



รายงานผลงานวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

เรื่อง แนวทางการใช้ prebiotic และ probiotic เสริมในอาหารเลี้ยงปลานิล

แปลงเพศ เพื่อเข้าสู่ระบบฟาร์มสัตว์น้ำตามแนวทางเกษตรอินทรีย์

EVALUATION OF THE PREBIOTIC AND PROBIOTIC AS DIETARY
SUPPLEMENTS FOR SEX REVERSAL TILAPIA ORGANIC FARM

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : การวิจัยและพัฒนาระบบการผลิตทรัพยากร

ประมงเพื่อเป็นอาหารปลอดภัย และสร้าง

มูลค่าเพิ่มวัตถุดิบท้องถิ่น

ได้รับจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2552

จำนวน 277,000 บาท

หัวหน้าโครงการ

เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์

ผู้ร่วมโครงการ

ทิพสุดันท์ พิมพ์พิมล

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

วันที่ 20 กุมภาพันธ์ 2553

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และ
สภาวิจัยแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนในการจัดสรรงบประมาณวิจัยประจำปี 2552 จำนวนเงิน
277,000 บาท สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้และขอขอบคุณคณาจารย์ ชำราชการและเจ้าหน้าที่ คณะ
เทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้และบุคคลอื่นที่มีได้กล่าวถึงในที่นี้
ที่ได้ให้ความเกื้อหนุน ทำให้การวิจัยในครั้งนี้เสร็จสิ้นอย่างสมบูรณ์



สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	ก
บทคัดย่อ	1
ABSTRACT	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
วัน เวลาและสถานที่ทำการวิจัย	4
อุปกรณ์การวิจัยและวิธีการวิจัย	5
ผลของการวิจัย	10
วิจารณ์ผลการวิจัย	16
สรุปผลการวิจัย	20
เอกสารอ้างอิง	21

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงปลานิล และองค์ประกอบทางเคมี(%) ของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 1	6
ตารางที่ 2 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงปลานิล และองค์ประกอบทางเคมี(%) ของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 2	7
ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ต่างกัน ในการทดลองที่ 1	10
ตารางที่ 4 องค์ประกอบของเลือดปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ต่างกัน ในการทดลองที่ 1	11
ตารางที่ 5 คุณภาพน้ำในบ่อทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยสูตรอาหารที่ต่างกัน ในการทดลองที่ 1	12
ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ต่างกัน ในการทดลองที่ 2	13
ตารางที่ 7 องค์ประกอบของเลือดปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ต่างกัน ในการทดลองที่ 2	14
ตารางที่ 8 คุณภาพน้ำในบ่อทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยสูตรอาหารที่ต่างกัน ในการทดลองที่ 2	15

แนวทางการใช้ prebiotic และ probiotic เสริมในอาหารเลี้ยงปลานิล
แปลงเพศ เพื่อเข้าสู่ระบบฟาร์มสัตว์น้ำตามแนวทางเกษตรอินทรีย์

EVALUATION OF THE PREBIOTIC AND PROBIOTIC AS
DIETARY SUPPLEMENTS FOR SEX REVERSAL TILAPIA
ORGANIC FARM

เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์ ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล

THEPPARATH UNGSETHAPHAND TIPSUKHON PIMPIMOL

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

การศึกษาแนวทางการใช้ prebiotic และ probiotic เสริมในอาหารเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ เพื่อเข้าสู่ระบบฟาร์มสัตว์น้ำตามแนวทางเกษตรอินทรีย์ การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของ prebiotic และ probiotic เสริมในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ โดยใช้อาหารทดลอง 4 สูตร ได้แก่ อาหารควบคุม(CON) อาหารที่เสริมYeast 0.1%(YST) อาหารที่เสริมChitosan 0.1%(CHI) และอาหารที่เสริม Fructooligosaccharide 0.1%(FOS) การทดลองที่ 2 ศึกษาการผสมระหว่าง prebiotic และ probiotic เสริมในอาหาร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยใช้อาหารทดลอง 4 สูตร ได้แก่ อาหารเสริม probiotic Yeast 0.1% (YST) เป็นอาหารควบคุมส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ Yeast 0.1%ผสมกับChitosan 0.1%(YC), Yeast 0.1%ผสมกับFructooligosaccharide 0.1%(YF) และ Chitosan0.1%ผสมกับFructooligasaccharide0.1%(CF) เลี้ยงปลานิลแปลงเพศในกระชัง อัตราการปล่อย 20 ตัว/ตร.ม.ให้อาหาร 3% ของน้ำหนักตัว เป็นระยะเวลา 120 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่1พบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริม YST , CHI และFOS มีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตดีกว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหาร CON อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกัน($P>0.05$) ด้านการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน พบว่า

ทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งทำให้ค่าฮีมาโตคริต ปริมาณสัดส่วนเม็ดเลือดขาวต่อเม็ดเลือดแดง ซีรัมไลโซไซม์มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น เมื่อวิเคราะห์ต้นทุนพบว่าสูตรอาหารเสริม YST และ CHI มีต้นทุนไม่แตกต่างกับสูตรอาหาร CON ($P > 0.05$) การทดลองที่ 2 พบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YC, YF และ CF มีการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตร YST ($P > 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต พบว่าปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร YST มีต้นทุนต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหารเสริม YC ดังนั้นควรเสริม Yeast 0.1% (YST) ในอาหารเพราะมีต้นทุนที่ถูกลง

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the effect of a probiotic (yeast) and prebiotics (chitosan and fructooligosaccharide) on growth performances and nonspecific immune responses (NIR) of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Four diet were formulate containing the 30% crude protein : one supplemented at 0.1% with yeast (YST); a second supplemented at 0.1% with chitosan (CHI); a third supplemented at 0.1% with fructooligosaccharide (FOS); and the last, a control diet without supplements (CON). The diet were fed for 120 days to tilapia fingerling stocked in net cage hapa place in earther pond at a density of 10 fish/m³. Results in dicate that the fish fed with diets with a probiotic (YST) and prebiotics (CHI and FOS) supplement enhanced greater growth and NIR (hematocrit and serum lysozyme) than those fed with the control diet ($P < 0.05$). In the second trial, the tilapias were treated with the probiotic and prebiotic combination diet (0.1% YST+0.1% CHI, YC; 0.1% YST+0.1% FOS, YF; 0.1% CHI+0.1% FOS, CF and YST as control diet). There was no remarkable difference ($P > 0.05$) in the growth performance and NIR between the treated and control fish. The results suggesting that yeast is an appropriate growth and NIR stimulating additive in tilapia cultivation.

คำนำ

การเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงอุตสาหกรรม และสภาวะแวดล้อมที่เสื่อมโทรมลง การใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นสาเหตุให้ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในตัวสัตว์น้ำและถ่ายทอดต่อมายังผู้บริโภค ส่งผลเสียทำให้เชื้อแบคทีเรียพัฒนาตัวเองจนเป็นสายพันธุ์ที่ทนทานต่อยาปฏิชีวนะ (FAO, 2002)

จากนโยบายอาหารปลอดภัย และการมุ่งสู่ครัวของโลกของรัฐบาล แนวทางการเลี้ยงสัตว์น้ำอินทรีย์จึงเป็นทางออกในการสร้างผลผลิตที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค การศึกษาแนวทางในการผลิตสัตว์น้ำโดยไม่ใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีจึงเป็นแนวทางสำคัญ เพื่อพัฒนาวิธีการในการส่งเสริมสุขภาพสัตว์น้ำและป้องกันโรค เช่น การใช้วัคซีนและ probiotic แต่ยังคงมีปัญหาในวิธีการปฏิบัติอยู่มาก ทั้งด้านต้นทุนและแรงงานในการใช้วัคซีน ชนิด และความหนาแน่นของปริมาณ probiotic ที่ใช้อย่างได้ผลในสภาวะแวดล้อมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่แตกต่างกัน

Li และ Gatlin III (2005) ทดลองใช้ prebiotic (GroBiotic) และ probiotic (brewers yeast) เสริมในอาหารเลี้ยงปลา hybrid striped bass เป็นเวลา 21 สัปดาห์ พบว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้งสองสูตรมีการเจริญเติบโตและต้านทานต่อโรคจากเชื้อ Mycobacterial ได้ดีกว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Panigrahi และคณะ (2005) ทดลองใช้ probiotic (*Lactobacillus rhamnosus*) ในสภาวะ heat-killed, live-sprayed และ freeze-dried เสริมในอาหารปลา rainbow trout พบว่า probiotic ในสภาวะ live-sprayed และ freeze-dried สามารถช่วยเพิ่ม phagocytic และ plasma immunoglobulin ในปลาได้ นอกจากนี้ Pirarat และคณะ (2006) ใช้ probiotic ชนิดเดียวกันนี้เสริมในอาหารเลี้ยงปลานิล พบว่าช่วยเพิ่ม phagocytic และช่วยเพิ่มความต้านทานโรคที่เกิดจาก เชื้อ *Edwardsiella tarda* ได้

Lara-Flores และคณะ (2003) ทดลองใช้ probiotic 3 ชนิด (*Streptococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* และ yeast) เสริมในอาหารเลี้ยงปลานิล พบว่าทั้ง 3 ชนิดช่วยเสริมประสิทธิภาพการเติบโตของปลานิลได้ดีกว่าปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ

แต่การใช้ probiotic ให้มีประสิทธิภาพยังคงมีปัญหาในทางปฏิบัติ เพราะประสิทธิภาพของ probiotic นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของ bacteria และปริมาณความหนาแน่นของ cell ในลำไส้ ซึ่งความหนาแน่นของ cell ต้องไม่ต่ำกว่า 10^7 CFU/g อาหารที่สัตว์น้ำบริโภคจึงจะได้ผล (Gomes และ Malcata, 1999)

ด้วยความก้าวหน้าของการศึกษา ด้านองค์ประกอบในร่างกายปลา พบว่าชนิดและปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของปลาส่งผลต่อการเจริญเติบโตและความต้านทานโรคของปลา

เช่นเดียวกับมนุษย์ (Irianto และ Austin, 2002) และองค์ประกอบของอาหารส่งผลต่อการเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ในลำไส้ของปลาเช่นกัน (Ringo และ Olsen, 1999) การเสริม prebiotic ลงในอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถช่วยเสริมความต้านทานโรค ลดการให้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และยังช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำได้อีกด้วย (Li และ Gatlin III, 2005) Losada และ Olleros (2002) รายงานว่าการใช้ prebiotic (Fructooligosaccharide, FOS) จะช่วยให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้เพิ่มจำนวนขึ้นได้

ดังนั้นการใช้ prebiotic ซึ่งเป็นส่วนประกอบในอาหารที่ร่างกาย สัตว์น้ำไม่สามารถย่อยได้ แต่มีประโยชน์ในการช่วยการเติบโตและการทำงานของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ ดังนั้นจึงเป็นแนวทางในการช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรค และการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำได้ เช่นเดียวกับที่ประสบความสำเร็จอย่างดีในการใช้กับสัตว์ปีกและสุกรรวมถึงในมนุษย์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาแนวทางการใช้ Prebiotic และ Probiotic ในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศเพื่อเข้าสู่ระบบฟาร์มสัตว์น้ำตามแนวทางเกษตรอินทรีย์
2. เพื่อศึกษาผลของการใช้ Prebiotic เสริมในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและความต้านทานโรคในปลานิลแปลงเพศ

วัน เวลา และสถานที่ทำการวิจัย

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่

อุปกรณ์การวิจัยและวิธีการวิจัย

การเตรียมหน่วยทดลอง

ใช้กระชังทำด้วยเนื้อวุ้น PE ช่องตา 1 ซม. ขนาด $3.0 \times 3.0 \times 1.5$ ม. (กว้าง×ยาว×ลึก) ซึ่งในบ่อดินขนาด 1,000 ตร.ม. ด้วยเสาไม้ไผ่ให้กันกระชังอยู่เหนือระดับพื้นบ่ออย่างน้อย 0.5 ซม. ใช้ตาข่ายมุ้งสีฟ้ากรุโดยรอบกระชังส่วนที่อยู่ผิวน้ำ เพื่อป้องกันอาหารหลุดออกนอกบริเวณกระชัง และรักษาระดับกระชัง ให้ขอบด้านบนของกระชังอยู่เหนือผิวน้ำ 30 ซม. เพื่อให้มีส่วนของกระชังแช่อยู่ในน้ำ 120 ซม. ตลอดการทดลอง

สัตว์ทดลอง

ใช้ลูกปลานิลแปลงเพศขนาดความยาวประมาณ 6 ซม. ชื้อจากโรงเพาะฟักเอกชน โดยนำลูกปลามาพักให้ปรับตัวในกระชังขนาด 5 ตร.ม. ด้วยความหนาแน่น 200 ตัว/ตร.ม เป็นเวลา 18 ชม. ก่อนทำการสุ่มนับและชั่งน้ำหนักลูกปลาเริ่มต้นเพื่อปล่อยลงเลี้ยงในกระชังทดลอง ด้วยความหนาแน่น 20 ตัว/ตร.ม. ให้อาหารด้วยอาหารสำเร็จรูปปลากินพืชเป็นเวลา 7 วันเพื่อให้ปลาปรับสภาพ ก่อนเริ่มให้อาหารทดลอง อัตราอาหารที่ให้ตลอดการทดลอง คือ 3% ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง (09:00-10:00 น. และ 15:00-16:00 น.) ปรับปริมาณอาหารที่ให้ ทุก 14 วัน

อาหารทดลองและการวางแผนการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาการใช้ Prebiotic ได้แก่ Chitosan และ Fructooligosaccharide และ Probiotic ได้แก่ Yeast เสริมในอาหาร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยผลิตอาหารทดลอง จำนวน 4 สูตร ให้มีค่าพลังงานในอาหารเท่ากัน (isocaloric diet) และปริมาณโปรตีนในอาหารเท่ากับ 30% ทุกสูตร ใช้อาหารที่ไม่เสริม Prebiotic และ Probiotic เป็นอาหารควบคุม(CON) ส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ อาหารที่เสริมด้วย Yeast 0.1%(YST) และอาหารที่เสริมด้วยFructooligosaccharide 0.1%(FOS) และอาหารที่เสริมด้วย Chitosan 0.1%(CHI) ของน้ำหนักอาหาร

อาหารที่ผลิตได้จะนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 35°ซ ประมาณ 6 ชม. เพื่อให้มีความชื้นเหลืออยู่ประมาณ 10 % บรรจุอาหารทดลองในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ -20°ซ ตลอดช่วงระยะเวลาของการทดลอง 4 เดือน

ตารางที่ 1 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงปลานิล และองค์ประกอบทางเคมี (%) ของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 1

ส่วนประกอบ (%)	สูตรอาหาร			
	CON	YST	FOS	CHI
ปลาป่น	26.00	27.70	27.70	27.70
กากถั่วเหลือง	22.00	20.00	20.00	20.00
ปลายข้าว	13.90	16.80	16.80	16.80
รำละเอียด	37.70	35.00	35.00	35.00
วิตามินซี	0.40	0.40	0.40	0.40
YST	0.00	0.10	0.00	0.00
CHI	0.00	0.00	0.10	0.00
FOS	0.00	0.00	0.00	0.10
ผลการวิเคราะห์ (%น้ำหนักแห้ง)				
โปรตีน	30.13	29.92	30.01	29.80
ไขมัน	9.14	9.31	9.84	8.86
คาร์โบไฮเดรต	43.40	41.70	42.34	42.89
เถ้า	9.77	11.07	10.48	9.97
เยื่อใย	7.59	7.98	7.39	8.50
พลังงาน ² (kcal/100g)	376.91	376.66	376.66	376.66

การทดลองที่ 2 ศึกษาการผสมระหว่าง Prebiotic และ Probiotic เสริมในอาหาร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ โดยผลิตอาหารทดลอง จำนวน 4 สูตร ให้มีค่าพลังงานในอาหารเท่ากัน (isocaloric diet) และปริมาณโปรตีนในอาหารเท่ากับ 30% ทุกสูตร ใช้อาหารเสริม Probiotic Yeast 0.1% เป็นอาหารควบคุม (YST) ส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ Yeast 0.1 % ผสมกับ Chitosan 0.1% (YC), Yeast 0.1 % ผสมกับ Fructooligosaccharide 0.1% (YF) และ Chitosan 0.1% ผสมกับ Fructooligosaccharide 0.1% (CF)

อาหารที่ผลิตได้จะนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 35°C ประมาณ 6 ชม. เพื่อให้มีความชื้นเหลืออยู่ประมาณ 10% บรรจุอาหารทดลองในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ -20°C ตลอดช่วงเวลาของการทดลอง 4 เดือน

ตารางที่ 2 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงปลานิล และองค์ประกอบทางเคมี (%) ของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 2

ส่วนประกอบ (%)	สูตรอาหาร			
	CON2	YC	YF	CF
ปลาป่น	27.70	27.65	27.65	27.65
กากถั่วเหลือง	20.00	20.00	20.00	20.00
ปลายข้าว	16.80	16.75	16.75	16.75
รำละเอียด	35.00	35.00	35.00	35.00
วิตามินซี	0.40	0.40	0.40	0.40
YST	0.10	0.10	0.10	0.00
CHI	0.00	0.10	0.00	0.10
FOS	0.00	0.00	0.10	0.10
ผลการวิเคราะห์ (%น้ำหนักแห้ง)				
โปรตีน	30.00	30.12	30.07	30.30
ไขมัน	6.81	7.31	6.25	6.13
คาร์โบไฮเดรต	45.53	43.79	45.65	44.22
เถ้า	9.98	9.81	10.41	9.82
เยื่อใย	7.99	8.82	7.47	8.97
พลังงาน ² (kcal/100g)	376.66	376.28	376.28	376.28

การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารอาหารในอาหารทดลอง

วิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารอาหารในอาหารทดลอง โดยวิธีการดังต่อไปนี้ วิเคราะห์หาโปรตีนโดย Micro-Kjeldahl ไขมันโดยวิธี Soxhlet extraction method เยื่อใย โดยวิธี Fritted Glass Crucible Method เถ้า โดยการเผาใน muffle furnace 550°C 2 ชม. และความชื้น โดยการอบแห้งในตู้อบ 105°C 2 ชม. ตามวิธีการของ AOAC (1990)

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำในบ่อทดลองเมื่อเริ่มต้นและทุก 14 วันจนเสร็จสิ้นการทดลอง ทั้งในและนอกกระชัง ได้แก่ อุณหภูมิและ dissolved oxygen ด้วยเครื่อง oxygen meter (YSI Model 59), Total ammonia วิเคราะห์หาค่าโดยใช้ spectrophotometer (Hach DR/2000) ส่วนค่า pH ใช้เครื่อง pH meter (Schott-Gerate CG 840)

การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูลด้านประสิทธิภาพการเติบโต

นับจำนวนและชั่งน้ำหนักปลาในแต่ละกระชัง ทุกๆ 14 วัน ตลอดการทดลองในแต่ละการทดลอง นำข้อมูลที่ได้ไปปรับปริมาณการให้อาหาร และคำนวณหาค่าต่าง ๆ ดังนี้

ก. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; SGR) (%/วัน)

$$= \frac{100 \times (\ln \text{ นน.ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{ นน.ปลาเมื่อเริ่มการทดลอง})}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$

ข. อัตรารอด (Survival) %

$$= (\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} / \text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}) \times 100$$

ค. อัตราการแลกเนื้อ (FCR)

$$= \text{น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน} / \text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}$$

ง. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Total biomass increase) (กรัม)

$$= \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}$$

การวิเคราะห์ด้านประสิทธิภาพทางเศรษฐกิจ

ก. ต้นทุนค่าอาหารต่อปลา 1 กิโลกรัม

$$= \text{ปริมาณอาหารที่ปลากิน} \times \text{ราคาอาหาร}$$

การตรวจสอบระบบภูมิคุ้มกัน

การสุ่มตัวอย่างปลาในแต่ละชุดการทดลองมาทดสอบระบบภูมิคุ้มกันโรค ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1. สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากปลาซ้ำละ 3 ตัว ใส่หลอด microhematocrit แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดอัดแน่น (Packed cell volume, %PCV)

2. เก็บตัวอย่างเลือดจากบริเวณโคนครีบทองปลาตัวละประมาณ 0.5 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C 24 ชั่วโมง เพื่อให้เลือดแข็งตัว จากนั้นนำไปปั่นแยกซีรัมที่ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เก็บซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ให้ไลโซไซม์

2.1 ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด และสัดส่วนเม็ดเลือดขาว/เม็ดเลือดแดง การนับเม็ดเลือดแดงโดยการเจือจางเลือดปลาในสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด 5% EDTA ในอัตราส่วน 1:250 การนับเม็ดเลือดขาวใช้เทคนิคการย้อมสีด้วยวิธี Dip Quick ด้วยชุดน้ำยา Wright instain set โดยนำเลือดปลาหยดลงบนสไลด์ และเกลี่ยเลือดให้เป็นฟิล์มบางๆ ทิ้งให้แห้งจุ่มสไลด์ลงใน Fixative Solution จำนวน 5 ครั้ง และจุ่มสไลด์ลงใน Wright stain A จำนวน 5 ครั้ง และจุ่มสไลด์

ลงใน Wright stain B จำนวน 5 ครั้ง ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นทิ้งให้แห้ง ทำการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยเลือกบริเวณพื้นที่ของเม็ดเลือดที่บางที่สุด และหยด mineral oil เพื่อส่องดูด้วยเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า

วิเคราะห์ปริมาณไลโซไซม์ในซีรัมตามวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Puangkaew et al. (2004) กล่าวคือ ใช้ซีรัม 100 ไมโครลิตร เติมลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) ตัวอย่างละ 2 ข้ำ แล้วเติมสารละลายแบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) ความเข้มข้น 0.3 มก./มล. (ในสารละลาย 0.05 PBS, pH 7.4) จำนวน 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดความสามารถของไลโซไซม์ในซีรัมในการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรีย โดยสังเกตจากความขุ่นของเซลล์แบคทีเรียที่ลดลง ทุก 5 นาที ที่ความยาวคลื่นแสง 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละทรีตเมนต์ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ โดยวิธีของ Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาการใช้ Probiotic ได้แก่ Yeast และ Prebiotic ได้แก่ Chitosan และ Fructooligosaccharide เสริมในอาหารเม็ดสำเร็จรูป เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต และ ภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ

ด้านประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

จากผลการทดลองพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YST มีน้ำหนักสุดท้าย และ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น แตกต่างกับสูตรอาหาร CON อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับสูตรอาหารเสริม FOS และสูตรอาหารเสริม CHI ($P > 0.05$) และปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม CHI มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ แตกต่างกับสูตรอาหาร CON อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม FOS และสูตรอาหารเสริม YST และพบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร มีอัตราการแลกเนื้อต่ำกว่าสูตรอาหาร CON ($P < 0.05$) แต่มีอัตราการรอดที่ไม่แตกต่างกันในสูตรอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร ($P > 0.05$) ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่แตกต่างกัน ในการทดลองที่ 1

พารามิเตอร์	CON	YST	FOS	CHI	P-Value
น้ำหนักเริ่มต้น(กรัม/ตัว)	81.78±1.28	82.00±1.40	80.89±1.54	77.44±2.94	0.361
น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	302.00±1.82 ^a	323.53±1.13 ^b	321.13±3.89 ^b	319.77±4.28 ^b	0.002
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	220.23±2.93 ^a	241.53±1.39 ^b	240.20±1.07 ^b	242.33±1.45 ^b	0.000
อัตราการเจริญเติบโต					
จำเพาะ (%ต่อวัน)	1.15±0.02 ^a	1.21±0.01 ^{ab}	1.21±0.01 ^{ab}	1.25±0.02 ^b	0.020
อัตราการแลกเนื้อ	2.19±0.02 ^a	2.09±0.02 ^b	2.08±0.03 ^b	2.05±0.18 ^b	0.014
อัตราการรอดตาย (%)	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	-
ต้นทุน / กิโลกรัม (บาท)	46.81±0.48 ^a	46.06±0.71 ^a	51.13±1.30 ^b	47.55±0.32 ^a	0.001

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของเลือดปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่แตกต่างกัน ในการทดลองที่ 1

อาหารทดลอง	จำนวนวันที่ทดลอง			
	30วัน	60วัน	90วัน	120วัน
ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (* 10 ⁶ เซลล์/ลบ.มม.)				
CON	1.90±0.09 ^a	1.91±0.08 ^a	2.13±0.06 ^a	2.03±0.06 ^a
YST	2.25±0.02 ^b	2.29±0.10 ^b	2.23±0.02 ^{ab}	2.26±0.03 ^b
FOS	2.14±0.27 ^{ab}	2.08±0.09 ^{ab}	2.29±0.03 ^b	2.27±0.01 ^b
CHI	2.17±0.06 ^b	2.24±0.05 ^{ab}	2.31±0.01 ^b	2.21±0.05 ^{ab}
สัดส่วนเม็ดเลือดขาว/เม็ดเลือดแดง (%)				
CON	7.27±0.29 ^a	7.11±0.56 ^a	7.35±0.08 ^a	7.19±0.23 ^a
YST	9.76±0.21 ^b	10.16±0.23 ^b	11.21±0.62 ^b	10.95±0.20 ^b
FOS	9.57±0.43 ^b	9.59±0.14 ^b	9.80±0.49 ^b	9.80±0.34 ^b
CHI	10.54±0.38 ^b	9.85±0.44 ^b	9.90±0.10 ^b	10.06±0.31 ^b
ฮีมาโตคริต (%)				
CON	35.53±0.59 ^a	36.71±0.57 ^a	37.23±0.57 ^a	36.40±0.70 ^a
YST	39.51±1.31 ^b	41.86±0.75 ^b	38.49±0.17 ^a	39.34±0.65 ^b
FOS	38.48±0.68 ^{ab}	41.37±0.72 ^b	37.47±0.10 ^a	38.80±0.16 ^b
CHI	39.29±0.56 ^a	40.76±0.73 ^b	38.68±0.34 ^a	38.91±0.20 ^b
ซีรัมไลโซไซม์				
CON	15.85±0.60 ^a	14.42±0.65 ^a	13.87±0.72 ^a	14.93±0.42 ^a
YST	22.07±0.25 ^c	19.87±0.37 ^c	21.47±0.41 ^c	20.67±0.60 ^c
FOS	19.62±0.43 ^b	17.49±0.10 ^b	18.09±0.15 ^b	17.20±0.35 ^b
CHI	19.87±0.23 ^b	18.71±0.47 ^b	19.11±0.25 ^b	18.67±0.56 ^{bc}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ด้านระบบภูมิคุ้มกัน

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YST มีปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดแตกต่างกับสูตรอาหาร CON อย่างชัดเจนในวันที่ 120 และ FOS แตกต่างกับ CON ตั้งแต่วันที่ 90 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YST, FOS และ CHI มีสัดส่วนเม็ดเลือดขาวต่อเม็ดเลือดแดงแตกต่างกับสูตร

อาหาร CON อย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 30 ของการทดลอง รวมทั้งเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตแตกต่างกับ
สูตรอาหาร CON อย่างชัดเจนในวันที่ 120 ของการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
และพบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เสริมทั้งสามสูตร มีซีรัมไลโซไซม์แตกต่างกับสูตรอาหาร
CON อย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 30 ของการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยที่ YST
มีค่าสูงสุด ตามตารางที่ 4

การวิเคราะห์ด้านประสิทธิภาพทางเศรษฐกิจ

ต้นทุนการผลิตต่อปลา 1 กิโลกรัม (ตารางที่ 3) ของปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยสูตร
อาหารเสริม FOS มีต้นทุนสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ปลานิลที่เลี้ยง
ด้วยสูตรอาหารเสริม YST และ CHI ไม่แตกต่างทางสถิติ กับสูตรอาหาร CON ($P > 0.05$)

คุณภาพน้ำในบ่อทดลอง

คุณภาพน้ำในบ่อทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร พบว่า pH อุณหภูมิ
ออกซิเจนที่ละลายน้ำ และแอมโมเนีย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 คุณภาพน้ำในบ่อทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยสูตรอาหารที่ต่างกัน ในการทดลองที่ 1

พารามิเตอร์	CON	YST	FOS	CHI	P-Value
pH	6.80 ± 0.06	6.87 ± 0.03	6.77 ± 0.09	6.83 ± 0.03	0.659
อุณหภูมิ (°C)	30.03 ± 0.03	30.07 ± 0.03	30.13 ± 0.07	30.10 ± 0.00	0.400
DO (มก./ล.)	3.10 ± 0.06	3.07 ± 0.03	3.13 ± 0.03	3.10 ± 0.06	0.802
แอมโมเนีย (มก./ล.)	0.191 ± 0.004	0.183 ± 0.002	0.179 ± 0.005	0.191 ± 0.006	0.221

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 2 การศึกษาการใช้ Prebiotic และ Probiotic เสริมในอาหาร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต และภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ

ด้านประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

จากผลการทดลองพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YF มีน้ำหนักสุดท้าย และ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น แตกต่างกับปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YC และ CF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตร YST ($P > 0.05$) ปลานิลด้วยสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ตามตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ต่างกัน ในการทดลองที่ 2

พารามิเตอร์	YST	YC	YF	CF	P-Value
น้ำหนักเริ่มต้น(กรัม/ตัว)	23.37±0.33	23.67±0.20	23.47±0.39	23.57±0.13	0.890
น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	177.90±1.59 ^{ab}	176.53±0.39 ^a	182.27±1.85 ^b	172.87±0.30 ^a	0.004
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	154.53±1.39 ^{ab}	152.87±0.57 ^a	159.23±1.81 ^b	149.36±0.33 ^a	0.003
อัตราการเจริญเติบโต					
จำเพาะ (%ต่อวัน)	1.38±0.01	1.41±0.02	1.43±0.01	1.42±0.02	0.295
อัตราการแลกเนื้อ	2.03±0.04	2.12±0.01	2.04±0.00	2.16±0.05	0.085
อัตราการรอดตาย (%)	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	-
ต้นทุน / กิโลกรัม (บาท)	46.58±0.87 ^a	48.95±0.37 ^{ab}	51.47±0.15 ^b	54.95±0.84 ^c	0.000

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ด้านระบบภูมิคุ้มกัน

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YF มีปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดแตกต่างกับสูตรอาหาร YST อย่างชัดเจนในวันที่ 60 ของการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YC และ CF ($P > 0.05$) และปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YF มีสัดส่วนเม็ดเลือดขาวต่อเม็ดเลือดแดงแตกต่างกับสูตรอาหาร YC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตร YST และ CF ในวันที่ 60 ของการทดลอง($P > 0.05$) เพอร์เซ็นต์ีมาโตคริตพบว่า สูตรอาหารเสริม

YF แตกต่างกับสูตรอาหาร CF อย่างชัดเจนในวันที่ 120 ของการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างต่างกับ YST และ YC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YF มีซีรัมไลโซไซม์แตกต่างกับอาหารเสริมสูตร YC ในวันที่ 90 ของการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหาร YST และ CF ($P>0.05$) ตามตารางที่ 7

ตารางที่ 7 องค์ประกอบของเลือดปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่แตกต่างกัน ในการทดลองที่ 2

อาหารทดลอง	จำนวนวันที่ทดลอง			
	30วัน	60วัน	90วัน	120วัน
ปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (* 10^6 เซลล์/ลบ.มม.)				
YST	1.79 $\pm$ 0.15	1.64 $\pm$ 0.06 ^a	2.02 $\pm$ 0.03	1.92 $\pm$ 0.03 ^{ab}
YC	1.85 $\pm$ 0.10	1.84 $\pm$ 0.09 ^{ab}	1.94 $\pm$ 0.03	1.88 $\pm$ 0.03 ^a
YF	1.99 $\pm$ 0.05	1.99 $\pm$ 0.04 ^b	2.01 $\pm$ 0.03	2.02 $\pm$ 0.02 ^b
CF	1.91 $\pm$ 0.04	1.79 $\pm$ 0.08 ^{ab}	1.94 $\pm$ 0.003	1.90 $\pm$ 0.02 ^{ab}
สัดส่วนเม็ดเลือดขาว/เม็ดเลือดแดง (%)				
YST	10.51 $\pm$ 0.63	9.19 $\pm$ 0.20 ^{ab}	10.52 $\pm$ 2.53	9.03 $\pm$ 1.08
YC	8.94 $\pm$ 0.87	8.52 $\pm$ 0.49 ^a	9.87 $\pm$ 1.74	8.53 $\pm$ 0.48
YF	9.57 $\pm$ 0.63	11.01 $\pm$ 0.31 ^b	11.10 $\pm$ 1.57	10.49 $\pm$ 0.53
CF	8.71 $\pm$ 0.27	9.24 $\pm$ 0.56 ^{ab}	10.06 $\pm$ 0.97	8.94 $\pm$ 0.33
ฮีมาโตคริต (%)				
YST	36.62 $\pm$ 0.49	33.47 $\pm$ 0.38 ^{ab}	33.49 $\pm$ 1.06	33.73 $\pm$ 0.81 ^{ab}
YC	37.93 $\pm$ 0.80	32.36 $\pm$ 0.78 ^a	32.75 $\pm$ 0.52	32.15 $\pm$ 0.46 ^{ab}
YF	38.11 $\pm$ 0.62	35.76 $\pm$ 0.74 ^b	35.92 $\pm$ 0.30	35.42 $\pm$ 0.39 ^b
CF	37.57 $\pm$ 0.96	34.03 $\pm$ 0.46 ^{ab}	32.33 $\pm$ 1.20	30.39 $\pm$ 1.23 ^a
ซีรัมไลโซไซม์				
YST	16.76 $\pm$ 0.96	14.45 $\pm$ 0.81	16.04 $\pm$ 0.19 ^{ab}	16.38 $\pm$ 1.50
YC	18.02 $\pm$ 0.90	14.51 $\pm$ 0.47	15.65 $\pm$ 0.65 ^a	15.40 $\pm$ 3.19
YF	19.78 $\pm$ 0.46	16.42 $\pm$ 0.53	18.45 $\pm$ 0.28 ^b	16.86 $\pm$ 2.62
CF	16.85 $\pm$ 0.60	13.67 $\pm$ 0.60	17.00 $\pm$ 0.90 ^{ab}	16.31 $\pm$ 1.67

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การวิเคราะห์ด้านประสิทธิภาพทางเศรษฐกิจ

ต้นทุนการผลิตต่อปลา 1 กิโลกรัม (ตารางที่ 6) ของปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม CF มีต้นทุนสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร YST มีต้นทุนต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหารเสริม YC ($P > 0.05$) ตามตารางที่ 6

คุณภาพน้ำในบ่อทดลอง

คุณภาพน้ำในบ่อทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร พบว่า pH อุณหภูมิ ออกซิเจนที่ละลายน้ำ และแอมโมเนีย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ตามตารางที่ 8

ตารางที่ 8 คุณภาพน้ำในบ่อทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยสูตรอาหารที่แตกต่างกัน ในการทดลองที่ 2

พารามิเตอร์	YST	YC	YF	CF	P-Value
pH	7.30 ± 0.00	7.33 ± 0.03	7.36 ± 0.03	7.33 ± 0.03	0.487
อุณหภูมิ (°C)	24.53 ± 0.03	24.53 ± 0.03	24.60 ± 0.00	24.53 ± 0.03	0.330
DO (มก./ล.)	4.10 ± 0.06	4.03 ± 0.03	4.07 ± 0.03	4.10 ± 0.00	0.561
แอมโมเนีย (มก./ล.)	0.202 ± 0.003	0.197 ± 0.008	0.195 ± 0.003	0.203 ± 0.005	0.638

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

วิจารณ์ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาการใช้ Prebiotic Chitosan และ Fructooligosaccharide (FOS) และ Probiotic (Yeast) เสริมในอาหารเม็ดสำเร็จรูป เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต และภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ

จากผลการทดลองพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เสริมด้วย YST, FOS และ CHI มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการแลกเนื้อ แตกต่างกับสูตรอาหาร CON อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับ Gopalakannan และ Arul (2006) ที่รายงานว่าการเสริมโคโคซานช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของปลาใน นอกจากนี้ มนต์สรวง และคณะ (2550) กล่าวว่า การเคลือบโคโคซานในระดับ 10 มิลลิลิตร/อาหาร 1 กก. ทำให้ปลานิลมีน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น แต่ขัดแย้งกับ Shiau และ Yu (1999) ที่พบว่าการเจริญเติบโตที่ต่ำในปลานิลที่กินอาหารเสริมโคโคติน และโคโคซาน 2%, 5% และ 10% ซึ่งการเสริมยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตในปลานิล (Abdel-Tawwab และคณะ, 2008; Lara-Flores และคณะ, 2003) Li และ Gatlin III (2005) ทดลองใช้ prebiotic (GroBiotic) และ probiotic (brewers yeast) เสริมในอาหารเลี้ยงปลา hybrid striped bass เป็นเวลา 21 สัปดาห์ พบว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้งสองสูตรมีการเจริญเติบโตและต้านทานต่อโรคจากเชื้อ Mycobacterial ได้ดีกว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ Ai และคณะ (2007) ได้ทำการทดสอบ glucan ที่ได้จากผนังเซลล์ของยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่าการเสริม glucan ในอาหารที่ระดับ 0.5% จะเพิ่มการเจริญเติบโตของปลา large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) ได้ Grisdale-Helland และคณะ (2008) พบว่า mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide และ galactooligosaccharide เสริมในอาหาร ที่ระดับ 10g/อาหาร 1kg ทำให้ปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น ไม่แตกต่างกับอาหารควบคุม แต่การเสริม fructooligosaccharide นั้นทำให้ประสิทธิภาพการกินอาหารสูงขึ้น และในการทดลองครั้งนี้มีอัตราการรอดที่ไม่แตกต่างกันในสูตรอาหารทดลองทั้ง 4 สูตร ($P > 0.05$) สอดคล้องกับ Mahious และคณะ (2006) ที่ศึกษาในปลา turbot (*Psetta maxima*) มนต์สรวง และคณะ (2550) ปลานิลแปลงเพศ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YST, FOS และ CHI มีปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมด สัดส่วนเม็ดเลือดขาวต่อเม็ดเลือดแดง และเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตที่สูงขึ้น แตกต่างกับปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร CON อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

สอดคล้องกับ Abdel-Tawwab และคณะ (2008) การเสริมยีสต์ ในอาหารช่วยเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดง และค่าฮีมาโตคริต และพบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริมทั้งสามสูตร มีชีรัมไลโซไซม์แตกต่างกับปลานิลในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) Lim และ Webster (2001) ไลโซไซม์เป็นเอนไซม์ ที่จะทำลายพันธะ β -1,4 glycosidic ระหว่าง N-acetylmuramic acid และ N-acetyl glucosamine ในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย การเสริม YST, FOS และ CHI ในอาหารช่วยเพิ่มชีรัมไลโซไซม์ในปลานิลให้สูงขึ้น ซึ่งจะช่วยป้องกันการติดเชื้อจากเชื้อก่อโรคได้ Gopalakannan และ Arul (2006) กล่าวว่า การเสริมโคโคซานทำให้ไลโซไซม์เพิ่มขึ้น ยีสต์ *S. cerevisiae* มีองค์ประกอบที่เป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น β -glucans nucleic acids และ mannan oligosaccharides ซึ่งเป็นที่ยอมรับว่าสามารถเพิ่มการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (Abdel-Tawwab และคณะ, 2008) Ai และคณะ (2007) กล่าวว่า การเสริม glucan ที่ได้ จากผนังเซลล์ของยีสต์ *S. cerevisiae* จะเพิ่มไลโซไซม์ของปลา large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) ให้สูงขึ้นตามการเพิ่มระดับของ glucan ในอาหาร

การทดลองที่ 2 การศึกษาการใช้ Prebiotic และ Probiotic เสริมในอาหาร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต และภูมิคุ้มกันในการเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ

จากผลการทดลองพบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YF มีน้ำหนักสุดท้าย และ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น แตกต่างกับปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YC และ CF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตร YST อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นในเรื่องของ น้ำหนักสุดท้าย และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในปลานิลแปลงเพศที่กินอาหารเสริมสูตร YF อันเนื่องมาจาก Fructooligosaccharide ไปเพิ่มจำนวนของ Yeast หรือ แบคทีเรียที่มีประโยชน์ภายในระบบทางเดินอาหาร โดยการใช้ Fructooligosaccharide เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย สอดคล้องกับ Mahious และคณะ (2006) ที่ได้ทดสอบการเสริม inulin, oligofructose และ lactosucrose, 2% ในอาหารปลา turbot (*Psetta maxima*) พบว่าการเสริม oligofructose ในอาหารจะช่วยเพิ่ม probiotic (*Bacillus* spp.) ในระบบทางเดินอาหารของปลา turbot (*Psetta maxima*) จากการที่ *Bacillus* spp. ใช้ oligofructose เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต และปลา turbot ที่กินอาหารเสริม oligofructose มีน้ำหนักสุดท้าย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีอัตราการรอดที่ไม่แตกต่างกัน

Peng และคณะ (2007) เสริม Short-Chain Fructooligosaccharides จะให้ผลดีต่อการเจริญเติบโต แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการรอดตาย Tang และคณะ (2005) การเสริม oligosaccharides เช่น chitosan-oligosaccharide ในอาหาร จะเพิ่มการเจริญเติบโตในลูกหมู

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YF มีปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดแตกต่างกับสูตรอาหาร YST ในวันที่ 60 ของการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกันตั้งแต่วันที่ 90 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง และปัจจัยทางภูมิคุ้มกันในปลานิลที่กินอาหารสูตร YC, YF และ CF ไม่แตกต่างกับ YST แต่พบว่าปลานิลที่กินอาหารเสริมสูตร YF มีปริมาณเม็ดเลือดแดงทั้งหมดแตกต่างกับสูตร YC ในวันที่ 120 สัดส่วนเม็ดเลือดขาวต่อเม็ดเลือดแดง และเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตแตกต่างในวันที่ 60 ซีรัมไลโซไซม์แตกต่างในวันที่ 90 ของการทดลอง อาจมีสาเหตุมาจาก chitosan ที่เสริมลงในอาหารไปยับยั้งการเจริญของ yeast สอดคล้องกับ Lee และคณะ (2002) ที่กล่าวว่า chitosan polymer จะยับยั้งการเจริญของ lactic acid bacteria และ bifidobacteria ขณะที่ chitosan oligosaccharide (COS) จะกระตุ้นการเจริญได้ prebiotic ที่มีโมเลกุลสูง (มี degree of polymerization สูง) แบบที่เรีจะนำไปใช้ประโยชน์ได้น้อย (Manning และ Gibson, 2004) และ Fructooligosaccharide ที่เสริมลงในอาหารไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของ yeast ซึ่ง yeast จะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้เพิ่มสูงขึ้น เพราะยีสต์มีองค์ประกอบที่เป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน สอดคล้องกับ Ai และคณะ (2007) ที่ศึกษาในปลา large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) Abdel-Tawwab และคณะ (2008); Lara-Flores และคณะ (2003) ในปลานิล Li และ Gatlin III (2005) ในปลา hybrid striped bass ซึ่ง Huebner และคณะ (2007) ได้ทำการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อ lactobacilli และ bifidobacteria ใน prebiotics (inulin, fructooligosaccharides และ galactooligosaccharide) พบว่าเชื้อ probiotic สามารถเจริญใน fructooligosaccharides ได้ Peng และคณะ (2007) กล่าวว่า การเสริม Short-Chain Fructooligosaccharides (scFOS) จะให้ผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งขาว *Litopenaeus vannamei* โดยจะเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร prebiotic เช่น (Fructooligosaccharide, FOS) เป็นส่วนประกอบของอาหาร ที่ไม่สามารถย่อยได้ และเป็นผลดีต่อเจ้าบ้านโดยเลือกกระตุ้นการเจริญเติบโต หรือกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ และจะไปเพิ่มสุขภาพของเจ้าบ้าน ซึ่ง prebiotic จะถูกกระบวนการหมักด้วย enzyme ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ผลจากการหมักจะทำให้มีพีเอสในลำไส้ต่ำลง พีเอสที่ต่ำลงจะเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุในลำไส้ เช่น แคลเซียม มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรค และจะไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้าง lactic acid ซึ่ง lactic acid เป็นผลผลิตที่ได้จากแบคทีเรีย เช่น lactobacilli, streptococci และ bifidobacteria เชื้อรา เช่น *Saccharomyces*

spp. และ *Aspergillus* spp. (Gibson, 2004; Manning และ Gibson, 2004; Rivero-Urgell และ Santamaria-Orleans 200; Losada และ Olleros, 2002) Ortuno และคณะ (2002) ทดสอบการเสริมยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) พบว่าการเสริมยีสต์จะเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ



สรุปผลการวิจัย

1. การเสริม prebiotic CHI และ FOS และ probiotic YST ทำให้ปลานิลแปลงเพศมีการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น แตกต่างกับอาหารควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
2. ปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YST และ CHI มีต้นทุนการผลิตต่อกิโลกรัมปลาไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตรอาหาร CON แต่สูตรอาหารเสริม FOS มีต้นทุนสูงสุด ดังนั้นควรเสริม YST และ CHI ในอาหารเพราะมีต้นทุนที่ถูกลง
3. ปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเสริม YC, YF และ CF มีการเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร YST
4. ปลานิลแปลงเพศที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร YST และ YC มีต้นทุนการผลิตต่อกิโลกรัมปลาดำกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นควรเสริม Yeast 0.1% (YST) ในอาหารเพราะมีต้นทุนที่ถูกลง

เอกสารอ้างอิง

- มนต์สรวง ยางทอง, แหวลี วิบูลย์กิจ และ พิมาน เกาสมบัณฑิต. 2550. ศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารเคลือบไคโตซานระดับต่างๆ. **วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง** 1(2) : 223 – 234.
- Abdel-Tawwab, M.; . Abdel-Rahman, A.M; and Ismael N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture** 280, 185–189.
- Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W., U, W; and Li, H. 2007. Effects of dietary β -1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. **Fish & Shellfish Immunology** 22: 394-402.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. 15 th edn., AOAC, Arlington, VA. 1360 p.
- FAO, 2002, Antibiotics residue in aquaculture products, the State of World Fisheries and aquaculture. pp. 74-82 (Rome , Italy).
- Gibson, G.R. 2004. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). **Clinical Nutrition Supplements**. 1: 25-31.
- Gomes, A.M.P., Malcata, F.X., 1999. *Bifidobacteria* spp. and *Lactobacillus acidophilus* biological, biochemical, technological and therapeutic properties relevant for use as probiotics. **Trends Food Sci. Technol.** 10, 139-157.
- Gopalakannan, A; and Arul, V. 2006. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. **Aquaculture** 255. 179 – 187.
- Grisdale-Helland, B., Helland, S. J; and Gatin III, D. M. 2008. The effect of dietary supplementation with mannanoligosaccharide fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture** 283: 163-167.
- Huebner, J., Wehling, R.L; and Hutkins, R.W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. **International Dairy Journal** 17: 770-775.

- Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture. *J Fish Dis.* 95, 155-163.
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzman-Mendez, B.E., Lopez-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*O. niloticus*). *Aquaculture.* 216, 193-201.
- Lee, H. W., Park, Y. S., Jung, J. S; and Shin, W. S. 2002. Chitosan oligosaccharides, dp 2-8, have prebiotic effect on the *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus* sp. *Anaerobe.* 8: 213-324.
- Li, P., Gatlin III, D.M., 2005. Evaluation of prebiotic GroBiotic-A and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) challenged in situ with *Macbacterium marinum*. *Aquaculture* 248, 197-205.
- Losada, M.A., Olleros, T., 2002. Towards a healthier diet of the colon : The influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health. *Nutr. Res.* 22, 71-84.
- Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R; and Ollervier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima*(Linnaeus, C. 1758). *Aquaculture International* 14: 219-229.
- Manning, T.S. and Gibson, G.R. 2004. Probiotics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 18: 287-98.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Puangkaew, J., Kobayashi, T., Satoh, S., Sugita, H., 2005. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing The immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture.* 243, 241-254.
- Peng, L., Gary, S. Burr., Delbert, M. Gatlin III, Michael, E. H., Susmita, P., Frank L.C ; and Addison, L.L. 2007. Dietary Supplementation of Short-Chain Fructooligosaccharides Influences Gastrointestinal Microbiota Composition and Immunity Characteristics of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Cultured in a Recirculating System. *Nutritional Immunology.* 137:2763-2768.
- Pirarat, N., Fobayashi, T., Katagiri, T., Maita, M., Endo, M., 2006. Protective effects and mechanisms of probiotic bacterium *Lactobacillus rhammosus* against

- experimental *Edwardsiella tarda* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Vet. Immunol. Immunopathol. 113, 339-345.
- Puangkaew J, V. Kiron, T. Somamoto, N. Okamoto, S. Satoh, T. Takeuchi and T. Watanabe. 2004. Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. *Fish & Shellfish Immunology* 16 : 25 – 39.
- Ringo, E., Olsen, R.E., 1999. The effect of diet on aerobic bacterial flora associated with intestine of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *J. Appl. Microbiol.* 86, 22-28.
- Rivero-Urgell, M. and Santamaria-Orleans, A. 2001. Oligosaccharides: application in infant food. *Early Human Development*. 65: S43-S52.
- Ortuno, J., Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban, M. A; and Meseguer, J. 2002. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 85: 41-50.
- Shiau, S.Y., Yu, Y.P., 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in Tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. auratus*. *Aquaculture* 179, 439–446.
- Tang, Z. R, Y. L. Yin, C. M. Nyachoti, R. L. Huang, T. J. Li, C. B. Yang, X. J. Yang, J. Peng, D. S. Qi, J. J. Xing, Z. H. Sun, and M. Z. Fan. 2005. Effect of dietary supplementation of chitosan and galacto-mannan-oligosaccharide on serum parameters and the insulin-like growth factor-I mRNA expression in early-weaned piglets. *Domest. Anim. Endocrinol.* 28:430–441.