การใช้ยีสต์เสริมอาหารสำหรับลูกปลานิล

Use of Yeast Supplemental Diet for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

นุชนาถ ล่องมัจฉา[1] กัลทิมา พิชัยวัชรี[1] หาญเมืองใจ[1] และจิราพร โรจน์ทินกร[2*]

Nutchanat Longmutcha[1] Kaltima Phichai[1] Watcharee Hanmoungjai[1] Jiraporn Rojtinnakorn[2*]

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

[2] คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

*E-mail address: jrojtinnakorn@yahoo.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เสริมในอาหารของปลานิลแปลงเพศที่มีอายุ 30 วัน เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอด และเอนไซม์ย่อยอาหาร โดยแบ่งกลุ่มทดลองเป็นกลุ่มควบคุม (T1) กลุ่มยีสต์เสริมอาหาร 0.10 เปอร์เซ็นต์ (T2), 0.25 เปอร์เซ็นต์ (T3) และ 0.50 เปอร์เซ็นต์ (T4) พบว่า อุณหภูมิของน้ำที่เลี้ยงปลาอยู่ในช่วง 22-27 ºC ออกซิเจนในน้ำอยู่ในช่วง 7.71-8.14 มิลลิกรัมต่อลิตร pH อยู่ในช่วง 6.62 - 6.76 แอมโมเนียในน้ำเป็น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร วัดการเจริญเติบโตทุก 1สัปดาห์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ปลาในกลุ่ม T2 มีแนวโน้มของน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อสัปดาห์ (AWG), มีความยาวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อสัปดาห์ (TL), มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตราการแลกเนื้อ (FCR) และมีสัดส่วนระหว่างเอนไซม์ทริปซินต่อเอนไซม์ไคโมทริปซิน (T/C ratio) ดีกว่าทุกชุดการทดลอง โดยมีค่าเป็น 0.98±0.26 กรัมต่อสัปดาห์, 0.33±0.12 เซนติเมตรต่อสัปดาห์, 1.68±0.28เปอร์เซ็นต์ต่อวัน, 1.12±0.12 และ1.58±1.23 ตามลำดับ ปลาทุกกลุ่ม มีอัตราการรอดไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น ความยาวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ T/C ratio และอัตราการรอด พบว่า หน่วยการทดลองทั้งหมด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สรุปได้ว่าสามารถใช้ยีสต์เสริมอาหารเป็นแหล่งโปรตีนใช้อนุบาลและเสริมการเจริญเติบโตสำหรับลูกปลานิลแปลงเพศได้

คำสำคัญ: ลูกปลานิลแปลงเพศ ยีสต์ ยีสต์เสริมอาหาร เอนไซม์ย่อยอาหาร

Abstract

In this research, the yeast *Saccharomyces cerevisiae* was added as a dietary supplement to 30-day -old *Oreochromis niloticus*. The fishes were divided into separate groups as well as a control group (T1). The following groups were given yeast supplements of 0.10 percent (T2), 0.25 percent (T3) and 0.50 percent (T4), respectively. Growth rate, feed conversion rate, survival rate and digestive enzymes in the gut of the fish were assessed once a week for six weeks. The result found that, the pH, water temperature, amount of dissolved oxygen in the water, and ammonia content were found to be in the range of 6.62 – 6.76, 22 to 27 °C, 7.71 to 8.14 mg/l and 0 mg/l, respectively. The fish in the T2 group displayed similar trends of Average increase weight (AWG), Average increase length

(TL), Specific grown rate (SGR), Feed conversion ratio (FCR) and The Trypsin enzyme per Chymotrypsin enzyme (T/C ratio) were higher than other groups with a value of 0.98±0.26 g/week, 0.33±0.12 cm./week, 1.68±0.28 percent/day, 1.12±0.12 and 1.58±1.23, respectively. The fish survival rate of all experiments did not differ statistically ($p \leq 0.05$) and it was concluded that nutritional yeast can be used as a feed supplement for *Oreochromis niloticus*. When comparing different statistics of Average increase weight, Average increase length, Specific grown rate, Feed conversion ratio, The T/C ratio, and the survival rate, it was found that all experimental groups did not differ statistically. ($p \leq 0.05$).

Key words: Nursing *Oreochromis niloticus*, Yeast, Feed yeast supplement, Digestive enzymes

บทนำ

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับใช้เป็นแหล่งโปรตีน เนื่องจากให้ผลผลิตต่อหน่วยที่สูงประกอบด้วยโปรตีน 45-50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง มีโภชนาการทางอาหารสูง มีสารอาหารสำคัญและแร่ธาตุหลายชนิด มีสมบัติทางการแพทย์ มีคุณสมบัติในการเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ดี ยีสต์ถูกใช้ในอุตสาหกรรมที่มีการผลิตปริมาณมากอยู่ 4 ชนิดได้แก่ เบียร์ (ผลิตทั่วโลก 60 ล้านตันต่อปี) ไวน์ (ผลิตทั่วโลก 30 ล้านตันต่อปี) ยีสต์ขนมปัง (ผลิตทั่วโลก 600,000 ตันต่อปี) โปรตีนเซลล์เดี่ยวและยีสต์อาหารสัตว์ (ผลิตทั่วโลก 800,000 ตันต่อปี) มีการใช้ยีสต์แห้งเพื่อเป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์ เป็นแหล่งโปรตีนและวิตามินบี หรือใช้เป็นแหล่งของซีลิเนียมช่วยในการผสมพันธุ์และการเจริญเติบโตของสัตว์ มีปริมาณโปรตีนที่แท้จริงจากกรดอะมิโนทั้งหมดเป็น 36.4-43.6 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์ที่ผลิตโปรตีนเซลล์เดียวคือสกุล *Candida* และยีสต์สำหรับเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคือ *Saccharomyces cerevisiae* มีความหลากหลายในองค์ประกอบทำให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตดี สถาบัน The Association of American Feed Control Officials แห่งสหรัฐอเมริกาได้แบ่งยีสต์เป็น 8 ประเภทได้แก่ 1) ยีสต์แห้งปฐมภูมิ 2) ยีสต์แห้งที่ว่องไว 3) ยีสต์แห้งที่มีการฉายรังสี 4) บริเวอร์สยีสต์แห้ง 5) ยีสต์สำหรับผลิตสุรากลั่นจากธัญพืชที่ทำแห้ง 6) ยีสต์สำหรับผลิตสุรากลั่นจากกากน้ำตาลที่ทำแห้ง 7) โทรรูลายีสต์แห้ง และ 8) ยีสต์คัลเจอร์ (Limthong, 2006) เมื่อไม่นานมานนี้ Lara *et al.* (2010) พบว่าการทดสอบผลของโพรไบโอติกต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและเอนไซม์ในลำไส้ปลานิล โดยใช้อาหาร 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 คือสูตรผสมระหว่างแบคทีเรีย *Streptococus faecium* กับ *Lactobacillus acidophilus* 0.10 เปอร์เซ็นต์ สูตรที่ 2 เสริมโพรไบโอติกยีสต์ *S. cerevisiae* 0.10 เปอร์เซ็นต์ สูตร 3 อาหารกลุ่มควบคุม พบว่า กลุ่มปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2 ที่เสริมด้วยโพรไบโอติกยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ระดับ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปลามีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและกินอาหารสูงสุด Mohsen and Nahla (2008) ได้ศึกษาการใช้ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* ในการประเมินการเจริญเติบโตและการส่งเสริมภูมิคุ้มกันของปลานิล *Oreochromis niloticus* (L.). ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 0.33 กรัม เลี้ยงด้วยอาหารที่มียีสต์ 0, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0 และ 5.0 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นทดสอบการทำให้เกิดโรคโดยฉีดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* เข้าที่ช่องท้อง (Intraperitoneal) พบว่า ปลาที่ได้รับยีสต์ 1.0 กรัมต่อ

กิโลกรัมอาหาร ส่งผลให้ปลานิลมีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด และปลาที่ได้รับยีสต์ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีอัตราการตายต่ำสุด จึงควรเสริมยีสต์ 5.0 ต่อกิโลกรัมอาหารสำหรับการป้องกันโรคในการเพาะเลี้ยงปลานิล ปลานิลมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* อยู่ในตระกูลซิคลิดี (Cichlidae) ประกอบอาหารได้หลายรูปแบบ มีคอเลสเตอรอลต่ำ ลดการเกิดโรคหัวใจ และลดไขมันอุดตันในเส้นเลือด (Rattanachomphu, 2007) ผู้วิจัยจึงศึกษาการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยยีสต์เสริมอาหารโดยวิเคราะห์จากกิจกรรมการทำงานเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน คาดว่าสามารถช่วยส่งเสริมอัตราการเจริญเติบโตได้ เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นแนวทางในการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงปลานิลต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ทดสอบยีสต์เสริมอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลานิล

ปลาในชุดการทดลองที่ 1 จะได้รับอาหารปกติ (ปลาดุกกลาง 7711 ของบริษัท เจริญโภคภัณฑ์ ยี่ห้อ เซฟฟ์ฟีช) และปลาในชุดการทดลองที่ 2-4 จะได้รับยีสต์เสริมอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยปลานิลที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นปลานิลแปลงเพศได้รับความความอนุเคราะห์ในการใช้สัตว์ทดลองจากคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยปลามีอายุ 30 วัน จำนวน 72 ตัว เลี้ยงในถังขนาด 25x30 นิ้ว เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ให้อาหารปลาสูตรควบคุมช่วงเช้าและเย็นในอัตรา 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว เป็นเวลา 1 สัปดาห์ และบันทึกความยาวกับน้ำหนักเริ่มต้นทุกตัว โดยงดให้อาหารปลา 1 มื้อ ก่อนชั่งน้ำหนักเริ่มต้น เพื่อปรับปริมาณอาหาร (Baka and Phromkunthong, 2012) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD แบ่งการทดลองเป็น 4 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารปลานิลที่ไม่มีการเคลือบด้วยยีสต์ 0 เปอร์เซ็นต์ (ควบคุม)	Treatment 1	(T1)
ชุดการทดลองที่ 2 อาหารปลานิลที่เคลือบด้วยยีสต์ 0.10 เปอร์เซ็นต์	Treatment 2	(T2)
ชุดการทดลองที่ 3 อาหารปลานิลที่เคลือบด้วยยีสต์ 0.25 เปอร์เซ็นต์	Treatment 3	(T3)
ชุดการทดลองที่ 4 อาหารปลานิลที่เคลือบด้วยยีสต์ 0.50 เปอร์เซ็นต์	Treatment 4	(T4)

2. อาหารทดลอง

ใช้สารผสมยีสต์เสริมอาหารเคลือบ 10 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร โดยเตรียมยีสต์แห้งสำเร็จรูป (*Saccharomyces cerevisiae*) ยี่ห้อเพอร์เฟค รหัสสินค้า 8850543282010 แบ่งเป็นสารละลายวุ้น 5 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายยีสต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ 5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมสารละลายวุ้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยละลายผงวุ้น 0.10 กรัมต่อน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ชั่งยีสต์แห้งที่ 0.10, 0.25 และ 0.50 กรัม ตามลำดับ ละลายในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมสารละลายวุ้น 1 เปอร์เซ็นต์ กับสารละลายยีสต์ที่เตรียมไว้เข้ากันดี จากนั้นเคลือบสารผสม 10 มิลลิลิตรต่ออาหารปลาดุกกลาง 7711 ของบริษัท เจริญโภคภัณฑ์ ยี่ห้อ เซฟฟ์ฟีช 100 กรัมต่อชุดการทดลอง ผึ่งอาหารไว้ในที่ร่มประมาณ 3-6 ชั่วโมงจนแห้ง (Rojtinakorn, 2012)

3. การเก็บข้อมูลลูกปลานิล

วัดน้ำหนักและความยาวทุกตัวในหน่วยการทดลอง ทุกๆ 1 สัปดาห์ เพื่อเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต สำหรับคำนวณหาค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตต่อสัปดาห์ อัตราการ

เจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย

ตรวจสอบคุณภาพน้ำทุกๆ 7 วันโดยวัดค่าออกซิเจนในน้ำด้วยชุดทดสอบค่าออกซิเจนในน้ำ ยี่ห้อ V-unique Water test kit 0.5-15.0 mg/l O_2 (50 tests) วัดค่าแอมโมเนียมในน้ำด้วยชุดทดสอบ ค่าแอมโมเนียในน้ำ ยี่ห้อ V-unique V-color 9750 0-10 mg/l MH_{4^+} และวัดค่าความเป็นด่างในน้ำ ด้วยกระดาษวัดค่าความเป็นกรดด่าง 0-14 ยี่ห้อ Merck, German

4. การวิเคราะห์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซิน

การเตรียมตัวอย่างของเอนไซม์ในลำไส้ที่สกัดได้จากการบดลำไส้ปลาที่จุดเยือกแข็ง (Crude enzyme) โดยเตรียมลำไส้ปลาที่จุดเยือกแข็งโดยใช้ปลานิล 1 ตัวต่อหน่วยการทดลอง จากนั้นตัดส่วนลำไส้มาชั่งน้ำหนัก วัดความยาว จดบันทึก จากนั้นบดให้ละเอียดในตู้ -20 ºC ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเป็นกรดด่าง 7 ในอัตราส่วน 1:1

นำไปปั่นเหวี่ยงโดยใช้เครื่องเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่แรงหมุนเป็น 10,000 เท่า ของแรงโน้มถ่วงโลก (xg) เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 ºC ดูดเฉพาะส่วนใสที่เป็นของเหลวด้านบนเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 ºC เพื่อใช้เป็นเอนไซม์บริสุทธิ์(crude enzyme extract) สำหรับศึกษากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหาร (Gimenez *et al*., 1999 cited in Rittiplang, 2012)

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีการของ Lowry's method (Roe, 2001 cited in Rittiplang, 2012) โดยใช้ bovine serum albumin เป็นสารโปรตีนมาตรฐาน เตรียม solution A : B : C = 100 : 1 : 1 µl. นำเอนไซม์ปลามา 7 µl. แล้วเติมสารผสม A, B และ C ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 221 µl. ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเติมสารละลาย folin ciocalteu phenol ปริมาตร 22 µl. แล้วทิ้งไว้ 30 นาที หลังจากนั้นวัดปริมาณโปรตีนด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่นแสง 750 nm.

วิเคราะห์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (Rungruangsak and Utne, 1981 cited in Rittiplang, 2012) โดยเติม 1.25 mM benzoyl-L-arginine-p-nitroaniline 248 µl. ลงใน 96 เวลเพลท ปิเปต crude enzyme extract 2 µl. ลงไป ผสมให้เข้ากัน จากนั้นวัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่นแสง 410 nm. โดยใช้ 1.25 mM benaoyl-L-arginine-p-nitroaniline เป็น substrate และวิเคราะห์เอนไซม์ไคโมทริปซิน โดยเติม 0.1 mM N-succinyl-ala-ala-pro-phe-p-nitroanilide 248 µl. ลงใน 96 เวลเพลท แล้วปิเปต crude enzyme extract 2 µl. ผสมให้เข้ากัน จากนั้นวัดกิจกรรมเอนไซม์ ด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่นแสง 410 nm. โดยใช้ 0.1 mM N-succiny-ala-ala-pro-phe-p-nitroaniline เป็น substrate

5. วิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยหาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย

1. การทดสอบยีสต์เสริมอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลานิล

ปลานิลที่เลี้ยงด้วยยีสต์เสริมอาหาร 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักและความยาวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อสัปดาห์ดีกว่าทุกกลุ่ม โดยมีค่าเป็น 0.98±0.26 กรัมต่อตัวต่อสัปดาห์ และ 0.33±0.12 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อสัปดาห์ และความยาวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นต่อสัปดาห์ พบว่า หน่วยการทดลองทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (Table 2)

Table 1 Growth performance of Nile tilapia fed with different levels of yeast supplemental diet

Period of 6 weeks	Control (T1)	Yeast 0.10% (T2)	Yeast 0.25% (T3)	Yeast 0.50% (T4)
Initial weight (g./body)	6.05±0.90 [a]	6.14±2.78 [a]	6.48±0.59 [a]	5.93±0.51 [a]
Average final weight (g./body)	11.53±0.97 [a]	12.04±4.28 [a]	11.32±1.15 [a]	11.06±1.58 [a]
Average initial length (cm.)	7.53±0.49 [a]	6.97±1.89 [a]	7.40±0.62 [a]	7.63±1.10 [a]
Average final length (cm.)	8.88±0.28 [a]	8.97±1.18 [a]	8.77±0.25 [a]	8.67±0.40 [a]
Average daily gain (g./body/day)	0.13±0.02 [a]	0.14±0.04 [a]	0.11±0.01 [a]	0.12±0.02 [a]
Average weekly gain (g./body/week)	0.92±0.11 [a]	0.98±0.26 [a]	0.80±0.12 [a]	0.86±0.21 [a]
Average increased length (cm./week)	0.23±0.04 [a]	0.33±0.12 [a]	0.23±0.07 [a]	0.17±0.13 [a]

Mean having the same letter in the same row were not significantly difference at $P \leq 0.05$

น้ำในถังเลี้ยงปลานิลทุกกลุ่มมีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6.62-6.76 เฉลี่ยเป็น 6.7 อุณหภูมิน้ำอยู่ในช่วง 22-27°C มีออกซิเจนในน้ำอยู่ในช่วง 7.71-8.14 มิลลิกรัมต่อลิตร เฉลี่ยเป็น 7.92 มิลลิกรัมต่อลิตร และแอมโมเนียในน้ำเป็น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (Table 1)

Table2 Water quality of Nile tilapia fed with different levels of yeast supplemental diet

Water quality	Control (T1)	Yeast 0.10% (T2)	Yeast 0.25% (T3)	Yeast 0.50% (T4)
pH	6.76±0.29 [a]	6.62±0.16 [a]	6.76±0.22 [a]	6.67±0.3 [a]
Dissolved Oxygen in water (ml./l)	7.95±0.11 [a]	7.71±0.25 [a]	7.9±0.39 [a]	8.14±0.00 [a]
Ammonia (ml./l)	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]

Mean having the same letter in the same row were not significantly difference at $P \leq 0.05$

กลุ่มปลาที่ได้รับยีสต์เสริมอาหาร 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ดีกว่าทุกชุดการทดลอง โดยมีค่าเป็นร้อยละ 1.68±0.28 ต่อวัน และ1.12±0.12 ตามลำดับ ส่วนอัตราการรอดตายของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย พบว่า หน่วยการทดลองทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (Table 3)

Table 3 Survival rate, Specific growth rate and Feed conversion rate of Nile tilapia fed with different levels of yeast supplemental diet

Period of 6 weeks	Control (T1)	Yeast 0.10% (T2)	Yeast 0.25% (T3)	Yeast 0.50% (T4)
Survival rate (%)	88.89±19.24 [a]	100±00.00 [a]	100±00.00 [a]	100±00.00 [a]
Specific growth rate (%/Day)	1.55±0.26 [a]	1.68±0.28 [a]	1.32±0.12 [a]	1.47±0.24 [a]
Feed conversion ratio (FCR)	1.16±0.17 [a]	1.12±0.12 [a]	1.28±0.09 [a]	1.22±0.12 [a]

Means having the same letter in the same row were not significantly difference at $P \leq 0.05$

2. การวิเคราะห์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซิน

จากการทำ Crude enzyme พบว่า ลำไส้ปลามีความยาวเฉลี่ยอยู่ในช่วง 26-51.5 เซนติเมตร เฉลี่ยเท่ากับ 38.54 เซนติเมตร และน้ำหนักลำไส้เฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.3-0.6 กรัม เฉลี่ยเท่ากับ 0.43 กรัม การทำงานของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซินในลำไส้ปลาในกลุ่มควบคุม มีการแสดงกิจกรรมเฉพาะสูงกว่าทุกกลุ่มการทดลองมีค่าเป็น 3.90±0.87 และ3.45±1.52 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตาม T/C ratio ของปลาที่ได้รับยีสต์เสริมอาหาร 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มดีกว่าทุกกลุ่มการทดลอง มีค่าเป็น 1.58±1.23 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของสัดส่วนระหว่างเอนไซม์ทริปซินต่อไคโมทริปซิน พบว่า หน่วยการทดลองทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (Table 4)

Table 4 Trypsin enzyme activity, Chymotrypsin enzyme activity and T/C ratio of Nile tiapia fed with different levels of yeast supplemental diet after 6 weeks

Enzyme	Control (T1)	Yeast 0.10% (T2)	Yeast 0.25% (T3)	Yeast 0.50% (T4)
Trypsin (act.U/mg. Protein)	3.90±0.87 [a]	1.52±0.82 [b]	1.26±0.84 [b]	0.59±0.11 [b]
Chymotrypsin (act.U/mg. Protein)	3.45±1.52 [a]	1.29±1.15 [b]	1.21±0.21 [b]	1.12±0.40 [b]
T/C ratio	1.21±0.31 [a]	1.58±1.23 [a]	1.08±0.72 [a]	0.61±0.35 [a]

Mean having the same letter in the same row were not significantly difference at $P \leq 0.05$

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

คุณภาพน้ำในถังเลี้ยงปลามีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6.62-6.76 มีปริมาณออกซิเจนในน้ำอยู่ในช่วง 7.71-8.14 มิลลิกรัมต่อลิตร และแอมโมเนีย 0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นคุณภาพน้ำที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลา สอดคล้องกับ Navanukroh (1996) ที่กล่าวว่า น้ำที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำนั้นควรมีความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 6.5-9.0 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมากกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่อุณหภูมิของน้ำในถังทดลองอยู่ในช่วง 22-27 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของปลานิล เนื่องจากทำการทดลองในช่วงฤดูหนาว ไม่สอดคล้องกับ Navanukroh (1996) ที่กล่าวว่า น้ำที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำนั้นควรมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-32 °C

ปลานิลที่เลี้ยงด้วยยีสต์เสริมอาหาร 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีค่า AWG, TL และ SGR ดีกว่าทุกกลุ่มการทดลอง มีค่าเป็น 0.98±0.26 กรัมต่อตัวต่อสัปดาห์ 0.33±0.12 เซนติเมตรต่อสัปดาห์ และร้อยละ 1.68±0.28 ต่อวัน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของ AWG, TL และ SGR พบว่า หน่วยการทดลองทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจาก ปลาวัยอ่อนมีความต้องการโปรตีนสูงเพื่อนำไปสังเคราะห์เป็นโครงสร้างของร่างกายในการเจริญเติบโต (Nuchsuk, 2007) สอดคล้องกับ Kannika *et al.* (2009) ที่พบว่า การใช้บริเวอร์ยีสต์ในอาหารปลานิลมีผลต่อการเจริญเติบโต ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเคลือบบริเวอร์ยีสต์ 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการเจริญต่อวันสูงที่สุด สอดคล้องกับ Lara *et al.* (2010) ที่พบว่าการเสริมโพรไบโอติกยีสต์ที่ระดับ 0.10 เปอร์เซ็นต์ในอาหารโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลามีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตสูงสุด สอดคล้องกับ Abdel *et al.* (2008) ที่พบว่า อาหารที่มียีสต์ 1.0-5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ช่วยเพิ่มการสะสมโปรตีนในตัวปลา มีผลเป็นบวกต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหาร และทนต่อการติดโรคจากเชื้อ *A. hydrophila*

ปลานิลที่ได้รับยีสต์เสริมอาหาร 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีค่า FCR มีแนวโน้มดีกว่าทุกกลุ่มการทดลอง มีค่าเป็น 1.12±0.12 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของ FCR พบว่า หน่วยการทดลองทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจาก ค่า FCR สามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพของอาหาร ไม่สอดคล้องกับ Kannika *et al.* (2009) ที่พบว่า ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเคลือบบริเวอร์ยีสต์ 2.5 กรัมต่ออาหาร1 กิโลกรัม มีค่าเป็น 2.48±0.03 ค่านี้บ่งชี้ว่าที่ความเข้มข้นยีสต์ 2.5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้ปลามีอัตราการเปลี่ยนจากอาหารเป็นเนื้อดีกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ถัดมาได้แก่ อาหารเคลือบบริเวอร์ยีสต์อัตราส่วน 5, 1, 10 และ 0 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยมีค่า FCR เป็น 2.48±0.03, 2.74±0.21, 2.93±0.14 และ 2.93±0.44 ตามลำดับ

อัตราการรอดตายของปลาในกลุ่มที่ได้รับยีสต์เสริมอาหารมีแนวโน้มดีกว่ากลุ่มควบคุมเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของอัตราการรอดตาย พบว่า หน่วยการทดลองทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจาก การใช้ยีสต์ในลูกปลานิลมีผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของลูกปลานิล (Kannika *et al.*, 2009) และยีสต์ทำให้ปลามีสุขภาพแข็งแรง ยีสต์แห้งมีโปรตีนประมาณ 40-55 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งโปรตีนเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการสร้างเนื้อ (Limthong, 2006) ยีสต์ *S. cerevisiae* เป็นโพรไบโอติกที่มีองค์ประกอบในการช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันให้พร้อมในการตื่นตัวกับเชื้อโรค ยีสต์เสริมอาหารมีกลไกออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการกระตุ้นปัจจัยทางภูมิคุ้มกัน (Abu *et al.*, 2013) สอดคล้องกับ Abdel *et al.* (2008) ที่พบว่า การเสริมยีสต์ 0.10 เปอร์เซ็นต์ช่วยเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดแดง และค่าฮีมาโตคริตให้สูงขึ้น สอดคล้องกับ Ai *et al.* (2007) ที่กล่าวว่า การเสริม β-1, 3 กลูแคนที่ได้จากผนังเซลล์ยีสต์ขนมปังสามารถเพิ่มซีรัมไลโซไซม์ในปลา yellow croaker ให้สูงขึ้น (*Pseudosciaena crocea*) ตามระดับของ β-1, 3 กลูแคน (0.09-0.18 เปอร์เซ็นต์) ในอาหาร สอดคล้องกับ Kannika *et al.* (2009) ที่พบว่า อัตราการรอดของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเคลือบบริเวอร์ยีสต์ 2.5 กรัมต่ออาหาร 1กิโลกรัม มีค่าดีที่สุด ($p \leq 0.05$) และปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลานิลมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นตามอัตราส่วนการเพิ่มปริมาณบริเวอร์ยีสต์ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณเม็ดเลือดแดง และเปอร์เซ็นต์ฟาโกไซด์ปลา ที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดเคลือบบริเวอร์ยีสต์ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าสูงสุด ($p \leq 0.05$) ซึ่งมีแนวโน้มของการ

ตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนการเพิ่มปริมาณบริเวอร์ยีสต์และระยะเวลาการเลี้ยง

จากการวิเคราะห์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน และเอนไซม์ไคโมทริปซิน พบว่า ทริปซินและไคโมทริปซินในลำไส้ของปลากลุ่มควบคุม มีค่าสูงสุดเป็น 3.90±0.87 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน และ3.45±1.52 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากทริปซินเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทหลักในการควบคุมการย่อยโปรตีน ทำหน้าที่กระตุ้นโปรเอนไซม์หรือไซโมเจนที่เกี่ยวข้องกับการย่อยโปรตีนได้หลายชนิดได้แก่ ทริปซิโนเจน ไคโมทริปซิโนเจน โปรคาร์บอกซีเปปติเดส และโปรอีลาสเตสให้อยู่ในรูปที่สามารถเร่งปฏิริยาได้ ได้แก่ ทริปซิน ไคโมทริปซิน คาร์บอกซี เปปติเดส และอีลาสเตส ตามลำดับ ทริปซินเป็นอัลคาไลน์ โปรติเอสที่เร่งปฏิกิริยาได้ดีโดยสามารถตัดพันธะเอไมน์และเอสเทอร์หลังกรดอะมิโนที่โซ่ข้างมีขั้วและประจุบวก ได้แก่ ไลซีน และอาร์จินีน สารสังเคราะห์ซึ่งนิยมใช้เพื่อยับยั้งกิจกรรมของทริปซิน การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของทริปซินในสัตว์น้ำวัยอ่อน มีอิทธิพลมาจากอุณหภูมิการฟักไข่และอุณหภูมิน้ำ ปริมาณโปรตีนในอาหาร และการอดอาหาร สัตว์น้ำวัยอ่อนจะปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้น้อย รวมทั้งระบบทางเดินอาหารยังไม่ทำงานอย่างเต็มประสิทธิภาพ กิจกรรมของทริปซินจะมีค่าลดลงเมื่อสัตว์น้ำมีการเปลี่ยนแปลงเมทามอร์โฟซิส และหลังจากนั้นกิจกรรมจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุ ส่วนเอนไซม์ไคโมทริปซินนั้นมีความจำเพาะต่อชนิดของสารตั้งต้น และสามารถตัดพันธะเปปไทด์หลังกรดอะมิโนโซ่ข้างเป็นวงแหวน การแสดงออกไคโมทริปซินมีผลต่อการเติบโตในทิศทางตรงกันข้ามกับทริปซินโดยกิจกรรมของไคโมทริปซินจะมีค่าสูงในช่วงที่สิ่งมีชีวิตเติบโตช้า การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหารสามารถบอกถึงการเจริญเติบโตและพัฒนาการของสัตว์น้ำได้ การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของทริปซินและไคโมทริปซินทำให้ T/C ratio มีการเปลี่ยนแปลงส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ปริมาณกรดอะมิโนอิสระในพลาสมาและในกล้ามเนื้อสมดุลของการสร้างและการสลายโปรตีน และอัตราการเจริญเติบโต เนื่องจากอัตราการหลั่งของทริปซินและไคโมทริปซินมีความสัมพันธ์กับความอยากอาหารของปลา อัตราการดูดซึม การสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับการสร้างโปรตีน และระดับการหลั่งของพลาสมาอินซูลิน ดังนั้น อัตราส่วนนี้จึงสัมพันธ์การเติบโต และไม่ขึ้นกับการแสดงออกของทริปซินหรือไคโมทริปซิน (Thongprajukaew and Kovitvadhi, 2012) สอดคล้องกับ Rittiplang (2012) ที่กล่าวว่า เอนไซม์ทริปซินเป็นเอนไซม์สำหรับย่อยพันธะเปปไทด์ของสายโพลีเปปไทด์ในโมโลกุลของโปรตีน และย่อยอะไมด์และเอสเทอร์ได้ ซึ่งอะไมด์จะถูกย่อยได้เร็วกว่าเปปไทด์ และเอสเทอร์ถูกย่อยได้เร็วที่สุด ทริปซินจึงมีคุณสมบัติในการเป็นอะมิเดสและเอสเตอเรสเมื่อถูกกระตุ้นฤทธิ์โดย enterokinase จะเปลี่ยนไปเป็นทริปซินซึ่งเป็น polypeptide chain สายเดียว ส่วนเอนไซม์ไคโมทริปซิน เป็นเอนไซม์สำหรับย่อยโปรตีน และโพลีเปปไทด์ต่างๆ ที่เกิดจากการย่อยด้วยเอนไซม์เปปซินและทริปซิน สร้างขึ้นจาก acinar cell ของตับอ่อนในสภาพที่เป็นตัวตั้งต้นของเอนไซม์ 2 ชนิด คือ ไคโมทริปซิโนเจนเอ และไคโมทริปซิโนเจนบี

อย่างไรก็ตามปลาที่ได้รับยีสต์เสริมอาหารที่ 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีค่า T/C ratio ดีกว่าทุกกลุ่มการทดลอง มีค่าเป็น 1.58±1.23 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของ T/C ratio พบว่า หน่วยการทดลองทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจาก T/C ratio เป็นดัชนีวัดคุณภาพอาหารและการเจริญเติบโตของปลาได้ สอดคล้องกับ Tukmechi *et al.* (2011) ที่พบว่า beta-mercapto-ethanol ในยีสต์ *S. cerevisiae* ส่งผล

ให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นจากผลโดยตรงจากการเพิ่มความสามารถในการย่อย สอดคล้องกับ Sunde *et al.* (2001) cited in Rittiplang (2012) พบว่า ความสามารถในการย่อยอาหารของเอนไซม์โปรติเนสที่สกัดจากระบบย่อยอาหารของปลาแอตแลนติกแซลมอน *Salmo solar* L. สามารถใช้เป็นดัชนีวัดคุณภาพอาหารและการเจริญเติบโตของปลาได้ โดยการเปรียบเทียบค่า T/C ratio มีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของปลา สอดคล้องกับ Rungruangsak *et al.* (2006) ที่ศึกษาในปลาแอตแลนติกแซลมอน *Salmo salar* L. พบว่าค่า T/C ratio แปรผันตรงกับอัตราการเจริญเติบโตของปลาในระยะที่ปลามีการเจริญเติบโตทำให้มีค่า T/C ratio สูงและมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการย่อยอาหาร T/C ratio ใช้เป็นตัวชี้วัดการเจริญเติบโตของปลาในแต่ละระยะได้ สอดคล้องกับ Hinsui *et al.* (2006) ที่พบว่า ลำไส้เป็นอวัยวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน มีกิจกรรมจำเพาะ 0.529 และ 0.380 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ

จากการทดลองสรุปได้ว่ายีสต์เสริมอาหารที่ 0.10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ลูกปลานิลมีน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น ความยาวเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และสัดส่วนระหว่างเอนไซม์ทริปซินต่อไคโมทริปซิน มีแนวโน้มดีกว่าทุกกลุ่มการทดลอง และอัตราการรอดตายของปลาทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการใช้ยีสต์เสริมอาหารคาดว่าช่วยส่งเสริมอัตราการเจริญเติบโต เนื่องจากปลาวัยอ่อนมีความต้องการโปรตีนสูงเพื่อนำไปสังเคราะห์เป็นโครงสร้างของร่างกายในการเจริญเติบโต จากการวิจัยมีข้อเสนอแนะว่า การเลี้ยงลูกปลานิลในฤดูหนาวอาจทำให้ชะลอการเจริญเติบโต แต่มีเจริญเติบโตได้ดีเมื่อผ่านพ้นฤดูหนาว จึงควรศึกษาเป็นระยะเวลานานขึ้น และแต่ละช่วงการเจริญเติบโตมีปริมาณเอนไซม์ในลำไส้ที่บ่งชี้การเจริญเติบโตไม่เท่ากันเนื่องจากปลาในแต่ละช่วงมีการเจริญเติบโตไม่เท่ากัน ควรควบคุมอุณหภูมิระหว่างการเลี้ยง ควรศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่า SGR กับเอนไซม์ย่อยอาหารในลำไส้ของปลาทุกตัวที่นำมาวิเคราะห์เอนไซม์ และการทดลองในระดับปฏิบัติการเป็นการจำกัดพื้นที่ปลาอาจทำให้ปลาเกิดภาวะเครียดได้

เอกสารอ้างอิง

Abu-Elala, N., Marzouk., M. and Moustafa, M. 2013. Use of differerent *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. International Journal of Veterinary Science and Medicine (1): 21-29.

Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M., and Ismael, N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged *in situ* with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture (280): 185-189.

Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W., and Li, H. 2007. Effects of dietary β-1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. Fish and Shellfish Immunology (22): 394-402.

Baka, A. and Phromkunthong, W. 2012. Effects of *Enteromorpha* sp. in diets on growth performance, feed utilization and immune response of red tilapia (*Oreochromis niloticus x O. mossambicus*). Preceedings of 50 th Kasetsart University Annual Conference: Animals, Veterinary Medicine, Fisheries (50): 515-524. [in Thai]

Nuchsuk, C. 2007. Feed Development Using Digestive Enzyme Technology for Culture of Shark Catfish, *Helicophagus leptorhynchus* Ng & Kottelat, 2000. Thesis. Science (Biochemistry). kasetsart university. 145 pages. [in Thai].

Navanukroh, D. 1996. Water Quality in Khao-Kho Highland Reservoirs, Changwat Phetchabun and its Suitability for Aquaculture. Master of Science (Aquaculture). Major Field Aquaculture. Department of Aquaculture Kasetsart University. Bangkok. 242 pages. [in Thai]

Hinsui, J., Worawattanamateekul, W., Raksakulthai, N. and Runglerdkriangkrai, J. 2006. Characterization of partial purified trypsin and chymotrypsin from viscera of nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linneaus). Proceedings of 44 th Kasetsart University Annual Conference : Fisheries. 30 Jan. – 2 Feb. 2006. Bangkok. 117-124. [in Thai].

Rojtinakorn, J. 2012. Guide herbal extracts for aquaculture. Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources. Maejo University. Chiang Mai. 34 pages. [in Thai]

Thongprajukaew, K. and Kovitvadhi, U. 2012. Digestive Enzymes and Food Development for Aquaculture. The Journal of KMUTNB. Sep. – Dec. 2012. Vol. 22, No. 3. 710-720. [in Thai]

Kannika, K., Panprommin, D., Whangchai, N. and Chitmanat, C. 2009. Effects of Brewer's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Supplementary Diet on Growth Performance and Immune Response in Nile Tilapia. School of Agriculture and Natural Resources. University of Phayao. 96 pages. [in Thai]

Rungruangsak-Torrissen, K.. 2006. Digestive efficiency, growth and qualities of muscle and oocyte in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed on diets with krill meal as an alternative protein source. Institute of marine research-matre n-5884 matredal, Norway. August 28, 2006. Journal of food biochemisty 31(2007): 509-540.

Lara-Flover, M., Olivera-Castillo, L., and Olvera-Novoa. 2010. Effect of the inclusion of a bacterial mix (*Streptococcus faeciom* and *Lactobacillus acidophilus*), and the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth, feed utilization and intestinal enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Fisheries and Aquaculture 2(4): 93-101.

Limthong, S. 2006. yeast: biodiversity and biotechnology. Kasetsart University. Bangkok. 611 pages. [in Thai]

Rittiplang, S. 2012. Natural Substances As Growth Enhancer of Sand Goby (*Oxyeleotris marmoratus)*. Master of Science in Fisheries Technology. Maejo University. Chiang Mai. 112 pages. [in Thai]

Tukmechi, A., Andani, H.R.R., Manaffar, R. and Sheikhzadeh, N. 2011. Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish and Shellfish Immunology (30): 923-928.

Rattanachomphu, Y. 2007. An Economic Analysis of Feeding Nile Tilapia in Pond in the Upper Northern Thailand. Independent Study Advisory Committee. Master of Economics. Chiang Mai University. Chiang Mai. 157 pages. [in Thai]