

ผลของอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า สาหร่ายไถ และกระเทียม ต่อการเติบโต

ความสมบูรณ์เพศและการกำจัดสิ่งแปลกปลอมในกบนา (*Rana rugulosa*)

Effects of *Spirulina platensis*, *Cladophorasp.* and *Allium sativum* supplementary diets
on growth performance, reproductive maturity, and phagocytic activity

in common lowland frog (*Rana rugulosa*)

เทพพิทักษ์ บุญทา¹ชนกันต์ จิตมันัส¹และจنگล พรหมยะ¹

¹คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อตรวจสอบผลของอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า สาหร่ายไถ และกระเทียม ต่อการเติบโต ดัชนีความสมบูรณ์เพศ และความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ คือ อาหารชุดควบคุม (ไม่ผสมสาหร่ายและกระเทียม) อาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมสาหร่ายไถ 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ โดยเลี้ยงกบในบ่อซีเมนต์กลม เป็นเวลา 120 วัน พบว่าการเติบโตของกบในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่กบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าดัชนีความสมบูรณ์เพศ คือ 0.260 ± 0.05 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด และชุดควบคุม คือ 0.075 ± 0.01 , 0.069 ± 0.01 และ 0.051 ± 0.01 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนกบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว คือ 55.00 ± 7.00 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม คือ 39.33 ± 4.04 และ 33.33 ± 4.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไถ 5 เปอร์เซ็นต์ (51.67 ± 8.14 เปอร์เซ็นต์) สรุปได้ว่า สาหร่ายสไปรูลิน่า สาหร่ายไถ และกระเทียม ไม่มีผลเสริมการเติบโตของกบ แต่สาหร่ายสไปรูลิน่าสามารถกระตุ้นการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของกบได้ ในขณะที่กระเทียมช่วยให้ค่าดัชนีการเจริญพันธุ์ของกบสูงกว่าสาหร่ายไถ และสาหร่ายสไปรูลิน่า

คำสำคัญ : กบนา (*Rana rugulosa*) สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina platensis*) สาหร่ายไถ (*Cladophorasp.*) กระเทียม (*Allium sativum*)

Abstract

The purpose of this research was to determine the effects of *Spirulina platensis*, *Cladophora* sp. and *Allium sativum* supplementary diets on growth performance, gonadosomatic index and phagocytic activity in common lowland frog (*Rana rugulosa*). The CRD experiments were divided into 4 treatments with 3 replication, Treatment 1 basal diet; treatment 2, diet supplemented with 5 % of *Spirulina platensis*; treatment 3, diet supplemented with 5 % of *Cladophora* sp. and treatment 4, diet supplemented with 5 % of *Allium sativum*. Frogs were raised in circular concrete ponds for 120 days. It was found that growth performances; mean weight gain, average daily growth and specific growth rate of frogs from all treatments were not significantly different, while frog gonadosomatic index from treatment 4 (0.260 ± 0.05 %) was significantly higher than others ($p \leq 0.05$). The gonadosomatic indices in treatment 2 (0.075 ± 0.01 %), treatment 3 (0.069 ± 0.01 %), and treatment 1 (0.051 ± 0.01 %) were observed. The average phagocytic activity from treatment 2 was 55.00 ± 7.00 % which was significantly higher than those from treatment 4 (39.33 ± 4.04 %) and treatment 1 (33.33 ± 4.16 %) ($p \leq 0.05$), but not significant from treatment 3 (51.67 ± 8.14 %). In conclusion, *Spirulina platensis*, *Cladophora* sp. and *Allium sativum* supplemented diets did not affect on the common lowland frog growth rate, but the *Spirulina platensis* supplemented feed could be used to stimulate the phagocytic activity, while *Allium sativum* supplemented feed might improve a gonadosomatic index.

Key words: *Rana rugulosa*, *Spirulina platensis*, *Cladophora* sp., *Allium sativum*

คำนำ

กบเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่คนไทยนำมาบริโภคเป็นอาหาร เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูงและมีรสชาติอร่อย ในปัจจุบันความต้องการบริโภคกบเพิ่มมากขึ้นทั้งในประเทศและต่างประเทศ เห็นได้จากการส่งออกกบไปยังต่างประเทศ (Nagsing, 2003) โดยเฉพาะประเทศฮ่องกง ซึ่งศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กระทรวงพาณิชย์ (www.ops3.moc.go.th, 2011) รายงานว่า ประเทศไทยมีการส่งออกกบไปยังประเทศฮ่องกงในปี พ.ศ. 2553 มูลค่าการส่งออก 141.67 ล้านบาท อย่างไรก็ตามผลผลิตกบทั้งจากธรรมชาติและจากฟาร์มเพาะเลี้ยงกบไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด รวมทั้งประชากรกบในธรรมชาติลดลงอย่างรวดเร็ว จึงมีผู้นำกบมาเพาะขยายพันธุ์และเลี้ยงจนประสบความสำเร็จ เพราะกบเป็นสัตว์ที่เลี้ยงง่ายและจำหน่ายได้ราคาดี สามารถให้ความคุ้มค่าทางธุรกิจได้อย่างรวดเร็ว แต่การเลี้ยงกบเพื่อการค้าอย่างจริงจังต้องใช้เงินลงทุนในระยะแรกสูงพอสมควร โดยเฉพาะค่าอาหารกบซึ่งเป็นต้นทุนหลักในการเลี้ยงกบและมีราคาแพง (38 – 39 บาท/กก.) (Tugsin and Somsueb, 2005) และมีคุณภาพไม่เหมาะสมเท่าที่ควร ทำให้กบที่เลี้ยงได้รับสารอาหารที่ไม่ครบถ้วน อัตราการเจริญเติบโตต่ำ ไม่แข็งแรง เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคได้ง่าย

ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักของอาหารกบและมีราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง มีงานวิจัยหลายชิ้นได้พยายามนำสาหร่ายมาเป็นแหล่งโปรตีน โดยเฉพาะสาหร่าย *S. platensis* ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เพราะมีโปรตีนสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังมีวิตามิน เกลือแร่และรงควัตถุที่มีมูลค่าสูงอีกหลายชนิด เช่น C-phycoerythrin, allophycocyanin, Beta-carotene, Chlorophyll-a รวมทั้งกรดไขมันจำเป็นไม่อิ่มตัว เช่น Gamma-linolenic acid (GLA) อยู่ร้อยละ 26 - 30 ของกรดไขมันทั้งหมด GLA เป็นกรดไขมันจำเป็นตัวหนึ่งซึ่งได้รับความสนใจทางการแพทย์และอุตสาหกรรม เนื่องจากมีคุณสมบัติในการยับยั้งการแข็งตัวของเลือด ลดระดับความดันโลหิต ลดปริมาณคลอเลสเตอรอล ควบคุมฮอร์โมน Prostaglandin ช่วยรักษาเกี่ยวกับโรคหัวใจและโรคภูมิแพ้ ส่วนรงควัตถุ C-phycoerythrin และ allophycocyanin สามารถนำมาใช้เป็นสารติดตามในงานด้านภูมิคุ้มกันวิทยา เนื่องจากมีคุณสมบัติในการเรืองแสง (Nakamura, 1982; Venkataraman and Becker, 1985) ในขณะที่สาหร่ายไค (*Cladophora*) มีคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญประกอบด้วย (น้ำหนักแห้ง) โปรตีน 10.7-17.7 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 2.0-2.5 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 14.7-16.8 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 20.6-26.1 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 52.5-60.9 เปอร์เซ็นต์ แครอทินอยด์ 953.7-1,728.9 ไมโครกรัม/กรัม และเบต้าแคโรทีน 20.0-91.9 ไมโครกรัม/กรัม นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยวิตามินเอ ซี อี บี1 และบี2 (Peerapompisal, 2007; Traichaiyapom, 2009)

สาหร่ายสไปรูลินายังมีความสามารถในการช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ Watanukiet *al.* (2006) รายงานว่า ปลาแคร์พที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินา มีความสามารถในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมสูงขึ้นและเพิ่มความต้านทานต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* กุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินาจะมีภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะสูงขึ้นและมีความต้านทานต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย *Vibriosis* (Tayaget *al.*, 2010) แต่ยังไม่มียางานการศึกษาลักษณะนี้ในกบ ส่วนกระเทียม (*A. sativum*, Linn) ถึงแม้จะมีคุณค่าทางโภชนาการไม่มากเมื่อเทียบกับสาหร่ายสไปรูลินาและสาหร่ายไค แต่กระเทียมมีคุณสมบัติเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานในสัตว์น้ำคล้ายกับสาหร่ายสไปรูลินาและสาหร่ายไค เช่น กระตุ้นการทำงานของ Phagocytic activity, T-lymphocyte activity และมีปริมาณแอนติบอดีที่สูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่ากระเทียมมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรคเชื้อไวรัส และเชื้อรา (Hmuanwongyat, 1983; Glidnapan, 1997) โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคราแดง ก่อให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงกบเป็นอย่างมาก ซึ่ง Rojtinakom *et al.* (2009) กล่าวว่า กระเทียมสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* และยังสามารถเพิ่มเซลล์เม็ดเลือดขาว รวมถึงเพิ่มประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ดีขึ้น

ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าหากนำเอาสาหร่ายสไปรูลินา สาหร่ายไค และกระเทียม มาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารกบจะสามารถช่วยในการเจริญเติบโต ดัชนีความสมบูรณ์เพศ และการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกบได้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการส่งเสริมให้เกษตรกรไทยหันมาเลี้ยงกบเป็นอาชีพหลัก และพัฒนาผลผลิตกบให้มีปริมาณ และคุณภาพเพียงพอต่อความต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศ ต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน

1. การเตรียมอุปกรณ์

จัดเตรียมบ่อซีเมนต์กลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร พื้นที่ 0.5 ตร.ม จำนวน 12 บ่อ พื้นที่ก้นบ่อใช้ไม้ไผ่ทำเป็นแคร่ ขนาด (กว้างxยาว) 20x60 เซนติเมตร เพื่อให้เกิดส่วนนูนในบ่อและกบได้ขึ้นไปอยู่อาศัย โดยภายในบ่อทดลองจะเติมน้ำสูง 5-10 เซนติเมตร ส่วนด้านบนปากบ่อใช้ตาข่ายพรางแสงประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์เพื่อป้องกันไม่ให้กบกระโดดออกจากบ่อ ตลอดจนการทดลอง

2. การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำกบจากฟาร์มเลี้ยงใน อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 720 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 276.74 ± 4.04 กรัม/ตัว มาพักเพื่อให้ปรับสภาพในบ่อทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ด้วยความหนาแน่น 60ตัว/ตร.ม ปรับสภาพกบให้คุ้นเคยกับอาหารที่ใช้ทดลอง โดยให้กบกินอาหารผสมชุดควบคุม (ไม่ผสมสาหร่ายและกระเทียม) โดยมีปริมาณโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์วันละ 2 ครั้งคือเวลา 09.00 น. และ 17.00 น. จนกบทดลองคุ้นเคยและยอมรับอาหารแล้วสุ่มนับ และชั่งน้ำหนักกบเริ่มต้นการทดลอง จากนั้นนำกบลงบ่อทดลองตามอัตราที่กำหนด

3. การจัดการด้านอาหาร

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารเม็ดจมน้ำที่ผลิตขึ้นเอง ซึ่งแหล่งโปรตีนจะได้จากปลาป่น วัตถุประสงค์อาหาร รวมถึงสาหร่ายและกระเทียม โดยควบคุมระดับโปรตีนในอาหารทดลองให้มีค่าใกล้เคียงกันประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมันไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์และระดับพลังงานในอาหารทดลองใกล้เคียงกันทุกสูตร (สัดส่วนของอาหารผสมแสดงใน Table 1) ให้อาหาร 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง คือเวลา 09.00 น. และ 17.00 น. โดยทำการปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุกๆ 30 วัน ในแต่ละบ่อของแต่ละหน่วยการทดลอง ตลอดระยะเวลาการทดลอง 120 วัน ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลอง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า เยื่อใย และพลังงาน ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต คำนวณจาก $100 - (\text{โปรตีน} + \text{ไขมัน} + \text{ความชื้น} + \text{เถ้า} + \text{เยื่อใย})$ ตามวิธีของ AOAC (1970) (Table 1)

Table 1 Formulation and proximate composition content of experimental diets (% dry weight)

	Treatments			
	Control	<i>Spirulina</i>	<i>Cladophora</i>	<i>Allium</i>
<i>Ingredients (% as fed)</i>				
Fish meal	22.7	18.2	22.7	22.7
Soybean meal	22.7	22.5	22.5	22.5
Broken rice	27.3	22.5	22.5	22.5
Rice bran	27.3	31.8	27.3	27.3
<i>Spirulina</i>	-	5.0	-	-
<i>Cladophora</i>	-	-	5.0	-
<i>Allium</i>	-	-	-	5.0
<i>Composition (% dry weight)</i>				
Moisture	8.3	9.6	7.9	8.3
Protein	31.2	31.0	31.7	30.9
Lipids	8.9	8.5	8.9	8.0
Ash	10.6	9.0	10.3	8.4
Carbohydrate	16.3	16.3	15.3	17.9
Fiber	27.7	27.0	34.3	26.4
Gross energy (Kcal/Kg.)	2,843.5	2,727.5	2,738.9	2,757.6

4. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Complete Randomized Design:CRD) แบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ให้อาหารชุดควบคุม (บ่อควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 ให้อาหารผสม *Spirulina* 5 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 3 ให้อาหารผสม *Cladophora* 5 เปอร์เซ็นต์

ชุดการทดลองที่ 4 ให้อาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์

ทำการเลี้ยงกับความหนาแน่น 60 ตัว/ตร.ม เท่ากันทุกชุดการทดลอง เป็นเวลา 120 วัน โดยสุ่มเก็บข้อมูลน้ำหนัก และอัตราการรอดของกบทดลอง ทุก ๆ 30 วัน ในแต่ละบ่อของแต่ละหน่วยทดลอง ตลอดระยะเวลาการทดลอง โดยงดให้อาหาร 1 วัน ก่อนการเก็บข้อมูล

5. การเก็บข้อมูล

ชั่งน้ำหนักกบทั้งหมดทุก 30 วัน เพื่อคำนวณหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายในแต่ละบ่อของแต่ละชุดการทดลองตลอด

ระยะเวลาการทดลอง 120 วันโดยดีให้อาหาร 1 วันก่อนการเก็บข้อมูล และปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก ๆ 30 วัน โดยระหว่างการทดลองไม่มีการคัดขนาดของกบ ดังนี้

1. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย (Mean weight gain; กรัม/ตัว)

$$MWG = \text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}$$
2. อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Average daily growth; กรัม/ตัว/วัน)

$$ADG = (\text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มทดลอง}) / \text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง}$$
3. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; เปอร์เซ็นต์/วัน)

$$SGR = [(\ln \text{น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักเมื่อเริ่มทดลอง}) / \text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง}] \times 100$$
4. อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate; หน่วย)

$$FCR = \text{น้ำหนักอาหารที่ให้} / \text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}$$
5. อัตราการรอดตาย (Survival Rate: เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนที่เหลือ / จำนวนกบเริ่มต้น) $\times 100$
6. ดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Gonad somatic index: เปอร์เซ็นต์)

$$GSI = (\text{น้ำหนักของรังไข่ หรืออวัยวะ} / \text{น้ำหนักตัวกบ}) \times 100$$
7. ความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว (Phagocytic activity: เปอร์เซ็นต์)

$$PA = (\text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่กินเซลล์ยีสต์} / \text{จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่นับทั้งหมด}) \times 100$$

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละชุดการทดลองจากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของชุดการทดลองโดยวิธี Duncan-test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$ โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows version 11.5

7. ระยะเวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2553 – เดือนมกราคม พ.ศ. 2554 ณ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

ผลการทดลอง

1. น้ำหนักเฉลี่ย

เมื่อเริ่มต้นการทดลองน้ำหนักเฉลี่ยของกบอยู่ในช่วง $(285.67 \pm 4.16) - (288.33 \pm 1.53)$ กรัม/ตัว (Table 2) โดยน้ำหนักกบเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า กบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ คือ 868.33 ± 345.84 กรัม/ตัว มีแนวโน้มน้ำหนักเฉลี่ยที่ดีกว่ากบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมสาหร่ายไก่อ 5 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม คือ 833.33 ± 739.21 , 736.67 ± 694.72 และ 640.00 ± 157.16 กรัม/ตัว ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ นอกจากนี้ในช่วงวันที่ 60 – 120 วันของการเลี้ยง พบว่า กบมีขนาดที่แตกต่างกันภายในบ่อทดลอง ของทุกชุดการทดลอง ส่งผลให้ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) มีค่าค่อนข้างสูง ซึ่งในการทดลองจะไม่มีการคัดขนาดของกบ (Fig. 1)

2. น้ำหนักเริ่มต้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

กบที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ สาหร่ายไถ 5 เปอร์เซ็นต์ และกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน) และอัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามกบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มที่สูงที่สุด (Table 2) ส่วนกบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด (1.85 ± 0.15) แต่ก็ไม่มี ความแตกต่างทางสถิติกับอาหารชุดควบคุม อาหารผสมสาหร่ายไถ 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 2)

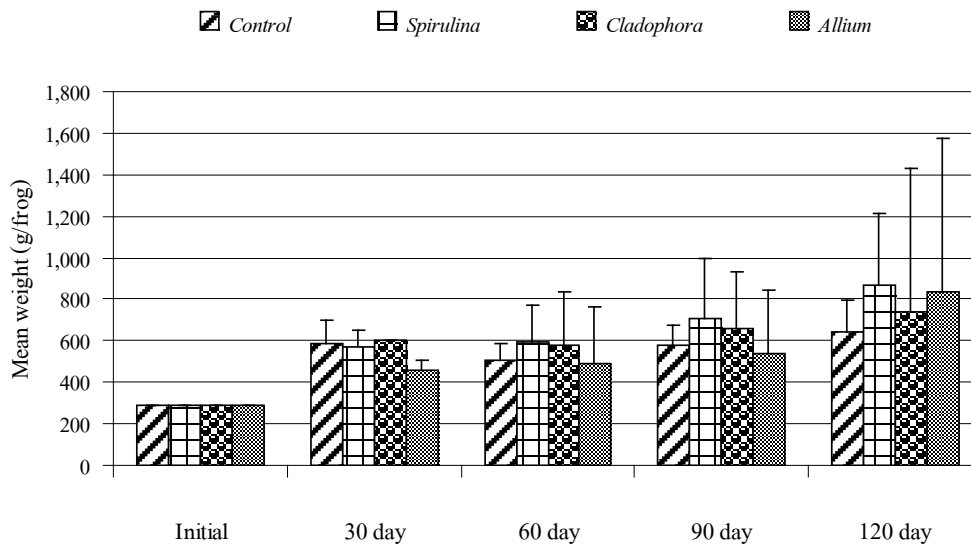


Fig 1 Mean weight (g/frog) of frogs fed with experimental diets for 120 days

3. ดัชนีความสมบูรณ์เพศ (Gonadosomatic index: GSI) ความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาว (Phagocytosis activity; PA/%)

ดัชนีความสมบูรณ์เพศของกบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 0.26 ± 0.05 สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับกบที่ได้รับอาหารผสมสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมสาหร่ายไถ 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารชุดควบคุม คือ 0.075 ± 0.014 , 0.069 ± 0.012 และ 0.051 ± 0.007 ตามลำดับ (Table 3) และความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของกบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 55.00 ± 7.00 เปอร์เซ็นต์สูงกว่ากบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไถ 5 เปอร์เซ็นต์ คือ 51.67 ± 8.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่อาหารผสมทั้ง 2 สูตร มีความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม คือ 39.33 ± 4.04 และ 33.33 ± 4.16 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Table 3)

Table2 Mean growth, Feed conversion rate and survival rate of frogs fed with experimental diets for 120 days

Parameter	Treatments			
	Control	<i>Spirulina</i>	<i>Cladophora</i>	<i>Allium</i>
Initial weight (g)	285.67±4.16 ^{ns}	286.67±5.77 ^{ns}	286.33±4.73 ^{ns}	288.33±1.53 ^{ns}
Mean weight gain (g)	354.33±157.85 ^{ns}	581.67±342.43 ^{ns}	450.33±690.08 ^{ns}	545.00±739.26 ^{ns}
Average daily growth (g/day)	2.95±1.32 ^{ns}	4.85±2.85 ^{ns}	3.75±5.75 ^{ns}	4.54±6.15 ^{ns}
Specific growth rate (%/day)	0.65±0.23 ^{ns}	0.88±0.30 ^{ns}	0.73±0.66 ^{ns}	0.81±0.71 ^{ns}
Feed Conversion Rate (u)	1.88±0.18 ^{ns}	2.13±0.76 ^{ns}	2.08±0.48 ^{ns}	1.85±0.15 ^{ns}
Survival Rate (%)	33.3±3.33 ^{ns}	44.4±10.18 ^{ns}	26.8±24.04 ^{ns}	44.4±40.73 ^{ns}

Note: Mean±SD (n=3) and the same letter in the same row indicates non significant difference ($p \geq 0.05$)

Table3 Gonadosomatic index and Phagocytic activity of lowland frog fed with experimental diets for 120 days

Treatments	Gonadosomatic index (%)	Phagocytic activity (%)
Control	0.051±0.01 ^b	33.33±4.16 ^b
<i>Spirulina</i>	0.075±0.01 ^b	55.00±7.00 ^a
<i>Cladophora</i>	0.069±0.01 ^b	51.67±8.14 ^a
<i>Allium</i>	0.260±0.05 ^a	39.33±4.04 ^b

Note: Mean±SD (n=3) and the same letter in the same column indicates non significant difference ($p \geq 0.05$)

วิจารณ์ผลการทดลอง

กบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (เปอร์เซ็นต์/วัน) ที่ดีกว่ากบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมสาหร่ายไค 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารชุดควบคุม ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สอดคล้องกับงานของ Promya *et al.* (2009) ที่เลี้ยงปลาตุ๊กด้วยอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสมสาหร่ายไค 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปลาตุ๊กมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนในเนื้อปลา ดีกว่าปลาตุ๊กที่ได้รับอาหารผสมสไปรูลิน่า 3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอัตราการรอดตายพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน มีการทดลองใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าพบว่า น้ำหนักความยาวและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่าแห้ง 5 – 15 เปอร์เซ็นต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่ปลาที่ได้รับอาหารผสม *S. platensis* ที่ 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอัตราแลกเนื้อ (FCR) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCE) ดีกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิตินอกจากนี้ปลานิลแดงที่ได้รับอาหารผสม *S. platensis* ที่ระดับ 15 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณโปรตีน (92.33±0.55 เปอร์เซ็นต์) และแคโรทีนอยด์ในเนื้อ (1.72±0.44 ไมโครกรัมต่อกรัม) สูงที่สุด (Ruangsomboonet *et al.*, 2015) รวมถึงมีการทดลองนำสาหร่ายสไปรูลิน่าผง และสาหร่ายไคผงอนุบาลปลาแพนซีคาร์ฟ พบว่า สาหร่ายสไปรูลิน่าผงส่งผลให้

ปลาแพนซีคาร์ฟมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการรอดตาย และคาร์ทีนอยด์ที่สะสมในเนื้อปลาหลังการทดลองมากกว่าอาหารผงทั่วไป และสาหร่ายไคโงม (Promya *et al.* 2003; Promya and Hongvityakom, 2003) ซึ่ง Duncan and Klesius (1996) อ้างตาม Promya *et al.* (2009) กล่าวว่า สาหร่ายสไปรูลิनाเป็นแหล่งโปรตีนที่มีศักยภาพในอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจากมีโปรตีนสูง อีกทั้งยังประกอบด้วยวิตามินและเกลือแร่ในปริมาณสูง นอกจากนี้ผนังเซลล์ยังมีองค์ประกอบที่ง่ายต่อการย่อย เนื่องจากไม่มีเซลลูโลส

อย่างไรก็ตามการทดลองนี้ได้ดำเนินการในช่วงฤดูหนาว (ตุลาคม 2553 - มกราคม 2554) มีอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ในช่วง 14-22 องศาเซลเซียสซึ่งโดยทั่วไปกบเป็นสัตว์เลือดเย็น สามารถรับความรู้สึกถึงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้อย่างรวดเร็ว Rubner (1924) กล่าวว่า กบ *Rana esculenta* ถ้าอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่อุณหภูมิเท่ากับ 30 องศาเซลเซียสอุณหภูมิในร่างกายกบชนิดนี้จะเหลือ 25 องศาเซลเซียสและถ้าอุณหภูมิภายนอกเท่ากับ 3 องศาเซลเซียสอุณหภูมิในร่างกายกบเท่ากับ 0 องศาเซลเซียสซึ่งจากการที่สัตว์ประเภทนี้มีอุณหภูมิในร่างกายลดต่ำกว่าสภาพแวดล้อม ทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมภายในร่างกายเปลี่ยนแปลง มีผลต่อพฤติกรรมต่างๆ เช่น การกินอาหาร การสืบพันธุ์ เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากการทำงานของฮอร์โมนภายในร่างกายผิดปกติ เช่น การหลั่งของ thyroid hormone ที่มีผลเนื่องจากการทำงานระหว่าง hypothalamus, pituitary, thyroid gland ฮอร์โมนชนิดนี้เป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการเจริญในระยะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของกบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าดีที่สุด คือ 1.85 ± 0.15 แต่ก็ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารผสมชุดควบคุม อาหารผสมสาหร่ายไคโงม 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิना 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับสอดคล้องกับ Namuangrak (2005) ได้ทดลองใช้อาหารผสมกระเทียมผงอนุบาลสุกรอายุ 4 – 8 สัปดาห์ ในระดับ 0, 0.125, 0.250 และ 0.375 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสุกรที่ได้รับอาหารผสมกระเทียมผง 0.125 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าอาหารผสมกระเทียมผง 0.375, 0.250 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนอัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) พบว่าอาหารผสมสไปรูลิना 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่ออัตราการรอดตายของกบเท่ากับ 44.4 ± 10.18 และ 44.4 ± 40.73 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ากบที่ได้รับอาหารผสมชุดควบคุม และอาหารผสมสาหร่ายไคโงม 5 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยในการทดลองนี้สาเหตุหลักของการตายของกบคือ การกัดกินกันเอง รวมถึงทำให้เกิดบาดแผลและตายในที่สุด ซึ่งในการทดลองนี้จะไม่มีการคัดขนาดของกบ เนื่องจากเป็นบ่อทดลอง จึงส่งผลให้กบมีขนาดที่แตกต่างกันในบ่อเดียวกัน แม้จะมีการให้อาหารที่ทั่วถึงภายในบ่อทดลองแล้วก็ตาม ซึ่ง Nagsing (2003) กล่าวว่า การคัดขนาดมีความจำเป็นมากสำหรับการเลี้ยงกบ โดยควรคัดขนาดทุกๆ 1 – 2 สัปดาห์/ครั้ง หากไม่มีการคัดขนาดหรือปล่อยกบตัวใหญ่เลี้ยงรวมกับกบตัวเล็ก กบจะกัดกันเองหรือตัวใหญ่กินตัวเล็ก ทำให้เกิดความเสียหายเป็นจำนวนมากได้แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองที่พบว่า อาหารผสมสไปรูลิनाและอาหารผสมกระเทียม มีผลต่ออัตราการรอดตายของกบนั้น อาจเนื่องมาจากสาหร่ายสไปรูลิनाมีรงควัตถุที่เรียกว่า C-phycoyanin ซึ่งเป็นสารช่วยสร้างระบบภูมิคุ้มกัน (Promya *et al.*, 2009) และนอกจากนี้ Vonshak (1997) ยังกล่าวว่าสาหร่ายสไปรูลิनाมีสารที่เรียกว่า Carotenoid ซึ่งทำให้มีผลต่อสุขภาพของสัตว์น้ำ โดยสามารถ

ลดความเครียด ทำให้สัตว์น้ำมีสุขภาพดี สามารถทนต่อเชื้อก่อโรคต่างๆ ได้ดีขึ้น และอาหารผสมกระเทียม มีสารสำคัญที่เรียกว่า Allicin ที่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ป้องกันการอักเสบ และสามารถเพิ่มเซลล์เม็ดเลือดขาว รวมถึงเพิ่มประสิทธิภาพในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ดีขึ้นทำให้สามารถทนต่อการติดเชื้อโรคต่างๆ ได้ดี (Kuppittayanuan, 2006; Khachaleam *et al.*, 2003 and McCartney, 2002; Rojtinakom *et al.*, 2009)

ดัชนีความสมบูรณ์เพศของกบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 0.26 ± 0.05 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ อาหารผสมสาหร่ายไค 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารชุดควบคุม ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งผลการศึกษานี้ยังไม่มีรายงานถึงผลของกระเทียมต่อความสมบูรณ์เพศในสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำและในสัตว์น้ำ แต่มีรายงานในกลุ่มของสัตว์ปีกและสัตว์บก โดย Kuppittayanuan (2006) ทดลองเลี้ยงไก่เนื้อด้วยอาหารผสม 5 สูตร คือ สูตรที่ 1 เลี้ยงไก่เนื้อด้วยอาหารผสมสูตรควบคุมและได้รับการฉีดน้ำมันมะกอก สูตรที่ 2 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุม และได้รับการฉีดฮอร์โมนเทสโตสเตโรน สูตรที่ 3, 4 และ 5 เลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุมเสริมกระเทียม 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ และได้รับการฉีดน้ำมันมะกอกเป็นเวลา 45 วัน พบว่าการเสริมกระเทียมสดในอาหารที่ 6 และ 8 เปอร์เซ็นต์ในอาหารไก่เนื้อ มีผลต่อการกระตุ้นการแบ่งตัว และพัฒนาของ Spermatogonium ไปเป็นเซลล์อสุจิ ซึ่งให้ผลกระตุ้นคล้ายคลึงกับการฉีดฮอร์โมนเพศ โดยการเสริมกระเทียมที่ระดับดังกล่าวทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของหลอดสร้างอสุจิ และก่อให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ที่สร้างอสุจิได้ดีกว่า สูตรอาหารผสมที่ 5, 2 และสูตรอาหารผสมชุดควบคุม ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มขนาดและน้ำหนักของอวัยวะ หงอน และเหนียง แต่อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้ให้ผลแตกต่างกับ Promya (2011) ที่ทดลองใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าสดและผง ในการเลี้ยงปลาแพนซีคาร์ฟ พบว่ามีค่าดัชนีการเจริญพันธุ์สูงกว่าปลาแพนซีคาร์ฟที่ได้รับอาหารที่ไม่ผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของกบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่า 55.00 ± 7.00 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่ากบที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไค 5 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 51.10 ± 8.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่อาหารผสมทั้ง 2 สูตร มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกบที่ได้รับอาหารผสมกระเทียม 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารผสมชุดควบคุม ตามลำดับ คล้ายกับ Kumprom (2011) ที่ทดลองเลี้ยงปลาทองด้วยอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า ที่ระดับ 0, 6, 12 และสาหร่ายไค 6 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 12 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงที่สุดและไม่มีความแตกต่างกับปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสาหร่ายไค 6 เปอร์เซ็นต์ แต่ต่างกับอาหารสาหร่ายสไปรูลิน่า 3 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับ Hironobu *et al.* (2006) ที่ศึกษาการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลาคาร์ฟด้วยสาหร่ายสไปรูลิน่า พบว่า สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ระดับ 1 และ 10 มิลลิกรัม ส่งผลให้ความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวปลาคาร์ฟสูงกว่าปลาคาร์ฟที่ไม่ได้รับสาหร่ายสไปรูลิน่า

สรุป

อาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินามีแนวโน้มทำให้การเติบโต และค่าการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของกบค่อนข้างดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารผสมกระเทียม อาหารผสมสาหร่ายไค และอาหารผสมชุดควบคุม แต่อาหารผสมกระเทียมมีผลต่อดัชนีการเจริญพันธุ์ของกบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารผสมสาหร่ายสไปรูลินา อาหารผสมสาหร่ายไค และอาหารผสมชุดควบคุม เป็นที่น่าสังเกตว่าเหตุใดกระเทียมจึงมีผลต่อค่าดัชนีการเจริญพันธุ์ได้สูงกว่าสาหร่ายสไปรูลินาและสาหร่ายไค ถึงเกือบ 3 เท่า ซึ่งในอนาคตอาจจะต้องศึกษาถึงระดับของกระเทียมที่เหมาะสมต่อการเติบโต และการเลี้ยงกบเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ รวมถึงประยุกต์ใช้สารสกัดที่ได้จากกระเทียมเพื่อเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการเหนี่ยวนำในการตกไข่หรือเสปิร์ม และ/หรือแปลงเพศในสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร บริษัทเครือเจริญโภคภัณฑ์ และคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ที่ให้ทุนสนับสนุน และสถานที่ทำการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 1970. Official method of analysis of the association of official analytical chemists. Washington D.C. 1015p.
- Glidnapan W. 1997. Knowledge of herbs. Edition 2. Samugkeesam (Dokya) Company Ltd., Bangkok.
- Hmuanwongyat P. 1983. Handbook of the use herbs. Medical Media Publishing Ed 2., Bangkok.
- Hironobu W., Kazuki O., Tassaakka A., CMART, Toshimitsu K. and Masahiro S. 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp *Cyprinus carpio*. Aquaculture 258: 157-163.
- Information and commercial technology center office of permanent secretary ministry of commerce [Internet]. 2011. [cited 2011 Sep 20] Available from: <http://www.ops3.moc.go.th>.
- Kumprom T., Promya J., Mengumphan K., Whangchai N. and Chitmanut C. 2001. Effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora sp.* on immunity stimulating capacity and color improvement of goldfish (*Carassius auratus*). KKU Res. 16(6): 612-621p. [in Thai].
- Khachaleam S., Khachaleam Y., Sanchaisuriya P., Pomtrakhulpipat S., Thummaboot B., Shaiput S., Boonma H., Namuang S. and Semagun N. 2003. Effect of using garlic powder instead of antibiotics in pregnant pigs-feed her baby and feed on the reproductive performance of sows and growth of suckling piglets. [In]. Progress report of research program to develop an anti-microbial herbs and

- garlic to the food additives for poultry and swine in dustries.Khonkaen University, Khonkaen. [in Thai].
- Kuppittayanan S. 2006. Effect of Garlic (*Allium Sativum* Linn.)Supplementation on Male Charac teristics in Broiler Chickens.Suranaree University.Nakhonratchasima.37p. [in Thai].
- Mccartney E. 2002. The natural empire strikes back. Poultry International.42-46p.
- Nakamura H. 1982. *Spirulina* Food for hungry world.University of the Tress.Prss, Boulder Creek., California.
- Nagsing P. 2003.Handbook of commercial frog farming.Phetkarat studio Limited Parthership.Talingshun, Bangkok .111p. [in Thai].
- Namuangrak S. 2005. Effects of substituting garlic herbal powder for in-feed antibiotic growth promoter on growth performance nutrient digestion and immunity of starting–growing–finishing pigs. Master of science Thesis in Animal Science, Graduate School, Khonkaen University. 88p. [in Thai].
- Promya J. and Hongvityakorn P. 2003. Use of *Spirulina platensis* for color improvement of fancy carps (*Cyprinus carpio*). Proceedding of 1st national conference on algae plankton. 2003 March 20-21. Kasetsart University. [in Thai].
- Promya J., Hongvitthayakorn P. and Chitmanat C. 2003. Development native *Spirulina Platensis* to serve as feed pigment increment in red tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linn). Abstract in proceedings of Agriculture and Technology Fair ; 2003 Dec 5-6; Mahasarakham, Thailand. [in Thai].
- Peerapompisal Y. 2007. The cultivation of *Cladophora*: General information and its processing. Bangkok: The Thailand research fund (TRF); 32p. [in Thai].
- Promya J., Srinolsom K. and Chitmanat C. 2009. Effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* sp. on growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*). Thai fisheries gazette.62 (6):511-518p. [in Thai].
- Promya J. 2011. Techniques of gonadosomatic index improvement with algae cultured in low-cost, sustainable and sufficiency Economy. Academic Documentation for Community Training.Maejo University, Chiangmai.33-35p. [in Thai].
- Rojtinnakorn J., Ruttanapot T., Chaiwong S., Nopiwong A. and Kumtrakul A., 2009.Effect of algae resistant on bacteria and fungi in aquaculture.IRPUS 2009, TFR. No. I351D03023.
- Ruangsomboon S., Choochote S. and Taveekijakarn P. 2553. Growth performance of red tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus*) fed diets containing dried *Spirulina platensis*. Journal of Fisheries Technology Research. 4(1): 51 – 60. [in Thai].

- Rubner M. 1924. Aus dem leben des kaltbultur; II.teil, amphibian and reptilien. Biochem.Zeitschr. CXL III, 268 – 307.
- Tayag, C.M., Lin, Y., Li, C., Liou, C., and Chen, J. 2010. Administration of the hot-water extract of *Spirulina platensis* enhanced the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. Fish & Shellfish Immunology 28: 764 – 773.
- Tugsin Y. and Somsueb P. 2005. The use of Protein corn to replace fish meal protein in frog culture with cages. Fisheries research 58(2): 159-16p. [in Thai].
- Traichaiyapom S. 2009. Commercial cultivation of algae. Chiangmai University.47p. [in Thai].
- Venkataraman L. V. and Becker E. W. 1985. Biotechnology&utilization of algae: TheIndian experien ce. Department of Science and Technology, New Delhi, 257p.
- Vonshak A. 1997. *Spirulina platensis*(Arthospia): Physiology cell biology and biotechnology. Taylor& Francis, London. 540p.
- Watanuki, H., Ota, K., Kato, T., and Sakai, M. 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture 258: 157 – 163.