

ระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบ พฤติกรรมการสลบ และการฟื้นสลบในปลาบึก (*Pangasianodon gigas*) ที่ใช้น้ำมันกานพลู และไตรเคน มีเทนซัลโฟเนต

อัญชญา สงแก้ว¹ ชมพร โชคนุญมงคล¹ รัชต์ ชาติติยะ² ภูริท วังเสถียร²
เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน³ และสุรชัย พิภูสณกุล^{2*}

¹นักศึกษาระดับปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²สาขาวิชาคลินิกสัตว์บก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

*ผู้เขียนผู้รับผิดชอบบทความ โทรสาร 053-274710, E-mail: s.pikul@chiangmai.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาและพฤติกรรมการสลบและการฟื้นสลบระหว่างน้ำมันกานพลู (clove oil) กับสารไตรเคน มีเทนซัลโฟเนต (tricaine methanesulfonate; MS-222) ในปลาบึก (*Pangasianodon gigas*) จำนวน 60 ตัว โดยแบ่งแบบสุ่มออกเป็น 6 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ใช้น้ำมันกานพลูในขนาด 25, 50 และ 100 มก./ลิตร ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ 4, 5 และ 6 ใช้ MS-222 ในขนาด 25, 50 และ 100 มก./ลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบที่ระดับ 3 เพลน 2 ของกลุ่มที่ 1 (8.02 ± 1.76 นาที) กลุ่มที่ 2 (3.03 ± 0.715 นาที) และกลุ่มที่ 3 (1.49 ± 0.134 นาที) ซึ่งจะใช้เวลาอันน้อยลงเมื่อขนาดของน้ำมันกานพลูสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในกลุ่ม MS-222 พบว่ากลุ่มที่ 6 เป็นกลุ่มเดียวที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสลบสลบถึงระดับ 3 เพลน 2 (16.72 ± 2.51 นาที) ส่วนระยะเวลาที่ใช้ในการฟื้นสลบของกลุ่มที่ 1 (4.28 ± 0.84 นาที) กลุ่มที่ 2 (6.52 ± 3.519 นาที) และกลุ่มที่ 3 (11.63 ± 1.66 นาที) ซึ่งจะใช้เวลามากขึ้นเมื่อขนาดของน้ำมันกานพลูสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพฤติกรรมในการสลบของกลุ่มน้ำมันกานพลูปลาบึกทดลองจะแสดงอาการกระวนกระวายมากกว่ากลุ่ม MS-222 ในกลุ่มน้ำมันกานพลู ปลาบึกทดลองที่ได้รับขนาดของยาสูงจะมีระยะเวลาการฟื้นสลบที่นานกว่า

คำสำคัญ: การสลบ การฟื้นสลบ ปลาบึก น้ำมันกานพลู ไตรเคน มีเทนซัลโฟเนต

บทนำ

การจับบังคับปลามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากปลาเป็นสัตว์ที่ดิ้นหนีได้ง่ายทำให้การควบคุมโดยใช้มือมีความยุ่งยากและต้องอาศัยความชำนาญ ดังนั้นการจับบังคับปลาอย่างเหมาะสมจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ (Ross and Ross, 1999) ซึ่งการจับบังคับโดยการใส่ยาสลบมีข้อดีกว่าการจับบังคับด้วยมือหรืออุปกรณ์ต่างๆ ก็คือช่วยลดการบาดเจ็บและความเครียดซึ่งจะส่งผลต่อสุขภาพปลาและผลผลิตได้ รวมทั้งยังช่วยประหยัดเวลาในการจัดการอีกด้วย (Ross, 2001; Stoskopf, 1993; Cooke *et al.*, 2004) ยาสลบในปลาเมื่ออยู่หลายชนิดแตกต่างกันที่ประสิทธิภาพของยาสลบ วิธีใช้ ผลข้างเคียงและราคา เป็นต้น (Mylonas *et al.*, 2005; Pirhonen and Schreck, 2003) สารไตรเคน มีเทนซัลโฟเนต (Tricaine methanesulfonate; MS-222) มีลักษณะเป็นผงสีขาว ละลายในน้ำได้ดี มีความปลอดภัยสูงทำให้ปลาเข้าสู่ระยะการสลบและฟื้นสลบได้เร็ว (Ross, 1999; Treves-Brown, 2000) และเป็นยาสลบที่ยอมรับจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาให้ใช้ในปลาสำหรับการบริโภคน้ำ (Ross, 2001; Stoskopf, 1993) ส่วนน้ำมันกานพลู (clove oil) สกัดมาจาก ดอก ลำต้น และใบของต้นกานพลู (*Eugenia aromatica* or *caryophyllata*) มีลักษณะเป็นน้ำมันเหลวสีเหลืองใส มีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ ยูจีนอล (eugenol) ราคาถูก และใช้กันอย่างแพร่หลายในต่างประเทศ (Mylonas *et al.*, 2005; Pirhonen and Schreck, 2003)

เมื่อให้ยาสลบลงในน้ำปลาจะแสดงอาการสลบ โดยแบ่งออกเป็น 4 ระดับ คือ ระดับที่ 1 เพลน 1 (light sedation) ปลายังตอบสนองต่อการมองเห็นและการสัมผัส หายใจปกติและทรงตัวปกติระดับที่ 1 เพลน 2 (light narcosis) ปลายังมีการตื่นตัว หายใจเร็ว เริ่มสูญเสียการทรงตัวแต่ยังพยายามทรงตัว ระดับที่ 2 (deep narcosis) ปลาเริ่มหายใจลดลง เริ่มสูญเสียการทรงตัว กล้ามเนื้อเริ่มหย่อน ตอบสนองต่อการสัมผัสหรือการเคลื่อนไหวที่รุนแรง ระดับที่ 3 เพลน 1 (light anesthesia) กล้ามเนื้อหย่อน การหายใจลดลง ระดับที่ 3 เพลน 2 (surgical anesthesia) ไม่มีการตอบสนองต่างๆ การหายใจขามาก อัตราการเต้นของหัวใจช้า ระดับที่ 4 (medullary collapse) ไม่พบการเคลื่อนไหวของแผ่นปิดเหงือก และหัวใจหยุดทำงาน (Stoskopf, 1993) โดยทั่วไปการสลบปลามักทำเพื่อลดความเครียดในขณะขนส่ง หรือการสลบที่ลึกขึ้น (ในระดับ 3 เพลน 2) เพื่อใช้ในการทำงานที่ต้องใช้เวลานาน เช่น การเก็บเลือด การเก็บตัวอย่าง หรือการผสมเทียม เป็นต้น ปลาแต่ละชนิดจะมีการตอบสนองต่อชนิดและขนาดของยาสลบที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอกตัวปลา เช่น ในปลาคาร์พ (koi; *Cyprinus carpio koi*) ต้องใช้น้ำมันกานพลูขนาด 25 - 100 มก./ลิตร แต่ในปลากดอเมริกั้น (channel catfish; *Ictalurus punctatus*) ต้องใช้ขนาด 100 - 150 มก./ลิตร (Ross, 2001)

ปลาบึกเป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ดขนาดใหญ่ที่สุดในโลก ซึ่งในประเทศไทยพบได้ในแม่น้ำโขง ปลาบึกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pangasianodon giga* ชื่อสามัญ คือ Hung fish หรือ Mekong giant catfish แต่ปัจจุบันปลาบึกในธรรมชาติมีลดน้อยลง เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการเจริญพันธุ์นานและได้รับความนิยมในการบริโภคสูง จึงทำให้มีการศึกษาวิจัยเพื่อการอนุรักษ์มากขึ้น (เกรียงศักดิ์, 2543) ดังนั้นการจับบังคับปลาบึกที่เหมาะสมจึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง โดยการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาระยะเวลาพฤติกรรมการสลบ และการฟื้นสลบในปลาบึก (*Pangasianodon gigas*) ที่ได้รับยาสลบ น้ำมันกานพลู และสารไตรเคน มีเทนซัลโฟเนตในขนาดต่างๆกัน เพื่อจะเป็นประโยชน์ในการพิจารณา ชนิดและขนาดของยาสลบในการสลบปลาบึกที่เหมาะสมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารเคมี

น้ำมันกานพลูที่มีสารยูจีนอล (eugenol) อยู่ 86 % (บริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด) ก่อนทำการทดลองนำไปผสมกับตัวทำละลาย (95% เอทานอล) ในอัตราส่วน 1:9 และสารไตรเคน มีเทนซัลโฟเนต (Sigma) นำไปผสมกับโซเดียม ไบคาร์บอเนตในอัตราส่วน 1:1 เพื่อลดสภาวะเป็นกรด (acidosis) ของสารไตรเคน มีเทนซัลโฟเนตหลังจากละลายลงในน้ำ ก่อนทำการทดลอง (Stoskopf, 1993)

การเตรียมสัตว์ทดลอง

ปลาบึก (*Pangasianodon gigas*) คละเพศ จากบ่อเพาะเลี้ยงปลาบึก ของคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จำนวน 60 ตัว โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 485.5 ± 118.11 กรัม และมีความยาวมาตรฐาน (standard length) เฉลี่ย 38.3 ± 3.55 เซนติเมตร นำมาสุ่มแบบสมบรูณ์ออกเป็น 6 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว โดยแต่ละกลุ่มจะเลี้ยงในกระชังขนาด 3×3 เมตร ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปลอยน้ำประมาณ 5% ของน้ำหนักตัว (เกรียงศักดิ์, 2543) วันละ 2 ครั้ง นาน 2 สัปดาห์ ก่อนการทดลอง

วิธีการทดลอง

การศึกษาระยะเวลาการสลบและการตอบสนอง

นำปลาทดลองทีละตัวไปอยู่ในบ่อสลบ (induction tank) ซึ่งมีน้ำสะอาดที่ผ่านการตรวจคุณภาพน้ำ (ไม่ได้แสดงผลในรายงาน) โดยจะมีบ่อสลบที่จะใส่ยาสลบอยู่จำนวน 6 บ่อ ดังนี้ กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ใส่น้ำมันกานพลูขนาด 25 มก./ลิตร, 50 มก./ลิตร และ 100 มก./ลิตร ตามลำดับ กลุ่มที่ 4, 5 และ 6 ใช้ MS-222 ขนาด 25 มก./ลิตร, 50 มก./ลิตร และ 100 มก./ลิตร ตามลำดับ เมื่อนำปลาทดลองลงในบ่อสลบจะบันทึกผลการทดลองดังนี้ คือ จำนวนครั้งของการเปิด-ปิดแผ่นปิดห้อง การว่ายน้ำและการทรงตัว และการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอก บันทึกระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบ (induction time) เป็นนาที คือ ระยะเวลาตั้งแต่ย้ายปลาลงถึงสลบจนกระทั่งปลาอยู่ในสภาวะสลบที่ระดับ 3 เพลน 2 (ตรวจสอบโดยการหนีบโคนครีบอกด้วยปากคีบ ปลาไม่มีอัตราการหายใจลดลง และนอนนิ่งอยู่ก้นบ่อ) (Stoskopf, 1993) หากปลาทดลองไม่เข้าสู่สภาวะสลบ ระดับ 3 เพลน 2 ภายใน 20 นาที จะถือว่าปลาไม่สามารถเข้าสู่สภาวะสลบได้ และจะนำปลาลงสู่ถังฟื้นสลบทันที

การศึกษาระยะเวลาการฟื้นสลบและการตอบสนอง

นำปลาทดลองที่สลบอยู่ในระดับ 3 เพลน 2 ลงสู่บ่อฟื้นสลบ (recovery tank) ที่มีน้ำสะอาดและออกซิเจนอยู่ สังเกตและบันทึกผลการทดลองในการฟื้นสลบ ดังนี้ จำนวนครั้งของการเปิด-ปิดแผ่นปิดห้อง การว่ายน้ำและการทรงตัว และการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอก บันทึกระยะเวลาการฟื้นสลบ (recovery time) เป็นนาที คือ ระยะเวลาตั้งแต่ย้ายปลาลงถึงฟื้นสลบจนกระทั่งปลาอยู่ในสภาวะปกติ

(ตรวจสอบโดยปลาทดลองอยู่ในสภาวะที่สามารถทรงตัวและว่ายน้ำได้ตามปกติ)

การคำนวณทางสถิติ

เปรียบเทียบระยะเวลาในการสลบและการฟื้นสลบ โดยวิธี one-way Analysis of Variance (ANOVA); LSD ($P < 0.05$)

ผลการศึกษา

ระยะเวลาการสลบและพฤติกรรมการตอบสนอง

พบว่าระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบที่ระดับ 3 เพลน 2 ของกลุ่มน้ำมันกานพลู จะใช้เวลาสั้นที่สุดเมื่อให้ในขนาดที่สูง โดยในขนาด 25 มก./ลิตร (8.02 ± 1.76 นาที) ใช้ระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบเฉลี่ยนานกว่ากลุ่มขนาด 50 มก./ลิตร (3.03 ± 0.715 นาที) และขนาด 100 มก./ลิตร (1.49 ± 0.20 นาที) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และกลุ่มขนาด 50 มก./ลิตร มีระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบเฉลี่ยนานกว่ากลุ่มขนาด 100 มก./ลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนระยะเวลาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสลบเฉลี่ยที่ระดับ 3 เพลน 2 ของกลุ่ม MS-222 จะพบเฉพาะในกลุ่มขนาด 100 มก./ลิตร (16.72 ± 3.39 นาที) โดยในกลุ่มขนาด 25 และ 50 มก./ลิตร ไม่สามารถเข้าสู่ภาวะสลบได้ภายในเวลา 20 นาที (ตารางที่ 1)

อัตราการเปิด-ปิดแผ่นปิดเหงือกของกลุ่มน้ำมันกานพลู ขนาด 25, 50, 100 มก./ลิตร (แผนภาพที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ) และ MS-222 ขนาด 100 มก./ลิตร (แผนภาพที่ 4) พบว่าจะมีการลดลงเรื่อยๆ ก่อนเข้าสู่สภาวะการสลบที่ระดับ 3 เพลน 2 ส่วนพฤติกรรมในการสลบ พบว่าปลาทดลองจะตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอกลดลงจนกระทั่งไม่มีการตอบสนอง และจะสูญเสียการทรงตัวโดยนอนตะแคงหรือนอนหงายอยู่ที่ก้นอ่าง อย่างไรก็ตามพบว่าในกลุ่มน้ำมันกานพลู ปลาทดลองจะแสดงอาการทุรนทุรายและมีการชนของบ่อก่อนเข้าถึงระดับ 3 เพลน 2 โดยจะพบอาการมากขึ้นเมื่อขนาดของน้ำมันกานพลูที่สูงขึ้นด้วย แต่ไม่พบอาการเช่นนี้ในกลุ่ม MS-222 ขนาด 100 มก./ลิตร ส่วนกลุ่ม MS-222 ขนาด 25 และ 50 มก./ลิตร ปลาทดลองยังคงมีการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอก เพียงแต่ว่ามีช้ากว่าปกติและไม่พบการสูญเสียการทรงตัว

ระยะเวลาการฟื้นสลบและการตอบสนอง

ระยะเวลาการฟื้นสลบของกลุ่มน้ำมันกานพลู จะใช้เวลานานขึ้นเมื่อให้ในขนาดที่สูง โดยในขนาด 25 มก./ลิตร (4.28 ± 1.26 นาที) และในขนาด 50 มก./ลิตร (6.52 ± 4.71 นาที) ใช้ระยะเวลาในการฟื้นสลบเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มขนาด 100 มก./ลิตร (11.63 ± 2.11 นาที) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ระหว่างกลุ่มขนาด 25 มก./ลิตร และ 50 มก./ลิตร ส่วนระยะเวลาฟื้นสลบในกลุ่ม MS-222 ขนาด 100 มก./ลิตร ใช้ระยะเวลาฟื้นสลบเฉลี่ย 6.17 ± 2.54 นาที (ตารางที่ 1)

อัตราการเปิด-ปิดแผ่นปิดเหงือกของกลุ่มน้ำมันกานพลูขนาด 25, 50, 100 มก./ลิตร (แผนภาพที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ) และ MS-222 ขนาด 100 มก./ลิตร (แผนภาพที่ 4) พบว่าจะมีการเพิ่มเรื่อยๆ จนกระทั่งปลาทดลองสามารถทรงตัวและว่ายน้ำได้ตามปกติ พฤติกรรมการฟื้นฟูของปลาทั้งในกลุ่มของน้ำมันกานพลู และ MS-222 พบว่าปลาจะมีการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอกเพิ่มมากขึ้น และสามารถกลับมาทรงตัวได้ตามปกติเมื่อเวลาผ่านไปโดยไม่พบพฤติกรรมที่แตกต่างกันของทั้งกลุ่มน้ำมันกานพลู และ MS-222

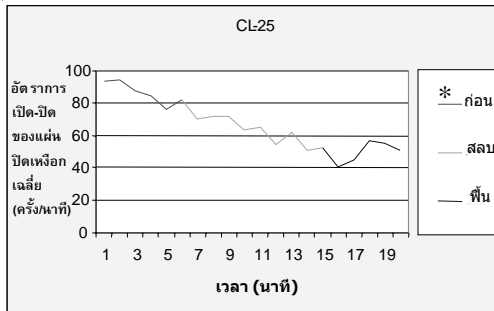
ตารางที่ 1 แสดงระยะเวลาการเหนี่ยวนำให้สลบและการฟื้นฟูของปลาบิก (*P. gigas*) ที่ใช้น้ำมันกานพลู และ MS-222

กลุ่ม	ระยะเวลาเฉลี่ยของการ เหนี่ยวนำให้สลบ (นาที)	ระยะเวลาเฉลี่ยของการฟื้นฟูสลบ (นาที) Mean±SD
	Mean±SD	
น้ำมันกานพลู 25 มก./ลิตร	8.02±1.76 ^A	4.28±0.84 ^a
น้ำมันกานพลู 50 มก./ลิตร	3.03±0.715 ^B	6.52±3.519 ^a
น้ำมันกานพลู 100 มก./ลิตร	1.49±0.134 ^C	11.63±1.66 ^b
MS-222 25 มก./ลิตร	- *	- *
MS-222 50 มก./ลิตร	- *	- *
MS-222 100 มก./ลิตร	16.72±2.51	6.17±1.60

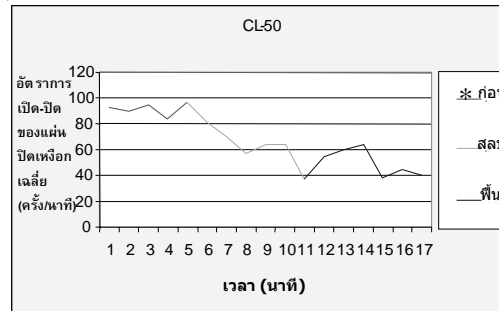
A,B,C ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

a,b ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

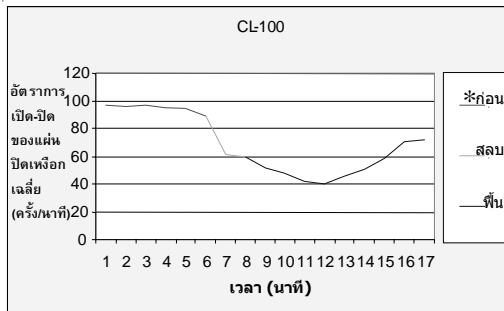
* กลุ่มทดลองที่ไม่เข้าสู่สภาวะสลบที่ ระดับ 3 เพลน 2 ภายใน 20 นาที



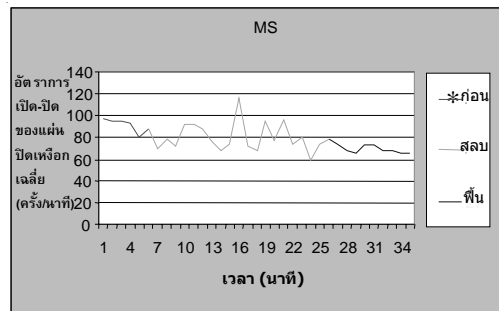
แผนภาพที่ 1 แสดงอัตราการเปิด-ปิดของแผ่นปิดเหงือกเฉลี่ย (ครั้ง/นาที) ของปลาบึก (*P.gigas*) จากการทำสลบด้วยน้ำมันกานพลูขนาด 25 มก./ลิตร (CL-25) ตลอดเวลาการทดลอง



แผนภาพที่ 2 แสดงอัตราการเปิด-ปิดของแผ่นปิดเหงือกเฉลี่ย (ครั้ง/นาที) ของปลาบึก (*P.gigas*) จากการทำสลบด้วยน้ำมันกานพลูขนาด 50 มก./ลิตร (CL-50) ตลอดเวลาการทดลอง



แผนภาพที่ 3 แสดงอัตราการเปิด-ปิดของแผ่นปิดเหงือกเฉลี่ย (ครั้ง/นาที) ของปลาบึก (*P.gigas*) จากการทำสลบด้วยน้ำมันกานพลู ขนาด 100 มก./ลิตร (CL-100) ตลอดเวลาการทดลอง



แผนภาพที่ 4 แสดงอัตราการเปิด-ปิดของแผ่นปิดเหงือกเฉลี่ย (ครั้ง/นาที) ของปลาบึก (*P.gigas*) จากการทำสลบด้วย MS-222 ขนาด 100 มก./ลิตร (MS) ตลอดเวลาการทดลอง

*หมายเหตุ (ก่อน; ก่อนการสลบ, สลบ; เข้าสู่สภาวะสลบ, ฟื้น; เข้าสู่สภาวะฟื้นสลบ)

สรุปผลและวิจารณ์

น้ำมันกานพลูมีสารออกฤทธิ์ คือ ยูจีนอล (eugenol; 4-allyl-2-methoxyphenol) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) (Mylonas *et al.*, 2005; Iversen *et al.*, 2003; Treves-Brown, 1993; ฌัฐพล, 2545) ส่วน MS-222 หรือ Tricaine methane sulfonate เป็นสารที่คล้ายกับสารเบนโซเคน (Brown, 1993) การที่สารทั้งสองนี้ทำให้ปลาเข้าสู่สภาวะสลบได้นั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าสาร MS-222 มีคุณสมบัติเป็น asphyxiant ซึ่งจะทำให้ร่างกายมีออกซิเจนลดลง และทำให้เกิดสภาวะเมตาบอลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจนตามมา (Stoskopf, 1993) ส่วนน้ำมันกานพลูทำให้การเปิด-ปิดของแผ่นปิดเหงือกลดลงโดยกีดการทำงานของสมองส่วนเมดัลลา (medulla) ที่ควบคุมการหายใจ ส่งผลให้การเดินของหัวใจลดลงและปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงที่เหงือกลดลง ส่งผลให้เกิดสภาวะ hypoxia

ตามมา (Iversen *et al.*, 2003) จากการทดลองพบว่าน้ำมันกานพลูสามารถทำให้เกิดการสลบได้ในขนาดที่ต่ำกว่า (25 มิลลิกรัมต่อลิตร) ยาสลบ MS-222 (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้านี้ ที่พบว่าน้ำมันกานพลูสามารถทำให้ปลาทดลองสลบได้ในขนาดที่น้อยกว่ายาสลบชนิดอื่น (Kildea *et al.*, 2004; Soto and Burhanuddin, 1995) และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่ากลุ่มน้ำมันกานพลูในขนาดสูงมีระยะเวลาในการสลบที่ระดับ 3 เพลน 2 เร็วกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันกานพลูในขนาดต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Soto and Burhanuddin (1995) ที่ได้ทำการศึกษาในปลา rabbitfish (*Siganus lineatus*) ดังนั้นหากต้องการให้ปลาสลบอย่างรวดเร็วจะต้องมีการเพิ่มขนาดของยาสลบในระดับที่เหมาะสมด้วย (Ross, 2001; Ross and Ross, 1999; Mylonas, 2005) ส่วนสาเหตุของอาการทรมานทรมายและการชนของบ่อก่อนการสลบของกลุ่มน้ำมันกานพลูนั้นยังไม่มีรายงานการศึกษา แต่จากการสังเกตของคณะผู้วิจัยพบว่าเนื่องจากน้ำมันกานพลูมีลักษณะเป็นน้ำมันต้องใช้ตัวทำละลาย เช่น เอทานอล ซึ่งหากคุณภาพการละลายไม่ดีเพียงพออาจส่งผลต่อการสลบของปลาได้ (Brown, 1993)

ส่วนสาร MS-222 ในขนาด 100 มก./ลิตร เท่านั้นที่สามารถทำให้ปลาสลบเข้าสู่สภาวะสลบได้ แต่กลุ่ม MS-222 ขนาด 25 และ 50 มก./ลิตร มีพฤติกรรมในการสลบในระดับไม่ลึก คือ ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นภายนอกลดลง รวมทั้งมีอัตราการเปิด-ปิดแผ่นปิดเหงือกที่ลดลง แต่ไม่พบการสูญเสียการทรงตัว พฤติกรรมเหล่านี้จัดอยู่ในระดับการสลบระยะที่ 1 ซึ่งเป็นระยะการสลบที่มักใช้ในการขนส่งปลา (Pirhonen and Schreck, 2003) ดังนั้นจึงไม่สามารถใช้ MS-222 ขนาด 25 และ 50 มก./ลิตร ในการสลบปลาสลบเพื่อให้อยู่ในระดับ 3 เพลน 2 ได้ และจากการศึกษาของ Wagner *et al.* (2002) พบว่าปลาเรนโบว์เทราต์ (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) สามารถสลบได้ถึงระดับ 3 ได้โดยใช้ MS-222 ในขนาด 60 มก./ลิตร ซึ่งการตอบสนองต่อขนาดของยาสลบที่แตกต่างกันของปลาแต่ละชนิดอาจเกิดจากสัดส่วนของพื้นที่เหงือกกับน้ำหนักตัวเนื่องจากเหงือกเป็นอวัยวะสำคัญในดูดซึมและกำจัดยาสลบออกไข่มุนในร่างกาย หรือสุขภาพเป็นต้น (Tsantilas *et al.*, 2005) ส่วนพฤติกรรมในการสลบของกลุ่ม MS-222 ไม่พบการกระวนกระวายในระหว่างสลบเหมือนกับกลุ่มน้ำมันกานพลูซึ่งเป็นไปได้ว่า ลักษณะของสาร MS-222 สามารถละลายน้ำได้ง่าย ดูดซึมและกำจัดออกที่บริเวณเยื่อเหงือก (Kolanczyk *et al.*, 2003) ได้ดีกว่าน้ำมันกานพลูซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมันต้องใช้ตัวทำละลายที่เป็นแอลกอฮอล์ก่อนการสลบ ซึ่งอาจส่งผลต่อคุณภาพของการละลายในน้ำได้

จากการรายงานของ Pirhonen and Schreck (2003) พบว่าระยะเวลาการฟื้นสลบของกลุ่มน้ำมันกานพลูจะนานกว่ากลุ่ม MS-222 ในปลาคาร์พ และปลาเรนโบว์เทราต์ และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อให้ขนาดของน้ำมันกานพลูมากขึ้นระยะเวลาของการฟื้นสลบก็จะใช้ระยะเวลานานขึ้นด้วย ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการควบคุมปลาในการทำกิจกรรมต่างๆ เช่น การรีดไข่ หรือการเก็บเลือด เป็นต้น (Mylonas *et al.*, 2005) ส่วนสาร MS-222 จะถูกกำจัดออกได้รวดเร็วกว่า ทำให้ปลาทดลองใช้เวลาในการฟื้นสลบน้อยกว่าน้ำมันดอกกานพลู (Ross, 2001; Ross and Ross, 1999)

การเลือกชนิดและขนาดของยาสลบในอุดมคติ (ideal anesthetic agent) สำหรับปลานั้นควรมีลักษณะดังนี้ คือ ทำให้ปลาเข้าสู่สภาวะสลบที่ระดับ 3 ภายใน 3 - 5 นาที และมีการฟื้นสลบในช่วงเวลาน้อยกว่า 10 นาที ราคาถูก ไม่มีสารตกค้าง ปลอดภัยกับคนและปลา (Tsantilas *et al.*, 2005; Ross, 2001)

ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาการสลบและการฟื้นสลบ พบว่าขนาดของยาสลบที่ทำให้ปลาบีกทดลองเข้าสู่ภาวะสลบที่ระดับ 3 เพลน 2 ได้เหมาะสม คือ น้ำมันกานพลูในขนาด 50 มก./ลิตร ทั้งยังมีราคาที่ถูกกว่า MS-222 แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของยาสลบดังกล่าว ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของความเครียดในปลาด้วยเพื่อบ่งบอกถึงความเหมาะสมของยาสลบดังกล่าวต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทูนักศึกษาวิจัยจากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สถานที่ในการทำวิจัยจากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ผศ.นสพ.ดร.วิทยา สุริยาสาพร และ ผศ.นสพ.ดร.ภาวิน ผดุงทศ ที่ให้คำปรึกษาทางด้านสถิติ อีกทั้งผู้ที่เกี่ยวข้องในการวิจัยทุกท่าน สำหรับความช่วยเหลือต่างๆ ที่ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้ลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน. 2543. เอกสารเผยแพร่ชุดโครงการ "อุตสาหกรรมสัตว์น้ำ" สกว.ชุดที่ 1: ปลาบีก. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ. เอส. พรินติ้ง เฮาส์ จำกัด, กรุงเทพฯ. 2-10.
- ณัฐพล เพ็ญประภัสร์. 2545. ปัญหาพิเศษของนักศึกษาชั้นปีที่ 6 เรื่องการเปรียบเทียบระยะเวลาการเข้าสู่ภาวะสลบและฟื้นสลบระหว่างการทำสลบด้วยน้ำมันกานพลูและคิวนัลดีนในปลาแฟนซีคาร์พ. คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ : เชียงใหม่. 32 หน้า.
- Brown, L.A. 1993. Anesthesia and restraint. In: Fish Medicine. 1st ed., edited by M.K. Stoskopf. W.B. Saunders, Philadelphia : USA. p. 79 - 90.
- Cooke, S.J., Suski, C.D., Ostrand, K.G., Tufts, B.L. and Wahl, D.H. 2004. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Aquaculture. 239 : 509 - 529.
- Iversena, M., Finstada, B., McKinley, R.S. and Eliassen, R.A. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, AQUI-S™ and Benzoakฎ as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. Aquaculture. 221 : 549 - 566.
- Kildea, M.A., Allan, G.L. and Kearney, R.E. 2004. Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture 232 : 265 - 277.
- Kolanczyk, R.C., Fitzsimmons P.N., McKim, Sr, J.M., Erickson, R.J. and Schmieder, P.K., 2003. Effects of anesthesia (tricaine methanesulfonate, MS222) on liver biotransformation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat Toxicol. 64 : 177 - 184.

- Mylonas, C.C., Cardinaletti, G., Sigelaki, I. and Polzonetti-Magni, A. 2005. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of european sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. *Aquaculture*. 246 : 467 - 481.
- Pirhonen, J. and Schreck, C.B. 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 220 : 507 - 514.
- Ross, L.G. and Ross, B. 1999. Anaesthetic of fish. I. inhalation anaesthesia. In: *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*. 2nd ed., Blackwell Science, Cornwall : UK. p. 58 - 69.
- Ross, L.G. 2001. Restraint, anaesthesia and euthanasia. In: *BSAVA Manual of Ornamental Fish*. 2nd ed., edited by H.W. Wildgoose. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester : England. p. 75 - 83.
- Soto, C.G. and Burhanuddin. 1995. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture* 136 : 149 - 152.
- Stoskopf, M. 1993. Anaesthesia. In: *Aquaculture for Veterinarians Fish Husbandry and Medicine*. 1st ed., edited by L. Brown. Pergamon press, Exteter : UK. p. 164 - 165.
- Treves-Brown, K.M. Anaesthetics. In: *Applied Fish Pharmacology*. 1st ed. Kluwer Academic publishers, Dordrecht : The Netherlands. P. 206 - 219.
- Tsantilas, H., Galatos, A.D., Athanassopoulou, F., Prassinou, N.N. and Kousoulaki, K. 2006. Efficacy of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for two size classes of white sea bream, *Dilodus sargus* L., and sharp snout sea bream, *Diplodus puntazzo* C. *Aquaculture*. 253 : 64 - 70.
- Wagner, E., Arndt, R. and Hilton, B. 2002. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. *Aquaculture* 211 : 353 - 366.

Induction time and behavior of anesthesia and recovery in Mekong Giant Catfish (*Pangasianodon gigas*) after anesthetized with clove oil and tricaine methanesulfonate (MS-222)

Anchana Songkaew¹, Chomporn Chokboonmongkol¹, Rutch Khattiya²,
Dilok Wongsathein², Kriangsak Mengumpun³ and Surachai Pikulkaew^{2*}

¹Sixth year student, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University

²Food Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University

³Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University

*Corresponding author, Fax. 053-274710, E-mail: s.pikul@chiangmai.ac.th

Abstract

The objective of this study was to evaluate the induction time and behavior in anesthesia and recovery between clove oil and tricaine methanesulfonate (MS-222) in Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas*). Sixty fish were randomly divided into 6 groups. Each group contained 10 fish. Group 1, 2 and 3 were treated with 25, 50 and 100 mg/l of clove oil, respectively and group 4, 5 and 6 were treated with 25, 50 and 100 mg/l of MS-222, respectively. The results showed that the induction time to stage 3 plan 2 of anesthesia in group 1 (8.02±1.76 min), group 2 (3.03±0.715 min) and group 3 (1.49±0.134 min) significantly decreased ($p<0.05$), when the concentration of clove oil increased. In MS-222, group 6 was only able to anesthetize in stage 3 plan 2 (16.72±2.51 min). The recovery times of group 1 (4.28±0.84 min), 2 (6.52±3.519 min) and 3 (11.63±1.66 min) significantly increased in a dose-dependent manner ($p<0.05$). In addition, behavioral anesthesia of clove oil groups was more hyperactivity than MS-222 groups. In clove oil, fish exposed to higher concentration, exhibited slower recovery time.

Keywords: induction time, recovery time, Mekong giant catfish, clove oil, tricaine methanesulfonate