

ผลของยาสลบต่อการขนส่งปลาตะเพียนขาว
**EFFECT OF SOME ANAESTHETICS ON THE TRANSPORT
OF LIVE COMMON SILVER BARB (*PUNTIUS
GONIONOTUS BLEEKER*)**

ทัศนัย อ่องสาคร
Tasnai Ongsakorn

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
The Graduate School, Kasetsart University

บทคัดย่อ

ทดสอบยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol กับปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus* Bleeker) ซึ่งมีความยาว ๑.๕ - ๒.๕ ซม. ปรากฏว่า ค่า ๒๔ h - LC_{๕๐} ที่ ๓๐°ซ. ของ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ที่ช่วงแห่งความเชื่อมั่นที่ ๙๕% มีค่าเท่ากับ ๗๑ (๖๙.๕ - ๗๒.๕) และ ๑,๙๘๐ (๑,๙๔๘.๘ - ๒,๐๑๑.๗) ppm ตามลำดับ และพบว่า ค่า ๒๔ h - LC_{๕๐} และ ๙๖ h - LC_{๕๐} มีค่าเท่ากัน

อาการสลบของปลาตะเพียนขาวที่เกิดจาก MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol มีลักษณะคล้ายคลึงกัน โดยมีลำดับขั้นของการสลบเป็น ๕ ระยะ ได้แก่ระยะที่ ๑ มีอาการมึนงง (sedation) ระยะที่ ๒ มีการเสียสมดุลบางส่วนในขณะเคลื่อนที่ (partial loss of equilibrium) ระยะที่ ๓ เสียสมดุลทั้งหมดและหยุดเคลื่อนที่ (total loss of equilibrium) ระยะที่ ๔ เสียสมดุลทั้งหมดและไม่เคลื่อนไหว (loss of reflex activity) และระยะที่ ๕ เป็นระยะที่หยุดหายใจ (medullary collapse) ความเข้มข้นของ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ที่ทำให้ปลาตะเพียนขาวเกิดอาการมึนงง มีค่าเท่ากับ ๕๐ - ๕๕ ppm และ ๙๐๐ ppm ตามลำดับ และยังพบว่ายาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol สามารถจะนำมาใช้ในการขนส่งปลาตะเพียนขาวแทนการใช้ออกซิเจนได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนสมทบ โดยเฉพาะ tertiary amyl alcohol เป็นยาสลบที่มีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ออกซิเจน และเหมาะสมที่จะใช้เป็นยาสลบในการขนส่งปลา

ABSTRACT

The static bioassay to determine the acute toxicity of MS-222 (tricaine methanesulphonate) and tertiary amyl alcohol on Puntius gonionotus Bleeker (common silver barb), 1.5 - 2.5 cm in length, was studied at 30° C. By using Litchfield and Wilcoxon method, the 24h - LC₅₀ with 95% confidence intervals of MS-222 and tertiary amyl alcohol were estimated at 71 (69.5 - 72.5) and 1,980 (1,948.8 - 2,011.7) ppm respectively. Their acute toxicities at 24 h and 96 h were the same.

No differences in the response of the fish to these anaesthetics were found. The responding reaction could be divided into 5 stages: sedation, partial loss of equilibrium, total loss of equilibrium, loss of reflex activity and medullary collapse. The concentrations to produce the sedation stage of MS-222 and tertiary amyl alcohol on the fish tested were 50-55 ppm and 900 ppm, respectively.

Its was recommended that the method of using tertiary amyl alcohol only be the most suitable to anaesthetize fish during transportation in comparison with the other methods experimented.

คำนำ

การที่จะเพิ่มผลผลิตด้านการประมงตามมาตรการที่กำหนดไว้ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ ๕ จำเป็นต้องอาศัยวิธีการขนส่งและลำเลียงพันธุ์สัตว์น้ำจากแหล่งเพาะพันธุ์ไปยังแหล่งน้ำต่าง ๆ ที่ต้องการ แหล่งเพาะพันธุ์สัตว์น้ำเท่าที่มีอยู่ในปัจจุบันนี้ส่วนใหญ่อยู่ในบริเวณภาคกลางของประเทศ ฉะนั้น ประสิทธิภาพในการขนส่งพันธุ์สัตว์น้ำไปยังแหล่งที่ต้องการเลี้ยงหรือแหล่งน้ำอื่น ๆ ซึ่งมีทั้งใกล้และไกล นับว่าเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่จะทำให้การส่งเสริมและเพิ่มผลผลิตการประมงบรรลุเป้าหมายได้

ปัจจุบันนี้ วิธีการขนส่งลำเลียงสัตว์น้ำโดยใช้ยาสลบช่วยเป็นวิธีที่ตีมากวิธีหนึ่ง และเป็นที่ยอมรับใช้ในต่างประเทศ เนื่องจากสัตว์น้ำที่ขนส่งโดยวิธีนี้จะยังคงแข็งแรงดีเหมือนเดิม ร่างกายไม่บอบช้ำหรือมีบาดแผลใด ๆ ในระหว่างการขนส่งลำเลียง ตลอดจนการขนย้ายก็ทำได้ง่ายไม่ต้องอาศัยอุปกรณ์ที่ยุ่ยาก ซับซ้อน และข้อสำคัญคือสามารถจะลำเลียงได้ในปริมาณที่มากกว่าสภาพปกติถึง 2 - 3 เท่า^{๑๐} สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากขณะที่สัตว์น้ำอยู่ในอาการสลบจะไม่มีปฏิกิริยาโต้ตอบกับสิ่งกระตุ้นใด ๆ จากภายนอก^{๑๒} กระบวนการทำงานของอวัยวะและระบบต่าง ๆ ในร่างกายจะลดลง ซึ่งจะมีผลให้ความต้องการออกซิเจนและอัตราการขับถ่ายของเสียออกนอกร่างกายลดน้อยลงด้วย^{๑๖, ๑๘}

ถึงแม้ว่าวิธีการใช้ยาสลบกับสัตว์น้ำจะช่วยให้การขนส่งลำเลียงสัตว์น้ำมีประสิทธิภาพมากขึ้นก็ตาม แต่วิธีนี้ยังไม่เป็นที่แพร่หลายในประเทศไทย เนื่องจากมีผู้ทำการศึกษาากันน้อย และการที่จะใช้ยาสลบในการขนส่งให้มีประสิทธิภาพนั้นจำเป็นต้องทราบปริมาณหรือความเข้มข้นของยาสลบที่พอเหมาะที่จะทำให้สัตว์น้ำสลบในระดับพอดีที่จะใช้ขนส่งได้ เพราะถ้าใช้ปริมาณยาสลบมากเกินไปอาจทำให้สัตว์น้ำตายได้

ยาสลบที่ใช้ในด้านการประมง นอกจากเป็นสิ่งสำคัญที่ช่วยในการขนส่งลำเลียงสัตว์น้ำแล้ว ยังใช้ในการควบคุมสัตว์น้ำให้อยู่ในอาการสงบนิ่ง เพื่อความสะดวกในการปฏิบัติการทดลองต่าง ๆ ต่อสัตว์น้ำ เช่น การชั่งน้ำหนัก การวัดขนาด การเพาะพันธุ์ การรีดไข่ และการทำเครื่องหมาย^{๑๓} ฯลฯ เพราะฉะนั้น การทดลองเกี่ยวกับประสิทธิภาพของยาสลบจะเป็นประโยชน์อย่างกว้างขวางทางด้านการประมง

ยาสลบที่ใช้ในการประมงและอื่น ๆ เท่าที่มีผู้ศึกษาพบว่า มีมากกว่า ๒๕ ชนิด แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพและความรุนแรงไม่เท่ากัน ความสะดวกในการใช้ต่างกัน รวมทั้งราคาก็ต่างกันด้วย แต่ชนิดที่พบว่ามีเหมาะสมและน่าที่จะใช้สำหรับกิจการการขนส่งลำเลียงพันธุ์ปลาได้แก่

๑. MS - ๒๒๒ (tricaine methane sulphonate) เป็นยาสลบที่เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปมานานกว่า ๔๐ ปีแล้ว ว่าเป็นยาสลบที่มีประสิทธิภาพมากต่อปลาและสัตว์เลือดเย็นอื่น ๆ^{๕, ๑๒, ๒๑} และเป็นยาสลบที่ใช้กับการประมงเพียงชนิดเดียวที่ได้รับการยอมรับจาก FDA (Food and Drug Administration) และ U.S. EPA (The U.S. Environmental Protection Agency)^{๑๔} แต่ยาสลบชนิดนี้มีราคาแพงเมื่อเทียบกับยาสลบชนิดอื่น ๆ

๒. Tertiary amyl alcohol เป็นยาสลบที่นิยมใช้ในการขนส่งปลาเช่นเดียวกัน^{๑๓, ๑๗} ยาสลบทั้ง ๒ ชนิดที่กล่าวมาแล้วล้วนเป็นยาสลบที่ได้มีผู้นำไปใช้แล้วในกิจการประมงโดยเฉพาะด้านการขนส่งสัตว์น้ำ ดังนั้น จึงน่าที่จะพิจารณานำมาใช้ทดลองกับชนิดของสัตว์น้ำและสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยเรา เพื่อศึกษาถึงความเหมาะสมทั้งด้านคุณภาพ ราคา และปริมาณของยาสลบที่เหมาะสม เพื่อให้วิธีการขนส่งลำเลียงสัตว์น้ำมีประสิทธิภาพมากที่สุด และเพื่อเป็นบรรทัดฐานในการทดลองยาสลบชนิดอื่นกับสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ เพื่อการขนส่งต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

สัตว์ทดลอง

ใช้ปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus* Bleeker) ที่มีความยาว ๑.๕ - ๒.๕ ซม.หนัก ๐.๐๒ - ๐.๑๕ ก. ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ฝ่ายวิจัยการเพาะเลี้ยง ของสถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

สารเคมีที่ใช้ทดลอง

๑. MS - ๒๒๒ (ethyl m-aminobenzoate, methanesulfonic acid salt, tricaine methanesulphonate) ของบริษัท Sigma, St. Louis, Missouri เป็นชนิดที่ใช้ในห้องทดลองหรือใช้ได้ทั่วไป แต่ไม่ได้ใช้สำหรับเป็นยาต่อคน มีน้ำหนักโมเลกุล ๒๖๑.๓

๒. tertiary amyl alcohol (2-methyl-2-butanol Ph. Helv., amylenehydrate, tert-phenyl alcohol) ของบริษัท Fluka AG, Chemische Fabrik CH-9470 Buchs. เป็นชนิดที่ใช้ในห้องทดลองทั่วไป มีน้ำหนักโมเลกุล ๘๘.๑๕ มีความเข้มข้น ๘๘% (GC) ความหนาแน่น ๐.๘๐๘ จุดหลอมเหลวอยู่ที่ ๓๙°ซ. จุดเดือดที่ ๑๐๐ - ๑๐๓°ซ. สารเคมีชนิดนี้ห้ามดม และไม่ควรถูกสัมผัสที่ผิวหนังและลูกนัยน์ตา

๓. สารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการไตเตรต (titrate) หาความเป็นด่าง (alkalinity) ความกระด้าง (hardness) ความเป็นกรดและคาร์บอนไดออกไซด์ (acidity and free carbondioxide) และแอมโมเนีย เครื่องมือและวัสดุที่ใช้ในการทดลอง

๑. ตู้กระจก ขนาด ๕๐ x ๑๐๐ x ๕๐ ลบ. ซม. จำนวน ๔ ตู้ สำหรับรวมสัตว์ทดลอง (stock tank) และพักน้ำ

๒. ขวดแก้วมีฝาปิด ขนาดบรรจุ ๒ ล. จำนวน ๓๐ ใบ สำหรับใช้ทดลอง

๓. เครื่องฟองอากาศ (air pump) พร้อมสายยางพลาสติกใส และหินฟองอากาศ (air stone)

๔. ชุดควบคุมอุณหภูมิ (temperature control unit) ๑ ชุด พร้อมเครื่องดูดน้ำ (water pump) ๑ เครื่อง

๕. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ขนาด ๑๒๐ x ๖๕ x ๑๕ ลบ.ซม.

๖. หลอดควบคุมอุณหภูมิ (Thermostat) ๒ อัน เพื่อควบคุมอุณหภูมิของน้ำในตู้เลี้ยงปลา

๗. เครื่องวัดอุณหภูมิ (YSI Model 44 TD)

๘. เครื่องวัด pH ของเครื่อง Titrigraph Model PHA 943 B ของ Hack Simpson Limited

๙. เครื่องวัดออกซิเจน (Oxygen meter YSI Model 57)

๑๐. อาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลา (pellet fish food) ซึ่งได้จากฝ่ายอาหารและโรคสถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

๑๑. เครื่องแก้ว สำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

๑๒. โคมไฟพร้อมแวนขยาย

วิธีการ

แบ่งวิธีการทดลองออกเป็น ๓ ขั้นตอน ได้แก่

๑. การทดลองหาความเป็นพิษเฉียบพลันของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ที่มีต่อปลาตะเพียนขาว ในเวลา ๒๔ และ ๙๖ ชม.

๒. การทดลองเพื่อศึกษาผลของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ต่อการสลบของปลาตะเพียนขาว

๓. การทดลองเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการขนส่งลูกปลาตะเพียนขาว โดยวิธีใช้ยาสลบ วิธีอัดออกซิเจน และวิธีการใช้ยาสลบสมทบกับการอัดออกซิเจน

การทดลองทั้ง ๓ แบบ จำเป็นต้องเตรียมสัตว์ทดลอง น้ำทดลอง และเตรียมสารละลายทดลองดังต่อไปนี้

การเตรียมการทดลอง

๑. การเตรียมปลาทดลอง : นำปลาตะเพียนขาวมาเลี้ยงไว้ในตู้กระจกเลี้ยงปลาขนาด ๕๐ x ๑๐๐ x ๕๐ ลบ.ซม. ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์น้ำของสถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ เพื่อให้เคยชินกับสภาพแวดล้อมที่จะทดลอง (acclimatization) เป็นเวลาอย่างน้อย ๗ วันก่อนที่จะนำมาใช้ทดลอง น้ำที่ใช้เลี้ยงเป็นน้ำบาดาลซึ่งพักไว้โดยให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลาอย่างน้อย ๕ วันก่อนนำมาใช้เลี้ยงปลา

ในการเลี้ยงปลานี้มีการให้ออกซิเจนตลอดเวลา และให้อาหารทุกวัน ๆ ละหนึ่งครั้ง โดยเฉพาะอาหารที่เหลือทิ้งทุกวัน และเปลี่ยนน้ำทุก ๆ ๒ วัน เพื่อให้ปลาอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ แข็งแรง ไม่มีโรค โดยให้ผ่านการตรวจจากฝ่ายอาหารและโรค ของสถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ก่อนที่จะนำไปทดลอง ก่อนการทดลอง ๒ วันหยุดให้อาหาร และไม่ให้อาหารเลยระหว่างการทดลอง ในระหว่างนี้อัตรายตายต้องไม่เกิน ๑๐% และปลาที่ผ่านการทดลองมาแล้วจะไม่นำกลับมาใช้ในการทดลองอีก

การเตรียมสัตว์ทดลองดังกล่าวจะใช้กับการทดลองแบบที่ ๑ และ ๒ เท่านั้น ส่วนการทดลองแบบที่ ๓ ยังคงเลี้ยงปลาไว้ในบ่อของฝ่ายวิจัยการเพาะเลี้ยง สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ โดยก่อนทำการทดลอง ๑ วัน จะจับปลาพักไว้ในถังรวมขนาดใหญ่ของสถานที่นั้น และไม่ให้อาหารเพื่อลดการขนส่งลำเลียง (สำหรับปลาของฝ่ายวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ เมื่อจะมีการลำเลียงไปยังที่อื่น ๆ ก็จะถูกนำมาเลี้ยงไว้ในลักษณะที่กล่าวมาแล้วเช่นกัน) เมื่อเตรียมปลาเรียบร้อยแล้ว วันรุ่งขึ้นจึงเตรียมสารละลายยาสลบใส่ถุงพลาสติกแล้วจึงบรรจุปลาไป หลังจากนั้นจึงนำกลับไปทดลองต่อที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์น้ำเสีย ของสถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ ต่อไป

๒. การเตรียมน้ำสำหรับทดลอง : น้ำสำหรับทดลองใช้น้ำบาดาล pH ๘.๓๕ ความเป็นต่าง ๓๑๒ ppm และความกระด้าง ๑๑๖ ppm ของ CaCO_3 ซึ่งเป็นน้ำชนิดเดียวกับที่ใช้เลี้ยงปลา โดยปล่อยพักไว้ในตู้กระจกขนาด ๕๐ x ๑๐๐ x ๕๐ ลบ.ซม. เป็นเวลาอย่างน้อย ๕ วัน และให้ออกซิเจนตลอดเวลา ก่อนการทดลอง ๑ วันจะปรับอุณหภูมิเพื่อให้อุณหภูมิน้ำทดลองกับอุณหภูมิน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาเท่ากัน คือ ๓๐° ซ.

๓. การเตรียมสารละลายทดลอง : สารเคมีที่ใช้เตรียมสารละลายทดลองได้แก่ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol โดยต้องเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น (stock solution) ในน้ำกลั่นก่อน การเตรียมสารละลายเข้มข้นจะเตรียมใหม่ทุกครั้งที่จะทดลอง และเตรียมไว้นานไม่เกิน ๓ ชม. ก่อนการทดลอง หลังจากเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้นแล้ว จะต้องทำให้เจือจางด้วยน้ำที่เตรียมไว้สำหรับทดลอง ให้ความเข้มข้นของยาสลบตามความเข้มข้นที่ต้องการ

การดำเนินการทดลอง

๑. การทดลองหาความเป็นพิษเฉียบพลันของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ต่อปลาตะเพียนขาว

การทดลองนี้ใช้วิธีชีววิเคราะห์ในน้ำนิ่ง (static bioassay) ความเป็นพิษ แสดงโดยค่าของระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปลาตาย ๕๐% (median lethal concentration, LC_{50}) ภายในเวลา ๒๔, ๔๘ และ ๙๖ ชม. ($24\text{ h} - \text{LC}_{50}$, $48\text{ h} - \text{LC}_{50}$ และ $96\text{ h} - \text{LC}_{50}$) วิธีการทดลองส่วนใหญ่ดำเนินการตามวิธีของ APHA, AWWA และ WPCF, Marking และ Sprague^{๔, ๑๑, ๒๓} การหาค่า LC_{50} ของยาสลบแต่ละชนิด ประกอบด้วย ๒ ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นที่ ๑ การทดลองเบื้องต้น

เป็นการทดลองเพื่อหาระดับความเข้มข้นช่วงกว้าง ๆ เพื่อต้องการทราบช่วงความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้ปลาทดลองมีชีวิตรอด ๑๐๐% และความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ทำให้ตาย ๑๐๐% ทั้งนี้เพื่อจะประมาณช่วงความเข้มข้นของสารทดลองที่จะใช้ในการทดลองจริง สังเกตและบันทึกเวลาตายในระยะเวลา ๔๘ ชม.

ขั้นที่ ๒ การทดลองอย่างละเอียด

เป็นการทดลองเพื่อหาระดับความเป็นพิษของยาสลบต่อปลาทดลอง และนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการหาค่า LC_{50} การทดลองใช้ยาสลบ ๖ - ๗ ระดับความเข้มข้นภายในช่วงที่ทำให้ปลาทดลองตาย ๑๐๐% และมีชีวิตรอด ๑๐๐% ความเข้มข้นละ ๔ ขั้ว แต่ละขั้วใช้ปลาทดลอง ๕ ตัว สังเกตอาการและบันทึกจำนวนปลาที่ตายตลอดเวลา ๙๖ ชม. ปลาที่ตายจะถูกนำออกทันที

การทดลองทั้ง ๒ ขั้นตอนนี้ ทดลองในภาชนะที่มีฝาปิด ขนาดความจุ ๒ ล. และใส่สารละลายยาสลบ ๑ ล. ให้แช่อยู่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิตลอดเวลาที่อุณหภูมิ ๓๐°ซ. ซึ่งใกล้เคียงค่าประมาณของอุณหภูมิขณะขนส่ง (๒๕ - ๓๓°ซ.)

การพิจารณาว่าปลาทดลองตายหรือสลบ มีหลักเกณฑ์ในการพิจารณา คือ ดูจากการปิด-เปิดของกระพุ้งแก้ม (operculum) กล่าวคือหลังจากที่กระพุ้งแก้มหยุดทำงานประมาณ ๑ นาที แสดงว่าปลานั้นตายแล้ว^{๑๒} และไม่แสดงอาการตอบสนองเมื่อใช้เข็มเขี่ยจิ้มลำตัวประมาณ ๗ - ๑๐ ครั้ง ถือว่าตายเช่นกัน ส่วนปลาทดลองที่ไม่ตายและอยู่ในอาการสลบก็ดูในลักษณะตรงกันข้าม คือกระพุ้งแก้มยังทำงานอยู่ และมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยเข็มเขี่ย

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองในขั้นการทดลองอย่างละเอียดจะถูกนำไปวิเคราะห์หาค่าความเป็นพิษ (LC_{๕๐}) ตามวิธีของ Litchfield and Wilcoxon^{๑๐} รวมทั้งหาค่าช่วงแห่งความเชื่อมั่นที่ ๙๕% และค่า slope function

๒. การทดลองศึกษาผลของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ต่อการสลบของปลาตะเพียนขาว

วิธีการทดลองส่วนใหญ่ดำเนินการตามวิธีของ McFarland^{๑๒} และ Schoettger and Julin^{๑๑}

วิธีการหาผลของยาสลบแต่ละชนิดประกอบด้วย ๒ ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นที่ ๑ การทดลองเบื้องต้น

เป็นการทดลองช่วงกว้าง ๆ เพื่อหาความเข้มข้นสูงสุดที่จะไม่ทำให้ปลาทั้งหมดเกิดอาการมีนงง แม้ว่าจะแช่อยู่ในยาสลบนาน ๒ - ๓ ชม. และความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ปลาตาย ๑๐๐%

ขั้นที่ ๒ การทดลองอย่างละเอียด

จากช่วงความเข้มข้นที่หาได้ในขั้นที่ ๑ นำมาแบ่งย่อย ๑๐ - ๒๐ ระดับความเข้มข้น แต่ละความเข้มข้นย่อยใช้ปลา ๔ ตัว ทดลองในสารละลาย ๑ ล. ในขวดขนาดบรรจุ ๒ ล. ซึ่งมีฝาปิด เริ่มสังเกตอาการของปลาภายใน ๒ นาทีแรก ตั้งแต่วินาทีแรกที่ใส่ปลาลงไป หลังจากนั้นสังเกตที่เวลา ๕, ๑๐, ๑๕, ๒๐, ๓๐, ๔๐, ๕๐ และ ๖๐ นาที และหลังจากนั้นทุกครั้งชั่วโมงจนครบ ๔ ชม. สังเกตต่อไปเมื่อครบ ๑๒, ๒๔ และ ๔๘ ชม. การสังเกตพฤติกรรมจะสังเกตควบคู่ไปกับกลุ่มควบคุม โดยพิจารณาปฏิกิริยาตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น ความสมดุลของร่างกาย การเคลื่อนไหว อัตราการปิด-เปิดของกระพุ้งแก้ม ขณะสังเกตพฤติกรรม บันทึกเวลาและพฤติกรรมควบคู่กันไปตลอดเวลาการสังเกต หลังจากรอบ ๔ ชม. ปลาที่เหลืออยู่จะถูกนำไปไว้ในน้ำสะอาด โดยให้ออกซิเจนตลอดเวลา พร้อมกับสังเกตพฤติกรรมและบันทึกเวลาที่ปลาตัวแรกและตัวสุดท้ายฟื้นจากสลบ

๓. การทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการขนส่งลูกปลาตะเพียนขาว โดยวิธีใช้ยาสลบ วิธีการอัดออกซิเจน และวิธีใช้ยาสลบสมทบกับการอัดออกซิเจน

วิธีการทดลองส่วนใหญ่ดำเนินการตามวิธีของ จงจินต์ ทับทิมไทย^{๑๓} และวิธีการทดลองนี้พยายามเลียนแบบการขนส่งจริงให้มากที่สุด ดังนั้น ภาชนะที่ใช้ขนส่งจึงใช้ถุงพลาสติก (ชนิดทนของร้อน) ขนาด ๑๐ " x ๑๔" ซ้อนกัน ๒ ชั้น พร้อมกับใช้ยางเส้นรัดตรงมุมถุงทั้ง ๒ ข้าง หลังจากใส่ปลาลงไปแล้วจะผูกปากถุงให้สนิทด้วยยางเส้นอีกครั้ง ให้มีปริมาตรของสารละลายเป็น ๑ ใน ๓ ของปริมาตรถุงที่ผูก

แล้ว สำหรับถุงที่ต้องอัดออกซิเจนก็จะบรรจุก๊าซออกซิเจนให้ได้สัดส่วนของปริมาตรของสารละลายและออกซิเจน ๑ ใน ๓ เท่ากัน แล้วนำไปใส่ไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ ๓๐°ซ. พร้อมกับผูกเชือกโยงไปยังเครื่องเขย่า (shaker) เพื่อให้มีการเขย่าตลอดเวลาที่ทดลอง มีการหยุดพัก ๑๐ นาที เพื่อสังเกตการตายของปลาทุก ๆ ๓ ชม. จดบันทึกเวลาที่ปลาตัวแรกและตัวสุดท้ายตาย เพื่อนำไปหาเวลาเฉลี่ยของการตายของปลาในแต่ละวิธีขนส่ง

ปลาที่ใช้ทดลองเป็นปลาที่ทางฝ่ายทดลองเพาะเลี้ยง สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ เตรียมไว้เพื่อขนส่งไปยังที่ต่าง ๆ ปลาเหล่านี้จะพักอยู่ในถังรวมขนาดใหญ่เป็นเวลา ๑ วัน หลังจากนั้นนำขึ้นมาจากบ่อเลี้ยงก่อนจะขนส่ง หลังจากที่เตรียมสารละลายใส่ถุงเรียบร้อยแล้วจึงบรรจุปลา ๔๕ ตัวต่อ ๑ ถุง มีน้ำหนักรวม ๖.๓ - ๖.๗ ก. ต่อสารละลาย ๕๐๐ ลบ.ซม. แล้วจึงนำไปเขย่าที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์น้ำเสีย สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ

ปลาในกลุ่มที่ต้องทดสอบด้วยยาสลบจะต้องทำให้สลบโดยใช้ขนาดความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการสลบในระยะอาการมีนงของยาสลบแต่ละชนิด ซึ่งได้จากการทดลองที่ ๒ เป็นเวลา ๓๐ นาที ก่อนที่จะนำไปบรรจุถุงเพื่อการขนส่ง

การทดลองทั้งหมดมี ๖ กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่อัดออกซิเจน กลุ่มที่บรรจุสารละลายยาสลบแต่ละชนิด และกลุ่มที่บรรจุยาสลบสมทบกับการอัดออกซิเจน แต่ละกลุ่มทำ ๔ ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Random Design ส่วนการเปรียบเทียบความแตกต่างเป็นคู่ ๆ ใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test^{*}

๔. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

สำหรับการทดลองหาความเป็นพิษเฉียบพลัน ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำก่อนและหลังการทดลอง ส่วนการทดลองอื่นวิเคราะห์เฉพาะก่อนการทดลอง คุณภาพน้ำที่ทำกรวิเคราะห์ ได้แก่ ออกซิเจนที่ละลายน้ำวัดโดยใช้ Oxygen meter pH วัดโดยเครื่อง pH-meter อุณหภูมิวัดโดยใช้เครื่องวัดอุณหภูมิ แอมโมเนียในน้ำวิเคราะห์โดยวิธีของ Solorzano^{๒๒} ส่วนค่าความเป็นด่าง ค่าความเป็นกรด ค่าความกระด้างและคาร์บอนไดออกไซด์อิสระ ใช้วิธีวิเคราะห์ของ Swingle^{๒๔}

ผลและวิจารณ์

๑. ความเป็นพิษเฉียบพลันของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ต่อปลาตะเพียนขาว

จากการทดลองพบว่า ยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol สามารถทำให้เกิดความเป็นพิษต่อปลาได้ถ้าใช้เกินปริมาณที่พอเหมาะของยาสลบชนิดนั้น ๆ ผลจากการประมาณค่า $24\text{ h} - LC_{50}$ ที่ช่วงแห่งความเชื่อมั่นที่ ๙๕% ของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ที่มีต่อปลาตะเพียนขาวมีค่าเท่ากับ ๗๑ (๖๙.๕ - ๗๒.๕) ppm และ ๑,๙๘๐ (๑,๙๔๘.๘ - ๒,๐๑๑.๖๗) ppm ตามลำดับ (รูปที่ ๑ และตารางที่ ๑) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า MS - ๒๒๒ มีความเป็นพิษต่อปลาตะเพียนขาวมากกว่า tertiary amyl alcohol ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของนักวิทยาศาสตร์ท่านอื่น^{๒๒}

แม้ว่าความเป็นพิษเฉียบพลันของ tertiary amyl alcohol จะมีค่าน้อยกว่ายาสลบ MS - ๒๒๒ แต่เมื่อพิจารณาค่าฟังก์ชันความเอียง (slope function) อันเป็นค่าที่แสดงให้เห็นความผันแปร (varia-

tion) ในการตอบสนองของสัตว์ทดลองที่มีต่อสารพิษ พบว่า พังกัชั้นความเอียงของยาสลบทั้งสองมีค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ ๑) ซึ่งแสดงว่า การตอบสนองของปลาตะเพียนขาวต่อยาสลบทั้งสองชนิดคล้ายคลึงกัน หรืออัตราเพิ่มความเป็นพิษในยาสลบทั้ง ๒ ชนิดจะเพิ่มขึ้นในเวลาใกล้เคียงกันด้วย

สำหรับการทดลองหาความเป็นพิษเฉียบพลันของ MS - ๒๒๒ ต่อปลาตะเพียนขาว หลังจากที่ได้รับปลาใส่ลงในสารละลายยาสลบ MS - ๒๒๒ แล้ว ในช่วง ๑๐ นาทีแรกพบว่าที่ความเข้มข้น ๖๕- ๘๕ ppm ปลาส่วนใหญ่เสียชีวิตและตะแคงนิ่งอยู่ที่ก้นภาชนะและเริ่มมีการตาย โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น ๘๕ ppm ปลาจะตายหมดภายใน ๓๐ นาที (ตารางที่ ๒) ความเข้มข้นที่ต่ำกว่านั้นเมื่ออัตราตายสูงภายใน ๓๐ นาทีแรกเช่นกัน และหลังจากนั้นการตายจะค่อย ๆ ลดน้อยลง จนกระทั่ง ๒๔ ชม. ไปแล้วปลาจะไม่ตายเพิ่มอีกเลยทุกระดับความเข้มข้น

ส่วนการทดลองหาความเป็นพิษของ tertiary amyl alcohol ต่อปลาตะเพียนขาวจะคล้าย ๆ กับการตอบสนองของปลาต่อ MS - ๒๒๒ กล่าวคือ ในช่วง ๓๐ นาทีแรก ปลาที่แช่อยู่ในยาสลบทุกตัวเสียชีวิต และไม่เคยเคลื่อนไหวอยู่ตามก้นภาชนะประมาณ ๑ - ๓ ชม. ต่อมาปลาเริ่มตาย และตายมากที่ความเข้มข้น ๒,๐๐๐ - ๒,๒๐๐ ppm ส่วนปลาที่ยังไม่ตายก็จะเริ่มเคลื่อนไหว หลังจากนั้นจะมีการตายเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ยกเว้นที่ความเข้มข้น ๑,๘๐๐ ppm ไม่มีการตาย (ตารางที่ ๓) เป็นที่น่าสังเกตว่า การตายของปลาจะเกิดขึ้นภายใน ๑๒ ชม. เป็นส่วนใหญ่ และหลังจาก ๔๘ ชม. ไปแล้วไม่ปรากฏการตาย การทดลองครั้งนี้พบว่า การตายของปลาจะเกิดขึ้นภายใน ๒๔ ชม. เท่านั้น และเป็นที่น่าสังเกตอีกอย่างหนึ่งว่า ปลาบางตัวในจำนวนปลาที่รอดชีวิตหลังจากแช่อยู่ในสารละลาย tertiary amyl alcohol นานเกินกว่า ๒๔ - ๔๘ ชม. จะมีลักษณะลำตัวผิดปกติไป คือส่วนหางจะงอขึ้นมอดูเหมือนส่วนหลังหักลง ปลาเหล่านี้ไม่สามารถว่ายน้ำตามปกติได้ จะเคลื่อนที่ไปในลักษณะควงส่วน ไม่มีทิศทางแน่นอน และจะอยู่ในสภาพดังกล่าวจนสิ้นสุดการทดลอง แม้ว่าจะไปแช่ในน้ำปกติเป็นเวลานานหลายชั่วโมงลักษณะดังกล่าวก็ยังคงอยู่ ส่วนปลาที่ไม่มีลักษณะผิดปกติของลำตัว ขณะฟื้นตัว ในช่วงแรก ๆ จะมีพฤติกรรมที่มากกว่าปกติ (hyperactivity) เกิดขึ้น

จะเห็นได้ว่าพฤติกรรมการตอบสนองของปลาตะเพียนขาวต่อความเป็นพิษของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ที่อุณหภูมิ ๓๐°ซ. จะลดลงตามเวลาที่เพิ่มขึ้น^{๒๐} และค่าความเป็นพิษของยาสลบ MS - ๒๒๒ และของ tertiary amyl alcohol ที่ ๒๔ และ ๙๖ ชม. เท่ากัน คือเท่ากับ ๗๑ (๖๕.๕ - ๗๒.๕) และ ๑,๘๘๐ (๑,๘๔๘.๘ - ๒,๐๑๑.๗) ตามลำดับ เป็นเพราะการลดลงของความเข้มข้นของยาสลบชนิดนั้น ๆ อันเนื่องมาจากการดูดซึม และกระบวนการเมตาบอลิซึมของปลา รวมทั้งมีการสลายตัวของยาสลบในสารละลาย^{๒๑, ๒๐}

คุณภาพน้ำก่อนและหลังการทดลองหาความเป็นพิษเฉียบพลันของ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ไม่แตกต่างกันมากนัก และไม่ทำให้ปลาตะเพียนขาวตายได้ ไม่ว่าจะเป็นปริมาณออกซิเจนละลาย pH แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ หรือความเป็นด่างและความกระด้างของน้ำ (ตารางที่ ๔) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายที่พอเพียงและทำให้สัตว์อยู่ได้ต้องไม่น้อยกว่า ๕ ppm^{๒๒} โดยเฉพาะปลาตะเพียนขาว ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำต่ำสุดที่ทำให้ตายได้มีค่าประมาณ ๐.๔ - ๑.๑ มก./ล. เท่านั้น^{๒๓} ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำต้องอยู่ในช่วง ๖.๕ - ๘.๐^{๒๔} ความเป็นพิษในระยะสั้นของ

unionized ammonia (NH₃) อยู่ระหว่าง ๒๐๐ - ๒,๐๐๐ ppb^๒ จะเห็นได้ว่า คุณภาพน้ำหลังการทดลองไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อการตายของปลาขณะทดลองแต่อย่างใด ดังนั้น การที่ปรากฏมีการตายของปลาขณะทดลองดังที่ได้ข้อมูลในตารางที่ ๒ และ ๓ จึงมีเหตุผลเชื่อได้ว่าเป็นผลมาจากความเป็นพิษของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol เท่านั้น

๒. ผลของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ต่อการสลบของปลาตะเพียนขาว

๒.๑ พฤติกรรมการสลบของปลาตะเพียนขาว

ยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อพฤติกรรมของปลาตะเพียนขาวที่คล้ายคลึงกัน และเป็นไปตามลำดับขั้นตอนที่เหมือนกัน ซึ่งแบ่งได้เป็น ๕ ระยะ^{๒๑} ตามตารางที่ ๔ ดังนี้

ระยะ ๐ สภาพปกติ ระยะนี้หมายถึง พฤติกรรมปกติของปลาซึ่งยังไม่ได้สัมผัสยาสลบ การว่ายน้ำของปลาก็ยังคงสม่ำเสมอและทรงตัวได้ปกติ รวมทั้งการหายใจยังคงสม่ำเสมอ และเมื่อได้รับการกระตุ้นจากภายนอกไม่ว่าจะเป็นแสงหรือการสัมผัสที่อื่นจะมีการเคลื่อนที่หนีอย่างฉับพลัน

ระยะที่ ๑ sedation เป็นระยะที่ปลาไม่มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอกเพียงบางส่วนหรือทั้งหมด สิ่งกระตุ้นจากภายนอกได้แก่ แสง และการสัมผัสที่อื่น โดยที่ปลาจะมีพฤติกรรมตอบสนองช้าลงต่อการเกิดเงาบริเวณด้านบนของภาชนะ และจากการสัมผัสที่ตัวโดยใช้แท่งแก้ว ในระยะนี้ปลายังคงทรงตัวได้ปกติ เพียงแต่อาการช้าลงและมีการกระจายตัวภาชนะตามบริเวณส่วนกลางและส่วนล่าง

ระยะที่ ๒ partial loss of equilibrium เป็นระยะที่การว่ายน้ำของปลาเริ่มผิดปกติ ใช้ลำตัวส่ายไปมาขณะเคลื่อนที่ มีการลอยหัวตามบริเวณผิวน้ำและจะว่ายน้ำ หยุต ๆ ต่อมาไม่สามารถพยุงตัวให้ตั้งอยู่ในแนวระดับได้ จนในที่สุดก็ไม่สามารถทรงตัวอยู่ได้ ตัวจะเอียง ตะแคงหรือหงายท้อง แต่ยังคงว่ายน้ำได้ในลักษณะดังกล่าว และมีการว่ายน้ำ หยุต ๆ สลับกันอยู่เช่นนั้น ในขณะที่หยุดก่อนที่จะเคลื่อนที่ต่อ จะสังเกตเห็นการทำงานของกระพุ้งแก้มเร็วและแรงมาก

พฤติกรรมที่เกิดจาก tertiary amyl alcohol ในกรณีที่ความเข้มข้นของยาสลบไม่แรงพอที่จะทำให้ปลาหงายท้องหรือตะแคงตลอดไป ปลาจะทรงตัวขึ้นมาใหม่สลับกับการตะแคง บางครั้งการตะแคงสลับกับการทรงตัวได้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และเกิดขึ้นขณะที่ปลาเคลื่อนที่ไปด้วย มองเห็นเหมือนปลาหมุนตัวแบบควงสว่านอย่างไม่ทิศทางแน่นอน และถ้ามีการกระตุ้นโดยใช้แท่งแก้วสัมผัสตัว ปลาจะพุ่งไปข้างหน้าอย่างรวดเร็ว ปลาที่อยู่ในระยะนี้สัตว์จะคล้ำขึ้น

ระยะที่ ๓ total loss of equilibrium เป็นระยะที่ปลาเสียสมดุลอย่างสมบูรณ์และหยุดการเคลื่อนที่ ปลาจะอยู่ในลักษณะหงายท้องหรือตะแคงนิ่งอยู่ตามก้นภาชนะหรือลอยที่ผิวน้ำ การหายใจช้าลงและไม่รุนแรงเหมือนระยะที่ผ่านมา และที่สำคัญคือปลาจะไม่เคลื่อนที่ แต่ครีบหางและครีบหลังอาจยังทำงานอยู่ การเคลื่อนที่ที่จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อมีการกดแรง ๆ ที่ครีบหางหรือครีบหลังเท่านั้น และการเคลื่อนที่ที่จะเกิดขึ้นเพียงชั่วครู่แล้วจะหยุดนิ่งต่อไป ปลาในระยะนี้สัตว์จะคล้ำจนเห็นได้ชัด

ระยะที่ ๔ loss of reflex activity เป็นระยะที่การปิดเปิดของกระพุ้งแก้มไม่สม่ำเสมอและปลาจะไม่มีปฏิกิริยาโต้ตอบใด ๆ ต่อสิ่งกระตุ้น พฤติกรรมของปลาในระยะนี้จะคล้ายกับระยะที่ ๓ คือ ปลาจะอยู่ในลักษณะตะแคงหรือหงายท้องนิ่ง แต่เมื่อมีการกระตุ้นแรง ๆ เช่น ใช้แท่งแก้วกดที่ครีบหาง

และครีบล้าง จะไม่มีปฏิกิริยาตอบโต้ใด ๆ ทั้งสิ้น ยังคงนิ่งอยู่ในลักษณะนั้น แต่ยังคงเห็นการทำงานของกระพุงแก้มซึ่งไม่เป็นจังหวะที่สม่ำเสมอ

ระยะที่ ๕ medullary collapse เป็นระยะที่กระพุงแก้มหยุดทำงานและหลังจากกระพุงแก้มหยุดทำงาน ๑ นาที แสดงว่าปลานั้นตายแล้ว^๖

ลำดับขั้นของพฤติกรรมกรรมการสลบของปลาตะเพียนขาวต่อยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol นี้คล้ายคลึงกับพฤติกรรมของปลาอื่น ๆ ที่เกิดจากยาสลบชนิดต่าง ๆ ซึ่งถือได้ว่าพฤติกรรมกรรมการสลบตามขั้นตอนดังกล่าวเป็นแบบแผนของการสลบของปลาที่เกิดจากยาสลบ^{๖, ๖๑}

ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมกรรมการสลบแต่ละระยะของปลาตะเพียนขาวตามเวลาที่เปลี่ยนไปเป็นไปในลักษณะเดียวกัน (รูปที่ ๒ และ ๓) คือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยาสลบจะทำให้เวลาที่ใช้ในการทำให้สลบ (induction time) ของแต่ละระยะลดลงและช่วยเพิ่มความลึกของการสลบ ซึ่งยาสลบชนิดอื่น ๆ ก็มีผลต่อการสลบของปลาในลักษณะนี้เช่นกัน^๖

ที่ระดับความเข้มข้นสูง ๆ ของยาสลบจะก่อให้เกิดการสลบแต่ละระยะอย่างรวดเร็ว ยกเว้นระยะต้น ๆ (ระยะที่ ๑, ๒) และในช่วงแรกที่ใส่ปลาลงในสารละลายของยาสลบแต่ละชนิดปลาจะตกใจมาก เช่น MS - ๒๒๒ ที่ความเข้มข้น ๘๕ ppm และจะเกิดการสลบ ระยะที่ ๓, ๔ และ ๕ อย่างรวดเร็วติดต่อกัน ส่วนระยะที่ ๑ และ ๒ สังเกตไม่ทัน เนื่องจากช่วงแรกที่ใส่ปลาลงไปปลาจะว่ายอย่างลู่กลนรุนแรง และไม่มีทิศทางแน่นอน และเมื่อหยุดก็เสียสมดุลหนึ่งในระยะที่ ๓ ทันที ในกรณียาสลบ tertiary amyl alcohol ที่ความเข้มข้น ๒,๒๐๐, ๑,๘๐๐ ppm ก็แสดงอาการตอบสนองเช่นเดียวกัน (รูปที่ ๒, ๓)

ส่วนที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ ไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการสลบที่สมบูรณ์ (ระยะที่ ๓, ๔) ได้ หรือถ้าได้ก็ต้องใช้เวลานาน และมักจะพบแต่ระยะธรรมดา (ระยะที่ ๑, ๒) เช่น MS - ๒๒๒ ที่ความเข้มข้น ๗๕ และ ๖๕ ppm จะพบการสลบในระยะที่ ๑ และ ที่ ๒ ส่วนที่ความเข้มข้น ๔๐, ๔๕, ๕๐ และ ๕๕ ppm จะพบแต่การสลบระยะที่ ๑ เท่านั้น เมื่อพิจารณาเพียง ๑๒ ชม. (รูปที่ ๒)

เมื่อพิจารณาในช่วงเวลา ๑๒ ชม. ที่ปลาตะเพียนขาวแช่อยู่ในยาสลบ ปรากฏว่า ที่ความเข้มข้นของ MS - ๒๒๒ ที่ ๕๐ และ ๕๕ ppm ระยะการสลบของปลาหลังจากแช่อยู่เป็นเวลา ๑ ชม. จะสลบอยู่ในระยะที่ ๑ และเมื่อแช่อยู่ต่อไปจนถึงชั่วโมงที่ ๑๒ ก็ยังคงสลบอยู่ในระยะที่ ๑ เช่นเดิม ส่วนที่ความเข้มข้น ๖๕ และ ๗๕ ppm ปลาจะสลบอยู่ในระยะที่ ๒ ตั้งแต่ ๑ ชม. แรกจนถึง ๑๒ ชม. เช่นกัน หรือที่ความเข้มข้นของ tertiary amyl alcohol ที่ ๘๐๐, ๙๐๐ ppm ก่อให้เกิดการสลบระยะที่ ๑ จนถึง ๑๒ ชม. เช่นกัน ในขณะที่ที่ความเข้มข้น ๑,๔๐๐, ๑,๖๐๐ ppm จะก่อให้เกิดการสลบระยะที่ ๒ จนถึง ๑๒ ชม. (รูปที่ ๒, ๓ และตารางที่ ๖, ๗)

จะเห็นได้ว่า ระยะการสลบของปลาในแต่ละระยะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะที่ ๑ - ๓ สามารถทำให้เกิดขึ้นได้ และสามารถควบคุมให้คงอยู่ที่ระยะนั้น ๆ ได้ในช่วงเวลาต่าง ๆ โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาสลบ^๖

การทดลองครั้งนี้จะแช่ปลาในสารละลายยาสลบเป็นเวลา ๔๘ ชม. หลังจากนั้นจะนำขึ้นไปไว้ในน้ำสะอาดซึ่งมีการให้อากาศตลอดเวลา ปรากฏว่าปลาตะเพียนขาวที่แช่อยู่ในยาสลบ MS -

๒๒๒ จะฟื้นจากการสลบ (ระยะที่ ๑) ใช้เวลาเฉลี่ยไม่เกิน ๓ นาทีเท่านั้น (ตารางที่ ๖) ส่วนการฟื้นจากการสลบในน้ำสะอาดของปลาที่ทดสอบด้วย tertiary amyl alcohol จะใช้เวลาต่าง ๆ กัน ที่ความเข้มข้น ๙๐๐, ๑,๐๐๐ และ ๑,๔๐๐ ppm ใช้เวลาฟื้นตัวเฉลี่ยประมาณ ๙ นาที แต่ที่ความเข้มข้นที่สูงกว่านั้นปลาบางตัวหรือทั้งหมดในแต่ละความเข้มข้นจะมีลักษณะลำตัวผิดปกติไปคือครีบหาง (caudal fin) ชี้อขึ้น หลังหักลงซึ่งอาการเหมือนกับที่พบในการทดลองหาค่า LC_{50} ปลาที่มีอาการดังกล่าวต้องใช้เวลานานมากในการฟื้นตัวประมาณ ๕ - ๑๒ ชม. (ตารางที่ ๗)

๒.๒ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ต่อการขนส่งปลาตะเพียนขาว

การสลบของปลาในระยะที่ ๑ หรือระยะ sedation (ตารางที่ ๕) เป็นระยะที่เหมาะสมที่สุด และเป็นที่ต้องการที่สุดในการขนส่งปลาที่มีชีวิต เนื่องจากเป็นระยะที่มีการลดหรือระงับการตอบสนองจากภายนอกโดยไม่ทำให้เสียสมดุลของร่างกาย และได้มีการพิสูจน์แล้วว่า จะลดปริมาณการใช้ออกซิเจนของปลาแต่ละตัว ส่วนการสลบในระยะที่ลึกกว่าระยะนี้ เช่น การสูญเสียสมดุลบางส่วนหรือทั้งหมด (ระยะที่ ๒, ๓) จะไม่เป็นที่ต้องการสำหรับการขนส่งปลา เนื่องจากจะมีผลให้ปลาเคลื่อนไหวเพิ่มขึ้นอย่างไม่ตั้งใจหรือทำให้มีการจมลงไปรวมกันที่ก้นภาชนะมากเกินไปซึ่งจะทำให้ปลาบอบช้ำมากขึ้น^{๑๒}

การสลบระยะ sedation มีประโยชน์มากต่อการขนส่ง เนื่องจากการสลบระยะนี้สามารถจะช่วยลดปัจจัยต่าง ๆ ที่มีส่วนในการตายของปลาขณะขนส่ง กล่าวคือ ปลาใช้ออกซิเจนในการหายใจน้อยลง^{๑๔} ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์อิสระและความเป็นกรดลดลง^{๑๔, ๒๕} ของเสียจากการขับถ่ายลดลง^{๑๔} และป้องกันการเกิดพฤติกรรมที่มากเกินไปของปลา^{๑๖} ซึ่งจะช่วยลดการบาดเจ็บทางกายภาพและลดอาการเหนื่อยอ่อนของปลา^{๑๓}

สำหรับการทดลองครั้งนี้ ความเข้มข้นของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการขนส่งปลาตะเพียนขาว ได้แก่ความเข้มข้นที่ ๕๐, ๕๕ ppm และที่ ๙๐๐ ppm ตามลำดับ เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่ทำให้เกิดระยะ sedation และคงอยู่เป็นเวลานานถึง ๔๘ ชม. (ตารางที่ ๖ และ ๗) นอกจากนี้ มีอีกหลายความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการสลบในระยะนี้เช่นกัน แต่การคงอยู่ของระยะ sedation ไม่นานเท่าความเข้มข้นดังกล่าว เนื่องจากการสลบระยะ sedation เป็นระยะที่ไม่คงที่ อาจจะกลับฟื้นเป็นปกติหรืออาจจะสลบลึกลงไปอีกได้ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยาสลบแต่ละชนิด นอกจากนั้น การที่จะควบคุมให้เกิดระยะ sedation ได้นานแค่ไหนขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและขนาดของปลาด้วย^{๒๐}

๓. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการขนส่งลูกปลาตะเพียนขาวโดยวิธีใช้ยาสลบ วิธีใช้ออกซิเจน และวิธีการใช้ยาสลบสมทบกับการใช้ออกซิเจน

ยาสลบที่ใช้ในการทดลองได้แก่ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ที่ความเข้มข้นที่ก่อให้เกิด sedation ต่อปลาตะเพียนขาวได้นาน ๔๘ ชม. คือที่ความเข้มข้น ๕๕ ppm และ ๙๐๐ ppm ตามลำดับ ส่วนหลักเกณฑ์ที่ใช้ตัดสินดูจากเวลาเฉลี่ยของการตายของปลาทั้งหมดในแต่ละการทดลอง ผลการทดลองแสดงในรูปที่ ๔

จากผลการทดลองที่ได้ เมื่อเปรียบเทียบเวลาตายเฉลี่ยของปลาจากวิธีการใช้ยาสลบ MS - ๒๒๒ กับกลุ่มควบคุม จะเห็นว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีการอัดออกซิเจน แต่อย่างไรก็ตาม วิธีการอัดออกซิเจนอย่างเดียวยังใช้เวลาในการขนส่งนานกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่า การขนส่งโดยใช้ยาสลบ MS - ๒๒๒ ก็มีแนวโน้มว่าจะใช้เวลานานกว่ากลุ่มควบคุม และเมื่อใช้ยาสลบ MS - ๒๒๒ สมทบกับการอัดออกซิเจน เปรียบเทียบกับวิธีการอัดออกซิเจนอย่างเดียว เวลาตายเฉลี่ยไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นสำหรับวิธีการใช้ MS - ๒๒๒ เป็นยาสลบปลาขณะขนส่งมีประสิทธิภาพดีกว่าวิธีการอัดออกซิเจน และไม่จำเป็นต้องใช้ยาสลบชนิดนี้ สมทบกับการอัดออกซิเจน ผู้ที่ได้ทดลองในลักษณะเดียวกันนี้ คือ จงจินต์ ทับทิมไทย^๓ ได้ทดลองเปรียบเทียบการขนส่งปลาในและปลาสวายโดยใช้ MS - ๒๒๒ การอัดออกซิเจน และการใช้ยาสลบสมทบกับการอัดออกซิเจน ผลการทดลองที่ได้ไม่ได้ทดสอบความแตกต่างทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาตัวเลขวิธีการอัดออกซิเจนอย่างเดียว กับวิธีการใช้ยาสลบสมทบกับการอัดออกซิเจนที่ทดลองกับปลาในจะใกล้เคียงกัน แต่จะมากกว่าวิธีการใช้ MS - ๒๒๒ อย่างเดียว ส่วนในการทดลองกับปลาสวายตัวเลขของวิธีทั้ง ๓ ใกล้เคียงกัน และไม่ได้แสดงผลของกลุ่มควบคุม

สำหรับการทดลองที่ใช้ tertiary amyl alcohol เป็นยาสลบได้ผลเป็นที่น่าพอใจ เนื่องจากพบว่าเวลาตายเฉลี่ยของการใช้ tertiary amyl alcohol จะมากกว่ากลุ่มควบคุม และมากกว่าวิธีการอัดออกซิเจนอย่างมีนัยสำคัญ และจะใช้เวลาเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญกับวิธีการใช้ยาสลบสมทบกับการอัดออกซิเจน ทั้งวิธีการใช้ tertiary amyl alcohol อย่างเดียว และวิธีสมทบกับการอัดออกซิเจนจะให้ผลดีกว่าทุกวิธีที่ทดลองด้วย

เนื่องจากผลจากการใช้ยาสลบอย่างเดียวไม่ว่าจะเป็น MS - ๒๒๒ หรือ tertiary amyl alcohol ให้ผลเหมือนกับการใช้ยาสลบสมทบกับการอัดออกซิเจน และให้ผลดีกว่ากลุ่มควบคุม ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นจะต้องใช้ยาสลบกับการอัดออกซิเจน เนื่องจากจะทำให้สิ้นเปลือง แม้ว่ายาสลบทั้ง ๒ ชนิดสามารถจะใช้ขนส่งปลาตะเพียนได้ แต่การใช้ยาสลบ tertiary amyl alcohol มีความปลอดภัยและเหมาะสมกว่า MS - ๒๒๒ ซึ่งดูได้จากการทดลองนี้ รวมทั้งมีความเป็นพิษน้อยกว่า แต่มีคุณสมบัติที่ทำให้สลบและฟื้นเร็วไม่ต่างกันมากนัก

สรุป

๑. ค่า LC_{50} ในเวลา ๒๔ และ ๙๖ ชม. ของยาสลบ MS - ๒๒๒ ที่มีต่อปลาตะเพียนขาว ขนาดความยาว ๑.๕ - ๒.๕ ซม. ที่อุณหภูมิ ๓๐°ซ. มีค่าเท่ากับ ๗๑ ppm และช่วงแห่งความเชื่อมั่นที่ ๙๕% อยู่ในช่วง ๖๙.๕ - ๗๒.๕ ppm

๒. ค่า LC_{50} ในเวลา ๒๔ และ ๙๖ ชม. ของ tertiary amyl alcohol ที่มีต่อปลาตะเพียนขาวขนาดความยาวประมาณ ๑.๕ - ๒.๕ ซม. ที่อุณหภูมิ ๓๐°ซ. มีค่าเท่ากับ ๑,๙๘๐ ppm และช่วงแห่งความเชื่อมั่นที่ ๙๕% อยู่ในช่วง ๑,๙๔๘.๘ - ๒,๐๑๑.๗๘ ppm

๓. ยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ก่อให้เกิดการสลบต่อปลาตะเพียนขาว ในลักษณะเดียวกัน และมีลำดับขั้นตอนในการสลบ ๕ ระยะ ได้แก่ระยะที่ ๑ ระยะ sedation ระยะที่ ๒

partial loss of equilibrium ระยะที่ ๓ total loss of equilibrium ระยะที่ ๔ loss of reflex activity
ระยะที่ ๕ medullary collapse ซึ่งคล้ายคลึงกับการสลบของปลาชนิดต่าง ๆ ที่เกิดจากยาสลบ

๔. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของยาสลบ MS - ๒๒๒ ที่จะนำไปใช้ขนส่งปลาตะเพียนขาวขนาด
๑.๕ - ๒.๕ ซม. เป็นเวลานาน ๔๘ ชม. คือ ๕๐ - ๕๕ ppm

๕. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของยาสลบ tertiary amyl alcohol ที่จะนำไปใช้ขนส่งปลา
ตะเพียนขาวขนาด ๑.๕ - ๒.๕ ซม. เป็นเวลานาน ๔๘ ชม. คือ ๙๐๐ ppm

๖. ยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol สามารถจะใช้ในการขนส่งปลา
ตะเพียนขาวแทนการอัดออกซิเจนได้ แต่ MS - ๒๒๒ ใช้ไม่ได้เท่าการอัดออกซิเจน ส่วน tertiary amyl
alcohol พบว่า มีประสิทธิภาพในการขนส่งดีกว่าวิธีการอัดออกซิเจน คือสามารถขนส่งได้นานกว่า

๗. เมื่อจะใช้ยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ในการขนส่งปลาตะเพียนขาว
ก็ไม่จำเป็นจะต้องอัดออกซิเจนสมทบ จะทำให้สิ้นเปลืองโดยเปล่าประโยชน์ เนื่องจากการใช้ยาสลบอย่าง
เดียวมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการสมทบกับการอัดออกซิเจน

๘. ยาสลบ tertiary amyl alcohol เป็นยาสลบที่มีความเหมาะสม ใช้ในการขนส่งปลา
ตะเพียนขาว

ข้อเสนอแนะ

๑. เพื่อความปลอดภัยก่อนที่จะใช้ยาสลบในกิจการทางด้านการประมงทุกอย่าง ไม่ว่าจะใช้
เพื่อการผ่าตัด การติดเครื่องหมาย การชั่งน้ำหนัก รวมทั้งการขนส่งปลา ควรมีการทดลองใช้ยาสลบกับ
ปลาชนิดนั้น ๆ เสียก่อน เนื่องจากความทนทานของปลาแต่ละชนิด แต่ละขนาด ที่มีต่อความเป็นพิษของ
ยาสลบมีไม่เท่ากัน รวมทั้งสภาพแวดล้อมที่ต่างกันออกไป ซึ่งจะส่งผลของยาสลบและความเป็นพิษแตกต่างกัน
ไปด้วย

๒. ควรมีการศึกษาผลของยาสลบแต่ละชนิดต่อปลาชนิดต่าง ๆ ในประเทศไทย เพื่อจะ
ได้ทราบถึงช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อกิจการทางด้านการประมงอย่างกว้าง ๆ เพื่อสะดวกในการใช้
ยาสลบแต่ละชนิดในกิจการนั้น ๆ และเพื่อความปลอดภัยในการใช้

๓. ยาสลบที่ใช้ในการขนส่งควรเป็นยาสลบที่มีความเป็นพิษไม่รุนแรง ปลาสามารถจะทน
อยู่ได้ในยาสลบที่ความเข้มข้นต่ำได้เป็นเวลานาน ๆ โดยไม่เกิดอันตราย และทำให้ปลาสลบและฟื้นตัวได้
เร็วพอสมควร และควรจะสามารถได้ดีในน้ำธรรมชาติ เนื่องจากตัวทำละลายบางตัวอาจเป็นพิษต่อปลา
ได้ เช่น acetone^c ยาสลบบางชนิดละลายได้ดีใน acetone เช่น quinaldine

๔. ในกรณีที่ต้องการขนส่งปลาให้มีความหนาแน่นมากขึ้นโดยใช้ยาสลบ จำเป็นต้องหาผล
ของยาสลบต่อความหนาแน่นของปลาชนิดนั้น ๆ ด้วย เนื่องจากความหนาแน่นของปลาก็มีผลต่อประสิทธิภาพ
ของยาสลบในการขนส่ง

๕. ควรทำการศึกษาปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีส่วนในการตายของปลาขณะขนส่ง
เช่น อุณหภูมิ ขนาดของปลา ชนิดของปลา และคุณภาพน้ำต่าง ๆ ได้แก่ ความกระด้าง pH ความเป็น
ด่าง แอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อประโยชน์ในการใช้ยาสลบในกิจการประมงต่อไป

๖. หลังจากที่เราทราบความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะใช้ขนส่งแล้ว ควรทำการสลับปลาที่ความเข้มข้นนั้น ๆ ก่อนประมาณ ๒๐ - ๓๐ นาที จนถึงหลาย ๆ ชั่วโมง เพื่อให้ปลาสลับในระยะสมบูรณ์เสียก่อน ก่อนที่จะขนส่งที่ความเข้มข้นดังกล่าว หรือ หลังจากที่เราสลับสมบูรณ์แล้วขนส่งด้วยความเข้มข้นที่ต่ำกว่าความเข้มข้นนั้นเล็กน้อย จะให้ผลดีว่าการใส่ปลาลงในยาสลับทันทีที่จะขนส่ง^{๑๔}

เอกสารอ้างอิง

๑. จันทลักษณ์, จริญญา. สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ, ๒๕๒๓.
๒. ดวงสวัสดิ์, ไมตรี. การควบคุมคุณสมบัติของน้ำในบ่อเลี้ยงปลา. ฝ่ายวิจัยสิ่งแวดล้อมสัตว์น้ำ, สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, ๒๕๒๕.
๓. ทับทิมไทย, จงจินต์. การย้ายสลับกับปลาในและปลาว่ายสมทบกับการส่งออกซิเจนในภาชนะขนส่ง. วิทยานิพนธ์ ปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, ๒๕๐๘.
๔. APHA, AWWA and WPCF. Standard methods for the examination of water and waste water. 13th ed., American Public Health Association, Washington D.C., 1971.
๕. Bergeijk, W.A.V. Letters "MS-222": Vanished and Banished. *Science*, 1967, **158** (38000), 438.
๖. Black, E.C. Hyperactivity as a lethal factor in fish. *Trans. Am. Fisheries Soc.*, 1958, **15**, 573-586
๗. Brockway, D.R. Metabolic products and their effects. *Progressive Fish Culturist*, 1950, **12** (3), 127-129.
๘. Haskell, D.G. An investigation of the use of oxygen on transporting fish. *Trans. Am. Fisheries Soc.*, 1940, **70**, 149-160.
๙. Jirasek, J., Adamek, A. and Giang, P.M. The effects of administration of the anesthetic, MS-222 (Sandoz) and R. 7464 (propoxate) on oxygen consumption in the tench (*Tinca tinca* L.). *Zivocisna Vyroba*, 1978, **23**, 835-840.
๑๐. Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1949, **96**, 99-113.
๑๑. Marking, L.L. Toxicity of MS-222 to selected fishes. *U.S. Fish Wildlife Serv., Invest. Fish Control*, 1967, **18**, 1-10.
๑๒. McFarland, W.N. A study of the effects of anesthetics on the behavior and physiology of fishes. *Pubs. Inst. Mar. Sci.*, 1959, **6**, 23-55.
๑๓. McFarland, W.N. The use of anesthetic for the handling and the transport of fishes. *Calif. Fish Game*, 1960, **46**, 407-431.
๑๔. McFarland, W.N. and Norris, K.S. Control of pH and CO₂ by Butters in Fish Transport. *Calif. Fish Game*, 1958, **44**, 291-310.
๑๕. Meyer, F.P. and Schnich, R.A. The approaching crisis in the registration of fishery chemicals. *Proc. Annu. Conf. Southeast. Assoc. Game. Fish Comm.*, 1978, **30**, 5-14.
๑๖. Nemoto, C.M. Experiments with methods for transport of live fish. *Progressive Fish Culturist*, 1957, **19**, 147-157.
๑๗. Osamu, T., Shiozaki, S., Fujiwara and Hirashima, H. The fundamental experiments on the transport of lite fish. 1. The effects of the anesthetics and the fall of temperature on the oxygen consumption on fish. *Bull. Fac. Fisheries Nagasaki Univ.*, 1967, **22**, 57-67.
๑๘. Phillips, A.M. and Brockway, D.R. Effect of starvation water temperature, and sodium amyl on the metabolic rate of brook trout. *Progressive Fish Culturist*, 1954, **16**, 5-41.
๑๙. Reese, A. Use of Hypnotic drugs in transporting trout. *Calif. Dept. Fish and Game*, (mimeographed), 1953.

- ๒๐. Rounsetell, G.A. and Everhart, W.H. Fishery Science, its methods and applications. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1953.
- ๒๑. Schoettger, R.A. and Julin, A.M. Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids. *U.S. Fish Wildlife. Serv., Invest. Fish Control*, 1967, **13**, 1-15.
- ๒๒. Solorzano, L. Determination of ammonia in natural waters by the phenol hyperchloride method. *Limnol. Oceanog.*, 1969, **14**, 799-801.
- ๒๓. Sprague, J.B. Measurement of pollutant toxicity to fish. 1. Bioassay methods for acute toxicity. *Water Res.*, 1969, **3**, 793-821.
- ๒๔. Swingle, H.S. Method for analysis for water, organic matter and pond bottom soils used in fisheries research. Auburn University, 1969.
- ๒๕. Vaas, K.F. Preliminary report on air transport of live fish in sealed tins under oxygen pressure. *Proc. Indo-Pacif. Fish Council. 3rd meeting (sec 2 and 3), Madras, India, 1952.*

ตารางที่ ๑ ความเป็นพิษเฉียบพลันของยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol ต่อปลาตะเพียนขาว ที่อุณหภูมิ ๓๐°ซ.

| ยาสลบที่ใช้ทดลอง | ค่า LC _{๕๐} ในเวลา ๒๔, ๔๘, ๙๖ ชม. (ppm) | ค่าฟังก์ชันความเอียง (slope function) |
|-----------------------------------|---|--|
| MS - ๒๒๒ tertiary amyl alcohol | ๗๑ (๖๙.๕ - ๗๒.๕) ^{๑/} ๑,๙๘๐ (๑,๙๔๘.๘ - ๒,๐๑๑.๗) ^{๒/} | ๑.๐๔๙๙ (๑.๐ - ๑.๑) ๑.๐๔๖๘ (๑.๐ - ๑.๑) |

๑/ ช่วงแห่งความเชื่อมั่นที่ ๙๕ % ของค่า ๒๔, ๔๘ และ ๙๖ h - LC_{๕๐}.

๒/ ช่วงแห่งความเชื่อมั่นที่ ๙๕ % ของฟังก์ชันความเอียง

ตารางที่ ๒ อัตราการตายสะสมของปลาตะเพียนขาวที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันของยาสลบ MS - ๒๒๒ ในเวลาต่าง ๆ

| ระดับความเข้มข้น (ppm) | จำนวนปลาทดลอง (ตัว) | อัตราการตายสะสม (%) ที่ (ชม.) | | | | |
|------------------------|---------------------|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| | | ๑/๒ | ๑ | ๖ | ๑๒ | ๒๔ |
| ๖๐ | ๒๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ |
| ๖๕ | ๒๐ | ๐ | ๕ | ๕ | ๕ | ๕ |
| ๖๘ | ๒๐ | ๕ | ๕ | ๑๐ | ๑๕ | ๑๕ |
| ๗๐ | ๒๐ | ๐ | ๒๕ | ๓๐ | ๔๕ | ๔๕ |
| ๗๓ | ๒๐ | ๓๕ | ๔๐ | ๔๐ | ๖๕ | ๖๕ |
| ๗๕ | ๒๐ | ๖๕ | ๗๐ | ๙๐ | ๙๐ | ๙๐ |
| ๘๐ | ๒๐ | ๗๐ | ๗๕ | ๘๐ | ๙๕ | ๙๕ |
| ๘๕ | ๒๐ | ๑๐๐ | ๑๐๐ | ๑๐๐ | ๑๐๐ | ๑๐๐ |
| กลุ่มควบคุม | ๒๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ |

$$\begin{aligned} \bar{x}^b &= ๓.๕๓๑๘ \\ \bar{x}^b \text{ จากตาราง} &= ๑๒.๖ \\ LC_{๕๐} &= ๗๑ \\ ๙๕\% \text{ Confidence interval} &= ๖๙.๕ - ๗๒.๕ \end{aligned}$$

ตารางที่ ๓ อัตราการตายสะสมของปลาตะเพียนขาวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันของยาสลบ tertiary amyl alcohol ในเวลาต่างๆ

| ระดับความเข้มข้น (ppm) | จำนวนปลาทดลอง (ตัว) | อัตราการตายสะสม (%) ที่ (ชม.) | | | | |
|---------------------------|------------------------|-------------------------------|----|----|----|----|
| | | ๑/๒ | ๓ | ๖ | ๑๒ | ๒๔ |
| ๑,๘๐๐ | ๒๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ |
| ๑,๘๕๐ | ๒๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๕ |
| ๑,๙๐๐ | ๒๐ | ๐ | ๑๐ | ๑๐ | ๒๕ | ๒๕ |
| ๑,๙๕๐ | ๒๐ | ๐ | ๑๕ | ๒๐ | ๔๕ | ๔๕ |
| ๒,๐๐๐ | ๒๐ | ๕ | ๔๐ | ๕๐ | ๖๕ | ๖๕ |
| ๒,๑๐๐ | ๒๐ | ๑๐ | ๔๕ | ๕๐ | ๘๕ | ๘๕ |
| ๒,๒๐๐ | ๒๐ | ๒๕ | ๘๐ | ๙๕ | ๙๕ | ๙๕ |
| กลุ่มควบคุม | ๒๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ |

$$\bar{X}^b = ๕.๔๘$$

$$\bar{X}^b \text{ จากตาราง} = ๑๑.๑$$

$$LC_{๕๐} = ๑,๙๘๐$$

$$๙๕\% \text{ Confidence interval} = ๑,๙๔๘.๘ - ๒,๐๑๑.๖๗$$

ตารางที่ ๔ คุณภาพของน้ำก่อนและหลังการทดลองหาพิษเฉียบพลันของ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol

| ยาสลบที่ใช้ทดลอง | | pH | DO (ppm) | CO ₂ (ppm) | Alk (ppm) | Hard (ppm) | NH ₃ N (ppb) |
|-----------------------|--------------|------|-------------|--------------------------|--------------|---------------|----------------------------|
| MS - ๒๒๒ | ก่อนการทดลอง | ๘.๓๕ | ๗.๒ | ๐ | ๓๑๒ | ๑๑๖ | ๐ |
| | หลังการทดลอง | ๘.๐๑ | ๕.๓๔ | ๐ | ๓๐๙.๖ | ๑๐๘.๕ | ๔๐๑.๕ |
| | Control | ๗.๙ | ๗ | ๐ | ๒๙๖ | ๑๑๐ | ๖๐๐ |
| tertiary amyl alcohol | ก่อนการทดลอง | ๘.๔๕ | ๗.๔ | ๐ | ๓๒๓.๗ | ๑๑๐ | ๐ |
| | หลังการทดลอง | ๘.๒๒ | ๖.๒ | ๐ | ๒๖๖.๔๒ | ๑๐๔ | ๓๘๘ |
| | Control | ๘.๔ | ๕ | ๐ | ๒๙๕ | ๑๑๒ | ๙๙ |

ตารางที่ ๕ หลักเกณฑ์ที่ใช้พิจารณาแบ่งขั้นตอนการสลบของปลาตะเพียนขาวต่อยาสลบ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol

| ลำดับขั้น ของการสลบ | ปฏิกิริยาการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น | | | การสมดุลงของ ร่างกาย การเคลื่อนไหว | อัตราของ การหายใจ |
|---|-----------------------------------|---|--|--|--|
| | แสง | การสัมผัสเทือน | การสัมผัสที่ตัว | | |
| ระยะ ๐ (สภาพปกติ) | มีปฏิกิริยา | มีปฏิกิริยา | มีปฏิกิริยา | ปกติ | ปกติ การปิด-เปิด ของกระพุ้งแก้ม สม่ำเสมอ |
| ระยะที่ ๑ (sedation) | มีปฏิกิริยา | มีปฏิกิริยาเพียง เล็กน้อยจนถึง ไม่มีปฏิกิริยา | มีปฏิกิริยา เล็กน้อยจนถึง ไม่มีปฏิกิริยา | ปกติ ช้าลงเล็กน้อย | ช้าลงแต่สม่ำเสมอ |
| ระยะที่ ๒ (partial loss of equilibrium) | ไม่มีปฏิกิริยา | มีปฏิกิริยาเพียง เล็กน้อยจนถึง ไม่มีปฏิกิริยา | มีปฏิกิริยาเพียง เล็กน้อยจนถึง ไม่มีปฏิกิริยา | เสียสมดุลงบาง ส่วนเคลื่อนที่ แบบควงสว่าง | เพิ่มขึ้น |
| ระยะที่ ๓ (total loss of equilibrium) | ไม่มีปฏิกิริยา | มีปฏิกิริยา เล็กน้อยจนถึง ไม่มีปฏิกิริยา | มีปฏิกิริยา เฉพาะการกอดที่ ครีบหางหรือ ครีบล้าง | เสียสมดุลงทั้ง หมดและหยุด เคลื่อนที่ | ช้าลง |
| ระยะที่ ๔ (loss of reflex activity) | ไม่มีปฏิกิริยา | ไม่มีปฏิกิริยา | ไม่มีปฏิกิริยา | เสียสมดุลง ทั้งหมดและ หยุดเคลื่อนไหว | ช้าลงและไม่สม่ำเสมอ |
| ระยะที่ ๕ (medullary collapse) | ไม่มีปฏิกิริยา | ไม่มีปฏิกิริยา | ไม่มีปฏิกิริยา | เสียสมดุลง อย่างสมบูรณ์ และไม่เคลื่อน ไหว | หยุด |

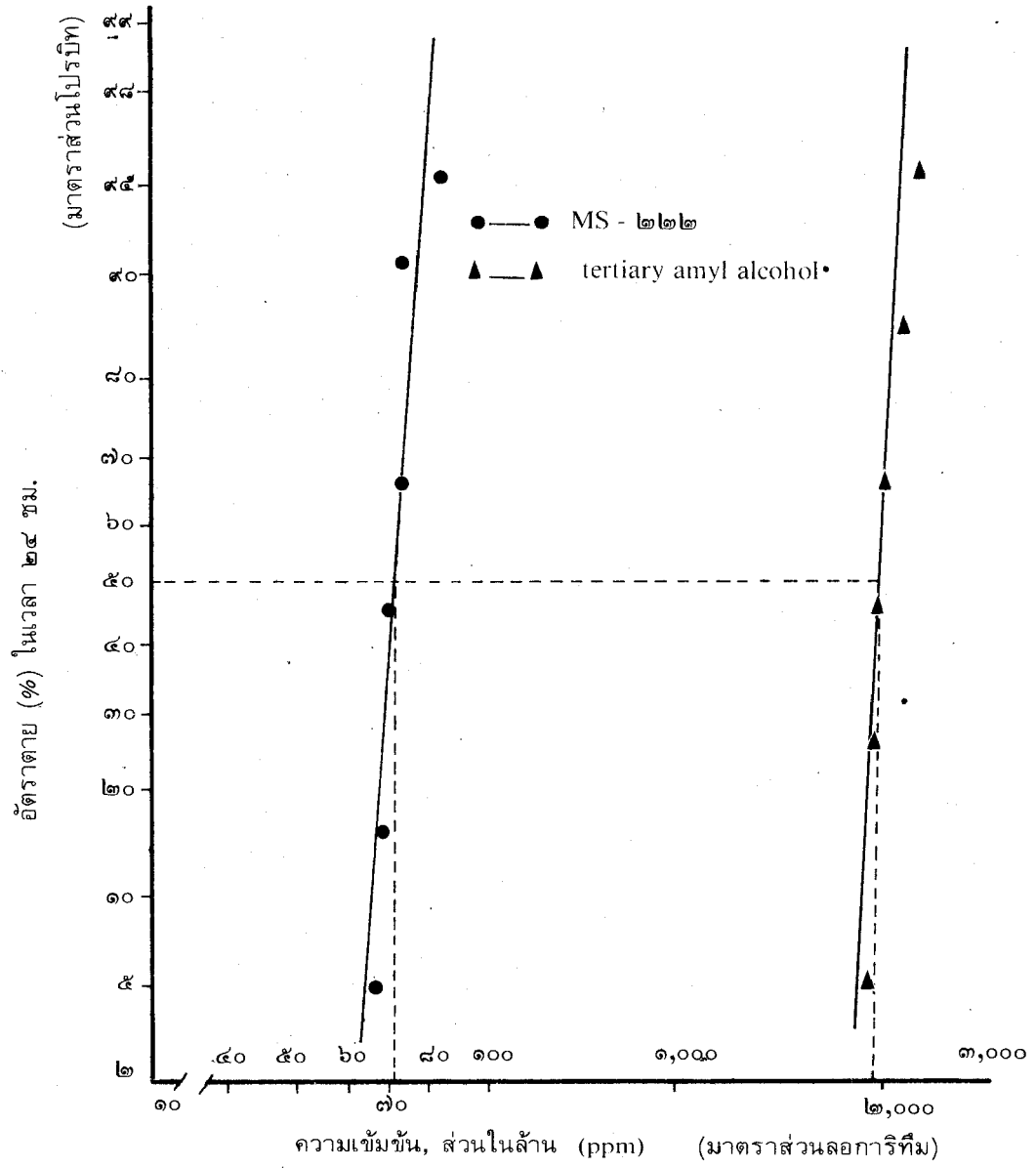
ตารางที่ ๖ ระยะของการสลายของปลาตะเพียนขาว ณ เวลาต่าง ๆ ในช่วง ๔๘ ชม. เมื่อทดสอบด้วย
ยาสลาย MS - ๒๒๒ และการฟื้นจากสลาย

| ความเข้มข้น (ppm) | ระยะของการสลาย ณ เวลาต่าง ๆ ในช่วง ๔๘ ชม. (เวลานับตั้งแต่เริ่มใส่ปลาลงในสารละลายของ MS - ๒๒๒) | | | | | เวลาที่ฟื้นจากการสลาย |
|----------------------|---|-------|--------|--------|--------|-----------------------|
| | ๑ ชม. | ๘ ชม. | ๑๒ ชม. | ๒๔ ชม. | ๔๘ ชม. | |
| ๒๐ | ๑ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ | — |
| ๓๐ | ๑ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ | — |
| ๔๐ | ๑ | ๑ | ๑ | ๐ | ๐ | — |
| ๔๕ | ๑ | ๑ | ๑ | ๑ | ๐ | — |
| ๕๐ | ๑ | ๑ | ๑ | ๑ | ๑ | ๒๒ วินาที |
| ๕๕ | ๑ | ๑ | ๑ | ๑ | ๑ | ๓๕ วินาที |
| ๖๕ | ๒ | ๒ | ๒ | ๑ | ๑ | ๕ นาที ๑๒ วินาที |
| ๗๕ | ๒ | ๒ | ๒ | ๑ | ๑ | ๒ นาที ๕๗ วินาที |
| ๘๕ | ๓ | ๒ | ๒ | ๒ | ๒ | ๒ นาที ๕ วินาที |

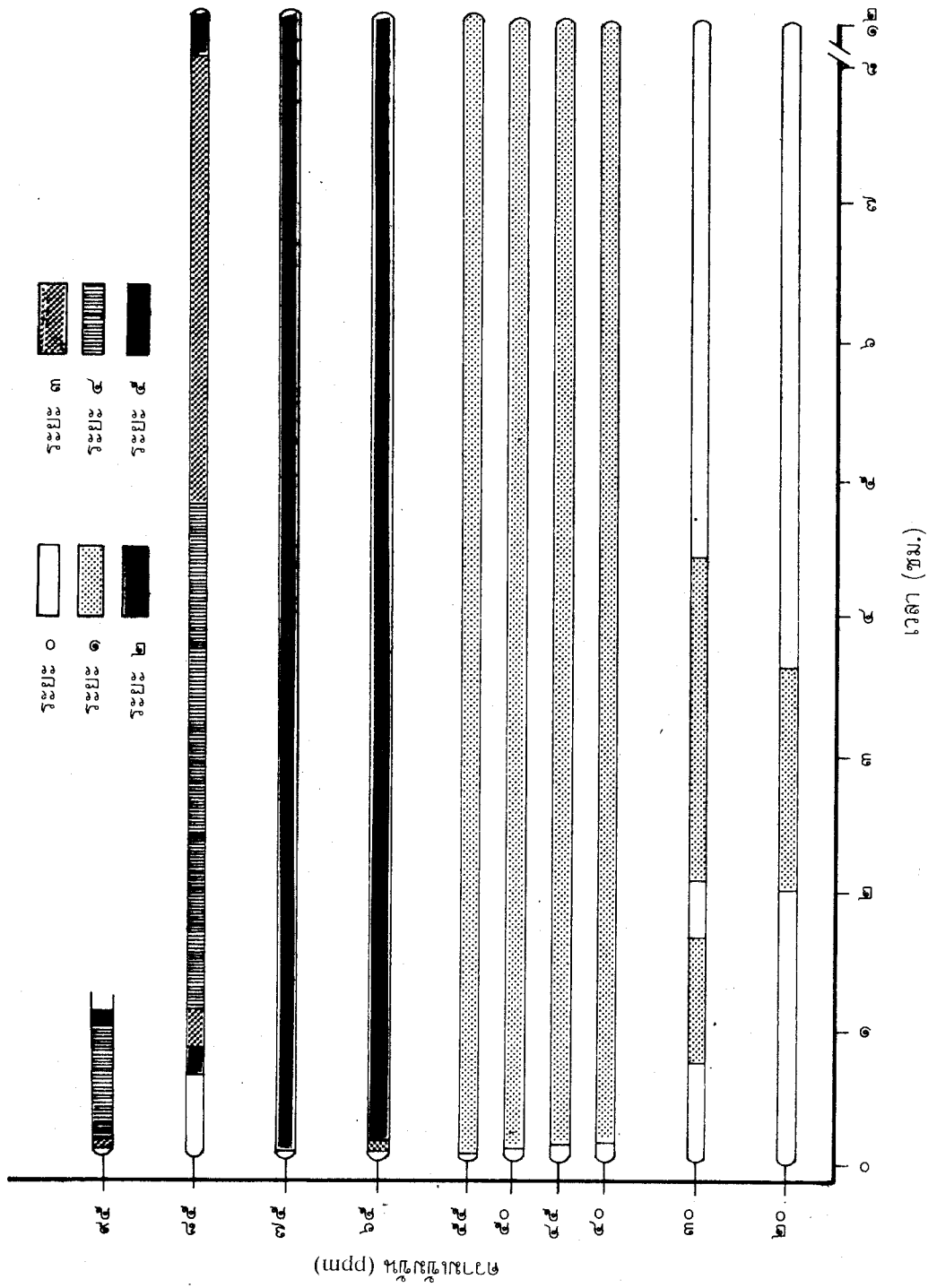
ตารางที่ ๗ ระยะของการสลายของปลาตะเพียนขาว ณ เวลาต่าง ๆ ในช่วง ๔๘ ชม. เมื่อทดสอบด้วย
ยาสลาย tertiary amyl alcohol และการฟื้นจากสลาย

| ความเข้มข้น (ppm) | ระยะของการสลาย ณ เวลาต่าง ๆ ในช่วง ๔๘ ชม. (เวลานับตั้งแต่เริ่มใส่ปลาลงในสารละลายของ tertiary amyl alcohol) | | | | | เวลาที่ฟื้นจากการสลาย |
|----------------------|---|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| | ๑ ชม. | ๘ ชม. | ๑๒ ชม. | ๒๔ ชม. | ๔๘ ชม. | |
| ๒๐๐ | ๐ | ๑ | ๐ | ๐ | ๐ | — |
| ๔๐๐ | ๐ | ๑ | ๐ | ๐ | ๐ | — |
| ๖๐๐ | ๑ | ๐ | ๐ | ๐ | ๐ | — |
| ๘๐๐ | ๑ | ๑ | ๑ | ๐ | ๐ | — |
| ๙๐๐ | ๑ | ๑ | ๑ | ๑ | ๑ | ๖ นาที ๑๓ วินาที |
| ๑,๐๐๐ | ๒ | ๒ | ๑ | ๑ | ๑ | ๕ นาที ๓๐ วินาที |
| ๑,๔๐๐ | ๒ | ๒ | ๒ | ๑ | ๑ | ๑๕ นาที ๒๔ วินาที |
| ๑,๖๐๐ | ๒ | ๒ | ๒ | ๒ ^{๑/} | ๒ ^{๑/} | ๕ - ๑๒ ชม. |
| ๑,๘๐๐ | ๓ | ๒ | ๒ ^{๑/} | ๒ ^{๑/} | ๒ ^{๑/} | ๕ - ๑๒ ชม. |
| ๒,๒๐๐ | ๔ | ๓ | ๒ ^{๑/} | ๒ ^{๑/} | ๒ ^{๑/} | ๕ - ๑๒ ชม. |

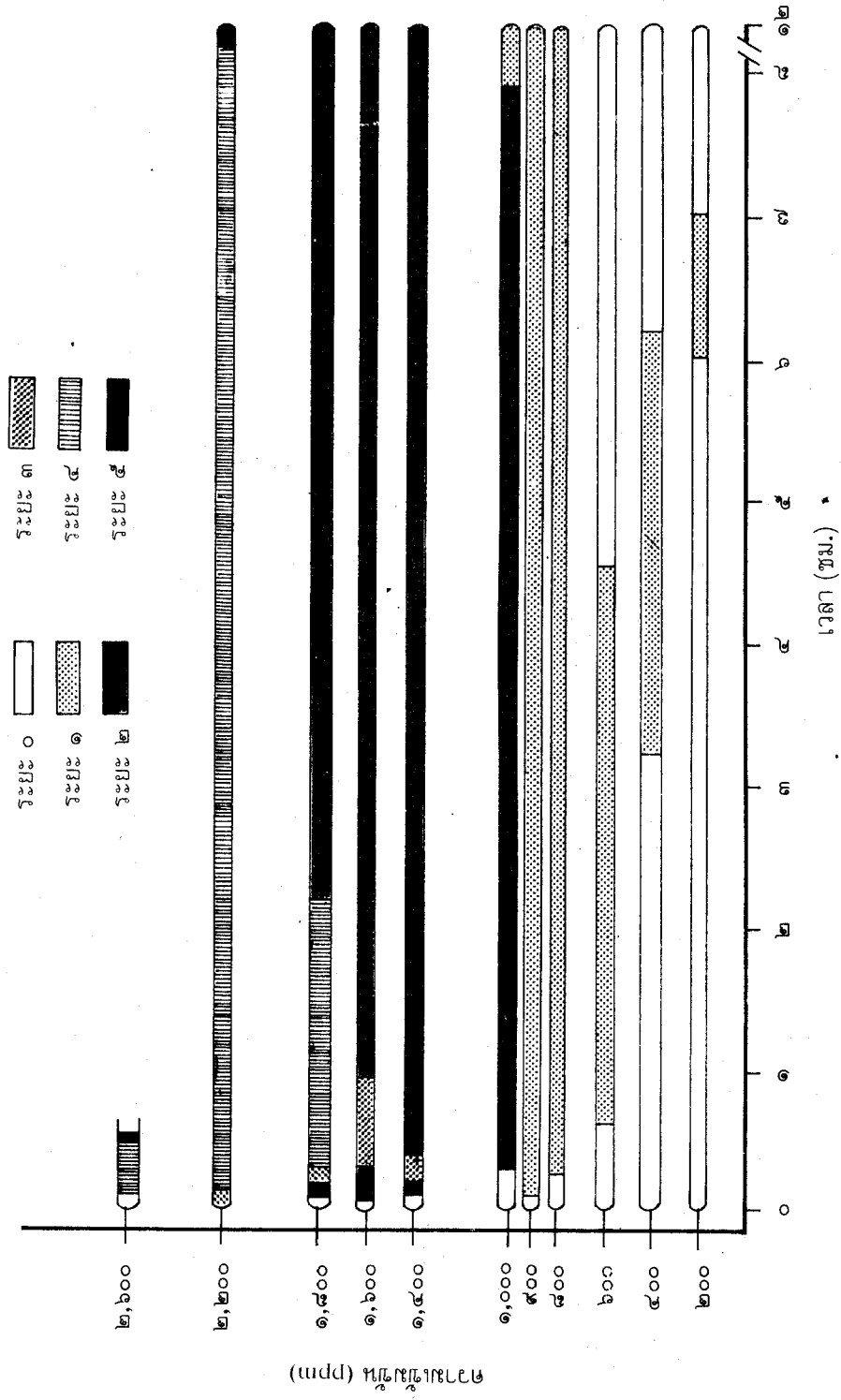
๑/ หมายถึง มีปลาบางตัวหรือทั้งหมดมีลักษณะลำตัวผิดปกติ ครีบหางชี้ขึ้น



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ MS - ๒๒๒ และ tertiary amyl alcohol กับอัตราตายของปลาตะเพียนขาวในเวลา ๒๔ ชม.

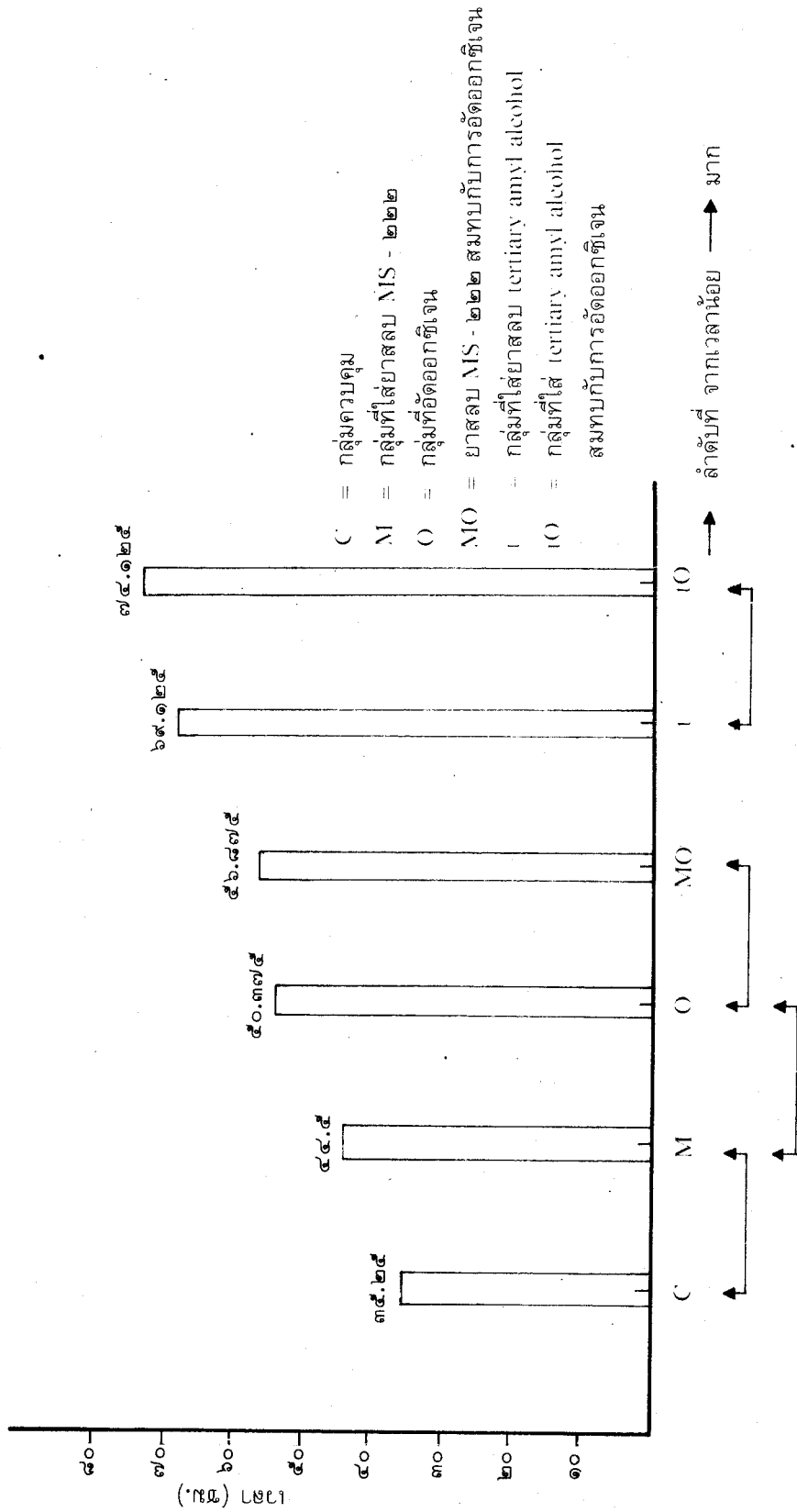


รูปที่ ๒ การตอบสนองของปฏิกิริยาเพิ่มพูนธาตุอาหาร NIS - ๒๒๒ ที่ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ ๓ การตอบสนองของปลาตะเพียนขาวต่อยาสลบ tertiary amyl alcohol ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ว. สอนง. กก. วิจัย ช., ๒๕๒๘, ๑๑ (๑)



รูปที่ ๔ เปรียบเทียบเวลาตายเฉลี่ยของปลาในแต่ละการทดลอง (คู่ที่มีการโยนลูกศร จะหมายถึงเวลาตายเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน คู่ที่ไม่ได้โยนลูกศร แสดงว่าเวลาตายเฉลี่ยแตกต่างกัน)