RESEARCH ARTICLE

Journal of Science Innovation for Sustainable Development
https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/JSISD/index

Effects of Mannan Oligosaccharides and Vitamin E on Growth Performance and Pathology and Morphometry Intestinal of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)) fingerlings

Talerngkiat Somnuek[1], Krittima Kasamawut[1], Samnao Saowakoon[1,*], Natthawan Somnuek[1]

ABSTRACT

A method was developed and growth performance of experimental nursery Nile tilapia juveniles was supplementation diets with prebiotics mannan oligosaccharides (MOS) and α-tocopherol (vitamin E; VE) and intestinal morphological changes. The research was planned the experiment completely randomize design (CRD). The average body weight (g) of Nile tilapia was 20.05±1.50 g and in total, 360 of the fish samples. Experimental fish about 20.05 g Nile tilapia were divided into four different treatments: the treatment 1–4 showed the minimum value for theses measurements for 28 days, treatment 1 (MOS 0% and VE 0%), treatment 2 (MOS 1%), treatment 3 (VE 1%), and treatment 4 (MOS 1% + VE 1%), respectively. The treatment 2 showed that the final body weight (28.26±1.07g), DWG (8.11±0.56 g/day), final length (14.18±1.85 cm), SGR (7.63±3.42%/day), and FCR (2.30±0.02) of Nile tilapia, which specific groups were statistically significantly different from each other ($p<0.05$). Treatment 4 SR showed the value highest at 97.37±1.22% and treatment 3 at 95.32±2.30% and treatment 2 at 95.07±1.94% and treatment 1 at 89.12±4.43%, respectively. The intestine villi length showed the higher values (1,512.22±202.48 μm & 1,500.00±227.58 μm) in the treatments (2 and 4) than the values (1,409.59±354.41 μm & 1,360.88±293.267 μm) in the treatments (3 and 1) respectively. The current study recommends using the dietary with MOS 1% to improve juvenile Nile tilapia's performance and intestinal villi length.

Keywords: MOS, vitamin E, *Oreochromis niloticus*, growth performance, intestinal villi

Published Online: 28 January, 2023

ISSN: 2730-3829

T. Somnuek[1]
[1]Faculty of Agriculture and Technology Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus, Thailand (natthawan.so@rmuti.ac.th)

K. Kasamawut[1]
[1]Faculty of Agriculture and Technology Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus, Thailand (krittima2562@gmail.com)

S. Saowakoon[1,*]
[1]Faculty of Agriculture and Technology Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus, Thailand (saowakoon@gmail.com)

N. Somnuek[1]
[1]Faculty of Agriculture and Technology Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus, Thailand (natthawan.so@rmuti.ac.th)

[*]*Corresponding Author*

Recevived date: 6 June 2022
Revised date: 2 October 2022
Accepted date: 29 December 2022

Journal of Science Innovation for Sustainable Development
https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/JSISD/index

ผลของแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์และวิตามินอีต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตพยาธิวิทยาและสัณฐานวิทยาลำไส้ของปลานิลวัยอ่อน

เถลิงเกียรติ สมนึก[1] กฤติมา กษมาวุฒิ[1] สำเนาว์ เสาวกูล[1,*] ณัฏฐวรรณ สมนึก[1]

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีการอนุบาลปลานิลในกระชังให้เจริญเติบโตด้วยการเสริมสารพรีไบโอติก ชนิดแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (mannan oligosaccharides; MOS) และวิตามินอีชนิดแอลฟาโทโคฟีรอล (vitamin E; VE) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิในลำไส้ในปลานิลวัยอ่อน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดสมบูรณ์ (completely randomize design; CRD) ซึ่งตัวอย่างปลานิลที่ใช้ทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ย 20.05±1.50 กรัม จำนวน 360 ตัว แบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มทดลองที่ 1 เสริม MOS และ VE 0% กลุ่มทดลองที่ 2 เสริม MOS 1 % กลุ่มทดลองที่ 3 เสริม VE 1 % และ กลุ่มทดลองที่ 4 เสริม MOS 1% + VE 1% ให้สัตว์ทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า กลุ่มทดลองที่ 2 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักเพิ่มขึ้นเท่ากับ 28.26±1.07 กรัม ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเพิ่มขึ้นต่อวัน (DWG) เท่ากับ 8.11±0.56 กรัมต่อวัน ค่าเฉลี่ยความยาวลำตัวสุดท้าย 14.18±1.85 เซนติเมตร ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (SGR) มีค่าเท่ากับ 7.63±3.42 % ต่อวัน และค่าเฉลี่ยอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) เท่ากับ 2.30±0.02 ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ค่าเฉลี่ยอัตราการรอดตาย (SR) ของกลุ่มทดลองที่ 4 สูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่มทดลองที่ 3 กลุ่มทดลองที่ 2 และกลุ่มทดลองที่ 1 ตามลำดับ มีค่าเท่ากับ 97.37±1.22% 95.32±2.30% 95.07±1.94% และ 89.12±4.43% ตามลำดับ และความยาวของวิลไลบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น กลุ่มทดลองที่ 2 และ 4 ไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1,512.22±202.48 ไมโครเมตร และ 1,500.00±227.58 ไมโครเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับกลุ่มทดลองที่ 3 และ 4 ที่มีค่าเท่ากับ 1,409.59±354.41 ไมโครเมตร และ 1,360.88±293.267 ไมโครเมตร ตามลำดับ ดังนั้นการเสริม MOS 1% ในอาหารปลานิลสามารถเพิ่มความยาวของวิลไลในลำไส้เล็ก ทำให้การเจริญเติบโตปลานิลวัยอ่อนดีขึ้นได้

คำสำคัญ: แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ วิตามินอี ปลานิล การเจริญเติบโต ลำไส้เล็ก

Published Online: 28 January, 2023
ISSN: 2730-3829

เถลิงเกียรติ สมนึก[1]
[1]คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์
(um305@hotmail.com)

กฤติมา กษมาวุฒิ[1]
[1]คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์
(krittima2562@gmail.com)

สำเนาว์ เสาวกูล[1,*]
[1]คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์
(saowakoon@gmail.com)

ณัฏฐวรรณ สมนึก[1]
[1]คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์
(natthawan.so@rmuti.ac.th)

[*]Corresponding Author

Recevived date: 10 June 2022
Revised date: 2 October 2022
Accepted date: 29 December 2022

1. บทนำ

ปลานิล (*O. niloticus* L.) เป็นปลาเศรษฐกิจที่สำคัญเนื่องจากเป็นที่นิยมบริโภคของประชาชนมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศของโลก โดยมีมูลค่าผลผลิตต่อปีสูงสุดในบรรดาสัตว์น้ำจืดทั้งหมดมีไขมันชนิด โอเมก้า 3 สูง (FAO, 2020) ทำให้เป็นที่ต้องการของตลาดภายในและต่างประเทศ (Tiengtam et al., 2015) ซึ่งในการเพาะเลี้ยงต้องการให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดีมีความต้านทานโรคและมีอัตราการรอดตายสูง การเสริมอาหารด้วยการใช้สารพรีไบโอติก (prebiotic) ที่มีสมบัติเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนสายสั้น ๆ หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosac-charide) ได้แก่ ฟลุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไซโลโอลิกแซคคาไรด์ (xylo oligosaccharide; XOS) กลูโคโอลิโกแซคคา-ไรด์ (Gluco Oligosaccharide; GOS) แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (mannan oligosaccharide; MOS) ซึ่งผลิตได้จากผนังเซลล์ของแบคทีเรียชนิด *Saccharomyces cerevisiae* หรือจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยวิธีทางเอนไซม์เป็นสารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตส่งผลต่อการสังเคราะห์เอนไซม์ของจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกในลำไส้สิ่งมีชีวิตซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารซึ่งถือว่าเป็นวิธีการทางชีวภาพ (Doan et al., 2020) ดังนั้นการใช้สารดังกล่าวจึงไม่มีผลข้างเคียงตกค้างในเนื้อสัตว์และลดการก่อโรคจึงมักนิยมใช้ในการเลี้ยงปลานิลเพื่อไม่ก่อให้เกิดสารตกค้างในผลิตภัณฑ์เมื่อส่งไปยังต่างประเทศโดย นอกจากจะทำหน้าที่เพิ่มการสังเคราะห์เอนไซม์และเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์แล้วยังกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ด้วยการย่อยกากใย (fiber) ในทางเดินอาหารอีกทั้งเพิ่มความยาวของวิลไลและจำนวนเซลล์ผลิตเมือก (globlet cell) ในลำไส้เล็กของสัตว์ (Dawood et al., 2018) นอกจากนี้ พรีไบโอติก ยังส่งเสริมการใช้สารอาหารจำพวกกลูโคส อัลบูมิน แคลเซียม แมกนีเซียม ไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้มากขึ้น (Tiengtam et al., 2015) อีกทั้งช่วยให้ตัวอ่อนของสัตว์น้ำมีอัตราการรอดชีวิตและเพิ่มผลผลิตสัตว์น้ำได้อีกด้วย (Miandare et al., 2016) การเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมสารอาหารในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กได้ (Mahious et al., 2006) การเสริม Bio-MOS ในปริมาณ 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในการเลี้ยงปลาม้า (*Sciaenops ocellatus*) ทำให้ผลผลิตมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและมีอัตราการรอดตายสูงกว่าปลากลุ่มควบคุม ส่งผลตอบสนองด้านการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นยังมีวิตามินอีมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งสามารถทำลายเซลล์ (Nascimento et al., 2014) เป็นสารประกอบโทคอล (tocols) ซึ่งในธรรมชาติพบว่ามีด้วยกันทั้งหมด 8 อนุพันธ์ คือ แอลฟาโทโคฟีรอล เบต้าโทโคฟีรอล แกมม่าโทโคฟีรอล เดลต้าโทโคฟีรอล แอลฟาโทโคไตรอีนอล เบต้าโทโคไตรอีนอล แกมมาโทโคไตรอีนอล และเดลต้าโทโคไตรอีนอล (Doan et al., 2020) แหล่งที่มาวิตามินอีจึงมีบทบาทสำคัญที่สุดส่งผลต่อโครงสร้างและความสามารถต้านอนุมูลอิสระ จึงช่วยปกป้องเซลล์ในร่างกายจากสารอนุมูลอิสระได้ โดยไปขัดขวางปฏิกิริยาออกซิเดชันของผนังเซลล์ และปกป้องกรดไขมันไม่อิ่มตัวจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเฉพาะกรดไขมันในร่างกายปลาจะมีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมาก วิตามินอีช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระออกซิเจน (reactive oxygen species; ROS) ที่เกิดขึ้นทำให้ ROS ไม่มีผลต่อปฏิกิริยาลูกโซ่ในการออกซิไดซ์กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงต่อไป (Pereira et al, 2020) การเกิดขึ้นของ ROS มีผลเสียคือทำให้เกิดการออกซิเดชั่นของไขมัน โปรตีน หรือดีเอ็นเอ ดังนั้นอาหารที่ให้ปลาควรมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น วิตามินอี และวิตามินซี (Abdel-Tawwab et al., 2020) รูปแบบวิตามินอีเพื่อเป็นสารเสริมในอาหารสัตว์น้ำจะอยู่ในรูปของสารอนุพันธ์ tocopheryl acctate สามารถถูกดูดซึมผ่านผนังทางเดินอาหารที่ลำไส้เล็กเช่นเดียวกับกลไกการดูดซึมไขมันซึ่งจะถูกปล่อยเข้าสู่ระบบน้ำเหลือง (lymphatic system) และผ่านเข้าสู่กระแสโลหิตเพื่อลำเลียงไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ (Yousefi et al., 2018) ยิ่งไปกว่านั้นยังป้องกันการทำลายเยื่อหุ้มในร่างกาย ลิโพโปรตีน และการสะสมกรดไขมัน (Xiong et al., 2016) การเสริมวิตามินอีในอาหารปลาเพื่อปรับปรุงการเจริญเติบโต (Zhao et al., 2018) การป้องกันโรคและส่งผลต่อระบบสืบพันธุ์ ในปลานิล (Abou et al., 2020) โดยยังพบว่าวิตามินอียังมีส่วนช่วยในการเสริมการหลั่งเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์หลาย ๆ ชนิด โดยในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำกำลังพยายามปรับปรุงประสิทธิภาพของอาหารสัตว์อย่างต่อเนื่องเพื่อยกระดับการผลิตอย่างยั่งยืนมากขึ้น โภชนาการที่เหมาะสมและการจัดการที่ดีขึ้นเป็นข้อกำหนดสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ประสบความสำเร็จ (Mohamed et al., 2020) นอกจากนี้คุณภาพอาหารสัตว์มีความสัมพันธ์โดยตรงกับคุณภาพน้ำ ชนิดพันธุ์สัตว์น้ำที่เลี้ยง (Kong et al., 2020) อาทิ พรีไบโอติก (Islam et al.,

2021; Jahan et al., 2021) อนุภาคนาโน (Rathore et al., 2021) และธาตุอาหาร (Akter et al., 2021; Xu et al., 2021) สามารถใช้ปรับปรุงคุณภาพอาหารสัตว์เพื่อทำหน้าที่เป็นปัจจัยร่วมหรือตัวกระตุ้นในกระบวนการของเอนไซม์ต่าง ๆ (Hamre, 2011) นอกจากนี้การเสริมธาตุอาหารช่วยเพิ่มการเผาผลาญ การดูดซึมและการใช้สารอาหารที่จำเป็น เช่น โปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรตได้อีกด้วย (Ren et al., 2018)

ดังนั้นการอนุบาลปลานิลเพื่อให้มีความพร้อมก่อนนำไปเลี้ยงในฟาร์มต้องได้รับการพัฒนาทั้งน้ำหนักและขนาดให้มีคุณภาพดี (Barman and Little, 2011) รวมทั้งการปรับพฤติกรรมการกินอาหารและใช้ระยะเวลาการเลี้ยงสั้น (Francis, and Esa, 2016) โดยการเติมสารทางโภชนาการ อาทิ MOS และ VE ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแม้เพียงเล็กน้อยเพื่อผลิตปลานิลที่มีคุณภาพและส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตได้ในอนาคต อีกทั้งส่งผลต่อธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยพบการสะสมของวิตามินอีทั้งในตับและในอวัยวะสืบพันธุ์ซึ่งแสดงถึงคุณประโยชน์ของวิตามินอีต่อพ่อแม่พันธุ์ปลานิลโดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้ต่อการปรับปรุงด้านการสืบพันธุ์ให้ดียิ่งขึ้น (Ogello et al., 2014)

2. วิธีการวิจัย

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมอาหารทดลอง

1.1 นำอาหารสำเร็จรูปลอยน้ำสำหรับปลานิลที่มีจำหน่ายทางการค้า (Fish first, Intech Company Ltd, Thailand) เป็นอาหารพื้นฐานในการทดลองโดยที่มีการตรวจวิเคราะห์สารอาหารที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารตามวิธี (AOAC, 2016) ได้ค่าดังนี้ ค่าความชื้น 7.97% ไขมัน 9.32% โปรตีน 29.26% เถ้า 7.42% เยื่อใย 7.42% คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ 29.06% และพลังงาน 486 กิโลแคลอรี

1.2 เตรียมอาหารแต่ละกลุ่มทดลองโดยนำอาหารมาทำการผสม MOS รูปแบบผงที่มีจำหน่ายเชิงพานิชย์ (Bio-MOS, Alltech Indonesia) ตามกลุ่มทดลองต่าง ๆ ละลายในน้ำอุณภูมิ 40 องศาเซลเซียส ปริมาณ 5% v/w ของน้ำหนักอาหาร นำสารละลายฉีดพ่นและผสมให้ทั่วแล้วผึ่งลมให้แห้ง จากนั้นเคลือบอาหารด้วยวิตามินอี(ของเหลว) ชนิด α-tocopherol (Sigma Chemical Company Ltd., Poole, UK) ที่ละลายในน้ำมันพืชปริมาณ 5% w/w ฉีดพ่นบนอาหารและผสมให้ทั่ว ผึ่งลมให้แห้ง เก็บอาหารทดลองแล้วในภาชนะทึบแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมปลานิลทดลอง

2.1 ปลานิลที่ใช้ทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 20.01±0.12 กรัม ความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 10.01±0.20 เซนติเมตร จำนวน 30 ตัวต่อกระชัง เป็นปลานิลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากฟาร์มเอกชนในจังหวัดสุรินทร์ ฝึกการกินอาหารเม็ดลอยน้ำสำหรับปลานิล 2 มื้อต่อวัน คือ 7.00 น. และ 17.00 น. โดยให้อาหารที่ปริมาณ 3% w/w ของน้ำหนักตัว การปรับสภาพปลาทดลองใช้เวลา 2 สัปดาห์ มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำเพื่อให้เหมาะสมต่อสภาพการทดลองตามวิธีของ (Al-Khshali and Hilali, 2022) จากนั้นสุ่มปลาแยกออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำจำนวน 90 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง ตามวิธีของ (Costa et al., 2017)

2.2 นำปลาทดลองที่ปรับพฤติกรรมแล้ว แยกตามกลุ่มทดลองใส่กระชังขนาดกว้าง 2.0 เมตร x ยาว 2.0 เมตร x ลึก 1.2 เมตร จำนวน 12 กระชัง

2.3 ระหว่างการทดลองมีการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต ชั่งน้ำหนักและวัดความยาวทุก 7 วัน ระยะเวลาทดลอง 28 วัน

3. การวางแผนการทดลอง

3.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดสมบูรณ์ (CRD) โดยกำหนดให้แต่ละกลุ่มได้รับสารเสริม คือ แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (MOS) วิตามินอี (VE) ระดับ ที่มีความแตกต่างกันทั้งสิ้น 4 กลุ่มทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 30 ตัว ดังนี้

Table 1. The treatments of levels MOS and vitamin E feed additive.

Treatment	Levels MOS and VE feed additive (%/kg diet)	
	MOS %	VE 1%
1	0	0
2	1	0
3	0	1
4	1	1

2. การดำเนินงานวิจัย

2.1 การศึกษาการเจริญเติบโต

สุ่มปลาแต่ละกลุ่มทดลองจำนวน 5 ตัวต่อซ้ำ เพื่อชั่งน้ำหนัก วัดความยาวและนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวนค่าการเจริญเติบโตดังวิธีการคำนวณดังนี้ (Somnuek et al., 2022)

น้ำหนักเพิ่มต่อวัน (daily weight gain, DWG; กรัมต่อวัน) = (น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักปลาเริ่มต้น)/ระยะเวลาทดลอง

อัตราการเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, SGR; %ต่อวัน) = ln (น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักปลาเริ่มต้น)/ระยะเวลาทดลอง

อัตรารอดตาย (survival rate: %) = (จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง/จำนวนปลาที่เริ่มต้นการทดลอง) x100

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio; FCR) = น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน/น้ำหนักของปลาที่เพิ่มขึ้น

2.2 การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ

นำปลาจากข้อ 2.1 มาทำให้สลบปลาด้วยน้ำมันกานพลูอัตราส่วน 30 มิลลิตรต่อน้ำ 1 ลิตรทิ้งไว้ 10 นาที เมื่อปลาสลบแล้วผ่าช่องท้องและเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณ Duodinum และ Jejunum แช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มัลดีไฮด์นาน 24 ชั่วโมง ตรวจสอบชิ้นเนื้อตัวอย่างด้วยตาเปล่าและสุ่มตัดชิ้นเนื้อบริเวณที่ต้องการ นำตัวอย่างเข้าเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติเพื่อผลิตบล็อกพาราฟิน ทำการตัดเนื้อเยื่อให้ได้ความหนา 5 ไมโครเมตร ย้อมสไลด์ด้วยสีฮีมาทอคไซลินและอีโอซิน นำตัวอย่างสไลด์ไปวินิจฉัยทางพยาธิสภาพและถ่ายภาพประกอบผ่านกล้องจุลทรรศน์ตามวิธีของ (Bancroft and Gamble, 2013) เปรียบเทียบความยาวของวิลไลภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยโปรแกรม Aperio ImageScope version 12.3.2.5030 (Takashima and Hibiya, 1995)

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มทดลองโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Yossa and Verdegem, 2015) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 20 (SPSS, Richmond, VA, USA, 2011)

3. ผลการวิจัย

1. การเจริญเติบโต

1.1 การเจริญเติบโต

ผลการทดลองการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปเสริมพรีไบโอติก และวิตามินอีในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 4 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มทดลองที่ 1 ได้รับอาหารเสริม MOS 0% และ VE 0% (กลุ่มควบคุม) กลุ่มทดลองที่ 2 ได้รับอาหารเสริม MOS 1% กลุ่มทดลองที่ 3 ได้รับอาหารเสริม VE 1% และกลุ่มทดลองที่ 4 ได้รับอาหารเสริม MOS 1% ร่วมกับ VE 1% ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลานิลใน

กลุ่มทดลองที่ 2 มีค่าน้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ย ความยาวสุดท้ายเฉลี่ย DWG SGR และ FCR ดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 28.26±1.07 กรัม 14.18±1.85 เซนติเมตร 8.11±0.56 กรัมต่อวัน 7.63±3.42 %ต่อวัน และ 2.30±0.02 ตามลำดับ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มทดลอง 1, 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ค่า SR พบว่า กลุ่มทดลองที่ 4 3 และ 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 97.37±1.22% 95.32±2.30% และ 95.07±1.94% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มทดลองที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 2)

Table 2. Growth performance and feed utilization of Nile tilapia (*O. niloticus*) fed diets with various levels of MOS and VE for 28 days (n = 5)

Growth performance	Levels MOS and VE (%/kg diet)			
	0%+0%(control)	MOS 1%	VE 1%	MOS 1%+VE 1%
Initial weight (g./ind)	20.01^{ns} ±0.20	20.15^{ns}±0.15	20.10^{ns}±0.12	20.10^{ns}±0.23
Final weight (g./ind)	27.36^{b} ±2.43	28.26^{a} ±1.07	27.73^{b} ±1.49	27.52^{b} ±0.54
Initial length (cm./ind)	10.13^{ns} ±0.16	10.11^{ns}±0.20	10.12^{ns}±0.20	10.15^{ns} ±0.21
Final length (cm./ind)	12.80^{b} ±1.07	14.18^{a} ±1.85	12.63^{b} ±1.71	13.92^{b} ±1.87
DWG (g./day)	7.35^{b} ±0.94	8.11^{a} ±0.56	7.63^{b} ±0.87	7.42^{b} ±0.93
SGR (%/day)	7.12^{b} ±2.99	7.63^{a} ±3.42	7.26^{b} ±3.06	7.16^{b} ±2.95
FCR	2.60^{b} ±0.03	2.30^{a} ±0.02	2.54^{b} ±0.04	2.60^{b} ±0.06
SR(%)	89.12^{b} ±4.43	95.07^{a} ±1.94	95.32^{a} ±2.30	97.37^{a} ±1.22

Note: Means having different letters in the same row are significantly different at $p < 0.05$ (Duncan test).

2. การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ

ผลการทดลองการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปเสริมพรีไบโอติกและวิตามินอีในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 4 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มทดลองที่ 1 ได้รับอาหารเสริม MOS 0% และ VE 0% (กลุ่มควบคุม) กลุ่มทดลองที่ 2 ได้รับอาหารเสริม MOS 1% กลุ่มทดลองที่ 3 ได้รับอาหารเสริม VE 1% และกลุ่มทดลองที่ 4 ได้รับอาหารเสริม MOS 1% ร่วมกับ VE 1% ต่ออาหาร1กิโลกรัม เป็นเวลา 28 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการสุ่มตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้แต่ละกลุ่มทดลองจำนวน 12 สไลด์ต่อกลุ่มทดลอง จากนั้นส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์และถ่ายภาพวิลไลที่มีความยาวที่สุดในแต่ละสไลด์ นำไฟล์ภาพดิจิทัลที่ได้ไปเข้าโปรแกรม Aperio ImageScope version 12.3.2.5030 (Takashima and Hibiya, 1995) โดยจะสามารถลากเส้นและบอกค่าความยาวของวัตถุจากภาพได้ บันทึกค่าความยาวตั้งแต่ฐานของวิลไลแต่ละกลุ่มทดลองพบว่า กลุ่มทดลองที่ 2 และ 4 มีความยาวของวิลไล มีความยาวเฉลี่ย 1,512.22±202.48 ไมโครเมตร และ 1,500.00±227.58 ไมโครเมตร ตามลำดับ โดยเมื่อส่งผ่านกล้องจุลทรรศน์จะเห็นส่วนของ Lamina propria มีการแตกกิ่งก้าน (branches) และมีการพับงอ (fold) มากขึ้น ส่งผลต่อเซลล์และเยื่อบุผนังลำไส้ที่เพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มทดลองที่ 1และกลุ่มทดลองที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Table 3)

Table 3 Intestinal morphology of Nile tilapia (*O. niloticus*) fed with diets supplemented with various levels of MOS and VE for 28 days (n = 5)

Villus length (micrometer)	0%+0%(control)	MOS 1%	VE 1%	MOS 1%+VE 1%
$Villus\ length_1$	1,335.06ns±19.71	1,332.80ns ±22.67	1,335.50ns ±27.71	1,338.10ns ±20.16
$Villus\ lengthi_{28}$	$1,360.88^{b}$±293.267	$1,512.22^{a}$±202.48	$1,409.59^{b}$ ±354.41	$1,500.00^{a}$ ±227.58

Note: Means having different letters in the same row are significantly different at $p<0.05$.

Journal of Science Innovation for Sustainable Development
https://ph01.tci-thaijo.org/index.php/JSISD/index

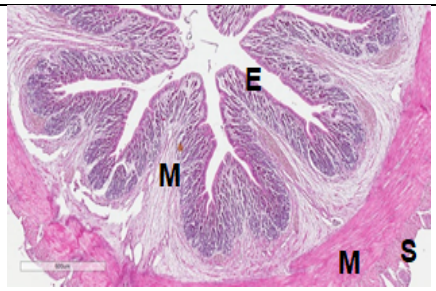
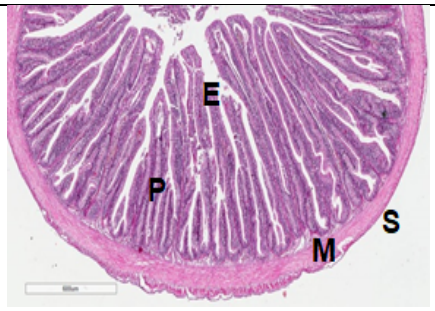
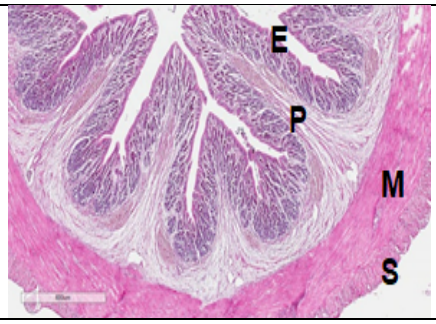
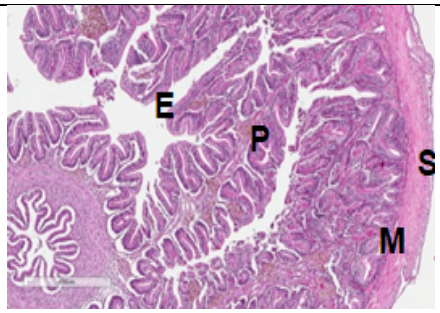
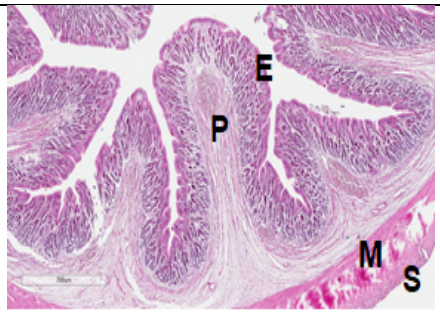
Group	Anterior region	Middle region
0%+0% (control)		
	(1)	(2)
MOS 1%		
	(3)	(4)
VE 1%		
	(5)	(6)
MOS 1%+ VE 1%		
	(7)	(8)

Figure (1–8) Intestine histomorphology of Nile tilapia strained with hematoxylin and eosin exposed to different experimental treatments for 28 days. Figure (1,2) Group1 (control); the fish received a basal diet, Figure (3,4) Group2 Figure (5,6 Group3 ; and Figure (7,8) Group4; (P)Lamina propria, (M), Muscular layer, (S)Tunica serosa and (E) Epithelial cell bar=600 micrometer.

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการทดลองเก็บข้อมูลด้านการเจริญเติบโตของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหาร 4 กลุ่มทดลอง ได้แก่กลุ่มทดลองที่ 1 (MOS 0% และ VE 0%) กลุ่มทดลองที่ 2 (MOS 1%) การทดลองที่ 3 (VE 1%) กลุ่มการทดลองที่ 4 (MOS 1% และ VE 1%) เป็นเวลา 28 วัน ได้ผลดัง Table 1 จากการศึกษาพบว่าในชุดการทดลอง 2 เสริมอาหารด้วย MOS จะให้ค่าประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ได้แก่ DWG SGR FCR และ SR ดีกว่ากลุ่มทดลองที่ไม่ได้เสริมอาหารด้วยพรีไบโอติกและวิตามินอี (กลุ่มทดลองที่ 1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจาก MOS เป็นสารที่ช่วยในการเพิ่ม

ความยาวและความหนาแน่นของวิลไลทำให้ประสิทธิภาพในการดูดซึมสารอาหารของสัตว์เพิ่มมากขึ้นอีกทั้งมีบทบาทในการย่อยกากใย (fiber) ในอาหารให้อยู่ในรูปที่โฮสต์สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโตต่อไป (Ringø et al., 2014) เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของกลุ่มทดลองที่ 1 และ 3 พบว่าทั้งสองกลุ่มมีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตต่ำกว่าปลาในกลุ่มทดลองที่ 2 และ 4 เนื่องจากวิตามินอีเป็นสารที่เสริมด้านการลดการเกิดอนุมูลอิสระและระบบภูมิต้านทาน หากในปลาที่มีขนาดวัยเจริญพันธุ์จะสามารถพัฒนาระบบสืบพันธุ์จึงทำให้ปลานิลได้รับประโยชน์จากอาหารได้มากกว่า (Mahious et al., 2006) แต่ในการทดลองดังกล่าวใช้ปลานิลขนาดเล็กวิตามินอีจึงไม่ได้ถูกนำไปใช้ต่อระบบสืบพันธุ์แต่จะเป็นการสะสมในร่างกายและนำไปใช้ในการป้องกันและลดความเครียดประกอบกับวิตามินอีไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซน์อะไมเลส ในขณะที่ MOS จะมีสวนช่วยในการทำงานของมีบทบาทสำคัญในการย่อยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ให้เป็นน้ำตาลเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานต่อไปโดยเอนไซน์ดังกล่าวจะมีบทบาทสำคัญต่อปลากินพืชซึ่งเป็นปลาที่ใช้พลังงานจากคาร์โบไฮเดรตเป็นหลัก เช่น ปลานิล ปลาตะเพียน (Jimoh et al., 2019)

สำหรับกลุ่มทดลองที่ 4 พบว่า ปลาในกลุ่มทดลองจะให้การเจริญเติบโตดีกว่าปลาในกลุ่มทดลองควบคุมและเสริมวิตามินอีกลุ่มที่3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Miandare et al., (2016) ศึกษาในปลาทอง (*Carassius auratus*) โดยพบว่าการเสริม MOS ระดับ 0.1% ในอาหารจะไปเพิ่มความยาวของวิลไลและยังเพิ่มความลึกของรอยพับที่บริเวณเยื่อบุลำไส้ ส่งผลต่อการเพิ่มพื้นที่ในการดูดซึมสารอาหารของปลามากขึ้น โดยการทดลองดังกล่าวได้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาในลูกปลานิล (Tiengtam et al., 2015) และลูกปลาออสก้า (Hoseinifar et al., 2016) อีกทั้งการเสริมสารจำพวกพรีไบโอติก เช่น FOS ที่ระดับ 2% ในอาหารแก่ลูกปลาตาเดียว (*Psetta maxina*) ทำให้การเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุม อีกทั้งยังพบแบคทีเรียชนิดดีจำพวก *Bacillus sp*. ในลำไส้และระบบทางเดินอาหารมากขึ้นด้วย (Guerreiro et al., 2016) และมีอัตรารอดตายแตกต่างกัน ชี้ให้เห็นได้ว่า สามารถใช้โอลิโกแซคคาไรด์เป็นแหล่งอาหารในการเพิ่มจำนวนเจริญเติบโต คล้ายกับรายงานของ Jimoh et al., (2019) ได้ทดลองใช้สารพรีไบโอติกชนิดที่มีไฟเบอร์สูงจะช่วยทำให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้เพิ่มจำนวนขึ้นได้

เมื่อพิจารณาความยาวและพัฒนาการของวิลไลในส่วนลำไส้เล็ก พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติกทั้งแบบเดี่ยวและแบบผสมร่วมกับวิตามินอีมีความยาวของวิลไลแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยในทางโภชนาการของพรีไบโอติก ในอาหารเป็นสารที่ช่วยเพิ่มการต่ออายุเซลล์และกระตุ้นการพัฒนาของวิลไลในลำไส้ และผลในเชิงบวกต่อการเพิ่มของน้ำหนักอาจเกี่ยวข้องกับการปรับปรุงโครงสร้างลำไส้ในปลาคาร์พ (Elkaradawy et al., 2021) ปลาม้าลาย (Yousefi et al., 2018) ความยาวของวิลไลที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อการเพิ่มพื้นที่ผิวเพื่อการดูดซึมสารอาหารที่มากขึ้น ผลกระทบทางโภชนาการของ MOSกระตุ้นเยื่อบุผิวของเยื่อบุลำไส้โดยการต่ออายุเซลล์โดยการเพิ่มการแบ่งเซลล์ของเยื่อบุในลำไส้ (Zhang et al., 2018) ซึ่งส่งผลให้การแพร่กระจายของเซลล์เยื่อบุผิวเยื่อบุลำไส้เพิ่มขึ้น (Denji et al., 2015) เซลล์เยื่อเมือกในทางเดินอาหาร เช่นเดียวกับเซลล์ที่เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว มีความต้องการสารโพลีแซคคาไรด์สูงเพื่อช่วยในการสร้างเซลล์ทดแทนเซลล์ที่ถูกทำลายไประหว่างการย่อยอาหารในกระบวนการสังเคราะห์เบสกลุ่มพิวรีนและไพริมิดีนต้องการสารจำพวกไนโตรเจนโดยมีสารตั้งต้นจำพวกคาร์บาโมอิลฟอสเฟต จึงช่วยให้มีการต่ออายุเซลล์อย่างต่อเนื่อง (Mohamed et al., 2020) ในทำนองเดียวกันการศึกษาของ Abou El-Fotoh et al., (2020) พบว่าการเพิ่มขึ้นของเซลล์เยื่อเมือกในลำไส้ปลานิลเสริม MOS 1% ในอาหาร ส่งผลให้ความยาวของวิลไลเพิ่มขึ้นส่งผลโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาเกิดช่องว่างระหว่างวิลไล

หากพิจารณาด้านจำนวนเซลล์หลั่งเมือกบริเวณเยื่อบุผนังลำไส้ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ศักยภาพการย่อยอาหารและการดูดซึมสารอาหารของสัตว์น้ำได้อย่างดี โดยมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยอาหาร การหลั่งเอนไซม์และการดูดซึมสารอาหารส่งผลต่อการเจริญเติบโต เมื่อพื้นที่ผิวของลำไส้มีมากขึ้นส่งผลให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารเพิ่มขึ้นมีการดูดซึมสารอาหารเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนน้ำหนักและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอีกด้วย (Elkaradawy et al., 2021)

ลำไส้เล็กเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่ในการดูดซึมสารอาหารในปลาโดยสารอาหารจะถูกขนส่งเข้าและออกจากเซลล์ที่อยู่ในลำไส้โดยมีความจำเพาะและรูปร่างแตกต่างกัน (Abdel-Latif et al., 2020) การเสริมอาหารส่งผลต่อเนื้อเยื่อในลำไส้ได้มีการทดสอบในปลานิลพบว่า มีการเพิ่มทั้งขนาด ความยาวความกว้าง และพื้นที่การดูดซึมในลำไส้ส่วนกลาง ประสิทธิภาพการดูดซึมแปรผันตามสุขภาวะของทางเดินอาหาร สารอาหาร.นำไปสู่การเพิ่มการเจริญเติบโต (Huerta-Aguirre et al., 2019) สอดคล้องกับงานวิจัยก่อให้เกิดการป้องกันโรคจากการที่ระบบทางเดินอาหารมีสุขภาพดีด้วยการผสม MOS และVE ในอาหารปลานิลนอกจากผลทางตรงแล้วยังก่อให้เกิดการลดแบคทีเรียชนิดก่อโรคและการอักเสบในทางเดินอาหารสัตว์ที่เกิดการติดเชื้อภายในร่างกาย โดยส่งผลในเชิงบวกต่อการดูดซึมสารอาหารและการเจริญเติบโต (Abdel-Tawwab et al., 2021)

4. Conclusion

In conclusion, our study suggested that using MOS 1% as prebiotic in the fish food of Nile tilapia (*O. niloticus*), it was evident that increased the FCR and VILLI at 2.30±0.02 and 1,512.22±202.48 μm, respectively. The MOS (1%) potentially improved growth performance parameters. We conclude that however, treatment with the prebiotic, MOS, in feed could be beneficial to fish health and that protects *O. niloticus* from serious diseases in the Nile tilapia (*O. niloticus*) culture industry.

5. Acknowledgement

This research was supported by Faculty of Agriculture and Technology Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus, and thanks to the Guide for the care and use of laboratory animals and use committee. There are many colleagues to whom we are indebted for their support and many kinds of help.

Conflict of interest

Authors declare that they have no conflict of interest.

References

Abdel-Latif, H. M. R., Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A. F., and Dawood, M. A. O. (2020). Dietary oregano essential oil improved the growth performance via enhancing the intestinal morphometry and hepato-renal functions of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture*, 526, 735432. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735432.

Abdel-Tawwab, M., Shukry, M., Farrag, F. A., El-Shafai, N. M., Dawood, M. A. O., and Abdel-Latif, H. M. R. (2021). Dietary sodium butyrate nanoparticles enhanced growth, digestive enzyme activities, intestinal histomorphometry, and transcription of growth-related genes in Nile tilapia juveniles. *Aquaculture*, 536, 736467. https://doi.org/10.1016/ j.aquaculture.2021.736467.

Abou El-Fotoh, E. S. M., Abd El-Rahman G. A., Farag, M. E., Khalil, B. A., and Ayyat, M. S. (2020). Dietary combination of vitamin e, selenium, and zinc effect on the reproductive efficiency of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Zagazig Journal of *Agricultural Research*, 47(2), 597–606. https://doi.org/10.21608/zjar.2020.94498.

Akter, S., Jahan, N., Rohani, M. F., Akter, Y. and Shahjahan, M. (2021). Chromium supplementation in diet enhances growth and feed utilization of striped catfish (Pangasianodon hypophthalmus). *Biological Trace Element Research*, 199, 4811–4819. https://doi.org/10.1007/s12011-021-02608-2.

Al-khshali, M. S., and Al-Hilalli, H. (2022). Influence of salinity acclimatization on energy, oxygen consumption rate and glucose levels for *Carassius auratus* (Goldfish). *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 8(3), 33–47.

AOAC, (2016). Official methods of analysis, 20th edn. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International, Maryland, USA.

Bancroft, J. D. and Gamble, M. (2013). The hematoxylin and eosin. In: Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD (eds) Theory and practice of histological techniques, 7th edn. Churchill Livingstone, Edinburgh, New York, USA, pp 179–220.

Barman, B. K. and Little, D. C. (2011). Use of hapas to produce Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) seed in household foodfish ponds: a participatory trial with small-scale farming households in Northwest Bangladesh. *Aquaculture*, 317(1–4), 214–222. https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2011.04.005.

Costa, A. A. P., Roubach, R., Dallago, B. S. L., Bueno, G. W., McManus, C. and Bernal, F. E. M. (2017). Influence of stocking density on growth performance and welfare of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cages. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterináriae Zootecnia*, 69(1), 243–251.

Dawood, M. A. O., Koshio, S., and Esteban, M. A. (2018). Beneficial roles of feed additives as immunos-timulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 10(4), 950–974. https://doi.org/ 10.1111/raq.12209.

Denji, K. A., Mansour, M. R., Akrami, R., Ghobadi, S. and Jafarpour, S. A., and Mirbeygi, S. K. (2015). Effect of dietary prebiotic mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, intestinal microflora, body composition, haematological and blood serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 10(4), 255–265. https://doi.org/10.3923/jfas.2015.255.265.

Doan, H. V., Hoseinifar, S. H., Tapingkae, W., Seel-audom, M., Jaturasitha, S., Dawood, M. A. O., Wongmaneeprateep, S., Nang Thu, T. T., and Esteban, M. A. (2020). Boosted growth performance, mucosal and serum immunity, and disease resistance nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings using corncob-derived xylooligosaccharide and *Lactobacillus plantarum* CR1T5. *Probiotics and Antimicrobial Proteins,* 12, 400–411. https://doi.org/10.1007/s12602-019-09554-5.

Elkaradawy, A., Abdel-Rahim, M. M., Albalawi, A. E., Althobaiti, N. A., Abozeid, A. M. and Mohamed, R. A. (2021). Synergistic effects of the soapbark tree, *Quillaja saponaria* and Vitamin E on water quality, growth performance, blood health, gills and intestine histomorphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Aquaculture Reports*, 20(4), 100733. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021. 100733.

FAO, (2020). The state of world fisheries and aquaculture. Sustainability in action. Meeting the sustainable development goals, Rome, Italy.

Francis, N. O. and Esa, Y. B. (2016). A review of production protocols used in producing economically viable monosex Tilapia. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 11(1), 1–11. https://doi.org/10.3923/jfas. 2016.1.11.

Guerreiro, I., Couto, A., Machado, M., Castro, C., Pousão-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., and Enes, P. (2016). Prebiotics effect on immune and hepatic oxidative status and gut morphology of white sea bream (*Diplodus sargus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 50, 168–174. https://doi.org/10.1016/j.fsi. 2016.01.023.

Hamre, K. (2011). Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. *Aquaculture Nutrition*, 17(1), 98–115. https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00806.x.

Hoseinifar, S. H., Khalili, M., and Sun, Y. Z. (2016). Intestinal histomorphology, autochthonous microbiota and growth performance of the oscar (*Astronotus ocellatus* Agassiz, 1831) following dietary administration

of xylooligosaccharide. *Journal of Applied Ichthyology*, 32(6), 1137–1141 https://doi.org/10.1111/jai.13118.

Huerta-Aguirre, G., Paredes-Ramos, K. M., Becerra-Amezcua, M. P., Hernández-Calderas, I., Matadamas-Guzman, M., and Guzmán-García, X. (2019). Histopathological analysis of the intestine from Mugil cephalus on environment reference sites. In: Gómez-Oliván, L. (ed) Pollution of water bodies in Latin America. Springer, Cham. pp. 319–328. https://doi.org/10.1007/978-3-030-27296-8_18.

Islam, S. M. M., Rohani, M. F., and Shahjahan, M. (2021). Probiotic yeast enhances growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) through morphological modifications of intestine. *Aquaculture Reports*, 21, 100800. https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2021.100800.

Jahan, N., Islam, S. M. M., Rohani, M. F., Hossain, M. T., and Shahjahan, M. (2021). Probiotic yeast enhances growth performance of rohu (*Labeo rohita*) through upgrading hematology, and intestinal microbiota and morphology. *Aquaculture*, 545, 737243. https://doi.org/10.1016/J.AQUAC ULTURE.2021.737243.

Jimoh, W. A., Kamarudin, M. S., Sulaiman, M. A., and Dauda, A. B. (2019). Assessment of prebiotic potentials in selected leaf meals of high dietary fiber on growth performance, body composition, nutrient utilization and amylase activities of a tropical commercial carp fingerlings. *Aquaculture Research*, 50(11), 3401–3411. https://doi.org/10.1111/are.14298.

Kong, W., Huang, S., Yang, Z. J., Shi, F., Feng, Y., and Khatoon, Z. (2020). Fish feed quality is a key factor in impacting aquaculture water environment: evidence from incubator experiments. *Scientific Reports*, 10(1), 187. https://doi.org/10.1038/ s41598-019-57063-w.

Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R., and Ollevier, F. (2006). Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International, 14(3), 219–229. https://doi.org/10.1007/s10499-005-9003-4.

Miandare, H. K., Farvardin, S., Shabani, A., Hoseinifar, S. H., and Ramezanpour, S. S. (2016). The effects of galactooligosaccharide on systemic and mucosal immune response, growth performance and appetite related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 55, 479–483. http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2016.06.020.

Mohamed, R. A., Yousef, Y. M., El-Tras, W. F., and Khalafallaa, M. M. (2020). Dietary essential oil extract from sweet orange (*Citrus sinensis*) and bitter lemon (*Citrus limon*) peels improved Nile tilapia performance and health status. *Aquaculture Research*, 52(4), 1463–1479. https://doi.org/10.1111/are.15000.

Nascimento, T. S. R., de Stéfani, M. V., Malheiros, E. B., and Koberstein, T. C. R. D. (2014). High levels of dietary vitamin E improve the reproductive performance of female *Oreochromis niloticus*. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 36(1), 19–26. https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v36i1.19830.

Ogello, E. O., Munguti, J. M., Sakakura, Y., and Hagiwara, A. (2014). Complete replacement of fish meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) grow-out with alternative protein sources. A review. *International Journal of Advanced Research*, 2(8), 962–978.

Pereira, M. O., Moraes, A. V., Rodhermel, J. C. B., Hess, J. D., Alves, L., Chaaban, A., Jatobá, A. (2020). Supplementation of *Curcuma longa* hydrolate improves immunomodulatory response in Nile tilapia reared in a recirculation aquaculture system. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterináriae Zootecnia*, 72(5), 1805–1812.

Rathore, S. S., Murthy, H. S., Abudukkah-Al Mamun, M., Nasren, S., Rakesh, K., Kumar, B. T. N., Abhiman P. B., and Khandagale, A. S. (2021). Nano-selenium supplementation to ameliorate nutrition physiology, immune response, antioxidant system and disease resistance against Aeromonas hydrophila in

monosex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biological Trace Element Research*, 199, 3073–3088. https://doi.org/10. 1007/s12011-020-02416-0.

Ren, M., Mokrani, A., Liang, H., Ji, K., Xie, J., Ge, X. P., and Liu, B. (2018). Dietary chromium picolinate supplementation affects growth, whole-body composition, and gene expression related to glucose metabolism and lipogenesis in juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. *Biological Trace Element Research*, 185(1), 205–215. https://doi.org/10.1007/s12011-018-1242-0.

Ringø, E., Dimitroglou, A., Hoseinifar, S. H., and Davies, S. J. (2014). Prebiotics in Finfish: an update. In: Merrifield D., Ringø, E. (eds.) Aquaculture nutrition: gut health, probiotics and prebiotics. Oxford: John Wiley and Sons; pp. 360–400. https://doi.org/10.1002/9781118897263.ch14.

Somnuek, N., Somnuek, T., Saowakoon, S., and Kasamawut, K. (2022). An Effects of dietary supplementation of vitamins C and E on growth performance and survival rate of Yellow Mystus (*Hemibagrus nemurus* (Valenciennes, 1840)). *Journal of Science Innovation for Sustainable Development*, 4(1), 9–19.

Takashima, F. and Hibiya, T. (1995). An Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Features. 2nd ed. Kodansha Ltd., Tokyo; Japan.

Tiengtam, N., Khempaka, S., Paengkoum, P., and Boonanuntanasarn, S. (2015). Effects of inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as prebiotic ingredients in the diet of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Feed Science and Technology*, 207, 120–129. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.05.008.

Xiong, Y. U., Liang, X. P., Jin, M., Sun, P., Ma, H. N., Yuan, Y., and Zhou, Q. C. (2016). Effects of dietary vitamin E on the growth performance, antioxidant status and innate immune response in juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture*, 464, 609–617. https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2016.08.009.

Xu, Y., Gao, Q., Dong, S., and Mei, Y. (2021). Effects of supplementary selenium and vitamin E on the growth performance, antioxidant enzyme activity, and gene expression of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Biological Trace Element Research*, 199(12), 4820–4831. https://doi.org/10.1007/s12011-021-02602-8.

Yossa, R. and Verdegem, M. (2015). Misuse of multiple comparison tests and underuse of contrast procedures in aquaculture publications. *Aquaculture*, 437, 344–350. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.023.

Yousefi, S., Hoseinifar, S. H., Paknejad, H., and Hajimoradloo, A. (2018). The effects of dietary supplement of galactooligosaccharide on innate immunity, immune related genes expression and growth performance in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish and Shellfish Immunology*, 73, 192–196. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.12.022.

Zhang, C. N., Li, X. F., Jiang, G. Z., Zhang, D. D., Tian, H. Y., Li, J. Y., and Liu, W. B. (2018). Effects of dietary fructooligosaccharide levels and feeding modes on growth, immune responses, antioxidant capability and disease resistance of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Fish Shellfish Immunology*, 41(2), 560–569. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.10.005.

Zhao, H., Ma, H. J., Gao, S. N., Chen, X. R., Chen, Y. J., Zhao, P. F., and Lin, S. M. (2018). Evaluation of dietary vitamin E supplementation on growth performance and antioxidant status in hybrid snakehead (*Channa argus* × *Channa maculata*). *Aquaculture Nutrition*, 24(1), 625–632. https://doi.org/10.1111/anu.12552.