บทความวิจัย

ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่างกัน

พุทธชาติ อิ่มใจ[1*], อรอนงค์ ไชยรา[2] และ ชนวรรณ โทวรรณา[1]

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม อ. เมือง จ. มหาสารคาม 44000

[2]สาขาวิชาการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร อ. เมือง จ. สกลนคร 47000

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิลที่ความหนาแน่นต่างกัน โดยใช้ปลานิลที่มีขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 64.37±0.95 กรัม ด้วยวิธีฉีดเข้าทางช่องท้องนำมาเลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 30, 50, 70 และ 100 ตัวต่อตารางเมตร พบว่าค่าแอนติบอดีไตเตอร์ครั้งที่ 1 เท่ากับ 3.271± 0.017, 2.837±0.198, 2.590±0.144และ 2.430± 0.175 ตามลำดับ ค่าแอนติบอดีไตเตอร์ครั้งที่ 2 เท่ากับ 3.261±0.017, 3.100±0.053, 2.940±0.046 และ 2.809± 0.063 ตามลำดับ ปลาที่เลี้ยงในอัตราความหนาแน่น 50 ตัวต่อตารางเมตร มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดขณะที่การเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นที่ 100 ตัวต่อตารางเมตร มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด

คำสำคัญ: ความหนาแน่น, ระบบภูมิคุ้มกัน, วัคซีน และ ปลานิล

* ผู้เขียนให้ติดต่อ: E-mail: puttachat_im@hotmail.com

Efficiency of *Streptococcus agalactiae* Vaccine in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) with Different Stocking Density

Puttachat Imjai[1*], Aonanong Chaiyara[2] and Chanawan Thowanna[1]

[1]Department of Aquaculture Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham 44000, Thailand

[2]Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Sakon Nakhon Rajabhat University, Sakon Nakhon 47000, Thailand

Abstract

Study on efficiency of *Streptococcus agalatiae* vaccine in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) with different stocking density. Fish (average 64.37±0.95 g in weigh) were used in this studied were intraperitoneally injected. Fish were reared in 30, 50, 70 and 100 fish/meter^2. The first antibody titers of above stocking density were 3.271±0.017, 2.837±0.198, 2.590±0.144 and 2.430±0.175, respectively. Moreover, the second antibody titer were 3.261±0.017, 3.100±0.053, 2.940±0.046 and 2.809±0.063, respectively. The growth rates were highest in stocking density of 50 fish/meter^2 and lowest in 100 fish/meter^2.

Keywords: Density, Immune system, Vaccine and Nile tilapia

*Corresponding author: E-mail: puttachat_im@hotmail.com

บทนำ

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอันดับหนึ่งในระยะ 10 ปีที่ผ่านมา โดยพบว่าปริมาณการผลิตปลานิลได้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน เห็นได้จากสถิติกรมประมงในช่วงปี พ.ศ. 2556 ที่แสดงว่าปริมาณปลานิลจากการเพาะเลี้ยงในประเทศไทยคิดเป็น 45.3 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณปลาน้ำจืดทั้งหมดโดยในปี พ.ศ. 2556 มีปริมาณการผลิต 217,600 ตัน มูลค่าประมาณ10,805.6 ล้านบาท ซึ่งมีการเพิ่มอย่างต่อเนื่องของปริมาณการผลิตและการบริโภคปลานิลทั้งในประเทศไทยและส่งออก (ศูนย์สารสนเทศกรมประมง, 2556) ปัจจุบันปลานิลพันธุ์มีการคัดพันธุ์เพื่อให้ได้สายพันธุ์ตามความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการให้มีการเจริญเติบโต และความดกของไข่สูง ต้านทานโรคได้ดี ปลานิลในประเทศไทยมีการพัฒนาสายพันธุ์จากหน่วยงานภาครัฐ และเอกชน (เพ็ญพรรณ, 2543: นวลมณี, มปป.)

ประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงปลานิลอย่างแพร่หลายและมีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว เนื่องจากความต้องการบริโภคสัตว์น้ำของประชากรเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ผลผลิตที่จับได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติลดลง จึงทำให้การเพาะเลี้ยงปลานิลในปัจจุบันเป็นการเลี้ยงแบบเชิงพาณิชย์หรือการเลี้ยงแบบหนาแน่น จึงก่อให้เกิดปัญหาการระบาดของโรคเกิดขึ้นในปลานิลทุกระยะ เช่นเดียวกับที่เกิดกับการเลี้ยงปลาเชิงพาณิชย์อื่นๆ โดยส่วนใหญ่โรคที่ก่อความเสียหายกับการเลี้ยงปลานั้นเกิดจากเชื้อก่อโรค คือ ปรสิต เชื้อรา ไวรัส และแบคทีเรีย เชื้อแบคทีเรียที่มักเกิดโรคในสัตว์น้ำมีประมาณ 60 – 70 เปอร์เซ็นต์ (จิตเกษม และคณะ, 2536) และในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของโรค Streptococcosis ที่มีสาเหตุมาจาก *Streptococcus* กลุ่ม β-haemolysis ในการเลี้ยงปลานิลในกระชังในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและมีรายงานความเสียหายเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งอาการของโรคที่ปรากฏจะแตกต่างกันไปตามชนิดของปลา ในปลาบางชนิดอาจไม่ปรากฏอาการภายนอกจนกระทั่งปลาตาย (Eldar *et al*., 1997) ในปี 2012 มีรายงานการระบาดของเชื้อ *Streptococcus iniae* ในฟาร์มปลานิลบริเวณแม่น้ำไนล์ในอเมริกาใต้ซึ่งมีการพบเป็นครั้งแรก แสดงให้เห็นถึงการระบาดของเชื้ออย่างต่อเนื่อง (Figueiredo *et al*., 2012)

การแก้ไขปัญหาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียส่วนใหญ่มักจะใช้ยาปฏิชีวนะ แต่หากมีการใช้ไม่ถูกต้องและเหมาะสมอาจเกิดการตกค้างในสัตว์น้ำ ซึ่งจะส่งผลต่อผู้บริโภคตลอดจนสิ่งแวดล้อมด้วย นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะบางชนิดยังมีความผิดตามพระราชบัญญัติการส่งออกและการนำเข้าสินค้าในราชอาณาจักรปี 2522 ส่งผลให้เกษตรกรมีข้อจำกัดในการใช้ยาทางเลือกที่น่าสนใจและมีความเป็นไปได้คือการใช้วัคซีนซึ่งเป็นทางเลือกใหม่ที่ดีในการลดปัญหาการระบาดของโรคและความเสียหายที่เกิดขึ้นจากโรคต่อการเลี้ยงปลานิลในประเทศไทยได้ (นิลุบล, 2545)

การให้วัคซีนในปลามีรายงานการศึกษาหลายชนิด อาทิ ปลาไน ปลานิล ปลาดุก และปลาแซลมอล เป็นต้น (รัชนี และอนุทิน, 2532; Ruangpan *et al*., 1986; Eldar *et al*., 1997; Akhlaghi *et al*., 2000) โดย Ruangpan *et al*. (1986) ได้ทำการศึกษาการให้วัคซีนที่ได้จากเชื้อ *A. hydrophila* ซึ่งฆ่าด้วยฟอร์มาลีนฉีดเข้าช่องท้องเปรียบเทียบกับการให้วัคซีนที่ผสมแอดจูแวนท์ฉีดเข้าช่องท้องปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่าการสร้างแอนติบอดี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อพบว่าหลังการได้รับวัคซีนที่ระยะเวลา 1 สัปดาห์ ปลานิลสามารถป้องกันการติดเชื้อได้เพียงเล็กน้อย ส่วนที่ระยะเวลา 2 ถึง 5 สัปดาห์ สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในประเทศไทยนั้นมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้วัคซีนที่ได้จากการเตรียมเชื้อชนิดนี้ได้เช่นกัน แต่เป็นการทดลองในปลาชนิดอื่น อาทิ เกรียงศักดิ์ (2523) ได้ทดลองฉีดวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อ *A. hydrophila* เข้ากล้ามเนื้อของปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus*) เริ่มตรวจพบแอนติบอดี้ในกระแสเลือดของปลาในวันที่ 2 และสูงสุดในวันที่ 9 หลังการฉีดวัคซีนในปีถัดมา เกรียงศักดิ์ (2523) ได้ทดสอบความต้านทานโรคของปลาดุกด้านกับเชื้อเป็นโดยวิธีการฉีดเข้าช่องท้องเปรียบเทียบค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์ซึ่งให้ผลสอดคล้องกัน คือ ปลามีค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์สูงสุดระหว่างวันที่ 7 ถึง 9 หลังการฉีดเชื้อเป็นเข้าทางช่องท้อง วัคซีนดังกล่าวมาสามารถป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อ *A. hydrophila* นิลุบล (2534) รายงานการศึกษาประสิทธิภาพของการใช้วัคซีนต่อการตอบสนองทางต้านภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในปลาดุกอุย (*C. macrocephalus*, Gunther) วัคซีนเตรียมจากเชื้อ *A. hydrophila* ที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลิน ด้วยวิธีการให้วัคซีนแบบฉีดเข้าช่องท้องซึ่งได้ผลดีที่สุด เมื่อเทียบกับวิธีการให้วัคซีนอื่นสอดคล้องกับการทดลองของนนทวิทย์ (2536) ซึ่งการศึกษาความต้านทานโรคและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *A. hydrophila* ของปลาดุกบิ๊กอุย (*C. gariepinusx, C. macrocephalus*) พบว่าปลาที่ได้รับวัคซีนโดยการการฉีดเข้าช่องท้องครั้งแรกในสัปดาห์ที่หนึ่งมีค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์เฉลี่ยเท่ากับ 78.93 และครั้งที่สองในสัปดาห์ที่สี่เฉลี่ยเท่ากับ 614.40 เมื่อ

ทดสอบความต้านทานโรค ปลาที่ได้รับวัคซีนมีอัตรารอดสูงถึง 97.78 เปอร์เซ็นต์ต่อมาธีราภรณ์ และคณะ (2548) รายงานการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรค Streptococcosis ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยวิธีการผสมอาหารปลานิลทดลองมีอายุ 5 เดือน และมีน้ำหนักเฉลี่ย 230.00±5.71 กรัม หลังจากได้รับวัคซีนซึ่งเตรียมจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* สายพันธุ์ KKU 44002 ที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลินเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 สัปดาห์ พบว่าการให้วัคซีนป้องกันโรค Streptococcosis โดยการผสมอาหารในปลานิลสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและเพิ่มความต้านทานของปลานิลต่อโรคนี้ได้เช่นเดียวกับการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นไปได้การให้วัคซีนป้องกันโรค Streptococcosis ในการเลี้ยงปลานิลทั้งในสภาพห้องทดลองและในสภาพการเลี้ยงจริง ให้วัคซีนด้วยวิธีการฉีดโดยการฉีดเข้าช่องท้องและการฉีดเข้ากล้ามเนื้อปลา พบว่าปลาที่ได้รับวัคซีนมีอัตรารอดเฉลี่ยสะสมสูงถึง 97.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลาที่ไม่ได้รับวัคซีนมีอัตรารอดสะสมเท่ากับ 73 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าการใช้วัคซีนสามารถเพิ่มอัตราการรอดตายของปลานิลที่เลี้ยงได้เพิ่มสูงขึ้น สามารถสร้างความต้านทานต่อการเกิดโรค Streptococcosis ในลูกปลานิลได้ (นิลุบล และคณะ, 2549; วิศณุ และคณะ, 2550; Pretto-Giordano *et al*., 2010)

การเพาะเลี้ยงปลานิลปัจจัยที่มีความสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อผลผลิตคือการเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นที่สูง ซึ่งถือเป็นเทคนิคอย่างหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อลดต้นทุนการผลิตต่อหน่วย และใช้พื้นที่การเลี้ยงให้เกิดประโยชน์สูงสุด แต่จำเป็นต้องพิจารณาถึงอัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมที่จะทำให้ปลาที่มีการเจริญเติบโตดี และอัตรารอดที่สูงรวมทั้งตรงตามวัตถุประสงค์ของการเลี้ยงปลา อัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลายังขึ้นอยู่กับรูปแบบการเลี้ยง ระยะเวลาการเลี้ยง ชนิดของปลา อายุและขนาดปลาที่เริ่มเลี้ยง ขนาดของบ่อที่ใช้เลี้ยง อัตราการเปลี่ยนน้ำ รวมทั้งปัจจัยภายนอก หรือสภาพแวดล้อมที่เลี้ยงปลาซึ่งการตายของปลานิล และโรคระบาดปลาส่วนใหญ่มีสาเหตุเหนี่ยวนำมาจากปลาเกิดอาการเครียดเนื่องจากคุณภาพน้ำที่มีการเปลี่ยนแปลงการเลี้ยงที่หนาแน่นเกินไป ส่วนใหญ่โรคระบาดปลามักจะเกิดจากสาเหตุร่วมกันของเชื้อโรคและสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม

วิธีดำเนินการวิจัย

ตัวอย่างปลา

ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 3 (*Oreochromis niloticus*) ขนาดเฉลี่ย 64.37±0.95 กรัม จากพ่อแม่พันธุ์ชุดเดียวกันนำมาปรับให้เข้ากับสภาพการทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ นำมาเลี้ยงในกระชังขนาด 1x1 เมตร แบ่งตามความหนาแน่นเป็น 30, 50, 70, 100 ตัวต่อตารางเมตร จำนวน 3 ซ้ำ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อให้ปลาปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม ในการทดลองให้อาหารอัตราส่วน 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว โดยให้วันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิของน้ำ

การเตรียมวัคซีนและแอนติเจน

วัคซีนที่ใช้ในการทดลองเป็นวัคซีนเชื้อตาย ของเชื้อ *Streptococcus agalactiae* สายพันธุ์ KKU 44002 ทำการแยกเชื้อโดยใช้อาหาร Brain Heart Infusion Agar (BHIA) เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วนำมาเลี้ยงในอาหาร Brain heart in fusion broths (BHIB) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นนำแบคทีเรียที่ได้มาปั่นล้างด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วประมาณ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างเชื้อที่ได้ด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจากปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียให้มีค่าประมาณ $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนโดยใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และทดสอบว่าเชื้อตายหรือไม่โดยการนำไปเลี้ยงบน BHIA เพื่อใช้เป็นวัคซีนให้กับปลาทดลองในลำดับต่อไป (นิลุบล, 2534)

สำหรับการเตรียมแอนติเจนเพื่อใช้วัดแอนติบอดี้ไตเตอร์โดยวิธี direct agglutination มีวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับการเตรียมวัคซีน แต่ใช้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่มีค่าความเข้มข้นประมาณ $1x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (นิลุบล, 2534)

การหาค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์

การตรวจหาค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์ใช้วิธีการ direct agglutination โดยการเจือจางซีรั่มแบบ two – fold dilution ในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาตรสุดท้ายในแต่ละหลุมเท่ากับ 50 ไมโครลิตร จากนั้นเติมแอนติเจนที่เตรียมไว้หลุมละ 50 ไมโครลิตร ให้ครบทุกหลุมจนถึงหลุมสุดท้าย ซึ่งมีความเข้มข้นของซีรั่มเป็น 1:2,048 เขย่าให้เข้ากันบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการบันทึกผลโดยเปรียบเทียบกับ negative control ซึ่งมีเฉพาะน้ำเกลือและแอนติเจน (นิลุบล, 2534) ปลาทดลองทุกกลุ่มมีการตรวจเช็คค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์ก่อนการทดลอง

การให้วัคซีน

ปลาทดลองทุกกลุ่มได้รับวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อ *S. agalactiae* สายพันธุ์ KKU 44002 ที่ฆ่าด้วยความร้อน โดยการฉีดเข้าทางช่องท้องตัวละ 0.1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม ทำการเจาะเลือดปลาทดลองทั้งหมด หลังจากเริ่มให้อาหารเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ให้วัคซีนครั้งที่ 1 หลังจากได้รับวัคซีน 2 สัปดาห์ เตรียมวัดปริมาณแอนติบอดี้โดยการเจาะเลือด หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ ให้วัคซีนครั้งที่ 2 และตรวจวัดปริมาณแอนติบอดี้หลังจากนั้นเป็นเวลา 2 สัปดาห์ สังเกตและบันทึกอัตราการเจริญเติบโตระหว่างการทดลองโดยชั่งน้ำหนักปลาขณะเริ่มการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์ในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 รวมถึงอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลแต่ละกลุ่มทดลอง ทำการวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of variances: ANOVA) ตามแผนการทดลอง Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS 17)

ผลการวิจัย

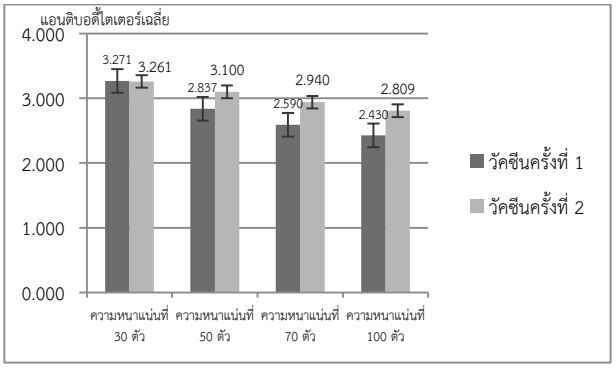
1. ผลของความหนาแน่นต่อประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิล

จากการศึกษาของความหนาแน่นต่อประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิล แบ่งตามความหนาแน่นเป็น 30, 50, 70 และ 100 ตัวต่อตารางเมตร ทดสอบโดยการฉีดในครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ของการทดลอง เมื่อตรวจวัดแอนติบอดี้ไตเตอร์ พบว่าแอนติบอดี้ไตเตอร์เฉลี่ยแสดงการได้รับวัคซีนมีค่าเพิ่มขึ้นจากครั้งที่ 1 ไปครั้งที่ 2 ยกเว้น ในอัตราการปล่อยที่ความหนาแน่น 30 ตัวต่อตารางเมตร มีค่าใกล้เคียงกัน (P<0.05) การเปรียบเทียบค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์ในการฉีดวัคซีนครั้งที่ 1 พบว่าค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์มีแนวโน้มลดลงจากบนลงล่าง และในความหนาแน่นที่ 70 ตัวต่อตารางเมตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความหนาแน่นที่ 50 และ 100 ตัวต่อตารางเมตร อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) และในการฉีดวัคซีนครั้งที่ 2 ค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์มีแนวโน้มลดลงจากความหนาแน่นน้อยไปความหนาแน่นมาก ทุกความหนาแน่นมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 แอนติบอดี้ไตเตอร์เฉลี่ยของปลานิลที่เลี้ยงในระดับความหนาแน่นที่ต่างกันภายหลังจากการให้วัคซีน

กลุ่มทดลอง	แอนติบอดี้ไตเตอร์เฉลี่ย (log_{10}) (Means ± SD)	
	วัคซีนครั้งที่ 1	วัคซีนครั้งที่ 2
ความหนาแน่นที่ 30 ตัวต่อตารางเมตร	3.271± 0.017[a]	3.261±0.017[a]
ความหนาแน่นที่ 50 ตัวต่อตารางเมตร	2.837±0.198[b]	3.100±0.053[b]
ความหนาแน่นที่ 70 ตัวต่อตารางเมตร	2.590±0.144[bc]	2.940±0.046[c]
ความหนาแน่นที่ 100 ตัวต่อตารางเมตร	2.430±0.175[c]	2.809± 0.063[d]

หมายเหตุ ค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์เฉลี่ยที่แสดงในตารางผ่านการแปลงข้อมูลโดยการใช้ค่า log10 ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 1 แสดงค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์เฉลี่ยของปลานิลในระดับความหนาแน่นที่ต่างกันภายหลังจากการให้วัคซีน

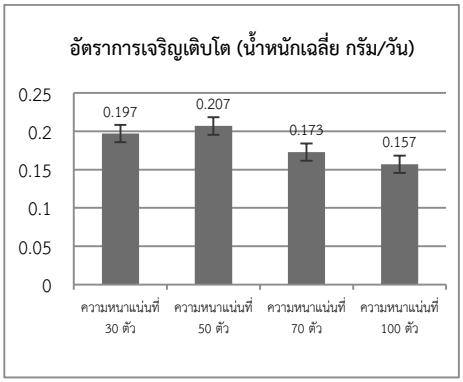
2. ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลานิลภายหลังจากการได้รับวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน

อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย (ตารางที่ 2) ปลานิลในความหนาแน่นที่ 30 และ 50 ตัวต่อตารางเมตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) และเป็นกลุ่มที่มีค่าการเจริญเติบโตสูงที่สุดตามลำดับ และอัตราการปล่อยที่ระดับความหนาแน่นที่ 100 ตัวต่อตารางเมตรมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำที่สุด

ตารางที่ 2 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลานิลภายหลังจากการได้รับวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน

กลุ่มทดลอง	อัตราการเจริญเติบโต (น้ำหนักเฉลี่ย กรัม/วัน) (Means ± SD)
ความหนาแน่นที่ 30 ตัวต่อตารางเมตร	0.197±0.006[a]
ความหนาแน่นที่ 50 ตัวต่อตารางเมตร	0.207±0.006[a]
ความหนาแน่นที่ 70 ตัวต่อตารางเมตร	0.173±0.006 [b]
ความหนาแน่นที่ 100 ตัวต่อตารางเมตร	0.157±0.012[c]

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)



ภาพที่ 2 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลภายหลังจากการได้รับวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

ความหนาแน่นในการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลกระทบกับผลผลิตการเลี้ยงสัตว์น้ำแต่การเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นที่สูง ถือเป็นเทคนิคอย่างหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อลดต้นทุนการผลิตต่อหน่วยและใช้พื้นที่การเลี้ยงให้เกิดประโยชน์สูงสุด แต่จำเป็นต้องพิจารณาถึงอัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมที่จะทำให้ปลาที่มีการเจริญเติบโตดีและอัตรารอดที่สูงรวมทั้งตรงตามวัตถุประสงค์ของการเลี้ยงปลา อัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลายังขึ้นอยู่กับรูปแบบการเลี้ยง ระยะเวลาการเลี้ยง ชนิดของปลา อายุ และขนาดปลาที่เริ่มเลี้ยง ขนาดของบ่อที่ใช้เลี้ยง อัตราการเปลี่ยนน้ำ รวมทั้งปัจจัยภายนอก หรือสภาพแวดล้อมที่เลี้ยงปลา ซึ่งความหนาแน่นอาจส่งผลถึงการกินอาหาร การเกิดโรค รวมทั้งการเจริญเติบโตที่น้อยลง การทดลองที่จะทำให้การเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น โดยไม่ส่งผลกระทบในการลดลงของความต้านทานโรค และการเจริญเติบโตย่อมเป็นสิ่งที่เกษตรกร หรือผู้เลี้ยงสัตว์น้ำพึงประสงค์ เพื่อช่วยในการเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่

การทดลองความหนาแน่นต่อประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิล แบ่งตามความหนาแน่นเป็น 30, 50, 70 และ 100 ตัวต่อตารางเมตร ผลแสดงให้เห็นว่า เมื่อปลาได้รับวัคซีนทุกความหนาแน่นมีค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์สูงขึ้นทุกกลุ่มการทดลอง แต่มีค่ามากที่สุดที่อัตราความหนาแน่นที่ 30 และ 50 ตัวต่อตารางเมตร และมีอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุดที่ความหนาแน่นที่ 50 ตัวต่อตารางเมตร ซึ่งการทดลองที่ไม่มีการฉีดวัคซีน ที่ความหนาแน่นสูงจะมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง จาก กิจจาและพรรณศรี (2536) รายงานว่าการเลี้ยงปลานิลสีแดงแบบหนาแน่นในบ่อซีเมนต์ โดยทำลูกปลานิลสีแดงแปลงเพศ อัตราการเลี้ยงที่ความหนาแน่น 50 และ 100 ตัว/ตรม. 3 ซ้ำการทดลอง เป็นเวลา 6 เดือน ผลการทดลอง พบว่า การเจริญเติบโตน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการแลกเนื้อ ผลผลิตสุทธิ และอัตราการรอดตาย อัตราความหนาแน่น 50 ตัว/ตรม. มีค่าสูงกว่า อัตราความหนาแน่น 100 ตัว/ตรม. และเมื่อมีการเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นสูงขึ้นทำให้มีผลต่อปริมาณของออกซิเจนที่ละลายในน้ำ Evan *et al*. (2003) รายงานว่าเมื่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำ (DO) (ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในน้ำทำให้ปลามีการตอบสนองต่อความเครียดของระบบภูมิคุ้มกันที่มีความบกพร่องการต้านทานเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ลดลงอัตราความหนาแน่นอุณหภูมิน้ำสูงขึ้นเกิดการกระตุ้นให้ catecholamines และ corticosteroids มีการเปลี่ยนแปลงส่งผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Mazeaud *et al*, 1977; Wedemeyer and McLeay, 1981) ระดับน้ำตาลในเลือดที่ตรวจพบถือเป็นตัวบ่งชี้ของการตอบสนองความเครียดในปลา (Thomas and Robertson, 1991; Rotllant and Tort, 1997) สอดคล้องกับ Gallage *et al*. (2016) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของการขาดออกซิเจนในปลานิลโดยการให้วัคซีน *Vibrio anguillarum* ในระดับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 55±5 เปอร์เซ็นต์ และ 85±5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าที่ระดับปริมาณออกซิเจน 85±5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอนติบอดี้ไตเตอร์สูงกว่าระดับปริมาณออกซิเจน 55±5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณออกซิเจนที่มีค่าต่ำส่งผลกระทบต่อการกดภูมิคุ้มกันในปลานิลเช่นเดียวกับผลการทดลองความหนาแน่นต่อประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการเลี้ยงปลานิล ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับปลานิล จะช่วยให้ปลานิลมีอัตราการเจริญเติบโตไม่ลดลง ตามความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ท่านผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิลุบล รุจินานนท์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำเกี่ยวกับการศึกษาวิจัย และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคามในการสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กิจจา ใจเย็น และ พรรณศรี จริโมภาศ. 2536. การศึกษาเบื้องต้นในการเลี้ยงปลานิลสีแดงแบบหนาแน่นในบ่อซีเมนต์. วารสารการประมง 1: 496-497.

เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2523. การป้องกันโรคแผลในปลาดุกด้านโดยวิธีการฉีดวัคซีน ผลจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ. วารสารชมรมโรคปลา 3(3): 153-160.

จิตเกษม จันทร์ผ่อง สุปราณี ชินบุตร และ วรเทพ ศุภเมธากร. 2536. การศึกษาทางด้านการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของปลาช่อนหลังการให้วัคซีน. รายงานสัมมนาทางวิชาการประจำปี กรมประมง. 313-317 น.

นนทวิทย์ อารีย์ชน. 2537. การใช้วัคซีนเพื่อการป้องกันโรค *Aeromonad Septicemia* ในการเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย. รายงานการวิจัยปี 2537-2538. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธีราภรณ์ มอไธสง, นิลุบล กิจอันเจริญ, เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว และ บัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล. 2548. ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนโดยการผสมอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรค Streptococcosis ในปลานิล. วารสารวิจัย มข (ฉบับบัณฑิตศึกษา) 5(1): 50-58.

นวลมณี พงศธนา. มปป. องคความรูการปรับปรุงพันธุปลานิล. พันธุกรรมสัตว์น้ำ. กรมประมง. (สืบค้นเมื่อ 25 กุมภาพันธ์ 2559) Available from: URL: http://www.fisheries.go.th/technical_group/ดาว์โหลด/องค์ความรู้การปรับปรุงพันธุ์ปลานิล.pdf

นิลุบล กิจอันเจริญ. 2534. การศึกษาประสิทธิภาพของการใช้วัคซีนต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและต้านทานโรคในปลาดุกอุย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิลุบล ยูอาสะ. 2545. การพัฒนาวิธีการในการป้องกันโรคที่เกิดกับปลานิลที่เลี้ยงในกระชังในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. เอกสารประกอบการวิจัยทุนอุดหนุนประจำปี 2545. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเตียว. 2543. สภาพการเลี้ยงปลานิลในประไทย. วารสารแก่นเกษตร 28(4): 173-181.

รัชนี อัตถิ และ อนุทิน หาญวีระพล. 2532. การใช้วัคซีนอย่างมีประสิทธิภาพ. Journal of Veterinary Biology 6(1): 1-8.

วศิณุ บุญญาวิวัฒน์, ทนิวรรธน ศรีสุข และ วรวิทย วัชชวัลคุ. 2550. ประสิทธิภาพของวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข 17(1): 43-52.

ศูนย์สารสนเทศกรมประมง. 2558. สถิติการประมงแห่งประเทศไทยปี พ.ศ. 2556. เอกสารฉบับที่ 7/2558. กรมประมงกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 80 หน้า.

Akhlaghi, M., Munday, B.L. and Whittington, R.J. 1996. Comparison of passive and active immunization of fish against streptococcosis (enterococcosis). Journal Fish Diseases 19: 251-258.

Eldar, A., Horovitcz, A. and Bercovier, H. 1997. Development and efficacy of a vaccine against *streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout. Veterinary Immunology and Immunopathology 56: 175-183.

Evans, J.J., Shoemaker, C.A. and Klesius, P.H. 2003. Effects of sublethal dissolved oxygen stress on blood glucose and susceptibility to *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Journal of Aquatic Animal Health 15(3): 202-208.

Figueiredo, H.P., Netto, L.N., Leal, C.A.., Pereira, U.P. and Mian, G.F. 2012. *Streptococcus iniae* outbreaks in Brazilian Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*L) farms. Braz J Microbiol 43(2): 576–580.

Gallage, S., Katagiri, T., Endo, M., Futami, K., Endo, M. and Maita, M. 2016. Influence of moderate hypoxia on vaccine efficacy against *Vibrio anguillarum* in *Oreochromisniloticus* (Nile tilapia) Fish Shellfish Immunol 51: 271-81.

Mazeaud, M.M., Mazeaud, F. and Donaldson, E.M. 1977. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. Transactions of the American Fisheries Society 106: 201–212.

Pretto-Giordano, L.G., Múller, E.E., Klesius, P. and Da Silva, V.G. 2010. Efficacy of an experimentally inactivated *Streptococcus agalactiae* vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in Brazil Aquaculture Research. 41:1539-1544.

Rotllant, J. and Tort, L. 1997. Cortisol and glucose responses after acute stress by handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. Journal of Fish Biology 51: 21–28.

Ruangpan, L., Kitao, T. and Yoshida, T. 1986. Pretective efficiency of *Aromonas hydrophila* vaccines in Nile tilapia. Veterinary Immunology and Immunnopathology 12: 345-350.

Thomas, P. and Robertson, L. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) in handling and shallow water stressors and anesthesia with MS 222, quinaldine sulfate, and metomidate. Aquaculture 96: 68–86

Wedemeyer, G.A. and McLeay, D.J. 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: A. D. Pickering, editor. Stress and Fish. Academic Press, London. pp. 247–275.