บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้อาหาร

จากการศึกษาการเสริมพรีไบโอติกชนิดต่างๆ ที่ระดับ 5 % ในอาหารเม็ดของปลานิลแดงแปลงเพศ ตลอดระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าพรีไบโอติกแต่ละชนิดไม่มีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลแดงแปลงเพศในช่วงสัปดาห์ที่ 0-3 แต่มีความแตกต่างกันในช่วงสัปดาห์ที่ 4-6 โดยปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริม GOS มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดทดลองอื่นๆ ส่วนน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%weight gain) ของปลานิลแดงแปลงเพศมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักเฉลี่ยของปลาโดยปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริม GOS มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากที่สุด ขณะที่การศึกษาของ Akrami และคณะ (2009) เกี่ยวกับผลของพรีไบโอติกต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของ juvenile Beluga ที่พบว่าการเสริมพรีไบโอติกในอาหารสูตรปกติปริมาณ 1, 2 และ 3% ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มน้ำหนักตัว (weight gain) ของปลา เนื่องจากเป็นปริมาณที่น้อยเกินไป และอัตราการรอดตายของปลาที่ได้อาหารเสริมพรีไบโอติกต่างชนิดกันก็ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และจากการทดลองของ Grisdale-Helland และคณะ (2008) ในปลา Atlantic salmon ที่ได้รับอาหารเสริมอินนูลินหรือ GOS 1% เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าปลา กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมอินนูลินหรือ GOS 1% มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม เช่นเดียวกับการทดลองของ Li และ Gatlin (2005) พบว่าเมื่อเสริมพรีไบโอติกทางการค้า (Grobiotic®-AE) ในปริมาณ 1-2% ให้ปลากินเป็นเวลา 7 สัปดาห์ ทำให้ปลา hybrid striped bass มีน้ำหนักเพิ่มสูงขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นอาจสอดคล้องกับผลการทดลองนี้เนื่องจากการทดลองนี้ทดสอบพรีไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นสูง (5%) ทำให้ส่งผลต่อการเจริญของปลาได้ อย่างไรก็ตามหากต้องการเปรียบเทียบผลที่ชัดเจนต้องทดสอบพรีไบโอติกที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1-3%) ด้วย และจากการศึกษาของ Bakke-McKellep และคณะ (2007) พบว่าอินนูลินระดับ 7.5% ทั้งที่เสริมและไม่เสริมด้วย oxytetracycline ที่ระดับ 0.3% เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ไม่ส่งผลต่อน้ำหนักสุดท้ายของปลา Atlantic salmon ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองนี้เมื่อปลาได้รับอาหารเสริมอินนูลินแม้ว่ามีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรพื้นฐาน ขณะที่การศึกษาของ Refstie และคณะ (2006) พบว่าปลา Atlantic salmon มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกที่ระดับ 7.5% แม้ว่าผลการศึกษาของ Burr และคณะ (2010) พบว่า ปลา hybrid striped bass ที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกต่างชนิดกัน ไม่มีผลต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้เช่นกัน ยกเว้นกรณีกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งมีผลทำให้ปลานิล

แดงแปลงเพศมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การทดลองนี้เป็นงานวิจัยแรกที่ได้ทดสอบผลของของกาแลคโต-โอลิโกแซคคาไรด์ในปลาซึ่งให้ผลการทดลองดีกว่าพรีไบโอติกอื่นๆ ทั้งในด้านการเจริญเติบโตและการต้านทานต่อโรคของปลา อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของพรีไบโอติกแต่ละชนิดยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ เช่น ชนิดของปลา ชนิดของเชื้อก่อโรคที่ใช้ทดสอบ และสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยง เป็นต้น

2. องค์ประกอบทางโภชนาการของปลานิลแดงแปลงเพศ

จากการทดลองเสริมพรีไบโอติกชนิดต่างๆ ในอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่า ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเสริมซอยบีนโอลิแซคคาไรด์มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด ซึ่งแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องมาจากในการวัดองค์ประกอบทางโภชนาการในอาหารเม็ด พบว่าอาหารเม็ดเสริมซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์มีโปรตีนสูงกว่าอาหารชุดอื่นๆ อาจเนื่องมาจากซอยบีนโอลิโกแซคคา-ไรด์ผลิตมาจากถั่วเหลืองซึ่งมีสารอาหารประเภทโปรตีนสูง จึงทำให้ปลาที่ได้รับอาหารเสริมซอยบีนโอลิโกแซคคา-ไรด์มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูงด้วย ส่วนปลาที่ได้รับอาหารเสริมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลินมีปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในตัวปลาที่ใกล้เคียงกัน แต่จากการศึกษาของ Grisdale-Helland และคณะ (2008) ในปลา Atlantic salmon พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกต่างชนิดกัน มีองค์ประกอบทางโภชนาการไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในตัวปลาที่ได้รับอาหารเสริมกาแลค-โตโอลิโกแซคคาไรด์มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม และจากการศึกษาของ Burr และคณะ (2010) พบว่าการเสริม GOS ที่ระดับ 1% ให้กับปลา Red drum ที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 500 กรัม เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนและลดปริมาณไขมันในตัวปลา Red drum ได้ ซึ่งจากการทดลองที่ผ่านมาก็พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณไขมันที่เป็นองค์ประกอบในตัวปลานิลแดงแปลงเพศลดลงทุกชุดการทดลอง และปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในตัวปลาก็เพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลองเช่นกัน และจากการทดลองของ Burr และคณะ (2010) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกต่างชนิดกัน ไม่ส่งผลต่อองค์ประกอบทางโภชนาการของตัวปลา hybrid striped bass คือ เถ้า ไขมัน และความชื้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนในตัวปลาซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

3. องค์ประกอบเลือด

ค่าองค์ประกอบเลือดของปลานิลแดงแปลงเพศกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อ *S. iniae* ที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติก ชนิดต่างๆ พบว่าค่าฮีมาโตคริต และปริมาณเม็ดเลือดแดงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนปริมาณเม็ดเลือดขาวพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงที่สุด ปลาที่ได้รับอาหารเสริมซอยบีน โอลิโกแซคคาไรด์มีค่าพลาสมาโปรตีนสูงที่สุด ส่วนปลาที่

ได้รับเชื้อ *S. iniae* เป็นเวลา 14 วัน พบว่า ค่าฮีมาโตคริตและปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *S. iniae* ได้เข้าไปทำลายเม็ดเลือดแดง เนื่องจากปลาที่เป็นโรคสเตรปโตคอคโคซีสที่เกิดจากเชื้อ *S. iniae* นั้นมักพบการตกเลือดเป็นอาการหลัก แสดงให้เห็นว่าเม็ดเลือดแดงบางส่วนถูกทำลายไปและค่าฮีมาโตคริตอาจบ่งบอกได้ว่าปลาเกิดภาวะเลือดจางหลังจากได้รับเชื้อ *S. iniae* ส่วนปริมาณเม็ดเลือดขาวและพลาสมาโปรตีนมีค่าใกล้เคียงกับปลากลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อ *S. iniae* ซึ่งจากการศึกษาของเฉลิม (2547) พบว่าเม็ดเลือดขาวของปลาที่ได้รับเชื้อ *S. iniae* ลดลงในช่วงวันที่ 1-3 เมื่อครบ 14 วันเม็ดเลือดขาวได้เพิ่มจำนวนมากขึ้นอาจแสดงได้ว่าปลามีการสร้างภูมิต้านทานต่อเชื้อที่ได้รับแล้ว โดยจากการศึกษาของ Grisdale-Helland และคณะ (2008) พบว่าการเสริม GOS ลงในอาหารที่ระดับ 1% ไม่ส่งผลต่อองค์ประกอบเลือดของปลา Atlantic salmon ซึ่งใช้ระยะเวลาการเลี้ยง 16 สัปดาห์ ส่วนการทดลองของ Akrami และคณะ (2009) พบว่าการเสริมอินนูลินที่ระดับ 1, 2 และ 3% ในอาหารสำหรับปลา juvenile Beluga ไม่ส่งผลต่อปริมาณเม็ดเลือดแดง แต่พบว่าส่งผลต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือปลาที่ได้รับอาหารเสริมอินนูลินที่ระดับ 1% มีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงที่สุด

จากการศึกษาของ Lehmann และคณะ (1991) พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลาโดยทั่วไปมักทำให้องค์ประกอบเลือดปลา ได้แก่ ฮีมาโตคริต เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และพลาสมาโปรตีนมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้ยังอาจมาจากปัจจัยอื่นๆได้อีก เช่น ภาวะเครียด สภาวะในการเลี้ยงและฤดูกาล

4. ระบบภูมิคุ้มกัน

จากการศึกษาระบบภูมิคุ้มกันของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งแบบไม่จำเพาะคือไลโซไซม์ และภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะคือ ระดับแอนติบอดี้ไตเตอร์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีค่ากิจกรรมของไลโซไซม์สูงที่สุด ส่วนระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ คือ ระดับแอนติบอดี้ไตเตอร์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรผสมกับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีระดับ แอนติบอดี้ไตเตอร์สูงที่สุดในวันที่ 14 หลังจากได้รับเชื้อ *S. iniae* ซึ่งมีความแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ จากการศึกษาของ Jolles และ Jolles (1984) พบว่าไลโซไซม์มีกลไกในการทำลายผนังเซลล์ชั้น peptidoglycan ของแบคทีเรียแกรมบวก และเป็นระบบภูมิคุ้มกันที่จำเป็นสำหรับปลาที่อาศัยในแหล่งน้ำที่มีเชื้อก่อโรค จากการทดลองของ Itami และคณะ (1992) พบว่าไลโซไซม์จากเมือกบริเวณผิวหนังของปลา Ayu สามารถต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Pasteurella piscicida* แต่มีความสามารถในการต้านทานเชื้อ *Vibrio anguillarum* ได้น้อย ซึ่งจากการทดลองก็มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Christybapitac และคณะ (2007) พบว่าค่ากิจกรรมของไลโซไซม์โดยทั่วไปของปลานิลแดงแปลงเพศมีค่าอยู่ที่ 7.00-10.00 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งปริมาณของกิจกรรมของไลโซไซม์ที่เกิดขึ้นมากน้อย

นั้นมาจากหลายปัจจัย เช่น ความเครียด เพศ ฤดูกาล สารอาหาร โดย Kumari และคณะ (2007) พบว่า การเสริม β-1,3 glucan ที่ระดับ 0.1%ในอาหารสำหรับปลาดุกด้าน ทำให้สามารถต้านทานเชื้อ *A.hydrophila* ได้ ส่วนการศึกษาของ Welker และคณะ (2007) ในปลานิลโดยให้สารเสริม Bovine lactoferrin พบว่าสามารถเพิ่มกิจกรรมของไลโซไซม์ในการต้านทานโรค *S. iniae* ได้เนื่องจากเป็นสารที่หลั่งจากนิวโทรฟิลซึ่งเป็นสาร anti-bacterial เมื่อร่างกายเกิดการอักเสบทำให้เกิดการสร้างภูมิต้านทานต่อเชื้อก่อโรคได้ และจากการศึกษาของ Salah และคณะ (2008) พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมโพรไบโอติกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์ กิจกรรมของไลโซไซม์ที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกับชุดควบคุม แต่จากการทดลองของ Grisdale-Helland และคณะ (2008) พบว่าการเสริม GOS ลงในอาหารสำหรับปลาแซลมอนที่ระดับ 1% กิจกรรมของไลโซไซม์ (210 units/ml) ที่เกิดขึ้นมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์ของปลาที่ได้รับอาหารสูตรผสมกับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีระดับแอนติบอดี้ไตเตอร์สูงที่สุดเป็นในวันที่ 14 หลังจากได้รับเชื้อ *S. iniae* ซึ่งมีความแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารสูตรเสริมอินนูลินซอยบีน โอลิโกแซคคาไรด์และอาหารสูตรควบคุมตามลำดับ ซึ่งในการทดลองเกิดค่าเบี่ยงเบนที่ค่อนข้างมาก (ไม่แสดงในรายงาน) อาจเนื่องมาจากความเครียด ความสมบูรณ์ของปลา ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานได้ไม่เต็มที่ (ชนกันต์, 2545) ซึ่งจากการศึกษาของ Agius และคณะ (1983) พบว่าถ้าค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์มีค่าต่ำมากๆ ปลาจะไม่สามารถสร้างภูมิต้านทานโรคได้ และจากการศึกษาของ Welker และคณะ (2007) พบว่าปลานิลที่ได้รับ Bovine lactoferrin ที่ระดับต่างๆ กันและได้รับเชื้อ *S. iniae* มีระดับแอนติบอดี้ไตเตอร์ไม่แตกต่างกัน และจากการทดลองของ จุไลวรรณและสมพร (2551) พบว่าปลากะพงขาวที่ได้รับการกระตุ้นด้วยการฉีดวัคซีนเชื้อตาย *Streptococcus* sp. มีปริมาณแอนติบอดี้ไตเตอร์สูงกว่าชุดควบคุม

5. ชนิดและปริมาณเม็ดเลือดขาว

จากการศึกษาเลือดของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับเชื้อ *Streptococcus iniae* พบเม็ดเลือดขาว 4 ชนิด ได้แก่ นิวโตรฟิล ลิมโฟซัยท์ และทรอมโบซัยท์ ส่วนโมโนซัยท์พบในปริมาณที่น้อยมากและไม่พบเม็ดเลือดขาวชนิดเบโซฟิลในปลานิลแดงแปลงเพศ โดยพบว่าชนิดของเม็ดเลือดขาวของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารต่างกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งปลาที่ได้อาหารเสริมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลและลิมโฟซัยท์สูงกว่าปลากลุ่มที่ได้รับอาหารชนิดอื่นๆ โดยจากการศึกษาของชนกันต์ (2545)พบว่านิวโตรฟิลทำหน้าที่จับกินสิ่งแปลกปลอม แสดงว่ามีการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันไปกระตุ้นให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน (T-cell) ให้สร้างสารไปกระตุ้นให้เกิดการสร้างนิวโตรฟิลเพื่อมาจับกินตัวเชลล์ของเชื้อ *S. iniae* ที่เข้าสู่ตัวปลา ส่วนลิมโฟซัยท์ที่เพิ่มจำนวนมากขึ้นก็อาจมาจากปลาได้รับการกระตุ้นด้วยสารที่เป็นแอนติเจน ทำให้เกิดการสร้างเม็ดเลือดขาวชนิดนี้เพิ่มมากขึ้นเพื่อส่งไปยังอวัยวะต่างๆ ที่ทำหน้าที่เป็นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

(แอนติบอดี้) เช่น ม้าม และไตส่วนหน้า (Bayne and Gerwick, 2001) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้คือ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีระดับแอนติบอดี้สูงที่สุด ซึ่งจากการศึกษาของสุทธิพันธ์และคณะ (2529) ในสัตว์ชั้นสูง พบว่านิวโตรฟิลและโมโนซัยท์ได้เพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อ T-cell ได้รับการกระตุ้นจากแอนติเจนทำให้ปลามีภูมิต้านทานต่อโรคมากขึ้น

6. ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของปลานิลแดงแปลงเพศ

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่าลำไส้ส่วนท้ายของปลานิลแดงแปลงเพศกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อ *S. iniae* มีปริมาณ Total bacteria และ *Bacillus* spp. สูงที่สุด ส่วนปลานิลแดงแปลงเพศกลุ่มที่ได้รับเชื้อ *S. iniae* เป็นเวลา 14 วัน มีปริมาณ Total bacteria ลดลง ยกเว้นลำไส้ตอนท้ายของปลาที่ได้รับอาหารเสริมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์และลำไส้ตอนต้นของปลาที่ได้รับอาหารเสริมซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์เมื่อเทียบกับปลานิลแดงแปลงเพศกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อ *S. iniae* ขณะที่เชื้อ *Pseudomonas* spp. พบน้อยมาก และตรวจพบปริมาณเชื้อ *Streptococcus* spp. ที่ยังคงเหลืออยู่บ้าง ยกเว้นลำไส้ตอนท้ายของปลาที่ได้รับอาหารเสริมซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์ ไม่พบปริมาณเชื้อ *Streptococcus* spp. จากการศึกษาของ Ahmed และคณะ (2005) ในอวัยวะส่วนต่างๆ ของปลานิลพบว่า สามารถพบเชื้อ *Bacillus* sp. ในน้ำ และตะกอนประมาณ 2.83 และ 3.88% ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *Pseudomonas* sp. พบบริเวณลำไส้และกากตะกอนประมาณ 1.31 และ 1.55% ตามลำดับ และพบเชื้อ *Streptococcus* sp. ในน้ำ ตะกอน เหงือก และลำไส้ ประมาณ 10.38, 3.10, 11.33 และ 12.42% ตามลำดับ และจากการศึกษาของ Raida และคณะ (2003) พบว่ามีการนำเชื้อ Bacillus บางสายพันธุ์ที่จัดเป็นโพรไบโอติกไปประยุกต์ใช้ในปลา Trout ซึ่งสามารถช่วยในการต้านทานโรคจากแบคทีเรียก่อโรคได้ เช่น *Aeromonas* sp. ซึ่งจากการทดลองของ Ringø (2006) ก็ยังไม่สามารถสรุปแน่ชัดได้ว่าอินนูลินจะสามารถกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่ให้ประโยชน์และยับยั้งจุลินทรีย์ที่ให้โทษ ซึ่งจากการศึกษาให้ปลากินอาหารเสริมอินนูลิน 15% พบว่ามีเชื้อ *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp. และ *Streptococcus* spp. แต่ยังไม่สามารถบอกได้ชัดเจนว่าอินนูลินจะจำเพาะกับเชื้อชนิดใด ซึ่งจากผลการทดลองก็พบว่ายังไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่าพรีไบโอติกแต่ละชนิดจะสามารถส่งเสริมหรือยับยั้งเชื้อชนิดใดได้ดีกว่ากัน