นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มการใช้ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* Linn.)

วุฒิพร พรหมขุนทอง[1] และ อัจฉริยา มูสโกภาศ[2]

Abstract

Phromkunthong, W. and Musakopat, A.

Effects of phytase on enhancement of phosphorus utilization for feeds with plant materials in sex-reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.)

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2005, 27(Suppl. 1) : 151-170

Sex-reversed red tilapia of initial weight 4.85-4.90 g were experimented for 10-wk in 235-l glass tanks filled with 180 l water. This experiment was conducted in closed-recirculating water system with 0.8 l/min flow rate. The 5x2 factorial experiment was employed in the study in which there were a total of ten treatments with three replications each. Twenty fingerlings were stocked in each replication. Two factors were studied the first of which was the animal:plant protein ratios 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 and 1:5 were tested. For the second factor, the efficiency of phytase was studied for each animal to plant protein ratio by supplementing of 1,000 unit phytase/kg feed. The results showed that 1:3 animal to plant protein ratio was the most effective for sex-reversed red tilapia. Supplementation of 1,000 unit phytase/kg feed for all animal to plant ratios resulted in improvement of growth performance (weight gain and specific growth rate) feed efficiency (FCR, PER and ANPU), rate of feed intake and digestibility coefficient.

Key words : phytase, *Oreochromis niloticus* Linn., red tilapia, phosphorus

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.ม.(วาริชศาสตร์)** ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Corresponding e-mail : wutiporn.p@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 9 สิงหาคม 2547 รับลงพิมพ์ 16 พฤศจิกายน 2547

บทคัดย่อ

วุฒิพร พรหมขุนทอง และ อัจฉริยา มูสโกภาศ

ผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มการใช้ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ

ว.สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(ฉบับพิเศษ 1) : 151-170

การทดลองนี้เป็นการศึกษาผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มการใช้ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ โดยใช้ระบบการเลี้ยงแบบปิด ในตู้กระจกขนาด 235 ลิตร ที่มีปริมาตรน้ำไหลเวียน 180 ลิตร และอัตราการไหลของน้ำเป็น 0.8 ลิตร/นาที ปลานิลแดงแปลงเพศที่ใช้มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 4.85-4.9 กรัม/ตัว แบ่งเป็น 10 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ จำนวนปลา 20 ตัว/ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบแฟกเตอร์เรียล โดยศึกษา 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ศึกษาสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 5 ระดับ คือ 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 และ 1:5 ปัจจัยที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์ไฟเตส โดยแบ่งอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชสูตรเดียวกันเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตสและเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. หลังจากทดลองนาน 10 สัปดาห์ พบว่า สัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่เหมาะสมที่สุดในการสร้างสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลแดงแปลงเพศ คือ 1:3 และพบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตส 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. ในอาหารทดลองที่มีปริมาณของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชทุกสัดส่วนให้ผลในเชิงบวกต่อการเจริญเติบโต (น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพโปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ) อัตราการกินอาหารและประสิทธิภาพการย่อยอาหาร

ปลาใช้ฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของกระดูกและเกล็ด และเป็นองค์ประกอบของอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) ฟอสฟอลิปิด (phospholipids) และดีออกซีไรโบนิวคลีอิกแอสิด (deoxyribonucleic acid, DNA) โดยอยู่ในรูปของอินทรีย์ฟอสเฟต (NRC, 1993) ปลาได้รับฟอสฟอรัสจากอาหารเป็นหลักเนื่องจากฟอสฟอรัสในน้ำอยู่ในรูปที่ปลานำไปใช้ประโยชน์ได้น้อย วัตถุดิบอาหารโดยเฉพาะพืชแม้จะมีฟอสฟอรัสรวม (total phosphorus) อยู่ในปริมาณสูง แต่ฟอสฟอรัสในรูปที่ปลานำไปใช้ประโยชน์ได้ (available phosphorus) มีอยู่น้อย โดยฟอสฟอรัสจากพืชประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสทั้งหมดจะอยู่ในรูปกรดไฟติก (phytic acid) ซึ่งมักรวมอยู่กับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม โพแตสเซียม (Dey and Harborne, 1990) เรียกว่า ไฟติน (phytin) ส่วนเกลือของกรดไฟติกที่ประกอบด้วยอินโนซิทอลกับฟอสเฟต เรียกว่า ไฟเตท (phytate) (Uhlig, 1998) ตามปกติปลาไม่สามารถนำฟอสฟอรัสในรูปไฟติกมาใช้ได้ ดังนั้นอาหารปลาที่ใช้วัตถุดิบพืชเป็นหลักจึงจำเป็นต้องมีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่ปลานำไปใช้ได้ให้มากขึ้น เพื่อให้ปลามีการเจริญเติบโตและสุขภาพดี แนวทางที่แก้ปัญหาดังกล่าวคือการเสริมฟอสฟอรัสสังเคราะห์ในรูปอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหาร (วุฒิพร และคณะ, 2547ก) แต่จะเป็นการเพิ่มของเสียที่ต้องปล่อยลงแหล่งน้ำมากขึ้น เพราะฟอสฟอรัสในรูปที่ปลาไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ (unavailable phosphorus) จะถูกขับออกมาในรูปของมูลและมีการสะสมในแหล่งน้ำ ทำให้เกิดน้ำเสียในเวลาต่อมา

ไฟเตสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มฟอสฟาเตส (phosphatase) ซึ่งมีหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้ฟอสเฟตหลุดจากโมเลกุลไฟเตทและนำไปใช้ประโยชน์ได้ ส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสขับทิ้งลดลง จึงช่วยลดปัญหามลภาวะทางน้ำอันเนื่องจากฟอสฟอรัส นอกจากนี้การเสริมเอนไซม์ไฟเตสยังช่วยลดต้นทุนการผลิตโดยลดรายจ่ายจากการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต เนื่องจากปลามีฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ได้เพิ่มขึ้น และช่วยให้สามารถนำวัตถุดิบมาใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น

จากการศึกษาในปลานิลพบว่า การเสริมไฟเตสในอาหารทำให้การเจริญเติบโตและสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสของปลาเพิ่มสูงขึ้น (วุฒิพร และคณะ, 2547ก ; Phromkunthong *et al*., 2004) การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มการใช้ฟอสฟอรัส

จากวัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืชที่เหมาะสมในอาหาร และศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์ไฟเตสต่อการใช้ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ใช้ตู้กระจกขนาด 100 x 50 x 47 ซม. ความจุน้ำ 235 ลิตร ทำความสะอาด และติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศให้พร้อมสมบูรณ์แล้วเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีน ให้ได้ปริมาตร 180 ลิตร ปิดตู้ด้วยผ้าพลาสติกสีทึบ 3 ด้านเพื่อป้องกันการถูกรบกวนขณะทำการทดลอง โดยระบบทดลองเป็นระบบหมุนเวียนน้ำแบบปิด ระบบกรอง ประกอบด้วยถังไฟเบอร์กลาสที่บรรจุถ่าน ทราย เปลือกหอยและใยแก้ว บ่อคอนกรีตสำหรับพักน้ำ ประกอบด้วย ถ่าน เปลือกหอย อวน เครื่องให้อากาศ และเครื่องปั๊มน้ำ ปรับอัตราการไหลของน้ำในตู้ทดลองให้เป็น 0.8 ลิตร/นาที

2. การเตรียมปลาทดลอง

ใช้ลูกปลานิลแดงแปลงเพศ ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวอยู่ในช่วง 1.0-1.5 กรัม จำนวน 5,000 ตัว มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลมขนาดความจุน้ำ 2 ลบ.เมตร เป็นเวลา 1 เดือน ด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปยี่ห้อไฮ-เกรด เบอร์ 9961 ซึ่งเป็นอาหารที่ใช้ในการอนุบาลลูกปลา โดยมีคุณค่าทางโภชนาการคือ ความชื้น 12%โปรตีน 40% ไขมัน 6% และเยื่อใย 5% โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือ 9.00 น. และ 16.00 น. นำลูกปลาไปตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียและปรสิตภายนอก เมื่อไม่พบเชื้อ จึงนำไปใช้ในการทดลอง

3. การเตรียมอาหารทดลอง

วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของวัสดุอาหารที่นำมาใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารทดลอง ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย ฟอสฟอรัส และแคลเซียม โดยวิธี AOAC (1990) (Table 1) จากนั้นจึงสร้างสูตรอาหารให้มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, และ 1:5 ชั่งวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดตามสูตรที่คำนวณไว้ (Table 2) นำส่วนผสมทั้งหมดยกเว้นเอนไซม์ไฟเตสมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร เมื่อส่วนประกอบวัสดุอาหารเข้ากันดีจึงเติมน้ำลงไป 30% ของน้ำหนักอาหาร จากนั้นจึงนำไปเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารโดยใช้หน้าแว่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มม. (สำหรับเลี้ยงปลาในสัปดาห์ที่ 0-4) และใช้หน้าแว่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มม. (สำหรับเลี้ยง

Table 1. Proximate analysis of feed ingredient (% as fed basis)

Feed ingredients	Moisture	Protein	Fat	Ash	Fiber	NFE	Phosphorus	Calcium
Fishmeal	6.77±0.02	69.77±0.33	13.17±0.53	16.40±0.14	0.15±0.07	1.86±2.77	2.67±0.02	3.07±0.21
Soybean meal	9.38±0.02	45.61±0.64	3.85±0.52	7.87±0.94	4.15±0.07	38.53±2.00	0.85±0.02	0.35±0.01
Palm kernel cake	8.11±0.04	17.16±0.11	19.60±0.34	3.81±0.01	12.45±0.07	46.98±0.44	0.58±0.02	0.26±0.02
Corn meal	7.76±0.08	8.13±0.02	6.84±0.92	11.35±0.10	1.65±0.21	72.03±1.01	0.49±0.14	0.09±0.01
Rice flour	6.08±0.01	7.59±0.18	1.50±0.05	0.42±0.01	0.35±0.07	90.14±0.14	0.08±0.00	0.02±0.00

[1]Mean ± Standard deviation of three replications; NFE: nitrogen free extract

Table 2. Composition of experimental diets(%)

AP:PP[1]	1:1		1:2		1:3		1:4		1:5	
Phytase (Unit/kg diet)	**0**	**1,000**	**0**	**1,000**	**0**	**1,000**	**0**	**1,000**	**0**	**1,000**
Fishmeal	20	20	15	15	12	12	9	9	7.2	7.2
Soybean meal	30	30	35	35	40	40	45	45	50	50
Corn meal	12	12	10	10	12.5	12.5	10	10	13.8	13.8
Rice flour	18	18	15	15	10	10	10	10	7	7
Palm kernel cake	8	8	14	14	14.5	14.5	15	15	11	11
Vitamin mixtures[2]	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Mineral mixtures[3]	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Choline chloride	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Cr_2O_3	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Rice hull	7.5	7.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5
Phytase	0	0.020	0	0.020	0	0.020	0	0.020	0	0.020

[1]AP: Animal protein, PP: Plant protein, NFE: Nitrogen free extract
[2]Vitamin mixtures (per kg diet): Thiamine (B_1) 10 mg; Riboflavin (B_2) 20 mg; Pyridoxine (B_6) 10 mg; Cabalamin (B_{12}) 0.05 mg; Retinal (A) 4 mg; Cholecalciferol (D_3) 0.4 mg; Phylloquinone (K_1) 80 mg; Folic acid 5 mg; Calcium pantothenate 40 mg; Inositol 400 mg; Niacin 150 mg; Tocopherol (E) 60 mg; Choline 6,000 mg; Ascorbic acid (C) 500 mg; Biotin 3 mg; *Para*-aminobenzoic acid 25 mg
[3]Mineral mixtures (per kg diet): NaCl 0.25 g; $MgSO_4$ 3.75 g; KH_2PO_4 8 g; $Ca(H_2PO_4)$ 5 g; $FeSO_4$ 0.72 g; $(CH_3COO)_2Ca.5H_2O$ 0.88 g; $ZnSO_4.7H_2O$ 0.088 g; $MnSO_4.4H_2O$ 0.040 g; $CuSO_4.5H_2O$ 0.008 g; $CoCl_2.6H_2O$ 0.00025 g; $KIO_3.6H_2O$ 0.00075 g

ปลาในสัปดาห์ที่ 5-10) แบ่งอาหารแต่ละสูตรเป็น 2 ส่วน ส่วนที่หนึ่งทำการสเปรย์น้ำ และส่วนที่สองสเปรย์เอนไซม์ที่ระดับ 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. (ชั่งเอนไซม์ไฟเตส 0.20 กรัม ละลายน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาณ 40 มล.) (Table 2) ผึ่งอาหารให้แห้ง แล้วบรรจุในถุงพลาสติกเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C นำอาหารทดลองไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ฟอสฟอรัสและแคลเซียม โดยวิธีการของ AOAC (1990) (Table 3)

เอนไซม์ไฟเตสที่ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัทบีเอเอสเอฟ (BASF) ประเทศเยอรมนี โดยเป็นผลผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus niger* มีไฟเตสแอคติวิตี 5,000 เอฟทียู/กรัม (เอฟทียู (FTU)) เป็นหน่วยของเอนไซม์ไฟเตส โดย 1 เอฟทียู หมายถึง การปลดปล่อยหรือย่อย 1 ไมโครโมลของอนินทรีย์ฟอสฟอรัส/นาที จากโซเดียมไฟเตท (sodium phytate) ที่อุณหภูมิ 37°C และพีเอช (pH) 5.5 (Soares and Hughes, 1995)

ในสัปดาห์ที่ 7 ของการทดลอง จะเติมโครมิคออกไซด์ (Cr_2O_3) 0.5 % ของน้ำหนักอาหารลงในอาหารทดลอง เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ในการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหาร โดยทำการเจือจางโครมิคออกไซด์ 98% ด้วยแกลบป่นให้ได้ความเข้มข้น 50% (โครมิคออกไซด์ 51 กรัม/แกลบ 49 กรัม) เติมโครมิคออกไซด์ที่เจือจางแล้วในอาหารสูตรละ 1% ของน้ำหนักอาหาร และลดปริมาณแกลบป่นในอาหาร

4. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบเฟกเตอร์เรียล (Factorial design) เป็นแบบ 5x2 โดยศึกษา 2 ปัจจัย (Factor) คือ ปัจจัยที่ 1 ทำการศึกษาสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 5 ระดับ คือ 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 และ 1:5 โดยมีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ และใช้กากถั่วเหลือง ข้าวโพด กากเนื้อเมล็ดในปาล์ม และแป้งข้าวเจ้า เป็นแหล่งโปรตีนจากพืช ปัจจัยที่ 2 คือ การเสริมและไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตส ในอาหาร โดยทำการแบ่งอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชสูตรเดียวกันเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งจะไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตส และอีกส่วนเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1,000 ยูนิต/อาหาร

Table 3. Proximate analysis of 10 experimental diets (% as fed basis)[1]

Treatment	AP:PP	Phytase	Moisture	Protein	Fat	Ash	Fiber	NFE	Phosphorus	Calcium
		(Unit/kg diet)								
1	1:1	0	9.19±0.20	31.21±0.40	6.25±0.03	10.41±0.05	6.65±0.07	36.29±0.44	1.17±0.03	1.55±0.05
2	1:1	1,000	8.38±0.08	31.27±0.17	6.26±0.05	10.44±0.03	6.40±0.14	37.25±0.14	1.19±0.05	1.58±0.01
3	1:2	0	7.51±0.29	30.35±0.24	7.23±0.05	10.00±0.01	7.30±0.14	37.60±0.14	1.14±0.00	1.43±0.08
4	1:2	1,000	7.88±0.11	30.45±0.45	7.35±0.21	9.89±0.04	7.15±0.21	37.27±0.47	1.10±0.05	1.38±0.08
5	1:3	0	8.02±0.06	30.60±0.38	8.32±0.30	9.99±0.21	6.95±0.21	36.12±0.29	1.10±0.03	1.44±0.01
6	1:3	1,000	7.60±0.10	30.20±0.25	8.49±0.11	10.13±0.06	6.80±0.14	36.78±0.27	1.10±0.02	1.42±0.09
7	1:4	0	11.76±0.10	30.20±0.14	6.50±0.41	9.49±0.13	6.85±0.35	35.20±0.52	1.00±0.00	1.19±0.03
8	1:4	1,000	11.70±0.19	30.07±0.16	6.58±0.34	9.51±0.03	6.90±0.14	35.24±0.46	1.03±0.00	1.26±0.09
9	1:5	0	9.53±0.03	31.16±0.15	5.93±0.21	10.15±0.04	6.65±0.07	36.58±0.24	1.00±0.03	1.26±0.03
10	1:5	1,000	12.58±0.10	31.10±0.04	5.92±0.33	9.78±0.07	6.90±0.14	33.71±0.29	1.00±0.02	1.31±0.05

[1]Mean ± Standard deviation of three replications; NFE: nitrogen free extract

1 กก. ใช้เวลาทดลอง 10 สัปดาห์ การทดลองนี้ประกอบด้วย 10 ชุดการทดลอง แต่ละชุดการทดลอง ประกอบด้วย 3 ซ้ำ ใช้ลูกปลานิลแดงแปลงเพศใส่ตู้ละ 20 ตัว โดยสุ่มปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 4.5 กรัม/ตัว ปล่อยปลาในตู้ทดลองตู้ละ 20 ตัว ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือช่วงเช้า 9.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00 น. โดยให้ปลากินจนอิ่ม บันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้ทุกสัปดาห์ตลอดการทดลอง ก่อนให้อาหารช่วงเย็นดูดตะกอนทำความสะอาดตู้ปลาโดยใช้วิธีกาลักน้ำแล้วเติมน้ำใหม่ ตรวจสอบคุณภาพน้ำจากบ่อพักน้ำบ่อบำบัด และตู้ทดลองโดยสุ่มชุดการทดลองละ 2 ตู้ ทุกๆ 2 สัปดาห์ตลอดการทดลอง ตามวิธีของ Boyd และ Tucker (1992) ได้แก่ ความเป็นกรดด่าง (pH) ออกซิเจนละลายน้ำ (dissolved oxygen, DO) อุณหภูมิ ความเป็นด่าง (alkalinity) ความกระด้าง (hardness) ปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ ไนเตรท และฟอสฟอรัส

5. การเก็บรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูล

5.1 การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะภายนอก

ในระหว่างการทดลองสังเกตพฤติกรรมของปลาทุกชุดการทดลอง ได้แก่ การว่ายน้ำ การยอมรับอาหาร และสังเกตลักษณะภายนอก ได้แก่ สีของลำตัว การตกเลือด และการเกิดบาดแผลที่ครีบ ผิวหนัง และอวัยวะภายนอกอื่นๆ ใช้ยาและสารเคมีเพื่อป้องกันโรค ตามสภาพของปลา

5.2 การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักปลาทุก 2 สัปดาห์ โดยการชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละซ้ำด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (ในวันที่ชั่งน้ำหนักงดให้อาหารเป็นเวลา 1 วัน) นับจำนวนปลาที่เหลืออยู่ จนสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การรอดตาย (Nankervis *et al*., 2000) การเจริญเติบโตของปลา (Jantrarotai *et al*., 1994) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) (Dupree and sneed, 1996) อัตราการกินอาหาร (Yone and Fujii, 1975)

5.3 การคำนวณค่าดัชนีตับต่อตัว

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มปลาจากทุกชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว นำปลาแต่ละตัวไปชั่งน้ำหนักตัวและน้ำหนักตับ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าดัชนีตับต่อตัวตามวิธีของ Anwar และ Jafri (1995)

5.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลา

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนเริ่มการทดลองจำนวน 30 ตัว นำไปวิเคราะห์ความชื้นและองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า ฟอสฟอรัสและแคลเซียม ตามวิธีการของ AOAC (1990) และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยสุ่มตัวอย่างปลาจากแต่ละตู้ทดลองๆ ละ 2 ตัว และนำผลวิเคราะห์ไปคำนวณประสิทธิภาพโปรตีน (protein efficiency ratio, PER) (Zeitoun *et al*., 1973) และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (apparent net protein utilization, ANPU) (Robinson and Wilson, 1985)

5.5 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสและแคลเซียมในกระดูก

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาตู้ละ 5 ตัว แล่เอาเฉพาะกระดูกบริเวณกะโหลก กระดูกสันหลัง และหาง ไปผ่านกระบวนการทำให้แห้งโดย อบที่อุณหภูมิ 60°C นาน 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างนั้นไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียม ตามวิธีการของ AOAC (1990)

5.6 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา

เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บตัวอย่างโดยสุ่มเก็บเนื้อเยื่อตับ จากตัวอย่างปลาตู้ทดลองๆ ละ 2 ตัวมาแช่ในฟอร์มาลีน 10% (formalin) 1 สัปดาห์ แล้วเปลี่ยนน้ำยาดองเป็นแอลกอฮอล์ 70% ก่อนนำไปผ่านกรรมวิธีเตรียมเนื้อเยื่อของ Humason (1972) ตัดเนื้อเยื่อให้มีความหนา 3-4 ไมโครเมตร แล้วย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin (H&E) (Bancroft, 1967) จากนั้นนำเนื้อเยื่อไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบของ Olympus รุ่น C-35 AD

5.7 การศึกษาองค์ประกอบเลือด

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาจากทุกชุดการทดลองๆ ละ 6 ตัว มาสลบด้วยควินาลดีน เจาะเลือดจากบริเวณโคนหางโดยใช้กรดเอทีลินไดอะมีนเตตราอะซีติก (ethylenediaminetetraacetic acid : EDTA) 1% เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด เพื่อศึกษาองค์ประกอบของเลือด คือ

1. ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) โดยใช้วิธี Cyanmethaemoglobin ของ Larsen และ Snieszko (1961)

2. ฮีมาโตคริต (hematocrit) โดยวิธีดัดแปลงจาก Blaxhall และ Daisley (1973)

3. โปรตีนในพลาสมา (plasma protein) โดยวิธีดัดแปลงจาก Lowry และคณะ (1951)

4. เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว โดยวิธีดัดแปลงจาก Blaxhall และ Daisley (1973)

5.8 การศึกษาปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสในซีรัม

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาตู้ละ 2 ตัว เจาะเลือดจากบริเวณโคนหางประมาณ 3 มล. ใส่หลอด eppendorf ทิ้งไว้ 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 รอบ เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสด้วยวิธี molybdate UV และวิเคราะห์แคลเซียมด้วยวิธี o-cresolphthalein complexone ตามวิธีของ AOAC (1990)

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองที่ 2 วิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial (5 x 2) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Rage Test (Duncan, 1995)

ผลการทดลอง

1. การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะที่แสดงออกของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารสูตรต่าง ๆ

จากการสังเกตความผิดปกติและพฤติกรรมของปลานิลแดงแปลงเพศ ระหว่างการทดลอง พบว่า ปลาไม่มีความผิดปกติของรูปร่างลักษณะภายนอก ปลามีสุขภาพแข็งแรง ยอมรับอาหารทดลองดีทุกสูตร และมีพฤติกรรมปกติตลอดการทดลอง

2. การเจริญเติบโตและอัตรารอด

2.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

เมื่อเริ่มต้นทดลองน้ำหนักเฉลี่ยของปลาแต่ละตู้ไม่มีความแตกต่างกันโดยน้ำหนักเฉลี่ย ของปลาต่อตัวอยู่ในช่วง 4.85 ± 0.08 - 4.90 ± 0.06 กรัม น้ำหนักของปลาเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยง โดยพบว่า ตลอดเวลาทดลอง 10 สัปดาห์ ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลแดงแปลงเพศไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน ระหว่างสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชและการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารทดลอง แต่ปัจจัยแต่ละตัวส่งผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยของปลา โดยสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชในอาหารเริ่มส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลาตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง โดยพบ

ว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1, 2 (AP:PP เท่ากับ 1:1) สูตรที่ 3, 4 (AP:PP เท่ากับ 1:2) และสูตรที่ 5, 6 (AP:PP เท่ากับ 1:3) และสูตรที่ 7, 8 (AP:PP เท่ากับ 1:4) และมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9, 10 (AP:PP เท่ากับ 1:5) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Table 4) ส่วนผลของการเสริมเอนไซม์ไฟเตสเริ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง ($p<0.05$) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. มีการเจริญเติบโตสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมเอนไซม์ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ตลอดจนสิ้นสุดการทดลอง (Table 4)

2.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตาย

ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตายของปลานิลแดงแปลงเพศแสดงไว้ใน Table 5 โดยพบว่าค่าดังกล่าวของปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืชต่างกัน และการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารไม่มีปฏิสัมพันธ์กันแต่ปัจจัยแต่ละตัวส่งผลต่อค่าดังกล่าวเหล่านี้ โดยมีรายละเอียดดังนี้

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 10 สูตร มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:1, 1:2 และ 1:3 มีค่าดังกล่าวเพิ่มขึ้นสูงที่สุด รองลงมาคือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:4 และ 1:5 ตามลำดับ และการเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. มีผลทำให้น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลแดงแปลงเพศสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (Table 5)

อัตราการกินอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 10 สูตร ปรากฏว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:1, 1:4 และ 1:5 มีอัตราการกินอาหารสูงที่สุด รองลงมาคือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:3 และ 1:2 ตามลำดับ และปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสจะมีอัตราการกินอาหารต่ำกว่าปลาที่ได้อาหารไม่เสริมเอนไซม์ ($p<0.05$) (Table 5)

อัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 10 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 96.67 ± 2.89 - 100% (Table 5)

3. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ประสิทธิภาพโปรตีน (PER) และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (ANPU)

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพโปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 10 สูตร แสดงใน Table 6 โดยพบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพโปรตีนของปลาทดลองไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ต่างกัน กับการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหาร โดยมีรายละเอียดดังนี้

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่สัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1, 1:2 และ 1:3 มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:4 และ 1:5 ตามลำดับ ส่วนการเสริมเอนไซม์ไฟเตส พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ระดับ 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมเอนไซม์ (Table 6)

ประสิทธิภาพโปรตีนของปลาทดลองที่ได้รับอาหารทั้ง 10 สูตร มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p<0.05$) โดยปลาที่มีประสิทธิภาพโปรตีนดีที่สุดคือ กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:2 รองลงมาคือ 1:3, 1:4, 1:1 และ 1:5 ตามลำดับ (Table 6) และพบว่าประสิทธิภาพโปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสดีกว่าการไม่เสริมเอนไซม์ ($p<0.05$) (Table 6)

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชต่างกันมีปฏิสัมพันธ์กับการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหาร โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (AP:PP เท่ากับ 1:1 และไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตส) และ 6 (AP:PP เท่ากับ 1:3 และเสริมเอนไซม์ไฟเตส) มีการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิสูงที่สุด และปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนจาก

Table 4. Average body weight of tilapia fed 10 experimental diets for 10 weeks (g)[1]

Treatment	AP:PP	Phytase (Unit/kg diet)	Week					
			0	2	4	6	8	10
1	1:1	0	4.85±0.08	13.78±0.03^{bc}	26.70±1.23^{bcx}	43.91±1.40^{cx}	64.38±0.87^{cx}	91.48±7.26^{cx}
2	1:1	1,000	4.88±0.07	13.79±0.24^{bc}	27.04±0.64^{bcy}	44.91±0.82^{cy}	65.56±2.41^{cy}	93.80±5.36^{cy}
3	1:2	0	4.89±0.07	14.03±0.87^{c}	28.06±0.93^{dx}	46.26±2.47^{dx}	67.31±4.24^{dx}	93.03±4.92^{cx}
4	1:2	1,000	4.90±0.06	14.71±0.33^{c}	29.79±1.28^{dy}	48.67±1.56^{dy}	72.16±1.12^{dy}	99.41±6.19^{cy}
5	1:3	0	4.86±0.09	14.13±0.14^{c}	27.67±0.42^{cdx}	45.44±1.12^{cdx}	68.39±4.35^{dx}	91.75±7.54^{cx}
6	1:3	1,000	4.89±0.09	14.15±0.03^{c}	28.42±0.69^{cdy}	47.12±1.01^{cdy}	70.57±2.07^{dy}	96.27±3.64^{cy}
7	1:4	0	4.86±0.06	13.21±0.08^{b}	25.13±1.07^{bx}	39.86±2.19^{bx}	55.61±5.64^{bx}	75.82±8.22^{bx}
8	1:4	1,000	4.88±0.06	13.71±0.95^{b}	26.38±1.38^{by}	42.16±1.20^{by}	59.97±1.47^{by}	84.30±3.98^{by}
9	1:5	0	4.87±0.05	12.65±0.24^{a}	22.97±1.19^{ax}	35.12±3.38^{ax}	48.09±2.92^{ax}	65.76±4.51^{ax}
10	1:5	1,000	4.88±0.05	12.75±0.73^{a}	24.03±1.63^{ay}	37.06±2.71^{ay}	53.04±4.93^{ay}	71.31±6.49^{ay}
	AP:PP		NS	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
	Phytase		NS	NS	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
	AP:PP x Phytase		NS	NS	NS	NS	NS	NS

[1]Mean ± standard deviation of three replications.
Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p0.05)
a, b, c, d → AP : PP ; x, y → Phytase

Table 5. weight gain, specific growth rate, rate of feed intake and survival of tilapia fed 10 experimental diets for 10 weeks[1]

Treatment	AP:PP	Phytase (Unit/kg diet)	Weight gain (%)	Specific growth rate (% /fish/day)	Rate of feed intake (% /fish/day)	Survival (%)
1	1:1	0	1,785.66±133.57^{cx}	4.13±0.10^{cx}	3.45±0.15^{bx}	100.00+0.00^{a}
2	1:1	1,000	1,824.61±136.88^{cy}	4.16±0.10^{cy}	3.23±0.16^{by}	100.00+0.00^{a}
3	1:2	0	1,803.38± 82.43^{cx}	4.15±0.06^{cx}	3.16±0.07^{ax}	100.00+0.00^{a}
4	1:2	1,000	1,928.12±108.69^{cy}	4.24±0.08^{cy}	3.18±0.14^{ay}	96.67+2.89^{a}
5	1:3	0	1,786.47±147.00^{cx}	4.13±0.11^{cx}	3.29±0.12^{abx}	100.00+0.00^{a}
6	1:3	1,000	1,870.51± 82.05^{cy}	4.20±0.06^{cy}	3.18±0.06^{aby}	100.00+0.00^{a}
7	1:4	0	1,458.23±156.77^{bx}	3.86±0.14^{bx}	3.45±0.14^{bx}	98.33+2.89^{a}
8	1:4	1,000	1,629.24± 98.60^{by}	4.01±0.08^{by}	3.21±0.09^{by}	98.33+2.89^{a}
9	1:5	0	1,250.61± 99.00^{ax}	3.66±0.11^{ax}	3.37±0.06^{bx}	96.67+5.77^{a}
10	1:5	1,000	1,362.16±148.89^{ay}	3.77±0.14^{ay}	3.39±0.08^{by}	98.33+2.89^{a}
	AP:PP		< 0.05	< 0.05	< 0.05	NS
	Phytase		< 0.05	< 0.05	< 0.05	NS
	AP:PPXPhytase		NS	NS	NS	NS

Mean ± standard deviation of three replications.
Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p0.05)
a, b, c → AP : PP ; x, y → Phytase

Table 6. FCR, PER, ANPU of tilapia fed 10 experimental diets for 10 weeks[1]

Treatment	AP:PP	Phytase (Unit/kg diet)	FCR	PER	ANPU (%)
1	1:1	0	1.34±0.06^{abx}	2.39±0.11^{bx}	41.23±1.91^{f}
2	1:1	1,000	1.25±0.06^{aby}	2.55±0.13^{by}	36.50±1.89^{de}
3	1:2	0	1.23±0.04^{ax}	2.69±0.08^{dx}	36.41±1.05^{de}
4	1:2	1,000	1.25±0.04^{ay}	2.63±0.09^{dy}	37.48±1.32^{e}
5	1:3	0	1.28±0.05^{ax}	2.56±0.10^{cdx}	35.11±1.44^{cde}
6	1:3	1,000	1.23±0.02^{ay}	2.69±0.04^{cdy}	40.27±0.62^{f}
7	1:4	0	1.39±0.09^{bcx}	2.39±0.16^{bcx}	32.85±2.15^{bc}
8	1:4	1,000	1.27±0.03^{bcy}	2.62±0.07^{bcy}	33.85±0.92^{bcd}
9	1:5	0	1.40±0.04^{cx}	2.30±0.07^{ax}	29.49±0.86^{a}
10	1:5	1,000	1.38±0.07^{cy}	2.34±0.11^{ay}	31.70±1.46^{ab}
	AP:PP		< 0.05	< 0.05	< 0.05
	Phytase		< 0.05	< 0.05	NS
	AP:PP X Phytase		NS	NS	< 0.05

[1]Mean±standard deviation of three replications.
Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p0.05)
a, b, c → AP : PP ; x, y → Phytase

พืชสูงขึ้นทำให้ค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนต่ำ (Table 6)

4. ประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ

จากการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้ง โปรตีน และฟอสฟอรัสของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 10 สูตร พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช กับการเสริมเอนไซม์ ดังแสดงใน Table 7

ประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้ง พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:4 มีประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้งดีที่สุด และการเสริมเอนไซม์ไฟเตสไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้งของปลาทดลอง ($p>0.05$) Table 7

ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:4 มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารดีที่สุด รองลงมาคือ 1:5 และปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1, 1:2 และ 1:3 มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) (Table 7) และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนดีกว่าปลาที่มีได้อาหารไม่เสริมเอนไซม์ (Table 7)

ประสิทธิภาพการย่อยไขมันของปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชต่างกันมีปฏิสัมพันธ์กับการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหาร โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:3 มีค่าสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอื่นๆ ($p<0.05$) ทั้งปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมและไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตส (Table 7)

ประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสในอาหารพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:4 และ 1:5 มีประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันระหว่าง ชุดการทดลอง และมีประสิทธิภาพการย่อยสูงกว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1, 1:2 และ 1:3 ($p<0.05$) โดยกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ ไฟเตสมีประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสดีกว่า (Table 7)

5. ส่วนประกอบทางโภชนาการของปลาทั้งตัว

ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของปลาทั้งตัวที่ได้รับอาหารทั้ง 10 สูตร แสดงไว้ใน Table 8 ค่าความชื้น และฟอสฟอรัสของปลาไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ต่างกัน กับการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหาร พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1 มีค่าความชื้น และฟอสฟอรัสต่ำที่สุดและแตกต่างจากสูตรอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 8)

ส่วนค่าโปรตีน ไขมัน เถ้า และแคลเซียมของปลาทั้งตัว พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ สัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชกับการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารมีปฏิสัมพันธ์กันและมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p<0.05$) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่ 6 (AP:PP เท่ากับ 1:3 และเสริมเอนไซม์) มีโปรตีนในร่างกายสูงที่สุด และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ ($P<0.05$) (Table 8) สำหรับค่าไขมันพบว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่ 2 (AP:PP เท่ากับ 1:1 และเสริมเอนไซม์) มีค่าไขมันในปลาทั้งตัวสูงที่สุด (Table 8) สำหรับการสะสมเถ้าของปลาพบว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3 (AP:PP เท่ากับ 1:2 และไม่เสริมเอนไซม์) มีค่าสูงที่สุด และแตกต่างจากสูตรอื่นๆ ($p<0.05$) (Table 8) การสะสมแคลเซียมของปลาพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 6 และ 8 มีค่าแคลเซียมสูงที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกันระหว่างชุดทดลอง ($p>0.05$) แต่ต่างกับสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (Table 8)

6. องค์ประกอบเลือดและดัชนีตับต่อตัว

ผลวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบเลือดของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารต่างๆ กันทั้ง 10 สูตร แสดงใน Table 9 พบว่า ค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน ปริมาณเม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดแดง ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการ ทดลอง ($p>0.05$)

สำหรับค่าโปรตีนในพลาสมาของปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชต่างกัน ไม่มีปฏิสัมพันธ์กับการเสริมเอนไซม์ไฟเตส โดยพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 ถึง 8 (AP:PP เท่ากับ 1:1, 1:2, 1:3 และ 1:4) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง ($p>0.05$) (Table 9) และมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่

Table 7. Digestibility coefficient of nutrients from experimental diets for tilapia[1]

Treatment	AP:PP	Phytase (Unit/kg diet)	Digestibility coefficient (%)			
			Dry matter	Protein	Fat	Phosphorus
1	1:1	0	57.26±0.54^{bc}	87.22±0.75^{ax}	77.37±1.88^{bc}	36.99±5.32^{ax}
2	1:1	1,000	53.96±2.95^{bc}	87.34±0.22^{ay}	72.25±1.94^{a}	35.97±4.56^{ay}
3	1:2	0	53.43±1.29^{b}	86.29±0.40^{ax}	79.26±1.10^{cd}	40.53±2.19^{ax}
4	1:2	1,000	54.78±4.23^{b}	87.40±0.35^{ay}	77.11±0.53^{bc}	41.09±5.23^{ay}
5	1:3	0	48.93±1.89^{a}	87.07±0.59^{ax}	81.10±0.47^{d}	38.00±5.93^{ax}
6	1:3	1,000	51.34±1.11^{a}	87.54±0.41^{ay}	80.73±0.91^{d}	42.31±2.71^{ay}
7	1:4	0	57.13±0.53^{c}	89.31±0.25^{cx}	77.35±0.89^{bc}	49.53±2.58^{bx}
8	1:4	1,000	56.70±1.20^{c}	89.10±0.47^{cy}	76.02±1.69^{b}	56.47±1.78^{by}
9	1:5	0	47.19±2.07^{a}	88.04±0.13^{bx}	76.36±0.46^{b}	46.27±3.55^{bx}
10	1:5	1,000	50.90±1.70^{a}	88.22±0.2^{by}	77.10±2.16^{bc}	52.26±1.00^{by}
	AP:PP		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
	Phytase		NS	< 0.05	< 0.05	< 0.05
	AP:PPXPhytase		NS	NS	< 0.05	NS

[1]Mean±standard deviation of three replications.
Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)
a, b, c → AP : PP ; x, y → Phytase

Table 8. Whole body composition of tilapia fed 10 experimental diets for 10 weeks[1]

Treatment	AP:PP	Phytase (Unit/kg diet)	Moisture	Protein	Fat	Ash	Phosphorus	Calcium
I^0			76.44±0.43	58.13±0.30	20.87±0.36	18.89±0.03	2.99±0.09	5.11±0.15
1	1:1	0	71.72±2.29^{a}	60.40±0.32^{e}	23.29±0.22^{c}	11.71±0.12^{a}	2.03±0.06^{a}	2.79±0.25^{a}
2	1:1	1,000	75.09±0.66^{a}	57.27±0.31^{b}	27.48±0.38^{e}	13.26±0.44^{b}	2.17±0.10^{a}	3.64±0.19^{b}
3	1:2	0	76.78±1.13^{b}	58.37±0.37^{c}	20.70±0.37^{a}	16.35±0.24^{f}	2.50±0.09^{b}	4.10±0.13^{c}
4	1:2	1,000	76.07±1.18^{b}	59.44±0.24^{d}	21.98±0.41^{b}	15.33±0.13^{de}	2.55±0.05^{b}	4.18±0.15^{c}
5	1:3	0	76.35±0.82^{b}	58.06±0.03^{c}	24.55±0.09^{d}	15.67±0.45^{de}	2.46±0.07^{b}	4.38±0.05^{cd}
6	1:3	1,000	75.75±0.48^{b}	61.52±0.06^{f}	22.03±0.14^{b}	15.46±0.31^{de}	2.63±0.00^{b}	4.50±0.17^{d}
7	1:4	0	76.90±1.01^{b}	59.37±0.92^{d}	24.09±0.31^{d}	14.40±0.09^{c}	2.32±0.30^{b}	3.49±0.30^{b}
8	1:4	1,000	77.85±1.40^{b}	58.60±0.41^{c}	23.20±0.10^{c}	15.21±0.46^{d}	2.60±0.21^{b}	4 .66±0.13^{d}
9	1:5	0	75.90±1.03^{b}	53.49±0.14^{a}	27.03±0.42^{e}	13.66±0.12^{b}	2.22±0.02^{b}	3.46±0.11^{b}
10	1:5	1,000	76.32±1.19^{b}	57.25±0.22^{b}	24.04±0.29^{d}	15.76±0.06^{e}	2.51±0.06^{b}	4.18±0.20^{c}
	AP:PP		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
	Phytase		NS	< 0.05	NS	< 0.05	NS	< 0.05
	AP:PP Phytase		NS	< 0.05	< 0.05	< 0.05	NS	< 0.05

[1]Mean±standard deviation of three replications. Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)
I^o = initial fish

9 (AP:PP เท่ากับ 1:5 ไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตส) และ 10 (AP:PP เท่ากับ 1:5 และเสริมเอนไซม์ไฟเตส) ($p<0.05$) (Table 9)

ค่าดัชนีตับต่อตัวของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1, 1:2 และ 1:3 มีค่าสูงที่สุด และไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง ($p>0.05$) (Table 9) แต่แตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:4 และ 1:5 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และพบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตส ทำให้ปลามีค่าดัชนีตับต่อตัวสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเอนไซม์ ($p<0.05$) (Table 9)

7. ฟอสฟอรัสและแคลเซียมในซีรัม

ค่าฟอสฟอรัสและแคลเซียมในซีรัม ของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ แสดงไว้ใน Table 10 จากการวิเคราะห์พบว่า ฟอสฟอรัสในซีรัมมีค่าอยู่ในช่วง 25.95-32.15 มก.% และแคลเซียมมีค่าอยู่ในช่วง 13.55-16.80 มก.%

8. การสะสมฟอสฟอรัส และแคลเซียม ในกระดูก

ค่าฟอสฟอรัส และแคลเซียมในกระดูกของปลาทดลอง แสดงใน Table 11 โดยพบว่า ค่าฟอสฟอรัสและแคลเซียมในกระดูกของปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 10 สูตร ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชกับการเสริมเอนไซม์ไฟเตส โดยค่าฟอสฟอรัสในกระดูกไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง ($p>0.05$) (Table 11) สำหรับแคลเซียมในกระดูกของปลาทดลอง พบว่า สัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ต่างกันไม่มีผลต่อการสะสมแคลเซียมในกระดูก ($p>0.05$) แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสจะมีแคลเซียมในกระดูกสูงกว่าไม่เสริมเอนไซม์ ($p<0.05$) (Table 11)

9. การสะสมฟอสฟอรัส และแคลเซียม ในมูลปลา

ค่าฟอสฟอรัส และแคลเซียมในมูลของปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ แสดงไว้ใน Table 12 โดย พบว่าค่าฟอสฟอรัสและแคลเซียมในมูลปลามีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง ($p<0.05$) แต่ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชระดับต่างๆ กับ

Table 9. Blood components and hepatosomatic index (HSI) of tilapia fed 10 experimental diets for 10 weeks.

Treatment	AP:PP	Phytase	Hematocrit (%)	Hemogolbin (g/dl)	Plasma protein (mg%)	Red blood cell ($x10^6 \pm x10^5$ cell/mm)	White blood cell ($x10^4 \pm x10^4$ cell/mm)	HSI (%)
1	1:1	0	29.50 ± 1.07	5.73 ± 0.29	23.59 ± 0.97^{b}	2.49 ± 3.58	6.54 ± 1.98	1.80 ± 0.54^{bx}
2	1:1	1,000	30.17 ± 2.25	5.83 ± 0.20	25.72 ± 1.32^{b}	2.70 ± 1.45	6.92 ± 2.63	2.16 ± 0.39^{by}
3	1:2	0	30.17 ± 1.94	5.71 ± 0.31	24.48 ± 1.29^{b}	2.90 ± 6.12	8.13 ± 1.23	1.90 ± 0.15^{bx}
4	1:2	1,000	27.00 ± 3.04	5.59 ± 0.26	22.43 ± 3.32^{b}	2.78 ± 2.68	6.63 ± 1.57	1.97 ± 0.27^{by}
5	1:3	0	27.63 ± 0.88	5.37 ± 0.10	25.75 ± 4.72^{b}	2.83 ± 1.63	8.88 ± 1.55	1.76 ± 0.21^{bx}
6	1:3	1,000	31.08 ± 0.52	5.57 ± 0.48	22.53 ± 1.12^{b}	2.94 ± 4.51	8.27 ± 0.15	2.06 ± 0.31^{by}
7	1:4	0	29.54 ± 0.85	5.76 ± 0.27	22.17 ± 2.18l	2.89 ± 0.61	6.23 ± 0.75	1.68 ± 0.37^{abx}
8	1:4	1,000	29.83 ± 3.33	5.76 ± 0.63	26.26 ± 5.16^{b}	2.68 ± 3.38	6.48 ± 0.99	1.87 ± 0.39^{aby}
9	1:5	0	28.83 ± 1.79	5.38 ± 0.47	20.77 ± 1.69^{a}	2.54 ± 1.66	8.15 ± 0.25	1.42 ± 0.08^{ax}
10	1:5	1,000	31.33 ± 2.02	5.74 ± 0.47	19.36 ± 0.99^{a}	2.91 ± 5.50	7.25 ± 1.30	1.52 ± 0.17^{ay}
	AP:PP		NS	NS	< 0.05	NS	NS	< 0.05
	Phytase		NS	NS	NS	NS	NS	< 0.05
	AP:PP	Phytase	NS	NS	NS	NS	NS	NS

[1]Mean±standard deviation of three replications.; Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)
a, b, c → AP : PP ; x, y → Phytase

Table 10. Phosphorus and calcium in serum of tilapia fed experimental diets for 10 weeks[1]

Treatment	AP:PP	Phytase (Unit/kg diet)	Phosphorus in serum (mg %)	Calcium in serum (mg %)
1	1:1	0	30.15	14.30
2	1:1	1,000	27.80	13.55
3	1:2	0	29.25	14.75
4	1:2	1,000	32.15	14.25
5	1:3	0	28.70	16.55
6	1:3	1,000	31.00	14.25
7	1:4	0	30.20	15.55
8	1:4	1,000	27.95	16.50
9	1:5	0	28.95	16.80
10	1:5	1,000	25.95	14.90

[1]data of 1 replication.

Table 11. Phosphorus and calcium in bone of tilapia fed 10 experimental diets for 10 weeks[1]

Treatment	AP:PP	Phytase (Unit/kg diet)	Phosphorus in bone (%)	Calcium in bone (%)
1	1:1	0	4.10 ± 0.04	16.04 ± 0.25^{x}
2	1:1	1,000	4.09 ± 0.03	17.58 ± 0.19^{y}
3	1:2	0	4.10 ± 0.03	16.15 ± 0.13^{x}
4	1:2	1,000	4.14 ± 0.09	18.72 ± 0.15^{y}
5	1:3	0	4.01 ± 0.04	14.93 ± 0.05^{x}
6	1:3	1,000	4.13 ± 0.05	18.53 ± 0.17^{y}
7	1:4	0	4.08 ± 0.02	16.87 ± 0.30^{x}
8	1:4	1,000	4.09 ± 0.03	17.51 ± 0.13^{y}
9	1:5	0	4.06 ± 0.01	16.52 ± 0.11^{x}
10	1:5	1,000	4.09 ± 0.02	18.32 ± 0.20^{y}
	AP:PP		NS	NS
	Phytase		NS	< 0.05
	AP:PP Phytase		NS	NS

[1]Mean±standard deviation of three replications.
Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)
x, y → Phytase

การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหาร โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนจากสัตว์สูงขึ้น ทำให้ค่าฟอสฟอรัสในมูลสูงตามไปด้วย ในขณะที่การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารทำให้ค่าฟอสฟอรัสในมูลลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมเอนไซม์ ($p<0.05$) สำหรับค่าแคลเซียมในมูล พบว่าอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนจากสัตว์สูงขึ้น ทำให้ค่าแคลเซียมในมูลสูงขึ้นเช่นเดียวกับค่าฟอสฟอรัสในมูล แต่การเสริมเอนไซม์ไฟเตสไม่มีผลต่อการลดปริมาณแคลเซียมในมูล

10. การศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของตับและไตปลานิลแดงแปลงเพศ

จากผลการศึกษาเนื้อเยื่อตับและไตของปลานิลแดง

แปลงเพศ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 10 สูตร ตลอดระยะเวลา 10 สัปดาห์มีโครงสร้างทางเนื้อเยื่อของตับและไตปกติ

วิจารณ์

จากผลการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่า ปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ระดับ 1:1, 1:2 และ 1:3 (สูตรที่ 1-6) มีผลให้การเจริญเติบโต (น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) และประสิทธิภาพการใช้อาหาร (อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพโปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ) มีค่าไม่แตกต่างกัน และมีค่าดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ระดับ 1:4 (สูตรที่ 7-8) และ 1:5 (สูตรที่ 9-10) โดยพบว่า หากมีการเพิ่มปริมาณของวัตถุดิบพืชในอาหารให้สูงขึ้น จะทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพของอาหารลดต่ำลง สอดคล้องกับการทดลองของ Rumsey และคณะ (1993; 1994); Stickney และคณะ (1996); Kim และคณะ (1998) แสดงว่าปลานิลสามารถใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นได้ในปริมาณ จำกัด ทั้งนี้พบว่าสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความสามารถในการใช้ประโยชน์โปรตีนจากวัตถุดิบพืชได้แตกต่างกัน ขึ้นกับคุณค่าทางอาหาร และสารต้านโภชนาการ (antinutritional factor) ที่มีในวัตถุดิบพืชแต่ละชนิด (NRC, 1993) ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำ วัตถุดิบพืชที่มักนำมาใช้เป็นส่วนผสมอาหารทดแทนปลาป่น คือ กากถั่วเหลือง เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนพืชที่มีคุณภาพสูง ซึ่งหากนำมาใช้ในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารดี เช่นเดียวกับปลาที่ได้รับอาหารที่มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก โดยปลากินพืช (herbivore) เช่น ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) สามารถใช้ถั่วเหลืองแทนที่ปลาป่นได้ 30% (Shiau *et al*., 1990; Webster *et al*., 1992) และหากนำถั่วเหลืองทั้งเมล็ดต้มที่ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะสามารถใช้แทนที่ปลาป่นได้สูงถึง 83% (Wee and Shu, 1989) แต่หากใช้ในปริมาณที่สูงหรือทดแทนปลาป่นในสัดส่วนที่สูงเกินไป จะทำให้ปลามีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง เนื่องจากถั่วเหลืองมีปัจจัยจำกัด ได้แก่ ความไม่สมดุลของ

Table 12. Phosphorus and calcium in feces of tilapia fed 10 experimental diets for 10 weeks[1]

Treatment	AP:PP	Phytase (Unit/kg diet)	Phosphorus in feces (%)	Calcium in feces (%)
1	1:1	0	1.72 ± 0.08^{dx}	4.68 ± 0.30^{c}
2	1:1	1,000	1.66 ± 0.09^{dy}	4.95 ± 0.53^{c}
3	1:2	0	1.46 ± 0.04^{cx}	3.61 ± 0.25^{b}
4	1:2	1,000	1.43 ± 0.05^{cy}	3.66 ± 0.24^{b}
5	1:3	0	1.34 ± 0.07^{cx}	3.43 ± 0.31^{b}
6	1:3	1,000	1.30 ± 0.05^{cy}	4.01 ± 0.40^{b}
7	1:4	0	1.17 ± 0.06^{bx}	3.10 ± 0.23^{a}
8	1:4	1,000	1.03 ± 0.06^{by}	2.66 ± 0.26^{a}
9	1:5	0	1.02 ± 0.03^{ax}	3.16 ± 0.04^{a}
10	1:5	1,000	0.97 ± 0.06^{ay}	3.29 ± 0.09^{a}
	AP:PP		< 0.05	< 0.05
	Phytase		< 0.05	NS
	AP:PP Phytase		NS	NS

[1]Mean±standard deviation of three replications.
Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)
a, b, c → AP : PP ; x, y → Phytase

องค์ประกอบกรดอะมิโน เช่น เมทไธโอนิน ไลซีน ทรีโอนีน (Tacon, 1990) สารต้านโภชนาการ เช่น สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitor) ไฟโตฮีมาแอกกลูตินิน (phytohaemagglutinin) และสารที่ทำลายวิตามิน (anti-vitamins) (Wee and Shu, 1989) นอกจากนี้วัตถุดิบพืชมักมีเยื่อใยที่ปลาไม่สามารถย่อยได้อยู่สูง ปลาจึงต้องใช้พลังงานในกระบวนการย่อยสูงตามไปด้วย ดังเช่นการทดลองของ Omoregie และ Ogbemudia (1993) ที่ใช้กากเนื้อเมล็ดในปาล์มทดลองเลี้ยงปลานิล (*O. niloticus*) ขนาด 2.57 กรัม พบว่า สามารถใช้กากปาล์มในอาหารปลานิลได้เพียง 15% ซึ่งมีค่าค่อนข้างต่ำ เนื่องจากในอาหารมีเยื่อใยสูง ซึ่งเป็นส่วนที่ปลานำไปใช้ประโยชน์ไม่ได้ ในขณะที่นิรุทธ์ (2544) สามารถใช้อาหารที่มีกากปาล์ม 30% โดยในอาหารมีระดับพลังงาน 3,600 กิโลคาลอรี/กก. เลี้ยงปลานิลขนาด 2.25 กรัม แล้วได้ผลดี สาเหตุที่ปลาส่วนใหญ่ใช้ประโยชน์จากเยื่อใยได้ต่ำมากหรือไม่ได้เลย เนื่องจากปลาส่วนใหญ่ไม่มีเอนไซม์ช่วยในการย่อยเซลลูโลสหรือเฮมิเซลลูโลส (Anderson *et al*., 1984) และจากการวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใยในอาหารทดลองแต่ละสูตร (Table 3) พบว่ามีค่าไม่ต่างกันมากนัก ดังนั้นการที่ปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชสูง (สูตรที่ 7-8) และสูตรที่ 9-10 มีการเจริญเติบโตต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1-6 อาจเนื่องมาจากความไม่สมดุลของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในสูตรอาหารนั้นๆ อีกทั้งเมื่อเพิ่มสัดส่วนโปรตีนจากพืชในสูตรอาหารสูงขึ้น จะเป็นการเพิ่มปริมาณไฟเตท ซึ่งทำให้ปลาไม่สามารถย่อยได้เพิ่มขึ้นด้วย

เมื่อพิจารณาจากค่าประสิทธิภาพการย่อย พบว่าประสิทธิภาพการย่อยของปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:4 มีประสิทธิภาพการย่อยวัตถุแห้ง โปรตีน และฟอสฟอรัสดีที่สุด ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:3 มีประสิทธิภาพ การย่อยไขมันดีที่สุด และพบว่าปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วน AP:PP 1:4 และ 1:5 ซึ่งมีกากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบสูงกว่าอาหารสูตรอื่นๆ มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่าวัตถุดิบพืชที่ใช้ในการทดลองนี้มีส่วนที่ปลานิลสามารถย่อยได้สูง คือ กากถั่วเหลือง สอดคล้องกับหลายการทดลองที่พบว่า ปลานิลสามารถย่อยกากถั่วเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Popma, 1982; Degani *et al*., 1997) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ 1:3 มีผลทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิลดีที่สุด ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า แม้ว่าปลาจะสามารถย่อยสารอาหารต่างๆ จากวัตถุดิบพืชบางชนิดได้ดี แต่ไม่สามารถดูดซึมและเปลี่ยนเป็นพลังงานได้ทั้งหมด

เมื่อพิจารณาถึงผลของการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารปลาที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชระดับต่างๆ พบว่า การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหาร (1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก.) ทำให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศมีผลไปในทางบวก สอดคล้องกับการทดลองของวุฒิพรและคณะ (2547) ที่ทำการศึกษาในปลานิลโดยพบว่าเอนไซม์ไฟเตสส่งเสริมการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา และสอดคล้องกับการทดลองของ Li และ Robinson (1997) ที่ทดลองในปลากดอเมริกันพบว่า การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารช่วยให้ปลาสามารถใช้โปรตีน ฟอสฟอรัส และแร่ธาตุอื่นๆ จากวัตถุดิบพืชได้เพิ่มขึ้น โดยไม่ต้องเสริมฟอสเฟตลงในอาหาร ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการผลิตอาหารโดยสามารถทดแทนวัตถุดิบจากพืชในอาหารปลาได้เพิ่มขึ้น ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้พบว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและการใช้อาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ เช่นเดียวกับการทดลองของ Rodehutscord และ Pfeffer (1995) รายงานว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตส 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. ทำให้ปลาเรนโบว์เทราท์เพิ่มประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสในอาหารได้ถึง 75% นอกจากนี้การเสริมไฟเตส ยังช่วยในการลดมลภาวะจากการเพาะเลี้ยงปลาอันมีสาเหตุจากการขับถ่ายฟอสฟอรัสที่ย่อยไม่ได้อีกด้วย โดยจากการทดลองนี้พบว่าปลาที่มีฟอสฟอรัสในมูลสูงที่สุด คือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1 มีปริมาณฟอสฟอรัสในมูล 1.72 (สูตรที่ 1 ไม่เสริมไฟเตส) และ 1.66 (สูตรที่ 2 เสริมไฟเตส) และปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:5 มีฟอสฟอรัสในมูลต่ำสุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.02 (สูตรที่ 9 ไม่เสริมไฟเตส) และ 0.97 (สูตรที่ 10 เสริมไฟเตส) จะเห็นได้ว่าการเพิ่มวัตถุดิบพืชสูงขึ้นและการเสริมเอนไซม์ไฟเตสมีผลทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสในมูลลดลง เนื่องจากไฟเตส

สามารถย่อยฟอสฟอรัสในรูปไฟเตทได้ ปลาจึงนำฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชไปใช้ได้มากขึ้น และฟอสฟอรัสในปลาป่นซึ่งอยู่ในรูปไตรแคลเซียมฟอสเฟตปลานำมาใช้ประโยชน์ได้น้อย (Ogino *et al*., 1979; Watanabe *et al*., 1980; NRC, 1993; Viola *et al*., 1994; Lall, 1991) ส่วนที่ปลานำไปใช้ไม่ได้จึงถูกขับถ่ายออกมา สอดคล้องกับ Jackson และ Robinson (1996) ที่ทำการทดลองในปลากดอเมริกัน โดยให้อาหารที่เสริมเอนไซม์ 0; 500; 1,000; 2,000 และ 4,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. พบว่า การเสริมเอนไซม์ตั้งแต่ระดับ 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสในมูลได้จาก 1.4% เหลือเพียง 0.9% ที่ระดับการเสริมเอนไซม์ 1,000 และ 2,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. และเหลือเพียง 0.5% ที่ระดับการเสริมเอนไซม์ 4,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก.

สำหรับส่วนประกอบทางโภชนาการของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัว พบว่า เปอร์เซ็นต์โปรตีน ไขมัน และเถ้าของปลาทั้งตัว มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้ง 2 คือ สัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช และการเสริมเอนไซม์ไฟเตส โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 6 (สัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:3 และเสริมเอนไซม์ไฟเตส) มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสะสมในร่างกายสูงสุด สอดคล้องกับค่าการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร การที่ปลาสามารถใช้โปรตีนในอาหารและมีโปรตีนสะสมในร่างกายสูงขึ้นเนื่องจากสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:3 เป็นระดับที่มีความเหมาะสมสำหรับเตรียมอาหารสัตว์ (NRC, 1993) และการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารช่วยส่งเสริมให้ปลานำโปรตีนไปใช้ได้มากขึ้น อาหารที่ใช้วัตถุดิบพืชเป็นส่วนผสมพบว่าไฟเตทในพืชมักจับรวมตัวกับโปรตีน ทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนรูปและใช้ประโยชน์ได้ลดลง และไฟเตทขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อนทำหน้าที่ย่อยโปรตีน (Singh and Krikorian, 1982; Spinelli *et al*., 1983; Robaina *et al*., 1998; Forster *et al*., 1999) อีกทั้งไฟเตทยังขัดขวางการทำงานของเอนไซม์โพเตส อะไมเลส และไลเพส (Kornegay and Yi, 1996 อ้างโดย บุญล้อมและสุชน, 2540) ดังนั้นการเสริมเอนไซม์ไฟเตสเพื่อย่อยไฟเตทในวัตถุดิบพืช จึงช่วยให้โปรตีนที่จับกับไฟเตทหลุดออกมาและนำมาใช้ประโยชน์ได้ แต่เมื่อพิจารณาผลขององค์ประกอบทางโภชนาการทุก ๆ ค่าของปลาทั้งตัว พบว่า ไม่สามารถนำมาใช้เปรียบเทียบ กับผลการทดลองในด้านอื่นได้ (Oliva *et al*., 1998; Weerd *et al*., 1999; Forster *et al*., 1999; Vielma *et al*., 2000)

จากการทดลองครั้งนี้ พบว่า องค์ประกอบเลือดปลาได้แก่ ค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน โปรตีนในพลาสมา ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว และปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียมในซีรัมมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของปลาปกติ และมีค่าใกล้เคียงกับการทดลองของนิรุทธ์ (2544); วุฒิพร และคณะ (2547); Li และ Robinson (1997) แสดงว่าสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช ในการทดลองนี้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเลือด อย่างไรกับตามปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:5 (สูตรที่ 9-10) ทำให้ค่าโปรตีนในพลาสมาต่ำกว่าที่ระดับอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วนค่าดัชนีตับต่อตัวของปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับการทดลองของวุฒิพร และคณะ (2547); Robaina (1998); Fagbenro (1994); Boonyaratpalin และ Phromkunthong (2000) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1-2% และปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสมีค่าดัชนีตับต่อตัวสูงกว่าที่ไม่เสริม อาจเป็นไปได้ว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสช่วยให้ปลาสามารถใช้ไขมันในอาหารได้มากขึ้น เนื่องจากไฟเตทที่อยู่ในอาหารจะไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ไลเปสซึ่งทำหน้าที่ย่อยไขมันปลาจึงนำไขมันไปใช้ได้น้อย แต่เมื่อเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหาร ไฟเตสจะไปย่อยโมเลกุลของไฟเตททำให้เอนไซม์ไลเปสทำงานได้ดีขึ้น ปลาจึงสามารถนำไขมันในอาหารมาใช้ได้มากขึ้น ซึ่งจากรายงานของ De Silva และคณะ (1991) พบว่าค่าดัชนีตับต่อตัวของปลานิลจะมีความเกี่ยวข้องกับปริมาณไขมันในอาหาร โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงจะส่งผลให้ค่าดัชนีตับต่อตัวเพิ่มขึ้น

สำหรับผลการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของตับและไต ไม่พบความผิดปกติในปลาทุกชุดการทดลอง เนื่องมาจากไฟเตสสามารถย่อยกรดไฟติกได้ในอาหารจึงมีปริมาณกรดไฟติกต่ำ จากการศึกษาของ Richardson และคณะ (1985) รายงานว่า ปลาซัลมอน (*Oncorhynchus tshawytscha*) ที่ให้อาหารที่มีกรดไฟติก 2.58% ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของท่อไตซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพปลา

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชแตกต่างกัน 5 ระดับ และการเสริมเอนไซม์ไฟเตสต่อการใช้ฟอสฟอรัสในปลานิลแดงแปลงเพศ น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 5 กรัม สามารถสรุปได้ดังนี้

1. อาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนจากสัตว์ต่อโปรตีนจากพืช 1:3 เหมาะสมที่สุดสำหรับปลานิลแดงแปลงเพศ โดยเมื่อพิจารณาผลจากการเจริญเติบโต (น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ) และประสิทธิภาพการใช้อาหาร (อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพโปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ) มีค่าดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับระดับอื่นๆ

2. สำหรับประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:4 มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนดีที่สุด

3. การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหาร (ที่ระดับ 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก.) มีผลทำให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการย่อยอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศดีกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตส และจากการทดลองนี้พบว่าการเสริมไฟเตสมีผลทำให้ปลามีการสะสมแคลเซียมในกระดูกเพิ่มขึ้น และช่วยลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับถ่ายลง

เอกสารอ้างอิง

นิรุทธิ์ สุขเกษม. 2544. ผลของระดับกากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมันต่อการเจริญเติบโตของปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และ สุชน ตั้งทวีพัฒน์. 2540. ไฟเตทสารขัดขวางการใช้ประโยชน์ของฟอสฟอรัสในสัตว์. ว.มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 7: 23-30.

วุฒิพร พรหมขุนทอง มนต์สรวง ยางทอง กิจการ ศุภมาตย์ และ ดุสิต นาคะชาต. 2547. ผลของเอนไซม์ไฟเตสและอนินทรีย์ฟอสเฟตต่อการใช้ฟอสฟอรัสในปลานิลแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* Linn.). ว.สงขลานครินทร์ วทท. 26(2) :181-195.

Anderson, J., Jackson, A.J., Matty, A.J. and Capper, B.S. 1984. Effects of dietary carbohydrate and fibre on the tilapia *Orochromis niloticus* (Linn.). Aquaculture 37: 303-314.

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 (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Washington, D.C

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

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

Boonyaratpalin, M. and Phromkunthong, W. 2000. Effects of Ronozyme VP treated rice bran and oil palm meal on growth of sex reversed *Tilapia nilotica*. The 6th Roche Aquaculture Conference Asia Pacific, Bangkok, Thailand, September 29, 200: 50-63.

Boyd, C.E. and Tucker, C.S. 1992. Water Quality and Pond Soil Analysis for Aquaculture. Alabama: Auburn University.

Degani, G., Viola, S. and Yehuda, Y. 1997. Apparent digestibility of protein and carbohydrate in feed ingredients for adult tilapia, (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). Isr. J. Aquacult.-Bamidgeh 49: 115-123.

Dey, P. M. and Harborne, J. B. 1990. Methods in Plant Biochemistry. Vol 2. Carbohydrates. Academic Press. London.

De Silva, S.S., Gunasekera, R.M. and Smith, K.F. 1991. Interaction of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. Aquacult. 95: 305-318.

Duncan, D.B. 1995. Multiple-rage and multiple F tests. Biometrics 11: 1-42.

Dupree, H.K. and Sneed, K.P. 1966. Response of channel catfish fingerling to different levels of major

nutrients in purified diets. U.S. Bureau of Sports Fish and Wildlifte Tech. Pap. No.9.

Fagbenro, O.A. 1994. Dried fermented fish silage in diets for *Orochromis niloticus*. Isr. J. Aquacult. Bamidgeh 46: 140-147.

Forster, I., Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., Rowshandeli, M. and Parr, J. 1999. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* held in 11°C fresh water. Aquacult. 179: 109-125.

Humason, G.L. 1972. Animal Tissue Technique, 4th ed. San Francisco. CA: W.H. Freeman and Company Jackson, L,S., Li, M.H. and Robinson, E.H. 1996. Use of microbial phytase in channel catfish. *Ictalurus punctatus*. J. World. Aqua. Soc. 27: 309-313.

Jackson, L.S., Li, M.H. and Robinson, E.H. 1996. Use of microbial phytase in channel catfish. *Ictalurus punctatus*. J. World. Aqua. Soc. 27:309-313.

Jantrarotai, W., Sitasit, P. and Rajchapakdee, S. 1994. The optimum carbohydrate to lipid ratio in hybrid Clarias catfish (*Clarias macrocephalus* X *C.gariepinus*) diets containing raw broken rice. Aquacult. 127: 61-68.

Kim, J.D., Kim, K.S., Song, J.S., Lee, J.Y. and Jeong, K.S. 1998. Optimum level of dietary mono-calcium phosphorus excretion of minor carp (*Cyprinus carpio*) Aquacult. 161: 334-337.

Lall, S.P. 1991. Digestibility, metabolism and excretion of dietary phosphorus in fish. **In**: Cowey, C.B. and Cho, C.Y. (eds.). Nutritional Strategies and Aquaculture Waste. Proceeding of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste. University of Guelph, Guelph. ON, Canada.

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

Li, M.N. and Robinson, E.H. 1997. Microbial phytase can replce inorganic phosphorus supplements in channel catfish *Ictalurus punctatus*. J. World. Aqua. Soc. 28: 402-406.

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.

Nankervis, L., Matthews, S.J. and Appleford, P. 2000. Effect of dietary non-protein energy source on growth, nutrient and circulating insulin-like growth factor I and triiodothyronine levels in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Aquacult. 191: 323-335.

NRC. 1993. Nutrient Requirement of Fish. National Academy Press, Washington, D.C.

Ogino, C., Takeuchi, L., Takeda, H. and Watanabe, T. 1979. Availability of dietary phosphorus in carp and rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 45: 1538-1553.

Oliva, T.A., Pereira, J.P., Gounvies, A. and Gromes, E. 1998. Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquat. Living-Resour. 11: 255-259.

Omoregie, E. and Ogbemudia, F.I. 1993. Effect of substituting fish meal with palm kernel meal on growth food utilization of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Isr. J. Aquacult. Bamidgeh 45: 113-119.

Phromkunthong, W., Musakopat, A., Chittiwan, V., Suppamataya, K. and Gabaudan, J. 2004. Used of microbial phytase replace inorganic phosphorus in sex-reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus X *Oreochromis mossambicus* Peters). Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Thailand.

Popma, T.J. 1982. Digestibility of selected feedstuffs and naturally accurring algae by tilapia. Ph.D. Dissertation, Auburn University, Auburn, AL. USA. 78 pp.

Richardson, N.C., Higgs, D.A., Beams, R.A. and McBride, J.R. 1985. Influence of dietary calcium, phosphorus, zinc and sodium phytate in cataract incidence, growth and histopathology in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). J. Nutr. 115: 553-567.

Robaina, L., Izquierd, M.S., Moyana, F.J., Socorro, J., Vergara, J.M., Montero, D. 1998. Increase of the dietary n-3/n-6 fatty acid ration and addition of phosphorus improves live histological alterations induced by feeding diets containing soybean meal to gilthead seabream (*Sparus aurata*). Aquacult. 161: 281-293.

Robinson, E.H. and Wilson, R.P. 1985. Nutrition and feeding. **In**: Tucker, C.S. (ed.), Channel Catfish Culture. Development in Aquaculture and Fisheries Science 15: 323 – 404.

Rodehutscord, M. and Pfeffer, E. 1995. Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Wat Sci. Techn. 31: 143-147.

Rumsey, G.L., Hughes, S.G. and Winfree, R.A. 1993. Chemical and nutritional evaluation of soya protein preparations as primary nitrogen sources for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Anim. Feed Sci. Technol. 40: 135-151.

Rumsey, G.L., Siwicki, A.K., Anderson, D.P. and Bowser, P.R. 1994. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth, and protein utilization in rainbow trout. Vet. Immunol. Immunopathol. 41: 323-339.

Shiau, S.Y., Lin, S.F., Yu, S.L., Lin, A.L. and Kwok, C.C. 1990. Defatted and full-fat soybean meal as partial replacements for fishmeal in tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O.aureus*) diets: protein and energy utilization. Aquacult. 128: 287-300.

Singh, M. and Krikorian, A.D. 1982. Inhibition of trypsin actibity in vitro by phytate. J. Agr. Food Chem 30: 799-800.

Soares, J.H. Jr. and Hughes, K.P. 1995. Efficacy of phytase on phosphorus utilization. **In**. Proceedings of the 1995 Maryland Nutrition Conference for Feed Manufacturer. March 23-24. pp. 76-79.

Spinelli, J., Houle, C.R., Wekeli, J.C. 1983. The effect of phytase on growth of rainbow trout *Salmo gairdneri* fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. Aquacult. 30: 71-83.

Stickney, R.R., Hardy, R.W., Koch, K., Harrold, R., Seawright, D. and Massee, K.C. 1996. The effects of substitution selected oilseed protein concentrates for fish meal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* diets. J. World Aquacult. Soc. 27: 57-63.

Tacon, A.G. 1990. Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. Nutrients Sources and Composition, vol.2. Argent Laboratories Press. Washington.

Uhlig, H. 1998. Industrial enzyme and their application. John Wiley & Sons, Inc. New York.

Vielma, J., Makinen, T., Ekholm, P. and Koskela, J. 2000. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. Aquacult. 183: 349-362.

Viola, S., Angeoni, H. and Lahav, E. 1994. Present limits of protein sparing by amino acid supplementation of practical carp and tilapia feeds. Isr. J. Aquacult. Bamidgeh 46: 2103-211.

Watanabe, T.,Takeuchi, T., Murakami, A. Nose, T. and Ogino, C. 1980. Requirement of chum salmon held in freshwater for dietary phosphorus. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 46: 361-367.

Webster, C.D., Tidwell, J.H., Goodgame, L.S., Jancey, D.H. and Macker, L. 1992. Use of soybean meal and distillers grains with solubles as partial or total replacement of fish meal in diets for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquacult. 106: 301-309.

Wee, K.L. and Shu, S.W. 1989. The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. Aquacult. 81:303-314.

Weerd, J.H., Khalaf, K.A. Aartsen, F.J. and Tijssen, P.A.T. 1999. Balance trials with African catfish *Clarias gariepinus* fed phytase treated soybean meal based diets. Aquacult. Nutr. 5: 135-142.

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

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