

บทที่ 1 บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา เพื่อให้ได้ผลผลิตที่สูงสุด โดยมีปัจจัยที่ต้องพิจารณาอย่างรอบคอบ ได้แก่ การจัดการในด้านอาหาร การป้องกันรักษาโรค และการจัดการคุณภาพน้ำ ซึ่งหากปัจจัยทั้งสามประการอยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ จะส่งผลให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตดี และอัตราการростูกสูง เนื่องจากในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบหนาแน่น ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาความไม่สงบ คือ สัตว์น้ำเกิดความเครียด อ่อนแอไม่ทนต่อโรค และการเจริญเติบโตลดลง ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้ลดลงและไม่มีคุณภาพ จากการที่ได้มีการศึกษาโดยการนำสารสกัดหลากหลายชนิดทดสอบ และประยุกต์ใช้กระตุ้นภูมิคุ้มกันทดแทนยาปฏิชีวนะ พบว่า เมتا 1,3 กลูแคน (β 1,3 glucan) ซึ่งสกัดจากผนังเซลล์ของเชื้อสีต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ทำให้ปลาแอตแลนติกแซลมอน (Atlantic salmon, *Salmo salar*) ทนต่อ เชื้อ *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida* และ *Yersinia ruckeri* มากขึ้น (Robertsen *et al.*, 1990) และปัญหาของการใช้กลูแคน คือ ต้องทำให้บริสุทธิ์โดยตัดออกองค์ประกอบอ่อนอต (ethanal) แล้วจึงหมุน เหวี่ยง (centrifuge) และทำอัลตราโซนิกเคลชัน (ultrasonication) ซึ่งไม่สะดวกต่อการนำไปใช้ในระดับ อุตสาหกรรม นอกจานนี้ยังมีผู้สกัดสาร ซัลเฟต โพลีแซคคาไรด์ (sulphate polysaccharide) จากสาหร่ายกุ่ม *Porphyridium cruentum*, *Dunaliella bardawil*, *Isochrysis gallbana*, *Ellipsoidon* sp. และ *Tetraselmis tetraethela* พบว่าสารที่สกัดได้มีคุณสมบัติยังไงสักที่ให้เกิดโรค hemorhagic septicemia ในปลาแอตแลนติกแซลมอน (Robertsen *et al.*, 1990) นอกจานนี้ยังมีการศึกษานำสารสกัดจากสาหร่ายบางชนิด มาทดสอบในอาหารสัตว์น้ำเพื่อเป็นแหล่งไปรดิน และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น สาหร่ายสีน้ำตาล (*Laminaria hyperboea*) โดยสามารถสกัดสาร แอลมินาราน (laminaran) ซึ่งมีคุณสมบัติ ทำให้มีการเพิ่มกระบวนการปริมาณออร์แกนแนล (organelles) และกระตุ้นการจับกิน และเพิ่มการสร้างชุปเปอร์ออกไซด์แอนอิโอน (superoxide anion, O_2^-) ในปลาแอตแลนติกแซลมอน (Dalmo and Seljelid, 1995) และการนำสาหร่ายคุนลาลีออล่า (*Dunaliella salina*) เพื่อกระตุ้นการสร้างสีและเพิ่มการเจริญเติบโตในกุ้งกุลาคำ พ布ว่า สีของกุ้งที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายมีสีเข้มกว่า กุ้งในชุดควบคุมและมีการผลิตเม็ดเม็ดเดียวชนิด ชื่อ ไฮแม็คซ์ (haemocytes) มากกว่าชุดควบคุม (Booyaratpalin *et al.*, 2001) ในปัจจุบันมีการนำสาหร่ายมาเป็นอาหารเสริมสุขภาพในมนุษย์ โดยสาหร่ายที่ได้รับความสนใจมากที่สุด คือสาหร่ายสีปูรุ่งไลนา ซึ่งองค์การอาหารและยาได้จัดไว้เป็นอาหารที่มีวัตถุประสงค์พิเศษ(สุกัธร์, 2546) เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้ มีคุณสมบัติในเชิงบวกมากน้อย

เช่น เป็นแหล่งโปรตีนในนมบุหรี่และสัตว์ เป็นแหล่งของรงค์ดูที่มีประโยชน์ต่อร่างกายในด้านการต่อต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น

จึงนำมาสู่การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ โดยนำสารหาร่าษสไปร์ูลาโนมาเป็นแหล่งโปรตีนและสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากธรรมชาติ เพื่อทดสอบสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่เป็นสารเคมีซึ่งมีราคาแพง และมีข้อควรระวังในการใช้หลายประการ เช่น ในกรณีของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันประเภทยาปฏิชีวนะหากมีการใช้ติดต่อเป็นเวลานานจะมีผลทำให้สัตว์น้ำดื้อยาและมีการตอกด้านของขาในร่างกาย (Roberts, 1989) สารหาร่าษสไปร์ูลาโนมีคาโรทีนอยด์ในปริมาณสูง ซึ่งพบว่าหน้าที่สำคัญของคาโรทีนอยด์ต่อกระบวนการทางชีวเคมี คือ สามารถป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระคือ ช่วยทำลายอนุมูลอิสระของออกซิเจนที่มีพิษซึ่งเกิดขึ้นระหว่างการทำงานของเซลล์ (Miki, 1991) และป้องกันมิให่องค์ประกอบของเซลล์ถูกทำลายจากอนุมูลอิสระโดยการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) (Gabaduan, 1996) จึงมีผลส่งเสริมประสิทธิภาพการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน Nakamura (1982) กล่าวว่าสารหาร่าษสไปร์ูลาโนเนماส่วนใหญ่ใช้อุบลปลาวยอ่อน เนื่องจากมีขนาดเล็กยืดง่าย ช่วยในการเร่งการเจริญเติบโต และเร่งตีปลາ มีรายงานที่นำเสนอในลักษณะการพับองค์ประกอบของกรดแแกมมา ลิโนลินิก (gamma-linolenic acid, 18; 3 ω6) ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีประโยชน์ในทางเภสัชกรรม คือ ช่วยลดコレสเตอรอล (ชนิด low density lipoprotein) ลดอาการปวดประจำเดือน (pre-menstrual syndrome) และลดผื่นแพ้จากการแพ้พันธุ์(atopic dermatitis)(Cohen et al., 1993) ส่วนในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโต พบว่าสารหาร่าษ สไปร์ูลาโนมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะโปรตีนกรดอะมิโนที่จำเป็น และสารตีน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ และ วิตามินอี ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระ มีผลส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน(Belay, 2002) นอกจากจะเพิ่มการเจริญเติบโต และเพิ่มประสิทธิภาพการเพิ่มภูมิคุ้มกันแล้วยังพบว่า การเสริมสารหาร่าษสไปร์ูลาโนยังทำให้ปลາ และ กุ้งมีศีสันสวายงานดึงดูดผู้บริโภค ดังผลให้มีราคากลางสูงขึ้น จากคุณสมบัติที่ให้ผลในเชิงบวกมากของสารหาร่าษนิกนี้ การศึกษารั้งนี้จึงให้ความสนใจที่จะนำสารหาร่าษสไปร์ูลาโนเสริมในอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลาคุกพันธุ์ผสม เนื่องจากปลาชนิดนี้เป็นสัตว์น้ำที่นิยมบริโภคเป็นอันดับ 1 ของประเทศไทย (กองเศรษฐกิจการประมง, 2546) สามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารโปรตีนสูงที่มีประโยชน์และราคาต่ำ อีกทั้งยังเป็นปลาที่เดียงง่าย เจริญเติบโตเร็ว เป็นที่ต้องการของตลาดและขายได้ราคานิเก้นท์คี

วัตถุประสงค์

- เพื่อศึกษาผลและระดับของสารหาร่าษสไปร์ูลาโนต่อการเจริญเติบโต สุขภาพ และระบบภูมิคุ้มกันในปลาคุกพันธุ์ผสม
- ศึกษาข้อมูลทางเศรษฐกิจเพื่อสามารถนำไปเผยแพร่การเดียงสารหาร่าษสไปร์ูลาโนแก่เกษตรกรเพื่อเป็นอาชีพเสริม

ตรวจสอบสาร

1. สาหร่ายสีปูรุ่งไน (Spirulina sp.)

1.1 อนุกรมวิธานของสาหร่ายสีปูรุ่งไน (Venkataraman, 1983)

Division Cyanophyta

Class Cyanophyceae

Order Oscillatoriales

Family Oscillatoriaceae

Genus *Spirulina*

สาหร่ายสีปูรุ่งไนจัดเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีลักษณะสำคัญคือ เป็นเส้นสายซึ่งประกอบด้วย เซลล์หลายเซลล์เรียงต่อกัน (multicellular) เรียกสายนี้ว่า ไทรโคน (trichome) โดยในแต่ละสายประกอบด้วยไทรโคนແลวเดียวที่มีขนาดสม่ำเสมอ กองสร้างของเซลล์มีลักษณะเป็นโพรงคริโอด (procaryote) ไม่มีนิวเคลียส มีสารสีกระหายอยู่บริเวณไอลากอยด์ (thylacoid) ซึ่งอยู่ในไซโท พลาสซึม(cytoplasm) สาหร่ายสีปูรุ่งไนมีขนาดใหญ่กว่าคลอเรลลา (chorella) ประมาณ 100 เท่า มีความกว้างของเซลล์แต่ละเซลล์ประมาณ 3 – 80 ไมโครเมตร ยาว 50 – 500 ไมโครเมตร (เจียนจิตต์, 2530) ระยะห่างระหว่างแต่ละเกลียว(pitch) 60 ไมโครเมตร ผนังเซลล์มีหลาຍชั้นประกอบด้วยสารมิวโคโปรตีน(mucoprotein) และเพ็คติน(pectin) ผนังชั้นนอกเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) ไม่พบสารประกอบพวากเซลลูโลส(cellulose)(Venkataraman, 1983) สีบันธุ์โดยวิธีขาดท่อน(fragmentation) และแบ่งเซลล์ ทำให้ไทรโคนยึดขาวออก (Fog *et al.*, 1973) สาหร่ายสีปูรุ่งไนพบแพร่กระจายทั่วไปในน้ำจืดเป็นส่วนใหญ่ แต่สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำเค็ม และน้ำกร่อย (Richmond, 1986) บริเวณที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือ บริเวณเขตร้อนที่มีแสงมากพอสมควร และมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในรอบวัน ไม่นานกัก(Faucher *et al.*, 1979) โดยอยู่บริเวณละติจูดที่ 35 องศาเหนือ และได้ ประเทศไทยถือได้ว่าเป็นบริเวณที่มีความเหมาะสมสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิดนี้ เนื่องจากมีแสงมากเพียงพอ และอุณหภูมิในรอบวัน ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยสามารถพัฒนาการแพร่กระจายมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(เจียนจิตต์, 2530) สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย สีปูรุ่งไน คือ 29 – 32 องศาเซลเซียส และจะมีการเจริญเติบโตลดลง และตายในที่สุดที่อุณหภูมิ 44 – 50 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ค้าง(pH) ที่เหมาะสม คือ 8.5 – 10 ความเข้มแสงที่เหมาะสมคือ 4,000 – 5,000 ลักซ์ (lux)(Nakamura, 1982) สาหร่ายชนิดนี้มีคุณค่าทางเศรษฐกิจสูง เนื่องจากเป็นพืชที่มีโปรตีนสูง ถึง 50 – 70 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบของรงค์วัตถุ (pigment) ที่สำคัญคือ ไฟโคลไซดิน (phycocyanin) คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) และคาโรทีโนอิค (carotenoids)(Hill,

1980) และ พนว่าสาหร่ายสไปรุ่ไอลามีองค์ประกอบของกรดไขมันที่จำเป็น คือ กรดแอกโนนิโนลีนิก(gamma-linolenic) โดยสารชนิดนี้มีความสำคัญ คือ เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ พรอสตา แกลนิน(prostaglandin) ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์โครสเตอรอล และควบคุมอาการอักเสบ และการออกของเซลล์(Richmond, 1986) สูตรอาหารที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรุ่ไอลามี หลาสูตร โดยในห้องปฏิบัติการนิยมใช้สูตรของ Zartouk (Faucher *et al.*, 1979) แต่มีข้อจำกัดคือ สูตรนี้มีการใช้สารเคมีที่ราคาแพงหลาษนิด ทำให้มีการวิจัยคิดค้นสูตรอาหารต่างๆ ที่สามารถหาได้ ง่ายมากแทนซึ่งก็ได้ผลเป็นที่น่าพอใจ เช่น น้ำทะเลใช้ควบคู่กับยูเรีย(urea)(Faucher *et al.*, 1979) น้ำทึ้งจากโรงงานยางพารา (พิมพวรรณ และ อารักษ์, 2531) อาหารที่เตรียมจากดิน(อำนาจ และ คณะ, 2531) และน้ำทึ้งจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล (อุณิชัย, 2538) เป็นต้น ทำให้ดันทุนการผลิตในเชิง ชุตสาหกรรมลดลง

1.2 การใช้ประโยชน์ของสาหร่ายสไปรุ่ไอลามและสารสี

1.2.1 อาหารของมนุษย์

ในปัจจุบันประชากรเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ความต้องการอาหารจึงเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย นักวิจัยจึงทำการศึกษาแสวงหาแหล่งอาหารใหม่เพื่อตอบสนองความต้องการของมนุษย์ ซึ่งจะต้องมี คุณค่าทางโภชนาการที่เหมาะสมและสามารถผลิตได้ในปริมาณมาก สาหร่ายสไปรุ่ไอลามซึ่งเป็น โปรตีนเซลล์เดียวเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความสนใจ เพราะมีลักษณะตรงตามความต้องการ ของคนกินซึ่งมีคุณสมบัติในด้านการเป็นอาหารและสามารถเพิ่มภูมิคุ้มกันทางภูมิคุ้มกัน(Hill, 1980) กล่าวคือ มีผลทำให้กล้ามเนื้อแข็งแรงยืดหยุ่นได้ดีขึ้น(สุชาติ, 2530) ช่วยให้การกินน้ำหนักตัว เพิ่มขึ้น เนื่องจากสาหร่ายสไปรุ่ไอลามมีผนังเซลล์ที่ช่อบย่าง(สุชาติ, 2530) สามารถใช้รักษาโรค กีบวันดาและเบาหวาน ได้อย่างมีประสิทธิภาพ(Anusuya *et al.*, 1981) ในประเทศไทยปัจจุบันมีการศึกษา คุณสมบัติของสาหร่ายสไปรุ่ไอลาม พนว่ามีผลช่วยควบคุมน้ำตาลในเลือดในผู้ป่วยที่เป็น โรคเบาหวาน และทำให้การทำงานของตับเป็นไปได้ตามปกติ โดยมีการทดลองในผู้ป่วยโรคตับ อักเสบ(epidemic hepatitis) ซึ่งมีอาการขาดโปรตีนและวิตามิน อ่อนเพลีย ตัวเหลือง พนว่าการ ทำงานของตับดีขึ้น มีปริมาณโปรตีนในน้ำเหลืองเพิ่มขึ้น ปริมาณโครสเตอรอลในเลือดอยู่ในระดับ ปกติ(Hill, 1980) สาหร่ายสไปรุ่ไอลามประกอบด้วยกรดนิวคลีอิก(nucleic acid) ประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง อยู่ในระดับต่ำ หากร่างกายได้รับกรดนิวคลีอิกนี้ในปริมาณสูง มีผลต่อการสะสมของกรดบูริก(uric acid)สูงขึ้น (สุกัธร์, 2546) ปัจจุบันองค์การอาหารและยาได้จดสาหร่ายสไปรุ่ไอลามเป็นอาหารที่มี วัตถุประสงค์พิเศษ ซึ่งสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ อาหารที่ใช้สำหรับผู้ป่วยเฉพาะโรค หรือผู้ที่มี สภาพผิดปกติทางร่างกาย และอาหารที่ใช้สำหรับบุคคลผู้ที่มีวัตถุประสงค์ในการบริโภคอาหารเป็น พิเศษ เช่นผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก อาหารสำหรับผู้สูงอายุ และ อาหารสำหรับสตรีมีครรภ์เป็น ต้น(สุกัธร์, 2546) Hirahashi และ คณะ(2002) กล่าวว่าสาหร่ายสไปรุ่ไอลาม(*S. platensis*) มีผลในการ

เห็นว่าการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันและลดอาการของโรคมะเร็งและการติดเชื้อไวรัส ทดสอบโดยให้อาสาสมัครรับประทานน้ำสไปร์ูลนาที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำร้อน พบว่าผู้ที่ได้รับประทานมีการเพิ่มการพัฒนา(maturation stage)ของเม็ดเลือดขาว 2 ชนิด คือ โมโนไซด์(monocytes) และ แมคโครฟ่าจ(macrophages) Hu และ Guo (2001) พบว่า ซีเลเนียม โพลิเซ็คคาไรด์(selenium polysaccharide) ที่สกัดจากสาหร่ายสไปร์ูลนาสามารถเป็นสารเพิ่มภูมิต้านทานและรักษา(immunotherapy) โรคมะเร็งชนิดหนึ่ง(malignant diseases)

1.2.2 อาหารของสัตว์น้ำ

ปัจจุบันสาหร่ายสไปร์ูลนา มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมสัตว์น้ำหลายประการ เช่น ส่งเสริมการเจริญเติบโต เพิ่มภูมิต้านทาน และ เร่งสี ดังการศึกษาต่อไปนี้

Nakamura(1982) ทำการศึกษาสาหร่ายสไปร์ูลนา 2 รูป คือ ในรูปแข็ง และในรูปผง พบว่ามีความเหมาะสมในการอนุบาลปลาวัยอ่อน เนื่องจากมีขนาดเล็ก และย่อยง่าย ทำให้อัตราการเจริญเติบโตสูงขึ้น ปลาเมรณะเวลาในการเจริญพันธุ์เร็วขึ้น ช่วยเสริมการพัฒนาของไข่ในน้ำเชื้อ และช่วยในการเร่งสีปลา สำหรับปริมาณที่เหมาะสมในการผสมในอาหารปลาคือ 10-25 เปอร์เซ็นต์

Cuzon และคณะ (1985) ศึกษาโดยนำสาหร่ายสไปร์ูลนาผ่านการเลี้ยงกุ้งぐนุ่ม (*Penaeus japonicus*) วัยอ่อน(juvenile)พบว่าอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสไปร์ูลนา 8 เปอร์เซ็นต์ ให้การเจริญเติบโตดีที่สุด อัตราการรอดตายสูง และมีสีเข้มขึ้น

Hirano และ Suyama (1986) ทดลองนำสาหร่ายสไปร์ูลนาเลี้ยงปลาอาゆ(*Plecoglossus altivelis*) พบว่าอาหารที่มีสาหร่ายสไปร์ูลนาผสมอยู่ 50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา มีการเจริญเติบโตดีมาก และ พบไตรกลีเซอไรด์(triglyceride)ในกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เนื้อปลา嫩肉ขึ้น

Matsuuo และคณะ(1986) ทดลองใช้สูติน(lutein) โอดแซนธิน(rhodoxanthin) และสาหร่ายสไปร์ูลนา เร่งสีปลา尼ลแดง(*Oreochromis aureus*) เป็นเวลา 10 วัน พบว่า สีผิวของปลาทุกกลุ่มแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยสีของปลา尼ลแดงที่ได้รับอาหารในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเสริมสูติน โอดแซนธิน และสาหร่ายสไปร์ูลนา มีสี ชมพูซีด ส้ม ชมพู และส้มแดง ตามลำดับ

Mori และคณะ (1987) ทดลองนำสาหร่ายสไปร์ูลนา(*Spilulina maxima*) ผสมในอาหารปลาอาゆ 3-6 เปอร์เซ็นต์ และใช้เลี้ยงปลาเป็นเวลา 10 สัปดาห์พบว่าปลาอาゆที่เลี้ยงมีสีสว่างเหมือนปลาธรรมชาติ คือ ผิวนางมีสีเหลืองส้ม

Chien และ Jeng (1992) ศึกษาการสร้างสีในกุ้งぐนุ่มจากการได้รับอาหารเสริมสารสีในรูปแบบต่างกัน คือ แอสตาแซนธิน (astaxanthin) เบตา-คาโรทีน(β -carotene) และสาหร่ายอ่อนแห้ง 3 ระดับ คือ 50, 100 และ 200 มิลลิกรัม/อาหาร 100 กรัม พบว่า การเสริมแอสตาแซนธิน(astaxanthin) 100 มิลลิกรัม/อาหาร 100 กรัม เป็นเวลา 1 เดือน ก่อนเก็บผลผลิต มีผลต่อการสร้างเม็ดสีในเนื้อเยื่อมากที่สุด และมีอัตราอุดสูงที่สุด

Liao และคณะ (1993) ทดลองใช้แหล่งสารสีจาก 3 แหล่ง เพื่อเร่งสีในกุ้งกุลาดำ คือ สาปะรูไนยา ยีสต์ (*Phaffia rhodozyma*) และน้ำมันจากกุ้งเคย (krill oil) พนว่าการเสริมสาปะรูไน 3 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการจับ 1 เดือน ทำให้กุ้งกุลาดำมีสีเข้มขึ้น

Olvera-Novoa และคณะ (1998) ศึกษาการแทนที่ปลาป่นด้วยสาหร่ายสาปะรูไนในอาหารปลาหนอนเทศ (*Oreochromis mossambicus*) พนว่าสามารถใช้สาหร่ายสาปะรูไนที่ระดับ 40 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปลา มีการเจริญเติบโตดีที่สุด

Nandeesha และคณะ (2001) ทดลองใช้สาหร่ายสาปะรูไนทดสอบแทนปลาป่นในระดับต่างๆ คือ 25, 50, 75, และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลาบ้ายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) พนว่าระดับการแทนที่ 25 เปอร์เซ็นต์ ชี้ไป ส่งผลให้ปลาบ้ายี่สกเทศเจริญเติบโตดีที่สุด

Lu และคณะ (2002) ศึกษาระดับสาหร่ายสาปะรูไนของแห้งเสริมในอาหารปลา尼ล (*Oreochromis niloticus*) โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การศึกษาการเจริญเติบโตของปลา尼ลในแต่ละขนาด คือ 0.8, 1.8, 2, 2.5 และ 3 เซนติเมตร และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการให้อาหาร และการเจริญเติบโต โดยเปรียบเทียบระหว่างอาหารชุดควบคุมกับสาหร่ายสาปะรูไนอบแห้ง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ผลที่ได้พบว่าในการทดลองที่ 1 การใช้สาหร่ายสาปะรูไนอบแห้งเป็นอาหารปลา尼ลจะส่งผลให้ปลา มีน้ำหนักเพิ่มสูงที่สุด เมื่อปลา มีขนาด 2 เซนติเมตรขึ้นไป และในการทดลองที่ 2 พนว่า ปลา尼ลที่ได้รับสาหร่ายสาปะรูไนอบแห้งแบบให้กินจนอิ่ม ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1-3 และได้รับสาหร่ายสาปะรูไนอบแห้ง 10 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4-6 และ ได้รับสาหร่ายสาปะรูไนอบแห้ง 3 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 7-10 มีความยาวมาตรฐาน (standard length) และน้ำหนักตัวสูงที่สุด

วิพัฒน์(2523) ทดลองใช้สาหร่ายสาปะรูไน พาก และสาหร่ายอสซิลลารี (*Oscillatoria sp.*) พอกผิวในอาหารลูกปลานาม(Cyprinus carpio) อายุ 5 วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พนว่าสาหร่ายสาปะรูไนสามารถส่งเสริมให้ลูกปลานาม มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด

วุฒิพร(2527) ทดลองใช้รังควัตถุค่าโรทินอยด์ที่ได้จากแหล่งต่างๆ เร่งสีปลาแพนชีคราฟ หากทดลองพบว่า ค่าโรทินอยด์จากสาหร่ายสาปะรูไน มีผลต่อความเข้มของสีมากที่สุด และปริมาณที่เหมาะสมที่จะส่งผลต่อการเร่งสีปลาแพนชีคราฟให้มีสีแดงเข้มขึ้น คือ 15 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักอาหารทั้งหมด โดยการทดสอบแทนปลาป่น ระยะเวลาในการเลี้ยงอย่างน้อย 8 สัปดาห์

แพร่องศักดิ์(2533) ทดลองผสมสาหร่ายสาปะรูไนเสริมในอาหารกุ้งกุลาดำระดับต่างๆ คือ 0, 1, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พนว่าการเสริมสาหร่ายสาปะรูไน 10 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร ส่งผลให้กุ้งกุลาดำมีการเจริญเติบโตและเร่งสีได้ดีที่สุด

บานรื่น(2532) ทดลองเสริมสาหร่ายสาปะรูไนสด ในอาหารปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonoronotus*) และปลาดุกอุบ (*Clarias macrocephalus*) 4 ระดับ คือ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พนว่าปลาตะเพียนขาว มีอัตราการเจริญเติบโต การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

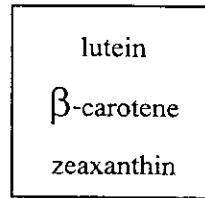
ประสิทธิภาพการใช้โปรดีนและอัตราการดูดไม่แตกต่างกัน ส่วนในปลาคุกอุยที่ได้รับอาหารในสูตรควบคุม(0%) พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโต การเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและประสิทธิภาพของการใช้โปรดีนคิดว่าปลาคุกอุยที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสีปูรุ่ไโนสดแต่อัตราการดูดไม่แตกต่างกัน

มะลิ และคณะ (2543) ศึกษาผลของแอกสตาแซนทิน ต่อการเจริญเติบโต อัตราการดูดน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น พบว่าสารสีไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและ อัตราการดูด แต่ส่งผลให้มีการเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือด และกุ้งมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ปริมาณเม็ดสีบนตัวกุ้งเพิ่มสูงขึ้นอีกด้วย

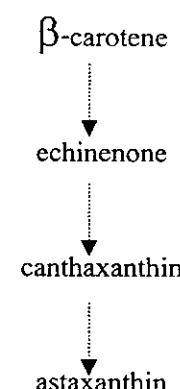
2. ผลของรงควัตถุต่อการสะสมสีและระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ

เมื่อปลาได้รับรงควัตถุหรือสารสี ปลาจะมีการสะสมสีค้างๆที่บริเวณใต้ผิวนังในชั้นเคอร์นิส (dermis) และเนื้อเยื่อบริเวณกล้ามเนื้อ (Latscha, 1991) ซึ่งอยู่ในรูปต่างๆ เมื่อสัตว์น้ำกินสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ก็จะได้รับรงควัตถุชนิดต่างๆ เช่น ลูทีน(lutein) เบตา-คาโรทีน ซีอีแซนทิน(zaxanthin)หลังจากนั้นสัตว์น้ำก็จะเปลี่ยนรูปโครงสร้างของรงควัตถุ จนในที่สุดจะเก็บสะสมอยู่ในรูปแอกสตาแซนทิน ดังภาพที่ 1 โดยสารสีเหล่านี้ จะส่งผลให้คุณภาพของสีเนื้อดีขึ้น และ ทำให้ปลาสวยงามมีสีเข้มสวย นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจุบันมีการนำรงควัตถุเหล่านี้เสริมในอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะคาโรทีนอยด์ พบว่ามีหน้าที่ในระบบชีวเคมีที่สำคัญหลายประการ เช่น ช่วยให้โครงสร้างโปรดีนมีความคงสภาพ (Fox *et al*, 1967) ป้องกันเนื้อเยื่อมิให้ถูกทำลายเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Tacon, 1981) โดยช่วยทำลายอนุมูลอิสระของออกซิเจนที่มีพิษ ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างการทำงานของเซลล์ (Miki, 1991) Liao และคณะ(1993) กล่าวว่าสาหร่ายสีปูรุ่ไโนมีผลต่อการเกิดสีในหนัง และเนื้อของสัตว์น้ำ โดยขึ้นอยู่กับปริมาณและระยะเวลา (Cuzon *et al.*, 1985) และ คาโรทีนอยด์มีผลต่อสุขภาพของปลา โดยสามารถลดความเครียดทำให้ปลา มีสุขภาพดี สามารถทนต่อเชื้อก่อโรคต่างๆ ได้ดีขึ้น(Nakano *et al.*, 2003)

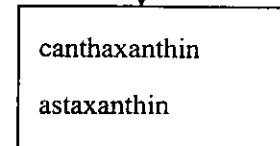
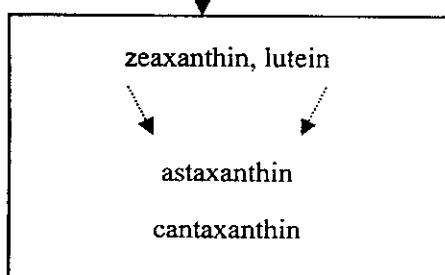
Blue-green Algae



Crustacean



Fish



goldfish

salmon

red carp

trout

golden-yellow carp

red sea-bream

ภาพที่ 1 การสะสมของวิตามินต่างๆ ในสัตว์น้ำ

ที่มา: Latscha (1991)

3. ปลาดุกพันธุ์ผสม

3.1 ชีววิทยาของปลาดุกพันธุ์ผสม

ปลาดุกพันธุ์ผสมหรือปลาดุกบีกอุย (*Clarias macrocephalus* (Gunter) x *Clarias gariepinus* (Burchell)) เป็นการผสมปรับปรุงพันธุ์ระหว่างปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) และปลาดุกรัสเซีย (*Clarias gariepinus*) มีลักษณะเด่น คือ ตัวโต เกริญเติบโตเร็ว มีความด้านทานต่อโรคสูง และเนื้อนากและมีสีเหลืองนวลดำทัศนติ สามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายประเภท (กรมประมง, นปป.) แหล่งกำเนิดของปลาดุกอุยในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ อินเดีย ไทย พม่า ลาว กัมพูชา เวียดนาม อินโดนีเซีย หมู่เกาะบอร์เนียว และ พิลิปปินส์ (ศักดิ์ชัย, 2536) พันธุ์ปลาดุกที่พบในประเทศไทย มีทั้งหมด 6 สายพันธุ์ (เฉิดฉัน, 2517) คือ

3.1.1 *Clarias melanoderma* Bleeker

ชื่อทั่วไป	ปลาดัก
บริเวณที่พบ	江หัวคุนกรสวรรค์และพิจิตร
ลักษณะเด่น	ด้านหน้าของก้านครีบอก หรือเงียงเป็นหยักหรือมีลักษณะคล้ายหนามแหนนม ลำตัวสีเทาดำ

3.1.2 *Clarias batrachus* Linnaeus

ชื่อทั่วไป	ปลาดุกด้าน ดุกเดา ดุกแดง และดุกเผือก
บริเวณที่พบ	ทั่วทุกภาคของประเทศไทย
ลักษณะเด่น	ด้านหน้าของก้านครีบอก หรือเงียงเป็นหยักปลายแหนนมทั้ง 2 ด้าน ปลายกระดูกท้ายทอยมีลักษณะแหนนม ลำตัวสีเทาปนดำ

3.1.3 *Clarias macrocephalus* Günther

ชื่อทั่วไป	ปลาดุกอุย
บริเวณที่พบ	ทั่วทุกภาคของประเทศไทย
ลักษณะเด่น	ด้านหน้าของก้านครีบอก หรือเงียงเป็นหยักปลายแหนนมทั้ง 2 ด้าน ปลายกระดูกท้ายทอยมีลักษณะ โคงมน ลำตัวมีสีเทาปนดำและสีเหลือง

3.1.4 *Clarias teysmanni* Bleeker

ชื่อทั่วไป	ปลาแม่น้ำ ปลานมด
บริเวณที่พบ	จังหวัดนครศรีธรรมราชและภาคใต้ของประเทศไทย
ลักษณะเด่น	ลักษณะคล้ายปลาดุกด้านแต่มีลำตัวเรียวยาว ลำตัวมีสีดำ และมีจุดสีขาว เรียงเป็น列ตามขวางตามลำตัวอย่างชัดเจน

3.1.5 *Clarias sp.*

ชื่อทั่วไป	ปลาดุกแมเลเซีย
บริเวณที่พบ	ภาคใต้ของประเทศไทย
ลักษณะเด่น	ลักษณะคล้ายปลาดุกอุยแต่มีลักษณะของกลุ่มพื้นที่เพศาและขากรไกรแตกต่างกัน

3.1.6 *Prophagorus nieuhofii*

ชื่อทั่วไป	ปลาดุกลำพัน
บริเวณที่พบ	ป่าพรุที่รกร�ทึบ ที่มีกระแสน้ำไหลช้า หรือแ่องน้ำ พ奔ทางภาคใต้ของประเทศไทย
ลักษณะเด่น	ลักษณะคล้ายปลาดุกอุยแต่มีครีบหลัง ครีบห่าง และครีบก้นเชื่อมติดกัน

3.2 ลักษณะทางอนุกรรมวิธาน

ปลาดุกพันธุ์ผสมเป็นปลาในครอบครัว Clariidae มีลักษณะที่จำแนกได้ชัดเจนคือ ไม่มีเกล็ด สำลักเรียวยาว ครีบยาวไม่มีกระโคน ครีบท้องยาวเกือบถึงโคนหาง มีอวัยวะช่วยหายใจซึ่งทำให้ปลาดุกสามารถอยู่หันหน้าไว้ด้านบน ขนาดอุอกนัยน์ตานเด็กเมื่อเทียบกับขนาดของลำตัว มีหนวด 4 คู่ มีประสาทรับสัมผัสได้โดยเฉพาะกลิ่น ใช้อาหาร โดยปกติได้รับปลาดุกมีนิสัยว่องไว กินอาหารจ้าพวกเนื้อสัตว์และซากสิ่งมีชีวิต สามารถกินพืชได้หากมีการฝึกตั้งแต่ในช่วงอนุบาล (กรมป่าสง�, มนป.)

3.3 ความต้องการสารอาหารหลัก

ปลาดุกพันธุ์ผสมเจริญเติบโตและให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไก่ดีที่สุด เมื่อมีระดับโปรตีนในอาหาร 41 เปอร์เซ็นต์ (เวียง, 2542) วิมล และ พิศมัย (2538) ทำการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของการนำไปใช้เครื่องจากปลาข้าวคิดต่อไขมันในอาหารปลาดุกพันธุ์ผสม และได้ข้อสรุปว่าอาหารที่มีโปรตีน 33 เปอร์เซ็นต์ พลังงานรวม 4,280-4,390 กิโลแคลอรี่/อาหาร 1 กิโลกรัม ควรมีการนำไปใช้เครื่องจากปลาข้าว 50 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเป็นสัดส่วน

ระหว่างการใบไชเดรตกับไขมันได้เท่ากับ 11.24:1 ทำให้ปลาคุกพันธุ์พสมมีการเจริญเติบโตดี วิมล แสง พิศมัย (2538) พบว่าปลาคุกพันธุ์พสมต้องการกรดไขมันที่จำเป็น ทั้งกรดไลโนเลนิก (linolenic) หรือโอมega 3(W-3) และ กรดไลโนเลอิก (linoleic) หรือ โอมega 6(W-6) แต่ต้องการ โอมega 6 มากกว่าในสัดส่วน 1:1.25 โดยพบว่าทำให้ปลาคุกพันธุ์พสมขนาด 0.5-19 กรัม มีอัตราการเจริญเติบโต และ มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด ซึ่งพบกรดไขมันจำเป็นเหล่านี้ในถั่วเหลือง และน้ำมันปลาที่เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ (เวียง, 2542) Boonyaratpalin และ Phromkunthong (2001) พบว่าการเสริมวิตามินซีในรูป ascorbyl phosphate calcium 30 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของปลาคุกพันธุ์พสม และช่วยป้องกันอาการขาดวิตามินซีได้

3.4 โรคในปลาคุกพันธุ์พสม

การติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ในปลาคุกพันธุ์พสมสามารถแยกเชื้อได้จากบริเวณไสส่วนหลังและต้นของปลาที่ติดเชื้อ อาการของโรคพบว่า ห้องบวนมีน้ำหรือของเหลวสีเหลืองใสอยู่ในช่องห้อง เหงื่อกวน กลิ่นบวน อวัยวะภายในตกเลือด และผิวน้ำเป็นแพลง (สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ, 2536) ส่งผลทำให้รากาปลาตัว นอกจากนี้ยังพบเชื้อร้าและเชื้อปรสิตต่างๆ (Sniesko and Axelrod, 1971) ปัญหาต่าง ๆ เหล่านี้สาเหตุสำคัญเนื่องมาจากการในประเทศไทยนิยมเลี้ยงปลาคุกพันธุ์พสมแบบหนาแน่น(intensive) และ อาหารที่นิยมใช้ คือ อาหารสำเร็จรูปควบคู่กับอาหารสดส่งผลทำให้คุณภาพน้ำเส>w>ลง ปริมาณออกซิเจนลดลง ส่วนปริมาณแอมโมเนียและในธรรมเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง ส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพทำให้อ่อนแอลง โอกาสเป็นโรคซึ่งเป็นไปได้สูงกว่าปกติ

3.5 ความสำคัญทางเศรษฐกิจ

ปลาคุกพันธุ์พสมจัดว่าเป็นปลาที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ โดยในปี 2534 มีรายงานว่าผลผลิตปลาคุกพันธุ์พสมมีค่ามูลค่าสูงถึง 700 ล้านบาท และมีแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (อุทัยรัตน์, 2539) ในปี พ.ศ. 2542 พบว่าปริมาณการผลิตปลาคุกอยุ และปลาคุกพันธุ์พสมสูงถึง 72,289 ตัน คิดเป็น 2,438.8 ล้านบาท (กองเศรษฐกิจการประมง, 2545) และในปี พ.ศ. 2543 ปริมาณปลาคุกโดยรวมทั้งจากการเพาะเลี้ยงและจากการจับมีปริมาณสูงขึ้นถึง 95,600 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,895.9 ล้านบาท และในปีเดียวกันปลาคุกอยุ และปลาคุกพันธุ์พสมมีปริมาณการใช้ประโยชน์จากสัตว์น้ำโดยการบริโภคสดสูงที่สุดถึง 93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับปานาน้ำจืดทั้งหมดที่กองเศรษฐกิจการประมงทำการสำรวจ(กองเศรษฐกิจการประมง, 2546) ส่วนการส่งออกปลาคุกโดยรวมขณะนี้มีแนวโน้มดีขึ้น โดยสามารถจำหน่ายได้ทั่วป้ำมีชีวิต เนื้อปลาแม่เย็น และอาหาร

แปรรูป เช่น ปลาร้า ปลาหมึก ปลาตากแห้ง ปลาแซ่บแจ่ว และอาหารสำเร็จรูปบรรจุกระป๋อง ตลาดที่สำคัญคือ สาธารณรัฐอเมริกา ฝรั่งเศส อ่องกง ญี่ปุ่น และ สิงค์โปร (ศักดิ์ชัย, 2536)

4. ระบบภูมิคุ้มกันของปลา

ปลา มีการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันตั้งแต่ยังเป็นฟีตัส (fetus) โดยมีการสร้างลิมโฟไซท์ (lymphocyte) ที่ตับ ซึ่งลิมโฟไซท์เหล่านี้จะแพร่กระจายไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย โดยเฉพาะที่น้ำนม(spleen) และต่อมน้ำเหลือง แต่เมื่อปลาโตขึ้นอวัยวะที่ให้กำเนิดลิมโฟไซท์ คือ กระดูก髓น้ำนม (bone marrow) ระบบภูมิคุ้มกันของปลา มีลักษณะทั่วไปคล้ายสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Sakai , 1999) แต่ยังพัฒนาไม่ดีเท่า เนื่องจากปลาเป็นสัตว์ที่มีวิวัฒนาการต่ำกว่า สามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ แบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-specific immunity) และแบบจำเพาะเจาะจง (specific immunity) โดยระบบภูมิคุ้มกันในปลา ส่วนใหญ่ เป็นแบบไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันลักษณะนี้ถูกสร้างขึ้นมาโดยธรรมชาติ ไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นจากแอนติเจนหรือเชื้อโรค (Roberts, 1989)

4.1 ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่กลไกของร่างกายสร้างขึ้นเอง เป็นภูมิคุ้มกันที่สามารถต่อต้านสิ่งแผลกปลอม ได้หลาชชนิด มีในร่างกายตั้งแต่กำเนิด หรืออาจจะเรียกว่า ภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติ (natural immunity หรือ innate immunity) ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ในปลาประกอบด้วย เชื่อมโยง เกล็ด ผิวนัง และสิ่งกีดขวางในเนื้อ เชื่อมโยงกัน ซึ่งมีทั้งชนิดที่เป็นเซลล์และสารน้ำ (Ellis, 1988) หรืออาจเรียกได้ว่าเป็นส่วนแรกที่ทำหน้าที่ต่อต้านสิ่งแผลกปลอมที่จะเข้ามาก่อโรคหรือก่อให้เกิดความผิดปกติแก่ปลา (Ellis, 1988) นอกจากนี้ยังมีการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงกับเชื้อโรคจากของเหลวในร่างกาย (non-specific humoral factor) เช่น transterrin (transferrin) และอินเตอร์เฟอรอน (interferon) ซึ่งเป็นสารขับขึ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และสารต่อต้านเอนไซม์ของเชื้อโรค เช่น แมคโครกลوبูลิน (macroglobulin) มีกลไกการทำงาน คือ เมื่อเชื้อโรคเข้ามาสู่ร่างกาย เชื้อโรคจะมีการหลังเอนไซม์ เพื่อย่อยลายทำลายเนื้อเยื่อต่างๆ แมคโครกลوبูลินซึ่งอยู่ในน้ำเลือดของสัตว์กระดูก髓น้ำนมจะมีผลไปยังขั้นการหลังเอนไซม์ที่เชื้อโรคผลิตขึ้นมา และการตอบสนองแบบไม่จำเพาะของเซลล์ชนิดต่างๆ โดยวิธีไฟโกรซัยท์ เช่น แมคโครฟาง (macrophage) นิวโตรฟิล (neutrophil) อีโอซิโนฟิล (eosinophil) และแบนโซฟิล (basophil) เป็นต้น (Roberts, 1989) ส่วนคอมพลีเม้นท์ (complement) เป็นกลุ่มโปรตีนในน้ำเหลือง ที่มีหน้าที่ กระตุ้นให้เกิดการแตกสลายของเซลล์ (cytosis) และทำให้เกิดกระบวนการ ออฟโซนิเคชัน (opsonization) โดยกระบวนการนี้เกิดกับสิ่งแผลกปลอมเข้ามาในร่างกาย โดยตัวรับนิวโตรฟิลจะถูกคอมพลีเม้นท์จับ ทำให้มีค่าเดือดขาวสามารถเข้ามาทำลายเซลล์ เชื้อโรคได้ (Roberts, 1989)

4.2 ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง

ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงสามารถตอบสนองได้ 3 ทาง คือ humoral immunity, cell-mediated immunity (CMI) และ memory humoral immunity โดยมีลินโพไซซ์ท์เป็นตัวหลักมีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกัน โดยสามารถพบลินโพไซซ์ท์ได้ในระบบหมูนเวียนของร่างกาย ลินฟอยด์ ออร์แกน(lymphoid organ) และในเนื้อเยื่ออื่นๆ ลินโพไซซ์ท์มีความสามารถในการจำ (memory) คือ เมื่อเซลล์ได้รับสิ่งแปรปัจฉนท์ก่อให้เกิดโรค (antigen) ชนิดเดิมเป็นครั้งที่ 2 มีการตอบสนองต่อแอนติเจนเร็วขึ้น(Roberts, 1989) ลินโพไซซ์ท์มี 2 กลุ่ม คือ ที-ลินโพไซซ์ท์ (thymus-derived, T-lymphocytes) และ บี-ลินโพไซซ์ท์(bone marrow-derived, B-lymphocytes) โดยลินโพไซซ์ท์ทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีบทบาทในการจำจำ(memory cell)(Roberts, 1989) อิมูโนกลوبูลิน (immunoglobulin, Ig) มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง เช่น การกำจัดไวรัส และแบคทีเรีย การกระตุ้นคอมพลีเม้นต์ โดย อิมูโนกลوبูลิน ที่พบปลาชั้นสูงมีเพียงชนิดเดียว คือ ไอจีเอ็ม (IgM) พนได้ในสารคัดหลัง เมือกบริเวณผิวนัง ทางเดินอาหาร และในท่อน้ำดี (Roberts, 1989)

4.3 การประยุกต์ใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ

สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน(immunostimulant) หมายถึง แอนติเจนที่สามารถกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ และไม่จำเพาะ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่นำมาใช้ในสัตว์น้ำมีหลายชนิด ที่เป็นสารสังเคราะห์ได้แก่ เลวามิโซล(levamisole), FK565, EF203 เป็นต้น ส่วนสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ได้จากสิ่งมีชีวิต เช่น ไลโปโพลิแซคคาไรด์(lipopolysaccharide; LPS) จากแบคทีเรียแกรมลบ เปปติโล-ไกลด์แคน(peptidoglycan)จากแบคทีเรีย กลูแคนจากชีสต์(Dalmo and Seljelid, 1995)

Swicki และ Kossakowski(1988) ทำการทดลองกระตุ้นภูมิคุ้มกันปลาการ์ฟวัยอ่อน (*Cyprinus carpio*) 2 ช่วงอายุ คือ 1 วันและ 3 วันโดยใช้สารสังเคราะห์เลวามิโซล ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 2, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวิธีแช่ หลังจากนั้น 2 สัปดาห์ วัดค่าการเกริญเติบโตและอัตราการอดพนวชา อัตราการเกริญเติบโตในลูกปลาทั้งวัยที่ได้รับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ที่ระดับความเข้มข้น 2, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่ามากกว่าลูกปลาที่ไม่ได้รับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ส่วนอัตราการอดไม่แตกต่างกัน

Robertson และคณะ(1990) ศึกษาการฉีดสารอีมกลูแคน(M-glucan)ที่ได้จากผนังเซลล์ *Saccharomyces cerevisiae* ให้แก่ปลาแอตแลนติกแซลมอน (Atlantic salmon, *Salmo salar*) โดยใช้ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม อีมกลูแคนต่อน้ำหนักปลา 20 กรัม พนว่าสามารถต่อต้านเชื้อ *Yersinia ruckeri* ซึ่งก่อให้เกิดโรค redmouth เชื้อ *V. anguilarum* ซึ่งก่อให้เกิดโรค vibriosis และเชื้อ *V.*

salmonicida ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค *hitra disease* ทำให้ภูมิคุ้มกันทางเพิ่มสูงขึ้นโดยสารกระดูกน้ำมีคุ้มกันจะมีผลในการเพิ่มกิจกรรมของมาโครฟาร์ม(macrophage) สูงสุดหลังจากฉีดเชื้อ 3 สัปดาห์

Chen และ Ainsworth(1992) ศึกษาผลของ เบตา(1,3) คิกลูแคนจากผนังเซลล์ Baker yeast โดยนิค เบตา (1,3) คิกลูแคน($\beta(1,3)$ -D-glucan) แก่ปลาดองเมริคัน(channel catfish; *Ictalurus punctatus*) แล้วนิคเชื้อ *Edwardsiella ictaluri* ปรากฏว่าค่า ฟากไซทิก อินเด็กซ์(phagocytic index) ของเม็ดเลือดมีค่าสูงขึ้นและสามารถลดอัตราการตายเนื่องจากเชื้อ *E. ictaluri* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Dalmo และ Seljelid(1995) ศึกษาผลของ ไลโปโลพอลิแซคcharide (lipopolysaccharide) และมินาเรน(laminaran) และชัลเฟต แสลงมินาเรน(sulphate laminaran) ซึ่งเป็นสารกระดูกน้ำมีคุ้มกันที่ได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล(*Laminaria hyperboea*) ในปลาแอ็ตแลนติกแซลมอน พบร่วมกับมาโครฟาร์ม(macrophage) จากไทดอนต้านมีการกระชาย และมีการเพิ่มปริมาณ ออร์แกเนลล์ (organelles) มากขึ้น

Skjermo และคณะ(1996) ทดลองใช้อาร์ทีเมียเป็นตัวนำสารกระดูกไปสู่ลูกปลาเทอร์นอฟ(turbot; *Scophthalmus maximus*) อายุ 40 วัน โดยนำอาร์ทีเมียที่เลี้ยงด้วยสารกระดูกน้ำมีคุ้มกัน แอล-จีเนท (alginate) และนำอาร์ทีเมียไปให้ปลา กิน เป็นเวลา 2 วัน หลังจากนั้นนำปลาไปแข็งเชื้อ *Vibrio anguillarum* พบร่วมกับลูกปลาที่ได้รับอาร์ทีเมียเสริมสารกระดูกน้ำมีคุ้มกันมีอัตราลดลงสูงกว่า ลูกปลาที่เลี้ยงด้วยอาร์ทีเมียโดยไม่เสริมสารกระดูกน้ำมีคุ้มกันอย่างเด็ดต่างทางสถิติ

Supamattaya และคณะ (2000) ศึกษาผลการใช้ เบตา-กลูแคน (β -glucan: MacroGrad[®]) ต่อการเจริญเติบโตและความสามารถในการเพิ่มภูมิคุ้มกันในกุ้งกุลาดำ(*Penaeus monodon*) 3 ขนาด คือ 0.6, 1.5 และ 6.5 กรัม พบร่วม ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ แต่มีผลต่อปริมาณการผลิตเม็ดเลือด โดยรวมและการผลิต superoxide anion โดยพบร่วมค่าสูงสุด ได้จากทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารเบตา-กลูแคน 1.0 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม และกุ้งกุลาดำมีอัตราลดเพิ่มขึ้นเมื่อรดับเบตา-กลูแคนในอาหารเพิ่มขึ้น

Lee และคณะ (2003) ศึกษาระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งแซบบี้ (*Penaeus merguiensis*) โดยเสริมสาหร่ายสีปูร์ไลนาในอาหาร พบร่วมกับการเสริมสาหร่ายสีปูร์ไลนา 0.3 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มการเน้นย้ำนำเม็ดเลือดให้มาโอบล้อมเชื้อโรค ได้ดีขึ้น และ เพิ่มค่าฟากไซทิก ออกติวิติ (phagocytic activity) สูงขึ้นในวันที่ 4 หลังจากกุ้ง ได้รับอาหารทดลองผสมสีปูร์ไลนาอกจากนี้มีการทดลองในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) พบร่วมเซลล์เม็ดเลือดชนิดกรานูลาร์ (granular cell) สามารถเกิดคีกรานูล (degranulation) ได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 45 – 60 นาที และพบร่วม เมื่อทำการทดสอบความคุ้มกันต่อโรค (challenged test) ต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* ความเข้มข้น 1×10^4 CFU/ml ผลคือกุ้งในชุดควบคุมตายทั้งหมดภายในเวลา 14 วัน ส่วนกุ้งที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายตายนาย 10 เปอร์เซ็นต์