บทที่ 1

บทตรวจเอกสาร

1. พรีไบโอติก (Prebiotic)

Gibson และ Roberfroid (1995) ให้คำจำกัดความของพรีไบโอติกว่า “เป็นสารอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารแต่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์หรือสัตว์โดยกระตุ้นการเจริญและ/หรือกิจกรรมของจุลินทรีย์บางกลุ่ม หรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางกลุ่มในลำไส้ใหญ่ ซึ่งมีผลทำให้สุขภาพของมนุษย์หรือสัตว์นั้นๆ มีสุขภาพดี” จากคำจำกัดความข้างต้น พรีไบโอติกต้องทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในกระเพาะอาหารไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็กและผ่านลงไปในลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย (bifidobacteria) และแลคโตบาซิลลัส (lactobacilli) (Roberfroid, 2001) ต่อมาในปี ค.ศ. 2007 FAO ให้นิยามพรีไบโอติกใหม่ว่า “องค์ประกอบของอาหารใดๆ ที่ส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารและส่งผลดีต่อสุขภาพ” ขณะที่ Parker (1974) ได้ให้ความหมายของคำว่าโพรไบโอติก (probiotic) ไว้ว่า “จุลินทรีย์หรือสารที่ช่วยในเรื่องความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้” ต่อมา Fuller (1989) ได้ให้ความหมายใหม่ของโพรไบโอติกว่า “กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่โดยส่งเสริมความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้” ส่วนคำว่า “ซินไบโอติก (synbiotic)” Gibson และ Roberfroid (1995) ได้ให้ความหมายว่า “เป็นของผสมระหว่างพรีไบโอติกและโพรไบโอติกที่ไปส่งเสริมการอยู่รอดและเป็นอาหารของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์”

โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) เป็นน้ำตาลที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 3 ถึง 10 หน่วย จัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ทางการค้าสามารถผลิตได้โดยการย่อยพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) หรือเกิดจากการรวมกันของน้ำตาลโมเลกุลต่ำโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ คุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของโอลิโกแซคคาไรด์สามารถทดสอบได้ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) เช่น การเลี้ยงเชื้อแบบกะ แบบต่อเนื่อง 3 ขั้นตอน และการทดสอบในมนุษย์หรือสัตว์ (*in vivo*) เช่น การทดสอบในหนูและสัตว์เลี้ยง (Rastall, 2000) พรีไบโอติกที่มีจำหน่ายทางการค้าสำหรับมนุษย์บริโภคทุกชนิดจัดอยู่ในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ ยกเว้น อินนูลินที่จัดอยู่ในกลุ่มพอลิแซคคาไรด์ พรีไบโอติกทางการค้าในปัจจุบัน ได้แก่ อินนูลิน, กาแลคโตโอลิแซคคาไรด์, ซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์, ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosacchaide), แลคโตซูโครส (lactosucrose),ไอโซมอล-โตโอลิโกแซคคาไรด์ (isomaltooligosaccharide) และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharide) เป็นต้น (Casci and Rastall, 2006)

1.1 คุณสมบัติของพรีไบโอติก

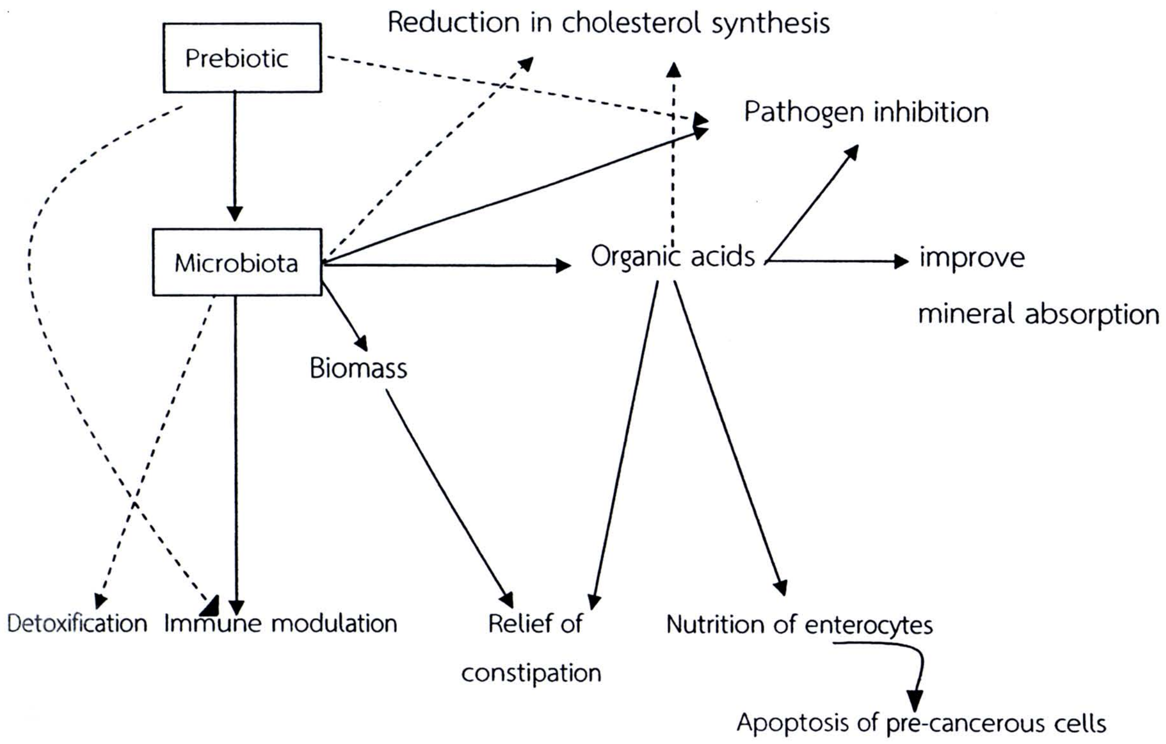
พรีไบโอติก เป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตชนิดที่ไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน แต่แบคทีเรียบางกลุ่มโดยเฉพาะกลุ่มที่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่สามารถ

ใช้สารอาหารเหล่านี้ในการเจริญและส่งผลโดยรวมต่อการเสริมสร้างสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) ให้ดีขึ้น เช่น *Bifidobacterium, Lactobacillus* และ *Eubacterium* (Cummings *et al.*, 2001) สารอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่ดีนั้นจะต้องสามารถไปถึงลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน (Fooks *et al.*, 1999; Gibson, 2004) และเป็นสารอาหารที่เสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่อาศัยลำไส้ใหญ่ได้อย่างจำเพาะโดยเฉพาะกลุ่ม *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* (Gibson, 2004; Kolida *et al.*, 2002) นอกจากนี้สารอาหารที่จัดเป็นพรีไบโอติกจะต้องไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Clostridium perfringens* (Gibson and Roberfroid, 1995)

ดังนั้นสารอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกต้องสามารถทนต่อการย่อยของกรดในกระเพาะอาหารและไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก เข้าสู่ลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงเพื่อให้จุลินทรีย์ประจำถิ่น (microflora) ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่สามารถใช้สารเหล่านี้ในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน (Gibson, 2004) ส่งผลให้สุขภาพของผู้บริโภคดีขึ้น เช่น ช่วยในการดูดซึมแคลเซียม แมกนีเซียมและเหล็ก (Lopez *et al.*, 2000) และป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ ดังแสดงในภาพที่ 1

สารอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ เช่น แลคทูโลส (lactulose) แรฟฟีโนส (raffinose) สตาคีโอส (starchyose) และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ นอกจากนี้ยังรวมถึงพอลิแซคคาไรด์บางชนิด ได้แก่ แป้งต้านการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch) พอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง (non-starch polysaccharide, NSP) เช่น อินนูลิน และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (chitooligosaccharide, COS) (Casci and Rastall, 2006) กล่าวโดยสรุป คือ สารพรีไบโอติกมีคุณสมบัติหลัก ๆ ดังนี้

- สามารถเคลื่อนไปถึงลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่ถูกย่อย และไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน (Fooks *et al.*, 1999; Kolida *et al.*, 2002; Gibson, 2004)
- สามารถเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลลัส (Gibson, 2004; Kolida *et al.*, 2002)
- ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหาร เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลลัส และไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรค เช่น *C. perfringens* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในลำไส้ (Gibson and Roberfroid, 1995; Kolida *et al.*, 2002) ซึ่ง Gibson and Roberfroid (1995) ได้ศึกษาผลของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลินในอาสาสมัคร 100 คน โดยให้รับประทาน 5-20 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 9 สัปดาห์ พบว่าปริมาณบิฟิโดแบคทีเรียเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 1 กลไกของพรีไบโอติกต่อสุขภาพ
ที่มา: Ouwehand และคณะ (2005)
หมายเหตุ เส้นทึบ หมายถึง กลไกหลัก
เส้นประ หมายถึง กลไกรอง

1.2 พรีไบโอติก

ปัจจุบันพรีไบโอติกที่ผลิตทางการค้ามีประมาณ 10 ชนิด โดยส่วนใหญ่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเสริมคุณค่าทางโภชนาการ เป็นแหล่งใยอาหารชนิดพิเศษต่างจากใยอาหารทั่วๆ ไป กล่าวคือ นอกจากมีส่วนช่วยในการขับถ่ายแล้วยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านอื่นๆ ดังกล่าวไว้ในตอนต้น ชนิดของพรีไบโอติกที่นำเสนอ 3 ชนิด เป็นพรีไบโอติกที่ได้รับความนิยมสูงสุด และเป็นพรีไบโอติกที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

1.2.1 อินนูลิน

อินนูลินเป็นสารพอลิแซคคาไรด์ที่พืชเก็บไว้เป็นอาหารซึ่งเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตสต่อกัน 3-60 โมเลกุล อินนูลินพบในผักและผลไม้มากกว่า 3,600 ชนิดโดยเฉพาะในผักตระกูล chicorium เช่น ชิคอรี (chicory) นอกจากนี้ยังพบในกล้วย และพืชในตระกูลหอม เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม เป็นต้น อินนูลินไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก และถูกหมักโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ อินนูลินละลายน้ำได้ดี (Tanya, 2002) โดยเฉพาะในน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส (Kim and Wang, 2002) แต่ละลายได้เพียงเล็กน้อยในน้ำเย็น และแอลกอฮอล์ (Paul, 1997) และมีความคงตัวสูง ไม่มีผลข้างเคียงต่อระบบประสาทสัมผัส รสชาติหวานเล็กน้อย จึงมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ

(Vicki, 2002) เช่น ใช้ปรับปรุงในรสชาติและเนื้อสัมผัส ช่วยรักษาความสดและความชื้นในเค้ก ช่วยให้เครื่องดื่มละลายเข้ากันดี พรีไบโอติกที่มีองค์ประกอบคล้ายกับอินนูลินแต่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าจัดเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ ได้แก่ โอลิโกฟรุกโตส ซึ่งได้จากการย่อยอินนูลินด้วยเอนไซม์อินนูลิเนส และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้จากการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานส์เฟอเรสโดยใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสับสเตรท

1.2.2 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีกาแลคโตสเป็นองค์ประกอบในแหล่งธรรมชาติพบในน้ำนมของมนุษย์ น้ำนมวัว กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้าได้จากการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์เบต้ากาแลคโตซิเดสโดยใช้แลคโตสเป็นสับสเตรท (β-galactosidase)

จากการศึกษาพบว่ากาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นกลุ่มของโอลิโกแซคคาไรด์ที่เอนไซม์ในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ (non-digestible oligosaccharides) ทำให้สามารถเคลื่อนที่ผ่านไปถึงลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่ถูกย่อยแต่สามารถเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ ซึ่งผลที่ได้จากการหมักจะเป็นกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid) เช่น อะซิเตท โพรพิโอเนท บิวไทเรท และก๊าซ เช่น ไฮโดรเจน มีเทน และ คาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยังมีผลผลิตอื่น เช่น แลคเตส ผลจากการหมักกาแลคโตโอ-ลิโกแซคคาไรด์จะมีผลไปกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Bifidobacteria และ Lactobacilli ทั้งในระบบ *in vitro* และ *in vivo* ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้ช่วยในการสังเคราะห์วิตามิน กระตุ้นภูมิคุ้มกันและป้องกันท้องเสีย

จากการศึกษาของ Tzortzis และคณะ (2004) พบว่ากาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตโดยเอนไซม์แอลฟากาแลคโตซิเดส (α-galactosidase) สามารถส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ได้ ซึ่งการศึกษาโดยการเลี้ยงแบบกะ (batch culture) ในอาหาร minimal medium โดยใช้ faecal เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมัก และเติมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 1 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมพีเอช (pH) ที่ 6.8 ทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์กลุ่ม Bifidobacteria และ Lactobacilli ได้สูงกว่าพรีไบโอติกทางการค้า 3 ชนิด คือ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ เมลิไบโอส และ ราฟฟิโนส อีกทั้งยังสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม Clostridia นอกจากนี้การศึกษาในระดับ *in vivo* ทั้งในคนและสัตว์ก็ได้ผลในลักษณะเดียวกัน

1.2.3 ซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์

เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในถั่วเหลืองมีองค์ประกอบหลัก 2 ชนิด คือ แรฟฟิโนส และ สตาคี-โอส (Gibson, 2004) สามารถทนต่อการย่อยโดยเอนไซม์ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก สามารถเคลื่อนไปยังลำไส้ใหญ่และเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มบิฟิโด-แบคทีเรียได้ ซึ่ง Hayakawa และคณะ (1990) ได้ศึกษาการหมักซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์โดยเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ พบว่าจุลินทรีย์กลุ่มบิฟิโดแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

2. ปลานิลแดง (Red Tilapia)

ปลานิลแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus* ซึ่งเป็นปลาลูกผสมระหว่างปลานิลกับปลาหมอเทศ และมีชื่อสามัญว่า red tilapia (พรรณศรี, 2531) โดยนักวิทยาศาสตร์ได้จัดจำแนกปลานิลแดง ตามหลักอนุกรมวิธาน ดังนี้ (พรรณศรี, 2531)

Phylum Chordata

Subphylum Vertebrata

Class Osteichthyes

Subclass Teleostomi

Order Perciformes

Suborder Percifordei

Family Cichlidae

Genus *Oreochromis*

Species *niloticus* × *mossambicus*

2.1 ลักษณะภายนอกของปลานิลแดง

ปลานิลสายพันธุ์นี้นำเข้ามาครั้งแรกในปี พ.ศ. 2508 ลำตัวสีเขียวอมน้ำตาล แต่หลังจากที่นำเข้ามาเลี้ยงในประเทศและกรมประมงได้ส่งเสริมให้เกษตรกรมีการเลี้ยงอย่างแพร่หลาย จากการเพาะพันธุ์ในระยะต่อมา ปรากฏว่าลูกปลานิลบางส่วนมีสีสันต่างจากเดิมอย่างเด่นชัด กล่าวคือสีของลำตัวเปลี่ยนเป็นสีขาวอมชมพู, เหลือง, ส้ม หรือ แดง ซึ่งถือว่าเป็นการผ่าเหล่า (mutant) ซึ่งพบครั้งแรกที่สถานีประมงจังหวัดอุบลราชธานี เมื่อปี พ.ศ. 2511 โดยพบปะปนอยู่ในบ่อเลี้ยงปลานิล มีลักษณะคล้ายคลึงกับปลานิลมากต่างกันตรงที่สีของลำตัว กล่าวคือ ปลานิลธรรมดามีเม็ดสีเป็นสีดำ (melanin pigments) แต่ปลานิลที่พบใหม่นี้มีเม็ดสีหลายชนิด เช่น สีแดง สีส้ม สีส้มเหลือง และสีส้มแดง แต่บางตัวมีเม็ดสีดำปนอยู่บ้างซึ่งกระจายอยู่ทั่วลำตัว มีจุดสีแดงและสีส้ม เรียงกันเป็นแถว จึงทำให้เป็นแถบสีส้มอยู่กระจาย ซึ่งจะมีความต่างกับปลานิลที่มีลำตัวสีเขียวหรือเขียวเทาปนน้ำเงิน ลักษณะที่มีความแตกต่างที่เห็นได้ชัดเจน คือ ในช่องท้องปลานิลสีแดงมีไขมันต่างกับปลานิลสีดำ และสีของผนังช่องท้องของปลานิลสีแดงเป็นสีขาวเนื่องจากไม่มีเม็ดสีสีดำ ส่วนในช่องท้องปลานิลจะมีสีดำเนื่องจากมีเม็ดสี

ดังกล่าวปะปนอยู่ และในปี พ.ศ. 2527 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี ได้ทรงพระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่า “ปลานิลสีแดง” แต่มักจะเรียกทั่วไปว่า “ปลานิลแดง” (พรรณศรี, 2531)

2.2 ประวัติความเป็นมาของปลานิลแดง

จากการศึกษาประวัติความเป็นมาของปลาในตระกูลปลานิลที่เลี้ยงในประเทศไทยกับการศึกษาลักษณะภายนอกของปลานิลแดงสายพันธุ์ไทยในปัจจุบัน และจากการตรวจสอบโดยวิธีอิเลคโตรโฟรีซีส (electrophoresis) โดยมหาวิทยาลัยสเตอร์ลิงประเทศอังกฤษและมหาวิทยาลัยฟิลิปปินส์ ประเทศฟิลิปปินส์ สรุปได้ว่าปลานิลแดงสายพันธุ์ไทยในปัจจุบันเป็นลูกผสมระหว่างปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*) โดยมีความถี่ของยีนส์ปลานิล 78 เปอร์เซ็นต์ และปลาหมอเทศ 22 เปอร์เซ็นต์ (พรรณศรี, 2531)

2.3 ชีววิทยาของปลานิลแดง

ปลานิลแดงมีลักษณะของปลานิลและปลาหมอเทศรวมกันคือ ปากเฉียงขึ้นคล้ายปลาหมอเทศ และลักษณะลำตัวคล้ายปลานิล ปลานิลแดงมีลำตัวสีแดง, ส้ม, แดงส้ม, ชมพูหรือขาว มีเกล็ด 3 แถวที่บริเวณแก้ม ครีบหลังมีอันเดียว ประกอบด้วยก้านครีบอ่อน 12-13 อัน ก้านครีบแข็ง 15-17 อัน ครีบอกมีเฉพาะก้านครีบอ่อน 13 อัน ครีบท้องมีก้านครีบอ่อน 5 อัน ก้านครีบแข็ง 1 อัน ครีบก้นมีก้านครีบอ่อน 9-11 อัน ก้านครีบแข็ง 3 อัน และครีบหางมีก้านครีบอ่อน 16-18 อัน และไม่มีลายเส้นตามขวาง จำนวนเกล็ดบนเส้นข้างลำตัว 28-33 อัน และเกล็ดรอบคอดหาง 18-19 เกล็ด นัยน์ตาปลานิลแดงมีสีแดง วงรอบตาสีเหลือง หรือนัยน์ตาสีดำ วงรอบตาสีแดง มีนิสัยก้าวร้าว กินทั้งพืชและสัตว์ เช่นเดียวกับปลานิลธรรมดาแต่ค่อนข้างจะชอบกินสัตว์มากกว่า คือ ปลานิลแดงจะกินปลาอื่นที่มีขนาดเล็กกว่า พ่อแม่ปลาบางครั้งก็จะกินลูกปลา ซึ่งพฤติกรรมเช่นนี้ไม่ปรากฏในปลานิลธรรมดา มีการผสมพันธุ์วางไข่ได้ปีละประมาณ 3-4 ครั้ง จะเริ่มวางไข่เมื่อมีความยาวเฉลี่ย 6.5 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 200-250 กรัม จะให้ลูกรุ่นละ 500-1,000 ตัว (ปกรณ์, 2527; มานพ และคณะ, 2530; พรรณศรี, 2531) เป็นต้น ดังตารางที่ 1

เนื่องจากปลานิลเป็นปลาที่สามารถวางไข่ได้ตั้งแต่อายุ 2 เดือนเป็นต้นไป ทำให้เพศเมียเจริญเติบโตช้าเพราะต้องสูญเสียพลังงานในการสร้างไข่ และแม่ปลายังต้องอนุบาลลูกปลา โดยการอมไข่ไว้ในปากเป็นเวลาประมาณ 10 วัน แม่ปลาไม่สามารถกินอาหารได้ ทำให้น้ำหนักลด และเป็นการเพิ่มอัตราความหนาแน่นของประชากรปลาในบ่อเลี้ยง แนวทางหนึ่งที่จะช่วยในการเพิ่มผลผลิตการเลี้ยง

เพื่อให้ได้ปลาที่มีขนาดใหญ่และใกล้เคียงกันเมื่อจับขาย คือ การเลี้ยงปลานิลเพศผู้ทั้งหมด ซึ่งสามารถดำเนินการได้หลายวิธี

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปลานิลแดงกับปลานิลธรรมดา

องค์ประกอบทางสรีรวิทยา	ปลานิลแดง	ปลานิลธรรมดา
1. สีของลำตัว	ส้ม, ส้มแดง, แดง, ส้มเหลือง และชมพู	น้ำตาล, เขียวปน น้ำตาลเทา
2. สีของตา	แดง, ส้ม และเหลือง	ดำ
3. ความยาวลำตัว/ความยาวหัว	3.64-4.15 ซม.	3.52-3.76 ซม.
4. ความกว้างลำตัว/ความยาวหัว	1.05-1.23 ซม.	0.97-1.14 ซม.
5. จำนวนครีบหลัง	ก้านครีบแข็ง 15-17 ก้านครีบอ่อน 12-14	ก้านครีบแข็ง 15-17 ก้านครีบอ่อน 12-13
6. จำนวนครีบก้น	ก้านครีบแข็ง 3 ก้านครีบอ่อน 9-11	ก้านครีบแข็ง 3 ก้านครีบอ่อน 9-10
7. จำนวนครีบท้อง	ก้านครีบแข็ง 1 ก้านครีบอ่อน 5	ก้านครีบแข็ง 1 ก้านครีบอ่อน 5
8. จำนวนเกล็ดเส้นข้างลำตัว	33-38	33-39
9. จำนวนเกล็ดเหนือเส้นข้างลำตัว	4-5	4-5
10. จำนวนเกล็ดใต้เส้นข้างลำตัว	10-11	11-12
11. สีของไข่	เหลืองอ่อน	เหลืองอ่อน
12. สีผนังช่องท้อง	ขาว	ดำ
13. นิสัยการกินอาหาร	ชอบกินเนื้อมากกว่ากินพืช	กินพืชและเนื้อ

ที่มา: ดัดแปลงจากกรมประมง (2526)

2.4 วิธีการผลิตปลานิลเพศผู้

1. การคัดลูกปลาเฉพาะตัวผู้โดยการดูลักษณะเพศภายนอก

วิธีการนี้ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจาก ขนาดปลาที่สามารถแยกเพศได้ต้องมีขนาดความยาวตั้งแต่ 12 เซนติเมตร และมีน้ำหนัก 50 กรัมขึ้นไป (กรมประมง, 2541)

2. การให้ลูกปลากินฮอร์โมน

โดยจะให้ลูกปลากินฮอร์โมน 17α-เมธิลเทสโทสเตอโรน (17α-Methyltestosterone หรือ 17-MT) ความเข้มข้น 40-60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 28-30 วัน แต่การผลิตลูกปลาโดยวิธีการนี้ค่อนข้างยุ่งยาก ต้องมีความรู้ความชำนาญ นอกจากนั้น ฮอร์โมน 17-MT ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งมีราคาแพงและเสื่อมคุณภาพได้ง่าย โดยเฉพาะภูมิอากาศร้อนอย่างประเทศไทย ทำให้ต้นทุนในการผลิตปลาเพศผู้โดยวิธีนี้ค่อนข้างสูง และประสิทธิภาพในการผลิตไม่สม่ำเสมอ หากลูกปลากินอาหารผสมฮอร์โมนไม่ครบ ก็จะให้ผลผลิตเพศผู้ไม่เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามแม้ว่าฮอร์โมนเหล่านี้ได้รับการยืนยันว่า ไม่มีผลตกค้างในเนื้อปลาที่มีขนาดจับขายได้ แต่มีผู้บริโภคบางส่วนไม่ยอมรับการบริโภคปลานิลที่ถูกเปลี่ยนเพศด้วยฮอร์โมน

3. การผสมข้ามสายพันธุ์ (hybridization)

การใช้วิธีผสมข้ามสายพันธุ์ ทั้งข้ามสกุล (genus) และชนิด (species) ในปลาบางชนิดสามารถได้ลูกทั้งหมดเป็นเพศเดียวกันได้ สำหรับปลานิลการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่าง *O. niloticus* x *O. aureus* ได้ลูกที่มีเพศผู้ 100 เปอร์เซ็นต์

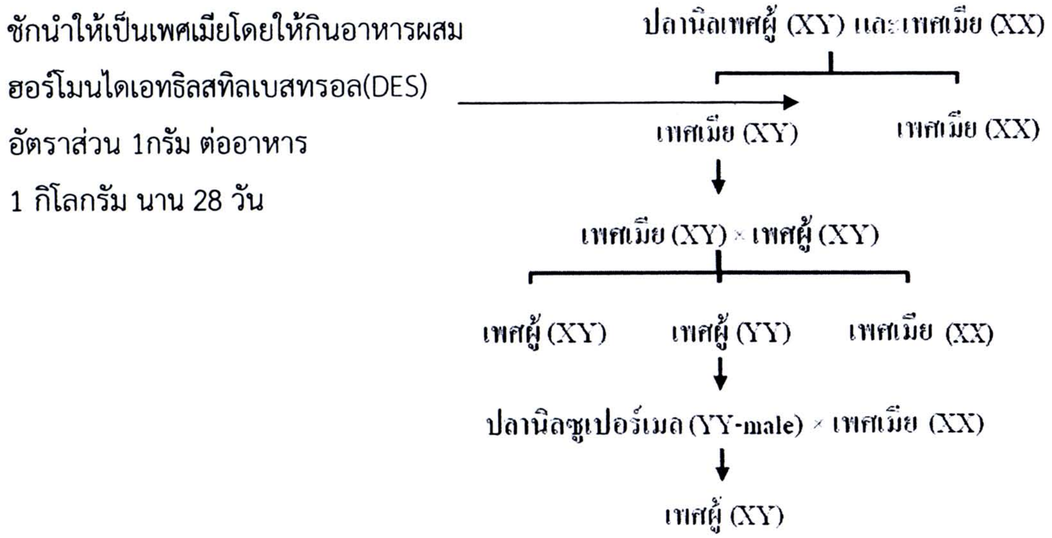
4. การผลิตลูกปลานิลเพศผู้โดยทางอ้อม (indirect monosex production)

เป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อผลิตลูกปลานิลเพศผู้ทั้งหมด สามารถหลีกเลี่ยงปัญหาฮอร์โมนซึ่งอาจตกค้างในเนื้อและปัญหาประสิทธิภาพการผลิตลูกปลาเพศผู้ที่ไม่สม่ำเสมอ การผลิตลูกปลานิลเพศผู้โดยทางอ้อม ทำได้โดยผลิตพ่อพันธุ์ปลานิลซูเปอร์เมล (supermale หรือ YY-male) ซึ่งมีโครโมโซมเพศเป็น YY นำพ่อพันธุ์ปลานิลซูเปอร์เมลไปผสมกับแม่พันธุ์ปลานิลปกติ จะได้ลูกปลานิลที่เป็นเพศผู้ทั้งหมด เนื่องจากลูกปลาเพศผู้เหล่านี้ เป็นปลาเพศผู้โดยพันธุกรรม (genetically male tilapia) มีโครโมโซมเพศเป็น XY จึงนิยมเรียกปลาเพศผู้เหล่านี้ว่า ปลานิลเพศผู้ GMT แผนผังการผลิตพ่อพันธุ์ปลานิลซุปเปอร์เมลและลูกปลานิลเพศผู้ด้วยวิธีทางอ้อม ดังภาพที่ 2

2.5 ความต้องการปลานิลในตลาดเศรษฐกิจ

ปลานิลเป็นปลาที่นิยมเลี้ยงอย่างแพร่หลายในเอเชียและแอฟริกา เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว มีความทนทาน และนิยมบริโภคกันมาก ตลาดของในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศมาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซีย และบรูไน และได้รับความนิยมบริโภคในกลุ่มประเทศตะวันออกกลาง ฮ่องกง ญี่ปุ่น ไต้หวัน และสหรัฐอเมริกา (มานพ และคณะ, 2530) โดยเฉพาะปลานิลแดงเป็นที่นิยมบริโภคมากกว่าปลานิลร้อยละ 85.71 (พรรณศรี, 2531) เนื่องจากเนื้อมีลักษณะสีขาว นุ่ม ละเอียด

รสชาติดีและมีปริมาณไขมันสูงกว่าปลานิลร้อยละ 1.39 ตลาดเนื้อปลานิลภายในประเทศจำหน่ายในห้างสรรพสินค้าทั่วไป และนิยมนำปลานิลมาทดแทนปลาเนื้อขาวชนิดอื่น ๆ ที่มีราคาสูงและมีไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคในตลาดต่างประเทศ (ปกรณ์, 2527; เครือวัลย์, 2542)



ภาพที่ 2 แผนผังการผลิตปลานิลซูเปอร์เมลและปลานิล GMT
ที่มา: นวลมณี และคณะ (2538)

ผลการสำรวจในปี พ.ศ. 2540 ค่าเฉลี่ยการบริโภคปลาของคนไทยคือ 27 กิโลกรัมต่อคนต่อปี รองลงมาได้แก่ การบริโภคเนื้อวัว-ควาย ไก่ และหมู เฉลี่ยต่อคนต่อปีเท่ากับ 11.5, 8.5 และ 2.1 กิโลกรัมตามลำดับ (กรมประมง, 2545) และในช่วงปี พ.ศ. 2541-2542 พบว่าคนไทยบริโภคปลาโดยเฉลี่ยต่อคนเพิ่มขึ้นเป็นปีละ 28.8 กิโลกรัมต่อคน ชนิดปลาสายพันธุ์ที่มีการบริโภคสูงสุด ได้แก่ ปลานิล เฉลี่ย 8.52 กิโลกรัมต่อคนต่อปี รองลงมาได้แก่ ปลาดุกบิ๊กอุย และปลาไน บริโภคเฉลี่ยต่อคนต่อปีเท่ากับ 3.0 และ 0.48 กิโลกรัมตามลำดับ (Piumsombun, 2003) ซึ่ง Lovell (1998) รายงานว่าปลามีเปอร์เซ็นต์ของเนื้อสูงกว่า เนื้อวัว เนื้อหมู หรือในสัตว์ปีก เช่น ปลากดอเมริกัน มีเนื้อมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และ 13.7 เปอร์เซ็นต์เป็นกระดูก เอ็น และไขมัน ผลการศึกษาดังกล่าวได้จากการสำรวจความนิยมของผู้บริโภค (ยกเว้นภาคใต้) ปลา 5 ชนิด ได้แก่ ปลานิล ปลาตะเพียน ปลาดุกบิ๊กอุย ปลาช่อน และปลาทู พบว่าผู้บริโภคนิยมบริโภคปลานิลมากที่สุด (ร้อยละ 23.77) รองลงมา ได้แก่ ปลาช่อน (ร้อยละ 20.19) ส่วนปลาดุกบิ๊กอุย ปลาตะเพียน และปลาทู คิดเป็นร้อยละ 11.69, 11.21 และ 9.95 ตามลำดับ (กรมประมง, 2545) ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงปลานิลได้ขยายไปทั่วประเทศ นับเป็นปลาน้ำจืดที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจเป็นอันดับ 1 ของประเทศไทยมีปริมาณการผลิตมากกว่า 120,000 ตัน ต่อปี (ปี 2550)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

3. การศึกษาโลหิตวิทยาของปลา

3.1 เลือด

เลือดของปลาจัดเป็นเนื้อเยื่อชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยส่วนที่เป็นของเหลว เรียกว่าน้ำเลือดหรือพลาสมา คิดเป็นร้อยละ 55 ของปริมาณเลือดทั้งหมด และส่วนที่เป็นเซลล์หรือชิ้นส่วนของเซลล์ เรียกว่า formed element หรือ corpuscle คิดเป็น 45 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณเลือดทั้งหมด corpuscle ประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดง (erythrocyte) เซลล์เม็ดเลือดขาว (leucocyte) และเพลตเลต (platelet) หรือเกล็ดเลือด (Roberts, 1978)

พลาสมาเป็นของเหลวค่อนข้างใส สีเหลืองอ่อน มีหน้าที่นำอาหารไปให้เซลล์ของร่างกาย และนำของเสียไปยังอวัยวะขับถ่ายเพื่อกำจัดออกนอกร่างกาย พลาสมามีน้ำเป็นองค์ประกอบประมาณ 90-93 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีสารต่าง ๆ ละลายอยู่อีกหลายชนิด เช่น แร่ธาตุ โปรตีน แอนติบอดี และเอนไซม์ เป็นต้น ส่วนซีรัมเป็นพลาสมาที่ไม่มีไฟบริโนเจน (fibrinogen) ซีรัมของปลามีสีเหลืองเนื่องจากมีแคโรทีนอยด์ในปริมาณสูง ปลากระดูกแข็งมีปริมาณเลือดน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดอื่น คือมีเลือดประมาณ 2-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (Roberts, 1978)

เม็ดเลือดแดง พบมากที่สุดในระบบหมุนเวียนเลือด เม็ดเลือดแดงของปลามีรูปร่างรีหรือกลม มีนิวเคลียสติดสีม่วงอมน้ำเงินรูปร่างรีหรือเกือบกลมอยู่ตรงกลางเซลล์ ไซโทพลาซึมติดสีชมพูอ่อนเมื่อย้อมด้วยสี Wright & Giemsa เม็ดเลือดแดงทำหน้าที่ลำเลียงออกซิเจนให้แก่เนื้อเยื่อต่าง ๆ และรับคาร์บอนไดออกไซด์กลับไปแลกเปลี่ยนที่เหงือก เม็ดเลือดแดงของปลาสร้างจาก haemopoietic tissue ในไตส่วนต้นและส่วนท้าย โดยจะพบการพัฒนาของเม็ดเลือดระยะต่าง ๆ ในบริเวณนี้ (Blaxhall, 1972)

3.2 การตรวจวิเคราะห์โลหิตเชิงปริมาณ

ฮีมาโตคริต (hematocrit)เป็นอัตราส่วนระหว่างปริมาณเม็ดเลือดแดงต่อปริมาณเลือดทั้งหมด ผลที่ได้คิดออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ ค่าฮีมาโตคริตของปลาอยู่ในช่วงกว้างและมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดปลา อายุ ภูมิอากาศ สภาพแวดล้อม ฤดูกาล และความแตกต่างระหว่างเพศ ในปลาเพศผู้มีค่าฮีมาโตคริตสูงกว่าปลาเพศเมีย (Mulcahy, 1970)

ไพโรจน์ (2537) รายงานค่าฮีมาโตคริตของปลาบึกอายุ 3 ปีเศษมีค่าอยู่ในช่วง 22-35 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 30 ± 4.96 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปลาบึกโตเต็มวัยมีค่าฮีมาโตคริตอยู่ในช่วง 30.2-39.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 35.6 ± 2.5 เปอร์เซ็นต์ ปลาดุก (*Clarias inheriensis* Sydenham) มีค่าฮีมาโตคริตอยู่ในช่วง 20.43-41.12 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ย 31.62 ± 1.03 เปอร์เซ็นต์ ปลา brown trout มีค่าฮีมาโตคริตอยู่ในช่วง 20-43 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ย 32 ± 4.88 เปอร์เซ็นต์ ปลาทูน่ามีค่าฮีมาโตคริตอยู่ในช่วง 42.00-66.00 เปอร์เซ็นต์ ปลากดอเมริกัน (*Ictalurus panctatus*) มีค่าฮีมาโตคริตเฉลี่ย 22.7 เปอร์เซ็นต์ (Breazile *et al.*,

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 02 ต.ค. 2555
เลขทะเบียน 248113

1982) ปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) มีค่าฮีมาโตคริตอยู่ในช่วง 25.00-50.00 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 34.56 เปอร์เซ็นต์ (Siddiqui and Naseem, 1979) ปลา *Colisa fasciatus* มีค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริต 47.17 ± 1.40 เปอร์เซ็นต์ (Srivastava and Mishra, 1979) ปลาไน (*Cyprinus carpio*) มีค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริต 22.67 ± 2.07 เปอร์เซ็นต์ ปลาแอตแลนติก แซลมอน (*Salmo salar*) มีค่าฮีมาโตคริตเฉลี่ย 32.5 ± 3.5 เปอร์เซ็นต์ และค่าฮีมาโตคริตของปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) จำนวน 40 ตัว อยู่ในช่วง 27-37 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย 33 เปอร์เซ็นต์ (Hrubec *et al*., 2000)

Mattesson และคณะ (2001) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงค่าฮีมาโตคริตของปลามักเกิดจากความเครียด (stressor) และปัจจัยอื่นๆ ปัจจัยที่พบบ่อยคือการอดอาหาร (Blaxhall, 1972) การจับและการขนส่ง (Hattingh and Van Pletzen, 1974) การติดเชื้อแบคทีเรีย (Barham *et al*., 1980) การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างฉับพลัน (Munkittrick and Leatherland, 1983) และการชักนำจากสารเคมี (Benfey and Biron, 2000; Mattesson *et al*., 2001) ซึ่งมีหลายชนิดดังการทดลองแช่ปลาไน (*Cyprinus carpio*) และลูกปลาดุก (*Clarias lazera*) ในสารไนเตรต พบว่ามีค่าฮีมาโตคริตลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Hilmy *et al*., 1987; Jensen *et al*., 1987) ส่วนในปลา *Prochilodus lineatus* ที่ได้รับพิษของไนเตรตอย่างเฉียบพลัน มีค่าฮีมาโตคริต ลดลงหลังจากได้รับสาร 24 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Martinez and Souza, 2002) แช่ปลาไนในมาลาไคท์ กรีน ความเข้มข้น 0.84 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร หลังจากวันที่ 6 ค่าฮีมาโตคริตลดลง (Svobodova *et al*., 1997) ในทำนองเดียวกับทองแดง และสังกะสีก็ทำให้ปลาไนมีค่าฮีมาโตคริตลดลงในวันที่ 30 ของการทดลองเช่นกัน (Dhanapakiam and Ramasamy, 2001)

ค่าฮีมาโตคริตที่ลดลงก่อให้เกิดภาวะเลือดจาง (anemia) ซึ่งเป็นผลมาจากปริมาตรของเม็ดเลือดแดง (red blood cell volume) ลดลง การเปลี่ยนแปลงปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอาจมีสาเหตุมาจากการเสื่อมสภาพและการแตกของเม็ดเลือดแดง (Srivastava and Mishra, 1979) สาเหตุหนึ่งที่ทำให้โครงสร้างของเม็ดเลือดแดงเสื่อมสภาพคือ การรั่วของโพตัสเซียมอิออน (K+ leakage) ออกนอกเซลล์อันเนื่องมาจากการลดลงหรือขาด ATP (Jensen *et al*., 1996) อย่างไรก็ตามการสังเคราะห์ฮีโมโกลบินลดลงก็มีผลทำให้เกิดภาวะเลือดจางได้ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการยับยั้งการสร้าง methemoglobin และเอนไซม์ที่จำเป็นในการสร้างเม็ดเลือด (Heath, 1995)

Benfey และ Biron (2000) พบว่าความเครียดแบบเฉียบพลันมีผลทำให้ค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้นในปลา rainbow trout และ brook trout โดยอาจมีสาเหตุจากพลาสมามีปริมาตรลดลง เม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่ขึ้น หรือเกิดจากการปล่อยเม็ดเลือดแดงออกสู่กระแสเลือดมากขึ้น Ewing และคณะ (1999) รายงานว่าเมื่อสัตว์อยู่ในสภาวะเครียด ม้ามจะปล่อยเม็ดเลือดแดงออกสู่กระแสเลือดมากกว่าปกติเพื่อเพิ่มการขนส่งออกซิเจนและมีการขยายตัวของเส้นเลือด (vasodilation) ทำให้การไหลเวียนของเลือดและการขนส่งออกซิเจนดีขึ้น

นอกจากนี้ยังควบคุมอุณหภูมิและสมดุลกรด–ด่างภายในร่างกายให้เป็นปกติด้วยการเพิ่มของค่าฮีมาโตคริตในปลาสามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุดัง Waiwood (1980) ทดลองแช่ปลา rainbow trout ในทองแดง พบว่าน้ำในพลาสมาถูกดึงเข้าไปในเซลล์กล้ามเนื้อ ทำให้มีปริมาณพลาสมาลดลงค่าฮีมาโตคริตจึงสูงขึ้น Casillas และ Smith (1977) รายงานว่าปลา rainbow trout มีความเครียดจากการถูกจับทำให้ค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้นได้ การทดลองให้ปลาขาดออกซิเจน (hypoxia) พบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงบวม เป็นเหตุให้ค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้น (Soivio *et al.*, 1973) และ McCloskey และ Oris (1993) ทดลองแช่ปลา bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) ใน anthracene เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่าค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้นซึ่งอาจมีสาเหตุจากการกระตุ้นให้สร้างเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น หรือมีการบวมน้ำของเม็ดเลือดแดง

ฮีโมโกลบิน เป็นโปรตีนที่เกาะอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดง มีหน้าที่ลำเลียงออกซิเจน ออกซิเจนจะทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงเป็นออกซีฮีโมโกลบิน (oxyhaemoglobin) ปริมาณฮีโมโกลบินในปลาจะแตกต่างกันไป ตามชนิด ลักษณะนิสัย ภูมิอากาศสภาพแวดล้อม ฤดูกาล และความแตกต่างระหว่างเพศ ค่าฮีโมโกลบินเป็นค่าพื้นฐานที่ถูกนำมาใช้เพื่อเป็นเครื่องชี้วัดการเกิดภาวะเลือดจางในปลาหลายชนิดด้วย (Mulcahy, 1970)

ผลการศึกษาในปลานิลลูกผสม (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) จำนวน 40 ตัว มีค่าฮีโมโกลบินอยู่ในช่วง 7.0-9.8 กรัมต่อเดซิลิตร ค่าเฉลี่ย 8.2 กรัมต่อเดซิลิตร (Hrubec *et al.*, 2000) Benfey และ Biron (2000) ทดลองกระตุ้นปลา rainbow trout และbrook trout ให้เกิดความเครียดแบบเฉียบพลันพบว่าค่าฮีโมโกลบินเพิ่มขึ้น มีสาเหตุจากพลาสมามีปริมาณลดลงหรือเกิดจากการปล่อยเม็ดเลือดแดงเข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้น ส่วนค่าฮีโมโกลบินที่ลดลงอาจมีสาเหตุมาจากจำนวนเม็ดเลือดแดงและฮีมาโตคริตลดลง หรือเกิดจากการยับยั้งการสังเคราะห์ฮีโมโกลบิน ซึ่งเป็นผลมาจากเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์ฮีโมโกลบินลดลง เช่น delta-amino levulinic acid dehydratase (ALAD) และ uroporphyrinogen I systhetase เป็นต้น (Tephly, 1978)

4. โรค Streptococcosis และภูมิคุ้มกันของปลา

Streptococcosis เป็นโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญชนิดหนึ่งซึ่งก่อให้เกิดความสูญเสียต่อผลผลิตปลาทั่วโลก ทั้งปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติ และในฟาร์มเพาะเลี้ยง พบได้ทั้งปลาน้ำจืด น้ำกร่อย และปลาทะเล โรค Streptococcosis มีสาเหตุจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม เรียงตัวเป็นสายยาวมีขนาดประมาณ 0.3-0.5 ไมครอน เจริญบนอาหาร nutrient agar หรืออาหารที่มีเลือดเป็นส่วนผสม (blood agar) เชื้อในกลุ่มนี้บางชนิดมีคุณสมบัติในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (haemolysis) ได้ ซึ่งอาจจะเป็นแบบ alpha, beta หรือ gamma ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อ สามารถจำแนกเชื้อ

Streptococcus ชนิดที่ก่อโรคในปลาออกเป็นกลุ่มๆโดยใช้คุณสมบัติทางซีรั่มวิทยา (serology) ของแอนติเจนที่ผนังเซลล์ เช่น group A หรือ group B ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *S. iniae* สามารถถ่ายทอดจากปลาไปสู่คนได้แต่โอกาสที่เกิดขึ้นค่อนข้างต่ำและมักจะสัมพันธ์กับระบบภูมิคุ้มกันของแต่ละคน (Weinstein *et al.*, 1997) และมีรายงานเมื่อเร็ว ๆ นี้ ว่าความเสี่ยงของการติดเชื้อ *S. iniae* ของคนเอเชียมีแนวโน้มสูงขึ้นเนื่องมาจากพฤติกรรมการนิยมบริโภคปลาดิบ (Lau *et al.*, 2006)

4.1 อาการของโรคและพยาธิสภาพ (clinical signs and histopathology)

แบคทีเรียกลุ่ม *Streptococcus* จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อสูงมีปริมาณเชื้อเพียง 100-1,000 เซลล์ขึ้นไปก็สามารถทำให้เกิดโรคได้ สามารถติดต่อกันได้โดยการที่ปลากินอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนในอาหาร เกิดจากการสัมผัสกับปลาหรือบาดแผลของปลาที่ติดเชื้อ (Inglis *et al.*, 1993) และปลาสามารถเกิดโรคได้จากการที่ปลาเกิดความเครียด จากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติที่ไม่เหมาะสม เช่น คุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสม ปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำ และการปนปื้อนของน้ำจากสารพิษจำพวกยาฆ่าแมลง

โดยทั่วไปปลาที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. มักจะมีอาการคล้ายคลึงกันอาจจะแตกต่างกันไปบ้างขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ ชนิดของปลา และช่องทางการได้รับเชื้อ อาการโดยทั่วไปของปลาที่ติดเชื้อประกอบด้วย

อาการภายนอก ปลาที่ป่วยเป็นโรคมีอาการเชื่องซึม เสียการทรงตัว ว่ายน้ำควงสว่าน ลำตัวปลามีสีคล้ำหรือซีด ท้องบวม ตาขุ่น ตาโปนข้างเดียวหรือ 2 ข้าง พบว่ามีการตกเลือด (hemorrhagic septicemia) บริเวณตา กระพุ้งแก้ม โคนครีบ ปาก ลำตัว และมีบาดแผล (Austin and Austin, 1987; Inglis *et al.*, 1993; Al-Harbi, 1994; Plumb, 1994)

อาการภายใน การติดเชื้อ *Streptococcus* sp. จะมีผลต่ออวัยวะภายในคือ ตับ ไต สมอง ม้าม และอาจมีผลต่อหัวใจ พบว่า อาการติดเชื้อภายในของปลาจะทำให้ตับมีขนาดเล็กลงและมีสีซีด เกิดการตายของเซลล์ตับ เยื่อหุ้มหัวใจเกิดการอักเสบ (Baya *et al.*, 1991; Inglis *et al.*, 1993; Plumb, 1994; Austin and Cross, 1997) ซึ่งสอดคล้องกับ Perera และคณะ (1994) ซึ่งรายงานว่า ปลาที่มีการติดเชื้อ *S. iniae* จะเกิดการอักเสบของเยื่อหุ้มหัวใจ สมองมีการตกเลือดและสะสมของเหลวบริเวณช่องท้อง มีเลือดคั่งในระบบทางเดินอาหาร

4.2 ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดโรค Streptococcosis

การระบาดของโรค Streptococcosis ส่วนใหญ่มักจะสัมพันธ์กับสภาวะเครียดของปลาซึ่งเกิดจากคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสม ออกซิเจนละลายต่ำ ปริมาณไนไตรท์สูง และความหนาแน่นในการเลี้ยงสูง (Bunch and Bejerano, 1997; Perera *et al*., 1997; Shoemaker *et al*., 2000) โรค Streptococcosis เป็นสาเหตุการตายสูงถึง 75% ในปลาที่ติดเชื้อที่เลี้ยงในระบบปิด (Perera *et al*., 1994; Stoffregen *et al*., 1996) และ 50% ในปลาที่เลี้ยงในบ่อแบบหนาแน่น (Eldar *et al*., 1994) และโรคมักจะระบาดในช่วงที่อุณหภูมิของน้ำค่อนข้างสูง และมักจะสัมพันธ์กับการจัดการการเลี้ยงที่ไม่ดี และการปล่อยปลาในอัตราที่หนาแน่น โดยเฉพาะปัจจัยของอุณหภูมิ Perera และคณะ (1997) พบว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จะก่อให้เกิดอัตราการตายของปลานิลลูกผสมเนื่องจากโรค Streptococcosis สูงที่สุด มีรายงานการศึกษาผลของอุณหภูมิที่ 25 และ 30 องศาเซลเซียส และความเค็มของน้ำที่ 0, 15 และ 30 พีพีทีต่อการยอมรับเชื้อ *Streptococcus* sp. ในปลานิล พบว่าการยอมรับเชื้อของปลาที่สูงขึ้นจะสัมพันธ์กับความเค็มของน้ำที่เพิ่มสูงขึ้นที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิของน้ำ 25 องศาเซลเซียส อัตราการตายของปลาที่ความเค็มของน้ำ 15 พีพีที ไม่ได้สูงกว่าที่ 0 พีพีที อย่างมีนัยสำคัญ แต่อัตราการตายของปลาที่ติดเชื้อที่ความเค็มของน้ำ 30 พีพีที จะสูงกว่าที่ความเค็ม 0 หรือ 15 ppt ส่วนที่อุณหภูมิของน้ำ 30 องศาเซลเซียส อัตราการตายของปลาที่ติดเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่ความเค็มของน้ำ 15 ppt จะสูงกว่าที่ความเค็ม 0 ppt และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเค็มเดียวกัน (0 หรือ 15 พีพีที) ปลาที่ติดเชื้อจะมีอัตราการตายสูงกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Chang and Plumb, 1996) นอกจากนี้ Bunch และ Bejerano (1997) ยังพบว่าปริมาณของออกซิเจนละลายในน้ำที่ต่ำและปริมาณของไนไตรท์สูงจะสัมพันธ์โดยตรงกับอัตราการตายที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Streptococcus* sp. ของปลานิลลูกผสม

ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลโดยตรงต่อการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. ในปลาคือ ความหนาแน่นในการเลี้ยงและระบบการเลี้ยง (Bebak *et al*., 2000) การเลี้ยงปลานิลที่เหมาะสมควรปล่อยปลาปริมาณ 3 ตัวต่อตารางเมตร ในบ่อดินที่เลี้ยงด้วยมูลสัตว์ ในบ่อดินที่มีแหล่งน้ำหมุนเวียนมีคุณภาพน้ำที่ดีสามารถปล่อยประมาณ 100 ตัวต่อตารางเมตร (ปกรณ์, 2527) โดย Shoemaker และคณะ (2000) ได้ศึกษาความหนาแน่นในการเลี้ยงและปริมาณของเชื้อ *S. iniae* ที่มีผลต่ออัตราการตายของปลานิลโดยวิธีการแช่ (immersion) โดยทดลองใช้ความหนาแน่นในการเลี้ยงที่ต่างกัน 3 ระดับ คือ ความหนาแน่นต่ำ (5.6 g/l) ปานกลาง (11.2 g/l) และสูง (22.4 g/l) โดยให้ปริมาณเชื้อที่แตกต่างกัน 3 ระดับ โดยวิธีการแช่ คือ 2.5×10^4, 5×10^7 และ 1×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 28 วัน พบว่าปริมาณของเชื้อมีผลต่ออัตราการตายน้อยมากโดยที่ความหนาแน่นต่ำมีอัตราการตายของปลาเฉลี่ย 4.8 เปอร์เซ็นต์ ที่ความหนาแน่น

ปานกลางมีอัตราการตายของปลาเฉลี่ย 28.4 เปอร์เซ็นต์ และที่ความหนาแน่นสูงมีอัตราการตายของปลาเฉลี่ย 25.6 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามแม้ว่าความหนาแน่นของการเลี้ยงในการศึกษาครั้งนี้จะน้อยกว่าในระบบการเลี้ยงปลานิลจริง ซึ่งจะเลี้ยงปลาที่ระดับความหนาแน่น 30-290 กรัมต่อลิตร แต่ความหนาแน่นตั้งแต่ระดับปานกลางขึ้นไปก็ส่งผลให้ปลานิลที่ติดเชื้อ *S. iniae* ตายได้

การศึกษาถึงความเป็นไปได้ของเชื้อ *S. iniae* ที่จะเข้าสู่ตัวปลา สไตรปแบส ลูกผสมผ่านทางเหงือก โดยการ inoculate เชื้อปริมาณที่แตกต่างกันคือ ปริมาณต่ำ (2.6×10^{6} cells) และเชื้อปริมาณสูง (5×10^{6} cells) ผ่านทางเหงือกแล้วสังเกตพฤติกรรมและบันทึกอัตราการตายของปลา เมื่อ inoculate เชื้อผ่านไป 48 ชั่วโมงแล้วทำการเก็บตัวอย่างอวัยวะของปลาเพื่อดูการกระจายของเชื้อ ซึ่งพบว่าปริมาณเชื้อที่ต่ำทำให้ปลาตาย 27 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อจะกระจายเข้าสู่บริเวณเหงือก เลือดในซี่เหงือกและช่องจมูก ส่วนปริมาณเชื้อที่ระดับสูงสามารถทำให้ปลาตาย 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบการกระจายของเชื้อเข้าสู่ olfactory, optic และ cerebellum region ของสมอง ดวงตา ไตส่วนหน้า ไตตอนท้าย ม้าม และตับ จากการทดลองสามารถสรุปว่าเชื้อ *S. iniae* สามารถเข้าสู่ตัวปลาโดยผ่านทางเหงือกได้ แต่จะมีความรุนแรงน้อยกว่าการติดเชื้อทางช่องจมูก (McNulty *et al.*, 2003)

4.3 การวินิจฉัยโรค

การวินิจฉัยโรค Streptococcosis เป็นการสันนิษฐานการเกิดโรคโดยดูจากลักษณะและอาการทั้งภายนอกและภายในของปลาที่ป่วยเป็นโรค ซึ่งสามารถนำมาวินิจฉัยโดยดูสีลำตัวของปลา ซึ่งปลาจะมีสีคล้ำหรือซีด ขึ้นกับชนิดของปลา นอกจากนี้ปลาจะมีอาการเซื่องซึม กระวนกระวาย ว่ายน้ำควงสว่าน ตาโปน ขุ่น มีอาการตกเลือด ท้องบวม นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบลักษณะอาการภายในของปลาซึ่งจะมีของเหลวภายในช่องท้อง ตับมีสีซีด ตกเลือด มีเลือดคั่งในช่องท้อง และระบบทางเดินอาหารร่วมด้วย

การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์สามารถทำได้โดยการ smears ตับ ไต สมอง ม้าม และเลือดลงบนสไลด์แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำไปฟิกส์ (fixed) กับเมทานอลแล้วนำไปย้อมด้วย Wright' stain (Foo *et al.*, 1985)

ปลาที่ติดเชื้อสามารถจะแยกเชื้อได้โดยการเขี่ยเชื้อจาก ตับ ไต สมอง ม้าม และตา แล้วเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Sheep Blood Agar (SBA), Brain Heart infusion Agar (BHI), Tryptic Soy Agar (TSA) แล้วบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส 18-24 ชั่วโมง โคโลนีของเชื้อมีสีขาวขุ่น มีขนาดเล็กประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร เมื่อทดสอบโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หยดลงบนโคโลนีจะไม่เกิดฟองแสดงว่าคะตะเลสเป็นลบ แล้วจึงทำการย้อมสีแกรม เพื่อตรวจสอบลักษณะรูปร่างของเซลล์และจำแนกชนิดของเชื้อ *Streptococcus* sp.ที่แยกได้ ซึ่งเชื้อที่แยกได้อาจจะมีรูปร่างกลมหรือรี อยู่เป็นคู่หรืออยู่เป็นสายโซ่ต่อกันเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว หลังจากนั้นจึงนำเชื้อ

ที่ได้ไปทดสอบทางชีวเคมี แล้วนำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดตามวิธี Koch's postulate (จิราพร และคณะ, 2529)

4.4 การป้องกันและควบคุมโรค Streptococcosis

โรค Streptococcosis สามารถควบคุมได้ (กิจการ และคณะ, 2539) 2 ขั้นตอน คือ การป้องกัน และการรักษา การป้องกันก่อนที่จะเป็นโรค ควรหลีกเลี่ยงคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสมอันก่อให้ปลาเกิดความเครียดที่ส่งผลให้ปลาติดเชื้อได้ง่ายขึ้น ลดการเลี้ยงปลาในระบบที่หนาแน่น (super intensive) ในการขนส่งควรที่จะมีการป้องกันไม่ให้ปลาบอบช้ำและเกิดความเครียดได้ง่าย ทำลายปลาที่เป็นโรคโดยการฝังหรือเผาหรืออาจจะใช้วิธีการป้องกันวิธีอื่นๆ เช่น การใช้วัคซีน การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunostimulants)

การรักษาโรค มักจะมีการใช้ยาปฏิชีวนะ โดยมีรายงานการใช้ยา ในการรักษาโรค Streptococcosis ในปลาหางเหลืองที่เลี้ยงในประเทศญี่ปุ่น (Austin and Austin, 1987) เยาวนิตย์ และคณะ (2543) รายงานว่าเชื้อ *Streptococcus* sp. ที่แยกจากปลากะพงขาวมีความไวต่อนอร์ฟล๊อกซาซิน (norfloxacine) เตตร้าซัยคลิน (tetracycline) และไตรเมธโธพริม (trimethoprim) ส่วน Robinson และ Meyer (1966) อ้างโดย Plumb (1994) ใช้ออกซี่เตตร้าซัยคลิน 12 มิลลิกรัมต่อลิตร แช่ปลาโกลล์เดนไชเนอร์รักษาการติดเชื้อ *Streptococcus* sp. และปลานิลในประเทศไต้หวัน (Tung *et al*., 1987)

อย่างไรก็ตามการรักษาโรค Streptococcosis โดยใช้ยาปฏิชีวนะยังคงมีข้อจำกัด เนื่องจากความรุนแรงของเชื้อที่มักทำให้ปลาที่ติดเชื้อตายในเวลาอันรวดเร็ว หรือปลาที่ติดเชื้อมักจะไม่กินอาหาร การควบคุมโรคนี้ในปัจจุบันจึงหันมาให้ความสำคัญกับการสร้างภูมิคุ้มกันในปลา ได้มีการพัฒนาวัคซีนของเชื้อ *Streptococcus* sp. ขึ้นมาหลายชนิดโดยเฉพาะเพื่อการป้องกันโรค Streptococcosis ในปลานิล และปลา rainbow trout (Eldar *et al*., 1994; Klesius *et al*., 2000) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการผสม oligonucleotide ที่สกัดจาก RNA ของยีสต์ลงในอาหารให้ปลากินอย่างต่อเนื่องสามารถกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non-specific immune response) และความต้านทานต่อการติดเชื้อ *S. iniae* ในปลาสตริปแบสลูกผสม (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) ได้ (Li and Gatlin, 2005) อย่างไรก็ตามยังคงมีความไม่ชัดเจนหลายประการเกี่ยวกับกลไกหลังจากเข้าสู่ร่างกายของปลาของ oligonucleotide เช่น การดูดซึม กระบวนการเมทาบอลิซึม การกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี หรือปริมาณที่เหมาะสม เป็นต้น ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป