บันทึกข้อความ

ส่วนราชการ กองการเจ้าหน้าที่ กลุ่มพัฒนาระบบงานและอัตรากำลัง โทร. ๐-๒๕๖๒-๐๖๐๐-๑๕ ต่อ ๓๔๑๔

ที่ กษ ๐๕๐๒.๒/ ๑๕๖๗ **วันที่** ๗ กันยายน ๒๕๕๔

เรื่อง ขอส่งสำเนาประกาศกรมประมง เรื่อง รายชื่อผู้ผ่านการคัดเลือกบุคคลเพื่อเข้ารับการประเมินผลงานเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งที่ ก.พ. กำหนด เป็นตำแหน่งที่ปรับระดับสูงขึ้นได้ตามกรอบตำแหน่งที่เริ่มต้นจากระดับปฏิบัติการ และมีผู้ครองตำแหน่งอยู่แล้ว

เรียน ผู้อำนวยการสำนัก/กอง/สถาบัน/ศูนย์ เลขานุการกรม หัวหน้ากลุ่มพัฒนาระบบบริหาร
หัวหน้ากลุ่มตรวจสอบภายใน หัวหน้ากลุ่มอำนวยการและประสานงานวิชาการ
ผู้อำนวยการศูนย์พัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

กองการเจ้าหน้าที่ ขอส่งสำเนาประกาศกรมประมง ลงวันที่ ๖ กันยายน ๒๕๕๔ เรื่อง รายชื่อผู้ผ่านการคัดเลือกบุคคลเพื่อเข้ารับการประเมินผลงานเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งที่ ก.พ. กำหนด เป็นตำแหน่งที่ปรับระดับสูงขึ้นได้ตามกรอบตำแหน่งที่เริ่มต้นจากระดับปฏิบัติการ และมีผู้ครองตำแหน่งอยู่แล้ว จำนวน ๑ ชุด และสามารถเข้าไปตรวจสอบรายชื่อผู้ได้รับการคัดเลือก ชื่อผลงานที่ส่งประเมินพร้อมเค้าโครงร่างผลงาน สัดส่วนของผลงานที่ปฏิบัติและรายชื่อผู้ร่วมจัดทำผลงานได้จากเว็บไซต์กองการเจ้าหน้าที่ ที่ http://fisheries.go.th/personnel ใน INTRANET หัวข้อหนังสือเวียน

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ และปิดประกาศให้ข้าราชการในสังกัดทราบต่อไป

(นางกรรณิการ์ อุโฆษกุล)
ผู้อำนวยการกองการเจ้าหน้าที่

ประกาศกรมประมง

เรื่อง รายชื่อผู้ผ่านการคัดเลือกบุคคลเพื่อเข้ารับการประเมินผลงานเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งที่ ก.พ. กำหนดเป็นตำแหน่งที่ปรับระดับสูงขึ้นได้ตามกรอบตำแหน่งที่เริ่มต้นจากระดับปฏิบัติการ และมีผู้ครองตำแหน่งอยู่แล้ว

ตามประกาศ อ.ก.พ. กรมประมง ลงวันที่ ๑๘ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๕๓ เรื่อง การประเมินบุคคลเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งประเภทวิชาการ กำหนดให้ผู้ที่มีคุณสมบัติตามประกาศ อ.ก.พ.กรมฯ ดำเนินการจัดส่งเอกสารเพื่อประกอบการคัดเลือกบุคคลที่จะเข้ารับการประเมินผลงานเพื่อเลื่อนขึ้นแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งในระดับที่สูงขึ้นสำหรับผู้ดำรงตำแหน่งตามกรอบตำแหน่งที่เริ่มต้นจากระดับปฏิบัติการ และมีผู้ครองตำแหน่งอยู่แล้ว ซึ่งสำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง ได้เสนอรายชื่อผู้มีคุณสมบัติเพื่อคัดเลือกเข้ารับการประเมินผลงานเพื่อเลื่อนและแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งในระดับที่สูงขึ้น นั้น

บัดนี้ กรมประมงได้พิจารณาคัดเลือกบุคคลที่มีคุณสมบัติดังกล่าว เสร็จเรียบร้อยแล้ว จึงประกาศรายชื่อผู้ผ่านการคัดเลือกให้เข้ารับการประเมินผลงาน พร้อมโครงร่างผลการดำเนินงาน และโครงร่างข้อเสนอแนวคิดเพื่อพัฒนางาน ตามบัญชีรายชื่อแนบท้ายประกาศนี้ ทั้งนี้ สามารถทักท้วงผลการพิจารณาคัดเลือกและรายละเอียดของผลงานได้ภายใน ๓๐ วัน นับตั้งแต่วันประกาศ

ประกาศ ณ วันที่ ๖ กันยายน พ.ศ. ๒๕๕๔

(นางชมพูนุท เปี่ยมสมบูรณ์)
อธิบดีกรมประมง

บัญชีรายชื่อข้าราชการที่ผ่านการคัดเลือกประเมินผลงานเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งที่สูงขึ้น ตาม ว ๑๐ (ตำแหน่งที่กรอบตำแหน่งเริ่มต้นจากระดับปฏิบัติการ)

ลำดับที่	สังกัด/ชื่อ-สกุล	เลขที่ตำแหน่งปัจจุบัน	เลขที่ตำแหน่งที่ขอคัดเลือก	ตำแหน่งที่ขอคัดเลือก	โครงร่างผลการดำเนินงานที่ผ่านมา				โครงร่างข้อเสนอแนวคิดเพื่อพัฒนางาน
					ชื่อเรื่อง	ระยะเวลาดำเนินการ	ผู้ร่วมดำเนินการ	สัดส่วน	
	<u>สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง</u> <u>สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำชายฝั่ง</u> <u>กลุ่มงานวิจัยภูมิคุ้มกันโรคสัตว์น้ำชายฝั่ง</u>								
๑	นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์	๗๗๑	๗๗๑	นักวิชาการประมงชำนาญการพิเศษ	๑.ผลของสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*) ต่อองค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรคในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch, ๑๗๙๐)	ต.ค. ๕๑ - มี.ค. ๕๓	๑.นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์ ๒.นายสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์	๗๐% ๓๐%	ผลของยาสลบต่อความเครียดและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในปลาน้ำกร่อยที่สำคัญทางเศรษฐกิจ
					๒.ผลของกระเทียมสดต่อระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในกุ้งกุลาดำ	ต.ค. ๔๘ - ก.ย. ๔๙	๑.นายสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์ ๒.นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์ ๓.นางจำเริญศรี ถาวรสุวรรณ	๕๐% ๓๐% ๒๐%	
					๓.การจำแนกสายพันธุ์เชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลาทะเลด้วยยีนที่สังเคราะห์โปรตีน	ต.ค. ๔๙ - ก.ย. ๕๐	๑.นายสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์ ๒.นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์	๖๐% ๔๐%	

เอกสารหมายเลข 3

โครงร่างการเสนอผลงาน

1. ชื่อผลงาน <u>เรื่องที่ 1</u>. ผลของสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจร (*Andrographis paniculata*) ต่อองค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch, 1790)
2. ระยะเวลาที่ดำเนินการ เดือน ตุลาคม 2551 – มีนาคม 2553

2.1 วางแผนการทดลอง เดือน ตุลาคม-ธันวาคม 2551

2.1.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง เช่นปลากะพงขาว ตู้ทดลอง ระบบการให้อากาศ อุปกรณ์เปลี่ยนถ่ายน้ำ และอุปกรณ์วิเคราะห์ภูมิคุ้มกัน

2.1.2 การเตรียมสารเคมี เช่นสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ภูมิคุ้มกัน การสลบปลา และสารเคมีที่ใช้ในการสกัดผงฟ้าทะลายโจรเพื่อให้ได้สารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจร

2.1.3 การเตรียมสมุนไพรฟ้าทะลายโจร เพื่อใช้สกัดหาสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจร

2.2 ดำเนินการทดลองและเก็บข้อมูลการทดลอง เดือน มกราคม-เมษายน 2552

2.2.1 การเลี้ยงปลากะพงขาวให้ได้ขนาดที่ใช้ในการทดลอง

2.2.2 สารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจร โดยทดลองหาค่า MIC ต่อเชื้อ *Streptococcus* sp.

2.2.3 การเตรียมอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรเลี้ยงปลากะพงขาว

2.2.4 การทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรที่ระดับความเข้มข้นของสารแตกต่างกัน

2.2.5 การศึกษาผลของสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรต่อองค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในปลากะพงขาว โดยเก็บข้อมูลในสัปดาห์ที่ 2 4 และ 6

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลและผลการทดลองด้วยวิธีทางสถิติ เดือน พฤษภาคม-สิงหาคม 2552

2.3.1 วิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับองค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันและอัตรารอดตาย

2.4 สรุปและเขียนรายงานการวิจัย เดือน กันยายน- ธันวาคม 2552

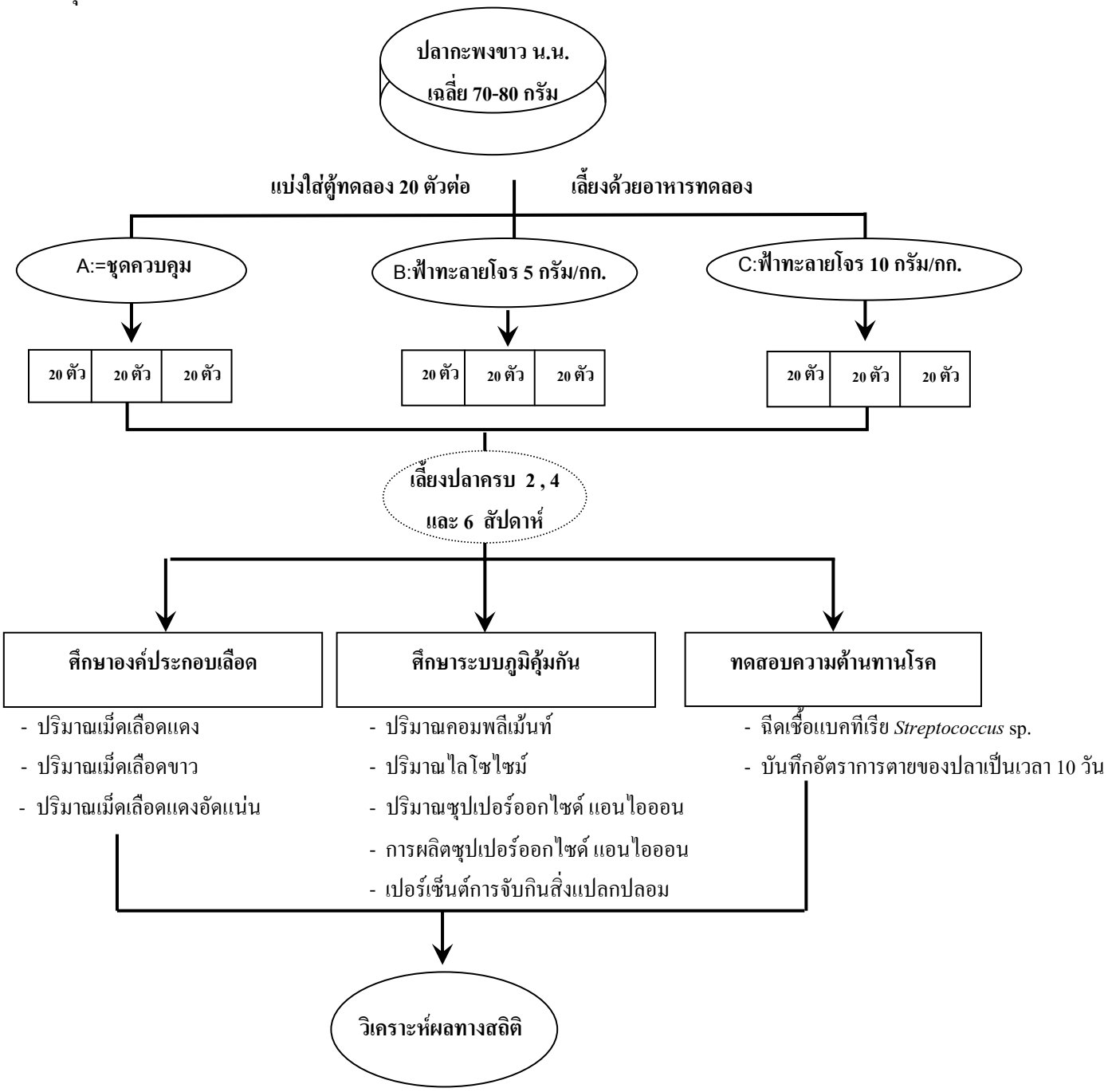
2.5 ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารการประมง ปีที่ 63 ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2553

3. ความรู้ทางวิชาการหรือแนวคิดที่ใช้ในการดำเนินการ

3.1 การนำสมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติทางยามาใช้ในสัตว์น้ำเศรษฐกิจอย่างปลากะพงขาวในแง่ของการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและระบบไหลเวียนเลือด เป็นการลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมและป้องกันโรค รวมถึงลดการตกค้างของสารปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์ได้อีกทางหนึ่งด้วย มีประโยชน์อย่างมากในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

3.2 เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรต่อองค์ประกอบเลือด การทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรคในปลากะพงขาว โดยการตรวจวัด จำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ปริมาณคอมพลีเม้นท์ ปริมาณไลโซไซม์ ปริมาณซุปเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน เปอร์เซ็นต์การจับกินสิ่งแปลกปลอม และความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. ในสัปดาห์ที่ 2 4 และ 6 จำนวน 3 ครั้ง

4. สรุปสาระและขั้นตอนการดำเนินการ



หมายเหตุ

A:ชุดควบคุม = อาหารสำเร็จรูปเคลือบน้ำมันปลา

B:ฟ้าทะลายโจร 5 กรัม/กก. = อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรเคลือบน้ำมันปลา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กก.

C:ฟ้าทะลายโจร 10 กรัม/กก. = อาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรเคลือบน้ำมันปลา 10 กรัมต่ออาหาร 1 กก.

5. ผู้ร่วมดำเนินการ

5.1 นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์ สัดส่วนงาน 70% (หัวหน้าโครงการ)

5.2 นายสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์ สัดส่วนงาน 30%

6. ส่วนของงานที่ผู้เสนอเป็นผู้ปฏิบัติ

6.1 ร่วมวางแผนงานวิจัย สัดส่วนของผลงานที่ผู้เสนอผลงานเป็นผู้ปฏิบัติ 70%

6.2 ร่วมดำเนินการและเก็บข้อมูลการทดลอง สัดส่วนของผลงานที่ผู้เสนอผลงานเป็นผู้ปฏิบัติ 70%

6.3 ร่วมวิเคราะห์ข้อมูล สัดส่วนของผลงานที่ผู้เสนอผลงานเป็นผู้ปฏิบัติ 70%

7. ผลสำเร็จของงาน (เชิงปริมาณ/คุณภาพ)

ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจร 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีจำนวนเม็ดเลือดแดง ปริมาณไลโซไซม์ ปริมาณซุปเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน และเปอร์เซ็นต์การจับกินสิ่งแปลกปลอมสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่งผลให้ปลากะพงขาวมีอัตรารอดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นเดียวกัน แสดงว่าการเสริมสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรในอาหารเม็ดสำเร็จรูปเลี้ยงปลากะพงขาวสามารถเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดแดง การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและความต้านทานโรคจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. ได้

8. การนำไปใช้ประโยชน์

8.1 เกษตรกรสามารถนำผลการทดลองจากการนำสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรผสมกับอาหารสำเร็จรูปที่มีขายในท้องตลาด ในการเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ การไหลเวียนเลือด และการเพิ่มความต้านทานในการติดเชื้อแบคทีเรียได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการ ไปประยุกต์ใช้หรือเป็นแนวทางอันจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรที่ประกอบอาชีพเลี้ยงปลากะพงขาว เป็นการนำสมุนไพรฟ้าทะลายโจรซึ่งมีคุณสมบัติทางยามาทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันและป้องกันโรค ซึ่งไม่สร้างภาวะอันตรายทั้งผู้เลี้ยงและผู้บริโภครวมทั้งสิ่งแวดล้อม

8.2 เป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับอาจารย์ นิสิต นักศึกษา ตลอดจนผู้ที่สนใจ ในการพัฒนาและประยุกต์เพื่อการวิจัยใหม่ๆ ต่อไป

9. ความยุ่งยากในการดำเนินการ/ปัญหา/อุปสรรค

9.1 ในการทดลองจำเป็นต้องใช้ปลากะพงขาวที่มีขนาดกลางๆ ไม่เล็กจนเกินไป อันจะเป็นผลดีในการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ผลเกี่ยวกับระบบเลือด และระบบภูมิคุ้มกัน

9.2 วิธีการในการตรวจสอบเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาว ทุกพารามิเตอร์ต้องดัดแปลงแก้ไขวิธีการให้เหมาะสมกับปลากะพงขาว ข้อมูลที่ได้จึงจะถูกต้องมากที่สุด

9.3 ในการเก็บข้อมูลเพื่อวิเคราะห์ระบบภูมิคุ้มกันจำเป็นต้องอาศัยเจ้าหน้าที่ที่มีความรู้และความเข้าใจในการทำงานเพื่อให้ผลการวิเคราะห์ออกมาถูกต้องมากที่สุด จึงจำเป็นต้องมีการวางแผนในการทำงานเป็นอย่างดี เพื่อป้องกันการผิดพลาดให้มีน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้

9.4 ต้องทำการเก็บผลทางระบบภูมิคุ้มกันและศึกษาความต้านทานโรคในสัปดาห์ที่ 2 4 และ 6 จำนวน 3 ครั้ง แล้วนำข้อมูลแต่ละสัปดาห์มาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ เพื่อให้เห็นความแตกต่างของระยะเวลาที่ปลาได้รับสารสกัดหยาบฟ้าทะลายโจรต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรค

9.5 การเขียนรายงาน การค้นคว้าเอกสารงานวิจัยเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ผลทางระบบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคต้องอาศัยเอกสารที่มีความทันสมัยเพื่อให้สอดคล้องกับการวิจัยที่เป็นปัจจุบันมากที่สุด จึงจำเป็นต้องค้นคว้าเอกสารใหม่ๆ อยู่เสมอ การมีโอกาสได้ใช้งานวิจัยที่ทันสมัยในการอ้างอิงในการทำการวิจัยจึงจำเป็นอย่างยิ่งในการวิจัย ดังนั้นหากได้แหล่งข้อมูลที่ทันสมัยจะช่วยให้การเขียนรายงานมีความสะดวก รวดเร็วและถูกต้องมากยิ่งขึ้น

10. ข้อเสนอแนะ

10.1 ในอนาคตควรหาแนวทางในการนำพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติทางยามาใช้กับการสัตว์น้ำเศรษฐกิจของประเทศไทยเพิ่มมากขึ้น โดยควรจะมีการพัฒนาให้สามารถนำไปใช้ได้กับการเลี้ยงสัตว์น้ำในบ่อเลี้ยงหรือกระชังได้จริงต่อจากการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อประโยชน์แก่เกษตรกรผู้ประกอบอาชีพการเลี้ยงปลากะพงขาวจะได้นำไปใช้ในการเลี้ยงจริงๆ เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตต่อไปซึ่งจำเป็นต้องอาศัยความรู้ใหม่ๆ และความชำนาญการในการพัฒนา จึงมีความจำเป็นในการใช้งบประมาณหรือต้นทุนสูงกว่างานวิจัยอื่นๆ

10.2 การใช้สารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรสามารถกระตุ้น หรือส่งเสริมให้ปลากะพงขาวมีการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเพิ่มขึ้น ทำให้ปลามีสุขภาพและความแข็งแรงเพิ่มขึ้นสามารถป้องกันตนเองจากสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงหรือไม่เหมาะสมได้ดี ซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะหรือสารเคมี ในการป้องกันและรักษาโรคเป็นการสิ้นเปลือง มีผลเสียต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ในการทำงานวิจัยเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องได้รับความรู้ที่ทันสมัย เทคนิควิธีการใหม่ๆ และหลากหลายวิธีการ เพื่อเพิ่มความรู้ ประสบการณ์ในการทำงานอันจะเป็นประโยชน์ในการวิจัยที่จะพัฒนาให้ดีขึ้นได้ต่อไปในอนาคต

ขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

ลงชื่อ…….

(…นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์...)

ผู้เสนอผลงาน

……../……./……..

ขอรับรองว่าสัดส่วนหรือลักษณะงานในการดำเนินการของผู้เสนอข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

ลงชื่อ…….
(…นายสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์…)
ผู้ร่วมดำเนินการ
……../……./……..

ได้ตรวจสอบแล้วขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

ลงชื่อ…….
(…….)
ตำแหน่ง……..
……../……./……..
(ผู้บังคับบัญชาที่ควบคุมดูแลการดำเนินการ)

ลงชื่อ…….
(…….)
ผู้อำนวยการสำนัก/กอง
……../……./……..

เอกสารหมายเลข 3

โครงร่างการเสนอผลงาน

1. ชื่อผลงาน <u>เรื่องที่ 2</u>. ผลของกระเทียมสดต่อระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในกุ้งกุลาดำ
2. ระยะเวลาที่ดำเนินการ เดือน ตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

2.1 วางแผนการทดลอง เดือน ตุลาคม-ธันวาคม 2548

2.1.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง เช่นแหล่งกุ้งกุลาดำ ตู้ทดลอง ระบบการให้อากาศ อุปกรณ์เปลี่ยนถ่ายน้ำ และอุปกรณ์วิเคราะห์ภูมิคุ้มกัน

2.1.2 การเตรียมสารเคมี เช่นสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ภูมิคุ้มกัน

2.2 ดำเนินการทดลองและเก็บข้อมูลการทดลอง เดือน มกราคม-มีนาคม 2549

2.2.1 การเตรียมกุ้งกุลาดำ

2.2.2 การเตรียมอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมกระเทียมสดเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

2.2.3 การทดลองเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมกระเทียมสด

2.2.4 การศึกษาผลของกระเทียมสดต่อระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ และความต้านทานโรค

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลและผลการทดลองด้วยวิธีทางสถิติ เดือน เมษายน-กรกฎาคม 2549

2.3.1 วิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน

2.4 สรุปและเขียนรายงานการวิจัย เดือน สิงหาคม-กันยายน 2549

2.5 ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารการประมง ปีที่ 61 ฉบับที่ 4 เดือนกรกฎาคม-สิงหาคม 2551

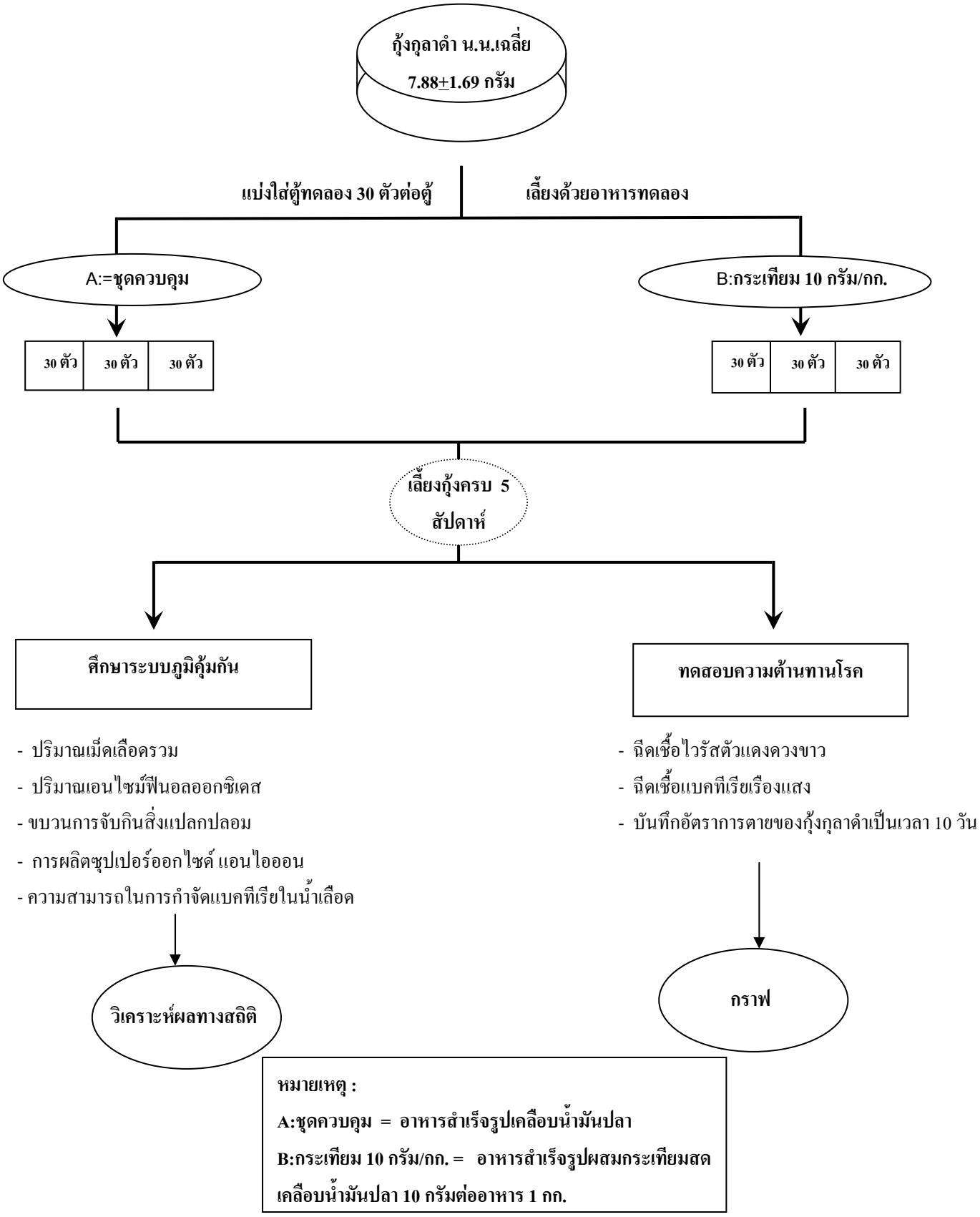
3. ความรู้ทางวิชาการหรือแนวคิดที่ใช้ในการดำเนินการ

3.1 การนำสมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติทางยามาใช้ในสัตว์น้ำเศรษฐกิจอย่างกุ้งกุลาดำ ในแง่ของการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน เป็นการลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมและป้องกันโรค รวมถึงลดการตกค้างของสารปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์ได้อีกทางหนึ่งด้วย มีประโยชน์อย่างมากในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

3.2 เพื่อศึกษาผลของกระเทียมสดต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในกุ้งกุลาดำ โดยการตรวจวัด จำนวนเม็ดเลือดรวม การทำงานของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอม การผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ความสามารถในการกำจัดแบคทีเรียของน้ำเลือด ความต้านทานโรคแบคทีเรียเรืองแสงและไวรัสตัวแดงดวงขาว

---

4. สรุปสาระและขั้นตอนการดำเนินการ



5. ผู้ร่วมดำเนินการ

5.1 นายสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์ สัดส่วนงาน 50% (หัวหน้าโครงการ)

5.2 นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์ สัดส่วนงาน 30%

5.3 นางจำเริญศรี ถาวรสุวรรณ สัดส่วนงาน 20%

6. ส่วนของงานที่ผู้เสนอเป็นผู้ปฏิบัติ

6.1 ร่วมวางแผนงานวิจัย สัดส่วนของผลงานที่ผู้เสนอผลงานเป็นผู้ปฏิบัติ 30%

6.2 ร่วมดำเนินการและเก็บข้อมูลการทดลอง สัดส่วนของผลงานที่ผู้เสนอผลงานเป็นผู้ปฏิบัติ 30%

6.3 ร่วมวิเคราะห์ข้อมูล สัดส่วนของผลงานที่ผู้เสนอผลงานเป็นผู้ปฏิบัติ 30%

7. ผลสำเร็จของงาน (เชิงปริมาณ/คุณภาพ)

การใช้สมุนไพรไทยกระเทียมสดปั่นละเอียดผสมกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปในอัตรา 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีผลต่อระบบการไหลเวียนเลือด โดยมีจำนวนเม็ดเลือดรวมเพิ่มขึ้น ส่งผลเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันโดยมีปริมาณเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสและขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลเพิ่มความต้านทานจากการติดเชื้อแบคทีเรียเรืองแสง และไวรัสตัวแดงดวงขาวในกุ้งกุลาดำ

8. การนำไปใช้ประโยชน์

8.1 เกษตรกรสามารถนำผลการทดลองจากการนำกระเทียมสดผสมกับอาหารสำเร็จรูปที่มีขายในท้องตลาด ซึ่งมีผลเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ดีในระดับหนึ่งในระดับห้องปฏิบัติการ ไปประยุกต์ใช้หรือเป็นแนวทางอันจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรที่ประกอบอาชีพเลี้ยงกุ้งกุลาดำในการใช้กระเทียมสดทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันโรค ซึ่งไม่สร้างภาวะอันตรายทั้งผู้เลี้ยงและผู้บริโภครวมทั้งสิ่งแวดล้อม

8.2 เป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับอาจารย์ นิสิต นักศึกษา ตลอดจนผู้ที่สนใจ ในการพัฒนาและประยุกต์เพื่อการวิจัยใหม่ๆ ต่อไป

9. ความยุ่งยากในการดำเนินการ/ปัญหา/อุปสรรค

9.1 ในการทดลองจำเป็นต้องใช้กุ้งกุลาดำที่มีขนาดกลางๆ ไม่เล็กจนเกินไป อันจะเป็นผลดีในการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ผลเกี่ยวกับระบบเลือด และระบบภูมิคุ้มกัน

9.2 วิธีการในการตรวจสอบเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ ทุกพารามิเตอร์ต้องดัดแปลง แก้ไขวิธีการให้เหมาะสมกับกุ้งกุลาดำ ข้อมูลที่ได้จึงจะถูกต้องมากที่สุด

9.3 การเขียนรายงาน การค้นคว้าเอกสาร เนื่องจากเอกสารที่มีการศึกษาเกี่ยวกับระบบภูมคุ้มกันในกุ้งกุลาดำยังมีน้อย โดยเฉพาะในประเทศไทย

---

10. ข้อเสนอแนะ

10.1 ในอนาคตควรหาแนวทางในการนำพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติทางยามาใช้กับการสัตว์น้ำเศรษฐกิจของประเทศไทยเพิ่มมากขึ้น โดยควรจะมีการพัฒนาให้สามารถนำไปใช้ได้กับการเลี้ยงกับสัตว์น้ำในบ่อเลี้ยง หรือกระชังซึ่งต้องทำการวิจัยเพิ่มในอนาคตและควรจะทำการทดลองในกุ้งขาวด้วย เพื่อประโยชน์สูงสุดแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งทะเล ในการวิเคราะห์ผลการทดลองจำเป็นต้องอาศัยความรู้ใหม่ๆ และความชำนาญการในการวางแผนและสรุปผลจึงมีความจำเป็นในการใช้งบประมาณหรือต้นทุนสูงกว่างานวิจัยอื่นๆ

10.2 การสามารถกระตุ้น หรือส่งเสริมให้สัตว์น้ำสามารถสร้างหรือเพิ่มภูมิคุ้มกันที่ดีให้เกิดขึ้น การมีสุขภาพร่างกายแข็งแรง ย่อมสามารถป้องกันตนเองจากสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงหรือไม่เหมาะสมได้ดี ซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะหรือสารเคมี ในการป้องกันและรักษาโรค เป็นการสิ้นเปลือง มีผลเสียต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม การนำสมุนไพรไทยมาใช้จึงจำเป็นต้องได้รับความรู้ที่ทันสมัย เทคนิควิธีการใหม่ๆ ควบคู่กันไปด้วย เพื่อให้ได้งานวิจัยที่มีประสิทธิภาพ เกษตรกรสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลหรือประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงกุ้งทะเลต่อไป

ขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

ลงชื่อ……
(…นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์…)
ผู้เสนอผลงาน
……../……../……..

ขอรับรองว่าสัดส่วนหรือลักษณะงานในการดำเนินการของผู้เสนอข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

ลงชื่อ…….
(…นายสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์....)
ผู้ร่วมดำเนินการ
……../……../……..

ลงชื่อ…….
(…นางจำเริญศรี ถาวรสุวรรณ...)
ผู้ร่วมดำเนินการ
……../……./……..

ได้ตรวจสอบแล้วขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

ลงชื่อ…….
(…….)
ตำแหน่ง……..
……../……./……..
(ผู้บังคับบัญชาที่ควบคุมดูแลการดำเนินการ)

ลงชื่อ…….
(…….)
ผู้อำนวยการสำนัก/กอง
……../……./……..

เอกสารหมายเลข 3

โครงร่างการเสนอผลงาน

1. ชื่อผลงาน <u>เรื่องที่</u> 3 การจำแนกสายพันธุ์เชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลาทะเลด้วยยีนที่สังเคราะห์โปรตีน
2. ระยะเวลาที่ดำเนินการ…1 ปี (ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550)..

   2.1 วางแผนการทดลอง เดือน ตุลาคม-ธันวาคม 2549

   2.1.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง เช่น ออกแบบไพรเมอร์ สังเคราะห์ไพรเมอร์ เตรียมเชื้อโนดาไวรัสในเซลล์เนื้อเยื่อ ละอุปกรณ์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อโนดาไวรัส

   2.1.2 การเตรียมสารเคมี เช่น น้ำยาสกัดอาร์เอ็นเอ ชุดฝากถ่ายยีน (clone) PCR kit

   2.2 ดำเนินการทดลองและเก็บข้อมูลการทดลอง เดือน มกราคม-พฤษภาคม 2549

   2.2.1 เตรียมเชื้อโนดาไวรัสที่พบจากแหล่งเพาะอนุบาลลูกปลาทะเล

   2.2.2 เตรียมสกัดอาร์เอ็นเอของเชื้อโนดาไวรัสที่ได้จากแหล่งต่างๆ

   2.2.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อโนดาไวรัสด้วยเทคนิค RT-PCR และฝากถ่ายยีนที่ได้ในเวกเตอร์

   2.2.4 การหาลำดับเบสของเชื้อโนดาไวรัสจากที่ฝากถ่ายยีนด้วยการส่งห้องปฏิบัติการหาลำดับเบส

   2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลและผลการทดลองด้วยโปรแกรม เดือน มิถุนายน-กรกฎาคม 2550

   2.3.1 วิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับยีนของเชื้อโนดาไวรัสเปรียบเทียบกับยีนของเชื้อโนดาไวรัสที่มีรายงานในธนาคารยีนในด้านความเหมือนกันของยีนและการจัดแบ่งกลุ่มของเชื้อโนดาไวรัส

   2.4 สรุปและเขียนรายงานการวิจัย เดือน สิงหาคม-กันยายน 2550

   2.5 ตีพิมพ์เผยแพร่ในเอกสารวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง ฉบับที่ 5/2554

3. ความรู้ทางวิชาการหรือแนวคิดที่ใช้ในการดำเนินการ

   3.1 เชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลาทะเลไม่น้อยกว่า 22 ชนิด จาก 11 ครอบครัวทั่วโลก มีความรุนแรงในลูกปลาขนาดเล็ก แต่ในปลาขนาดใหญ่มักเป็นพาหะของเชื้อดังกล่าว ซึ่งประเทศไทยก็ประสบปัญหาการระบาดของเชื้อโนดาไวรัสในปลากะรัง ปลากะพงขาว ทั้งที่เพาะเลี้ยงและที่รวบรวมจากธรรมชาติ นับตั้งแต่ปี 2536 จนถึงปัจจุบัน โดยพบการระบาดมากในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนมกราคมของทุกปี

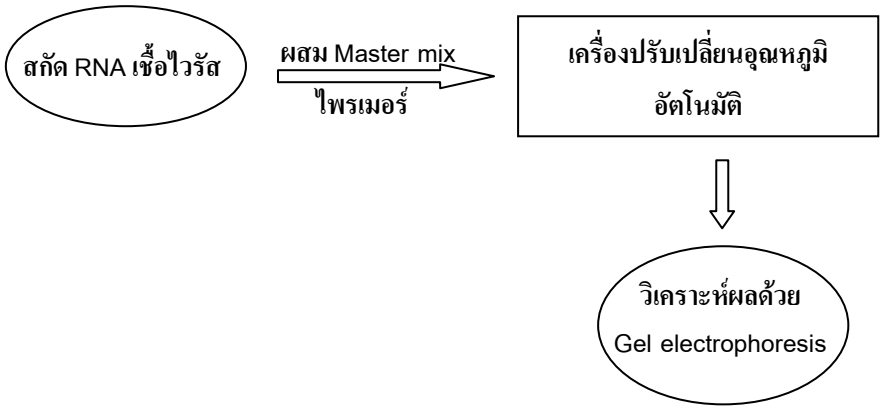
   3.2 มีรายงานการศึกษาเชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลาทะเลทั่วโลกพบว่าเชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลาทะเลจัดแบ่งออกได้เป็น 4 สายพันธุ์ (genotype) คือ striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) tiger puffer nervous necrosis virus (TPNNV) barfin flounder nervous necrosis virus (BFNNV) และ red-spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV) ซึ่งประเทศไทย นับแต่พบการระบาดของเชื้อโนดาไวรัสและสามารถแยกและเพาะเชื้อไวรัสดังกล่าวได้ แต่ยังไม่มีข้อมูลว่าเชื้อไวรัส

ดังกล่าวจัดอยู่ในกลุ่มใด อีกทั้งปัจจุบันมีการนำเข้าลูกพันธุ์ปลาทะเลจากประเทศเพื่อนบ้าน ซึ่งพบว่าลูกพันธุ์ปลาทะเลที่นำเข้ามาจากประเทศเพื่อนบ้านติดเชื้อโนดาไวรัส ดังนั้นการศึกษาการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อโนดาไวรัสที่พบในประเทศไทยจึงมีความจำเป็น เพื่อจะได้ทราบถึงสายพันธุ์ของเชื้อโนดาไวรัสที่มีอยู่ในประเทศและเป็นข้อมูลในการหามาตราการการป้องกันเชื้อโนดาไวรัสสายพันธุ์ที่ยังไม่พบในประเทศไทย

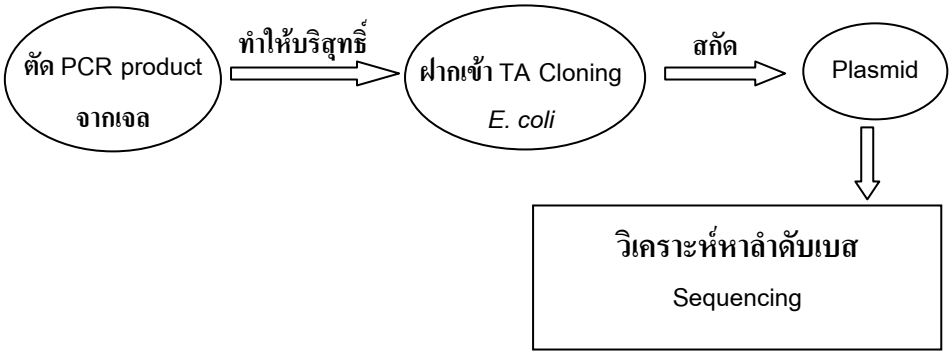
4. สรุปสาระและขั้นตอนการดำเนินการ

4.1 การเตรียมเชื้อไวรัส : เก็บตัวอย่างปลาป่วยที่แสดงอาการ ไม่กินอาหาร ตัวดำลีบ ว่ายน้ำควงสว่าน จากแหล่งเพาะอนุบาล มาเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัส

4.2 เพิ่มปริมาณสายดีเอ็นเอของเชื้อไวรัสด้วยวิธี reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT- PCR)



4.3 วิเคราะห์หาลำดับเบสของเชื้อไวรัส



4.4 เปรียบเทียบความเหมือน (homology) ของสายดีเอ็นเอเชื้อโนดาไวรัสกับดีเอ็นเอของยีนที่มีรายงานใน GenBank (BLAST) เปรียบเทียบยีน (alignment) ระหว่างเชื้อโนดาไวรัสที่รวบรวมได้ด้วยกันเอง และเปรียบเทียบยีน (alignment) ระหว่างเชื้อโนดาไวรัสที่รวบรวมได้กับเชื้อโนดาไวรัสทั้ง 4 กลุ่ม (genotype) ที่มีรายงานแล้ว พร้อมทั้งจัดหาความสัมพันธุ์ทางพันธุกรรม (phylogenic tree) ด้วยโปรแกรม Genetyx 7.0

5. ผู้ร่วมดำเนินการ

5.1 นายสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์ สัดส่วนงาน 60% (หัวหน้าโครงการ)

5.2 นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์ สัดส่วนงาน 40%

6. ส่วนของงานที่ผู้เสนอเป็นผู้ปฏิบัติ

…... ดำเนินการทดลอง เก็บรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ข้อมูล เขียนรายงาน……

7. ผลสำเร็จของงาน (เชิงปริมาณ/คุณภาพ)

…ได้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลาทะเลของไทย ที่ 1,410 เบส เมื่อเปรียบเทียบกันภายในเชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลาทะเลของไทยสามารถแบ่งเชื้อโนดาไวรัสได้เป็น 3 กลุ่มย่อยคือ เชื้อก่อโรคในปลาหมอทะเล เชื้อก่อโรคในปลากะรังเสือ และเชื้อก่อโรคในปลากะรังดอกแดง และเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อโนดาไวรัสที่มีรายงานในธนาคารยีนพบว่าเชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในประเทศไทยจัดอยู่กลุ่มเชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลากะรังดอกแดง (red spotted grouper nervous necrosis virus)

8. การนำไปใช้ประโยชน์

…จากผลการศึกษาพบว่าเชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลาทะเลของไทยยังจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ไม่พบว่ามีเชื้อโนดาไวรัสสายพันธุ์อื่น ๆ ที่มีรายงานก่อโรคในปลาทะเลของประเทศไทย เนื่องจากปัจจุบันประเทศไทยมีการนำเข้าลูกพันธุ์ปลาทะเลเข้ามาอนุบาล ดังนั้นข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเฝ้าระวังเชื้อโนดาไวรัสสายพันธุ์ที่ยังไม่เคยพบในประเทศไทยเข้ามาก่อความเสียหายต่อธุรกิจการเพาะเลี้ยงปลาทะเลของไทยในอนาคต ……

9. ความยุ่งยากในการดำเนินการ/ปัญหา/อุปสรรค

…9.1 การออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคในปลาทะเลของประเทศไทย…

…9.2 การหาค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอของเชื้อโนดาไวรัส…

…9.3 การฝากถ่ายดีเอ็นเอของเชื้อโนดาไวรัสเข้าสู่เวกเตอร์ (clone) และการวิเคราะห์หาลำดับเบสของสายดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส……

10. ข้อเสนอแนะ

……เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมและการเพาะเลี้ยงปลาทะเลก็เป็นธุรกิจหนึ่งที่ทำรายได้เข้าประเทศเป็นจำนวนมาก แต่ปัจจุบันเกษตรกรประสบปัญหาการเกิดโรคระบาดที่มีสาเหตุมาจากเชื้อโนดาไวรัส ดังนั้นการหาแนวทางการป้องกันและรักษาจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง และจากข้อมูลที่ได้ศึกษาพบว่าเชื้อโนดาไวรัสที่ก่อโรคมีเพียงสายพันธุ์เดียว ดังนั้นเพื่อให้ธุรกิจการเพาะเลี้ยงปลาทะเลของไทยมีความยั่งยืน จึงควรมีการศึกษาหาแนวทางการป้องกันและรักษาทั้งในแง่การใช้สมุนไพรในการรักษาและการผลิตวัคซีนในการป้องกันและรักษา ตลอดจนมีแผนในการเฝ้ารังเชื้อโนดาไวรัสสายพันธุ์ที่ยังไม่เคยพบในประเทศไทยมาก่อน

ขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

ลงชื่อ……
(…นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์...)
ผู้เสนอผลงาน
……../……./……..

ขอรับรองว่าสัดส่วนหรือลักษณะงานในการดำเนินการของผู้เสนอข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

ลงชื่อ…….
(…นายสมพร รุ่งกำเนิดวงศ์…)
ผู้ร่วมดำเนินการ
……../……./……..

ได้ตรวจสอบแล้วขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

ลงชื่อ…….
(…….)
ตำแหน่ง……..
……../……./……..
(ผู้บังคับบัญชาที่ควบคุมดูแลการดำเนินการ)

ลงชื่อ…….
(…….)
ผู้อำนวยการสำนัก/กอง
……../……./……..

กองการเจ้าหน้าที่

เอกสารหมายเลข 4

โครงร่างข้อเสนอแนวความคิด/วิธีการเพื่อพัฒนางานหรือปรับปรุงงานให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

ของ .....นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์……

เพื่อประกอบการแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง…นักวิชาการประมงชำนาญการพิเศษ..ตำแหน่งเลขที่…771…

สำนัก …วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง….

ชื่อเรื่อง ผลของยาสลบต่อความเครียดและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในปลาน้ำกร่อยที่สำคัญทางเศรษฐกิจ

หลักการและเหตุผล

ปลาน้ำกร่อยเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ แหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายและเพิ่มมากขึ้นทุกๆ ปี ปัญหาความเสื่อมโทรมของทะเลได้ทวีความรุนแรงขึ้นเรื่อยๆ อีกทั้งสภาวะน้ำมันมีราคาแพงทำให้ปริมาณสัตว์น้ำจากแหล่งทรัพยากรธรรมชาติมีแนวโน้มลดต่ำลง การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามแนวชายฝั่งทะเล จึงได้มีการพัฒนาและส่งเสริมอย่างจริงจังเพื่อทดแทนแหล่งโปรตีน จนประสบผลสำเร็จ เกษตรกรสามารถทำการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำกร่อยได้ตั้งแต่ปี 2531 เป็นต้นมา จากการสำรวจสถิติฟาร์มเลี้ยงปลาน้ำกร่อยพบว่ามีการเลี้ยงปลากะรังและปลากะพงเป็นส่วนใหญ่ โดยในปี 2550 มีจำนวนฟาร์มเลี้ยงปลาน้ำกร่อยทั้งหมด 11,363 ฟาร์ม เพิ่มขึ้นจากปี 2549 ร้อยละ 11.77 จำแนกเป็นปลากะรัง 4,197 ฟาร์ม ปลากะพง 7,166 ฟาร์ม โดยมูลค่าผลผลิตปลาน้ำกร่อยส่วนใหญ่ร้อยละ 84 ได้จากการเลี้ยงในกระชัง ส่วนที่เหลือร้อยละ 16 ได้จากการเลี้ยงในบ่อดิน (กรมประมง, 2551) ปัจจุบันเกษตรกรเลี้ยงปลาน้ำกร่อยแบบหนาแน่น (intensive culture) เพื่อให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ในระหว่างการเลี้ยงมีการคัดขนาด การเพาะขยายพันธุ์ การตรวจวินิจฉัยโรคเบื้องต้น การจับปลาเพื่อตรวจสอบความสมบูรณ์เพศ การเคลื่อนย้าย รวมทั้งการทำศัลยกรรมและเก็บตัวอย่างเลือดมาใช้ในการศึกษาหรือวิจัย ซึ่งในกิจกรรมดังกล่าวจำเป็นต้องนำยาสลบมาใช้ในการนำสลบปลาเพื่อลดความเครียดและการบาดเจ็บที่มักจะเกิดขึ้น (Munday and Wilson, 1997; Small, 2002) ยาสลบที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย ได้แก่ (MS-222), Quinaldine sulphate, 2-Phenoxy ethanol และ Benzocain ซึ่งยาสลบเหล่านี้เป็นยาสลบประเภทสารเคมี ทำให้เกิดการตกค้างสะสมในร่างกายสัตว์น้ำและผู้บริโภค มีเพียง MS-222 ชนิดเดียวที่ประเทศสหรัฐอเมริการับรองให้ใช้ แต่ต้องมีระยะหยุดการใช้ยาไม่น้อยกว่า 21 วันก่อนนำปลาไปปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติหรือนำไปบริโภค (Colye *et al*., 2004) ส่วนยาสลบที่มีความปลอดภัยต่อปลา ผู้ใช้ยาและผู้บริโภคโดยไม่ต้องมีระยะหยุดการใช้ยา คือน้ำมันกานพลู (Clove oil) เพราะเป็นสารสกัดจากดอกกานพลูแห้ง (Kang *et al*., 2005)

การนำยาสลบมาใช้สลบปลาเพื่อลดการบอบช้ำและความเครียดระหว่างการจับหรือเคลื่อนย้ายทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาและการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Munday and Wilson, 1997)

ยาสลบสร้างความเครียดให้กับสัตว์น้ำ (Andersen and Wang, 2002) การใช้ยาสลบที่มีความเข้มข้นสูงนำสลบปลาจะส่งผลให้ปลาเกิดความเครียด (Iwama *et al*., 1989; Thomas and Robertson, 1991) ซึ่งความเครียดเป็นปัจจัยเสี่ยงส่งผลกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (อ้างตาม Ortuno *et al*., 2002a) จากการศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบว่ายาสลบมีผลทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันลดลง (Rem *et al*., 1980; Fescharek *et al*., 1994) เช่นเดียวกับในปลา gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) (Ortuno *et al*., 2002a; Cubero and Molinero, 1997) เมื่อภูมิคุ้มกันของปลาต่ำลงโอกาสที่ปลาจะอ่อนแอและยอมรับการติดเชื้อเป็นไปได้สูง การศึกษาผลของยาสลบทั้ง 5 ชนิดต่อความเครียดและการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในปลาน้ำกร่อยซึ่งเป็นปลาเศรษกิจของไทย จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการเลือกใช้ยาสลบที่มีประสิทธิภาพ มีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลาน้อยที่สุด ประกอบกับราคาไม่แพง ใช้ง่าย ปลอดภัยต่อปลา ผู้ใช้ และผู้บริโภค อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มาใช้ในการตัดสินใจเลือกใช้ยาสลบเหมาะสมกับชนิดของงาน ชนิดของปลา และความต้องการของเกษตรกร นักศึกษา และนักวิจัยต่อไป

บทวิเคราะห์/แนวคิด/ข้อเสนอ

ปลากะพงและปลากะรังเป็นปลาน้ำกร่อยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะปลาน้ำกร่อยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเป็นแหล่งโปรตีนสำคัญที่สามารถทดแทนแหล่งโปรตีนจากสัตว์ใหญ่ได้เป็นอย่างดี จากการสำรวจตั้งแต่ปี 2543-2549 พบว่าผลผลิตปลาน้ำกร่อยจากการเพาะเลี้ยงในกระชังและบ่อดินเพิ่มขึ้นทุกปี มูลค่าผลผลิตแต่ละปีไม่ต่ำกว่าหนึ่งพันล้านบาท โดยปี 2549 มูลค่าผลผลิตสูงสุดถึง 2,355 ล้านบาท ปลากะพงและปลากะรังเป็นปลาน้ำกร่อยที่มีรสชาติดี เป็นที่นิยมบริโภคทั้งในและนอกประเทศ เป็นปลาที่เลี้ยงง่ายโตเร็ว เลี้ยงมากบริเวณชายฝั่งทะเล โดยจังหวัดที่มีการเลี้ยงปลากะรังมากสุด ได้แก่ สตูล ปัตตานี และพังงา ตามลำดับ ส่วนจังหวัดที่มีการเลี้ยงปลากะพงขาวมากสุด ได้แก่ ปัตตานี สตูล และสงขลา ตามลำดับ (กรมประมง, 2551)

การเลี้ยงปลากะพงขาวและปลากะรังให้มีการเจริญเติบโตเร็ว แข็งแรง ปราศจากโรค จำเป็นต้องมีการจับหรือเคลื่อนย้ายปลาเพื่อคัดขนาดเป็นระยะๆ เพื่อป้องกันปลาตัวใหญ่กินปลาตัวเล็กและลดความหนาแน่นในการเลี้ยงลง หรือแม้แต่การตรวจวินิจฉัยโรคเบื้องต้น การทำศัลยกรรมและเก็บตัวอย่างเลือด ซึ่งมีกิจกรรมดังกล่าวทำให้ปลาบอบช้ำและเกิดความเครียด จึงจำเป็นต้องนำยาสลบมาใช้เพื่อลดความเครียดและการบาดเจ็บที่มักจะเกิดขึ้น (Munday and Wilson, 1997; Small, 2002) ยาสลบ (Anaesthetic) หมายถึงสารเคมีที่ทำให้เกิดอาการสูญเสียความรู้สึกบางส่วนหรือทั้งหมดโดยยาสลบจะแพร่เข้าสู่ระบบประสาทส่วนกลางไปยับยั้งการทำงานของเซลล์ประสาทในส่วนของการส่งถ่ายข้อมูลไปสู่เซลล์ประสาทอื่นๆ ทำให้สูญเสียการตอบสนองต่อการกระตุ้นจากภายนอก (Coyle *et al*., 2004) ยาสลบมีผลลดกิจกรรมการเคลื่อนไหว และจำกัดการแลกเปลี่ยนอากาศในการหายใจของปลาให้น้อยลงกว่าปกติ (Dziaman *et al*., 2010)

Coyle *et al*. (2004) ได้แบ่งระยะหรือขั้นตอนการสลบของปลาเป็น 4 ระยะดังนี้
ระยะที่ 1 Sedation (สงบ) : ลักษณะการเคลื่อนไหวของปลา และอัตราการหายใจลดลง
ระยะที่ 2 Anesthesia (หมดสติ) : ปลาไม่สามารถทรงตัวได้เป็นปกติ แต่ยังตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น
ระยะที่ 3 Surgical anesthesia (สลบลึก) : สูญเสียการทรงตัว (หงายท้อง) และไม่ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น
ระยะที่ 4 Death (ตาย) : หยุดหายใจ หัวใจหยุดเต้น และตายในที่สุด

ชนิดของยาสลบที่นิยมใช้ในการนำสลบปลา ได้แก่

1. MS-222 มีชื่อทางเคมีว่า 3-aminobenzoic acid ethylester methan ชื่อทางการค้าว่า Tricane methanesulfonate และ Metacaine มีลักษณะเป็นผงสีขาวละเอียด มีกลิ่นละลายน้ำได้ดีทั้งในน้ำจืดและน้ำเค็ม สามารถซึมผ่านเหงือกได้อย่างรวดเร็ว เป็นยาสลบชนิดเดียวที่ได้รับการจดทะเบียนจากองค์การอาหารและยาจากประเทศสหรัฐอเมริกา หลายๆ ประเทศทางยุโรปใช้ในปลาเพื่อการบริโภค และต้องพักปลาไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 21 วัน หลังจากนั้นสามารถนำปลามาบริโภคได้ MS-222 ยาสลบชนิดนี้มีราคาค่อนข้างแพง 25 กรัมราคาประมาณ 5,328 บาท

2. Benzocaine มีชื่อทางเคมีว่า ethyl ester p-aminobenzoic acid มีลักษณะเป็นผงสีขาว ละลายน้ำได้น้อย ละลายได้ดีในอะซีโทนและเอทธานอล ไม่ทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยน หากอยู่ในรูปของ Bebzocain-hydrocloride จะละลายน้ำได้ดีขึ้น แต่จะทำให้ pH ของน้ำลดลง ยาสลบชนิดนี้สามารถใช้ได้ทั้งน้ำจืดและน้ำทะเล และมีแนวโน้มว่าจะได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาจากประเทศสหรัฐอเมริกา นำมาใช้แทน MS-222 เนื่องจากราคาถูกกว่า คือ 100 กรัม ราคา ประมาณ 2,600 บาท

3. 2-Phenoxyethanol มีชื่อทางการค้า เช่น phenoxethol, phenylmonoglycol ether, rose ether 2-Phenoxyethanol มีชื่อทางเคมีว่า [1-hydroxy-2-phenoxyethane] ลักษณะเป็นของเหลวคล้ายน้ำมัน สีเหลืองอ่อน มีกลิ่นเล็กน้อย ละลายน้ำได้ปานกลาง คุณสมบัติเป็นสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียและราได้ นำมาใช้เป็นส่วนผสมของยารักษาโรคและเครื่องสำอาง ยาสลบชนิดนี้มีการนำมาใช้ในปลามากพอสมควรเนื่องจากมีราคาไม่แพง ยาสลบปริมาตร 500 มิลลิลิตร ราคา ประมาณ 3,140 บาท

4. Quinaldine sulfate ชื่อทางเคมีว่า 2-methyquinoline sulfate ลักษณะเป็นของเหลวคล้ายน้ำมันสีเหลืองน้ำตาลละลายในน้ำได้น้อย ละลายได้ดีในอะซีโตนหรือแอลกอฮอล์ มีกลิ่นฉุน ประสิทธิภาพจะลดลงในน้ำที่มี pH <5 และเมื่อเติม quinaldine ลงน้ำทำให้เกิดภาวะเป็นกรดเพิ่มขึ้น เป็นยาสลบที่ใช้กันมานานและแพร่หลาย ราคาไม่แพงมาก 250 มิลลิลิตร ราคา 3,900 บาท

5. น้ำมันกานพลู (clove oil) เป็นน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากดอกก้านพลูแห้ง โดยกระบวนการต้มกลั่นด้วยไอน้ำ มีชื่อทางเคมีคือ eugenol (4-allyl-2-methoxy-phenol) ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์สำคัญ 3 ชนิด คือ Eugenol 85-95%, iso-eugenol และ methyleugenol 5-15% น้ำมันกานพลูไม่ละลายน้ำ ละลายได้ดีในเอทธิลแอลกอฮอล์ 95% มีกลิ่นฉุน น้ำมันกานพลูและอนุพันธ์เป็นยาสลบที่นิยมใช้กันมาก มีความปลอดภัยต่อปลาและมนุษย์ ประเทศออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์ และประเทศอื่นๆ แถบเกาะทางใต้ และทางตะวันตกของมหาสมุทรแปซิฟิคได้รับรองน้ำมันกานพลูและอนุพันธุ์ที่ผลิตในรูปแบบการค้าเพื่อใช้เป็นยาสลบในปลาว่า มีความปลอดภัยสำหรับใช้ในปลาที่เลี้ยงไว้เพื่อการบริโภคของมนุษย์ และมีความปลอดภัยต่อแหล่งน้ำธรรมชาติ ไม่ต้องมีระยะหยุดการใช้ยา (no withdrawal period) ก่อนนำปลาบริโภคหรือปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ราคาไม่แพง 250 มิลลิลิตร ราคา 600 บาท

การเลือกใช้ยาสลบแต่ละชนิดต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคเป็นสำคัญ ประเทศญี่ปุ่นอนุญาตให้ใช้น้ำมันกานพลูกับปลาที่นำมาใช้ในการบริโภค แต่ไม่อนุญาตให้ใช้ยาสลบที่เป็นสารเคมี (Grush *et al*., 2004) ขณะที่ MS-222 เป็นยาสลบสารเคมีชนิดเดียวที่ได้รับการจดทะเบียนจากองค์การอาหารและยาจากประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศทางยุโรปให้ใช้กับปลาเพื่อการบริโภค แต่ต้องพักปลาไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 21 วัน (Coyle *et al*., 2004) นอกจากนี้จากการศึกษาและวิจัยพบว่าการใช้ยาสลบแต่ละชนิดจะต้องพิจารณาเงื่อนไขต่างๆ ประกอบด้วย เช่นขนาดหรือชนิดของปลา ความเข้มข้นของยาสลบที่ใช้กับปลาแต่ละชนิด ระยะเวลาในการนำสลบ และระยะเวลาที่ฟื้นจากสลบ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของยาสลบ ปริมาณการใช้ เวลาในการนำสลบและฟื้นสลบในปลาแต่ละชนิด

ชนิดยาสลบ	ความเข้มข้น (mg/L)	เวลาชักนำสลบ (นาที)	เวลาฟื้นสลบ (นาที)	ชนิดปลา	อ้างอิง
MS-222	25-100	<3	< 10	Salmonid	(Bell&Blackburn, 1984;Yesaki,1988)
	250-480	<5	<10	Atlantic halibut	(Malmstroem *et al*., 1993)
	150	<3	< 10	Striped bass	(Lemm, 1993)
	75	Rapid	3.5-7.1	Cod	(Ross and Ross, 1984)
	80-100	2.6-6.8	2.5-1.2	Tilapia	(Ferriera *et al*., 1979; Ross and Ross, 1984)
Benzocaine	25-50	3	4.3-6.32	Salmonids	(Yesaki,1988)
	55-85	3	< 10	Bass	(Gilderhus and Marking,1987; Gilderhus, 1991)
	50-100	1.2-3.9	3.1-2.2	Carp	(Ferriera *et al*., 1979)
	50-100	1.6-6.5	2.9-2.2	Tilapia	(Ferriera *et al*., 1979)
2-Phenoxyethanol	200-500 *	3	2-10	Salmonids	(Gilderhus and Marking,1987;Iwama *et al*.,1989)
	100-500*	3	< 4	Various species	(Mattson and Riple,1989; McFarland and Klontz,1969)
	0.75*	0.96	2.16	Hybrid tilapia	(บัณฑิตย์ และคณะ, 2004)
Quinaldine sulfate	15-40	2-4	1-20	Salmonid	(Bell,1987; Gilderhus and Marking,1987)
	30-70	2	1-24	Catfish	(Schoettger and Julin,1968)
	10-30	2	2-60	Bluegill	(Schoettger and Julin,1968)
	25-55	< 3	< 10	Striped Bass	(Lemm, 1993)
	15-70	2	1-60	Bass	(Schoettger and Julin,1968)
Quinaldine sulfate	40	0.90	0.23	Hybrid tilapia	(บัณฑิตย์ และคณะ, 2004)
Clove oil	40	2.5-4	3	Rainbow trout	(Anderson *et al*., 1997)
	40-60	3-4	12-14	Rainbow trout	(Keene *et al*., 1998)
	100	1-2	0.5-2.5	Rabbitfish	(Soto and Burhanuddin,1995)

หมายเหตุ *หมายถึงความเข้มข้นมีหน่วยเป็น ml/L

ที่มา: Ackerman *et al*., 2005

ปลาเป็นสัตว์น้ำชนิดหนึ่งที่พบว่าสิ่งแวดล้อมมีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Cubero and Molinero, 1997) การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันถูกควบคุมโดยการทำงานของระบบประสาทและฮอร์โมนเช่นเดียวกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ความเครียดจากสิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดภาวการณ์กดภูมิคุ้มกันทั้งระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และแบบจำเพาะ (Narnaware and Baker, 1996; Tort *et al*., 1996) ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific immunity) และระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific immunity) มีการทำงานร่วมกันประกอบด้วยภูมิคุ้มกันสารน้ำและเซลล์ ซึ่งมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกัน (กิจการและคณะ, 2539) ภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ ประกอบด้วยเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการจับกินสิ่งแปลกปลอม ได้แก่ มาโครฟาจ นิวโทรฟิล และ natural cytotoxic cell (NCC) ส่วนภูมิคุ้มกันสารน้ำเป็นของเหลวในน้ำเลือด เช่น คอมพลีเม้นท์ ทำให้เชื้อแบคทีเรียและไวรัสง่ายต่อการถูกทำลายโดยช่วยเสริมการกลืนกินของเซลล์ในขบวนการ phagocytosis นอกจากนี้ยังมีผลทำลายเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย (Anderson, 1990) ส่วนไลโซไซม์เป็นเอนไซม์ที่ทำลายผนังเซลล์แบคทีเรีย (Dalmo *et al*., 1997) นอกจากนี้มี natural hemolysin, transferring และ C- reactive Protein (Secombes *et al*., 1996) ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะจะวัดการทำงานของสารน้ำแอนติบอดี ซึ่งสร้างจากเซลล์เม็ดเลือดและออกฤทธิ์เฉพาะกับเชื้อจุลชีพที่จำเพาะ (สุทธิพันธ์และคณะ, 2543) ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะมีความสำคัญมากในสัตว์ชั้นต่ำอย่างปลา โดยเป็นด่านแรกทำหน้าที่ยับยั้งหรือขัดขวางเชื้อโรคจนกว่าร่างกายสร้างระบบภูมิคุ้มกันโรคแบบจำเพาะขึ้นมา (Anderson, 1990)

การใช้ยาสลบมีผลทำให้ปลาเกิดความเครียดมีผลกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทำให้ปลามีโอกาสติดเชื้อก่อโรคได้ง่ายขึ้น (Ortuno *et al*., 2002a) ความเครียดมีผลทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันมีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันสามารถนำมาใช้เป็นดัชนี (biomarkers) บ่งบอกภาวะเครียดในปลาได้ (Anderson 1990) ความเครียดทำให้การทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวลดลงส่งผลให้ปริมาณการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนและขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมลดลง (Barton, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อปลาเครียดจะมีการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisal) สู่ระบบหมุนเวียนเลือดเพิ่มขึ้น การใช้ยาสลบเป็นสาเหตุให้มีการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นมีผลกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในปลา (Iwama *et al*., 1989; Thomas and Robertson, 1991; Small, 2003) การใช้ยาสลบ MS 222 และ Quinaldine มีผลให้ปลา seabream มีการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันขณะที่ benzocain และ 2-phenoxyethanol ยับยั้งการทำงานของระบบ complement และ การเกิด phagocytosis (Ortuno *et al*., 2002b) ยาสลบ MS 222 มีผลทำให้การหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นและพบว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวแตกเพิ่มขึ้น (Palic *et al*., 2006) แต่ไม่มีผลต่อ complement activity respiratory burst และ phagocytic activity ในปลา seabream (Ortuno et al., 2002a) ยาสลบ benzocain ยับยั้งการทำงานของ lysozyme activity, respiratory burst และ phagocytic activity ในปลา seabream และมีผลให้การหลั่งกลูโคสและคอร์ติซอลเพิ่มขึ้น (Bressier and Ron, 2004)

ส่วน Clove oil ไม่มีผลเพิ่มปริมาณการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลในปลา catfish (Small, 2003) ในปลา fathead minnows และสามารถป้องกันเซลล์เม็ดเลือดขาวให้มีการแตกน้อยลงได้ (Palic *et al*., 2006) จากการทดลองในหลอดทดลองพบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลยับยั้งขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวในปลา tilapia และปลา carp (Law *et al*., 2001) จากการศึกษาของ Bressier and Ron (2004) พบว่าการใช้น้ำมันกานพลูสลบปลา gilthead seabream มีความปลอดภัยไม่มีผลกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแต่มีผลชักนำให้มีการหลั่งกลูโคสและคอร์ติซอลเพิ่มขึ้น ยาสลบมีผลกระตุ้น hypothalamo-pituitary-interrenal (HPI) axis ให้มีการหลั่งคอร์ติซอลในพลาสมาเพิ่มขึ้น(Small, 2003) เมื่อปลาอยู่สภาวะเครียดจะมีการหลั่งคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นมีผลกดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยกดการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาว (Webster *et al*., 2002) การเกิด phagocytosis และ oxidative burst ในปลาลดลง (Barton, 2003) ทำให้ความต้านทานจากการติดเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราลดลง (Maule et al., 1989; Pickering and Pottinger, 1989)

ผลจากการศึกษาวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นได้มีการศึกษาผลของยาสลบประเภทสารเคมีและน้ำมันกานพลูต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในปลาหลายๆ ชนิด เช่นปลา seabream ปลา fathead minnows ปลา tilapia และปลา carp เป็นต้น (Bressier and Ron 2004; Ortuno *et al*., 2002b; Palic *et al*., 2006; Law *et al*., 2001) แต่ยังไม่มีการศึกษาในปลากะพงขาวปลาน้ำกร่อยเศรษฐกิจของไทย หากมีการศึกษาคาดว่าจะเป็นประโยชน์ให้กับเกษตรกรและนักวิจัยในการเลือกใช้ยาสลบที่มีประสิทธิภาพ มีผลต่อความเครียดและการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันน้อยที่สุด อันจะมีผลต่อการเจริญเติบโต และสุขภาพที่ของปลาเป็นสำคัญ

ด้วยเหตุนี้จึงมีแนวคิดที่จะทำการศึกษาผลของยาสลบแต่ละชนิดต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในปลาน้ำกร่อย คือปลากะพงขาวและปลากะรัง โดยจะทำการศึกษาในปลากะพงขาวก่อน จากนั้นจะศึกษาในปลากะรังเป็นลำดับต่อไป โดยจะแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของยาสลบ MS 222, Quinaldine sulfate, Benzocaine, 2-Phenoxyethanol และน้ำมันกานพลูในปลากะพงขาวขนาดต่างๆกัน โดยจะทำการทดลองดังนี้

1. ปลากะพงขาวขนาดน้ำหนักประมาณ 100-200 กรัม, 400-500 กรัม และขนาดพ่อแม่พันธุ์
2. ความเข้มข้นของยาสลบแต่ละชนิด เช่น MS 222 มีความเข้มข้น 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร Quinaldine sulfate มีความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร Benzocaine มีความเข้มข้น 20, 40, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 2-Phenoxyethanol มีความเข้มข้น 25, 50, 100 และ 200 มิลลิลิตรต่อลิตรและน้ำมันกานพลู มีความเข้มข้น 30 40 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (Palic *et al*., 2006; Ortuno *et al*., 2002b; Ackerman *et al*., 2005) โดยแช่ปลาในยาสลบแต่ละชนิดความเข้มข้นละ 3 ซ้ำๆ ละ 10 ตัว

3. หาระยะเวลาในการนำสลบ (Induction time) ตั้งแต่ปลาสัมผัสยาจนถึงสลบลึก ระยะที่ 3 Surgical anesthesia: สูญเสียการทรงตัว (หงายท้อง) และไม่ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น และเวลาที่ฟื้นจากยาสลบ (Recovery time) คือพลิกลำตัวจนตั้งในแนวขนานกับพื้นและโบกพัดครีบเพื่อว่ายน้ำได้ หลังจากปลาดังกล่าวฟื้นจากยาสลบแล้ว บันทึกอัตราการตายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความแตกต่าง โดยวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนโดยใช้ ANOVA ตามแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของยาสลบ MS 222, Quinaldine sulfate, Benzocaine, 2-Phenoxyethanol และน้ำมันกานพลูต่อการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล องค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในปลากะพงขาว โดยจะทำการทดลองดังนี้

1. ปลากะพงขาวขนาดน้ำหนักประมาณ 100-200 กรัม
2. แบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลองตามชนิดของยาสลบ โดยความเข้มข้นของยาสลบที่เหมาะสมได้จากการทดลองที่ 1 มานำสลบปลากะพงขาวแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ10 ตัว หลังจากปลากะพงขาวสลบเป็นเวลา 3 30 และ 60 นาที นำมาเจาะเลือดจากบริเวณส่วนหาง (caudal peduncle) ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 25G ขนาดหลอดฉีดยา 1 มิลลิลิตร นำเลือดที่เจาะได้ใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำเลือดปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพื่อหาจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ตามวิธีการของ Anderson and Siwicki (1995) ปริมาณกลูโคส ตามวิธีการของ Ortuno *et al*., 2002a ส่วนเลือดที่เหลือแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนที่ 1 นำไปผสมกับสารกันเลือดแข็งตัว (Heparin 150 Unit/ml) ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อนำไปหาปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นตามวิธีการของ Blaxhall and Daisley (1973) ปริมาณคอร์ติซอล ตามวิธีการของ Palic *et al*., (2006) ส่วนที่ 2 วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อแยกเอาน้ำเลือดไปหาปริมาณไลโซไซม์ ตามวิธีการของ Obach *et al*., (1993) และคอมพลีเม้นท์ ตามวิธีดัดแปลงจาก Ortuno *et al*., (1998) และ Yano (1992) หลังจากเก็บเลือดแล้ว ตัดเอาไตส่วนหน้า (Head kidney) ของปลาแต่ละตัวในแต่ละชุดการทดลองเพื่อแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวสำหรับตรวจวัดภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ คือเปอร์เซ็นต์การจับกินสิ่งแปลกปลอม (Phagocytosis) ตามวิธีการของ Thuvander *et al*., (1987) และซุปเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (Superoxide anion) ตามวิธีการของ Munoz *et al*., (2000)
3. นำข้อมูลจากแต่ละชุดการทดลอง มาเปรียบเทียบความแตกต่าง โดยวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนโดยใช้ ANOVA ตามแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ยาสลบที่มีประสิทธิภาพสามารถชักนำสลบปลากะพงขาวขนาดต่างๆ ได้ดี
2. ได้ยาสลบที่มีผลกระทบต่อความเครียดและการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันน้อยที่สุดในปลากะพงขาว
3. สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับปลาน้ำกร่อยชนิดอื่นๆ เช่นปลากะรังดอกแดง ปลากะรังจุดฟ้า ปลาช่อนทะเลและปลาตะกรับ เป็นต้น
4. เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับเกษตรกร นักเรียน นักศึกษาและนักวิจัยในนำยาสลบไปใช้ในปลาทะเลชนิดอื่นๆ และขนาดน้ำหนักที่แตกต่างกันของปลาแต่ละชนิดโดยละเอียดต่อไปในอนาคต

ตัวชี้วัดความสำเร็จ

1. เอกสารวิชาการ 1 เล่ม ซึ่งตีพิมพ์เผยแพร่ ให้ความรู้แก่เกษตรกร นักเรียน นักศึกษาและนักวิจัย
2. ได้ข้อมูลพื้นฐานสำหรับนักเรียน นักศึกษา นักวิจัยเกี่ยวกับการใช้ยาสลบแต่ละชนิดต่อการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลและกลูโคส ซึ่งบ่งบอกสภาวะเครียดในปลา และผลของยาสลบต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันที่ลดลงในระยะเวลาต่างๆ กัน เช่นหลังจากนำสลบปลาเป็นเวลา 3 , 30 และ60 นาที มีผลต่อปริมาณคอร์ติซอล กลูโคสองค์ประกอบเลือด และระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะมีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละช่วงเวลามากน้อยแตกต่างกันอย่างไร เพื่อจะได้เลือกใช้ช่วงเวลาในการนำสลบที่ดีที่สุดในการเก็บตัวอย่างเลือดปลาเพื่อใช้ในการศึกษาและวิจัยต่อไป
3. ปลากะพงขาวที่นำสลบด้วยยาสลบที่ดีที่สุดจากการศึกษาครั้งนี้ มีความเครียดน้อย มีผลกระทบต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันน้อยที่สุด ส่งผลให้ปลามีอัตรารอดสูง
4. จำนวนเกษตรกรผู้เลี้ยงปลากะพงขาวและปลากะรังเพิ่มขึ้น เนื่องจากการมีผลผลิตและรายได้เพิ่มขึ้น
5. ปริมาณและมูลค่าการส่งออกปลากะพงขาวและปลากะรังเพื่อการบริโภคเพิ่มขึ้น
6. ได้ยาสลบที่มีประสิทธิภาพ ราคาไม่แพง และอาจปลอดภัยทั้งผู้ใช้และผู้บริโภค ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ลงชื่อ .....

(...นางจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์...)

ผู้เสนอแนวคิด

.....4...../....สิงหาคม...../.....2554.....

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2551. สถิติฟาร์มเลี้ยงปลาน้ำกร่อย ประจำปี 2549. เอกสารฉบับที่ 13/2551 ศูนย์สารสนเทศ กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 26 หน้า

กิจการ ศุภมาตย์, สาวิตรี ศิลาเกษ, วุฒิพร พรหมขุนทอง และ สิทธิ บุณยรัตผลิน. 2539. โรคและพยาธิปลา. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 212 หน้า

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, วิบูลย์ศรี พิมลพันธุ์, นภาธร บานชื่น, ทัศนีย์ สุโกศล, ธารารัชต์ ธารากุล, ศันสนีย์ เสนะวงษ์ และสิริฤกษ์ ทรงศิวิไล. 2543. อิมมูโนวิทยา. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ. 414 หน้า.

Ackermn, P. A., J. D. Morgan and J. K. Iwama. 2005. Anesthetics. Appendix to CCAC guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing. *Canadian Council on Animal Care*: Ottawa CA, [Available electronically at http://www. ccac.ca/ Fish_Anesthetics.pdf.

Andersen, J. B. and T. Wang. 2002. Effects of anaesthesia on blood gases, acid-base status and ions in the toad *Bufo marinus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 131: 639-646.

Anderson , D. 1990. Immunological indicators: effects of environmental stress on immune protection and disease outbreaks. *American Fisheries Society Symposium* 8: 38-50..

Anderson , D. P. and A. K. Siwicki. 1995. Basic haematology and serology for fish health programs. **In**: Disease in Asian Aquaculture II. Shariff, M., J. R. Arthur and R. P. Subasinghe (eds.). *Proceeding of the Second Symposium on Disease in Asian Aquaculture* 25-29 October 1993, Phuket, Thailand. p 185-202.

Barton, B. A.,2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology* 42 (3): 517-525.

Blaxhall, P. C. and K. W. Daisley. 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 5 : 771-781.

Bressier, K. R. and B. N. Ron. 2004. Effect of anesthetics on stress and the innate immune system of gilthead seabream (*Sparus Aurata*). *The Israeli Joumal of Aquaculture-Bamidgeh* 56(1): 5-13.

Coyle, S. D., R. M. Durborow and J. H. Tidwell. 2004. Anesthetics in Aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center, SRAC Publication No. 3900, November 2004. 6 pp.

Cubero, L. and A. Molinero.1997. Handling, confinement and anaesthetic exposure induces changes in the blood and tissure immune characteristics of gilthead sea bream. *Diseases of Aquatic Organisms* 31:89-94.

Dziaman R., M. Sitarek and B. Kłyszejko. 2010. The effect of sublethal concentration of Decis 2.5 EC pesticide on learning and memory processes in common carp, *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae). *Acta Ichthyol. Piscat.* 42 (2): 145–154.

Dalmo, R. A., K. Ingebrigtsenand and J. Bogwald. 1997. Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *Journal of fish Diseases* 20: 241-273.

Fescharek, R., V. Franke and M. R. Samuel. 1994. Do anaesthetics and surgical stress increase the risk of post-exposure rabies treatment failure. *Vaccine* 12: 12-13.

Grush, J., D. L. G. Noakes and R. D. moccia. 2004. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). *ZEBRAFISH* 1: 46-53.

Iwama, G. K., J. C. McGeer and M. P. Pawluk. 1989. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases cortisol and adrenaline in rainbow trout. *Canadian Journal of Zoology* 67: 2065-2073.

Kang, E. J., E. M. Kim, Y. J. Kim, S. G. Lim, D. S. Sim, Y. H. Kim and I. S. Park. 2005. Effect of lidocaine hydrochloride and clove oil as an anaesthetic on Korean rose bitterling, *Rhodeus uyekii* and oily bitterling, *Acheilognathus koreensis*. J. Aquaculture 18: 272-279.

Law, W. y., W. H. Chen, Y. L. Song, S. Dufour and C. F. Chang. 2001. Differential in vitro suppressive effects of steroids on leukocyte phagocytosis in two teleost, tilapia and common carp. *General and Comparative Endocrinology* 121 (2): 163-172.

Maule, A. G., R. A. Tripp, S. L. Kaattari and C. B. Schreck. 1989. Stress alters immune function and disease resistance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *J. Endocrinol* 120: 135-142.

Munday, P. L. and S. K. Wilson. 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemical in anesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef. Journal of Fish Biology 51: 931-938.

Munoz, M., R. Cedenob, J. Rodrýguez, W. P. W. Van Der Knaap, E. Mialhe and E. Bachere. 2000. Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei. Aquaculture* 191 :89-107.

Narnaware, Y.K., and B.I. Baker. 1996. Evidence that cortisol may protect against the immediate effects of stress on circulation leukocytes in the trout. *Gen. Comp. Endocrinol.* 103:359-366.

Obach, A., C. Quentel and F. B. Laurencin. 1993. Effect of alpha-tocopherol and dietary oxidized fish oil on the immune response of seabass (*Dicentrarchus labrax). Disease of Aquatic Organisms* 15 : 175-185.

Ortuno, J., M. A. Esteban, V. Mulero and J. Meseguer. 1998. Methods for studying the haemolytic, chemoattractant and opsonic activities of seabream (*Sparus aurata* L.) serum. In *Methedology in* Fish Diseases Research (A. C. Barnes, G. A. Davidson , M. P. Hiney and D. McIntosh, eds) pp. 97-100. Aberdeen: *Fisheries Research Services.*

Ortuno, J., M. A. Esteban and J. Meseguer. 2002a. Effects of four anesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology* 12:49-59.

Ortuno, J., M. A. Esteban and J. Meseguer. 2002b. Lack of Effects of combining different stressors on innate immune response of seabream (*Sparus aurata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 84 :17-27.

Palic, D., D. M. Herolt, B. Clair, B. W. Andreasen, Menzel and A. R. James. 2006. Anesthetic efficacy of tricaine methanesulfonate, metomidate and eugenol: Effects on plasma cortisol concentration and neutrophil function in fathead minnows (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). *Aquaculture* 254:675-685.

Pickering, A.D., Pottinger, T.G., 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiol. *Biochem.* 7, 253±258.

Rem, J., M. R. Brandt and H. Kehlet.1980. Prevention of postoperative lymphopenia and granulocytosis by epidural analgesia. *Lancet* 1:283-284.

Secombes, C. J., L. J. Hardie and G. Daniels. 1996. Cytokines in fish: an update. *Fish & Shellfish Immunology* 6: 291-304.

Small, C. B., 2002. Anesthetic efficacy of netominate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictaiurus punctatus*. *Aquaculture* 62062:1-9.

Small, C. B., 2003. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulphonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 218: 177-185.

Thomas, P. and L. Robertson. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate. *Aquaculture* 96(1):69-86.

Thuvander, A., L. Norrgren and C. Fossum. 1987. Phagocytic cells in blood from rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson), characterized by flow cytometry and electron microscopy. *Journal Fish Biology* 31 : 197-208.

Tort, L., E. Gomez, D. Montero, and J.O. Sunyer. 1996. Serum haemolytic and agglutinating activity as indicators of fish immunocompetence: their suitability in stress and dietary studies. Aquaculture International. 4:31-41.

Yano, T. 1992. Assays of hemolytic complement activity. *In* Techniques in Fish Immunology. (eds. Stolen, J. S., Fletcher, T. C., Anderson, D. P., Kaattari, S. L. and Rowley, A. F.), pp. 131-141. Fair Haven : SOS Publications.