สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยอาหารเสริมเบต้ากลูแคน

Increasing immune response in sea bass (*Lates calcarifer*) by supplement ß-glucan in fish feed

T104589

โดย

นายอิทธิพล สุริยะฉาย

สพ.
ว 727 ก
2550
เลขหมู่.....
104589
เลขทะเบียน.....
- 5 พ.ย. 2552
วัน,เดือน,ปี.....

b 12160143
i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยอาหารเสริมเบต้ากลูแคน
Increasing immune response in sea bass (*Lates calcarifer*)
by supplement ß-glucan in fish feed

ชื่อนักศึกษา นายอิทธิพล สุริยะฉาย

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรี เรืองเดช

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรี เรืองเดช)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 28 **เดือน** ต.ค. **พ.ศ.** 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ
เรื่อง

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวด้วยอาหารเสริมเบต้ากลูแคน

Increasing immune response in sea bass (*Lates calcarifer*) by supplement ß-glucan in fish feed

การเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ด้วยเบต้ากลูแคนโดยใช้ส่วนผสมของเบต้ากลูแคน ที่ระดับ 0, 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัม และมีการให้ตลอดการทดลอง การให้แล้วหยุดและมีการสลับกับการให้อาหารธรรมดา เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่าอัตราการเพิ่มของเม็ดเลือดขาวมีปริมาณเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ให้อาหารเบต้ากลูแคนที่ระดับ 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารและมีการสลับกับการให้อาหารธรรมดา มีจำนวนเม็ดเลือดขาว 8.33±0.88 และ5.33±0.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและมีปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น 20.34 ± 1.7 และ 25.33±0.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* พบว่า ปลาที่อยู่ในกลุ่มที่ให้อาหารทดลองสลับอาหารธรรมดา และให้เบต้ากลูแคนที่ระดับ 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดตายสูงที่สุด โดยมีอัตราการรอดตาย 50 % และ 30 % เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมงหลังจากการฉีดเชื้อ) การเจริญเติบโตพบว่ากลุ่มที่ให้อาหารเบต้ากลูแคนที่ระดับ 3 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารและมีการสลับกับการให้อาหารธรรมดา พบว่าปลามีอัตราการเจริญเติบโตสูงมากที่สุด ใน 8 สัปดาห์เมื่อทำการทดลองต่อเป็นเวลา 10 สัปดาห์พบว่าปลาที่ให้อาหารเบต้ากลูแคนที่ระดับ 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารปลาจะมีการเจริญเติบที่ต่ำกว่าปลาที่ให้อาหารกลูแคนที่ระดับ 0 และ 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร จากการศึกษาพบว่าระดับเบต้ากลูแคน 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และให้อาหารที่เสริมเบต้ากลูแคนสลับอาหารธรรมดาสามารถเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในปลากะพงขาวได้ดีที่สุดแต่ต้องให้ในระยะเวลาที่เหมาะสมไม่เกิน 8 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษในครั้งนี้จะไม่สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ถ้าขาดบุคคลที่สำคัญ 2 ท่าน คือผู้ช่วยศาสตร์จารย์ ดร. อัจฉรี เรืองเดช และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ ที่ช่วยเหลือและผลักดันให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้ผ่านพ้นไปได้ด้วยดี โดยเฉพาะอาจารย์อัจฉรี ที่ให้ความรู้ ให้คำปรึกษา และ คำแนะนำดีๆแก่ข้าพเจ้าเสมอมา พร้อมทั้งให้อะไรดีๆอีกหลายอย่างที่ข้าพเจ้าไม่เคยได้รับมาก่อน ขอบพระคุณครับ และปัญหาพิเศษนี้จะไม่สมบูรณ์เลย หากขาดบุคคลสำคัญเหล่านี้

ขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่คอยอบรมสั่งสอนข้าพเจ้าทั้ง อาจารย์อนัญญา, อาจารย์สมชาย, อาจารย์ศักดิ์ชัย, อาจารย์ปวีณา, อาจารย์มณฑล, อาจารย์รุ่งตะวัน, และอาจารย์สุนีรัตน์

ขอขอบคุณพี่ๆเจ้าหน้าที่ภาคทุกท่าน พี่แสง, พี่มอญ, พี่โก๋, พี่นิพนธ์ และพี่กิ๊บ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์พร้อมคำแนะนำที่ดี

ขอขอบคุณพี่ปริญญาโท ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้คำแนะนำในการแก้ปัญหามาโดยตลอด โดยเฉพาะพี่ป่าน ขอขอบคุณจากใจจริง

ขอบคุณเพื่อนๆรุ่น 11 ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ คำปรึกษา และช่วยแก้ปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นให้ผ่านพ้นไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบคุณพ่อแม่ และพี่ น้อง รวมทั้งญาติผู้ใหญ่ทุกท่านที่ให้ทั้งกำลังใจและกำลังทรัพย์มาโดยตลอด และอีกหลายสิ่งหลายอย่างจนทำให้ผมมีวันนี้

นายอิทธิพล สุริยะฉาย

เมษายน 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	8
ผลการทดลองและวิจารณ์	13
สรุป	19
เอกสารอ้างอิง	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) หลังจบการทดลอง	13
2	จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) หลังจบการ ทดลอง	14

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ค่า O.D.ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และจำนวนโคโลนีเฉลี่ยที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	22
2	อัตราการรอดชีวิตของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) หลังจากได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลาต่างๆกัน	23
3	เปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดงของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)	24
4	น้ำหนักเฉลี่ยของกะพงขาว (*Lates calcarifer*) เริ่มต้นและสิ้นสุดทดลอง	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	รูปปลากะพง	2
2	โครงสร้างของเบต้ากลูแคน	4
3	ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลากะพง	15
4	อัตราการรอดของปลากะพงขาวเมื่อได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila*	16
5	น้ำหนักของปลากะพงขาวในแต่ละกลุ่ม ที่ชั่งตั้งแต่เริ่มการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

หลายประเทศที่มีการเลี้ยงปลาอย่างหนาแน่นจึงทำให้ปลาเกิดความเครียดและมีความอ่อนแอลงทำให้ปลาเกิดโรคได้ง่าย จึงมีการทดลองการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันหลายชนิดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในปลา เช่น เบต้ากลูแคนและวิตามินซี ซึ่ง เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และเป็นที่ยอมรับว่ามีประสิทธิภาพสูงในการกระตุ้นการตอบสนองภูมิคุ้มกันในแบบไม่จำเพาะในสัตว์น้ำหลายๆชนิด เช่น การทดลองในกุ้งกุลาดำจะพบว่าเมื่อกุ้งได้รับอาหารที่ผสม ß-glucan จะทำให้ระบบภูมิคุ้มกันมีสูงขึ้นการให้วิตามินซีในปลากะพงพบว่าปริมาณของวิตามินซีที่เพิ่มขึ้นปริมาณภูมิคุ้มกันของปลาจะเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งสองชนิดนี้สามารถกระกุ้นภูมิคุ้มกันให้มีสูงขึ้นและคาดว่าเมื่อใช้สารทั้งสองชนิดรวมกันจะทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นได้

วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาระดับของเบต้ากลูแคนที่เหมาะสมในการเพิ่มภูมิคุ้มกัน

2.ศึกษาถึงช่วงระยะเวลาการให้เบต้ากลูแคนที่ในการเพิ่มภูมิคุ้มกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

ชีววิทยาของปลากะพงขาว

ปลากะพงขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) ว่า *Lates calcarifer* ซึ่งลักษณะโดยทั่ว ๆ ไปของปลากะพงขาว มีลักษณะลำตัวค่อนข้างยาวและหนาแบนข้างเล็กน้อย บริเวณไหล่จะโค้งมน ส่วนตัวจะลาดชันและเว้า ส่วนของขากรรไกรล่างยื่นยาวกว่าขากรรไกรบนเล็กน้อย ปากกว้าง ขอบปากบนเป็นแผ่นใหญ่ แยกเป็นแนวตอนต้น และตอนท้ายอย่างชัดเจน บริเวณส่วนปากจะยืดหดได้บ้าง ช่องปากเฉียงลงด้านล่างเล็กน้อย มีฟันเล็กละเอียดบนขากรรไกรบนและล่างและที่เพดานปาก ตาของปลาชนิดนี้มีขนาดกลาง ไม่มีเยื่อที่เป็นไขมันหุ้ม แผ่นปิดเหงือกมีขนาดใหญ่ มีขอบหลังเป็นหนามแหลม 4 ชี่ และเรียงต่อด้วยชี่เล็ก ๆ จัดตามแนวหลัง ด้านบนส่วนหัว และบนแผ่นเหงือก มีเกล็ดขนาดต่าง ๆ กัน เกล็ดบริเวณลำตัวค่อนข้างใหญ่ ด้านหลังมีสีเทาเงินหรือเขียวปนเทา ส่วนท้องมีสีเงินแกมเหลือง บริเวณด้านข้างของลำตัวมีสีเงิน ครีบหลัง ครีบก้น ครีบหาง จะมีสีเทาปนดำบาง ๆ มีครีบหลัง 2 ตอน ตอนแรกอยู่ตรงตำแหน่งของครีบท้อง มีก้านครีบแข็ง ที่แหลมคมขนาดใหญ่ 7-8 ก้าน เชื่อมต่อกันด้วยเยื่อบาง ๆ ครีบหลังตอนที่ 2 แยกจากตอนแรกอย่างเห็นได้ชัด มีก้านครีบแข็ง 1 ก้าน ก้านครีบอ่อน มีปลายแตกแขนงมี 10-11 ก้าน ครีบหูและครีบอกยาว ไม่ถึงรูก้น ครีบก้นมีตำแหน่งใกล้เคียงกับครีบหลังตอนที่ 2 ซึ่งประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 3 ก้าน ก้านครีบอ่อน 7-8 ก้าน ข้อหางสั้น ครีบหางค่อนข้างกลมเส้นข้างตัวโค้งไปตามแนวสันหลัง มีเกล็ดบนเส้นข้างตัว 52-61 เกล็ด

ภาพที่ 1 รูปปลากะพงขาว

ที่มา: http://www.growfish.com.au/images/Wallpaper/Sea-bass.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแพร่กระจาย

ปลากะพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยขนาดใหญ่ที่สุด เจริญเติบโตได้ดีในน้ำกร่อยและน้ำจืด จัดได้ว่าเป็นปลาประเภท 2 น้ำ คือในช่วงชีวิตของปลากะพงขาวจะมีการเคลื่อนย้ายไปมาระหว่างแหล่งน้ำจืด และน้ำเค็ม ปลากะพงขาวขนาดใหญ่จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่ห่างไกลออกไปจากฝั่งมากนัก พบมากบริเวณปากแม่น้ำลำคลอง ปากทะเลสาบและปากอ่าวบริเวณที่เป็นป่าชายเลน ที่มีน้ำเค็มท่วมถึง โดยจะพบอยู่ ทั่ว ๆ ไปในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นับตั้งแต่พม่า ไทย มาเลเซีย เวียดนาม และแถบชายฝั่งทะเลของจีน ก็พบปลาชนิดนี้เช่นเดียวกัน สำหรับประเทศไทยเรานั้นสามารถพบปลากะพงขาว ตามชายฝั่งทะเลโดยเฉพาะบริเวณปากแม่น้ำใหญ่ ๆ ที่มีทางออกติดต่อกับทะเลที่มีป่าชายเลนขึ้นปกคลุมทางจังหวัดตราด จันทบุรี ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ สมุทรสงคราม เป็นต้น

ปลากะพงขาวจะผสมพันธุ์และวางไข่ในน้ำทะเลที่มีความเค็มประมาณ 28-32 ppt ในทะเลที่มีความลึก หลังจากนั้นไข่จะถูกพัดพาเข้าสู่บริเวณชายฝั่ง และฟักออกเป็นตัว ลูกปลากะพงขาวที่ฟักออกเป็นตัว จะดำรงชีวิตในน้ำกร่อยและในน้ำจืด จนมีอายุได้ 2-3 ปี มีขนาด 3-5 กิโลกรัม จะเคลื่อนตัวออกสู่ทะเล เพื่อทำการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป

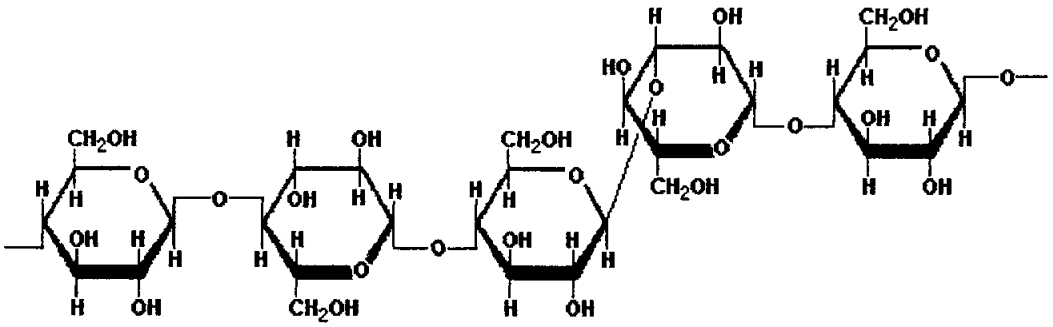
การแยกเพศ

ปลากะพงขาวเป็นปลาที่สังเกตเพศได้ยาก แต่ก็สามารถสังเกตเพศได้จากลักษณะภายนอกของตัวปลา โดยปลาเพศผู้จะมีลักษณะลำตัวยาวเรียวกว่าเพศเมีย ลำตัวมีส่วนลึกที่น้อยกว่าปลาเพศเมีย และมีน้ำหนักตัวน้อยกว่าปลาเพศเมียที่มีขนาดลำตัวยาวเท่ากัน ในปลาเพศเมียนั้น เมื่อถึงฤดูวางไข่ในช่วงเดือนพฤษภาคม-กันยายน ส่วนท้องจะอวบเปล่ง สังเกตได้ชัดเจน เมื่อเวลาเอามือคลำที่ท้องจะมีไข่ไหลออกมา

เบต้ากลูแคน

เบต้ากลูแคนเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่งที่มีโครงสร้างแบบ ß-1,3 - glucan ที่พบได้จากผนังเซลล์ของยีสหรือจากพวกข้าวโอ๊ต คุณสมบัติที่พิเศษของเบต้ากลูแคนคือสามารถเพิ่มภูมิคุ้มกันได้ เนื่องจากมีโครสร้างที่เหมาะสมกับการยึดเกาะกับแมคโครฝาจทำให้แมคโครฝาจได้รับการกระตุ้นให้ผลิตในปริมาณมากขึ้น ดังนั้นเบต้ากลูแคนจึงเป็นสารชนิดหนึ่งที่นิยมใช้เพิ่มภูมิคุ้มกันในรูปแบบต่างๆ เช่น การใช้เบต้ากลูแคนเพียงอย่างเดียวเสริมลงในอาหาร การฉีดเข้าช่องท้องหรือการใช้เบต้ากลูแคนร่วมกับสารเสริมภูมิคุ้มกันอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 โครงสร้างของ เบต้ากลูแคน

ที่มา: http://www.scientificpsychic.com/fitness/glucan.gif

ระบบภูมิคุ้มกัน

หน้าที่สำคัญของเม็ดเลือดขาว คือ ต่อต้านการติดเชื้อและกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย มี 5 ชนิด คือ neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils และ basophils (เรียงลำดับพบมากไปน้อย) มีแหล่งกำเนิดที่ pluripotent stem cell ในไขกระดูกเช่นเดียวกับเม็ดเลือดแดง

Polymorphonuclear (PMN) neutrophils ใช้เวลาในการสร้าง 7 - 14 วัน มีอายุ 6 ชั่วโมง หน้าที่หลักคือ การทำลายและจับกินแบคทีเรีย (phagocyte) ถ้ามีการติดเชื้อแบคทีเรียและบาดเจ็บ จะทำให้ neutrophils สูงขึ้น ซึ่งเป็นผลทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น บ่อยครั้งเมื่อมีการกระตุ้นการสร้าง neutrophils จะมี immature neotrophils เข้าสู่กระแสการไหลเวียน ซึ่งจะพบมากในภาวการณ์ติดเชื้อแบคทีเรีย

Lymphocytes แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ T-cell และ B-cell T-cell ทำหน้าที่เกี่ยวกับ cellular-type immune reaction, B-cell ทำหน้าที่เกี่ยวกับ humoral immunity (สร้างภูมิกันของร่างกาย) หน้าที่อันดับแรกของ Lymphocytes คือต่อสู้การติดเชื้อแบคทีเรียที่เรื้อรัง และการติดเชื้อไวรัสอย่างเฉียบพลันMonocytes เป็น phagocytic cell ต่อสู้แบคทีเรียคล้ายกับ neutrophils แต่ร่างกายสร้างได้เร็วกว่าและอายุยาวนานกว่าneutrophils

Basophils และ Eosinophils เกี่ยวข้องกับ allergic reaction ถ้ามีการติดเชื้อพวกปรสิต จะทำให้ Basophils และ Eosinophils สูงขึ้น

เม็ดเลือดขาวทำหน้าที่ phagocytosis ได้อย่างดีที่สุดคือ monocyte ซึ่งมีอยู่ประมาณ 5% ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด เมื่อ monocyte ออกจากกระแสเลือดไปอยู่ที่เนื้อเยื่อจะมีขนาดใหญ่ขึ้นและกลายเป็น macrophage (= big eater) เมื่อมีเชื้อโรคเข้ามา macrophage จะห่อหุ้ม (engulf) เชื้อไว้แล้วปล่อยเอนไซม์จาก lysozyme ออกมาย่อย แต่มีเชื้อบางชนิดเช่น Mycobacterium tuberculosis ทนต่อเอนไซม์ดังกล่าวและสามารถเจริญได้ใน macrophage macrophage ส่วนใหญ่อยู่ในม้ามและต่อมน้ำเหลือง และมีบางส่วนไปอยู่ถาวรตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ และมีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไปเช่น ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปอดคือ alveolar macrophage ในตับคือ Kuffer's cell ในไตคือ mesoglial cell ในสมองคือ microglial cell และในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคือ histiocytes เป็นต้น

นอกจาก macrophage แล้วยังมี neutrophil (มีประมาณ 60-70% ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด) ทำหน้าที่ phagocytosis ได้เช่นเดียวกัน โดยจะ engulf เชื้อเข้าไว้ภายในเซลล์แล้วตัวเองก็ตายไปพร้อมกับเชื้อ ดังนั้น neutrophil จึงมีอายุสั้นประมาณ 2-3 วันส่วน eosinophil (มีประมาณ 1.5% ของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดมีหน้าที่ทำลายปรสิตซึ่งมีขนาดโต เช่น พยาธิ โดยเข้าเกาะที่ตัวพยาธิแล้วปล่อยน้ำย่อยออกมาทำลายเซลล์อีกชนิดหนึ่งในระบบภูมิคุ้มกันที่ทำหน้าที่กำจัดเซลล์ของร่างกายที่ติดเชื้อไวรัสและเซลล์ของร่างกายที่ผิดปกติไป เช่น เซลล์มะเร็ง คือ Natural Killer cells (NK cell) โดยจะจู่โจมที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมายแล้วหลั่งสารพวก cytolytic ทำลายเซลล์เป้าหมายโดยการทำให้เซลล์แตก

การใช้ ß-glucan เป็นอาหารเสริมเพียงอย่างเดียว

1. การเสริมภูมิคุ้มกันโดยการกิน

Ai et al.,2007 ได้มีการทดสอบผลของเบต้ากลูแคนที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันในปลา yellow croaker โดยทำการศึกษาโดยการใช้อาหารผสม เบต้ากลูแคน ที่ 3 ระดับ คือ 0%, 0.09%, และ 0.18% พบว่าปลาที่ได้ให้อาหารผสม เบต้ากลูแคนที่ระดับ 0.09% มีผลทำให้ปลามีการเจริญเติบโตมากกว่าปลาในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้ เบต้ากลูแคนในระดับ 0.18% หลังจากนั้นทำการฉีดเชื้อ *Vibrio harveyi* เข้าสู่ตัวปลาพบว่าปลาที่กินอาหารที่ระดับ 0.09% ปลามีอัตราการตายลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองที่ได้รับอาหาร 0.18% เนื่องจากปลาที่ได้อาหารที่ผสมปริมาณเบต้ากลูแคนที่มีระดับสูงเกินไปจะไปยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันและมีผลโดยตรงต่อระบบ respiratory burst หลังจากระยะเวลาหนึ่งที่เซลล์จะทำงานหนักและเสื่อมสภาพแต่การให้อาหารผสมเบต้ากลูแคนที่ระดับ 0.18% จะมีปริมาณของ Lysozyme เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน ซึ่งกระบวนการ Lysozyme จะคอยทำหน้าที่ในการทำลายผนังเซลล์ของเชื้อโรคโดยเฉพาะแบคทีเรีย ในกระบวนการ alternative complement pathway จะไม่มีผลต่อระดับของเบต้ากลูแคนที่เข้าสู่ร่างกาย Selvaraj et al., 2005 ได้ทำการศึกษาในปลาคาร์ฟโดยมีการผสมเบต้ากลูแคนลงในอาหารในระดับ 1%, 2%, และ 4% เมื่อปลาคาร์ฟได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ผลของอัตรารอดไม่มีความแตกต่างกันและปริมาณของ Antibody ในอาหารในแต่ละระดับจะไม่มีความแตกต่างกัน

การเสริม ß-glucan โดยการฉีดเข้าสู่ลำตัว

Whittington et al.,2005 ได้มีการศึกษาผลของการฉีดเบต้ากลูแคนเข้าสู่ลำตัวในปลานิลในปริมาณ 0, 50, 100, 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ปริมาณของ เบต้ากลูแคน 50 และ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทำให้ปลานิลมีอัตรารอดจากเชื้อ *Streptococcus iniae* ได้ถึง 100% ส่วนสารที่มีความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะมีอัตรารอดน้อยที่สุดเนื่องจากความเข้มข้นของเบต้ากลูแคนจะมีผลต่อการลดลงของภูมิคุ้มกันในการศึกษาของ Selvaraj et al., 2005 ได้มีการศึกษาของระดับปริมาณที่เหมาะสมของเบต้ากลูแคนที่ส่งผลต่อภูมิคุ้มกันของปลาคาร์ฟที่ฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยมีการฉีดเบต้ากลูแคนที่ความเข้มข้น 100, 500, 1000 ไมโครกรัม ปลาคาร์ฟที่ได้รับการฉีดเบต้ากลูแคนที่ระดับ 500 ไมโครกรัม ขึ้นไปจะทำให้ปลาคาร์ฟมีอัตรารอดถึง 100% ปริมาณของเบต้ากลูแคนที่ฉีดเข้าสู่ตัวปลาจะมีผลต่อปริมาณภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นปริมาณของ neutrophils และ monocytes เพิ่มขึ้นการดักจับและการทำลายแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นซึ่งเม็ดเลือดขาวทั้ง 2 ชนิดนี้มีหน้าที่ใกล้เคียงกันซึ่งทำให้การดักจับและการทำลายแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพขึ้นกว่าปลาที่ไม่ได้รับเบต้ากลูแคน

เชื้อ *A.hydrophila* สามารถถูกกำจัดโดย macrophages จากปลาที่ฉีด ß – glucan อย่างได้ผลชัดเจน โดยดูจากปริมาณของ bacterial ที่เหลืออยู่ ปริมาณของ ß - glucan ที่ฉีดที่ต่ำที่สุด 100 µg แสดงให้เห็นถึงปริมาณของ bacterial ที่ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 3) ปริมาณของ Antibody ที่มีการต่อต้านเชื้อ *A.hydrophila* ที่ปริมาณ 500 ไมโครกรัม และ 1000 ไมโครกรัม จะมีปริมาณของ Antibody เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน

Kumari and Sahoo.,2006 ได้มีการทดลองเปรียบเทียบการให้อาหารเสริมหลายชนิดในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลา Asian catfish คือ lactoferrin, ß-glucan, levamisole และ วิตามิน C เมื่อนำมาทดสอบภูมิคุ้มกันระหว่างปลาปกติและปลาที่ได้รับสาร cyclophosphsmide ซึ่งเป็นสารยับยั้งการสร้างภูมิคุ้มกันซึ่งเกิดจากสารพิษในแหล่งน้ำพบว่าเมื่อนำปลาที่มีสุขภาพดีมาให้อาหารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้ง 4 ชนิดพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมทั้ง 4 ชนิดสามารถเพิ่มกระบวนการ phagocytic ได้อย่างมีประสิทธิภาพแต่วิตามิน C สามารถเพิ่มปริมาณของ phagocytic ได้ดีที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับสาร cyclophosphsmide กระบวนการ phagocytic จะมีปริมาณลดลงในอาหารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้ง 4 ชนิดแต่ปริมาณของ phagocytic ของอาหารที่เสริม ß-glucan ปริมาณสัดส่วนการลดลงที่น้อยที่สุดเมื่อเปรียบกับปลากลุ่มปกติ

การใช้ ß-glucan ร่วมกับภูมิคุ้มกันอื่นๆ

ผลของการเสริม เบต้ากลูแคน ร่วมกับ lipopolysaccharide (LPS) ที่มีผลต่อเชื้อ A. hydrophila Selvaraj et al., 2006 ได้มีการศึกษาถึงผลของ ß-glucan ร่วมกับ lipopolysaccharide (LPS) ในปลาคาร์ฟโดยมีการให้ที่แตกต่างกันหลายวิธี (การฉีดเข้าตัว, การแช่ และการผสมในอาหาร) การทดลองแสดงให้เห็นว่าปลาที่ฉีด 100 ไมโครกรัมß-glucan + 10 lipolysaccharide ในความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดมีผลทำให้ปลามีอัตรารอดถึง 100% ส่วนการผสมในอาหารมีอัตรารอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่การผสมอาหารให้กินต้องใช้สารที่มีความเข้มข้นสูงถึง 0.5 ß-glucan +

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.125 LPS และ 1 ß-glucan + 0.125 LPS ส่วนการแช่ จะไม่ส่งผลต่ออัตรารอดในปลาคาร์ฟ lipopolysaccharide เป็นสารสร้างภูมิคุ้มกันชนิดหนึ่งที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะเจาะจง เมื่อใช้ร่วมกับเบต้ากลูแคนจะช่วยส่งผลให้สร้างระบบภูมิคุ้มได้มากขึ้นและสามารถใช้ในปริมาณที่น้อยลงแต่ปริมาณภูมิคุ้มกันเพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. การนับเซลล์เม็ดเลือดปลา

1.1 ปลากะพงขาว

1.2 เข็มฉีดยา (Syringe) เบอร์ 25 G

1.3 สไลด์

1.4 หลอด hematocrit

1.5 ดินน้ำมันขาว

1.6 Cover glass

1.7 ผ้าขนหนู

1.8 ยาสลบ

1.9 ถาดพาราฟิน

2. การเปรียบเทียบความสามารถในการต่อต้านเชื้อ

2.1 เชื้อ *Aeromonas hydrophila*

2.2 เครื่องแก้วสำหรับเลี้ยงเชื้อ

2.3 เครื่องแก้วปรับปริมาตร

2.4 ขวด Duran ใส

2.5 ไมโครปิเปต (Micropipette)

2.6 ปิเปต (pipette)

2.7 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2.8 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Flow)

2.9 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

2.10 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

2.11 เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนความเร็วสูง (Centrifuge)

2.12 หม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave)

2.13 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

2.14 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

2.15 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA), Nutrient broth (NB)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ชุดอาหาร

3.1 อาหารปลากะพง

3.2 เบต้ากลูแคนผสมวิตามินซี

3.3 น้ำมันปลาหมึก

4. อุปกรณ์อื่นๆในการเลี้ยง

4.1 ถังขนาด 100 ลิตร

4.2 หัวทรายและสายลม

4.3 สายยาง

4.4 ปั๊มน้ำ

4.5 อาหารปลากะพง

4.6 เครื่องวัดความเค็ม (Salinometer)

4.7 คลอรีน

วิธีการ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) และใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) โดยแบ่งเป็น 2 ปัจจัย เมื่อปัจจัยที่หนึ่งมี 3 ระดับและปัจจัยที่สองมี 4 ระดับ ดังนั้นจึงเรียกแผนการทดลองนี้ว่า 3x4 factorial experiments in CRD

ปัจจัยที่หนึ่งแบ่งเป็นระยะเวลาการให้อาหาร มี 3 ระดับคือ

1.ให้อาหารที่มีส่วนผสมของเบต้ากลูแคน 20 วันแล้วให้อาหารธรรมดาตลอด

2.ให้อาหารที่มีส่วนผสมของเบต้ากลูแคนตลอดการทดลอง

3.ให้อาหารที่มีส่วนผสมของเบต้ากลูแคน สลับกับการให้อาหารธรรมดา

ปัจจัยที่สองแบ่งเป็นระดับของเบต้ากลูแคนที่ผสมอาหาร มี 4 ระดับคือ

1.อาหารที่ไม่ผสมเบต้ากลูแคน (ควบคุม)

2.อาหารที่ผสมเบต้ากลูแคนที่ระดับ 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม

3.อาหารที่ผสมเบต้ากลูแคนที่ระดับ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม

4.อาหารที่ผสมเบต้ากลูแคนที่ระดับ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการทดลอง

1.การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ปลากะพงขาวจำนวน 360 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 6.45 กรับต่อตัวเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป โดยให้อาหาร 6% ของน้ำหนักตัวให้อาหารวันละ 3 ครั้ง เช้า-กลางวัน-เย็น ระดับความเค็ม 5 ppt เปลี่ยนถ่ายน้ำอาทิตย์ละ 1 ครั้ง

2.การเตรียมอาหาร

อาหารที่ใช้ทดลองเป็นอาหารสำเร็จรูป เบต้ากลูแคนผสมวิตามินซี มาผสมอาหารในระดับความเข้มข้น 4 ระดับคือ 0, 1, 3, 5 กรัมต่ออาหารหนึ่งกิโลกรัม โดยคลุกเคล้าให้ทั่วกันจากนั้นเคลือบด้วยน้ำมันปลาหมึก 30-40 ซีซี ต่ออาหาร 1 กิโลกรัมนำไปผึ่งลมให้แห้ง

3.การทดลองเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลอง

แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

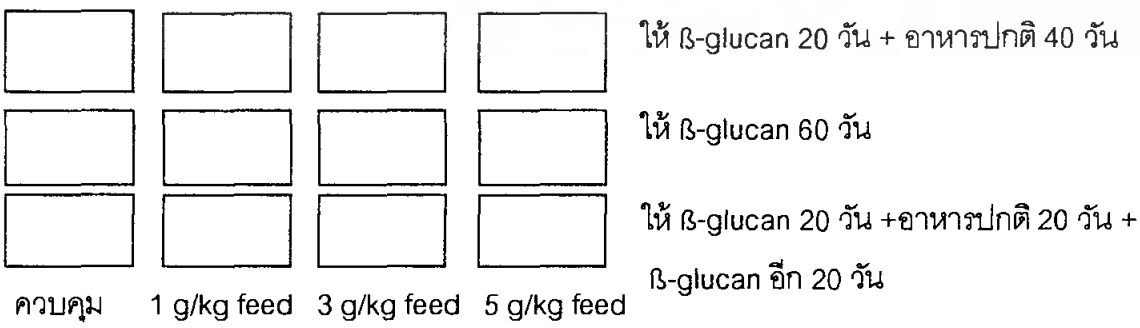
1.ชุดการทดลองที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ใช้อาหารที่คลุกน้ำมันปลาหมึกเพียงอย่างเดียว

2.ชุดการทดลองที่ 2 ใช้อาหารที่ผสมเบต้ากลูแคนที่ระดับ 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม

3.ชุดการทดลองที่ 3 ใช้อาหารที่ผสมเบต้ากลูแคนที่ระดับ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม

4.ชุดการทดลองที่ 4 ใช้อาหารที่ผสมเบต้ากลูแคนที่ระดับ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม

จัดชุดระบบกรองน้ำให้เรียบร้อยให้อาหารทุกชุดการทดลองการทดลองละ 6% ของน้ำหนักตัวต่อวันเลี้ยงเป็นเวลา 60 วัน ในซ้ำที่ 2 ของทุกการทดลอง จะมีการให้อาหารธรรมดาสลับกับอาหารที่ผสมเบต้ากลูแคนสลับกัน อย่างละ 1 ชนิด ในซ้ำที่ 3 ของทุกการทดลองมีการให้อาหารผสมเบต้ากลูแคนเพียง 1 สัปดาห์เดียว ทำการตรวจวัดค่า pH ค่า DO และอุณหภูมิทุกวันชั่งน้ำหนักปลาเพื่อวัดค่าการเจริญเติบโตในแต่ละชุดการทดลอง ชั่งน้ำหนักปลาเพื่อวัดค่าการเจริญเติบโตในแต่ละชุดการทดลอง ดังแผนภาพด้านล่าง



แถวแนวตั้ง คือระดับของ ß-glucan ที่ผสมในอาหาร

แถวแนวนอน คือช่วงระยะเวลาที่ให้อาหารทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การศึกษาผลของ เบต้ากลูแคนที่มีผลต่อองค์ประกอบเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดปลากะพงจำนวน 9 ตัวต่อ 1 ชุดการทดลอง ซ้ำละ 3 ตัวทำการสลบปลาเจาะเลือดบริเวณส่วนหาง ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 25G ใช้หลอดฉีดยาที่เคลือบด้วยสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเพื่อใช้วิเคราะห์หาจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวและปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

4.1 ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น นำเลือดใส่ในหลอดคาปิลาลี่สำหรับหาค่าฮีมาโตคริต ปิดปลายด้วยดินน้ำมันนำหลอดคาปิลาลี่เข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 4 นาที วัดปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

4.2 การนับเม็ดเลือดแดงเม็ดเลือดขาวทำการเก็บเลือดปลานำเลือดปลาหยดลงบนสไลด์แล้วใช้สไลด์อีกแผ่น smear เลือดให้เป็นแผ่นบางๆโดยลากผ่านหยดเลือด ทิ้งสไลด์ให้แห้งแล้วนำมาย้อมด้วยน้ำยา Wright และ Giemsa

4.3 การเปรียบเทียบการความสามารถการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยนำเชื้อมาจากหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเลมาใช้ในการทดสอบมีดังนี้

4.3.1 เพิ่มจำนวนเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ใน Nutrient broth (NB) โดยบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่ 32 องศาประมาณ 2 ชั่วโมง

4.3.2 ทำกราฟมาตรฐานระหว่าค่าดูดกลืนแสงและจำนวนเซลล์ของเชื้อในปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยนำเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่อยู่ใน (NB) ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเทอาหารทิ้ง แล้วล้างเชื้อด้วย 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที แล้วปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง จากนั้นเติม 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ปริมาตรเท่ากับปริมาตรของ NB แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยเชื้อ 0.85 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเจือจาง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเจือจางของเชื้อไปหาจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการหยดเชื้อ 10 จุด ใช้ปริมาตรจุดละ 10 ไมโครลิตร บน Nutrient agar (NA) แล้วบ่มเชื้อประมาณ 16-18 ชั่วโมงหลังจากนั้นนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ ทำการคำนวณหาจำนวนเซลล์ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำค่าที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานและหาสมการเส้นตรง

4.3.3 ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยการใช้เชื้อที่มีอายุ 18-20 ชั่วโมงเพื่อให้เชื้อออกฤทธิ์รุนแรงมากที่สุดทำการล้างเซลล์เชื้อตามวิธีการข้อ 4.3.2 หลังจากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรแล้วหาจำนวนเซลล์โดยคำนวนจากสมการเส้นตรงที่ได้ทำจากกราฟมาตรฐานแล้วทำการทดสอบดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3.1 นำตู้ขนาด 100 ลิตรใส่น้ำเค็มที่มีความเค็ม 5 ส่วนในพันส่วน ปริมาตร 60 ลิตรโดยใส่ปลากะพงที่ได้รับ เบต้ากลูแคนผสมวิตามินซีมาแล้วระยะเวลา 2 เดือน ถังละ 10 ตัว โดยทำซ้ำ 3 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง ให้อากาศตลอดเวลา

4.3.3.2 นำเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ฉีดเข้าสู่ช่องท้องให้มีความเข้มข้น 10^9 CFU/ml จากนั้นสังเกตพฤติกรรม และบันทึกอัตราการรอดชีวิต ที่เวลา 24, 28, 72, และ 96 ชั่วโมง หลังจากฉีดเชื้อ

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลากะพง
2. บันทึกอัตราการรอดชีวิตของปลากะพงหลังจากได้รับเชื้อ 24, 48, 72 และ 79 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for window version 15.0

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

ระยะเวลาทำการทดลอง

เดือนพฤศจิกายน 2550 ถึงเดือนมีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการหาค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลากะพงขาวในแต่ละกลุ่มการทดลอง พบว่าในกลุ่มที่ให้อาหารทดลอง 20 วันแล้วให้อาหารธรรมดาที่ระดับของเบต้ากลูแคนทุกระดับ กลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร 24.89 ± 2.56, 21.61 ± 1.92, และ 22.66± 1.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 1)แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับลุ่มควบคุมที่ให้อาหารปกติ 27.45 ± 2.32 ส่วนในกลุ่มที่ให้อาหารทดลองตลอดการทดลองที่การให้เบต้ากลูแคนทุกระดับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น 24.89 ± 2.56, 21.61 ± 1.92, และ 22.66± 1.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับลุ่มควบคุมที่ให้อาหารปกติ 27.45 ± 2.32 (ตารางที่ 1) และในกลุ่มที่มีการให้อาหารทดลองสลับอาหารธรรมดาที่การให้เบต้ากลูแคนทุกระดับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นกัน กลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น(23.42 ± 1.57, 20.34 ± 1.72, และ 25.58 ± 2.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ตามลำดับ แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับลุ่มควบคุมที่ให้อาหารปกติ 27.45 ± 2.32 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) หลังสิ้นสุดการทดลอง 60 วัน

กลุ่มการทดลอง	ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (เปอร์เซ็นต์)		
	ให้ 20 วัน	ให้ตลอด	ให้สลับกัน
ควบคุม	27.45 ± 2.32^{c}	27.45 ± 2.32^{c}	27.45 ± 2.32^{c}
เบต้ากลูแคน 1กรัม/กิโลกรัมอาหาร	24.89 ± 2.56^{ab}	24.91 ± 1.60^{ab}	23.42 ± 1.57^{ab}
เบต้ากลูแคน 3กรัม/กิโลกรัมอาหาร	21.61 ± 1.92^{a}	23.52 ± 1.28^{ab}	20.34 ± 1.72^{a}
เบต้ากลูแคน 5กรัม/กิโลกรัมอาหาร	22.66 ± 1.99^{ab}	24.74 ± 2.37^{ab}	25.58 ± 2.82^{ab}

ตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

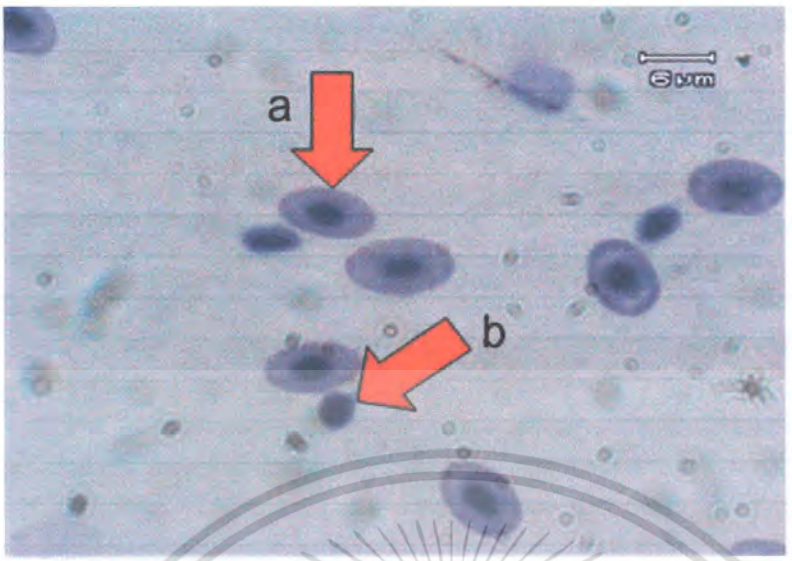
จากการตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงของปลากะพงขาว พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ให้อาหารทดลอง 20 วันแล้วให้อาหารธรรมดาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร โดยมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 2.33±0.33, 2.67±0.33, 2.67±0.33 และ 3.67±0.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) จำนวนเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ให้อาหารทดลองตลอดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร คือมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 2.33±0.33, 2.00±0.58, 4.33±0.33และ 2.67±0.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) จำนวนเม็ดเลือดขาวในกลุ่มที่ให้อาหารทดลองสลับอาหารธรรมดา กลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคนที่ระดับ 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่น ซึ่งมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 8.33±0.33 และ 5.33±0.33เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคนที่ระดับ 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีจำนวนเม็ดเลือดขาว 3.33±0.67 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกลุ่มควบคุม ซึ่งมีจำนวนเม็ดเลือดขาว 2.33±0.33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 จำนวนเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) หลังจบการทดลอง

กลุ่มการทดลอง	จำนวนเม็ดเลือดขาว (เปอร์เซ็นต์)		
	ให้ 20 วัน	ให้ตลอด	ให้สลับกัน
ควบคุม	2.33±0.33[a]	2.33±0.33[a]	2.33±0.33[a]
เบต้ากลูแคน 1กรัม/กิโลกรัมอาหาร	2.67±0.33[a]	2.00±0.58[a]	3.33±0.67[a]
เบต้ากลูแคน 3กรัม/กิโลกรัมอาหาร	2.67±0.33[a]	4.33±0.33[a]	8.33±0.88[c]
เบต้ากลูแคน 5กรัม/กิโลกรัมอาหาร	3.67±0.33[a]	2.67±0.33[a]	5.33±0.33[b]

ตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละปัจจัย หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

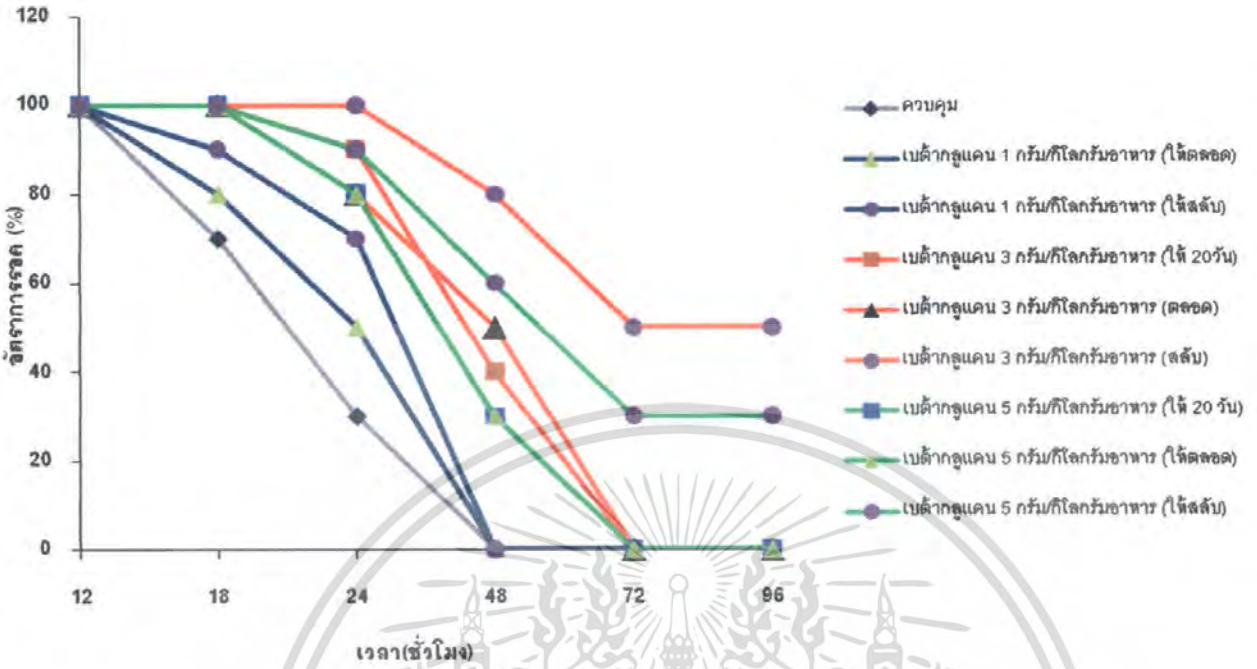


ภาพที่ 3 ลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลากะพง, (a) เม็ดเลือดแดง, (b) เม็ดเลือดขาว

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ฉีดเข้าตัวปลากะพงขาวบริเวณกล้ามเนื้อท้อง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมงหลังฉีดเชื้อ ปลาในทุกกลุ่มการทดลองมีอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อผ่าน 48 ชั่วโมงพบอัตราการรอดเริ่มมีการแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 1 กรัมมีอัตราการตาย 100 % ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงกลุ่มที่ให้อาหารทดลองสลับอาหารธรรมดาที่ให้เบต้ากลูแคน 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการรอดสูงที่สุดคือ 50 และ 30 เปอร์เซนตามลำดับ (ภาพที่ 4)

การเจริญเติบโตของปลากะพงขาวพบว่าการเจริญเติบโตในกลุ่มที่ให้อาหารผสมเบต้ากลูแคน 20 วันพบว่า ที่ 30 วันปลาที่ได้รับอาหารผสม เบต้ากลูแคนที่ 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการเจริญเติบโตมากแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับกลุ่มทดลองอื่นซึ่งมีน้ำหนักเท่ากับ 20.33±1.73 และ 20.67±0.91 กรัม ตามลำดับและเบต้ากลูแคน 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีน้ำหนัก 5.67±0.33 กรัม ไม่แตกต่างทางนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ซึ่งมีน้ำหนัก 7.33±0.33 กรัม(ภาพที่ 5) ที่ 60 วัน ปลากะพงที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือ 27.00±4.73, 27.33±0.88 และ 27.67±1.45 กรัมแต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับกลุ่มควบคุม คือ 15.33±1.76 กรัม(ภาพที่ 5) ที่ 75 วันปลากะพงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารแต่ที่ ให้เบต้ากลูแคน 3 กรัมคาดว่าปลามีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ 56.00±3.16(ภาพที่ 5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 อัตราการรอดของปลากะพงขาวเมื่อได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

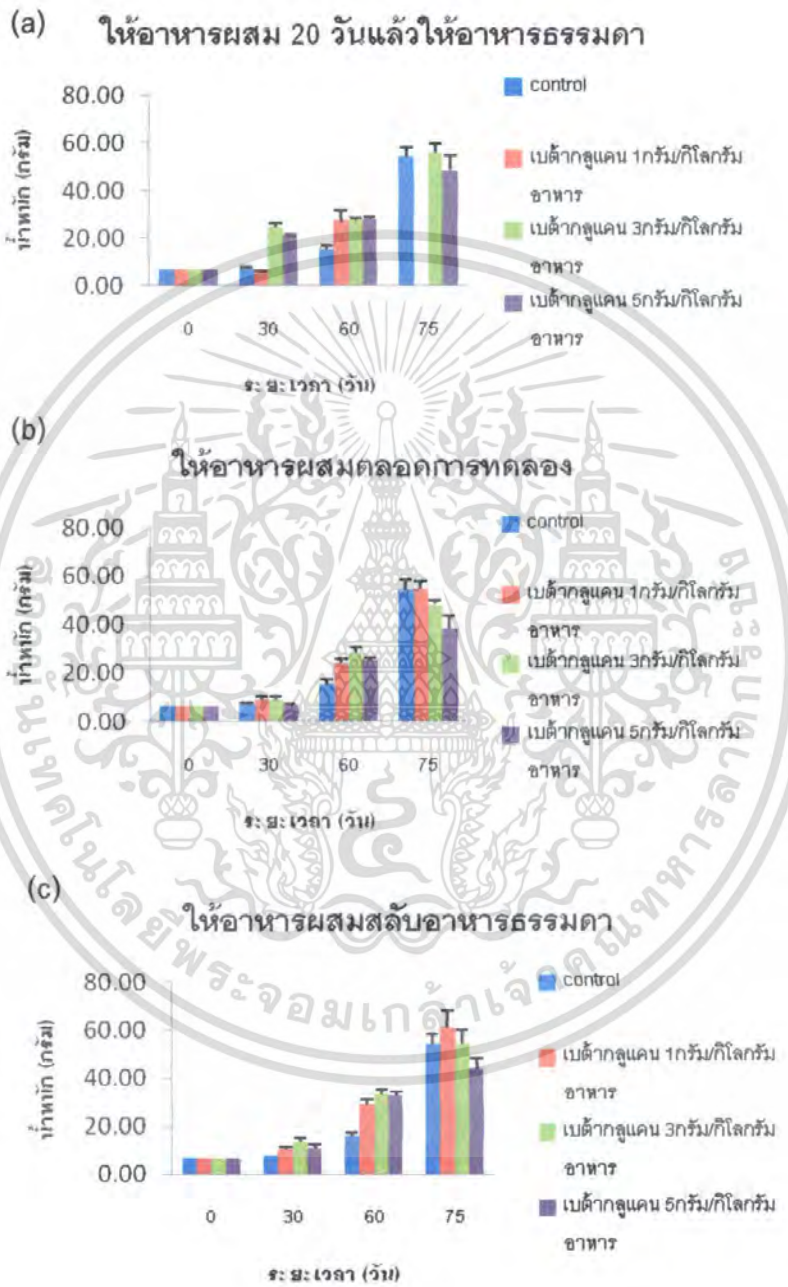
การเจริญเติบโตในกลุ่มที่ให้อาหารผสมเบต้ากลูแคนตลอด ที่ 30 วันปลากะพงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารคือมีน้ำหนัก 7.33±0.33, 9.00±1.15, 9.00±1.53 และ 6.67±0.67 กรัม (ภาพที่ 5) ที่ 60 วัน ปลากะพงที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือ 24.00±1.53, 28.33±1.53 และ 25.33±0.88 กรัมแต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับกลุ่มควบคุม คือ 15.33±1.76 กรัม (ภาพที่ 5) ที่ 75 วันปลาในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 1 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ 54.33±4.06 และ 55.00±2.89 กรัมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีน้ำหนัก 48.33±2.03 และ 38.67±5.17 กรัม (ภาพที่ 5)

การเจริญเติบโตในกลุ่มที่ให้อาหารผสมเบต้ากลูแคนสลับกับอาหารธรรมดาที่ 30วันปลากะพงมีอัตราการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารคือมีน้ำหนัก 7.33±0.33, 10.33±0.88, 13.67±1.20 และ 10.67±1.45 กรัม (ภาพที่ 5) ที่ 60 ปลากะพงที่ให้เบต้ากลูแคน 1, 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือ 29.00±1.89, 33.33±1.76 และ 32.67±1.45 กรัมแต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับกลุ่มควบคุมคือ 15.33±1.76 กรัม (ภาพที่ 5) ที่ 75 วันพบว่าปลา ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเบต้ากลูแคนที่1และ 3 กรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

กิโลกรัมอาหารมีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 54.33±4.06, 61±6.89 และ 54.00±6.03 กรัมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคน 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้าที่สุดคือ 44.00±4.36 กรัม(ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 น้ำหนักของปลากะพงขาวในแต่ละกลุ่ม ที่ชั่งตั้งแต่เริ่มการทดลองจนสิ้นสุดการทดลอง กลุ่มที่ให้อาหารทดลอง 20 วันแล้วให้อาหารธรรมดา (a), กลุ่มที่ให้อาหารทดลองตลอดการทดลอง (b), กลุ่มที่มีการให้อาหารทดลองสลับอาหารธรรมดา (c)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
104589

จากผลการทดลองนี้ให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Whittington et al. (2006) ที่ทดลองในปลานิล โดยใช้ปริมาณเบต้ากลูแคนที่ต่างกัน คือ 0, 50, 100, 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่าปลานิลที่ได้รับเบต้ากลูแคน ที่ 200 มิลลิกรัมส่งผลให้ปริมาณ Lyzozyme มีปริมาณลดน้อยลง ซึ่งเมื่อปลาได้รับเบต้ากลูแคนมากเกินความจะเป็นซึ่งจะไปส่งผลทำให้ปลาสร้างภูมิคุ้มกันลดน้อนลงกลไกลการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นอาจเนื่องจากแมคโครฟาจมีที่รับจำเพาะกับเบต้ากลูแคน เช่นเดียวกับรายงานของ Ai et al.2007 พบว่าเบต้ากลูแคนสามารถเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลา yellow croaker ที่ได้รับเบต้ากลูแคนที่เหมาะสมที่ 0.5% ของน้ำหนักอาหารโดยทำให้ปลามีอัตรารอดจากการติดเชื้อเพิ่มขึ้นเมื่อเรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมด้านการเจริญเติบโต จากการทดลองของ Bagni et al. (2005) เมื่อปลา กะพง (*Dicentrarchus labrax*) ในกลุ่มที่ได้ได้รับเบต้ากลูแคนเป็นเวลานาน 135 วัน ทำให้ปลากะพงมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าปลาในกลุ่มควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการทดลองพบว่า ปลากะพงขาวในกลุ่มที่ให้เบต้ากลูแคนที่ 3 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร(กลุ่มที่ให้อาหารการทดลองสลับกับอาหารธรรมดา)จะพบจำนวนเม็ดเลือดขาวมากที่สุดและมีปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นน้อยที่สุดแสดงว่ามีการเพิ่มขึ้นของซีรั่ม ทำให้ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นลดลง

จากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ฉีดเข้าช่องท้องของปลากะพงขาวปลาในให้อาหารทดลองสลับอาหารธรรมดาที่ให้เบต้ากลูแคน 3 และ 5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดตายสูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และมีอัตราการตายช้ากว่ากลุ่มทดลองอื่นๆ ส่วนการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวในชุดการทดลองที่ให้เบต้ากลูแคนตลอดการทดลองเป็นระยะเวลานานทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติมโตที่ช้าลงกว่ากลุ่มอื่น

จากการศึกษาจึงกล่าวได้ว่าปลากะพงที่ได้รับอาหารเสริมเบต้ากลูแคนที่ระดับ 3 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร และระยะเวลาการให้ที่เหมาะสมที่สุดคือ การให้อาหารเสริมเบต้ากลูแคนสลับอาหารธรรมดาและให้ไม่เกิน 60 วัน สามารถทำให้ปลากะพงขาวมีภูมิคุ้มกันสูงขึ้นมากที่สุด ทำให้ปลากะพงขาวความสามารถในการต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ดีที่สุดสามารถเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวและซีรั่มให้มีจำนวนมากที่สุดและมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

Ai. Qinghui, K. Mai, L. Zhang, B. Tan, W. Zhang, W. Xu and H. Li 2007. Effects of dietary ß-1,3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. Fish & Shellfish Immunology 22: 394-402.

Bagni. M, N.Romano, M.G.Finoia, L.Abelli, G.Scapigliati, P.G.Tiscar, M.Sarti and G.Marino 2005 . Short - and long-term effects of a dietary yeast b – glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation onimmune response in sea bass (Dicentrarchus labrax) Fish & Shellfish Immunology 18:311-3255.

Kumari. J and P.K. Sahoo. 2006. Non-specific immune response of healthy and immunocompromised Asian catfish (*Clarias Batrachus*) to several immunostimulants. Aquaculture 255: 133-141.

Sahoo. P. K and S. C. Mukherjee. 2001. Effect of dietary ß-1,3 glucan on immune responses and disease resistance of healthy and aflatoxin B_1-induced immunocompromised rohu (*Labeo rohita Hamilton*). Fish & Shellfish Immunology 11: 683-695.

Selvaraj. V, K. Sampath and V. Sekar. 2005. Administration of yeast glucan enhances survival and some non-specific and specific immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*) infected with *Aeromonas hydrophila*. Fish & Shellfish Immunology 19: 293-306.

Selvaraj. V, K. Sampath and V. Sekar. 2006. Adjuvant and immunostimulatory effects of ß-glucan administration in combination with lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila*. Veterinary Immunology and Immunopathology 114: 15-24.

Whitting. R, C. Lim and P. H. Klesius. 2005. Effect of dietary ß-glucan level on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae vaccine* in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 248: 217-225.

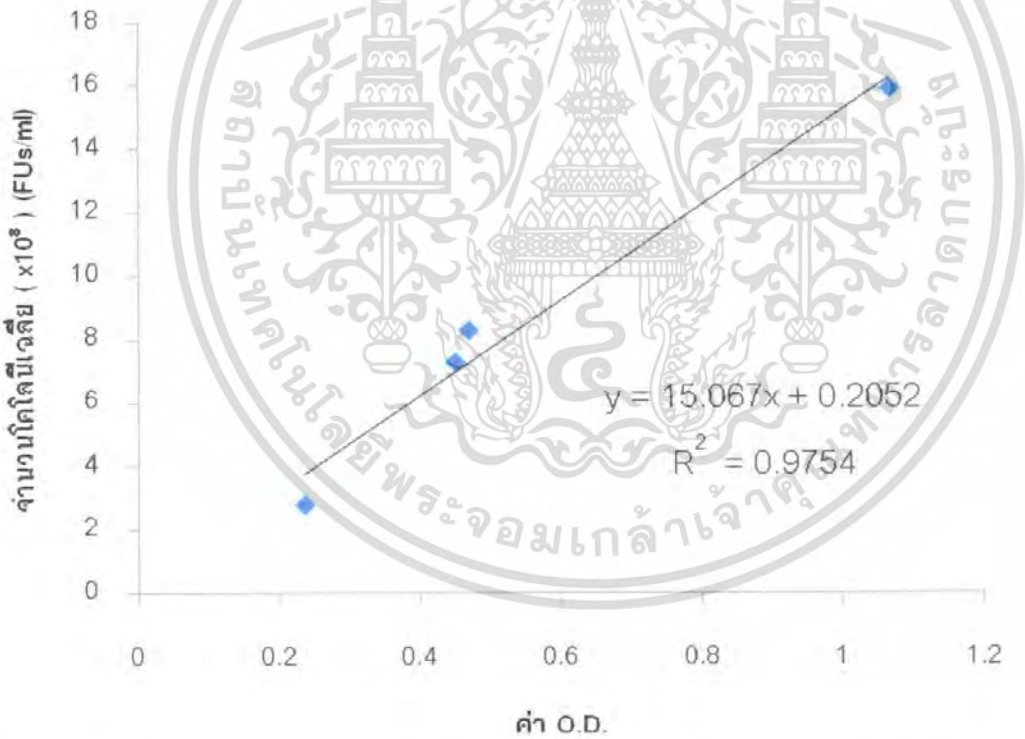
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ค่า O.D.ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และจำนวนโคโลนีเฉลี่ยที่ความเข้มข้นต่างๆกัน

ค่า O.D.	จำนวนโคโลนีเฉลี่ย ($\times 10^8$)
0.236	2.8
0.45	7.3
0.47	8.3
1.066	15.9



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานระหว่างค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรและจำนวนโคโลนีเฉลี่ยของเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 อัตราการรอดชีวิตของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) หลังจากได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่เวลาต่างๆกัน

กลุ่มการทดลอง		อัตราการรอด(%)ที่เวลา (ชั่วโมง)					
		12	18	24	48	72	96
ควบคุม (1)	ให้ 20 วัน	100	70	0	0	0	0
ควบคุม (2)	ให้ตลอด	100	60	0	0	0	0
ควบคุม (3)	ให้สลับ	100	70	0	0	0	0
เบต้ากลูแคน 1 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ 20 วัน	0	0	0	0	0	0
เบต้ากลูแคน 1 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ตลอด	100	80	50	0	0	0
เบต้ากลูแคน 1 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้สลับ	100	90	70	0	0	0
เบต้ากลูแคน 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ 20 วัน	100	100	90	40	0	0
เบต้ากลูแคน 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ตลอด	100	100	80	50	0	0
เบต้ากลูแคน 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้สลับ	100	100	100	80	50	50
เบต้ากลูแคน 5 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ 20 วัน	100	100	80	30	0	0
เบต้ากลูแคน 5 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ตลอด	100	100	80	30	0	0
เบต้ากลูแคน 5 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้สลับ	100	100	90	60	30	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 เปอร์เซ็นต์เซลล์เม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดงของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

กลุ่มการทดลอง		จำนวนเซลล์เม็ดเลือด (%)	
		เม็ดเลือดขาว	เม็ดเลือดแดง
ควบคุม (1)	ให้ 20 วัน	2.33	97.67
ควบคุม (2)	ให้ตลอด	2.33	97.67
ควบคุม (3)	ให้สลับ	2.33	97.67
เบต้ากลูแคน 1 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ 20 วัน	2.67	97.33
เบต้ากลูแคน 1 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ตลอด	2.00	98.00
เบต้ากลูแคน 1 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้สลับ	3.33	96.67
เบต้ากลูแคน 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ 20 วัน	2.67	97.33
เบต้ากลูแคน 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ตลอด	4.33	95.67
เบต้ากลูแคน 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้สลับ	8.33	91.67
เบต้ากลูแคน 5 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ 20 วัน	2.67	97.33
เบต้ากลูแคน 5 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ตลอด	2.67	97.33
เบต้ากลูแคน 5 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้สลับ	5.33	94.67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 น้ำหนักเฉลี่ยของกะพงขาว (*Lates calcarifer*) เริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง

กลุ่มการทดลอง		น้ำหนักปลากะพง (กรัม)	
		เริ่มต้น	สุดท้าย
ควบคุม (1)	ให้ 20 วัน	6.45	54.33
ควบคุม (2)	ให้ตลอด	6.45	54.33
ควบคุม (3)	ให้สลับ	6.45	54.33
เบต้ากลูแคน 1 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ 20 วัน	6.45	0
เบต้ากลูแคน 1 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ตลอด	6.45	55.00
เบต้ากลูแคน 1 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้สลับ	6.45	61.00
เบต้ากลูแคน 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ 20 วัน	6.45	56.00
เบต้ากลูแคน 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ตลอด	6.45	48.33
เบต้ากลูแคน 3 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้สลับ	6.45	54.00
เบต้ากลูแคน 5 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ 20 วัน	6.45	48.67
เบต้ากลูแคน 5 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้ตลอด	6.45	38.67
เบต้ากลูแคน 5 กรัม/กิโลกรัมอาหาร	ให้สลับ	6.45	44.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้