การตรวจเอกสาร

ปลานิล

1. การจัดอันดับอนุกรมวิธาน

ปลานิลถูกจัดอันดับทางอนุกรมวิธานไว้ดังนี้ (Nelson, 1994)

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

2. ชีววิทยาและคุณลักษณะของปลานิล

ปลาในกลุ่ม *Tilapia* โดยทั่วไปสามารถจำแนกออกเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะการสืบพันธุ์ การวางไข่ และการเลี้ยงดูตัวอ่อน กลุ่มแรกจะขุดหลุมวางไข่ ได้แก่ สกุล *Tilapia* ซึ่งจะมีขนาดใหญ่ที่สุด มีความยาวระหว่าง 45-50 เซนติเมตร ส่วนกลุ่มที่สอง คือ กลุ่มที่ดูแลไข่โดยวิธีการอมไว้ในปาก ได้แก่สกุล *Oreochromis* และ *Sarotherodon* ส่วนสกุลที่มีความสำคัญและนิยมเพาะเลี้ยงในปัจจุบัน คือ *Oreochromis* ซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* อยู่ในวงศ์ Cichlidae ชื่อสามัญว่า Nile Tilapia หรือปลานิลนั่นเอง มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกา ลุ่มน้ำจอร์แดนและทะเลสาบของประเทศซูดาน ยูกานดา ทันกันยิกา เป็นต้น การแพร่กระจายของปลานิลเป็นไปอย่างกว้างขวางทั้งในแอฟริกากลางและตะวันออก รวมทั้งอเมริกากลางและใต้ นอกจากนี้ยังได้มีการนำไปเลี้ยงแถบภาคพื้นเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น ไทย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์และอิสราเอล (วรวุฒิ, 2547) เนื่องจากปลานิลมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี ขยายพันธุ์ได้เองตามธรรมชาติ จึงทำให้

ปลานิลกลายเป็นพันธุ์ปลาสากลที่นิยมเพาะเลี้ยง มีการส่งเสริมให้เลี้ยงในประเทศที่กำลังพัฒนา ใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่มีต้นทุนต่ำแต่มีคุณภาพสูง เพื่อพัฒนาคุณภาพของประชากร ปลานิลสามารถเลี้ยงได้ในทุกสภาพ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงประมาณ 8 เดือน ถึง 1 ปี ขึ้นกับวิธีการเลี้ยง นอกจากนี้ปลานิลถูกคัดเลือกให้เป็นตัวแทนที่ใช้ในงานทดลองวิจัยทางชีววิทยาและพันธุศาสตร์ของสัตว์น้ำ ปัจจุบันปลานิลพันธุ์แท้ค่อนข้างหาได้ยาก เนื่องจากกรมประมงดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ปลานิลให้มีคุณลักษณะพิเศษในด้านต่าง ๆ เช่น อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณความดกของไข่ การให้ผลผลิต และความต้านทานโรคสูง เป็นต้น

ลักษณะทางกายภาพ ปลานิลเป็นปลาที่มีรูปร่างลักษณะคล้ายปลาหมอเทศ (*O. mossambicus*) ลำตัวป้อม หัวเล็ก ขอบตามีสีแดง ด้านหลังหนามีสีเขียว ลักษณะพิเศษของปลานิลที่สามารถสังเกตได้คือ ริมฝีปากบนและริมฝีปากล่างเสมอกัน บริเวณแก้มมีเกล็ด 3 แถว และอีก 1 แถวตรงบริเวณเหนือเส้นข้างลำตัวเล็กน้อย บนลำตัวจะมีลายพาดขวาง 9-10 แถบ ลักษณะเป็นลายที่สมบูรณ์จากส่วนหลังสู่ส่วนท้อง ครีบหลังประกอบด้วยก้านครีบแข็ง 15-18 ก้าน และก้านครีบอ่อน 12-14 ก้าน ที่ครีบก้นมีก้านครีบแข็ง 3 ก้าน และก้านครีบอ่อน 9-10 ก้าน ที่บริเวณส่วนอ่อนของครีบหลัง ครีบก้นและครีบหาง จะมีจุดขาวและเส้นสีดำตัดขวางอยู่ เกล็ดตามแนวเส้นข้างตัวมีเกล็ด 33 เกล็ด ทางด้านข้างมีเกล็ดตามแนวเฉียงจากตอนต้นของครีบหลังลงมาถึงเส้นข้างลำตัว 5 เกล็ด และจากเส้นข้างตัวลงมาถึงส่วนหน้าของครีบก้น 13 เกล็ด ที่กระดูกแก้มมีจุดสีเข้มอยู่ 1 จุด ปลาชนิดนี้มีความยาวที่สุดถึง 16 นิ้ว (กรมประมง, 2509) เมื่อปลามีอายุได้ประมาณ 3 เดือนเศษ จะเริ่มมีความแตกต่างทางเพศ คือ ปลานิลเพศผู้จะมีลำตัวเรียวยาว สีค่อนข้างเข้ม ลายบนลำตัวชัดเจนกว่าปลานิลเพศเมีย บริเวณใต้คางและท้องจะมีสีทองปรากฏให้เห็น ส่วนปลานิลเพศเมียจะมีลำตัวค่อนข้างป้อมสีซีดกว่าและมีสีเหลืองอ่อนบริเวณใต้คางและท้อง (สันทนา และ ทัศนีย์, 2525; มานพ และคณะ, 2536)

ปลานิลถูกนำเข้ามาในประเทศไทยครั้งแรกเมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ. 2508 โดยสมเด็จพระจักรพรรดิ์อากิฮิโตแห่งประเทศญี่ปุ่น เมื่อครั้งดำรงพระอิสริยยศเป็นมกุฎราชกุมาร ทรงทูลเกล้าถวายปลานิลจำนวน 50 ตัว ความยาวเฉลี่ยตัวละประมาณ 9 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 14 กรัม แด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดช ในระยะแรกได้ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้ปล่อยลงเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ขนาดเนื้อที่ประมาณ 3 ตารางเมตร ในบริเวณพระตำหนักสวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต ต่อมาทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้ย้ายไปเลี้ยงในบ่อดินเนื้อที่ประมาณ 10 ตารางเมตร ลึก 1 เมตร เมื่อเลี้ยงไว้ในบ่อดินประมาณ 5 เดือน พบว่าปลานิลออก

ลูกเป็นจำนวนมากจึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้เจ้าหน้าที่ขุดบ่อเพิ่มขึ้นรวมเป็นบ่อสำหรับเลี้ยงปลานิลจำนวน 6 บ่อ เนื้อที่เฉลี่ยประมาณบ่อละ 70 ตารางเมตร โอกาสนี้พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงย้ายพันธุ์ปลาจากบ่อดินไปปล่อยเลี้ยงในบ่อใหม่ทั้ง 6 บ่อ เมื่อวันที่ 1 กันยายน พ.ศ.2508 ต่อจากนั้นทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้กรมประมงจัดส่งนักวิชาการมาตรวจสอบการเจริญเติบโตเป็นประจำทุกเดือน พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่ทรงเลี้ยงปลานิลเป็นระยะเวลาประมาณ 1 ปี น้ำหนักประมาณ 0.5 กิโลกรัมและความยาวประมาณ 1 ฟุต พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงมีพระราชประสงค์ที่จะให้ปลาชนิดนี้แพร่ขยายพันธุ์ เพื่อจะเป็นประโยชน์แก่พสกนิกรของพระองค์ ดังนั้น เมื่อวันที่ 17 มีนาคม พ.ศ. 2509 ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ พระราชทานพันธุ์ปลานิลขนาด 3-5 เซนติเมตร จำนวน 10,000 ตัว ให้แก่อธิบดีกรมประมง เพื่อนำไปเพาะเลี้ยงที่แผนกทดลองในบริเวณเกษตรกลาง บางเขน กรุงเทพฯ และสถานีประมงต่าง ๆ อีกจำนวน 15 แห่ง ทั่วพระราชอาณาจักร เพื่อดำเนินการเพาะขยายพันธุ์พร้อมกันและทรงพระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่า “ปลานิล” หลังจากที่ได้พระราชทานพันธุ์ปลานิลให้แก่กรมประมงแล้วยังทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้กรมประมงเข้าไปรับพันธุ์ปลานิลที่ทรงเพาะได้ทั้ง 6 บ่อ และที่ขุดใหม่อีก 2 บ่อ รวมเป็น 8 บ่อ ในพระราชวังสวนจิตรลดาเพื่อไปแจกจ่ายแก่ราษฎรอีกเป็นประจำทุกเดือนและเมื่อความทราบใต้ฝ่าละอองธุลีพระบาทว่ามีราษฎรต้องการพันธุ์ปลานิลมาก ก็ทรงโปรดเกล้าฯ ให้ขุดบ่อขนาดใหญ่เพิ่มขึ้นอีก 1 บ่อ เป็นบ่อที่ 9 เพื่อช่วยเร่งผลิตพันธุ์ปลานิลให้เพียงพอต่อความต้องการของพสกนิกรของพระองค์และเพื่อใช้ในการผลิตพันธุ์ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดาเป็นปลานิลพันธุ์แท้ ซึ่งมีชื่อเสียงเป็นที่ยอมรับมาจนถึงปัจจุบัน (อุทธร, 2529; กฤษณา และ ภีระ, 2545; กรมประมง, 2509)

3. อุปนิสัยและสายพันธุ์ของปลานิล

ปลานิลชอบอยู่รวมกันเป็นฝูง ยกเว้นเวลาผสมพันธุ์วางไข่ที่จะอาศัยในบริเวณน้ำตื้นเท่านั้น ปลานิลอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืด น้ำกร่อยหรือแม้แต่บริเวณชายทะเลที่มีความเค็ม 20 ส่วนในพันส่วน นอกจากนี้สามารถดำรงชีวิตในน้ำที่มีช่วงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิกว้าง คือ ระหว่าง 11-42 องศาเซลเซียส และเจริญเติบโตดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 16 องศาเซลเซียส จะไม่กินอาหารและจะตายเมื่ออุณหภูมิของน้ำต่ำกว่า 4.5 องศาเซลเซียส ส่วนความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ระหว่าง 6.5-8.3 ปลานิลจะเริ่มตายในน้ำที่มีความเป็นกรด-ด่าง 5.5-6.5 และตายหมดที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.5-4.5 (ทัศนีย์, 2524) การกินอาหารพบว่ากินได้ทั้งพืชและสัตว์ (Omnivorous) แต่ส่วนมากกินแพลงก์ตอนพืชเป็น

อาหารและใช้ประโยชน์จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถกินสัตว์หน้าดิน ตะไคร่น้ำและของเน่าเปื่อยต่าง ๆ เป็นอาหาร ลูกปลานิลที่มีขนาดเล็กกว่า 6 เซนติเมตร สามารถกินอาหารได้หลากหลายและเมื่อโตขึ้นก็สามารถกินอาหารเม็ดได้ (สันทนา และ ทัศนีย์, 2525) ปลานิลเพศผู้เจริญเติบโตเร็วกว่าปลานิลเพศเมีย 2-5 เท่า จึงทำให้มีการเลี้ยงปลานิลที่ได้รับการแปลงเพศ (Sex-reversed tilapia) กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน กรมประมงโดยสถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำได้นำปลานิลสายพันธุ์แท้ไปดำเนินการปรับปรุงพันธุ์จนได้ปลานิลสายพันธุ์ใหม่จำนวน 3 สายพันธุ์ ดังนี้

1 ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 1 เป็นปลานิลที่ปรับปรุงพันธุ์มาจากปลานิลสายพันธุ์แบบการคัดเลือกภายในครอบครัว (within family selection) เริ่มดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ตั้งแต่ปี 2528 จนถึงปัจจุบันเป็นชั่วอายุที่ 7 ซึ่งทดสอบพันธุ์แล้ว พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าพันธุ์ที่เกษตรกรเลี้ยงประมาณ 22 เปอร์เซ็นต์

2 ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2 เป็นปลานิลที่พัฒนาสายพันธุ์มาจากปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา โดยการปรับเปลี่ยนพันธุกรรมในพ่อพันธุ์ให้มีโครโมโซมเพศเป็น “YY” ที่เรียกว่า “YY-Male” หรือซุปเปอร์เมล และเมื่อนำพ่อพันธุ์ดังกล่าวไปผสมกับแม่พันธุ์ปกติจะได้ลูกปลานิลเพศผู้ที่เรียกว่า “ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2” ซึ่งมีลักษณะเด่น คือ ปลานิลเพศผู้ที่มีโครโมโซมเป็น “XY” ส่วนหัวเล็กลำตัวกว้าง สีขาวนวล เนื้อหนาและแน่น รสชาติดี

3 ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 3 เป็นปลานิลที่ปรับปรุงพันธุ์มาจากการนำปลานิลสายพันธุ์กลุ่มต่าง ๆ ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ข้ามระหว่างปลานิลสายพันธุ์อื่น ๆ อีก 7 สายพันธุ์ ได้แก่ อียิปต์ กานา เคนยา สิงคโปร์ เซเนกัล อิสราเอลและไต้หวัน ซึ่งมีการเจริญเติบโตและอัตราการรอดสูง ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ไปสร้างเป็นประชากรพื้นฐาน ทำการปรับปรุงพันธุ์โดยหน่วยงาน International Center for Living Aquatic Resources Management (ICLARM) ในประเทศฟิลิปปินส์ จากนั้นในปี พ.ศ. 2538 มีการนำลูกปลานิลชั่วอายุที่ 5 เข้ามาในประเทศไทย สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุกรรมสัตว์น้ำจึงดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ปลาดังกล่าวต่อ โดยวิธีการเดิมจนในปัจจุบันได้ 2 ชั่วอายุ และเรียกว่า “ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 3” สายพันธุ์นี้มีลักษณะเด่น คือ ส่วนหัวเล็ก ลำตัวกว้าง สีเหลืองนวล เนื้อหนาและแน่น รสชาติดี เมื่ออายุประมาณ 6-8 เดือน จะได้ขนาดตามความต้องการของตลาดประมาณ 3-4 ตัวต่อกิโลกรัม

และให้ผลผลิตต่อไร่สูงกว่าปลานิลพันธุ์ที่เกษตรกรเลี้ยงประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ (มานพ และคณะ, 2536; กฤษณา และ ภีระ, 2545)

4. การเพาะเลี้ยงปลานิล

ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงปลานิลถือว่ามีรูปแบบที่ค่อนข้างหลากหลาย ทั้งการเลี้ยงแบบยังชีพ การเลี้ยงแบบพื้นบ้านหรือกึ่งพัฒนา การเลี้ยงเชิงพานิชย์หรือแบบพัฒนา ในประเทศไทยมีการเลี้ยง 2 ระบบ คือ การเลี้ยงในบ่อดินและการเลี้ยงในกระชัง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการเลี้ยงแบบพัฒนาแต่ก็ยังพบว่ามีการเลี้ยงแบบกึ่งพัฒนาและแบบยังชีพอยู่ เช่น การเลี้ยงปลานิลในนาข้าวที่มีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ การเลี้ยงปลาร่วมกับการทำปศุสัตว์ การเลี้ยงปลารวมกับปลาหรือสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ (polyculture) ได้แก่ การเลี้ยงปลานิลกับปลาตะเพียนและปลาจีน การเลี้ยงปลานิลร่วมกับกุ้งก้ามกราม เป็นต้น ทั้งนี้การเลี้ยงปลานิลในรูปแบบต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของผู้เลี้ยง

1 การเลี้ยงปลานิลในบ่อดิน เป็นวิธีการเลี้ยงที่แพร่หลาย เนื่องจากในบ่อมีอาหารธรรมชาติ เช่น แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ สัตว์หน้าดินและซากเน่าเปื่อย เป็นต้น อาหารธรรมชาติเหล่านี้เป็นอาหารหลักของปลานิล ซึ่งช่วยลดต้นทุนให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยง การเลี้ยงในบ่อดินที่นิยมมี 3 แบบ ได้แก่

1.1 การเลี้ยงแบบยังชีพ เป็นการเลี้ยงเพื่อบริโภคในครัวเรือนเป็นหลัก อาหารปลาได้จากธรรมชาติและปลาสามารถผสมพันธุ์กันเองได้ จึงมีการปล่อยลูกปลาแบบไม่หนาแน่น เกษตรกรสามารถจับปลาขนาดใหญ่กินได้เรื่อย ๆ เพื่อให้ปลาขนาดเล็กโตขึ้นมาทดแทนปลาขนาดใหญ่

1.2 การเลี้ยงแบบพื้นบ้านหรือกึ่งพัฒนา เป็นการเลี้ยงเพื่อบริโภคและเพื่อจำหน่ายเป็นรายได้ การเลี้ยงแบบนี้ผู้เลี้ยงจะมีการใส่ปุ๋ยหรืออาหารเสริมลงไป เพื่อเร่งการเจริญเติบโต นิยมใช้ปลานิลเพศผู้ล้วนในการเลี้ยง เพื่อลดปัญหาการผสมพันธุ์วางไข่ในบ่อเลี้ยงและช่วยให้ได้ปลาขนาดใหญ่

1.3 การเลี้ยงแบบเชิงพาณิชย์หรือแบบเข้มข้น เป็นการเลี้ยงเพื่อจำหน่ายมีอัตราการปล่อยปลาแบบหนาแน่น เพื่อให้ผลผลิตต่อพื้นที่สูง นิยมใช้ปลานิลเพศผู้ล้วนในการเลี้ยงและการเลี้ยงแบบนี้ต้องมีการจัดการฟาร์มที่ดี เนื่องจากมีการลงทุนสูง

2 การเลี้ยงปลานิลในกระชัง เหมาะสำหรับบริเวณที่ไม่สามารถกักขังน้ำได้หรือมีแม่น้ำลำคลองขนาดใหญ่ไหลผ่าน เช่น แถบภาคอีสาน เป็นการเลี้ยงที่ให้ผลผลิตสูง การเลี้ยงในกระชังแหล่งน้ำเป็นปัจจัยสำคัญ การเลือกสถานที่บริเวณที่จะวางกระชังจะต้องมีการถ่ายเทของกระแสน้ำและกระแสลมเพื่อช่วยในการหมุนเวียนของน้ำระหว่างภายในและภายนอกกระชัง การเลี้ยงในกระชังนิยมแบ่งการเลี้ยงออกเป็นช่วง ๆ เพื่อให้สะดวกในการดูแล ลดระยะเวลาในการเลี้ยง เช่น ช่วงของการเลี้ยงปลาวัยอ่อนเป็นปลาวัยรุ่น ช่วงเลี้ยงปลาวัยรุ่นเป็นปลาขนาดตลาด แต่การเลี้ยงในกระชังมักพบปัญหาเกี่ยวกับโรคระบาดที่มากับน้ำ (อุดม, 2549)

สิ่งที่จำเป็นในการเลี้ยงที่ต้องคำนึงถึงโดยทั่วไป เกษตรกรผู้เลี้ยงต้องมีการอนุบาลลูกปลาก่อนปล่อยเพื่อเร่งอัตราการเจริญเติบโตของลูกปลาขนาดเล็ก และเพิ่มอัตราการรอดตายให้สูงขึ้น นอกจากนี้เกษตรต้องให้ความสำคัญในเรื่องการเตรียมบ่อ เพื่อลดการเกิดปัญหาการตกค้างของอินทรีย์วัตถุที่ก้นบ่อซึ่งมีปริมาณมาก ก่อให้เกิดการเน่าเสียและส่งผลต่อคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงในการเลี้ยงปลาครั้งต่อมา (ภานุ และคณะ, 2539) การใส่ปุ๋ย เพื่อให้เกิดอาหารธรรมชาติและเพิ่มการใช้ประโยชน์จากอาหารธรรมชาติเพื่อช่วยลดต้นทุนการผลิต การให้อาหารสมทบ ซึ่งปัจจุบันเกษตรกรนิยมใช้อาหารสำเร็จรูปเป็นอาหารสมทบในการเลี้ยงปลานิลเพราะมีปริมาณสารอาหารที่เหมาะและสะดวกง่ายต่อการจัดการ ปริมาณการให้อาหารจะอยู่ที่ 4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลาต่อวัน โดยจะแบ่งให้วันละ 2-3 มื้อ อัตราการปล่อยปลาลงในบ่อเลี้ยงและกระชังต้องคำนึงถึงเป้าหมายของผลผลิตและต้นทุนในการเลี้ยงเป็นสำคัญ (อุดม, 2549)

5. โรคทั่วไปของปลานิล

การเพาะเลี้ยงปลานิลในประเทศไทยมีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว ทั้งรูปแบบและพื้นที่การเลี้ยงทั้งในบ่อดินและในกระชังตามแหล่งน้ำธรรมชาติ การขยายตัวของการเลี้ยงทำให้เกิดปัญหาโรคระบาดตามมา ซึ่งก่อความเสียหายให้แก่ผู้เลี้ยงได้มาก จนถึงขั้นต้องประสบภาวะขาดทุน โรคของปลานิลมีสาเหตุการเกิดจากหลายองค์ประกอบร่วมกัน ได้แก่ อาหาร สภาพของบ่อ ความผันแปรของธรรมชาติ น้ำที่ใช้เลี้ยง โดยเฉพาะน้ำซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดโรค เนื่องจากน้ำใน

แหล่งน้ำธรรมชาติต่าง ๆ นั้นจะมีเชื้อโรคและพยาธิอยู่หลายชนิด เพียงแต่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเชื้อต่าง ๆ ดังกล่าวจะไม่สามารถเจริญเติบโตจนก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำ แต่เมื่อสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิหรือปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำมีการเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้สัตว์น้ำเกิดอาการเครียดเป็นผลให้ความต้านทานต่อเชื้อโรคลดต่ำลง นำไปสู่การติดเชื้อได้ง่าย โรคของปลานิลส่วนใหญ่เกิดจากปรสิต หนอนพยาธิและเชื้อแบคทีเรีย เชื้อดังกล่าวจะเข้าทำลายอวัยวะภายนอก เช่น เหงือก ลำตัว ไปจนถึงการทำลายอวัยวะภายในของปลา เช่น ตับ ไต ซึ่งจะทำให้เกิดโรคและตายในเวลาต่อมา โรคทั่วไปของปลานิลที่มีรายงานไว้โดย ศักดิ์ชัย (2536) ได้แก่

1 *Ichthyopthirias multifilis* ทำให้เกิดโรคจุดขาว หรือโรคอิ๊ค สังเกตลักษณะอาการคือ บริเวณลำตัว ครีบหรือเหงือกจะเกิดเป็นจุดขาว ๆ ขนาดประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร กระจายอยู่ทั่วไป ปลาจะเอาตัวถูกับวัสดุใต้น้ำ หรือกระโดดขึ้นเหนือผิวน้ำและขับเมือกออกมามาก

2 ปลิงใส *Gyrodactylus* sp. และ *Dactylogyrus* sp. เป็นพวกหนอนตัวแบน *Gyrodactylus* sp. จะเกาะตามครีบ เหงือกและลำตัวของปลา ทำให้เกิดแผลเล็ก ๆ ทำให้เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เข้าแทรกทำลายผิวหนัง เหงือกจนเกิดแผลลุกลามตามมา ส่วน *Dactylogyrus* sp. จะเกาะตามผิวหนังและเหงือกของปลา ทำให้เหงือกเป็นแผลและขาดกร่อน การแลกเปลี่ยนออกซิเจนติดขัด ส่งผลให้ปลาเครียด ไม่กินอาหาร หากเกิดบาดแผลจะทำให้เชื้ออื่นเข้าไปทำอันตรายต่อไป

3 เห็บปลา *Argulus* sp. จะเข้าเกาะกับปลา ดูดเลือดและของเหลวในเนื้อเยื่อ ทำให้ปลาเกิดอาการอ่อนเพลีย ไม่กินอาหาร เติบโตช้า

4 หนอนสมอ *Lernaea* sp. มักเกาะตามลำตัวปลา ดูดกินเลือดและของเหลวจากเนื้อเยื่อ บริเวณที่เกาะมีอาการตกเลือด เป็นรอยช้ำ เกล็ดหลุด เกิดบาดแผลและเป็นเหตุให้เชื้อแบคทีเรียและเชื้อราแทรกเข้าทำให้เกิดแผลขยายลุกลาม

5 โรคตัวด่างที่เกิดจากแบคทีเรีย *Flexibacter columnaris* ในปลานิลน้ำจืด ส่วนในปลานิลน้ำกร่อยจะเป็น *F. maritimus* ปลาจะมีอาการตัวด่างเป็นแผลสีเทา บริเวณหลังมีลักษณะลึกลงแบบอานม้า ลำตัวคล้ำ ครีบหลังเน่า ว่ายน้ำช้าลงและตายในเวลาอันรวดเร็วโดยเฉพาะในปลาขนาดเล็ก

6 โรคติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* เชื้อจะเข้าสู่ปลาโดยทางปาก ทางผิวหนัง หรือเหงือก ที่เกิดบาดแผล ในสภาพปกติเชื้อจะไม่ทำให้เกิดโรค แต่เมื่อปลาอ่อนแอเชื้อจะเพิ่มจำนวนในลำไส้ หรือบริเวณที่เข้าไปแล้วแพร่กระจายไปตามกระแสเลือด ปลาจะมีบาดแผลบนลำตัว ครีบกร่อน มีเลือดซึมออกมาจากแผล ท้องบวม ตับ ไตและม้ามโตกว่าปกติ อวัยวะภายในตกเลือด

7 โรคติดเชื้อ *Streptococcus* spp. โรคนี้มีลักษณะของการเกิดโรคเป็นแบบเรื้อรัง ปลาที่ติดเชื้อมีอาการตาขุ่น ตาบอดหรือตกเลือดภายในลูกตา บางครั้งพบว่าใต้คางหรือช่องขับถ่ายมีอาการบวมแดง มีน้ำเลือดภายในช่องท้อง (อุดม, 2549; มานพ และ คณะ, 2536) ซึ่งการเกิดโรคที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ถือว่าเป็นชนิดที่มีความสำคัญต่อการเลี้ยงปลานิลในประเทศไทยมากที่สุด

6. การเกิดโรค Streptococcosis ในปลานิล

โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้ปลาป่วยและตายมากที่สุด (จิตต์เกษม และคณะ, 2536) แบคทีเรียชนิดที่ก่อโรคในปลานิล ได้แก่ สกุล *Aeromonas* เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบและสกุล *Streptococcus* เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรค Streptococcosis ซึ่งเป็นโรคแบบเรื้อรังและก่อให้เกิดการอักเสบและเกิดบาดแผลตามอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย (inflammatory and granulamatous lesions) เชื้อจะกระจายไปสู่ปลาตัวอื่น โดยการสัมผัสโดยตรงหรือปะปนกับสิ่งขับถ่ายของปลา ซึ่ง Inglis *et al*. (1993) ได้รายงานว่าโรค Streptococcosis เป็นโรคที่สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจต่อวงการการเลี้ยงปลาทั้งปลาน้ำจืดและน้ำเค็ม

แบคทีเรียสกุล *Streptococcus* จัดอยู่ในวงศ์ Lactobacillaceae เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.8-1.0 ไมครอน เจริญและแบ่งตัวตามแนวตั้ง และจะเกาะติดกันหลังจากการแบ่งตัวทำให้การเรียงตัวมีลักษณะเป็นสายยาวคล้ายสร้อยมุก ความยาวของสายจะขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของจุดที่ติดกันของเซลล์ แต่ละสายอาจจะประกอบด้วยเซลล์ตั้งแต่ 3-4 เซลล์ จนถึง 1,000 เซลล์ ขึ้นอยู่กับชนิด เชื้อสกุล *Streptococcus* จะย้อมติดสีแกรมบวก แต่จะติดสีแกรมลบเมื่ออายุมากขึ้นหรืออยู่ในสภาวะที่เป็นกรด ความต้องการอาหารค่อนข้างซับซ้อน อาหารเลี้ยงเชื้อที่ดีสำหรับ *Streptococcus* คือ infusion media ที่ใส่เลือดสด หรือ Brain Heart Infusion (BHI) และ Todd-Hewett broth (Inglis *et al.*, 1993) ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

Streptococcus มักจะใช้ sheep blood agar แบคทีเรียทุก species ในสกุล *Streptococus* เป็น homofermentive เมื่อหมัก glucose โดยผ่านกระบวนการ hexose diphosphate pathway จะให้กรดแลคติค กรดอะซีติก กรดฟอร์มิค เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา นอกจากนั้นยังสามารถหมักน้ำตาลตัวอื่น ๆ ได้และสามารถ hydrolyze polysaccharides, sodium hippurate, arginine และ polymers เช่น inulin, starch และ dextrin ได้ โดยทั่วไปจะใช้คุณสมบัติเหล่านี้ในการแยกชนิดของแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococci* (พรทิพภา, 2536) เชื้อในกลุ่มนี้ไม่มีการสร้างสปอร์และไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ การทดสอบเอนไซม์แคตาเลส อาจแปรผันได้ เมื่อเพาะเชื้อในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนโดยขนาดของเซลล์จะลดลงจนเหลือเพียงครึ่งหนึ่งของขนาดปกติ

เชื้อแบคทีเรียในสกุล *Streptococcus* ที่พบว่าทำให้เกิดโรคในปลา ส่วนใหญ่จะให้ β–haemolysis บน sheep blood agar แต่ก็มีบางชนิดที่เป็น α, γ หรือ non-haemolytic จากการศึกษาทางซีรัมพบว่าเชื้อสกุลนี้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม Lancefield's group antisera B และ D Group B *Streptococci* มีเพียงชนิดเดียว คือ *S. agalactiae* เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางสัตวแพทย์ Group B *Streptococci* จะ hydrolyze hippurate แต่จะไม่ hydrolyze esculin นอกจากนั้นยังหมัก trehalose แต่ไม่หมัก sorbitol ส่วนปฏิกิริยาต่อ salicin และ lactose ไม่แน่นอน (นงลักษณ์, 2544)

โรค Streptococcosis ในสัตว์น้ำพบระบาดครั้งแรกในปี 1957 ในปลา rainbow trout ที่ประเทศญี่ปุ่นโรคนี้จะแพร่กระจายไปสู่ปลาภายใน 48 ถึง 72 ชั่วโมง และพบการตายในวันที่ 4 และ 5 (Robinson and Meyer, 1966) อาการของโรคที่พบโดยทั่วไป คือ ปลามีอาการว่ายน้ำแบบควงสว่าน เสียการทรงตัว สีลำตัวซีด ตาโปน (pop-eye) ตาขาวขุ่นหรือตกเลือดที่บริเวณภายในลูกตา บนแผ่นปิดเหงือก ตามฐานครีบ ทวารหนักและลำตัว เกิดการอักเสบบริเวณ dorsal-lateral portion ของลำตัว มีการสะสมของเหลวในช่องท้อง ม้าม ไต หัวใจมีขนาดใหญ่ขึ้น ตับมีขนาดเล็กลงและสีซีด (Plum *et al*.,1974; Kusuda *et al*., 1976; Foo *et al*., 1985; Inglis *et al*., 1993; Perera *et al*., 1997) บางครั้งพบว่าใต้คางหรือช่องขับถ่ายมีอาการบวมแดง มีน้ำเลือดภายในช่องท้อง โรคนี้เป็นลักษณะของโรคเรื้อรัง (นิลุบล, 2544; ประเสริฐ, 2545; Cook and Lofton, 1975; Kitao *et al*., 1981; Miyazaki *et al*.,1984; Al-Harbi, 1994; Eldar *et al*., 1997) เชื้อ *Streptococcu*s spp. ที่เป็นสาเหตุของโรคในปลา ได้แก่ *S. difficilis*, *S. parauberis* (Austin, 1987) นอกจากในปลา rainbow trout แล้วพบการระบาดในปลาอีกหลายชนิด เช่น ปลา striped bass และ sea trout จากบริเวณอ่าว Chesapeake (Baya *et al*.,1990) ปลา Rabbitfish (*Siganus canaliculatus*) ที่บริเวณชายฝั่งทาง

ตะวันออกเฉียงเหนือของสิงคโปร์ (Foo *et al*., 1985) ปลา yellowtail (*Seriola quinueradiata*) ที่เลี้ยงในอ่าว Kitaura (Kitao *et al.*, 1979) ปลา salmon (Inglis *et al*., 1993), ปลา flounder, *Paralichthys olivaceus* (Nakatsugawa, 1983), ปลา eel, *Anguilla japonicus*, ปลา sea trout, pinfish และปลา golden shiner, *Notemigonus crysoleucas* (Robinson and Meyer, 1966) อีกด้วย นอกจากนี้ยังพบการระบาดของโรค Streptococcosis ในปลานิลในญี่ปุ่น Kitao *et al.* (1981) และ Miyazaki *et al.* (1984) รายงานว่าการเกิดโรค Streptococcosis เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. แบบ β และ γ–haemolytic ตามลำดับ Al-Harbi (1994) รายงานว่าพบการระบาดของโรคในฟาร์มเลี้ยง hybrid tilapia (*O. niloticus* x *O. aureus*) ในซาอุดิอาระเบีย เป็นเชื้อ *Streptococcus* sp. แบบ α-haemolytic ต่อมาพบการระบาดของโรค Streptococcosis ที่ Texas ในฟาร์มเลี้ยง hybrid tilapia (*O. niloticus* x *O. aureus*) โดย Perera *et al.* (1997) รายงานว่าเป็นเชื้อ *Streptococcus iniae* นอกจากนี้ Plumb (1997) รายงานว่าการติดเชื้อ Streptococcal infection เป็นสาเหตุที่ทำให้การเพาะเลี้ยงปลานิลลดลงเนื่องจากเป็นสาเหตุการตายของปลาเป็นจำนวนมาก เช่นเดียวกับ Pulido (2004) รายงานว่าพบปลานิลป่วยเป็นโรค Streptococcosis ในโคลัมเบีย เกิดจากเชื้อ *Streptococcus* sp. ส่วนในประเทศไทยพบการระบาดในแถบจังหวัด สุราษฎร์ธานี โดย นเรศ และคณะ (2548) ได้รายงานว่าเป็นเชื้อ *S. agalactiae* เช่นเดียวกับ Areechon *et al.* (2005) พบการระบาดของโรค Streptococcosis ในปลานิลแถบภาคกลางและรายงานว่าเป็นเชื้อ *S. agalactiae* เช่นเดียวกัน

7. หลักการควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำโดยวิธีทางชีวภาพ

ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นทุก ๆ ปี แต่ปัญหาเรื่องการระบาดของโรคมีผลต่อการเพาะเลี้ยงเป็นอย่างมาก ในอดีตมีการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะเพื่อแก้ปัญหาโรคระบาด แต่กลับส่งผลให้เกิดการดื้อยา การตกค้างของสารเคมีในสัตว์น้ำ การแก้ปัญหาที่ดีที่สุด คือ การป้องกันโรค เช่น ควบคุมสภาพแวดล้อมในบ่อ ควบคุมการให้อาหาร คุณภาพน้ำ การนำแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรคควบคุมแบคทีเรียที่ก่อโรค (probiotic biocontrol agents) นับเป็นอีกแนวทางที่สามารถป้องกันการเกิดโรคระบาดที่เกิดขึ้นกับสัตว์น้ำได้ (Austin *et al*., 1995; Moriarty *et al*., 1997; Verschuere, 2000) การควบคุมดังกล่าวอาศัยหลักการควบคุมทางชีวภาพ (Biocontrol) เป็นการใช้สิ่งมีชีวิตเพื่อควบคุมสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งไม่ให้เพิ่มจำนวน หรือสร้างความเสียหายให้กับระบบส่วนรวม โดยสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ จะต้องไม่ส่งผลกระทบหรือผลเสียหายต่อเจ้าบ้าน หรือระบบนิเวศโดยรวม (Gatesoupe, 1991)

โปรไบโอติก มาจากคำภาษากรีก หมายถึง เพื่อชีวิต โปรไบโอติกโดยทั่วไปนั้น หมายถึง จุลินทรีย์ซึ่งอาจมีชนิดเดียว หรือเป็นส่วนผสมของจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถไปปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์นั้น มีผู้ให้คำจำกัดความของโปรไบโอติกไว้หลายความหมายดังนี้

Lilly and Stillwell (1965) เป็นบุคคลแรกที่อธิบายเกี่ยวกับโปรไบโอติกว่าเป็นสารที่ผลิตขึ้นจากจุลินทรีย์ที่ดีและส่งเสริมการเจริญเติบโตของสัตว์

Parker (1974) ได้อธิบายว่าโปรไบโอติก คือ กลุ่มของจุลินทรีย์หรือสารที่ได้จากจุลชีพที่มีประโยชน์ต่อสัตว์โดยไม่มีผลกับจุลินทรีย์ที่พบตามปกติภายในลำไส้ สามารถปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหาร ในที่นี้รวมถึงจุลินทรีย์ประจำถิ่นและ antibiotics ด้วย

Fuller (1989) ได้ให้ความหมายของโปรไบโอติกว่า คือ อาหาร (เสริม) ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่และยังก่อให้เกิดประโยชน์ โดยช่วยปรับระดับความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิต ต่อมา Fuller (1992) ได้อธิบายเพิ่มว่าโปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่เลี้ยงได้จากอาหาร มีผลต่อการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ จะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและสามารถให้กับ host โดยการผสมอาหาร

Havenaar *et al*. (1992) ได้ให้ความหมายว่าโปรไบโอติกต้องประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งอาจมีเพียงชนิดเดียว หรือเป็นส่วนผสมของจุลินทรีย์หลาย ๆ ชนิด ที่สามารถนำไปปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปเซลล์แห้งหรือผลิตภัณฑ์หมัก

SEAFDEC (1996) ได้อธิบายว่าโปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์เพียงชนิดเดียวหรือเป็นสารประกอบจุลินทรีย์ที่ทำการคัดเลือกสายพันธุ์แล้วนำมาประยุกต์ใช้กับระบบการเลี้ยงเพื่อให้เกิดประโยชน์ โดยเป็นจุลินทรีย์ที่พบทั่วไปในแหล่งน้ำและตะกอนพื้นบ่อ สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างมากและมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโต หรือควบคุมความเป็นอยู่ของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งอาจจะใช้ในลักษณะการผสมอาหารให้สัตว์น้ำหรือในน้ำโดยตรง

Maeda *et al*. (1997) รายงานว่าโปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตโดยการทำงานแบบ biological control

Moriarty (1998) ให้ความหมายว่าโปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจะรวมถึงการใส่แบคทีเรียลงในบ่อหรือถังเลี้ยงสัตว์น้ำ

Gram *et al.* (1999) ได้อธิบายว่าโปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตโดยทำหน้าที่ในการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย อาจไม่จำเป็นต้องให้โปรไบโอติกโดยการผสมอาหารเพียงอย่างเดียว

Gatesoupe (1999) ให้ความหมายของโปรไบโอติกว่า หมายถึง เซลล์ของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปโดยวิธีใด ๆ แล้วสามารถเข้าไปอยู่ในลำไส้ของเจ้าบ้านและมีชีวิตอยู่ได้ สามารถปรับปรุงสุขภาพของ host ให้ดีขึ้น

Salminen *et al*. (1999) ได้อธิบายว่าโปรไบโอติกเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ไม่จำเป็นต้องมีชีวิต แต่ได้มาจากเซลล์ของจุลินทรีย์และมีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตที่ได้รับโปรไบโอติกเข้าไป

หากพิจารณาจากคำจำกัดความโดยรวมแล้ว โปรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคและไม่มีผลต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ ดังนั้นจุลินทรีย์ที่สามารถใช้เป็นโปรไบโอติกอาจเป็นแบคทีเรียราหรือยีสต์ ซึ่งมีคุณสมบัติและกลไกในการทำงานแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์นั้น ๆ เช่น จุลินทรีย์บางชนิดสร้างวิตามินและสารที่ไม่ทราบชนิด ซึ่งจำเป็นต่อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและให้กรดอะมิโนที่จำเป็นเพื่อสร้างโปรตีน บางกลุ่มสามารถสร้างเอนไซม์เฉพาะเจาะจงที่ย่อยสารประกอบเชิงซ้อนให้เป็สารประกอบเชิงโมเลกุลเดี่ยว กรดอินทรีย์ กรดอะมิโน ที่สัตว์และจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ต่อได้ นอกจากนี้อาจสร้างเอมไซม์ เช่น cellulose, xylanase, lipase ซึ่งช่วยย่อยอาหารและลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารเพิ่มความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ด้วยกัน และระหว่างจุลินทรีย์กับเจ้าบ้าน จุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้าง acetate, lactate, volatile acid, วิตามิน เอนไซม์ สารต้านแบคทีเรีย ซึ่งมีผลต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

Gatesoupe (1999) ได้รวบรวมคุณสมบัติที่สำคัญที่ใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรียที่จะนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกในสัตว์น้ำที่สำคัญ ดังนี้

1 ควรเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการต่อต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ โดยอาจแสดงผลในหลอดทดลองว่ามีความสามารถในการแข่งขันการใช้สารอาหารหรือผลิตสารเพื่อฆ่าหรือยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรค

2 มีความสามารถในการยึดเกาะลำไส้ได้ หรือสามารถอยู่ในลำไส้ได้ชั่วระยะเวลาหนึ่ง

3 ทำให้เจ้าบ้านแข็งแรงมีความต้านทานโรคโดยมีการยืนยันด้วยการทดสอบการต้านทานโรค (challenge test)

4 มีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้

สำหรับคุณสมบัติในการผลิตสารยับยั้งในสภาพหลอดทดลองนั้น ไม่ใช่คุณสมบัติที่จะนำมาใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรีย เพื่อเป็นโปรไบโอติกได้เสมอไป เพราะว่าสารยับยั้งเหล่านี้มีด้วยกันหลายประเภท เช่น antibiotics, organic acid, hydrogen peroxide และ siderophores เป็นต้น ซึ่งการสร้างสารแต่ละชนิดของแบคทีเรียขึ้นกับสภาวะที่แตกต่างกันออกไป ทั้งในสภาพหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง

นอกจากนี้ประเด็นสำคัญอีกประการหนึ่ง คือโปรไบโอติกในสัตว์น้ำต้องเป็นจุลินทรีย์ที่ยอมรับของผู้บริโภคทั่วไป และมีความปลอดภัยต่อคนและสิ่งแวดล้อม ตลอดระยะเวลาในการใช้ทั้งระยะสั้นและระยะยาวตามมาตรฐาน GRAS (Generally Recognized as Safe Micro-organism), FDA (The United States Food and Drug Administration) และ AAFCO (The Association of American Feed Control Official) ในประเทศไทยการใช้โปรไบโอติกจะต้องเป็นไปตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 โดยกำหนดให้ปริมาณโปรไบโอติกแบคทีเรียที่ใช้ผสมในอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูปต้องไม่น้อยกว่า $1x10^5$ CFU (colony forming unit) ต่ออาหารสัตว์ 1 กรัม จุลินทรีย์ที่กำหนดให้ใช้เป็นโปรไบโอติกตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 มีดังนี้

กลุ่มของแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus coagulan*, *B. lentus*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis* (สายพันธุ์ที่ไม่สร้างสารปฏิชีวนะ), *B. subtilis* strain BN, *B. toyoi*, *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides suis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*

กลุ่มของยีสต์ ได้แก่ *Candida pintolepessi*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Pediococcus* spp.

กลุ่มของเชื้อรา ได้แก่ *Aspergilus niger* และ *A. oryzae*

8. การประยุกต์ใช้แบคทีเรีย Probiotic ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แบคทีเรียที่ก่อปัญหาโรคสัตว์น้ำส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จึงมีการใช้ยาต้านจุลชีพและสารเคมี เพื่อควบคุมโรคที่เกิดจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ แต่เนื่องจากแบคทีเรียมีความสามารถในการปรับตัวสูง จึงพบปัญหาเชื้อแบคทีเรียมีการดื้อยา ทำให้การรักษาไม่ได้ผลในบางครั้ง และยังมีปัญหาการตกค้างของยาต้านจุลชีพ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ยั่งยืนนั่นควรใช้หลักการควบคุมทางชีวภาพเพื่อควบคุมการระบาดของโรค และลดปริมาณการใช้ยาและสารเคมีลง จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่ากลไกการออกฤทธิ์ของแบคทีเรียที่เป็นโปรไบโอติกมีหลาย ๆ กลไก เช่น โปรไบโอติกแบคทีเรียสามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์เป็นสารฆ่าแบคทีเรียหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ซึ่งคุณสมบัตินี้ก่อให้เกิดการแข่งขันการใช้พลังงานและสารเคมี ไม่ว่าจะเป็นในลำไส้ของเจ้าบ้านหรือบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น สารปฏิชีวนะ สารต้านแบคทีเรีย ไลโซไซม์ กรดอินทรีย์และเอนไซม์ต่าง ๆ ระบบนิเวศของจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จะมีลักษณะเป็นการแก่งแย่งสารอาหาร คาร์บอน แหล่งพลังงาน เพื่อการอยู่รอด การแก่งแย่งพื้นที่ในการยึดเกาะบริเวณพื้นผิวของเจ้าบ้านเป็นวิธีการหนึ่งในการป้องกันการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียกลุ่มก่อโรค การยึดเกาะไม่จำเป็นต้องอาศัยความจำเพาะขึ้นอยู่กับปัจจัยกายภาพ เคมี รวมถึงโมเลกุลที่ทำหน้าที่ในการยึดเกาะและโมเลกุลที่เป็นตัวรับบนผิวเซลล์นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้โปรไบโอติกสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมคุ้มกันของสัตว์ได้โดยบางครั้งอาจใช้เซลล์หรือส่วนประกอบของเซลล์จุลชีพมาเป็นสารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันนั้นทำให้ระบภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้านทำงานได้ดีขึ้นและสามารถต้านทานเชื้อที่ทำให้เกิดโรค โดยการเพิ่มกระบวนการ phagocytosis การสร้าง antibody และเพิ่มการผลิต superoxide anion ซึ่งเป็นสาร

จำเป็นในการทำลายเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอม นอกจากนี้โปรไบโอติกยังมีคุณสมบัติในการปรับปรุงคุณภาพของน้ำ โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกกลุ่ม *Bacillus* สามารถควบคุมปริมาณของเสียที่เป็นสารอินทรีย์ (Kozasa, 1986) โดยเปลี่ยนให้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จึงเป็นเหตุผลว่าบ่อที่มีปริมาณแบคทีเรียสูงจะมีปริมาณสารอินทรีย์ที่ละลายในน้ำต่ำในระหว่างการเลี้ยง นอกจากกลุ่ม *Bacillus* แล้ว ยังมีแบคทีเรียกลุ่ม Nitrifying bacteria ที่สามารถลดปริมาณแอมโมเนียและไนไตรท์ในน้ำได้ดีเช่นกัน จนถึงปัจจุบันมีการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการใช้หลักทางชีวภาพโปรไบโอติกมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ได้แก่

Gatesoupe (1991) ได้ศึกษาความต้านทานการเกิดโรคในลูกปลา turbot โดยการใช้สปอร์ของ *B. toyoi* ผสม rotifer และอีกกลุ่มผสม rotifer กับยาปฏิชีวนะ พบว่าอัตราการรอดตายไม่แตกต่างกัน แต่จะมีความแตกต่างกันที่น้ำหนักของปลา โดยกลุ่มที่ผสมสปอร์ของ *B. toyoi* กับ rotifer จะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากกว่าในกลุ่มที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างมีนัยสำคัญ

Austin *et al*. (1995) ได้ศึกษาการเติมโปรไบโอติกลงในบ่อเลี้ยงปลา salmon พบว่าแบคทีเรียดังกล่าวช่วยให้อัตราการรอดของปลาสูงขึ้นจาก 18 เปอร์เซ็นต์ เป็น 74 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมโปรไบโอติก และสามารถป้องกันเชื้อ *V. anguillarum, V. ordalii* และ *A. salmonicida* ในปลา trout และปลา salmon ได้ นอกจากนี้ยังได้ทดลองนำโปรไบโอติกที่ใช้สำหรับกุ้งไปประยุกต์ใช้ในบ่อพักน้ำของการเลี้ยงปลา salmon ขนาด 21 กรัม เป็นประจำแล้วเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *Vibrio* sp. พบว่าสามารถลดอัตราการตายได้อย่างมีนัยสำคัญ

Moriarty *et al*. (1997) ได้รายงานการศึกษาการใช้แบคทีเรียโปรไบโอติก *Bacillus* sp. ในการต่อต้านเชื้อ *Vibrio* sp. ที่ทำให้เกิดโรค vibriosis ในกุ้งกุลาดำ โดยทำการเปรียบเทียบกับฟาร์มที่ไม่ใช้แบคทีเรีย *Bacillus* sp. พบว่าฟาร์มที่ไม่ได้ใช้จะประสบความล้มเหลวหลังจากเลี้ยงได้ 80 วัน ในขณะที่ฟาร์มที่ใช้โปรไบโอติกในการเลี้ยงสามารถเลี้ยงได้นานกว่า 160 วันและไม่พบปัญหาตลอดการเลี้ยง นอกจากนี้ฟาร์มที่มีการใช้โปรไบโอติกจะมีปริมาณเชื้อ *V. harveyi* ในน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

Rengpipat *et al*. (1998a) ได้รายงานการใช้เชื้อ *Bacillus* S11 และใช้เป็นโปรไบโอติกใส่ลงในไรสีน้ำตาล (*Artemia* sp.) เพื่อเป็นอาหารสำหรับกุ้งกุลาดำ การใช้โปรไบโอติก *Bacillus* S11 ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวและความยาว และเมื่อเหนี่ยวนำลูกกุ้งให้เกิดโรคโดยเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* พบว่าลูกกุ้งมีอัตราการตายสูงในกลุ่มที่ไม่มีการใช้ *Bacillus* เป็น 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกมีอัตราการตายเพียง 13 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการทดลองของ Phianphak *et al.* (1999) ซึ่งได้ศึกษาและพบว่า *Lactobacillus* spp. ที่แยกจากทางเดินอาหารไก่ ผสมให้กับอาหารกุ้งกุลาดำ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้อาหารปกติ พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกับ *Lactobacillus* spp. มีอัตราการรอดตายและอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อเลี้ยงครบ 100 วัน และเมื่อนำกุ้งทั้ง 2 กลุ่มมาเหนี่ยวนำให้เกิดโรค โดยการแช่เชื้อ *V. harveyi* เป็นเวลา 10 วัน พบว่ากลุ่มที่ผสม *Lactobacillus* spp. มีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะกลุ่มควบคุมมีอัตราการรอดตาย 26 เปอร์เซ็นต์

Rengpipat *et al*. (1998b) ได้ทำการแยกเชื้อ *Bacillus* S11 จากกุ้งกุลาดำและผสมในอาหารกุ้งเพื่อใช้เป็นโปรไบโอติก ซึ่งมี 3 รูปแบบ คือ เซลล์สด เซลล์สดในสารละลายน้ำเกลือและเซลล์ lyophilized ภายหลังจากที่ให้โปรโบโอติก เป็นเวลา 100 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำระยะ P 30 ของกลุ่มที่ใช้โปรไบโอติกกับกลุ่มควบคุม หลังจากกุ้งได้รับเชื้อ *V. harveyi* โดยการแช่เป็นเวลา 10 วัน กลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติก ทั้ง 3 กลุ่มมีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมรอดตาย 26 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) นอกจากนั้น กลุ่มควบคุมยังแสดงลักษณะภายนอกชัดเจนว่า กุ้งมีสุขภาพไม่ดี เช่น hepatopancreas และลำไส้มีลักษณะผิดปกติ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกกุ้งจะแข็งแรง hepatopancreas และลำไส้ปกติ

Gram *et al*. (1999) ได้ศึกษาผลของการใช้โปรไบโอติกแบคทีเรียในปลา rainbow trout โดยใช้แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* และเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วยเชื้อ *V. anguillarum* โดยวิธีการแช่ปลาลงในเชื้อ *V. anguillarum* พบว่าสามารถลดอัตราการตายจาก 47 เปอร์เซ็นต์ เป็น 32 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มที่ไม่มีการใส่โปรไบโอติกแบคทีเรีย

Rengpipat *et al*. (2000) ได้ทำการทดลองพบว่าการรอดตายและการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำที่ให้อาหารผสม *Bacillus* S11 จะดีกว่ากุ้งที่ไม่ได้รับอาหารผสม *Bacillus* S11 โดย *Bacillus* S11 มีประสิทธิภาพในการไปกระตุ้นและเพิ่มกระบวนการ phagocytosis ซึ่งทราบได้จากการวัด

เปอร์เซ็นต์ phagocytosis และความว่องไวของ phagocytic index (PI) ในเลือด phenoloxidase และกระบวนการกำจัดแบคทีเรีย (antibacterial activities) ซึ่งจะเพิ่มขึ้นตามอายุของกุ้งและปริมาณของโปรไบโอติกที่ใช้หลังจากเลี้ยงกุ้ง 90 วัน โดยให้อาหารที่ผสมและไม่ผสม *Bacillus* S11 และนำกุ้งไปทดสอบความคุ้มโรคโดยเชื้อ *V. harveyi* หลังจากนั้น 10 วัน กุ้งที่ให้อาหารผสมกับโปรไบโอติกมีอัตรารอดสูงกว่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีอัตราการรอดตายเมื่อใช้โปรไบโอติก คือ 54.3 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับกุ้งที่ไม่ได้ใช้โปรไบโอติกมีอัตราการรอดตาย 35.5 เปอร์เซ็นต์ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของกุ้งกุลาดำที่ได้รับเชื้อเป็นเวลา 10 วัน ในกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกกับกลุ่มควบคุมจะต่างกันอย่างมาก โดยพบว่า phenoloxidase มีปริมาณสูงในกุ้งที่ได้รับโปรไบโอติก คือ 2.7±0.8 units/min/mg Protein เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีค่าเพียง 0.60±0.3 units/min/mg Protein เท่านั้น

มณจันทร์ และ กมลพร (2543) ได้ทำการศึกษาแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. harveyi* ที่เป็นสาเหตุโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำ พบว่าเชื้อดังกล่าวมีศักยภาพในการยับยั้งหลังการทดสอบที่ 72 ชั่วโมง และเมื่อนำเซลล์ของเชื้อ *V. harveyi* ที่ทดสอบด้วยเชื้อ *B. subtilis* ไปศึกษาความผิดปกติของเซลล์ด้วยกล้อง Transmission Electron Microscope พบว่ารูปร่างของเซลล์แบคทีเรีย *V. harveyi* มีขนาดเล็กกว่าปกติ อาจเป็นผลจากการทำงานของเชื้อ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ซึ่งเชื้อทั้ง 2 ชนิดสามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ได้จึงมีผลทำให้เซลล์ของเชื้อ *V. harveyi* มีขนาดผิดปกติ

Spanggaard *et al*. (2001) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ หนัง และเหงือกของปลา trout พบว่า 2 ใน 3 ของแบคทีเรียที่ได้จากหนังปลาเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนในกลุ่ม *Pseudomonas* sp. และ *Acinetobacter/Moraxella* ส่วน 1 ใน 4 ของแบคทีเรียที่แยกได้จากเหงือกเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae และในส่วนลำไส้ของปลา trout พบว่า 66 เปอร์เซ็นต์ เป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonas* sp., Enterobacteriaceae และ Vibrionaceae นอกจากนั้นยังพบยีสต์บางชนิดในส่วนของลำไส้อีกด้วย โดยแบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonas* sp. มีความสามารถในการผลิตสาร siderophore และเมื่อนำแบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonas* sp. มาใช้เป็นโปรไบโอติกในการควบคุมเชื้อ *V. anguillarum* พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการรอดตายของปลาเป็น 37 เปอร์เซ็นต์ ได้ทั้งในสภาพ *in vitro* และ *in vivo*

Irianto and Austin (2002) ได้ศึกษาการใช้แบคทีเรียที่แยกได้จากลำไส้ของปลา Atlantic salmon, rainbow trout และปลา turbot พบว่าเป็นแบคทีเรียในสกุล *A. hydrophila*, *V. fluvialis* และ *Cannobacterium* sp. มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *A. salmonnicida* โดยเมื่อนำแบคทีเรียดังกล่าวมาผสมในอาหารให้ลูกปลากิน พบว่าสามารถลดอัตราการตายของลูกปลาได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมจาก 94 เปอร์เซ็นต์ เป็น 16 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) ในช่วงเวลา 14 วัน

Chang and Liu (2002) ได้ทำศึกษาการใช้แบคทีเรีย *B. toyoi* และ *Enterococcus faecium* มาใช้ในการลดการเกิดโรค Edwardsiellosis ในปลาไหลยุโรป (*Anguilla anguilla*) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. toyoi* และ *E. faecium* มีความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *E. tarda* ในการทดลองระดับ *in vitro* นอกจากนี้แบคทีเรียทั้งสองชนิดมีผลช่วยเร่งการเจริญเติบโตของปลา sheat (*Silurus glanis*) โดยใช้ปริมาณ $2x10^8$ cfu/อาหาร 1 กรัม เป็นเวลา 58 วัน พบว่าปลามีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้น 11 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

Vaseeharan and Ramasamy (2003) ทำการศึกษาการใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* BT23 ที่ได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำมาใช้ในการควบคุมเชื้อ *Vibrio* sp. พบว่าในชุดการทดลองที่มีการแช่เชื้อ *B. subtilis* BT23 ร่วมกับเชื้อ *Vibrio* sp. สามารถลดอัตราการตายสะสมจาก 60 เปอร์เซ็นต์ ในกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการใส่เชื้อ *B. subtilis* BT23 เป็น 32 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

Brunt and Austin (2005) ได้ศึกษาการใช้แบคทีเรียโปรไบโอติก *A. sobria* GC 2 ในการควบคุมโรค Lactococcosis และ Streptococcosis ในปลา rainbow trout โดยการให้ผสมอาหารที่ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากับ $5x10^7$ cell/กรัมเป็นเวลา 14 วัน พบว่าสามารถลดอัตราการตายของปลาลง จาก 75-100 เปอร์เซ็นต์ ให้เหลือเพียง 0-6 เปอร์เซ็นต์

นนทวิทย์ และคณะ (2549) ได้ศึกษาการทดลองใช้ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ที่แยกจากลำไส้ของกุ้งกุลาดำผสมอาหารให้กุ้งกินเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าการใช้เชื้อทั้ง 2 ชนิดร่วมกันที่ 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม สามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้นและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มทดลองอื่น ๆ และกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) และสามารถลดจำนวนเชื้อ *Vibrio* ในลำไส้ของกุ้งลงอย่างมีนัยสำคัญด้วยเช่นกัน