บทความวิจัย (Research Article)

ผลของ Spirulina (*Arthrospira platensis*) ต่อการรอดตายและการเจริญเติบโตของกบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*)

ทาริกา ทิพอุเทน[1], พัชราภรณ์ ทิพยวัฒน์[2], บัณฑิต ยวงสร้อย[1] และ สุธี วงศ์มณีประทีป[1*]

Effects of Spirulina (*Arthrospira platensis*) on survival and growth performance in Rugose frog (*Hoplobatrachus rugulosus*)

Tarika Thip-uten[1], Patcharaporn Tippayawat[2], Bundit Yuangsoi[1] and Sutee Wongmaneeprateep[1*]

[1] Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

[2] Department of Medical Technology, Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

[*] Corresponding to: sutee_8888@hotmail.com

Naresuan Phayao J. 2021;14(2):93-104.

Received; 23 October 2020; Revised: 12 February 2020; Accepted: 19 August 2021

บทคัดย่อ

กบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีการเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลายเนื่องจากเป็นสัตว์ที่ใช้ระยะเวลาและพื้นที่ในการเลี้ยงน้อย ให้ผลผลิตสูง และเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ ปัญหาที่สำคัญระหว่างการเลี้ยง คือ การเจริญเติบโตไม่เท่ากันเนื่องจากการเลี้ยงในความหนาแน่นสูงและ/หรือให้อาหารไม่เพียงพอ ทำให้เกิดการกัดกินกันเองของกบ ส่งผลทำให้ผลผลิตลดลง แม้ว่ามีการคัดขนาดกบระหว่างการเลี้ยงก็ยังไม่สามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้ ดังนั้นการงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ Spirulina (*Arthrospira platensis*) ที่ผสมในสูตรอาหารในระดับที่แตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0.0 (กลุ่มควบคุม), 1.5, 3.0, 4.5 และ 6.0 เปอร์เซ็นต์ ต่อการรอดตาย การเจริญเติบโต และค่าโลหิตวิทยาของกบนาที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ 5 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่า อัตราการรอดตาย น้ำหนักตัวสุดท้าย น้ำหนักตัวที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการแลกเนื้อของกบที่ได้รับ *A. platensis* และกบในกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่กบที่ได้รับ *A. platensis* ระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์มีค่าดีที่สุด นอกจากนั้นกบที่ได้รับ *A. platensis* ระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง haemoglobin และ haematocrit สูงที่สุด และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มควบคุม ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ *A. platensis* ที่ระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารทำให้กบนาที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์มีแนวโน้มการรอดตาย และการเจริญเติบโตดีขึ้น ซึ่งเกษตรกรสามารถใช้เป็นข้อมูลในการปรับใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงกบนาได้

คำสำคัญ: กบนา, สไปรูลินา, การรอดตาย, การเจริญเติบโต, ค่าโลหิตวิทยา

---

[1] สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

[2] สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจ วินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ ทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

Abstract

Rugose frog (*Hoplobatrachus rugulosus*), an economic species, is widely cultivated due to rapid growing, less cultivation area, short cultivation period, and domestically and internationally high demands. However, one of the major problems in its cultivation is unstable growth, resulting from high stocking density and/or unappropriated nutrition, which leads to the difference in size, frogs' cannibalism, and low production, although size measurement implemented. The objective of this research was to study the effects of Spirulina (*Arthrospira platensis*) combined in five levels, namely, 0%(control), 1.5%, 3.0%, 4.5%, and 6.0% into feeding formula to investigate survival, growth, and haematology levels of *H. rugulosus* raised in cement ponds for eight weeks. A completely randomized design (CRD) was used to conduct the five treatments with three replications. The result indicated that survival rate, final weight, weight gain, average daily gain, specific growth rate, and feed conversion ratio of *H. rugulosus* cultivated with *A. platensis* level of 4.5% was best but not significantly different ($P>0.05$). However, leukocyte, erythrocyte, haemoglobin, and haematocrit of *H. rugulosus* cultivated with *A. platensis* level of 4.5% were highest and significantly different ($P<0.05$) compared to the control group. In conclusion, the present results revealed that dietary supplementation with *A. platensis* at 4.5% level is likely to increase survival and growth performance in *H. rugulosus* that farmer could apply this information to improve their production.

Keywords: Rugose frog, Spirulina, Survival, Growth performance, Haematology

คำนำ

การเลี้ยงกบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) เป็นอาชีพที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกรอย่างมาก เนื่องจากกบเป็นสัตว์ที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว ใช้เวลาและพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการที่ได้รับความนิยมในการบริโภคสูง ประกอบกับในปัจจุบันกบนาในธรรมชาตินั้นมีจำนวนลดลง เนื่องมาจากถิ่นที่อยู่ของกบนาน้อยลง เมื่อมีความต้องการในการบริโภคกบนามากขึ้นจึงได้มีการส่งเสริมให้เกษตรกรเลี้ยงกบนาให้ได้ผลผลิตมากขึ้นตามความต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ โดยความต้องการของตลาดนั้นมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปี ซึ่งในปี พ.ศ. 2561 มีผลผลิตกบจากการเพาะเลี้ยง จำนวนทั้งสิ้น 1,795 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 124 ล้านบาท [1] โดยทั่วไปการเลี้ยงกบนั้นมีหลายรูปแบบ เช่น การเลี้ยงกบในบ่อดิน การเลี้ยงกบในบ่อซีเมนต์ และการเลี้ยงกบในกระชัง เป็นต้น โดยการปล่อยลงเลี้ยง 50-150 ตัวต่อตารางเมตร ขึ้นอยู่กับรูปแบบการเลี้ยงและการจัดการ มีการให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปตลอดการเลี้ยงและมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ อย่างไรก็ตามยังพบปัญหาการกัดกินกันเอง เนื่องจากการเลี้ยงที่มีความหนาแน่นสูงและ/หรือให้อาหารไม่เพียงพอ ทำให้ในระหว่างการเลี้ยงลูกกบเจริญเติบโตไม่เท่ากัน แม้ว่าทุก ๆ 1-2 สัปดาห์ เกษตรกรจะทำการคัดขนาดกบที่มีขนาดใกล้เคียงกันมาเลี้ยงด้วยกันเพื่อลดการกัดกินกันแล้วก็ตาม ซึ่งก็ยังประสบปัญหาเดิม รวมถึงระหว่างการคัดขนาดกบนั้นอาจทำให้กบเกิดความเครียดและบาดแผลได้ ประกอบกับคุณภาพน้ำไม่เหมาะสม ส่งผลทำให้กบเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียได้ง่ายขึ้น ซึ่งโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญ คือ โรคขาแดง (Red leg disease) ที่มีสาเหตุเกิดจาก *Aeromonas hydrophila* [2, 3, 4, 5] มีอัตราการตาย 60-80 เปอร์เซ็นต์ [6] และเมื่อกบติดเชื้อแบคทีเรียแล้ว เกษตรกรส่วนใหญ่จะใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาทำให้ยาอาจตกค้างในตัวกบได้ ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคและการส่งออกไปต่างประเทศ ซึ่งงานวิจัยที่ผ่านมานั้นได้มีการใช้ Spirulina (*Arthrospira platensis*) เป็นสารเสริมในการเจริญเติบโต กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และอัตราการรอดตาย รวมถึงในด้านอื่นๆ ของสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ปลากดเหลือง (*Hemibagrus filamentus*) ปลาอีโกง (*Mystus gulio*) ปลาทอง (*Carassius auratus*)

ปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) กบนา (*Rana rugulosa*) กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) กุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นต้น [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14] โดย Spirulina เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จัดอยู่ในวงศ์ Oscillateriaceae ทรัยโคม (trichome) ขดเป็นเกลียวห่างๆ ความสูงของเกลียว (helix) 35-50 ไมโครเมตร ระยะห่างระหว่างเกลียว (pitch) 60 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ 6-8 ไมโครเมตร [15] มีโปรตีนอยู่ประมาณ 55-70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง คาร์โบไฮเดรต 15-20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ไขมันประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง มีวิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญหลายชนิด gamma-linolenic acid (GLA), chlorophyll, carotenoids, phycocyanin และ superoxide dismutase (SOD) จึงมีคุณสมบัติทางชีวภาพออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory) และสารต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) [16, 17, 18, 19, 20, 21]

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจศึกษาผลของ *Arthrospira platensis* ที่ระดับแตกต่างกันในสูตรอาหารต่ออัตราการรอดตาย การเจริญเติบโต และค่าโลหิตวิทยาของกบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) ที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ เพื่อหาระดับที่เหมาะสมของการเสริม *A. platensis* ในอาหารในการใช้เป็นข้อมูลสำหรับการเลี้ยงกบนาเชิงพาณิชย์ ตลอดจนสามารถช่วยเพิ่มผลผลิต และรายได้ในการเลี้ยงกบนาให้แก่เกษตรกรต่อไป

วัสดุและวิธีการ

ขั้นตอนและสัตว์ทดลองในการศึกษานี้ได้ผ่านการพิจารณาและเห็นชอบจากคณะกรรมการดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นแล้ว โดยยึดหลักเกณฑ์จรรยาบรรณการใช้สัตว์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ รหัสโครงการเลขที่ จส.มข. 101/61 เลขที่ มข 0201.2.11/93 (Record No. IACUC-KKU-101/61, Reference No. 0201.2.11/93) โดยดำเนินการวิจัยดังนี้

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) แบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง (treatment, T) ในแต่ละชุดการทดลองมี 3 ซ้ำ (replication) เลี้ยงกบด้วยอาหารที่มีระดับโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ผสมด้วย *A. platensis* ที่มีระดับแตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งสามารถแบ่งเป็นชุดการทดลองได้ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 (T1) เป็นกลุ่มควบคุม คือ กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีไม่มี *A. platensis* (0 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 2 (T2) เป็นกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *A. platensis* ในปริมาณ 15 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (1.5 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 3 (T3) เป็นกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *A. platensis* ในปริมาณ 30 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (3.0 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 4 (T4) เป็นกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *A. platensis* ในปริมาณ 45กรัม ต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม (4.5 เปอร์เซ็นต์)

ชุดการทดลองที่ 5 (T5) เป็นกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *A. platensis* ในปริมาณ 60 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (6.0 เปอร์เซ็นต์)

เตรียมสัตว์ทดลองโดยนำลูกกบนาอายุ 1 เดือน จำนวน 750 ตัว (น้ำหนักประมาณ 4-5 กรัม) จากฟาร์มเพาะเลี้ยงเอกชน ตำบลฮางโฮง อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร มาอนุบาลในโรงเรือนที่ฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สาขาวิชาการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร ในถังไฟเบอร์กลาสที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 เมตร สูง 1.5 เมตร จำนวน 3 ถัง ปิดคลุมด้วยตาข่ายสีฟ้าเพื่อลดแสงสว่างและป้องกันศัตรู ให้อาหารทดลองสูตรควบคุม วันละ 2 มื้อ คือ เวลา 08.30 น. และ 16.30 น. จากนั้นสุ่มกบที่มีขนาดใกล้เคียงกันมาปรับสภาพสัตว์ทดลองนาน 1 สัปดาห์ ในบ่อซีเมนต์กลม (50 ตัวต่อบ่อ) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เมตร สูง 50 เซนติเมตร จำนวน 15 บ่อ ภายในบ่อมีน้ำอยู่ที่ระดับสูง 7 เซนติเมตร (น้ำที่นำมาใช้ในการทดลองนี้เป็นน้ำประปาที่ผ่านการพักไว้

7 วัน จนกระทั่งไม่มีคลอรีนหลงเหลือ หลังจากนั้นปรับคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการเลี้ยงกบ คือ มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 26-30 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 7.50-8.50 ค่าความเป็นด่างรวม (total alkalinity) อยู่ระหว่าง 80-150 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าแอมโมเนียรวม (total ammonia nitrogen, TAN) น้อยกว่า 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปิดคลุมบ่อด้วยตาข่ายสีฟ้า หลังจากสิ้นสุดการปรับสภาพสัตว์ทดลองทำการชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของกบ (น้ำหนักประมาณ 10 กรัม) และให้อาหารทดลองแยกตามชุดการทดลองจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง

การเตรียมอาหารทดลองในการศึกษาครั้งนี้ ใช้ *A. platensis* ที่อยู่ในรูปผงสำเร็จรูป (Marine Leader Co., Ltd.) มีโปรตีน 62 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ในปริมาณตามแต่ละชุดการทดลอง คำนวณความต้องการโภชนะของกบตาม Somsueb and Boonyaratpalin [22] **(ตาราง 1)** อัดเม็ดอาหารด้วยเครื่องอัดเม็ดอาหารลอยน้ำ (floating pellet extruder) จากนั้นนำอาหารไปอบด้วยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้อาหารมีความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ บรรจุอาหารใส่ภาชนะที่สะอาดและปิดสนิท แยกแต่ละสูตรสำหรับนำไปใช้เลี้ยงกบทดลอง หลังจากนั้นนำตัวอย่างอาหารทดลองแต่ละสูตรวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง (dry matter, DM) เถ้า (ash) โปรตีน (crude protein, CP) ไขมัน (ether extract, EE) และเยื่อใย (crude fiber, CF) โดยวิเคราะห์ตามวิธี AOAC [23] คำนวณค่าคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย (nitrogen free extract, NFE) และค่าพลังงานที่ย่อยได้ (digestible energy, DE) ตามวิธี NRC [24] องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองแต่ละชุดการทดลองแสดงใน **ตาราง 1**

ตาราง 1 วัตถุดิบและองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

Ingredients (kg)	*Arthrospira platensis* levels in dietary (%)				
	0.00	1.50	3.00	4.50	6.00
	(T1)	(T2)	(T3)	(T4)	(T5)
Fish meal (55 %CP)	45	40	39.5	38	34
Soybean meal (45 %CP)	26	29	28	27	30
Rice bran	12	15	15	16	16
Broken rice	14	11.5	11.5	11.5	11
Arthrospira platensis meal (62 %CP)	0.00	1.50	3.00	4.50	6.00
Fish oil	1	1	1	1	1
alpha starch	1	1	1	1	1
*/Premix vitamin-mineral for aquatic animals (SUN-MIX®)	1	1	1	1	1
Total	100	100	100	100	100
Nutrient composition by analysis					
Dry matter (DM)	88.83	88.84	88.89	88.92	88.90
	---------- % of DM ----------				
Organic matter (OM)	87.45	88.08	88.13	88.13	88.94
Crude protein (CP)	40.00	39.93	40.15	39.96	40.15
Ether extract (EE)	17.01	17.21	17.26	17.40	17.17
Crude fiber (CF)	2.34	2.74	2.79	2.91	3.12
†/Nitrogen free extract (NFE)	28.92	29.52	29.47	29.84	30.58
Energy content, protein: energy ratio and feed cost calculated					
‡/Apparent Digestible Energy (DE, kcal/kg)	3208	3115	3094	3049	3036
DE: Protein ratio (kcal/ g Protein)	8.02	7.80	7.71	7.63	7.56
Protein: DE (mg Protein/kcal DE)	124.67	128.18	129.74	131.01	132.21
Price (Baht/kg)	29.94	33.52	38.38	42.90	46.84

*/Premix vitamin-mineral for aquatic animals (SUN-MIX®): of 1 kg has Vitamin-A 500,000 IU, Vitamin-D3 100,000 IU, Vitamin-E 5,000 mg, Vitamin-K 2,000 mg, Vitamin-B1 2,500 mg. Vitamin-B2 1,000 mg, Vitamin-B6 1,000 mg, Vitamin-C 10,000 mg, Vitamin-B12 10 mg, niacin 3,000 mg, pantothenic acid 3,000 mg, folic acid 300 mg, inositol 1,000 mg, biotin 10 mg and full filling media substrate 1,000 g.

†/Nitrogen free extract (NFE) (%) = 100 - % (Crude protein - Crude lipid - Crude fiber - total ash - moisture) [16]

‡/Digestible energy (DE) (kcal/100g) = (%Protein x3.5) + (%Lipid x 8.0) + (%NFE x2.5) [16]

*ราคาวัตถุดิบอาหารสัตว์ ณ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561 จากสหกรณ์โคนมภูพานจำกัด อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร

ส่วนการให้อาหารทดลองให้ที่ระดับปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว วันละ 2 มื้อ คือ เวลา 08.30 น. และ 16.30 น. วางถาดอาหารบนวัสดุลอยน้ำ (แผ่นโฟมเนื้อแน่น) เพื่อให้กบขึ้นมาอาศัยและกินอาหาร นอกจากนั้นทำการสังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกบแต่ละบ่อว่าสามารถกินอาหารได้หมด

การจัดการเลี้ยงในระหว่างการทดลองมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกๆ 2 วัน และเก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อทดลองมาวิเคราะห์ ในห้องปฏิบัติการทุกวันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมกับการเลี้ยงกบ [25] โดยวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำและอุณหภูมิของน้ำด้วยเครื่อง Multi-parameter meter รุ่น CyberScan PCD650, Eutech Instruments ส่วนค่าความเป็นด่างรวม และแอมโมเนียรวมวิเคราะห์ตามวิธีของ APHA et al. [26]

สำหรับการเก็บรวบรวมข้อมูลเมื่อเลี้ยงกบนาด้วยอาหารผสม *A. platensis* ครบ 8 สัปดาห์ จะทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต และค่าโลหิตวิทยาของกบนา โดยค่าการเจริญเติบโต จะทำการชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของกบ (initial body weight, IBW; g) ด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล และชั่งน้ำหนักกบทุก 2 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง จะทำการเก็บข้อมูลน้ำหนักสุดท้าย (final body weight, FBW; g.) จากนั้นคำนวณหาค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain, WG; g.) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (average daily gain, ADG; g/day) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR; %/day) อัตราการแลกเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) และบันทึกจำนวนกบที่เหลือเพื่อคำนวณหาอัตราการรอดตาย (survival rate, SR; %)

การเก็บข้อมูลค่าโลหิตวิทยา โดยตรวจวัดจากปริมาณเม็ดเลือดขาว (leukocyte; x $10^3/\mu L$) เม็ดเลือดแดง (erythrocyte; x $10^3/\mu L$) haemoglobin (HGB; g/dL) และ haematocrit (HCT; %) ด้วยเครื่อง Sysmex automatic blood count machine model XS-800i (Automate blood analyzer : XS-800i) (WI-CL-H-001) โดยทำการสุ่มกบนาจำนวน 5 ตัวต่อบ่อ (15 ตัวต่อชุดการทดลอง) ทำการสลบโดยการสเปรย์ด้วยสาร isoflurane ตามวิธีของ Smith and Stump [27] และเก็บเลือดโดยการเจาะหัวใจ (cardiac puncture) ตามวิธีของ Heatley et al. [28] เนื่องจากเลือดในตัวกบที่เจาะได้มีปริมาณค่อนข้างน้อย จึงทำการรวมเลือดของกบในชุดการทดลองเดียวกันเข้าด้วยกันใส่ในหลอดเก็บเลือดที่เคลือบด้วยสาร EDTA (ใน 1 หลอดมีเลือดจากกบ 2-3 ตัวจากชุดการทดลองเดียวกัน) สำหรับแบ่งไปตรวจหาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ทางด้านโลหิตวิทยา โดยแต่ละค่าในทุกชุดการทดลองทำการตรวจ 3 ซ้ำ

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรม SAS version 9.0

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาการเลี้ยงกบนาที่มีน้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 10 กรัม ด้วยอาหารที่ระดับโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณ *Arthrospira platensis* ที่แตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0.0 (กลุ่มควบคุม), 1.5, 3.0, 4.5 และ 6.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แสดงใน **ตาราง 2** พบว่า อัตราการรอดตาย น้ำหนักตัวสุดท้าย น้ำหนักตัวที่เพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการแลกเนื้อของกบนาที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มี *A. platensis* ที่ระดับแตกต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยกบที่ได้รับ *A. platensis* ในระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตดีกว่ากบที่ได้รับอาหารสูตรอื่น คือ มีอัตราการรอดตาย 70.18 ± 1.71 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักตัวสุดท้าย 67.45 ± 2.20 กรัม น้ำหนักตัวที่เพิ่ม 56.88 ± 0.13 กรัม อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน 1.30 ± 0.14 กรัมต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ 5.25 ± 1.23 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และอัตราการแลกเนื้อ 0.95 ± 0.03

ตาราง 2 น้ำหนัก น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการแลกเนื้อและอัตราการรอดตายของกบนา (*Hoplobatrachus rugulosus*) ที่ได้รับอาหารผสม *Arthrospira platensis* แตกต่างกัน

Parameters	Weeks	*Arthrospira platensis* levels (%)				
		T1 (0.0)	T2 (1.5)	T3 (3.0)	T4 (4.5)	T5 (6.0)
Body weight (BW), g/frog	0	10.53±0.02	10.64±0.05	10.56±0.03	10.57±0.04	10.47±0.02
	2	20.12±2.82	19.81±2.43	20.66±2.12	22.59±2.13	19.99±2.65
	4	35.14±2.88^{bc}	38.27±2.90^{ab}	34.20±2.78^{c}	40.33±2.24^{a}	33.89±2.27^{c}
	6	47.29±2.06^{c}	52.84±2.25^{b}	54.18±2.68^{b}	57.88±2.53^{a}	51.61±2.91^{b}
	8	64.24±2.23	64.63±3.52	65.50±2.15	67.45±2.20	62.00±2.25
Weight gain (WG), g	2	9.59±0.13	9.17±0.31	10.10±0.20	12.02±0.13	9.52±0.40
	4	24.61±0.03	27.63±0.13	23.64±0.08	29.76±0.70	23.42±0.11
	6	36.76±0.08^{c}	42.20±0.03^{b}	43.62±0.13^{b}	47.31±0.20^{a}	41.14±0.25^{b}
	8	53.71±0.13	53.99±0.23	54.94±0.20	56.88±0.13	52.53±0.21
Average daily gain (ADG), g/frog/day	2	0.50±0.32	0.54±0.44	0.58±0.50	0.61±0.31	0.66±0.25
	4	1.07±0.29^{abc}	1.31±0.41^{a}	0.96±0.32^{c}	1.26±0.39^{ab}	0.99±0.40^{c}
	6	1.04±0.01	1.03±0.03	1.07±0.03	1.20±0.04	1.12±0.02
	8	1.24±0.12	1.25±0.15	1.26±0.05	1.30±0.14	1.23±0.03
Specific growth rate (SGR), %/day	2	3.54±1.18	3.65±2.11	3.66±2.14	3.73±2.10	3.63±1.52
	4	4.00±1.08	4.17±1.50	3.78±1.41	4.19±1.26	3.83±1.61
	6	4.67±1.28	4.56±1.30	4.64±1.77	4.69±1.47	4.53±1.41
	8	5.05±1.25	5.18±1.26	5.19±1.68	5.25±1.23	4.77±1.74
Feed conversion ratio (FCR)	2	0.64±0.13^{b}	0.69±0.75^{a}	0.66±0.46^{ab}	0.64±0.07^{c}	0.66±0.03^{c}
	4	0.73±0.03	0.74±0.05	0.78±0.04	0.68±0.10	0.75±0.03
	6	0.85±0.06	0.86±0.07	0.87±0.05	0.81±0.0 7	0.84±0.06
	8	1.04±0.02	1.02±0.03	1.05±0.04	0.95±0.03	1.07±0.02
Survival rate (SR), %	0	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00
	2	84.88±1.62	84.44±1.52	86.67±1.10	86.33±1.67	83.33±1.25
	4	73.33±1.33	72.22±1.72	74.44±1.62	75.22±1.88	71.22±1.72
	6	69.33±1.23	70.89±1.39	69.84±1.62	72.15±1.88	67.78±1.36
	8	67.25±1.47	69.30±1.18	68.00±1.92	70.18±1.71	66.50±1.32

Values are means of three replicates ± SD. Means with the different superscript letters are significantly different (P<0.05)

ส่วนคุณภาพน้ำในบ่อทดลอง ตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์ แสดงใน **ตาราง 3** พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อุณหภูมิของน้ำ ความเป็นด่างรวม และแอมโมเนียรวมของทุกกลุ่มการทดลองอยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงกบ [17] และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตาราง 3 คุณภาพน้ำในบ่อทดลอง ตลอดระยะเวลาการศึกษา

Parameters	*Arthrospira platensis* levels (%)				
	T1 (0.0)	T2 (1.5)	T3 (3.0)	T4 (4.5)	T5 (6.0)
pH	8.72±0.22	8.66±0.20	8.56±0.25	8.63±0.18	8.59±0.13
Dissolved oxygen (mg/L)	7.52±2.60	7.60±2.50	7.45±2.66	7.64±2.60	7.75±2.54
Water temperature ($^{\circ}$C)	29.53±1.20	29.75±0.89	29.80±1.12	30.02±0.92	29.81±1.23
Total alkalinity (mg/L as $CaCO_3$)	126±1.45	125±1.62	127±1.52	128±1.48	129±1.46
Total ammonia-nitrogen (mg/L)	0.02±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01

Values are means of three replicates ± SD. Means with the different superscript letters are significantly different (P<0.05)

สำหรับค่าโลหิตวิทยาของกบนา แสดงไว้ใน **ตาราง 4** พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง haemoglobin และ haematocrit ของกบนาได้รับ *A. platensis* ที่ระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นระเวลา 8 สัปดาห์ มีปริมาณเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง ค่า haemoglobin และ haematocrit สูงที่สุด และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ *A. platensis*

ตาราง 4 ค่าโลหิตวิทยาของกบนาที่ได้รับ *Arthrospira platensis* ในอาหารต่างกัน 5 ระดับ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

Parameters	*Arthrospira platensis* levels in diet (%)				
	T1 (0.0)	T2 (1.5)	T3 (3.0)	T4 (4.5)	T5 (6.0)
leukocyte, x $10^3/\mu$L	261.77±2.32^{b}	333.28±74.20^{a}	345.84±32.95^{a}	362.96±1.02^{a}	289.82±35.04^{b}
erythrocyte, x $10^3/\mu$L	120.00±0.02^{b}	100.00±0.02^{b}	130.00±0.06^{b}	190.00±0.10^{a}	120.00±0.06^{b}
haemoglobin (HGB), g/dL	7.56±0.015^{b}	7.68±0.26^{b}	7.73±1.63^{b}	9.16±1.48^{a}	7.53±1.21^{b}
haematocrit (HCT), %	2.56±0.10^{c}	2.96±0.42^{b}	2.76±1.12^{b}	4.73±2.29^{a}	2.40±0.49^{c}

Values are means of three replicates ± SD. Means with the different superscript letters are significantly different (P<0.05)

วิจารณ์

ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ *Arthrospira platensis* ในสูตรอาหารช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและการรอดตายของกบนาให้มีแนวโน้มที่ดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกบนาที่ได้รับ *A. platensis* ในสูตรอาหารที่ระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการเจริญเติบโต (น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการแลกเนื้อ) และอัตราการรอดตายดีที่สุด เช่นเดียวกันกับค่าโลหิตวิทยา (ปริมาณเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง ค่า haemoglobin และ haematocrit) ที่สูงกว่าชุดการทดลองอื่น สอดคล้องกับผลการศึกษาที่รายงานผลของการเสริม *A. platensis* ที่ให้เป็นอาหารกับสัตว์น้ำหลายชนิด โดย Boonta et al. [12] ที่ศึกษาผลของอาหารผสม *A. platensis*, *Cladophora* sp.และ *Allium sativum* ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ในอาหารกบนา (*Rana rugulosa*) ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 280 กรัม เลี้ยงเป็นเวลา 120 วัน ในบ่อซีเมนต์ พบว่า ในด้านการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย กบที่ได้รับอาหารผสม *A. platensis* ระดับ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่ากบที่ได้รับอาหารผสม *Allium sativum* 5.0 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสม *Cladophora* sp. 5.0 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เช่นเดียวกับ Patchanee and Arunkamol [8] ที่รายงานว่าปลากดเหลือง (*Hemibagrus filamentus*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม *A. platensis* ในรูปแบบสด 4 ระดับ คือ

0 (กลุ่มควบคุม), 5, 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม *A. platensis* มีอัตราการรอดตาย อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการแลกเนื้อดีกว่าปลาในกลุ่มควบคุม ส่วน Limhang et al. [9] รายงานว่าลูกปลาอีโกง (*Mystus gulio*) ที่ได้รับอาหารผสม *A. platensis* 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการแลกเนื้อดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ *A. platensis* ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) เช่นเดียวกับ Ibrahem et al. [7] พบว่า ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่รับ *A. platensis* ในปริมาณ 5, 7.5, 10, 15 และ 20 กรัม ต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม มีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายสูง (P<0.05) กว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม Dernekbasi et al. [29] ได้ศึกษาผลของการเสริมอาหารด้วย *A. platensis* ในระดับ 0, 10, 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการแลกเนื้อในปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*) พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา แต่การเสริมอาหารด้วย *A. platensis* ในระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ให้อัตราการแลกเนื้อดีที่สุด เช่นเดียวกับ Teimouri et al. [11] ทำการศึกษาผลของ *A. platensis* ผสมในอาหารปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ที่ระดับ 0.0, 2.5, 5.0, 7.5 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา แต่พบว่าที่ระดับ 7.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการสะสมเม็ดสีในเนื้อ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของปลา ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณการใช้สารเสริมสารอาหารต่างๆ รวมถึง *A. platensis* ในอาหารสัตว์น้ำนั้นขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้ประโยชน์ และต้องคำนึงถึงชนิด ขนาด และอายุของสัตว์น้ำรวมถึงปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องระหว่างการเลี้ยงอีกด้วย เพื่อให้สัตว์น้ำสามารถนำสารอาหารต่างๆ ไปใช้ในการเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด [24]

ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า กบนาที่ได้รับ *A. platensis* ที่ระดับ 1.5, 3.0 และ 4.5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตในด้านน้ำหนักตัวสุดท้าย น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) อย่างไรก็ตาม พบว่า กบนาที่ได้รับ *A. platensis* ที่ระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักตัวสุดท้ายและน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูง (P<0.05) กว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ *A. platensis* ในสัปดาห์ที่ 6 นอกจากนั้นยังพบว่ากบนาที่ได้รับ *A. platensis* ในระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 8 ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากใน *A. platensis* ที่นอกจากมีโปรตีนสูงแล้ว ยังมีกรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญหลายชนิด รวมถึง GLA, chlorophyll, carotenoids, phycocyanin และ SOD จึงมีคุณสมบัติช่วยในการเจริญเติบโตและออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันและสารต้านการอักเสบ [18, 21] สอดคล้องกับรายงานของ Abdel-Tawwab and Ahmad [30] ที่ให้ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ได้รับอาหารผสม *A. platensis* ในระดับต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ หลังจากนั้นฉีดด้วย *Aeromonas hydrophila* พบว่า ปลาที่ได้รับ *A. platensis* ในปริมาณ 5-10 กรัม ต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม มีการเจริญเติบโต และสามารถต้านทานเชื้อได้ดีจึงมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มการทดลองอื่น เช่นเดียวกับการทดลองของ Ibrahem et al. [7] ที่ได้การศึกษาบทบาทของ *A. platensis* ต่อการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกันและการต้านทาน *Pseudomonas fluorescens* ของปลานิลที่พบว่า ปลานิลที่รับอาหารผสม *A. platensis* ในปริมาณ 10 กรัม ต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 2 เดือน มีการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกัน และความสามารถในการต้านทานเชื้อดีกว่ากลุ่มการทดลองอื่น

นอกจากนั้นจากผลการศึกษาพบว่า กบนาที่ได้รับอาหารผสม *A. platensis* ที่ระดับ 6.0 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตต่ำกว่ากบนาที่ได้รับอาหารผสม *A. platensis* ที่ระดับ 0.0, 1.5, 3.0 และ 4.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการสังเกตพฤติกรรมการกินอาหารของกบ พบว่า กบนาที่ได้รับอาหารผสม *A. platensis* 6.0 เปอร์เซ็นต์ กินอาหารในปริมาณที่น้อยกว่าชุดการทดลองอื่น อาจเกิดจากการเสริม *A. platensis* ในระดับที่ปริมาณสูงเกินไปเนื่องจากกบนาเป็นสัตว์ที่กินเนื้อจำพวกแมลง (insectivore) จึงส่งผลต่อการย่อยอาหารของกบ [12] สอดคล้องกับผลการ

ทดลองของ Kiriratnikom et al. [10] ที่พบว่า การเสริม *A. platensis* ในอาหารที่ระดับ 3.0 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้อัตราการเจริญเติบโตของปลาทอง (*Carassius auratus*) มีค่าสูงสุด แต่การเสริม *A. platensis* 5 เปอร์เซ็นต์ กลับทำให้อัตราการเจริญเติบโตของปลาทองลดลง และรายงานของ Liao et al. [13] ที่พบว่า การเสริม *Arthrospira* sp. 5.0 เปอร์เซ็นต์ในอาหารกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ทำให้กุ้งมีการเจริญเติบโตต่ำกว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้เสริม *Arthrospira* sp. จะเห็นได้ว่า *Arthrospira* sp. เป็นแหล่งโปรตีนที่มีศักยภาพสูงสำหรับอาหารสัตว์ เนื่องจากมีโปรตีนสูง และประกอบด้วยวิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญหลายชนิด แต่ในการใช้ *A. platensis* ที่ระดับสูงเกินไปในอาหารนั้นสามารถเป็นพิษและส่งผลเสียต่ออัตราการรอดตายและการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำได้ [18] โดยระดับการเสริม *A. platensis* ที่เหมาะสมนั้นจึงแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำ พฤติกรรมการกินอาหาร รวมถึงความสามารถในการย่อยได้

อย่างไรก็ตามอัตราการรอดตายของกบในการทดลองครั้งนี้มีค่าอยู่ระหว่าง 66.50-70.18 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากในการทดลองไม่ได้คัดขนาดของกบทำให้กบในบ่อเดียวกันมีขนาดต่างกันและเกิดการกินกันเอง ถึงแม้จะให้อาหารเพียงพอในบ่อแล้วก็ตาม ซึ่งในสภาพการเลี้ยงจริงเกษตรกรจะทำการคัดขนาดกบทุกๆ 1-2 สัปดาห์ต่อครั้ง เพื่อไม่ให้กบตัวใหญ่กินกบเล็ก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Boonta et al. [12] ที่ทำการทดลองเลี้ยงกบนา (*Rana rugulosa*) ด้วยอาหารผสม *A. platensis*, *Cladophora* sp. และ *Allium sativum* ที่ระดับ 5.0 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ไม่ได้ทำการคัดขนาดกบระหว่างที่เลี้ยงส่งผลให้กบมีขนาดต่างกันและเกิดการกินกันเองภายในบ่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ยังแสดงให้เห็นว่าค่าโลหิตวิทยา (ปริมาณเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง haemoglobin และ haematocrit) ของกบนาที่ได้รับ *A. platensis* ที่ระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารมีค่าเพิ่มสูงขึ้น และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ *A. platensis* โดยปริมาณเม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดงที่เพิ่มสูงขึ้นนั้นสามารถบ่งชี้ถึงสุขภาพของกบได้ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดสูงกว่าชุดการทดลองอื่น สอดคล้องกับการรายงานของ Khalil et al. [31] ที่ศึกษาผลของการใช้ *A. platensis* ในสูตรอาหารต่อการต้านทานโรคและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในปลา *Cyprinus carpio* ที่พบว่า *A. platensis* ช่วยเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวให้สูงขึ้นช่วยให้ปลา *C. carpio* สามารถต้านทานต่อการเกิดโรคได้ เช่นเดียวกับ Adel et al. [32] ที่ศึกษาผลของการเสริม *A. platensis* ในอาหารต่อการเจริญเติบโต การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรค ในปลา great sturgeon (*Huso huso*) ซึ่งรายงานว่าการใช้ *A. platensis* ในสูตรอาหารที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และการต้านทานต่อเชื้อ *Streptococcus iniae* ได้ดี ($P<0.05$) กว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ Cao et al. [33] ที่ศึกษาผลของการใช้ *A. platensis* ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโต การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและความต้านทานต่อการติดเชื้อ *A. hydrophila* ในปลา gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III) ซึ่งรายงานว่าช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน

ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ *A. platensis* ในปริมาณ 45 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (ที่ระดับ 4.5 เปอร์เซ็นต์) เป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับเกษตรกรสามารถนำไปปรับใช้ในการเลี้ยงกบนาในบ่อซีเมนต์ เนื่องจากทำให้อัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของกบนามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร สำหรับทุนสนับสนุนผ่านทางทุนอุดหนุนโครงการศึกษาต่อในระดับที่สูงขึ้น งบประมาณประจำปี 2557 และบุคลากรที่ฟาร์มสาขาวิชาการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร และบุคลากรที่สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ และสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Fishery Statistics Analysis and Research Group. Statistics of Freshwater Aquaculture Production 2018. Bangkok: Fisheries Development Policy and Strategy Division. Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives; 2020.
2. Glorioso JC, Amborski RL, Amborski GF, Culley DC. Microbiological studies on septicemic bullfrogs (*Rana catesbeiana*). Am J Vet Res. 1974; 35: 1241-1245.
3. Hird DJ, Diesch SL, McKinnell RG, Gorham E, Martin FB, Kurtz SW, et al. *Aeromonas hydrophila* in wild-caught frogs and tadpoles (*Rana pipiens*) in Minnesota. Lab Anim Sci. 1981; 31: 166-169.
4. Nyman S. Mass mortality in larval *Rana sylvatica* attributable to the bacterium, *Aeromonas hydrophila*. J Herpetol. 1986; 20: 196-201.
5. Taylor SK, Green DE, Wright KM, Whitaker BR. Bacterial Diseases. In: Wright KM, Whitaker BR, editors. Amphibian Medicine and Captive Husbandry, Original ed. Florida: Krieger Publishing Company; 2001. p. 159-179.
6. Chinabut S, Areekij S. Comparative study on the integumentary system of tadpole and adult frog (*Rana tigerina*). Proceeding of the Department of Fisheries of Thailand Annual Seminar; 1995; Bangkok, Thailand.
7. Ibrahem MD, Mohamed MF, Ibrahim MA. The role of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) in growth and immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its resistance to bacterial infection. J Agric Sci. 2013; 5(6): 109-117.
8. Patchanee N, Arunkamol S. Effects of *Spirulina platensis* supplemented diets on growth of green catfish (*Hemibagrus filamentus* Fang & Chaux, 1949). J Fish Tech Res. 2017; 11(2): 1-10.
9. Limhang K, Lounsiri B, Horsiwalai P, Wuttiwichayanan W, Silarudee K. Effect of *Spirulina platensis* on growth performance and survival rates of long-whiskered catfish (*Mystus gulio*). Khon Kaen Agr J. 2016; 44 (Suppl. 1): 656-661.
10. Kiriratnikom S, Zaau R, Suwanpugdee, A. Effects of various levels of *Spirulina* on growth performance and pigmentation in goldfish (*Carassius auratus*). Songklanakarin J Sci Technol. 2005; 27(Suppl. 1): 133-139.
11. Teimouri M, Amirkolaie AK, Yeganeh S. The effects of *Spirulina platensis* meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 2013; 369-399: 14-19.
12. Boonta T, Chitmanut C, Promya J. Effects of *Spirulina platensis*, *Cladophora* sp. and *Allium sativum* supplementary diets on growth performance, reproductive maturity, and phagocytic activity in common lowland frog (*Rana rugulosa*). J Fish Tech Res. 2012; 6(1): 23-35.
13. Liao WL, Nur-E-Borhan SA, Okada S, Matsui T, Yamaguchi K. Pigmentation of culture black tiger prawn by feeding with a *Spirulina*-supplemented diet. Nippon Suisan Gakk. 1993; 59(1): 159-165.
14. Chen YY, Chen JC, Tayag CM, Li HF, Putra DF, Kuo YH, Bai JC, Chan YH. Spirulina elicits the activation of innate immunity and increases resistance against *Vibrio alginolyticus* in shrimp. Fish Shellfish Immunol. 2016; 55: 690-698.

15. Wongrat L. Phytoplankton, 1st ed. Bangkok: Kasetsart University Press; 1999
16. Phang SM, Chu WL. Catalogue of Strains, University of Malaya Algae Culture Collection (UMACC). Institute of Postgraduate Studies and Research. Kuala Lumpur: University of Malaya; 1999.
17. Soheili M, Khosravi-Darani K. The potential health benefits of algae and micro algae in medicine: a review on *Spirulina platensis*. Curr Nutr Food Sci. 2011; 27: 279-285.
18. Gutiérrez-Salmeán G, Fabila-Castillo L, Chamorro-Cevallos G. Nutritional and toxicological aspects of *Spirulina* (*Arthrospira*). Nutr Hosp. 2015; 32 (1): 34-40.
19. Mathur M. Bioactive Molecules of *Spirulina*: A Food Supplement. In: Mérillon JM, Ramawat K, editors. Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2018. p. 1621-1642.
20. Menegotto AL, Souza LE, Colla LM, Costa JA, Sehn E, Bittencourt PR, et al. Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food enrichment. LWT-Food Sci Technol. 2019; 114: 108267.
21. Brito AdF, Silva AS, de Oliveira CVC, de Souza AA, Ferreira PB, de Souza ILL, et al. *Spirulina platensis* prevents oxidative stress and inflammation promoted by strength training in rats: dose-response relation study. Sci Rep. 2020; 10: 6382.
22. Somsueb P, Boonyaratpalin M. Optimum protein and energy levels for the Thai native frog, *Rana rugulosa* Weigmann. Aquac Res. 2001; 32(1): 33-38.
23. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis, 15th ed. Washington, DC: The Association of Official Analytical Chemists; 1990.
24. NRC (National Research Council). Nutrition Requirement of Fish. Washington, DC: National Academy Press; 1993.
25. Mansano CF, Vanzela LS, Américo-Pinheiro JH, Macente BI, Khan KU, Fernandes, JB. Importance of Optimum Water Quality Indices in Successful Frog Culture Practices. In: Gökçe D, editor. Limnology: Some New Aspects of Inland Water Ecology. London: IntechOpen Ltd. 2018. p. 133-154.
26. APHA, AWWA, and WEF (American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation). Standard Methods for examination of water and wastewater. 22nd ed. Washington, DC: American Public Health Association; 2012.
27. Smith JM, Stump KC. Isoflurane anesthesia in the African clawed frog (*Xenopus laevis*). Contemp Top Lab Anim Sci. 2000; 39(6): 39-42.
28. Heatley JJ, Johnson M. Clinical technique: Amphibian hematology: A practitioner's guide. J Exotic Pet Med. 2009; 18(1): 14-19.
29. Dernekbasi S, Una H, Karayucel I, Aral O. Effect of dietary supplementation of different rates of Spirulina (*Spirulina platensis*) on growth and feed conversion in Guppy (*Poecilia reticulata* Peters, 1860). J Anim Vet Adv. 2010; 9(9): 1395-1399.

30. Abdel-Tawwab M, Ahmad MH. Live Spirulina (*Arthrospira platensis*) as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), challenged with pathogenic *Aeromonas hydrophila*. Aquac Res. 2009; 40: 1037-1046.
31. Khalil SR, Reda RM, Awad A. Efficacy of *Spirulina platensis* diet supplements on disease resistance and immune-related gene expression in *Cyprinus carpio* L. exposed to herbicide atrazine. Fish Shellfish Immunol. 2017; 67: 119-128.
32. Adel M, Yeganeh S, Dadar M, Sakai M, Dawood MAO. Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, humoral and mucosal immune responses and disease resistance in juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus,1754). Fish Shellfish Immunol. 2016; 56: 436-444.
33. Cao S, Zhang P, Zou T, Fei S, Han D, Jin J, Liu H, Yang Y, Zhu X, Xie S. Replacement of fishmeal by Spirulina *Arthrospira platensis* affects growth, immune related-gene expression in gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III), and its challenge against *Aeromonas hydrophila* infection. Fish Shellfish Immunol. 2018; 79: 265-273.