

บทที่ 4

ผลการศึกษา

จากการทดลองเลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus*) น้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นประมาณ 10 กรัม ในกระชังขนาด 3 x 4 x 2 เมตร ในบ่อดิน ด้วยอาหารที่มีระดับโปรตีน 30% ซึ่งผสม chitosan และ levamisole ที่ระดับต่างๆ ประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 (T1) ชุดควบคุม ให้อาหารปกติ ชุดการทดลองที่ 2 (T2) ให้อาหารผสม chitosan ที่ระดับ 1% ชุดการทดลองที่ 3 (T3) ให้อาหารผสม levamisole ที่ระดับ 250 mg/kg อาหาร และชุดการทดลองที่ 4 (T4) ให้อาหารผสม chitosan 1% และ levamisole 250 mg/kg อาหาร ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ แล้ววัดอัตราการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอด หลังสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม chitosan ที่ระดับ 1% (T2), levamisole ที่ระดับ 250 mg/kg อาหาร (T3) และ chitosan และ levamisole (T4) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ไม่มีความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะภายในกลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารผสม chitosan และ levamisole (T2, T3 และ T4) และในทำนองเดียวกัน ปลาในชุดการทดลอง T2, T3 และ T4 มีอัตราการแลกเนื้อ (FCR) ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งบ่งชี้ประสิทธิภาพในการใช้อาหารที่สูงกว่าของปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม chitosan และ levamisole เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อย่างไรก็ตามพบว่าปลานิลในทุกชุดการทดลองมีอัตราการรอดตลอดการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ (อัตราการรอดอยู่ระหว่างร้อยละ 75.33 – 80.67) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดของปลาทดลอง แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate) อัตราการแลกเนื้อ (FCR) และอัตราการรอด (Survival rate) ของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Treatment	Specific growth rate (% day ⁻¹)	FCR	Survival rate (%)
T1	2.66±0.10 ^a	1.66±0.14 ^a	75.33±1.15 ^a
T2	2.98±0.05 ^b	1.27±0.04 ^b	79.33±5.77 ^a
T3	2.96±0.06 ^b	1.31±0.06 ^b	76.66±5.03 ^a
T4	2.84±0.03 ^b	1.41±0.06 ^b	80.67±6.43 ^a

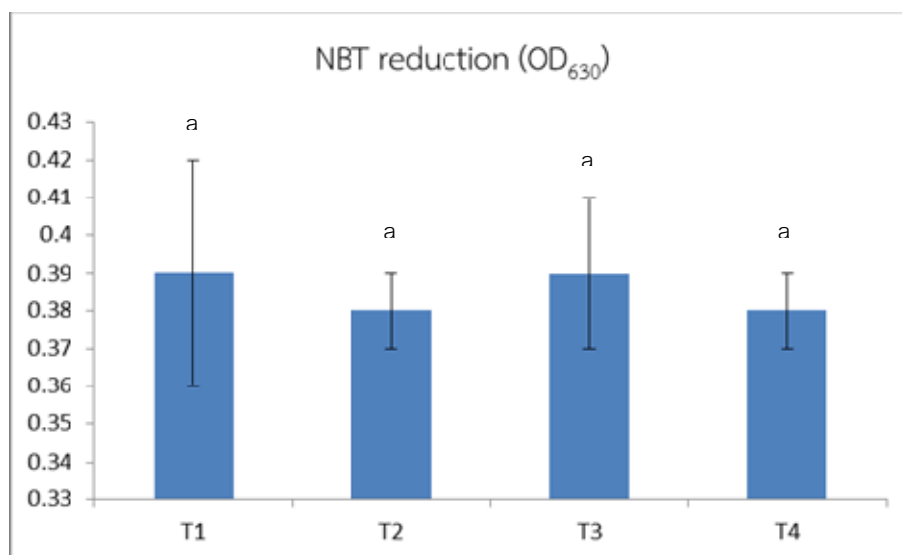
Values (mean±s.d.) followed by the different letter in a column differ significantly at $P = 0.05$

หลังจากสิ้นสุดการทดลองให้อาหารเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เก็บเลือดมาวิเคราะห์ค่าปัจจัยทางด้านภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลาทดลองที่ได้รับอาหารผสม chitosan และ levamisole ที่ระดับต่างๆ กัน ผลการวิเคราะห์พบว่าปลานิลชุดที่ได้รับอาหารผสม chitosan ที่ระดับ 1% (T2) ชุดที่ได้รับ levamisole ที่ระดับ 250 mg/kg อาหาร (T3) และชุดที่ได้รับ chitosan 1% และ levamisole 250 mg/kg อาหาร (T4) มีค่า Lysozyme activity ซึ่งเป็นค่าความว่องไวของปฏิกิริยาของ lysozyme ในน้ำเลือดในการย่อยสลายเซลล์แบคทีเรีย และค่ากิจกรรมของโปรตีน complement ในน้ำเลือด (Alternative complement activity) ในการย่อยสลายเซลล์เม็ดเลือดแดง (ACH50) สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในชุดควบคุม ในขณะที่ไม่มีความแตกต่างของ lysozyme activity และ complement activity ภายในกลุ่มปลานิลที่ได้รับอาหารผสม chitosan และ levamisole (T2, T3 และ T4) ในขณะที่พบว่าทั้ง chitosan และ levamisole ไม่มีผลต่อการกระตุ้นการหายใจระดับเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว (respiratory burst of phagocytic cells) ของปลานิล สังเกตจากค่า NBT reduction (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 630 นาโนเมตร) ที่ไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง ค่าปัจจัยทางด้านภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลาทดลองที่ได้รับอาหารผสม chitosan และ levamisole ที่ระดับต่างๆ กัน แสดงไว้ในตารางที่ 3 และภาพที่ 3, 4 และ 5)

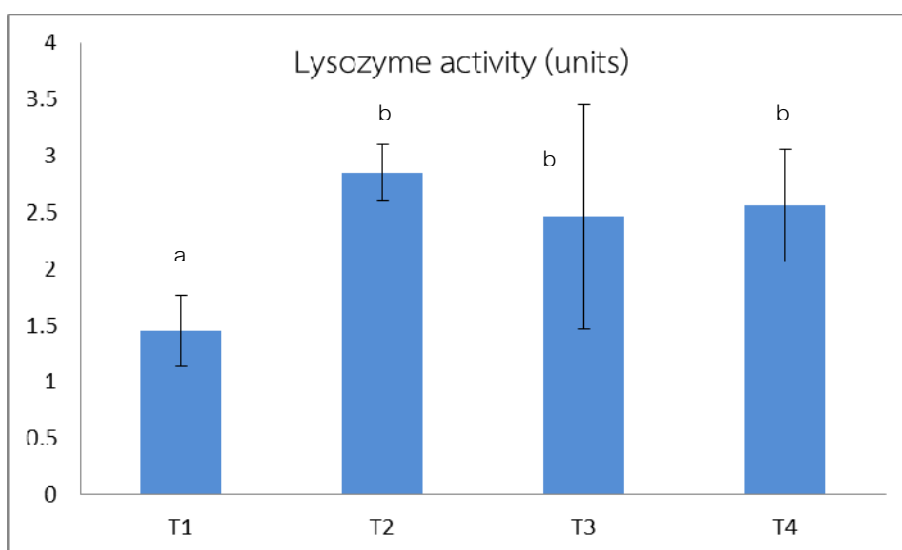
ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของปัจจัยทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (NBT reduction, Lysozyme activity และ Natural haemolytic complement activity) ของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 12 สัปดาห์

Treatment	NBT reduction (OD ₆₃₀)	Lysozyme activity (units)	Natural haemolytic complement activity (ACH50)
T1	0.39±0.03 ^a	1.45±0.31 ^a	0.580±0.062 ^a
T2	0.38±0.01 ^a	2.85±0.25 ^b	2.287±0.173 ^b
T3	0.39±0.02 ^a	2.46±0.99 ^b	3.176±0.662 ^b
T4	0.38±0.01 ^a	2.56±0.50 ^b	2.637±0.468 ^b

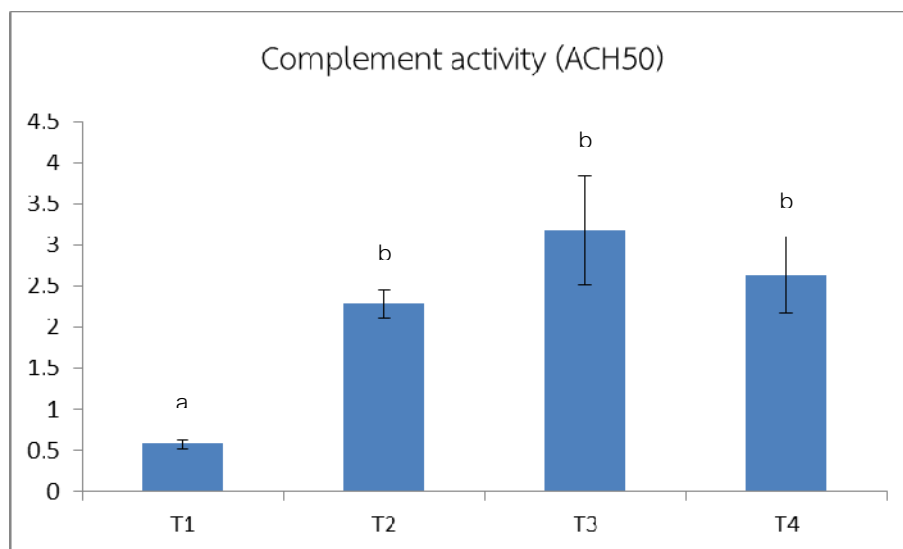
Values (mean±s.d.) followed by the different letter in a column differ significantly at $P = 0.05$



ภาพที่ 3 แสดงค่า NBT reduction ของปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม chitosan ที่ระดับ 1% (T2) levamisole ที่ระดับ 250 mg/kg อาหาร (T3) และ chitosan 1% และ levamisole 250 mg/kg อาหาร (T4) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)



ภาพที่ 4 แสดงค่า Lysozyme activity ของปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม chitosan ที่ระดับ 1% (T2) levamisole ที่ระดับ 250 mg/kg อาหาร (T3) และ chitosan 1% และ levamisole 250 mg/kg อาหาร (T4) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)



ภาพที่ 5 แสดงค่า Natural haemolytic complement activity ของปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม chitosan ที่ระดับ 1% (T2) levamisole ที่ระดับ 250 mg/kg อาหาร (T3) และ chitosan 1% และ levamisole 250 mg/kg อาหาร (T4) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

หลังจากการทดลองให้อาหารผสม chitosan และ levamisole ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์แล้ว นำปลาทดลองในแต่ละชุดการทดลองจำนวน 30 ตัว มาทดสอบความต้านทานโรค โดยชักนำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญของปลานิล โดยวิธีการแพร่กระจายเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 10^8 CFU/ml บันทึกอัตราการตายสะสมของปลาทดลองทุกวันเป็นเวลา 10 วัน ผลการทดลองพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสม chitosan และ levamisole ทุกชุดการทดลองมีอัตราการรอดจากการชักนำให้เกิดการติดเชื้อสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (อัตราการรอดอยู่ระหว่าง 95.23 – 97.77 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาในชุดควบคุม ซึ่งมีอัตราการรอดอยู่ที่เพียง 58.06 เปอร์เซ็นต์ อัตราการรอดของปลาทดลองหลังจากถูกชักนำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ของปลาทดลองที่ได้รับอาหารผสม chitosan และ levamisole ที่ระดับต่างๆ กัน แสดงไว้ในตารางที่ 4

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าอัตราการรอดของปลาทดลองหลังจากถูกชักนำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* สัมพันธ์กับค่าปัจจัยทางด้านภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ได้แก่ lysozyme activity และ complement activity ที่เพิ่มสูงขึ้นหลังจากปลาได้รับอาหารผสม chitosan และ levamisole ความต้านทานโรค chitosan และ levamisole จึงมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและนำไปสู่ความต้านทานโรคของปลานิล

ตารางที่ 4 แสดงอัตราการรอด (survival rate) ของปลาทดลองหลังได้รับการชักนำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* โดยวิธีการแช่เป็นเวลา 10 วัน

Treatment	Survival rate after bacterial challenge (%)
T1	58.06±3.73 ^a
T2	97.72±4.37 ^b
T3	97.77±5.18 ^b
T4	95.23±5.42 ^b

Values (mean±s.d.) followed by the different letter in a column differ significantly at $P = 0.05$