



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. เพื่อเป็นแหล่งของ Docosahexaenoic Acid (DHA) ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด (*Osphronemus goramy*)

The Impact of *Schizochytrium* sp. as a Dietary Source of Docosahexaenoic Acid (DHA) on the Growth, Survival, and Immune System of Giant Gourami (*Osphronemus goramy*)

โดย

ผศ.ดร.ทัศนีย์ นลวชัย

ดร.มัศฐุรา ละใบเต็น

ดร.วิญญู บุญประเสริฐ

ดร.ธวัชฉัย งามศิริ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากกองทุนส่งเสริมงานวิจัย
ประเภททุนวิจัยระดับแนวหน้าของโลก (Frontier Research) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

บทคัดย่อ

ผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. เพื่อเป็นแหล่งของ Docosahexaenoic Acid (DHA)

ทดลองการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด (*Osphronemus goramy*) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ได้แก่ อาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2, 4, 6, 8 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม เลี้ยงปลาแรดในกระชังในบ่อดินเป็นระยะเวลา 60 วัน ผลการศึกษาพบว่า การเสริม *Schizochytrium* sp. ในอัตราส่วน 2 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัมให้ส่งผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และสุขภาพของปลาแรดดีที่สุด โดยทำให้ลูกปลาแรดมีอัตราการรอดตายในระหว่างการอนุบาล (69.33 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในด้านการเลี้ยงปลาส่งผลให้น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (26.44 ± 0.57 กรัม) ความยาวที่เพิ่มขึ้น (12.70 ± 0.90 เซนติเมตร) และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (0.50 ± 0.01 กรัม/ตัว/วัน) สูงกว่าปลาแรดในชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. ทุกระดับมีอัตราการรอดตายอยู่ระหว่าง 95.33-98.66 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม (90.73 ± 4.39 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในทุกชุดการทดลอง รวมทั้งส่งผลให้ปลาแรดมีค่าโลหิตวิทยา ค่าเคมีในเลือด และการแสดงออกของระบบภูมิคุ้มกันบางประการที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีจำนวน RBC ($2.90 \pm 0.05 \times 10^6$ เซลล์/ลบ.มม.) ค่าฮีโมโกลบิน (13.73 ± 0.31 g/dL) ฮีมาโตคริต (35.00 ± 1.00 %) MOP (1.43 ± 0.13 U/mL) GST (188.95 ± 24.90 U/mL) สูงกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าผลทำให้ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลามีค่าสูงกว่าชุดควบคุม ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids: SFAs) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated Fatty Acids, MUFAs) สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ โดยกรดไขมันอิ่มตัวที่มีปริมาณสูงที่สุด คือ Palmitic ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวที่มีปริมาณสูงที่สุด คือ Oleic acid การเสริม *Schizochytrium* sp. มีผลทำให้ปริมาณ Docosahexaenoic acid (DAH) ในเนื้อปลามีปริมาณที่สูงขึ้นแต่หากใช้ในปริมาณที่มากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพปลา ดังนั้นการเสริม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัมจึงเป็นปริมาณที่มีความเหมาะสมที่จะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และส่งเสริมสุขภาพในการเลี้ยงปลาแรดให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: *Schizochytrium* sp., ระบบภูมิคุ้มกัน, ปลาแรด, การเจริญเติบโต, DHA

Abstract

The effects of using *Schizochytrium* sp. as a source of Docosahexaenoic Acid (DHA) on the growth, survival rate, and immune system of the Giant Gourami (*Osphronemus goramy*) were studied. The experiments were divided into five groups, each with three replicates, consisting of feed mixed with *Schizochytrium* sp. at 2, 4, 6, and 8 percent, along with a control group. The fish were reared in earthen ponds for 60 days. The study found that adding *Schizochytrium* sp. at a rate of 2 percent per kilogram of feed had the most positive effect on growth, survival rate, and health of the fish. The survival rate of the fish during the rearing phase was significantly higher (69.33 percent) compared to the other experimental groups ($p < 0.05$). In terms of growth performance, the fish's weight gain (26.44 ± 0.57 grams), length gain (12.70 ± 0.90 centimeters), and average daily gain (0.50 ± 0.01 grams/fish/day) were significantly greater than those in the other experimental groups ($p < 0.05$). The fish fed with all levels of *Schizochytrium* sp. had survival rates ranging from 95.33 to 98.66 percent, which were higher than the control group (90.73 ± 4.39 percent). However, the food conversion ratio (FCR) showed no significant differences across all experimental groups ($p > 0.05$). Additionally, the fish showed improved hematological parameters, blood chemistry, and expression of certain immune system markers compared to the control group ($p < 0.05$), with RBC counts ($2.90 \pm 0.05 \times 10^6$ cells/mm³), hemoglobin levels (13.73 ± 0.31 g/dL), hematocrit (35.00 ± 1.00 %), MOP (1.43 ± 0.13 U/mL), and GST (188.95 ± 24.90 U/mL) being higher than in the control group. Furthermore, the protein content in the fish flesh was greater than in the control group, with significantly higher levels of saturated fatty acids (SFAs) and monounsaturated fatty acids (MUFAs) ($p < 0.05$) compared to the other experimental groups. The saturated fatty acid in highest quantity was palmitic acid, while oleic acid was the predominant monounsaturated fatty acid. The addition of *Schizochytrium* sp. increased the amount of Docosahexaenoic Acid (DHA) in the fish flesh, but using more than 2 percent adversely affected the health of the fish. Thus, supplementing 2 percent *Schizochytrium* sp. per kilogram of feed is considered an appropriate level to enhance growth, survival rate, and health in the rearing of Giant Gourami effectively.

Keywords: *Schizochytrium* sp., Immune System, Growth, Giant Gourami, DHA

คำนำ

การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. เป็นแหล่งของ Docosahexaenoic Acid (DHA) ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด (*Osphronemus goramy*) เป็นงานวิจัยที่มีความสำคัญในด้านการพัฒนาการเลี้ยงปลาและการเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารปลา DHA เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลา เนื่องจากมีบทบาทสำคัญในการพัฒนาระบบประสาทและระบบภูมิคุ้มกัน โดย *Schizochytrium* sp. เป็นจุลินทรีย์น้ำเค็มชนิดหนึ่งที่อุดมไปด้วย DHA ซึ่งมีศักยภาพในการเป็นแหล่งโปรตีนและไขมันที่ดีสำหรับปลา โดยเฉพาะในช่วงที่ปลาอยู่ในระยะเจริญเติบโต ซึ่งการเพิ่ม DHA ในอาหารปลาอาจช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ลดอัตราการตาย และเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันให้กับปลาได้

การวิจัยนี้ศึกษาและประเมินผลกระทบของการใช้ *Schizochytrium* sp. เป็นแหล่งของ DHA ในอาหารปลาแรด (*Osphronemus goramy*) โดยการทดสอบในห้องปฏิบัติการและการวิเคราะห์ผลลัพธ์ในด้านต่าง ๆ เช่น การเจริญเติบโตของปลา อัตราการรอดชีวิต และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน เพื่อให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงสูตรอาหารปลาและเพิ่มประสิทธิภาพในการเลี้ยงปลาในอุตสาหกรรมการประมง โดยใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์สูงสุดและส่งเสริมความยั่งยืนในอุตสาหกรรมการประมงในอนาคต

ขอขอบคุณ รศ.ดร.เอกพล วังคะฮาด อาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร สาขาประมง คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และ ผศ.ดร.วาสนา ไพรสิงห์ขจรณ์ อาจารย์ประจำสาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เป็นที่ปรึกษาในครั้งนี้ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์และร่วมดำเนินงานวิจัยตลอดมา นับตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งงานวิจัยสำเร็จเรียบร้อยสมบูรณ์

สุดท้ายขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิที่สนับสนุนงบประมาณจากกองทุนส่งเสริมงานวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 ประเภททุนวิจัยระดับแนวหน้าของโลก (Frontier Research) จนเป็นผลให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

30 กันยายน 2567

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
คำนำ	-1-
สารบัญ	-2-
สารบัญรูปภาพ	-3-
สารบัญตาราง	-4-
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	3
ตรวจเอกสาร	4
วิธีการดำเนินงาน	15
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	31
สรุปผลการทดลอง	55
เอกสารอ้างอิง	56

สารบัญรูปภาพ

Figure		หน้า
1	Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) characteristics	5
2	Giant Gourami fingerlings	15
3	Preparation of experimental feed	16
4	Giant gourami utilized in the investigation	21
5	Growth and survival of Giant gourami examination	24
6	Sampling of fish blood	25
7	Serum from fish	27
8	Cumulative survival rate after challenge with <i>Aeromonas hydrophilla</i> for 14 days in Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) fed the experimental diets for 60 Days. Values are means from triplicate groups of fish where asterisks (*) indicates significant differences among groups ($p < 0.05$)	45

สารบัญตาราง

Table		หน้า
1	Components of the experimental diet	17
2	Analytical methods for assessing water quality factors in fingerlings giant gourami culture	20
3	Analytical methods for assessing water quality factors in giant gourami culture	24
4	Evaluation of Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) fingerlings on growth performance following 30 days of feeding with various concentrations of <i>Schizochytrium</i> sp.	31
5	Evaluation of Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) on growth performance following 60 days of feeding with various concentrations of <i>Schizochytrium</i> sp.	32
6	Haematological parameters of Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) following 60 days of supplementation with various concentrations of <i>Schizochytrium</i> sp.	37
7	Investigation of serum biochemical parameters of Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) in following 60 days of supplementation with various concentrations of <i>Schizochytrium</i> sp.	40
8	Investigation of the innate immunological response in Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) through 60-day experimental diets with various concentration of <i>Schizochytrium</i> sp.	43
9	Cumulative survival rate after challenge with <i>Aeromonas hydrophilla</i> for 7 days in Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) fed the experimental diets for 60 Days.	44

สารบัญตาราง (ต่อ)

Table		หน้า
10	The whole-body composition of a giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) fed experimental diets with varying concentrations of <i>Schizochytrium</i> sp. for 60 days.	46
11	The fatty acid composition of Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) raised on experimental diets for 60 days.	48
12	Water quality in nursing of Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) fingerlings raised on experimental diets for 30 days.	53
13	Water quality in rearing of Giant gourami (<i>Osphronemus goramy</i>) raised on experimental diets for 60 days.	54

บทนำ

ปลาแรดเป็นปลาที่ได้รับความนิยมในการบริโภค และถือเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่สร้างรายได้ให้กับประเทศไทย และยังถือเป็นสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจที่กรมประมงมีแผนในการขับเคลื่อนตามแผนปฏิบัติการพัฒนาสัตว์น้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ พ.ศ. 2565 - 2570 เพื่อมุ่งยกระดับความสามารถการพัฒนาศักยภาพการผลิตสัตว์น้ำและธุรกิจเกี่ยวข้องตลอดห่วงโซ่คุณค่า เพื่อให้สินค้าสัตว์น้ำจืดของไทยสามารถแข่งขันในตลาดได้อย่างมีประสิทธิภาพ สร้างความมั่นคงด้านอาชีพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้เกษตรกร รวมถึงพัฒนาการผลิตสัตว์น้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้อย่างยั่งยืน (กรมประมง, 2566 ก) ปลาแรดสามารถเลี้ยงเป็นปลาเนื้อและปลาสวยงามได้ ทำให้เป็นที่ต้องการของตลาดและเป็นสัตว์น้ำที่มีราคาจำหน่ายค่อนข้างสูง แต่จากปัญหาการขาดแคลนลูกพันธุ์ปลาแรด ซึ่งมีการเพาะขยายพันธุ์ได้จำนวนน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด รวมทั้งปัญหาด้านอัตราการเจริญเติบโตที่ช้า ทำให้ต้องใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงนานขึ้น (กรมประมง, 2566 ข)

การเพิ่มสารอาหารประเภทไขมันในอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ ทำหน้าที่เป็นตัวนำวิตามินที่ละลายในไขมันไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์และผิวหนัง เป็นส่วนประกอบของเซลล์ตับ หัวใจ สมอง และประสาท เป็นส่วนประกอบของยีนที่มีบทบาทในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม เป็นส่วนประกอบของฮอร์โมนสเตียรอยด์ที่ทำหน้าที่เป็นฮอร์โมนเพศ เป็นส่วนประกอบของคอเลสเตอรอลและน้ำดีที่ช่วยในการย่อยและการดูดซึมไขมันเป็นไปตามปกติ รวมทั้งเป็นส่วนประกอบของพรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) ในสเปิร์ม (เวียง, 2543; ปิยารมณ, 2552) จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายให้กับสัตว์น้ำได้

สาหร่าย *Schizochytrium* sp. เป็นจุลินทรีย์น้ำเค็มกลุ่ม Marine thraustochytrids ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง พบแพร่กระจายบริเวณผิวหนังของสาหร่ายที่เจริญเติบโตในแหล่งน้ำกร่อย น้ำทะเล และในดินเค็ม สามารถแยกจุลินทรีย์ น้ำเค็มได้จากผิวหนังของสาหร่ายและพืชที่เจริญเติบโตตามตะกอนดินทั่วไป ป่าชายเลน (สมถวิล และ สุภารัตน์, 2562; เมรานิ, 2563) ปัจจุบันได้มีงานวิจัยเกี่ยวกับสาหร่ายชนิดนี้โดยมุ่งเน้นไปในการผลิต DHA กันมากขึ้น ได้ศึกษาการนำสาหร่ายชนิดนี้จากป่าชายเลนประเทศไทยมาทำการเพาะเลี้ยงและสามารถนำมาสกัด DHA ที่มีปริมาณสูง จนถือได้ว่าเป็นแหล่งกรดไขมันโอเมก้า-3 ที่มีศักยภาพในการผลิตทางอุตสาหกรรม

สาหร่ายเซลล์เดียวมีศักยภาพสูงเนื่องจาก การเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์สูงและมีสัดส่วนของ DHA ในไขมันสูงมากกว่า 35% ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนี้ยังมีการเจริญเติบโตสูงในแหล่งอาหารที่ไม่มีความซับซ้อน การผลิตสามารถทำได้ตลอดปีไม่ขึ้นอยู่กับฤดูกาลและสภาพภูมิประเทศ สำหรับประเทศไทยมีสาหร่ายเซลล์เดียวชนิดนี้สามารถพัฒนาการเพาะเลี้ยงไปสู่การผลิต DHA ทางการค้าได้ (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2552) การเสริมสาหร่ายในอาหารสัตว์น้ำจึงสามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีน และช่วยเพิ่มกรดไขมันให้กับสัตว์น้ำได้ (Richmond, 2004; Chisti, 2007). มีการนำสาหร่าย *Schizochytrium* sp. มาใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำหลายชนิด ทั้งในกุ้ง และ ปลา เช่น การศึกษาของ Saiyasaeng *et al.* (2014) รายงานว่าการใช้ *Schizochytrium* sp. 7.5 เปอร์เซ็นต์ (75 กรัม / กก.) ในอาหารสำหรับปลานิล ช่วยให้ปลานิลมีน้ำหนักสุดท้ายและการเพิ่มน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงขึ้น (42.46 และ 82.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) Dos Santos (2018) ประเมินการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของร่างกาย และปริมาณกรดไขมันในปลานิลวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Schizochytrium* sp. 0, 10, 20, 30 และ 40 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ผลการศึกษาพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 40 กรัมต่อกิโลกรัม มีน้ำหนักสุดท้าย และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นดีขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม 37.50% และ 47.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ รวมทั้งมีระดับของโอเมก้า-3 และ docosahexaenoic acid (DHA) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปลานิลที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. ในระดับที่สูงกว่า 20 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของโปรตีนในร่างกายของปลานิล สุกซาตา และคณะ (2556) ศึกษากการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในปลานิลรุ่นที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป (โปรตีน 32%) ที่เสริมด้วย *Schizochytrium* sp. ในอัตรา 0 (กลุ่มควบคุม), 2.5, 5.0 และ 7.5 % โดยทดลองในปลานิลที่มีน้ำหนักเริ่มต้น 2.27-2.30 กรัม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า การใช้ *Schizochytrium* sp. ในอัตราส่วนตั้งแต่ 2.5 % จนถึง อัตราส่วน 7.5 % สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในปลานิลรุ่นได้

ดังนั้นการนำจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. ที่มีคุณสมบัติพิเศษในการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Highly unsaturated fatty acids :HUFA) ในเซลล์สูง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น HUFA ในกลุ่มโอเมก้า-3 ชนิด Docosahexaenoic Acid (DHA) ซึ่งจัดอยู่ในประเภทไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนหมายถึงกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอน (Double bond) อยู่หลายตำแหน่ง และ กรดไขมันโอเมก้า-3 เป็นกรดไขมันที่มีตำแหน่งพันธะคู่อันแรกอยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 มีความสำคัญในการทำงานของร่างกาย โดยจัดเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย สามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดอุดตัน ป้องกันโรคความจำเสื่อมในผู้สูงอายุและช่วยกระตุ้นการพัฒนาสมองและอารมณ์ในวัยเด็ก กรดไขมันโอเมก้า-3 นี้

พบได้มากในปลาทะเลในเขตน้้ำเย็น สำหรับในประเทศไทยได้มีการวิจัยพบว่า ในปลาน้้ำจืดมีปริมาณกรดไขมันโอเมก้า-3 อยู่ระหว่าง 62 -1,052 มิลลิกรัมต่อน้้ำหนัก 100 กรัม (กมลกาญจน์, 2551; เมรานิ, 2563; Yongmanitchai *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2021) การนำกรดไขมันโอเมก้า-3 ชนิด Docosahexaenoic Acid (DHA) มาใช้เป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจำเป็นทดแทนในอาหารปลา เพื่อใช้ในการอนุบาลและเลี้ยงปลาแรดเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด รวมทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าสัตว์น้้ำให้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ ซึ่งการเสริมกรดไขมันที่มีความจำเป็นต่อร่างกายลงในอาหารสัตว์น้้ำ นอกจากจะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์น้้ำแล้ว สารดังกล่าว ยังสะสมอยู่ในตัวของสัตว์น้้ำ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคตามมา (เมรานิ, 2563) นอกจากนี้กรดไขมันที่ได้จาก *Schizochytrium* sp. ยังมีราคาถูก สามารถผลิตได้ตลอดปีไม่ขึ้นกับฤดูกาลและสภาพภูมิประเทศ ทำให้มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้้ำ (ปิยารมณ, 2552) ข้อมูลจากการวิจัยครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการประยุกต์ใช้ *Schizochytrium* sp. เพื่อเพิ่มศักยภาพให้การเพาะเลี้ยงปลาแรด เพื่อให้สามารถแข่งขันในตลาดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อศึกษาผลของ *Schizochytrium* sp. ต่อการเจริญเติบโต และอัตรารอดตายในการอนุบาลลูกปลาแรด
- 2) เพื่อศึกษาผลของ *Schizochytrium* sp. ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด
- 3) เพื่อศึกษาผลของ *Schizochytrium* sp. ต่อคุณค่าทางโภชนาการของปลาแรด

ตรวจเอกสาร

1. ปลาแรด

ปลาแรด (*Osphronemus goramy*) เป็นปลาที่คนไทยรู้จักกันดี เดิมจัดอยู่ในวงศ์เดียวกับปลากัด กริม กระตี่ สลิด หมอไทย หมอताल คือวงศ์อนาเบนติดี (Family Anabantidae) ต่อมาได้แยกปลากัด กริม กระตี่ สลิด หมอताल และปลาแรดออกมาอยู่ในวงศ์บิลอนติอิดี (Family Belontiidae) (Nelson, 1976) ปัจจุบันได้แยกเป็นทั้งหมด 4 วงศ์ด้วยกันคือ วงศ์ปลาหมอไทย (Family Anabantidae) วงศ์ปลาหมอताल (Family Helostomatidae) วงศ์ปลากัด กริม กระตี่ สลิด (Family Belontiidae) และวงศ์ปลาแรด (Family Osphronemidae) (Nelson, 1994) ปลาในวงศ์ปลาแรดมีเพียงสกุลเดียวคือ *Osphronemus* ซึ่งมี 4 ชนิดได้แก่ ปลาแรด *O. goramy* พบได้ตามแหล่งน้ำทั่วไปในประเทศไทย ลาว กัมพูชา มาเลเซีย อินโดนีเซีย ปลาแรดแม่น้ำโขง *O. exodon* พบเฉพาะในแม่น้ำโขง และปลาแรดแดง *O. laticlavus* และ *O. septemfasciatus* ซึ่งพบเฉพาะที่บอร์เนียว ซา และสุมาตราของประเทศอินโดนีเซีย (ธวัช และคณะ, 2549)

ปลาแรดจัดเป็นปลาน้ำจืดมีเกล็ดขนาดใหญ่ชนิดหนึ่ง มีการแพร่กระจายในแหล่งน้ำจืดทั่วประเทศไทย ลักษณะลำตัวป้อมและแบนข้าง เกล็ดเมื่อลูบจากหางไปส่วนหัวจะรู้สึกสากมือเนื่องจากขอบเกล็ดมีหนามแหลมและเป็นรูปหยัก (ctenoid scale) มีก้านครีบที่องค์แรกเป็นเส้นเรียวยาวคล้ายหนวด ใช้สำหรับสัมผัส ปลายหางมนกลม ปากแหลม ริมฝีปากหนา ภายในปากมีฟันซี่เล็ก ๆ แหลมคมเรียงอยู่ภายใน ส่วนหัวเล็กและป้าน เมื่อโตขึ้นมาโดยเฉพาะในปลาตัวผู้จะมีโหนกนูนขึ้นมาเรื่อย ๆ จนดูคล้ายนอแรด อันเป็นที่มาของชื่อสามัญในภาษาไทย โคนหางมีจุดสีดำคล้ายอยู่ทั้ง 2 ข้าง เมื่อโตขึ้นจุดดังกล่าวจะหายไป รวมทั้งอวัยวะส่วนอื่น ๆ เช่น ริมฝีปาก หรือขากรรไกรที่ใหญ่กว่าตัวเมีย ขณะที่ปลาตัวเมียจะมีจุดสีดำที่บริเวณโคนครีบอกทั้ง 2 ข้าง แต่ปลาเพศผู้ไม่มีจุดดังกล่าว (Figure 1) ปลาแรดมีอวัยวะช่วยหายใจแบบ labyrinth organ อยู่ในโพรงเหนือช่องเปิดเหงือก เป็นปลาอีกชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาบริโภค



Figure 1 Giant gourami (*Osphronemus goramy*) characteristics

ปลาแรดมีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่สร้างรายได้ให้กับประเทศไทย และยังเป็นสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจที่กรมประมงมีแผนในการขับเคลื่อนตามแผนปฏิบัติการพัฒนาสัตว์น้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ พ.ศ. 2565 - 2570 เพื่อมุ่งยกระดับความสามารถพัฒนาศักยภาพการผลิตสัตว์น้ำและธุรกิจเกี่ยวข้อตลอดห่วงโซ่คุณค่า เพื่อให้สินค้าสัตว์น้ำจืดของไทยสามารถแข่งขันในตลาดได้อย่างมีประสิทธิภาพ สร้างความมั่นคงด้านอาชีพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้เกษตรกร รวมถึงพัฒนาการผลิตสัตว์น้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้อย่างยั่งยืน (กรมประมง, 2566 ข) ปลาแรดสามารถเลี้ยงเป็นปลาเนื้อและปลาสวยงามได้ ทำให้เป็นที่ต้องการของตลาดและเป็นสัตว์น้ำที่มีราคาจำหน่ายค่อนข้างสูง จากสถิติกรมประมง พ.ศ 2566 ผลผลิตปลาแรดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมีจำนวน 736 ตัน มีมูลค่ามากกว่า 53 ล้านบาท โดยเป็นการเลี้ยงปลาในบ่อมากที่สุด รองลงมาเป็นการเลี้ยงในร่องสวนและกระชังตามลำดับ พื้นที่ส่วนใหญ่นิยมเลี้ยงในภาคเหนือ มีผลผลิตมากกว่า 470 ตัน (สถิติกรมประมง, 2566) การเพาะเลี้ยงปลาแรดประสบปัญหาการขาดแคลนลูกพันธุ์ มีการเพาะขยายพันธุ์ได้จำนวนน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด รวมทั้งปัญหาด้านอัตราการเจริญเติบโตที่ช้าทำให้การเลี้ยงปลาใช้ระยะเวลานานเพื่อให้ได้ขนาดที่ตลาดต้องการจึงเป็นข้อจำกัดในการเลี้ยงปลาแรด (กรมประมง, 2566 ก)

2. กรดไขมัน

เมรานี (2563) กล่าวว่า ไขมันแบ่งตามประเภทของกรดไขมันได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ ไขมันอิ่มตัว ไขมันไม่อิ่มตัว

1. กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids) เป็นกรดไขมันที่มีโครงสร้างอะตอมคาร์บอน และไฮโดรเจนเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเดี่ยวตลอดสาย กรดไขมันอิ่มตัวที่มีมากที่สุดธรรมชาติ คือ กรด พาลมิติก (Palmitic acid: C16) รองลงมา คือ กรดสเตียริก (Stearic acid: C18) ซึ่ง กรดไขมัน เหล่านี้ ร่างกายได้จากอาหารหรือสังเคราะห์ขึ้นได้เอง

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acids) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่อยู่บน โครงสร้างคาร์บอน ตรงตำแหน่งพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีโครงสร้าง 2 แบบ คือแบบ *cis* และ *trans* ส่วนใหญ่กรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีพันธะคู่อยู่ในรูปแบบ *cis* ในธรรมชาติจะพบกรดไขมันที่ ไม่อิ่มตัวมากที่สุด และมักพบว่าพันธะคู่จะอยู่ระหว่างอะตอมของคาร์บอนที่ 9 หรือ 10 (Mapato *et al.*, 2010) โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวจำแนกออกได้เป็น 2 ชนิด ตามลักษณะของโครงสร้างและจำนวน พันธะคู่ ดังนี้

2.1 กรดไขมันที่มี 1 พันธะคู่ (Monounsaturated fatty acids) เป็นกลุ่มที่มีพันธะคู่เพียง 1 พันธะ กรดไขมันที่มีมากที่สุดในร่างกาย คือ กรดพาล์มิโทเลอิก (Palmitoleic, C16:1) และ กรดโอเลอิก (Oleic acid, C18:2)

2.2 กรดไขมันที่มีมากกว่า 1 พันธะคู่ (Polyunsaturated fatty acids) เป็นกลุ่มที่มีพันธะคู่มากกว่า 2 พันธะขึ้นไป ปกติพันธะคู่ของกรดไขมันจะไม่อยู่ชิดกันมีหมู่ Methylene (-CH₂-) คั่นกลาง ตัวอย่างเช่น กรดลิโนเลอิก (Linoleic, C18:2) กรดลิโนเลนิก (Linolenic, C18:3) และกรดอะแรชีโดนิก (Arachidonic, C20:4) เป็นต้น (Park *et al.*, 2013) การจำแนกกรดไขมันตามความจำเป็นของร่างกายได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1. กรดไขมันไม่จำเป็น (Non-essential fatty acid) เป็นกรดไขมันที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เอง กรดไขมันไม่จำเป็นที่พบมากที่สุดในร่างกาย ได้แก่ กรดพาล์มิติก (C16) และ กรดสเตียริก (C18) ตามลำดับ

2. กรดไขมันจำเป็น (Essential fatty acid; EFA) เป็นกรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เองจำเป็นต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น (Morel et al., 2013) กรดไขมันจำเป็นที่มีความสำคัญต่อร่างกาย ได้แก่ กรดลิโนเลอิก กรดลิโนเลนิก และ กรดอะราซิโดนิก สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม (Park et al., 2013) คือ

2.1 กรดไขมันโอเมก้า 3 (Omega-3 fatty acid) ประกอบด้วย

2.1.1 กรดลิโนเลนิก (Linolenic acid) หรือ ω -3 fatty acid มีสูตรโมเลกุล คือ 18:3 ω -3 เป็นกรดไขมันที่ร่างกายไม่สามารถผลิตได้เอง ต้องได้รับจากสารอาหารเท่านั้น ω -3 fatty acids จะมีพันธะคู่ ที่ตำแหน่ง C3 นับจากหมู่เมทิล พบมากในอาหารจำพวกปลาและน้ำมันพืช เช่น ปลาแซลมอน (Salmon) ปลาซาดีนส์ (Sardines) ผลวอลนัท (Walnut) และ ถั่วเหลือง (Morel et al., 2013)

2.1.2 Eicosapentaenoic acid (EPA) มีสูตรโมเลกุล 22:5 n-3 โดยมีจำนวน คาร์บอน 22 อะตอม มีพันธะคู่ 5 คู่ พบมากในปลา น้ำมันตับปลาและสาหร่าย

2.1.3 Docosahesanoic acid (DHA) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีโมเลกุลยาว ที่สุด มีสูตรโมเลกุล 22:6 n-3 โดยมีจำนวนคาร์บอน 22 อะตอม มีพันธะคู่ 6 คู่เป็นส่วนสำคัญของเยื่อ หุ้ม เซลล์สมองและจอตา เป็นกรดไขมันที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตตามปกติของเซลล์ประสาท ของทารกในครรภ์

2.2 กรดไขมันโอเมก้า 6 (Omega-6 fatty acid) ประกอบด้วย

2.2.1 กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) หรือ ω -6 fatty acid หรือวิตามินเอฟ มีสูตรโมเลกุล 18:2 n-6 เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวและเป็นวิตามินประเภทที่ละลายในไขมัน มีประโยชน์ช่วยให้ร่างกายเผาผลาญไขมันอิ่มตัวได้ดีขึ้นช่วยให้เซลล์ได้รับสารอาหารได้มากขึ้น โดยเป็นตัวป้องกัน สารอาหารให้แก่เซลล์ รักษาสมดุลของระบบการแข็งตัวของเลือด เสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่ผนัง หลอดเลือดและเยื่อหุ้มเซลล์ (Morel *et al.*, 2013) รวมตัวกับคอเรสเตอรอลเพื่อขนส่งไปในกระแสเลือด มีผลทำให้ระดับคอเรสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดลดลง ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ กรดลิโนเลอิกได้ต้องได้จากสารอาหารเท่านั้น กรดลิโนเลอิกมีมากในน้ำมันพืช เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเมล็ดทานตะวัน (ยกเว้น น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะพร้าว) ในสัตว์น้ำ เช่น ปลา หอย จะพบกรด ลิโนเลอิก ได้เช่นกัน โดยเฉพาะในน้ำมันตับปลาคอด จะมีกรดลิโนเลอิกมากที่สุด (National Research Council, 2000)

2.2.2 กรดอะราชีดิก (Arachidonic acid) เป็นกรดไขมันที่สร้างจาก กรดลิ โนเลอิก มีความสำคัญในการพัฒนาของระบบประสาทและการทำงานของระบบประสาทตา นอกจากนี้ยังช่วยลดระดับคอเรสเตอรอลและป้องกันโรคหัวใจหลอดเลือดได้ด้วย กรดอะราชีดิกมี มากในน้ำมันดอกคำฝอย น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง

คุณประโยชน์ของกรดไขมันโอเมก้า-3

1) ช่วยลดการจับตัวของเกล็ดเลือดที่ทำให้เกิดลิ่มเลือดเป็นไปได้อย่างช้าลง จะช่วยลดปริมาณไขมันในเลือดด้วย (ณาตยา และคณะ, 2540) ป้องกันการเกิดโรคเกี่ยวกับหัวใจและโรคความดันโลหิตสูงซึ่งกรดไขมันชนิดโอเมก้า-3 ในน้ำมันปลาจะไปกระตุ้นการสร้าง LDL receptor ที่ Extra hepatic tissue มากขึ้น และเนื้อเยื่อส่วนนี้จะเปลี่ยน (Low density lipoprotein, LDL) ให้เป็น (High density lipoprotein, HDL) โดยเอนไซม์ Lipoprotein lipase แล้วขับออกสู่กระแสเลือด โดยพบว่า ในกลุ่มชาวเอสกีโมที่บริโภคปลาทะเลที่มีปริมาณของกรดไขมันชนิดโอเมก้า-3 สูงเป็นอาหารหลักจะมี อัตรา

การตายของโรคหัวใจต่ำมาก (Sander, 1994) เนื่องจากช่วยลดไขมันทั้งไตรกลีเซอไรด์และโคเลสเตอรอลลง

2) ช่วยพัฒนาระบบประสาทและบำรุงสมองให้ความจำดีขึ้น เสริมสร้างการเจริญเติบโตของปลายประสาทที่เดนไดรท์ (Dendrite) ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการถ่ายทอดสัญญาณและผ่านข้อมูลระหว่างเซลล์สมอง ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการเก็บความจำและการเรียนรู้ (Voet and Voet, 1999)

3) บรรเทาอาการปวดบวมของโรคข้ออักเสบและใช้โอเมก้า-3 เป็นอาหารเสริมร่วมกับยา รักษาโรคไขข้ออักเสบเนื่องจากสาร DHA และ EPA ลดการสร้างสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบที่ชื่อว่า ลิว โคไตรอิน (Leukotrienes) ซึ่งช่วยลดการอักเสบ

4) เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เม็ดเลือดขาว จึงมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ในทางอ้อม เมื่อเซลล์เม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานได้ดีขึ้น (พันทิพา, 2546)

5) การบริโภคน้ำมันปลายังมีผลทำให้ EPA และ DHA เพิ่มสูงขึ้นไปด้วยควบคู่ไปกับการลดลงของ Arachidonic acid เกิดการแข่งขันกันในการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ Cyclooxygenase มีผลในการยับยั้งการสร้าง Tromboxanase A2 (TXA2) ที่มีผลทำให้เกิดเลือดจับตัวกัน และสร้างสารพรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin : PG) เป็นสารที่คล้ายฮอร์โมนที่สำคัญ ทำหน้าที่ด้านการจับตัวกันของเกล็ดเลือดและทำให้หลอดเลือดขยายตัว นอกจากนี้ยังมีผลทำให้เกิดเลือดสร้าง Tromboxanase A3 ที่ไม่มีผลต่อการจับตัวของเกล็ดเลือด (Voet and Voet, 1999)

การเพิ่มสารอาหารประเภทไขมันในอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ ทำหน้าที่เป็นตัวนำวิตามินที่ละลายในไขมันไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์และผิวหนัง เป็นส่วนประกอบของเซลล์ตับ หัวใจ สมอง และประสาท เป็นส่วนประกอบของยีนที่มีบทบาทในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม เป็นส่วนประกอบของฮอร์โมนสเตียรอยด์ที่ทำหน้าที่เป็นฮอร์โมนเพศ เป็นส่วนประกอบของคอเลสเตอรอลและน้ำดีที่ช่วยในการย่อยและการดูดซึมไขมันเป็นไปตามปกติ รวมทั้งเป็นส่วนประกอบของพรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) ในสเปิร์ม (เวียง, 2543; ปิยารมณ, 2552) จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายให้กับสัตว์น้ำได้

บัณฑิต และคณะ (2547) ศึกษาการเพิ่มระดับกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยการใช้ไขมันปลาทูน่าที่ระดับต่าง ๆ กัน ได้แก่ 0, 3, 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 วัน พบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่ใช้ไขมันปลาทูน่า ที่ระดับ 3 และ 9 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโตดีกว่า ($p < 0.05$) ปลานิล ในกลุ่มอื่น ๆ ส่วนอัตรารอด อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพของโปรตีนมีค่าใกล้เคียงกันใน ทุกกลุ่มการทดลอง ($p > 0.05$) การสะสมกรดไขมันในเนื้อปลานิลที่ได้รับอาหารที่ใช้ไขมันปลาทูน่า ที่ ระดับ 0, 3, 6 และ 9 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณกรดไขมัน EPA มีค่า $0.14 \pm 0.03, 0.19 \pm 0.04, 0.28 \pm 0.04$ และ 0.36 ± 0.05 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ กรดไขมัน DHA มีค่า $2.93 \pm 0.06, 3.40 \pm 0.24, 4.15 \pm 0.25$ และ 4.62 ± 0.13 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งระดับการสะสมปริมาณกรดไขมัน EPA, DHA และกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 มีค่าเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) ตามระดับการใช้ไขมันปลาทูน่าที่เพิ่มขึ้นในอาหาร ในด้านการยอมรับผลิตภัณฑ์จากผู้บริโภคมีค่า ใกล้เคียงกัน ($p > 0.05$) ดังนั้นการใช้ไขมันปลาทูน่าที่ระดับ 9 เปอร์เซ็นต์ในอาหารปลานิลให้ผลดีทั้ง ในแง่การเติบโตและการเพิ่มระดับกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ในปลานิล

Nonwachai *et.al* (2010) ศึกษาการใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองและน้ำมันที่ได้จาก *Schizochytrium sp.* และ กรด arachidonic (ARA) เพื่อทดแทนโปรตีนจากปลาป่นและน้ำมันปลาในอาหารสำหรับกุ้งขาวแวนนาไม โดยศึกษาการเจริญเติบโต การรอดตาย และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งขาวแวนนาไม แบ่งการทดลองออกเป็น 7 กลุ่มการทดลอง ใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารของแต่ละกลุ่มการทดลอง ซึ่งอาหารที่ใช้จะประกอบไปด้วย โปรตีน 33 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 8 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันปลาในอาหารจะถูกแทนที่ด้วยน้ำมันจากถั่วเหลือง และน้ำมันซึ่งได้จาก *Schizochytrium sp.* และ ARA ซึ่ง มี กรด docosahexaenoic (DHA) และ ARA ในปริมาณสูง โดยอาหารแต่ละสูตรจะมีอัตราส่วน DHA:ARA เท่ากับ 0:0 (A), 0.5:0 (B), 0.25:0 (C), 0:0.25 (D), 0:0.12 (E), 0.5:0.12 (F) และ 0.25:0.06 (G) เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่า น้ำหนักเฉลี่ย และอัตราการรอดตายของกุ้งในทุกกลุ่มการทดลอง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตามกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม *Schizochytrium sp.* และ ARA ซึ่งมีกรด DHA และ ARA มีการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมกระบวนการกลืนกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดกุ้ง กิจกรรมการทำลายเชื้อแบคทีเรียของน้ำเลือดกุ้ง กิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase และการผลิตเอนไซม์ superoxide dismutase

สุทิน และวิชิต (2557) ศึกษาปริมาณไขมันและองค์ประกอบกรดไขมันในอาหารต่อการเจริญเติบโตและการย่อยได้ของปลาโฌ โดยใช้แหล่งไขมันจากพืชและสัตว์ชนิดต่าง ๆ ผสมในอาหาร กำหนดให้มีไขมันในอาหาร 3 ระดับคือ 6.0, 9.0 และ 12.0 % และแต่ละระดับมีกรดไขมันที่จำเป็น ผสม (Mix essential fatty acids) 3 ระดับคือ 1.0, 2.0 และ 4.0% ของไขมันทั้งหมด เลี้ยงปลาโฌเป็นเวลา 120 วัน ผลการทดลองพบว่าปริมาณไขมันและกรดไขมันที่จำเป็นในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลาโฌ อาหารที่มีไขมัน 6-9 % ในสูตรอาหารและกรดไขมันที่จำเป็น 2-4 % ของไขมันทั้งหมด ทำให้การเจริญเติบโตโดยน้ำหนักของปลาโฌสูงกว่าอาหารที่มีไขมัน 12 % ในสูตรอาหาร ($p < 0.05$) ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากอาหาร อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดของปลา โฌไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ปริมาณของไขมันในอาหารต่อระดับโปรตีนในเนื้อปลาไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่เกิดการสะสมไขมันในเนื้อปลาเพิ่มขึ้นซึ่งมีผลต่อการสะสมกรดไขมันที่จำเป็นในเนื้อปลา เพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณกรดไขมัน LOA, EPA และ DHA ในเนื้อปลาไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ดังนั้น อาหารที่มีไขมัน 6-9 % ในสูตรอาหาร และกรดไขมันที่จำเป็น 2-4 % ของไขมันทั้งหมด เพียงพอต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยได้ และการสะสมกรดไขมันที่จำเป็นในเนื้อปลาของปลาโฌ

3. *Schizochytrium* sp.

Schizochytrium sp. เป็นจุลินทรีย์น้ำเค็มกลุ่ม Marine thraustochytrids ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง พบแพร่กระจายบริเวณผิวหน้าของสาหร่ายที่เจริญเติบโตในแหล่งน้ำกร่อย น้ำทะเล และในดินเค็ม สามารถแยกจุลินทรีย์ น้ำเค็มได้จากผิวหน้าของสาหร่ายและพืชที่เจริญเติบโตตามตะกอนดินทั่วไปใน ป่าชายเลน ทลัสสิมีรูปร่างกลม ผนังบาง อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือหลายเซลล์เกาะรวมกันเป็นกลุ่ม มีส่วนของเอกโตพลาสมิคเนทียิดเกาะกับซัพสเตรท (Raghukumar, 1988) ซูโอสปอร์แรงเจียมมีการแบ่งครึ่งเซลล์แบบทวิคูณ (successive binary division) จำนวน 4-5 ครั้ง ซึ่งแต่ละเซลล์จะผลิตซูโอสปอร์ และบางเซลล์มีลักษณะแบบอะมิบอยด์เซลล์ (amoeboid cell) คือเซลล์มีรูปร่างยาวขึ้น (elongate) และหดตัวเป็นทรงกลม ก่อนแบ่งตัวสร้างซูโอสปอร์ (Honda et al., 1998) ซูโอสปอร์มีรูปร่างรีหรือเกือบกลมมีแฟลกเจลลา 2 เส้นทางด้านข้าง การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากส่วนปลายของซูโอสปอร์แรงเจียมฉีกขาดออก (Alderman et al., 1974; Honda, 1998) ซึ่ง Yokoyama and Honda (2007) ได้จำแนกสกุล *Schizochytrium* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน และ carotenoids พบว่าสกุล *Schizochytrium*

สามารถแยกออกได้เป็น 3 สกุล ได้แก่ *Schizochytrium* และสกุลใหม่อีก 2 สกุล คือ *Aurantiochytrium* และ *Oblongichytrium* นอกจากนี้ยังพบว่า *Schizochytrium* มีโคลีนีลีเหลือง เนื่องจากมีการผลิต beta-carotene ส่วนเอกโตพลาสมิกเนทมีการพัฒนาดี และมีการผลิตกรดไขมันเออาร์เอได้ถึง 20% ของกรดไขมันทั้งหมด (สมถวิล และ สุดารัตน์, 2562; เมรานิ, 2563) Saiyasaeng *et al.* (2014) รายงานว่าการใช้ *Schizochytrium* sp. 7.5 เปอร์เซ็นต์ (75 กรัม / กก.) ในอาหารสำหรับปลานิล ช่วยให้ปลานิลมีน้ำหนักสุดท้ายและการเพิ่มน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงขึ้น (42.46 และ 82.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) Dos Santos (2018) ประเมินการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของร่างกาย และปริมาณกรดไขมันในปลานิลวัยอ่อนที่เลี้ยงด้วย *Schizochytrium* sp. 0, 10, 20, 30 และ 40 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ผลการศึกษาพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 40 กรัมต่อกิโลกรัม มีน้ำหนักสุดท้าย และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นดีขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม 37.50% และ 47.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ รวมทั้งมีระดับของโอเมก้า-3 และ docosahexaenoic acid (DHA) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปลานิลที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. ในระดับที่สูงกว่า 20 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของโปรตีนในร่างกายของปลานิล จูอะดี และคณะ (2553) รายงานว่าการเสริม *Schizochytrium limacinum* ในไรติเฟอร์ และไรน้ำเค็มที่ใช้อนุบาลปูม้า และปูทะเลระยะ Zoea 1 ถึงระยะ Crab 2 มีผลต่อพัฒนาการของตัวอ่อนปูม้า และปูทะเลทำให้การเปลี่ยนแปลงตัวอ่อนจากรยะหนึ่งเข้าสู่ตัวอ่อนอีกระยะหนึ่งได้เร็วขึ้นทั้งช่วยให้ลูกปูม้า และปูทะเลมีอัตราการรอดตาย ขนาดความกว้างกระดอง และน้ำหนักเฉลี่ยสูงขึ้น

Schizochytrium sp. มีการเพาะเลี้ยงกันในระดับอุตสาหกรรมมานานกว่าสี่สิบปี อุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน decosahexaenoic acid (DHA, 22:6, n-3) และ eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5, n-3) องค์ประกอบของเซลล์แห้งของสาหร่ายชนิดนี้ มี DHA ประมาณ 20% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) ทำให้เป็นวัตถุดิบที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง การสกัดน้ำมันจาก *Schizochytrium* sp. ทั้งเซลล์ ได้น้ำมันที่มี DHA มากกว่าร้อยละ 50 ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้ *Schizochytrium* sp. เสริมในอาหารสัตว์น้ำมีส่วนช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตในสัตว์น้ำได้

สำหรับประเทศไทยพบ *Schizochytrium* sp. ในน้ำเค็มตามป่าชายเลนและปากแม่น้ำ มีรายงานการศึกษาพบว่า *Schizochytrium* sp. สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัว ในกลุ่มโอเมก้า 3

โดยเฉพาะ DHA สะสมอยู่ในเซลล์สูง เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เป็นแหล่งของกรดไขมันจำเป็นทดแทนกรดไขมันจากสัตว์ทะเล จึงมีการศึกษาในการนำ *Schizochytrium* sp. เสริมในอาหารเพื่อเลี้ยงสัตว์ สุกาดา และคณะ (2554) ทดลองใช้ *Schizochytrium* sp. เสริมในอาหารเพื่อศึกษาลักษณะสัญญาณบางประการและอัตราการเจริญเติบโตของปลานิล โดยมีการเสริมในอาหารในอัตราส่วน 2.5 5.0 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ทำการเลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลานิลที่มีการเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน น้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาของ อนุสรณ์ และคณะ (2556) ในการศึกษาการใช้ *Schizochytrium* sp. เสริมในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งก้ามกราม โดยผสมในอัตราความเข้มข้น 2.5 5.0 7.5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งก้ามกราม ผลการทดลองแสดงให้เห็นอัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารเสริม *Schizochytrium* sp. มีอัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม *Schizochytrium* sp.

การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม ที่มีการเสริม *Schizochytrium* sp. ผสมในอาหารเพื่อเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในความเค็มต่ำและความเค็มปกติ โดยมีการใช้ในอัตราส่วน 2.5 5.0 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม *Schizochytrium* sp. มีอัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ไม่ผสมอาหารเสริมด้วย *Schizochytrium* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ปิยารมณ และคณะ, 2552)

ปีทมา และวาสนา (2563) ศึกษาผลของการเสริม *Schizochytrium* sp. ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาหมอไทย (*Anabas testudineus*) โดยมีการเสริมในอาหารในอัตราส่วน 2.5 5.0 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษา ปลาหมอที่ได้รับอาหารเสริม *Schizochytrium* sp. ในอัตราความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน น้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ดีกว่าทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การเพิ่มสารอาหารประเภทไขมันในอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ เป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์และผิวหนัง เป็นส่วนประกอบของเซลล์ตับ

หัวใจ สมอ และประสาท เป็นส่วนประกอบของยีนที่มีบทบาทในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม เป็นส่วนประกอบของฮอร์โมนสเตียรอยด์ที่ทำหน้าที่เป็นฮอร์โมนเพศ เป็นส่วนประกอบของคอเลสเตอรอลและน้ำดีที่ช่วยให้การย่อยและการดูดซึมไขมันเป็นไปตามปกติ รวมทั้งเป็นส่วนประกอบของพรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) ในสเปิร์ม (เวียง, 2543) จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายให้กับสัตว์น้ำ ดังนั้นการนำสาหร่าย *Schizochytrium* sp. ที่มีคุณสมบัติพิเศษในการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Highly unsaturated fatty acids :HUFA) ในเซลล์สูง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น HUFA ในกลุ่มโอเมก้า 3 ชนิด Docosahexaenoic Acid (DHA) ที่มีความสำคัญในการทำงานของร่างกาย (เมรานิ, 2563; Yongmanitchai *et al.*, 2007) มาใช้ในการอนุบาลและเลี้ยงปลาแรดเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการประยุกต์ใช้ *Schizochytrium* sp. เพื่อเพิ่มศักยภาพให้การเพาะเลี้ยงปลาแรด นอกจากนี้กรดไขมันที่ได้จาก *Schizochytrium* sp. ยังมีราคาถูก สามารถผลิตได้ตลอดปีไม่ขึ้นกับฤดูกาลและสภาพภูมิประเทศ ทำให้มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ปิยารมณ, 2552)

การเพาะเลี้ยงปลาแรดปัจจุบันประสบปัญหาการขาดแคลนลูกพันธุ์ รวมทั้งปัญหาด้านอัตราการเจริญเติบโตที่ช้า ทำให้ต้องใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงนานขึ้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลให้การเพาะเลี้ยงปลาแรดได้รับความนิยมนลดลงจากเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาน้ำจืด ดังนั้นการใช้ *Schizochytrium* sp. เป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ชนิด DHA ในอาหารปลาแรดเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับปลาแรดได้ การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดลองใช้ *Schizochytrium* sp. ในอัตราส่วนต่าง ๆ ในการเสริมอาหารแก่ปลาแรด เพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับปลาแรด ผลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการประยุกต์ใช้ *Schizochytrium* sp. เป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ชนิด DHA ในอาหารปลาแรด เพื่อเพิ่มศักยภาพในการเลี้ยงปลาแรดให้มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น

วิธีการดำเนินงาน

1. การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ต่อการอนุบาลลูกปลาแรด

1) การเตรียมสัตว์ทดลอง

ปรับสภาพลูกปลาแรดอายุ 7 วัน (หลังจากถูกไข่แดงยุบ) จำนวน 3,750 ตัว ที่ได้จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดนครปฐม (Figure 2) ณ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร และอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ศูนย์หันตรา ในตู้กระจกขนาด 30x60x45 เซนติเมตร จำนวน 15 ตู้ ปล่อยปลาที่ความหนาแน่น 250 ตัว/ตู้ (5 ตัว/น้ำ 1 ลิตร) (Amriawati *et al.*, 2021) โดยเติมน้ำประปาที่ผ่านการพักไว้ 7 วันจนไม่มีคลอรีนให้ได้ปริมาตร 50 ลิตร/ตู้ และปรับคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำ คือ อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 25-32 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ระหว่าง 6.5-8.5 และค่าออกซิเจนละลายในน้ำมากกว่า 5 มิลลิกรัม/ลิตร ให้อาหาร 5 % ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 3 ครั้ง (8.00, 12.00 และ 17.00 น.) (ยุพินท์ และรัชนีบูลย์, 2557)



Figure 2 Giant Gourami fingerlings

2) การเตรียมอาหารทดลอง

ผลิตอาหารที่มีปริมาณโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ และ *Schizochytrium* sp. (SZT) โดยนำวัตถุดิบที่กำหนดไว้ใน Figure 3 และ Table 1 ของแต่ละชุดการทดลอง ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมอาหาร ทำการอัดเม็ดอาหารด้วยเครื่องบดเนื้อ โดยอัดผ่านหน้าแว่นอาหารที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ส่วนผสมที่ได้จะถูกทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมงในเตาอบลมร้อน จากนั้นนำมาบดเป็นผงสำหรับการอนุบาลลูกปลา วิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของอาหารโดยใช้วิธี AOAC (2000) และเก็บไว้ที่ 4 °C จนกว่าจะนำไปใช้ (Phinyo *et.al*, 2024)



Figure 3 Preparation of experimental feed

Table 1 Components of the experimental diet.

Ingredients (g/kg)	SZT supplement level				
	SZT 0 %	SZT 2 %	SZT 4 %	SZT 6 %	SZT 8 %
Fish meal	260	260	260	260	260
Soybean meal	270	270	270	270	270
Rice bran	200	200	200	200	200
Brocken rice	159.5	149.5	139.5	129.5	119.5
Cassava mashed	60	50	40	30	20
Soybean oil	30	30	30	30	30
Mineral and vitamin	20	20	20	20	20
Free amino acids mix	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
<i>Schizochytrium</i> sp.	0	20	40	60	80
Total	1000	1000	1000	1000	1000

3) การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของลูกปลาแรด

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยแบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 0 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 4 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 6 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 8 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

คัดเลือกลูกปลาแรดความยาวเฉลี่ย 1.20-1.30 เซนติเมตร ปล่อยลงเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 30x60x45 เซนติเมตร ใส่น้ำประปาที่ผ่านการพักไว้ 7 วันจนไม่มีคลอรีนให้ได้ปริมาณ 50 ลิตร/ตู้ จำนวน 15 ตู้ ปล่อยปลาความหนาแน่น 250 ตัว/ตู้ (5 ตัว/น้ำ 1 ลิตร) (Amriawati *et al.*, 2021) อนุบาลลูกปลาด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. ในอัตราส่วนที่กำหนดโดยนำอาหารมาบดให้เป็นผงก่อนนำไปใช้อนุบาลลูกปลาเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยให้อาหารในปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 3 ครั้ง คือ 8.00 12.00 และ 17.00 น. (ยุพินท์ และรัชนิบูลย์, 2557) ทำการชั่งอาหารปลาที่ใช้ไปในทุกสัปดาห์ เพื่อเก็บข้อมูลน้ำหนักอาหารที่ใช้ไป และเก็บข้อมูลน้ำหนัก ความยาวเริ่มต้น และบันทึกการตายของปลาเพื่อเก็บข้อมูลอัตราการรอดตาย โดยค่าที่ใช้วัดอัตราการเจริญเติบโตในการทดลองนี้ได้แก่

1) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Weight Gain; WG) จากสูตร

$$WG = \text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}$$

2) การเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed Conversion Ratio; FCR)

$$FCR = \text{น้ำหนักอาหารที่ให้} / \text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}$$

3) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average Daily Gain; ADG)

$$ADG = (\text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มทดลอง}) / \text{จำนวนวันที่ทดลอง}$$

4) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SCR)

$$SCR = [(\ln \text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มทดลอง}) / \text{จำนวนวันที่ทดลอง}]$$

5) อัตรารอดตาย (Survival Rate, SR; %)

$$SR = [\text{จำนวนปลานิลสิ้นสุดการทดลอง} / \text{จำนวนปลานิลเริ่มต้นทดลอง}] \times 100$$

ในระหว่างการทดลองมีการเติมน้ำให้ได้ระดับเท่าเดิม กรณีปริมาณน้ำลดลงต่ำกว่า 50 เซนติเมตร ตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำ ก่อนทดลอง และระหว่างการทดลองทุก ๆ สัปดาห์ จนสิ้นสุดการทดลอง ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และไนไตรท์-ไนโตรเจน โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้ (Table 2)

Table 2 Analytical methods for assessing water quality factors in fingerlings giant gourami culture.

Parameters	Methods
pH	pH-meter (pH / Ion 510)
Dissolved Oxygen (mg/l)	Azide modification
Ammonia (mg/l)	Phenol method
Nitrite (mg/l)	Reddish purple azo dye
Temperature (°C)	Thermometer

2. การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด

1) การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลาแรดขนาดความยาวเฉลี่ย 3 นิ้ว จำนวน 450 ตัว จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดนครปฐม (Figure 4) มาปรับสภาพในกระชังขนาด 1x1x1 เมตร จำนวน 15 กระชัง ในบ่อดิน ปล่อยปลาที่ความหนาแน่น 30 ตัว/กระชัง (30 ตัว/ตารางเมตร) ให้อาหาร 5 % ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง (8.00 และ 17.00 น.) (ยุพินท์ และรัชณีบุลย์, 2557)



Figure 4 Giant gourami utilized in the investigation.

2) การเตรียมอาหาร

ผลิตอาหารที่มีปริมาณโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ และ *Schizochytrium* sp. (SZT) โดยนำวัตถุดิบที่กำหนดไว้ใน Table 1 ของแต่ละชุดการทดลอง ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมอาหาร ทำการอัดเม็ดอาหารด้วยเครื่องบดเนื้อ โดยอัดผ่านหน้าแวนอาหารที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ส่วนผสมที่ได้จะถูกทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมงในเตาอบลมร้อน วิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของอาหารโดยใช้วิธี AOAC (2000) และเก็บไว้ที่ 4 °C จนกว่าจะนำไปใช้ (Phinyo *et.al*, 2024)

3) การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยแบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 0 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 4 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 6 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 8 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

4) การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการตายของปลาแรด

คัดเลือกลูกปลาแรดความยาวเฉลี่ย 3 นิ้ว ปล่อยลงเลี้ยงในกระชังขนาด 1x1x1 เมตร จำนวน 15 กระชัง ในบ่อดิน ปล่อยปลาความหนาแน่น 30 ตัว/กระชัง (30 ตัว/ตารางเมตร) (ยุพินท์ และรัชณีบุลย์, 2557) เลี้ยงปลาด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. ในอัตราส่วนที่กำหนดเป็นระยะเวลา 60 วัน ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือ 8.00 และ 17.00 น. โดยให้อาหารในปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ทำการชั่งอาหารปลาที่ใช้ไปในทุกสัปดาห์ เพื่อเก็บข้อมูลน้ำหนักอาหารที่ใช้ไป และเก็บข้อมูลน้ำหนักความยาวเริ่มต้น และบันทึกการตายของปลาเพื่อเก็บข้อมูลอัตราการตาย (Figure 5) โดยค่าที่ใช้วัดอัตราการเจริญเติบโตในการทดลองนี้ ได้แก่

weight gain = น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง

Average daily gain (g./body/day)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเมื่อเริ่มการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาในการทดลอง}}$$

ระยะเวลาในการทดลอง

Feed conversion ratio, FCR = $\frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ใช้ไป}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$

น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น

Survival rate (%) = $\frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มทดลอง}} \times 100$

จำนวนปลาเมื่อเริ่มทดลอง

ในระหว่างการทดลองมีการเติมน้ำให้ได้ระดับเท่าเดิม กรณีปริมาณน้ำลดลงต่ำกว่า 50 เซนติเมตร ตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำ ก่อนทดลอง และระหว่างการทดลองทุก ๆ สัปดาห์ จนสิ้นสุดการทดลอง ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ความเป็นกรด-ด่าง แอมโมเนีย-ไนโตรเจน และไนไตรท์-ไนโตรเจน โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้ (Table 3)



Figure 5 Growth and survival of Giant gourami examination

Table 3 Analytical methods for assessing water quality factors in giant gourami culture.

Parameters	Methods
pH	pH-meter (pH / Ion 510)
Dissolved Oxygen (mg/l)	Azide modification
Ammonia (mg/l)	Phenol method
Nitrite (mg/l)	Reddish purple azo dye
Temperature (°C)	Thermometer

5) การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ตอระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด

5.1) การเก็บตัวอย่างเลือด

หลังจากการเลี้ยงปลาในกระชังเป็นระยะเวลา 60 วัน งดให้อาหารปลาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสุ่มปลาชุดการทดลองละ 9 ตัว ทำการสลบปลาโดยใช้น้ำมันกานพลูความเข้มข้น 40 ppm เจาะเลือดปลาจากเส้นเลือดส่วนหาง (puncturing the caudal peduncle) โดยใช้เข็มและกระบอกฉีดยาขนาด 1 ml ที่ปราศจากเชื้อ แบ่งเลือดออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำไปใส่ยังหลอดเก็บเลือด BD vacutainer blood collection tubes เพื่อศึกษาค่าโลหิตวิทยา (Figure 6) อีกส่วนหนึ่งนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 rpm 5 นาที 4 °C และเก็บตัวอย่างซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะใช้ในการทดสอบทางชีวเคมีและภูมิคุ้มกัน ตามวิธีของ Wangkaharta *et al.* (2022)



Figure 6 Sampling of fish blood.

5.2) การศึกษาค่าโลหิตวิทยา

นำตัวอย่างเลือดที่เก็บได้จากข้อ 5.1 มาหาค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (red blood cells; RBC) ปริมาณฮีโมโกลบิน (hemoglobin; Hb) ฮีมาโตคริต (hematocrit; Ht) ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงเฉลี่ย (mean corpuscular volume; MCV) ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบิน (Hb) ในเซลล์เม็ดเลือดแดง 1 เซลล์ (mean corpuscular hemoglobin; MCH) ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC) และ จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (White Blood Cell Count: WBC)

5.3) การตรวจวัดค่าเคมีในเลือดโดยทั่วไป

หลังจากการเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 60 วัน งดให้อาหารปลาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสุ่มปลาชุดการทดลองละ 9 ตัว ทำการสลบปลาโดยใช้น้ำมันกานพลูความเข้มข้น 40 ppm เจาะเลือดปลาจากเส้นเลือดส่วนหาง (puncturing the caudal peduncle) ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร และปล่อยให้เลือดแข็งตัว จากนั้นนำไปปั่นที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เก็บซีรัม (Figure 7) เพื่อส่งตรวจค่าเคมีของเลือด ดังนี้ 1) เอนไซม์ Alanine transaminase (ALT) 2) เอนไซม์ Aspartate amino transaminase (AST) 3) Triglyceride 4) Cholesterol 5) HDL และ 6) LDL (Wangkaharta *et al.*, 2022)



Figure 7 Serum from fish.

5.4) กิจกรรมของเอนไซม์คะตาเลส (catalase activity)

นำซีรัมจากข้อ 5.1 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบน 96-well plate แบบก้นเรียบ จากนั้นเติมสารละลายปริมาตร 100 ไมโครลิตร ที่มีส่วนผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวัดที่ช่วงความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร โดยเครื่อง iMark™ Microplate Absorbance Reader ที่เวลา 20 วินาที (A1) และ 80 วินาที (A2) การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์คะตาเลสคำนวณจากสูตร $A1-A2/0.0008$ มีหน่วยเป็น ยูนิต/มิลลิลิตร

5.5) กิจกรรมของเอนไซม์ไมอีโกลเปอร์ออกซิเดส (myeloperoxidase activity) มีขั้นตอนดังนี้

ทำการเตรียมตัวอย่างซีรัมของปลาที่ต้องการทดสอบปริมาตร 20 ไมโครลิตร หยดลงบน 96-well plate แบบก้นเรียบ จากนั้นเติมสารละลาย PBS ปริมาตร 80 ไมโครลิตร และตามด้วยสารละลายซับสเตรต TMB-Blotting Substrate Solution ปริมาตร 35 ไมโครลิตร และ H_2O_2 ปริมาตร 35 ไมโครลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย H_2SO_4 ปริมาตร 35 ไมโครลิตร จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดไปวัดที่ช่วงความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยเครื่อง iMark™ Microplate Absorbance Reader กิจกรรมของเอนไซม์ไมอีโกลเปอร์ออกซิเดส มีหน่วยเป็น ยูนิต/มิลลิลิตร

5.6) กิจกรรมของกลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (GPx) มีขั้นตอนดังนี้

นำตัวอย่างซีรัมจากปลา 20 ไมโครลิตร มาผสมกับ PBS (pH 7.4) 40 ไมโครลิตร ซึ่งมี 0.1% Triton X-100 ใส่ลงไป จากนั้นเติมสารละลายค็อกเทลที่ประกอบด้วยกลูต้าไธโอน (GSH) 24 μM , นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต (NADPH) 4.8 μM และกลูต้าไธโอนรีดักเทส (GR) 12 U แล้วตามด้วยการเติม 35 ไมโครลิตร ของ H_2O_2 1% กิจกรรม GPx (U/mL) ถูกกำหนดเป็นปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิดออกซิเดชันของ NADPH 1 μM ต่อหนึ่งนาที กิจกรรม GPx (U/mL) = $OD_{450}/0.00622$ (Fontagné-Dicharry *et al.*, 2018)

5.7) กิจกรรมของกลูต้าไธโอน S-ทรานเฟอเรส (GST) มีขั้นตอนดังนี้

นำตัวอย่างซีรัมจากปลา 25 ไมโครลิตรมาผสมกับ PBS ที่เตรียมสดใหม่ (pH 7.4) 100 ไมโครลิตรที่มี 100 mM GSH จากนั้นผสมและเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 2 นาที แล้วเติม 25 ไมโครลิตร ของ 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB; Sigma-Aldrich) 100 mM กิจกรรม GST ถูกวัดที่ 0 นาที (OD1) และหลังจาก 4 นาที (OD2) ของการเพาะเลี้ยงที่ 340 nm ที่อุณหภูมิห้อง

(25 °C) โดยใช้ iMark™ Microplate Absorbance Reader (Bio-Rad) กิจกรรม GST (U/mL) = [(OD340/0.006)/4] (Zablotowicz *et al.*, 1995)

5.8) การทดสอบความต้านทานโรค (challenge test)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 60 วัน ปลาจากแต่ละกลุ่มการทดลองจะถูกสุ่มเพื่อทดสอบความต้านทานโรค ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (10 ตัว/ซ้ำ) ปลอยปลาในตู้กระจกขนาด 30x60x45 เซนติเมตร โดยเติมน้ำประปาที่ผ่านการพักไว้ 7 วันจนไม่มีคลอรีน ให้ได้ปริมาตร 48 ลิตร/ตู้ (Nugraha *et al.*, 2020) จำนวน 15 ตู้ ฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่แยกเชื้อได้จากปลาแรด ความเข้มข้น 1×10^7 CFU/ml เข้าช่องท้องปลา (intraperitoneal injection) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรต่อตัว ที่ความเข้มข้น 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ทำการบันทึกอัตราการตายของปลานิลเป็นระยะเวลา 14 วัน สุ่มเก็บปลาที่ตายหรือแสดงอาการของโรคนำไปตรวจยืนยันสาเหตุของการเกิดโรค (Doan *et al.*, 2018)

3. การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium sp.* ต่อการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของปลาแรด

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 60 วัน ปลาจากแต่ละกลุ่มการทดลองจะถูกสุ่มเพื่อประเมินคุณค่าทางโภชนาการชุดการทดลองละ 6 ตัว (สุทธิรัตน์ และ ปิยวรรณ, 2561) นำตัวอย่างปลาแรดมาศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ดังนี้

- 1) ปริมาณความชื้น โดยวิธีการหาน้ำหนักที่หายไปหลังจากการอบแห้ง (AOAC, 2005)
- 2) โปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method (AOAC, 2005) คำนวณปริมาณโปรตีนด้วย nitrogen factor เท่ากับ 5.58
- 3) ปริมาณไขมัน โดยวิธี Soxhlet extraction method (AOAC, 2005)
- 4) กรดไขมัน (fatty acid) โดยวิธี Gas chromatography (วิฑูรย์ และคณะ, 2557)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแบบ (One Way Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลอง โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ต่อการอนุบาลลูกปลาแรด

จากการทดลองอนุบาลลูกปลาแรดด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. ในอัตราส่วนที่ต่างกันเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า ลูกปลาแรดที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีอัตราการรอดตายอยู่ที่ 69.33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดการทดลองอื่น ๆ จะมีอัตราการรอดตายอยู่ระหว่าง 49.33-52.00 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การเจริญเติบโตด้านน้ำหนัก ความยาว ADG และ FCR ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในทุกชุดการทดลอง **Table 4** จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเพื่อการอนุบาลลูกปลาแรด มีส่วนช่วยในการเพิ่มอัตราการรอดตายให้กับลูกปลาแรด

Table 4 Evaluation of Giant gourami (*Osphronemus goramy*) fingerlings on growth performance following 30 days of feeding with various concentrations of *Schizochytrium* sp.

Parameter	Experimental diets				
	SZT 0 %	SZT 2 %	SZT 4 %	SZT 6 %	SZT 8 %
Weight gain (g)	0.07±0.02 ^a	0.10±0.03 ^a	0.11±0.03 ^a	0.13±0.02 ^a	0.13±0.05 ^a
Length gain (cm)	1.77±0.04 ^a	1.90±0.06 ^a	1.89±0.13 ^a	2.00±0.15 ^a	2.01±0.25 ^a
ADG (g/day)	0.003±0.001 ^a	0.002±0.001 ^a	0.002±0.001 ^a	0.003±0.001 ^a	0.003±0.002 ^a
FCR	2.81±0.28 ^a	2.62±0.30 ^a	2.64±0.17 ^a	2.53±0.20 ^a	2.69±0.32 ^a
Survival rate (%)	49.33±9.23 ^b	69.33±2.30 ^a	52.00±6.92 ^b	52.00±6.92 ^b	50.66±4.61 ^b

Note: Statistics are reported as the average ± standard deviation. Differences in values within the same row with distinct superscripts are statistically significant ($P < 0.05$).

2. การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย และระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด

2.1 การเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลาแรด

จากการทดลองเลี้ยงปลาแรดด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. ในอัตราส่วนที่ต่างกันเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่า ปลาแรดที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนัก ความยาว และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน สูงกว่าปลาแรดในชุดการทดลองอื่น ๆ และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 26.44 ± 0.57 กรัม 12.70 ± 0.90 เซนติเมตร และ 0.50 ± 0.01 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ส่วนอัตราการรอดตายพบว่า ปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2, 4, 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายอยู่ระหว่าง 95.33-98.66 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม (90.73 ± 4.39 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ในทุกชุดการทดลองดังแสดงไว้ใน Table 5

Table 5 Evaluation of Giant gourami (*Osphronemus goramy*) on growth performance following 60 days of feeding with various concentrations of *Schizochytrium* sp.

Parameter	Experimental diets				
	SZT 0 %	SZT 2 %	SZT 4 %	SZT 6 %	SZT 8 %
Weight gain (g)	21.59 ± 0.90^c	26.43 ± 0.57^a	24.72 ± 1.46^b	24.38 ± 1.45^b	24.43 ± 1.10^b
Length gain (cm)	10.93 ± 0.15^b	12.70 ± 0.90^a	11.57 ± 1.26^b	11.03 ± 0.22^b	10.84 ± 0.18^b
ADG (g/day)	0.24 ± 0.01^c	0.33 ± 0.01^a	0.31 ± 0.02^b	0.30 ± 0.01^{ab}	0.30 ± 0.02^b
FCR	1.52 ± 0.06^a	1.40 ± 0.15^a	1.41 ± 0.07^a	1.43 ± 0.11^a	1.45 ± 0.02^a
Survival rate (%)	90.73 ± 4.39^b	98.66 ± 2.98^a	95.33 ± 4.47^a	98.66 ± 1.82^a	97.99 ± 2.98^a

Note: Statistics are reported as the average \pm standard deviation. Differences in values within the same row with distinct superscripts are statistically significant ($P < 0.05$).

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การอนุบาลลูกปลาแรดด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* 2 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าค่าการเจริญเติบโตด้านน้ำหนัก ความยาว ADG และ FCR ของทุกชุดการทดลองจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่มีผลในการเพิ่มอัตราการรอดตายให้กับลูกปลาแรด ซึ่งจะช่วยแก้ปัญหาการขาดแคลนลูกพันธุ์ปลาแรด ที่มีการเพาะขยายพันธุ์ได้จำนวนน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด (กรมประมง, 2566 ข) และช่วยเพิ่มผลผลิตลูกปลาแรดให้เพิ่มมากขึ้นได้อีกทางหนึ่ง

ในขณะที่การเลี้ยงปลาแรดด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปลาแรดมีน้ำหนัก ความยาว และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน สูงกว่าปลาแรดในชุดการทดลองอื่น ๆ และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และจากผลการศึกษาายังแสดงให้เห็นว่า *Schizochytrium* sp. มีส่วนช่วยในการเพิ่มอัตราการรอดตายให้กับปลาแรดได้อีกด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Ganuza *et al.* (2008) ที่ใช้ *Schizochytrium* sp. ทดแทนน้ำมันปลาในอาหารอนุบาลลูกปลา gilthead seabream พบว่า ลูกปลาที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. มีอัตราการรอดตาย การเจริญเติบโตที่ดี กว่าชุดควบคุม อีกทั้งยังสอดคล้องกับ Sarker *et al.* (2016) ที่ได้ใช้ *Schizochytrium* sp. ทดแทนน้ำมันปลาในสูตรอาหารของปลานิล พบว่า การทดแทนน้ำมันปลาด้วย *Schizochytrium* sp. ในระดับ 100% สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ทำให้มีการเจริญเติบโต และอัตราการแลกเนื้อที่ดี นอกจากนี้การใช้ *Schizochytrium* sp. เป็นแหล่งไขมันในอาหารอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพหรือสภาพของปลา (Garcia *et al.*, 2016) และจากการสังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของปลาแรด ในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. พบว่า ปลาามีพฤติกรรมการกินอาหารในเชิงบวก และจากรายงานของ Pattama and Wassana (2020) พบว่า *Schizochytrium* sp. มีกลิ่นคาวคล้ายน้ำมันปลาและน้ำมันหมึกซึ่งเป็นสารดึงดูด (attractant) ช่วยทำให้ปลาเข้ากินอาหารได้ดี สอดคล้องกับ Hu *et al.* (2020) ที่ได้รายงานว่า กรดอะมิโนสามารถกระตุ้นประสาทต่อมรับรส และกรดอะมิโนบางชนิด เช่น alanine glycine และ tryptophan ซึ่งสามารถทำหน้าที่เป็นสารดึงดูดความสนใจ และเพิ่มความอยากกินของปลาให้มากขึ้นได้ นอกจากนี้ยังพบว่าใน *Schizochytrium* sp. มีปริมาณ alanine และ glycine (Hu *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2020) ซึ่งอาจมีส่วนช่วยในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของปลา จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารนั้นช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของปลาแรดให้ดีขึ้น

2.2 ระบบภูมิคุ้มกันของปลาแรด

1) การศึกษาค่าโลหิตวิทยา

หลังจากเลี้ยงปลาแรดด้วยอาหารผสม *Schizochytrium* sp. ในอัตราส่วนที่ต่างกัน เป็นระยะเวลา 60 วัน ทำการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาแรดจากแต่ละชุดการทดลอง ได้แก่ จำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง (red blood cells; RBC) ปริมาณฮีโมโกลบิน (hemoglobin; Hb) ฮีมาโตคริต (hematocrit; Ht) ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงเฉลี่ย (mean corpuscular volume; MCV) ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบิน (Hb) ในเซลล์เม็ดเลือดแดง 1 เซลล์ (mean corpuscular hemoglobin; MCH) ความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC) และ จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (White Blood Cell Count: WBC) มีผลการศึกษาดังนี้

ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน RBC สูงที่สุด ($2.90 \pm 0.05 \times 10^6$ เซลล์/ลบ.มม.) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ($2.21 \pm 0.04 \times 10^6$ เซลล์/ลบ.มม.) แสดงถึงการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดแดงจากการเสริม *Schizochytrium* sp.

ค่าฮีโมโกลบินสูงสุดในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ (13.73 ± 0.31 g/dL) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (9.97 ± 1.44 g/dL) แสดงว่าการเสริม *Schizochytrium* sp. ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการขนส่งออกซิเจนผ่านเม็ดเลือดแดง

ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริตสูงที่สุด (35.00 ± 1.00 %) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (21.00 ± 1.00 %) และแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของปริมาณเม็ดเลือดแดงในปลา

WBC (เม็ดเลือดขาว) ของปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 6 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวเฉลี่ยสูงที่สุด ($8.4 \pm 1224.91 \times 10^3$ cells/mm³) ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 3 ($8.29 \pm 1.44 \times 10^3$ cells/mm³) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ

MVC ของปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 4 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณของเม็ดเลือดแดงเฉลี่ยสูงที่สุด (124.26 ± 13.53 fl) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับ ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2, 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุม (94.85 ± 3.02 fl)

MCH ของปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบิน (Hb) ในเซลล์เม็ดเลือดแดง 1 เซลล์ เฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 47.43 ± 1.81 pg/cell แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ

MCHC ของปลาแรดกลุ่มในกลุ่มควบคุม มีความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงเฉลี่ยสูงที่สุด (47.72 ± 8.75 g/dl) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ (39.28 ± 1.98 g/dl) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ (Table 6)

การเพิ่มขึ้นของค่าเม็ดเลือดแดง (RBC) ฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต ในปลาที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นถึงผลบวกของการเสริม *Schizochytrium* sp. ต่อการปรับปรุงสมรรถนะการขนส่งออกซิเจนในเลือดของปลา ซึ่งเป็นผลที่มีนัยสำคัญทางสถิติและสามารถนำไปสู่การพัฒนาสุขภาพและประสิทธิภาพการเติบโตของปลาได้

งานวิจัยหลายฉบับสนับสนุนว่าการเสริม DHA (Docosahexaenoic acid) และ EPA (Eicosapentaenoic acid) ที่พบใน *Schizochytrium* sp. สามารถส่งเสริมสุขภาพโลหิตในสัตว์น้ำ

เช่นเดียวกับผลที่พบในงานวิจัยของ Sargent *et al.* (1999) กลุ่มที่ได้รับ *Schizochytrium* sp. ในระดับ 6 % มีค่า WBC สูงที่สุด ซึ่งอาจบ่งชี้ถึงการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตาม การเพิ่มขึ้นของ WBC ในระดับที่สูงมากอาจสะท้อนถึงความเครียดหรือการตอบสนองต่อปัจจัยที่ก่อให้เกิดการอักเสบ ซึ่งอาจเป็นผลกระทบด้านลบต่อสุขภาพของปลา. นอกจากนี้ Felipe *et al.* (2020) ยังพบว่าการเสริม *Schizochytrium* sp. ในปริมาณ 1.2 % ในอาหารให้ปลานิลกินสามารถเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดงในปลานิลได้

Table 6 Haematological parameters of Giant gourami (*Osphronemus goramy*) following 60 days of supplementation with various concentrations of *Schizochytrium* sp.

Experimental diets	RBC ($\times 10^6$ cells/mm ³)	Hemoglobin(g/dl)	Haematocrit (%)	MVC (fl)	MCH (pg/cell)	MCHC (g/dl)	WBC ($\times 10^3$ cells/mm ³)
SZT 0 %	2.21 \pm 0.04 ^b	9.97 \pm 1.44 ^b	21.00 \pm 1.00 ^c	94.85 \pm 3.02 ^b	45.10 \pm 7.12 ^a	47.72 \pm 8.75 ^a	5.17 \pm 0.96 ^b
SZT 2 %	2.90 \pm 0.05 ^a	13.73 \pm 0.31 ^a	35.00 \pm 1.00 ^a	120.81 \pm 1.96 ^a	47.43 \pm 1.81 ^a	39.28 \pm 1.98 ^{ab}	5.22 \pm 0.91 ^b
SZT 4 %	2.80 \pm 0.19 ^a	12.60 \pm 0.26 ^a	34.67 \pm 1.53 ^a	124.26 \pm 13.53 ^a	45.11 \pm 3.62 ^a	36.37 \pm 1.01 ^b	8.29 \pm 1.44 ^a
SZT 6 %	2.67 \pm 0.40 ^a	10.33 \pm 1.70 ^b	30.33 \pm 0.58 ^b	115.37 \pm 17.77 ^{ab}	39.79 \pm 11.84 ^a	34.14 \pm 6.18 ^b	8.40 \pm 1.22 ^a
SZT 8 %	2.55 \pm 0.34 ^a	10.57 \pm 0.12 ^b	30.00 \pm 4.36 ^b	118.35 \pm 16.59 ^{ab}	41.93 \pm 4.89 ^a	35.75 \pm 5.47 ^b	5.39 \pm 1.08 ^b
P-value	0.456	0.004	0.901	0.104	0.68	0.077	0.001

Note: Statistics are reported as the average \pm standard deviation. Differences in values within the same column with distinct super scripts are statistically significant (P<0.05).

2) การตรวจวัดค่าเคมีในเลือดโดยทั่วไป

หลังจากการเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 60 วัน งดให้อาหารปลาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสุ่มปลาชุดการทดลองละ 9 ตัว ทำการสลบปลาโดยใช้น้ำมันกานพลูความเข้มข้น 40 ppm เจาะเลือดปลาจากเส้นเลือดส่วนหาง (puncturing the caudal peduncle) ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร และปล่อยให้เลือดแข็งตัว จากนั้นนำไปปั่นที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เก็บซีรัมเพื่อส่งตรวจค่าเคมีของเลือด ดังนี้ 1) เอนไซม์ Alanine transaminase (ALT) 2) เอนไซม์ Aspartate amino transaminase (AST) 3) Triglyceride 4) Cholesterol 5) HDL และ 6) LDL ผลการทดลองพบว่า ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2, 4, 6 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม มีค่า ALT ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่า ALT อยู่ระหว่าง 1.00-1.67 U/L ในขณะที่ ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 8 เปอร์เซ็นต์ มีค่า ALT (4.00 ± 1.73 U/L) และ AST (43.67 ± 2.08 U/L) สูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่ ค่า AST ของปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์และชุดควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเสริม *Schizochytrium* sp. 2, 4 และ 6 เปอร์เซ็นต์ในอาหารปลาแรด ไม่ส่งผลให้ปริมาณ ALT มีความแตกต่างกันกับชุดควบคุม ในขณะที่การเสริม *Schizochytrium* sp. 8 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้ ALT มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนการเสริม *Schizochytrium* sp. ที่มากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้ค่า AST เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) AST และ ALT เป็นเอนไซม์ทรานส์อะมิเนส (transaminase) ที่สำคัญที่สุด 2 ชนิดในร่างกาย และมักพบในตับ สามารถใช้เป็นค่าที่บ่งชี้การเกิดความผิดปกติของตับได้ (Zhou *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2019) เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดสังเคราะห์จากตับ ดังนั้นเมื่อตับเกิดความผิดปกติขึ้น ปริมาณเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้จะถูกขับออกสู่กระแสเลือดมากขึ้น (Barcellos *et al.*, 2004) ค่าที่สูงขึ้นของ ALT และ AST ในกลุ่มที่ได้รับสารเสริม *Schizochytrium* sp. 8 เปอร์เซ็นต์ อาจบ่งบอกถึงการทำงานของตับที่เพิ่มขึ้นหรือภาวะเครียดของตับ เนื่องจากค่าเหล่านี้เป็นตัวบ่งชี้การทำลายเซลล์ตับหรือตับที่ได้รับภาระเพิ่มขึ้น หากค่าเหล่านี้สูงมากเกินไป อาจหมายถึงผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการเสริม *Schizochytrium* sp. ในปริมาณที่มากเกินไป (Hawkins *et al.*, 2019)

ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เฮอร์เซ็นต์ต์ มีค่า HDL สูงที่สุด (133.67 ± 1.15 mg/dL) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ และมีค่า Triglyceride (94.00 ± 6.08 mg/dL), Cholesterol (239.33 ± 6.35 g/dL) และ LDL (40.67 ± 0.58 mg/dL) ต่ำที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุม ซึ่งมีค่า Triglyceride, Cholesterol และ LDL เท่ากับ 121.67 ± 1.53 mg/dL, 306.33 ± 5.69 g/dL และ 55.00 ± 5.29 mg/dL ตามลำดับ (Table 7)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เฮอร์เซ็นต์ต์ มีผลทำให้ปริมาณ cholesterol และ LDL ในพลาสมา มีแนวโน้มลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา Jensen *et al.* (1988) ที่รายงานการบริโภคอาหารที่มีกรดไขมันกลุ่มโอเมกา 3 ในระดับสูง จะทำให้ปริมาณ very low density lipoprotein (VLDL) และ triglyceride ลดลง การเสริม *Schizochytrium* sp. 2 เฮอร์เซ็นต์ต์ในปลาแรดส่งผลทำให้ปริมาณ cholesterol และ triglyceride ในพลาสมาและตับลดลง โดย HDL ที่เพิ่มขึ้นในพลาสมาจะทำหน้าที่ในการลำเลียง cholesterol เข้าสู่ตับเพื่อทำหน้าที่เผาผลาญ และเปลี่ยนไปเป็นน้ำดีได้ดีขึ้น ดังนั้นเมื่อปริมาณ cholesterol และ triglyceride ลดลง จะมีผลทำให้ร่างกายสังเคราะห์ LDL ลดลงตามไปด้วย (สมพงษ์, 2533; บัณฑิต และคณะ, 2547)

Table 7 Investigation of serum biochemical parameters of Giant gourami (*Osphronemus goramy*) in following 60 days of supplementation with various concentrations of *Schizochytrium* sp.

Experimental diets	ALT (U/L)	AST (U/L)	Triglyceride (mg/dL)	Cholesterol (g/dL)	HDL mg/dL	LDL (mg/dL)
SZT 0 %	1.00±0.00 ^b	18.00±2.00 ^d	121.67±1.53 ^a	306.33±5.69 ^a	103.67±2.31 ^b	55.00±5.29 ^a
SZT 2 %	1.33±0.58 ^b	20.00±2.00 ^{cd}	94.00±6.08 ^c	239.33±6.35 ^b	133.67±1.15 ^a	40.67±0.58 ^b
SZT 4 %	1.67±0.58 ^b	23.33±1.53 ^c	101.33±3.51 ^c	272.00±6.93 ^{ab}	106.33±4.93 ^b	49.67±2.08 ^a
SZT 6 %	1.67±0.58 ^b	35.00±2.65 ^b	109.33±5.13 ^b	277.33±25.54 ^{ab}	114.33±17.10 ^b	54.33±4.16 ^a
SZT 8 %	4.00±1.73 ^a	43.67±2.08 ^a	114.00±3.00 ^{ab}	288.67±54.88 ^{ab}	118.33±4.04 ^b	53.33±2.08 ^a
P-value	0.015	0.000	0.000	0.117	0.009	0.002

Note: Statistics are reported as the average ± standard deviation. Differences in values within the same column with distinct super scripts are statistically significant (P<0.05).

3) กิจกรรมของเอนไซม์คะตาเลส (catalase activity: CAT)

ปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 4 เปอร์เซ็นต์มีกิจกรรมของเอนไซม์คะตาเลสเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 31.03 ± 3.72 U/mL แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ

4) กิจกรรมของเอนไซม์ไมอีโกลเปอร์ออกซิเดส (myeloperoxidase activity: MOP)

ปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์มีกิจกรรมของเอนไซม์ไมอีโกลเปอร์ออกซิเดสเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 1.43 ± 0.13 U/mL แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ

5) กิจกรรมของกลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (GPx)

ปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ มีกิจกรรมของกลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (GPx) เฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 22.09 ± 5.08 U/mL ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับ ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 0 และ 4 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ (17.50 ± 1.62 และ 16.37 ± 1.556 U/mL)

6) กิจกรรมของกลูต้าไธโอน S-ทรานเฟอเรส (GST)

ปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 4 เปอร์เซ็นต์ มีกิจกรรมของกลูต้าไธโอน S-ทรานเฟอเรส (GST) เฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 188.95 ± 24.90 U/mL ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับ ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2, 6 และ 8

เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาแรดกลุ่มในกลุ่มควบคุม (129.08±11.84 U/mL) (Table 8)

กลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (GPx) ถือเป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่ปกป้องเซลล์จากความเสียหายจากออกซิเดชันโดยการเร่งปฏิกิริยาการลด H_2O_2 และลิปิดไฮโดรเพอออกไซด์ ซึ่งเป็นสารออกซิเจนเชิงปฏิกิริยาที่เป็นอันตรายที่สามารถทำลายส่วนประกอบของเซลล์ รวมถึง DNA โปรตีนและลิปิด (Rocha-Santos *et al.*, 2018; Wangkahart *et al.*, 2024) ในการศึกษาครั้งนี้ปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ มี GPx เฉลี่ยสูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 4 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม ในขณะที่ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับ *Schizochytrium* sp. 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ มี GPx ที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการได้รับปริมาณ *Schizochytrium* sp. ที่มากเกินไปมีผลต่อการลดลงของกลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (GPx)

ไมอีโลเปอร์ออกซิเดส (MPO) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญสำหรับปลาหลายชนิด (Castro *et al.*, 2008) การปล่อยไมอีโลเปอร์ออกซิเดสจากนิวโตรฟิล (neutrophils) และโมนไซต์ (monocytes) ในระหว่างการอักเสบ มีบทบาทสำคัญในภูมิคุ้มกันแบบไม่เฉพาะเจาะจง เนื่องจากช่วยเสริมสร้างการทำงานของนิวโตรฟิล (Lau *et al.*, 2005) และมาโครฟาจ (macrophages) (Grattendick *et al.*, 2002) MPO สามารถผลิตกรดไฮโปคลอรัส (hypochlorous acid) จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคลอไรด์ไอออนในระหว่างกระบวนการ the neutrophil's respiratory burst (Dalmo *et al.*, 1997) นอกจากนี้ยังออกซิไดซ์ไทโรซีน (tyrosine) เป็นไทโรซิลเรดิคัล (tyrosyl radical) โดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารออกซิไดซ์ กรดไฮโปคลอรัสและไทโรซิลเรดิคัล เป็นสารที่มีพิษต่อเซลล์ ดังนั้นจึงถูกใช้โดยนิวโตรฟิลเพื่อทำลายเชื้อแบคทีเรียและเชื้อโรคในร่างกาย (Srivastava and Pandey, 2015) ดังนั้นการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของ MOP ในปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จึงบ่งชี้ได้ว่าการเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารปลาจึงมีส่วนช่วยในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในปลาแรดได้

เอนไซม์คะตาเลส (catalase activity: CAT) และกลูต้าไธโอน S-ทรานเฟอเรส (GST) ทำหน้าที่เป็นตัวบ่งชี้สถานะต้านอนุมูลอิสระในปลา การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารปลาไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์คะตาเลส แต่มีผลดีต่อการเพิ่มขึ้นของกลูต้าไธโอน S-ทรานเฟอเรส ซึ่งเป็นสิ่งที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกายปลา (Yang et al., 2019; Xu et al., 2020; Wangkahart et al., 2024) ดังนั้นการเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารปลาจึงสามารถกระตุ้นระบบป้องกันอนุมูลอิสระของปลาได้

Table 8 Investigation of the innate immunological response in Giant gourami (*Osphronemus goramy*) through 60-day experimental diets with various concentration of *Schizochytrium* sp.

Experimental diets	CAT (U/mL)	MOP (U/mL)	GPx (U/mL)	GST (U/mL)
SZT 0 %	26.06±1.17 ^a	0.57±0.31 ^c	19.26±0.82 ^{ab}	129.08±11.84 ^b
SZT 2 %	26.06±4.25 ^a	1.43±0.13 ^a	22.09±5.08 ^a	179.68±11.69 ^a
SZT 4 %	31.03±3.72 ^a	1.05±0.12 ^b	19.65±2.14 ^{ab}	188.95±24.90 ^a
SZT 6 %	29.46±7.63 ^a	0.96±0.08 ^b	17.50±1.62 ^b	184.31±23.37 ^a
SZT 8 %	27.48±5.87 ^a	1.13±0.09 ^{ab}	16.37±1.55 ^b	186.23±17.80 ^a
P-value	0.982	0.000	0.012	0.000

Note: Statistics are reported as the average ± standard deviation of three replicates. Differences in values within the same row with distinct superscripts are statistically significant (P<0.05).

7) การทดสอบความต้านทานโรค (challenge test)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 60 วัน ปลาจากแต่ละกลุ่มการทดลองจะถูกสุ่มเพื่อทดสอบความต้านทานโรคจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ผลการศึกษาพบว่า ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับ

อาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายสะสมสูงที่สุดเท่ากับ 76.67 ± 5.77 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 4, 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุมซึ่งมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 43.33 ± 5.77 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริม *Schizochytrium* sp. มีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการรอดตายของปลาแรดหลังจากได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้พบว่าหลังจากปลาได้รับเชื้อเป็นเวลา 7 วัน อัตราการรอดตายสะสมของปลาแรดจะมีค่าคงที่และไม่มีการตายของปลาแรดเพิ่มตลอดระยะเวลา 14 วันที่ทำการศึกษา สอดคล้องกับการศึกษาของ Lee *et.al* (2022) ที่ศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ทดแทนน้ำมันปลาในอัตราส่วน 0% (CON), 20% (T20), 40% (T40), 60% (T60), 80% (T80), และ 100% ต่อการปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน และความต้านทานต่อโรคในปลา Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) ผลการศึกษาพบว่า ปลาปลา Rainbow Trout ในกลุ่มควบคุมจะมีอัตราการรอดตายเฉลี่ยสะสมต่ำกว่ากลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 9 และ Figure 8)

Table 9 Cumulative survival rate after challenge with *Aeromonas hydrophilla* for 7 days in Giant gourami (*Osphronemus goramy*) fed the experimental diets for 60 Days.

Experimental diets	Cumulative Survival (%)						
	Day1	Day2	Day3	Day4	Day5	Day6	Day7
SZT 0 %	93.33±5.77 ^a	90.00±0.00 ^a	66.67±5.77 ^b	63.33±5.77 ^b	53.33±5.77 ^b	50.00±0.00 ^b	43.33±5.77 ^b
SZT 2 %	100.00±0.00 ^a	96.67±5.77 ^a	93.33±5.77 ^a	90.00±0.00 ^a	83.33±5.77 ^a	80.00±0.00 ^a	76.67±5.77 ^a
SZT 4 %	100.00±0.00 ^a	96.67±5.77 ^a	90.00±0.00 ^a	86.67±5.77 ^a	80.00±0.00 ^a	76.67±5.77 ^a	73.33±5.77 ^a
SZT 6 %	96.67±5.77 ^{ab}	93.33±5.77 ^a	90.00±0.00 ^a	86.67±5.77 ^a	76.67±5.77 ^a	73.33±5.77 ^a	66.67±5.77 ^a
SZT 8 %	96.67±5.77 ^{ab}	96.67±5.77 ^a	90.00±10.00 ^a	86.67±5.77 ^a	76.67±5.77 ^a	73.33±5.77 ^a	66.67±5.77 ^a
P-value	0.382	0.452	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000

Note: Statistics are reported as the average \pm standard deviation of three replicates. Differences in values within the same row with distinct superscripts are statistically significant ($P < 0.05$).

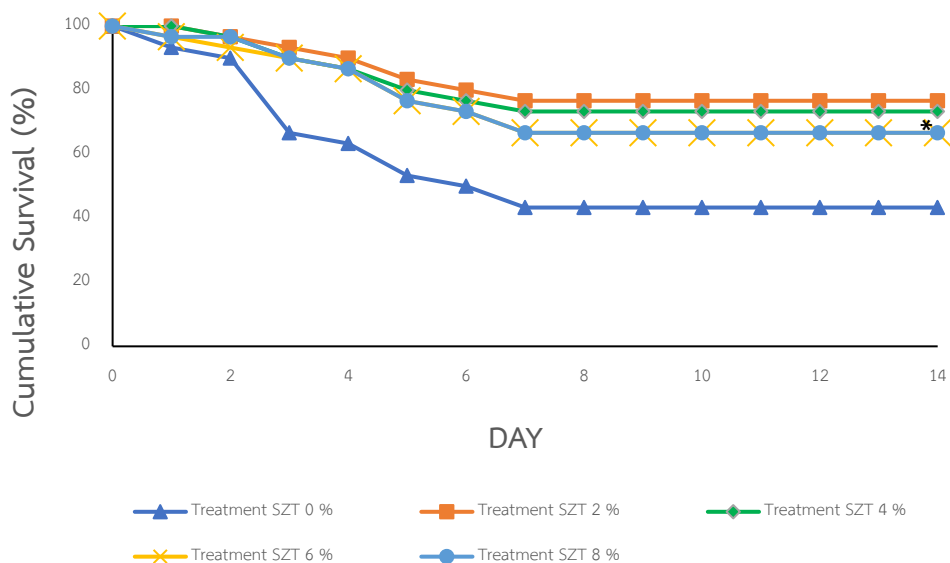


Figure 8 Cumulative survival rate after challenge with *Aeromonas hydrophilla* for 14 days in Giant gourami (*Osphronemus goramy*) fed the experimental diets for 60 Days. Values are means from triplicate groups of fish where asterisks (*) indicates significant differences among groups ($p < 0.05$)

3. การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ต่อการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของปลาแรด

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 60 วัน ปลาจากแต่ละกลุ่มการทดลองจะถูกสุ่มเพื่อประเมินคุณค่าทางโภชนาการผลการทดลองพบว่า ความชื้นในเนื้อปลาทุกกลุ่มการทดลองมีค่าที่ใกล้เคียงกัน โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ค่าความชื้นอยู่ในช่วง 79.87 ถึง 80.30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอาหารแต่ละชนิดไม่ส่งผลต่อปริมาณความชื้นในเนื้อปลา ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณโปรตีน (17.65% และ 17.49% ตามลำดับ) สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (17.09%) และกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ (17.20 ± 0.14 % และ 17.06 ± 0.04 %) ไม่มีความแตกต่างที่

มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในปริมาณไขมันระหว่างกลุ่มอาหารต่าง ๆ (โดยทุกกลุ่มมีค่าปริมาณไขมันอยู่ในช่วง 1.72 ถึง 1.87 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเถ้าในเนื้อปลามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าปริมาณเถ้าสูงสุด (0.79%) ในขณะที่กลุ่มอื่นๆ มีค่าปริมาณเถ้าอยู่ในช่วง 0.59 ถึง 0.69 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตไม่แสดงความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในทุกกลุ่มการทดลองโดยมีค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่ในช่วง 0.01 ถึง 0.25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปริมาณเส้นใยตรวจไม่พบในเนื้อปลาของทุกกลุ่มการทดลอง (ND) (Table 10)

Table 10 The whole-body composition of a giant gourami (*Osphronemus goramy*) fed experimental diets with varying concentrations of *Schizochytrium* sp. for 60 days.

Experimental diets	Moisture	Protein	Fat	Ash	Carbohydrate	Fiber
SZT 0 %	80.28±0.08 ^a	17.09±0.06 ^b	1.79±0.06 ^a	0.59±0.07 ^b	0.25±0.22 ^a	N.D.
SZT 2 %	79.87±0.44 ^a	17.65±0.11 ^a	1.72±0.16 ^a	0.66±0.04 ^{ab}	0.10±0.28 ^a	N.D.
SZT 4 %	79.96±0.57 ^a	17.49±0.46 ^{ab}	1.83±0.10 ^a	0.69±0.12 ^{ab}	0.03±0.03 ^a	N.D.
SZT 6 %	80.17±0.25 ^a	17.20±0.14 ^b	1.83±0.12 ^a	0.79±0.15 ^a	0.01±0.02 ^a	N.D.
SZT 8 %	80.30±0.25 ^a	17.06±0.04 ^b	1.87±0.13 ^a	0.69±0.08 ^{ab}	0.08±0.07 ^a	N.D.
P-value	0.516	0.34	0.564	0.246	0.459	

Note: Statistics are reported as the average ± standard deviation. Differences in values within the same row with distinct superscripts are statistically significant ($P<0.05$). Abbreviations: N.D.: not detected.

ปริมาณกรดไขมัน (fatty acid) ตามที่แสดงใน Table 11 ประกอบด้วยชนิดของกรดไขมันในร่างกายของปลาแรด ที่ได้รับอาหาร 5 กลุ่ม ได้แก่ อาหารผสม *Schizochytrium* sp. 0, 2, 4, 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ปลาแรดในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม

Schizochytrium sp. 2 เฮอร์เซ็นต์ (ชุดการทดลองที่ 2) มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids: SFAs) และ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated Fatty Acids, MUFAs) สูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ โดยกรดไขมันอิ่มตัวที่มีปริมาณสูงที่สุด คือ Palmitic ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวที่มีปริมาณสูงที่สุด คือ Oleic acid

ในขณะที่ปลาแรดในกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 8 เฮอร์เซ็นต์ (ชุดการทดลองที่ 5) มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acids, PUFAs) และ อัตราส่วนของโอเมกา 3 ต่อโอเมกา 6 (n3/n6 PUFAs) สูงที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ ทั้งนี้พบว่า ชุดการทดลองที่ 5 มีปริมาณ Docosahexaenoic acid (DAH) ในปริมาณที่สูงที่สุดซึ่งมีความสอดคล้องกับ ปริมาณ *Schizochytrium* sp. ที่ใส่ในอาหารอาหารทดลอง ทั้งนี้เนื่องจาก *Schizochytrium* sp. ถือเป็นแหล่งของกรดไขมันโอเมก้า-3 ชนิด DHA (Richmond, 2004; Chisti, 2007) ดังนั้นปริมาณของ DHA ที่ตรวจวัดได้ในเนื้อปลา จึงมีความสัมพันธ์กับระดับของ *Schizochytrium* sp. ที่ใส่ลงไปในการอาหารปลา นอกจากนี้ยังพบว่ามีการไขมันชนิด α -Linolenic acid และ Eicosatrienoic acid ซึ่งจัดเป็นกลุ่มของกรดไขมันโอเมก้า-3 เช่นเดียวกัน ที่ตรวจวัดได้สูงสุดจากปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 6 และ 8 เฮอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตาม แม้ว่าชุดการทดลองที่ 5 จะมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acids, PUFAs) และอัตราส่วนของโอเมกา 3 ต่อโอเมกา 6 (n3/n6 PUFAs) สูงที่สุด แต่ปริมาณกรดไขมันชนิดอื่น ๆ พบว่ามีค่าต่ำกว่า ปลาแรดในชุดการทดลองที่ 2

Table 11 The fatty acid composition of Giant gourami (*Osphronemus goramy*) raised on experimental diets for 60 days.

Parameters	Experimental diets					P-value	
	SZT 0 %	SZT 2 %	SZT 4 %	SZT 6 %	SZT 8 %		
Saturated fatty acids (SFAs)							
C10:0	Capric acid	0.006±0.00 ^b	0.009±0.00 ^a	Nd.	Nd.	Nd.	0.006±0.00 ^b
C11:0	Undecylic acid	0.004±0.000 ^a	0.005±0.001 ^a	Nd.	Nd.	Nd.	0.004±0.000 ^a
C12:0	Lauric acid	0.133±0.001 ^b	0.217±0.000 ^a	0.089±0.000 ^d	0.123±0.000 ^c	0.088±0.001 ^d	0.133±0.001 ^b
C13:0	Tridecylic acid	0.018±0.001 ^b	0.023±0.001 ^a	0.013±0.001 ^d	0.015±0.003 ^c	0.012±0.001 ^d	0.018±0.001 ^b
C14:0	Myristic acid	1.054±0.005 ^b	1.212±0.004 ^a	0.907±0.003 ^d	0.955±0.013 ^c	0.858±0.001 ^e	1.054±0.005 ^b
C15:0	Pentadecylic acid	0.210±0.003 ^b	0.284±0.010 ^a	0.161±0.003 ^d	0.188±0.000 ^c	0.194±0.001 ^c	0.210±0.003 ^b
C16:0	Palmitic acid	25.930±0.044 ^c	26.303±0.023 ^a	26.110±0.013 ^b	24.931±0.033 ^d	24.834±0.065 ^d	25.930±0.044 ^c
C17:0	Margaric acid	0.358±0.005 ^b	0.387±0.003 ^a	0.377±0.006 ^a	0.311±0.004 ^d	0.331±0.002 ^c	0.358±0.005 ^b

C18:0	Stearic acid	7.718±0.059 ^b	8.498±0.015 ^a	7.640±0.018 ^c	7.284±0.006 ^e	7.468±0.006 ^d	7.718±0.059 ^b
C20:0	Arachidic acid	0.354±0.001 ^c	0.365±0.003 ^b	0.399±0.002 ^a	0.341±0.001 ^d	0.320±0.001 ^e	0.354±0.001 ^c
C21:0	Heneicosylic acid	0.0206±0.001 ^b	0.0506±0.004 ^a	0.0446±0.004 ^a	Nd.	Nd.	0.0206±0.001 ^b
C22:0	Behenic acid	0.019±0.001 ^b	0.022±0.000 ^a	Nd.	Nd.	Nd.	0.019±0.001 ^b
C24:0	Lignoceric acid	0.196±0.013 ^c	0.240±0.001 ^a	0.220±0.000 ^b	0.190±0.007 ^{cd}	0.172±0.007 ^d	0.196±0.013 ^c
ΣSFAs		36.76±0.10^b	37.62±0.02^a	35.96±0.01^c	34.34±0.01^c	34.28±0.06^c	0.000
Monounsaturated fatty acids (MUFAs)							
C14:1	Myristoleic acid	0.021±0.001 ^c	0.028±0.000 ^a	0.022±0.001 ^c	0.023±0.000 ^b	0.015±0.001 ^d	0.000
C15:1	Pentadecenoic acid (<i>cis</i> -10)	0.210±0.003 ^b	0.284±0.010 ^a	0.161±0.003 ^d	0.188±0.000 ^c	0.194±0.001 ^c	0.000
C16:1	Palmitoleic acid	1.769±0.002 ^d	2.017±0.006 ^a	1.921±0.001 ^b	1.833±0.005 ^c	1.616±0.004 ^e	0.000
C17:1	Heptadecenoic acid(<i>cis</i> -10)	0.025±0.001 ^{bc}	0.041±0.002 ^a	0.024±0.001 ^c	0.030±0.001 ^b	0.023±0.004 ^c	0.001

C18:1 n9t	Elaidic acid	0.564±0.000 ^a	0.103±0.018 ^d	0.123±0.025 ^d	0.206±0.013 ^b	0.163±0.008 ^c	0.000
C18:1 n9c	Oleic acid	34.047±0.004 ^b	34.557±0.018 ^a	33.308±0.014 ^c	31.445±0.023 ^d	29.358±0.034 ^e	0.000
C20:1	Gondoic acid	1.150±0.021 ^b	1.567±0.163 ^a	1.147±0.006 ^b	1.016±0.179 ^{bc}	0.832±0.013 ^c	0.008
C22:1 n9	Erucic acid	Nd.	Nd.	0.088±0.001 ^c	0.105±0.004 ^b	0.147±0.008 ^a	0.000
C24:1	Nervonic acid	0.024±0.000 ^b	0.034±0.008 ^a	Nd.	Nd.	Nd.	0.001
ΣMUFAs		37.81±0.03^b	38.63±0.17^a	36.79±0.01^c	34.85±0.04^d	32.35±0.03^e	0.000
Polyunsaturated fatty acids							
(PUFAs)							
C18:2 n6t	Linoelaidic acid	0.041±0.001 ^b	0.067±0.001 ^a	Nd.	Nd.	Nd.	0.000
C18:2 n6c	Linoleic acid	19.163±0.003 ^b	19.930±0.007 ^a	17.170±0.012 ^d	18.740±0.001 ^c	16.740±0.027 ^e	0.000
C18:3 n6	γ -Linolenic acid	0.273±0.004 ^b	0.287±0.001 ^a	0.088±0.011 ^c	0.100±0.004 ^c	0.062±0.003 ^d	0.000
C18:3 n3	α -Linolenic acid	1.337±0.037 ^{ab}	0.975±0.128 ^c	1.132±0.025 ^{bc}	1.510±0.008 ^a	1.420±0.120 ^a	0.006
C20:2 n6	Eicosadienoic acid	1.274±0.001 ^a	1.156±0.002 ^b	0.975±0.004 ^c	0.898±0.058 ^d	0.790±0.011 ^e	0.000

C20:3 n6	Dihomo- γ -linolenic acid	0.798±0.005 ^a	0.803±0.007 ^a	0.347±0.001 ^b	0.346±0.008 ^b	0.292±0.005 ^c	0.000
C20:3 n3	Eicosatrienoic acid	0.228±0.004 ^c	0.235±0.004 ^c	0.290±0.005 ^b	0.323±0.000 ^a	0.316±0.016 ^a	0.000
C20:4 n6	Arachidonic acid	0.503±0.012 ^b	0.538±0.010 ^a	0.245±0.001 ^d	0.304±0.001 ^c	0.319±0.008 ^c	0.000
C22:2 n3	Docosadienoic acid	0.053±0.005 ^b	0.062±0.001 ^a	0.041±0.004 ^c	0.036±0.001 ^c	0.034±0.001 ^c	0.001
C22:6 n3	Docosahexaenoic acid	1.375±0.001 ^e	4.335±0.004 ^d	7.202±0.004 ^c	8.857±0.001 ^b	13.515±0.110 ^a	0.000
Σ PUFAs		25.05±0.02 ^e	28.39±0.13 ^c	27.49±0.02 ^d	31.04±0.05 ^b	33.49±0.09 ^a	0.000
Σ n3/ Σ n6 PUFAs		0.14±0.01 ^e	0.25±0.03 ^d	0.46±0.01 ^c	0.53±0.00 ^b	0.84±0.04 ^a	0.000

Note: Statistics are reported as the average \pm standard deviation. Differences in values within the same row with distinct superscripts are statistically significant ($P < 0.05$).

Abbreviations: N.D.: not detected.

4. การศึกษาผลของการใช้ *Schizochytrium* sp. ต่อคุณภาพน้ำในการอนุบาลและการเลี้ยงปลาแรด

เมื่อพิจารณาคุณสมบัติของคุณภาพน้ำในการอนุบาล และการเลี้ยงปลาแรดแต่ละชุดการทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยของน้ำอยู่ที่ $26.77 \pm 0.06 - 29.77 \pm 0.57$ องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยเท่ากับ $7.22 \pm 0.06 - 8.28 \pm 0.15$ โดยอุณหภูมิของน้ำและค่าความเป็นกรด-ด่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 12-13) ซึ่งสอดคล้องกับ Munsin and Paipan (1995) ที่กล่าวว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับสัตว์น้ำ มีค่าอยู่ในช่วง 25-32 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 6.5-9.0 เช่นเดียวกับ Maitree and Jaruwan (1985) ค่าคุณสมบัติของน้ำอยู่ในระดับปกติในการอาศัยของปลาในเขตร้อนมีความเหมาะสมไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ ส่วนปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในการทดลองอยู่ที่ $5.24 \pm 0.42 - 6.81 \pm 0.18$ มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าออกซิเจนที่ละลายน้ำอยู่ในระดับที่ปลาสามารถอาศัยอยู่ได้แต่ยังมีปริมาณน้อยเกินกว่าค่ามาตรฐาน ซึ่งสอดคล้องกับ Yoshikawa *et al.* (1969) ได้กล่าวว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของปลาไม่ควรต่ำกว่า 5.7 มิลลิกรัมต่อลิตร หากน้อยกว่านี้อาจทำให้ปลาเกิดการเจริญเติบโตช้าและตายหากขาดออกซิเจนนานเกินไป

ความเข้มข้นเฉลี่ยของแอมโมเนียและไนไตรท์อยู่ในช่วง $0.11 \pm 0.01 - 0.29 \pm 0.16$ และ $0.21 \pm 0.04 - 0.34 \pm 0.28$ มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และไม่มีผลเสียต่อการเจริญเติบโตของลูกปลาแรด (ตารางที่ 10 และ 11) แอมโมเนียส่งผลต่อการเจริญเติบโต การรอดตายของปลาชนิดต่างๆ และผลต่อตัวชี้วัดคุณภาพน้ำต่างๆ Pinto *et al.* (2007) รายงานว่าเมื่อนำปลาไปเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ไม่ทำให้ปลาตาย จะมีผลทำให้ปลากินอาหารและมีการเจริญเติบโตลดลง นอกจากนี้ Schram *et al.* (2010) รายงานว่าแอมโมเนียในรูปไม่แตกตัวที่ความเข้มข้น 0.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้การเจริญเติบโตและการกินอาหารของปลาดุกแอฟริกาลดลง ดังนั้น เพื่อให้ได้รับลูกพันธุ์ปลาให้มีคุณภาพดี สุขภาพ แข็งแรง ต้านทานโรค ควรควบคุมค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียรวมและแอมโมเนียอิสระให้ อยู่ในที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำ และควรปฏิบัติตามข้อแนะนำของ FAO/NACA (1995) ซึ่งได้แนะนำมาตรฐานแอมโมเนียรวม ไม่ควรเกิน 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนไตรท์เป็นผลผลิตของแอมโมเนียออกซิเดชัน โดย Camargo and Alonso (2006) ได้รายงานว่าคุณภาพของไนไตรท์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำควรมีไม่เกิน 0.08-0.35 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Nootong *et al.* (2011) กล่าวว่า ไนไตรท์หากมีการสะสมในบ่อเลี้ยงมากกว่า 1

มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้ความสามารถในการรับออกซิเจนของสัตว์น้ำต่ำกว่าปกติ ซึ่งจะมีผลเสียมาก หากสภาพภายในบ่อเลี้ยงมีออกซิเจนต่ำและอุณหภูมิสูง

Table 12 Water quality in nursing of Giant gourami (*Osphronemus goramy*) fingerlings raised on experimental diets for 30 days.

Water quality parameters	Experimental diets				
	SZT 0 %	SZT 2 %	SZT 4 %	SZT 6 %	SZT 8 %
pH	8.20 ± 0.10 ^a	8.28 ± 0.15 ^a	8.22 ± 0.03 ^a	8.18 ± 0.05 ^a	8.22 ± 0.05 ^a
Dissolved Oxygen (mg/l)	6.64 ± 0.41 ^a	6.29 ± 0.10 ^a	6.38 ± 0.48 ^a	6.22 ± 0.40 ^a	6.81 ± 0.18 ^a
Ammonia (mg/l)	0.14 ± 0.17 ^a	0.16 ± 0.13 ^a	0.11 ± 0.31 ^a	0.18 ± 0.07 ^a	0.13 ± 0.06 ^a
Nitrite (mg/l)	0.26 ± 0.08 ^a	0.21 ± 0.04 ^a	0.27 ± 0.28 ^a	0.25 ± 0.27 ^a	0.28 ± 0.05 ^a
Temperature (°C)	26.80 ± 0.17 ^a	26.73 ± 0.06 ^a	26.87 ± 0.12 ^a	26.53 ± 0.06 ^a	26.77 ± 0.06 ^a

Note: Statistics are reported as the average ± standard deviation. Differences in values within the same row with distinct superscripts are statistically significant (P<0.05).

Table 13 Water quality in rearing of Giant gourami (*Osphronemus goramy*) raised on experimental diets for 60 days.

Water quality parameters	Experimental diets				
	SZT 0 %	SZT 2 %	SZT 4 %	SZT 6 %	SZT 8 %
pH	7.26 ± 0.15 ^a	7.32 ± 0.18 ^a	7.25 ± 0.05 ^a	7.28 ± 0.15 ^a	7.22 ± 0.06 ^a
Dissolved Oxygen (mg/l)	5.63 ± 0.21 ^a	5.29 ± 0.12 ^a	5.28 ± 0.18 ^a	5.24 ± 0.42 ^a	5.81 ± 0.38 ^a
Ammonia (mg/l)	0.27 ± 0.14 ^a	0.28 ± 0.11 ^a	0.24 ± 0.34 ^a	0.29 ± 0.16 ^a	0.26 ± 0.33 ^a
Nitrite (mg/l)	0.31 ± 0.30 ^a	0.28 ± 0.16 ^a	0.34 ± 0.28 ^a	0.26 ± 0.27 ^a	0.29 ± 0.30 ^a
Temperature (°C)	29.40 ± 0.57 ^a	29.50 ± 0.64 ^a	29.54 ± 0.64 ^a	29.49 ± 0.55 ^a	29.77 ± 0.57 ^a

Note: Statistics are reported as the average ± standard deviation. Differences in values within the same row with distinct superscripts are statistically significant ($P < 0.05$).

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริม *Schizochytrium* sp. 2 เเปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีส่วนช่วยในการเพิ่มอัตราการรอดตายในระหว่างการอนุบาลลูกปลาแรด และสามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตทั้งด้านน้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการรอดตายในการเลี้ยงปลาแรดได้ดีที่สุด รวมทั้งยังมีผลต่อสุขภาพปลาโดยจากการตรวจวัดค่าโลหิตวิทยาพบว่า การเพิ่มขึ้นของค่าเม็ดเลือดแดง ฮีโมโกลบิน และ ฮีมาโตคริต ในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เเปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นถึงผลบวกของการเสริม *Schizochytrium* sp. ต่อการปรับปรุงสมรรถนะการขนส่งออกซิเจนในเลือดของปลา ซึ่งเป็นผลที่มีนัยสำคัญทางสถิติและสามารถนำไปสู่การพัฒนาสุขภาพและประสิทธิภาพการเติบโตของปลา การตรวจวัดค่าเคมีในเลือดโดยทั่วไปพบว่า ปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เเปอร์เซ็นต์ มีค่า HDL สูงที่สุด และมีค่า Triglyceride, Cholesterol และ LDL ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในส่วนของระบบภูมิคุ้มกันที่มีการตรวจวัดพบว่า MOP และ GST ของปลาแรดที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เเปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม จึงบ่งชี้ได้ว่าการเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารปลามีส่วนช่วยในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและกระตุ้นระบบป้องกันอนุมูลอิสระของปลาแรดได้ นอกจากนี้การเสริม *Schizochytrium* sp. ยังมีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการรอดตายของปลาแรดหลังจากได้รับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในด้านคุณค่าทางโภชนาการ พบว่าปลาแรดกลุ่มที่ได้รับอาหารผสม *Schizochytrium* sp. 2 เเปอร์เซ็นต์ มีปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาที่สูงกว่าชุดควบคุม และมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acids: SFAs) และ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated Fatty Acids, MUFAs) สูงที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการทดลองอื่น ๆ โดยกรดไขมันอิ่มตัวที่มีปริมาณสูงสุด คือ Palmitic ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวที่มีปริมาณสูงสุด คือ Oleic acid การเสริม *Schizochytrium* sp. มีผลทำให้ปริมาณ Docosahexaenoic acid (DAH) ในเนื้อปลามีปริมาณที่สูงขึ้นแต่หากใช้ในปริมาณที่มากกว่า 2 เเปอร์เซ็นต์จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพปลา ดังนั้นการเสริม *Schizochytrium* sp. 2 เเปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัมจึงเป็นปริมาณที่มีความเหมาะสมที่จะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และส่งเสริมสุขภาพในการเลี้ยงปลาแรดให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กมลกาญจน์ จิฎกกาญจน์. 2551. โอมะก้า-3 กรดไขมันดีมีประโยชน์. กรุงเทพฯ: กลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ.
- กรมประมง. 2566 ก. กรมประมงผลักดัน 14 สัตว์น้ำจืด เพื่อขับเคลื่อนและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต มุ่งยกระดับเศรษฐกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำไทย. [online] Available https://www4.fisheries.go.th/dof/news_local/1210/172202. [2566, กันยายน 25].
- กรมประมง. 2566 ข. แผนพัฒนาปฏิบัติการปลาแรด (2563-2565). [online] Available https://www4.fisheries.go.th/local/index.php/main/view_qr_group/1425/10115. [2566, กันยายน 25].
- บัณฑิต ยวงสร้อย อรพินท์ จินตสถาพร ประทีภย์ ตาบทิพย์วรรณ และสงศรี มหาสวัสดิ์. 2547. ผลของการใช้น้ำมันปลาทูน่าต่อสุขภาพของปลานิล (*Oreochromis niloticus*). ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42: สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. น. 19-27.
- ปิยารมณ พวงช่อ ปัทมา ระตะนะอาพร ชลอ ลี้มสุวรรณ และ นิตี ชูเชิด. 2552. ผลของ *Schizochytrium* sp. ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*, Boone) ในน้ำความเค็มต่ำและปกติ. น. 117-123 ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47: สาขาประมง. กรุงเทพฯ.
- เมรานิ อินคำ. 2563. การเสริมโอมะก้า-3 เพื่อเพิ่มมูลค่าปลานิลอินทรีย์ในระบบไบโอฟลอค. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.
- ยุพินท์ วิวัฒน์ชัยเศรษฐ์ และ รัชนิบูลย์ ทิพย์เนตร. 2557. การเพาะเลี้ยงปลาแรด. กรมประมง, สำนักพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการประมง ส่วนเผยแพร่การประมง ฝ่ายเผยแพร่. กรุงเทพฯ. 26 น.

วชิรนนท์ แก้วตาปี และ ประธาน วาดวิจิตร. 2554. การใช้พืชสมุนไพรผสมอาหารเพื่อเร่งการเจริญเติบโต

ของปลานิล. วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่. 12(2): 121-131.

วิฑูรย์ โมฬ สุทิตา เข็มพะกา และ นายเฉลิมชัย หอมตา. 2557. ผลของสัดส่วนน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันปลาในอาหารที่มีข้าวโพด และกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบหลัก ต่อสมรรถนะการผลิตของไก่ไข่ และอัตราส่วนระหว่างกรดไขมันชนิดโอเมก้า-6 และโอเมก้า-3 ในไข่แดง. รายงานการวิจัย. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา. 38 น.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2543. โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 2.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะประมง ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, กรุงเทพฯ. 255 น.

สุดชาติ ไชยแสง, บัณฑิต ยวงสร้อย และ สุธี วงศ์มณีประทีป. 2556. การเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในปลานิลรุ่น. แก่นเกษตร. ฉบับพิเศษ 1: 129-134.

สุทธิรัตน์ ขาวปากกรอ และ ปิยวรรณ ไกรนรา. 2561. ลักษณะทางกายภาพของเมล็ดข้าวและคุณค่าทางโภชนาการของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดนราธิวาสและยะลา 8 สายพันธุ์. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 23 (2): 1123-1134.

สมถวิล จริตควร และ สุदारัตน์ สอนจิตร. 2562. ทดสอบโคโคทริคส์จากระบบนิเวศชายฝั่งทะเลจังหวัดจันทบุรี (ป่าชายเลน): ความหลากหลายทางชีวภาพและการคัดแยก เพื่อจัดทำฐานข้อมูลและการนำไปใช้ประโยชน์. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 131 น.

สมพงศ์ สหพงศ์. 2533. น้ำมันปลา น้ำมันลดไขมัน. รวมทรรศน์, กรุงเทพฯ. 79 น.

Amriawati, E., T., Budiardi, M., Setiawati, D., Rohmana, J., Ekasari. 2021. Digestive system and growth performance of giant gourami (*Osphronemus goramy* Lacepede) juveniles in biofloc systems fed with different feed types. *Aquaculture research*. 52 (10): 4661-4669.

- AOAC. 2005. Official methods of analysis. (18th ed). Association of Official Analytical Chemistry, Washington, DC, U.S.A.
- Barcellos, L. J. G., Kreutz, L. C., de Souza, C., Rodrigues, L. B., Fioreze, I., Mezzalana Quevedo, R., Cericato, L., Benck Soso, A., Fagundes, M., Conrad, J., de Almeida Lacerda, L., and Terra, S. 2004. Hematological changes in jundiá (*Rhamdia quelen* quoy and *Gaimard pimelodidae*) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects. *Aquaculture* 237, 229–236.
- Camargo, J.A., and A. Alonso 2006. Ecology and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International* 32, pp.831-849.
- Castro, R. M., Piazzon, M. C., Noya, M., Leiro, J. M., & Lamasa, J. 2008. Isolation and molecular cloning of a fish myeloperoxidase. *Molecular Immunology*, 45, 428-437.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25:294–306.
- Dalmo R. A., Ingebrihtsen K. and Bogwald J. 1997. Non-specific defense mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *J. Fish Dis.* 20, 241-273.
- Doan, H.V., S.H., Hoseinifar, P., Elumalai, S., Tongsir, C., Chitmanat, S., Jaturasitha, S., Doolgindachbaporn. 2018. Effects of orange peels derived pectin on innate immune response, disease resistance and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured under indoor biofloc system. *Fish Shellfish Immunol.* 80: 56–62.

- Dos Santos, S. K. A., Schorer, M., Moura, G. D. S., Lanna, E. A. T., & Pedreira, M. M. 2019. Evaluation of growth and fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with *Schizochytrium* sp. *Aquaculture Research*, 50(4): 1068-1074.
- FAO/NACA. 1995. Regional study and workshop on the environmental assessment and management of aquaculture development. (TCP/RAS/2253). NACA Environment and Aquaculture Development. Series No.1 NACA, Bangkok, Thailand.
- Felipe Pinheiro de Souza, Ed Christian Suzuki de Lima, Angela Maria Urrea-Rojas, Suelen Aparecida Suphoronski, Cé'sar Toshio Facimoto, Jailton da Silva Bezerra Júnior, Thalita Evani Silva de Oliveira, Ulisses de Pa'dua Pereira, Giovana Wingeter Di Santis, Carlos Antonio Lopes de Oliveira, Nelson Mauricio Lopera-Barrerol. 2020. Effects of dietary supplementation with a microalga (*Schizochytrium* sp.) on the hematoimmunological, and intestinal histological parameters and gut microbiota of Nile tilapia in net cages. *PLoS ONE*, 1-19.
- Ganuza, E., T. Benítez-Santana, E. Atalah, O. Vega-Orellana, R. Ganga, and M.S. Izquierdo. 2008. *Cryptothecodinium cohnii* and *Schizochytrium* sp. as potential substitutes to fisheries-derived oils from seabream (*Sparus aurata*) microdiets. *Aquaculture*.277: 109-116.
- Garcia O.A.; Kissinger, K.R.; Trushenski, J.T. 2016. Evaluation of fish meal and fish oil replacement by soybean protein and algal meal from *Schizochytrium limacinum* in diets for giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. *Aquaculture*, 452, 1-8.
- Grattendick, K., Stuart, R., Roberts, E., Lincoln, J., Lefkowitz, S. S., Bollen, A., Moguilevsky, N., Friedman, H., & Lefkowitz, D. L. 2002. Alveolar macrophage activation by myeloperoxidase: A model for exacerbation of lung inflammation. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 26, 716-722.
- Hawkins, R. A., et al. 2019. Liver Enzyme Analysis: ALT and AST in the Context of Hepatic Function. *Journal of Hepatology*, 70(3), 568-573.

- Hu, J.B.; Le, Q.J.; Wang, Y.J.; Kuang, S.W.; Zhang, M.; Gu, W.W.; Sun, Y.B.; Jacques, K.J.; Li, Y.Y.; Zhang, Y.Y. 2020. Comparative transcriptome analysis of olfactory epithelium in large yellow croaker: Evidence for olfactory adaptation to feed phagostimulant in fish. *Aquaculture*, 519, 734920.
- Kaleo, I.V., Q. Gao, B. Liu, C. Sun, Q. Zhou, H. Zhang, F. Shan, Z. Xiong, L. Bo and C. Song. 2019. Effects of *Moringa oleifera* leaf extract on growth performance, physiological and immune response, and related immune gene expression of *Macrobrachium rosenbergii* with *Vibrio anguillarum* and ammonia stress. *Fish & Shellfish Immunology*. 89: 603-613.
- Lau D, Mollnau H, Eiserich J P, Freeman B A, Daiber A, Gehling U M, Brummer J, Rudolph V, Munzel T, Heitzer T, Meinertz T and Baldus S. 2005. Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11 α /CD18 integrins. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **102**, 431-436.
- Lee, S., Park, C.-O., Choi, W., Bae, J., Kim, J., Choi, S., Katya, K., Kim, K.-W., & Bai, S. C. 2022. Partial substitution of fish oil with microalgae (*Schizochytrium* sp.) can improve growth performance, nonspecific immunity and disease resistance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Animals*, 12(9), 1220. <https://doi.org/10.3390/ani12091220>.
- Liu T., Zhang G., Feng Y., Kong C., Ayisi C. L., Huang X., et al. 2019. Dietary soybean antigen impairs growth and health through stress-induced non-specific immune responses in pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.* 84, 124–129.
- Liu Y., C. Kou, Y., Li, J., Li and S. 2023. Fish Gut Microbiome Analysis Provides Insight into Differences in Physiology and Behavior of Invasive Nile Tilapia and Indigenous Fish in a Large Subtropical River in China. *Animals*. 13(15): 2413.

- Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 25(4):402-8.
- Maitree Duangsawat and Jaruan Somsiri. 1985. Water Properties and analysis method for Fisheries research. Inland Fisheries Research Institute, Department of Fisheries. Bangkok.
- Munsin Tuntoolavest and Paipan Phornprapa. 1995. Water quality management and waste water treatment in fish pond and others aquatic animals. Vol. 1 Water quality management. Chulalongkorn University Bookshop, Bangkok
- Nootong, K., P. Pavasant and S. Powtongsook 2011. Effects of Organic Carbon Addition in Controlling Inorganic Nitrogen Concentrations in Biofloc System. *Journal of the World Aquaculture Society* ,42(3), pp.339-346.
- Nugraha, A.A., A. Yustiati, I. Bangkit and Y. Andriani. 2020. Growth performance and survival rate of giant gourami fingerlings (*Osphronemus goramy* Lacepede, 1801) with potassium diformate addition. *World Scientific News*. 143: 103-114.
- Pattama Wiriypattanasub and Wassana Prisingkorn. 2020. Dietary supplementation with *Schizochytrium* sp. on growth performance and survival rate of Climbing perch (*Anabas testudineus*). *KHON KAEN AGR. J.* 48 (3): 673-678.
- Pinto, W., Aragao, C., Soares, F., Dinis, M.T., & Conceicao, L.E. C. 2007. Growth, Stress response and free amino acid levels in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) chronically exposed to exogenous ammonia. *Aquaculture Research*. 38,1198-1204
- Phinyo, M., S. Pumma, P. Thinjan, E. Wangkahart and W. Soonthornchai. 2024. Effects of dietary fermented soybean meal with Thua nao starter on the growth performance, body composition, and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Reports*. 34: 1-10.

- Ranzani-Paiva, M. J. T., Ishikawa, C. M., Eiras, J. C., & Silveira, V. R. 2013. Stress in fish: Hematological and immunological effects of health management. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(4), 709-719.
- Richmond, A. 2004. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology (1st ed.). Ames, IW: Amos Richmond
- Rocha-Santos, C., Bastos, F. F., Dantas, R. F., Hauser-Davis, R. A., Rodrigues, L. C., Bastos, V. C., et al. 2018. Glutathione peroxidase and glutathione S-transferase in blood and liver from a hypoxia-tolerant fish under oxygen deprivation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163, 604–611.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.089>
- Saiyasaeng, S., B., Yuangsoi, P., Wiriyapattanasub and S., Wongmaneeprateep. 2014. Effects of dietary *Schizochytrium* sp. supplementation on morphological characters and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Khon Kaen Agriculture Journal*. 42: 45–50.
- Sargent, J. R., Bell, J. G., McEvoy, L. A., Tocher, D. R., & Estevez, A. 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177(1-4), 191-199.
- Sarker P.K., A.R. Kapuscinski, A.J. Lanois, E.D. Livesey, K.P. Bernhard, and M.L. Coley. 2016. Towards sustainable aquafeeds: complete substitution of fish oil with marine microalga *Schizochytrium* sp. improves growth and fatty acid deposition in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PLoS ONE*. 11: e0156684.
[doi:10.1371/journal.pone.0156684](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156684).
- Srivastava, P. K. and A. K. Pandey. 2015. Role of immunostimulants in immune responses of fish and shellfish. *Biochem. Cell. Arch*. 15(1): 47-73.
- Wang, Q., W. Han, W. Jin, S. Gao and X. Zhou. 2021. Docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp.: review and prospect. *Food Biotechnology*. 35 (2): 111-135.

- Wangkaharta, E., S. Wachiraamonloed, P.T. Lee, P. A. Subramani, Z. Qi, B.Wang. 2022. Impacts of *Aegle marmelos* fruit extract as a medicinal herb on growth performance, antioxidant and immune responses, digestive enzymes, and disease resistance against *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunol.* 120: 402-410.
- Wangkahar, E., P., Kersanté, J., Phudkliang, S., Nontasan, S., Pholchamat, P., Sunthamala, P.T., Lee, A., Chantiratikul, L., Soonngam and N., Pakdeenarong. 2023. Effects of a free amino acid mixture in replacing dietary fishmeal and reducing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production costs. *Aquaculture Reports.* 32: 1-12.
- Wangkahart, E., Nontasan, S., Phudkliang, J., Pholchamat, S., Sunthamala, P., Taesuk, N., Chantiratikul, A., Xu, H., Qi, Z., Somsoros, W., Gufe, C., Rattanarojpong, T., and Khunrae, P. 2024. New insights into the effect of xylooligosaccharide derived from agricultural waste, single or combined dietary supplementation with mixed probiotics on growth, flesh quality, health condition and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications.* 7(2):100471.
- Xu, A., Shang-Guan, J., Li, Z., Gao, Z., Huang, Y. C., and Chen, Q. 2020. Effects of dietary Chinese herbal medicines mixture on feeding attraction activity, growth performance, nonspecific immunity and digestive enzyme activity of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture Reports*, 17, Article 100304.
- Yang, Q., H. Liang, A. Mokrani, K. Ji, H. Yu, X. Ge, M. Ren, J. Xie, L. Pan and A. Sun. 2019. Dietary histidine affects intestinal antioxidant enzyme activities, antioxidant gene expressions and inflammatory factors in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Aquaculture Nutrition*, 25(1), 249–259.
- Yongmanitchai, W., W. Chatdumrong, S. Limtong and W. Worawattanmateekul. 2007. Optimization of docosahexaenoic acid (DHA) production and improvement of

astaxanthin content in a mutant *Schizochytrium limacinum* isolated from mangrove forest in Thailand. Kasetsart J. (Nat. Sci.), 41(2): 324-334.

Yoshikawa, T., O. Murata, K. Furuya, and M. Eguchi. 2007. Short – term covariation of dissolved oxygen and phytoplankton photosynthesis in a coastal fish aquaculture site. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 74, pp.515-527.

Zhu C., B. Jiang and Q. Zhou. 2013. The effects of different levels of EPA and DHA on lipids metabolism, growth and reproductive performance of rice field eel (*Monopterus albus*). Acta Hydrobiologica Sin. 37, 648–655.