สัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชและการทดแทนฟอสฟอรัสจากปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช และอนินทรีย์ฟอสเฟต ในอาหารสำหรับปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* (Linnaeus) × *Oreochromis mossambicus* (Peters))

วุฒิพร พรหมขุนทอง[1]

บทคัดย่อ

การทดลองนี้เป็นการศึกษาสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชและการทดแทนฟอสฟอรัสจากปลาป่นด้วยวัตถุดิบพืช และอนินทรีย์ฟอสเฟต โดยทดลองในตู้กระจกขนาด 235 ลิตร ที่มีปริมาตรน้ำ 180 ลิตร แบ่งการทดลองเป็น 10 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ โดยใช้ปลานิลแดงแปลงเพศขนาดน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 20 กรัม/ตัว จำนวน 20 ตัว/ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบเฟกเตอร์เรียลเป็นแบบ 5×2 โดยศึกษา 2 ปัจจัย (Factor) คือ ปัจจัยที่ 1 ทำการศึกษาสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 5 ระดับ คือ 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 และ 1:5 ตามลำดับ โดยมีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ และใช้กากถั่วเหลือง ปลายข้าว และรำ เป็นแหล่งโปรตีนจากพืช ปัจจัยที่ 2 คือ การเสริมและไม่เสริมไดแคลเซียมฟอสเฟต (dicalcium phosphate, DCP) ในอาหาร โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชสูตรเดียวกันโดยส่วนหนึ่งไม่เสริม DCP และอีกส่วนเสริม DCP โดยให้ได้ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้เท่ากับ 0.60 เปอร์เซ็นต์ อาหารทดลองมีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 7 เปอร์เซ็นต์ พลังงานที่ย่อยได้ 3,300 กิโลแคลอรี/อาหาร 1 กิโลกรัม ให้อาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง ระยะเวลาในการทดลอง 8 สัปดาห์ ผลจากการทดลองพบว่าสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่เหมาะสมที่สุดสำหรับปลานิลแดงแปลงเพศ คือ 1:3 และการเสริม DCP ให้ผลในเชิงบวกต่อการเจริญเติบโต (น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน) ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ) อัตราการกินอาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และมีผลทำให้ระดับเถ้าและฟอสฟอรัสในตัวปลาและในกระดูกสูงขึ้น

[1]Ph.D.รองศาสตราจารย์ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

Email address: yh27394@yahoo.com

The study animal to plant protein ratio and the replacement of fish meal with plant materials and inorganic phosphate in sex-reversed red tilapia feeds (*Oreochromis niloticus* (Linnaeus) × *Oreochromis mossambicus* (Peters))

Wutiporn Phromkunthong[1]

Abstract

The study of animal to plant protein ratio and the replacement of fish meal with plant materials and inorganic phosphate was conducted in glass tanks filled with 180 l of water each. A toatal of 10 treatments with 3 replications each into which twenty 20 g fish were stocked in each tank. An experiment was factorially designed to determine 2 factors, i.e. factor 1 to determine the 5 ratios of animal to plant protein, i.e. 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 and 1:5, respectively, using fish meal as animal protein and soybean meal, broken rice and rice bran as source of plant protein. Factor 2 was studied the effect of dicalcium phosphate (DCP) in the feed, comparing the effect of DCP fortification. Feed supplemented with DCP contained 0.60% available phosphorus. Experimental feeds contained 30 % protein, 7 % fat and 3,300 kcal digestible energy/kg feed. Feeds were given in 2 rations daily over an 8 wk period. Results showed the most suitable ratio of animal to plant protein was 1:3 and DCP fortification enhanced the growth (weight gain and average daily growth), feed utilization efficiency (FCR, PER and ANPU, rate of feed intake, apparent digestibility cofficient, ash and phosphorus contents in the body and bones.

[1]Ph.D. Associate Professor, Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112 Thailand

Email address: yh27394@yahoo.com

บทนำ

ฟอสฟอรัส (Phosphorus) เป็นแร่ธาตุหนึ่งในสิบที่ปลาต้องการในปริมาณมาก (Davis and Gatlin, 1991) โดยทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของร่างกายร่วมกับแคลเซียม ซึ่ง 85-90 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในตัวปลาจะเป็นส่วนประกอบของกระดูกและเกล็ด (Lovell, 1998) ส่วนที่เหลือ 10-15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบในเลือดและเนื้อเยื่อ ทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบต่างๆ ในรูปอินทรีย์ฟอสเฟต ได้แก่ อะดีโนซินไตรฟอสเฟต (adenosinetriphosphate, ATP) ฟอสฟอลิปิด (phospholipids) ดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid, DNA) และโคเอนไซม์ (coenzymes) เป็นต้น และยังมีส่วนสำคัญในกระบวนการเมทาโบลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ไขมันและกรดอะมิโน (Lovell, 1998; NRC, 1993; Ciofalo *et al*., 2003) ในขณะที่อนินทรีย์ฟอสเฟตจะทำหน้าที่สำคัญในการเป็นบัฟเฟอร์ เพื่อรักษาความเป็นกรดด่างของของเหลวทั้งภายในและภายนอกเซลล์ (Lovell, 1998; NRC, 1993) ปลาส่วนมากมีความสามารถในการดูดซึมฟอสฟอรัสจากน้ำได้ในอัตราที่ต่ำ เนื่องจากฟอสฟอรัสในน้ำมีค่าต่ำมาก (ประมาณ 0.005-0.05 ppm) (Dato-Cajegas and Yakupitiyage, 1996) นอกจากนี้ฟอสฟอรัสในน้ำอยู่ในรูปที่สัตว์น้ำนำไปใช้ประโยชน์ได้จำกัด ทำให้สัตว์น้ำได้รับฟอสฟอรัสจากน้ำต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ของฟอสฟอรัสที่ได้รับจากอาหาร (NRC, 1983) ดังนั้นปลาจึงต้องอาศัยฟอสฟอรัสจากอาหารเป็นหลัก เพื่อให้เพียงพอกับความต้องการ ซึ่งได้มาจากวัตถุดิบอาหารจำพวกพืชและสัตว์รวมทั้งจากฟอสฟอรัสสังเคราะห์ โดยเฉพาะเกลือฟอสเฟตรูปต่างๆ แหล่งวัตถุดิบเหล่านี้แม้จะมีฟอสฟอรัสอยู่ในปริมาณสูง แต่อยู่ในรูปที่สัตว์น้ำสามารถนำมาใช้ได้น้อย เช่น ปลาป่นซึ่งมักพบฟอสฟอรัสอยู่ในรูปสารประกอบไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) หรือไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) โดยเป็นองค์ประกอบอยู่ในกระดูกและเกล็ดปลา (Jobling, 1994) แต่ปลาสามารถย่อยได้ประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนฟอสฟอรัสจากพืช เช่น กากถั่วเหลืองหรือรำ ปลาสามารถย่อยได้น้อยมากประมาณ 33-48 เปอร์เซ็นต์ (Phromkunthong *et al*., 2007b) โดยฟอสฟอรัสจากพืชประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสทั้งหมดจะอยู่ในรูปของกรดไฟติก (phytic acid) หรือ ไมโออินโนซิทอลเพ็นตะคิสฟอสเฟต (myo-inositol pentakisphosphate) ซึ่งมักรวมอยู่กับเกลือของแคลเซียม แมกนีเซียม โพแตสเซียม (Dey and Harborne, 1990) เรียกว่าไฟติน (phytin) ส่วนเกลือของกรดไฟติกที่ประกอบด้วยอินโนซิทอลกับฟอสเฟต จะเรียกว่าไฟเตท (phytate) (Uhlig, 1998) Hendricks และ Bailey (1989) กล่าวถึงกรดไฟติกว่าเป็นพิษชนิดหนึ่งที่เกิดจากพืช ซึ่งสัตว์กระเพาะเดี่ยว (monogastric animals) และปลาไม่สามารถนำฟอสฟอรัสในรูปนี้มาใช้ได้ สำหรับฟอสฟอรัสในรูปสารอนินทรีย์นิยมสมทบในอาหารปลา เนื่องจากปลาสามารถย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้มาก โดยรูปแบบของอนินทรีย์ฟอสเฟต ที่นิยมเสริมในอาหารปลามี 3 รูปแบบ คือ โมโนเบสิค

(monobasic) ไดเบสิค (dibasic) และไตรเบสิค (tribasic) โดยปลาจะสามารถใช้ฟอสฟอรัสในรูปโมโนเบสิคและไดเบสิคได้ดี เนื่องจากอยู่ในรูปที่แตกตัวได้ง่ายและละลายน้ำได้ดีกว่าในรูปไตรเบสิค (NRC, 1993)โดยในปลาเรนโบว์เทราท์ สามารถนำฟอสฟอรัสจากโมโนแคลเซียมฟอสเฟตมาใช้ประโยชน์ได้ 94 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัสจากไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 64 เปอร์เซ็นต์ และปลาไนสามารถนำฟอสฟอรัสจากโมโนแคลเซียมฟอสเฟตมาใช้ประโยชน์ได้ 94 เปอร์เซ็นต์ และฟอสฟอรัสจากไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ 13 เปอร์เซ็นต์ (Clark, 1989) จากการศึกษาของ Phromkunthong *et al*., (2007a) พบว่า สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริมไดแคลเซียมฟอสเฟตมีค่าต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตส ขณะที่การเจริญเติบโตของปลาทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกัน

ในการลดปริมาณปลาป่นในอาหารและเพิ่มวัตถุดิบจากพืชทดแทน แม้จะทำให้ต้นทุนในการผลิตอาหารปลาถูกลง แต่มีผลทำให้ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหารปลาลดลงด้วย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการทดแทนฟอสฟอรัสลงในอาหารเพื่อให้ปลาได้รับฟอสฟอรัสจากอาหารในปริมาณที่เพียงพอที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของปลาป่นและวัตถุดิบจากพืชในสูตรอาหาร และเปรียบเทียบผลของการเสริมและไม่เสริมอนินทรีย์ฟอสเฟต เมื่อเปรียบเทียบในสูตรอาหารที่มีส่วนประกอบเหมือนกันเพื่อศึกษาสมรรถภาพการผลิตของปลา โดยทำการทดลองในปลานิลแดงแปลงเพศ การเลือกปลานิลแดงแปลงเพศเป็นสัตว์ทดลองเนื่องจากเป็นปลาเนื้อขาวที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว มีความทนทาน อีกทั้งเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเตรียมอุปกรณ์การทดลอง

ใช้ตู้กระจกขนาด 100 x 50 x 47 เซนติเมตรความจุน้ำ 235 ลิตร โดยทำความสะอาด และติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศให้พร้อมสมบูรณ์แล้วเติมน้ำประปาที่ปราศจากคลอรีน ให้ได้ปริมาตร 180 ลิตร ปิดตู้ด้วยผ้าพลาสติกสีทึบ 3 ด้านเพื่อป้องกันการถูกรบกวน ขณะทำการทดลองเตรียมบ่อคอนกรีตสำหรับพักน้ำ เพื่อไว้ใช้ในการเปลี่ยนถ่ายน้ำ

2. การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลานิลแดงแปลงเพศ น้ำหนักเฉลี่ย 10-15 กรัม จำนวน 3,000 ตัว จากฟาร์มเอกชน ต.ลำปำ อ.เมือง จ.พัทลุง มาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 1 ลูกบาศก์เมตร โดยให้อาหารทดลองสูตรที่ 1 วันละ 2 ครั้ง ในเวลา 8.00 น. และ 16.00 น. จนปลามีน้ำหนักประมาณ 20 กรัม จึงปล่อยปลาลงเลี้ยงในตู้ทดลองตู้ละ 20 ตัว การทดลองนี้ประกอบด้วย 10 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ชั่งน้ำหนักปลาเริ่มต้นด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่งยี่ห้อ Satorius รุ่น B

3100 S สลบปลาด้วยควินาลดีน และชั่งน้ำหนักปลาแบบรวม จากนั้นจึงคำนวณน้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัวในแต่ละตู้

3. การเตรียมอาหารทดลอง

นำวัตถุดิบอาหารที่ใช้เตรียมอาหารทดลองไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (Table 1) และสร้างสูตรอาหาร โดยคำนวณให้มีโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 7 เปอร์เซ็นต์ และพลังงาน 3,300 กิโลแคลอรี/อาหาร 1 กก. (Table 2) อาหารที่ใช้เป็นชุดควบคุม (สูตรที่ 1) เป็นสูตรที่ใช้ปลาป่นมากกว่าสูตรอื่นๆ (30 %) จากนั้นปรับสัดส่วนของโปรตีนจากปลาป่นให้ลดลง โดยเพิ่มโปรตีนจากกากถั่วเหลืองตามลำดับ และใช้ปลายข้าวเป็นตัวปรับสูตร (อาหารสูตรที่ 2-6) แบ่งอาหารสูตรที่ 2-6 เป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เติมไดแคลเซียมฟอสเฟต (DCP) และปรับค่าฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (available phosphorus) ให้ใกล้เคียงกับปริมาณฟอสฟอรัสที่เหมาะสมกับความต้องการของปลานิลแดงแปลงเพศคือ 0.60 % อาหารส่วนที่ 2 ไม่เติม DCP ในอาหาร อาหารทดลองที่ใช้เป็นอาหารเม็ดแบบชื้น ดำเนินการโดยชั่งวัตถุดิบอาหารที่ผ่านการร่อนจากตะแกรงขนาด 30 เมช (mesh) ส่วนน้ำมัน วิตามินและแร่ธาตุ ชั่งแยกใส่ถุงไว้สำหรับอาหารทดลองแต่ละสูตร นำส่วนผสมทั้งหมด ยกเว้นน้ำมัน มาผสมรวมกันและคลุกเคล้าให้เข้ากัน ด้วยเครื่องผสมอาหาร Hobart Mixer Model A200T ประมาณ 6-7 นาที จึงเติมน้ำมันลงไป เมื่อส่วนผสมเข้ากันดีจึงเติมน้ำกลั่นประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ นำวัตถุดิบอาหารที่ผสมกันดีแล้วเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหาร ผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร โดยตัดเม็ดอาหารให้มีขนาดใกล้เคียงกัน อบอาหารที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วบรรจุในถุงพลาสติก เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (วุฒิพร และคณะ, 2540) นำอาหารทดลองไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรกซ์, nitrogen free extract, NFE) คำนวณได้จากสูตร 100 - (%ความชื้น+%โปรตีน+ %ไขมัน+%เถ้า+%เยื่อใย) ดังแสดงไว้ใน Table 3

Table 1. Chemical composition of feed ingredients (% as fed basis)[1]

Feed ingredients	Moisture	Protein	Fat	Ash	Crude fiber	Phosphorus	NFE
Fish meal	3.02±0.10	71.18±1.15	13.65±0.89	13.39±0.10	0.00±0.00	2.68±0.12	0.00±0.00
Broken rice	10.89±0.12	8.49±0.03	3.25±0.20	1.31±0.02	0.92±0.03	0.13±0.02	72.26±0.43
Soybean meal	12.48±0.01	42.71±0.09	3.09±0.19	7.22±0.06	5.79±0.27	0.66±0.04	28.71±0.51
Rice bran	10.71±0.01	13.96±0.28	13.84±0.11	18.62±0.11	4.35±0.01	1.46±0.03	38.57±0.21
DCP	-	-	-	-	-	18.42±0.15	-

[1]**Mean ± standard deviation of three replications**

NFE: nitrogen free extract

Table 2. Composition of experimental diets

Ingredients (g/100 g feed)		AP:PP = 1:1		AP:PP = 1:2		AP:PP = 1:3		AP:PP = 1:4		AP:PP = 1:5	
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
Fish meal	30	21.5	21.5	14.2	14.2	10.56	10.56	8.5	8.5	7.1	7.1
Soybean meal	8	22	22	35.7	35.7	42.5	42.5	46	46	49	49
Broken rice	37	31.7	31.7	24.1	24.1	20.24	20.24	18.55	18.55	16.45	16.45
Rice bran	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Fish oil	0	0	0	0.6	0.6	1	1	1.1	1.1	1.5	1.5
Vitamin mixtures	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mineral mixtures	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
DCP	0	0.8	0	1.4	0	1.7	0	1.85	0	1.95	0
Chromic oxide	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rice hull	1	0	0.8	0	1.4	0	1.7	0	1.85	0	1.95
AvP	0.59	0.60	0.50	0.60	0.43	0.60	0.40	0.60	0.38	0.60	0.37

Vitamin mixture (mg/kg feed): Thiamine(B_1) 10 ; Riboflavin(B_2) 20 ; Pyridoxine (B_6) 10 ; Coabalamine (B_{12}) 2 ; Retinal (A) 4,000 IU; Cholecaciferol (D_3) 2,000 IU; Menadione sodium bisulfite(K_3) 80 ; Folic acid 5 ; Calcium pantothenate 40 ; Inositol 400 ; Niacin 150 ; Tocopherol (E) 50 ; Biotin 1 ; Ascorbic acid (C) 500

Mineral mixture (g/kg feed): Na 3.278 .; Mg 25.25 .; K 76.612 .; Ca 49.096 .; Fe 4.821 .; Zn 0.667 .; Mn 0.433 .; Cu 0.069 .; Co 0.00198 .; I 0.01

AP = animal protein

PP = plant protein

AvP = available Phosphorus จากการคำนวณ

Table 3. Chemical composition of experimental diets (% on dry matter basis) [1]

Experimental group	DCP	Composition (%)						
		Moisture	Protein	Fat	Ash	Crude fiber	Phosphorus	NFE
1(Contol)		7.40±0.02	30.60±0.18	6.43±0.01	18.07±0.05	16.16±0.09	1.47±0.01	21.34±0.08
2(AP:PP 1:1)	+	6.87±0.03	30.96±0.30	6.64±0.02	16.61±0.54	13.64±0.39	1.40±0.01	25.28±0.10
3(AP:PP 1:1)	-	7.18±0.01	31.52±0.43	6.75±0.11	15.44±0.15	12.56±0.14	1.27±0.01	26.55±0.32
4(AP:PP 1:2)	+	5.60±0.00	31.76±0.07	6.80±0.09	14.62±0.15	10.37±0.24	1.41±0.00	30.85±0.54
5(AP:PP 1:2)	-	7.09±0.06	31.40±0.03	6.84±0.00	13.20±0.07	11.21±0.30	1.11±0.03	30.26±0.40
6(AP:PP 1:3)	+	6.54±0.00	31.61±0.18	6.85±0.05	14.33±0.05	9.78±0.24	1.38±0.03	30.89±0.52
7(AP:PP 1:3)	-	6.87±0.00	31.73±0.17	7.06±0.08	13.60±0.01	9.53±0.08	0.99±0.03	31.74±0.01
8(AP:PP 1:4)	+	6.87±0.01	31.74±0.37	6.51±0.01	13.50±0.04	8.49±0.04	1.35±0.05	32.90±0.37
9(AP:PP 1:4)	-	5.78±0.03	31.89±0.07	6.68±0.00	12.10±0.60	9.61±0.02	0.97±0.00	33.94±0.51
10(AP:PP 1:5)	+	5.15±0.02	31.76±0.02	6.66±0.04	13.49±0.07	7.64±0.21	1.34±0.00	35.30±0.32
11(AP:PP 1:5)	-	6.45±0.03	31.77±0.31	6.68±0.03	12.23±0.20	9.83±0.05	0.86±0.02	33.04±0.46

[1]Mean ± standard deviation of three replications

NFE: nitrogen free extract

AP=animal protein, PP= plant protein , + : DCP , - without DCP

4. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบเฟกโตเรียล (Factorial design; Completely Randomized Design: CRD) เป็นแบบ 5×2 โดยศึกษา 2 ปัจจัย (Factor) คือ ปัจจัยที่ 1 ทำการศึกษาสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 5 ระดับ คือ 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 และ 1:5 ตามลำดับ โดยมีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ และใช้กากถั่วเหลือง ปลายข้าว และรำ เป็นแหล่งโปรตีนจากพืช ปัจจัยที่ 2 คือ การเสริมและไม่เสริม DCP ในอาหาร โดยทำการแบ่งอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชสูตรเดียวกันเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งจะไม่เสริม DCP และอีกส่วนเสริม DCP โดยปรับสูตรอาหารทั้ง 2 ส่วนให้ได้ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้เท่ากับ 0.60 เปอร์เซ็นต์ การทดลองนี้ประกอบด้วย 10 ชุดการทดลองและมีชุดควบคุม 1 ชุด คืออาหารสูตรที่ 1 แต่ละชุดการทดลอง ประกอบด้วย 3 ซ้ำ ใช้ปลานิลซ้ำละ 20 ตัว และเก็บตัวอย่างปลาก่อนทดลองไว้เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า ฟอสฟอรัส ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC (1990) ให้อาหารทดลองวันละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้าเวลา 8.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00 น. โดยให้ปลากินจนอิ่ม บันทึกน้ำหนักอาหารที่ให้ทุกสัปดาห์ตลอดการทดลอง ก่อนให้อาหารช่วงเย็นจะดูดตะกอนทำความสะอาดตู้ปลาโดยวิธีกาลักน้ำแล้วเติมน้ำใหม่ให้เท่าเดิมทุกครั้ง เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมตลอดการทดลอง ใช้เวลาทดลอง 8 สัปดาห์

5. การเก็บรวบรวมข้อมูล

5.1 การตรวจสอบพฤติกรรมและลักษณะภายนอก

ในระหว่างการทดลองสังเกตพฤติกรรมของปลาทุกชุดการทดลอง ได้แก่ การว่ายน้ำ การยอมรับอาหาร และสังเกตลักษณะภายนอก ได้แก่ สีของลำตัว การตกเลือด การคดงอของครีบและกระดูก และการเกิดบาดแผลที่ครีบ ผิวหนัง และอวัยวะภายนอกอื่นๆ ใช้ยาและสารเคมีเพื่อป้องกันโรค ตามสภาพของปลา

5.2 การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักปลาทุก 2 สัปดาห์ โดยการชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละซ้ำด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (ก่อนวันที่ชั่งน้ำหนักงดให้อาหารเย็น 1 มื้อ) นับจำนวนปลาที่เหลืออยู่จนสิ้นสุดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณอัตราการรอด (survival rate)) คำนวณอ้างตามวิธีการของ Nankervis และคณะ (2000) การเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (%), อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/ตัว/วัน) คำนวณอ้างตามวิธีการของ Jantrarotai และคณะ (1994) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate) คำนวณตามวิธีการของ Dupree และ Sneed (1966) อัตราการกินอาหาร (rate of feed intake) คำนวณตามวิธีการของ Yone และ Fujii (1975)

5.3 การศึกษาสัมประสิทธิ์การย่อยอาหาร

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยอาหารทำได้โดยการใช้โครมิคออกไซด์ (Cr_2O_3) เป็นสารบ่งชี้ (indicator) เติมลงในอาหาร โดยการเจือจางโครมิคออกไซด์ 98 เปอร์เซ็นต์ ด้วยแกลบป่นให้ได้ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (โครมิคออกไซด์ 51 กรัม ต่อแกลบ 49 กรัม) แล้วเติมโครมิคออกไซด์ที่เจือจางแล้วในอาหารสูตรละ 1 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณแกลบป่นในอาหาร ดังนั้นจึงมีความเข้มข้นของโครมิกออกไซด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยดำเนินการในสัปดาห์ที่ 5 และทำการเก็บรวบรวมมูลปลาในสัปดาห์ที่ 6-8 การรวบรวมมูลปลาทำโดยวิธีกาลักน้ำ (siphoning) โดยที่ปลายสายยางพลาสติกใช้ผ้าตาถี่รองอยู่เพื่อรองรับมูลปลา ในการเก็บมูลปลาจะเก็บตอนเย็นหลังจากที่มีการให้อาหารแล้ว 1 ชั่วโมง และดูดตะกอนอาหารออกจากตู้หมดแล้ว โดยรวบรวมมูลปลาไว้ในช่องแช่แข็ง หลังจากนั้นก็นำไปอบให้แห้งสนิทที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งได้น้ำหนักแห้งของมูลปลาปริมาณ 25-30 กรัม ซึ่งเพียงพอกับการวิเคราะห์ นำไปบดให้ละเอียดก่อนนำไปวิเคราะห์ นำมูลปลาไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และฟอสฟอรัส ตามวิธีการของ AOAC (1990) วิเคราะห์ปริมาณโครมิคออกไซด์ในอาหารและในมูลตามวิธีของ Furukawa และ Tsukahara (1966)

5.4 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของปลา

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลาจากตู้ทดลองๆ ละ 2 ตัว ไปวิเคราะห์ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า ฟอสฟอรัสในซากปลาตามวิธีการของ AOAC (1990) และนำค่าโปรตีนก่อนและเมื่อสิ้นสุดการทดลองไปคำนวณประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิตามวิธีการของ Zeitoun และคณะ (1973)

5.5 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสและเถ้าในกระดูก

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาตู้ละ 5 ตัว แล่เอาเฉพาะบริเวณกระดูกสันหลัง และนำไปต้มด้วยน้ำกลั่นแยกเอาเนื้อที่ยังติดกระดูกออกให้หมด นำกระดูกไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ตัวอย่างกระดูกที่ได้บดให้ละเอียด นำไปวิเคราะห์เถ้าและปริมาณฟอสฟอรัส ตามวิธีการของ AOAC (1990)

5.6 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสและอัลคาไลด์ฟอสฟาเตสในซีรัม

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มปลาตู้ละ 2 ตัว เจาะเลือดจากบริเวณโคนหางประมาณ 3 มิลลิลิตร ใส่หลอด eppendorf ทิ้งไว้ 30 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 รอบ เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำซีรัมไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสด้วยวิธีของ Sigma Chemical Company (1960) ส่วนอัลคาไลด์ฟอสฟาเตสในซีรัมวิเคราะห์ด้วยวิธีการของ Chen และคณะ (1956)

5.7 การวิเคราะห์ไขมันของเครื่องใน

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลาจากแต่ละตู้ทดลองๆ ละ 5 ตัว ผ่าเอาเครื่องในและนำไปอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และวิเคราะห์ไขมันในเครื่องใน ด้วยวิธีการของ AOAC (1990)

5.8 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อปลา

เมื่อสิ้นสุดการทดลองสุ่มตัวอย่างปลาจากแต่ละตู้ทดลองๆ ละ 5 ตัว แล่เอาเฉพาะเนื้อไปวิเคราะห์ ความชื้น โปรตีน และไขมันในเนื้อปลาทดลอง ด้วยวิธีการของ AOAC (1990)

5.9 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน ANOVA แบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

1. ความผิดปกติและพฤติกรรมของปลาที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ

ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืชในแต่ละระดับและการเสริมหรือไม่เสริมไดแคลเซียมฟอสเฟต (DCP) ในอาหารไม่พบความผิดปกติของรูปร่าง และลักษณะภายนอก และปลาทุกตัวมีพฤติกรรมปกติ สุขภาพแข็งแรงตลอดการทดลอง

2. การเจริญเติบโต

2.1 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเริ่มต้นของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 11 สูตร อยู่ในช่วง 20.28±0.18 – 20.35±0.25 กรัม น้ำหนักของปลาเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เลี้ยง โดยพบว่า ตลอดเวลาทดลอง 8 สัปดาห์ ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลแดงแปลงเพศไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช และการเสริมหรือไม่เสริม DCP ในอาหารทดลอง แต่ปัจจัยแต่ละตัวส่งผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยของปลา โดยสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชในอาหารเริ่มส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลาตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง และพบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 ปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 2, 3 (AP:PP = 1:1) และ 6,7 (AP:PP = 1:3) มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวไม่แตกต่างกัน แต่จะสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 8,9 (AP:PP = 1:4) และสูตรที่ 10, 11 (AP:PP = 1:5) (p<0.05) (Table 4) ส่วนผลของการเสริมและไม่เสริม DCP เริ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริม DCP มีการเจริญเติบโตสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ตลอดจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด (Table 4)

Table 4. Average body weight of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets for 8 weeks[1]

Experimental group	DCP	Rearing period (week)				
		0	2	4	6	8
1 (Control)		20.32±0.22	29.40±1.42	41.46±2.12	58.58±1.96	73.87±3.22
2 (AP:PP 1:1)	+	20.28±0.23	28.23±0.24^{y}	38.37±0.94^{by}	51.85±2.53^{by}	66.52±3.34^{by}
3 (AP:PP 1:1)	-	20.31±0.27	27.72±1.25^{x}	37.66±1.49^{bx}	50.53±2.37^{bx}	63.66±2.42^{bx}
4 (AP:PP 1:2)	+	20.32±0.15	28.25±0.38^{y}	38.79±1.03^{by}	52.60±3.42^{by}	67.12±4.90^{by}
5 (AP:PP 1:2)	-	20.31±0.12	27.82±0.47^{x}	37.63±1.35^{bx}	50.69±2.93^{bx}	63.13±4.98^{bx}
6 (AP:PP 1:3)	+	20.40±0.16	28.37±0.95^{y}	38.79±2.04^{aby}	51.58±3.16^{aby}	64.04±2.56^{aby}
7 (AP:PP 1:3)	-	20.32±0.29	27.90±0.38^{x}	36.15±0.80^{abx}	45.08±1.52^{abx}	56.33±4.32^{abx}
8 (AP:PP 1:4)	+	20.34±0.21	27.74±0.96^{y}	36.67±1.11^{ay}	48.01±3.12^{ay}	61.61±6.29^{ay}
9 (AP:PP 1:4)	-	20.35±0.25	27.04±1.62^{x}	34.80±2.93^{ax}	43.55±4.68^{ax}	53.04±6.43^{ax}
10 (AP:PP 1:5)	+	20.34±0.27	28.68±0.60^{y}	39.07±0.88^{aby}	51.57±0.78^{ay}	65.04±1.41^{ay}
11 (AP:PP 1:5)	-	20.28±0.18	26.53±0.61^{x}	33.96±0.17^{abx}	41.23±0.85^{ax}	50.82±1.89^{ax}
Pooled SEM		0.079	0.730	2.14	7.76	17.75
Plant protein : Animal protein		NS	NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05
DCP		NS	P<0.05	p<0.05	P<0.05	p<0.05
Plant protein : Animal protein*DCP		NS	NS	NS	NS	NS

[1]**Mean ± standard deviation of three replications** NS : non significant

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

PP= plant protein , AP= animal protein + : DCP , - without DCP

a,b,c ⟶ AP : PP; x,y⟶ DCP

2.2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตาย

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการกินอาหาร และอัตราการรอดตายของปลานิลแดงแปลงเพศแสดงไว้ในTable 5 โดยพบว่าค่าดังกล่าวของปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืชต่างกัน และการเสริมและไม่เสริม DCP ในอาหารไม่มีปฏิสัมพันธ์กันโดยมีรายละเอียดดังนี้

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 11 สูตร มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p<0.05) โดยมีแนวโน้มเช่นเดียวกับน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลา โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:1, 1:2 และ 1:3 มีน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:4 และ 1:5 ตามลำดับ และการเสริม DCP มีผลทำให้น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลแดงแปลงเพศสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด (Table 5)

อัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 11 สูตร มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p<0.05) โดยให้ผลการทดลองในแนวทางเดียวกับค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น กล่าวคือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:1, 1:2 และ1:3 มีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:4 และ 1:5 ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) และพบว่าการเสริม DCPในอาหารทำให้ปลานิลแดงแปลงเพศมีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวดีกว่าไม่เสริม DCP (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด (Table 5)

อัตราการกินอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศลดลงเมื่อเสริมวัตถุดิบพืชลงในอาหารเพิ่มขึ้น โดยปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีอัตราการกินอาหารสูงที่สุด รองลงมาคือ ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:1 และปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:2 และ 1:3 ตามลำดับ ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช 1:4 และ 1:5 มีค่าต่ำที่สุด (p<0.05) และปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริม DCP และไม่เสริม DCP จะมีอัตราการกินอาหารไม่แตกต่างกัน (p>0.05) (Table 5)

อัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 11 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 96.67 $\pm$ 2.89 - 100 $\pm$ 0.00 เปอร์เซ็นต์ (Table 5)

Table 5. Weight gain, rate of feed intake, average daily gain and survival of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets[1]

Experimental group	DCP	Weight gain (%)	average daily gain (g/ body weight/day)	rate of feed intake (g/ body weight/day)	survival (%)
1 (Control)		263.42±12.32	0.96±0.05	3.44±0.02	100.00±0.00
2 (AP:PP 1:1)	+	228.10±19.13^{by}	0.83±0.06^{by}	3.04±0.11^{c}	100.00±0.00
3 (AP:PP 1:1)	-	213.38±10.42^{bx}	0.77±0.04^{bx}	3.10±0.06^{c}	98.33±2.89
4 (AP:PP 1:2)	+	230.30±24.05^{by}	0.84±0.09^{by}	2.90±0.05^{b}	100.00±0.00
5 (AP:PP 1:2)	-	210.70±23.08^{bx}	0.76±0.09^{bx}	2.93±0.11^{b}	100.00±0.00
6 (AP:PP 1:3)	+	213.96±15.00^{aby}	0.78±0.05^{aby}	2.75±0.09^{b}	100.00±0.00
7 (AP:PP 1:3)	-	177.51±24.98^{abx}	0.64±0.08^{abx}	2.92±0.05^{b}	96.67±2.89
8 (AP:PP 1:4)	+	202.75±28.55^{ay}	0.74±0.11^{ay}	2.72±0.12^{a}	98.33±2.36
9 (AP:PP 1:4)	-	160.53±29.57^{ax}	0.58±0.11^{ax}	2.73±0.11^{a}	100.00±0.00
10 (AP:PP 1:5)	+	219.90±8.54^{ay}	0.80±0.03^{ay}	2.67±0.04^{a}	100.00±0.00
11(AP:PP 1:5)	-	150.52±7.49^{ax}	0.55±0.03^{ax}	2.72±0.06^{a}	100.00±0.00
Pooled SEM		1.0339	0.0057	0.0075	2.50
Plant protein : Animal protein		p<0.05	p<0.05	p<0.05	NS
DCP		p<0.05	p<0.05	NS	NS
Plant protein : Animal protein×DCP		NS	NS	NS	NS

[1]**Mean ± standard deviation of three replications** NS : non significant

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

PP= plant protein , AP= animal protein + : DCP , - without DCP

a,b,c ⟶ AP : PP; x,y ⟶ DCP

3. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทั้ง 11 สูตร แสดงใน Table 6 โดยพบว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ของปลาทดลองมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ต่างกัน กับการเสริมและไม่เสริม DCP โดยมีรายละเอียดดังนี้

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชในที่ต่างกัน (p>0.05) แต่พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริม DCP มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP (p<0.05) และปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) (Table 6)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) แต่พบว่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารเสริม DCP ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP (p<0.05) และปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) (Table 6)

การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนจากโปรตีนพืชสูงขึ้นทำให้ค่า ANPU ดีขึ้น (สูงขึ้น) (p<0.05) การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิในปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์และโปรตีนพืช ตั้งแต่ระดับ 1:2 ขึ้นไปมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมและการเสริม DCP ในอาหารมีผลทำให้ค่า ANPU สูงกว่าในสูตรอาหารที่ไม่ได้เสริม (p<0.05) (Table 6)

Table 6. Feed conversion ratio (FCR), Protein efficiency ratio (PER) and Apparent net protein utilization (ANPU) of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets[1]

Experimental group	DCP	FCR	PER	ANPU (%)
1(Control)		1.70±0.04	1.93±0.04	29.97±0.61
2 (AP:PP 1:1)	+	1.60±0.05^{y}	2.02±0.07^{y}	28.80±0.97^{ay}
3 (AP:PP 1:1)	-	1.67±0.09^{x}	1.91±0.10^{x}	28.20±1.40^{ax}
4 (AP:PP 1:2)	+	1.52±0.09^{y}	2.07±0.13^{y}	32.95±1.88^{cy}
5 (AP:PP1:2)	-	1.61±0.06^{x}	1.99±0.08^{x}	33.15±1.21^{cx}
6 (AP:PP 1:3)	+	1.49±0.08^{y}	2.12±0.11^{y}	34.87±1.70^{bcy}
7 (AP:PP 1:3)	-	1.72±0.08^{x}	1.84±0.09^{x}	28.53±1.25^{bcx}
8 (AP:PP 1:4)	+	1.51±0.09^{y}	2.09±0.12^{y}	33.44±1.66^{by}
9 (AP:PP 1:4)	-	1.73±0.11^{x}	1.82±0.12^{x}	28.29±1.68^{bx}
10(AP:PP 1:5)	+	1.43±0.04^{y}	2.21±0.06^{y}	34.80±0.93^{by}
11(AP:PP 1:5)	-	1.78±0.09^{x}	1.78±0.09^{x}	27.60±1.30^{bx}
Pooled SEM		0.0067	0.0099	2.05
Plante protein : Animal protein		NS	NS	p<0.05
DCP		p<0.05	p<0.05	p<0.05
Plante protein : Animal protein×DCP		p<0.05	p<0.05	p<0.05

[1]**Mean ± standard deviation of three replications** NS : non significant

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

PP= plant protein , AP=animal protein + : DCP , - without DCP

a,b,c ⟶ AP : PP; x,y ⟶ DCP

4. สัมประสิทธิ์การย่อยอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศ

จากการศึกษาสัมประสิทธิ์การย่อยอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 11 สูตร พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช กับการเสริมและไม่เสริม DCP (Table 7)

สัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้ง พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารเสริมวัตถุดิบพืชในปริมาณที่สูงขึ้นมีผลทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งสูงขึ้น (p<0.05) และการเสริมDCPทำให้มีผลต่อสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งของปลาทดลองดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีสัมประสิทธิ์การย่อยวัตถุแห้งต่ำที่สุด (Table 7)

สัมประสิทธิ์การย่อยโปรตีน พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารเสริมวัตถุดิบพืชสูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยโปรตีนสูงขึ้นด้วย (p<0.05) และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม DCP ทำให้ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีสัมประสิทธิ์การย่อยโปรตีนต่ำที่สุด (Table 7)

สัมประสิทธิ์การย่อยไขมัน พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหาร ที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:2, 1:3, 1:4 และ 1:5 มีค่าสูงไม่แตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) และสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1 มีค่าต่ำที่สุด (p<0.05) และต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) ปลากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมและไม่เสริม DCP โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยไขมันไม่แตกต่างกัน (p>0.05) (Table 7)

สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสของปลาที่ได้รับอาหารเสริมวัตถุดิบพืชสูงขึ้นมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) และการเสริม DCP มีผลทำให้สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสดีขึ้นด้วย (p<0.05) ปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสสูงที่สุด (Table 7)

Table 7. Apparent digestibility coefficients of dry matter, protein, fat and phosphorus from experimental diets for sex-reversed red tilapia [1]

Experimental group	DCP	apparent digestibility coefficients (%)			
		Dry matter	Protein	Fat	Phosphorus
1(Control)		33.69±0.74	83.84±0.53	78.56±1.26	28.75±7.17
2 (AP:PP 1:1)	+	45.26±2.00^{ay}	86.11±0.21^{ay}	82.69±0.40^{a}	27.57±0.71^{ey}
3 (AP:PP 1:1)	-	36.53±0.10^{ax}	84.30±0.36^{ax}	76.15±3.74^{a}	24.13±1.32^{ex}
4 (AP:PP 1:2)	+	46.19±0.77^{bcy}	86.77±0.54^{bcy}	84.30±0.84^{b}	26.34±0.96^{dy}
5 (AP:PP 1:2)	-	49.76±0.97^{bcx}	87.38±0.10^{bcx}	87.54±0.33^{b}	20.73±4.19^{dx}
6 (AP:PP 1:3)	+	48.06±0.78^{bcy}	87.00±0.15^{bcy}	85.06±1.01^{b}	25.84±0.41^{cy}
7 (AP:PP 1:3)	-	46.22±1.86^{bcx}	86.97±0.48^{bcx}	84.72±0.60^{b}	17.45±7.18^{cx}
8 (AP:PP 1:4)	+	47.49±0.36^{by}	86.86±0.07^{by}	84.06±0.03^{b}	25.40±3.74^{by}
9 (AP:PP 1:4)	-	45.81±1.67^{bx}	86.67±0.12^{bx}	83.49±0.01^{b}	14.61±0.82^{bx}
10 (AP:PP 1:5)	+	51.38±1.90^{cy}	87.99±0.19^{cy}	85.58±0.05^{b}	24.57±1.90^{ay}
11 (AP:PP 1:5)	-	46.87±1.70^{cx}	86.90±0.73^{cx}	85.52±1.69^{b}	11.49±5.94^{ax}
Pooled SEM		1.91	0.13	1.92	12.61
Plante protein : Animal protein		p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
DCP		p<0.05	p<0.05	NS	p<0.05
Plante protein : Animal protein×DCP		p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05

[1]**Mean ± standard deviation of three replications** NS : non significant

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

PP= plant protein , AP=animal protein + : DCP , - without DCP

a,b,c ⟶ AP : PP; x,y ⟶ DCP

5. ส่วนประกอบทางโภชนาการของปลาทั้งตัว

ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางโภชนาการของปลาทั้งตัวที่ได้รับอาหารทั้ง 11 สูตร แสดงไว้ใน Table 8 ค่าความชื้น และโปรตีนของปลาไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ต่างกัน กับการเสริมและไม่เสริม DCP ในอาหาร ค่าความชื้นไม่มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชต่างกันกับการเสริมและไม่เสริม DCP ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีค่าความชื้นต่ำกว่าทุกชุดการทดลอง ค่าโปรตีนของตัวปลาพบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1 มีค่าต่ำที่สุด และแตกต่างจากสูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และมีค่าต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม (สูตรที่ 1) ส่วนการเสริมและไม่เสริม DCP ไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) (Table 8)

ส่วนค่า ไขมัน เถ้า และฟอสฟอรัสของปลาทั้งตัว พบว่า ปัจจัยทั้ง 2 คือ สัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชกับการเสริมและไม่เสริม DCP ในอาหารมีปฏิสัมพันธ์กัน และมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p<0.05) โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารในสูตรที่ 8 และ 9 (AP:PP เท่ากับ 1:4) มีไขมันในตัวต่ำที่สุด และแตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ (p<0.05) รวมถึงปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) เถ้าและฟอสฟอรัสในตัวปลา พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของปลาป่นสูงมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของปลาป่นต่ำกว่า (p<0.05) และการเสริม DCP มีผลทำให้ปริมาณเถ้าและฟอสฟอรัสในตัวปลาสูงขึ้น (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีค่าฟอสฟอรัสในตัวปลาสูงที่สุด(Table8)

Table 8. Whole body composition (%) of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets for 8 week [1]

Experimental group	DCP	Moisture	Protein	Fat	Ash	Phosphorus
Fish initial		72.67±031	50.14±0.90	30.85±0.14	16.46±0.01	2.39±0.18
1(Control)		73.47±0.12	56.73±0.80	22.96±0.14	16.77±0.39	2.59±0.05
2 (AP:PP 1:1)	+	74.47±0.05	55.20±0.38^{a}	22.66±0.31^{by}	16.69±0.18^{cy}	2.34±0.03^{by}
3 (AP:PP 1:1)	-	73.78±0.13	55.11±2.88^{a}	22.19±0.22^{bx}	16.80±0.48^{cx}	2.36±0.08^{bx}
4 (AP:PP 1:2)	+	74.09±1.09	58.82±2.15^{b}	22.32±0.02^{by}	15.51±0.06^{by}	2.32±0.09^{by}
5 (AP:PP 1:2)	-	74.40±0.72	61.44±1.58^{b}	22.64±0.07^{bx}	15.90±0.11^{bx}	2.06±0.02^{bx}
6 (AP:PP 1:3)	+	74.41±0.55	60.77±1.60^{b}	20.29±0.17^{by}	17.21±0.43^{by}	2.61±0.00^{by}
7 (AP:PP 1:3)	-	74.70±0.65	58.75±0.41^{b}	24.51±0.14^{bx}	14.65±0.17^{bx}	2.10±0.01^{bx}
8 (AP:PP 1:4)	+	74.04±0.05	58.65±0.49^{b}	21.10±0.07^{ay}	17.01±0.08^{by}	2.37±0.05^{by}
9 (AP:PP 1:4)	-	74.90±1.24	59.14±1.30^{b}	22.02±0.18^{ax}	14.83±0.19^{bx}	2.02±0.11^{bx}
10(AP:PP 1:5)	+	74.21±1.46	57.36±0.92^{b}	21.91±0.75^{by}	15.41±0.05^{ay}	2.24±0.12^{ay}
11(AP:PP 1:5)	-	74.21±1.46	59.02±0.27^{b}	23.40±0.35^{bx}	14.40±0.58^{ax}	1.52±0.36^{ax}
Pooled SEM		0.45	2.11	0.092	0.086	0.018
Plante protein : Animal protein		NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05
DCP		NS	NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05
Plante protein : Animal protein×DCP		NS	NS	p<0.05	p<0.05	p<0.05

[1]**Mean ± standard deviation of three replications** NS : non significant

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

PP= plant protein , AP=animal protein + : DCP , - without DCP

a,b,c ⟶ AP : PP; x,y ⟶ DCP

6. ส่วนประกอบทางโภชนาการของมูลปลาทดลอง

จากการวิเคราะห์โภชนาการของมูลปลา พบว่า โปรตีน ไขมัน และเถ้าของมูลปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 11 สูตร พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช กับการเสริมและไม่เสริม DCP ดังแสดงใน Table 9

โปรตีนในมูลปลา พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชต่างกัน และที่เสริมและไม่เสริม DCP ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีค่าโปรตีนในมูลปลาต่ำที่สุด(Table 9) ไขมันในมูลปลาที่ได้รับอาหารสูตรที่ 1 (AP:PP = 1:1) มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ (p<0.05) และมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) ขณะที่การเสริม DCP ไม่ส่งผลต่อไขมันในมูลปลา (p>0.05) (Table 9)

เถ้าในมูลปลา พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1 มีปริมาณเถ้าในมูลสูงที่สุด รองลงมาคือ 1:2, และ1:3 ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช1:4 และ 1:5 มีปริมาณเถ้าในมูลต่ำที่สุด (p<0.05) และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม DCP ทำให้ปริมาณเถ้าในมูลสูงกว่าปลาที่มีได้อาหารไม่เสริม DCP (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีเถ้าในมูลปลาสูงที่สุด (Table 9)

ฟอสฟอรัสในมูล พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่แตกต่างกัน และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม DCP ทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสในมูลสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP (p<0.05) และสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) (Table 9)

Table 9. Chemical composition of feces of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets for 8 week [1]

Experimental group	DCP	Composition (%)			
		Protein	Fat	Ash	Phosphorus
1(Control)		7.45±0.16	2.08±0.09	27.54±0.37	1.67±0.13
2 (AP:PP 1:1)	+	7.86±0.17	2.10±0.02 ^{b}	26.48±0.13 ^{cy}	1.83±0.04 ^{y}
3 (AP:PP 1:1)	-	7.79±0.19	2.54±0.44 ^{b}	26.23±0.61 ^{cx}	1.69±0.04 ^{x}
4 (AP:PP 1:2)	+	7.80±0.21	1.98±0.05 ^{a}	24.23±0.82 ^{by}	1.90±0.05 ^{y}
5 (AP:PP 1:2)	-	7.89±0.21	1.70±0.01 ^{a}	22.72±0.28 ^{bx}	1.52±0.02 ^{x}
6 (AP:PP 1:3)	+	7.91±0.03	1.97±0.09 ^{a}	25.28±0.12 ^{by}	1.87±0.02 ^{y}
7 (AP:PP 1:3)	-	7.68±0.02	2.01±0.01 ^{a}	22.51±0.34 ^{bx}	1.39±0.12 ^{x}
8 (AP:PP 1:4)	+	7.94±0.01	1.98±0.01 ^{a}	23.52±0.32 ^{ay}	1.99±0.04 ^{y}
9 (AP:PP 1:4)	-	7.85±0.17	2.04±0.06 ^{a}	21.26±0.79 ^{ax}	1.43±0.02 ^{x}
10(AP:PP 1:5)	+	7.85±0.18	1.98±0.07 ^{a}	22.55±0.62 ^{ay}	1.98±0.13 ^{y}
11(AP:PP 1:5)	-	7.83±0.18	1.82±0.16 ^{a}	21.00±0.61 ^{ax}	1.43±0.08 ^{x}
Pooled SEM		0.025	0.025	0.28	0.005
Plante protein : Animal protein		NS	p<0.05	p<0.05	NS
DCP		NS	NS	p<0.05	p<0.05
Plante protein : Animal protein×DCP		NS	NS	NS	p<0.05

[1]**Mean ± standard deviation of three replications** NS : non significant

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

PP= plant protein , AP=animal protein + : DCP , - without DCP

a,b,c ⟶ AP : PP; x,y ⟶ DCP

7. ปริมาณเถ้าและฟอสฟอรัส ในกระดูก

เถ้าและฟอสฟอรัส ในกระดูกของปลาทดลอง แสดงใน Table 10 โดยพบว่า เถ้าในกระดูกของปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 11 สูตร มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชกับการเสริมและไม่เสริม DCP โดยเถ้าในกระดูกมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p<0.05) ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช1:2 มีค่าสูงที่สุด และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม DCP ทำให้ปริมาณเถ้าในกระดูกสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีเถ้าในกระดูกสูงที่สุด (Table 10)

ค่าฟอสฟอรัสในกระดูกของปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 11 สูตร ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชกับการเสริมและไม่เสริม DCP โดยฟอสฟอรัสในกระดูกมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p<0.05) ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชมีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) แต่ไม่ได้แปรผันตามสัดส่วนของโปรตีนจากพืชที่เพิ่มสูงขึ้น และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม DCP ทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสในกระดูกสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP (p<0.05) ส่วนปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีฟอสฟอรัสในกระดูกสูงที่สุด (Table 10)

Table 10. Bone ash and bone phosphorus of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets for 8 week [1]

Experimental group	DCP	Bone ash (%)	bone phosphorus (%)
1(Control)		54.65±0.44	10.77±0.13
2 (AP:PP 1:1)	+	51.91±0.08 ^{ay}	9.84±1.19 ^{by}
3 (AP:PP 1:1)	-	52.97±0.21 ^{ax}	10.25±1.12 ^{bx}
4 (AP:PP 1:2)	+	52.37±0.22 ^{cy}	10.03±0.19 ^{aby}
5 (AP:PP 1:2)	-	47.39±0.04 ^{cx}	9.02±0.01 ^{abx}
6 (AP:PP 1:3)	+	49.05±0.31 ^{by}	9.75±0.19 ^{aby}
7 (AP:PP 1:3)	-	47.06±0.29 ^{bx}	9.58±0.33 ^{abx}
8 (AP:PP 1:4)	+	52.24±0.31 ^{ay}	9.58±0.22 ^{ay}
9 (AP:PP 1:4)	-	39.18±0.18 ^{ax}	7.51±0.08 ^{ax}
10(AP:PP 1:5)	+	48.78±0.35 ^{ay}	9.53±0.32 ^{aby}
11(AP:PP 1:5)	-	42.29±0.26 ^{ax}	8.45±0.38 ^{abx}
Pooled SEM		0.061	0.38
Plant protein : Animal protein		p<0.05	p<0.05
DCP		p<0.05	p<0.05
Plant protein : Animal protein×DCP		p<0.05	NS

[1]**Mean ± standard deviation of three replications** NS : non significant

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

PP= plant protein , AP=animal protein + : DCP , - without DCP

a,b,c ⟶ AP : PP; x,y ⟶ DCP

8. ฟอสฟอรัสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัม

ค่าฟอสฟอรัส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัมของปลาทดลอง แสดงใน Table 11 โดยพบว่า ค่าฟอสฟอรัส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัม ของปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 11 สูตร ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช กับการเสริมและไม่เสริม DCP โดยฟอสฟอรัสในซีรัม มีความแตกต่างกันระหว่างชุดการทดลอง (p<0.05) ปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:2 และ 1:3 มีค่าสูงที่สุด ส่วนปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:5 มีฟอสฟอรัสในซีรัมต่ำที่สุดและต่ำกว่าชุดควบคุม ปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมและ ไม่เสริม DCP มีค่าฟอสฟอรัสในซีรัมไม่แตกต่างกัน (p>0.05) (Table 11)

ค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัมของปลานิลที่ได้รับอาหารทั้ง 11 สูตร พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) ในปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชแตกต่างกัน และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมและ ไม่เสริม DCP มีค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัมไม่แตกต่างกัน (p>0.05) (Table 11)

Table 11. Serum phosphorus content and serum alkaline phosphatase activity of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets for 8 week [1]

Experimental group	DCP	Serum phosphorus (mg/dl)	Serum alkaline phosphatase activity (IU/l)
1(Control)		19.65±2.05	18.00±5.66
2 (AP:PP 1:1)	+	22.40±3.11 [ab]	25.00±4.24
3 (AP:PP 1:1)	-	21.75±0.78 [ab]	14.00±1.41
4 (AP:PP 1:2)	+	24.60±0.71 [b]	18.50±2.12
5 (AP:PP 1:2)	-	23.55±1.63 [b]	24.00±2.83
6 (AP:PP 1:3)	+	25.20±1.70 [b]	23.50±6.36
7 (AP:PP 1:3)	-	24.65±0.35 [b]	17.50±6.36
8 (AP:PP 1:4)	+	23.05±2.19 [ab]	18.50±6.36
9 (AP:PP 1:4)	-	22.00±2.97 [ab]	22.50±2.12
10(AP:PP 1:5)	+	20.35±1.77 [a]	16.50±0.71
11(AP:PP 1:5)	-	16.40±2.83 [a]	21.00±4.24
Pooled SEM		4.12	17.7
Plante protein : Animal protein		p<0.05	NS
DCP		NS	NS
Plante protein : Animal protein×DCP		NS	NS

[1]**Mean ± standard deviation of three replications** NS **:** non significant

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

PP= plant protein , AP=animal protein + : DCP , - without DCP

a,b,c ⟶ AP : PP; x,y ⟶ DCP

9. ความชื้นในเนื้อปลา โปรตีนในเนื้อปลา ไขมันในเนื้อปลาและไขมันในเครื่องในของปลานิล

จากการวิเคราะห์ ความชื้นในเนื้อปลา โปรตีนในเนื้อปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 11 สูตร พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช กับการเสริมและไม่เสริม DCP ดังแสดงใน Table 12 โดยความชื้นในเนื้อปลา พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1 มีความชื้นในเนื้อปลาสูงที่สุด และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมและไม่เสริม DCP มีความชื้นในเนื้อปลาไม่แตกต่างกัน (p>0.05) ส่วนโปรตีนในเนื้อปลาพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง (p>0.05) ของปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนพืชต่อโปรตีนสัตว์แตกต่างกันและเสริมและไม่เสริม DCP ส่วนปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม (สูตรที่ 1) มีโปรตีนในเนื้อต่ำที่สุด (Table 12)

ไขมันในเนื้อปลาของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 11 สูตร พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช กับการเสริมและไม่เสริม DCP โดยไขมันในเนื้อปลาพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:3 มีไขมันในเนื้อปลาสูงแตกต่างกับชุดการทดลองอื่นๆ (p<0.05) และมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม (สูตรที่ 1) และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมและไม่เสริม DCP มีไขมันในเนื้อปลาไม่แตกต่างกัน (p>0.05) (Table 12)

ไขมันในเครื่องในปลาของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 11 สูตร พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช กับการเสริมและไม่เสริม DCP พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:4 มีไขมันในเครื่องในปลาสูงที่สุด (p<0.05) และมีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารในชุดควบคุม (สูตรที่ 1) รองลงมา คือ 1:2, 1:5 และ 1:3 ตามลำดับ และปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืช 1:1 มีไขมันในเครื่องในต่ำที่สุด (p<0.05) และปลาที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม DCP จะมีไขมันในเครื่องในปลาแตกต่างกับปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริม DCP (p<0.05) (Table 12)

Table 12. Moisture, protein, fat contents of muscle and visceral fat content of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets for 8 week [1]

Experimental group	DCP	Composition (%)			
		Muscle moisture	Muscle protein	Muscle fat	visceral fat
1 (Control)		79.01±0.42	84.28±0.64	4.49±0.00	50.54±3.68
2 (AP:PP 1:1)	+	78.96±0.14 ^{b}	84.78±0.40	4.20±0.12 ^{a}	43.85±1.60 ^{ay}
3 (AP:PP 1:1)	-	79.30±0.20 ^{b}	85.31±0.30	3.42±0.07 ^{a}	43.89±1.39 ^{ax}
4 (AP:PP 1:2)	+	79.02±0.15 ^{ab}	85.80±0.08	3.42±0.12 ^{a}	55.06±0.43 ^{dy}
5 (AP:PP 1:2)	-	78.38±0.22 ^{ab}	84.59±0.08	4.13±0.01 ^{a}	55.30±1.29 ^{dx}
6 (AP:PP 1:3)	+	78.31±0.63 ^{ab}	84.73±0.27	4.63±0.11 ^{b}	53.74±0.12 ^{by}
7(AP:PP 1:3)	-	78.57±0.30 ^{ab}	84.73±0.27	3.86±0.06 ^{b}	45.21±0.55 ^{bx}
8(AP:PP 1:4)	+	78.48±0.26 ^{a}	84.73±0.27	3.70±0.17 ^{a}	62.38±0.40 ^{ey}
9(AP:PP 1:4)	-	78.13±0.44 ^{a}	84.73±0.27	4.31±0.03 ^{a}	56.60±0.58 ^{ex}
10 (AP:PP 1:5)	+	79.17±0.17 ^{ab}	84.73±0.27	3.53±0.01 ^{a}	51.32±0.23 ^{cy}
11(AP:PP 1:5)	-	78.12±0.38 ^{ab}	84.73±0.27	4.00±0.24 ^{a}	53.52±0.41 ^{cx}
Pooled SEM		0.105	0.330	0.013	1.37
Plante protein : Animal protein		p<0.05	NS	p<0.05	p<0.05
DCP		NS	NS	NS	p<0.05
Plante protein : Animal protein×DCP		NS	NS	p<0.05	p<0.05

[1] **Mean ± standard deviation of three replications** NS : non significant

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

PP= plant protein , AP=animal protein + : DCP , - without DCP

a,b,c ⟶ AP : PP; x,y ⟶ DCP

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ระดับ 1:1, 1:2 และ 1:3 (สูตรที่ 2-7) มีผลให้การเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน และดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่ระดับ 1:4 (สูตรที่ 8-9) และ 1:5 (สูตรที่ 10-11) ทั้งนี้พบว่าหากมีการเพิ่มปริมาณวัตถุดิบพืชในอาหารให้สูงขึ้น จะทำให้การเจริญเติบโตของปลาและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำลง สอดคล้องกับการทดลองของ Rumsey และคณะ (1993,1994); Stickney และคณะ (1996); Kim และคณะ (1998) แสดงให้เห็นว่า ปลานิลมีความสามารถในการใช้วัตถุดิบพืชแทนที่ปลาป่นได้ในปริมาณที่จำกัด โดยพบว่า สัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความสามารถในการใช้ประโยชน์จากโปรตีนจากวัตถุดิบพืชได้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับคุณค่าทางอาหารและสารต้านโภชนาการ (anti-nutritional factor) ที่มีในวัตถุดิบพืชแต่ละชนิด (NRC, 1993) ได้แก่สารยับยั้งทริพซิน (trypsin inhibitor) โกสสิโพล (gossypol) กรดไขมันไซโคลโพรพีน (cyclopropene fatty acid) และไมโมซีน (mimosin) (Francis *et al*.,2001) นอกจากนี้เยื่อใย (fiber) ในปริมาณสูงในวัตถุดิบพืช เป็นสารอาหารที่ปลาไม่สามารถย่อยได้ ผลการทดลองครั้งนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของวุฒิพรและอัจฉริยา (2548) ที่พบว่า เมื่อมีการเพิ่มสัดส่วนพืชในอาหารสูงขึ้นทำให้การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิลแดงแปลงเพศลดลง ในวงการอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์น้ำได้มีความพยายามที่จะลดต้นทุนการผลิตอาหาร โดยลดปริมาณปลาป่นซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนหลักที่มีคุณภาพสูง ขณะเดียวกันราคาของวัตถุดิบชนิดนี้ก็สูงตามไปด้วย โดยการใช้วัตถุดิบชนิดอื่นมาทดแทน แต่ก็อาจจะประสบปัญหาดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ในการสร้างสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลา นักโภชนศาสตร์สัตว์น้ำมักพิจารณาถึงสารอาหารโมเลกุลใหญ่ที่เป็นแหล่งในการให้พลังงานและเพิ่มการเจริญเติบโตแก่ปลาโดยตรง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งนอกเหนือจากสารอาหารเหล่านี้แล้ว สารอาหารที่ปลาต้องการในปริมาณน้อยโดยเฉพาะพวกแร่ธาตุก็จัดว่ามีความสำคัญต่อปลาเช่นกัน โดยเฉพาะฟอสฟอรัส ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของเนื้อเยื่อกระดูก และมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทโบลิซึม ซึ่งรวมถึงการสร้างพลังงานให้เซลล์ ทั้งนี้จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่า 2 ใน 3 ส่วนของฟอสฟอรัสที่อยู่ในพืชอยู่ในรูปไฟเตท (phytates) (Lall, 1991) ซึ่งปลาไม่สามารถนำไปใช้ได้เนื่องจากขาดเอนไซม์ไฟเตส (phytase) ที่ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์ (hydrolyse) ฟอสฟอรัสดังกล่าวให้อยู่ในรูปออโทฟอสเฟต (orthophosphate) (Yan *et al*., 2002) ดังนั้นจากผลการทดลองครั้งนี้จะเห็นได้ว่า ในปลากลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของวัตถุดิบพืชสูงขึ้นและไม่ได้เสริม DCP จะทำให้การเจริญเติบโตของปลาต่ำกว่ากลุ่มที่เสริม DCP อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ปลากลุ่มที่ได้รับการเสริม DCP (ชุดการทดลองที่ 2, 4, 6, 8, 10) แม้ว่าผลการวิเคราะห์ทางสถิติจะมีความแตกต่างกันดังที่ได้กล่าวไปข้างต้น แต่เมื่อพิจารณาจากน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาในชุดการทดลองดังกล่าวก็มิได้แตกต่างกันมากนัก เหตุที่

เป็นเช่นนี้เนื่องจากการปรับปริมาณฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (available phosphorus) ของปลาในชุดการทดลองที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 ให้ใกล้เคียงกันคือ 0.6% (โดยการคำนวณ) มีผลทำให้ปลาสามารถนำฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของวุฒิพรและอัจฉริยา (2548) ที่พบว่า เมื่อมีการเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารปลาที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชที่แตกต่างกัน พบว่าไฟเตส 1,000 ยูนิต/อาหาร 1 กก. ทำให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และสัมประสิทธิ์การย่อยอาหารของปลานิลแดงแปลงเพศมีผลในทางบวก เนื่องจากไฟเตสจะทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกรดไฟติกหรือไฟเตท โดยทำให้ฟอสเฟตหลุดออกจากโมเลกุลของไฟเตททีละตัว เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ตัวกลางที่มีชื่อว่า อินโนซิทอล เพนตะฟอสเฟต (inositol pentaphosphate) คือมีอินโนซิทอลจับอยู่กับฟอสเฟต 5 กลุ่ม จากนั้นถูกย่อยต่อไปได้เป็น อินโนซิทอล เตตราฟอสเฟต (inositol tetraphosphate) อินโนซิทอล ไตรฟอสเฟต (inositol triphosphate) อินโนซิทอล ไดฟอสเฟต (inositol diphosphate) และ อินโนซิทอล โมโนฟอสเฟต (inositol monophosphate) ตามลำดับ จนกระทั่งหมู่ฟอสเฟตที่จับอยู่กับอินโนซิทอลถูกย่อยสลายออกมาทั้ง 6 โมเลกุล (Jongbloed *et al*., 1993) สอดคล้องกับการทดลองของวุฒิพรและอัจฉริยา (2548) ที่ทำการศึกษาในปลานิลแดงแปลงเพศ พบว่าเอนไซม์ไฟเตสส่งเสริมการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารปลา และสอดคล้องกับการทดลองของ Li และ Robinson (1997) ที่ทดลองในปลากดอเมริกัน พบว่า การเสริมเอนไซม์ไฟเตสในอาหารช่วยให้ปลาสามารถใช้โปรตีน ฟอสฟอรัส และแร่ธาตุอื่นๆ จากวัตถุดิบได้เพิ่มขึ้น โดยไม่ต้องเสริมอนินทรีย์ฟอสเฟตในอาหาร ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการผลิตอาหารโดยสามารถทดแทนวัตถุดิบจากพืชในอาหารปลาได้เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเป็นทางเลือกสำหรับโรงงานอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งจะกล่าวถึงต่อไป

ความต้องการฟอสฟอรัสของปลานอกจากจะมีผลต่อการเจริญเติบโตแล้ว ยังส่งผลต่อประสิทธิภาพการใช้อาหารด้วย (Shearer, 1995) ซึ่งจากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่า ปลาในกลุ่มที่ได้รับ DCP จะมีค่า FCR, PER และ ANPU ดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารกลุ่มที่ไม่เสริม DCP ทั้งนี้อาจมีปัจจัยอื่นๆ ที่เข้ามามีส่วนเกี่ยวข้อง ได้แก่ อายุ, ระยะเวลาของการพัฒนาการ, องค์ประกอบของอาหารและสุขภาพของปลา โดยทั่วไปสัตว์ที่อายุน้อยจะมีความไวต่อการขาดสารอาหารมากกว่าสัตว์ที่มีขนาดโตกว่า เนื่องจากในช่วงที่สัตว์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจะมีความต้องการในการใช้พลังงานเพื่อการนี้อย่างมีประสิทธิภาพ

เมื่อพิจารณาถึงค่าสัมประสิทธิ์การย่อย พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของวัตถุดิบจากพืชสูง (สัดส่วนของปลาป่นต่อวัตถุดิบจากพืชสูงขึ้น) มีแนวโน้มที่จะทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยโปรตีนและไขมันดีขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของวุฒิพรและอัจฉริยา (2548) ทั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าการใช้ส่วนประกอบของวัตถุดิบจากสัตว์ (ปลาป่น) และจากพืช ในสัดส่วนที่เหมาะสม และไม่มากจนเกินไปก็จะไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยอาหารของปลา โดยในการทดลองนี้วัตถุดิบจากพืชหลักที่มี

โปรตีนสูงและใช้แทนที่ปลาป่นคือกากถั่วเหลือง สอดคล้องกับการทดลองอื่นๆที่พบว่าปลานิลสามารถย่อยกากถั่วเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Popma, 1982; Degani *et al*., 1997) และจากการศึกษาโดย Phromkunthong *et al*. (2007b) พบว่า สัมประสิทธิ์การย่อยโปตีนของถั่วเหลืองสูงถึง 92.50 % ยกเว้นค่าสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มสัดส่วนของวัตถุดิบจากพืชในอาหารสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม การเสริม DCP ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การย่อยสารอาหารทั้ง 3 ชนิดดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของPhromkunthong and Udom (2007) ทั้งนี้การที่สัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัสมีค่าลดลงเนื่องจาก เมื่อมีการเพิ่มสัดส่วนวัตถุดิบพืชในอาหารสูงขึ้นจะทำให้ปริมาณไฟเตทในอาหารสูตรนั้นๆสูงตามไปด้วย ทำให้ปลาไม่สามารถย่อยฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้เต็มที่ และเมื่อมีการเสริม DCP ลงในอาหารที่มีวัตถุดิบจากพืชสูงขึ้น ทำให้ non phytate phosphorus สูงขึ้นตามไปด้วย ทำให้สัมประสิทธิ์การย่อยอาหารของปลาดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Phromkunthong *et al*., (2007)

สัดส่วนของโปรตีนจากสัตว์ต่อโปรตีนจากพืช ส่งผลต่อองค์ประกอบทางโภชนาการของปลานิลแดงแปลงเพศทั้งตัว (whole body compositions) โดยพบว่า แนวโน้มของโปรตีนในตัวปลามีค่าสูงขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของโปรตีนจากพืชสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของวุฒิพรและอัจฉริยา (2548) แต่การเสริม DCP ไม่ส่งผลต่อองค์ประกอบของโปรตีนในตัวปลา ในทางตรงกันข้ามการเสริม DCP ในอาหารส่งผลให้ฟอสฟอรัสในตัวปลา เถ้าในตัวปลา และฟอสฟอรัสในกระดูกของปลานิลแดงแปลงเพศจากการทดลองนี้สูงกว่าปลาในกลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากฟอสฟอรัสทำหน้าที่สำคัญในการเป็นโครงสร้างของกระดูก ความเข้มข้นหรือปริมาณของฟอสฟอรัสในกระดูกจะสัมพันธ์โดยตรงกับระดับฟอสฟอรัสในอาหารที่ปลากินเข้าไป (Ogino and Takeda, 1978; Sakamoto and Yone, 1978; Chavez-Sanchez *et al*., 2000) ดังนั้นจึงนิยมใช้ค่าฟอสฟอรัสในกระดูกและฟอสฟอรัสในตัวปลาเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงความไว (sensitive criterium) ของการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสในปลาน้ำจืด (Jahan *et al*., 2001) และปลาทะเล (Borlongan and Satoh, 2001) การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Phromkunthong and Udom (2007) และได้ใช้ค่าดังกล่าวนี้เป็นตัวชี้วัดระดับถึงความต้องการฟอสฟอรัสในปลานิลแดงแปลงเพศ

จากการทดลองนี้พบว่า ฟอสฟอรัสในซีรัมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างปลากลุ่มที่เสริมและไม่เสริม DCP จากการทดลองของ Phromkunthong and Udom (2007) พบว่า ระดับของฟอสฟอรัสในซีรัมจะเพิ่มขึ้นตามระดับของฟอสฟอรัสที่เสริมในอาหาร แต่อย่างไรก็ตาม จากการทดลองนี้จะเห็นว่าแนวโน้มของปลานิลแดงแปลงเพศที่ได้รับอาหารเสริม DCP สูงกว่าในกลุ่มที่ไม่เสริม ส่วนการที่ระดับฟอสฟอรัสในซีรัมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอาจเนื่องมาจากระดับฟอสฟอรัสที่กำหนดในทุกกลุ่มปลาที่เสริม DCP คำนวณให้ได้ค่าฟอสฟอรัสที่นำไปใช้ประโยชน์ได้

(available phosphorus, AVP) เพียง 0.6 % ซึ่งอาจต่ำกว่าระดับที่ปลาชนิดนี้ต้องการ เพื่อนำไปใช้สะสมในซีรัม โดยจากการทดลองของ Phromkunthong and Udom (2007) พบว่าระดับของ AvP ที่เหมาะสมสำหรับปลานิลแดงแปลงเพศคือ 0.76-0.79 % ทั้งนี้ เป็นที่ทราบกันว่า ฟอสฟอรัสในซีรัมจะเพิ่มขึ้นตามระดับ AVP ในอาหาร จากการศึกษาพบว่า ปลาจะมีกระดูกเป็นแหล่งสะสมสำคัญของแคลเซียม ฟอสฟอรัส รวมถึงไอออน (ion) ต่างๆ ที่จะเป็นตัวควบคุม electrolytes ในเลือด และ extracellular fluids (Lall, 2002) จากการทดลองในปลาหลายชนิดได้แก่ ปลากดอเมริกัน (Eya and Lovell, 1997), ปลาแฮดด็อก (haddock) (Roy and Lall, 2003), ปลากะพงญี่ปุ่น (Japanese seabass) (Zhang *et al*., 2006) Roy and Lall (2003) เสนอแนะว่า ความเข้มข้นของพลาสมาและพลาสมาฟอสเฟตมีผลมาจากหลายปัจจัย ซึ่งรวมถึงปัจจัยด้านอาหารและสรีรวิทยาของปลาเอง (Cross *et al*., 1990) Rodehutscord (1996) พบว่า ความเข้มข้นของพลาสมาฟอสเฟตที่เขาศึกษามีค่าของช่วงที่วัดได้แตกต่างกันมาก ทั้งนี้เขาสรุปว่าเกิดเนื่องจากช่วงความแตกต่างของระยะเวลาหลังจากที่ปลาได้รับอาหาร และจากวิธีการในการเก็บตัวอย่างเลือด การหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ค่าดังกล่าวจะทำให้ได้ค่าที่มีความเที่ยงตรงยิ่งขึ้น (Roy and Lall, 2003) นอกจากนี้ยังมีรายงานจากการทดลองที่ผ่านมาที่กล่าวถึงความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเลือดที่มีผลมาจากอาหาร สรีรวิทยาของปลา และสภาพแวดล้อมที่ปลาอาศัยด้วย (Cross *et al*., 1990) ดังนั้นการใช้ค่าฟอสฟอรัสในพลาสมาหรือซีรัมจึงอาจยังไม่เหมาะที่จะใช้เป็นตัวชี้วัดถึงการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสรวมถึงนำไปสรุประดับความต้องการฟอสฟอรัสของปลา จนกว่าจะมีข้อสรุปที่ชัดเจนถึงกระบวนการที่ได้ศึกษาถึงการที่ฟอสฟอรัสเข้าไปมีผลในการรักษาสมดุล (homeostasis) ของปลาอย่างแท้จริง (Eya and Lovell, 1997; Skoberg *et al*., 1997; Roy and Lall, 2003) สำหรับค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัมที่วัดได้จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่เสริม และไม่เสริม DCP ทั้งนี้อาจอธิบายได้ด้วยเหตุผลเดียวกับที่ได้กล่าวมาในเรื่องระดับของฟอสฟอรัสในซีรัม ซึ่งโดยปกติแล้วอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจะมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับเมทาโบลิซึมของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในการนำไปใช้ในการสร้างกระดูกในนก (Vielma *et al*., 1991) ดังนั้นหากค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงขึ้นจะส่งผลต่อการสร้างกระดูกรวมทั้งในปลาด้วย (Kaplan, 1972) จากการทดลองของ Phromkunthong and Udom (2007) พบว่า ระดับของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามระดับของฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นในอาหาร ซึ่งเขาอธิบายว่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสมีผลต่อการนำเอาแร่ธาตุไปสร้างเป็นกระดูก อย่างไรก็ตาม ยังมีงานวิจัยที่ขัดแย้งกันเกี่ยวกับเรื่องนี้ โดย Sakamoto and Yone (1980) พบว่า ปลาเรดซีบรีมที่ได้รับฟอสฟอรัสในอาหารในปริมาณต่ำแต่ทำให้ค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในพลาสมาสูงขึ้น ในขณะที่ Shearer and Hardy (1987) พบว่าค่าอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในพลาสมาของปลาเรนโบว์เทราท์ไม่มีความแตกต่างกันแม้จะได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสพอเพียงหรือขาดฟอสฟอรัสก็ตาม ความแตกต่างจากข้อสรุปทั้งหลายดังกล่าวนี้อาจเกิดมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ คุณสมบัติทางเคมีของน้ำ (Bowser *et al*., 1989) อาหารที่ปลากิน (Sauer and

Haider, 1979) อุณหภูมิ (Sauer and Haider, 1977; Sakaguchi and Hamaguchi, 1979; Lie *et al*., 1988) และช่วงอายุของปลา (Johnston *et al*., 1994)

การที่ปริมาณไขมันในเครื่องใน (visceral fat) มีค่าสูงขึ้น เมื่อปลาได้รับอาหารที่มีสัดส่วนจากวัตถุดิบพืชสูงขึ้น และแม้ว่าจะมีการเสริม DCP ลงไปก็ไม่มีผลทำให้ค่าดังกล่าวลดลง ทั้งนี้อธิบายได้ว่าอาจเนื่องจาก AvP ในกลุ่มปลาที่เสริม DCP ไม่สูงเพียงพอที่มีผลต่อปัจจัยดังกล่าว ทั้งนี้จากการทดลองของ Phromkunthong and Udom (2007a) พบว่า ระดับของไขมันในเครื่องในจะลดลงเมื่อปลาได้รับอาหารที่มีฟอสฟอรัสในอาหารสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับที่มีรายงานในปลาเรดซีบรีม (Sakamoto and Yone, 1978) การที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากฟอสฟอรัสมีส่วนช่วยในปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงานในเซลล์ (oxidative phosphorylation)

จากการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในมูลปลาพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารเสริมฟอสฟอรัสในทุกกลุ่มจะมีฟอสฟอรัสในมูลสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Phromkunthong *et al*. (2007a) ที่พบว่าค่า phosphorus load ในกลุ่มปลาที่ได้รับอาหารเสริม DCP ในระดับที่สูง จะมีค่าสูงกว่ากลุ่มปลาที่ได้รับ DCP ที่ต่ำกว่า และสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ไฟเตส ดังนั้นจึงอาจเป็นทางเลือกหนึ่งในการผลิตอาหารสำหรับเลี้ยงปลาโดยการเลือกใช้เอนไซม์ไฟเตสร่วมกับอนินทรีย์ฟอสเฟต หรืออาจเลือกใช้เอนไซม์ไฟเตสแทนอนินทรีย์ฟอสเฟต เพราะนอกจากเอนไซม์ไฟเตสจะให้ผลต่อการเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสซึ่งไม่ต่างจากการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวแล้ว ไฟเตสยังไม่ส่งผลต่อการขับฟอสฟอรัสสู่แหล่งน้ำน้อยกว่าการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตด้วย (Phromkunthong *et al*., 2007a)

สรุป

จากการศึกษาผลของอาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนพืชแตกต่างกัน 5 ระดับ และการเสริม DCP ต่อการเจริญเติบโต และการใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสของปลานิลแดงแปลงเพศ น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 20 กรัม สามารถสรุปได้ดังนี้

1. อาหารที่มีสัดส่วนโปรตีนสัตว์ต่อโปรตีนจากพืช 1:3 เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมสำหรับปลานิลแดงแปลงเพศ โดยพิจารณาจากการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร

2. การเสริม DCP ในอาหารทุกสูตร ส่งผลให้การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร รวมทั้งสัมประสิทธิ์การย่อยฟอสฟอรัส การสะสมของฟอสฟอรัสในตัวปลา ในเถ้า และในกระดูกสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม

3. การเสริม DCP ในอาหารทุกสูตรมีผลทำให้ฟอสฟอรัสในมูลปลาสูงตามไปด้วย ซึ่งอาจส่งผลต่อฟอสฟอรัสที่ขับถ่ายลงสู่แหล่งน้ำ ดังนั้นการสร้างสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลาในอนาคตอาจ

ต้องคำนึงถึงปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับถ่ายสู่แหล่งน้ำ หากมีการควบคุมจากภาครัฐถึงปริมาณแร่ธาตุจากบ่อเลี้ยงปลาลงในแหล่งน้ำธรรมชาติ แนวทางเลือกหนึ่งที่อาจจะลดการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟต และสามารถทำให้เสริมวัตถุดิบพืชได้สูงขึ้นในอาหารคือการเลือกใช้เอนไซม์ไฟเตสร่วมกับอนินทรีย์ฟอสเฟต หรือเลือกใช้ไฟเตสเพียงอย่างเดียว ซึ่งก็สามารถทดแทนการใช้อนินทรีย์ฟอสเฟตได้ ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงต้นทุนในการผลิตด้วย

เอกสารอ้างอิง

นิรุทธิ์ สุขเกษม. 2544. ผลของระดับกากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมันต่อการเจริญเติบโตของปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. อาหารปลา. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. 211 หน้า.

วรรณชัย พรหมเกิด. 2546. ผลของวัตถุดิบพืชต่อประสิทธิภาพการย่อยอาหารและการเจริญเติบโตของปลานิลแดงแปลงเพศ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วุฒิพร พรหมขุนทอง, วิมล จันทโรทัย, นรินทร์ สงสีจันทร์ และ นพพร มานะจิตต์. 2540. ระดับโปรตีนในอาหารที่เหมาะสมต่อปลากดเหลืองขนาดปลานิ้ว. ว.สงขลานครินทร์ วทท. 19 : 327-335.

อัจฉริยา มูสโกภาศ. 2544. ผลของเอนไซม์ไฟเตสและอนินทรีย์ฟอสเฟตในการเพิ่มประสิทธิภาพ การใช้ฟอสฟอรัส จากวัตถุดิบพืชในปลาดุกพันธุ์ผสม [*Clarias macrocephalus* (Gunther) ×*Clarias gariepinus* (Burchell)] และปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* Linn.). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Akiyama and Tan, R.K.H. (Eds.), Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop. American Soybean Association, Singapore.

AOAC. (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Washington, DC: AOAC.

Anderson, J., Jackson, A.J., Matty, A.J. and Capper, B.S. 1984. Effects of dietary carbohydrate and fibre on the tilapia *Oreochromis niloticus* (Linn.). Aquaculture 37: 303-314

Chen, P.S., Toribara, T.Y. and Warner, H. 1956. Microdetermination of phosphorus. Anal. Chem. 28: 1756-1758.

Bowser, P.R., Wooster, G.A., Aluisio, A.L. and Blue, J.T. 1989. Plasma chemistries of nitrite stressed Atlantic salmon *Salmo salar*. J. World Aquac. Soc. 20: 173-180.

Chavez-Sanchez, C., Martinez-Palacios, C.A., Martinez-Oerez, G. and Ross, L.G. 2000. Phosphorus and calcium requirements in diet of the American cichlid, *Cichlasoma urophalmus* (Gunther). Aqua. Nutr. 6: 1-9.

Ciofalo, V., Barton, N., Kretz, K., Baird, J., Cook, M. and Shanahan, D. 2003. Safety evaluation of a phytase, expressed in *Schizosaccharomyces pombe*, intended for use in animal feed. Regulatory Toxicol. and Pharmacol. 37: 286-292.

Clark, J.S. 1989. The mineral requirement of finfish : A review. *In*: Proceeding of the People Republic of China Aquaculture and Feed Workshop. September 17-30. pp 288-302.

Cross. H.S., Deviec, H. and Peterlic, M. 1990. Mechanism and regulation of intestinal phosphate absorption. Miner. Electrolyte Metab. 16: 115-124.

Dato-Cajegas, C.R.S. and Yakupityage, A. 1996. The need for dietary mineral supplementation for Nile tilapia, Oreochromis niloticus cultured in a semi-intensive system. Aquaculture 144 : 227-237.

Davis, D. A. and Gatlin III, D. M., 1996. Dietary mineral requirements of fish and marine crustaceans. Rev. Fish. Sci. 4: 75–99.

Degani, G., Viols, S. and Tehuda, Y. 1997. Apparent digestibility of prouein and carbohydrate in feed ingredients for adult tilapia, (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). Isr. J. Aquacult-Bamidgeh 49: 115-123.

Dey, P.M. and Harborne, J.B. 1990. Methods in Plant Biochemistry. Vol 2. Carbohydrates. Academic Press. London.

Dupree.H.K. and Sneed, K.P. 1966. Response of channel catfish fingerling to different levels of major nutrients in purified diets. U.S.Bureau of Sports Fish and Wildlifte Tech. Pap. No.9.

Eya, J.C. and Lovell, R.T.1997. Available P requirement of food-size channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed practical diets in ponds. Aquaculture 154: 283-291.

Francis, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effect in fish. Aquaculture 199: 197-227.

Furukawa, A. and Tsukahara, H. 1966. On The Digestion method for the determination of chromicoxides as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 32: 502-506.

Hendricks, J.D. and Bailey, G.S. 1989. Adventitious toxins. In: Halver, J. E. (Ed). Fish Nutrition 2nd. edn, New York: Academic Press.

Jantrarotai, W., Sitasit, P. and Rajchapakdee, S. 1994. The optimum carbohydrate to lipid ratio in hybrid Clarias catfish (*Clarias macrocephalus* X *Clarias gariepinus*) diets containing raw broken rice. Aquaculture 127: 61-68.

Jobling, M. 1994. Fish Bioenergetics. Chapman and Hall. New York.

Johnston, C.E., Homey, B.S., Deluca, S., MacKenzie, A., Eales, J.G. and Angus, R. 1994. Changes in alkaline phosphatase isozyme activity in tissue and plasma of Atlantic salmon (*Salmo salar*) before and during smoltification and gonadal maturation. Fish Physiol. Biochem. 12: 485-497.

Jongbloed, A.W., Kemme, P.A. and Mroz, Z. 1993. The role of microbial phytase in pig production. *In*: Wenk, C. and Booessinger, M. (eds). Enzymes in Animal Nutrition. Proceedding of the 1st Symposium. Switzerland.

Kim, J.D., Kim, K.S., Song, J.S., Lee, J.Y. and Jeong, K.S. 1998. Optimum level of dietary monocalcium phosphate based on growth and phosphorus excretion of mirror carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture 161: 337-344.

Lall, S.P. 1991. Digestibility, metabolism and excretion of dietary phosphorus in fish. In: Cowey, C.B., Cho, C.Y. (Eds.), Nutritional Strategies and Aquaculture Waste. Proceedings of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste. University of Guelph, Ontario, Canada, pp. 21-36.

Lall, S.P. 2002. The minerals. *In*: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition, 3rd ed. Academic Press, San Diego, CA.

Li, M.H. and Robinson, E.H. 1997. Microbial phytase can replace inorganic phosphorus supplements in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets. J. World Aquac. Soc. 28: 402-406.

Lie, O., Waagboe, R. and Sandnes, K. 1988. Growth and chemical composition of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed dry and silage-based diets. Aquaculture 69: 343-353.

Lovell, R.T. 1998. Nutritional and feeding of fish. Auburn University. Auburn, Alabama.

Luzier, J.M. Summerfelt. R.C. and Ketala, H.G., 1995. Partial replacement of fishmeal with spray-dried blood powder to reduce phosphorus concentrations in diets for juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquac. Res. 26: 577-587.

NRC (National Research Council). 1983. Nutrient Requirements of Coldwater Fishes. National Academy of Sciences, Washington, D.C.

NRC. 1993. Nutrient Requirement of Fish. National Academy Press, Washington, D.C.

Nankervis, L., Matthews, S.J. and Appleford, P. 2000. Effect of dietary non-protein energy source on growth, nutrient and circulating insulin-like growth factor I and triiodothyronine levels in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Aquaculture 191: 323-335.

Ogino, C., and Takeda, H. 1978. Requirement of rainbow trout for dietary calcium and P in carp and rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45: 1527-1532.

Omoregie, E. and Ogbemudia, F.I. 1993. Effect of substituting fish meal with palm kernel meal on growth food utilization of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Isr. J. Aquacult. Bamidgeh 45: 113-119.

Popma, T.J., 1982. Digestibility of selected feedstuffs and naturally accurring algae by tilapia. Ph.D. Dissertation, Auburn University, Auburn, AL. USA.

Phromkunthong, W., Tudkeaw, J. and Gabaudan., J. 2007a. The supplementation of phytase Ronozyme P on the growth and the utilisation of phosphorus by sex-reversed red tilapia. Songklanakarin J. Sci. Tech. In press.

Phromkunthong, W., Tudkeaw, J. and Gabaudan., J. 2007b. Use of microbial phytase to replace inorganic phophorus in sex-reversed red tilapia :2. Phosphorus digestibility in selected feed ingredients. Songklanakarin J. Sci. Tech. In press.

Phromkunthong, W. and Udom, U. 2007. Available phosphorus requirement of sex-reversed red tilapia fed all-plants diets. Songklanakarin J. Sci. Tech. In press.

Robinson, E.H.and Wilson, R.P. 1985. Nutrition and feeding. In Channel Catfish Culture. (ed.C.S.Tucker) Development in Aquaculture and Fisheries Science, 323-404.

Roy, P.K. and Lall, S.P. 2003. Dietary P requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). Aquaculture 221: 451-468.

Rumsey, G.L., Hughes, S.G. and Winfree, R.A. 1993. Chemical and nutritional evaluation of soya protein preparations as primary nitrogen sources for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Anim. Feed Sci. Technol. 40: 135-151.

Rumsey, G.L., Siwicki, A.K., Anderson, D.P. and Bowser, P.R. 1994. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth, and protein utilization in rainbow trout. Vet. Immunol. Immunopathol. 41: 323-339.

Sakaguchi, H. and Hamaguchi, A. 1979. Physioligical studies on cultured red sea bream: I. Seasonal variation of chemical constientd in plasma, hepatopancreas and other viscera. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45: 443-448.

Sakamoto, S. and Yone, Y. 1978. Effects of dietary P on chemical composition of red sea bream. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 44: 227-229.

Sauer, D.M. and Haider, G. 1977. Enzyme activities in the serum of rainbow trout, *Salma gairdneri* Richardson: the effect of water temperature. J. Fish Biol. 11: 605-612.

Sauer, D.M. and Haider, G. 1979. Enzyme activities in the plasma of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. The effect of nutritional status and salinity. J. Fish Biol. 14: 407-412.

Shiau, S.Y., Lin, S.F., Yu, S.L., Lin, A.L. and Kwok, C.C. 1990. Defatted and full-fat soybean meal as partial replacements for fishmeal in tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) diets: protein and energy utilization. Aquaculture 128: 287-300.

Shearer, K.D.1995. The use of factorial modeling to determine the dietary requirements for essential elements in fishes. Aquaculture 133: 57– 72.

Sigma Chemical Company. 1960. The colorimetric determination of phosphorus, alkaline, acid and prostatic acid. Technical Bulletin No. 104. Revised edn, St. Louis. MO. Singh, M. and Krikorian, A.D. 1982. Inhibition of trypsin actibity in vitro by phytate. J. Agr. Food Chem 30: 799-800.

Skoberg, D.I., Yogev, L., Hardy, R.W. and Dong, F.M. 1997. Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 157: 11-24.

Stickney, R.R., Hardy, R.W., Koch, K., Harrold, R., Seawright, D. and Massee, K.C. 1996. The effects of substitution selected oilseed protein concentrates for fish meal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* diets. J. World Aquacult. Soc. 27: 57-63.

Tacon, A.G.J. 1990. Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. Nutrients Sources and Composition, vol.2. Argent Laboratories Press. Washington.

Tacon, A.G.J. 1993. Feed ingredients for warmwater fish: Fish meal and other processed feedstuffs. FAO Fisheries Circular No. 856, FAO, Rome.

Uhlig, H. 1998. Industrial enzyme and their application. John Wiley & Sons, Inc. New York.

Webster, C.D., Tidwell, J.H., Goodgame, L.S., Jancey, D.H. and Macker, L. 1992. Use of soybean meal and distillers grains with solubles as partial or total replacement of fish meal in diets for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture. 106: 301-309.

Wee, K.L.and Shu, S.W. 1989. The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. Aquaculture 81:303-314

Yan, W., Reigh, R.C. and Xu, Z. 2002. Effects of fungal phytase on utilisation of dietary protein and minerals, and dephosphorylation of phytic acid in the alimentary tract of channel catfish *Ictalurus punctatus* fed an all-plant protein diet. J. World Aquac. Soc. 33: 10-22.

Yone, Y. and Fujii, M. 1975. Studies on Nutrition of red sea bream-XI: Effect of ω 3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 41: 73-77.

Zhang, C., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Duan, Q., Tan, B., Ma, H., Xu, W., Linfu, Z. And Wang, X. 2006. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese Seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 255: 201-209.

Zeitoun, I.H., Jack, P.I., Halver, I.E. and Ullrey, D.E. 1973. Influence of salinity on protien requirements of rainbow trout, italia fingerling. J. Fish.Res. Board Can. 30 : 1867-1873.

Available phosphorus requirement of sex-reversed red tilapia fed all-plant diets

Phromkunthong, W.[1]

Abstract

A feeding trial was conducted to estimate the optimum requirement of dietary phoshporus (P) for sex-reversed red tilapia in glass aquaria (50x100x47cm). Six practical diets were formulated to contain graded levels (0.58, 0.66, 0.72, 0.75 and 0.82%) of available P from all-plant raw ingredients and dicalcium phosphate (DCP). Each diet was randomly assigned to triplicate groups of fish, and each group was stocked with 20 fish (initial body weight, 25.16g±0.13). Fish were fed twice daily (08:00 and 16:00) *ad libitum* for 8 weeks. Average body weight and weight gain significantly increased with increasing available P ($P<0.05$). The whole body composition analysis showed that lipid and protein as well as P contents in whole body, vertebrae ash and vertebrae P, were significantly affected by available P ($P<0.05$). The blood biochemistry analysis showed that serum P and serum alkaline phosphatase activity increased with the increase of dietary available P levels ($P<0.05$). Data for weight gain, FCR, whole body P, vertebrae ash, vertebrae P, muscle protein, muscle fat and visceral fat were subjected to regression analysis to determine effects of the dietary levels of available P on these responses. Employing quadratic non-linear regression model of the relationship between available dietary P and P in vertebrae and whole body to study the P requirement, it was found that available dietary P requirement for sex-reversed red tilapia from the current study were of 0.76 and 0.79%, respectively. Increasing the dietary available P to higher concentration appears to reduce muscle fat while muscle protein increases.

[1]Ph.D. (Aquatic Animal Nutrition) Associate Professor, Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, Thailand 90112 Email address: yh27394@yahoo.com

Introduction

Phosphorus (P) is one of the most important minerals that required by fish (Lall, 2002). It is a major constituent of skeletal tissue and involved in a variety of metabolic processes including energy transformations, permeability of cellular membranes, and genetic coding (Lovell, 1989). About 85-90 % of total P in fish is contained in vertebrae and scales (Lovell, 1988) while the remaining 10-15% constitutes blood and tissues, which are present in organic phosphates i.e. adenosine triphosphate, phospholipids, deoxyribonucleic acid and co-emzyme. Inorganic phosphates function mainly as buffer to maintain pH of intra and extracellular fluid (Halver *et al*., 2002). Due to low concentration of P in natural waters (Boyd, 1971) and low absorption rate of P from the water (Phillips *et al*., 1958), fish must obtain most of P from their diets. The optimal amount of P supplementation in commercial feeds is not only important economically, but also for environmental reasons. The P excreted from cultured animals into water contributes to algal growth, and results in deteriorating water quality (Beveridge, 1984; Auer *et al*., 1986). P metabolism in cultured aquatic species has become a popular research subject, due to rising concerns about P discharged into aquaculture environment (Wiesmann *et al*., 1988; Ketola and Harland, 1993**).** Therefore, there has been a trend towards the reduction of dietary P to levels that satisfy, but do not exceed P requirements to produce maximum growth of fish and protect water quality (Lall, 1991; Oliva-Teles *et al*., 1998; Bureau and Cho, 1999). Available dietary P requirements ranging from 0.5 to 0.9% have been reported for rainbow trout (Ogino and Takeda, 1978), Atlantic salmon (Ketola, 1975; Lall and Bishop, 1977; Asgard and Shearer, 1997; Vielma and Lall, 1998), chum salmon (Watanabe *et al*., 1980); carp (Ogino and Takeda, 1976) and red sea bream (Sakamoto and Yone, 1978). The P requirement of catfish and Japanese eel is approximately 0.45% and 0.3% available P, respectively. The objective of the following study was designed to determine the requirement of dietary available P in sex-reversed red tilapia fed practical diets under control conditions in glass aquaria.

Materials and methods

Experimental diets

Six experimental diets were formulated from practical ingredients and dicalcium phosphate (DCP) to contain graded levels (0.91%, 1.06, 1.16, 1.27, 1.34 and 1.46%) of total P (Table 2). Total P was determined by the molybdovanadate method (AOAC, 1990). Available P was calculated from determined apparent digestibility coefficient for P in the diets from the present study. Thus feed formulae 1 to 6 contained available P 0.46%, 0.58, 0.66, 0.72, 0.75 and 0.82%, respectively. Tested feeds were moist pellet with all plant materials. Raw materials were analyzed for nutritional value (Table 1) and the contents of protein, lipid and digestible energy in all diets were designed to be about 30%, 7% and 3,300 kcal /kg feed, which have been shown to be sufficient to support optimal growth of sex-reversed red tilapia (Phromkunthong *et al*., 2006). Raw materials were seived through 30-µm mesh and ingredients were ground into fine powder. All the ingredients were thoroughly mixed for 10 min. then fish oil and water was added to produce a stiff dough. The dough was then pelleted by Hobart Mixer Model A 200T with 3 mm. diameter. The feed were dried at 60 ºC for 24 hours, packed in plastic bags and stored at 4 ºC (Phromkunthong *et al.*, 1997). A portion of each six experimental diets was removed for chemical analyses including protein, lipid, ash and P content (Table 3).

Experimental procedure

The feeding trial was conducted at the Department of Aquatic Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Thailand. Sex-reversed red tilapia were obtained from a commercial farm in Phathalung Province, Thailand. The fish were stocked into a 1 cu.m. fiber glass tank and fed diet 1 (low P basal diet) twice daily for three weeks to acclimate to the experimental diets and conditions. Before the commencement of the feeding study, fish were fasted for 24 h, and then weighed after being anesthesized with quinaldine (50 ppm) (Fluka, Switzerland). The fish with the similar size (25.16g±0.13) were distributed to 18 glass aquaria (50x100x47cm) at density of 20 fish per aquarium. Each diet was randomly assigned to triplicate aquaria. Fish were hand-fed experimental diets to apparent satiation twice daily (08:00 and 16:30) for 8 weeks.

Table 1. Chemical composition of feed ingredients (% as fed basis)[1]

Feed ingredients	Moisture	Protein	Fat	Ash	Crude fiber	P	NFE
Soybean meal	9.08	39.85	2.87	6.54	6.25	0.75	35.40
Rice bran	8.52	12.69	16.70	9.00	6.37	1.99	46.71
Broken rice	9.93	7.39	2.18	3.58	0.25	0.18	76.75
DCP	-	-	-	-	-	16.34	-

NFE: nitrogen free extract

Table 2. Composition of experimental diets

Ingredients (g/100 g feed)	diet formulae					
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Soybean meal	67	67	67	67	67	67
Broken rice	10	10	10	10	10	10
Rice bran	14	14	14	14	14	14
Fish oil	1	1	1	1	1	1
Vitamin mixtures[1]	1	1	1	1	1	1
Choline chloride	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Mineral mixtures[2]	3	3	3	3	3	3
Methionine	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Dicalcium phosphate (DCP)	0	0.58	1.16	1.74	2.32	2.90
Chromic oxide (Cr_2O_3)	1	1	1	1	1	1
Rice hull	1.7	1.12	0.54	0	0	0
P content (%)						
Total P[3]	0.91	1.06	1.16	1.27	1.34	1.46
Available P (AvP)[4]	0.46	0.58	0.66	0.72	0.75	0.82

[1]Vitamin mixture (g/kg feed): Thiamine(B_1) 10 mg; Riboflavin(B_2) 20 mg; Pyridoxine (B_6) 10 mg; Cabalamine (B_{12}) 2 mg; Retinal (A) 4,000 IU; Cholecaciferol (D_3) 2,000 IU; Menadione sodium bisulfite (K_3) 80 mg; Folic acid 5 mg; Calcium Pantothenate 40 mg; Inositol 400 mg; Niacin 150 mg; Tocopherol (E) 50 mg ; Biotin 1 mg; Ascorbic acid (C) 500 mg

[2]Mineral mixture (g/kg feed): Na 3.278 g.; Mg 25.25 g.; K 76.612 g.; Ca 49.096 g.; Fe 4.821 g.; Zn 0.667 g.; Mn 0.433 g.; Cu 0.069 g.; CO 0.00198 g.; I 0.01g

[3] datas from analysis

[4] calculated from apparent digestibility coefficient for P in each feed formular

Table 3. Chemical composition of experimental diets (% on dry matter basis)

Experimental group	AvP (%)	Composition (%)				
		Moisture	Protein	Fat	Ash	Crude fiber
1	0.46	1.77	31.58	5.52	9.30	4.55
2	0.58	1.94	31.96	5.54	9.41	5.05
3	0.66	2.17	30.96	6.47	9.64	5.39
4	0.72	2.80	30.21	5.65	10.17	4.79
5	0.75	2.71	30.21	5.81	10.82	4.88
6	0.82	2.47	31.24	6.26	10.66	3.22

NFE: nitrogen free extract

Sample collection and analysis

At the beginning of the feeding trial, 10 fish from each aquarium were randomly sampled for carcass composition analysis (AOAC, 1990). Furthermore, at the beginning of the experiment and at 2-week intervals during the trial, fish were counted and bulk-weighed after a 24-h fast. During the experiment, behavior of fish in all treatments was observed, e.g., swimming, feed acceptance and external feature such as body color, hemorrhage, fin and vertebrae deformity and lesion on fin, skin and other external organs.

To determine the P digestibility, 0.5% Cr_2O_3 was used as indicator in the feed. Feces was collected after the week 8th of the experimental period by siphoning. This was made in the evening about 1 h after feeding then feces was stored at -20 ºC until analysis of P content.

At the end of feeding trial, total numbers and mean body weight of fish in each aquarium were determined. Two fish from each aquarium were randomly sampled for carcass composition. Blood samples were obtained from 4-5 anesthetized quinaldine (50 ppm) fish of each aquarium with 1-ml syringe by puncture of the caudal vein. The blood was centrifused (3,000 ×g, 4 ºC, 10 min) and serum was separated and analyzed for alkaline phosphatase by the method of Sigma Chemical Company (1960), using p-nitrophenol phosphate as the substrate. Serum P concentration was determined by the colorimetric method of Chen *et al* (1956). Five sampled fish from replicate were used for determining the P concentrations in vertebra. The vertebrae were collected from each fish and frozen at -20 ºC until utilized. The vertebrae were thawed, boiled in distilled water for 10 min and adhering flesh was removed. The vertebraes were dried for 2 h at 100 ºC, ether extracted in a Soxlet apparatus for 12 h (AOAC, 1990) to remove fat, dried again, ground and ashed in a muffle furnance for 12 h at 600 ºC. The ash was weighed and subsequently analyzed for P by the molybdovanadate method (AOAC, 1990). Each fish was filleted and the fillets were sealed in a plastic bag and stored frozen at -20 ºC until analyzed for protein, fat and moisture. Crude protein was determined by the macro-Kjeldahl method, moisture content was determined by oven drying and crude fat by the Bligh and Dyer (1959).

Calculation for P requirement

P requirement is calculated using linear and different types of nonlinear regression models. For nonlinear models, quadratic and cubic model were used. For linear regressions, simple and piecewise linear (fitting two different regression functions to the same data) equations were used. Dietary P requirement of sex-reversed red tilapia was estimated by using a nonlinear

quadratic regression model of vertebrae P and whole body P of fish sampled after 8 weeks of feeding various experimental diets, against dietary P concentration. The quadratic equation used in the model was as follows:

$$Y = a + bx + cx^2$$

Where Y = measure ash content; a = intercept; b = coefficient terms; c = coefficient of the quadratic terms; x = dietary P content (Roy and Lall, 2003)

Data from each treatment were subjected to one-way analysis of variance using SPSS 11.5 for windows. Statistical significance was chosen at $P<0.05$ and the results are presented as mean±S.D. (standard deviation of means). When overall differences were significant, Duncan's test was used to compare the means between individual treatments.

Results

Fish behavior and external features

There were no body deformity or external feature with normal behavior and healthy for all treatments throughout the feeding period.

Growth performance

Average body weight

Average body weight of fish with initial weight range 25.02±0.02–25.28±0.20 g. Average body weight increased with the feeding duration. Statistical analysis showed marked differences from week 4, the fish with 0.75 and 0.82% AvP showed higher average body weight than other treatments ($P<0.05$), though not different from those with 0.72% AvP ($P>0.05$). During week 6-8, the same trend was observed as in week 4; fish in treatments 1-3 (0.46-0.66% AvP) showed low average body weight while those in treatments 4-6 (0.72-0.82% AvP) showed higher average body weight ($P<0.05$, Table 4).

Table 4. Average body weight of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets for 8 weeks[1]

Experimental Group	AvP (%)	Rearing period (week)				
		0	2	4	6	8
1	0.46	25.15±0.06	35.52±2.61	47.24±4.41^{ab}	62.58±6.56^{ab}	75.11±9.24^{ab}
2	0.58	25.23±0.12	34.47±0.95	43.49±0.85^{a}	55.54±1.67^{a}	66.99±3.74^{a}
3	0.66	25.09±0.11	33.85±0.88	44.33±2.72^{a}	60.54±3.47^{ab}	75.37±3.52^{ab}
4	0.72	25.28±0.20	35.39±0.96	47.03±1.97^{ab}	63.66±4.81^{bc}	81.68±9.27^{bc}
5	0.75	25.02±0.02	37.12±1.79	52.05±1.45^{c}	71.27±3.29^{c}	92.08±4.12^{c}
6	0.82	25.17±0.14	36.65±1.71	49.76±2.34^{bc}	70.47±3.25^{c}	90.53±6.46^{c}
ANOVA *P*		NS	NS	0.012	0.004	0.003
Regression						
Effect		-	-	Quadratic^{a}	Quadratic^{b}	Quadratic^{c}
R^2 values		-	-	0.387	0.547	0.576
P		NS	NS	0.026	0.003	0.002

[1]Mean ± standard deviation of three replications

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (p<0.05)

$^{a}Y = 121.319X^2 - 141.04X + 85.7725$

$^{b}Y = 227.956X^2 - 258.50X + 132.135$

$^{c}Y = 289.856X^2 - 310.68X + 154.678$

Weight gain, feed conversion ratio (FCR) and survival

Weight gain, FCR, rate of feed intake and survival of fish for all 6 treatments are presented in Table 5. Weight gain showed similar trend as the average body weight. Fish given feed with 0.75% AvP (Formula 5) and with 0.82% AvP (Formula 6) showed the highest weight gain ($P<0.05$) although not different from those with 0.72% AvP in their feed ($P>0.05$, Table 5). There was no significant difference in FCR and survival with the addition of supplemental DCP to the basal diet ($P<0.05$) (Table 5).

Table 5. Weight gain, FCR and survival of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets[1]

Experimental group	AvP (%)	Weight gain (%)	FCR	Survival (%)
1	0.46	194.24±43.45[ab]	1.39±0.16	98.33±0.03
2	0.58	165.52±15.28[a]	1.34±0.07	100±0.00
3	0.66	200.38±13.36[ab]	1.27±0.06	100±0.00
4	0.72	223.16±36.49[bc]	1.20±0.09	100±0.00
5	0.75	268.05±16.43[c]	1.18±0.02	100±0.00
6	0.82	259.71±27.55[c]	1.18±0.05	100±0.00
ANOVA *P*		0.005	NS	NS
Regression Effect		Quadratic [a]	Quadratic[b]	-
R^2 values		0.563	0.503	-
P		0.002	0.005	NS

[1]Mean ± standard deviation of three replications

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$)

[a]$Y = 1084.92X^2 - 1137.2X + 479.846$

[b]$Y = 0.363X^2 – 1.1006X + 1.828$

Apparent digestibility coefficients of P (ADCP)

ADCP differed significantly among treatments (P<0.05) ranging 50.46±0.33 -57.18±0.85 %. Highest ADCP were provided by formulae 3 and 4 feeds, followed by formulae 5, 6, 2 and 1, respectively (Table 6).

Table 6. Apparent digestibility coefficients of P (ADCP) from experimental diets for sex-reversed red tilapia

Experimental group	AvP (%)	ADC P
1	0.46	50.46±0.33[a]
2	0.58	54.47±1.73[b]
3	0.66	57.18±0.85[c]
4	0.72	56.67±0.53[c]
5	0.75	56.02±0.87[bc]
6	0.82	55.94±0.22[bc]
ANOVA P		<0.001
Regression Effect		Quadratic[a]
R^2 values		0.863
P		<0.001

[1]Mean ± standard deviation of three replications

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05)

[a]**$Y = (-96.715X^2) + 138.507X + 7.1615$**

Whole body P, vertebrae P and vertebrae ash

Whole body P, vertebrae P and vertebrae ash showed linear increase with P supplementation (Table 7). Whole body P and vertebrae P content data were subjected to nonlinear regression analysis to determine optimum requirement for sex-reversed red tilapia. The mean corrected R^2 values for whole body P were 0.735, 0.814 and 0.816 for simple linear, quadratic and cubic relation equation, respectively. Based on the measured R^2, we chose the quadratic with the simpler description of the data. The quadratic analysis indicated that the available dietary P requirement of sex-reversed red tilapia is 0.76% available P. However, the dietary requirement based on vertebrae P was estimated at 0.79% available P.

Table 7. Whole body P, vertebrae ash, vertebrae P and fecal P of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets for 8 weeks (%)[1]

Experimental group	AvP (%)	Whole body P[a]	Vertebrae P[d]	Vertebrae ash[c]
1	0.46	2.22±0.16[a]	9.55±0.74[a]	60.02±0.29[a]
2	0.58	2.56±0.02[b]	11.43±0.22[b]	59.77±0.20[a]
3	0.66	2.79±0.02[bc]	11.60±0.26[bc]	62.47±0.59[b]
4	0.72	2.83±0.16[c]	12.25±0.27[cd]	63.92±0.26[c]
5	0.75	2.94±0.10[c]	12.41±0.51[d]	64.28±0.20[c]
6	0.82	2.87±0.22[c]	12.06±0.17[bcd]	64.96±0.15[d]
ANOVA *P*		<0.001	<0.001	<0.001
Regression Effect		Cubic[a]	Quadratic[b]	Quadratic[c]
R^2 values		0.814	0.862	0.887
P		<0.001	<0.001	<0.001

[1]Mean ± standard deviation of three replications: Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$)

[a] $Y = (-3.0117X^3) + 5.6917X - 0.1160$ (Xmax= 0.79)

[b] $Y = (-28.413X^2) + 43.2070X - 4.2672$ (Xmax =0.76)

[c] $Y = 22.174X^2 + 12.069X + 60.48$ (Xmax = 0.79)

P and alkaline phosphatase in serum

Dietary treatment had a significant effect on serum P and serum alkaline phosphatase activity (Table 8). Serum P increased from 1.89 to 2.48 mg/l with the increase of dietary available P supplementation from 0.46% to 0.75% (P<0.05), and level off at 0.82% dietary available P. Serum alkaline phosphatase activity in fish did not show statistic difference among fish fed diets with the addition of supplemental DCP to the basal diet (P>0.05) (Table 8).

Table 8. Serum P content and serum alkaline phosphatase activity of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets for 8 weeks [1]

Experimental group	AvP (%)	Serum P (mg/l)	Serum alkaline phosphatase activity (IU/l)
1	0.46	1.89±1.26[a]	19.33±1.15
2	0.58	2.13±1.49[b]	20.00±1.00
3	0.66	2.42±1.06[c]	21.50±1.53
4	0.72	2.47±1.77[c]	22.33±1.15
5	0.75	2.48±2.47[c]	23.33±2.08
6	0.82	2.18±0.65[b]	20.79±4.35
ANOVA P		<0.001	NS
Regression Effect		Quadratic [a]	Quadratic[b]
R^2 values		0.816	0.423
P		<0.001	0.016

[1]Mean ± standard deviation of three replications

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05)

[a]$Y = (-4.2222X^2) + 7.2178X - 0.5578$

[b]$Y = 10.1716X^2 + 0.5718X + 11.7577$

Muscle fat, muscle protein, muscle moisture and visceral fat

The muscle fat and visceral fat content decreased from 5.42% to 3.57% and 33.48% to 19.54%, respectively (P<0.05) with the increase in dietary available P (Table 9). However, the protein content showed an increase from 84.28% to 85.80%, and no significant differences were observed among the other dietary treatments.

Table 9. Means of crude fat, crude protein and moisture contents of muscle and visceral fat content of sex-reversed red tilapia fed the experimental diets containing different concentration of dietary available P[1]

Experimental group	AvP (%)	Composition (%)			
		Muscle fat	Muscle protein	Muscle moisture	Visceral fat
1	0.46	5.42±0.12[c]	84.28±0.64	78.17±0.43	33.48±1.27[c]
2	0.58	4.43±0.02[b]	84.78±0.40	78.93±0.54	29.48±0.69[b]
3	0.66	4.67±0.16[b]	85.31±0.30	78.75±0.15	27.90±2.79[b]
4	0.72	4.49±0.20[b]	85.80±0.08	79.20±0.31	23.86±1.07[b]
5	0.75	3.57±0.30[a]	84.59±0.08	78.88±0.42	21.82±0.66[b]
6	0.82	3.58±0.07[a]	85.50±1.13	78.91±0.62	19.54±0.82[a]
ANOVA *P*		<0.001	NS	NS	<0.001
Regression					
Effect		Linear[a]	-	-	Quadratic[b]
R^2 values		0.723	-	-	0.825
P		<0.001	NS	NS	<0.001

[1]Mean ± standard deviation of three replications

Mean within each column not sharing a common superscript are significantly different ($P<0.05$)

[a]$Y = 7.5009 - 4.7265X$

[b]$Y = 280.825X^2 - 351.64X + 135.337$

Discussion

Datas from this study showed that the growth response of sex-reversed red tilapia was significantly affected by the supplementation of dietary available P, and a positive relationship was found between the growth and dietary available P levels. Weight gain was lower in fish fed the basal diet due to insufficient P being available for growth after being allocated for utilization in other physiological processes (Brown *et al*., 1992). Reduced growth was the main P deficiency sign observed in most fish species. Lower growth and high FCR due to dietary P deficiency also have been observed in haddock (Roy and Lall, 2003), rainbow trout (Ketola and Richmond, 1994), sunshine bass (Brown *et al*., 1993), channel catfish (Wilson *et al*., 1982), common carp (Ogino and Takeda, 1978) and red sea bream (Sakamoto and Yone, 1978). In contrast, no significant changes in growth of red snapper (Pongmaneerat *et al*., 2006), seabass (Chaimongkol and Boonyaratpalin, 2001) and Atlantic salmon (Vielma and Lall, 1998) fed low P diets have been observed. The requirement of essential elements affects feed efficiency (Shearer, 1995). Several factors including age, stage of development, diet composition, duration of experiment, health and rearing condition may affect growth. Generally, young animals are more sensitive to nutrient deficiency than those at later stage of development because during the rapid growth period dietary energy is utilized more efficiently. Redlip mullet fry (initial weight, 3.8 g) showed a clearer growth response to dietary P supplementation than large fish (initial weight 26.5 g) under the same experimental conditions (El-Zibdeh *et al*., 1995). Small fish were also more sensitive to P deficiency.

Dietary P levels had a significant effect on sex-reversed red tilapia whole body P, vertebrae ash and vertebrae P content. Due to the function of P in the vertebrae structure, the vertebrae P concentration is responsive to dietary P intake (Ogino and Takeda, 1978; Sakamoto and Yone, 1978; Chavez-Sanchez *et al*., 2000). Thus vertebrae P and whole body P including vertebrae ash contents are considered to be the most sensitive criterium for P utilization in freshwater fish (Ketola, 1975; Watanabe *et al*., 1980; Ketola and Richmond, 1994; Rodehutscord, 1996, Jahan *et al*., 2001) and marine fish (Sakamoto and Yone, 1978; Dougall *et al*., 1996; Borlongan and Satoh, 2001). A close correlation was observed between dietary P and vertebrae ash content, which indicates that vertebrae ash values could be used to determine the efficiency of dietary P utilization and to estimate the P requirement of sex-reversed red tilapia. On the basis of vertebrae P and whole body P content, the estimated dietary P requirement of sex-reversed red tilapia was 0.76% and 0.79% of available P, respectively. The estimated P requirement value was

slightly lower than reported values for tilapia and Atlantic salmon determined by Watanabe *et al*. (1980) and Asgard and Shearer (1997), respectively. Roy and Lall (2003) suggested that tilapia has acellular vertebrae, whereas other fish species i.e. salmonids and cyprinids have cellular vertebrae. Some differences in the estimated P requirement of various fish species may be due to the following factors: 1) species differences and variation in intestinal P absorption rate (Riche and Brown, 1999; Avila *et al*., 2000), 2) differences in the availability of various inorganic and organic P sources (Lall and Vielma, 2001; Satoh *et al*., 2002), 3) fish size, condition factor and the stage of development (Shearer, 1984; El-Zibdeh *et al*., 1995; Ronsholdt, 1995), and dietary energy content and feed efficiency (Shearer, 1995) differences in experimental design (Shearer, 2000).

In this study, P in serum was found with the increase of dietary available P. In most fish, the skeleton represents a reservoir of Ca, P and other ions that are in a state of continual exchange with electrolytes found in blood and extracellular fluids (Lall, 2002). The result of this study agrees with the experiments reported in other fish species i.e. channel catfish (Eya and Lovell, 1997), haddock (Roy and Lall, 2003) and Japanese seabass (Zhang *et al*., 2006). Roy and Lall (2003) suggested that the concentration of plasma or plasma phosphate is known to be influenced by several dietary and physiological factors (Cross *et al*., 1990). Rodehutscord (1996) observed a wide range in reported plasma phosphate concentration due to the different range of time lapsed after feeding when blood samples were collected. Thus establishment of reasonable time for blood sample collection after feeding fish may produce consistent results (Roy and Lall, 2003). In this study, the first plateau of serum P appeared when dietary available P increased from 0.58-0.75% indicating that the first plateau emerged before dietary available P reached the minimum level for optimum growth. Hence, the first plateau was probably resulted by the ion buffering effects of skeleton and other tissues of fish. When dietary available P level increased from 0.58-0.75%, the P levels in serum, whole body and vertebrae increased significantly, and then leveled off. It suggests that serum P concentration has been beyond the buffering capacity of skeleton and other tissues of fish at 0.75% dietary available P. Some previous studies showed that blood P concentrations were influenced by several dietary, physiological and environmental factors (Phillips, 1962; Hille, 1982; Cross *et al*., 1990). Thus, plasma P or serum P level will be not suitable as an indicator for P utilization or requirement until the mechanism of P homeostasis is clarified (Eya and Lovell, 1997; Skonberg *et al*., 1997; Roy and Lall, 2003). Alkaline phosphatase is closely associated with the metabolism of calcium and P and takes part in chondrogenic and

osteoblastic activities in birds (Vinuela *et al*., 1991). An elevation of serum alkaline phosphatase activity has been reported to occur with an increase in osteoblastic activity (Kaplan, 1972). In the present study, although there was no statistic difference among tilapia fed diets with the addition of supplemental DCP to the basal diet, the activity of serum alkaline phosphatase increased with the increase of available dietary P from 0.58% to 0.75%. Similar result has been found in rainbow trout (Skonberg *et al*. 1997). This may be explained by the higher mineralization of vertebrae that resulted in a raise of alkaline phosphatase activity. However, Sakamoto and Yone (1980) found a low P intake by red sea bream increased plasma alkaline phosphatase activity. Shearer and Hardy (1987) reported plasma alkaline phosphatase activity in rainbow trout was not significantly affected by feeding P sufficient and deficient diets. The difference is probably due to many factors influencing plasma alkaline phosphatase activity, including water chemistry (Bowser et al., 1989), feed intake (Sauer and Haider, 1979), temperature (Sauer and Haider, 1977; Sakaguchi and Hamaguchi, 1979; Lie *et al*., 1988), and life stage (Johnston *et al*., 1994). The decreased muscle lipid and increased muscle protein with increasing dietary available P in the present study was consistent with some previous studies, including red seabream (Sakamoto and Yone, 1978), common carp (Takeuchi and Nakazoe, 1981), channel catfish (Eya and Lovell, 1997), rainbow trout (Skonberg *et al*., 1997), haddock (Roy and Lall, 2003). Higher visceral fat seen in sex-reversed red tilapia that received low dietary available P agrees with results obtained with red seabream (Sakamoto and Yone, 1978). These studies suggest impaired oxidative phosphorylation because of P deficiency leads to inhibition of the TCA cycle and accumulation of acetyl-CoA. In this study, the protein content of muscle of sex-reversed red tilapia showed a decrease with the increase in muscle lipid content. Lower protein in the muscle of fish fed low P diet may explain that inhibition of β-oxidation of fatty acid resulted in a lower utilization of lipid as an energy source, then fish utilize protein for energy purposes as an alternative to lipid (Roy and Lall, 2003).

Concusion

It is obvious from results of this studies that P is essential for growth, efficient feed utilization and vertebrae mineralization of sex-reversed red tilapia. Excess P caused excessive excretion of this element in environment and it has a negative effect on vertebrae mineralization. According to the results, 0.76-0.79% dietary available P was required for sex-reversed red tilapia. These values can be used as references to produce environmental friendly aquatic feeds for sex-reversed red tilapia to minimize excess P discharge to the environment and therefore protect the aquatic environment.

References

Anderson, T.A. and De Silva, S.S. 1996. Scope for low pollution aguafeeds and feeding strategies in Asia. *In*: Victam Asia Conference 1996. Feed Production on the threshold of the Next-Age. Bangkok, Thailand.

Andrews, J.W., Muri, T. and Campbell, C. 1973. Effects of dietary calcium and P on growth, food conversion, vertebrae ash and hematocrit levels of catfish. *Ictalurus punctatus.* J. Nutr. 103: 766-771.

AOAC. (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Washington, DC: AOAC.

Asgard, T. and Shearer, K.D. 1997. The dietary P requirement of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) and its relationship to the P requirements reported for other fishes. Aqua. Nutr. 3: 17-23.

Avila, A.M., Basantes, H.T. and Ferraris, R.P. 2000. Dietary phosphate regulates intestinal transport and plasma concentrations of phosphate in rainbow trout. J. Comp. Physiol., B 170: 201-209.

Auer, M.T., Kisser, M.S. and Canale, R.P. 1986. Identification of critical nutrient levels through field verification of models for phosphorus and phytoplankton growth. Can J. Fish. Aquat. Sci. 43: 379-388.

Baeverfjord, G., Asgard, T. and Shearer, K.D. 1998. Development and detection of P deficiency in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr and post-smolts. Aqua. Nutr. 4: 1– 11.

Beveridge, M.C.M. 1984. Cage and pen fish farming: carrying capacity models and environmental impact. FAO Fish. Tech.

Blign, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917.

Borlongan, I.G. and Satoh, S., 2001. Dietary P requirement of juvenile milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal). Aquac. Res. 32 (Suppl. 1): 26– 32.

Bowser, P.R., Wooster, G.A., Aluisio, A.L. and Blue, J.T. 1989. Plasma chemistries of nitrite stressed Atlantic salmon *Salmo salar*. J. World Aquac. Soc. 20: 173-180.

Boyd, C.E. 1971. Phosphorus dymamic in ponds. Proc. Annu. Conf. Southeast. Assoc. Game Fish Comm. 25: 418-426.

Brown, M.L., Jaramillo, F. and Gatlin III, D.M. 1992. Dietary phosphorus requirements of juvenile sunshine bass at different salinities. Prog. Fish-Cult. 54: 148-156.

Bureau, D.P. and Cho, C.Y. 1999. Phosphorus utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Estimation of dissolved phosphorus waste output. Aquaculture 179: 127-140.

Drown, M.L., Jaramillo Jr., F. and Gatlin, D.M., 1993. Dietary P requirement of juvenile sunshine bass, *Morone chrysops* U_M. saxatilis h. Aquaculture 113: 355– 363.

Chaimonkkol, A. and Boonyaratpalin, M. 2001. Effects of ash and inorganic phosphorus in diets on growth and mineral composition of seabass, *Lates calcarifer* (Bloch). Aquac. Res. 32: 53-59

Chavez-Sanchez, C., Martinez-Palacios, C.A., Martinez-Oerez, G. and Ross, L.G. 2000. Phosphorus and calcium requirements in diet of the American cichlid, *Cichlasoma urophalmus* (Gunther). Aqua. Nutr. 6: 1-9.

Chen, P.S., Toribara, T.Y. and Warner, H. 1956. Microdetermination of P. Anal. Chem. 28: 1756-1758.

Chunxiao, Z., Kangsen, M., Qinghui, A., Wenbing, Z., Qingyuan, D., Beiping, T., Hongming, M., Wei, X., Zhiguo, L and Xiaojie, W. 2006. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 255: 201-209.

Ciofalo, V., Barton, N., Kretz, K., Baird, J., Cook, M. and Shanahan, D. 2003. Safety evaluation of a phytase, expressed in *Schizosaccharomyces pombe*, intended for use in animal feed. Regulatory Toxicol. and Pharmacol. 37: 286-292.

Cross. H.S., Deviec, H. and Peterlic, M. 1990. Mechanism and regulation of intestinal phosphate absorption. Miner. Electrolyte Metab. 16: 115-124.

Coloso, R. M., King, K., Fletcher J. W. ,Hendrix, M. A., Subramanyam, M.,Weis, P. and Ferraris, R. P. 2003. P utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed practical diets and its consequences on effluent P levels. Aquaculture 220: 801–820.

Dey, P. M. and Harborne, J. B. 1990. Methods in Plant Biochemistry. Vol 2. Carbohydrates. Academic Press. London.

Dougall, D.S., Woods III, L.C., Douglass, L.A. and Soares, J.H. 1996. Dietary P requirement of juvenile striped bass, *Morone saxatilis*. J. World Aquac. Soc. 27: 82–91.

Dupree.H.K. and Sneed, K.P. 1966. Response of channel catfish fingerling to different levels of major nutrients in purified diets. U.S.Bureau of Sports Fish and Wildlifte Tech. Pap. No.9.

El-Zibdeh, M., Yoshimatsu, T., Matsui, S., Furuichi, M., Kitajima, C. and Azuma, R., 1995. Requirement of redlip mullet for dietary P. J. Fac. Agric., Kyushu Univ. 40: 135– 145.

Eya, J.C. and Lovell, R.T.1997. Available P requirement of food-size channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed practical diets in ponds. Aquaculture 154: 283-291.

Furukawa, A. and Tsukahara, H. 1966. On The Digestion method for the determination of chromicoxides as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 32: 502-506.

Halver, J.E., Hardy, R.W. and Hardy, D.M. 2002. Fish Nutrition. Academic Press, New York.

Haylor, G.S., Beveridge, M.C.M. and Jauncey, K. 1988. P nutrition of juvenile *Oreochromis niloticus. In*: Pullin, R.S.V., Bhukaswan, T., Tonguthai, K. and Maclean, J.L. (Eds.), The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture ICLARM Conference Proceedings 15, 623 pp. Department of Fisheries, Bangkok and ICLARM, Manila.

Hendricks, J.D. and Bailey, G.S. 1989. Adventitious toxins. *In*: Halver, J. E. (Ed). Fish Nutrition 2nd. edn, New York: Academic Press.

Hille, S. 1982. A literature review of the blood chemistry of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Biol. 20: 535-569.

Jahan, P., Watanabe, T., Satoh, S. and Kiron, V., 2001. Formulation of low P loading diets for carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquac. Res. 32 (Suppl. 1): 361–368.

Jantrarotai, W., Sitasit, P. and Rajchapakdee, S. 1994. The optimum carbohydrate to lipid ratio in hybrid Clarias catfish (*Clarias macrocephalus* X *Clarias gariepinus*) diets containing raw broken rice. Aquaculture 127: 61-68.

Johnston, C.E., Homey, B.S., Deluca, S., MacKenzie, A., Eales, J.G. and Angus, R. 1994. Changes in alkaline phosphatase isozyme activity in tissue and plasma of Atlantic salmon (Salmo salar) before and during smoltification and gonadal maturation. Fish Physiol. Biochem. 12: 485-497.

Kaplan, M.M. 1972. Medical intelligence. Current concepts alkaline phosphatase. New Engl. J. Med. 286:200-202.

Ketaren, P.P., Batterham, E.S., White, E., Farrell, D.J. and Milthorpe, B.K., 1993. P studies in pigs: 1. Available P requirements of grower/finisher pigs. Br. J. Nutr. 70: 249–268.

Ketola, H.G. 1975. Requirement of Atlantic salmon for dietary P. Trans. Am. Fish. Soc. 104: 548-551.

Ketola, H.G. and Harland, B.F. 1993. Influence of phosphorus in rainbow trout diets on phosphorus discharges in effluent water. Trans. Am. Fish. Soc. 122: 1120-1126.

Ketola, H.G. and Richmond, M.E., 1994. Requirement of rainbow trout for dietary P and its relationship to the amount discharged in hatchery effluent. Trans. Am. Fish. Soc. 104: 587– 594.

Kim, J.D., Kim, K.S., Song, J.S., Lee, J.Y. and Jeong, K.S. 1998. Optimum level of dietary monocalcium phosphate based on growth and P excretion of mirror carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture 161: 337-344.

Lall, S.P. 1991. Digestibility, metabolism and excretion of dietary P in fish. *In*: Cowey, C.B. and Cho, C.Y. (eds.). Nutritional Strategies and Aquaculture Waste. Proceeding of the First International Symposium on Nutritional Strategies in Management of Aquaculture Waste. University of Guelph, Guelph. ON, Canada.

Lall, S.P. 2002. The minerals. *In*: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition, 3rd ed. Academic Press, San Diego, CA.

Lall, S.P. and Bishop, F.J. 1977. Studies on mineral and protein utilization by Atlantic salmon grown in seawater. Fish. Mar. Ser. Tech. Rept. 688: 1-17.

Lall, S.P., and Vielma, J., 2001. P in fish nutrition. In: Merican, Z. (Ed.), Inter. Aqua Feed. Issue I, Andrew West. Turret RAI, Middlesex, England, pp. 26–29.

Li, M.H. and Robinson, E.H. 1997. Microbial phytase can replace inorganic P supplements in channel catfish *Ictalurus punctatus*. J. World. Aqua. Soc. 28: 402-406.

Li, M.H., Robinette, H.R. and Robinson, E.H. 1996. Efficacy of dicalcium and defluorinated rock phosphates as dietary P sources for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture 147: 107-114.

Lie, O., Waagboe, R. and Sandnes, K. 1988. Growth and chemical composition of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed dry and silage-based diets. Aquaculture 69: 343-353.

Lovell, R.T. 1988. Nutritional and Feeding of Fish. Auburn, Alabama. Auburn University. 267 pages.

Lovell, R.T. 1989. Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, New York, NY. 260 pp.

Lovell, R.T. 1998. Nutritional and feeding of fish. Auburn University. Auburn, Alabama. pp 267.

Luzier, J.M. Summerfelt. R.C. and Ketala, H.G., 1995. Partial replacement of fishmeal with spray-dried blood powder to reduce P concentrations in diets for juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquac. Res. 26:577-587.

NRC. 1991. Nutrient Requirement of Fish. National Academy Press, Washington, D.C.

NRC. 1993. Nutrient Requirement of Fish. National Academy Press, Washington, D.C.

Nankervis, L., Matthews, S.J. and Appleford, P. 2000. Effect of dietary non-protein energy source on growth, nutrient and circulating insulin-like growth factor I and triiodothyronine levels in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Aquaculture 191: 323-335.

Ogino, C. and Takeda, H. 1976. Mineral requirements in fish: III. Calcium and phosphorus requirements of carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 42: 739-799.

Ogino, C., and Takeda, H. 1978. Requirement of rainbow trout for dietary calcium and P in carp and rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45: 1527-1532.

Oliva-Teles, A., Pereira, J.P., Gouveia, A. and Gomes, E. 1998. Utilisation of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquat. Living Resour. 11: 255-259.

Phillips, A.M., Podoliak, H.A., Brockway, D.R. and Vaughn, R.R. 1958. The nutrition of trout. Cortland Hatch. Report, No. 26, Fish. Res. Bull. No.21, New York Conservation Department, Albany, NY.

Phillips Jr, A.M. 1962. Effect of dietary and water temperature on the blood phosphorus of brook trout. Prog. Fish-Cult. 24: 22-25.

Phromkunhong, W., Boonyaratpalin, M. and Storch, V. 1997 Different concentrations of ascorbyl-2-monophosphate-magnesium as a dietary sources of vitamin C for seabass, *Lates calcarifer* (Bloch). Aquaculture. 151: 225-243.

Phromkunthing, W. and Gabaudan, J. 2006. Used of microbial phytase to replace inorganic phosphorus in sex-reversed red tilapia: 1 dose response. Songklanakarin J. Sci. Technol. 28: 731-734.

Pongmaneerat, J., Chainark, P., Koaean, K., Silakes, S., Yuttayong, D. and Chindamaikul, T. 2006. Optimum phosphorus level in diets for red snapper (*Lutjanus argentimatus*, Forskal). Thai Fisheries Gazette 59: 252-258.

Riche, M. and Brown, P.B., 1999. Incorporation of plant protein feedstuffs into fish meal diets for rainbow trout increases P availability. Aqua. Nutr. 5: 101–105.

Robinson, E.H.and Wilson, R.P. 1985. Nutrition and feeding. *In:* Channel Catfish Culture. (ed.C.S.Tucker) Development in Aquaculture and Fisheries Science,15, pp. 323-404.

Robinson, E.H., Labomascus, D., Brown, P.B. and Linton, L. 1987. Dietary calcium and P requirement of *Oreochromis aurata* reared in calcium-free water. Aquaculture 64 : 267-276.

Rodehutscord, M., 1996. Response of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) growing from 50 to 200 g to supplements of dibasic sodium phosphate in a semipurified diet. J. Nutr. 126: 324–331.

Rodehutscord, M. and Pfeffer, E. 1995. Effects of supplemental microbial phytase on P digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Wat Sci. Techn. 31: 143-147.

Rodehutscord, M., Gregus, Z. and Pfeffer, E., 2000. Effect P intake on faecal and non-faecal P excretion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the consequences for comparative P availability studies. Aquaculture 188: 383–398.

Rønsholdt, B., 1995. Effect of size/age and feed composition on body composition and P content of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Water Sci. Technol. 31: 175–183.

Rovindran, V., Kornegay, E.T., Potter, L.M., Ogunabameru, B.O., Welten, M.K., Wilson, J.H., and Potchanakorn, M., 1995. An evaluation of various response criteria in assessing biological availability of P for broilers. Poultry Sci. 74: 1820–1830.

Roy, P.K. and Lall, S.P. 2003. Dietary P requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). Aquaculture 221: 451-468.

Saijjadi, M. and Carter, C.G. 2004. Dietay phytase supplementation and the utilization of P by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a canola-meal-based diet. Aquaculture 240: 417-431.

Sakaguchi, H. and Hamaguchi, A. 1979. Physioligical studies on cultured red sea bream: I. Seasonal variation of chemical constientd in plasma, hepatopancreas and other viscera. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45: 443-448.

Sakamoto, S. and Yone, Y. 1978. Effects of dietary P on chemical composition of red sea bream. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 44: 227-229.

Sakamoto, S. and Yone, Y. 1980. A principal source of deposited lipid in phosphorus deficient red sea bream. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46: 1227-1230.

Satoh, S., Takanezwa, M., Akimoto, A., Kiron, V. and Watanabe, T. 2002. Changes of phosphorus absorption from several feed ingredients in rainbow trout during growing stages and effect of extrusion of soybean meal. Fish. Sci. 68: 325-331.

Sauer, D.M. and Haider, G. 1977. Enzyme activities in the serum of rainbow trout, *Salma gairdneri* Richardson: the effect of water temperature. J. Fish Biol. 11: 605-612.

Sauer, D.M. and Haider, G. 1979. Enzyme activities in the plasma of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. The effect of nutritional status and salinity. J. Fish Biol. 14: 407-412.

Sigma Chemical Company. 1960. The colorimetric determination of P, alkaline, acid and prostatic acid. Technical Bulletin No. 104. Revised edn, St. Louis. MO.

Shearer, K.D. 1984. Changes in elemental composition of hatchery-reared rainbow trout, *Salmo gairdneri*, associated with growth and reproduction. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41: 1592-1600.

Shearer, K.D. and Hardy, R.W. 1987. Phosphorus deficiency in rainbow trout fed a diet containing deboned fillet scarp. Prog. Fish-Cult. 49: 192-197.

Shearer, K.D., Asgard, T., Andorsdottir, G. and Aas, G.H. 1994. Whole body elemental and proximate composition of Atlantic salmon (*salmo salar*) during the life cycle. J. Fish Biol. 44: 785-797.

Shearer, K.D.1995. The use of factorial modeling to determine the dietary requirements for essential elements in fishes. Aquaculture 133: 57– 72.

Shearer, K.D. 2000. Experimental design, statistical analysis and modeling of dietary nutrient requirement studies for fish: A critical review. Aqua. Nutr. 6: 91-102.

Skoberg, D.I., Yogev, L., Hardy, R.W. and Dong, F.M. 1997. Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture 157: 11-24.

Sugiura, S.H., Gabaudan, J., Dong, F.M., and Hardy, R.W. 2001. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of P, trace minerals ans protein by rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed soybean meal-based diets. Aquaculture Research 32: 583-592.

Takeuchi, M. and Nakazoe, J. 1981. Effect of dietary phosphorus on lipid content and its composition in carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 47: 347-352.

Uhlig, H. 1998. Industrial enzyme and their application. John Wiley & Sons, Inc. New York.

Vielma, J. and Lall, S.P. 1998. P utilization by Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater is not influenced by higher dietary calcium intake. Aquaculture 160: 117-128.

Vinuela, J., Ferrer, M. and Recio, F. 1991. Age- related variations in plasma levels of alkaline phosphatase, calcium and inorganic phosphorus in chick of two species of raptors. Comp. Biochem. Physiol. 99: 49-54.

Watanabe, T., Takeuchi, T., Murakami, A. and Ogino, C. 1980 a. The availability to *Tilapia niloticus* of P in white fishmeal. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46: 897-899.

Watanabe, T.,Takeuchi, T., Murakami, A. Nose, T. and Ogino, C. 1980b. Requirement of chum salmon held in freshwater for dietary P. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 46: 361-367.

Wiesmann, D., Scheid, H. and Pfeffer, E. 1988. Water pollution with phosphorus of dietary origin by intensively fed rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) Aquaculture 69: 263-270.

Wilson, R.P., Robinson, E.H., Gatlin. D.M. and Poe, W.E. 1982. Dietary phosphorus requirement of channel catfish. J. Nutr. 112: 1197-1202.

Yone, Y. and Fujii, M. 1975. Studies on Nutrition of red sea bream-XI: Effect of ω 3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. Bull. Jpn. Soc. Fish 41: 73-77.

Zeitoun, I.H., Jack, P.I., Halver, I.E. and Ullrey. 1973. Influence of salinity on protien requirements of rainbow trout, italia fingerling. J. Fish.Res. Board Can. 30: 1867-1873.