4. ผลการศึกษา

4.1 การรวบรวมข้อมูลการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองในจังหวัดชัยนาท ทั้งในแง่ชนิด ปริมาณ รูปแบบการเลี้ยง ฤดูกาล ภูมิปัญญาท้องถิ่นในการเลี้ยงสัตว์น้ำ

เกษตรจังหวัดชัยนาท มีการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองน้อย คิดเป็น 2% (32 ราย จากจำนวนที่ขึ้นทะเบียนฟาร์ม 1,589 ราย) แต่ละรายเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมืองหลายชนิด (มากกว่า 3 ชนิดขึ้นไป) โดยเกษตรกรทั้งหมดเลี้ยงปลาที่ไม่ใช่ปลาพื้นเมืองเป็นหลัก (เช่นปลานิล ปลาทับทิม ปลาดุกลูกผสม) สัตว์น้ำพื้นเมืองที่เลี้ยงประกอบด้วยปลา 9 ชนิด และสัตว์น้ำอื่นๆได้แก่ กุ้งก้ามกราม โดยเกษตรกรที่เลี้ยงปลาในกระชังเลี้ยงปลาไทย 5 ชนิด (ปลาสวาย ปลาแรด ปลากดคัง ปลาเทโพ และปลาสังกะวาด) และเกษตรกรที่เลี้ยงปลาในบ่อ เลี้ยงปลาไทย 5 ชนิด (ปลาตะเพียนขาว ปลาช่อน ปลาสวาย ปลาสลิด และปลาหมอ) สามารถจำแนกเกษตรตามวิธีการเลี้ยง และชนิดปลาที่เลี้ยง ได้ดังปรากฏในตารางที่ 1 และ 2 โดยเกษตรกรรายหนึ่งอาจจะเลี้ยงปลาได้หลายชนิด

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลการเลี้ยงปลาพื้นเมืองในกระชังของเกษตรกรจังหวัดชัยนาท (หมายเหตุ: กระชังขนาด 25 ตารางเมตร)

ชนิดปลา	จำนวนราย	ระยะเวลาในการเลี้ยง (เดือน)	อัตราการปล่อย (ตัว/กระชัง[1])	ขนาดที่จับขาย (กก/ตัว)	ราคาขาย (บาท/กก)
ปลาสวาย	2	24	1000-1500	2	30-35
ปลาแรด	2	24	2000	0.8	50-60
ปลากดคัง	4	24-36	1000-1500	1.5	120
ปลาเทโพ	3	14-18	1500-2000	2	60
ปลาสังกะวาด	5	12	2000	0.1-0.2	60-65

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลการเลี้ยงปลาพื้นเมืองในบ่อดินของเกษตรกรจังหวัดชัยนาท (หมายเหตุ: [1] บ่อขนาด 1 ไร่; [2] ฟาร์มส่วนใหญ่ปล่อยเป็นชนิดเสริม)

ชนิดปลา	จำนวนราย	ระยะเวลาในการเลี้ยง (เดือน)	อัตราการปล่อย (ตัว/บ่อ[1])	ขนาดที่จับขาย (กก/ตัว)	ราคาขาย (บาท/กก)
ตะเพียนขาว	9	6	3000	0.7	25-35
ช่อน	6	12	3000	1.5-2	80-100
สวาย	1	6	2000	1-2	25-35
สลิด[2]	4	6	2000	คละ	50-60
หมอ[2]	3	6	2000	คละ	50

เกษตรกรผู้เลี้ยงปลามีอายุเฉลี่ย 53.5 ปี แบ่งเป็นเพศชาย 69.2 เปอร์เซ็นต์ เพศหญิง 30.8 เปอร์เซ็นต์ ผู้เลี้ยงปลาเกือบทั้งหมดล้วนประกอบอาชีพอื่นควบคู่ไปด้วย มีเพียง 23.1 เปอร์เซ็นต์ที่ยึดอาชีพเลี้ยงปลาเป็นอาชีพหลักเพียงอาชีพเดียว โดยผู้เลี้ยงปลาประกอบอาชีพเกษตรกร 34.6 เปอร์เซ็นต์ รับจ้าง 32.2 เปอร์เซ็นต์ และอื่นๆ 33.2 เปอร์เซ็นต์ ในการเลี้ยงปลานั้น 84.6 เปอร์เซ็นต์ ใช้แรงงานในครัวเรือน มีเพียง 15.6 เปอร์เซ็นต์ที่ใช้แรงงานจ้าง

รูปแบบการเลี้ยงเป็นการเลี้ยงปลาในกระชัง 65.4 เปอร์เซ็นต์ (21 ราย) และเลี้ยงปลาในบ่อดิน 34.6 เปอร์เซ็นต์ (11 ราย) (ภาพการเลี้ยงปลาในกระชัง และบ่อดิน แสดงในภาพที่ 1 และ 2 ตามลำดับ) การเลี้ยงปลาในกระชังนั้นผู้เลี้ยงปลามีกระชังเฉลี่ย 3.7 กระชังต่อราย ขนาดกระชังเฉลี่ย 25 ตารางเมตร ส่วนผู้เลี้ยงปลาในบ่อดินมีจำนวนบ่อเฉลี่ย 5 บ่อต่อราย ขนาดเฉลี่ย 1600 ตารางเมตร แหล่งพันธุ์ปลาส่วนใหญ่ซื้อจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดจังหวัดชัยนาท (30.8 เปอร์เซ็นต์) 23.1 เปอร์เซ็นต์ ของเกษตรกร ซื้อปลาจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดนครสวรรค์ และเกษตรกร 46.1 เปอร์เซ็นต์ ซื้อปลาจากฟาร์มรายย่อยหลายแห่ง

เกษตรกรจะขายปลาในสองรูปแบบเท่านั้น โดยส่วนใหญ่ (69.2 เปอร์เซ็นต์) ขายให้กับผู้ซื้อที่มารับซื้อที่ฟาร์ม โดยเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาอีก 30.8 เปอร์เซ็นต์จะนำผลผลิตไปขายที่ตลาดเอง

ภาพที่ 1 แสดงกระชังเลี้ยงปลาขนาดเฉลี่ยของเกษตรกรจังหวัดชัยนาท

ภาพที่ 2 แสดงบ่อเลี้ยงปลาขนาดเฉลี่ยของเกษตรกรจังหวัดชัยนาท

เกษตรกรมีปัญหาในการเลี้ยงปลาไทยดังนี้

(1) ปลาไทย (ชนิดที่มีราคาดี) โตช้า ทำให้ต้องใช้เวลาเลี้ยงนานมาก บางชนิดอาจถึง 2 ปี (เช่นปลากดคัง ปลาตะโกก) (จำนวน 24 ราย)

(2) ไม่มีตลาดค้าส่ง (จำนวน 21 ราย)

(3) ขาดแคลนลูกปลา (จำนวน 11 ราย)

(4) ขาดอาหารที่เหมาะสม (จำนวน 9 ราย)

อย่างไรก็ตาม ข้อมูลจากแบบสอบถามสามารถสรุปได้ในชั้นต้นว่า ชนิดปลาที่ควรเลี้ยงแตกต่างกันระหว่างการเลี้ยงในบ่อ และในกระชัง โดยในบ่อ ควรเลี้ยงปลาช่อน (*Channa striatus*) และปลาตะเพียนขาว (*Barbodes gonionotus*) เพราะรอบการผลิตสั้น (6 เดือน) และเกษตรกรมีความรู้ในการเลี้ยงแบบต้นทุนต่ำอยู่แล้ว โดยให้เศษผัก เป็นอาหาร และเลี้ยงปนกับปลาอื่นๆ ส่วนในกระชังควรเลี้ยงปลาสังกะวาด (*Pangasius macronema*) เนื่องจากรอบการผลิตสั้น (1 ปี) ความต้องการของตลาดสูง (ทราบจากเกษตรกร) นอกจากนั้นปลาเทโพ (*Pangasius larnaudii*) ก็เป็นปลาชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะแม้รอบการผลิตจะค่อนข้างยาว (14-18 เดือน) แต่ยังสั้นกว่าปลาอื่นๆหลายชนิดและขายได้ราคาค่อนข้างดี (กิโลกรัมละ 60 บาท) ทั้งสองชนิดนี้สามารถเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดได้

แต่เมื่อทำการสำรวจทางด้านอุปสงค์ โดยสัมภาษณ์เจ้าของภัตตาคารจำนวน 7 ร้าน จากจำนวนทั้งหมด 16 ร้าน (การท่องเที่ยวแห่งประเทศไทย, 2552) และจากแบบสอบถามแม่ค้าปลาจำนวน 12 ราย ได้ข้อมูลตรงกันคือปลากดคัง (*Macrones wyckioides*) เป็นปลาที่ตลาดต้องการมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ปลาม้า (*Boesemania microlepis*) ปลาลึง (*Pangasius conchophilus*) ผู้วิจัยจึงได้พูดคุยกับเกษตรกรในประเด็นชนิดปลาที่ควรเลี้ยงนี้ พบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่ต้องการเลี้ยงปลากดคัง เพราะเป็นปลาที่ค่อนข้างทนทาน ราคาดีมาก (กิโลกรัมละ 150-220 บาท) มีปัญหาเพียง 2 ประการคือ หาลูกพันธุ์ยาก และระยะการเลี้ยงนานถึง 2 ปี อย่างไรก็ตามพบว่าเกษตรกรปล่อยปลาหนาแน่นมาก (1000 ตัวต่อกระชังขนาด 5 x 5 ตารางเมตร ลึก 2 เมตร หรือ 20 ตัวต่อลูกบาศก์เมตร) หากลดอัตราการปล่อยอาจทำให้เจริญเติบโตดีขึ้นได้ จึงได้ทำการทดลองเลี้ยงปลากดคังในฟาร์มเกษตรกร โดยเลี้ยงในความหนาแน่นต่ำ ซึ่งได้รายงานผลไว้ในรายงานฉบับนี้แล้ว

ฤดูกาล: เกษตรกรในจังหวัดชัยนาท เลี้ยงปลาตลอดปี เช่นเดียวกับเกษตรกรในท้องที่อื่นๆ อย่างไรก็ตามการเลี้ยงจะมีปัญหามากในช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาว (เดือนตุลาคม – พฤศจิกายน) ซึ่งเป็นเวลาเดียวกับฤดูน้ำหลาก โดยปลาจะเป็นโรคได้ง่าย และอาจตายทีละมากๆ

ภูมิปัญญาชาวบ้านในการเลี้ยงปลา: ข้อมูลจากแบบสอบถามทำให้ทราบถึงภูมิปัญญาท้องถิ่นดังนี้

(1) เกษตรกร 1 ราย (นายสายชล วีระนนท์) ใช้เปลือกมะกรูดโรยในกระชังปลาทับทิม พบว่าสามารถรักษาอาการเป็นแผลตามตัว (ซึ่งอาจเกิดจากปรสิตได้)

(2) เกษตรกร 1 ราย (นายประจวบ แจ้งเนตร) ใช้ "ลูกหญ้า" ซึ่งเป็นเศษเมล็ดวัชพืชที่ได้จากการสีข้าวมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงปลาดุกและปลาตะเพียนในบ่อดิน พบว่าปลาเจริญเติบโตดี

(3) เกษตรกร 1 ราย (นายปรีชา ชะเอม) พบว่าเมื่อนำกระชังแช่ด่างทับทิมก่อนการเลี้ยงปลา ทำให้ปลาเป็นโรคน้อยลง

4.2 การศึกษาปริมาณการบริโภคสัตว์น้ำพื้นเมือง แหล่งที่มา และความผันแปรตามฤดูกาล

พบว่าตลาดซื้อขายปลาที่สำคัญของจังหวัดชัยนาท ได้แก่ 3 ตลาดหลัก คือ

(1) ตลาดเช้าบริเวณเขื่อนเจ้าพระยา (ขายทุกวัน ยกเว้นวันอาทิตย์) (ภาพที่ 3)

(2) ตลาดนัดบริเวณเขื่อนเจ้าพระยา (ขายเฉพาะวันอาทิตย์)

(3) ตลาดภาษีซุง (ขายทุกวัน) (ภาพที่ 4)

ภาพที่ 3 แสดงตลาดซื้อขายปลาบริเวณเขื่อนเจ้าพระยา

ภาพที่ 4 แสดงตลาดซื้อขายปลา ตลาดภาษีซุง

ปริมาณปลาที่เข้าสู่ตลาดประมาณวันละ 2,000 กิโลกรัม และ ประมาณ 80% เป็นปลาพื้นเมือง เช่น ปลาสวาย ปลาเทโพ ปลากดคัง ปลาขนาดใหญ่เหล่านี้ เกือบทั้งหมดมาจากแหล่งอื่น (จังหวัดนครสวรรค์ พิษณุโลก ประเทศพม่า และประเทศกัมพูชา) ซึ่งมีนางปัทมา แสงสุวรรณ เป็นผู้ค้าส่ง ก่อนส่งต่อให้กับแม่ค้าในจังหวัดชัยนาท ส่วนปลาพื้นเมืองที่ผลิตได้จากจังหวัดชัยนาทเป็นปลาขนาดเล็ก เช่น ปลาแดง ปลาสังกะวาด ปลาเนื้ออ่อน และปลากราย เป็นต้น โดยมีปริมาณไม่มากนัก และไม่แน่นอน

ฤดูกาล ปลาที่มีการเพาะเลี้ยง เช่นปลาสวาย ปลาเทโพ ปลากดคัง มีเข้าสู่ตลาดตลอดปี (อาจพบได้ไม่ทุกวัน เนื่องจากปริมาณมีไม่มากนัก) ส่วนปลาที่จับจากธรรมชาติ เช่น ปลาแดง ปลาสังกะวาด ปลาเนื้ออ่อน และปลากราย มีเฉพาะบางฤดูกาล ส่วนใหญ่จะมีในช่วงที่มีการจับปลาจากกร่ำ

4.3 การศึกษารูปแบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ที่มีผลต่อการอนุรักษ์

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เกษตรกรมีการเพาะเลี้ยงปลาไทยไม่มากนัก และการเพาะเลี้ยงเหล่านั้นแทบจะไม่มีผลต่อการอนุรักษ์ กล่าวคือเลี้ยงเพียงแค่ถึงขนาดตลาด ปลายังไม่เจริญพันธุ์จึงไม่สามารถใช้ปลาเหล่านั้นมาเป็นพ่อแม่พันธุ์ได้ จึงได้ทำการสำรวจกิจกรรมการประมงที่อาจมีผลต่อการอนุรักษ์แทน พบว่าในเขตจังหวัดชัยนาท มีกิจกรรมการประมงที่เข้าข่ายอยู่ 3 ประเภท ได้แก่ บ่อล่อปลา กร่ำน้ำตื้น และกร่ำน้ำลึก กิจกรรมทั้งสามประเภทนี้จำเป็นต้องขออนุญาตจากกรมประมง แต่ละกิจกรรมมีรายละเอียดดังนี้

4.3.1 บ่อล่อปลา ชาวนาบางส่วนจะทำการขุดบ่อเพื่อกักเก็บน้ำไว้ใช้ โดยอาศัยช่วงที่น้ำท่วมโดยเปิดทางน้ำเข้า จากนั้นเมื่อน้ำเต็มบ่อ จะทำการปิดทางน้ำไม่ให้ออก และกักเก็บน้ำดังกล่าวไว้ใช้ยามต้องการ ซึ่งผลพลอยได้หลังจากการสูบน้ำออก คือ ปลาที่ตกค้างอยู่ภายในบ่อ เกษตรกรจึงเรียกบ่อประเภทนี้ว่า “บ่อล่อปลา” จากการสำรวจข้อมูลของชาวนาที่ขุดบ่อล่อปลาในพื้นที่จังหวัดชัยนาท จำนวน 15 ราย (จากทั้งหมด 19 ราย) พบว่าชาวนามีบ่อเฉลี่ยคนละ 1.75 บ่อ และล้วนเป็นบ่อที่ขุดมานานแล้วทั้งสิ้น เฉลี่ยบ่ออายุ 18.67 ปี ขนาดเฉลี่ย 925 ตารางเมตร ลึกเฉลี่ย 3 เมตร โดยชาวนาแต่ละรายจะเริ่มทำการลดน้ำในช่วงเดือนพฤศจิกายนไปจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ โดยชนิดปลาที่ได้นั้นไม่แตกต่างกัน สามารถจำแนกได้ดังนี้ ปลาช่อน 34.61 เปอร์เซ็นต์ ปลากระดี่ 26.92 เปอร์เซ็นต์ ปลาหมอ 23.07 เปอร์เซ็นต์ และปลาชนิดอื่นๆ (ปลาตะเพียน ปลาสร้อย ปลาสลิด ปลาแขยง ปลาสวาย) 15.38 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นผลผลิตเฉลี่ย 0.17 กิโลกรัมต่อตารางเมตร โดยปลาที่จับได้ส่วนใหญ่เป็นลูกปลาขนาดเล็ก (ภาพที่ 5) ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นลูกปลาแม่น้ำ เช่นปลาสวาย ปลาแขยง ปลาขนาดใหญ่ที่พบเป็นปลาที่อาศัยตามหนองบึง (เช่นปลาช่อน ปลาหมอ ปลาไหล ปลาหลด) โดยพบลูกปลาประเภทหลังเช่นเดียวกัน แสดงว่าพื้นที่บริเวณบ่อล่อปลา เป็นแหล่งอนุบาลลูกปลาที่สำคัญ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 28 ก.ย. 2555
เลขทะเบียน 246362
เลขเรียกหนังสือ

ภาพที่ 5 แสดงปลาที่จับได้จากบ่อล่อปลา

จากข้อมูลที่ได้แสดงว่าพื้นที่แถบนี้น่าจะเป็นแหล่งเลี้ยงตัวของปลาแม่น้ำหลายชนิด ซึ่งลูกปลาจะแพร่กระจายตามน้ำขึ้นมาบริเวณท้องนาในช่วงน้ำหลาก เมื่อน้ำลดก็จะติดอยู่ในนา และหากินเจริญเติบโตอยู่ระยะหนึ่ง ลูกปลาเหล่านี้หากสามารถนำไปปล่อยคืนสู่แม่น้ำได้ ก็จะเจริญเติบโตขยายพันธุ์ได้ต่อไป ผู้รับผิดชอบ (เช่นกรมประมง หรือ องค์การปกครองส่วนท้องถิ่น) ควรหาแนวทาง เช่นอาจซื้อลูกปลาไปปล่อย หรือจัดทำโครงการให้ชาวบ้านมีส่วนร่วมในการปล่อยลูกปลาเหล่านี้ อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องให้ความรู้และอุปกรณ์อำนวยความสะดวกแก่ชาวบ้าน จึงจะสามารถขนย้ายลูกปลาเหล่านั้นได้อย่างได้ผล

4.3.2 กรำ (จันทา) คือ เครื่องมือประมงชนิดหนึ่ง ทำโดยนำพุ่มไม้มากองรวมกันในน้ำเพื่อล่อให้ปลามาอาศัย ซึ่งชาวประมงในจังหวัดชัยนาททั้งหมด ใช้กิ่งต้นมะขามเนื่องจากเหตุผลที่ว่า ไม่มีหนามทำให้ไม่พันกับอวน กิ่งมีความเหนียวทนทาน มีความยืดหนุ่นสูง ไม่เปราะหัก หลังเก็บกู้แล้วสามารถนำกลับมาใช้ได้หลายครั้ง เมื่อวางกรำลงในน้ำแล้วจะใช้ไม้หลักปักยึดไว้มิให้กิ่งมะขามถูกกระแสน้ำพัดพาไป จากนั้นจะทำการให้อาหารเป็นระยะเพื่อล่อให้มีปลามาอาศัยมากขึ้น จากนั้นเมื่อมีปลาจำนวนมากพอ (สังเกตุจากปริมาณปลาที่มากินอาหาร) จะทำการล้อมจับด้วยอวน

จากการสำรวจชาวประมงในพื้นที่จังหวัดชัยนาท สามารถแบ่ง กรำออกเป็น 2 ประเภท ตามระดับน้ำที่ทำการวางกรำล่อปลา คือ

(1) **กรำน้ำตื้น** ชาวประมงที่ทำการวางกรำน้ำตื้น จะวางกรำที่ระดับน้ำประมาณ 1-2 เมตร (ภาพที่ 6) เนื่องจากระดับน้ำตื้นจะสะดวกในการล้อมจับปลา โดยการใช้ไม้หลักไปปักลงในแม่น้ำ (ภาพที่ 7) เพื่อเป็นที่ยึดไม่ให้กิ่งไม้ซึ่งจะนำไปวางเป็นร่มเงาให้ปลาลอยไปตามน้ำ การจับทำโดยการลากอวนโดยใช้แรงงานคน (ภาพที่ 8) จากการสำรวจข้อมูลจากชาวประมงผู้วางกรำล่อปลาน้ำตื้นจำนวน 42 ราย (จากทั้งหมด 53 ราย) พบว่า ชาวประมงมีกรำเฉลี่ยรายละ 2.33 (±1.39) กรำ มีขนาดเฉลี่ย 275 (±45) ตารางเมตร โดยปกติชาวประมงจะเริ่มทำการวางกรำล่อปลาในเดือนพฤศจิกายนไปจนถึงเดือนพฤษภาคม เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่กรมประมงอนุญาตให้ประกอบกิจกรรมดังกล่าวได้ แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระดับน้ำในแต่ละปีด้วย หากระดับน้ำสูงเกินไปก็ไม่สามารถวางกรำประเภทนี้ได้ โดยในปี

พ.ศ.2551 ชาวประมงในพื้นที่ใต้เขื่อนเจ้าพระยา จังหวัดชัยนาทเริ่มวางกร่ำได้ช่วงเดือนมกราคม ถึงเดือนพฤษภาคม ปริมาณปลาที่จับได้จากกร่ำน้ำตื้นเฉลี่ยครั้งละ 458.36 (±241.66) กิโลกรัมต่อกร่ำ แบ่งเป็นสัดส่วนดังนี้ ปลาสร้อย 82.09 เปอร์เซ็นต์ ปลาสวาย 5.74 เปอร์เซ็นต์ ปลาตะเพียน 3.29 เปอร์เซ็นต์ ปลาสังกะวาด 2.87 เปอร์เซ็นต์ และอื่นๆ 6.01 เปอร์เซ็นต์ (เช่น ปลาหมอ ปลากระดี่ ปลาสลิด ปลาหลด ปลากระทุงเหว ปลาหมอช้างเหยียบ เป็นต้น) ซึ่งหลังการล้อมจับแต่ละครั้งจะทำการล่อเช่นเดิมอีก โดยเว้นระยะเวลาเฉลี่ย 23 วันต่อรอบ หรือประมาณ 5.86 ครั้งต่อปี คิดเป็นผลผลิตสัตว์น้ำเฉลี่ย 2,685.98 (±1,416.13) กิโลกรัมต่อกร่ำต่อปี

ภาพที่ 6 แสดงกร่ำน้ำตื้น (บริเวณแม่น้ำเจ้าพระยา อำเภอสรรพยา จังหวัดชัยนาท)

ภาพที่ 7 แสดงไม้หลักที่ใช้ปักเพื่อยึดกิ่งมะขาม (วัสดุล่อ) ไม่ให้กระน้ำพัดพาไป

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพที่ 8 แสดงการจับปลาจากกร่ำน้ำตื้น

(2) **กร่ำน้ำลึก** จะวางที่ระดับน้ำ 3 เมตรขึ้นไป โดยวางในช่วงเดียวกับกร่ำน้ำตื้น (ช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึงเดือนพฤษภาคม) โดยล้อมจับปลาทุกๆประมาณ 30 วัน หรือประมาณปีละ 5 ครั้ง การล้อมจับต้องใช้เรืออย่างน้อย 3 ลำ และใช้อวนล้อมจับ (ภาพที่ 9) แต่ละครั้งใช้แรงงานจำนวนมาก และผู้ดำเนินการต้องมีความชำนาญมาก จากข้อจำกัดดังกล่าวประกอบกับ พื้นที่ที่เหมาะสมมีไม่มาก ทำให้มีผู้ประกอบการน้อยราย โดยในจังหวัดชัยนาทมีชาวประมงที่ทำการวางกร่ำน้ำลึกเพียง 2 ราย มีขนาดเฉลี่ย 500 ตารางเมตร ผลผลิตรวมเฉลี่ยครั้งละ 960 (±150) กิโลกรัม แบ่งเป็น ปลาสวาย 41.66 เปอร์เซ็นต์ ปลาสังกะวาด 20.83 เปอร์เซ็นต์ ปลาตะเพียน 10.42 เปอร์เซ็นต์ ปลาตะเพียนทอง 6.25 เปอร์เซ็นต์ และอื่นๆ 20.83 เปอร์เซ็นต์ (ปลาแดง ปลากราย ปลาสลาด ปลาแปบ ปลาตะโกก ปลาช่อน ปลาคางเบือน ปลาหนวดพราหมน์ ปลากดคัง เป็นต้น; ภาพปลาแสดงในภาคผนวก) คิดเป็นผลผลิตสัตว์น้ำเฉลี่ย 4,800 กิโลกรัมต่อกร่ำต่อปี

ภาพที่ 9 แสดงการจับปลาจากกร่ำน้ำลึก

ผลกระทบของกร่ำต่อการอนุรักษ์: กร่ำแต่ละชนิดมีผลกระทบต่อการอนุรักษ์ต่างกัน กร่ำน้ำตื้นซึ่งมีผลผลิตส่วนใหญ่เป็นปลาสร้อย มีผลกระทบต่อการอนุรักษ์น้อยหรือไม่มีเลย เนื่องจากการวางกร่ำ ไม่ได้ทำอันตรายแก่ปลามากจนผิดธรรมชาติ ในทำนองเดียวกันปลาที่จับได้ก็มีคุณค่าต่อการอนุรักษ์น้อย เพราะส่วนมากเป็นปลาสร้อยซึ่งยังมีชุกชุมอยู่ โอกาสในการรวบรวมปลาหายากเพื่อใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์จึงแทบไม่มีเลย ส่วนกร่ำน้ำลึก ไม่น่ามีผลคุกคามต่อความชุกชุมของปลาเช่นเดียวกัน แต่กร่ำน้ำลึกนี้ อาจเป็นแหล่งที่จะสามารถรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลาหายากได้ เช่น ปลากราย ปลาตะโกก ปลาหนวดพราหมณ์ เป็นต้น จึงน่าจะเป็นผลดีต่อการอนุรักษ์ ดังนั้นผู้รับผิดชอบจึงควรรีบทำการรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ปลาเหล่านี้ก่อนที่มันจะหมดไป

4.4 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาบางชนิด

อุทัยรัตน์ ณ นคร อัญลักษณ์ วชิรไชยการ วรวิทย์ พรหมปากดี

ปลาแดง [*Phalacronotus bleekeri* (Günther, 1864)] เป็นปลาที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค โดยแม่น้ำเจ้าพระยา ในจังหวัดชัยนาทเป็นแหล่งสำคัญของปลาแดง ปัจจุบันปลาแดงมีปริมาณลดลงมาก กรมประมงจึงมีโครงการเพาะพันธุ์ปลาแดงเพื่อปล่อยลงในแม่น้ำ ในปัจจุบัน ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท มีพ่อแม่พันธุ์ปลาแดงอยู่ 2 รุ่น พ่อแม่พันธุ์เหล่านี้ใช้ในการผลิตลูกปลาเพื่อปล่อยปีละประมาณ 10,000 ตัว การจัดการพ่อแม่พันธุ์ยังไม่ได้นำหลักการทางพันธุศาสตร์มาใช้ ทำให้น่าเป็นห่วงว่า พ่อแม่พันธุ์อาจมีฐานพันธุกรรมแคบ เมื่อนำลูกที่ได้ไปปล่อยลงแหล่งน้ำ อาจทำให้ประชากรในธรรมชาติเสื่อมโทรมลง จึงศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพ่อแม่ปลาเหล่านี้ เพื่อวางแผนการจัดการพ่อแม่พันธุ์ที่เหมาะสมต่อไป

การศึกษาใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นสำหรับปลาแดงโดยเฉพาะ ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมที่นำมาใช้ประโยชน์ในด้านการประมง และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำกันมากในปัจจุบัน เนื่องจากไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอมีเป็นจำนวนมาก และกระจายอยู่ทั่วทั้งจีโนม รวมถึงมีความหลากหลายของอัลลิลสูง ข้อได้เปรียบอีกประการหนึ่งคือไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ คือ มีความละเอียด (resolution) ในการตรวจสอบความแตกต่างที่อาจมีเพียงเล็กน้อย เช่น ความแตกต่างระหว่างประชากรโรงเพาะฟัก และประชาการในธรรมชาติ นอกจากนี้ยังมีการแสดงออกแบบข่มร่วม (codominant) ซึ่งจะทำให้ได้ข้อมูลทางพันธุกรรมที่ละเอียดกว่าเครื่องหมายพันธุกรรมที่มีการแสดงออกแบบข่มสมบูรณ์ (dominant) นอกจากนี้ไมโครแซทเทลไลท์ที่มีจำนวนอัลลิลต่อตำแหน่งสูงจะสามารถประมาณค่าระยะห่างทางพันธุกรรมได้อย่างแม่นยำ การศึกษาไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอได้รับความนิยมอย่างสูงในการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร การจำแนกสต็อค การตรวจสอบพ่อแม่พันธุ์ เมื่อเทียบกับเครื่องหมายพันธุกรรมชนิดอื่น เนื่องจากมีความหลากหลายสูงทำให้ได้ข้อมูลที่ละเอียด อีกทั้งมีข้อได้เปรียบทางด้านเทคนิคที่ใช้ดีเอ็นเอตัวอย่างในปริมาณน้อยจากเลือดหรือครีบปลาในการศึกษา จึงไม่ต้องฆ่าปลาที่นำมาเป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์

การศึกษาครั้งนี้ได้พัฒนาไพรเมอร์เพื่อศึกษาความหลากหลายไมโครแซทเทลไลท์ ของปลาแดงขึ้นเป็นครั้งแรก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นไพรเมอร์ที่สามารถทำปฏิกริยาได้พร้อมๆกันหลายคู่ (multiplex

PCRs) ทำให้ประหยัดเวลาและสารเคมี จากนั้นใช้ไพรเมอร์ที่พัฒนาขึ้นศึกษาความเปลี่ยนแปลงของความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาแดงในโรงเพาะฟักเทียบกับปลาในธรรมชาติ

ทำการเก็บตัวอย่าง ปลาแดงในธรรมชาติจำนวน 39 ตัว ปลาจากโรงเพาะฟักซึ่งเป็นพ่อ-แม่พันธุ์อายุประมาณ 10 ปี (ฟักเป็นตัวในปี 2542) จำนวน 39 ตัว และปลาจากโรงเพาะฟักอายุประมาณ 2 ปี (ฟักเป็นตัวในปี 2550) จำนวน 40 ตัว ซึ่งการพัฒนาไพรเมอร์สำหรับไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในปลาแดงเพื่อใช้ในการศึกษาความหลากหลากหลายทางพันธุกรรม โดยพัฒนาไพรเมอร์ขึ้นมาทั้งหมด 7 คู่ (ตารางที่ 3) เนื่องจากไพรเมอร์หนึ่งคู่มี linkage ระหว่างคู่ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ไม่เหมาะสมกับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม จึงเลือกใช้ไพรเมอร์ที่ไม่ link กันจำนวน 6 คู่ ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของปลาแดง

ตารางที่ 3 ชื่อไพรเมอร์ ลำดับเบสซ้ำ ลำดับเบสของไพรเมอร์ ผลผลิตที่ได้จริง จำนวนอัลลิล และ เฮตเทอโรไซโกซิตี ค่าจากการคำนวณ ของไมโครแซเทลไลท์ 7 ตำแหน่งที่พัฒนาจากปลาแดง

ชื่อไพรเมอร์	ลำดับเบสซ้ำ	ลำดับเบสของไพรเมอร์	ผลผลิตที่ได้จริง	จำนวนอัลลิล	เฮตเทอโรไซโกซิตี (การคำนวณ)
PBL10	$(GT)_{25}$	F 5′GGCTCAGTTATAAACCCGACA3′ R 5′AGGATGACCCTCATCACTCTG3′	181-223	17	0.902
PBL06	$(GA)_9N(GA)_9$	F 5′CCATCTAGTAGGGGTCCGGTA3′ R 5′TAGCTTGTGCGGTTTTCTGA3′	133-171	14	0.906
PBL17	$(GAA)_8$	F 5′TGTAAGCAAAGCTGTGAGCAA3′ R 5′GGCGGGCAACAAAGTTTAAT3′	220-235	5	0.588
PBL21	$(GT)_9$	F 5′TCTGAAGCCGCCTTTTAGTT3′ R 5′GAAGGATCCACTGCCTGGTA3′	204-250	24	0.927
PBL24	$(GA)_{15}$	F 5′TGTGTGTTCTGACATGGGAAA3′ R 5′CCCAATGGAAAAATAGGAACAA3′	242-276	15	0.893
PBL26	$(GA)_{63}$	F 5′CCAGTCCAGGTATAACAAGCAG3′ R 5′AGGAACATGTTTGGGTCTCG3′	235-279	18	0.848
PBL33	$(CT)_{24}$	F 5′CTCAGAGGCCTCACAGCATT3′ R 5′AATCGCGTTTCTTTGCATTC3′	156-194	16	0.889

ผลการศึกษาโดยสรุป พบว่าพ่อแม่ปลาในโรงเพาะฟักทั้งสองรุ่น มีความหลากหลายทางพันธุกรรมไม่ต่างกัน (ตารางที่ 4) แต่ความหลากหลายของอัลลิลต่ำกว่าปลาในธรรมชาติ ค่า effective population size (N_e) [ซึ่งหมายถึงจำนวนพ่อแม่พันธุ์ที่มีส่วนร่วมในองค์ประกอบทางพันธุกรรมของประชากรอย่างแท้จริง และเป็นค่าที่แปรผันแบบผกผันกับอัตราการผสมเลือดชิด ($\Delta F = 1/2N_e$) จึงสะท้อนถึงความยั่งยืนของประชากร] มีค่าเท่ากับ 213 ในประชากรธรรมชาติ และมีค่าต่ำมากในประชากรพ่อแม่พันธุ์ (N_e = 39 และ 9 ในประชากรพ่อแม่พันธุ์ปี 2542 และ 2550 ตามลำดับ) การที่ความหลากหลายของประชากรโรงเพาะฟักลดต่ำลงดังนี้ ทำให้เกิดความกังวลว่าปลาที่ปล่อยลงใน

ธรรมชาติอาจมีผลทำให้ความหลากหลายของปลาในธรรมชาติลดลงแล้ว อย่างไรก็ตามเมื่อนำข้อมูลของปลาธรรมชาติมาเทียบกับประชากรพ่อแม่พันธุ์ทั้งสองชุด และตัวประชากรธรรมชาติเอง เพื่อคำนวณว่าปลาโรงเพาะฟักมีส่วนในพันธุกรรมของปลาธรรมชาติหรือไม่ เพียงใด ผลการศึกษาพบว่า ประชากรโรงเพาะฟักไม่มีส่วนให้พันธุกรรมแก่ประชากรธรรมชาติเลย แสดงว่าปลาแดงที่ปล่อยลงแม่น้ำเจ้าพระยา คงจะไม่ได้ผสมพันธุ์กับปลาธรรมชาติ ซึ่งอาจเนื่องจากมีอัตรารอดต่ำเกินไป

ผลจากการศึกษาจึงได้ข้อเสนอแนะว่า เนื่องจากปลาธรรมชาติมีความหลากหลายสูงอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นต้องปล่อยปลาโรงเพาะฟักลงในแม่น้ำอีก ในทางตรงกันข้ามการปล่อยปลาจากพ่อแม่สองชุดนี้ลงไป หากมีจำนวนมากพอ อาจมีผลให้ปลาธรรมชาติสูญเสียความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งหมายความถึงปลาจะสูญเสียความสามารถในการปรับตัวในสภาพที่สิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป

ผลการศึกษาโดยละเอียด แสดงไว้ในภาคผนวก (ต้นฉบับเพื่อส่งตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ)

ตารางที่ 4 ความหลากหลายทางพันธุกรรม และค่า F_{IS} ของพ่อแม่พันธุ์ปลาแดง 2 รุ่น และปลาแดงประชากรธรรมชาติ; หมายเหตุ: n = จำนวนตัวอย่าง; A = ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลิลต่อตำแหน่ง; A_e = ค่าเฉลี่ยจำนวนอัลลิลต่อตำแหน่งถ่วงด้วยความถี่อัลลิล; H_o = ค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการสังเกต; H_e = ค่าเฉลี่ยเฮตเทอโรไซโกซิตีจากการคำนวณ; r_{xy} = ค่าเฉลี่ยความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างปลาแต่ละตัวในแต่ละประชากร

ประชากร	n	A	A_e	H_o	H_e	r_{xy}
ธรรมชาติ	39	13.00 ± 4.65[a]	7.29 ± 2.67[a]	0.84 ± 0.14[a]	0.84 ± 0.12[a]	-0.0257
พ่อแม่รุ่น 2542	39	8.00 ± 2.00[b]	4.83 ± 1.61[b]	0.75 ± 0.11[a]	0.79 ± 0.07[a]	-0.0154
พ่อแม่รุ่น 2550	40	7.17 ± 1.84[b]	3.80 ± 1.39[b]	0.70 ± 0.23[a]	0.70 ± 0.15[a]	-0.0277
Overall	118	9.39 ± 3.16	5.31 ± 1.79	0.76 ± 0.07	0.78 ± 0.07	

4.5 การศึกษาปัญหาในการเลี้ยงสัตว์น้ำพื้นเมือง และแนวทางแก้ไข

4.5.1 กายวิภาคของความแตกต่างระหว่างเพศและมิญชวิทยาของอัณฑะปลาแดง

วิกรม รังสินธุ์ วรวิทย์ พรหมปากดี อุทัยรัตน์ ณ นคร

คำนำ

ปลาแดงเป็นปลาพื้นเมืองชนิดหนึ่งที่เป็นที่นิยมของชาวไทย ผลผลิตปลาแดงส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ ทั้งนี้เพราะยังไม่สามารถพัฒนาเทคโนโลยีการเลี้ยงปลาแดง ให้สามารถมีผลผลิตเพียงพอที่จะเลี้ยงเป็นอาชีพได้ การผลิตปลาแดงยังมีปัญหาตลอดเส้นทางการผลิต นับตั้งแต่การเพาะพันธุ์ การอนุบาล และการเลี้ยง ทั้งนี้เพราะขาดข้อมูลเบื้องต้นเชิงลึก ที่จะเป็นพื้นฐานนำไปประยุกต์ได้ ในการศึกาครั้งนี้จึงมุ่งศึกษากายวิภาคและมิญชวิทยาของปลาแดง โดยเน้นปลาเพศผู้ ซึ่งพบว่ามีปัญหาในเรื่องความสมบูรณ์ของน้ำเชื้ออยู่

วัตถุประสงค์

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์จำเพาะเพื่อทราบกายวิภาคเชิงเปรียบเทียบของปลาแดงทั้งสองเพศ และศึกษา มิญชวิทยาของระบบสืบพันธุ์ของปลาแดงเพศผู้

อุปกรณ์และวิธีการ

ความแตกต่างระหว่างเพศ

นำปลาแดงพ่อแม่พันธุ์ ซึ่งมีอายุประมาณ 2 ปี จำนวนเพศละ 2 ตัว สังเกตความแตกต่างระหว่างเพศของลักษณะภายนอก และลักษณะอื่นๆที่แสดงความแตกต่างระหว่างเพศ บันทึกและแสดงผลโดยการบรรยาย

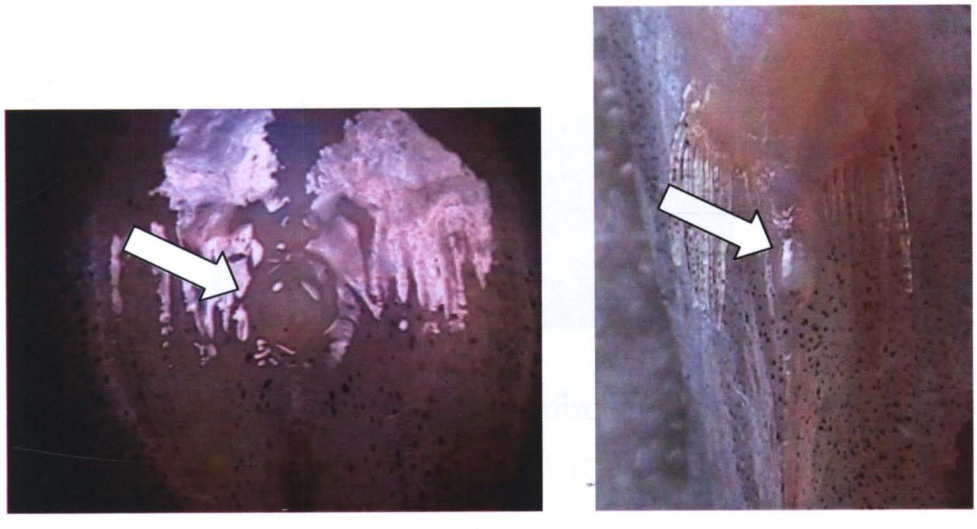
การศึกษามิญชวิทยาของอัณฑะ

นำอัณฑะปลาแดง มาแช่ในน้ำยา Bouin's จากนั้นตรึงใน 50% Isopropyl alcohol แล้วนำไปฝังในพาราฟิน ตัดด้วยเครื่อง microtome หลังจาก mount บนสไลด์แล้วย้อมด้วยสี Haematoxylin-eosin เพื่อตรวจด้วยกล้องจุลทัศน์ต่อไป

ผลการศึกษา

ความแตกต่างระหว่างเพศ

(1) ความแตกต่างของติ่งเพศ (genital papilla) ในปลาแดงเพศเมียมีติ่งเพศที่กลม ส่วนปลาแดงเพศผู้มีติ่งเพศลักษณะรูปไข่ (ภาพที่ 10)

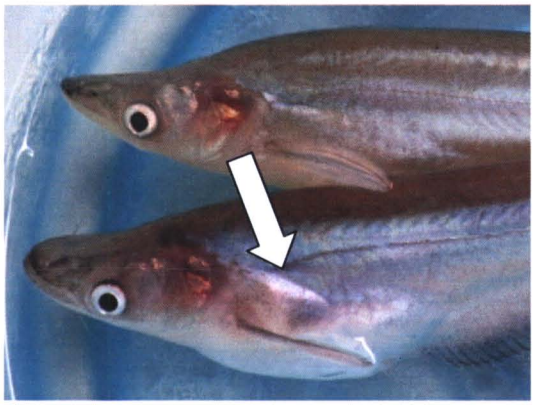


ภาพที่ 10 แสดงติ่งเพศ (ศรชี้) ของปลาแดงเพศเมีย (ภาพซ้าย) และเพศผู้ (ภาพขวา)

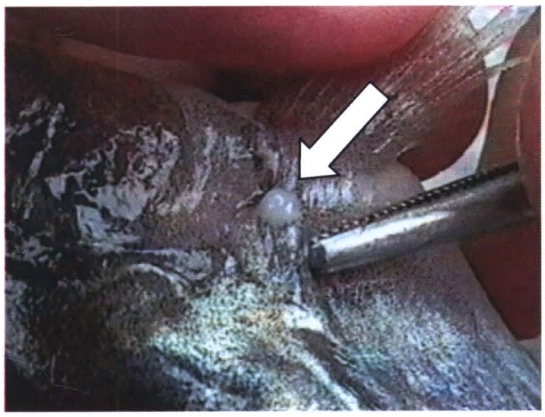
(2) ก้านครีบแข็งของครีบอกซึ่งมีลักษณะหยักด้านในของก้านครีบ (serrated spine) พบว่าปลาแดงเพศผู้มีขนาดของหนามดังกล่าวใหญ่กว่าปลาแดงเพศเมีย (ภาพที่ 11)

ภาพที่ 11 หนามที่พบเรียงตัวอยู่ทางด้านในของครีบอก (ศรชี้) ของปลาแดงเพศเมีย (ภาพซ้าย) และเพศผู้ (ภาพขวา)

(3) ต่อมเมือกที่อยู่ทางด้านท้ายของครีบอก พบได้ในปลาเพศเมียเท่านั้น (ภาพที่ 12) สำหรับช่องเปิดที่นำเมือกออกมาจากต่อม สามารถพบได้ในตำแหน่งขอบด้านท้ายของ opercular flap โดยสมมุติฐานจากตำแหน่งของช่องเปิด เมือกดังกล่าวน่าจะถูกพัดพาไปพร้อมกับน้ำที่ไหลผ่านออกมาจาก opercular cavity ในขณะที่หายใจ และเมื่อทำการรีดเพื่อให้ต่อมขับเมือกออกมา พบว่าในปลาที่มีชีวิตหรือในปลาที่ตายยังไม่สนิทจะไม่สามารถรีดเมือกดังกล่าวออกมาได้ แต่เมื่อปล่อยให้ปลาตายสนิท จะสามารถรีดเมือกดังกล่าวออกมาได้จำนวนมาก ตามภาพที่ 13



ภาพที่ 12 แสดงตำแหน่งของต่อมเมือกที่พบอยู่ทางด้านท้ายของครีบอก (ศรชี้) ซึ่งพบได้ในปลาแดงเพศเมียเท่านั้น (ภาพล่าง) ส่วนเพศผู้ (ภาพบน) ไม่มีต่อมดังกล่าว



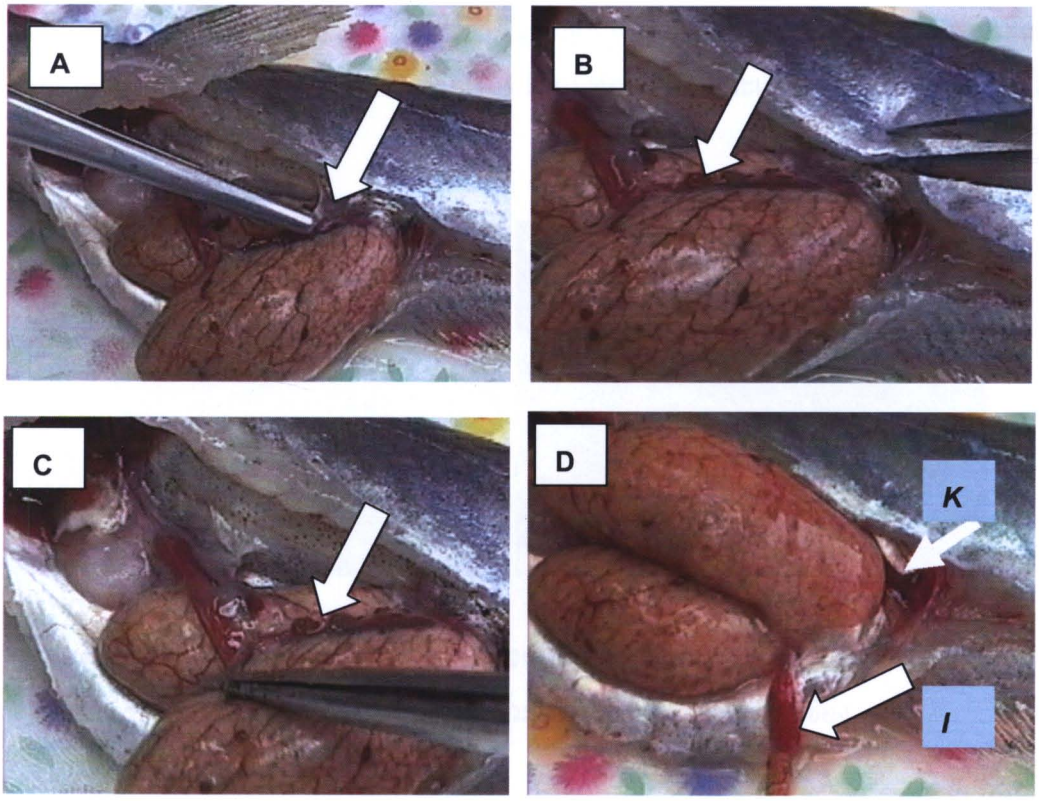
ภาพที่ 13 ภาพเมือกจากต่อมเมือก

ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ภายใน: รังไข่

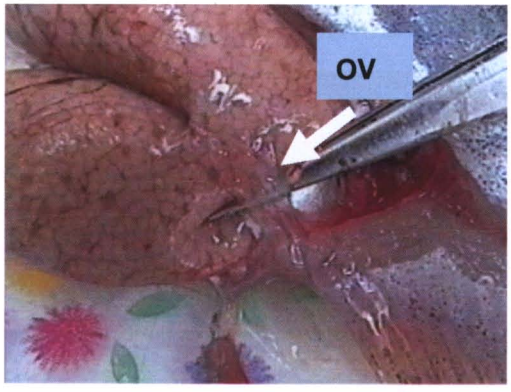
รังไข่ของปลาแดงมีขนาดใหญ่เต็มช่องท้อง ซึ่งตัวอย่างที่ได้ในเดือนกรกฎาคม พบว่ามีไข่สุกจำนวนมาก และสามารถพบไข่ในระยะแรกๆของการพัฒนาที่มีขนาดเล็กปะปนอยู่ทั่วไป รูปร่างของรังไข่ประกอบด้วยรังไข่จำนวน 2 ข้างมีปลายด้านหน้าแยกออกจากกัน ส่วนปลายด้านท้ายเชื่อมตัวรวมกัน และเป็นที่น่าสังเกตอยู่ 2 ประการคือ รังไข่ทางด้านบนจะเชื่อมตัวติดกันคิดเป็นความยาวประมาณ 3 ใน 4 ของความยาวรังไข่ รังไข่จะถูกยึดให้อยู่ในช่องท้องโดยมี mesovarium จับยึดอยู่ทางด้านท้ายของรังไข่ (ภาพที่ 14 A) โดยมีหลอดเลือด posterior intestinal vein ทอดตัวผ่าน (ภาพที่ 14 B, C) และ ส่วนปลายทางด้านท้ายของรังไข่จะมีไตประกบอยู่ทั้ง 2 ด้าน (ภาพที่14 D) ส่วนทางด้านล่างของรังไข่ไม่มีแนวที่เชื่อมรวมตัวกันของรังไข่ทั้ง 2 ข้าง แต่จะสามารถพบท่อทางเดินอาหารส่วนปลายทอดตัวผ่ากลางระหว่างรังไข่เพื่อไปเปิดออกยังรูทวาร

ที่ช่วงปลายของรังไข่ รังไข่ทั้งสองจะเชื่อมต่อกัน และมีท่อนำไข่ (oviduct) นำไข่ที่สุกแล้วออกไปยัง urogenital papilla (ภาพที่ 15)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



ภาพที่ 14 แสดงภาพรังไข่ และอวัยวะอื่นๆ ที่พบในช่องท้องของปลาแดง A. แสดง mesovarium (ศรชี้); B. และ C. แสดง posterior intestinal vein (ศรชี้) และ D. แสดงตำแหน่งของไต และลำไส้ (I = intestine, K = kidney)

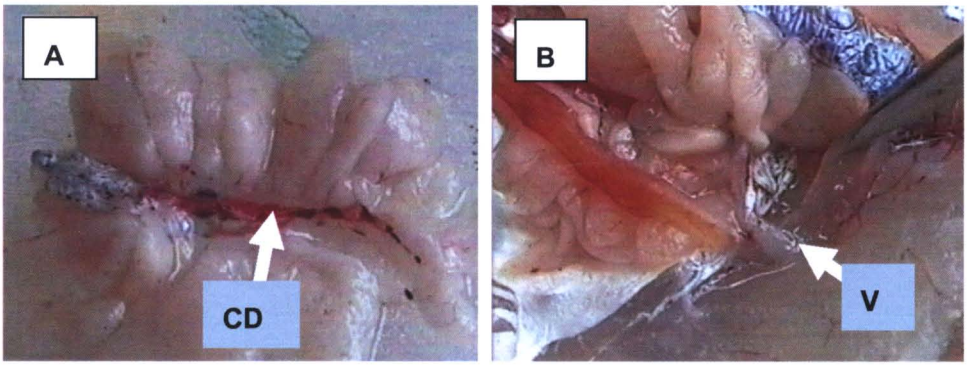


ภาพที่ 15 แสดงภาพท่อนำไข่ (OV = oviduct) ของปลาแดง

ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์ภายใน: อัณฑะ

อัณฑะของปลาแดง มีขนาดเล็ก ประกอบด้วยพูจำนวนมากในแต่ละข้างของอัณฑะ ซึ่งแต่ละพูจะมีน้ำเชื้ออยู่ภายในในความเข้มข้นที่ต่างกัน (ภาพที่ 16) โดยสังเกตจากความขุ่นใสที่แตกต่างกัน สำหรับระบบท่อสืบพันธุ์เพศผู้ที่ทำหน้าที่นำส่งน้ำเชื้อออกภายนอกร่างกายประกอบด้วยท่อรวบรวมน้ำเชื้อ (collecting duct) ที่ทอดตัวอยู่ในแนวกลางตัวของอัณฑะในแต่ละข้าง ตามภาพ 16B ซึ่งทำหน้าที่

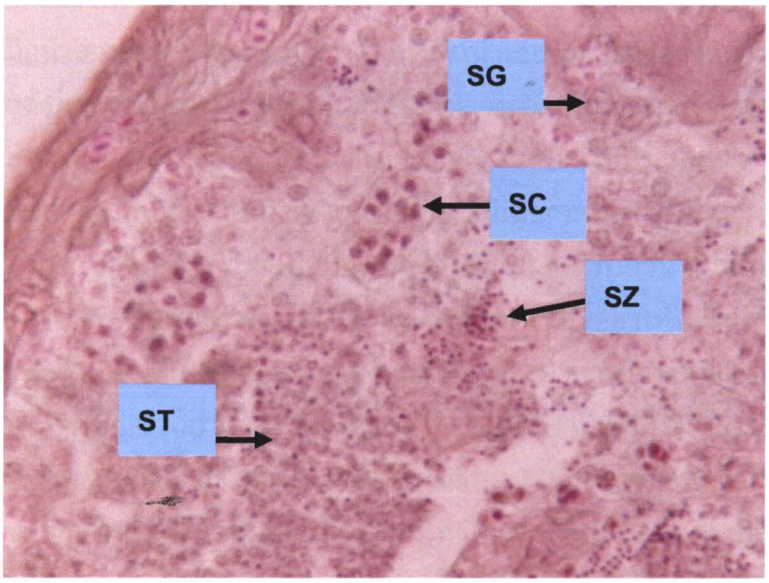
รวบรวมน้ำเชื้อจากแต่ละพูของอัณฑะ ไปเปิดรวมกันที่ท่อน้ำน้ำเชื้อ vas deferens ซึ่งเป็นท่อเดี่ยว เพื่อนำน้ำเชื้อออกสู่ภายนอกผ่านช่องปิดที่ปลายติดเพศ โดยมีท่อนำปัสสาวะเดินทางทอดตัวผ่านเข้าไปยังติ่งเพศด้วยกัน (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 แสดงภาพอัณฑะของปลาแดง (A.) แสดงตำแหน่งของ collecting duct (CD); (B.) แสดงตำแหน่งของ vas deferens (V) และอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทางมิญชวิทยาของอัณฑะปลาแดง

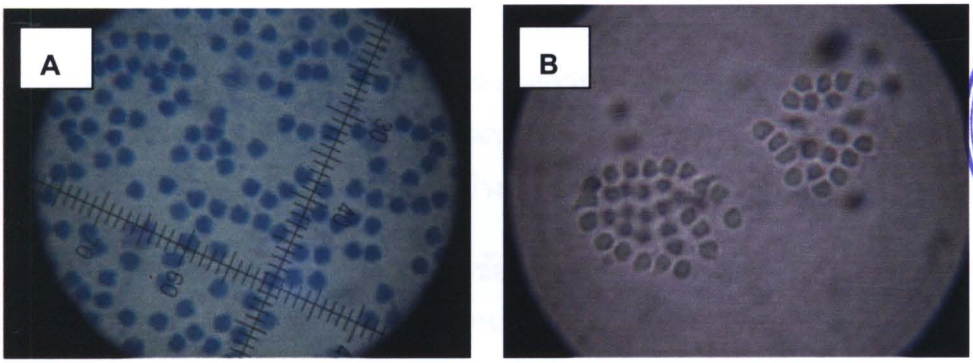
อัณฑะปลาแดงประกอบด้วยเซลล์สืบพันธุ์ทุกระยะ ตั้งแต่ระยะแรกคือ spermatogonia ซึ่งเป็นเซลล์ขนาดค่อนข้างใหญ่มองเห็นนิวเคลียสขนาดเล็กชัดเจน spermatocyte เป็นเซล์ที่เริ่มแบ่งตัวจึงมีขนาดเล็กลงกว่า spermatogonia นิวเคลียสจึงติดสีเข้ม ส่วน spermatids เป็นระยะที่มีการแบ่งเซลล์แบบ meiosis เสร็จสิ้นแล้ว แต่ยังไม่พัฒนาเป็น spermatozoa เซลล์จะมีขนาดเล็กและมองเห็นขอบเซลล์ไม่ชัด พบ spermatozoa ซึ่งมีลักษณะกลมติดสีเข้ม จำนวนไม่มากนัก (ภาพที่17)



ภาพที่ 17 แสดงเนื้อเยื่ออัณฑะของปลาแดง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า SG = spermatogonia, SC = spermatocyte, ST= spermatid, SZ=spermatozoa

ลักษณะของเชื้อตัวผู้ของปลาแดง

เชื้อตัวผู้ของปลาแดง มีส่วนหัวที่มีรูปร่างรี อย่างไรก็ตามเมื่อมองผ่านกล้องจุลทัศน์ อาจเห็นรูปร่างต่างๆกัน ขึ้นกับมุมมอง เส้นผ่าศูนย์กลางของส่วนหัวน้ำเชื้อมีขนาดประมาณ 1.5-2.0 x $^{10-3}$ มิลลิเมตร และพบว่ามีหางยาวมาก น้ำเชื้อที่ไม่ผ่านการย้อมสี จะอยู่เป็นกลุ่มๆ (ภาพที่ 18)



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพที่ 18 แสดงภาพของตัวน้ำเชื้อที่ผ่านการย้อมสี Giemsa (ภาพ A) น้ำเชื้อที่ไม่ได้ย้อมสี (ภาพ B)

วิจารณ์ผล

ปลาแดงที่เจริญพันธุ์แล้ว และอยู่ในฤดูผสมพันธุ์มีลักษณะภายนอกแตกต่างกันชัดเจน ทั้งนี้จากข้อมูลของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท พบว่านอกฤดูผสมพันธุ์ จะแยกเพศได้ยากมาก พบลักษณะที่พิเศษ คือเพศเมียมีต่อมเมือก ซึ่งอาจสัมพันธ์กับการสืบพันธุ์ของปลาแดง เมื่อนำเมือกที่หลั่งออกมาจากต่อมไปผสมกับน้ำ พบว่าเมือกสามารถละลายในน้ำได้ดีมาก และใช้เมือกในปริมาณเพียง 0.01 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต่อ น้ำ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร พบว่าสามารถทำให้น้ำเปนเมือกเหนียวได้ทั้งมวลของน้ำ และเมื่อนำสารละลายเมือกดังกล่าวไปกระตุ้นน้ำเชื้อ พบว่าสามารถกระตุ้นน้ำเชื้อให้เคลื่อนที่ได้ดี แสดงว่าเมือกดังกล่าวไม่ได้ส่งผลต่อคุณสมบัติของน้ำ ซึ่งคาดว่าเมือกดังกล่าวน่าจะทำหน้าที่เพียงทำให้เกิดโครงข่ายของโมเลกุลในลักษณะ polymer เท่านั้น ส่วนการใช้ประโยชน์จากเมือกที่สร้างมาจากต่อม ที่มีคุณสมบัติที่สามารถทำให้น้ำในปริมาณมากเกิดเป็นเมือกเหนียวได้นั้นสามารถพบได้ในปลา Hagfish ซึ่งหลั่งเมือกจำนวนมากออกมาเพื่อป้องกันตัว โดยเมือกจะรบกวนขบวนการแลกเปลี่ยนก๊าซของ gill lamella ของปลา หรืออาจทำหน้าที่เป็น scent organ เพื่อสื่อสารกับเพศตรงกันข้าม หรือ ใช้ในขบวนการสร้างรังเพื่อปกป้องไข่ที่ผ่านการวางไข่ไปแล้ว ซึ่งต้องทำการศึกษากันต่อไป

จากลักษณะทางมิญชวิทยาแสดงว่า ปลาแดงที่นำมาศึกษามีปริมาณเชื้อตัวผู้ค่อนข้างน้อย ซึ่งอาจเป็นธรรมชาติของปลาชนิดนี้ หรืออาจแสดงความไม่สมบูรณ์ของปลาชุดนี้

การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้น ที่ทำให้มองเห็นประเด็นการศึกษาที่จะทำต่อไปได้ อาทิเช่น บทบาทของต่อมเมือก หรือความสมบูรณ์ของอัณฑะ เป็นต้น

4.5.2 การทดลองเบื้องต้นในการใช้ฮอร์โมน testosterone เพิ่มความสมบูรณ์ของน้ำเชื้อปลาแดง

วิกรม รังสินธุ์ วรวิทย์ พรหมปากดี อุทัยรัตน์ ณ นคร

คำนำ

ปลาแดง (*Phalacronotus bleekeri*) เป็นปลาน้ำจืดที่พบในแม่น้ำลำคลองทั่วประเทศ ปลาชนิดนี้เป็นที่นิยมอย่างสูงของผู้บริโภคชาวไทย จึงทำให้มีการจับปลาชนิดนี้มาก ประกอบกับสภาวะแวดล้อมที่เสื่อมโทรมลงโดยทั่วไป มีผลให้ปริมาณปลาแดงในธรรมชาติลดน้อยลง กรมประมงได้ทำการวิจัยจนสามารถเพาะพันธุ์ปลาชนิดนี้ได้โดยศูนย์วิจัยพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท และนำลูกปลาที่ผลิตได้ ไปปล่อยลงแหล่งน้ำธรรมชาติ เพื่อการอนุรักษ์ อย่างไรก็ตามอัตราความสำเร็จในการเพาะพันธุ์ยังไม่ดีนัก

ในปัจจุบันศูนย์วิจัยพัฒนาประมงน้ำจืดชัยนาท เพาะพันธุ์ปลาแดงได้โดยการฉีดฮอร์โมนผสมเทียม และเนื่องจากมีน้ำเชื้อน้อย ปลาตัวผู้จะถูกฆ่า และนำอัณฑะมาบดกับน้ำเกลือ อย่างไรก็ตาม พบว่าอัตราการอัตราฟัก ค่อนข้างต่ำ และไม่แน่นอน จากการตรวจตัวอย่างน้ำเชื้อของพ่อปลาแดง พบว่ามีน้ำเชื้อในปริมาณน้อยมาก นอกจากนั้นยังสังเกตว่า เชื้อตัวผู้มีหางยาวเป็นพิเศษ ผู้วิจัยจึงทดลองเร่งความสมบูรณ์ของน้ำเชื้อ โดยการให้พ่อปลากินอาหารผสม methyl testosterone (MT) ในความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นทดลองนำน้ำเชื้อไปผสมกับไข่ที่รีดได้จากปลาตัวเมีย นอกจากนั้นยังทดลองความเข้มข้นของน้ำเชื้อที่เหมาะสมในการผสมเทียม การทดลองนี้ทำระหว่างวันที่ 2 กันยายน – ตุลาคม 2552

วัตถุประสงค์

1.เพื่อให้ทราบถึงผลของฮอร์โมน Methyl testosterone ต่อประสิทธิภาพของน้ำเชื้อ

2.เพื่อให้ทราบถึงผลของระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อต่อความสำเร็จของการผสมเทียม

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาทดลองและการให้ฮอร์โมน

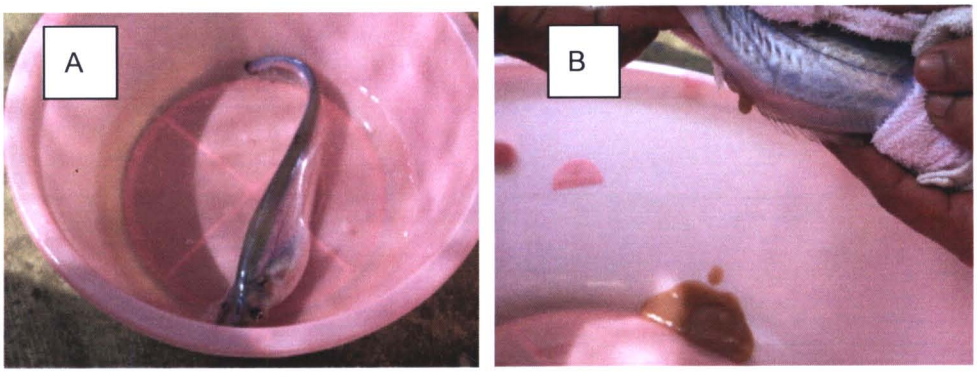
ปลาทดลองเป็นพ่อแม่พันธุ์ปลาแดง อายุประมาณ 2 ปี นำปลาเพศผู้จำนวน 60 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่มให้ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน Methyl testosterone ในอัตรา 0, 5 หรือ 10 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม โดยให้ปลาได้รับฮอร์โมนนาน 7 สัปดาห์ เลี้ยงปลาทดลองแต่ละชุด ในบ่อคอนกรีตขนาด 2 x 2 ตารางเมตร ให้อาหารเนื้อปลาสด โดยให้กินจนอิ่ม วันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น ระบบน้ำเป็นแบบไหลผ่านตลอด

การทดลองระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อ

การฉีดฮอร์โมนปลาเพศผู้: คัดเลือกปลาเพศผู้จากทุกกลุ่มการทดลองจำนวนกลุ่มการทดลองละ 2 ตัว นำมาฉีดฮอร์โมนกระตุ้นจำนวน 1 ครั้ง ล่วงหน้าก่อนทำการผ่าตัดเพื่อเก็บอัณฑะเป็นระยะเวลานาน 6 ชั่วโมง นอก จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักตัว และชั่งน้ำหนักอัณฑะ เพื่อนำไปหาค่า GSI

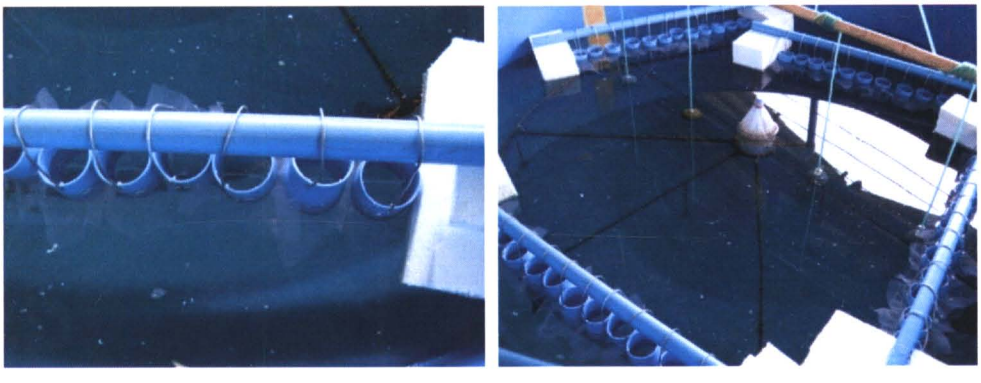
การฉีดฮอร์โมนปลาเพศเมีย: คัดเลือกปลาแดงเพศเมียจำนวน 5 ตัว ที่คาดว่ามีการพัฒนารังไข่ในระยะสุดท้ายมาทำการฉีดฮอร์โมนกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ ซึ่งตามปกติปลาแดงเพศเมียจะสามารถรีดไข่ได้ภายหลังจากการฉีดเข็มแรกประมาณ 12 ชั่วโมง

เมื่อแม่ปลาพร้อมจะวางไข่ นำแม่ปลามาซับน้ำออกให้แห้ง แล้วรีดไข่ลงในจานแก้ว จากนั้นแบ่งไข่ปลาโดยใช้ไมโครไปเปต ส่วนละ 150 ไมโครลิตร (จำนวนไข่ประมาณ 100 - 200 ฟอง) ตัวละ 3 ส่วน (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 ภาพแม่ปลาแดง (A) และการรีดไข่ (B)

นำไข่แต่ละส่วน ผสมกับน้ำเชื้อที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้น ในปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วเขย่าไข่ให้เข้ากับน้ำเชื้อนาน 30 วินาที กระตุ้นให้เกิดการปฏิสนธิโดยเติมน้ำ และเขย่าให้เข้ากันนาน 30 วินาที จากนั้นนำไข่ที่ปฏิสนธิแล้วไปเทใส่กระบอกเพาะฟัก (ภาพที่ 20)



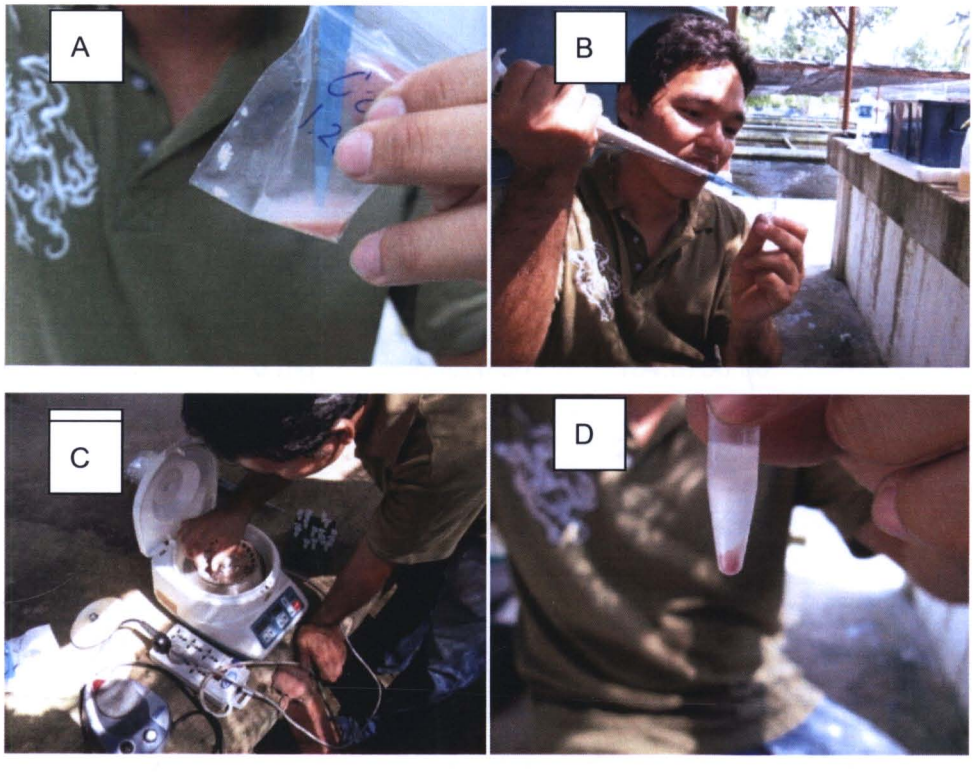
ภาพที่ 20 ภาพแสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะฟัก ประกอบด้วยท่อ PVC ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 นิ้ว สูง 7 เซนติเมตร ใช้ผ้าโอลอนขึงปิดส่วนปลายทางด้านล่าง ส่วนปลายทางด้านบนเจาะรูสำหรับสอดลวดเพื่อแขวนกับราวท่อ PVC

การเตรียมน้ำเชื้อ

เตรียมน้ำเชื้อที่ใช้ผสมเทียม โดยผ่าท้องปลานำถุงน้ำเชื้อมาชั่งน้ำหนัก จากนั้นตัดและรีดน้ำเชื้อลงใน petri disc เจือจางน้ำเชื้อ 3 ระดับคือ น้ำเชื้อเข้มข้น (ไม่ผสมน้ำเกลือ) น้ำเชื้อเจือจางในน้ำเกลือใน

สัดส่วน 1:10 (น้ำเชื้อ:น้ำเกลือ) และน้ำเชื้อเจือจางในน้ำเกลือในสัดส่วน 1:100 โดยมีวิธีการเตรียมโดยละเอียดดังนี้

เติมน้ำเกลือ 0.85%ในอัตรา 5 มิลลิลิตร/อัณฑะ 1 กรัม ตัดอัณฑะเป็นชิ้นเล็ก และขยี้ในถุงซิป แล้วดูดส่วนที่เป็นสารละลายไปปั่นที่ความเร็ว 2000 รอบ/นาที นาน 5 นาที เพื่อแยกตัวน้ำเชื้อออกจากเซลล์ชนิดอื่นๆ จากนั้นดูดส่วนใสทิ้ง แล้วเติมน้ำเกลือกลับลงไปให้ได้ปริมาตรเท่าเดิม จะทำให้ได้น้ำเชื้อเข้มข้นที่คัดแยกเซลล์สืบพันธุ์ในระยะอื่นๆออกไปแล้ว นำน้ำเชื้อเข้มข้นที่ได้ ไปเจือจางด้วยน้ำเกลือในอัตราส่วน 1:9 จะได้น้ำเชื้อที่มีความเข้มข้น 1:10 น้ำเชื้อที่มีความเข้มข้น 1:10 มาทำการเจือจางด้วยน้ำเกลืออีกครั้งในอัตราส่วน 1:10 จะได้น้ำเชื้อที่มีความเข้มข้น 1 :100 (ภาพที่ 21)



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพที่ 21 ภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมน้ำเชื้อปลาแดง A. ตัดอัณฑะเป็นชิ้นเล็กๆ ในถุงพลาสติกขยี้เบาๆ B. ใช้ไปเป็ตต์ดูดน้ำเชื้อใส่ในหลอด เอพเพ็นดอร์ฟ C. นำไปปั่นเพื่อแยกเซลล์ spermatozoa ออกจากเซลล์น้ำเชื้อในระยะอื่นๆ D. ดูดส่วนใสทิ้ง แล้วเติมน้ำเกลือกลับลงไปให้ได้ปริมาตรเท่าเดิม

การเก็บข้อมูล

นับอัตราการฟักของลูกปลาที่ฟักในแต่ละกระบอกเพาะฟักที่ระยะเวลาหลังการปฏิสนธินาน 24 ชั่วโมง โดยแยกเป็นลูกปลาที่มีลักษณะพิการ และลูกปลาปกติ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับจำนวนไข่ทั้งหมด

ผลการทดลอง

ปลาแดงเพศผู้ที่ได้รับ ฮอร์โมน Methyl testosterone ทั้ง 2 ระดับ (5 และ 10 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) จะมีค่า GSI [Gonadosomatic index = (น้ำหนักอัณฑะ/น้ำหนักตัว) x 100] ต่ำกว่าปลาที่ไม่ได้รับฮอร์โมน ตามตารางที่ 5 แต่เมื่อพิจารณาจากลักษณะของสีของอัณฑะพบว่า ในกลุ่มการทดลองที่ได้รับฮอร์โมนในระดับ 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะมีสีขุ่นขาวมากกว่ากลุ่มการทดลองอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับจำนวนของ spermatozoa ของกลุ่มการทดลองที่ได้รับฮอร์โมนในระดับ 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งจะมีจำนวนของ spermatozoa ต่อปริมาตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรมากที่สุด ส่วนในกลุ่มการทดลองที่ได้รับฮอร์โมนในระดับ 10 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะมีความหนาแน่นของ spermatozoa ที่ต่ำที่สุด ตามตารางที่ 5 และมีข้อสังเกตอยู่ประการหนึ่งเกี่ยวกับรูปร่างของอัณฑะ ซึ่งในกลุ่มควบคุมการทดลองที่ไม่ได้รับฮอร์โมนจะมีจำนวนแขนงของอัณฑะมากกว่ากลุ่มการทดลองที่ได้รับฮอร์โมน

ตารางที่ 5 แสดงค่า GSI และความเข้มข้นของน้ำเชื้อของปลาทดลอง ภายหลังได้รับ Methyl testosterone 7 สัปดาห์ (หน่วยความเข้มข้นของน้ำเชื้อ = 10^6 เซลล์ต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

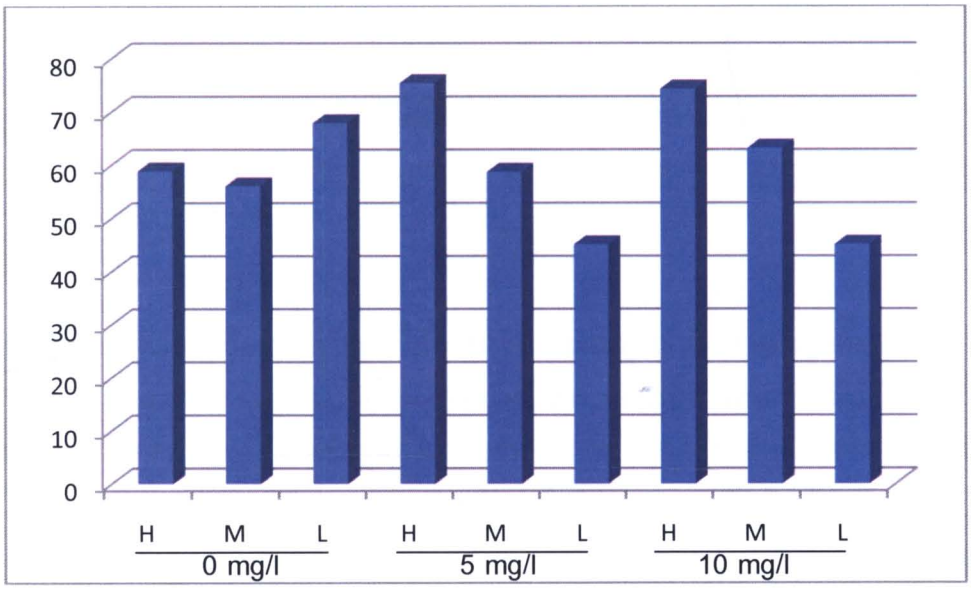
Treatment	GSI	Sperm conc.
0 mg	2.06±0.30	184.0±50.90
5 mg	1.46±0.23	227.0±19.79
10 mg	1.44±0.05	157.5±9.19

ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ และอัตราฟัก

ปลาเพศผู้ที่ได้รับ Methyl testosterone 5 มก./อาหาร 1 กก. มีแนวโน้มจะให้น้ำเชื้อที่เข้มข้นที่สุด เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มการทดลองที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด พบว่าน้ำเชื้อที่ได้จากกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับฮอร์โมนมีอัตราฟักของลูกปลาค่อนข้างต่ำกว่าชุดที่ได้รับฮอร์โมน (58.9 เปอร์เซ็นต์) ส่วนน้ำเชื้อที่ได้จากกลุ่มทดลองให้ฮอร์โมนที่ 5 และ 10 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีแนวโน้มให้อัตราฟักในระดับสูงกว่าและมีค่าใกล้เคียงกันโดยมีค่าเท่ากับ 75.49±6.09 และ 74.39±10.29 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และ น้ำเชื้อที่ได้จากกลุ่มทดลองที่ให้ฮอร์โมนจะมีแนวโน้มให้อัตราการฟักที่ลดลงตามความเข้มข้นของน้ำเชื้อที่ลดลงตามลำดับ ในขณะที่น้ำเชื้อที่ได้จากกลุ่มควบคุมการทดลองที่ไม่ได้รับฮอร์โมน การเจือจางลงของน้ำเชื้อยังส่งผลที่ไม่สัมพันธ์กันกับอัตราการฟักของลูกปลา (ตารางที่ 6 ภาพที่ 22)

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นของน้ำเชื้อที่เจือจาง 3 ระดับ (หน่วยความเข้มข้นของน้ำเชื้อ = 10^6 เซลล์ต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ของปลาแดงที่ได้รับ Methyl testosterone 3 ระดับ (0, 5 หรือ 10 มก./กก.) และอัตราการฟักเมื่อผสมน้ำเชื้อนี้กับไข่ของปลาแดงเพศเมีย

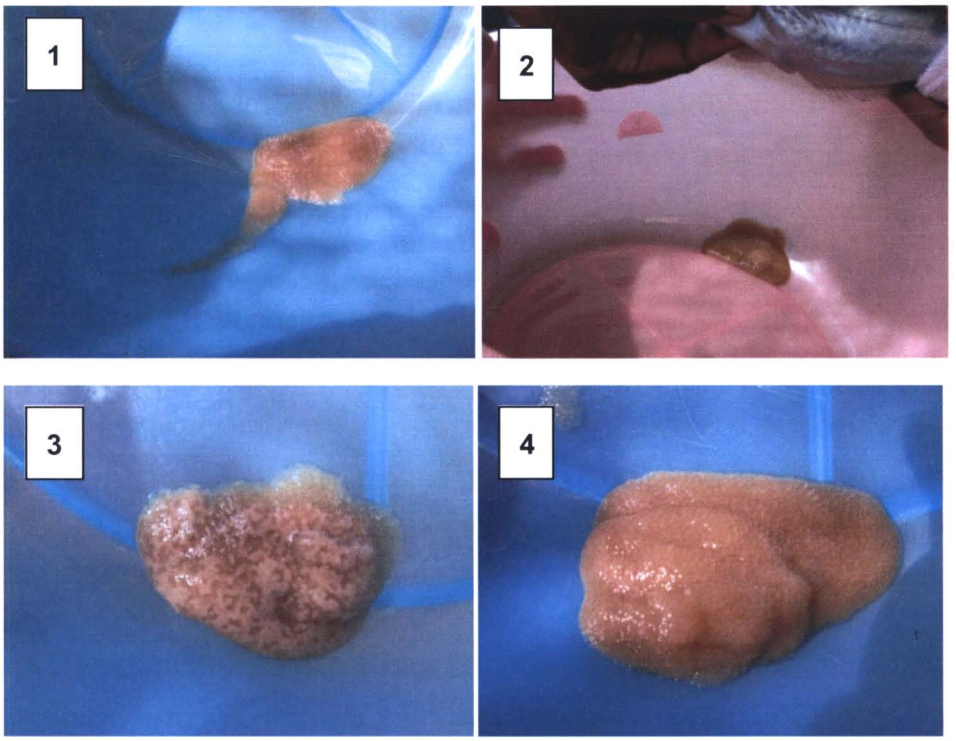
MT dose	Dilution	Sperm conc.	Hatching%
0 mg/kg	High	184±50.9	58.90±0.50
	medium	18.9±11.1	56.09±0.22
	low	1.3±0.8	67.95±6.98
5 mg/kg	High	227.0±19.8	75.49±6.09
	medium	27.65±1.2	58.75±10.95
	low	2.37±0.0	45.12±10.71
10 mg/kg	High	157.5±9.2	74.39±10.29
	medium	12.5±0.4	63.23±5.03
	low	1.6±1.8	45.15±14.89



ภาพที่ 22 อัตราการฟักจากการผสมไข่กับน้ำเชื้อปลาแดงที่ได้รับ Methyltestosterone ในอัตรา 0, 5 หรือ 10 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม และน้ำเชื้อเจือจาง 3 ระดับ H, M และ L = เข้มข้นสูง กลาง ต่ำ ตามลำดับ

ผลอัตราการฟักแสดงให้เห็นถึงผลของคุณภาพของไข่ที่มีผลต่ออัตราฟักของลูกปลาโดยตรง โดยไข่ที่ได้จากแม่ปลาแต่ละตัว มีสีและความหนืดของไข่แตกต่างกันตามภาพที่ 23 โดยไข่ที่ได้จากแม่ปลาตัวที่ 2 ที่ให้อัตราการฟักที่ดีที่สุด มีสีของไข่เป็นสีน้ำตาลเข้ม และมีความหนืดน้อย ส่วนไข่ที่ให้อัตราการผสมติดต่ำจะเป็นไข่ที่มีสีที่ซีดกว่าและมีความหนืดมาก และเป็นที่น่าสังเกตว่าในไข่ในมีสีที่ซีดกว่ามักจะมีไข่ที่ไม่สุก ที่มีสีขาวขุ่นปนอยู่ด้วย ซึ่งจะสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนในไข่ที่ได้จากแม่ปลาตัวที่ 3 ที่มี

ไข่ที่ไม่สุกปนมาในปริมาณมาก ซึ่งไข่ที่มีสีซีด เมื่อนำไปผสมกับน้ำเชื้อและกระตุ้นให้เกิดการปฏิสนธิ จะเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่นภายใน 30 นาที ซึ่งถือว่าเป็นการแสดงให้เห็นถึงสภาพความไม่พร้อมของไข่ปลาที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วมาก ซึ่งในปลาทั่วไป จะทำการนับจำนวนปฏิสนธิในเวลาประมาณ 6-8 ชั่วโมง



ภาพที่ 23 สีของไข่ปลาจากแม่ปลาจำนวน 4 ตัว ซึ่งแม่ปลาตัวที่ 2 ให้ผลอัตราการฟักที่ดีที่สุด

สรุป

การทดลองนี้แสดงถึงความเป็นไปได้ที่จะเร่งความสมบูรณ์ของเชื้อตัวผู้ของปลาแดงด้วยการให้ฮอร์โมน Methyl testosterone (5 mg/kg feed) อย่างไรก็ตามควรมีการทดลองเพิ่มเติมเกี่ยวกับอัตราที่เหมาะสม แม้การทดลองครั้งนี้ยังให้ข้อมูลที่ไม่สามารถทดสอบทางสถิติได้ เนื่องจากจำนวนปลาทดลองมีน้อยเกินไป แต่ทำให้ได้แนวทางที่จะทดลองเพิ่มเติมต่อไปได้ นอกจากนั้นยังให้ข้อสังเกตที่เป็นประโยชน์กับการทดลองต่อไป เช่น การขยี้อัณฑะอาจทำให้เชื้อตัวผู้เสียหาย เนื่องจากเชื้อมีหางยาว ควรใช้วิธีการตัดแล้วนำไปปั่นด้วย centrifuge แทน; ข้อสังเกตุเกี่ยวกับสีของไข่ที่สมบูรณ์ ฯลฯ

4.5.3 การทดลองเลี้ยงปลากดคังในอัตราความหนาแน่นต่างกันในฟาร์มเกษตรกร

ฉัตรชัย ไทยทุ่งฉิน สุบรรณ เสถียรจิตร ประพันธ์ศักดิ์ ศีรษะภูมิ อุทัยรัตน์ ณ นคร

คำนำ

ปลากดคัง (*Macrones wyckioides*) เป็นปลาพื้นเมืองที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค กรมประมงสามารถเพาะอนุบาลปลากดคังได้สำเร็จตั้งแต่ พ.ศ. 2532 (สุทธิชัย ฤทธิธรรมและอุบลรัตน์ สุนทรรัตน์ 2533) และเริ่มมีการทดลองเพื่อพัฒนาการเลี้ยงปลากดคังนับแต่นั้นมา จากผลการทดลองพบว่า การเลี้ยงปลากดคังในกระชังขนาด 25 ตารางเมตร ลึก 2 เมตร ตรึงกระชังในอ่างเก็บน้ำแม่ถาง จังหวัดแพร่ ปล่อยปลาในอัตรา 16 ตัว/ตารางเมตร (8 ตัว/ลูกบาศก์เมตร) ให้อาหารเม็ดสำหรับปลาดุก เลี้ยงนาน 10 เดือน ได้ปลาขนาดตัวละ 1-1.2 กิโลกรัม ผลผลิตรวม 400 กิโลกรัม/กระชัง (วิศนุพร รัตนตรัยวงศ์ และคณะ 2537) ถ้าเลี้ยงด้วยกระชังขนาดเดียวกันในบ่อดิน ปล่อยปลา 30 ตัว/ตารางเมตร เลี้ยงด้วยเนื้อปลาบดเป็นหลัก เลี้ยงนาน 6 เดือน ได้ปลาขนาดตัวละ 0.4 – 0.5 กิโลกรัม ผลผลิต 300 – 400 กิโลกรัม ส่วนการเลี้ยงในบ่อดินได้ผลไม่ดีเท่าการเลี้ยงในกระชัง แม้อัตารอดจะดีกว่า แต่ปลาโตช้ากว่ามาก (รวบรวมโดย วิศนุพร รัตนตรัยวงศ์, 2542)

ในจังหวัดชัยนาท มีเกษตรกรหลายรายที่ทดลองเลี้ยงปลากดคัง พบว่ามีการเจริญเติบโตต่ำมาก ทำให้ต้องใช้เวลาเลี้ยงนานถึงประมาณ 2 ปี จึงจะได้ขนาดตลาด ซึ่งมีผลให้ต้นทุนสูง จากการเก็บข้อมูลเบื้องต้นพบว่า เกษตรกรปล่อยปลาในความหนาแน่นค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับอัตราปล่อยที่กรมประมงแนะนำไว้ (เกษตรกรปล่อยประมาณ 40 ตัว/ตารางเมตร) ดังนั้นจึงทำการทดลอง เปรียบเทียบการปล่อยปลาในอัตราปล่อยที่ต่ำกว่าอัตราปล่อยของเกษตรกรครึ่งหนึ่ง กับการปล่อยในอัตราปกติ โดยทำการทดลองในฟาร์มเกษตรกร ซึ่งผลการทดลองที่ได้ เกษตรกรจะสามารถนำไปใช้ได้ทันที นอกจากนั้นแล้วระหว่างการทดลองนักวิจัยยังสามารถให้คำแนะนำในการเลี้ยงแก่เกษตรกร ซึ่งเป็นประโยชน์กับเกษตรกรเป็นอย่างยิ่ง

สำหรับความสัมพันธ์ของอัตราปล่อยกับอัตราการเจริญเติบโต จะแตกต่างกันไปตามชนิดปลา โดยปลาที่มีนิสัยรวมฝูงจะเจริญเติบโตดีในอัตราความหนาแน่นสูง และการเจริญเติบโตจะลดลงที่อัตราความหนาแน่นต่ำ (Papoutsoglou *et al*., 1998; Gardeur *et al*., 2001) การทดลองในปลาชนิดเดียวกันก็สามารถให้ผลของอัตราปล่อยแตกต่างกัน เมื่อทดลองในสภาพการเลี้ยงแตกต่างกัน เช่นถ้าเลี้ยงในกระชังในแม่น้ำ เมื่อเพิ่มอัตราปล่อย การเจริญเติบโตอาจไม่ลด เนื่องจากคุณภาพน้ำไม่ลดลงเพราะน้ำมีการถ่ายเทดี (Yilmaz and Arabaci, 2010) แต่เมื่อทดลองเลี้ยงในบ่อ การเพิ่มอัตราปล่อยให้สูงขึ้นจะทำให้การเจริญเติบโตลดลง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของการลดอัตราการปล่อยเพื่อเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของปลากดคังที่เลี้ยงในกระชังในฟาร์มเกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลาทดลอง

ลูกปลากดคังอายุ 1 เดือน (ขนาด 2-3 ซม.) ที่ซื้อจากวิวัฒน์ฟาร์ม จังหวัดพิษณุโลก จำนวน 6000 ตัว (ฟาร์มละ 2000 ตัว) นำมาอนุบาลในแต่ละฟาร์มนานประมาณ 1 เดือน (9 เมษายน – 13 พฤษภาคม 2552) จนได้ขนาดความยาว 8-10 ซม. (น้ำหนัก 5.3 – 10.4 กรัม) ซึ่งเป็นขนาดที่สามารถลงปล่อยในกระชังเลี้ยงได้

สถานที่ทดลอง

ทำการทดลองในฟาร์ม 3 ฟาร์ม (ภาพที่ 24) มีรายชื่อตามตารางที่ 7 โดยคัดเลือกจากฟาร์มที่เคยเลี้ยงปลากดคังอยู่ก่อนแล้ว และให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูล

ตารางที่ 7 ชื่อฟาร์ม ที่อยู่ ความยาว และน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยของปลากดคังเมื่อเริ่มการทดลอง

ชื่อฟาร์ม	ที่อยู่	ความยาวเริ่มต้น (ซม.)	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)*
ฟาร์มที่ 1 คุณประมวล รุ่งทอง	เลขที่ 70 หมู่ 4 ตำบลท่าชัย อำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท	8.00 ± 1.14	5.49
ฟาร์มที่ 2 คุณประยูร ช้างทอง	เลขที่ 4 หมู่ 1 ตำบลหนองน้อย อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท	8.52 ± 1.28	7.87
ฟาร์มที่ 3 คุณสุวิทย์ พรหมจาก	เลขที่ 12 หมู่ 4 ตำบลท่าชัย อำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท	9.73 ± 0.89	10.02

* น้ำหนักเฉลี่ย = น้ำหนักรวม/จำนวนตัว

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design โดยให้แต่ละฟาร์มเป็นซ้ำ (block) ในแต่ละฟาร์มมีปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่อาจต่างกันได้แก่ ขนาดลูกปลาเมื่อเริ่มทดลอง คุณสมบัติน้ำ และการจัดการ ปล่อยปลาทดลองในกระชังขนาด กว้าง 3 เมตร ยาว 5 เมตร ลึก 2 เมตร ขนาดตา 1 ซม. และเมื่อเลี้ยงได้นาน 6 เดือน เปลี่ยนเป็นกระชังขนาดเดียวกัน แต่ใช้อวนขนาดตา 3 ซม. จนสิ้นสุดการทดลอง ปล่อยลูกปลาในอัตรา 300 และ 600 ตัว/กระชัง ให้อาหาร เม็ดสำหรับปลาดุก ปริมาณโปรตีน

30% ให้อาหารวันละ 3 ครั้ง (เช้า เที่ยง และเย็น) ในระยะ 2 เดือนแรกของการทดลอง หลังจากนั้นให้วันละ 2 ครั้ง (เช้า และเย็น) โดยให้กินจนอิ่ม

ภาพที่ 24 ฟาร์มที่ทำการทดลอง 1. ฟาร์มคุณประมวล รุ่งทอง 2. ฟาร์มคุณประยูร ช้างทอง 3. ฟาร์มคุณสุวิทย์ พรหมจาก

การเก็บข้อมูล

ทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวปลาทดลองเดือนละ 1 ครั้ง โดยสุ่มปลามากระชังละ 30% ยกเว้นในบางเดือนซึ่งสภาพอากาศไม่เหมาะสม หรือปลากำลังมีอาการของโรค ก็จะเว้นไม่ชั่งวัด อย่างไรก็ตามเมื่อเลี้ยงได้ 7 เดือน เกษตรกรได้ขอให้ลดความถี่ของการชั่งวัดลง เป็น 2 เดือนต่อครั้ง เพื่อลดความเครียดของปลา เก็บข้อมูลคุณภาพน้ำในกระชังและนอกกระชังในวันที่ชั่งวัด สำรวจอาการของโรค เมื่อพบปลาที่มีอาการของโรค นำตัวอย่างปลามาตรวจโรคและปรสิต ณ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นับจำนวนปลาที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลองและคำนวณอัตรารอด

การวิเคราะห์ข้อมูล

ทดสอบการกระจายของข้อมูล พบว่าข้อมูลทุกชุด มีการกระจายแบบปกติ วิเคราะห์ความแปรปรวนตามวิธี Analysis of Variance โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS, 2003)

ผลการทดลอง

ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 8 เมื่อเริ่มทดลองปลาทดลองมีอายุ 2 เดือน เมื่อเลี้ยงไปได้ 1 เดือน ปลาทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่น 300 ตัว/กระชังมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่น 600 ตัว/กระชัง แต่ปลาทั้ง 2 ชุดมีความยาวไม่แตกต่างกัน

ในเดือนที่ 2 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 4 เดือน) ปลาชุดที่ปล่อยด้วยอัตรา 300 ตัว/กระชัง มีความยาวมากกว่า ชุดอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชัง แต่ในด้านน้ำหนัก ชุดอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชังกลับมีน้ำหนักสูงกว่า

ในเดือนที่ 3 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 5 เดือน) ปลาทั้งสองชุดการทดลอง มีขนาดไม่แตกต่างกันทั้งด้านความยาวและน้ำหนัก

ในเดือนที่ 4 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 6 เดือน) ปลาชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง มีน้ำหนักตัวสูงกว่าชุด 600 ตัว/กระชัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ความยาวของปลาทั้งสองชุดไม่แตกต่างกัน

ในเดือนที่ 5 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 7 เดือน) ปลาทั้งสองชุดการทดลอง มีขนาดไม่แตกต่างกันทั้งด้านความยาวและน้ำหนัก

ในเดือนที่ 6 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 8 เดือน) ปลาชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง มีความยาวสูงกว่าชุด 600 ตัว/กระชัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปลากลุ่ม 600 ตัว/กระชังกลับมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยสูงกว่าปลาชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง

ในเดือนที่ 8 และ 10 ของการทดลอง (ปลาทดลองอายุ 10 และ 12 เดือน) ปลาทั้งสองชุดการทดลอง กลับมีขนาดไม่แตกต่างกันทั้งด้านความยาวและน้ำหนัก มีข้อสังเกตว่าในเดือนที่ 10 นั้น ได้ข้อมูลผลการทดลองเพียง 2 ฟาร์มเท่านั้น เนื่องจากฟาร์มที่ 3 (คุณสุวิทย์ พรหมจาก) มีปลาตายอย่างผิดสังเกต และมีอาการเป็นโรค จึงไม่ได้ชั่งวัดปลาในฟาร์มนี้

การทดลองสิ้นสุดในวันที่ 8 มิถุนายน 2553 ซึ่งปลามีอายุ 14.5 เดือน ปลาในชุดที่ปล่อย 600 ตัว/กระชัง มีความยาว และน้ำหนักสูงกว่าชุดที่ปล่อยในอัตรา 300 ตัว/กระชัง อย่างไรก็ตาม เนื่องจากสังเกตว่าปลาในฟาร์มที่ 3 มีการเจริญเติบโตในช่วง 2 เดือนสุดท้ายสูงมากผิดปกติ จึงทดลองนำข้อมูลจากฟาร์มที่ 3 ออกจากการวิเคราะห์ จึงมีผลให้ค่าเฉลี่ยทั้งน้ำหนักและความยาวไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างชุดทดลอง (ตารางที่ 8)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาทดลองมีอัตรารอดค่อนข้างต่ำ โดยชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชังมีอัตรารอดต่ำกว่า 600 ตัว/กระชัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (อัตรารอดเท่ากับ 43.00 ± 10.61% และ 47.50 ± 2.12% ตามลำดับ) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ความยาว (ซม.) น้ำหนัก (กรัม) และอัตรารอด ของปลากดคังที่ทดลองเลี้ยงในกระชังขนาด 25 ตารางเมตร ลึก 2 เมตร ด้วยอัตราปล่อย 2 อัตรา คือ 300 ตัว/กระชัง และ 600 ตัว/กระชัง

ลักษณะ	ความยาว (ซม.)		น้ำหนัก (กรัม)		อัตรารอด (%)	
อัตราปล่อย	300 ตัว/กระชัง	600 ตัว/กระชัง	300 ตัว/กระชัง	600 ตัว/กระชัง	300 ตัว/กระชัง	600 ตัว/กระชัง
อายุ						
3 เดือน (มิ.ย. 52)	13.96[a]	14.08[a]	33.73[a]	31.26[b]	-	-
	(2.77)	(2.77)	(21.77)	(14.90)		
4 เดือน (ก.ค.52)	16.98[a]	17.52[b]	67.10[a]	63.23[b]	-	-
	(2.57)	(2.11)	(25.27)	(25.51)		
5 เดือน (ส.ค.52)	20.34[a]	20.84[a]	90.45[a]	95.42[a]	-	-
	(3.64)	(2.75)	(50.07)	(42.13)		
6 เดือน (ก.ย.52)	24.50[a]	23.71[a]	179.96[a]	155.95[b]	-	-
	(4.19)	(2.69)	(77.35)	(57.91)		
7 เดือน (ต.ค.52)	26.39[a]	26.42[a]	214.06[a]	194.72[a]	-	-
	(4.20)	(3.07)	(110.85)	(75.67)		
8 เดือน (พ.ย.52)	26.86[a]	26.79[b]	207.30[a]	255.87[b]	-	-
	(4.08)	(3.67)	(104.13)	(105.50)		
10 เดือน (ม.ค.53)	31.75[a]	32.50[a]	354.98[a]	379.70[a]	-	-
	(4.31)	(3.57)	(161.00)	(132.28)		
12 เดือน* (มี.ค.53)	37.87[a]*	33.07[b]*	554.00[a]*	488.46[a]*	-	-
	(3.79)	(6.31)	(172.86)	(173.01)		
14.5 เดือน (8 มิ.ย.	38.10[a]	39.83[b]	573.14[a]	705.16[b]	43.00[a]	47.50[b]
53)	(3.31)	(3.92)	(187.69)	(227.91)	(10.61)	(2.12)
14.5 เดือน**	37.40[a]	36.15[a]	535.32[a]	496.45[a]	-	-
	(3.18)	(3.01)	(190.32)	(113.68)		

หมายเหตุ ** ข้อมูลเมื่ออายุ 12 เดือน มีเพียง 2 ซ้ำเนื่องจากปลาในฟาร์มที่ 3 มีอาการป่วยจึงไม่ชั่งวัด*

*** ไม่รวมข้อมูลจากฟาร์มที่ 3*

อัตราการเจริญเติบโตของปลาที่ปล่อยในอัตรา 300 และ 600 ตัว/กระชัง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มแตกต่างกันในแต่ละฟาร์ม โดยมีค่า ADG ในชุดอัตราปล่อย 300 ตัว/กระชัง อยู่ระหว่าง 0.93 - 1.30 กรัม/วัน (เฉลี่ย 1.12 ± 0.16 กรัม/วัน) และชุดอัตราปล่อย 600 ตัว/กระชัง มีค่า ADG ระหว่าง 1.00 - 1.74 กรัม/วัน (เฉลี่ย 1.42 ± 0.37 กรัม/วัน) ภาพปลาทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง แสดงไว้ในภาพที่ 25

ภาพที่ 25 ปลาทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

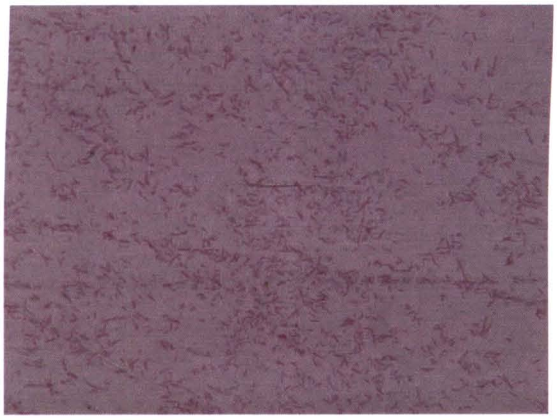
โรคและปรสิตที่พบระหว่างการเลี้ยง

จากการศึกษาสาเหตุของการเกิดโรคในปลากดคัง ซึ่งเลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดชัยนาท ในช่วงเดือน มีนาคม ปี 2553 พบว่าโรคที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายกับปลากดที่เลี้ยงในกระชังคือ เชื้อแบคทีเรีย โดยสามารถแบ่งออกเป็น 2 ระยะคือ

1. โรคที่เกิดกับลูกปลากดขนาดปลานิ้ว

อาการของปลาเป็นโรคที่พบ ภายนอกจะมีการท้องบวม ครีบหูและครีบท้องกร่อนและตกเลือด เมื่อทำการตรวจวินิจฉัยปรสิตภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เนื้อเยื่อจากบริเวณดังกล่าว ไม่พบปรสิตภายนอกแต่อย่างใด เมื่อผ่าดูอวัยวะภายในแล้วพบว่าตับมีสีซีด ไม่มีอาหารในลำไส้ เมื่อทำการเขี่ยเชื้อบริเวณ ตับและม้าม ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) แล้ว สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีโคโลนีขนาดใหญ่สีเหลืองครีม (ภาพที่ 26) เมื่อนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น สามารถเคลื่อนที่ในน้ำได้อย่างรวดเร็ว แบคทีเรียชนิดนี้เมื่อนำไปย้อมสีแกรม พบว่าติดสีแดงแสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (ภาพที่ 27)

ภาพที่ 26 โคโลนีของแบคทีเรีย ที่แยกจากตับและม้ามของปลากดคังที่ป่วย และเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA)



ภาพที่ 27 แบคทีเรียที่แยกจากตับและม้ามของปลากดคังที่ป่วย เมื่อย้อมสีแกรม พบว่าติดสีแดงแสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

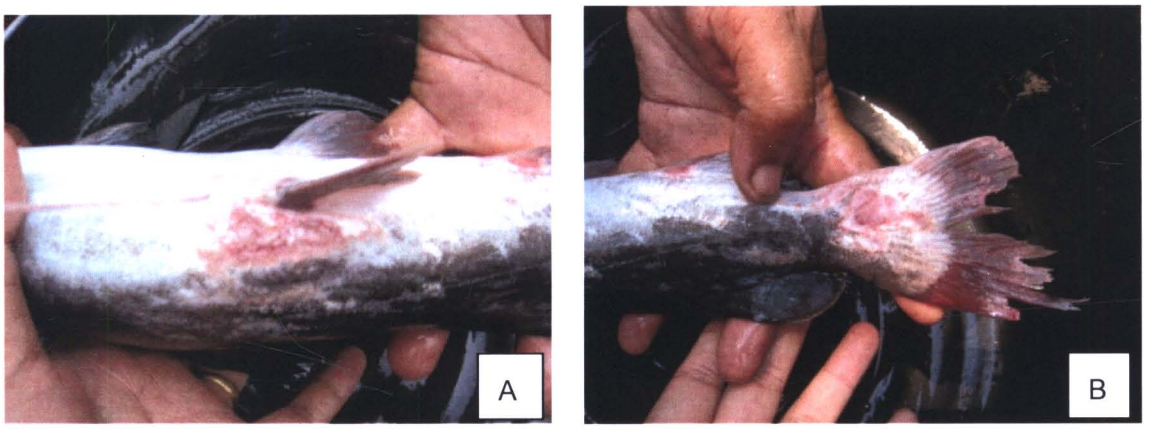
เมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้คือ เชื้อ *Aeromonas hydrophila* และเมื่อทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะที่มีอยู่ในตำหรับ ซึ่งกรมประมงอนุญาตให้ใช้ พบว่าเชื้อมีความไวต่อยา Enrofloxacin มากที่สุด รองลงมาคือ Trimethoprim/sulfamethoxazole ขณะที่ยา Oxytetracycline และ Ammoxycillin เชื้อจะมีความสามารถในการต้านยาทั้งสองชนิดนี้ได้สูง

2. โรคที่เกิดกับปลากดขนาด 400-1000 กรัม

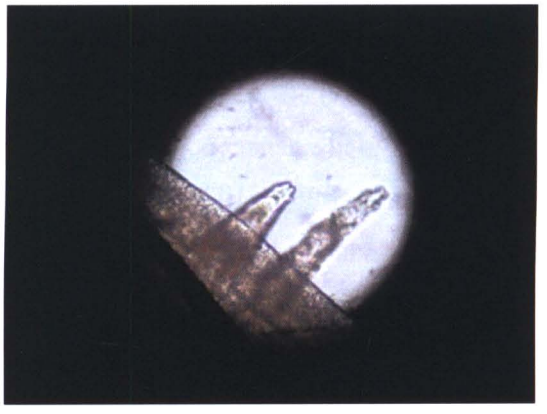
อาการของปลาที่เป็นโรคพบว่า ปลาที่เป็นโรคจะแสดงอาการว่ายเชื่องช้าบนผิวน้ำ ตัวมีสีคล้ำ เมื่อนำมาตรวจดูลักษณะความผิดปกติภายนอกแล้วพบว่า ปลาที่ป่วยจะมีแผลตามลำตัว ครีบหาง ครีบท้องกร่อนอย่างชัดเจน บางตัวมีแผลหลุมลึก มีกลิ่นเหม็น โดยเฉพาะส่วนหาง (ภาพที่ 28) เมื่อทำการตรวจดูปรสิตภายนอก ในบริเวณ เหงือก แผลและครีบที่กร่อน พบว่าปลาบางตัวมีปลิงใส (Monogene) เกาะอยู่บริเวณเหงือกเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 29) เมื่อทำการเขี่ยเชื้อบริเวณ ตับและม้าม ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) และ Shieh medium แล้ว สามารถแยกเชื้อแบคทีเรีย ที่มีรูปร่างเป็นแท่งยาว (Long rod) (ภาพที่ 30) สามารถเคลื่อนที่ในน้ำได้แบบพลิกตัวไปมา แบคทีเรียชนิดนี้เมื่อนำไปย้อมสีแกรม พบว่าติดสีแดงแสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

เมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้คือ เชื้อ *Flavobacterium* และเมื่อทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะที่มีอยู่ในตำหรับ ซึ่งกรมประมงอนุญาตให้ใช้ พบว่าเชื้อมีความไวต่อยา Enrofloxacin มากที่สุด รองลงมาคือ Ammoxycillin,Trimethoprim/sulfamethoxazole และ Oxytetracycline ตามลำดับ

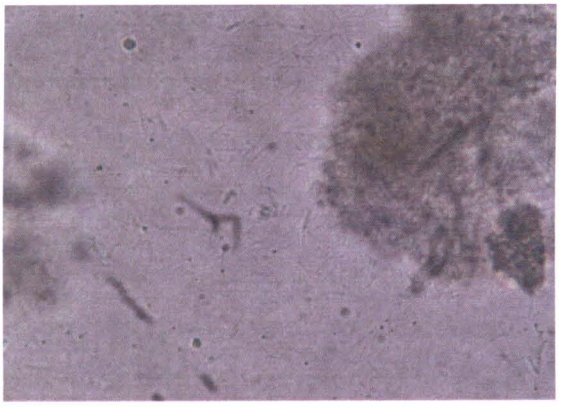
การเกิดโรค เกิดอย่างสุ่ม ไม่จำเพาะเจาะจงว่าจะเป็นปลาที่ปล่อยในอัตราใด



ภาพที่ 28 ภาพแสดงแผลตามลำตัว (A) ครีบหาง (B) ของปลากดคังที่ป่วย



ภาพที่ 29 ภาพแสดงปลิงใส (Monogene) ที่เกาะอยู่บริเวณเหงือกของปลากดคัง



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาพที่ 30 ภาพแสดงเชื้อ *Flavobacterium* ที่แยกจาก ตับและม้ามของปลากดคังที่ป่วย

วิจารณ์ผล

การทดลองครั้งนี้ มีจุดเด่นคือเป็นการทดลองที่ทำในสภาพการเลี้ยงของเกษตรกรจริงๆ ผลการทดลองแสดงว่าการจัดการในฟาร์มเกษตรกรมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของปลากดคัง อย่างไรก็ตาม โมเดลในการวิเคราะห์ได้แยกอิทธิพลของฟาร์ม (ซ้ำ) ออกจากผลของสิ่งทดลองแล้ว ผลการทดลองในแต่ละช่วงเวลาให้ผลแตกต่างกัน โดยการชั่งวัดในช่วงแรกๆ ปลาที่อัตราปล่อยต่ำ มีการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดที่ปล่อยหนาแน่น แต่ในการชั่งวัดครั้งสุดท้าย แสดงว่าปลาในชุดการทดลองอัตราปล่อย 600 ตัว/

กระชัง มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่า ความผันแปรของผลการชั่งวัด อาจเป็นผลจากการสุ่ม เนื่องจากปลาในชุดอัตราปล่อยเดียวกัน มีขนาดแตกต่างกันมาก (SD ในเดือนที่ 14.5 = ±187.69 และ ±227.91 กรัม ในชุดที่ปล่อยในอัตรา 300 และ 600 ตัว/กระชัง ตามลำดับ) จึงทำให้สรุปได้เพียงว่าการปล่อยในอัตราปล่อยที่หนาแน่นกว่าไม่ได้ทำให้ปลากดคังมีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อเทียบกับชุดที่ปล่อยในอัตราที่ต่ำกว่า ผลของอัตราปล่อยต่อการเจริญเติบโต แตกต่างกันไปตามชนิดปลา โดยพบว่าในปลา Senegalese sole (*Solea senegalensis*) มีการเจริญเติบโตลดลง เมื่ออัตราปล่อยเพิ่มขึ้น (Sánchez *et al.*, 2010) สาเหตุที่อัตราปล่อยสูงทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดลง อาจเป็นผลจากการที่ชุดที่มีความหนาแน่นสูงมีคุณภาพน้ำต่ำลง ในกรณีที่คุณภาพน้ำไม่แตกต่างกัน และปลาได้รับอาหารเพียงพอ การเจริญเติบโตอาจแตกต่างกันเนื่องจาก ผลทางสังคม เช่นความก้าวร้าว ฯลฯ (Papoutsoglou *et al.*, 1998; Bolasina *et al.*, 2006)

ในทางกลับกัน ปลาที่มีลักษณะนิสัยรวมฝูง (schooling) จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าในอัตราปล่อยที่สูงกว่า เช่นปลา sea bass (*Dicentrachus labrax*) (Papoutsoglou *et al.*, 1998; Gardeur *et al.*, 2001) และ Arctic charr (*Salvelinus alpinus*)(Jørgensen *et al.*, 1993) ส่วนปลา Dover sole (*Solea solea*) ซึ่งเลี้ยงที่อัตราปล่อยระหว่าง 0.5 และ 12 กิโลกรัม/ตารางเมตร จะเจริญเติบโตดีที่สุดที่อัตราปล่อย 7.4 กิโลกรัม/ตารางเมตร (Schram *et al.*, 2006) ปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) เจริญเติบโตดีที่สุดที่ความหนาแน่นสูงสุด (44 ตัว/ลบ.ม. เทียบกับอัตราปล่อย 36 และ 40 ตัว/ลบ.ม.) โดยมีอัตรารอดไม่แตกต่างกัน (Yilmaz and Arabaci, 2010) สำหรับปลากดคังนั้น แม้จะไม่พบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับนิสัยการรวมฝูง แต่เกษตรกรสังเกตว่าปลาชนิดนี้ จะกินอาหารเป็นฝูง และจะลดการกินอาหารถ้าเลี้ยงในความหนาแน่นต่ำ (ประยูร ช้างทอง การติดต่อส่วนตัว) การศึกษานี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่าในปลาบางชนิด การปล่อยในอัตราต่ำเกินไป ก็จะทำให้เจริญเติบโตได้ไม่ดี ทั้งนี้ Salas-Leiton *et al.* (2010) รายงานว่า ปลา Senegalese sole ซึ่งเลี้ยงในความหนาแน่นสูงแม้จะมีระดับ blood cortisol (ซึ่งแสดงถึงระดับความเครียด) และการแสดงออกของยีนเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต (IGF-I, IGFIa และ IGFII) ต่ำลง แต่ไม่กระทบกับการเจริญเติบโต

ปลาที่ปล่อยในอัตราสูง (600 ตัว/กระชัง) มีอัตรารอดสูงกว่าชุดที่อัตราปล่อยต่ำกว่า ผลการทดลองนี้แสดงว่าอัตราปล่อยที่สูงขึ้นไม่ได้ทำให้คุณภาพน้ำด้อยลงจนเป็นอุปสรรคต่อการดำรงชีวิต ซึ่งคุณภาพน้ำจากการทดลองนี้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของปลาตลอดการทดลอง นอกจากนั้น มีความเป็นไปได้ว่า การอยู่รวมกลุ่มอย่างหนาแน่น อาจมีผลให้ปลาลดการใช้พลังงานลง เช่น ปลา sea bass ที่เลี้ยงเป็นฝูงจะลดอัตราการสะบัดหางลง 9-14% ซึ่งมีผลลดการใช้ออกซิเจนลง 9-23% (Herskin and Steffensen, 1998) Montero *et al.* (1999) รายงานว่า gilthead seabream ที่เลี้ยงอย่างหนาแน่นจะเพิ่มความสามารถในการรับออกซิเจนของเม็ดเลือด ในระยะที่มันต้องใช้พลังงานมาก โดยอัตราการเจริญเติบโตไม่ลดลง สิ่งเหล่านี้อาจเป็นสาเหตุให้ปลาชุดที่ปล่อยหนาแน่นกว่ามีอัตรารอดสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเจริญเติบโตไม่ลดลง อย่างไรก็ตามผลการศึกษาครั้งนี้แตกต่างจากรายงานของ ซึ่งพบว่าการอนุบาลปลากดคังในกระชัง (ขนาดปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 31-44 กรัม) โดย

ปล่อยในอัตรา 100, 200 และ 400 ตัว/ลบ.ม. ปลามีการเจริญเติบโตลดลงตามอัตราความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่อัตรารอดมีแนวโน้มลดลง แม้จะไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติ (โยธิน เทอดวงศ์วรกุล และณัฐพงศ์ วรรณพัฒน์, 2549)

การเจริญเติบโตของปลากดคังในการทดลองนี้ ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับรายงานของ วิศณุพร รัตนตรัยวงศ์ (2542) ซึ่งกล่าวว่าการเลี้ยงปลากดคังในกระชังอวนขนาด 5 x 5 x 2 ลบ.ม. ปล่อยลูกปลากดคังขนาด 4 นิ้ว ในอัตรา 400 ตัว/กระชัง (8 ตัว/ลบ.ม.) ให้อาหารเม็ดปลาดุกวันละ 2 ครั้ง ระยะเวลาการเลี้ยง 10 เดือน ได้ผลผลิตปลา 400 กิโลกรัม/กระชัง ปลาขนาดเฉลี่ย 1.0-1.2 กิโลกรัม/ตัว ความแตกต่างของการเจริญเติบโตอาจเนื่องมาจากหลายสาเหตุ ได้แก่ อัตราปล่อยที่ต่างกัน (การทดลองนี้ปล่อยในอัตรา 10 และ 20 ตัว/ลบ.ม.) คุณภาพน้ำซึ่งในรายงานของวิศนุพรเป็นการเลี้ยงในอ่างเก็บน้ำ ซึ่งน่าจะมีคุณภาพน้ำดีกว่าในแม่น้ำที่ทำการทดลองครั้งนี้ อย่างไรก็ตามรายงานไม่ได้กล่าวถึงอัตรารอด อนึ่งโดยทั่วไป เกษตรกรในจังหวัดชัยนาท จะปล่อยปลาในอัตราความหนาแน่นที่สูงกว่านี้ (1000 ตัว/กระชัง) (ประยูร ช้างทอง, การติดต่อส่วนตัว) โดยใช้เวลาเลี้ยงนานถึง 2 ปี จึงจะได้ปลาขนาดประมาณ 1-2 กิโลกรัม

ในการศึกษาครั้งนี้ ไม่ได้ชั่งน้ำหนักผลผลิตรวม เนื่องจากเกษตรกรประสงค์จะเลี้ยงปลาต่อไปจนครบ 2 ปี จึงหลีกเลี่ยงการจับปลาขึ้นมาชั่ง โดยพบว่าการรบกวนปลาเช่นนี้ จะมีผลทำให้ปลาเครียดมากกว่าการเลี้ยงอย่างหนาแน่นเสียอีก (Braun *et al.*, 2010)

สำหรับการเกิดโรคและปรสิตนั้น ไม่รุนแรง และเกิดอย่างสุ่ม ไม่จำเพาะเจาะจง โดยทั่วไป เชื้อสาเหตุเหล่านี้ เช่น *Aeromonas hydrophila* เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในน้ำ จะก่อปัญหาก็ต่อเมื่อปลาเกิดอ่อนแอหรือการเกิดโรคแบบฉวยโอกาส โดยเฉพาะในช่วงที่คุณสมบัติน้ำไม่เหมาะสม (Decostere *et al.*, 1999; Chopra *et al.* 2000; Zhang *et al.* 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงที่คุณภาพน้ำมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเฉียบพลัน เช่น มีน้ำหลาก ซึ่งจะเห็นได้จากสีน้ำเปลี่ยนเป็นสีขุ่นเป็นสีน้ำตาล หรือช่วงที่อากาศเปลี่ยนแปลงมีฝนตกหรือฟ้าครึ้มติดต่อกัน 2-3 วัน หรือช่วงรอยต่อระหว่างฤดู โดยเฉพาะช่วงปลายฤดูฝนต้นฤดูหนาว ซึ่งช่วงดังกล่าวถือเป็นช่วงวิกฤติที่มักพบว่าปลาจะเกิดโรคเสมอ อันเป็นผลเนื่องมาจากการเกิดภาวะความเครียด ซึ่งเป็นสาเหตุโน้มนำให้เกิดโรคในที่สุด และเป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่อปลาแสดงอาการป่วยแล้วการรักษาด้วยยาและสารเคมีโดยทั่วไปมักจะไม่ได้ผล เนื่องจากเมื่อปลาป่วยแล้ว ส่วนใหญ่จะไม่กินอาหารและเริ่มทยอยตายเรื่อย ๆ และหนักขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งนี้ขึ้นกับสุขภาพของปลาเองและคุณภาพน้ำในแม่น้ำในขณะนั้น การให้ยาซึ่งนอกจากจะไม่ได้ผลแล้วยังทำให้เสียค่าใช้จ่ายสำหรับยาและสารเคมีที่มีราคาแพงมากอีกด้วย ดังนั้นเกษตรกรจึงควรตระหนักถึงการเลี้ยงในระยะนี้ให้มาก และควรสร้างมาตรการป้องกันมากกว่าเช่นการเสริมภูมิคุ้มกันให้กับปลาที่เลี้ยงให้มีความแข็งแรงอยู่เสมอ โดยการเสริมวิตามิน ซี 3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้ปลากินติดต่อกัน 5-7 วัน ร่วมกับการแขวนเกลือแกง 2-3 กิโลกรัมต่อกระชัง ควบคู่กันกับการเสริมแบคทีเรีย โปรไบดอติก ในอาหารให้ปลากินอยู่เสมอ ๆ โดยเฉพาะเมื่อเริ่มมีความผิดปกติเกิดขึ้นกับสภาพแวดล้อมที่จะทำให้ปลาเกิดความเครียด และต้องหมั่นดูแลสิ่งแวดล้อมในพื้นที่การเลี้ยงให้ดีอยู่เสมอ นอกจากนี้หากปลาเริ่มแสดงอาการผิดปกติควรงด

หรือลดปริมาณการให้อาหารให้น้อยลงพอปลากินหมด เนื่องจากหากให้อาหารในปริมาณมากเกินไปจะเป็นส่วนที่เร่งให้ปลาป่วยมากขึ้น และควรนำตัวอย่างปลาที่ป่วยไปให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องตรวจวินิจฉัยเพื่อเลือกยาที่สามารถควบคุมเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือในเบื้องต้นอาจเลือกใช้ยาที่มีในตำหรับซึ่งกรมประมงอนุญาตให้ใช้ เช่น Oxytetracyclin, Enrofloxacine หรือ ยาในกลุ่มซัลฟา ในอัตรา 3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 5-7 วัน และควรตระหนักเสมอว่าควรใช้ยาในช่วงที่เหมาะสมโดยเฉพาะช่วงแรก ๆ ของการเกิดโรค จะทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและมีประสิทธิผลสูงสุด

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. ผลการทดลองแสดงว่า การลดอัตราการปล่อยปลากดคังลง ไม่มีผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ในทางตรงกันข้ามกลับทำให้อัตรารอดต่ำลงกว่าชุดที่ปล่อยในอัตราความหนาแน่นสูง ดังนั้นเกษตรกรอาจเพิ่มอัตราการปล่อยได้อีก อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาต่อไปว่าจะสามารถปล่อยได้หนาแน่นที่สุดเท่าใด
2. ปลาทดลองมีขนาดที่แตกต่างกันมาก อาจแก้ไขได้ด้วยการคัดขนาดปลาเป็นระยะๆ ซึ่งควรจะมีการศึกษาต่อไปว่าจะได้ผลเช่นไร
3. ปลากดคังที่เลี้ยงในกระชังเกิดโรคบ้าง โดยเชื้อสาเหตุเป็นแบคทีเรียแกรมลบ และพบปรสิตบ้าง จึงควรดูแลให้ปลามีสุขภาพดีอยู่เสมอ และควรทดลองใช้เทคโนโลยีเพิ่มภูมิคุ้มกันต่อโรค เช่น การให้อาหารเสริม หรือ การใช้ โปรไบโอติกส์ ซึ่งจำเป็นต้องมีการทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

โยธิน เทอดวงศ์วรกุล และณัฐพงศ์ วรรณพัฒน์, 2549. การอนุบาลปลากดแก้ว (*Hemibagrus wyckioides* Chaux & Fang, 1949) ในกระชังที่ระดับความหนาแน่นต่างกันในอ่างเก็บน้ำเขื่อนอุบลรัตน์. เอกสารวิชาการฉบับที่ 77/2549. สำนักงานวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง.

วิศณุพร รัตนตรัยวงศ์. 2542. การเพาะเลี้ยงปลากดคัง. วารสารฟาร์มมิ่ง 5 (33). ดาวน์โลดจาก http://www.nicaonline.com/articles1/site/view_article.asp?idarticle=109 วันที่ 27 กันยายน 2553.

วิศณุพร รัตนตรัยวงศ์ สมนึก คงทรัตน์ ยงยุทธ ทักษิญ พิทยา เพ็ญนภาภรณ์. 2537. การเพาะพันธุ์ปลากดแก้ว. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2537. กรมประมง. หน้า 458 – 464.

สุทธิชัย ฤทธิธรรมและอุบลรัตน์ สุนทรรัตน์. 2533. การเพาะพันธุ์ปลากดแก้ว. หน้า 66-71, ใน รายงานประจำปี 2532 สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดเลย, กองประมงน้ำจืด กรมประมง.

Bolasina, S., Tagawa, M., Yamashita, Y., Tanaka, M. 2006. Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 259, 432–443.

Braun, N., de Lima, R.L., Baldisserotto, B., Dafre, A.L., de Oliveira Nuñer, A.P. 2010. Growth, biochemical and physiological responses of Salminus brasiliensis with different stocking densities and handling. Aquaculture 301, 22–30.

Chopra, A.K., Xu, X., Ribardo, D., Gonzalez, M., Kuhl, K., Peterson, J.W., Houston, C.W. 2000. The cytotoxic enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* induces proinflammatory cytokine production and activates arachidonic acid metabolism in macrophages. Infect. Immun. 68, 2808-2818.

Decostere, A., Haesebrouck, F., Turnbull, J.F., Charlier, G. 1999. Influence of water quality and temperature on adhesion of high and low virulence *Flavobacterium columnare* strains to isolated gill arches. J. Fish Diseases 22, 1-11.

Gardeur, J., Lemarié, G., Coves, D., Boujard, T. 2001. Typology of individual growth in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquat. Living Resour. 14, 223-231.

Herskin, J., Steffensen, J.F. 1998. Energy saving in sea bass swimming in a school: Measurement of tail beat frequency and oxygen consumption at different swimming speed. J. Fish Biol. 53, 366-376.

Jørgensen, E.H., Christiansen, J.S., Jobling, M. 1993. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic char (*Salvelinus alpinus*). Aquaculture 110, 191-204.

Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robiana, L., Vergara, J.M. 1999. High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. Fish Physiol. Biochem. 20, 53-60.

Papoutsoglou, S.E., Tziha, G., Vrettos, X., Athanasiou, A. 1998. Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system. Aquacult. Eng. 18, 135–144.

SAS. 2003. SAS OnlineDoc 9.1.3. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Salas-Leiton, E., Anguis, V., Martin-Antonio, B., Crespo, D., Planas, J.V., Infante, C., Cañavate, J.P., Manchado, M. 2010. Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): potential effects on the immune response. Fish & Shellfish Immunol. 28, 296-302.

Sánchez, P., Ambrosio, P.P., Flos, R. 2010. Stocking density and sex influence individual growth of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). Aquaculture 300, 93-10.

Schram, E., Heul, J.V.D., Kamstra, A., Verdegem, M.C.J., 2006. Stocking density- dependent growth of Dover sole (*Solea solea*). Aquaculture 252, 339–347.

Yilmaz, Y., Arabaci, M. 2010. The influence of stocking density on growth and feed efficiency in gilthead seabream, *Sparus auratus*. J. Anim. Vet. Adv. 9(8), 1280-1284.

Zhang Y.L., Ong C.T., Leung, K.Y. 2000. Molecular analysis of genetic differences between virulent and avirulent strains of *Aeromonas hydrophila* isolated from diseased fish. Microbiology 146, 999-1009.

(ผลการศึกษานี้จะนำเสนอในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ประจำปี 2554)

4.5.4 การศึกษาเชื้อที่เป็นสาเหตุของการก่อโรคในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ในพื้นที่จังหวัดชัยนาท และอ่างทอง

สุขนิรันดร์ สุวรรณแก้วมณี สมรักษ์ จันทร์ภิรมย์ กฤษณ์ ทิพย์ภาระ ณัฐวุฒิ ปานแย้ม นำโชค บูรณานนท์ จีรภา วรรณโก (นิสิตปริญญาตรี)

บทคัดย่อ

การศึกษาเชื้อที่เป็นสาเหตุของการก่อโรคในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ในพื้นที่จังหวัดอ่างทองและชัยนาท โดยการศึกษาปรสิตภายนอกและทำการแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Cross streak เพื่อแยกชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค และทำการตรวจสอบประสิทธิภาพของยาในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยการทดสอบ Sensitivity test เพื่อหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) โดยการใช้ E-test (Biomerievx, Sweden) ซึ่งเป็นนวัตกรรมใหม่ในการหาค่าความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ รวมถึงการตรวจสอบชนิดและปริมาณเม็ดเลือดในปลานิล จากการศึกษาพบว่าลักษณะของปลาเป็นโรคที่พบส่วนใหญ่เหงือกจะมีสีซีดคล้ำ ครีบอกและครีบหางกร่อน ตกเลือด ตัวด่าง ตับและม้ามบวม ถุงน้ำดีโต บางตัวมีลักษณะของโรคดีซ่าน จากการวินิจฉัยโดยการแยกเชื้อแบคทีเรียพบเชื้อที่มีความแตกต่างกัน 2 กลุ่มใหญ่ ๆ โดย เมื่อนำแบคทีเรียที่แยกได้นี้มาตรวจสอบการติดสีแกรม พบว่ากลุ่มแรกเป็นแบคทีเรียติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลมขนาดเล็ก (coccus) และทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีแล้วพบว่า เป็นเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ซึ่งมีความไวต่อยา Amoxycillin มากที่สุด กลุ่มที่ 2 เป็นเชื้อเชื้อ *Flavobacterium* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อนยาวสามารถเคลื่อนที่มา ซึ่งสามารถแยกได้ทั้งเมือก ผิวหนังและตับของปลานิล ซึ่งมีความไวต่อยาชนิด Enrofloxacin มากที่สุด ผลการตรวจสอบเม็ดเลือดพบว่าปลาเป็นโรคที่เลี้ยงในกระชังในทั้ง 2 พื้นที่ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาที่ป่วยจะมีปริมาณเกล็ดเลือดลดลงอย่างมาก ถึงไม่มีเมื่อเปรียบเทียบกับปลาปกติ ในขณะที่สัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิด Monocyte และ Lymphocyte มีสัดส่วนเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับปลาปกติ

คำนำ

ปลานิล *(Oreochromis niloticus)* เป็นปลาที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วมาก ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีและมีความต้านทานโรคสูง สามารถเลี้ยงได้ในความหนาแน่นสูงจึงเป็นที่นิยมในการเพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวาง (ยุพินท์ และพันธ์ศักดิ์, 2543) ปัจจุบันการเลี้ยงปลานิลในกระชังสามารถสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรจึงทำให้เกษตรกรมีความสนใจในการเลี้ยงปลานิลในกระชังมากขึ้น จากการที่มีการนิยมเลี้ยงมากขึ้น ทำให้เกิดปัญหาคุณภาพน้ำเสื่อมโทรมจึงเป็นเหตุให้เกิดปัญหาการระบาดของโรคหลายชนิดตามมา โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ปลาเกิดการตายที่รุนแรง เนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียนั้นสามารถแพร่กระจายไปยังปลาตัวอื่น ๆได้อย่างรวดเร็ว และก่อให้เกิดการตายจำนวนมาก โดยโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบเช่น โรคที่เกิดจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างสั้นตรง ไม่สร้างสปอร์ โดยเชื้อจะเข้าทำลายที่ผิวหนัง เหงือกและสามารถเข้าทางแผลได้ จากนั้นแพร่เข้าสู่กระแสเลือด การแสดงอาการที่รุนแรงเฉียบพลัน ปลาจะป่วยและตายเร็วมาก บางครั้งไม่ปรากฏอาการให้เห็นภายนอกชัดเจน ด้วย

ภาวะเลือดเป็นพิษ อวัยวะภายในจะมีเลือดคั่ง ลำไส้ส่วนปลายตกเลือด เยื่อบุช่องท้องและกล้ามเนื้อเป็นจุด ๆ อาการรุนแรงแบบเฉียบพลันที่มีอาการท้องบวม เกล็ดตั้ง ตาโปน ปลาจะตาย 1-2 วันหลังมีอาการ นอกจากนี้อาจจะพบว่าปลาแสดงอาการที่เป็นแผลเรื้อรังตามตัว เป็นต้น (Sarder *et al.* 2001; ชาญณรงค์, 2550) นอกจากนี้ยังพบโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีรูปร่างกลมขนาดเล็ก (Cocci) อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือต่อเป็นสายยาว ตั้งแต่ 2 เซลล์ขึ้นไป แบคทีเรียกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตก และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ปลานิลตายในปัจจุบัน เนื่องจากเข้าไปทำลายอวัยวะภายใน การแสดงอาการปลาจะว่ายน้ำช้า ลักษณะการว่ายเปลี่ยนไป ตาโปน มีแผลบวมนูนช้ำบริเวณโคนครีบหลัง ภายในช่องท้องมีสีเหลือง ตับมีสีซีด เกิดอาการตกเลือดและอักเสบ ถุงน้ำดี ไต และม้ามบวมโต (ชาญณรงค์, 2550) และในปัจจุบันยังพบโรคที่เกิดจากเชื้อ *Flavobacterium* spp. ที่ก่อให้เกิดโรคคอรัมนาริส (Columnaris disease) ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Flavobacterium columnarae* ลักษณะอาการ ปลามักมีแผลตามตัว หางกุด มีตะกอนสีเหลืองบริเวณแผล อาจมีเกล็ดหลุดเป็นแถบๆ มองดูเหมือนแผลไฟไหม้และน้ำร้อนลวก บริเวณเหงือกพบการตายเป็นหย่อม ๆ สีน้ำตาลอย่างชัดเจน (สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ, มปป.)

การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ หาสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายที่แท้จริงของโรคที่เกิดในปลานิลในปัจจุบัน ในพื้นที่จังหวัดอ่างทองและชัยนาท ซึ่งเป็นพื้นที่ ๆ มีการเลี้ยงปลานิลอย่างแน่นพื้นที่หนึ่งของประเทศไทย รวมทั้งยังทำการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะที่มีใช้ในตำหรับยา เพื่อจะนำไปเป็นข้อมูล สำหรับเกษตรกรในการวางแผนใช้ยาและสารเคมีในการป้องกันรักษาโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

นอกจากนั้นยังศึกษาการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของเม็ดเลือด ซึ่งได้มีนักวิทยาศาสตร์พยายามศึกษาหาความสัมพันธ์ และนำมาใช้เป็นดัชนี เพื่อบ่งถึงสภาพความผิดปกติโดยเฉพาะความผิดปกติที่มีสาเหตุมาจากโรคแบคทีเรีย (Jiri *et al.*, 2007)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและแยกชนิดของแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลานิลที่เลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดอ่างทอง และชัยนาท
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของยาที่อนุญาตให้ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อการยับยั้งเชื้อที่แยกได้จากปลานิล
3. เพื่อศึกษาพยาธิสภาพของชนิดและปริมาณของเม็ดเลือดในปลานิลที่เกิดโรค

อุปกรณ์และวิธีการ

สถานที่เก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างปลานิลทับทิมในฟาร์ม 3 แห่ง ในเขตพื้นที่ตำบลไชโย อำเภอไชโย จังหวัดอ่างทอง เก็บที่พิกัดทางภูมิศาสตร์ที่ตำแหน่ง 14° 44' 58.33" N; 100° 26' 55.19" E เก็บปลามีน้ำหนักประมาณ 800 กรัมจำนวน 8 ตัว

จังหวัดชัยนาท ทั้งสองฟาร์มตั้งอยู่ที่ ตำบลเที่ยงแท้ อำเภอสรรคบุรี โดยฟาร์มที่ 1 มีพิกัดทางภูมิศาสตร์ที่ตำแหน่ง 15° 02.67' N; 100° 10.69' E ฟาร์มที่ 2 ที่ตำแหน่ง 15° 02.89' N; 100° 10.54' E แต่ละฟาร์มเก็บปลาขนาดประมาณ 800 กรัม จำนวนฟาร์มละ 4 ตัว

การตรวจวินิจฉัยเพื่อหาสาเหตุของการเกิดโรคในปลานิล

การศึกษาในส่วนนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างของปลานิลที่ป่วย ซึ่งเลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดอ่างทองและจังหวัดชัยนาท โดยทำการศึกษาดังนี้

1.1 การตรวจวินิจฉัยโรคปรสิตภายนอก

ทำการลงเก็บตัวอย่างในพื้นที่เป้าหมาย เมื่อพบปลาที่ป่วยให้นำปลาตัวอย่างขึ้นมา จากนั้นใช้กรรไกรตัดส่วน เหงือก ครีบ เกล็ดหรือบริเวณที่มีบาดแผลมาทำ Wet mount โดยวางบนไสลด์ แล้วหยดน้ำให้ท่วม ปิดด้วย Cover slip แล้ว นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 4x, 10x และ 40x ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการบันทึกผล

1.2 การตรวจวินิจฉัยโรคแบคทีเรีย

1.2.1 หลังจากทำการตรวจวินิจฉัยในข้อ 1.1 เสร็จแล้ว นำปลาตัวอย่างมาทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic techniques) โดยใช้สำลีชุบแอลกอฮอร์เช็ดทำความสะอาดภายนอกตัวปลา หลังจากนั้น ใช้กรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อผ่าช่องท้องของปลา อย่างระมัดระวังสังเกตอวัยวะภายใน แล้วใช้ Loop ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยตัวอย่างที่ ตับ ม้ามและไต แล้วนำไปเขี่ย (Streak) บน Plate อาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิด TSA และ Shieh's medium agar

1.2.2 นำ Plate อาหารเลี้ยงเชื้อ ไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 30-37 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการสังเกตและบันทึกลักษณะของแบคทีเรียที่เกิดขึ้น

1.3 การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย

นำแบคทีเรียที่ได้ในข้อ 1.2 มา จำแนกชนิดมาย้อมสีแกรมแล้วตรวจดูลักษณะการติดสีและตรวจสอบลักษณะทางสัญฐานวิทยาไปพร้อมกัน ทำการทดสอบชนิดเชื้อของแบคทีเรีย ที่ได้โดยทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป EPI 20E และ EPI 20 Strep โดยตรวจสอบผลที่ได้กับฐานข้อมูล Biomerix

1.4 การทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะโดยการหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

การทดลองในส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถของยาในตำหรับที่กรมประมงอนุญาตให้ใช้ ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งได้แก่ ได้แก่ Enrofloxacin (EN), Trimethoprin / Sulfamethoxazole (S), Amoxicillin (AM) และ Oxytetracycline เพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้ไปให้เกษตรกรวางแผนในการใช้ยาและสารเคมีเพื่อป้องกันโรคในอนาคต

การทดลองทำโดยแยกเชื้อแบคทีเรียจากปลาที่ป่วยด้วยวิธี cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ Shieh Medium (SM) และ Trypricase Soy Agar (TSA) นำโคโลนีเดี่ยวๆมาเขี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 3 °C ทิ้งไว้ข้ามคืน นำเชื้อที่ได้มาเตรียมสารละลายแบคทีเรียโดยใช้เกลือแกง 0.85% ให้ความขุ่นของเชื้อประมาณ 10^9 CFU/ml นำสารละลาแบคทีเรียที่ได้มาเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำแผ่นยา E-test (บริษัท Biomerievx, Sweden) ของยาที่อนุญาตให้ใช้ในสัตว์น้ำ 3 ชนิด ได้แก่ Enrofloxacin (EN) , Trimethoprin / Sulfamethoxazole (S) และ Amoxicillin (AM) นำ plate อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแผ่นยาไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วทำการอ่านค่า MIC ที่ได้เทียบกับค่า MIC มาตรฐานของบริษัท ถ้าค่า MIC ยิ่งน้อยแสดงว่ายามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี (ตารางที่ 9)

วิธีการตรวจหา Clear zone ในยา Oxytetracycline (OT)

แยกเชื้อเหมือนดังข้อ 1.2.1 จากนั้นทำการทดสอบโดยใช้แผ่นทดสอบ Susceptibility discs ชนิด Oxytetracycline (OT 30) ความเข้มข้น 30 µg ซึ่งเป็นแผ่นกลม นำมาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อขึ้นแล้ว เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัด Clear zone นำไปเทียบกับตาราง Antibiotic standard diameter clear zone ถ้า Clear zone ยิ่งกว้างแสดงว่าเชื้อมีความไวต่อยามาก (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 9 ค่า Summary of E-test Performance, Interpretive Criteria and Quality Control Ranges

Antibiotic MIC µg/mL	Code	Performance	N	%EA	Interpretive criteria MIC µg/mL	S ≤	I	R ≥
Amoxicillin 0.016 – 2.56	AC	*S. pneumoniae*	200	98	*S. pneumonia* Nonmeningiltis	2	4	8
Enrofloxacin 0.002 – 32	EF	Aerobes	36	100	CLSI M31 – A2;2002			
Trimethoprim*/ sulfamethoxazole (1/19) 0.002 – 32*	TS	Aerobes	543	99	Aerobes	2	-	4
		H. influenza	393	95	*Haemophilus spp.*	0.5	1-2	4
		S. pneumoniae	314	97	*S. pneumonia*	0.5	1-2	4

ตารางที่ 10 แสดงค่า Antibiotic standard diameter clear zone * หมายเหตุ: S คือ Sensitivity (Sensitive) คือ เชื้อโรคมีความไวต่อยาที่ทำการทดสอบดี I คือ Intermediate คือ เชื้อโรคมีความไวต่อยาที่ทำการทดสอบปานกลาง I คือ Intermediate คือเชื้อโรคมีความไวต่อยาที่ทำการทดสอบปานกลาง

Antibiotic name	Abbreviation	≤ R (mm)	≤ I (mm)	≥ S (mm)
Amoxycilin	AML 10	13	14 - 20	21
Polymyxcin B	PB 300	8	9 - 11	12
Oxolinic acid	OA 2	13	14 - 18	19
Ampicilin	AMP 10	11	12 - 13	14
Oxytetracyclin	OT 10	14	15 - 18	19

1.5 การศึกษาปริมาณและชนิดเม็ดเลือดของปลานิลที่ป่วย

ดูดเลือดปลานิลที่ป่วยด้วยกระบอกฉีดยาที่กลั้วสารป้องกันการแข็งตัว (heparin) แล้ว โดยเจาะบริเวณ Caudal vein ให้ได้เลือดปลาอย่างน้อย 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำเลือดที่ได้ปริมาตร 15 ไมโครลิตร มาหยดลงบนไสลด์แก้ว ปิดด้วย Cover slip เกลี่ยเลือดให้ได้ฟิล์มบาง ๆ ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปย้อมด้วยชุด DipQuick ดังนี้คือ ย้อมใน 95% Methanol 10 วินาที จากนั้นย้ายไปย้อมด้วย Eosin 10 วินาที ตามด้วย Methylin blue 30 วินาที

จากนั้นตากสไลด์ให้แห้ง แล้วนำไปตรวจนับปริมาณและชนิดเม็ดเลือด ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ให้ครบพื้นที่ 3 ฟิลด์ที่แตกต่างกันของเลนส์วัตถุ ซึ่งได้แก่ เม็ดเลือดทั้งหมด (Total blood cell), เม็ดเลือดแดง (Red blood cell; RBC), Monocytes และ เกล็ดเลือด (Platelet) โดยมีหน่วยนับเป็นเซลล์

ผลการศึกษา

การตรวจวินิจฉัยลักษณะอาการของปลาที่ป่วย ได้ผลดังนี้

ฟาร์มจากจังหวัดอ่างทอง

ตัวที่ 1 พบเห็บระฆังที่เหงือกและเมือก เหงือกปลามีตะกอนจับ ครีบหางกร่อน ถุงน้ำดีบวม
ตัวที่ 2 เหงือกคล้ำ ถุงน้ำดีบวม ตับเขียวมาก
ตัวที่ 3 พบปลิงใสบริเวณเหงือก ครีบหูตกเลือดมาก มีน้ำในท้อง ถุงน้ำดีบวม ตับมีรอยเนื้อตาย
ตัวที่ 4 ถุงน้ำดีบวม มีน้ำที่ตับ มีรอยเนื้อเยื่อตายที่ตับ
ตัวที่ 5 พบเห็บระฆังที่เหงือก ถุงน้ำดีบวม
ตัวที่ 6 มีน้ำที่ตับ หางกร่อน ตกเลือดที่ลำตัว
ตัวที่ 7 เหงือกซีด ถุงน้ำดีและตับบวมมาก ตกเลือดกระจายตามตัว ที่บริเวณโคนหางมีแผล หางเปื่อย มีรอยด่างบริเวณลำตัว

ตัวที่ 8 ตับไม่บวม หางเปื่อย เหงือกปกติ ตกเลือดที่ลำตัว

ผลการแยกเชื้อจากปลาเป็นโรค

ผลการเขี่ยเชื้อปลาเป็นโรคในพื้นที่จังหวัดอ่างทองพบเชื้อ *Flavobacterium columnarae* ลักษณะโคโลนี กลม ขอบหยัก เซลล์เป็นท่อนยาว เคลื่อนที่แบบ Gliding movement ติดสีแดง ผลการย้อมแกรมเป็น Grams'-ve

ผลการทดสอบ Sensitivity test ของเชื้อชนิดต่างๆที่ได้จากการเขี่ยเชื้อจากตัวอย่างในจังหวัดอ่างทองแสดงในตารางที่ 11 โดยพบว่าจากตารางแสดงผลการทดสอบ Sensitivity test ทำให้ทราบว่าเชื้อ *Flavobacterium columnare* ที่พบในจังหวัดอ่างทอง มีความไวต่อยาชนิด Enrofloxacin ที่สุด เนื่องจาก มีค่า MIC น้อยที่สุด รองลง คือ ยา Trimethoprim/sulfamethoxazole (μg/ml) ขณะที่ ยา Oxytetracycline และ Amoxycillin ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ คือเชื้อต้านทานยาทั้ง 2 ชนิดนี้

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบ Sensitivity test ของเชื้อชนิดต่างๆที่ได้จากการเขี่ยเชื้อจากตัวอย่างในจังหวัดอ่างทอง

ชนิดยา	ความไวต่อยา
Oxytetracycline (cm)	1.2/R
Enrofloxacin (μg/ml)	0.004/S
Trimethoprim/sulfamethoxazole (μg/ml)	0.064/S
Amoxycillin (μg/ml)	1.0/R

นอกจากนี้จากการศึกษาพยาธิสภาพของปลาที่ป่วย โดยสังเกตจากชนิดและจำนวนของเม็ดเลือดของปลาที่ป่วยพบว่า ปลาที่ป่วยส่วนใหญ่ จะมี เกล็ดเลือด Platelets และ Lymphocytes ต่ำ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ผลการศึกษาปริมาณและอัตราส่วนเม็ดเลือดของปลาที่เป็นโรคในจังหวัดอ่างทอง

ตัวที่	Total	RBC	Monocyte	Lymphocyte	Platelets
1	667.0	69.0	26.0	4.0	1.0
2	107.0	98.0	1.0	1.0	0.0
3	156.0	95.0	3.0	2.0	0.0
4	779.0	84.0	14.0	2.0	0.0
5	870.0	88.0	10.0	2.0	0.0
6	597.0	97.0	2.0	0.0	1.0
7	665.0	96.0	2.0	2.0	0.0
8	605.0	92.0	5.0	3.0	0.0
ค่าเฉลี่ย	555.8	89.9	7.9	2.0	0.3
SD	277.3	9.7	8.6	1.2	0.5

จังหวัดชัยนาท

การตรวจปลาจากฟาร์มที่ 1 (ขณะเก็บตัวอย่างนั้นพบว่า น้ำในแม่น้ำที่ใช้เลี้ยงมีสีขุ่นและไหลเอ่อขึ้นสูง ปลาที่เลี้ยงในกระชังของเกษตรกรมีอาการว่ายน้ำเฉื่อยชาลอยที่ผิวน้ำและมีปลาลอยตายขึ้นมาให้เห็นเป็นระยะๆ) ได้ผลดังนี้

ตัวที่ 1 ท้องบวม ตกเลือดที่ครีบหาง หางมีลักษณะด่างและกร่อน มีน้ำในช่องท้อง มีผังผืดหุ้มที่อวัยวะภายใน ลำไส้มีน้ำและมีลักษณะอักเสบ ม้ามบวม

ตัวที่ 2 ครีบหางกร่อน โคนครีบตกเลือด ท้องบวม พบปลิงใสที่เหงือก ไขมันเต็มท้อง ตับและม้ามบวม ลำไส้อักเสบ ถุงน้ำดีบวม

ตัวที่ 3 ปลามีลักษณะดีซ่าน เหงือกซีด เลือดจาง ท้องบวม มีน้ำในช่องท้อง ถุงน้ำดีบวม 100% ที่ม้ามมีจุดหนอง ม้ามไม่เรียบ พบปลิงใสและเห็บระฆังที่เหงือก อวัยวะภายในทั้งหมดมีสีเหลือง มีรอยเนื้อตาย

ตัวที่ 4 ท้องบวม เหงือกมีเลือดตก มีตะไคร่ติดที่เหงือก แก้มตกเลือด โคนครีบหางตกเลือด เกล็ดหลุด ท้องบวมและตกเลือด

ผลการแยกเชื้อจากปลาเป็นโรค

ผลจากการศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ในจังหวัดชัยนาทฟาร์มที่ 1 (ตารางที่ 13) พบว่าแบคทีเรียดังกล่าวสามารถขึ้นได้ผลอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ และสามารถแยกได้ทั้งหมด 5 Isolates โดยพบว่ามี โคโลนีมีสีขาวขุ่น ขนาดเล็ก ย้อมติดสีม่วง เซลล์รูปร่างกลมต่อกันเป็นเส้นสาย เมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางเคมีแล้วทำให้ทราบว่าเป็นแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae*

ตารางที่ 13 แสดงลักษณะโคโลนี และลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียที่พบในปลาที่เป็นโรคที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 1

ชนิดเชื้อโรค	ลักษณะโคโลนีแบคทีเรีย	ลักษณะเซลล์แบคทีเรีย	Grams'stain
Isolated F11	โคโลนีขาวขุ่นเป็นจุดขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเซลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams' +ve
Isolated F12	โคโลนีขาวขุ่นเป็นจุดขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเซลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams'+ve
Isolated F13	โคโลนีขาวขุ่นเป็นจุดขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเซลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams'+ve
Isolated F14	โคโลนีใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีแดงเซลล์เป็นท่อนสั้น ๆ	Grams'-ve
Isolated F15	โคโลนีขาวขุ่นเป็นจุดขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเซลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams'+ve

การทดสอบ Sensitivity test ได้ผลดังตารางที่ 14 ทำให้ทราบว่าเชื้อที่พบในจังหวัดชัยนาทฟาร์มที่ 1 มีความไวต่อยา Amoxycilin มากที่สุด (ค่า MIC น้อยที่สุด) โดยเชื้อในทุก Isolates มีการตอบสนองต่อยา Amoxycilin โดยมีค่าการยอมรับยาที่ดีมาก ขณะที่ยาชนิดอื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็น Enrofloxacin, Trimethoprim/sulfamethoxazole (µg/ml) และ Oxytetracycline นั้น เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการต้านทานยาเหล่านี้ได้ มีเพียงบาง Isolate เท่านั้นที่ยอมรับยาเหล่านี้ได้ดี

ผลการตรวจเลือด แสดงว่า ปลาที่เป็นโรคในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 1 จำนวน 3 ตัว (ปลาตัวอย่างอีกหนึ่งตัวไม่สามารถเจาะเลือดได้) มีอัตราส่วนของเกล็ดเลือดต่ำมาก โดยในบางตัวอย่างจะไม่พบเกล็ดเลือดในปลาที่เป็นโรคเลย (ตารางที่ 15) ส่วนเม็ดเลือดแดง monocyte และ lymphocyte มีค่าเฉลี่ย 93.3±2.5, 3.7±2.1 และ 2.3±3.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 14 แสดงผลการทดสอบ Sensitivity test ของเชื้อชนิดต่างๆที่ได้จากการเขี่ยเชื้อที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 1

	Minimal Inhibitory Concentration (μg/ml)			
ชนิดเชื้อโรค	Oxytetracycline (cm)	Enrofloxacin (μg/ml)	Trimethoprim/sulfamethoxazole (μg/ml)	Amoxycillin (μg/ml)
Isolated F11	2.0/S	1.5/S	4/R	0.032/S
Isolated F12	1.8/I	2/S	6/R	0.094/S
Isolated F13	1.2/R	2/S	2/I	0.094/S
Isolated F14	3.2/S	0.25/S	0.094/S	0.125/S
Isolated F15	1.4/R	6/I	R	0.032/S

ตารางที่ 15 ผลการศึกษาปริมาณและอัตราส่วนเม็ดเลือดของปลาที่เป็นโรคในจังหวัดชัยนาทฟาร์มที่ 1

ตัวที	Total	RBC	Monocyte	Lymphocyte	Platelets
1	585.0	93.0	6.0	1.0	0.0
2	974.0	91.0	3.0	6.0	0.0
3	1166.0	96.0	2.0	0.0	2.0
ค่าเฉลี่ย	908.3	93.3	3.7	2.3	0.7
SD	296.0	2.5	2.1	3.2	1.2

ผลการตรวจปลาตัวอย่างจากฟาร์มที่ 2 พบว่า

ตัวที่ 1 ลูกตาปลามีลักษณะขุ่นมัว ตกเลือดที่โคนครีบหู ลำไส้ไม่มีอาหาร ตับมีลักษณะตกเลือด ถุงน้ำดีบวมและซีด

ตัวที่ 2 ปลามีไขมันที่ช่องท้องเยอะ ตับมีสีซีดมาก และมีลักษณะตกเลือด

ตัวที่ 3 ครีบมีลักษณะด่างและตกเลือด หางกร่อน ข้างในลำตัวมีอาการตกเลือด ตับซีด ถุงน้ำดีโต ลำไส้อักเสบ

ตัวที่ 4 ถุงน้ำดีมีสีเหลือง ลำไส้ไม่มีอาหาร ตับตกเลือด

ตัวที่ 5 ม้ามโต ตับตกเลือด

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ผลการแยกเชื้อจากปลาเป็นโรค

ผลการแยกเชื้อแบคทีเรียพบว่า แบคทีเรียที่แยกได้ทั้งสิ้น 5 Isolates จะมีโคโลนีมีสีขาวขุ่น ขนาดเล็ก ย้อมติดสีม่วง เซลล์รูปร่างกลมต่อกันเป็นเส้นสาย (ตารางที่ 16) เช่นเดียวกับที่พบในฟาร์มที่ 1 และเมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีแล้วทำให้ทราบว่าเป็นแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae*

ตารางที่ 16 ลักษณะโคโลนี และลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียที่พบในปลาที่เป็นโรคที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 2

ชนิดเชื้อโรค	ลักษณะโคโลนีแบคทีเรีย	ลักษณะเซลล์แบคทีเรีย	Grams'stain
Isolated F26	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีแดงเซลล์เป็นท่อนสั้น ๆ	Grams'-ve
Isolated F27	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเซลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams' +ve
Isolated F28	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีแดงเซลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams' +ve
Isolated F29	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีแดงเซลล์เป็นท่อนสั้น ๆ	Grams'-ve
Isolated F210	โคโลนีเล็กใสขอบเรียบขนาดเล็ก	ติดสีม่วงเซลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสาย	Grams' +ve

ผลของการทดสอบ Sensitivity test ที่ในตารางที่ 17 ทำให้ทราบว่าเชื้อที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 2 มีความไวต่อยา ต่อยาปฏิชีวนะทุกชนิด โดย Amoxycillin จะเป็นยาปฏิชีวนะที่มีความไวมากที่สุด รองลงมา คือ Trimethoprim/sulfamethoxazole, Enrofloxacin และ Oxytetracycline ตามลำดับ

ตารางที่ 17 แสดงผลการทดสอบ Sensitivity test ของเชื้อชนิดต่าง ๆที่ได้จากการเขี่ยเชื้อที่พบในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 2

ชนิดเชื้อโรค	Minimal Inhibitory Concentration (μg/ml)			
	Oxytetracycline	Enrofloxacin	Trimethoprim/ sulfamethoxazole	Amoxycillin
Isolated F26	2.5/S	0.032/S	0.094/S	0.10/S
Isolated F27	2.3/S	1.0/S	0.25/S	0.032/S
Isolated F28	2.5/S	0.75/S	0.19/S	0.032/S
Isolated F29	2.8/S	0.75/S	0.25/S	0.25/S
Isolated F210	2.2/S	0.75/S	0.38/S	0.047/S

ผลการตรวจเลือด พบว่าปลาที่เป็นโรคในจังหวัดชัยนาท ฟาร์มที่ 2 มีจำนวนของ Lymphocytes และเกล็ดเลือดต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน (1.4±1.7 และ 0.2±0.4 ตามลำดับ) และมีค่าโดยในปลาที่ป่วยบางตัวนั้นแทบไม่พบเกล็ดเลือดหรือไม่พบเลย (ตารางที่ 18) ส่วนค่า RBC และ monocyte มีค่า 1.4±1.7 และ 0.2±0.4 ตามลำดับ

ตารางที่ 18 ผลการศึกษาปริมาณและอัตราส่วนเม็ดเลือดของปลาที่เป็นโรคในจังหวัดชัยนาทฟาร์มที่ 2

ตัวที	Total	RBC	Monocyte	Lymphocyte	Platelet
1	589.0	96.0	4.0	0.0	0.0
2	762.0	97.0	2.0	1.0	0.0
3	1238.0	95.0	4.0	0.0	1.0
4	734.0	95.0	3.0	2.0	0.0
5	562.0	91.0	5.0	4.0	0.0
ค่าเฉลี่ย	777.0	94.8	3.6	1.4	0.2
SD	272.1	2.3	1.1	1.7	0.4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาสาเหตุของการเกิดโรคในปลานิลซึ่งเลี้ยงในกระชังในพื้นที่จังหวัดชัยนาทและอ่างทอง ในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนมิถุนายน 2552 ซึ่งเป็นช่วงที่มีการเกิดโรคและทำให้เกิดความเสียหายกับเกษตรกรที่เลี้ยงปลานิลอย่างหนัก พบว่าโรคที่เป็นสาเหตุที่ทำให้ปลานิลที่เลี้ยงในกระชังตาย คือ เชื้อแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคใน 2 จังหวัดเป็นชนิดที่แตกต่างกัน

ในจังหวัดชัยนาทพบเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลาอย่างหนัก แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแกรมบวกเซลล์กลมต่อกันเป็นเส้นสายโดยปลาที่เป็นโรคชนิดนี้จะมีลักษณะ ครีบหูและครีบหางตกเลือด ท้องบวม มีน้ำในช่องท้องตับบวมตับซีดม้ามบวม ถุงน้ำดีโต และบางตัวมีอาการของโรคดีซ่าน คือ ตัวเหลืองและตับอักเสบ ตาโปน ว่ายน้ำเชื่องช้าที่ผิวน้ำ หรือบางตัวจะว่ายควงสว่านที่ผิวน้ำเช่นกัน โดยทั่วไปแล้วเชื้อชนิดนี้ จะมีการระบาดในช่วงหน้าร้อนตั้งแต่เดือนเมษายนต่อเนื่องไปถึงกรกฎาคมของทุกปีและจะหยุดระบาดในช่วงเข้าสู่ฤดูฝน เชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่พบนี้เมื่อนำไปทดสอบแล้วพบว่ามีความไว้ต่อยาทุกตัวในตำหรับยาที่กรมประมงอนุญาตให้ใช้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งยา Amoxycillin ซึ่งจากการศึกษาของ Al-Sweih *et al.* (2003) พบว่ายาในกลุ่ม Penicillin, Ampicillin และ Cephalothin จัดเป็นกลุ่มยาที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* แต่อย่างไรก็ตามยากลุ่มดังกล่าวก็ไม่ได้อยู่ในกลุ่มยาปฏิชีวนะที่กรมประมงอนุญาตให้ใช้แต่อย่างใด

อย่างไรก็ตามจากการสอบถามเกษตรกรกลับพบว่า การใช้ยาดังกล่าวไม่สามารถรักษาปลาที่ป่วยได้หนำซ้ำยังทำให้เกิดการตายอย่างหนักตามมาอีกด้วย ที่เป็นเช่นนี้ น่าจะเป็นสาเหตุมาจากเมื่อปลาเกิดโรคแบคทีเรียเหล่านี้แล้วหรือป่วยมากแล้ว ปลาส่วนใหญ่จะไม่กินอาหาร ดังนั้นถึงแม้ว่าเกษตรกรจะผสมยาที่มีในตำหรับในอาหารให้ปลากินก็ไม่สามารถรักษาปลาให้หายได้ ดังนั้นเกษตรกรควรจะเน้นการป้องกันโรค เช่นการเสริมวิตามิน บางชนิดเช่น วิตามิน ซี ควบคู่กับการแขวนถุงเกลือภายในกระชังปลา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงที่สภาวะอากาศไม่เหมาะสม เช่นอากาศร้อนติดต่อกัน ฝนตกติดต่อกัน หรือมีน้ำไหลหลากอย่างต่อเนื่อง จะสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคได้ ส่วนการใช้ยาปฏิชีวนะให้ได้ผลนั้น ควรผสมยาให้ปลาในขณะที่ปลายังกินอาหารอยู่ คือ ช่วงที่ปลาเริ่มป่วย (พบปลา

จำนวน 1-3% ของปลาที่เลี้ยงป่วย) จะทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะที่อยู่ในตำหรับยาได้ผลดีในการรักษายิ่งขึ้น

ส่วนในฟาร์มในจังหวัดอ่างทอง พบเชื้อสาเหตุคือ แบคทีเรียชนิดฟลาโวแบคทีเรียม (*Flavobacterium columnare*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ สามารถพบในเมือกของปลาที่เป็นโรค โดยปลาที่เป็นโรคจะมีลักษณะตัวด่าง ครีบหูและครีบหางกร่อนและตกเลือด ถุงน้ำดีบวม ซึ่งโดยทั่วไปแล้วพบว่ามีการระบาดในปลาขนาดเล็กและก่อโรคในปลาที่เป็นลักษณะภายนอก (External infection) เท่านั้น อย่างไรก็ตามในปัจจุบันในรายงานหลาย ๆ รายงานก็ทำให้ทราบว่าเชื้อชนิดนี้ก็สามารถก่อให้เกิดโรคภายในระบบร่างกาย (Systemic infection) ในปลาหลาย ๆ ชนิด เช่นกัน (Decostere *et al.*, 1998; Jirí and Bohumil, 2007; Soto et al., 2008)

เมื่อนำไปทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะพบว่า เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ มีความไวต่อยา Enrofloxacin มากที่สุด รองลงมา คือ Trimethoprim/sulfamethoxazole ขณะที่ยา Oxytetracycline และ Amoxycillin ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิดนี้ได้ ซึ่ง Decostere *et al.* (1998) ได้รายงานการทดสอบความไวของยาต่อเชื้อ *Flavobacterium columnare* พบว่า ยาในกลุ่มที่มีค่า MIC ในระดับต่ำและมีความไวต่อเชื้อชนิดนี้คือ Chloramphenicol, Erythromycin, Furazolidone, Kanamycin, Lincomycin, Nalidixic acid, Oxytetracycline และ Streptomycin ขณะที่ยาที่มีค่า MIC อยู่ในช่วงสูงและไม่สามารถยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ คือ Colistin, Sulfamethoxazole และ Neomycin เช่นเยวกับการศึกษาของ Kubilay *et al.* (2008) ที่ได้รายงานการทดสอบความไวของยาปฏิชีวนะ โดยการใช้ ATB-Vet strips พบว่ายาที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Flavobacterium columnare* ได้อย่างมีประสิทธิภาพได้แก่ Chloramphenicol, Oxytetracycline, Furazolidone, Nitrofurantoin, Erythromycin, Streptomycin, Penicillin, Amoxicillin และ Cephalothin ส่วนยาที่มาสามารถควบคุม เชื้อชนิดนี้ได้ ได้แก่ Colistin และ Oxacillin เป็นต้น

นอกจากนี้จากการศึกษาพยาธิสภาพของปลาที่ป่วย โดยสังเกตจากจำนวนและปริมาณเม็ดเลือด พบว่าปลาที่เป็นโรคเลือดปลาที่เป็นโรคไม่ว่าจะมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียชนิดใด ปลาที่ป่วยจะมีปริมาณเม็ดเลือดน้อยลง และมีอัตราส่วนเม็ดเลือดชนิด Monocyte เพิ่มขึ้น และมีเกล็ดเลือดน้อยลงเมื่อเทียบกับปลาปกติ โดยเฉพาะเกล็ดเลือดนั้นในปลาที่ป่วยจะพบน้อยมากจนถึงไม่มีเลย ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเกล็ดเลือดจะมีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือด ซึ่งการที่มีปริมาณลดน้อยลงไปอาจส่งผลทางลบต่อสุขภาพปลาได้ นอกจากนี้การลดลงของเกล็ดเลือดนี้อาจใช้เป็นดัชนีเพื่อบ่งชี้ถึงสุขภาพของปลาโดยเฉพาะปลาที่ป่วยและมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียได้อีกด้วย ซึ่งจากการศึกษาของ Martins *et al.* (2009) ได้ทำการการศึกษากลไกการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลภายหลังที่มีการติดเชื้อ *Enterococcus* sp. พบว่าภายหลังจากปลาได้รับเชื้อดังกล่าวแล้วเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Total white blood cells) และ Lymphocytes จะมีแนวโน้มสูงขึ้น และแตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งให้ผลในทางกลับกันกับปริมาณของ Monocytes ที่พบว่าปลาที่ได้รับเชื้อแบคทีเรียจะมีปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดชนิดนี้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับปลาในกลุ่ม

ควบคุม แต่จะมีแนวโน้มสูงขึ้นในท้าย ๆ ของการทดลอง นอกจากนี้ Zaki *et al.* (2008) ยังพบว่าปลานิลที่มีการติดเชื้อรา *Saprolegnia parasitica* จะส่งผลต่อค่า พารามิเตอร์ในเลือดของปลาโดยตรง โดยพบว่าภายหลังจากที่ปลาได้รับเชื้อแล้วเป็นเวลา 7 วัน ปริมาณเม็ดเลือดแดง, ปริมาณ Hemoglobin, creatinine, sodium, potassium, insulin and glucose จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับปลาปกติ ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้และการรายงานข้างต้นสามารถชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่า การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของเลือดจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเกิดโรค และอาจเป็นส่วนสำคัญในการนำเอาไปเป็นดัชนีที่บ่งถึงภาวการณ์เกิดโรค ซึ่งสามารถนำเอาไปศึกษาเพื่อหาทางในการป้องกันรักษาโรคในปลานิลต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

ชาญณรงค์ รอดคำ. 2550. โรคสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศไทย, น. 319-326. ใน ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ครั้งที่ 33. ภาควิชาจุลชีววิทยา , คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ยุพินท์ วิวัฒนชัยเศรษฐ์ และ พันธ์ศักดิ์ ไชยบุตร. 2543. การเลี้ยงปลานิล. เอกสารคำแนะนำ. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด. มปป. โรคปลานิล. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Al-Sweih, N., Jamal, M. Kurdia, M., Abduljabar, R., Rotimi, V. 2005. Antibiotic Susceptibility Profile of Group B Streptococcus *(Streptococcus agalactiae)* at the Maternity Hospital, Kuwait. Med. Princ. Pract. 14, 260-263.

Decostere, A., Haesebrouck, F., Devriese, L.A. 1998. Characterization of four *Flavobacterium columnare* (*Flexibacter columnaris*) strains isolatedfrom tropical fish. Vet. Microbiol. 62, 35-45.

Jirí, R., Bohumil, M. 2007. Blood parameters in brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill, 1815), affected by columnaris disease. Aquacult. Res. 38, 1182-1197.

Kubilay, A., Altun, S., Diler, Ö., Ekici, S. 2008. Isolation of *Flavobacterium columnare* from cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in Turkey. Turkish J. Fisheries Aquat. Sci. 8, 165-169.

Martins, M.L., Vieira, F.N., Jerônimo, G.T., Mouriño, J.L.P., Dotta, G., Speck, G.M., Bezerra, A.J.M., Pedrotti, F.S., Buglione-Neto, C.C., Pereira, G. 2009. Leukocyte response and phagocytic activity in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. Fish Physiol. Biochem. 35, 219-222.

Soto, E., Mauel, M.J., Karsi, A., Lawrence, M.L. 2008. Genetic and virulence characterization of *Flavobacterium columnare* from channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Appl. Microbiol. 5, 1302-1310.

Sarder, M.I., Thompson, R.K.D., Penman, D.J., McAndrew, B.J. 2001. Immune responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) clones: I. Non-specific responses. Dev. Com. Immunol. 25, 37-46.

Zaki, M.S., Fawzi, O.M., El-Jackey, J. 2008. Pathological and biochemical studies in *Tilapia nilotica* infected with *Saprolegnia parasitica* and treated with potassium permanganate. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 3, 677-680.

4.5.5 ผลของการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและการต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของปลากราย

กฤษณ์ ทิพย์ภาระ จีรภา วรรณโก ณัฐวุฒิ ปานแย้ม นำโชค บูรณานนท์ สมรักษ์ จันทร์ภิรมย์ สุขนิรันดร์ สุวรรณแก้วมณี (นิสิตปริญญาตรี)

คำนำ

ปลากราย (*Chitala ornata*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ประชาชนชอบบริโภค เนื่องจากเนื้อปลากรายมีรสชาติดีสามารถนำมาปรุงอาหารได้หลายชนิด เช่น ทอดมันปลากราย ลูกชิ้นปลากราย เชิงปลากรายทอดกระเทียม เป็นต้น ทำให้ราคาจำหน่ายปลากรายในท้องตลาดค่อนข้างมีราคาแพงประมาณกิโลกรัมละ 70-80 บาท ส่วนเนื้อปลาขูดราคากิโลกรัมละ 220 บาท อีกทั้งปลากรายขนาดเล็กมีลักษณะสวยงามเป็นที่ต้องการของตลาดปลาสวยงามทั้งภายในและภายนอกประเทศ ปลากรายที่นำมาจำหน่ายส่วนใหญ่เป็นปลาจากแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งมีปริมาณลดลงทุกปี (กรมประมง, 2536) ดังนั้นเกษตรกรโดยเฉพาะกลุ่มที่อาศัยในพื้นที่ภาคกลางเริ่มสนใจหันมาเลี้ยงปลากรายเป็นจำนวนมากและสร้างรายได้จากการขายผลผลิตอย่างเป็นล่ำเป็นสัน อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญในการเลี้ยงที่พบในปัจจุบันคือ ในช่วงแรกของการปล่อยเลี้ยงและปลาขนาดตลาด มักพบปัญหาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ซึ่งทำให้ปลาระยะดังกล่าวตายเป็นจำนวนมาก การใช้ แบคทีเรียโปรไบโอติก (probiotic) น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการป้องกันรักษาโรคแบคทีเรียดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

"โปรไบโอติก" หมายถึง "จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อบริโภคในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพผู้บริโภค" (Reid *et al.* 2003) กลไกจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับโปรไบโอติกส์ ได้แสดงให้เห็นว่า โปรไบโอติกส์ เหล่านี้จะช่วยให้สุขภาพของผู้บริโภคดีขึ้น โดยแบคทีเรียเหล่านี้จะสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโทษหลายชนิด ซึ่งได้แก่ bacteriocins, lysozymes, protease, และ hydrogen peroxide เป็นต้น ซึ่งจะมีผลลบต่อสภาพแวดล้อมของเชื้อก่อโรคต่าง ๆ นอกจากนี้ probiotic แบคทีเรียสามารถเกิดกระบวนการแย่งชิงสารอาหารที่จำเป็น ยึดครองแหล่งที่อยู่อาศัย การรับเอาสารอินทรีย์ที่ละลายอยู่ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียเข้าไปโดยตรง และรวมถึงการทำให้เกิดการควบคุมปฏิสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมและการพัฒนาภูมิต้านทานในการตอบสนองที่เป็นประโยชน์ ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตอีกด้วย

การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลการให้แบคทีเรีย โปรไบโอติก สายพันธุ์ AQHBS02 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งน้ำตามธรรมชาติ และได้ผ่านการตรวจสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* มาแล้วในระดับห้องปฏิบัติการ (ประพันธ์ศักดิ์ ศรีษะภูมิ การติดต่อส่วนตัว) แก่ปลากรายขนาดความยาวประมาณ 3-4 นิ้ว ซึ่งเป็นขนาดที่มักพบว่ามีปัญหาที่เกิดจาก

เชื้อ *A. hydrophila* เสมอๆ และศึกษาผลในด้านความต้านทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* และการเจริญเติบโตของปลากราย หลังได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 1 เดือน

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

วัตถุประสงค์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ 2 ประการ คือ

1. เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของแบคทีเรียโปรไบโอติก AQSBS02 ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลากราย (*Chitala ornata*)
2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมของโปรไบโอติกต่อการต้านเชื้อ *Aeromonas hydophila*

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลากรายทดลอง

นำปลากรายขนาด 2-3 นิ้ว (น้ำหนักประมาณ 1.8 กรัม) มาเลี้ยงใน ตู้ปลาขนาด 80 ลิตร จำนวน 24 ตู้ๆ ละ 20 ตัว ณ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อปรับสภาพของปลาให้คุ้นเคยกับสภาพการทดลอง โดยทำการเลี้ยงไว้ระยะเวลา 7 วัน ระหว่างนี้ให้อาหารปลาดุกโปรตีน 30%ในอัตรา 3% ต่อน้ำหนักตัว วันละสองเวลา (8.00 น.และ 16.00 น.)

การเตรียมโปรไบโอติก AQSBS02 และการให้อาหาร

นำโปรไบโอติก AQSBS02 ซึ่งพัฒนาขึ้นโดย ดร.ประพันธ์ศักดิ์ ศรีษะภูมิ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มาผสมกับอาหารปลาดุกขนาดเล็ก (Hi grade) โดยจัดความเข้มข้นของแบคทีเรียโปรไบโอติกตามกลุ่มของปลากรายให้ได้รับอาหารผสมแบคทีเรีย โปรไบโอติก 3 ระดับ คือ 1, 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยนำแบคทีเรียในปริมาณที่ต้องการผสมกับสารละลายเกลือแกง 0.85% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และคลุกเคล้ากับอาหาร (1 กิโลกรัม) ให้ทั่ว จากนั้นนำไปผึ่งลมให้แห้ง ส่วนอาหารชุดควบคุม เตรียมโดยผสมอาหารกับน้ำเกลือ 100 มิลลิลิตร โดยไม่ผสมแบคทีเรียโปรไบโอติก

ให้อาหารปลากรายวันละ 2 ครั้ง ที่ระดับ 3% ของน้ำหนักตัว โดยทำการเปลี่ยนน้ำทุกวันในระหว่างช่วงการทดลองนาน 28 วัน ปรับปริมาณอาหารให้สอดคล้องกับน้ำหนักตัวและการรอดตาย ตรวจสอบปริมาณอาหารที่กินและการรอดตายด้วยตาเปล่าทุกเช้า โดยวัดความยาวและชั่งน้ำหนักปลาด้วยเครื่องชั่งแบบดิจิตอลทุกสัปดาห์

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อ *A. hydophila* มาเขี่ยบน TSA plate ให้ได้โคโลนีเดี่ยว แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C ข้ามคืน จากนั้นเขี่ยโคโลเนียเดี่ยว 1-2 โคโลนีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เสร็จแล้วนำไปเขย่าเลี้ยงให้ได้ 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นใช้น้ำเกลือ 0.85% ปรับความเข้มข้นของเชื้อ *A. hydophila* ให้อยู่ที่ 10^9 CFU/ml

แล้วนำไปใส่ลงในตู้ทดลอง ที่ใส่ปลาทดลองไว้แล้ว โดยให้ได้ความเข้มข้นของ *A. hydophila* สุดท้ายเป็น 10^6 CFU/ml โดยคำนวณตามปริมาตรน้ำในตู้เลี้ยงปลากรายได้ดังนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

$$10^9 V_1 = 10^6 \times 30{,}000 \text{ ml}$$

$$N_1 = 30 \text{ ml /ตู้ปลา 1 ตู้}$$

การทดสอบความต้านทานต่อเชื้อ A. hydophila

เมื่อเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมโปรไบโอติก ครบ 1 เดือนแล้ว นำปลาทดลองกลุ่มการทดลองละ 15 ตัว ใส่นำมาใส่ในตู้เลี้ยงปลา นำสารละลายของเชื้อ *A. hydophila* มาใส่ในตู้ หลังจากนั้นบันทึกอัตราการตายของปลาในแต่ละกลุ่มในทุก ๆ วัน จนครบ 14 วัน เพื่อนำไปคำนวณหาค่าอัตราการตายสะสม และเมื่อพบว่าปลาทดลองมีอาการผิดปกติหรือใกล้ตายให้นำปลาไปแยกเชื้อในอาหาร TSA เพื่อเป็นการยืนยันผลของการติดเชื้อต่อไป

การวิเคราะห์ทางสถิติ

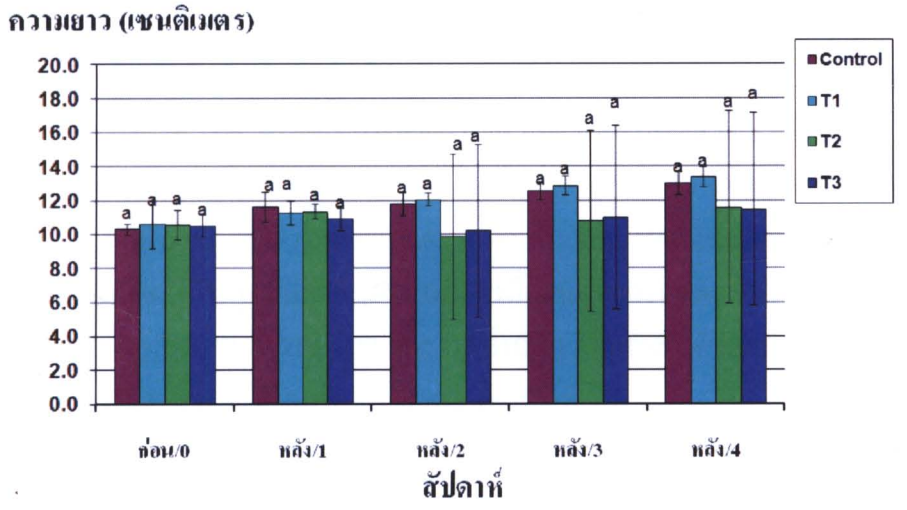
วิเคราะห์ผลการทดลอง (ความยาวและน้ำหนัก ตลอดจนอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน-Average daily gain: ADG ในแต่ละสัปดาห์ อัตราการตายสะสมภายหลังแช่ในเชื้อ *A. hydophila*) โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ Ducans'new multiple range test (DMRT) การวิเคราะห์ทำโดยการใช้โปรแกรม SPSS for Windows version 11.5

ผลการทดลอง

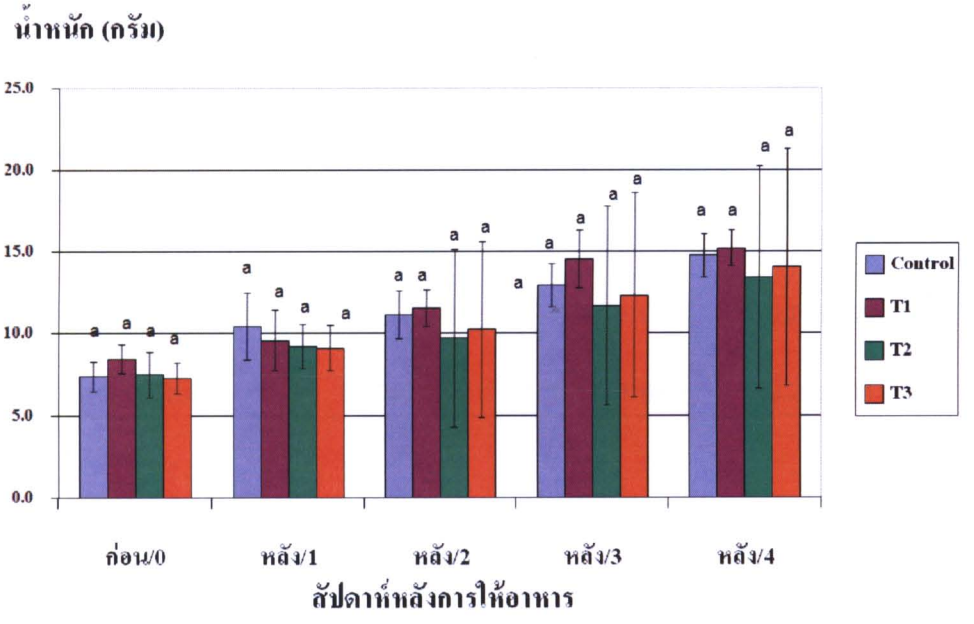
ผลการเสริมโปรไบโอติก AQSBS02 ต่อการเจริญเติบโตของปลากราย

ความยาวเฉลี่ยของปลากรายในแต่ละสัปดาห์จนถึงสิ้นสุดการทดลองที่ 28 วัน ของปลากลุ่มควบคุมและกลุ่มการทดลองที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 34) โดยพบว่าแนวโน้มของความยาวของปลาในแต่ละกลุ่มมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในแต่ละสัปดาห์ที่ทำการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลองความยาวของปลาในแต่ละกลุ่มมีค่าความยาวเป็น 13±0.7, 13.4±0.6, 11.6±5.7 และ 11.5±5.7 ในชุดที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมตามลำดับ

ในทำนองเดียวกัน น้ำหนักของปลาทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติตลอดการทดลอง ($P > 0.05$) (ภาพที่ 35) เมื่อสิ้นสุดการทดลองปลาทดลองมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น จากน้ำหนักเริ่มต้น 7.3±0.9 - 8.4±0.9 กรัม เพิ่มเป็น 14.8±1.3, 15.2±1.1, 13.4±6.8 และ 14.2±7.2 กรัม ในชุดที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ



ภาพที่ 34 ความยาวของปลากราย ที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ในระดับ 0 (control), 1 (T1), 3 (T2) และ 5 (T3) กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันและกำกับบนแท่งกราฟในแต่ละช่วงเวลาแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)



ภาพที่ 35 น้ำหนักของปลากราย ที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ในระดับ 0 (control), 1 (T1), 3 (T2) และ 5 (T3) กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันและกำกับบนแท่งกราฟในแต่ละช่วงเวลาแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงค่า อัตราการเพิ่มน้ำหนักต่อวัน (ADG) พบว่า ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง ปลาในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 มีแนวโน้มของการเพิ่มน้ำหนักต่อวันสูงขึ้นตามระดับแบคทีเรีย โปรไบโอติกที่เพิ่มขึ้น โดยมีค่าเป็น 0.24±0.12, 0.32±0.20 และ 0.40±0.03 กรัม/วัน ในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 1, 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมตามลำดับ ในขณะที่ กลุ่มควบคุมมีค่า ADG เป็น 0.19±0.10 กรัม/วัน เท่านั้น อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ค่า ADG ของปลาในแต่ละกลุ่มมีแนวโน้มลดลง และไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกสัปดาห์ ($P > 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาในแต่ละกลุ่มจะมีค่า ADG เป็น 0.24±0.07, 0.19±0.12, 0.26±0.02 และ 0.26±0.11 ในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมตามลำดับ (ตารางที่ 19)

ผลของแบคทีเรีย โปรไบโอติก ต่ออัตรารอด

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาทดลองทุกกลุ่มมีอัตราการตายค่อนข้างต่ำ และไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการตาย 21.0±4.2, 20.0±10.0, 21.0±6.6 และ 22.0±9.3% ตามลำดับ

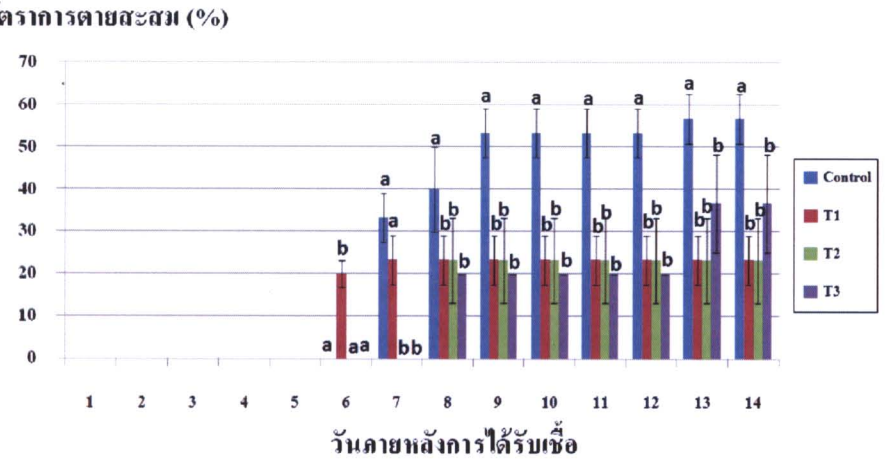
ตารางที่ 19 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (Average Daily Gain, ADG) (กรัม) ของปลาทดลองซึ่งได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน (ค่าเฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ $P > 0.05$)

ชุดการทดลอง	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4
0 กรัม/กิโลกรัม	0.18±0.04	0.19±0.10	0.23±0.11	0.24±0.07
1 กรัม/กิโลกรัม	0.15±0.09	0.24±0.12	0.38±0.09	0.19±0.12
3 กรัม/กิโลกรัม	0.20±10.06	0.32±0.20	0.29±0.17	0.26±0.02
5 กรัม/กิโลกรัม	0.23±0.04	0.40±0.03	0.31±0.12	0.26±0.11

ผลของแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ต่อความต้านทานต่อ A. hydrophila

ในระยะ 5 วันแรกของการแช่ปลาทดลองในสารละลายเชื้อ *A. hydrophila* ยังไม่พบปลาตาย ในวันที่ 6 กลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ในอัตรา 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เริ่มมีปลาตาย โดยมีค่าอัตราการตายสะสมเป็น 20.0±3.14% ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับปลากลุ่มอื่น ๆ ที่มีอัตราการตายในวันนี้เป็น 0.0% ($P < 0.05$) ในวันที่ 7 ของการแช่เชื้อ ปลาในกลุ่มควบคุมเริ่มตายจำนวนมาก โดยมีอัตราการตายสะสมเป็น 33.3±5.8% ขณะที่กลุ่มที่ได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติกในอัตรา 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นเป็น 23.3±5.8% ซึ่งทั้งสองกลุ่มนี้มีอัตราการตายสะสมแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มทดลองที่รับได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติกในอาหารในอัตรา 3 และ 5 กรัม/อาหาร

1 กิโลกรัม ซึ่งยังไม่มีปลาตาย ($P < 0.05$) ในวันที่ 8 ของการทดลองพบปลาตายในทุกกลุ่ม โดยกลุ่มควบคุมมีอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้นเป็น 40.0±10.0% ซึ่งสูงกว่าปลาที่ได้รับแบคทีเรียในอาหารทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่าอัตราการตายสะสมในช่วงนี้เป็น 23.3±5.8, 23.3±10.0 และ 20.0±10% ในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติกในระดับ 1, 3 และ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ หลังจากวันที่ 9 ของการได้รับเชื้อ *A. hydrophila* เป็นต้นไป อัตราการตายของปลาที่ได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ทุกๆ กลุ่มมีค่าค่อนข้างคงที่ และแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุม จนสิ้นสุดการทดลอง โดยพบว่าปลาในแต่ละกลุ่มจะมีอัตราการตายสะสมที่สิ้นสุดการทดลองในวันที่ 14 เป็น 56.7±5.8, 23.3±5.8, 23.3±10 และ 36.7±11.5% ตามลำดับ ($P < 0.05$) (ภาพที่ 36)



ภาพที่ 36 อัตราการตายสะสมของปลาในแต่ละกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ในระดับ 0 (control), 1 (T1), 3 (T2) และ 5 (T3) กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันและกำกับบนแท่งกราฟในแต่ละช่วงเวลาแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปัจจุบันการใช้แบคทีเรียโปรไบโอติก กำลังเป็นที่สนใจของทั้งนักวิจัยและผู้บริโภคสินค้าและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรอย่างมาก เนื่องจากปัจจุบันประเด็นอาหารปลอดภัย (Food safety) กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในหมู่ผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ เนื่องจากที่ผ่านมาการผลิตสัตว์ทั้งในส่วนของสัตว์บกและสัตว์น้ำ ได้มีการใช้ยาและสารเคมีเพื่อการป้องกันรักษาโรคอย่างกว้างขวาง ซึ่งการกระทำดังกล่าวได้ก่อให้เกิดผลกระทบที่รุนแรงทั้งทางตรงและทางอ้อม ทั้งต่อผู้บริโภค สภาพแวดล้อม รวมถึงทัศนคติของผู้บริโภค ไม่ว่าจะเป็นปัญหาการตกค้างของยาและสารเคมีในผลผลิต รวมไปถึงการทำลายจุลชีพที่มีประโยชน์ในสภาพแวดล้อม ซ้ำยังทำให้เกษตรกรต้องเพิ่มต้นทุนในการผลิตอย่างมากมาย ดังนั้นนักวิจัยหลาย ๆ กลุ่มจึงพยายามค้นคว้าและพยายามหาแบคทีเรียที่มีประโยชน์และไม่ก่อโทษมาผสมในอาหารเพื่อให้สัตว์เลี้ยงกิน โดยใช้หลักโปรไบโอติกนี้เอง

ผลของการศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่า แบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 นี้สามารถเพิ่มความต้านทานให้ปลากรายทดลองสามารถต้านทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้อย่างชัดเจนและเป็นที่น่าพอใจ ถึงแม้ว่าจะไม่สามารถทำให้อัตราการเจริญของปลาเพิ่มขึ้นก็ตาม ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาในปลาเก๋า (*Epinephelus coioides*) ที่พบว่าการให้ปลาเก๋าได้รับโปรไบโอติก ไม่ทำให้เพิ่มการเจริญเติบโต แม้ว่าการแลกอาหารเป็นเนื้อ จะดีขึ้น (FCR ต่ำลง) และปลาเก๋าที่ได้รับโปรไบโอติกส์ มีค่าทางภูมิคุ้มกัน เช่น Pagocytic activity และ Phagocytic index สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ ซึ่งแสดงถึงความต้านทานโรคที่ดีกว่า (Sun *et al*., 2010) อย่างไรก็ตาม ในปลาบางชนิด เช่น ปลาเรนโบว์เทราท์ การได้รับแบคทีเรีย โปรไบโอติก ทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้น ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีขึ้น และค่าอัตราแลกเนื้อต่ำลง (Merifield *et al*., 2010) เช่นเดียวกับที่พบในปลาทอง (Dhanaraj *et al*., 2010)

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงความปลอดภัย พบว่าภายหลังจากการให้อาหารผสมแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 ตั้งแต่ 1 จนถึง 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลาถึง 28 วัน ก็ไม่ทำให้ปลาทดลองเกิดความผิดปกติได้แต่อย่างใด และยังคงมีอัตราการเจริญเติบโตที่เป็นไปตามปกติเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม ในการทดลองนี้มีอัตราการตายของปลาทดลองต่ำมาก อย่างไรก็ตามการที่อัตราการตายของปลาทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน แสดงว่าการได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติก ไม่มีผลร้ายต่อปลาทดลอง

การที่แบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 สามารถเสริมความต้านทานต่อเชื้อโรค *A. hydrophila* ได้ อาจเป็นผลมาจาก แบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 นี้ มีคุณสมบัติอย่างใดอย่างหนึ่งตามคุณสมบัติของโปรไบโอติกที่ดี ตามที่ Gatesoupe (1999) ได้อธิบายไว้ เช่น แบคทีเรีย AQHBS02 นี้ อาจมีความสามารถในการยึดเกาะลำไส้ได้ หรือสามารถอยู่ในลำไส้ได้ชั่วระยะเวลาหนึ่ง และทำให้เจ้าบ้านแข็งแรง สามารถต้านทานโรค หรือแบคทีเรีย โปรไบโอติกนี้ อาจมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ทำให้ปลาที่ได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติก มีการตอบสนองและต่อต้านเชื้อโรคดังกล่าวได้ เป็นอย่างดี นอกจากนี้ กลไกที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ แบคทีเรีย AQHBS02 อาจจะสามารถสร้างสารออกมายับยั้งการเจริญหรือแก่งแย่งกับ *A. hydrophila* ในการดำรงชีวิตในทางเดินอาหารของปลาได้เป็นอย่างดี ซึ่งควรจะต้องมีการทดลองพิสูจน์เพื่อให้ทราบกลไกการทำงานของเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก AQHBS02 นี้ในการศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2536. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. งานเอกสารคำแนะนำ กองส่งเสริมการประมง. กรมประมง. หน้า 43.

Dhanaraj, M., Haniffa, M. A., Singh, S.V. A., Arockiaraj, A.J., Ramakrishanan, C.M., Seetharaman, S., Arthimanju, R. 2010. Effect of probiotics on growth performance of Koi carp (*Cyprinus carpio*). J. Applied Aqua. 22, 202-209.

Gatesoupe, F.J. 1991. *Bacillus* sp. Spore: A new tool against early bacterial infection in turbot larvae, *Scopthalmus maximus*. pp. 409-411. *In* P. Lavens, P. Sorgeloos, E. Jasper and F. Ollevier (eds.) LARVI, 91, Fish and Crustacean Larviculture Symposium.

Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture180, 147-165.

Merifield, D.L., Bradley, G., Baker, R.T.M., Davies, S.J. 2010. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) II. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria post antibiotic treatment. Aquacult. Nutrit. 16, 496-503.

Sun,Y.-Z., Yang, H.-L., Ma, R.-L., Lin, W.-Y. 2010. Probiotic applications of two dominant gut Bacillus strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. Fish & Shellfish Immunol. 29, 803-809.

Reid, G., Sanders, M.E., Gaskins, H.R., Gibson, G.R., Mercenier, A., Rastall, M.B., Rowland, I., Cherbut, C., Klaenhammer, T.R. 2003. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. J. Clin. Gastroenterol 37, 105-108.