

# ผลของการเสริมโพรไบโอติกและวิตามินซีในอาหารต่ออัตราการรอดชีวิต และฮอร์โมนคอร์ติซอลแม่พันธุ์ปลาดุกอุย

## Effects of Probiotic and Vitamin C on Survival rate and Cortisol Hormone for Broodstock of Thai walking catfish

เถลิงเกียรติ สมนึก<sup>1\*</sup>, ญัฐวรรณ สมนึก<sup>2</sup> และ ลำเนา สุวาท<sup>1</sup>

Talerngkiat Somnuek<sup>1\*</sup>, Nutthawan Somnuek<sup>2</sup> and Samnao Saowakoon<sup>1</sup>

**บทคัดย่อ:** การเสริมโพรไบโอติกชนิด *Bacillus subtilis* (BS 01) และอนุพันธ์วิตามินซีชนิด L-ascorbyl-2-monophosphate (AM) ในอาหารปลาดุกอุยเพศเมียก่อนการขนส่งโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งเป็น 6 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำ คือ กลุ่มที่ 1 อาหารควบคุม(G1) กลุ่มที่ 2 อาหารผสม BS01 0.75 กรัม และ AM 0.25 กรัม (G2) กลุ่มที่ 3 อาหารผสม BS01 0.50 กรัม และ AM 0.50 กรัม (G3) กลุ่มที่ 4 อาหารผสม BS01 0.25 กรัม และ AM 0.75 กรัม (G4) กลุ่มที่ 5 อาหารผสม BS01 1 กรัม (G5) กลุ่มที่ 6 อาหารผสม AM 1 กรัม (G6) น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 125.00±1.54 กรัม ความหนาแน่น 20 ตัว/ตร.ม. ให้อาหารเป็นเวลา 90 วัน เมื่อนำอาหารมาวิเคราะห์โภชนาพบว่า กลุ่มที่ 6 มีปริมาณวิตามินซีเฉลี่ยเท่ากับ 3,371.53±212.67 มก./กก. ซึ่งสูงกว่าทุกกลุ่ม (P < 0.05) หลังการทดลองปลากลุ่มที่ 4 มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยสูงที่สุด 197.10±7.02 ก. และมีค่า ADG 0.49±0.03 ก./วัน ค่า FCR ทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน (P > 0.05) ในขณะที่ ค่า RBC, Hb และ HCR กลุ่มที่ 6 มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด 3.64±0.39×10<sup>6</sup> เซลล์/ลบ.มม., 9.81±3.74 ก./ดล. และ 47.13±7.52% ตามลำดับ นอกจากนี้กลุ่มที่ 6 มีระดับ COR และ SGlu ต่ำที่สุด 155.23±52.80 นก./มล., 112.30±17.50 มล./มล. ตามลำดับ กลุ่มที่ 4 มีค่า GSI ค่าความดกไข่ และ HR สูงที่สุด 79.09±5.83%, 273.00±12.38 ฟอง/ก. และ 79.55±1.75% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) กลุ่มที่ 6 ค่า pH มีค่าระหว่าง 5.4–7.3 อุณหภูมิ มีค่าระหว่าง 29–35 องศาเซลเซียส ค่า DO มีค่าระหว่าง 3.04-6.24 มก./ล. ค่า TAN มีค่าระหว่าง 0.01-1.27 มก./ล. จากผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าการใช้โพรไบโอติกชนิด *Bacillus subtilis* ผสมอาหารระดับ 1 ก./กก. มีแนวโน้มช่วยลดปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลและเพิ่มอัตราการรอดตายของแม่พันธุ์ปลาดุกอุยหลังการขนส่งได้

**คำสำคัญ :** โพรไบโอติก, วิตามินซี, ปลาดุกอุย, การเจริญเติบโต, ฮอร์โมนคอร์ติซอล

**ABSTRACT:** This study aimed to investigate the effects of probiotic supplement *Bacillus subtilis* (BS01) and vitamin C derivatives L-ascorbyl-2-monophosphate (AM) in pre-transport Thai walking catfish on survival rate and cortisol hormone for broodstock of Thai walking catfish (*Clarias macrocephalus*). The experiment was designed using Completely Randomized Design (CRD) by dividing the samples into 6 experimental groups; Group 1 (G1: control), Group 2 (G2: 0.75 g

<sup>1</sup> สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์  
Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Technology. Rajamangala University of Technology.  
Isan Surin Campus

<sup>2</sup> สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์  
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Agricultural Industry. Surindra Rajabhat University

\* Corresponding author: um305@hotmail.com

BS01 + 0.25 g Am), Group 3 (G3: 0.50 g BS01 + 0.50 g AM), Group 4 (G4: 0.25 g BS01 + 0.75 g AM), Group 5 (G5: 1 g BS 01) and Group 6 (G6: 1 g AM). The results revealed that the initial average weight was  $125.00 \pm 1.54$  g and the density was 20 fish/m<sup>2</sup> measured for 90 days of feeding. G6 contributed the highest content of vitamin C ( $3,371.53 \pm 212.67$  mg.kg<sup>-1</sup>) with significant difference among groups observed ( $P < 0.05$ ). Feed conversion ratio were not different among groups. G6 had the mean of RBC, Hb and HCR at the level of  $3.64 \pm 0.39 \times 10^6/\text{mm}^3$ ,  $9.81 \pm 3.74$  g/dL<sup>-1</sup> and  $47.13 \pm 7.52\%$ , respectively. G6 had the lowest cortisol hormone and serum glucose which were  $155.23 \pm 52.80$  ngml<sup>-1</sup> and  $112.30 \pm 17.50$  mmol.L<sup>-1</sup>, respectively. G4 exhibited the highest Gonadosomatic index (GSI:  $79.09 \pm 5.83\%$ ), fertilized egg ( $273.00 \pm 12.38$  egg.g<sup>-1</sup>) and HR ( $79.55 \pm 1.75\%$ ). G5 showed the highest survival rate ( $87.21 \pm 4.07\%$ ), which significantly different from G1 ( $P > 0.05$ ) The water quality indicated by pH value, temperature, DO and TAN of G6 were 5.4 - 7.3, 29 -35 °C, 3.04 -6.24 mg.l<sup>-1</sup> and 0.01 - 1.27 mg.l<sup>-1</sup>, respectively. Therefore, the results of this study showed that dietary supplemented with 1 g.kg<sup>-1</sup> *Bacillus subtilis* could enhance survival rate and seem to reduce cortisol level of Thai walking catfish.

**Keywords:** Probiotic, Vitamin C, *Clarias macrocephalus*, Growth performance, Cortisol Hormone

## บทนำ

ปลาดุกอุย Thai walking catfish (*Clarias macrocephalus*) เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ที่ทุกคนรู้จักและนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั่วทุกภาคของประเทศไทย เนื่องจากเนื้อปลามีรสชาติดีและมีราคาแพง (จอมสุตา, 2555) โดยเฉพาะปลาดุกอุยเทศเมียน ซึ่งใช้ในการเพาะพันธุ์ปลาดุกอุยผสม ประเทศไทยสามารถผลิตปลาดุกอุยผสมได้ผลผลิตปีละประมาณ 107,431 ตัน/ปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) ซึ่งปลาดุกอุยที่เพาะเลี้ยงในระบบฟาร์มเชิงพาณิชย์มักเผชิญกับสภาวะขาดแคลนน้ำสู่การเกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรียชนิด *Flavobacterium columnare* โดยก่อให้เกิดโรคและสร้างความเสียหายแก่ปลาน้ำจืดทั่วโลกมากที่สุด (Honggang et al., 2015) หรือเรียกว่า โรคตัวดำ มักเกิดกับปลาดุกอุยที่ขนส่งหรือเคลื่อนย้ายปลาทำให้เกิดบาดแผลและติดเชื้อลุกลามจนเป็นสาเหตุให้ปลาตาย การแก้ปัญหาในเชิงเกษตรกรรมมักใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อรักษาโรคแบคทีเรีย (Cabello, 2006) นำสู่การดื้อยาและสารตกค้างในสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อม (Smith, 2008) การใช้โพรไบโอติกชนิดที่ปลอดภัยต่อปลาและผู้บริโภคปลา โดยเฉพาะ

*Bacillus* sp. (Han et al., 2015) เป็นโพรไบโอติกที่มีศักยภาพในการปรับความสมดุลของลำไส้สัตว์น้ำ (Martínez et al., 2012) มีคุณสมบัติต่อปลา อาทิ สามารถยึดเกาะเยื่อบุลำไส้ ทนทานต่อสภาพกรดและเจริญเติบโตได้ในทางเดินอาหารของปลา (คุณาดล, 2550) ลดโอกาสเกิดโรคเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลาดุก (Arun et al., 2017; Atrayee et al., 2017) ช่วยปรับคุณภาพน้ำให้เหมาะสม (Mukherjee, 2002) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะพันธุ์ปลาดุกอุย การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิด *Bacillus subtilis* ร่วมกับวิตามินซีในอาหารส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยา (ชาญวิทย์ และชนกันต์, 2560) ระหว่างการขนย้ายปลา เพิ่มอัตราการรอดตาย อัตราปฏิสนธิ และอัตราการฟักของไข่ของปลาดุกอุยได้

## วิธีการศึกษา

### การเตรียมสายพันธุ์จุลินทรีย์

นำแบคทีเรียชนิด *Bacillus subtilis* (BS01) ที่ได้จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ โดยเลี้ยงแบคทีเรียตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (Mixed Nutrient Broth) และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ

35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. แยกตัวอย่างแบคทีเรียที่มีระยะ Endospore โดยใช้เทคนิค Heat treatment (Guo et al., 2006) นำแบคทีเรียมาเจือจางตามลำดับส่วน (Serial dilution) คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *Bacillus* sp. ตามที่กำหนดไว้ในหนังสือ Bergey's Manual of Bacteriology (Tongpim et al., 2014) ขยายจำนวนแบคทีเรียปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Tryptic soy broth ตามวิธีการของ Essa et al. (2010) เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำแบคทีเรียดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ ที่ระดับ 10,000 rpm. นาน 15 น. ล้างเซลล์ที่แยกได้ 2 ครั้ง ด้วยสารละลาย Phosphate buffersaline (PBS) ที่ pH 7 และนำแบคทีเรีย (ไฟโรไบโอติก) ผสมในอาหารกลุ่มการทดลองตามสัดส่วนที่กำหนด

#### การเตรียมสัตว์ทดลองและการแบ่งกลุ่มการทดลอง

นำปลาตุ๊กตายุเพศเมียที่ตั้งท้องจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดสุรินทร์ สุ่มระยะไข่ตามวิธีของ Aderolu et al. (2017) มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย คือ  $152.21 \pm 2.28$  กรัม ปรับสภาพปลาให้เข้ากับสภาพการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และสุ่มปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันลงเลี้ยงในบ่อทดลองเป็นบ่อคอนกรีตความจุ  $10 \text{ m}^3$  อัตราความหนาแน่น 20 ตัว/ตร.ม. บ่อละ 200 ตัว จำนวน 3 ซ้ำ ติดตั้งระบบให้อากาศให้อาหารที่มีโปรตีน 32% ในอัตรา 2% ต่อวัน จำนวน 2 เวลา คือ 7.00-7.30 น. และ 18.00-18.30 น. และเปลี่ยนถ่ายน้ำอัตรา 30% ต่อวัน ด้วยน้ำไหลผ่านตลอดเวลา

นำไฟโรไบโอติก BS 01 ปริมาณเซลล์  $10^6$  เซลล์/ก. โดยเทียบความขุ่นของสารแขวนลอยกับความสัมพันธ์จำนวนเซลล์แบคทีเรีย ผสมอาหารด้วย BS 01 และเสริมอนุพันธ์วิตามินซี L-ascorbyl-2-monophosphate (AM) ในสารละลาย PBS อัตรา 1% (v/w) ฉีดผอยในอาหารตามกลุ่มการทดลอง ผึ่งลมให้แห้ง 5 น. อาหารแต่ละกลุ่มการทดลองหลังจากผสมกับไฟโรไบโอติก สามารถเก็บรักษาได้ 3 วัน เก็บอาหารทดลองไว้ในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ใช้

เวลาในการทดลองทั้งสิ้น 90 วัน เก็บข้อมูลทุก 30 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) แบ่งกลุ่มตามสัดส่วนผสมอาหารดังนี้ กลุ่มที่ 1 อาหารควบคุม กลุ่มที่ 2 อาหารผสม BS01 0.75 ก. และ AM 0.25 ก. กลุ่มที่ 3 อาหารผสม BS01 0.50 ก. และ AM 0.50 ก. กลุ่มที่ 4 อาหารผสม BS01 0.25 ก. และ AM 0.75 ก. กลุ่มที่ 5 อาหารผสม BS01 1 ก. กลุ่มที่ 6 อาหารผสม AM 1 ก. หลังการทดลองเสริมอาหาร 90 วัน จัดสภาพแวดล้อมให้ปลาอยู่ในสภาวะขนย้ายโดยจำลองสถานการณ์การขนส่งบรรจุปลาในถังพลาสติกขนาด 230 ล. อัตราความหนาแน่น 1 ตัว/ล. นำไว้ในโรงเรือนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชม. จากนั้นวางยาสลบ MS-222 อัตรา 0.01% โดยการฉีดพ่นเข้าที่เหงือกนาน 1 น. ทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลาโดยการสุ่มกลุ่มการทดลองละ 5 ตัว จำนวน 3 ซ้ำ ตัวละ 2 มล. โดยใช้เข็มขนาด 21 G. เจาะเลือดที่เส้นเลือด Dorsal aorta บริเวณโคนหาง นำใส่ในหลอดที่มี 15%  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  ในปริมาตร 2.0% ของปริมาณเลือด นำไปวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา ก่อนและหลังการขนส่งทุกกลุ่มทดลอง

#### การวิเคราะห์ตัวอย่างเลือดฮอร์โมนและอาหารทดลอง

วิเคราะห์ค่าคุณสมบัติของเลือด (Haematological) ได้แก่ ค่าฮีโมโกลูติน ปริมาณเม็ดเลือดแดง ฮีมาโตคริต ปริมาณเกล็ดเลือด กลูโคส ในเลือด ตามวิธี Rodak et al. (2007) แยกซีรัมโดยนำเลือดไปปั่นที่ความเร็ว 3,000 rpm เพื่อตรวจฮอร์โมน คอร์ติซอล โดยวิธี Competitive Enzyme linkage Immunosorbent assay (ELISA) (อ่านค่าได้ต่ำที่สุด:  $0.0023 \text{ ng mL}^{-1}$ ; R4972; UC Davis University) อ่านผลด้วยเครื่อง Microplate reader nm. (BioTek Synergy HT, Winooski, VT, USA) ที่ค่าดูดกลืนแสง 405 นาโนเมตร โดยตรวจสอบปริมาณโภชนาการใช้อาหารปริมาณ 3-5 g. แต่ละกลุ่มการทดลองตามวิธี AOAC (2000) และปริมาณกรดแอสคอบิคตามวิธี Indophenol (Nielsen, 2010)

### การเก็บข้อมูลการสืบพันธุ์ปลา

สุ่มปลาทดลองจำนวน 5% ของจำนวนปลาในแต่ละกลุ่มทดลอง ทุก ๆ 30 วัน จนถึงสิ้นสุดการทดลอง คำนวณหาค่าตามวิธีการ Aly et al. (2008) ได้แก่ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก อัตราการรอดตาย ซึ่งน้ำหนักตัว และรังไข่ โดยประเมินตัวชี้วัดความสมบูรณ์พันธุ์ ( $GSI = \text{น้ำหนักรังไข่ต่อน้ำหนักตัว} \times 100$ ) และจำนวนไข่ต่อ 1 ก. ของแต่ละกลุ่ม

### การทดสอบอัตราการฟัก

สุ่มปลาทดลองเพศเมีย (ปลาที่มีไข่ระยะสุดท้าย) ทุกกลุ่มทดลองเพื่อผสมเทียมกับปลาดุกอุยเพศผู้ที่สมบูรณ์เพศ เร่งการสุกของไข่ด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์ (ซูฟริแฟคท์และโมทีเลียม) อัตราเพศเมีย 20 ไมโครกรัม/กก. เพศผู้ 10 ไมโครกรัม/กก. นาน 12-14 ชม. ไข่เพื่อผสมกับน้ำเชื้ออัตรา 15 ก./มล. ตามวิธีการของ Na-Nakorn et al. (1994) นำไปเพาะฟักที่อุณหภูมิ  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  ตรวจนับจำนวนไข่ที่เจริญถึงขั้น gastrula โดยสุ่มไข่ทุกกลุ่มทดลอง เพื่อคำนวณค่าอัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟัก

### การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำบ่อทดลอง

เก็บตัวอย่างน้ำทุกกลุ่มการทดลอง ณ เวลา 6.00 น. และ 15.00 น. ทุกวัน หาค่าปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ ด้วยเครื่อง DO meter รุ่น YSI52 ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ ด้วยเครื่อง pH meter รุ่น YSI pH100 ค่าอุณหภูมิ ด้วยเทอร์โมมิเตอร์ และปริมาณ

แอมโมเนียทั้งหมด โดยวิธี phenate method ตามวิธีการของ Boyd (1990)

### การวิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบโภชนาอาหารทดลองระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล ก่อนและหลังการขนย้าย ประเมินอัตราการรอด ค่าการเจริญเติบโต ค่าโลหิตวิทยา บางประการ และค่าการสืบพันธุ์เพื่อนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One way analysis of variances และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองหลังการขนย้ายด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS

## ผลการศึกษา

### คุณค่าทางอาหารแต่ละกลุ่มทดลอง

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารทดลองกลุ่มละ 100 ก. ในแต่ละกลุ่มทดลอง พบว่า ค่าโภชนาของอาหารทุกกลุ่มการทดลอง โดยมีระดับค่าโปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย ความชื้น ค่าไนโตรเจน และพลังงาน มีค่าไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) ปริมาณวิตามินซีกลุ่มควบคุม มีค่าต่ำที่สุด กลุ่มที่ 6 พบค่าเฉลี่ยปริมาณวิตามินซีสูงที่สุดมีค่า  $3,371.53 \pm 212.67$  มก./กก. พบปริมาณสูงกว่าทุกกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (Table 1)

**Table 1** Composition of the diets supplemented with *Bacillus subtilis* (BS01) and L-ascorbyl-2-monophosphate (AM) for *Clarias macrocephalus* brooders

| Ingredients/<br>Nutrient   | G1<br>(control)             | G2<br>(0.75+0.25)           | G3<br>(0.50+0.50)           | G4<br>(0.25+0.75)            | G5<br>(1g BS01)             | G6<br>(1g AM)                |
|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Protein                    | 31.39±0.33 <sup>a</sup>     | 31.43±0.30 <sup>a</sup>     | 31.38±3.37 <sup>a</sup>     | 31.42±0.308 <sup>a</sup>     | 31.38±3.37 <sup>a</sup>     | 31.36±3.37 <sup>a</sup>      |
| Fat                        | 8.11±0.19 <sup>a</sup>      | 8.16±0.52 <sup>a</sup>      | 8.09±0.47 <sup>a</sup>      | 8.28±0.078 <sup>a</sup>      | 8.21±0.12 <sup>a</sup>      | 8.34±0.69 <sup>a</sup>       |
| Ash                        | 10.23±0.494 <sup>a</sup>    | 10.32±0.45 <sup>a</sup>     | 10.31±1.01 <sup>a</sup>     | 10.25±3.94 <sup>a</sup>      | 10.27±1.01 <sup>a</sup>     | 10.24±1.01 <sup>a</sup>      |
| Fiber                      | 3.49±0.06 <sup>a</sup>      | 3.54±0.08 <sup>a</sup>      | 3.50±0.21 <sup>a</sup>      | 3.52±0.17 <sup>a</sup>       | 3.51±0.09 <sup>a</sup>      | 3.52±0.04 <sup>a</sup>       |
| Moisture (%)               | 8.12±0.11 <sup>a</sup>      | 8.13±0.10 <sup>a</sup>      | 8.14±0.13 <sup>a</sup>      | 8.13±0.12 <sup>a</sup>       | 8.12±0.11 <sup>a</sup>      | 8.12±0.12 <sup>a</sup>       |
| Asc (mg kg <sup>-1</sup> ) | 170.61±3.29 <sup>e</sup>    | 960.57±3.20 <sup>d</sup>    | 1,624.73±17.01 <sup>c</sup> | 2,836.40±542.46 <sup>b</sup> | 184.33±0.95 <sup>e</sup>    | 3,371.53±212.67 <sup>a</sup> |
| Nfe                        | 31.49 <sup>a</sup>          | 31.41 <sup>a</sup>          | 31.57 <sup>a</sup>          | 31.40 <sup>a</sup>           | 31.50 <sup>a</sup>          | 31.39 <sup>a</sup>           |
| E (kcal/kg)                | 3,834.17±24.74 <sup>a</sup> | 3,837.87±75.01 <sup>a</sup> | 3,835.02±23.63 <sup>a</sup> | 3,847.41±22.01 <sup>a</sup>  | 3,843.47±52.23 <sup>a</sup> | 3,850.10±53.65 <sup>a</sup>  |

Asc ;Ascorbic acid (mg.kg<sup>-1</sup>)Nitrogen free extract (NFE) <sup>a</sup> (%) = 100 - (ความชื้น (%) + โปรตีน (%) + ไขมัน (%) + เถ้า (%) + ไฟเบอร์(%))

E; Energy (kcal/kg) (NRC, 1993) = 10 x (โปรตีน x 5.65 (kcal/g)) + (ไขมัน x 9.45 (kcal/g)) + (NFE x 4.11 (kcal/g)) Means in same row with different raised letters is significant differences (P &lt; 0.05)

**ดัชนีการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลอง**

ผลของการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ปลาอุกอุยเพศเมียที่ได้รับอาหารตามกลุ่ม เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า สมรรถนะการเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำหนักสุดท้ายกลุ่มที่ 4 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 197.1±7.02 ก. โดยมีค่าไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ 6 และ 3 ซึ่งมีน้ำหนักตัวหลังการทดลองสูงกว่ากลุ่มที่ 12 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05) ค่าน้ำหนักเพิ่ม

ขึ้นต่อวัน (ADG) กลุ่มที่ 4 มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ 6 มีค่าเท่ากับ 0.49 ± 0.03 ก./วัน และ 0.48 ± 0.01 ก./วัน ซึ่งแตกต่างกับกลุ่มอื่น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) พบว่า ทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน (P < 0.05) จะเห็นได้ว่าการเพิ่มระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารส่งผลต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาอุกอุยเพศเมีย (Table 2)

**Table 2** Growth performance and survival rate of *Clarias macrocephalus* brooders fed different experimental diets for 90 days period

| Items                     | G1                        | G2                        | G3                        | G4                      | G5                      | G6                        |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Initial wt (g/fish)       | 152.21±2.28               |                           |                           |                         |                         |                           |
| Final wt (g/fish)         | 177.63±31.75 <sup>c</sup> | 186.69±39.64 <sup>b</sup> | 191.09±38.18 <sup>a</sup> | 197.1±7.02 <sup>a</sup> | 187.8±3.27 <sup>b</sup> | 195.42±18.29 <sup>a</sup> |
| ADG (g. d <sup>-1</sup> ) | 0.28±0.04 <sup>c</sup>    | 0.39±0.07 <sup>ab</sup>   | 0.42±0.01 <sup>ab</sup>   | 0.49±0.03 <sup>a</sup>  | 0.39±0.01 <sup>ab</sup> | 0.48±0.01 <sup>a</sup>    |
| FCR                       | 1.59±0.20 <sup>a</sup>    | 1.55±0.46 <sup>a</sup>    | 1.59±0.15 <sup>a</sup>    | 1.55±0.16 <sup>a</sup>  | 1.54±0.35 <sup>a</sup>  | 1.58±0.18 <sup>a</sup>    |

Note; G1 = Control (PBS buffer) G2 = *Bacillus subtilis* (BS01)/Vitamin C (AM): 0.75g/0.25g, G3 = 0.5g/0.5g, G4 = 0.25g/0.75g, G5 = BS01 1 g. G6 = AM 1 g, SGR; Specific growth rate, WG; Weight gain, FCR ;Feed conversion rate. Means in same row with different raised letters is significant differences (P < 0.05)

**Table 3** Haematological parameters of female *C. macrocephalus* brooder fed different experimental diets for 90 days period.

| Parameters                | G1                       | G2                       | G3                       | G4                        | G5                        | G6                       |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| RBCX $10^6/\text{mm}^3$ ) | 2.68±0.34 <sup>b</sup>   | 2.85±0.25 <sup>b</sup>   | 2.71±0.21 <sup>b</sup>   | 2.89±0.07 <sup>b</sup>    | 2.42 ± 0.16 <sup>c</sup>  | 3.64±0.39 <sup>a</sup>   |
| Hb (g/dL)                 | 9.66±0.04 <sup>a</sup>   | 9.50±0.23 <sup>a</sup>   | 7.18±0.64 <sup>b</sup>   | 7.75±1.33 <sup>b</sup>    | 8.65 ± 1.46 <sup>ab</sup> | 9.81±3.74 <sup>a</sup>   |
| HCT (%)                   | 38.68±2.45 <sup>b</sup>  | 39.80±1.32 <sup>b</sup>  | 35.21±4.63 <sup>b</sup>  | 44.03±4.29 <sup>a</sup>   | 35.93 ± 3.14 <sup>b</sup> | 47.13±7.52 <sup>a</sup>  |
| MCV x (fL)                | 152.05±5.70 <sup>b</sup> | 141.94±9.48 <sup>c</sup> | 192.71±9.82 <sup>a</sup> | 155.82±17.11 <sup>b</sup> | 193.10±26.88 <sup>a</sup> | 192.32±8.26 <sup>a</sup> |
| MCH(pg/cell)              | 37.76±1.15 <sup>a</sup>  | 33.95±3.60 <sup>b</sup>  | 39.50±3.66 <sup>a</sup>  | 27.80±5.24 <sup>c</sup>   | 35.92 ± 3.85 <sup>a</sup> | 31.32±0.24 <sup>b</sup>  |
| MCHC (g/dL)               | 24.12±1.98 <sup>a</sup>  | 24.82±0.48 <sup>a</sup>  | 20.80±1.42 <sup>b</sup>  | 18.34±4.2 <sup>c</sup>    | 19.08 ± 1.85 <sup>c</sup> | 24.02±1.27 <sup>a</sup>  |

Note:; MCV; Mean corpuscular volume, Hb; Hemoglobin concentration, RBC;red blood cell, HTC; Haematocrit,; MCH; Mean Corpuscular Hemoglobin , MCHC; Mean corpuscular hemoglobin concentration ,SGlu; Serum glucose , Note; G1 = Control (PBS buffer) G2 = Bacillus subtilis (BS01):Vitamin C (AM): 0.75g/ 0.25g, G3 = 0. 5g/ 0. 5g, G4 = 0. 25g/ 0.75g, G 5 = BS01 1 g., G6 = AM 1 g.

Means in same row with different raised letters is significant differences ( $P < 0.05$ )

### ค่าทางโลหิตวิทยาที่ตอบสนองต่ออาหารทดลองระดับต่างๆ

ค่าทางโลหิตวิทยาปลาตุ๊กตายุเพศเมียที่ได้รับอาหารตามกลุ่ม เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่า กลุ่มที่ 6 จำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (RBC) ฮีโมโกลบิน (Hb) ฮีมาโตคริต (HCT) มีค่าสูงสุด ซึ่งมีค่าเฉลี่ย  $3.64 \pm 0.39 \times 10^6$  เซลล์/ลบ.มม.,  $9.81 \pm 3.74$  ก.ดล.  $47.13 \pm 7.52\%$  ตามลำดับ แตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) จากการคำนวณ MCV พบว่า กลุ่มที่ 5 มีค่าสูงสุดแต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ 6 และ 3 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $193.10 \pm 26.88$  fL,  $192.32 \pm 8.26$  fL และ  $192.71 \pm 9.82$  fL ค่า MCH กลุ่มควบคุมมีค่าสูงสุดโดยมีค่า  $37.76 \pm 1.15$  พิโคกรัม/เซลล์ ค่า MCHC ของปลากลุ่มควบคุมมีค่าแตกต่างจากกลุ่มทดลองโดยมีค่า  $24.12 \pm 1.98$  ก./ดช.ล (Table 3)

### ค่าอัตราการรอดตายและการเพาะพันธุ์ปลาตุ๊กตากลุ่มต่างๆหลังกระตุ้นด้วยความเครียด

ค่าอัตราการรอดตายหลังจากการขนย้ายตลอดระยะเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า กลุ่มที่ 5 มีอัตราการรอดตาย

สูงที่สุดมีค่าเฉลี่ย  $87.21 \pm 4.07\%$  ซึ่งไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ 4 มีค่าเฉลี่ย  $85.67 \pm 6.20\%$  สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ค่าระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล หลังจากเคลื่อนย้ายมีค่าแตกต่างกันในแต่ละกลุ่มทดลอง โดยกลุ่มที่มีระดับคอร์ติซอลและค่ากลูโคสในเลือดต่ำที่สุด คือ กลุ่มที่ 6 มีค่าเท่ากับ  $155.23 \pm 52.80$  นก./มล. และ  $112.3 \pm 17.50$  มล.ไมล/ล. ตามลำดับ แตกต่างจากกลุ่มทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 4)

ค่าดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ พบว่า กลุ่มที่ 4 มีค่า GSI และค่าความดกไข่สูงที่สุดเท่ากับ  $79.09 \pm 5.83\%$ ,  $273 \pm 12.38$  ฟอง/ก. มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มที่ 2 มีค่า  $271 \pm 19.74$  ฟอง/ก. ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) โดยมีค่าการปฏิสนธิ พบว่า กลุ่มที่ 3, 2 และ 5 มีค่าเฉลี่ย คือ  $81.20 \pm 7.22\%$ ,  $80.75 \pm 4.46\%$  และ  $89.43 \pm 1.01\%$  สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าอัตราการฟักไข่ พบว่า กลุ่มที่ 4 มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ  $79.55 \pm 1.75\%$  แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ 3, 2 และ 5 โดยมีค่าเฉลี่ย  $79.36 \pm 4.22$ ,  $78.45 \pm 3.30\%$  และ  $78.12 \pm 8.69\%$  ตามลำดับ (Table 4)

**Table 4** Survival rate, biochemical and reproductive parameters in serum of *C. macrocephalus* brooders reared at six diet treatments before and after being stressed by capture and transport.

| Parameters                 | G1                        | G2                       | G3                        | G4                        | G5                       | G6                        |
|----------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| SR Pre stress              | 100                       |                          |                           |                           |                          |                           |
| SR Post stress             | 68.02±10.47 <sup>d</sup>  | 81.30±7.64 <sup>b</sup>  | 84.21±5.00 <sup>a</sup>   | 85.67±6.20 <sup>a</sup>   | 87.21±4.07 <sup>a</sup>  | 73.62±3.08 <sup>c</sup>   |
| COR (ng/ml)                | 207.79±76.90 <sup>a</sup> | 182.51±56.0 <sup>b</sup> | 171.11±45.40 <sup>c</sup> | 166.43±18.20 <sup>d</sup> | 161.09±86.7 <sup>d</sup> | 155.23±52.80 <sup>a</sup> |
| SGlu (mmol/L)              | 167.90±14.70 <sup>a</sup> | 139.10±19.0 <sup>b</sup> | 134.90±14.90 <sup>b</sup> | 131.30±15.20 <sup>b</sup> | 113.90±35.7 <sup>b</sup> | 112.30±17.50 <sup>c</sup> |
| GSI (%)                    | 72.44±5.83 <sup>c</sup>   | 75.01±8.37 <sup>b</sup>  | 76.36±15.78 <sup>b</sup>  | 79.09±5.83 <sup>a</sup>   | 76.84±1.42 <sup>b</sup>  | 76.21±13.05 <sup>b</sup>  |
| Fed(egg. g <sup>-1</sup> ) | 259±14.60 <sup>b</sup>    | 271±19.74 <sup>a</sup>   | 262±14.94 <sup>b</sup>    | 273±12.38 <sup>a</sup>    | 259±28.68 <sup>b</sup>   | 253±18.27 <sup>b</sup>    |
| Fer (%)                    | 75.23±7.13 <sup>c</sup>   | 90.75±4.46 <sup>a</sup>  | 81.20±7.22 <sup>a</sup>   | 88.34±3.58 <sup>a</sup>   | 89.43±1.01 <sup>a</sup>  | 84.43±4.51 <sup>b</sup>   |
| Hr (%)                     | 68.78±1.46 <sup>b</sup>   | 78.45±3.30 <sup>a</sup>  | 79.36±4.22 <sup>a</sup>   | 79.55±1.75 <sup>a</sup>   | 78.12±8.69 <sup>a</sup>  | 72.24±1.23 <sup>b</sup>   |

Note; G1=Control (PBS buffer) G2=*Bacillus subtilis* (BS01):Vitamin C (AM): 0.75/0.25, G3=0.5:0.5, G4=0.25:0.75, G5=BS01 1%, G6=AM 1%, SR; survival rate, COR; Cortisol, SGlu; Glucose, GSI; Gonadosomatic index, Fed; Fecundity (egg. g<sup>-1</sup>) Fer; Fertilization rate, Hr; Hatching rate. Means in same row with different raised letters is significant differences (P < 0.05)

### ค่าคุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำในตลอดการทดลอง พบว่า ค่าของพารามิเตอร์ของน้ำในด้านความเป็นกรดเป็นด่าง มีค่าระหว่าง 5.4 – 7.3 อุณหภูมิ มีค่า

ระหว่าง 29 – 35 องศาเซลเซียส ค่าออกซิเจนละลายน้ำ มีค่าระหว่าง 3.04 - 6.24 มก./ล. ค่าแอมโมเนียทั้งหมด มีค่าระหว่าง 0.01-1.27 มก./ล. (Table 5)

**Table 5** Water quality parameters recorded during the experiments.

| Parameters                                | G1        | G2        | G3        | G4        | G5        | G6        |
|-------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| pH                                        | 5.8–6.5   | 5.8–6.7   | 5.8–6.8   | 5.8–7.2   | 5.3–7.2   | 5.4–7.3   |
| Temperature °C                            | 29–35     | 29–35     | 29–35     | 29–35     | 29–35     | 29–35     |
| Dissolved Oxygen (DO) mg. l <sup>-1</sup> | 3.13-5.23 | 4.08-5.67 | 4.01-5.89 | 3.92-5.48 | 4.01-6.24 | 3.04-5.64 |
| Total ammonia(Tan) mg. l <sup>-1</sup>    | 0.02-1.34 | 0.01-1.33 | 0.02-1.24 | 0.01-1.27 | 0.02-1.23 | 0.02-1.52 |

Note; G1 = Control (PBS buffer) G 2 = *Bacillus subtilis* (BS01):Vitamin C (AM): 0.75/ 0.25, G3 = 0. 5: 0. 5, Gt 4 = 0. 25: 0.75, G 5 = BS01 1 %, G6 = AM 1 %

### สรุป

ค่าโภชนาในอาหารทดลอง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เกลือ ความชื้น ค่าไนโตรเจน และพลังงาน ไม่มีความแตกต่างกัน ยกเว้นปริมาณวิตามินซีในแต่ละกลุ่มทดลองหลังผสมกับอาหารมีการสูญเสียไป โดยกลุ่มที่ 6 มีค่าสูงที่สุด เนื่องจากการผสมวิตามินซีปริมาณ 1 ก. ซึ่งค่าวิตามินซีที่ตรวจสอบได้จาก

ตัวอย่างอาหารมีค่าต่ำกว่าสัดส่วนที่ผสม แสดงให้เห็นว่าวิตามินซีสามารถ สูญเสียจากการเก็บรักษา ทำให้ปลาได้รับวิตามินซีในระดับต่ำกว่าความเป็นจริง (Table 2) ดังนั้นควรเก็บอาหารไว้ในภาชนะที่ปิดแสง และเก็บไว้ในที่เย็น ส่งผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายปลาที่อยู่ในตู้ที่ได้รับอาหารเสริม โปรไบโอติกและวิตามินซีที่สัดส่วนกลุ่ม 4 มีน้ำหนักตัวหลังการทดลองสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 197.1± 7.02 ก.

โดยมีผลจากน้ำหนักเพิ่มต่อวัน (ADG) มีค่า เท่ากับ  $0.49 \pm 0.03$  ก./วัน แต่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกัน จะเห็นได้ว่าการเพิ่มระดับการเสริมอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มของน้ำหนักตัวส่งผลต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตตลอดระยะเวลาการให้อาหารอนุพันธ์วิตามินซีในรูปของ L-ascorbyl-2-monophosphate เสริมในอาหารช่วยกระตุ้นเอนไซม์ฟอสฟาเตสในลำไส้เล็กของปลาตกุขให้สังเคราะห์วิตามินซีสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในร่างกายโดยสะสมในตับและอวัยวะต่าง ๆ ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ค่าทางโลหิตวิทยาใช้เพื่อประเมินสุขภาพของปลา (Daniel et al., 2018) (Table 2) เมื่อพิจารณาจากค่า RBC, Hb และ HCT มีค่า  $3.64 \pm 0.39 \times 10^6$  เซลล์/ลบ.มม.,  $9.81 \pm 3.74$  ก./ดล.,  $47.13 \pm 7.52\%$  ตามลำดับ สอดคล้องกับ ศิลปชัย (2553) ศึกษาค่าโลหิตวิทยาของปลาแรดรายงานว่ามีปริมาณเม็ดเลือดแดงมีความสัมพันธ์กับขนาดของปลา โดยปลาแรดขนาดใหญ่จะมีปริมาณเม็ดเลือดแดง มากกว่าปลาแรดขนาดกลาง และขนาดเล็ก ตามลำดับ ค่า MCV กลุ่มการทดลองที่ 5 มีค่าเท่ากับ  $193.10 \pm 26.88$  เฟมโตลิตร โดยมีค่าสูงกว่ากลุ่มทดลองอื่น ค่า MCH กลุ่มควบคุมมีค่าสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ  $37.76 \pm 1.15$  พิโคกรัม/เซลล์, ค่า MCHC ปลากลุ่มควบคุมมีค่าแตกต่างจากกลุ่มทดลองอื่นโดยมีค่าเท่ากับ  $24.12 \pm 1.98$  ก.ดล. มีค่าใกล้เคียงกับค่าฮีมาโทคริตในปลาตกุข (*Clarias batrachus*) ที่เลี้ยงในสภาวะเครียด มีค่าเท่ากับ  $24.59 - 45.16\%$  (ขวัญตาและคณะ, 2551) แสดงให้เห็นว่าการเสริมอาหารด้วยโพรบิโอดีทิกและวิตามินซีทุกระดับส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยา โดยค่า Glu ทุกกลุ่มทดลองมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) มีค่าอยู่ที่  $167.90 \pm 14.70$  มล.โมล/ล. สอดคล้องกับผลการศึกษาของ นันทริกา และสมหวัง (2550) ที่รายงานว่ามีค่ากลูโคสในกระแสเลือดจะสัมพันธ์กับขนาดปลา โดยปลาที่มีน้ำหนักมากกว่าจะมีค่ากลูโคสต่ำกว่าปลาที่มีน้ำหนักน้อย ซึ่งอาจเป็นไป

ได้ว่าปลาที่มีขนาดใหญ่กว่าจะมีอัตราการใช้พลังงานในการดำรงชีวิตสูงกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระบวนการเผาผลาญกลูโคส ที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคอาหาร หรือสารอาหารที่ได้รับ (Polakof et al., 2012) อย่างไรก็ตาม ค่ากลูโคสในเลือดของปลาตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันมาก อาจเนื่องมาจากภาวะตอบสนองต่อความเครียดของปลาแต่ละตัวระหว่างการบังคับจับที่แตกต่างกัน โดยระดับคอร์ติซอลและกลูโคสจะสูงขึ้นจากค่าปกติเมื่อปลาอยู่ในภาวะเครียด (Martinez-Porchas et al., 2009) โดยเมื่อพิจารณาค่าระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลหลังจากเคลื่อนย้ายมีค่าแตกต่างกันเนื่องจากภาวะตอบสนองต่อความเครียดของปลาแต่ละตัวระหว่างการจับ การขนย้ายที่แตกต่างกันสัมพันธ์กับน้ำหนักปลา โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดปลาตกุขสัมพันธ์กับระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลที่เกิดขึ้นจากการขนส่ง ทำให้องค์ประกอบเลือดมีความผันแปรค่อนข้างสูง ซึ่งภาวะเครียดในปลาแต่ละกลุ่มทดลองส่งผลต่อการรอดตาย (Rotllant et al., 2000) เมื่อปลาอยู่ในภาวะเครียด ค่ากลูโคสในกระแสเลือดจะสัมพันธ์ผกผันกับขนาดปลาโดยปลาที่มีน้ำหนักมากกว่าจะมีค่ากลูโคสต่ำกว่า โดยปลาขนาดใหญ่กว่าจะมีอัตราการใช้พลังงานโดยการเผาผลาญกลูโคสในการดำรงชีวิตสูงกว่าปลาขนาดเล็ก (Daniel et al., 2018) (Table 4)

เมื่อพิจารณาอัตราการรอดตายหลังการขนส่งพบว่ากลุ่มที่ 5 มีค่าสูงที่สุดมีค่าเฉลี่ย  $87.21 \pm 4.07\%$  ซึ่งสัตว์ที่อยู่ในสภาวะเครียดหลังการขนย้ายจะพบความแตกต่างของสารเคมีในเลือดในช่วงแรก หลังจากนั้นค่าการเปลี่ยนแปลงสารเคมีในเลือดจะกลับเข้าสู่ภาวะปกติเนื่องจากสัตว์มีการปรับตัวให้เข้ากับภาวะสิ่งแวดล้อมที่ แต่ค่าการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีในเลือดจะเกิดขึ้นอีกครั้งถ้าหากสัตว์ไม่สามารถปรับตัวได้ส่งผลต่ออัตราการรอดตาย (Matinez-Porchas et al., 2009)

หลังจากนำปลาตกุขเพศเมียที่ทดลองมาเพาะพันธุ์ด้วยวิธีผสมเทียม พบว่า กลุ่มการทดลองที่ 4

มีค่า GSI และค่าความดกไข่สูงที่สุดเท่ากับ  $79.09 \pm 5.83\%$ ,  $273 \pm 12.38$  ฟอง/ก. สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยพบว่า การเพิ่มระดับการเสริมโปรไบโอติกและอนุพันธ์วิตามินซีในอาหารมีผลต่อการเพิ่มปริมาณ ฮีโมโกลบินมีผลลบต่อด้านสรีรวิทยาของปลา เป็นผลมาจากภูมิคุ้มกันของเซลล์ที่ดีขึ้น (Ojha et al., 2014) การลดลงของค่าฮอริโมนคอร์ติซอลของอาหารเสริมโปรไบโอติกและวิตามินซี ส่งผลต่ออัตราการปฏิสนธิและอัตราการฟักไข่สูง สอดคล้องกับ Ogbeche et al. (2002) พบว่าระดับคอร์ติซอลในซีรัมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อผสมวิตามินซีอัตราส่วน 0.5 มก./กก. ค่าอัตราการฟักไข่ พบว่ากลุ่มที่ 4 (BS01 0.75 ก.: AM 0.25 ก.) ส่งผลต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์เมื่อผสมอาหารร่วมกับโปรไบโอติกชนิด *Bacillus subtilis* ส่งผลต่อการเจริญเติบโตในปลาที่มีลำไส้ยาว เช่น ปลานิล โดยการประสิทธิภาพของโปรไบโอติขึ้นอยู่กับความชื้นในวัตถุดิบอาหารสัตว์ กระบวนการอัดเม็ด และสภาพแวดล้อมภายนอก (Liu et al., 2014) ในปลาส่วนใหญ่คอร์ติซอลจะมีความเข้มข้นสูงสุด 1 ซม. หลังจากถูกกระตุ้นและจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยลดระดับไปสู่อปกติหลัง 6-48 ซม. (Robertson et al., 1987; Iwama et al., 2006; Martinez-Porchas et al., 2009) โดยแม้กระทั่งปลาคาร์พที่ถูกจับขังในกระชังอวนระดับคอร์ติซอล ปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio*) จะเพิ่มขึ้นและลดภายในเวลา 4 ซม. (Pottinger, 1998) ซึ่งการลดระดับของคอร์ติซอลเพื่อป้องกันความเสียหายของเนื้อเยื่อจากการเพิ่มระดับฮอริโมน (Liu et al., 2012) นอกจากนี้การใช้อาหารที่มีส่วนผสมของ *Bacillus* sp. มีบทบาทกระตุ้นการเจริญเติบโตและการสร้างกระดูกของปลา (Han et al., 2015) (Table 4)

คุณภาพน้ำตลอดการทดลอง พบว่า ความเป็นกรดเป็นด่าง มีค่าระหว่าง 5.4–7.3 อุณหภูมิมีค่าระหว่าง 29–35 องศาเซลเซียส ค่าออกซิเจนละลายน้ำมีค่าระหว่าง 3.04-6.24 มก.ล. ค่าแอมโมเนียทั้งหมดมีค่าระหว่าง 0.01-1.27 มก.ล. ไม่มีความแตกต่างจาก

น้ำในถังพลาสติกชุดควบคุม (ไม่ได้บรรจุปลา) โดยทุกค่าด้านคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ปกติของการดำรงชีวิตของปลาดุกอุย คุณภาพน้ำที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำมีการเปลี่ยนแปลงในแนวโน้มที่สูงขึ้นโดยปริมาณออกซิเจนที่ลดลงเกิดการใช้ออกซิเจนในการหายใจของปลามีค่าลดลงตามระยะเวลาที่ใช้ในการขนส่ง ซึ่งไม่ทำให้ปลาทดลองตาย โดย Flávia และ Carolina (2016) รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของปลาระหว่างการขนส่งระยะเวลานาน (ไม่เกิน 8 ชม.) หรือระยะเวลานาน (มากกว่า 8 ชม.) ซึ่งการขนส่งทั้งสองแบบส่งผลต่อคุณภาพน้ำ ได้แก่ การลดลงของ pH ในขณะที่ค่าแอมโมเนียเพิ่มขึ้น ค่าพลาสมาคอร์ติซอลสูงขึ้นอย่างกะทันหัน ส่งผลต่อความเครียดของปลาระหว่างการขนส่งอย่างรวดเร็วกว่าการขนส่งระยะยาว ค่าพลาสมา  $\text{Na}^+$  และ  $\text{Cl}^-$  มีการแลกเปลี่ยนกับ  $\text{H}^+$  ปลาต้องปรับสมดุลการหมุนเวียนกรดเบสในร่างกายของสัตว์น้ำ (Table 5)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริมโปรไบโอติกชนิด *Bacillus subtilis* ในอาหารที่ให้ปลาดุกอุยระดับ 1 ก./กก. สามารถลดปริมาณฮอริโมนคอร์ติซอลแก่ปลาดุกอุยเพศเมียที่ตั้งท้อง ช่วยลดการสูญเสียจากการขนย้ายปลาได้ดีกว่าการให้อาหารกลุ่มควบคุมและส่งผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ได้อีกด้วย

## เอกสารอ้างอิง

- ขวัญตา พูลสำราญ ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล เกรียงศักดิ์เม่งอำพัน และ ชนกกันต์จิตมนัส. 2551. ค่าโลหิตวิทยาของลูกปลานิล. เชียงใหม่ สัตวแพทยศาสร 6: 153-163.
- คุณาดล ศิลาฤดี. 2550. การศึกษาปริมาณโปรไบโอติกแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* CR1T5 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลากดเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการประมง บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

- ชาญวิทย์ สุวรรณ และ ชนกนธ์ จิตมนัส. 2560. การประยุกต์ใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงปลานิล. *เสียงใหม่สัตว์แพทย์สาร*. 15: 15-24.
- นันทริกา ชันชื้อ และ สมหวัง พิมลบุตร. 2550. การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับค่าทางเคมีในเลือดของปลาน้ำจืดในวงศ์ปลาตะเพียนหรือปลาคาร์พ (Family Cyprinidae). *Journal of the Thai Veterinary Medical Association under the Royal Patronage*. 58: 22-31.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. ปลาอุก: ผลผลิต รายจังหวัด ปี 2557-2559 (ปี 2558-2559 พยากรณ์ไตรมาส 3 เดือนกันยายน 2559). สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร และคณะทำงานพัฒนาคุณภาพข้อมูลด้านประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. สืบค้นจาก <https://goo.gl/Tu5PeH> สืบค้นเมื่อวันที่ 29 กันยายน 2560.
- Aderolu A., F. Zaid, and O. Awobajo. 2017. Dietary effect of *Cissus populnea* and *Securidaca longepedunculata* aqueous leave extracts on reproductive. *Aceh Journal of Animal Science*. 2: 1-11.
- Aly, S.M., Y.A-G. Ahmed, A.A-A. Ghareeb, and M.F. Mohamed. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia niloticus* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infection. *Fish & Shellfish Immunology*. 25: 128-136.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis (17th ed.). Washington, DC: Association of the Official Analytical Chemists.
- Arun S., I. Thongam, A. Chanu, I. Mura, and J. Srinivasa. 2017. Virulent *Aeromonas veronii* Strain BLB-01 Associated with Mass Mortality of *Clarias batrachus*.
- Atrayee D., K. Ghosh, and H. Niladri. 2017. Improvement of Growth and Survival of the Juvenile Walking Catfish, *Clarias batrachus* (L.) (Siluriformes: Clariidae) Fed on Probiotics Encapsulated and Ascorbic Acid Enriched Chironomid Larvae (Diptera: Chironomidae). *Proc Zool*.
- Boyd, C.E. 1998. Water Quality for Pond Aquaculture. Research and Development Series No. 43. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama.
- Cabello, F.C. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol*. 8: 1137-1144.
- Daniel N., A. P. Muralidhar, P. P. Srivastava, K. K. Jain, K. Pani Prasad, J. Manish, and T. Sivaramkrishnan. 2018. Dietary ascorbic acid requirement for growth of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) juveniles. *Aquaculture Nutrition*. 24: 616-624.
- Essa, M. A., S. S. EL-Serafy, M. M. El-Ezabi, 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*. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*. 5: 143-162.
- Flávia Sampaio D. F., and A. F. Carolina. 2016. An overview of stress physiology of fish transport: Changes in water quality as a function of transport duration. *Fish and Fisheries*. 17: 1055-1072.

- Guo, X., D. Li, W. Lu, X. Piao, and X. Chen. 2006. Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs. *A. Van. Leeuw.* 90: 139–146.
- Honggang Z., L. Chao, H. B. Benjamin, R. Zhang, W. Thongda, D. Allen Davis, and E. Peatman. 2015. Impact of feed additives on surface mucosal health and columnaris susceptibility in channel catfish fingerlings, *Ictalurus punctatus*. *Fish & Shellfish Immunology.* 46: 624-637.
- Iwama, G. K., L. O. B. Afonso, and M. M. Vijayan. 2006. Stress in fishes. In: Evans, D. H. & Claiborne, J. B. *The Physiology of fishes.* 319-342. Taylor and Francis, 3rd edition. 601 p. USA.
- Han, B., W. Long, J. He, Y. Liu, and Y. Si. 2015. Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunological parameters, intestinal morphology and resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish. Shellfish. Immunol.* 46: 225–231.
- Liu, C. H., C. H. Chiu, S. W. Wang, and W. Cheng. 2012. Dietary administration of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish. Shellfish. Immunol.* 33: 699–706.
- Liu, H., Z. Li, B. Tan, Y. Lao, Z. Duan, W. Sun, and X. Dong. 2014. Isolation of a putative probiotic strain S12 and its effect on growth performance, non-specific immunity and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology.* 41: 300-307.
- Martinez-Porchas, M., L. R. Martinez-Cordova, and R. Ramos-Enriquez. 2009. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress?. *Pan-American H. of Aquatic Sci.* 4:158-178.
- Mukherjee, P. 2002. Quality control of herbal drugs. Eastern Publishers (Business Horizons Ltd.) New Delhi.
- Na-Nakorn, U., S. Chantsawang, and W. Tarnchalanukit. 1994. Response to mass selection for disease resistance in walking catfish, *Clarius macrocephalus*. *J. Appl. Aqua.* 4: 65–73.
- Nielsen, S.S. 2010. Vitamin C determination by indophenol method. In *Food analysis laboratory manual*, vol. 2, ed. Cham: Springer .55-60.
- Ogbeche, K.A., Y.O. Ogunbiyi, and F.I.O. Duru. 2002. Effect of Methanol extract of *Kigelia africana* on Sperm Motility and Fertility in Rats. *Nigerian Journal of Health and Biomedical Sciences.* 1: 113-116.
- Ojha, M.L., N.K. Chadha, V.P. Saini, S. Damroy, Chandraprakash, and P.B. Sawant. 2014. Effect of ethanolic extract of *Mucuna pruriens* on growth, metabolism and immunity of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings. *International Journal of Fauna and Biological Studies.* 1: 01-09.
- Polakof, S., S. Panaserat, J. L. Soengas, and T. W. Moon. 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B.* 182:1015-1045.

- Pottinger, T. G. 1998. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. *Journal of Fish Biology* 53: 728-742.
- Robertson L., P. Thomas, C. R. Arnold, and J. M. Trant. 1987. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and a disease outbreak. *The Progressive Fish Culturist*. 49: 1-12.
- Rodak, B. F., G. A. Fritsma, and K. Doig. 2007. *Hematology: Clinical principles and applications*. 3rd edition. Saunders Elsevier. Pp. 160-174.
- Rotllant, J., P. H. M. Bahm, S. E. Wendelaar-Bonga, J. Perez-Sanchez, and L. Tort. 2000. A drop in ambient temperature results in a transient reduction of interrenal ACTH responsiveness in the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Fish Physiol. Biochem.* 23: 265-273.
- Smith, P. 2008. Antimicrobial resistance in aquaculture. *Rev. Sci. Technol.* 27: 243-264.
- Tongpim, S., R. Meidong, P. Poudel, S. Yoshino, and Y. Okugawa. 2014. Isolation of thermophilic L-lactic acid producing bacteria showing homo-fermentative manner under high aeration condition. *J. Biosci. Bioeng.* 117: 318-324.