รายงานผลงานวิจัย
มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง การใช้กระเจี๊ยบแดงผสมอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลานิล

Using the Dried Flowers of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) as Feed Additive to Enhance Immunity of Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2547 และ 2548
จำนวน 299,064 บาท

หัวหน้าโครงการ นายชนกันต์ จิตมนัส
ผู้ร่วมโครงการ นางสาวน้ำเพชร ประกอบศิลป์
นายสุฤทธิ์ สมบูรณ์ชัย

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
วันที่ 31 มกราคม พ.ศ. 2549

057/49

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติ รวมทั้งสำนักวิจัยและส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนทุนการวิจัย ในการจัดสรรงบประมาณวิจัยประจำปี 2547 และ 2548 จำนวนเงินทั้งสิ้น 299,064 บาท (สองแสนเก้าหมื่นเก้าพันหกสิบสี่บาทถ้วน) คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำงานวิจัยจนเสร็จสิ้นสมบูรณ์

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(ก1)(ก2)
สารบัญภาพ	(ข)
บทคัดย่อ(ภาษาไทย)	1
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
ตรวจเอกสาร	6
อุปกรณ์และวิธีวิจัย	18
ผลการวิจัย	23
สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	33
เอกสารอ้างอิง	36

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ปริมาณการให้อาหารต่อวันที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลานิล	8
ตารางที่ 2	สูตรอาหารที่แนะนำโดยกรมประมง (ประเสริฐและคณะ, 2525 อ้างโดย ศักดิ์ชัย, 2536)	11
ตารางที่ 3	ส่วนประกอบทางอาหารของกระเจี๊ยบแดง (พะยอม, 2521 อ้างโดย ปัญญา, 2529)	15
ตารางที่ 4	สูตรอาหารชุดควบคุมของปลานิล	18
ตารางที่ 5	ส่วนประกอบของอาหารปลานิลในแต่ละชุดการทดลอง	18
ตารางที่ 6	องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองที่ใช้อนุบาลลูกปลานิล	23
ตารางที่ 7	องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารที่ใช้เลี้ยงปลานิลในกระชัง	24
ตารางที่ 8	น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของลูกปลานิล (กรัม±SD) ที่อนุบาลด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง	24
ตารางที่ 9	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง	27
ตารางที่ 10	ความยาวเฉลี่ย (เซนติเมตร) ของปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง	27
ตารางที่ 11	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (AG) ผลผลิตรวม (กิโลกรัม) อัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนเนื้อเป็นอาหารของปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง (การเลี้ยงครั้งที่ 1)	29
ตารางที่ 12	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (AG) ผลผลิตรวม (กิโลกรัม) อัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนเนื้อเป็นอาหารของปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง(การเลี้ยงครั้งที่ 2)	29
ตารางที่ 13	รายได้รวม ต้นทุนค่าอาหารต่อตัวต่อวัน และอัตราส่วนรายได้ต่อต้นทุนอาหาร (R/FC ratio) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดในกระชัง ระยะเวลา 4 เดือน (การเลี้ยงครั้งที่ 1)	29
ตารางที่ 14	รายได้รวม ต้นทุนค่าอาหารต่อตัวต่อวัน และอัตราส่วนรายได้ต่อต้นทุนอาหาร (R/FC ratio) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดในกระชัง ระยะเวลา 4 เดือน (การเลี้ยงครั้งที่ 2)	30

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 15	จำนวนเม็ดเลือดรวม (Cells / ml) ปริมาณเม็ดเลือดอัดแน่น (%PCV) และอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวต่อเม็ดเลือดแดง (%) ของปลานิลในกระชังที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	30
ตารางที่ 16	ปริมาณโปรตีน(g/dL ± SD) ของปลานิลในกระชังหลังจากที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง	31
ตารางที่ 17	ค่าไลโซไซม์ (Units/ml) ± SD ของปลานิลในกระชังหลังจากที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง	32
ตารางที่ 18	ค่าคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงปลานิลในกระชัง	32

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	กระเจี๊ยบแดง	13
ภาพที่ 2	ผลกระเจี๊ยบแดงสดและแห้ง	13
ภาพที่ 3	อาหารปลาอัดเม็ดที่ใช้เลี้ยงปลานิลในกระชัง	19
ภาพที่ 4	การจัดวางกระชังเลี้ยงปลานิล	20
ภาพที่ 5	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของลูกปลานิลที่อนุบาลด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง	25
ภาพที่ 6	ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	28

การใช้กระเจี๊ยบแดงผสมอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลานิล

Using the Dried Flowers of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) as Feed Additive to Enhance Immunity of Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

ชนกันต์ จิตมนัส , น้ำเพชร ประกอบศิลป์ และ สุฤทธิ์ สมบูรณ์ชัย

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้กระเจี๊ยบผสมอาหารเพื่อกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของปลานิลและศึกษาปริมาณที่เหมาะสมเพื่อผลิตอาหารปลานิล การทดลองแบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ (1) การศึกษาผลและปริมาณของกระเจี๊ยบแดงในการอนุบาลลูกปลานิล (2) การศึกษาผลและปริมาณของกระเจี๊ยบแดงในการเลี้ยงปลานิลในกระชัง และ (3) การศึกษาผลและปริมาณของอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงต่อภูมิคุ้มกันปลานิล โดยใช้อาหารทดลอง 4 สูตร คือ อาหารสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 (สูตรอาหารพื้นฐานผสมกระเจี๊ยบแดง 0% , 0.5% , 2.5% และ 5% ตามลำดับ) จากการทดลองพบว่า ลูกปลาที่อนุบาลด้วยอาหารทั้ง 4 สูตร มีการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนเนื้อเป็นอาหารไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนของการเลี้ยงปลานิลในกระชังด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงทั้ง 4 สูตร มีการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนเนื้อเป็นอาหารไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) เช่นเดียวกัน เมื่อศึกษาผลของอาหารผสมกระเจี๊ยบต่อภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลานิล พบว่า เปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดอัดแน่น (%PCV) ของปลานิลในชุดการทดลองที่ 2 มีค่าสูงสุดเท่ากับ $41.08 \pm 3.70\%$ ปริมาณโปรตีนในซีรั่มของปลานิลที่ได้รับอาหารชุดการทดลองที่ 4 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 5.29 ± 0.81 g/dL เมื่อสิ้นสุดการทดลอง แสดงให้เห็นว่ากระเจี๊ยบแดงสามารถช่วยในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะแต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนเนื้อเป็นอาหาร

คำสำคัญ : กระเจี๊ยบแดง ปลานิล ภูมิคุ้มกัน

Abstract

The objective of this research was to investigate the effects of using dried flower of roselle (*Hibiscus sabdarifa*) as feed additive in order to enhance immunity of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Three experiments were set up including (1) nursing tilapia fry for 8 weeks with ground feed, (2) cage rearing of juvenile tilapia with pellet feed for 6 months, and (3) effects of roselle additive diet on the tilapia immunity. Four experimental diets were applied comprising 0, 0.5, 2.5, and 5% of roselle in basal diets. For nursing period, there were not significant differences in growth, survival rate, and feed conversion ratio ($P > 0.05$). Likewise, the same result was found in cage cultivation. When the nonspecific immune responses were determined; however, fish fed with 0.5% roselle additional diet provided the highest packed cell volume ($41.08 \pm 3.70\%$). In addition, the higher lysozyme activity and higher serum protein were found in fish fed with roselle additional diet. In conclusion, roselle is able to enhance the nonspecific immune response with no side effect on growth rate, survival rate, and fish conversion ratio. On the other hand, the strengthen of these immune responses was still inadequate to prevent tilapia from deadly serious diseases.

Keywords : Roselle (*Hibiscus sabdarifa*) , Tilapia (*Oreochromis niloticus*) , Immunity

คำนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากปลานิลเลี้ยงง่าย โตเร็ว เนื้อปลามีโปรตีนสูง ไขมันต่ำ จึงจัดได้ว่าปลานิลเป็นอาหารสุขภาพที่สำคัญของประชากรในประเทศและมีศักยภาพในการแปรรูปเพื่อการส่งออก โดยการส่งออกปลานิลปี 2547 มีมูลค่าสูงถึง 472 ล้านบาท (ที่มา www.fisheries.go.th/foreign/statistics.htm) ปัจจุบันมีส่งเสริมการเลี้ยงแบบหนาแน่นมากเพื่อเพิ่มผลผลิต ส่งผลให้เกิดปัญหาโรคระบาดปลาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียสูงขึ้นโดยเฉพาะโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus* sp. Shoemaker และ Klesius (1997) ได้ประมาณความเสียหายจากการระบาดของเชื้อ *Streptococcus* sp. ว่ามีสูงถึง 150 ล้านดอลลาร์สหรัฐต่อปี สำหรับประเทศไทยยังไม่มีการประมาณความเสียหายจากโรคระบาดที่เกิดจากแบคทีเรียในปลานิล แต่ Wei (2002) รายงานว่า ปลาทั้งหมดที่ตายจากการระบาดของโรคแบคทีเรียมีมูลค่ามากกว่าปีละ 120 ล้านดอลลาร์สหรัฐระหว่างปี 2533 – 2535

ผู้เลี้ยงปลามักใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นำเข้าที่มีราคาสูงในการป้องกันและรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ โดยการใช้ยาปฏิชีวนะในปริมาณสูงเป็นเวลานานอาจจะก่อให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและอาจมีสารตกค้างในเนื้อปลา ทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพผู้บริโภคและมีผลกระทบต่อการส่งออกได้ เช่น เมื่อปี 2531 ญี่ปุ่นได้ระงับการนำเข้ากุ้งกุลาดำจากประเทศไทยเพราะตรวจพบยาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้งกุลาดำ (สถาพรและคณะ 2539) และเมื่อปี 2544 มีการตรวจพบยาคลอแรมฟินิคอลในกุ้งกุลาดำที่ส่งไปยังตลาดยุโรป จึงได้มีการห้ามการใช้คลอแรมฟินิคอลในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในประเทศไทย ประเทศเนเธอร์แลนด์ได้ตรวจพบยาปฏิชีวนะไนโตรฟูแรนส์ (nitrofurans) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งตกค้างในกุ้งแช่แข็ง จนทำให้ประเทศไทยต้องห้ามนำเข้ายาปฏิชีวนะจำนวน 16 ชนิด ต่อมากระทรวงพาณิชย์และการประมงสาธารณรัฐเกาหลี ได้ตรวจพบการตกค้างของ Malachite green ในสินค้ากุ้งและปลาน้ำจืดจากการเพาะเลี้ยงส่งออกจากประเทศไทยในปี 2548 ดังนั้นเกาหลีจึงได้กำหนดใช้มาตรการเข้มงวดในการควบคุมคุณภาพสินค้าสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงของประเทศไทย โดยให้มีการจัดทำบัญชีรายชื่อโรงงานที่สามารถส่งออกสินค้าสัตว์น้ำไปยังสาธารณรัฐเกาหลีพร้อมทั้งกำหนดสินค้าสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงทุกรุ่น ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยที่แสดงการปลอดการตกค้างของ Malachite green ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2549 ปัจจุบันรัฐบาลได้มีการรณรงค์และปรับปรุงคุณภาพและยกระดับมาตรฐานของอาหารไทยให้เป็นที่ยอมรับทั้งในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากปลานิลเป็นสินค้าประมงที่มีศักยภาพในการส่งออก ในขณะเดียวกันความปลอดภัยด้านอาหาร (Food Safety) ได้มีการกล่าวถึงกันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศที่พัฒนาแล้วมักใช้เป็นอำนาจต่อรองทางการค้าในคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ปลอดจากการปนเปื้อนของแบคทีเรียบางชนิดและสารเคมีตกค้าง กระบวนการผลิตหลังการเก็บเกี่ยวในทุกขั้นตอนการผลิตและนับวันจะทวีความสำคัญยิ่งขึ้น ในขณะที่ความต้องการผลผลิตปลานิลที่เพิ่มสูงขึ้น แต่ข้อจำกัดในการใช้

สารเคมีและยาปฏิชีวนะมีมากขึ้น จึงควรมีการตรวจหาสารจากธรรมชาติเพื่อทดแทนยาปฏิชีวนะและเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคปลานิล

กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) เป็นพืชที่มีปริมาณของวิตามินซีสูง ซึ่งวิตามินซีนี้เป็นวิตามินที่จำเป็นในการช่วยเสริมภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ Lim และคณะ (2002) กล่าวว่า ปลาหางนกยูงที่ได้รับอาหารผสมวิตามินซีในปริมาณ 1 – 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมจะมีภูมิคุ้มกันสูงขึ้น ทำให้ปลามีอัตรารอดที่สูงขึ้นด้วย ชนกันต์ (2545) ได้ทดสอบผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติดังกล่าวข้างต้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการ พบว่า กระเจี๊ยบให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาการใช้วิตามินซีจากพืชเพิ่มเติมลงในอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันปลา เนื่องจากกระเจี๊ยบแดงเป็นพืชที่ใช้บริโภคกันอยู่ทั่วไป หากนำมาใช้เพื่อผสมอาหารให้ปลา จึงไม่ต้องกังวลเรื่องพิษตกค้างที่อาจเกิดขึ้นในเนื้อปลา

การวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อตรวจสอบความเป็นไปได้ในการใช้กระเจี๊ยบแดงเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันปลานิล ขณะนี้ยังไม่มีการศึกษาการใช้กระเจี๊ยบแดงเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immune modulator) ในสัตว์น้ำ การใช้กระเจี๊ยบแดงในการป้องกันโรคปลาน้ำจืด อาจเป็นแนวทางหนึ่งในการป้องกันโรคปลาได้ในอนาคต โดยการวิจัยครั้งนี้จะศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้กระเจี๊ยบแดงผสมอาหารปลา ซึ่งวิธีการดังกล่าวสามารถนำไปใช้ได้จริงในระบบการเลี้ยงเชิงพาณิชย์

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้กระเจี๊ยบเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลานิล
2. เพื่อศึกษาปริมาณที่เหมาะสมในการสร้างภูมิคุ้มกันในปลานิล
3. เพื่อศึกษาผลด้านการเจริญเติบโต อัตรารอด ผลผลิตและปริมาณภูมิคุ้มกันของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ข้อมูลที่ได้จะเป็นพื้นฐานในการวิจัยค้นคว้าสารที่เสริมสร้างภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในปลานิลและปลาน้ำจืดอื่น ๆ จากสารธรรมชาติ เป็นการช่วยลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ รวมทั้งช่วยลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะและเป็นประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อม ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปวิเคราะห์และสกัดสารที่สำคัญจากผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เป็นการพัฒนาองค์ความรู้ใหม่ หากผลที่ได้เป็นทางบวก จะสามารถนำไปพัฒนาการใช้งานเชิงพาณิชย์และนำไปถ่ายทอดให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลในเขตภาคเหนือ เป็นการสร้างความสัมพันธ์อันดีระหว่างสถาบันการศึกษาและชุมชน วิธีการวิจัยและผลการวิจัยจะใช้ในการประกอบการสอนวิชาโรคและภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำสำหรับนักศึกษาปีที่ 4 ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้ รวมทั้งเป็นการสร้างนักวิจัยใหม่ในระดับการศึกษาขั้นปริญญาโท และคาดว่าผลวิจัยที่ได้จะมีคุณภาพดีพอที่จะเผยแพร่และตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

ได้ดำเนินการศึกษาวิจัยที่คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2546 – 31 สิงหาคม พ.ศ. 2548 รวมระยะเวลาในการทำวิจัยทั้งหมด 1 ปี 11 เดือน

ตรวจเอกสาร

ประวัติความเป็นมาของปลานิล

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกา พบได้โดยทั่วไปตามทะเลสาบและแม่น้ำแถบทุกสาย แต่พบว่าปลานิลมีอยู่ชุกชุมตามแถบลุ่มแม่น้ำไนล์ ในประเทศอียิปต์และปาเลสไตน์ ต่อมาได้มีผู้นำเอาปลานิลไปเลี้ยงยังประเทศต่าง ๆ ทั้งในตะวันออกกลางและตะวันออกใต้ เช่น ที่ประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน มาเลเซีย อินโดนีเซียและอีกหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทยด้วย

ปลานิลได้ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2508 โดยเจ้าชายอากิฮิโต เมื่อครั้งดำรงพระอิสริยยศมกุฎราชกุมารแห่งญี่ปุ่น ทรงจัดส่งปลานิลขนาดความยาวเฉลี่ยประมาณ 9 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 14 กรัม มาทูลเกล้าฯ ถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพล อดุลยเดช เมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ. 2508 จำนวน 50 ตัว ในระยะแรกพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ ได้ทรงกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้ปล่อยลงในบ่อดินเนื้อที่ประมาณ 10 ตารางเมตร ในบริเวณสวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต เมื่อจากเลี้ยงประมาณ 5 เดือนเศษ ปรากฏว่ามีลูกปลาเกิดขึ้นในบ่อจำนวนมาก จึงได้ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้เจ้าหน้าที่สวนหลวงขุดบ่อขึ้นใหม่อีก 6 บ่อ มีเนื้อที่เฉลี่ยบ่อละประมาณ 70 ตารางเมตร ซึ่งในโอกาสนี้พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวได้ทรงย้ายปลาด้วยพระองค์เองจากบ่อเดิมไปปล่อยในบ่อใหม่ทั้ง 6 บ่อ ในวันที่ 1 กันยายน พ.ศ. 2508 ต่อจากนั้นทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ มอบให้กรมประมงจัดส่งเจ้าหน้าที่วิชาการมาตรวจสอบการเจริญเติบโตเป็นประจำทุกเดือน

ด้วยเหตุที่ปลานิลเป็นปลาจำพวกกินพืชเป็นอาหาร เลี้ยงง่าย มีรสชาติของเนื้อดี ออกลูกดก เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ในเวลา 1 ปี จะมีน้ำหนักประมาณครึ่งกิโลกรัมและมีความยาวประมาณ 1 ฟุต พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวจึงได้มีพระราชประสงค์ที่จะให้พันธุ์ปลาชนิดนี้แพร่ขยายพันธุ์ อันจะเป็นประโยชน์แก่พสกนิกรของพระองค์ต่อไป ดังนั้นในวันที่ 17 มีนาคม พ.ศ. 2509 ซึ่งเป็นระยะเวลาเดียวกันกับที่มกุฎราชกุมารแห่งญี่ปุ่นได้จัดส่งพันธุ์ปลามาทูลเกล้าฯ ถวายและทรงเลี้ยงไว้บริเวณสวนจิตรลดาเป็นเวลาเกือบครบ 1 ปี จึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ พระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่า "ปลานิล" และได้ทรงพระราชทานปลานิล ขนาดความยาว 3 - 5 เซนติเมตร จำนวน 1,000 ตัวให้แก่กรมประมง เพื่อนำไปเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ที่แผนกทดลองและเพาะเลี้ยง ในบริเวณเกษตรกลางบางเขนและสถานีประมงต่าง ๆ ทั่วพระราชอาณาจักรอีกรวม 15 แห่ง เพื่อดำเนินการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์พร้อมกัน ต่อมาปลานิลได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์พร้อมกัน ซึ่งเมื่อปลานิลนี้แพร่ขยายพันธุ์ออกไปได้มากเพียงพอแล้วจะได้แจกจ่ายให้แก่ราษฎรนำไปเพาะเลี้ยงตามความต้องการต่อไป (เพิ่มพูน, 2531)

การเลี้ยงลูกปลานิลในกระชัง

การเลี้ยงลูกปลานิลในกระชัง มีข้อดีคือ ผู้เลี้ยงสามารถทราบผลผลิตที่แน่นอน ปลาที่ได้มีขนาดสม่ำเสมอเหมาะสำหรับการผลิตเพื่อการค้า สามารถปรับขนาดของตากระชังให้เหมาะสมกับขนาดของปลาที่เลี้ยงได้ การเพิ่มขนาดตากระชังจะเป็นประโยชน์ในด้านการหมุนเวียนถ่ายเทน้ำในกระชังอีกด้วย ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของปลาให้ดียิ่งขึ้น ขั้นตอนต่าง ๆ นี้ ผู้เลี้ยงสามารถส่งต่อกันเป็นลักษณะ ผู้เลี้ยงปลาขนาดต่าง ๆ ซึ่งแต่ละขั้นตอนใช้เวลาไม่นานนัก ทำให้ผู้เลี้ยงสามารถมีรายได้ในเวลาอันรวดเร็วและมีอัตราในการลงทุนต่ำ (ศรีแพร, 2542)

อัตราการปล่อยปลาลงเลี้ยง

อัตราการปล่อยที่เหมาะสมจะแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ขนาดปลาและขนาดกระชัง กระชังขนาดเล็กสามารถปล่อยปลาได้ในอัตราค่อนข้างหนาแน่น ในขณะที่กระชังขนาดใหญ่มีอัตราการปล่อยลดลงถึง 6 – 8 เท่า เช่น กระชังขนาด 1 – 4 ลบ.ม. ปล่อยปลานิลได้ในอัตรา 300 – 400 ตัว/ลบ.ม. จะผลิตปลาได้ขนาดประมาณ 400 – 500 กรัม หากปล่อยในอัตรา 200 – 250 ตัว/ลบ.ม. จะผลิตปลาได้ขนาด 700 กรัม ในขณะที่กระชังขนาด 100 ลบ.ม. ปล่อยปลา 50 ตัว/ลบ.ม. ผลิตปลาได้ขนาด 400 – 500 กรัม เท่านั้น การเลี้ยงปลาขนาด 5 – 10 กรัม เลี้ยงให้ได้ขนาด 250 – 300 กรัม ต้องใช้เวลา 6 – 8 เดือน หากต้องการปลาขนาดใหญ่จำเป็นต้องปล่อยลูกปลาขนาดใหญ่ขึ้น หรือแบ่งการเลี้ยงเป็นช่วง ๆ (ดีรี, 2542)

ปลานิลที่เลี้ยงในกระชังที่อัตราปล่อย 50 และ 100 ตัว/ลบ.ม. พบว่าทั้งสองอัตราความหนาแน่นมีการเจริญเติบโตดีทั้งคู่ แต่ที่ระดับ 100 ตัว/ลบ.ม. สามารถให้ผลผลิตต่อกระชังได้ดีกว่าคือ 21.63 ก.ก./ตร.ม.

จากการศึกษาผลของความหนาแน่นและสูตรอาหารที่ต่างกันในการเลี้ยงลูกปลานิลแปลงเพศในกระชัง พบว่า ความแตกต่างของอาหารไม่มีผลต่อน้ำหนักเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตรารอดของลูกปลานิล อย่างไรก็ตามแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับโปรตีนในอาหาร ผลทางความหนาแน่นพบว่าที่ระดับความหนาแน่น 100 ตัว/ลบ.ม. มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงสุด เท่ากับ 2.10 และ 0.023 กรัม/ตัว ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับระดับความหนาแน่นอื่น ๆ ทางด้านอัตราการเปลี่ยนอาหารไปเป็นเนื้อและอัตรารอดพบว่าที่ระดับความหนาแน่น 200 ตัว/ลบ.ม. มีค่าสูงสุด เท่ากับ 3.32 และ 76.6% ตามลำดับ จึงเป็นความหนาแน่นที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกปลานิลแปลงเพศในกระชัง (ศรีแพร,2542) เมื่อเตรียมกระชังเสร็จก็ปล่อยปลาลงกระชังได้เลย การดูแลช่วงนี้ต้องดูแลเป็นพิเศษจะต้องคอยเช็คอาหารเหลือหรือไม่ หรืออาหารให้น้อยไปหรือเปล่า ปริมาณในการปล่อยจะปล่อย 2,500 ตัวต่อกระชัง โดยขนาดของกระชังกว้าง 6 เมตร ยาว 6 เมตร ลึก 2.5 เมตร (นิตยสารสัตว์น้ำ, 2544)

การจัดการระหว่างการเลี้ยง

การเลี้ยงปลาในกระชัง เป็นรูปแบบการเลี้ยงปลาแบบพัฒนาและกึ่งพัฒนา (Semi – intensive) จึงควรให้อาหารที่มีโปรตีนค่อนข้างสูงและเหมาะสมกับความต้องการของปลา เพื่อเร่งผลผลิตและการเจริญเติบโต ปลานิลจะกินอาหารได้ดีเมื่อมีปริมาณออกซิเจนในน้ำสูง ซึ่งเป็นช่วงเวลากลางวัน ดังนั้นส่วนใหญ่จึงควรให้อาหารในช่วงเวลาดังกล่าว ความถี่ที่เหมาะสมในการให้อาหารปลานิลประมาณ 4 – 5 ครั้งต่อวัน แต่จะให้น้อยกว่านี้ก็ได้ คือ 2 – 3 ครั้งต่อวัน เนื่องจากไม่มีความแตกต่างทางด้านการเจริญเติบโตแต่การให้อาหารที่ 4 – 5 ครั้งต่อวัน จะมีปริมาณวิตามินซีสะสมในตับสูงที่สุด (เขมชาติ, 2538)

การให้อาหารอนุบาลลูกปลา อาหารจะเป็นเบอร์เล็กสำหรับลูกปลา ให้ 3 เวลาใน 1 วัน โดยจะให้มื้อเช้า เที่ยงและเย็น ปริมาณในการให้ 2 กิโลกรัมต่อมื้อต่อกระชัง พอปลาได้ขนาดก็จะลดการให้อาหารเหลือ 2 เวลา คือ มื้อเช้ากับมื้อเย็นแต่จะเพิ่มปริมาณการให้เป็น 10 กิโลกรัมต่อมื้อ และจะให้อาหารในปริมาณเท่านี้ไปตลอดจนถึงช่วงเวลาของการจับขาย ในช่วงนี้เกษตรกรอาจให้พวกไข่แดงเป็นอาหารเสริมหรือวิตามินคลุกเคล้ากับอาหารเม็ดสาดลงไปในกระชังเพื่อเร่งการเจริญเติบโต ขนาดของปลาที่เป็นที่นิยมของตลาดจะอยู่ที่ 0.7 กิโลกรัมขึ้นไป ขนาดของปลาช่วงนี้ถือว่าเป็นราคาที่น่าพอใจระยะเวลาการเลี้ยงจะกินเวลาประมาณ 4 – 5 เดือน ช่วงนี้ถือว่าพร้อมที่จะนำออกสู่ตลาดได้ และยังเลี้ยงปลาไนลงในกระชังปลานิลอีกด้วย เพื่อให้ปลาไนช่วยกินเศษอาหารที่เหลือ ตะไคร่น้ำที่เกาะตามผืนอวนและของเสียจากการขับถ่ายของปลานิล (นิตยสารสัตว์น้ำ, 2544)

อัตราการให้อาหารขึ้นอยู่กับขนาดของปลาและอุณหภูมิของน้ำ ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้น อัตราการกินอาหารของปลาจะสูงขึ้นด้วย จากการศึกษา Guerrero (1980) รายงานว่า อัตราการให้อาหารต่อวันที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลานิลควรให้ดังนี้

ตารางที่ 1 ปริมาณการให้อาหารต่อวันที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลานิล

น้ำหนักปลาเฉลี่ย (กรัม)	ปริมาณอาหารที่ให้ต่อน้ำหนักปลาต่อวัน
< 25 กรัม	5%
50 – 100 กรัม	4%
> 100 กรัม	3%

คุณภาพน้ำที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลานิล พบว่า ช่วงอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตนั้นอยู่ระหว่าง 28 – 35 องศาเซลเซียส และ 7.0 – 10.0 ตามลำดับ แม้ว่าสามารถทนต่อสภาวะออกซิเจนในน้ำต่ำได้ถึงระดับ 0.1 มก./ล. แต่ปลาไม่สามารถอาศัยในช่วงดังกล่าวได้ไม่นานนัก ปลานิลสามารถทนทานต่อปริมาณแอมโมเนียได้ที่ LC 48 ชม. เท่ากับ 2.4 มก./ล. (ศรีแพร, 2542)

ผลตอบแทนที่ได้

เมื่อหักต้นทุนทั้งหมดที่ใช้เลี้ยงจะได้กำไรกระชังละ 4,000 – 8,000 บาท จะเห็นว่าช่วงของกำไรจะกว้างขึ้นอยู่กับการเลี้ยง การดูแลเอาใจใส่ การให้อาหารเพียงพอต่อความต้องการของปลา

ต้นทุนในช่วงของการเริ่มเลี้ยง แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ วัสดุที่นำมาสร้างเป็นกระชัง ส่วนนี้ถือเป็นต้นทุนคงที่ ส่วนต้นทุนผันแปรจะเป็นพวกลูกปลา อาหาร อายุการใช้งานของกระชังสามารถใช้นานถึง 5 ปีขึ้นไป การลงทุนจึงหนักในช่วงเริ่มต้น

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงปลานิลในกระชังกับบ่อดิน การเลี้ยงในกระชังจะได้เนื้อปลาที่ไม่มีกลิ่นโคลน เนื้อปลาแน่น รสชาติดี ต่างจากการเลี้ยงในบ่อดิน การเลี้ยงในบ่อดินทำให้สีของตัวปลาไม่เข้ม เหม็นกลิ่นโคลน เนื่องจากปลานั้นไปกินโคลนและการกินอาหารจะน้อยกว่าการเลี้ยงในกระชัง สาเหตุที่ปลากินอาหารมากกว่านั้น เพราะว่าพื้นที่ในกระชังนั้นแคบปลาจะว่ายไปว่ายมาตลอดจะไม่หลบตามพื้นดินหรือโพรงหญ้า เหมือนในกรณีที่เลี้ยงในบ่อดิน ปลาในกระชังจะถูกขุนให้เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เนื่องจากกิจกรรมหลักคือ การกินอาหารเท่านั้น สังเกตได้จากการขับถ่ายของเสียของปลา ของเสียที่ปลาปล่อยออกมาจะเป็นท่อนยาวเป็นแพ แสดงให้เห็นถึงระบบการย่อยที่มีประสิทธิภาพมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาโดยตรง (นิตยสารสัตว์น้ำ, 2544)

รูปร่างและลักษณะนิสัย

ปลานิลมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* (Linn.) เป็นพันธุ์ปลาที่มีถิ่นฐานดั้งเดิมแถบบริเวณลุ่มน้ำไนล์ ปลานิลมีรูปร่างและลักษณะคล้ายกับปลาหมอเทศมากที่สุด แต่จะมีสีจางกว่าปลาหมอเทศเล็กน้อย หัวจะมีลักษณะเล็กลาดเรียบ บริเวณริมฝีปากล่างกับริมฝีปากบนจะเสมอกัน มีซี่เหงือกประมาณ 19 - 28 ซี่ ขอบตามีสีแดง ที่กระดูกแก้มจะมีจุดสีเข้มอยู่หนึ่งจุด ที่แก้มจะมีเกล็ดอยู่ด้วยกัน 4 แถว ลำตัวป้อมมีสีเขียวปนน้ำตาล และมีลายพาดขวางประมาณ 9 - 10 แถว ระยะห่างระหว่างแถวขวางแต่ละอันจะกว้างกว่าความกว้างของแถวเล็กน้อย ลักษณะของลายจะพาดขวางจากส่วนหลังมายังส่วนท้องอย่างสมบูรณ์โดยจะไม่แตกเป็นแฉก ด้านหลังหนา ที่บริเวณส่วนอ่อนของครีบหลัง ครีบก้น และครีบหางจะมีลายประจุดสีขาวและเส้นสีดำตัดขวาง ปลานิลจะแตกต่างจากปลาหมอเทศตรงที่ปลานิลมีเกล็ด 3 แถว ที่บริเวณแก้ม และอีก 1 แถว ตรงบริเวณเหนือเส้นข้างตัวเล็กน้อย ครีบหลัง มีครีบเดียว ประกอบไปด้วยก้านครีบแข็ง 15 - 18 อัน และก้านครีบอ่อน 12 - 14 อัน ครีบก้นจะประกอบไปด้วยก้านครีบแข็ง 3 อัน และก้านครีบอ่อน 9 - 10 อัน บนแถบเส้นข้างตัวจะมีเกล็ดอยู่ 33 เกล็ด ทางด้านข้างมีเกล็ดตามแนวเดี่ยวจากด้านบนของครีบหลังลงมาจนถึงเส้นข้างตัว จำนวน 5 เกล็ด และเกล็ดจากเส้นข้างลำตัวลงมาถึงส่วนหน้าของครีบก้นจำนวน 13 เกล็ด (เพิ่มพูน, 2531)

ปลานิลมีนิสัยชอบอยู่รวมกันเป็นฝูง (ยกเว้นเวลาสืบพันธุ์) มีความอดทนและปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี จากการศึกษาพบว่า ปลานิลทนต่อความเค็มได้ถึง 20 ส่วนในพัน ทนต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ได้ดีในช่วง 6.5 – 8.3 และสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้ถึง 40 องศาเซลเซียส แต่ใน

อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส พบว่าปลานิลปรับตัวและเจริญเติบโตได้ไม่ดีนัก ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะถิ่นกำเนิดเดิมของปลาชนิดนี้อยู่ในเขตร้อน (ปกรณ์, 2532)

นิสัยการกินอาหาร

ปลานิลเป็นปลาที่กินทั้งเนื้อและพืช แต่จะชอบกินสาหร่ายแพลงก์ตอนที่อาศัยอยู่ในน้ำ ตัวอ่อนของแมลง อินทรีย์วัตถุที่สลายตัวแล้วบริเวณก้นบ่อ เมื่อปลานิลมีขนาดโตขึ้น จะกินพืชพวกสาหร่าย แหน และส่วนอ่อนของใบพืช อาหารตามธรรมชาติของปลานิลได้แก่ ไรน้ำ ตะไคร้น้ำ และตัวอ่อนของแมลง ส่วนอาหารเสริมได้แก่ รำ ปลายข้าว กากถั่วลิสง แหนเป็ดและปลาป่น

การเลี้ยงปลานิลในบ่อ ส่วนมากจะนิยมใช้อาหารจำพวกรำ เศษอาหาร พืชจำพวกแหนและมูลสัตว์ ต่อมาได้มีการปรับปรุงคุณภาพของอาหารปลานิล โดยเน้นรายละเอียดเกี่ยวกับปริมาณโปรตีนในอาหารผสมให้ได้ระดับที่ต้องการ เพื่อช่วยให้ปลาโตเร็วขึ้นโดยใช้ส่วนผสมของรำ ปลายข้าว กากถั่วเหลือง ใบกระถินแห้ง ปลาป่น เกลือแร่และวิตามินเป็นอาหาร (เพิ่มพูน, 2531)

ความต้องการสารอาหาร

ปลานิลต้องการโปรตีนจากอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างเนื้อ ความต้องการโปรตีนของปลา ขึ้นอยู่กับปัจจัยเหล่านี้ ได้แก่ อายุของปลา คุณภาพของโปรตีนในอาหารและระดับพลังงานในอาหาร ลูกปลานิลขนาดเล็กจะต้องการโปรตีนสูงกว่าปลาขนาดใหญ่ ปัจจุบันได้มีการพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารสัตว์น้ำเพื่อผลิตอาหารเม็ดสำหรับปลานิล เนื่องจากการเลี้ยงปลานิลเป็นการผลิตเพื่อการค้ามากขึ้น การให้อาหารที่มีระดับโปรตีนที่เหมาะสมจะช่วยให้ปลาโตเร็วและใช้ระยะเวลาสั้นลง ซึ่งจะช่วยประหยัดต้นทุน ปกติอาหารปลานิลที่ดีควรมีพลังงานประมาณ 3,000 - 5,000 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม (คีรี, 2542) ในอาหารที่มีพลังงานไม่เพียงพอ แม้จะมีโปรตีนสูง ปลานิลก็ยังจะเจริญเติบโตช้า ดังนั้นสารอาหารต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นคุณค่าโปรตีน (crude protein) ไขมัน (lipid) และกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) วิตามินหรือเกลือแร่ ต้องพิจารณาตามที่ปลาต้องการ

โปรตีน

ปลานิลขนาดเล็กจะต้องการโปรตีนสูงกว่าปลาขนาดใหญ่ โดยปลาขนาดเล็กระหว่าง 1 - 10 กรัม ต้องการโปรตีน 34 - 36% ปลาวัยรุ่นขนาดระหว่าง 10 - 100 กรัม ความต้องการโปรตีนหรือระดับโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตประมาณ 27 - 35% ปลาขนาดใหญ่ที่มีน้ำหนักมากกว่า 100 กรัม ระดับความต้องการโปรตีนจะลดลงเหลือประมาณ 20 - 25% สำหรับปลาขนาดใหญ่ที่ขุนเพื่อจำหน่ายอาจจะให้อาหารที่มีระดับโปรตีนเพียง 20% (คีรี, 2542)

ตารางที่ 2 สูตรอาหารปลาที่แนะนำโดยกรมประมง (ประเสริฐและคณะ 2525 อ้างโดย ศักดิ์ชัย 2536)

วัสดุอาหาร	ปริมาณ (%)
ปลาป่นอัดน้ำมัน	12
กากถั่วลิสงป่น	6
รำละเอียด	41
ปลายข้าวบด หรือมันเส้นบด	40
วิตามิน + เกลือแร่	1
รวม	100

การให้อาหาร

แม้ว่าปลานิลจะเจริญเติบโตได้ตามปกติจากการกินอาหารตามธรรมชาติที่มีอยู่ในบ่อ แต่เพื่อให้ปลาโตเร็วก็ควรให้อาหารสมทบพวกรำ ปลายข้าว กากถั่วด้วย การให้อาหารจะให้วันละ 1 ครั้ง หรือ 2 ครั้ง แล้วแต่ความสะดวกของผู้เลี้ยง ควรกะปริมาณให้พอดีไม่ควรให้มากจนเกินไป ส่วนมากจะให้ราว 4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลาที่เลี้ยง ถ้ามีการให้อาหารอัดเม็ดโปรตีน 25% ก็ให้ได้วันละ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว แล้วปรับปริมาณอาหารเพิ่มขึ้นได้ตามขนาดน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น การใช้อาหารถ้าให้มากเกินไปปลาก็จะกินไม่หมด และจะทำให้น้ำในบ่อเสียได้ (อดุลย์, 2532)

อัตราการปล่อย

การปล่อยปลานิลจะต้องคำนึงถึงขนาดของปลาที่ปล่อย การเลี้ยงปลานิลเชิงธุรกิจ ผลผลิต ระยะเวลาและต้นทุนการเลี้ยง จะมีความสำคัญยิ่ง ขนาดของปลาที่เริ่มปล่อยควรมีขนาด 20 กรัม อัตราการรอดของปลาขนาดดังกล่าวจะสูงกว่า 90% ทำให้สะดวกต่อการจัดการในเรื่องอาหารและคุณสมบัติของน้ำ การที่จะได้ลูกปลาขนาดเดียวกัน เกษตรสามารถเตรียมได้ทั้งในกระชังและบ่อดินดังนี้

การเลี้ยงในกระชังอวนสีฟ้า ขนาดกระชัง 5×7×1.5 ลบ.ม. ขึงกระชังจมน้ำ 1 เมตร นำพันธุ์ปลาขนาด 1.5 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.2 กรัม อัตราปล่อย 250 ตัวต่อตารางเมตร ให้อาหารสำเร็จรูป 4-5 ครั้งต่อวัน ระยะเวลา 1 เดือน จะได้ลูกปลา 6-7 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 8 กรัม อัตรารอด 70-80%

การซื้อลูกปลานิลจากบริษัทเอกชนหรือหน่วยงานราชการลูกปลาจะมีขนาด 2 - 3 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.2 - 0.3 กรัม อนุบาลในบ่อดินขนาด 800 ตารางเมตร อัตราปล่อย 80 - 90 ตัวต่อตารางเมตร ให้อาหารสำเร็จรูป 8% ต่อน้ำหนักตัว ความถี่ในการให้อาหาร 3 - 4 ครั้งต่อวัน (ภาณุและมานพ,2536)

บ่อที่มีขนาดเนื้อที่ 400 ตารางเมตร ควรปล่อยลูกปลา 3 ตัวต่อ 1 ตารางเมตร หรือประมาณ 1,200 ตัวจะเป็นการดี ปลาไม่แน่นบ่อจนเกินไป และเจริญเติบโตได้รวดเร็วขึ้นอีกด้วย (เพียว, 2530)

อัตราการปล่อยลูกปลา ในบ่อขนาด 200 ตารางเมตร อนุบาลลูกปลานิลขนาด 1 - 2 เซนติเมตร ปล่อยลูกปลา 50,000 ตัว ในกรณีอนุบาลลูกปลานิลในกระชังที่ขึงในบ่อดิน เพื่อให้ฮอร์โมนแปลงเพศ โดยใช้ระดับน้ำลึกประมาณ 50 - 60 เซนติเมตร ปล่อยในอัตรา 5,000 - 7,000 ตัวต่อตารางเมตร การเลี้ยงในบ่อดิน อัตราการปล่อยจะอยู่ระหว่าง 3 - 10 ตัวต่อตารางเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของลูกปลา ปกติแล้วควรจะปล่อยลูกปลาขนาด 20 - 50 กรัม จำนวน 3 - 5 ตัวต่อตารางเมตร การเลี้ยงปลานิลในบ่อซีเมนต์ อัตราการปล่อยจะต้องหนาแน่น โดยทั่วไปแล้วจะอยู่ในอัตรา 30 - 100 ตัวต่อตารางเมตร และลูกปลาควรมีขนาดใหญ่ประมาณ 100 กรัม การปล่อยปลานิลในกระชังสามารถปล่อยเลี้ยงได้อย่างหนาแน่น การเลี้ยงจำเป็นต้องให้อาหารสมทบเป็นหลัก อัตราปล่อยโดยทั่วไปปล่อยในอัตรา 40 - 100 ตัวต่อตารางเมตร (ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่, 2542)

กระเจี๊ยบแดง

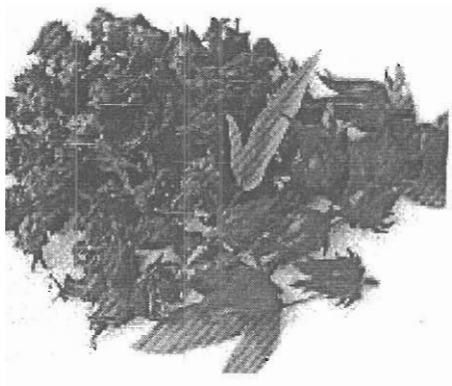
ชื่อ กระเจี๊ยบ , กระเจี๊ยบเปรี้ยว, ส้มพอเหมาะ, ผักเก็งเค็ง, ส้มเก็งเค็ง , ส้มตะเลงเครง, ส้มปู

ชื่อสามัญ Roselle

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Hibiscus sabdariffa* Linn.

วงศ์ Malvaceae

ภาพที่ 1 กระเจี๊ยบแดง



ภาพที่ 2 ผลกระเจี๊ยบแดงสดและกระเจี๊ยบแห้ง

ลักษณะทั่วไป

กระเจี๊ยบแดงเป็นพืชที่ปลูกขึ้นง่ายในประเทศไทย เจริญได้ในดินแทบทุกชนิดที่มีการระบายน้ำได้ดี ตามปกติคนไทยใช้กระเจี๊ยบทำอาหารไม่มากนัก เช่น ใช้ยอดทำแกงส้ม ใช้กลีบของดอกทำแยมน้ำหวาน เป็นต้น แต่ในอดีตไม่ได้ทำกันเป็นล่ำเป็นสัน การปลูกกระเจี๊ยบจึงไม่ได้ปลูกมากนัก

ต่อมาศูนย์สาธิตไทย - เยอรมันที่โคกตูม ในเขตนิคมสร้างตนเอง จังหวัดลพบุรี จึงได้มีการส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกกระเจี๊ยบแดงครอบครัวละประมาณ 1 ไร่ ซึ่งจะได้กลีบกระเจี๊ยบแดงตากแห้ง 60 - 80 กิโลกรัม และรับซื้อในราคากิโลกรัมละ 20 บาทเพื่อส่งไปขายยังประเทศเยอรมันนี ชาวเยอรมันใช้เนื้อกระเจี๊ยบแดงตากแห้ง ชงกับน้ำดื่มเป็นประจำโดยมีความเชื่อว่าสามารถแก้โรคเส้นเลือดตีบตันได้

กระเจี๊ยบที่ส่งเสริมให้ปลูกพันธุ์ใหม่หรือเรียกว่าพันธุ์เยอรมันนี ลักษณะคือ ลำต้นเตี้ยกิ่งก้านเป็นพุ่มให้ผลดก มีผลโตและเนื้อหนามากกว่ากระเจี๊ยบไทย ซึ่งผลเล็กไม่ดกเท่าและเนื้อบาง (นิพนธ์ ,2526 อ้างโดย ปัญญา, 2529)

ลักษณะพืช

ไม้พุ่มขนาดเล็ก สูง 1 - 2 เมตร ลำต้นและกิ่งก้านมีสีแดงอมม่วง ใบเป็นใบเดี่ยว กว้างยาวพอ ๆ กัน ประมาณ 8 - 15 เซนติเมตร ก้านใบยาว ขอบใบหยักลึกคล้ายนิ้วมือ 3 หรือ 5 แฉก ดอกเป็นดอกเดี่ยว ออกที่ซอกใบ กลีบดอกสีชมพูหรือสีเหลือง ตรงโคนกลีบด้านในมีสีม่วงแดง เกสรตัวผู้เชื่อมกันเป็นหลอด ดอกที่ได้รับการผสมเกสรแล้วกลีบดอกจะร่วง กลีบเลี้ยงจะขยายใหญ่ หนาและแข็ง สีแดงเข้ม ผลสีแดงมีกลีบเลี้ยงหุ้มไว้ เมื่อผลแห้งแตกได้ (วันดีและคณะ, 2541)

การเพาะปลูกและวิธีดูแลรักษา

หยอดเมล็ดลงในหลุม ประมาณหลุมละ 3 - 5 เมล็ด ขุดหลุมห่างกันประมาณ 70 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถวห่างกัน 120 - 15 เซนติเมตร เมื่อต้นกล้าอายุ 25 - 30 วัน ถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น ใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตประมาณ 3 กรัม บริเวณรอบๆโคนต้น หรือนำกิ่งปักชำ โดยใช้กิ่งที่ไม่แก่หรืออ่อนเกินไป ยาวประมาณ 15 - 20 เซนติเมตร ตัดยอดทิ้ง ริดใบออก นำมาปักชำในที่ร่ม หลังจากที่กิ่งออกรากและแตกใบอ่อนแล้ว จึงย้ายปลูกในแปลง กระเจี๊ยบแดงชอบแดดจัด และเจริญได้ดีในดินเกือบทุกประเภท (วันดีและคณะ, 2541)

โดยทั่วไป!การปลูกกระเจี๊ยบแดง จะปลูกปลายฤดูฝนคือ ประมาณเดือนสิงหาคมหรือเดือนกันยายน ระยะการปลูกประมาณ 3 เดือน จึงจะเก็บเกี่ยวได้การปลูกใช้กล้าปลูก หรือใช้หยอดเมล็ดก็ได้ ระยะปลูกระหว่างต้นประมาณ 50 - 75 เซนติเมตร และให้แถวอยู่ห่างกันประมาณ 1 เมตร ไร่หนึ่งปลูกได้ผลหนักประมาณ 1,800 - 2,400 กิโลกรัม หรือกลีบที่กินได้ประมาณ 900 - 1,200 กิโลกรัม กลีบกระเจี๊ยบสด 15 กิโลกรัมตากแห้งแล้วจะเหลือ 1 กิโลกรัม สำหรับโรคที่มักเกิดขึ้นในระหว่างการเพาะปลูกกระเจี๊ยบ คือ โรคราน้ำค้างซึ่งจะเกิดได้เมื่ออากาศเย็นและชื้น วิธีป้องกันและกำจัดโรค ทำได้โดยการพ่นใบที่เปียกน้ำค้างด้วยกำมะถันผงซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย แต่ตามปกติแล้วกระเจี๊ยบไม่ถูกรบกวนโดยโรคหรือแมลงเหมือนพืชอื่น ๆ (นิพนธ์, 2526 อ้างโดย ปัญญา, 2529)

ส่วนที่ใช้ประโยชน์และสารสำคัญ

กระเจี๊ยบแดงเป็นพืชที่มีสรรพคุณในทางยา กล่าวคือ ในกลีบเลี้ยงหรือกลีบดอกของกระเจี๊ยบแดงจะมีกรดอินทรีย์อยู่หลายชนิดซึ่งกรดอินทรีย์เหล่านี้จะสามารถลดไขมันในเส้นเลือด แก้อาการคอแห้งกระหายน้ำและช่วยลดไข้ได้ พบว่าส่วนประกอบของกระเจี๊ยบแดงจากส่วนที่กินได้ 100 กรัม จะเป็นดังต่อไปนี้

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบทางอาหารของกระเจี๊ยบแดง (พะยอม, 2521 อ้างโดย ปัญญา, 2529)

สารอาหาร	พันธุ์พื้นเมือง	พันธุ์เยอรมัน
น้ำ	86.6 กรัม	90 กรัม
โปรตีน	1.4 กรัม	1.29 กรัม
ไขมัน	0.3 กรัม	0.34 กรัม
กาก	1.3 กรัม	7.8 กรัม
เถ้า	-	0.7 กรัม
แคลเซียม	151 มิลลิกรัม	134.79 มิลลิกรัม
เหล็ก	1.0 มิลลิกรัม	1.48 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	59 มิลลิกรัม	27.7 มิลลิกรัม
พลังงาน	46 แคลอรี่	8.06 แคลอรี่
คาร์โบไฮเดรต	9.4 กรัม	-
วิตามินเอ	10,833 ไอยู	-
วิตามิน B1	0.01 มิลลิกรัม	-
วิตามิน B2	0.24 มิลลิกรัม	-
ไนอะซิน	0.8 มิลลิกรัม	-
วิตามินซี	18 มิลลิกรัม	-

จากตารางเป็นที่น่าสังเกตว่ากระเจี๊ยบแดงมีวิตามินเอสูงถึง 10,833 ไอยู ซึ่งเป็นปริมาณพอ ๆ กับผักสีเขียวบางชนิด เช่น ผักขม ยอดแค และใบตับหมู เป็นต้น นอกจากนั้นแล้วปริมาณเกลือแร่ค่อนข้างสูง โดยเฉพาะแคลเซียมสูงถึง 151 มิลลิกรัม จึงเป็นอาหารที่เหมาะกับคนที่มีปริมาณแคลเซียมในร่างกายต่ำ กระเจี๊ยบยังให้พลังงานที่ต่ำมาก จึงเป็นเครื่องดื่มที่น่าจะเหมาะกับคนที่ลดความอ้วน หรือเหมาะกับคนไข้ที่ไม่ต้องการอาหารประเภทที่ให้พลังงานมาก ๆ (พะยอม, 2521 อ้างโดย ปัญญา, 2529)

ด้านอาหาร

ยอดและใบอ่อน มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย นำมาปรุงอาหาร เช่น แกงส้ม ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต ธาตุแคลเซียม และฟอสฟอรัส วิตามินซี ไนอะซิน และวิตามินเอ กลีบเลี้ยง มีสารสีแดง ซึ่งเป็นสารจำพวกแอนโทไซยานิน (anthocyanin) และมีกรดอินทรีย์ซึ่งทำให้มีรสเปรี้ยว ได้แก่ กรดแอสคอบิก (วิตามินซี) กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดทาทาริก เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม วิตามินเอ และเพคตินอีกด้วย กลีบเลี้ยงใช้ประโยชน์ในการปรุงเป็นเครื่องดื่ม ใช้แต่งสีแดง และแต่งรสเปรี้ยวในเยลลี่และเหล้าองุ่น ใช้ทำเป็นผลไม้กวนและแยม

ด้านการบำบัดรักษา

สารสำคัญในกลีบเลี้ยง ได้แก่ วิตามินซี และกรดอินทรีย์อื่น ๆ รวมทั้งสารไฮบิสซิน (hibiscin) ทำให้กลีบเลี้ยงสามารถใช้บำบัดรักษาโรคได้หลายชนิด เช่น ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ใช้ป้องกันและรักษาโรคนิ่ว โดยเฉพาะนิ่วที่เกิดจากการดื่มน้ำกระด้างที่มีหินปูน ทั้งนี้เนื่องจากกรดอินทรีย์จะช่วยป้องกันไม่ให้หินปูนจับตัวเป็นก้อน สารไฮบิสซินคลอไรด์ยังช่วยลดอาการอักเสบเนื่องจากการผ่าตัดนิ่วและมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียอีกด้วย

วิธีใช้

ใช้กลีบเลี้ยงตากแห้ง 3 - 5 ดอก ต้มกับน้ำ ทำเป็นน้ำกระเจี๊ยบใช้ดื่ม หรือใช้กลีบเลี้ยงแห้งบดเป็นผง ใช้ผง 1 ช้อนชา (ประมาณ 3 กรัม) ชงกับน้ำเดือด 1 ถ้วยแก้ว รินเอาส่วนที่ใส ดื่มวันละ 3 ครั้ง

2. สารสกัดจากกลีบเลี้ยง มีฤทธิ์ลดความดันโลหิตในช่วงเวลาสั้น ๆ

3. น้ำกระเจี๊ยบมีฤทธิ์ช่วยขับน้ำดี จึงมีประโยชน์ช่วยย่อยอาหารประเภทไขมัน โดยเฉพาะในคนที่น้ำดีไม่ปกติ

4. น้ำกระเจี๊ยบช่วยรักษาและป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน เนื่องจากมีวิตามินซีในปริมาณสูง

5. ตำรายาไทยใช้ใบและยอดอ่อนซึ่งมีรสเปรี้ยวเป็นยาแก้ไอ

สรรพคุณ

กระเจี๊ยบแดงมีรสเปรี้ยว นำมาต้มผสมน้ำตาลทรายแดงเล็กน้อย เป็นน้ำกระเจี๊ยบดื่มแก้ร้อนในกระหายน้ำ ช่วยให้ร่างกายสดชื่น เพราะมีกรดซิตริกอยู่ ช่วยย่อยอาหารเพราะเพิ่มการหลั่งกรดในกระเพาะและเพิ่มการหลั่งน้ำดีจากตับ มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อในลำไส้

น้ำกระเจี๊ยบเปล่า ๆ จะสามารถลดความดันโลหิตได้ น้ำกระเจี๊ยบจะทำให้ความเหนียวข้นของเลือดลดลง รักษาเส้นโลหิตแข็งเปราะได้ดี และมีฤทธิ์ขับปัสสาวะเป็นการช่วยลดความดันอีกทางหนึ่ง

นอกจากนี้น้ำกระเจี๊ยบยังช่วยลดไข้ ชุ่มคอ เจริญอาหารช่วยให้นอนหลับ หายอ่อนเพลีย ช่วยให้มีกำลัง ลดไขมันในเส้นเลือด ลดน้ำตาลในเลือด ระบายท้อง รักษาแผลในกระเพาะอาหาร แก้ลักปิดลักเปิด แก้ไอ ขับเสมหะ (www.greensociety.com ,2547)

อุปกรณ์และวิธีการ

ในการทำวิจัยครั้งนี้ได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่

1. การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของกระเจี๊ยบและวัตถุดิบอื่น ๆ ที่นำมาใช้ผสมอาหารปลา

อาหารที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ประกอบด้วยวัสดุแห้งพื้นฐานที่เหมือนกันโดยจะใช้สูตรพื้นฐานที่ดัดแปลงมาจากสูตรอาหารปลานิลที่พัฒนาโดยกองควบคุมและพัฒนาอาหารสัตว์น้ำ กรมประมง (ตารางที่ 1) อาหารทดลองมีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักเพื่อให้ปริมาณของโปรตีนในอาหารคงที่จะวิเคราะห์ส่วนประกอบสำคัญและคุณค่าทางอาหารอย่างหยาบ (proximate analysis) ในกระเจี๊ยบแดงและวัตถุดิบอื่น ๆ ก่อนนำมาคำนวณสูตรอาหารโดยวิธีของนิวุฒิและสุฤทธิ์ (2544) โดยชุดควบคุมเป็นอาหารพื้นฐานที่ไม่มีการผสมกระเจี๊ยบ และในชุดการทดลองที่ 2 , 3 และ 4 จะมีการเติมกระเจี๊ยบแดง (ตารางที่ 2) โดยจะปรับลดสัดส่วนอาหารเพื่อให้องค์ประกอบของอาหารมีปริมาณโปรตีนเท่ากันทุกชุดการทดลอง นำส่วนประกอบทั้งหมดจะนำมาผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปอัดเม็ดด้วยเครื่องผสมอาหารอัดเม็ดจากนั้นอบให้แห้งและเก็บรักษาไว้เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

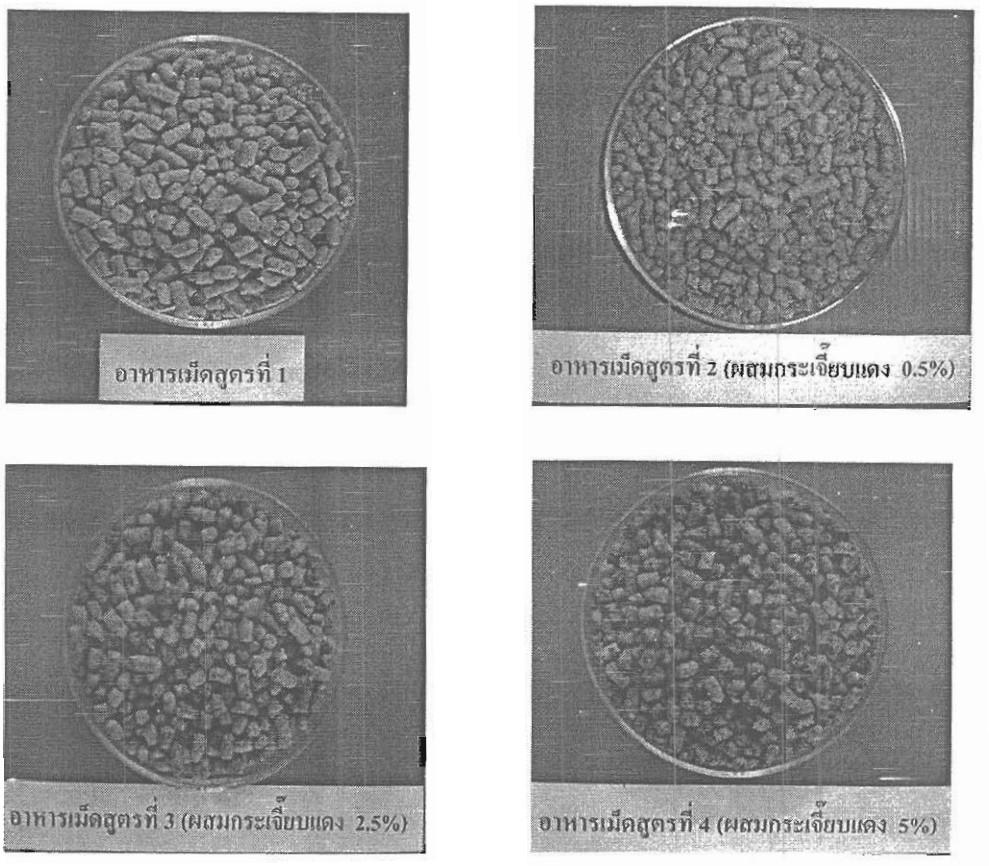
ตารางที่ 4 สูตรอาหารชุดควบคุมของปลานิล

(ดัดแปลงมาจากสูตรอาหารปลานิลแดงของกองควบคุมและพัฒนาอาหารสัตว์น้ำ กรมประมง)

วัตถุดิบ	เปอร์เซ็นต์
ปลาป่น	30
กากถั่วเหลือง	32
รำละเอียด	12
ปลายข้าว	21
น้ำมันพืช	4
วิตามินและแร่ธาตุรวม	1

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบของอาหารในแต่ละชุดการทดลอง

ชุดการทดลอง	
1	อาหารชุดควบคุม (ตารางที่ 1)
2	อาหารชุดควบคุมผสมกระเจี๊ยบแดง 0.5 เปอร์เซ็นต์
3	อาหารชุดควบคุมผสมกระเจี๊ยบแดง 2.5 เปอร์เซ็นต์
4	อาหารชุดควบคุมผสมกระเจี๊ยบแดง 5.0 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 3 อาหารปลาอัดเม็ดที่ใช้เลี้ยงปลานิลในกระชัง

2. การเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง

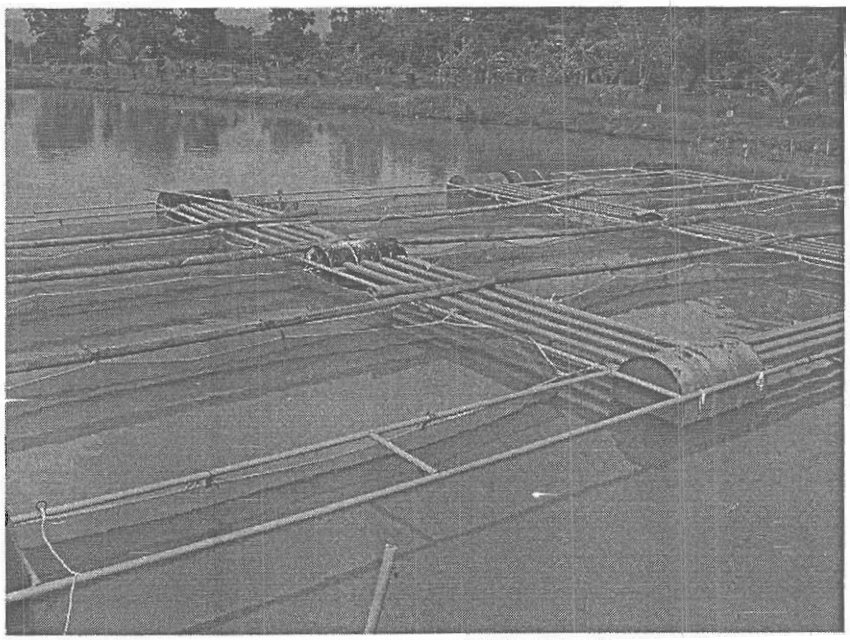
2.1 การอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) ใช้ตู้กระจกขนาด 0.25 ลบ.ม. ทั้งหมด 12 ตู้ แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ นำอาหารทดลอง (ตารางที่ 2) ไปเลี้ยงปลาโดยให้ลูกปลานิลขนาดประมาณ 1.5 - 2.0 นิ้ว กินวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 30 วัน สังเกตพฤติกรรมและการยอมรับอาหารของปลานิล เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะวัดการเจริญเติบโต จากนั้นจึงทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* โดยการฉีดเชื้อแบคทีเรียเข้าช่องท้องจำนวน 0.2 มิลลิลิตรต่อตัว (10^4 CFU) บันทึกอัตราการรอดตายของปลานิลเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 7 วัน สังเกตพฤติกรรมการกินอาหาร อัตราการรอดตายและคุณสมบัติของน้ำควบคู่ไปด้วยตลอดการทดลอง เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น

95 % โดยตลอดระยะเวลาการอนุบาลลูกปลานิลจะทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำควบคู่ไปพร้อมกันจนสิ้นสุดการทดลอง

2.2 การทดลองเลี้ยงปลานิลวัยรุ่นด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงในบ่อดิน

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) จัดวางกระชังขนาด 6 ลบ.ม. ทั้งหมด 12 กระชัง ลงในบ่อดินขนาด 1 ไร่ มีน้ำลึกประมาณ 1.5 เมตร แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ นำอาหารทดลอง (ตารางที่ 2) ไปเลี้ยงปลาโดยให้ปลานิล (ขนาดประมาณ 1.5 - 2.0 นิ้ว) วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 5 เดือน สังเกตพฤติกรรมและการยอมรับอาหารของปลานิล สุ่มปลาเพื่อตรวจสอบการเจริญเติบโตทุกสองสัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะวัดการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ โดยระหว่างการทำการเลี้ยงปลาจะสุ่มดูดเลือดปลาจำนวน 3 ตัว ในทุกกระชัง เพื่อใช้ศึกษาการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทุกเดือน (รายละเอียดในข้อ 3) สังเกตการเปลี่ยนแปลงเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



ภาพที่ 4 การจัดวางกระชังเลี้ยงปลานิล

3. การศึกษาความสามารถของกระเจี๊ยบในการสร้างภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

หลังจากให้อาหารผสมกระเจี๊ยบครบ 1, 2 และ 3 เดือน จะสุ่มปลาเพื่อตรวจความสามารถของปลานิลในการสร้างภูมิคุ้มกันโดยระดับขั้นตอนการศึกษาเริ่มจากการสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดปลากลุ่มละ 3 ตัว ทำการนับจำนวนเม็ดเลือดรวม แล้วนำข้อมูลมาเปรียบเทียบดูว่ากระเจี๊ยบมีผลต่อการสร้างเม็ดเลือดหรือไม่ จากนั้นทำการทดสอบการทำงานของไลโซไซม์ (lysozyme activity assay) ตามวิธีของ Sader et al. (2001) โดยการใช้เชื้อที่ระเหิดแห้งของ *Micrococcus* (0.2 ม.ก./ม.ล.) ในน้ำเกลือความเข้มข้น 0.04 M (pH 5.75) เป็น substrate แล้วเติมซีรัมของปลาจำนวน 40 ไมโครลิตรในเชื้อแบคทีเรีย 3 มิลลิลิตร วัดความขุ่นที่ลดลงที่ 540 นาโนเมตร หลังจากมีการวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 0.5 และ 5 นาที (หนึ่งหน่วยของ lysozyme activity หมายถึง การลดลงของความขุ่น 0.001 ต่อนาที)

ตรวจสอบปริมาณโปรตีนในซีรั่ม โดยวิธีของ Lowry เมื่อเลี้ยงปลานิลในกระชังด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบจนครบ 1 เดือนเริ่มเก็บตัวอย่างเลือดโดยสุ่มจากปลาในแต่ละชุดการทดลองเพื่อตรวจสอบปริมาณโปรตีนในซีรั่มและเก็บตัวอย่างเลือดทุกเดือนจนกว่าจะสิ้นสุดการทดลอง นำเลือดตัวอย่างที่ได้มาปั่นแยกซีรั่ม 3,500 rpm / 10 นาทีแยกส่วนใสเพื่อตรวจปริมาณโปรตีนตามวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีการ Lowry (1951) โดยใช้ซีรั่มปลานิล 100 ไมโครลิตรเติมลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ จากนั้นเติม Folin reagent 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที อ่านผลที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader โดยใช้ Bovine serum albumin (sigma) เป็นโปรตีนมาตรฐานในการเปรียบเทียบ

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการวิเคราะห์ข้อมูลการศึกษาอิทธิพลของอาหารในแต่ละชุดการทดลองต่อการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง คำนวณจากค่าดังต่อไปนี้

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio = FCR)

$$FCR = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน (Absolute daily weight gain, ADG)

(หน่วยกรัมต่อตัวต่อวัน)

$$ADG = \frac{\text{น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง - น้ำหนักเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาการเลี้ยง}}$$

น้ำหนักเพิ่มเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Weight gain, WG)

$$WG = W(1) - W(2)$$

W(1) น้ำหนักของปลานิลเมื่อเริ่มเลี้ยง (กรัม)

W(2) น้ำหนักของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง (กรัม)

เปอร์เซ็นต์อัตราการรอดตายตลอดระยะเวลาการอนุบาล

$$= \frac{\text{จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}$$

ผลการวิจัย

การทดลองส่วนที่ 1 คุณค่าทางอาหารของกระเจี๊ยบแดงและวัตถุดิบที่นำมาผสมในสูตรอาหารเพื่ออนุบาลลูกปลานิลและการเลี้ยงปลานิลในกระชัง

อาหารทดลองสำหรับลูกปลานิล มีองค์ประกอบทางโภชนาการ ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยโปรตีนแต่ละสูตรประมาณ 40% แต่ค่าพลังงานในอาหารจะอยู่ระหว่าง 1.33 – 1.36 กิโลจูลน์ต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองที่ใช้ในการอนุบาลลูกปลานิล

	ชุดการทดลอง			
	1	2	3	4
โปรตีน	40.40	40.39	40.37	40.4
ไขมัน	7.76	7.64	7.48	7.20
คาร์โบไฮเดรต	23.49	23.41	23.29	23.07
เยื่อใย	2.85	2.93	3.03	3.21
เถ้า	16.19	16.28	16.41	16.63
พลังงาน (kJ/kg)*	1.36	1.35	1.34	1.33

*คำนวณโดยใช้ คาร์โบไฮเดรต x 16.7 J/kg
โปรตีน x 16.7 J/kg
ไขมัน x 37.7.7 J/kg

อาหารทดลองสำหรับการเลี้ยงปลานิลในกระชัง มีองค์ประกอบทางโภชนาการ ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยโปรตีนแต่ละสูตรประมาณ 30% และค่าพลังงานในอาหารจะเท่ากันทุกสูตร คือ 1.18 กิโลจูลน์ต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารทดลองที่ใช้เลี้ยงปลานิลในกระชัง

	ชุดการทดลอง			
	1	2	3	4
โปรตีน	30.41	30.17	30.35	30.46
ไขมัน	7.45	7.64	7.48	7.48
คาร์โบไฮเดรต	23.49	23.41	23.49	23.46
เยื่อใย	2.85	2.93	2.83	2.58
เถ้า	16.16	16.28	16.38	16.42
พลังงาน (kJ/kg)*	1.18	1.18	1.18	1.18

*คำนวณโดยใช้ คาร์โบไฮเดรต x 16.7 J/kg
โปรตีน x 16.7 J/kg
ไขมัน x 37.7.7 J/kg

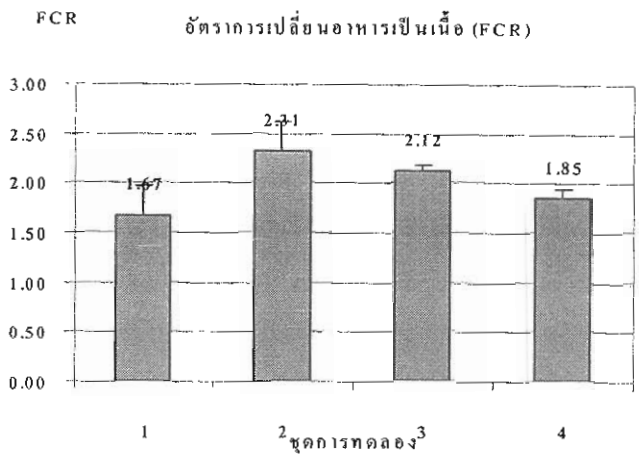
การทดลองส่วนที่ 2 การใช้กระเจี๊ยบแดงผสมอาหารเพื่อเป็นอาหารปลา

2.1 การอนุบาลลูกปลานิลในตู้กระจก

ผลการอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดงในระยะเวลาทั้งหมด 8 สัปดาห์พบ ว่าในสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลองน้ำหนักโดยเฉลี่ยของลูกปลานิลในชุดการทดลองที่ 1 (ได้รับอาหาร ผงปกติ) มีน้ำหนักมากที่สุด ส่วนน้ำหนักโดยเฉลี่ยของลูกปลานิลในชุดการทดลองที่ 2 (ได้รับอาหาร ผงผสมกระเจี๊ยบแดง 0.5%) มีน้ำหนักน้อยที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของลูกปลานิล (กรัม ± SD) ที่อนุบาลด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงในอัตราส่วนต่างกัน

สัปดาห์ที่	ชุดการทดลอง			
	1	2	3	4
0	0.3489+0.0564	0.3489+0.0564	0.3489+0.0564	0.3489+0.0564
2	0.4720+0.0604	0.3629+0.0114	0.3691+0.0457	0.4431+0.1019
4	0.5512+0.0552	0.5323+0.0380	0.5298+0.0118	0.5754+0.0729
6	0.8230+0.0490	0.7570+0.0418	0.7270+0.0826	0.8233+0.1100
8	1.1347+0.2805	0.8985+0.1369	0.9231+0.0205	1.0114+0.0565



ภาพที่ 5 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของลูกปลานิลที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารทดลองผสมกระเจี๊ยบในอัตราส่วนต่างกัน จำนวน 8 สัปดาห์ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

ผลของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อในแต่ละสูตรอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ พบว่าในอาหารสูตรที่ 1 คือ อาหารผงปกติมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดเท่ากับ 1.67 ± 0.2989 รองลงมาคือ อาหารผงผสมกระเจี๊ยบในอัตราส่วน 5%, 2.5% และ 0.5% มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อเท่ากับ 2.31 ± 0.3172, 2.12 ± 0.0448 และ 1.85 ± 0.0915 ตามลำดับ เนื่องจากในอาหารสูตรที่ 1 เป็นอาหารผงปกติลูกปลาจึงกินอาหารตามปกติ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อจึงดีกว่าในอาหารสูตรอื่น ๆ ส่วนอาหารในสูตรที่ 2, 3 และ4 มีค่าใกล้เคียงกัน อาจเป็นเพราะลูกปลายังไม่คุ้นเคยกับอาหารที่ผสมกับกระเจี๊ยบ จึงทำให้ค่าของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูงกว่าในอาหารผงปกติ ซึ่งค่าของอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่แตกต่างกันในอาหารในสูตรที่ 2, 3 และ4 จะเห็นว่าในชุดการทดลองที่ 4 จะมีการปรับตัวในการกินอาหารที่ดีกว่าในชุดการทดลองที่ 3 และ2 ตามลำดับ และเมื่อคำนวณแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$)

จากการทดลองพบว่าอัตรารอดตายของลูกปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารทดลองที่แตกต่างกันไม่มีความต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) แสดงว่าอาหารที่ให้ทั้ง 4 สูตรไม่มีผลต่ออัตรารอดตายของลูกปลานิล เพราะในชุดการทดลองที่ 1 คือ อาหารผงปกติ มีอัตราการรอดเท่ากับ 97.14 ± 1.0000% ส่วนอาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดงในอัตราส่วน 0.5%, 2.5% และ 5% มีอัตราการรอด 95.24 ± 1.5275%, 94.29 ± 2.6458% และ 94.29 ± 1.0000% ตามลำดับและอัตรารอดของลูกปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงในระดับที่ต่างกัน หลังจากฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* แล้ว พบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วย

อาหารผงปกติและอาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดงในระดับที่ต่างกันมีการตายอย่างฉับพลัน จัดว่าเป็นความรุนแรงของโรคในระดับพิษเฉียบพลัน (Acute form) ในช่วง 1 – 2 วันแรก หลังจากนั้นลูกปลานิลมีอัตราการตายลดลงในช่วงวันที่ 3 – 7 คือ มีการตายเพียงวันละ 2 – 3 ตัว หรือไม่มีการตายเลยในแต่ละชุดทดลอง จัดเป็นความรุนแรงของโรคในระดับกึ่งเฉียบพลัน (Subacute form) เมื่อบันทึกผลจนครบวันที่ 7 พบว่า ในสูตรอาหารผงปกติมีจำนวนลูกปลารอดตายมากที่สุด คือ 36 ตัว คิดเป็น 35.29 ± 2.65% รองลงมาได้แก่ อาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดงในอัตราส่วน 0.5% อาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดงในอัตราส่วน 2.5% และอาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดงในอัตราส่วน 5% มีจำนวนลูกปลารอดตายเท่ากับ 31, 20 และ 11 ตัว คิดเป็น 31.00 ± 2.52%, 20.20 ± 3.21% และ 11.11 ± 1.53% ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางสถิติแล้วพบว่ามีความแตกต่างกันในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่มคือ ชุดการทดลองที่ 1 มีอัตรารอดมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ชุดการทดลองที่ 2 และ3 มีค่าใกล้เคียงกัน คือ มีอัตรารอดปานกลาง และชุดการทดลองที่ 4 มีอัตรารอดน้อยที่สุด

ในส่วนของต้นทุนอาหารที่ใช้อนุบาลลูกปลานิลในระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นทุนค่าอาหารแต่ละวันนั้นอาหารผงปกติอยู่ที่ 0.025 บาทต่อตัว ต้นทุนค่าอาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดง 0.5% อยู่ที่ 0.027 บาทต่อตัว ต้นทุนค่าอาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดง 2.5% อยู่ที่ 0.030 บาทต่อตัว ต้นทุนค่าอาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดง 5% อยู่ที่ 0.034 บาทต่อตัว

2.2 การเลี้ยงปลานิลในกระชัง

จากการทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารสูตรพื้นฐานผสมกระเจี๊ยบแดงทั้ง 4 ชุดการทดลองเป็นระยะเวลา 4 เดือน โดยทำการทดลองเลี้ยงจำนวน 2 ครั้ง ในปี 2547 และ 2548 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของกระเจี๊ยบแดงที่ผสมลงไปในอาหารแล้วอัดเม็ด โดยเลี้ยงปลานิลในกระชังในบ่อเลี้ยงให้อาหารวันละ 2 ครั้ง (ช่วงเช้าและเย็น)

ตารางที่ 9 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิลในกระชังที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดผสมกระเจี๊ยบแดงในระดับที่ต่างกัน

	ชุดการทดลองที่1		ชุดการทดลองที่2		ชุดการทดลองที่ 3		ชุดการทดลองที่4	
เวลา (เดือน)	การเลี้ยงครั้งที่ 1	การเลี้ยงครั้งที่ 2	การเลี้ยงครั้งที่ 1	การเลี้ยงครั้งที่ 2	การเลี้ยงครั้งที่ 1	การเลี้ยงครั้งที่ 2	การเลี้ยงครั้งที่ 1	การเลี้ยงครั้งที่ 2
0	24.33 ±00^{a}	24.62±4.46^{a}	24.33 ± 00^{a}	24.62±4.46^{a}	24.33 ± 00^{a}	24.62±4.46^{a}	24.33 ± 00^{a}	24.62±4.46^{a}
1	83.11 ± 0.48^{a}	109.89±4.23^{a}	74 ± 0.560^{a}	115.42±12.12^{a}	75.11 ± 0.12^{a}	109.113±11.87^{a}	61.78 ± 0.62^{a}	115.33±10.22^{a}
2	125.22 ± 0.85^{a}	217.00±12.32^{a}	115.11 ± 0.52^{a}	214.44±8.56^{a}	122.33 ± 0.90^{a}	200.22±8.12^{a}	114.11 ± 0.24^{a}	208.38±5.11^{a}
3	156.44 ± 0.02^{a}	282.00±10.73^{a}	145.67 ± 0.63^{a}	239.00±32.08^{a}	162.67 ± 0.67^{a}	311.56±13.17^{a}	146.78 ± 0.99^{a}	305.33±11.98^{a}
4	194.33 ± 0.24^{a}	286.87±1.34^{a}	189.44 ± 0.28^{a}	358.05±4.99^{a}	211.44 ± 0.44^{a}	372.60±18.21^{a}	176.44 ± 0.80^{a}	369.31±10.95^{a}

- ตัวอักษรเหมือนกันในแถวเดียวกันแสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางที่ 10 ความยาวเฉลี่ย (เซนติเมตร) ของปลานิลในกระชังที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดผสมกระเจี๊ยบแดงในระดับที่ต่างกัน

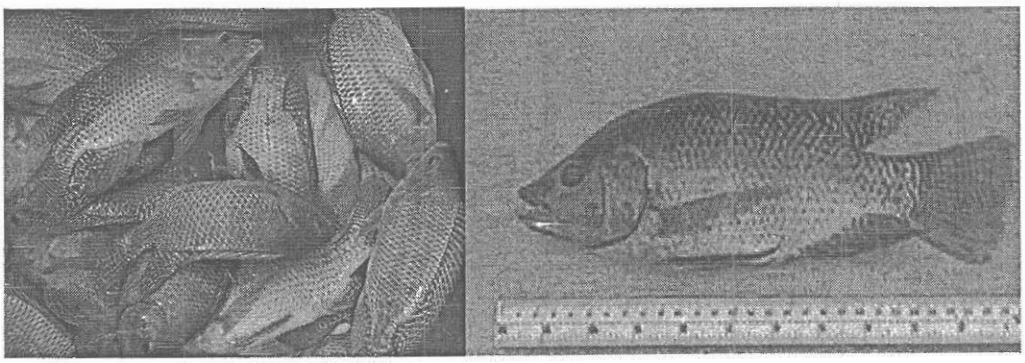
	ชุดการทดลองที่1		ชุดการทดลองที่2		ชุดการทดลองที่ 3		ชุดการทดลองที่4	
เวลา (เดือน)	การเลี้ยงครั้งที่ 1	การเลี้ยงครั้งที่ 2	การเลี้ยงครั้งที่ 1	การเลี้ยงครั้งที่ 2	การเลี้ยงครั้งที่ 1	การเลี้ยงครั้งที่ 2	การเลี้ยงครั้งที่ 1	การเลี้ยงครั้งที่ 2
0	11.47 ± 00^{a}	6.50±2.12^{a}	11.47 ± 00^{a}	6.50±2.12^{a}	11.47 ± 00^{a}	6.50±2.12^{a}	11.47 ± 00^{a}	6.50±2.12^{a}
1	16.04 ± 0.98^{a}	17.52±5.62^{a}	15.35 ±1.52^{a}	17.42±3.48^{a}	15.53 ± 0.78^{a}	17.50±5.16^{a}	14.69 ± 1.57^{a}	17.55±10.71^{a}
2	18.35 ± 0.79^{a}	24.13±10.56^{a}	17.91 ±0.48^{a}	21.76±12.12^{a}	17.94 ± 0.99^{a}	20.92±5.23^{a}	17.55 ± 1.78^{a}	21.75±4.31^{a}
3	19.52 ± 0.73^{a}	24.55±0.59^{a}	19.19 ± 0.16^{a}	24.09±1.05^{a}	19.87 ± 0.79^{a}	24.10±0.67^{a}	19.21 ± 1.51^{a}	24.47±0.96^{a}
4	21.2 ± 0.61^{a}	25.83±6.51^{a}	20.66 ± 0.84^{a}	26.17±1.66^{a}	21.56 ± 1.46^{a}	27.19±0.40^{a}	20.57 ± 0.41^{a}	26.82±0.2^{a}

- ตัวอักษรเหมือนกันในแถวเดียวกันแสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(p>0.05)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จากการทดลองการเลี้ยงปลานิลในกระชังด้วยอาหารเม็ดผสมกระเจี๊ยบแดง 0% (ชุดควบคุม), 0.5%, 2.5% และ 5% โดยเมื่อเริ่มเลี้ยงครั้งที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลามีค่าเท่ากับ 24.33 ± 00 กรัม ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 11.47 ± 00 เซนติเมตร และเมื่อเริ่มเลี้ยงครั้งที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลามีค่าเท่ากับ 24.62 ± 4.46 กรัม ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 6.50 ± 2.12 เซนติเมตร

เมื่อสิ้นสุดการทดลองทั้งสองครั้ง พบว่า ปลาที่ได้อาหารจากชุดการทดลองที่ 3 มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงที่สุด คือ ในการเลี้ยงครั้งที่ 1 มีค่าเท่ากับ 211.44 ± 0.44 กรัม และการเลี้ยงครั้งที่ 2 มีค่าเท่ากับ 372.6 ± 18.21 กรัม ส่วนปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารในชุดการทดลองที่ 4 ชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 3 มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 369.31 ± 10.95 / 369.31 ± 1.95 , 189.44 ± 0.28 / 358.05 ± 4.99 และ 194.33 ± 0.24 / 286.87 ± 1.34 กรัม จากการเลี้ยงครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ ในส่วนของความยาวเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารชุดการทดลองที่ 3 มีค่าความยาวเฉลี่ยสูงสุดคือ 24.56 ± 1.46 เซนติเมตร (การเลี้ยงครั้งที่ 1), 27.19 ± 0.4 เซนติเมตร (การเลี้ยงครั้งที่ 2) และชุดการทดลองที่ 1 มีค่าความยาวเฉลี่ยต่อตัวต่ำสุด คือ 21.2 ± 0.61 เซนติเมตร (การเลี้ยงครั้งที่ 1) และ 25.83 ± 6.51 เซนติเมตร (การเลี้ยงครั้งที่ 2) เมื่อนำผลของน้ำหนักและความยาวของปลาไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) จึงอาจกล่าวได้ว่า ปริมาณของกระเจี๊ยบแดงที่ผสมลงในอาหารปลาไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา



ภาพที่ 6 ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ตารางที่ 11 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (WG) ผลผลิตรวม (ก.ก.) อัตราการรอดตายและ อัตราการเปลี่ยนเนื้อเป็นอาหาร (FCR±SD) ของปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง (ครั้งที่ 1)

ชุดการทดลอง	ADG (ก.ก.)	WG (ก.ก.)	อัตราการรอดตาย(%)	FCR
1	1.3302 ± 1.23[a]	304.611 ± 0.95[a]	78.67	1.79 ± 0.65
2	1.3127 ± 0.79[a]	300.611 ± 0.65[a]	78.00	1.79 ± 0.81
3	1.3583 ± 0.5[a]	311.056 ± 0.63[a]	80.67	1.59 ± 0.5
4	1.2065 ± 1.59[a]	276.278 ± 1.47[a]	98.00	2.16 ± 1.02

* ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p>0.05$)

ตารางที่ 12 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (WG) ผลผลิตรวม (ก.ก.) อัตราการรอดตายและ อัตราการเปลี่ยนเนื้อเป็นอาหาร (FCR±SD) ของปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง (ครั้งที่ 2)

ชุดการทดลอง	ADG (ก.ก.)	WG (ก.ก.)	อัตราการรอดตาย(%)	FCR
1	2.19 ± 1.23[a]	262.5 ± 0.95[a]	78.67	1.49 ± 0 .71
2	2.78 ± 0.79[a]	333.43 ± 0.65[a]	78.00	1.59 ± 0.72
3	2.90 ± 0.5[a]	347.98 ± 0.63[a]	80.67	1.55 ± 0.66
4	2.87 ± 1.59[a]	344.69 ± 1.47[a]	98.00	1.86 ± 0.92

- ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p>0.05$)

ตารางที่ 13 รายได้รวม ต้นทุนค่าอาหารต่อตัวต่อวัน และอัตราส่วนรายได้ต่อต้นทุนอาหาร (R/FC ratio) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดในกระชัง ระยะเวลา 4 เดือน (กรเลี้ยงครั้งที่ 1)

ชุดการทดลอง	รายได้รวม(บาท)[1]	ต้นทุนอาหาร/ตัว/วัน (บาท)[2]	R/FC ratio
1	1,827	0.029	2.32
2	1,827	0.031	2.19
3	2,052	0.037	2.0
4	1,512	0.037	1.2

[1] รายได้รวมประมาณจากการจำหน่ายปลาที่กิโลกรัมละ 45 บาท (เดือนธันวาคม 2547)

[2] คำนวณจากราคา ปลาป่น 46 บาท/ก.ก., รำละเอียด 15 บาท/ก.ก., กากถั่วเหลือง 26 บาท/ก.ก., ปลายข้าว 10 บาท/ก.ก. และกระเจี๊ยบแดง 150 บาท/ก.ก.

ตารางที่ 14 รายได้รวม ต้นทุนค่าอาหารต่อตัวต่อวัน และอัตราส่วนรายได้ต่อต้นทุนอาหาร (R/FC ratio) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดในกระชัง ระยะเวลา 4 เดือน (การเลี้ยงครั้งที่ 2)

ชุดการทดลอง	รายได้รวม(บาท)[1]	ต้นทุนอาหาร/ตัว/วัน(บาท)[2]	R/FC ratio
1	1,719	0.013	1.82
2	2,079	0.015	1.19
3	1,804.5	0.017	1.92
4	1,494	0.019	1.50

[1] รายได้รวมประมาณจากการจำหน่ายปลาที่กิโลกรัมละ 45 บาท (เดือนกันยายน 2548)

[2] คำนวณจากราคา ปลาป่น 49 บาท/ก.ก., รำละเอียด 15 บาท/ก.ก., กากถั่วเหลือง 27 บาท/ก.ก., ปลายข้าว 10 บาท/ก.ก. และกระเจี๊ยบแดง 165 บาท/ก.ก.

จากตารางที่ 11 แสดงน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) และน้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าที่ใกล้เคียงกันและเมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) ในส่วนของอัตราการรอดตายชุดการทดลองที่ 4 มีอัตราการรอดตายสูงที่สุดที่ 98% และในชุดการทดลองที่ 3 ชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 มีอัตราการรอดตายรองลงมาโดยมีค่าอยู่ที่ 80.67%, 78.67% และ 78% ตามลำดับ

การทดลองส่วนที่ 3 การศึกษาภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลานิลในกระชังที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง

ตารางที่ 15 จำนวนเม็ดเลือดรวม (Cells / ml) ปริมาณเม็ดเลือดอัดแน่น (%PCV) และอัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวต่อเม็ดเลือดแดง (%) ของปลานิลในกระชังที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ชุดการทดลอง	จำนวนเม็ดเลือดรวม (cell / ml)	ปริมาณเม็ดเลือดอัดแน่น (%PCV)	อัตราส่วนของเม็ดเลือดขาวต่อเม็ดเลือดแดง (%)
1	$5.97 \times 10^9 \pm 1.18^a$	38.93 ± 5.01^a	4.91
2	$6.57 \times 10^9 \pm 6.05^a$	41.08 ± 3.70^a	4.02
3	$6.65 \times 10^9 \pm 4.24^a$	38.03 ± 3.64^a	4.36
4	$5.98 \times 10^9 \pm 8.79^a$	36.91 ± 2.63^a	3.82

* ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p>0.05$)

ตารางที่ 16 ปริมาณโปรตีน(g/dL ± SD) ของปลานิลในกระชังหลังจากที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงในระยะเวลาต่าง ๆ ดังนี้

	ปริมาณโปรตีน(g/dL ± SD)				
ชุดการทดลอง	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
1	2.50 ± 0.11[a]	3.25 ± 0.11[a]	3.52 ± 0.03[a]	2.70 ± 0.33[a]	3.34 ± 0.14[a]
2	2.34± 0.13[a]	2.38± 0.05[a]	3.34 ± 0.01[a]	3.34± 0.31[a]	3.40 ± 0.16[a]
3	2.25 ± 0.21[a]	2.56 ± 0.04[a]	3.59 ± 0.25[a]	3.95± 0.40[a]	4.20 ± 0.10[a]
4	2.15 ± 0.01[a]	3.10 ± 0.25[a]	3.25 ± 0.09[a]	3.85 ± 0.29[a]	5.29 ± 0.81[a]

* ตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p>0.05$)

ตารางที่ 17 ค่าไลโซไซม์ (Units/ml) ± SD ของปลานิลในกระชังหลังจากที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงในระยะเวลาต่าง ๆ ดังนี้

ชุดการทดลอง	ปริมาณไลโซไซม์ (units/ml)	
	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
1	1,387.56 ± 354.58	1,128.00 ± 232.34
2	1,973.33 ± 662.75	1,209.56 ± 267.19
3	1,537.78 ± 607.23	1,219.56 ± 256.22
4	1,512.00 ± 450.72	1,216.89 ± 291.60

<u>การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ</u>

ในระหว่างการเลี้ยงปลานิลในกระชังได้ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำโดยเก็บอย่างน้ำในทุกกระชังมาวิเคราะห์ 2 ครั้ง/เดือน โดยค่าคุณภาพน้ำที่วิเคราะห์ได้แก่ pH, DO, อุณหภูมิแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรทและฟอสฟอรัส โดยได้แสดงในตาราง

ตารางที่ 18 ค่าคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงปลานิลในกระชังด้วยอาหารผสมกระเจี๊ยบแดง

	ชุดการทดลอง			
	1	2	3	4
อุณหภูมิ (c)	25.5 ± 0.40	24.89 ± 0.11	25.12 ± 0.50	25.22 ± 0.20
pH	6.84 ± 0.10	6.80 ± 0.30	6.83 ± 0.20	6.82 + 0.10
DO (mg/l)	4.26 ± 0.01	4.22 ± 0.01	4.24 ± 0.02	4.21 ± 0.01
แอมโมเนีย ($mg\text{-}NH_3\text{-}N/l$)	0.17 ± 0.30	0.18 ± 0.10	0.17 ± 0.10	0.19 ± 0.10
ไนไตรท์ ($mg\text{-}NO_2\text{-}N/l$)	0.04 ± 0.30	0.04 ± 0.10	0.04 ± 0.20	0.04 ± 0.20
ไนเตรท ($mg\text{-}NO_3\text{-}N/l$)	0.06 ± 0.20	0.06 ± 0.10	0.06 ± 0.20	0.05 ± 0.10
ฟอสฟอรัส (mg/l)	0.18 ± 0.10	0.19 ± 0.50	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.05

สรุปวิจารณ์ผลการทดลอง

การเสริมวิตามินซีในอาหารปลามีส่วนให้ปลามีเจริญเติบโตดีและอัตรารอดสูง (Lim et al. 2002; มะลิและคณะ 2533; Gouillou-Couillou et al. 1998) ซึ่งวิตามินซีเป็นสารอาหารที่พบมากในผักและผลไม้ โดยเฉพาะผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว แต่ส่วนใหญ่เราไม่ได้นำวัตถุดิบเหล่านี้มาผลิตอาหารปลา งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาแหล่งวัตถุดิบราคาถูกในการผลิตอาหารเพื่อทดแทนการใช้วิตามินสังเคราะห์ที่มีราคาสูง รวมทั้งเป็นการศึกษาเพื่อจุดเริ่มต้นของการสร้างต้นแบบให้กลุ่มเกษตรกรผู้สนใจผลิตอาหารเองเพื่อลดต้นทุนสามารถนำผลการทดลองไปใช้ประโยชน์ อย่างไรก็ตามผลการอนุบาลปลานิลด้วยอาหารผงปกติและอาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดง พบว่า อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนเนื้อเป็นอาหารไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) Ai et al. (2004) รายงานว่า ความต้องการวิตามินซีของปลาอยู่ที่ 10 – 25 มิลลิกรัมต่ออาหารปลา 1 กิโลกรัม โดยปลากะพงญี่ปุ่นต้องการวิตามินซี 53.5 มิลลิกรัมต่ออาหารปลา 1 กิโลกรัม เพื่อการเจริญเติบโตที่ดี ซึ่งชนิด ขนาด สภาพการเลี้ยงและรูปของวิตามินซี จะมีผลต่อความต้องการของการเสริมวิตามินซีในอาหารปลาแตกต่างกันไป

หลังจากนำลูกปลานิลที่ทดลองมาทดสอบอัตรารอดตายจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* กลับพบว่า อัตราการรอดตายหลังจากได้รับเชื้อแบคทีเรียโดยการฉีดมีความแตกต่างกันในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) กล่าวคือ ลูกปลานิลในชุดควบคุมซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารผงปกติมีอัตราการรอดตายมากที่สุด คือ 35.29 $\pm$ 2.65% รองลงมาได้แก่ ลูกปลาที่ได้รับอาหารผงผสมกระเจี๊ยบแดงในอัตราส่วน 0.5% , 2.5% และ 5% เท่ากับ 31 $\pm$ 2.53%, 20.20 $\pm$ 3.21% และ 11.11 $\pm$ 1.53% ตามลำดับ แสดงว่า กระเจี๊ยบแดงมีสรรพคุณไม่เพียงพอในการสร้างภูมิคุ้มกันในการติดเชื้อระบาดอย่างรุนแรงในลูกปลานิล สาเหตุอาจเป็นเพราะเชื้อโรคมีความรุนแรงเกินไป หรือลูกปลาที่ได้รับอาหารผงปกติมีความแข็งแรงที่ดีกว่าเนื่องจากได้รับอาหารเต็มที่ การเสริมกระเจี๊ยบแดงลงในอาหารอาจจะทำให้ปลากินอาหารลดลง ทำให้พลังงานที่ลูกปลาได้รับไม่เพียงพอที่จะต่อสู้กับการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน Thompson et al. (1993) รายงานว่า ปริมาณแอนติบอดีของปลาแซลมอนที่ได้รับวัคซีนเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas salmonicida* มีค่าลดลง ($P < 0.01$) เพราะปลาเครียด นอกจากนี้การสลายตัวได้ง่ายของวิตามินซี โดยเฉพาะวิตามินที่ได้จากพืช อาจจะทำให้ในอาหารชุดทดลองไม่มีปริมาณวิตามินซี ดังนั้นจึงควรวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในการอาหารก่อนทำการทดลอง หรืออาจจะต้องใช้สารเคลือบอาหารเพื่อป้องกันการเสียสภาพของวิตามินซี ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความคงตัวของวิตามินซีในอาหารสำเร็จรูปและตรวจวัดปริมาณวิตามินซีในเนื้อเยื่อปลาด้วย

ปัจจุบันมีการใช้สารธรรมชาติเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกันทดแทนการใช้สารเคมีที่มีราคาแพง Sivaram et al. (2004) ได้ทดลองให้ปลากะรังกินอาหารผสมกะเพรา (*Ocimum sanctum*) และโสมอินเดีย (*Withania somnifera*) ในความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่ออาหารปลา 1 กิโลกรัม พบว่า สามารถเพิ่มการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกันและอัตรารอดของปลาดังกล่าว

เนื่องจากลูกปลานิลมีขนาดเล็กทำให้ไม่สามารถดูดเลือดมาวิเคราะห์หาภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะได้ คณะผู้วิจัยจึงได้ทดลองเลี้ยงปลานิลในกระชัง เพื่อดูผลของกระเจี๊ยบต่อการเจริญเติบโตและการสร้างระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ Anderson (1992) กล่าวว่า ปลาจะมีระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะซึ่งมีความสำคัญสำหรับการป้องกันโรคมากกว่า เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะต้องใช้เวลานานกว่าจะมีการพัฒนาแอนติบอดีและการกระตุ้นเซลล์ที่จำเพาะต่อโรคนั้น ๆ

ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติและอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงทั้ง 3 ระดับ มีผลการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) และผลของการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับการเลี้ยงโดยทั่วไป เช่น การเลี้ยงปลานิลในกระชังโดยการเลี้ยงในกระชังตาข่ายอวนฟ้าระยะเวลา 6 เดือนน้ำหนักโดยเฉลี่ยเท่ากับ 200 กรัมและความยาวเฉลี่ยอยู่ที่ 20 เซนติเมตร (ที่มา www.doae.go.th) และการเลี้ยงในบ่อดินขนาด 1 ไร่ โดยให้อาหารที่ระดับโปรตีน 20% ระยะเวลาการเลี้ยง 1 ปี น้ำหนักโดยเฉลี่ยจะอยู่ที่ 500 กรัมต่อตัว (ที่มา www.ku.ac.th) จึงสามารถสรุปได้ว่า การผสมกระเจี๊ยบแดงลงในอาหารเพื่อเลี้ยงปลานิลไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต

อย่างไรก็ตาม อัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนเนื้อเป็นอาหารค่าที่ได้ใกล้เคียงกัน เมื่ออัตราน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาทั้ง 4 ชุดการทดลองมีค่าที่ใกล้เคียงกัน สำหรับผลการทดลองของปลานิลในกระชังที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดปกติและอาหารผสมกระเจี๊ยบแดงทั้ง 3 ระดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวในชุดการทดลองที่ 3 มีค่าเฉลี่ยสูงสุดคือ 372.6 ± 18.21 กรัม ค่าต่ำสุดคือชุดการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 286.87 ± 1.34 กรัม ซึ่งในการเลี้ยงทั้งสองครั้งพบว่าการเลี้ยงในครั้งที่สองมีการเจริญเติบที่ดีกว่าการเลี้ยงในครั้งที่หนึ่ง แต่เมื่อนำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อการเจริญเติบโตของปลานิลทั้ง 4 ชุดการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) ค่าน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อวันและค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงปลานิลในกระชังโดยทั่วไปที่ปล่อยเลี้ยงในอัตราการเลี้ยงและการให้อาหารที่เท่ากัน พบว่า การเจริญเติบโตมีค่าใกล้เคียงกันจึงสามารถสรุปได้ว่าการผสมกระเจี๊ยบแดงลงในอาหารเพื่อเลี้ยงปลานิลไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต การศึกษาอัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนเอาหารเป็นเนื้อพบว่าปลานิลในชุดการทดลองที่ 4 มีอัตราการรอดตายสูงแต่เมื่อเปรียบเทียบขนาดของตัวปลากับชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3 พบว่ามีขนาด ที่ค่อนข้างจะใกล้เคียงกันและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าสูงแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของอาหารว่าปลาสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ค่อนข้างต่ำ ในชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3 อัตราการรอดตายและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าใกล้เคียงกัน

ส่วนผลของกระเจี๊ยบแดงต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ พบว่า ปริมาณโปรตีนที่ได้จากซีรั่มปลานิลตัวอย่างทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีค่าที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนในชุดการทดลองที่ 3 (อาหารผสมกระเจี๊ยบแดง 2.5%) มีค่าเท่ากับ 3.95 $\pm$ 0.40 g/dL และชุดการทดลองที่ 1 (อาหารชุดควบคุม) มีค่าเท่ากับ 2.70 $\pm$ 0.33 g/dL ซึ่งมีค่าต่างกันถึง 40 เท่าตัว การเพิ่มขึ้นของระดับโปรตีนในซีรั่มสามารถพบได้ในการทดลองของ Dugenci et al. (2003) ที่เลี้ยงปลาเรนโบว์เทร้าต์ด้วยอาหารผสมขิง กาฝากหรือตำแย ในอัตราส่วน 0.1 – 1% เพียงแค่สามสัปดาห์อีกด้วย Harrikarishnan et al. (2003) รายงานว่า ปลาไนที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* หลังจุ่มในสารละลายใบสะเดาความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตรนาน 10 นาที ทุกวัน ติดต่อกัน 30 วัน จะมีปริมาณเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้น จำนวนเซลล์เม็ดเลือดอัดแน่นสูงขึ้น ปริมาณโปรตีนในซีรั่มก็สูงขึ้น อย่างไรก็ตามก็ใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการรักษาโรคติดเชื้อด้วยการจุ่ม อาจจะทำให้ปลาเครียด สิ้นเปลืองเวลาและแรงงานในการรักษา วิธีนี้จึงเหมาะสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อภายนอกสำหรับพ่อแม่พันธุ์ปลาและปลาสวยงามที่มีราคาแพงเท่านั้น

ปริมาณไลโซไซม์ในเลือดปลานิลที่ได้รับอาหารผสมกระเจี๊ยบเพิ่มขึ้นหลังจากการเลี้ยง 3 – 4 เดือน ปริมาณไลโซไซม์ในเลือดเป็นตัวบ่งชี้ด้านภูมิคุ้มกันไม่จำเพาะในสัตว์น้ำซึ่งถูกตรวจสอบโดย Yin (in press) โดยใช้สมุนไพรจีน ชื่อ หวงฉี (*Astragalus radix*) ผสมอาหารปลานิลอัตราส่วน 0.1% นาน 3 สัปดาห์ ซึ่งพบว่าปริมาณไลโซไซม์เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน

ดังนั้น การใช้กระเจี๊ยบแดงเสริมในอาหารปลาเพื่ออนุบาลลูกปลาและเลี้ยงปลานิลวัยรุ่นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ปลานิลจะมีปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว โปรตีนในเลือดและค่าไลโซไซม์สูงขึ้น ภูมิคุ้มกันปลาที่เพิ่มขึ้นไม่สามารถที่จะป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่รุนแรงได้ แต่อาจจะมีผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ อย่างไรก็ตามการเสริมกระเจี๊ยบในอาหารทำให้ต้นทุนของอาหารเพิ่มขึ้น จึงจำเป็นต้องมีระดับที่เหมาะสมของกระเจี๊ยบ มีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเพื่อรักษาสภาพของวิตามินซีจากกระเจี๊ยบในการผลิตอาหารเม็ด ข้อดีในแง่คุณภาพของเนื้อปลาและการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคโดยเฉพาะในช่วงฤดูหนาวที่ปลาส่วนใหญ่มีภูมิคุ้มกันต่ำลง

เอกสารอ้างอิง (Reference)

เกรียงศักดิ์ สายธนู และเกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2523. ลักษณะของเชื้อแอโรโมแนส ไฮโดรฟิล่า. วารสารชมรมโรคปลา. 3(2): 71 – 87 น.

เขมชาติ จิวประสาท. 2538. ผลของความถี่การให้อาหารต่อการใช้ประโยชน์ และการย่อยได้ของโปรตีนในอาหารปลานิลที่มีในมันสำปะหลังเป็นส่วนผสมในปริมาณต่างๆ กัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ: 90 น.

คีรี กออนันตกุล. 2542. การเพาะเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ. กองประมงน้ำจืด กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ชนกันต์ จิตมนัส. 2545. รายงานความก้าวหน้าการศึกษาเบื้องต้นเพื่อใช้สมุนไพรในการเพิ่มภูมิคุ้มกันโรคในปลาดุก. สำนักงานกองทุนวิจัยแห่งชาติ ชุดโครงการการใช้สมุนไพรเพื่อการผลิตสัตว์. 10 หน้า

นิวุฒิ หวังชัยและสุฤทธิ์ สมบูรณ์ชัย. 2544. เอกสารประกอบการสอนปฏิบัติการวิชา อาหารปลา พล.403. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 44 หน้า.

นันทริกา ชันซื่อ. 2539. แบคทีเรียวิทยาในปลา. คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 88 น.

นิตยสารสัตว์น้ำ. เลี้ยงปลานิลแปลงเพศในกระชังในเขื่อนลำปะทาวตอนบน. 2544. ปีที่ 12. ฉบับที่ 4.

ปกรณ์ อุ่นประเสริฐ. 2532. การเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืด. บริษัทประชาชน จำกัด, กรุงเทพฯ. 84 น.

ปภาศิริ ศิริโสภากรณ์. 2537. โรคและพยาธิสัตว์น้ำ. ภาควิชาวาริชศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 184 น.

ปัญญา เหมะธุลิน. 2529. ปัญหาพิเศษเรื่องการศึกษาการทำเครื่องดื่มน้ำกระเจี๊ยบผง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา. 216 หน้า.

สถาพร ดิเรกบุษราคม, สมพร รุ่งกำเนิดวงศ์และอังคณา หิรัญสาลี. 2539. ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรเก้าชนิดต่อเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำ. รายงานสัมมนาวิชาการประจำปี 253๓ กรมประมง หน้า 412-414.

สถาพร ดิเรกบุษราคม, อังคณา หิรัญสาลี, สิทธิ บุณยรัตผลิน, เยาวนิตย์ ดนยดล, และ อุษณีย์ เอกปณิธานพงศ์. 2536. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบพญายอต่อเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคหัวเหลืองในกุ้งกุลาดำ. รายงานสัมมนาวิชาการประจำปี 2536 กรมประมง.

เพิ่มพูน ศักดิ์เกษม. 2531. ปลานิล. ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร, กรุงเทพฯ.

เพียว แซ่โล้ว. 2530. คุยกับปลา. สำนักหอสมุดมหาวิยาลัยเชียงใหม่. 139 น.

ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล และมานพ ตั้งตรงไพโรจน์. 2536. วารสารการประมง. ปีที่ 46. ฉบับที่ 4. เดือนกรกฎาคม - สิงหาคม. 310 น.

วันดี กฤษณพันธ์, เอมอร โสมนะพันธุ์ และ เสาวณี สุริยาภณานนท์. 2541. สมุนไพรในสวนครัว. สำนักพิมพ์ เมดคัล มีเดีย, กรุงเทพฯ

ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2536. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. โอ.เอส. พริ้นติ้ง เฮาส์. กรุงเทพฯ. 201 น.

ศรีแพร กันแก้ว. 2542. ผลของความหนาแน่นและสูตรอาหารที่ต่างกันในการเลี้ยงลูกปลานิลแปลงเพศในกระชัง. ปัญหาพิเศษ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่ : 32 น.

ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่. 2542. เทคนิคการเลี้ยงสัตว์น้ำ. เอกสารประกอบการฝึกอบรมโครงการประมงหมู่บ้านจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดลำพูน

อดุลย์ พงศ์สุวรรณ. 2532. ปลาน้ำจืดที่เลี้ยงง่าย. ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท. กรุงเทพฯ. 26 - 27 น.

Ai, Q., Kangsen Mai, C. Zhang, W. Xu, Q. Duan, B. Tan and Z. Liufu. 2004. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 242: 489 – 500.

Anderson, D.P. 1992. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: application to aquaculture, Annu. Rev. Fish Dis. 2: 281–307.

Direkbusarakum, S., Y. Ezura, M. Yoshimizu, and A. Herunsalee. 1998. Efficacy of Thai traditional herb extracts against fish and shrimp pathogenic bacteria. Fish Pathology 33:437-441.

Lim, L.C., P. Dhert, W.Y. Chew, V. Dermaux, H. Neils, and P. Sorgeloos. 2002. Enhancement of stress resistance of Guppy, *Poecilia reticulata*, through feeding with vitamin C supplement. Journal of World Aquaculture Society 33(1):32-40.

Lin, M. and Shi-Yen Shiau. 2005. Dietary L-ascorbic acid affects growth nonspecific immune responses and disease resistance in juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus* . Aquaculture 244: 215 – 221.

Sivaram, V., M. M. Babu, G. Immanuel, S. Murugadass, T. Citarasu and M. P. Marian. 2004. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. Aquaculture 237: 9 – 20.

Thompson, I., A. White, T. C. Fletcher, D. F. Houlihan and C. J. Secombes. 1993. The effect of stress on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C. Aquaculture 114: 1 – 18.

Tseng, T.H., T. Kao, C. Chu, F. Chou, W. Lin, and C. Wang. 2000. Induction of Apoptosis by *Hibiscus* protocatechuic acid in human leukemia cells via reduction of retinoblastoma phosphorylation and Bcl-2 expression. Biochemical Pharmacology 60:307-315.

Yin, G., G. Jeney, T. Racz, P. Xu, X. Jun, and Z. Jeney. 2006. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus* Aquaculture: in press.