บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชีววิทยาของปลากะรังเสือ

ปลากะรังเสือ (tiger grouper, brown marble grouper หรือ flowery cod) มีชื่อเรียกอีกว่า ปลาเก๋าเสือ หรือปลาเก๋าลายหินอ่อน เป็นปลากระดูกแข็งน้ำเค็มในแฟมมิลี่ Serranidae ในอันดับเดียวกันกับปลากะพง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Epinephelus fuscoguttatus* ปลาที่พบในสกุล *Epinephelus* ในประเทศไทยมีหลายชนิดได้แก่ ปลาหมอทะเล (*E. lanceolatus)* ปลากะรังแดง (*E. fasciatus*) ปลากะรังดำจุดขาว (*E. caeruleopunctatus*) ปลากะรังลายเมฆ (*E. erythrurus*) ปลากะรังดำหรือปลากะรังปากแม่น้ำ (*E. malabaricus*) ปลากะรังดอกดำ (*E. tukula*) ปลากะรังน้ำลึก หรือกะรังจุดน้ำตาล (*E. tauvina*) ปลากะรังจุดฟ้า (*E. fario*) และปลากะรังดอกแดง (*E. coioides*) (ธรณ์ และ คณะ, 2548; ชวลิต, 2551) ปลากะรังเสือและปลากะรังอื่นๆ ดังกล่าวอาศัยตามแนวปะการังและบริเวณแนวหิน

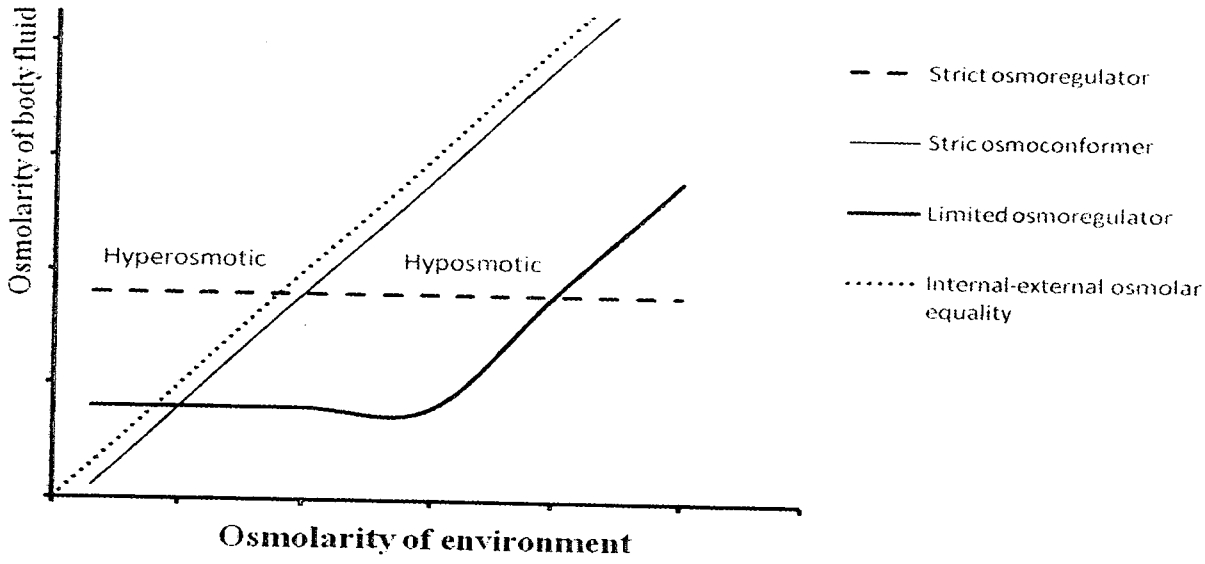
ปลากะรังเสือมีลักษณะสั้น ป้อม ลำตัวรูปกระสวย ระหว่างตาแบนหรือเว้าเล็กน้อย ครีบหางกลม ลำตัวสีน้ำตาลปนเหลือง มีแถบสีน้ำตาลพาดเป็นแนวขวางลำตัว 5 แถบ มีจุดดำขนาดเล็กกระจายทั่วลำตัว ปลาขนาดเล็กมีสีดำสลับขาวพาดขวางลำตัว มีซี่เหงือกประมาณ 17-20 อัน ครีบหลังมีก้านครีบแข็ง 11 อัน ครีบอกมีก้านครีบ 18-19 อัน ครีบหางกลม ปลากะรังเสือเป็นปลาที่ทนต่อความเค็มในช่วงกว้าง (Caberoy and Quinitio , 2000)

ปลากะรังเสือสืบพันธุ์และวางไข่ในทะเลลึก เริ่มวางไข่ในเดือนพฤศจิกายนถึงต้นเดือนธันวาคมของทุกปี ไข่ปลากะรังเสือเป็นไข่ลอย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่ประมาณ 863 ไมโครเมตร ไข่ที่ได้รับการผสมจะเริ่มแบ่งเซลล์ ในเวลา 35 นาที และฟักออกมาเป็นตัวเมื่อเวลาประมาณ 19 ชั่วโมง ลูกปลาแรกฟักมีความยาวประมาณ 1.7 มิลลิเมตร ไข่แดงมีปริมาตร ประมาณ 1.3 ลูกบาศก์มิลลิเมตร และหยดน้ำมันขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.2 มิลลิเมตร ปากเริ่มเปิดเมื่ออายุ 48 ชั่วโมง ไข่แดงและหยดน้ำมันสลายไปเมื่ออายุ 72 และ 90 ชั่วโมง ตามลำดับ ลูกปลาเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเมื่ออายุ 7 วันและเข้าสู่วัยรุ่นเมื่ออายุ 39 วัน ตัวเต็มวัยขนาดประมาณ 50

เซนติเมตร ขนาดโตเต็มที่ยาว ประมาณ 120 เซนติเมตร ปลากะรังเสือเป็นปลาที่กินเนื้อในระยะที่เป็นลูกปลาวัยอ่อนชอบกินไรน้ำ ตัวอ่อนแมลง ปลาเล็กๆ ลูกกุ้ง รวมทั้งโรติเฟอร์และโคพีพอด (อาคมและคณะ, 2551) ซึ่งโคพีพอดหาได้ง่ายตามบ่อเลี้ยงกุ้งหรือปลาทั่ว ๆไป (สามารถและคณะ, 2555). ปลากะรังเสือเปลี่ยนแปลงเพศได้ โดยช่วงแรกเป็นเพศเมียทั้งหมด ต่อมาจะกลายเป็นเพศผู้ ระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงจากเพศเมียกลายเป็นเพศผู้ขึ้นอยู่กับ อาหาร สภาพแวดล้อมต่าง ๆ รวมทั้งขนาดของประชากร

2.2 ออสโมเรกูเลชั่น การรควบคุมไอออนในเลือด ความว่องไวของเอนไซม์ Na^+/K^+-ATPase (NKA), ไอออนในเลือด และเมแทบอลิซึม

สัตว์มีความสามารถปรับความดันออสโมติกของเหลวในร่างกายให้เหมาะสมกับความดันออสโมติกของสิ่งแวดล้อมภายนอก เรียกว่า ออสโมเรกูเลชั่น (osmoregulation) ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาและการดำรงชีวิตของสัตว์ ออสโมเรกูเลชั่นแบ่งได้หลายประเภท ดังนี้ 1) สัตว์ที่ยังคงรักษาออสโมลาริตี้ (หน่วยวัดความดันออสโมติก) ในเลือด ในขณะที่ออสโมลาริตี้ของสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนไปเรียกว่า ออสโมเรกูเลเตอร์ (osmoregulator) 2) สัตว์ที่ไม่ได้ควบคุมออสโมลาริตี้ในเลือด นั่นคือออสโมลาริตี้ของเลือดเพิ่มขึ้นตามออสโมลาริตี้ของสิ่งแวดล้อมเรียกว่า ออสโมคอนฟอร์มเมอร์ (osmocomformer) 3) สัตว์ที่ควบคุมออสโมลาริตี้ของเลือดให้สูงกว่าหรือต่ำกว่าออสโมลาริตี้ของสิ่งแวดล้อมภายนอกเรียกว่า ไฮเปอร์ออสโมติก (hyperosmotic) และไฮโปออสโมติก (hyposmotic) ตามลำดับ และ 4) จุดที่ออสโมลาริตี้ของเลือดและของสิ่งแวดล้อมภายนอกเท่ากันเรียกว่าไอโซออสโมติก (isosmotic point) (Randall et al., 1998) (รูปที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 รูปแบบการปรับออสโมลาริตี้ของสัตว์น้ำ
(ที่มา Randall et al., 1998)

สัตว์ที่สามารถทนต่อออสโมลาริตี้ของสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไปมาก เรียกว่าสัตว์ที่ทนต่อความเค็มในช่วงกว้าง (euryhaline) ตรงกันข้ามสัตว์ที่ทนต่อออสโมลาริตี้ของสิ่งแวดล้อมในขอบเขตที่จำกัดเรียกว่าสัตว์ที่ทนต่อความเค็มในช่วงแคบ (stenohaline) สัตว์น้ำจืดมีแนวโน้มที่เกิดเซลล์บวมเนื่องจากน้ำจากภายนอกเข้าไป ดังนั้นสัตว์จะพยายามขับน้ำออกทางไตและดูดกลับเกลือแร่สู่เลือด ขณะเดียวกันจะมีการขนส่งเกลือแร่จากสิ่งแวดล้อมเข้าสู่เลือดผ่านเหงือก สัตว์ทะเลจะดื่มน้ำและขับเกลือออกเนื่องจากเกลือจากสิ่งแวดล้อมภายนอกจะแพร่เข้าสู่สัตว์

ดังนั้นความเค็มของน้ำจึงมีผลต่อออสโมเรกูเลชั่นของสัตว์น้ำ การควบคุมของเหลวในร่างกายให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมจะมีความสัมพันธ์กับของเหลวภายนอก โดยทั่วไปสัตว์น้ำจะใช้พลังงานในขบวนการนี้ประมาณ 1-20% ของพลังงานทั้งหมด (Sparks et al., 2003; Wuenschel et al., 2005) พลังงานที่เหลือจากออสโมเรกูเลชั่นจะนำไปใช้กิจกรรมอื่นๆ เช่น การเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ เป็นต้น พลังงานที่ใช้ในออสโมเรกูเลชั่นมีค่าต่ำสุด เมื่อสัตว์อยู่ในสภาพ ไอโซโทนิก (isotonic) (Chen and Chia , 1996; Intanai et al., 2009) ในขณะที่มีรายงานหลายฉบับมีความเห็นขัดแย้งเช่น Morgan

and Iwama (1991) และ Maxime (2002) สัตว์จะจัดสรรพลังงานไปยังอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับออสโมเรกูเลชั่น เช่น เหงือก ไต เลือด กล้ามเนื้อ ซึ่งทำให้เมแทบอลิซึมเปลี่ยนไป การวัดอัตราบอลิซึมโดยรวมมักจะวัดอัตราการใช้ออกซิเจน (oxygen consumption rate) (Morgan and Iwama, 1991; Krischner, 1993) และความว่องไวของเอ็นไซม์สำหรับเมแทบอลิซึม (Febry and Lutz, 1987) พลังงานนอกจากถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์สารที่จำเป็นสำหรับควบคุมปริมาตรของเซลล์ ส่วนหนึ่งนำไปใช้ในขบวนการเคลื่อนย้ายอิเลคโตรไลต์ ระหว่างในเซลล์และนอกเซลล์รวมทั้งสิ่งแวดล้อมภายนอก อิเลคโตรไลต์ที่สำคัญได้แก่ Na^+, K^+, Cl^-, ซึ่งเกี่ยวข้องกับความว่องไวของเอนไซม์ Na^+/K^+-ATPaes (NKA) NKA มีหน้าที่ขนส่ง Na^+ ออกนอกเซลล์และเอา K^+ เข้าเซลล์ (Perry et al., 2003) ดังนั้น NKA จึงมีความสำคัญในการรักษาดุลภายในเซลล์ ในเหงือกของปลาที่ทนต่อความเค็มในช่วงกว้าง NKA จะช่วยขับ NaCl ออกนอกเซลล์ (ในน้ำความเค็มสูง) (รูปที่ 2.2) และเข้าสู่เลือด (ในน้ำความเค็มต่ำ) (รูปที่ 2.3) ในเยื่อเหงือก NKA อยู่ในเซลล์ที่มีไมโตรคอนเดรียมาก เรียกว่า คลอไรด์เซลล์ (chloride cell) (รูปที่2.2 และ 2.3) คลอไรด์เซลล์ทำหน้าที่เกี่ยวกับ การควบคุมออสโมลาริตี้ในเลือด ซึ่งการทำงานขึ้นอยู่กับความเค็มของสิ่งแวดล้อม (Hirose et al., 2003) สัตว์ที่ทนต่อความเค็มในช่วงกว้างสามารถควบคุมออสโมลาริตี้ ได้หลายความเค็ม โดยความเค็มจะไปกระตุ้น NKA ที่เหงือกรวมทั้งเซลล์ที่มีไมโตรครอนเดรียมาก (Wilson and Laurent, 2002) ซึ่งเป็นได้ 2 แบบคือ 1) NKA สูงขึ้นในสภาพที่น้ำเป็นไฮเปอร์ออสโมติก และ 2) NKA สูงขึ้นเมื่อน้ำเป็นสภาพไฮโปออสโมติก กลุ่มแรกได้แก่ ปลาแซลมอน ปลาไหล และปลาตะเพียน ส่วนกลุ่มที่สอง ได้แก่ ปลานวลจันทร์ ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 เอนไซม์ NKA มีความสามารถในการจับ Na^+ และ K^+ ต่างกัน (Lin et al.,2003) Lin et al (2004) พบว่าเมื่อนำปลาตะเพียนน้ำทะเลมาอยู่ในน้ำจืดอย่างรวดเร็วทำให้ความว่องไว NKA ที่เหงือกลดลงภายในเวลา 3 ชั่วโมง ขณะที่ Caberoy and Quinitio (2000) พบว่าเมื่อนำปลากะรังดอกแดง (*Epinephelus coioides*) ระยะตัวอ่อนและจูวีไนล์ มาอยู่ในสภาพไฮโปออสโมติก จะเปลี่ยนความว่องไวของเอนไซม์ NKA และเปลี่ยนรูปร่างของเซลล์ที่มีไมโตครอนเดรียมากในเหงือก การเปลี่ยนความว่องไวนี้นี้มีการกำหนดระยะเวลา Tipsmark et al. (2004) รายงานว่าระยะเวลาที่เปลี่ยนความว่องไวของเอนไซม์ NKA ในเหงือกปลากะพง (*Morone saxatilis*) ใช้เวลา 1 สัปดาห์ ซึ่งเป็นที่ประจักษ์แล้วว่า การเปลี่ยนความว่องไวของเอนไซม์นี้ขึ้นอยู่กับ ปริมาณ mRNA หรือ

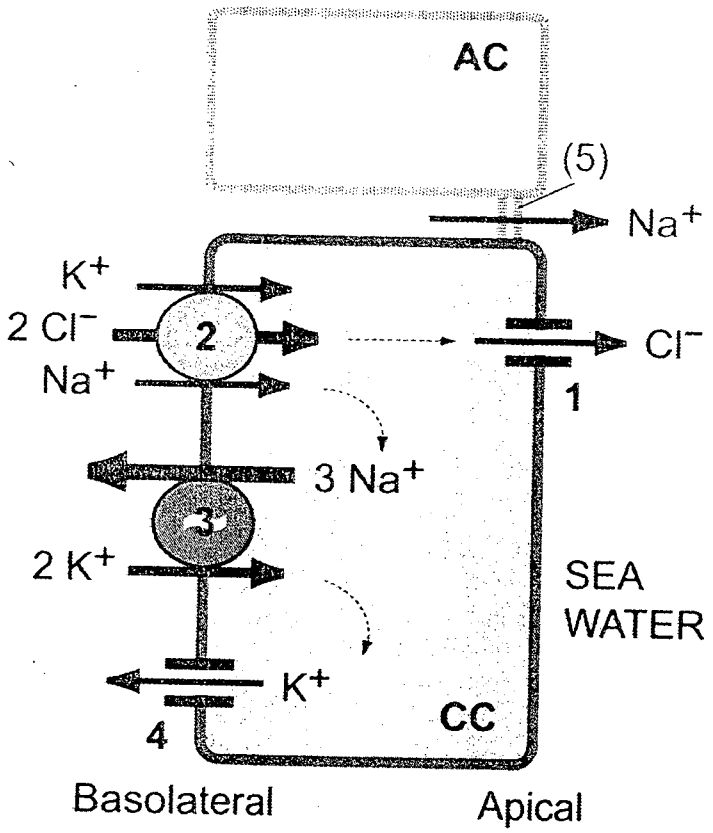
โปรตีน หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน (Lin et al., 2004) การศึกษาเกี่ยวกับความว่องไวของเอนไซม์ NKA มีรายงานอยู่จำนวนมาก เช่น Kelly et al. (1999) ศึกษาผลของความเค็ม (6, 12 และ 33 พีพีที) ต่อระดับ NKA ในเหงือกปลากะเบน (*Mylio macrocephalus*) พบว่าความเค็มที่เพิ่มขึ้น ทำให้ความว่องไวของเอนไซม์ NKA เพิ่มขึ้น ที่ความเค็ม 6, 12 และ 33 พีพีที ความว่องไวของเอนไซม์ NKA มีค่าเป็น 30 31 และ 37 ไมโครโมล NADH/นาที/มิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณอาหารที่ปลากินมีผลต่อความว่องไวของเอนไซม์ NKA แต่ไม่มีผลต่อ ฮีมาโตคริต กลูโคส Na^+ และ Cl^- ในเลือด Qiang et al. (2013) ศึกษาผลของความเค็ม ต่อออสโมลาริตี้ และความว่องไวของเอนไซม์ NKA ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่าที่ความเค็ม 10 พีพีที ออสโมลาริตี้ในเลือดมีค่า 364.51 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ ความว่องไวของเอนไซม์ NKA มีค่า 1.46 ไมโครโมลฟอสเฟส/ชั่วโมง/กรัมโปรตีน แต่เมื่ออยู่ในความเค็ม 20 พีพีที ออสโมลาริตี้ในเลือดมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 438.22 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ และความว่องไวของเอนไซม์ NKA มีค่า 1.94 ไมโครโมลฟอสเฟส/ชั่วโมง/กรัมโปรตีน Yan et al. (2013) พบว่าปลานวลจันทร์ *Chanos chanos* เมื่ออยู่ในสภาพไฮโปออสโมติกจะมีระดับ NKAในเหงือก ต่ำกว่าปกติ ตรงกันข้ามกับเหงือกเทียม (pseudobranchs) ที่มีระดับ NKA สูงกว่าปกติ Chu et al. (2004) ศึกษาผลของความเค็ม ต่อการเปลี่ยนแปลงความดันออสโมติกและองค์ประกอบเลือดของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) พบว่าปลาที่อยู่ในความเค็ม 5, 25 และ 45 มีค่าออสโมลาริตี้ในเลือดเป็น 275, 305 และ 350 51 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ ตามลำดับ ปริมาณ Na^+ ในเลือดมีค่า 150, 160 และ 200 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ปริมาณ K^+ ในเลือดมีค่าเป็น 5.3, 5.1 และ 3.9 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ และปริมาณ Ca^{++} ในเลือดมีค่าเป็น 2.8, 3.1 และ 2.9 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ Laiz-Carrion et al. (2005) ศึกษาออสโมเรกูเลชั่น การเจริญเติบโต และเมแทบอลิซึมของปลากะพงแดง (*Sparus aurata*) พบว่าปลาที่อยู่ในความเค็ม 12 พีพีที มีระดับ NKA ต่ำกว่า ที่ความเค็ม 6 และ 38 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ ระดับ NKA ที่ความเค็ม 6 พีพีที มีค่ามากกว่าที่ความ 38 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ ระดับ NKA ที่ความเค็ม 6, 12 และ 38 พีพีที มีค่าเป็น 26.89, 12.35, และ 15.87 ไมโครโมล ADP/มิลลิกรัมโปรตีน/ชั่วโมง ตามลำดับ ออสโมลาริตี้ของเลือดปลาที่ความเค็ม 6 พีพีที มีค่าน้อยกว่าที่ความเค็ม 12 และ 38 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ ออสโมลาริตี้ของเลือดที่ความเค็ม 12 และ 38 พีพีที มีค่าไม่ต่างกัน ระดับ Na^+ ในเลือดปลาที่ความเค็ม 6 พีพีที มีค่าน้อยกว่าที่ความเค็ม 12 และ 38 พีพีที

อย่างมีนัยสำคัญ และที่ความเค็ม 12 และ 38 พีพีที มีค่าไม่ต่างกัน ระดับ Na^+ ในเลือดที่ความเค็ม 6, 12 และ 38 พีพีที มีค่าเป็น 169, 177 และ 182 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ระดับ Cl^- ในเลือดที่ความเค็ม 6 และ 12 พีพีที มีค่าไม่ต่างกันและน้อยกว่าที่ความ 38 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ ค่า Cl^- ในเลือดที่ความเค็ม 6, 12 และ 38 พีพีที มีค่าเป็น 144, 149 และ 151 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ เมื่อเอาปลาที่ทนต่อความเค็มในช่วงกว้างจากน้ำเค็มไปอยู่ในน้ำที่มีความเค็มต่ำกว่า ทำให้ออสโมลาริตี้ต่ำลง Motohashi et al. (2009). ศึกษาออสโมเรกูเลชั่นของปลาปักเป้า (*Takifugu rubripes*) จากน้ำทะเล (100%SW) (ออสโมลาริตี้ของเลือด 411 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ ระดับ Na^+และ Cl^- ในเลือดมีค่าเป็น 233 1 และ 198.7 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ) ไปอยู่ในความเค็ม 33%SW , 10%SW และในน้ำจืด (FW) ค่า ออสโมลาริตี้ Na^+ และ Cl^- ในเลือดลดลง (ที่ 33%SW มีค่าเป็น 350 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ Na^+ และ Cl^- มีค่าเป็น 206 และ 171 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ , ที่ 10%SW มีค่าเป็น 291 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ , Na^+ และ Cl^- มีค่าเป็น 175 และ 130 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ที่ น้ำจืด มีค่าเป็น 237 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ , Na^+ และ Cl^- มีค่าเป็น 129 และ 104 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ) Prodocimo et al. (2008) พบว่าปลาปักเป้าน้ำกร่อย (*Sphoeroides testudineus*) เมื่ออยู่ในความเค็มที่ 5 และ 35 พีพีที ระดับ Cl^- ในเลือดมีค่าเพิ่มขึ้น จาก 144.3 เป็น 155.2 มิลลิโมล/ลิตร สำหรับปลา *S. greeleyi* ระดับ Cl^- ในเลือดมีค่าเพิ่มขึ้น จาก 148.9 เป็น 161.6 มิลลิโมล/ลิตร

เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความดันออสโมติกของสิ่งแวดล้อมภายนอก ปลาจะเปลี่ยนแปลงระดับกลูโคสในเลือดต่างกัน ปลาที่มีการเพิ่มกลูโคสเมื่อความเค็มของสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้นได้ เช่น ปลากะพง (Roche et al., 1989) ปลาเทราส์ (Soengas et al., 1995) ปลาค็อด (Nelson et al., 1996) ปลานิล (Nakano et al., 1998) และปลาคราฟ (DeBoeck et al., 2000) อาจจะเป็นไปได้ว่ามีการเคลื่อนย้ายกลูโคสไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ เพื่อเพิ่มพลังงานในการควบคุมของเหลว ในขณะที่ไม่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงในปลาหลายชนิด เช่น ปลาแซมมอนแอตแลนติก (Maxime, 2002). หรือแม้แต่กระทั่งชนิดเดียวกันเช่นปลานิล ปลาที่เพิ่มกลูโคสในเลือดเมื่อความเค็มของสิ่งแวดล้อมภายนอกลดลง ได้แก่ ปลานิล ปลากะพงขาว (Mancera et al., 1993) ปลาที่ลดกลูโคสในเลือด เช่น ปลาทรายแดง (Woo and Murat., 1981) นอกจากนี้มีรายงานอื่น ๆ หลายฉบับที่พบว่า

ความเค็มมีผลต่อระดับกลูโคสในเลือด เช่น Chu et al. (2004) ศึกษาผลของความเค็ม (5, 25 และ 45 พีพีที) ต่อระดับกลูโคสในเลือดปลา กะพงขาว (*Lates calcarifer*) พบว่าที่ความเค็ม 25 พีพีที ระดับกลูโคส (41 มิลลิกรัม/เดซิลิตร) มีค่าต่ำกว่าระดับกลูโคสที่ความเค็ม 5 พีพีที (51 มิลลิกรัม/เดซิลิตร) และความเค็ม 45 พีพีที (64 มิลลิกรัม/เดซิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญระดับกลูโคสที่ความเค็ม 45 พีพีที มีค่ามากกว่าที่ความเค็ม 5 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ Laiz-Carrion et al. (2005) พบว่าความเค็ม ระหว่าง 6- 38 พีพีที ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ กลูโคสและแลคเตตในปลากะพงแดง (*Sparus aurata*) โดยมีระดับ กลูโคสและ แลคเตต เป็น 4.13-4.31 และ 2.01-2.55 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ Prodocimo et al. (2008) รายงานว่าปลาน้ำกร่อย เมื่ออยู่ในความเค็มสูงขึ้นทำให้ค่าออสโมลาริตี้และระดับกลูโคสเพิ่มขึ้น ที่ความเค็ม 5 และ 35 พีพีที ออสโมลาริตี้ในเลือดปลาปักเป้า (*Sphoeroides testudineus*) มี ค่าเป็น 308.5 และ 343 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ ตามลำดับ และระดับกลูโคสมีค่าเป็น 22.9 และ 24.8 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ปลากะพงแดง (*Sparus. greeleyi*) ออสโมลาริตี้ในเลือด มีค่าเป็น 304.6 และ 341.7 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ ตามลำดับ และระดับกลูโคสมีค่าเป็น 10.0 และ 23.7 มิลลิกรัม/เดซิลิตร

นอกจากกลูโคส ปลาสามารถใช้แลคเตตเป็นแหล่งพลังงาน (Soengas et al., 1998) และยังช่วยปรับระดับความเป็นกรด-เบสในเลือด (Whiteley and Taylor, 1993) Woo and Murat (1981) พบว่า เมื่อนำปลาทรายแดง ไปอยู่ในน้ำที่เจือจางจะมีแลคเตตในเลือดลดลง ในขณะที่แลคเตตเพิ่มขึ้นในปลากะพงแดง



รูปที่ 2.2. กลไกการควบคุมออสโมลาริตี้ของคลอไรด์เซลล์ในเหงือกของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังในทะเล เซลล์บริเวณด้านที่ติดกับเลือด (Basolateral) Na^+, K^+, $2Cl^-$ จากเลือดจะเข้าไปในเซลล์ โดยขนส่งร่วมกัน (Na^+/ K^+/ $2Cl^-$ co-transport, 2) จากนั้น Cl^- ที่เหงือกจะขับออกมาสู่น้ำโดยผ่านช่องคลอไรด์ (chloride channel, 1) เซลล์บริเวณด้านที่ติดกับน้ำ (Apical) $3Na^+$ จากเหงือกปั๊มสู่เลือดโดยแลกเปลี่ยนกับ $2K^+$ โดย Na^+/K^+-ATPase (3) บริเวณด้านที่ติดกับเลือด จากนั้น K^+ จากเหงือกกลับไปสู่เลือดทางช่อง K^+ (Potassium channel) บริเวณด้านที่ติดกับเลือด และ Na^+ จะขับออกมาสู่น้ำทางช่องว่างระหว่างเซลล์ (tight junction, 5) ,

หมายเหตุ AC หมายถึง Accessory cell และ CC หมายถึงคลอไรด์เซลล์

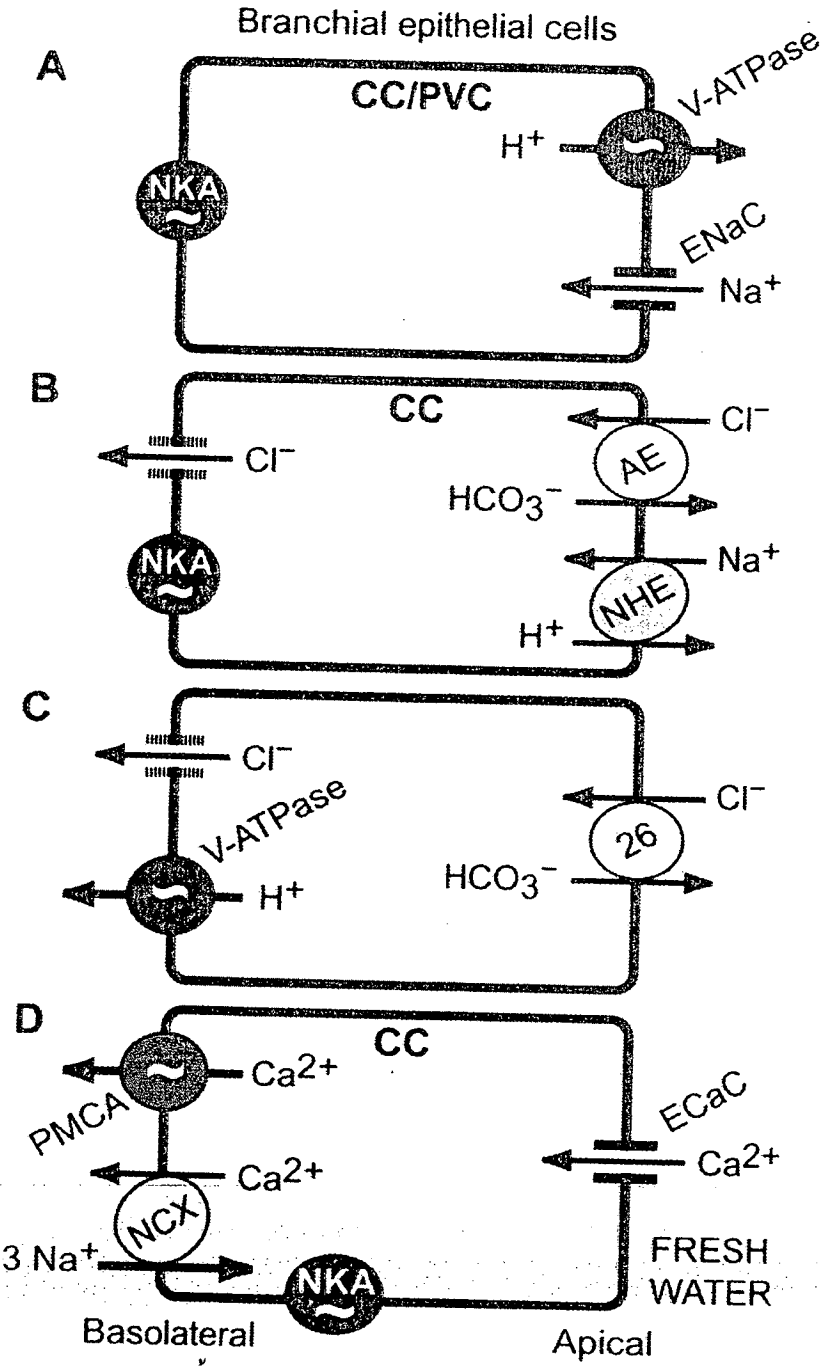
(ที่มา Hirose, et al., 2003)

ความเค็มของสิ่งแวดล้อมภายนอกมีผลต่อเมแทบอลิซึมของโปรตีนและกรดอะมิโนบางชนิด การขับแอมโมเนียออกมาภายนอกเป็นดัชนีบ่งบอก เมแทบอลิซึมของโปรตีน เมื่อนำปลาไปอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีออสโมลาริตี้ต่ำกว่าในเลือดทำให้ระดับโปรตีนในเลือดเพิ่มขึ้นพบในปลาค็อด (cod) และปลากะพงแดง (Sangiao-Alvarellos et

al., 2003; Laiz-Carrion et al., 2005) ระดับโปรตีนไม่มีการเปลี่ยนแปลงในปลากะพงแดง (Woo and Murat, 1981) และลดลงพบในปลากะพงขาว (Kelly and Woo, 1999) ในขณะที่นำปลากะพงแดง จากน้ำทะเลไปยังน้ำที่มีความเค็มสูงกว่า พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสองอย่างคือ ระดับโปรตีนในเลือดสูงขึ้นในวันแรกและลดลงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Sangiao-Alvarellos et al., 2005) ในทางตรงกันข้ามไม่มีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ในปลากะพงดำ (Kelly et al., 1999)

สิ่งมีชีวิตมีกลไกเพื่อความอยู่รอดและเอาชนะสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งเรียกว่าตัวกระตุ้นความเครียด ความเครียดเนื่องจากสิ่งแวดล้อมมีหลายอย่าง เช่น ความเป็นกรดเบสของน้ำ การเคลื่อนย้ายสัตว์ การจับ ออสโมลาริตี้ของน้ำ และ การจัดการเลี้ยง รวมทั้งเชื้อโรคและปรสิต การวิเคราะห์เลือดเป็นการยอมรับในการที่จะตรวจสอบสุขภาพของปลาและเมแทบอลิซึมที่ผิดปกติ ดังนั้นความรู้เรื่องเลือดและลักษณะของเลือดจึงมีความสำคัญในการชี้วัดสภาพทางชีววิทยาและพยาธิสภาพที่เปลี่ยนไป ซึ่งปัจจุบันเป็นที่นิยมศึกษากันมาก (Xiaoyun et al., 2009) การจัดการเลี้ยงเชื้อโรคและปรสิต รวมทั้งความเครียดต่าง ๆ ล้วนชักนำให้เปลี่ยนสภาพทางเคมีเลือด เช่น การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของคอร์ติซอล (cortisol) กลูโคส และ โคเลสเตอร์รอล เป็นการตอบสนองต่อสภาพเครียดเนื่องจากปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำและผลจากการเคลื่อนย้ายปลาไปยังที่ต่าง ๆ (Skjervold et al., 2001). การเปลี่ยนแปลงระดับคอร์ติซอลและกลูโคสในเลือดเป็นเป็นผลเนื่องมาจากการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาทีติก (sympathetic) เมื่อสัตว์อยู่ในสภาพเครียด นอกจากนี้พื้นฐานทางนิเวศเช่น สภาวะของอาหาร ความหนาแน่น ส่งผลต่อเคมีเลือด (Coz-Rakovac et al., 2005) การตอบสนองต่อความเครียดคือ สมองส่วนไฮโปทาลามัส ส่งกระแสประสาทไปยังต่อมหมวกไตให้หลั่งสารแคทีโคลามีน (catecholamine) โดยเฉพาะ เอพิเนพริน (epinephrine) และหลั่งฮอร์โมนไปกระตุ้นต่อมใต้สมอง จากนั้นต่อมใต้สมองหลั่งฮอร์โมนไปที่ต่อมหมวกไตให้สร้างกลูโคคอรติคอยด์ (glucocorticoid) เช่น คอร์ติซอล (cortisol) การตอบสนองของต่อมไร้ท่อทำให้มีการปรับเปลี่ยนเมแทบอลิซึม รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงภายในเลือด เช่น ออสโมไลต์ (osmolyte, solutes) ต่าง ๆ ซึ่งรวมไปถึงความเข้มข้นของกลูโคสและแลคเตต พบว่าคอร์ติซอลมีความสำคัญมากในปลากระดูกแข็ง ทำหน้าที่ควบคุม การสร้างกลูโคส (gluconeogenesis) และสลายไกลโคเจน (glycogenesis) นอกจากนี้ แคทีโคลามีนและกลูโคคอรติคอยด์ ยังทำให้เคมีเลือด

เปลี่ยนแปลง พบว่า การลดฮีมาโตคริตมีสาเหตุมาจากปลามีออสโมลาริตี้เพิ่มขึ้น การลดลงฮีโมโกลบินมีสาเหตุมาจากปลาอยู่ในที่เย็นเกินไป และการหลั่งเอพิเนพรินมากเกินไปทำให้เหงือกเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านน้ำและโซเดียม ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไอออนในเลือด เมื่ออยู่ในสภาพ ไฮเปอร์ออสโมติกหรือ ไฮโปออสโมติก (Diouf et al., 2001) รายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าความเค็มและสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ ในน้ำมีผลต่อ ฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบินและจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลา เช่น Langer et al. (2013) พบว่า ฮีมาโตคริตและ ฮีโมโกลบิน ในปลากาแดงน้ำเค็ม (*Garra gotyla*) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในฤดูใบไม้ผลิและฤดูร้อน ส่วนจำนวนเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นในฤดูฝน Chu et al. (2004) พบว่า ฮีมาโตคริต และ ฮีโมโกลบิน ในปลา กะพงขาว (*Lates calcarifer*) ที่ความเค็ม 5, 25 และ 45 พีพีที มีค่าไม่ต่างกัน (25% และ 8.2 กรัม/กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ) แต่จำนวนเม็ดเลือดแดงที่ความเค็ม 5 พีพีที (4.6×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร) มีมากกว่าที่ความเค็ม 5พีพีที (3.9×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร) และ 45 ppt (3.7×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญ Prodocimo et al. (2008) พบว่าที่ความเค็ม 5 พีพีที ระดับฮีมาโตคริตของปลาปักเป้า *Sphoeroides testudineus* และ *S. greeleyi* มีค่าเป็น 27.9% และ 25.7 % ตามลำดับ ระดับฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในความเค็ม 35 พีพีที โดยมีค่าเป็น 30.5% และ 27.4% ตามลำดับ



รูปที่ 2.3. กลไกการควบคุมออสโมลาริตี้ของคลอไรด์เซลล์ในเหงือกของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังในน้ำจืด A เซลล์บริเวณด้านที่ติดกับน้ำ (Apical) Na^+ เข้าสู่เหงือกทางช่อง Na^+(ENaC) โดยอาศัยแรงขับเคลื่อนจากการปั๊มโปรตอน (V-ATPase) ออกไปที่น้ำ และบริเวณด้านติดกับเลือด (Basolateral) มี Na^+/K^+-ATPase (NKA) ปั๊ม Na^+ เข้าไปในเลือด B). Cl^-ปั๊มเข้าไปในเหงือกโดยแลกเปลี่ยนกับ HCO_3^- (Cl^-/HCO_3^-exchanger, AE). Na^+เข้าไปในเหงือกโดยแลกเปลี่ยนกับ H^+ (Na^+/H^+ exchanger) บริเวณด้านที่ติดกับน้ำ บริเวณด้านที่ติดกับเลือด Cl^- จากเหงือกเข้าสู่น้ำทางช่องคลอไรด์ (chloride channel) และ Na^+เข้าสู่เลือดโดย NKA C) Cl^- เข้าสู่เหงือกโดยแลกเปลี่ยนกับ HCO_3^- โดยตัวแลกเปลี่ยนประจุลบ เพนดริน (26) จากนั้นมีการสร้าง H^+ อย่างรวดเร็ว จากปฏิกริยาระหว่าง น้ำกับคาร์บอนไดออกไซด์โดยเอนไซด์ CA (carbonic anhydrase) ที่เหงือก และปั๊มโปรตอนเข้าสู่เลือด โดย V-ATPase D) Ca^{++} เข้าสู่เหงือกโดยช่อง Ca^{++} (ECaC) บริเวณด้านที่ติดกับเลือด จากนั้น Ca^{++} จะปั๊มเข้าสู่เลือด โดยพลาสมาเมมเบรน Ca^{++}-ATPase. และปั๊มเข้าสู่เลือด โดย Na^+/Ca^{++} exchanger (NCX) ที่ได้มาจาก NKA. (ที่มา Hirose, et al., 2003)

2.3 ผลของความเค็มต่อเมแทบอลิซึม

การวัดอัตราการบริโภคออกซิเจนหรือการหายใจเป็นการประเมินค่าเมแทบอลิซึมโดยรวมของสิ่งมีชีวิต (Randal et al., 2002) การใช้อัตราการบริโภคออกซิเจนของปลาทั้งตัวเพื่อตรวจสอบผลของความเค็มของน้ำต่อสัตว์ได้มีการศึกษามานาน และเป็นที่ยอมรับกันว่า พลังงานที่ต้องการในการอยู่ในความเค็มต่างๆ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการบริโภคออกซิเจน Morgan and Iwanma (1991) รายงานว่าแบบแผนของเมแทบอลิซึมอันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงความเค็มมีอยู่ 5 แบบ ได้แก่ 1) อัตราเมแทบอลิซึมไม่เปลี่ยนแปลง 2) อัตราเมแทบอลิซึมต่ำสุดเมื่ออยู่ในความเค็มที่เป็นไอโซโทนิก (isotonic) และจะสูงขึ้นในความเค็มที่เปลี่ยนไป (hypotonic และ hypertonic) 3) ความเค็มมีความสัมพันธ์กับอัตราเมแทบอลิซึมแบบเชิงเส้น 4) อัตราเมแทบอลิซึมสูงเมื่ออยู่ในน้ำจืดและจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาพไอโซโทนิก และ 5) อัตราเมแทบอลิซึมสูงเมื่ออยู่ในน้ำทะเล และได้รายงานอีกว่า ปลาแซลมอนมีอัตราเมแทบอลิซึมสูงเมื่ออยู่ในความเค็มที่สูงขึ้นและส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และยังพบอีกว่าถิ่นอาศัยของสัตว์น้ำตามสภาพปกติจะมีอัตราเมแทบอลิซึมต่ำสุด พลังงานที่ใช้เกี่ยวกับออสโมเรกูเลชั่นมีความต่างกันแล้วแต่ชนิดของสัตว์ Boef and Payan (2001) พบว่า สัตว์น้ำใช้พลังงานประมาณ 20-68% ของพลังงานทั้งหมดสำหรับการออสโมเรกูเลชั่น นอกจากนี้ความเค็มของน้ำยังมีผลต่อฮอร์โมนและเอนไซม์หลายชนิด (Sangiao-Alvarellos et al., 2007)

Woo and Kelly (1995) ศึกษาผลของความเค็ม 7, 15 และ 35 พีพีที ในปลา กะพงแดง (*Sparus sarba*) พบว่าปลามีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด (0.7 กรัม/วัน) ที่ความเค็ม 15 พีพีที และพบว่าเป็นความเค็มที่อัตราการบริโภคออกซิเจนต่ำสุด (0.2 มิลลิลิตรของออกซิเจน/กรัม/ชั่วโมง) และมีสภาพไอโซโทนิก

Chu et al. (2004). ศึกษาผลของความเค็ม (5, 25 และ 45 พีพีที) ต่ออัตราการบริโภคออกซิเจนของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) พบว่าปลามีอัตราการบริโภคออกซิเจนต่ำสุด ที่ความเค็ม 25 พีพีที (425 มิลลิกรัมของออกซิเจน/กรัม/ชั่วโมง) อัตราการบริโภคออกซิเจนทีความเค็ม 45 พีพีที มีมากกว่าที่ความเค็ม 5 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ

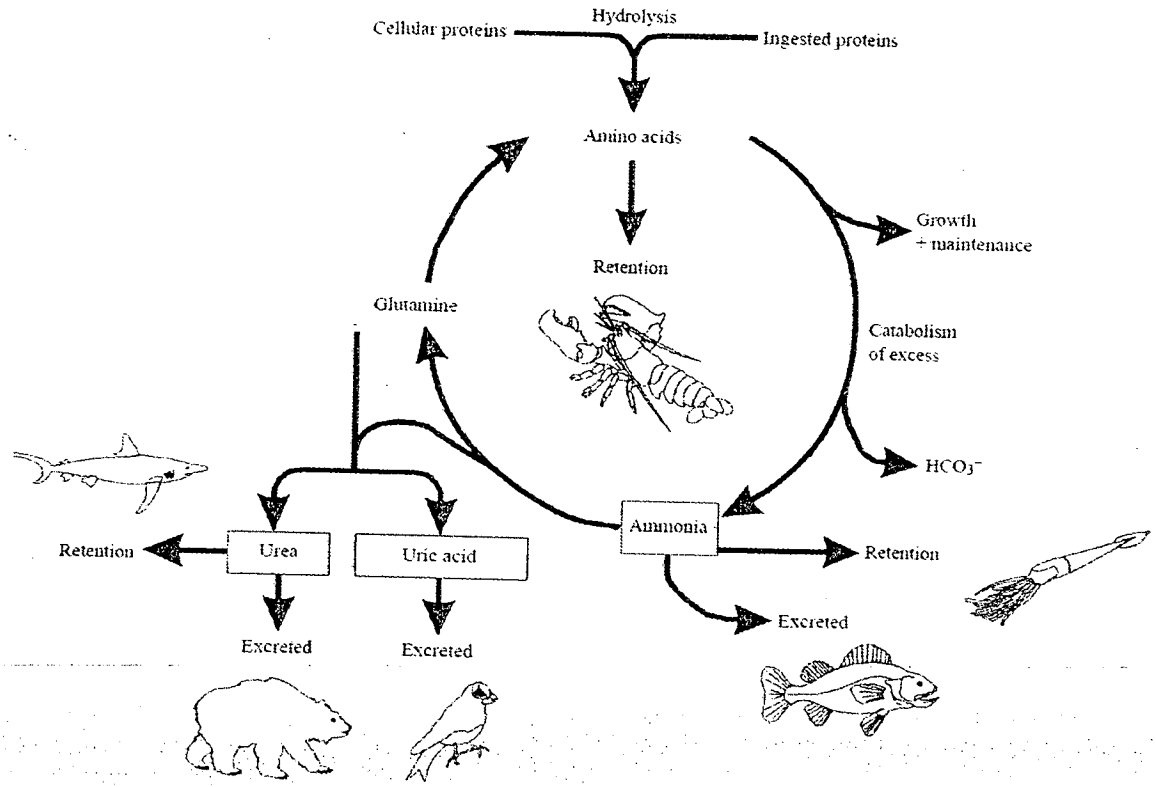
Uliano et al. (2010) ศึกษาผลของอุณหภูมิและความเค็มต่ออัตราการบริโภคออกซิเจนของปลาหางดาบ (*Gambusia affinis*) และปลาม้าลาย (*Danio rerio*) พบว่าอุณหภูมิของน้ำมีผลต่อการบริโภคออกซิเจนของปลา ที่อุณหภูมิต่ำ (20° เซลเซียส)

ความเค็ม 0-35 พีพีที อัตราการบริโภคออกซิเจนของปลาหางดาบ (*Gambusia affinis*)มีค่าระหว่าง 180-280 มิลลิกรัมของออกซิเจน/กิโลกรัม/ชั่วโมง ส่วนอัตราการบริโภคออกซิเจนที่อุณหภูมิสูง (27 °เซลเซียส) มีค่าระหว่าง 200-290 มิลลิกรัมของออกซิเจน/กิโลกรัม/ชั่วโมง อัตราการบริโภคออกซิเจนสูงสุดที่ความเค็ม 0 และ 20 พีพีที ที่อุณหภูมิ 20 และ 27 °เซลเซียส ตามลำดับ อัตราการบริโภคออกซิเจนของปลา ม้าลาย (*Danio rerio*) ที่อุณหภูมิ 20°เซลเซียส มีค่าระหว่าง 300-400 มิลลิกรัมของออกซิเจน/กิโลกรัม/ชั่วโมง ส่วนอัตราการบริโภคออกซิเจนที่อุณหภูมิ 27 °เซลเซียส มีค่าระหว่าง 500-600 มิลลิกรัมของออกซิเจน/กิโลกรัม/ชั่วโมง อัตราการบริโภคออกซิเจนออกสูงสุดที่ความเค็ม 20 และ 10 พีพีที ที่อุณหภูมิ 20° เซลเซียส และ 27 ° เซลเซียส ตามลำดับ

ของเสียจากสารประกอบไนโตรเจนในน้ำจากการเพาะเลี้ยง ได้แก่ แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (ammonia-N), ไนไตรท์-ไนโตรเจน (nitrite-N) และไนเตรต-ไนโตรเจน (nitrate-N) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน หมายถึง แกสแอมโมเนีย (NH_3) และแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ได้มาจากเมแทบอลิซึมของสัตว์ จากการสลายอาหารที่สัตว์กินเข้าไป จัดเป็นสารที่มีพิษมากที่สุดในกลุ่ม สารละลายแอมโมเนีย-ไนโตรเจนจะอยู่ในรูปของสารที่ไม่แตกตัว (NH_3) และสารที่แตกตัว (NH_4^+) NH_3 มีความเป็นพิษมากกว่า NH_4^+ และ NH_3 สามารถแพร่ผ่านชั้นไขมันของเซลล์เหงือกโดยง่าย สัดส่วนของ NH_3 และ NH_4^+ ในน้ำขึ้นอยู่กับ ความเค็ม อุณหภูมิ และ สภาพกรด-เบสของน้ำ แอมโมเนียในน้ำเป็นสาเหตุที่ทำให้สัตว์น้ำตายเนื่องจาก ทำลายเซลล์เหงือก ทำให้ออกซิจนในน้ำน้อยลง และมีผลต่อระบบประสาท เช่น เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของตัวเชื่อมของสมองและเลือด (blood-brain barrier) -ขัดขวางการขนส่งกรดอะมิโน รบกวนการไหลเวียนเลือดสู่สมอง กระตุ้นการหลั่งสารสื่อประสาทช้าลง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กลูตาเมต (glutamate) และแอสปาเตต (aspartate) เป็นสาเหตุของการเปลี่ยนแปลง เซลล์แอสโตรไซต์ (astrocytes) และเซลล์ประสาท นอกจากนี้ NH_4^+ ยังรบกวนการเหนี่ยวนำพลังประสาท โดยการแทนที่ K^+ จากการแลกเปลี่ยนกับ Na^+ จาก Na^+/K^+ exchange (Romano and Zeng., 2007) แอมโมเนียยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต และไขมันทั้งในสมองและเนื้อเยื่ออื่นๆ อีกด้วย (Wiechetek et al., 1979) ของเสียจากสารประกอบไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนีย ยูเรีย

และกรดยูริค การที่จะขับออกส่วนใหญ่เป็นสารประกอบใด ขึ้นอยู่กับ วิวัฒนาการของสัตว์และสิ่งแวดล้อม ดังรูปที่ 2.4

Woo and Kelly (1995) ศึกษาผลของความเค็ม 7, 15 และ 35 พีพีที ในปลา กะพงแดง (*Sparus sarba*) พบว่าอัตราการขับแอมโมเนียของปลาต่ำสุด (15 ไมโครโมล/มิลลิกรัม/ชั่วโมง) ที่ความเค็ม 15 พีพีที



รูปที่ 2.4 เมแทบอลิซึมของสารประกอบไนโตรเจนและการขับออกโดยทั่วไปในสัตว์ ตัวหนังสือในกรอบสี่เหลี่ยมหมายถึง สารประกอบหลักที่ขับออก

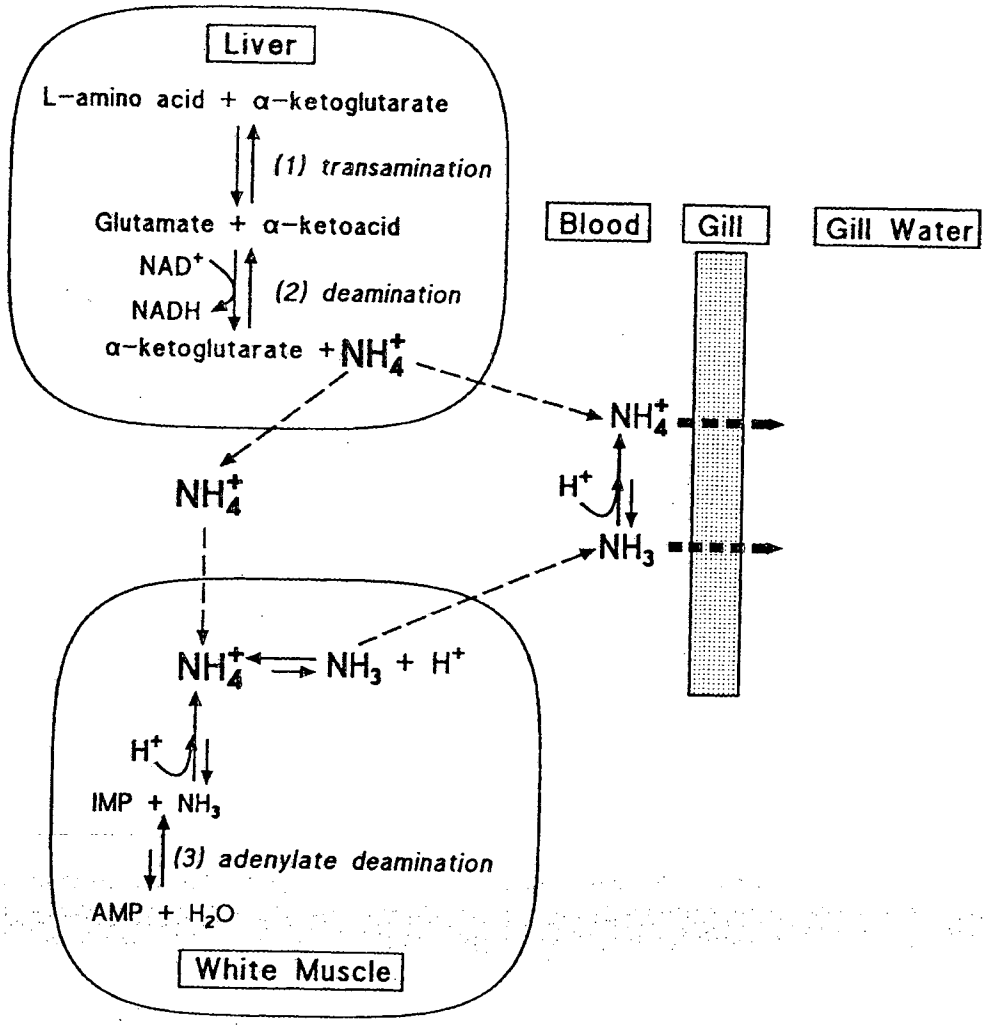
(ที่มา Wright, 1995)

โดยทั่วไปสัตว์น้ำจะมีความทนทานต่อการเพิ่มขึ้นของแอมโมเนียในเลือดมากกว่าสัตว์บก ปลากระดูกแข็งจะมีความเข้มข้นของแอมโมเนียในเลือดระหว่าง 0.05-1 มิลลิโมล/ลิตร ซึ่งแล้วแต่ชนิดของสัตว์ เช่น ระดับ 2 มิลลิโมล/ลิตร ทำให้ปลา arctic char เป็นอัมพาติ (Lumsden et al., 1993) สารประกอบไนโตรเจนที่ปลาขับออกมา ส่วน

ใหญ่เป็นแอมโมเนีย Braun and Perry (2010) พบว่า ปลาแฮ็กแปซิฟิก (*Eptatretus stoutii*) ขับยูเรียประมาณ 30% ขับแอมโมเนียประมาณ 70%.

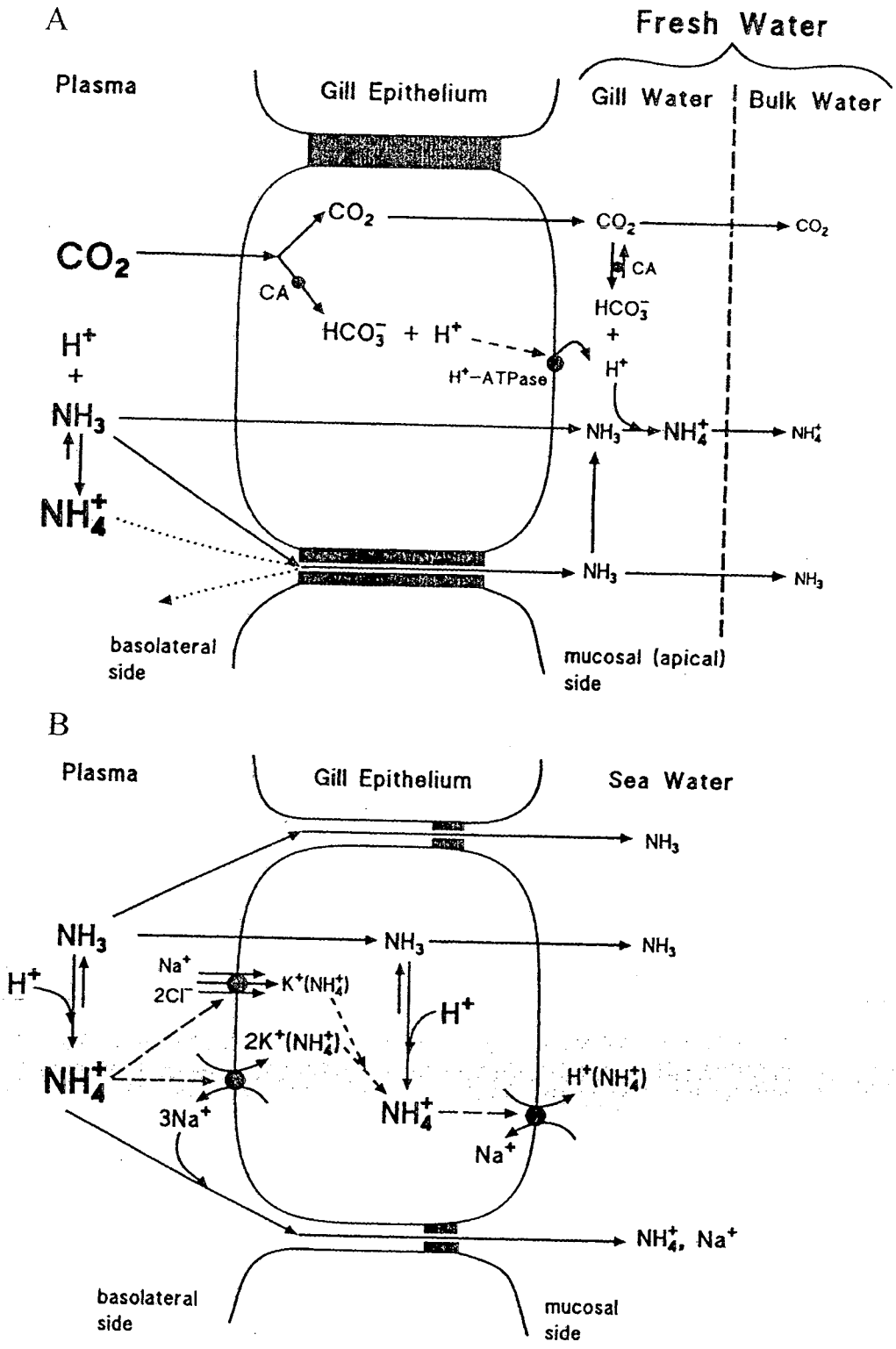
Philips (1969) ศึกษาพลังงานที่ได้จากอาหารของปลาพบว่า ปลาเทราส์ (*Oncorhynchus mykiss*) พลังงานที่ใช้ในแต่ละวันมาจากโปรตีนประมาณ 70% ของอาหารทั้งหมด และ Fiess et al. (2007) พบว่าเมื่อนำปลากระดูกแข็งที่อาศัยในทะเลไปอยู่ในสภาพที่มีความเค็มเพิ่มขึ้น จะมีการสร้างกรดอะมิโน Taurine และ Glycine มากขึ้น เพื่อช่วยรักษาความสมดุลของเซลล์ เช่นเดียวกันกับ Bystrainsky et al. (2007) ที่พบว่าเมื่อนำปลาไปอยู่ในความเค็มสูง ทำให้ความเข้มข้นของกรดอะมิโน Aspartate, Alanin, Glutamine, Leucine, Isoleucine และ Valine ในเลือดลดลง แต่เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้อ แอมโมเนียเป็นผลิตจากแคทาบอลิซึมของกรดอะมิโน และเป็นสารพิษซึ่งสัตว์น้ำต้องขับออก สัตว์จะไม่สะสมแอมโมเนียในร่างกายซึ่งต่างจากคาร์โบไฮเดรตและไขมันที่สะสมเป็นพลังงานสำรอง ประมาณ 40-60% ของสารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดที่สัตว์กินเข้าไปจะขับออกมาในรูปของแอมโมเนีย ภายในเวลา 24 ชั่วโมง (Ip et al., 2004) นอกจากนี้โปรตีนในกล้ามเนื้อเป็นแหล่งของกรดะมิโนสำหรับสร้าง ATP หรือคาร์โบฮัยเดรตในปลาที่อดอาหาร แหล่งสร้างแอมโมเนียในส่วนใหญ่ของปลาคือตับ จากขบวนการทรานส์ดีอะมิเนชั่น (trans-deamination) ปลาจะขับแอมโมเนียผ่านเยื่อเซลล์เหงือกมาสู่น้ำ ในน้ำที่มีแอมโมเนียมากเกินไปจะส่งผลต่อปลาคือ ลดอัตราการเจริญเติบโต ทำลายเหงือก รบกวนสมดุลน้ำและไอออน เปลี่ยนแปลงการควบคุมฮอร์โมน ในที่สุดทำให้ปลาตายได้ (Ip et al., 2001; Person-Le Ruyet et al., 2003; Benli et al., 2008; Hegazi and Hasanein, 2010) นอกจากนี้ Schram et al. (2014) พบว่า ปลา pikeperch (*Sander lucioperca*) ที่เลี้ยงในน้ำที่ระดับแอมโมเนีย 18.9 ไมโครโมล/ลิตร ทำให้ความเข้มข้นไนเตรต (NO_3^-) เพิ่มขึ้นในเลือดมากกว่าสองเท่า (1400 ไมโครโมล/ลิตร) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (มีระดับแอมโมเนียในน้ำ 0.9 ไมโครโมล/ลิตร) เหงือกของสัตว์น้ำทำหน้าที่แลกเปลี่ยนแกสและควบคุมสมดุลน้ำและไอออน เซลล์เหงือกที่ทำหน้าที่ควบคุมการแลกเปลี่ยนไอออน เรียกว่า คลอไรด์เซลล์ (chloride cell) จะมีความหนามากกว่าเซลล์ที่ทำหน้าที่แลกเปลี่ยนแกส นอกจากนี้บริเวณด้านข้างที่ติดกับเลือด (basolateral) ของคลอไรด์เซลล์จะมีเอนไซม์ NKA ซึ่งมีกลไกสำคัญในการขับแอมโมเนีย กล่าวโดยสรุปคือ NKA จะปั๊ม Na^+ จากเหงือกเข้าสู่เลือดแลกเปลี่ยน K^+ จากเลือดเข้าสู่เหงือก ในขณะเดียวกัน NH_4^+ จากเลือด จะแทนที่ K^+ เข้าไปในเหงือก จากนั้น

NH_4^+ ออกจากเหงือกสู่น้ำโดยตัวแลกเปลี่ยนระหว่าง Na^+ และ NH_4^+ (Na^+/NH_4^+exchanger) ในขณะเดียวกัน NH_3 จะออกจากเลือดโดยการแพร่ (diffusion) หรืออาจจะรวมกับ H^+ เป็น NH_4^+ นอกจากนี้ NH_3 สามารถรวมกับ H^+ ในเหงือก (H^+ มาจากการแตกตัวของ H_2CO_3) (รูปที่ 2.5 และ รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.5 การสร้างแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในปลา NH_4^+ สร้างมาจากตับ เริ่มต้นจาก L-amino acid ผ่าน ปฏิกิริยา ทรานส์ดีอะมิเนชั่น จากนั้นเข้าสู่เลือดไปที่เหงือกแล้วขับออกสู่น้ำ หรือจากตับ ไปที่กล้ามเนื้อแล้วแตกตัว เป็น NH_3 แพร่ไปที่เลือด NH_3 จากเลือดอาจจะแพร่สู่น้ำผ่านเหงือก หรือรวมกับ H^+ เป็น NH_4^+ ก่อนที่จะผ่านเหงือกไปยังน้ำ

(ที่มา Wilkie, 1997)



(ที่มา Wilkie, 1997)

รูปที่ 2.6 การขับแอมโมเนียของปลา A). ปลาน้ำจืด NH_3 จากเลือดแพร่เข้าเซลล์เหงือกหรือ tight junction ไปรวมกับ H^+ บริเวณเมือก กลายเป็น NH_4^+ แล้วแพร่สู่น้ำหรือ NH_3 แพร่สู่น้ำโดยตรง

B).ปลาทะเล $NH3^+$ ในเลือด แพร่เข้าสู่น้ำผ่านเหงือก หรือรวมกับ H^+ กลายเป็น NH_4^+ จากนั้น NH_4^+ แพร่สู่เหงือก โดยการแทนที่ K^+ จาก$Na^+/K^+/2Cl^-$ NH_4^+ แพร่เข้าสู่น้ำโดยการแทนที่ H^+ จาก Na^+/H^+ exchanger

อัตราการขับแอมโมเนียของสัตว์ต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิด น้ำหนัก และอุณหภูมิ Leung et al. (1999) ศึกษาผลของอุณหภูมิและน้ำหนักต่อการขับแอมโมเนียของปลากะรัง (*Epinephelus areolatus*) (น้ำหนัก 30-200 กรัม) และปลากะพงขาว (*Lutjanus argentimaculatus*) (น้ำหนัก 40-250 กรัม) พบว่า ปลาทั้งสองชนิด ขับแอมโมเนียเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราการขับแอมโมเนียของปลาขนาดใหญ่ ต่ำกว่าอัตราการขับของปลาขนาดเล็ก จากอุณหภูมิ 15-30 เซลเซียสโดยมีความสัมพันธ์ระหว่าง การขับแอมโมเนีย น้ำหนัก และอุณหภูมิดังนี้

ปลา *E. areolatus*:

$$\text{TAN (mg N kg}^{-1}\text{d}^{-1}) = 21.4 \exp^{0.11t} .W^{-0.43} \ (r^2 = 0.919, n = 60)$$

ปลา *L. argentimaculatus*:

$$\text{TAN (mg N kg}^{-1}\text{d}^{-1}) = 121.5. \exp^{0.12t} .W^{-0.55} \quad (r^2 = 0.931, n = 60.$$

(TAN หมายถึง อัตราการขับแอมโมเนีย, t หมายถึงอุณหภูมิ W หมายถึง น้ำหนักเปียก (กรัม))

Brown and Glavez (2012) พบว่าความเค็มมีผลต่อการสร้างแอมโมเนียและยูเรีย เมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น ตัวอ่อนของปลาคิลลิ (*Fundulus grandis*) จะสร้างแอมโมเนียเพิ่มขึ้นเนื่องจาก มีการเปลี่ยนยูเรียมาเป็นแอมโมเนีย

2.4. ศักยภาพการเพาะเลี้ยงปลากะรังเสือ

ศักยภาพการเพาะเลี้ยง ในการศึกษาครั้งนี้ หมายถึง การเพาะเลี้ยงปลากะรังเสือที่ทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตสูง อัตราการแลกเนื้อต่ำ ในด้านการเพาะเลี้ยงประกอบด้วย การเลือกสถานที่ที่เหมาะสม ได้แก่ ใกล้กับน้ำทะเลที่ใสสะอาด ความเค็มสูงตลอดทั้งปี (30-32 พีพีที) มีแหล่งน้ำจืดสำหรับปรับความเค็มในการเพาะพันธุ์ปลา ล้างอุปกรณ์ ใช้อุปโภคบริโภค มีกระแสไฟฟ้าสำหรับสูบน้ำและเครื่องให้อากาศ อยู่ไกลจากแหล่งที่ทำให้น้ำเสีย ระบบการเลี้ยงที่ดี การเลี้ยงปลากะรังเพื่อเป็นพ่อแม่พันธ์ (น้ำหนักประมาณ 3.5-7 กิโลกรัม อายุ 3 ปีขึ้นไป) จะเลี้ยงในกระชัง การรวบรวมไข่และการฟักไข่ การอนุบาลลูกปลาวัยอ่อน การอนุบาลลูกปลาวัยรุ่น (นิเวศน์และคณะ, 2536)

ปัจจุบันสถาบันวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง ได้พยายามเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ พัฒนาคุณภาพของอาหารโดยเฉพาะในช่วงลูกปลาวัยอ่อน พัฒนาเทคนิคการ

เพาะเลี้ยงเช่น อัตราการให้อากาศ ความหนาแน่นของปลาที่เลี้ยง แต่มีปัญหาในการเพาะเลี้ยงคือ

2.1 โรคและปรสิต เช่น ปลิงใส (Monogenea), *Dactylogyrus*, *Benedenia*, พยาธิหัวหนาม (*Acanthocephalus*), นอกจากนี้พบพยาธิในกลุ่มครัสเตเซียน (Crustacean) ซึ่งเป็นอันตรายอย่างมาก เช่น เห็บน้ำ (parasitic copepod) เหาน้ำ (parasitic isopod) และเห็บปลา (*Gnsthia*) โดยเฉพาะเห็บปลา เกาะตามผิวตัวและดูดเลือดที่เหงือก เห็บปลาเจริญเติบโตเร็ว เคลื่อนที่และดูดเลือดได้เร็วมาก ทำให้ปลาอ่อนแอ กินอาหารน้อย ในที่สุดปลาจะตายเป็นจำนวนมาก (สมปองและภานุ, 2537).

2.2 ลูกปลาช็อก ตกใจ ตายง่าย

2.3 หาพันธุ์ได้ยาก เนื่องจากการขยายพันธุ์ยังไม่ประสบผลสำเร็จ พันธุ์ปลาในแหล่งน้ำลดลงและมีราคาแพง

2.4 อัตราการอยู่รอดต่ำ ทั้งในช่วงอนุบาลลูกปลา หรือช่วงที่นำลูกปลาจากแหล่งน้ำจากธรรมชาติมาเลี้ยง ซึ่งอาจจะเนื่องจากลูกปลาบอบช้ำ มีบาดแผล

2.5 ปัญหาเรื่องสถานที่เลี้ยง เช่นบริเวณที่มีความเค็มเหมาะสม

2.4.1 ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโต

การพัฒนาการและเจริญเติบโตของสัตว์รวมไปถึงปลาควบคุมโดยปัจจัยภายในได้แก่ ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบต่อมไร้ท่อ รวมถึงนิวโรฮอร์โมน ในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังปัจจัยของสิ่งแวดล้อมภายนอกมีผลต่อการเจริญเติบโตอย่างมาก ผลของความเค็มต่อการพัฒนาการและการเจริญเติบโตของปลามีการศึกษาอย่างมาก เช่นการปฏิสนธิ ปริมาตรของถุงไข่ การสร้างเอมบริโอ การพัฒนาการถุงลม การเจริญของตัวอ่อน สำหรับในปลาขนาดใหญ่ความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตเช่นเดียวกัน โดยจะมีผลต่อ 1) เมแทบอลิซึม 2) การกินอาหาร 3) อัตราการแลกเนื้อ และ 4) กระตุ้นฮอร์โมน เช่น GH, ACTH, Cortisol และ TSH เป็นต้น ปลาส่วนใหญ่มักจะเจริญเติบโตได้ดีที่ความเค็ม 8-20 พีพีที (Boeuf and Payan, 2001)

ดังได้กล่าวมาแล้วว่าปลาที่ทนต่อความเค็มในช่วงกว้างมีความสามารถที่จะปรับออสโมลาริตี้ในเลือดให้พอเหมาะที่จะอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป นั่นคือสัตว์

จะต้องใช้พลังงานส่วนหนึ่งในการออสโมเรกูเลชั่น หากใช้พลังงานในส่วนนี้มากเกินไป จะทำให้พลังงานที่ใช้ในกิจการอื่นๆรวมทั้งการเจริญเติบโตน้อยลง ปลาที่อาศัยในปะการังหลายชนิดหลายชนิดในระยะจูวีไนส์จะอาศัยตามปากแม่น้ำ หรือน้ำกร่อย ที่มีความเค็มต่ำ จนกระทั่งตัวเต็มวัยจะไปอยู่บริเวณปะการัง เช่นปลากะรังดำ (*Mycteroperca microlepis*) (Ross and Moser, 1995), ปลากะรัง Nassau grouper (*Epinephelus striatus*) และปลา gray snapper (*Lutjanus griseus*) (Allman and Grimes, 2002), อุณหภูมิของน้ำเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ดังนั้นการที่สัตว์อพยพไปที่ใหม่ อาจจะเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิที่เหมาะสม แหล่งอาหารและปัจจัยอื่น ๆ ซึ่งเป็นสาเหตุการอพยพ Wuenschel (2004) ศึกษาผลของอุณหภูมิ (18-33° เซลเซียส) และความเค็ม (5-45 พีพีที) ต่อการเจริญเติบโตของปลา gray snapper (*Lutjanus griseus*) ระยะจูวีไนส์ (ความยาว 25-50 มิลลิเมตร) พบว่า อัตราการเจริญจำเพาะ เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและความเค็มอย่างมีนัยสำคัญ (เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 8% ถึง 14.7% ของน้ำหนักตัวต่อวัน) โดยมีความสัมพันธ์ระหว่าง อัตราการเจริญจำเพาะ อุณหภูมิ และความเค็มดังนี้

$$SGR = -27.95+1.96*T-0.021*T^2-0.039*S+0.00080*S^2+0.000407*T*S$$

(SGR หมายถึง อัตราการเจริญจำเพาะ มีหน่วยเป็น %น้ำหนักต่อวัน, T หมายถึงอุณหภูมิ มีหน่วยเป็น° เซลเซียส และ S หมายถึงความเค็มมีหน่วยเป็น พีพีที)

Handeland et al. (2008) พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของปลา แซลมอนแอตแลนติก (*Salmo salar*) มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักปลาที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยมีสมการความสัมพันธ์ดังนี้

ที่ อุณหภูมิ 6°เซลเซียส $SGR = 0.32+0.004W$, $r^2 = 0.021$, $P<0.001$

ที่ อุณหภูมิ 10°เซลเซียส $SGR = 0.253+0.006W$, $r^2 = 0.60$, $P<0.001$

ที่ อุณหภูมิ 14°เซลเซียส $SGR = 0.755+0.004W$, $r^2 = 0.40$, $P<0.001$

ที่ อุณหภูมิ 18°เซลเซียส SGR = 0.135+0.007W, r^2 = 0.57, P<0.001

(SGR หมายถึง อัตราการเจริญจำเพาะ มีหน่วยเป็น %น้ำหนักต่อวัน, W หมายถึง น้ำหนัก มีหน่วยเป็นกรัม)

โดยทั่วไปแล้วถิ่นอาศัยของสัตว์มักจะเป็นบริเวณที่เจริญเติบโตได้ดี เช่น Woo and Wu (1982) รายงานว่า ปลากะรังแดง (*Epinephelus akaara*) และ Caberoy and Quiniti (2000) รายงานว่า ปลากะรังดอกแดง (*E. coioides*) เป็นปลาที่ทนต่อความเค็มในช่วงกว้างอย่างมาก Chua and Teng (1980) พบว่า ปลากะรัง *E. salmoides* เจริญได้ดีในความเค็มที่ต่ำกว่าที่พบในธรรมชาติ สอดคล้องกับการทดลองของ Boeuf and Payan (2001) ศึกษาปลาทะเล 21 ชนิด พบว่ามีเพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในน้ำทะเล ส่วนใหญ่ส่วนใหญ่จะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในน้ำกร่อยที่มีความเค็มต่ำกว่าที่พบตามธรรมชาติ Peduel and Ron (2003) พบว่าปลากะรังขาว (*E. aeneus*) มักอาศัยในทะเลเมดิเตอร์เรเนียนที่มีความเค็มประมาณ 35 พีพีที แต่เมื่อนำปลาระยะจูวีไนส์ (น้ำหนักประมาณ 1.7 กรัม) มาอยู่ในน้ำที่มีความเค็ม 4 พีพีที สามารถอยู่รอด 100% และมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) อัตราการเจริญจำเพาะ น้ำหนักสุดท้ายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับที่เลี้ยงในความเค็ม 43 พีพีที ตามธรรมชาติพบปลาช่อนทะเล (*Rachycentron canadum*) ในน้ำที่มีความเค็ม 22.5-44.5พีพีที (Shaffer and Nakamura, 1989) Resley et al. (2006) ได้ทดลองเลี้ยงจูวีไนส์ของปลาชนิดนี้ที่ความเค็ม 5, 15 และ 30 พีพีที พบว่าปลาที่เลี้ยงในความเค็ม 5 พีพีที มีน้ำหนักสุดท้ายและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมากกว่าปลาที่เลี้ยงในความเค็ม 15 และ 30 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องตัวอ่อนของปลากะพงแดง (*Spadus aurata*) ที่เจริญเติบโตได้ดีในความเค็ม 12 พีพีที เมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเค็ม 6 และ 38 พีพีที (Laiz-Carrion et al., 2005) อย่างไรก็ตามปลาบางชนิด เช่น ปลาบั้ง (*Pagrus pagrus*) ตามธรรมชาติพบบริเวณน้ำลึกหรือก้นน้ำ (18-185 เมตร) ความเค็ม (24 และ 34 พีพีที) ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาในระยะตัวอ่อน (0.19 มิลิกรัม) แต่จะมีผลต่อการอยู่รอด (ปลาที่เลี้ยงในความเค็ม 24 พีพีที อยู่รอดมากกว่าปลาที่เลี้ยงในความเค็ม 34 พีพีที) (Ostrowski et al., 2011)

Fielder et al. (2005) ทดลองเลี้ยงปลา กะพงแดง (*Pagrus auratus*) ระยะตัวอ่อน (ความยาวเฉลี่ย มิลลิเมตร) ในความเค็ม 5 พีพีที, 10 พีพีที, 15 พีพีที, 20 พีพีที, 25 พีพีที,

30 พีพีที, 35 พีพีที, และ 45 พีพีที พบว่าอยู่รอดได้ ตั้งแต่ 10-45 พีพีที และพบว่าที่ความเค็ม 20 พีพีที มีอัตราการอยู่รอดสูง (33%) และอัตราการเจริญเติบโตสูง (0.4 มิลลิเมตรต่อวัน) มากกว่าเลี้ยงที่ความเค็มอื่นๆ

ความเค็มมีผลต่อการใช้ไข่แดงและการเจริญของตัวอ่อนและการอยู่รอด อันเป็นผลเนื่องจากการใช้พลังงานในการออสโมเรกูเลชั่น ความเค็มยังมีผลต่อการลอยตัวของไข่และตัวอ่อน ซึ่งมีผลต่อการขยายตัวของถุงลม เป็นสาเหตุทำให้ปลาตาย ลดการเจริญเติบโตของตัวอ่อน และโครงร่างของกระดูกเปลี่ยนไป พบว่าการสร้างแคลคูไล ($Ca_3(PO_4)_2$) ที่ผิดปกติมีความสัมพันธ์กับการไม่ทำงานของถุงลม Kamala and Mairb (2005) ศึกษาความทนทานของปลานิลต่อความเค็มระหว่าง 0-30 พีพีที โดยใช้ปลานิล *Oreochromis niloticus, O. mossambicus* และลูกผสมระหว่างปลาสองชนิดนี้ พบว่าน้ำหนักปลานิลเพิ่มขึ้น (weight grain) สัมพันธ์กับความเค็มที่เพิ่มขึ้นมากกว่าความสัมพันธ์ของอัตราการแลกเนื้อ (FCR) Niklitschek and Secor (2009) พบว่า ปลาแอตแลนติกสเตอรีเจียน (*Acipenser oxyrinchus*) ระยะจูวีไนส์ มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่ความเค็ม 8-15 พีพีที อัตราการกินอาหารของปลาระยะตัวเต็มวัยขนาด 6-48 กรัม และ 100-300 กรัม สูงสุดที่ความเค็ม 15 พีพีที และ 20 พีพีที ตามลำดับ

Brown and Glavez (2012) ศึกษาผลของความเค็ม (0.4, 7, 15, และ30 พีพีที) ต่อการพัฒนาตัวอ่อนของปลา Gulf Killifish (*Fundulus grandis*) พบว่าความเค็มเพิ่มขึ้น การพัฒนาตัวอ่อนช้าลง ขนาดของตัวอ่อนเมื่อแรกฟักที่ความเค็ม 15 พีพีที มีค่าต่ำสุด (6.12 มิลลิเมตร) ส่วนที่ความเค็มอื่น ๆ ความยาวไม่ต่างกัน

Overton et al. (2008) ศึกษาผลของความเค็ม (0, 4, 8 และ 10 พีพีที) ต่อการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ และการอยู่รอดของปลากะพงยุโรป (*Perca fluviatilis*) พบว่าอัตราการเจริญจำเพาะของปลาลดลงเมื่อความเค็มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามความเค็มระหว่าง 0-8 พีพีที ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อสูงอย่างมีนัยสำคัญที่ความเค็ม 10 พีพีที. อย่างไรก็ตาม ความเค็มระหว่าง 0-8 พีพีที ไม่มีผลต่อการแลกเนื้อของปลาขนาดเล็กและน้ำหนักปลาต่ำสุดเมื่ออยู่ในความเค็ม 10 พีพีที

Zhao et al. (2013) ศึกษาออสโมเรกูเลชั่นของปลาสลิดหินจุดแดง (*Siganus guttatus*) ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการกินอาหารพบว่า ปลาที่เลี้ยงในความเค็ม10 พีพีที (ออสโมลาริตี้ของเลือด 408 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ) มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงกว่าปลาที่เลี้ยงในความเค็ม 5 พีพีที (ออสโมลาริตี้ของเลือด 404 มิลลิ

ออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ), ความเค็ม 20 พีพีที (ออสโมลาริตี้ของเลือด 420 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ) และความเค็ม 30 พีพีที (ออสโมลาริตี้ของเลือด 430 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ) อย่างมีนัยสำคัญ ในทำนองเดียวกันน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ที่ความเค็ม 10 พีพีที มีค่ามากกว่าที่ความเค็ม 5, 20 และ 30 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม อัตราการกินอาหารที่ 10 พีพีที มีค่าต่ำกว่า ที่ความเค็ม 5 พีพีที ถึงแม้นว่าจะมีค่าสูงกว่าที่ความเค็ม 30 พีพีที. อัตราการกินอาหารที่ความเค็ม 10 และ 20 พีพีที มีค่าไม่ต่างกัน

Qiang et al. (2013) ศึกษาผลของความเค็ม ต่อออสโมลาริตี้ และการเจริญเติบโตของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่า ที่ความเค็ม 0, 10 และ 20 พีพีที ออสโมลาริตี้ของเลือดมีค่าเป็น 358.94, 364.51 และ 438.22 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ) ตามลำดับ และมีอัตราการเจริญจำเพาะ 1.85, 2.01 และ 1.03 เปอร์เซ็นต์/วัน. ตามลำดับ

การศึกษาผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของปลากะรังเสือมีอยู่จำกัด James (1998) ศึกษาการเจริญของปลากะรังเสือและปลากะรังสีเขม่า (*Epinephelus. polyphekadion*)ในทะเลที่มีความเค็มสูง (ทะเลแดง) พบว่าปลากะรังเสือ มีอัตราการเจริญเติบโตและน้ำหนักสุดท้ายมากกว่าปลา *E. polyphekadion* อย่างมีนัยสำคัญ Lopez et al. (2004). รายงานว่า ปลากะรัง Leopard grouper (*Mycteroperca rosacea*) ฟักไข่ที่ความเค็ม 8-56 พีพีที แต่อัตราการฟักสูงสุด ที่ความเค็ม 32 พีพีที (80%) อัตราการอยู่รอดของตัวอ่อนสูงสุดที่ความเค็ม 10 พีพีที นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการเจริญเติบโต (ความยาวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน) ที่ความเค็ม 10-40 พีพีที มีค่าไม่ต่างกัน Oedjoe et al. (2013) พบว่า ปลากะรังเสือที่เลี้ยงในระบบน้ำไหลที่ความเร็ว 1 เมตร/วินาที มีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าปลาที่เลี้ยงในความเร็ว 1.25 และ 1.50 เมตร/วินาที อย่างมีนัยสำคัญ Cnaani et al. (2012) พบว่า จูวีไนส์ปลากะรังขาว (*E. aeneus*) (ขนาด 3.1 กรัม) สามารถอยู่ในน้ำที่มีความเค็มต่ำ (3 พีพีที) หากเพิ่มเกลือ (NaCl) ปริมาณ 3% ของน้ำหนักอาหารทั้งหมด) ทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการแลกเนื้อดีกว่าที่เลี้ยงในความเค็ม 20 พีพีที 25% และ 33% ตามลำดับ