บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติของเชื้อสเตรฟโตคอคคัส

1.1 แยกเชื้อแบคทีเรียจากปลาป่วยที่เลี้ยงในระบบธรรมชาติ

สามารถแยกเชื้อได้จากปลากะพงขาวป่วย จากการเลี้ยงในระบบธรรมชาติได้ 1 สายพันธุ์ มีลักษณะอาการของโรคที่แสดงดังนี้

อาการภายนอกและอาการภายในของปลากะพงขาวที่ติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัส

ลักษณะอาการของปลากะพงขาวป่วย มีลักษณะอาการภายนอก คือ ว่ายบริเวณผิวน้ำและขอบกระชัง ลำตัวมีสีดำคล้ำ มีบาดแผลเป็นลักษณะแผลหลุมมีการตกเลือด บริเวณแก้มและข้างลำตัวและมีลักษณะอาการภายใน คือ อวัยวะภายในโดยส่วนใหญ่มีลักษณะลีบฝ่อ โดยเฉพาะตับและไตมีสีซีด ม้ามโต ตกเลือดที่สมอง และสามารถแยกเชื้อได้จากอวัยวะภายในและบาดแผล และเมื่อแยกเชื้อจากสมองจะได้เชื้อที่ค่อนข้างบริสุทธิ์

เชื้อที่แยกได้มีลักษณะโคโลนีของเชื้อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีขอบเรียบ สีขาวขุ่น โคโลนีกลมนูน มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 มิลลิเมตร เซลล์มีรูปร่างกลมต่อกันเป็นสายโซ่ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว TSB และเมื่อย้อมสีแกรมจะติดสีแกรมบวก

1.2 ผลการทดสอบคุณสมบัติของเชื้อสเตรฟโตคอคคัส

เชื้อสเตรฟโตคอคคัสที่แยกได้ไม่สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลสและออกซิเดสได้ โดยให้ผลของการสร้างเอนไซม์ทั้งสองเป็นลบ เชื้อสามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (hemolytic) บน SBA ได้สมบูรณ์แบบ β-hemolysis และคุณสมบัติทางกายภาพและชีวเคมีของเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อสเตรฟโตคอคคัสที่แยกได้จากปลากะพงขาวและปลานิลลูกผสม

การทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ	**เชื้อสเตรฟโตคอคคัสที่แยกได้จากปลากะพงขาวเพื่อเปรียบเทียบกับปลานิลลูกผสม**			
	ปลากะพงขาว (sea bass)	**เยาวนิต และคณะ** (2543) (sea bass)	**Bromage และคณะ** (1999) (sea bass)	**Perera และคณะ** (1994) (Hybrid tilapia)
Haemolysis	β	β	β	β
Gram staining	+	+	+	+
Cell morphology	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci
Catalase test	-	-	-	-
Oxidase test	-	-	-	-
VP test	-	NT	NT	NT
Growth on:				
- BHIA	+	NT	+	NT
- TSA	+	+	+	+
- Blood agar	+	+	+	+
- 0.1 % Methylene blue milk	+	NT	+	NT
Black pigment :				
- Bile esculin (40 %)	-	-	NT	+
- Growth in : 6.5 % NaCl	-	-	-	-
- Tolerance of : pH 9.6	-	-	-	-
- temp 10 °C	+	-	-	+
- temp 45 °C	-	-	-	+
- Hydrolysis of : Hippurate	-	NT	-	-
- Esculin	+	NT	+	NT
- Arginine	+	+	+	+
- Starch	+	+	+	+

หมายเหตุ : NT = not test

\+ = Positive

\- = Negative

ตารางที่ 3 (ต่อ) เปรียบเทียบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อสเตรฟโตคอคคัสที่แยกได้จากปลากะพงขาวและปลานิลลูกผสม

การทดสอบคุณสมบัติต่าง ๆ	เชื้อสเตรฟโตคอคคัสที่แยกได้จากปลากะพงขาวเพื่อเปรียบเทียบกับปลานิลลูกผสม			
	ปลากะพงขาว (sea bass)	เยาวนิต และคณะ (2543) (sea bass)	Bromage และคณะ (1999) (sea bass)	Perera และคณะ (1994) (Hybrid tilapia)
Decarboxylation of :				
- PYRA	+	NT	+	+
- α-Galactosidase	+	NT	-	NT
- β-Glucuronidase	+	NT	+	NT
- β-Galactosidase	+	NT	-	NT
- Alkaline phosphatase	+	NT	+	NT
- Leucine aminopeptidase	+	NT	+	NT
Acid production from:				
- D-Ribose	+	NT	+	NT
- L- Arabinose	-	-	-	-
- D-Mannitol	+	+	+	+
- D-Sorbitol	-	NT	-	-
- D-Lactose	-	-	-	-
- D-Trehalose	+	+	+	+
- Inulin	-	NT	-	-
- D-Raffinose	-	NT	-	-
- Maltose	-	+	+	+
- Sucrose	-	NT	+	+
- Glucose	-	+	NT	+

หมายเหตุ : NT = not test

+ = Positive

- = Negative

1.3 ผลการทดสอบความไวของเชื้อสเตรฟโตคอคคัสต่อยาปฏิชีวนะ

การทดสอบความไวของเชื้อเสตรฟโตคอคคัสต่อยาปฏิชีวนะ โดยเชื้อมีความไวต่อยา 8 ชนิด ได้แก่ เพนนิซิลิน (P ; 10 μg) ซัลฟาเมธท๊อกซาโซล/ไตรเมธโธพริม (SXT ; 25 μg) อีรีโทรมัย

ซิน (E ; 15 μg) ไนโตรฟูแรนโทอิน (F ; 300 μg) นอร์ฟล๊อกซาซิน (NOR ; 10 μg) แอมพิซิลลิน (AMP ; 10 μg) คลอแรมเฟ็นนิคัล (C ; 30 μg) และออกซี่เตตร้าซัยคลิน (OT ; 30 μg) และสามารถต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ 2 ชนิด คือ นาลิไดสิค แอซิด (NA ; 30 μg) และ ออกโซลินิค แอซิด (OA ; 2 μg) ดังตารางที่ 4 ดังนี้

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความไวของเชื้อสเตรฟโตคอคคัสต่อยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ

ชนิดของยาปฏิชีวนะ	เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มิลลิเมตร)
เพนนิซิลิน (P ; 10 μg)	S (44)
นาลิไดสิค แอซิด (NA ; 30 μg)	R (0)
ซัลฟา/ไตรเมธโธพริม (SXT ; 25 μg)	S (30)
อีรีโทรมัยซิน (E ; 15 μg)	S (33)
ออกโซลินิค แอซิด (OA ; 2 μg)	R (0)
ไนโตรฟูแรนโทอิน (F ; 300 μg)	S (35)
นอร์ฟล๊อกซาซิน (NOR ; 10 μg)	S (23)
แอมพิซิลลิน (AMP ; 10 μg)	S (46)
คลอแรมเฟ็นนิคัล (C ; 30 μg)	S (32)
ออกซี่เตตร้าซัยคลิน (OT ; 30 μg)	S (26)

หมายเหตุ ; R = resistance

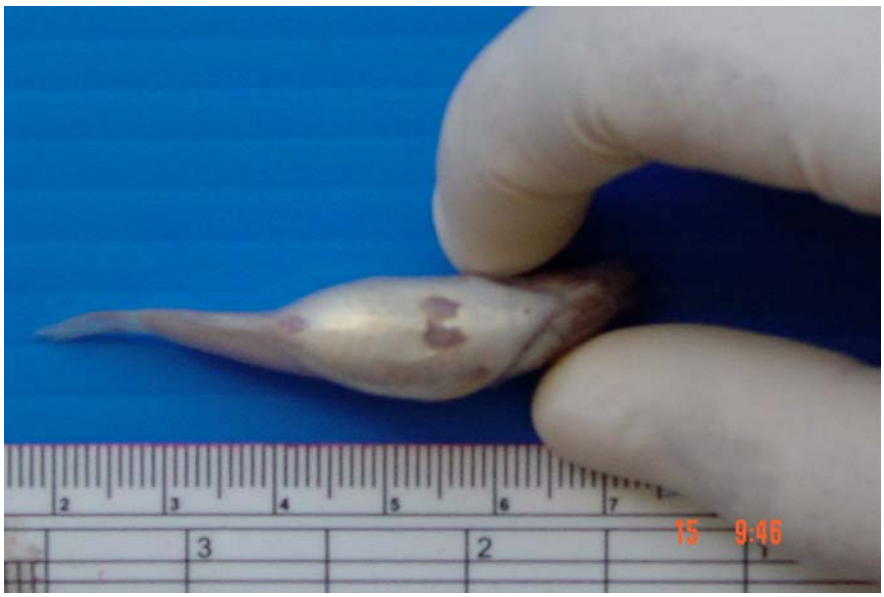
S = sensitive

2. ผลการศึกษาความรุนแรงของเชื้อสเตรฟโตคอคคัส (LD_{50} ที่ 10 วัน)

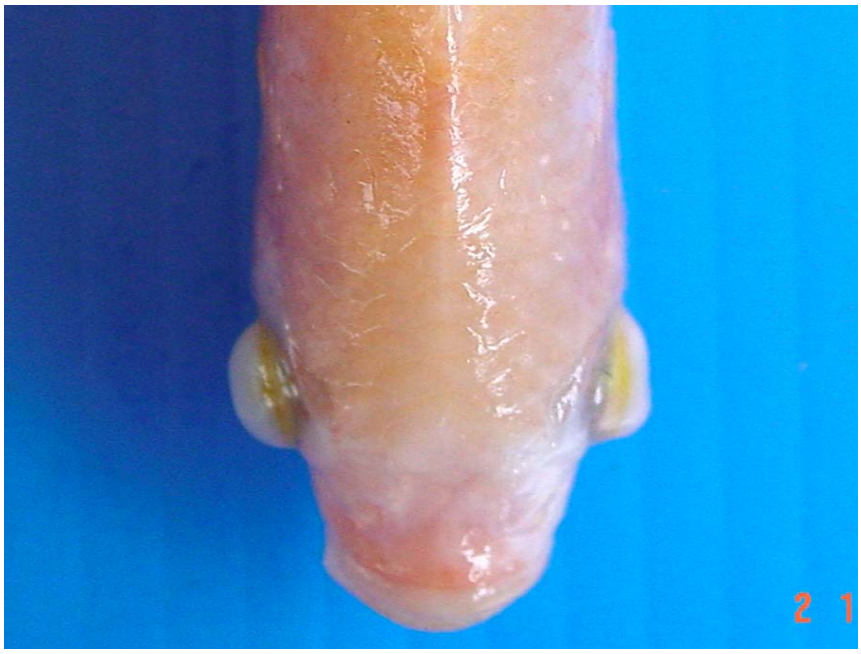
ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อสเตรฟโตคอคคัสโดยทำการฉีดเชื้อสเตรฟโตคอคคัสที่แยกได้ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ที่ค่า OD เท่ากับ 1 โดยเจือจางเชื้อที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ten–fold dilution) 5 ระดับ โดยวิธีการฉีดเข้าช่องท้อง แล้วบันทึกเวลาและจำนวนปลานิลแดงแปลงเพศที่ตาย นำผลที่ได้มาคำนวณค่า LD_{50} ให้แก่ปลานิลแดงแปลงเพศ 2 ขนาด คือ ปลาขนาดเล็กที่มีความยาวเฉลี่ย 5.58$\pm$3.762 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 2.33$\pm$0.01กรัม ซึ่งผลจากการคำนวณค่า LD_{50} ที่ระยะเวลาทดลอง 10 วัน มีค่าเท่ากับ 3.59×10^3 โคโลนี/มิลลิลิตรและปลาขนาดใหญ่ที่มีความยาวเฉลี่ย 20.09$\pm$1.181 เซนติเมตร มีน้ำหนักเฉลี่ย 96.98$\pm$11.87 กรัม ซึ่งผล

จากการคำนวณค่า LD_{50} ที่ระยะเวลาทดลอง 10 วัน มีค่าเท่ากับ $5.87x10^{2}$ โคโลนี/มิลลิลิตร ลักษณะอาการพบว่า อาการของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับเชื้อสเตรฟโตคอคคัสในช่วง 1-3 วัน แรกปลาที่ได้รับปริมาณเชื้อสูงมีการตายอย่างเฉียบพลัน (acute) คือ ลำตัวมีสีซีด เสียการทรงตัว ว่ายน้ำควงสว่านหรือเคลื่อนที่ช้า และตั้งแต่วันที่ 4 เป็นต้นไป ปลาที่ได้รับเชื้อปริมาณต่ำ มีอาการเรื้อรัง คือ ตาขุ่น ตาโปนข้างเดียวหรือ 2 ข้าง บางตัวมีอาการท้องบวมและมีของเหลวและตกเลือดในช่องท้อง มีแผลตกเลือดบริเวณฐานครีบ อวัยวะภายใน ตับมีสีซีด ม้ามโต สมองมีสีชมพู ส่วนอาการของปลาใหญ่จะแสดงให้เห็นได้ชัดเจนกว่าปลาที่มีขนาดเล็ก แต่มีอาการของโรคที่คล้ายคลึงกัน แสดงในภาพที่ 2-7

ภาพที่ 2 อาการภายนอกปลานิลแดงแปลงเพศขนาดเล็กที่ติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัส (สายพันธุ์ปลากะพงขาว) มีลักษณะตาขุ่น (บน) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาปกติ (ล่าง)



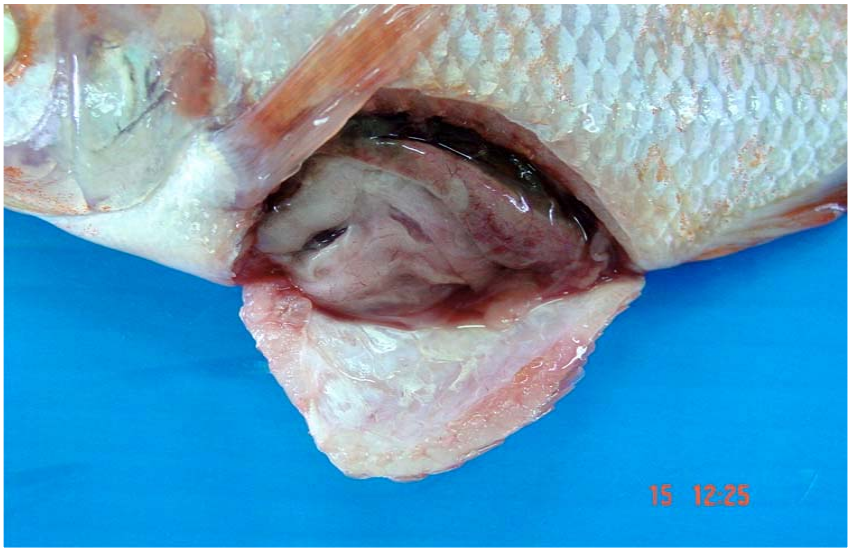
ภาพที่ 3 อาการภายนอกปลานิลแดงแปลงเพศขนาดเล็กที่ติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัส (สายพันธุ์ปลากะพงขาว) มีลักษณะท้องบวม



ภาพที่ 4 อาการภายนอกปลานิลแดงแปลงเพศขนาดเล็กที่ติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัส (สายพันธุ์ปลากะพงขาว) มีลักษณะตาขุ่นและโปนทั้งสองข้าง

ภาพที่ 5 อาการภายนอกปลานิลแดงแปลงเพศขนาดใหญ่ที่ติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัส (สายพันธุ์ปลากะพงขาว) มีลักษณะตาขุ่นเล็กน้อย แต่มีแผลตกเลือดบริเวณฐานครีบก้น

ภาพที่ 6 อาการภายนอกปลานิลแดงแปลงเพศขนาดใหญ่ที่ติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัส (สายพันธุ์ปลากะพงขาว) มีลักษณะตับลีบและซีด ไตซีด และม้ามโต



ภาพที่ 7 อาการภายนอกปลานิลแดงแปลงเพศขนาดใหญ่ที่ติดเชื้อสเตรฟโตคอคคัส (สายพันธุ์ปลากะพงขาว) มีลักษณะตกเลือดและมีของเหลวในช่องท้อง

3. ผลการใช้สมุนไพรต่อการต้านทานเชื้อสเตรฟโตคอคคัสในปลานิลแดงแปลงเพศ

- การสกัดสารสกัดหยาบสมุนไพร

ลักษณะของสารสกัดด้วยเอทานอลและร้อยละของสารสกัดต่อน้ำหนักผงพืชแห้ง พบว่าสารสกัดที่แยกได้จากพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน คือลักษณะของสาร สี และปริมาณของสารสกัด ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ร้อยละของสารสกัดและลักษณะสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล

ลำดับ	ชื่อพืช	ส่วนของพืช	ร้อยละของสารสกัด	ลักษณะของสาร
1	สะเดาอินเดีย	เปลือก	3.73	สีน้ำตาลดำ หนืด
2	สะเดาบ้าน	ใบ	4.27	สีเขียวเข้ม
3	หญ้าละออง	ทั้งต้น	4.54	สีน้ำตาลเข้ม หนืด
4	ไพล	เหง้า	12.29	สีน้ำตาลเหลือง หนืด
5	น้ำนมราชสีห์	ทั้งต้น	1.40	สีน้ำตาลเข้ม หนืด
6	คำแสด	ใบ	7.17	สีน้ำตาลเข้ม หนืด
7	ข่อย	ใบ	3.34	สีเขียวเข้ม หนืด
8	มะกล่ำตาช้าง	ใบ	4.86	สีน้ำตาลปนเหลือง หนืด

3.1 ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดสมุนไพร ต่อเชื้อสเตรฟโตคอคคัส

จากการศึกษาปริมาณสารสกัดสมุนไพรที่เป็นน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) 10 ชนิด สารสกัดผง 1 ชนิด และสารสกัดหยาบ (crude extract) 8 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อสเตรฟโตคอคคัส ได้ผลการศึกษา คือ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ต่ำกว่า 1,000 พีพีเอ็ม ที่สามารถยับยั้งเชื้อสเตรฟโตคอคคัสได้มี 7 ชนิด ดังนี้ คือ น้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 พีพีเอ็ม น้ำมันตะไคร้หอม 500 พีพีเอ็ม น้ำมันตะไคร้ 500 พีพีเอ็ม น้ำมันพลู 500 พีพีเอ็ม น้ำมันกานพลู 500 พีพีเอ็ม น้ำมันโหระพา 1,000 พีพีเอ็ม และน้ำมันผิวมะกรูด 1,000 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และยังพบว่าสารสกัดสมุนไพรอีก 12 ชนิดที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 1,000 พีพีเอ็ม ได้ คือ สารสกัดขมิ้น น้ำมันขมิ้น น้ำมันใบมะกรูด น้ำมันกะเพรา สารสกัดหยาบไพล สารสกัดหยาบเปลือกสะเดาอินเดีย สารสกัดหยาบใบสะเดาบ้าน สารสกัดหยาบข่อย สารสกัดหยาบคำแสด สารสกัดหยาบน้ำนมราชสีห์ สารสกัดหยาบหญ้าละออง และสารสกัดหยาบมะกล่ำตาช้างดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลของความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรชนิดต่าง ๆ 19 ชนิด ในการยับยั้งเชื้อสเตรฟโตคอคคัส

สมุนไพร	ความเข้มข้นของสมุนไพร (พีพีเอ็ม)					
	0	62.5	125	250	500	1,000
1. สารสกัดขมิ้น	+	+	+	+	+	+
2. น้ำมันขมิ้น	+	+	+	+	+	+
3. น้ำมันใบมะกรูด	+	+	+	+	+	+
4. น้ำมันผิวมะกรูด	+	+	+	+	+	-
5. น้ำมันตะไคร้หอม	+	+	+	+	-	-
6. น้ำมันตะไคร้	+	+	+	+	-	-
7. น้ำมันโหระพา	+	+	+	+	+	-
8. น้ำมันกะเพรา	+	+	+	+	+	+
9. น้ำมันพลู	+	+	+	+	-	-
10. น้ำมันกานพลู	+	+	+	+	-	-
11. น้ำมันเปลือกอบเชยเทศ	+	+	+	-	-	-
12. สารสกัดหยาบเปลือกสะเดาอินเดีย	+	+	+	+	+	+
13. สารสกัดหยาบใบสะเดาบ้าน	+	+	+	+	+	+
14. สารสกัดหยาบหญ้าละออง	+	+	+	+	+	+
15. สารสกัดหยาบไพล	+	+	+	+	+	+
16. สารสกัดหยาบน้ำนมราชสีห์	+	+	+	+	+	+
17. สารสกัดหยาบคำแสด	+	+	+	+	+	+
18. สารสกัดหยาบข่อย	+	+	+	+	+	+
19. สารสกัดหยาบมะกล่ำตาช้าง	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : + หมายถึง เจริญ

\- หมายถึง ไม่เจริญ

3.2 ผลองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดสมุนไพร

จากการศึกษาในหัวข้อ 3.1 น้ำมันเปลือกอบเชยเทศมีค่า MIC เท่ากับ 250 พีพีเอ็ม ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสเตรฟโตคอคคัสได้ดีที่สุด จึงนำมาวิเคราะห์หาสารสำคัญของน้ำ

มันเปลือกอบเชยเทศ ด้วยวิธี GC-MS พบว่ามีปริมาณส่วนประกอบของสารสำคัญ 3 ชนิด คือ **cinnamaldehyde** (C_9H_8O) 83.1 เปอร์เซ็นต์ **coumarin** ($C_9H_6O_2$) 12.6 เปอร์เซ็นต์ และ **cinnamic acid** ($C_9H_8O_2$) 2.2 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลอง	ระยะเวลา (สัปดาห์)				
	0	2	4	6	8
1. Control	2.35±0.00 [a]	4.13±0.12 [a]	7.72±0.36 [a]	11.52±1.04 [a]	17.64±1.76 [a]
2. 250 ppm	2.35±0.00 [a]	3.96±0.09 [a]	7.86±0.37 [a]	11.43±0.40 [a]	18.09±1.01 [a]
3. 500 ppm	2.33±0.01 [a]	3.30±0.23 [b]	6.23±0.51 [b]	8.90±0.90 [b]	14.85±1.05 [b]
4. 1,000 ppm	2.35±0.01 [a]	2.88±0.13 [c]	5.22±0.27 [c]	7.21±0.49 [c]	11.44±0.63 [c]

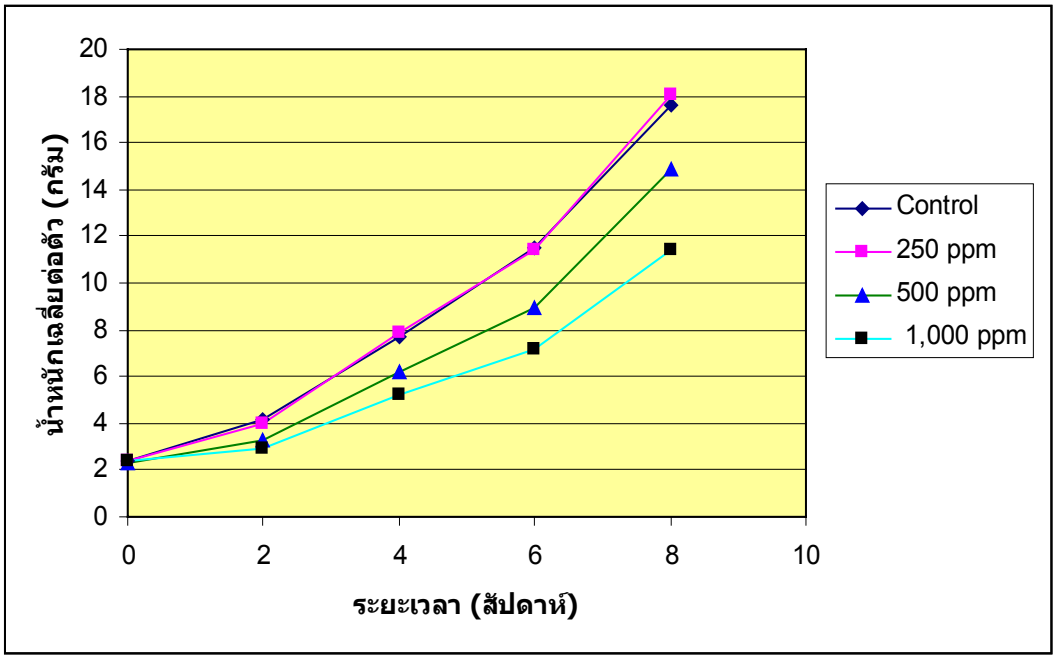
3.3 ผลของน้ำมันเปลือกอบเชยเทศต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศ

3.3.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

เมื่อเริ่มการทดลองน้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัวเริ่มต้นอยู่ในช่วง 2.33±0.01 – 2.35±0.01 กรัม น้ำหนักเฉลี่ยของปลาที่ได้รับอาหารทดลอง 4 สูตร เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยงตลอด 8 สัปดาห์ โดยพบว่าในสัปดาห์ที่ 2 ปลาในชุดควบคุมมีน้ำหนักเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 พีพีเอ็ม แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 พีพีเอ็ม มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงสุดคือ 18.09±1.01 กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม ดังตารางที่ 7 และภาพการเจริญเติบโต ดังภาพที่ 8

ตารางที่ 7 การเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศในความเข้มข้นต่างกัน

ตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)



ภาพที่ 8 แสดงการเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศหลังได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์

3.3.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 4 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลแดงแปลงเพศทั้ง 4 ชุดการทดลองสัมพันธ์กัน โดยปลาในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับ 250 พีพีเอ็มมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุดและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม มีค่าลดลงตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองข้างต้น

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลแดงแปลงเพศทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีความแปรผันตามน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นและมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าอยู่ในช่วง

1.04±0.00 – 1.22±0.16 โดยปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 พีพีเอ็ม มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด ส่วนปลาในชุดที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับ 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อรองลงมา ในขณะที่ปลาในชุดควบคุมมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำสุดและมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) กับปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 พีพีเอ็ม ดังตารางที่ 8

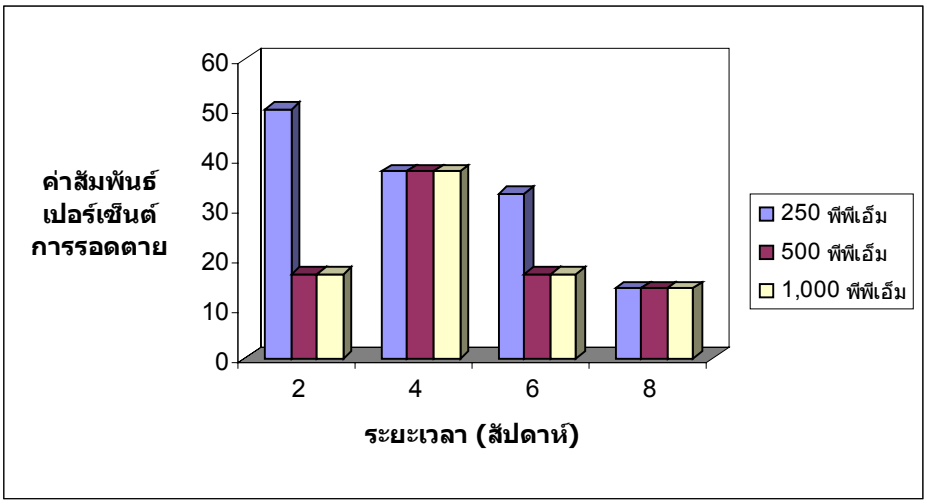
ตารางที่ 8 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลแดงแปลงเพศ ที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ
1. Control	652.08 ± 80.90 [a]	3.60 ± 0.19 [a]	1.22 ± 0.16 [b]
2. 250 ppm	669.40 ± 42.18 [a]	3.64 ±0.10 [a]	1.04 ± 0.00 [a]
3. 500 ppm	536.14 ± 46.33 [b]	3.30±0.13 [b]	1.14±0.08 [ab]
4. 1,000 ppm	387.03 ± 28.16 [c]	2.83 ± 0.11 [c]	1.10 ± 0.06 [ab]

ตัวเลขในแนวตั้งที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$)

3.4 ค่าสัมพันธ์เปอร์เซ็นต์การรอดตายของปลานิลแดงแปลงเพศ

จากการทดสอบการต้านทานเชื้อของปลานิลแดงแปลงเพศหลังได้รับอาหารทดลองโดยให้เชื้อสเตรฟโตคอคคัส พบว่าสัปดาห์ที่ 2 ปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับ 250 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการต้านทานโรคสูงสุด มีค่า RPS เท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม มีค่า RPS เท่ากับ 17 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน ในสัปดาห์ที่ 4 ปลาหลังจากได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250, 500 และ 1,000 พีพีเอ็มมีค่า RPS เท่ากับ 37.5 เปอร์เซ็นต์ เท่ากันทุกชุดการทดลอง ในสัปดาห์ที่ 6 ปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250 พีพีเอ็ม มีความต้านทานโรคสูงที่สุด มีค่า RPS เท่ากับ 33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม ที่มีค่า RPS เท่ากับ 17 เปอร์เซ็นต์ และในสัปดาห์สุดท้าย พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 250, 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม มีความต้านทานโรคลดลงเท่ากัน โดยมีค่า RPS เท่ากันทุกชุดการทดลองเท่ากับ 14 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 9

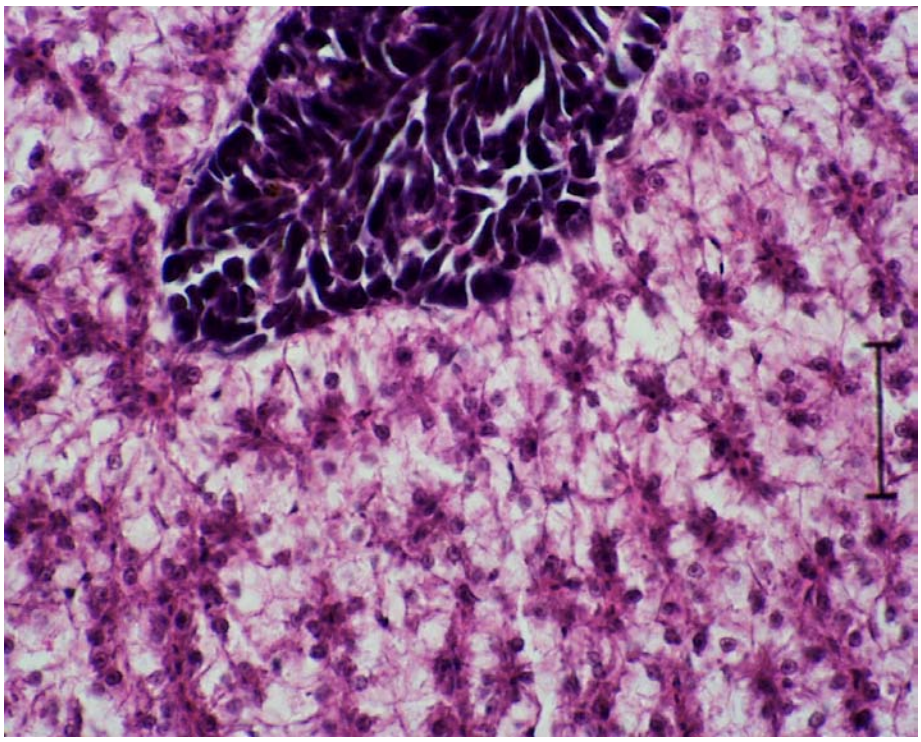


ภาพที่ 9 เปรียบเทียบค่า RPS ของปลานิลแดงแปลงเพศหลังได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศที่ระดับต่าง ๆ แล้วทำการฉีดเชื้อทุก 2 สัปดาห์ ตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์

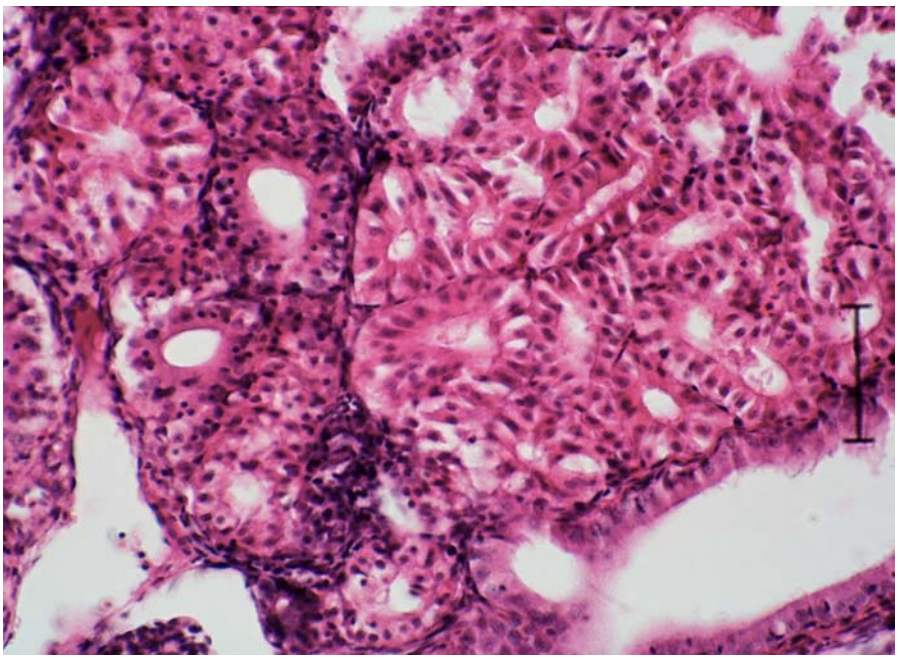
3.5 ผลการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อปลานิลแดงแปลงเพศหลังได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ

จากการศึกษาไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 ส่วนปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 1,000 พีพีเอ็ม นาน 6 สัปดาห์ และปลาที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชย

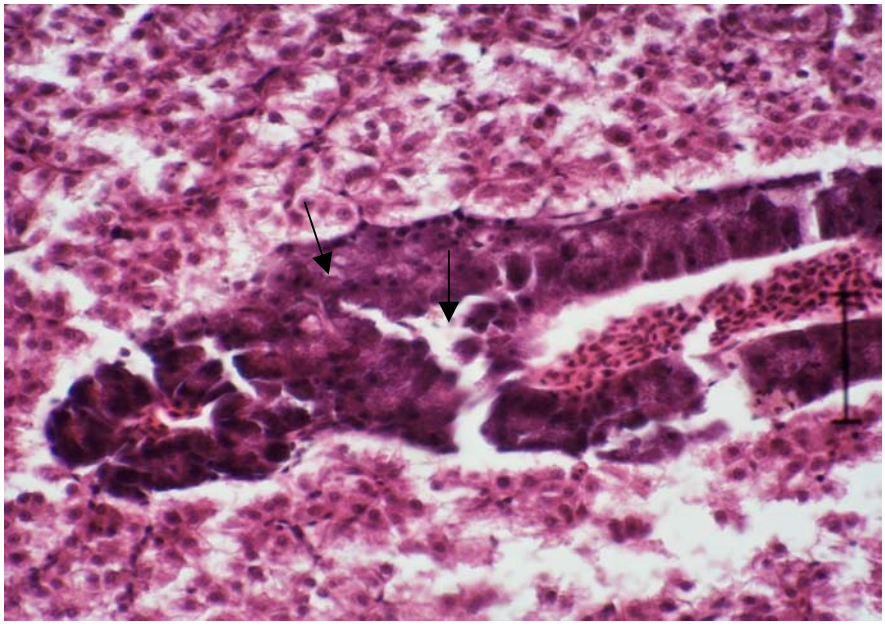
เทศ 500 พีพีเอ็ม สัปดาห์ที่ 8 พบว่า เมื่อเปรียบเทียบเนื้อเยื่อของปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมที่มีเนื้อเยื่อตับ ตับอ่อน และไตเป็นปกติ (ภาพที่ 10-11) จะเห็นได้ว่า เนื้อเยื่อตับหดเล็กลง (atrophy) และเซลล์เสื่อมสภาพ (degeneration) นิวเคลียสของเซลล์เกิดการหดตัวด้วย รวมทั้งฮีพาติกไซนูซอยด์ (hepatic sinusoid) ขยายกว้างขึ้น (ภาพที่ 12-13) ตับอ่อน ส่วนอะซิน่าเซลล์ (pancreatic acinar) แสดงการลดลงของไซโมเจนแกรนูล (zymogen granule) และเนื้อเยื่อไตเกิดการหดตัวของโกลเมอรูลัส (glomerulus) (ภาพที่ 14) และมีเซลล์ตาย (cell necrosis) เกิดช่องว่างเป็นจำนวนมาก และติดสีย้อมฮีมาทอกไซลีนแน่นทึบอย่างเห็นได้ชัด



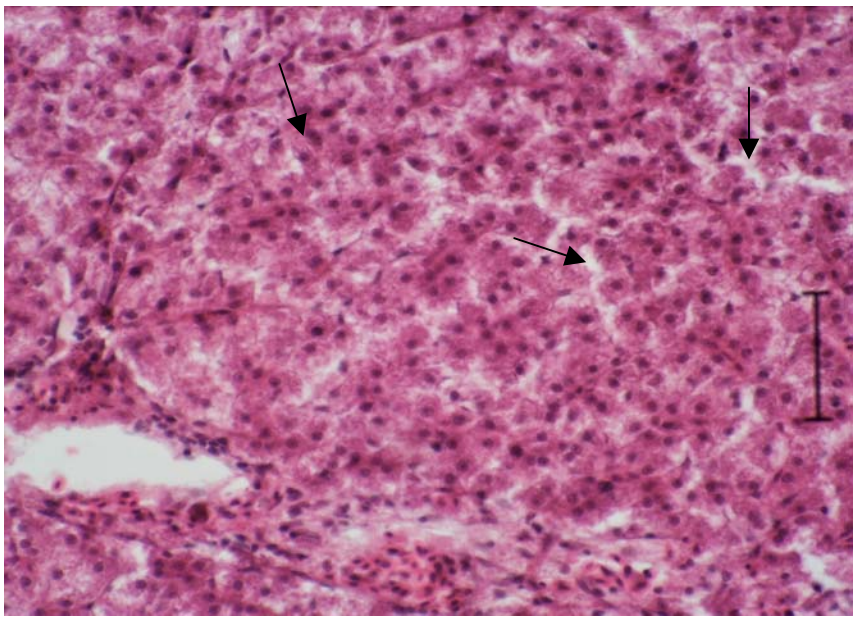
ภาพที่ 10 เซลล์ตับปกติของปลานิลแดงแปลงเพศในสูตรควบคุม (H&E, Bar = 100 µm)



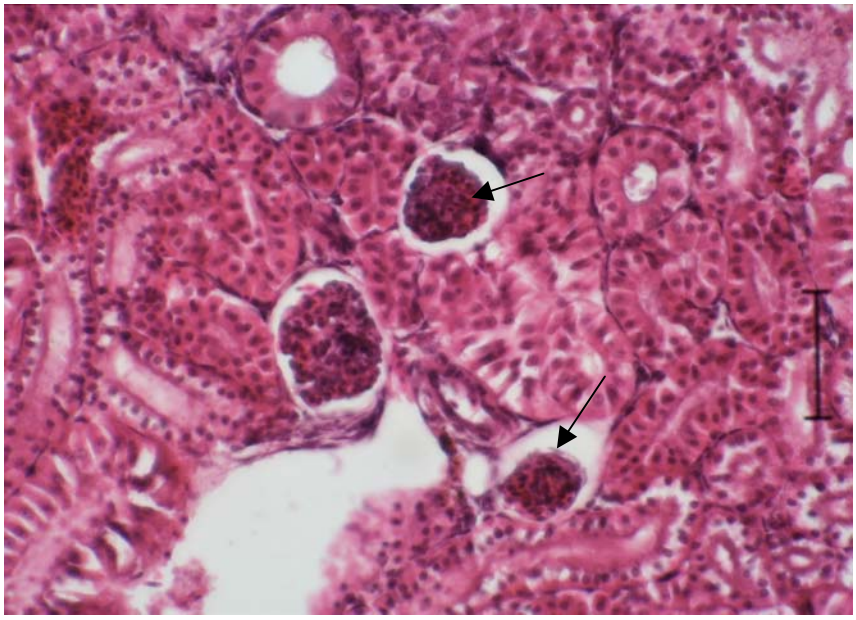
ภาพที่ 11 เซลล์ไตปกติของปลานิลแดงแปลงเพศในสูตรควบคุม (H&E, Bar = 100 µm)



ภาพที่ 12 เซลล์ตับอ่อนปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชย 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม ที่ 6-8 สัปดาห์ อะซิน่าเซลล์ (pancreatic acinar) แสดงการลดลงของไซโมเจนแกรนูล (zymogen granule) (H&E, Bar = 100 µm)



ภาพที่ 13 เซลล์ตับของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม ที่ 6-8 สัปดาห์ แสดงการหดตัว (atrophic) ของเซลล์ตับ และเกิดการขยายตัวของฮีพาติกไซนูซอยด์ (hepatic sinusoid) (ศรชี้) (H&E, Bar = 100 µm)



ภาพที่ 14 เซลล์ไตของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารผสมน้ำมันเปลือกอบเชยเทศ 500 และ 1,000 พีพีเอ็ม ที่ 6-8 สัปดาห์ แสดงการหดตัวของโกลเมอรูลัส (glomerulus) (ศรชี้) (H&E, Bar = 100 µm)