

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



250406



ผลของการเพาะพันธุ์และการดัดแปลงพันธุ์ปลากัดแม่น้ำ ที่ يؤثرต่อการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน และโครงสร้างภายในของร่างกายในปลาครก杂交种

EFFECTS OF MELAMINE ON GROWTH, IMMUNITY, BLOOD INDICES
AND HISTOPATHOLOGY OF HYBRID CATFISH,
CLARIA MACROCEPHALUS X C. GARIEPINUS

นางสาวปาริชยา ฤทธิ์สกุล

วิทยานิพนธ์ปริญญาโททางการเกษตรมหาวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

๒๕๕๓

b00254783



250406



ผลของเมลามีนต่อการเจริญเติบโต ระดับภูมิคุ้มกัน ค่าโลหิตวิทยา
และพยาธิสภาพในปลาดุกสูกผสม

EFFECTS OF MELAMINE ON GROWTH, IMMUNITY, BLOOD INDICES
AND HISTOPATHOLOGY OF HYBRID CATFISH,
CLARIA MACROCEPHALUS X C. GARIEPINUS



นางสาวปาริณัตร กุนແກ้ว

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พ.ศ. 2553

ผลของเมลามีนต่อการเจริญเติบโต ระดับภูมิคุ้มกัน ค่าโลหิตวิทยา
และพยาธิสภาพในปลาดุกสูกผสม

นางสาวปริจัตร กุนແກ້ວ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

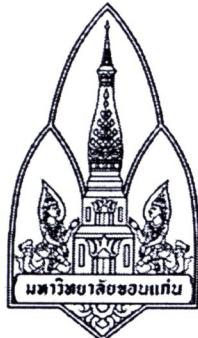
พ.ศ. 2553

**EFFECTS OF MELAMINE ON GROWTH, IMMUNITY, BLOOD INDICES
AND HISTOPATHOLOGY OF HYBRID CATFISH,
CLARIA MACROCEPHALUS X C. GARIEPINUS**

MISS PARICHA T KUBKAEW

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN VETERINARY PUBLIC HEALTH GRADUATE
SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY**

2010



ในรับรองวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
หลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข

ชื่อวิทยานิพนธ์: ผลงานเมามีนต่อการเจริญเติบโต ระดับภูมิคุ้มกัน ค่าโลหิตวิทยา^{และพยาธิสภาพในปลาดุกถูกผสม}

ชื่อผู้กำกับวิทยานิพนธ์: นางสาวปาริษัตร กุนแก้ว

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์: อ.ดร. พิรพรรณ โปcharajivijit ประธานกรรมการ
รศ. ดร. บัณฑิตย์ เติงเจริญกุล กรรมการ
รศ. ดร. คงกริช พิมพ์ภักดี กรรมการ
ผศ. ดร. พีระพล สุขอ้วน กรรมการ
อ.ดร. ปิยะวัฒน์ สายพันธุ์ กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:

อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. บัณฑิตย์ เติงเจริญกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. คงกริช พิมพ์ภักดี)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พีระพล สุขอ้วน)

(รองศาสตราจารย์ ดร. คำปาง แม่นมาตย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. ศุภีรัตน์ เอี่ยมละมัย)

คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปาริพัตร กุนແກ້ວ. 2553. ผลของเมลามีนต่อการเจริญเติบโต ระดับภูมิคุ้มกัน ค่าโลหิตวิทยาและพยาธิสภาพในปลาดุกสูกผสม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ. ดร. บัณฑิตย์ เถื่งเจริญกุล, รศ. ดร. คงกริช พิมพ์กัคดี,
ผศ. ดร. พีระพล สุขอ้วน

บทคัดย่อ

250406

การศึกษารังนี้เพื่อศึกษาผลกระทบของสารเมลามีนต่อการเจริญเติบโต ระดับภูมิคุ้มกัน ค่าโลหิตวิทยา และพยาธิสภาพ เมื่อปลาดุกสูกผสมได้รับอาหารป่นเป็นเมลามีน ทำการทดลองโดยผสมสารเมลามีนในอาหารที่ความเข้มข้น 0, 1, 2, 4, 8 และ 16 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักอาหารแก่ปลาดุกสูกผสม น้ำหนักเฉลี่ย 50 กรัม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการบันทึกและวิเคราะห์ข้อมูล ด้านการเจริญเติบโต ระดับแอนติบอดีไทด์เรตต์อ่อนตัว *Aeromonas hydrophila* ค่าโลหิตวิทยา พยาธิสภาพเนื้อเยื่อ ไต ตับ และม้ามของปลาดุกสูกผสม จากการศึกษาพบว่าเมลามีนส่งผลให้การเจริญเติบโตเคลื่ย ปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัตราลดลง ค่าแอนติบอดีไทด์เรตต์ และสัดส่วนโซเดียมต่อโพแทสเซียมของปลาดุกลดลง เมื่อได้รับอาหารที่ป่นเป็นเมลามีนในความเข้มข้นที่สูงขึ้น โดยเฉพาะความเข้มข้นตั้งแต่ 4 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ส่วนจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวระดับความเข้มข้นของยูเรียในตับ เกิน คริโอทีนินและเอนไซม์แอส帕เตสอะมิโนทรานส์ฟอร์เรสเพิ่มขึ้น เมื่อได้รับอาหารป่นเป็นเมลามีนในความเข้มข้นที่สูงขึ้น กลุ่มที่ได้รับเมลามีนเข้มข้น 16 เปอร์เซ็นต์มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด และแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับเมลามีนความเข้มข้น 2, 4 และ 8 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) นอกจากนี้เมลามีนทำให้ตับ ไต และม้ามเกิดพยาธิสภาพโดยพบผลลัพธ์เมลามีนลักษณะกลมสีเขียวในตับ กระหายในทุกเนื้อเยื่อ จึงสรุปได้ว่าเมลามีนป่นเป็นในอาหารโดยเฉพาะที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 4 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีผลต่อการเจริญเติบโต ระดับภูมิคุ้มกัน ค่าโลหิตวิทยา รวมทั้งก่อให้เกิดพยาธิสภาพในตับ ไต และม้ามของปลาดุกสูกผสม

Parichat Kubkaew. 2010. **Effects of melamine on growth, immunity, blood indices and histopathology of the hybrid catfish, *Clarius macrocephalus* x *C. gariepinus***

Master of science in Veterinary Public Health , Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Assoc. Prof Dr. Bundit Tengjaroenkul, Assoc. Prof Dr. Komkrich Pimpukdee,
Asst. Prof Dr. Peerapol Sukon

ABSTRACT

250406

The aim of this study was to investigate the effects of melamine on growth, immunity, blood indices and histopathology in the hybrid catfish, *Clarius macrocephalus* x *C. gariepinus*. Juvenile hybrid catfish weighed about 50 g were fed with diets containing melamine at 0, 1, 2, 4, 8 and 16 % (w/w) for 8 weeks. At the end of experiment, body weight, antibody titer against *Aeromonas hydrophila*, blood indices and histopathology of the catfish were collected and analyzed. The result of this study show melamine was able to decrease growth performance, hematocrit, antibody titer and ratio of sodium and potassium, particularly in fish group fed on melamine at 4% (w/w) and higher. Furthermore, the melamine contaminated diet affect the increment of white blood cell count, blood urea nitrogen, creatinine and aspartate amino transferase. Among fish groups, 16% (w/w) melamine fed fish had the greatest value with significant difference from the other group. Histopathologically, cellular lesions were found in liver, kidney and spleen of the melamine fed fish. Round green-brown melamine crystals deposited in all of the collected tissues. In Conclusion, melamine in the diet at 4% (w/w) and higher likely demonstrates negative effect on growth, blood indices, antibody titer and histopathological lesions of the hybrid catfish.

งานวิทยานิพนธ์นี้ขอมอบส่วนดีให้บุพการีและคณาจารย์

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์เป็นอย่างดี เพราะได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักของศาสตราจารย์ ดร. บัณฑิตย์ เตึงเจริญกุลและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รองรองศาสตราจารย์ ดร. คมกริช พิมพ์ภักดี และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พีระพล สุขอ้วน ที่ได้ให้คำแนะนำในทุกขั้นตอนที่ทำการศึกษารายวิชาวิทยานิพนธ์ การวางแผนการศึกษาทั้งหลักสูตร การออกแบบการทดลอง กระบวนการศึกษาทดลองเพื่อให้ได้คำตอบที่ถูกต้องตามหลักวิชาการ สนับสนุนและเปิดโอกาสให้ได้รับทุนในการศึกษาการวิจัยและการนำเสนอผลงานตลอดจนการเขียนรายงานทางวิชาการเพื่อนำเสนอผลงานวิจัย การตรวจสอบ แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของงานทุกอย่าง รวมทั้งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างยิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พีระพล สุขอ้วน คุณสุรพงษ์ โยwaree คุณชนพูพรรณ ม่วงลาย และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาภาษาไทยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี อุปกรณ์ในการเตรียมเนื้อเยื่อ รวมทั้งช่วยเหลือในการเตรียมเนื้อเยื่อ เพื่อศึกษาทางพยาธิวิทยา

ขอกราบขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาวิจัยนี้

ขอขอบคุณนักศึกษาปริญญาโท ภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการศึกษาทดลองมา

สุดท้ายผลลัพธ์จะเป็นประโยชน์ ความดีความงามทั้งปวง ที่เกิดขึ้นจากการศึกษาวิทยานิพนธ์นี้ ขอขอบคุณแด่บิดา-มารดาของข้าพเจ้าที่เคารพยิ่งและหากมีข้อบกพร่องด้วยประการใดๆ ผู้วิจัยขอรับไว้ด้วยความขอบคุณยิ่ง

ประพันธ์ กุนແກ້ວ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	๑
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	๔
คำอุทิศ	๕
กิตติกรรมประกาศ	๙
สารบัญตาราง	๙
สารบัญภาพ	๙
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ	๙
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัจุหานิพัทธิ์	1
2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
3. ขอบเขตงานวิจัย	3
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
1. ชีววิทยาปลาดุก	4
2. สารเมลามีน	5
3. การศึกษาค่าโลหิตวิทยา	13
4. ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ	15
5. วัคซีน	17
6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	27
1. การเตรียมตัวอย่างปลาที่ใช้ศึกษาและการเลี้ยง	27
2. การเตรียมอาหาร	27
3. การเตรียมวัคซีนและแอนติเจน	28
4. การให้วัคซีนปลา	28
5. การเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ	28
6. การวัดการเจริญเติบโต	29

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
7. การทดสอบวัสดุดับของภูมิคุ้มกัน	29
8. การศึกษาเกี่ยวกับค่าโลหิตวิทยา	31
9. การศึกษาทางพยาธิวิทยา	33
10. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	34
บทที่ 4 ผลการวิจัย	35
1. ผลของเมลามีนป่นเปี้ยนในอาหารต่อการเจริญเติบโต	35
2. ผลของเมลามีนป่นเปี้ยนในอาหารต่อการสร้างแอนติบอดี	36
3. ผลของเมลามีนป่นเปี้ยนในอาหารต่อค่าโลหิตวิทยา	37
4. ผลของเมลามีนป่นเปี้ยนในอาหารต่อพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อ	42
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง	51
1. ผลของเมลามีนต่อการเจริญเติบโต	51
2. ผลของเมลามีนต่อการสร้างแอนติบอดี	51
3. ผลของเมลามีนต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีในเลือด	52
4. ผลของเมลามีนต่อพยาธิสภาพเนื้อเยื่อ	53
บทที่ 6 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	54
1. สรุปผล	54
2. ข้อเสนอแนะ	54
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก	65
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี	66
ภาคผนวก ข กระบวนการทำสีไอล์ด์โดยกรรมวิธีพาราฟิน	71
ภาคผนวก ค ขั้นตอนและการเตรียมเนื้อเยื่อโดยใช้เครื่องมืออัตโนมัติ	75
ภาคผนวก ง วิธีการย้อมสี	77
ภาคผนวก จ สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง	80
ภาคผนวก ฉ ดัชนีคุณภาพนำ้ในบ่อลېိုงปลาในระบบของการวิจัย	83
ประวัติผู้เขียน	85

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงการแบ่งกลุ่มการทดลองของปลาคูกลูกพสม ในการวิจัยทั้งหมด 6 กลุ่มตามระดับของสารเมลามีนที่ได้รับแตกต่างกัน	27
ตารางที่ 2 การเริญเดิน โถเคลือบของปลาคูกลูกพสมที่ได้รับอาหารที่มีการป่นเปี้ยนเมลามีนที่ระดับแตกต่างกัน	35
ตารางที่ 3 ค่าแอนติบอดี้トイเตอร์ของปลาคูกลูกพสมแต่ละกลุ่มการทดลองหลังจากได้รับอาหารที่มีการป่นเปี้ยนเมลามีนในระดับแตกต่างกันหลังจากได้รับวัคซีนครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2	36
ตารางที่ 4 ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (เพอร์เซ็นต์) เคลื่ยของปลาคูกลูกพสมที่ได้รับอาหารมีการป่นเปี้ยนเมลามีนที่ระดับแตกต่างกัน	37
ตารางที่ 5 ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาว ($\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร) เคลื่ยของปลาคูกลูกพสมที่ได้รับอาหารที่มีการป่นเปี้ยนเมลามีนที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน	38
ตารางที่ 6 ระดับยูเรียในไตรเจนของปลาคูกลูกพสมที่ได้รับอาหารป่นเปี้ยนเมลามีนที่ระดับแตกต่างกัน	39
ตารางที่ 7 ระดับของครีเอทีนีนของปลาคูกลูกพสมที่ได้รับอาหารมีการป่นเปี้ยนเมลามีนที่ระดับแตกต่างกัน	40
ตารางที่ 8 ระดับของเอนไซม์แอส帕เทตอะมิโนทรานส์เฟอเรสของปลาคูกลูกพสมที่ได้รับอาหารมีการป่นเปี้ยนเมลามีนที่ระดับแตกต่างกัน	41
ตารางที่ 9 สัดส่วนของโซเดียมต่อโพแทสเซียมของปลาคูกลูกพสมที่ได้รับอาหารมีการป่นเปี้ยนเมลามีนที่ระดับแตกต่างกัน	42

สารบัญภาพ

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 11 แสดงลักษณะโครงสร้างของเซลล์เนื้อเยื่อน้ำนมของปลาดุกสูกผสมกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการปนเปี้ยนเมลามีนระดับ 8 เปอร์เซ็นต์ ภายในได้กล้องจุลทรรศน์ธรรมชาติ	50
ภาพที่ 12 แสดงลักษณะโครงสร้างของเซลล์เนื้อเยื่อน้ำนมของปลาดุกสูกผสมกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการปนเปี้ยนเมลามีนระดับ 16 เปอร์เซ็นต์ ภายในได้กล้องจุลทรรศน์ธรรมชาติ	50

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

AST	aspartate aminotransferase
BUN	blood urea nitrogen
BHIA	brain heart infusion agar
BHIB	brain heart infusion broth
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
$\text{C}_3\text{H}_6\text{N}_6$	melamine
$\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_5\text{O}$	ammeline
$\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_2$	mmelide
$\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_3$	cyanuric acid
C_{\max}	maximum concentration of melamine in plasma
CMIR	cell mediated immune response
CO	corn oil
CRD	completely randomized design
DDGS	dry distillers grains with soluble
DHS	U.S. Department of Homeland Security
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	enzyme - linked immunosorbent assay
EPA	United States Environmental Protection Agency
FAO	Food and Agriculture Organization of The United Nations
FO	fish oil
g	gram
GC-MS	gas chromatography - mass spectrometry

รายการศัพท์ภาษาญี่ปุ่นและคำย่อ (ต่อ)

H&E	hematoxylene & eosin stain
HIR	humural immune response
HPLC	high performance liquid chromatography
IARC	International Agency for Research on Cancer
IM	intramuscular injection
IP	intraperitoneal injection
K ⁺	potassium ion
kg	kilogram
LC-MS/MS	liquid chromatography-mass spectrometry/ mass spectrometry
l/h/Kg	liter per hour per kilogram
LD ₅₀	lethal dose 50
MF	melamineformaldehyde resin
mg/kg	milligram per kilogram
MUF	melamineureaformaldehyde resin
Na ⁺	sodium ion
NaCl	sodium Chloride
NPN	non - protein nitrogen compound
NOAEL	no – observed – adverse – effect - level
O	olein
PCV	packed cells volume

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

ppm	part per million
PUFA	polyunsaturated fatty acids
SA	stearic acid
SER	surface enhance raman spectroscopy
TDI	tolerable daily intake dose
UF	polyureaformaldehyde resin
USDA	United States Department of Agriculture
US-FDA	The United States Food and Drug Administration
USRR	Union of Soviet Socialist Republics
w/w	weight by weight
WHO	World Health Organization