



บทความวิจัย

ผลของการเสริมสารสกัดจากเศษเหลือเห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) ในอาหารต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด การตอบสนองภูมิคุ้มกัน และการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*)

กรกฎ สันต์การ¹ สุณีย์ หวันเหลี่ยม² Md Arefin Rahman³ และ มณี ศรีชนะนันท์^{1*}

¹คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110

²คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

³สาขาวิชาวาริชศาสตร์และนวัตกรรมการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

ข้อมูลบทความ

Article history

รับ: 22 มิถุนายน 2565

แก้ไข: 25 กรกฎาคม 2565

ตอบรับการตีพิมพ์: 26 กรกฎาคม 2565

ตีพิมพ์ออนไลน์: 1 กันยายน 2565

คำสำคัญ

สารสกัดเศษเหลือเห็ดแครง

ปลากะพงขาว

สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

การป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชัน

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมสารสกัดจากเศษเหลือเห็ดแครงด้วยตัวทำละลายน้ำ (*Schizophyllum commune* extracted with water, SCW) ต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การตอบสนองด้านเลือด ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ และการป้องกันภาวะเครียดแบบออกซิเดชันในปลากะพงขาว โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบด้วยอาหารที่เสริมสารสกัด SCW ที่ 4 ระดับคือ 0% (ควบคุม), 0.25%, 0.50% และ 1% ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ในตู้กระจกที่มีความจุ 120 ลิตร ใช้ปลา 6 ตัว/ตู้ น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 72.93 ± 0.17 กรัม/ตัว ให้ปลากินอาหารจนอิ่ม 3 มื้อ/วัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชั่งน้ำหนักปลารายตัว สุ่มเก็บตัวอย่างเลือด วัดปริมาณเม็ดเลือดแดงรวม เม็ดเลือดขาวรวม กิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์ และเก็บตัวอย่างตับวัดปริมาณกลูตาไธโอน และปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) ผลการศึกษาพบว่า การเสริมสารสกัด SCW ในอาหารไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร ($p > 0.05$) แต่ส่งผลต่อปริมาณเม็ดเลือด โดยปลาที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัด SCW ที่ระดับ 0.50% และ 1% มีปริมาณเม็ดเลือดขาวรวม และกิจกรรมไลโซไซม์เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับระดับกลูตาไธโอนที่พบว่ามีความสูงขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารเสริม SCW ระดับ 1% ($p < 0.05$) ส่วนปริมาณ MDA พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากการศึกษาสรุปได้ว่าการเสริมสารสกัด SCW ระดับ 0.50% - 1% ในอาหารมีประสิทธิภาพในการเป็นสารเสริมให้กับปลากะพงขาวโดยมีผลเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันไม่จำเพาะและความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระในปลากะพงขาวได้

บทนำ

เห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) มีชื่อสามัญว่า split gill mushroom เป็นเห็ดที่มีศักยภาพสูง และได้รับการพัฒนาให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจ เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีคุณสมบัติทางยา เช่น ด้านเนื้องอก ด้านมะเร็ง และมีคุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยมีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเซลล์ เช่น เม็ดเลือดขาว และมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง (Mongkontanawat, 2014) โดยสารต้านอนุมูลอิสระในเห็ดประกอบด้วยกลุ่มของสาร phenolic compounds, ascorbic acid, polysaccharides, tocopherol, ergosterol, β -carotene และ lycopene (Sanchez, 2017) จึงมีการเพาะขยายพันธุ์เห็ดแครงมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคใต้ เนื่องจากมีสภาพอากาศเหมาะสม สามารถเจริญเติบโตได้ตลอดทั้งปี (Sarawut et al., 2014)

ในกระบวนการผลิตเกษตรกรรมจะต้องมีการตัดแต่งเห็ดก่อนจำหน่าย ทำให้มีเศษเห็ดเหลือทิ้งเกิดขึ้น ประกอบด้วยส่วนของโคนเห็ดเหลือทิ้ง และดอกเห็ดที่บานเกินไป ซึ่งเศษเหลือเหล่านี้ไม่มีมูลค่าทางตลาด แต่ยังมีสารอาหารและสารสำคัญอยู่ โดยจากนำเศษเห็ดแครง (*S. commune* by-product) มาเป็นวัตถุดิบทดแทนปลาป่นในอาหารปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่ายังมีโปรตีนที่ระดับ 19.79% ซึ่งมีค่าสูงกว่าเศษเห็ดจากเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) และสามารถใช้แทนที่โปรตีนจากปลาป่นได้ถึง 20% (Srichanun et al., 2017) นอกจากนั้นในการศึกษาคุณสมบัติของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยตัวทำละลายต่างกันคือน้ำและเมทานอล พบว่าการใช้ตัวทำละลายน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH สูงกว่าตัวทำละลาย เมทานอล (Suntadkarn et al., 2021)

*Corresponding author

E-mail address: manee.s@rmutsv.ac.th (M. Srichanun)

Online print: 1 September 2022 Copyright © 2022. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2022.14>

ปลากะพงขาวเป็นปลาสำคัญทางเศรษฐกิจ และมีความต้องการของผู้บริโภคสูงทั้งในและต่างประเทศ โดยในปี 2563 พบว่ามูลค่าการผลิตปลากะพงขาวสูงถึง มี 4,561 ล้านบาท (Department of Fisheries, 2021) ในการเลี้ยงปลากะพงขาวในภาคใต้ของประเทศไทยนิยมเลี้ยงในกระชังเนื่องจากมีลักษณะพื้นที่เป็นปากแม่น้ำ คลอง และทะเล เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำส่งผลให้ปลาเกิดความเครียดส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) ขึ้นในร่างกาย เมื่อมีปริมาณอนุมูลอิสระสูงกว่าเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในร่างกายส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันลดลง ส่งผลให้ปลาอ่อนแอและง่ายต่อการติดเชื้อมากโรคต่าง ๆ ได้ (Sakunphueak, 2016) ซึ่งจะส่งผลต่อปริมาณผลผลิตปลากะพงขาวได้ การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากเศษเหลือเห็ดแครกต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด ความสามารถในการเป็นสารเสริมเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันในกะพงขาว อันจะเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับเห็ดแครกเหลือทิ้ง และลดการใช้จ่ายปุ๋ยชีวและสารเคมีสังเคราะห์ในการเลี้ยงปลากะพงขาวได้

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

การเตรียมสารสกัดจากเศษเหลือเห็ดแครก และการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

นำเศษเหลือเห็ดแครกที่ประกอบไปด้วยส่วนของดอกเห็ดที่บานเกินไป และเท้าเห็ดที่เป็นส่วนเหลือทิ้ง มาล้างทำความสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอม และนำตัวอย่างมาอบที่อุณหภูมิ 50 °C จนแห้ง แล้วนำตัวอย่างบดให้ละเอียด จากนั้นนำตัวอย่างมาสกัดด้วยน้ำ (*Schizophyllum commune* extracted with water, SCW) โดยใช้ในอัตราส่วน 1:10 แช่ในน้ำเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยทำการกวนสารทุก ๆ 4 ชั่วโมง (Chong et al., 2016) เมื่อครบเวลานำมารองด้วยระบบสุญญากาศ นำสารสกัดไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 60 °C จนแห้ง นำตัวอย่างสารสกัดทดสอบการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วย คือวิธี DPPH radical scavenging activity ตามวิธีของ Shimada et al. (1992) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Butylated hydroxyl toluene (BHT) และ L-Ascorbic acid เป็นกระบวนการทดสอบความสามารถในการดักจับอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระ วิธี Scavenging activity of ABTS radical ตามวิธีของ Re et al. (1999) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน hydroxy-2, 5, 7, 8 – tetramethylchroman-2 – carboxylic acid (Trolox) เป็นกระบวนการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยจากให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ และวิธีการ Metal chelating activity ตามวิธีของ Dinis et al. (1994) โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เป็นกระบวนการดักจับโลหะหนักซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized designs, CRD) ประกอบด้วยอาหารทดลอง 4 สูตรที่มีการเสริมสารสกัด SCW ที่ระดับแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0%, 0.25%, 0.50% และ 1% ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

การเตรียมอาหารทดลอง

คำนวณสูตรอาหารปลากะพงขาวให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่ใกล้เคียงกัน มีระดับโปรตีน 42% และไขมัน 12% (Table 1) (ดัดแปลงจากสูตรของ Rahman et al. (2021) โดยนำวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิดมาร่อนให้ละเอียดโดยผ่านตะแกรกร่อน ซึ่งและผสมวัตถุดิบอาหารให้เป็นเนื้อเดียวหลังจากนั้นนำสารสกัด SCW มาผสมในอาหารที่ระดับต่าง ๆ อัตราส่วนด้วยเครื่อง Hobart รุ่น Legacy หน้าแวนขนาด 3 มม. และตัดให้อาหารมีความยาวขนาดเฉลี่ย 0.5 – 1 ซม. แล้วนำอาหารไปอบด้วยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เก็บอาหารที่ผลิตได้ใส่ถุงและเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °C จนกว่าจะเริ่มการทดลอง สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารปลาเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ประกอบด้วยโปรตีน และไขมัน (ส่งวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด) เถ้า และความชื้นวิเคราะห์ตามวิธีการ AOAC (1999)

การเตรียมสัตว์ทดลอง และตู้ทดลอง

นำปลากะพงขาวน้ำหนักเฉลี่ย 30 กรัม/ตัว จำนวน 500 ตัว จากศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยี และนวัตกรรมสัตว์น้ำชายฝั่ง (สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา) เลี้ยงในถังไฟเบอร์ขนาด 800 ลิตร ให้ปลากินอาหารเม็ดสำเร็จรูป หลังจากนั้นฝึกให้กินอาหารเม็ดจม (สูตรควบคุม) ให้อาหารวันละ 3 มื้อโดยให้กินจนอิ่ม เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน เมื่อปลาเริ่มชินอาหารประมาณ 70 กรัม จึงคัดปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันจำนวน 8 ตัว/ตู้ ใส่ในตู้ทดลองขนาดความจุ 120 ลิตร เติมน้ำปริมาตร 100 ลิตร จำนวน 12 ตู้ พร้อมติดตั้งระบบให้อากาศ ให้อาหารสูตรควบคุมเพื่อปรับสภาพให้ปลาคชินชินกับตู้ทดลองนาน 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นคัดปลาจำนวน 6 ตัว/ตู้ และชั่งน้ำหนักปลาเริ่มทดลอง โดยปลามีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 72.93 ± 0.17 กรัม/ตัว และเริ่มให้อาหารทดลองวันละ 3 มื้อ ในเวลา 09.00 12.00 และ 17.00 น. ระหว่างทดลองสังเกตพฤติกรรมและการกินอาหารของปลา บันทึกน้ำหนักอาหารที่ปลากินทุกวัน และชั่งผลการเจริญเติบโตทุก ๆ 2 สัปดาห์ ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (ใบอนุญาตใช้สัตว์เลขที่ U1-02726-2559)

การเก็บข้อมูล และวิเคราะห์ข้อมูล

การเจริญเติบโต

นำค่าน้ำหนักปลาตามค่าน้ำหนักปลาเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และน้ำหนักอาหารที่ปลากินเฉลี่ยรายตัวมาคำนวณค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Steffens, 1989)

ปริมาณเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาว

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มปลาจำนวน 2 ตัว/ตู้ สลบด้วยน้ำนํานกนพลู เมื่อปลาสลบเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณคอคอดหาง (Caudal blood vessels) โดยใช้กระบอกฉีดยาขนาด 1 mL ที่เคลือบด้วยสาร EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด นำตัวอย่างเลือดใส่ลงใน Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 mL ย้อมเม็ดเลือดด้วยสีย้อม Yokoyama's fluid ตามวิธีการของ Supamattaya (1995) ในการนับเม็ดเลือดแดงทำการเจือจางเลือดในอัตราส่วน 1:200 เม็ดเลือดขาวรวมเจือจางใน อัตราส่วน 1:50 นำเลือดที่ผ่านเจือจางแล้วหยดลงบนสไลด์นับเม็ดเลือดเพื่อนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

การวิเคราะห์ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit) ดัดแปลงวิธีตาม Sukrakanchana et al. (2011) โดยนำเลือดปลาใส่ในหลอด Na-heparinized capillary tube ประมาณ 75% ของหลอด และจึงนำหลอดที่มีเลือดของปลาอยู่แล้วไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที จากนั้นนำข้อมูลไปคำนวณหา ค่า % เม็ดเลือดแดงอัดแน่น

กิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์

ดัดแปลงจากวิธีการของ Suwannasang et al. (2014) โดยใช้ตัวอย่างซีรัมจากเลือดปลาปริมาตร 25 μ L ผสมกับ 175 μ L ของ *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) ที่ความเข้มข้น 0.2 mg/mL วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ทุก ๆ 30 วินาที เป็นเวลา 5 นาที โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Hen egg white lysozyme วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของ Serum โดยวิธี Lowry method และรายงานผลในหน่วยกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (Unit/mg protein)

การวัดปริมาณกลูตาไธโอนรวม

วัดปริมาณกลูตาไธโอนรวมชนิด GSSG+GSH ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Glutathione Assay Kit (Sigma-Aldrich CS 0260) โดยวิเคราะห์จากตัวอย่างตับปลาชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ ผ่าตัดตับและล้างด้วย PBS buffer ชั่งน้ำหนัก 30 mg ลงในหลอด microtube และแช่ตัวอย่างในอ่างน้ำแข็งแห้งเพื่อให้ตัวอย่างแข็งทันที สกัดตัวอย่างและวัดปริมาณกลูตาไธโอนรวมตามวิธีการของชุดน้ำยาสำเร็จรูป คำนวณค่า Total glutathione (GSH) โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของ GSH standard stock solution

การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์

ดัดแปลงตามวิธีการของ Shahidi & Zhong (2005) โดยวิเคราะห์จากตัวอย่างตับปลาชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ ผ่าตัดตับน้ำหนัก 100 mg เติมน้ำละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 บดให้ละเอียดด้วยแท่งบดภายใต้ความเย็น และหมุนเหวี่ยงเพื่อนำสารสกัดที่ได้ทำปฏิกิริยากับสารละลาย 0.375% TBARS (ที่ละลายใน 15 % TCA และ 0.25 N HCl) แล้วนำตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 90°C เป็นเวลา 10 นาทีเมื่อครบเวลา ทำให้เย็นโดยให้น้ำไหลผ่าน และนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1600 g ที่ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที และนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานมาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malonaldehyde, MDA) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของ MDA

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลการเจริญเติบโตของปลา ประสิทธิภาพการใช้อาหาร ปริมาณเม็ดแดงรวม ปริมาณเม็ดขาวรวม ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น กิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์ ปริมาณกลูตาไธโอนรวม และปริมาณ MDA ของปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของสารสกัดเห็ดเห็ดแดงที่ระดับแตกต่างกัน มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way-ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan' new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัย

ปริมาณสารสกัดเห็ดแดงที่ได้ และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

ปริมาณสารสกัดเห็ดแดงที่ได้คิดเป็น 18.57% เมื่อนำสารสกัด SCW มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าค่า IC₅₀ ของการทดสอบด้วยวิธี DPPH activity เท่ากับ 0.70 $\pm$ 0.05 mg/mL ด้วยวิธี ABTS Scavenging activity มีค่าเท่ากับ 2.64 $\pm$ 0.23 mg/mL ด้วยวิธี Metal chelating activity มีค่าเท่ากับ 129.93 $\pm$ 3.99 mg/mL

การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากะพงขาวที่ได้รับการเสริมสารสกัด SCW ระดับต่างกัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง ($p>0.05$) โดยมีค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในช่วง 82.07 $\pm$ 8.21 – 86.83 $\pm$ 7.51 กรัม/ตัว อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวันอยู่ในช่วง 1.47 $\pm$ 0.15 – 1.55 $\pm$ 0.13 กรัม/วัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะอยู่ในช่วง 1.35 $\pm$ 0.11 – 1.41 $\pm$ 0.13 %/วัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้ออยู่ในช่วง 1.42 $\pm$ 0.20 – 1.52 $\pm$ 0.12 ประสิทธิภาพอาหารอยู่ในช่วง 0.66 $\pm$ 0.05 – 0.71 $\pm$ 0.12 และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนอยู่ในช่วง 1.57 $\pm$ 0.12 – 1.70 $\pm$ 0.23 (Table 2)

พารามิเตอร์เลือด

การเสริมสารสกัด SCW ระดับต่างกันในอาหารปลากะพงขาว ไม่ส่งผลต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และเม็ดเลือดแดงรวมของปลา ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 35.40 $\pm$ 1.35 – 38.13 $\pm$ 4.68% และ 2.60 $\pm$ 0.86 – 3.20 $\pm$ 0.14 $\times 10^6$ เซลล์/ มม.³ ตามลำดับ แต่การเสริมสารสกัด SCW ส่งผลต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวรวม ($p<0.05$) โดยปลาที่ได้รับการเสริม SCW ที่ระดับ 1% มีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงสุด รองลงมาคือปลาที่ได้รับ การเสริม SCW ที่ระดับ 0.50% และ 0.25 % และปลาชุดควบคุมมีปริมาณเม็ดเลือดขาวรวมต่ำที่สุด (Table 3)

กิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์

การวัดกิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์ในปลาเป็นค่าการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของสารน้ำในซีรัม พบว่าการเสริมสารสกัด SCW ส่งผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์ โดยไปเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ในปลาที่ได้รับสารสกัด SCW ที่ระดับ 0.50% และ 1% โดยมีระดับของกิจกรรมไลโซไซม์คือ 2,056 $\pm$ 277.28 และ 2,335.90 $\pm$ 280.75 Unit/mg protein ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมสารสกัดที่ระดับ 0.25% และสูตรควบคุมที่มีค่า 1,049.50 $\pm$ 378.39 และ 575.00 $\pm$ 111.75 Unit/mg protein ตามลำดับ ($p<0.05$) (Figure 1)

ระบบต้านอนุมูลอิสระ

ปริมาณกลูตาไธโอนรวม

การวัดปริมาณกลูตาไธโอนรวม เป็นการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมชนิด GSSG+GSH ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารที่เสริมของสารสกัด SCW ที่ระดับต่างกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับสารสกัด SCW ที่ระดับ 1% มีระดับของกลูตาไธโอนรวมสูงที่สุด โดยมีค่า 65.58 $\pm$ 7.43 nmol GSH/mL sample ($p<0.05$) (Table 4)

มาลอนไดอัลดีไฮด์

การวัดปริมาณ MDA เป็นการประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันซึ่งเป็นสาเหตุมาจากการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน พบว่าการเสริมสารสกัด SCW ไม่ส่งผลต่อระดับการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน แต่มีแนวโน้มว่าการเสริมที่ระดับ 1% ของอาหาร มีค่าต่ำที่สุด อยู่ในช่วง 13.52 $\pm$ 3.43 – 16.85 $\pm$ 2.52 nmole/g sample ($p>0.05$) (Table 4)

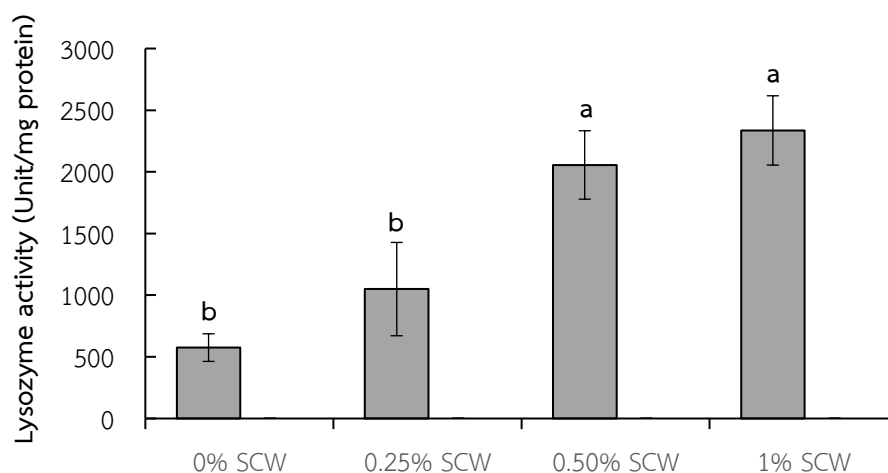


Figure 1. Lysozyme activity (Unit/ mg protein) of Asian seabass (*Lates calcarifer*) fed diet containing different SCW level for 8 weeks. Value over the bar with different superscripts (a, b) are significantly different ($p < 0.05$).

Table 1 Ingredients (g/100g feed) and proximate composition (% as fed basis) of the experimental diets

Ingredients (g/100 g feed)	1 0% SCW	2 (0.25% SCW)	3 (0.50% SCW)	4 (1% SCW)
Fish meal	25.00	25.00	25.00	25.00
Poultry meal	30.00	30.00	30.00	30.00
Soybean meal	19.43	19.43	19.43	19.43
Wheat flour	12.00	12.00	12.00	12.00
Palm oil: Fish oil (1:1)	6.24	6.24	6.24	6.24
Vitamins and minerals premix ¹	1.00	1.00	1.00	1.00
NaCl	0.20	0.20	0.20	0.20
Sodium carboxymethyl cellulose (CMC)	2.50	2.50	2.50	2.50
Ground rice husk	3.63	3.38	3.13	2.63
SCW ²	0.00	0.25	0.50	1.00
Proximate composition (%) (as-fed basis)				
Protein ³	41.95	42.05	41.85	41.98
Fat ³	12.13	12.03	11.93	12.05
Moisture	8.15±0.25	8.95±0.43	8.25±0.35	7.55±0.65
Ash	14.15±0.53	14.08±0.37	13.78±0.25	13.57±0.35

¹Vitamin and mineral premix donated by Thai Union Feedmill Co. Ltd.

²*Shizophylume commune* extracted with water.

³Value reported from Central Laboratory Thailand Comp. Ltd.

Table 2 Weight gain (WG), average daily gain (ADG), specific growth rate (SGR), feed conversion rate (FCR), feed efficiency ratio (FER) and protein efficiency ratio, (PER) of Asian seabass (*Lates calcarifer*) fed diet containing different levels of SCW for 8 Weeks

Diets	WG	ADG	SGR	FCR	FER	PER
1.0 % SCW	83.79±8.94 ^a	1.50±0.16 ^a	1.38±0.10 ^a	1.42±0.20 ^a	0.71±0.10 ^a	1.70±0.23 ^a
2.0.25 % SCW	82.63±9.60 ^a	1.48±0.17 ^a	1.35±0.11 ^a	1.49±0.14 ^a	0.67±0.06 ^a	1.61±0.15 ^a
3.0.50 % SCW	82.07±8.21 ^a	1.47±0.15 ^a	1.34±0.09 ^a	1.52±0.12 ^a	0.66±0.05 ^a	1.57±0.12 ^a
4.1.00 % SCW	86.83±7.51 ^a	1.55±0.13 ^a	1.41±0.13 ^a	1.45±0.28 ^a	0.71±0.12 ^a	1.68±0.30 ^a

Values are presented as mean±SD, where n=3. Means of main effects in the same column with same superscripts are not significantly different ($p > 0.05$).

Table 3 Hematocrit, total erythrocyte and total leukocyte count of Asian seabass (*Lates calcarifer*) fed diet containing different levels of SCW for 8 weeks

Diets	Hematocrit (%)	Total erythrocyte count ($\times 10^6 / \text{mm}^3$)	Total leukocyte count ($\times 10^5 / \text{mm}^3$)
1. 0% SCW	38.13±4.68 ^a	3.00±0.10 ^a	1.10±0.00 ^c
2. 0.25 % SCW	37.10±1.73 ^a	3.10±0.38 ^a	1.30±0.12 ^{bc}
3. 0.50 % SCW	35.40±1.35 ^a	2.60±0.86 ^a	1.30±1.15 ^b
4. 1 % SCW	35.80±3.38 ^a	3.20±0.14 ^a	1.74±0.05 ^a

Values are presented as mean±SD, where n=6. Means of main effects in the same column with different superscripts (a, b, c) are significantly different ($p < 0.05$).

Table 4 Glutathione (GSH) and malondialdehyde level from the liver of Asian seabass (*Lates calcarifer*) fed diet containing different SCW levels for 8 weeks

Diets	Glutathione (GSH) level (nmol GSH/mL sample)	malondialdehyde level (nmole/ g sample)
1. 0% SCW	51.55±8.51 ^a	14.10±2.77 ^a
2. 0.25 %SCW	48.99±8.92 ^b	16.23±2.94 ^b
3. 0.50 % SCW	49.67±4.08 ^b	16.85±2.52 ^b
4. 1.00 % SCW	65.58±7.43 ^a	13.52±3.43 ^a

Values are presented as mean±SD, where n=6. Means of main effects in the same column with different superscripts (a, b) are significantly different ($p<0.05$).

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดของเศษเหลือหีตแครงด้วยตัวทำละลายน้ำ (SCW) พบว่าสารสกัด SCW มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง โดยมีค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้ DPPH ลดลง 50% (IC50) เท่ากับ 0.70 ± 0.05 mg/mL ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าในเศษเหลือหีตแครงนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius*) ที่สกัดด้วยน้ำร้อนที่มีค่า IC50 เท่ากับ 1.041 mg/mL (Ahmed et al., 2014) แต่มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาในดอกหีตแครง (*Schizophyllum commune*) สกัดด้วยน้ำร้อน มีค่าเท่ากับ 0.80 mg/mL (Klaus et al., 2011) นอกจากนี้การศึกษากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Scavenging activity พบว่ามีค่า IC50 เท่ากับ 2.64 ± 0.23 mg/mL ซึ่งมีค่าสูงกว่าในหีตแครง (*Lentinula edodes*) (สกัดด้วยน้ำร้อน) มีค่าเท่ากับ 19.00 ± 0.57 mg/mL (Sudaha et al., 2012) แต่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Metal chelating activity มีปริมาณต่ำ โดยพบว่ามีค่า IC50 เท่ากับ 129.93 ± 3.99 mg/mL ซึ่งน้อยกว่าในหีตแครงที่ผ่านการสกัดด้วยเมทานอล มีค่าเท่ากับ 5.6 ± 0.13 mg/mL (Sudaha et al., 2012) เมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบทั้ง 3 วิธีพบว่าสารสกัด SCW มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงที่สุด ซึ่งหมายถึงสารสกัดสามารถกำจัดอนุมูลอิสระโดยให้ไฮโดรเจนอะตอมกับ DPPH[•] ได้ดี ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากองค์ประกอบของสารสกัดอาจมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูง จากการศึกษา Boonthatui et al. (2021) ได้รายงานไว้ในหีตแครงมีค่าฟีนอลิกรวม 18.92 ± 0.14 mg GAE/g DW จึงส่งผลให้หีตแครงมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

การเสริมสารสกัด SCW ในอาหารปลากะพงขาวในระดับ 0.25 – 1% ของอาหาร พบว่าไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากะพงขาว ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากสูตรอาหารมีการคำนวณให้มีคุณค่าทางสารอาหารที่ใกล้เคียงกันและตรงกับความต้องการสารอาหารของปลากะพงขาว และสารสกัดอาจไม่ส่งผลต่อกระบวนการย่อยและการดูดซึมสารอาหารไปใช้ประโยชน์ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Rattanachan et al. (2020) ที่ศึกษาการเสริมสารสกัดจากหีตแครงนางฟ้า และสารเบต้ากลูแคนในอาหารปลาแพนซีคาร์ฟ (*Cyprinus carpio*) และจากทดลองของ Ching et al. (2021) ใช้โคนหีตแครงนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus pulmonarius* stalk waste) ที่สกัดด้วยน้ำร้อนเสริมในสูตรอาหารปลานิลแดงพันธุ์ผสม (*Oreochromis* sp.) สูงสุดถึงระดับ 1% ของสูตรอาหาร รวมทั้งการทดลองของ Bao et al. (2009) ทดลองสกัดหีตแครงเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) ด้วยตัวทำละลายน้ำ เสริมในอาหารปลาหางเหลือง (*Seriola quinqueradiata*) พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมสารสกัดจากเศษเหลือหีตแครงเข็มทองที่ระดับ 2% มีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติกับปลาที่รับ

อาหารสูตรควบคุม ในขณะที่การศึกษาการเสริมสารสกัดจากหีตแครง (*Lentinus edodes*) ส่งผลให้ปลาสเตอร์เจียน (*Huso huso*) และปลาเรนโบว์เทราต์ (*Oncorhynchus mykiss*) (Baba & Ulukoy, 2022) มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดที่ระดับ 2% (Chitsaz et al., 2018)

การเสริมสารสกัด SCW ไม่ส่งผลต่อปริมาณฮีมาโตคริต และปริมาณเม็ดเลือดแดงรวม แต่ส่งผลให้ปริมาณเม็ดเลือดขาวรวมและค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ในซีรัมเพิ่มขึ้นตามระดับการเสริมสารสกัด ซึ่งการวัดกิจกรรมไลโซไซม์เป็นการศึกษาการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลา (Chitmanat, 2015) โดยปลากะพงขาวที่ได้รับอาหาร SCW ที่ระดับ 1% มีค่าสูงที่สุดซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัด SCW ในสูตรอาหารที่ระดับ 0, 0.125, 0.25 และ 0.50% ในอาหารเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของสารสกัดระดับ 0.50% มีระดับของเม็ดเลือดขาวรวมทั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์สูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม หรือกลุ่มที่ได้รับการเสริมในระดับที่ต่ำกว่า (Suntudkarn et al., 2021) เช่นเดียวกับการศึกษาการเสริมสารสกัดจากหีตแครงด้วยตัวทำละลายน้ำในอาหารปลาเรนโบว์เทราต์ที่ระดับ 1% และ 2% เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของสารสกัดหีตแครงในระดับ 2% ในอาหารส่งผลให้มีปริมาณเม็ดเลือดขาวรวมเพิ่มสูงขึ้น และพารามิเตอร์ของระบบภูมิคุ้มกัน เช่น กิจกรรมไลโซไซม์ และฟาโกไซติกเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของสารสกัดหีตแครงในระดับ 1% และ 0% (สูตรควบคุม) (Baba et al., 2015) ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากในหีตแครงมีสารในกลุ่มของโพลีแซคคาไรด์โดยในหีตแครงจะมีสารสำคัญที่ชื่อว่าซีไฟเลน และสารเบต้ากลูแคน (Mongkontanawat, 2014) ซึ่งมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย อาจไปกระตุ้นให้ระดับของเม็ดเลือดขาวซึ่งมีหน้าที่ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายให้เพิ่มสูงขึ้นรวมทั้งส่งผลให้กิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์เพิ่มสูงขึ้นด้วย

การประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันประเมินได้โดยการวัดจากระดับของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น หรือความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (Yangtong, 2015) ซึ่งการวัดระดับการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน โดยการวัดปริมาณ MDA สามารถใช้ประเมินภาวะเครียดออกซิเดชันได้ (Halliwell & Gutteridge, 1999) จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัด SCW ไม่ส่งผลต่อระดับ LPO ที่วัดจากตับ ($p>0.05$) แต่ส่งผลต่อระดับของกลูตาไธโอนรวมในตัวอย่างตับ ทำให้มีค่าเพิ่มสูงขึ้นในปลากลุ่มที่ได้รับสารสกัด SCW ระดับ 1% ($p<0.05$) ซึ่ง กลูตาไธโอนเป็นโปรตีนที่มีหน้าที่ปกป้องเนื้อเยื่อของอวัยวะส่วนร่างกาย เพื่อกำจัดพิษหรือลดปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น โดยการต่อต้านสารอนุมูลอิสระที่สะสมอยู่

ตามส่วนต่าง ๆ และกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Hiransuchalert et al., 2017) กลูตาไธโอนเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ 3 ชนิดใหญ่ ๆ คือกลูตาไธโอนทรานสเฟอเรส กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส และกลูตาไธโอนรีดักเตส (Anderson & Davis, 2004) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลของการเสริมสารสกัดเห็ดนางฟ้า (*Phellinus linteus*) ในสูตรอาหารปลา *Epinephelus bruneus* ที่พบว่า การเสริมสารสกัดเห็ดในสูตรอาหารที่ระดับ 1% ส่งผลให้ปลา มีระดับของกิจกรรมเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระประกอบด้วยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส เอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส เพิ่มขึ้น (Harikrishnan et al., 2011)

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดจากเศษเหลือเห็ดนางฟ้าด้วยตัวทำละลายน้ำ (SCW) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.70±0.05 mg/mL และเมื่อนำสารสกัดเสริมในอาหารปลากระพงขาวที่ระดับ 0%, 0.25%, 0.50% และ 1% ทำการทดลองนาน 8 สัปดาห์ พบว่าระดับการเสริมสารสกัดในอาหารไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลา แต่ส่งผลให้ปลามีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงขึ้นและทำให้มีระดับภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ คือระดับกิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์สูงขึ้น ในปลากลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ระดับ 0.5 – 1% ของอาหาร นอกจากนั้นการเสริม SCW ในระดับ 1% ของอาหารส่งผลให้มีปริมาณกลูตาไธโอนรวมเพิ่มขึ้น (p<0.05) แต่ไม่ส่งผลต่อระดับการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (p>0.05) ดังนั้นการนำเศษเหลือเห็ดนางฟ้ามาสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำที่ระดับ 0.50 – 1% จึงมีประสิทธิภาพในการเป็นสารเสริมให้กับปลาโดยมีผลเพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันไม่จำเพาะและเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้

References

Ahmed, M., Abdullah, N., Yusof, H. M., Shuib, A. S., & Razak S. A. (2015). Improvement of growth and antioxidant status in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets supplemented with mushroom stalk waste hot water extract. *Aquaculture Research*, 48(3), 1146–1157.

Anderson, J. V., & Davis, D. G. (2004). Abiotic stress alters transcript profiles and activity of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in *Euphorbia esula*. *Physiologia Plantarum*, 120(3), 421–433.

Association of Analytical Chemists (AOAC). (1999). *Official methods of analysis* (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

Baba, E., & Ulukoy, G. (2022). Effects of dietary supplemented shiitake mushroom extract on growth, non-specific immune parameters and in-vitro resistance against *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *LIMNOFISH–Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 8(1), 28–36.

Baba, E., Ulukoy G., & Onts, C. (2015). Effects of feed supplemented with *Lentinula edodes* mushroom extract on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and disease resistance against *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture*, 488(1), 476–482.

Bao, H. N. D., Shinomiya, Y., Ikedac, H., & Ohshima, T. (2009). Preventing discoloration and lipid oxidation in dark muscle of yellowtail by feeding an extract prepared from mushroom (*Flammulina velutipes*) cultured medium. *Aquaculture*, 295(3–4), 243–249.

Boonthatui, Y., Thakhiew, W., & Kittisakulnam, S. (2021). Quantitative changes of phenolics, flavonoids, β -glucans and antioxidant activities during the first and second harvests of split-gill mushroom (*Schizophyllum commune*). *Agriculture and Natural Resources*, 55(6), 995–1004.

Ching, J. J., Shuib, A. S., Abdullah, N., Majid, N. A., Taufek, N. M., Sutra, J., & Azma, M. N. A. (2021). Hot water extract of *Pleurotus pulmonarius* stalk waste enhances innate immune response and immune-related gene expression in red hybrid tilapia *Oreochromis* sp. following challenge with pathogen-associated molecular patterns. *Fish & Shellfish Immunology*, 116(1), 61–73.

Chitmanat, C. (2015). Passive immunity from brood stock fish. *Veterinary Integrative Sciences*, 13(2), 93–101. (in Thai)

Chitsaz, H., Akrami, R., & Ahmadi, Z. (2018). Effects of mushroom (*Lentinula edodes*) extract on growth performance, immune response and hemato-biochemical parameters of great sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 4(1), 29–48.

Chong, V., Al-Azad, S., & Shapawi, R. (2016). Comparison of two edible mushroom extract as aquaculture feed additive to enhance immune response of Asian seabass. *Transactions on Science and Technology*, 3(2–2), 427–432.

Department of Fisheries. (2021). *Statistics of marine fish farms survey 2020*. Fisheries statistics group, Fisheries development policy and planning division, No 9/2021. Bangkok: Department of Fisheries. (in Thai)

Dinis, T. C. P., Maderia, V. M. C., & Almeida, L. M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161–169.

- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free radicals in biology and medicine* (3rd ed.). New York: Oxford University Press.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M. S. (2011). Diet enriched with mushroom *Phellinus linteus* extract enhances the growth, innate immune response, and disease resistance of kelp grouper, *Epinephelus bruneus* against vibriosis. *Fish & Shellfish Immunology*, 30(1), 128–134.
- Hiransuchalert, R., Puanglarp, N., Tharanat, S., Olanvanitch, C., & Yanwatthana, K. (2017). Partial nucleotide sequences and expression of genes involving to glutathione enzyme system in the Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Journal of Fisheries Technology Research*, 11(2), 46–59. (in Thai)
- Klaus, A., Kozarski, M., Niksic, M., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Leo, J. L. D., & Griensven, V. (2011). Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharides extracted from the basidiomycete *Schizophyllum commune*. *LWT–Food Science and Technology*, 44(10), 2005–2011.
- Mongkontanawat, N. (2014). Spilt Gill: A high value local mushroom. *Journal of Science Ladkrabang*, 23(1), 138–147. (in Thai)
- Rahman, Md. A., Tantikitti, C., Suanyuk, N., Talee, T., Hlongahlee, B., Chantakam, S., & Srichanun, M. (2021). Effects of alternative lipid sources and levels for fish oil replacement in Asian seabass (*Lates calcarifer*) diets on growth, digestive enzyme activity and immune parameters. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 43(4), 976–986.
- Rattanachan, S., Bunnajirakul, S., & Punyadarsaniya, D. (2020). Effect of pre-supplementation with *Pleurotus sajor-caju* crude extracts on body weight and consequence responses of leukocytes and immune organs in fancy carp following inoculation with *Aeromonas veronii*. *International Veterinary World*, 13(5): 1010–1016.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice–Evansa, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- Sakunphueak, A. (2016). *Free radicals and antioxidants*. Accessed April 12, 2021. Retrieved from <http://ccpe.pharmacycouncil.org/showfile.php?file=204> (in Thai)
- Sanchez, C. (2017). Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2(1), 13–22.
- Sarawut, A., Suphattra, L., Senkaew, N., Tanthai, P., Chupom, B., & Charoensang, D. (2014). *The Development of Schizophyllum commune Fr. Strains in Southern Thailand*. Accessed April 12, 2021. Retrieved from <https://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=2457> (in Thai)
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2005). Lipid oxidation: Measurement methods. In F. Shahidi (Ed.), *Bailey’s Industrial Oil and Fat Products* (pp. 357–385). Manhattan: John Wiley & Sons, Inc.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Chemistry*, 40(6), 945–948.
- Srichanun, M., Nganwisuthiphan, T., Wanlem, S., & Rakkamon, T. (2017). Effects of different mushroom by-product types and levels on growth performance and survival rate in dietary of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Agricultural Technology*, 13(7.1), 1093–1101.
- Steffens, W. (1989). *Principles of fish nutrition*. New York: Ellis Horwood Limited.
- Sudaha, G., Vadivukkarasi, S. Shree, R. B. I., & Lakshmanan, P. (2012). Antioxidant activity of various extracts from an edible mushroom *Lentinula edodes*. *Food Science and Biotechnology*, 21(3), 661–668.
- Sukrakanchana, N., Kiriratnikom, S., Ruangklai, K., & Choksawasdikorn, P. (2011). *Haematology of Slender walking catfish (Clarias nieuhofii) in culture system*. Paper presented at the Proceedings of 50th Kasetsart University Annual Conference: Animals, Veterinary Medicine, Bangkok, Thailand. (in Thai)
- Suntudkam, K., Wanlem, S. & Srichanun, M. (2021). Effect of supplemented split gill mushroom (*Schizophyllum commune* Fr.) by-product extract on immunostimulant substance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 49 (Suppl.1) , 126 – 133 . (in Thai)
- Supamattaya, K. (1995). *Laboratory manual for fish disease and parasites*. Songkla: Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources Prince of Songkla University. (in Thai)
- Suwanasang, A., Dangwetngam, M., Issaro, A., Phromkunthong, W., & Suanyuk, N. (2014). Pathological manifestations and immune responses of

- serotypes Ia and III *Streptococcus agalactiae* 36(5), 499–506.
- infections in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Yangthong, M. (2015). Oxidative stress in fish. *King Mongkut's Songklanakarin Journal of Science and Technology, Agricultural Journal*, 32(2), 66–75. (in Thai)

Research article

Effects of feed supplemented with split gill mushroom (*Schizophyllum commune*) by-product extract on growth, blood parameters, immune response and oxidative defense of Asian seabass (*Lates calcarifer*)

Koragot Suntudkarn¹ Sunee Wanlem² Md Arefin Rahman³ and Manee Srichanun^{1*}

¹Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakorn Si Thammarat Campus, Nakorn Si Thammarat, Thailand, 80110

²Faculty of Veterinary Science, Prince of Songkla University, Songkhla, Hat Yai, Songkhla, Thailand, 90110

³Aquatic Science and Innovative Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, Thailand, 90110

ARTICLE INFO**Article history**

Received: 22 June 2022

Revised: 25 July 2022

Accepted: 26 July 2022

Online published: 1 September 2022

Keyword

Split gill mushroom by-product

Lates calcarifer

Immune response

Oxidative defend

ABSTRACT

This study aimed to access the effects of supplementing split gill mushroom by-product extracted with water (*Schizophyllum commune* extracted with water, SCW) in Asian seabass (*Lates calcarifer*) diets on growth, nutrient utilization, haematological and immunological parameters, and oxidative stress reduction ability.

A completely randomized design was employed to formulate four experimental diets by supplementing SCW at 0% (control), 0.25%, 0.50%, and 1% with three replications. The fish with an average initial weight of 72.93±0.17 g/fish were randomly assigned to 120 liters aquarium by 6 fish/aquarium. Fish were fed to satiation 3 times a day for 8 weeks. At the end of the feeding trial, fish from each aquarium were individually weighed to assess growth performances, and blood was withdrawn to determine the hematocrit level, total erythrocyte count, total leucocyte count, and lysozyme activity. Liver was sampled to measure the malondialdehyde (MDA) and total glutathione level. The results showed that growth performance and feed nutrient utilization were not affected by the diets ($p>0.05$). The total leukocyte count and lysozyme activity of the fish fed the 0.50 % and 1% SCW supplemented diets were significantly greater than those of the control group ($p<0.05$). Furthermore, the fish fed with SCW 1% supplemented diet showed a significant increase in total glutathione ($p<0.05$). While, the content of MDA was not significantly different between treatment ($p>0.05$). The findings suggest that SCW supplementation at 0.50 – 1% in the Asian seabass diet could improve non-specific immunity and antioxidant capacity.

*Corresponding author

E-mail address: manee.s@rmuts.ac.th (M. Srichanun)

Online print: 1 September 2022 Copyright © 2022. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2022.14>