นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของวิตามินละลายในไขมันต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลากดเหลือง (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.)

วุฒิพร พรหมขุนทอง[1] ยุทธพงษ์ จิตรพัฒนากุล[2] กิจการ ศุภมาตย์[3] และ ดุสิต นาคะชาต[4]

Abstract

Phromkunthong, W., Jitphatthanakul, Y., Supamattaya, K. and Nakachart, D.

Effects of fat-soluble vitamins on the growth performance, feed efficiency and histological changes of green catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.)

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2002, 24(3) : 399-411

The qualitative effects of fat-soluble vitamins (vitamin A, D, E and K) were studied in green catfish. The experiment consisted of five treatments with three replicates each. The feed of formula 1 was supplemented with complete vitamins while the feeds of formulae 2, 3, 4 and 5 were prepared using the same feed components and vitamins as in formula 1, except that they were deficient in vitamins A, D, E

Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112 Thailand.

[1]Dr. Rer. Nat. (Aquatic Animal Nutrition) รองศาสตราจารย์ [2]วท.บ. (การประมง) [3]Dr. Rer. Nat. (Aquatic Animal Disease) รองศาสตราจารย์ [4]กศ.บ. (ชีววิทยา) ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Corresponding e-mail : pwuttipor@ratree.psu.ac.th

รับต้นฉบับ 11 มกราคม 2545 รับลงพิมพ์ 4 มีนาคม 2545

and K, respectively. The experiment was carried out for a period of ten weeks in 200-l glass tanks. There was no significant difference in growth performance or feed efficiency among the groups (P>0.05). The fish fed diet without vitamin A supplementation had the lowest survival rate. External abnormalities of fish were recorded such as hemorrhage at the fins, deformities of the barbels and fins, opened operculum, gill of paler coloration and swollen abdomen. Additionally, the fish showed behavioral changes including higher response to stimulus and sluggish swimming and remained at the corners of the tank and with lower feed susceptibility. Result of blood analysis showed lower plasma protein, hematocrit and hemoglobin than the fish fed other feeds. Histological examination showed pathological changes of the gill, liver and kidney tissue. Fish fed the feed without vitamin D supplementation developed similar abnormalities, though of less severity, is those recognized in fish fed the feed without vitamin A supplementation. The hepatosomatic index of fish without vitamin D supplementation was highest among all the treatments. No abnormality was noted in the fish given the feed containing all fat-soluble vitamins or in those without vitamins E and K supplementation throughout the experimental period.

Key words : fat-soluble vitamins, vitamin A, vitamin D, vitamin E, vitamin K, green catfish, *Mystus nemurus*

บทคัดย่อ

วุฒิพร พรหมขุนทอง ยุทธพงษ์ จิตรพัฒนากุล กิจการ ศุภมาตย์ และ ดุสิต นาคะชาต

ผลของวิตามินละลายในไขมันต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลากดเหลือง (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.)

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2545 24(3) : 399-411

การทดลองนี้เป็นการศึกษาผลของวิตามินละลายในไขมัน 4 ชนิด คือ วิตามินเอ ดี อี และ เค ในเชิงคุณภาพในปลากดเหลือง โดยแบ่งการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ อาหารสูตรที่ 1 เสริมวิตามินครบถ้วนทุกชนิด อาหารสูตรที่ 2, 3, 4 และ 5 มีองค์ประกอบของวัสดุอาหารเหมือนอาหารสูตรที่ 1 เพียงแต่ไม่ได้เสริมวิตามินเอ ดี อี และ เค ตามลำดับ การทดลองนี้ ทำในตู้กระจก ความจุน้ำ 200 ลิตร ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองนาน 10 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่าการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการใช้อาหาร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง อย่างไรก็ตามปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเอแสดงความผิดปกติของลักษณะภายนอก ได้แก่ ตกเลือดบริเวณครีบและช่องปาก หนวดและครีบสึกกร่อน ฝาปิดเหงือกเปิดอ้า เหงือกมีสีซีดและท้องบวม นอกจากนี้ปลายังมีพฤติกรรมผิดปกติ ได้แก่ ตื่นตกใจง่าย ว่ายน้ำเชื่องช้า ชอบหลบตัวบริเวณมุมตู้ทดลอง และการยอมรับอาหารลดลง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าอัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารสูตรนี้ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆและจากการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรนี้ มีปริมาณพลาสมาโปรตีน ค่าฮีมาโตคริต และฮีโมโกลบินต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่น ๆ นอกจากนี้ยังตรวจพบพยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อของเหงือก ตับ และ ไต ในปลาที่ได้รับอาหารสูตรนี้ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินดีตรวจพบความผิดปกติต่าง ๆ คล้ายกับปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินเอ แต่ความรุนแรงน้อยกว่า ค่าดัชนีตับต่อตัวของปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ไม่เสริมวิตามินดี มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่น ๆ ส่วนปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน และชุดการทดลองที่ไม่เสริมวิตามินอี และ เค ตรวจไม่พบความผิดปกติใด ๆ ตลอดการทดลอง

จากการศึกษาความสำคัญของวิตามินละลายน้ำ 4 ชนิด คือ วิตามินบี$_1$ วิตามินบี$_2$ วิตามินบี$_5$ และ วิตามินซี ในปลากดเหลือง โดยวุฒิพร และคณะ (2540) ทำให้ทราบว่า วิตามินบี$_5$ และ วิตามินซี เป็นวิตามินที่จำเป็น (essential vitamin) ที่ต้องเสริมในอาหารของปลากดเหลือง วิตามินบี$_2$ ให้ความสำคัญรองลงมา ในขณะที่วิตามินบี$_1$ ยังไม่มีความจำเป็นมากนัก ภายในระยะเวลาเลี้ยงนาน 2 เดือน ต่อมา วุฒิพร และกิจการ (2541) ศึกษาเพิ่มเติมถึงความต้องการวิตามินละลายน้ำอีก 4 ชนิด ในปลาชนิดนี้ คือ วิตามินบี$_6$ ไนอะซิน กรดโฟลิก และโคลีนคลอไรด์ จากผลการศึกษาพบว่าวิตามินละลายน้ำทั้ง 4 ชนิดนี้มีความสำคัญที่ต้องเสริมลงในอาหารสำหรับเลี้ยงปลากดเหลือง โดยวิตามินบี$_6$ และ ไนอะซิน จัดเป็นวิตามินที่จำเป็นต้องเสริมอย่างเร่งด่วนเมื่อเริ่มเลี้ยงปลาชนิดนี้ ในขณะที่กรดโฟลิกและโคลีนคลอไรด์ให้ความสำคัญรองลงมา และอาจเสริมลงในอาหารหลังเลี้ยงปลาไปแล้ว 1 เดือน สำหรับวิตามินละลายในไขมันจัดว่าเป็นวิตามินที่มีความสำคัญสำหรับปลา (Halver, 1989) และ ยังไม่มีรายงานการศึกษาวิตามินกลุ่มนี้ในปลากดเหลืองมาก่อน เพื่อที่จะให้ข้อมูลการศึกษาผลของวิตามินในปลากดเหลืองมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยให้ความสำคัญศึกษาวิตามินละลายในไขมันทั้ง 4 ชนิดคือ วิตามินเอ ดี อี และ เค โดยศึกษาในเชิงคุณภาพ (qualitative study) ในปลากดเหลือง การศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบถึงบทบาทของวิตามินละลายในไขมันทั้ง 4 ชนิดนี้ ทั้งในแง่การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร พยาธิสภาพทางเนื้อเยื่อ ซึ่งจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลากดเหลือง และเป็นแนวทางสำหรับผู้ที่กำลังศึกษาผลของวิตามินในปลาชนิดอื่นๆ ด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลากดเหลืองขนาดปลานิ้ว จากสถานีประมงน้ำจืดจังหวัดสงขลา จำนวน 3,000 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 2 กรัม อนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสกลมขนาด 1 ลบ.ม. โดยใส่น้ำในถังให้ได้ปริมาตร 0.5 ลบ.ม. ให้อาหารลูกปลาดุกเล็ก เป็นเวลาประมาณ 1 เดือน เมื่อปลามีน้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 3.2 กรัม จึงทำการคัดลงตู้ทดลอง

การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลองทั้งหมด 5 สูตร อาหารทุกสูตรมีวัสดุอาหารเหมือนกัน (Table 1) มีองค์ประกอบของวิตามิน และแร่ธาตุเหมือนกัน จะต่างกันเฉพาะสูตรที่ต้องการทดสอบวิตามินละลายไขมันแต่ละชนิด ซึ่งจะไม่เติมวิตามินละลายไขมันชนิดนั้น (องค์ประกอบของวิตามินและแร่ธาตุแสดงไว้ตอนท้ายของ Table 1) เตรียมอาหารทดลองโดยผสมส่วนประกอบของวัสดุแห้งให้เข้ากันดีด้วยเครื่องผสมอาหาร (Hobart mixer) เติมวิตามินและแร่

Table 1. Composition of basal diet

Ingredient	% in diet
Casein (vitamin free)	29.0
Dextrin	30.0
Cellulose powder	18.5
Carboxy methyl cellulose	3.0
Gelatin	6.0
Mineral mix[1]	5.5
Vitamin mix[2]	2.0
Fish oil	3.0
Corn oil	3.0
Analyzed dietary nutrient (%)	
Moisture	15.30±0.02
Crude protein	31.10±0.82
Lipid	6.08±0.67
Ash	5.12±0.02

[1]Mineral mix supplemented (g/kg diet) $CaHPO_4 . 2H_2O$, 20.7; $CaCO_3$, 14.8; KH_2PO_4, 10; KCl, 0.1; NaCl, 6; $FeSO_4.7H_2O$, 0.5; $MgSO_4$, 3; KIO_3, 0.1; $CuSO_4.5H_2O$, 0.03; $ZnCO_3$, 0.15; $CoCl_2.6H_2O$, 0.0017; $NaMoO_4.2H_2O$, 0.0083; $Na_2SeO_3.5H_2O$, 0.0002

[2] Vitamin mix supplemented (g/kg diet) vitamin A-palmitate, 5,000 IU; vitamin D_3 (cholecalciferol), 1,000 IU; vitamin E (DL-alpha-tocopherol), 50 IU; vitamin K_1 (phylloquinone), 0.01 ; choline chloride, 0.55; nicotinic acid, 0.10; vitamin B_1 (thiamine hydrochloride), 0.02; vitamin B_2 (riboflavin), 0.02; vitamin B_6 (pyridoxine hydrochloride), 0.02; D-pantothenic acid calcium salt, 0.05; biotin,0.005; folic acid, 0.005; vitamin B_{12} (cyanocobalamin), 0.0002; myo-inositol, 0.10; vitamin C (ascorbyl monophosphate Ca) 0.10 mg

ธาตุตามปริมาณที่แสดงใน Table 1 นำมาบดให้ละเอียด ผสมให้เข้ากันดี ยกเว้นวิตามินซีและวิตามินละลายน้ำตัวอื่นๆ นำมาละลายน้ำ 300 มล. ก่อน แล้วจึงนำไปผสมกับวัสดุแห้งในเครื่องผสมอาหาร เมื่อส่วนประกอบทุกอย่างผสมเข้ากันดีแล้ว จึงนำไปเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มม. ผึ่งอาหารให้แห้ง นำไปบรรจุในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C นำอาหารไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการตามวิธีการมาตราฐานของ AOAC (1985) ดังแสดงไว้ใน Table 1 อาหารทดลองทั้ง 5 สูตร ได้แก่

อาหารสูตรที่ 1 : เสริมวิตามินครบถ้วน
อาหารสูตรที่ 2 : ขาดวิตามินเอ
อาหารสูตรที่ 3 : ขาดวิตามินดี
อาหารสูตรที่ 4 : ขาดวิตามินอี
อาหารสูตรที่ 5 : ขาดวิตามินเค

แผนการทดลองและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 5 ชุด ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ การทดลองนี้เป็นการทดสอบวิตามินละลายไขมัน 4 ชนิด คือ วิตามินเอ ดี อี และ เค โดยใช้กลุ่มควบคุมคือ กลุ่มที่ได้รับอาหารทดสอบที่เสริมวิตามินครบถ้วนทุกชนิด ระยะเวลาการทดลอง 10 สัปดาห์ เริ่มการทดลองโดยสุ่มปลาที่มีน้ำหนัก 3.20 - 3.24 กรัม จำนวน 450 ตัวจากถังไฟเบอร์กลาสที่อนุบาลลูกปลาไว้ นับปลาจำนวน 30 ตัวใส่ตู้ทดลองซึ่งเป็นตู้กระจกขนาด 200 ลิตร ปิดตู้กระจกด้วยผ้าพลาสติกสีทึบ 3 ด้าน ป้องกันการถูกรบกวนขณะทดลอง น้ำที่ใช้เลี้ยงปลาเป็นน้ำประปาที่นำมาพักและให้อากาศเพื่อกำจัดคลอรีนไว้ 2-3 วัน ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 2 วันต่อครั้งในช่วงเย็นหลังให้อาหารปลาประมาณ 2 ชั่วโมง ปริมาตรน้ำขณะทดลอง 110 ลิตร ให้อาหารทดลองวันละ 2 ครั้งคือ ช่วงเช้าเวลา 8:30 น. และเย็นเวลา 16:30 น. โดยให้ปลากินจนอิ่ม

การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

การตรวจสอบพฤติกรรม ความผิดปกติภายนอกและอวัยวะภายใน

ในระหว่างการทดลองสังเกตพฤติกรรมที่ผิดปกติในปลาแต่ละกลุ่ม โดยทำการตรวจสอบระหว่างการให้อาหารและหลังจากการเปลี่ยนถ่ายน้ำ รวมทั้งสังเกตลักษณะความผิดปกติภายนอก ได้แก่ สีของลำตัว การตกเลือด การเกิดบาดแผลที่อวัยวะภายนอก และผ่าดูอวัยวะภายใน

การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ทำการชั่งน้ำหนักปลาทุก 2 สัปดาห์ เพื่อบันทึกน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น โดยการชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละซ้ำด้วยวิธีการแทนที่น้ำ ใช้เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (งดให้อาหารปลาเป็นเวลา 1 วันก่อนชั่งน้ำหนัก) นับจำนวนปลาที่เหลืออยู่ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 10 สัปดาห์ นำข้อมูลที่ได้มาคิดค่าเฉลี่ยของน้ำหนักปลาแต่ละตัวอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อตามวิธีการของ Mukhopadhyay และ Rout (1996) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ตามวิธีการของ Zeitoun และคณะ (1973) อัตราการกินอาหาร ตามวิธีการของ Yone และ Fujii (1975) และบันทึกอัตราการรอดตายของปลาในแต่ละชุดการทดลอง

การหาค่าดัชนีตับต่อตัว (hepatosomatic index, HI)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มปลาจากทุกชุดการทดลองชุดการทดลองละ 6 ตัว นำปลาแต่ละตัวไปชั่งน้ำหนักตัวและน้ำหนักตับ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าดัชนีตับต่อตัวตามวิธีของ Anwar และ Jafri (1995)

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนเริ่มการทดลองจำนวน 30 ตัว นำไปวิเคราะห์ความชื้นในร่างกายทันทีและนำตัวอย่างปลาไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าตามวิธีการของ AOAC (1985) บันทึกองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาเริ่มต้น เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลาจากแต่ละตู้ทดลองๆ ละ 2 ตัว ทำการวิเคราะห์หาความชื้นของตัวปลา ปริมาณโปรตีน ไขมัน และเถ้าของปลาตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1985) แล้วบันทึกเป็นองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จากนั้นจึงนำค่าที่ได้มาคำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ตามวิธีการของ Zeitoun และคณะ (1973) การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ตามวิธีการของ Robinson และ Wilson (1985)

การศึกษาองค์ประกอบเลือด

สุ่มปลาจากทุกชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว ทำให้สลบด้วยน้ำยา 2-phenoxyethenol เจาะเลือดจากบริเวณโคนหางโดยใช้ กรดเอทีลินไดอะมีนเตตราอะซีติก (ethylene-diaminetetraacetic acid : EDTA) 1.0 % เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด เพื่อศึกษาองค์ประกอบของเลือด คือ

- Hemoglobin โดยใช้วิธี Cyanmet-haemoglobin ของ Larsen และ Snieszko (1961)

- Hematocrit โดยวิธีดัดแปลงจาก Blaxhall และ Daisley (1973)

- Plasma protein โดยวิธีดัดแปลงจาก Lowry และคณะ (1951)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา

เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บตัวอย่างโดยสุ่มเก็บเนื้อเยื่อตับ ไต เหงือก จากตัวอย่างปลาในตู้ทดลองๆ ละ 2 ตัวมาแช่ในสารละลายบูแอง (Bouin's fluid) 1 สัปดาห์ แล้วเปลี่ยนน้ำยาดองเป็นแอลกอฮอล์ 70% ก่อนนำไปผ่านกรรมวิธีเตรียมเนื้อเยื่อของ Humason (1972) เนื้อเยื่อถูกตัดให้มีความหนา 3-4 ไมโครเมตร แล้วย้อมด้วยสี Hematoxylin Eosin (H&E) (Bancroft, 1967) จากนั้นนำตัวอย่างไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA แบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Duncan, 1955)

ผลการทดลอง

ความผิดปกติภายนอกและอวัยวะภายในตลอดจนพฤติกรรมของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ

ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินเอ (อาหารสูตรที่ 2) เริ่มแสดงความผิดปกติของลักษณะภายนอกในสัปดาห์ที่ 6 ของการเลี้ยง โดยพบว่าปลามีอาการตื่นตกใจง่าย ว่ายน้ำเชื่องช้า ตกเลือดบริเวณครีบและช่องปาก ฝาปิดเหงือกเปิดอ้า ในสัปดาห์ที่ 7 ของการทดลองความผิดปกติของลักษณะภายนอกเริ่มรุนแรงขึ้น โดยพบปลาท้องบวม หนวดและครีบสึกกร่อน (Figure 1) ระยะนี้ปลาชอบหลบตัวบริเวณมุมตู้ด้านล่าง การยอมรับอาหารน้อยลง สังเกตพบว่าอาการผิดปกติและจำนวนปลาในตู้ที่มีความผิดปกติดังกล่าวเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยง

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการผ่าปลาเพื่อตรวจดูอวัยวะภายใน พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเอ ส่วนของตับฝ่อมีสีเหลืองซีด ส่วนไตมีสีเหลืองซึ่งต่างไปจากอวัยวะภายในของปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (อาหารสูตรที่ 1) ซึ่งมีสีแดงเรื่อ (Figure 2)

ปลากดเหลืองที่ได้รับสารอาหารที่ไม่เสริมวิตามินดี (อาหารสูตรที่ 3) ตรวจพบความผิดปกติต่างๆ คล้ายกับปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเอ แต่ความรุนแรงน้อยกว่า ได้แก่ ปลามีผิวหนังสีดำคล้ำ บางตัวพบว่า ลำตัวลีบ ตกเลือดบริเวณครีบ โดยเริ่มตรวจพบในสัปดาห์ที่ 8 ของการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำปลาที่มีความผิดปกติผ่าเพื่อตรวจดูอวัยวะภายใน พบว่าตับมีสีซีดและโตมีเมือกใสในช่องท้อง

สำหรับปลากดเหลืองที่ได้รับสารอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (อาหารสูตรที่ 1) อาหารที่ไม่เสริมวิตามินอี (อาหารสูตรที่ 4) และอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเค (อาหารสูตรที่ 5) ตรวจไม่พบความผิดปกติของอวัยวะภายนอกและภายในตลอดจนมีพฤติกรรมปกติตลอดระยะเวลาการทดลอง

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร ตลอดระยะเวลาการทดลอง 10 สัปดาห์ แสดงไว้ใน Table 2 พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลาเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยง แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ระหว่างชุดการทดลองในทุกช่วงเวลาที่ทำการชั่งน้ำหนักปลา

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ค่าดัชนีตับต่อตัว

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร แสดงไว้ใน Table 3 โดยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโต

Table 2. Average body weight of *M. nemurus* fed 5 diets for 10 weeks

Experimental group/week	Average body weight (g) [1]					
	0	2	4	6	8	10
Complete vitamins	3.24±0.01	5.32±0.10	8.65±0.04	12.78±0.36	16.56±0.70	21.07±1.47
Without vitamin A	3.22±0.04	5.32±0.29	8.63±0.61	12.34±0.97	16.60±1.14	20.80±0.73
Without vitamin D	3.23±0.04	5.32±0.23	8.19±0.15	11.39±0.19	15.24±0.40	21.19±0.60
Without vitamin E	3.23±0.01	5.24±0.07	8.68±0.07	13.23±0.83	17.23±1.57	22.86±1.62
Without vitamin K	3.20±0.03	5.26±0.27	8.54±0.72	12.86±0.96	17.70±2.00	23.62±2.75

[1]**Mean ± standard deviation of three replications**

Table 3. Weight gain, specific growth rate, hepatosomatic index (HI) of *M. nemurus* fed the experimental diets for 10 weeks[1]

Experimental group	Weight gain (%)	Specific growth rate (% body weight per day)	Hepatosomatic index (%)
Complete vitamins	551.49±44.37	2.68±0.10	2.17±0.07[a]
Without vitamin A	542.33±30.89	2.66±0.07	2.47±0.16[a]
Without vitamin D	556.20±28.01	2.69±0.06	2.78±0.18[b]
Without vitamin E	655.11±88.26	2.88±0.17	2.37±0.23[a]
Without vitamin K	637.40±86.67	2.85±0.17	2.20±0.11[a]

[1]**Mean±standard deviation of three replications. Means within each column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05)**

จำเพาะของปลาที่ได้รับอาหารแต่ละสูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ในขณะที่ค่าดัชนีตับต่อตัวของปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินดี (อาหารสูตรที่ 3) มีค่าสูงสุด และแตกต่างทางสถิติกับค่าดัชนีตับต่อตัวของปลาจากชุดการทดลองอื่นๆ (P<0.05) (Table 3)

อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ และอัตราการรอดตาย

อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและ อัตราการรอดตายของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร แสดงไว้ใน Table 4 โดยค่าดังกล่าวเหล่านี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง (P>0.05) ในขณะที่ค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (ไม่เสริมวิตามินอี) และสูตรที่ 5 (ไม่เสริมวิตามิน เค) มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ (P<0.05) (Table 4)

องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตร (Table 5) พบว่าปริมาณไขมันและเถ้าของปลาที่ได้รับอาหารต่างสูตรมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินเอ และ ดี จะมีไขมันต่ำกว่าสูตรอื่นๆ (Table 5) ส่วนปริมาณเถ้าในตัวปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ มีความแตกต่างกันดังใน Table 5

Table 4. Feeding rate, feed conversion ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER), apparent net protein utilization (ANPU) and survival of *M. nemurus* fed the experimental diets for 10 weeks [1]

Experimental group	Feeding rate (% per fish per day)	FCR	PER	ANPU	Survival rate (%)
Complete vitamins	3.34±0.29	1.56±0.14	2.03±0.19	29.29±2.81^{a}	85.00±7.07^{a}
Without vitamin A	3.14±0.25	1.45±0.08	2.16±0.11	28.20±1.45^{a}	61.67±7.07^{b}
Without vitamin D	3.08±0.14	1.46±0.05	2.16±0.08	30.36±1.12^{a}	84.44±5.09^{a}
Without vitamin E	3.03±0.07	1.39±0.08	2.27±0.13	35.02±2.01^{b}	88.89±5.09^{a}
Without vitamin K	3.21±0.10	1.48±0.09	2.13±0.12	37.90±2.10^{b}	85.56±9.62^{a}

[1]Mean±standard deviation of three replications. Means within each column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05)

Table 5. Whole body of *M. nemurus* fed the experimental diets for 10 weeks [1]

Experimental group	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Ash (%)
Initial fish	77.10±0.65	63.21±0.65	24.94±0.44	12.31±0.03
Complete vitamins	75.02±0.14	57.91±0.52	26.70±0.29^{b}	11.42±0.20^{a}
Without vitamin A	76.89±0.51	57.49±0.62	25.04±0.11^{a}	12.27±0.15^{b}
Without vitamin D	76.12±1.18	59.22±0.48	24.45±0.18^{a}	11.96±0.08^{b}
Without vitamin E	73.57±0.67	57.95±0.12	26.77±0.98^{b}	11.75±0.46^{ab}
Without vitamin K	70.67±1.06	59.02±0.55	26.90±0.75^{b}	12.13±0.35^{b}

[1]Mean±standard deviation of three replications. Means within each column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05)

Table 6. Blood parameters of *M. nemurus* fed the experimental diets for 10 weeks [1]

Experimental group	Plasma protein (%g)	Hematocrit (%)	Hemoglobin (%g)
Complete vitamins	8.76±0.75^{bc}	25.38±0.39^{bc}	4.88±0.79^{bc}
Without vitamin A	6.70±0.42^{a}	15.40±3.63^{a}	2.99±0.47^{a}
Without vitamin D	7.63±0.73^{ab}	20.63±3.63^{ab}	3.55±1.01^{ab}
Without vitamin E	9.00±0.52^{c}	28.75±3.62^{c}	5.91±0.68^{c}
Without vitamin K	8.61±0.87^{bc}	25.62±3.26^{bc}	4.89±0.46^{bc}

[1]Mean±standard deviation of three replications. Means within each column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05)

องค์ประกอบเลือด

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร ดังแสดงใน Table 6 พบว่าค่าพลาสมาโปรตีน ฮีมาโตคริค และฮีโมโกลบินของปลาที่ได้รับอาหารที่ขาดวิตามินเอ (อาหารสูตรที่ 2) ต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ ทุกสูตร และให้ผลแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) นอกจากนี้ ค่าองค์ประกอบเลือดดังกล่าวยังแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (P<0.05) (Table 6)

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

เหงือก

ปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน (สูตรที่ 1) ตรวจไม่พบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือก (Figure 3) แต่ตรวจพบในเหงือกปลาที่ไม่เสริมวิตามินเอ โดยพบว่าเซลล์เยื่อบุผิวของ primary lamellae และ secondary lamellae มีการแบ่งตัวมากผิดปกติ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการแยกตัวของ epithelial cell ในส่วนของ secondary lamellae ด้วย (Figure 4) ปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินดี พบว่ามีการแบ่งตัวมากผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือกในส่วนของเซลล์บุเยื่อผิวของ primary lamellae และ secondary lamellae (Figure 5) แต่พยาธิสภาพน้อยกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเอ สำหรับปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินอี และวิตามินเค ตรวจไม่พบพยาธิสภาพเช่นเดียวกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน

ตับ

ปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน มีสภาพของเซลล์ตับปกติ (Figure 6) แต่ตรวจพบพยาธิสภาพในปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเอ คือ พบช่องว่าง (vacuoles) เป็นจำนวนมาก (Figure 7) เช่นเดียวกับปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้เสริมวิตามินดี ซึ่งมีช่องว่างแทรกอยู่บ้างแต่น้อยกว่า (Figure 8) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินอี และเค ตรวจไม่พบพยาธิสภาพของเซลล์ตับ

ไต

ปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วนตรวจไม่พบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไต (Figure 9) แต่ตรวจพบพยาธิสภาพอย่างรุนแรงในปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเอ โดยพบว่าเนื้อเยื่อไต ในส่วน renal tubule และ renal corpuscle มีการเสื่อมสลายของเซลล์บุผิวไม่สามารถระบุขอบเขตของเซลล์ได้ชัดเจน ส่วนของเนื้อเยื่อฮีโมพอยอิติก (hemopoietic tissue) เสื่อมสลายโดยเซลล์เหล่านี้ ฝ่อลง และพบว่ามีการสร้างเนื้อเยื่อเส้นใยอย่างผิดปกติ (fibrosis) ในส่วน parietal epithelium ของ Bowman's capsule ซึ่งเซลล์บุผิวดังกล่าวถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อเส้นใย (fibrous substance) จนล้อมรอบ glomerulus และกระจายอยู่ทั่วไปแทนที่ส่วนของเนื้อเยื่อฮีโมพอยอิติกด้วย (Figure 10) สำหรับปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามิน ดี อี และ เค ตรวจไม่พบพยาธิสภาพของไตเช่นเดียวกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน

วิจารณ์

บทบาทของวิตามินเอนอกเหนือไปจากเกี่ยวกับการมองเห็น ยังมีส่วนช่วยในการสังเคราะห์ ไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ในตับและกระดูกอ่อน (chondrocytes) (Friedrich, 1988) ไกลโคโปรตีนจัดเป็นไฟโบรเน็คติน (fibronectin) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในระบบเมมเบรน (membrane system) ทำหน้าที่ในกระบวนการทางชีววิทยาหลายอย่าง เช่น เป็นตัวรับฮอร์โมนเฉพาะอย่าง เป็นตัวสื่อสารภายในเซลล์ ช่วยในการแบ่งเซลล์ และมีผลต่อเมแทโบลิซึมของไลโพโปรตีน (lipoprotein) (Zile and Cullum, 1983)

จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่า น้ำหนักเฉลี่ยของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเอ ไม่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินครบถ้วน ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Taveekijakarn และคณะ (1995) ที่พบว่า ปลาอะมาโกซัลมอน (amago salmon, *Oncorrhynchus rhodurus*) ที่ได้รับอาหารที่ขาดวิตามินเอมีน้ำหนักเฉลี่ยต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมวิตามินเอ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการทดลองจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 22 แต่ข้อมูลความผิดปกติด้านพฤติกรรมและลักษณะภายนอกสอดคล้องกัน และยังพบความผิดปกติลักษณะเดียวกันนี้ในปลาชนิดอื่นๆ อีกด้วย เช่น ในปลาบรุคเทราท์ (brook trout, *Salvelinus fontinalis*) โดยพบว่ารงควัตถุที่ผิวหนังจางหายไป (dermal depigmentation) ลำตัวบวม เกิดการเสื่อมของเรตินา มีการเคลื่อนที่ของเลนส์ (displaced lens) (Poston *et al*., 1977) ในปลาเรนโบว์เทราท์ (rainbow trout, *Oncorrhynchus mykiss*) พบว่าปลาที่ขาดวิตามินเอมีโลหิตจาง (anemia) ฝาปิดเหงือกบิดเบี้ยว ตกเลือดบริเวณตาและฐานครีบ (Kitamura *et al*., 1967) ในปลากดอเมริกัน (channel catfish, *Ictalurus punctatus*) ที่ได้รับเบตา-แคโรทีน (beta-carotene) 0.4 มก./ต่ออาหาร 1 กก. เป็นเวลานาน 2 ปี มีนัยน์ตาโปน ไตบวม และตกเลือด (Dupree and Sneed, 1966) ความผิดปกติเกิดขึ้นมาจากความบกพร่องในการสังเคราะห์ไฟโบรเน็คติน จากการศึกษาในหลอด

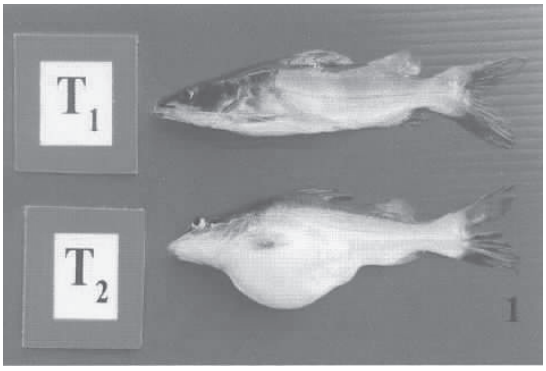

Figure 1. Comparison of external features between the green catfish given complete-vitamin feed (T_1) with those given the feed without vitamin A supplementation (T_2). The fish in T_2 exhibited protruding eyes, enlarged abdomen and with clipped fins and barbels.

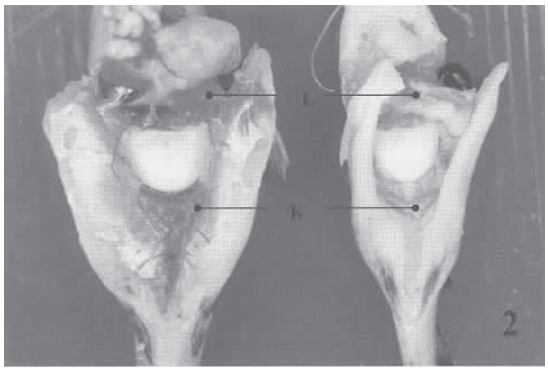

Figure 2. Comparison of viscera between the green catfish given complete-vitamin feed (T_1, left) and those given the feed without vitamin A supplementation (T_2, right). The fish in T_2 showed atrophy of the liver (L) which was pale yellow, while the kidney (K) had similar color. The fish in T_1 had reddish liver and kidney as normally recognized in healthy fish.

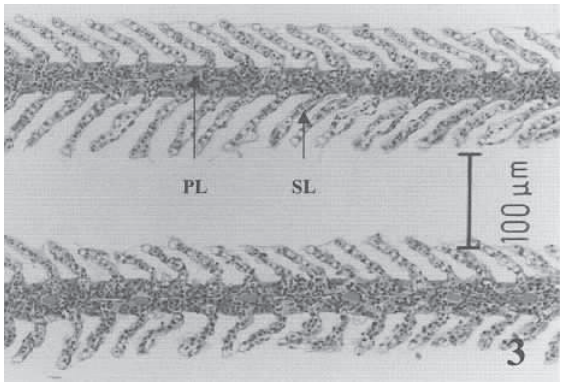

Figure 3. Light micrograph showing normal gill lamellae of green catfish fed complete-vitamins diet (T_1) (H&E) (PL = primary lamellar, SL = secondary lamellar)

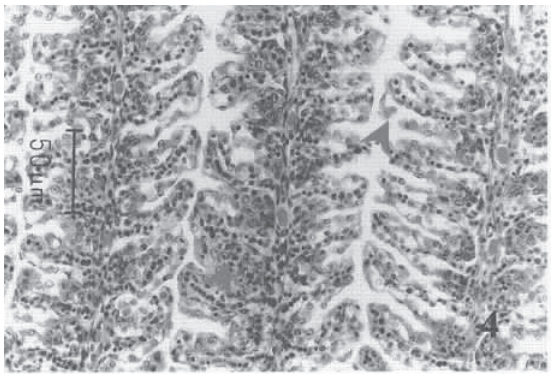

Figure 4. Severe hyperplasia (asterisk) and detachment (arrow heads) of epithelium of gill filament in fish fed diet without vitamin A supplementation (T_2) (H&E)

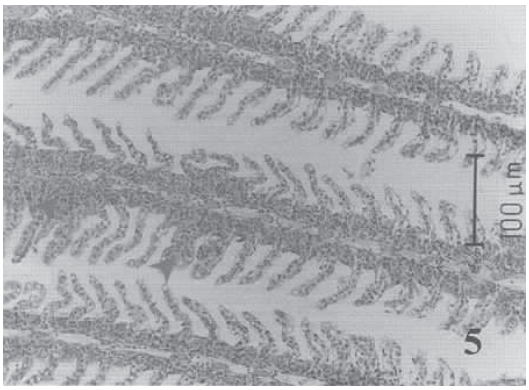

Figure 5. Slight hyperplasia (arrow head) of fish fed diet without vitamin D supplementation (T_3) (H&E)

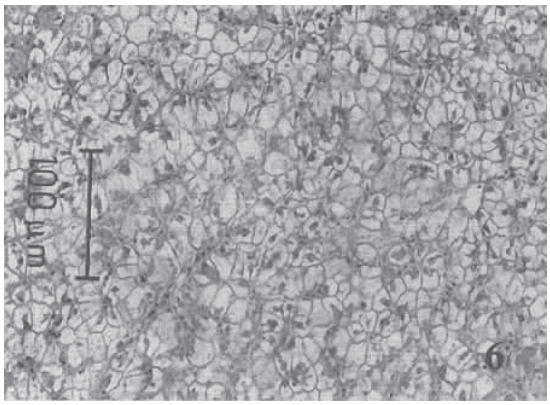

Figure 6. Normal liver parenchyma of fish fed a diet supplemented with complete vitamins (T_1) (H&E)

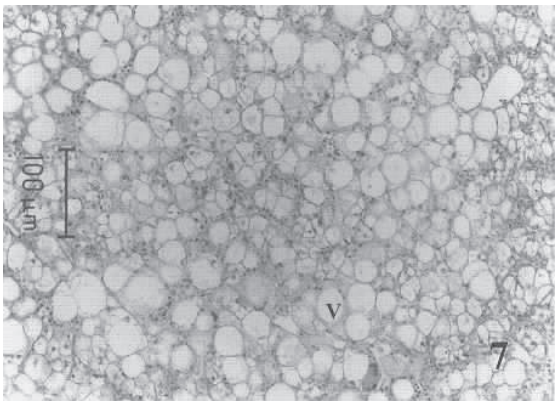

Figure 7. Vacuolation in the liver cells of the fish fed diet without vitamin A supplementation (T_2) (H&E) (V = vacuoles)

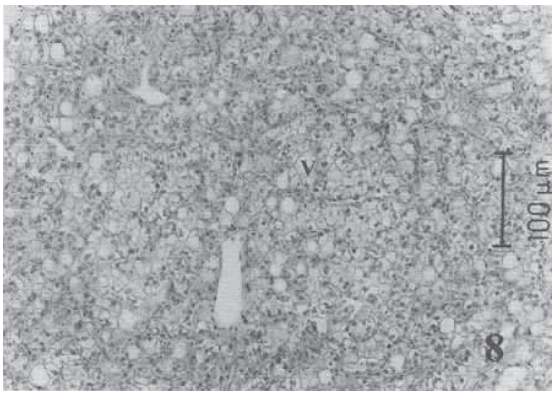

Figure 8. Vacuolation in the liver cells of the fish fed diet without vitamin D supplementation (T_3) (H&E) (V = vacuoles)

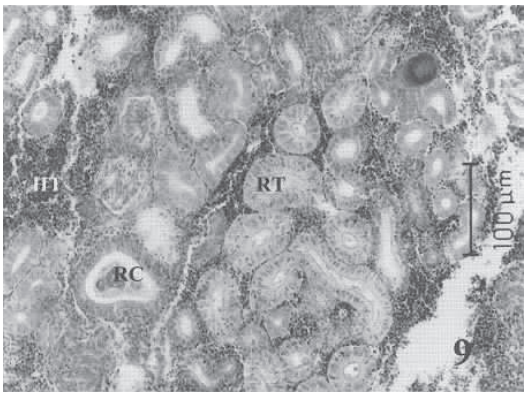

Figure 9. Normal cells of the renal corpuscle and renal tubules in the fish fed complete-vitamin diet supplemented (T_1) (H&E) (HT = hemopoietic tissue, RC = renal corpuscle, RT = renal tubule)

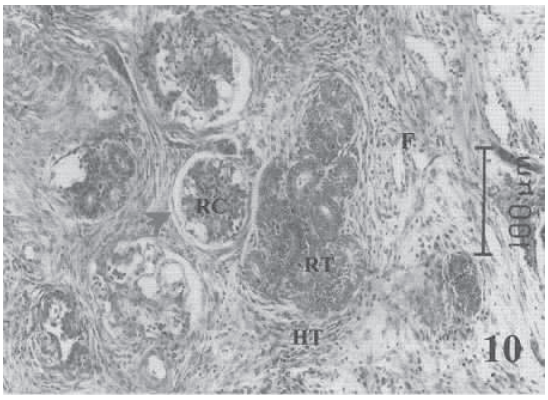

Figure 10. Fibrosis (F) in parietal epithelium of Bowman's capsule and degeneration of hemopoietic tissue , replaced by fibrous substance in the fish fed diet without vitamin A supplementation (T_2) (H&E) (RC = renal corpuscle, RT = renal tubule)

ทดลอง (*in vitro*) พบว่าการขาดไฟโบรเน็คตินมีผลทำให้การสร้างกระดูกอ่อน (chondrogenesis) และการรับซัลเฟต (sulfate intake) ของกระดูกอ่อนลดลง (Pennypacker *et al*., 1979) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับบทบาทของวิตามินเอที่ช่วยในการรักษาสภาพของมิวโคซาเมมเบรน (mucosa membrane) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่บุอวัยวะต่างๆ เช่น ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจและนัยน์ตาเป็นต้น (Lovell, 1989) ดังนั้นปลาที่ขาดวิตามินเอ มักจะพบว่าส่วนของเนื้อเยื่อบุผิวแบ่งตัวผิดปกติ

จากการศึกษาองค์ประกอบเลือดพบว่า ปลากดเหลือง ที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเอ มีค่าองค์ประกอบเลือดต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมวิตามินเอ โดยเฉพาะค่าฮีมาโตคริต (hematocrit) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับ Taveekijakarn และคณะ (1995) การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเลือดดังกล่าวสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในส่วนของเนื้อเยื่อโดยเฉพาะเนื้อเยื่อไต ที่พบว่า เนื้อเยื่อฮีโมพอยอิติกมีการฝ่อและมีการสร้างเนื้อเยื่อไฟโบรอะดิโพส (fibro-adipose) ขึ้นมาแทนที่การฝ่อของฮีโมพอยอิติก เกิดจากการแบ่งตัวผิดปกติของเม็ดเลือดแดง (erythrocytes) ผลการทดลองนี้คล้ายกับรายงานการทดลองในหนูที่ได้รับอาหารที่ขาดวิตามินเอ โดยพบว่าเกิดโลหิตจางเมื่อมีความผิดปกติในการทำงานของฮีโมพอยอิติกจะส่งผลต่อเนื่องต่อการควบคุมการปลดปล่อยธาตุเหล็กจากเซลล์ตับ ทำให้ทำงานไม่มีประสิทธิภาพ (Staab *et al*., 1984) นอกจากนี้ผลจากการตรวจพบการสะสมของไขมันในเซลล์ตับในปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินเอ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Taveekijakarn และคณะ (1995) และ Shim และ Tan (1989) ที่ศึกษาในปลาอะมาโกซัลมอนและปลาหางนกยูง (guppy, *Poecilia reticulata*) ตามลำดับ ความผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือกที่มีลักษณะคล้ายกับการทดลองนี้ เคยมีรายงานในปลาหลายชนิดที่ได้รับอาหารที่ขาดวิตามินซี ได้แก่ ปลากดอเมริกัน (Lim and Lovell, 1978) ปลากะพงขาว (seabass, *Lates calcarifer*) (Phromkunthong *et al*., 1997) ปลากะรัง (grouper, *Epinephelus malabaricus*) (Phromkunthong *et al*., 1995) และปลากดเหลือง (สุภฎา และวุฒิพร, 2544) พบว่าพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อที่ผิดปกติ มีผลทำให้ปลาไม่สามารถรับออกซิเจนจากน้ำได้เพียงพอ และอาจมีผลร่วมกับความผิดปกติอื่นๆ ด้วย ทำให้อัตราการรอดตายของปลาในกลุ่มนี้ต่ำ

ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารที่ไม่เสริมวิตามินดีตรวจพบความผิดปกติภายนอกและตับโต แต่ความรุนแรงน้อยกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินเอ และระยะเวลาที่ปลาเริ่มแสดงความผิดปกติก็ช้ากว่า โดยปลาแสดงความผิดปกติเมื่อเลี้ยงไปได้ 8 สัปดาห์ บทบาทของวิตามินดีมักแสดงเด่นชัดเมื่อมีการเลี้ยงปลาหนาแน่นและเลี้ยงในที่ร่ม โดยพบว่าปลามีการเจริญเติบโตช้า ปริมาณของไขมันในตับเพิ่มขึ้น เกิดการเสียสมดุลย์ของแคลเซียม และเกิดการเปลี่ยนแปลงของไขมันในกล้ามเนื้อขาว (Halver, 1989) อย่างไรก็ตามพบว่า ปลากดอเมริกันที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรปกติ (practical diet) ในบ่อเลี้ยงธรรมชาติ ไม่จำเป็นต้องเสริมวิตามินดี (Tacon, 1991)

แม้ว่ามีรายงานถึงบทบาท และความสำคัญของวิตามินอีและวิตามินเคในปลาหลายชนิด แต่จากการทดลองนี้พบว่า การที่ไม่เสริมวิตามินทั้ง 2 ชนิดนี้ ในอาหารปลากดเหลือง ไม่ส่งผลในทางลบต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและด้านอื่นๆ ที่ตรวจสอบ อาจเป็นไปได้ว่า ระยะเวลาทดลองเพียง 10 สัปดาห์ อาจสั้นเกินไปที่จะทำให้ปลาแสดงอาการขาดวิตามินทั้ง 2 ชนิดนี้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Bai และ Lee (1998) ที่พบว่าปลา *Korean rockfish, Sebastes schlegeli* ที่ได้รับอาหารไม่เสริมวิตามินอี จะเริ่มแสดงอาการขาดวิตามินหลังจากได้รับอาหารระยะเวลานาน 16 สัปดาห์ โดยพบอาการ ตาโปน ฝาปิดเหงือกหดสั้น กล้ามเนื้อลีบฝ่อ และ Murai และ Andrews (1977) พบว่าปลากดอเมริกันที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่เสริมวิตามินเค เป็นระยะเวลา 30 สัปดาห์ ไม่แสดงอาการขาดวิตามิน และไม่มีความแตกต่างทางสถิติของอัตราการเจริญเติบโต ค่าฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริต เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่เสริมวิตามินเค

จากการทดลองนี้สรุปได้ว่า วิตามินเอ เป็นวิตามินที่มีความจำเป็นต้องเสริมในอาหารทันทีเมื่อเริ่มเลี้ยงปลากดเหลือง วิตามินดีให้ความสำคัญรองลงมา และอาจมีความจำเป็นต้องเสริมในอาหาร หากมีการเลี้ยงในที่ร่ม และ

มีการเลี้ยงแบบหนาแน่น ในขณะที่วิตามินอี และวิตามินเค ยังไม่มีความจำเป็นสำหรับปลากดเหลืองขนาดปลานิ้วในช่วงระยะเวลาเลี้ยงนาน 10 สัปดาห์

เอกสารอ้างอิง

สุภฎา คีรีรัฐนิคม และ วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2544. ความต้องการวิตามินละลายน้ำในปลากดเหลือง (V) : ผลของแอสคอบิล-2-โมโนฟอสเฟต (ascorbyl-2-monophosphate, AMP) ระดับต่างๆ. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 23(2) : 203-214 .

วุฒิพร พรหมขุนทอง และ กิจการ ศุภมาตย์. 2541. ความต้องการวิตามินละลายน้ำในปลากดเหลือง (IV) : ความต้องการวิตามินบี$_6$ ไนอะซิน กรดโฟลิก และโคลีน-คลอไรด์. ว. สงขลานครินทร์ วทท. 20(4) : 419-423.

วุฒิพร พรหมขุนทอง ประกอบ เส้งสีแดง และ กิจการ ศุภมาตย์. 2540. ความต้องการวิตามินละลายน้ำในปลากดเหลือง (I) : ความต้องการวิตามินบี$_1$ วิตามินบี$_2$ วิตามินบี$_5$ และ วิตามินซี ว. สงขลานครินทร์ วทท. 19(3) : 337-349.

Anwar, M.F. and Jafri, A.K. 1995. Effect of varying dietary lipid levels on growth, feed conversion, nutrient retention and carcass composition of fingerling catfish, *Heteropneustes fossilis*. Asian Fish. Sci., 8 : 55-62.

AOAC. 1985. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. AOAC. Washington DC. 1263 pp.

Bancroft, J.D. 1967. Histochemical Techniques. Butterworths, London. 348 pp.

Bai, S.C. and Lee, K.-J. 1998. Different levels of dietary DL-alpha-tocopheryl acetate affect the vitamin E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. Aquaculture., 161 : 405-414.

Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W. 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. J. Fish Biol., 5 : 771-781.

Duncan, D.B. 1955. Multiple-range and multiple F tests. Biometrics., 11 : 1-42.

Dupree, H.K. and Sneed, K.E. 1966. Response of channel catfish fingerling to different levels of major nutrients in purified diets. U.S. Bureau of Sports Fish and Wildlife Technical Paper 9, 21 pp.

Friedrich, W. 1988. Vitamins. Walter de Gruyter, Berlin. 1058 pp.

Halver, J. E. 1989. Fish Nutrition. 2nd edition. Academic Press. New York. 798 pp.

Humason, G.L. 1972. Animal Tissue Technique. 4th. edition. CA : W.H. Freeman and Company. San-Francisco. 641 pp.

Kitamura, S., Suwa, T. and Ohara, S. 1967. Studies on vitamin requirements of rainbow trout-III requirement for vitamin A and deficiency symptoms. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 49 : 1381-1385.

Larsen, H.N. and Snieszko, S.F. 1961. Modification of microhematocrit technique with trout blood. Trans. Amer. Fish. Soc., 90 : 139-142.

Lim, C. and Lovell, R.T. 1978. Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Nutr., 108 : 1137-1146.

Lovell, R.T. 1989. Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, New York. 260 pp.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193 : 265-275.

Mukhopadhyay, P.K. and Rout, S.K. 1996. Effects of different dietary lipids on growth and tissue fatty acid changes in fry of the carp *Catla catla* (Hamilton). Aqua. Res., 27 : 623-630.

Murai, T. and Andrews, J.W. 1977. Vitamin K and anticoagulant relationships in catfish diets. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 43 : 785-794.

Pennypacker, J.P., Hassell, J.R., Yamada, K.M. and Pratt, R.M. 1979. The influence of an adhesive cell surface protien on chondrogenic expression *in vitro*. Exp. Cell Res., 121 : 411-415.

Phromkunthong, W., Storch, V., Supamattaya, K. and Boonyaratpalin, M. 1995. Effects of ascorbic acid deficiency on the gill and liver histopathology of grouper, *Epinephelus malabaricus*. Proc. Diseases in Asian Aquaculture II. Fish Health Section, Asian Fisheries Society., Manila. pp. 503-512.

Phromkunthong, W., Boonyaratpalin, M. and Storch, V. 1997. Different concentration of ascorbyl-2-monophosphate-magnesium as dietary sources of vitamin C for seabass, *Lates calcarifer*, Aquaculture., 151 : 225-243.

Poston, H.A., Riis, R.C., Rumsey, G.L. and Ketola, K.G. 1977. The effect of supplementary dietary amino acid, minerals and vitamins on salmonids fed cataractogenic diets. Cornell Vet., 67 : 472-509.

Robinson, E.H. and Wilson, R.P. 1985. Nutrition and Feeding. **In** Channel Catfish Culture. (ed. C.S. Tucker) Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Elsevier, Amsterdam. pp. 323-404.

Shim, K.F. and Tan C.H. 1989. The dietary requirement of vitamin A in guppy (*Poecilia reticulata* Peters.). Proc. 3th International Symposium on Feed and Nutrition in Fish., Aug. 28-Sept. 1, 1989 : 133-140.

Staab, D.B., Hodges, R.E., Metcalf W.K. and Smith, J.L. 1984. Relationship between vitamin A and iron in the liver. J. Nutr., 114 : 840-844.

Tacon, A.G.J. 1991. Vitamin nutrition in shrimp and fish. Proc. Aquaculture Feed Proceesing and Nutrition Workshop., Bangkok, Thailand, Sept. 19-25, 1991 : 10-41.

Taveekijakarn, P., Miyazaki, T., Matsumoto, M. and Arai, S. 1995. Studies on vitamin A Deficiency in amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*. Proc. Diseases in Asian Aquaculture II . Fish Health Section, Asian Fisheries Society., Manila. pp. 493-501.

Yone, Y. and Fujii, M. 1975. Studies on nutrition of red sea bream-XI : Effect of omega 3 fatty acid supplement in corn oil diet on growth rate and feed efficiency. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 41 : 73-77.

Zeitoun, I.H., Tack, P.I., Halver, J.E. and Ullrey, D.E. 1973. Influence of salinity on protein requirements of rainbow trout, *Salmo gairdneri* fingerling. J. Fish. Res., 30 : 1867-1873.

Zile, M.H. and Cullum M.E. 1983. The function of vitamin A: current concepts. Proc. Soc. Exp. Bio. Med., 172 :139-152.