บทที่ 3
ผลการวิจัย

3.1 ผลการศึกษา

การทดลองที่ 1 ผลของอุณหภูมิน้ำต่อค่าทางโลหิตวิทยา และ ค่า Lipid peroxidation ที่ตับและไต

1. ค่าทางโลหิตวิทยา

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบผลของอุณหภูมิน้ำต่อค่าทางโลหิตวิทยา โดยเป็นการวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ฮีโมโกลบิน จำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด และค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงจากการคำนวณ (MCV, MCH, MCHC) ของปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิน้ำใกล้เคียงกับอุณหภูมิน้ำที่เลี้ยงอยู่เป็นกลุ่มควบคุม และปลาดุกลูกผสมที่ถูกทำให้เปลี่ยนอุณหภูมิน้ำอย่างฉับพลัน ที่ 26 และ 34 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการวิเคราะห์ค่าดังกล่าวที่ช่วงเวลา 3, 6, 12, และ 24 ชั่วโมง ผลแสดงดังตารางที่ 3.1

ค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดของปลาดุกลูกผสมในกลุ่มควบคุมและในกลุ่มที่ถูกทดสอบด้วยอุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส มีค่าไม่แตกต่างกันตลอด 24 ชั่วโมงที่ทำการทดสอบ ค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงของปลาดุกลูกผสมที่ถูกทดสอบที่อุณหภูมิน้ำ 26 องศาเซลเซียสมีค่าต่ำที่สุดที่การตรวจวิเคราะห์ที่เวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นพบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาทดสอบอุณหภูมิยาวนานขึ้น ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีค่าใกล้เคียงกันในทุกกลุ่มทดลองที่เวลาทดสอบ 3 และ 6 ชั่วโมง แต่ในช่วงเวลา 12 และ 24 ชั่วโมงของการทดสอบพบว่าค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีค่าต่ำสุดในปลาดุกลูกผสมที่ทดสอบที่อุณหภูมิน้ำ 34 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามค่าต่ำสุดนี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่เวลาทดสอบ 3 ชั่วโมงพบว่าค่าฮีโมโกลบินมีค่าสูงในปลาที่อยู่ในอุณหภูมิน้ำสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ค่าฮีโมโกลบินของปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิน้ำ 30 และ 26 องศาเซลเซียสมีค่าสูงขึ้นในขณะที่ค่าฮีโมโกลบินของปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิน้ำ 34 องศาเซลเซียส มีค่าต่ำลงที่เวลาทดสอบ 6 ชั่วโมง แต่ที่เวลาทดสอบ 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าค่าฮีโมโกลบินของปลาดุกลูกผสมในทุกกลุ่มอุณหภูมิมีค่าใกล้เคียงกัน นอกจากนี้เมื่อทำการพิจารณา ค่า MCV และ MCH ที่เวลา 3, 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่าค่า MCV และ MCH ของปลาดุกลูกผสมในทุกลุ่มอุณหภูมิทดลองมีค่าใกล้เคียง แต่พบว่า ค่า MCV และ MCH มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยที่ค่า MCV ของปลาดุกลูกผสมที่ทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 26 และ 34 องศาเซลเซียสมีค่าต่ำกว่าค่า MCV ของปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิน้ำ 30 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และพบว่าค่า MCH ของปลาดุกลูกผสมที่ถูกทดสอบที่อุณหภูมิน้ำ 26 องศาเซลเซียส มีค่าต่ำกว่าค่า MCH

ของปลาดุกลูกผสมในกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สำหรับค่า MCHC นั้นที่เวลาทดสอบ 3 ชั่วโมง ค่า MCHC ของปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิน้ำ 34 องศาเซลเซียสมีค่าสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับค่า MCHC ของปลาดุกลูกผสมที่กลุ่มอุณหภูมิอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า MCHC ที่เวลาทดสอบอื่น ๆ (6, 12 และ 24 ชั่วโมง) นั้นพบว่าไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. ค่า Lipid peroxidation

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบผลของอุณหภูมิน้ำต่อค่า lipid peroxidation ของปลาดุกลูกผสม โดยเป็นการวัดค่า malondialdehyde (MDA) และ 4-hydroxyalkenals (HAE) ที่เกิดขึ้นในตับและไตของปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิน้ำใกล้เคียงกับอุณหภูมิน้ำที่เลี้ยงอยู่เป็นกลุ่มควบคุม (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) และปลาดุกลูกผสมที่ถูกทำให้เปลี่ยนอุณหภูมิน้ำอย่างฉับพลัน ที่ 26 และ 34 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการวิเคราะห์ค่า Lipid peroxidation ที่ช่วงเวลา 3, 6, 12, และ 24 ชั่วโมง

ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิน้ำต่อค่า MDA ที่ไตแสดงดังตารางที่ 3.2 ที่เวลา 3 ชั่วโมง ค่า MDA ของไตปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิ 26 และ 34 องศาเซลเซียสมีค่าสูงกว่า ค่า MDA ของไตปลาดุกลูกผสมที่กลุ่มควบคุม ต่อมาที่เวลา 6 ชั่วโมง ค่า MDA ของไตปลาดุกลูกผสมมีค่าใกล้เคียงในทุกกลุ่มทดลอง หลังจากนั้นที่เวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าค่า MDA ของไตปลาดุกลูกผสมในกลุ่มทดลองที่อยู่ในอุณหภูมิสูงคือ 30 และ 34 องศาเซลเซียส จะสูงกว่าค่า ค่า MDA ของไตปลาดุกลูกผสมในกลุ่มทดลองที่อยู่ในอุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิน้ำต่อค่า MDA ที่ตับแสดงดังตารางที่ 3.2 ที่เวลา 3 ชั่วโมง ค่า MDA ของตับปลาดุกลูกผสมที่ถูกทดสอบที่น้ำอุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส มีค่าต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับค่า MDA ของตับปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิ 30 และ 34 องศาเซลเซียส แต่หลังจากนั้นที่เวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าค่า MDA ในตับของปลาดุกลูกผสมทั้ง 3 กลุ่มทดลอง มีค่าใกล้เคียงกัน

3. ค่า NBT

ผลของอุณหภูมิน้ำต่อค่า NBT-spectrophotometric activity (NBT-activity) แสดงดังตารางที่ 3.2 ที่เวลาทดสอบที่ 3 และ 6 ชั่วโมง ค่า NBT-activity ของปลาดุกลูกผสมมีค่าใกล้เคียงกันในทุกกลุ่มทดลอง แต่ที่เวลาทดสอบ 12 และ 24 ชั่วโมง ค่า NBT-activity ของปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียสมีค่าสูงกว่าค่า NBT-activity ของปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิ 30 องศา

เซลเซียส (กลุ่มควบคุม) และค่า NBT-activity ของปลาดุกลูกผสมที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียสมีค่าสูงที่สุด

ตารางที่ 3.1 ค่าทางโลหิตวิทยาของปลาดุกลูกผสมที่ถูกนำไปทดสอบการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำ ที่ระยะเวลาต่าง ๆ

เวลา (ชั่วโมง)	อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)	ฮีโมโกลบิน (g/dl)	เม็ดเลือดแดง (*10^6/mm^3)	MCV (fL)	MCH (pg/cell)	MCHC (g/dl)
3	26	35.17 ± 5.24	7.18 ± 0.61^{a}	1.81 ± 0.11^{a}	192.45 ± 19.34	39.58 ± 1.37	20.88 ± 1.55^{a}
	30	41.50 ± 1.26	8.62 ± 0.27^{ab}	2.34 ± 0.14^{ab}	178.85 ± 11.64	37.01 ± 1.17	20.81 ± 1.04^{a}
	34	38.67 ± 2.46	9.62 ± 0.^{77b}	2.60 ± 0.32^{b}	152.08 ± 14.66	37.76 ± 3.73	24.82 ± 0.41^{b}
6	26	46.00 ± 4.73	8.60 ± 0.14^{a}	2.42 ± 0.16	193.10 ± 26.86	35.99 ± 3.16	19.08 ± 1.86
	30	39.83 ± 1.59	9.52 ± 0.39^{b}	2.85 ± 0.13	142.92 ± 16.56	33.96 ± 3.02	24.04 ± 1.93
	34	41.67 ± 5.45	8.40 ± 0.15^{a}	2.28 ± 0.13	182.38 ± 20.09	36.94 ± 1.41	20.81 ± 2.55
12	26	41.67 ± 1.33	8.68 ± 0.03	2.78 ± 0.04	149.73 ± 3.34	31.22 ± 0.31	20.88 ± 0.65
	30	42.67 ± 1.20	8.52 ± 0.29	3.08 ± 0.20	139.96 ± 12.65	29.59 ± 2.86	19.95 ± 0.16
	34	30.83 ± 6.98	8.20 ± 0.03	2.74 ± 0.15	126.98 ± 13.94	30.14 ± 1.77	23.00 ± 3.31
24	26	43.67 ± 1.86	8.38 ± 0.57	3.54 ± 0.27^{b}	124.02 ± 4.80^{a}	23.87 ± 1.92^{a}	19.25 ± 1.35
	30	43.83 ± 2.32	8.93 ± 0.52	2.36 ± 0.08^{a}	185.41 ± 6.45^{b}	37.74 ± 0.93^{b}	20.39 ± 0.67
	34	35.83 + 4.63	8.62 ± 0.41	2.52 ± 0.22^{a}	141.19 ± 6.57^{a}	34.47 ± 1.59^{b}	24.61 ± 2.18

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษกำกับค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอันเนื่องมากจากผลของอุณหภูมิน้ำในแต่ละช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 3.2 ผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำต่อค่า Nitroblutetrazolium assay (NBT) ในเลือด และค่า malondialdehyde (MDA) ในไตและตับของปลาดุกลูกผสม ภายในระยะเวลาทดสอบ 24 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	NBT (OD_{540})	MDA (นาโนโมล/มิลลิกรัมโปรตีน)	
			ไต	ตับ
3	26	0.19 ± 0.01	5.92 ± 0.85	2.30 ± 0.46
	30	0.20 ± 0.01	4.77 ± 1.08	3.85 ± 0.87
	34	0.19 ± 0.01	6.54 ± 0.96	3.93 ± 0.50
6	26	0.23 ± 0.02	7.74 ± 0.85	4.03 ± 0.71
	30	0.22 ± 0.00	7.89 ± 1.37	3.87 ± 0.67
	34	0.19 ± 0.02	7.54 ± 1.10	3.67 ± 0.29
12	26	0.25 ± 0.01	4.56 ± 0.51	3.11 ± 0.45
	30	0.13 ± 0.00	7.32 ± 1.08	3.49 ± 0.34
	34	0.18 ± 0.01	6.55 ± 0.14	3.37 ± 0.15
24	26	0.28 ± 0.01	6.56 ± 1.38	3.75 ± 0.49
	30	0.12 ± 0.01	7.26 ± 1.33	4.26 ± 0.33
	34	0.21 ± 0.01	10.00 ± 2.11	3.50 ± 0.20

การทดลองที่ 2 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีต่อค่าทางโลหิตวิทยาและภูมิต้านทานโรคแบบไม่จำเพาะเจาะจงในสภาวะน้ำอุณหภูมิต่ำ

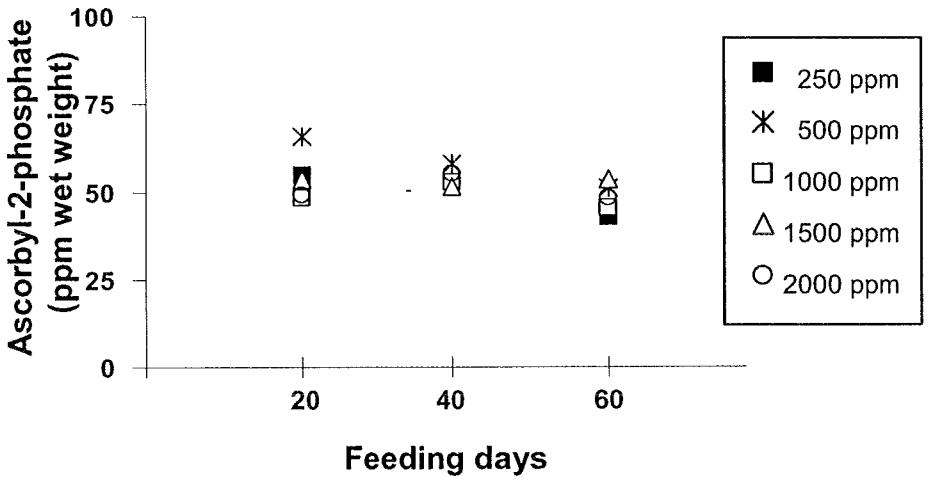
1. ปริมาณอนุพันธ์วิตามินซีในตับ

ระดับอนุพันธ์วิตามินซีที่วิเคราะห์ได้ในอาหาร (ตารางที่ 2.2) มีค่าสัมพันธ์กับปริมาณอนุพันธ์วิตามินซีที่เสริมในอาหารของแต่ละกลุ่มทดลอง ในขณะที่ระดับอนุพันธ์วิตามินซีที่วิเคราะห์ได้ในตับของปลาทดลองมีค่าใกล้เคียงกันในทุกกลุ่มทดลอง (ภาพที่ 3.1) แม้ว่าปลาจะได้รับอนุพันธ์วิตามินซีที่เสริมในอาหารแตกต่างกันก็ตาม ดังนั้นผลการศึกษาครั้งนี้แสดงถึง การเพิ่มปริมาณอนุพันธ์วิตามินซีที่เสริมในอาหารไม่มีผลต่อการเพิ่มการสะสมอนุพันธ์วิตามินซีในตับของปลาดุกลูกผสม

2. ค่าการเจริญเติบโตของปลา

ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาดุกลูกผสมที่ศึกษาครั้งนี้ แสดงดังตารางที่ 3.3 ได้แก่ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percent weight gain) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) จะเห็นได้ว่า ในช่วงการเลี้ยงที่ 4 สัปดาห์แรก การเพิ่มระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การเพิ่มของน้ำหนักตัว ($P = 0.0003$) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ($P = 0.0002$) โดยมีความสัมพันธ์กันแบบเชิงเส้น ($P<0.05$) ระดับอนุพันธ์วิตามินซีที่เสริมในอาหารปลาดุกลูกผสมที่ให้ผลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มและค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดของการทดลองครั้งนี้ มีค่าเท่ากับ 1,000-1,500 mg/kg

อย่างไรก็ตาม ผลของการเพิ่มระดับวิตามินซีในอาหารปลาดุกลูกผสมต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตไม่ต่อเนื่องเมื่อทำการวิเคราะห์ผลในช่วงสัปดาห์ที่ 5-8 ดังนั้นผลของระดับการเสริมวิตามินซีในอาหารปลาดุกลูกผสมต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตในปลาดุกลูกผสมตลอดช่วงเวลาการทดลอง (8 สัปดาห์) จึงเป็นความสัมพันธ์แบบ quadratic ระดับของวิตามินซีที่เสริมในอาหารไม่มีผลต่อความแตกต่างของค่า FCR ตลอดระยะเวลาของการทดลอง (8 สัปดาห์) อัตรารอดของปลาดุกลูกผสมในแต่ละกลุ่มทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.232$)



ภาพที่ 3.1 ปริมาณอนุพันธ์ที่วิเคราะห์ได้ในตับของปลาดุกลูกผสมในแต่ละกลุ่มทดลอง

ตารางที่ 3.3 สมรรถนะการเจริญเติบโตและอัตรารอดของปลาดุกลูกผสมของกลุ่มทดลองที่ได้รับอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับต่างๆ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

	กลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับต่าง (mg/kg)					ANOVA Pr>F	Polynomial contrast (Pr>F)	
	250	500	1000	1500	2000		Linear	quadratic
น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)	15.39 ± 0.58	15.37 ± 0.25	15.32 ± 0.11	15.78 ± 0.70	15.56 ± 0.63	0.787	-	-
สัปดาห์ที่ 1-4								
น้ำหนักเพิ่ม (%)	189.74 ± 32.47^{a}	212.88 ± 17.17^{ab}	240.44 ± 15.98^{bc}	288.83 ± 8.01^{c}	277.03 ± 41.74^{c}	0.004	0.0003	Ns
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% ต่อวัน)	3.78 ± 0.39^{a}	4.07 ± 0.19^{ab}	4.37 ± 0.17^{bc}	4.85 ± 0.08^{c}	1.73 ± 0.40^{c}	0.004	0.0002	Ns
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	1.20 ± 0.05	1.18 ± 0.09	1.27 ± 0.04	1.20 ± 0.08	1.22 ± 0.02	0.477	-	-
สัปดาห์ที่ 5-8								
น้ำหนักเพิ่ม (%)	44.38 ± 4.93	49.95 ± 14.44	49.93 ± 7.21	39.53 ± 9.48	30.15 ± 4.09	0.098	-	-
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% ต่อวัน)	1.31 ± 0.12	1.44 ± 0.35	1.44 ± 0.17	1.18 ± 0.24	0.94 ± 0.11	0.084	-	-
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	2.11 ± 0.11	1.87 ± 0.39	1.83 ± 0.32	1.77 ± 0.28	2.03 ± 0.46	0.710	-	-
สัปดาห์ที่ 1-8								
น้ำหนักเพิ่ม (%)	317.38 ± 38.47^{a}	367.79 ± 27.09^{ab}	410.01 ± 24.38^{bc}	442.90 ± 45.52^{c}	390.28 ± 49.82^{c}	0.024	0.0315	0.0029
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% ต่อวัน)	2.55 ± 0.17^{a}	2.75 ± 0.10^{ab}	2.91 ± 0.09^{b}	3.02 ± 0.15^{b}	2.83 ± 0.19^{b}	0.022	0.0316	0.0025
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	1.57 ± 0.10	1.45 ± 0.09	1.49 ± 0.12	1.38 ± 0.02	1.46 ± 0.15	0.324	-	-
อัตราการรอด (%)	86.11 ± 11.11	87.04 ± 8.48	92.59 ± 3.20	77.78 ± 5.56	88.89 ± 5.56	0.232	-	-

หมายเหตุ ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P<0.05$

ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (non-significant)

3. ค่าทางโลหิตวิทยา

การศึกษาผลของระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารปลาดุกลูกผสมต่อค่าทางโลหิตวิทยาในปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะการทดสอบในน้ำอุณหภูมิต่ำ (19 องศาเซลเซียส) จะทำการทดสอบ 2 ครั้ง คือ หลังจากเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

ค่าโลหิตวิทยาของปลาดุกลูกผสมที่ถูกทดสอบน้ำที่อุณหภูมิต่ำครั้งแรก (หลังจากการเลี้ยงด้วยอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์) แสดงดังตารางที่ 3.4 พบว่าระดับค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง แต่ค่าปริมาณฮีโมโกลบินและจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง โดยพบว่าการเพิ่มระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มปริมาณฮีโมโกลบินแบบ quadratic (P<0.05) โดยพบปริมาณฮีโมโกลบินสูงที่สุดในปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับ 1000 mg/kg นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดแดงในความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (P<0.05) ค่า mean corpuscular volume (MCV) มีความสัมพันธ์กับปริมาณอนุพันธ์วิตามินซีที่เสริมในอาหารแบบ quadratic เชิงผกผัน (P<0.05) พบปริมาตรเม็ดเลือดแดงที่มีค่าต่ำสุดเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีระดับ 1,500 mg/kg นอกจากนี้พบว่าค่า mean corpuscular hemoglobin (MCH) และค่า mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) มีค่าสูงสุดในกลุ่มทดลองที่ปลาดุกลูกผสมได้รับการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับ 1,000 mg/kgในอาหาร

ค่าโลหิตวิทยาของปลาดุกลูกผสมที่ถูกทดสอบน้ำที่อุณหภูมิต่ำครั้งที่ 2 (หลังจากการเลี้ยงด้วยอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์) แสดงดังตารางที่ 3.4 พบว่าค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและปริมาณฮีโมโกลบินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละกลุ่มปลาทดลองที่ได้รับอาหารที่เสริมอนุพันธ์วิตามินซีแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดยังคงเพิ่มขึ้นเมื่อปลาดุกลูกผสมได้รับอาหารที่เสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่เพิ่มขึ้นในเชิงเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) นอกจากนี้ยังพบว่าค่า MCV และ MCHC ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในปลาดุกลูกผสมของแต่ละกลุ่มทดลอง แต่ค่า MCH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเพิ่มระดับอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารของปลากลุ่มทดลอง (P<0.05)

4. การนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว

ผลของอนุพันธ์วิตามินซีต่อชนิดของเม็ดเลือดขาวแสดงดังตารางที่ 3.5 ในการทดลองทดสอบอุณหภูมิน้ำเย็นของปลาดุกลูกผสมครั้งที่ 1 พบว่าในขณะที่เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาว lymphocyte เพิ่มขึ้นตามระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่เพิ่มขึ้น แต่เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาว neutrophil กลับมีค่าลดลงตามการเพิ่มขึ้นของระดับอนุพันธ์วิตามินซี และพบว่าเปอร์เซ็นต์ของเม็ด

เลือดขาว monocyte ลดลงเมื่อระดับอนุพันธ์วิตามินซีเพิ่มขึ้นด้วยความสัมพันธ์ในเชิง quadratic โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาว monocyte สูงที่สุดในกลุ่มทดลองที่ปลาได้รับอาหารที่เสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับ 500 mg/kg นอกจากนี้ค่า neutrophil:lymphocyte ratio (N:L ratio) มีค่าลดลงเมื่อระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารสูงขึ้นในเชิง quadratic โดยพบว่าค่า N:L ratio มีค่าต่ำสุดเมื่อปลาดุกลูกผสมได้รับอาหารที่มีการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับ 1000 mg/kg

ในการทดลองทดสอบอุณหภูมิน้ำเย็นของปลาดุกลูกผสมครั้งที่ 2 พบว่าชนิดของเม็ดเลือดขาวได้แก่ neutrophil, lymphocyte, monocyte และ N:L ratio ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในแต่ละกลุ่มทดลองของปลาดุกลูกผสม

5. ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวัดค่าภูมิต้านทานแบบไม่จำเพาะเจาะจงที่สำคัญในปลาดุกลูกผสม ได้แก่ ค่า Nitroblue tetrazolium activity (NBT) (ภาพที่ 3.2), ปริมาณโปรตีนในพลาสมา (Total protein; TP) (ภาพที่ 3.3), ปริมาณอิมมูโนโกลบูลินรวม (Total immunoglobulin; IgG) (ภาพที่ 3.4) , ค่าการทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme) (ภาพที่ 3.5) และ ค่า alternative complement pathway (ACH_{50}) (ภาพที่ 3.6) ในปลาดุกลูกผสมของแต่ละกลุ่มทดลองที่ได้ถูกทดสอบอุณหภูมิน้ำเย็น ทั้ง 2 ครั้ง

ในการทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งแรกนั้น ค่า NBT สูงขึ้นเมื่อปลาได้รับอนุพันธ์วิตามินซีสูงขึ้น ในความสัมพันธ์เชิง quadratic โดยพบค่า NBT สูงที่สุดในปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีอนุพันธ์วิตามินซี 1,500-2,000 mg/kg แต่ทว่าค่า TP, IgG, และ lysozyme ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในปลาดุกลูกผสมของแต่ละกลุ่มทดลอง ค่า ACH_{50} มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อปลาได้รับอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

ในการทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 2 พบว่า ค่า NBT สูงขึ้นเพียงเล็กน้อยและไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อปลาได้รับอนุพันธ์วิตามินซีสูงขึ้น ค่า TP และ IgG เพิ่มขึ้นตามระดับอนุพันธ์วิตามินซีที่สูงขึ้นในเชิง quadratic โดพบว่าค่า TP และ IgG มีค่าสูงสุดในปลาดุกลูกผสมที่ไดรับอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับ 1,000-1,500 mg/kg นอกจากนี้ค่า lysozyme สูงขึ้นเมื่อระดับอนุพันธ์วิตามินซีที่เสริมในอาหารสูงขึ้นและมีความสัมพันธ์กันในเชิงเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า ACH_{50} มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อปลาได้รับอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกับผลที่พบในการทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งแรก

ตารางที่ 3.4 ค่าโลหิตวิทยาของปลาดุกลูกผสมที่ได้รับอาหารเสริมอนุพันธ์ของวิตามินซีภายใต้สภาวะที่ถูกทดสอบด้วยน้ำอุณหภูมิต่ำ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ระดับวิตะมินซีที่เสริม อาหารกลุ่มทดลอง (mg/kg)	ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)	ฮีโมโกลบิน (g/dl)	จำนวนเม็ดเลือดแดง (10^6/mm^3)	MCV (fL)	MCH (pg/cell)	MCHC (g/dL)
การทดสอบอุณหภูมิน้ำ ครั้งที่ 1						
250	43.63 ± 1.10	8.33 ± 0.31^{a}	2.75 ± 0.10^{a}	162.10 ± 10.20^{c}	30.63 ± 1.31^{a}	19.26 ± 1.15^{a}
500	44.03 ± 3.61	7.87 ± 1.35^{a}	2.89 ± 0.08^{a}	155.83 ± 17.78^{bc}	27.83 ± 5.22^{a}	18.34 ± 3.02^{a}
1,000	37.30 ± 1.00	13.67 ± 0.35^{c}	2.93 ± 0.05^{a}	128.01 ± 1.78^{a}	47.21 ± 1.66^{b}	37.02 ± 1.89^{d}
1,500	37.17 ± 7.30	10.37 ± 1.46^{b}	3.32 ± 0.16^{b}	114.48 ± 19.06^{a}	31.84 ± 3.67^{a}	28.24 ± 1.69^{c}
2,000	47.17 ± 7.53	11.17 ± 1.21^{b}	3.61 ± 0.39^{b}	132.08 ± 8.35^{ab}	31.32 ± 0.40^{a}	24.00 ± 1.21^{b}
ANOVA: Pr>F	0.123	0.000	0.002	0.006	0.000	0.000
Polynomial regression: Linear	-	ns	0.0001	0.0059	ns	ns
Quadratic	-	0.0247	ns	0.0009	ns	0.0021
การทดสอบอุณหภูมิน้ำ ครั้งที่ 2						
250	41.17 ± 1.66	11.10 ± 0.98	2.83 ± 0.25^{a}	148.40 ± 17.92	39.99 ± 4.20^{c}	27.15 ± 2.42
500	42.93 ± 3.56	11.90 ± 0.69	3.97 ± 0.28^{bc}	111.34 ± 17.92	30.73 ± 4.47^{ab}	27.93 ± 1.32
1,000	39.47 ± 1.58	11.23 ± 0.25	3.40 ± 0.06^{ab}	116.44 ± 3.14	33.38 ± 1.19^{bc}	28.91 ± 0.93
1,500	45.27 ± 4.96	10.83 ± 0.76	3.90 ± 0.76^{bc}	121.87 ± 19.06	28.97 ± 4.87^{ab}	24.71 ± 1.40
2,000	44.23 ± 8.13	10.83 ± 1.02	4.35 ± 0.05^{c}	102.33 ± 19.35	25.20 ± 2.34^{a}	25.17 ± 2.65
ANOVA: Pr>F	0.579	0.491	0.006	0.059	0.007	0.087
Polynomial regression: Linear	-	-	0.0087	-	0.0019	-
Quadratic	-	-	ns	-	ns	-

หมายเหตุ ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบในคอลัมน์เดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมัน $P<0.05$

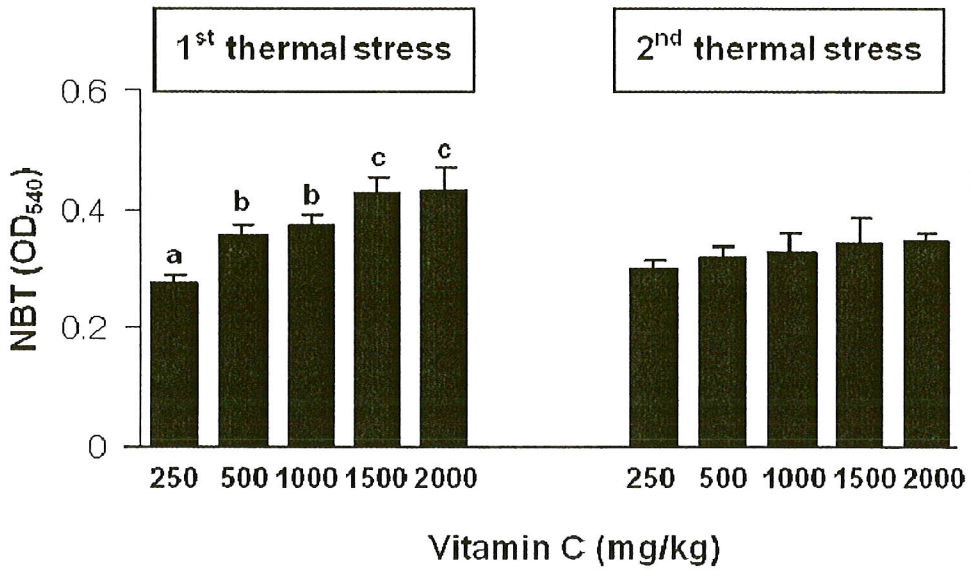
ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (non-significant)

ตารางที่ 3.5 การนับจำแนกชนิดเม็ดเลือดขาวในปลาดุกลูกผสมที่ได้รับอาหารเสริมอนุพันธ์ของวิตามินซีภายใต้สภาวะที่ถูกทดสอบด้วยน้ำอุณหภูมิต่ำ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ระดับวิตะมินซีที่เสริมอาหารกลุ่มทดลอง (mg/kg)	N:L ratio	Neutrophil (%)	Lymphocyte (%)	Monocyte (%)
การทดสอบอุณหภูมิน้ำ ครั้งที่ 1				
250	0.93 ± 0.13^{c}	41.67 ± 1.68^{d}	50.40 ± 2.55^{a}	7.93 ± 1.17^{cd}
500	0.88 ± 0.06^{c}	39.11 ± 0.62^{cd}	51.58 ± 1.20^{a}	9.31 ± 0.63^{d}
1,000	0.26 ± 0.07^{a}	19.87 ± 2.42^{a}	75.80 ± 3.33^{d}	4.33 ± 0.92^{a}
1,500	0.53 ± 0.09^{b}	26.27 ± 2.44^{b}	67.82 ± 2.31^{c}	5.91 ± 0.68^{ab}
2,000	0.78 ± 0.19^{c}	34.56 ± 4.07^{c}	58.76 ± 2.96^{b}	6.69 ± 1.22^{bc}
ANOVA: Pr>F	0.000	0.000	0.000	0.001
Polynomial regression: Linear	ns	ns	ns	ns
Quadratic	0.0007	0.0001	0.0001	0.0249
การทดสอบอุณหภูมิน้ำ ครั้งที่ 2				
250	0.34 ± 0.04	23.09 ± 2.07	70.20 ± 0.53	6.69 ± 1.90
500	0.32 ± 0.11	23.29 ± 2.77	68.67 ± 1.75	8.04 ± 1.52
1,000	0.24 ± 0.06	17.89 ± 2.99	73.42 ± 3.62	8.02 ± 1.65
1,500	0.29 ± 0.03	19.71 ± 0.77	72.47 ± 2.20	7.82 ± 1.52
2,000	0.26 ± 0.09	19.73 ± 2.12	72.62 ± 1.60	7.64 ± 1.40
ANOVA: Pr>F	0.414	0.061	0.113	0.830
Polynomial regression: Linear	-	-	-	-
Quadratic	-	-	-	-

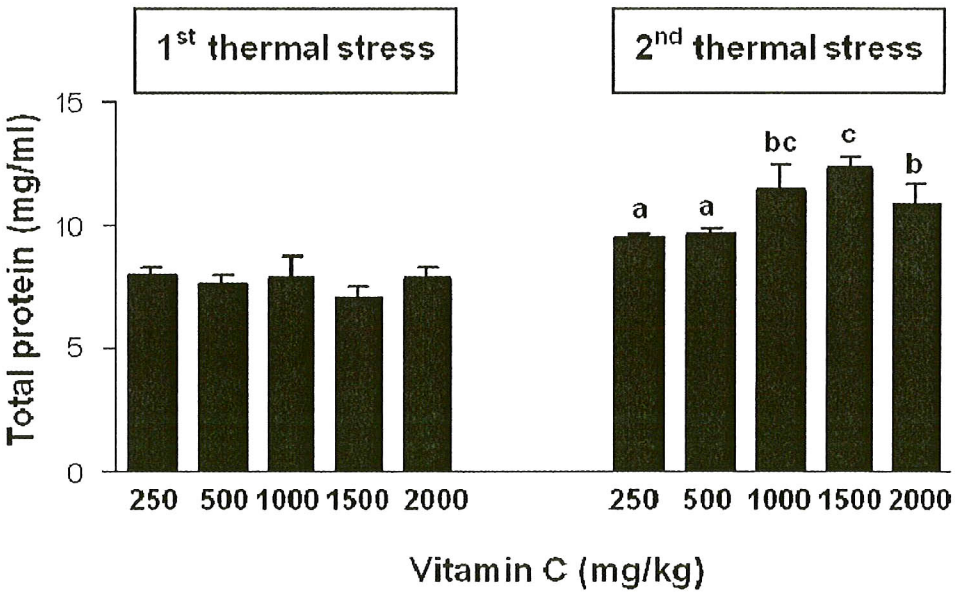
หมายเหตุ ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบในคอลัมน์เดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมัน $P<0.05$

ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (non-significant)

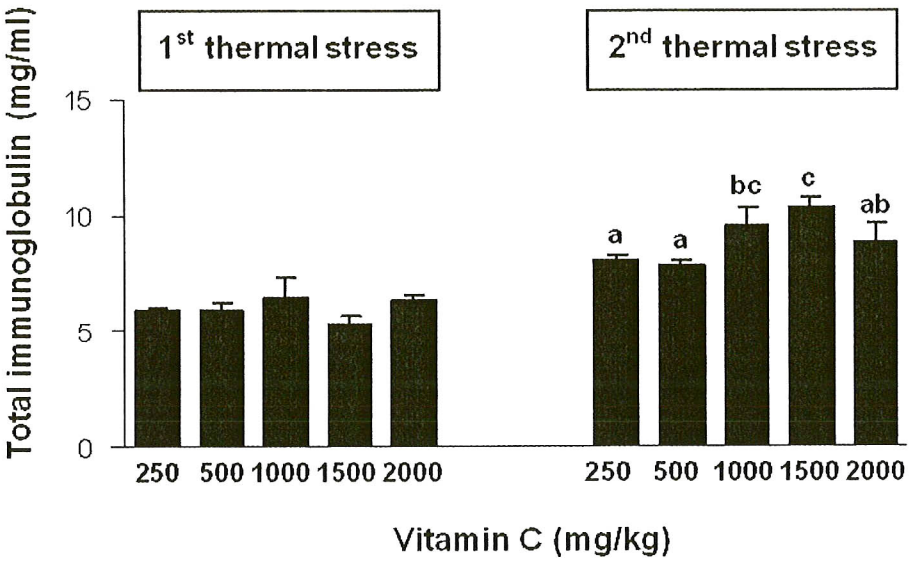


สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

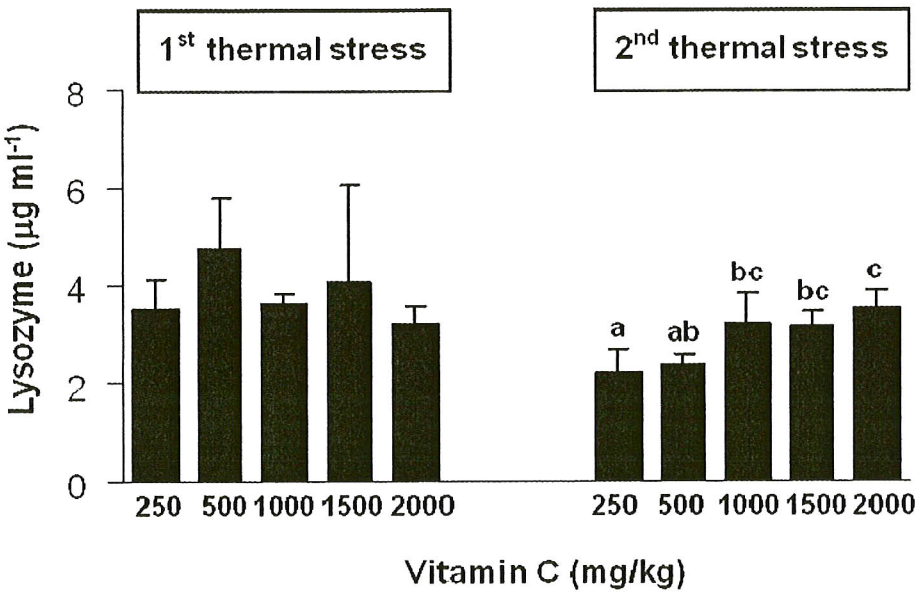
ภาพที่ 3.2 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารต่อค่า Nitroblue tetrazolium (NBT) (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 1 (หลังจากสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง) และครั้งที่ 2 (หลังจากสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง)



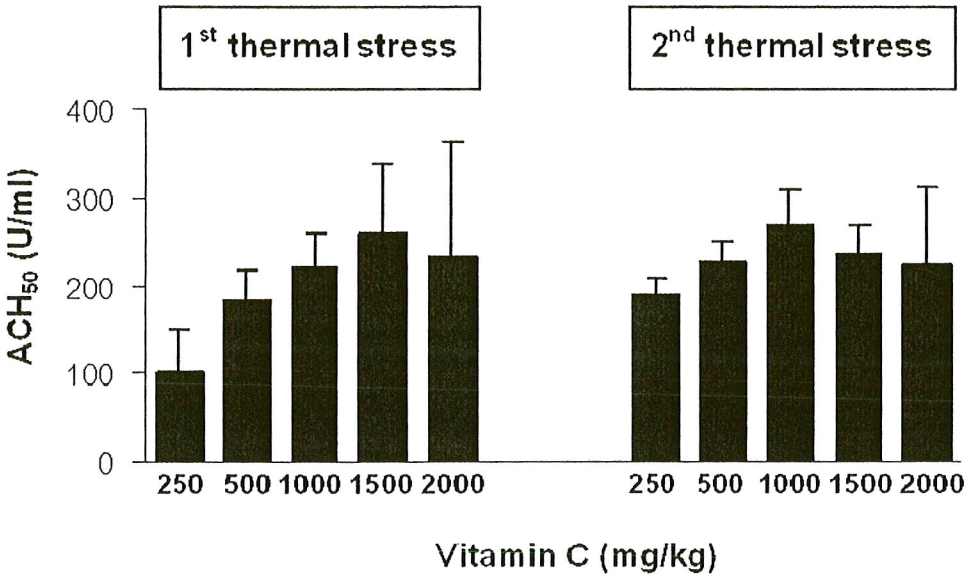
ภาพที่ 3.3 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารต่อโปรตีนในเลือด (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 1 (หลังจากสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง) และครั้งที่ 2 (หลังจากสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง)



ภาพที่ 3.4 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารต่ออิมมูโนโกลบูลินในเลือด (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 1 (หลังจากสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง) และครั้งที่ 2 (หลังจากสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง)



ภาพที่ 3.5 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารต่อไลโซไซม์ในซีรัม (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 1 (หลังจากสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง) และครั้งที่ 2 (หลังจากสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง)



ภาพที่ 3.6 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารต่อค่าคอมพลีเมนต์ (ACH_{50}) (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 1 (หลังจากสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง) และครั้งที่ 2 (หลังจากสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง)

การทดลองที่ 3 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาและภูมิต้านทานโรคแบบไม่จำเพาะเจาะจงในปลาดุกลูกผสมที่ถูกทดสอบด้วยสภาวะน้ำอุณหภูมิต่ำ

การทดลองเป็นการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีที่ระดับ 0, 125, 250 และ 500 mg/kg ในอาหารปลาดุกลูกผสม และทำการทดลองเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารทดลอง (ตารางที่ 3.6) พบว่าในอาหารที่ไม่ได้ทำการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีมี tocopherol อยู่ที่ระดับ 9.20 mg/kg แต่ไม่พบ tocopheryl actate สำหรับอาหารทดลองที่เสริมอนุพันธ์วิตามินอี พบทั้งวิตามินอีที่อยู่ในรูป tocopherol (8.42-10.22 mg/kg) และ tocopheryl actate โดยที่ปริมาณ tocopheryl actate ที่ตรวจวิเคราะห์ได้สัมพันธ์กับปริมาณที่กำหนดที่เสริมในอาหาร

1. ค่าการเจริญเติบโตของปลา

ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาดุกลูกผสมที่ศึกษาครั้งนี้ได้แก่ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percent weight gain) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) ซึ่งแสดงในตารางที่ 3.6 จะเห็นได้ว่า เมื่อระดับอนุพันธ์วิตามินอีที่เสริมในอาหารสูงขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่ม (percent weight gain) เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ นอกจากนี้ค่า FCR ก็ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลองต่าง ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. ค่าทางโลหิตวิทยา

การทดลองครั้งนี้ได้นำปลาดุกลูกผสมไปทำการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่ำ ที่ 19 องศาเซลเซียส หลังสัปดาห์ที่ 4 ของการเลี้ยงด้วยอาหารของแต่ละกลุ่มทดลอง ซึ่งก่อนนำปลาดุกลูกผสมไปทดสอบอุณหภูมิน้ำ ได้ทำการสุ่มตัวอย่างปลาดุกลูกผสมไปทำการวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา และเมื่อนำปลาดุกลูกผสมไปทดสอบอุณหภูมิน้ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก็จะทำการวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา เพื่อเปรียบเทียบกัน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.7 พบว่าระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารไม่มีผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาได้แก่ ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น, ฮีโมโกลบิน, จำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด และค่า MCV, MCH, MCHC แต่พบว่าการทดสอบอุณหภูมิน้ำเย็นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยจะทำให้ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีค่าสูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มปลาดุกลูกผสมที่ได้รับอาหารที่มีอนุพันธ์วิตามินอี 500 mg/kgเมื่อนำไปทดสอบอุณหภูมิน้ำต่ำจะมีค่าเม็ดแดงอัดแน่นสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่อุณหภูมิน้ำปกติ

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำจะมีผลที่มีนัยสำคัญต่อค่าทางโลหิตวิทยาอื่น ๆ อันได้แก่ค่า ฮีโมโกลบิน, จำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด และค่า MCV, MCH, และ MCHC

ตารางที่ 3.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณอนุพันธ์วิตามินอีและอนุพันธ์วิตามินอีที่เสริมในอาหารทดลอง และสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาดุกลูกผสมของแต่ละกลุ่มทดลอง

	กลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารเสริมอนุพันธ์วิตามินอี (mg/kg)			
	0	125	250	500
ปริมาณวิตามินอี				
tocopheryl acetate (mg/kg)	0.00	122.67	214.89	483.78
tocopherol (mg/kg)	9.20	8.42	8.92	10.22
สัปดาห์ 1-4				
น้ำหนักเพิ่ม (%)	104.30 ± 13.87	97.75 ± 8.27	107.34 ± 7.16	111.98 ± 15.32
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% /วัน)	2.53 ± 0.24	2.43 ± 0.15	2.60 ± 0.13	2.66 ± 0.27
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	1.87 ± 0.10	2.12 ± 0.17	1.90 ± 0.08	1.99 ± 0.17
สัปดาห์ 1-4				
น้ำหนักเพิ่ม (%)	52.00 ± 3.70	43.05 ± 8.35	48.34 ± 3.20	58.27 ± 6.72
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% /วัน)	1.49 ± 0.09	1.27 ± 0.20	1.41 ± 0.08	1.63 ± 0.15
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	1.70 ± 0.10	2.09 ± 0.33	1.86 ± 0.09	1.68 ± 0.10

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อน

ตารางที่ 3.7 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารและการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่อค่าโลหิตวิทยาของปลาดุกลูกผสม หลังจากการเลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 4 สัปดาห์

ระดับอนุพันธ์วิตามินอีที่เสริมอาหาร (mg/kg)	ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)		ฮีโมกโกลบิน (g/dl)		เม็ดเลือดแดง ($*10^6/mm^3$)	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ
0	43.11 ± 2.98	41.94 ± 3.45	10.06 ± 0.42	8.88 ± 0.31	1.95 ± 0.37	1.95 ± 0.20
125	37.78 ± 6.66	45.33 ± 7.00	9.02 ± 0.57	9.89 ± 0.77	1.86 ± 0.29	2.00 ± 0.27
250	41.11 ± 1.22	46.33 ± 3.61	9.36 ± 0.26	9.92 ± 1.20	2.10 ± 0.34	2.26 ± 0.30
500	41.33 ± 4.35^B	53.11 ± 3.86^A	8.86 ± 1.26	9.87 ± 0.29	2.13 ± 0.28	2.18 ± 0.26

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษใหญ่กำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3. การนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว

ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีต่อสัดส่วนชนิดของเม็ดเลือดขาวของปลาดุกลูกผสม ที่ได้ทำการวิเคราะห์ที่เวลา 4 สัปดาห์ของการทดลอง แสดงดังตารางที่ 3.8 ในสภาวะปกติ พบว่าระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีมีผลต่อ N:L ratio อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ค่า N:L ratio ลดลงในกลุ่มปลาดุกลูกผสมที่ได้รับอาหารที่เสริมอนุพันธ์วิตามินอีเปรียบเทียบกับปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้เสริมอนุพันธ์วิตามินอี นอกจากนี้ยังพบว่าสภาวะน้ำที่อุณหภูมิลดต่ำลงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดขาวในกลุ่มของปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้เสริมอนุพันธ์วิตามินออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในกลุ่มของปลาดุกที่ไม่ได้รับการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารนี้ สภาวะการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำ มีผลทำให้ neutrophil ลดลง และ lymphocyte เพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้ค่า N:L ratio สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) พบการเปลี่ยนแปลงของเปอร์เซ็นต์ monocyte อันเป็นผลเนื่องมากจากระดับวิตามินที่เสริมในอาหารและการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีต่อสัดส่วนชนิดของเม็ดเลือดขาวของปลาดุกลูกผสม ที่ได้ทำการวิเคราะห์ที่เวลา 8 สัปดาห์ของการทดลอง แสดงดังตารางที่ 3.8 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของสัดส่วนชนิดเม็ดเลือดขาวอันเป็นผลเนื่องมาจากระดับอนุพันธ์วิตามินอีที่เสริมในอาหารและ/หรือสภาวะการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำในการตรวจวิเคราะห์ในช่วงเวลาดังกล่าวนี้

4. ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

การศึกษาผลของระดับอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารและการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่ำ ที่ 19 องศาเซลเซียส ต่อค่าภูมิคุ้มกัน ซึ่งได้แก่ค่าการทำงานของไลโซไซม์ (lysozyme; lz), ปริมาณโปรตีนในเลือด (Total protein; TP) และปริมาณอิมมูโนโกลบูลินทั้งหมด (total immunoglobulin; Ig) ซึ่งได้ทำการตรวจวิเคราะห์ 2 ครั้ง ได้แก่ หลังสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง ซึ่งในแต่ละครั้งที่ทำการทดสอบอุณหภูมิน้ำ จะทำการตรวจวิเคราะห์ก่อนและหลังการนำปลาดุกลูกผสมไปทดสอบอุณหภูมิน้ำ เพื่อเปรียบเทียบกัน

ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีต่อต่อค่าภูมิคุ้มกันในปลาดุกลูกผสมที่ได้ตรวจวิเคราะห์ แสดงดังตารางที่ 3.9 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอันเป็นผลเนื่องมาจากระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารต่อค่า lz, TP และ Ig เมื่อทำการศึกษาในปลาดุกลูกผสมที่อยู่ในสภาวะปกติ ทั้ง 2 ครั้ง (4 สัปดาห์ และ 8 สัปดาห์ของการทดลอง)

ในสภาวะที่ปลาดุกลูกผสมถูกทดสอบด้วยน้ำอุณหภูมิต่ำครั้งแรก พบว่ากลุ่มปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้เสริมอนุพันธ์วิตามินอี มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ของค่า lz เมื่อถูกทดสอบด้วยอุณหภูมิน้ำ แต่ไม่พบความแตกต่างอันเป็นผลจากการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่อค่า lz ในปลาดุกลูกผสมที่ได้รับการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหาร ในการทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 2 พบว่าการทดสอบอุณหภูมิน้ำไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า lz ในปลาดุกลูกผสมทุกกลุ่มทดลอง

การเสริมอนุพันธ์วิตามินอีไม่มีผลต่อค่าโปรตีนในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้ง 2 ครั้งของการทดลอง นอกจากนี้ไม่พบผลของการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าโปรตีนในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้ง 2 ครั้งของการทดสอบอุณหภูมิน้ำ (ตารางที่ 3.9)

ในสภาวะที่ทดสอบอุณหภูมิต่ำทั้ง 2 ครั้งนั้น พบว่าค่า Ig มีค่าต่ำลงในกลุ่มปลาดุกลูกผสมที่ได้รับอนุพันธ์วิตามินอีที่ระดับต่ำ (P<0.05) โดยมีค่าต่ำที่สุดในกลุ่มปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้เสริมอนุพันธ์วิตามินอี นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบค่า Ig ที่วัดในตัวอย่างพลาสมาที่ได้จากการเก็บตัวอย่างก่อนและหลังการทดสอบอุณหภูมิน้ำของปลาดุกลูกผสมในแต่ละกลุ่มทดลอง พบว่าการทดสอบอุณหภูมิน้ำมีผลต่อการลดลงของค่า Ig อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) เมื่อเปรียบภายในกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารเสริมอนุพันธ์วิตามินอีระดับเดียวกัน (ตารางที่ 3.9)

ตารางที่ 3.8 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารและการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่อชนิดและจำนวนเม็ดเลือดขาวของปลาดุกลูกผสม

ระดับวิตามินอีที่เสริมอาหาร (mg/kg)	Neutrophil (%)		Lymphocyte (%)		Monocyte (%)		N:L ratio	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ
การทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 1								
0	53.56 ± 1.45^{B}	61.56 ± 0.80^{aA}	41.44 ± 1.44^{A}	30.33 ± 0.51^{bB}	5.00 ± 0.51^{bB}	8.11 ± 0.73^{aA}	1.30 ± 0.08^{aB}	2.03 ± 0.05^{aA}
125	42.89 ± 2.48	36.00 ± 5.61^{b}	51.00 ± 1.00	60.89 ± 5.84^{a}	6.11 ± 1.90^{a}	3.11 ± 0.40^{b}	0.84 ± 0.06^{b}	0.82 ± 0.16^{b}
250	46.89 ± 4.45	38.11 ± 4.77^{b}	48.78 ± 4.87	58.89 ± 4.47^{a}	4.33 ± 0.84^{c}	3.00 ± 0.39^{b}	1.00 ± 0.17^{ab}	0.67 ± 0.12^{b}
500	42.33 ± 1.53	37.78 ± 1.66^{b}	50.33 ± 1.53	58.78 ± 2.75^{a}	7.33 ± 0.00^{aA}	3.44 ± 1.10^{bB}	0.84 ± 0.05^{b}	0.65 ± 0.06^{b}
การทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 2								
0	50.67 ± 0.39	41.56 ± 4.98	44.33 ± 1.65	54.33 ± 4.79	5.00 ± 1.53	4.11 ± 0.78	1.15 ± 0.05	0.79 ± 0.17
125	44.78 ± 4.82	39.67 ± 4.95	51.56 ± 4.98	58.11 ± 5.10	3.67 ± 1.84	2.22 ± 0.22	0.90 ± 0.17	0.71 ± 0.14
250	45.67 ± 3.98	38.67 ± 0.58	50.78 ± 3.70	55.89 ± 1.82	3.56 ± 0.48	5.44 ± 1.79	0.92 ± 0.14	0.69 ± 0.03
500	51.89 ± 6.25	50.56 ± 3.14	45.44 ± 5.40	44.78 ± 2.78	2.67 ± 0.88	4.67 ± 0.51	0.22 ± 0.32	1.15 ± 0.13

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษใหญ่กำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเล็กกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอันเนื่องมาจากระดับอนุพันธ์วิตามินอีที่เสริมในอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 3.9 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารและการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่อไลโซไซม์ โปรตีนในน้ำเลือดและค่าอิมมูโนโกลบูลินของปลาดุกลูกผสม

ระดับวิตามินอีที่เสริมอาหาร (mg/kg)	ไลโซไซม์ (μg ml^{-1})		โปรตีนในเลือด (mg ml^{-1})		อิมมูโนโกลบูลิน (mg ml^{-1})	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำ
การทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 1						
0	3.15 ± 0.33^{B}	1.45 ± 0.18^{A}	37.66 ± 1.64	42.39 ± 0.61	20.85 ± 2.70^{B}	10.54 ± 0.36^{aA}
125	3.47 ± 0.63	2.40 ± 0.57	38.80 ± 0.09	40.97 ± 1.01	24.60 ± 0.13	17.89 ± 3.53^{ab}
250	3.53 ± 0.61	2.28 ± 0.42	41.58 ± 0.63	40.92 ± 1.18	22.79 ± 1.52	16.03 ± 2.08^{ab}
500	2.73 ± 0.61	2.39 ± 0.67	40.44 ± 0.52	40.43 ± 0.41	25.22 ± 0.71	21.03 ± 0.58^{b}
การทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 2						
0	3.46 ± 0.70	2.42 ± 0.13	36.11 ± 1.62	35.82 ± 0.48	23.52 ± 1.59^{B}	14.13 ± 1.27^{aA}
125	2.80 ± 1.06	2.63 ± 0.69	34.96 ± 0.27	33.80 ± 2.00	21.03 ± 0.63	18.75 ± 1.23^{b}
250	4.02 ± 1.29	1.97 ± 0.41	40.44 ± 0.64	33.85 ± 1.75	22.85 ± 1.23	25.65 ± 1.99^{b}
500	4.07 ± 1.49	2.39 ± 0.71	34.73 ± 3.21	33.65 ± 2.63	21.47 ± 0.71	25.91 ± 0.58^{b}

ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษใหญ่กำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบอุณหภูมิน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษเล็กกำกับที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอันเนื่องมาจากระดับอนุพันธ์วิตามินอีที่เสริมในอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

3.2 อภิปรายผลการศึกษา

การทดลองที่ 1 ผลของอุณหภูมิน้ำต่อค่าทางโลหิตวิทยา และ ค่า Lipid peroxidation ที่ตับและไต

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำสามารถก่อให้เกิดเป็นความเครียดในปลาซึ่งเป็นสัตว์เลือดเย็นและส่งผลให้เกิดภาวะ oxidative stress ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า malondialdehyde (MDA) มีค่าต่ำในปลาดุกลูกผสมที่อยู่ในอุณหภูมิต่ำ หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าปลาดุกลูกผสมที่อยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิน้ำสูงมีค่า lipid peroxidation สูง ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้เป็นไปในทางเดียวกับผลการศึกษาที่ได้เสนอว่าอุณหภูมิน้ำที่สูงขึ้นส่งผลให้ค่า oxidative stress สูงขึ้น เช่นในการศึกษาในปลา Channa puntatus (Kaur et al., 2005), ปลาทอง (Laushchak and Bagnyukova, 2006) และปลา catfish (Heteropneustes fossilis (Parihar and Dubey, 1995) ซึ่งสาเหตุของสภาวะ oxidative stress ที่สูงขึ้นเมื่อปลาอยู่ในอุณหภูมิน้ำที่สูงขึ้นอาจจะอธิบายได้ว่า ปลาใช้ออกซิเจนมากขึ้นเมื่อปลาอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น การใช้ออกซิเจนที่มากขึ้นส่งผลให้เกิดการผลิต reactive oxygen species (ROS) ในอัตราที่สูงกว่าอัตราการทำลาย (ROS) นอกจากนี้การเกิด lipid peroxidation ยังมีค่าขึ้นลงในระหว่างระยะเวลาที่ทำการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lushcahk และ Bangnyukova (2006) อย่างไรก็ตามแม้ว่าค่า MDA จะมีการเปลี่ยนแปลงขึ้นกับอุณหภูมิน้ำและระยะเวลาที่การศึกษา แต่ค่าการเปลี่ยนแปลงยังไม่มากพอที่จะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากอุณหภูมิน้ำต่ำ-สูงที่ใช้ในการทดสอบปลาดุกลูกผสมในการศึกษาครั้งนี้เป็นอุณหภูมิน้ำที่ยังอยู่ในช่วงที่ปลาดุกลูกผสมสามารถดำรงชีวิตได้ และระยะเวลาการทดสอบ (24 ชั่วโมง) อาจไม่มากพอที่จะพบการเปลี่ยนแปลงของค่า MDA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การวิเคราะห์ค่า NBT เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้วิเคราะห์การเกิด superoxide anion ซึ่งมักจะถูกใช้ในการวัดการเกิด superoxide anion อันเนื่องมาจากกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือดขาวในทางอ้อม ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาดุกลูกผสมที่อยู่ในอุณหภูมิต่ำมีค่า NBT สูง ผลการศึกษาที่พบในการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ได้มีผู้ศึกษาไว้ ซึ่งได้รายงานว่าอุณหภูมิน้ำต่ำมีผลต่อการเพิ่มค่า respiratory burst acitivity และกระบวนการ phagocytosis ในปลา Tinca tinca, channel catfish และปลาไน (Dexiang and Anisworth, 1991; Collazos et al., 1994; Le Morvan et al., 1997)

ในการศึกษาครั้งนี้พบการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงแรกของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำ ที่เป็นเช่นนี้อาจอธิบายได้ว่าปลาดุกลูกผสมเกิดภาวะช็อกจากอุณหภูมิน้ำอย่างเฉียบพลัน (Acute thermal shock) หลังจากนั้นค่าการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยามีการเปลี่ยนแปลงน้อยลงในเวลาการทดสอบต่อมา และพบค่าการเปลี่ยนแปลงทาง

โลหิตวิทยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอีกครั้งในช่วงเวลาสุดท้ายของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากหลังจากปลาดุกลูกผสมเกิดภาวะช็อกอุณหภูมิน้ำอย่างเฉียบพลัน ปลาดุกลูกผสมได้มีกลไกการปรับสภาวะร่างกายให้เข้ากับสภาวะการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิดังกล่าว แต่เนื่องจากปลาดุกลูกผสมไม่สามารถปรับสภาพร่างกายให้เข้ากับค่าการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้ จึงพบค่าการเปลี่ยนแปลงของโลหิตวิทยาอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งเกิดเนื่องจากปลาดุกเริ่มเข้าสู่ภาวะ chronic stress อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับบทความปริทรรศน์ที่เขียนโดย Matineez-Porchas et al. (2009) ได้รายงานว่าเมื่อสัตว์ประสบกับภาวะความเครียด จะพบความแตกต่างของสารเคมีในเลือดในช่วงแรก หลังจากนั้นค่าการเปลี่ยนแปลงสารเคมีในเลือดจะกลับเข้าสู่ภาวะปกติอันเนื่องมาจากสัตว์มีการปรับตัวให้เข้ากับภาวะสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมนั้น แต่ค่าการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีในเลือดจะเกิดขึ้นอีกครั้งถ้าหากสัตว์ไม่สามารถปรับตัวได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความผิดปกติภายนอกของปลาดุกลูกผสม ทั้งอาจเนื่องมาจากการทดสอบอุณหภูมิน้ำเกิดขึ้นในระยะเวลาสั้น เวลา 24 ชั่วโมงไม่ยาวนานพอที่จะก่อเกิดความผิดปกติภายนอกที่สามารถสังเกตได้

การทดลองที่ 2 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีต่อค่าทางโลหิตวิทยาและภูมิต้านทานโรคแบบไม่จำเพาะเจาะจงในสภาวะน้ำอุณหภูมิต่ำ

เป็นที่ทราบกันดีว่าวิตามินซี L-ascorbic acid มักจะไม่คงทน และถูกออกซิไดส์ได้ง่าย ปัจจุบันนี้วิตามินซีที่ใช้ในอาหารสัตว์น้ำได้มีการปรับแปลงโครงสร้างโมเลกุลของวิตามินซีสร้างเป็นสารอนุพันธ์วิตามินซี เพื่อให้มีความคงทน เหมาะสมในการใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์น้ำมากยิ่งขึ้น รูปแบบของอนุพันธ์วิตามินซีที่เป็นที่นิยมใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์น้ำ มีอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ L-ascorbyl-2-sulfate และ L-ascorbyl-2-phosphate ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบการใช้อนุพันธ์วิตามินซี 2 รูปนี้เสริมในอาหารปลา Channel catfish พบว่าปลา Channel catfish สามารถใช้ประโยชน์จากอนุพันธ์วิตามินซีในรูปของ L-ascorbyl-2-phosphate ได้ดีกว่าอนุพันธ์วิตามินซีในรูปของ L-ascorbyl-2-sulfate (EL Naggar and Lovell, 1991) ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้อนุพันธ์วิตามินซีในรูปของ L-ascorbyl-2-phosphate เสริมในอาหารทดลอง ผลการตรวจสอบปริมาณอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารทดลองที่สอดคล้องกับปริมาณอนุพันธ์วิตามินซีที่ทำการเสริมในอาหารแสดงให้เห็นถึงความคงทนของอนุพันธ์วิตามินซีที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นถึงความคงทนและการใช้ประโยชน์จากของอนุพันธ์วิตามินซีในรูป L-ascorbyl-2-phosphate (Wang et al., 2003; Chen et al., 2007) ในอาหารปลา อนุพันธ์วิตามินซีในรูปของ L-ascorbyl-2-phosphate ได้จากการเปลี่ยนหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 2 ของอะตอม

คาร์บอนในวงแหวนเป็นหมู่ฟอสเฟต ถึงแม้ว่าจะไม่ได้มีการพิสูจน์ถึงการทำงานของเอ็นไซม์ฟอสฟาเตสในลำไส้ของปลาดุกลูกผสม แต่คาดว่าเมื่อปลาดุกลูกผสมได้รับอาหารที่เสริม L-ascorbyl-2-phosphate เมื่ออาหารผ่านไปที่ลำไส้เล็ก L-ascorbyl-2-phosphate จะถูก hydrolyse ด้วยเอ็นไซม์ฟอสฟาเตสเป็น ascorbic acid แล้วจึงถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ในร่างกาย ซึ่งน่าจะมีกลไกที่คล้ายคลึงกับกลไกที่อธิบายไว้ในรายงานการศึกษาของ Matusiewicz and Dabrowski (1995)

วิตามินซีถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก ด้วยกระบวนการ active transport ซึ่งเป็นแบบ sodium-ascorbate cotransport ผ่านเมมเบรนของ enterocyte (Wilson, 2005) หลังจากถูกดูดซึมวิตามินซีจะผ่านเข้าไปในตับและสะสมในตับและอวัยวะต่าง ๆ ซึ่งความคงทนของวิตามินซี และปริมาณการสะสมของวิตามินซีในอวัยวะต่าง ๆ จะแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของปลา ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณของอนุพันธ์วิตามินซีที่สะสมในตับของปลาดุกลูกผสมเมื่อได้รับอาหารทดลองที่มีการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับแตกต่างกัน พบว่าปริมาณอนุพันธ์วิตามินซีที่ตรวจพบในตับมีระดับใกล้เคียงกันในทุกกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับแตกต่างกัน ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Fournier et al. (2000) ที่รายงานว่าปลามีการสะสมวิตามินซีในตับแบบคงที่ แม้ว่าจะได้รับอาหารที่มีระดับวิตามินซีสูงขึ้น (Plateau effect) แต่อย่างไรก็ตามก็มีการรายงานว่าปลามีการสะสมวิตามินซีในตับเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับวิตามินซีในอาหารที่ระดับสูงขึ้น ซึ่งพบใน parrot fish (Wang et al., 2003), Mediterranean sea bream (*Sparus aurata*) (Amerio et al., 2000) และในปลา Oscar (Fracalossi et al., 1998)

การรายงานถึงการประเมินระดับที่เหมาะสมของวิตามินซีในอาหารที่ปลา (Optimum level) ควรได้รับเพื่อให้ปลาดำรงชีวิตเป็นปกติ โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระดับวิตามินซีที่ได้รับในอาหารและระดับวิตามินซีที่สะสมในตับ เพื่อประเมินปริมาณวิตามินที่เหมาะสมในอาหาร (Optimum level) ซึ่งก็คือปริมาณวิตามินซีในอาหารที่ต่ำที่สุดที่ปลาได้รับแล้วมีการสะสมวิตามินซีที่ตับที่สูงที่สุด ในการศึกษาครั้งนี้นอกจากปริมาณการสะสมวิตามินซีในปลาดุกลูกผสมจะมีค่าคงที่ในทุกกลุ่มทดลองแล้ว ในระหว่างการทดลองผู้วิจัยไม่พบอาการของการขาดวิตามินซี (สังเกตจากกระดูกสันหลังโค้งงอ) ในกลุ่มทดลองที่ปลาได้รับวิตามินซีที่ระดับ 250 mg/kg และอัตราการรอดของปลาแต่ละกลุ่มทดลองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ration) ยังมีค่าไม่แตกต่างกันในอาหารแต่ละกลุ่มทดลอง จึงน่าจะสรุปได้ว่า การเสริมอนุพันธ์วิตามินซี L-ascorbyl-2-phosphate ที่ 250 mg/kg น่าจะเป็นระดับที่เหมาะสมของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารปลา (Optimum level) ซึ่งระดับดังกล่าวนี้สอดคล้องกับการแนะนำของบริษัทผู้ผลิต

แม้ว่าระดับการเสริมวิตาอนุพันธ์มินซีในอาหารที่ระดับ 250 mg/kg จะเป็นระดับที่เหมาะสมที่เสริมในอาหารแล้วส่งผลให้ปลาดุกลูกผสมไม่แสดงอาการอันเนื่องมาจากการได้รับ

วิตามินซีในอาหารไม่เพียงพอ แต่พบว่าที่ระยะเวลาการทดลอง 1 เดือน เมื่อเพิ่มปริมาณการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหาร สามารถเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาดุกลูกผสมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการวิเคราะห์ trend analysis พบว่าผลการเพิ่มปริมาณอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตซึ่งแสดงด้วยค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มซึ่งมีความสัมพันธ์กันในเชิงเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับ 1,000-1,500 mg/kg น่าจะเป็นระดับต่ำที่สุดที่ส่งผลให้ปลาดุกลูกผสมมีเปอร์เซนต์น้ำหนักเพิ่มและค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด เนื่องจากการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับสูงกว่านี้ (2000 mg/kg)ไม่ได้ทำให้ผลของสมรรถนะการเจริญเติบโตดังกล่าวดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาในปลาดุกอัฟริกันที่พบว่าเมื่อเลี้ยงปลาด้วยอาหารที่เสริมวิตามินซีที่ระดับ 50 mg/kg น่าจะเป็นปริมาณที่เพียงพอที่ปลาจะไม่แสดงอาการขาดวิตามินซี และพบว่าถ้าเพิ่มปริมาณวิตามินซีที่เสริมในอาหารเป็น 1,500 mg/kg ปลาดุกอัฟริกันจะมีค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์จากอาหารได้สูงที่สุด (Adewolu and Aro, 2009)

เมื่อทำการเก็บข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาดุกลูกผสมในเวลาต่อมา (สัปดาห์ที่ 5-8) พบว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับ 250 mg/kgน่าจะเป็นระดับที่เพียงพอต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตที่สูงที่สุด เนื่องจากเมื่อปลาดุกลูกผสมได้รับอาหารที่มีการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับสูงขึ้น สมรรถนะการเจริญเติบโตไม่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่เป็นเช่นนี้อาจจะอธิบายได้ว่า ความต้องการวิตามินซีของปลาจะแตกต่างกันขึ้นกับชนิดปลาและระยะการเจริญเติบโตของปลา (Merchie et al., 1996) อาจเป็นไปได้ว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับ 250 mg/kgเป็นระยะเวลานานทำให้เกิดการสะสมวิตามินซีอย่างต่อเนื่อง การเสริมที่ระดับนี้ระยะยาวจึงเพียงพอที่จะส่งผลให้ปลามีสมรรถนะการเจริญเติบโตสูงที่สุด

การศึกษาค่าทางโลหิตวิทยาเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการประเมินสุขภาพของปลา (Adhikari et al., 2004; Silveira-Coffigny et al., 2004; De Andrade et al., 2007) ในการวิจัยครั้งนี้พบว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารมีผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาของปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะความเครียดอันเนื่องมาจากน้ำอุณหภูมิต่ำ ซึ่งพบว่าค่าฮีโมโกลบินมีค่าสูงขึ้นในปลาดุกลูกผสมที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับสูง โดยมีความสัมพันธ์แบบ quadratic และพบว่าค่าจำนวนเม็ดเลือดแดงมีค่าสูงขึ้นในปลาดุกลูกผสมที่ได้รับอาหารที่เสริมอนุพันธ์วิตามินสูงขึ้น และมีความสัมพันธ์กันในเชิงเส้นตรง ซึ่งผลของวิตามินซีต่อการเพิ่มขึ้นของฮีโมโกลบินและจำนวนเม็ดเลือดแดงนี้สอดคล้องกับการศึกษาในปลา piracucu (Arapaima gigas) ที่รายงานว่าวิตามินซีมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าฮีโมโกลบินและจำนวนเม็ดเลือดแดง (De Andrade et al., 2007) ผลดังกล่าวนี้อาจใช้รายงานการศึกษาของกลไกการดูดซึมธาตุเหล็กที่ได้มีการศึกษาในมนุษย์มา

อธิบายได้ว่า วิตามินซีเปลี่ยน ferric iron เป็น ferrous iron ซึ่งอยู่ในรูปแบบที่ละลายและดูดซึมผ่านผนังลำไส้เล็กได้ดี ทำให้ร่างกายสัตว์ดูดซึมธาตุเหล็กได้มากขึ้น ธาตุเหล็กเป็นสารที่สำคัญต่อการสร้างเม็ดเลือดแดงจึงทำให้จำนวนเม็ดเลือดแดงสูงขึ้น แม้ว่าจะไม่ได้มีการศึกษาถึงกลไกดังกล่าวในปลา แต่ก็มีรายงานถึงผลของการเสริมวิตามินซีร่วมกับธาตุเหล็กต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และค่าฮีโมโกลบินใน channel catfish (Lim et al., 2000) ผลของอนุพันธ์วิตามินซีต่อการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดแดงน่าจะเป็นปัจจัยที่ช่วยปรับสมดุลของสุขภาพปลาเมื่อปลาอยู่ภายใต้สภาวะความเครียด เนื่องจากได้มีรายงานการศึกษาว่าเมื่อปลาอยู่ในสภาวะความเครียดหรือสภาวะที่สิ่งแวดล้อมทางน้ำไม่เหมาะสม มักจะมีอาการของโลหิตจาง เช่น ค่าเม็ดเลือดแดงและฮีโมโกลบินในปลาไนต่ำลงเมื่อปลาไนอยู่ในน้ำที่มีไนไตรต์สูง (Svobodova et al., 2005) และ Adhikari et al. (2004) พบว่าการปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงในน้ำส่งผลทำให้ปลายี่สก (Labeo rohita) มีค่าเม็ดเลือดแดงและฮีโมโกลบินต่ำลง นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยว่าปลานิลที่ได้ติดเชื้อแบคทีเรียมีค่าเม็ดเลือดแดง ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และค่าฮีโมโกลบินต่ำลง โดยสภาพการเลี้ยงปลาในธรรมชาติแล้ว ปลามักจะพบกับสภาวะที่ก่อให้เกิดความเครียดได้พร้อมกัน ๆ ดังนั้นการเสริมวิตามินซีจึงน่าจะเป็นตัวช่วยรักษาสภาวะทางค่าโลหิตวิทยาไม่ให้แย่ลงเมื่อปลาเผชิญกับความเครียดหลายอย่างเกิดขึ้นพร้อมกันได้

ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับสูงในเวลาที่ยาวนานขึ้นไม่มีผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีต่อการลดอันตรายจากสภาวะความเครียดในปลาดุกลูกผสม ในระยะสั้น (4 สัปดาห์) ควรใช้ปริมาณการเสริมที่สูง (1,500 mg/kg) และระยะยาวใช้ปริมาณการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับต่ำสุด (250 mg/kg)

การทำงานของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง (cellular non-specific defense) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีความสำคัญในปลาซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำลายเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอม การทำงานของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันที่สำคัญ ได้แก่การทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดขาวชนิด monocyte/macrophages มีบทบาทต่อการทำลายเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอม (Wedemeyer et al., 1996) แต่ถึงกระนั้นก็ยังพบว่าการลดลงของจำนวนเม็ดเลือด monocyte ในปลานิลที่ติดเชื้อ Enterococcus (Martins et al., 2009) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดขาว monocyte ในปลาดุกลูกผสมแต่ละกลุ่มทดลองภายใต้สภาวะน้ำอุณหภูมิต่ำ โดยพบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด monocyte ลดลงในกลุ่มปลาดุกลูกผสมที่ได้เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมอนุพันธ์วิตามินในระดับสูง ผลของวิตามินซีต่อเม็ดเลือดขาว monocyte มีการรายงานแตกต่างกัน เช่น รายงานการศึกษาในปลา Amazonian native fish (Brycon amazonicus) ซึ่งพบว่าการเสริมวิตามินซีในอาหารที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการเพิ่มเม็ดเลือดขาว monocyte และยังพบว่าการเสริมสา

รกลูแคนซึ่งเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลาเรนโบว์เทร้าไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาว monocyte ภายใต้สภาวะความเครียดอันเนื่องมาจากการขนส่ง (Volpatti et al., 1998)

เม็ดเลือดขาว lymphocytes มีบทบาทเกี่ยวข้องกับทั้งระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการสร้างแอนติบอดี และการลดลงของจำนวน lymphocytes มีผลต่อการลดลงของระบบภูมิคุ้มกัน (Wedemeyer et al., 1990; Martins et al., 2009) เม็ดเลือดขาว neutrophils เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูล และมีบทบาทสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ โดย neutrophils จะเคลื่อนที่ไปบริเวณที่ติดเชื้อและทำหน้าที่เป็น phagocyte เพื่อกำจัดเชื้อโรค (Wedemeyer et al., 1990) ในการทดสอบที่ 4 สัปดาห์ของการทดลอง ภายใต้สภาวะการลดต่ำลงของอุณหภูมิน้ำ การเพิ่มขึ้นของปริมาณการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาว lymphocytes ในเชิงความสัมพันธ์แบบ quadratic แต่การเพิ่มขึ้นของอนุพันธ์วิตามินซีมีผลต่อการลดลงของเม็ดเลือดขาว Neutrophil ซึ่งแตกต่างจากรายงานการศึกษาของในปลา Amazonian ซึ่งพบว่าการเสริมวิตามินซีในอาหารไม่มีผลต่อจำนวนเม็ดเลือดขาว Neutrophil (Affonso et al., 2007)

สัดส่วนจำนวนเม็ดเลือดขาว neutrophil ต่อ lymphocyte สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกถึงการตอบสนองต่อความเครียด ยกตัวอย่างเช่น รายงานการศึกษาพบว่าฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับความเครียดส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดขาว neutrophil ในปลาไน (Balabanova et al., 2009) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาของ Davis et al. (2008) อธิบายถึงจำนวนเม็ดเลือดขาวสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาวะความเครียดในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ความเครียดและระดับฮอร์โมน glucocorticoid มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของ neutrophil และการลดลงของ lymphocyte ในกระแสเลือด (N:L ratio) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าความเครียดส่งผลต่อค่า N:L ratio สูงขึ้น ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าที่ระยะเวลาการทดลอง 4 สัปดาห์ หรือภายใต้สภาวะความเครียดจากอุณหภูมิน้ำต่ำลงครั้งแรก การเพิ่มปริมาณการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีมีผลต่อการลดลงของค่า N:L ratio ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ปริมาณสูงในอาหารสามารถบรรเทาสภาวะความเครียดในการเลี้ยงปลาดุกลูกผสมได้

ในระหว่างการเกิดกระบวนการ phagocytosis หรือเกิดการกระตุ้นกระบวนการ phagocytosis เม็ดเลือดขาว neutrophil และ monocyte จะผลิต superoxide anion และ hydrogen peroxide เพื่อทำลายเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย การวัดค่า NBT spectrophotometer เป็นค่าหนึ่งที่แสดงถึงปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกิจกรรม respiratory burst activity และใช้การแสดงค่าทางอ้อมถึงกระบวนการ phagocytosis ได้มีรายงานการศึกษาพบว่าโปรไบโอติค levamisole และ กลูแคน มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า NBT ในปลานิล (Taoka et al., 2006) ปลาเรนโบว์เทร้า (Ispir and Yonar, 2007) และ ปลาดุกด้าน (C. batrachus) (Kumari and Sahoo, 2006)

ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าภายใต้การทดสอบน้ำอุณหภูมิต่ำครั้งแรก การเพิ่มปริมาณการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า NBT spectrophotometer อย่างมีนัยสำคัญ และยังพบผลของการเพิ่มปริมาณอนุพันธ์วิตามินซีต่อค่า NBT spectrophotometer ในการทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้งที่ 2 เพียงเล็กน้อย ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของอนุพันธ์วิตามินซีต่อการเพิ่มขึ้นของกระบวนการทำลายเชื้อโรคในปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะความเครียดอันเนื่องมากจากอุณหภูมิน้ำต่ำ

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าปริมาณโปรตีนในเลือดมีค่าสูงสุดในปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีที่ระดับ 1000-1500 mg/kg ในปลาดุกลูกผสมที่ถูกทดสอบด้วยน้ำอุณหภูมิต่ำครั้งที่สอง ในการศึกษาอื่น ๆ ที่ผ่านมา ได้มีการรายงานผลของวิตามินซีต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนในเลือดในปลา piracucu (De Andrade et al., 2007) การเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนในเลือดอาจมาจากปริมาณสารน้ำที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (humoral non-specific defense) ซึ่งได้แก่ ปริมาณของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ คอมคลีเมนต์ และอิมมูโนโกลบูลิน ซึ่งสารโปรตีนในน้ำเลือดเหล่านี้มีบทบาทต่อการทำลายเชื้อโรคในกระแสเลือด ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ในสภาวะที่ปลาดุกลูกผสมถูกทดสอบอุณหภูมิน้ำเย็นครั้งที่สอง ปลาดุกลูกผสมที่ได้รับอาหารที่เสริมวิตามินซีที่ปริมาณสูงจะมีค่าไลโซไซม์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบว่าค่าคอมพลีเมนต์ก็สูงขึ้นแม้ว่าจะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่เคยไม้มีผู้แสดงให้เห็นว่าวิตามินซี (500 mg/kg) มีผลต่อการเพิ่มการทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์และคอมพลีเมนต์ในปลา yellow croaker (Ai et al., 2006) แม้กระทั่งรายงานการศึกษาในปลา sturgeon (Acipenser baerii) ซึ่งเป็นปลาที่มีความสามารถในการสร้างวิตามินซี ก็ยังพบว่าการเสริมวิตามินซีในอาหารส่งผลต่อการเพิ่มค่าการทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ (Xie et al., 2006) นอกจากนี้ยังได้มีผู้รายงานว่าวิตามินซีมีผลต่อการเพิ่มการทำงานของคอมพลีเมนต์ (Chen et al., 2007; Ortuno et al., 2003) อย่างไรก็ตามก็มีรายงานการศึกษาที่ขัดแย้งกัน เช่น การศึกษาในปลา hybrid striped bass พบว่าการเพิ่มปริมาณการเสริมวิตามินซีในอาหารไม่มีผลต่อการเพิ่มการทำงานของเอ็นไซม์ไลโซไซม์ (Sealey and Gatlin, 2002a)

ภายใต้สภาวะการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่ำครั้งที่สองนี้ ปลาดุกลูกผสมมีค่าปริมาณอิมมูโนโกลบูลินสูงขึ้นในกลุ่มทดลองที่ได้รับการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในระดับที่สูงขึ้น ผลครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของปลา matrinxa (B. amazonicus) (Affonso et al., 2007) อย่างไรก็ตามขัดแย้งกับรายงานการศึกษาของ Sealey และ Gatlin (2002a) ซึ่งไม่พบผลของเพิ่มปริมาณวิตามินซีในอาหารต่อการเพิ่มค่าอิมมูโนโกลบูลินในเลือด การเพิ่มขึ้นของปริมาณอิมมูโนโกลบูลินในการศึกษาครั้งสามารถอธิบายได้ว่า น่าจะเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณเม็ดเลือดขาว lymphocyte ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาวที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอิมมูโนโกลบูลิน

นอกจากนี้ยังมีการรายงานถึงผลของความเครียดจากอุณหภูมิน้ำต่อการลดลงของค่าไลโซไซม์และคอมพลีเมนต์ในปลานิล (Ndong et al., 2007) ความเครียดมีผลต่อฮอร์โมนคอร์ติซอลซึ่งน่าจะส่งผลต่อกระบวนการ gluconeogenesis ทำให้ค่าโปรตีนในน้ำเลือดลดลง (Demers and Bayne, 1997; Svobodova et al., 2006) ดังนั้นการเสริมวิตามินซีในอาหารที่ส่งผลต่อการเพิ่มค่าไลโซไซม์และคอมพลีเมนต์จึงน่าจะเป็นการช่วยเพิ่มภูมิต้านทานโรคให้กับปลาดุกลูกผสมโดยเฉพาะเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะความเครียดของอุณหภูมิน้ำ

การทดลองที่ 3 ผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารต่อค่าทางโลหิตวิทยาและภูมิต้านทานโรคแบบไม่จำเพาะเจาะจงในปลาดุกลูกผสมที่ถูกทดสอบด้วยสภาวะน้ำอุณหภูมิต่ำ

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินในอาหารไม่มีผลต่อการเพิ่มค่าอัตราการรอดของปลาดุกลูกผสมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลของการอนุพันธ์วิตามินอีต่อการเพิ่มค่าอัตราการรอดของปลาได้มีการรายงานไว้แตกต่างกัน ได้มีรายงานการวิจัยจำนวนหนึ่งแสดงว่าวิตามินอีไม่ให้ผลที่เด่นชัดต่อการเพิ่มอัตราการรอดของปลา piracucu ที่ทดลองในสภาวะการเลี้ยงในกระชัง (de Menezes et al., 2006) ปลา turbot และ Halibut (Tocher et al., 2002) ปลา gilthead seabream (Montero et al., 2001) และปลา rohu (Sau et al., 2004) อย่างไรก็ตามมีการรายงานว่าการเพิ่มการเสริมวิตามินมีผลต่อการเพิ่มอัตราการรอดของปลาเรนโบว์เทร้า (Pearce et al., 2003) ปลา sea bream (Tocher et al., 2002) และปลา gilthead seabream ในสภาวะความเครียด (Montero et al., 2001)

ในการศึกษานี้พบว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารไม่มีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาครั้งนี้เป็นในทางเดียวกับที่ได้มีการรายงานไว้ในผลการวิจัยในปลา ของ turbot และ Halibut (Tocher et al., 2002) และปลา gilthead seabream (Montero et al., 2001) ในทางตรงกันข้ามได้มีรายงานการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าวิตามินอีมีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตใน ปลาเรนโบว์เทร้า, sea bream, piracucu และ rohu (Tocher et al., 2002; Pearce et al., 2003; Sau et al., 2004; de Menezes et al., 2006) นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้พบว่าการเพิ่มการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารทดลองไม่มีผลต่อค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) แต่การศึกษาในปลา rohu พบว่าวิตามินอีมีผลต่อการลดค่า FCR (Sau et al., 2004)

จากผลการศึกษาครั้งนี้และจากผลการศึกษาที่ได้มีผู้อื่นรายงานไว้นั้น จะเห็นได้ว่าการเสริมวิตามินอีในอาหารทดลองมีผลต่ออัตราการรอด สมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อนั้นมีความหลากหลาย ความแตกต่างของผลของการเสริมวิตามินอีในปลา

ชนิดต่าง ๆ อาจเนื่องมาจากชนิดปลาที่ทดลอง ระยะการเจริญเติบโตของปลาที่ใช้ทดลอง และสภาวะการเลี้ยงที่ใช้ทดลอง

ในการศึกษาผลของวิตามินอีต่อค่าทางโลหิตวิทยาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอันเป็นผลเนื่องมาจากระดับวิตามินอี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยในปลา gilthead seabream (Montero et al., 2001) แต่ได้มีการรายงานถึงผลของวิตามินอีต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยาในปลา piracucu ปลา hybrid striped bass และ ปลา Piaractus mesopotamicus (de Menezes et al., 2006; Andrade et al., 2007; Garcia et al., 2007; Sealey et al., 2002a)

ค่าทางโลหิตวิทยาสามารถเป็นนำมาใช้ในการบ่งชี้ต่อการตอบสนองต่อความเครียดของสัตว์ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ภายใต้สภาวะที่ปลาดุกลูกผสมถูกทดสอบด้วยน้ำอุณหภูมิต่ำนั้น ปลาดุกลูกผสมที่ได้รับวิตามินอีปริมาณสูงมีค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูงขึ้น แสดงถึงภาวะ hemoconcentration ซึ่งได้มีการรายงานถึงสภาวะ hemoconcentration ในปลา gilthead seabream ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีการเสริมวิตามินอี และถูกทดสอบด้วยสภาวะความเครียด (Montero et al., 2001) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาว่าสภาวะความเครียดทำให้ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลาบางชนิดสูงขึ้น เช่นการศึกษาในปลา Brycon cephalus (Urbinati et al., 2004) และปลา sunshine bass (Davis, 2004) และได้มีการวิจัยพบว่าสภาพน้ำอุณหภูมิต่ำทำให้ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสูงขึ้นในปลา B. amazonicus (Inoue et al., 2008) และปลา Brook char (Diouf et al., 2000) แม้ว่าสภาวะความเครียดที่ส่งผลต่อค่าโลหิตวิทยาจะยังมีการอธิบายไว้มากนักในปลา แต่ได้มีรายงานการศึกษาถึงผลของความเครียดต่อค่าทางโลหิตวิทยาในคน (Allen and Patterson, 1995) สภาวะความเครียดทำให้เกิด hemoconcentration การเกิด hemoconcentration อาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น hemoconcentration อาจเกิดจากการที่ของเหลวจากพลาสมาเคลื่อนที่เข้าสู่เม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงเพิ่มปริมาตรสูงขึ้น และ hemoconcentration เกิดจากจำนวนเม็ดเลือดแดงที่เพิ่มขึ้นเนื่องมากจากอวัยวะที่สร้างเม็ดเลือดแดงมีการผลิตเม็ดแดงมากขึ้น นอกจากนี้ยังได้มีรายงานการศึกษาว่าฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับความเครียดมีผลต่อการเพิ่มขนาดของเม็ดเลือดแดง (Niminma and Huestis, 1984) ในการศึกษาครั้งนี้การเพิ่มขึ้นของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นแต่ค่าฮีโมโกลบินไม่เปลี่ยนแปลงนั้นน่าจะเป็นผลมาจากการเพิ่มขนาดของเม็ดเลือดแดง ซึ่งภาวะ hemoconcentration พบในกลุ่มทดลองที่ได้รับอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารสูง แสดงให้เห็นว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีที่ปริมาณสูงส่งผลเสียต่อปลาดุกลูกผสม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลาดุกลูกผสมที่อยู่ใต้สภาวะความเครียดจากน้ำอุณหภูมิต่ำ

เม็ดเลือดขาวเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่สำคัญต่อกระบวนการภูมิคุ้มกันปลา ในการศึกษาครั้งนี้พบผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนเม็ดเลือดขาว

เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกลูกผสมกลุ่มที่ไม่ได้รับอนุพันธ์วิตามินอีในอาหาร ได้มีการรายงานการศึกษาถึงผลของวิตามินอีต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของเม็ดเลือดขาว เช่น การศึกษาในปลา gilthead seabream และ P. mesopotamicus พบว่าวิตามินอีไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสัดส่วนเม็ดเลือดขาว neutrophil และ monocyte (Montero et al., 2001; Garcia et al., 2007) แต่มีการรายงานว่าวิตามินอีมีผลต่อการลดจำนวนเม็ดเลือดขาว lymphocyte ในปลา piracucu (de Menezes et al., 2006)

ได้มีรายงานการวิจัยพบว่าอุณหภูมิน้ำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของกรดไขมันใน lymphocyte plasma membrane (Bly et al., 1986; 1990) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการทดสอบอุณหภูมิน้ำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะปลาดุกลูกผสมที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้มีการเสริมอนุพันธ์วิตามินอี พบการลดลงของจำนวนเม็ดเลือดขาว lymphocyte และการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือด neutrophil และ monocyte ได้มีการรายงานถึงผลของวิตามินอีต่อการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดขาวในปลา P. mesopotamicus ในสภาวะที่ติดเชื้อ ถึงแม้ว่าสภาพการเปลี่ยนแปลงจะแตกต่างกับผลการศึกษาที่พบในครั้งนี้ (Garcia et al., 2007)

นอกจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเม็ดเลือดขาวจะใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาวะภูมิคุ้มกันในปลาแล้ว สัดส่วนของเม็ดเลือดขาว neutrophil ต่อ lymphocyte (N:L ratio) ยังได้นำมาใช้ในการแสดงถึงการตอบสนองต่อสภาวะความเครียดและฮอร์โมนกลูโคคอร์ติตอยด์ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง (Davis et al., 2008) ในการศึกษาครั้งนี้ภายใต้สภาวะที่ปลาดุกลูกผสมถูกทดสอบด้วยอุณหภูมิน้ำต่ำนั้น พบว่าปลาดุกลูกผสมที่ได้รับการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีจะมีค่า N:L ratio ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกลูกผสมที่ไม่ได้รับการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหาร ดังนั้นผลการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีในอาหารปลาดุกลูกผสมเป็นสิ่งที่จำเป็นแต่การเสริมในปริมาณต่ำ (125 mg/kg) ก็น่าจะเพียงพอต่อการรักษาสุขภาพปลาภายใต้สภาวะความเครียด

ในการทดลองครั้งนี้ไม่พบผลของการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีต่อค่ากิจกรรมของเอ็นไซม์ไลโซไซม์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาในปลา hybrid striped bass (Sealey and Gatlin, 2002a) นอกจากนี้ได้มีรายงานการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิน้ำต่อค่าไลโซไซม์ในซีรัมปลา เช่น มีการรายงานว่าปลานิลที่ถูกทดสอบด้วยน้ำเย็นมีค่าไลโซไซม์ต่ำลง ในทางตรงกันข้ามเมื่อปลานิลถูกทดสอบด้วยอุณหภูมิน้ำสูงขึ้นจะมีค่าไลโซไซม์สูงขึ้น (Ndong et al., 2007) ในการทดลองนี้พบว่าอุณหภูมิน้ำที่ต่ำลงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าไลโซไซม์เช่นเดียวกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มปลาดุกลูกผสมที่ไม่ได้รับอนุพันธ์วิตามินอี และพบว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีทุกระดับมีผลต่อการลดการเปลี่ยนแปลงของไลโซไซม์ในปลาดุกลูกผสมที่ถูกทดสอบด้วยอุณหภูมิน้ำเย็น หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีที่

ระดับต่ำสุดก็สามารถเพิ่มระดับไลโซไซม์ในสภาวะที่ปลาดุกลูกผสมเกิดความเครียดจากน้ำอุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตามได้มีรายงานที่ขัดแย้งกับการศึกษาครั้งนี้ในปลา gilthead seabream โดยพบว่าวิตามินอีไม่มีผลต่อการเพิ่มค่าไลโซไซม์ในสภาวะที่ปลาอยู่ในความเครียดอันเนื่องมาจากความหนาแน่นสูง

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินไม่มีผลต่อความแตกต่างของโปรตีนในเลือดอย่างมีนัยสำคัญ รายงานการวิจัยถึงผลของวิตามินอีต่อค่าโปรตีนในเลือดมีความหลากหลายขึ้นกับสภาวะการทดลอง เช่น การทดลองในปลา piracucu พบว่าการเสริมวิตามินอีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มค่าโปรตีนในเลือดในสภาวะการเลี้ยงในบ่อ แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มของโปรตีนในเลือดในการทดลองในกระชัง (de Menezes et al., 2006; de Andrade et al., 2007) และได้มีรายงานวิจัยในปลา hybrid striped bass และ gilthead seabream พบว่าการเสริมวิตามินอีไม่มีผลต่อค่าโปรตีนในเลือด (Montero et al., 2001; Sealey and Gatlin, 2002a) สำหรับผลของความเครียดต่อค่าโปรตีนในเลือดนั้น มีการศึกษาไม่มากนัก และผลก็ไม่เป็นไปในทางเดียวกัน เช่น การรายงานว่าความเครียดมีผลทำให้ค่าโปรตีนในเลือดสูงขึ้น (Montero et al., 2001) และต่ำลง (Svobodova et al., 2006) สำหรับในการศึกษาครั้งนี้ก็ไม่พบผลของการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่อค่าโปรตีนในน้ำเลือดในทุกกลุ่มทดลองของปลาดุกลูกผสม

รายงานการศึกษาอื่น ๆ ที่ผ่านมาพบว่าวิตามินอีไม่มีผลต่อค่าอิมมูโนโกลบูลิน นอกจากนี้ยังไม่พบผลของสภาวะความเครียดอันเนื่องมากจากความหนาแน่นสูงต่อค่าอิมมูโนโกลบูลิน (Montero et al., 1999; Sealey and Gatlin, 2002a) อย่างไรก็ตามผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าการสริมอนุพันธ์วิตามินอีมีผลต่อการเพิ่มค่าอิมมูโนโกลบูลินของปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะความเครียดจากอุณหภูมิน้ำต่ำ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการเสริมอนุพันธ์วิตามินอีที่ระดับต่ำที่สุด (125 mg/kg) เพียงพอต่อการเพิ่มภูมิต้านทานโรคของปลาดุกลูกผสมภายใต้สภาวะความเครียด