บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ฟอสฟอรัส (Phosphorus) เป็นแร่ธาตุชนิดหนึ่งที่สัตว์น้ำต้องการในปริมาณมาก โดยทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของร่างกายร่วมกับแคลเซียม เช่น เป็นส่วนประกอบของกระดูกและเกล็ด นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบต่างๆ ในรูปอินทรีย์ฟอสเฟต ได้แก่ อะดีโนซิน ไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) ฟอสฟอลิปิด (phospholipids) ดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid, DNA) และโคเอนไซม์ (coenzymes) เป็นต้น และมีส่วนสำคัญในกระบวนการเมแทโบลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ไขมันและกรดอะมิโน (Lovell, 1978; Davis and Gatlin, 1991; NRC, 1993; Ciofalo *et al.*, 2003) ฟอสฟอรัสในน้ำอยู่ในรูปที่สัตว์น้ำนำไปใช้ประโยชน์ได้จำกัด โดยมีในปริมาณต่ำกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร (ppm) ทำให้สัตว์น้ำได้รับฟอสฟอรัสจากน้ำน้อยคือต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสที่ได้รับจากอาหาร (NRC, 1983) จึงต้องอาศัยฟอสฟอรัสจากอาหารเป็นหลัก ซึ่งได้มาจากวัตถุดิบอาหารจำพวกพืชและสัตว์ รวมทั้งจากฟอสฟอรัสสังเคราะห์โดยเฉพาะเกลือฟอสเฟตรูปต่างๆ แหล่งวัตถุดิบเหล่านี้แม้จะมีฟอสฟอรัสอยู่ในปริมาณสูง แต่อยู่ในรูปที่สัตว์น้ำสามารถนำมาใช้ได้น้อย เช่น ปลาป่น ซึ่งมักพบฟอสฟอรัสอยู่ในรูปสารประกอบไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) หรือไตร แคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) โดยเป็นองค์ประกอบอยู่ในกระดูกและเกล็ดปลา (Jobling, 1994) ส่วนฟอสฟอรัสจากพืชประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสทั้งหมดจะอยู่ในรูปของกรดไฟติก (phytic acid) หรือไมโออินโนซิทอลเพ็นตะคิสฟอสเฟต (myo-inositol pentakisphosphate) ซึ่งมักรวมอยู่กับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม โพแตสเซียม (Dey and Harborne, 1990) เรียกว่า ไฟติน (phytin) ส่วนเกลือของกรดไฟติกที่ประกอบด้วยอินโนซิทอลกับฟอสเฟต จะเรียกว่า ไฟเตท (phytate) (Uhlig, 1998) ส่วน Hendricks และ Bailey (1989) กล่าวถึงกรดไฟติกว่าเป็นพิษชนิดหนึ่งที่เกิดจากพืช ซึ่งสัตว์กระเพาะเดี่ยว (monogastric animals) และปลาไม่สามารถนำฟอสฟอรัสในรูปนี้มาใช้ได้ มีรายงานว่า อาหารปลากดอเมริกัน (channel catfish, *Ictalurus punctatus*) ที่มีไฟเตทเพิ่มขึ้นจาก 1.1 เป็น 2.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลามีการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และสังกะสีในกระดูกลดลง (Satoh *et al.*, 1989) Cheng และ Hardy (2003) รายงานว่า ในอาหารที่ใช้ถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบทดสอบ

(30 เปอร์เซ็นต์) ผสมกับอาหารสูตรพื้นฐาน (70 เปอร์เซ็นต์) มีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปไฟเตท 74.2 เปอร์เซ็นต์ ของฟอสฟอรัสทั้งหมด ซึ่งปลาเรนโบว์เทราท์ น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 170 กรัม มีประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสในรูปไฟเตท และฟอสฟอรัสทั้งหมดจากอาหารสูตรนี้เพียง 29.9 และ 21.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่เมื่อเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารตั้งแต่ 200-1,000 ยูนิต ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าปลามีประสิทธิภาพการย่อยฟอสฟอรัสในรูปไฟเตท และฟอสฟอรัสทั้งหมดอยู่ในช่วง 60.9-93.8 เปอร์เซ็นต์ และ 81.3-93.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นอาหารปลาที่ใช้วัตถุดิบพืชเป็นหลักจึงจำเป็นต้องมีการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่ใช้ได้ในให้มากขึ้น เพื่อให้ปลามีการเจริญเติบโตและดำรงชีวิตอย่างปกติ ซึ่งแนวทางการแก้ไขปัญหาปลาขาดฟอสฟอรัสมีสองวิธี วิธีที่หนึ่ง คือ การเสริมฟอสฟอรัสสังเคราะห์ลงในอาหาร รูปแบบที่นิยมเสริมในอาหารปลา มี 3 รูปแบบ ได้แก่ โมโนเบสิค (monobasic) ไดเบสิค (dibasic) และไตรเบสิค (tribasic) (เวียง, 2542; มนต์สรวง, 2545; Eya and Lovell, 1997) จากการทดลองของ Eya และ Lovell (1997) ศึกษาประสิทธิภาพการดูดซึมฟอสฟอรัสในปลากดเมริกัน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 765 กรัม ซึ่งมีแหล่งอนินทรีย์ฟอสเฟตรูปแบบต่างๆ กัน พบว่าการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปโมโนโซเดียมฟอสเฟต (monosodium phosphate) ทำให้ปลามีการประสิทธิภาพการดูดซึมฟอสฟอรัสดีที่สุด รองลงมาคือ โมโนแอมโมเนียมฟอสเฟต (monoammonium phosphate) โมโนแคลเซียมฟอสเฟต (monocalcium phosphate) ไดแคลเซียมฟอสเฟต (dicalcium phosphate) และไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) ตามลำดับ แต่การเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหารจะทำให้ต้นทุนสูงขึ้นและฟอสฟอรัสในอาหารที่สัตว์น้ำไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จะถูกขับออกมาในรูปของมูล ทำให้มีการสะสมในแหล่งน้ำซึ่งหากมากเกินไปจะส่งผลให้แพลงต์ตอนพืชและสัตว์เจริญเติบโตจนเกินสมดุลและเกิดน้ำเสียในเวลาต่อมา เรียกว่าปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (eutrophication) (สมสุข, 2528) และวิธีที่สอง คือ การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหาร วิธีนี้นอกจากจะช่วยเพิ่มฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้แล้ว ยังช่วยลดมลภาวะทางน้ำได้อีกด้วย

ไฟเตสเป็นเอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่มฟอสฟาเตสซึ่งมีหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสทำให้ฟอสเฟตหลุดจากโมเลกุลของไฟเตทและปลานำไปใช้ประโยชน์ได้ ส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสขับทิ้งลดลง จึงช่วยลดปัญหามลภาวะอันเนื่องจากฟอสฟอรัส นอกจากนี้การเสริมเอนไซม์ไฟเตสยังช่วยลดต้นทุนการผลิตโดยลดรายจ่ายจากการเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต เนื่องจากปลามีฟอสฟอรัสที่สามารถใช้ได้เพิ่มขึ้น และช่วยให้สามารถนำวัตถุดิบพืชมาใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น Rich และ Brown (1996) ศึกษาประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสของปลาเรนโบว์เทราท์ (rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*) พบว่า ปลาเรนโบว์เทราท์ที่กินอาหารซึ่งมีแหล่งโปรตีนจาก

กากถั่วลิสงมีประสิทธิภาพการดูดซึมฟอสฟอรัส 22.1 กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีประสิทธิภาพการดูดซึมฟอสฟอรัส -13.4 และคอร์นกลูเทนมีประสิทธิภาพการดูดซึมฟอสฟอรัส 30.7 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเสริมเอนไซม์ไฟเตส 3,750 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในวัตถุดิบเหล่านี้ก่อนผสมอาหาร พบว่า ปลาเรนโบว์เทราท์ที่กินอาหารซึ่งมีแหล่งโปรตีนจากกากถั่วลิสงมีประสิทธิภาพการดูดซึมฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นเป็น 75.6 เปอร์เซ็นต์ จากกากถั่วเหลืองสกัดน้ำมันเพิ่มเป็น 46.6 เปอร์เซ็นต์ และจากคอร์นกลูเทนเพิ่มเป็น 76.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับ Jackson และคณะ (1996) ซึ่งศึกษาผลของการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสในอาหารปลากดอเมริกัน โดยใช้อาหารทดลองที่มีแหล่งวัตถุดิบส่วนใหญ่จากพืช และมีการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตส ในระดับ 0, 500, 1,000, 2,000 และ 4,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ผลการศึกษาพบว่า สูตรอาหารที่มีการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสมีน้ำหนัก การสะสมเถ้าและฟอสฟอรัสในกระดูก ประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่าสูตรที่ไม่มีการเสริมด้วยเอนไซม์ไฟเตสและพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสในระดับ 1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีน้ำหนักและประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงสุด และมีอัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด

ดังนั้นการใช้ไฟเตสเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ฟอสฟอรัสของปลาจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่ทำให้สามารถใช้วัตถุดิบพืชเป็นส่วนผสมในสูตรอาหารได้มากขึ้น ซึ่งจะสามารถลดต้นทุนในการผลิตอาหารและยังช่วยลดมลภาวะในน้ำด้วย การศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการเปรียบเทียบผลการใช้ฟอสฟอรัสของปลาดุกพันธุ์ผสมที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสกับฟอสฟอรัสในรูปไดแคลเซียมฟอสเฟตที่ระดับต่างๆ ส่วนการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาผลของเอนไซม์ไฟเตสต่อการเพิ่มการใช้ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ

ตรวจเอกสาร

1. ฟอสฟอรัส

1.1 ความสำคัญของฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุที่ปลาต้องการในปริมาณน้อยแต่มีความสำคัญมากต่อร่างกาย โดยมีบทบาทต่อการเจริญเติบโตและช่วยให้กิจกรรมต่างๆ ภายในร่างกายดำเนินไปตามปกติ (Baeverfjord *et al.*, 1998) ซึ่งฟอสฟอรัสประมาณ 85 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบของกระดูกและเกล็ดของปลาร่วมกับแคลเซียม (Lovell, 1989) และมี

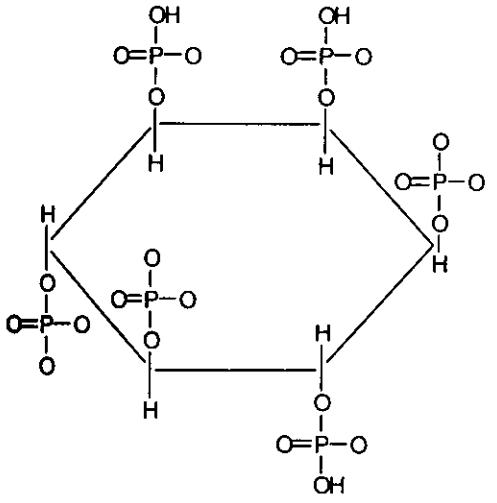
อาศัยฟอสฟอรัสจากอาหารเป็นหลัก (Roy and Lall, 2003) โดยได้มาจากวัตถุดิบอาหารพืชและสัตว์ รวมทั้งฟอสฟอรัสสังเคราะห์ เช่น โมโนโซเดียมฟอสเฟต โมโนแคลเซียมฟอสเฟต ไดแคลเซียมฟอสเฟต (Eya and Lovell, 1997; Lovell, 1978; NRC, 1993)

1.2 การย่อยและการดูดซึมฟอสฟอรัส

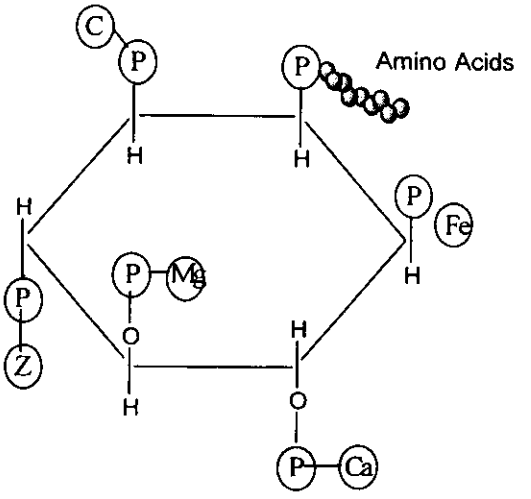
การย่อยอาหารเป็นกระบวนการเตรียมอาหารให้พร้อมสำหรับการดูดซึมของสิ่งมีชีวิต โดยอาหารจะถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลงในท่อทางเดินอาหาร เพื่อดูดซึมผ่านเข้าทางเดินอาหารและเข้าสู่กระแสเลือด เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม (Lovell, 1989) กระบวนการเหล่านี้ต้องอาศัยเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยและการดูดซึมอาหารของปลาได้แก่ ปาก หลอดอาหาร กระเพาะ ลำไส้ ตับ ถุงน้ำดี และตับอ่อน (Smith, 1989) ปลาบางชนิดที่ไม่มีกระเพาะ มีการย่อยอาหารที่ปากและคอหอยได้ ดังเช่น สัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นสูง (Smith, 1982) การย่อยฟอสฟอรัสเกิดขึ้นโดยฟอสเฟตอิออนจะถูกดูดซึมเข้าสู่ตัวปลาที่บริเวณลำไส้ โดยอาศัยกระบวนการเอคทีพทรานสปอร์ต (active transport) (Withers, 1992) จากการศึกษาการดูดซึมอนินทรีย์ฟอสเฟตในลำไส้ของปลาไน พบว่าการดูดซึมจะเกิดขึ้นบริเวณส่วนกลางของลำไส้มากกว่าบริเวณส่วนหน้าและส่วนท้าย (Nakamura, 1985) ความสามารถของปลาในการย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสในอาหารมาใช้ประโยชน์มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยดังต่อไปนี้

1.2.1 แหล่งของฟอสฟอรัสในอาหาร

1.2.1.1 ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืช พบว่า ปลาสามารถใช้ฟอสฟอรัสจากพืช เช่น กากถั่วเหลือง ข้าวโพด หรือรำได้น้อยมาก เนื่องจากฟอสฟอรัสในวัตถุดิบพืชอยู่ในรูปของกรดไฟติก (phytic acid หรือ myo-inositol hexakis dihydrogen phosphate) มีโครงสร้างเป็นรูปหกเหลี่ยม โดยมีกรดฟอสฟอริค 6 กลุ่ม จับอยู่กับไมโออินโนซิทอล (myo-inositol) ด้วยพันธะเอสเทอร์ (ester bond) (บุญล้อม, 2540) ซึ่งมักรวมอยู่กับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม โพแตสเซียม เรียกว่าไฟติน (phytin) (Dey and Harborne, 1990) ส่วนเกลือของกรดไฟติกที่ประกอบด้วยอินโนซิทอลกับฟอสเฟต จะเรียกว่าไฟเตท (phytate) (Uhlig, 1998) (ภาพที่ 1) ซึ่งฟอสฟอรัสในรูปเหล่านี้สัตว์กระเพาะเดี่ยว เช่น ปลา ไม่สามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ไฟเตทยังมีผลต่อการใช้ประโยชน์ของสารอาหารอื่นๆ อีกด้วย ดังนี้



กรดไฟติก



ไฟเตท

ภาพที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของกรดไฟติกและไฟเตท

ที่มา: Gabaudan, 2003

1.2.1.1.1 แร่ธาตุ

เนื่องจากโครงสร้างของไฟเตทประกอบด้วยกลุ่มฟอสเฟตจำนวนมาก ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นคีเลท (chelate) ทำให้สามารถจับกับสารที่มีประจุบวก 2 เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และสังกะสี ได้ ทำให้เกิดเป็นเกลือที่ไม่ละลาย ปลาจึงไม่สามารถดูดซึมแร่ธาตุเหล่านี้ไปใช้ได้ (Ensminger *et al.*, 1994; Vielma *et al.*, 2002) จากการทดลองของ Gatlin และ Wilson (1983) พบว่า ปลากดอเมริกันที่กินอาหารที่มีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปไฟเตทและมีแคลเซียมในปริมาณสูง ทำให้ไปขัดขวางการใช้ประโยชน์ของสังกะสีโดยแคลเซียมและฟอสฟอรัส ปลากดอเมริกันจึงมีความต้องการสังกะสีเพิ่มขึ้นจาก 20 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตามปกติเป็น 150 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

1.2.1.1.2 โปรตีน

อนุภาคของไฟเตทสามารถจับกับโปรตีนได้ โดยที่สภาพความเป็นกรดด่างต่ำ โปรตีนซึ่งมีประจุบวกจะจับกับประจุลบของไฟเตท ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายไม่ได้ แต่เมื่อ pH สูงขึ้น โปรตีนจะกลายเป็นประจุลบ มีแร่ธาตุที่มีประจุบวก เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม หรือสังกะสี เป็นตัวเชื่อมประจุลบของโปรตีนและไฟเตทเข้าด้วยกัน ทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ส่งผลให้การละลาย การย่อยและการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนลดลง (Komegay and Yi, 1996 อ้างโดย บุญล้อม, 2540) นอกจากนี้ยังพบว่าไฟเตทขัดขวางการทำงานของเอ็นไซม์บางชนิด เช่น โปรติเอส (protease) เปปซิน (pepsin) และทริปซิน (trypsin)

(Liener, 1994) ซึ่งการที่ปลานำโปรตีนและอนุพันธุ์ของโปรตีนมาใช้ได้น้อยจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิการใช้อาหารของปลา (NRC, 1993)

1.2.1.1.3 แป้ง

Liener (1994) พบว่าไฟเตทมีผลทำให้การย่อยแป้งลดน้อยลง เนื่องจากไฟเตทไปขัดขวางการทำงานของเอ็นไซม์ alpha-amylase

1.2.1.2 ฟอสฟอรัสในรูปสารอนินทรีย์ ส่วนมากจะมีคุณสมบัติแตกตัวได้ง่ายและอยู่ในรูปอิสระ จึงถูกดูดซึมผ่านผนังกระเพาะอาหารหรือลำไส้ได้ง่าย (วีรพงศ์, 2536) รูปแบบของอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ปลาสามารถนำไปใช้มี 3 รูปแบบ คือ โมโนฟอสเฟต (monophosphate) ไดฟอสเฟต (diphosphate) และไตรฟอสเฟต (triphosphate) (NRC, 1993) สำหรับการใช้ประโยชน์จากอนินทรีย์ฟอสเฟตขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณที่ผสมในลงอาหาร Eya และ Lovell (1997) พบว่า ปลากดอเมริกันสามารถดูดซึมโมโนโซเดียมฟอสเฟตได้ดีที่สุด คือ 88.6 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา ได้แก่ โมโนแอมโมเนียมฟอสเฟต 85.4 เปอร์เซ็นต์ โมโนแคลเซียมฟอสเฟต 81.2 เปอร์เซ็นต์ ไดแคลเซียมฟอสเฟต 74.8 เปอร์เซ็นต์ และไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 54.8 เปอร์เซ็นต์ Sakamoto และ Yone (1979 อ้างตาม เวียง, 2542) รายงานว่า ปลาเรนโบว์เทราท์ (rainbrow trout, *Oncorhynchus mykiss*) ใช้ประโยชน์จากเกลือฟอสเฟตได้ดีกว่าปลาไน และปลาทั้งสองชนิดใช้ประโยชน์จากโซเดียมหรือโพแทสเซียมฟอสเฟตได้ดีกว่าแคลเซียมฟอสเฟต มะลิและจูอะดี (2533) ศึกษาปริมาณและแหล่งของฟอสฟอรัสในอาหารปลากะพงขาว พบว่าปลากะพงขาวเจริญเติบโตดีที่สุดและมีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่มีฟอสฟอรัสอยู่ 0.55-0.65 เปอร์เซ็นต์ และโมโนโซเดียมฟอสเฟตเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสที่ดีที่สุด การเพิ่มโมโนโซเดียมฟอสเฟตในอาหาร 0.5-1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อาหารมีฟอสฟอรัสอยู่ในระดับที่ปลาต้องการ แต่การเสริมด้วยอนินทรีย์ฟอสเฟตมีผลเสียคือ ส่งผลให้มีปริมาณฟอสฟอรัสถูกขับออกจากมูลมากขึ้น (Kim *et al.*, 1998)

1.2.2 ชนิดของปลา ปลาที่มีกระเพาะอาหาร เช่น ปลาดุก ปลากะพงขาว ปลาซัลมอน และปลา เรนโบว์เทราท์ มีความสามารถในการย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสได้ดีกว่าปลาที่ไม่มีกระเพาะอาหาร เช่น ปลาไน โดยจากการศึกษาของ Watanabe และคณะ (1988) พบว่า ปลาเรนโบว์เทราท์สามารถย่อยและดูดซึมไดแคลเซียมฟอสเฟต และไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 71 และ 64 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลาไนย่อยและดูดซึมมาใช้ประโยชน์ได้เพียง 46 และ 13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากปลาที่มีกระเพาะมีกรดเกลือสามารถย่อยฟอสฟอรัสให้แตกตัวออกมาได้ โดยเฉพาะไตรแคลเซียมฟอสเฟต ซึ่งจะละลายได้ดีในสารละลายที่เป็นกรดแก่เท่านั้น จึงทำให้ปลา

เรนโบว์เทราท์ดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์ได้มาก แต่ปลาไนไม่มีกระเพาะอาหารจึงไม่มีกรดเกลือมาช่วยในการย่อยฟอสฟอรัส ปลาเรนโบว์เทราท์ที่ได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสในรูปไดแคลเซียมฟอสเฟตหรือไตรแคลเซียมฟอสเฟตจึงมีอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน

1.2.3 ปริมาณแคลเซียมในอาหาร เนื่องจากแคลเซียมสามารถรวมตัวกับกรดไฟติก ในอาหารซึ่งทำให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ มีผลทำให้ย่อยและดูดซึมฟอสฟอรัสจากอาหารไปใช้ประโยชน์ได้น้อยลง Davis (1990) รายงานว่า เมื่อเสริมแคลเซียมในอาหารกุ้งมีผลทำให้ยับยั้งการนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์

1.3 **ความต้องการฟอสฟอรัสในปลา**

ความต้องการฟอสฟอรัสในปลาขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของปลา โดยปลาเรนโบว์เทราท์มีความต้องการฟอสฟอรัสในอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างกระดูกประมาณ 0.7 ถึง 0.8 เปอร์เซ็นต์ของอาหารทั้งหมด (Ogino and Takeda, 1978) ปลาแอตแลนติกซัลมอน (Atlantic salmon, *Salmo salar*) ที่กินอาหารที่มีกากถั่วเหลืองที่เอาเปลือกออก (dehulled soybean meal) เป็นแหล่งโปรตีนต้องการฟอสฟอรัสประมาณ 0.6 เปอร์เซ็นต์ Watanabe *et al.* (1980) รายงานว่าปลาชัมซัลมอน (chum salmon, *Oncorhynchus hetai*) มีความต้องการฟอสฟอรัส 0.5 ถึง 0.6 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร จากการศึกษาของ Andrews และคณะ (1973) พบว่า ปลากดอเมริกัน มีความต้องการฟอสฟอรัส 0.8 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Lovell (1978) และ Wilson และคณะ (1982) รายงานว่า ปลากดอเมริกันต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปลาไหลญี่ปุ่น (Japanese eel, *Anguilla japonica*) ต้องการในอาหารฟอสฟอรัสประมาณ 0.45 เปอร์เซ็นต์ และต้องการฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (Roy and Lall, 2003) สำหรับปลานิล (blue tilapia, *O. aureus*) ต้องการฟอสฟอรัสในระดับ 0.50 เปอร์เซ็นต์ *O. niloticus* 0.46 เปอร์เซ็นต์ (Haylor *et al.*, 1988) ปลาเรดดรัม (red drum, *Sciarnops ocellatus*) 0.85 เปอร์เซ็นต์ (Davis and Robinson, 1987) ในปลาไน 0.6 ถึง 0.7 เปอร์เซ็นต์ (Ogino and Takeda, 1976)

2. เอนไซม์ (Enzyme)

2.1 ความหมายของเอนไซม์

เอนไซม์ คือ โปรตีนที่มีคุณสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาเคมีอย่างจำเพาะเจาะจง เนื่องจากการขดตัวของโปรตีนเป็นโครงรูป (conformation) **ที่จำเพาะ ซึ่งถูกกำหนดด้วยลำดับการเรียงตัวของ**

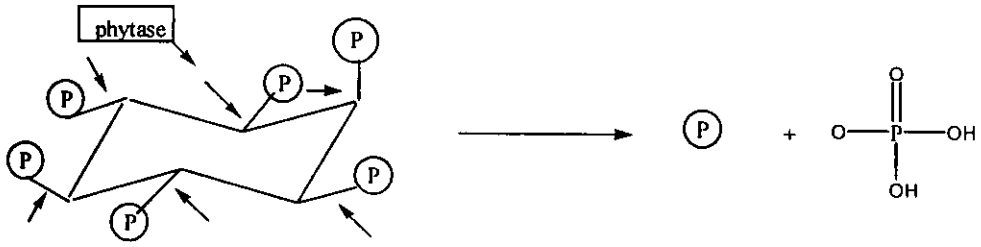
กรดอะมิโน และ มีบริเวณเร่งปฏิกิริยา (active site) โดยมากมักมีลักษณะเป็นร่องในโมเลกุลของเอนไซม์ ส่วนสารที่เข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ เรียกว่า สับสเตรต (substrate) (Chaplin and Bucke, 1990) โดยผู้ที่นำเอาคำว่าเอนไซม์มาใช้ครั้งแรกคือคุนน์ (Kuhe) ในปี 1878 ซึ่งมาจากภาษากรีก แปลว่า in yeast และในปี ค.ศ. 1963 มัวร์และสไตน์ (Moore and Stein) เป็นคนแรกที่รายงานถึงลำดับของกรดอะมิโนในโครงสร้างโปรตีนของเอนไซม์ไรโบนิวคลีเอส (ribonuclease) ต่อมาในปี ค.ศ. 1965 ฟิลลิปส์ (Phillips) ได้รายงานถึงโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme) ที่แยกได้จากไข่ขาว จนถึงปัจจุบันนี้ได้มีการศึกษาโครงสร้างสามมิติของเอนไซม์มากมายหลายชนิด ซึ่งทำให้ทราบว่าเอนไซม์ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่มีลักษณะเป็นก้อน ในปี ค.ศ. 1894 ออสท์วอลด์ (Ostwald) ได้ให้คำจำกัดความของตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ว่าเป็นสารที่ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น และเมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดแล้วตัวเร่งจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเกิดขึ้น ทำให้สามารถทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาได้อีก โดยในปี ค.ศ. 1897 อีมิล ฟีชเชอร์ (Emil Fischer) ได้เสนอทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ (lock-and-key analog) อธิบายความจำเพาะของเอ็นไซม์ต่อสับสเตรตว่า เนื่องมาจากเอนไซม์และสับสเตรตมีโครงสร้างที่จับกันได้พอดี ซึ่งเอนไซม์จะต้องมีบริเวณเร่ง ที่สอดคล้องกับส่วนของสับสเตรตในด้านขนาด รูปร่าง และธรรมชาติทางเคมี จึงจะทำให้เกิดโครงสร้างเชิงซ้อนของเอ็นไซม์และสับสเตรต เหมือนลูกกุญแจกับแม่กุญแจ ต่อมาในปี ค.ศ. 1985 โคชแลนด์ (Koshland) ได้เสนอทฤษฎีเหนี่ยวนำให้พอดี (induced fit) โดยเสนอว่าบริเวณเร่งของเอนไซม์ไม่จำเป็นต้องอยู่ในลักษณะ ขนาด และรูปร่างทางเลขาคณิตที่คงตัว แต่สามารถยืดหยุ่นได้ด้วยการเรียงตัวของหมู่อัลคิล (R-group) ของกรดอะมิโนใหม่ และเมื่อถูกชักนำด้วยโมเลกุลของสับสเตรต บริเวณหมู่เอนไซม์จับกับหมู่ต่างๆ บนสับสเตรตได้พอดี (Dixon and Webb, 1979)

2.2 เอนไซม์ไฟเตส

ไฟเตส (phytase: myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม ฟอสฟาเตส (phosphatase) (Cosgrove, 1980) เอนไซม์กลุ่มนี้จะทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแยกสารอนินทรีย์ฟอสเฟตออกจากสารอินทรีย์ฟอสเฟตที่ P - O บอนด์ (Nys *et al.*, 1996)

เอนไซม์ไฟเตสจะทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส กรดไฟติกหรือไฟเตท โดยทำให้ฟอสเฟตหลุดออกจากโมเลกุลของไฟเตททีละตัว เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ตัวกลางที่มีชื่อว่า อินโนซิทอลเพนตะฟอสเฟต (inositol pentaphosphate) คือมี อินโนซิทอลจับอยู่กับฟอสเฟต 5 กลุ่ม จากนั้นถูกย่อยต่อไปได้เป็นอินโนซิทอลเตรตาฟอสเฟต (inositol tetraphosphate) อินโนซิทอล

ไตรฟอสเฟต (inositol triphosphate) อินโนซิทอลไดฟอสเฟต (inositol diphosphate) และอินโนซิทอลโมโนฟอสเฟต (inositol monophosphate) ตามลำดับ จนกระทั่งหมู่ฟอสเฟตที่จับอยู่กับอินโนซิทอลถูกย่อยสลายออกมาทั้งหมด 6 โมเลกุล (Jongbloed *et al.*, 1993) เอนไซม์ไฟเตสที่รู้จักกันดี คือ 3-phytase (EC 3.1.3.8) และ 6-phytase 3.1.3.26) โดย 3-phytase จะเริ่มสลายพันธะของกลุ่มออโธฟอสเฟตออกจากโมเลกุลของกรดไฟติกหรือไฟเตทที่ตำแหน่งที่ 3 และ 6-phytase เริ่มที่ตำแหน่งที่ 6 (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การสลายพันธะกลุ่มออโธฟอสเฟตออกจากโมเลกุลของไฟเตทโดยปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ (microbial phytase)

ที่มา: (Jongbloed *et al.*, 1993)

การวัดปฏิกิริยา (activity) ของเอนไซม์จะวัดในช่วงเริ่มต้นของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (ดึงหมู่ฟอสเฟตตัวที่หนึ่งออกจากโมเลกุลของไฟเตท) ปฏิกิริยาในช่วงนี้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และเอนไซม์จะทำปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งฟอสเฟตตัวสุดท้ายหลุดออกมา ซึ่งความเร็วของปฏิกิริยาในช่วงหลังจะเกิดช้ากว่าตอนเริ่มต้น (Wyss *et al.*, 1999)

2.3 แหล่งของเอนไซม์ไฟเตส

แหล่งของเอนไซม์ไฟเตสพบได้ทั้งในเนื้อเยื่อพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ (ยีสต์ รา แบคทีเรีย) (Gifford *et al.*, 1990; Kornegay, 2001; Shieh and Ware, 1968; Storebakken *et al.*, 1998) โดยแบ่งเป็น

2.3.1 เอนไซม์ไฟเตสจากพืช พบทั้งในผัก ผลไม้ โดยเฉพาะในเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ รำข้าว เมล็ดละหุ่ง เมล็ดฟักทอง มันฝรั่ง ถั่วต่างๆ และใบยาสูบ (Shieh and Ware, 1968) โดย Pointillart (1993) ศึกษาปริมาณเอนไซม์จากเมล็ดข้าว ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวบาเรย์ ไรย์ และรำข้าว พบเอนไซม์ไฟเตสอยู่ในช่วง 400-4,900 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

Peers (1953) รายงานว่า ปฏิกิริยาของเอนไซม์ไฟเตสในเมล็ดข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และข้าวบาร์เลย์ จะเพิ่มขึ้นในระยะแรกของการเจริญเติบโต สอดคล้องกับ Gibbins และ Norris (1963) ที่ศึกษาปฏิกิริยาของเอนไซม์ไฟเตสและแอซิคฟอสฟาเตส (acid phosphatase) ในถั่วแคระ (*Phaseolus vulgaris*) พบว่าเอนไซม์ไฟเตสและแอซิคฟอสฟาเตส จะมีปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 3-9 และหลังจากนั้นเอนไซม์ทั้งสองจะลดลง

ในวงการอาหารสัตว์ไม่นิยมนำเอนไซม์ไฟเตสจากพืชมาใช้ เนื่องจากความสามารถในการย่อยของเอนไซม์ไฟเตสที่มาจากพืชมีความผันแปรสูง โดยขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์ อายุ การทำแห้ง การเก็บรักษา และอื่นๆ นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์ไฟเตสจากพืชยังอยู่ในช่วงแคบกว่าเอนไซม์ไฟเตสจากจุลินทรีย์ คืออยู่ในช่วงความเป็นกรดด่าง 4.5-6.5 ขณะที่ไฟเตสจากจุลินทรีย์ทำงานได้ในช่วงความเป็นกรดด่าง 2.0-6.5 ซึ่งการย่อยฟอสฟอรัสมักเกิดขึ้นในกระเพาะที่มีความเป็นกรดด่างต่ำ (บุญล้อม และ สุชน, 2540)

2.3.2 **เอนไซม์ไฟเตสจากสัตว์** พบมากในกระเพาะของสัตว์ประเภทสี่กระเพาะ ซึ่งมีกระเพาะหมัก (rumen) เช่น วัว ควาย แพะ แกะ นอกจากนี้ยังพบเอนไซม์ไฟเตสในผนังทางเดินอาหารของหนู (intestinal membranes) และในเลือดสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สัตว์เลื้อยคลานและนก (Uhlig, 1998) โดยมักมีบทบาทในการยับยั้งการปลดปล่อยออกซิเจนออกจากฮีโมโกลบิน (Schwimmer, 1981)

2.3.3 **เอนไซม์ไฟเตสจากจุลินทรีย์** จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้มีมากกว่า 2,000 ชนิด (Shieh and Ware, 1968) ทั้งจากแบคทีเรีย รา และยีสต์ โดยเฉพาะราเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในวงการอาหารสัตว์น้ำในปัจจุบัน เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณมากและมีความคงตัวดี เอนไซม์จากจุลินทรีย์แบ่งย่อยได้เป็น

2.3.3.1 **เอนไซม์ไฟเตสจากแบคทีเรียและยีสต์** Shieh และ Ware (1968) สำรวจจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้ โดยการเก็บตัวอย่างดิน 68 ตัวอย่าง พบว่ายีสต์ 17 ชนิด จาก 140 ชนิด เท่านั้นที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้ และพบแบคทีเรีย 18 ชนิด จาก 56 ชนิด ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้ เช่น *Bacillus subtilis* โดยนิยมใช้เป็นตัวหมักธัญพืช (Piva *et al.*, 1993) และในปัจจุบันได้มีการทดลองนำเทคนิคการตัดต่อยีนมาใช้ในการผลิตเอนไซม์ไฟเตส โดยการทดลองของ Ciofalo และคณะ (2003) สามารถนำยีน *app A* ที่สามารถถอดรหัสสำหรับเอนไซม์ไฟเตสจากเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* B ใส่ในยีสต์ *Schizosaccharomyces pombe* สายพันธุ์ ASP 595-1 เพื่อผลิตเอนไซม์ไฟเตสออกมา หลังจากการทดสอบทางพิษวิทยา

ในหลอดทดลอง พบว่าเอนไซม์ตัวนี้มีความปลอดภัย สามารถนำมาเตรียมอาหารสัตว์ได้ โดยจะช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในสัตว์กระเพาะเดี่ยวได้ Gireiner และคณะ (1993) รายงานว่า เอนไซม์ตัวนี้เป็นชนิด 6-phytase (EC 3.1.3.26)

2.3.3.2 **เอนไซม์ไฟเตสจากรา** เป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในวงการอาหารสัตว์ สายพันธุ์ที่นิยมนำมาผลิตเอนไซม์ไฟเตส ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Cunninghamella* spp., *Neurospora* spp. (Shieh and ware, 1968) ซึ่งกลุ่มที่ผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้ดีที่สุด คือ *Aspergillus* spp. และพบว่ามีถึง 28 ชนิด จาก 82 ชนิด ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้

Aspergillus spp. เป็นราที่โคโลนีมีขอบเขตจำกัด เส้นใยแตกกิ่งก้านสาขา มีผนังกั้นตามขวาง คอนิดิโอฟอร์ (conidiophore) ขยายใหญ่ เรียกว่า เวสิเคิล (vesicle) มีสเตอริกมาอยู่บนเวสิเคิล ทำหน้าที่สร้างคอนิเดีย (conidia) เจริญดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ (corn-starch-based) ต้องการคาร์บอนและฟอสฟอรัสในอัตราสูง (Shieh and Ware, 1968) จากการศึกษาของ Piva และคณะ (1993) พบว่า *A. niger*, *A. ficuum* เป็นสายพันธุ์ที่ให้ไฟเตสดีที่สุด สอดคล้องกับ Shieh และ Ware (1968) ซึ่งรายงานว่า สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฟเตสได้มากที่สุด คือ ว่า *A. niger* ส่วน *A. ficuum* NRRL 3135 เป็นสายพันธุ์ที่มีปฏิกิริยาสูงที่สุด คือ 10.5 ยูนิตต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร

2.4 สาเหตุของการนำเอนไซม์ไฟเตสมาใช้ประโยชน์

ในปัจจุบันการทำฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำถูกตั้งข้อสังเกตว่าเป็นสาเหตุของการทำลายสิ่งแวดล้อม เพราะทำให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน เช่นในประเทศฟินแลนด์ สวีเดน เดนมาร์ก อังกฤษ สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น (Rich and Brown, 1996) สาเหตุมาจากการขับทิ้งฟอสฟอรัสจากฟาร์มเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากอาหารสัตว์น้ำมีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่สัตว์น้ำไม่สามารถนำมาใช้ได้ สัตว์น้ำจึงต้องขับทิ้งโดยผ่านทางมูล ซึ่งปลาจะขับฟอสฟอรัสออกมาทั้งรูปที่ละลายน้ำ (soluble forms) ได้แก่ ยูรีน อนินทรีย์ฟอสฟอรัสซึ่งมีฟอสเฟตเป็นรูปที่มีผลต่อคุณภาพน้ำโดยตรง และรูปที่ไม่ละลายน้ำ (particulate forms) ได้แก่ ผงฝุ่นของอาหาร และมูลปลา ซึ่งจะสะสมอยู่ในตะกอนดิน และปล่อยฟอสฟอรัสออกมาอย่างช้าๆ (Anderson and De Silva, 1996; Goddard, 1996) มีรายงานว่าโดยทั่วไปปลาขับถ่ายไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนีย 48 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนที่กินเข้าไป (Tacon, 1987) การที่มีฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำมากเกินไปทำให้แพลงค์ตอนเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ลดต่ำลง เนื่องจากถูกใช้ใน

กระบวนการย่อยสลายทำให้สัตว์น้ำตาย เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของแหล่งน้ำ (Lloyd and Herbert, 1960; Jackson *et al.*, 1996) นอกจากนี้แอมโมเนียและตะกอนที่เกิดขึ้นยังทำให้แหล่งน้ำตื้นเขินเป็นภัยต่อสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะสัตว์หน้าดินตลอดจนไข่และตัวอ่อนของกุ้ง ปู หอยและปลา (Chuapoehuk, 1979) มีรายงานว่าปลาในเขตหนาว เช่น ปลาเทราท์ และปลาซัลมอน สามารถใช้ฟอสฟอรัสจากอาหารได้เพียง 20 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น และส่วนที่เหลือจะถูกปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม (Ketola, 1982; Philips and Beveridge, 1986; Ackefors and Enell, 1990; Holby and Hall, 1991; Ketala and Harland, 1993) จากรายงานของ Gross และคณะ (1998) พบว่าฟอสฟอรัสที่ปล่อยออกมาจากพื้นก้นบ่อเป็นปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในบ่อปลาดุกอเมริกัน และพบว่าอาหารที่มีฟอสฟอรัสต่ำจะทำให้ง่ายในการจัดการ เนื่องจากช่วยลดฟอสฟอรัสที่ตกลงสู่ก้นบ่อ และช่วยให้พื้นก้นบ่อมีความสามารถในการรองรับฟอสฟอรัสมากขึ้น ซึ่งการนำเอนไซม์ไฟเตสมาเสริมในอาหารช่วยให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับถ่ายลดน้อยลง เช่นการทดลองของ Robinson และคณะ (1996) พบว่า ปลากดอเมริกันที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสมีปริมาณฟอสฟอรัสในมูลลดต่ำลง 33 เปอร์เซ็นต์

การที่จะลดฟอสฟอรัสในอาหารจำเป็นต้องเสริมเอนไซม์ไฟเตสลงในอาหารเพื่อช่วยในการย่อยฟอสฟอรัสที่อยู่ในวัตถุดิบพืชออกมาใช้ มีรายงานว่า การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารสัตว์ช่วยลดฟอสฟอรัสที่ถูกขับถ่ายสู่สิ่งแวดล้อม (Ciofalo *et al.*, 2003) จากการศึกษาความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัสของปลาเรนโบว์เทราท์จากวัตถุดิบอาหารจากพืชที่มีการเสริมด้วยไฟเตส 3,750 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมไฟเตส พบว่า ปลาเรนโบว์เทราท์ที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสสามารถนำฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชไปใช้ได้มากขึ้น โดยเพิ่มความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัส (apparent phosphorus availability) ได้ในระดับ 46.2 ถึง 76.8 เปอร์เซ็นต์ (Riche and Brown, 1996) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rodenutscord และ Pfeffer (1995) พบว่า การเสริมเอนไซม์ไฟเตส 1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในอาหารปลาเรนโบว์เทราท์ ช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยฟอสฟอรัสจากพืชได้ 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Schafer และคณะ (1995) รายงานว่าการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารที่ระดับ 1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้ปลาไนมีความสามารถในการดูดซึมไฟเตทจากวัตถุดิบพืชเพิ่มขึ้นถึง 50 เปอร์เซ็นต์ Cain และ Garling (1995) รายงานว่า การเติมเอนไซมไฟเตส (phytase) ในกากถั่วเหลืองก่อนที่จะนำไปทำอาหาร จะทำให้ปลาสามารถนำฟอสฟอรัสไปใช้ได้มากขึ้นและสามารถลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ปล่อยทิ้งได้ 65 ถึง 88 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า ปลากดอเมริกันที่กินอาหารสูตรที่เสริมเอนไซม์ไฟเตส มีน้ำหนักเฉลี่ย ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ปริมาณ

เถ้าและฟอสฟอรัสในกระดูกดีกว่าสูตรที่ไม่มีการเสริมเอนไซม์ไฟเตส และปลาที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในระดับสูงขึ้นจะยิ่งทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับออกน้อยลง (Jackson *et al.*, 1996) Vielma และคณะ (2002) ได้ทำการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสและโปรตีนในปลาเรนโบว์เทราท์ โดยมีแหล่งโปรตีนจากถั่วเหลือง 2 ชนิด ซึ่งมีชื่อทางการค้า คือ แฮมเลตโปรตีน (Hamlet Protein, มีโปรตีน 56%) และซอยโคมิลพี (Soycomil P, มีโปรตีน 64%) โดยอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากถั่วเหลืองแต่ละชนิดจะแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง คือ ชุดควบคุม เสริมเอนไซม์ไฟเตสโดยวิธีการหมัก (5000L, BASF) และเสริมฟอสฟอรัส 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในรูปโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4) ต่อโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ในอัตราส่วน 50:50 พบว่า ปลาที่รับอาหารที่มีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสและอนินทรีย์ฟอสเฟตส่งผลในทางบวกต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการใช้ประโยชน์ของโปรตีน ฟอสฟอรัสแคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยปลาที่เสริมเอนไซม์ไฟเตสมีแนวโน้มดีกว่าปลาที่เสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต นอกจากนี้ปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสสามารถใช้ฟอสฟอรัสได้เพิ่มขึ้นจาก 33 เปอร์เซ็นต์ (ในชุดควบคุม) เป็น 72 เปอร์เซ็นต์ และยังช่วยลดปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับถ่ายได้ (phosphorus load) โดยปลาในชุดควบคุมมีการขับฟอสฟอรัส 4.32 กรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม ชุดที่เสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตมีการขับฟอสฟอรัส 4.30 กรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม และชุดที่เสริมเอนไซม์ไฟเตสมีการขับฟอสฟอรัสเพียง 1.53 กรัมต่อปลา 1 กิโลกรัม

นอกจากนี้เอนไซม์ไฟเตสยังช่วยให้ปลาสามารถใช้แร่ธาตุชนิดอื่นๆ ได้เพิ่มขึ้น เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และสังกะสี เนื่องจากกรดไฟติกในวัตถุดิบอาหาร สามารถจับกับโมเลกุลของแร่ธาตุที่มีประจุ +2 และที่ระดับความเป็นกรดด่างของลำไส้ทำให้เกิดเป็นเกลือที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งทำให้ปลาไม่สามารถดูดซึมมาใช้ประโยชน์ได้ (Ensminger *et al.*, 1994; Devis *et al.*, 1961 and Mega, 1982 อ้างโดยบุญล้อมและสุชน, 2540) Gatlin และ Phillips (1989) รายงานว่า จากการทดสอบผลของกรดไฟติกในปลากดอเมริกัน โดยใช้อาหารบริสุทธิ์ที่มีระดับกรดไฟติก 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ปลากิน พบว่า ปลากดอเมริกันมีความสามารถในการใช้สังกะสีลดลง และเมื่อเสริมด้วยแคลเซียมที่ระดับ 0.5-2 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร พบว่า ปลามีอาการขาดสังกะสีรุนแรงขึ้น จากการศึกษาของ Vielma และคณะ (1998) รายงานว่าปลาเรนโบว์เทราท์ที่ให้อาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตสมีเปอร์เซ็นต์เถ้าในกระดูกและแร่ธาตุในตัวปลาเพิ่มขึ้น เช่น แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมงกานิส Cheng และ Hardy (2003) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสารอาหาร (apparent digestibility coefficients) ในปลาเรนโบว์เทราท์ น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 170

กรัม โดยเปรียบเทียบการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในถั่วเหลือง 2 ชนิด คือ ถั่วเหลืองอุดมไขมัน (extruded full-fat soybeans) มีวิธีการผลิตโดยทำให้เกิดความร้อนจากแรงดันหรือแรงบีบ และกากถั่วเหลือง (expelled soybeans) ซึ่งได้จากการผลิตน้ำมันถั่วเหลือง (soy oil) นำถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิด มาฉีดพ่นเสริมเอนไซม์ก่อนอัดเม็ด และนำไปอบที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยสูตรที่ใช้ถั่วเหลืองอุดมไขมันมีการเสริมเอนไซม์ไฟเตส 6 ระดับ คือ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และสูตรที่ใช้กากถั่วเหลืองที่ได้จากการผลิตน้ำมันเสริมเอนไซม์ไฟเตส 200 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตส พบว่า ปลาเรนโบว์เทราท์ที่ได้รับอาหารที่มีแหล่งโปรตีนจากถั่วเหลืองอุดมไขมัน และเสริมเอนไซม์ไฟเตสตั้งแต่ 200 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัมขึ้นไป มีประสิทธิภาพการย่อยแมกนีเซียม ฟอสฟอรัสทั้งหมด ฟอสฟอรัสในรูปไฟเตท แมงกานีส และสังกะสีเพิ่มขึ้น โดยการเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ระดับ 400 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุด และปลาเรนโบว์เทราท์ที่ได้รับอาหารจากกากถั่วเหลืองโดยเสริมเอนไซม์ไฟเตสที่ 200 ยูนิตต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัสทั้งหมด และฟอสฟอรัสในรูปไฟเตทเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมเอนไซม์ไฟเตส

2.5 เอนไซม์ไฟเตสที่ผลิตในเชิงการค้า

ในปัจจุบันมีการผลิตเอนไซม์ไฟเตสในเชิงการค้าเพื่อนำมาใช้ผสมอาหารสัตว์ ได้แก่ โรโนไซม์ ไฟเตส (Ronozyme phytase) ผลิตโดยบริษัทโรช (Roche) และนาทูฟอส (Natuphos) ที่ผลิตโดยบริษัทบีเอเอสเอฟ (BASF) ซึ่งเอนไซม์ไฟเตสที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นผลิตภัณฑ์จากบริษัทบีเอเอสเอฟ

2.5.1 นาทูฟอส (Natuphos)

เป็นชื่อที่จดทะเบียนการค้าของเอนไซม์ไฟเตส ซึ่งเกิดจากกระบวนการหมักเชื้อรา *A. niger* ผลิตโดยบริษัท BASF จากการจำแนกชนิดตามข้อตกลงของเอนไซม์ (Commission on enzyme, EC) นาทูฟอสจัดอยู่ใน EC 3.1.3.8 ชื่อทางเคมี คือ 3-phytase (myo-inositol hexakisphos-phate 3-phospho-hydrolase)) จะเริ่มสลายพันธะของกลุ่มออโธฟอสเฟตออกจากโมเลกุลของกรดไฟติกหรือไฟเตท ที่ตำแหน่งที่ 3 และย่อยต่อไปเรื่อยๆ จนหมด นาทูฟอสมีความสามารถในการย่อยอนินทรีย์ไฟเตทจากพืชได้ที่ความเป็นกรดด่าง 5.5 – 6.5 (Engelem *et al.*, 1994; Han *et al.*, 1999)

2.5.2 **ปฏิกิริยาของไฟเตส** (FTU)

1 หน่วยของไฟเตสแอคติวิตี คือ การปลดปล่อย หรือการย่อย 1 ไมโครโมลของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสต่อนาที จากโซเดียมไฟเตส ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดด่าง 5.5 เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์จำเป็นต้องมีค่าความแม่นยำในเรื่องการควบคุมอุณหภูมิสูง รวมถึงการวัดด้วยโฟโตมิเตอร์ (Photometer) นาทูฟอสมีไฟเตสแอคติวิตีขั้นต่ำ 5,000 เอฟทียูต่อกรัม

2.5.3 **ชนิดของนาทูฟอส**

นาทูฟอสมี 3 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะและคุณสมบัติของนาทูฟอสทั้ง 3 ชนิด

	นาทูฟอส 5,000	นาทูฟอส 5,000 จี	นาทูฟอส 5,000 แอล
ความเข้มข้น (เอฟทียู/กรัม)	ขั้นต่ำ 5,000	ขั้นต่ำ 5,000	ขั้นต่ำ 5,000
% สูญเสียระหว่างอบแห้ง	สูงสุด 12	สูงสุด 12	ประมาณ 50
ลักษณะทางกายภาพ	เป็นผงสีเหลือง -น้ำตาล	เป็นผงสีขาว	เป็นน้ำสีน้ำตาล
ความหนาแน่น (กรัม/ซม^3.)	ประมาณ 0.35	ประมาณ 0.65	1.2

2.5.4 **วิธีการเสริมเอนไซม์ไฟเตส**

เนื่องจากไฟเตสมีคุณสมบัติเป็นโปรตีนจึงสูญเสียสภาพได้ง่ายเมื่อได้รับความชื้นและอุณหภูมิสูงๆ ดังนั้นวิธีการเสริมที่เหมาะสมที่สุดคือ การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในรูปของเหลวโดยวิธีการฉีดพ่นในเม็ดอาหารที่ได้ผ่านกระบวนการอัดเม็ดแล้ว เพื่อป้องกันไม่ให้เอนไซม์ถูกทำลายด้วยความร้อนระหว่างการอัดเม็ด (Jackson *et al.*, 1996; Li and Robinson, 1997; Vielma *et al.*, 2000)

2.5.5 **ประสิทธิภาพของเอนไซม์ไฟเตส**

ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ไฟเตสขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้ (Kornegay, 2001)

- **ระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่ใช้**
- **ระดับของฟอสฟอรัสทั้งหมดในอาหาร**

- ระดับของฟอสฟอรัสในรูปของไฟเตทในอาหาร
- ระดับของแคลเซียมและสัดส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในอาหาร
- ระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่มีอยู่จริงในอาหาร
- ขั้นตอนการผลิตและอัดเม็ดอาหาร

3. ปลาดุกพันธุ์ผสม

3.1 ชีววิทยาของปลาดุกพันธุ์ผสม

ปลาดุกพันธุ์ผสมหรือปลาดุกบิ๊กอุย (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*) เป็นปลาที่ได้จากการผสมปรับปรุงพันธุ์ระหว่างปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) และปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus*) มีชื่อสามัญว่า hybrid catfish

แหล่งกำเนิดของปลาดุกอยู่ในเขตร้อนแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น อินเดีย ไทย พม่า ลาว กัมพูชา เวียดนาม อินโดนีเซีย หมู่เกาะบอร์เนียวและฟิลิปปินส์ (ศักดิ์ชัย, 2536) สำหรับประเทศไทย จะพบว่ามีอยู่ทั่วไปตามลำคลอง หนองบึง ทั่วทุกภาค โดยธรรมชาติปลาดุกจะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำซึ่งมีพื้นดินเป็นโคลนตมที่มีน้ำจืดสนิท และแม้แต่ในแหล่งที่มีน้ำเพียงเล็กน้อย หรือในน้ำที่ค่อนข้างกร่อย (กรมประมง, มปป.ก)

พันธุ์ปลาดุกที่พบในประเทศไทยมีอยู่ 6 ชนิด คือ

1. *Clarias melanoderma* Bleeker มีชื่อไทยว่า ปลาดัก พบที่นครสวรรค์และพิจิตร ลักษณะเด่น คือ ด้านหน้าของก้านครีบแข็งของครีบอก หรือเงี่ยง เป็นหยักหรือเป็นหนามแหลมเห็นได้ชัด ลำตัวสีดำหรือเทาดำปนเหลือง

2. *Clarias batrachus* Linnaeus มีชื่อไทยว่า ปลาดุกด้าน ดุกเลา ดุกแดง ดุกเผือก พบทั่วๆ ไป ลำตัวมีสีเทาปนดำ ก้านแข็งของครีบอกเป็นปลายแหลมหยักทั้งสองด้าน ปลายกระดูกท้ายทอยแหลม

3. *Clarias macrocephalus* Gunther มีชื่อไทยว่า ปลาดุกอุย พบทั่วๆ ไป รูปร่างลักษณะคล้ายกับปลาดุกด้านมาก ต่างกันตรงที่ปลายกระดูกท้ายทอยโค้งมน ลำตัวมีสีเทาปนดำและสีเหลือง

4. *Clarias teysmanni* Bleeker มีชื่อไทยว่า ปลามัด มด มอด พบที่นครศรีธรรมราช รูปลักษณะโดยทั่วไปคล้ายกับปลาดุกด้าน แต่ลำตัวค่อนข้างเรียวยาวกว่า ลำตัวมีสีดำ และมีจุดสีขาวเรียงเป็นแถวตามขวางชัดเจน

5. *Clarias* sp. มีชื่อไทยว่า ปลาดุกมาเลเซีย รูปลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกับปลาดุกอุยมาก แต่ลักษณะของกลุ่มฟันที่เพดานและขากรรไกรบนแตกต่างกัน (เฉิดฉัน, 2517)

6. Prophagorus nieuhofii มีชื่อไทยว่า ปลาดุกลำพัน จัดอยู่ในตระกูลเดียวกันกับปลาดุกอุยหรือปลาดุกด้าน ลักษณะทั่วไปคล้ายกับปลาดุกอุย แต่ต่างกันที่มีครีบหลัง ครีบหางและครีบก้นเชื่อมติดกัน เป็นปลาที่อาศัยอยู่ในบริเวณป่าพรุที่รกทึบมีกระแสน้ำไหลเอื่อยๆ หรือเป็นแอ่งน้ำค่อนข้างนิ่ง (ศราวุธ และคณะ, 2538)

แต่ที่นิยมเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย คือ ปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) และปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus*) ต่อมาประมาณปี 2528 มีเกษตรกรนำพันธุ์ปลาดุกเทศหรือปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus*) เข้ามาเลี้ยงในประเทศไทย (ชวลิต, 2544) เป็นปลาที่มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว มีความต้านทานโรคและสภาพแวดล้อมสูง เมื่อเจริญเต็มที่เป็นปลาที่มีขนาดใหญ่ แต่มีเนื้อเหลวและสีซีดขาว ไม่น่ารับประทาน ทางกลุ่มวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ได้ทำการเพาะขยายพันธุ์ปลาโดยนำมาผสมข้ามพันธุ์ระหว่างปลาดุกอุยเพศเมียผสมกับปลาดุกเทศเพศผู้ ผลปรากฏว่าลูกที่ได้มีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็ว ทนทานต่อโรคสูง เนื้อมีรสชาติอร่อย ทางกรมประมงให้ชื่อว่า "ปลาดุกอุย-เทศ" แต่ชาวบ้านมักเรียกกันว่า บิ๊กอุย หรืออุยบ่อ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า*Clarias macrocephalus* (Gunther) x *Clarias gariepinus* (Burchell) ส่วนการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างปลาดุกอุยเพศผู้กับปลาดุกเทศเพศเมีย ลูกที่ได้ไม่แข็งแรงและมีอัตรารอดน้อย เมื่อเทียบกับการเพาะพันธุ์ที่ได้ปลาดุกอุย-เทศ (กรมประมง, มมป.ข)

3.2 ลักษณะทางอนุกรมวิธาน

ปลาดุกเป็นปลาที่อยู่ในครอบครัว Clariidae ลักษณะโดยทั่วไปเป็นปลาไม่มีเกล็ด ลำตัวยาวเรียว ครีบหลังยาวไม่มีกระโดง ครีบท้องยาวเกือบถึงโคนหาง มีอวัยวะช่วยในการหายใจ ซึ่งช่วยให้ปลาดุกมีความอดทนสามารถอยู่พ้นน้ำได้นาน ขนาดนัยน์ตาของปลาดุกจะดูเล็กผิดสัดส่วนหากเทียบกับขนาดของลำตัว มีหนวด 4 คู่ ซึ่งสามารถรับความรู้สึกต่างๆ ได้ดี ฉะนั้นปลาดุกจึงใช้หนวดมากกว่าใช้ตาเมื่อหาอาหารตามพื้นหน้าดิน โดยปกติแล้วปลาดุกมีนิสัยว่องไว ชอบกินอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ แต่ถ้านำมาเลี้ยงในบ่ออาจให้อาหารจำพวกพืช และสามารถฝึกนิสัยให้ปลาดุกขึ้นมากินอาหารบริเวณผิวน้ำได้ (กรมประมง, มปป.ก)

ปลาดุกพันธุ์ผสมมีลักษณะคล้ายกับปลาดุกอุยและปลาดุกรัสเซีย ปลาดุกพันธุ์ผสมในระยะวัยอ่อนมีลักษณะภายนอก นิสัยการกินอาหารคล้ายกับปลาดุกอุย โดยมีผิวค่อนข้างเหลือง บริเวณลำตัวและหางมีจุดประสีขาว แต่เมื่อโตเต็มที่จุดประจะหายไป กะโหลกท้ายทอยแหลมเป็นหยัก 3 หยัก หัวมีขนาดใหญ่ เมื่อปลามีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ขึ้นไปอัตราการเจริญเติบโตและลักษณะจะคล้ายกับปลาดุกรัสเซียมากขึ้น แต่เนื้อไม่เหลวเหมือนปลาดุกรัสเซีย ลักษณะเด่นของ

ปลาดุกพันธุ์ผสม คือ ตัวโต เจริญเติบโตเร็ว มีความต้านทานต่อโรคสูง และเนื้อเยอะสีเหลืองนวล รสชาติดี สามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายประเภท (กรมประมง, มปป.ข)

3.3 การผสมเทียมปลาดุกพันธุ์ผสม

3.3.1 การเลี้ยงพ่อ-แม่พันธุ์

ควรเลี้ยงในบ่อดินที่มีขนาดตั้งแต่ 100 ตารางเมตรขึ้นไป โดยปล่อยในอัตรา 20-30 ตัวต่อตารางเมตร ที่ระดับความลึกของน้ำประมาณ 1.0-1.5 เมตร ควรมีการถ่ายเทน้ำบ่อยๆ เพื่อกระตุ้นให้ปลากินอาหารได้ดี และพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของปลาให้มีไข่และน้ำเชื้อดียิ่งขึ้นจะใช้เวลาประมาณ 3-4 เดือน

ฤดูกาลผสมพันธุ์ปลาดุกจะอยู่ในช่วงเดือนมีนาคม-ตุลาคม ก่อนฤดูกาลผสมพันธุ์ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ควรเริ่มคัดปลาที่มีไข่แก่สมบูรณ์บางส่วนมาเริ่มดำเนินการผสมเทียม

3.3.2 การคัดเลือกพ่อ-แม่พันธุ์

พ่อแม่พันธุ์ปลาดุกที่นำมาใช้ควรเป็นปลาที่สมบูรณ์ไม่บอบช้ำ ปลาเพศเมียที่ดีมีลักษณะ คือ ส่วนท้องอูมเป่ง ไม่นิ่มหรือแข็งจนเกินไป ติ่งเพศจะมีลักษณะกลมมีสีแดงหรือชมพูอมแดง ถ้าใช้มือบีบเบาๆ ตรงบริเวณท้องจะมีไข่ออกมา ส่วนปลาดุกเพศผู้จะมีติ่งเพศยาวเรียว มีสีชมพูเรื่อๆ ขนาดของพ่อ-แม่พันธุ์ปลาดุก ควรมีน้ำหนักมากกว่า 200 กรัมขึ้นไป หรือปลาที่มีอายุประมาณ 7-8 เดือน หรือ 1 ปี

3.3.3 การฉีดฮอร์โมน

ฮอร์โมนที่ใช้ในการฉีดเร่งให้แม่ปลาดุกมีไข่แก่มีหลายชนิด ได้แก่ ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง ฮอร์โมนสกัด ฮอร์โมนสังเคราะห์ โดยตำแหน่งที่เหมาะสมที่สุดในการฉีด คือ บริเวณกล้ามเนื้อใต้ครีบหลังส่วนต้นเหนือเส้นข้างตัว โดยใช้เข็มเบอร์ 22-24 แทงเข็มเอียงทำมุมกับลำตัวประมาณ 30 องศา แทงลึกประมาณ 1 นิ้ว

3.3.4 การผสมเทียม

นำแม่ปลาที่ได้รับการฉีดฮอร์โมนและมีไข่แก่เต็มที่แล้วมารีดไข่ใส่ในภาชนะผิวเรียบ เช่น กะละมังเคลือบ พร้อมกันนี้ผ่าเอาถุงน้ำเชื้อจากพ่อปลานำมาวางบนผ้ามุ้งเขียว แล้วขยี้ให้ละเอียดพร้อมกับเทน้ำเกลือเข้มข้นประมาณ 0.7 เปอร์เซ็นต์ หรือน้ำสะอาดลงบนผ้ามุ้งเขียวที่ขยี้ถุงน้ำเชื้อให้น้ำไหลผ่านเพื่อให้น้ำเชื้อลงไปผสมกับไข่ คนเบาๆ ด้วยขนไก่ประมาณ 2-3 นาที จึงนำไข่ที่ได้รับการผสมแล้วไปล้างน้ำสะอาด 1 ครั้ง แล้วนำไปฟัก

3.3.5 การฟักไข่

นำไข่ปลาดุกที่ได้รับการผสมกับน้ำเชื้อแล้วไปฟัก โดยโรยไข่บนผ้ามุ้งเขียวเบอร์ 20 ที่ขึงตึงที่ระดับต่ำกว่าผิวน้ำประมาณ 5-10 เซนติเมตร โดยระดับน้ำในบ่อที่ขึงผ้ามุ้งเขียวน้ำมีระดับน้ำลึกประมาณ 20-30 เซนติเมตร เปิดน้ำไหลผ่านตลอดเวลา และควรมีเครื่องเพิ่มอากาศใส่ไว้ในบ่อฟักไข่ปลาด้วย ไข่ปลาดุกที่ได้รับการผสมจะพัฒนาและฟักเป็นตัวโดยใช้เวลาประมาณ 21-26 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิของน้ำ 28-30 องศาเซลเซียส ลูกปลาดุกที่ฟักออกเป็นตัวจะหลุดลอดตาของมุ้งเขียวลงสู่พื้นก้นบ่อด้านล่าง หลังจากลูกปลาหลุดลอดลงสู่พื้นก้นบ่อหมดแล้วจึงย้ายผ้ามุ้งเขียวที่ใช้ฟักไข่ออกจากบ่อฟักจะใช้เวลา 6-8 ชั่วโมง ลูกปลาจะค่อยๆ พัฒนาเจริญขึ้นเป็นลำดับจนมีอายุประมาณ 48 ชั่วโมง จึงเริ่มกินอาหาร (กรมประมง, มปป.ข)

3.4 ความต้องการสารอาหาร

โดยทั่วไปปลาดุกต้องการโปรตีนในอาหาร 25-40 เปอร์เซ็นต์ ปลาขนาด 2-4 เซนติเมตร ต้องการโปรตีนในอาหาร 35-40 เปอร์เซ็นต์ ปลาขนาด 5-6 เซนติเมตรขึ้นไป ต้องการอาหารที่มีโปรตีน 25-30 เปอร์เซ็นต์ ปลาพ่อแม่พันธุ์ต้องการโปรตีนในอาหาร 28-32 เปอร์เซ็นต์ (มะลิ, 2530) ปลาดุกพันธุ์ผสมหรือปลาดุกบิ๊กอุยเจริญเติบโตและให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้ดีที่สุด เมื่อมีระดับโปรตีนในอาหาร 41 เปอร์เซ็นต์ วิมลและคณะ(2536) ทำการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของคาร์โบไฮเดรตจากปลายข้าวดิบต่อไขมันในอาหารปลาดุกพันธุ์ผสม และได้ข้อสรุปว่าอาหารที่มีโปรตีน 33 เปอร์เซ็นต์ พลังงานรวม 4,280-4,390 กิโลแคลอรี/กิโลกรัม ควรมีคาร์โบไฮเดรตจากปลายข้าว 50 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเป็นสัดส่วนระหว่างคาร์โบไฮเดรตกับไขมันจะได้เท่ากับ 11.24:1 ทำให้ปลาดุกบิ๊กอุยมีการเจริญเติบโตดี จากการศึกษาของ Jauncey และ Ross (1982) พบว่าอาหารปลาดุกควรมีไขมัน 6-8 เปอร์เซ็นต์ สำหรับอาหารปลาดุกที่เลี้ยงในเขตร้อนอาจมีไขมันสูงได้ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ (อำนวย, 2525) จากการทดลองของวิมลและพิศมัย (2538) พบว่าปลาดุกพันธุ์ผสมต้องการกรดไขมันที่จำเป็นทั้งกรดไลโนลีนิก (linolenic) หรือโอเมกา 3 (ω-3) และกรดไลโนลิอิก (linoleic) หรือ โอเมกา 6 (ω-6) แต่ต้องการโอเมกา 6 มากกว่า ในสัดส่วน 1:1.25 จึงจะทำให้ปลาดุกพันธุ์ผสมขนาด 0.5-19 กรัม มีอัตราการเจริญเติบโตและมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด พบมากในถั่วเหลืองและน้ำมันปลาที่เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ (เวียง, 2542) Boonyaratpalin และ Phromkunthong (2001) พบว่าการเสริมวิตามินซีในรูป ascorbyl phosphate calcium 30 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของปลาดุกพันธุ์ผสมและช่วยป้องกันอาการขาดวิตามินซีได้

3.5 ด้านการตลาด

ปลาดุกพันธุ์ผสมถือเป็นปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ โดยในปี 2534 มีรายงานว่าผลผลิตปลาดุกพันธุ์ผสมมีมูลค่าสูงถึง 700 ล้านบาท และมีแนวโน้มในการเลี้ยงเพิ่มขึ้นถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (อุทัยรัตน์, 2539) จากข้อมูลล่าสุดในปี พ.ศ. 2543 พบว่า ปริมาณการผลิตปลาดุกทั้งจากการจับและการเพาะเลี้ยงสูงถึง 95,600 ตัน โดยคิดเป็นมูลค่า 2,895.9 ล้านบาท (กรมประมง, 2546) จะเห็นได้ว่าความต้องการบริโภคปลาดุกมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ ทั้งนี้เนื่องจากปลาดุกเป็นปลาที่สามารถอยู่ได้ในสภาพที่มีน้ำน้อยๆ ผู้บริโภคจึงสามารถซื้อปลาสดได้ อีกทั้งราคาของปลาดุกไม่สูงมากนักโดยอยู่ในช่วง 22-28 บาทต่อปลา 1 กิโลกรัม (ลิลา, 2547)

ตลาดส่งออกปลาดุกพันธุ์ผสมที่สำคัญ คือ สหรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส ฮ่องกง ญี่ปุ่น และสิงคโปร์ (ศักดิ์ชัย, 2536) สามารถจำหน่ายได้ทั้งในรูปปลามีชีวิต และอาหารแปรรูป เช่น ปลาร้า ปลารมควัน ปลาตากแห้ง ปลาแซ่แข็ง และอาหารกระป๋อง (Raksakulthai, 1996)

4. ปลานิล

4.1 ชีววิทยาของปลานิล

ปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn.) เป็นปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ จัดอยู่ในวงศ์เดียวกับปลาหมอเทศ โดยอยู่ในตระกูล Cichlidae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกา พบทั่วไปตามหนอง บึง และทะเลสาบ ในประเทศซูดาน อูแกนดา แทนแกนยิกา เนื่องจากปลาชนิดนี้เลี้ยงง่าย โตเร็ว แข็งแรง และทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถแพร่ขยายพันธุ์วางไข่ได้ทั้งในบ่อเลี้ยงและแหล่งน้ำธรรมชาติ นอกจากนี้ยังมีรสชาติดีอีกด้วย (กรมประมง, มปป.ก; มานพ และคณะ, 2536; อุทัยรัตน์, 2539)

ปลานิลได้ถูกนำเข้ามาในประเทศไทยเป็นครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2508 โดยเจ้าฟ้าอากิฮิโต มกุฎราชกุมารแห่งประเทศญี่ปุ่น โดยทรงนำปลานิลจำนวน 50 ตัว ความยาวเฉลี่ยตัวละประมาณ 9 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 14 กรัม มาทูลเกล้าฯ ถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ระยะแรกได้ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้เลี้ยงไว้ในบ่อดินขนาด 10 ตารางเมตร ในบริเวณสวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต และโปรดเกล้าฯ พระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่า "ปลานิล" อีก 1 ปีต่อมา ได้ทรงพระราชทานลูกปลาขนาดเล็กที่เกิดจากพ่อ-แม่ที่เลี้ยงไว้ จำนวน 10,000 ตัวแก่กรมประมง เพื่อนำไปเลี้ยงและขยายพันธุ์แจกจ่ายให้แก่ราษฎรต่อไป โดยการขยายพันธุ์ปลานิลในระยะหลังปรากฏว่ามีลูกปลานิลจำนวนหนึ่งมีสีสันผิดไปจากเดิมอย่างเด่นชัด คือ สีของลำตัวซึ่งปกติเป็นสีเขียวปนน้ำตาลดำ ได้เปลี่ยนเป็นสีขาวอมชมพู เหลือง ส้ม หรือแดง อุบัติการณ์ดังกล่าวจัดว่าเป็น

การผ่าเหล่า (mutant) กรมประมงจึงให้ชื่อปลาที่เกิดจากการผ่าเหล่านี้ว่า "ปลานิลสีแดง" (กรมประมง, มปป.ก; มานพและคณะ, 2536)

4.2 ลักษณะทางอนุกรมวิธาน

อนุกรมวิธานของปลานิลจัดจำแนกโดย Trewavas (1982)

Phylum Vertebrata

Class Osteichthyes

Order Perciformes

Family Cichlidae

Genus *Oreochromis*

Species *niloticus*

ลักษณะลำตัวของปลานิลแดงแปลงเพศคล้ายคลึงกับปลานิลธรรมดามาก ต่างกันเพียงสีของลำตัว ปลานิลสามารถเลี้ยงได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำทะเล เนื่องจากมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้ดีระหว่างความเค็ม 11-25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ppt) (พรรณศรี, 2531)

4.3 ชนิดและสายพันธุ์ของปลานิล

4.3.1 ชนิดปลานิล

ปลาในตระกูลปลานิลที่นำเข้าสู่ประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2492 ถึง 2523 มีทั้งหมด 4 ชนิด คือ

4.3.1.1 *Oreochromis mossambicus* (Mozambique mouth breeder) มีชื่อเรียกในภาษาไทยว่า ปลาหมอเทศ เป็นปลาชนิดแรกที่ถูกนำจากปีนัง ประเทศมาเลเซีย เข้าสู่ประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2492 (สันทนาและทัศนีย์, 2525) สามารถอยู่ในน้ำที่มีระดับความเค็มได้แตกต่างมาก คือ ตั้งแต่น้ำจืดจนกระทั่งถึงน้ำกร่อย มีบทบาทสำคัญในการควบคุมพรรณไม้น้ำในบ่อ (บรรลือ, 2542)

4.3.1.2 *Sarotherondon melanotheron* หรือ ปลาหมอเทศข้างลาย เป็นปลาที่นำมาจากประเทศเบลเยี่ยมเข้าสู่ประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2498 ชอบกินพืชเป็นอาหาร เจริญเติบโตช้า จึงไม่เป็นที่นิยม

4.3.1.3 *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia Egyptian strain) เป็นปลาที่สมเด็จพระจักรพรรดิอากิฮีโต เมื่อครั้งดำรงพระอิสริยยศเป็นมกุฎราชกุมารแห่งญี่ปุ่น ทูลเกล้าถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดช ในปี พ.ศ. 2508 ทรงพระราชทานนามว่าปลานิล เป็นปลาที่เจริญเติบโตเร็ว กินอาหารทุกชนิด ตั้งแต่แพลงค์ตอน ตัวอ่อนแมลง และพรรณไม้น้ำ สามารถอยู่ในน้ำที่มีความเค็มสูงถึง 20 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร

4.3.1.4 *Oreochromis aureus* (blue tilapia) เป็นปลาที่นำมาจากประเทศอิสราเอล เข้าสู่ประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2523 มีชื่อเรียกในภาษาไทยว่า ปลานิลอิสราเอล เป็นปลาที่กินอาหารทุกชนิด หากินที่พื้นก้นบ่อ ปลาชนิดนี้นำเข้ามาเพื่อใช้ผลิตปลานิลลูกผสม โดยนำไปผสมกับแม่ปลานิล (*O. niloticus*) (เพ็ญพรรณ, 2543)

4.3.2 **สายพันธุ์ปลานิล**

ปลาในตระกูลปลานิลทั้ง 4 ชนิด ที่นำเข้ามาสู่ประเทศไทย ปลานิล และปลาหมอเทศเท่านั้น ที่มีบทบาทในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดของไทย โดยเฉพาะปลานิลได้รับการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ จากสถาบันพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง และหน่วยงานเอกชน ทำให้เกิดสายพันธุ์ใหม่ขึ้น ดังนี้

4.3.2.1 สายพันธุ์จิตรลดา 1 เป็นสายพันธุ์ที่ปรับปรุงพันธุ์มาจากปลานิลสายพันธุ์แบบคัดเลือกภายในครอบครัว เริ่มดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2528 จนถึงปัจจุบันเป็นระยะเวลาถึง 7 ชั่วอายุ เป็นสายพันธุ์ใหม่ที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่าสายพันธุ์เดิม ประมาณ 22 เปอร์เซ็นต์ (กรมประมง, มปป.ค; ยุพินท์และพันธ์ศักดิ์, 2543)

4.3.2.2 สายพันธุ์จิตรลดา 2 (genetical male tilapia; GMT) เป็นปลานิลที่พัฒนาพันธุ์มาจากปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา โดยการปรับเปลี่ยนพันธุกรรมในพ่อพันธุ์ให้มีโครโมโซมเพศเป็น "YY" ที่เรียกว่า "YY-Male" หรือ ปลานิลซูเปอร์เมล เมื่อนำพ่อพันธุ์ดังกล่าวไปผสมพันธุ์กับแม่พันธุ์ปลานิลทั่วไป จะได้ลูกปลานิลเพศผู้ที่เรียกว่า "ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2" ซึ่งมีลักษณะเด่น คือเป็นเพศผู้ที่มีโครโมโซมเพศ "XY" ได้ลูกปลาเฉลี่ย 95.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหัวเล็ก ลำตัวกว้าง สีขาวนวล เนื้อหนาและแน่น รสชาติดี ปลาที่มีอายุ 6-8 เดือน สามารถเจริญเติบโตได้ขนาด 2-3 ตัวต่อกิโลกรัม ให้ผลผลิตต่อไร่สูงกว่าปลานิลสายพันธุ์เดิม 45 เปอร์เซ็นต์ (กรมประมง, มปป.ค; เพ็ญพรรณ, 2543)

4.3.2.3 สายพันธุ์จิตรลดา 3 (genetically improved farmed tilapia line; GIFT) เป็นปลานิลที่ปรับปรุงพันธุ์มาจากการนำปลานิลพันธุ์ผสมกลุ่มต่างๆ ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างปลานิลสายพันธุ์จิตรลดาและปลานิลสายพันธุ์อื่นๆ อีก 7 สายพันธุ์ ประกอบด้วย

สายพันธุ์อียิปต์ กานา เคนยา เซเนกัล สิงคโปร์ อิสราเอล และไต้หวัน ซึ่งมีการเจริญเติบโตเร็วและมีอัตรารอดสูงในสภาพแวดล้อมการเลี้ยงต่างๆ ไปสร้างเป็นประชากรพื้นฐาน จากนั้นจึงดำเนินการคัดพันธุ์ในประชากรพื้นฐานต่อโดยวิธีดูลักษณะครอบครัวร่วมกับวิธีดูลักษณะภายในครอบครัว ปลานิลชั่วอายุที่ 1-5 ดำเนินการปรับปรุงพันธุ์โดยหน่วยงาน International Center for Living Aquatic Resources Management (ICLARM) ของประเทศฟิลิปปินส์ จากนั้นจึงนำลูกปลาชั่วอายุที่ 5 เข้ามาในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2538 สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำจึงดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ปลาดังกล่าวต่ออีก 2 ชั่วอายุ และเรียกว่า "ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 3" ปลาสายพันธุ์นี้มีลักษณะเด่นคือ ส่วนหัวเล็ก ลำตัวกว้าง สีเหลืองนวล เนื้อหนาและแน่น รสชาติดี เจริญเติบโตได้ขนาด 3-4 ตัวต่อกิโลกรัม ภายใน 6-8 เดือน ผลผลิตสูงกว่าปลานิลทั่วไปถึง 40 เปอร์เซ็นต์ (กรมประมง, มปป.ค; ยุพินท์และพันธ์ศักดิ์, 2543)

4.3.2.4 ปลานิลสีแดงสายพันธุ์ไทย เป็นลูกผสมระหว่างปลานิล (*Oreochromis niloticus*) และปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambicus*) มีลักษณะของปลานิลและปลาหมอเทศรวมกัน คือปากเฉียงขึ้นคล้ายปลาหมอเทศ ลักษณะทั่วไปคล้ายปลานิล เป็นปลาที่กินทั้งพืชและสัตว์ สามารถเลี้ยงได้ทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำทะเล มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้ดีระหว่างความเค็ม 11 ถึง 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สีสันสวยงาม มีคุณค่าทางอาหาร และรสชาติดี (พรรณศรี, 2531)

4.3.2.5 สายพันธุ์ซีพี เป็นปลานิลสีแดงที่บริษัทเจริญโภคภัณฑ์ (ซีพี) ทำการปรับปรุงพันธุ์โดยได้ปลาที่มีลำตัวกว้างและหนา สามารถทนความเค็มได้ตั้งแต่น้ำจืดไปจนถึงน้ำทะเล ปลานิลสายพันธุ์นี้ถูกนำไปเลี้ยงแทนที่กุ้งกุลาดำที่ล้มเหลวเพราะปัญหาโรคกุ้งที่เกิดจากสภาวะแวดล้อมที่เสื่อมโทรม ปัจจุบันปลานิลสายพันธุ์ซีพีถูกนำมาเลี้ยงร่วมในนากุ้งกุลาดำระบบปิด เพื่อให้ทำหน้าที่กำจัดพรรณไม้น้ำ การเลี้ยงปลานิลในน้ำเค็มหรือน้ำทะเลมีข้อดีคือ ปลาที่เลี้ยงจะไม่ค่อยเป็นโรคจึงไม่จำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีกำจัดโรค นอกจากนี้ในน้ำเค็มมีแพลงค์ตอนที่ทำให้เกิดปัญหาเรื่องกลิ่นสาบในเนื้อปลา (geosmin) น้อยหรือไม่มีเลย ปลาที่เลี้ยงในน้ำเค็มจึงเป็นเนื้อคุณภาพสูง รสชาติใกล้เคียงกับปลาทะเล ทำให้ขายได้ราคาดี (ยุพินท์, 2543)

4.3.2.6 สายพันธุ์ทับทิม เป็นปลานิลแดงที่บริษัทซีพี ทำการปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมาให้มีความสามารถในการกินอาหาร จึงมีการเจริญเติบโตเร็ว และสามารถทนความเค็มได้ถึง 30 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร โดยที่ความเค็มที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตคือ 15-20 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร จึงสามารถทำการเลี้ยงในน้ำทะเลได้ ปลาทับทิมมีโครงกระดูกเล็ก กล้ามเนื้อขาวและผิวหนังสีขาว เจริญเติบโตดีในสภาพการเลี้ยงที่ความหนาแน่นสูง จึงเหมาะกับการเลี้ยงใน

กระชัง ซึ่งจะให้ผลผลิตสูงถึง 25 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร ภายในระยะเวลาการเลี้ยงเพียง 3 เดือน (ยุพินท์, 2543; Ritmontri, 2001)

4.4 การผลิตปลานิลเพศผู้

การผลิตปลานิลเพศผู้สามารถดำเนินการได้หลายวิธี

4.4.1 การคัดเลือกโดยดูจากลักษณะเพศภายนอก (manual sexing) แต่วิธีการนี้ไม่เป็นที่นิยมเพราะผู้คัดเลือกต้องมีความชำนาญและจำนวนปลาต้องมากพอ เนื่องจากสภาพปกติอัตราส่วนของปลาเพศผู้และเพศเมียจะมีสัดส่วนใกล้เคียงกัน อีกทั้งขนาดปลาที่สามารถเห็นความแตกต่างระหว่างเพศได้ชัดเจน ควรมีขนาดความยาวตั้งแต่ 12 เซนติเมตร และมีน้ำหนัก 50 กรัมขึ้นไป

4.4.2 การผสมข้ามสายพันธุ์ (hybridization) การใช้วิธีการผสมข้ามพันธุ์ ทั้งข้ามสกุล (genus) และชนิด (species) ในปลาบางชนิดสามารถเกิดลูกเป็นเพศเดียวกันได้ทั้งหมด สำหรับปลานิลการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่าง *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus* จะได้ลูกพันธุ์ที่มีเพศผู้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากการปฏิบัติในประเทศอิสราเอล

4.4.3 การใช้ฮอร์โมนเพศ การแปลงเพศปลาโดยให้กินอาหารผสมฮอร์โมน 17- เมทธิลเทสโทสเตอร์โรน (17-methyltestosterone หรือ 17-MT) ความเข้มข้น 40-60 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลานาน 28-30 วัน แต่ขั้นตอนการผลิตลูกปลาแปลงเพศเหล่านี้ค่อนข้างยุ่งยาก ต้องมีความรู้ความชำนาญเพียงพอ นอกจากนี้ฮอร์โมน 17-เมทธิลเทสโทสเตอร์โรน ต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ มีราคาแพง และเสื่อมคุณภาพได้ง่าย ในสภาพภูมิอากาศร้อนอย่างในประเทศไทย ทำให้ต้นทุนการผลิตปลาเพศผู้ในลักษณะนี้ค่อนข้างสูง และประสิทธิภาพการผลิตก็ไม่สม่ำเสมอ หากลูกปลากินอาหารผสมฮอร์โมนไม่ครบ ก็จะให้ผลผลิตเพศผู้ไม่ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามแม้ว่าฮอร์โมนเหล่านี้จะได้รับการยืนยันว่าไม่มีผลตกค้างในเนื้อปลาโดยเฉพาะในปลาที่มีขนาดจับขายได้ แต่ก็ยังมีผู้บริโภคบางส่วนที่ไม่ยอมบริโภคปลานิลที่ถูกเปลี่ยนเพศด้วยฮอร์โมนเหล่านี้

4.4.4 การผลิตปลานิลเพศผู้โดยทางอ้อม (indirect monosex production) เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะผลิตปลานิลเพศผู้ทั้งหมด สามารถหลีกเลี่ยงปัญหาฮอร์โมนอาจตกค้างในเนื้อและปัญหาประสิทธิภาพการผลิตปลาเพศผู้ที่ไม่สม่ำเสมอ การผลิตปลานิลเพศผู้โดยทางอ้อม ทำได้โดยผลิตพ่อพันธุ์ปลานิลซูเปอร์เมล (supermale หรือ YY-male) ซึ่งมีโครโมโซมเพศเป็น YY นำพ่อพันธุ์ปลานิลซูเปอร์เมลเหล่านี้ไปผสมกับแม่พันธุ์ปลานิลปกติจะได้ลูกปลาที่เป็นเพศผู้ทั้งหมด

เนื่องจากลูกปลาเพศผู้เหล่านี้เป็นปลาเพศผู้โดยพันธุกรรม (genetically male tilapia) มีโครโมโซมเพศเป็น XY จึงนิยมเรียกปลาเพศผู้เหล่านี้ว่า ปลานิลเพศผู้ GMT สามารถอธิบายได้ดังนี้ และมีขั้นตอนแสดงดังภาพที่ 3

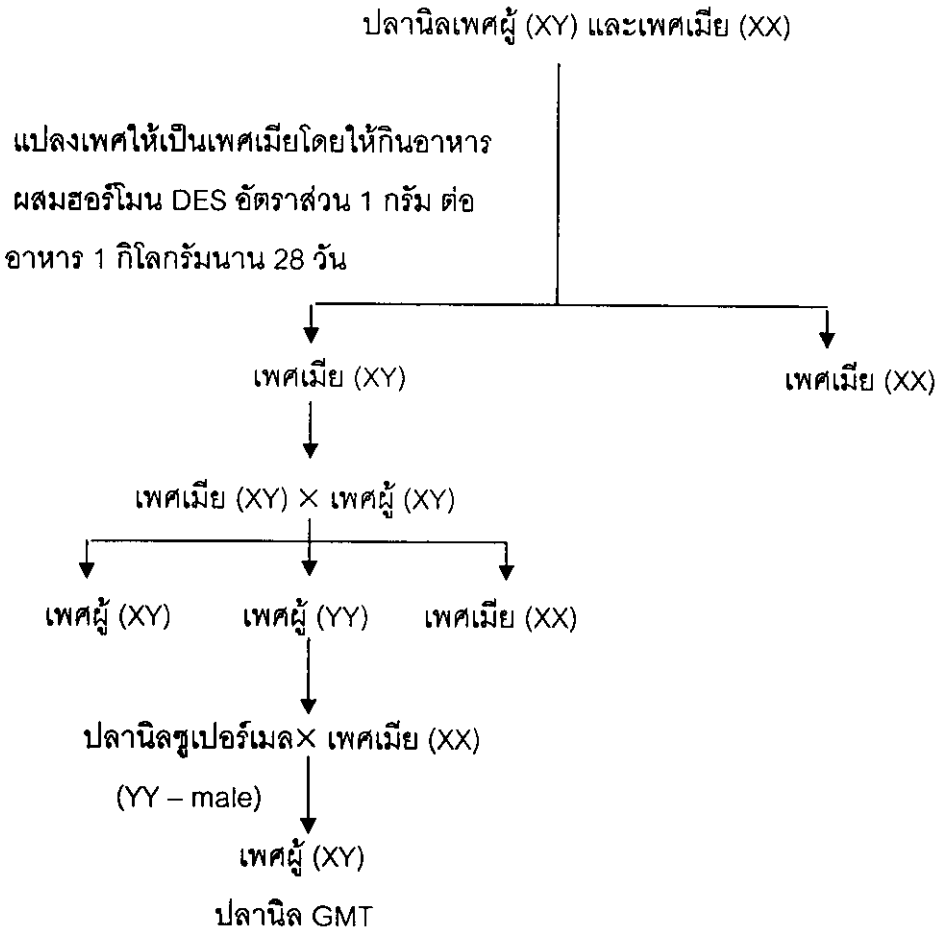
4.4.4.1 รวบรวมลูกปลาจากปากแม่ปลามาอนุบาลจนถุงไข่แดงยุบ และเริ่มกินอาหาร

4.4.4.2 เตรียมอาหารผสมฮอร์โมนไดเอทธิลสทิลเบสทรอล (diethylstilbestrol หรือ DES) อัตราส่วน 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ละลายฮอร์โมนในสารละลายเอทธิลแอลกอฮอล์ และคลุกกับอาหารให้ทั่ว ให้ลูกปลากินนาน 28 วัน จะได้ลูกปลาเพศเมียที่มีโครโมโซม 2 แบบคือ XX และ XY

4.4.4.3 ตรวจสอบว่าปลาเพศเมียตัวใดเป็นเพศเมียที่มีโครโมโซม XY โดยเลี้ยงปลาเหล่านั้นจนเป็นแม่พันธุ์ แล้วนำมาผสมกับปลาเพศผู้ปกติที่มีโครโมโซมเพศเป็น XY ถ้าแม่ปลาตัวใดผลิตลูกปลาที่มีอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย เท่ากับ 3 ต่อ 1 แสดงว่ามีโครโมโซมเพศเป็น XY

4.4.4.4 นำปลาเพศเมียที่มีโครโมโซม XY ดังกล่าวมาผสมกับปลาเพศผู้ปกติ จะได้ลูกปลาเพศเมียต่อเพศผู้ เท่ากับ 1 ต่อ 3 โดยในลูกปลาเพศผู้เหล่านี้จะมี 1 ส่วนที่มีโครโมโซมเพศเป็น YY

4.4.4.5 ตรวจสอบปลาเพศผู้ที่มีโครโมโซม YY โดยนำไปผสมกับปลาเพศเมียปกติ ถ้าลูกปลาเป็นเพศผู้ทั้งหมด แสดงว่ามีโครโมโซมเพศเป็น YY เป็นปลานิลซูเปอร์เมล เมื่อนำมาผสมกับปลาเพศเมียปกติ จะได้ปลาเพศผู้ GMT หรือที่เรียกว่าเป็นปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2 การเลี้ยงปลานิลเพศผู้ GMT ให้ผลผลิตสูงกว่าการเลี้ยงปลานิลรวมเพศ 28.25 เปอร์เซ็นต์ (นวลมณี และพุทธรัตน์, 2538)



ภาพที่ 3 แผนผังการผลิตปลานิลซูเปอร์เมลและปลานิล GMT

ที่มา: นวลมณีและพุทธรัตน์ (2538)

4.5 ความต้องการสารอาหาร

ปลานิลจัดเป็นปลากินทั้งพืชและสัตว์ (omnivorus) สามารถกินได้ทั้งแพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ ซากอินทรีย์ และซากอนินทรีย์เน่าเปื่อย ตัวอ่อนของแมลง สัตว์หน้าดินบางชนิด เช่น หนอนแดง รวมทั้งแบคทีเรีย และพืชน้ำชนิดต่างๆ (กรมประมง, มปป.ก; วีรพงค์, 2536; Mircs, 1995) ซึ่งระบบการย่อยอาหารของปลานิล ฟันในคอหอย (pharyngeal teeth) จะบดอาหารให้ขนาดเล็กลงและผ่านสู่กระเพาะอาหารตอนต้น ซึ่งมีลักษณะพิเศษคือน้ำย่อยมีความเป็นกรดมากอาจต่ำกว่า 1.5 ซึ่งสามารถย่อยแพลงก์ตอนพืชและสิ่งเน่าเปื่อยได้ดี (Mariarty, 1973)

ความต้องการสารอาหารของปลานิลขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ขนาดหรืออายุปลา ชนิดปลา และคุณภาพของอาหาร กรมประมง (2541) ระบุว่า ลูกปลานิลขนาดเล็กต้องการโปรตีนสูงกว่าปลานิลขนาดใหญ่ โดยปลานิลขนาด 1-10 กรัม มีความต้องการโปรตีนประมาณ 34-36 เปอร์เซ็นต์ ปลานิลขนาด 10-100 กรัม ต้องการโปรตีนในอาหารประมาณ 28-30 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่มีน้ำหนัก 100 กรัมขึ้นไป ต้องการโปรตีนเพียง 20-25 เปอร์เซ็นต์ พลังงานที่ย่อยได้ (digestible energy) ในอาหารที่ปลานิลต้องการมีค่าประมาณ 3,000-4,600 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (El-Dahhar and Lovell, 1995; Winfree and Stickney, 1981) ไขมันในอาหาร พบว่า ปลานิลขนาดเล็ก (น้อยกว่า 2 กรัม) มีความต้องการไขมัน 10 เปอร์เซ็นต์ และที่ขนาดโตกว่า 2 กรัม ต้องการไขมันลดลงเหลือ 6-8 เปอร์เซ็นต์ โดยควรมีทั้งกรดไขมันโอเมกา 6(ω-6) และโอเมกา 3(ω-3) เป็นองค์ประกอบอยู่ 1 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร (Kevin, 1997; Olsen *et al.*, 1990) สำหรับคาร์โบไฮเดรต ปลานิลขนาดต่ำกว่า 1 กรัม ไม่ควรมีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบอยู่เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ และในปลาที่มีขนาดโตกว่า 1 กรัมขึ้นไป สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตในอาหารได้ประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ (Kevin, 1997)

4.6 ด้านการตลาด

ปัจจุบันทวีปเอเชียเป็นแหล่งผลิตแหล่งใหญ่ของปลานิลที่มีผลผลิตปลานิลสูงถึง 75 เปอร์เซ็นต์ ของผลผลิตทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2539 โดยที่ประเทศ 5 อันดับแรกที่มีผลผลิตปลานิลสูงที่สุด คือ ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน (49.2 เปอร์เซ็นต์) อินโดนีเซีย (9.8 เปอร์เซ็นต์) ฟิลิปปินส์ (9.5 เปอร์เซ็นต์) ไทย (9.5 เปอร์เซ็นต์) และไต้หวัน (5.6 เปอร์เซ็นต์) (Suresh, 1999) ในปี พ.ศ. 2543 ผลผลิตปลานิลทั้งจับจากธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยงทั่วโลกมีจำนวน 1,265,800 ตัน ซึ่งเพิ่มจาก 1,265,600 ตัน ในปี พ.ศ. 2539 และมีแนวโน้มเพิ่มผลผลิตมากขึ้นเรื่อยๆ (เพ็ญพรรณ, 2543)

สำหรับประเทศไทย จากข้อมูลทางสถิติการประมงแห่งประเทศไทย รายงานว่าผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดทั้งหมดในปี พ.ศ. 2542 มีปริมาณ 252,612 ตัน โดยเป็นผลผลิตปลานิลสูงสุด คือ 76,541 ตัน คิดเป็น 30.3 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตทั้งหมด ผลผลิตปลาดุกเป็นอันดับ 2 คือ 72,247 ตัน คิดเป็น 28.6 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตทั้งหมด ปลาตะเพียนขาวเป็นอันดับ 3 โดยมีผลผลิตเป็น 41,175 ตัน คิดเป็น 16.3 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตทั้งหมด (กรมประมง, 2545) แต่ประเทศไทยส่งออกปลานิลเพียงร้อยละ 5 ของผลผลิตภายในประเทศ การเลี้ยงปลานิลส่วนใหญ่จึงเป็นการรองรับความต้องการบริโภคภายในประเทศ ดังนั้นหากสามารถเพิ่มกำลังการผลิตได้ การส่งออกปลานิลจึงน่าจะทำรายได้ให้แก่ประเทศเป็นอย่างมาก ระบบการเลี้ยงปลานิลจึงพัฒนาจากแบบดั้งเดิม ไปสู่การเลี้ยงปลานิลเพศผู้ เนื่องจากการเลี้ยงปลาเพศผู้รวมกับเพศเมียประสบปัญหาความหนาแน่นของลูกปลา ผลผลิตปลาที่ได้มีหลายขนาดเพราะปลาเพศเมียวางไข่ได้ตั้งแต่อายุ 2 เดือน สามารถแพร่ขยายพันธุ์ได้เองตามธรรมชาติตลอดทั้งปี (มานพและคณะ, 2536) ปลาเพศผู้เจริญเติบโตเร็วกว่าเพศเมีย 20 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่ได้จึงมีขนาดใหญ่และใกล้เคียงกัน สามารถควบคุมระยะเวลาเลี้ยงได้ (วัชรินทร์และไพบูลย์, 2545) นอกจากนี้การทดลองของ Ita และ Ekeoyo (1989) ศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิล (*O. niloticus*) โดยเปรียบเทียบระบบการเลี้ยง 3 รูปแบบคือการเลี้ยงปลาเพศผู้ทั้งหมด การเลี้ยงปลาเพศเมียทั้งหมด และการเลี้ยงปลาเพศผู้รวมกับเพศเมีย ผลการทดลองพบว่าการเลี้ยงปลาเพศผู้ทั้งหมดปลาจะมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด

วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์ของการทดลองที่ 1

1. เพื่อเปรียบเทียบผลของการใช้เอนไซม์ไฟเตสกับฟอสฟอรัสในรูปไดแคลเซียมฟอสเฟตต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้วัตถุดิบพืชในอาหารของปลาดุกพันธุ์ผสม
2. เพื่อศึกษาระดับของเอนไซม์ไฟเตสที่เหมาะสมต่อการเพิ่มความสามารถในการใช้ฟอสฟอรัสของปลาดุกพันธุ์ผสม
3. เพื่อศึกษาระดับของฟอสฟอรัสในรูปไดแคลเซียมฟอสเฟตที่เหมาะสมในอาหารของปลาดุกพันธุ์ผสม

วัตถุประสงค์ของการทดลองที่ 2

1. เพื่อศึกษาสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่เหมาะสมในอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์ไฟเตสต่อการใช้ฟอสฟอรัสจากวัตถุดิบพืชในปลานิลแดงแปลงเพศ