-Silva, AC., Nusantoro, S. and Kaushik, S. 2013. Oxygen Consumption Constrains Food Intake in Fish Fed Diets Varying in Essential Amino Acid Composition. *PLoS ONE*. 8(8), e72757.
- Schram, E., Roques, J.A.C., Abbink, W., Spanings, T., Vries, P., Bierman, S., Vis, H. and Flik, G. 2010. The impact of elevated water ammonia concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish (*Clarias gariepinus*) *Aquaculture*. 306, 108–115.

- Schram, E., Roques, A.C.J., Kuijk, V.T., Abbink, W., Heul, V.D.J., Vries, D.P., Bierman, S., Vis, V.D.H and Flik, G. 2014. The impact of elevated water ammonia and nitrate concentration on physiology, growth and feed of pikeperch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*. 420-421, 95-104.
- Shin, K.M., Kim, S.H., Kim, J.H., Hwang, S.D. and Kang, J.C. 2016. Toxic effects of ammonia exposure on growth performance, hematological parameters, and plasma components in rockfish, *Sebastes schlegelii*, during thermal stress. *Fisheries and Aquatic Sciences*. 19, 44.
- Sinha, K.A., Liew, J.H., Diricx, M., Blust, R. and Boeck, D.G. 2012. The interactive effects of ammonia exposure, nutritional status and exercise on metabolic and physiological responses in gold fish (*Carassius auratus* L.). *Aquatic Toxicology*. 109, 33-46.
- Sinha, A.K., Matey, V., Giblen, T., Blust, R. and De Boeck, G. 2014. Gill remodeling in three freshwater teleosts in response to high environmental ammonia. *Aquatic Toxicology*. 155, 166–180.
- Sinha, K.A, Rasoloniriana, R., Dasan, F.A., Pipralia, N., Blust, R. and Boeck, D.G. 2015. Interactive effect of high environmental ammonia and nutritional status on ecophysiological performance of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) acclimated to reduced seawater salinities. *Aquatic Toxicology*. 160, 39-56.
- Skjervold, P.O., S.O. Fjaera, P.B. Oestby and O. Einen, 2001. Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 192, 265- 280.
- Spencer, P., Pollock, R. and Dubé, M. 2008. Effects of un-ionized ammonia on histological, endocrine, and whole organism endpoints in slimy sculpin (*Cottus cognatus*). *Aquatic Toxicology*. 90, 300–309.
- Svobodova, Z., Machova, J., Poleszczuk, G., Huda, J., Hamackova, J. and Kroupova, H. 2005. Nitrite poisoning of fish in aquaculture facilities with water-recirculating systems. *Acta Veterinaria Brunensis*. 74, 129–137.
- Swingle, W.E .and Shell, E.W. 1971. Tables for Computing Relative Condition of Some Freshwater Fishes. Auburn University College of Agriculture. 183 pp.

- Takasusuki, J., Araujo, M.M.R. and Fernandes, M.N. 2004. Effect of water pH on copper toxicity in the neotropical fish, *Prochilodus scrofa* (Prochilodondidae). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 72, 1075–1082.
- Taylor, E. 2000. Effects of exposure to sublethal levels of copper on brown trout: mechanisms of ammonia toxicity. In: Randall, D.J., Xiang, H., Thurston, R.V. (Eds.), *Proceedings of the Fifth International Symposium on Fish Physiology, Toxicology and Water Quality*. City University of Hong Kong. US Environmental Protection Agency, Athens, GA, USA, pp. 51– 68.
- Thurston, R. and Russo, R. 2004. *Acute Toxicity of Ammonia to Rainbow Trout*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/J-83/155.
- Verdouw, H., Vanechteld, C.J.A. and Dekkers, E.M.J. 1978. Ammonia determination based on extracellular acid-base in a wild population of the crayfish *Austropotamobius pallipes*. *The Journal of Experimental Biology*. 181, 295-311.
- Wajsbrodt, N., Gasith, A., Krom, M.D. and Popper, D.M. 1991. Acute toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* under reduced oxygen levels. *Aquaculture*. 164, 227-288.
- Weihrauch, D., Wilkie, M. P., and Walsh, P. J. 2009. Ammonia and urea transporters in gills of fish and aquatic crustaceans. *Journal of Experimental Biology*. 212, 1716–1730.
- Wicks, B.J., Joensen, R., Tang, Q. and Randall, D.J. 2002. Swimming and ammonia toxicity in salmonids: the effect of sub lethal ammonia exposure on the swimming performance of coho salmon and the acute toxicity of ammonia in swimming and resting rainbow trout. *Aquatic Toxicology*. 59, 55-69.
- Wilkie, M. P. 2002. Ammonia excretion and urea handling by fish gills: present understanding and future research challenges. *Journal of Experimental Zoology*. 293, 284–301.
- Wood, C. 2004. Dogmas and controversies in the handling of nitrogenous wastes: is exogenous ammonia a growth stimulant in fish?. *Journal of Experimental Biology*. 207, 2043–2054.

- Wright, P.A., Steele, S.L., Hvitema, A. and Bernier, N.J., 2007. Induction of four glutamine synthetase genes in brain of rainbow trout in response to elevated environmental ammonia. *Journal of Experimental Biology*. 198, 127–135.
- Zimmer, A., Nawata, C.M. and Wood, C.M. 2010. Physiological and molecular analysis of the interactive effects of feeding and high environmental ammonia on branchial ammonia excretion and Na^+ uptake in freshwater rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 180, 1191–1204.
- Zwingmann, C. and Leibfritz, D. 2005. Ammonia toxicity under hyponatremic conditions in astrocytes: De novo synthesis of amino acids for the osmoregulatory response. *Neurochemistry International*. 47, 39-50.

Prince of Songkla University
Pattani Campus

Prince of Songkla University
Pattani Campus
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตารางภาคผนวกที่ 1 คุณภาพน้ำที่เลี้ยงปลากะพงขาว ในระยะเวลา 8 สัปดาห์

สัปดาห์	ครั้งที่	ค่า DO	pH	ความเค็ม	อุณหภูมิ
1	1	6.57±0.1	7±0	33±0	28±0
	2	6.56±0.1	7±0	33±0	28±0
	3	6.57±0.1	7±0	33±0	28±0
	ค่าเฉลี่ย	6.56±0.05	7±0	33±0	28±0
2	1	6.45±0.1	7±0	33±0	29±0
	2	6.54±0.1	7±0	33±0	29±0
	3	6.54±0.2	7±0	33±0	29±0
	ค่าเฉลี่ย	6.51±0.05	7±0	33±0	29±0
3	1	6.57±0.3	7±0	32±0	28±0
	2	6.59±0.3	7±0	32±0	28±0
	3	6.7±0.2	7±0	32±0	28±0
	ค่าเฉลี่ย	6.62±0.07	7±0	32±0	28±0
4	1	6.61±0.5	6.9±0.1	33±0	28±0
	2	6.56±0.5	6.9±0	33±0	28±0
	3	6.57±0.5	6.9±0	33±0	28±0
	ค่าเฉลี่ย	6.58±0.02	6.9±0	33±0	28±0
5	1	6.57±0.1	7±0	33±0	28±0
	2	6.57±0.1	7±0	33±0	28±0
	3	6.58±0.1	7±0	33±0	28±0
	ค่าเฉลี่ย	6.57±0.05	7±0	33±0	28±0
6	1	6.57±0.1	7±0	33±0	29±0
	2	6.57±0.01	7±0	33±0	29±0
	3	6.57±0.1	7±0	33±0	29±0
	ค่าเฉลี่ย	6.57±0	7±0	33±0	29±0

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากะพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์

ตารางภาคผนวกที่ 1 คุณภาพน้ำที่เลี้ยงปลากะพงขาว ในระยะเวลา 8 สัปดาห์ (ต่อ)

สัปดาห์	ครั้งที่	DO	pH	ความเค็ม	อุณหภูมิ
7	1	6.57±0.1	6.8±0	33±0	28±0
	2	6.58±0.1	6.8±0	33±0	28±
	3	6.57±0.1	6.8±0	33±0	28±0
	ค่าเฉลี่ย	6.57±0.005	6.8±0	33±0	28±0
8	1	6.67±0.5	7±0	32±0	28±0
	2	6.57±0.5	7±0	32±0	28±0
	3	6.58±0.5	7±0	32±0	28±0
	ค่าเฉลี่ย	6.60±0.05	7±0	32±0	28±0

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากะพงขาว 135 ตัวตลอดทั้ง 8 สัปดาห์

ตารางภาคผนวกที่ 2 อัตราการกินอาหารของปลากะพงขาวในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์

สัปดาห์	ครั้งที่	อัตราการกินอาหาร (กรัม)			
		ชุดควบคุม	0.0024 mg/l	0.024 mg/l	0.24 mg/l
1	1	16.161±1	13.37±1	11.58±0.9	9.11±1
	2	15.77±1	13.44±1	11.60±0.9	9.18±1
	3	16.78±1	13.43±1	11.65±0.8	9.23±1
	ค่าเฉลี่ย	16.24±0.4 (a)	13.41±0.03 (b)	11.61±0.02 (b)	9.17±0.04 (c)
2	1	17.15±0.6	14.47±0.6	12.36±0.8	9.72±0.4
	2	17.14±0.6	14.55±0.6	12.51±0.8	9.78±0.4
	3	17.15±0.6	14.54±0.6	12.41±0.8	9.74±0.3
	ค่าเฉลี่ย	17.15±0.04 (a)	14.52±0.03 (b)	12.43±0.06 (b)	9.75±0.02 (c)
3	1	19.14±1	14.70±0.4	13.48±0.3	11.12±0.7
	2	19.14±1	14.81±0.4	13.71±0.3	11.1±0.7
	3	19.38±1	14.70±0.4	13.48±0.4	11.10±0.7
	ค่าเฉลี่ย	19.22±0.1 (a)	14.73±0.05 (b)	13.56±0.1 (b)	11.13±0.09 (b)
4	1	22.62±0.6	15.70±0.3	14.20±0.3	12.77±0.3
	2	22.63±0.6	15.74±0.3	14.47±0.3	12.82±0.3
	3	22.62±0.5	15.70±0.3	14.25±0.3	12.77±0.3
	ค่าเฉลี่ย	22.62±0.04 (a)	15.71±0.01 (b)	14.30±0.1 (b)	12.79±0.02 (c)
5	1	20.75±0.7	16.85±0.3	15.18±0.2	13.31±0.4
	2	23.75±0.7	16.85±0.3	15.27±0.2	13.32±0.4
	3	23.75±0.7	16.85±0.3	15.22±0.2	13.31±0.3
	ค่าเฉลี่ย	22.75±1 (a)	16.85±0 (b)	15.22±0.03(b)	13.31±0.04 (c)
6	1	25.98±1	18.20±0.2	16.04±0.1	14.60±0.3
	2	25.98±1	18.20±0.2	16.04±0.1	14.60±0.3
	3	26.0±1	19.51±0.2	17.68±0.2	15.62±0.3
	ค่าเฉลี่ย	26.00±0.02 (a)	18.63±0.6 (b)	16.59±0.7 (b)	14.94±0.4 (c)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากะพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์ น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกัน ปลาเริ่มน้ำหนักเริ่มต้น ระหว่าง 23-25 กรัม อักษร a, b และ c ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 2 อัตราการกินอาหารของปลากะพงขาวในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์ (ต่อ)

สัปดาห์	ครั้งที่	อัตราการกินอาหาร (กรัม)			
		ชุดควบคุม	0.0024 mg/l	0.024 mg/l	0.24 mg/l
7	1	23.68±0.8	19.5±0.8	17.01±0.6	15.74±0.8
	2	23.68±0.8	19.5±0.8	17.11±0.5	15.82±0.8
	3	23.75±0.8	19.5±0.8	17.01±0.6	15.74±0.7
	ค่าเฉลี่ย	23.70±0.03 (a)	19.5±0 (b)	17.04±0.04 (b)	15.77±0.03 (b)
8	1	25.55±0.3	20.78±0.1	18.31±0.1	17.27±0.1
	2	25.60±0.2	20.78±0.1	18.40±0.1	17.31±0.1
	3	25.74±0.3	21.07±0.1	18.40±0.1	17.28±0.1
	ค่าเฉลี่ย	25.63±0.08 (a)	20.88±0.1 (b)	18.37±0.04 (c)	17.29±0.01 (c)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากะพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์ น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกัน ปลาเริ่มน้ำหนักเริ่มต้น ระหว่าง 23-25 กรัม อักษร a, b และ c ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 3 น้ำหนักของปลากระพงขาว ในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์

สัปดาห์	ครั้งที่	น้ำหนักของปลากระพงขาว (กรัม)			
		ชุดควบคุม	0.0024 mg/l	0.024 mg/l	0.24 mg/l
1	1	40.08±1	37.40±1	35.30±1	32.58±0.5
	2	40.03±0.5	37.13±0.5	35.43±0.5	32.04±0.5
	3	40.0±0.5	37.0±0.5	35.8±0.5	32.25±0.5
	ค่าเฉลี่ย	40.03±0.04 (a)	37.17±0.2 (a)	35.51±0.2 (a)	32.29±0.2 (a)
2	1	45.96±0.5	39.6±0.5	36.35±0.6	32.65±0.4
	2	45.98±0.5	39.88±0.5	36.73±0.5	32.66±0.5
	3	45.96±0.5	38.98±0.5	37.01±0.5	32.81±0.5
	ค่าเฉลี่ย	45.97±0.01 (a)	39.48±0.4 (b)	36.7±0.3 (b)	32.71±0.08 (b)
3	1	49.91±0.4	41.85±0.5	38.58±0.2	33.58±0.7
	2	49.96±0.5	42.23±0.4	38.58±0.5	33.58±0.5
	3	49.88±0.5	40.88±0.6	38.55±0.5	33.63±0.5
	ค่าเฉลี่ย	49.9±0.04 (a)	41.65±0.6 (b)	38.57±0.01 (b)	33.6±0.02(b)
4	1	56.08±0.5	44.48±0.5	40.05±0.5	34.65±0.5
	2	56.08±0.5	44.73±0.5	40.16±0.5	34.66±0.5
	3	55.95±0.5	44.48±0.5	40.05±0.5	34.13±0.5
	ค่าเฉลี่ย	56.03±0.07 (a)	44.56±0.1 (b)	40.08±0.06 (b)	34.48±0.3 (c)
5	1	59.35±0.5	47.46±0.5	42.41±0.5	35.18±0.5
	2	59.26±0.5	47.28±0.5	42.15±0.5	35.78±0.5
	3	59.28±0.5	46.83±0.5	41.28±0.4	35.18±0.5
	ค่าเฉลี่ย	59.3±0.04 (a)	47.19±0.3 (b)	41.95±0.5 (b)	35.38±0.3 (c)
6	1	64.33±0.5	47.41±0.2	43.38±0.3	38.05±0.5
	2	65.1±0.3	50.73±0.5	43.71±0.5	37.05±0.5
	3	64.33±0.5	49.73±0.4	43.2±0.5	36.05±0.4
	ค่าเฉลี่ย	64.58±0.4 (a)	49.29±1 (b)	43.43±0.2 (b)	37.05±1 (c)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากระพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกัน ปลาเริ่มน้ำหนักเริ่มต้น ระหว่าง 23-25 กรัม อักษร a, b และ c ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 3 น้ำหนักของปลากระพงขาว ในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์ (ต่อ)

สัปดาห์	ครั้งที่	น้ำหนักของปลากระพงขาว (กรัม)			
		ชุดควบคุม	0.0024 mg/l	0.024 mg/l	0.24 mg/l
7	1	68.1±0.4	51.75±0.5	44.95±0.3	38.08±0.5
	2	68.13±0.2	54.10±0.3	45.65±0.5	37.15±0.6
	3	68.03±0.5	56.21±0.5	44.73±0.4	38.63±0.5
	ค่าเฉลี่ย	68.08±0.05 (a)	54.02±1 (b)	45.11±0.4 (c)	37.95±0.7 (d)
8	1	72.78±0.5	57.06±0.4	46.6±0.5	38.68±0.5
	2	73.58±0.2	57.36±0.5	46.2±0.5	38.03±0.7
	3	71.85±0.5	57.1±0.5	46.95±0.6	38.86±0.5
	ค่าเฉลี่ย	72.73±0.8(a)	57.17±0.1(b)	46.58±0.3(c)	38.52±0.4(d)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากระพงขาว 135 ตัว น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกัน ปลาเริ่มน้ำหนักเริ่มต้น ระหว่าง 23-25 กรัม อักษร a, b, c และ d ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 4 ความกว้างของปลากระพงขาว ในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์

สัปดาห์	ครั้งที่	ความกว้างของปลากระพงขาว (มิลลิเมตร)			
		ชุดควบคุม	0.0024 mg/l	0.024 mg/l	0.24 mg/l
1	1	3.46±0.01	3.6±0.01	3.5±0.01	3.06±0.01
	2	3.46±0.01	3.6±0.01	3.5±0.01	3.06±0.01
	3	3.44±0.01	3.3±0.01	3.3±0.01	3.04±0.01
	ค่าเฉลี่ย	3.45±0.01 (a)	3.5±0.1 (a)	3.4±0.1 (a)	3.05±0.01 (a)
2	1	3.69±0.01	3.32±0.01	3.32±0.01	3.14±0.01
	2	3.67±0.01	3.32±0.01	3.32±0.01	3.14±0.01
	3	3.69±0.01	3.3±0.01	3.3±0.01	3.12±0.01
	ค่าเฉลี่ย	3.68±0.01 (a)	3.31±0.01 (b)	3.31±0.01 (b)	3.13±0.01 (b)
3	1	3.96±0.01	3.79±0.01	3.42±0.01	3.21±0.01
	2	3.96±0.01	3.79±0.01	3.39±0.01	3.21±0.01
	3	3.94±0.01	3.77±0.01	3.42±0.01	3.2±0.01
	ค่าเฉลี่ย	3.95±0.01 (a)	3.78±0.01 (a)	3.41±0.01 (b)	3.2±0.01 (b)
4	1	4.02±0.01	3.89±0.01	3.47±0.01	3.36±0.01
	2	4.02±0.01	3.89±0.01	3.47±0.01	3.36±0.01
	3	4±0.01	3.87±0.01	3.45±0.01	3.34±0.01
	ค่าเฉลี่ย	4±0.01 (a)	3.88±0.01 (b)	3.46±0.01 (c)	3.35±0.05 (c)
5	1	4.06±0.01	3.89±0.01	3.51±0.01	3.44±0.01
	2	4.06±0.01	3.89±0.01	3.51±0.01	3.44±0.01
	3	4.04±0.01	3.87±0.01	3.49±0.01	3.42±0.01
	ค่าเฉลี่ย	4.05±0.01 (a)	3.88±0.01 (b)	3.49±0.01 (c)	3.43±0.01 (c)
6	1	4.61±0.01	4.26±0.01	3.59±0.01	3.47±0.01
	2	4.61±0.01	4.26±0.01	3.59±0.01	3.47±0.01
	3	4.59±0.01	4.24±0.01	3.57±0.01	3.45±0.01
	ค่าเฉลี่ย	4.6±0.01 (a)	4.25±0.01 (b)	3.58±0.01 (c)	3.46±0.01 (c)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากระพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์ น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกัน ปลาเริ่มน้ำหนักเริ่มต้น ระหว่าง 3.4 มิลลิเมตร อักษร a, b และ c ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 4 ความกว้างของปลากะพงขาว ในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์ (ต่อ)

สัปดาห์	ครั้งที่	ความกว้างของปลากะพงขาว (มิลลิเมตร)			
		ชุดควบคุม	0.0024 mg/l	0.024 mg/l	0.24 mg/l
7	1	4.64±0.01	4.36±0.02	3.64±0.01	3.49±0.01
	2	4.64±0.02	4.36±0.01	3.64±0.02	3.49±0.01
	3	4.62±0.02	4.34±0.01	3.62±0.01	3.47±0.02
	ค่าเฉลี่ย	4.63±0.01 (a)	3.35±0.01 (b)	3.63±0.01 (c)	3.48±0.01 (c)
8	1	4.66±0.01	4.34±0.01	3.63±0.01	3.5±0.01
	2	4.66±0.01	4.36±0.02	3.65±0.01	3.5±0.01
	3	4.64±0.03	3.37±0.01	3.65±0.01	3.48±0.01
	ค่าเฉลี่ย	4.65±0.01 (a)	4.35±0.01 (b)	3.64±0.01(c)	3.49±0.01 (c)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากะพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์ น้ำหนักปลาเฉลี่ยเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกัน ปลาเริ่มน้ำหนักเริ่มต้น ระหว่าง 3.4 มิลลิเมตร อักษร a, b และ c ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 5 ความยาวของปลากะพงขาว ในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์

สัปดาห์	ครั้งที่	ความยาวของปลากะพงขาว (มิลลิเมตร)			
		ชุดควบคุม	0.0024 mg/l	0.024 mg/l	0.24 mg/l
1	1	5.54±0.01	5.46±0.01	5.51±0.01	4.8±0.01
	2	5.56±0.01	5.46±0.01	5.51±0.01	4.82±0.01
	3	5.56±0.01	5.44±0.01	5.49±0.01	4.82±0.01
	ค่าเฉลี่ย	5.55±0.01 (a)	5.45±0.01 (a)	5.5±0.01 (a)	4.81±0.01 (a)
2	1	6.06±0.01	5.76±0.01	5.57±0.01	5.14±0.01
	2	6.06±0.01	5.76±0.01	5.57±0.01	5.12±0.01
	3	6.04±0.01	5.74±0.01	5.54±0.01	5.14±0.01
	ค่าเฉลี่ย	6.05±0.01 (a)	5.75±0.01 (b)	5.66±0.01 (b)	5.13±0.01 (b)
3	1	6.65±0.01	6.06±0.01	5.67±0.01	5.49±0.01
	2	6.67±0.01	6.06±0.01	5.67±0.01	5.49±0.01
	3	6.67±0.01	6.04±0.01	5.65±0.01	5.47±0.01
	ค่าเฉลี่ย	6.66±0.01 (a)	6.05±0.01 (a)	5.66±0.01 (b)	5.48±0.01 (b)
4	1	6.92±0.02	6.11±0.01	5.67±0.01	5.5±0.01
	2	6.92±0.01	6.11±0.01	5.67±0.01	5.52±0.02
	3	6.9±0.01	5.09±0.01	5.65±0.01	5.52±0.01
	ค่าเฉลี่ย	6.91±0.01 (a)	6.1±0.5 (a)	5.66±0.01 (b)	5.51±0.01 (b)
5	1	6.92±0.01	6.07±0.01	5.69±0.01	5.66±0.01
	2	6.92±0.01	6.07±0.01	5.69±0.01	5.66±0.01
	3	6.9±0.01	6.05±0.01	5.67±0.01	5.64±0.01
	ค่าเฉลี่ย	6.91±0.01 (a)	6.06±0.01 (b)	5.68±0.01(c)	5.65±0.01 (c)
6	1	7.09±0.01	6.71±0.01	6.4±0.01	5.66±0.01
	2	7.09±0.01	6.71±0.01	6.42±0.01	5.64±0.01
	3	7.07±0.02	6.69±0.02	6.42±0.01	5.66±0.01
	ค่าเฉลี่ย	7.08±0.01 (a)	6.7±0.01 (b)	6.41±0.01 (b)	5.65±0.01 (c)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากะพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์ ความยาวปลาเฉลี่ยเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกัน ปลาที่มีความยาวเริ่มต้น ระหว่าง 5.3 มิลลิเมตร อักษร a, b และ c ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 5 ความยาวของปลากะพงขาว ในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์ (ต่อ)

สัปดาห์	ครั้งที่	ความยาวของปลากะพงขาว (มิลลิเมตร)			
		ชุดควบคุม	0.0024 mg/l	0.024 mg/l	0.24 mg/l
7	1	7.11±0.02	6.77±0.01	6.42±0.02	5.59±0.01
	2	7.12±0.01	6.77±0.02	6.42±0.01	5.59±0.01
	3	7.12±0.01	6.75±0.01	6.4±0.01	5.57±0.01
	ค่าเฉลี่ย	7.1±0.05 (a)	6.76±0.01 (b)	6.41±0.01 (b)	5.58±0.01 (c)
8	1	7.12±0.01	6.79±0.01	6.43±0.02	5.61±0.01
	2	7.1±0.01	6.79±0.02	6.45±0.01	5.61±0.01
	3	7.12±0.01	6.77±0.02	6.45±0.01	5.59±0.01
	ค่าเฉลี่ย	7.11±0.01 (a)	6.78±0.01 (b)	6.44±0.01 (b)	5.6±0.01 (c)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากะพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์ความยาวปลาเฉลี่ยเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างกัน ปลาที่มีความยาวเริ่มต้น ระหว่าง 5.3 มิลลิเมตร อักษร a, b และ c ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 6 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลากระพงขาว ในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์

สัปดาห์	ครั้งที่	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/วัน)			
		ชุดควบคุม	0.0024 mg/l	0.024 mg/l	0.24 mg/l
1-2	1	0.90±0.1	0.61±0.1	0.30±0.1	0.19±0.1
	2	0.58±0.1	0.37±0.1	0.23±0.1	0.12±0.1
	3	0.59±0.1	0.51±0.1	0.25±0.03	0.13±0.03
	ค่าเฉลี่ย	0.69±0.1 (a)	0.49±0.1 (b)	0.26±0.01 (c)	0.15±0.06 (d)
3-4	1	0.96±0.08	0.43±0.1	0.26±0.01	0.18±0.06
	2	0.82±0.08	0.41±0.1	0.28±0.01	0.22±0.06
	3	0.81±0.08	0.60±0.1	0.27±0.01	0.10±0.06
	ค่าเฉลี่ย	0.87±0.08 (a)	0.48±0.1 (b)	0.27±0.01 (c)	0.17±0.06 (d)
5-6	1	0.65±0.04	0.28±0.1	0.27±0.03	0.17±0.04
	2	0.67±0.04	0.50±0.1	0.26±0.03	0.24±0.04
	3	0.58±0.04	0.42±0.1	0.32±0.03	0.17±0.04
	ค่าเฉลี่ย	0.63±0.04 (a)	0.40±0.1 (b)	0.28±0.03 (b)	0.19±0.04 (b)
7-8	1	0.4±0.08	0.23±0.1	0.15±0.1	0.11±0.06
	2	0.54±0.08	0.41±0.1	0.08±0.1	0.167±0.06
	3	0.38±0.08	0.11±0.1	0.34±0.1	0.04±0.06
	ค่าเฉลี่ย	0.45±0.08 (a)	0.25±0.1 (b)	0.19±0.1 (c)	0.10±0.06 (c)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากระพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์ อักษร a, b, c และ d ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 7 อัตราการขับแอมโมเนียของปลากระพงขาว ในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์

สัปดาห์	ครั้งที่	อัตราการขับแอมโมเนีย (ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมต่อชั่วโมง)			
		ชุดควบคุม	0.0024 (mg/l)	0.024 (mg/l)	0.24 (mg/l)
1	1	0.0153±0.01	0.0119±0	0.0107±0	0.0092±0
	2	0.0135±0.01	0.0123±0	0.0114±0	0.0105±0
	3	0.0126±0.01	0.0121±0	0.0113±0	0.0115±0
	ค่าเฉลี่ย	0.01±0.01 (a)	0.0121±0 (b)	0.0111±0 (c)	0.0104±0 (d)
2	1	0.0122±0	0.0115±0	0.0103±0	0.0098±0
	2	0.0122±0	0.0115±0	0.0103±0	0.0098±0
	3	0.0131±0	0.0118±0	0.0100±0	0.0103±0
	ค่าเฉลี่ย	0.01±0 (a)	0.0116±0 (b)	0.0102±0 (b)	0.0100±0 (d)
3	1	0.0114±0	0.0112±0	0.0097±0	0.0092±0
	2	0.0118±0	0.0103±0	0.0095±0	0.0092±0
	3	0.0116±0	0.0116±0	0.0097±0	0.0090±0
	ค่าเฉลี่ย	0.01±0 (a)	0.0110±0 (b)	0.0096±0 (b)	0.0091±0 (d)
4	1	0.0111±0	0.0102±0	0.0096±0	0.0089±0
	2	0.0111±0	0.0102±0	0.0096±0	0.0089±0
	3	0.01±0	0.0115±0	0.0097±0	0.0099±0
	ค่าเฉลี่ย	0.01±0 (a)	0.0106±0 (b)	0.0096±0 (b)	0.0093±0 (d)
5	1	0.0111±0	0.0112±0	0.0094±0	0.0089±0
	2	0.0112±0	0.0114±0	0.0094±0	0.0090±0
	3	0.0110±0	0.0114±0	0.0094±0	0.0090±0
	ค่าเฉลี่ย	0.01±0 (a)	0.0113±0 (b)	0.0094±0 (b)	0.0090±0 (d)
6	1	0.0100±0	0.0088±0	0.0082±0	0.0077±0
	2	0.0100±0	0.0088±0	0.0082±0	0.0077±0
	3	0.0098±0	0.0085±0	0.0083±0	0.0077±0
	ค่าเฉลี่ย	0.01±0 (a)	0.0087±0 (b)	0.0082±0 (b)	0.0077±0 (d)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากระพงขาว 135 ตัว ตลอดทั้ง 8 สัปดาห์ อักษร a, b, c และ d ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ 7 อัตราการขับแอมโมเนียของปลากะพงขาว ในความเข้มข้นของแอมโมเนีย 8 สัปดาห์ (ต่อ)

สัปดาห์	ครั้งที่	อัตราการขับแอมโมเนีย (ไมโครโมลต่อมิลลิกรัมต่อชั่วโมง)			
		ชุดควบคุม	0.0024	0.024	0.24
7	1	0.0098±0	0.0087±0	0.0084±0	0.0077±0
	2	0.0098±0	0.0087±0	0.0084±0	0.0077±0
	3	0.0098±0	0.0086±0	0.0088±0	0.0079±0
	ค่าเฉลี่ย	0.00±0 (a)	0.0086±0 (b)	0.0085±0 (b)	0.0078±0 (d)
8	1	0.0098±0	0.0100±0.1	0.0040±0	0.0033±0
	2	0.0099±0	0.0078±0.1	0.0046±0	0.0042±0
	3	0.0099±0	0.0078±0.1	0.0046±0	0.0042±0
	ค่าเฉลี่ย	0.00±0 (a)	0.008±0.01 (b)	0.0044±0 (c)	0.0039±0 (d)

หมายเหตุ การทดลอง 3 ครั้ง (ซ้ำ) แต่ละความเข้มข้นใช้ตัวอย่างปลากะพงขาว 135 ตัว อักษร a, b, c และ d ในแถวเดียวกันหมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก ข

ประมวลภาพบางส่วนในการทดลอง

1. ลักษณะการจับปลากะพงขาวเพื่อเก็บตัวอย่างที่ฟาร์มปลา ที่อำเภอยะหริ่ง จังหวัดปัตตานี (ภาพผนวกที่ 1)



ภาพผนวกที่ 1 การจับปลากะพงขาวเพื่อเก็บตัวอย่างโดยไปซื้อพันธุ์ปลา ที่ฟาร์มเลี้ยงปลาที่อำเภอยะหริ่ง จังหวัด ปัตตานี

2. ลักษณะการขนส่งพันธุ์ปลากะพงขาวจากฟาร์มเลี้ยงปลาไปยังสถานที่ทดลอง (ภาพผนวกที่ 2)



ภาพผนวกที่ 2. การขนส่งพันธุ์ปลากะพงขาวในถังที่มีออกซิเจน มาที่หน่วยวิจัยและเพาะฟักสัตว์น้ำ ตำบล สะกอม อำเภอเทพา จังหวัดสงขลา เพื่อทำการทดลอง

3. ลักษณะพันธุ์ปลากะพงขาว ระยะจิวีไนล์ (ภาพผนวกที่ 3)



ภาพผนวกที่ 3. ลักษณะพันธุ์ปลากะพงขาวระยะจิวีไนล์ น้ำหนักเฉลี่ย 24 ± 0.5 กรัม

4. นำพันธุ์ปลากะพงขาวมาปรับสภาพ (ภาพผนวกที่ 4)



ภาพผนวกที่ 4. การปรับสภาพปลากะพงขาว

5. การสุ่มเก็บตัวอย่างปลากระพงขาว (ภาพผนวกที่ 5)



ภาพผนวกที่ 5. การสุ่มเก็บตัวอย่างปลากระพงขาวจากบ่อต้องใช้สวิงตักปลาทุกครั้ง

6. การเตรียมการเก็บตัวอย่างเลือดปลากะพงขาว (ภาพผนวกที่ 6)



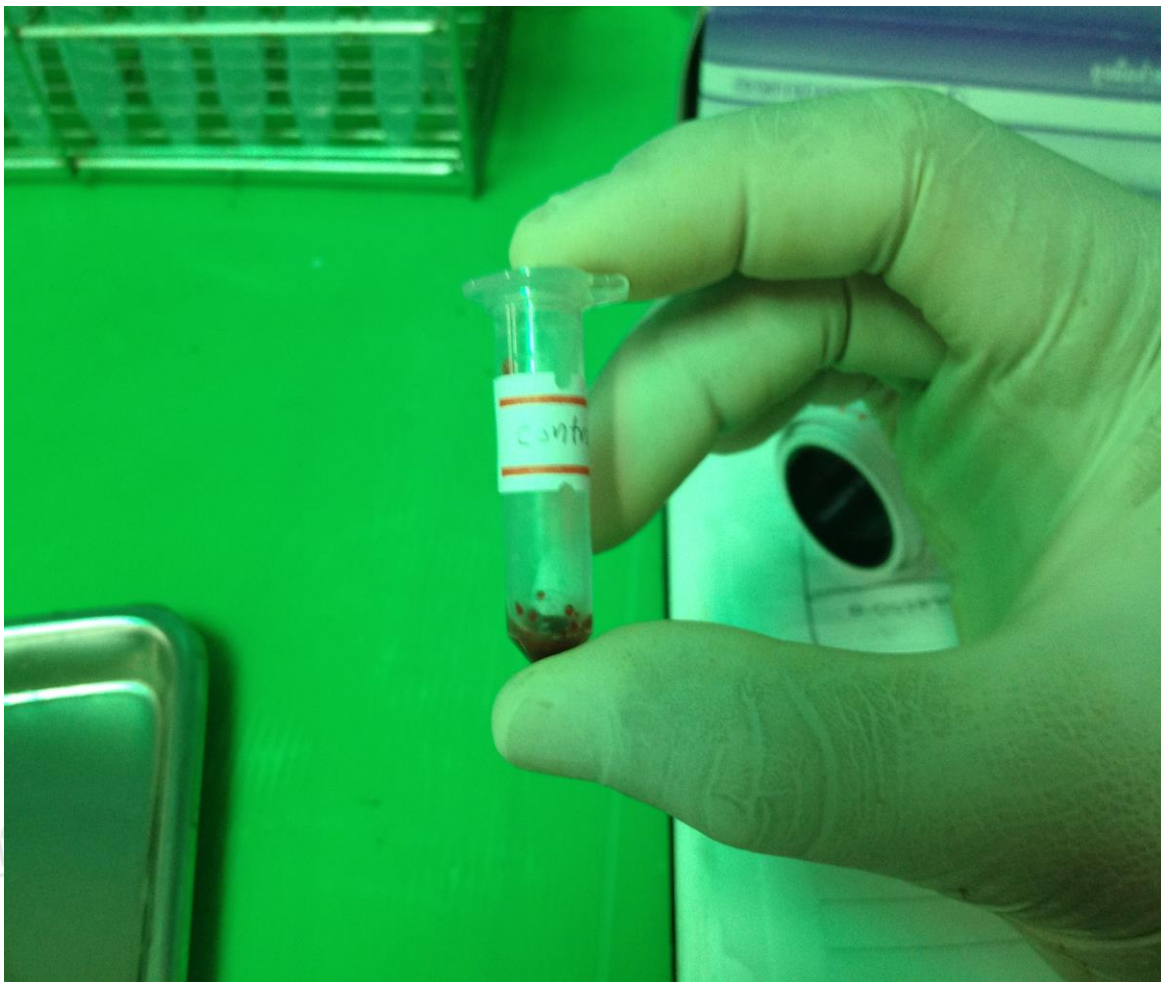
ภาพผนวกที่ 6. ก่อนเก็บตัวอย่างเลือดที่เหงือก ต้องสลบปลาแล้วนำไปวางบนผ้าเย็น

7. ลักษณะการเจาะเลือดปลาเพื่อเก็บตัวอย่างเลือด (ภาพผนวกที่ 7)



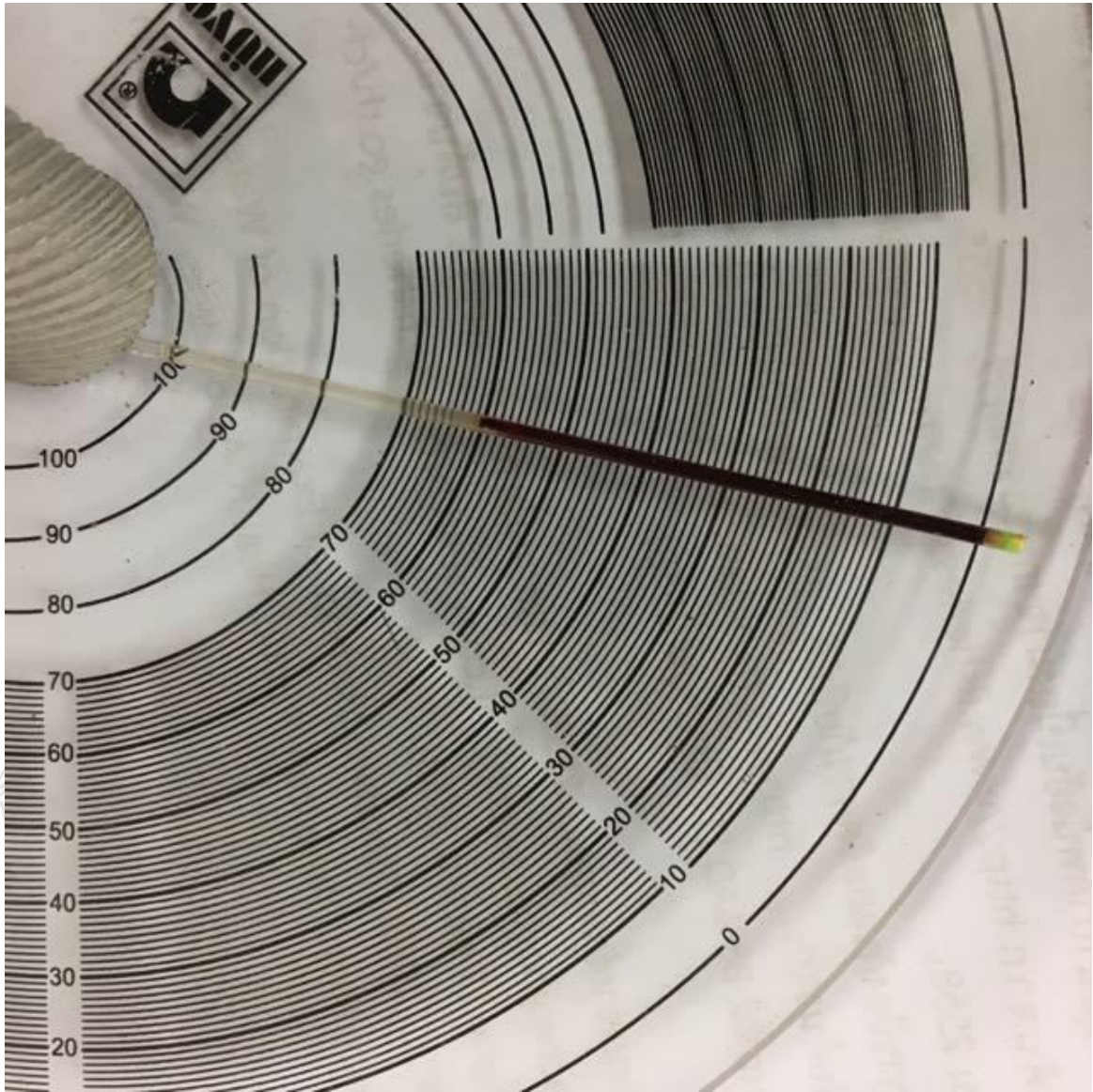
ภาพผนวกที่ 7. การเจาะเลือดปลาเพื่อเก็บตัวอย่างเลือด จะเจาะบริเวณเส้นเลือดดำที่เหงือกที่ 2

8. ลักษณะหลอดเก็บเลือดปลากะพงขาว (ภาพผนวกที่ 8)



ภาพผนวกที่ 8. ลักษณะหลอดเก็บเลือดปลากะพงขาวที่เคลือบด้วยสารเฮปารินป้องกันการแข็งตัวของเลือด

9. ลักษณะเครื่องอ่านฮีมาโตคริต (ภาพผนวกที่ 9)



ภาพผนวกที่ 9 เครื่องอ่านฮีมาโตคริต โดยให้รอยต่อระหว่างซี่ผึ้งและเลือดเป็นตำแหน่งศูนย์ 0 และให้ ปริมาตรเลือด ทั้งหมดเป็น 100%

10. เสร็จปฏิบัติการทดลอง (ภาพผนวกที่ 10)



ภาพผนวกที่ 10 ปลาที่เหลือรอดจากปฏิบัติการทดลอง ผู้วิจัยได้ปล่อยลงสู่ท้องทะเล

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ - สกุล นายริฎวาน ศอสิทธิ์วงศ์สกุล

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5720320504

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2556

ทุนการศึกษา

- ทุนอุดหนุนวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ข้อมูลการเผยแพร่ผลงาน

Ridwan Solehwongsakul and Itsara Intanai. 2017. Impact of Elevated Water

Ammonia Concentration on Growth Rate, Ingestion, Metabolism and Survival Rate of Asian Seabass (*Lates calcarifer*). The 5th Academic Science and Technology Conference 2017. Miracle Grand Convention Hotel. May 25, 2017. 750-760.