การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำแบบเฉียบพลันก่อให้เกิดความเครียดต่อสัตว์น้ำ ซึ่งส่งผลเสียต่อ กระบวนการทางสรีรวิทยาและสุขภาพปลา ในงานวิจัยนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ได้แก่ การศึกษาถึงผลของอุณหภูมิน้ำต่อก่าทางโลหิตวิทยาและภาวะ oxidative stress ในปลาดุกลูกผสม (การ ทดลองที่ 1) การทดลองที่ 2 และ 3 เป็นการศึกษาเพื่อให้ทราบถึงระดับและระยะเวลาการเสริมวิตามินซี และ วิตามินอีในอาหารต่อการเสริมสุขภาพปลาให้แข็งแรงภายใต้ความเครียดอันเนื่องมาจากน้ำอุณหภูมิต่ำของ ปลาดุกลูกผสม โดยพิจารณาจากค่าทางโลหิตวิทยาและค่าภูมิกุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

การทคลองที่ 1 เป็นการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิน้ำต่ำ-สูง (26 และ 34 องศาเซลเซียส) ต่อค่า ทางโลหิตวิทยา และค่า malondialdehyde (MDA) ในไตและตับ ซึ่งใช้เป็นค่าบ่งชี้ oxidative stress โดย เปรียบเทียบกับปลาคุกลูกผสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (กลุ่มควบกุม) โดยทำการศึกษาที่ระยะเวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ผลการวิจัยพบว่า ในช่วงต้นและช่วงท้ายของการทคสอบอุณหภูมิน้ำ ค่าทางโลหิตวิทยามี การเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในปลาคุกลูกผสมที่อยู่ในน้ำอุณหภูมิ 26 และ 34 องศาเซลเซียสเมื่อ เปรียบเทียบกับปลาคุกลูกผสมในกลุ่มควบคุม ค่า superoxide anion ในเลือดของปลาคุกลูกผสมที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียสมีค่าสูงที่สุด ชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิน้ำต่ำส่งผลเสียต่อปลาคุกลูกผสมมากกว่า ค่า MDA ของ ตับและไตของปลาคุกที่อุณหภูมิน้ำสูงมีค่าสูง อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การทดลองที่ 2 เป็นการทดลองเสริมวิตามินซีในอาหารปลาดุกลูกผสมของแต่ละกลุ่ม
ทดลอง ที่ระดับ 250, 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการ
ทดลองพบว่าการสะสมของวิตามินซีที่ตับอยู่ในระดับคงที่ตลอดระยะเวลาการทดลองที่ทำการวัด อัตราการ
รอดและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าใกล้เคียงกันในทุกกลุ่มทดลอง ดังนั้นระดับการเสริมวิตามินซี
250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระดับที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตเป็นปกติ พบว่าการเพิ่มระดับการเสริม
วิตามินซีมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและเปอร์เซ็นต์น้ำหนักเพิ่มของปลาดุก
ลูกผสมในเชิงเส้นตรง (P<0.05) ที่สัปดาห์ 1-4 ของการทดลอง อย่างไรก็ตามผลความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้ไม่
ต่อเนื่องเมื่อทำการวัดที่สัปดาห์ที่ 5-8 จึงสรุปได้ว่าการเสริมวิตามินซีที่ระดับ 1,000-1,500 มิลลิกรัมต่อ
กิโลกรัมในอาหารปลาดุกลูกผสมที่ระยะ juvenile จะทำให้ปลาดุกลูกผสมมีอัตราการเจริญเติบโตสูง การ
ทดสอบผลของอุณหภูมิน้ำต่ำทำได้โดยนำปลาดุกลูกผสมของแต่ละกลุ่มทดลองไปแช่ในน้ำที่มีการลด
อุณหภูมิลงไปที่ 19 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ภายใต้สภาวะทดสอบอุณหภูมิน้ำครั้ง
แรก การเพิ่มปริมาณการเสริมวิตามินซีที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปลาดุกลูกผสมมีค่าฮีโมโกลบินและค่าจำนวนเม็ด
เลือดแดงสูงขึ้นในเชิงความสัมพันธ์แบบควอดราติกและเชิงเส้นตรง (P<0.05) ตามลำดับ แต่ค่าเม็ดเลือดแดง
อัดแน่นไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง ในการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่ำครั้งที่สองพบว่าระดับการเสริม
วิตามินซีที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าฮีโมโกลบินและค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น แต่ยังคงมีผล

ต่อการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดแคง และการเพิ่มขึ้นยังเป็นความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรง (P<0.05) พบว่าค่า สัดส่วนเม็ดเลือดขาว Neutrophil ต่อ Lymphocyte (N:L ratio) ต่ำที่สุดในปลาดุกลูกผสมกลุ่มที่ได้รับวิตามิน ซี 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นการเสริมวิตามินซีในอาหารที่ระดับ 1,000-1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 4 สัปดาห์มีผลต่อการรักษาสุขภาพไม่ให้เปลี่ยนแปลงภายใต้สภาวะความเครียดจากน้ำอุณหภูมิต่ำ ในการทดสอบอุณหภูมิน้ำต่ำครั้งที่สอง พบว่าการเพิ่มระดับการเสริมวิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มขึ้น ของค่าโปรตีนและค่าอิมมูโนโกลบูลินรวมในเชิงควอดราติก และมีผลต่อการเพิ่มไลโซไซม์ในเชิงเส้นตรง และการเพิ่มระดับวิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มค่าคอมพลีเมนต์ในปลาดุกลูกผสม แต่การเพิ่มขึ้นนี้ไม่ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสรุปได้ว่าการเสริมวิตามินซี 1,000-1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใน อาหารเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์มีผลต่อการเพิ่มค่าทางภูมิด้านทานโรคในสภาวะน้ำอุณหภูมิต่ำ

การทุดลองที่ 3 เป็นการเสริมวิตามิอีที่ระดับ 0, 125, 250, และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมใน อาหารทดลอง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับวิตามินอีในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการรอด และสมรรถนะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับวิตามินอีในอาหารไม่มีผลต่อค่าทางโลหิต วิทยา ไลโซไซม์ และค่าโปรตีนในเลือด อย่างไรก็ตามพบว่าระดับการเสริมวิตามินอีในอาหารมีผลต่อการ ลดลงของค่า N:L ratio (P<0.05) และการเพิ่มขึ้นของค่าอิมมูโนโกลบูลิน (P<0.05) ได้ทำการศึกษาผลของ วิตามินอีต่อปลาคุกลูกผสมภายใต้การทดสอบอุณหภูมิน้ำต่ำ (19 องศาเซลเซียส) 2 ครั้ง คือ หลังจาก 4 สัปคาห์ และ 8 สัปคาห์ของการทคลอง โดยก่อนการทคสอบอุณหภูมิน้ำจะทำการสุ่มปลาสำหรับทำการ วิเคราะห์ค่าเพื่อใช้เปรียบเทียบ ผลการทคลองพบว่า การทคสอบอุณหภูมิน้ำทั้งสองครั้งไม่มีผลต่อการ เปลี่ยนแปลงของค่าโปรตีนในเลือด แต่พบ สภาวะ hemoconcentration ในปลาดุกลูกผสมกลุ่มที่ได้รับ วิตามินในอาหารสูงสุด (500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่ถูกทดสอบอุณหภูมิน้ำ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการเสริมวิตามิน อีที่ระดับนี้ก่อให้เกิดผลเสียต่อปลาดุกลูกผสม การเพิ่มการเสริมวิตามินอีในอาหารมีผลต่อการลดลงของค่า N:L ratio เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมวิตามินอีในอาหาร (P<0.05) พบว่าภายใต้สภาวะ ทคสอบอุณหภูมิน้ำ การเปลี่ยนแปลงของก่าไลโซไซม์และค่าอิมมูโนโกลบูลินในปลาดุกลูกผสมทุกกลุ่ม ทคลองที่ได้รับการเสริมวิตามินในอาหารจะมีค่าต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาคุกลูกผสมที่ไม่ได้รับการ เสริมวิตามินอี ดังนี้การทคลองครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าการเสริมวิตามินอีในอาหารปลาคุกลูกผสมเป็นสิ่งที่จำป็น และระดับการเสริมที่ต่ำที่สุด 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมก็เพียงพอต่อการรักษาสภาพภูมิกุ้มกันในปลาดุก ลูกผสมภายใต้สภาวะความเครียดจากน้ำอุณหภูมิต่ำ

A sudden temperature change could create thermal stress and result in adverse effects on the physiological process and health of fish. The present study investigated the hematological status of, and oxidative stress in, hybrid catfish (*Clarias macrocephalus x C. gariepinus*) that have been exposed to various temperatures (Experiment I). In addition, we determined the effects of a high level of supplementary vitamin C or vitamin E provided to hybrid catfish to minimize the thermal stress represented by hematological parameters and non-specific immunity (Experiment II and III).

In the experiment I, hematological parameters were investigated in hybrid catfish that were exposed to low (26 °C) or high (34 °C) temperatures comparing to the control group (30 °C). In addition, Malondialdehyde (MDA), which was the oxidative stress marker, was analysed in the kidneys and livers of hybrid catfish. During 24 hours of exposing time, hematological indices and oxidative stress marker were analyzed at 3, 6, 12, and 24 hours. At the beginning and the end of exposing time, when hybrid catfish were exposed to the low or the high temperature, several hematological parameters were changed comparing to the hybrid catfish of control groups. The production of superoxide anion (O²-) in the blood increased when the fish was challenged by a low temperature, demonstrating that the ability of catfish to tolerate a cool temperature is limited. Although, hepatic and renal MDA were high with higher temperature, no significant differences were found.

In the experiment II, dietary vitamin C was fed to hybrid catfish at 250, 500, 1,000, 1,500, and 2,000 mg/kg for an 8-week experimental period. The hepatic vitamin C concentration in the fish was similar to that of all tested feeds used throughout this experiment. The survival rate (SR) and feed conversion ratios (FCR) were similar in all groups. Therefore, dietary vitamin C at a concentration of 250 mg/kg was adequate for normal growth. During the first four weeks, the increased dietary vitamin C significantly enhanced the specific growth rate (SGR) and weight gain (WG) of hybrid catfish in the linear response (P<0.05), suggesting that elevated level of vitamin C during this growth period resulted in maximum growth responses. However, these significant effects did not extend through the final four weeks of the experimental period. Thus, an increase in dietary vitamin C (1,000-1,500 mg/kg) would be essential for juvenile fish to achieve a maximum growth rate. To assess the thermal stress, the hybrid catfish were transferred to water having a temperature of 19 °C for 24 h during week 4 (the first thermal stress) and week 8 (the second thermal stress). At the first thermal stress, the hemoglobin content (Hb) and red blood cell number (RBC) increased with the increment of dietary vitamin C in quadratic and

linear fashion, respectively (P<0.05). The hematocrit (Ht) value was similar in all groups. At the second (cooling) stress, the increase in dietary vitamin C did not affect Ht and Hb, but increased RBC linearly. Additionally, the lowest Neutrophil:Lymphocyte ratio (N:L ratio) was observed in hybrid catfish of dietary vitamin C at 1,000 mg/kg. Thus, a high level vitamin C supplementation (1,000-1,500 mg/kg) for a short time (four weeks) was necessary to sustain the health status of the thermal stress fish. The increment of vitamin C also quadratically increased the total protein (TP) and total immunoglobulin (Ig) (P<0.05) at the second thermal stress. Under this stress, increase in dietary vitamin C linearly increased lysozyme activity (Lz) (P<0.05). The alternative complement activity was slightly higher with the higher vitamin C level. Long term supplementation of high vitamin C level (1000-15000 mg/kg) would be beneficial to the immunocompetence of hybrid catfish.

ข

In the experiment III, dietary vitamin E was fed to hybrid catfish at 0, 125, 250, and 500 mg/kg for an 8-week experimental period. Survival rate and growth performance were similar in all groups. Dietary vitamin E did not affect hematological parameters, Lz and TP. However, the increase in dietary vitamin E decreased N:L ratio significantly. Further, Ig showed posistive responses due to increase dietary vitamin E. To conduct the effects of vitamin E on the health status under the thermal stress, the hybrid catfish were transferred to water having a temperature of 19 °C for 24 h during week 4 (the first thermal stress) and week 8 (the second thermal stress). Before assessing the thermal stress, hybrid catfish were sampling to refer as the normal group. In the present study, thermal stress had no effect on TP. Hemoconcentration represented by significant increase in Ht was found in hybrid catfish fed with highest level of vitamin E (500 mg/kg) (P<0.05), demonstrating that high vitamin E level had adverse effect on the response of thermal stress in hybrid catfish. Increase in supplemental of vitamin E significant decreased N:L ratios comparing with that of hybrid catfish fed on the non-supplementary vitamin E diet (P<0.05). Decrease in the reduction of Lz and Ig during thermal stress was observed in hybrid catfish obtain dietary vitamin E at each and every level. Therefore, supplementary vitamin E was necessary to minimize the adverse effects causing by thermal stress. Minimal level (125 mg/kg) of vitamin E would be adequate for a proper dietary prophylaxis to maintain immuncompetence in hybrid catfish.