บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ความผิดปกติและพฤติกรรมของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ

ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเริ่มให้อาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ต่างกัน 6 ระดับ ปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ระดับสูงสุด (2,500 พีพีบี) แสดงพฤติกรรมเฉื่อยชา หลบตามมุมตู้ แสดงอาการไม่ยอมรับอาหารตั้งแต่เริ่มให้อาหารทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง โดยปลาจะแสดงอาการหิวชัดเจนแต่เมื่อให้อาหาร จะแสดงพฤติกรรมการกินอาหารที่ต่างไปจากปกติ คือ เข้ามาดมอาหารแต่ไม่กิน แล้วว่ายหนี วนเวียนหลายรอบกว่าจะกิน และเมื่อกินเข้าไปแล้วก็จะพ่นอาหารออกมาใหม่ ใช้เวลานานกว่าจะกินอาหารจนหมด ช่วงสัปดาห์สุดท้ายปลากินอาหารไม่หมดตามเปอร์เซ็นต์ที่ให้ ในขณะที่ปลากลุ่มอื่นๆ แสดงความอยากอาหารปกติดี การปิดเปิดของแผ่นปิดเหงือก (gill cover) จะเร็วขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ระดับสูงขึ้น สำหรับรูปร่างลักษณะภายนอก ไม่พบความผิดปกติทุกชุดการทดลอง

3.2 การเจริญเติบโตและการรอดตาย

3.2.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 6 สูตรตลอดระยะเวลาการทดลอง 5 สัปดาห์ พบว่าปลามีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาของการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 10 และภาพที่ 2 โดยที่น้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัวปลาในสัปดาห์แรกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อยู่ในช่วง 6.76 $\pm$ 0.09 ถึง 6.44 $\pm$ 0.20 กรัม เริ่มมีความแตกต่างกันเมื่อเลี้ยงได้ 2 สัปดาห์ โดยน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 ถึง 5 (0-1,000 พีพีบี) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อยู่ในช่วง 9.48 $\pm$ 0.12 ถึง 9.33 $\pm$ 0.27 กรัม ในขณะที่ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$สูงสุด (2,500 พีพีบี) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวต่ำที่สุดแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ ($p<0.05$) คือ 8.82 $\pm$ 0.28 กรัม จนกระทั่งสัปดาห์ที่ 5 ปลาที่ได้รับ อะฟลาทอกซินบี$_1$สูงสุด (2,500 พีพีบี) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวต่ำที่สุดแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 ถึง 5 (0-1,000 พีพีบี) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือ 19.11 $\pm$ 0.76 กรัม สำหรับในสัปดาห์ที่ 8 ปลามีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเพิ่มขึ้นทุกสูตร แต่ไม่วิเคราะห์ความแตกต่าง

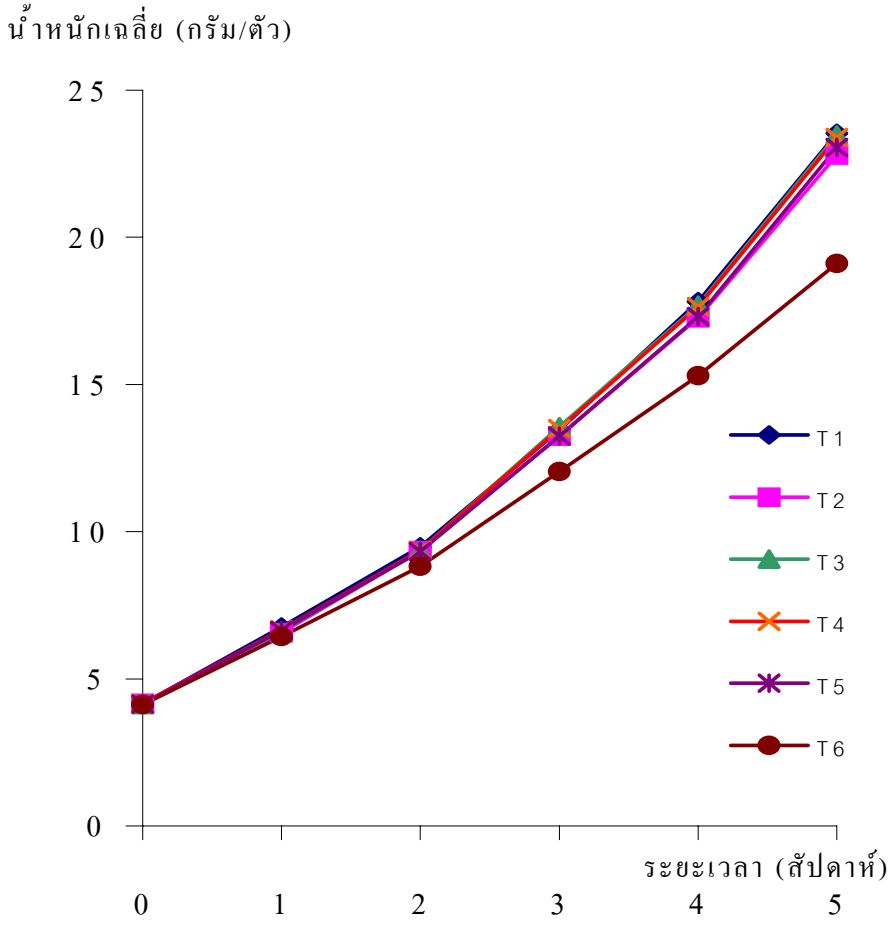
ทางสถิติ เนื่องจากน้ำหนักปลาแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างทางสถิติตั้งแต่เริ่มเลี้ยง หลังสุ่มเก็บตัวอย่างปลาครึ่งหนึ่งในสัปดาห์ที่ 5 อย่างไรก็ตามปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$สูงสุด (2,500 พีพีบี) มีแนวโน้มค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ

ตารางที่ 10 แสดงการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ระดับต่างๆ เป็นเวลา 5 สัปดาห์[1] (หน่วยเป็นกรัม)

สูตรอาหาร (ระดับAFB_1)	ระยะเวลา (สัปดาห์ที่)					
	0	1	2	3	4	5
1 (0 พีพีบี)	4.15±0.05[a]	6.76±0.09[a]	9.48±0.12[a]	13.45±0.37[a]	17.81±0.49[a]	23.53±0.64[a]
2 (50 พีพีบี)	4.16±0.02[a]	6.56±0.16[a]	9.36±0.29[a]	10.30±0.43[a]	17.27±0.53[a]	22.79±0.72[a]
3 (100 พีพีบี)	4.13±0.03[a]	6.61±0.11[a]	9.37±0.31[a]	10.33±0.85[a]	17.70±0.95[a]	23.48±1.00[a]
4 (500 พีพีบี)	4.16±0.02[a]	6.67±0.20[a]	9.37±0.29[a]	13.51±0.44[a]	17.64±0.61[a]	23.39±0.60[a]
5 (1,000 พีพีบี)	4.14±0.05[a]	6.64±0.10[a]	9.33±0.27[a]	13.24±0.43[a]	17.31±0.54[a]	23.05±0.57[a]
6 (2,500 พีพีบี)	4.12±0.04[a]	6.44±0.20[a]	8.82±0.28[b]	12.04±0.48[b]	15.29±0.72[b]	19.11±0.76[b]

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 5 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)



ภาพที่ 2 แสดงการเจริญเติบโตของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ ระดับต่างๆ นาน 5 สัปดาห์

3.2.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการแลกเนื้อ ดัชนีตับต่อตัว และการรอดตาย

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการแลกเนื้อ ดัชนีตับต่อตัว และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 6 สูตรเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 11 ดัชนีตับต่อตัวและการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 6 สูตรเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 12

ในสัปดาห์ที่ 5 พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 ถึง 5 (0 ถึง 1,000 พีพีบี) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 468.48 $\pm$ 23.43 ถึง 448.07 $\pm$ 18.59 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ สูงสุด (2,500 พีพีบี) ซึ่งมีค่าต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือ 363.38 $\pm$15.66 เปอร์เซ็นต์ อัตราการแลกเนื้อ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 ถึง 5 (0 ถึง 1,000 พีพีบี) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.02 $\pm$ 0.02 ถึง 1.05 $\pm$ 0.04 ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ สูงสุด (2,500 พีพีบี) มีค่าสูงที่สุดแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือ 1.21 $\pm$ 0.05 (ตารางที่ 11 และ 12)

ค่าดัชนีตับต่อตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีระดับอะฟลาทอกซินบี$_1$ต่างกันในสัปดาห์ที่ 5 พบว่า ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ 0 และ 50 พีพีบี มีค่าไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$0 100 500 และ 1,000 พีพีบี มีค่าต่ำลงมา และ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ระดับสูงสุด (2,500 พีพีบี) มีค่าต่ำที่สุด คือ 1.08 $\pm$ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$100 พีพีบี (ตารางที่ 11) ในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า เปอร์เซ็นต์ดัชนีตับต่อตัวมีค่าสูงสุดในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$0 พีพีบี คือ 1.45 $\pm$ 0.12 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ 50 พีพีบี คือ 1.43 $\pm$ 0.17 เปอร์เซ็นต์ และลดต่ำลงเรื่อยๆ ตามระดับอะฟลาทอกซินบี$_1$ที่เพิ่มขึ้น โดยปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ 100 และ 500 พีพีบี มีค่าดัชนีตับต่อตัว 1.28 $\pm$ 0.18 และ 1.19 $\pm$ 0.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ 1,000 และ 2,500 พีพีบี มีค่าดัชนีตับต่อตัวไม่ต่างกันคือ 1.00 $\pm$ 0.11 และ 0.85 $\pm$ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 12)

สำหรับการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 6 สูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยไม่พบการตายตลอดการทดลอง (ตารางที่ 11 และ 12)

ตารางที่ 11 แสดงน้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ ระดับต่างๆ เป็นเวลา 5 สัปดาห์[1]

สูตรอาหาร (ระดับAFB$_1$)	น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%)	การแลกเนื้อ	ดัชนีตับต่อตัว (%)	อัตราการรอดตาย (%)
1 (0 พีพีบี)	4.15±0.05^{a}	23.53±0.64^{a}	466.37±10.50^{a}	1.02±0.02^{a}	1.48±0.05^{ab}	100
2 (50 พีพีบี)	4.16±0.02^{a}	22.79±0.72^{a}	448.07±18.59^{a}	1.05±0.04^{a}	1.65±0.18^{a}	100
3 (100 พีพีบี)	4.13±0.03^{a}	23.48±1.00^{a}	468.48±23.43^{a}	1.02±0.02^{a}	1.27±0.19^{bc}	100
4 (500 พีพีบี)	4.16±0.02^{a}	23.39±0.60^{a}	462.79±14.47^{a}	1.02±0.02^{a}	1.31±0.12^{bc}	100
5 (1,000 พีพีบี)	4.14±0.05^{a}	23.05±0.57^{a}	457.20±20.11^{a}	1.02±0.02^{a}	1.38±0.05^{b}	100
6 (2,500 พีพีบี)	4.12±0.04^{a}	19.11±0.76^{b}	363.38±15.66^{b}	1.21±0.05^{b}	1.08±0.05^{c}	100

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 5 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

ตารางที่ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์ดัชนีตับต่อตัว และอัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ ระดับต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์[1]

สูตรอาหาร (ระดับAFB$_1$)	ดัชนีตับต่อตัว (%)	การรอดตาย (%)
1 (0 พีพีบี)	1.45 ± 0.12^{a}	100^{a}
2 (50 พีพีบี)	1.43 ± 0.17^{a}	100^{a}
3 (100 พีพีบี)	1.28 ± 0.18^{ab}	100^{a}
4 (500 พีพีบี)	1.19 ± 0.16^{b}	100^{a}
5 (1,000 พีพีบี)	1.00 ± 0.11^{c}	100^{a}
6 (2,500 พีพีบี)	0.85 ± 0.10^{c}	100^{a}

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 5 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

3.4 การศึกษาองค์ประกอบเลือดปลานิล

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดพบว่า ในสัปดาห์ที่ 5 เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว ปริมาณฮีโมโกลบิน และโปรตีนในพลาสมา มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ย 35.14 ± 5.17 เปอร์เซ็นต์ 2.64 ± 0.1 ($x10^6$ เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร) 1.11 ± 0.07 ($x10^5$ เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร) 7.00 ± 0.23 กรัมต่อเดซิลิตร และ 10.04 ±0.28 กรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 13)

สำหรับสัปดาห์ที่ 8 พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดแดง และ เม็ดเลือดขาว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ย 2.70 ± 0.10 ($x10^6$ เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร) และ 5.85 ± 0.47 ($x10^5$ เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร) ตามลำดับ (ตารางที่ 14) ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์ ฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และ โปรตีนในพลาสมา พบความแตกต่างกันทางสถิติ โดย อาหารสูตรที่ 1-5 (0-1,000 พีพีบี) มีค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 35.50 ± 1.76 ถึง 38.85 ± 5.19 เปอร์เซ็นต์ ต่างจากอาหารสูตรที่ 6 (2,500 พีพีบี) ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือ 32.10 ± 2.84 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฮีโมโกลบินในอาหารสูตรที่ 1-4 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 9.34 ± 0.70 ถึง 9.79 ± 0.32 กรัมต่อเดซิลิตร ต่างจากอาหารสูตรที่ 5 และ 6 (1,000 และ 2,500 พีพีบี) ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ย 8.42 ± 0.80 และ 8.03 ± 0.30 กรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ โปรตีนในพลาสมาของปลากลุ่มควบคุม (0 พีพีบี) มีค่าสูงที่สุดแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือ 14.45 ± 0.45 กรัมเปอร์เซ็นต์ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$50 และ 100 พีพีบี ไม่แตกต่างกัน คือ 12.75 ± 1.31 และ 13.01 ± 0.73 กรัมเปอร์เซ็นต์ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$50 500 และ 1,000 พีพีบี ไม่แตกต่างกัน คือ 12.75 ± 1.31, 11.63 ± 0.69 และ 11.47 ± 1.47 กรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ 2,500 พีพีบี มีค่าต่ำกว่าทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.05$) คือ 9.89 ± 0.99 กรัมเปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 13 ค่าองค์ประกอบเลือดของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ ระดับต่างๆ ในสัปดาห์ที่ 5[1]

AFB_1 (พีพีบี)	ฮีมาโตคริต %	เม็ดเลือดแดง ($\times 10^6$ cell/mm^3)	เม็ดเลือดขาว ($\times 10^5$cell/mm^3)	ฮีโมโกลบิน (g/dl)	โปรตีนในพลาสมา g%
0	36.18±4.27^a	2.66±0.16^a	1.03±0.16^a	6.95±0.81^a	10.10±0.47^a
50	35.26±6.32^a	2.51±0.25^a	1.08±0.22^a	7.16±0.52^a	10.37±0.77^a
100	36.85±5.67^a	2.65±0.17^a	1.21±0.19^a	6.97±0.78^a	9.68±0.83^a
500	36.30±5.71^a	2.82±0.24^a	1.08±0.18^a	7.06±0.38^a	9.74±1.36^a
1000	31.66±4.27^a	2.59±0.33^a	1.16±0.17^a	6.87±0.56^a	10.07±0.98^a
2500	34.61±4.75^a	2.61±0.39^a	1.08±0.15^a	6.96±0.16^a	10.29±0.43^a

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 5 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95เปอร์เซ็นต์ ($p< 0.05$)

ตารางที่ 14 ค่าองค์ประกอบเลือดของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ ระดับต่างๆในสัปดาห์ที่ 8[1]

AFB_1 (พีพีบี)	ฮีมาโตคริต %	เม็ดเลือดแดง ($\times 10^6$ cell/mm^3)	เม็ดเลือดขาว ($\times 10^5$cell/mm^3)	ฮีโมโกลบิน (g/dl)	โปรตีนในพลาสมา g%
0	37.01±3.75^a	2.75±0.20^a	5.60±0.78^a	9.78±0.66^a	14.45±0.45^a
50	38.85±5.19^a	2.73±0.23^a	5.39±0.29^a	9.79±0.32^a	12.75±1.31^{bc}
100	35.50±1.76^a	2.58±0.46^a	6.56±0.86^a	9.58±0.53^a	13.01±0.73^b
500	38.13±0.68^a	2.80±0.41^a	6.19±0.84^a	9.34±0.70^a	11.63±0.69^c
1000	37.34±1.49^a	2.77±0.31^a	5.99±0.72^a	8.42±0.80^b	11.47±1.47^c
2500	32.10±2.84^b	2.56±0.14^a	5.39±0.78^a	8.03±0.30^b	9.89±0.99^d

[1] ตัวเลขที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากข้อมูล 5 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์ที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95เปอร์เซ็นต์ ($p< 0.05$)

3.5 การศึกษาเนื้อเยื่อตับและตับอ่อนปลานิลแดงแปลงเพศ

ผลการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับและตับอ่อนปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอะฟลาทอกซินระดับต่างๆ เป็นเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวที่มีความผิดปกติ แสดงดังตารางที่ 15-18 พบว่า

3.5.1 การศึกษาเนื้อเยื่อตับและตับอ่อนของปลานิลในสัปดาห์ที่ 5

ตับ

ปลานิลกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 0 50 และ 100 พีพีบี พบเซลล์ตับและนิวเคลียสมีขนาด รูปร่างและการจัดเรียงตัวปกติ โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ได้ 14.88 ไมครอน และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางนิวเคลียส 3.72 ไมครอน (ภาพที่ 3)

พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับในปลานิลกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 1,000 และ 2,500 พีพีบี ได้แก่

เซลล์ตับมีลักษณะบวมพอง (swollen) (ภาพที่ 4) พบมากที่สุดในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 2,500 พีพีบี รองลงมาคือปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 และ 1,000 พีพีบี ตามลำดับ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์โตที่สุดถึง 37.2 ไมครอน ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 1,000 พีพีบี รวมทั้งลักษณะเซลล์บวมพองและขุ่นมัว (cloudy swelling) (ภาพที่ 9) พบนิวเคลียสขยายขนาด (hypertrophic nuclei) ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 พีพีบี จำนวนมาก และลดลงในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 1,000 และ 2,500 พีพีบี ตามลำดับ (ภาพที่ 5) นิวเคลียสหดตัว (pkynotic nuclei) เล็กน้อย (ภาพที่ 5) และไซโตพลาสซึมติดสีแดงของอีโอซิน (eosinophilic cell) มากผิดปกติ (ภาพที่ 9) ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 ถึง 2,500 พีพีบี โดยพบมากขึ้นในปลาที่ได้รับสารพิษระดับสูงขึ้น รวมทั้งพบการสะสมโปรตีนในไซโตพลาสซึม และลักษณะริ้วไมโครฟิลาเมนต์ (microfilaments) ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 ถึง 2,500 พีพีบี โดยพบมากที่สุดในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 1,000 พีพีบี และพบเซลล์ตาย (cell necrosis) จำนวนมาก ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 ถึง 2,500 พีพีบี เซลล์ตับติดสีย้อมสีน้ำเงินของฮีมาทอกไซลิน (basophilic cell) จากเซลล์เกิดใหม่ที่ยังไม่เจริญ (regenerative cell) (ภาพที่ 9) เซลล์ตับเกิดการอักเสบ (inflammation) เม็ดเลือดขาวแทรก และเมลาโนมาโครฟาจ (melanomacrophage) เพิ่มจำนวนมากขึ้นกว่าปกติเล็กน้อย ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 1,000 ถึง 2,500 พีพีบี

ความผิดปกติโดยรวมในตับปลาที่ได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า มีความรุนแรงที่สุดในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 2,500 1,000 และ 500 พีพีบี ตามลำดับ

ตับอ่อน

เซลล์ตับอ่อนและนิวเคลียสของปลานิลกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 0 50 100 และ 500 พีพีบี มีขนาดและรูปร่างปกติ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางนิวเคลียส 4.0 ไมครอน (ภาพที่ 11)

พบความผิดปกติในเซลล์ตับอ่อนของปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 1,000 ถึง 2,500 พีพีบี โดยมีเซลล์ตาย และเมลาโนมาโครฟาจเพิ่มจำนวนขึ้นกว่าปกติเล็กน้อย รวมทั้งเกิดการอักเสบ (ภาพที่ 12) นิวเคลียสบวมพองวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางนิวเคลียสได้ถึง 9.92 ไมครอน ไซโมเจนกรานูล (zymogen granule) ลดลง และ เซลล์ลีบ (atrophy) (ภาพที่ 13)

ในสัปดาห์ที่ 5 พบจำนวนตัวปลาที่มีความผิดปกติของตับอ่อนสูงที่สุดในกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 1,000 พีพีบี อย่างไรก็ตามปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 2,500 พีพีบี แม้จะมีจำนวนตัวที่ผิดปกติน้อย แต่พบความผิดปกติในแต่ละตัวค่อนข้างมากเช่นกัน

3.5.2 การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของตับและตับอ่อนของปลานิลในสัปดาห์ที่ 8

ตับ

ปลานิลกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 0 50 และ 100 พีพีบี เซลล์ตับและนิวเคลียสมีขนาดและรูปร่างปกติ เช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 5

พบโครมาตินชิดขอบนิวเคลียสเล็กน้อย ในปลานิลกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 1,000 และ 2,500 พีพีบี เซลล์บวมพองเล็กน้อยในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 พีพีบี และรุนแรงในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 1,000 และ 2,500 พีพีบี มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางนิวเคลียสถึง 14.88-19.84 ไมครอน นิวเคลียสขยายขนาดเล็กน้อยในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 และ 1,000 พีพีบี และเพิ่มขึ้นในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 2,500 พีพีบี นอกจากนั้นยังพบนิวเคลียสหดตัวเล็กน้อย ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 ถึง 2,500 พีพีบี

ไซโตพลาสซึมติดสีแดงของอีโอซินอย่างผิดปกติในปลานิลกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 ถึง 2,500 พีพีบี รวมทั้งการสะสมโปรตีนในไซโตพลาสซึม (ภาพที่ 7) ของปลาที่ได้

ตารางที่ 15 แสดงลักษณะความผิดปกติของตับปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ระดับต่างๆ เป็นเวลา 5 สัปดาห์[1]

Treatment	Proliferal chromatin	Cell swollen	Eosinophilic cell	Pyknotic nuclei	Hypertrophic nuclei	Mottle liver	Cell necrosis	Regenerative cell	Inflammation	Increase of Melano macrophage
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T4	-	41.67% (5/12)	16.67% (2/12)	16.67% (2/12)	33.33% (4/12)	16.67% (2/12)	66.67% (12/12)	25% (3/12)	-	-
T5	-	40% (6/15)	33.33% (5/15)	26.67% (4/15)	13.33% (2/15)	40% (6/15)	66.67% (10/15)	26.67% (4/15)	13.33% (5/15)	20% (3/15)
T6	-	58.85% (7/13)	69.23% (9/13)	16.67% (2/13)	6.67% (1/13)	23.08% (3/13)	69.23% (9/13)	46.15% (6/13)	23.08% (3/13)	23.08% (3/13)

[1]% ความผิดปกติ = (จำนวนปลาผิดปกติ/จำนวนปลาทั้งหมด) × 100

ตารางที่ 16 แสดงลักษณะความผิดปกติของตับปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ระดับต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Treatment	Proliferal chromatin	Cell swollen	Eosinophilic cell	Pycnotic nuclei	Hypertrophic nuclei	Mottle liver	Cell necrosis	Regenerative cell	Inflammation	Increase of Melanomacrophage
T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T4	-	15.38% (2/13)	15.38% (2/13)	23.08% (3/13)	7.69% (1/13)	-	38.46% (5/13)	16.67% (2/13)	-	23.08% (3/13)
T5	14.29% (2/14)	71.43% (10/14)	28.57% (4/14)	57.14% (8/14)	7.14% (1/14)	35.71% (5/14)	64.29% (9/14)	53.33% (8/15)	-	13.33% (2/14)
T6	26.67% (4/15)	66.67% (10/15)	26.67% (4/15)	66.67% (10/15)	33.33% (5/15)	26.67% (4/15)	93.33% (14/15)	60% (9/15)	-	26.67% (4/15)

[1]% ความผิดปกติ = (จำนวนปลาผิดปกติ/จำนวนปลาทั้งหมด) × 100

ตารางที่ 17 แสดงลักษณะความผิดปกติของตับอ่อน ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ระดับต่างๆ เป็นเวลา 5 สัปดาห์

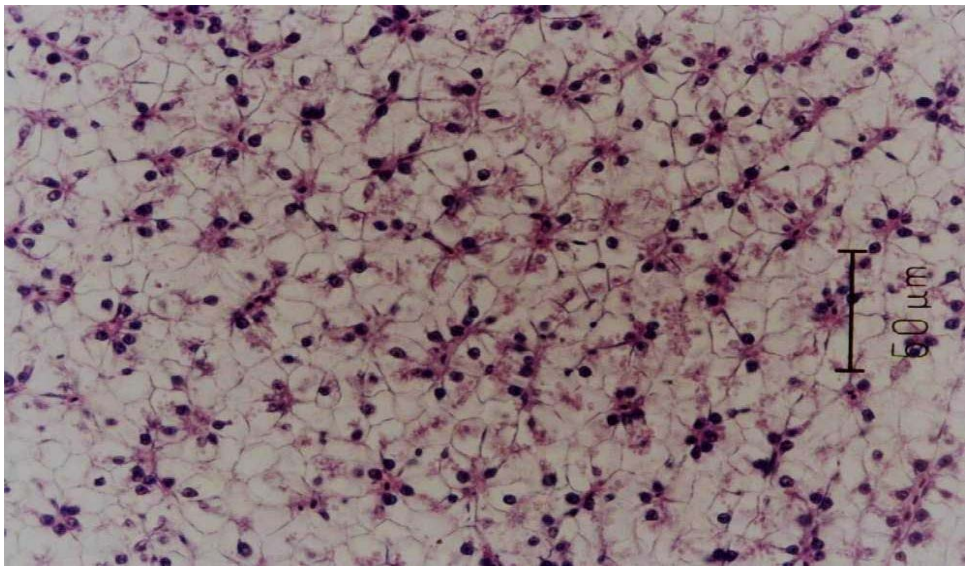
Treatment	Inflammation	Increase of Melanomacrophage	Hypertrophic nuclei	Decrease of Zymogen granule	Cell atrophy
T1	-	-	-	-	-
T2	-	-	-	-	-
T3	-	-	-	-	-
T4	-	-	-	-	-
T5	40% (6/15)	26.67% (4/15)	73.33% (11/15)	46.67% (7/15)	53.33% (8/15)
T6	15.38% (2/13)	38.46% (3/13)	23.03% (3/13)	23.03% (3/13)	30.77% (4/13)

[1]% ความผิดปกติ = (จำนวนปลาผิดปกติ/จำนวนปลาทั้งหมด) × 100

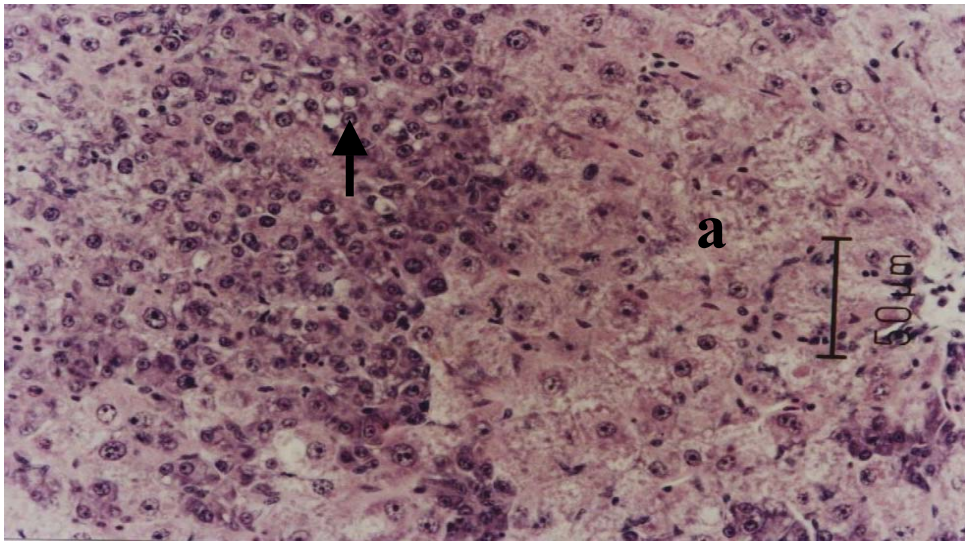
ตารางที่ 18 แสดงลักษณะความผิดปกติของตับอ่อน ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี$_1$ระดับต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Treatment	Inflammation	Increase of Melanomacrophage	Hypertrophic nuclei	Decrease of Zymogen granule	Cell atrophy
T1	-	-	-	-	-
T2	-	-	-	-	-
T3	-	-	-	-	-
T4	-	-	53.85% (7/13)	30.77% (4/13)	61.54% (8/13)
T5	14.29% (2/14)	21.43% (3/14)	78.57% (11/14)	42.86% (6/14)	57.14% (8/14)
T6	-	26.67% (4/15)	86.67% (13/15)	26.67% (4/15)	66.67% (10/15)

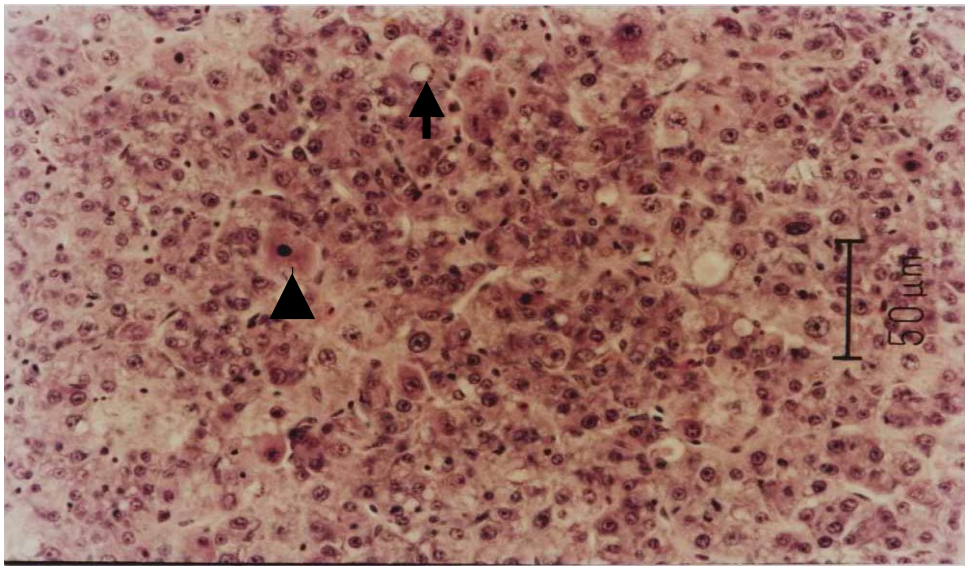
[1]% ความผิดปกติ = (จำนวนปลาผิดปกติ/จำนวนปลาทั้งหมด) × 100



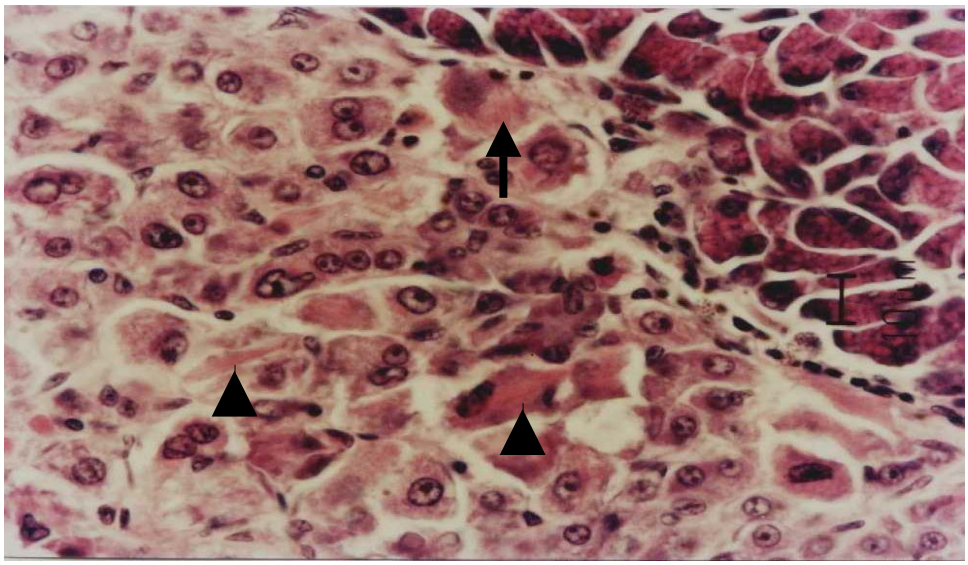
ภาพที่ 3 แสดงเนื้อเยื่อตับของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 0 พีพีบี (กลุ่มควบคุม) เป็นเวลา 5 สัปดาห์ เซลล์ตับปกติ การจัดเรียงเซลล์ ขนาดเซลล์ และนิวเคลียสปกติ (H&E, Bar = 50 µm)



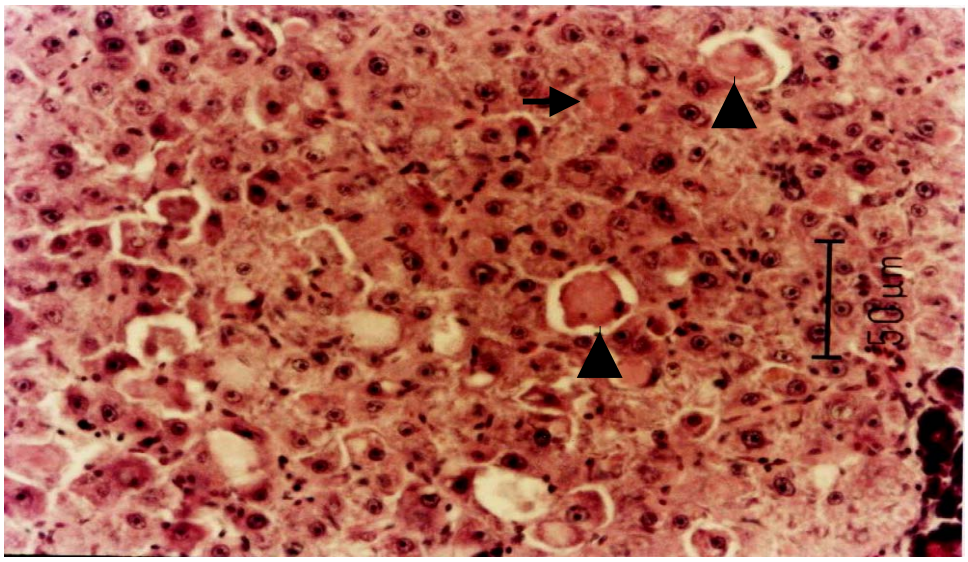
ภาพที่ 4 แสดงเนื้อเยื่อตับของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 500 พีพีบี เป็นเวลา 5 สัปดาห์ เกิดช่องว่างในเซลล์ (vacuolation) (ศรชี้) เซลล์บวมพอง ขยายขนาด (a) (H&E, Bar = 50 µm)



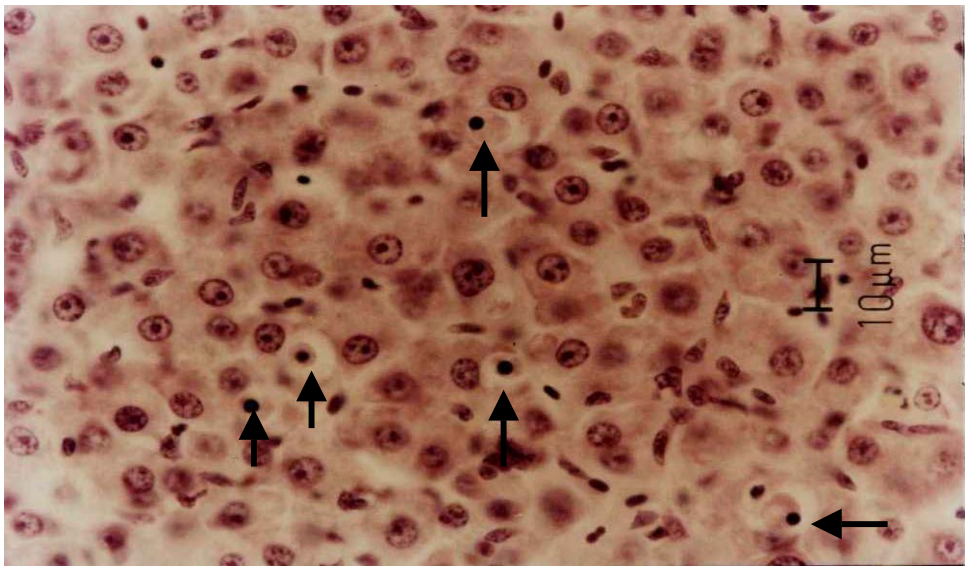
ี่ที่ 5 แสดงเนื้อเยื่อตับของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 2,500 พีพีบี เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบนิวเคลียสขยายขนาด (hypertrophic nuclei) (ศรชี้) นิวเคลียสหด (pyknotic nuclei) (หัวลูกศร) (H&E, Bar = 50 µm)



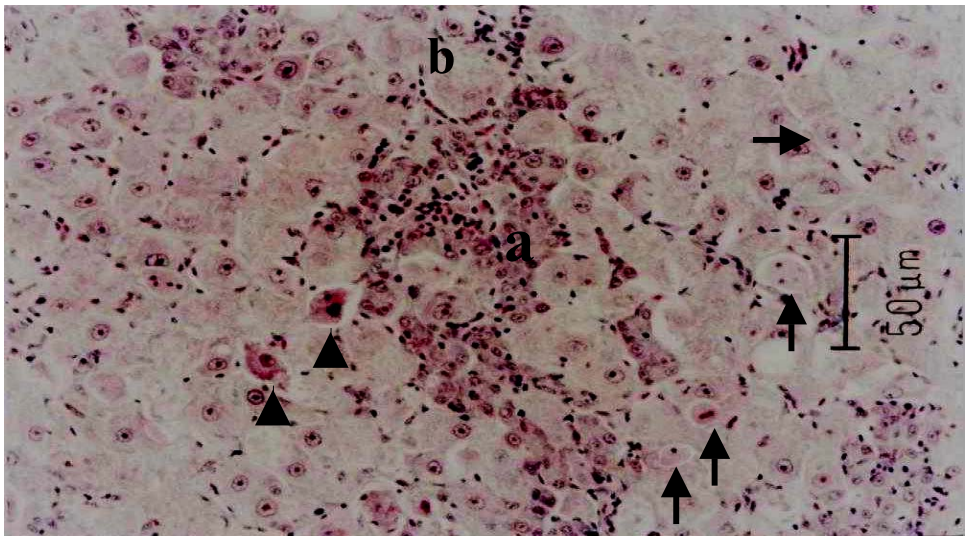
ภาพที่ 6 แสดงเนื้อเยื่อตับของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 2,500 พีพีบี เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบเซลล์ตายนิวเคลียสบวมจาง (ศรชี้) ไซโตพลาสซึมมีลักษณะคล้ายไมโครฟิลาเมนต์ติดสีย้อมอีโอซินชัดเจน (หัวลูกศร) (H&E, Bar = 10 µm)



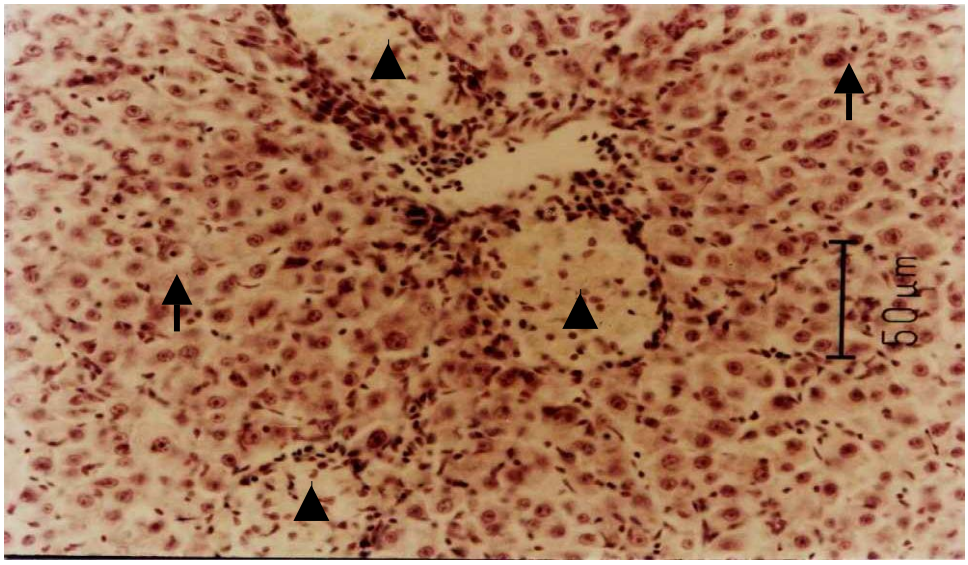
ภาพที่ 7 แสดงเนื้อเยื่อตับของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 500 พีพีบี เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบเซลล์ตายจำนวนมาก (หัวลูกศร) และมีการสะสมสารโปรตีนในไซโตพลาสซึม (ศรชี้) (H&E, Bar = 50 µm)



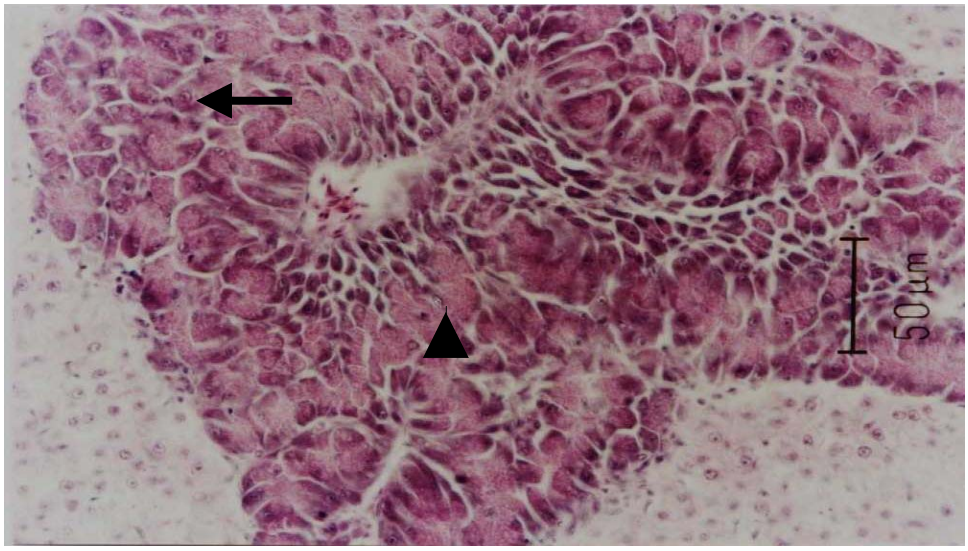
ภาพที่ 8 แสดงเนื้อเยื่อตับของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 2,500 พีพีบี เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบการตายของเซลล์ตับกระจายอยู่ทั่วไป (ศรชี้) (H&E, Bar = 10 µm)



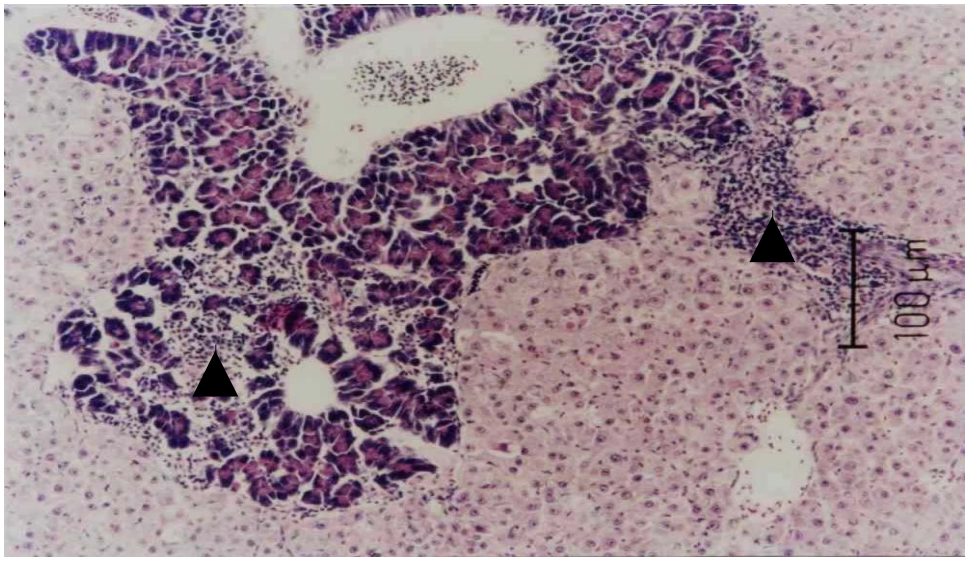
ภาพที่ 9 แสดงเนื้อเยื่อตับของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 1,000 พีพีบี เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบเซลล์เกิดใหม่ที่ยังไม่เจริญ (regenerative cell) (a) เซลล์บวมพองและขุ่นมัว (b) ไซโตพลาสซึมติดสีย้อมของอีโอซินชัดเจน (หัวลูกศร) เซลล์ตาย (ศรชี้) (H&E, Bar = 50 µm)



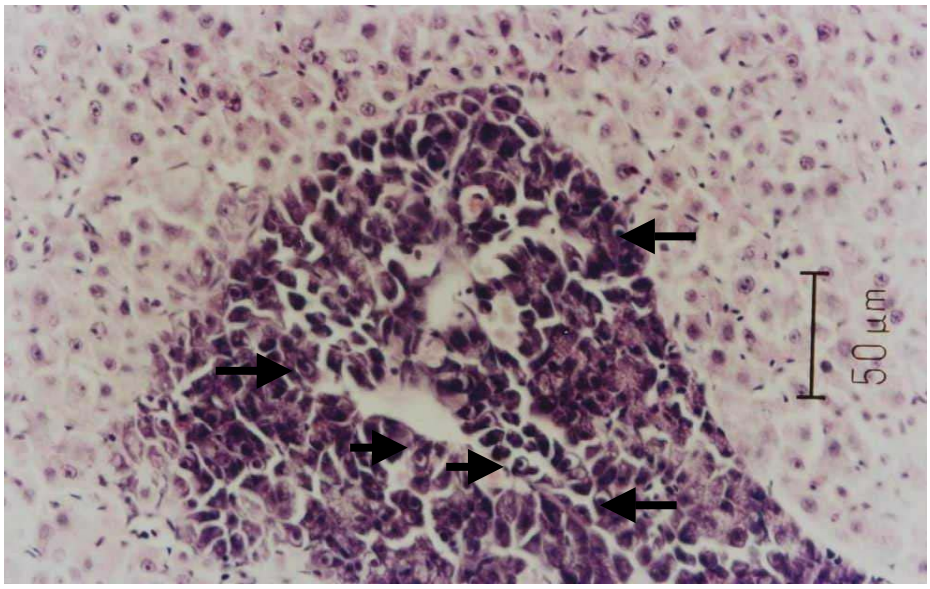
ภาพที่ 10 แสดงเนื้อเยื่อตับของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 2,500 พีพีบี เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบเมลาโนมาโครฟาจจำนวนมาก (หัวลูกศร) นิวเคลียสหดตัว (ศรชี้) (H&E, Bar = 50 µm)



ภาพที่ 11 แสดงเนื้อเยื่อตับอ่อนของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 0 พีพีบี เป็นเวลา 5 สัปดาห์ เซลล์ตับอ่อนปกติ นิวเคลียส (ศรชี้) และไซโมเจนกรานูล (หัวลูกศร) มีขนาดและจำนวนปกติ (H&E, Bar = 50 µm)



ภาพที่ 12 แสดงเนื้อเยื่อตับอ่อนของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 1,000 พีพีบี เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบการอักเสบของตับอ่อนโดยมีเซลล์เม็ดเลือดขาวแทรกซึม (หัวลูกศร) (H&E, Bar = 100 µm)



ภาพที่ 13 แสดงเนื้อเยื่อตับอ่อนของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มี AFB_1 2,500 พีพีบี เป็นเวลา 5 สัปดาห์ เซลล์ตับอ่อนลีบ ไซโมเจนกรานูลลดลง และนิวเคลียสบวมพอง (hypertrophic nuclei) (ศรชี้) อย่างรุนแรง (H&E, Bar = 50 µm)

3.5 การศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซินตกค้างในกล้ามเนื้อและมูลปลา

ผลการศึกษาปริมาณการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี$_1$ในกล้ามเนื้อปลา เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารทดลองเป็นเวลา 5 และ 8 สัปดาห์ และการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี$_1$ ในมูลปลาเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารทดลอง 3 สัปดาห์สุดท้าย พบว่าทั้งในสัปดาห์ที่ 5 และ 8 ไม่พบการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี$_1$ ในกล้ามเนื้อปลาที่ได้รับอาหารทุกสูตร แต่พบในมูลปลาที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี$_1$ 500 - 2,500 พีพีบี ในปริมาณ 15.13 - 27.53 พีพีบี (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 แสดงปริมาณอะฟลาทอกซินบี$_1$ ตกค้างในกล้ามเนื้อและมูลปลา

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นอะฟลาทอกซินบี$_1$ ในอาหาร (พีพีบี)	ปริมาณอะฟลาทอกซินบี$_1$ ตกค้าง (พีพีบี)		
		กล้ามเนื้อปลา		มูลปลา
		สัปดาห์ที่ 5	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 8
1	0	0	0	0
2	50	0	0	0
3	100	0	0	0
4	500	0	0	15.13
5	1,000	0	0	15.95
6	2,500	0	0	27.53

3.6 คุณภาพน้ำ

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำแต่ละสัปดาห์ แสดงในตารางภาคผนวกที่ ข. 3-10 ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงที่ปลานิลสามารถดำรงชีวิตได้อย่างปกติ