ผลของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหารต่อการเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร, องค์ประกอบทางเคมีและแร่ธาตุในตัวปลาของปลาดุกพันธุ์ผสมขนาดปลานิ้ว (*Clarias macrocephalus x C. gariepinus*)

Effects of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, body composition and mineral content of fingerling hybrid catfish (*Clarias macrocephalus x C. gariepinus*)

วุฒิพร พรหมขุนทอง

Wutiporn Phromkunthong

รายงานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2550 ประเภททั่วไป

ผลของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหารต่อการเจริญเติบโต, ประสิทธิภาพการใช้อาหาร, องค์ประกอบทางเคมีและแร่ธาตุในตัวปลาของปลาดุกพันธุ์ผสมขนาดปลานิ้ว

(*Clarias macrocephalus x C. gariepinus*)

วุฒิพร พรหมขุนทอง[1*]

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหารสำหรับปลาดุกพันธุ์ผสมและปฏิสัมพันธ์ของแร่ธาตุทั้งสองชนิดนี้ อาหารที่ใช้ทดลองมี 9 สูตร โดยเตรียมให้มีองค์ประกอบทางโภชนาการเท่ากัน มีระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) 3 ระดับ คือ 0.3, 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแต่ละระดับจับคู่กับแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) 3 ระดับ คือ 0.3, 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปลาดุกพันธุ์ผสมที่ใช้ทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นตัวละ 4.00±0.01 กรัม ทำการทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับ 0.3 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสำหรับปลาดุกพันธุ์ผสมส่งผลให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการสะสมแร่ธาตุในตัวปลามีค่าสูงที่สุด (p<0.05) และเมื่อเพิ่มระดับของแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้สูงเกินกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลในเชิงลบต่อการเจริญเติบโต มีการสะสมของไขมันในตัวสูง ทำให้การสะสมแร่ธาตุในกระดูกลดลง ดังนั้นในการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงปลาดุกพันธุ์ผสมจึงควรปรับระดับของแคลเซียมให้เหมาะสมเพื่อทำให้การใช้ประโยชน์ของฟอสฟอรัสได้คุ้มค่า ซึ่งจะก่อให้เกิดผลดีทั้งในแง่ของต้นทุนการผลิตอาหารและลดมลภาวะที่เกิดขึ้นต่อแหล่งน้ำด้วย

คำสำคัญ : แคลเซียม, ฟอสฟอรัส, ประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัส, ปลาดุกพันธุ์ผสม

[1]Ph.D. (Aquatic Animal Nutrition) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

*Corresponding e-mail: parinyasom@yahoo.co.th

Effects of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, body composition and mineral content of fingerling hybrid catfish (*Clarias macrocephalus x C. gariepinus*)

Wutiporn Phromkunthong[1*]

Abstract

A study was conducted to evaluate the response of fingerling hybrid catfish (*Clarias macrocephalus x C. gariepinus*) to dietary calcium (Ca), phosphorus and their interaction. Nine isoenergetic and isoproteic diets with three P levels (0.3, 0.5 and 0.8% AvP) for each of three levels of Ca (0.3, 0.5 and 0.8% AvCa) were prepared. Fingerling hybrid catfish with an initial weight of 4.00±0.01 g were fed to satiation with one of the nine diets for 8 weeks. The diet with 0.5% AvP and 0.3% AvCa both gave improved growth and mineralization. When diets were supplemented with higher levels of Ca (>0.5% AvCa), it resulted in reduced growth, high fat content and low bone mineralization. The level of Ca should be reduced in formulating diets to minimize supplemental P, thereby effecting savings in feed cost and less loss of P to the water system.

Key words : calcium, phosphorus, phosphorus utilization, hybrid catfish

[1]Ph.D. (Aquatic Animal Nutrition), Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University Hat Yai Songkhla 90112

*Corresponding Email: parinyasom@yahoo.co.th

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	-2-
Abstract	-3-
กิตติกรรมประกาศ	-4-
สารบัญ	-5-
รายการตาราง	-6-
บทที่	
1. บทนำ	
1. บทนำต้นเรื่อง	1
2. ตรวจเอกสาร	2
3. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	8
4. ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	8
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	
1. วัสดุ	9
2. อุปกรณ์	9
3. วิธีการทดลอง	11
3. ผลการทดลอง	22
4. วิจารณ์ผลการทดลอง	38
5. สรุปและข้อเสนอแนะ	44
เอกสารอ้างอิง	45

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ลักษณะที่แตกต่างระหว่างปลาดุกอุยกับปลาดุกพันธุ์ผสม	4
2. สูตรอาหารทดลองเลี้ยงปลาดุกพันธุ์ผสม	13
3. คุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหารทดลอง	15
4. คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง	16
5. น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	23
6. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตรารอดตายของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	25
7. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	27
8. ฟอสฟอรัสในซีรัม แคลเซียมในซีรัม และกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	29
9. ฟอสฟอรัสและแคลเซียมในกระดูก ฟอสฟอรัสในเนื้อ และเถ้าในกระดูก ของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	31
10. ส่วนประกอบทางโภชนาการในซากปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลอง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	34
11. การเก็บสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งรวมทั้งหมด ฟอสฟอรัสในรูปของเสียที่เป็นของแข็งทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวมของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์	37

บทที่ 1

บทนำ

1. บทนำต้นเรื่อง

แร่ธาตุเป็นสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโต การดำรงชีวิต และกระบวนการเมทาบอลิซึมในตัวสัตว์น้ำแทบทุกชนิด (Lall, 2002) แร่ธาตุที่มีความสำคัญมีทั้งสิ้น 22 ชนิด แบ่งได้เป็น 2 ประเภทตามความต้องการของสัตว์น้ำ คือ แร่ธาตุที่สัตว์น้ำต้องการในปริมาณมากหรือแร่ธาตุหลัก (macro mineral) และแร่ธาตุที่สัตว์น้ำต้องการในปริมาณน้อยหรือแร่ธาตุรอง (trace mineral) ทั้งนี้ความต้องการแร่ธาตุของสัตว์น้ำมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ เช่น ชนิดและขนาดของสัตว์น้ำ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่างและปริมาณแร่ธาตุในน้ำ รวมทั้งความสัมพันธ์ระหว่างแร่ธาตุแต่ละชนิด (Halver and Hardy, 2002) แคลเซียม (Ca) และฟอสฟอรัส (P) เป็นแร่ธาตุที่สำคัญและปลาต้องการในปริมาณมาก เนื่องจากเป็นองค์ประกอบหลักของกระดูกและโครงสร้างแข็งซึ่งรวมตัวกันอยู่ในรูปของไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) (Lall, 2002) นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบต่าง ๆ ของสารชีวโมเลกุลที่สำคัญ ได้แก่ อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) ฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ดีออกซีไรโบนิวคลีอิก แอซิด (deoxyribonucleic acid, DNA) ไรโบนิวคลีอิก แอซิด (ribonucleic acid, RNA) และมีส่วนสำคัญในกระบวนการเมทาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และกรดอะมิโน ควบคุมการสร้างฮอร์โมนต่างๆ ที่สำคัญ เช่น เมลาโทนิน และทำหน้าที่ในระบบบัฟเฟอร์เพื่อรักษาความเป็นกรด-ด่างของของเหลวในร่างกาย (NRC, 1993; Meissl *et al.*, 1996; Lovell, 1998) โดยปลาสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสและแคลเซียมจากแหล่งน้ำมาใช้ประโยชน์ได้โดยตรงผ่านทางผิวหนัง ครีบ และเหงือก แต่ฟอสฟอรัสมีปริมาณน้อยมากในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Boyd, 1971) ตรงข้ามกับแคลเซียมซึ่งมีปริมาณมากในน้ำ (Nose and Arai, 1979) ดังนั้นปลาจำเป็นต้องได้รับฟอสฟอรัสจากอาหารเป็นหลัก ซึ่งได้จากวัตถุดิบจากพืชและสัตว์ รวมทั้งอนินทรีย์ฟอสเฟต ซึ่งแหล่งของฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบจากพืชเป็นที่นิยมใช้กันมากในปัจจุบัน แต่พบว่าประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสทั้งหมดอยู่ในรูปของกรดไฟติก (myo-inositol-1,2,3,4,5,6,-hexa*kis*phosphates, phytic acid) ที่รวมอยู่กับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม และโปแตสเซียม (Dey and Harborne, 1990) ทำให้ปลาไม่สามารถย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสชนิดนี้มาใช้ได้ (Swick and Ivey, 1992)

จากการที่ปลาใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในวัตถุดิบจากพืชได้น้อย จึงจำเป็นต้องมีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่ปลานำไปใช้ประโยชน์ได้ในอาหารปลาให้มากขึ้น แนวทางการแก้ไขปัญหาในปัจจุบันคือ การเสริมฟอสฟอรัสสังเคราะห์ในรูปอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหาร ซึ่งปลาสามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ดีเมื่อเทียบกับวัตถุดิบจากพืชและสัตว์ โดยปลาส่วนใหญ่นำฟอสฟอรัสใน

รูปแบบโมโนเบสิค (monobasic) ไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่าไดเบสิค (dibasic) และไตรเบสิค (tribasic) ตามลำดับ จากการศึกษาในปลากดอเมริกัน (Eya and Lovell, 1997) นอกจากนี้การเสริมเอนไซม์ไฟเตส (phytase) ในอาหารปลาที่ใช้วัตถุดิบจากพืชเป็นองค์ประกอบหลักสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสให้สูงขึ้นได้ (Furuya *et al.*, 2001; Tudkaew *et al.*, 2008) ถึงแม้จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสในอาหารปลาด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น แต่ยังมีสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงนั่นคือปริมาณแคลเซียมในอาหาร เนื่องจากแคลเซียมสามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับแร่ธาตุตัวอื่น เช่น ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และสังกะสี เกิดเป็นผลึกในทางเดินอาหารบริเวณส่วนของลำไส้ ซึ่งเป็นการขัดขวางการดูดซึมแร่ธาตุไปใช้ประโยชน์ (Gatlin and Phillips, 1989) Nakamura (1982) รายงานว่าปริมาณแคลเซียมในอาหารที่มากเกินไปจะยับยั้งการดูดซึมฟอสฟอรัสในปลาไน (common carp: *Cyprinus carpio*) ส่งผลให้ปลามีอาการผิดปกติเนื่องจากเกิดภาวะขาดแคลนแร่ธาตุ (Li and Mathias, 1994) และส่งผลโดยตรงต่อฟอสฟอรัสที่ถูกขับถ่ายลงสู่แหล่งน้ำ จากรายงานของ NRC (1993) พบว่าในปี 1993 มีการใช้อาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ 345,000 เมตริกตัน ประกอบด้วยฟอสฟอรัสปริมาณ 4,100 เมตริกตัน โดยฟอสฟอรัสกว่า 2,700 เมตริกตัน ถูกขับถ่ายลงสู่แหล่งน้ำ ส่งผลให้ปริมาณสารอาหารในแหล่งน้ำเพิ่มมากขึ้น ก่อให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) สร้างความเสียหายในวงกว้างต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและระบบนิเวศ (Lee, 1973; Ketola and Harland, 1993) ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงความสำคัญของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหารปลาทั้งในแง่ที่มีต่อการเจริญเติบโตและมลภาวะทางน้ำอันเกิดจากแร่ธาตุทั้งสองชนิดนี้ จึงมีความจำเป็นต้องทำการศึกษาวิจัยเรื่องสัดส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

2. ตรวจเอกสาร

2.1 ปลาดุกพันธุ์ผสม

2.1.1 ชีววิทยาของปลาดุกพันธุ์ผสม

ปลาดุกพันธุ์ผสมหรือปลาดุกบิ๊กอุยเกิดจากการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างปลาดุกอุยเพศเมีย (*Clarias macrocephalus*) กับปลาดุกเทศหรือปลาดุกรัสเซียเพศผู้ (*Clarias gariepinus*) ลูกที่ได้จะมีลักษณะเด่นของปลาดุกอุยคือ เนื้อมีสีเหลือง รสชาติดี และลักษณะเด่นจากปลาดุกรัสเซียคือ เจริญเติบโตเร็ว กินอาหารได้แทบทุกชนิด และทนทานต่อโรคสูง เป็นที่นิยมของเกษตรกรนำไปเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย อีกทั้งยังเป็นที่นิยมของผู้บริโภค เนื่องจากเนื้อมีรสชาติดีและราคาถูก ชาวบ้านโดยทั่วไปเรียกกันว่าบิ๊กอุยหรืออุยบ่อ ส่วนการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างปลาดุกอุยเพศผู้กับปลาดุกรัสเซียเพศเมียลูกที่ได้ไม่แข็งแรงและมีอัตรารอดต่ำเมื่อเทียบกับการเพาะพันธุ์เพื่อให้ได้ปลาบิ๊กอุย นอกจากนี้การผสมข้ามพันธุ์ระหว่างปลาดุกด้านกับปลาดุกเทศไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร (กรมประมง, มปป.ข)

2.1.2 ลักษณะทางอนุกรมวิธาน

ปลาดุกพันธุ์ผสมเป็นปลาที่อยู่ในครอบครัว Clariidae ลักษณะคล้ายปลาดุกทั่วไปคือไม่มีเกล็ด ลำตัวยาวเรียว ครีบหลังยาวไม่มีกระโดง ครีบท้องยาวเกือบถึงโคนหาง มีอวัยวะช่วยในการหายใจ ซึ่งช่วยให้อยู่พ้นน้ำได้นาน ตาเล็ก มีหนวด 4 คู่ ซึ่งสามารถรับรู้ความรู้สึกต่างๆได้ดี ดังนั้นปลาดุกพันธุ์ผสมจึงใช้หนวดมากกว่าใช้ตาเมื่อหาอาหารตามพื้นหน้าดิน ผิวค่อนข้างเหลืองบริเวณลำตัวและหางมีจุดประสีขาว แต่เมื่อโตเต็มที่จุดประจะหายไป กะโหลกท้ายทอยแหลมเป็นหยัก 3 หยัก หัวมีขนาดใหญ่โดยปกติแล้วปลาดุกพันธุ์ผสมมีนิสัยว่องไว ชอบกินอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ถ้านำมาเลี้ยงในบ่ออาจให้อาหารจำพวกพืช และสามารถฝึกนิสัยให้ปลาดุกพันธุ์ผสมขึ้นมากินอาหารบริเวณผิวหน้าได้ (กรมประมง, มปป.ก) ปลาดุกพันธุ์ผสมในระยะวัยอ่อนมีลักษณะภายนอกและนิสัยการกินอาหารคล้ายกับปลาดุกอุย เมื่อปลามีอายุ 3 สัปดาห์ขึ้นไป อัตราการเจริญเติบโตและลักษณะภายนอกจะคล้ายกับปลาดุกรัสเซียมากขึ้น แต่เนื้อไม่เหลวเหมือนปลาดุกรัสเซีย (กรมประมง, มปป.ข)

2.1.3 ความต้องการของตลาด

ปลาดุกพันธุ์ผสมเป็นปลาเลี้ยงง่าย โตเร็ว และเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่มีคุณภาพ สามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น ปลาดุกแดดเดียว ปลาร้า เพื่อจำหน่ายหรือเก็บไว้บริโภคในครัวเรือนตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียง จากข้อมูลในปี 2543 พบว่าปริมาณการผลิตที่มาจากการจับและการเพาะเลี้ยง ปลาดุกสูงถึง 95,600 ตันโดยคิดเป็นมูลค่า 2,895.9 ล้านบาท (กรมประมง, 2546) จากสถิติของกรมประมงล่าสุดในปีพ.ศ. 2550 ปลาน้ำจืดที่ผลิตได้ในประเทศมีปริมาณ 688,300 ตัน คิดเป็นมูลค่า 26,750 ล้านบาท ในจำนวนนี้เป็นผลผลิตปลาดุก 159,300 ตัน หรือร้อยละ 32.8 ของปริมาณผลผลิตทั้งหมด (ศูนย์วิจัยกสิกรไทย, 2551) จากข้อมูลในช่วงระหว่างวันที่ 3-7 พฤศจิกายน 2551 ที่ผ่านมาราคาปลาดุกเฉลี่ยกิโลกรัมละ 37.38 บาทต่อกิโลกรัม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2551) เปรียบเทียบกับข้อมูลในปี 2547 ซึ่ง ลิลา (2547) รายงานว่าราคาปลาดุกอยู่ในช่วง 22-28 บาทต่อกิโลกรัม จะเห็นได้ว่ามูลค่าของปลาดุกมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจน เนื่องจากปลาดุกพันธุ์ผสมเป็นปลาที่สามารถทนอยู่ได้ในสภาพที่มีน้ำน้อยๆ ผู้บริโภคจึงสามารถซื้อปลาสดได้อีกทั้งราคาไม่สูงมากนัก ตลาดส่งออกปลาดุกพันธุ์ผสมที่สำคัญ คือ สหรัฐอเมริกา ประเทศในแถบ EU ฮ่องกง ญี่ปุ่น และสิงคโปร์ (ศักดิ์ชัย, 2536; สุกชัย, 2548) สามารถจำหน่ายได้ทั้งในรูปปลามีชีวิตและอาหารแปรรูป เช่น ปลาร้า ปลารมควัน ปลาตากแห้ง ปลาแช่แข็ง และอาหารกระป๋อง (Raksakulthai, 1996)

ตารางที่ 1 ลักษณะที่แตกต่างระหว่างปลาดุกอุยกับปลาดุกพันธุ์ผสม

ลักษณะ	ปลาดุกอุย	ปลาดุกพันธุ์ผสม
1. หัว	กะโหลกเล็ก ค่อนข้างรี เรียบ และไม่แบน	กะโหลกใหญ่และแบน เป็นตุ่ม ไม่เรียบ
2. ใต้คาง	สีคล้ำ	สีขาว
3. หนวด	4 คู่ โคนหนวดเล็ก	4 คู่ โคนหนวดใหญ่
4. กะโหลกท้ายทอย	โค้งมน	เป็นหยักแหลม 3 หยัก
5.ปาก	ไม่ป้านค่อนข้างมน	ป้าน แบนหนามีเงี่ยงใหญ่
6. ครีบหู	มีเงี่ยงเล็กสั้น แหลมคมมาก ครีบแข็งยื่นยาวเกินหรือเท่ากับครีบอ่อน	สั้น นิ่ม ไม่แหลมคม และส่วนของครีบอ่อนหุ้มถึงปลายครีบแข็ง
7. ครีบหลัง	ปลายครีบสีเทาปนดำ	ปลายครีบสีแดง
8. ครีบหาง	กลม ไม่ใหญ่มากนัก สีเทาปนดำ	กลมใหญ่ สีเทา ปลายครีบมีสี แดงและมีแถบสีขาวลาดบริเวณคอดหาง
9. สัดส่วนระหว่างหัว :ตัว	1 : 4	1 : 3
10. สีของลำตัว	ดำน้ำตาลปนดำที่บริเวณด้านบนของลำตัว	เทา เทาอมเหลือง
11. จุดที่ลำตัว	ขณะที่ปลามีขนาดเล็กจะปรากฏจุดขาวเรียงขวางเป็นทางประมาณ 9 - 10 แถว เมื่อปลามีขนาดใหญ่จุดจะเลือนหายไป	ไม่มีจุด เมื่อปลาโตขึ้นจะปรากฏลายคล้ายหินอ่อนอยู่ทั่วตัว
12. ผนังท้อง	มีสีขาวถึงเหลืองเฉพาะบริเวณอกถึงครีบท้อง	ผนังท้องมีสีขาวตลอดจนถึงโคนหาง

ที่มา : ดัดแปลงจาก กรมประมง (มปป.ข)

2.2 ความต้องการสารอาหารของปลาดุกพันธุ์ผสม

โดยทั่วไปปลาดุกพันธุ์ผสมต้องการโปรตีนในอาหาร 25-40 เปอร์เซ็นต์ ความต้องการโปรตีนจะขึ้นอยู่กับช่วงอายุของปลา ปลาขนาด 2-4 เซนติเมตร ต้องการโปรตีนในอาหาร 35-40 เปอร์เซ็นต์ ปลาขนาด 5-6 เซนติเมตรขึ้นไป ต้องการอาหารที่มีโปรตีน 25-30 เปอร์เซ็นต์ และพ่อแม่พันธุ์ต้องการโปรตีนในอาหาร 28-32 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาหารปลาดุกควรมีปลาป่นเป็นองค์ประกอบอย่างน้อย 20% ของโปรตีนทั้งหมดในอาหาร (มะลิ, 2530) ปลาดุกพันธุ์ผสมเจริญเติบโตและให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้ดีที่สุด เมื่อมีโปรตีนในอาหาร 41 เปอร์เซ็นต์ แต่ระดับโปรตีนในอาหารที่ให้ผลตอบแทนสูงสุดในแง่ทางเศรษฐศาสตร์จะอยู่ในช่วง 33-36% (วิมล, 2538 อ้างโดย เวียง, 2542) วิมล และคณะ (2536) ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของคาร์โบไฮเดรตจากปลายข้าวดิบต่อไขมันในอาหารของปลาดุกพันธุ์ผสม ได้ข้อสรุปว่าอาหารที่มีโปรตีน 33 เปอร์เซ็นต์ พลังงานรวม 4,280-4,390 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ควรมีคาร์โบไฮเดรตจากปลายข้าว 50 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเป็นสัดส่วนระหว่างคาร์โบไฮเดรตกับไขมันจะได้เท่ากับ 11.24:1 ทำให้ปลาดุกพันธุ์ผสมมีการเจริญเติบโตดี สำหรับอาหารปลาดุกที่เลี้ยงในเขตร้อนอาจมีไขมันได้ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ (อำนวย, 2525) นอกจากนี้ปลาดุกพันธุ์ผสมมีความต้องการกรดไขมันที่จำเป็นทั้งกรดไลโนลินิก (linolenic) หรือโอเมกา 3 และกรดไลโนลิอิก (linoleic) หรือโอเมกา 6 แต่ต้องการโอเมกา 6 มากกว่าในสัดส่วน 1:1.25 จึงจะทำให้ปลาดุกพันธุ์ผสมขนาด 0.5-19 กรัม มีการเจริญเติบโตและมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด ซึ่งกรดไลโนลิอิก พบมากในถั่วเหลืองและน้ำมันปลาที่เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ (เวียง, 2542) Boonyaratpalin และ Phromkunthong (2001) พบว่าการเสริมวิตามินซีในรูป ascorbyl phosphate calcium 30 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของปลาดุกพันธุ์ผสมและช่วยป้องกันการขาดวิตามินซีได้

สำหรับความต้องการแร่ธาตุ พบว่า ปลาดุกพันธุ์ผสมต้องการแคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม ซึ่งเป็นแร่ธาตุหลักในปริมาณ 5,000, 5,000 และ 500 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนแร่ธาตุรองชนิดอื่นๆ ที่สำคัญ ได้แก่ ทองแดง 3 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ไอโอดีน 5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซีลีเนียม 0.008 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และเหล็ก 44 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (มะลิ, 2530; Butthep *et al*., 1985 อ้างโดย เวียง, 2542)

2.3 ความสำคัญของฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสส่วนใหญ่ทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบของกระดูกและเกล็ดของปลาเช่นเดียวกับแคลเซียม โดยพบในกระดูกและเกล็ดรวมกันประมาณ 85-90 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดที่มีในร่างกาย หรืออาจกล่าวได้ว่า ปลามีฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบประมาณ 0.4-0.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว (Li and Mathias, 1994) ฟอสฟอรัสในกระดูกจะรวมกับแคลเซียมได้เป็นสารประกอบที่เรียกว่าอะพาไทต์ (apatite) หรือไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) ดังนั้นแคลเซียมและฟอสฟอรัสจึงทำหน้าที่ร่วมกันในการสร้างกระดูกและเกล็ด สำหรับฟอสฟอรัสที่เหลือประมาณ 10-15

เปอร์เซ็นต์ พบในเลือดและเนื้อเยื่อ จะถูกนำมาใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมที่สำคัญของร่างกาย เช่น เป็นองค์ประกอบของฟอสโฟลิพิดทำให้เยื่อเซลล์คงตัว เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ที่จำเป็นในร่างกาย เป็นสารอิเล็กโทรไลต์ หรือสารบัฟเฟอร์ภายในเซลล์ ทำหน้าที่ควบคุมสมดุลของกรดและด่าง ทำให้มีสภาพเป็นกลางเป็นองค์ประกอบของเอทีพี (ATP) ซึ่งมีหน้าที่ในการถ่ายทอดพลังงานที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเป็นองค์ประกอบของดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมการถ่ายทอดทางพันธุกรรม การสังเคราะห์โปรตีนและการสืบพันธุ์ให้เป็นปกติ (เวียง. 2542) และสัดส่วนของแคลเซียม:ฟอสฟอรัส มีความสำคัญต่อการดูดซึมฟอสฟอรัส โดยสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นจะทำให้การดูดซึมฟอสฟอรัสลดลง การใช้ธาตุฟอสฟอรัสจะใช้ร่วมกับธาตุแคลเซียม และควรมีอัตราส่วนของธาตุฟอสฟอรัสต่อธาตุแคลเซียม ประมาณ 1:1 และจากการรายงานการศึกษาในปลา red seabream สัดส่วนที่เหมาะสมคือ 1:2 ส่วนในปลาไหล คือ 1:1 (Lall. 2002)

Eya และ Lovell (1997) รายงานว่าลูกปลากดอเมริกัน (channel catfish, *Ictalurus punctatus*) มีความต้องการฟอสฟอรัส 0.2 เปอร์เซ็นต์ Wilson และคณะ (1982) รายงานว่า ปลากดอเมริกันต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.4 เปอร์เซ็นต์ Eya และ Lovell (1997) รายงานว่าปลากดอเมริกันสามารถใช้ฟอสฟอรัสในรูปโมโนแคลเซียมฟอสเฟตและไดแคลเซียมฟอสเฟตได้ 81.2 และ74.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

Mgbenka และ Ugwu (2005) ทดลองเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต 4 ชนิดได้แก่ โมโนโซเดียมฟอสเฟต, โมโนแคลเซียมฟอสเฟต, โมโนโปแตสเซียมฟอสเฟต และไดแคลเซียมฟอสเฟตในอาหารสำหรับปลาดุกอัฟริกันวัยอ่อน โดยเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตทั้ง 4 ชนิดที่ระดับ 0.04 เปอร์เซ็นต์, 0.06 เปอร์เซ็นต์, 0.08 เปอร์เซ็นต์ และ 1.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาดุกอัฟริกันวัยอ่อนมีการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีที่สุดเมื่อเสริมโมโนแคลเซียมฟอสเฟตที่ระดับ 0.06 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร

2.4 ความสำคัญของแคลเซียม

แคลเซียมเป็นแร่ธาตุที่พบในกระดูกและเกล็ดของปลารวมกันประมาณ 99 เปอร์เซ็นต์ของแคลเซียมทั้งหมดที่มีในร่างกาย ส่วนอีก 1 เปอร์เซ็นต์พบในเลือดและเนื้อเยื่อ หรืออาจกล่าวได้ว่าปลามีแคลเซียมเป็นส่วนประกอบประมาณ 0.5–1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวปลา (เวียง. 2542) แคลเซียมส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้ทำหน้าที่ในการสร้างกระดูกและเกล็ดรวมกัน ส่วนในเลือดและเนื้อเยื่อถูกนำไปใช้เกี่ยวกับกระบวนการเมทาบอลิซึมในร่างกาย เช่น ช่วยในการหดรัดตัวของกล้ามเนื้อ ช่วยให้เลือดแข็งตัวตามปกติ ถ่ายทอดสัญญาณประสาท กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด ควบคุมเยื่อเซลล์ให้คงตัว และควบคุมการผ่านออกของสารละลายบริเวณเยื่อเซลล์ ปริมาณของแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ที่พบในน้ำจืดและในน้ำทะเลเท่ากับ 63 เปอร์เซ็นต์ และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (สมหมาย. 2539 อ้างตาม Livingstone. 1963; Weyl. 1970) ปลากดอเมริกันสามารถดูดซึมแคลเซียมในแหล่งน้ำได้ถึง 94 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณความต้องการทั้งหมด โดยการดูดซึมจะมีเหงือกทำหน้าที่ในการดึงแคลเซียม 88 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณแคลเซียมที่ได้รับ และส่วนที่เหลือจะถูกดูดซึมผ่านทาง

ผิวหนัง (You and Hoang, 1987) แม้ว่าปลาจะสามารถดูดซึมแคลเซียมจากน้ำมาใช้ประโยชน์ได้ แต่การเสริมแคลเซียมในอาหารปลาก็มีความจำเป็น เพื่อป้องกันไม่ให้ปลาแสดงอาการขาดแคลเซียม เนื่องจากแคลเซียมที่มีในวัตถุดิบจากพืช เช่น กากถั่วเหลือง รำ จะรวมตัวกับกรดไฟติก ทำให้แคลเซียมดูดซึมผ่านกระเพาะอาหารหรือลำไส้ได้น้อยลง (Papatryphon *et al.*, 1999) ดังนั้นอาหารที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบจากพืชปริมาณมากควรใส่แคลเซียมในรูปของสารประกอบอนินทรีย์สมทบให้มากขึ้น เช่น โมโนแคลเซียมฟอสเฟต ไดแคลเซียมฟอสเฟต และแคลเซียมเลคเตท เนื่องจากอยู่ในรูปที่แตกตัวได้ง่ายและละลายน้ำได้ดีกว่าไตรแคลเซียมฟอสเฟต สำหรับปลาที่มีความต้องการแคลเซียมต่ำ เช่น ปลาไน ปลานรโบว์ เทร้าท์ และปลากดอเมริกัน มีความต้องการที่ประมาณ 0.02-0.03 เปอร์เซ็นต์ เพราะปลาพวกนี้อยู่ในแหล่งน้ำที่มีแคลเซียมสูง โดยมีปริมาณแคลเซียม 16-20 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร (ppm) คืออยู่ในช่วง 16-20 ppm (NRC, 1993) ส่วนปลาที่มีความต้องการแคลเซียมสูง เช่น ปลาไหล ปลาเรดซีบรีมมีความต้องการแคลเซียมจากอาหารประมาณ 0.27-0.34 เปอร์เซ็นต์ จึงมีความจำเป็นต้องเสริมแคลเซียมในอาหาร (Sakamoto and Yone, 1973) ลักษณะเฉพาะของการขาดแคลนแร่ธาตุแคลเซียม คือทำให้การเจริญเติบโตลดลง กระดูกผิดปกติ ทำให้เกิดรูปร่างของส่วนหัวและหางผิดปกติการพัฒนากระดูกในส่วนของกะโหลก และ operculum ลดลง (Lall, 2002)

Robinson และคณะ (1986) ศึกษาความต้องการแคลเซียมในปลากดอเมริกัน (*Ictalurus punctatus*) โดยให้อาหารซึ่งมีแคลเซียมอยู่ในช่วง 0.17-0.85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนระดับของฟอสฟอรัสในอาหารคงที่ คือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความต้องการแคลเซียมในอาหารที่เหมาะสม คือ 0.45 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าระดับของเถ้า ฟอสฟอรัส และแคลเซียมในกระดูกสันหลัง มีความสัมพันธ์กับระดับของแคลเซียมในอาหาร จากข้อมูลพื้นฐานทำให้ทราบว่าปลากดอเมริกันในช่วงของการขาดแคลเซียมจะเก็บสำรองแคลเซียมไว้ในกระดูก

2.5 บทบาทของฟอสฟอรัสและแคลเซียมในปลา

สัดส่วนระหว่างฟอสฟอรัสต่อแคลเซียมในอาหารปลามีความสำคัญ เพราะการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมในอาหารจะไปรบกวนการดูดซึมฟอสฟอรัส และในทางกลับกันสัดส่วนของฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นจะไปจำกัดการดูดซึมแคลเซียม (Sakamoto and Yone, 1973) ดังรายงานในปลาดุก (Andrews *et al.*, 1973) ปลาแอตแลนติกแซลมอน (Lall and Bishop, 1977) ปลานรโบว์ เทร้าท์ (Ogino and Takeda, 1978) ปลาไน (Nakamura, 1982) ปลาหมอเทศ (Flik *et al.*, 1986) และในปลากดอเมริกัน (Gatlin and Phillips, 1989) จากรายงานการศึกษาในปลาเรดซีบรีมสัดส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่เหมาะสม คือ 2:1 และในปลาไหลคือ 1:1 (Lall, 2002) แต่ทั้งนี้ Ogino และ Takeda (1976) ทำการทดลองระดับของฟอสฟอรัสและแคลเซียมในอาหารของปลาไนพบว่า ระดับของฟอสฟอรัสในอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโต ส่วนแคลเซียมนั้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาไน ซึ่งตรงกับรายงานของ Vielma และ Lall (1998) ที่รายงานว่าแคลเซียมไม่มีผลต่อการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสเมื่อมีสัดส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในระดับสูง

Chavez-Sanchez และคณะ (2000) ศึกษาความต้องการฟอสฟอรัสและแคลเซียมของปลา American cichlid (*Cichlasoma urophthalmus*) ด้วยอาหารทดลอง 12 สูตร โดยมีการเสริมฟอสฟอรัส คือ potassium monophosphate ที่ 4 ระดับ คือ 0.5, 1, 1.5 และ 2.5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และมีการเสริม calcium carbonate ที่ 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 และ 4 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จากการทดลองพบว่ามีผลต่อระดับความเข้มข้นของอัตราส่วนของ Ca และ P ที่ 1:1, 1.33:1, 1.5:1, 1.6:1 และ 2.0:1 การขาดฟอสฟอรัสทำให้ระดับการเจริญเติบโตลดลง ไขมันในตัวเพิ่มขึ้น และแร่ธาตุที่สะสมในกระดูกลดลง การเพิ่มขึ้นของระดับของแคลเซียมและฟอสฟอรัสจะช่วยให้มีการเจริญเติบโตและการสะสมของแร่ธาตุเพิ่มขึ้น ระดับของแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจะมีค่าอยู่ระหว่าง 1.5-1.8 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

Paul และคณะ (2004) ศึกษาความต้องการฟอสฟอรัสและความเหมาะสมของสัดส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอรัสระยะปลานิ้วในปลา *Cirrhinus mrigala* น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นประมาณ 6 กรัม ใช้ระยะเวลาเลี้ยง 12 สัปดาห์ ด้วยอาหารบริสุทธิ์จำนวน 5 สูตร มีอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในสัดส่วน 1:0 (0.35:0), 1:1(0.35:0.35), 1:2(0.31:0.63), 1:3(0.24:0.71) และ 1:4(0.19:0.75) ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีต้องมีสัดส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสเท่ากับ 1:4(0.19:0.75) นอกจากนี้ยังส่งผลให้ระดับโปรตีน ไขมัน และฟอสฟอรัสมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของฟอสฟอรัสสูงขึ้น

3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาระดับของฟอสฟอรัสที่เหมาะสมในอาหารของปลาดุกพันธุ์ผสม
2. ศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของแคลเซียมและฟอสฟอรัส ในอาหารของปลาดุกพันธุ์ผสม
3. ศึกษาการสะสมของแร่ธาตุในตัวปลาเมื่อได้รับอาหารที่มีแคลเซียมและฟอสฟอรัสในสัดส่วนที่ต่างกัน

4. ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. ทราบถึงระดับความต้องการฟอสฟอรัสของปลาดุกพันธุ์ผสม
2. ทราบถึงความสัมพันธ์ของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหารของปลาดุกพันธุ์ผสม
3. เพื่อนำผลจากวัตถุประสงค์ของงานวิจัยในข้อ 1 และ 2 เป็นข้อมูลในการสร้างสูตรอาหารของปลาดุกพันธุ์ผสมโดยเป็นอาหารที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

1. วัสดุ

1.1 ปลาที่ใช้สำหรับการทดลอง

1.1.1 ปลาดุกพันธุ์ผสม

ปลาดุกพันธุ์ผสมที่มีขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 1.2 กรัมต่อตัว จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดสงขลา นำมาเลี้ยงและปรับสภาพ จนได้ปลาที่มีน้ำหนักเฉลี่ยตัวละประมาณ 4 กรัม

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของร่างกายปลาทดลอง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการอาหารทดลอง

1.2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ฟอสฟอรัสของร่างกายปลาทั้งตัว เนื้อปลา กระดูกปลา อาหารทดลอง และวัตถุดิบอาหาร

1.2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดของปลาทดลอง

1.2.4 สารเคมีสำหรับสลบปลา ในระหว่างการชั่งน้ำหนักและเก็บตัวอย่าง ได้แก่ น้ำมันกานพลู (clove oil)

1.3 อาหารสำหรับอนุบาลลูกปลาก่อนเริ่มต้นการทดลอง

อาหารสำหรับใช้ในการอนุบาลลูกปลาดุกพันธุ์ผสมก่อนเริ่มทดลอง เป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปยี่ห้อ ไฮ-เกรด ของบริษัทเอส ดับบลิว ที เบอร์ 9961 ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการคือ โปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ และเยื่อใย 5 เปอร์เซ็นต์

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงปลาทดลอง

2.1.1 ถังไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุ 1,000 ลิตร สำหรับอนุบาลลูกปลาดุกพันธุ์ผสม

2.1.2 ตู้กระจกขนาด 45 x 91x 45 เซนติเมตร ขนาดความจุน้ำ 184 ลิตร และปิดตู้กระจกด้านข้างและด้านหลังตู้ด้วยแผ่นพลาสติกทึบทั้ง 3 ด้าน เพื่อป้องกันการถูกรบกวนจากสิ่งแวดล้อมภายนอก

2.1.3 อุปกรณ์ให้อากาศ ได้แก่ เครื่องให้อากาศ สายยางใส และ หัวทราย

2.1.4 อุปกรณ์เปลี่ยนถ่ายน้ำ ได้แก่ สายยางสำหรับเปลี่ยนถ่ายน้ำ เครื่องสูบน้ำ

2.1.5 อุปกรณ์เคลื่อนย้ายปลา ได้แก่ สวิง ขันพลาสติก ถังพลาสติก

2.2 อุปกรณ์เตรียมอาหารทดลอง

2.2.1 เครื่องผลิตอาหาร ยี่ห้อ Hobart mixer รุ่น A 200 T ที่ประกอบไปด้วยชุดเครื่องผสมอาหารแบบมีใบพัด ชุดเครื่องอัดเม็ดอาหาร

2.2.2 อุปกรณ์ชั่งตวงวัสดุอาหาร ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ของบริษัท Satorius รุ่น Basic เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่งของ Sartorius รุ่น Research กระบอกตวงน้ำ บีกเกอร์ขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร ถาดใส่อาหาร และ ถุงพลาสติกบรรจุวัตถุดิบและอาหารทดลองที่เสร็จสิ้นกระบวนการ

2.2.3 ตู้แช่เยือกแข็งเพื่อเก็บอาหารทดลอง (อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส) ในระหว่างการรอนำไปใช้

2.3 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง และตัวปลา

2.3.1 อุปกรณ์วิเคราะห์ความชื้น ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible) ตู้อบ (hot air oven) ของบริษัท Memmert โถดูดความชื้น (desiccator) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง Sartorius รุ่น Research

2.3.2 อุปกรณ์วิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ เครื่องย่อย (digestion apparatus) ของบริษัท Gerhardt รุ่น Kjeldatherm เครื่องกลั่น (distillation apparatus) ของบริษัท Gerhardt รุ่น Vapodest I หลอดย่อยโปรตีน (digestion tube) กระดาษชั่งตัวอย่างปราศจากไนโตรเจน กระบอกตวง บีกเกอร์ บิวเรต และขวดรูปชมพู่

2.3.3 อุปกรณ์วิเคราะห์เถ้า ได้แก่ ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible) เตาเผา (muffle furnace) ของบริษัท Gallenkamp โถดูดความชื้น เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.3.4 อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน รุ่น Soxtec System HT6 ถ้วยสกัดไขมัน ตู้อบ โถดูดความชื้น เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง Sartorius รุ่น Research

2.3.5 อุปกรณ์วิเคราะห์เยื่อใย ได้แก่ ชุดเครื่องมือวิเคราะห์เยื่อใย รุ่น Fibertec System ถ้วยแก้ว (glass crucible) เบอร์ 1 ตู้อบ เตาเผา โถดูดความชื้น เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.3.6 อุปกรณ์วิเคราะห์ฟอสฟอรัส ได้แก่ ตู้อบ โถอบแห้ง เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง แผ่นให้ความร้อน (0-300 องศาเซลเซียส) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร ขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร ขวดพลาสติก และหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร

2.4 อุปกรณ์วิเคราะห์องค์ประกอบเลือด

2.4.1 อุปกรณ์เจาะเลือดปลา ได้แก่ เข็มขนาด 25Gx1 และหลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร

2.4.2 อุปกรณ์แยกพลาสมา ได้แก่ ไมโครปิเปต เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ของบริษัท Beckman รุ่น Avanti™

2.4.3 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของบริษัท Shimada รุ่น UV 1201V

3. วิธีการทดลอง

ศึกษาการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมในระดับต่าง ๆ วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล แบบ 3x3 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 เป็นระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) 3 ระดับ และปัจจัยที่ 2 เป็นระดับของแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) 3 ระดับ โดยเลือกใช้ระดับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ตามการรายงานของ Wilson และคณะ (1982) ที่ได้ทำการศึกษาถึงความต้องการฟอสฟอรัสและแคลเซียมในปลากดอเมริกัน (channel catfish) ซึ่งเป็นปลาในกลุ่มปลาไม่มีเกล็ด (catfish) เช่นเดียวกับปลาดุกพันธุ์ผสมที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ กำหนดฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ 0.3, 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และกำหนดแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ 0.3, 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากสมมติฐานที่ว่าฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ระดับ 0.3, 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์จะอยู่ในระดับที่ขาด พอดี และเกินตามลำดับ เพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมของฟอสฟอรัสและแคลเซียม โดยแหล่งของฟอสฟอรัสที่ใช้เสริมในอาหารจะใช้โมโนโซเดียมฟอสเฟต (mono-sodium phosphate; MSP หรือ $Na(H_2PO_4)_2.2(H_2O)$) และแคลเซียมที่ใช้เสริมในอาหารจะใช้แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) เพราะมีการย่อยและการดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ดี เตรียมอาหารทดลอง 9 สูตร ประกอบด้วย

สูตรที่ 1 มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 2 มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.5 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 3 มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.8 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 4 มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.5 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 5 มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.5 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.5 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 6 มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.5 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.8 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 7 มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.8 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 8 มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.8 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.5 เปอร์เซ็นต์
สูตรที่ 9 มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.8 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.8 เปอร์เซ็นต์

3.1 การเตรียมชุดการทดลอง

3.1.1 การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ใช้ตู้กระจกขนาด 45 x 91x 45 เซนติเมตร ขนาดความจุน้ำ 184 ลิตร ทำความสะอาดและติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศประกอบด้วย สายยาง เครื่องให้อากาศ สายออกซิเจน และหัวทราย แล้วเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีน ให้ได้ปริมาตร 160 ลิตร ปิดพลาสติกสีทึบที่ตู้ทั้ง 3 ด้านเพื่อป้องกันการรบกวนจากภายนอก

3.1.2 การเตรียมปลาทดลอง

นำปลาดุกพันธุ์ผสมจากฟาร์มเอกชน จังหวัดสงขลา มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุ 1,000 ลิตร โดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป ยี่ห้อไฮเกรด ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการ คือ โปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ และเยื่อใย 5 เปอร์เซ็นต์ วันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 09.00 และ 16.00 น. เมื่อปลามีน้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 4-5 กรัมต่อตัว (จากการสุ่มชั่ง) คัดปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ปรับสภาพปลาให้เคยชินกับสภาพแวดล้อมของตู้และฝึกให้กินอาหารทดลองสูตรที่ 1 เป็นระยะเวลา 7 วัน หลังจากปลาคุ้นเคยกับสภาพตู้ ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของปลาและบันทึกผลการทดลอง โดยสลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู และชั่งด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง

3.1.3 การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลองมีทั้งหมด 9 สูตร คือ อาหารสูตรที่ 1 – 9 กำหนดฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ 0.3, 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ จับคู่กับแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ที่ 0.3, 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อาหารทดลองทุกสูตรมีส่วนประกอบของวัตถุดิบที่เหมือนกันซึ่งประกอบด้วย ปลาป่น กากถั่วเหลือง ปลายข้าว รำ โคลีน คลอไรด์ น้ำมันปลา แป้งมันสำปะหลัง เมทไธโอนีน วิตามิน และแร่ธาตุ (ตารางที่ 2) และกำหนดให้มีสารอาหารในระดับที่ใกล้เคียงกันคือ มีระดับโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6 เปอร์เซ็นต์ และระดับพลังงาน 3,500 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ

ขั้นตอนในการเตรียมอาหารทดลองมีดังต่อไปนี้

1. วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบ ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า เยื่อใย ฟอสฟอรัส และแคลเซียม (ตารางที่ 3) และสร้างสูตรอาหารโดยคำนวณอาหารทดลองทุกสูตรให้มีระดับของโปรตีน ไขมัน และพลังงานเท่ากัน

2. ชั่งวัตถุดิบอาหารที่ผ่านการร่อนจากตะแกรงขนาด 30 เมช (mesh) ตามอัตราส่วนที่ต้องการแยกถุงไว้ใช้ในแต่ละชุดการทดลอง

3. นำวัตถุดิบทั้งหมดที่แยกไว้ข้างต้นยกเว้นน้ำมันปลา มาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน ด้วยเครื่องผสมอาหารประมาณ 15 นาที โดยในช่วง 5 นาทีแรกให้ใส่น้ำมันปลา หลังจากนั้นอีก 5 นาทีก็เติมน้ำสะอาด 35 เปอร์เซ็นต์ จนครบเวลาตามที่กำหนดเพื่อให้วัตถุดิบอาหารเข้าสู่กระบวนการอัดเม็ด

4. นำวัตถุดิบอาหารที่ผสมกันดีแล้วเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหาร ผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ตัดเม็ดอาหารให้มีขนาดใกล้เคียงกัน

5. อบอาหารที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

6. บรรจุอาหารทดลองที่ผ่านการอบแล้วในถุงพลาสติก เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดลอง

7. นำอาหารที่เตรียมไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย ฟอสฟอรัส และแคลเซียม ตามวิธีของ AOAC (1990) คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 4 ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรกซ์, nitrogen free extract, NFE) คำนวณได้จากสูตร

Nitrogen free extract หรือ NFE = 100 - (%ความชื้น + %โปรตีน + %ไขมัน + %เถ้า + %เยื่อใย)

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบอาหารทดลอง (%as fed basis)[1]

วัตถุดิบ	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	ฟอสฟอรัส	แคลเซียม[2]	NFE
ปลาป่น	8.68±0.04	60.27±0.74	8.81±0.17	16.13±0.10	-	2.02±0.04	1.6	6.11±0.65
กากถั่วเหลือง	10.40±0.03	42.45±0.13	2.18±0.04	7.28±0.04	7.00±0.28	0.67±0.01	0.08	30.70±0.35
รำละเอียด	9.72±0.05	11.58±0.07	14.89±0.17	9.21±0.02	7.32±0.19	1.76±0.03	0.02	47.28±0.11
ข้าวโพดป่น	10.36±0.06	7.35±0.28	4.0±00.37	1.21±0.39	3.00±0.20	0.34±0.06	0.04	74.08±0.23
แป้งมันสำปะหลัง	11.44±0.07	2.25±0.08	0.62±0.01	4.2±90.04	2.92±0.01	0.17±0.01	0.01	78.48±0.17
โมโนโซเดียมฟอสเฟต	-	-	-	-	-	23.67±0.84	-	-
แคลเซียมคาร์บอเนต	-	-	-	-	-	-	37.24	-

[1]Mean ± standard deviation of three replicates

[2]ข้อมูลจากการวิเคราะห์ 1 ซ้ำ

ตารางที่ 4 คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง (%as fed basis)[1]

ชุดการทดลอง	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	ฟอสฟอรัส	แคลเซียม	NFE
T1 (AvP 0.3:AvCa 0.3)	6.36±0.08	35.69±0.26	6.50±0.20	9.84±0.12	4.33±0.15	0.87±0.16	0.97±0.02	37.28±0.37
T2 (AvP 0.3:AvCa 0.5)	4.89±0.13	35.69±0.34	6.40±0.17	10.89±0.52	4.31±0.23	0.90±0.05	1.31±0.03	37.82±0.27
T3 (AvP 0.3:AvCa 0.8)	6.03±0.08	35.84±0.40	6.37±0.05	11.32±0.11	4.28±0.41	0.85±0.11	1.59±0.02	36.16±0.56
T4 (AvP 0.5:AvCa 0.3)	6.36±0.03	35.56±0.61	6.30±0.04	10.33±0.05	4.31±0.27	1.12±0.06	1.13±0.02	37.14±0.02
T5 (AvP 0.5:AvCa 0.5)	5.06±0.45	34.74±0.41	6.18±0.07	11.06±0.06	4.29±0.01	1.11±0.07	1.30±0.00	38.67±0.69
T6 (AvP 0.5:AvCa 0.8)	4.73±0.06	36.41±0.52	6.43±0.17	11.74±0.12	4.26±0.28	1.13±0.08	1.55±0.01	36.43±0.21
T7 (AvP 0.8:AvCa 0.3)	7.95±0.08	35.77±0.11	6.41±0.16	11.21±0.09	4.36±0.12	1.35±0.08	1.10±0.02	34.30±0.33
T8 (AvP 0.8:AvCa 0.5)	4.58±0.05	35.54±1.05	6.59±0.16	12.04±0.10	4.24±0.19	1.44±0.13	1.26±0.03	37.01±0.19
T9 (AvP 0.8:AvCa 0.8)	4.48±0.15	35.92±0.59	6.83±0.11	12.87±0.10	4.21±0.20	1.41±0.15	1.60±0.01	35.69±0.20

[1]Mean ± standard deviation of three replication

3.1.4 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบแฟคตอเรียล (Factorial design; Completely Randomized Design: CRD) โดยกำหนดปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 คือระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 3 ระดับ และปัจจัยที่ 2 คือ ระดับของแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 3 ระดับ ระยะเวลาในการทดลอง 8 สัปดาห์ ใช้อาหารทดสอบจำนวน 9 สูตรและจัดให้แต่ละชุดการทดลองมีจำนวน 3 ซ้ำ รวมทั้งสิ้น 27 หน่วยทดลอง อาหารทดลองสูตรที่ 1 - สูตรที่ 9 มีการเสริมฟอสฟอรัสและแคลเซียมตามรายละเอียดการเตรียมอาหารทดลอง เมื่อเริ่มทดลองเก็บตัวอย่างปลาเพื่อนำไปวิเคราะห์ความชื้น และองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย ฟอสฟอรัส และแคลเซียม ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) คัดปลาดุกพันธุ์ผสมที่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 4 กรัมต่อตัวลงในตู้ทดลอง ตู้ละ 30 ตัว รวมจำนวนทั้งหมด 810 ตัว ให้อาหารวันละ 2 เวลา คือ 09.00 และ 16.00 น. โดยให้ปลากินจนอิ่ม ก่อนให้อาหารช่วงเย็นดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำด้วยวิธีกาลักน้ำ แล้วเติมน้ำที่ผ่านการพักมาแล้วให้ถึงระดับเดิมทุกครั้ง ในระหว่างการเลี้ยงมีการตรวจสอบการเจริญเติบโตในทุก ๆ 2 สัปดาห์

3.1.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.1.5.1 การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะภายนอก

ในระหว่างการทดลองสังเกตพฤติกรรมของปลาทุกชุดการทดลอง เช่น การว่ายน้ำ การรับอาหาร และสังเกตลักษณะภายนอก เช่น สีของตัวปลา การตกเลือด การคดงอของครีบและกระดูก การเกิดบาดแผลบริเวณครีบ ผิวหนัง และอวัยวะภายนอกอื่น ๆ

3.1.5.2 การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักปลาทุก 2 สัปดาห์ เพื่อทราบน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นโดยชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละซ้ำด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (งดให้อาหารก่อนชั่งน้ำหนัก 1 มื้อ) นับจำนวนปลาที่เหลืออยู่ตลอดจนจบการทดลอง น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ คำนวณตามวิธีของ Jantrarotai และคณะ (1994)

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain) (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{[\text{น.น.ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)} - \text{น.น.ปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)}]}{\text{น.น. ปลาเมื่อเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) (เปอร์เซ็นต์/วัน)

$$= \frac{(\ln \text{น.น.ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)} - \ln \text{น.น.ปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)})}{\text{เวลา (วัน)}} \times 100$$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate) คำนวณตามวิธีของ Dupree และ Sneed (1966)

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{น.น.อาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น.น.ปลาที่เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง (กรัม)}}$$

อัตราการกินอาหาร (rate of feed intake) คำนวณตามวิธีของ Yone และ Fujii (1975) และคำนวณอัตรารอดตายของปลาตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ที่ทำการทดลอง

อัตราการกินอาหาร (rate of feed intake) (เปอร์เซ็นต์/ตัว/วัน) คำนวณตามวิธีของ Yone และ Fujii (1975) จากสมการ

$$\text{อัตราการกินอาหาร(เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน)} = \frac{F \times 100}{\frac{W_0 + W_t}{2} \times \frac{N_0 + N_t}{2} \times t}$$

โดยที่

F = น.น. อาหารแห้งที่ปลากิน (กรัม) N_0 = จำนวนปลาเริ่มต้น (ตัว)

W_0 = น.น.ปลาเฉลี่ยเริ่มต้น (กรัม) N_t = จำนวนปลาสุดท้าย (ตัว)

W_t = น.น.ปลาเฉลี่ยสุดท้าย (กรัม) t = ระยะเวลาที่ปลาได้รับอาหารทดลอง (วัน)

$$\text{อัตรารอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ตัว)}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้น (ตัว)}} \times 100$$

3.1.5.3 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลา และประสิทธิภาพของอาหาร

สุ่มตัวอย่างปลาก่อนการทดลองจำนวน 20 ตัว นำไปวิเคราะห์หาความชื้นในตัวปลาทันทีและนำตัวอย่างปลาที่อบแห้งไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาได้แก่ ปริมาณโปรตีน , ไขมัน, เถ้า, และแร่ธาตุ คือ แคลเซียม, ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม ตามวิธีการของ AOAC (1990) เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลาจากแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 12 ตัว (ตู้ละ 4 ตัว) ไปวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น, โปรตีน, ไขมัน เถ้า และแร่ธาตุคือ แคลเซียม, ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม เพื่อเปรียบเทียบถึงการสะสมของแร่ธาตุแต่ละชนิดเมื่อปลาได้รับฟอสฟอรัสและแคลเซียมในสัดส่วนที่ต่างกัน และนำค่าโปรตีนที่ได้ไปคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio. PER) คำนวณตามวิธีการของ Zeitoun และคณะ (1973)

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน} = \frac{\text{น.น.ปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น.น.โปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (Apparent net protein utilization, ANPU) ตามวิธีการของ Robinsonและ Wilson, (1985)

$$\text{การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (\%)} = \frac{(\%\text{โปรตีนในตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \%\text{โปรตีนในตัวปลาเมื่อเริ่มต้น})}{\text{น.น.โปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง (กรัม)}} \times 100$$

3.1.5.4. การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสและแคลเซียม

1. ฟอสฟอรัสและแคลเซียมในกระดูก

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาตู้ละ 5 ตัว แยกส่วนเนื้อบริเวณลำตัวและเครื่องในรวมออกเพื่อนำไปวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในเนื้อ และไขมันในเครื่องในรวม เก็บกระดูกบริเวณกระดูกสันหลังไปต้ม แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง บดตัวอย่างแห้งด้วยโกร่งบดให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียมตามวิธีการของ AOAC (1990)

2. ฟอสฟอรัสในเนื้อ

นำเนื้อบริเวณลำตัวที่ได้หลังจากการเลาะกระดูกไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง บดตัวอย่างแห้งด้วยโกร่งบดให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส ตามวิธีการของ AOAC (1990)

3. ฟอสฟอรัสและแคลเซียมในตัวปลา

ปลาที่ได้จากเก็บตัวอย่างเลือดไปวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมในตัวปลาและปริมาณฟอสฟอรัสเพื่อคำนวณหาปริมาณการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย (Apparent retention ,(P retention ,%)) ตามวิธีการของ Green และคณะ (2002)

$$\text{การเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย} = 100 \times \frac{\text{FICN} - \text{INCN}}{\text{Nutrient intake}}$$

โดยที่

FICN = ปริมาณของฟอสฟอรัสที่คงเหลือในซากหลังการทดลอง (กรัม)

INCN = ปริมาณของฟอสฟอรัสที่คงเหลือในซากก่อนการทดลอง (กรัม)

Nutrient intake = ปริมาณของฟอสฟอรัส (หรือสารอาหาร) ที่ใช้ได้ทั้งหมด (กรัม)

ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง (phosphorus load) ตามวิธีการของ Vielma และคณะ (2000)

ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง

$$= \frac{\text{ปริมาณฟอสฟอรัสที่ปลาได้รับ (กรัม)} - \text{ปริมาณฟอสฟอรัสที่คงเหลือในตัวปลา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กิโลกรัม)}}$$

ฟอสฟอรัสจากอาหารที่ถูกขับทิ้งรวมทั้งหมด (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) (Cho *et al.*, 1991; 1994)

ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งรวม = ปริมาณ P ในอาหาร(g/1kgdiet) - P ที่ถูกเก็บสะสม(g/1kgdiet)

ฟอสฟอรัสในของเสียที่เป็นของแข็งทั้งหมด(total solid P waste)(กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) (Cho *et al.*, 1991; 1994)

$$\text{Total solid P waste} = \text{feed P content} \times \left(\frac{1 - \text{ADC P}}{100} \right)$$

โดยที่ feed P content = ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหาร(กรัมต่ออาหาร1กิโลกรัม)

ADC P = ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส (เปอร์เซ็นต์)

ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งเป็นสารละลายรวม (total dissolved P waste) (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) (Cho *et al.*, 1991; 1994)

$$\text{Total dissolved P waste} = \text{feed P content} \times \left(\frac{\text{ADC P} - \text{P retained}}{100} \right)$$

โดยที่ feed P content = ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหาร (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)

ADC P = สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส (เปอร์เซ็นต์)

P retained = ฟอสฟอรัสที่คงอยู่ (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)

4. ฟอสฟอรัส แคลเซียม และกิจกรรมอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัม

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาจากแต่ละชุดการทดลองๆ ละ 4 ตัว เจาะเลือดจากบริเวณโคนหางประมาณ 1-2 มิลลิลิตร (เลือดที่ได้จากปลา 2 ตัวรวมกันคิดเป็น 1 ซ้ำ)ใส่หลอดไมโครทิวบ์ ทิ้งไว้ 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำตัวอย่างซีรัมที่ได้ไปวิเคราะห์

ปริมาณฟอสฟอรัสและแคลเซียมโดยใช้ชุดทดสอบ (test kit) และวิเคราะห์ค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ด้วยเครื่อง automated analyzer (Boerhinger Manheim Automated Analysis, Hitachi 717)

3.1.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูล โดยการใช้การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบ 2 ทาง (2-way ANOVA) เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วม (interaction) จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นจากแต่ละปัจจัย (one-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างที่เกิดขึ้นจากแต่ละปัจจัยด้วยวิธี Duncan's new Multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 พฤติกรรมและลักษณะภายนอก

จากการสังเกตพฤติกรรมและลักษณะภายนอกของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ ไม่พบความผิดปกติใดๆ ของรูปร่างลักษณะภายนอก ปลามีสุขภาพแข็งแรงและยอมรับอาหารทดลองดี

3.2 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

การเจริญเติบโตของปลาดุกพันธุ์ผสมภายหลังได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) ในระดับที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์แสดงไว้ในตารางที่ 5

ปลาดุกพันธุ์ผสมมีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นอยู่ในช่วง 4.00±0.02 ถึง 4.02±0.01 กรัม น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงและเริ่มมีความแตกต่างในสัปดาห์ที่ 2 ($p<0.05$) เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (AvP 0.5 : AvCa 0.3) มีน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายสูงที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (AvP 0.5 : AvCa 0.5) และ สูตรที่ 6 (AvP 0.5 : AvCa 0.8) ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบที่ AvP ระดับเดียวกันพบว่า เมื่อระดับของ AvCa ในอาหารเพิ่มขึ้นมากกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์เป็น 0.8 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลให้น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายลดลง ($p<0.05$) ทั้งนี้ตลอดการทดลองไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วม (Interaction) ระหว่างระดับของ AvP และ AvCa

ตารางที่ 5 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

Treatment	สัปดาห์				
	0	2	4	6	8
T1 (AvP 0.3:AvCa 0.3)	4.01±0.01	6.59±0.31^{a}	12.34±0.90^{a}	22.76±0.28^{ay}	36.63±0.11^{ay}
T2 (AvP 0.3:AvCa 0.5)	4.02±0.01	6.61±0.44^{a}	12.45±1.34^{a}	23.23±1.94^{axy}	36.58±2.17^{ay}
T3 (AvP 0.3:AvCa 0.8)	4.02±0.01	6.09±0.14^{a}	11.43±0.17^{a}	20.43±0.67^{ax}	32.02±1.23^{ax}
T4 (AvP 0.5:AvCa 0.3)	4.00±0.02	6.86±0.30^{b}	13.13±0.63^{b}	24.38±1.14^{by}	37.71±2.04^{by}
T5 (AvP 0.5:AvCa 0.5)	4.02±0.01	6.60±0.03^{b}	12.62±0.14^{b}	23.36±0.19^{bxy}	37.24±0.46^{by}
T6 (AvP 0.5:AvCa 0.8)	4.01±0.02	6.88±0.25^{b}	13.09±0.75^{b}	24.46±0.56^{bx}	36.37±0.60^{bx}
T7 (AvP 0.8:AvCa 0.3)	4.01±0.01	6.55±0.20^{a}	12.40±0.40^{a}	23.34±0.54^{ay}	35.62±1.23^{ay}
T8 (AvP 0.8:AvCa 0.5)	4.01±0.02	6.39±0.16^{a}	12.02±0.38^{a}	22.33±1.95^{axy}	35.02±1.28^{ay}
T9 (AvP 0.8:AvCa 0.8)	4.01±0.02	6.32±0.19^{a}	11.81±0.38^{a}	21.60±1.34^{ax}	35.18±1.83^{ax}
P	NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Ca	NS	NS	NS	p<0.05	p<0.05
P*Ca	NS	NS	NS	NS	NS

[1]Mean ± standard deviation of three replicates

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

3.3 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตาย

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตายของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) ในระดับที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์แสดงไว้ในตารางที่ 6

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตร มีค่าอยู่ระหว่าง 697.43±30.38 ถึง 841.84±49.55 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า ปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (AvP 0.5 : AvCa 0.3) มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (AvP 0.5 : AvCa 0.5) และ สูตรที่ 6 (AvP 0.5 : AvCa 0.8) และปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3 (AvP 0.3 : AvCa 0.8) มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่ำที่สุด ($p<0.05$) ทั้งนี้ตลอดการทดลองไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตร มีค่าอยู่ระหว่าง 3.71±0.07 ถึง 4.00±0.10 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกับน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น กล่าวคือ ปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (AvP 0.5 : AvCa 0.3) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (AvP 0.5 : AvCa 0.5) และ สูตรที่ 6 (AvP 0.5 : AvCa 0.8) และปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 3 (AvP 0.3 : AvCa 0.8) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่ำที่สุด ($p<0.05$) ทั้งนี้ตลอดการทดลองไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa

อัตราการกินอาหารของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตร พบว่าไม่มีความแตกต่างของอัตราการกินอาหารในทุกชุดการทดลอง โดยปลาทดลองมีอัตราการกินอาหารอยู่ระหว่าง 3.36±0.13 ถึง 3.61±0.12 เปอร์เซ็นต์ต่อตัวต่อวัน ทั้งนี้ตลอดการทดลองไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa

อัตราการรอดตายของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 80.00±6.67 ถึง 98.89±5.09 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ตลอดการทดลองไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa

ตารางที่ 6 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตรารอดตายของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

Treatment	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน)	อัตราการกินอาหาร (เปอร์เซ็นต์/ตัว/วัน)	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์)
T1 (AvP 0.3:AvCa 0.3)	813.26±4.36^{ay}	3.95±0.01^{ay}	3.53±0.20	80.00±6.67
T2 (AvP 0.3:AvCa 0.5)	809.68±51.23^{ay}	3.94±0.10^{ay}	3.42±0.34	80.00±26.03
T3 (AvP 0.3:AvCa 0.8)	697.43±30.38^{ax}	3.71±0.07^{ax}	3.61±0.12	93.33±8.82
T4 (AvP 0.5:AvCa 0.3)	841.84±49.55^{by}	4.00±0.10^{by}	3.52±0.14	90.00±3.33
T5 (AvP 0.5:AvCa 0.5)	827.69±10.62^{by}	3.98±0.02^{by}	3.36±0.13	93.33±3.33
T6 (AvP 0.5:AvCa 0.8)	806.34±19.93^{bx}	3.94±0.03^{bx}	3.51±0.27	90.00±5.77
T7 (AvP 0.8:AvCa 0.3)	788.58±32.61^{ay}	3.90±0.07^{ay}	3.60±0.15	92.22±3.85
T8 (AvP 0.8:AvCa 0.5)	772.49±34.75^{ay}	3.87±0.07^{ay}	3.52±0.20	98.89±5.09
T9 (AvP 0.8:AvCa 0.8)	776.50±46.40^{ax}	3.87±0.09^{ax}	3.57±0.24	91.11±3.85
P	$p<0.05$	$p<0.05$	NS	NS
Ca	$p<0.05$	$p<0.05$	NS	NS
P*Ca	NS	NS	NS	NS

[1] Mean ± standard deviation of three replicates

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)

3.4 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) ในระดับที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์แสดงไว้ในตารางที่ 7

จากการทดลองไม่พบว่าระดับของ AvP และ AvCa ที่เสริมลงในอาหารมีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (p>0.05) ปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทั้ง 9 สูตรมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้ออยู่ระหว่าง 1.21±0.06 ถึง 1.40±0.19 และมีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนอยู่ระหว่าง 2.03±0.20 ถึง 2.38±0.15 ทั้งนี้ตลอดการทดลองไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ พบว่า มีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa โดยปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (AvP 0.5 : AvCa 0.5) มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิสูงที่สุด (p<0.05) และปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9 (AvP 0.8 : AvCa 0.8) มีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิต่ำที่สุด (p<0.05)

ตารางที่ 7 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

Treatment	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน	การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (เปอร์เซ็นต์)
T1 (AvP 0.3:AvCa 0.3)	1.39±0.14	2.03±0.20	31.30 ± 2.14^{ab}
T2 (AvP 0.3:AvCa 0.5)	1.40±0.19	2.03±0.28	31.39 ± 4.30^{ab}
T3 (AvP 0.3:AvCa 0.8)	1.35±0.90	2.07±0.13	33.54 ± 2.01^{ab}
T4 (AvP 0.5:AvCa 0.3)	1.29±0.07	2.19±0.13	35.46 ± 2.46^{ab}
T5 (AvP 0.5:AvCa 0.5)	1.21±0.06	2.38±0.15	42.12 ± 3.07^{c}
T6 (AvP 0.5:AvCa 0.8)	1.30±0.13	2.13±0.22	34.76 ± 4.30^{ab}
T7 (AvP 0.8:AvCa 0.3)	1.32±0.04	2.12±0.05	36.73 ± 1.54^{bc}
T8 (AvP 0.8:AvCa 0.5)	1.25±0.11	2.26±0.23	37.12 ± 3.56^{bc}
T9 (AvP 0.8:AvCa 0.8)	1.32±0.08	2.12±0.15	30.49 ± 2.72^{a}
P	NS	NS	$p<0.05$
Ca	NS	NS	$p<0.05$
P*Ca	NS	NS	$p<0.05$

[1]Mean ± standard deviation of three replicates

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)

3.5 ฟอสฟอรัสในซีรัม แคลเซียมในซีรัม และกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส

ฟอสฟอรัสในซีรัม แคลเซียมในซีรัม และกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) ในระดับที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์แสดงไว้ในตารางที่ 8

ฟอสฟอรัสในซีรัมของปลาดุกพันธุ์ผสม ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa โดยฟอสฟอรัสในซีรัมมีค่าอยู่ในช่วง 13.50±3.68-23.50±0.14 มก./เปอร์เซ็นต์ และมีค่าต่ำที่สุดในปลาที่ได้รับการเสริม AvP 0.8 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 7, 8 และ 9) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับการเสริม AvP 0.3 (สูตรที่ 1, 2, และ 3) และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 4, 5 และ 6) ($p<0.05$)

แคลเซียมในซีรัมของปลาดุกพันธุ์ผสมไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa และไม่มีความแตกต่างในทุกชุดการทดลอง ($p>0.05$) โดยแคลเซียมในซีรัมมีค่าอยู่ในช่วง 12.75±0.35-13.50±0.57 มก./เปอร์เซ็นต์

กิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa และไม่มีความแตกต่างในทุกชุดการทดลอง ($p>0.05$) กิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสมีค่าอยู่ในช่วง 10.00±1.41-16.00±2.83 ยูนิต/ลิตร

ตารางที่ 8 ฟอสฟอรัสในซีรัม แคลเซียมในซีรัม และกิจกรรมเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

Treatment	ฟอสฟอรัสในซีรัม (มก./เปอร์เซ็นต์)	แคลเซียมในซีรัม (มก./เปอร์เซ็นต์)	กิจกรรมเอนไซม์ อัลคาไลน์ฟอฟาเตส (U/l)
T1 (AvP 0.3:AvCa 0.3)	21.80±0.42^{b}	13.25±0.07	10.00±1.41
T2 (AvP 0.3:AvCa 0.5)	22.85±5.16^{b}	13.30±0.28	15.00±2.83
T3 (AvP 0.3:AvCa 0.8)	23.20±0.85^{b}	13.40±0.28	16.00±2.83
T4 (AvP 0.5:AvCa 0.3)	23.50±0.14^{b}	13.25±0.35	12.50±0.71
T5 (AvP 0.5:AvCa 0.5)	21.95±2.33^{b}	12.80±0.14	15.00±0.00
T6 (AvP 0.5:AvCa 0.8)	20.25±1.49^{b}	12.75±0.35	15.00±5.66
T7 (AvP 0.8:AvCa 0.3)	18.45±2.76^{a}	13.15±0.07	14.00±0.00
T8 (AvP 0.8:AvCa 0.5)	17.05±0.49^{a}	13.40±0.28	16.00±0.00
T9 (AvP 0.8:AvCa 0.8)	13.50±3.68^{a}	13.50±0.57	14.00±1.41
P	$p<0.05$	NS	NS
Ca	NS	NS	NS
P*Ca	NS	NS	NS

[1]Mean ± standard deviation of two replicates

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)

3.6 ฟอสฟอรัสในกระดูก แคลเซียมในกระดูก ฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อ และเถ้าในกระดูก

ฟอสฟอรัสในกระดูก แคลเซียมในกระดูก ฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อ และเถ้าในกระดูกของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) ในระดับที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์แสดงไว้ในตารางที่ 9

ฟอสฟอรัสในกระดูกของปลาดุกพันธุ์ผสม ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีฟอสฟอรัสในกระดูกแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 7.15±0.54 - 10.83±0.64 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (AvP 0.5 : AvCa 0.5) มีปริมาณฟอสฟอรัสในกระดูกสูงที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 4 (AvP 0.5 : AvCa 0.3) และ สูตรที่ 6 (AvP 0.5 : AvCa 0.8) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9 (AvP 0.8 : AvCa 0.8) มีฟอสฟอรัสในกระดูกต่ำที่สุด (p<0.05) เมื่อเปรียบเทียบ AvP ที่ระดับเดียวกันพบว่า เมื่อระดับของ AvCa ในอาหารสูงเกินกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสในกระดูกมีค่าลดลง (p<0.05)

แคลเซียมในกระดูกของปลาดุกพันธุ์ผสม พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีแคลเซียมในกระดูกแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 13.58±0.23 - 17.89±0.42 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (AvP 0.3:AvCa 0.3) และสูตรที่ 2 (AvP 0.3:AvCa 0.5) มีปริมาณแคลเซียมในกระดูกต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 13.58±0.23 และ 13.89±0.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9 (AvP 0.8 : AvCa 0.8) มีปริมาณแคลเซียมในกระดูกสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 17.89±0.42 เปอร์เซ็นต์

ฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อของปลาดุกพันธุ์ผสม ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.20±0.02 - 0.49±0.12 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 8 (AvP 0.8 : AvCa 0.5) มีการสะสมของฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อสูงที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (AvP 0.3 : AvCa 0.5) มีฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบ AvP ที่ระดับเดียวกัน พบว่าการเสริม AvCa ที่ระดับต่างๆ ไม่มีผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อ (p>0.05)

เถ้าในกระดูกของปลาดุกพันธุ์ผสมผลการทดลองที่ได้เป็นไปทิศทางเดียวกับฟอสฟอรัสในกระดูก โดยไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีเถ้าในกระดูกแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 45.41±2.01 - 49.95±1.55 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 8 (AvP 0.8 : AvCa 0.5) มีปริมาณเถ้าในกระดูกสูงที่สุด (p<0.05)เมื่อเปรียบเทียบ AvP ที่ระดับเดียวกันพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม AvCa 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเถ้าในกระดูกต่ำที่สุด (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม AvCa 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเถ้าในกระดูกไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 9 ฟอสฟอรัสและแคลเซียมในกระดูก ฟอสฟอรัสในเนื้อ และเถ้าในกระดูก ของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

Treatment	ฟอสฟอรัสในกระดูก (%)	แคลเซียมในกระดูก[2] (%)	ฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อ (%)	เถ้าในกระดูก (%)
T1 (AvP 0.3:AvCa 0.3)	8.25 ± 0.29^{ay}	13.58 ± 0.23^{a}	0.23 ± 0.08^{a}	46.14 ± 0.45^{ay}
T2 (AvP 0.3:AvCa 0.5)	8.21 ± 1.49^{ay}	13.89 ± 0.55^{a}	0.20 ± 0.02^{a}	47.50 ± 0.15^{ay}
T3 (AvP 0.3:AvCa 0.8)	7.57 ± 0.39^{ax}	14.26 ± 0.40^{ab}	0.25 ± 0.16^{a}	45.41 ± 2.01^{ax}
T4 (AvP 0.5:AvCa 0.3)	9.97 ± 1.02^{by}	14.85 ± 0.65^{bc}	0.38 ± 0.12^{ab}	49.17 ± 1.51^{by}
T5 (AvP 0.5:AvCa 0.5)	10.83 ± 0.64^{by}	14.35 ± 0.31^{ab}	0.33 ± 0.02^{ab}	49.31 ± 0.61^{by}
T6 (AvP 0.5:AvCa 0.8)	9.42 ± 0.44^{bx}	14.47 ± 0.40^{ab}	0.23 ± 0.02^{ab}	46.99 ± 3.29^{bx}
T7 (AvP 0.8:AvCa 0.3)	9.90 ± 0.08^{ay}	14.44 ± 0.52^{ab}	0.33 ± 0.13^{b}	48.40 ± 1.53^{by}
T8 (AvP 0.8:AvCa 0.5)	8.47 ± 0.53^{ay}	15.53 ± 0.70^{c}	0.49 ± 0.12^{b}	49.95 ± 1.55^{by}
T9 (AvP 0.8:AvCa 0.8)	7.15 ± 0.54^{ax}	17.89 ± 0.42^{d}	0.38 ± 0.15^{b}	46.13 ± 1.56^{bx}
P	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$
Ca	$p<0.05$	$p<0.05$	NS	$p<0.05$
P*Ca	NS	$p<0.05$	NS	NS

[1]Mean $\pm$ standard deviation of three replicates [2]Mean $\pm$ standard deviation of two replicates

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)

3.7 ส่วนประกอบทางโภชนาการในซากปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลอง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ส่วนประกอบทางโภชนาการในซากปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) ในระดับที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์แสดงไว้ในตารางที่ 10

น้ำหนักแห้งในซากปลาดุกพันธุ์ผสม ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 22.52±0.77-24.46±0.14 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณโปรตีนและไขมันในซาก พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa และมีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง ปริมาณโปรตีนและไขมันมีค่าอยู่ในช่วง 59.03±0.55 - 66.54±0.59 เปอร์เซ็นต์ และ 13.24±0.23 - 27.52±0.72 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยปริมาณโปรตีนมีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (AvP 0.5 : AvCa 0.5) ตรงข้ามกับไขมันที่มีค่าต่ำที่สุด ($p<0.05$) และพบว่าปริมาณไขมันจะมีค่าสูงที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารที่ 1 (AvP 0.3 : AvCa 0.3) ซึ่งเป็นระดับที่ปลาได้รับแร่ธาตุทั้ง 2 ชนิดไม่เพียงพอกับความต้องการ ส่วนปริมาณโปรตีนในซากมีค่าต่ำที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (AvP 0.3 : AvCa 0.5) ($p<0.05$)

ปริมาณเถ้าในซาก ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีปริมาณเถ้าในซากแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม AvP 0.3 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, และ 3) มีปริมาณเถ้าในซากต่ำที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม AvP 0.5 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 4, 5 และ 6) และ AvP 0.8 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 7, 8 และ 9) มีปริมาณเถ้าสูงสุดไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบ AvCa ที่ระดับเดียวกัน พบว่าการเสริม AvCa ที่ระดับต่างๆ ไม่มีผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อ ($p>0.05$)

ปริมาณฟอสฟอรัสที่สะสมในซาก ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีปริมาณฟอสฟอรัสในซากแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม AvP 0.3 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 1, 2, และ 3) มีปริมาณฟอฟอรัสในซากต่ำที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม AvP 0.5 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 4, 5 และ 6) และ AvP 0.8 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 7, 8 และ 9) มีปริมาณฟอสฟอรัสในซากไม่แตกต่างกัน

ปริมาณแคลเซียมที่สะสมในซาก พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีปริมาณแคลเซียมในซากแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 (AvP 0.3:AvCa 0.5) และสูตรที่ 3 (AvP 0.3:AvCa 0.8) มีปริมาณแคลเซียมที่สะสมในซากต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 0.11±0.00 และ 0.10±0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 6 (AvP 0.5 :AvCa 0.8) มีปริมาณแคลเซียมที่สะสมในซากสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 0.16±0.00

เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณแมกนีเซียมที่สะสมในซาก ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีปริมาณแมกนีเซียมในซากไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 10 ส่วนประกอบทางโภชนาการในซากปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลอง 9 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (%บนฐานน้ำหนักแห้ง)[1]

Treatment	น้ำหนักแห้ง	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ฟอสฟอรัส	แคลเซียม[2]	แมกนีเซียม[2]
T1 (AvP 0.3:AvCa 0.3)	22.52±0.77	60.86±0.54^{b}	27.52±0.72^{f}	18.51±0.89^{a}	1.82±0.03^{ay}	0.12±0.00^{b}	0.01±0.00
T2 (AvP 0.3:AvCa 0.5)	24.29±0.41	59.03±0.55^{a}	23.13±0.75^{c}	17.96±1.01^{a}	1.63±0.25^{ay}	0.11±0.00^{a}	0.01±0.00
T3 (AvP 0.3:AvCa 0.8)	24.41±0.76	60.45±0.91^{b}	24.59±0.49^{c}	18.20±0.85^{a}	1.50±0.31^{ax}	0.10±0.00^{a}	0.01±0.00
T4 (AvP 0.5:AvCa 0.3)	24.46±0.14	60.40±0.50^{b}	13.89±0.71^{a}	20.32±0.20^{b}	2.25±0.30^{by}	0.12±0.00^{b}	0.01±0.00
T5 (AvP 0.5:AvCa 0.5)	24.36±0.24	66.54±0.59^{d}	13.24±0.23^{a}	20.71±0.56^{b}	2.50±0.19^{by}	0.14±0.00^{d}	0.01±0.00
T6 (AvP 0.5:AvCa 0.8)	24.12±0.46	62.56±0.43^{c}	18.73±0.64^{d}	20.77±0.88^{b}	2.32±0.07^{bx}	0.16±0.00^{c}	0.01±0.00
T7 (AvP 0.8:AvCa 0.3)	24.37±0.15	63.15±0.79^{c}	15.46±0.91^{b}	21.01±1.24^{b}	2.24±0.34^{by}	0.13±0.00^{cd}	0.01±0.00
T8 (AvP 0.8:AvCa 0.5)	24.26±0.76	62.57±0.75^{c}	16.12±1.06^{bc}	21.36±1.42^{b}	2.40±0.08^{by}	0.13±0.00^{d}	0.01±0.00
T9 (AvP 0.8:AvCa 0.8)	24.07±0.46	60.36±0.64^{b}	17.26±1.78^{cd}	21.47±0.77^{b}	1.77±0.44^{bx}	0.12±0.00^{bc}	0.01±0.00
P	NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	NS
Ca	NS	p<0.05	p<0.05	NS	p<0.05	p<0.05	NS
P*Ca	NS	p<0.05	p<0.05	NS	NS	p<0.05	NS

[1]Mean ± standard deviation of three replicates [2]Mean ± standard deviation of two replicates

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

3.8 การเก็บสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งรวมทั้งหมด ฟอสฟอรัสในรูปของเสียที่เป็นของแข็งทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวม

การเก็บสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งรวมทั้งหมด ฟอสฟอรัสในรูปของเสียที่เป็นของแข็งทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวมของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) ในระดับที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์แสดงไว้ในตารางที่ 11

การเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (AvP 0.5 : AvCa 0.5) มีค่าการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกาย สูงที่สุด (p<0.05) และปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9 (AvP 0.8 : AvCa 0.8) มีค่าการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกายต่ำที่สุด (p<0.05) ในส่วนของฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง ไม่พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9 มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งสูงที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 5 (AvP 0.5 : AvCa 0.5) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งต่ำที่สุด (p<0.05) นอกจากนี้ยังพบว่า ระดับของ AvCa ที่เพิ่มสูงขึ้นเกินกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ส่งผลทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย ดังจะเห็นได้จากปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม AvCa 0.8 เปอร์เซ็นต์ (สูตรที่ 3, 6 และ 9) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบที่ AvP ระดับเดียวกัน (p<0.05) (ตารางที่ 6)

ฟอสฟอรัสที่ปลาขับทิ้งทั้งหมด พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งทั้งหมดแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.55±0.02 - 8.39±0.71 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (AvP 0.3 : AvCa 0.3) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งทั้งหมดต่ำที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9 (AvP 0.8 : AvCa 0.8) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งทั้งหมดสูงที่สุด

ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปของแข็งทั้งหมด พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ปลาที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรมีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปของแข็งทั้งหมดแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 3.52±0.00 – 6.71±0.00 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (AvP 0.3 : AvCa 0.3) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปของแข็งทั้งหมดต่ำที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 8 (AvP 0.8 : AvCa 0.5) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปของแข็งทั้งหมดสูงที่สุด

ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวม พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างระดับของ AvP และ AvCa ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวมมีค่าอยู่ในช่วง 0.03±0.02 - 1.82±0.71 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (AvP 0.3 : AvCa 0.3) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวมต่ำที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่ 1, 2, 3, 4, และ 5

(p>0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 9 (AvP 0.8 : AvCa 0.8) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวมสูงที่สุด(p<0.05)

ตารางที่ 11 การเก็บสะสมฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งรวมทั้งหมด ฟอสฟอรัสในรูปของเสียที่เป็นของแข็งทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวมของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 9 สูตรตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ [1]

Treatment	การเก็บสะสมฟอสฟอรัส (เปอร์เซ็นต์)	ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้ง (กรัม/ กิโลกรัมน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น)	ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งทั้งหมด (กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม)	ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปของแข็งทั้งหมด (กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม)	ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งในรูปสารละลายรวม (กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม)
T1 (AvP 0.3:AvCa 0.3)	48.70 ± 4.78^{b}	2.57 ± 0.38^{ax}	3.55 ± 0.02^{a}	3.52 ± 0.00^{a}	0.03 ± 0.02^{a}
T2 (AvP 0.3:AvCa 0.5)	44.51 ± 7.14^{b}	2.50 ± 0.60^{ax}	3.78 ± 0.30^{a}	3.68 ± 0.00^{c}	0.11 ± 0.30^{a}
T3 (AvP 0.3:AvCa 0.8)	43.66 ± 7.99^{b}	2.63 ± 0.44^{ay}	3.97 ± 0.18^{a}	3.58 ± 0.00^{b}	0.39 ± 0.18^{a}
T4 (AvP 0.5:AvCa 0.3)	52.01 ± 5.81^{bc}	2.50 ± 0.41^{ax}	5.31 ± 0.31^{b}	4.93 ± 0.09^{d}	0.37 ± 0.22^{a}
T5 (AvP 0.5:AvCa 0.5)	63.39 ± 8.84^{c}	1.80 ± 0.51^{ax}	5.49 ± 0.18^{b}	5.11 ± 0.00^{e}	0.38 ± 0.18^{a}
T6 (AvP 0.5:AvCa 0.8)	52.70 ± 5.08^{bc}	2.71 ± 0.68^{ay}	4.99 ± 0.07^{b}	4.93 ± 0.03^{d}	0.06 ± 0.04^{a}
T7 (AvP 0.8:AvCa 0.3)	41.50 ± 6.86^{b}	4.07 ± 0.68^{bx}	7.13 ± 0.44^{c}	6.08 ± 0.00^{f}	1.04 ± 0.44^{b}
T8 (AvP 0.8:AvCa 0.5)	41.67 ± 4.18^{b}	4.51 ± 0.85^{bx}	7.24 ± 0.38^{c}	6.71 ± 0.00^{h}	0.53 ± 0.38^{ab}
T9 (AvP 0.8:AvCa 0.8)	28.67 ± 6.09^{a}	5.60 ± 0.49^{by}	8.39 ± 0.71^{d}	6.56 ± 0.00^{g}	1.82 ± 0.71^{c}
P	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$
Ca	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$	NS
P*Ca	$p<0.05$	NS	$p<0.05$	$p<0.05$	$p<0.05$

[1]Mean $\pm$ standard deviation of three replicates

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvP) และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (AvCa) ในระดับที่แตกต่างกันตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ ส่งผลต่อปลาดุกพันธุ์ผสมในแง่ของการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และองค์ประกอบทางเคมีและแร่ธาตุในตัวปลา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลาอีกหลายชนิด เช่น ปลากดอเมริกัน (*Ictalurus punctatus*) (Robinson *et al*., 1986), ปลานิล (*Oreochromis aureus*) (O'Connell and Gatlin, 1994), ปลา American cichlid (*Cichlasoma urophthalmus*) (Chavez-Sanchez *et al*., 2000), ปลา Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Hossain and Furuichi, 2000a), ปลาเรดซีบรีม และปลาไหล (Lall, 2002)

ในแง่ของการเจริญเติบโตพบว่า เมื่อระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้อยู่ในระดับที่เพียงพอกับความต้องการ จะส่งผลดีต่อการเจริญเติบโต แต่ระดับของแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้จะต้องไม่มากกว่าความต้องการ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Lall (2002) ที่พบว่าปริมาณแร่ธาตุในอาหารที่เหมาะสมกับความต้องการจะทำให้ปลามีการเจริญเติบโตดีที่สุด หากได้รับในปริมาณที่น้อยเกินไปจะส่งผลให้ปลาแสดงอาการขาดแร่ธาตุ ตัวอย่างเช่น ปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอกับความต้องการ จะมีอาหารที่แสดงออกอย่างเด่นชัดคือ การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการสะสมแร่ธาตุในกระดูกต่ำ แต่มีปริมาณไขมันในตัวเพิ่มมากขึ้น (Tacon, 1992; Lall, 2002) ในทางตรงกันข้ามหากได้รับในปริมาณที่มากเกินไปจะเกิดความเป็นพิษ (toxicity) เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในปลาที่ได้รับอาหารที่มี AvP ระดับเดียวกัน พบว่า เมื่อ AvCa เพิ่มสูงขึ้นจาก 0.3 เป็น 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลง สังเกตเห็นได้ชัดเจนในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่ขาดฟอสฟอรัส (สูตรที่ 1, 2 และ 3) โดยปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่ 3 มีการเจริญเติบโตต่ำที่สุด สาเหตุเกิดจากฟอสฟอรัสและแคลเซียมมีความสัมพันธ์แบบเป็นปฏิปักษ์กัน (antagonist) (Govers and Van der Meer, 1993) ในกระบวนการย่อยและดูดซึมเมื่อปลาได้รับแคลเซียมและฟอสฟอรัสจากอาหาร การดูดซึมจะเริ่มต้นบริเวณกระเพาะและลำไส้ แคลเซียมซึ่งอยู่ในรูปแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) ในระดับที่มากเกินไปจะจับตัวกับฟอสเฟตในระบบทางเดินอาหาร เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำและถูกขับถ่ายออกมา (Li and Mathias, 1994) สอดคล้องกับ Van der Meer และคณะ (1990) พบว่า แคลเซียมที่เพิ่มมากขึ้นในอาหารของคนส่งผลให้การขับถ่ายฟอสฟอรัสเพิ่มมากขึ้น ในปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่มีระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ไม่เพียงพอกับความต้องการ (0.3 เปอร์เซ็นต์) แต่มีแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้สูงถึง 0.8 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลให้ปลาได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอและมีการเจริญเติบโตต่ำ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Nakamura (1982) ที่พบว่า ปริมาณ

แคลเซียมในอาหารที่มากเกินไปจะยับยั้งการดูดซึมฟอสฟอรัสในปลาไน (common carp: *Cyprinus carpio*) นอกจากนี้ระดับที่เหมาะสมแล้วยังต้องคำนึงถึงรูปแบบของแคลเซียมที่เสริมลงในอาหารด้วย จากผลการศึกษาของ Hossain และ Furuichi (2000b) ซึ่งทดลองเสริมแคลเซียมจาก 2 แหล่งคือ tricalcium phosphate (TCP) และ calcium-lactate ในอาหารสำหรับเลี้ยงปลา scorpion *(Sebastiscus marmoratus)* พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริม TCP 2 เปอร์เซ็นต์มีการเจริญเติบโตไม่ต่างจากชุดควบคุม (ไม่เสริมแคลเซียมลงในอาหาร) แต่เมื่อเพิ่มระดับของ TCP ขึ้นเป็น 2.5 เปอร์เซ็นต์กลับพบว่ามีการเจริญเติบโตลดลง ขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารเสริม calcium-lactate 2 เปอร์เซ็นต์มีการเจริญเติบโตดีที่สุด แสดงให้เห็นระดับและรูปแบบของแคลเซียมในอาหารเป็นอีกปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต แม้ว่าปลาจะสามารถดูดซึมแคลเซียมจากน้ำมาใช้ประโยชน์ได้เพียงพอกับความต้องการ (You and Hoang, 1987; Hepher, 1988) แต่การเสริมแคลเซียมในระดับที่เหมาะสมลงในอาหารก็มีความจำเป็น ดังผลการทดลองที่ได้กล่าวมาข้างต้น นอกจากนี้การใช้วัตถุดิบจากพืชจำพวกกากถั่วเหลือง รำ และข้าวโพดในการผลิตอาหารสำหรับเลี้ยงปลาอาจทำให้ปลาขาดแคลเซียมและฟอสฟอรัสได้ เนื่องจากฟอสฟอรัสในวัตถุดิบจากพืชประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสทั้งหมดจะอยู่ในรูปของกรดไฟติกซึ่งปลานำไปใช้ประโยชน์ได้น้อย อีกทั้งยังมักรวมอยู่กับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม โพแตสเซียม (Dey and Harborne, 1990) เรียกว่า ไฟติน (phytin) ส่งผลให้การใช้ประโยชน์จากสารอาหารชนิดต่างๆต่ำลง (Francis *et al.*, 2001; Chung, 2002) จากผลการศึกษาของ Debnath และคณะ (2005) พบว่าถ้าเพิ่มปริมาณของแร่ธาตุบางตัว เช่น แคลเซียมและแมกนีเซียมลงในอาหาร จะสามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์จากแร่ธาตุ เช่น สังกะสี เหล็ก และทองแดงได้

ในแง่ของประสิทธิภาพการใช้อาหาร พบว่า การเสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ลงในอาหารไม่ส่งผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพการใช้โปรตีน แต่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหารต่อการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิในแนวทางเดียวกับการเจริญเติบโต กล่าวคือการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิจะมีค่าสูงที่สุดเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสและแคลเซียมในระดับที่เพียงพอกับความต้องการ และระดับแคลเซียมในอาหารที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Murakami (1970) อ้างโดย Sugiura และคณะ (2004) ที่พบว่า การเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตในระดับที่เพียงพอกับความต้องการลงในอาหารมีส่งให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเพิ่มจาก 39 เปอร์เซ็นต์เป็น 48 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนในตัวปลา กล่าวคือในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีระดับของฟอสฟอรัสที่เพียงพอกับความต้องการมีปริมาณโปรตีนในตัวสูงที่สุด ตรงข้ามกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีระดับของฟอสฟอรัสไม่เพียงพอกับความต้องการมีปริมาณโปรตีนในตัวต่ำที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่มีฟอสฟอรัสระดับเดียวกัน พบว่าเมื่อปริมาณแคลเซียมที่เพียงพอกับความต้องการ (0.5 เปอร์เซ็นต์) ส่งผลให้มีปริมาณโปรตีนที่สะสมในตัวสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าการที่ปลา

สามารถใช้โปรตีนในอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีโปรตีนสะสมในร่างกายสูงเนื่องจากระดับของฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารอยู่ในระดับที่เหมาะสม สอดคล้องกับการทดลองของ Chavez-Sanchez และคณะ (2000) ซึ่งทำการทดลองในปลา American cichlid (*Cichlasoma urophthalmus*) และพบว่าเมื่ออัตราส่วนระหว่างแคลเซียมและฟอสฟอรัสเพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในซากลดลง

ในส่วนของไขมันในตัวปลาพบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างแคลเซียมและฟอสฟอรัสในอาหาร กล่าวคือ เมื่อระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ไขมันที่สะสมในตัวลดลง โดยปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีระดับของฟอสฟอรัสที่เพียงพอกับความต้องการมีปริมาณไขมันในตัวต่ำที่สุด ตรงข้ามกับปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีระดับของฟอสฟอรัสไม่เพียงพอกับความต้องการมีปริมาณไขมันในตัวสูงที่สุด และเป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อระดับของแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ของไขมันที่สะสมในซากลดลง แสดงให้เห็นว่าการเสริมแคลเซียมลงในอาหารให้ผลเช่นเดียวกับการเสริมฟอสฟอรัสในอาหารในแง่ของการลดปริมาณไขมันที่สะสมในซาก ทั้งนี้อัตราการกินอาหารตลอดระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งแต่เดิมเชื่อว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสารอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการจะพยายามกินอาหารในปริมาณเพิ่มมากขึ้นทดแทนส่วนที่ขาดหายไป เป็นการยืนยันว่าปริมาณของไขมันที่สะสมในซากไม่เกี่ยวข้องกับปริมาณอาหารที่ปลากิน (Vielma *et al.*, 2002; Ye *et al.*, 2006) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Eya และ Lovell, (1997); Chavez และคณะ (2000); Chunxiao และคณะ (2006) สาเหตุที่ปลามีไขมันสะสมในตัวสูงเมื่อขาดฟอสฟอรัส Vielma และคณะ (2002) อธิบายว่าเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสในระดับที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการ ทำให้ขาดฟอสฟอรัสเพื่อไปใช้ในกระบวนการเอสเทอร์ริฟิเคชัน (esterification) ในการเปลี่ยนไขมันให้เป็นพลังงาน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการเผาผลาญสารอาหาร (intermediate mechanism) ภายในร่างกายมากกว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการเพิ่มปริมาณการกินอาหาร ส่งผลให้องค์ประกอบของไขมันในปลาเพิ่มขึ้น และ Phromkunthong และ Udom (2008) อธิบายว่า ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสไม่เพียงพอกับความต้องการ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งกระบวนการเบตา-ออกซิเดชันของกรดไขมัน ซึ่งเป็นกระบวนการที่เปลี่ยนกรดไขมันไปเป็นพลังงานสำหรับกิจกรรมต่างๆในการดำรงชีวิตของปลา ทำให้ปลานำโปรตีนที่ได้รับนำไปใช้เป็นแหล่งของพลังงานแทนไขมัน (protein sparing effects) ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนในตัวลดลงแต่มีปริมาณไขมันสะสมเพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้ชัดเจนในผลการทดลองครั้งนี้

เถ้าที่สะสมในตัวปลามีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Eya และ Lovell (1997) ที่ศึกษาในปลา channel catfish และ Phromkunthong และ Udom (2008) ที่ศึกษาในปลานิลแดงแปลงเพศ Helland และคณะ (2005) ทดลองย้อมกระดูกปลาแซลมอนวัยอ่อนด้วยสี Alizarin Red พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสไม่เพียงพอจะมีการสะสมของมวลกระดูกต่ำ ซึ่งสังเกตเห็นได้ชัดเจนจากการติดสีย้อม ฟอสฟอรัสส่วน

ใหญ่ที่ปลาได้รับจากอาหารทำหน้าที่ร่วมกับแคลเซียม แมกนีเซียม และแร่ธาตุอื่นๆ เพื่อเป็นส่วนประกอบของโครงร่างแข็ง โดยพบมากในกระดูกและเกล็ดรวมกันประมาณ 85-90 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดที่มีในร่างกาย หรืออาจกล่าวได้ว่าปลามีฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบประมาณ 0.4-0.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว (Li and Mathias, 1994) ส่วนเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสที่สะสมในตัวปลาให้ผลในทิศทางเดียวกับฟอสฟอรัสในกระดูกและเถ้าในกระดูก โดยพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ มีการสะสมของฟอสฟอรัสในกระดูกสูง สอดคล้องกับการทดลองของ Robinson และคณะ (1986) ที่พบว่าการสะสมของแร่ธาตุในกระดูกจะมีค่าสูงสุดในปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับที่เพียงพอต่อความต้องการ ส่วนปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับที่ไม่เพียงพอและมากกว่าความต้องการ มีค่าฟอสฟอรัสในกระดูกต่ำ เมื่อเปรียบเทียบฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับเดียวกันพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริมแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเถ้าในกระดูกสูงที่สุด รองลงมาคือปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่เสริม 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในกระดูกปลาจัดเป็นแหล่งสะสมของแร่ธาตุที่สำคัญต่างๆ ได้เป็นอย่างดี จึงใช้เป็นอวัยวะสำหรับการศึกษาความต้องการแร่ธาตุในระดับที่เหมาะสม ทั้งนี้เพราะในกระดูกปลาในชั้นนอก (extracellular matrix) มีไฮดรอกซีอะพาไทต์ ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) หรือไฮดรอกซีอะพาไทต์และแคลเซียมฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเป็นแหล่งที่มีการสะสมของฟอสฟอรัส และแคลเซียมในปริมาณสูงกว่าอวัยวะอื่นๆ (mineralization) (Chavez-Sanchez *et al.*, 2000; Borlongan and Satoh, 2001; Mai *et al.*, 2006) สอดคล้องกับการทดลองของ Baevertjord และคณะ (1998) พบว่า ปลาแซลมอนวัยอ่อนที่ได้รับอาหารที่ขาดฟอสฟอรัส จะมีปริมาณแมกนีเซียมที่สะสมในตัว กระดูก ผิวหนัง และเกล็ดลดต่ำลง และการเสริมแคลเซียมในอาหารไม่สามารถทดแทนฟอสฟอรัสที่ขาดไปได้ ในทางตรงกันข้ามปริมาณของแคลเซียมที่เพิ่มสูงขึ้นอาหารกลับส่งผลให้ปริมาณแมกนีเซียมในเกล็ดและเหล็กในกระดูกลดลง และ Ye และคณะ (2006) พบว่าปลาเก๋า (*Epinephelus coioides*) ที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการเสริมฟอสฟอรัส ส่งผลให้มีองค์ประกอบของเถ้า ฟอสฟอรัสในกระดูก และฟอสฟอรัสในกระดูกปิดเหงือกต่ำ แสดงให้เห็นว่าปริมาณแคลเซียมที่มากเกินไปส่งผลในแง่ลบต่อการสะสมแมกนีเซียมและเหล็กในส่วนต่างๆของตัวปลา การทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณของฟอสฟอรัสและเถ้าในกระดูกสามารถเป็นตัวชี้ให้ทราบถึงประสิทธิภาพการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้ (Watanabe *et al.*, 1980; Ketola, and Richmond, 1994; Åsgård and Shearer, 1997; Jahan *et al.*, 2001) ส่วนฟอสฟอรัสในกล้ามเนื้อ พบว่าเมื่อระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ฟอสฟอรัสถูกนำไปใช้ประโยชน์และเก็บสะสมในกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับผลการศึกษาของอนุรักษ์ (2551) ซึ่งทำการทดลองเสริมโมโนโซเดียมฟอสเฟตลงในอาหารสำหรับปลานิลแดงแปลงเพศและพบว่าฟอสฟอรัสที่สะสมในกล้ามเนื้อจะเพิ่มขึ้นตามระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหาร

การศึกษาผลทางเคมีโลหิตพบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมมีค่าต่ำที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.8 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Lall (1991) ที่กล่าวว่าระดับของฟอสฟอรัสในเลือดจะเป็นตัวควบคุมกระบวนการดูดซึมฟอสฟอรัสในอาหาร เมื่อฟอสฟอรัสในอาหารมีปริมาณมากเกินไปการดูดซึมไปใช้ประโยชน์จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ปลาได้รับฟอสฟอรัสไม่เพียงพอ ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3 เปอร์เซ็นต์ และ 0.5 เปอร์เซ็นต์นั้นจะเกิดการดูดซึมอย่างช้าๆ ทำให้ได้รับฟอสฟอรัสในปริมาณที่มากกว่า โดยกลไกการควบคุมการดูดซึมแร่ธาตุมาจากฮอร์โมนจากต่อมพาราไธรอยด์ (Parathyroid hormone:PTH) ซึ่งผลต่อระดับฟอสฟอรัสในเลือด เมื่อฟอสฟอรัสในทางเดินอาหารอยู่ในระดับที่มากเกินไปพาราไธรอยด์ฮอร์โมน จะยับยั้งการดูดซึมแร่ธาตุโดยเพิ่มการขับออกทางปัสสาวะ ทำให้ปลามีปริมาณฟอสฟอรัสในซีรัมต่ำ (กนกธร, 2546; Simpraga *et al*., 2004) กิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสและแคลเซียมในซีรัมนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ซึ่งแคลเซียมในซีรัมนั้นจะถูกกลไกของร่างกายควบคุมให้คงที่อยู่โดยตลอด ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจะมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อการเปลี่ยนแปลงหลายปัจจัย เช่น คุณภาพน้ำ อาหารที่ได้รับ อุณหภูมิ และช่วงอายุ (Bowser *et al*., 1989; Sauer and Haider, 1979; Sauer and Haider, 1977; Sakaguchi and Hamaguchi, 1979; Lie *et al*., 1988; Johnston *et al*., 1994 อ้างโดย Phromkunthong and Udom, 2008)

การเก็บสะสมฟอสฟอรัสในตัวปลาจากการทดลองในครั้งนี้ พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับที่เพียงพอกับความต้องการ มีการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในตัวสูงที่สุด Jahan และคณะ (2003) รายงานว่า ปลาสามารถใช้ฟอสฟอรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อได้รับฟอสฟอรัสในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการ เมื่อระดับของฟอสฟอรัสในอาหารสูงเกินกว่าความต้องการ จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการนำฟอสฟอรัสไปใช้เพื่อการสะสมลดลง สอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับของฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้มากเกินกว่าความต้องการ ส่งผลให้การเก็บสะสมฟอสฟอรัสในตัวปลาลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปแบบโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหาร ซึ่งเป็นรูปแบบที่ปลาย่อยและดูดซึมได้ดีที่สุดในปริมาณที่มากกว่าความต้องการของปลา ทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสในระบบทางเดินอาหารมีปริมาณมากในช่วงระยะเวลาหนึ่ง แต่กระบวนการดูดซึมฟอสฟอรัสในอาหารจะขึ้นอยู่กับระดับของฟอสฟอรัสในเลือด (Lall, 1991) เมื่อระดับของฟอสฟอรัสในเลือดเพิ่มขึ้นจนถึงจุดอิ่มตัวแล้ว จะส่งผลให้กระบวนการดูดซึมเพื่อนำไปใช้ลดลง ฟอสฟอรัสบางส่วนไม่ถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ทันและถูกขับทิ้งออกมา (Rodehutscord *et al*., 2000; Saijjadi and Carter, 2004) การเก็บสะสมฟอสฟอรัสในตัวปลาสามารถบ่งชี้ถึงปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งได้ ซึ่งปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งมีปริมาณมากที่สุดในปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่มีฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้มากกว่าความต้องการ สอดคล้องกับการทดลองของ Tudkaew และคณะ (2008) ซึ่งทดลองเสริมฟอสฟอรัสในรูปแบบไดแคลเซียมฟอสเฟต

ในอาหารและพบว่ามีปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าปลาสามารถดูดซึมอนินทรีย์ฟอสเฟตได้ในอัตราสูง แต่การเพิ่มอนินทรีย์ฟอสเฟตไม่ได้ช่วยเพิ่มความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัสในวัตถุดิบที่มีอยู่เดิมในอาหาร ทั้งนี้เพราะข้อจำกัดในการนำไปใช้ประโยชน์จากรูปแบบและสารต้านโภชนาการที่มีอยู่ในวัตถุดิบ ดังตัวอย่างจากการศึกษาในปลา Japanese flounder (Uyan, *et al*., 2007) และปลานิลแดงแปลงเพศ (Tudkaew *et al*., 2008) แสดงให้เห็นว่าการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารไม่สามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งได้ และการเสริมในปริมาณที่มากขึ้นจะยิ่งส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับทิ้งเพิ่มมากขึ้น (Kim *et al*., 1998; Roy and Lall, 2003) Cho และ Bureau (2001) กล่าวว่าแร่ธาตุในอาหารที่สมดุลและพอดีกับความต้องการของปลามีผลทำให้การขับทิ้งของเสียจากอาหารนั้นลดลง และมีปริมาณการเก็บสะสมฟอสฟอรัสในร่างกายสูง ส่วนปลาที่ได้รับฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับที่ไม่เพียงพอกับความต้องการมีฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งต่ำเช่นกัน โดย Bureau และ Cho (1999) อธิบายว่าเมื่อปลาได้รับฟอสฟอรัสจากอาหารไม่เพียงพอ ปลาจะขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้น้อยมาก แสดงให้เห็นว่าปลาสามารถนำฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ไปใช้เพื่อการสะสมได้แทบทั้งหมด และการขับฟอสฟอรัสในรูปที่สามารถละลายน้ำได้จะเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระดับของฟอสฟอรัสในอาหาร (Availa *et al*., 2000; Coloso *et al*., 2001a,b) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การเสริมฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ในระดับ 0.3 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสำหรับปลาดุกพันธุ์ผสม ส่งผลให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการสะสมแร่ธาตุในตัวปลามีค่าสูงที่สุด รวมถึงทำให้ฟอสฟอรัสที่ถูกขับทิ้งมีปริมาณที่ลดลง แสดงให้เห็นว่าปลาดุกพันธุ์ผสมสามารถนำแคลเซียมและฟอสฟอรัสจากอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ดีที่สุดเมื่อได้รับในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการและในสัดส่วนที่เท่ากัน แต่หากเสริมตัวใดตัวหนึ่งในระดับที่มากเกินไปจะส่งผลในเชิงลบ แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างแคลเซียมและฟอสฟอรัสซึ่งเป็นไปในรูปแบบที่เป็นปฏิปักษ์กัน นอกจากนี้ยังทำให้ทราบว่า แม้ว่าปลาจะสามารถดูดซึมแคลเซียมจากน้ำมาใช้ประโยชน์ได้เพียงพอกับความต้องการ แต่การเสริมแคลเซียมลงในอาหารในระดับที่เพียงพอกับความต้องการช่วยให้ปลามีการเจริญเติบโตและสามารถนำเอาสารอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ดีขึ้น

ข้อเสนอแนะจากการทดลอง

1. ควรมีการศึกษาถึงรูปแบบหรือแหล่งของฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่แตกต่างออกไป เช่น วัตถุดิบจากพืชและสัตว์ หรือจากสารสังเคราะห์รูปแบบอื่นๆ ทั้งนี้เพราะในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้โมโนโซเดียมฟอสเฟตและแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสและแคลเซียม ซึ่งเป็นแหล่งที่ปลาดุกพันธุ์ผสมสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีที่สุด

2. ควรศึกษาถึงปัจจัยอื่นๆเพิ่มเติมที่ช่วยเสริมการนำแร่ธาตุทั้งสองชนิดนี้ไปใช้ประโยชน์ เช่น เอนไซม์ไฟเตส คุณสมบัติทางเคมีของน้ำ เพื่อต่อยอดความรู้เป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น

3. ควรมีการศึกษาความเป็นปฏิปักษ์ระหว่างฟอสฟอรัสและแคลเซียม กับสารอาหารชนิดอื่น เช่น แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี และวิตามินกลุ่มอื่นๆ เช่น วิตามินดี เพิ่มเติม

4. การเลี้ยงในตู้ทดลองแตกต่างจากการเลี้ยงในบ่อดินซึ่งเป็นรูปแบบการเลี้ยงที่ใช้โดยทั่วไป ควรศึกษาโดยเลี้ยงในบ่อดินด้วยเพื่อให้สอดคล้องกับสภาพการเลี้ยงที่เป็นจริง เพราะมีปัจจัยหลายปัจจัยที่ในไม่สามารถทำให้ตู้ทดลองเหมือนกับการเลี้ยงในบ่อดินได้

เอกสารอ้างอิง

กนกธร ปิยธำรงรัตน์. 2546. เนื้อเยื่อวิทยา. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 408 หน้า.

กรมประมง. 2546. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2543. เอกสารฉบับที่ 4/2546. กรุงเทพฯ: ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมประมง. มปป.ก. ปลาที่เพาะเลี้ยงง่าย. เอกสารและคำแนะนำ. กรุงเทพฯ: กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ฝ่ายเผยแพร่ กองส่งเสริมการประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมประมง. มปป.ข. การเลี้ยงปลาดุกบิ๊กอุย. เอกสารและคำแนะนำ. กรุงเทพฯ: กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ฝ่ายเผยแพร่ กองส่งเสริมการประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

มะลิ บุณยรัตผลิน. 2530. อาหารปลาดุก. ว.เกษตรวันนี้ 6: 47-82.

ลิลา เรืองแป้น. 2547. ราคากุ้งและสัตว์น้ำจืด. ว. สัตว์น้ำ 15: 97-100.

วิมล จันทรโรทัย, ประเสริฐ สีตะสิทธิ์ และศิริพร ราชภักดี. 2536. อัตราส่วนสูงสุดของคาร์โบไฮเดรตจากปลายข้าวต่อลิปิดในอาหารปลาดุกลูกผสม. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ (วิทยาศาสตร์) 28: 49-57.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. โภชนศาสตร์ และการให้อาหารสัตว์น้ำ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2536. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ศุภชัย นิลวานิช. 2548. มานพ ตั้งตรงไพโรจน์ ผู้ปลุกปั้นให้ปลาดุกเป็นธุรกิจพันล้าน. ว.เทคโนโลยีชาวบ้าน 369: 54-56.

ศูนย์วิจัยกสิกรไทย. 2551. การเลี้ยงปลาน้ำจืดในกระชัง : ผลตอบแทนสูง...แต่พึงระวังปัจจัยเสี่ยง. เข้าถึงได้จาก http://www.positioningmag.com/prnews/prnews.aspx?id=57778. [22 สิงหาคม 2551].

สมหมาย เชี่ยววารีสัจจะ. 2539. การจัดการคุณภาพน้ำ. เอกสารคำสอน. สงขลา: ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2551. ข่าวการผลิต การตลาด ผลิตผลการเกษตร. เข้าถึงได้จาก http://www.ryt9.com/news/2008-11-12/46875184. [25 พฤศจิกายน 2551]

อนุรักษ์ เขียวขจรเขต. 2551. ผลของอนินทรีย์ฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อำนวย โชติญาณวงษ์. 2525. อาหารปลา. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Andrews, J.W., Murai, T. and Campbell, C. 1973. Effects of dietary calcium and phosphorus on growth, food conversion, bone ash and hematocrit levels of catfish. J. Nutr. 103: 766–771.

AOAC (Association of official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Washington DC: AOAC.

Åsgård, T. and Shearer, K.D. 1997. The dietary P requirement of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) and its relationship to the P requirements reported for other fishes. Aquac. Nutr. 3: 17-23.

Availa, E.M., Tu, H., Basantes, S.P. and Ferraris, R.P. 2000. Dietary phosphorus regulates intestinal transport and plasma concentrations of phosphate in rainbow trout. J. Comp. Physiol. 170: 201-209.

Baeverfjord, G., Åsgård, T. and Shearer, K.D., 1998. Development and detection of phosphorus deficiency in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr and post-smolts. Aquac. Nutr. 4: 1–11.

Boonyaratpalin, M. and Phromkunthong, W. 2001. Bioavailability of ascorbyl phosphate calcium in hybrid catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunther) x *Clarias gariepinus* (Burchell) feed. Aquac. Res. 32: 126-134.

Borlongan, I.G. and Satoh, S. 2001. Dietary phosphorus requirement of juvenile milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal). Aquac. Res. 32: 26-32.

Boyd, C.E. 1971. Phosphorus dynamic in ponds. Proc. Ann. Conf. Southeast, Assoc. Game Fish Comm. 25: 418-426.

Bureau, D.P. and Cho, C.Y. 1999. Phosphorus utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Estimation of dissolved phosphorus waste output. Aquaculture 179: 127-140.

Chavez-Sanchez, C., Martinez-Palacios, C.A., Martinez-Perez, G. and Ross, L.G. 2000. Phosphorus and calcium requirements in the diet of the American cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Günther). Aquaculture 6: 1- 9.

Cho, C.Y., Hynes, J.D., Wood, K.D. and Yoshida, H.K. 1991. Quantization of fish culture wastes by biological (nutritional) and chemical (limnological) methods; the development of high nutrient dense (HND) diets. *In*: Nutritional strategies and Aquaculture Waste. Proceedings of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste. Cowey, C.B. and Cho, C.Y. (Eds.). University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada. pp. 51-64.

Cho, C.Y., Hynes, J.D., Wood, K.R. and Yoshida, H.K. 1994. Development of high-nutrient-dense, low-pollution diets and prediction of aquaculture waste using biological approaches. Aquaculture 124: 293-305.

Cho, C.Y. and Bureau, D.P. 2001. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. Aquac. Res. 32: 349-360.

Chung, T.K. 2002. How to get the best out of phytase. Feed Mix. 10: 27-29.

Chunxiao, Z., Kangsen, M., Qiunghui, A., Wenbing, Z., Qingyuan, D., Beiping, T., Hongming, M., Wei, X., Zhinguo, L. and Xiaojie, W. 2006. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 255: 201-209.

Coloso, R.M., Basantes, S.P., King, K., Hendrix, M.A., Fletcher, J.W., Weis, P. and Ferraris, R.P. 2001a. Effect of dietary Phosphorus and vitamin D3 on phosphorus levels in effluent from the experimental culture of rainbow trout. Aquaculture 202: 145-161.

Coloso, R.M., Basantes, S.P., Werner, A. and Ferraris, R.P. 2001b. Effect of dietary phosphorus on sodium phosphate contransporter expression in trout intestine and kidney. FASEB. J. 15: 841.

Debnath, D., Sahu, N.P., Pal, A.K., Jain, K.K., Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C. 2005. Mineral status of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings in relation to supplemental phytase: absorption, whole-body and bone mineral content. Aquac. Res. 36: 326-335.

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

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 Wildlife Tech. Pap. No.9.

Eya, J.C. 1997. Reducing phosphorus content of catfish feeds in ponds. Ph.D. Dissertation, Auburn University, Auburn, AL, 114 pp.

Eya, J.C. and Lovell, R.T. 1997. Available phosphorus requirement of food-size channel catfish fed practical diets in pond. Aquaculture 154: 283-291.

Flik, G., Fenwick, J.C., Kolar, Z., Mayer-Gostan, N. and Wendelaar Bonga, S.E. 1986. Effects of low ambient calcium levels on whole body Ca^{2+} flux rates and internal calcium pools in the freshwater cichlid teleost, *Oreochromis mossambicus*. J. Exp. Biol. 120: 249-264.

Francis, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effect in fish. Aquaculture 199: 197-227.

Furuya, W.M., Gonçalves, G.S., Furuya, V.R.B. and Hayashi, C. 2001. Phytase as feeding for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Performance and digestibility. Rev. Bras. Zoot. 30: 924-929.

Gatlin, D. and Phillips, H.F. 1989. Dietary calcium, phytate and zinc interactions in channel catfish. Aquaculture 79: 259-266.

Govers, M.J. and Van der Meer, R. 1993. Effects of dietary calcium and phosphate on the intestinal interactions between calcium, phosphate, fatty acids, and bile acids. Gut. 34: 365- 370.

Green, J.A., Brannon, E.L. and Hardy, R.W. 2002. Effects of dietary phosphorus and lipid levels on utilization and excretion of phosphorus and nitrogen by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac. Nutr. 8: 291-298.

Halver, J.E. and Hardy, R.W. 2002. Fish Nutrition. 3rd Edition. New York: Academic Press.

Helland, S., Refstie, S., Espmark, A., Hjeldea, K. and Baeverfjord, G. 2005. Mineral balance and bone formation in fast-growing Atlantic salmon parr (*Salmo salar*) in response to dissolved metabolic carbon dioxide and restricted dietary phosphorus supply. Aquaculture 250: 364-376.

Hepher, B. 1988. Nutrition of Pond Fishes. Cambridge: Cambridge University Press.

Hossain, M.A. and Furuichi, M. 2000a. Necessity of dietary calcium supplement to the diet of Japanese flounder. Fish. Sci. 66: 660-664.

Hossain, M.A. and Furuichi, M. 2000b. Essentiality of dietary calcium supplement in fingerling scorpion fish (*Sebastiscus marmoratus*). Aquaculture 189: 155-163.

Jahan, P., Watanabe, T., Satoh, S. and Kiron, V. 2001. Formulation of low P loading diets for carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquac. Res. 32: 361-368.

Jahan, P., Watanabe, T., Kiron, V. and Satoh, S. 2003. Improved carp diets based on plant protein sources reduce environmental phosphorus loading. Fish. Sci. 69: 219-225.

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. Aquaculture 127: 61-68.

Ketola, H.G. and Harland, B.F. 1993. Influence of phosphorus in rainbow trout diets on phosphorus discharges in effluent water. Trans. Am. Fish. Soc. 104: 1120-1126.

Ketola, H.G. and Richmond, M.E. 1994. Requirement of rainbow trout for dietary P and its relationship to the amount discharged in hatchery effluent. Trans. Am. Fish. Soc. 122: 587-594.

Kim, J.D., Kim, K.S., Song, J.S., Lee, J.Y. and Jeong, K.S. 1998. Optimum level of dietary monocalcium phosphorus based on growth and phosphorus excretion of miror carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture 161 : 334-337.

Lall, S.P. 1991. Digestibility, metabolism and excretion of dietary phosphorus in fish. *In* Nutritional Strategies and Aquaculture Waste. Proceedings of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste. University of Guelph, Guelph Ontario, Canada, pp. 21– 36.

Lall, S.P. 2002. The Minerals. *In*: Fish Nutrition, 3rd Edition. Halver, J.E. and Hardy, R.W. (Eds.). New York: Academic Press.

Lall, S.P. and Bishop, F.J. 1977. Studies on mineral and protein utilization by Atlantic salmon *Salmo salar*. grown in sea water. Fish. Mar. Serv. Tech. Rep. 688: 1–16.

Lee, G.F. 1973. Role of phosphorus in eutrophication and diffuse source control. Prog. Water Technol. 7: 111-128.

Li, S. and Mathias, J. 1994. Freshwater fish culture in China: Principles and Practice. Developments in aquaculture and fisheries science 28: 127 p.

Lovell, T. 1998. Nutrition and feeding of fish. 2nd Edition. Dordrecht: Kluwer Academic publishers.

Mai, K., Zhang, C., Ai, Q., Duan, Q., Xu, W., Zhang, L., Liufu, Z. and Tan, B. 2006. Dietary phosphorus requirement of large yellow coraker, *Pseudosciaena crocea* R. Aquaculture 251: 346-353.

Meissl, H., Kroeber, S., Yanez, J., Korf, H. W. 1996. Regulation of melatonin production and intracellular calcium concentrations in the trout pineal organ. Cell Tissue Res. 286: 315–323.

Mgbenka, B.O. and Ugwu, L.L.C. 2005. Aspects of mineral composition and growth rate of the hybrid African catfish fry fed inorganic phosphorus-supplemented diets. Aquac. Res. 36: 479-485.

Nakamura, Y. 1982. Effects of dietary phosphorus and calcium contents on the absorption of phosphorus in the digestive tract of carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 48: 409-413.

Nose, T. and Arai, S. 1979. Recent advances in studies on mineral nutrition in Japan. *In*: Advances in Aquaculture. Pillay, T.V.R. and Dill, A. (Eds). Farahampp: Fishing News Books. pp 584-590.

NRC (National Research Council) 1993. Nutrient Requirements of Fish. Washington DC: National Academy Press.

O'Connell, J.P. and Gatlin, D. 1994. Effects of dietary calcium and vitamin D_3 on weight gain and mineral composition of the blue tilapia (*Oreochromis aureus*) in low-calcium water. Aquaculture 125: 107-117.

Ogino, C. and Takeda, H. 1976. Mineral requirement of carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 42: 793-801.

Ogino, C. and Takeda, H. 1978. Requirements of rainbow trout for dietary calcium and phosphorus. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 44: 1019–1022.

Papatryphon, E., Howell, R.A. and Soares Jr., J.H. 1999. Growth and mineral absorption by striped bass *Morone saxatilis* fed a plant feedstuff based diet supplemented with phytase. J. World Aquac. Soc. 30: 161-173.

Paul, B.N., Sarker, S., Giri, S.S., Rangacharyulu, P.V. and Mohanty, S.N. 2004. Phosphorus requirements and optimum calcium and phosphorus ratio in the diet of mrigal *Cirrhinus mrigala* (Ham.) fingerlings. Aquac. Res. 20: 306-309.

Phromkunthong, W. and Udom, U. 2008. Available phosphorus requirement of sex-reversed red tilapia fed all-plant diets. Songklanakarin J. Sci. Technol. 30: 7-16.

Raksakulthai, N. 1996. Processing of hybrid Clarias catfish. INFOFISH-Int 3: 33-35.

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

Robinson, E.H. and Li, M.H., 1996. A practical guide to nutrition, feeds, and feeding of catfish (revised). Miss. Agric. For. Exp. St. Bull. No. 1041. Mississippi State University, Mississippi State, MS, 26 pp.

Robinson, E.H., Rawles, S.D., Brown, P.B., Yette, H.E. and Greene, L.W. 1986. Dietary calcium requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, reared in calcium-free water. Aquaculture 53: 263-270.

Rodehutscord, M., Gregus, Z. and Pfeffer, E. 2000. Effect of phosphorus intake on faecal and non faecal phosphorus excretion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the consequences for comparative phosphorus availability studies. Aquaculture 188: 383–398.

Roy, P.K. and Lall, S.P. 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). Aquaculture 221: 451-468.

Saijjadi, M. and Carter, C.G. 2004. Dietay phytase supplementation and the utilization of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a canola-meal-based diet. Aquaculture 240: 417-431.

Sakamoto, S. and Yone, Y. 1973. Effect of dietary calcium/phosphorus ratio upon growth, feed efficiency and blood serum Ca and P level in red sea bream. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 39: 343-348.

Šimpraga, M., Raukar, J. and Novak, I.L. 2004. Calcium, phosphorus and magnesium levels and alkaline phosphatase activity in the blood of one-day-old ostriches. Veterinarski. Arhiv. 74: 177-188.

Sugiura, S.H., Hardy, R.W. and Roberts, R.J. 2004. The pathology of phosphorus deficiency in fish-a review. J. Fish Dis. 27: 255-265.

Swick, R.A. and Ivey, F.J. 1992. Phytase: the value of improving phosphorus retention. Feed. Manage. 43: 8-77.

Tacon, A.G. 1992. Nutritional fish pathology. Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish. FAO Fisheries Technical Paper, vol. 330. Rome: FAO.

Tudkaew, J., Gabaudan, J. and Phromkunthong, W. 2008. The supplementation of phytase RONOZYME® P on the growth and the utilisation of phosphorus by sex-reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). Songklanakarin J. Sci. Technol. 30: 17-24.

Uyan, O., Koshio, S., Ishikawa, M., Uyan, S., Ren, T., Yokoyama, S., Komilus, F.C. and Michael, F.R. 2007. Effects of dietary phosphorus and phospholipid level on growth, and phosphorus deficiency signs in juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 267: 44-54.

Van der Meer, R., Welberg, J.W., Kuipers, F., Kleibeuker, J.H., Mulder, N.H., Termont, D.S., Vonk, R.J., De Vries, H.T. and De Vries, E.G. 1990. Effects of supplemental dietary calcium on the intestinal association of calcium, phosphate, and bile acids. Gastroenterology 99: 1653-1659.

Vielma, J. and Lall, S.P. 1998. Phosphorus utilization by Atlantic salmon *Salmo salar* reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. Aquaculture 160: 117-128.

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*). Aquaculture 163: 309-323.

Vielma, J., Koskela, J. and Ruohonen, K. 2002. Growth, bone mineralization, and heat and low oxygen tolerance in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) fed with graded levels of phosphorus. Aquaculture 212: 321–333.

Watanabe, T., Takeuchi, T., Murakami, A. and Ogino, C. 1980. The availability to *Tilapia niloticus* of phosphorus in white fish meal. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46: 897-899.

Wilson, R.P., Robinson, E.H., Gatlin, D. and Poe, W.E. 1982. Dietary phosphorus requirement of channel catfish. J. Nutr. 112: 1197-1202.

Ye, C.X., Liu, Y.J., Tian, L.X., Mai, K.S., Du, Z.Y., Yang, H.J. and Niu, J. 2006. Effect of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, mineral content and body composition of juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. Aquaculture 255: 263-271.

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.

You, W.Z. and Hoang, Z.Z. 1987. Requirement of fish for calcium and phosphorus. Freshw. Fish. 5: 43-46.

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