พัฒนาการทางเนื้อเยื่อวิทยาของระบบย่อยอาหาร และการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปขนาดเล็กสำหรับปลากะพงขาววัยอ่อน (*Lates calcarifer* Bloch)

Histological development of digestive tract and development of microparticulate diets for Asian seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch)

ผศ.ดร. ชุติมา ตันติกิตติ

ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา

เมษายน 2561

การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของทางเดินอาหารและการพัฒนาอาหารสำเร็จรูปขนาดเล็กสำหรับปลากะพงขาว (*Lates calcarifer* Bloch) วัยอ่อน

Histological changes of digestive tract and development of microparticulate diets for Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae

บทคัดย่อ

การศึกษาประกอบด้วย 2 การทดลอง ได้แก่ การศึกษาพัฒนาการทางเนื้อเยื่อวิทยาของระบบย่อยอาหารในปลากะพงขาววัยอ่อนอายุแรกฟักออกเป็นตัว จนถึงอายุ 30 วัน และการศึกษาผลของชนิดสารเชื่อมประสานและระดับโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาทูแขกต่ออัตรารอดตาย การเจริญเติบโต กิจกรรมเอนไซม์ย่อยอาหารหลัก และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาในปลากะพงขาววัยอ่อน

การทดลองที่ 1 ศึกษาพัฒนาการทางเนื้อเยื่อวิทยาของระบบย่อยอาหาร โดยสุ่มเก็บตัวอย่างลูกปลาทุกวันก่อนให้อาหารตั้งแต่อายุแรกฟัก-7 วัน และทุก 2 และ 3 วัน สำหรับลูกปลาอายุ 8-21 วัน และ 22-30 วัน ตามลำดับ พบว่าลูกปลาอายุแรกฟักออกเป็นตัว มีระบบย่อยอาหารเป็นแบบท่อตรง และถุงสะสมอาหารขนาดใหญ่อยู่บริเวณส่วนหน้าติดกับส่วนหัว ในระยะนี้ลูกปลาจึงอาศัยอาหารภายในถุงสะสมอาหาร จนกระทั่งมีอายุ 2 วัน จึงสามารถกินอาหารจากภายนอกได้ ช่องปากและคอหอยมีการพัฒนาขึ้น แต่ยังไม่สามารถแยกกระเพาะอาหารและลำไส้ออกจากกันได้ชัดเจน จนกระทั่งอายุ 4 วัน เมื่อลูกปลาอายุ 3 วัน เริ่มกินโรติเฟอร์เป็นอาหาร ระบบทางเดินอาหารจึงเริ่มพัฒนามากขึ้น โดยพบเยื่อบุผิวบริเวณหลอดอาหารมีการยกตัวขึ้น และพบ Goblet cell เล็กน้อย พบเซลล์ตับอยู่บริเวณใต้ถุงสะสมอาหารตั้งแต่ลูกปลาอายุ 1 วัน เมื่อลูกปลาอายุ 4 วัน จึงพบเซลล์ตับอ่อนอยู่รวมกันเป็นกลุ่มแทรกอยู่ระหว่างเซลล์ตับ เมื่อถุงสะสมอาหารยุบลงในวันที่ 5 พบถุงลมพัฒนาขึ้นมาแทน พบฟัน และตุ่มรับรสในวันที่ 6 และ11 หลังฟักออกเป็นตัว จากนั้นมีการเพิ่มขนาดและปริมาณเซลล์ของอวัยวะในระบบย่อยอาหารตามการเจริญเติบโตของลูกปลา โดยเมื่อลูกปลาอายุ 17 วัน พบต่อมแกสตริก (Gastric gland) บริเวณกระเพาะอาหารตอนต้น ซึ่งเป็นลักษณะบ่งชี้ถึงการเจริญเป็นปลาเต็มวัยที่มีระบบย่อยอาหารสมบูรณ์

การทดลองที่ 2 ใช้ปลากะพงขาวอายุ 16 วัน หลังฟักเป็นตัว ที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.0031-0.0042 กรัมต่อตัว ศึกษาการใช้อาหารที่มีการแทนที่โปรตีนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสต จากปลาทูแขกที่ระดับ 0, 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ใช้เจลาติน และคาราจีแนน เป็นสารเชื่อมประสาน กำหนดระดับโปรตีนและไขมันในอาหาร เท่ากับ 50 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีชุดการทดลองอ้างอิงเป็นเนื้อปลาทูสดและอาหารอนุบาลปลาทะเลทางการค้า ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ เลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ภายหลังการให้อาหารเป็นเวลา 7 วัน พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารแต่ละชุดการทดลองมีอัตรารอดตายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ปลาที่ได้รับเนื้อปลาทูสดและอาหารอนุบาลปลาทะเลทางการค้าทยอยตายจนหมดในสัปดาห์ที่ 3 เนื่องจาก

ไม่ยอมรับอาหาร เมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารเชื่อมประสานและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสต ($P>0.05$) ต่ออัตรารอดตาย น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ แต่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนไฮโดรไลเสต ที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ (ชุดควบคุม) และ 30 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่าที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีน มีผลจากอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสารเชื่อมประสานและระดับของโปรตีนไฮโดรไลเสต ($P<0.05$) โดยกิจกรรมเอนไซม์เปปซินในปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนไฮโดรไลเสต 30 เปอร์เซ็นต์ และใช้คาราจีแนนเป็นสารเชื่อมประสานในอาหาร มีค่าสูงที่สุด ($P<0.05$) และกิจกรรมเอนไซม์ ทริปซิน ในปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่ใช้คาราจีแนนเป็นสารเชื่อมประสานและไม่มีการแทนที่โปรตีนปลาป่นมีค่าสูงที่สุด แตกต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสในปลาที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนไฮโดรไลเสต 30 เปอร์เซ็นต์ มีระดับของกิจกรรมต่ำที่สุด ($P<0.05$) สำหรับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาของระบบย่อยอาหาร พบการเพิ่มขนาดของอวัยวะ ปริมาณและขนาดของเซลล์ในเนื้อเยื่อ ตามการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว

ดังนั้น อาหารเม็ดจิ๋วที่มีการแทนที่โปรตีนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาทูแขก และใช้เจลาติน และคาราจีแนน เป็นสารเชื่อมประสาน ส่งผลให้ปลากะพงขาวอายุ 16-17 วัน ที่มีระบบย่อยอาหารเจริญสมบูรณ์ สามารถยอมรับอาหารได้ดี เมื่อพิจารณาอัตรารอดตาย การเจริญเติบโต กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีน และต้นทุนของสารเชื่อมประสาน พบว่า อาหารที่มีการแทนที่โปรตีนปลาป่นด้วยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาทูแขกที่ระดับ 30 เปอร์เซ็นต์ และใช้เจลาตินเป็นสารเชื่อมประสาน มีความเหมาะสมสำหรับการเลี้ยงปลากะพงขาวในช่วงอายุนี้

ABSTRACT

The study consisted of two experiments: Experiment 1, the study on histological changes of the digestive systems in Asian seabass (*Lates calcarifer*) larval stages (0-30 days post hatch, DPH) and Experiment 2, the study on types of binders and levels of round scad mackerel hydrolysate on acceptability, survival rate, growth, enzyme activity and histological changes in Asian seabass larvae.

In the first experiment, samples of larvae for histological study were collected randomly before morning feeding every day at first hatch–7 DPH and every 2 to 3 days at 8-21 and 22-30 DPH, respectively. At hatching, the digestive system was a simple tube with a large yolk sac. During yolk sac absorption (1-2 DPH), the oral cavity and pharynx was develop but stomach and intestine were not differentiated until 4 DPH. At 3 DPH, started feeding on rotifer, the epithelium lining of digestive tract was folding and goblet cell well developed. The liver appeared at hatching and continued to develop and at 4 DPH, the exocrine cells of the pancreas were found. At 5 DPH, the yolk sac is depleted while the swim bladder was developed. The teeth and taste buds were developing at 6 and 11 DPH. The digestive system was well developed with extension and increase in size paralleled with the growth of fish larvae. Gastric glands were indentified in submucosa of interior stomach which was indicative of the full functional digestive system.

The second experiment, 16 DPH seabass (initial body weight of 0.0031-0.0042 g $fish^{-1}$) was used to study utilization of round scad mackerel hydrolysate to replace fish meal protein at 0, 15 and 30 % using either gelatin or carrageenan as binders. The experimental diets were formulated containing protein and lipid at 50% and 12%, respectively. Minced fresh mackerel and commercial diet were included as reference diets. Each treatment consisted of three replicate groups of fish that were fed with respective diets for four weeks. After seven days of feeding, survival rate of fish fed the experimental diets were not significantly different ($P>0.05$). During the third week, all fish in the reference groups died. After four weeks, the survival rate, final weight, weight gain and specific growth rate were not influenced by combination factors of type of binders and level of round scad mackerel hydrolysate ($P>0.05$) however, 0% (control group) and 30 % fishmeal protein substitution fed groups showed better performance than those fed 15 % substitution ($P<0.05$). Proteolytic enzyme activity were influenced by type of binders and level of round scad mackerel hydrolysate ($P<0.05$). Pepsin activity level in fish fed the diet

with 30 % substitution for fishmeal protein and with carrageenan as a binder was the highest ($P<0.05$). Level of trypsin activity of fish fed the diet using carrageenan as a binder at 0% replacement level was significantly the highest ($P<0.05$). Amylase activity level in fish fed the diet with 30 % fish protein hydrolysate was significantly the lowest ($P<0.05$). The digestive system of the fish in this experiment was well developed with extension and increase in size paralleling the fish growth.

Therefore, the microbound diets that replaced fish meal protein with round scad mackerel hydrolysate using gelatin and carrageenan as a binder were effective diet showing good acceptability in 16-17 DPH Asian seabass which developed the full functional digestive system . Considering survival rate, growth performance, proteolytic enzyme activity and binder cost, the diet containing round scad mackerel hydrolysate at 30 % replacing fishmeal protein using gelatin as a binder was suitable for the fish at this stage.