

## โครงการวิจัยย่อยที่ 1

การศึกษาผลของสารเคมีชนิดต่างๆ และคุณภาพน้ำต่ออัตราการเพาะฟัก การรอดตาย  
การเจริญเติบโต และโรคของปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)

**The Study on Effects of Chemicals and Water Quality on Hatching rate, Survival  
Growth and Diseases of Nieuhofii's Catfish (*Clarias nieuhofii*).**

อานุช กีร์รัฐนิคม

สุภภา กีร์รัฐนิคม

บุญกอบ วิริยะพงษ์สุธี

**ชื่อโครงการ** การศึกษาผลของสารเคมีชนิดต่างๆ และคุณภาพน้ำต่ออัตราการเพาะฟัก การรอดตาย การเจริญเติบโต และโรคของปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)

**The Study on Effects of Chemicals and Water Quality on Hatching rate, Survival Growth and Diseases of Nieuhofii's Catfish (*Clarias nieuhofii*).**

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2552	จำนวนเงิน 906,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี	ตั้งแต่ กันยายน 2552 – กันยายน 2553
นางอานูช กิริรัฐนิคม	วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) สถานที่ทำงาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง อ. ป่าพะยอม จ. พัทลุง 074-693992
นายสุภฎา กิริรัฐนิคม	ปร.ค. (เทคโนโลยีชีวภาพ) สถานที่ทำงาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง อ. ป่าพะยอม จ. พัทลุง 074-693992
นายบุญกอบ วิริยะพงษ์สุธี	วท.ม. (วาริชศาสตร์) สถานที่ทำงาน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา 074-465102

### บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารเคมีชนิดต่างๆ และคุณภาพน้ำต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโต ของปลาดุกลำพันดำเนินการโดยเพาะฟักปลาดุกลำพันในระบบฟักไข่ภายใต้สภาวะต่างๆ ได้แก่ ผลของการแช่สารเคมีลดเชื้อต่ออัตราการฟัก ผลของความเค็ม ปริมาณแทนนิน ปริมาณแอมโมเนีย ในไตรท ไนเตรท ผลของช่วงแสงและความเข้มแสง ตลอดจนผลของความเป็นด่าง และความเป็นกรด-ด่างที่มีต่ออัตราการฟักออกเป็นตัว อัตราการรอดตาย และผลต่อการเจริญเติบโตของลูกปลาวัยอ่อน ผลการทดลองพบว่าการใช้สารเคมีลดเชื้อ ได้แก่ โปแทสเซียมเปอร์มังกาเนต ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ฟอร์มาดีไฮด์ โซเดียมคลอไรด์ และโพวิโดไอโอดีนแช่ไข่ปลาก่อนนำไปฟัก ไม่มีผลต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของลูกปลา การเพาะฟักไข่ปลาดุกลำพันในน้ำที่มีความเค็ม 1-2 ppt มีผลให้การรอดตายของลูกปลาลดลงในระยะแรก แต่ไม่มีผลต่อ

การเจริญเติบโตของปลาดุกลำพันวัยอ่อน ขณะที่ปริมาณแอมโมเนียในน้ำในระดับ 10-50 ppm มีผลให้ทั้งอัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของลูกปลาดุกลำพันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ปริมาณแอมโมเนียในน้ำตั้งแต่ 0.1 ppm ขึ้นไปมีผลให้การเจริญเติบโตของลูกปลาในระยะแรกต่ำกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีแอมโมเนีย ขณะที่ปริมาณไนโตรทในน้ำ 0.5-3 ppm และไนเตรท ในช่วง 0-30 ppm ไม่มีผลต่อการฟัก การรอดตายและการเจริญเติบโตของลูกปลาดุกลำพันเช่นเดียวกันกับอัตราการฟัก การรอดตายและการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพันวัยอ่อนที่เลี้ยงในน้ำในช่วงความเป็นค่า 20-50 ppm พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) จากการศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างต่ออัตราการฟัก การรอดตายและการเจริญเติบโต แสดงให้เห็นว่าความเป็นกรด-ด่างในช่วง 4-7 มีผลให้อัตราการฟัก ของปลาดุกลำพันวัยอ่อนสูงที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่เลี้ยงในความเป็นกรด-ด่าง 8 ( $p < 0.05$ ) ในระยะ 2 สัปดาห์หลังฟักออกเป็นตัว พบว่าปลาที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเป็นกรด-ด่างในช่วง 5-7 มีการรอดตายสูงกว่าปลาที่เลี้ยงในความเป็นกรด-ด่าง 4 และ 8 การศึกษาผลของช่วงแสงพบว่าลูกปลาดุกลำพันมีการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัวต่ำที่สุดในช่วงมืดตลอดเวลา ขณะที่ลูกปลาที่เลี้ยงในในช่วงแสงมืด 18 ชั่วโมง สว่าง 6 ชั่วโมง, มืด 12 ชั่วโมง สว่าง 12 ชั่วโมง, มืด 6 ชั่วโมง สว่าง 18 ชั่วโมง และช่วงแสงสว่างตลอดเวลา มีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) จากการศึกษาผลของความเข้มแสงพบว่า อัตราการฟัก การรอดตายและการเจริญเติบโตของลูกปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในความเข้มแสงในช่วง 500-1200 lux มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ในการศึกษาผลของระดับอุณหภูมิต่อการเพาะฟักปลาดุกลำพัน พบว่าการเพาะฟักที่อุณหภูมิ 25-27<sup>0</sup> C มีผลให้ลูกปลามีการเจริญเติบโตดีกว่าที่อุณหภูมิ 23<sup>0</sup> C

ผลการศึกษาสรุปได้ว่า ไม่จำเป็นต้องแช่ไข่ปลาดุกลำพันในสารเคมีลดเชื้อก่อนนำไปฟักสภาพน้ำที่มีความเหมาะสมต่อการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลาดุกลำพันไม่ควรมีแอมโมเนียละลายในน้ำ และควรมีค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วง 5-7 ความเค็มต่ำกว่า 0.5 ppt ความเป็นค่า 20-50 ppm แอมโมเนียต่ำกว่า 0.1 ppm ในสภาพช่วงแสง และความเข้มแสงตามธรรมชาติ ที่ระดับอุณหภูมิ 25-27<sup>0</sup> C

## Abstract

Studies on effects of different chemical supplements and parameters of water quality on hatching rate, survival and growth performance were undertaken in the larvae of Nieuhofii's catfish (*Clarias nieuhoftii*). The experimental condition was composed of : effect of disinfectants on hatching rate, effect of salinity, ammonia, nitrite, nitrate, light intensity and photo period, alkalinity, pH and temperature on hatching rate, survival and growth performance.

The result showed that using of disinfectant substances as potassium permanganate, hydrogenperoxide, formaldehyde, sodium chloride and povidiodine did not affect on the hatching rate of Nieuhofii's catfish. Incubation of Nieuhofii's catfish eggs in the salinity of 1-2 ppt resulted in lower survival but did not affect to growth performance of catfish larvae. The 10-50 ppm of tannin concentration resulted in reduction of survival and growth performance ( $p < 0.05$ ), growth performance of Nieuhofii's catfish larvae was reduced when incubated with ammonia concentration of above 0.1 ppm.concentration. The hatching rate and survival of catfish larvae incubated and cultured in 0.5-3 ppm nitrite, 0-30 ppm nitrate and 20-50 ppm alkalinity were not significantly different ( $p > 0.05$ ). The highest hatching rate of catfish larvae found in pH 4-7 and was significantly different to the hatching rate of catfish larvae incubated in pH 8 ( $p < 0.05$ ). However, on week 2 of the cultured trial, the survival of catfish larvae cultured in pH 5-7 were higher than those cultured in pH 4 and 8. The result from photoperiod trial showed the lowest survival of catfish cultured in 24 hr under darkness ( $p < 0.05$ ), whereas the survival of catfish cultured under 18 hr darkness and 6 hr with light, 12 hr under darkness 12 hr with light, 6 hr under darkness 18 hr with light and 24 hr with light did not significantly different ( $p > 0.05$ ). From ligh intensity trial, the hatching rate, survival and growth performance of catfish larvae were not significantly different among the group cultured in the light intensity of 500-1200 lux ( $p > 0.05$ ). The temperature of 25-27<sup>0</sup> C gave higher growth performance when compared to those cultured in 23<sup>0</sup> C.

The result concluded that using of disinfectant substances was not nescsary for Nieuhofii's catfish egg incubation. The water used for catfish larvae should not contained tannin, optimum pH was 5-7, < 0.5 ppt of salinity, 20-50 ppm alkalinity, < 0.1 ppm ammonia, using natural photo period and light intensity with temperature of 25-27<sup>0</sup> C can able to produce satisfactory output on the parameters which have been studied.

## บทนำ

ปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*) เป็นปลาน้ำจืดที่อยู่ในกลุ่มปลาที่มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ในกลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา จากข้อมูลการสำรวจชนิดพันธุ์และเก็บตัวอย่างปลาในอดีต โดยโสภา (2513) พบว่าปลาดุกลำพันมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง พบทั้งในแม่น้ำ ลำคลอง พรุน้ำจืด และพื้นที่น้ำท่วมขัง แต่ในปัจจุบันมีรายงานการพบปลาดุกลำพันในพื้นที่จำกัด (สรารุช และคณะ, 2538) นอกจากนี้จะมีความสำคัญในแง่การเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ที่ต้องดำเนินการอนุรักษ์พันธุ์อย่างเร่งด่วนแล้ว ปลาดุกลำพันยังจัดเป็นปลาที่มีลักษณะ สีสัณ และลวดลายที่สวยงาม เป็นปลาที่มีผู้นิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงามที่มีราคาสูง รวมทั้งยังมีความต้องการในตลาดปลาสวยงามของยุโรป (Montaldi, personal communication) แม้ว่าในตลาดปลาสวยงามจะมีความต้องการปลาดุกลำพันในปริมาณสูง แต่ก็พบได้น้อย และหาได้ยากในตลาดปลาสวยงาม ทั้งนี้พบว่าปลาดุกลำพันในตลาดปลาสวยงามทั้งหมดเป็นปลาที่จับ และรวบรวมมาจากธรรมชาติ ซึ่งยิ่งส่งผลกระทบต่อปริมาณพันธุ์ปลาดุกลำพันในธรรมชาติให้ลดน้อยลง และเข้าสู่ภาวะใกล้สูญพันธุ์มากขึ้น (pantown.com, siamensis.org) ดังนั้นการเพาะขยายพันธุ์ปลาดุกลำพัน โดยการผลิตลูกปลาดุกลำพันจากพ่อ-แม่พันธุ์ที่เพาะพันธุ์และเลี้ยงขึ้นเองในบ่อดิน การอนุบาลลูกปลาด้วยวิธีการที่เหมาะสม นับเป็นการฟื้นฟูทรัพยากรสัตว์น้ำที่หายาก และเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ชนิดนี้ได้ อีกทั้งยังเป็นแนวทางที่เหมาะสมในการพัฒนาและส่งเสริมพันธุ์ปลาชนิดนี้ให้เป็นสายพันธุ์ปลาสวยงามที่มีปริมาณมากขึ้นในท้องตลาด ซึ่งจะสามารถส่งเสริมและขยายตลาดปลาสวยงามสายพันธุ์ใหม่ให้กว้างขวางมากขึ้น

เพื่อให้ปลาดุกลำพันมีปริมาณมากขึ้นในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม จำเป็นต้องพัฒนาการเพาะขยายพันธุ์ด้วยเทคโนโลยีที่เหมาะสม ด้วยสภาวะทางกายภาพ และคุณภาพน้ำที่ส่งผลให้ลูกปลามีการฟัก และการรอดตายสูงที่สุด ในอดีตมีรายงานเกี่ยวกับการขยายพันธุ์ปลาดุกลำพันจากพ่อ-แม่พันธุ์ที่จับจากธรรมชาติ ได้เป็นผลสำเร็จ โดยพรพนม (2538) สามารถผสมเทียมปลาดุกลำพันได้โดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ LHRH ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ domperidone สามารถรีดไข่เพื่อการผสมเทียมได้ในเวลา 18 ชั่วโมง นอกจากนี้กฤษณะ และคณะ (2551) ได้ศึกษาคัพภวิทยาของปลาดุกลำพัน พบว่าลูกปลาจะฟักออกเป็นตัวในเวลา 30 ชั่วโมง และ Kiriratnikom *et al.* (2007) ได้ทดลองผสมเทียมปลาดุกลำพัน และอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และไข่คู่ผสมปลาป่น จนกระทั่งถึงระยะปลาตัว โดยพบว่ามีการรอดตายสูง อย่างไรก็ตามการเพาะขยายพันธุ์ปลาดุกลำพันยังคงประสบปัญหาเกี่ยวกับอัตราการฟักออกเป็นตัวมีค่าต่ำ และอัตราการรอดตายของลูกปลาที่ยังคงมีความผันแปรอยู่มากทั้งจากรายงานการศึกษาในอดีต โดยพรพนม (2538) พบว่าอัตราการฟักออกเป็นตัวมีค่าระหว่าง 2.87 – 21.78% และมีอัตราการรอดตาย 44.79 – 73.61% รวมทั้งจากการ

ทดลองในห้องปฏิบัติการของมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง ก็พบว่าอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาดุกลำพันมีความผันแปร ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้จากทั้งปัจจัยด้านความสมบูรณ์ของแม่พันธุ์ และปัจจัยด้านคุณภาพน้ำ นอกจากนี้การศึกษาคัดเชื้อปรสิตและแบคทีเรียในปลาดุกลำพันก็ยังมีรายงานการศึกษาไม่มากนัก ทั้งโรคติดเชื้อปรสิต แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ซึ่งจะมีผลต่อสุขภาพปลาโดยตรง (Tonguthai *et al.*, 1993) เป็นเหตุให้ปลาเจริญเติบโตช้า อัตราการรอดต่ำ รวมถึงอาจมีผลเสียต่อการขยายพันธุ์ปลาได้

ทั้งนี้การศึกษาทางด้านชีววิทยาในการเพาะพันธุ์ สภาวะทางกายภาพและคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการเพาะขยายพันธุ์ ตลอดจนข้อมูลด้านเทคโนโลยีในการขยายพันธุ์ปลาดุกลำพัน และโรคของปลาดุกลำพัน ตลอดจนความสัมพันธ์ของโรคกับสภาพแวดล้อมยังคงมีอยู่น้อยมากในปัจจุบัน การวิจัยนี้จึงได้จัดทำขึ้นเพื่อให้ทราบถึงผลของคุณภาพน้ำต่อการฟัก และการรอดตายของปลาดุกลำพัน และโรคที่อาจจะเกิดขึ้นกับปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในโรงเพาะฟัก เพื่อมุ่งแก้ไขปัญหาอัตราการฟัก และการรอดตายต่ำในระหว่างการอนุบาล ตลอดจนเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวัง ป้องกัน แก้ไขปัญหาด้านโรคในอนาคตซึ่งจะส่งผลให้มีประสิทธิภาพการเพาะขยายพันธุ์ปลาดุกลำพันเพิ่มสูงขึ้นได้ต่อไป

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของการแช่สารละลายชนิดต่างๆ ก่อนการฟักไข่ต่ออัตราการฟัก และอัตราการรอดตาย ของลูกปลาดุกลำพัน
2. เพื่อศึกษาผลของคุณภาพน้ำทางกายภาพต่ออัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพัน
3. เพื่อศึกษาผลของคุณภาพน้ำทางเคมีต่ออัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพัน
4. เพื่อทราบถึงสภาวะที่มีความเหมาะสมที่สุดในการเพาะฟักไข่ปลาดุกลำพันในโรงเพาะฟัก เพื่อให้มีอัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตสูงที่สุด
5. เพื่อศึกษาชนิดของปรสิตในปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในคุณภาพน้ำที่แตกต่างกัน
6. เพื่อศึกษาชนิดของแบคทีเรียในปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในคุณภาพน้ำที่แตกต่างกัน

## การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

### ปลาคูกลำพัน

เดิมปลาคูกลำพันถูกจัดจำแนกเป็นปลาที่อยู่ในจีนัส *Prohagorus* โดยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Prohagorus nieuhoftii* เนื่องจากตัวอย่างปลาที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิดมีครีบหาง ครีบหลัง และครีบก้น เชื่อมติดกันทั้งหมด (Lim and Ng, 1999) จากการศึกษาข้อมูลทางกายวิภาคของปลาคูกลำพันในปัจจุบันพบว่าปลาชนิดนี้มีครีบดังกล่าวแยกจากกัน จึงถูกจัดจำแนกใหม่ โดยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias nieuhoftii* (Lim, 1994) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังมีการรายงานว่าพบปลาที่มีลักษณะคล้ายปลาคูกลำพันในเกาะเบอร์เนียว แต่มีสัดส่วนลำตัวที่แตกต่างกันเล็กน้อย และจากการศึกษาความแตกต่างของ allozyme พบว่า locus ของ Phosphoglucosmutase (PGM\*) ก็มีความแตกต่างกันจึงทำให้จัดจำแนกปลาชนิดดังกล่าวให้มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias pseudonieuhoftii* (Guy et al., 2004) อย่างไรก็ตามจากการสำรวจชนิดพันธุ์ปลาในประเทศไทยโดย Monkolprasit et al. (1997) ได้จำแนกปลาคูกลำพันที่พบในภาคใต้ของประเทศไทยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias nieuhoftii*

### การเพาะขยายพันธุ์ปลาคูกลำพัน

ศราวุธ และคณะ (2538) รายงานว่าปลาคูกลำพันมีฤดูวางไข่อยู่ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึงธันวาคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนมากที่สุดในรอบปี โดยปลาที่มีขนาดเล็กที่สุดที่มีพัฒนาการของไข่ในรังไข่มีน้ำหนัก 230 กรัม และมีไข่ 3,340 ฟอง ขณะที่ปลาที่มีขนาดใหญ่ที่สุดที่มีการพัฒนาของรังไข่มีน้ำหนัก 700 กรัม และมีปริมาณไข่ 10,435 ฟอง ทั้งนี้ อุดมชัย และสุวรรณณี (2529) รายงานว่าปลาคูกลำพันสามารถเพาะขยายพันธุ์ได้เช่นเดียวกับปลาคูกชนิดอื่นๆ โดยการฉีดต่อมได้สมองปลาเพศเมีย 1 โดส หลังจากนั้น 6-8 ชั่วโมงจึงฉีดครั้งที่ 2 เป็นปริมาณ 2 โดส ในระยะเวลา 12-14 ชั่วโมง ปลาจะพร้อมในการวางไข่ สามารถผสมเทียมได้ด้วยวิธีการผสมแบบเปียก ลูกปลาฟักออกเป็นตัวใน 30-36 ชั่วโมง และเริ่มกินอาหารในวันที่ 4 หลังฟักออกเป็นตัว ทั้งนี้ พรพนม (2538) ได้รายงานที่สามารถผสมเทียมปลาคูกลำพันได้โดยการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ LH-RH ร่วมกับ domperidone โดยฉีดฮอร์โมน LH-RH 5 ไมโครกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัมร่วมกับ domperidone 10 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ในครั้งแรก หลังจากนั้น 6 ชั่วโมงจึงฉีด LH-RH ในระดับ 5-15 ไมโครกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัมร่วมกับ domperidone 10 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ปลาจะพร้อมในการวางไข่ในระยะเวลา 14 ชั่วโมงหลังการฉีดเข็มที่ 2

## การเจริญเติบโต และการเลี้ยงปลาอุกลำพัน

กฤษณะ และคณะ (2551) ได้ศึกษาศัพทวิทยาของลูกปลาอุกลำพัน โดยศึกษาในไข่ปลาที่เพาะฟักจากการผสมเทียมพ่อแม่พันธุ์ในบ่อซีเมนต์ ที่อุณหภูมิน้ำ 26.5-27.5 องศาเซลเซียส พบว่าไข่ปลาอุกลำพันเป็นไข่จม โดยเริ่มมีการแบ่งเซลล์ (cleavage stage) เมื่อเวลาผ่านไป 25 นาที พัฒนาเข้าสู่ระยะ morular เมื่อเวลา 3 ชั่วโมง 15 นาที ระยะ blastula เมื่อเวลา 4 ชั่วโมง 40 นาที ระยะ gastrula เมื่อเวลา 11 ชั่วโมง 10 นาที ระยะ closing of blastopore เมื่อเวลา 14 ชั่วโมง และฟักออกเป็นตัวเมื่อเวลา 33 ชั่วโมง 15 นาที ทั้งนี้ในการอนุบาลปลาอุกลำพันสามารถใช้ตัวอ่อนอาร์ทีเมียเป็นอาหารเลี้ยงลูกปลาได้ดี และเมื่อลูกปลาเมื่ออายุประมาณ 3-4 สัปดาห์สามารถใช้ไข่ตุ๋นผสมปลาป่น และวิตามินรวมเป็นอาหารอนุบาลลูกปลาได้โดยมีอัตราการรอดตายสูงถึง 85.33 % Kiriratnikom *et al.* (2007) ส่วนในการเลี้ยงปลาอุกลำพันขนาดปลาน้ำในบ่อคอนกรีต พบว่าปลาอุกลำพันมีการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อตารางเมตร อีกทั้งยังทำให้คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงอยู่ในระดับที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในระยะยาว (พันธสิทธิ์ และคณะ, 2551)

## ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะขยายพันธุ์ปลาคูก

ในการเพาะขยายพันธุ์ปลาที่จัดอยู่ในกลุ่มปลาคูกมักประสบปัญหาอัตราการฟักออกเป็นตัวต่ำ ในระหว่างการขยายพันธุ์ด้วยวิธีผสมเทียม ทั้งนี้เกิดขึ้นเนื่องจากเทคนิคที่ใช้ในการขยายพันธุ์ และปัจจัยที่เกิดจากคุณภาพน้ำในระหว่างการฟักไข่ไม่เหมาะสม เช่นในการขยายพันธุ์ปลาคูกยุโรป (*Silurus glanis*) ประสบปัญหาอัตราการฟักออกเป็นตัวต่ำในกระบวนการเพาะขยายพันธุ์ด้วยวิธีการผสมเทียม เนื่องจากสัดส่วนปริมาณสเปิร์มต่อไข่ในการเพาะขยายพันธุ์ตามปกติมีน้อยเกินไป Linhart *et al.* (2004) รายงานว่าสามารถเพิ่มอัตราการฟัก จาก 26 % เป็น 82-88% ได้เมื่อปรับสัดส่วนของสเปิร์มต่อไข่ปลาให้อยู่ในระดับความหนาแน่น 800-80,000 เซลล์ของสเปิร์มต่อ ไข่ปลา 1 ฟอง ในการเพาะขยายพันธุ์ปลาคูกแอฟริกัน ก็ประสบปัญหาเกี่ยวกับอัตราการปฏิสนธิ และการฟักออกเป็นตัวต่ำ และมีความผันแปรสูงในระหว่าง 8-70% ทั้งนี้ Rasowo *et al.* (2007) ได้ศึกษาผลของการใช้สารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ โซเดียมคลอไรด์ แซ่ไข่ปลาก่อนนำไปฟัก ต่ออัตราการฟัก และการรอดตายของลูกปลาในระยะเวลาต่างๆ พบว่า การแซ่ไข่ปลาคูกแอฟริกันในสารละลายโปแทสเซียมเปอร์มังกาเนต และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระดับความเข้มข้น 0.5-4 ส่วนในล้านส่วน และ 100-1000 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับจะช่วยเพิ่มอัตราการฟัก และการรอดตายของลูก

ปลาอุกแอฟริกันได้มากขึ้น จาก อัตราการฟัก 34.4 % ในชุดควบคุมเป็น 96.7 % ในชุดการทดลองที่ ไข่ไข่ปลาในสารละลายโปแทสเซียมเปอร์มันงานาเนต เป็นเวลา 30 นาที

ในปลาอุกบางชนิดที่อาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมเฉพาะตัว พบว่าผลของคุณภาพน้ำทางเคมีบางประการมีผลให้อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาเพิ่มมากขึ้น ในปลาอุกแอฟริกัน *Heterobranchus longifilis* ซึ่งมีความสามารถในการปรับตัวในความเค็มช่วงกว้าง และมักพบในบึงน้ำกร่อย มีอัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่สูงที่สุดเมื่อฟักไข่ปลาในน้ำที่มีระดับความเค็ม 3 ส่วนในพันส่วน ซึ่งเป็นค่าที่สูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาที่เพาะฟักในน้ำที่มีความเค็ม 0 ส่วนในพันส่วน (Fashina-Bombataa and Busarib, 2003)

องค์ประกอบอิออนในน้ำนับเป็นปัจจัยที่มีผลต่อพัฒนาการ และการรอดตายของตัวอ่อนปลาเป็นอย่างมาก (Van der Velden *et al.*, 1991) จากการศึกษาของ Silva *et al.* (2003) พบว่าปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียมในน้ำมีผลต่ออัตราการฟักออกเป็นตัว และการรอดตายของปลาอุก *Rhamdia quelen* ทั้งนี้การปรับสภาพน้ำให้มีปริมาณค่าความกระด้าง 70 ส่วนในล้านส่วน โดยการเติมแคลเซียม และแมกนีเซียม ในอัตราส่วน 80:20 จะช่วยเพิ่มอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาคูได้มากขึ้น แต่การเพิ่มปริมาณแคลเซียมในน้ำในสัดส่วนที่สูงมาก และการเพิ่มความกระด้างของน้ำเป็น 150 ส่วนในล้านส่วน จะมีผลทำให้อัตราการรอดตายของลูกปลาคูหลังฟักออกจากไข่ลดลงมาก ดังนั้นการเตรียมน้ำเพื่อใช้ในการเพาะฟักปลาอุก *Rhamdia quelen* จึงควรปรับสภาพน้ำให้มีค่าความกระด้าง ประมาณ 70 ส่วนในล้านส่วน ด้วยการเติมแคลเซียมต่อแมกนีเซียมในปริมาณ 20.26 และ 2.89 มิลลิกรัมต่อลิตร

### ปรสิตที่พบในปลาสกุลปลาอุก และปลามีหนวด (catfish) อื่นๆ

กมลพร และคณะ (2534) รายงานว่า จากการตรวจกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลาอุกอุยพบพยาธิตัวกลมฝังอยู่ในผนังของกระเพาะอาหารและลำไส้ โดยจะพบในส่วนของกระเพาะอาหารมากกว่า ปลาอุกอุยที่ตรวจพบปรสิตนี้อยู่ในช่วงเดือนที่ 3 และ 4 ของการเลี้ยง ในปลาอุกอุยบางตัว จะพบปรสิตตัวกลมชนิดนี้มากถึง 20-30 ตัว แต่ในบางตัวก็ตรวจไม่พบปรสิตชนิดนี้เลย และจากการศึกษาลักษณะต่างๆ ของพยาธิตัวกลมที่พบนี้จำแนกชนิดได้เป็น *Procamallanus planoratus* Kulmarni (1935) (อ้างโดย Bykhovskaya-Palovs-kaya *et al.* 1964, Fernando และ Furatdo 1963, Yamaguti, 1961) รายงานว่า *P. planoratus* เป็นปรสิตตัวกลมที่มีขนาดเล็ก ขนาดตัวมีความกว้างประมาณ 0.10-0.15 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 3.75-10.15 มิลลิเมตร ลำตัวยาวเรียว ส่วนหัวมน ส่วนปลายเรียวเล็ก ผนังลำตัวย่นตลอดถึงส่วนหางคล้ายกับปล้องเทียม (pseudo segment) ช่องปากประกอบด้วยสารพวกไคตินอยู่หน้าสุดมีลักษณะคล้ายถังเบียร์ (barrel-shaped) ในช่องปากเรียบ ไม่มี

สัน มีตุ่มที่โคนช่องปาก (buccal knob) 2 ตุ่ม หลอดอาหารแบ่งเป็น 2 ส่วน หลอดอาหารส่วนหน้า เป็นกล้ามเนื้อ (muscular esophagus) รูปเรียวคล้ายกระป๋อง หลอดอาหารส่วนท้ายมีลักษณะเป็นต่อม (glandular esophagus) เป็นรูปทรงกระบอกต่อกับทางเดินอาหารส่วนหลังซึ่งทอดไปตามความยาวของลำตัว ปรสิทชนิดนี้จะออกลูกเป็นตัวโดยมีตัวอ่อนอยู่ภายในตัวมองเห็นได้อย่างชัดเจน ตัวผู้มีขนาดเล็กกว่าตัวเมีย ส่วนของปลายหางจะโค้งงอมาทางด้านท้อง หางเป็นรูปกรวย มีเดือยช่วยในการผสมพันธุ์ (spicule) 2 อัน ซึ่งยาวไม่เท่ากัน มีติ่งรับสัมผัสอยู่ส่วนหน้าของทวาร (pre anal papillae) 3 คู่ และติ่งรับสัมผัสหลังทวาร (post anal papillae) อีก 3 คู่ เช่นเดียวกัน ตัวเมียมีหางยาวเรียว ส่วนปลายมีติ่ง (digit) แหวมเล็กยื่นออกมา 3 ติ่ง มีช่องเพศ (vulva) อยู่บริเวณกลางลำตัวก่อนไปทางส่วนหางเล็กน้อย และจะแบ่งลำตัวออกเป็นส่วนหัวและส่วนหางในอัตราส่วน 6:5 ขนาดของอวัยวะส่วนต่างๆ ของ *P. planoratum* พยาธิตัวกลมในสกุล *Procamallanus* มีรายงานว่าพบในปลาน้ำจืดอีกหลายชนิด เช่น *P. mathurai* ในปลา *Heteropneustes fossilis* (Bloch) *P. mehrii* ในปลา *Wallago attu* (Bloch) (Pande *et al.*, 1963) *P. meulleri* ในปลาจีนที่ประเทศอินเดีย *P. karachii* และ *P. Wallagus* ในปลาน้ำจืดจากประเทศปากีสถาน *P. Clarias* ในปลาคูก้านจากประเทศมาเลเซีย (Yamaguti, 1961; Fernando and Furtado, 1963) อย่างไรก็ตามในประเทศไทยพยาธิตัวกลมในสกุล *Procamallanus* ที่พบมากที่สุดคือ *P. planoratum* และพบตลอดปี พบในกระเพาะและลำไส้ของปลาหลายชนิด เช่น ปลาคูก้าน ปลาคูกอู ปลาช่อน (ปีทมา, 2529; ธนะชัย, 2530) และปลาหมอไทย (พิณทิพย์, 2521)

วัชรียา และคณะ (2548) รายงานว่าปรสิทที่พบในปลาเนื้ออ่อน บริเวณกัว้นพะเยา จากแม่น้ำโขง บริเวณอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย ในปี 2547 เป็นปรสิทในกลุ่มพยาธิตัวกลม ในสกุล *Procamallanus* (Yamakuti, 1961) ลักษณะรูปร่าง เป็นพยาธิตัวกลม ลำตัวยาวเรียว ช่องปากมีลักษณะเป็นรูปถังเบียร์ (barrel shaped) ขอบด้านหน้าของช่องปากหักเป็นลอน 2 ลอน ในช่องปากเรียบไม่มีสัน มีฐานของช่องปากมีตุ่ม (buccal knob) 2 ตุ่ม ยึดติดกับหลอดอาหารส่วนหน้า ไม่มีขอรูปสามง่าม ผนังลำตัวย่นตลอดจนถึงส่วนหางคล้ายกับปล้องมาต่อๆ กัน แต่ไม่เป็นปล้องที่แท้จริง หลอดอาหารแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนหน้ามีลักษณะเป็นกล้ามเนื้อ เป็นต่อมต่อกับทางเดินอาหารส่วนหลังซึ่งมีลักษณะเป็นต่อมทอดไปตามความยาวของลำตัว ตัวผู้ปลายหางจะโค้งงอมาทางด้านท้อง ขนาดของลำตัว 0.10-0.15x3.75-4.21 มิลลิเมตร สปีคูยาว ไม่เท่ากัน มีกูเบนาคูลัม มีติ่งรับสัมผัสหน้าทวาร 3 คู่ และหลังทวาร 3 คู่ ช่องปากขนาด 0.04-0.05x0.05-0.06 มิลลิเมตร ตุ่มที่ฐานช่องปากขนาด 0.004-0.005x0.008-0.015 มิลลิเมตร หลอดอาหารส่วนกล้ามเนื้อขนาด 0.04-0.05x0.27-0.36 มิลลิเมตร หลอดอาหารส่วนต่อมขนาด 0.04-0.07x0.56-0.64 มิลลิเมตร ช่องทวารอยู่ห่างจากปลายหาง 3.36-4.00 มิลลิเมตร ตัวเมีย ปลายหางตรงไม่โค้งงอ ขนาดของลำตัว 0.18-

0.22x7.20-9.36 มิลลิเมตร ช่องปากขนาด 0.05-0.06x0.040.05 มิลลิเมตร คู่ที่ฐานช่องปากขนาด 0.00-0.014 มิลลิเมตรหลอดอาหารส่วนกล้ามเนื้อขนาด 0.07-0.08x0.39-0.42 มิลลิเมตร หลอดอาหารส่วนต่อมขนาด 0.06-0.07x0.84-1.12 มิลลิเมตร รูเปิดช่องคลอดอยู่ประมาณกึ่งกลางลำตัว ปลายหางรูปกรวย มีติ่งเล็กๆ ยื่นออกมา 3 อัน ตำแหน่งที่พบ ลำไส้ จำนวนปรสิตที่พบปรสิตในปลาแต่ละตัว 2-4 ตัว พยาธิในสกุล *Procamallanus* พบเป็นปรสิตในสัตว์เลือดเย็น โดยเฉพาะพวกปลา สำหรับในประเทศไทยมีรายงานพบในปลาน้ำจืดของไทยอีกหลายชนิดเช่น พบในลำไส้ของปลาควัก้าน (ปีทมา, 2529) ปลาช่อน (ปีทมา, 2529; ธนะชัย, 2530) ปลาหมอไทย (พิณทิพย์, 2521) และปลาแค้ (วัชรียา และคณะ, 2548)

โชคชัย และนิติศัย (2542) รายงานว่าจากการศึกษาปรสิตของปลาคูกลำพัน *Clarias nieuhofii* ที่เก็บตัวอย่างมาจากพรุโต๊ะแดง อำเภอตากใบ จังหวัดนราธิวาส พบปรสิตในกลุ่มพยาธิตัวกลม จำนวน 3 สกุล 3 ชนิด ได้แก่ *Capillaria* sp., *Procamallanus* sp., และ *Camallanus* sp. ปรสิตที่พบมากที่สุดได้แก่ *Capillaria* sp. (ร้อยละ 84.29 ของตัวอย่างปรสิตทั้งหมด) ปรสิตที่พบน้อยที่สุด ได้แก่ *Procamallanus* sp. (ร้อยละ 0.26) อวัยวะที่พบมากที่สุดได้แก่ ลำไส้ (ร้อยละ 54.83) ส่วนตับตรวจพบน้อยที่สุด (ร้อยละ 2.06) เดือนที่พบปรสิตมากที่สุดได้แก่เดือนเมษายนจนถึงเดือนตุลาคม (ร้อยละ 82.35) และศึกษาโรคและปรสิตของปลาสวยงามนำเข้า ปรากฏว่าจากตัวอย่างปลาน้ำจืด 14 ชนิด จำนวน 198 ตัว พบปรสิตในกลุ่มพยาธิตัวกลม ได้แก่ *Camallanus fotedari* ในปลาหางนกยูง

วัชรียา และคณะ (2548) ศึกษาปรสิตในปลาเทพาจากแม่น้ำโขง บริเวณอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย ในปี 2547 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจากบริเวณเหงือก และลำไส้ พบว่าไม่มีปรสิตภายนอก แต่มีปรสิตภายใน 1 ชนิด โดยเป็นปรสิตในกลุ่มหนอนตัวกลม อนุกรมวิธานของปรสิตที่พบในปลาเทพาตาม ประไพสิริ (2546); Hoffman (1967) และ Bykhovskaya- Pavlovskaya *et al.*, (1964)

#### Phylum Nematoda

#### Family Cucullanidae

#### *Cucullanus* sp.

รูปร่างลักษณะ เป็นหนอนตัวกลม ลำตัวไม่เป็นปล้อง รูปร่างเป็นทรงกระบอกเพรียวยาว คล้ายเส้นด้าย มีเพศแยก ตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าตัวผู้ ตัวเมียยาวประมาณ 12-15 มิลลิเมตร ตัวผู้ยาวประมาณ 7.4-9.2 มิลลิเมตร ส่วนหัวมีริมฝีปากด้านข้าง หลอดอาหารเป็นกล้ามเนื้อตลอด ตรงปลายพองออกเป็นกระเปาะ ตอนหน้าของหลอดอาหารทำหน้าที่เป็นช่องปาก ตัวเมียปลายหางรูปโคน มีรูว่า (vulva) อยู่ใกล้บริเวณกลางตัว ตัวผู้มีสปีคูล (spicule) เป็นอวัยวะที่ใช้ยึดเกาะขณะผสมพันธุ์

มีเจนนิตัด แพพพิลลี (genital papillae) เป็นอวัยวะรับสัมผัส จำนวนที่พบปรสิติในปลาแต่ละตัว ประมาณ 12 ตัว

วัชรียา และคณะ (2548) ศึกษาปรสิติในปลาสาวยู อนุกรมวิธานของปรสิติที่พบในปลาสาวยู ตามจากแม่น้ำโขง บริเวณอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย ในปี 2547 ประไพศิริ (2546); Bykhovskaya- Pavlovskaya *et al.* (1964) และ Lerssutnichawal (1999)

## Phylum Nematoda

### Family Atractidae

#### *Monhysterides* sp.

รูปร่างลักษณะ เป็นหนอนตัวกลม ตัวมีขนาดเล็ก รูปทรงกระบอกเรียวยาว บริเวณที่กว้างที่สุดอยู่ช่วงกลางตัว ค่อนไปทางท้ายตัวเล็กน้อย ตัวผู้มีความยาว 2.5- 4.5 มิลลิเมตร กว้าง 0.1-0.2 มิลลิเมตร ตัวเมียยาวประมาณ 4.0-7.0 มิลลิเมตร ทั้งสองเพศมีหางเรียวยาวเล็กเป็นเส้นเรียวยาวปลายแหลม ปากล้อมรอบด้วยริมฝีปาก ตอนท้ายของหลอดอาหารทั้งสองส่วนจะพองเป็นกระเปาะเล็กๆ ซึ่งกระเปาะของหลอดอาหารส่วนต่อมจะใหญ่กว่าของหลอดอาหารส่วนกล้ามเนื้อ ถ้าใส่ตรงธรรมดา ไม่มีแขนงออกไป ตัวเมียหางตรง รังไข่มีอันเดียว ออกลูกเป็นตัว มีไข่อ่อนและลูกอ่อนในมดลูกวุลว่า (vulva) อยู่ท้ายตัว เหนือทวารหนัก (anus) เล็กน้อย ตัวผู้มีหางโค้งงอขดเป็นเกลียว ไม่มีพรีแอนเนล ซัคเกอร์ (pre anal sucker) และไม่มีกูเบอเนาคูลัม (gubernaculum) ตำแหน่งที่พบคือ กระจาอาหารและลำไส้ จำนวนปรสิติที่พบในปลา 1 ตัว มากกว่า 100 ตัว และมีรายงานการพบปรสิติชนิดนี้ในปลาสาวยูด้วย *Pangasianodon hypophthalmus* (ประไพศิริ, 2546)

วัชรียา และคณะ (2548) ศึกษาปรสิติในปลาสังกะวาด พบพยาธิตัวกลม *Proleptus* sp. และ *Procamallanus* (ประไพศิริ, 2538) จากแม่น้ำโขง บริเวณอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย ในปี 2547 รูปร่างลักษณะ *Proleptus* มีชื่อพ้องของสกุลว่า *Coronilla* Beneden: *Spiopterina* Beneden ปากมี lateral lip 2 อัน แต่ละอันจะมีฟันรูปโคนอยู่ที่ผิวด้านใน และมีติ่งรับสัมผัสอยู่ 2 อัน มีปลอกคอเล็กๆ หลอดอาหารแบ่งออกเป็น 2 ส่วนชัดเจน เป็นหลอดอาหารส่วนกล้ามเนื้อ และหลอดอาหารส่วนต่อม ตัวผู้ปลายหางโค้งเป็นเกลียว ส่วนติ่งที่หาง (caudal alae) จะมีติ่งรับสัมผัสที่มีก้าน 8-10 คู่ มีพรีแอนเนล แพพพิลลี 3 คู่ และมีติ่งรับสัมผัสเป็นตุ่มๆ เดี่ยวๆ อยู่ที่ด้านหน้าของทวารหนัก ท่อมดลูกขนานกันเป็นไข ไข่มิขนาดเล็ก เปลือกหนามีตัวอ่อนอยู่ภายใน พบเป็นปรสิติอยู่ในช่องท้องติดอยู่ตามอวัยวะภายในของปลาหมอไทย ส่วนใหญ่ที่พบจะขดเป็นวงกลม มีเยื่อบางๆ หุ้มที่ตัว และพบตัวเต็มวัยไม่มีเยื่อหุ้มด้วย เมื่อฉีกเยื่อหุ้มออกปรสิติมีลักษณะเหมือนตัวที่ไม่มีเยื่อหุ้ม มีหลอดอาหารส่วนต่อมยาวเห็นได้ชัด ในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่จะเห็นเป็นปลอกสีขาวเข้มเด่นชัดกว่าส่วนอื่นๆ ผิวตัว

ย่น มองคล้ายเป็นปล้องแต่ไม่ใช่ นอกจากนี้ยังพบอยู่ในทางเดินอาหารของปลาน้ำจืดชนิดอื่นๆ อีกด้วย สกุล *Proleptus* นอกจากจะพบอยู่ในอวัยวะภายในช่องท้องในปลากระดูกแข็งแล้วยังพบอยู่ในกระเพาะอาหารและลำไส้ของปลากระดูกอ่อนที่อยู่ในทะเล เช่น พวกปลาฉลาม ปลากระเบน เห็นส่วนของปลอกคอชัดเจน มีริมฝีปาก 2 อัน เล็กๆ จำนวนปรสิติที่พบในปลาแต่ละตัว 1-2 ตัว ซึ่งลักษณะของ *Proleptus* sp. 1 ที่พบในปลาสังกะวาดแตกต่างจาก *Proleptus* sp. 2 ในปลาคอดเหลือง เนื่องจากมีส่วนของปลอกคอ (collar) ค่อนข้างใหญ่กว่าของในปลาคอดเหลือง และส่วนของปลอกคอในปลาสังกะวาดจะอยู่ในส่วน 2 ใน 3 ของส่วนหัวซึ่งในปลาคอดเหลืองจะอยู่ประมาณ 1 ใน 3 ของส่วนหัว

วัชรียา และคณะ (2548) รายงานว่าปรสิติที่พบในปลาคอดเหลืองจากแม่น้ำโขง บริเวณอำเภอเชียงของ จังหวัดเชียงราย ในปี 2547 พบพยาธิตัวกลมได้แก่ *Spinitectus* sp., *Rhabdochona* sp. และ *Proleptus* sp. (ชนะชัย, 2530; พิสุทธิ, 2530; Yamakuti, 1961)

ลักษณะรูปร่าง *Spinitectus* sp. เป็นพยาธิตัวกลม ผิวตัวมีหนาม เรียงเป็นวงรอบลำตัวเรียกว่า annual spine ตลอดจนถึงส่วนหาง หนามมีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยม ส่วนปลายแหลมชี้ไปทางส่วนท้ายของลำตัว วงหนามส่วนหน้าของลำตัวจะเรียงกันห่างมองเห็นได้ชัดเจน ส่วนวงหนามท้ายตัวมีขนาดเล็กๆ มองเห็นไม่ชัดเจนนัก พยาธิชนิดนี้ไม่มีริมฝีปาก ลักษณะช่องปากเป็นรูปทรงกระบอก ช่องคอมีรูปร่างคล้ายวงแหวน หลอดอาหารมีสองส่วน ส่วนหน้ามีลักษณะเป็นกล้ามเนื้อ และส่วนหลังมีลักษณะเป็นต่อม ตัวผู้ขนาดเล็กกว่าตัวเมีย ขนาด 0.16-0.19x6.20-9.42 มิลลิเมตร หนามวงแรกอยู่ห่างจากปลายหน้าสุด 0.23-0.35 มิลลิเมตร วงหนามบริเวณส่วนหน้าของลำตัวมี 19-20 วง แต่ละวงมีหนาม 14-16 อัน วงหนามวงที่ 1 กับวงที่ 2 ห่างกัน 0.014-0.028 มิลลิเมตร ส่วนวงอื่นๆ ที่อยู่ถัดลงไปอยู่ห่างกัน 0.03 มิลลิเมตร บริเวณลำตัวจะมองเห็นวงหนามไม่ชัดเจนนัก ช่องปากเป็นรูปกรวย ช่องคออยู่ถัดจากช่องปากลงไปหลอดอาหารส่วนกล้ามเนื้อขนาด 0.02-0.03x0.35-0.42 มิลลิเมตร หลอดอาหารส่วนต่อมขนาด 0.06-0.08x1.26-1.54 มิลลิเมตร ปลายหางโค้งทางด้านท้อง ไม่มีกือเบอนาคูลัม มีติ่งรับสัมผัสหน้าทวาร 4 คู่ และหลังทวาร 4 คู่ สปีคูลมี 2 อัน ขนาดเท่ากัน วัดความยาวได้ 0.14-0.52 มิลลิเมตร และอยู่ห่างจากปลายหาง 0.14-0.21 มิลลิเมตร ตัวเมียขนาด 0.28-0.46x10.80-15.68 มิลลิเมตร วงหนามบริเวณส่วนหน้าลำตัวมี 19-20 วง แต่ละวงมี 11-16 อัน วงหนามวงแรกอยู่ห่างปลายหน้าสุด 0.07-0.12 มิลลิเมตร ส่วนวงอื่นๆ ที่อยู่ถัดลงไปอยู่ห่างกัน 0.024-0.026 มิลลิเมตร หลอดอาหารส่วนกล้ามเนื้อขนาด 0.014-0.028x0.28-0.42 มิลลิเมตร หลอดอาหารส่วนต่อมขนาด 0.06-0.07x0.70-0.84 มิลลิเมตร รูเปิดของช่องคลอดอยู่ห่างจากปลายหาง 0.56-0.77 มิลลิเมตร ไข่รูปทรงกลมเปลือกหนา ขนาด 0.08-0.10 มิลลิเมตร ช่องทวารอยู่ห่างจากปลายหาง 0.06-0.08 มิลลิเมตร ตำแหน่งที่พบปล้ำไส้ จำนวนปรสิติที่พบในปลาแต่ละตัว 1-3 ตัว พยาธิในสกุล *Spinitectus*

มีลักษณะพิเศษ คือ มีขอนนามเรียงเป็นวงรอบตัวตลอดลำตัว โดยส่วนต้นของลำตัวจะมีวงขอนนามมากกว่าบริเวณท้ายๆ ตัว และจะมีขนาดใหญ่และเห็นชัดกว่าท้ายๆ ตัว พยาธิในสกุลนี้ นอกจากจะเป็นปรสิตในปลาน้ำจืดแล้วยังพบในปลาทะเลและสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำอีกด้วย *Spinitectus* sp. พบเฉพาะในปลา கடเลื่องตำแหน่งที่พบคือ ลำไส้

ลักษณะรูปร่าง *Rhabdochona* sp. เป็นพยาธิตัวกลมขนาดเล็ก รูปร่างเรียวยาว ช่องปากกรวย ถัดจากช่องปากลงไปเป็นคอหอยมีลักษณะเป็นท่อแคบๆ และสั้น หลอดอาหารแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนหน้ามีลักษณะเป็นท่อยาวตรง มีเส้นประสาทรูปวงแหวน (nerve ring) หลอดอาหารส่วนหลังกว้างกว่าหลอดอาหารส่วนหน้า ตรงปลายพองออกเป็นกระเปาะ (bulb) ต่อจากหลอดอาหารเป็นลำไส้มีลักษณะเป็นท่อยาวไปเปิดออกที่ช่องทวาร ทางท้ายตัวช่องทวารมีรูเปิดของช่องคลอด ส่วนปลายสุดของหางมีติ่งเล็กๆ ยื่นออกมา 4 อัน ตัวผู้ขนาด 0.10-0.19x3.25-5.23 มิลลิเมตร ส่วนปลายหางมีสปีคูล 2 อัน มีลักษณะไม่เหมือนกัน ไม่มีกูเบนาคูลัม แต่มีติ่งรับสัมผัสหน้าทวาร และหลังทวาร ตัวเมียขนาด 0.19-0.29x0.49-0.56 มิลลิเมตร เส้นประสาทรูปวงแหวนขนาด 0.07-0.10x0.06-0.08 มิลลิเมตร และอยู่ห่างจากช่องปาก 0.16-0.18 มิลลิเมตร ลำไส้ยาว 1.40-1.68 มิลลิเมตร ปลายหางมีติ่งเล็กๆ ยื่นออกมา 4 อัน ช่องทวารห่างจากปลายหาง 0.08-0.14 มิลลิเมตร รูเปิดของช่องคลอดอยู่เหนือช่องทวาร ห่างจากปลายหาง 0.21-0.28 มิลลิเมตร ตำแหน่งที่พบ ลำไส้ จำนวนปรสิตที่พบในปลาแต่ละตัว 1-2 ตัว พยาธิในสกุล *Rhabdochona* sp. มีช่องปากเป็นรูปกรวยหรือรูปทรงกระบอก แต่ไม่มีสารพวกไคตินเป็นองค์ประกอบ จากการศึกษารังนี้พบเฉพาะในปลา கடเลื่อง ตำแหน่งที่พบพยาธิคือ ลำไส้ ลักษณะของช่องปากและเส้นประสาทรูปวงแหวนของ *Rhabdochona* sp. ที่พบในปลา கடเลื่องคล้ายกับ *Rhabdochona* bosei sp. n. และพบในลำไส้และกระเพาะอาหารของปลา *Eutropiichthys vacha* ที่ประเทศอินเดีย ชีรุฒิ และกิจการ (2548) รายงานว่าจากการศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของปรสิตในปลาน้ำจืดที่มีศักยภาพในการเลี้ยงในจังหวัด นครศรีธรรมราช พยาธิตัวกลมที่พบอาศัยอยู่ในลำไส้ของปลาทั้งหมด 6 ชนิด 5 วงศ์ ได้แก่ *Camallanus pearsei* พบในปลาหมอไทย *Camallanus unispiculus* พบในปลา கடเลื่อง Unknown nematode sp. 1 พบในปลา กูกำพัน พบ Unknown nematode sp. B ในปลา สลาด และพบ *Spinitectus inermis* ในปลาไหล

## โรคติดเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญในปลาน้ำจืด และสัตว์น้ำอื่นๆ

### ฮีโมราจิก เซปติซีเมีย (haemorrhagic septicemia)

สาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิดคือ 1) *Aeromonas hydrophila* (*A. liguefaciens*) พบทั้งในสัตว์น้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม 2) *Pseudomonas* sp. และ *P. fluorescens* คล้าย *A. hydrophila* แต่อัตราการเกิดน้อยกว่า 3) *Vibrio angillarum*, *V. parahaemolyticus* เกิดขึ้นกับสัตว์น้ำกร่อย และน้ำเค็มหรือสัตว์น้ำจืดที่มีช่วงชีวิตหนึ่งอยู่ในเขตน้ำกร่อย เช่น กุ้งก้ามกราม อาการของโรค คือ มีลักษณะตกเลือดบริเวณบาดแผล (haemorrhage) นอกจากนี้ยังมีลักษณะบวมบริเวณท้อง (abdominal dropsy) แผลแดงเป็นปื้น (red pest) หรือตกเลือดบริเวณปาก (red mouth) (Eisa *et al.*, 1994; Camus *et al.*, 1998)

### โมไทล์ แอโรโมนัส เซปติซีเมีย (Motile Aeromonas Septicemia : MAS)

สาเหตุเกิดจากเชื้อ *A. hydrophila* สร้างความเสียหายเป็นอย่างมากโดยเฉพาะปลาดุก ไม่ต่ำกว่า 60% ในปี 1930 นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน คือ Schaperclaus ค้นพบและมีการจดบันทึกครั้งแรก พบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมดินและน้ำที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำมาก เพราะใช้เป็นแหล่งอาหารได้ดี จัดเป็นเชื้อกลุ่มฉวยโอกาส (opportunistic fish pathogen) ลักษณะของเชื้อเป็นแท่งสั้น ติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Rimler-Shott medium ให้โคโลนีสีเหลืองภายใน 18-24 ชั่วโมง ที่ 35 °C เจริญได้ในสภาพที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ ผลิตรวดและแก๊สจากกลูโคส เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด ไม่ต้องการโกรท แฟกเตอร์ (growth factor) สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดง โดยผลิตสารฮีโมลิซินให้วงใส (clear zone) บน Blood agar (BA) แบบเบต้า-ฮีโมไลซิส ( $\beta$ -haemolysis) (Camus *et al.*, 1998; Francis-Floyd, 2002) สัตว์น้ำหรือปลาที่เป็นโรคติดเชื้อ เนื่องจาก *A. hydrophila* จะมีอาการเชื่องซึม ไม่กินอาหาร ในปลาดุกจะพบว่าไตส่วนหน้า (anterior kidney) บริเวณกอกหูจะบวม มีแผลแดงลักษณะต่างๆ บริเวณลำตัว ครีบกร่อน แหว่ง ตาโปน (exophthalmia) จะมีน้ำเลือด (bloody fluid) ในช่องท้อง ตกเลือด (haemorrhage) ในอวัยวะภายในต่างๆ ใตบวมสีซีด

### ซูโดโมนัส เซปติซีเมีย (Pseudomonas Septicemia)

สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* พบได้บ่อย แต่ไม่มากเท่ากับ *A. hydrophila* ทำให้เกิดการตกเลือดได้ เป็นตัวสร้างสารพิษ (toxin) มาก ทำให้เกิดแผลบริเวณผิวหนัง ก้ามเนื้อ ลักษณะแผลจะลึกลงไปมากกว่า *A. hydrophila* (ในระหว่างการติดเชื้อเท่ากัน) พบในแหล่งน้ำทั่วไป มีลักษณะเป็นแฟกคัลแททีฟ แบคทีเรีย (facultative bacteria) เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา รูปร่างเป็นแท่งสั้น

ติดสีแกรมลบ สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีอากาศแต่ไม่เจริญในที่ไม่มีออกซิเจน เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด เช่น NA, BHI, BA สร้างสารเรืองแสง ซึ่งกระจายได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีลักษณะสีเหลืองปนเขียว (Palleroni, 1984)

### โรคไวรัสโอซิส (vibriosis)

สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Vibrio anguillarum*, *V. parahaemolyticus* ลักษณะทั่วไปเป็นแท่งโค้ง (curved rod) ติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ด้วยโพลีแฟลกเจลลา (poliflagella) ต้องการเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ต่ำกว่า 1.5-3% และไม่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเกลือผสมอยู่สามารถใช้น้ำตาลได้หลายชนิด เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS ให้ลักษณะโคโลนีเฉพาะตัว เช่น *V. cholera* จะได้โคโลนีสีเหลือง *V. parahaemolyticus* ให้โคโลนีสีเขียว เชื้อนี้ไวต่อยาปฏิชีวนะโนโวไบโอซิน (novobiocin) เชื้อแบคทีเรียกลุ่มไวรัสโอซิส เป็นตัวสำคัญที่ก่อให้เกิดในสัตว์น้ำกร่อยและน้ำเค็ม การเกิดโรคติดเชื้อมีสาเหตุเกิดในสัตว์น้ำจืดได้เช่นเดียวกัน แต่ต้องเป็นสัตว์น้ำที่มีช่วงชีวิตหนึ่งอยู่ในเขตน้ำกร่อยหรือน้ำเค็ม (catadromous) เช่น กุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) ลักษณะอาการโดยทั่วไปคล้ายคลึงกับการเกิดโรคติดเชื้อ *A. hydrophila* และ *Pseudomonas* มีลักษณะแผลเป็นหลุมตามลำตัว (ulceration of body surface) ตกเลือดตามผิวหนัง ครีบต่างๆ กร่อนแหว่ง การติดต่อกันของโรคอาจเกิดจากการอยู่ร่วมกัน หรือได้รับอาหารที่ปนเปื้อนจากเชื้อ *Vibrio* (Reed and Francis-Floyd, 2002)

### โรคคอคัลมนารีซิส (columnaris diseases)

สาเหตุเกิดจากแบคทีเรียกลุ่มมิกโซแบคทีเรีย (myxobacterium) ชื่อ *Flexibacter columnaris* หรือ *Chondrococcus columnaris* มีลักษณะเป็นแท่งยาว (long slender rod) ขนาด  $0.5 \times 10 \mu\text{m}$  เคลื่อนที่ได้โดยการคืบคลาน (creeping or flexing) เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีธาตุอาหารต่ำ (low nutrient media) เช่น ออรัลด์ส มีเดีย (Ordal's media) หรือไซโตฟาจา เอการ์ (cytophaga agar) เจริญได้ที่อุณหภูมิช่วง  $25-30^{\circ}\text{C}$  ลักษณะโคโลนีสีเหลือง หยักตรงขอบ (crenulated margin) โคโลนีจะติดแน่นอยู่กับผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะของเชื้อมีอยู่ 2 รูปแบบ คือ 1. เวเจเททีฟ สเตท (vegetative stage) ระยะนี้จะมีรูปร่างเป็นแท่งยาว (long rod) ประมาณ  $5 \times 10 \mu\text{m}$  เป็นอินเฟกทีฟ สเตท (infective stage) เมื่อทำการขูดเมือกมาทำสไลด์สด (wet mount) จากผิวหนังหรือบาดแผลปลาที่เป็นโรคจะเห็นเซลล์ของแบคทีเรีย 2. คอคัลลัส สเตท (coccus stage or microcystis stage) มีลักษณะเป็นทรงกลม (spherical cell) เซลล์พวกนี้จะไม่มีการป้องกัน (protective wall) ลักษณะเช่นนี้จะเกิดขึ้นได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิด (Durborrow *et al.*, 1988) โรคคอคัลมนารีซิสเกิดได้ง่ายทั้งในปลาที่มีเกล็ดและไม่มีเกล็ด ในปลาน้ำจืดและน้ำกร่อย การเกิดโรคชนิดนี้มักเป็นผลสืบเนื่องมาจาก

ความเครียดภายในตัวปลา เช่น ความบอบซ้ำเนื่องจากการลำเลียงและขนส่ง การเพิ่มลดของอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว การเลี้ยงอย่างหนาแน่น (over crowding) ลักษณะอาการที่เกิดขึ้นมีหลายรูปแบบ เช่น 1. เกิดเฉาะบนเหงือก มักไม่พบบนลำตัว มีความรุนแรงมาก และอัตราการตายสูง ปลาจะไม่มีบาดแผล เหงือกสีเหลืองซีด หรือบริเวณปลายเหงือกเป็นสีน้ำตาลและมีเนื้อตาย (brownish necrotic tissue) ถ้าทำสไลด์สดดูจะเห็นเซลล์แบคทีเรียมากมายบริเวณซึ่งเหงือกรวมกันอยู่เป็นกลุ่ม (column) 2. เกิดบริเวณลำตัวและเหงือก พบว่าบนผิวหนังบริเวณลำตัวจะมีสีซีดขาวแผ่เป็นบริเวณกว้าง มีเม็ดสี (pigment) บนผิวหนังถูกทำลาย ลักษณะที่เกิดเป็นปุยสีขาวคล้ายเชื้อรา (cotton wool diseases หรือ mouth fungus) บริเวณขอบๆ ของแผลอาจมีอาการตกเลือดร่วมด้วย (slightly hyperemic) ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นการติดเชื้อบริเวณผิวหนัง (cutaneous infection) อาจพบลักษณะของการติดเชื้อทั่วตัว (systemic infection) ได้บ้างแต่น้อย ระยะการติดต่อกันของเชื้อชนิดนี้สั้นมาก มีอัตราการตายสูง ภายใน 1-2 วัน

### โรคเหงือก (bacterial gill diseases)

โดยทั่วไปโรคเหงือก (gill diseases) ในปลาเกิดขึ้นได้หลายสาเหตุ โรคเหงือกจากแบคทีเรีย (bacterial gill diseases) เกิดเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เลวลง ร่วมด้วยการติดเชื้อแบคทีเรีย กลุ่มมิกโซแบคทีเรียที่เหงือก โรคเหงือกจากสารอาหาร (nutritional gill diseases) เกิดเนื่องจากการขาดธาตุอาหารพวกกรดแพนโทเทนิค (pantothenic acid) โรคเหงือกตกเลือด (haemorrhagic gill diseases) ซึ่งมีการตกเลือดบริเวณซึ่งเหงือก เกิดเนื่องจากสารเคมีที่เป็นมลภาวะ เช่นยาฆ่าแมลงกลุ่มฟีนอล (pesticide phenol) หรือปรสิติกในเลือด บรานซิโอมัยโคซิส (branchiomycosis) ก็เป็นโรคเหงือก ชนิดหนึ่งที่เกิดเนื่องจากการติดเชื้อพวกบรานซิโอมัยเซส (branchiomyces) สำหรับโรคเหงือกจากแบคทีเรีย เชื่อว่าเกิดจากกลุ่มมิกโซแบคทีเรีย ซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรมเป็นสาเหตุโน้มนำ (predisposing cause) นอกเหนือจากกลุ่มมิกโซแบคทีเรียแล้วยังมีตัวอื่นร่วมด้วย เช่นแอโรโมแนส (*Aeromonas*) และซูโดโมแนส (*Pseudomonas*) อาการเริ่มแรกที่แสดงออกคือ ปลาไม่กินอาหาร (loss of appetite) ปลาจะว่ายน้ำและลงไปมา ว่ายน้ำถี่ข้างบ่อย หรือควงส่วน (ในปลาดุก จะว่ายน้ำแบบหัวตั้ง) กระพุ้งแก้มเปิดอ้ามากกว่าปกติ ว่ายน้ำอย่างเชื่องช้าบริเวณผิวหนัง ขอบว่ายน้ำทวนกระแสน้ำ เหงือกจะจับเมือกออกมามากผิดปกติ และมีสีแดงเข้มในระยะเริ่มแรก ปลาที่มีอาการมากๆ เหงือกจะซีด ซึ่งเหงือกเชื่อมติดกันเป็นรูปตะบอง (clubed shape) เมื่อตรวจสอบทางเนื้อเยื่อ (histological examination) พบว่าบริเวณปลายของเส้นเหงือก (gill filament) จะเชื่อมติดกัน เซลล์บริเวณนี้จะเพิ่มจำนวนมากขึ้น (hyperplasia) จะเห็นเซลล์แบคทีเรียเกาะอยู่เต็มไปหมด ลักษณะของโรคเหงือก ระหว่างโรคเหงือกที่เกิดจากแบคทีเรีย กับโรคเหงือกที่เกิดจากสารอาหาร จะมีความคล้ายคลึงกันมาก แต่เมื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่ามีความแตกต่างกันตรงรูปแบบของการเชื่อมรวมกันของซึ่งเหงือก (pattern of

hyperplasia) ในโรคเหงือกที่เกิดจากแบคทีเรีย ลักษณะของการเพิ่มจำนวนเซลล์จะเริ่มตรงปลายของลามেলা (lamellae) ซึ่งจะเชื่อมติดกันก่อน (lamella fusion) ทำให้เกิดเป็นช่องว่าง (hole) ขึ้น ส่วนอาการของโรคเหงือกที่เกิดจากสารอาหาร จะเริ่มมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์บริเวณฐานของลามেলাก่อน แต่จะเชื่อมติดกับตรงปลายของลามেলা และลักษณะของการเพิ่มจำนวนของเซลล์จะไม่มีช่องว่าง (hole) ให้เห็น (Francis-Floyd, 2002)

### โรคเอดวาร์ดซีเอลโลซิส (Edwardsiellosis)

สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Edwardsiella tarda* อยู่ในกลุ่มเอนเทอริค แบคทีเรีย (enteric bacteria) มีลักษณะเป็นแท่งสั้นๆ ติดสีแกรมลบ ลักษณะเด่นคือไซโตโครม ออกซิเดส (cytochrome oxidase) ให้ผลลบ (negative) เคลื่อนที่ได้โดยเพอริทริคัส แฟลกเจลลา (peritrichous flagella) เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด ไม่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (non-hemolysis) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BA (blood agar) บน TSI (triple sugar iron) จะให้อัลคาไลน์ สแลนท์ (alkaline slant) และผลิตแก๊สไข่เน่า ( $H_2S$ ) โรค Edwardsiellosis มีชื่อเรียกอีกอย่างว่า EPDC “emphysematous putrefactive diseases of catfish” เกิดมากในปลากลุ่มไม่มีเกล็ด (catfish) ของต่างประเทศ คือปลาคออเมริกัน (channel catfish) ในประเทศไทยพบเป็นมากในปลาคูที่มีลักษณะของการเลี้ยงอย่างหนาแน่น คุณภาพน้ำไม่ดีพอ ก่อให้เกิดโรคนี้อย่างง่ายดาย และในปลานิล (Galal *et al.*, 2005) มักเกิดบริเวณด้านข้างลำตัว บริเวณครีบอกและครีบบู โดยจะมีเมือกมากผิดปกติเป็นหย่อมๆ การเกิดครั้งแรกจะเป็นตุ่มเล็กๆ บริเวณผิวหนัง ตุ่มนี้จะแตกออกและแผ่ขยายเป็นวงกว้าง เมือกและผิวหนังบริเวณแผลจะหลุดลอก อาการเหล่านี้จะพัฒนาภายใน 10-15 วัน การเกิดโรคจะเกิดขึ้นขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมและสภาพการเลี้ยง บริเวณขอบๆ ที่ลามของแผลจะถูกติดเชื้อซ้ำโดย *A. hydrophila* อาจพบบริเวณครีบอื่นแต่น้อยมากเมื่อเป็นแล้ว จะมีอัตราการตายค่อนข้างสูง (Mohanty and Sahoo, 2007)

### โรคแผลหลุม (ulcer diseases)

สาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas salmonicida* (syn *Haemophilus piscium*) มีลักษณะเป็นแบคทีเรียแกรมลบแท่งสั้น และไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ การเลี้ยงเชื้อกระทำได้ค่อนข้างยาก เพราะเชื้อชนิดนี้ ไม่เจริญในอาหารปกติ สามารถเจริญได้อย่างช้าๆ บน BA และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสม ATP, หรือไดฟอสโฟ-ไทอะมีน (Diphosphothiamine) หรือเปปโตนจากปลา (fish peptone) ลักษณะของโรคแผลหลุมมีความคล้ายคลึงกับแผลเปื่อยที่ผิวหนัง (skin ulceration) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ หลายชนิด เช่น *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida* ในไทยมีรายงานครั้งแรกจากปลาช่อนที่เป็นโรคแผลอมหนอง ลักษณะของแผลที่เกิด เนื่องจาก *H. piscium* จะมีลักษณะเป็นหลุม

คล้ายกับที่เกิดจากโรคฟรังกูโลซิส หรือเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ลักษณะของแผลที่เกิดจะเป็นหลุมมีสีแดงเข้มหรือสีเทา ลักษณะของโรคบางครั้งจะเป็นแบบเรื้อรัง (chronic) คือไม่แสดงอาการภายนอกให้ปรากฏ แต่อวัยวะภายในอาจจะมีแกรนูลของเชื้อ และสามารถแยกเชื้อได้จากปลาที่มีอาการดังกล่าว (Cipriano and Bullock, 2001)

**การศึกษาผลของการแช่สารละลายโปแทสเซียมเปอร์มังกาเนต ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์  
โซเดียมคลอไรด์ ฟอรัมาลดีไฮด์ และโพวิโดไอโอดีน  
ต่ออัตราการปฏิสนธิ และอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาอุกกล้าพัน**

**The study on effects of potassium permanganate, hydrogenperoxide, sodium  
chloride, formaldehyde and povidiodine on fertilization and hatching rate of  
Nieuhofii's Catfish (*Clarias nieuhoftii*)**

**บทนำ**

ปลาคูกล้าพันเป็นปลาน้ำจืดที่พบได้น้อย จัดอยู่ในกลุ่มปลาที่อยู่ในสถานภาพมีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ (Vulnerable, VU) แต่เป็นปลาที่มีสีสัน ลวดลายสวยงาม และมีพฤติกรรมที่น่าสนใจ แม้ว่าปัจจุบันจะประสบความสำเร็จในการเพาะขยายพันธุ์ปลาชนิดนี้ด้วยวิธีการผสมเทียม แต่ก็ยังคงมีผลผลิตน้อย เนื่องจากมีอัตราการฟักออกเป็นตัว และการรอดตายต่ำ เนื่องจากตามธรรมชาติปลาคูกล้าพันอาศัยอยู่เฉพาะในป่าพรุที่มีลักษณะทางกายภาพ และเคมีของน้ำเฉพาะตัว จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะมีความต้องการสภาพแวดล้อมที่มีความเฉพาะตัวในการเจริญเติบโตของลูกปลาวัยอ่อน ทั้งนี้ Rasowo *et al.* (2007) ได้ศึกษาผลของการใช้สารละลายยับยั้งเชื้อชนิดต่างๆ ได้แก่ ฟอรัมาลดีไฮด์ โซเดียมคลอไรด์ โปแทสเซียมเปอร์มังกาเนต และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แช่ไข่ปลาก่อนนำไปฟักต่ออัตราการฟัก และการรอดตายของลูกปลาในระยะเวลาต่างๆ พบว่า การแช่ไข่ปลาคูแอฟริกัน (*Clarias gariepinus*) ในสารละลายโปแทสเซียมเปอร์มังกาเนต และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระดับความเข้มข้น 0.5-4 ส่วนในล้านส่วน และ 100-1,000 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับจะช่วยเพิ่มอัตราการฟัก และการรอดตายของลูกปลาคูแอฟริกันได้มากขึ้น จาก อัตราการฟัก 34.4 % ในชุดควบคุมเป็น 96.7 % ในชุดการทดลองที่แช่ไข่ปลาในสารละลายโปแทสเซียมเปอร์มังกาเนต เป็นเวลา 30 นาที

การศึกษาผลของการใช้สารละลายชนิดต่างๆ แช่ไข่ปลาหลังการปฏิสนธิต่ออัตราการฟักออกเป็นตัว และการรอดตายของลูกปลาจะทำให้ทราบถึงสภาวะที่มีความเหมาะสมในการเพาะขยายพันธุ์ปลาชนิดนี้ ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มอัตราการฟัก และอัตราการรอดตายของลูกปลาคูกล้าพันให้สูงขึ้นได้

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของการแช่สารละลายยับยั้งเชื้อชนิดต่างๆ ก่อนการปักไข่ต่ออัตราการฟัก และอัตราการรอดตายของไข่ปลา และลูกปลาคูกลำพันหลังฟักออกเป็นตัว

## วิธีการดำเนินการวิจัย

### การเพาะพันธุ์ปลาคูกลำพันในโรงเพาะฟัก และการเตรียมสัตว์ทดลอง

คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาคูกลำพันจากการเพาะพันธุ์ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการของหน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง และพ่อแม่พันธุ์ปลาคูกลำพันจากการเพาะขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการที่เลี้ยงในบ่อดินของกลุ่มเกษตรกรเลี้ยงปลาคูกลำพันเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์ ตามโครงการเพาะเลี้ยงปลาคูกลำพันเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์ พ.ศ. 2551 ของสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ในเขตอำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง เพื่อนำมาตรวจสอบสุขภาพ ตรวจสอบความสมบูรณ์เพศ แล้วจึงเพาะขยายพันธุ์ด้วยวิธีการผสมเทียม โดยการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ LH-RH ร่วมกับ domperidone ตามวิธีการของ พรพนม (2538) และ ศราวุธ และคณะ (2538) ภายหลังจากฉีดฮอร์โมนเข็มที่ 2 เป็นเวลา 14 ชั่วโมง จึงรวบรวมไข่จากแม่ปลา และน้ำเชื้อจากปลาเพศผู้ผสมพันธุ์เช่นเดียวกับปลาคูกชนิดอื่น ตามวิธีการของ Hossain *et al.* (2006) จากนั้นนำไปศึกษาผลของการแช่ไข่ปลาคูกลำพันต่ออัตราการฟัก และอัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวต่อไป

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาคูกลำพันตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) หลังจากนั้นแช่ไข่ปลาที่ปฏิสนธิแล้วในสารละลายตามชุดการทดลอง เป็นระยะเวลา 15 นาที จากนั้นจึงฟักไข่ปลาคูกลำพันในระดับความหนาแน่น 1 ฟองต่อ 1 ตารางเซนติเมตร โดยใช้ถาดฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 50 ตารางเซนติเมตร ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น

**ชุดการทดลองที่ 1** ฟักไข่ปลาคูกลำพันในสภาพควบคุม (ไม่มีการแช่ในสารละลายก่อนการฟัก)

**ชุดการทดลองที่ 2** ฟักไข่ปลาคูกลำพันหลังจากแช่ในสารละลายโปแทสเซียมเปอร์มังกาเนต ในระดับความเข้มข้น 1 ส่วนในล้านส่วน

**ชุดการทดลองที่ 3** ฟักไข่ปลาคูกลำพันที่แช่ในสารละลายโปแทสเซียมเปอร์มังกาเนต ในระดับความเข้มข้น 3 ส่วนในล้านส่วน

**ชุดการทดลองที่ 4** ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์แซในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในระดับความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน

**ชุดการทดลองที่ 5** ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์แซในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในระดับความเข้มข้น 200 ส่วนในล้านส่วน

**ชุดการทดลองที่ 6** ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์แซในสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ ในระดับความเข้มข้น 100 ส่วนในล้านส่วน

**ชุดการทดลองที่ 7** ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์แซในสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ ในระดับความเข้มข้น 200 ส่วนในล้านส่วน

**ชุดการทดลองที่ 8** ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์แซในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ในระดับความเข้มข้น 2,000 ส่วนในล้านส่วน

**ชุดการทดลองที่ 9** ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์แซในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ในระดับความเข้มข้น 5,000 ส่วนในล้านส่วน

**ชุดการทดลองที่ 10** ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์แซในสารละลายโพวิโดไอโอดีน ในระดับความเข้มข้น 0.1 ส่วนในล้านส่วน

**ชุดการทดลองที่ 11** ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์แซในสารละลายโพวิโดไอโอดีน ในระดับความเข้มข้น 0.3 ส่วนในล้านส่วน

#### **การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว**

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์แซในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

$$\text{อัตราการฟัก (hatching rate)} = \frac{(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100}{100}$$

#### **การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์แซหลังฟักออกเป็นตัว**

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์แซหลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

$$\text{การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival)} = \frac{(\text{จำนวนลูกปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนลูกปลาที่ตายสะสม} / \text{จำนวนลูกปลาเริ่มต้น}) \times 100}{100}$$

## ผลการศึกษา

### อัตราการฟักออกเป็นตัว

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาคูกลำพันที่ผ่านการแช่ในสารละลายยับยั้งเชื้อชนิดต่างๆ ในความเข้มข้นที่ต่างกันแสดงใน Table 1. ทั้งนี้พบว่าไข่ปลาที่แช่ในสารละลายโพวิโดไอโอดีน 0.3 ppm เป็นเวลา 15 นาที มีอัตราการฟักออกเป็นตัวต่ำที่สุด ( $73.91 \pm 8.37\%$ ) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) กับไข่ปลาที่แช่ในสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 3 ppm ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 100 และ 200 ppm ฟอรัมาลิน 100 ppm โซเดียมคลอไรด์ 5,000 ppm และโพวิโดไอโอดีน 0.1 ppm เป็นเวลา 15 นาที

**Table 1.** Hatching rate (%) of Nieuhofii's catfish larvae after treated with each disinfecting solution for 15 mins.

	Hatching rate (%)
Control	$81.49 \pm 1.35^{ab}$
KMnO <sub>4</sub> 1 ppm	$81.31 \pm 3.68^{ab}$
KMnO <sub>4</sub> 3 ppm	$85.13 \pm 4.13^a$
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 100 ppm	$84.28 \pm 3.57^a$
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 200 ppm	$85.07 \pm 2.30^a$
Formalin 100 ppm	$84.95 \pm 5.52^a$
Formalin 200 ppm	$79.20 \pm 3.48^{ab}$
NaCl 2,000 ppm	$80.43 \pm 6.29^{ab}$
NaCl 5,000 ppm	$85.95 \pm 2.81^a$
Povidone iodine 0.1 ppm	$82.89 \pm 0.18^a$
Povidone iodine 0.3 ppm	$73.91 \pm 8.37^b$

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

### อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

ทำการตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์ที่ฟักออกเป็นตัวจากไข่ปลาที่ผ่านการแช่ในสารละลายคลอรีนแต่ละชนิดในระดับความเข้มข้นที่ต่างกัน โดยตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าลูกปลาที่ฟักจากไข่ปลาทุกชุดการทดลองมีการรอดตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงใน Table 2. โดยมีค่าเฉลี่ยการรอดตายในระยะไข่แดงยุบตัว และเริ่มกินอาหาร (ระยะเวลา 96 ชั่วโมงหลังฟัก) อยู่ในช่วง  $88.60 \pm 2.48 - 93.90 \pm 2.60$  %

**Table 2.** Survival rate (%) during 96 hrs. of Nieuhofii's catfish larvae after hatch out from each treated solution.

	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
<b>Control</b>	100 ± 0.00	96.88 ± 1.93 <sup>ns</sup>	95.70 ± 2.09 <sup>ns</sup>	92.66 ± 1.07 <sup>ns</sup>	91.28 ± 0.90 <sup>ns</sup>
<b>KMnO<sub>4</sub> 1 ppm</b>	100 ± 0.00	96.74 ± 1.15 <sup>ns</sup>	94.89 ± 2.47 <sup>ns</sup>	93.76 ± 1.32 <sup>ns</sup>	92.98 ± 1.85 <sup>ns</sup>
<b>KMnO<sub>4</sub> 3 ppm</b>	100 ± 0.00	94.19 ± 1.14 <sup>ns</sup>	92.58 ± 1.72 <sup>ns</sup>	89.58 ± 2.82 <sup>ns</sup>	88.60 ± 2.48 <sup>ns</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100 ppm</b>	100 ± 0.00	96.53 ± 2.53 <sup>ns</sup>	94.26 ± 4.77 <sup>ns</sup>	93.12 ± 4.90 <sup>ns</sup>	91.02 ± 5.10 <sup>ns</sup>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 200 ppm</b>	100 ± 0.00	97.77 ± 1.58 <sup>ns</sup>	95.45 ± 2.22 <sup>ns</sup>	94.96 ± 2.19 <sup>ns</sup>	93.90 ± 2.60 <sup>ns</sup>
<b>Formalin 100 ppm</b>	100 ± 0.00	97.97 ± 1.75 <sup>ns</sup>	94.06 ± 3.60 <sup>ns</sup>	92.42 ± 2.76 <sup>ns</sup>	91.47 ± 3.13 <sup>ns</sup>
<b>Formalin 200 ppm</b>	100 ± 0.00	95.73 ± 3.56 <sup>ns</sup>	93.43 ± 3.96 <sup>ns</sup>	91.58 ± 3.60 <sup>ns</sup>	90.71 ± 2.63 <sup>ns</sup>
<b>NaCl 2,000 ppm</b>	100 ± 0.00	97.53 ± 1.64 <sup>ns</sup>	94.41 ± 1.02 <sup>ns</sup>	93.09 ± 1.57 <sup>ns</sup>	92.45 ± 1.20 <sup>ns</sup>
<b>NaCl 5,000 ppm</b>	100 ± 0.00	97.34 ± 1.13 <sup>ns</sup>	92.74 ± 6.72 <sup>ns</sup>	91.76 ± 6.99 <sup>ns</sup>	91.76 ± 6.99 <sup>ns</sup>
<b>Povidone iodine 0.1 ppm</b>	100 ± 0.00	94.69 ± 0.93 <sup>ns</sup>	93.37 ± 1.30 <sup>ns</sup>	92.94 ± 1.65 <sup>ns</sup>	90.81 ± 1.49 <sup>ns</sup>
<b>Povidone iodine 0.3 ppm</b>	100 ± 0.00	94.61 ± 3.84 <sup>ns</sup>	92.89 ± 3.49 <sup>ns</sup>	92.43 ± 4.28 <sup>ns</sup>	91.29 ± 4.69 <sup>ns</sup>

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

## สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการใช้สารเคมีลดปริมาณเชื้อแซ่ไข่ปลาภายหลังการปฏิบัติสนธิไม่มีผลช่วยให้อัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลา และอัตราการรอดตายของลูกปลาเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้การใช้สารเคมีบางชนิดแซ่ไข่ของลูกปลายังมีแนวโน้มให้อัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาลดลง แม้จะพบว่าการใช้สารละลายโพแทสเซียมเปอร์มังกานต 3 ppm ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 100 และ 200 ppm และ โซเดียมคลอไรด์ 5,000 ppm แซ่ไข่ปลาถูกลำพันที่ปฏิบัติสนธิแล้วเป็นเวลา 15 นาที มีผลให้อัตราการฟักออกเป็นตัวเพิ่มสูงขึ้นกว่าการแซ่ไข่ปลาด้วยสารละลายโพวิโดไอโอดีน 0.3 ppm แต่เป็นค่าอัตราการฟักออกเป็นตัวที่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้สารละลายแซ่ไข่ปลา ก่อนนำไปฟัก ผลการทดลองนี้มีความแตกต่างจากรายงานการใช้สารเคมีลดเชื้อแซ่ไข่ลูกปลาคูกแอฟริกัน (*Clarias gariepinus*) โดย Rasowo *et al.* (2007) ซึ่งได้ศึกษาผลของการใช้สารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ โซเดียมคลอไรด์ แซ่ไข่ปลา ก่อนนำไปฟัก ต่ออัตราการฟัก และการรอดตายของลูกปลาในระยะเวลาต่างๆ พบว่า การแซ่ไข่ปลา คูกแอฟริกัน ในสารละลายโพแทสเซียมเปอร์มังกานต และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในระดับความเข้มข้น 0.5-4 ppm และ โซเดียมคลอไรด์ 100-1,000 ppm ตามลำดับ จะช่วยเพิ่มอัตราการฟัก และการรอดตายของลูกปลาคูกแอฟริกัน ได้มากขึ้น จาก อัตราการฟัก 34.4 % ในชุดควบคุม เป็น 96.7 % ในชุดการทดลองที่แซ่ไข่ปลาในสารละลายโพแทสเซียมเปอร์มังกานต เป็นเวลา 30 นาที ทั้งนี้ รายงานการศึกษาดังกล่าวใช้น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ สำหรับการเพาะฟัก ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ต่างๆ ส่งผลให้อัตราการฟักออกเป็นตัวต่ำ ในชุดควบคุม แตกต่างจากการทดลองในปลาถูกลำพันที่ดำเนินการในครั้ง นี้ ซึ่งใช้น้ำประปาที่ผ่านการฟักให้ปราศจากคลอรีนเป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำมาใช้เพาะฟักแซ่ไข่ปลา ในทุกชุดการทดลอง อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาในปลาถูกลำพัน พบว่า การใช้สารละลายโพแทสเซียมเปอร์มังกานต 3 ppm ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 100 และ 200 ppm และ โซเดียมคลอไรด์ 5,000 ppm แซ่ไข่ปลาถูกลำพันที่ปฏิบัติสนธิแล้ว ต่ออัตราการฟักของลูกปลาในครั้ง นี้มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติกับการไม่ใช้สารละลายแซ่ไข่ปลา ก่อนนำไปฟัก จึงอาจกล่าวได้ว่า หากดำเนินการจัดเตรียมน้ำสำหรับเพาะเลี้ยงปลาในโรงเพาะฟัก ให้มีความเหมาะสม ก็ไม่มีความจำเป็นที่จะต้องใช้สารเคมีลดปริมาณเชื้อแซ่ไข่ของลูกปลา ก่อนนำไปเพาะฟัก ทั้งนี้ การใช้สารเคมีต่างๆ นอกจากอาจจะก่อให้เกิดการสะสมในแหล่งน้ำธรรมชาติ ก่อให้เกิดความไม่ปลอดภัยต่อผู้ใช้แล้ว ยังนับเป็นต้นทุนในการเพาะฟักที่เพิ่มขึ้น โดยไม่มีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตลูกปลาแต่อย่างใด

**การศึกษาผลของคุณภาพน้ำต่ออัตราการเพาะฟัก การรอดตาย  
และการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)**

**The Study on Effects of Water Quality on Hatching rate, Survival and Growth  
of Nieuhofii's Catfish (*Clarias nieuhofii*).**

**บทนำ**

ปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*) เป็นปลาน้ำจืดที่อยู่ในกลุ่มปลาที่มีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ในลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา จากข้อมูลการสำรวจชนิดพันธุ์และเก็บตัวอย่างปลาในอดีต โดย โสภากา (2513) พบว่าปลาดุกลำพันมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง พบทั้งในแม่น้ำ ลำคลอง พรุน้ำจืด และพื้นที่น้ำท่วมขัง แต่ในปัจจุบันมีรายงานการพบปลาดุกลำพันในพื้นที่จำกัด (ศราวุธ และคณะ, 2538) นอกจากนี้จะมีความสำคัญในแง่การเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ที่ต้องดำเนินการอนุรักษ์พันธุ์อย่างเร่งด่วนแล้ว ปลาดุกลำพันยังจัดเป็นปลาที่มีลักษณะ สีสน และลวดลายที่สวยงาม เป็นปลาที่มีผู้นิยมเลี้ยงเป็นปลาสวยงามที่มีราคาสูง รวมทั้งยังมีความต้องการในตลาดปลาสวยงามของยุโรป (Montaldi, personal communication) แม้ว่าในตลาดปลาสวยงามจะมีความต้องการปลาดุกลำพันในปริมาณสูง แต่ก็พบได้น้อย และหาได้ยากในตลาดปลาสวยงาม ทั้งนี้พบว่าปลาดุกลำพันในตลาดปลาสวยงามทั้งหมดเป็นปลาที่จับ และรวบรวมมาจากธรรมชาติ ซึ่งยิ่งส่งผลกระทบต่อปริมาณพันธุ์ปลาดุกลำพันในธรรมชาติให้ลดน้อยลง และเข้าสู่ภาวะใกล้สูญพันธุ์ ดังนั้นการเพาะขยายพันธุ์ปลาดุกลำพัน โดยการผลิตลูกปลาดุกลำพันจากพ่อแม่พันธุ์ที่เพาะพันธุ์และเลี้ยงขึ้นเองในบ่อดิน การอนุบาลลูกปลาด้วยวิธีการที่เหมาะสม นับเป็นการฟื้นฟูทรัพยากรสัตว์น้ำที่หายาก และเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ชนิดนี้ได้ อีกทั้งยังเป็นแนวทางที่เหมาะสมในการพัฒนาและส่งเสริมพันธุ์ปลาชนิดนี้ให้เป็นสายพันธุ์ปลาสวยงามที่มีปริมาณมากขึ้นในท้องตลาด ซึ่งจะสามารถส่งเสริมและขยายตลาดปลาสวยงามสายพันธุ์ใหม่ให้กว้างขวางมากขึ้น

เพื่อให้ปลาดุกลำพันมีปริมาณมากขึ้นในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม จำเป็นต้องพัฒนาการเพาะขยายพันธุ์ด้วยเทคโนโลยีที่เหมาะสม ด้วยสภาวะทางกายภาพ และคุณภาพน้ำที่ส่งผลให้ลูกปลามีการฟัก และการรอดตายสูงที่สุด ในอดีตมีรายงานเกี่ยวกับการขยายพันธุ์ปลาดุกลำพันจากพ่อแม่พันธุ์ที่จับจากธรรมชาติ ได้เป็นผลสำเร็จ โดยพรพนม (2538) สามารถผสมเทียมปลาดุกลำพันได้โดยใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ LHRH 15 ไมโครกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์

domperidone 10 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม สามารถรีดไข่เพื่อการผสมเทียมได้ในเวลา 18 ชั่วโมง นอกจากนี้ กฤษณะ และคณะ (2551) ได้ศึกษาคัพภะวิทยาของปลาคูกลำพัน พบว่าลูกปลาจะฟักออกเป็นตัวในเวลา 30 ชั่วโมง และ Kiriratnikom *et al.* (2007) ได้ทดลองผสมเทียมปลาคูกลำพัน และอนุบาลลูกปลาวัยอ่อนด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และไข่ตุ๋นผสมปลาป่น จนกระทั่งถึงระยะปลานี้ว โดยพบว่ามีการรอดตายสูง อย่างไรก็ตามการเพาะขยายพันธุ์ปลาคูกลำพันยังคงประสบปัญหาเกี่ยวกับอัตราการฟักออกเป็นตัวมีค่าต่ำ และอัตราการรอดตายของลูกปลาที่ยังคงมีความผันแปรอยู่มากทั้งจากรายงานการศึกษาในอดีต โดยพรพนม (2538) พบว่าอัตราการฟักออกเป็นตัวมีค่าระหว่าง 2.87 – 21.78% และมีอัตรารอดตาย 44.79 – 73.61% รวมทั้งจากการทดลองในห้องปฏิบัติการของมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง ก็พบว่าอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาคูกลำพันมีความผันแปร ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้จากทั้งปัจจัยด้านความสมบูรณ์ของแม่พันธุ์ และปัจจัยด้านคุณภาพน้ำ

ทั้งนี้การศึกษาทางด้านชีววิทยาในการเพาะพันธุ์ สภาวะทางกายภาพและคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการเพาะขยายพันธุ์ ตลอดจนข้อมูลด้านเทคโนโลยีในการขยายพันธุ์ปลาคูกลำพัน การวิจัยนี้จึงได้จัดทำขึ้นเพื่อให้ทราบถึงผลของคุณภาพน้ำต่อการฟัก และการรอดตายของปลาคูกลำพันที่เลี้ยงในสภาพน้ำที่แตกต่างกัน เพื่อมุ่งแก้ไขปัญหาด้านอัตราการฟัก และการรอดตายต่ำในระหว่างการอนุบาล ซึ่งจะส่งผลให้มีประสิทธิภาพการเพาะขยายพันธุ์ปลาคูกลำพันเพิ่มสูงขึ้นได้ต่อไป

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของคุณภาพน้ำทางกายภาพต่ออัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพัน
2. เพื่อศึกษาผลของคุณภาพน้ำทางเคมีต่ออัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพัน
3. เพื่อทราบถึงสภาวะที่มีความเหมาะสมที่สุดในการเพาะฟักไข่ปลาคูกลำพันในโรงเพาะฟัก เพื่อให้มีอัตราการฟัก อัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตสูงที่สุด

### ขอบเขตของโครงการวิจัย

การศึกษานี้มุ่งเน้นตรวจสอบผลของคุณภาพน้ำทางกายภาพ และเคมี โดยแยกศึกษาผลของปัจจัยแต่ละด้านให้ครอบคลุม เพื่อพิจารณาผลของปัจจัยในระดับต่างๆ ต่ออัตราการฟักออกเป็นตัว อัตราการรอดตาย ในลูกปลาคูกลำพัน

## วิธีการดำเนินการวิจัย

### การเพาะพันธุ์ปลาดุกกล้าพันธุ์ในโรงเพาะฟัก และการเตรียมสัตว์ทดลอง

คัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาดุกกล้าพันธุ์จากการเพาะพันธุ์ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการของหน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง และพ่อแม่พันธุ์ปลาดุกกล้าพันธุ์จากการเพาะขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการที่เลี้ยงในบ่อดินของกลุ่มเกษตรกรเลี้ยงปลาดุกกล้าพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์พันธุ์ ตามโครงการเพาะเลี้ยงปลาดุกกล้าพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์พันธุ์ พ.ศ. 2551 ของสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ในเขตอำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง เพื่อนำมาตรวจสอบสุขภาพ ตรวจสอบความสมบูรณ์เพศ แล้วจึงเพาะขยายพันธุ์ด้วยวิธีการผสมเทียม โดยการฉีดฮอร์โมนสังเคราะห์ LH-RH ร่วมกับ domperidone ตามวิธีการของ พรพนม (2538) และ ศราวุธ และคณะ (2538) ภายหลังจากฉีดฮอร์โมนเข็มที่ 2 เป็นเวลา 14 ชั่วโมง จึงรวบรวมไข่จากแม่ปลา และน้ำเชื้อจากปลาเพศผู้ ผสมพันธุ์เช่นเดียวกับปลาดุกชนิดอื่น ตามวิธีการของ Hossain *et al.* (2006) จากนั้นนำไปศึกษาผลของการแช่ไข่ปลาดุกกล้าพันธุ์ต่ออัตราการฟัก และอัตราการรอดหลังฟักเป็นตัวต่อไป

### การทดลองที่ 1: การศึกษาผลของความเค็ม ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาดุกกล้าพันธุ์วัยอ่อน

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาดุกกล้าพันธุ์ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาดฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาดุกกล้าพันธุ์ในระดับความหนาแน่น 1 ฟองต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในระดับความเค็มที่ต่างกัน โดยใช้ น้ำทะเลเทียมเป็นแหล่งของความเค็ม แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง โดยฟักไข่ปลาดุกกล้าพันธุ์ในระดับความเค็ม 0, 0.5, 1 และ 2 ส่วนในพันส่วนตามลำดับ

### คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 48-55 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.8-8.2 และอุณหภูมิตลอดการทดลองมีค่าระหว่าง 26.5-28.0 องศาเซลเซียส

### การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาคูกลำพันที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

อัตราการฟัก (hatch rate) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันหลังฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันหลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} - \text{จำนวนลูกปลาที่ตาย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันในระหว่างการอนุบาล

เมื่อลูกปลาคูกลำพันมีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาคูกลำพันด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของลูกปลาคูกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมความเค็มในแต่ละตู้ทดลองให้อยู่ในระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =

$$(\text{จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} / \text{จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100$$

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =

$$((\text{ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง}) / \text{ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100$$

## การทดลองที่ 2: การศึกษาผลของปริมาณแทนนิน ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพันวัยอ่อน

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาดุกลำพันตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาดฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาดุกลำพันในระดับความหนาแน่น 1 ฟองต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในน้ำที่มีระดับแทนนินที่ต่างกัน โดยใช้กรดแทนนิก ละลายน้ำในแต่ละชุดการทดลอง โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง โดยฟักไข่ปลาดุกลำพันในน้ำที่มีแทนนิน 0, 10, 25 และ 50 ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ

### คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 40-56 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.4-8.1 และอุณหภูมิตลอดการทดลองมีค่าระหว่าง 27.5-28.0 องศาเซลเซียส

### การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการอัตราการฟัก (hatch rate) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาดุกลำพันหลังฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาดุกลำพันหลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} - \text{จำนวนลูกปลาที่ตาย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาดุกลำพันในระหว่างการอนุบาล

เมื่อลูกปลาดุกลำพันมีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาดุกลำพันด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของ ลูกปลาดุกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมปริมาณแทนนินในแต่ละตู้ทดลอง ให้อยู่ในระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =

(จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง / จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง) X 100

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =

((ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง-ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง) / ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง)) X 100

### การทดลองที่ 3 : การศึกษาผลของแอมโมเนีย ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของ ปลาดุกลำพันวัยอ่อน

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาดุกลำพันตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาดฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาดุกลำพันในระดับความหนาแน่น 1 ฟอง ต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในระดับแอมโมเนียที่ต่างกัน โดยใช้แอมโมเนียมคลอไรด์ เป็นแหล่งกำเนิดแอมโมเนีย โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลองฟักไข่ปลาดุกลำพันในน้ำที่มีปริมาณแอมโมเนีย 0, 0.1, 0.25 และ 0.5 ส่วนในล้านส่วน

#### คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 42-50 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.2-7.8 และอุณหภูมิตลอดการทดลองมีค่าระหว่าง 27.0-28.0 องศาเซลเซียส

### การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาคูกลำพันที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

อัตราการฟัก (hatch rate) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันหลังฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันหลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} - \text{จำนวนลูกปลาที่ตาย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันในระหว่างการอนุบาล

เมื่อลูกปลาคูกลำพันมีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาคูกลำพันด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของลูกปลาคูกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุน้ำ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมปริมาณแอมโมเนียในแต่ละตู้ทดลองให้อยู่ในระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =

$$(\text{จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} / \text{จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100$$

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =

$$((\text{ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง}) / \text{ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100$$

#### การทดลองที่ 4 : การศึกษาผลของไนไตรท ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของ ปลาอุกกล้าพันธุ์อ่อน

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาดฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในระดับความหนาแน่น 1 ฟองต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในน้ำที่มีปริมาณไนไตรทที่ต่างกัน โดยใช้โซเดียมไนไตรทเป็นแหล่งกำเนิดไนไตรท โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง โดยฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในน้ำที่มีปริมาณไนไตรท 0, 0.5, 1 และ 3 ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ

#### คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 40-52 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.8-8.3 และอุณหภูมิตลอดการทดลองมีค่าระหว่าง 26.0 - 27.0 องศาเซลเซียส

#### การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

อัตราการฟัก (hatch rate) =

(จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น - จำนวนไข่ปลาที่เสีย / จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น) X 100

#### การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =

(จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น - จำนวนไข่ปลาที่เสีย - จำนวนลูกปลาที่ตาย / จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น) X 100

### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ในระหว่างการอนุบาล

เมื่อลูกปลาอุกกล้าพันธุ์มีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของ ลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมปริมาณไนโตรเจนในแต่ละตู้ทดลอง ให้อยู่ในระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =

(จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง / จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง) X 100

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =

((ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง-ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง) / ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง) X 100

### การทดลองที่ 5 : การศึกษาผลของไนเตรท ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของ ปลาอุกกล้าพันธุ์วัยอ่อน

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาดฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในระดับความหนาแน่น 1 ฟอง ต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในน้ำที่มีปริมาณไนเตรทที่ต่างกัน โดยใช้โซเดียมไนเตรท เป็นแหล่งกำเนิดไนเตรท โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในน้ำที่มีปริมาณไนเตรท 0, 5, 15 และ 30 ส่วนในล้านส่วน

#### คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 45-55 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.5-8.1 และอุณหภูมิตลอดการทดลองมีค่าระหว่าง 27.0 - 28.0 องศาเซลเซียส

### การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์ที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

อัตราการฟัก (hatch rate) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์หลังฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์หลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} - \text{จำนวนลูกปลาที่ตาย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์ในระหว่างการอนุบาล

เมื่อลูกปลาดุกกล้าพันธุ์มีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาดุกกล้าพันธุ์ด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์หลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุน้ำ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมปริมาณไนเตรทในแต่ละตู้ทดลองให้อยู่ในระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =

$$(\text{จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} / \text{จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100$$

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =

$$((\text{ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง}) / \text{ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100$$

### การทดลองที่ 6 : การศึกษาผลของความเป็นด่าง (alkalinity) ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาดุกกล้าพันธุ์อ่อน

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาดุกกล้าพันธุ์ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาดฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาดุกกล้าพันธุ์ในระดับความหนาแน่น 1 ฟองต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในระดับความเป็นด่างที่แตกต่างกัน โดยใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นแหล่งกำเนิดความเป็นด่างในน้ำ โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลองแต่ละชุดการทดลองฟักไข่ปลาดุกกล้าพันธุ์ในระดับความเป็นด่าง 20, 30, 40 และ 50 ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ

#### คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 19-54 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 6.2-7.5 และอุณหภูมิตลอดการทดลองมีค่าระหว่าง 26.0-28.0 องศาเซลเซียส

#### การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์ที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

อัตราการฟัก (hatch rate) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

#### การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์หลังฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์หลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} - \text{จำนวนลูกปลาที่ตาย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ในระหว่างการอนุบาล

เมื่อลูกปลาอุกกล้าพันธุ์มีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมค่าความเป็นด่างในแต่ละตู้ทดลองให้อยู่ในระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =

(จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง / จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง) X 100

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =

(ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง-ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง) / ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง) X 100

### การทดลองที่ 7 : การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาอุกกล้าพันธุ์วัยอ่อน

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาดฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในระดับความหนาแน่น 1 ฟองต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในระดับความเป็นกรด-ด่างที่ต่างกัน โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) 4, 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ

### คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 20-53 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3.8-8.2 และอุณหภูมิตลอดการทดลองมีค่าระหว่าง 26.5-29.0 องศาเซลเซียส

### การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาคูกำพันที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

อัตราการฟัก (hatch rate) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาคูกำพันหลังฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาคูกำพันหลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} - \text{จำนวนลูกปลาที่ตาย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาคูกำพันในระหว่างการอนุบาล

เมื่อลูกปลาคูกำพันมีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาคูกำพันด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของลูกปลาคูกำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุน้ำ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมความเป็นกรด-ด่างในแต่ละตู้ทดลองให้อยู่ในระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =

$$(\text{จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} / \text{จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100$$

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =

$$((\text{ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง}) / \text{ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100$$

### การทดลองที่ 8: การศึกษาผลของช่วงแสง ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาอุกกล้าพันธุ์อ่อน

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาดฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในระดับความหนาแน่น 1 ฟองต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในช่วงแสงที่ต่างกัน โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น ชุดการทดลองที่ 1 ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในช่วงแสงมืด 24 ชั่วโมง ชุดการทดลองที่ 2 ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในช่วงแสงมืด 18 ชั่วโมง สว่าง 6 ชั่วโมง ชุดการทดลองที่ 3 ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในช่วงแสงมืด 12 ชั่วโมง สว่าง 12 ชั่วโมง ชุดการทดลองที่ 4 ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในช่วงแสงมืด 6 ชั่วโมง สว่าง 18 ชั่วโมง และชุดการทดลองที่ 5 ฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในช่วงแสงสว่าง 24 ชั่วโมง

#### คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 42-50 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.8-8.2 และอุณหภูมิตลอดการทดลองมีค่าระหว่าง 27.5-29.0 องศาเซลเซียส

#### การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

อัตราการฟัก (hatch rate) =

(จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น - จำนวนไข่ปลาที่เสีย / จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น) X 100

#### การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =  
 (จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น – จำนวนไข่ปลาที่เสีย-จำนวนลูกปลาที่ตาย / จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น) X 100

#### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันในระหว่างการอนุบาล

เมื่อลูกปลาคูกลำพันมีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาคูกลำพันด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของ ลูกปลาคูกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุ น้ำ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมช่วงแสงในแต่ละตู้ทดลองให้อยู่ใน ระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุด การทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =  
 (จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง / จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง) X 100

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =  
 ((ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง-ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง) / ความยาวตัวเมื่อเริ่มการ ทดลอง) X 100

#### การทดลองที่ 9 : การศึกษาผลของความเข้มแสง ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโต ของปลา คูกลำพันวัยอ่อน

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาคูกลำพันตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาด ฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาคูกลำพันในระดับความหนาแน่น 1 ฟอง ต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่ ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในช่วงแสงที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 5 ด้วยความเข้ม แสงที่ต่างกัน โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4 ชุดการทดลอง โดยฟักไข่ปลาคูกลำพันในความเข้ม แสง 500, 800, 1000, 1200 lux ตามลำดับ

### คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 40-52 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.5-8.4 และอุณหภูมิตลอดการทดลองมีค่าระหว่าง 27.0-29.0 องศาเซลเซียส

### การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาคูกำพันที่เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

อัตราการฟัก (hatch rate) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาคูกำพันหลังฟักออกเป็นตัว

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาคูกำพันหลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =

$$(\text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น} - \text{จำนวนไข่ปลาที่เสีย} - \text{จำนวนลูกปลาที่ตาย} / \text{จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาคูกำพันในระหว่างอนุบาล

เมื่อลูกปลาคูกำพันมีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาคูกำพันด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของลูกปลาคูกำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุน้ำ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมความเข้มแสงในแต่ละตู้ทดลองให้อยู่ในระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =

$$(\text{จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} / \text{จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}) \times 100$$

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =  
 ((ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง-ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง) / ความยาวตัวเมื่อเริ่มการ  
 ทดลอง)) X 100

### **การทดลองที่ 10 : การศึกษาผลของอุณหภูมิต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของ ปลาอุกกล้าพันธุ์อ่อน**

จัดเตรียมระบบการฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) โดยใช้ถาด  
 ฟักไข่ที่มีขนาดพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร โดยฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในระดับความหนาแน่น 1 ฟอง  
 ต่อ 1 ตารางเซนติเมตร จัดแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ถาด ในระบบฟักไข่  
 ปลาที่มีการหมุนเวียนน้ำ 200 % ต่อวัน ในระดับอุณหภูมิที่ต่างกัน โดยใช้เครื่องให้ความร้อน และ  
 เครื่องทำความเย็นอัตโนมัติแบบจุ่มเป็นแหล่งกำเนิดความร้อน โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 4  
 ชุดการทดลอง โดยฟักไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ในอุณหภูมิน้ำ 23, 25, 27 และ 29 องศาเซลเซียสตามลำดับ

#### **คุณภาพน้ำของระบบการทดลอง**

จัดเตรียมน้ำประปาในบ่อพักน้ำพร้อมให้อากาศตลอดเวลาเป็นเวลา 7 วันก่อนนำมาใช้ในการ  
 เพาะฟัก และอนุบาลลูกปลา โดยตรวจสอบคุณภาพพื้นฐานก่อนนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีค่า  
 ความเป็นด่าง (alkalinity) 45-50 ppm ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.6-8.2

#### **การตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัว**

ตรวจสอบอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์เลี้ยงในแต่ละชุดการทดลองที่  
 ระยะเวลา 30 และ 36 ชั่วโมงหลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ตามสมการ

อัตราการฟัก (hatch rate) =  
 (จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น – จำนวนไข่ปลาที่เสีย / จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น) X 100

#### **การตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังฟักออกเป็นตัว**

ตรวจสอบการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังจากฟักออกเป็นตัว ที่ระยะเวลา 48, 60, 72,  
 84 และ 96 ชั่วโมง หลังการปฏิสนธิ ตามวิธีการของ Silva *et al.* (2003) ดังสมการ

การรอดตายของลูกปลาหลังจากฟักออกเป็นตัว (post-hatch survival) =  
 (จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น – จำนวนไข่ปลาที่เสีย-จำนวนลูกปลาที่ตาย / จำนวนไข่ปลาเริ่มต้น) X 100

#### การตรวจสอบการเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันในระหว่างการอนุบาล

เมื่อลูกปลาคูกลำพันมีอายุประมาณ 96 ชั่วโมงหลังจากปฏิสนธิ จะเข้าสู่ระยะเริ่มกินอาหาร อนุบาลลูกปลาคูกลำพันด้วยตัวอ่อนอาร์ทีเมีย และตรวจสอบการรอดตาย และการเจริญเติบโตของ ลูกปลาคูกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร โดยย้ายลูกปลาในแต่ละชุดการทดลองลงเลี้ยงในตู้กระจกที่มีความจุน้ำ 10 ลิตร ในระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อลิตร ควบคุมอุณหภูมิในแต่ละตู้ทดลองให้อยู่ใน ระดับต่างๆ ตามชุดการทดลอง ตรวจสอบการรอดตาย และความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาในแต่ละชุด การทดลองที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน ตามวิธีการของ Kiriratnikom *et al.* (2007) ดังสมการ

อัตราการรอดตาย (% survival) =  
 (จำนวนลูกปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง / จำนวนลูกปลาเมื่อเริ่มการทดลอง) X 100

ความยาวตัวที่เพิ่มขึ้น (% body length gain) =  
 ((ความยาวตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง-ความยาวตัวเมื่อเริ่มการทดลอง) / ความยาวตัวเมื่อเริ่มการ ทดลอง) X 100

#### การวิเคราะห์ผล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยอัตราการฟักออกเป็นตัว อัตราการรอดตาย และความ ยาวตัวที่เพิ่มขึ้นของปลาในแต่ละชุดการทดลองด้วย One way analysis of variance (ANOVA) และ วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) (Zar, 1984)

## ผลการศึกษา

### การทดลองที่ 1: การศึกษาผลของความเค็ม ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาอุกลำพันวัยอ่อน

#### อัตราการฟักออกเป็นตัว

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาอุกลำพันที่ฟักในความเค็มระดับต่างๆ แสดงใน Table 3. ทั้งนี้พบว่าไข่ปลาอุกลำพันที่ฟักในทุกระดับความเค็มมีอัตราการฟักออกเป็นตัวอยู่ในช่วง  $71.08 \pm 2.37 - 75.44 \pm 4.47\%$  โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ )

**Table 3.** Hatching rate (%) of Nieuhofii's catfish in different salinity.

	% hatching rate 36 hr.
T1 = control 0 ppt	$75.44 \pm 4.47^{ns}$
T2 = 0.5 ppt	$72.01 \pm 1.86^{ns}$
T3 = 1 ppt	$71.08 \pm 2.37^{ns}$
T4 = 2 ppt	$73.59 \pm 4.11^{ns}$

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

#### อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาอุกลำพันที่ฟักออกเป็นตัวในระดับความเค็มที่แตกต่างกัน แสดงใน Table 4. ผลการทดลองพบว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงหลังฟักออกเป็นตัว การรอดตายของลูกปลาอุกลำพันที่อนุบาลในน้ำที่มีระดับความเค็ม 1-2 ppt มีการรอดตายลดต่ำลง โดยเฉพาะที่ระดับความเค็ม 2 ppt มีผลให้ลูกปลาที่มีการรอดตายต่ำกว่าที่ระดับความเค็ม 0-0.5 ppt ( $P<0.05$ ) อย่างไรก็ตามการรอดตายของลูกปลาอุกลำพันที่ระยะเวลา 72 และ 96 ชั่วโมง มีการรอดตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยมีค่าเฉลี่ยการรอดตายในระยะไข่แดงยุบตัว และเริ่มกินอาหาร (ระยะเวลา 96 ชั่วโมง หลังฟัก) อยู่ในช่วง  $80.88 \pm 3.92 - 86.71 \pm 3.88\%$

**Table 4.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of *Nieuhofii*'s catfish in different salinity

	<b>0 hr</b>	<b>24 hr</b>	<b>48 hr</b>	<b>72 hr</b>	<b>96 hr</b>
<b>T1 = 0 ppt</b>	100.00 ± 0.00	95.67 ± 5.38 <sup>ns</sup>	95.67 ± 5.38 <sup>a</sup>	88.05 ± 4.79 <sup>ns</sup>	83.04 ± 1.06 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 0.5 ppt</b>	100.00 ± 0.00	99.57 ± 0.75 <sup>ns</sup>	93.52 ± 4.71 <sup>a</sup>	86.60 ± 5.16 <sup>ns</sup>	83.19 ± 3.81 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 1 ppt</b>	100.00 ± 0.00	98.47 ± 1.56 <sup>ns</sup>	88.88 ± 3.30 <sup>ab</sup>	88.35 ± 4.04 <sup>ns</sup>	86.71 ± 3.88 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 2 ppt</b>	100.00 ± 0.00	99.10 ± 1.56 <sup>ns</sup>	84.70 ± 3.37 <sup>b</sup>	83.94 ± 3.32 <sup>ns</sup>	80.88 ± 3.92 <sup>ns</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

ns = non-significant ( $P > 0.05$ )

#### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์หลังระยะเริ่มกินอาหาร

ค่าเฉลี่ยความยาวตัวของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์หลังจากเริ่มกินอาหาร ที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 5. ทั้งนี้ลูกปลาที่ถุงไข่แดงยุบตัว ก่อนเริ่มการทดลองมีความยาวตัวเฉลี่ย อยู่ในช่วง  $10.38 \pm 0.59$  -  $10.80 \pm 0.37$  มิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง ( $P > 0.05$ ) เมื่อทำการตรวจสอบความยาวตัวของลูกปลาที่ระยะเวลา 7 และ 14 วันของการเลี้ยง พบว่าลูกปลามีความยาวตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) โดยในวันที่ 14 ของการทดลองลูกปลามีความยาวตัวเฉลี่ย  $14.65 \pm 0.21$  -  $14.98 \pm 0.53$  มิลลิเมตร

อัตราการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์ที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเค็มในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 5. ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยการรอดตายมีค่าอยู่ระหว่าง  $75.56 \pm 20.37$  -  $80.00 \pm 11.55$  % ซึ่งการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์ในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

**Table 5.** Body length (mm) and survival (%) of *Nieuhofii*'s catfish in different salinity for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppt</b>	10.70 ± 0.34 <sup>ns</sup>	12.80 ± 0.50 <sup>ns</sup>	14.65 ± 0.21 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 0.5 ppt</b>	10.80 ± 0.37 <sup>ns</sup>	12.94 ± 0.61 <sup>ns</sup>	14.84 ± 0.89 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 1 ppt</b>	10.54 ± 0.53 <sup>ns</sup>	13.03 ± 0.33 <sup>ns</sup>	14.69 ± 1.12 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 2 ppt</b>	10.38 ± 0.59 <sup>ns</sup>	12.40 ± 0.23 <sup>ns</sup>	14.98 ± 0.53 <sup>ns</sup>
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppt</b>	100.00 ± 0.00	80.00 ± 13.33 <sup>ns</sup>	77.78 ± 16.78 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 0.5 ppt</b>	100.00 ± 0.00	82.22 ± 20.37 <sup>ns</sup>	77.78 ± 16.78 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 1 ppt</b>	100.00 ± 0.00	77.78 ± 16.78 <sup>ns</sup>	75.56 ± 20.37 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 2 ppt</b>	100.00 ± 0.00	84.44 ± 7.70 <sup>ns</sup>	80.00 ± 11.55 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

## การทดลองที่ 2: การศึกษาผลของปริมาณแทนนิน ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพันวัยอ่อน

### อัตราการฟักออกเป็นตัว

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาดุกลำพันในน้ำที่มีแทนนินระดับต่างๆ แสดงใน Table 6. ทั้งนี้พบว่าไข่ปลาดุกลำพันที่ฟักในน้ำที่มีแทนนินทุกระดับ มีอัตราการฟักออกเป็นตัวอยู่ในช่วง 78.31 ± 6.76 - 87.62 ± 2.32 % โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

**Table 6.** Hatching rate (%) of Nieuhofii's catfish in different tannin.

	% hatching rate 36 hr.
<b>T1 = control 0 ppm</b>	81.45 ± 3.43 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 10 ppm</b>	78.31 ± 6.76 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 25 ppm</b>	87.62 ± 2.32 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 50 ppm</b>	79.64 ± 0.05 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

### อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันที่ฟักออกเป็นตัวในน้ำที่มีแทนนินระดับต่างๆ แสดงใน Table 7. ผลการทดลองพบว่าลูกปลาอุกกล้าพันมีการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัวสูงที่สุดในน้ำที่ไม่มีแทนนิน (ชุดควบคุม) และแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมงหลังฟักออกเป็นตัว การรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันในน้ำที่ไม่มีแทนนินมีค่าเฉลี่ย 78.30 ± 7.20 % ขณะที่ลูกปลาที่เลี้ยงในน้ำที่มีระดับแทนนิน 10-50 ppm มีการรอดตายต่ำลง โดยมีอัตราการรอดตายระหว่าง 60.91 ± 3.29 - 64.98 ± 10.09 %

**Table 7.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of Nieuhofii's catfish in different tannin levels.

	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
<b>T1 = 0 ppm</b>	100.00 ± 0.00	94.89 ± 5.17 <sup>ab</sup>	92.80 ± 6.25 <sup>a</sup>	83.60 ± 5.32 <sup>a</sup>	78.30 ± 7.20 <sup>a</sup>
<b>T2 = 10 ppm</b>	100.00 ± 0.00	96.66 ± 3.51 <sup>a</sup>	75.66 ± 3.22 <sup>b</sup>	68.79 ± 2.54 <sup>b</sup>	60.91 ± 3.29 <sup>b</sup>
<b>T3 = 25 ppm</b>	100.00 ± 0.00	86.96 ± 3.39 <sup>b</sup>	81.26 ± 2.78 <sup>b</sup>	77.52 ± 3.53 <sup>ab</sup>	61.97 ± 5.68 <sup>b</sup>
<b>T4 = 50 ppm</b>	100.00 ± 0.00	90.94 ± 5.24 <sup>ab</sup>	81.62 ± 5.82 <sup>b</sup>	76.32 ± 7.38 <sup>ab</sup>	64.98 ± 10.09 <sup>b</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันหลังระยะเริ่มกินอาหาร

ค่าเฉลี่ยความยาวตัวของลูกปลาอุกกล้าพันหลังจากเริ่มกินอาหาร ที่เลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณแทนนินในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 8. ทั้งนี้ความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาที่ระยะเวลา 7 วัน มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาที่เลี้ยงในน้ำที่ไม่มี

แทนนินมีค่าสูง และแตกต่างทางสถิติกับความยาวตัวของลูกปลาที่เลี้ยงในน้ำที่มีระดับแทนนิน 25 ppm ( $P>0.05$ ) อย่างไรก็ตามเมื่อทำการตรวจสอบความยาวตัวของลูกปลาที่ระยะเวลา 14 วันของการเลี้ยง พบว่าลูกปลามีความยาวตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยในวันที่ 14 ของการทดลองลูกปลามีความยาวตัวเฉลี่ย  $14.30 \pm 8.26 - 15.50 \pm 1.21$  มิลลิเมตร

อัตราการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหารที่เลี้ยงในน้ำที่มีแทนนินในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 8. ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยการรอดตายของปลาที่เลี้ยงในน้ำที่มีแทนนินในระดับ 50 ppm มีค่าต่ำที่สุด รองลงมาได้แก่ปลาที่เลี้ยงในน้ำที่มีแทนนินในระดับ 25 ppm ขณะที่การรอดตายของลูกปลาที่เลี้ยงในน้ำที่มีแทนนินในระดับ 0-10 ppm มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง  $84.44 \pm 3.85 - 86.67 \pm 6.67$  %

**Table 8.** Body length (mm) and survival (%) of *Nieuhoffii*'s catfish in different tannin for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppm</b>	$10.34 \pm 0.32$ <sup>ns</sup>	$13.25 \pm 0.27$ <sup>a</sup>	$14.46 \pm 0.33$ <sup>ns</sup>
<b>T2 = 10 ppm</b>	$10.46 \pm 0.37$ <sup>ns</sup>	$11.99 \pm 0.71$ <sup>ab</sup>	$14.58 \pm 0.36$ <sup>ns</sup>
<b>T3 = 25 ppm</b>	$10.28 \pm 0.72$ <sup>ns</sup>	$11.22 \pm 6.48$ <sup>b</sup>	$14.30 \pm 8.26$ <sup>ns</sup>
<b>T4 = 50 ppm</b>	$10.24 \pm 0.74$ <sup>ns</sup>	$12.54 \pm 1.03$ <sup>ab</sup>	$15.50 \pm 1.21$ <sup>ns</sup>
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$91.11 \pm 10.18$ <sup>b</sup>	$84.44 \pm 3.85$ <sup>b</sup>
<b>T2 = 10 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$88.89 \pm 3.85$ <sup>b</sup>	$86.67 \pm 6.67$ <sup>b</sup>
<b>T3 = 25 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$90.00 \pm 4.71$ <sup>b</sup>	$73.33 \pm 9.43$ <sup>ab</sup>
<b>T4 = 50 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$57.78 \pm 15.40$ <sup>a</sup>	$55.56 \pm 13.88$ <sup>a</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

การทดลองที่ 3 : การศึกษาผลของแอมโมเนีย ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของ  
ปลาดุกลำพันวัยอ่อน

อัตราการฟักออกเป็นตัว

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาดุกลำพันในน้ำที่มีปริมาณแอมโมเนียในระดับต่างๆ แสดงใน Table 9. ทั้งนี้พบว่าไข่ปลาดุกลำพันที่ฟักในน้ำที่มีแอมโมเนียทุกระดับ มีอัตราการฟักออกเป็นตัวอยู่ในช่วง  $75.43 \pm 2.98 - 80.45 \pm 7.35 \%$  โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ )

**Table 9.** Hatching rate (%) of Nieuhofii's catfish in different ammonia

	% hatching rate 36 hr.
<b>T1 = control 0 ppm</b>	$78.99 \pm 3.49^{ns}$
<b>T2 = 0.1 ppm</b>	$80.45 \pm 7.35^{ns}$
<b>T3 = 0.25 ppm</b>	$78.14 \pm 5.24^{ns}$
<b>T4 = 0.5 ppm</b>	$75.43 \pm 2.98^{ns}$

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาดุกลำพันที่ฟักออกเป็นตัวในน้ำที่มีปริมาณแอมโมเนียที่ระดับต่างๆ ในระยะ 96 ชั่วโมงแรก แสดงใน Table 10. ผลการทดลองพบว่าการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัวสูงของลูกปลาดุกลำพันในน้ำที่มีปริมาณแอมโมเนีย 0-0.5 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยมีการรอดตายอยู่ในช่วง  $56.64 \pm 22.15 - 78.78 \pm 7.68 \%$

**Table 10.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of Nieuhofii's catfish in different ammonia levels.

	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
<b>T1 = 0 ppm</b>	100.00 ± 0.00	97.46 ± 2.50 <sup>ns</sup>	95.37 ± 5.88 <sup>ns</sup>	86.71 ± 7.04 <sup>ns</sup>	78.78 ± 7.68 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 0.1 ppm</b>	100.00 ± 0.00	94.55 ± 2.68 <sup>ns</sup>	85.37 ± 12.97 <sup>ns</sup>	81.39 ± 11.89 <sup>ns</sup>	77.12 ± 8.45 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 0.25 ppm</b>	100.00 ± 0.00	92.60 ± 4.63 <sup>ns</sup>	88.11 ± 6.32 <sup>ns</sup>	76.58 ± 6.29 <sup>ns</sup>	75.21 ± 7.90 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 0.5 ppm</b>	100.00 ± 0.00	91.30 ± 2.21 <sup>ns</sup>	85.40 ± 3.85 <sup>ns</sup>	74.48 ± 5.09 <sup>ns</sup>	56.64 ± 22.15 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันหลังระยะเริ่มกินอาหาร

ค่าเฉลี่ยความยาวตัวของลูกปลาคูกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร ที่เลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณแอมโมเนียในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 11. ที่ระยะเวลา 7 และ 14 วันของการเลี้ยง พบว่าลูกปลาที่มีความยาวตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยในวันที่ 14 ของการทดลองลูกปลาที่มีความยาวตัวเฉลี่ย  $14.50 \pm 0.45$  -  $15.07 \pm 0.54$  มิลลิเมตร

อัตราการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันที่เลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณแอมโมเนียในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 11. ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยการรอดตายมีค่าอยู่ระหว่าง  $80.00 \pm 11.55$  -  $88.89 \pm 3.85$  % ซึ่งการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

**Table 11.** Body length (mm) and survival (%) of *Nieuhofii*'s catfish in different ammonia for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppm</b>	10.28 ± 0.72 <sup>ns</sup>	13.39 ± 0.21 <sup>a</sup>	15.07 ± 0.54 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 0.1 ppm</b>	10.23 ± 0.74 <sup>ns</sup>	12.07 ± 0.65 <sup>b</sup>	14.95 ± 0.50 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 0.25 ppm</b>	10.46 ± 0.37 <sup>ns</sup>	11.63 ± 0.54 <sup>b</sup>	14.93 ± 0.18 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 0.50 ppm</b>	10.28 ± 0.72 <sup>ns</sup>	11.35 ± 0.58 <sup>b</sup>	14.50 ± 0.45 <sup>ns</sup>
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppm</b>	100.00 ± 0.00	84.44 ± 10.18 <sup>ns</sup>	80.00 ± 11.55 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 0.10 ppm</b>	100.00 ± 0.00	84.44 ± 3.85 <sup>ns</sup>	84.44 ± 3.85 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 0.25 ppm</b>	100.00 ± 0.00	93.33 ± 0.00 <sup>ns</sup>	88.89 ± 3.85 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 0.50 ppm</b>	100.00 ± 0.00	93.33 ± 0.00 <sup>ns</sup>	86.67 ± 6.67 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

#### การทดลองที่ 4 : การศึกษาผลของไนไตรท ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาอุกกล้าพันธุ์อ่อน

##### อัตราการฟักออกเป็นตัว

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์อ่อนในน้ำที่มีปริมาณไนไตรทที่ระดับ 0-3 ppm แสดงใน Table 12. ทั้งนี้พบว่าไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์อ่อนที่ฟักในน้ำที่มีไนไตรททุกระดับ มีอัตราการฟักออกเป็นตัวอยู่ในช่วง 13.73 ± 2.89 - 21.74 ± 0.97 % โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

**Table 12.** Hatching rate (%) of *Nieuhofii*'s catfish in different nitrite

	% hatching rate 36 hr.
<b>T1 = control 0 ppm</b>	21.74 ± 0.97 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 0.5 ppm</b>	15.87 ± 4.90 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 1 ppm</b>	17.52 ± 3.77 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 3 ppm</b>	13.73 ± 2.89 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

### อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาดุกลำพันที่ฟักออกเป็นตัวในน้ำที่มีปริมาณไนไตรท์ที่ระดับต่างๆ ในระยะ 96 ชั่วโมงแรก แสดงใน Table 13. ผลการทดลองพบว่า ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมงของการทดลอง การรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัวของลูกปลาดุกลำพันในน้ำที่มีปริมาณไนไตรท์ 0-0.5 ppm มีการรอดตายอยู่ในช่วง 30.95 ± 10.31 - 43.65 ± 7.91 % ซึ่งมีค่าสูงกว่าและมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) กว่าการรอดตายของลูกปลาที่เลี้ยงด้วยน้ำที่มีปริมาณไนไตรท์ 1-3 ppm

**Table 13.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of *Nieuhofii*'s catfish in different nitrite levels.

	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
<b>T1 = 0 ppm</b>	100.00 ± 0.00	80.26 ± 12.09 <sup>ns</sup>	60.91 ± 15.43 <sup>ns</sup>	36.61 ± 15.02 <sup>ns</sup>	30.95 ± 10.31 <sup>ab</sup>
<b>T2 = 0.5 ppm</b>	100.00 ± 0.00	90.22 ± 11.94 <sup>ns</sup>	77.22 ± 13.80 <sup>ns</sup>	47.18 ± 8.61 <sup>ns</sup>	43.65 ± 7.91 <sup>b</sup>
<b>T3 = 1 ppm</b>	100.00 ± 0.00	87.27 ± 11.06 <sup>ns</sup>	66.51 ± 2.80 <sup>ns</sup>	47.82 ± 18.92 <sup>ns</sup>	27.53 ± 6.54 <sup>a</sup>
<b>T4 = 3 ppm</b>	100.00 ± 0.00	88.13 ± 13.98 <sup>ns</sup>	67.42 ± 23.66 <sup>ns</sup>	34.44 ± 3.32 <sup>ns</sup>	18.59 ± 2.15 <sup>a</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาดุกลำพันหลังระยะเริ่มกินอาหาร

ค่าเฉลี่ยความยาวตัวของลูกปลาดุกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร ที่เลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณของไนไตรท์ในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 14. ที่ระยะเวลา 7 และ 14 วันของการเลี้ยง พบว่าลูกปลามีความยาวตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยในวันที่ 14 ของการทดลองลูกปลามีความยาวตัวเฉลี่ย 15.43 ± 0.04 - 17.40 ± 1.54 มิลลิเมตร

อัตราการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันที่เลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณไนไตรท์ในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 14. ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยการรอดตายมีค่าอยู่ระหว่าง  $22.22 \pm 7.70 - 44.44 \pm 19.25\%$  โดยที่การรอดตายของลูกปลาคูกลำพันในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

**Table 14.** Body length (mm) and survival (%) of Nieuhoffi's catfish in different nitrite for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppm</b>	$8.90 \pm 0.75^{ns}$	$12.48 \pm 0.30^{ns}$	$17.40 \pm 1.54^{ns}$
<b>T2 = 0.5 ppm</b>	$8.50 \pm 0.58^{ns}$	$12.01 \pm 0.71^{ns}$	$16.74 \pm 0.54^{ns}$
<b>T3 = 1 ppm</b>	$8.82 \pm 0.41^{ns}$	$11.87 \pm 0.55^{ns}$	$15.43 \pm 0.04^{ns}$
<b>T4 = 3 ppm</b>	$8.72 \pm 0.77^{ns}$	$11.18 \pm 1.04^{ns}$	$16.83 \pm 2.09^{ns}$
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$53.33 \pm 28.28^{ns}$	$44.44 \pm 19.25^{ns}$
<b>T2 = 0.5 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$50.00 \pm 4.71^{ns}$	$43.33 \pm 10.00^{ns}$
<b>T3 = 1 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$44.44 \pm 10.18^{ns}$	$42.22 \pm 9.43^{ns}$
<b>T4 = 3 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$31.11 \pm 10.18^{ns}$	$22.22 \pm 7.70^{ns}$

ns = non-significant ( $P > 0.05$ )

การทดลองที่ 5 : การศึกษาผลของไนเตรท ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของ  
ปลาดุกลำพันวัยอ่อน

อัตราการฟักออกเป็นตัว

ไข่ปลาดุกลำพันที่ทดลองฟักในน้ำที่มีไนเตรทในปริมาณ 0-30 ppm มีอัตราการฟักออกเป็น  
ตัวอยู่ในช่วง  $12.89 \pm 1.63$  -  $17.26 \pm 3.92$  % โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
( $p>0.05$ ) (Table 15.)

**Table 15.** Hatching rate (%) of *Nieuhofii's* catfish in different nitrate

	% hatching rate 36 hr.
<b>T1 = control 0 ppm</b>	$16.25 \pm 2.46^{ns}$
<b>T2 = 5 ppm</b>	$12.89 \pm 1.63^{ns}$
<b>T3 = 15 ppm</b>	$17.26 \pm 3.92^{ns}$
<b>T4 = 30 ppm</b>	$14.95 \pm 4.30^{ns}$

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาดุกลำพันที่ฟักออกเป็นตัวในน้ำที่มีปริมาณไนเตรทที่ระดับต่างๆ ใน  
ระยะ 96 ชั่วโมงแรก แสดงใน Table 16. พบว่าการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัวของลูกปลาดุก  
ลำพันที่อนุบาลในน้ำที่มีปริมาณไนเตรท 0-30 ppm เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีค่าอยู่ในช่วง  $26.40 \pm$   
 $9.97$  -  $33.00 \pm 8.84$  % ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ในแต่ละชุดการทดลอง

**Table 16.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of Nieuhoffii's catfish in different nitrate levels.

	<b>0 hr</b>	<b>24 hr</b>	<b>48 hr</b>	<b>72 hr</b>	<b>96 hr</b>
<b>T1 = 0 ppm</b>	100.00 ± 0.00	78.22 ± 18.87 <sup>ns</sup>	53.27 ± 15.70 <sup>ns</sup>	34.59 ± 9.34 <sup>ns</sup>	33.00 ± 8.84 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 5 ppm</b>	100.00 ± 0.00	83.00 ± 10.88 <sup>ns</sup>	53.57 ± 8.85 <sup>ns</sup>	41.62 ± 10.82 <sup>ns</sup>	26.40 ± 9.97 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 15 ppm</b>	100.00 ± 0.00	79.63 ± 17.86 <sup>ns</sup>	49.90 ± 31.79 <sup>ns</sup>	37.44 ± 21.11 <sup>ns</sup>	26.92 ± 16.32 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 30 ppm</b>	100.00 ± 0.00	80.45 ± 23.87 <sup>ns</sup>	64.00 ± 18.63 <sup>ns</sup>	40.06 ± 2.27 <sup>ns</sup>	28.53 ± 18.58 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

#### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังระยะเริ่มกินอาหาร

ความยาวตัวของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ที่เลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณไนเตรทในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 17. พบว่าที่ระยะเวลา 7 และ 14 วันของการเลี้ยง ลูกปลามีความยาวตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยในวันที่ 14 ของการทดลองลูกปลามีความยาวตัวเฉลี่ย 15.74 ± 0.32 - 16.64 ± 0.78 มิลลิเมตร

ส่วนอัตราการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ที่เลี้ยงในน้ำที่มีปริมาณไนเตรทในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 17. พบว่าค่าเฉลี่ยการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 33.33±20.00 - 42.22 ± 31.51 %

**Table 17.** Body length (mm) and survival (%) of Nieuhofii's catfish in different nitrate for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppm</b>	8.92 ± 0.76 <sup>ns</sup>	12.06 ± 0.98 <sup>ns</sup>	15.74 ± 0.32 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 5 ppm</b>	8.50 ± 0.58 <sup>ns</sup>	12.32 ± 0.25 <sup>ns</sup>	16.64 ± 0.78 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 15 ppm</b>	8.64 ± 0.75 <sup>ns</sup>	11.61 ± 0.20 <sup>ns</sup>	16.49 ± 2.50 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 30 ppm</b>	8.72 ± 0.77 <sup>ns</sup>	11.46 ± 1.02 <sup>ns</sup>	16.41 ± 0.97 <sup>ns</sup>
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 0 ppm</b>	100.00 ± 0.00	43.33 ± 33.00 <sup>ns</sup>	42.22 ± 31.51 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 5 ppm</b>	100.00 ± 0.00	40.00 ± 18.86 <sup>ns</sup>	33.33 ± 20.00 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 15 ppm</b>	100.00 ± 0.00	53.33 ± 28.28 <sup>ns</sup>	36.67 ± 33.00 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 30 ppm</b>	100.00 ± 0.00	55.56 ± 13.88 <sup>ns</sup>	40.00 ± 24.04 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

**การทดลองที่ 6 : การศึกษาผลของความเป็นด่าง (alkalinity) ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาดุกกล้าพันธุ์อ่อน**

**อัตราการฟักออกเป็นตัว**

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาดุกกล้าพันธุ์ที่ฟักในความเป็นด่างระดับต่างๆ แสดงใน Table 18. ทั้งนี้พบว่าไข่ปลาดุกกล้าพันธุ์ที่ฟักในทุกระดับความเป็นด่างมีอัตราการฟักออกเป็นตัวอยู่ในช่วง 39.40 ± 13.96 - 46.93 ± 1.95 % โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

**Table 18.** Hatching rate (%) of Nieuhofii's catfish in different alkalinity.

	<b>% hatching rate 36 hr.</b>
<b>T1 = 20 ppm</b>	46.93 ± 1.95 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 30 ppm</b>	39.40 ± 13.96 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 40 ppm</b>	43.37 ± 8.62 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 50 ppm</b>	39.55 ± 3.27 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

### อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์ที่ฟักออกเป็นตัวในระดับความเป็นด่างที่แตกต่างกัน แสดงใน Table 19. ผลการทดลองพบว่าลูกปลาที่อนุบาลในน้ำทุกระดับความเป็นด่าง มีการรอดตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าเฉลี่ยการรอดตายในระยะสูงไข่แดงยุบตัว และเริ่มกินอาหาร (ระยะเวลา 96 ชั่วโมงหลังฟัก) อยู่ในช่วง 41.43 ± 1.52 - 53.55 ± 2.57%

**Table 19.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of Nieuhofii's catfish in different alkalinity

	<b>0 hr</b>	<b>24 hr</b>	<b>48 hr</b>	<b>72 hr</b>	<b>96 hr</b>
<b>T1 = 20 ppm</b>	100.00 ± 0.00	79.99 ± 7.98 <sup>ns</sup>	51.18 ± 6.63 <sup>ns</sup>	48.12 ± 2.35 <sup>ns</sup>	41.43 ± 1.52 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 30 ppm</b>	100.00 ± 0.00	78.19 ± 12.61 <sup>ns</sup>	63.71 ± 25.03 <sup>ns</sup>	54.87 ± 13.50 <sup>ns</sup>	45.13 ± 9.96 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 40 ppm</b>	100.00 ± 0.00	72.74 ± 3.29 <sup>ns</sup>	66.47 ± 1.24 <sup>ns</sup>	59.63 ± 3.52 <sup>ns</sup>	53.55 ± 2.57 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 50 ppm</b>	100.00 ± 0.00	69.55 ± 15.57 <sup>ns</sup>	53.95 ± 9.40 <sup>ns</sup>	47.29 ± 11.48 <sup>ns</sup>	41.96 ± 6.85 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์หลังระยะเริ่มกินอาหาร

ค่าเฉลี่ยความยาวตัวของลูกปลาดุกกล้าพันธุ์หลังจากเริ่มกินอาหาร ที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเป็นด่างในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 20. เมื่อทำการตรวจสอบความยาวตัวของลูกปลาที่ระยะเวลา 7 และ 14 วันของการเลี้ยง พบว่าลูกปลาที่มีความยาวตัวแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยในวันที่ 14 ของการทดลองลูกปลาที่เลี้ยงในระดับความเป็นด่าง 20 และ 50 ppm มีความยาวตัวอยู่ในเกณฑ์สูงกว่าลูกปลาที่เลี้ยงในระดับความเป็นด่าง 30 ppm โดยมีค่าเฉลี่ย 20.66 ± 0.59 - 21.34

$\pm 0.18$  มิลลิเมตร สำหรับอัตราการรอดตายของลูกปลาคูกำพันที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเป็นด่างในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 20. ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยการรอดตายมีค่าอยู่ระหว่าง  $76.67 \pm 15.28 - 86.67 \pm 5.77$  % ซึ่งการรอดตายของลูกปลาคูกำพันในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ )

**Table 20.** Body length (mm) and survival (%) of Nieuhofii's catfish in different alkalinity for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 20 ppm</b>	$11.78 \pm 0.24^{ns}$	$14.44 \pm 0.44^{bc}$	$21.34 \pm 0.18^b$
<b>T2 = 30 ppm</b>	$11.86 \pm 0.47^{ns}$	$13.74 \pm 0.66^{ab}$	$19.08 \pm 1.41^a$
<b>T3 = 40 ppm</b>	$11.54 \pm 0.43^{ns}$	$13.44 \pm 0.23^a$	$19.86 \pm 0.08^{ab}$
<b>T4 = 50 ppm</b>	$11.48 \pm 0.39^{ns}$	$14.62 \pm 0.27^c$	$20.66 \pm 0.59^b$
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 20 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$90.00 \pm 10.00^{ns}$	$86.67 \pm 5.77^{ns}$
<b>T2 = 30 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$83.33 \pm 15.28^{ns}$	$76.67 \pm 15.28^{ns}$
<b>T3 = 40 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$90.00 \pm 0.00^{ns}$	$80.00 \pm 17.32^{ns}$
<b>T4 = 50 ppm</b>	$100.00 \pm 0.00$	$83.33 \pm 11.55^{ns}$	$76.67 \pm 11.55^{ns}$

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

การทดลองที่ 7 : การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาดุกลำพันวัยอ่อน

อัตราการฟักออกเป็นตัว

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาดุกลำพันที่ฟักในความเป็นกรด-ด่างระดับต่างๆ แสดงใน Table 21. ทั้งนี้พบว่าไข่ปลาดุกลำพันที่ฟักในความเป็นกรด-ด่าง 4-7 มีอัตราการฟักออกเป็นตัวอยู่ในช่วง  $77.22 \pm 3.34$  -  $86.45 \pm 2.82$  % ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) กับไข่ปลาดุกลำพันที่ฟักในความเป็นกรด-ด่าง 8

Table 21. Hatching rate (%) of Nieuhofii's catfish in different pH.

	% hatching rate 36 hr.
T1 = pH 4	$86.20 \pm 2.27^b$
T2 = pH 5	$86.45 \pm 2.82^b$
T3 = pH 6	$85.99 \pm 2.51^b$
T4 = pH 7	$77.22 \pm 3.34^b$
T5 = pH 8	$66.39 \pm 10.55^a$

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาดุกลำพันที่ฟักออกเป็นตัวในระดับความเป็นกรด-ด่างที่แตกต่างกัน แสดงใน Table 22. ผลการทดลองพบว่าลูกปลาที่อนุบาลในน้ำทุกระดับความเป็นกรด-ด่าง มีการรอดตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) โดยมีค่าเฉลี่ยการรอดตายในระยะงูไข่แดงยุบตัว และเริ่มกินอาหาร (ระยะเวลา 96 ชั่วโมงหลังฟัก) อยู่ในช่วง  $45.83 \pm 22.58$  -  $67.00 \pm 7.13$  %

**Table 22.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of Nieuhofii's catfish in different pH

	<b>0 hr</b>	<b>24 hr</b>	<b>48 hr</b>	<b>72 hr</b>	<b>96 hr</b>
<b>T1 = pH 4</b>	100.00 ± 0.00	68.00 ± 10.01 <sup>ns</sup>	58.53 ± 10.20 <sup>ns</sup>	56.94 ± 8.75 <sup>ns</sup>	56.30 ± 8.30 <sup>ns</sup>
<b>T2 = pH 5</b>	100.00 ± 0.00	80.60 ± 2.97 <sup>ns</sup>	72.56 ± 3.15 <sup>ns</sup>	68.36 ± 6.17 <sup>ns</sup>	67.00 ± 7.13 <sup>ns</sup>
<b>T3 = pH 6</b>	100.00 ± 0.00	80.14 ± 3.26 <sup>ns</sup>	70.76 ± 4.67 <sup>ns</sup>	67.00 ± 4.52 <sup>ns</sup>	66.41 ± 4.14 <sup>ns</sup>
<b>T4 = pH 7</b>	100.00 ± 0.00	75.91 ± 7.09 <sup>ns</sup>	65.69 ± 7.52 <sup>ns</sup>	61.61 ± 7.87 <sup>ns</sup>	61.08 ± 7.55 <sup>ns</sup>
<b>T5 = pH 8</b>	100.00 ± 0.00	67.79 ± 19.40 <sup>ns</sup>	50.76 ± 23.13 <sup>ns</sup>	45.83 ± 22.58 <sup>ns</sup>	45.83 ± 22.58 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันหลังระยะเริ่มกินอาหาร

ค่าเฉลี่ยความยาวตัวของลูกปลาคูกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร ที่เลี้ยงในน้ำความเป็นกรด-ด่างระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 23. เมื่อทำการตรวจสอบความยาวตัวของลูกปลาที่ระยะเวลา 7 และ 14 วันของการเลี้ยง พบว่าลูกปลาที่มีความยาวตัวแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยในวันที่ 7 ของการทดลองลูกปลาที่เลี้ยงในระดับความเป็นกรด-ด่าง 7 และ 8 มีความยาวตัวอยู่ในเกณฑ์ต่ำกว่าลูกปลาที่เลี้ยงในระดับความเป็นกรด-ด่าง 4-6 ทั้งนี้ในวันที่ 14 พบว่าความยาวตัวของลูกปลาที่เลี้ยงในระดับความเป็นกรด-ด่าง 8 มีความยาวตัวต่ำที่สุด และแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) กับชุดการทดลองอื่น

อัตราการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเป็นกรด-ด่างในระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 23. ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยการรอดตายของลูกปลาที่เลี้ยงในระดับความเป็นกรด-ด่าง 4 และ 8 มีค่าต่ำที่สุด และแตกต่างทางสถิติ (P<0.05) กับลูกปลาที่เลี้ยงในระดับความเป็นกรด-ด่าง 5-7

**Table 23.** Body length (mm) and survival (%) of *Nieuhofii*'s catfish in different pH for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = pH 4</b>	10.48 ± 0.52 <sup>ns</sup>	13.54 ± 0.30 <sup>b</sup>	17.40 ± 0.54 <sup>b</sup>
<b>T2 = pH 5</b>	10.33 ± 0.64 <sup>ns</sup>	13.47 ± 0.76 <sup>b</sup>	17.70 ± 0.55 <sup>b</sup>
<b>T3 = pH 6</b>	10.48 ± 0.37 <sup>ns</sup>	13.57 ± 0.40 <sup>b</sup>	17.04 ± 0.46 <sup>b</sup>
<b>T4 = pH 7</b>	10.46 ± 0.41 <sup>ns</sup>	12.95 ± 0.58 <sup>ab</sup>	17.15 ± 0.46 <sup>b</sup>
<b>T5 = pH 8</b>	10.38 ± 0.82 <sup>ns</sup>	12.21 ± 0.16 <sup>a</sup>	15.56 ± 0.63 <sup>a</sup>
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = pH 4</b>	100.00 ± 0.00	56.67 ± 32.15 <sup>a</sup>	53.33 ± 28.87 <sup>b</sup>
<b>T2 = pH 5</b>	100.00 ± 0.00	96.67 ± 5.77 <sup>b</sup>	93.33 ± 11.55 <sup>c</sup>
<b>T3 = pH 6</b>	100.00 ± 0.00	86.67 ± 15.28 <sup>b</sup>	80.00 ± 10.00 <sup>bc</sup>
<b>T4 = pH 7</b>	100.00 ± 0.00	96.67 ± 5.77 <sup>b</sup>	86.67 ± 5.77 <sup>c</sup>
<b>T5 = pH 8</b>	100.00 ± 0.00	40.00 ± 36.06 <sup>a</sup>	23.33 ± 15.28 <sup>a</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

### การทดลองที่ 8: การศึกษาผลของช่วงแสง ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาอุกกล้าพันธุ์อ่อน

#### อัตราการฟักออกเป็นตัว

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ใน ช่วงแสงต่างๆ แสดงใน Table 24. ทั้งนี้พบว่า ไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ที่ฟักในช่วงแสงมืด 18 ชั่วโมง สว่าง 6 ชั่วโมง, มืด 12 ชั่วโมง สว่าง 12 ชั่วโมง มืด 6 ชั่วโมง สว่าง 18 ชั่วโมง และแสงสว่างตลอดเวลา มีอัตราการฟักออกเป็นตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) และเป็นค่าที่สูงกว่าอัตราการฟักของไข่ปลาอุกกล้าพันธุ์ใน ช่วงแสงมืดตลอดเวลา

**Table 24.** Hatching rate (%) of Nieuhofii's catfish in different light periods.

	<b>% hatching rate 36 hr.</b>
<b>T1 = D 24 hr</b>	11.90 ± 1.40 <sup>a</sup>
<b>T2 = D 18 L 6 hr</b>	18.78 ± 2.25 <sup>b</sup>
<b>T3 = D 12 L 12 hr</b>	15.45 ± 3.17 <sup>ab</sup>
<b>T4 = D 6 L 18 hr</b>	19.04 ± 6.17 <sup>b</sup>
<b>T5 = L 24 hr</b>	16.33 ± 1.57 <sup>ab</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

#### อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาคูกลำพันที่ฟักออกเป็นตัวในช่วงแสงต่างๆ แสดงใน Table 25. ผลการทดลองพบว่าลูกปลาคูกลำพันมีการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัวต่ำที่สุดในช่วงแสงมืดตลอดเวลา (P<0.05) ขณะที่ลูกปลาที่เลี้ยงในในช่วงแสงมืด 18 ชั่วโมง สว่าง 6 ชั่วโมง, มืด 12 ชั่วโมง สว่าง 12 ชั่วโมง มืด 6 ชั่วโมง สว่าง 18 ชั่วโมง และในช่วงแสงสว่างตลอดเวลา มีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยมีอัตราการรอดตายระหว่าง 48.59 ± 9.53 - 61.96 ± 9.29 %

**Table 25.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of Nieuhofii's catfish in different light periods.

	<b>0 hr</b>	<b>24 hr</b>	<b>48 hr</b>	<b>72 hr</b>	<b>96 hr</b>
<b>T1 = D 24 hr</b>	100.00 ± 0.00	76.12 ± 23.08 <sup>ns</sup>	53.60 ± 9.03 <sup>a</sup>	51.51 ± 6.24 <sup>ns</sup>	43.95 ± 6.38 <sup>a</sup>
<b>T2 = D 18 L 6 hr</b>	100.00 ± 0.00	82.24 ± 6.39 <sup>ns</sup>	61.46 ± 11.54 <sup>ab</sup>	50.84 ± 9.50 <sup>ns</sup>	48.59 ± 9.53 <sup>ab</sup>
<b>T3 = D 12 L 12 hr</b>	100.00 ± 0.00	84.35 ± 5.33 <sup>ns</sup>	70.90 ± 2.49 <sup>b</sup>	59.17 ± 11.89 <sup>ns</sup>	53.43 ± 6.91 <sup>ab</sup>
<b>T4 = D 6 L 18 hr</b>	100.00 ± 0.00	81.27 ± 11.04 <sup>ns</sup>	70.59 ± 3.58 <sup>b</sup>	56.36 ± 4.90 <sup>ns</sup>	54.61 ± 7.27 <sup>ab</sup>
<b>T5 = L 24 hr</b>	100.00 ± 0.00	89.20 ± 9.87 <sup>ns</sup>	65.00 ± 8.81 <sup>ab</sup>	63.92 ± 10.67 <sup>ns</sup>	61.96 ± 9.29 <sup>b</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาคูกำพันหลังระยะเริ่มกินอาหาร

ค่าเฉลี่ยความยาวตัวของลูกปลาคูกำพันหลังจากเริ่มกินอาหาร ที่เลี้ยงในช่วงแสงต่างๆเป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 26. ทั้งนี้ความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาที่ระยะเวลา 7 วัน มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าความยาวตัวเฉลี่ยของลูกปลาที่เลี้ยงในในช่วงแสงต่างๆ มีค่าอยู่ในช่วง  $14.29 \pm 1.09$  -  $15.52 \pm 0.23$  มิลลิเมตร เมื่อทำการตรวจสอบความยาวตัวของลูกปลาที่ระยะเวลา 14 วันของการเลี้ยง พบว่าลูกปลามีความยาวตัวแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยลูกปลาคูกำพันมีความยาวตัวต่ำสุดในช่วงแสงมืดตลอดเวลา ( $P < 0.05$ ) ขณะที่ลูกปลาที่เลี้ยงในในช่วงแสงมืด 18 ชั่วโมง สว่าง 6 ชั่วโมง, มืด 12 ชั่วโมง สว่าง 12 ชั่วโมง, มืด 6 ชั่วโมง สว่าง 18 ชั่วโมง และช่วงแสงสว่างตลอดเวลา มีความยาวตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

อัตราการรอดตายของลูกปลาคูกำพันหลังจากเริ่มกินอาหารที่เลี้ยงในช่วงแสงต่างๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน แสดงใน Table 26. ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยการรอดตายของปลาที่เลี้ยงในช่วงแสงต่างๆ ตลอดระยะเวลา 14 วัน มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง  $76.67 \pm 11.55$  -  $96.67 \pm 5.77$  %

**Table 26.** Body length (mm) and survival (%) of Nieuhofii's catfish in different light periods for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = D 24 hr</b>	10.34 ± 0.72 <sup>ns</sup>	14.84 ± 0.25 <sup>ns</sup>	18.30 ± 0.25 <sup>a</sup>
<b>T2 = D 18 L 6 hr</b>	10.36 ± 0.56 <sup>ns</sup>	15.34 ± 0.66 <sup>ns</sup>	19.39 ± 0.42 <sup>b</sup>
<b>T3 = D 12 L 12 hr</b>	10.38 ± 0.74 <sup>ns</sup>	15.52 ± 0.23 <sup>ns</sup>	19.25 ± 0.44 <sup>b</sup>
<b>T4 = D 6 L 18 hr</b>	10.28 ± 0.84 <sup>ns</sup>	14.29 ± 1.09 <sup>ns</sup>	19.08 ± 0.73 <sup>ab</sup>
<b>T5 = L 24 hr</b>	10.35 ± 0.56 <sup>ns</sup>	14.97 ± 0.90 <sup>ns</sup>	19.08 ± 0.56 <sup>ab</sup>
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = D 24 hr</b>	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00 <sup>ns</sup>	96.67 ± 5.77 <sup>ns</sup>
<b>T2 = D 18 L 6 hr</b>	100.00 ± 0.00	86.67 ± 11.55 <sup>ns</sup>	83.33 ± 5.77 <sup>ns</sup>
<b>T3 = D 12 L 12 hr</b>	100.00 ± 0.00	90.00 ± 10.00 <sup>ns</sup>	83.33 ± 11.55 <sup>ns</sup>
<b>T4 = D 6 L 18 hr</b>	100.00 ± 0.00	90.00 ± 17.32 <sup>ns</sup>	90.00 ± 17.32 <sup>ns</sup>
<b>T5 = L 24 hr</b>	100.00 ± 0.00	86.67 ± 11.55 <sup>ns</sup>	76.67 ± 11.55 <sup>ns</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

การทดลองที่ 9 : การศึกษาผลของความเข้มแสง ต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโต  
ของปลาดุกลำพันวัยอ่อน

อัตราการฟักออกเป็นตัว

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาดุกลำพันในความเข้มแสงที่แตกต่างกันแสดงใน Table 27. ทั้งนี้พบว่าไข่ปลาดุกลำพันที่ฟักในความเข้มแสงทุกระดับ มีอัตราการฟักออกเป็นตัวอยู่ในช่วง  $36.83 \pm 6.70 - 45.25 \pm 4.00$  % โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ )

**Table 27.** Hatching rate (%) of Nieuhofii's catfish in different light intensity.

	% hatching rate 36 hr.
T1 = 500 lux	$45.25 \pm 4.00$ <sup>ns</sup>
T2 = 800 lux	$37.60 \pm 2.49$ <sup>ns</sup>
T3 = 1000 lux	$36.83 \pm 6.70$ <sup>ns</sup>
T4 = 1200 lux	$41.074 \pm 7.20$ <sup>ns</sup>

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาดุกลำพันที่ฟักออกเป็นตัวในความเข้มแสงที่แตกต่างกันแสดงใน Table 28. ทั้งนี้พบว่าลูกปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในความเข้มแสงทุกระดับ เป็นเวลา 96 ชั่วโมงมีอัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัวอยู่ในช่วง  $34.44 \pm 12.43 - 55.70 \pm 5.63$  % โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ )

**Table 28.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of Nieuhofii's catfish in different light intensity.

	<b>0 hr</b>	<b>24 hr</b>	<b>48 hr</b>	<b>72 hr</b>	<b>96 hr</b>
<b>T1 = 500 lux</b>	100.00 ± 0.00	75.99 ± 3.10 <sup>ns</sup>	63.07 ± 5.27 <sup>ns</sup>	59.80 ± 7.82 <sup>ns</sup>	55.70 ± 5.63 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 800 lux</b>	100.00 ± 0.00	61.48 ± 11.54 <sup>ns</sup>	57.69 ± 13.32 <sup>ns</sup>	52.54 ± 16.76 <sup>ns</sup>	44.28 ± 13.52 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 1000 lux</b>	100.00 ± 0.00	68.69 ± 12.48 <sup>ns</sup>	45.81 ± 17.94 <sup>ns</sup>	44.70 ± 18.42 <sup>ns</sup>	45.91 ± 20.47 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 1200 lux</b>	100.00 ± 0.00	62.65 ± 6.69 <sup>ns</sup>	39.84 ± 14.94 <sup>ns</sup>	36.48 ± 13.18 <sup>ns</sup>	34.44 ± 12.43 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาดุกลำพันหลังระยะเริ่มกินอาหาร

ค่าเฉลี่ยความยาวตัวของลูกปลาดุกลำพันหลังจากเริ่มกินอาหารที่เลี้ยงในความเข้มแสงที่แตกต่างกันแสดงใน Table 29. ทั้งนี้พบว่าลูกปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในความเข้มแสงทุกระดับ ที่ระยะเวลา 7 และ 14 วันของการเลี้ยง มีความยาวตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยในวันที่ 14 ของการทดลองลูกปลาที่มีความยาวตัวเฉลี่ย  $17.34 \pm 1.18$  -  $17.87 \pm 0.49$  มิลลิเมตร

อัตราการรอดตายของลูกปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในความเข้มแสงที่แตกต่างกันแสดงใน Table 29. ทั้งนี้พบว่าลูกปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในความเข้มแสงทุกระดับ มีค่าเฉลี่ยการรอดตายอยู่ระหว่าง  $73.33 \pm 30.55$  -  $80.00 \pm 26.46$  % โดยที่การรอดตายของลูกปลาดุกลำพันในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

**Table 29.** Body length (mm) and survival (%) of Nieuhoffi's catfish in different light intensity for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 500 lux</b>	10.40 ± 0.65 <sup>ns</sup>	14.12 ± 0.21 <sup>ns</sup>	17.87 ± 0.49 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 800 lux</b>	10.50 ± 0.59 <sup>ns</sup>	14.32 ± 0.29 <sup>ns</sup>	17.34 ± 1.18 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 1000 lux</b>	10.32 ± 0.51 <sup>ns</sup>	14.15 ± 0.78 <sup>ns</sup>	17.46 ± 0.63 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 1200 lux</b>	10.72 ± 0.73 <sup>ns</sup>	14.62 ± 0.24 <sup>ns</sup>	17.85 ± 0.30 <sup>ns</sup>
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = 500 lux</b>	100.00 ± 0.00	76.67 ± 11.55 <sup>ns</sup>	76.67 ± 11.55 <sup>ns</sup>
<b>T2 = 800 lux</b>	100.00 ± 0.00	73.33 ± 30.55 <sup>ns</sup>	73.33 ± 30.55 <sup>ns</sup>
<b>T3 = 1000 lux</b>	100.00 ± 0.00	80.00 ± 26.46 <sup>ns</sup>	80.00 ± 26.46 <sup>ns</sup>
<b>T4 = 1200 lux</b>	100.00 ± 0.00	83.33 ± 15.28 <sup>ns</sup>	76.67 ± 11.55 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

#### การทดลองที่ 10 : การศึกษาผลของอุณหภูมิต่ออัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาอุกลำพันวัยอ่อน

##### อัตราการฟักออกเป็นตัว

อัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาอุกลำพันในอุณหภูมิที่แตกต่างกันแสดงใน Table 30. ทั้งนี้พบว่าไข่ปลาอุกลำพันที่ฟักในระดับอุณหภูมิ 23-27 °C มีอัตราการฟักออกเป็นตัวอยู่ในช่วง 27.58 ± 6.82 - 39.76 ± 9.16 % ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) แต่อัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาอุกลำพันที่อุณหภูมิ 23 °C มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาอุกลำพันที่อุณหภูมิ 29 °C

**Table 30.** Hatching rate (%) of Nieuhofii's catfish in different temperature

	% hatching rate 36 hr.
T1 = 23 °C	39.76 ± 9.16 <sup>a</sup>
T2 = 25 °C	30.94 ± 3.17 <sup>ab</sup>
T3 = 27 °C	27.58 ± 6.82 <sup>ab</sup>
T4 = 29 °C	25.48 ± 5.82 <sup>b</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

### อัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัว

การรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ที่ฟักออกเป็นตัวในอุณหภูมิที่แตกต่างกันแสดงใน Table 31. ทั้งนี้พบว่าลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 23 °C มีการรอดตายสูงในระยะ 24 ชั่วโมงแรก แต่เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 96 พบว่าอัตราการรอดตายหลังจากฟักออกเป็นตัวของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์มีค่าอยู่ในช่วง 34.24 ± 0.93 - 41.59 ± 7.58 % โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกระดับอุณหภูมิ (p>0.05)

**Table 31.** Survival (%) during 96 hr after hatch out of Nieuhofii's catfish in different temperature.

	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
T1 = 23 °C	100.00 ± 0.00	71.59 ± 8.39 <sup>a</sup>	46.58 ± 11.93 <sup>ns</sup>	42.39 ± 10.25 <sup>ns</sup>	38.43 ± 7.05 <sup>ns</sup>
T2 = 25 °C	100.00 ± 0.00	58.72 ± 7.35 <sup>ab</sup>	48.01 ± 1.76 <sup>ns</sup>	35.72 ± 1.84 <sup>ns</sup>	34.24 ± 0.93 <sup>ns</sup>
T3 = 27 °C	100.00 ± 0.00	61.16 ± 8.47 <sup>ab</sup>	55.671 ± 5.24 <sup>ns</sup>	42.22 ± 5.16 <sup>ns</sup>	40.53 ± 6.81 <sup>ns</sup>
T4 = 29 °C	100.00 ± 0.00	49.13 ± 6.90 <sup>b</sup>	44.96 ± 7.59 <sup>ns</sup>	43.12 ± 6.43 <sup>ns</sup>	41.59 ± 7.58 <sup>ns</sup>

ns = non-significant (P>0.05)

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

### การเจริญเติบโต และการรอดตายของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังระยะเริ่มกินอาหาร

ค่าเฉลี่ยความยาวตัวของลูกปลาอุกกล้าพันธุ์หลังจากเริ่มกินอาหารที่เลี้ยงในอุณหภูมิที่แตกต่างกันแสดงใน Table 32. ทั้งนี้พบว่าลูกปลาอุกกล้าพันธุ์ที่เลี้ยงในอุณหภูมิต่ำกว่าที่ระยะเวลา 7 วันแรก

มีความยาวตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) แต่ในวันที่ 14 ของการทดลองลูกปลาที่เลี้ยงที่  $27^{\circ}\text{C}$  มีความยาวตัวเฉลี่ยสูงกว่าและแตกต่างกันทางสถิติ ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับลูกปลาที่เลี้ยงที่  $23^{\circ}\text{C}$

อัตราการรอดตายของลูกปลาคูกำพันที่เลี้ยงในอุณหภูมิที่แตกต่างกันแสดงใน Table 32. ทั้งนี้พบว่าลูกปลาคูกำพันที่เลี้ยงในอุณหภูมิทุกระดับ มีค่าเฉลี่ยการรอดตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ )

**Table 32.** Body length (mm) and survival (%) of Nieuhofii's catfish in different temperature for 2 weeks.

	Body length (mm)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = <math>23^{\circ}\text{C}</math></b>	$9.34 \pm 0.15^{\text{ns}}$	$13.32 \pm 0.37^{\text{ns}}$	$17.34 \pm 0.71^{\text{a}}$
<b>T2 = <math>25^{\circ}\text{C}</math></b>	$9.40 \pm 0.11^{\text{ns}}$	$13.30 \pm 0.81^{\text{ns}}$	$17.80 \pm 0.98^{\text{ab}}$
<b>T3 = <math>27^{\circ}\text{C}</math></b>	$9.29 \pm 0.10^{\text{ns}}$	$13.25 \pm 0.67^{\text{ns}}$	$18.80 \pm 0.33^{\text{b}}$
<b>T4 = <math>29^{\circ}\text{C}</math></b>	$9.43 \pm 0.13^{\text{ns}}$	$12.95 \pm 0.04^{\text{ns}}$	$17.80 \pm 0.12^{\text{ab}}$
	Survival (%)		
	Week 0	Week 1	Week 2
<b>T1 = <math>23^{\circ}\text{C}</math></b>	$100.00 \pm 0.00$	$90.00 \pm 10.00^{\text{ns}}$	$90.00 \pm 10.00^{\text{ns}}$
<b>T2 = <math>25^{\circ}\text{C}</math></b>	$100.00 \pm 0.00$	$93.33 \pm 11.55^{\text{ns}}$	$83.33 \pm 11.55^{\text{ns}}$
<b>T3 = <math>27^{\circ}\text{C}</math></b>	$100.00 \pm 0.00$	$86.67 \pm 15.28^{\text{ns}}$	$80.00 \pm 10.00^{\text{ns}}$
<b>T4 = <math>29^{\circ}\text{C}</math></b>	$100.00 \pm 0.00$	$76.67 \pm 20.82^{\text{ns}}$	$66.67 \pm 15.28^{\text{ns}}$

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

## สรุป และวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษาผลของคุณภาพน้ำทางเคมีบางประการต่อการฟักออกเป็นตัว การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพันวัยอ่อน ซึ่งตามปกติจะดำรงชีวิตในแหล่งน้ำในป่าพรุที่มีลักษณะคุณภาพน้ำเฉพาะตัว ได้แก่ อุณหภูมิ 24.7-32<sup>o</sup>C ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 2.6-5.13 ปริมาณของแข็งละลายน้ำ (total dissolved solids) 89-134 ppm ปริมาณแสงที่ผิวน้ำ 2,760-100,000 Lux ออกซิเจนละลายน้ำ (DO) 1.8-16 ppm ความกระด้าง (hardness) 2.19-9.21 ppm BOD 22-26 ppm COD 173-189 ppm ฟีนอลทั้งหมด (total phenols) 12.4-28.5 ppm ไนเตรท 0.1-0.2 ppm ไนไตรท์ 0.1 ppm และฟอสฟอรัส 0.1 ppm (Shuhaimi-Othman *et al.*, 2009 ; Yule and Gomez, 2009) จากการศึกษาผลของระดับความเค็มต่อการฟัก และการรอดตายของปลาคูกลำพัน พบว่าความเค็มน้ำมีผลให้อัตราการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันในระยะแรกลดต่ำลง แต่เมื่อลูกปลาเจริญเติบโตมากขึ้น พบว่าความเค็มในช่วง 0-2 ppt ไม่มีผลต่อการรอดตายและการเจริญเติบโต ทั้งนี้ปลาคูกในกลุ่ม Clarias เป็นปลาน้ำจืดที่มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้น้อย (stenohaline fish) อาจไม่สามารถปรับตัวต่อความเค็มได้ (Gabulubo and Erondu, 1998) อีกทั้งในลูกปลาแรกฟักอาจยังไม่มีพัฒนาการของระบบความคุมสมดุลย์ในร่างกายที่ดี จึงไม่สามารถทนทานต่อปริมาณเกลือในน้ำได้ ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาในปลาคูก *Heterobranchus longifilis* ซึ่งมีความสามารถในการปรับตัวในความเค็มช่วงกว้าง และมักพบในบึงน้ำกร่อย พบว่ามีอัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่สูงที่สุดเมื่อฟักไข่ปลาในน้ำที่มีระดับความเค็ม 3 ppt ซึ่งเป็นค่าที่สูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอัตราการฟักออกเป็นตัวของไข่ปลาที่เพาะฟักในน้ำที่มีความเค็ม 0 ppt (Fashina-Bombataa and Busarib, 2003) อย่างไรก็ตามความเค็มในระดับ 0.5-2 ppt เป็นความเค็มที่อาจเกิดขึ้นได้ในพื้นที่ป่าพรุที่ใกล้ชายฝั่ง หรือมีช่องทางการไหลของน้ำที่เป็ดออกสู่ทะเล จากผลการทดลองครั้งนี้อาจอนุมานได้ว่าป่าพรุใกล้ชายฝั่งหรือพื้นที่ที่ได้รับอิทธิพลจากทะเลเป็นถิ่นอาศัยที่ไม่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ของปลาคูกลำพันในธรรมชาติ ตลอดจนการจัดการพื้นที่ป่าพรุให้เกิดทางน้ำไหลที่เชื่อมต่อกับแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำขึ้น น้ำลง อาจทำให้มีความเค็มเพิ่มขึ้นในป่าพรุ ซึ่งจะส่งผลให้การฟักออกเป็นตัว และการรอดตายของลูกปลาคูกลำพันในธรรมชาติบริเวณพื้นที่ป่าพรุนั้นลดต่ำลง

ปริมาณแทนนินในน้ำมีผลให้ทั้งอัตราการฟัก การรอดตาย และการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพันลดลง ซึ่งขัดแย้งกับลักษณะน้ำในป่าพรุซึ่งเป็นพื้นที่อาศัยของปลาคูกลำพันที่มักมีสารกลุ่มแทนนินจากการสลายตัวของใบไม้ละลายอยู่ ทั้งนี้คุณภาพน้ำในป่าพรุตามธรรมชาติมีแทนนิน ในรูปของ

total phenolic compounds ในระดับ 12.4-28.5 ppm (Yule and Gomez, 2009) แสดงให้เห็นว่าในธรรมชาติหากปลาถูกปล่อยในน้ำที่ปนเปื้อนด้วยสารพิษในน้ำโดยตรงจะมีอัตราการฟัก และการรอดตายของลูกปลาต่ำ จากผลการวิจัยนี้ทำให้สันนิษฐานว่าตามธรรมชาติปลาถูกปล่อยในน้ำที่ปนเปื้อนด้วยสารพิษและวางไข่ในน้ำที่ปนเปื้อนหรือเลือกผสมพันธุ์วางไข่ในฤดูที่มีน้ำหลาก และมีความเข้มข้นของแทนนินในน้ำต่ำมาก อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาในรายละเอียดที่เกี่ยวกับผลของแทนนินในน้ำต่อสุขภาพ การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา และเนื้อเยื่อของปลาที่ถูกปล่อยในแต่ละช่วงอายุต่อไป

ปริมาณแอมโมเนีย และไนเตรทในน้ำมีผลให้อัตราการรอดตายของลูกปลาลดต่ำลง จึงอาจกล่าวได้ว่าภาวะน้ำเสีย จากการสะสมของเสียในโตรเจนมีผลทำให้ปลาถูกปล่อยลดจำนวนลงในธรรมชาติ หรือปลาถูกปล่อยมีความทนทานต่อของเสียในโตรเจนได้ต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับคุณภาพน้ำในป่าพรุที่มีปริมาณของเสียในโตรเจนต่ำ โดยมีปริมาณ BOD 22-26 ppm ไนเตรท 0.1-0.2 ppm และไนไตรท์ 0.1 ppm (Yule and Gomez, 2009) ขณะที่ปริมาณความเป็นด่างของน้ำกลับไม่มีผลต่อทั้งการฟักออกเป็นตัว และการรอดตายของลูกปลาที่ถูกปล่อย แม้ว่าองค์ประกอบอ็อกซิเจนในน้ำนับเป็นปัจจัยที่มีผลต่อพัฒนาการ และการรอดตายของตัวอ่อนปลาเป็นอย่างมาก (Van der Velden *et al.*, 1991) จากการศึกษาของ Silva *et al.* (2003) พบว่าปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียมในน้ำมีผลต่ออัตราการฟักออกเป็นตัว และการรอดตายของปลา *Rhamdia quelen* ทั้งนี้การปรับสภาพน้ำให้มีปริมาณค่าความกระด้าง 70 ส่วนในล้านส่วน โดยการเติมแคลเซียม และแมกนีเซียม ในอัตราส่วน 80:20 จะช่วยเพิ่มอัตราการฟักออกเป็นตัวของลูกปลาได้มากขึ้น แต่การเพิ่มปริมาณแคลเซียมในน้ำในสัดส่วนที่สูงมาก และการเพิ่มความกระด้างของน้ำเป็น 150 ส่วนในล้านส่วน จะมีผลให้อัตราการรอดตายของลูกปลาหลังฟักออกจากไข่ลดลงมาก ดังนั้นการเตรียมน้ำเพื่อใช้ในการเพาะฟักปลา *Rhamdia quelen* จึงควรปรับสภาพน้ำให้มีค่าความกระด้าง ประมาณ 70 ส่วนในล้านส่วน ด้วยการเติมแคลเซียมต่อแมกนีเซียมในปริมาณ 20.26 และ 2.89 มิลลิกรัมต่อลิตร

ในด้านผลของช่วงแสง และความเข้มแสงต่อการฟัก และการเจริญของปลาถูกปล่อยแสดงให้เห็นช่วงแสงความเข้มแสงตามธรรมชาติเหมาะสมในการเพาะขยายพันธุ์ปลาถูกปล่อย ซึ่งสอดคล้องกับสภาพแสงในป่าพรุ หรือในถิ่นอาศัยของปลาถูกปล่อยตามธรรมชาติ ที่มีค่าความเข้มแสงที่ผิวน้ำ 2,760-100,000 Lux จากการศึกษาความเป็นกรด-ด่าง พบว่าปลาถูกปล่อยสามารถฟักออกเป็นตัวได้ดีในน้ำที่ค่อนข้างเป็นกรด รวมทั้งยังมีอัตราการรอดตายสูงกว่าการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลาถูกปล่อยในน้ำที่มีสภาพเป็นด่าง ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าภาวะกรดอ่อนในน้ำมีส่วนช่วยในการดำรงชีวิตของปลาถูกปล่อย ทั้งนี้ในป่าพรุมีค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ อยู่ในช่วง 2.6-5.13 (Shuhaimi-Othman *et al.*, 2009 ; Yule and Gomez, 2009) แต่จากผลการทดลอง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง 5-7 เป็นช่วงที่มีผลช่วยให้อัตราการฟักออกเป็นตัว และการรอดตายของปลาถูกปล่อยวัยอ่อนมีค่าสูงที่สุด จึงอาจกล่าว

ได้นำน้ำจืดทั่วไปในสภาพธรรมชาติที่มีค่าความเป็นกรดต่าง 5-7 ก็สามารถใช้ในการเพาะฟัก และอนุบาลลูกปลาลูกกล้าพันธุ์ได้ดี ส่วนระดับของอุณหภูมิในช่วง 25-29 °C จัดเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต และเพาะขยายพันธุ์ปลาลูกกล้าพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับค่าเฉลี่ยอุณหภูมิของน้ำในป่าพรุซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 24.7-32 °C (Yule and Gomez, 2009)

จากผลการทดลองทำให้สามารถสรุปได้ว่าการเพาะขยายพันธุ์ปลาลูกกล้าพันธุ์สามารถทำได้ดี โดยไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีลดปริมาณเชื้อแซ่ไข่ปลา ก่อนการเพาะฟัก ลูกปลาลูกกล้าพันธุ์มีการฟักออกเป็นตัว การรอดตาย และเจริญเติบโตได้ดีในสภาพน้ำจืดปกติตามธรรมชาติ ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 5-7 ค่าความเป็นด่าง 20-50 ppm ปริมาณแอมโมเนียน้อยกว่า 0.5 ppm ทั้งนี้ความเข้มแสงและช่วงแสงตามธรรมชาติมีความเหมาะสมต่อการเพาะฟักปลาลูกกล้าพันธุ์

## การศึกษาโรคติดเชื้อในปลาดุกลำพันที่เลี้ยงในโรงเพาะฟัก

### The Study on Diseases of Nieuhofii's Catfish Cultured in Hatchery

#### บทคัดย่อ

แยกเชื้อแบคทีเรีย 6 จำนวนไอโซเลทได้จากแผลบริเวณลำตัว ตับ และไต ของปลาดุกลำพันที่แสดงอาการป่วยในโรงเพาะฟัก นำเชื้อทั้ง 6 ไอโซเลท ฉีดกลับเข้าช่องท้องปลาดุกลำพันและบันทึกอัตราการรอดตาย เป็นเวลา 12 วัน พบว่า เชื้อ LE03 ทำให้ปลาดุกลำพันมีอัตราการรอดตายน้อยที่สุด คือ  $36.67 \pm 5.77\%$  ปลาที่ติดเชื้อลำตัวมีสีซีดและพบแผลแดงบริเวณลำตัว จากนั้นจึงนำแบคทีเรีย LE03 มาจำแนกชนิดโดยการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา กายภาพ และชีวเคมี พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ให้ผลการทดสอบออกซิเดสและอาร์จินีน ไคไฮโดรเลส เป็นบวก และสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy agar และ Ordal's agar ได้ ยืนยันผลโดยศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย พบว่า 16S rDNA ที่ได้จากการเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR มีขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส นำ PCR product ที่บริสุทธิ์ไปวิเคราะห์ลำดับเบสที่ได้จาก primer 20F เปรียบเทียบความคล้ายจากฐานข้อมูลลำดับเบสใน GenBank โดยใช้โปรแกรม BLAST แสดงผลการจำแนกชนิดของแบคทีเรีย คือ *Pseudomonas putida* ซึ่งเป็นการรายงานการติดเชื้อชนิดนี้ครั้งแรกในปลาดุกลำพัน

Six bacterial isolates were collected from wound, liver and kidney of moribund hatchery-reared Nieuhofii's catfish. Pathogenicity test of each isolate was done by intraperitoneal challenge test. The fish injected with LE03 showed lowest survival after 12 days of infection ( $36.67 \pm 5.77\%$ ) diseased catfish exhibited pale body color with red wound along its body. Bacterial isolate LE03 was subjected to identified by morphological, physical and biochemical characteristic. The result showed that LE03 is Gram negative bacteria with positive oxidase and arginine dihydrolase. Culturable on Tryptic soy agar and Ordal's agar. From the genetic study of these bacteria, the PCR product of 16SrDNA was 1,500 bp. The sequencing data of the PCR product from primer 20F were compared to the GenBank database by means of BLAST program, the result show high similarity to *Pseudomonas putida*, which is the first report in this catfish.

## บทนำ

ปลาคูกลำพัน (*Clarias nieuhofii*) เป็นปลาน้ำจืดที่ไม่มีเกล็ดอยู่ในกลุ่มเดียวกับปลาคูกอูยหรือปลาคูกค้ำ เป็นปลาที่ค่อนข้างทนทานและเจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินหรือน้ำที่เป็นกรด และปริมาณออกซิเจนละลายน้ำต่ำ การแพร่กระจายพันธุ์จึงค่อนข้างแคบ มีถิ่นอาศัยเฉพาะในภาคใต้ของประเทศไทย ตั้งแต่จังหวัดชุมพรลงไป และภาคตะวันออกเฉียงเหนือตั้งแต่จังหวัดจันทบุรี และยังพบในประเทศมาเลเซียถึงบอร์เนียว พบอาศัยในแหล่งน้ำที่เป็นกรดและมีสีขุ่น เช่นตามป่าพรุและลำธารในป่าดิบชื้น มีพฤติกรรมชอบรวมกลุ่มกันเป็นฝูงในฤดูแล้ง มีขายเป็นครั้งคราวในตลาดสดทางภาคใต้ เช่นที่จังหวัดพัทลุงและนครศรีธรรมราช เมื่อมีรสชาติดีกว่าปลาคูกชนิดอื่น ราคาค่อนข้างสูง แต่ในปัจจุบันพื้นที่ป่าพรุซึ่งเป็นถิ่นที่อยู่ของปลาชนิดนี้ลดน้อยลง ประกอบกับเป็นที่นิยมบริโภคของชาวภาคใต้ และยังมีกำลังเป็นปลาสวยงามที่มีพบขายเป็นครั้งคราวในตลาดปลาสวยงาม จึงส่งผลให้ปลาคูกลำพันค่อนข้างหายาก และจัดเป็นปลาที่มีสถานภาพใกล้สูญพันธุ์ชนิดหนึ่ง (Endangered) ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะอนุรักษ์พันธุ์ปลาคูกลำพันมิให้สูญพันธุ์ไป ถึงแม้ว่าจะมีการเพาะพันธุ์ได้แล้วก็ตาม แต่การศึกษาการติดเชื้อปรสิตและแบคทีเรียในปลาคูกลำพันยังมีรายงานการศึกษาไม่มากนัก ซึ่งโรคติดเชื้อปรสิต (parasitic disease) ในสัตว์น้ำ เป็นปัญหาที่พบได้บ่อยเนื่องจากสัตว์น้ำทุกชนิดมักเป็นเจ้าบ้าน (host) ที่มีศักยภาพในการเป็นที่ยึดเกาะที่ดีของปรสิตหลากหลายชนิด แม้ว่าการศึกษาการติดเชื้อปรสิตบางชนิดจะเป็นปัญหาที่ไม่รุนแรง และไม่ก่อให้เกิดการตายในสัตว์น้ำ แต่ผลจากการติดเชื้อปรสิต อาจทำให้เกิดการติดเชื้ออื่นๆ (secondary infection) ตามมา เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส เป็นต้น ปลาน้ำจืดมักเป็นเจ้าบ้านที่มีปรสิตหลากหลายชนิดเข้าเกาะ ทั้งนี้เนื่องจากพ่อแม่พันธุ์รวบรวมได้มาจากธรรมชาติ จึงมีโอกาสดูติดเชื้อปรสิตด้วยเสมอ (Lerssutthichawal, 1999) ซึ่งหากปลา (host) อยู่ในสภาพอ่อนแอจากสาเหตุใดๆ ก็ตาม รวมทั้งปัจจัยสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสมร่วมด้วย จะเปิดโอกาสให้ปรสิตแพร่ระบาดได้มากยิ่งขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อสุขภาพปลาโดยตรง (Tonguthai *et al.*, 1993) ปรสิตบางชนิดอาจเป็นพาหะของโรคอื่นๆ ได้อีกด้วย (Cusack and Cone, 1986; Egusa, 1992) โรคที่เกิดจากปรสิตนับว่าเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อปลาเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นปรสิตที่อาศัยอยู่ในตัวปลาโดยจะใช้ส่วนที่เป็นอวัยวะยึดเกาะกับอวัยวะภายในของตัวปลาซึ่งถือเป็นสาเหตุเบื้องต้น (primary infection) ทำให้ปลาเกิดบาดแผล และหากในน้ำมีเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา หรือเชื้อไวรัสที่เป็นอันตรายต่อปลาอยู่ก็จะเข้าสู่ตัวปลาทางบาดแผลที่เกิดจากการเกาะของปรสิต และทำให้ปลาติดเชื้ออื่นๆ ตามมา เช่น แบคทีเรียซึ่งถือเป็น secondary infection ทำให้ปลาตายได้ อีกทั้งปรสิตจะแย่งอาหาร มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอาหารให้เป็นพลังงานหรือการสร้างเซลล์ (ชนกันต์, 2548) ขัดขวางการเจริญเติบโตของปลา ทำให้

ปลาเจริญเติบโตช้ารวมถึงมีผลต่อการสืบพันธุ์ และปรสิตบางชนิดทำให้ความคดของไข่ของปลา ลดลง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาชนิดของเชื้อปรสิตและแบคทีเรียในปลาอุก ลำพันจากระบบการเลี้ยง ในโรงเพาะฟัก หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ภาควิชาชีววิทยา คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ จ.พัทลุง ซึ่งผลการศึกษานำมาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นใน ด้านต่างๆ เกี่ยวกับชนิดของเชื้อ และความสามารถในการก่อโรคจากเชื้อที่แยกมาในปลาอุกลำพัน เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมและป้องกัน หรือแก้ไขปัญหาของการเกิดโรคในระบบการเลี้ยง ปลาอุกลำพันแบบหนาแน่นที่อาจจะเกิดขึ้นในอนาคต

## วิธีการดำเนินการวิจัย

### การเก็บตัวอย่างปลาทดลอง

ระหว่างช่วงเดือน มกราคม-กุมภาพันธ์ 2553 พบปลาอุกลำพันระยะปลานี้วขนาดน้ำหนัก ตัวประมาณ 5-7 กรัมต่อตัว ที่เลี้ยงในบ่อคอนกรีตของหน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์ น้ำ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง แสดงอาการผิดปกติภายนอก ได้แก่ เกิดแผลบริเวณครีบ และหาง ขอบแผลมีสีขาว ไม่กินอาหาร และตายในระยะเวลา 3-4 วัน จึงเก็บตัวอย่างปลาที่ยังมีชีวิตที่ แสดงอาการทั้งหมด จำนวน 8 ตัว เพื่อนำไปตรวจสอบปรสิตและแบคทีเรียต่อไป

### การตรวจสอบเชื้อปรสิต

นำตัวอย่างปลามาตรวจสอบปรสิตภายนอกบริเวณผิวหนัง เมื่อก ครีบ ตา เหงือก และช่อง ปาก โดยการใช้สไลด์ชุบเมื่อกจากแต่ละบริเวณแล้วปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ส่วนตัวอย่างอวัยวะอื่น ใหญ่ทำการตัดชิ้นส่วนวางบนสไลด์และหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนหยดสารละลายเกลือแองกความ เข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ 1-2 หยด และปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ นำไปตรวจสอบปรสิต ด้วยกล้อง จุลทรรศน์โดยใช้กำลังขยาย 200-1,000 เท่า ส่วนการศึกษาปรสิตในอวัยวะภายใน ได้แก่ ไต ตับ ถุง น้ำดี ถุงลม หัวใจ ม้าม กระเพาะอาหาร และลำไส้ โดยการนำแต่ละอวัยวะมาวางบนสไลด์แล้วหั่นให้ เป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนหยดสารละลายเกลือแองกความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ 1-2 หยด และปิดด้วยแผ่น ปิดสไลด์ ก่อนนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 200-1,000 เท่า ซึ่งพบว่าตัวอย่างปลา ทั้งหมดที่นำมาศึกษาไม่มีการติดเชื้อปรสิต

### การเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย

เก็บตัวอย่างปลาอุกดำพันเพื่อเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียจากแผล และอวัยวะเป้าหมาย เช่น ม้าม ตับ ไต นำในช่องท้อง ด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) เพาะเชื้อโดยการ streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy agar และ Ordal's agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เมื่อเชื้อเจริญบนอาหาร สุ่มเลือกโคโลนีจากงานเพาะเชื้อ มาย้อมสีแกรม เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ นำไปทดสอบ catalase และ oxidase แล้วนำมาเลี้ยงจนได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy broth (TSB) และ Ordal's medium ที่ผสม glycerine 15 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

### การศึกษาความสามารถในการก่อโรคของแบคทีเรียที่แยกได้จากปลาอุกดำพัน โดยการทดสอบเชื้อก่อโรค (Koch' postulates)

นำปลาอุกดำพันสุขภาพดีที่มีน้ำหนักเฉลี่ย  $11.28 \pm 1.46$  กรัม ความยาวเฉลี่ย  $13.20 \pm 0.76$  เซนติเมตร เลี้ยงในตู้กระจกตู้ละ 10 ตัว 3 ซ้ำ เพื่อปรับสภาพให้เข้ากับการทดลอง เป็นเวลา 3 วัน เตรียมเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (pure culture) ที่แยกได้แต่ละเชื้อ ปรับความเข้มข้น  $OD_{610\text{nm}} = 0.1$  แล้วฉีดกลับเข้าช่องท้องปลาอุกดำพัน บันทึกอัตราการรอดตาย เป็นเวลา 12 วัน จากนั้นจึงนำปลาอุกดำพันที่มีอาการป่วยมาแยกเชื้อแบคทีเรียอีกครั้ง และทดสอบคุณสมบัติของเชื้ออีกครั้งตามวิธีการเดิม เพื่อเป็นการยืนยันการก่อให้เกิดโรคของแบคทีเรีย วิเคราะห์คุณภาพน้ำพื้นฐาน ได้แก่ อุณหภูมิของน้ำ (Water temperature) โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่อง pH meter ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen) โดยใช้เครื่อง DO Meter ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) และค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ตามวิธีการของ Boyd and Tucker (1992)

### การศึกษานิโคตของแบคทีเรียก่อโรคที่แท้จริงในปลาอุกดำพัน

#### การทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา กายภาพและชีวเคมี

นำเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการก่อโรคในปลาอุกดำพันนำมาทำให้บริสุทธิ์ เพื่อเก็บไว้ทดสอบชนิดของแบคทีเรียโดยวิธีทางชีวเคมีต่อไป จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นต่างๆ ได้แก่ ลักษณะของโคโลนี การติดสีแกรม ซึ่งข้อมูลที่ได้มาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกชนิดของแบคทีเรียร่วมกับข้อมูลที่ได้จากชุดทดสอบ API ตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรียตัวอย่าง โดยใช้ identification table ในคู่มือที่แนบมากับชุดทดสอบ หรือโปรแกรมการวินิจฉัยของบริษัทผู้ผลิต (APILAB Plus software)

## การศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญเพื่อใช้ในการจำแนกตามสายวิวัฒนาการ

### การสกัด genomic DNA

สกัด genomic DNA จากแบคทีเรียก่อโรคที่สนใจ โดยการแยกเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการให้บริสุทธิ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย TSA ถ่ายเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เลี้ยงเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ปั่นแยกเซลล์แบคทีเรีย ล้างตะกอนแบคทีเรียด้วย PBS pH 7.4 ทำให้เซลล์แบคทีเรียแตกโดยใช้ sonicator ร่วมกับ lysis buffer สกัด DNA โดยเติม DNAzol 400  $\mu$ l จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที ใสสารละลายโซมาตคตะกอน DNA ด้วย absolute alcohol 200  $\mu$ l จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 5 นาที ล้างตะกอน DNA ด้วย 95 % แอลกอฮอล์ที่เย็นจัด 2 ครั้ง ละลายตะกอน DNA ในน้ำกลั่น 30  $\mu$ l โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงหรือจนกว่าตะกอน DNA จะละลายหมด ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค electrophoresis โดยใช้ 1.2 % agarose gel ใน Tris-acetate (TAE; 0.04 M Tris-acetate, 0.001 M EDTA) ย้อมด้วย ethidium bromide แล้วตรวจสอบด้วยเครื่อง UV trans-illuminator นำไปวัดปริมาณและความบริสุทธิ์ของ DNA ด้วยเครื่อง spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 nm

### การเพิ่มจำนวน 16S rDNA และทำให้บริสุทธิ์

เพิ่มจำนวน 16S rDNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ Bacterial universal primer 20F (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') และ 1500R (5'-GTTACCTTGTTACGACTT-3') ซึ่งสามารถสังเคราะห์สาย DNA จากแบคทีเรียที่สนใจขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส โดยใช้ DNA ดั้งแบบ 50-100 ng,  $MgCl_2$  1.5 mM, dNTPs 8  $\mu$ M, primer 0.45 pM และเอนไซม์ Taq polymerase 2 Unit ด้วยเครื่อง thermocycle (PTC-100tm MJ Research, MA ) ด้วยรอบการทำงาน (cycle) 30 รอบ ตามขั้นตอนต่อไปนี้ บ่ม PCR reaction ที่ 94 °C เป็นเวลา 4 นาที ก่อนเริ่มปฏิกิริยา จากนั้น denaturation 94 °C 40 วินาที annealing 48.9 °C 1 นาที elongation 72 °C 1 นาที แต่รอบสุดท้ายจะเพิ่มเวลาเป็น 5 นาที ตรวจสอบขนาด PCR product ด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis ทำความสะอาด PCR product ด้วยชุด Gel/PCR DNA Fragments extraction Kit (RBC science, Taiwan) ตามวิธีการของกลุ่มผลิตภัณฑ์

### การวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S rDNA

วิเคราะห์ลำดับเบสของ PCR product บริสุทธิ์ด้วยเครื่อง DNA sequencer (ABI, Prism377) และเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลสาธารณะ (GeneBank) โดยวิธี Basic local alignment search tool (Blast; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> ตามวิธีการของ Altschul *et al.*, 1990) เพื่อตรวจหาชนิดของแบคทีเรีย

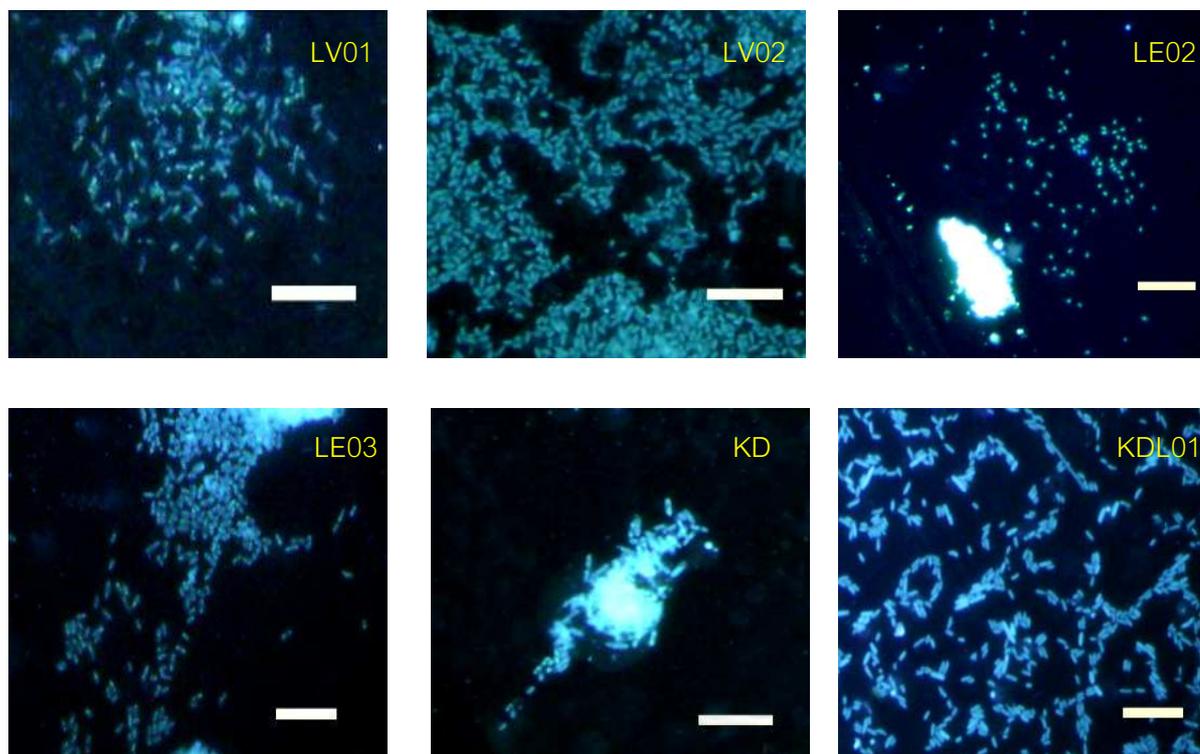
### ผลการศึกษา

#### แยกเชื้อแบคทีเรียจากปลาคูกลำพัน

จากการแยกเชื้อจากแผลบริเวณลำตัว ตับ และไต ของปลาคูกลำพัน พบว่าสามารถแยกเชื้อได้ 6 ไอโซเลท คือ LV01 และ LV02 แยกจากตับ LE02 และ LE03 แยกมาจากบริเวณที่เกิดแผลบนผิวหนัง และ KD และ KDL01 แยกจากไต ของปลาคูกลำพัน ซึ่งคุณสมบัติเบื้องต้นของเชื้อแต่ละไอโซเลทและภาพเชื้อแต่ละไอโซเลทดังแสดงใน Table 33. และ Figure 1. ตามลำดับ

**Table 33.** Characteristic of each bacterial isolate.

	isolate	target organ	morphology	Gram stain	Oxidase test	Catalase test
1	LV01	liver	rod/spiral	negative	-	+
2	LV02	liver	rod/spiral	negative	-	+
3	LE02	wound	short rod	negative	-	+
4	LE03	wound	rod/spiral	negative	+	+
5	KD	kidney	rod/spiral	negative	+	+
6	KDL01	kidney	rod/spiral	negative	+	-



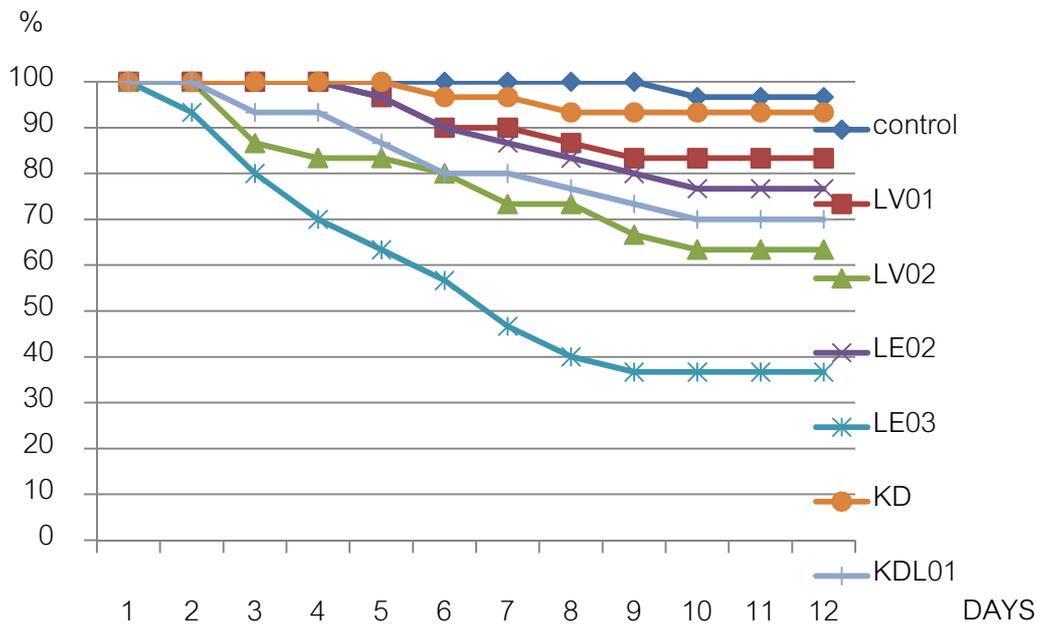
**Figure 1** Pure bacterial isolates from Nieuhofii's catfish, staining with 4', 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (Bar = 5  $\mu$ m)

### การตรวจสอบเชื้อปรสิต

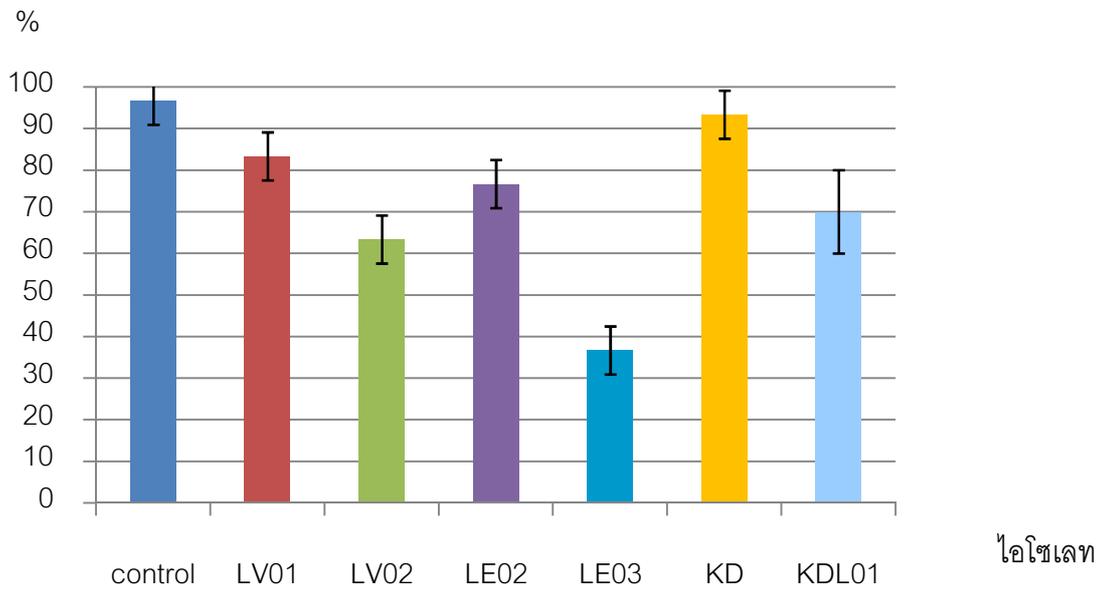
จากการตรวจสอบเชื้อปรสิตจากปลาอุกกล้าพันธ์ก่อนการทดลอง ไม่พบการติดเชื้อปรสิตในปลาอุกกล้าพันธ์ที่ใช้ในการทดลอง

### การทดสอบเชื้อก่อโรคที่แท้จริง (Koch' postulates)

จากการนำเชื้อทั้ง 6 ไอโซเลท ฉีดกลับเข้าช่องท้องปลาอุกกล้าพันธ์และบันทึกอัตราการรอดตาย เป็นเวลา 12 วัน พบว่า เชื้อ LE03 ทำให้ปลาอุกกล้าพันธ์มีอัตราการรอดตายน้อยที่สุด คือ  $36.67 \pm 5.77$  เปอร์เซ็นต์ เชื้อ LV02 ทำให้ปลาอุกกล้าพันธ์มีอัตราการรอดตายรองลงมา คือ  $63.33 \pm 5.77$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อ KDL01 LE02 LV01 และ KD มีอัตราการรอดตาย คือ  $70.00 \pm 76.67 \pm 5.77$   $83.33 \pm 5.77$  และ  $93.33 \pm 5.77$  เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุมที่ใช้น้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์แทนเชื้อ ทำให้ปลาอุกกล้าพันธ์มีอัตราการรอดตาย คือ  $96.67 \pm 5.77$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอัตราการรอดตายสะสมของปลาอุกกล้าพันธ์จากการฉีดเชื้อแต่ละไอโซเลท แสดงดัง Figure 2. และอัตราการรอดตายของปลาอุกกล้าพันธ์หลังจากการฉีดเชื้อแต่ละไอโซเลท เป็นเวลา 12 วัน (Figure 3.)



**Figure 2.** Cumulative mortality of the Nieuhofii's catfish after challenge with each bacterial Isolate.



**Figure 3.** Survival rate (%) of the Nieuhofii's catfish after challenge with each bacterial isolate for 12 days.

## คุณภาพน้ำ

วิเคราะห์คุณภาพน้ำหลังจากสิ้นสุดการทดลอง เป็นเวลา 12 วัน ดังแสดงใน Table 34.

**Table 34.** Water quality during the bacterial challenging period.

No.	pH	Alkalinity	Temp (°C)	DO (mg/l)	NO <sub>2</sub> (mg/l)	NH <sub>4</sub> (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)
1	7.53±0.23	54.00	28.00	6.22±0.09	0.10	0.33±0.14	0.01±0.01
2	7.15±0.10	54.00	28.00	6.19±0.06	0.10	0.67±0.29	0.00±0.01
3	7.31±0.05	54.00	28.00	5.88±0.10	0.10	0.67±0.29	0.01±0.01
4	7.42±0.12	54.00	28.00	5.90±0.08	0.10	0.50±0.00	0.07±0.05
5	7.32±0.09	54.00	28.00	5.98±0.11	0.10	0.42±0.14	0.03±0.06
6	7.21±0.05	54.00	28.00	5.90±0.02	0.10	0.42±0.14	0.00±0.00

## ปลาอุกกล้าพ้นจากการทดลอง

ปลาอุกกล้าพ้นจากชุดควบคุม ไม่พบแผลบริเวณลำตัว ส่วนปลาอุกกล้าพ้นจากชุดทดลองที่ฉีดเชื้อ LE03 พบแผล และบริเวณลำตัวมีสีซีด (Figure 4.)



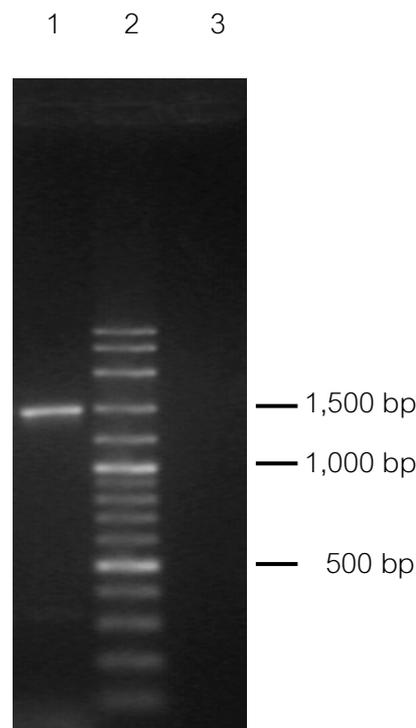
**Figure 4.** (Upper) Control fish from challenging trial (Lower) The moribund fish after challenged with LE03.

### การทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา กายภาพและชีวเคมี

แบคทีเรียที่ทดสอบแสดงผลคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยเปรียบเทียบกับข้อมูลจากรายงานของ Eissa *et al.* (2010) และ Altinok *et al.* (2006) พบว่ามีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับเชื้อ *Pseudomonas putida* (Table 35.)

### การศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมของแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญเพื่อใช้ในการจำแนกตามสายวิวัฒนาการ

จากการตรวจสอบขนาดของชิ้น DNA ของแบคทีเรียที่สนใจ พบว่า DNA ที่ได้จากการทำ PCR มีขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส แสดงใน Figure 5. นำ PCR product ที่บริสุทธิ์นี้ไปหาลำดับเบสที่ได้จาก primer 20F (Figure 6 - 7) นำไปเทียบความคล้ายจากฐานข้อมูลลำดับเบสใน GenBank โดยใช้โปรแกรม BLAST โดยแสดงผลการจำแนกชนิด คือ *Pseudomonas putida* แสดงใน Figure 8.



**Figure 5.** PCR products from 16S rRNA of bacterial isolate LE03

Lane 1 is PCR products from LE03

Lane 2 is DNA marker

Lane 3 is Negative control

**Table 35.** Biochemical test of the bacterial isolate LE03.

Phenotypic characteristics	แบคทีเรียที่	<i>Pseudomonas putida</i> *	<i>P. putida</i> **
	ทดสอบ		
$\beta$ -galactosidase	-ve	n.a.	-ve
Arginine Dihydrolase	+ ve	n.a.	+ ve
Lysine Decarboxylase	-ve	n.a.	n.a.
Ornithine Decarboxylase	-ve	n.a.	n.a.
Citrate utilisation	+ ve	+ ve	n.a.
H <sub>2</sub> S Production	-ve	-ve	-ve
Urease	-ve	-ve	-ve
Tryptophane deaminase	-ve	n.a.	n.a.
Indole production	-ve	-ve	n.a.
acetoin production (Vogas-Proskauer)	-ve	-ve	n.a.
gelatinase	-ve	-ve	-ve
glucose	-ve	+ ve	+ ve
mannitol	-ve	-ve	-ve
inositol	-ve	n.a.	n.a.
sorbitol	-ve	-ve	-ve
rhamnose	-ve	n.a.	-ve
sucrose	-ve	-ve	-ve
melibiose	-ve	n.a.	n.a.
amygdalin	-ve	n.a.	n.a.
arabinose	-ve	n.a.	+ ve
cytochrome oxidase	+ ve	+ ve	+ ve
NO <sub>2</sub> production	-ve	n.a.	n.a.
Reduction to N <sub>2</sub>	-ve	n.a.	n.a.
Motility	+ ve	+ ve	+ ve
Growth on TSA	+ ve	n.a.	+ ve
Growth on MacConkey's medium	+ ve	n.a.	+ ve
Oxidation exposed to the air	+ ve	n.a.	n.a.
Fermentation under mineral oil	-ve	n.a.	n.a.
Gram stain	-ve	-ve	-ve

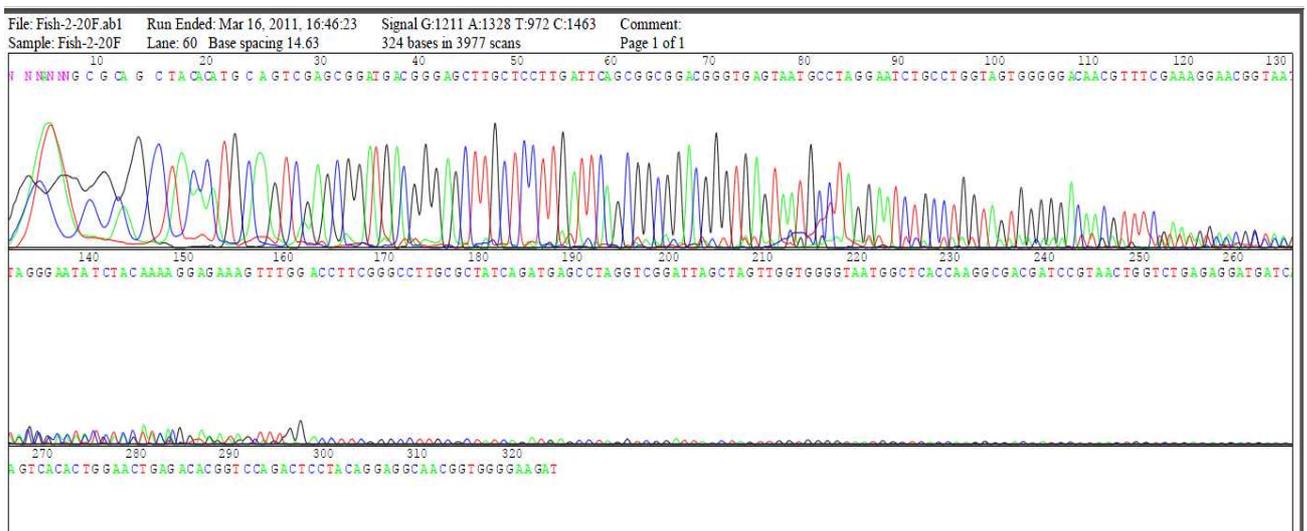
\*from Eissa et al. (2010)

\*\*from Altinok et al. (2006)

n.a. not applicable

5'/GCGCAGCTACACATGCAGTCGAGCGGATGACGGGAGCTTGCTCCTTGATTGAGCGGGCGGACGG  
 GTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGGTAATAGGGA  
 ATATCTACAAAAGGAGAAAGTTTGGACCTTCGGGCCTTGCCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTA  
 GCTAGTTGGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAAGTGGTCTGAGAGGATGATCAGTC  
 AACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACAGGAGGCAACGGTGGGGGAAGAT3'

**Figure 6.** DNA sequences of the bacterial isolate LE03



**Figure 7.** 16S rDNA sequences of the bacterial isolate LE03

>ref|NC\_010322.1|  Pseudomonas putida GB-1 chromosome, complete genome

Length=6078430

Score = 468 bits (253), Expect = 2e-129

Identities = 291/309 (94%), Gaps = 4/309 (1%)

Strand=Plus/Plus

```

Query   9      ACACATGC-AGTCGAGCGGATGACGGGAGCTTGCTCCTTGATTCAGCGGCGGACGGGTGA
67
Sbjct  183670  ACACATGCAAGTCGAGCGGATGACGGGAGCTTGCTCCTTGATTCAGCGGCGGACGGGTGA
183729
      |||
Query   68      GTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGGTAATAGG
127
Sbjct  183730  GTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACC
183789
      |||
Query   128     GAATATC-TACAAAAGGAGAAAGTTTGG-ACCTTCGGGCCTTGCCTATCAGATGAGCCT
185
Sbjct  183790  GCATA-CGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCCTATCAGATGAGCCT
183848
      |||
Query   186     AGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAAGTGGTC
245
Sbjct  183849  AGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAAGTGGTC
183908
      |||
Query   246     TGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACAGGAGGCAAC
305
Sbjct  183909  TGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC
183968
      |||
Query   306     GGTGGGGAA   314
Sbjct  183969  AGTGGGGAA   183977

```

**Figure 8.** Comparison of DNA sequences from bacterial isolate LE03 to the GenBank using the BioEdit programme.

### เอกสารอ้างอิง

- กมลพร ทองอุไทย สุปราณี ชินบุตร และ มงคล ปรีมผล. 2534. การศึกษาชนิดของปรสิตในปลาตุ๊ก  
อูยที่เลี้ยงในบ่อ. สถาบันวิจัยประมงน้ำจืด. กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- กฤษณะ เรืองคล้าย, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, พันธสิทธิ์ โชคสวัสดิ์กร และอานูช คีรีรัฐนิคม. 2551.  
ลักษณะวิทยาของปลาคูกลำพัน (*Clarias nieuhofii*). ใน รวมเรื่องเต็มฉบับสมบูรณ์  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลวิชาการ ครั้งที่ 1. 27-29 สิงหาคม 2551. ณ โรงแรมธรรม  
รินทร์ ธนา จังหวัดตรัง.
- ชนกันต์ จิตมนัส. 2548. โรคปลา. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัย  
แม่โจ้.
- โชคชัย เหลืองชูปรานิต และนิรติศัย เพชรสุภา. 2542. การศึกษาปรสิตของปลาคูกลำพัน *Clarias  
nieuhofii* (Cul. & Val.). รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ชนะชัย ทองศรีนุช. 2530. การศึกษาหนอนพยาธิในปลาช่อน (*Channa striata* Fowler) และปลา  
กะพง (*Channa lucius* Cuv. & Val). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,  
กรุงเทพฯ.
- ธีรวุฒิ เลิศสุทธิขวาล และ กิจการ สุขมาตย์. 2548. ชนิดและการแพร่กระจายของปรสิตในปลาน้ำจืด  
ที่มีศักยภาพในการเลี้ยงในจังหวัดนครศรีธรรมราช. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 27: 333-345.
- ปีทมา คนชื้อ. 2529. ชนิดของหนอนพยาธิในทางเดินอาหารของปลาบางชนิดในอ่างเก็บน้ำมาบ  
ประชัน จังหวัดชลบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ประไพสิริ สิริกาญจน. 2538. ความรู้เรื่องปรสิตของสัตว์น้ำ. ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ประไพสิริ สิริกาญจน. 2546. ความรู้เรื่องปรสิตของสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัด สกาย  
เวิร์ด แอ็ดเวอร์ไทซิ่ง.
- พันธสิทธิ์ โชคสวัสดิ์, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, กฤษณะ เรืองคล้าย และอานูช คีรีรัฐนิคม. 2551. ผล  
ของความหนาแน่นต่อการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพันระยะปลาน้ำจืดในบ่อคอนกรีต. ใน  
รวมเรื่องเต็มฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลวิชาการ ครั้งที่ 1. 27-29  
สิงหาคม 2551. ณ โรงแรม ธรรมรินทร์ธนา จังหวัดตรัง.
- พรพนม พรหมแก้ว. 2538. การศึกษาการเพาะพันธุ์และอนุบาลปลาคูกลำพัน. การสัมมนาวิชาการ  
ประจำปี 2538, วันที่ 18-20 กันยายน 2538. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

- พิณทิพย์ แจ่มเจนกิจ. 2521. ชนิดของหนอนพยาธิในทางเดินอาหารของปลาน้ำจืด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พิสุทธิ์ เพชรมรกต. 2530. หนอนพยาธิในปลาคูกด้าน *Clarias batrachus* (Linneaus) และ ปลาคูกอุย *Clarias macrocephalus* (Gunther) ในแหล่งน้ำธรรมชาติที่อำเภอชัยบุรี จังหวัดปทุมธานี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วัชรียา ภูรีวิโรจน์กุล นนทวิทย์ อารีย์ชน และชาอุชัย ภูรักเกียรติ. 2548. ปรสิตและแบคทีเรียในลูกปลาบึก (*Pangasianodon gigas* Chevey). ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 12: 1-11.
- ศราวุธ เจะโ๊ะ สุวิมล สี่หิรัญวงศ์ และ พรพรม พรหมแก้ว. 2538. ชีวิตวิทยาบางประการของปลาคูกลำพัน. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 5/2538. ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืดปัตตานี กรมประมง.
- โสภา อาริรัตน์. 2513. พันธุ์ปลาคูกที่พบในประเทศไทย เอกสารวิชาการฉบับที่ 9 กองบำรุงพันธุ์สัตว์น้ำ กรมประมง. 10-13.
- อุดมชัย อากาศอนุ และ สุวรรณิ โล้กุลประกิจ. 2529. การเพาะพันธุ์ปลาคูกลำพันโดยวิธีผสมเทียม รายงานประจำปี 2527-2530 ศูนย์พัฒนาประมงน้ำจืด สุราษฎร์ธานี กองประมงน้ำจืด กรมประมง. 38-46.
- Altinok, I., Kayis, S. and Capkin, E. 2006. *Pseudomonas putida* infection in rainbow trout. Aquaculture : 261. 850-855.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J., 1990. Basic logical alignment search tool. J. Mol. Biol. : 215. 403-410.
- Boyd, C. E. and Tucker, C. S. 1992. Water Quality and Pond Soil Analysis for Aquaculture. Alabama. Auburn University.
- Bykhovskaya-Pavlovskaya, I. E., A. V. Guser, M. N. Dubinina, N. A. Izyumora, I. S., Smirnova, I. L. Sokolorskaya, G. A. Shtein, S. S. Shul' man and V. M. Epshthtein. 1964. Key to Parasites of Fresh Water Fish of USSR. Translated from Russian. Isael Program for Scientific Translations, Jerusalem.
- Camus AC, Durborow RM, Hemstreet WG, Thune RL, Hawke JP. 1998. Aeromonas Bacterial Infections-Motile Aeromonad Septicemia. SARC Publication No. 478.
- Cipriano, R. and Bullock, G.L. 2001. Furunculosis and other diseases caused by *Aeromonas salmonicida*. Fish Disease Leaflet, 66.

- Cusack, R. and Cone, D.K. 1986. A review of parasites as vectors of viral and bacterial diseases of fish. *J. Fish Dis.* 9: 169:-171.
- Durborrow, R. M., Thune, R. L., Hawke, J. P., and Camus, A. C. 1988. Columnaris Disease - A Bacterial Infection Caused by *Flavobacterium columnare*. SRAC Publication, No. 479.
- Egusa, S. 1992. Chapter 6 Disease Caused by Ciliates: Infectious Disease of Fish. Edited by V.S. Kothekar. AABalkema publishers. USA. pp. 468-475.
- Eisa IAM, Badran AF, Moustafa M, Fetaih H. 1994. Contribution to motile *Aeromonas septicaemia* in some cultured and wild freshwater fish. *Vet. Med. J. Giza.* 42: 63-69.
- Eissa, N.M.E., Abou El-Ghiet, E.N., Shaheen, A.A. and Abbass, A. 2010. Characterization of *Pseudomonas* Species Isolated from Tilapia "*Oreochromis niloticus*" in Qaroun and Wadi-El-Rayan Lakes, Egypt. *Global Veterinaria* 5 (2): 116-121.
- Fashina-Bombataa, H.A. and Busarib, A.N. 2003. Influence of salinity on the developmental stages of African catfish *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840). *Aquaculture* 224 : 213–222.
- Fernando, D.H. and J.I. Furtado. 1963. Helminth parasites of some Malayan freshwater fishes. *Bull. Natl. Mus. Singapore.* 32: 45-71.
- Francis-Floyd, R. 2002. *Aeromonas* Infections. FA14. EDIS Web Site at <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Gbulubo, A.J. and Erondu, E.S. 1998. Salinity influence on the early stages of the African catfish. *Aquaculture International* 6 : 369–379.
- Galal, N.F., Ismal, S.G.M., Halil, R.H.K. and Soliman, M.K. 2005. Studies on *Edwardsiella* Infection in *Oreochromis niloticus*. *Egyp. Jour. of Aqua. Res.* Vol. 31 (1). 460-471.
- Guy, S., Teugels, G. and Pouyaud, L. 2004. Description of a New Clariid Catfish, *Clarias pseudonieuhofii* from West Borneo (Siluriformes: Clariidae). *Zoological Studies.* 43(1): 8-19
- Hoffman, G. L. 1967. Parasites of North America freshwater fishes. University of California Press, Los Angeles.
- Hossain, Q., Altaf Hossain, M. and Parween, S. 2006. Artificial breeding and nursery practices of *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758). *Scientific World*, 4(4) : 32-37.

- Kiriratnikom, S., Ruangklay, K., Choksawatdikorn, P., Anuchart, P. and Kiriratnikom, A. 2007. Effect of various forms of diet on growth performance and survival of *nieuhofii* catfish larvae (*Clarias nieuhofii*). The 33<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand (STT33). October 18-20, 2007. Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand.
- Lerssutthichawal, T. 1999. Monogenean of freshwater siluriform fishes of Thailand. Ph.D. Dissertation. University of Malaysia, Kuala Lumpur.
- Linhart, O., Gela, D., Rodina, M. and Kocour, M. 2004. Optimization of artificial propagation in European catfish, *Silurus glanis* L. *Aquaculture* 235 : 619–632.
- Lim, K. K. P. and Ng, H. H. 1999. *Clarzas batu*, A new species of catfish (Teleostei: Clariidae) from Pulau Tioman, Peninsular Malaysia. *The Raffles Bulletin Of Zoology*, 6: 157-167
- Lim, K. K. P. 1994. The inland fishes of Pulau Tioman, Pahang, Peninsular Malaysia. *Pangolin*, 6 (3-4) : 6-15.
- Mohanty, B. R. and Sahoo, P. K. 2007. Edwardsiellosis in fish: a brief review. *J. Biosci.* 32. p. 1331–1344.
- Monkolprasit, S., S. Sontirat, S. Vimollohakarn and T. Songsirikul, 1997. Checklist of Fishes in Thailand. Office of Environmental Policy and Planning, Bangkok, Thailand. 353 p.
- Montaldi, A. (personal communication). On the visiting to Thaksin University's Aquacultural Biotechnology Research Unit.
- Palleroni, N.J. 1984. Pseudomonadaceae. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Krieg, N. R. and Holt J. G. (editors) Baltimore: The Williams and Wilkins Co., pg. 141 – 199.
- Pande, B. P., B. B. Bhatia and P. Rai. 1963. On the Camallandina genus *Procamallanus* Baylis, 1923 in two of the freshwater fishes. *Ind. J. Helminth.* 16(2): 105-108.
- pantown.com.<http://www.pantown.com/board.php?id=2888&area=4&name=board1&topic=3927>
- Rasowo, J., Okoth, O. E. and Ngugi, C. C. 2007. Effects of formaldehyde, sodium chloride, potassium permanganate and hydrogen peroxide on hatch rate of African catfish *Clarias gariepinus* eggs. *Aquaculture* 269 : 271–277.
- Reed, P.A. and Francis-Floyd R. 2002. *Vibrio* Infections of Fish. FA31. EDIS Web Site at <http://edis.ifas.ufl.edu>.

- Shuhaimi-Othman, M., Ahmad, A. K., Lim, E. C. 2009. Metals concentration in water and sediment of Bebar peat swampy forest river, Malaysia. *Journal of Biological Sciences*. 9(7) : 730-737.
- siamensis.org. <http://www.siamensis.org/oldboard/5052.html>
- Silva, L.V.F., Golombieski, J.I. and Baldisserotto, B. 2003. Incubation of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae), eggs at different calcium and magnesium concentrations. *Aquaculture* 228 : 279–287.
- Tonguthai, K., Chinabut, S., Limsuwan, C., Somsiri, T., Chanratchakool, P., Kanchanakhan, S. and MacRae, I.H. 1993. Handbook of hybrid catfish: Husbandry and Health. Aquatic Animal Health Research Institute. Department of Fisheries, Bangkok. 37 p.
- Van der Velden, J.A., Spanings, F.A.T., Flik, G., Bonga, S.E.W., 1991. Early stages of carp (*Cyprinus carpio*) depend on ambient for their development. *Journal Experimental Biology* 158, 431– 438.
- Yamakuti, S. 1961. Systema Helminthum. The nematodes of vertebrates Vol III. part I, II. Interscience Publishers, Inc., New York. 1261 p.
- Yule, C. M. and Gomez, L. N. 2009. Leaf litter decomposition in a tropical peat swamp forest in Peninsular Malaysia. *Wetlands Ecol Manage.* 17: 231–241.
- Zar, J. H. 1984. Biostatistical Analysis. 2<sup>nd</sup> edition. Prentice-Hall. New York.

## โครงการวิจัยย่อยที่ 2

การพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)  
เพื่อเลี้ยงเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงาม

**Development of Practical Diet for Nieuhofii's Catfish (*Clarias nieuhofii*)  
in the Aspect of Ornamental Specie.**

สุภภา คีรีรัฐนิคม

อานุช คีรีรัฐนิคม

กฤษณะ เรืองคล้าย

พันธสิทธิ์ โชคสวัสดิกร

ชื่อโครงการ      การพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhofii*)  
เพื่อเลี้ยงเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงาม

**Development of Practical Diet for Nieuhofii's Catfish (*Clarias nieuhofii*) in  
the Aspect of Ornamental Specie.**

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2552

จำนวนเงิน 906,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี

ตั้งแต่ กันยายน 2552 – กันยายน 2553

นายสุภฎา คีรีรัฐนิคม

ปร.ด. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

สถานที่ทำงาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ  
วิทยาเขตพัทลุง อ. ปะพะยอม จ. พัทลุง 074-693992

นางอานุช คีรีรัฐนิคม

วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

สถานที่ทำงาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ  
วิทยาเขตพัทลุง อ. ปะพะยอม จ. พัทลุง 074-693992

นายกฤษณะ เรืองคล้าย

วท.บ. (วาริชศาสตร์)

สถานที่ทำงาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ  
วิทยาเขตพัทลุง อ. ปะพะยอม จ. พัทลุง 074-693992

นายพันธสิทธิ์ โชคสวัสดิการ

วท.บ. (เทคโนโลยีการประมง)

สถานที่ทำงาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ  
วิทยาเขตพัทลุง อ. ปะพะยอม จ. พัทลุง 074-693992

### บทคัดย่อ

การพัฒนาอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลาดุกลำพัน ดำเนินการ โดยเพื่อศึกษาผลของการใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลาดุกลำพันทั้งในระยะปลานี้ว และระยะวัยรุ่น การศึกษาผลของการเสริมแคลโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ และระดับที่เหมาะสม ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และผลต่อสปีรเวณลำตัวของปลาดุกลำพัน และการศึกษาผลของวิตามินซีในอาหารต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ

จากการศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลาคูกลำพันระยะปลาน้ำจืดได้ในปริมาณ 45 % ของโปรตีนจากปลาป่น โดยมีผลให้การเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ การรอดตาย องค์กรประกอบทางเคมีของตัวปลา และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ตลอดจนประสิทธิภาพโปรตีน และการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) เมื่อเทียบกับปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในระดับ 0-30 % ของโปรตีนจากปลาป่น ขณะที่การทดลองในปลาคูกลำพันระยะวัยรุ่นพบว่า สามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลาคูกลำพันระยะปลาน้ำจืดได้ในปริมาณ 60 % ของโปรตีนจากปลาป่น โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ การรอดตาย จากการศึกษาดังกล่าวนี้พบว่ามีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และสปีบริเวณลำตัวของปลาคูกลำพัน พบว่าการเสริมบีตา-แคโรทีน แคนตาแซนทีน แอสตาแซนทีน และสาหร่ายสไปรูลินา ในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 100 ppm มีผลให้ค่าสีแดง บริเวณตัวปลาคูกลำพันมีค่าสูงขึ้น แต่เมื่อทำการตรวจสอบค่าสีเหลือง พบว่าเฉพาะปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสาหร่ายสไปรูลินาจะมีค่าสีเหลืองบริเวณผิวหนังสูงสุด ( $p<0.05$ ) อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ การรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารทุกสูตรมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) เมื่อทำการศึกษาระดับที่เหมาะสมของสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และผลต่อสปีบริเวณลำตัวของปลาคูกลำพัน พบว่าการใช้สาหร่ายสไปรูลินาผสมในอาหารในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25-100 ppm (2.69 -10.75 %) มีผลให้สีเหลือง และสีแดงของผิวหนังปลาคูกลำพันเพิ่มขึ้น โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ และการรอดตาย แต่ปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 200-300 ppm (21.50-32.25 %) จะมีการเจริญเติบโต และอัตราการแลกเนื้อ ลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) การศึกษาระดับของวิตามินซีในอาหาร พบว่าปลาคูกลำพันระยะปลาน้ำจืดที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซี 50-300 ppm มีการเจริญเติบโต การรอดตาย องค์กรประกอบทางเคมี และปริมาณวิตามินซีในตัวปลาไม่แตกต่างกัน ( $P>0.05$ ) ขณะที่ปลาซึ่งได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีการเจริญเติบโตต่ำ และมีพยาธิสภาพของเยื่อผิวหนังอักเสบเกิดขึ้น

### Abstract

The studies on development of practical diet for *Nieuhofii's* catfish in the aspect of ornamental specie were carried out by the study on the effects of soybean meal replacing of fish meal on growth performance, survival, proximate chemical composition and feed efficiency in

either juvenile and fingerling of Nieuhofii's catfish, study on various form and levels of carotenoids supplement on the growth performance, survival, feed efficiency impact on body color and carotenoids contents and the study on effect of dietary vitamin C on growth, proximate chemical composition and histological change in Nieuhofii's catfish.

The study of the effects of soybean meal replacing the fish meal was studied in juvenile fish showed promising results on application of 45% soybean meal replacing of fish meal protein in the diet for catfish, without showing the adverse effect on the growth performance, survival, proximate chemical composition and feed efficiency. In Nieuhofii's catfish fingerling, the level of soybean meal replacement of fish meal could be up to 60% without negative effect to the growth performance, FCR and survival. From the study on various form and levels of carotenoids supplement, it was found that the diet supplemented with 100 ppm total carotenoids from  $\beta$ -carotene, cantaxanthin, astaxanthin and Spirulina gave the significantly increasing of  $a^*$  value, but the yellow color ( $b^*$  value) was only increased in the fish fed test diet supplemented with Spirulina and significantly different from other treatment ( $p>0.05$ ). However, the growth performance, survival, and feed efficiency were not significantly different ( $p>0.05$ ) among the fish fed with control diet and all carotenoid sources. When investigated on the optimum level of Spirulina on growth, feed efficiency and body color, it was found that the supplementation of 25-100 ppm total carotenoids from Spirulina (2.69-10.75% Spirulina in diet) resulted in increasing of  $a^*$  and  $b^*$  value without the adverse effect on growth performance, survival, and feed efficiency, but the growth performance, survival, and feed efficiency in the fish fed test diet supplemented with 200-300 ppm total carotenoids from Spirulina (21.50-32.25 % Spirulina in diet) resulted in significantly lower growth performance and FCR ( $p<0.05$ ). Result from the study on the effect of vitamin C levels in juvenile Nieuhofii's catfish indicated that growth, survival, proximate chemical composition and body vitamin C content were not different among the catfish fed 50-300 ppm vitamin C, whereas, the catfish fed test diet without vitamin C supplementation showed lower growth performance and histological changes in respiratory epithelium.

## บทนำ

ด้วยความสำเร็จในการเพาะขยายพันธุ์ และอนุบาลปลาคูกลำพันวัยอ่อนของหน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง (Kiriratnikom *et al.*, 2007) ทำให้ปัจจุบันมีพันธุ์ปลาคูกลำพันที่เพาะขยายพันธุ์ขึ้นเองในห้องปฏิบัติการเป็นจำนวนมาก และมีกลุ่มผู้สนใจเริ่มนำไปทดลองเลี้ยงทั้งในเชิงอนุรักษ์พันธุ์ปลาหายาก และเชิงปลาสวยงาม เนื่องจากเป็นปลาที่สามารถปรับตัวอาศัยอยู่ในตู้กระจกในสภาพน้ำทั่วไปได้ โดยมีสุขภาพ และการเจริญเติบโตที่ดี (สุภญา และคณะ, 2551) แต่จากการทดลองเลี้ยงปลาคูกลำพันในโรงเพาะฟัก พบว่าปลาคูกลำพันเป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตช้า โดยมีอัตราการเจริญเติบโตเพียง 316.92 - 441.28 % ในเวลา 12 สัปดาห์ (พันธสิทธิ์ และคณะ, 2551) นอกจากนี้ยังมีความต้องการอาหารที่มีโปรตีนสูงถึง 40 % (สุภญา และคณะ, 2551) ซึ่งอาจเป็นต้นทุนการผลิตที่สูงมาก และอาจไม่คุ้มทุนในกรณีการเลี้ยงเพื่อส่งขายเป็นปลาเนื้อเพื่อการบริโภค แม้ว่าจะมีราคาในท้องตลาดสูงถึง 140-180 บาทต่อกิโลกรัม แต่ด้วยรูปร่างลักษณะ สีสนของลำตัวเป็นสีน้ำตาลแดงเข้ม ตลอดจนจุด และลวดลายสีเหลืองสดที่แตกต่างกันในแต่ละตัว และพฤติกรรมที่น่าสนใจของปลาคูกลำพัน รวมทั้งยังมีความสามารถในการปรับตัวอาศัยในตู้กระจกได้ดี จึงจัดเป็นปลาที่มีผู้นิยมเลี้ยงในเชิงปลาสวยงามมีราคาสูงในตลาดปลาสวยงาม (siamensis.org) อีกทั้งยังมีความเป็นไปได้สูงที่จะส่งเสริมเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงามชนิดใหม่เพื่อส่งออกไปยังตลาดปลาสวยงามของยุโรป (Monthaldi, personal communication) แม้ว่าตลาดปลาสวยงามจะมีความต้องการปลาคูกลำพันในปริมาณมาก แต่ปลาคูกลำพันในตลาดปลาสวยงามทั้งหมดเป็นปลาที่จับมาจากธรรมชาติ (pantown.com, siamensis.org) และมีจำนวนน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการ ซึ่งนอกจากจะประสบปัญหาผลผลิตไม่พอในการขยายตลาดเพื่อการส่งออกแล้ว ยังจะส่งผลกระทบต่อปริมาณพันธุ์ปลาคูกลำพันในธรรมชาติทำให้มีปริมาณลดน้อยลง และเข้าสู่ภาวะใกล้สูญพันธุ์มากขึ้น

อย่างไรก็ตามในการเพาะขยายพันธุ์ปลาคูกลำพันจำเป็นต้องอาศัยข้อมูลทางวิทยาศาสตร์หลายประการที่จะช่วยในสามารถผลิตปลาชนิดนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับความต้องการสารอาหารซึ่งถือว่าเป็นส่วนที่มีความสำคัญที่สุดในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีประสิทธิภาพ จากการศึกษาวิจัยโดยหน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง พบว่าปลาคูกลำพันมีการยอมรับอาหารสำเร็จรูปได้ดี โดยมีระดับความต้องการโปรตีน 40 % (สุภญา และคณะ, 2551) ซึ่งจัดเป็นปลาที่มีความต้องการโปรตีนสูง ในการผลิตอาหารที่เหมาะสมกับปลาคูกลำพันนี้ต้องใช้ส่วนผสมของปลาป่นในสูตรอาหารปริมาณมาก ส่งผลให้เกิดปัญหาต้นทุนค่าอาหารที่มีราคาสูง ซึ่งสามารถลดปัญหาดังกล่าว

ลงได้ด้วยการใช้แหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร นอกจากนี้ในการเพาะเลี้ยงปลาอุก ลำพันในโรงเพาะฟัก ยังพบว่าลูกปลาบางส่วนมีลักษณะลำตัวคดงอผิดปกติ ครีบกาง และครีบอื่นๆ ไม่สมบูรณ์ ทำให้รูปทรงของตัวปลาไม่สวยงาม ปัญหานี้มักเกิดขึ้นในลูกปลาที่มีภาวะขาดวิตามินบางชนิด โดยเฉพาะการขาดวิตามินซี (Halver and Hardy, 2002) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการดำเนินการศึกษาเกี่ยวกับความต้องการวิตามินซีในปลาคูกลำพันเพื่อให้ปลามีสุขภาพดี มีรูปทรง และ ความสมบูรณ์ของระยางค์ต่างๆ สวยงาม เพื่อพัฒนาเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงามชนิดใหม่ที่สามารถเพิ่มมูลค่าในอุตสาหกรรมการส่งออกปลาสวยงามได้มากขึ้น

แม้ว่าปลาคูกลำพันเป็นปลาที่มีสีส้ม และลวดลายสวยงาม แต่ในด้านการพัฒนาเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงาม จำเป็นที่จะต้องมีการควบคุมสี และลวดลายของตัวปลาให้ตรงตามความต้องการของตลาด ทั้งนี้ปัญหาสำคัญประการหนึ่งในการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามได้แก่การขาดแคโรทีนอยด์ในอาหารทำให้ปลาสวยงามจากการเพาะเลี้ยงมีสีส้มไม่ตรงตามความต้องการของตลาด การปรับปรุงสีของปลาสวยงามสามารถทำได้โดยการเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหาร (Latscha, 1991) ซึ่งเป็นแนวทางสำคัญที่จะช่วยเพิ่มมูลค่าในตลาดโลกได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ประกอบไปด้วยสารหลายชนิด เช่น บีตา-แคโรทีน ( $\beta$ -carotene), ซีแซนทีน (zeaxanthin), ลูทีน (Lutein), แอสตาแซนทีน (astaxanthin) และแคนตาแซนทีน (cantaxanthin) เป็นต้น แคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมี ประสิทธิภาพการใช้งานในสัตว์น้ำ (bioavailability) แต่ละชนิดแตกต่างกัน (Chien and Jeng, 1992) นอกจากชนิดของแคโรทีนอยด์ที่มีผลต่อการใช้ประโยชน์ในร่างกายสัตว์น้ำแล้ว ระดับความเข้มข้นในอาหารก็มีผลต่อการเร่งสีอีกด้วย (Liao *et al.*, 1993) ด้วยเหตุผลดังกล่าวงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรอาหารของปลาคูกลำพันที่มีต้นทุนต่ำลง และส่งผลให้ลูกปลามีรูปทรง ลักษณะครีบที่สมบูรณ์ และเป็นสูตรอาหารที่มีผลช่วยให้สีส้ม และลวดลายของปลาคูกลำพัน สวยงาม ตรงตามความต้องการของตลาด อันเป็นการปรับปรุงคุณภาพผลผลิต และเป็นการเพิ่มมูลค่าปลาสวยงามเพื่อการส่งออกได้เป็นอย่างดี

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของการใช้กากถั่วเหลืองระดับต่างๆ ในอาหาร เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย การแลกเนื้อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาอุกกล้าพันธุ์ในระยะเวลาปลานี้ว และระยะวัยรุ่น
2. เพื่อศึกษาผลของวิตามินซีระดับต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย การแลกเนื้อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ปริมาณวิตามินซีในตับ และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของปลาอุกกล้าพันธุ์
3. เพื่อทราบถึงผลของการเสริมแคลโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ในอาหารที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และผลต่อสีน้ำตาลแดงบริเวณลำตัว และสีเหลืองสดบริเวณลวดลาย ตลอดจนปริมาณแคลโรทีนอยด์ในตัวปลาอุกกล้าพันธุ์
4. เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของแคลโรทีนอยด์ที่มีประสิทธิภาพ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และผลต่อสีน้ำตาลแดงบริเวณลำตัว และสีเหลืองสดบริเวณลวดลาย ตลอดจนปริมาณแคลโรทีนอยด์ในตัวปลาอุกกล้าพันธุ์

## การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

### ปลาอุกกล้าพันธุ์

เดิมปลาอุกกล้าพันธุ์ถูกจัดจำแนกเป็นปลาที่อยู่ในจีนัส *Prohagorus* โดยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Prohagorus nieuhofii* เนื่องจากตัวอย่างปลาที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิดมีครีบหาง ครีบหลัง และครีบก้น เชื่อมติดกันทั้งหมด (Lim and Ng, 1999) จากการศึกษาข้อมูลทางกายวิภาคของปลาอุกกล้าพันธุ์ในปัจจุบันพบว่าปลาชนิดนี้มีครีบดังกล่าวแยกจากกัน จึงถูกจัดจำแนกใหม่ โดยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias nieuhofii* (Lim, 1994) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังมีการรายงานพบปลาที่มีลักษณะคล้ายปลาอุกกล้าพันธุ์ในเกาะเบอร์เนียว แต่มีสัดส่วนลำตัวที่แตกต่างกันเล็กน้อย และจากการศึกษาความแตกต่างของ allozyme พบว่า locus ของ Phosphoglucomutase (PGM<sup>\*</sup>) ก็มีความแตกต่างกันจึงทำให้จัดจำแนกปลาชนิดดังกล่าวให้มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias pseudonieuhofii* (Sudarto et al., 2004) อย่างไรก็ตามจากการสำรวจชนิดพันธุ์ปลาในประเทศไทยโดย Monkolprasit et al. (1997) ได้จำแนกปลาอุกกล้าพันธุ์ที่พบในภาคใต้ของประเทศไทยให้มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clarias nieuhofii*

### การเพาะขยายพันธุ์ปลาดุกลำพัน

ศราวุธ และคณะ (2538) รายงานว่าปลาดุกลำพันมีฤดูวางไข่อยู่ในช่วงเดือนมิถุนายน ถึง ธันวาคม ซึ่งเป็นช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนมากที่สุดในรอบปี โดยปลาที่มีขนาดเล็กที่สุดที่มีพัฒนาการของไข่ในรังไข่มีน้ำหนัก 230 กรัม และมีไข่ 3,340 ฟอง ขณะที่ปลาที่มีขนาดใหญ่ที่สุดที่มีการพัฒนาของรังไข่มีน้ำหนัก 700 กรัม และมีปริมาณไข่ 10,435 ฟอง ทั้งนี้ อุดมชัย และสุวรรณณี (2529) รายงานว่าปลาดุกลำพันสามารถเพาะขยายพันธุ์ได้เช่นเดียวกับปลาดุกชนิดอื่นๆ โดยการฉีดต่อมได้สมองปลาเพศเมีย 1 โดส หลังจากนั้น 6-8 ชั่วโมงจึงฉีดครั้งที่ 2 เป็นปริมาณ 2 โดส ในระยะเวลา 12-14 ชั่วโมง ปลาจะพร้อมในการวางไข่ สามารถผสมเทียมได้ด้วยวิธีการผสมแบบเปียก ลูกปลาฟักออกเป็นตัวใน 30-36 ชั่วโมง และเริ่มกินอาหารในวันที่ 4 หลังฟักออกเป็นตัว ทั้งนี้ พรพนม (2538) ได้รายงานว่าสามารถผสมเทียมปลาดุกลำพันได้โดยการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ LH-RH ร่วมกับ domperidone โดยฉีดฮอร์โมน LH-RH 5 ไมโครกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัมร่วมกับ domperidone 10 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ในครั้งแรก หลังจากนั้น 6 ชั่วโมงจึงฉีด LH-RH ในระดับ 5-15 ไมโครกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัมร่วมกับ domperidone 10 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ปลาจะพร้อมในการวางไข่ในระยะเวลา 14 ชั่วโมงหลังการฉีดเข็มที่ 2

### อาหารตามธรรมชาติของปลาดุกลำพัน

ปลาดุกลำพันเป็นปลากินทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous fish) จากการศึกษากองคัพประกอบอาหารในกระเพาะของปลาที่จับจากธรรมชาติ โดย ศราวุธ และคณะ (2538) พบว่าอาหารที่พบในกระเพาะปลาดุกลำพันประกอบด้วยเนื้อปลา 73.6 % เนื้อปู และกุ้ง 12.3 % แมลง 1.7 % ซากอินทรีย์ 1.2 % และอื่นๆ 11.2 % จากการวัดความยาวลำไส้ต่อความยาวตัว พบว่าปลาดุกลำพันมีอัตราส่วนความยาวลำไส้ต่อความยาวตัว  $0.652 \pm 0.04$  ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่สามารถจัดให้อยู่ในกลุ่มปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ และอาจจัดในกลุ่มปลาที่กินเนื้อเป็นอาหารได้เช่นกัน

### ความต้องการสารอาหารให้พลังงานของปลาดุก

จากรายงานการศึกษาความต้องการสารอาหารที่ให้พลังงาน ซึ่งได้แก่ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตของปลาดุกในครอบครัว Clariidae ได้แก่ *Clarias gariepinus*, *C. isheriensis*, *C. batrachus* และ *C. fuscus* พบว่าความต้องการโปรตีนมีค่าประมาณ 40 % โดยที่มีระดับความต้องการพลังงานอยู่ในช่วง 13-17 kJ / g และสามารถใช้อคาร์โบไฮเดรตจาก polysaccharide ชนิดต่างๆ เป็นแหล่งของพลังงานได้ดี (Weerd, 1995) อย่างไรก็ตามในปลาดุกที่มีขนาดใหญ่ขึ้นจะมีความต้องการโปรตีนลดลง Murthy and Naik (1999) รายงานว่าปลาดุกแอฟริกันมีการเจริญเติบโต

สูงสุดเมื่อได้รับอาหารที่มีโปรตีน 34.62% และไขมัน 12.12% ทั้งนี้อัตราส่วนโปรตีนต่อไขมันในอาหารควรมีค่า 18.57 จึงจะมีผลให้อัตราการเจริญเติบโตของปลาสูงสุด แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณโปรตีน 29.85% และไขมัน 18.08% จะมีการรอดตาย การแลกเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) สูงที่สุด นอกจากการศึกษาด้านระดับของโปรตีนต่อไขมันแล้ว Juancey and Ali (2004) ได้รายงานถึงผลของระดับคาร์โบไฮเดรตต่อไขมันในอาหารปลาดุกแอฟริกัน โดยพบว่าปลาที่มีการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อได้รับอาหารที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต 27-38 % และไขมัน 11-16 % โดยที่มีอัตราส่วนของคาร์โบไฮเดรตต่อไขมันอยู่ในช่วง 1.7-3.4 สำหรับการศึกษาควณความต้องการสารอาหารในปลาดุกผสมนั้น พบว่าปลาดุกผสม *Clarias gariepinus* × *Heterobranchus bidorsalis* ที่มีขนาด 12.53±0.35 กรัมต่อตัว มีการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อได้รับอาหารที่มีปริมาณโปรตีน 40 % ในอัตราการให้อาหาร 5 % ของน้ำหนักตัวต่อวัน (Adebayo, 2005)

#### การใช้วัตถุดิบพืชเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำ

พืชจำนวนมากมีปริมาณโปรตีนสูงมากเพียงพอที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลา โดยเฉพาะพืชที่เมล็ดมีน้ำมัน เช่น ถั่วต่างๆ โดยเฉพาะถั่วเหลืองนับเป็นพืชโปรตีนสูงที่มีการประยุกต์ใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลาอย่างแพร่หลาย แม้ว่า จะขาดกรดอะมิโนจำเป็น โดยเฉพาะ methionine รวมทั้งยังอาจมีการปนเปื้อนของสารยับยั้งการย่อย ได้แก่ protease (trypsin) inhibitor, phytohaemagglutinin และ anti vitamin แต่ทั้งนี้สามารถทำลายสารยับยั้งการย่อยดังกล่าวได้เมื่อผ่านความร้อนให้กับถั่วเหลืองก่อนที่จะนำมา ใช้ผสมในอาหารปลา (Tacon, 1996) เนื่องจากถั่วเหลืองขาดกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิด โดยเฉพาะ methionine จึงเหมาะที่จะใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำได้บางส่วน หรืออาจประยุกต์ใช้ร่วมกับการเสริม methionine อีกระดับในอาหารปลา ในอาหารปลาที่มีโปรตีนสูงๆ มักสามารถใช้ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่มากขึ้นได้ อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิต หรือขั้นตอนการเตรียมถั่วเหลืองมีผลอย่างมากต่อคุณภาพ การใช้ความร้อนสูงในการผลิตถั่วเหลืองหรือกากถั่วเหลืองป่นจะช่วยทำลาย protease inhibitor ที่มีในถั่วดิบได้ รวมทั้งยังช่วยทำลายผนังเซลล์ที่มีองค์ประกอบเป็น cellulose ทำให้ปลาสามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น นอกจากถั่วเหลือง และกากถั่วเหลืองแล้ว เมล็ดถั่ว repeseed งา และกากงาตลอดจนกากปาล์มก็มีรายงานการประยุกต์ใช้ในอาหารปลา และอาหารกุ้งกุลาดำ (Bautista-Teruela *et al.*, 2003) รวมทั้งใบพืชตระกูลถั่วอื่นๆ หลายชนิด เช่น ใบกระถินป่น และใบมะรุม ก็พบว่า มีโปรตีนสูงและสามารถนำมาใช้ทดแทนปลาป่นบางส่วนในอาหารปลาได้อย่างเหมาะสม ทั้งนี้ต้องระมัดระวังสารยับยั้งการใช้อาหาร (anti nutrient) บางอย่างเช่น gossypol ซึ่งเป็นพวกสารประกอบ phenolic antinutrient และ cyclopropionic acid ที่มักพบในเมล็ดถั่ว หรือ

glucosinate ใน rapeseed รวมทั้งสารในกลุ่ม alkaloid ที่มักพบในเมล็ดพืชต่างๆ (El-Sayed, 1999) สารเหล่านี้จะปนเปื้อนในอาหารและส่งผลให้ปลาเกิดการเจริญเติบโตลดลงได้ ดังนั้นการประยุกต์ใช้วัสดุจากพืชโปรตีนสูงต่างๆ จึงอาจใช้เพื่อทดแทนปลาป่นได้บางส่วน อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงวิธีการที่เหมาะสมที่จะใช้ทำลายสารยับยั้งการใช้อาหารที่มีในพืชดังกล่าว รวมทั้งการเลือกวัสดุโปรตีนทดแทนอื่นๆ ผสมในอาหารเพื่อให้มีสมดุลของกรดอะมิโนจำเป็นเหมาะสม ซึ่งจะช่วยให้สามารถใช้วัสดุพืชโปรตีนสูงทดแทนปลาป่นในอาหารปลาได้มากขึ้น ในกึ่งขาว Sudaryono *et al.* (1999) ได้รายงานการใช้เมล็ดนุ่นเป็นแหล่งโปรตีนเสริม ซึ่งพบว่าสามารถใช้ทดแทนโปรตีนในอาหารกึ่งได้เพียงบางส่วนเนื่องจากปัญหาด้านประสิทธิภาพการย่อย และองค์ประกอบกรดอะมิโนไม่สมดุล นอกจากนี้พืชบกแล้วพืชน้ำหลายชนิดก็มีปริมาณโปรตีนรวมสูงเพียงพอที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลา Naegel (1997) พบว่าสามารถใช้แหนแดง (*Azolla pinata*) ผสมในอาหารปลานิลเพื่อทดแทนปลาป่นได้ถึง 30% โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลาที่เลี้ยง รายงานการศึกษาในบ่อดินพบว่าสามารถใช้แหนเป็ด (*Lemna sp.* และ *Wolffia sp.*) ซึ่งเป็นพืชน้ำที่มีปริมาณโปรตีนรวมสูงถึง 35-45 % เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นทั้งหมดในอาหารปลานิลได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาแต่อย่างใด (Skillicom *et al.*, 1993) ส่วนสาหร่ายทั้งน้ำจืด และสาหร่ายทะเลจำนวนมากพบว่ามีปริมาณโปรตีนรวมสูงเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารได้ดี แต่ส่วนใหญ่มีราคาแพงเกินกว่าที่จะเหมาะกับการนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีน ส่วนใหญ่จึงประยุกต์ใช้สาหร่ายหรือสารสกัดจากสาหร่ายในอาหารสัตว์น้ำเพื่อเป็นแหล่งของรงควัตถุบางชนิด เช่น เบต้า แคโรทีน เป็นต้น

### ผลของวิตามินซีในปลาอุก

วิตามินซีจัดเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อปฏิกิริยาทางเคมีในร่างกายของสิ่งมีชีวิต ทั้งวิตามินละลายน้ำ และวิตามินละลายไขมัน สัตว์น้ำมีความต้องการวิตามินแต่ละชนิดในปริมาณที่แตกต่างกัน ในส่วนของวิตามินละลายน้ำ พบว่าวิตามินซีเป็นวิตามินที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต และมีผลต่อความสมบูรณ์ของโครงสร้างของร่างกายปลาเป็นอย่างมาก (Halver and Hardy, 2002) จากรายงานการศึกษาพบว่าปลาอุกที่ขาดวิตามินซี หรือได้รับในปริมาณที่ไม่เพียงพอ จะแสดงลักษณะกระดูกสันหลังคดงอ ลำตัวคดงอ โครงสร้างของกระดูกโกลกผิดปกติ ระวังค์ต่างๆ ทั้งหมด และครีบหางสึกกร่อน หดสั้น ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีในปริมาณที่เหมาะสม จะมีรูปร่างลักษณะ และการเจริญเติบโตตามปกติ (Boonyaratpalin and Phromkunthong, 2001) นอกจากนี้วิตามินซียังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน การสมานบาดแผล และความต้านทานโรค และความต้านทานความเครียดของปลา ซึ่งจะช่วยให้ปลาที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณวิตามินซี

เหมาะสมมีสุขภาพดี ความต้านทานโรคสูงขึ้น (Eo and Lee, 2008) วิตามินซีในรูปแบบ ascorbic acid เป็นวิตามินละลายน้ำที่ถูกทำลาย และเสียดสภาพได้ง่าย ทั้งจากความชื้น ความร้อน แสง และการละลายเสียดสภาพในน้ำ จึงมีการพัฒนารูปแบบของวิตามินซีที่มีความคงสภาพมากขึ้น เพื่อใช้ทดแทน L-ascorbic acid เช่นวิตามินซีในรูปแบบ ascorbyl-2-sulfate, ascorbyl-2-monophosphate, ascorbyl-2-polyphosphate และวิตามินซีเกลือชนิดต่างๆ (Halver and Hardy, 2002)

Khajareern and Khajareern (1997) รายงานว่า สามารถใช้ ascorbate-glucose เป็นแหล่งของวิตามินซีในปลาดุกอุกผสม (*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยปลาที่ได้รับวิตามินซีในรูปแบบ ascorbate-glucose 80 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะมีสุขภาพดี อัตราการแลกเนื้อต่ำ และการรอดตายสูง อย่างไรก็ตามวิตามินซีอนุพันธ์ฟอสเฟตจัดเป็นวิตามินซีที่มีประสิทธิภาพสูงในปลา ทั้งในรูปแบบ ascorbyl-2-monophosphate และ ascorbyl-2-polyphosphate โดย Boonyaratpalin and Phromkunthong (2001) รายงานว่าวิตามินซี ในรูปแบบ ascorbyl polyphosphate เป็นวิตามินซีที่มีความคงสภาพสูง และมีประสิทธิภาพการดูดซึม และนำไปใช้ได้ดี ในปลาดุกอุกผสม (*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*) ทั้งนี้ พบว่าปลาดุกที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีโพลิฟอสเฟต ในปริมาณที่มีเนื้อวิตามินซี 12.6 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมมีการเจริญเติบโตสูง ตลอดจนไม่แสดงอาการขาดวิตามินซี และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเนื่องจากการขาดวิตามินซี ตลอดระยะเวลาของการทดลอง 10 สัปดาห์

### การใช้แคโรทีนอยด์เพื่อปรับปรุงสีสัตว์น้ำ

สีสันของสัตว์น้ำเกิดขึ้นเนื่องจากการสะสมรงควัตถุแคโรทีนอยด์ในเนื้อเยื่อต่างๆ จากรายงานการศึกษาพบว่าแคโรทีนอยด์ที่มีผลในการก่อให้เกิดสีตัวในสัตว์น้ำมีหลายชนิด เช่น บีตา-แคโรทีน ลูทีน ซีแซนทีน แคนตาแซนทีน แอสตาแซนทีน อย่างไรก็ตามแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดก็มีประสิทธิภาพการดูดซึม และนำไปใช้ประโยชน์ (Bioavailability) แตกต่างกัน ในสัตว์น้ำแต่ละชนิด (Matsuno, 2001) เนื่องจากผู้บริโภคมีความต้องการผลผลิตสัตว์น้ำที่มีสีสันสวยงาม หรือสีสันที่ตรงตามความต้องการทั้งในการบริโภค และ/หรือการเพาะเลี้ยงเป็นสัตว์น้ำสวยงาม จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อสีตัวของสัตว์น้ำ เพื่อให้ทราบถึงชนิดของแคโรทีนอยด์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับการใช้เพื่อปรับปรุงสีตัวของสัตว์น้ำแต่ละชนิด และทราบถึงระดับที่มีความเหมาะสมในการใช้แคโรทีนอยด์ผสมในอาหารเพื่อการปรับปรุงสีตัวของสัตว์น้ำที่มีประสิทธิภาพที่สุด พิษญาและคณะ (2544) ได้ทำการศึกษาผลของแอสตาแซนทีนต่อปลากะพงแดง พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทีนที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 100 มก./กก.อาหาร ที่บริเวณครีบและลำตัวจะมีสีแดงเข้มกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองชุดอื่น มีอัตราการรอดอยู่ในช่วง

96.67-100 เปอร์เซ็นต์และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าอยู่ในช่วง 1.05-1.16 สุภฎา และคณะ (2548) ทดลองใช้สไปรูลิनाเป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ในอาหารปลาทอง พบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในระดับ 3% มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด โดยมีค่าสีเหลือง และแดง สูงกว่ากลุ่มปลาทองที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในปริมาณ 1% Chien and Jeng (1992) ทำการศึกษาการเร่งสีในกุ้งครุมา (*Penaeus japonicus*) โดยเสริม แอสตาแซนทีน บีต้า-แคโรทีน และสาหร่ายคูลาเลดลาลงในอาหาร พบว่าแอสตาแซนทีนเป็นสารสีที่มีผลมากที่สุด และการเสริมแอสตาแซนทีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก.อาหาร เป็นเวลา 1 เดือนก่อนจับขายจะให้สีตรงกับความต้องการของตลาดและไม่เปลืองต้นทุน โดยกุ้งที่เสริมแอสตาแซนทีนมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากุ้งที่เสริมบีต้า-แคโรทีนและสาหร่ายคูลาเลดลาลง ซึ่งพบว่าระดับของสารสีในเนื้อเยื่อในตัวกุ้งจะเกี่ยวข้องกับอัตราการรอดตายของกุ้งด้วย Gouveia *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาเสริมสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แอสตาแซนทีนสังเคราะห์ในอาหารปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) พบว่าผิว 4 บริเวณ ได้แก่ แผ่นปิดเหงือก บริเวณท้อง ครีบท้อง และบริเวณหน้าผากระหว่างตามีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยบริเวณหน้าผากระหว่างตามีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด ขณะที่การศึกษาในปลาสวยงาม Characins พบว่าปลาจะมีสีส้ม และปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวสูงที่สุดเมื่อได้รับอาหารที่มีการเสริมแอสตาแซนทีน และอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ผสม 1:1 ของแอสตาแซนทีน ต่อบีตา-แคโรทีน ในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์รวมในอาหาร 40 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Juan Wang *et al.*, 2006)

วุฒิพร และ อัญชลิ (2548) ได้ศึกษาผลของสาหร่ายสไปรูไลนาต่อการเจริญเติบโต และระดับแอนติบอดีในปลาคูกพันธุ์ผสม (*Clarias macrocephalus* X *Clarias gariepinus*) พบว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลินา ซึ่งมีแคโรทีนอยด์ในรูปแบบซีแซนทีน และบีตา-แคโรทีน มีผลให้เนื้อ และผิวหนังของปลาคูกมีสีเหลืองเพิ่มมากขึ้น และยังส่งผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเนื้อปลาเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าซีแซนทีน และบีตา-แคโรทีนในสาหร่ายสไปรูลินามีผลต่อลักษณะสีของผิวหนังและเนื้อปลาคูกผสม ขณะที่ปลาคูกลำพันที่อาศัยในธรรมชาติพบว่าอาหารส่วนใหญ่ได้แก่ ปลาขนาดเล็ก และกุ้ง (ศราวุธ และคณะ, 2538) ทั้งนี้สัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียจะมีปริมาณแคโรทีนอยด์ในรูปแบบแอสตาแซนทีนอยู่มาก และสะสมตามห่วงโซ่อาหาร ซึ่งจะมีผลต่อลักษณะสีของผิวหนังและเนื้อเยื่อของปลาที่กินครัสเตเชียให้มีสีน้ำตาล-แดง แม้ว่าปัจจุบันยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงสีตัวของปลาคูก อย่างไรก็ตาม Tsushima *et al.* (2002) ได้รายงานองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ในปลาคูกในสกุล *Clarias* โดยพบว่าส่วนใหญ่ของแคโรทีนอยด์ในร่างกายของปลาคูกสกุลนี้ คือ ซีแซนทีน (31.7%) คริปโตแซนทีน (27.1%) ไดอะไดแซนทีน (17.4%) และบีตา-แคโรทีน (3.7%)

**การศึกษาผลของการใช้กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหาร  
ต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ การรอดตาย  
และองค์ประกอบทางเคมีของปลาคูกลำพันระยะปลาเนื้อ**

**The Study on the Effects of Application of Soybean Meal as Protein Replacement  
of Fish Meal on Growth Performance, Feed Conversion Rate, Survival and Body  
Composition of Nieuhofii's Catfish (*Clarias Nieuhofii*)**

**บทนำ**

ปลาคูกลำพันเป็นปลาน้ำจืดที่มีสีสัน และลวดลายสวยงาม ในธรรมชาติพบสีลำตัวแตกต่างกัน ตั้งแต่น้ำตาลอ่อน น้ำตาลแดง สีแดงเข้ม และดำ ขณะที่ลวดลายจุดสีเหลืองสดข้างลำตัวปลามีความแตกต่างกันในแต่ละตัว ตลอดจนเป็นปลาที่มีพฤติกรรมที่น่าสนใจ มีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงามเพื่อการส่งออก การพัฒนาอาหารที่มีความเหมาะสมสำหรับปลาสวยงามเป็นการเพิ่มมูลค่าปลาสวยงามได้ทางหนึ่งโดยมีความจำเป็นต้องผลิตอาหารสำหรับปลาสวยงามที่มีราคาเหมาะสม และควรเป็นอาหารที่ส่งเสริมให้ปลามีสุขภาพดี รูปร่างลักษณะสวยงาม การพัฒนาสูตรอาหารให้มีความเหมาะสมต่อสัตว์น้ำ จำเป็นต้องศึกษาทั้งในด้านผลของอาหารต่อสุขภาพของปลา และความเหมาะสมด้านราคาของอาหาร โดยเฉพาะการเลือกวัตถุดิบสำหรับใช้ทดแทนส่วนผสมอาหารที่มีต้นทุนสูง ได้แก่การลดปริมาณการใช้ปลาป่นด้วยวัตถุดิบโปรตีนทดแทนจากพืชที่มีโปรตีนสูง

การศึกษานี้มุ่งเน้นตรวจสอบผลของการใช้กากถั่วเหลืองเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย การแลกเนื้อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

เพื่อศึกษาผลของการใช้กากถั่วเหลืองระดับต่างๆ ในอาหาร เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย การแลกเนื้อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาคูกลำพันระยะปลาเนื้อ

## วิธีการดำเนินการวิจัย

เตรียมอาหารทดลองที่มีระดับพลังงานเท่ากัน (isocaloric test diet) ในช่วง 330 - 340 kcal / 100 g โดยมีระดับโปรตีนรวมของอาหารทดลอง 40 % ดังแสดงใน Table 36. โดยอาหารทดลองแต่ละสูตรใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในระดับ 0, 15, 30, 45, 60 และ 75 % ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) โดยเลี้ยงปลาคุกก่าพันธุ์ปลาเนื้อที่มีขนาด 1-1.5 กรัมต่อตัว ในตู้ทดลองขนาด 120 ลิตร ที่มีปริมาตรน้ำ 100 ลิตร ตู้ละ 15 ตัว โดยแบ่งเป็น 6 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ให้อาหารปลาตามแต่ละชุดการทดลอง โดยให้อาหารปลาวันละ 2 ครั้ง ในปริมาณที่ปลากินหมดภายใน 20 นาที (ประมาณ 3-5 % ของน้ำหนักตัวต่อวัน) ดูดตะกอนและเศษอาหารที่พื้นตู้ปลาทุกวัน โดยเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 % ทุกวัน ทุก 2 สัปดาห์ของการทดลอง ตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาในแต่ละชุดการทดลองโดยชั่งน้ำหนักรวม บันทึกปริมาณอาหารที่ใช้ นับจำนวนปลาที่เหลือเพื่อคำนวณน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และการรอดตายของปลาในแต่ละตู้ทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ตามสมการ (Halver and Hardy, 2002)

### อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

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

### อัตราการรอดตาย (Survival rate), %

$$\text{อัตราการรอดตาย} = (\text{จำนวนปลาที่สิ้นสุดการทดลอง} / \text{จำนวนปลาเริ่มต้น}) \times 100$$

### น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain, WG), %

$$WG = [(\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}) / \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}] \times 100$$

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลา 6 ตัวจากแต่ละชุดการทดลองเพื่อนำไปตรวจสอบอัตราส่วนความยาวต่อน้ำหนัก (Condition factor) และค่าดัชนีตับต่อตัว (Hepatosomatic index, HSI) และสุ่มตัวอย่างปลาเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) คำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (Apparent net protein utilization, ANPU) โดยใช้สมการดังนี้ (Halver and Hardy, 2002)

**ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER)**

$$= \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

**การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (ANPU, %)**

$$= \frac{\text{น้ำหนักโปรตีนในตัวปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยน้ำหนักปลา อัตราการเจริญเติบโต การรอดตายของปลา อัตราส่วนความยาวตัวต่อน้ำหนัก ค่าดัชนีตัวต่อตัว องค์ประกอบทางเคมี ตลอดจนประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารแต่ละชุดการทดลองด้วย One way analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) (Zar, 1984)

**Table 36.** Composition (%) of experimental diet.

% in diet	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Fish meal	72	58.7	45.4	32.1	18.8	5.5
Soybean meal	-	13.3	26.6	39.9	53.2	66.5
Rice flour	8	8	8	8	8	8
Wheat flour	10	10	10	10	10	10
Rice bran	5	5	5	5	5	5
Mineral premix	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitamin premix	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Soybean oil	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3

Vitamin mixture (mg/ kg diet): thiamine hydrochloride 30; riboflavin 30; nicotinic acid 140; calcium pantothenate 100; pyridoxine hydrochloride 25; vitamin B<sub>12</sub> 0.005; inositol 2,000; biotin 6; folic acid 6; choline chloride 1,000; ascorbyl- polyphosphate 250; vitamin E 200; vitamin K<sub>3</sub> 12; vitamin A 12,000 IU; vitamin D<sub>3</sub> 2400 IU;

Mineral mixture (g/kg diet) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 4.2; CaHPO<sub>4</sub> 3.3; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6.25; KCL 2; KI 1.6; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2; ZnSO<sub>4</sub> 0.1; MnSO<sub>4</sub> 0.1

## ผลการศึกษา

### องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองทั้ง 6 สูตร พบว่าอาหารทดลองทุกสูตรมีระดับ โปรตีนใกล้เคียงกันในช่วง  $42.23 \pm 0.26 - 42.81 \pm 0.09$  % และปริมาณไขมันอยู่ในช่วง  $18.08 \pm 0.23 - 18.46 \pm 0.63$  % ดังแสดงใน Table 37. ซึ่งจัดเป็นระดับค่าองค์ประกอบทางเคมีของสารอาหารให้พลังงานที่ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละสูตร

**Table 37.** Chemical composition of the experimental diet (%)

	<b>Protein</b> (% dry weigh)	<b>Crude lipid</b> (% dry weigh)	<b>Ash</b> (% dry weigh)	<b>Moisture</b> (% as fed)
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	$42.81 \pm 0.09$	$18.08 \pm 0.23$	$13.99 \pm 0.04$	$2.17 \pm 0.15$
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	$42.79 \pm 0.10$	$18.24 \pm 0.21$	$12.80 \pm 0.34$	$2.08 \pm 0.05$
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	$42.72 \pm 0.09$	$18.14 \pm 0.35$	$11.69 \pm 0.20$	$2.15 \pm 0.08$
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	$42.52 \pm 0.58$	$18.46 \pm 0.63$	$10.32 \pm 0.30$	$2.05 \pm 0.04$
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	$42.26 \pm 0.29$	$18.20 \pm 0.60$	$9.27 \pm 0.20$	$2.17 \pm 0.03$
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	$42.23 \pm 0.26$	$18.40 \pm 0.41$	$8.20 \pm 0.11$	$2.11 \pm 0.06$

### น้ำหนักเฉลี่ย การเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลาดุกลำพัน

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองที่ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาของการทดลอง ดังแสดงใน Table 38. ทั้งนี้พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาดุกลำพันเริ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง โดยปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 60 % ของโปรตีนทั้งหมด มีน้ำหนักตัวต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ และเริ่มพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาดุกลำพันมีแนวโน้มลดลง ในปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองในปริมาณที่มากขึ้น โดยในสัปดาห์ที่ 4 -10 พบว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 60-75 % มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในเกณฑ์ต่ำ ขณะที่ปลาในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 15-45 % มีน้ำหนักตัวสูง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่

ได้รับอาหารทดลองซึ่งไม่เสริมกากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่น เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าปลาคุกลำพันที่ได้รับอาหารเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 15 % มีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์สูง และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 60-75 % อย่างไรก็ตามปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 0-45 % มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวในเกณฑ์สูงไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ขณะเดียวกันพบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 45-75 % มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ )

### **น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดตาย**

น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลาคุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตร แสดงใน Table 39. ทั้งนี้ น้ำหนักที่เพิ่มของปลาคุกลำพันแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) โดยปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 0-45 % มีน้ำหนักที่เพิ่มในเกณฑ์สูงสุดไม่แตกต่างกัน ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 45-75 % มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในเกณฑ์ต่ำ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ )

อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลาคุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 0-45 % มีค่าอยู่ในเกณฑ์สูง และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 75 %

อัตราแลกเนื้อของปลาคุกลำพันตลอดระยะเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์มีค่าอยู่ในเกณฑ์ต่ำ ( $1.15 \pm 0.14 - 1.41 \pm 0.30$ ) ในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 0-45 % ขณะที่ปลาซึ่งได้รับอาหารเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 60-75 % มีค่าอัตราแลกเนื้อระหว่าง  $1.57 \pm 0.07 - 1.81 \pm 0.23$  ขณะที่อัตราการรอดตายของปลาในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ในช่วง  $77.78 \pm 10.18 - 95.56 \pm 3.85$  %

### **Hepatosomatic index และ Condition factor ของปลาคุกลำพัน**

Hepatosomatic index และ Condition factor ของปลาคุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรแสดงใน Table 40. ทั้งนี้พบว่าค่า hepatosomatic index ของปลาคุกลำพันมีแนวโน้มลดลงตามระดับของการเพิ่มกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น โดยปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 0 % มีค่า Hepatosomatic index ในเกณฑ์สูงแตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 75 % อย่างไรก็ตาม ค่า condition factor ของปลาที่ได้รับอาหารทดลองทุกสูตรมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ )

### องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา

ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าในตัวปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์แสดงใน Table 41. ทั้งนี้พบว่า ปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับ 0-60% มีปริมาณโปรตีนในตัวปลาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) แต่ปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 75 % มีปริมาณโปรตีนในตัวปลาต่ำที่สุด และแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ทั้งนี้ปริมาณไขมัน และเถ้าของตัวปลาที่ได้รับอาหารทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ )

### ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิ

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิ ของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์แสดงใน Table 42.

ปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับ 0-45% มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยมีค่าระหว่าง  $1.55 \pm 0.34$  -  $1.91 \pm 0.26$  ขณะที่ปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับ 15% มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) เมื่อเทียบกับปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับ 60-75%

ค่าการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับ 60-75% มีค่าต่ำ ( $17.71 \pm 1.47$  -  $17.79 \pm 2.85\%$ ) ขณะที่ปลาซึ่งได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในระดับ 15-45 % มีค่าการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิอยู่ในเกณฑ์สูง ( $23.81 \pm 3.99$  -  $29.88 \pm 3.35\%$ )

**Table 38.** Average body weight (g) of Nieuhofii's catfish in fed each experimental diet for 12 weeks.

	<b>0 wk</b>	<b>2wk</b>	<b>4 wk</b>	<b>6 wk</b>	<b>8 wk</b>	<b>10 wk</b>	<b>12 wk</b>
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	1.09 ± 0.06 <sup>ns</sup>	1.91 ± 0.11 <sup>b</sup>	3.15 ± 0.04 <sup>bc</sup>	5.25 ± 0.11 <sup>bc</sup>	8.49 ± 0.39 <sup>bc</sup>	11.52 ± 1.15 <sup>bc</sup>	15.13 ± 2.17 <sup>bc</sup>
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	1.12 ± 0.07 <sup>ns</sup>	1.85 ± 0.04 <sup>ab</sup>	3.50 ± 0.27 <sup>cd</sup>	6.35 ± 0.82 <sup>d</sup>	10.40 ± 1.65 <sup>d</sup>	13.93 ± 1.18 <sup>d</sup>	16.92 ± 1.36 <sup>c</sup>
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	1.10 ± 0.05 <sup>ns</sup>	1.92 ± 0.04 <sup>b</sup>	3.52 ± 0.26 <sup>d</sup>	6.01 ± 0.29 <sup>cd</sup>	9.57 ± 0.72 <sup>cd</sup>	12.33 ± 1.31 <sup>cd</sup>	15.39 ± 2.17 <sup>bc</sup>
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	1.08 ± 0.06 <sup>ns</sup>	1.85 ± 0.08 <sup>ab</sup>	3.37 ± 0.26 <sup>cd</sup>	5.58 ± 0.51 <sup>bcd</sup>	8.63 ± 1.08 <sup>bc</sup>	11.14 ± 1.90 <sup>bc</sup>	13.67 ± 2.49 <sup>abc</sup>
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	1.10 ± 0.06 <sup>ns</sup>	1.71 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.92 ± 0.04 <sup>ab</sup>	4.89 ± 0.30 <sup>ab</sup>	7.43 ± 0.31 <sup>ab</sup>	9.64 ± 0.35 <sup>ab</sup>	12.39 ± 0.64 <sup>ab</sup>
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	1.11 ± 0.08 <sup>ns</sup>	1.87 ± 0.08 <sup>b</sup>	2.73 ± 0.05 <sup>a</sup>	4.23 ± 0.36 <sup>a</sup>	6.53 ± 0.56 <sup>a</sup>	8.83 ± 0.83 <sup>a</sup>	10.77 ± 0.67 <sup>a</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

**Table 39.** Weight gain (%), specific growth rate (%), FCR and survivals of Nieuhofii's catfish fed each experimental diet for 12 weeks.

	<b>Weight gain (%)</b>	<b>SGR (% / day)</b>	<b>FCR</b>	<b>Survival (%)</b>
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	1,285.60 ± 135.04 <sup>bc</sup>	3.13 ± 0.12 <sup>bc</sup>	1.35 ± 0.19 <sup>ab</sup>	95.56 ± 3.85 <sup>ns</sup>
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	1,417.13 ± 145.27 <sup>c</sup>	3.23 ± 0.12 <sup>c</sup>	1.15 ± 0.14 <sup>a</sup>	91.11 ± 3.85 <sup>ns</sup>
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	1,291.43 ± 156.74 <sup>bc</sup>	3.13 ± 0.13 <sup>bc</sup>	1.41 ± 0.30 <sup>ab</sup>	82.22 ± 5.24 <sup>ns</sup>
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	1,169.28 ± 251.07 <sup>abc</sup>	3.01 ± 0.23 <sup>bc</sup>	1.36 ± 0.24 <sup>ab</sup>	95.56 ± 3.85 <sup>ns</sup>
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	1,027.40 ± 105.64 <sup>ab</sup>	2.88 ± 0.11 <sup>ab</sup>	1.81 ± 0.23 <sup>c</sup>	77.78 ± 10.18 <sup>ns</sup>
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	878.54 ± 138.63 <sup>a</sup>	2.71 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.57 ± 0.07 <sup>bc</sup>	93.33 ± 6.67 <sup>ns</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

**Table 40.** Hepatosomatic index and condition factor of Nieuhofii's catfish fed each experimental diet for 12 weeks.

	<b>HSI (%)</b>	<b>Condition factor</b>
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	1.16 ± 0.11 <sup>b</sup>	0.56 ± 0.03 <sup>ns</sup>
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	1.13 ± 0.21 <sup>ab</sup>	0.59 ± 0.08 <sup>ns</sup>
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	1.05 ± 0.09 <sup>ab</sup>	0.60 ± 0.08 <sup>ns</sup>
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	0.96 ± 0.16 <sup>ab</sup>	0.54 ± 0.03 <sup>ns</sup>
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	0.97 ± 0.22 <sup>ab</sup>	0.60 ± 0.05 <sup>ns</sup>
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	0.91 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.08 <sup>ns</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

**Table 41.** Chemical composition (%) of the experimental fish fed each test diet for 12 weeks.

	<b>Protein</b> (% dry weigh)	<b>Crude lipid</b> (% dry weigh)	<b>Ash</b> (% dry weigh)	<b>Moisture</b> (% as fed)
<b>Initial fish</b>	54.11 ± 1.06	21.96 ± 0.53	10.98 ± 0.93	77.83 ± 0.74
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	54.62 ± 2.19 <sup>b</sup>	31.52 ± 0.52 <sup>ns</sup>	8.92 ± 0.52 <sup>ns</sup>	75.37 ± 2.95 <sup>b</sup>
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	56.65 ± 1.98 <sup>b</sup>	26.50 ± 3.09 <sup>ns</sup>	9.15 ± 0.66 <sup>ns</sup>	72.82 ± 1.03 <sup>ab</sup>
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	56.30 ± 3.62 <sup>b</sup>	30.53 ± 4.55 <sup>ns</sup>	9.35 ± 0.27 <sup>ns</sup>	73.09 ± 1.26 <sup>ab</sup>
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	54.30 ± 2.68 <sup>b</sup>	28.63 ± 1.85 <sup>ns</sup>	9.38 ± 0.29 <sup>ns</sup>	72.09 ± 0.82 <sup>a</sup>
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	54.73 ± 1.88 <sup>b</sup>	28.48 ± 1.26 <sup>ns</sup>	9.36 ± 0.36 <sup>ns</sup>	72.95 ± 0.48 <sup>ab</sup>
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	48.49 ± 1.66 <sup>a</sup>	30.06 ± 4.75 <sup>ns</sup>	9.36 ± 0.41 <sup>ns</sup>	73.11 ± 1.04 <sup>ab</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

**Table 42.** PER and ANPU of Nieuhofii's catfish fed each experimental diet for 12 weeks.

	<b>PER</b>	<b>ANPU (%)</b>
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	1.61 ± 0.23 <sup>ab</sup>	21.84 ± 3.75 <sup>ab</sup>
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	1.91 ± 0.26 <sup>b</sup>	29.88 ± 3.35 <sup>c</sup>
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	1.55 ± 0.34 <sup>ab</sup>	23.81 ± 3.99 <sup>abc</sup>
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	1.63 ± 0.32 <sup>ab</sup>	25.14 ± 5.49 <sup>bc</sup>
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	1.17 ± 0.17 <sup>a</sup>	17.79 ± 2.85 <sup>a</sup>
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	1.34 ± 0.07 <sup>a</sup>	17.71 ± 1.47 <sup>a</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

## สรุป และวิจารณ์ผลการศึกษา

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ถั่วเหลือง และกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารปลาอย่างแพร่หลาย ผลจากการศึกษาในปลาอุกกล้าพันธุ์ปลาเนื้อขาว พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นได้ในระดับ 45% ของโปรตีนทั้งหมดในอาหาร แสดงให้เห็นว่าปลาอุกกล้าพันธุ์ปลาเนื้อขาวยอมรับ และใช้โปรตีนจากวัตถุดิบประเภทพืชได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับพฤติกรรมการกินอาหารของปลาอุกกล้าพันธุ์ปลาเนื้อขาว โดย สราวุธ และคณะ (2538) ได้รายงานไว้ว่า ปลาอุกกล้าพันธุ์ปลาเนื้อขาวเป็นปลากินทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous fish) จากการศึกษาองค์ประกอบอาหารในกระเพาะของปลาที่จับจากธรรมชาติ พบว่าอาหารที่พบในกระเพาะปลาอุกกล้าพันธุ์ปลาเนื้อขาวประกอบด้วยเนื้อปลา 73.6 % เนื้อปู และกุ้ง 12.3 % แมลง 1.7 % ซากอินทรีย์ 1.2 % และอื่นๆ 11.2 % แม้ว่ากากถั่วเหลืองจะเป็นวัตถุดิบโปรตีนที่ขาดกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิดโดยเฉพาะ methionine รวมทั้งยังอาจมีการปนเปื้อนของสารยับยั้งการย่อย ได้แก่ protease (trypsin) inhibitor, phytohaemagglutinin และ anti vitamin แต่ทั้งนี้สามารถทำลายสารยับยั้งการย่อยดังกล่าวได้เมื่อผ่านความร้อนให้กับถั่วเหลืองก่อนที่จะนำมาใช้ผสมในอาหารปลา (Tacon, 1996) กากถั่วเหลืองที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นกากถั่วเหลืองไม่สกัดไขมัน (full fat soy bean meal) ซึ่งจัดเป็นวัตถุดิบที่มีคุณค่าทางอาหารสูง และมีสารปนเปื้อนต่ำ แต่เนื่องด้วยถั่วเหลืองมีปริมาณกรดอะมิโน methionine ต่ำจึงเหมาะที่จะใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำได้บางส่วน หรืออาจประยุกต์ใช้ร่วมกับการเสริม methionine อีกระดับในอาหารปลา ในอาหารปลาที่มีโปรตีนสูงๆ มักสามารถใช้ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่มากขึ้นได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในปลาอุกกล้าพันธุ์ปลาเนื้อขาวซึ่งพบว่าการใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในปริมาณที่มากกว่า 60 % ของโปรตีนในอาหารจะส่งผลให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิลดลงได้ นอกจากนี้ปัญหาที่เกิดจากภาวะกรดอะมิโน methionine ในอาหารต่ำแล้ว ในกากถั่วเหลืองอาจมีสารยับยั้งสารอาหารหลายชนิด ซึ่งอาจมีผลให้การเจริญเติบโตของปลาลดลงได้ (El-Sayed, 1999) เช่น Sudaryono *et al.* (1999) ได้รายงานการใช้เมล็ดถั่วเป็นแหล่งโปรตีนเสริม ในกุ้งพบว่าสามารถใช้ทดแทนโปรตีนในอาหารกุ้งได้เพียงบางส่วนเนื่องจากปัญหาด้านประสิทธิภาพการย่อย และองค์ประกอบกรดอะมิโนไม่สมดุล

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารปลาอุกกล้าพันธุ์ปลาเนื้อขาวได้ดี โดยสามารถใช้ทดแทนโปรตีนจากปลาป่นได้ 45% ของโปรตีนทั้งหมดในอาหาร โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต การแลกเนื้อ การรอดตาย และองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา

**การศึกษาผลของการใช้กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหาร  
ต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ การรอดตาย  
องค์ประกอบทางเคมีของปลาอุกกล้าพันธุ์วัยรุ่น**

**The Study on the Effects of Application of Soybean Meal as Protein Replacement  
of Fish Meal on Growth Performance, Feed Conversion Rate, Survival and Body  
Composition of Nieuhofii's Catfish (*Clarias Nieuhofii*) Fingerling.**

**บทนำ**

ปลาอุกกล้าพันธุ์เป็นปลาน้ำจืดที่มีสีสัน และลวดลายสวยงาม ซึ่งมีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงามเพื่อการส่งออก การพัฒนาอาหารที่มีความเหมาะสมสำหรับปลาสวยงามเป็นการเพิ่มมูลค่าปลาสวยงามได้ทางหนึ่ง โดยมีความจำเป็นต้องผลิตอาหารสำหรับปลาสวยงามที่มีราคาเหมาะสม และควรเป็นอาหารที่ส่งเสริมให้ปลามีความสุขภาพดี รูปร่างลักษณะสวยงาม จากการศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย การแลกเนื้อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาอุกกล้าพันธุ์ขนาดปลาน้ำพบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นในอาหารได้ถึง 45% ของโปรตีนจากปลาป่น ตามปกติระบบการย่อย และใช้ประโยชน์ของวัตถุดิบอาหารในสัตว์น้ำจะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นตามอายุของสัตว์น้ำ รวมทั้งความต้องการสารอาหารมักมีค่าลดลงเมื่อสัตว์น้ำเจริญเติบโตเต็มที่ ทั้งนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถใช้กากถั่วเหลืองซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนที่มีราคาถูกเพิ่มมากขึ้นในอาหารของปลาอุกกล้าพันธุ์วัยรุ่นหรือระยะเต็มวัย ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนค่าอาหารสำหรับเลี้ยงปลาชนิดนี้ในระยะยาว

การศึกษานี้จึงมุ่งเน้นตรวจสอบผลของการใช้กากถั่วเหลืองเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่น ต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย การแลกเนื้อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในปลาอุกกล้าพันธุ์วัยรุ่น ผลจากการศึกษาจะสามารถนำไปใช้พัฒนาสูตรอาหารที่มีคุณภาพเหมาะสมต่อสุขภาพปลา และมีต้นทุนที่เหมาะสมต่อไป

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของการใช้กากถั่วเหลืองระดับต่างๆ ในอาหาร เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย การแลกเนื้อ องค์กรประกอบทางเคมีของตัวปลา และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาอุกกล้าพันธุ์วัยรุ่น

## วิธีการดำเนินการวิจัย

เตรียมอาหารทดลองที่มีระดับพลังงานเท่ากัน (isocaloric test diet) ในช่วง 330 - 340 kcal / 100 g โดยมีระดับโปรตีนรวมของอาหารทดลอง 40 % ดังแสดงใน Table 43. โดยอาหารทดลองแต่ละสูตรใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในระดับ 0, 15, 30, 45, 60 และ 75 % ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) โดยเลี้ยงปลาอุกกล้าพันธุ์วัยรุ่นที่มีขนาด 10-12 กรัมต่อตัว ในถังพลาสติกขนาด 500 ลิตร ที่มีปริมาตรน้ำ 300 ลิตร ถึงละ 10 ตัว โดยแบ่งเป็น 6 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ให้อาหารปลาตามแต่ละชุดการทดลอง โดยให้อาหารปลาวันละ 2 ครั้ง ในปริมาณที่ปลากินหมดภายใน 20 นาที (ประมาณ 3-5 % ของน้ำหนักตัวต่อวัน) คูดตะกอนและเศษอาหารที่พื้นบ่อปลาทุก 2 วัน โดยเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกสัปดาห์ ทุก 2 สัปดาห์ของการทดลอง ตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาในแต่ละชุดการทดลองโดยชั่งน้ำหนักรวม บันทึกปริมาณอาหารที่ใช้ นับจำนวนปลาที่เหลือเพื่อคำนวณน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และการรอดตายของปลาในแต่ละตู้ทดลองเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ตามสมการ (Halver and Hardy, 2002)

### อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

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

### อัตราการรอดตาย (Survival rate), %

$$\text{อัตราการรอดตาย} = \left( \frac{\text{จำนวนปลาที่สิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \right) \times 100$$

### น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain, WG), %

$$WG = \left[ \frac{\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}} \right] \times 100$$

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลา 6 ตัวจากแต่ละชุดการทดลองเพื่อนำไปตรวจสอบอัตราส่วนความยาวต่อน้ำหนัก และค่าดัชนีตับต่อตัว (Hepatosomatic index, HSI) และสุ่มตัวอย่างปลาเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) กำหนดประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (Apparent net protein utilization, ANPU) โดยใช้สมการดังนี้ (Halver and Hardy, 2002)

**ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER)**

$$= \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

**การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (ANPU, %)**

$$= \frac{\text{น้ำหนักโปรตีนในตัวปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยน้ำหนักปลา อัตราการเจริญเติบโต การรอดตายของปลา อัตราส่วนความยาวตัวต่อน้ำหนัก ค่าดัชนีตับต่อตัว องค์ประกอบทางเคมี ตลอดจนประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารแต่ละชุดการทดลองด้วย One way analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) (Zar, 1984)

**Table 43.** Formular (%) of the experimental diet

<b>% in diet</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>
Fish meal	72	58.7	45.4	32.1	18.8	5.5
Soybean meal	-	13.3	26.6	39.9	53.2	66.5
Rice flour	8	8	8	8	8	8
Wheat flour	10	10	10	10	10	10
Rice brain	5	5	5	5	5	5
Mineral premix	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitamin premix	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Soybean oil	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3

Vitamin mixture (mg/ kg diet): thiamine hydrochloride 30; riboflavin 30; nicotinic acid 140; calcium pantothenate 100; pyridoxine hydrochloride 25; vitamin B<sub>12</sub> 0.005; inositol 2,000; biotin 6; folic acid 6; choline chloride 1,000; ascorbyl- polyphosphate 250; vitamin E 200; vitamin K<sub>3</sub> 12; vitamin A 12,000 IU; vitamin D<sub>3</sub> 2400 IU;

Mineral mixture (g/kg diet) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 4.2; CaHPO<sub>4</sub> 3.3; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6.25; KCL 2; KI 1.6; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 2; ZnSO<sub>4</sub> 0.1; MnSO<sub>4</sub> 0.1

## ผลการศึกษา

### องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองทั้ง 6 สูตร พบว่าอาหารทดลองทุกสูตรมีระดับโปรตีนใกล้เคียงกันในช่วง  $42.23 \pm 0.26 - 42.81 \pm 0.09$  % และปริมาณไขมันอยู่ในช่วง  $18.08 \pm 0.23 - 18.46 \pm 0.63$  % ดังแสดงใน Table 44. ซึ่งจัดเป็นระดับค่าองค์ประกอบทางเคมีของสารอาหารให้พลังงานที่ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละสูตร

**Table 44.** Chemical composition of the experimental diet (%)

	<b>Protein</b> (% dry weigh)	<b>Crude lipid</b> (% dry weigh)	<b>Ash</b> (% dry weigh)	<b>Moisture</b> (% as fed)
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	$42.81 \pm 0.09$	$18.08 \pm 0.23$	$13.99 \pm 0.04$	$2.17 \pm 0.15$
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	$42.79 \pm 0.10$	$18.24 \pm 0.21$	$12.80 \pm 0.34$	$2.08 \pm 0.05$
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	$42.72 \pm 0.09$	$18.14 \pm 0.35$	$11.69 \pm 0.20$	$2.15 \pm 0.08$
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	$42.52 \pm 0.58$	$18.46 \pm 0.63$	$10.32 \pm 0.30$	$2.05 \pm 0.04$
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	$42.26 \pm 0.29$	$18.20 \pm 0.60$	$9.27 \pm 0.20$	$2.17 \pm 0.03$
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	$42.23 \pm 0.26$	$18.40 \pm 0.41$	$8.20 \pm 0.11$	$2.11 \pm 0.06$

### น้ำหนักเฉลี่ย การเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลาดุกลำพัน

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาดุกลำพันระยะวัยรุ่น ที่ได้รับอาหารทดลองที่ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นมีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาของการทดลองดังแสดงใน Table 45. ทั้งนี้ น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารแต่ละสูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ในระหว่างช่วงสัปดาห์ที่ 0-6 ของการทดลอง ขณะที่ในสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลองพบว่า ปลาดุกลำพันระยะวัยรุ่น ที่ได้รับอาหารทดลองที่ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 15-45 % และ 75 % (สูตรที่ 2-4 และ สูตรที่ 6) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในเกณฑ์สูงไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามเมื่อปลาได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรต่อไปเป็นระยะเวลา 10-12 สัปดาห์ พบว่าปลาดุกลำพันระยะวัยรุ่น ที่ได้รับอาหารทดลองทุกสูตรมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

### น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดตาย

น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลาคูกำปั้งที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตร แสดงใน Table 46. ทั้งนี้ น้ำหนักที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลาคูกำปั้งแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) แต่ อัตราการแลกเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 30 % มีค่าต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (ไม่เสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีน) อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนทุกระดับ มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

### Hepatosomatic index และ Condition factor ของปลาคูกำปั้ง

Hepatosomatic index และ Condition factor ของปลาคูกำปั้งที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรแสดงใน Table 47. ทั้งนี้ พบว่าค่า hepatosomatic index ของปลาคูกำปั้งทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ส่วนค่า condition factor ของปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมกากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในระดับ 0-60 % มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ )

**Table 45.** Average body weight (g) of Nieuhofii's catfish fingerling fed each experimental diet for 12 weeks.

	<b>0 wk</b>	<b>2wk</b>	<b>4 wk</b>	<b>6 wk</b>	<b>8 wk</b>	<b>10 wk</b>	<b>12 wk</b>
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	11.34 ± 1.48 <sup>ns</sup>	13.25 ± 1.96 <sup>ns</sup>	14.29 ± 2.31 <sup>ns</sup>	17.26 ± 1.37 <sup>ns</sup>	19.13 ± 1.15 <sup>a</sup>	21.49 ± 0.97 <sup>ns</sup>	23.35 ± 0.57 <sup>ns</sup>
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	11.22 ± 1.08 <sup>ns</sup>	14.25 ± 1.83 <sup>ns</sup>	15.88 ± 2.45 <sup>ns</sup>	17.85 ± 2.66 <sup>ns</sup>	20.15 ± 2.81 <sup>ab</sup>	23.18 ± 3.50 <sup>ns</sup>	25.29 ± 3.76 <sup>ns</sup>
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	11.54 ± 1.23 <sup>ns</sup>	15.00 ± 1.38 <sup>ns</sup>	18.10 ± 1.37 <sup>ns</sup>	21.30 ± 2.03 <sup>ns</sup>	24.30 ± 3.16 <sup>b</sup>	26.89 ± 3.75 <sup>ns</sup>	29.34 ± 5.14 <sup>ns</sup>
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	11.26 ± 1.77 <sup>ns</sup>	14.39 ± 2.05 <sup>ns</sup>	16.47 ± 2.69 <sup>ns</sup>	18.63 ± 3.25 <sup>ns</sup>	21.75 ± 2.93 <sup>ab</sup>	25.10 ± 3.27 <sup>ns</sup>	27.91 ± 3.44 <sup>ns</sup>
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	11.79 ± 1.49 <sup>ns</sup>	13.95 ± 1.04 <sup>ns</sup>	15.11 ± 1.80 <sup>ns</sup>	17.86 ± 2.32 <sup>ns</sup>	19.13 ± 1.80 <sup>a</sup>	23.26 ± 4.25 <sup>ns</sup>	25.99 ± 3.76 <sup>ns</sup>
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	11.53 ± 0.76 <sup>ns</sup>	14.22 ± 1.42 <sup>ns</sup>	15.98 ± 1.69 <sup>ns</sup>	18.02 ± 1.63 <sup>ns</sup>	19.86 ± 1.98 <sup>ab</sup>	22.69 ± 3.01 <sup>ns</sup>	24.77 ± 2.88 <sup>ns</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

**Table 46.** Weight gain (%), specific growth rate (%), FCR and survival of Nieuhofii's catfish fingerling fed each experimental diet for 12 weeks.

	<b>Weight gain (%)</b>	<b>SGR (% / day)</b>	<b>FCR</b>	<b>Survival (%)</b>
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	108.31 ± 27.36 <sup>ns</sup>	0.87 ± 0.15 <sup>ns</sup>	2.67 ± 0.20 <sup>b</sup>	86.67 ± 23.09 <sup>ns</sup>
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	124.65 ± 13.46 <sup>ns</sup>	0.96 ± 0.07 <sup>ns</sup>	1.98 ± 0.45 <sup>ab</sup>	100.00 ± 0.00 <sup>ns</sup>
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	156.00 ± 52.61 <sup>ns</sup>	1.10 ± 0.24 <sup>ns</sup>	1.74 ± 0.15 <sup>a</sup>	86.67 ± 15.28 <sup>ns</sup>
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	149.40 ± 25.85 <sup>ns</sup>	1.08 ± 0.12 <sup>ns</sup>	2.11 ± 0.59 <sup>ab</sup>	75.00 ± 21.21 <sup>ns</sup>
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	120.50 ± 16.55 <sup>ns</sup>	0.94 ± 0.09 <sup>ns</sup>	2.13 ± 0.14 <sup>ab</sup>	83.33 ± 20.82 <sup>ns</sup>
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	114.82 ± 20.90 <sup>ns</sup>	0.91 ± 0.12 <sup>ns</sup>	2.16 ± 0.58 <sup>ab</sup>	96.67 ± 5.77 <sup>ns</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

**Table 47.** Hepatosomatic index and condition factor of Nieuhofii's catfish fingerling fed each experimental diet for 12 weeks.

	<b>HSI (%)</b>	<b>Condition factor</b>
<b>T1 0 % SBM of FM</b>	0.81 ± 0.17 <sup>ns</sup>	0.64 ± 0.08 <sup>ab</sup>
<b>T2 15 % SBM of FM</b>	0.90 ± 0.22 <sup>ns</sup>	0.65 ± 0.04 <sup>ab</sup>
<b>T3 30 % SBM of FM</b>	0.91 ± 0.13 <sup>ns</sup>	0.64 ± 0.09 <sup>ab</sup>
<b>T4 45 % SBM of FM</b>	0.81 ± 0.11 <sup>ns</sup>	0.64 ± 0.05 <sup>ab</sup>
<b>T5 60 % SBM of FM</b>	0.93 ± 0.16 <sup>ns</sup>	0.67 ± 0.06 <sup>b</sup>
<b>T6 75 % SBM of FM</b>	0.94 ± 0.23 <sup>ns</sup>	0.59 ± 0.11 <sup>a</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

## สรุป และวิจารณ์ผลการศึกษา

จากผลจากการศึกษาในปลาคูกลำพันระยะปลาน้ำที่ผ่านมา พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นได้ในระดับ 45% ของโปรตีนทั้งหมดในอาหาร ทั้งนี้ในปลาขนาดเล็กมักมีพัฒนาการของระบบทางเดินอาหารไม่สมบูรณ์ ทำให้การย่อย และนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้น้อย รวมทั้งมีระดับความต้องการสารอาหารสูงกว่าปลาเต็มวัย และอาจเป็นไปได้ว่าปลาคูกลำพันระยะเต็มวัยจะสามารถใช้สารอาหารจากวัตถุดิบโปรตีนจากพืชได้มากขึ้น ซึ่งผลการทดลองในปลาคูกลำพันระยะวัยรุ่นได้แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นได้มากกว่าปลาคูกลำพันระยะปลาน้ำ โดยสามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนได้ถึง 60% ของโปรตีนทั้งหมดในอาหาร โดยไม่ทำให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ตลอดจน condition factor ต่างจากปลาที่ได้รับอาหารซึ่งใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้มีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบทดแทนโปรตีน ทั้งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความต้องการกรดอะมิโนของปลาแต่ละชนิด ตลอดจนปัจจัยจากระบบโครงสร้าง และการสร้างน้ำย่อยของทางเดินอาหาร รวมทั้งอายุ และพัฒนาการของปลา (Halver and Hardy, 2002) De Silva and Anderson (1995) ได้กล่าวไว้ว่าระบบการสร้างน้ำย่อยของปลาจะมีการพัฒนาขึ้นตามอายุ และปลาอาจย่อยวัตถุดิบอาหารที่มีความซับซ้อนได้ และมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อปลาเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะเต็มวัย

## การศึกษาผลของแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต สีของตัวปลา และปริมาณแคโรทีนอยด์ในปลาอุกลำพัน

### Effects of Dietary Carotenoids on Growth Performance, Pigmentation and Carotenoid Content in Nieuhofii's Catfish (*Clarias nieuhofii*)

#### บทนำ

ปลาอุกลำพันเป็นปลาน้ำจืดที่มีสีสัน และลวดลายสวยงาม ในธรรมชาติพบสีลำตัวแตกต่างกัน ตั้งแต่น้ำตาลอ่อน น้ำตาลแดง สีแดงเข้ม และดำ ขณะที่ลวดลายจุดสีเหลืองสดข้างลำตัวปลา มีความแตกต่างกันในแต่ละตัว ตลอดจนเป็นปลาที่มีพฤติกรรมที่น่าสนใจ มีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงามเพื่อการส่งออก การพัฒนาอาหารที่มีความเหมาะสมสำหรับปลาสวยงามเป็นการเพิ่มมูลค่าปลาสวยงามได้ทางหนึ่งโดยมีความจำเป็นต้องผลิตอาหารสำหรับปลาสวยงามที่มีราคาเหมาะสม ในด้านสีของตัวปลาก็ต้องมีสีแดงเข้ม และลวดลายเป็นที่น่าสนใจ ซึ่งสามารถพัฒนาได้โดยการใช้ปริมาณแคโรทีนอยด์ชนิดที่มีประสิทธิภาพการนำไปใช้ประโยชน์สูงในตัวปลา และเสริมในอาหารในปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มมูลค่าของผลผลิตปลาอุกลำพันได้ในลำดับต่อไป

#### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อทราบถึงผลของการเสริมแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ในอาหารที่มีต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ผลต่อสีบริเวณพื้นลำตัว และบริเวณลวดลาย ตลอดจนปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวปลาอุกลำพัน

#### วิธีการดำเนินการวิจัย

##### การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลองโดยผสมสารสีสังเคราะห์ ได้แก่ แอสตาแซนทีนสังเคราะห์ (Astaxanthin) บีต้า-แคโรทีนสังเคราะห์ ( $\beta$ -Carotene) แคนทาแซนทีน (Cantaxanthin) ส่วนสารสีจากแหล่งธรรมชาติ ได้แก่ เซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina* sp.) โดยปรับปริมาณให้มีแคโรทีนอยด์รวมเท่ากับ 100 ppm ส่วนอาหารสำหรับชุดควบคุมไม่เสริมแคโรทีนอยด์ในอาหาร (Table 48.) อาหารทดลองสำหรับปลาอุกลำพันจัดเตรียมโดยมีโปรตีน 40 % ตามวิธีการของสุภญา และคณะ (2551) ให้อาหารทดลองแต่ละสูตรแก่ปลาในแต่ละชุดการทดลองจนเพียงพอต่อความต้องการของปลาทุกวัน วันละ 2 ครั้ง ในเวลา

8.30 น. และ 17.30 น. ตลอดระยะเวลาการทดลองดูตะกอนเศษอาหารเหลือทุกวัน เปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 % ของตู้ทดลองทุก 2 วัน เลี้ยงปลาทดลองด้วยอาหารแต่ละสูตรเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จึงเก็บตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ผลการทดลองต่อไป

### การศึกษาผลของแคโรทีนอยด์ต่อการเจริญเติบโต

ตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาหลังจากได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรทุกช่วง 2 สัปดาห์ของการทดลอง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยชั่งน้ำหนักปลาทั้งตู้ บันทึกจำนวนตัว เพื่อกำหนดน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการรอดตาย บันทึกปริมาณอาหารที่ใช้เพื่อนำมาคำนวณอัตราแลกเปลี่ยน ตามสมการ

**อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)**

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

**อัตราการรอดตาย (Survival rate) %**

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่สิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาที่เริ่มต้น}} \times 100$$

**น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain , WG) %**

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

### การวัดการเปลี่ยนแปลงของสีตัวภายนอก

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่างปลาโดยสลบด้วย 100 ppm น้ำมันกานพลู (Clove oil) แล้วนำมาวัดค่าสีที่บริเวณผิวน้ำ เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีภายนอกโดยตรวจวัดความแตกต่างของค่าสี L, a และ b ตามวิธีการของ Choubert and Heirich (1993)

**Table 48.** Feed ingredients contained different sources of carotenoid for the Nieuhofii's catfish.

	<b>T1 control</b>	<b>T2 Asx 100 ppm</b>	<b>T3 Beta 100 ppm</b>	<b>T4 Canta 100 ppm</b>	<b>T5 Spi 100 ppm</b>
<b>Fish meal</b>	70	70	70	70	66.65
<b>Rice flour</b>	8	7	7	7	8
<b>Wheat flour</b>	10	10	10	10	10
<b>Wheat gluten</b>	2	2	2	2	2
<b>Rice bran</b>	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7
<b>Mineral premix<sup>1</sup></b>	2	2	2	2	2
<b>Vitamin premix<sup>2</sup></b>	2	2	2	2	2
<b>Fish oil</b>	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
<b>Soybean oil</b>	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
<b>Astaxanthin<sup>3</sup></b>	-	0.1	-	-	-
<b>Beta-carotene<sup>3</sup></b>	-	-	0.1	-	-
<b>Cantaxanthin<sup>3</sup></b>	-	-	-	0.1	-
<b>Spirulina<sup>4</sup></b>	-	-	-	-	3.35

<sup>1</sup> Mineral mixture (g/kg diet)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  4.2;  $\text{CaHPO}_4$  3.3;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  6.25; KCL 2; KI 1.6;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2;  $\text{ZnSO}_4$  0.1;  $\text{MnSO}_4$  0.1

<sup>2</sup> Vitamin mixture (mg/ kg diet): thiamine hydrochloride 30; riboflavin 30; nicotinic acid 140; calcium pantothenate 100; pyridoxine hydrochloride 25; vitamin  $\text{B}_{12}$  0.005; inositol 2,000; biotin 6; folic acid 6; choline chloride 1,000; ascorbyl- polyphosphate 250; vitamin E 200; vitamin  $\text{K}_3$  12; vitamin A 12,000 IU; vitamin  $\text{D}_3$  2400 IU.

<sup>3</sup> BASF products, 10 % carotenoids activity.

<sup>4</sup> Contained 1,500 ppm total carotenoid.

## ผลการศึกษา

### การศึกษาผลของแคโรทีนอยด์ต่อการเจริญเติบโต

จากการตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาหลังจากได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรทุกช่วง 2 สัปดาห์ของการทดลอง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาคูกลำพันในทุกชุดการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง  $9.69 \pm 0.48 - 11.45 \pm 1.11$  กรัมต่อตัว (Table 49.)

**Table 49.** Average body weight (g) of Nieuhofii's catfish fed test diet contained each source of carotenoid for 8 week.

	0 wk	2 wk	4 wk	6 wk	8 wk
<b>T1 Control</b>	$1.10 \pm 0.06$ <sup>ns</sup>	$2.89 \pm 0.27$ <sup>ns</sup>	$4.59 \pm 0.56$ <sup>ns</sup>	$7.71 \pm 0.97$ <sup>ns</sup>	$10.96 \pm 1.93$ <sup>ns</sup>
<b>T2 Asx 100 ppm</b>	$1.11 \pm 0.02$ <sup>ns</sup>	$2.83 \pm 0.10$ <sup>ns</sup>	$4.59 \pm 0.33$ <sup>ns</sup>	$7.26 \pm 0.51$ <sup>ns</sup>	$10.82 \pm 0.65$ <sup>ns</sup>
<b>T3 Beta 100 ppm</b>	$1.15 \pm 0.06$ <sup>ns</sup>	$2.77 \pm 0.01$ <sup>ns</sup>	$4.32 \pm 0.17$ <sup>ns</sup>	$6.89 \pm 0.32$ <sup>ns</sup>	$9.69 \pm 0.48$ <sup>ns</sup>
<b>T4 Canta 100 ppm</b>	$1.13 \pm 0.07$ <sup>ns</sup>	$2.93 \pm 0.16$ <sup>ns</sup>	$4.84 \pm 0.50$ <sup>ns</sup>	$8.01 \pm 0.88$ <sup>ns</sup>	$11.45 \pm 1.11$ <sup>ns</sup>
<b>T5 Spirul 100 ppm</b>	$1.10 \pm 0.00$ <sup>ns</sup>	$2.71 \pm 0.25$ <sup>ns</sup>	$4.15 \pm 0.33$ <sup>ns</sup>	$7.02 \pm 0.46$ <sup>ns</sup>	$9.99 \pm 0.80$ <sup>ns</sup>

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่ม (% Weight gain) ของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์มีค่าอยู่ในช่วง  $725.66 \pm 52.00 - 869.01 \pm 106.49$  % โดยที่ไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ในแต่ละชุดการทดลอง เช่นเดียวกันกับอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และการรอดตายซึ่งมีค่าในช่วง  $1.06 \pm 0.10 - 1.15 \pm 0.09$  และ  $95.56 \pm 3.85 - 97.78 \pm 3.85$  % ตามลำดับ (Table 50.) ส่วนค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, SGR) มีค่าสูงในปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแคนทาแซนทีน และชุดควบคุม ซึ่งแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมบีตา-แคโรทีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ )

**Table 50.** Weight gain (%), specific growth rate (%), FCR and survivals of *Nieuhofii*'s catfish fed test diet contained each source of carotenoid for 8 week.

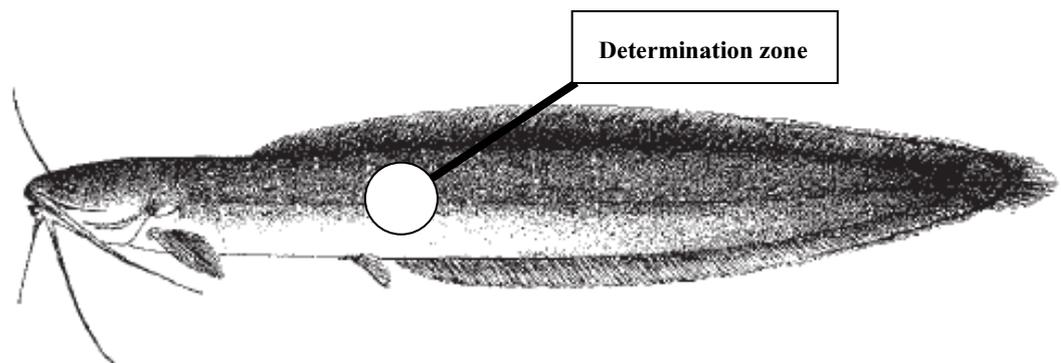
	% Weight gain	% SGR	FCR	% Survival
<b>T1 Control</b>	871.44 ± 137.52 <sup>ns</sup>	4.09 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.07 ± 0.15 <sup>ns</sup>	97.78 ± 3.85 <sup>ns</sup>
<b>T2 Asx 100 ppm</b>	831.06 ± 106.69 <sup>ns</sup>	4.06 ± 0.13 <sup>ab</sup>	1.08 ± 0.10 <sup>ns</sup>	95.56 ± 3.85 <sup>ns</sup>
<b>T3 Beta 100 ppm</b>	725.66 ± 52.00 <sup>ns</sup>	3.81 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.15 ± 0.09 <sup>ns</sup>	97.78 ± 3.85 <sup>ns</sup>
<b>T4 Canta 100 ppm</b>	869.01 ± 106.49 <sup>ns</sup>	4.13 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.06 ± 0.10 <sup>ns</sup>	95.56 ± 3.85 <sup>ns</sup>
<b>T5 Spirul 100 ppm</b>	730.76 ± 94.87 <sup>ns</sup>	3.94 ± 0.14 <sup>ab</sup>	1.16 ± 0.05 <sup>ns</sup>	91.11 ± 3.85 <sup>ns</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

#### การวัดการเปลี่ยนแปลงของสีตัวภายนอก

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่างปลาโดยสลบด้วยสารละลาย 100 ppm น้ำมันการพลู (Clove oil) แล้วนำมาวัดค่าสีของผิวหนังที่บริเวณด้านข้างลำตัวในแนวระหว่างครีบก้น (Anal fin) ก้านแรกกับครีบท้อง (Dorsal fin) (Figure 9.) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีภายนอกโดยตรวจวัดความแตกต่างของค่าสี L\*, a\* และ b\* ผลการทดลอง พบว่าปลาทุกลำพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแอสตาแซนทีน มีสีน้ำตาลแดงบริเวณลำตัว ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินามีสีเหลืองบริเวณลำตัวชัดเจนกว่าปลาในชุดการทดลองอื่นๆ (Figure 10.)



**Figure 9.** The zone of *Nieuhofii*'s catfish skin used to determine body color by colorimeter.

**Source :** Adapted from Sudarto *et al.* (2004)

จากการวัดค่าสี ซึ่งแสดงใน Table 51. พบว่าปลาในทุกชุดการทดลองมีค่าสีขาว-ดำ (Lightness,  $L^*$ ) อยู่ในช่วง  $22.39 \pm 4.23$  -  $27.56 \pm 5.52$  ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง ( $P>0.05$ ) ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (ไม่เสริมแคโรทีนอยด์) มีค่าสีแดง (Redness,  $a^*$ ) ต่ำกว่า และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแคโรทีนอยด์ทุกชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) เมื่อทำการตรวจสอบค่าสีเหลือง (Yellowness,  $b^*$ ) พบว่าเฉพาะปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในระดับที่มีแคโรทีนอยด์รวม 100 ppm มีค่าสีเหลืองบริเวณผิวหนังสูงที่สุด ( $11.53 \pm 1.45$ ) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (ไม่เสริมแคโรทีนอยด์) มีค่าสีเหลืองของผิวหนังดำที่สุด ( $3.93 \pm 1.08$ ) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ( $P<0.05$ )



**Figure 10.** Body color of the Nieuhofii's catfish fed each carotenoid supplemented diet for 8 weeks.

**Table 51.** Color parameters of Nieuhofii's catfish fed test diet contained each source of carotenoid for 8 week.

	Lightness $L^*$	Redness $a^*$	Yellowness $b^*$
<b>T1 Control</b>	$27.56 \pm 5.52$ <sup>ns</sup>	$1.42 \pm 0.55$ <sup>b</sup>	$3.93 \pm 1.08$ <sup>d</sup>
<b>T2 Asx 100 ppm</b>	$24.47 \pm 5.22$ <sup>ns</sup>	$3.23 \pm 0.57$ <sup>a</sup>	$7.09 \pm 1.28$ <sup>b</sup>
<b>T3 Beta 100 ppm</b>	$22.39 \pm 4.23$ <sup>ns</sup>	$2.71 \pm 0.36$ <sup>a</sup>	$5.64 \pm 0.97$ <sup>c</sup>
<b>T4 Canta 100 ppm</b>	$22.48 \pm 2.01$ <sup>ns</sup>	$2.60 \pm 0.42$ <sup>a</sup>	$5.02 \pm 0.55$ <sup>cd</sup>
<b>T5 Spirul 100 ppm</b>	$24.56 \pm 4.96$ <sup>ns</sup>	$2.76 \pm 0.59$ <sup>a</sup>	$11.53 \pm 1.45$ <sup>a</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

ns = non-significant ( $P>0.05$ )

### ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในตัวปลา

จากการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในตัวปลาคูกลำพันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ดังแสดงใน Table 52. พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในตัวปลามีค่าสูงที่สุดในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแอสตาแซนทีน เบตา-แคโรทีน และสไปรูลินา รองลงมาได้แก่ปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารเสริมแคนตาแซนทีน ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมซึ่งไม่เสริมแคโรทีนอยด์ในอาหาร ( $P < 0.05$ )

**Table 52.** Total carotenoids contents of Nieuhofii's catfish fed test diet contained each source of carotenoid for 8 week.

	Total carotenoid (ug/g dry weight)
<b>Intitial fish</b>	3.99 ± 1.23
<b>T1 Control</b>	1.35 ± 0.48 <sup>a</sup>
<b>T2 Asx 100 ppm</b>	9.47 ± 1.61 <sup>c</sup>
<b>T3 Beta 100 ppm</b>	10.65 ± 2.13 <sup>c</sup>
<b>T4 Canta 100 ppm</b>	6.06 ± 2.37 <sup>b</sup>
<b>T5 Spirul 100 ppm</b>	12.06 ± 1.14 <sup>c</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

## สรุป และวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการทดลองพบว่า แคโรทีนอยด์ทุกชนิด ได้แก่ บีตา-แคโรทีน แคนตาแซนทีน แอสตาแซนทีน และสาหร่ายสไปรูลิना ซึ่งเป็นแหล่งของ ซีแซนทีน และ บีตา-แคโรทีน มีผลให้ค่าสีแดงบริเวณตัวปลาอุกดำพื้มีค่าสูงขึ้น แต่เมื่อทำการตรวจสอบค่าสีเหลือง พบว่าเฉพาะปลาอุกดำพื้ที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสาหร่ายสไปรูลินาจะมีค่าสีเหลืองบริเวณผิวหนังสูงสุด ทั้งนี้แคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพการดูดซึม และนำไปใช้ประโยชน์ (bioavailability) แตกต่างกันในสัตว์น้ำแต่ละชนิด (Matsuno, 2001) พิษญาและคณะ (2544) ได้ทำการศึกษาผลของแอสตาแซนทีนต่อปลาเกะพงแดง พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทีนที่ระดับความเข้มข้น 150 และ 100 มก./กก.อาหาร ที่บริเวณครีบและลำตัวจะมีสีแดงเข้มกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองชุดอื่น ขณะที่ สุกญา และคณะ (2548) ทดลองใช้สไปรูลินาเป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ในอาหารปลาทอง พบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในระดับ 3% มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด โดยมีค่าสีเหลือง และแดง สูงกว่ากลุ่มปลาทองที่ได้รับอาหารชุดควบคุม Chien and Jeng (1992) ทำการศึกษาการเร่งสีในกุ้งกุลาม่า (*Penaeus japonicus*) โดยเสริม แอสตาแซนทีน บีตา-แคโรทีน และสาหร่ายดุนาเลียเอลาลงในอาหาร พบว่าแอสตาแซนทีนเป็นสารสีที่มีผลต่อสีตัวของกุ้งมาก โดยกุ้งที่เสริมแอสตาแซนทีนมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากุ้งที่เสริมบีตา-แคโรทีน เช่นเดียวกับ Gouveia *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาเสริมสาหร่าย *Chlorella vulgaris* แอสตาแซนทีนสังเคราะห์ในอาหารปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata*) พบว่าผิว 4 บริเวณ ได้แก่ แผ่นปิดเหงือก บริเวณท้อง ครีบหลัง และบริเวณหน้าผากระหว่างตามีปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยบริเวณหน้าผากระหว่างตามีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด ขณะที่การศึกษาในปลาชเวงาม Characins พบว่าปลาจะมีสีส้ม และปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวสูงที่สุดเมื่อได้รับอาหารที่มีการเสริมแอสตาแซนทีน และอาหารที่เสริมแคโรทีนอยด์ผสม 1:1 ของแอสตาแซนทีนต่อบีตา-แคโรทีน (Juan Wang *et al.*, 2006) ผลการทดลองในปลาอุกดำพื้ในครั้งนี้อย่างสอดคล้องกับ วุฒิพร และ อัญชลี (2548) ซึ่งได้ศึกษาผลของสาหร่ายสไปรูไลนาต่อการเจริญเติบโต และระดับแอนติบอดีในปลาอุกดำพื้ผสม (*Clarias macrocephalus* X *Clarias gariepinus*) พบว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลินา ซึ่งมีแคโรทีนอยด์ในรูปแบบซีแซนทีน และบีตา-แคโรทีน มีผลให้เนื้อ และผิวหนังของปลาอุกดำพื้มีสีเหลืองเพิ่มมากขึ้น และยังส่งผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในเนื้อปลาเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าซีแซนทีน และบีตา-แคโรทีน ในสาหร่ายสไปรูลินามีผลต่อลักษณะสีของผิวหนังและเนื้อปลาอุกดำพื้ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้สาหร่ายสไปรูลินาเป็นแหล่งแคโรทีนอยด์เพื่อปรับปรุงสีตัวของปลาอุกดำพื้ให้มีสีส้ม และลดตายชเวงามคล้ายกับปลาตามธรรมชาติ ทั้งนี้จำเป็นต้องศึกษาถึงระดับของสาหร่ายดังกล่าวต่อสัตว์เพื่อให้สามารถผลิตอาหารให้มีความเหมาะสมที่สุดต่อไป

## การศึกษาระดับที่เหมาะสมของสไปรูลินาในอาหารสำหรับ การปรับปรุงสีลำตัวปลาคูกำพัน

### The Study on the Optimum Levels of Spirulina for Body Color Improvement in Nieuhofii's Catfish (*Clarias nieuhofii*)

#### บทนำ

ปลาคูกำพันเป็นปลาน้ำจืดที่มีสีสัน และลวดลายสวยงาม ในธรรมชาติพบสีลำตัวแตกต่างกัน ตั้งแต่น้ำตาลอ่อน น้ำตาลแดง สีแดงเข้ม และดำ ขณะที่ลวดลายจุดสีเหลืองสดข้างลำตัวปลามีความแตกต่างกันในแต่ละตัว ตลอดจนเป็นปลาที่มีพฤติกรรมที่น่าสนใจ มีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงามเพื่อการส่งออก การพัฒนาอาหารที่มีความเหมาะสมสำหรับปลาสวยงามเป็นการเพิ่มมูลค่าปลาสวยงามได้ทางหนึ่ง โดยมีความจำเป็นต้องผลิตอาหารสำหรับปลาสวยงามที่มีราคาเหมาะสมในด้านสีของตัวปลาก็ต้องมีสีสดเข้ม และลวดลายเป็นที่น่าสนใจ ซึ่งสามารถพัฒนาได้โดยการใช้ปริมาณแคโรทีนอยด์ชนิดที่มีประสิทธิภาพการนำไปใช้ประโยชน์สูงในตัวปลา และเสริมในอาหารในปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มมูลค่าของผลผลิตปลาคูกำพันได้

ทั้งนี้จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าการเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในอาหารในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีผลช่วยให้ค่าสีเหลือง และแดงของผิวหนังปลาคูกำพันเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังมีผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมในตัวปลาเพิ่มมากขึ้นไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ แม้ว่าสาหร่ายสไปรูลินาเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถผลิตได้ในประเทศ แต่ก็นับว่าสาหร่ายสไปรูลินาเป็นวัตถุดิบที่มีราคาสูงสำหรับใช้ในอาหารสัตว์น้ำ รวมทั้งการเสริมในอาหารในปริมาณมากอาจมีผลต่อองค์ประกอบกรดอะมิโนในอาหาร โดยจะทำให้องค์ประกอบกรดอะมิโนในอาหารปลามีค่าที่แตกต่างจากระดับที่เหมาะสมต่อความต้องการของปลา ส่งผลให้ปลาที่ได้รับอาหารดังกล่าวเป็นระยะเวลานานอาจมีการเจริญเติบโตลดลงได้

การทดลองนี้จึงได้จัดทำขึ้นเพื่อทราบถึงระดับที่เหมาะสมของสาหร่ายสไปรูลินาในอาหารปลาคูกำพันเพื่อให้สีของตัวปลา ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมมีค่าสูงที่สุด โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และสุขภาพของปลา

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของแคโรทีนอยด์ที่มีประสิทธิภาพ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และผลต่อสีน้ำตาลแดงบริเวณลำตัว และสีเหลืองสดบริเวณทวารลาย ตลอดจนปริมาณแคโรทีนอยด์ในตัวปลาอุกดำพัน

## วิธีการดำเนินการวิจัย

### การเตรียมอาหารทดลอง และการให้อาหารเสริมสารสี

เตรียมอาหารทดลองสำหรับปลาคูกดำพัน โดยให้มีโปรตีน 40 % ตามวิธีการของ สุภฎา และคณะ (2551) อาหารทดลองเสริมสาหร่ายสไปรูลินาแห้ง ที่ระดับความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์รวม 0, 25, 50, 100, 200 และ 300 ppm ตามลำดับ (Table 53.) นำไปเลี้ยงปลาคูกดำพันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD (complete randomize design) ประกอบด้วย 6 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วยตู้ทดลอง 3 ตู้

### การศึกษาผลของแคโรทีนอยด์ต่อการเจริญเติบโต

ตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาคูกดำพันหลังจากได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรทุกช่วง 2 สัปดาห์ของการทดลอง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยชั่งน้ำหนักปลาทั้งตู้ บันทึกจำนวนตัว เพื่อคำนวณน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่ม และอัตราการรอดตาย บันทึกปริมาณอาหารที่ใช้เพื่อนำมาคำนวณอัตราแลกเนื้อ ตามสมการ

#### อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

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

#### อัตราการรอดตาย (Survival rate) %

$$= \frac{\text{จำนวนปลาที่สิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาที่เริ่มต้น}} \times 100$$

### น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain , WG) %

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

### การวัดการเปลี่ยนแปลงของสีตัวภายนอก

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่างปลา 6 ตัวจากแต่ละชุดการทดลอง เพื่อนำมาสลับด้วยสารละลายน้ำมันกานพลู (Clove oil) 100 ppm เป็นเวลา 15-20 นาที แล้วนำมาวัดค่าสีที่บริเวณผิวหนัง เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีภายนอกโดยตรวจวัดความแตกต่างของค่าสี L, a และ b ตามวิธีการของ Choubert and Heirich (1993)

### การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์

เก็บตัวอย่างปลาทดลองจำนวน 10 ตัวต่อชุดการทดลองนำมาทำแห้งด้วยวิธี freeze dry แล้วจึงนำไปสกัดแคโรทีนอยด์ และตรวจวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด โดยนำตัวอย่างที่บันทึกน้ำหนักไว้แล้วสกัดด้วย acetone ที่อุณหภูมิ 45 °C แยก acetone ออกใส่หลอดทดลองใหม่ แล้วสกัดซ้ำตามขั้นตอนข้างต้นจนกระทั่งไม่พบสีละลายออกมาจากตัวอย่างอีก จึงแยกแคโรทีนอยด์ที่ละลายอยู่ใน acetone ทั้งหมดออกด้วย ether โดยการเติมน้ำกลั่น 0.5 ml แคโรทีนอยด์จะละลายอยู่ในชั้น ether แล้วจึงแยกส่วน etheric phase ออก นำแคโรทีนอยด์ที่ละลายใน ether ทั้งหมดที่สกัดได้ออกมาทำให้เข้มข้นด้วยการเติม sodium sulphate และระเหยด้วย evaporator ภายใต้สุญญากาศในโตรเจน (Yamada *et al.*, 1990) จากนั้นนำตัวอย่างแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้มาวัดปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดตามวิธีการของ Sommer *et al.* (1991) โดยละลายตัวอย่างใน acetone แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นระหว่าง 350-750 nm ด้วย scanning spectrophotometer วัดปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในตัวอย่างโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่วัดได้คำนวณด้วยค่า  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  2150

**Table 53.** Feed ingredients contained different levels of *Spirulina* carotenoid for the Nieuhofii's catfish.

	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>
<b>Fish meal</b>	70	66.97	63.94	57.88	45.76	33.65
<b>Rice flour</b>	10	9.73	9.47	8.95	7.99	6.94
<b>Wheat flour</b>	8	8	8	8	8	8
<b>Wheat gluten</b>	2	2	2	2	2	2
<b>Rice bran</b>	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7
<b>Mineral premix<sup>1</sup></b>	2	2	2	2	2	2
<b>Vitamin premix<sup>2</sup></b>	2	2	2	2	2	2
<b>Fish oil</b>	1.5	2.11	2.71	3.92	6.25	8.66
<b>Soy bean oil</b>	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
<b>Spirulina<sup>3</sup></b>	-	2.69	5.38	10.75	21.50	32.25
	100	100	100	100	100	100

<sup>1</sup> Mineral mixture (g/kg diet) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 4.2; CaHPO<sub>4</sub> 3.3; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 6.25; KCL 2; KI 1.6; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 2; ZnSO<sub>4</sub> 0.1; MnSO<sub>4</sub> 0.1

<sup>2</sup> Vitamin mixture (mg/ kg diet): thiamine hydrochloride 30; riboflavin 30; nicotinic acid 140; calcium pantothenate 100; pyridoxine hydrochloride 25; vitamin B<sub>12</sub> 0.005; inositol 2,000; biotin 6; folic acid 6; choline chloride 1,000; ascorbyl- polyphosphate 250; vitamin E 200; vitamin K<sub>3</sub> 12; vitamin A 12,000 IU; vitamin D<sub>3</sub> 2400 IU.

<sup>3</sup> Contained 900 ppm total carotenoid.

## ผลการศึกษา

### การศึกษาผลของสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโต

จากการตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพันหลังจากได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตรทุกช่วง 2 สัปดาห์ของการทดลอง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในระดับต่างๆ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 300 ppm มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวต่ำที่สุด และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 0-100 ppm มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (Table 54.)

**Table 54.** Average body weight (g) of Nieuhofii's catfish fed test diet contained different levels of *Spirulina carotenoid* for 8 week.

	0 wk	2 wk	4 wk	6 wk	8 wk
<b>T1 Control</b>	0.68 ± 0.05 <sup>ns</sup>	1.53 ± 0.16 <sup>ns</sup>	3.10 ± 0.19 <sup>b</sup>	5.40 ± 0.37 <sup>b</sup>	8.06 ± 0.39 <sup>c</sup>
<b>T2 25 ppm total caro.</b>	0.70 ± 0.08 <sup>ns</sup>	1.49 ± 0.23 <sup>ss</sup>	2.78 ± 0.40 <sup>b</sup>	4.76 ± 0.55 <sup>b</sup>	7.18 ± 0.42 <sup>bc</sup>
<b>T3 50 ppm total caro.</b>	0.72 ± 0.07 <sup>ns</sup>	1.53 ± 0.17 <sup>ns</sup>	2.87 ± 0.24 <sup>b</sup>	4.81 ± 0.53 <sup>b</sup>	6.95 ± 0.97 <sup>bc</sup>
<b>T4 100 ppm total caro.</b>	0.69 ± 0.05 <sup>ns</sup>	1.54 ± 0.06 <sup>ns</sup>	3.12 ± 0.10 <sup>b</sup>	5.33 ± 0.25 <sup>b</sup>	7.85 ± 0.56 <sup>c</sup>
<b>T5 200 ppm total caro.</b>	0.70 ± 0.06 <sup>ns</sup>	1.53 ± 0.15 <sup>ns</sup>	2.72 ± 0.26 <sup>b</sup>	4.56 ± 0.30 <sup>b</sup>	6.46 ± 0.41 <sup>b</sup>
<b>T6 300 ppm total caro.</b>	0.71 ± 0.05 <sup>ns</sup>	1.38 ± 0.09 <sup>ns</sup>	2.23 ± 0.25 <sup>a</sup>	3.45 ± 0.54 <sup>a</sup>	4.78 ± 0.96 <sup>a</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

ns = non-significant ( $P > 0.05$ )

น้ำหนักที่เพิ่ม (% Weight gain) ของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาระดับต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 0-100 ppm มีค่าน้ำหนักที่เพิ่มอยู่ในช่วง  $835.41 \pm 51.09 - 946.38 \pm 91.27$  % ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 200 และ 300 ppm ( $P < 0.05$ ) ขณะที่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 300 ppm มีค่าสูงที่สุด และแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ( $P < 0.05$ ) ส่วนการ

รอดตายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละชุดการทดลองโดยมีค่าในช่วง  $88.89 \pm 10.18 - 97.78 \pm 3.85$  % (Table 55.)

**Table 55.** Weight gain (%), specific growth rate (%), FCR and survivals of Nieuhofii's catfish fed test diet contained different levels of Spirulina carotenoid for 8 week.

	% Weight gain	% SGR	FCR	% Survival
<b>T1 Control</b>	$946.38 \pm 91.27^c$	$4.41 \pm 0.14^c$	$1.15 \pm 0.17^a$	$88.89 \pm 10.18^{ns}$
<b>T2 25 ppm total caro.</b>	$889.47 \pm 47.62^c$	$4.17 \pm 0.11^{bc}$	$1.21 \pm 0.14^a$	$95.56 \pm 3.85^{ns}$
<b>T3 50 ppm total caro.</b>	$835.41 \pm 51.09^{bc}$	$4.03 \pm 0.09^b$	$1.12 \pm 0.14^a$	$97.78 \pm 3.85^{ns}$
<b>T4 100 ppm total caro.</b>	$940.75 \pm 38.68^c$	$4.35 \pm 0.15^c$	$1.04 \pm 0.01^a$	$91.11 \pm 7.70^{ns}$
<b>T5 200 ppm total caro.</b>	$763.33 \pm 74.57^b$	$3.97 \pm 0.07^b$	$1.26 \pm 0.14^a$	$93.33 \pm 6.67^{ns}$
<b>T6 300 ppm total caro.</b>	$511.04 \pm 53.43^a$	$3.40 \pm 0.23^a$	$1.77 \pm 0.30^b$	$91.11 \pm 3.85^{ns}$

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

ns = non-significant ( $P > 0.05$ )

#### การวัดการเปลี่ยนแปลงของสีตัวภายนอก

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่างปลาโดยสลบด้วยสารละลายน้ำมันกานพลู แล้วนำมาวัดค่าสีของผิวหนังที่บริเวณด้านข้างลำตัวในแนวระหว่างครีบก้น (Anal fin) ก้านแรกกับครีบหลัง (Dorsal fin) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสีภายนอกโดยตรวจวัดความแตกต่างของค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ผลการทดลอง พบว่าปลาคุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25-100 ppm มีสีเหลืองบริเวณลำตัวชัดเจนกว่าปลาในชุดการทดลองอื่นๆ (Figure 11.)

จากการวัดค่าสี ซึ่งแสดงใน Table 56. พบว่าปลาในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 0 ppm มีค่าสีขาว-ดำ (Lightness,  $L^*$ ) สูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25-100 ppm โดยอยู่ในช่วง  $19.75 \pm 1.27 - 23.77 \pm 3.94$  แต่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 200-300 ppm ค่าสีแดง (Redness,  $a^*$ ) ของปลาทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แต่เมื่อทำการตรวจสอบค่าสีเหลือง (Yellowness,  $b^*$ ) พบว่าปลาคุกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในระดับที่มีแคโรทีนอยด์รวม 25-100 ppm มีค่าสีเหลืองบริเวณผิวหนังในกลุ่มสูงที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ( $P < 0.05$ )



**Figure 11.** Body color of the Nieuhofii's catfish fed diet contained different levels of Spirulina carotenoid for 8 weeks.

**Table 56.** Color parameters of Nieuhofii's catfish fed test diet contained different levels of Spirulina carotenoid for 8 week.

	<b>Lightness</b> <b>L*</b>	<b>Redness</b> <b>a*</b>	<b>Yellowness</b> <b>b*</b>
<b>T1 Control</b>	23.77 ± 3.94 <sup>b</sup>	2.02 ± 0.67 <sup>ns</sup>	2.53 ± 0.72 <sup>ab</sup>
<b>T2 25 ppm total caro.</b>	19.75 ± 1.27 <sup>ab</sup>	2.31 ± 1.05 <sup>ns</sup>	5.10 ± 0.84 <sup>d</sup>
<b>T3 50 ppm total caro.</b>	21.21 ± 2.17 <sup>ab</sup>	1.96 ± 0.29 <sup>ns</sup>	4.45 ± 0.78 <sup>cd</sup>
<b>T4 100 ppm total caro.</b>	20.50 ± 3.89 <sup>ab</sup>	2.51 ± 0.98 <sup>ns</sup>	4.05 ± 1.04 <sup>cd</sup>
<b>T5 200 ppm total caro.</b>	17.22 ± 1.94 <sup>a</sup>	2.45 ± 0.85 <sup>ns</sup>	3.63 ± 0.66 <sup>bc</sup>
<b>T6 300 ppm total caro.</b>	18.39 ± 4.00 <sup>a</sup>	1.70 ± 0.46 <sup>ns</sup>	1.97 ± 0.61 <sup>a</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

ns = non-significant ( $P > 0.05$ )

### ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในตัวปลา

จากการวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในตัวปลาคูกำพันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ดังแสดงใน Table 57. พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในตัวปลามีค่าสูงที่สุดในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมสไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25-300 ppm ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมซึ่งไม่เสริมสไปรูลินาในอาหาร ( $P < 0.05$ )

**Table 57.** Total carotenoids contents of Nieuhofii's catfish fed test diet contained different levels of *Spirulina* carotenoid for 8 week.

	Total carotenoid (ug/g dry weight)
<b>T1 Control</b>	$2.36 \pm 0.94^a$
<b>T2 25 ppm total caro.</b>	$6.18 \pm 0.94^b$
<b>T3 50 ppm total caro.</b>	$6.38 \pm 1.15^b$
<b>T4 100 ppm total caro.</b>	$6.71 \pm 1.88^b$
<b>T5 200 ppm total caro.</b>	$7.09 \pm 1.75^b$
<b>T6 300 ppm total caro.</b>	$6.58 \pm 0.58^b$

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

## สรุป และวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษา พบว่าการใช้สาหร่ายสไปรูลินาผสมในอาหารในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25-100 ppm (2.69 -10.75 %) มีผลให้สีเหลือง และสีแดงของผิวหนังปลาคูกำพันเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับสุกฏา และคณะ (2548) ซึ่งทดลองใช้สไปรูลินาเป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ในอาหารปลาทอง พบว่าปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในระดับ 3% มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด โดยมีค่าสีเหลือง และแดง สูงกว่ากลุ่มปลาทองที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในปริมาณ 1% ทั้งนี้แคโรทีนอยด์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพการดูดซึม และนำไปใช้ประโยชน์แตกต่างกันในสัตว์น้ำแต่ละชนิด (Matsuno, 2001) สำหรับแคโรทีนอยด์ในสาหร่ายสไปรูลินา ส่วนใหญ่ประกอบด้วยบีตาแคโรทีน และซีแซนทีน ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีปริมาณมากในตัวปลาคูกำพัน ทั้งนี้ Tsushima *et al.* (2002) รายงานองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ในปลาคูกในสกุล *Clarias* โดยพบว่าส่วนใหญ่ของแคโรทีนอยด์ในร่างกายของปลาคูกสกุลนี้ คือ ซีแซนทีน (31.7%) คริปโตแซนทีน (27.1%) ไดอะโคแซนทีน (17.4%) และบีตาแคโรทีน (3.7%) จากการศึกษาของ Boonyaratpalin *et al.* (2001) พบว่ากึ่งกลาดำสามารถนำบีตาแคโรทีนซึ่งสกัดจากสาหร่ายดูนาเลียเอลลา (*Dunaliella* sp.) เป็นแหล่งของรงควัตถุได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งการศึกษาของ Liao *et al.* (1993) พบว่ากึ่งกลาดำสามารถนำบีตาแคโรทีน และซีแซนทีนจากสาหร่าย สไปรูไลนาไปใช้ได้ดีกว่าบีตาแคโรทีนสังเคราะห์ ยีสต์ *Phaffia* และ krill oil ซึ่งมีแอสตาแซนทีนอยู่มาก จากการทดลองนี้พบว่าการใช้สาหร่ายสไปรูลินาในอาหารในปริมาณที่มากกว่า 10.75 % ในอาหารจะมีผลให้อัตราการเจริญเติบโตของปลาคูกำพันลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระดับความเข้มข้นของสไปรูลินาในอาหารที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อสมดุลของกรดอะมิโนรวมในอาหาร การได้รับอาหารที่มีกรดอะมิโนไม่สมดุลมีผลทำให้การเจริญเติบโตของปลาตกลงได้ (Halver and Hardy, 2002) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในกึ่งกลาดำของ Liao *et al.* (1993) ซึ่งพบว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับอาหารเสริมสไปรูลินา 5% มีการเจริญเติบโตต่ำกว่าชุดการทดลองที่ได้รับอาหารไม่เสริมสไปรูลินา นอกจากนี้ในการทดลองใช้โปรตีนเซลล์เดี่ยว (single cells protein, SCP) เสริมในอาหารในปริมาณมากเกินไปจะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ซึ่งอาจเกิดจากทั้งจากสมดุลของกรดอะมิโนรวมในอาหาร ตลอดจนอาจมีสารยับยั้งการเผาผลาญอาหาร (antimetabolites) อยู่ในเซลล์ที่นำมาใช้เป็นแหล่งของโปรตีนเซลล์เดี่ยว (Halver and Hardy, 2002) นอกจากนี้จะใช้สาหร่ายสไปรูลินาเป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ในอาหารแล้ว Promya and Chitmanat (2011) ยังรายงานว่าการใช้สาหร่ายสไปรูลินาผสมในอาหารในปริมาณ 5 % มีผลช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันของปลาคูกแอฟริกันทำงานได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้สาหร่ายสไปรูลินาผสมในอาหารต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรคของปลาคูกำพันซึ่งจะช่วยให้การพัฒนาอาหารสำหรับใช้เลี้ยงปลาคูกำพันมีประสิทธิภาพสูงที่สุด

**การศึกษาระดับของวิตามินซีในอาหารต่อการเจริญเติบโต การรอดตาย  
การแลกเนื้อ องค์ประกอบทางเคมี และปริมาณวิตามินซีในปลาดุกลำพัน**

**Study of Dietary Vitamin C Levels on Growth, Survival, Feed Conversion, Body  
Composition and Body Vitamin C Content of Nieuhofii' s Catfish (*Clarias nieuhoftii*)**

**บทนำ**

ปลาดุกลำพัน (*Clarias nieuhoftii*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่อาศัยเฉพาะถิ่น พบส่วนใหญ่ในบริเวณป่าพรุ เป็นปลาที่นิยมนำมาบริโภคเนื่องจากมีรสชาติดีกว่าปลาดุกทั่วไป และจากการสำรวจพบว่าปลาดุกลำพันในธรรมชาติมีแนวโน้มลดลง (ศราวุธ และคณะ, 2538) จึงมีความพยายามเพาะขยายพันธุ์ปลาดุกลำพันเพื่อการอนุรักษ์พันธุ์ปลาและศึกษาความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงเชิงเศรษฐกิจ แต่เนื่องจากเป็นปลาชนิดใหม่ที่สามารถเพาะขยายพันธุ์ได้จึงขาดข้อมูลต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเพาะเลี้ยง และขยายพันธุ์ โดยเฉพาะข้อมูลด้านความต้องการสารอาหารของปลาซึ่งมีเฉพาะด้านของสารอาหารที่ให้พลังงาน (สุภฎา และคณะ, 2551) แต่ข้อมูลสารอาหารที่ไม่ให้พลังงาน ได้แก่ วิตามินและแร่ธาตุซึ่งนับว่าเป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อสุขภาพและผลผลิตของปลานั้นยังไม่มีรายงานการศึกษา ทั้งนี้วิตามินซีเป็นวิตามินละลายน้ำที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต และมีผลต่อความสมบูรณ์ของโครงสร้างของร่างกายปลาเป็นอย่างมาก (Halver and Hardy, 2002) จากรายงานการศึกษาพบว่าปลาดุกที่ขาดวิตามินซี หรือได้รับในปริมาณที่ไม่เพียงพอ จะแสดงลักษณะกระดูกสันหลังคดงอลำตัวคดงอ โครงสร้างของกระดูกผิดปกติ ระยะเวลาต่างๆ ทั้งหนวด และครีบหางสึกกร่อน หดสั้น ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีในปริมาณที่เหมาะสม จะมีรูปร่างลักษณะ และการเจริญเติบโตตามปกติ (Boonyaratpalin and Phromkunthong, 2001) นอกจากนี้วิตามินซียังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน การสมานบาดแผล และความต้านทานโรค และความต้านทานความเครียดของปลา ซึ่งจะช่วยให้ปลาที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณวิตามินซีเหมาะสมมีสุขภาพดี ความต้านทานโรคสูงขึ้น (Eo and Lee, 2008) งานวิจัยนี้จึงจัดทำเพื่อตรวจสอบผลของการเสริมวิตามินซีในระดับต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต และสุขภาพของปลาดุกลำพัน ซึ่งจะช่วยให้มองเห็นองค์ความรู้ในการปรับปรุงสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงปลาดุกลำพัน เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมให้การเพาะเลี้ยงปลาดุกลำพันประสบผลสำเร็จมากยิ่งขึ้น

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อทราบผลของวิตามินซีระดับต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในตัวปลาคูกลำพัน

### วิธีการดำเนินการวิจัย

เตรียมอาหารทดลองที่มีโปรตีนรวม 40 % (Table 58.) โดยอาหารทดลองแต่ละสูตรเสริมวิตามินซีอนุพันธ์ฟอสเฟต (ascorbyl-2-polyphosphate) ในปริมาณที่มีวิตามินซี 0, 50, 100, 200 และ 300 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ

**Table 58.** Feed ingredients contained different sources of carotenoid for the Nieuhofii's catfish.

	<b>T1</b> <b>control</b>	<b>T2</b> <b>50 ppm</b>	<b>T3</b> <b>100 ppm</b>	<b>T4</b> <b>200 ppm</b>	<b>T5</b> <b>300 ppm</b>
<b>Fish meal</b>	70	70	70	70	70
<b>Rice flour</b>	8	7.9857	7.9714	7.9429	7.9143
<b>Wheat flour</b>	10	10	10	10	10
<b>Wheat gluten</b>	2	2	2	2	2
<b>Rice bran</b>	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7
<b>Mineral premix<sup>1</sup></b>	2	2	2	2	2
<b>Vitamin premix<sup>2</sup></b>	2	2	2	2	2
<b>Fish oil</b>	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
<b>Soybean oil</b>	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8
<b>Ascorbyl-2-polyphosphate</b>	0	143 mg	286 mg	571 mg	857 mg

<sup>1</sup> Mineral mixture (g/kg diet)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  4.2;  $\text{CaHPO}_4$  3.3;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  6.25; KCL 2; KI 1.6;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2;  $\text{ZnSO}_4$  0.1;  $\text{MnSO}_4$  0.1

<sup>2</sup> Vitamin mixture (mg/ kg diet): thiamine hydrochloride 30; riboflavin 30; nicotinic acid 140; calcium pantothenate 100; pyridoxine hydrochloride 25; vitamin  $\text{B}_{12}$  0.005; inositol 2,000; biotin 6; folic acid 6; choline chloride 1,000; ascorbyl- polyphosphate 250; vitamin E 200; vitamin  $\text{K}_3$  12; vitamin A 12,000 IU; vitamin  $\text{D}_3$  2400 IU.

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) โดยเลี้ยงปลาคุกก่าพันธ์ระยะปลานี้วที่มีขนาด 1-1.5 กรัมต่อตัว ในตู้เลี้ยงขนาด 120 ลิตร ที่มีปริมาตรน้ำ 100 ลิตร ตู้ละ 15 ตัว โดยแบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ตู้ ให้อาหารปลาตามแต่ละชุดการทดลอง โดยให้อาหารปลาวันละ 2 ครั้ง ในปริมาณที่ปลากินหมดภายใน 20 นาที (ประมาณ 3-5 % ของน้ำหนักตัวต่อวัน) คูดตะกอนและเศษอาหารที่พื้นบ่อปลาทุก 2 วัน โดยเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 2 วัน ทุก 2 สัปดาห์ของการทดลอง ตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาในแต่ละชุดการทดลองโดยชั่งน้ำหนักรวม บันทึกปริมาณอาหารที่ใช้ นับจำนวนปลาที่เหลือเพื่อคำนวณน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และการรอดตายของปลาในแต่ละตู้ทดลองเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ ตามสมการ (Halver and Hardy, 2002)

#### อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

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

#### อัตราการรอดตาย (Survival rate), %

$$\text{อัตราการรอดตาย} = \left( \frac{\text{จำนวนปลาที่สิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \right) \times 100$$

#### น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain, WG), %

$$WG = \left[ \frac{\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}} \right] \times 100$$

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลา 6 ตัวจากแต่ละชุดการทดลองเพื่อนำไปตรวจสอบปริมาณวิตามินซีในตับ และไตส่วนหน้า โดยแช่เยือกแข็งปลาจากแต่ละตู้เลี้ยงที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส แยกตัดตับ และไตส่วนหน้าไปวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี ตามวิธีการของ Boonyaratpalin and Phromkunthong (2001) ตรวจสอบความผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือก ตับ ไต โดยเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปลา 10 ตัว จากแต่ละชุดการทดลองดองในสารละลาย 10 % buffered formalin แล้วนำไปศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาตามวิธีการของ Humason (1972) จากนั้นสุ่มตัวอย่างปลาที่เหลือเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990) คำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (Apparent net protein utilization, ANPU) โดยใช้สมการดังนี้ (Halver and Hardy, 2002)

#### ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER)

$$= \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

$$\text{การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (ANPU, \%)} \\ = \frac{\text{น้ำหนักโปรตีนในตัวอย่างที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยน้ำหนักปลา อัตราการเจริญเติบโต การรอดตายของปลา ปริมาณวิตามินซีในตับ และไตส่วนหน้า องค์กรประกอบทางเคมี ตลอดจนประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารแต่ละชุดการทดลองด้วย One way analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) (Zar, 1984)

## ผลการศึกษา

### การศึกษาผลระดับวิตามินซีต่อการเจริญเติบโต

จากการตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพันหลังจากได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซีแต่ละระดับทุกช่วง 2 สัปดาห์ของการทดลอง เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซีระดับต่างๆ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองไม่เสริมวิตามินซี (ชุดควบคุม) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวต่ำที่สุด และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซีทุกระดับ (50-300 ppm) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (Table 59.)

**Table 59.** Average body weight (g) of the Nieuhofii's catfish fed test diet supplemented with different vitamin C for 10 weeks.

Vitamin C	0 week	2 week	4 week	6 week	8 week	10 week
<b>T1 0 ppm</b>	1.01±0.12 <sup>a</sup>	1.90±0.15 <sup>a</sup>	3.09±0.13 <sup>a</sup>	4.22±0.11 <sup>a</sup>	5.06±0.45 <sup>a</sup>	5.89±0.80 <sup>a</sup>
<b>T2 50 ppm</b>	1.04±0.06 <sup>a</sup>	2.05±0.15 <sup>a</sup>	3.56±0.33 <sup>ab</sup>	5.48±0.66 <sup>b</sup>	7.42±1.12 <sup>b</sup>	9.35±1.11 <sup>b</sup>
<b>T3 100 ppm</b>	1.04±0.05 <sup>a</sup>	2.08±0.21 <sup>a</sup>	3.73±0.43 <sup>b</sup>	5.76±0.52 <sup>b</sup>	7.96±0.98 <sup>b</sup>	10.74±1.57 <sup>b</sup>
<b>T4 200 ppm</b>	1.04±0.03 <sup>a</sup>	2.08±0.10 <sup>a</sup>	3.74±0.32 <sup>b</sup>	5.75±0.55 <sup>b</sup>	7.50±1.00 <sup>b</sup>	9.77±1.48 <sup>b</sup>
<b>T5 300 ppm</b>	1.06±0.05 <sup>a</sup>	2.00±0.17 <sup>a</sup>	3.71±0.23 <sup>b</sup>	5.65±0.48 <sup>b</sup>	7.77±0.05 <sup>b</sup>	10.08±0.82 <sup>b</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

ns = non-significant ( $P > 0.05$ )

น้ำหนักที่เพิ่ม (% Weight gain) ของปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซีระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองไม่เสริมวิตามินซี (ชุดควบคุม) มีน้ำหนักที่เพิ่มต่ำที่สุด ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซีทุกระดับ มีน้ำหนักที่เพิ่ม อยู่ในช่วง  $801.97 \pm 98.49 - 941.12 \pm 155.73$  % ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารทดลองไม่เสริมวิตามินซี (ชุดควบคุม) และแตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่นๆ ( $P < 0.05$ ) ส่วนการรอดตายพบว่าปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซี 300 ppm มีการรอดตายต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซี 50 ppm แต่การรอดตายของปลาทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปลาในชุดการทดลองอื่นๆ (Table 60.)

**Table 60.** Weight gain (%), specific growth rate (%), FCR and survivals of *Nieuhofii's* catfish fed test diet contained different levels of vitamin C for 10 week.

	% Weight gain	% SGR	FCR	% Survival
<b>T1 0 ppm</b>	$495.78 \pm 144.07^a$	$2.52 \pm 0.33^a$	$2.26 \pm 0.38^a$	$88.89 \pm 3.85^{ab}$
<b>T2 50 ppm</b>	$801.97 \pm 98.49^b$	$3.14 \pm 0.15^b$	$1.52 \pm 0.13^b$	$97.78 \pm 3.85^b$
<b>T3 100 ppm</b>	$941.12 \pm 155.73^b$	$3.34 \pm 0.22^b$	$1.42 \pm 0.05^b$	$88.89 \pm 10.18^{ab}$
<b>T4 200 ppm</b>	$841.27 \pm 126.15^b$	$3.19 \pm 0.19^b$	$1.44 \pm 0.17^b$	$93.33 \pm 0.00^{ab}$
<b>T5 300 ppm</b>	$852.14 \pm 125.37^b$	$3.21 \pm 0.19^b$	$1.48 \pm 0.11^b$	$84.44 \pm 3.85^a$

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

ns = non-significant ( $P > 0.05$ )

### องค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลา

ปลาคูกลำพันกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองไม่เสริมวิตามินซี มีความชื้นในร่างกายสูงที่สุดแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ขณะที่ปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองทุกสูตรมีปริมาณโปรตีน และไขมันในร่างกายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าพบว่า ปลากลุ่มที่ได้รับวิตามินซีทุกระดับมีค่าเปอร์เซ็นต์เถ้าน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) (Table 61.)

ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และ การใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิ (ANPU) มีค่าต่ำที่สุดในปลาคูกลำพันที่ได้รับอาหารทดลองไม่เสริมวิตามินซี ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซี 50-300 ppm มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และ การใช้ประโยชน์ของโปรตีนสุทธิไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) (Table 62.)

**Table 61.** Chemical compositions of Nieuhofii's catfish fed test diet contained different levels of vitamin C for 10 week.

	Moisture (%)	Ash (%)	Lipid (%)	Protein (%)
<b>T1 0 ppm</b>	74.26±0.74 <sup>a</sup>	12.04±0.40 <sup>a</sup>	32.86±0.34 <sup>ns</sup>	53.43±1.06 <sup>ns</sup>
<b>T2 50 ppm</b>	70.87±0.62 <sup>b</sup>	9.25±0.36 <sup>b</sup>	38.20±1.52 <sup>ns</sup>	50.75±1.13 <sup>ns</sup>
<b>T3 100 ppm</b>	71.82±1.66 <sup>b</sup>	9.23±0.91 <sup>b</sup>	36.40±5.18 <sup>ns</sup>	53.47±3.79 <sup>ns</sup>
<b>T4 200 ppm</b>	72.15±0.85 <sup>b</sup>	8.92±0.08 <sup>b</sup>	37.01±2.37 <sup>ns</sup>	52.74±0.78 <sup>ns</sup>
<b>T5 300 ppm</b>	72.40±0.80 <sup>b</sup>	9.40±1.44 <sup>b</sup>	34.97±3.36 <sup>ns</sup>	53.74±0.32 <sup>ns</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

ns = non-significant (P>0.05)

**Table 62.** Protein efficiency ratio (PER) and apparent net protein utilization (ANPU) of Nieuhofii's catfish fed test diet contained different levels of vitamin C for 10 week.

	PER	ANPU (%)
<b>T1 0 ppm</b>	1.10 ± 0.20 <sup>a</sup>	15.56 ± 3.00 <sup>a</sup>
<b>T2 50 ppm</b>	1.63 ± 0.14 <sup>b</sup>	24.57 ± 1.84 <sup>b</sup>
<b>T3 100 ppm</b>	1.73 ± 0.04 <sup>b</sup>	26.56 ± 0.83 <sup>b</sup>
<b>T4 200 ppm</b>	1.68 ± 0.21 <sup>b</sup>	25.13 ± 3.05 <sup>b</sup>
<b>T5 300 ppm</b>	1.63 ± 0.11 <sup>b</sup>	24.79 ± 2.06 <sup>b</sup>

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

### ปริมาณวิตามินซีในตับและไตส่วนหน้า

ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซี มีปริมาณวิตามินซีในตับ และไตส่วนหน้า น้อยที่สุด แตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ทั้งนี้ปริมาณวิตามินซีในตับของปลาคูกำพันที่ได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซี 50, 100, 200 และ 300 ppm มีค่าเพิ่มสูงขึ้น และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ตามระดับของวิตามินซีที่ได้รับในอาหาร ขณะที่ปริมาณวิตามินซีในไตส่วนหน้าของปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมวิตามินซี 50-300 ppm มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) (Table 63.)

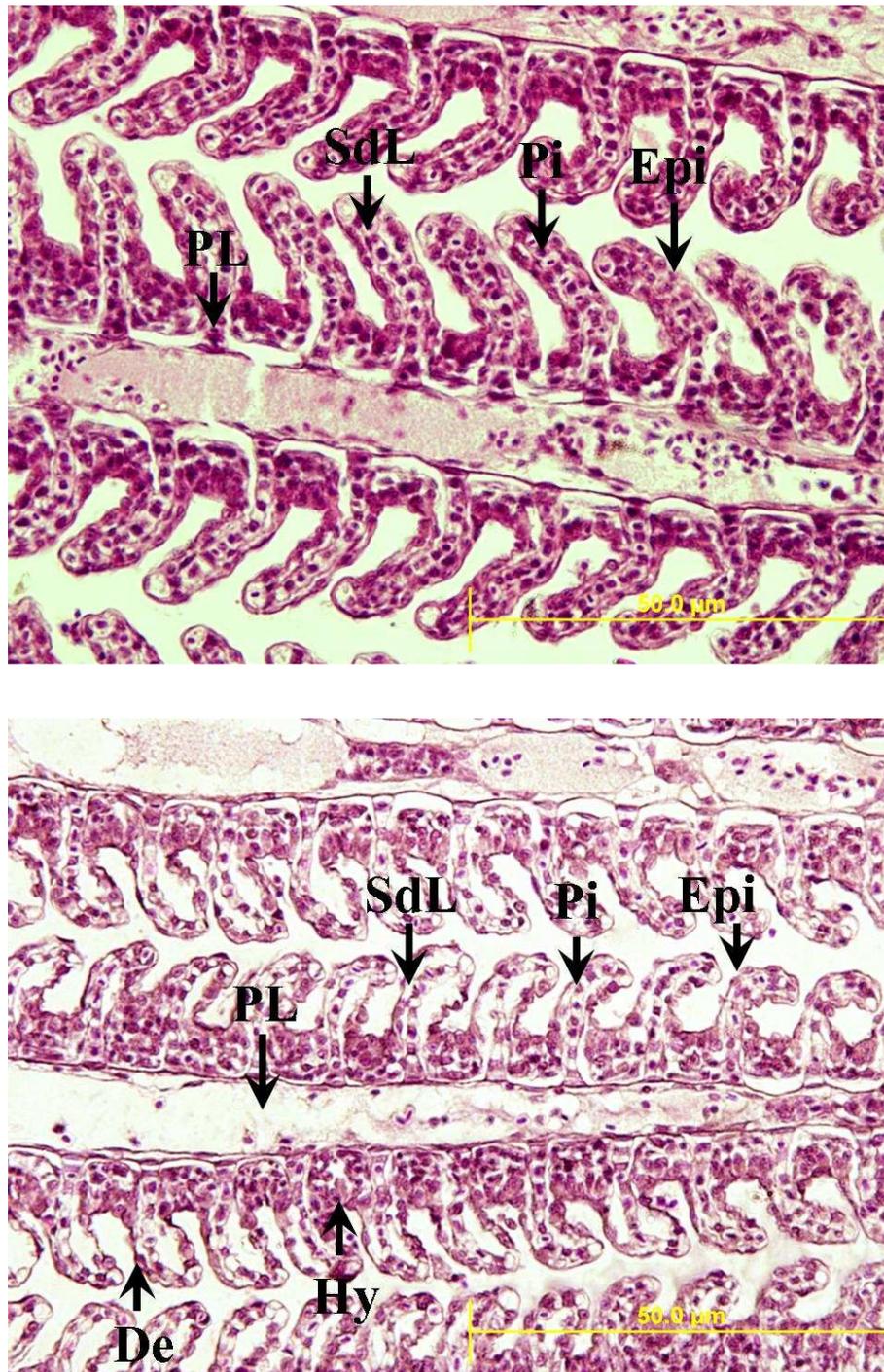
**Table 63.** Vitamin C content in the liver and head kidney of Nieuhofii's catfish fed test diet contained different levels of vitamin C for 10 week.

	Vitamin C in liver (ug/g)	Vitamin C in head kidney (ug/g)
<b>T1 0 ppm</b>	8.48±14.69 <sup>a</sup>	1.69±2.93 <sup>a</sup>
<b>T2 50 ppm</b>	33.42±3.37 <sup>b</sup>	65.04±16.36 <sup>ab</sup>
<b>T3 100 ppm</b>	58.44±4.58 <sup>c</sup>	40.79±19.87 <sup>ab</sup>
<b>T4 200 ppm</b>	87.32±7.87 <sup>d</sup>	63.57±18.60 <sup>ab</sup>
<b>T5 300 ppm</b>	111.30 ± 6.42 <sup>c</sup>	91.40 ± 26.73 <sup>b</sup>

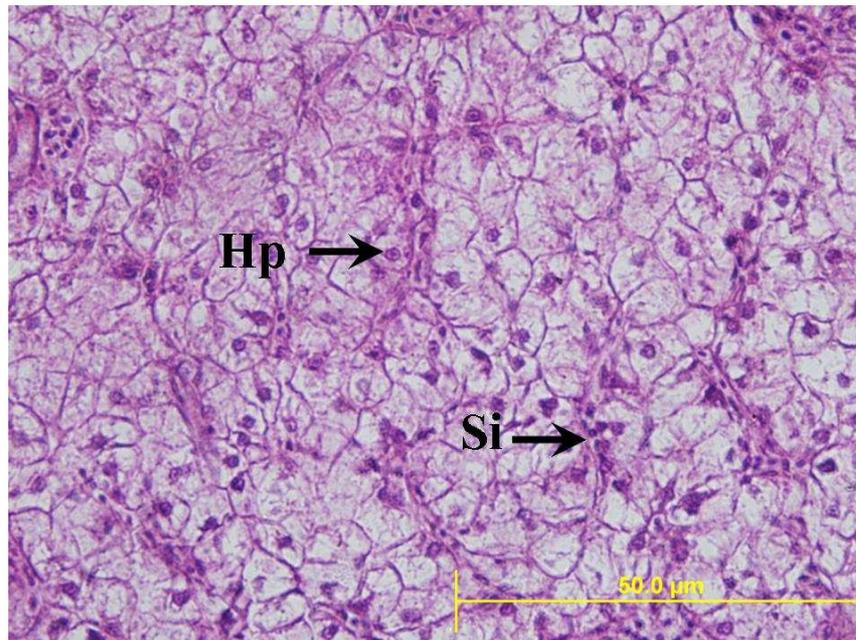
Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05).

#### การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ

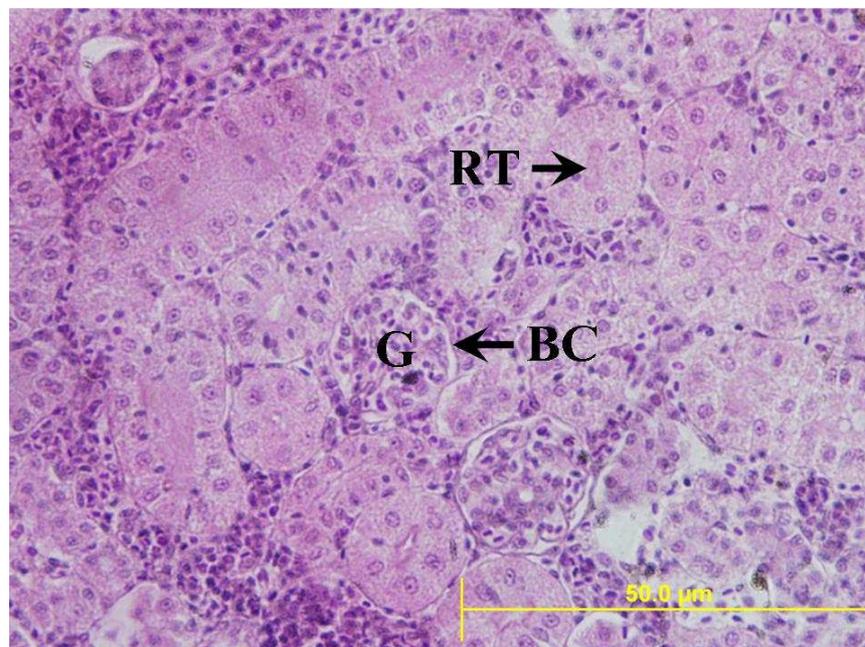
ไม่พบพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อเหงือกของปลาดุกลำพันที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินซีทุกระดับ แต่ในกลุ่มที่ขาดวิตามินซี พบความผิดปกติในเนื้อเยื่อเหงือก กล่าวคือ respiratory epithelium ของ secondary lamellae มีการแยกตัว และเกิดการแบ่งเซลล์มากผิดปกติ (hyperplasia) ของ epithelium cell บริเวณ secondary lamellae ทั้งนี้ในเนื้อเยื่อดับ และไตของปลาที่ได้รับอาหารทดลองทุกสูตรมีสภาพเนื้อเยื่อปกติ (Figure 12-14)



**Figure 12.** (Upper) Normal structure of gills in the Nieuhofii's catfish fed test diet supplemented with vitamin C, secondary lamellae (SdL) are lined up along both sides of the primary lamella (PL) (Lower) Detachment of respiratory epithelium in the secondary lamellae and hyperplasia of secondary lamella epithelium in the fish fed diet without vitamin C supplementation (H&E, 40×) (PL = primary lamellar, SdL = secondary lamellae, Epi = epithelium cell, Pi = Pillar Cells, De = detachment, Hy = hyperplasia)



**Figure 13.** Normal liver parenchyma of Nieuhofii's catfish fed all test diet. (H&E, 40×) (Hp = hepatocyte, Si = sinusoid)



**Figure 14.** Normal structure of posterior kidney of Nieuhofii's catfish fed all test diet, the figure shows normal cells of the renal corpuscle and renal tubule. (H&E, 40×) (G = glomerulus, BC = Bowman's capsule, RT = renal tubule)

## สรุป และวิจารณ์ผลการศึกษา

ระดับของวิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาคูกลำพันคือ ปลากลุ่มที่ไม่ได้รับวิตามินซีมีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำ สอดคล้องกับที่มีรายงานในปลาชนิดอื่น ได้แก่ ปลาคอดอเมริกัน (Channel catfish) (Lim *et al.*, 2000) และปลาคูกบิกอูย (Booyaratpalin and Phromkunthong, 2001) แสดงให้เห็นว่าระดับของวิตามินซีมีผลต่อการเมทาบอลิซึมของร่างกาย ทั้งนี้วิตามินซีทำหน้าที่หลักในการเป็น co-factor ของเอนไซม์ prolylhydroxylase และ lysyl hydroxylase ซึ่งทำหน้าที่ในการเติมหมู่ hydroxyl ในกรดอะมิโน proline และ lysine ในระหว่างการสร้าง collagen ซึ่งเป็นโปรตีน โครงสร้างของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่างๆ ในร่างกายสัตว์น้ำ รวมทั้งยังทำงานร่วมกับเอนไซม์ในกระบวนการเผาผลาญไขมัน (Halver and Hardy, 2002) ในกรณีที่ปลาขาดวิตามินซี หรือได้รับอาหารที่มีปริมาณวิตามินซีไม่เพียงพอจะส่งผลให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ไม่สมบูรณ์ และขาดความแข็งแรง ทำให้โครงสร้างของผิวหนัง กระดูก หลอดเลือด และเยื่อหุ้มอวัยวะต่างๆ ผิดปกติ และมีผลเสียต่อสุขภาพ และการเจริญเติบโตของปลา (Booyaratpalin and Phromkunthong, 2001)

ระดับของวิตามินซีที่เพิ่มขึ้นในอาหารจะมีผลให้ปริมาณวิตามินซีในตับและไตเพิ่มขึ้นด้วย เช่นเดียวกับที่พบในปลาชนิดอื่น ได้แก่ ปลาคอดอเมริกัน (Murai *et al.*, 1978) และปลานวลจันทร์เทศ (Sobhana *et al.*, 2002) ปลาคูกลำพันที่ขาดวิตามินซีจะมีพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่แสดงความคิดปกติอย่างชัดเจน คือ การแยกตัวของ respiratory epithelium บริเวณ secondary lamellae เนื่องจากการขาดวิตามินซีที่เป็นองค์ประกอบร่วมของเอนไซม์ที่ใช้สร้างไฮดรอกซีโปรตีน และไฮดรอกซีไลซีน ซึ่งมีผลต่อการสร้างคอลลาเจน (Booyaratpalin and Phromkunthong, 2001) ทำให้คอลลาเจนที่สร้างได้ไม่แข็งแรง ส่งผลต่อการยึดติดของ Respiratory Epithelium กับ Pillar Cells และเนื่องจากการยึดติดของ Respiratory Epithelium กับ Pillar Cells ทำได้ไม่ดีจึงมีการแบ่งตัวของ Epithelium Cell มากผิดปกติ เพื่อป้องกันหลุดออกของเซลล์ แต่ในอวัยวะตับและไตไม่พบพยาธิสภาพที่ผิดปกติอาจเพราะระยะที่ทำการทดลองน้อยเกินกว่าที่ปลาจะแสดงอาการผิดปกติ (Booyaratpalin and Phromkunthong, 2001)

จากการทดลองนี้พบว่าปลาคูกลำพันมีความต้องการวิตามินซีในระดับต่ำ คือวิตามินซีที่ระดับ 50 ppm เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของปลาชนิดนี้ ซึ่งสอดคล้องกับที่พบในรายงานของ NRC (1993) ที่ระบุว่าปลาในกลุ่ม Catfish มีความต้องการวิตามินซี 50 ppm

## เอกสารอ้างอิง

- พันธุสิทธิ์ โชคสวัสดิการ, สุภฎา คีรีรัฐนิคม, กฤษณะ เรืองคล้าย และอานูช คีรีรัฐนิคม. 2551. ผลของระดับความหนาแน่นต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และการรอดตายของปลาคูกลำพันระยะปลาน้ำในบ่อคอนกรีต. ใน รวมเรื่องเต็มฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 1, โรงแรมธรรมรินทร์ธนา จังหวัด ตรัง, 27-29 สิงหาคม 2551.
- พรพนม พรหมแก้ว. 2538. การศึกษาการเพาะพันธุ์และอนุบาลปลาคูกลำพัน. การสัมมนาวิชาการประจำปี 2538, วันที่ 18-20 กันยายน 2538. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- พิชญา ชัยนาค, ไวยพจน์ เครือเสนห์ และทวิ จินตามัยกุล. 2544. ผลของแอสตาแซนทีนต่อสีของปลากะพงแดง (*Lutjanus argentimaculatus* Forskal) เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 19/2544. ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งพังงา กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง, 2544.
- วุฒิพร พรหมขุนทอง และ อัญชลี พิพัฒน์วัฒนากุล. 2548. ผลของสาหร่ายสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโตและระดับแอนติบอดีในปลาคูกพันธุ์ผสม (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus* (Burchell)). ว.สงขลานครินทร์ วทท. 27 (ฉบับพิเศษ 1) : 115-132.
- ศราวุธ เจงโสภา, สุวิมล สี่หิรัญวงศ์ และ พรพนม พรหมแก้ว. 2538. ชีวิตวิทยาบางประการของปลาคูกลำพัน. รายงานการสัมมนาประจำปี 2538 กรมประมง. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 329-348.
- สุภฎา คีรีรัฐนิคม, พันธุสิทธิ์ โชคสวัสดิการ, กฤษณะ เรืองคล้าย และอานูช คีรีรัฐนิคม. 2551. ผลของระดับโปรตีนในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และการรอดตายของปลาคูกลำพันระยะปลาน้ำ. ใน รวมบทความย่อ การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 1, โรงแรมธรรมรินทร์ธนา จังหวัด ตรัง, 27-29 สิงหาคม 2551.
- สุภฎา คีรีรัฐนิคม, รัตติยา สะอู และอัจฉรัตน์ สุวรรณภักดี. 2548. ระดับของสไปรูลินาในอาหารต่อการเจริญเติบโต และการเร่งสีปลาทอง (*Carassius auratus*). ว. สงขลานครินทร์ วทท. 27(Suppl. 1) : 133-139.
- อุดมชัย อากาศอนู และ สุวรรณิ โล่กุลประกิจ. 2529. การเพาะพันธุ์ปลาคูกลำพันโดยวิธีผสมเทียม. รายงานประจำปี 2527-2530. กองประมงน้ำจืด, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, หน้า 38-46.

- Adebayo, O. T. 2005. Dietary protein level and feeding rate for hybrid Clariid catfish, *Clarias gariepinus* × *Heterobranchus bidorsalis*, in homestead tanks . *Journal of Applied Aquaculture*, 9(1) : 97-106
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1985. Official Methods of Analysis. Washington, DC: AOAC.
- Bautista-Teruela, M. N., Eusebioa, P. S. and Welsh, T. P. 2003. Utilization of feed pea, *Pisum sativum*, meal as a protein source in practical diets for juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 225 : 121–131.
- Boonyaratpalin, M. and Phromkunthong, W. 2001. Bioavailability of ascorbyl phosphate calcium in hybrid catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunther) × *Clarias gariepinus* (Burchell) feed. *Aquaculture Research*, 32 (1) : 126 – 134.
- Chien, Y. H. and Jeng, S. C. 1992. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. *Aquaculture* 102: 333-346.
- Choubert, G. and Heinrich, O. 1993. Carotenoid pigments of the green alga *Haematococcus pluvialis* : assay on rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, pigmentation in comparison with synthetic astaxanthin and canthaxanthin. *Aquaculture* 112 : 217-226.
- De Silva, S. S and Anderson, T.A. 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall. London.
- El-Sayed, A. M. 1999. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. *Aquaculture* 179 : 149–168
- Eo, J. and Lee, K. J. 2008. Effect of dietary ascorbic acid on growth and non-specific immune responses of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. *Fish & Shellfish Immunology* 25 : 611–616.
- Gouveia, L.;Choubert, G.;Pereira, N.;Santinha, J.;Empis, J.;Gomes, E. 2002. Pigmentation of gilthead seabream, *Sparus aurata* (L. 1875), using *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Volvocales) microalga. *Aquaculture Research* 33 : 987-993.
- Halver, J. E. and Hardy, R. W. 2002. Fish Nutrition, 3<sup>rd</sup> edition. Academic Press, New York.
- Humason, G.L., 1972. Animal Tissue Technique, 4th edn. Freeman, San Francisco, CA, USA, 661 pp.

- Jauncey, K., and Ali, M. Z. 2004. Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio in African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquaculture International*, 12 (2) : 169-180.
- Juan Wang, Y., Chien, Y.H. and Pan, C. H. 2006. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. *Aquaculture* 261 : 641–648.
- Khajareern, J. and Khajareern, S. 1997. Stability and bioavailability of vitamin C-glucose in *Clarias* hybrid catfish (*Clarias gariepinus*×*Clarias macrocephalus*). *Aquaculture* 181 (1-4) : 219-224.
- Kiriratnikom, S., Ruangklay, K., Choksawatdikorn, P., Anuchart, P. and Kiriratnikom, A. 2007. Effect of various forms of diet on growth performance and survival of nieuhofii catfish larvae (*Clarias nieuhofii*). The 33th Congress on Science and Technology of Thailand (STT33). October 18-20, 2007. Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand.
- Latscha, T. 1991. Carotenoids in aquatic animal nutrition. Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, Bangkok, Thailand, Sep. 19-25 1991. pp. 68-78.
- Liao, W. L., Nur-E-Borhan, S. A., Okada, S., Matsui, T. and Yamaguichi, K. 1993. Pigmentation of cultured black tiger prawn by feeding with a *Spirulina*-supplemented diet. *Nippon Suisan Gakkaishi* 59 (1) : 165-169.
- Lim, K. K. P. and Ng, H. H. 1999. *Clarzas batu*, A new species of catfish (Teleostei: Clariidae) from Pulau Tioman, Peninsular Malaysia. *The Raffles Bulletin Of Zoology*, 6: 157-167
- Lim, K. K. P. 1994. The inland fishes of Pulau Tioman, Pahang, Peninsular Malaysia. *Pangolin*, 6 (3-4) : 6-15.
- Lim, C., Klesius, P.H., Li, M.H. and Robinson, E. H. (2000). Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish *Ictalurus punctatus* to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Aquaculture*, (185), 313–327.
- Matsuno, T. 2001. Aquatic animal carotenoids. *Fisheries Science*. 67 : 771-783.
- Monkolprasit, S., S. Sontirat, S. Vimollohakarn and T. Songsirikul, 1997. Checklist of Fishes in Thailand. Office of Environmental Policy and Planning, Bangkok, Thailand. 353 p.
- Montaldi, A. (personal communication). On the visiting to Thaksin University's Aquacultural Biotechnology Research Unit.

- Murai, T., Andrews, J. W. and Bauernfeind, J. C. (1978). Use of L-Ascorbic Acid, Ethocel Coated Ascorbic Acid and Ascorbate 2-Sulfate in Diets for Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*. *The Journal of Nutrition*, (108), 1761-1766.
- Murthy, H. S. and Naik, A. T. 1999. Growth response of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) to varied protein and lipid levels. *Indian J. Exp. Biol.* 37(10): 986-9.
- Naegel, L.C.A, 1997. Azolla meal as a supplemental feed ingredient for tilapias. In: Fitzimmons, K. Ed. ,Proc. 4th Intl. Symp. On Tilapia in Aquaculture, Orlando, FL, USA, 9–11 November 1997, pp. 20–30.
- Nation Research Council (NCR).(1993). *Nutrient Requirement of fish*. National Academic Press: Washington D.C.
- pantown.com.<http://www.pantown.com/board.php?id=2888&area=4&name=board1&topic=3927>
- Promya, J. and Chitmanat, C. 2011. The effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Agriculture & Biology*, 13: 77–82.
- Skillicorn, P, Spira, W., Journey, W., 1993. Duckweed aquaculture. A new aquatic farming system for developing countries. The World Bank, Washington, DC, 76 pp.
- siamensis.org. <http://www.siamensis.org/oldboard/5052.html>
- Sobhana, K.S., Mohan, C.V. and Shankar, K.M. (2002). Effect of dietary vitamin C on the disease susceptibility and inflammatory response of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) to experimental infection of *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, (207), 225–238.
- Sommer, T. R., Potts, W. T. and Morrissy, N. M. 1991. Utilization of microalgal astaxanthin by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Aquaculture* 94 : 79-88.
- Sudarto, G.G, Teugels, G. and Pouyaud, L. 2004. Description of a New Clariid Catfish, *Clarias pseudonieuhofii* from West Borneo (Siluriformes: Clariidae). *Zoological Studies*. 43(1): 8-19
- Sudaryono, A., Tsvetnenko, B., Hutabarat, J., Supriharyono, J. and Evans, L. H. 1999. Lupin ingredients in shrimp *Penaeus monodon* diets: influence of lupin species and types of meals. *Aquaculture* 171 : 121–133.

- Tacon, A.G.J. 1996. Nutritional studies in crustaceans and the problems of applying research findings to practical farming systems. *Aquaculture Nutrition* 2:165-174.
- Tsushima, M., Ikuno, Y., Nagata, S., Kodama, K. and Matsuno, T.. 2002. Comparative biochemical studies of carotenoids in catfishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 133 : 331–336.
- Weerd, J. H. V. 1995. Nutrition and growth in *Clarias* species - a review. *Aquat. Living Rrsour.*, 8 : 395-401.
- Yamada, S., Tanaka, Y., Sameshima, M. and Ito, Y. 1990. Pigmentation of prawn (*Penaeus japonicus*) with carotenoids I. Effect of dietary astaxanthin,  $\beta$ -carotene and canthaxanthin on pigmentation. *Aquaculture* 87 : 323-330.
- Zar, J. H. 1984. *Biostatistical Analysis*. 2<sup>nd</sup> edition. Prentice-Hall. New York.

## บทสรุปจากการวิจัย

การพัฒนาสายพันธุ์ปลาท้องถิ่นเพื่อเป็นปลาสวยงามสำหรับการส่งออก จำเป็นต้องดำเนินการพัฒนาทั้งด้านการผลิตลูกพันธุ์จากโรงเพาะฟักให้มีปริมาณ การเจริญเติบโต และการรอดตายสูงเพื่อให้มีผลผลิตคงที่ และมีปริมาณมากเพียงพอกับความต้องการของตลาดโลก อีกทั้งยังต้องพัฒนาสูตรอาหารให้ปลามีสุขภาพสมบูรณ์ ตลอดจนมีสีส้มเด่นชัด และรูปร่างลักษณะตามธรรมชาติควบคู่กันไป เพื่อให้คุณภาพของผลผลิตตรงตามความต้องการ รวมทั้งยังต้องมีการเฝ้าระวังปัญหาโรคติดเชื้อที่อาจพบในโรงเพาะฟัก ซึ่งจะส่งผลเสียต่อทั้งคุณภาพ และปริมาณผลผลิตได้ ผลจากการวิจัยเรื่องการเพาะเลี้ยงปลาคูกลำพันเพื่อพัฒนาเป็นสายพันธุ์ปลาสวยงามเพื่อการส่งออก ทำให้ทราบถึงปัจจัยด้านคุณภาพน้ำในระบบการเพาะฟักที่จะมีผลให้เกิดประสิทธิภาพการผลิตปลาคูกลำพันสูงสุด กล่าวคือในการเตรียมน้ำสำหรับเพาะฟักควรเป็นน้ำที่มีความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 5-7 ค่าความเป็นด่าง (alkalinity) 20-50 ppm ต้องเป็นน้ำที่ปราศจากแทนนินละลายอยู่ โดยมีความเค็มต่ำกว่า 0.1 ppt ปริมาณแอมโมเนียในน้ำต่ำกว่า 0.1 ppm ในสภาพช่วงแสง และความเข้มแสงตามธรรมชาติ ที่ระดับอุณหภูมิ 25-27<sup>o</sup> C โดยไม่จำเป็นต้องแช่ไข่ปลาคูกลำพันในสารเคมีลดเชื้อก่อนนำไปฟักแต่อย่างใด ในขณะที่อาหารสำเร็จรูปสำหรับใช้เลี้ยงปลาคูกลำพันเป็นปลาสวยงามเพื่อการส่งออกควรเสริมสาหร่ายสไปรูลินาในสูตรอาหารในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์ 25-100 ppm (2.69 -10.75 % ของสไปรูลินาในสูตรอาหาร) ซึ่งจะทำให้ตัวปลามีลวดลายสีเหลือง และสีแดงของลำตัวปลาคูกลำพันเพิ่มขึ้นคล้ายกับปลาที่พบในธรรมชาติ อย่างไรก็ตามการใช้สไปรูลินาในปริมาณที่มีแคโรทีนอยด์มากกว่านี้จะทำให้การเจริญเติบโตของปลาลดต่ำลง ในการผลิตอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลาคูกลำพันสามารถลดปริมาณการใช้ปลาป่นลงได้โดยการใช้กากถั่วเหลือง เป็นวัตถุดิบทดแทน โปรตีน โดยสามารถใช้กากถั่วเหลืองทดแทนโปรตีนในสูตรอาหารได้ในปริมาณ 45% ของโปรตีนทั้งหมดในอาหาร (26-28% ของกากถั่วเหลืองในสูตรอาหาร) โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และสุขภาพของปลา นอกจากนี้ในการผลิตอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลาคูกลำพันควรเสริมวิตามินซีในอาหารในปริมาณ 50-300 ppm ซึ่งจะทำให้ปลามีการเจริญเติบโต การรอดตาย และสุขภาพที่ดี ขณะที่ปลาซึ่งได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินซีมีการเจริญเติบโตต่ำ และมีพยาธิสภาพของเยื่อผิวหนังอักเสบเกิดขึ้น นอกจากนี้ในระหว่างการเลี้ยงปลาคูกลำพันในโรงเพาะฟักควรเฝ้าระวังปัญหาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ที่เป็นรายงานการติดเชื้อชนิดนี้เป็นครั้งแรก โดยโรคดังกล่าวมีความรุนแรงและก่อให้เกิดการตายของปลาคูกลำพันในโรงเพาะฟักภายหลังการรับเชื้อ