

ผลของกรด 5-อะมิโนลิวูลินิกต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองของ
ภูมิคุ้มกันในปลาสร้อยปรับปรุงสายพันธุ์

(*Pangasianodon gigas* × *Pangasianodon hypophthalmus*)

Effect of 5-aminolevulinic Acid on Growth Performance and
Immune Responses in Hybrid Striped Catfish

(*Pangasianodon gigas* × *Pangasianodon hypophthalmus*)

วิรุฬห์ศักดิ์ ทองสุภา¹ นเรศ ช้วนยุค^{1,2*} อังคณา ไสเกื้อ³ และศุภณัฐ ธาณิรัตน์¹

Wiroonsak Thongsupa¹, Naraid Suanyuk^{1,2*}, Angkana Saikue³

and Suppanat Thaneerat¹

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของกรด 5-อะมิโนลิวูลินิก (5-aminolevulinic acid; ALA) ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Rhodopseudomonas palustris* JP225 ต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในปลาสร้อยปรับปรุงสายพันธุ์ (*Pangasianodon gigas* × *P. hypophthalmus*) โดยเลี้ยงปลาที่มีน้ำหนักตั้งต้นเฉลี่ย 7.71-7.78 กรัม ด้วยอาหารทดลองเสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาวอีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม และค่าเฉลี่ยเม็ดบีดที่ถูกเม็ดเลือดขาวจับกินให้มีความสูงที่สุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม เมื่อเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารผสม ALA ทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้น

¹ ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำกึ่งการ ศุภมาตย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

² สาขาความเป็นเลิศการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

³ สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

* Corresponding author: naraid.s@psu.ac.th

Received: 25 February 2020, Revised: 17 March 2020, Accepted: 20 March 2020

10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัมลดลง แต่มีค่าเฉลี่ยกิจกรรม respiratory burst และดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอมสูงที่สุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารควบคุม งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริม ALA ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *R. palustris* JP225 ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในอาหารปลาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ได้

คำสำคัญ: ปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ กรด 5-อะมิโนลิวูลินิก การเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน

Abstract

This study reports the effects of 5-aminolevulinic acid (ALA) from *Rhodopseudomonas palustris* JP225 on growth performance and immune responses in hybrid striped catfish (*Pangasianodon gigas* × *P. hypophthalmus*). Hybrid striped catfish with an initial weight of 7.71-7.78 g were fed with commercial diet supplemented with ALA at concentrations of 0 (control), 2.5, 5.0, 7.5 and 10.0 mg/kg. After 4 weeks of feeding, the fish received diet containing 2.5 mg/kg ALA concentrations demonstrated the highest final weight, weight gain and specific growth rate with the best feed conversion ratio in comparison with fish fed with other diet formulas with statistical significance ($p < 0.05$). Furthermore, fish fed with 2.5 mg/kg ALA concentrations increased their red and white blood cells, total haemoglobin, haematocrit, phagocytosis, phagocytic index, and average number of the bead ingested per cell to the highest level comparing to fish fed the control diet and showed statistically significant differences ($p < 0.05$). After 8 weeks of feeding, no statistically significant difference in growth performance of fish was observed among diet supplemented with ALA at every concentration levels ($p > 0.05$). Moreover, it was found that fish fed with 10 mg/kg ALA concentrations showed that the immune responses which were total haemoglobin, haematocrit, and serum protein were decreased. Yet, there were significantly increased in the average respiratory burst activity and phagocytic index to the highest level comparing to fish fed the control diet and showed statistically significant differences ($p < 0.05$). These findings indicated that supplementation of ALA concentrations from *R. palustris* JP225 at the concentration of 2.5 mg/kg diet for 4 weeks enhanced growth performance and immunity of hybrid striped catfish.

Keywords: hybrid striped catfish, 5-aminolevulinic acid, growth performance, immunity system

บทนำ

ปัจจุบันปลาหนังเนื้อขาวเป็นที่นิยมของผู้บริโภคเนื่องจากเป็นอาหารสุขภาพ มีคุณค่าทางโภชนาการที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของสมอง พบว่าปลาหนังให้ปริมาณไขมันที่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งไขมันในกลุ่มโอเมก้า 3 ในตลาดต่างประเทศจึงมีความต้องการบริโภคปลาหนังเนื้อขาว เช่น ปลาสวาย (*Pangasianodon hypophthalmus*) และปลาลูกผสมระหว่างพ่อปลาบิกกับแม่ปลาสวาย (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2554) ดังนั้นจึงควรมีการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงปลาหนังลูกผสมให้กับเกษตรกร เนื่องจากเป็นปลาที่มีคุณภาพเนื้อเป็นที่ต้องการของตลาด เลี้ยงง่าย โตเร็ว ทนโรค ได้ผลผลิตดี และยังส่งผลทางอ้อมในการช่วยลดการนำเข้าปลาหนังจากต่างประเทศอีกด้วย (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2555) อย่างไรก็ตามการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่นมีโอกาสทำให้ปลาป่วยเป็นโรคได้ง่าย อีกทั้งยังสร้างความเสียหายต่อผลผลิตและเพิ่มต้นทุนการเลี้ยง แม้ว่าจะมีการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีเพื่อป้องกันและรักษาโรคที่เกิดขึ้นก็ตาม แต่การเลือกใช้ยาและสารเคมีที่ไม่เหมาะสมมีโอกาสทำให้เกิดปัญหาการดื้อยาทั้งในปลาและผู้บริโภค รวมถึงปัญหาสารตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อมอันเป็นปัญหาสำคัญที่มีผลกระทบต่อเศรษฐกิจของชาติ ดังนั้นการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunostimulant) ที่ผลิตจากสารชีวภาพ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำ เนื่องจากช่วยเพิ่มความต้านทานโรค ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ และไม่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม

กรด 5-อะมิโนลิวูลินิก (5-aminolevulinic acid; ALA) เป็นสารชีวภาพที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ สารชีวภาพชนิดนี้พบได้ในแบคทีเรียสังเคราะห์แสง เช่น *Rhodospseudomonas palustris* (Saikour et al., 2009) และ *Rhodobacter sphaeroides* (Liu et al., 2016) สาหร่าย เช่น *Scenedesmus obliquus* (Klein et al., 1980) และ *Chlorella* sp. (Sasaki et al., 1995) และแบคทีเรีย เช่น *Propionibacterium acidipropionici* (Kiatpapan et al., 2011) และ *Escherichia coli* (Zhang et al., 2015) เป็นต้น สารชนิดนี้สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด (Tanaka et al., 1992) รวมทั้งสัตว์ เช่น สุนัข โดยพบว่า ALA สามารถเพิ่มปริมาณฮีโมโกลบิน ธาตุเหล็ก เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และฮีมาโตคริตของสุนัขให้สูงขึ้น (Chen et al., 2008; Wang et al., 2011) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาผลของ ALA ต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันในปลา แต่มีการศึกษาในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) โดยอมรรัตน์ (2549) พบว่า ALA สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ ได้แก่ การเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และอัตราการรอดตายจากการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ ALA ต่อการเจริญเติบโตและการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลาสวาย ปรับปรุงสายพันธุ์ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มผลผลิตเชิงพาณิชย์และเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันในระดับนานาชาติต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงและการผลิต ALA

แบคทีเรียสังเคราะห์แสง *R. palustris* JP225 ที่แยกได้จากดินเปรี้ยวในอำเภอยะหา จังหวัดนครศรีธรรมราช (Saikur et al., 2009) นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GM บ่มในสภาวะแบบมีอากาศน้อย มีแสง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เก็บเกี่ยวเชื้อในช่วงเวลาที่ผลิต ALA ได้สูงสุด และแยก ALA ตามวิธีการของ Mauzerall and Granick (1956) โดยนำสารละลายแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลว GM มาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วนำส่วนใสไปทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแบบสุญญากาศ เก็บผง ALA ที่ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งานต่อไป

2. การเตรียมปลาทดลอง

ปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์อายุประมาณ 1 เดือน น้ำหนักประมาณ 2-3 กรัม ที่ผ่านการฝึกให้กินอาหารเม็ดสำเร็จรูปมาแล้ว มีสุขภาพแข็งแรง ปลอดโรค จำนวน 500 ตัว นำมาอนุบาลในถังไฟเบอร์ขนาดความจุ 3,000 ลิตร ให้กินอาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้าเวลา 9.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00 น. เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นคัดปลาที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกันใส่ตู้กระจกทดลองขนาด 45×90×45 เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำ 120 ลิตร ปิดด้านข้าง 3 ด้าน ด้วยพลาสติกสีดำเพื่อป้องกันการรบกวนจากภายนอก จำนวน 30 ตู้ ๆ ละ 20 ตัว ทำการเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อปรับสภาพปลาให้ชินกับตู้ทดลอง ก่อนเริ่มทดลองทำการชั่งน้ำหนักปลาอีกครั้ง โดยคัดเลือกปลาที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกันจำนวน 15 ตัวต่อตู้ การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณาและเห็นชอบจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองของสถาบันมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลขที่ใบอนุญาตที่ Ref. 56/2018

3. การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมสารสกัด ALA โดยใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นตัวทำละลาย จากนั้นทำการสเปรย์ด้วยสารละลาย ALA ลงบนอาหารทดลองพื้นฐาน คือ อาหารลอยน้ำ 9920 D ซีพี มีคุณค่าทางอาหารได้แก่ โปรตีนไม่ต่ำกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ไขมันไม่ต่ำกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นไม่เกิน 12 เปอร์เซ็นต์ และกากไม่เกิน 8 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้นของ ALA เท่ากับ 0 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อกรัม จากนั้นเคลือบด้วยน้ำมันปลาแล้วนำมาผึ่งลมเป็นเวลา 4 ชั่วโมง บรรจุลงในถุงพลาสติกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

4. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ 1 เลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และการทดลองที่ 2 เลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แต่ละการทดลองประกอบด้วย 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ (replication) ซ้ำละ 15 ตัว ให้อาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง คือ เช้าเวลา 9.00 น. และเย็นเวลา 16.00 น. ให้ปลากินจนอิ่ม จัดบันทึกอาหารที่ให้ทุกวัน เปลี่ยนถ่ายน้ำ 90 เปอร์เซ็นต์ ทุก ๆ 2 วัน

5. การศึกษาการเจริญเติบโต

เมื่อครบระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนักปลาทุกชุดการทดลอง (งดให้อาหาร 1 วันก่อนการชั่งน้ำหนัก) พร้อมจดบันทึกจำนวนปลา น้ำหนักปลา และน้ำหนักอาหารทดลอง จนสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณอัตราการรอด (survival rate) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (% weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio, FCR) ตามวิธีการของ Younis *et al.* (2018)

6. การศึกษาองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของปลาสายปรับปรุงสายพันธุ์

หลังการทดลองเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดปลาจากทุกชุดการทดลอง ๆ ละ 9 ตัว (ซ้ำละ 3 ตัว) สลบด้วยน้ำมันกานพลู แล้วเจาะเลือดบริเวณโคนหางโดยใช้เข็มฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร หัวเข็มขนาด 25G (NIPRO (THAILAND) CORP. LTD) แล้วนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบเลือด ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ฮีมาโตคริต ปริมาณฮีโมโกลบินรวม โปรตีนในซีรัม กิจกรรม respiratory burst และกิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ ตามวิธีการของ Suwannasang *et al.* (2014)

วิเคราะห์กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม โดยสลับปลาด้วยน้ำมันกานพลูแล้วแยกไตส่วนหน้าตามวิธีการของ Chung and Secombes (1988) และนำไปศึกษากิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอมตามวิธีการของ Thuvander *et al.* (1987) จากนั้นนับจำนวนเซลล์ที่จับกินสิ่งแปลกปลอมและจำนวนเม็ดปิตที่ถูกจับกินภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำค่าที่ได้มาคำนวณกิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม และค่าเฉลี่ยเม็ดปิตที่ถูกจับกินตามสูตรของ Rengpipat *et al.* (2000)

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One way analysis of variances) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (version 19.0)

ผลการวิจัย

1. การเจริญเติบโต

การศึกษาผลของ ALA ต่อการเจริญเติบโตของปลาสายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 5 สูตรมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง โดยในช่วง 4 สัปดาห์แรก ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 คือ เสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 13.38 ± 0.26 กรัม 72.96 ± 3.34 เปอร์เซ็นต์ และ 1.83 ± 0.06 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 3 4 และ 5 ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อมีค่าต่ำสุด

ในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.00 ± 0.08 และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรอื่น ๆ (ตารางที่ 1) เมื่อเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองทั้ง 5 สูตร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

หลังการเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองมีอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 1)

2. ผลของ ALA ต่อองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

การศึกษาก่อนการประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของปลาสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารทดลองผสม ALA เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 คือเสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวสูงสุดเท่ากับ $2.90 \pm 0.07 \times 10^9$ และ $4.95 \pm 0.39 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมา คือปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 4 5 และ 1 (ชุดควบคุม) ตามลำดับ โดยปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 มีปริมาณเม็ดเลือดแดงต่างจากปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับปริมาณฮีโมโกลบินรวม และฮีมาโตคริตที่มีค่าสูงสุดในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีค่าเท่ากับ 15.85 ± 1.43 กรัมต่อเดซิลิตร และ 42.61 ± 1.79 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาชุดควบคุม (ตารางที่ 2)

กระบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมมีค่าสูงสุดในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เท่ากับ 39.00 ± 4.92 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 ($p > 0.05$) แต่มีความแตกต่างกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 4 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นการจับกินสิ่งแปลกปลอมของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีค่าเท่ากับ 25.77 ± 7.72 ซึ่งสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 4 1 และ 5 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยเม็ดบิที่ถูกเม็ดเลือดขาวจับกินของปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 2 (ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีค่าสูงสุดเท่ากับ 1.67 ± 0.07 เม็ดต่อเซลล์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 3 ($p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 4 และ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2)

การศึกษารังสีไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ของปริมาณโปรตีนในซีรัม กิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ และกิจกรรม respiratory burst ของปลาสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสม ALA ที่ระดับต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 2)

3. ผลของ ALA ต่อองค์ประกอบเลือดและระบบภูมิคุ้มกันของปลาทรายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ปลาทรายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 (ชุดควบคุม) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีปริมาณฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัมสูงสุดที่ระดับ 14.18 ± 0.77 กรัมต่อเดซิลิตร 39.58 ± 1.38 เปอร์เซ็นต์ และ 47.56 ± 4.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ชุดการทดลองที่ 5) ที่มีปริมาณฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัม เท่ากับ 12.73 ± 0.84 กรัมต่อเดซิลิตร 34.35 ± 3.98 เปอร์เซ็นต์ และ 39.62 ± 3.57 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรที่ 5 (ALA 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีค่าเฉลี่ยกิจกรรม respiratory burst สูงสุดเท่ากับ 0.211 ± 0.057 ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 4 แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 1 (ชุดควบคุม) 2 และ 3 (ตารางที่ 3) ดัชนีการจับกิน สิ่งแปลกปลอมของปลาทรายปรับปรุงสายพันธุ์มีค่าสูงสุดในปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 5 (ALA 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และมีความแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การศึกษาในครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ของ ปริมาณเม็ดเลือดแดง ปริมาณเม็ดเลือดขาว กิจกรรมเอนไซม์ไลโซไซม์ กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม และค่าเฉลี่ยเม็ดบีดที่ถูกลูกเม็ดเลือดขาวจับกินในระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในปลาทุกชุดการทดลอง

อภิปรายผลการวิจัย

ALA เป็นสารชีวภาพที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์หลายชนิด (Tanaka *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2011) การศึกษาผลของการเสริม ALA ในอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของปลาทรายปรับปรุงสายพันธุ์ พบว่าปลาทรายปรับปรุงสายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีการเจริญเติบโตปกติ โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ($2.24-2.61$ เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ($1.02-1.19$) ใกล้เคียงกับรายงานของวิสุต และคณะ (2562) ที่ศึกษาการแทนที่ปลาปนด้วยแหล่งโปรตีนจากพืชในอาหารปลาทรายลูกผสมเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ($1.77-2.63$ เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ($1.12-1.50$) การศึกษาครั้งนี้พบว่าในระยะเวลา 4 สัปดาห์แรก ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีการเจริญเติบโตดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาในชุดการทดลองอื่น ๆ ทั้งนี้เนื่องจาก ALA มีคุณสมบัติเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮีม (heme) โดยเอนไซม์ ALA synthase ทำหน้าที่สังเคราะห์ ALA จากกรดอะมิโนไกลซีนและซัคซินิลโคเอน จากนั้น ALA จะถูกสังเคราะห์โดยกระบวนการทางชีวเคมีอีกหลายขั้นตอนจนเปลี่ยนเป็นโปรโตพอร์ไฟริน (protoporphyrin IX) ซึ่งจะถูเอนไซม์เฟอร์โรคีเลตาส (ferrochelatase) เปลี่ยนเป็นฮีม ภายใต

สถานะที่มีเหล็กในปฏิกิริยา (Zhang *et al.*, 2011) ในสารประกอบฮีมโมเลกุลของธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบ เมื่อฮีมรวมตัวกับโปรตีนโกลบิน (globin) กลายเป็นสารประกอบฮีมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ซึ่งทำหน้าที่ในการลำเลียงออกซิเจนไปยังเซลล์ต่าง ๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมเพื่อสร้างพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ ดังนั้นการเสริมอาหารด้วย ALA ในความเข้มข้นที่เหมาะสมจึงทำให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี ผลการศึกษาค้นคว้าของ Yan and Kim (2011) ที่รายงานผลของการเสริม ALA ร่วมกับโคโคอีลิกแซคาไรด์ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และองค์ประกอบเลือดในลูกสุกรพันธุ์ลูกผสม พบว่าลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 2-5 สัปดาห์ มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรอื่น

การศึกษามูลของการเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วย ALA ทั้ง 5 สูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งให้เห็นว่าการใช้ ALA เป็นระยะเวลานานเกินไป ไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของปลา ทั้งนี้อาจเนื่องจากระบบต่าง ๆ ภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ จำเป็นต้องใช้สารอาหารและพลังงาน ดังนั้นเมื่อใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน พลังงานและสารอาหารถูกนำมาใช้ในระบภูมิคุ้มกัน จึงทำให้ระบบอื่น ๆ ภายในร่างกายได้รับสารอาหารและพลังงานไม่เพียงพอ ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตช้าลง (Spurlock, 1997) ผลการศึกษาค้นคว้านี้ใกล้เคียงกับรายงานของ Wang *et al.* (2011) ที่ศึกษาผลของ ALA ต่อการเจริญเติบโต ค่าองค์ประกอบเลือด และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในลูกสุกรหย่านม พบว่า ALA ที่เสริมลงในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตในลูกสุกรหย่านมที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

การศึกษากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือดและภูมิคุ้มกันของปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการเจริญเติบโต โดยปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม ALA 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีปริมาณเม็ดเลือดแดง ฮีมโกลบินรวม และฮีมาโตคริตสูงสุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับปลาชุดควบคุม ทั้งนี้เนื่องจาก ALA เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์ฮีม (heme) (Zhang *et al.*, 2011) ดังนั้นการผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จึงเป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ส่งผลให้ปลามีปริมาณเม็ดเลือดแดง ฮีมโกลบิน และฮีมาโตคริตสูงสุด ใกล้เคียงกับรายงานของ Yan and Kim (2011) พบว่าปริมาณเม็ดเลือดแดงมีค่าสูงที่สุดในลูกสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม ALA ระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ แต่ต่ำกว่าการศึกษาของ Chen *et al.* (2008) ที่รายงานว่าปริมาณเม็ดเลือดแดง ฮีมโกลบินและธาตุเหล็ก มีค่าสูงที่สุดในสุกรที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งในสัปดาห์ที่ 3 และสัปดาห์ที่ 5 ของการทดลอง

ตารางที่ 1 น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (WG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ของปลา
 สวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์

ชุดการทดลอง	4 สัปดาห์					8 สัปดาห์			
	น้ำหนัก เริ่มต้น	น้ำหนัก สุดท้าย	น้ำหนักที่ เพิ่มขึ้น	อัตราการ เจริญเติบโต จำเพาะ	อัตราการ เปลี่ยนอาหาร เป็นเนื้อ	น้ำหนัก สุดท้าย	น้ำหนักที่ เพิ่มขึ้น	อัตราการ เจริญเติบโต จำเพาะ	อัตราการ เปลี่ยนอาหาร เป็นเนื้อ
	(กรัม)	(กรัม)	(เปอร์เซ็นต์)	(เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)		(กรัม)	(เปอร์เซ็นต์)	(เปอร์เซ็นต์ต่อวัน)	
1) 0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.74±0.02 ^{ns}	11.58±0.13 ^b	49.37±1.48 ^b	1.35±0.03 ^b	1.44±0.17 ^b	16.92±1.19 ^{ns}	53.93±5.24 ^{ns}	2.60±0.39 ^{ns}	1.13±0.11 ^{ns}
2) 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.73±0.00 ^{ns}	13.38±0.26 ^c	72.96±3.34 ^c	1.83±0.06 ^c	1.00±0.08 ^a	15.18±1.15 ^{ns}	46.83±3.74 ^{ns}	2.24±0.26 ^{ns}	1.19±0.09 ^{ns}
3) 5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.74±0.00 ^{ns}	10.80±0.42 ^a	39.61±5.45 ^a	1.11±0.13 ^a	1.73±0.23 ^c	15.53±3.78 ^{ns}	48.04±3.37 ^{ns}	2.25±0.24 ^{ns}	1.18±0.22 ^{ns}
4) 7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.73±0.00 ^{ns}	11.03±0.20 ^a	42.58±2.63 ^a	1.18±0.06 ^a	1.55±0.23 ^{bc}	15.82±0.31 ^{ns}	49.27±3.36 ^{ns}	2.40±0.07 ^{ns}	1.08±0.09 ^{ns}
5) 10.0 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม	7.74±0.00 ^{ns}	11.15±0.63 ^{ab}	44.12±8.15 ^{ab}	1.21±0.19 ^a	1.72±0.21 ^c	16.89±0.62 ^{ns}	54.14±1.67 ^{ns}	2.61±0.12 ^{ns}	1.02±0.10 ^{ns}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสัปดาห์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 2 ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต โปรตีนในซีรัม กิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ กิจกรรม respiratory burst และ กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

พารามิเตอร์	ชุดการทดลอง				
	0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
องค์ประกอบเลือด					
เม็ดเลือดแดง ($\times 10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	2.65 $\pm$ 0.11 ^a	2.90 $\pm$ 0.07 ^b	2.82 $\pm$ 0.12 ^{ab}	2.70 $\pm$ 0.12 ^a	2.66 $\pm$ 0.22 ^a
เม็ดเลือดขาว ($\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	3.79 $\pm$ 0.70 ^a	4.95 $\pm$ 0.39 ^c	4.77 $\pm$ 0.11 ^{bc}	4.24 $\pm$ 0.10 ^{abc}	3.95 $\pm$ 0.51 ^{ab}
ฮีโมโกลบินรวม (กรัมต่อเดซิลิตร)	11.44 $\pm$ 0.55 ^a	15.85 $\pm$ 1.43 ^c	12.66 $\pm$ 0.60 ^b	12.64 $\pm$ 0.68 ^b	11.55 $\pm$ 0.59 ^a
ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	32.78 $\pm$ 1.59 ^a	42.61 $\pm$ 1.79 ^c	38.23 $\pm$ 1.51 ^b	38.12 $\pm$ 2.02 ^b	36.16 $\pm$ 2.39 ^b
โปรตีนในซีรัม (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	49.60 $\pm$ 4.11 ^{ns}	55.82 $\pm$ 5.74 ^{ns}	52.53 $\pm$ 6.90 ^{ns}	45.19 $\pm$ 5.20 ^{ns}	44.81 $\pm$ 7.78 ^{ns}
เอนไซม์ไลโซไซม์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	11.08 $\pm$ 2.82 ^{ns}	12.85 $\pm$ 2.80 ^{ns}	10.90 $\pm$ 3.58 ^{ns}	11.09 $\pm$ 2.19 ^{ns}	10.85 $\pm$ 2.04 ^{ns}
กิจกรรม respiratory burst	0.126 $\pm$ 0.02 ^{ns}	0.136 $\pm$ 0.027 ^{ns}	0.138 $\pm$ 0.011 ^{ns}	0.124 $\pm$ 0.013 ^{ns}	0.113 $\pm$ 0.008 ^{ns}
กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม					
กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม (เปอร์เซ็นต์)	32.50 $\pm$ 1.32 ^a	39.00 $\pm$ 4.92 ^b	34.67 $\pm$ 2.75 ^{ab}	32.67 $\pm$ 1.76 ^a	31.83 $\pm$ 1.61 ^a
ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม	15.20 $\pm$ 1.99 ^a	25.77 $\pm$ 7.72 ^b	18.47 $\pm$ 3.69 ^a	15.47 $\pm$ 1.19 ^a	14.49 $\pm$ 1.32 ^a
ค่าเฉลี่ยของเม็ดบิที่ถูกจับกิน (เม็ดต่อเซลล์)	1.43 $\pm$ 0.08 ^a	1.67 $\pm$ 0.07 ^b	1.60 $\pm$ 0.06 ^b	1.45 $\pm$ 0.05 ^a	1.42 $\pm$ 0.11 ^a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)
 ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 3 ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ฮีโมโกลบิน ฮีมาโตคริต โปรตีนในซีรัม กิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ กิจกรรม respiratory burst และ กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม ของปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

พารามิเตอร์	ชุดการทดลอง				
	0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	5.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	10.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
องค์ประกอบเลือด					
เม็ดเลือดแดง ($\times 10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	3.23 $\pm$ 0.38 ^{ns}	3.19 $\pm$ 0.34 ^{ns}	3.07 $\pm$ 0.11 ^{ns}	2.99 $\pm$ 0.20 ^{ns}	2.91 $\pm$ 0.21 ^{ns}
เม็ดเลือดขาว ($\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	4.33 $\pm$ 0.55 ^{ns}	4.69 $\pm$ 0.63 ^{ns}	4.43 $\pm$ 0.63 ^{ns}	4.51 $\pm$ 0.40 ^{ns}	4.54 $\pm$ 0.80 ^{ns}
ฮีโมโกลบินรวม (กรัมต่อเดซิลิตร)	14.18 $\pm$ 0.77 ^b	14.12 $\pm$ 0.92 ^b	14.11 $\pm$ 1.12 ^b	13.39 $\pm$ 1.07 ^{ab}	12.73 $\pm$ 0.84 ^a
ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	39.58 $\pm$ 1.38 ^b	39.36 $\pm$ 3.40 ^b	38.38 $\pm$ 3.31 ^b	36.97 $\pm$ 2.27 ^{ab}	34.35 $\pm$ 3.98 ^a
โปรตีนในซีรัม (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	47.56 $\pm$ 4.25 ^b	47.51 $\pm$ 3.49 ^b	47.38 $\pm$ 4.99 ^b	44.10 $\pm$ 4.52 ^b	39.62 $\pm$ 3.57 ^a
เอนไซม์ไลโซไซม์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	11.84 $\pm$ 2.78 ^{ns}	11.56 $\pm$ 1.41 ^{ns}	11.85 $\pm$ 1.78 ^{ns}	12.53 $\pm$ 2.49 ^{ns}	12.61 $\pm$ 2.02 ^{ns}
กิจกรรม respiratory burst	0.148 $\pm$ 0.05 ^a	0.163 $\pm$ 0.027 ^{ab}	0.167 $\pm$ 0.018 ^{ab}	0.197 $\pm$ 0.046 ^{bc}	0.211 $\pm$ 0.057 ^c
กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม					
กิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม (เปอร์เซ็นต์)	29.50 $\pm$ 3.08 ^{ns}	31.83 $\pm$ 0.76 ^{ns}	32.33 $\pm$ 1.26 ^{ns}	32.50 $\pm$ 1.00 ^{ns}	35.50 $\pm$ 1.05 ^{ns}
ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม	16.81 $\pm$ 3.60 ^a	20.37 $\pm$ 1.79 ^{ab}	21.09 $\pm$ 1.48 ^{ab}	21.69 $\pm$ 1.60 ^{ab}	25.81 $\pm$ 2.45 ^b
ค่าเฉลี่ยของเม็ดบีดที่ถูกจับกิน (เม็ดต่อเซลล์)	1.91 $\pm$ 0.12 ^{ns}	2.01 $\pm$ 0.07 ^{ns}	2.02 $\pm$ 0.11 ^{ns}	2.05 $\pm$ 0.04 ^{ns}	2.05 $\pm$ 0.15 ^{ns}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยที่ทำกับด้วยตัวอักษรต่างกันแถวเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)
 ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

การศึกษาครั้งนี้พบว่าปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีปริมาณเม็ดเลือดขาว การจับกิน สิ่งแปลกปลอม ดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอม และค่าเฉลี่ยเม็ดปิตที่ถูกเม็ดเลือดขาวจับกินสูงสุดอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม สอดคล้องกับ รายงานของ Chen *et al.* (2008) ที่รายงานว่า ALA ที่เสริมในอาหารระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทดลองคือ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาวในสุกรได้สูงสุดในสัปดาห์ที่ 5 และรายงานของ Sato *et al.* (2012) ที่ศึกษาผลของการเสริม ALA ในอาหารต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในลูกไก่ พบว่าลูกไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองเสริมด้วย ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทดลอง (0.001 เปอร์เซ็นต์) มีกิจกรรมการจับกินสิ่งแปลกปลอม สูงสุด และมีความแตกต่างกับลูกไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้แตกต่างกับรายงานของ Mateo *et al.* (2006) ที่ศึกษาผลของการเสริม ALA ต่อการเจริญเติบโต ค่าองค์ประกอบเลือดและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในลูกสุกร พบว่าการเสริม ALA ลงในอาหารสามารถเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดง แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวในลูกสุกร

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเลือดและภูมิคุ้มกันของปลาสาวยปรับปรุงสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสม ALA ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัมลดลงตามปริมาณ ALA ที่เสริมในอาหารอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเสริม ALA ในอาหารทดลองเป็นเวลานาน มีผลกระทบต่อนิพจน์การแสดงออกของ เอนไซม์ฮีม ออกซิจีเนส-1 (heme oxygenase-1) โดย Ito *et al.* (2018) พบว่าการใช้ ALA ร่วมกับ โซเดียมเพอร์ซัลเฟต สามารถชักนำให้เกิดการแสดงออกของเอนไซม์ฮีม ออกซิจีเนส-1 ในเซลล์เม็ดเลือดของมนุษย์ได้ โดยเอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายฮีมให้กลายเป็นบิลิเวอร์ดิน (biliverdin) คาร์บอนมอนอกไซด์ (carbon monoxide) และเหล็ก (iron) (Ryter *et al.*, 2006) เมื่อฮีมถูกย่อยสลาย จึงส่งผลให้ปลาที่มีปริมาณฮีโมโกลบินรวม ฮีมาโตคริต และโปรตีนในซีรัมลดลง อย่างไรก็ตามสาร บิลิเวอร์ดิน ที่ได้จะถูกเอนไซม์บิลิเวอร์ดิน รีดักเตส (biliverdin reductase) รีดิวซ์และเปลี่ยนเป็น บิลิรูบิน (bilirubin) โดยทั้งบิลิเวอร์ดิน/บิลิรูบิน และคาร์บอนมอนอกไซด์มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Ryter *et al.*, 2006)

การศึกษาโดย Immenschuh *et al.* (2003) พบว่า ALA สามารถกระตุ้นการแสดงออกของเอนไซม์ฮีม ออกซิจีเนส-1 ในเซลล์มาโครฟาจซึ่งทำหน้าที่จับกินสิ่งแปลกปลอม สอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองสูตรที่ 5 (ALA 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีดัชนีการจับกินสิ่งแปลกปลอมสูงสุดต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาชุดควบคุม ซึ่งให้เห็นว่าการเลี้ยงปลาด้วยอาหารเสริม ALA สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์แบบไม่จำเพาะเจาะจงได้

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาผลของ ALA ที่ผลิตจากแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *R. palustris* JP225 ต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์พบว่า การเสริม ALA ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์ได้ นอกจากนี้ การเสริม ALA ในอาหารปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา แต่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงภูมิคุ้มกันในปลาสวายปรับปรุงสายพันธุ์

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.นันทน์ นันทพงศ์ คุณอัครวิทย์ อิสสระโร และคุณมัทสิน แดงเวงงาม ที่ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมอาหารทดลอง และการวิเคราะห์องค์ประกอบเลือดปลา

เอกสารอ้างอิง

- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน ดวงพร อมรเลิศพิศาล สุตาพร ตงศิริ และอุดมลักษณ์ สมพงศ์. (2554). ระบบการเลี้ยงปลาบึกและปลาหนังลูกผสมที่มีประสิทธิภาพ. *รายงานผลงานวิจัย*. สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน จิตรลดา สอนตะโก และดวงพร อมรเลิศพิศาล. (2555). ผลของสาหร่ายสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโตและการเจริญพันธุ์ของพ่อแม่พันธุ์ของปลาหนังกลุ่ม *Pangasius* และการอนุบาลปลาหนัง 4 สายพันธุ์ในกระชัง. *วารสารเทคโนโลยีการประมง*, 5(2), 12-26.
- วิศรุต ช่อเส้ง นันทน์ นันทพงศ์ และวุฒิพร พรหมขุนทอง. (2562). การแทนที่ปลาป่นด้วยแหล่งโปรตีนจากพืชในอาหารปลาสวายลูกผสม. *แก่นเกษตร*, 47(2), 281-292.
- อมรรัตน์ ตั้งประสิทธิ์ภาพ. (2549). *การผลิตกรด 5-อะมิโนลิวูลินิกภายในเซลล์จาก Rhodobacter sphaeroides SH5 และผลต่อการเจริญเติบโตและกลไกการป้องกันตนเองของกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon)*. วิทยานิพนธ์ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- Chen, Y.J., Kim, I.H., Cho, J.H., Min, B.J., Yoo, J.S. and Wang, Q. (2008). Effect of δ -aminolevulinic acid on growth performance, nutrient digestibility, blood parameters and the immune response of weanling pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Livestock Science*, 114(1), 108-116.
- Chung, S. and Secombes, C.J. (1988). Analysis of events occurring within teleost macrophages during the respiratory burst. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 89(3), 539-544.

- Immenschuh, S., Baumgart-Vogt, E., Tan, M., Iwahara, S., Ramadori, G. and Fahimi, H.D. (2003). Differential cellular and subcellular localization of heme-binding protein 23/peroxiredoxin I and heme oxygenase-1 in rat liver. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 51(12), 1621-1631.
- Ito, H., Nishio, Y., Hara, T., Sugihara, H., Tanaka, T. and Li, X.K. (2018). Oral administration of 5-aminolevulinic acid induces heme oxygenase-1 expression in peripheral blood mononuclear cells of healthy human subjects in combination with ferrous ion. *European Journal of Pharmacology*, 833, 25-33.
- Kiatpapan, P., Phonghatsabun, M., Yamashita, M., Murooka, Y. and Panbangred, W. (2011). Production of 5-aminolevulinic acid by *Propionibacterium acidipropionici* TISTR 442. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(4), 425-428.
- Klein, O., Dornemann, D. and Senger, H. (1980). Two biosynthetic pathways to 5-aminolevulinic acid in algae. *International Journal of Biochemistry*, 12(5-6), 725-728.
- Liu, S., Zhang, G., Li, J., Li, X. and Zhang, J. (2016). Optimization of biomass and 5-aminolevulinic acid production by *Rhodobacter sphaeroides* ATCC17023 via response surface methodology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 179(3), 444-458.
- Mateo, R.D., Morrow, J.L., Dailey, J.W., Ji, F. and Kim, S.W. (2006). Use of δ -aminolevulinic acid in swine diet: Effect on growth performance, behavioral characteristics and hematological/immune status in nursery pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(1), 97-101.
- Mauzerall, D. and Granick, S. (1956). The occurrence and determination of δ -aminolevulinic acid and porphobilinogen in urine. *Journal of Biological Chemistry*, 219(1), 435-446.
- Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S. and Menasaveta, P. (2000). Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). *Aquaculture*, 191(4), 271-288.
- Ryter, S.W., Alam, J. and Choi, M.K. (2006). Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiological Review*, 86(2), 583-650.
- Saikeur, A., Choorit, W., Prasertsan, P., Kantachote, D. and Sasaki, K. (2009). Influence of precursors and inhibitor on the production of extracellular 5-aminolevulinic acid: and biomass by *Rhodopseudomonas palustris* KG31. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 73(5), 987-992.

- Sasaki, K., Watanbe, K., Tanaka, T., Hotta, Y. and Nagai, S. (1995). 5-aminolevulinic acid production by *Chlorella* sp. during heterotrophic cultivation in the dark. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11(3), 361-362.
- Sato, K., Matsushita, K., Aoki, M., Fuziwara, J., Miyanari, S. and Kamada, T. (2012). Dietary supplementation with 5-aminolevulinic acid modulates growth performance and inflammatory response in broiler chickens. *Poultry Science*, 91(7), 1582-1589.
- Spurlock, M.E. (1997). Regulation of metabolism and growth during immune challenge: an overview of cytokine function. *Journal of Animal Science*, 75(7), 1773-1783.
- Suwannasang, A., Dangwetngam, M., Issaro, A., Phromkunthong and Suanyuk, N. (2014). Pathological manifestations and immune responses of serotypes Ia and III *Streptococcus agalactiae* and infections in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 36(5), 499-506.
- Tanaka, T., Takahashi, K., Hotta, T., Takeuchi, Y. and Konnai, M. (1992). Promotive effect 5-aminolevulinic on yield of several crops. In *Proceedings of the 19th annual meeting of plant growth regulator Society of America, San Francisco* (pp. 237-241). Plant Growth Regulator Society of America. Washington DC.
- Thuvander, A., Norrgren, L. and Fossum, C. (1987). Phagocytic cells in blood from rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) characterized by flow cytometry and electronmicroscopy. *Journal of Fish Biology*, 31(2), 197-208.
- Wang, J.P., Jung, J.H. and Kim, I.H. (2011). Effects of dietary supplementation with delta-aminolevulinic acid on growth performance, hematological status, and immune responses of weanling pigs. *Journal Livestock Science*, 140(1), 131-135.
- Yan, L. and Kim, I.H. (2011). Evaluation of dietary supplementation of delta-aminolevulinic acid and chitooligosaccharide on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristic and fecal microbial shedding in weaned pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 169(3-4), 275-280.
- Younis, E.M., Al-Quffail, A.S., Al-Asgah, N.A., Abdel-Warith, A.A. and Al-Hafedh, Y.S. (2018). Effect of dietary fish meal replacement by red algae, *Gracilaria arcuata*, on growth performance and body composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 198-203.
- Zhang, J., Kang, Z., Chen, J. and Du, G. (2015). Optimization of the heme biosynthesis pathway for the production of 5-aminolevulinic acid in *Escherichia coli*. *Scientific Reports*, 5, 8584.
- Zhang, L.W., Fang, Y.P. and Fang, J.Y. (2011). Enhancement techniques for improving 5-aminolevulinic acid delivery through the skin. *Dermatologica Sinica*, 29(1), 1-7.