เอกสารวิชาการฉบับที่ ๘/๒๕๖๐

Technical Paper No. 8/2017

ผลของการเสริมยีสต์มีชีวิต (*Saccharomyces cerevisiae*) ในอาหารเม็ดต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลากระบอกท่อนใต้ *Ellochelon vaigiensis* (Quoy and Gaimard, 1825)

Effects of Supplementary Live Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Diet on Growth Performance and Immune Respond of Squaretail Mullet; *Ellochelon vaigiensis* (Quoy and Gaimard, 1825)

อรกัญญา เม่งหยู Ornkanya Mengyu
อำไพ ล่องลอย Amphai Longloy
สามารถ เดชสถิตย์ Samart Detsathit

กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง Coastal Aquaculture Research and Development Division
กรมประมง Department of Fisheries
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๘/๒๕๖๐

Technical Paper No. 8/2017

ผลของการเสริมยีสต์มีชีวิต (*Saccharomyces cerevisiae*) ในอาหารเม็ดต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลากระบอกท่อนใต้ *Ellochelon vaigiensis* (Quoy and Gaimard, 1825)

Effects of Supplementary Live Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Diet on Growth Performance and Immune Respond of Squaretail Mullet; *Ellochelon vaigiensis* (Quoy and Gaimard, 1825)

อรกัญญา เม่งหยู Ornkanya Mengyu
อำไพ ล่องลอย Amphai Longloy
สามารถ เดชสถิตย์ Samart Detsathit

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงชายฝั่ง เขต 4 (กระบี่)
กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง
กรมประมง

Coastal Aquaculture Research and Development Regional Center 4 (Krabi)
Coastal Aquaculture Research and Development Division
Department of Fisheries

๒๕๖๐

2017

รหัสทะเบียนวิจัย 60-3-0109-60094

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	4
วิธีดำเนินการ	4
1. การวางแผนการทดลอง	4
2. สถานที่ศึกษา และระยะเวลาการทดลอง	4
3. วิธีการทดลอง	4
4. การเก็บข้อมูล	10
5. การวิเคราะห์ข้อมูล	10
ผลการทดลอง	11
1. การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน	11
2. องค์ประกอบเลือดและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน	13
3. องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน	14
4. ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันกับประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา ในสิ่งขับถ่ายของปลาและในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้	15
วิจารณ์ผล	19
สรุปผลและข้อเสนอแนะ	24
คำขอบคุณ	24
เอกสารอ้างอิง	24

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีและจุลชีวะในอาหารเม็ดเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน	7
2	การเจริญเติบโต ค่าดัชนีตับ ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ อัตรารอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน	13
3	องค์ประกอบเลือดและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน	14
4	องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน	14

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์ยีสต์มีชีวิตเฉลี่ย (viable yeast) ในอาหารเสริมยีสต์ระดับต่างกันตามระยะเวลาการเก็บรักษา	6
2	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน	11
3	ความยาวเหยียดเฉลี่ย (เซนติเมตร) ของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน	12
4	ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศ (aerobic microbial) และ *Vibrio* spp. ในลำไส้ปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/กรัม)	15
5	ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศ (aerobic microbial) และ *Vibrio* spp. ในสิ่งขับถ่ายของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/กรัม)	16
6	ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศ (aerobic microbial) และ *Vibrio* spp. ในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/มิลลิลิตร)	16
7	ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria:LAB) ในลำไส้ปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/กรัม)	17
8	ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria:LAB) ในสิ่งขับถ่ายของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/กรัม)	18
9	ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria:LAB) ในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/มิลลิลิตร)	18

ผลของการเสริมยีสต์มีชีวิต (*Saccharomyces cerevisiae*) ในอาหารเม็ดต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลากระบอกท่อนใต้ *Ellochelon vaigiensis* (Quoy and Gaimard, 1825)

อรกัญญา เม่งหยู* อำไพ ล่องลอย และ สามารถ เดชสถิตย์
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 4 (กระบี่)

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของการเสริมยีสต์มีชีวิต (live yeast) *Saccharomyces cerevisiae* ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งในอาหารเม็ดลอยน้ำสำหรับปลาทะเล เพื่อหาระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร อัตรารอดตาย การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลากระบอกท่อนใต้ ขนาดน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 13.76±2.76 กรัม เลี้ยงในกระชังขนาด 2x2x1.5 เมตร ที่แขวนอยู่ในบ่อดิน จำนวน 200 ตัว/กระชัง เป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง มีค่าการเจริญเติบโตสูงที่สุด ($P<0.05$) ส่วนค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าดีที่สุดใกล้เคียงกับระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) แต่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.1, 1.0 เปอร์เซ็นต์และอาหารที่ไม่เสริมยีสต์ ($P<0.05$) ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์มีอัตรารอดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และการเสริมยีสต์ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ยังช่วยส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะสูงกว่าปลาในกลุ่มอื่น ($P<0.05$) โดยเฉพาะการทำงานของ lysozyme และระบบ complement (ACH 50) นอกจากนั้นอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับ 0.1-1.0 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งไม่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนในเนื้อปลากระบอกท่อนใต้ ($P>0.05$) แต่ทำให้ไขมันในเนื้อปลาต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์ ($P<0.05$)

การศึกษาความสามารถของยีสต์ในการเคลื่อนที่เข้าไปอยู่อาศัยในลำไส้ปลากระบอกท่อนใต้และความสัมพันธ์ระหว่างยีสต์ที่เสริมในอาหารต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา ทดลองเลี้ยงปลาในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ายีสต์สามารถเคลื่อนที่เข้าไปอาศัยในลำไส้ปลาได้สูงสุดในสัปดาห์ที่ 2 โดยการเสริมยีสต์ระดับ 0.2-1.0 เปอร์เซ็นต์อย่างต่อเนื่อง ทำให้ยีสต์สามารถเข้าไปเกาะติดอยู่ในลำไส้ปลาที่ระดับ 3.2×10^{3}-1.7×10^{4} CFU/กรัม ตามสัดส่วนของยีสต์ได้นานอย่างน้อย 3 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสัปดาห์ที่ 4 พบว่าปลาที่อดอาหาร 3 วันยีสต์สามารถเกาะติดอยู่ในลำไส้ปลาได้ในระดับ 1.0×10^{3}-1.9×10^{3} CFU/กรัม เนื่องจากยีสต์ส่วนใหญ่ถูกขับออกมากับสิ่งขับถ่ายของปลา โดยยีสต์ *S. cerevisiae* มีความสามารถในการเคลื่อนที่เข้าไปอาศัยในลำไส้ปลากระบอกท่อนใต้แบบอิ่มตัว ทำให้แบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ในลำไส้มีปริมาณลดลงแต่ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า การเสริมยีสต์มีชีวิตในอาหารระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณยีสต์มีชีวิตเฉลี่ย 1.07×10^{5} CFU/กรัมอาหาร เป็นระดับที่เหมาะสมต่อปลากระบอกท่อนใต้ เนื่องจากยีสต์ *S. cerevisiae* เคลื่อนที่เข้าไปอาศัยในลำไส้ปลาและทำให้จุลินทรีย์ในลำไส้เกิดสมดุลส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตดี ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร (อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน) โดยอาหารที่เสริมยีสต์มีชีวิตทุกระดับไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในเนื้อปลา แต่ทำให้ไขมันในเนื้อปลามีปริมาณต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์

คำสำคัญ: ยีสต์มีชีวิต ปลากระบอกท่อนใต้ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน จุลินทรีย์ในลำไส้

*ผู้รับผิดชอบ : ๑๔๑ ม.๖ ต.ไสไทย อ.เมือง จ.กระบี่ ๘๑๐๐๐ โทร. ๐ ๗๕๖๖ ๒๐๖๐. e-mail : ornkanya@gmail.com

Effects of Supplementary Live Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Diet on Growth Performance and Immune Respond of Squaretail Mullet; *Ellochelon vaigiensis* (Quoy and Gaimard, 1825)

Ornkanya Mengyu* Amphai Longloy and Samart Detsathit
Coastal Aquaculture Research and Development Regional Center 4 (Krabi)

ABSTRACT

The study of the supplementary live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) levels of 0, 0.1, 0.2, 0.5 and 1.0 percent dry weight diet was conducted to evaluate the optimum level on growth performance, feed utilization, immune respond and fillet chemical composition of squaretail mullet. Mullet juveniles with an initial average body weight 13.76±2.76 grams were randomly stocked in cage size 2x2x1.5 meter fixed in earth pond with 200 fish/cage and fed twice daily for 120 days. The results showed that, 0.2 percent live yeast supplemented diet was the significantly highest growth performance and enhanced non-specific immune parameters such as lysozyme activity and complement activity (ACH50) ($P<0.05$). While, feed conversion ratio (FCR) and protein efficiency ratio (PER) were better in 0.2 and 0.5 percent supplemented diet ($P>0.05$), but significantly different from other diet groups ($P<0.05$) and found no dead fish during 120 days. Furthermore, 0.1-1.0 percent live yeast supplemented diets were effected to fish fillet chemical composition, as the result lower crude fat ($P<0.05$), but did not affect to muscle protein content compared to control diet ($P>0.05$).

The experiment of live yeast supplementary diet colonization was conducted in 200 liters plastic tank for 4 weeks to evaluate the interaction of live yeast in feed on intestinal microbiota. The results showed that, the highest level of colonizing yeast was in the second week after feeding and yeast supplemented by 0.2-1.0 percent showed levels of intestinal viable yeast were $3.2x10^3$-$1.7x10^4$ CFU/gram at least 3 weeks with continuous fed yeast. The colonizing yeast persisted in intestinal fish were $1.0x10^3$-$1.9x10^3$ CFU/gram in last week after 3 days of starvation, resulting in toward increasing of viable yeast in feces, indicated that *S. cerevisiae* has the saturation colonizing ability and adhesion in fish intestine. As the result, intestinal viable *Vibrio* spp. was reduced, but did not affect to lactic acid bacteria (LAB) count.

In conclusion, 0.2 percent dry weight supplemented diet with viable yeast $1.07x10^5$ CFU/gram diet is suitable for squaretail mullet due to enhanced the growth performance, specific immune respond and improving feed utilization. Because of the ability of live yeast *S. cerevisiae* colonization in fish intestine thereby, the balancing intestinal microbiota. Even though live yeast supplemented diets reduced muscle crude fat, did not affect to protein content compared to control diet.

Key words: live yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, squaretail mullet, immune respond, intestinal microbiota

*Corresponding author : 141 Moo 6, Saithai, Muang District, Krabi Province, Thailand 81000. Tel. 0 7566 2060
e-mail : ornkanya@gmail.com

คำนำ

หลายประเทศทั่วโลกนิยมใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มมากขึ้น เป็นการพัฒนาด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่สำคัญอีกก้าวหนึ่งที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและไม่ต้องกังวลกับการใช้สารต้านจุลชีพ โปรไบโอติกมีบทบาทสำคัญในด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเป้าหมายในการใช้เพื่อการส่งเสริมการเจริญเติบโต กระตุ้นการทำงานของภูมิคุ้มกันและเพิ่มความต้านทานโรคของสัตว์น้ำ (Welker and Lim, 2011) โดยเฉพาะยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกที่ดี (Gatesoupe, 1999) เนื่องจากสามารถเคลื่อนที่เข้าไปอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ (colonization) ได้โดยไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ (Andlid *et al*., 1995) ใช้ได้กับทั้งสัตว์น้ำจืดและสัตว์น้ำเค็ม (ธัชนนท์ และสมเกียรติ, 2552; Li and Gatlin, 2004; Gatesoupe, 2007; Abdel-Tawwab *et al*., 2008; Kesarcodi-Watson *et al*., 2008; Qi *et al*., 2009; Chiu *et al*., 2010; Ran *et al*., 2015) ยีสต์มีเบต้ากลูแคน (β-glucan) ไคติน (chitin) กรดนิวคลิอิก (nucleic acid) และ mannoproteins ซึ่งเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่สำคัญและเป็นประโยชน์ต่อสัตว์น้ำ (Ortuno *et al*., 2002; Lesage and Bussey, 2006) นอกจากนั้นยีสต์ยังมีราคาถูกและสามารถผลิตได้มากในระยะเวลาสั้น (Kutty and Philip, 2008) ยีสต์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำใช้ได้ทั้งในรูปแบบของยีสต์แห้งและยีสต์มีชีวิต แต่ยีสต์แห้งมีลักษณะเป็นผงเมื่อนำมาผสมในอาหารพบว่าไม่จับตัวเป็นเนื้อเดียวกับอาหารและบางส่วนจมลงทำให้ปลาได้รับยีสต์จากอาหารได้น้อย (Pooramini *et al*., 2014; Ran *et al*., 2015) ส่วนการใช้ยีสต์มีชีวิตนั้นมีประสิทธิภาพสูงกว่าเนื่องจากยีสต์สามารถเคลื่อนที่เข้าไปอยู่ในลำไส้ปลาและไปเสริมการทำงานกับจุลินทรีย์ในลำไส้ที่มีความจำเพาะกับสัตว์น้ำแต่ละชนิด (Muroga *et al*.,1987) และช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ (Pérez *et al*., 2010)

การใช้โปรไบโอติกจำเป็นต้องทราบความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ที่จำเพาะในลำไส้สัตว์น้ำกับจุลินทรีย์โปรไอโอติกที่เสริมเข้าไปว่าสามารถเสริมการทำงานร่วมกันได้ดีหรือไม่และต้องเสริมเท่าไรจึงเหมาะสม (Olafsen, 2001) นอกจากนั้นต้องคำนึงถึงระยะเวลาการให้อาหารเสริมยีสต์ที่เหมาะสม (He *et al*., 2009) รวมทั้งขนาดและอายุสัตว์น้ำ องค์ประกอบอาหาร รวมถึงชนิดและแหล่งที่มาของยีสต์ด้วย (Oliva-Teles and Goncalves, 2001) แม้ว่ายีสต์ *S. cerevisiae* มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกที่มีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแต่ควรต้องมีการศึกษาระดับการใช้ที่เหมาะสมสำหรับสัตว์น้ำแต่ละชนิด ในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาในปลากระบอกท่อนใต้ซึ่งเป็นปลาที่คนไทยนิยมบริโภคจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงผลกระทบของการใช้ยีสต์ที่มีต่อองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาด้วย เนื่องจากมีรายงานวิจัยพบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยยีสต์ทดแทนปลาป่นทำให้เนื้อปลามีไขมันต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารปกติ (Hunt *et al*., 2014)

ปลากระบอกท่อนใต้ (squaretail mullet) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Ellochelon vaigiensis* (Quoy and Gaimard,1825) หรือ *Liza vaigiensis* (Quoy and Gaimard,1825) เป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (ชวลิต, 2528) ปัจจุบันมีราคาสูงมากและเป็นที่ต้องการของตลาดโดยเฉพาะทางภาคใต้ซึ่งให้การนิยมบริโภค และปลาทั้งหมดที่จำหน่ายมาจากการจับจากธรรมชาติ จากสถิติประมง ปี 2552-2556 ผลผลิตปลากระบอกจากการจับทั้งหมดลดลงจาก 8,200 ตัน เหลือ 4,000 ตัน ภายในระยะเวลา 5 ปี (กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง, 2558) ประเทศในเขตเมดิเตอร์เรเนียน อียิปต์ ฮาวาย เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน ไต้หวัน และญี่ปุ่นนิยมเลี้ยงปลากระบอกเทา (grey mullet) เนื่องจากสามารถเลี้ยงได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม แต่ในธรรมชาติพบปลากระบอกมากในเขตแนวชายฝั่งทะเลและในน้ำกร่อย (Saleh, 2008; Mian *et al*., 2014) เลี้ยงได้ทั้งในบ่อดินและกระชังแต่ยังไม่มีการเพาะเลี้ยงเชิงพาณิชย์ในประเทศไทย ปัจจุบันศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงชายฝั่งเขต 4 (กระบี่) กำลังศึกษาการเพาะเลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้จึงทำการศึกษาการใช้โปรไบโอติกควบคู่ไปด้วย ผลงานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้และนำไปประยุกต์ใช้กับสัตว์น้ำชนิดอื่น โดยกรอบแนวคิดของการศึกษาในครั้งนี้ คือการเสริมยีสต์มีชีวิตในอาหารนั้นเป็นอาหารเสริมสุขภาพสัตว์น้ำที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบระดับการเสริมยีสต์มีชีวิตที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลากระบอกท่อนใต้
2. เพื่อทราบความสัมพันธ์ระหว่างการเสริมยีสต์มีชีวิตในอาหารระดับต่างกันกับประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา ในสิ่งขับถ่ายของปลาและในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้

วิธีดำเนินการ

1. การวางแผนการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) แต่ละการทดลอง มี 5 ชุดทดลอง ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ

ชุดทดลองที่ 1 อาหารเม็ดลอยน้ำไม่เสริมยีสต์ (ชุดควบคุม)

ชุดทดลองที่ 2 อาหารเม็ดลอยน้ำเสริมยีสต์มีชีวิต 0.1 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง

ชุดทดลองที่ 3 อาหารเม็ดลอยน้ำเสริมยีสต์มีชีวิต 0.2 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง

ชุดทดลองที่ 4 อาหารเม็ดลอยน้ำเสริมยีสต์มีชีวิต 0.5 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง

ชุดทดลองที่ 5 อาหารเม็ดลอยน้ำเสริมยีสต์มีชีวิต 1.0 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง

การทดลองที่ 1 เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ในกระชังขนาด 2x2x1.5 เมตร ที่แขวนในบ่อดินขนาด 2 ไร่ เป็นระยะเวลา 120 วัน เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา

การทดลองที่ 2 เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ในถังพลาสติกขนาดความจุ 200 ลิตร ใส่น้ำ 150 ลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเสริมยีสต์มีชีวิตในอาหารต่อปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา สิ่งขับถ่ายของปลาและในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลา

2. สถานที่ศึกษา และระยะเวลาการทดลอง

ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 4 (กระบี่) โดยเพาะเลี้ยงยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ การทดลองที่ 1 เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ในกระชังที่แขวนอยู่ในบ่อดินขนาด 2 ไร่ และการทดลองที่ 2 เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ในถังพลาสติกภายในโรงเพาะฟักของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 4 (กระบี่) ตั้งแต่เดือนมกราคม-มิถุนายน 2559 และตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาที่บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาสงขลา อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

3. วิธีการทดลอง

3.1 การเตรียมยีสต์มีชีวิต

3.1.1 การแยกเชื้อและการคัดเลือกยีสต์เริ่มต้น

แยกเชื้อยีสต์จากน้ำหมักชีวภาพสาหร่าย *Chaetomorpha crassa* โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง YPD (yeast peptone dextrose) ที่เติม penicillin-streptomycin 10 มิลลิลิตร/ลิตร (penicillin 10,000 unit/มิลลิลิตร

+streptomycin 10,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) (Kutty and Philip, 2008) และเติมเกลือ NaCl 1.5 เปอร์เซ็นต์ (Anusha *et al*., 2014) ด้วยวิธีการเกลี่ยเชื้อ (spread plate) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีในช่วง 30-300 ที่มีลักษณะแตกต่างกัน แล้วแยกเชื้อซ้ำอีก 2 ครั้งให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นคัดเลือกโคโลนีที่แยกได้ด้วยวิธีการขีดเชื้อ (streak plate) บนอาหารแข็ง YPD บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้โคโลนีเดี่ยวนำไปตรวจสอบลักษณะของรูปร่าง และทดสอบความสามารถในการเจริญเติบโตในสภาวะต่างๆ คือ อุณหภูมิ 18 และ 45 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 4.4 และ 9.3 ความเข้มข้นเกลือ NaCl ที่ระดับ 4.0 และ 6.5 เปอร์เซ็นต์ และทำการระบุชนิดโดยการทดสอบความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนด้วยการใช้ชุดทดสอบ API 20C AUX และลำดับดีเอ็นเอโดย 26S rDNA โดยใช้ universal primer NL1 (forward primer) (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') and NL4 (reverse primer) (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') (Siti Hajar *et al*., 2012) วิเคราะห์ลำดับเบสโดยเครื่อง Genetic analyzer รุ่น 3500 xL version 3 และทำการเทียบเคียงลำดับเบสที่ได้ด้วยโปรแกรม BLAST ซึ่งเชื้อยีสต์ที่ได้คือ *S. cerevisiae*

3.1.2 การเก็บรักษาเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

หลังจากคัดเลือกยีสต์ที่ต้องการได้แล้วทำการขีดเชื้อบนอาหารแข็งYPD บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจนได้โคโลนีเดี่ยวแล้วถ่ายเชื้อลงอาหารเพื่อเก็บรักษาตามวัตถุประสงค์การใช้งาน คือการเก็บเพื่อใช้งาน (working stocks) เก็บในอาหารวุ้นเอียง (agar slant) ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลาไม่เกิน 2 สัปดาห์ แต่สำหรับเชื้อต้นตอ (primary stocks) เก็บในอาหารเหลวและเติมกลีเซอรอล (glycerol) ให้มีความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ และแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (นงลักษณ์ และปรีชา, 2548; Floris *et al*., 2013)

3.1.3 การเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*

ถ่ายเชื้อยีสต์ลงในอาหารเหลว YPD ในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง จากนั้นขยายเชื้อในขวดแก้วมีฝา (media bottle) ขนาด 50 มิลลิลิตร และขนาด 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดยปิดฝาหลวม ๆ เพื่อให้มีอากาศเล็กน้อย

การทดลองที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงยีสต์ด้วยการถ่ายเชื้อยีสต์จากอาหารเหลว YPD 500 มิลลิลิตร ขยายลงเพาะเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 15 ลิตร (ปริมาตรน้ำ 10 ลิตร) ที่มีฝาปิด (ปิดฝาหลวม ๆ เพื่อให้มีอากาศเล็กน้อย) โดยใช้สูตรอาหารดัดแปลงซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลทรายแดงปริมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร), $(NH_4)_2SO_4$ ปริมาณ 0.6 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร), KH_2PO_4 ปริมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) และกล้าเชื้อยีสต์ปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (Kutty and Philip, 2008) เป็นระยะเวลา 2 วัน (คนอาหารในภาชนะเลี้ยงยีสต์วันละ 4 ครั้ง) เมื่อเข้าสู่ระยะ early stationary phase ตรวจดูความสมบูรณ์ของเซลล์ (Tovar-Ramírez *et al*., 2002) และตรวจนับความหนาแน่นเซลล์ พบว่ามีค่าเฉลี่ย 5.0×10^8 CFU/มิลลิลิตร

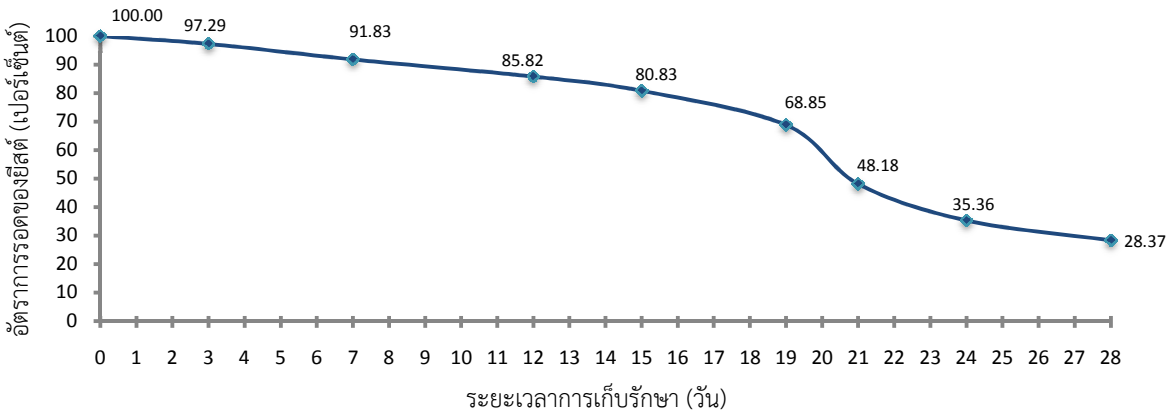
การทดลองที่ 2 ทำการเพาะเลี้ยงยีสต์ด้วยการถ่ายเชื้อยีสต์จากอาหารเหลว 50 มิลลิลิตร ลงเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว YPD ในขวดแก้วมีฝาปิดขนาด 1 ลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน (เขย่าภาชนะเลี้ยงยีสต์วันละ 4 ครั้ง) เมื่อเข้าสู่ระยะ early stationary phase ตรวจดูความสมบูรณ์ของเซลล์และตรวจนับความหนาแน่นเซลล์ พบว่ามีค่าเฉลี่ย 6.0×10^8 CFU/มิลลิลิตร

ยีสต์เจริญเติบโตที่ก้นภาชนะ วิธีการเก็บเกี่ยวทำได้โดยการเทอาหารส่วนบนออกให้เหลือเฉพาะเซลล์ยีสต์และอาหารเล็กน้อยที่ก้นถัง ดูดตะกอนยีสต์ด้วยปิเปตใส่ในหลอดเซ็นตริฟิวส์ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1000xg อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 1 ครั้ง ยีสต์ที่ได้มีลักษณะเป็นครีม (yeast paste) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับเตรียมอาหารทดลองต่อไป (Reyes-Becerril *et al*., 2008; Tovar-Ramírez *et al*., 2010) ทำการเตรียมยีสต์ใหม่ทุก 7 วัน

3.2 การเตรียมอาหารทดลอง

นำยีสต์ที่ได้มาชั่งน้ำหนักตามสัดส่วนของสูตรอาหารที่กำหนด (yeast paste อบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที มีค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 30 เปอร์เซ็นต์) ดังนั้นต้องชั่งยีสต์ให้ได้ 3.0, 6.0, 15.0 และ 30.0 กรัมน้ำหนักเปียก/อาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าเท่ากับ 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และชุดควบคุมไม่เสริมยีสต์

นำยีสต์ที่ชั่งแล้วมาผสมกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร/อาหาร 1 กิโลกรัม สเปรย์ลงบนอาหารเม็ดลอยน้ำสำหรับปลาทะเลและคลุกเคล้าให้ทั่วถึงกัน สำหรับอาหารในชุดควบคุมคลุกเคล้าอาหารกับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร/อาหาร 1 กิโลกรัม (Ran *et al*., 2015) จากนั้นนำอาหารทดลองไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที (Tovar-Ramírez *et al*., 2002) ใส่อาหารทดลองในถุงซิปและเก็บในตู้เย็น และตรวจสอบการมีชีวิตรอดของยีสต์ (viable yeast) ในอาหาร พบว่าอาหารทดลองที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นนาน 7 วันมีค่าเปอร์เซ็นต์ยีสต์มีชีวิตรอดไม่ต่ำกว่า 90 เปอร์เซ็นต์จึงเตรียมอาหารทดลองใหม่ทุก 7 วัน (เนื่องจากเปอร์เซ็นต์การรอดของยีสต์ลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา) ดังแสดงในภาพที่ 1 ผลการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์และองค์ประกอบทางเคมีในอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1



ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์ยีสต์มีชีวิตเฉลี่ย (viable yeast) ในอาหารเสริมยีสต์ระดับต่างกันตามระยะเวลาการเก็บรักษา

3.3 การตรวจสอบคุณสมบัติของอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตที่ระดับต่างกัน

3.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง

ตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในอาหารทดลอง คือ ปริมาณโปรตีนโดยวิธี block digestion ไขมันโดยวิธี acid hydrolysis เถ้าโดยวิธี muffle furnace combustion อบที่ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ความชื้นโดยวิธี air drying (oven method) อบที่ 135 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง ตามวิธีการของ AOAC (2012) ส่วนคาร์โบไฮเดรตและพลังงานใช้วิธีการคำนวณตามวิธีการของ compendium of methods for food analysis (2003) ตามสูตรดังนี้

คาร์โบไฮเดรต = 100 - (เปอร์เซ็นต์โปรตีน+เปอร์เซ็นต์ไขมัน+เปอร์เซ็นต์เถ้า+เปอร์เซ็นต์ความชื้น)

พลังงาน = (4 kcal/g โปรตีนx g โปรตีน) + (9 kcal/g ไขมันx g ไขมัน) + (4 kcal/g คาร์โบไฮเดรตx g คาร์โบไฮเดรต)

3.3.2 การตรวจสอบกลุ่มและปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารทดลอง

นำตัวอย่างอาหารทดลองในแต่ละชุดทดลองมา 1.0 กรัม ทำการเจือจางในสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) ปริมาณ 9 มิลลิลิตร แล้วเจือจางแบบ serial ten-fold dilution ด้วยสารละลาย PBS ให้เจือจางได้ระดับความเข้มข้น 10^{0}-10^{-3} แล้วนำไปเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็งเพื่อตรวจสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ใช้อากาศ (aerobic microbial) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy agar (TSA) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ

De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง (Gatesoupe, 1994) ปริมาณเชื้อยีสต์ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ YPD บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar (TCBS) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และตรวจสอบชนิดของยีสต์ในอาหารทดลองโดยการทดสอบความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนด้วยการใช้ชุดทดสอบ API 20C AUX

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีและจุลชีวะในอาหารเม็ดเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน

ดัชนี	ระดับของยีสต์มีชีวิตที่เสริมในอาหารเม็ด (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
	0	0.1	0.2	0.5	1.0
โปรตีน (กรัม/100 กรัม)	40.19	40.77	40.78	40.79	40.92
ไขมัน (กรัม/100 กรัม)	6.27	6.73	6.26	6.60	6.66
เถ้า (กรัม/100 กรัม)	10.01	9.97	10.01	10.10	9.97
ความชื้น (กรัม/100 กรัม)	14.72	14.01	14.75	13.99	13.84
คาร์โบไฮเดรต (กรัม/100 กรัม)	28.81	28.52	28.20	28.52	28.61
พลังงาน (Kcal/100 กรัม)	332.43	337.73	332.26	336.64	338.06
ปริมาณ aerobic microbial (CFU/กรัม)	3.87×10^{3}	5.49×10^{4}	1.08×10^{5}	3.01×10^{5}	6.02×10^{5}
ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* (CFU/กรัม)	0	5.07×10^{4}	1.07×10^{5}	2.99×10^{5}	6.01×10^{5}
ปริมาณ lactic acid bacteria (CFU/กรัม)	0	0	0	0	0
ปริมาณ *Vibrio* spp. (CFU/กรัม)	0	0	0	0	0

3.4 การเตรียมปลาทดลอง

3.4.1 การทดลองที่ 1 จัดเตรียมลูกปลากระบอกท่อนใต้ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 13.76±2.76 กรัม และความยาวเหยียดเฉลี่ย 9.97±0.46 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะพันธุ์ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 4 (กระบี่) และฝึกให้ลูกปลากินอาหารเม็ดสำเร็จรูปลอยน้ำได้แล้ว สุ่มลูกปลาลงเลี้ยงในกระชังขนาด 2x2x1.5 เมตร จำนวน 15 กระชัง กระชังละ 200 ตัว โดยให้ลูกปลาปรับสภาพกับสิ่งแวดล้อมเป็นระยะเวลา 3 วัน ในระหว่างนี้ช่วง 1 วันแรกให้ลูกปลาอดอาหาร หลังจากนั้นให้อาหารเม็ดปลาทะเลชนิดลอยน้ำ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว วันละ 2 มื้อ ให้ปลาคุ้นเคยกับอาหารทดลอง

3.4.2 การทดลองที่ 2 จัดเตรียมลูกปลากระบอกท่อนใต้ขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 13.76±2.76 กรัม และความยาวเหยียดเฉลี่ย 9.97±0.46 เซนติเมตร ลงเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 500 ลิตร เป็นระยะเวลา 1 วัน เพื่อปรับสภาพปลา จากนั้นสุ่มลูกปลาลงเลี้ยงในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร จำนวน 15 ถัง ถังละ 25 ตัว ให้ลูกปลาอดอาหาร 3 วัน เพื่อเตรียมระบบการย่อยอาหารของปลาก่อนให้อาหารทดลองต่อไป

3.5 การเลี้ยงปลา

3.5.1 การทดลองที่ 1 เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ในกระชังขนาด 2x2x1.5 เมตร ที่แขวนอยู่ในบ่อดินขนาด 2 ไร่ กระชังละ 200 ตัว จำนวน 15 กระชัง ให้อาหารทดลองปริมาณ 2.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว วันละ 2 ครั้ง (Bakeer, 2006) เวลา 9.00 และ 15.00 น. โดยหว่านอาหารในกรอบให้อาหารปลาเพื่อป้องกันอาหารลอยออกนอกกระชัง และบันทึกน้ำหนักอาหารที่ลูกปลากิน สุ่มชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของปลาทุก 20 วัน กระชังละ 50 ตัว โดยใช้ยาสลบ 2-phenoxyethanol ความเข้มข้น 0.5 ส่วนในล้านส่วน (De las Heras *et al*., 2015) เพื่อหาอัตราการเจริญเติบโต เก็บตัวอย่างน้ำในกระชังไปตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติสัปดาห์ละครั้ง พร้อมนับจำนวนปลาตายในแต่ละวันเพื่อนำมาคำนวณหาอัตรารอดตาย ในระหว่างเลี้ยงคลุมกระชังด้วยอวนตาขนาด 2 เซนติเมตรเพื่อป้องกันปลา

กระโดดและป้องกันนกมากินปลา เปลี่ยนถ่ายน้ำในบ่อดินสัปดาห์ละ 20-30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 120 วัน ชั่งน้ำหนักและวัดขนาดปลาทุกตัวเพื่อประเมินการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

3.5.2 การทดลองที่ 2 เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ในถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร ปริมาตรน้ำ 150 ลิตร จำนวนปลาถังละ 25 ตัว จำนวน 15 ถัง ให้อาหารทดลองปริมาณ 2.5-3.0 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว วันละ 2 ครั้ง เวลา 9.00 น. และ 15.00 น. และให้ปลาอดอาหาร 3 วันก่อนสิ้นสัปดาห์ที่ 4 (He *et al*., 2009) โดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ แต่ในช่วงที่ให้อาหารตามปกติเปลี่ยนถ่ายน้ำ 80 เปอร์เซ็นต์ วันเว้นวัน โดยใช้น้ำทะเลฆ่าเชื้อด้วยแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 30 ส่วนในล้านส่วนที่ให้อากาศจนหมดฤทธิ์ และกรองผ่านถุงกรองน้ำขนาดตากรอง 5 ไมโครเมตร ค่าความเค็มน้ำตามธรรมชาติ 27.5 (23-30) ส่วนในพันส่วน เก็บตัวอย่างปลาที่อดอาหาร 3 วันก่อนให้อาหารทดลอง ระหว่างการทดลองเก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์หลังจากให้อาหาร 18 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (หลังจากปลาอดอาหาร 3 วัน) ถังละ 5 ตัวสลบปลาด้วยน้ำยา 2-phenoxyethanol ความเข้มข้น 1.0 ส่วนในล้านส่วนเพื่อให้ปลาตายอย่างสงบ แล้วนำไปตรวจสอบกลุ่มและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ปลารวมทั้งเก็บตัวอย่างสิ่งขับถ่ายของปลาและตัวอย่างน้ำเพื่อตรวจสอบกลุ่มและปริมาณจุลินทรีย์พร้อมทั้งตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางฟิสิกส์และเคมี สัปดาห์ละครั้ง ตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.6 การวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 120 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดปลากระบอกท่อนใต้จำนวน 5 ตัว/กระชัง มาสลบด้วยน้ำยา 2-phenoxyethanol ความเข้มข้น 0.5 ส่วนในล้านส่วน ทำการเจาะเลือดบริเวณส่วนหาง (caudal peduncle) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ด้วยเข็มฉีดยาขนาด 25G กระบอกฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน สำหรับส่วนที่ 1 ใช้กระบอกฉีดยาที่ไม่มีสารกันการแข็งตัวของเลือดเคลือบเพื่อแยกเอาซีรั่ม (serum) ไปวิเคราะห์หาค่า lysozyme activity โดยใช้วิธีดัดแปลงมาจากวิธีการของ Obach *et al.* (1993) และค่า alternative complement activity (ACH50) ตามวิธีการของ Yano (1992) ส่วนที่ 2 ใช้กระบอกฉีดยาที่เคลือบด้วยสารกันการแข็งตัวของเลือด (Heparin 150 Unit) เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์หาจำนวนเม็ดเลือดแดง (red blood cell; RBC) และเม็ดเลือดขาว (white blood cell; WBC) โดยใช้วิธีดัดแปลงมาจากวิธีการของ Blaxhall and Daisley (1973)

3.7 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 120 วัน เก็บตัวอย่างปลาจำนวนกระชังละ 5 ตัวเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลา โดยแล่เอาเฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อ วิเคราะห์ค่าโปรตีนโดยวิธี block digestion ไขมันโดยวิธี acid hydrolysis เถ้าโดยวิธี muffle furnace combustion อบที่ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ความชื้นโดยวิธี air drying (oven method) อบที่ 100-102 องศาเซลเซียส 16-18 ชั่วโมง ตามวิธีการของ AOAC (2012) ส่วนคาร์โบไฮเดรตและพลังงานใช้วิธีการคำนวณตามวิธีการของ compendium of methods for food analysis (2003) ตามสูตรดังนี้

คาร์โบไฮเดรต = 100-(เปอร์เซ็นต์โปรตีน+เปอร์เซ็นต์ไขมัน+เปอร์เซ็นต์เถ้า+เปอร์เซ็นต์ความชื้น)

พลังงาน = (4 kcal/g โปรตีนx g โปรตีน)+(9 kcal/g ไขมัน x g ไขมัน)+(4 kcal/g คาร์โบไฮเดรต x g คาร์โบไฮเดรต)

3.8 การตรวจสอบกลุ่มและปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา สิ่งขับถ่ายของปลาและในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลา

จากการทดลองที่ 2 ปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงในถังพลาสติกขนาดความจุ 200 ลิตร ใส่น้ำ 150 ลิตร จำนวนถังละ 25 ตัว เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.8.1 การตรวจสอบกลุ่มและปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา

เก็บตัวอย่างปลาก่อนให้อาหารถังละ 5 ตัวมาสลบด้วยน้ำยา 2-phenoxyethanol ความเข้มข้น 1.0 ส่วนในล้านส่วนเพื่อให้ปลาตายอย่างสงบ ล้างด้วยน้ำเกลือฆ่าเชื้อแล้วสเปรย์ฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาเอทิลแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ ใช้วิธีการแบบปลอดเชื้อ (aseptic technique) ผ่าเอาเฉพาะส่วนของลำไส้ปลาแยกส่วนที่เป็นไขมันออกไปและตัดเอาเฉพาะส่วนลำไส้ที่อยู่ระหว่าง midgut และ hindgut ไม่รวม pyloric caeca ชั่งน้ำหนักลำไส้

รวมกันทั้ง 5 ตัวให้ได้น้ำหนัก 1.0 กรัม ตัดลำไส้และย่อยให้มีขนาดเล็กแล้วผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันในสารละลาย PBS ปริมาณ 9.0 มิลลิลิตร เจือจางแบบ serial ten-fold dilution ด้วยสารละลาย PBS ให้ได้ระดับความเข้มข้น 10^{-1}-10^{-4} แล้วทำการเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง คือ TSA, MRS, YPD และ TCBS เพื่อตรวจสอบกลุ่ม/ชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ใช้อากาศ กลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก ยีสต์ และแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ตามลำดับ

3.8.2 การตรวจสอบกลุ่มและปริมาณจุลินทรีย์ในสิ่งขับถ่ายของปลา

เก็บตัวอย่างสิ่งขับถ่ายของปลาจากถังทดลองในการทดลองที่ 2 มาชั่งน้ำหนักให้ได้ 1.0 กรัม เติมสารละลาย PBS ปริมาณ 9.0 มิลลิลิตร บดตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันแล้วเจือจางแบบ serial ten-fold dilution ด้วยสารละลาย PBS ให้ได้ระดับความเข้มข้น 10^{-3}-10^{-6} แล้วเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็งคือ TSA, MRS, YPD และ TCBS เพื่อตรวจสอบกลุ่ม/ชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ใช้อากาศ กลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก ยีสต์ และแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ตามลำดับ

3.8.3 การตรวจสอบกลุ่มและปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลา

นำน้ำตัวอย่างมาเจือจางแบบ serial ten-fold dilution ด้วยสารละลาย NaCl 0.85 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ให้ได้ระดับความเข้มข้น 10^{0}-10^{-3} แล้วเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง คือ TSA, MRS, YPD และ TCBS เพื่อตรวจสอบกลุ่ม/ชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ใช้อากาศ แบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดแลคติก ยีสต์ และแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. ตามลำดับ

- ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ใช้อากาศ (aerobic microbial) ด้วยวิธีการทำการเกลี่ยเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง (Magda *et al*., 2011)
- ปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดแลคติก ด้วยวิธีการทำการเกลี่ยเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง (Gatesoupe, 1994)
- ปริมาณเชื้อยีสต์ ด้วยวิธีการทำการเกลี่ยเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
- ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ด้วยวิธีการทำการเกลี่ยเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
- ตรวจสอบชนิดของยีสต์ในน้ำ อาหารทดลอง ลำไส้ปลา และสิ่งขับถ่ายของปลา โดยการทดสอบความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนด้วยการใช้ชุดทดสอบ API 20C AUX

3.9 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมีและฟิสิกส์

ตรวจวัดคุณภาพน้ำในพารามิเตอร์ต่าง ๆ ก่อนเริ่มการทดลองและระหว่างการทดลองในช่วงเวลาประมาณ 8.30 น. ตามวิธีการดังนี้

3.9.1 อุณหภูมิ โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์แบบปรอท

3.9.2 ความเค็ม โดยใช้เครื่องมือวัดความเค็มแบบหักเหแสง (refracto-salinometer) ยี่ห้อ Atago รุ่น S/Mill-E

3.9.3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้วิธี electrometric method ด้วยเครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่างแบบตัวเลข ยี่ห้อ SCHOTT Instrument รุ่น lab 850

3.9.4 ความเป็นด่าง โดยใช้วิธี potentiometer titration to pre-selection pH (APHA, AWWA and WPCF, 1980)

3.9.5 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ โดยใช้วิธี azide modification (APHA, AWWA and WPCF, 1980)

3.9.6 ไนไตรท์ โดยใช้วิธี diazotization method (Strickland and Parsons, 1972)

3.9.7 แอมโมเนียรวม โดยใช้วิธี modified indophenols blue method (Sasaki and Sawada, 1980)

3.9.8 ออร์โธฟอสเฟต โดยใช้วิธี ascorbic acid method (Strickland and Parsons, 1972)

4. การเก็บข้อมูล

การทดลองที่ 1 สุ่มวัดความยาวและชั่งน้ำหนักปลาทุกหน่วยทดลองทุก 20 วัน โดยสุ่มปลาจำนวน 50 ตัว/กระชัง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 120 วัน วัดความยาวและชั่งน้ำหนักปลาทุกตัวเพื่อทำการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตโดยคำนวณหาน้ำหนักเพิ่มต่อวัน (ADG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) อัตรารอดตาย (SR) ค่าดัชนีตับ (HSI) และค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ (K) ตามสูตรดังนี้

4.1 น้ำหนักเพิ่มต่อวัน (average daily weight gain; ADG) (กรัม/ตัว/วัน)

$$ADG = \frac{(W_1) - (W_0)}{t}$$

เมื่อ W_0 = น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)

W_1 = น้ำหนักสุดท้ายที่เวลา t (กรัม)

t = ระยะเวลาในการเลี้ยงระหว่าง W_0 กับ W_1 (วัน)

4.2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; SGR) (เปอร์เซ็นต์/วัน)

$$SGR = \frac{(\ln W_1) - (\ln W_0)}{t} \times 100$$

เมื่อ W_0 = น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)

W_1 = น้ำหนักสุดท้ายที่เวลา t (กรัม)

t = ระยะเวลาในการเลี้ยงระหว่าง W_0 กับ W_1 (วัน)

4.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio; FCR)

$$FCR = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากิน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

4.4 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio; PER)

$$PER = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

4.5 อัตรารอดตาย (survival rate; SR) (เปอร์เซ็นต์)

$$SR = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุด}}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}} \times 100$$

4.6 ค่าดัชนีตับ (hepatosomatic index; HSI) (เปอร์เซ็นต์)

$$HSI = \frac{\text{น้ำหนักตับปลา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวปลา (กรัม)}} \times 100$$

4.7 ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ (condition factor; K)

$$K = \frac{\text{น้ำหนักตัวปลา (กรัม)}}{\text{ความยาวเหยียด}^3\text{ (เซนติเมตร)}} \times 100$$

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

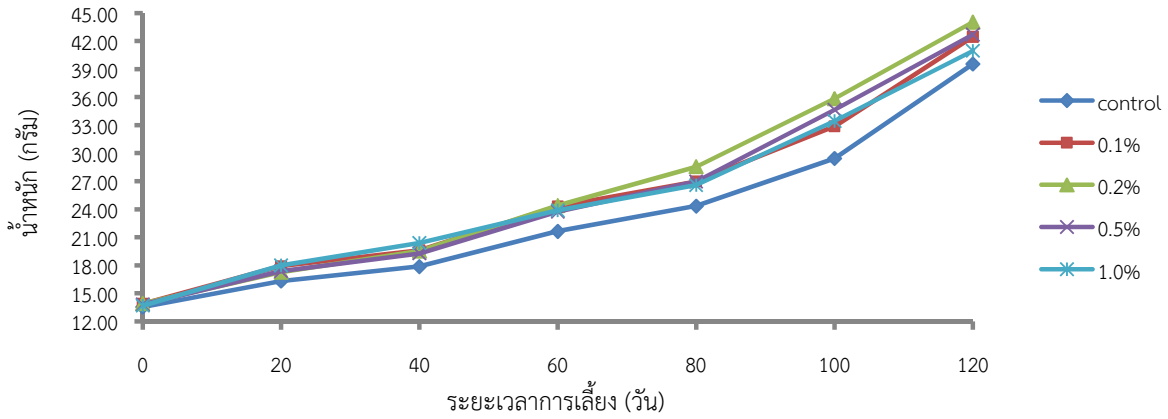
ผลของการเสริมยีสต์มีชีวิตในอาหารปลาต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อ

ปลากระบอกท่อนใต้ นำมาคำนวณค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) ข้อมูลที่เกิดจากการนับมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ก่อนการวิเคราะห์ทำการแปลงข้อมูลด้วยวิธี angular transformation ในรูปของ arcsine เพื่อให้ข้อมูลมีการกระจายแบบปกติ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองด้วยวิธี Turkey's HSD ที่ระดับนัยสำคัญ α=0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป สำหรับการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในอาหารเสริมยีสต์ระดับต่างกันกับประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา ในสิ่งขับถ่ายและในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาใช้ผลการศึกษาจากค่าเฉลี่ย ค่าสูงสุด และค่าต่ำสุดของประชากรจุลินทรีย์ 4 กลุ่ม คือยีสต์ *S. cerevisiae* กลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก จุลินทรีย์ใช้อากาศ และแบคทีเรีย *Vibrio* spp. โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา

ผลการทดลอง

1. การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน

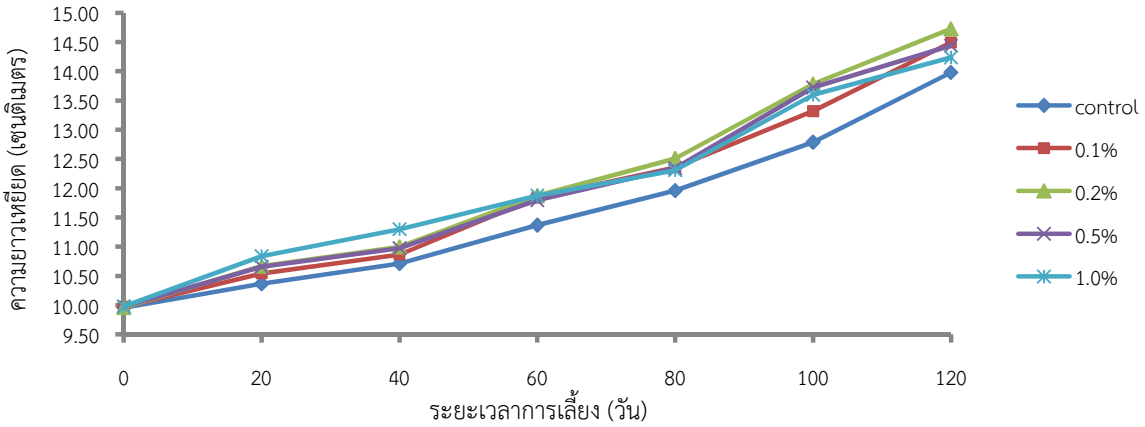
เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง 120 วัน พบว่าปลากระบอกท่อนใต้ที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับต่างกันมีค่าการเจริญเติบโตทั้งด้านน้ำหนักและความยาวเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง โดยเมื่อเริ่มต้นเลี้ยงจนถึง 60 วัน ปลากระบอกท่อนใต้ที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในระดับ 1.0 เปอร์เซ็นต์มีแนวโน้มเจริญเติบโตได้ดีกว่าระดับอื่น แต่เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงนานขึ้นตั้งแต่ 60 วันขึ้นไป ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มเจริญเติบโตดีกว่าที่ระดับอื่น (ภาพที่ 2 และ 3)



ภาพที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน

น้ำหนักเพิ่มต่อวัน (ADG) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยเท่ากับ 0.22±0.00, 0.24±0.00, 0.25±0.00, 0.24±0.00 และ 0.23±0.00 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่า ADG เฉลี่ยสูงสุด ($P<0.05$) และปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในทุกระดับมีค่าน้ำหนักเพิ่มสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 2)

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 0.89±0.01, 0.93±0.01, 0.96±0.01, 0.94±0.02 และ 0.91±0.01 เปอร์เซ็นต์/วัน ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในระดับ 0.2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์มีค่า SGR สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.1, 1.0 เปอร์เซ็นต์และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 3 ความยาวเหยียดเฉลี่ย (เซนติเมตร) ของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน

ค่าดัชนีตับ (HSI) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 1.00±0.11, 1.11±0.08, 1.12±0.11, 1.12±0.12 และ 1.09±0.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารทุกชุดทดลองมีค่า HSI ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 2)

อัตรารอดตาย (SR) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 98.67±0.58, 99.00±1.00, 100±0.00, 100±0.00 และ 98.67±0.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอัตรารอดตายสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 1.0 เปอร์เซ็นต์และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05) (ตารางที่ 2)

ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลา (K) ที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 1.45±0.04, 1.39±0.01, 1.38±0.01, 1.42±0.01 และ 1.42±0.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่า K ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารเสริมยีสต์ระดับอื่น (P>0.05) (ตารางที่ 2)

ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 2.58±0.03, 2.41±0.04, 2.30±0.04, 2.36±0.46 และ 2.51±0.02 ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่า FCR ต่ำกว่าชุดควบคุมและอาหารเสริมยีสต์ 1.0เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05) (ตารางที่ 2)

ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 1.47±0.01, 1.52±0.02, 1.56±0.02, 1.54±0.02 และ 1.47±0.01 ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ไม่แตกต่างทางสถิติกับระดับ 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ (P>0.05) แต่ปลาที่ได้รับยีสต์ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงที่สุดและแตกต่างทางสถิติกับที่ระดับ 0.1, 1.0 เปอร์เซ็นต์และชุดควบคุม (P<0.05) แต่ค่า PER ของปลาที่ได้รับยีสต์ระดับ 1.0 เปอร์เซ็นต์และชุดควบคุมไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโต ค่าดัชนีตับ ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ อัตรารอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน

ดัชนี	ระดับของยีสต์มีชีวิตที่เสริมในอาหารเม็ด (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
	0	0.1	0.2	0.5	1.0
น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย (กรัม)	13.76±2.76^{a}	13.76±2.76^{a}	13.76±2.76^{a}	13.76±2.76^{a}	13.76±2.76^{a}
น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย (กรัม)	39.56±0.34^{a}	42.46±0.61^{c}	44.04±0.35^{d}	42.69±0.28^{c}	40.96±0.50^{b}
ความยาวเหยียดเริ่มต้นเฉลี่ย (เซนติเมตร)	9.97±0.46^{a}	9.97±0.46^{a}	9.97±0.46^{a}	9.97±0.46^{a}	9.97±0.46^{a}
ความยาวเหยียดสุดท้ายเฉลี่ย (เซนติเมตร)	13.98±0.16^{a}	14.49±0.07^{c}	14.72±0.04^{d}	14.44±0.04^{c}	14.24±0.05^{b}
น้ำหนักเพิ่มต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน)	0.22±0.00^{a}	0.24±0.00^{c}	0.25±0.00^{d}	0.24±0.00^{c}	0.23±0.00^{b}
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)	0.89±0.01^{a}	0.93±0.01^{b}	0.96±0.01^{c}	0.94±0.02^{cb}	0.91±0.01^{a}
ค่าดัชนีตับ (เปอร์เซ็นต์)	1.00±0.11^{a}	1.11±0.08^{a}	1.12±0.11^{a}	1.12±0.12^{a}	1.09±0.10^{a}
ค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลา	1.45±0.04^{a}	1.39±0.01^{ab}	1.38±0.01^{b}	1.42±0.01^{ab}	1.42±0.01^{ab}
อัตรารอดตาย (เปอร์เซ็นต์)	98.67±0.58^{a}	99.00±1.00^{ab}	100±0.00^{b}	100±0.00^{b}	98.67±0.58^{a}
อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	2.58±0.03^{a}	2.41±0.04^{b}	2.30±0.04^{c}	2.36±0.46^{bc}	2.51±0.02^{a}
ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	1.47±0.01^{a}	1.52±0.02^{b}	1.56±0.02^{c}	1.54±0.02^{bc}	1.47±0.01^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

2. องค์ประกอบเลือดและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน

ปริมาณเม็ดเลือดแดง (RBC) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ $4.44\pm0.27\times10^{9}$, $6.44\pm0.87\times10^{9}$, $6.17\pm0.59\times10^{9}$, $5.25\pm0.72\times10^{9}$ และ $5.14\pm0.34\times10^{9}$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลาที่ได้รับการเสริมยีสต์มีชีวิต 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.5, 1.0 เปอร์เซ็นต์และปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์ (P<0.05) (ตารางที่ 3)

จำนวนเม็ดเลือดขาว(WBC) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ $0.78\pm0.09\times10^{8}$, $1.12\pm0.23\times10^{8}$, $1.35\pm0.19\times10^{8}$, $1.15\pm0.26\times10^{8}$ และ $1.32\pm0.35\times10^{8}$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณเม็ดเลือดขาวของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ทุกระดับมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 3)

ค่า lysozyme activity ในน้ำเลือดของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 16.21±1.16, 19.41±1.44, 34.99±4.49, 26.33±3.12 และ 17.97±3.48 μg/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับอื่น ๆ และปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 3)

ค่า complement activity (ACH50) ในน้ำเลือดของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 8.70±0.66, 9.11±0.62, 12.71±0.64, 10.57±1.04 และ 9.26±0.89 units/มิลลิลิตร ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับอื่น ๆ และปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบเลือดและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน

ดัชนี	ระดับของยีสต์มีชีวิตที่เสริมในอาหารเม็ด (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
	0	0.1	0.2	0.5	1.0
จำนวนเม็ดเลือดแดง ($x10^9$ cell/ml)	4.44±0.27[a]	6.44±0.87[b]	6.17±0.59[b]	5.25±0.72[a]	5.14±0.34[a]
จำนวนเม็ดเลือดขาว ($x10^8$ cell/ml)	0.78±0.09[a]	1.12±0.23[b]	1.35±0.19[b]	1.15±0.26[b]	1.32±0.35[b]
Lysozyme activity (µg/ml)	16.21±1.16[a]	19.41±1.44[a]	34.99±4.49[c]	26.33±3.12[b]	17.97±3.48[a]
ACH 50 (units/ml)	8.70±0.66[a]	9.11±0.62[a]	12.71±0.64[c]	10.57±1.04[b]	9.26±0.89[a]

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

3. องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน

ผลการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 120 วัน พบค่าองค์ประกอบทางเคมี ดังแสดงในตารางที่ 4 โดย

โปรตีนในเนื้อปลาเท่ากับ 19.38±0.83, 19.96±0.54,20.01±0.06, 19.35±1.10 และ 20.55±0.20 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ โดยมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ไขมันในเนื้อปลาเท่ากับ 5.64±0.61, 2.39±0.62, 2.00±0.44, 2.59±0.30 และ 1.80±0.06 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในทุกระดับมีปริมาณไขมันต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เถ้าในเนื้อปลาเท่ากับ 1.43±0.04, 1.58±0.18, 1.49±0.05, 1.47±0.09 และ 1.33±0.07 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ โดยมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ความชื้นในเนื้อปลาเท่ากับ 74.90±0.31, 75.44±0.53, 76.08±0.15, 75.85±0.58 และ 75.64±0.18 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ โดยมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

คาร์โบไฮเดรตในเนื้อปลาเท่ากับ 0.40±0.09, 0.72±0.32, 0.43±014, 0.36±0.24 และ 0.64±0.09 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ โดยมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ค่าพลังงานในเนื้อปลาเท่ากับ 128.90±1.32, 103.89±5.46, 99.76±2.87, 105.83±4.77 และ 101.14±1.61 Kcal/100 กรัม ตามลำดับ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในทุกระดับมีค่าพลังงานสะสมในเนื้อปลาต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

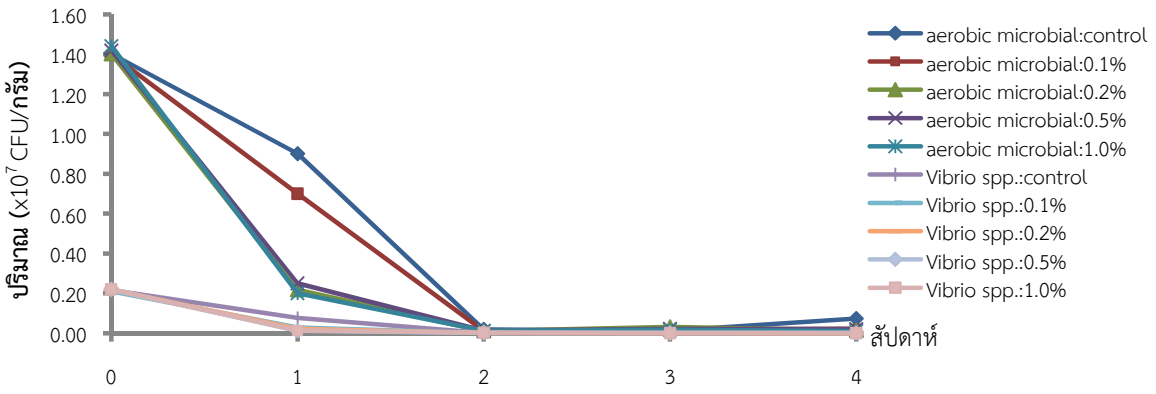
ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 120 วัน

ดัชนี	ระดับของยีสต์มีชีวิตที่เสริมในอาหารเม็ด (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)				
	0	0.1	0.2	0.5	1.0
โปรตีน (กรัม/100 กรัม)	19.38±0.83[a]	19.96±0.54[a]	20.01±0.06[a]	19.35±1.10[a]	20.55±0.20[a]
ไขมัน (กรัม/100 กรัม)	5.64±0.61[a]	2.39±0.62[b]	2.00±0.44[b]	2.59±0.30[b]	1.80±0.06[b]
เถ้า (กรัม/100 กรัม)	1.43±0.04[a]	1.58±0.18[a]	1.49±0.05[a]	1.47±0.09[a]	1.33±0.07[a]
ความชื้น (กรัม/100 กรัม)	74.90±0.31[a]	75.44±0.53[a]	76.08±0.15[a]	75.85±0.58[a]	75.64±0.18[a]
คาร์โบไฮเดรต (กรัม/100 กรัม)	0.40±0.09[a]	0.72±0.32[a]	0.43±014[a]	0.36±0.24[a]	0.64±0.09[a]
พลังงาน (Kcal/100 กรัม)	128.90±1.32[a]	103.89±5.46[b]	99.76±2.87[b]	105.83±4.77[b]	101.14±1.61[b]

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันตามแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

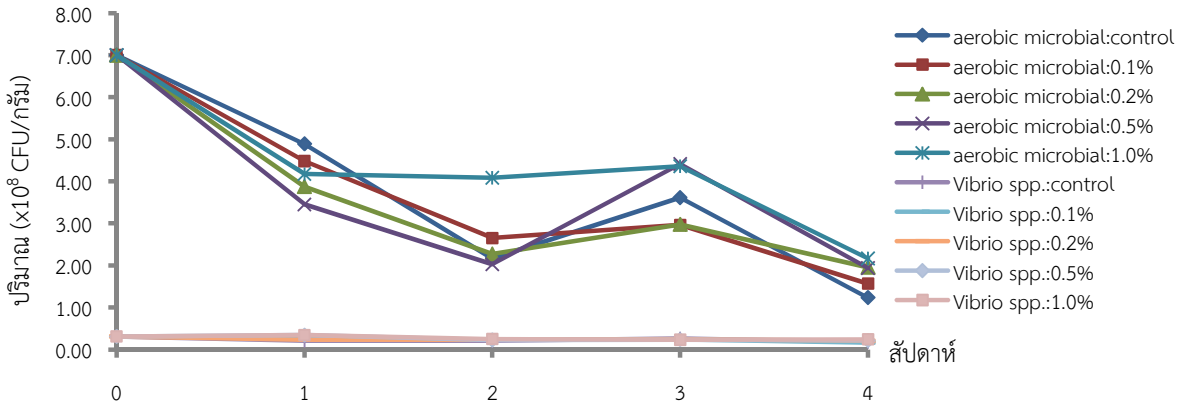
4. ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันกับประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลาในสิ่งขับถ่ายของปลาและในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้

หลังจากให้ปลากระบอกท่อนใต้อดอาหาร 3 วันเพื่อปรับสภาพและเตรียมระบบย่อยอาหารแล้วนำมาเลี้ยงในน้ำทะเลฆ่าเชื้อพบว่าในลำไส้ปลามีปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศเฉลี่ยระหว่าง$1.40x10^7$-$1.44x10^7$ CFU/กรัม แต่เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าในช่วงสัปดาห์แรกปลาที่ไม่ได้รับยีสต์และปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์จนครบ 2 สัปดาห์ จากนั้นจุลินทรีย์ในลำไส้ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์มีแนวโน้มลดลงและเริ่มมีปริมาณใกล้เคียงกันหลังจากได้รับอาหารเสริมยีสต์ไปแล้ว 2 สัปดาห์จนมีแนวโน้มคงที่ ($1.13x10^5$-$2.25x10^5$ CFU/กรัม) แต่ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศในลำไส้ปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ทุกระดับ ($7.26x10^5$ CFU/กรัม) ซึ่งมีแนวโน้มสอดคล้องกับปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. แต่ปริมาณต่ำกว่า โดยก่อนให้อาหารในลำไส้ปลามีปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ระหว่าง $2.10x10^6$-$2.20x10^6$ CFU/กรัม และเมื่อครบ 4 สัปดาห์ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ทุกชุดทดลองมีปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ในลำไส้ลดลงอยู่ในช่วง $1.9 x10^3$-$2.8 x10^3$ CFU/กรัม ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์ปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ในลำไส้มีค่าสูงกว่า ($9.53x10^3$ CFU/กรัม) (ภาพที่ 4)



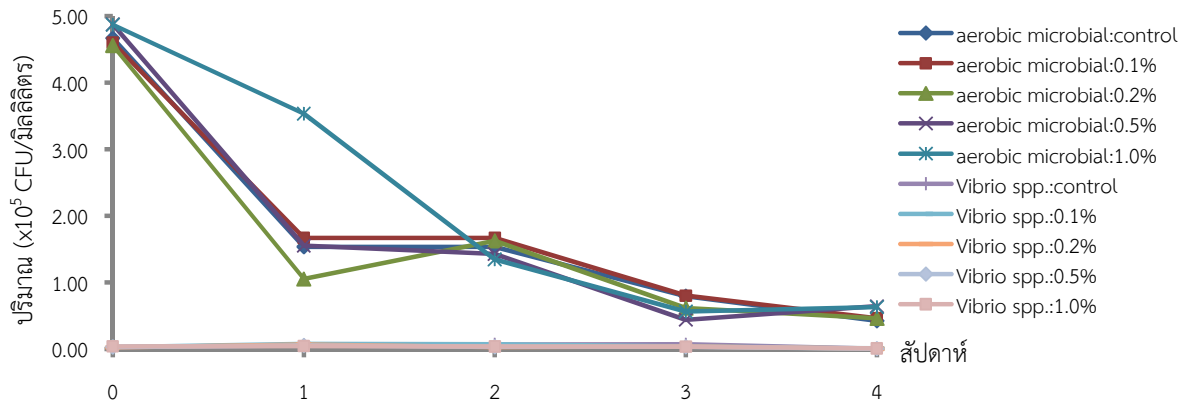
ภาพที่ 4 ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศ (aerobic microbial) และ *Vibrio* spp. ในลำไส้ปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/กรัม)

หลังจากให้ปลากระบอกท่อนใต้อดอาหาร 3 วันเพื่อปรับสภาพและเตรียมระบบย่อยอาหารแล้วนำมาเลี้ยงในน้ำทะเลฆ่าเชื้อพบว่าในสิ่งขับถ่ายของปลามีปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศเฉลี่ย $7.00x10^8$ CFU/กรัม แต่เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าในช่วงสัปดาห์แรกปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์และปลาที่ได้อาหารเสริมยีสต์ระดับต่ำมีแนวโน้มปริมาณจุลินทรีย์ในสิ่งขับถ่ายลดลงและมีปริมาณใกล้เคียงกันจนถึง 2 สัปดาห์หลังจากได้รับอาหารและมีแนวโน้มคงที่ ($1.56x10^8$-$2.16x10^8$ CFU/กรัม) โดยในสิ่งขับถ่ายของปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์มีปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในทุกระดับ ($1.23x10^8$ CFU/กรัม) ซึ่งมีแนวโน้มสอดคล้องกับแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. แต่ปริมาณต่ำกว่า โดยก่อนให้อาหารในสิ่งขับถ่ายของปลามีปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. เฉลี่ย $3.11x10^7$ CFU/กรัม และเมื่อครบ 4 สัปดาห์ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ทุกชุดทดลองมีปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ในสิ่งขับถ่ายลดลงอยู่ในช่วง $2.06x10^7$-$2.41x10^7$ CFU/กรัม ส่วนปลาที่ไม่ได้รับยีสต์และได้รับยีสต์ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์มีค่าแบคทีเรีย *Vibrio* spp. อยู่ในระดับต่ำกว่า ($1.63 x10^7$-$1.78x10^7$ CFU/กรัม) (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศ (aerobic microbial) และ *Vibrio* spp. ในสิ่งขับถ่ายของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/กรัม)

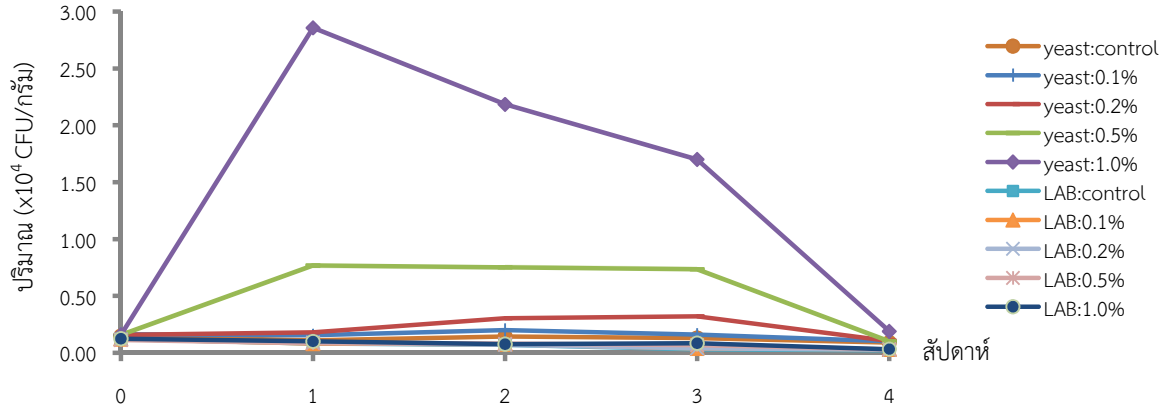
หลังจากให้ปลากระบอกท่อนใต้อดอาหาร 3 วันเพื่อปรับสภาพและเตรียมระบบย่อยอาหารแล้วนำมาเลี้ยงในน้ำทะเลฆ่าเชื้อพบปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศในน้ำเฉลี่ยระหว่าง 4.55×10^{5}-4.87×10^{5} CFU/มิลลิลิตร แต่เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในช่วงสัปดาห์แรกในน้ำเลี้ยงปลาที่ได้รับอาหารทุกชุดทดลองมีปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศลดลงจนเริ่มมีปริมาณใกล้เคียงกันหลังจากได้รับอาหารเสริมยีสต์ครบ 4 สัปดาห์ (4.20×10^{4}-6.41×10^{4} CFU/มิลลิลิตร) ซึ่งมีแนวโน้มสอดคล้องกับแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. แต่ปริมาณต่ำกว่าจุลินทรีย์ใช้อากาศ โดยก่อนให้อาหารในน้ำมีปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. เฉลี่ย 2.3×10^{3}-3.9×10^{3} CFU/มิลลิลิตร และมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นเมื่อครบ 3 สัปดาห์ จากนั้นปริมาณลดลงอยู่ในระดับต่ำ 2.01×10^{2}-9.30×10^{2} CFU/มิลลิลิตร เมื่อครบ 4 สัปดาห์น้ำเลี้ยงปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ต่ำสุดเท่ากับ 2.10×10^{2} CFU/มิลลิลิตร (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศ (aerobic microbial) และ *Vibrio* spp. ในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/มิลลิลิตร)

หลังจากให้ปลากระบอกท่อนใต้อดอาหาร 3 วันเพื่อปรับสภาพและเตรียมระบบย่อยอาหารแล้วพบว่าในลำไส้ของปลามีปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* เฉลี่ยระหว่าง 1.46×10^{3}-1.63×10^{3} CFU/กรัม แต่เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในช่วงสัปดาห์แรกลำไส้ปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์นั้นปริมาณยีสต์ลดลงเท่ากับ 1.10×10^{3} CFU/กรัม แต่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในระดับ 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณยีสต์ในลำไส้เพิ่มสูงขึ้นและสูงสุดในสัปดาห์ที่ 2 ตามระดับยีสต์ ยกเว้นที่ระดับ 1.0 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณยีสต์เพิ่มสูงสุดในสัปดาห์ที่ 1 และลดลงเล็กน้อยจนครบ 3 สัปดาห์ แต่เมื่อให้ปลาอดอาหาร 3 วันก่อนสิ้น

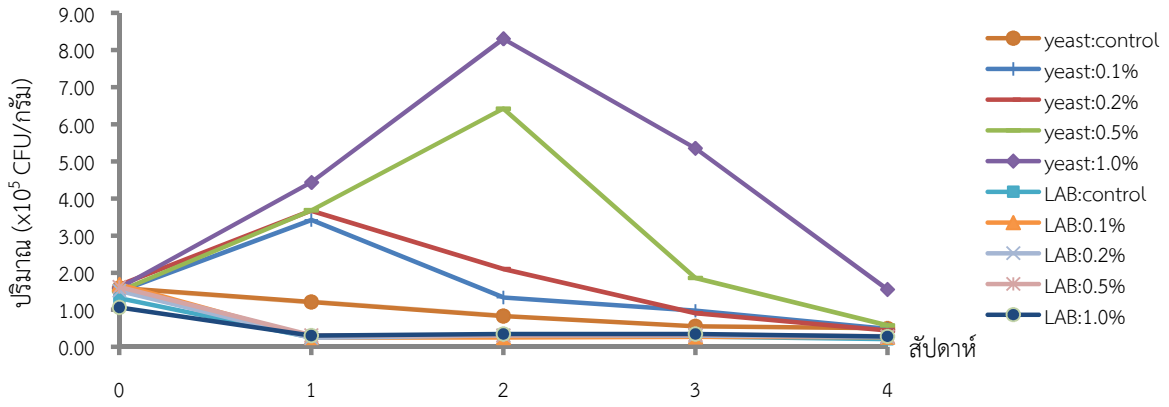
สัปดาห์ที่ 4 พบว่ายีสต์ในลำไส้มีแนวโน้มลดลงในทุกชุดทดลองและปริมาณยีสต์ในลำไส้ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ทุกระดับมีปริมาณใกล้เคียงกับก่อนให้อาหาร ($1.00x10^3$-$1.90x10^3$ CFU/กรัม) แต่ในชุดควบคุมปริมาณยีสต์ในลำไส้ลดลงอย่างชัดเจน ($9.0x10^2$ CFU/กรัม) ส่วนกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในช่วงแรกก่อนให้อาหารมีปริมาณเฉลี่ย $1.12x10^3$-$1.23x10^3$ CFU/กรัม จากนั้นเมื่อได้รับอาหารทดลองปริมาณแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในลำไส้ปลามีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเลี้ยงจนเมื่อครบ 4 สัปดาห์ปริมาณอยู่ในระดับใกล้เคียงกันทุกชุดทดลอง ($2.20x10^2$-$3.20x10^2$ CFU/กรัม) (ภาพที่ 7)



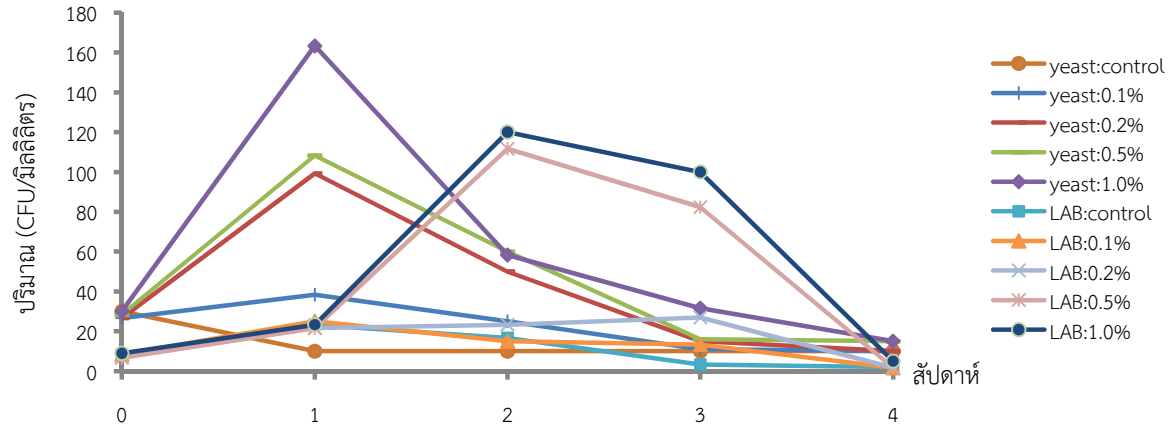
ภาพที่ 7 ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria: LAB) ในลำไส้ปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/กรัม)

หลังจากให้ปลากระบอกท่อนใต้อดอาหาร 3 วันเพื่อปรับสภาพและเตรียมระบบย่อยอาหารแล้ว พบว่าในสิ่งขับถ่ายของปลามีปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* เฉลี่ยระหว่าง $1.49x10^5$-$1.66x10^5$ CFU/กรัม แต่เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงสัปดาห์แรกปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์พบว่าปริมาณยีสต์ในสิ่งขับถ่ายลดลงเท่ากับ $1.21x10^5$ CFU/กรัม ในขณะที่ปลาได้รับอาหารเสริมยีสต์ในทุกระดับมีปริมาณยีสต์ในสิ่งขับถ่ายเพิ่มสูงขึ้นตามระดับยีสต์จนครบ 3 สัปดาห์ แต่เมื่อให้ปลาอดอาหาร 3 วันก่อนสิ้นสัปดาห์ที่ 4 พบว่ายีสต์ในสิ่งขับถ่ายมีแนวโน้มลดลงในทุกชุดทดลอง ($4.40x10^4$-$5.80x10^4$ CFU/กรัม) แต่ปริมาณยีสต์ในสิ่งขับถ่ายของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 1.0 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณสูงที่สุด $1.55x10^5$ CFU/กรัม ใกล้เคียงกับช่วงเริ่มต้นก่อนให้อาหาร ($1.59x10^5$ CFU/กรัม) ส่วนกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในช่วงแรกก่อนให้อาหารทดลองมีปริมาณเฉลี่ย $1.01x10^5$-$1.68x10^5$ CFU/กรัม จากนั้นเมื่อปลาได้รับอาหารทดลองปริมาณกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในสิ่งขับถ่ายมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเลี้ยงและอยู่ในระดับใกล้เคียงกันในทุกชุดทดลอง ($2.10x10^4$-$2.85x10^4$ CFU/กรัม) (ภาพที่ 8)

หลังจากให้ปลากระบอกท่อนใต้อดอาหาร 3 วันแล้วนำมาเลี้ยงในน้ำทะเลฆ่าเชื้อพบว่าปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* ในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลามีค่าต่ำระหว่าง 20-30 CFU/มิลลิลิตร แต่เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในทุกระดับมีปริมาณยีสต์ในน้ำเพิ่มสูงขึ้นตามระดับของยีสต์จนครบ 3 สัปดาห์ แต่เมื่อให้ปลาอดอาหาร 3 วันก่อนสิ้นสัปดาห์ที่ 4 ปริมาณยีสต์ในน้ำลดลงอยู่ในระดับใกล้เคียงกันทุกชุดทดลอง (10-15 CFU/มิลลิลิตร) ส่วนกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในช่วงแรกก่อนให้อาหารทดลองมีปริมาณเฉลี่ย 7-8 CFU/มิลลิลิตร จากนั้นเมื่อปลาได้รับอาหารทดลองปริมาณกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลามีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเลี้ยง และเมื่อครบ 4 สัปดาห์มีปริมาณใกล้เคียงกันในทุกชุดทดลอง (2-5 CFU/มิลลิลิตร) (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 8 ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria: LAB) ในสิ่งขับถ่ายของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/กรัม)



ภาพที่ 9 ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* และแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria: LAB) ในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน (CFU/มิลลิลิตร)

5. คุณภาพน้ำระหว่างการทดลองเลี้ยงปลากระบอก

5.1 คุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ในกระชังตลอดระยะเวลา 120 วัน มีค่าเฉลี่ย (ต่ำสุด-สูงสุด) โดยค่าอุณหภูมิน้ำเท่ากับ 27.5 (26-29) องศาเซลเซียส ความเค็มเท่ากับ 27.5 (23-30) ส่วนในพันส่วน ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.99 (7.72-8.34) ค่าเป็นด่างเท่ากับ 98.1 (78.5-129.5)มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 5.0 (4.0-6.4) มิลลิกรัม/ลิตร แอมโมเนียรวมเท่ากับ 0.1206 (0.0425-0.9690) มิลลิกรัม/ลิตร ไนไตรท์เท่ากับ 0.0095 (0.0009-0.1200) มิลลิกรัม/ลิตร ออร์โธฟอสเฟตเท่ากับ 0.0698 (0.0342-0.1164) มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณจุลินทรีย์ใช้อากาศเท่ากับ 2.01×10^{3} (2.0×10^{3}-1.85×10^{4}) CFU/มิลลิลิตร ปริมาณยีสต์ *S. cerevisiae* เท่ากับ 1.26×10^{2} (0-8.70×10^{2})CFU/มิลลิลิตร และแบคทีเรีย *Vibrio* spp. เท่ากับ 6.19×10^{2} (0-5.82×10^{3}) CFU/มิลลิลิตร

5.2 คุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ในถังทดลองตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีค่าเฉลี่ย (ต่ำสุด-สูงสุด) โดยค่าอุณหภูมิน้ำเท่ากับ 26.5 (26-27) องศาเซลเซียส ความเค็มเท่ากับ 27.5 (23-30) ส่วนในพันส่วน ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.89 (7.40-8.15) ค่าเป็นด่างเท่ากับ 116.3 (106.0-133.4) มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำเท่ากับ 4.9 (4.0-5.0) มิลลิกรัม/ลิตร แอมโมเนียรวมเท่ากับ 1.6174 (0.1979-0.9554) มิลลิกรัม/ลิตร ไนไตรท์เท่ากับ 0.1345 (0.0144-0.6012) มิลลิกรัม/ลิตร และออร์โธฟอสเฟตเท่ากับ 0.1410 (0.0000-0.5428) มิลลิกรัม/ลิตร

วิจารณ์ผล

1. การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน

ปลากระบอกท่อนใต้ที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์เป็นระยะเวลา 120 วัน มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับอื่น ๆ ทั้งด้านน้ำหนักและความยาว แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าการเสริมยีสต์ในระดับสูงสุด 1.0 เปอร์เซ็นต์นั้นส่งผลให้ปลาเจริญเติบโตดีในช่วง 60 วันแรก เนื่องจากปลาขนาดเล็กต้องการโปรตีนในระดับสูงกว่าปลาขนาดใหญ่ขึ้น (วีรพงศ์, 2536) โดยโปรตีนในอาหารเสริมยีสต์ระดับ 1.0 เปอร์เซ็นต์นั้นมีค่าสูงกว่าระดับอื่นๆ เล็กน้อย แต่หลังจากนั้นปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด รองลงมาคือระดับ 0.1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน นอกจากนั้นปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์มีค่าอัตรารอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษาค่าสัมประสิทธิ์ความสมบูรณ์ของปลา (K) ซึ่งค่อนข้างจำเพาะในแต่ละสายพันธุ์ที่ใช้บ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงสภาวะอาหารของปลาได้พบว่าปลากระบอก *Liza melinoptera* มีค่า K สูงขึ้นในช่วงที่ปลากินอาหารสูงสุดและมีการสะสมไขมัน (Zubia *et al.*, 2014) เช่นเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปลากระบอกท่อนใต้ที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์มีค่า K สูงสุดและมีการสะสมไขมันในเนื้อปลามากที่สุด ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีการเจริญเติบโตดีที่สุดแต่มีค่า K ต่ำสุดและไขมันในเนื้อปลาน้อยกว่าปลาในชุดควบคุม เช่นเดียวกับปลา thick lipped grey mullet ที่มีการเจริญเติบโตดีนั้นไม่พบการสะสมไขมันในเนื้อปลา (De las Heras *et al.*, 2015) ส่วนผลการศึกษาค่าดัชนีตับ (HSI) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ทุกระดับมีแนวโน้มค่าดัชนีตับสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์ โดยพบว่าปลาที่เจริญเติบโตดีมีความสมบูรณ์นั้นตับมีขนาดใหญ่เนื่องจากตับเป็นแหล่งสะสมสารอาหารที่สำคัญ (สุดชาดาและคณะ, 2557) เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการใช้อาหารในปลากระบอกท่อนใต้พบว่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่า PER สูงที่สุดแต่ไม่แตกต่างกับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับค่า FCR ชี้ให้เห็นว่าอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ทำให้ปลากระบอกท่อนใต้สามารถเปลี่ยนอาหารไปเป็นน้ำหนักตัวและมีการเจริญเติบโตดีที่สุด แต่ปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญเติบโต ค่า FCR และอัตรารอดตายสูงกว่าที่ระดับอื่นเป็นผลจากปริมาณยีสต์ที่เหมาะสม (Gatesoupe, 2002; Vine *et al.*, 2006; Osman *et al.*, 2010) แต่ไม่ได้เกิดจากปริมาณสารอาหารที่อยู่ในอาหารปลาโดยตรง (Ran *et al.*, 2015) เช่นเดียวกับผลการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าการเสริมยีสต์ในปริมาณสูงไม่ได้ส่งผลต่อการเจริญเติบโต (ธัชนนท์ และสมเกียรติ, 2552; Tovar-Ramírez *et al.*, 2002,2004; Pooramini *et al.*,2009; Chiu *et al*, 2010; Osman *et al.*, 2010; Asadi Rad *et al.*, 2012) แต่ยีสต์ไปสร้างโมเลกุลของสารที่เป็น growth factor (Mona *et al.*, 2015) เช่น polyamines (spermine และ spermidine) ที่เป็นแหล่งสารอาหารให้กับจุลินทรีย์ในลำไส้และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและเสริมสร้างการทำงานของเยื่อบุระบบทางเดินอาหารของปลาซึ่งทำงานได้ดีที่ระดับต่ำ ๆ (Tovar-Ramírez *et al.*, 2002, 2004) หรือเกิดจากเอนไซม์ย่อยอาหารที่ยีสต์สร้างขึ้นในระบบทางเดินอาหารสัตว์น้ำ โดยปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์มีการผลิตเอนไซม์ย่อยอาหาร ได้แก่ amylase, lipase และ trypsin ในลำไส้มากขึ้นส่งผลต่อการย่อยและการดูดซึมสารอาหารไปใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโต (Tovar-Ramírez *et al.*, 2004; Essa *et al.*, 2010) ซึ่งเอนไซม์ trypsin มีบทบาทในการควบคุมการย่อยโปรตีนและพบสูงสุดเมื่อสัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตเร็ว (การุณ และอุทัยวรรณ, 2555) โดยปลา nile tilapia ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับ 1.0 กรัม/กิโลกรัม เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่าระดับ 0.25, 0.5, 2.0 และ 5.0 กรัม/กิโลกรัม (Abdel-Tawwab *et al.*, 2008) และยังทำให้ค่า FCR ลดลงด้วย (Oliva-Teles and Goncalves, 2001) นอกจากนี้รูปแบบของยีสต์ก็มีความสำคัญ

เช่นปลา nile tilapia ที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์มีชีวิต (live baker's yeast) มีการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย ความยาวและความหนาแน่นของ microvilli ในลำไส้ปลาสูงกว่าปลาที่ได้รับยีสต์แห้ง (inactivated baker's yeast) และมีแนวโน้มค่า FCR ดีกว่าด้วย (Ran *et al*., 2015) เนื่องจาก microvilli เป็นอวัยวะที่สำคัญในการช่วยดูดซึมสารอาหาร ซึ่งในลำไส้ปลากระบอกมี microvilli ยาวและหนาแน่นและยังมี globlet cell เป็นจำนวนมากที่ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวให้เซลล์ได้สัมผัสกับอาหารได้มากขึ้นและเพิ่มการดูดซึมสารอาหารต่างๆ (El-Bakery and El-Gammal, 2010) หรือเกิดจากยีสต์ที่เสริมในอาหารมี mannan-oligosaccharide (MOS) และเบต้ากลูแคนที่ไปกระตุ้นการดูดซึมสารอาหารภายในลำไส้และทำให้ปลาเจริญเติบโตดี (Misra *et al*., 2006; Staykov *et al*., 2007) ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าระยะเวลาและระดับของยีสต์ที่เสริมในอาหารกับช่วงอายุของปลากระบอกท่อนใต้นั้นมีความเหมาะสมแล้ว (Wache *et al*., 2006; He *et al*.,2009)

2. องค์ประกอบเลือดและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน

การเสริมยีสต์มีชีวิตระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีประสิทธิภาพสูงสุดในการส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะชนิดสารน้ำ (innate humoral immune) ในปลากระบอกท่อนใต้ โดยเฉพาะค่า lysozyme activity และระบบ complement (ACH 50) นอกจากนี้การเสริมยีสต์ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ยังช่วยส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันได้สูงกว่าการเสริมในระดับ 0.1, 1.0 เปอร์เซ็นต์และที่ไม่เสริมยีสต์ ส่วนค่าองค์ประกอบเลือดโดยเฉพาะปริมาณเม็ดเลือดขาวในปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ทุกระดับมีปริมาณสูงกว่าปลาที่ไม่ได้รับยีสต์นั้นชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของเม็ดเลือดขาวน่าจะเป็นผลโดยตรงจากการได้รับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มาจากยีสต์ เช่น เบต้ากลูแคนที่ไปกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดขาวให้มากขึ้นในระดับหนึ่งแต่ไม่สูงเท่ากับกรณีเกิดการติดเชื้อ แต่หากปลาได้รับการรุกรานจากเชื้อโรคจำนวนเม็ดเลือดขาวที่มีมากพอก็สามารถกำจัดเชื้อออกไปได้ดีกว่าปลาที่มีจำนวนเม็ดเลือดขาวน้อยกว่า (จุไลวรรณ และคณะ, 2550; จิราพร, 2557) เนื่องจากผนังเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* มีเบต้ากลูแคนเป็นองค์ประกอบสำคัญสูงถึง 30-45 เปอร์เซ็นต์ (Klis *et al*., 2006)ซึ่งจัดเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่สำคัญในปลา (Magnadottir, 2006) ส่วนสารอื่นๆที่ได้จากยีสต์ เช่น MOS ไคติน วิตามิน เปปไทด์ กรดอะมิโน และกรดไขมันนั้นยังช่วยเพิ่มการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของปลาได้เช่นเดียวกัน แต่ต้องใช้ในระดับที่เหมาะสม (Chi *et al*., 2006)

การเสริมยีสต์มีชีวิตระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งมีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีนั้นอาจเกิดจากสารบางอย่างที่ยีสต์มีชีวิตผลิตขึ้นและมีผลต่อ microvilli ที่อยู่ในลำไส้ปลาซึ่งทำหน้าที่ช่วยในการดูดซึมสารอาหารและส่งเสริมภูมิคุ้มกันของปลาได้ดีกว่าปลาที่ได้รับยีสต์ที่ตายแล้ว (Abdel-Tawwab *et al*., 2008; Abu-Elala *et al*., 2013; Huang *et al*., 2015; Ran *et al*., 2015) และยังมีผลต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลาอีกด้วย (Gatesoupe, 2007; He *et al*., 2009) เนื่องจากในเยื่อเมือกผนังลำไส้ปลาเป็นตำแหน่งหลักที่จุลินทรีย์ในลำไส้ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน คือบริเวณเยื่อบุทางเดินอาหาร (gut associated lymphoid tissue; GALT) ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มของเซลล์ ได้แก่ lymphocytes macrophages และ granulocytes ที่มีกลไกในการแยกแยะระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ โดยการแก่งแย่งยึดเกาะผิวเยื่อเมือกในลำไส้กับจุลินทรีย์ประจำถิ่นนั้นเป็นการปรับสมดุลของประชากรจุลินทรีย์และส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างระบบภูมิคุ้มกันบางอย่างและจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ปลาจึงมีความเกี่ยวข้องกัน (Pérez *et al*., 2010) เนื่องจากในลำไส้ปลาทะเลที่มีสุขภาพดี เช่น ปลา salmon, yellow tail และ croker ทั้งที่จับจากธรรมชาติและจากฟาร์มเลี้ยงนั้นมี *S. cerevisiae* เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นและไปแย่งชิงพื้นที่กับแบคทีเรียก่อโรคซึ่งยีสต์มีประสิทธิภาพสูงกว่าหรือยีสต์ไปกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลา (Caruffo *et al*., 2015)ผลการศึกษาปลาสวายโมงที่ได้รับ brewer's yeast ทดแทนปลาป่นพบว่ามีการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ค่า lysozyme

activity และระบบ complement สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารปกติ (Pongpet *et al*., 2016) เช่นเดียวกับการเพิ่มขึ้นของค่า lysozyme ในปลา nile tilapia (Magda *et al*., 2011) และปลากะพงขาว (ธัชนนท์ และสมเกียรติ, 2552) สอดคล้องกับการใช้ baker's yeast ในปลาอีกหลายชนิด (Osman *et al*., 2010; Abu-Elala *et al*., 2013; Kafilzadeh *et al*., 2013) และยังช่วยเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อ *Streptococcus* sp. และ Iridovirus ในปลากะรังดอกแดง (*Epinephelus coioides*) (Chiu *et al*., 2010) อีกเหตุผลหนึ่งอาจเกิดจากความสมดุลของสารอาหาร เช่น กรดอะมิโน กรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามิน แร่ธาตุ และโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์ (enzyme co-factors) ซึ่งมีความสำคัญต่อพัฒนาการระบบภูมิคุ้มกัน (วิน, 2556) โดยความต้องการสารอาหารเพื่อให้ระบบภูมิคุ้มกันทำงานได้อย่างปกตินั้นน้อยกว่าความต้องการสารอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ (ชนกันต์, 2558)

3. องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกัน

อาหารที่เตรียมได้ทุกชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า ความชื้น และค่าพลังงานอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน แต่เมื่อปลากระบอกท่อนใต้ได้รับอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตทำให้ค่าไขมันและพลังงานในเนื้อปลาต่ำกว่าปลาในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) อาจเป็นผลจากที่ยีสต์ไปกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์ย่อยไขมัน (lipase activity) ที่ช่วยย่อยและดูดซึมไขมันไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าปลาในชุดควบคุม โดยเอนไซม์ชนิดนี้ถูกผลิตขึ้นในเยื่อเมือกลำไส้ (intestinal mucosa) (Tocher, 2003) และชี้ให้เห็นว่าปลาได้รับอาหารเสริมยีสต์ในระดับที่เหมาะสมแล้วนำสารอาหารนั้นไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้เต็มประสิทธิภาพจึงทำให้มีการสะสมพลังงานไว้ในตัวปลาในรูปของไขมันและค่าพลังงานต่ำกว่า (Hunt *et al*., 2014) แต่ค่าโปรตีน ความชื้น เถ้า และคาร์โบไฮเดรตในเนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์ทุกระดับไม่แตกต่างกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารในชุดควบคุมแสดงว่าปลาได้รับโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และแร่ธาตุต่างๆในปริมาณที่เหมาะสมต่อความต้องการแล้ว (จิราพร, 2557) เช่นเดียวกับการเสริม prebiotic ที่สกัดได้จากยีสต์ในอาหารเลี้ยงปลา rainbow trout ทำให้ค่าองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลาไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารปกติ (Tukmechi and Bandboni, 2014) โดยเฉพาะค่าโปรตีนในเนื้อปลาที่ไม่แตกต่างกันนั้นเนื่องจากส่วนใหญ่ค่าโปรตีนค่อนข้างคงที่เมื่อปลาเจริญเติบโตจนถึงระยะหนึ่งโดยมีปัจจัยภายนอกเข้ามาเกี่ยวข้องน้อยมาก (Love, 1992; Grigorakis, 2010 อ้างตาม Grigorakis, 2015) เช่น ปลา nile tilapia ที่ได้รับโปรตีนแตกต่างกัน 27.4-33.5 เปอร์เซ็นต์นั้นไม่ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนในเนื้อปลา (Zhou *et al*., 2015) ซึ่งแตกต่างจากไขมันในเนื้อปลาโดยเฉพาะกลุ่มปลากระบอกที่พบว่าระดับไขมันในเนื้อปลาขึ้นอยู่กับขนาดของปลา เช่นปลา *Liza aurata* ที่ขนาดใหญ่ขึ้นมีระดับไขมันในเนื้อปลาลดลง (Kamdem *et al*., 2008; Prato and Biandolino, 2012) เช่นเดียวกับปัจจัยด้านอาหารโดยเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีนเท่ากันแต่สัดส่วนไขมันต่ำกว่าทำให้มีการสะสมไขมันในกล้ามเนื้อปลา (muscle fat) และไขมันในช่องท้อง (visceral fat) สูงกว่า (Regost *et al.,* 2001) ที่สำคัญคือเป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัว (Ozogul *et al*., 2009; Bhouri *et al*., 2010) ที่ไม่ส่งผลดีต่อสุขภาพผู้บริโภคแม้ว่าทำให้เนื้อปลามีความหวานกว่า (Grigorakis *et al*., 2016) โดยเฉพาะกลุ่มปลากระบอกที่มีชั้นไขมันในช่องท้องค่อนข้างหนาและยิ่งเป็นปลาจากฟาร์มเลี้ยงซึ่งมีการสะสมไขมันมากกว่าปลาจากธรรมชาติ ผลการศึกษาไขมันในเนื้อปลากระบอกของไทยพบว่ามีค่าไขมัน 1.56 กรัม/100 กรัม (พิมพร, 2541) ซึ่งใกล้เคียงกับค่าไขมันในเนื้อปลากระบอกท่อนใต้ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์ทุกระดับ (1.80-2.59 กรัม/100 กรัม) ในขณะที่ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติมีค่าไขมันสูงถึง 5.64 กรัม/100 กรัม อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในเนื้อปลานั้นก็ยังมีความแตกต่างกันซึ่งเกิดจากหลายปัจจัย เช่น ชนิดของปลาและพฤติกรรมการกินอาหาร จุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำ ช่วงการเจริญเติบโต ระยะเวลาทดลองที่สั้นกว่าและปลามีขนาดเล็กจึงทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีทั้งตัวปลา (Pooramini *et al.,* 2009; Asadi Rad *et al*., 2012; Kafilzadeh *et al.,* 2013; Bogard *et al*., 2015)

4. ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในอาหารเสริมยีสต์มีชีวิตระดับต่างกันกับจุลินทรีย์ในลำไส้ ในสิ่งขับถ่ายของปลาและในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้

ปลากระบอกท่อนใต้ที่ให้อดอาหาร 3 วันเพื่อเตรียมระบบการย่อยตรวจพบจุลินทรีย์ใช้อากาศในลำไส้อยู่ในระดับสูงเฉลี่ย 1.41×10^7 CFU/กรัม โดยประมาณ 15.4 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์เป็นแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. พบเฉลี่ย 2.17×10^6 CFU/กรัม และยีสต์ชนิด *S. cerevisiae* เฉลี่ย 1.56×10^3 CFU/กรัม คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ และพบยีสต์สกุล *Candida* spp. ปริมาณน้อย (ไม่แสดงข้อมูล) จากการศึกษาปลาในธรรมชาติที่มีสุขภาพดีนั้นตรวจพบยีสต์ในลำไส้ได้น้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์ที่พบทั้งหมด แต่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารที่มีประโยชน์เพียงพอต่อความต้องการของปลา เนื่องจากคุณสมบัติทางสรีวิทยาที่สำคัญของยีสต์ซึ่งมีปริมาตรเซลล์ใหญ่กว่าแบคทีเรียถึง 100 เท่าจึงไม่จำเป็นต้องให้มีจำนวนเซลล์ยีสต์เท่ากับแบคทีเรีย (Gatesoupe, 2007) และพบว่าแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. เป็นหนึ่งในจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ปลากระบอกท่อนใต้เช่นเดียวกับปลาทะเลหรือปลาน้ำกร่อยชนิดอื่น ๆ (Muroga *et al.*, 1987; Savas *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2009; Welker and Lim, 2011; Li *et al.,* 2014) เนื่องจากปลากินพืชซึ่งมีส่วนของเซลลูโลส (cellulose) เป็นองค์ประกอบนั้นปลาไม่สามารถหลั่งเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ออกมาย่อยเซลลูโลสได้เองแต่ต้องอาศัยจุลินทรีย์ในลำไส้ปลาในการหลั่งเอนไซม์ออกมาช่วยย่อย เช่นแบคทีเรีย *Vibrio* spp. และ *Aeromonas* spp. (วีระพงศ์, 2536) รวมทั้งยีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งพบว่าเป็นส่วนหนึ่งของประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของปลาทั้งจากธรรมชาติและฟาร์มเลี้ยง (Andlid *et al.*, 1995; Welker and Lim, 2011; Navarrete and Tovar-Ramírez, 2014; Caruffo *et al.*, 2015) และกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (Sun *et al.*, 2009, 2013; Welker and Lim, 2011; Ye *et al.*, 2014; Ran *et al.,* 2015) เนื่องจากพบกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกเฉลี่ย 1.19×10^3 CFU/กรัม คิดเป็นสัดส่วน 0.008 เปอร์เซ็นต์ โดยประชากรจุลินทรีย์ในระบบย่อยอาหารของสัตว์น้ำสะท้อนให้เห็นปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่สัตว์น้ำอาศัยอยู่ เช่น อุณหภูมิ (Wache *et al.* 2006) ความเค็มน้ำ (Welker and Lim, 2011) การเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล และพฤติกรรมการกินอาหาร (Ye *et al.*, 2014) การเสริมยีสต์มีชีวิต *S. cerevisiae* ในอาหารพบว่ายีสต์สามารถเคลื่อนที่เข้าไปอาศัยในระบบทางเดินอาหารของปลาและทำให้ประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลาเปลี่ยนแปลงไปโดยเพิ่มจำนวนยีสต์ (Andlid *et al.*, 1995; Tovar-Ramírez *et al.*, 2004; Wache *et al.*, 2006; He *et al.*, 2009; Welker and Lim, 2011; Ramos *et al.*, 2013) ซึ่งปริมาณยีสต์ในลำไส้ปลา ในสิ่งขับถ่ายของปลาและในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของยีสต์ที่ปลาได้รับจากอาหาร แต่ยีสต์ส่วนใหญ่ถูกขับออกมากับสิ่งขับถ่ายของปลาและสามารถมีชีวิตรอดในน้ำได้เพียงบางส่วนเท่านั้น (Andlid *et al.*, 1995) ตรงกันข้ามกับจำนวนจุลินทรีย์ใช้อากาศและแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ในลำไส้ปลาที่ลดลงตามสัดส่วนของยีสต์ที่เสริมในอาหาร ในขณะที่กลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในลำไส้มีแนวโน้มอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันในทุกชุดทดลอง

เมื่อให้ปลาอดอาหาร 3 วันก่อนสิ้นสัปดาห์ที่ 4 เพื่อตรวจสอบความสามารถของยีสต์ในการยึดเกาะอาศัยอยู่ในลำไส้ปลา พบว่ายีสต์ซึ่งปลาได้รับจากอาหารยังสามารถเกาะติดอยู่ในลำไส้ปลาได้ระดับหนึ่ง (1.0×10^3-1.9×10^3 CFU/กรัม) ตามสัดส่วนของยีสต์ที่เสริมในอาหาร เช่นเดียวกับแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกที่สามารถอาศัยอยู่ในลำไส้ปลากระบอกท่อนใต้ระดับใกล้เคียงกันแม้แต่ในชุดควบคุมที่ไม่ได้เสริมยีสต์ (2.20×10^2-3.20×10^2 CFU/กรัม) ชี้ให้เห็นว่ายีสต์ที่ปลาได้รับจากการเสริมในอาหารไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกในลำไส้แต่ปริมาณที่ลดลงกว่าก่อนให้อาหารนั้นเป็นผลจากการที่จุลินทรีย์ถูกขับออกมากับสิ่งขับถ่ายของปลาเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้แบคทีเรีย *Vibrio* spp. ในลำไส้มีแนวโน้มลดลงตามสัดส่วนยีสต์ที่เสริมในอาหารและมีปริมาณคงที่จนสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 แสดงว่าแบคทีเรียสกุลนี้ยังเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ปลากระบอกท่อนใต้ ในขณะที่ลำไส้ปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียสกุล *Vibrio* spp. สูงกว่าปลาที่ได้รับยีสต์ทุกระดับอย่างชัดเจน (ศุภมาศ, 2555; Andlid *et al.*, 1995) เป็นผลจากแบคทีเรีย *Vibrio* spp. ถูกยีสต์

แย่งพื้นที่อาศัยในลำไส้ (Caruffo *et al*., 2015) ซึ่งพื้นผิวเซลล์ส่วนที่ไม่ชอบน้ำของยีสต์ (cell surface hydrophobic) ช่วยในการเกาะติดกับเมือกในลำไส้ (Vázquez-Juárez *et al*., 1997) และแบคทีเรีย *Vibrio* spp. อีกส่วนหนึ่งถูกขับออกมากับสิ่งขับถ่ายเช่นเดียวกับแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกและยีสต์ ผลจากการศึกษาของ Tovar-Ramírez *et al*. (2004) พบว่าปริมาณยีสต์ในลำไส้ของลูกปลา European sea bass เพิ่มขึ้นตามสัดส่วนยีสต์ที่เสริมในอาหารโดยพบในลำไส้ตอนต้นมากกว่าลำไส้ตอนปลายและสามารถอาศัยอยู่ในลำไส้ปลาได้หลายสัปดาห์ซึ่งพบยีสต์มีชีวิตรอดมากที่สุดในเมือก(intestinal mucus) ปริมาณสูงกว่า 10^3 CFU/กรัม เนื่องจากยีสต์ใช้เมือกในลำไส้เป็นตัวกลางในการยึดเกาะกับผนังลำไส้ลูกปลา (Andlid *et al*., 1995; Vázquez-Juárez *et al*., 1997; Pérez *et al*., 2010) นอกจากนี้ในเมือกของปลายังมีองค์ประกอบของโมเลกุลน้ำตาลสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ที่ยีสต์ใช้เป็นอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและยังเป็นอาหารให้กับจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ๆ ในทางเดินอาหารของปลาอีกด้วย (Asadi Rad *et al*., 2012) ยีสต์ *S. cerevisiae* CBS 7764 มีความสามารถในการเกาะติดกับเมือกเป็นแบบอิ่มตัว (saturation ability) ประมาณ 10^7 cell/well (Vázquez-Juárez *et al*., 1997) ดังนั้นการเพิ่มระดับยีสต์ในอาหารจนเกินกว่าระดับอิ่มตัวยีสต์ก็ไม่สามารถยึดเกาะกับเมือกในลำไส้ได้เพิ่มขึ้น ซึ่งมีแนวโน้มสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าการเสริมยีสต์ 0.2-1.0 เปอร์เซ็นต์ทำให้ยีสต์ในลำไส้มีปริมาณสูงสุดในสัปดาห์ที่ 2 และมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยในสัปดาห์ที่ 3 แม้ว่าปลาได้รับยีสต์อย่างต่อเนื่อง แต่ชนิดของปลา ระยะเวลาในการทดลองและระดับของยีสต์ที่แตกต่างกันก็เป็นปัจจัยสำคัญต่อระยะเวลาในการยึดเกาะผนังลำไส้ของยีสต์เช่นกัน (Ran *et al*., 2015) ปลา rainbow trout ที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ 10^6 CFU/กรัม พบว่าปริมาณยีสต์ในลำไส้เพิ่มสูงสุดหลังให้อาหาร 10 วัน จากนั้นค่อย ๆ ลดลงเมื่อครบ 1 เดือน และยังพบยีสต์ในชุดควบคุมเช่นเดียวกัน (Wache *et al*., 2006) ส่วนปริมาณแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกที่มีแนวโน้มใกล้เคียงกันในทุกชุดทดลองเนื่องจากเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นอีกกลุ่มหนึ่งในปลากระบอกท่อนใต้เช่นเดียวกับ *S. cerevisiae* แม้ว่าอาจไม่ใช่ประชากรที่มีจำนวนมากที่สุดแต่เป็นกลุ่มประชากรที่มีบทบาทสำคัญในลำไส้ปลา เช่นเกิดกลไกการทำงานแบบ symbiotic โดยยีสต์ผลิตสารที่แบคทีเรียสร้างกรดแลคติกต้องการใช้ในการเจริญเติบโต (Ran *et al*., 2015) แต่ปกติส่วนใหญ่พบว่าจุลินทรีย์ประจำถิ่นของสัตว์น้ำสามารถอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้ช่วงระยะเวลา 20-60 วันหลังฟักจากนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงประชากรอันเกิดจากปัจจัยในตัวปลาเองและจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมในการเลี้ยง เช่น น้ำ ฤดูกาล การจัดการฟาร์ม (Floris *et al*., 2013) และการกินอาหาร โดยเฉพาะปลาที่เป็น omnivorous มี gizzard ช่วยบดอาหารและมี pyloric caeca ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการย่อยและดูดซึมอาหารซึ่งการที่ปลากินอาหารได้หลายรูปแบบทั้งอินทรียวัตถุจากพืช ในตะกอนดินและสัตว์ขนาดเล็กได้เช่นเดียวกับปลากระบอก (El-Bakary and El-Gammal, 2010) ส่งผลให้จุลินทรีย์ในลำไส้มีความหลากหลายมากกว่าปลากินพืช (herbivorous) และปลากินเนื้อ (carnivorous) (Ye *et al*., 2014)

การเสริมยีสต์มีชีวิต *S. cerevisiae* ในอาหารเม็ดระดับ 0.2-1.0 เปอร์เซ็นต์เพื่อเลี้ยงปลากระบอกท่อนใต้ทำให้ยีสต์สามารถเคลื่อนที่เข้าไปอยู่อาศัยในลำไส้ปลาได้อย่างน้อยเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ โดยยีสต์เข้าไปเสริมการทำงานกับกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกแต่ไปขัดขวางการทำงานของแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์น้ำเค็มเพื่อรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา เนื่องจากในระยะเวลาการทดลอง 4 สัปดาห์ไม่พบการป่วยและตายของปลา แม้ว่าจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสัตว์น้ำส่วนใหญ่เป็นแบบชั่วคราวแต่ก็เพียงพอต่อกลไกการย่อยและการปลดปล่อยสารประกอบที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์น้ำ (Gatesoupe, 2007) แต่การเสริมยีสต์ในอาหารเพื่อการเลี้ยงปลาทะเลควรคำนึงถึงค่าความเค็มน้ำด้วยเนื่องจากเมื่อเพิ่มค่าความเข้มข้นของเกลือ NaCl ทำให้ประสิทธิภาพการยึดเกาะกับเมือกในผนังลำไส้ของยีสต์ *S. cerevisiae* ลดลง (Vázquez-Juárez *et al*., 1997) สำหรับในการทดลองครั้งนี้ค่าความเค็มน้ำเฉลี่ย 27.5 (23-30) ส่วนในพันส่วน

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่าการเสริมยีสต์มีชีวิต *S. cerevisiae* ในอาหารเม็ดที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง (6 กรัมน้ำหนักเปียก/อาหาร 1 กิโลกรัม) ที่มีปริมาณยีสต์มีชีวิตเฉลี่ย 1.07×10^5 CFU/กรัมอาหาร เป็นระดับที่เหมาะสมต่อปลากระบอกท่อนใต้ เนื่องจากยีสต์ *S. cerevisiae* เคลื่อนที่เข้าไปอาศัยในลำไส้ปลาและทำให้จุลินทรีย์ในลำไส้ปลาเกิดสมดุลโดยเฉพาะทำให้แบคทีเรียก่อโรคสกุล *Vibrio* spp. ในลำไส้ปลาลดลงอย่างชัดเจน ส่งผลให้ปลามีสุขภาพดีโดยไม่พบการตายตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 120 วัน และยังเพิ่มการเจริญเติบโต ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารปลา (อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีน) โดยการเสริมยีสต์มีชีวิตในอาหารไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในเนื้อปลา แต่ปริมาณไขมันรวมในเนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมยีสต์ต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมยีสต์ ซึ่งเป็นประเด็นที่น่าสนใจและควรมีการศึกษารูปแบบกรดไขมันในเนื้อปลาในโอกาสต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 4 (กระบี่) ที่ให้การสนับสนุนในการทำวิจัย และคุณจุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์ จากศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยตรวจวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันในปลา และขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเขต 4 (กระบี่) ที่ให้ความช่วยเหลือจนงานวิจัยสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง. 2558. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2556. เอกสารฉบับที่ 7/2558. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร, กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 87 หน้า.

การุณ ทองประจุแก้ว และอุทัยวรรณ โกวิทวที. 2555. เอนไซม์ย่อยอาหารกับการพัฒนาอาหารเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ 22(3) : 710-720.

จิราพร พงค์เพชร. 2557. การใช้ Brewer's yeast เป็นแหล่งโปรตีนเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่น ในอาหารปลาสวายโมง (Thai Panga). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา. 90 หน้า.

จุไลวรรณ รุ่งกำเนิดวงศ์ จำเริญศรี พวงแก้ว และกิจการ ศุภมาตย์. 2550. ผลของเบต้ากลูแคนต่อองค์ประกอบเลือด ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและความต้านทานโรคในปลากะรังดอกแดง. วารสารการประมง 60(2) : 152-160.

ชนกันต์ จิตมนัส. 2558. ภูมิคุ้มกันจากแม่ปลา. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 13(2) : 93-101.

ชวลิต วิทยานนท์. 2528. อนุกรมวิธานของปลากระบอกในน่านน้ำไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 187 หน้า.

ธัชนนท์ พุ่มโภคัย และสมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล. 2552. ผลของบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ในอาหารต่อการเติบโตและการรอดของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*). **ใน:** การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. สาขาประมง. กรุงเทพ ฯ. หน้า 444-452.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2548. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 5. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 576 หน้า.

พิมพร วัชรางค์กุล. 2541. กรดไขมันโอเมก้า-3 ในสัตว์น้ำ. วารสารการส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม 21(1) : http://advisor.anamai.moph.go.th/main.php?filename=JHealthVol21No1_02

วิน สุรเชษฐพงษ์. 2556. ระบบภูมิคุ้มกันในปลาสวยงามและการประยุกต์ใช้ทางสัตวแพทย์. วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์แห่งประเทศไทย 25(1-2) : 15-18.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 16 หน้า.

ศุภมาศ ถนอมมัน. 2555. การผลิตเอนไซม์ delta 6 desaturase ของปลานิลในยีสต์เพื่อใช้เสริมในอาหารปลา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา. 68 หน้า.

สุดชาดา ไชยแสง, บัณฑิต ยวงสร้อย, ปัทมา วิริยพัฒนาทรัพย์ และสุธี วงศ์มณีประทีป. 2557. ผลการเสริม *Schizochytrium* sp. ในอาหารต่อลักษณะทางสัณฐานบางประการและการเจริญเติบโตของปลานิล. แก่นเกษตร 42(1) : 44-50.

Abdel-Tawwab, M., A. M. Abdel-Rahman and N. E. M. Ismael. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged *in situ* with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 280 : 185-189.

Abu-Elala, N., M. Marzouk and M. Moustafa. 2013. Use of different *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. *Int. J. Vet. Sci. Med*. 1(1) : 21-29.

American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation (APHA, AWWA and WPCF). 1980. Standard method for the examination of water and wastewater. 15th ed. American Public Health Association, Washington D.C., USA. 1134 pp.

Andlid, T., R. V. Juárez and L. Gustafsson. 1995. Yeast colonizing the intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophtalmus maximus*). *Microb. Ecol.* 30(3) : 321-34.

Anusha, S. U., S. K. Sundar and P. G. Williams. 2014. Studies on the isolation and characterisation of marine yeast, glucan production and immunostimulatory activity on *Carassius auratus*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. 3(9) : 230-240.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC.). 2012. Official Methods of Analysis of AOAC International. 19th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland, USA. 3172 pp.

Asadi Rad, M., M. Zakeri, V. M. Yavari and S. M. Mousavi. 2012. Effect of different levels of dietary supplementation of *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, feed utilization and body biochemical composition of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Journal of the Persian Gulf (Marine Science)* 3(9) : 15-24.

Bakeer, M. N. 2006. Performance of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) reared in monoculture in the new desert areas. *Journal of The Arabian Aquaculture Society* 1(2) : 44-54.

Blaxhall, P. C. and K. W. Daisley, 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 5(6) : 771-781.

Bogard, J. R., S. H. Thilsted, G. C. Marks, M. A. Wahab, M. A. R. Hossain, J. Jakobsen and J. Stangoulis. 2015. Nutrient composition of important fish species in Bangladesh and potential contribution to recommended nutrient intakes. *J. Food Compos. Anal.* 42 : 120-133.

Bhouri, A. M., I. Bouhlel, L. Chouba, M. Hammami, M. El Cafsi and A. Chaouch. 2010. Total lipid content, fatty acid and mineral compositions of muscles and liver in wild and farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Afr. J. Food Sci.* 4(8) : 522-530.

Caruffo, M., N. Navarrete, O. Salgado, A. Díaz, P. López, K. García, C. G. Feijóo and P. Navarrete. 2015. Potential probiotic yeasts isolated from the fish gut protect zebrafish (*Danio rerio*) from a *Vibrio anguillarum* challenge. *Front. Microbiol.* 6 : 1-9.

Chi, Z., Z. Liu, L. Gao, F. Gong, C. Ma, X. Wang and H. Li. 2006. Marine yeasts and their applications in mariculture. *Journal of Ocean University of China* 5(3) : 251-256.

Chiu, C. H., C. H. Cheng, W. R. Gua, Y. K. Guu and W. Cheng. 2010. Dietary administration of the probiotic, *Saccharomyces cerevisiae* P13, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides. Fish Shellfish Immunol*. 29(6) : 1053-1059.

Compendium of Methods for Food Analysis. 2003. Compendium of Methods for Food Analysis, 1st Ed. Chapter2. Department of Medical Sciences (DMSc) and Department of Medical Sciences Foundation, National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards (ACFS). pp. 2-18.

De las Heras, V., J. A. Martos-Sitcha, M. Yúfera, J. M. Mancera and G. Martínez-Rodríguez. 2015. Influence of stocking density on growth, metabolism and stress of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) juveniles. *Aquaculture* 448 : 29-37.

El-Bakary, N. E. R. and H. L. El-Gammal. 2010. Comparative histological, histochemical and ultrastructural studies on the proximal intestine of flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) and sea bream (*Sparus aurata*). *World Appl. Sci. J.* 8(4) : 477-485.

Essa, M. A., S.S. El-Serafy, M. M. El-ezaby, S. M. Daboor, N. A. Esmael and S. P. Lall. 2010. Effect of different dietary probiotics on growth, feed utilization and digestive enzymes activities of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J. Arabian Aquacult. Soc.* 5(2) : 143-161.

Floris, R., S. Manca and N. Fois. 2013. Microbial ecology of intestinal tract of gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) from two coastal lagoons of Sardinia (Italy). *Transit. Waters Bull*. 7(2) : 4-12.

Gatesoupe, F. J. 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic *Vibrio. Aquat. Living Resour*. 7 : 277-282.

Gatesoupe, F. J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180(1-2) : 147-165.

Gatesoupe, F. J. 2002. Probiotic and formaldehyde treatments of Artemia nauplii as food for larval pollack, *Pollachius pollachius*. *Aquaculture* 212(1-4) : 347-360.

Gatesoupe, F. J. 2007. Live yeasts in the gut: Natural occurrence, dietary introduction, and their effects on fish health and development. *Aquaculture* 267(1-4) : 20-30.

Grigorakis, K. 2015. Fillet proximate composition, lipid quality, yields and organoleptic quality of Mediterranean farmed marine fish: A review with emphasis on new species, critical reviews. *Food Science and Nutrition* DOI: 10.1080/10408398.2015.1081145.

Grigorakis, K., N. Alexi, A. Vasilaki, I. Giogios and E. Fountoulaki. 2016. Chemical quality and sensory profile of the Mediterranean farmed fish shi drum (*Umbrina cirrosa*) as affected by its dietary protein/fat levels. *Italian Journal of Animal Science* (15)4 : 681-688.

He, S., Z. Zhigang, Y. Liu, P. Shi, B. Yao, E. Ringø and I. Yoon. 2009. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (DVAQUA®) on growth performance, intestinal autochthonous bacterial community and non-specific immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀ x *O. aureus* ♂) cultured in cages. *Aquaculture* 294(1-2) : 99-107.

Huang, L., C. Ran, S. He, P. Ren, J. Hu, X. Zhao and Z. Zhou. 2015. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* culture or live cells with *Bacillus amyloliquefaciens* spores on growth performance, gut mucosal morphology, hsp70 gene expression, and disease resistance of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* 438 : 33-38.

Hunt, A. O., F. O. Yilmaz, K. Engin, M. Berköz, S. G. Gündüz, S. Yalin and N. O. Sahin. 2014. The effects of fish meal replacement by yeast based nucleotides on growth, body composition and digestive enzyme activity in rainbow trout juveniles (*Onchorchynchus mykiss*). *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh IJA.* 66 : 1-10.

Kamdem, S. S., P. Vernocchi, M. Maffei, N. Belletti, F. Gardini, M. E. Guerzoni and R. Lanciotti. 2008. Assessment of safety, nutritional, and spoilage characteristics of different lagoon grey mullets (*Liza ramada*, *Liza aurata*, *and Liza saliens*). *J. Food Protect.* 71(12) : 2572-2577.

Kafilzadeh, R., S. M. Mousavi and M. J. Baboli. 2013. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* (Saccharomycetes: Saccharomycetaceae) on *Astronotus ocellatus* as growth promoter and immune stimulant. *AACL Bioflux* 6(6) : 587-597.

Kesarcodi-Watson, A., H. Kaspar, M. Josie Lategan and L. Gibson. 2008. Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture* 274(1) : 1-14.

Klis, F. M., A. Boorsma and P. W. J. De Groot. 2006. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 23 : 185-202.

Kutty, S. N. and R. Philip. 2008. Marine yeasts-a review. *Yeast* 25 : 465-483.

Lesage, G. and H. Bussey. 2006. Cell wall assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70(2) : 317-343.

Li, J., J. Ni, J. Li, C. Wang, X. Li, S. Wu, T. Zhang, Y. Yu and Q. Yan. 2014. Comparative study on gastrointestinal microbiota of eight fish species with different feeding habits. *J. Appl. Microbiol.* 117(6) : 1750-1760.

Li, P. and D. M. Gatlin III. 2004. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture* 231(1-4) : 445-456.

Magda, M. E., S. E. Sabry, A. E. Mohamed, L Santoch, M. D. Said and A. E. Neven. 2011. The viability of probiotics as a factor influencing the immune response in the nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Egypt J. Aquat. Biol. Fish.* 15(1) : 105-124.

Magnadóttir, B. 2006. Innate immunity of fish (overview*). Fish Shellfish Immunol.* 20 : 137-151.

Mian J., S. M. Hussain, P. J. A. Siddiqui and A. Immink. 2014. Haematological, biochemical and immunological changes on growth enhancement of grey mullet fingerlings (*Mugil cephalus* L.) on shrimp head protein hydrolysate and macroalgae based diets. *World J. Fish Marine Sci*. 6(4) : 295-303.

Misra, C. K., B. K. Das, S. C. Mukherjee and P. Pattnaik. 2006. Effects of long term administration of dietary β-glucan on immunity, growth, and survival of *Labio rohita* fingerlings. *Aquaculture* 255(1-4) : 82-94.

Mona, M. H., A. A. Alm-Eldeen, E. E. Elgayar, A. M. Heneish and M. M. M. El-feky. 2015. Evaluation the effect of local and imported yeasts as supplementary food on the African catfish (*Clarias gariepinus*) in Egypt. *J. Aquac. Mar. Biol*. 2(3) : 2-7.

Muroga, K., H. Yasunobu, N. Okada, and K. Masumura. 1987. The isolation of intestinal microflora of farmed red seabream (*Pagrus major*) and black seabream (*Acanthopagrus schlegi*) at larval and juvenile stages. *Aquaculture* 65(1) : 79-88.

Navarrete, P. and D. Tovar-Ramírez. 2014. Use of yeasts as probiotics in fish aquaculture. http://dx.doi.org/10.5772/57196.

Obach, A., C. Quentel and F. B. Laurencin. 1993. Effects of alpha-tocopherol and dietary oxidized fish oil on the immune response of sea bass (*Dicentrarchus labrax). Dis. Aquat. Org*. 15(3) : 175-185.

Olafsen, J. A. 2001. Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquaculture* 200(1-2) : 223-247.

Oliva-Teles, A. and P. Goncalves. 2001. Partial replacement of fishmeal by brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 202(3-4) : 269-278.

Ortuno, J., A. Cuesta, A. Rodriguez, M. A. Esteban and J. Meseguer. 2002. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Vet. Immunol. Immunopatho*. 85(1-2) : 41-50.

Osman, H. A. M., T. B. Ibrahim, W. E. Soliman and M. M. Monier. 2010. Influence of dietary commercial baker's yeast, *Saccharomyces cerevisae* on growth performance, survival and immunostimulation of *Oreochromis niloticus* challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Nature and Science* 8(3) : 96-103.

Ozogul Y., F. Ozogul, E. Ciçek, A. Polat and E. Kuley. 2009. Fat content and fatty acid compositions of 34 marine water fish species from the Mediterranean sea. *Int. J. Food. Sci. Nutr.* 60(6) : 464-475.

Pérez, T., J. L. Balcázar, I. Ruiz-Zarzuela, N. Halaihel, D. Vendrell, I. de Blas and J. L. Múzquiz. 2010. Host-microbiota interactions within the fish intestinal ecosystem. *Mucosal Immunol.* 3(4) : 355-360.

Pongpet, J., S. Ponchunchoovong and K. Payooha. 2016. Partial replacement of fishmeal by brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisae*) in the diets of Thai panga (*Pangasianodon hypophthalmus* x *Pangasius bocoerri*). *Aquacult. Nutr.* 22(3) : 575-585.

Pooramini, M., A. Kamali, A. Hajimoradloo, M. Alizadeh and R. Ghorbani. 2009. Effect of using yeast *(Saccharomyces cerevisiae*) as probiotic on growth parameters, survival and carcass quality in rainbow trout *Onchorchynchus mykiss* fry. *Int. Aquat. Res.* 1 : 39-44.

Pooramini, M., A. Kamali, A. Hajimoradloo, M. Alizadeh, R. Ghorbani, R. Hatami and S. Haghparast. 2014. The effects of different concentrations of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance and survival rate of rainbow trout (*Onchorchynchus mykiss*), fry and resistance against salinity. *Afr. J. Biotechnol.* 13(10) : 1160-1168.

Prato, E. and F. Biandolino. 2012. Total lipid content and fatty acid composition of commercially Important fish species from the Mediterranean, Mar Grande Sea. *Food Chem.* 131 : 1233-1239.

Qi, Z., X. Zhang, N. Boon and P. Bossier. 2009. Probiotics in aquaculture of China- Current state, problems and prospect. *Aquaculture* 290 : 15-21.

Ramos, M. A., B. Weber, J. F. Gonçalves, G. A. Santos, P. Rema and R. O. Ozório. 2013. Dietary probiotic supplementation modulated gut microbiota and improved growth of juvenile rainbow trout (*Onchorchynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol*. 166(2) : 302-307.

Ran, C., L. Huang, Z. Liu, L. Xu, Y. Yang, P. Tacon, E. Auclair and Z. Zhou. 2015. A comparison of the beneficial effects of live and heat-inactivated baker's yeast on nile tilapia: suggestions on the role and function of the secretory metabolites released from the yeast. *Plos One* 10(12) : DOI:10.1371/journal.pone.0145448

Regost, C., J. Arzel, M. Cardinal, M. Laroche and S. J. Kaushik. 2001. Fat deposition and flesh quality in seawater reared, triploid brown trout (*Salmo trutta*) as affected by dietary fat levels and starvation. *Aquaculture* 193(3-4) : 325-345.

Reyes-Becerril, M., I. Salinas, A. Cuesta, J. Meseguer, D. Tovar-Ramirez, F. Ascencio-Valle and M. A. Esteban. 2008. Oral delivery of live yeast *Debaryomyces hansenii* modulates the main innate immune parameters and the expression of immune-relevant genes in the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol*. 25(6) : 731-739.

Saleh, M. 2008. Capture-based aquaculture of mullets in Egypt**. In:** Lovatelli A. and P.F. Holthus (eds)**.** Capture-based aquaculture. Global overview. FAO Fisheries Technical Paper. No. 508. Rome, FAO. pp. 109-126.

Sasaki, K. and Y. Sawada. 1980. Determination of ammonia in estuary. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 46 : 319-321.

Savas, S., A. Kubilay and N. Basma. 2005. Effect of bacterial load in feeds on intestinal microflora of Seabream (*Sparus Surata*) larvae and juveniles. *Isr. J. Aquacult-Bamid.* 57(1) : 3-9.

Siti Hajar, M. D, T. K. Noorhisham and A. Nurina. 2012. Yeast identification from domestic ragi for food fermentation by PCR method. *International Food Research Journal* 19(2) : 775-777.

Staykov, Y., P. Spring, S. Denev and J. Sweetman. 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Onchorchynchus mykiss*). *Aquaculture Int*. 15(2) : 153-161.

Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons. 1972. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 167 (2nd Ed.), Ottawa. 310 pp.

Sun, Y., H. Yang, Z. Ling and J. Ye. 2013. Microbial communities associated with early stages of intensively reared orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Aquaculture Research* 6(1) : DOI: 10.1111/are.12167

Sun, Y., H. Yang, Z. Ling, J. Chang and J. Ye. 2009. Gut microbiota of fast and slow growing grouper *Epinephelus coioides*. *Afr. J. Microbiol. Res.* 3(11) : 713-720.

Tocher, D. R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11(2) : 107-184.

Tovar-Ramírez, D., D. Mazurais, F. J. Gatesoupe, P. Quazuguel, C. Cahu, and J. Zambonino-Infante. 2010. Dietary probiotic live yeast modulates antioxidant enzyme activities and gene expression of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture* 300(1-4) : 142-147.

Tovar-Ramírez, D., J. Zambonino-Infante, C. Cahu, F. J. Gatesoupe and R. Vazquez-Juarez. 2004. Influence of dietary live yeast on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larval development. *Aquaculture* 234(1-4) : 415-427.

Tovar-Ramírez, D., J. Zambonino-Infante, C. Cahu, F. J. Gatesoupe, R. Vazquez-Juarez and R. Lesel. 2002. Effects of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture* 204(1-2) : 113-123.

Tukmechi, A. and M. Bandboni. 2014. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on immune response, hematological parameters, body composition and disease resistance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *J. Appl. Ichthyol*. 30 : 55-61. doi:10.1111/jai.12314

Vázquez-Juárez, R., T. Andlid and L. Gustafsson. 1997. Adhesion of yeast isolated from fish gut to crude intestinal mucus of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 6(1) : 64-71.

Vine, N. G., W. D. Leukes and H. Kaiser. 2006. Probiotics in marine larviculture. *FEMS Microbiol. Rev.* 30 : 404-427.

Wache, Y., F. Auffray, F. J. Gatesoupe, J. Zambonino, V. Gayet, L. Labbe and C. Quentel. 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture* 258(1-4) : 470-478.

Welker, T. L. and C. Lim. 2011. Use of probiotics in diets of tilapia. *J. Aquac. Res. Development* S1:014 http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.S1-014.

Yano, T. 1992. Assays of haemolytic complement activity. **In**: Stolen, J. S., T. C. Fletcher, D. P. Anderson, S. L. Kaattari and A. F. Rowley (eds.). Techniques in Fish Immunology Fair Haven NJ: SOS Publications. pp. 131-141.

Ye, L., J. Amberg, D. Chapman, M. Gaikowski and W. T. Liu. 2014. Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behavior of invasive Asian carp and indigenous American fish. *The ISME Journal* 8 : 541-551.

Zhou, L. L., X. M. Dan, Y. W. Li, X. X. Li, X. L. Chen, Y. Li and L. Gan. 2015. Effect of reducing 3.2% dietary protein level on the growth performance and immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with supplementation of multi amino acids. *Iranian Journal of Fisheries Science* 14(4) : 997-1009.

Zubia, M., Y. Rehana, S. H. Muhammad, M. T. Omer, Lakht-e-Zehra and S. O. Adeyemi. 2014. Length-weight relationship, condition and relative condition factor of four Mugilid species (family mugilidae) from the Karachi Coast of Pakistan. *J. Coast Dev*. 17(1) : 1-6.