

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้ พบพยาธิใบไม้ 3 ชนิดจากกระเพาะไส้ริ้วของโค (*Bos indicus*) ในอำเภอเมืองของจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน คือ *Fischoederius elongatus*, *Orthocoelium streptocoelium* และ *Paramphistomum epiclitum* ในขณะที่ Sey et al., (1994) สํารวจพยาธิใบไม้ในกระเพาะไส้ริ้วของโคในจังหวัดสิงห์บุรีและกรุงเทพฯ พบพยาธิใบไม้นอกเหนือจากการศึกษาในครั้งนี้ถึง 6 ชนิด ได้แก่ *Gastrotylax crumenifer*, *Carmyerius spatiosus*, *O. dicranocoelium*, *O. parvipapillatum*, *P. ichikawai* และ *Calicophoron calicophorum* ทั้งนี้เนื่องด้วยการศึกษาในครั้งนี้สํารวจพยาธิใบไม้จากโคจำนวนไม่มากนัก จึงทำให้มีโอกาพบพยาธิได้น้อยกว่านั่นเอง ดังนั้นถ้าหากมีการขยายการศึกษาออกไปโดยการเพิ่มจำนวนของสัตว์รวมถึงเพิ่มชนิดและตำแหน่งที่ทำการสํารวจคาดว่าจะพบชนิดของพยาธิใบไม้ในพื้นที่นี้ได้มากขึ้น

จากการสํารวจพบค่า prevalence รวมของจังหวัดเชียงใหม่และลำพูนมีค่าสูงถึง 78.39% แสดงว่ามีการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้ในกระเพาะไส้ริ้วของโคเป็นอย่างมาก และเมื่อเปรียบเทียบค่า prevalence รวมของจังหวัดเชียงใหม่และลำพูนพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% โดยค่า prevalence รวมของจังหวัดเชียงใหม่มีค่าสูงกว่าจังหวัดลำพูน (87.5% และ 71.43% ตามลำดับ) และเมื่อเทียบค่า prevalence ของพยาธิแต่ละชนิดระหว่างจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดลำพูนก็พบว่าค่า prevalence ของพยาธิแต่ละชนิดมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับค่า prevalence รวมของแต่ละจังหวัด ซึ่งค่าเหล่านี้สะท้อนให้เห็นถึงสภาพการเลี้ยงโคของเกษตรกรยังขาดความรู้ที่เหมาะสมด้านวิชาการเกี่ยวกับหลักการจัดการเลี้ยงดูหลักการให้อาหารตลอดจนด้านการควบคุมป้องกันโรคต่างๆ นับว่าเป็นอุปสรรคเป็นอย่างมากในด้านการเพิ่มผลผลิตโค อันจะส่งผลโดยตรงต่อรายได้ของเกษตรกรเองด้วย (ภาควิชาสัตวบาล, 2525; ศรีเทพ, 2539)

พยาธิใบไม้ในกลุ่มที่ทำการศึกษานี้ยากที่จะจัดจำแนกจากลักษณะทางกายวิภาค ถึงแม้ว่าจะมีวิธี histological examination เข้ามาช่วยในการจำแนกก็ตามแต่การทำค่อนข้างใช้เวลาและลักษณะที่ดูค่อนข้างยาก ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้นำเอาเทคนิค HAT-RAPD ซึ่งประยุกต์มาจากเทคนิค RAPD แต่ให้ผลที่ดีกว่าคือลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้มีความแตกต่างกันระหว่างสายพันธุ์พร้อมทั้งมีความชัดเจนมากขึ้น และผลของการทำปฏิกิริยายังมีความสม่ำเสมอ ซึ่งเทคนิค RAPD จะมี

ปัญหาเกี่ยวกับความสม่ำเสมอจากผลของการทำปฏิกิริยา จากการสุ่มใช้ arbitrary primer จำนวนทั้งหมด 6 primers พบว่า 5 primers สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ที่มีลักษณะเป็น polymorphism และแต่ละ primer ก็ให้แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีลักษณะเฉพาะตัว การศึกษาแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจาก 5 primers พบว่าเกิดแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 61 แถบ น้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 135-3450 bp. และเกิดแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันจำนวน 50 แถบ ซึ่งใช้แยกความแตกต่างระหว่างชนิดพยาธิได้

แบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจาก 5 primers ได้แก่ OPA-02, OPA-04, OPB-18, OPC-09 และ OPH-11 เมื่อนำไปวิเคราะห์ผลเพื่อหาความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันระหว่างชนิดพยาธิโดยใช้ cluster analysis ในโปรแกรม SPSS พบว่าสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ *S. falcatu* อยู่ในกลุ่มแรก กลุ่มที่สองคือ *P. epiclitum*, *O. streptocoelium* และ *F. elongatus* ซึ่งในกลุ่มที่สองนี้ยังแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยคือ *P. epiclitum* และ *O. streptocoelium* อยู่ในกลุ่มย่อยแรก และกลุ่มย่อยที่สอง ได้แก่ *F. elongatus* และเมื่อไปดูค่า similarity index ที่คำนวณได้จากสูตรของ Nei and Li (1979) พบว่าแนวโน้มไปในทางเดียวกันซึ่งสอดคล้องกับหลักทางอนุกรมวิธาน กล่าวคือพยาธิทั้งสามชนิด ได้แก่ *P. epiclitum*, *O. streptocoelium* และ *F. elongatus* จัดอยู่ใน family เดียวกัน ส่วน *P. epiclitum* และ *O. streptocoelium* อยู่ใน subfamily เดียวกัน และ *S. falcatu* ซึ่งใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ในการศึกษาในครั้งนี้ ก็แยกออกไปเป็นอีกกลุ่มหนึ่งอย่างชัดเจน

จากการใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อวิเคราะห์พันธุกรรมของ *P. epiclitum*, *O. streptocoelium* และ *F. elongatus* ซึ่งเตรียมดีเอ็นเอจากพยาธิใบไม้ที่ได้จากโคจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 3 ตัว โคจากจังหวัดลำพูน 3 ตัว แล้วนำไปเพิ่มขยายปริมาณโดยอาศัยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ arbitrary primer จำนวน 10 primers พบว่าสามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ได้ทั้งหมด แต่น้ำหนักโมเลกุลของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกัน (monomorphic bands) ดังนั้นลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพยาธิที่ได้จึงไม่แตกต่างกันทั้งนี้อาจเนื่องจากจังหวัดเชียงใหม่และลำพูนมีอาณาเขตติดต่อกันจึงมีการแลกเปลี่ยนโคระหว่างพื้นที่ได้ง่าย เมื่อเทียบกับการศึกษา *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 จากปลา Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) จากแม่น้ำ 3 สายที่แยกจากกันชัดเจน โดยใช้เทคนิค RAPD ผลการศึกษาแสดงให้เห็น genetic variations ระหว่างกลุ่มประชากรของ *G. salaris* (Cunningham and Mo, 1997)

จะเห็นได้ว่าเทคนิค HAT-RAPD เป็นวิธีการที่ง่ายและสะดวกสามารถนำมาช่วยในการจัดจำแนกและวิเคราะห์พันธุกรรมของพยาธิได้ดี จากการทดลองพบว่าแต่ละ primer สามารถใช้แยกความแตกต่างของพยาธิใบไม้ *F. elongatus*, *O. streptocoelium*, *P. epiclitum* และ *S. falcatu* ได้

พร้อมทั้งแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิคนี้ยังความเฉพาะตัวในพยาธิแต่ละชนิด สามารถพัฒนาต่อไปเพื่อหา specific primer สำหรับพยาธิแต่ละชนิดได้

จากการวิจัยในครั้งนี้ทำให้ทราบถึงชนิดของพยาธิใบไม้จากกระเพาะลำไส้วัวโคในจังหวัด เชียงใหม่และลำพูน รวมทั้งข้อมูลที่ได้จากเทคนิค HAT-RAPD ก็สามารถนำไปสนับสนุนงานด้าน อนุกรมวิธานของพยาธิในกลุ่มนี้ได้