ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การประมง | ชีววิทยาประมง

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

Effects of *Bacillus* spp. in Combination with *Paracoccus pantotrophus* on Growth and Survival Rate of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

นามผู้วิจัย นางสาวภัทริดา โปฎก

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์ชลอ ลิ้มสุวรรณ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิติ ชูเชิด, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล, ปร.ด.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณรงค์ วีระไวทยะ, M.Sc.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

Effects of *Bacillus* spp. in Combination with *Paracoccus pantotrophus* on Growth and Survival Rate of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

โดย

นางสาวภัทริดา โปฎก

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง)
พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภัทริดา โปฎก 2554: ผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมง) สาขาวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาชีววิทยาประมง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ชลอ ลิ้มสุวรรณ, Ph.D. 80 หน้า

การศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติก ซึ่งประกอบด้วย *B. subtilis, B. licheniformis, B. pumilus B. amyloliquefaciens,* และ *B. megaterium* ในห้องปฏิบัติการ ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Aeromonas hydrophila* ABRCA1 และ *Streptococcus agalactiae* ABRCS1 ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยวิธี cross streak method พบว่า *B. licheniformis* สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* ABRCA1 ได้ ส่วน *B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถเจริญครอบครองโคโลนีของ *S. agalactiae* ABRCS1 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง เมื่อนำแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. subtilis* ที่สามารถเจริญครอบครองโคโลนีของ *S. agalactiae* ABRCS1 มาทดสอบความสามารถในการลดปริมาณเชื้อ *S. agalactiae* ABRCS1 โดยวิธี broth co-culture ในอาหารเหลว nutrient broth (NB) ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันคือ 10^{5} CFU/มิลลิลิตร พบว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง *B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถลดจำนวน *S. agalactiae* ABRCS1 ได้ 46.79%, 53.58% และ 44.22% ตามลำดับ โดยที่ปริมาณของ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 ชนิดไม่เปลี่ยนแปลง ผลการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ในการเลี้ยงปลานิลน้ำหนัก 2 - 3 กรัม ที่ความหนาแน่น 100 ตัว ต่อถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร เป็นระยะเวลา 70 วัน โดยแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดละ 3 ซ้ำ ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปปกติไม่เติมจุลินทรีย์ ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในถังเลี้ยง ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 3 ใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ในถังเลี้ยงที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 4 ใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในอัตราส่วน 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้กินทุกวัน และใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในถังเลี้ยงที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิลิตร พบว่า ชุดการทดลองที่ 4 มีอัตราการรอดตาย และผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด คือมีค่าเท่ากับ 85.00 ± 9.54 % และ 1,639.15 ± 125.98 กรัม ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ผลการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *P. pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตาย ในการอนุบาลปลานิลที่ความหนาแน่น 15,000 ตัว ต่อกระชัง ในฟาร์มเลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 21 วัน แบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดละ 3 ซ้ำ ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 อนุบาลปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปปกติไม่ใส่จุลินทรีย์ ชุดการทดลองที่ 2 ใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในน้ำที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อปริมาณน้ำทั้งหมดในกระชังทุกวัน ชุดการทดลองที่ 3 ผสมกับผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในอัตราส่วนผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และชุดการทดลองที่ 4 ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ในอัตราส่วนผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่า อัตราการรอดตายในชุดการทดลองที่ 3 สูงสุดเท่ากับ 77.38 ± 1.53 % ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รวมทั้งมีปริมาณแอมโมเนียต่ำกว่าชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สามารถนำผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้ในการอนุบาลปลานิลในฟาร์มเลี้ยงได้

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Patarida Podok 2011: Effects of *Bacillus* spp. in Combination with *Paracoccus pantotrophus* on Growth and Survival Rate of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Master of Science (Fisheries Science), Major Field: Fisheries Science, Department of Fishery Biology. Thesis Advisor: Associate Professor Chalor Limsuwan, Ph.D. 80 pages.

Experiment has been carried out to determine the efficacy of probiotic, consist of *B. subtilis, B. licheniformis, B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens* and *B. megaterium* on inhibition of pathogenic bacteria *Aeromonas hydrophila* ABRCA1 and *Streptococcus agalactiae* ABRCS1 which isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). By cross streak method the results showed that *B. licheniformis* could inhibit *A. hydrophila* ABRCA1 after 48 hours of incubation at 35˚C while *B. licheniformis, B. pumilus* and *B. subtilis* could colonize over *S. agalactiae* ABRCS1 after 48 hours of incubation at 35˚C. Three species of *Bacillus* spp. which shown colonization ability were tested for ability to decrease pathogenic bacteria *S. agalactiae* ABRCS1 by broth co-culture method. *B. licheniformis, B. pumilus, B. subtilis* and *S. agalactiae* ABRCS1 were cultured in nutrient broth (NB) with the initial concentration of 10^5 CFU/ml. After 48 hrs of culture, *S. agalactiae* ABRCS1 were decreased by 46.79%, 53.58% and 44.22% while the number of *Bacillus* spp. remaining unchanged. Effects of *Bacillus* spp. in combination with *Paracoccus pantotrophus* on growth and survival rate of Nile tilapia was carried out under laboratory conditions. Fish weight of 2 - 3 g were stocked into 500 – liter fiber glass tanks at a density of 100 ind./tank and divided into 4 treatments (with 3 replicates/treatment) as followed: treatment 1 (control group) without probiotic; treatment 2 probiotic was added into water at 0.1 ppm; treatment 3 probiotic was added into water at 1 ppm and treatment 4 probiotic was added into water at 0.1 ppm in the water and mixed probiotic with feed at 1 g/kg of fed 1 time/day. After 70 days, highest survival, 85.00 ± 9.54 % and yield, 1,639.15 ± 125.98 g were observed in treatment 4 and which was significantly higher than control group ($p < 0.05$). Effects of *Bacillus* spp. in combination with *Paracoccus pantotrophus* on growth and survival rate of Nile Tilapia was also studied in nursery cage. The newly hatch fry were stocked at the density of 15,000 ind./cage and divided into 4 treatments (with 3 replicates/treatment) as followed: treatment 1 (control group) without probiotic; treatment 2; probiotic was added in culture water 1 ppm everyday; treatment 3; fish were fed with probiotic 1g/kg of feed and treatment 4; fish were fed with probiotic 3 g/kg of feed. After 21 days, highest survival, 77.38 ± 1.53% was observed in treatment 3 which was significantly higher than control group ($p < 0.05$). Total ammonia in treatment groups was significantly lower than control group ($p < 0.05$). This study indicated that probiotic could be applied for nursing Nile tilapia in the farm.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ชลอ ลิ้มสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิติ ชูเชิด และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม และ ดร. พรเลิศ จันทร์รัชชกูล ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการช่วยเหลือในการวางแผนงานวิจัยในวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ตลอดจนการให้คำปรึกษาแนะนำ ตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ และให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน จนกระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วราห์ เทพาหุดี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร. เต็มดวง สมศิริ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกสถาบัน ที่กรุณาให้คำแนะนำ รวมทั้งแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบริษัท Novozymes Biological, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่สนับสนุนเงินทุนในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณมานิตย์ฟาร์ม อำเภอเขาย้อย จังหวัดเพชรบุรี ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ ๆ และเพื่อน ๆ ทุกคน ที่คอยให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจเสมอมา

ภัทริดา โปฎก

พฤษภาคม 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	35
สรุปและข้อเสนอแนะ	70
สรุป	70
ข้อเสนอแนะ	71
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	72
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	80

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณ *S. agalactiae* เมื่อเลี้ยงร่วมกับ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* เปรียบเทียบกับชุดควบคุม	37
2	ปริมาณ *B. licheniformis* ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเดี่ยว (monoculture) และเลี้ยงร่วม (co-culture) กับ *S. agalactiae* ABRCS1	38
3	ปริมาณ *B. pumilus* ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเดี่ยว (monoculture) และเลี้ยงร่วม (co - culture) กับ *S. agalactiae* ABRCS1	38
4	ปริมาณ *B. subtilis* ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเดี่ยว (monoculture) และเลี้ยงร่วม (co - culture) กับ *S. agalactiae* ABRCS1	39
5	อัตราการรอดตาย(เปอร์เซ็นต์) ของปลานิลในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน	43
6	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน	44
7	ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน	45
8	อัตราแลกเนื้อของปลานิลในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน	46
9	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส) ที่เวลา 06.00 น. และ 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	47
10	ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่เวลา 06.00 น. และ 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	49
11	ค่า pH ของน้ำที่เวลา 06.00 น. และ 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	51

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
12	ปริมาณแอมโมเนียรวม ไนไตรท์ และค่าความเป็นด่างรวมเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	55
13	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	60
14	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	61
15	ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	62
16	อุณหภูมิ, ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และค่า pH ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	65
17	ปริมาณแอมโมเนียรวม, ไนไตรท์ และค่าความเป็นด่างรวมเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน	69

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษา	24
2	วิธีการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค	26
3	ถังไฟเบอร์กลาสที่ใช้ในการศึกษา	30
4	บ่ออนุบาลปลานิลที่ใช้ในการทดลอง	33
5	ปลานิลระยะที่ 5 หรือระยะ swim-up fry	33
6	แสดงลักษณะของ *B. licheniformis* ต่อการยับยั้ง เชื้อ *A. hydrophila* ABRCA1	36
7	แสดงลักษณะการเข้าครอบครองโคโลนี ของ *B. licheniformis* , *B. pumilus* และ *B. subtilis* ต่อ เชื้อ *S. agalactiae* ABRCS	36
8	ปริมาณของ *B. licheniformis* และ *S. agalactiae* ABRCS1 (CFU/มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง	39
9	ปริมาณของ *B. pumilus* และ *S. agalactiae* ABRCS1 (CFU/มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง	40
10	ปริมาณของ *B. subtilis* และ *S. agalactiae* ABRCS1 (CFU/มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง	40
11	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน	43
12	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน	44
13	ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน	45
14	อัตราแลกเนื้อของปลานิลในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน	46
15	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส) ที่เวลา 06.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	48

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส) ที่เวลา 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	48
17	ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่เวลา 06.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	50
18	ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่เวลา 17.00 น. ในชุดการทดลองต่างๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน	50
19	ค่า pH ของน้ำที่เวลา 06.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	52
20	ค่า pH ของน้ำที่เวลา 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	52
21	ปริมาณแอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	56
22	ปริมาณไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	56
23	ปริมาณความเป็นด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน	57
24	อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21วัน	60
25	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	61
26	ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	62
27	อัตราแลกเนื้อของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	63

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
28	ปริมาณแอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	66
29	ปริมาณไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	67
30	ค่าความเป็นด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน	68

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

Effects of *Bacillus* spp. in Combination with *Paracoccus pantotrophus* on Growth and Survival Rate of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

คำนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลานิล (*Oreochromis niloticus*) มีผลผลิตเพิ่มขึ้นทุกปี โดยเฉพาะประเทศในแถบเอเชียและลาตินอเมริกาเป็นสองกลุ่มประเทศหลักที่เป็นแหล่งผลิตปลานิลที่สำคัญ ได้แก่ จีน อียิปต์ อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ เม็กซิโก ไต้หวัน บราซิล และรวมถึงประเทศไทยด้วย ปลานิลเป็นปลาเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ทั้งเพื่อการบริโภคภายในประเทศ และการส่งออกไปยังต่างประเทศ ได้แก่ สหภาพยุโรป สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย และ เอเชีย ด้วยเหตุนี้เกษตรกรจึงหันมาเพาะเลี้ยงปลานิลกันเพิ่มขึ้น อีกทั้งปัจจุบันรูปแบบการเลี้ยงปลานิล ได้มีการเปลี่ยนแปลงจากการเลี้ยงแบบดั้งเดิมมาเป็นระบบการเลี้ยงแบบกึ่งพัฒนาและแบบพัฒนามากขึ้น โดยการปล่อยลูกพันธุ์ในอัตราความหนาแน่นที่สูงขึ้น ให้อาหารสำเร็จรูปทดแทนอาหารธรรมชาติ ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตให้สูงขึ้นได้ แต่ถ้ามีการจัดการไม่ดีพอ รูปแบบการเลี้ยงเช่นนี้จะมีการสะสมจากสิ่งขับถ่ายของเสียในบ่อเลี้ยงปริมาณมาก โดยเฉพาะถ้ามีอาหารเหลือตกค้างในบ่อด้วยจะเกิดการสะสมของสารอินทรีย์มากจนถึงระดับที่ทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงไปในทางที่เลวลง ส่งผลให้ปลาเกิดความเครียด อ่อนแอ และมีโอกาสติดเชื้อโรคได้ง่ายขึ้น โดยเฉพาะในปัจจุบันนี้สภาพภูมิอากาศมีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้น ทำให้โอกาสที่ปลาจะป่วยเพิ่มสูงขึ้นด้วย ในอดีตได้มีการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะเพื่อแก้ปัญหาเรื่องโรคที่เกิดขึ้นจากแบคทีเรียในระหว่างการเลี้ยงปลา แต่พบว่าวิธีดังกล่าวไม่ได้ผลที่น่าพอใจ เพราะนอกจากจะส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการดื้อยา ยังพบการตกค้างของยาปฏิชีวนะในสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อมด้วย (Esiobu *et al*., 2002) จนไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ปัจจุบันจึงได้มีความพยายามหาทางแก้ปัญหาดังกล่าว โดยนำจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (probiotics) มาใช้ในการควบคุมของเสียตลอดจนสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในระหว่างการเลี้ยง โดยใช้หลักการควบคุมทางชีวภาพ ซึ่งใช้สิ่งมีชีวิตเพื่อควบคุมสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งไม่ให้เพิ่มจำนวนหรือสร้างความเสียหาย (Gatesoupe,1999) การใช้โพรไบโอติกได้รับความนิยมมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากหลักการดังกล่าวเป็นการป้องกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเกิดโรค และเป็นที่ยอมรับของเกษตรกรและผู้บริโภค สามารถลดปัญหายาตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดย แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ถูกนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกกันมาก เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ได้ สามารถทนความร้อน และสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น รวมทั้งผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อการย่อยอาหาร และส่งผลต่อการเจริญเติบโต ที่สำคัญสามารถผลิตได้ในปริมาณมาก ง่ายต่อการเก็บรักษาและการขนส่ง (Van Rijn *et al*., 1995; Green *et al*., 1999; Nicholson *et al*., 2000; Oggioni *et al*., 2003)

สำหรับการศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ซึ่งประกอบไปด้วย *Bacillus* spp. 5 สายพันธุ์ และ *Paracoccus pantotrophus* ในการใช้เป็นโพรไบโอติกสำหรับการเพาะเลี้ยงปลานิล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ต่อการสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโต และความสามารถในการเจริญเติบโตร่วมกับแบคทีเรียก่อโรค *A. hydrophila* ABRCA1 และ *S. agalactiae* ABRCS1 ในห้องปฏิบัติการ

2. เพื่อศึกษาผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และคุณสมบัติของน้ำ ในการเลี้ยงปลานิลในห้องปฏิบัติการ

3. เพื่อศึกษาผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และคุณสมบัติของน้ำ ในการอนุบาลปลานิลในกระชัง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

ปลานิล

การจัดลำดับอนุกรมวิธาน

ปลานิลถูกจัดลำดับอนุกรมวิธานดังนี้ (Nelson, 1994)

Kingdom Animalia
Phylum Chordata
Subphylum Vertebrata
Superclass Gnathostomata
Class Actinopterygii
Order Perciformes
Suborder Labroidei
Family Cichlidae
Genus *Oreochromis*
Species *Oreochromis niloticus*

ประวัติความเป็นมา

ปลานิลมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกา มักพบตามหนอง บึง และทะเลสาบของประเทศซูดาน ยูกันดา ทั้งยังพบตามทะเลสาบและแม่น้ำแทบทุกสาย จัดเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของแอฟริกา นอกจากนี้ยังมีผู้นำไปเลี้ยงในประเทศต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย เช่น อเมริกากลางและใต้ ในทวีปเอเชีย เช่น อินโดนีเซีย มาเลเซีย ไต้หวัน และญี่ปุ่น เป็นต้น (มานพ และคณะ, 2536)

ปลานิลเริ่มมีบทบาทในประเทศไทยครั้งแรกเมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ. 2508 โดยสมเด็จพระจักรพรรดิอากิฮิโตแห่งประเทศญี่ปุ่น ได้จัดส่งปลานิลจำนวน 50 ตัว ความยาวเฉลี่ย 9 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 14 กรัม เพื่อทูลเกล้าฯ ถวายแด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพล

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อดุลยเดช และได้ทรงโปรดเกล้าฯ ให้ปล่อยลงเลี้ยงในบ่อดินเนื้อที่ประมาณ 10 ตารางเมตร ในสวนจิตรลดาพระราชวังดุสิต ทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 1 ปี พบว่ามีการเจริญเติบโต และแพร่ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวได้ทรงพระราชทานปลานิลขนาดความยาว 3 – 5 เซนติเมตร จำนวน 10,000 ตัว ให้แก่อธิบดีกรมประมง เมื่อวันที่ 17 มีนาคม พ.ศ. 2509 เพื่อเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ที่แผนกทดลอง และเพาะเลี้ยงในบริเวณเกษตรกลางบางเขน กรุงเทพฯ และสถานีประมงต่าง ๆ จำนวน 15 แห่งทั่วพระราชอาณาจักร เพื่อดำเนินการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์พร้อมกัน และได้พระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่า “ปลานิล” เมื่อกรมประมงเพาะขยายพันธุ์ปลานิลได้มากเพียงพอแล้วจึงได้เริ่มแจกจ่ายให้แก่ราษฎรนำไปเพาะเลี้ยง เมื่อวันที่ 17 สิงหาคม พ.ศ. 2510 เพื่อเป็นประโยชน์แก่พสกนิกรต่อไป

ลักษณะทั่วไป

ปลานิลมีลักษณะคล้ายปลาหมอเทศ ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาลและมีลายพาดขวาง 9 - 10 แถบ ครีบหลัง ครีบก้นและครีบหางมีจุดสีขาว และเส้นสีดำตัดขวาง ปลานิลมีเกล็ด 3 แถวที่บริเวณแก้ม และอีกหนึ่งแถวตรงบริเวณเหนือเส้นข้างลำตัวเล็กน้อย ครีบหลังมีอันเดียวประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 15 - 18 อัน และก้านครีบอ่อน 12 - 14 อัน ครีบก้นมีก้านครีบแข็ง 3 อัน และก้านครีบอ่อน 9 - 10 อัน บนแถบเส้นข้างลำตัวมีเกล็ด 33 เกล็ด ทางด้านข้างมีเกล็ดตามแนวเฉียงจากตอนต้นของครีบหลังลงมาถึงเส้นข้างลำตัว 5 เกล็ด และจากเส้นข้างลำตัวลงมาถึงส่วนหน้าของครีบก้น 13 เกล็ด ลำตัวมีสีเขียวปนน้ำตาล ตรงกลางเกล็ดมีสีเข้ม ที่กระดูกแก้มมีจุดสีเข้มอีกหนึ่งจุด บริเวณปลายอ่อนของครีบหลัง ครีบก้น และครีบหาง มีจุดสีขาวและมีเส้นสีดำตัดขวางอยู่ทั่วไป มีซี่กรอง 15 - 17 อัน ลักษณะฟันบริเวณขากรรไกร และคอหอยจะมีหลายขนาด ตั้งแต่ค่อนข้างหยาบจนถึงละเอียด (มานพ และคณะ, 2536)

การอนุบาลลูกปลานิล

การอนุบาล ลูกปลานิลเป็นขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเลี้ยงปลานิล เนื่องจากลูกปลาที่ได้จากการเพาะนั้นยังไม่สามารถที่ปล่อยลงสู่บ่อเลี้ยงได้ จำเป็นที่จะต้องนำลูกปลาเหล่านั้นมาอนุบาลเสียก่อน ก่อนที่จะนำลูกปลาไปปล่อยลงสู่บ่อเลี้ยงต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การอนุบาลลูกปลามีจุดประสงค์เพื่อให้ลูกปลามีอัตรารอดตายสูง และเพื่อให้ลูกปลานิลมีขนาดโตพอที่จะนำไปเลี้ยงได้ เนื่องจากการอนุบาลจะช่วยเร่งการเจริญเติบโตของลูกปลาได้เป็นอย่างดี การอนุบาลลูกปลาช่วยให้ได้ลูกปลาขนาดใหญ่ที่มีความสามารถในการเอาตัวรอดจากศัตรูในบ่อ นอกจากนี้ยังช่วยให้สามารถคัดเลือกปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันนำไปเลี้ยงต่อไป เพื่อให้ได้ผลผลิตปลาเลี้ยงที่มีขนาดสม่ำเสมอ การอนุบาลลูกปลานิลสามารถทำได้ทั้งในกระชัง บ่อดิน และบ่อซีเมนต์

การอนุบาลในกระชัง

ปัจจุบันการอนุบาลลูกปลานิลนิยมใช้กระชังกันเป็นส่วนใหญ่เนื่องจากมีข้อดีคือ สามารถควบคุมและดูแลรักษาง่ายกว่าการอนุบาลด้วยวิธีอื่น กระชังสามารถผูกแขวนที่ใดก็ได้และสามารถทำการเคลื่อนย้ายได้ อีกทั้งยังสามารถอนุบาลลูกปลานิลในอัตราความหนาแน่นสูงได้ เนื่องจากลูกปลานิลมีการรวมกลุ่มและมีการแย่งกันกินอาหาร หากอนุบาลลูกปลาแบบไม่จำกัดปริมาณอาหารหรือมีการให้อาหารบ่อยครั้ง จนเพียงพอต่อความต้องการของลูกปลาแล้ว จะสามารถย่นระยะเวลาในการอนุบาลได้ นอกจากนี้ลูกปลาที่อนุบาลอย่างหนาแน่นในกระชังจะมีขนาดไล่เลี่ยกัน คือ มีความแตกต่างของขนาดน้อยกว่าลูกปลาที่อนุบาลในอัตราที่ไม่หนาแน่น แต่ข้อควรคำนึงในการอนุบาลลูกปลานิลอย่างหนาแน่นในกระชังคือ คุณภาพของน้ำในบ่อหรือลำคลองที่แขวนกระชังนั้นจะต้องดีอยู่ตลอดเวลา หรือสามารถทำการถ่ายเทได้ และมีปริมาณออกซิเจนเพียงพอ

ลักษณะของกระชังที่นิยมอนุบาลลูกปลานิลมักทำด้วยไนล่อนตาถี่ หรือที่ชาวบ้านเรียกว่ามุ้งเขียว ขนาดของกระชังนั้นแล้วแต่พื้นที่ของบ่อที่ผูกแขวนกระชัง น้ำในบ่อที่แขวนกระชังต้องมีคุณสมบัติดีสามารถเปลี่ยนถ่ายน้ำได้ในปริมาณที่ต้องการ นอกจากนี้ยังต้องมีเครื่องช่วยเพิ่มอากาศแก่ลูกปลาด้วย โดยทั่วไปมักใช้กระชังขนาด 3 × 3 × 2 เมตร สามารถอนุบาลลูกปลานิลได้ประมาณ 3,000 - 5,000 ตัว (300 - 500 ตัวต่อตารางเมตร) (อุดม, 2550)

การอนุบาลลูกปลาให้มีอัตราการรอดตายสูงจำเป็นต้องมีการคัดขนาดลูกปลาให้มีขนาดใกล้เคียงกันก่อนการอนุบาล อีกทางหนึ่งคือการจัดการเพาะพันธุ์ให้ได้ลูกปลาขนาดเดียวกัน เมื่อถุงอาหารธรรมชาติยุบตัวหมดลูกปลาจะเริ่มว่ายน้ำและเริ่มกินอาหาร ดังนั้นอาหารที่ให้ควรมีขนาดเล็กและมีคุณค่าทางอาหารสูงคือมีโปรตีน 30 - 40 เปอร์เซ็นต์ New *et al*. (1984) รายงานว่าการให้อาหาร 5 ครั้งต่อวันจะทำให้ลูกปลานิลมีอัตรารอดตายสูงกว่าการให้อาหาร 3 ครั้งต่อวัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การอนุบาลในบ่อดิน

บ่อดินที่ใช้ในการอนุบาลลูกปลานิลไม่ควรมีขนาดใหญ่มากนัก ขนาดที่เหมาะสม ประมาณ 200 ตารางเมตร น้ำในบ่อควรมีระดับความลึกประมาณ 1 เมตร บ่อขนาดดังกล่าวจะใช้อนุบาลลูกปลานิลขนาด 1 – 2 เซนติเมตรได้ครั้งละประมาณ 5,000 ตัว (อุดม, 2550) บ่อที่ใช้ในการอนุบาลควรจะมีการเตรียมบ่อและเตรียมน้ำอย่างดี รวมทั้งมีการกำจัดศัตรูของลูกปลาด้วย การเตรียมบ่ออนุบาลควรทำล่วงหน้าประมาณ 1 สัปดาห์

การอนุบาลในบ่อซีเมนต์

บ่อซีเมนต์อาจจะเป็นรูปสี่เหลี่ยมหรือกลมก็ได้ มีพื้นที่ผิวน้ำตั้งแต่ 10 ตารางเมตรขึ้นไป มีความลึกประมาณ 1 เมตร อัตราการปล่อยลูกปลาประมาณ 300 ตัวต่อตารางเมตร โดยใช้เครื่องให้อากาศและเปลี่ยนถ่ายน้ำประมาณครึ่งบ่อสัปดาห์ละครั้ง

โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญ

โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้ปลาป่วยมากที่สุด (จิตต์เกษมและคณะ, 2536) แบคทีเรียชนิดที่ก่อโรคในปลานิลที่สำคัญได้แก่ สกุล *Streptococcus* และ สกุล *Aeromonas*

โรค Streptococcosis

มีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. พบระบาดครั้งแรกในปี ค.ศ. 1957 ในปลา rainbow trout ในประเทศญี่ปุ่นโรคนี้จะแพร่กระจายภายในตัวปลาภายใน 48 - 72 ชั่วโมง และปลาเริ่มตายในวันที่ 4 -5 (Robinson and Meyer, 1966)

Streptococcus sp. จัดอยู่ในวงศ์ Streptococcaceae เป็นแบคทีเรียที่ติดสีแกรมบวก (Gram-positive bacteria) มีรูปร่างกลม (cocci) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.8 - 1 ไมโครเมตร มีลักษณะการเรียงตัวของเซลล์เป็นแบบสายโซ่ (chain arrangement) ความยาวของสายขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของจุดที่ติดกันของเซลล์ แต่ละสายอาจจะประกอบด้วยเซลล์ตั้งแต่ 3 - 4 เซลล์ จนถึง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1,000 เซลล์ ขึ้นอยู่กับชนิด ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างน้ำย่อยออกซิเดส (oxidase-negative) ไม่สร้างน้ำย่อยคะตะเลส (catalase-negative) ไม่เคลื่อนที่ (non-motile) ใช้คาร์โบไฮเดรตได้โดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจนช่วย (facultative anaerobe)

การก่อโรคอาจเข้าไปในร่างกายของปลาทางปาก เหงือก หรือบาดแผลตามลำตัว หลังจากนั้นเชื้อจะเข้าไปเกาะอยู่ตามเซลล์ของร่างกายโดยอาศัยปัจจัยในการช่วยยึดเกาะต่าง ๆ เช่น แคปซูล (capsule) จากนั้นจะแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว และเข้าไปทำลายอวัยวะภายใน โดยการปล่อยน้ำย่อยและสารพิษต่าง ๆ ออกมาจากเซลล์ เช่น streptolysin และ phosphoglucomutase มักพบการติดเชื้อทั้งจากอาหาร และจากปลาป่วยที่นำเข้ามาในฟาร์ม

อาการของโรค ปลาที่เป็นโรคส่วนมากจะมีตาโปน อาจจะมีการตกเลือดในตาด้วย ท้องบวมน้ำ มีจุดเลือดบริเวณด้านท้อง รอบ ๆ ทวารจะมีสีแดง ลำไส้อาจจะตกเลือด และเต็มไปด้วยเมือก ไตอาจจะบวม เลือดคั่งในตับ ในกล้ามเนื้อจะมีการอักเสบ (ชลอ, 2528)

การป้องกันที่ดีที่สุดคือ ไม่ควรปล่อยปลาลงเลี้ยงหนาแน่นจนเกินไป ให้อาหารในปริมาณที่เหมาะสม ไม่ควรเคลื่อนย้ายปลา และควรนำปลาป่วยออกจากบ่อเลี้ยงและทำลายให้เร็วที่สุด เพื่อลดการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย (เกรียงศักดิ์ และชาญณรงค์, 2551)

Plumb *et al*. (1997) รายงานว่าการติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้การเพาะเลี้ยงปลานิลลดลง เนื่องจากทำให้ปลาตายเป็นจำนวนมาก เช่นเดียวกับ Pulido (2004) รายงานว่าในประเทศโคลอมเบียพบปลานิลป่วยเป็นโรค Streptococcosis เกิดจากเชื้อ *Streptococcus* sp. นเรศ และคณะ (2548) รายงานว่าในประเทศไทยพบการระบาดเช่นกันในแถบจังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่าเป็นเชื้อ *Streptococcus agalactiae*

โรค Motile aeromonas disease

มีสาเหตุมาจาก *Aeromonas hydrophila* เรียกว่า motile aeromonas disease ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปตั้งแต่ปี ค.ศ. 1974 เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เคลื่อนที่ได้โดยใช้ polar flagella ลักษณะของโรคคือแบคทีเรียแพร่กระจายเข้าไปในกระแสเลือดและมีสารพิษ (toxins) โรคนี้แพร่กระจายอย่างกว้างขวางในทุกประเทศที่มีการเลี้ยงปลา และเป็นโรคที่มีก่อให้เกิดความ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เสียหายทางเศรษฐกิจมากในการเลี้ยงปลาดุก ปลานิล กบ และปลาน้ำจืดอื่น ๆ (โสมทัต และคณะ, 2525)

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่งสั้นตรง ขนาดความยาวโดยทั่วไปประมาณ 1.0 - 1.5 ไมโครเมตร หรือ 2 - 4.5 เท่าของความกว้าง แส้ (flagellum) มักมีเพียง 1 เส้นที่ปลายเซลล์ จึงสามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างสารมีสี (pigment) ไม่มีแคปซูล ลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน โดยทั่วไปมีลักษณะกลม ผิวเรียบ ตรงกลางโค้งนูน สีขาวนวล มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรือเป็นคู่ บางครั้งพบเป็นสายสั้น ๆ สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่ว ๆ ไป สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอาหารและให้พลังงาน เจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน เปลี่ยนไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ได้ เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง ต่ำสุด 0 - 5 องศาเซลเซียส สูงสุด 38 – 45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 25 - 30 องศาเซลเซียส ช่วง pH 5.5 - 9.0 นอกจากนี้ยังสามารถผลิต extracellular enzymes ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้แบคทีเรียชนิดนี้มีความรุนแรงและสามารถทดสอบความรุนแรงได้ ได้แก่ hemolysins ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมเลือด (blood agar) จะปรากฏ clear zone เป็นบริเวณกว้าง รอบ ๆ โคโลนี

การระบาดของโรคนี้มีความเกี่ยวข้องกับความเครียดเป็นอย่างมาก โดย Peters *et al.* (1988) ได้ศึกษาโรคที่เกิดในปลา rainbow trout ที่เลี้ยงเสริมในบ่อเลี้ยงที่มีปลาชนิดอื่นด้วย พบว่าเมื่อปลา trout เกิดความเครียด ส่งผลให้มีระดับความเข้มข้นของกลูโคสในร่างกายสูง และมีปริมาณเม็ดเลือดขาวมาก ทำให้ปลาอ่อนแอ แบคทีเรียชนิดนี้สามารถแพร่กระจายสู่อวัยวะต่าง ๆ และก่อให้เกิดความรุนแรงในปลาชนิดนี้มากกว่าปลาที่เลี้ยงส่วนใหญ่ในบ่อ แต่โดยปกติสามารถพบเชื้อ *A. hydrophila* ในแหล่งน้ำทั่วไป และในลำไส้ของปลาปกติ หากแหล่งน้ำนั้นอยู่ในสภาวะสมดุลเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จะไม่ทำให้เกิดปัญหากับปลา แต่เมื่อใดก็ตามที่มีสาเหตุทำให้สภาวะสมดุลเปลี่ยนแปลงไป ได้แก่ เชื้อโรคเพิ่มปริมาณขึ้น หรือสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ไม่ดีจะทำให้ปลาเกิดความเครียด โอกาสที่ปลาจะเป็นโรคก็มีมากขึ้น

สภาพแวดล้อมที่สำคัญได้แก่ อุณหภูมิ ในเขตหนาวปลาที่มีเชื้อ *A. hydrophila* อยู่ในร่างกาย (latent infection) จะไม่เป็นโรคเมื่อเลี้ยงในน้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 - 8 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของน้ำต่ำลงเป็นเหตุให้ปลากินอาหารน้อยลง การสร้างภูมิคุ้มกันอยู่ในระดับต่ำกว่าปกติ การตายของปลาจะมีน้อย แต่โรคระบาดจะเกิดขึ้นเมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้นสูงกว่า 12 - 14 องศาเซลเซียส แบคทีเรียเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว แต่การสร้างภูมิคุ้มกันของปลาเพิ่มอย่างช้า ๆ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไม่ได้สัดส่วนกันกับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย โรคนี้ระบาดอย่างรวดเร็วในปลาที่ติดเชื้อ *A. hydrophila* และอ่อนแอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อปลาเครียดและมีเชื้อปริมาณมากในน้ำเป็นสาเหตุให้การตายเพิ่มขึ้น โรคระบาดในประเทศไทยน่าสังเกตว่ามักจะเกิดขึ้นในช่วงปลายฤดูฝนต่อกับฤดูหนาว เนื่องจากสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปในเวลาอันรวดเร็ว ในรอบวันอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง เช่น กลางคืนอุณหภูมิน้ำ 22 องศาเซลเซียส แต่ถึงช่วงกลางวันอุณหภูมิน้ำสูงขึ้นถึง 28 องศาเซลเซียส ปลาไม่อาจปรับตัวได้ทัน และหลังจากน้ำท่วมมักจะเกิดโรคระบาด (ชลอ, 2528)

นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ปลาที่บอบช้ำจากการขนส่ง มีบาดแผล ผิวหนังและเหงือกถูกทำลายเนื่องจากปรสิต คุณสมบัติของน้ำไม่เหมาะสม เช่น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำเกินไปเป็นเวลานาน ๆ ปริมาณ unionized ammonia (NH_3) ในน้ำมีมากเกินมาตรฐาน (0.025 มิลลิกรัมต่อลิตร) การปนเปื้อนของสารมลพิษ เลี้ยงปลาหนาแน่นเกินไปมีของเสียขับถ่ายออกมาปริมาณมาก ให้อาหารมากเกินไป จนเหลือตกค้างในบ่อหรือกระชัง เป็นสาเหตุให้ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำลดน้อยลง สิ่งเหล่านี้จะเป็นสาเหตุโน้มนำให้ปลาอ่อนแอและเครียด เปิดโอกาสให้เชื้อแบคทีเรียเข้าไปทำอันตรายได้ (ชลอ, 2528)

สำหรับในประเทศไทยพบว่า โรคติดเชื้อส่วนใหญ่เกิดจาก *A. hydrophila* ทำความเสียหายให้แก่ผู้เลี้ยงปลามากที่สุด มักจะตรวจพบเชื้อนี้ในสัตว์น้ำที่มีแผลเรื้อรัง เกิดเนื้อตายและแผลเน่า เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จะทำให้ปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ เป็นโรคเมื่อปลาอ่อนแอ อาการของโรคมีบาดแผลบนลำตัวและครีบ ก่อนมีเลือดไหลซึมออกมา ตับ ไต และม้ามบวมโตกว่าปกติ ตกเลือดในอวัยวะภายในทั้งหมด ปลาว่ายน้ำแบบเสียการทรงตัว เนื่องจากอวัยวะภายในที่สำคัญต่าง ๆ โดนสารพิษจากแบคทีเรียทำลาย (ชลอ, 2528)

จากปัญหาโรคระบาดในปลาน้ำจืดเมื่อปลายปี พ.ศ. 2525 จนถึงต้นปี พ.ศ. 2526 และในปีต่อ ๆ มา พบว่าคุณสมบัติของน้ำและสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง รวมทั้งปัจจัยอื่นๆ ที่ร่วมกันมีผลต่อการระบาดของโรค (ชลอ, 2528)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิล

คุณสมบัติของน้ำที่จะนำมาใช้ในการเลี้ยงปลานับว่ามีความสำคัญมาก เพราะน้ำเป็นปัจจัยในการดำรงชีวิตของปลา หากปลาได้อาศัยอยู่ในน้ำที่มีคุณสมบัติดีก็จะทำให้ปลาดำรงชีวิตได้เป็นปกติ การเจริญเติบโตดี มีสุขภาพแข็งแรง ปราศจากโรคและปรสิต ดังนั้นการเลี้ยงปลาเพื่อให้ได้ผลผลิตตามที่ต้องการ ควรคำนึงถึงการจัดการให้คุณสมบัติของน้ำในบ่อเลี้ยงมีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของปลาเป็นสำคัญ สำหรับคุณสมบัติของน้ำที่มีความสำคัญต่อการเลี้ยงปลานิลได้แก่

อุณหภูมิ

อุณหภูมิของน้ำตามธรรมชาติจะแปรผันตามอุณหภูมิของอากาศ ซึ่งจะขึ้นอยู่กับฤดูกาล ระดับความสูง กระแสลม ความลึก ความเร็วของกระแสน้ำ และสภาพแวดล้อมทั่วไปของแหล่งน้ำ (ศิริเพ็ญ, 2543) อุณหภูมิของน้ำจะมีผลต่อกระบวนการต่าง ๆ ภายในร่างกายของปลาเป็นอย่างมาก เช่น การกินอาหาร การย่อยอาหาร การเคลื่อนไหว การหายใจ การสืบพันธุ์ และการเจริญเติบโต นอกจากนี้ผลกระทบของอุณหภูมิโดยทางอ้อมต่อสัตว์น้ำอาจเกิดจากการที่อุณหภูมิไปมีผลกับอัตราเมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิต ซึ่งรวมถึงจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำ การที่อุณหภูมิลดลงอยู่ในระดับต่ำทำให้อัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ในฤดูหนาวช้ากว่าปกติ เกิดการสะสมของสารอินทรีย์มากในบ่อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งบ่อที่เลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่น มีการให้อาหารในปริมาณมาก เมื่ออุณหภูมิของน้ำเพิ่มขึ้นสูงในฤดูร้อน ก็จะทำให้จุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ในอัตราสูง ทำให้มีการใช้ออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์มาก เกิดแอมโมเนีย และคาร์บอนไดออกไซด์จากกระบวนการย่อยสลายดังกล่าว เมื่อออกซิเจนถูกใช้ไปจนเกิดภาวะการขาดออกซิเจน จะมีผลทำให้เกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ตามมา จนบางครั้งถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิส่วนใหญ่ก็จะไปมีผลทำให้ความเป็นพิษของสารพิษต่าง ๆ ที่มีต่อสัตว์น้ำมากยิ่งขึ้น (ยนต์, 2539)

ปกติปลาในเขตร้อนชอบอาศัยอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิระหว่าง 25 - 32 องศาเซลเซียส แต่ปลาไม่สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้อย่างฉับพลัน โดยเฉพาะเมื่อนำปลาที่อาศัยอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำไปปล่อยในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงกว่าตามปกติ ปลานิลสามารถปรับตัวอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิช่วงกว้าง ตั้งแต่ 21.1 - 42.0 องศาเซลเซียส แต่ถ้าอุณหภูมิน้ำต่ำกว่า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

10 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 42 องศาเซลเซียส ปลานิลจะอยู่ได้ไม่นานและอาจจะทำให้ตายได้ ปลานิลจะไม่กินอาหารและไม่เจริญเติบโตเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 19 - 28 องศาเซลเซียส (อุดม, 2550)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen, DO)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิต เพราะสิ่งมีชีวิตทุกชนิดจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจ และกระบวนการต่าง ๆ ของร่างกาย ปริมาณออกซิเจนในน้ำจะต่ำที่สุดตอนเช้ามืด เนื่องจากออกซิเจนถูกใช้ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรีย และการหายใจของสิ่งมีชีวิตในบ่อ ส่วนในช่วงตอนกลางที่มีแสงแดดวันจะมีค่าออกซิเจนสูงสุด เพราะแพลงก์ตอนพืชเริ่มมีการสังเคราะห์แสง ทำให้ปริมาณออกซิเจนมากขึ้น ความสามารถในการละลายของออกซิเจนในน้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความเค็ม น้ำที่มีความเค็มและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายของออกซิเจนลดลง (พุทธ, 2544) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลามีค่าตั้งแต่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นไป (วิชาญ, 2546; อุดม, 2550)

ในการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่น (intensive culture) หรือกึ่งหนาแน่น (semi-intensive) จะมีการให้อากาศในบ่อเพื่อเพิ่มออกซิเจนให้เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่น จะถูกใช้ไปในกระบวนการหายใจของสิ่งมีชีวิตในน้ำในบ่อ การย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำและในดินพื้นบ่อโดยจุลินทรีย์ และบางส่วนถูกใช้ไปในการออกซิไดซ์สารอนินทรีย์ที่อยู่ในสภาพรีดิวซ์ การเลี้ยงสัตว์น้ำในอัตราความหนาแน่นสูง มีการให้อาหารในปริมาณมาก อาหารที่เหลือ และสิ่งขับถ่ายจากสัตว์น้ำจะทำให้ปริมาณรวมของสารอินทรีย์เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ การสะสมและการย่อยสลายของสารอินทรีย์ ต้องใช้ออกซิเจนในปริมาณมาก ผลจากการสลายของสารอินทรีย์ทำให้มีการปลดปล่อยธาตุอาหารสู่แหล่งน้ำ ทำให้มีปริมาณแพลงก์ตอนพืชในบ่อเพิ่มขึ้นในช่วงกลางวันที่มีการสังเคราะห์แสง ปริมาณออกซิเจนอาจจะสูงกว่าจุดอิ่มตัว แต่ในช่วงกลางคืนที่ไม่มีการสังเคราะห์แสง แพลงก์ตอนพืชเหล่านี้จะใช้ออกซิเจนจากน้ำในปริมาณมากเช่นกัน ทำให้ปริมาณออกซิเจนในช่วงกลางคืนลดต่ำลงอย่างรวดเร็วจนอาจเกิดปัญหาแก่สัตว์น้ำได้ในตอนเช้ามืด แพลงก์ตอนพืชจำนวนมากเหล่านี้เมื่อแพร่พันธุ์หนาแน่นมากขึ้นและตายลง นอกจากจะหยุดผลิตออกซิเจนให้แก่น้ำแล้ว ยังไปเพิ่มสารอินทรีย์ที่จะเน่าสลายในบ่ออีกเป็นจำนวนมาก ทำให้มีผลต่อปริมาณออกซิเจนในบ่อจนอาจจะ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เกิดวิกฤตขึ้นได้ ในสภาพที่ขาดออกซิเจนจะทำให้เกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ มีการสะสมของสารพิษพวกแอมโมเนียและไนไตรท์ที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ และการย่อยสลายสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำจะไม่สมบูรณ์ และช้าลงทำให้เกิดการสะสมของสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

ค่า pH เป็นค่าที่ชี้ถึงสภาวะความเป็นกรดหรือความเป็นด่างของสารละลาย แต่ค่า pH ไม่ได้เป็นตัวบอกปริมาณกรด (acidity) หรือปริมาณด่าง (alkalinity) ซึ่งแท้จริงแล้วค่า pH เป็นค่าที่วัดความสามารถของไฮโดรเจนอิออน (hydrogen ion activity) มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มข้นของโฮโดรเจนอิออนในน้ำ ในบ่อเลี้ยงปลาจะมีการเปลี่ยนแปลงของ pH ในรอบวัน โดยแพลงก์ตอนพืชและพืชน้ำใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อสังเคราะห์แสงในตอนกลางวัน ทำให้ค่า pH สูงขึ้น ส่วนในเวลากลางคืนมีเฉพาะการหายใจ พืชคายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา จึงทำให้ค่า pH ลดลง น้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาไม่ควรมีการเปลี่ยนแปลงของ pH เกินกว่า 2 หน่วยในรอบวัน และน้ำที่มีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.5 - 8.5 เหมาะแก่การเลี้ยงปลามากที่สุด ส่วนในช่วง pH 4 - 6 และ 9 - 11 ปลาจะเจริญเติบโตช้าและอ่อนแอ เพราะในน้ำที่มีด่างมากปลาจะตาย และถ้าเป็นกรดปลาจะไม่อยากกินอาหาร อัตราการเจริญเติบโตจะลดลง (Boyd and Tucker, 1998) ความต้านทานโรคต่ำ อ่อนแอ และเป็นโรคได้ง่าย แต่โดยทั่วไปปลานิลสามารถอาศัยอยู่ได้ในน้ำที่มีระดับ pH ตั้งแต่ 7.2 - 8.3 หรือในช่วงเช้า pH 7 และช่วงบ่าย pH 10 ก็สามารถอยู่ได้ (อุดม, 2550) เมื่อ pH เพิ่มขึ้น แอมโมเนียเป็นพิษมากขึ้น เนื่องจากแอมโมเนียจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป NH_3 มากขึ้น การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของซัลไฟด์ในน้ำเมื่อ pH ลดลง มีผลทำให้ซัลไฟด์มีความเป็นพิษเพิ่มขึ้น เนื่องจากซัลไฟด์เปลี่ยนไปอยู่ในรูป H_2S มากขึ้น (Boyd and Tucker, 1998) ในสภาวะที่เป็นกรดกระบวนการไนตริฟิเคชั่น (nitrification) จะช้าลง และจะเกิดน้อยมากที่ pH ต่ำกว่า 5 ที่ pH สูงกว่า 8 การทำงานของ *Nitrobacter* ซึ่งออกซิไดซ์ไนไตรท์ให้เป็นไนเตรท จะลดประสิทธิภาพลงทำให้เกิดการสะสมของไนไตรท์ (ยนต์, 2539)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความเป็นด่าง (Alkalinity)

ค่าความเป็นด่าง หมายถึง ความสามารถของน้ำที่จะรับไฮโดเจนอิออน (H^+) เพื่อทำให้กรดเป็นกลาง น้ำที่มีค่า pH มากกว่า 4.3 แสดงว่าในน้ำมีค่าความเป็นด่างอยู่ ยิ่งค่า pH สูงก็จะมีค่าความเป็นด่างมากขึ้น สารประกอบที่ทำให้เกิดความเป็นด่างมี 3 ชนิด คือ ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-), คาร์บอเนต (CO_3^{2-}) และไฮดรอกไซด์ (OH^-) น้ำที่มีองค์ประกอบตัวใดตัวหนึ่งใน 3 ชนิดดังกล่าวจะเป็นน้ำที่มีความเป็นด่างอยู่ด้วย (ชลอ และพรเลิศ, 2547) ดังนั้น pH ของน้ำถือว่าเป็นตัวกำหนดชนิดของสารละลายด่างที่อยู่ในน้ำ คือ

น้ำมีค่า pH เป็นกลางจนถึง 8.3 จะมี HCO_3^- มาก
น้ำมีค่า pH ตั้งแต่ 8.3 ขึ้นไปจะเริ่มมี CO_3^{2-}
น้ำมีค่า pH ระหว่าง 9.5 - 10.5 จะมี CO_3^{2-} มาก
น้ำมีค่า pH 11 หรือมากกว่า จะมี OH^- มาก

ระดับค่าความเป็นด่างที่เหมาะสมกับการเลี้ยงปลาอยู่ระหว่าง 20 - 300 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทั่วไปบ่อเลี้ยงปลาที่มีน้ำเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตควรมีค่าความเป็นด่างสูงกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (อุดม, 2550) โดยทั่วไปการรักษาระดับความเป็นด่างให้คงที่นั้นจะใช้วัสดุปูนในกลุ่มคาร์บอเนต ส่วนการเพิ่มความเป็นด่างอาจใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตหรือโซเดียมคาร์บอเนตขึ้นอยู่กับระดับ pH ของน้ำประกอบกันด้วย (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

แอมโมเนีย

แอมโมเนียเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ยกเว้นแพลงก์ตอนพืชและแบคทีเรียที่ใช้แอมโมเนียเป็นอาหาร แอมโมเนียที่พบอยู่ในน้ำจะแบ่งเป็นสองรูปแบบคือ แอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ และแอมโมเนียมอิออน (NH_4^+) ซึ่งไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ ในการวัดแอมโมเนียทั่วไปจะวัดรวมทั้งสองรูป แอมโมเนียทั้งสองรูปจะเปลี่ยนกลับไปกลับมาตาม pH ของน้ำและอุณหภูมิของน้ำ โดยเฉพาะ pH สูงอัตราส่วนของแอมโมเนียจะสูงขึ้น ทำให้ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำเพิ่มขึ้น แต่ถ้า pH ของน้ำลดลง แอมโมเนียในรูปของแอมโมเนียมอิออนจะมีอัตราส่วนมากขึ้น ทำให้ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำลดลง เมื่อแอมโมเนียในน้ำปริมาณสูงขึ้น จะมีผลทำให้การขับถ่ายแอมโมเนียของปลาทำได้น้อยลง ทำให้เกิดการสะสมของแอมโมเนียใน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เลือดและเนื้อเยื่อ ส่งผลให้ pH ของเลือดเพิ่มขึ้น แอมโมเนียที่ระดับความเข้มข้นสูงในน้ำ จะมีผลต่อการซึมผ่านของน้ำ ทำให้ความเข้มข้นของอิออนต่าง ๆ ในตัวปลาลดลง นอกจากนี้แอมโมเนียจะเป็นสาเหตุให้เนื้อเยื่อต่าง ๆ ใช้ออกซิเจนจนเพิ่มมากขึ้น และยังไปลดความสามารถของเลือดในการขนส่งออกซิเจน แอมโมเนียในความเข้มข้นระดับต่ำ ๆ ที่ไม่ทำปลาตายก็จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อของไต ม้าม ต่อมไทรอยด์ และเลือดของปลา และจะทำให้ปลาอ่อนแอติดโรคง่าย และการเจริญเติบโตลดลง ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียทำให้สัตว์น้ำตาย ปกติอยู่ในช่วง 0.4 - 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในรูปของ NH_3 (ชลอ, 2543)

ไนไตรท์

ไนไตรท์เป็นสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำเช่นเดียวกับแอมโมเนีย เกิดจากกระบวนการไนตริฟิเคชั่นของแอมโมเนียในสภาพที่มีออกซิเจนโดยแบคทีเรียกลุ่ม *Nitrosomonas* เป็นตัวย่อยสลาย และจากกระบวนการดีไนตริฟิเคชั่นหรือไนเตรทรีดักชั่นของไนเตรทในสภาพขาดออกซิเจน (ยนต์, 2539) โดยทั่วไปไนไตรท์จะไม่สะสมอยู่ในแหล่งน้ำเพราะไนไตรท์ที่ได้จะเปลี่ยนเป็นไนเตรทอย่างรวดเร็ว แต่ในบางสภาวะหากอัตราการออกซิไดซ์แอมโมเนียเร็วกว่าการออกซิไดซ์ไนไตรท์ก็จะเกิดการสะสมของไนไตรท์ขึ้นได้ แหล่งน้ำทั่วไปพบว่ามีความเข้มข้นต่ำเฉลี่ยน้อยกว่า 0.007 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่แหล่งน้ำที่รับน้ำเสียพบไนไตรท์ในความเข้มข้นที่สูงกว่า เช่นเดียวกับบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีความหนาแน่นสูง เพราะในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมีอัตราการเติมไนโตรเจนในรูปของอาหารเม็ด ปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยคอกลงในบ่อ อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของไนไตรท์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมักจะต่ำ (น้อยกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) เนื่องจากแอมโมเนียซึ่งเป็นสารตั้งต้นถูกแพลงก์ตอนพืชนำไปใช้ (Boyd and Tucker, 1998) ระดับความเป็นพิษของไนไตรท์จะเพิ่มขึ้นเมื่อค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำและ pH ของน้ำลดลง (ชลอ และพรเลิศ, 2547) ในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำไนไตรท์จะเป็นพิษต่อสัตว์น้ำโดยเฉพาะปลาโดยเปลี่ยนฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ในเม็ดเลือดไปเป็นเมทีโมโกลบิน (methemoglobin) ซึ่งไม่สามารถนำพาออกซิเจนได้ทำให้สัตว์น้ำตายในที่สุด (Wetzel, 1975) แต่เนื่องจากกุ้งไม่มีฮีโมโกลบิน แต่มีฮีโมไซยานิน ดังนั้นความเป็นพิษของไนไตรท์ต่อสัตว์จำพวกครัสเตเซียนอาจจะแตกต่างกันกับสัตว์น้ำที่มีฮีโมโกลบิน คือไนไตรท์อาจจะเข้าจับได้น้อยกว่าจึงมีความเป็นพิษต่อกุ้งน้อย แต่มีผลทำให้เลือดของกุ้งไม่สามารถเข้าจับกับออกซิเจนเกิดภาวะกุ้งขาดออกซิเจนทำให้ระดับโปรตีนและค่า pH ของเลือดกุ้งลดลง เกิดการสะสมยูเรียในเลือดกุ้ง ระบบสมดุลเกลือแร่เกิดการเปลี่ยนแปลง คือดูดซึมน้ำมากเกินไป (พุทธ, 2544; ชลอ และพรเลิศ, 2547)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไฮโดรเจนซัลไฟด์

ในสภาพที่ขาดออกซิเจน แบคทีเรียบางชนิดจะสามารถใช้กำมะถันในรูปซัลเฟต และสารประกอบกำมะถันตัวอื่น ๆ ที่อยู่ในรูปออกซิไดซ์และเปลี่ยนสารประกอบซัลเฟอร์เหล่านี้ให้อยู่ในรูปของซัลไฟด์ ซึ่งจะอยู่ในสามรูปแบบ คือ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ไฮโดรซัลไฟด์อิออน (HS^-) และไบซัลไฟด์อิออน (S^{2-}) สัดส่วนแต่ละชนิดที่พบจะขึ้นอยู่กับ pH ของน้ำ น้ำที่มี pH ต่ำจะมีเปอร์เซ็นต์ H_2S สูง แต่เมื่อ pH สูงขึ้น เปอร์เซ็นต์ H_2S จะลดลง แต่มี HS^- และ S^{2-} มากขึ้น ความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำลดลงด้วย H_2S เกิดจากการหมักหมม และการเน่าสลายของอินทรีย์สารก้นบ่อ มักจะเกิดปัญหาในบ่อเลี้ยงปลาที่มีการให้อาหารปริมาณมาก และมีอาหารตกค้างและเป็นพิษต่อปลา โดยเฉพาะปลาที่อ่อนแอมีภูมิต้านทานต่ำแม้เพียง 0.1 - 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็ตายได้ ส่วนปลาที่แข็งแรงมีภูมิต้านทานสูง แต่ถ้าเกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็จะมีอาการเซื่องซึมและตายได้เช่นกัน H_2S จะสังเกตได้จากกลิ่นคล้ายไข่เน่า ความเป็นพิษของ H_2S คล้ายคลึงกับการขาดออกซิเจน เนื่องจากจะไปขัดขวางออกซิเจนภายในเซลล์ ทำให้ปริมาณแลกเตท (lactate) ในเลือดสูงขึ้น ความเป็นพิษของ H_2S จะรุนแรงกว่าการขาดออกซิเจน (ชลอ และพรเลิศ, 2547)

กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำโดยจุลินทรีย์

สมาน (2538) อธิบาย 4 ขั้นตอนที่สำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ ดังนี้

1. การย่อยสลายสารอินทรีย์

จุลินทรีย์จะผลิตเอนไซม์ออกมาจากเซลล์ (extracellular enzyme) ปล่อยออกมาภายนอกเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ให้เป็นโมเลกุลเล็กที่ละลายน้ำได้ ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำสารอินทรีย์ในรูปนี้เข้าสู่เซลล์และใช้เป็นอาหารได้ สารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายนี้จะเปลี่ยนเป็นรูป CarbonaceousBOD แอมโมเนีย และฟอสเฟต ซึ่งจะเป็นรูปใดก็ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลาย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การแปรสภาพของ CarbonaceousBOD

จุลินทรีย์ชนิด eterotrophy จะใช้สารอินทรีย์คาร์บอนจากโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนจุลินทรีย์ชนิด autrotroph จะใช้สารอนินทรีย์คาร์บอน เช่น คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ด้วย ส่วนกระบวนการ nitrification จะเกิดขึ้นโดยกิจกรรมของ autotrophic bacteria กลุ่ม nitrifying bacteria ผลสุดท้ายของการแปรสภาพ CarbonaceousBOD จะได้จำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และฟอสฟอรัสในรูปสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ แคลเซียมฟอสเฟต

3. Nitrification

เป็นกระบวนการที่เปลี่ยนแปลงแอมโมเนียให้เป็นไนเตรท โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ในกระบวนการนี้ต้องการสภาพที่มีออกซิเจนอย่างเพียงพอ และถ้ามีสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำอยู่ในปริมาณที่สูงจะสามารถยับยั้งกระบวนการนี้ได้ (โดยทั่วไปกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อค่า BOD ของน้ำจะต้องต่ำกว่า 20 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในกระบวนการ nitrification นี้เป็นกิจกรรมของ nitrifying bacteria ซึ่งกระบวนการแปรสภาพมีอยู่ 2 ขั้นตอน คือ

3.1 แอมโมเนียหรือแอมโมเนียมอิออน ถูกออกซิไดซ์เป็นไนไตรท์ จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการนี้ เช่น *Nitrosomonas* sp.

3.2 ไนไตรท์ถูกออกซิไดซ์เป็นไนเตรท จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง เช่น *Nitrobacter* sp.

4. Denitrification

กระบวนการ denitrification เป็นการเปลี่ยนแปลงสารประกอบไนเตรทให้เป็นก๊าซไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ กระบวนการนี้เกิดในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนและต้องการสารอินทรีย์คาร์บอนเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานเกิดโดย heterotrophic bacteria ซึ่งแหล่งคาร์บอนนี้มาจากตะกอนโคลนเลน จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการนี้รวมเรียกว่า denitrifying bacteria เช่น *Pseudomonas* sp., *Achromobacter* sp. และ *Micrococcus* sp. เป็นต้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โพรไบโอติก

โพรไบโอติก มาจากคำภาษากรีก หมายถึง เพื่อชีวิต (Fuller, 1992) โพรไบโอติกโดยทั่วไปนั้น หมายถึง จุลินทรีย์ซึ่งอาจมีเพียงชนิดเดียว หรือเป็นส่วนผสมของจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถไปปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์นั้น โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปของเซลล์แห้งจากกระบวนการระเหิดแห้ง (freez – dried cells) หรืออยู่ในรูปผลิตภัณฑ์หมักซึ่งนอกจากไปส่งเสริมการเจริญเติบโตแล้ว ยังทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้นด้วย

มีผู้ให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกไว้หลายความหมายดังต่อไปนี้

Lilly and Stillwell (1965) เป็นบุคคลแรกที่ให้คำจำกัดความเกี่ยวกับโพรไบโอติกว่า เป็นสารที่ผลิตมาจากจุลินทรีย์ และมีผลต่อการเจริญของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ

Fuller (1992) ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกเป็นการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในอาหารซึ่งจะไปมีผลต่อการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ซึ่งจากคำจำกัดความนี้โพรไบโอติกจะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและให้กับ host โดยการผสมอาหาร

Parker (1974) ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์หรือสารที่ได้จากจุลินทรีย์ช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารโดยไม่มีผลกับจุลินทรีย์ที่พบตามปกติภายในลำไส้สามารถปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหาร

Maeda *et al*. (1997) ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายสิ่งมีชีวิต โดยการทำงานแบบ biological control

Moriarty (1998) ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ รวมถึงการใส่แบคทีเรียลงในบ่อ หรือถังเลี้ยงสัตว์น้ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Gatesoupe (1999) ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกเป็นเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปด้วยวิธีใด ๆ แล้วสามารถเข้าไปอยู่ในลำไส้ของ host และมีชีวิตอยู่ได้ สามารถปรับปรุงสุขภาพของ host ให้ดีขึ้น

Salminen *et al.* (1999) ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติกเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ไม่จำเป็นต้องมีชีวิต แต่ได้มาจากเซลล์ของจุลินทรีย์ และมีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตที่ได้รับเข้าไป

โดยสรุปแล้วความหมายของโพรไบโอติกในเชิงการเลี้ยงสัตว์น้ำหมายถึง จุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรีย หรือผลผลิตจากแบคทีเรีย ที่เติมเข้าไปในระบบการเลี้ยงสัตว์น้ำ แล้วไปมีผลช่วยให้สัตว์ดังกล่าวมีสุขภาพดีขึ้น โพรไบโอติกที่ดีนั้นจะต้องเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ก่อประโยชน์ สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ ไม่ก่อให้เกิดโรค เป็นเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่เพิ่มจำนวน เจริญ และทำงานได้ดีในระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งมีความคงทนต่อการรักษา เช่น *Bacillus* sp, *Clostidium botyridium*, *Enterococcus* sp. และ *Lactobacillus* sp.

ประโยชน์ของโพรไบโอติก

1. เกิดสมดุลในระบบทางเดินอาหาร

โดยปกติจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้สัตว์น้ำประกอบด้วยจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์และกลุ่มที่ก่อให้เกิดโทษ เมื่อมีการเสียสมดุลและมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ไม่ดีมากกว่าจะทำให้เกิดโรค (Gatesoupe, 1999) จึงมีการนำโพรไบโอติกซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์มาใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อให้มีปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์อยู่อย่างเพียงพอ ซึ่งจะส่งผลให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตอย่างเป็นที่น่าพอใจ (Balcazar *et al*., 2006) แบคทีเรียสามารถเข้าสู่ท่อทางเดินอาหารของสัตว์น้ำได้ทางปากและการกินอาหาร จากนั้นจะถูกกำจัดออกด้วยระบบภูมิคุ้มกันและทางอุจจาระ ซึ่งแบคทีเรียจะเจริญในท่อทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ โดยการเข้าไปแทนที่แบคทีเรียที่อยู่ในท่อทางเดินอาหาร และเมื่อสัตว์น้ำไม่ได้รับโพรไบโอติก ทำให้ปริมาณโพรไบโอติกมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลา (Fuller, 1992) Conway (1996) รายงานว่า จุลินทรีย์เจริญในท่อทางเดินอาหารของสัตว์น้ำได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดนั้นสามารถยึดเกาะบริเวณจำเพาะในท่อทางเดินอาหารเป็นระยะเวลานาน และมีอัตราการแบ่งเซลล์สูงกว่าอัตราการกำจัดออกจากร่างกายสัตว์น้ำ ยกตัวอย่างเช่น การเติม *Bacillus* sp. ลงในน้ำที่ใช้เลี้ยงกุ้งเป็นระยะเวลา 20 วัน ทำให้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปริมาณ *Bacillus* sp. ในตับ (hepatopancreas) กุ้งมีมากถึงร้อยละ 50 ของปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในตับ โดยเข้าไปแทนที่ *Vibrio* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในตับกุ้ง (Gullian and Rodriguez, 2002)

2. ยับยั้งเชื้อก่อโรค

กลุ่มของจุลินทรีย์มักจะปล่อยสารเคมีออกมา โดยสารเคมีนั้นจะมีฤทธิ์เป็นสารฆ่าแบคทีเรีย (bactericidal) หรือควบคุมแบคทีเรีย (bacteriostatic) ซึ่งคุณสมบัตินี้สามารถที่จะเกิดการแข่งขันในการใช้สารเคมีหรือพลังงาน (Lemos *et al.*, 1991) การที่มีแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตในลำไส้ของเจ้าบ้าน หรือบนพื้นผิว หรือบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จะเป็นการป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้ออื่น การผลิตสารที่มีคุณสมบัติในการต้านทานเชื้อแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ซึ่งบางครั้งมีปัจจัยเดียว หรืออาจเกิดจากหลาย ๆ ปัจจัยร่วมกันในการผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics) (Williams and Vickers, 1986) สารต้านทานแบคทีเรีย (bacteriocins) (Bruno and Montville, 1993; Vandenbergh, 1993) ไลโซไซม์ (lysozymes) โปรติเอส (proteases) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และการปรับค่า pH โดยการผลิตกรดอินทรีย์ (organic acids) (Sugita *et al.*, 1997) แบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria สามารถผลิตสารหลายชนิด เช่น สารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (bacteriocins) ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น (Vandenbergh, 1993) มีการศึกษาหลายรายงานเกี่ยวกับปฏิกิริยาในการยับยั้งการเจริญเติบโตโดยแบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria ซึ่งเกิดปฏิกิริยาโดยสาร bacteriocins แต่ไม่ได้มีผลต่อแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก (Stoffels *et al.*, 1992) อย่างไรก็ตามเชื้อที่ทำให้เกิดโรคในการเลี้ยงสัตว์น้ำส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งก็จะมีความเป็นไปได้ในการนำเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria ในการเป็นโพรไบโอติก (Ring and Gatesoupe, 1998) แบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria เมื่อเจริญอยู่ในลำไส้ของปลานั้นจะไม่เป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลา และมีการผลิตสาร bacteriocins เพื่อช่วยทำให้สุขภาพของปลาดีขึ้นโดยการไปมีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอื่น

3. ย่อยสารอาหารขนาดใหญ่ให้เป็นสารอาหารขนาดเล็ก

โพรไบโอติกสามารถช่วยให้สัตว์น้ำดูดซึมอาหารได้ดียิ่งขึ้น ส่วนใหญ่จุลินทรีย์สามารถหลั่งเอนไซม์ออกมาจากเซลล์ เช่น อะไมเลส โปรติเอส และไลเปส ที่ช่วยย่อยสลาย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ตามลำดับ จากโครงสร้างที่ซับซ้อนให้ได้หน่วยที่เล็กลง เช่น กรดอินทรีย์ กรดไขมัน แอลกอฮอล์ เอสเทอร์ คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน และไฮโดรเจนซัลไฟด์

Saha *et al*. (2006) ได้ศึกษาลักษณะของแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสที่แยกได้จากทางเดินอาหารของปลาหมอเทศ (*Oreochromis mossambica*) และปลาเฉาฮื้อ (*Ctenopharyngodon idella*) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Carboxymethylcellulose agar (CMC-agar) พบแบคทีเรียที่มีกิจกรรมการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่สุด คือ *B. circulans* และ *B. megaterium* ที่แยกได้จากปลาเฉาฮื้อ นอกจากนี้แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ยังมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสและเอนไซม์โปรติเอส

Chromobacterium sp. และ *Bacillus licheniformis* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายไขมันได้ นอกจากนี้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* เช่น *B. stearothermophilus*, *B. subtilis* และ *B. licheniformis* สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลส ทำให้โมเลกุลแป้งมีขนาดสั้นลง (สุรีย์, 2533; เรืองลักขณา, 2535; ขจีนาฏ และคณะ, 2540)

4. ปรับปรุงคุณภาพน้ำ

แบคทีเรีย *Bacillus* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยดูจากเปอร์เซ็นต์ที่สามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์ที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบในบริเวณที่แบคทีเรียอาศัยอยู่ (Stanier *et al*., 1963) ซึ่งเป็นเหตุผลว่าในบ่อที่มีปริมาณแบคทีเรียแกรมบวกสูงจะพบว่ามีปริมาณสารอินทรีย์ต่ำในระหว่างการเลี้ยง และเกิดการบลูมของแพลงก์ตอนพืชเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Scura, 1995)

ชลิต (2535) ได้ทำการศึกษาผลของจุลินทรีย์ต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่มี *B. subtilis* ในการศึกษาการย่อยเศษอาหารและขี้กุ้งในหลอดทดลอง พบว่าในหลอดที่เติมจุลินทรีย์ตะกอนขี้กุ้งและเศษอาหารลดลงเหลือ 37 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหลอดที่ไม่เติมจุลินทรีย์พบว่าตะกอนขี้กุ้งและเศษอาหารเหลือถึง 94.33 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แบคทีเรียสกุล *Bacillus*

Bacillus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive bacteria) จัดอยู่ในวงศ์ Bacillaceae สามารถสร้างเอนโดสปอร์ (endospore forming) มีรูปร่างเป็นท่อน อาศัยอยู่ได้ทั้งในดิน น้ำจืด และน้ำเค็ม สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่มีออกซิเจนต่ำ และอยู่ได้ในช่วง pH กว้าง ประมาณ 8 - 11 มีเอนโดสปอร์ที่ทนความร้อน และสร้างเอกโซเอนไซม์ (exoenzyme) ในการย่อยสารอินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น เอนไซม์โปรติเอส (protease) ย่อยสารจำพวกโปรตีน เอนไซม์อะไมเลส (amylase) ย่อยสารจำพวกแป้ง เอนไซม์เอสทิเรส (esterase) ย่อยสารจำพวกไขมัน เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ย่อยสารจำพวกเซลลูโลส และเอนไซม์ไซลาเนส (xylanase) ย่อยผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2552) จากคุณสมบัติที่สามารถสร้างสปอร์ได้ ทำให้สามารถเก็บรักษาในรูปของสปอร์ สะดวกต่อการเก็บรักษา

แบคทีเรีย *Paracoccus pantotrophus*

Paracoccus pantotrophus เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่สามารถดำรงชีวิตได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultatively lithoautotrophic bacterium) พบทั่วไปทั้งในดินและน้ำ ในบริเวณพื้นบ่อหลังจากออกซิเจนถูกใช้จนหมดจากกระบวนการหายใจ ทำให้เกิดสภาพไร้ออกซิเจนในดิน แบคทีเรียในกลุ่ม facultative anaerobe และ obligate anaerobe (เป็นแบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการออกซิเจน โดยพลังงานที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ได้จากกระบวนการหมัก (fermentation) หรือการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน) จะดึงโมเลกุลออกซิเจนจากสารประกอบอื่น ๆ มาใช้แทนโดยเลือกใช้สารประกอบที่มีระดับออกซิเดชันสูง ๆ มาใช้ก่อนเรียงตามลำดับดังนี้ คือ NO_3^-, MnO_2, Fe_2O_3 และ SO_4^{2-} ตามลำดับ หลังจากใช้ NO_3^-, MnO_2 และ Fe_2O_3 จนหมดแล้ว แบคทีเรียในกลุ่ม sulfate reducing bacteria จะรีดิวซ์ SO_4^{2-} ทำให้เกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ หลังจากนั้นแบคทีเรีย *P. pantotrophus* จะออกซิไดซ์ H_2S ให้เป็นซัลเฟต (SO_4^{2-})ได้ (Friedrich *et al*., 2001; Rother *et al*., 2001) ดังสมการที่ 1

$$H_2S + 2O_2 \longrightarrow SO_4^{2-} + 2H^+ \qquad (1)$$

นอกจากนี้ *P. pantotrophus* ยังสามารถใช้ NO_3^- เป็นตัวรับอิเลคตรอนตัวสุดท้ายในการออกซิไดซ์ซัลเฟอร์ (S) ดังสมการที่ 2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

$$4\,NO_3^- + 3S \longrightarrow 3SO_4^{2-} + 2N_2 \qquad (2)$$

จากคุณสมบัติเหล่านี้แบคทีเรีย *P. pantotrophus* มีการนำมาใช้ในการปรับปรุงและบำบัดคุณภาพน้ำในโรงงานอุตสาหกรรม (Gallert and Winter, 2005)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาครั้งนี้ใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Novozymes Biological, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีชื่อการค้า FreshPlus (ภาพที่ 1) ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis, B. licheniformis, B. amyloliquefaciens, B. megaterium, B. pumilus* และ *Paracoccus pantotrophus*

ภาพที่ 1 ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษา

1. การศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ต่อการสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโต และความสามารถในการเจริญเติบโตร่วมกับแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล 2 ชนิด ได้แก่ *A. hydrophila* ABRCA1 และ *S. agalactiae* ABRCS1 ในห้องปฏิบัติการ

1.1 จำแนกแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. จากผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์

1.1.1 นำผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ 1 กรัม เจือจางในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 9 มิลลิลิตร จากนั้นแยกชนิดแบคทีเรีย โดยวิธีการ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

1.1.2 แยกโคโลนีเดี่ยวจากข้อ 1.1.1 ที่มีลักษณะแตกต่างกันไป โดยนำไป streak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

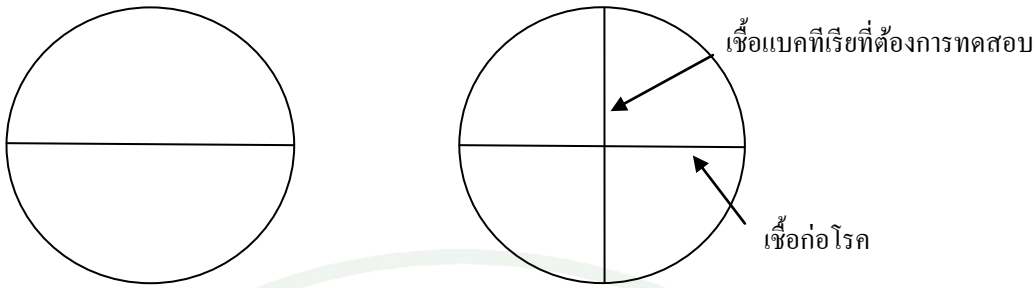
1.1.3 นำแบคทีเรียในข้อ 1.1.2 มาย้อมสีแกรม และดูรูปร่าง และนำมาจำแนกชนิดด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป API50CHB (bioMérieux) ซึ่งเป็นการจำแนกชนิดของ *Bacillus* spp. โดยดูจากปฏิกิริยา fermentation ของคาร์โบไฮเดรตชนิดต่าง ๆ 49 ชนิด ได้แก่ glycerol, erythritol, D-arabinose, L - arabinose, D - ribose, D - xylose, L - xylose, D - adonitol, Methyl - β D-xylopyranoside, D - galactose, D - glucose, D - fructose, D - mannose, L - sorbose, L - rhamnose, dulcitol, inositol, D - mannitol, D - sorbitol, Methyl – α D - mannopyranoside, Methyl – α D - glucopyranoside, N - acetylglucosamine, amygdalin, arbutin, esculin ferric citrate, salicin, D - celiobiose, D - maltose, D – lactose, D - melibiose, D - saccharose, D - trehalose, inulin, D - melezitose, D - raffinose, Amidon (starch), glycogen, xylitol, gentiobiose, D - turanose, D - lyxose, D - tagatose, D - fucose, L - fucose, D - arabitol, L - arabitol, potassium gluconate, potassium 2 - ketogluconate และ potassium 5 - ketogluconate

1.1.4 นำแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้เก็บไว้ในสารละลายกลีเซอรอล (glycerol) ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองครั้งต่อไป

1.2 ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

นำแบคทีเรีย สกุล *Bacillus* spp. ทั้ง 5 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากการทดลองที่ 1.1 ได้แก่ *B. subtilis, B. licheniformis, B. amyloliquefaciens, B. megaterium* และ *B. pumilus* ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในปลานิล คือ *A. hydrophila* ABRCA1 และ *S. agalactiae* ABRCS1 ซึ่งแยกจากปลานิลที่ป่วย ได้รับเชื้อบริสุทธิ์มาจากศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยวิธีการ cross streak method โดยนำเชื้อก่อโรค (*A. hydrophila* ABRCA1 และ *S. agalactiae* ABRCS1) ที่เลี้ยงบนอาหาร NA อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โดยขีดเป็นเส้นเดียว และนำเชื้อแบคทีเรียที่ประกอบในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ FreshPlus (*B. subtilis, B. licheniformis, B. amyloliquefaciens, B. megaterium* และ *B. pumilus*) ที่เลี้ยงในอาหาร NA อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาทำการขีดทับลงไปในแนวกากบาท นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำ 3 ซ้ำ ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ 1 ชนิด โดยมีกลุ่มควบคุมเป็นเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด ซึ่งขีดเชื้อเป็นเส้นเดียว ดังภาพที่ 2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 วิธีการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค

1.3 ทดสอบความสามารถในการเจริญร่วมกันของ *Bacillus* spp. และเชื้อก่อโรค ในอาหารเหลว (broth co-culture assay)

1.3.1 นำแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติการเข้าครอบครองโคโลนีของเชื้อก่อโรคในการทดลองที่ 1.2 มาทำการทดสอบความสามารถในการเจริญร่วมกันของเชื้อก่อโรคในอาหารเหลว ซึ่งจาก ผลการทดสอบที่ 1.2 พบว่า *Bacillus* 3 ชนิด ที่สามารถครอบครองโคโลนีของแบคทีเรียก่อโรคได้ ได้แก่ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* จึงนำ *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิดนี้ และเชื้อ *S. agalactiae* ABRCS1 จะเลี้ยงร่วมกันในอาหาร Nutrient broth (NB) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

1.3.2 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปปั่นเพื่อแยกตะกอนเซลล์ และละลายตะกอนเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ เจือจางสารละลายเชื้อแต่ละชนิดให้ได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นชนิดละ 10^6 CFU/มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายดังกล่าวหยดลงในหลอดทดลอง ซึ่งเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^5 CFU/มิลลิลิตร โดยแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

ชุดการทดลองที่ 1 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*
ชุดการทดลองที่ 2 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. licheniformis*
ชุดการทดลองที่ 3 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. pumilus*
ชุดการทดลองที่ 4 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*
ชุดการทดลองที่ 5 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ร่วมกับ *B. licheniformis*
ชุดการทดลองที่ 6 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ร่วมกับ *B. pumilus*

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชุดการทดลองที่ 7 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ร่วมกับ *B. subtilis*

1.3.3 เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง และนับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดโดยการ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ในชุดการทดลองที่ 5 - 7 แยกนับปริมาณแบคทีเรียระหว่าง *S. agalactiae* และ *Bacillus* spp. โดยแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้มีลักษณะที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน

1.3.4 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรีย *S. agalactiae* เมื่อเลี้ยงเดี่ยวและเลี้ยงร่วมกับ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 ชนิด โดยวิธี T-test (Independent-sample) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (อนันต์ ชัย, 2542) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS vesion 13.0

2. การศึกษาผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตาย ของปลานิลในห้องปฏิบัติการ

การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลานิลมาปรับสภาพก่อนเริ่มการทดลองเป็นระยะเวลา 5 วัน ในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร มีการติดตั้งเครื่องให้อากาศอย่างเพียงพอ ชั่งน้ำหนักปลานิลก่อนการทดลอง โดยเลือกปลานิลที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 2 - 3 กรัม จำนวน 1,200 ตัว นำปลานิลที่คัดเลือกมาเลี้ยงในถังทดลองที่บรรจุน้ำปริมาตร 400 ลิตร จำนวน 12 ถัง และใส่ปลานิล 100 ตัว ต่อถัง (ภาพที่ 3)

การวางแผนการทดลอง

ทดลองโดยใช้ถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร ทั้งหมด 12 ถัง โดยแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1: เลี้ยงปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปปกติเพียงอย่างเดียว

ชุดการทดลองที่ 2: เลี้ยงปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปปกติ และใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในถังเลี้ยง ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชุดการทดลองที่ 3: เลี้ยงปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปปกติ และใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในถังเลี้ยง ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดการทดลองที่ 4: เลี้ยงปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมกับผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในอัตราส่วนผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ให้กินทุกวัน และใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ในถังเลี้ยง ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิลิตร

ตลอดระยะเวลาทำการทดลองจะใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ทุก 10 วัน และทุก ๆ ครั้งที่มีการเปลี่ยนน้ำ จะต้องเติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในระดับความเข้มข้นที่กำหนดไว้ในแต่ละชุดการทดลอง

การเตรียมถังเลี้ยงปลา

ก่อนการทดลองทำความสะอาดถังทดลอง โดยเติมคลอรีนผงในถังไฟเบอร์กลาส ขนาดความจุ 500 ลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร แช่ทิ้งไว้นาน 1 วัน หลังจากนั้นล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา และตากถังให้แห้ง 2 วัน

การเตรียมน้ำ

ใช้น้ำประปาซึ่งผ่านการพักและให้อากาศตลอดเวลา และตรวจสอบด้วยโพแทสเซียมไอโอไดด์ว่าไม่มีคลอรีนหลงเหลืออยู่แล้ว จึงนำมาใช้เลี้ยงปลานิลในการทดลอง

การเลี้ยงและการให้อาหาร

เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปโดยให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน ในเวลาประมาณ 07.00 น. และ 17.00 น. เป็นระยะเวลานาน 10 สัปดาห์ ดูดตะกอนและเปลี่ยนน้ำทุก ๆ 10 วัน

สุ่มชั่งน้ำหนักปลานิลทุก ๆ 10 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 70 วัน สุ่มชั่งน้ำหนักปลานิล และนับจำนวนปลานิลที่เหลือทั้งหมด หลังจากนั้นนำมาประเมินน้ำหนักเฉลี่ย อัตรารอดตาย และอัตราแลกเนื้อ โดยคำนวณตามสูตรดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) = $\frac{\text{จำนวนปลานิลที่เหลือ x 100}}{\text{จำนวนปลาที่ปล่อยทั้งหมด}}$

อัตราการแลกเนื้อ = $\frac{\text{ปริมาณอาหารที่ให้ทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลานิลที่ได้ทั้งหมด (กรัม)}}$

วิเคราะห์ความแตกต่างทางด้านสถิติ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (อนันต์ชัย, 2542) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS vesion 13.0

เก็บน้ำก่อนการทดลองเพื่ อนำมาวิเคราะห์ปริมาณออกซิ เจนที่ละลายในน้ำ อุณหภูมิ pH ความเป็นด่างรวม แอมโมเนียรวม และไนไตรท์ วัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อุณหภูมิ และ pH ทุกวัน วันละ 2 ครั้ง คือ เวลา 06.00 น. และ 17.00 น. หลังจากนั้นจะเก็บน้ำทุก ๆ 10 วันเพื่อนำมาวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะวิเคราะห์ 3 ซ้ำ โดยมีวิธีการวิเคราะห์ ดังนี้

1. วัดปริมาณออกเจนที่ละลายในน้ำ และอุณหภูมิโดยใช้เครื่อง YSI DO 200-4M

2. วัดพีเอชของน้ำโดยใช้ pH meter ORION Model Sa520

3. ปริมาณแอมโมเนียรวม (total ammonia-nitrogen: TAN) ใช้วิธี phenol-hypochlorite ตามวิธีของ APHA *et al*. (1995)

4. ปริมาณไนไตรท์ (nitrite-nitrogen) ใช้วิธี Colorimetric Method ตามวิธีของ APHA *et al*. (1995)

5. ปริมาณความเป็นด่างรวม (total alkalinity) ใช้วิธี Titration Method ตามวิธีของ APHA *et al*. (1995)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 3 ถังไฟเบอร์กลาสที่ใช้ในการศึกษา

3. การศึกษาผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลานิลในการอนุบาลปลานิลในฟาร์มเลี้ยง

การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลานิลระยะ 5 หรือเรียกว่า swim-up fry (ภาพที่ 5) ซึ่งเป็นลูกปลานิลที่ฟักออกมาเป็นตัวจนถุงไข่แดงยุบแล้ว และสามารถว่ายน้ำได้ ปล่อยลงในกระชังในอัตราความหนาแน่น 15,000 ตัวต่อกระชัง โดยก่อนปล่อยลูกปลานิลจะสุ่มนับจำนวนลูกปลานิลเพื่อต้องการทราบจำนวนลูกปลานิลที่แน่นอน

วางแผนการทดลอง

ทำการทดลองในฟาร์มเลี้ยงปลานิลเอกชน เลือกบ่อที่ทำการศึกษา 1 บ่อ โดยปักกระชังจำนวน 12 กระชัง ขนาด 1.5 × 3 × 0.7 เมตร โดยแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชุดการทดลองที่ 1: อนุบาลปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปปกติเพียงอย่างเดียว

ชุดการทดลองที่ 2: อนุบาลปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปปกติ และใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในน้ำที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อปริมาณน้ำทั้งหมดในกระชังทุกวัน

ชุดการทดลองที่ 3: อนุบาลปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมกับผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในอัตราส่วน 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4: อนุบาลปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมกับผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ในอัตราส่วนผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

การเตรียมบ่อและการเตรียมน้ำ

ตากบ่อเป็นเวลานาน 15 วัน หลังจากนั้นหว่านปูนขาว (แคลเซียมไฮดรอกไซด์) ในปริมาณ 50 กิโลกรัมต่อไร่ เพื่อปรับสภาพ pH ของดิน หลังจากนั้น 3 วัน สูบน้ำจากบ่อพักน้ำเข้าไปในบ่อเลี้ยง จากนั้นทิ้งไว้นานประมาณ 2 สัปดาห์ จนกระทั่งมีอาหารธรรมชาติเกิดขึ้นจึงพร้อมที่จะนำลูกปลานิลมาปล่อย (ภาพที่ 4)

การอนุบาลและการให้อาหาร

อนุบาลปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน ด้วยอาหารสำเร็จรูป โดยให้อาหาร 5 ครั้งต่อวัน ในเวลาประมาณ 08.00 น., 10.30 น., 13.00 น., 15.00 น. และ 16.50 น. ปริมาณอาหารดังนี้ วันที่ 1 - 5 ให้อาหารปริมาณ 55 กรัมต่อกระชัง วันที่ 6 - 10 ให้อาหารปริมาณ 118 กรัมต่อกระชัง วันที่ 11- 16 ให้อาหารปริมาณ 250 กรัมต่อกระชัง และวันที่ 17 - 22 ให้อาหารปริมาณ 400 กรัมต่อกระชัง

สุ่มชั่งน้ำหนักปลานิลในวันที่ 13 หลังจากเริ่มอนุบาลปลานิล พร้อมทั้งเปลี่ยนกระชัง

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 21 วัน ชั่งน้ำหนักรวมปลานิลทั้งหมด และสุ่มชั่งน้ำหนักให้ได้น้ำหนัก 100 กรัม จากนั้นนับจำนวนตัว แล้วนำมาประเมินหาน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการรอดตาย และอัตราแลกเนื้อ ซึ่งแต่ละกระชังจะสุ่มชั่งน้ำหนัก 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ความแตกต่างทางด้านสถิติ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (อนันต์ชัย, 2542) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS vesion 13.0

การศึกษาคุณภาพน้ำ

เก็บน้ำก่อนการทดลองเพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ค่าปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ pH ความเป็นด่างรวม แอมโมเนีย และไนไตรท์ เก็บน้ำหลังจากใส่ผลิตภัณฑ์ไปแล้วทุก ๆ 7 วัน หลังจากเริ่มอนุบาลปลานิลจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งปริมาณออกซิเจนละลาย และ pH สามารถวิเคราะห์ได้ในระหว่างเก็บตัวอย่าง ส่วนค่าความเป็นด่างรวม แอมโมเนีย และไนไตรท์ จะเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะวิเคราะห์ 3 ซ้ำ โดยมีการวิเคราะห์ เช่นเดียวกับการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ 4 บ่ออนุบาลปลานิลที่ใช้ในการทดลอง

ภาพที่ 5 ลูกปลานิลระยะที่ 5 หรือระยะ swim-up fry

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

สถานที่ทำการวิจัย

1. ฟาร์มเลี้ยงปลานิล มานิตย์ฟาร์ม อ. เขาย้อย จ. เพชรบุรี
2. ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาคารจินดาเทียมเมธ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาทำการวิจัย

ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2552 – สิงหาคม พ.ศ. 2553

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลจากการศึกษาครั้งนี้จะทำให้ทราบถึงผลของจุลินทรีย์ *Bacillus* spp. 5 ชนิด ต่อแบคทีเรียก่อโรค และประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ *Bacillus* spp. 5 ชนิด และ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และคุณภาพน้ำ ทั้งในการเลี้ยงปลานิลในห้องปฏิบัติการและการอนุบาลปลานิลในระดับฟาร์ม เพื่อนำผลการศึกษาครั้งนี้ไปประยุกต์ใช้ในการอนุบาล และเลี้ยงปลานิลต่อไป

แหล่งทุนสนับสนุน

บริษัท Novozymes Biological, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในการสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโต และความสามารถในการเจริญร่วมกับแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล 2 ชนิด ได้แก่ *A. hydrophila* ABRCA1 และ *S. agalactiae* ABRCS1 ในห้องปฏิบัติการ

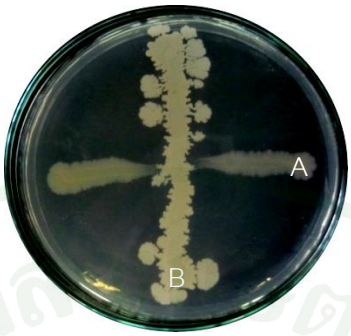
1.1 จำแนกแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. จากผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์

ผลการจำแนกแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. จากผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่มีชื่อการค้า FreshPlus ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Novozymes Biological, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป API50CHB (bioMérieux) สามารถจำแนกแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp.
5 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis, B. licheniformis, B. pumilus B. amyloliquefaciens* และ *B. megaterium*

1.2 ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

เมื่อนำแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ซึ่งแยกได้จากผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ได้แก่ *B. subtilis, B. licheniformis, B. pumilus , B. amyloliquefaciens* และ *B. megaterium* มาทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้ง หรือเจริญครอบครองโคโลนีเชื้อก่อโรค 2 ชนิดที่พบในปลานิล ได้แก่ *A. hydrophila* ABRCA1 และ *S. agalactiae* ABRCS1 โดยวิธี cross streak method ภายหลังจากบ่มเชื้อ 48 ชั่วโมง พบว่าแบคทีเรีย *B. licheniformis* สามารถยับยั้ง *A. hydrophila* ABRCA1 ได้ โดยสามารถสังเกตเห็นในแนวนอน (A) ขีดเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (*A. hydrophila* ABRCA1) และในแนวตั้ง (B) ขีด *B. licheniformis* ถ้าหากมีการสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคแล้วนั้น รอยขีดของแบคทีเรียก่อโรคจะเจริญไม่ต่อเนื่อง (ภาพที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Cladera - Olivera *et al.* (2004) ที่พบว่า *B. licheniformis* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะชนิด bacteriocin - like substance ซึ่งเป็นโปรตีนขนาดเล็กมีคุณสมบัติสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ รวมทั้ง *B. licheniformis* สร้างสารปฏิชีวนะชนิด bacitracin ได้อีกด้วย ส่วน *B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถเข้าครอบครองโคโลนี *S. agalactiae* ABRCS1 ได้ (ภาพที่ 7)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 แสดงลักษณะของ *B. licheniformis* (B) ต่อการยับยั้ง เชื้อ *A. hydrophila* ABRCA1 (A)

ภาพที่ 7 แสดงลักษณะการเข้าครอบครองโคโลนี ของ *B. licheniformis* (A), *B. pumilus* (B) และ *B. subtilis* (C) ต่อ เชื้อ *S. agalactiae* ABRCS (S)

1.3 ทดสอบความสามารถในการเจริญร่วมกันของ *Bacillus* spp. และเชื้อก่อโรค ในอาหารเหลว (broth co-culture assay)

นำ *Bacillus* spp. ที่มีคุณสมบัติการเข้าครอบครองโคโลนีเชื้อก่อโรค จากการทดลองที่ 1.2 ซึ่งได้แก่ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* มาทดสอบความสามารถในการเจริญร่วมกันของเชื้อ *S. agalactiae* ABRCS1 พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถลดปริมาณ *S. agalactiae* ABRCS1 จาก 5.45×10^6 CFU/มิลลิลิตร ลดลงเหลือ 2.90×10^6 CFU/มิลลิลิตร, 2.53×10^6 CFU/มิลลิลิตร และ 3.04×10^6 CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1) หรือคิดเป็นปริมาณแบคทีเรียที่ลดลง 46.79 เปอร์เซ็นต์, 53.58 เปอร์เซ็นต์ และ 44.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

B. licheniformis, *B. pumilus* และ *B. subtilis* เมื่อเลี้ยงเดี่ยว และเจริญร่วมกันกับ *S. agalactiae* ABRCS1 พบว่า มีปริมาณเชื้อไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตลอดการทดลอง 120 ชั่วโมง (ตารางที่ 2 - 4, ภาพที่ 8 - 10) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของวัชริยา และนนทวิทย์ (2549) ที่ได้ทดสอบการเจริญร่วมกันในอาหารเหลว ระหว่าง *B. licheniformis* W806 และ *B. licheniformis* W902 กับ *Streptococcus agalactiae* AQST พบว่า *B. licheniformis* W806 และ *B. licheniformis* W902 สามารถลดปริมาณ *S. agalactiae* AQST ได้ 11.98 เปอร์เซ็นต์ และ 11.97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ปริมาณ *S. agalactiae* เมื่อเลี้ยงร่วมกับ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

แบคทีเรีย	ปริมาณ *S. agalactiae* ($\times 10^4$CFU/มิลลิลิตร)					
	0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง	120 ชั่วโมง
S. agalactiae (ชุดควบคุม)	15.0±6.1[a]	127.8± 53.8[b]	545.6±134.8[b]	360.0± 131.6[b]	218.9± 101.1[b]	144.4±40.0[b]
+ B. licheniformis	15.0±3.6[a]	76.7±24.5[a]	290.0±83.1[a]	84.4±30.5[a]	47.7±10.9[a]	41.1±9.3[a]
+ B. pumilus	14.7±3.0[a]	93.3±43.9[ab]	253.3±72.5[a]	123.3±38.4[a]	42.2±14.8[a]	33.3±11.1[a]
+ B. subtilis	10.7±6.1[a]	86.7±26.9[a]	304.0±149.8[a]	76.7±31.2[a]	54.4±26.5[a]	37.8±14.8[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวตั้งที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ปริมาณ *B. licheniformis* ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเดี่ยว (monoculture) และเลี้ยงร่วม (co - culture) กับ *S. agalactiae* ABRCS1

	ปริมาณ *B. licheniformis* ($\times 10^5$CFU/มิลลิลิตร)					
	0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง	120 ชั่วโมง
monoculture	1.1±0.3[a]	14.3±4.1[a]	155.5±53.6[a]	113.3±49.5[a]	122.2±26.8[a]	106.7±42.1[a]
co - culture	1.2±0.3[a]	13.0±4.6[a]	135.0±59.6[a]	155.5±63.1[a]	135.5±36.8[a]	115.5±39.1[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวตั้งที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3 ปริมาณ *B. pumilus* ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเดี่ยว (monoculture) และเลี้ยงร่วม (co - culture) กับ *S. agalactiae* ABRCS1

	ปริมาณ *B. pumilus* ($\times 10^5$CFU/มิลลิลิตร)					
	0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง	120 ชั่วโมง
monoculture	1.2±0.7[a]	13.2±6.0[a]	101.1±64.7[a]	183.3±57.8[a]	130.0±37.7[a]	83.3±21.2[a]
co - culture	1.3±0.6[a]	10.3±4.1[a]	73.3±39.1[a]	155.6±50.5[a]	101.1±37.9[a]	85.5±17.4[a]

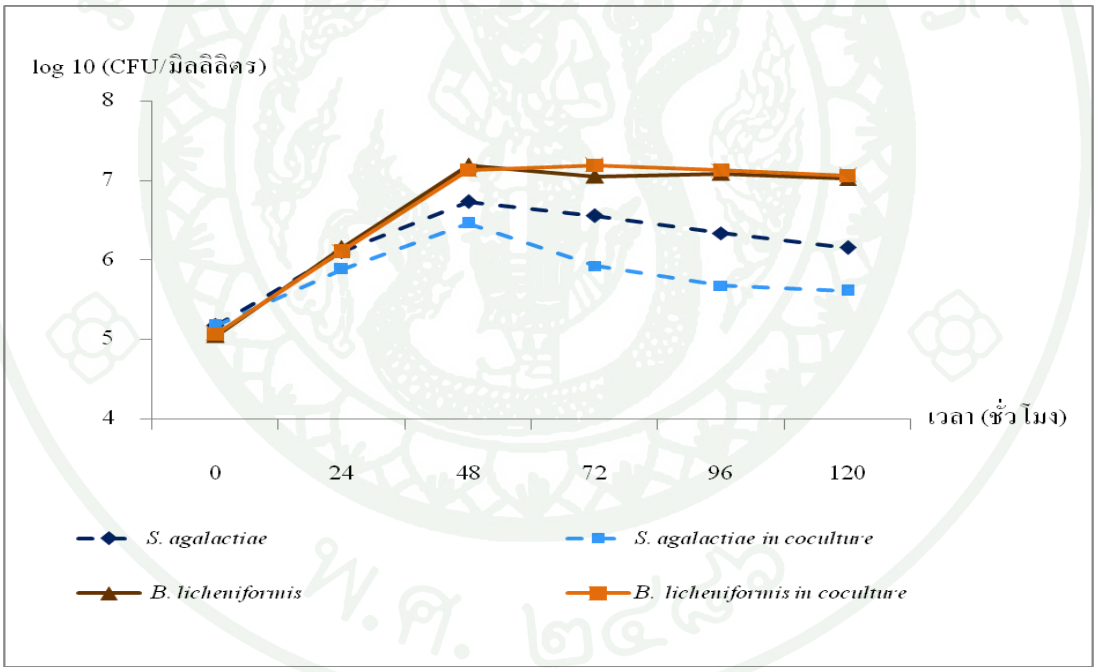
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวตั้งที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ปริมาณ *B. subtilis* ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเดี่ยว (monoculture) และเลี้ยงร่วม (co - culture) กับ *S. agalactiae* ABRCS1

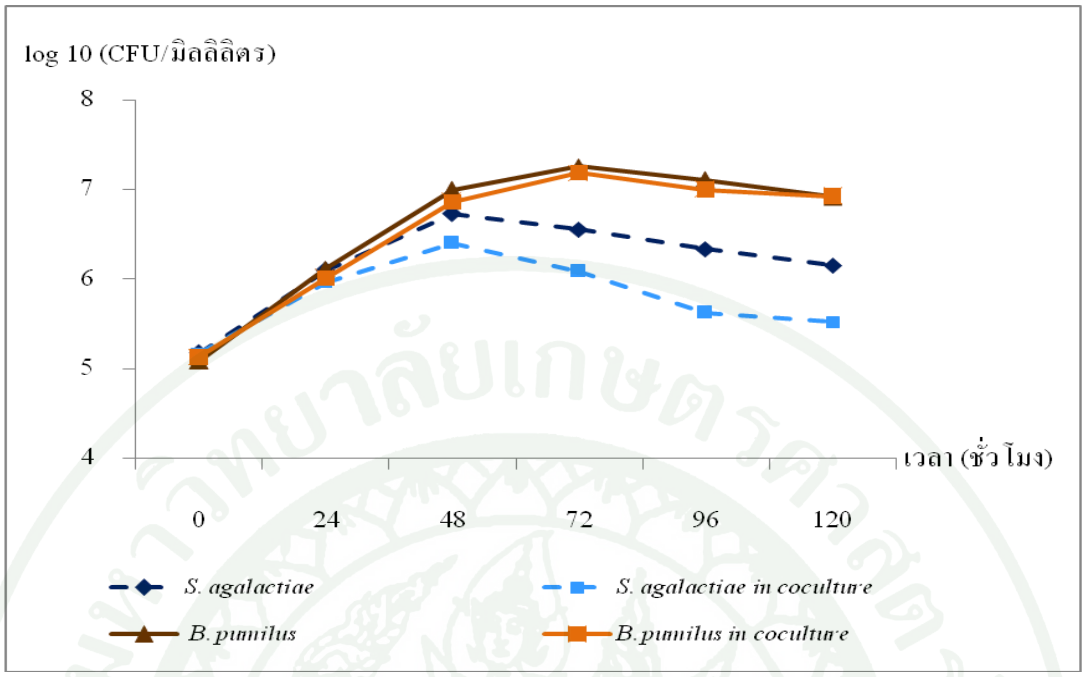
	ปริมาณ *B. subtilis* ($\times 10^5$CFU/ml)					
	0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง	120 ชั่วโมง
monoculture	1.0±0.4[a]	66.6±20.6[a]	86.7±29.2[a]	77.8±37.0[a]	82.2±39.9[a]	60.0±33.5[a]
co - culture	1.5±0.4[a]	78.9±12.7[a]	116.7±27.1[a]	100.0±40.9[a]	93.3±39.7[a]	86.6±34.3[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวตั้งที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

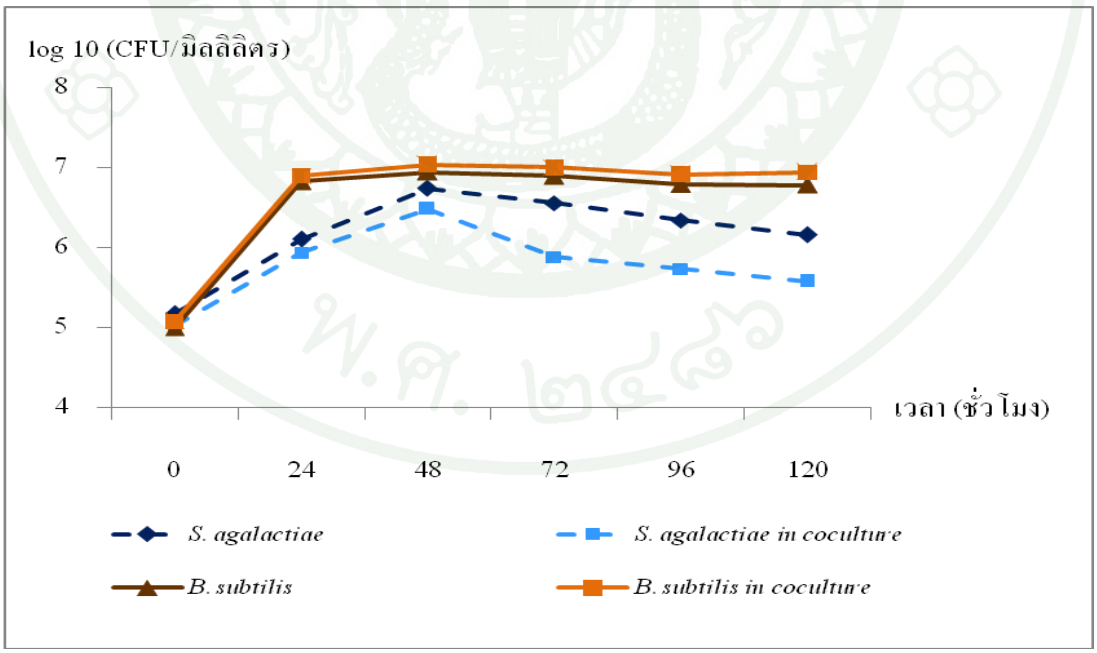


ภาพที่ 8 ปริมาณของ *B. licheniformis* และ *S. agalactiae* ABRCS1 (CFU/มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 ปริมาณของ *B. pumilus* และ *S. agalactiae* ABRCS1 (CFU/มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง



ภาพที่ 10 ปริมาณของ *B. subtilis* และ *S. agalactiae* ABRCS1 (CFU/มิลลิลิตร) ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลานิล ในห้องปฏิบัติการ

2.1 ผลต่ออัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโต

จากการทดลองเลี้ยงปลานิลน้ำหนักเฉลี่ย 2 – 3 กรัม ในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุ 500 ลิตร ปล่อยที่ความหนาแน่น 100 ตัวต่อถัง ในห้องปฏิบัติการ โดยแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) ไม่เติมจุลินทรีย์ ชุดการทดลองที่ 2 เติมจุลินทรีย์ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 3 เติมจุลินทรีย์ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 4 เติมจุลินทรีย์ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำจุลินทรีย์ผสมอาหารในอัตราส่วน 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม หลังจากเลี้ยงปลานิลเป็นระยะเวลา 70 วัน พบว่า อัตราการรอดตายของปลานิล ในชุดการทดลองที่ 4 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 85.00 ± 9.54 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5, ภาพที่ 11) ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 57.00 ± 7.94 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ซึ่งมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 78.00 ± 3.79 เปอร์เซ็นต์ และ 83.00 ± 7.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลในชุดควบคุมมีค่าสูงสุดเท่ากับ 29.00 ± 2.97 กรัม (ตารางที่ 6, ภาพที่ 12) สูงกว่าชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 21.80 ± 2.42 กรัม, 22.68 ± 1.97 กรัม และ 23.18 ± 4.07 กรัม ตามลำดับ ทั้งนี้น่าจะเนื่องจากปลาในกลุ่มควบคุมมีอัตราการรอดตายต่ำกว่า ทำให้ปลาที่เหลือรอดมีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดการทดลองที่มีจำนวนปลาเหลือรอดมากกว่า

ผลผลิตเฉลี่ยของปลานิลในชุดการทดลองที่ 4 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 1,945.62 ± 163.37 กรัม (ตารางที่ 7, ภาพที่ 13) ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 1,639.15 ± 125.98 กรัม ส่วนชุดการทดลองที่ 2 และ 3 มีผลผลิตเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดควบคุม ซึ่งมีผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 1,701.95 ± 117.33 กรัม และ 1,875.33 ± 113.13 กรัม ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อัตราแลกเนื้อในชุดการทดลองที่ 4 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 1.193 ± 0.097 (ตารางที่ 8, ภาพที่ 14) ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 1.415 ± 0.105 ส่วนชุดการทดลองที่ 2 และ 3 มีอัตราแลกเนื้อไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดควบคุม ซึ่งมีอัตราแลกเนื้อเท่ากับ 1.362 ± 0.096 และ 1.235 ± 0.073 ตามลำดับ

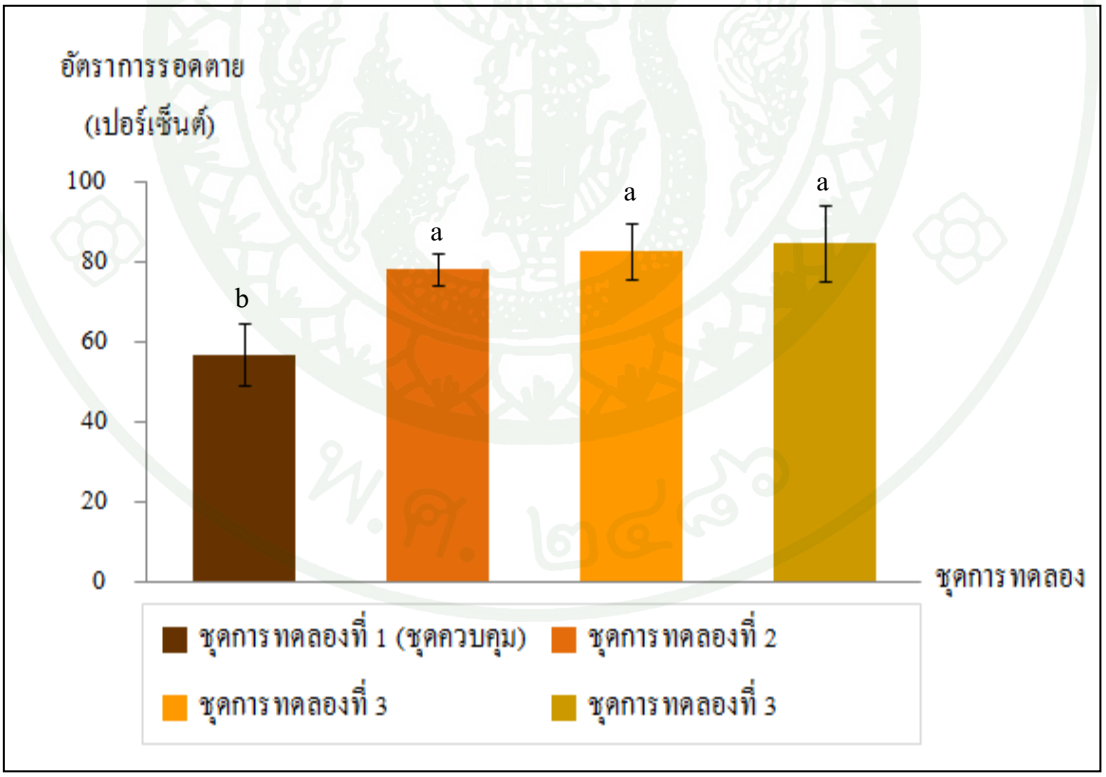
ถึงแม้น้ำหนักเฉลี่ยในชุดควบคุมมีค่าสูงที่สุด แต่เมื่อพิจารณาภาพรวมโดยคิดอัตราการรอดตาย ผลผลิตเฉลี่ย และ อัตราแลกเนื้อแล้วนั้น ชุดการทดลองที่ 4 (เติมจุลินทรีย์ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และผสมอาหารในอัตราส่วน 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม) ให้ผลผลิตดีที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากปลานิลได้รับอาหารที่ผสมจุลินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ protease, amylase, lipase และ gelatinase ซึ่งจะช่วยย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน (Moriarty, 1998) ทำให้การดูดซึมอาหารดีขึ้น การที่มีแบคทีเรียกลุ่มนี้ในลำไส้ส่งผลทำให้ปลานิลแข็งแรง สามารถยับยั้งและเข้าครอบครองโคโลนีเชื้อก่อโรคในปลานิล *S. agalactiae* ABRCS1 และ *A. hydrophila* ABRCA1 ได้ อีกทั้งการเติมจุลินทรีย์ที่ดีลงไปในน้ำ จะช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทั้ง *S. agalactiae* และ *A. hydrophila* ในน้ำ ทำให้สภาพแวดล้อมในถังเลี้ยงดีขึ้น ดังแสดงในผลการศึกษาที่ 1.2 และ 1.3 นอกจากนี้มีงานวิจัยอื่นๆ ที่มีการนำโพรไบโอติกมาผสมในอาหารเลี้ยงปลานิล ซึ่งให้ผลการศึกษาสอดคล้องกันกับ Aly *et al*. (2008a) ได้นำ *B. subtilis* มาใช้เป็นโพรไบโอติกผสมในอาหาร ปริมาณ 1×10^7 CFU/มิลลิลิตร ต่ออาหาร 1 กรัม เลี้ยงปลานิล น้ำหนักประมาณ 5 กรัม เป็นเวลา 1 เดือน จะทำให้อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลานิลในกลุ่มที่ใช้โพรไบโอติก สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ Aly *et al*. (2008b) ศึกษาผลของการนำ *B. pumilus* ซึ่งแยกเชื้อจาก gonad ของปลานิล มาใช้เป็นโพรไบโอติก พบว่า เมื่อนำมาผสมในอาหารปริมาณ 1×10^6 CFU/มิลลิลิตร ต่ออาหาร 1 กรัม เลี้ยงปลานิลน้ำหนักประมาณ 6.5 กรัม เป็นเวลา 2 เดือน อัตราการเจริญเติบโตของปลานิลในกลุ่มที่ใช้โพรไบโอติก สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ EL-Haroun *et al.* (2006) ศึกษาผลของโพรไบโอติก Biogen ซึ่งประกอบด้วย *B. licheniformis* และ *B. subtilis* ต่ออัตราการเจริญเติบโต พบว่า ภายหลังผสมอาหารเลี้ยงปลานิล น้ำหนักประมาณ 22 – 26 กรัม เป็นเวลา 120 วัน กลุ่มที่ใช้โพรไบโอติกมีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Sun *et al*. (2010) พบว่า เมื่อใช้ *B. pumilus* ซึ่งแยกจากทางเดินอาหารของของปลากระรังจุดส้ม (*Epinephelus coioides*) ผสมในอาหารปริมาณ 1×10^7 CFU/มิลลิลิตร ต่ออาหาร 1 กรัม เลี้ยงปลากระรังจุดส้ม น้ำหนักประมาณ 45 กรัม เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า อัตราแลกเนื้อของปลาในกลุ่มที่ใช้โพรไบโอติกต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้อีกด้วย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 อัตราการรอดตาย(เปอร์เซ็นต์) ของปลานิลในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา70 วัน

บ่อ	ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4
1	60.00	80.00	90.00	79.00
2	48.00	81.00	76.00	96.00
3	63.00	74.00	83.00	80.00
ค่าเฉลี่ย	57.00 ± 7.94[b]	78.00 ± 3.79[a]	83.00 ± 7.00[a]	85.00 ± 9.54[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



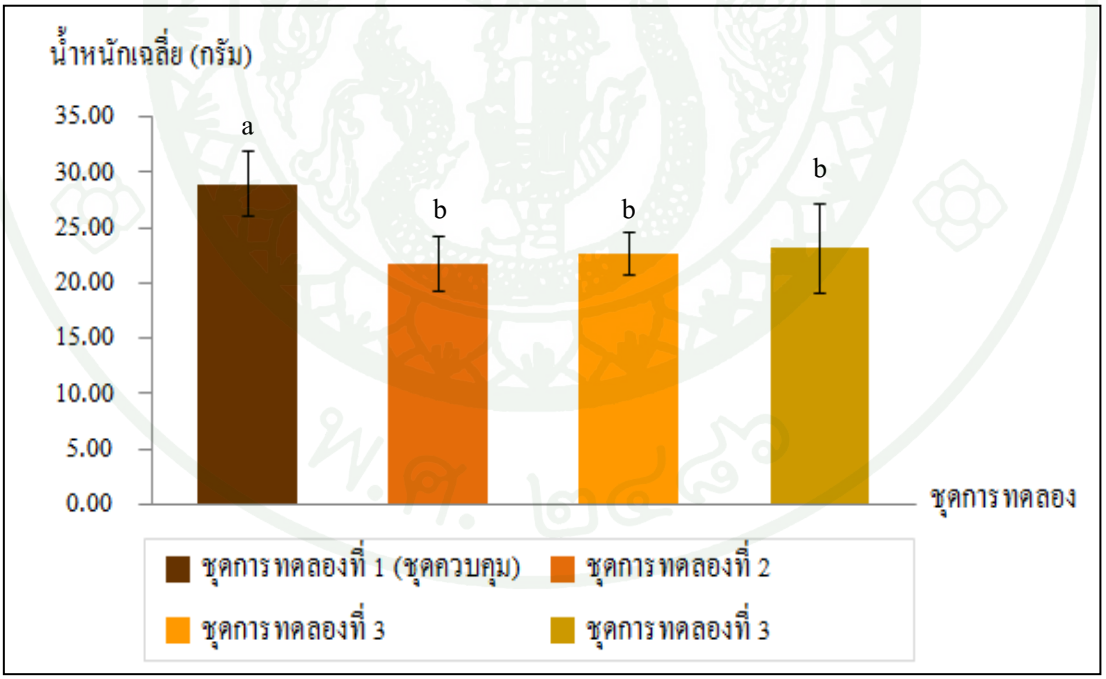
ภาพที่ 11 อัตราการรอดตาย(เปอร์เซ็นต์) ของปลานิลในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา70 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน

บ่อ	ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม)	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4
1	26.44	19.70	20.43	26.92
2	32.25	21.24	23.48	18.85
3	28.30	24.44	24.12	23.76
ค่าเฉลี่ย	29.00 ± 2.97^{a}	21.80 ± 2.42^{b}	22.68 ± 1.97^{b}	23.18 ± 4.07^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



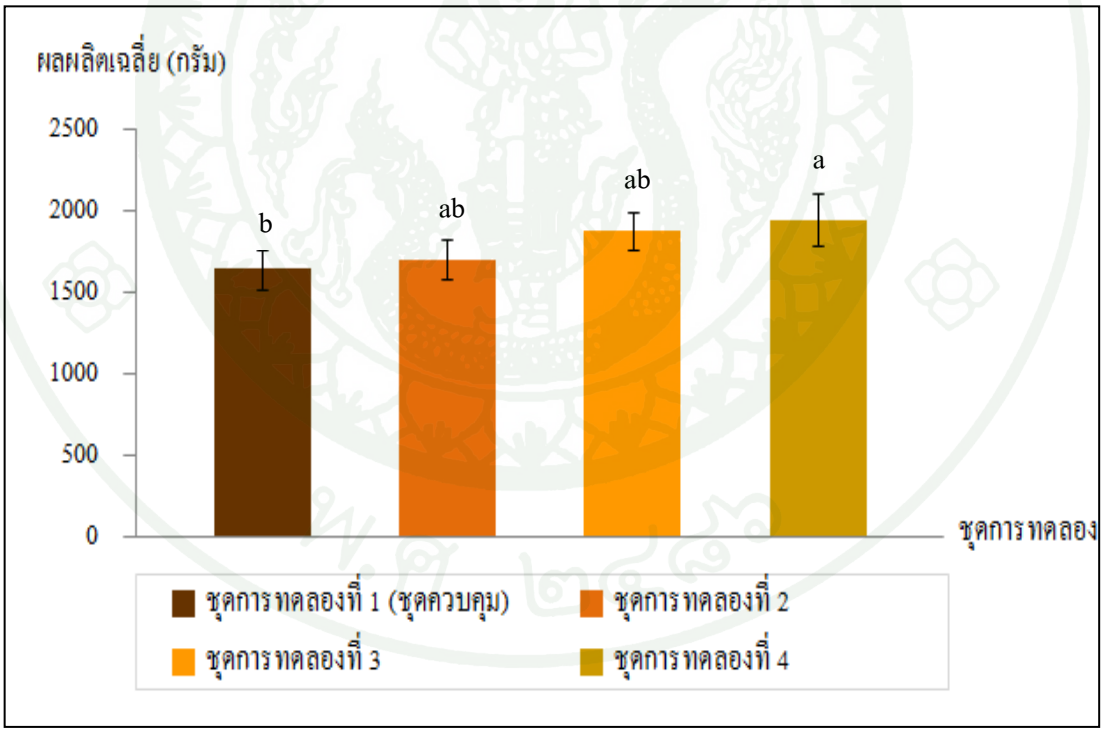
ภาพที่ 12 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน

บ่อ	ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม)	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4
1	1,586.48	1,576.37	1,839.03	2,126.71
2	1,548.05	1,720.68	1,784.81	1,809.31
3	1,782.92	1,808.78	2,002.15	1,900.83
ค่าเฉลี่ย	$1,639.15 \pm 125.98^{b}$	$1,701.95 \pm 117.33^{ab}$	$1,875.33 \pm 113.13^{ab}$	$1,945.62 \pm 163.37^{a}$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



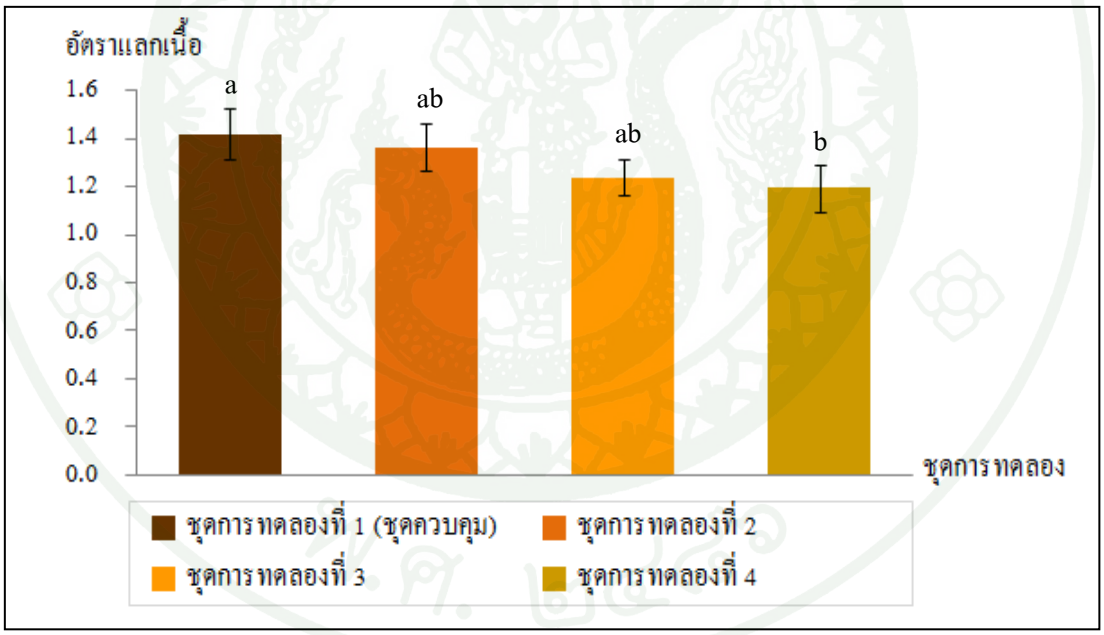
ภาพที่ 13 ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) ของปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 อัตราแลกเนื้อของปลานิลในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน

บ่อ	ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม)	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4
1	1.456	1.465	1.256	1.086
2	1.492	1.342	1.294	1.278
3	1.296	1.277	1.154	1.215
ค่าเฉลี่ย	1.415 ± 0.105^{a}	1.362 ± 0.096^{ab}	1.235 ± 0.073^{ab}	1.193 ± 0.097^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 14 อัตราแลกเนื้อของปลานิลในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 ผลต่อคุณสมบัติของน้ำ

2.2.1 อุณหภูมิ

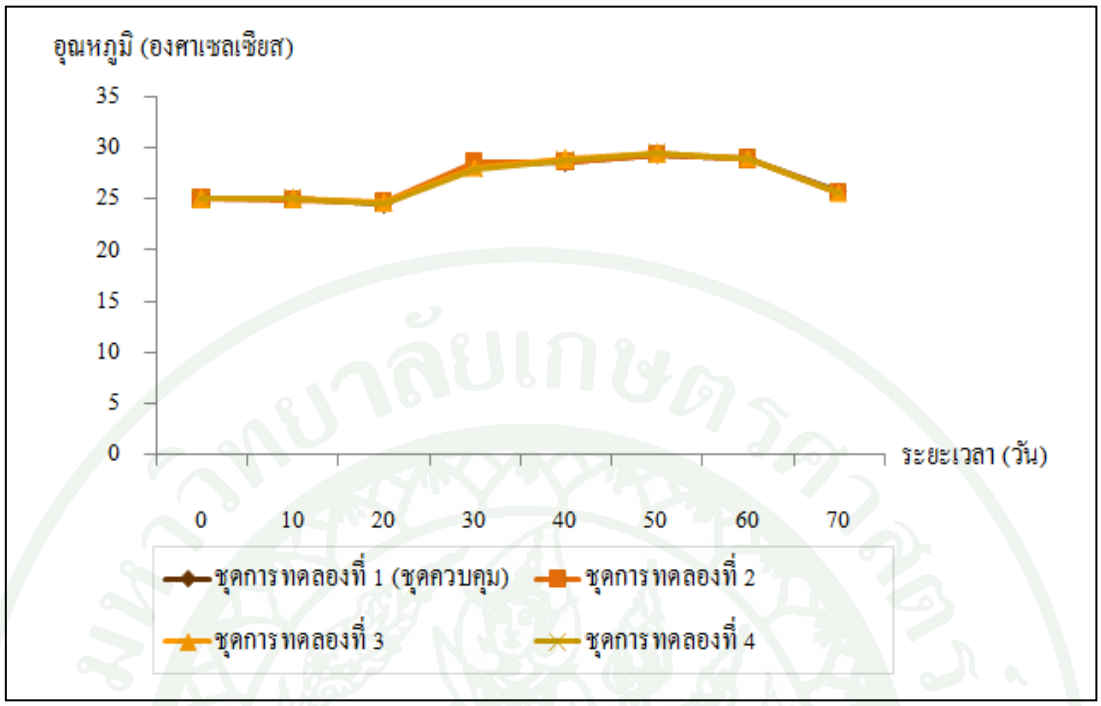
อุณหภูมิของน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงปลานิล 70 วัน ในห้องปฏิบัติการ ระหว่างชุดการทดลอง ทั้งที่เวลา 06.00 น. และ 17.00 น. มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 9, ภาพที่ 15 - 16) ที่เวลา 06.00 น. มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 24.46 – 29.42 องศาเซลเซียส และที่เวลา 17.00 น มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 25.00 – 30.45 องศาเซลเซียส ซึ่งอยู่ในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงปลาในเขตร้อน มีค่าอยู่ในช่วง 25 – 32 องศาเซลเซียส (อุดม, 2550) ทั้งนี้เนื่องจากทุกชุดการทดลองอยู่ในห้องปฏิบัติการภายในอาคารเดียวกัน ได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมเดียวกัน อุณหภูมิของน้ำในทุกชุดการทดลองจึงไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 9 อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส) ที่เวลา 06.00 น. และ 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน

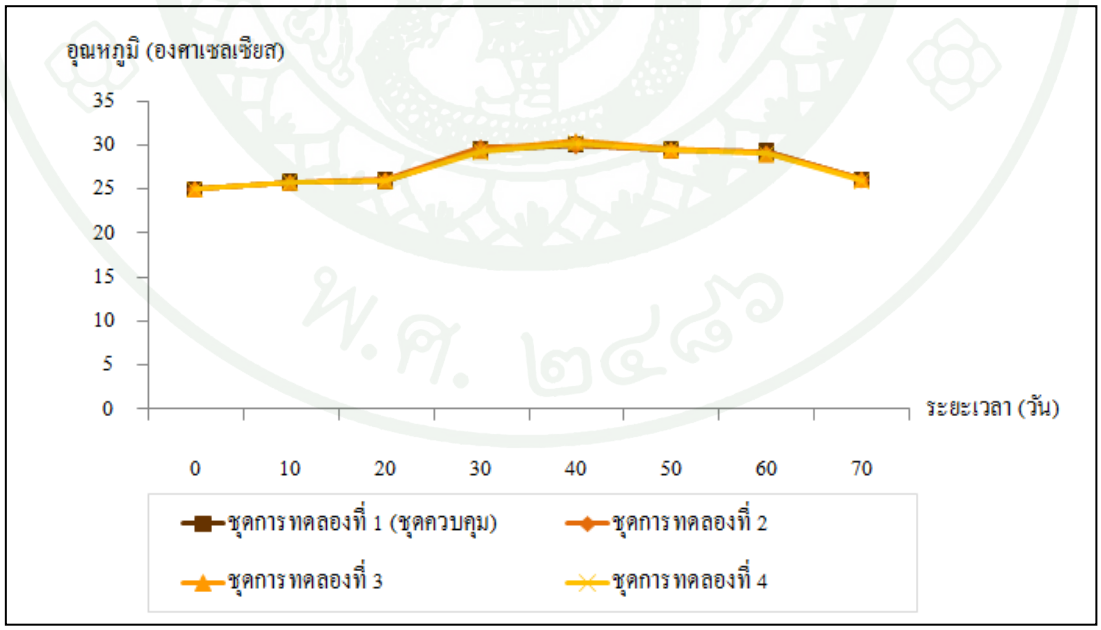
ระยะเวลา (วัน)		ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม)	2	3	4
10	เช้า	25.01 ± 0.03[a]	24.94 ± 0.01[a]	24.97 ± 0.05[a]	24.97 ± 0.08[a]
	บ่าย	25.81 ± 0.08[a]	25.78 ± 0.02[a]	25.81 ± 0.05[a]	25.78 ± 0.11[a]
20	เช้า	24.46 ± 0.36[a]	24.65 ± 0.07[a]	24.61 ± 0.08[a]	24.54 ± 0.03[a]
	บ่าย	25.95 ± 0.14[a]	26.04 ± 0.03[a]	25.99 ± 0.03[a]	25.93 ± 0.08[a]
30	เช้า	28.39 ± 0.35[a]	28.63 ± 0.22[a]	28.03 ± 0.17[a]	27.89 ± 0.20[a]
	บ่าย	29.45 ± 0.17[a]	29.78 ± 0.39[a]	29.38 ± 0.45[a]	29.26 ± 0.21[a]
40	เช้า	28.57 ± 0.13[a]	28.63 ± 0.22[a]	28.90 ± 0.21[a]	28.73 ± 0.21[a]
	บ่าย	30.00 ± 0.24[a]	29.93 ± 0.58[a]	30.45 ± 0.38[a]	30.22 ± 0.40[a]
50	เช้า	29.36 ± 0.04[a]	29.39 ± 0.07[a]	29.42 ± 0.08[a]	29.42 ± 0.09[a]
	บ่าย	29.41 ± 0.04[a]	29.44 ± 0.10[a]	29.50 ± 0.04[a]	29.47 ± 0.06[a]
60	เช้า	28.90 ± 0.05[a]	28.89 ± 0.03[a]	29.00 ± 0.13[a]	29.02 ± 0.12[a]
	บ่าย	29.21 ± 0.05[a]	29.14 ± 0.04[a]	28.98 ± 0.14[a]	29.03 ± 0.02[a]
70	เช้า	25.74 ± 0.08[a]	25.59 ± 0.01[a]	25.60 ± 0.05[a]	25.65 ± 0.06[a]
	บ่าย	26.05 ± 0.04[a]	26.07 ± 0.04[a]	26.12 ± 0.04[a]	25.92 ± 0.31[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 15 อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส) ที่เวลา 06.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน



ภาพที่ 16 อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส) ที่เวลา 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2.2 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

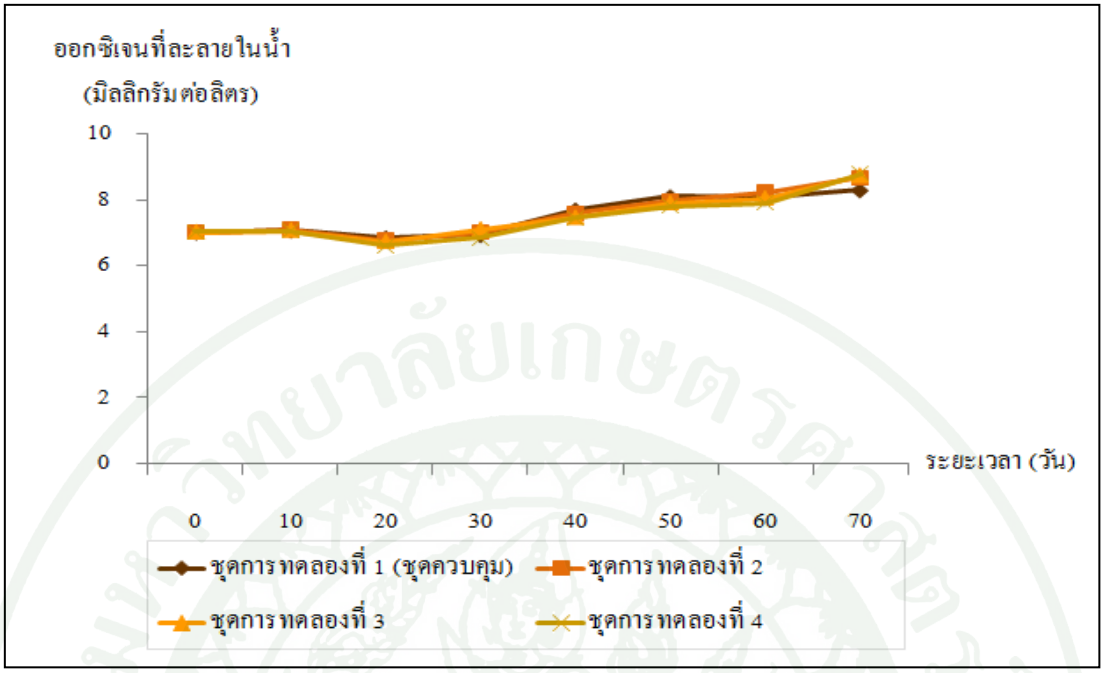
ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำในการเลี้ยงปลานิลในห้องปฏิบัติการ ตลอดระยะเวลา 70 วันพบว่า ที่เวลา 06.00 น. มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 6.6 - 8.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 10, ภาพที่ 17 - 18) กับออกซิเจนที่ละลายในน้ำในช่วงเวลา 17.00 น. โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 6.04 – 8.58 มิลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลา คือมีค่าตั้งแต่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป (อุดม, 2550) เนื่องจากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีการติดตั้งเครื่องให้อากาศอย่างเพียงพอ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำจึงอยู่ในระดับที่สูงตลอดเวลา และในแต่ละชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 10 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่เวลา 06.00 น. และ 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน

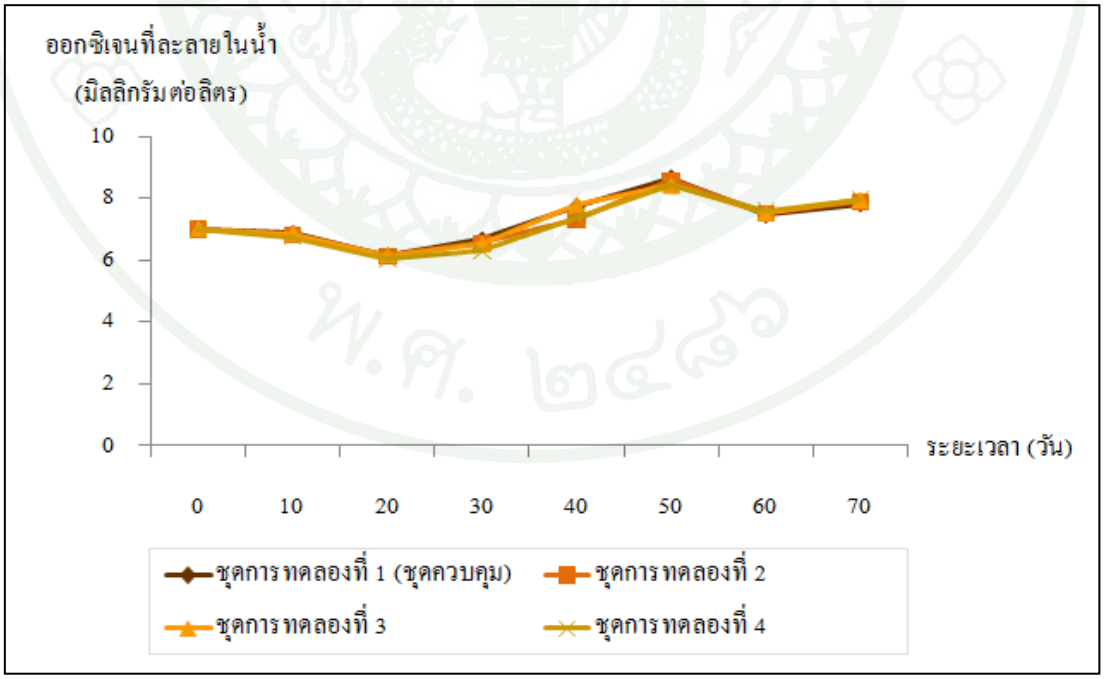
ระยะเวลา (วัน)		ชุดการทดลองที่			
		1 (ชุดควบคุม)	2	3	4
10	เช้า	6.98 ± 0.14^a	6.96 ± 0.05^a	6.97 ± 0.03^a	6.90 ± 0.06^a
	บ่าย	6.88 ± 0.18^a	6.83 ± 0.07^a	6.85 ± 0.14^a	6.75 ± 0.09^a
20	เช้า	6.86 ± 0.13^a	6.78 ± 0.04^a	6.73 ± 0.04^a	6.60 ± 0.07^a
	บ่าย	6.14 ± 0.26^a	6.14 ± 0.06^a	6.16 ± 0.15^a	6.04 ± 0.16^a
30	เช้า	6.94 ± 0.20^a	7.02 ± 0.11^a	7.10 ± 0.12^a	6.84 ± 0.03^a
	บ่าย	6.67 ± 0.13^a	6.56 ± 0.18^a	6.50 ± 0.08^a	6.29 ± 0.05^a
40	เช้า	7.70 ± 0.15^a	7.59 ± 0.14^a	7.46 ± 0.12^a	7.44 ± 0.20^a
	บ่าย	7.72 ± 0.39^a	7.32 ± 0.31^a	7.77 ± 0.02^a	7.37 ± 0.16^a
50	เช้า	8.11 ± 0.08^a	7.98 ± 0.01^a	7.90 ± 0.02^a	7.80 ± 0.07^a
	บ่าย	8.64 ± 0.12^a	8.58 ± 0.01^a	8.40 ± 0.12^a	8.45 ± 0.20^a
60	เช้า	8.07 ± 0.12^a	8.23 ± 0.08^a	8.05 ± 0.04^a	7.90 ± 0.09^a
	บ่าย	7.45 ± 0.13^a	7.53 ± 0.16^a	7.52 ± 0.11^a	7.61 ± 0.19^a
70	เช้า	8.30 ± 0.06^a	8.68 ± 0.06^a	8.74 ± 0.03^a	8.80 ± 0.05^a
	บ่าย	7.80 ± 0.04^a	7.90 ± 0.03^a	7.94 ± 0.04^a	7.99 ± 0.02^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 17 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่เวลา 06.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน



ภาพที่ 18 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่เวลา 17.00 น. ในชุดการทดลองต่างๆ หลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 70 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2.3 ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

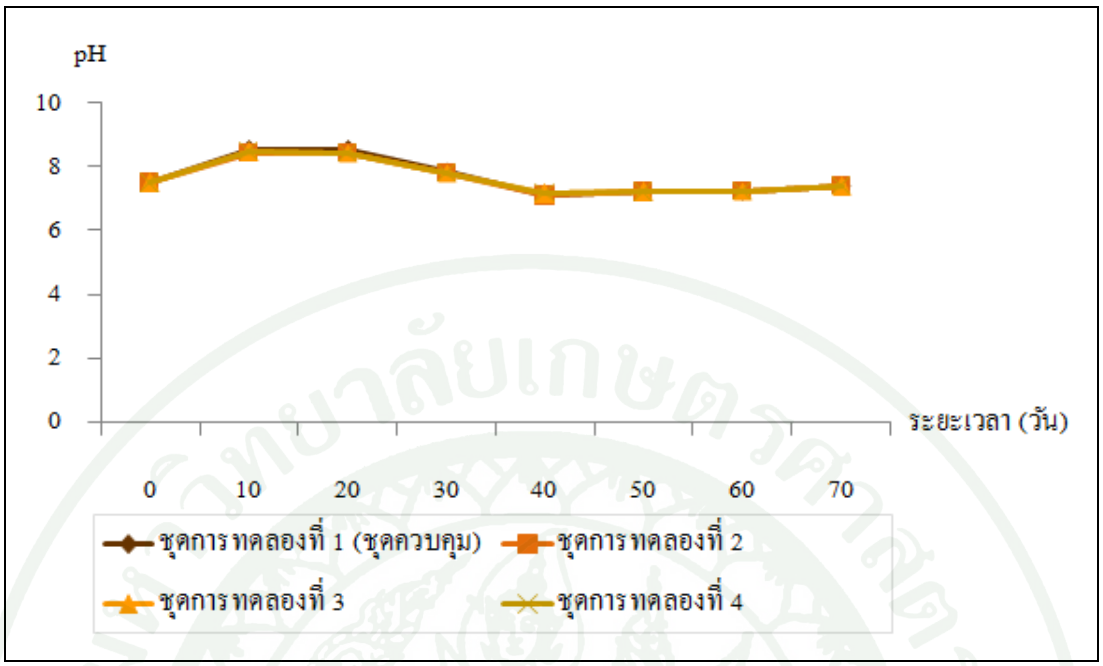
ค่า pH ของน้ำในการเลี้ยงปลานิลในห้องปฏิบัติการ ตลอดระยะเวลา 70 วัน พบว่าในเวลา 06.00 น. มีค่าอยู่ในช่วง 7.10 – 8.53 ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 11, ภาพที่ 19 - 20) กับค่า pH ในเวลา 17.00 น. โดยมีค่าอยู่ในช่วง 7.09 – 8.55 ค่า pH ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการอาศัยของปลานิล อุดม (2550) กล่าวว่า โดยทั่วไปปลานิลสามารถอาศัยอยู่ได้ในน้ำที่มีระดับ pH ตั้งแต่ 7.20 - 8.30 หรือในช่วงเช้า pH 7 และช่วงบ่าย pH 10 ก็สามารถอยู่ได้ เนื่องจากเป็นการทดลองเลี้ยงปลานิลในถังไฟเบอร์กลาสภายในห้องปฏิบัติการซึ่งอยู่ภายในอาคารเดียวกัน ได้รับอิทธิพลจากปัจจัยภายนอก เช่น แสง ไม่มากเท่ากับการเลี้ยงในฟาร์ม ทำให้มีปริมาณแพลงก์ตอนพืชน้อยกว่าการเลี้ยงในบ่อดิน หรือในกระชัง จึงทำให้ pH ในรอบวันมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก

ตารางที่ 11 ค่า pH ของน้ำที่เวลา 06.00 น. และ 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน

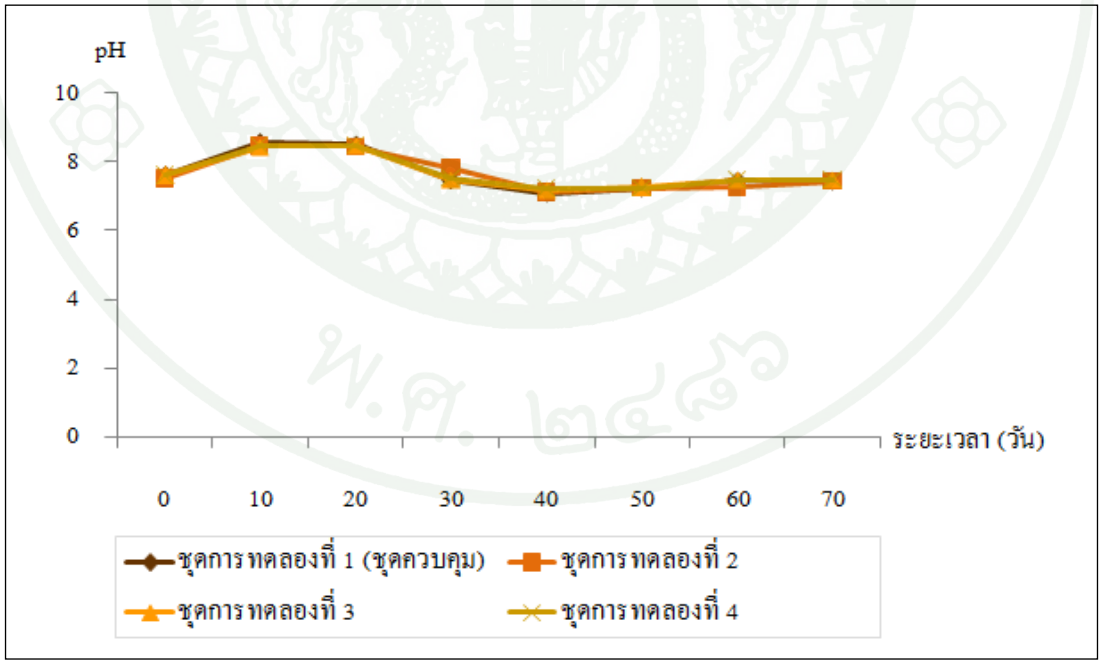
ระยะเวลา (วัน)		ชุดการทดลองที่			
		1 (ชุดควบคุม)	2	3	4
10	เช้า	8.50 ± 0.05^a	8.45 ± 0.02^a	8.47 ± 0.00^a	8.50 ± 0.02^a
	บ่าย	8.55 ± 0.04^a	8.45 ± 0.01^a	8.44 ± 0.01^a	8.50 ± 0.02^a
20	เช้า	8.53 ± 0.12^a	8.42 ± 0.01^a	8.45 ± 0.02^a	8.45 ± 0.01^a
	บ่าย	8.53 ± 0.09^a	8.45 ± 0.02^a	8.47 ± 0.01^a	8.48 ± 0.01^a
30	เช้า	7.89 ± 0.06^a	7.83 ± 0.01^a	7.80 ± 0.03^a	7.80 ± 0.01^a
	บ่าย	7.46 ± 0.01^a	7.46 ± 0.01^a	7.48 ± 0.01^a	7.52 ± 0.02^a
40	เช้า	7.10 ± 0.01^a	7.10 ± 0.01^a	7.16 ± 0.01^a	7.18 ± 0.01^a
	บ่าย	7.09 ± 0.04^a	7.14 ± 0.02^a	7.17 ± 0.01^a	7.23 ± 0.00^a
50	เช้า	7.23 ± 0.01^a	7.21 ± 0.00^a	7.22 ± 0.01^a	7.22 ± 0.01^a
	บ่าย	7.24 ± 0.02^a	7.25 ± 0.00^a	7.25 ± 0.01^a	7.21 ± 0.01^a
60	เช้า	7.26 ± 0.01^a	7.25 ± 0.01^a	7.24 ± 0.00^a	7.23 ± 0.01^a
	บ่าย	7.48 ± 0.01^a	7.49 ± 0.01^a	7.48 ± 0.00^a	7.47 ± 0.00^a
70	เช้า	7.42 ± 0.01^a	7.42 ± 0.02^a	7.39 ± 0.00^a	7.40 ± 0.02^a
	บ่าย	7.43 ± 0.02^a	7.47 ± 0.01^a	7.47 ± 0.02^a	7.46 ± 0.01^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 19 ค่า pH ของน้ำที่เวลา 06.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน



ภาพที่ 20 ค่า pH ของน้ำที่เวลา 17.00 น. ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2.4 ปริมาณแอมโมเนียรวม

ปริมาณแอมโมเนียรวมในชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน มีค่าอยู่ในช่วง 1.2 - 3.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.19 ± 0.73 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วง 0.9 - 2.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.39 ± 0.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 3 มีค่าอยู่ในช่วง 0.9 – 2.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.38 ± 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 4 มีค่าอยู่ในช่วง 1.38 ± 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.53 ± 0.53 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียรวมสูงที่สุดในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) คือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.1 ± 0.17 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงปลานิลเป็นระยะเวลา 20 วัน ซึ่งสูงกว่าชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 12, ภาพที่ 21) ทั้งนี้เนื่องจากเป็นช่วงที่อุณหภูมิต่ำ ทำให้เมตาบอลิซึมในร่างกายต่ำลง มีผลทำให้ปลากินอาหารน้อยลง รวมทั้งเป็นการเลี้ยงแบบหนาแน่น มีอาหารที่เหลือตกค้างจำนวนมาก เป็นเหตุทำให้ปริมาณแอมโมเนียรวมในน้ำสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเลี้ยงปลานิลเป็นระยะเวลา 50 – 70 วัน ปริมาณแอมโมเนียในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) สูงกว่าชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 12, ภาพที่ 21) เนื่องจากการเลี้ยงแบบหนาแน่น และอัตราการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น อีกทั้งสิ่งขับถ่ายก็เพิ่มปริมาณมากขึ้นด้วย ตามระยะเวลาการเลี้ยง หากเมื่อพิจารณาปริมาณแอมโมเนียรวมตลอดระยะเวลาการเลี้ยงปลานิล 70 วัน พบว่า ในชุดการทดลองที่มีการเติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วย *Bacillus* spp. ทั้งในน้ำ และผสมในอาหาร พบว่าปริมาณแอมโมเนียรวมต่ำกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้เนื่องจาก แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. มีความสามารถในการเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ได้ (CO_2) (Stanier *et al*., 1963) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ชลิต (2535) ได้ศึกษาการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่มี *B. subtilis* ย่อยเศษอาหารและขี้กุ้งในหลอดทดลอง พบว่าในหลอดที่เติมจุลินทรีย์ตะกอนขี้กุ้งและเศษอาหารลดลงเหลือ 37 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหลอดที่ไม่เติมจุลินทรีย์พบว่าตะกอนขี้กุ้งและเศษอาหารเหลือถึง 94.33 เปอร์เซ็นต์ Saha *et al*. (2006) พบว่า *Bacillus circulans* และ *B. megaterium* ที่แยกได้จากปลาเฉาฮื้อเป็นแบคทีเรียที่มีกิจกรรมการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่สุด นอกจากนี้แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ยังมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์โปรติเอส นอกจากนี้ วารุณี (2549) และมนฑกานต์ (2552) รายงานว่าปริมาณแอมโมเนียรวมที่พบในบ่อเลี้ยงกุ้งที่มีการเติม *Bacillus* spp. มีปริมาณต่ำกว่าบ่อที่ไม่ได้เติมแบคทีเรีย

2.2.5 ปริมาณไนไตรท์

ปริมาณไนไตรท์เฉลี่ยในชุดควบคุมอยู่ในช่วง 0.081 – 0.28 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.144 ± 0.075 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วง 0.066 – 0.107 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.073 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 3 มีค่าอยู่ในช่วง 0.038 – 0.192 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.077 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ทดลองที่ 4 มีค่าอยู่ในช่วง 0.036 - 0.143 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.071 ± 0.036 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนไตรท์ในชุดควบคุมมีปริมาณสูงกว่าชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 12, ภาพที่ 22) โดยเริ่มมีปริมาณสูงขึ้นตั้งแต่เมื่อเลี้ยงปลานิลระยะเวลา 10 วันเท่านั้น ซึ่งปริมาณไนไตรท์มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับปริมาณแอมโมเนียตลอดระยะเวลาการทดลอง

2.2.6 ค่าความเป็นด่างรวม

ค่าความเป็นด่างรวมชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีค่าอยู่ระหว่าง 38 - 68 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 61.83 ± 12.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอยู่ระหว่าง 44 - 74 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 62.08 ± 10.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 3 มีค่าอยู่ระหว่าง 62.08 ± 10.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 64.83 ± 13.90 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 4 มีค่าอยู่ระหว่าง 46 - 90 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 64.25 ± 13.42 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นด่างรวมของแต่ละชุดการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 12, ภาพที่ 23) ค่าความเป็นด่างรวมทุกชุดการทดลองอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลา คือมีค่าระหว่าง 20 - 300 มิลลิกรัมต่อลิตร (อุดม, 2550)

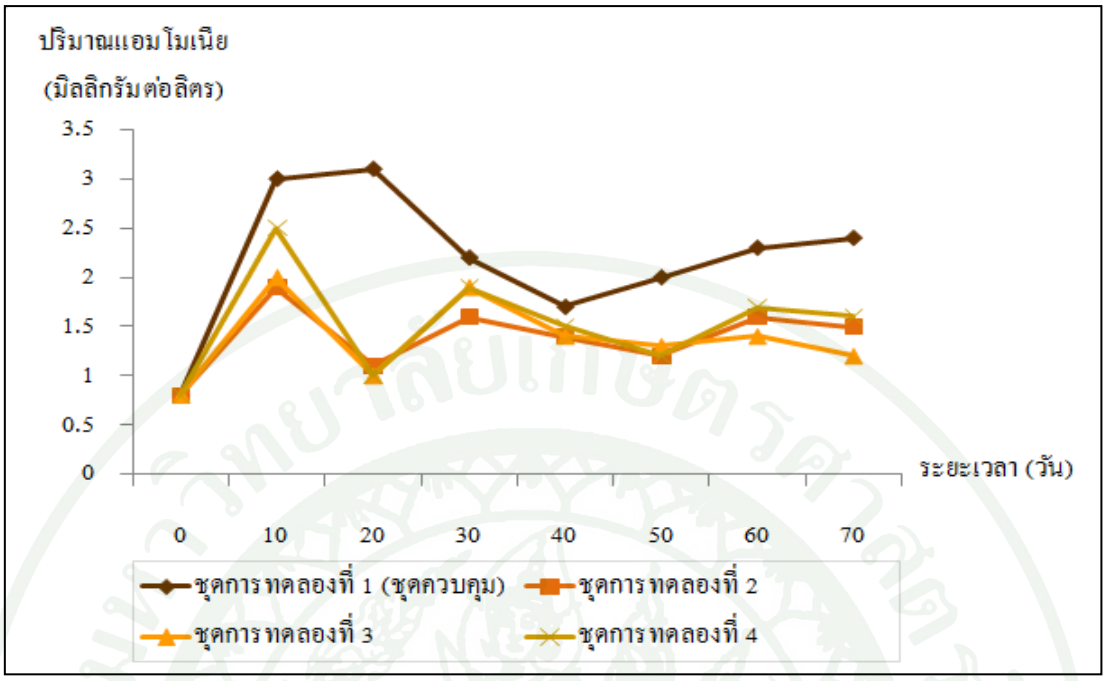
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 12 ปริมาณแอมโมเนียรวม ไนไตรท์ และค่าความเป็นด่างรวมเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน

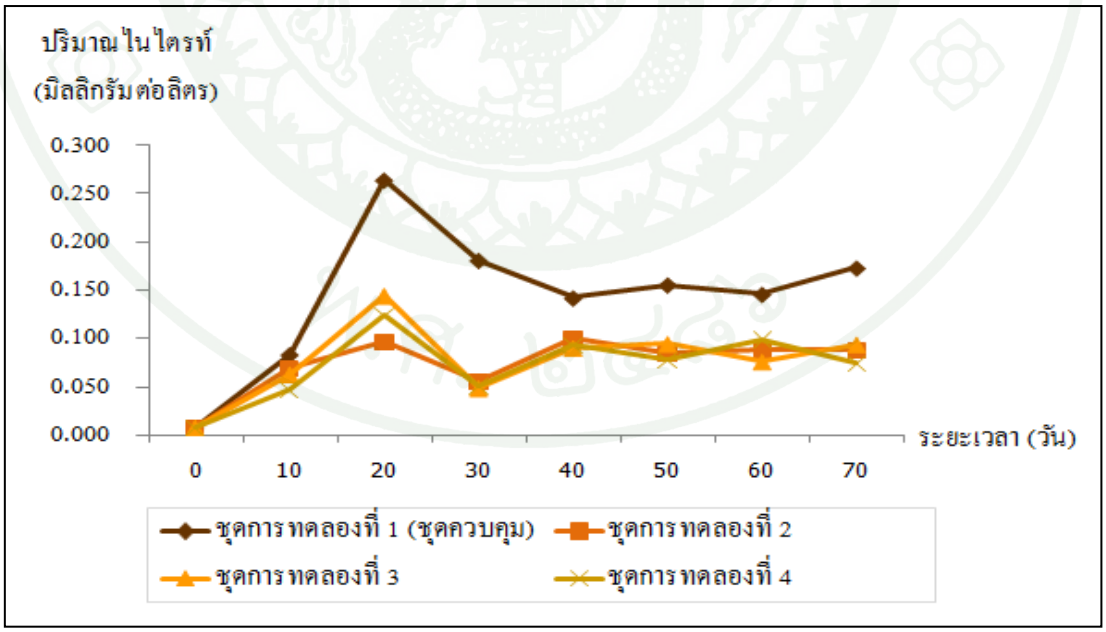
วัน	พารามิเตอร์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ชุดการทดลองที่			
		1 (ชุดควบคุม)	2	3	4
0	NH_3	0.80 ± 0.17^{a}	0.8 ± 0.17^{a}	0.8 ± 0.17^{a}	0.8 ± 0.17^{a}
	NO_2^-	0.01 ± 0.00^{a}	0.01 ± 0.01^{a}	0.001 ± 0.00^{a}	0.001 ± 0.00^{a}
	Alkalinity	75.33 ± 3.06^{a}	75.33 ± 3.06^{a}	75.33 ± 3.06^{a}	75.33 ± 3.06^{a}
10	NH_3	3.00 ± 0.30^{a}	1.90 ± 0.17^{c}	2.00 ± 0.46^{bc}	2.50 ± 0.17^{ab}
	NO_2^-	0.08 ± 0.00^{a}	0.07 ± 0.007^{b}	0.06 ± 0.00^{b}	0.05 ± 0.01^{c}
	Alkalinity	71.33 ± 3.06^{b}	61.33 ± 4.16^{c}	84.67 ± 1.15^{a}	82.00 ± 7.21^{a}
20	NH_3	3.10 ± 0.17^{a}	1.10 ± 0.17^{b}	1.00 ± 0.17^{b}	1.00 ± 0.17^{b}
	NO_2^-	0.26 ± 0.01^{a}	0.10 ± 0.02^{b}	0.14 ± 0.05^{b}	0.12 ± 0.02^{b}
	Alkalinity	46.00 ± 7.21^{a}	53.33 ± 3.06^{a}	50.00 ± 5.29^{a}	50.00 ± 3.46^{a}
30	NH_3	2.20 ± 0.60^{a}	1.60 ± 0.17^{a}	1.90 ± 0.35^{a}	1.90 ± 0.62^{a}
	NO_2^-	0.18 ± 0.01^{a}	0.06 ± 0.01^{b}	0.05 ± 0.01^{b}	0.04 ± 0.01^{b}
	Alkalinity	64.00 ± 4.00^{a}	68.67 ± 5.03^{a}	60.67 ± 7.57^{a}	59.33 ± 6.11^{a}
40	NH_3	1.70 ± 0.46^{a}	1.40 ± 0.35^{a}	1.40 ± 0.17^{a}	1.50 ± 0.30^{a}
	NO_2^-	0.14 ± 0.02^{a}	0.10 ± 0.00^{b}	0.09 ± 0.01^{b}	0.09 ± 0.00^{b}
	Alkalinity	58.67 ± 1.16^{a}	66.67 ± 7.02^{a}	55.33 ± 4.16^{a}	56.67 ± 3.06^{a}
50	NH_3	2.00 ± 0.17^{a}	1.20 ± 0.30^{b}	1.30 ± 0.17^{b}	1.20 ± 0.30^{b}
	NO_2^-	0.16 ± 0.01^{a}	0.09 ± 0.01^{b}	0.09 ± 0.02^{b}	0.08 ± 0.02^{b}
	Alkalinity	55.33 ± 1.16^{bc}	52.67 ± 7.57^{c}	70.00 ± 2.00^{a}	62.00 ± 3.46^{ab}
60	NH_3	2.30 ± 0.17^{a}	1.60 ± 0.46^{b}	1.40 ± 0.35^{b}	1.7 ± 0.35^{ab}
	NO_2^-	0.15 ± 0.02^{a}	0.09 ± 0.01^{b}	0.08 ± 0.00^{b}	0.09 ± 0.02^{b}
	Alkalinity	46.67 ± 2.30^{a}	47.33 ± 1.16^{a}	46.00 ± 2.00^{a}	48.00 ± 0.00^{a}
70	NH_3	3.00 ± 0.00^{a}	1.50 ± 0.00^{b}	1.20 ± 0.30^{b}	1.60 ± 0.46^{b}
	NO_2^-	0.17 ± 0.02^{a}	0.09 ± 0.02^{b}	0.09 ± 0.01^{b}	0.07 ± 0.01^{b}
	Alkalinity	77.33 ± 4.62^{a}	71.33 ± 1.16^{a}	76.67 ± 3.06^{a}	80.67 ± 8.33^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

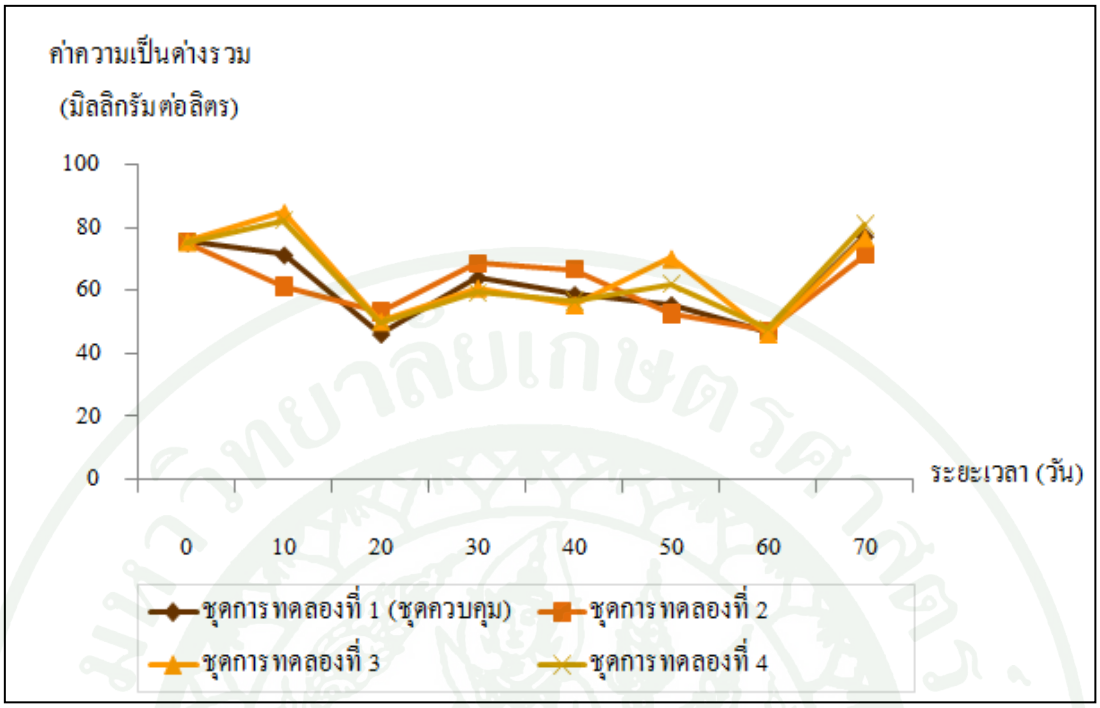


ภาพที่ 21 ปริมาณแอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน



ภาพที่ 22 ปริมาณไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 23 ปริมาณความเป็นด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง 70 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. ผลของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ร่วมกับ *Paracoccus pantotrophus* ในการอนุบาลปลานิลในฟาร์มเลี้ยง

3.1 ผลต่ออัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโต

การนำผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้จริงในฟาร์มอนุบาลปลานิล ซึ่งทำการทดลองที่มานิตย์ฟาร์ม จังหวัดเพชรบุรี อนุบาลปลานิลระยะที่ 5 หรือระยะ swim-up fry ในกระชังในบ่ออนุบาล ที่ความหนาแน่น 15,000 ตัวต่อกระชัง โดยแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) ให้อาหารปกติอนุบาลปลานิล ชุดการทดลองที่ 2 อนุบาลปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปปกติ และใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ในน้ำที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อปริมาณน้ำทั้งหมดในกระชังทุกวัน ชุดการทดลองที่ 3 อนุบาลปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมกับผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ในอัตราส่วนผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และชุดการทดลองที่ 4 อนุบาลปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมกับผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ในอัตราส่วนผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม หลังจากอนุบาลปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า อัตราการรอดตายในชุดการทดลองที่ 3 สูงสุดเท่ากับ 77.38 ± 1.53 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 13, ภาพที่ 24) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 51.92 ± 5.32 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดการทดลองที่ 2 และ 4 มีอัตราการรอดตายเท่ากับ 66.29 ± 0.58 เปอร์เซ็นต์ และ 71.62 ± 1.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลหลังอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) สูงที่สุดเท่ากับ 0.326 ± 0.019 กรัม (ตารางที่ 13, ภาพที่ 25) สูงกว่าชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.216 ± 0.001 กรัม, 0.206 ± 0.001 กรัม และ 0.208 ± 0.018 กรัม ตามลำดับ ทั้งนี้น่าจะมาจากการที่อัตรารอดในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) ต่ำจึงทำให้อัตราการโตดีกว่า เช่นเดียวกับผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ผลผลิตเฉลี่ยของปลานิลหลังอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า ผลผลิตเฉลี่ยในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) สูงที่สุดเท่ากับ 2,530.00 ± 50.00 กรัม (ตารางที่ 14, ภาพที่ 26) แต่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2,393.33 ± 57.74 กรัม ส่วนชุดการทดลองที่ 2 และ 4 มีผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 2,150.00 ± 10.00 กรัม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และ 2,220.00 ± 47.70 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดการการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) และชุดการทดลองที่ 2

อัตราแลกเนื้อของปลานิลหลังอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า อัตราแลกเนื้อในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) ต่ำที่สุดเท่ากับ 1.89 ± 0.11 (ตารางที่ 15, ภาพที่ 27) แต่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.99 ± 0.05 ส่วนชุดการทดลองที่ 2 และ 4 มีอัตราแลกเนื้อเท่ากับ 2.22 ± 0.01 และ 2.15 ± 0.05 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าแตกต่างกับชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) และชุดการทดลองที่ 2

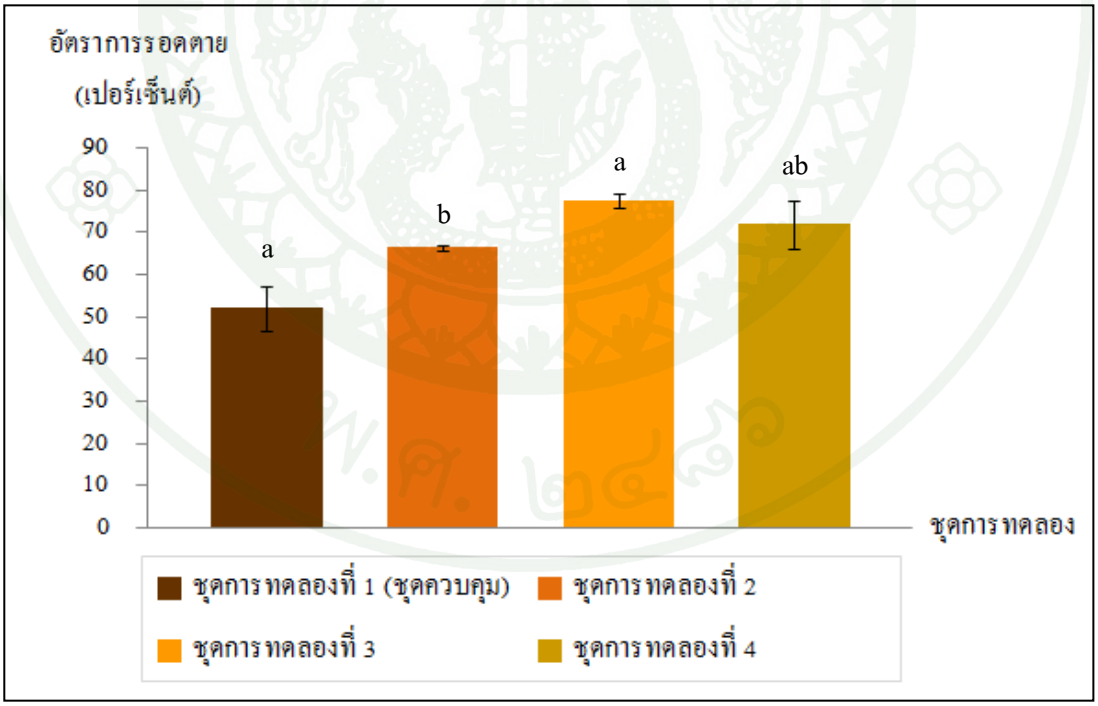
เมื่อพิจารณาอัตราการรอดตายแล้วนั้นชุดการทดลองที่มีการผสมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในอาหารในอัตราส่วนที่แตกต่างกันคือ 1 และ 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ในชุดการทดลองที่ 3 และ 4 ตามลำดับ มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่า ถึงแม้จะเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในการผสมอาหารก็ไม่สามารถทำให้เพิ่มอัตราการรอดตายได้ แต่ในชุดการทดลองที่มีการใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในน้ำ และผสมในอาหาร มีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้ง 3 ชุดการทดลอง จากผลการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สามารถนำผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้ได้ในฟาร์มอนุบาลปลานิล ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของมณฑกานต์ (2552) พบว่า การใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่มีชื่อการค้าว่า PondPlus ซึ่งประกอบด้วย *Bacillus* spp. 5 ชนิด *B. subtilis, B. licheniformis, B. megaterium, B. amyloliquefaciens* และ *B. pumilus* ในการอนุบาลกุ้งขาวแวนนาไม พบว่า บ่อที่ใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์มีอัตราการรอดตายสูงกว่าบ่อควบคุมที่ไม่มีการใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ อีกทั้งในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์นอกจากจะประกอบด้วย *Bacillus* spp. ทั้ง 5 ชนิดแล้ว ยังประกอบด้วย *Paracoccus pantotrophus* ซึ่งมีความสามารถออกซิไดซ์ไฮโดรเจนซัลไฟด์ให้เป็นซัลเฟต (SO_4^{2-}) (Friedrich *et al*., 2001; Rother *et al*., 2001) ความเป็นพิษของไฮโดรเจนซัลไฟด์คล้ายคลึงกับการขาดออกซิเจน เนื่องจากจะไปขัดขวางออกซิเจนภายในเซลล์ ทำให้ปริมาณแลกเตท (lactate) ในเลือดสูงขึ้น ความเป็นพิษของไฮโดรเจนซัลไฟด์จะรุนแรงกว่าการขาดออกซิเจน (ชลอ และพรเลิศ, 2547) ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย (Boyd and Fast, 1992) การศึกษาของลลิตา (2550) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า *P. pantotrophus* ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะลดปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ และเมื่อนำแบคทีเรียชนิดนี้มาเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม พบว่า ไม่พบปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงในบ่อที่ใส่ *P. pantotrophus* อีกทั้งอัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตของกุ้งขาวแวนนาไมสูงกว่าบ่อควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 13 อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

กระชัง	ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม)	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4
1	48.91	66.96	76.31	78.11
2	58.07	65.93	76.70	69.08
3	48.79	65.98	79.13	67.68
ค่าเฉลี่ย	51.92 ± 5.32^{c}	66.29 ± 0.58^{b}	77.38 ± 1.53^{a}	71.62 ± 5.66^{ab}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



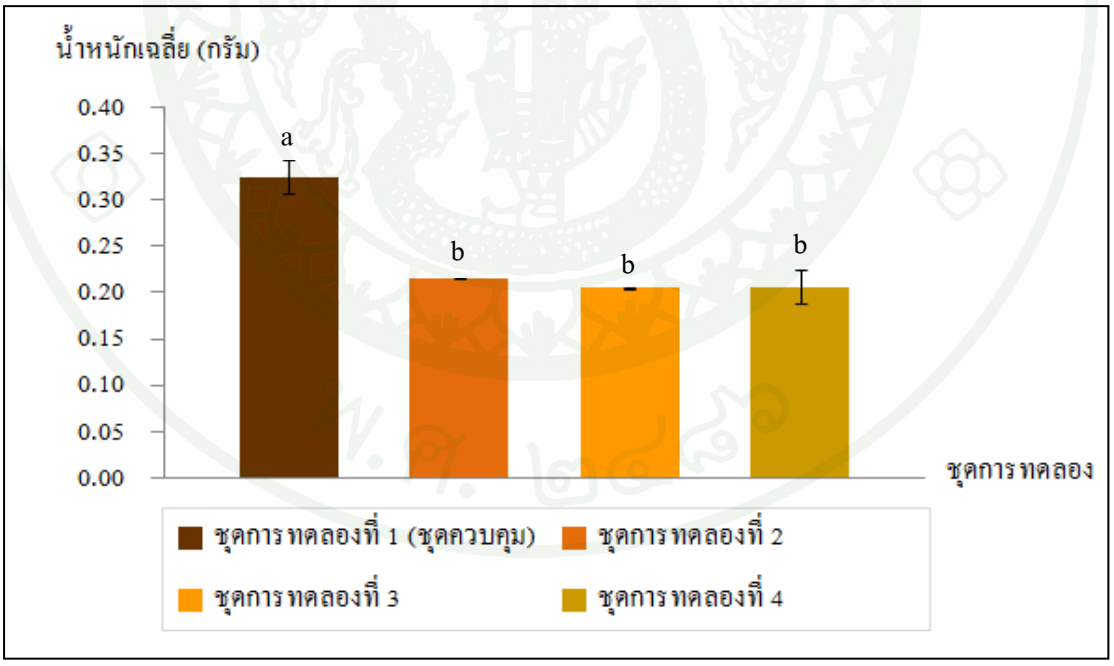
ภาพที่ 24 อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 14 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

กระชัง	ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม)	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4
1	0.345	0.215	0.206	0.187
2	0.308	0.217	0.205	0.220
3	0.325	0.216	0.207	0.216
ค่าเฉลี่ย	0.326 ± 0.019^{a}	0.216 ± 0.001^{b}	0.206 ± 0.001^{b}	0.208 ± 0.018^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



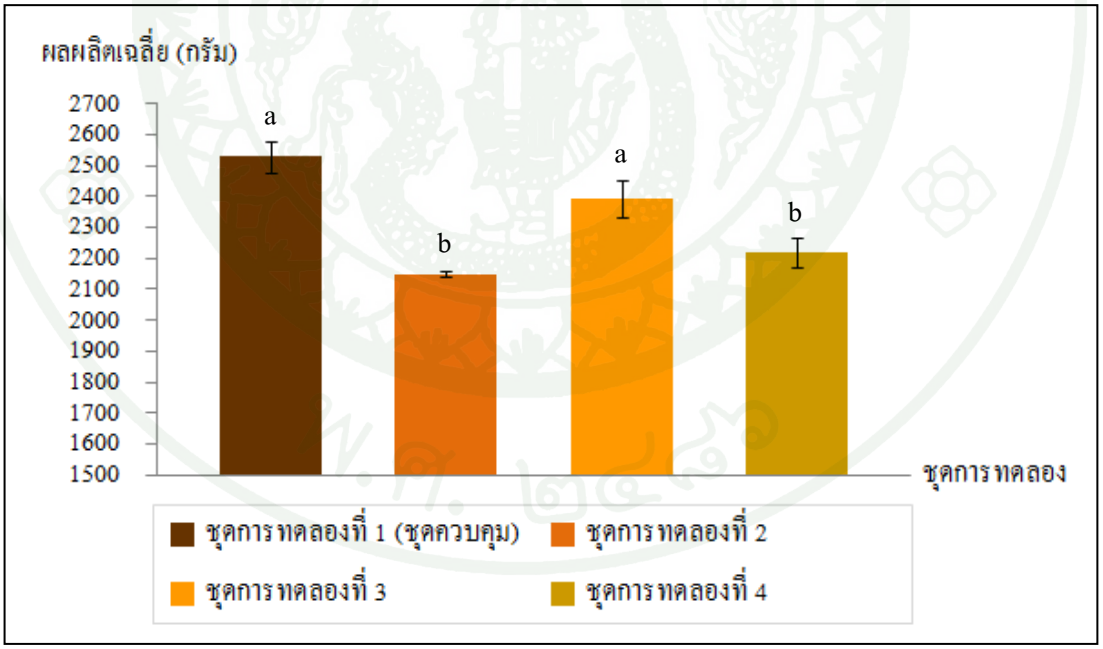
ภาพที่ 25 น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 15 ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

กระชัง	ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม)	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4
1	2,530.00	2,160.00	2,360.00	2,190.00
2	2,580.00	2,150.00	2,360.00	2,275.00
3	2,480.00	2,140.00	2,460.00	2,195.00
ค่าเฉลี่ย	2,530.00 ± 50.00[a]	2,150.00 ± 10.00[b]	2,393.33 ± 57.74[a]	2,220.00 ± 47.70[b]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



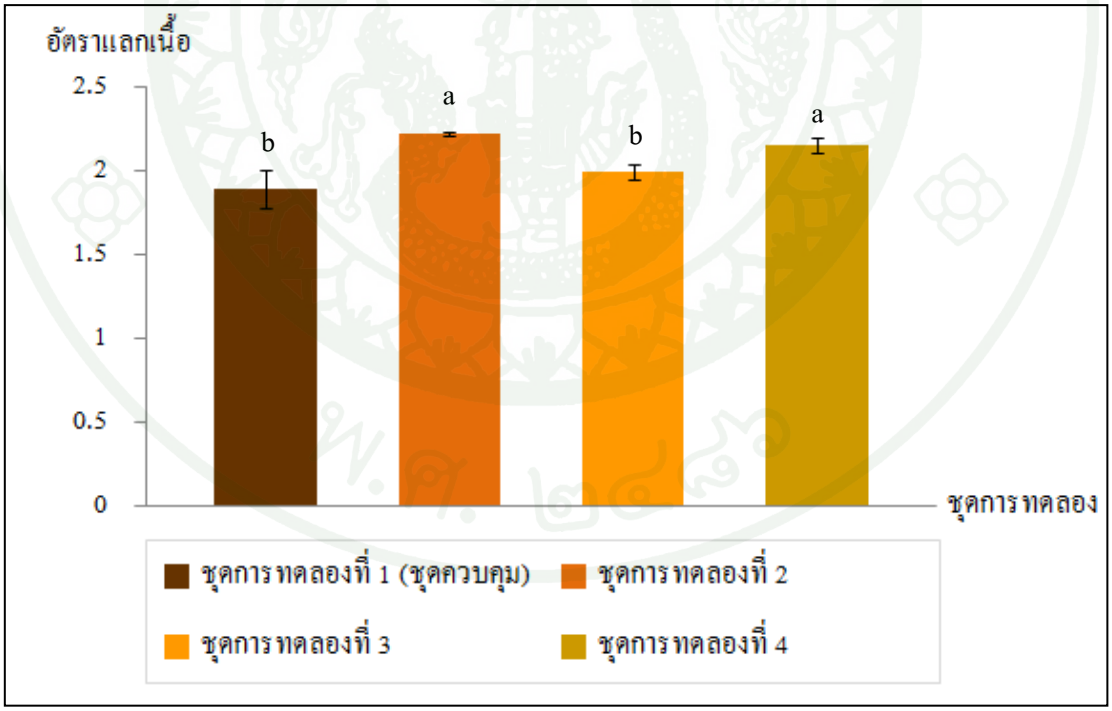
ภาพที่ 26 ผลผลิตเฉลี่ย (กรัม) ของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 15 อัตราแลกเนื้อของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

กระชัง	ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม)	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3	ชุดการทดลองที่ 4
1	1.88	2.21	2.02	2.18
2	1.78	2.22	2.02	2.09
3	2.00	2.23	1.94	2.17
ค่าเฉลี่ย	1.89 ± 0.11^{b}	2.22 ± 0.01^{a}	1.99 ± 0.05^{b}	2.15 ± 0.05^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 27 อัตราแลกเนื้อของลูกปลานิล ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 ผลต่อคุณภาพน้ำ

3.2.1 อุณหภูมิ

ค่าอุณหภูมิในระหว่างการอนุบาลปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า ทุกชุดการทดลอง มีค่าอยู่ในช่วง 31.9 - 33.3 องศาเซลเซียส และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.59 ± 0.61 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นการทดลองในกระชังซึ่งอยู่ในบ่ออนุบาลเดียวกัน อุณหภูมิของน้ำในแต่ละชุดการทดลองจึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 16)

3.2.2 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำระหว่างการอนุบาลปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีค่าอยู่ในช่วง 7.1 - 8.7 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.56 ± 0.68 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วง 7.2 - 8.7 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.80 ± 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 3 มีค่าอยู่ในช่วง 7.3 - 8.7 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.82 ± 0.62 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 4 มีค่าอยู่ในช่วง 7.3 - 8.7 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.60 ± 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำในทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 16) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำทุกชุดการทดลองเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลา คือมีค่าตั้งแต่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป (อุดม, 2550)

3.2.3 ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

ค่า pH ที่ละลายในน้ำตลอดการอนุบาลปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีค่าอยู่ในช่วง 8.7 - 9.5 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.96 ± 0.24 ชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วง 8.4 - 9.0 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.78 ± 0.06 ชุดการทดลองที่ 3 มีค่าอยู่ในช่วง 8.7 – 9.0 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.78 ± 0.06 และชุดการทดลองที่ 4 มีค่าอยู่ในช่วง 8.7 – 9.0 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.88 ± 0.14 ค่า pH ในทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 16)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 16 อุณหภูมิ, ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และค่า pH ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

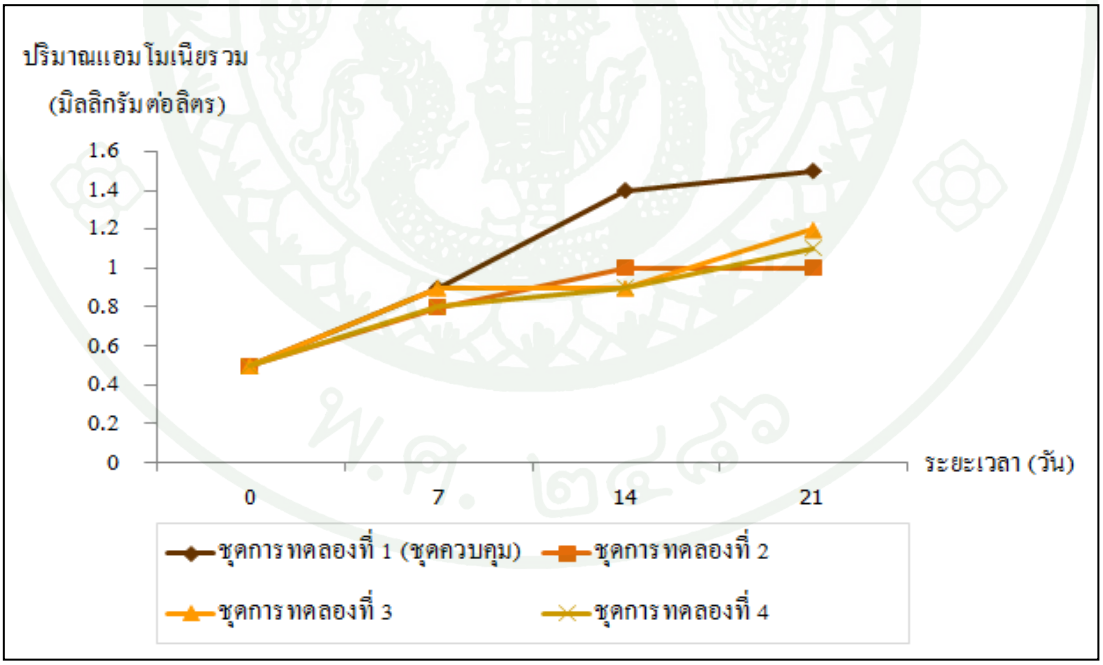
พารามิเตอร์	ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม)		ชุดการทดลองที่ 2		ชุดการทดลองที่ 3		ชุดการทดลองที่ 4	
	พิสัย	ค่าเฉลี่ย	พิสัย	ค่าเฉลี่ย	พิสัย	ค่าเฉลี่ย	พิสัย	ค่าเฉลี่ย
อุณหภูมิ	31.9 - 33.3	32.59 ± 0.61[a]	31.9 - 33.3	32.59 ± 0.61[a]	31.9 - 33.3	32.59 ± 0.61[a]	31.9 - 33.3	32.59 ± 0.61[a]
ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	7.1 - 8.7	7.56 ± 0.68[a]	7.2 - 8.7	7.80 ± 0.40[a]	7.3 - 8.7	7.82 ± 0.62[a]	7.3 - 8.7	7.60 ± 0.50[a]
pH	8.7 - 9.5	8.96 ± 0.24[a]	8.4 - 9.0	8.78 ± 0.06[a]	8.7 – 9.0	8.88 ± 0.14[a]	8.7 – 9.0	8.88 ± 0.15[a]

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2.3 ปริมาณแอมโมเนียรวม

ปริมาณแอมโมเนียรวมตลอดระยะเวลาการอนุบาลปลานิล 21 วัน ในชุดการทดลองต่าง ๆ ดังนี้ ในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีค่าอยู่ในช่วง 0.9 – 1.8 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.08 ± 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วง 0.6 – 1.2 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.83 ± 0.24 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 3 มีค่าอยู่ในช่วง 0.9 - 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.88 ± 0.29 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 4 มีค่าอยู่ในช่วง 0.6 – 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.83 ± 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียรวมมีแนวโน้มสูงขึ้นตามระยะเวลาการอนุบาล เนื่องจากปลามีขนาดใหญ่ขึ้น และปริมาณอาหารที่ให้ในแต่ละวันก็เพิ่มขึ้น โดยพบว่าปริมาณแอมโมเนียรวมในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) เริ่มมีปริมาณสูงกว่าชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 17, ภาพที่ 28) ตั้งแต่วันที่ 14 จนถึงวันที่ 21 ของการอนุบาลปลานิล ซึ่งน่าจะส่งผลให้อัตราการรอดตายในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีค่าต่ำกว่าในกลุ่มอื่น ๆ

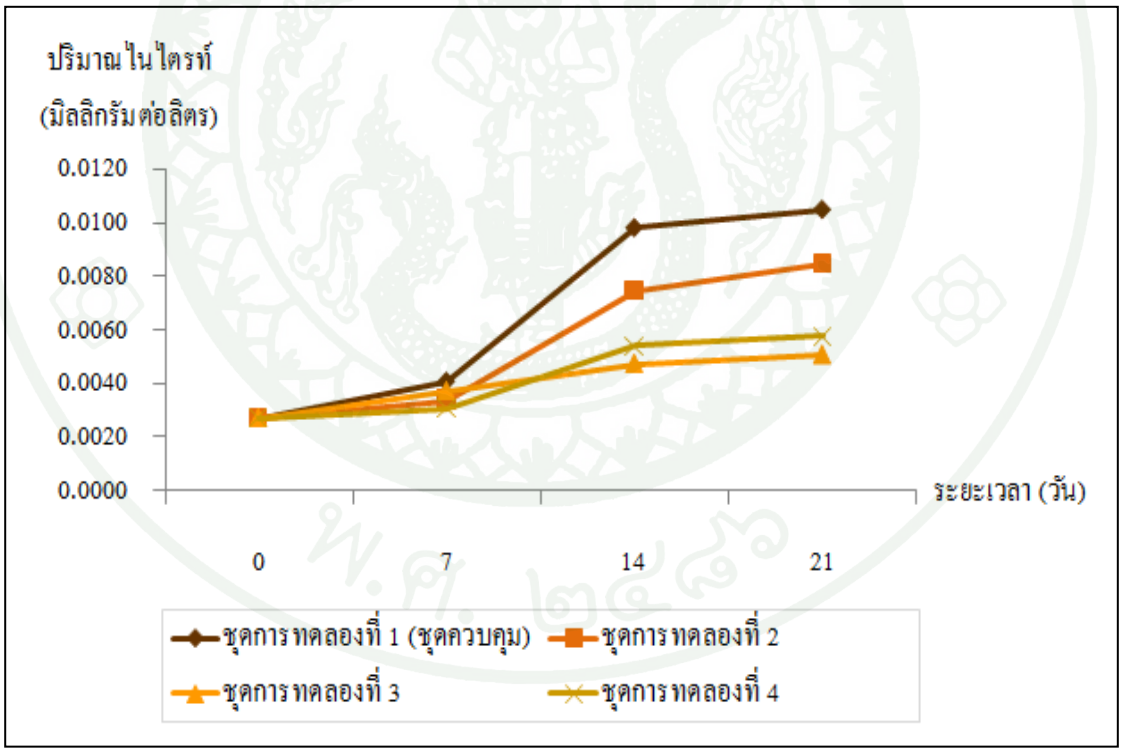


ภาพที่ 28 ปริมาณแอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2.4 ปริมาณไนไตรท์

ปริมาณไนไตรท์ในชุดการทดลองต่าง ๆ ดังนี้ ในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีค่าอยู่ในช่วง 0.003 – 0.017 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.007 ± 0.004 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วง 0.002 – 0.011 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.006 ± 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 3 มีค่าอยู่ในช่วง 0.003 – 0.006 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.004 ± 0.002 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 4 มีค่าอยู่ในช่วง 0.002 – 0.006 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.004 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนไตรท์ในทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 17, ภาพที่ 29) ปริมาณไนไตรท์มีแนวโน้มสูงขึ้นตามระยะเวลาการอนุบาลเช่นเดียวกับปริมาณแอมโมเนีย

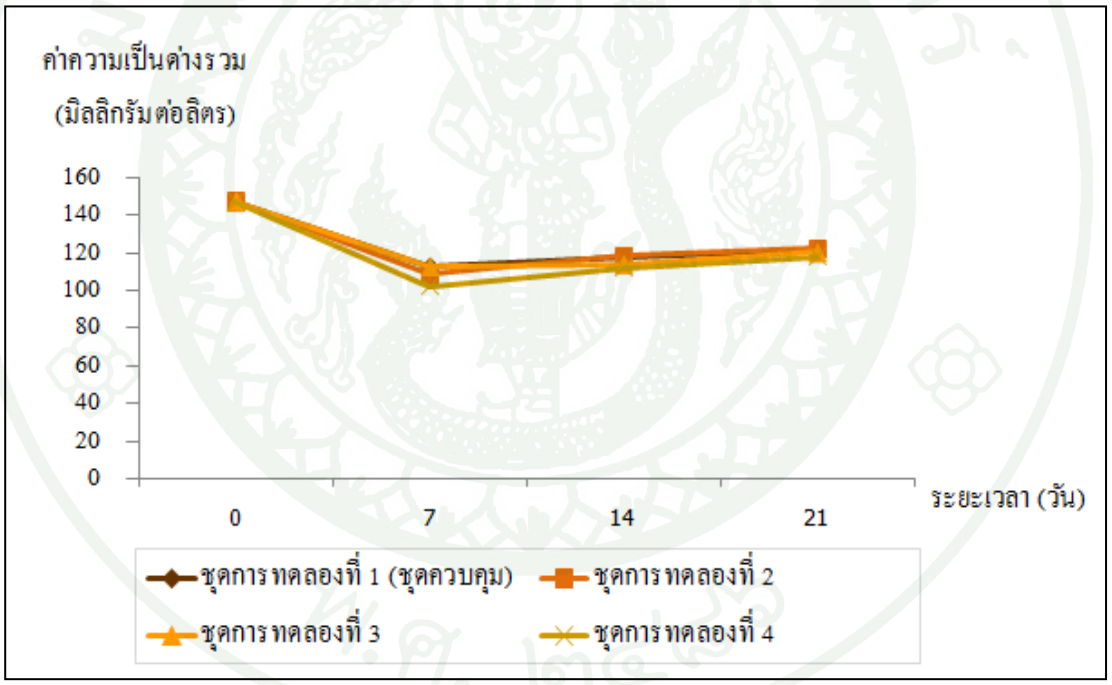


ภาพที่ 29 ปริมาณไนไตรท์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2.5 ค่าความเป็นด่างรวม

ค่าความเป็นด่างรวมในชุดการทดลองต่าง ๆ ดังนี้ ในชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีค่าอยู่ในช่วง 108 – 122 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 124.67 ± 15.09 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วง 104 – 124 มิลลิกรัมต่อลิต และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 123.83 ± 16.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดการทดลองที่ 3 มีค่าอยู่ในช่วง 110 – 122 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 123.33 ± 15.88 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่ 4 มีค่าอยู่ในช่วง 98 – 122 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 119.33 ± 19.28 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นด่างรวมในแต่ละชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 17, ภาพที่ 30)



ภาพที่ 30 ค่าความเป็นด่างรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลเป็นระยะเวลา 21 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 17 ปริมาณแอมโมเนียรวม, ไนไตรท์ และค่าความเป็นด่างรวมเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อลิตร) ในชุดการทดลองต่าง ๆ หลังจากอนุบาลปลานิลเป็นระยะเวลา 21 วัน

วัน	พารามิเตอร์	ชุดการทดลองที่			
	(mg/l)	1 (ชุดควบคุม)	2	3	4
0	NH_3	0.50 ± 0.17^{a}	0.50 ± 0.17^{a}	0.50 ± 0.17^{a}	0.50 ± 0.17^{a}
	NO_2^-	0.003 ± 0.001^{a}	0.003 ± 0.001^{a}	0.003 ± 0.001^{a}	0.003 ± 0.001^{a}
	Alkalinity	146.67 ± 23.10^{a}	146.67 ± 23.10^{a}	146.67 ± 23.10^{a}	146.67 ± 23.10^{a}
7	NH_3	0.90 ± 0.30^{a}	0.80 ± 0.17^{a}	0.90 ± 0.00^{a}	0.80 ± 0.17^{a}
	NO_2^-	0.004 ± 0.002^{a}	0.003 ± 0.001^{a}	0.004 ± 0.001^{a}	0.003 ± 0.001^{a}
	Alkalinity	112.67 ± 5.03^{a}	108.67 ± 4.16^{a}	108.00 ± 11.14^{a}	102.00 ± 6.93^{a}
14	NH_3	1.40 ± 0.46^{a}	1.00 ± 0.17^{ab}	0.90 ± 0.00^{b}	0.90 ± 0.00^{b}
	NO_2^-	0.010 ± 0.005^{a}	0.008 ± 0.003^{a}	0.005 ± 0.001^{a}	0.005 ± 0.001^{a}
	Alkalinity	118.00 ± 2.00^{a}	118.00 ± 2.00^{a}	114.00 ± 10.58^{a}	111.33 ± 8.08^{a}
21	NH_3	1.50 ± 0.30^{a}	1.00 ± 0.17^{b}	1.20 ± 0^{ab}	1.10 ± 0.17^{b}
	NO_2^-	0.011 ± 0.006^{a}	0.009 ± 0.003^{a}	0.005 ± 0.001^{a}	0.006 ± 0.001^{a}
	Alkalinity	121.33 ± 1.15^{a}	122.00 ± 2.00^{a}	120.00 ± 2.00^{a}	117.33 ± 6.43^{a}
ค่าเฉลี่ย	NH_3	1.08 ± 0.46^{a}	0.83 ± 0.24^{a}	0.88 ± 0.29^{a}	0.83 ± 0.25^{a}
	NO_2^-	0.007 ± 0.004^{a}	0.006 ± 0.003^{a}	0.004 ± 0.002^{a}	0.004 ± 0.001^{a}
	Alkalinity	124.67 ± 15.09^{a}	123.83 ± 16.22^{a}	123.33 ± 15.88^{a}	119.33 ± 19.28^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในแนวนอนที่กำหนดด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. จากการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ ต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค 2 ชนิดที่พบในปลานิล ได้แก่ *A. hydrophila* ABRCA1 และ *S. agalactiae* ABRCS1 โดยวิธี cross streak method พบว่าภายหลังจากบ่มเชื้อ 48 ชั่วโมง เชื้อแบคทีเรีย *B. licheniformis* สามารถยับยั้ง เชื้อ *A. hydrophila* ABRCA1 ได้ ส่วนเชื้อ *B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถเข้าครอบครองโคโลนี เชื้อ *S. agalactiae* ABRCS1 ได้ และผลการทดสอบความสามารถในการเจริญร่วมกันของ *Bacillus* spp. ที่มีคุณสมบัติการเข้าครอบครองโคโลนี ซึ่งได้แก่ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* กับเชื้อ *S. agalactiae* ABRCS1 ในอาหารเหลว พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถลดปริมาณเชื้อ *S. agalactiae* ABRCS1 จาก 5.45×10^6 CFU/มิลลิลิตร ลดลงเหลือ 2.90×10^6 CFU/มิลลิลิตร, 2.53×10^6 CFU/มิลลิลิตร และ 3.04×10^6 CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ หรือคิดเป็นปริมาณแบคทีเรียที่ลดลง 46.79 เปอร์เซ็นต์, 53.58 เปอร์เซ็นต์ และ 44.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2. จากการศึกษาผลการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ต่ออัตราการรอดตาย และการเจริญเติบโตในการเลี้ยงปลานิลในห้องปฏิบัติการพบว่า การเติมจุลินทรีย์ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำจุลินทรีย์ผสมอาหารในอัตราส่วน 1 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการรอดตาย และผลผลิตเฉลี่ยรวมสูงที่สุด รวมทั้งมีปริมาณแอมโมเนียและไนไตรท์ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. จากการนำผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้ในการอนุบาลปลานิลในฟาร์มเลี้ยง พบว่าการใส่จุลินทรีย์ผสมในอาหาร 1 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มอัตราการรอดตายได้ โดยมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ไปใช้ในฟาร์มเลี้ยงปลานิลในบ่อดิน หรือในกระชังที่มีการเลี้ยงแบบหนาแน่น

2. ควรมีการศึกษาปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นในกระชังเลี้ยงปลานิลตลอดระยะเวลาการทดลอง เพื่อเปรียบเทียบปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระชังที่ใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ และไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ พูนสุข และชาญณรงค์ รอดคำ. 2551. **เอกสารประกอบการสอนวิชาจุลชีววิทยาทางสัตวแพทย์**. คณะสัตวแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ขจีนาฏ โพธิเวชกุล, สุมาลี เหลืองสกุล และ สมใจ ศิริโภค. 2540. **การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อใช้ผลิตเอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส และไลเปส**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพฯ.

จิตต์เกษม จันทร์ผ่อง, สุปราณี ชินบุตร และ วรเทพ ศุภเมธากร. 2536. การศึกษาทางด้านการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันปลาช่อนหลังจากการให้วัคซีน, น. 313-317. *ใน* **รายงานสัมนาทางวิชาการทางวิชาการประจำปี 2536**. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ชลิต โนระดี. 2535. **ผลของแบคทีเรียต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ในบ่อกุ้งกุลาดำที่มีพื้นเป็นดินเหนียว.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2528. **โรคปลา.** ภาควิชาชีววิทยาประมง, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2543. **กุ้งไทย 2000 สู่ความยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม**. เจริญรัฐการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ และ พรเลิศ จันทร์รัชชกูล. 2547. **อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย**. สนับสนุนการจัดการพิมพ์โดยสำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เพื่อเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชเนื่องในวโรกาสพระราชพิธีมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา 5 ธันวาคม พ.ศ. 2547. บริษัทเมจิคพับบลิเคชั่นจำกัด, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นเรศ ซ่วนยุก, หิรัญ กังแฮ, เรววัต คงประดิษฐ์ และ กิจการ ศุภมาศ. 2548. โรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล. **วารสารสงขลานครินทร์ ฉบับพิเศษวาริชศาสตร์** 27: 307-319.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2552. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, พรรณศรี จริโมภาส, สุจินต์ หนูขวัญ, กำชัย ลาวัณยวุฒ, วีระ วัชรกรโยธิน และ วิมล จันทรโรทัย. 2536. **การพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลานิล**. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 23. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

มณฑกานต์ สมบูรณ์. 2552. **ผลของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ชนิดต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรียวิบริโอ (*Vibrio* spp.) และคุณภาพน้ำในการอนุบาลลูกกุ้งและการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litropenaeus vannamei*)**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พุทธ ส่องแสงจินดา. 2544. **การจัดการสารประกอบไนโตรเจนและออกซิเจนในฟาร์มเลี้ยงกุ้งระบบปิด**. กลุ่มวิจัยวิศวกรรมการเพาะเลี้ยงและสิ่งแวดล้อม. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเลฝั่งอ่าวไทย กรมประมง, สงขลา.

ยนต์ มุสิก. 2539. **คุณภาพน้ำกับกำลังผลิตของบ่อปลา**. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน, กรุงเทพฯ.

เรืองลักขณา จามิกรณ์. 2535. **ชีวเคมีเบื้องต้น.** มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลลิตา พาณิชกรกุล. 2550. **ผลของแบคทีเรีย *Paracoccus pantotrophus* ต่อคุณภาพน้ำและผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ในการเลี้ยงด้วยน้ำความเค็มต่ำ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล. 2547. **การหาชนิดของแบคทีเรียในลำไส้ของกุ้งกุลาดำที่เหมาะสม เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกในกุ้งกุลาดำและเพื่อควบคุมคุณภาพสิ่งแวดล้อมในบ่อกุ้ง**. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์. โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ประจำปีงบประมาณ 2547. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล. 2549. **การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* Fabricius**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล และ นนทวิทย์ อารีย์ชน. 2549. **การใช้ *Bacillus* spp. เพื่อยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำ.** รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์. โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ประจำปีงบประมาณ 2549. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วารุณี แซ่เอี๊ย. 2549. **ผลของการใช้จุลินทรีย์กลุ่ม *Bacillus* sp. ต่อคุณภาพน้ำและผลผลิตกุ้งกุลาดำในกาเลี้ยงด้วยน้ำความเค็มต่ำ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิชาญ อิงศรีสว่าง. 2546**. คู่มือ อบต. (ด้านการประมง) ชุดการบริหารจัดการแหล่งน้ำและเทคโนโลยีการเลี้ยงปลา**. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. (โครงการบริหารการจัดการทรัพยากรในแหล่งน้ำจืด ส่วนการถ่ายโอนภารกิจให้กับองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่น ฝ่ายกิจกรรมพิเศษ สำนักพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์).

ศิริเพ็ญ ตรัยไชยาพร. 2543 . **การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ.** ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สมาน กูจิ. 2538. **การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีและแบคทีเรียที่ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรีย์ ฟูตระกูล. 2533. **ชีวเคมีพื้นฐาน 1**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โสมทัต วงศ์สว่าง, เกรียงศักดิ์ พูนสุข และ เกรียงศักดิ์ สายธนู. 2525. โรคขาแดงในกบนา. วารสารโรคสัตว์น้ำ 5 (2): 57-62.

อนันต์ชัย เขื่อนธรรม. 2542. **หลักการวางแผนการทดลอง**. ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุดม เรืองนพคุณ. 2550. **การเลี้ยงปลานิล.** อักษรสยามการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

Aly, S.M., Y.A.G. Ahmed, A.A.A. Ghareeb and M.F. Mohamed. 2008a. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infection. **Fish Shellfish Immunol**. 25: 128-136.

Aly, S.M., M.F. Mohamed and G. John. 2008b. Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*). **Aqua. Res**. 39: 647-656.

APHA, AWWA and WEF. 1995. **Standard Method for the Examination of Water and Westewater.** 20th edition. United Book Press, Maryland. 1220 p.

Balcazar, J.L., I. de Blas, I. Ruiz-zarzuela, D. Cunningham, D. Vendrell. and J.L. Muzquiz. 2006. The role of probiotics in aquaculture. **Vet. Microb.** 114: 173-186.

Bruno, M.E.C. and T.J. Montville. 1993. Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. **Appl. Environ. Microbiol**. 59: 3003–3010.

Boyd, C. E. and A.W. Fast. 1992. Pond monitoring and management, pp. 497 -513. *In* A.W. Fast and L.J. Lester (eds.). **Marine Shrimp Culture: Principles and Practices** . Elsevier Science B.V., Amsterdam.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Boyd, C.E. and C.S. Tucker. 1998. **Pond Aquaculture Water Quality Management.** Kluwer academic publishers. USA.

Cladera-Olivera, F., G.R. Caron and A. Brandelli. 2004. Bacteriocin-like substance production by *Bacillus licheniformis* strain P40. **Microbiology** 38: 251-256.

Conway, P.L. 1996. Development of intestinal microbiota, pp. 3-38. *In* R.I. Mackie, B.A. White and R.E. Isaacson, eds. **Gastrointestinal Microbes and Host Interactions**. Chapman & Hall, New York.

EL-Haroun, E.R., A.M.A.S. Goda and M.A. Kabir Chowdhury. 2006. Effect of dietary probiotic biogens supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aqua. Res**. 37: 1473-1480.

Esiobu, N., L. Armenta and J. Ike. 2002. Antibiotic resistance in soil and water environments. **Int. J. Environ Health.** 12: 133–44.

Friedrich, C.G., D. Rother, F. Bardischewsky, A. Quentmeier and J. Fisher. 2001. Oxidation of reduced inorganic sulfur compounds by bacteria: emergence of a common mechanism. **Appl. Environ. Microbiol.** 67: 2873-2882.

Fuller, R. 1992. History and development of probiotics, pp. 1-8. *In* R. Fuller, ed. **Probiotics the Scientific Basis**. Chapman & Hall, London.

Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture** 180: 147-165**.**

Gallert, C. and J. Winter. 2005. **Bacterial Metabolism in Wastewater Treatment Systems. in Environmental Biotechnology.** Wiley-VCH Weinheim. 40 p.

Green, D.H., P.R. Wakeley, A. Page, A. Barnes, L. Baccigalupi, E. Ricca and S.M. Cutting. 1999. Characterization of two Bacillus probiotics. **Appl. Environ. Microbiol**. 65: 4288-4291.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Gullian, M. and J. Rodriguez, 2002. Immunostimulant qualities of probiotic bacteria. **Global Aqua**. 5: 52-54.

Lemos, M.L., C.P. Dopazo, A.E. Toranzo and J.L. Barja. 1991. Competitive dominance of antibiotic producing marine bacteria in mixed cultures. **J. Appl. Bacteriol.** 71: 228–232.

Lilly, D.M. and R.H. Stillwell. 1965. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. **Science** 147: 747-748.

Maeda, M., K. Nogami, M. Kanematsu and K. Hirayama. 1997. The concept of biological control methods in aquaculture. **Hydrobiologia** 358: 285-290.

Moriarty, D.J.W. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. **Aquaculture** 164: 351–358.

Nelson, J.S. 1994. **Fishes of the World**. 3rd ed. John Wiley and Sons Inc., New York.

New, M.B., K.D. Hopkins and S. El-Dakour. 1984. **Effect of Feeding Frequency on Survival and Growth of Tilapia Fry**. Kuwait Inst for Scientific Research, Kuwait.

Nicholson, W.L., N. Munakata, G. Horneck, H.J. Melosh and P. Setlow. 2000. Resistance of endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. **Microbiol. Mol. Biol**. 64: 548-572.

Oggioni, M.R., A. Ciabattini, A.M. Cuppone and G. Pozzi. 2003. *Bacillus* spores for vaccine delivery. **Vaccine.** 21: 96-101.

Parker, R.B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story**. Anim. Nutr. Health**. 29: 4-8.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Peters G., M. Faisal, T. Lang and I. Ahmed. 1988. Stress caused by social interaction and its effect on susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout *Salmo gairdneri*. **Dis. Aquat. Org**. 4: 83-89.

Plumb, J.A., J.H. Schachte, J.L. Gaines, W. Peltier and B. Carroll. 1997. Infectious diseases of tilapia, pp. 212-228. *In* B.A.C. Pierce and J.E. Rakocy, ed. **Tilapia Aquaculture in the Americas**. World Aquaculture Society, Batonn Rouge, LA.

Pulido, A., C. Iregui, J. Figueroa and P. Klesius. 2004. Estreptococosis in Tilapia (*Oreochromis* spp.) cultivadas in Colombia. **Revista Aquatic**. 20: 97-106.

Ring, E. and F.J. Gatesoupe. 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. **Aquaculture** 160: 177-203.

Risoen, P.A., P. Ronning, I.K. Hagne and A.B. Kolsto. 2004. Characterization of a broad range antimicrobial substance produced by *Bacillus cereus*. **J. Appl. Microbiol.** 96: 648-655.

Robinson, J.A. and F.P. Meyer. 1966. Streptococcal fish pathogen. **J. Bacteriol**. 92: 512.

Rother, D., H.J. Henrich, A. Quentmeier, F. Bardischewsky and C.G. Friedrich. 2001. Novel genes of the *sox* gene cluster, mutagenesis of the flavoprotein SoxF, and evidence for a general sulfur-oxidizing system in *Paracoccus pantotrophus* GB17. **J. Bacteriol.** 183: 4499-4508.

Saha, S., R.N. Roy, S.K. Sen and A.K. Ray. 2006. Characterization of cellulose-producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis niloticus* and grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture** 37: 380-388.

Salminen S., A. Ouwehand, Y. Benno and Y.K. Le. 1999. Probiotics: how should they be defined?. **Trends Food Sci. Tech.** 10: 107–110.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Scura, E.D. 1995. Dry seasons production problems on shrimp farms in Central America and the Caribbean Basin, pp. 200–213. *In* C.L. Browdy and J.S. Hopkins, eds. **Swimming Through Troubled Water**. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.

Stanier, R.Y., M. Doudoroff and E.A. Adelberg. 1963. **The Microbial World**. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J.

Stoffels, G., I.F. Nes and A. Gudmundsdottir. 1992. Isolation and properties of a bacteriocinproducing *Carnobacterium piscicola* isolated from fish. **J. Appl. Bacteriol.** 73: 309-326.

Sugita, H., N. Matsuo, Y. Hirose, M. Iwato and Y. Deguchi. 1997. *Vibrio* sp. strain NM10, isolated from the intestine of a Japanese coastal fish, has an inhibitory effect against *Pasteurella piscida*. **Appl. Environ. Microbiol.** 63: 4986–4989.

Sun, Y.Z., H.L. Yang, R.L. Ma and W.Y. Lin. 2010. Probiotic applications of two dominant gut Bacillus strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. **Fish Shellfish Immunol**. 29: 803-809.

Van Rijn, J., N. Fonarev and B. Berkowitz. 1995. Anaerobic treatment of fish culture effluents: digestion of fish feed and release of volatile fatty acids. **Aquaculture** 33: 9-20.

Vandenbergh, P. 1993. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. **FEMS Microbiol. Rev.** 12: 221–238.

Wetzel, R.G. 1975. **Limnology**. W. B. Saunders Co., Philadelphia.

Williams, S.T. and J.C. Vickers. 1986. The ecology of antibiotic production. **Microbial Ecol.** 12: 43–52

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นางสาวภัทริดา โปฎก
เกิดวันที่	14 ธันวาคม 2529
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดพังงา
ประวัติการศึกษา	วท.บ (ประมง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์