บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 ผลการเก็บข้อมูลเบื้องต้นของกลุ่มเป้าหมายและการเก็บตัวอย่างตัวอย่างปลานิลกระชังที่แสดงลักษณะของโรคคอลัมนาริส

เก็บข้อมูลเก็บเบื้องต้นของกลุ่มเป้าหมายและการเก็บตัวอย่างตัวอย่างปลานิลกระชังที่แสดงลักษณะของโรคคอลัมนาริส 5 แห่ง ดังนี้

Site I: ฟาร์มปลากระชังแม่น้ำมูล บ้านบุ่งกาแซว ของนายเลอ ดายา บ้านเลขที่ 41 ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี โดยเก็บตัวอย่างในเดือนเมษายน 2555 จำนวน 1 ครั้ง 20 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 876.75±69.43 กรัม และเก็บตัวอย่างเดือนมิถุนายน 2555 จำนวน 1 ครั้ง 20 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 18.26±3.47 กรัม รวมเป็น 40 ตัว โดยเป็นปลาที่มีลักษณะรอยโรคคือตัวด่าง เป็นแผลตะกอนสีเหลือง เกล็ดหลุด มีแผลตกเลือด บางตัวตาโปน บางตัวท้องบวม โดยปลาขนาดใหญ่เป็นปลาก่อนจับขายตายวันละ 10-20 ตัว ติดต่อกัน ปลาขนาดเล็กเป็นปลาที่ปล่อยใหม่ในช่วงเดือนแรก และตายวันละ 50-60 ตัวต่อบ่อ ติดต่อกันใน 1 สัปดาห์

Site II: ฟาร์มปลากระชังแม่น้ำมูล ของนายชาตรี ประดับเพชร บ้านเลขที่ 159 หมู่ 6 บ้านคูเดื่อ ตำบลแจระแม อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี โดยเก็บตัวอย่างในเดือนกรกฎาคม 2555 จำนวน 5 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 840±58.26 กรัมโดยเป็นปลาทับทิมที่มีลักษณะรอยโรคคือ ตัวด่าง ท้องบวม ตาโปน ตกเลือด โดยเป็นปลาขนาดใหญ่ก่อนจับขาย ตายวันละ 70-80 ตัวต่อบ่อติดต่อกันในเวลา 1 สัปดาห์ และเกษตรตัดสินใจขายปลากระชังทั้งหมดก่อนที่ปลาจะตายไปมากกว่านี้ อย่างไรก็ตามเกษตรยินดีทดลองใช้โพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลานิลกระชังในวงรอบของการเลี้ยงต่อไป

Site III: ฟาร์มปลานิลกระชังแม่น้ำมูล โดยเก็บตัวอย่างในเดือนเมษายน-มิถุนายน 2554 3 เดือนๆ ละ 1 ครั้งๆ ละ 10 ตัว รวมเป็น 30 ตัว โดยเป็นปลากระชังที่เลี้ยงในแม่น้ำมูลน้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 32.55±7.48 กรัม, 50.81±10.32 กรัม และ 95.13±78 กรัม โดยนางวรัญญา แก้วมหาวงศ์ บ้านเลขที่ 54 หมู่ 8 บ้านท่าลาด ตำบลห้วยขะยุง อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี เป็นผู้ประสานงานในการเก็บตัวอย่าง กระชังปลาที่เลือกเก็บตัวอย่างเป็นกระชังที่มีปลาตายโดยลักษณะที่แสดงคือ ตัวเหลืองหรือตัวด่าง เหงือกกร่อน ครีบกร่อน หางกร่อน และตายวันละ 30-40 ตัวต่อบ่อ ติดต่อกันประมาณ 2-3 สัปดาห์ จากนั้นก็เปลี่ยนไปตายในลักษณะเดียวกันนี้ในบ่อถัดไป อย่างไรก็ตามกลุ่มเกษตรยินดีทดลองใช้โพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลานิลกระชัง

Site IV: ฟาร์มปลานิลกระชังแม่น้ำชี ของนางพานทอง ทุมคำ บ้านเลขที่ 136 หมู่ 9 บ้านท่าไห ตำบลท่าไห อำเภอเขื่องใน จังหวัดอุบลราชธานี โดยเก็บตัวอย่างในเดือนเมษายน 2555 จำนวน 10 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 225.25±13.45 กรัม และเก็บตัวอย่างเดือนพฤษภาคม 2555 จำนวน 10 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 450.43±10.12 กรัม โดยเป็นปลาขนาด 2 เดือน ลักษณะที่แสดงคือ เกล็ดหลุดมีแผลตามลำตัว มีแผลตะกอนสีเหลือง เหงือกเปื่อย หางกร่อน

Site V: ฟาร์มปลากระชังลูกฟาร์มของ บริษัท เบทาโกรอุตสาหกรรม จำกัด ซึ่งใช้บริเวณเขื่อนสิรินธร บ้านสุขสำราญ ตำบลนิคมลำโดมน้อย และตำบลช่องเม็ก อำเภอสิรินธร จังหวัดอุบลราชธานี โดยมี นสพ.พิศิษฐ์ สุภาพ สัตวแพทย์วิชาการประจำสำนักงานอุบลราชธานี 62/2-4 ถนนเลี่ยงเมือง ตำบลแจระแม อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี เป็นผู้ประสานงาน โดยเก็บตัวอย่างในเดือนพฤษภาคม 2555 จำนวน 20 ตัว (เกษตรกรกลุ่มที่ 1) น้ำหนักเฉลี่ยตัวละ 21.45±6.78 กรัม และในเดือนสิงหาคม 2555 จำนวน 20 ตัว (เกษตรกรกลุ่มที่ 2) ขนาดเฉลี่ย 22.32±7.58 กรัม รวมทั้งหมด 40 ตัว โดยปลามีลักษณะตัวด่าง มีเมือกมาก ครีบกร่อน หางกร่อน มีแผลตะกอนสีเหลือง ทั้งสองกลุ่มเป็นปลาที่ปล่อยใหม่ในช่วงเดือนแรกและตายวันละ 40-50 ตัว ติดต่อกันใน 1 สัปดาห์ ซึ่งมีการใช้ยาปฏิชีวนะผสมในอาหารปลานิลเพื่อเป็นการรักษา อย่างไรก็ตาม บริษัท เบทาโกรอุตสาหกรรม จำกัด มีนโยบายให้เกษตรลดการใช้ยาปฏิชีวนะและได้ทำหนังสือลงวันที่ 3 กันยายน 2555 จากสำนักงานภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เพื่อขออนุญาตใช้โพรไบโอติกในโครงการปลานิลกระชังเขื่อนสิรินธร มายังมหาวิทยาลัยอย่างเป็นทางการ

5.2 ผลการคัดแยกเชื้อ *F. columnare* จากปลานิลกระชังที่มีอาการของโรคคอลัมนาริส

ผลการคัดแยกเชื้อ *F. columnare* จากปลานิลที่มีลักษณะของโรคคอลัมนาริส จากฟาร์มเลี้ยงปลานิลกระชังแม่น้ำมูล และฟาร์มเลี้ยงปลานิลในกระชังแม่น้ำชี และฟาร์มปลากระชังลูกฟาร์มของบริษัทเบทาโกรอุตสาหกรรม จำกัด จำนวน 135 ตัว โดยสวอบเชื้อจากแผลที่ผิวและเหงือกและนำมาคัดแยกให้บริสุทธิ์ บนอาหาร Cytophaga agar บ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่า คัดแยกได้เชื้อ *Flavobacterium* ที่มีสัณฐานวิทยาต่างกัน 2 สายพันธุ์ คือ

กลุ่มสายพันธุ์ I โคโลนีสีเหลืองมีลักษณะแห้ง มีการฝังติดกับผิวหน้าอาหารวุ้น ขอบโคโลนีไม่เรียบ เป็นไรซอยด์ สัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นเซลล์รูปท่อนผอมยาว ติดสีแกรมลบ ขนาดของเซลล์ 0.4 x 2-20 μm

กลุ่มสายพันธุ์ II โคโลนีสีเหลืองมีลักษณะมันวาว ผิวหน้าโคโลนีนูนสูง ขอบโคโลนีไม่เรียบ สัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นเซลล์รูปร่างท่อนผอมยาว ติดสีแกรมลบ ขนาดของเซลล์ 0.5 x 2-7 μm

5.3 ผลการจัดจำแนกเชื้อที่คัดแยกได้จากปลานิลกระชังที่แสดงลักษณะของโรคคอลัมนาริส

ผลการจัดจำแนกเชื้อกลุ่มสายพันธุ์ I และกลุ่มสายพันธุ์ II โดยทดสอบสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อที่คัดแยกได้ทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าเชื้อทั้ง 2 กลุ่มไม่ผลิตอะซีโตอีนและอินโดล ไม่เกิดปฏิกิริยาการหมัก ผลิตเอนไซม์คะตาเลสและออกซิเดส ผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ ย่อยเคซีนและเจลาติน ไม่ย่อยแป้ง ไม่ใช้น้ำตาลกลูโคส แมนนิทอลและแลกโตส ซึ่งเชื้อกลุ่มสายพันธุ์ I มีสมบัติตรงกับ *F. columnare* ของ Kubilay และคณะ (2008) และเชื้อกลุ่มสายพันธุ์ II มีสมบัติตรงกับ *F. psychrophilum* ของ AFS-FHS Blue Book (2007)

5.4 ผลการทดสอบความไวต่อสารปฏิชีวนะของเชื้อกลุ่มสายพันธุ์ I ที่คัดแยกได้

นำเชื้อที่คัดแยกได้จากปลานิลกระชังที่แสดงลักษณะของโรคคอลัมนาริส มาทดสอบความไวต่อสารปฏิชีวนะ 6 ชนิด เปรียบเทียบกับเชื้อ *F. columnare* ของ Kubilay และคณะ (2008) พบว่า เชื้อที่คัดแยกได้ไวต่อ Streptomycin (25 μg), Kanamycin (30 μg), และ Cotrimoxazole (10 μg) โดยวัดรัศมีบริเวณใสได้ 8, 5 และ10 มิลลิเมตร ตามลำดับ เชื้อที่คัดแยกได้ไม่ไวต่อ Oxalicilin (10 μg), Penicillin (10 μg) และ Colistin (10 μg) เนื่องจากไม่สร้างรัศมีบริเวณใสรอบแผ่นสารปฏิชีวนะดังกล่าว

จากผลการทดสอบสมบัติของเชื้อที่คัดแยกได้ทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี และความไวต่อสารปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อที่คัดแยกได้มีสมบัติตรงกับ *F. columnare* จึงกำหนดรหัสเชื้อที่คัดแยกได้เป็น *F. columnare* UBRU1 เพาะเลี้ยงในอาหาร Cytophaga agar stant บ่มที่ 25 °C เป็นเวลา 7 วัน ปิดทับด้วย Mineral oil ที่ปลอดเชื้อเก็บรักษาไว้ที่ 4 °C จนกว่าจะใช้งานจึงกระตุ้นเชื้อให้เจริญในอาหาร Cytophaga agar

5.5 ผลการคัดแยก *Bacillus* spp. จากตัวอย่างไส้ปลานิล อาหาร ดินและแบคทีเรียบำบัดน้ำ

5.5.1 ผลการคัดแยก *Bacillus* spp. จากตัวอย่างไส้ปลาซึ่งเป็นปลานิลที่เก็บตัวอย่างจาก Site I, II, III, IV และ V ที่แสดงอาการของโรคคอลัมนาริสรวมจำนวน 135 ตัว พบว่าสามารถคัดแยกได้เชื้อ *Bacillus* spp. จากตัวอย่างไส้ปลาที่มีลักษณะต่างกัน จำนวน 34 ไอโซเลต ผลการคัดแยก *Bacillus* spp. จากตัวอย่างอาหาร 11 ตัวอย่าง สามารถคัดแยกได้เชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีลักษณะต่างกันจากตัวอย่างอาหารได้ 38 ไอโซเลต ผลการคัดแยก *Bacillus* spp. จากตัวอย่างดิน 12 แหล่ง สามารถคัดแยกได้เชื้อ *Bacillus* spp. ที่มีลักษณะต่างกันจากตัวอย่างดินได้ 39 ไอโซเลต ผลการคัดแยก *Bacillus* spp. จากตัวอย่างแบคทีเรียบำบัดน้ำ (แบคทีเรียบรรจุกระป๋องที่มีชื่อทางการค้าว่า Aquariuma) จากบริษัท Aquariuma ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่า สามารถคัดแยกได้เชื้อ *Bacillus* spp. จากตัวอย่างแบคทีเรียบำบัดน้ำที่มีลักษณะต่างกันได้ 7 ไอโซเลต รวม *Bacillus* spp. ที่คัดแยกได้ทั้งหมดจำนวน 118 ไอโซเลต

5.5.2 ผลการคัดเลือก *Bacillus* spp. ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* โดยวิธี Spot on lawn และ Agar well diffusion พบว่า ตัวอย่าง *Bacillus* spp. ที่คัดแยกได้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* โดยแสดงรัศมีบริเวณใสต่อต้านการเจริญได้ทั้งหมด 20 ไอโซเลต ดังนี้

1) *Bacillus* spp. จากไส้ปลานิลจำนวน 6 ไอโซเลต กำหนดรหัสเป็น *Bacillus* sp. UBRU5, *Bacillus* sp. UBRU6, *Bacillus* sp. UBRU20, *Bacillus sp.* UBRU21, *Bacillus* sp. UBRU22 และ *Bacillus* sp. UBRU24 ซึ่งวัดรัศมีบริเวณใสได้ 5.0±0.3, 1.0±0.3, 5.1±0.2, 5.0±0.1, 5.3±0.2 และ 4.9±0.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ

2) *Bacillus* spp. จากอาหารจำนวน 7 ไอโซเลต กำหนดรหัสเป็น *Bacillus* sp. UBRU7, *Bacillus* sp. UBRU8, *Bacillus* sp. UBRU9, *Bacillus* sp. UBRU10, *Bacillus* sp. UBRU11, *Bacillus* sp. UBRU23 และ *Bacillus* sp. UBRU12 ซึ่งวัดรัศมีบริเวณใสได้ 3.0±0.2, 3.0±0.2, 3.0±0.2, 4.5±0.0, 3.0±0.2, 4.8±0.2 และ 2.5±0.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ

3) *Bacillus* spp. จากดินจำนวน 3 ไอโซเลต กำหนดรหัสเป็น *Bacillus* sp. UBRU13 (ภาพที่ 4.1), *Bacillus* sp. UBRU14 และ *Bacillus* sp. UBRU15 ซึ่งวัดรัศมีบริเวณใสได้ 6.0±0.2, 3.5.±0.2 และ 3.5.±0.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ

4) *Bacillus* spp. จากแบคทีเรียบำบัดน้ำจำนวน 4 ไอโซเลต กำหนดรหัสเป็น *Bacillus* sp. UBRU16, *Bacillus* sp. UBRU17, *Bacillus* sp. UBRU18 และ *Bacillus* sp. UBRU19 ซึ่งวัดรัศมีบริเวณใสได้ 1.5±0.5, 3.0±0.2, 3.0±0.2, และ 2.0±0.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ

5.5.3 ผลการใช้ *Bacillus* ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* ได้เพื่อใช้ยับยั้งการเจริญของ *F. columnare*

ผลการใช้ *Bacillus* spp. ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *A. hydrophila* จำนวน20 ไอโซเลต เพื่อใช้ยับยั้งการเจริญของ *F. columnare* UBRU1 โดยวิธี Spot on lawn พบว่า ตัวอย่าง *Bacillus* spp. ที่คัดแยกได้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. columnare* UBRU1 โดยการสร้างบริเวณใสต่อต้านการเจริญได้ทั้งหมด 6 ไอโซเลต ดังนี้

1) *Bacillus* spp. จากตัวอย่างไส้ปลานิลจำนวน 4 ไอโซเลต ซึ่งมีรหัสเป็น *Bacillus* sp. UBRU20*, Bacillus sp.* UBRU21, *Bacillus* sp. UBRU22 และ *Bacillus* sp. UBRU24 ซึ่งวัดรัศมีบริเวณใสได้ 12.0±0.2, 14.0±0.1, 20±0.0 และ 15.0±0.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ

2) *Bacillus* spp. จากตัวอย่างอาหารจำนวน 1 ไอโซเลต ซึ่งมีรหัสเป็น *Bacillus* sp. UBRU23 ซึ่งวัดรัศมีบริเวณใสได้ 4.8±0.2 มิลลิเมตร

3) *Bacillus* spp. จากตัวอย่างดินจำนวน 1 ไอโซเลต ซึ่งมีรหัสเป็น *Bacillus* sp. UBRU13 ซึ่งวัดรัศมีบริเวณใสได้ 4.8±0.2 มิลลิเมตร

5.6 ผลการจัดจำแนกเชื้อ *Bacillus* sp. UBRU22 ตามลักษณะสัณฐานวิทยาและชีวเคมีเปรียบเทียบกับ *B. licheniformis* TISTR 004

เมื่อนำ *Bacillus* sp. UBRU22 ที่คัดเลือกได้และ *B. licheniformis* TISTR 004 มาจัดจำแนกตามลักษณะสัณฐานวิทยาและทางชีวเคมีในระดับ species ตาม Bergey's Manual of Determinative Bacteriology พบว่า ทั้ง *Bacillus* sp. UBRU22 และ *B. licheniformis* TISTR 004 มีขนาดความกว้างของเซลล์ ≤ 1 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ สร้างเอนไซม์ catalate ผลิต acetoin รีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ สามารถใช้ Citrate เป็นแหล่งคาร์บอน เจริญในอาหารที่มี 6.5% NaCl ได้ และย่อยแป้งได้ กล่าวได้ว่า *Bacillus* sp. UBRU22 มีสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีตรงกับ *B. licheniformis* TISTR 004

5.7 ผลการศึกษาการขยายเชื้อโดยหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. UBRU22 ในอาหารสังเคราะห์

5.7.1 ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Bacillus* sp. UBRU22 บนอาหาร Tryptic soy broth โดยปรับอุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็น 25, 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า *Bacillus* sp. UBRU22 เจริญในอาหาร Tryptic soy broth จำนวนสูงสุดไปหาต่ำสุดที่อุณหภูมิ 37, 30, 25 และ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งนับจำนวนเชื้อได้ $8.0\pm0.6x10^6$, $7.3\pm0.3x10^6$, $5.5\pm0.7x10^6$ และ $3.8\pm1.0x10^6$ CFU/mL ตามลำดับ

5.7.2 การศึกษาผลของ pH ต่อการเจริญของ *Bacillus* sp. UBRU22 บนอาหาร Tryptic soy broth โดยปรับ pH ของอาหารให้เป็น 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5 ถ่ายกล้าเชื้อลงและบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ค่า pH ที่ส่งผลให้เชื้อ *Bacillus* sp. UBRU22 เจริญได้จากสูงสุดไปหาต่ำสุด คือ pH 6.0, 5.5, 7.0, 6.5 และ 7.5 ซึ่งนับจำนวนเชื้อได้ $1.14\pm0.1x10^7$, $1.09\pm0.09x10^7$, $8.3\pm0.9x10^6$, $7.3\pm0.3x10^6$ และ $4.5\pm0.9x10^6$ CFU/mL ตามลำดับ

5.8 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. UBRU22 ในอาหารดัดแปลงแบบอาหารเหลว

5.8.1 ผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของนมถั่วเหลืองยูเอชที (แลกตาซอย) ต่อการเจริญของ *Bacillus* sp. UBRU22 โดยละลายนมถั่วเหลืองในน้ำกลั่นตามความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, 15, 20, 25 และ 100 ด้วยวิธีปลอดเชื้อถ่ายกล้าเชื้อลงและบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง พบว่า *Bacillus* sp. UBRU22 เจริญในอาหารดัดแปลงจากนมถั่วเหลืองยูเอชที จำนวนสูงสุดไปหาต่ำสุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 100, 25, 20, 15, 10 และ 5 โดยนับจำนวนเชื้อได้ $2.3\pm0.1x10^9$, $7.9\pm0.7x10^7$, $2.4\pm0.2x10^7$, $7.2\pm0.7x10^6$, $6.0\pm0.6x10^6$, $2.55\pm0.45x10^6$ CFU/mL ตามลำดับ

5.8.2 ผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของการใช้อาหารปลาชนิดเม็ดแบบลอยน้ำเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแบบเหลว ต่อการเจริญของ *Bacillus* sp. UBRU22 โดยละลายอาหารปลานิลชนิดเม็ดในน้ำกลั่นตามความเข้มข้นร้อยละ 1, 2, 3, 4 และ 5 ด้วยวิธีปลอดเชื้อถ่ายกล้าเชื้อลง บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง พบว่า *Bacillus* sp. UBRU22 เจริญในอาหารดัดแปลงจากอาหารปลาชนิดเม็ดแบบลอยน้ำ จำนวนสูงสุดไปหาต่ำสุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 5, 4, 3, 2 และ 1 โดยนับจำนวนเชื้อได้ $8.3\pm0.7x10^7$, $5.1\pm0.3x10^7$, $4.6\pm0.2x10^7$, $5.2\pm1.2x10^6$, $4.1\pm1.1x10^6$ CFU/mL ตามลำดับ

5.9 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. UBRU22 ในอาหารดัดแปลงแบบอาหารแข็ง

5.9.1 ผลการศึกษาความชื้นที่เหมาะสมของอาหารข้าวสุกดัดแปลงโดยใช้อาหารปลาชนิดเม็ดแบบลอยน้ำร้อยละ 5 ผสมกับข้าวเจ้าและหุงให้สุกจากนั้นปรับความชื้นของอาหารข้าวสุกดัดแปลง ให้มีความชื้นที่ระดับร้อยละ 60, 65, 70 และ 75 ด้วยวิธีปลอดเชื้อถ่ายกล้าเชื้อลงและบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง พบว่า ความชื้นที่เหมาะสมของอาหารข้าวสุกดัดแปลงมีการเจริญของ *Bacillus* sp. UBRU22 จำนวนสูงสุดไปหาต่ำสุดที่ร้อยละ 70, 75, 65 และ 60 โดยนับจำนวนเชื้อได้ $1.8\pm1.8x10^{10}$, $8.1\pm0.6x10^{9}$, $3.1\pm0.1x10^{9}$, $1.79\pm0.25x10^{9}$ CFU/mL ตามลำดับ

5.9.2 ผลการศึกษาปริมาณเกลือของอาหารข้าวสุกดัดแปลงโดยเติมเกลือที่ระดับร้อยละ 1, 2, 3, และ 4 ด้วยวิธีปลอดเชื้อถ่ายกล้าเชื้อลง และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณเกลือที่เหมาะสมของอาหารข้าวสุกดัดแปลงมีการเจริญของ *Bacillus* sp. UBRU22 จำนวนสูงสุดไปหาต่ำสุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 3, 2, 4 และ 1 โดยนับจำนวนเชื้อได้ $1.39\pm0.65x10^{10}$, $1.21\pm0.5x10^{10}$, $7.2\pm1.3x10^{9}$, $3.9\pm1.2x10^{9}$ CFU/g ตามลำดับ (ตารางที่ 4.12)

วิธีการขยายเชื้อให้ได้ปริมาณมากเพื่อนำไปใช้จริงในฟาร์มปลา คือ เพาะเลี้ยงกล้าเชื้อในอาหารดัดแปลงข้าวสุกแล้วถ่ายเชื้อลงในอาหารดัดแปลงนมถั่วเหลืองยูเอชทีร้อยละ 25 หรือถ่ายเชื้อลงในสารละลายอาหารปลาร้อยละ 5 ที่มีเกลือร้อยละ 3 โดยให้อากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนนำไปผสมอาหารปลา 20 เท่า (ปริมาตร/น้ำหนัก) เพื่อให้ปลากินรักษาโรค

5.10 ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาเชื้อ *Bacillus* sp. UBRU22

5.10.1 เพาะเชื้อ *Bacillus* sp. UBRU22 ในอาหารข้าวสุกดัดแปลงที่เติมเกลือร้อยละ 3 บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่งโมง นำเชื้อไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3, 7, 14 และ 30 วัน พบว่า มี *Bacillus* sp.UBRU22 ที่มีชีวิตในอาหารดัดแปลงข้าวสุก ที่เวลา 0, 3, 7, 14 และ 30 วัน จำนวน $2.46\pm0.21x10^{10}$, $1.24\pm1.32x10^{10}$, $8.40\pm2.73x10^{9}$, $6.28\pm0.59x10^{8}$ และ $5.96\pm3.48x10^{4}$ CFU/g ตามลำดับ

5.10.2 เพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. UBRU22 ในอาหารข้าวสุกดัดแปลงที่เติมเกลือร้อยละ 3 บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง นำเชื้อไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนับจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ ที่เวลา 0, 3, 7, 14 และ 30 วัน พบว่า มีบาซิลลัสที่เหลือรอดในอาหารข้าวสุกดัดแปลงที่เติมเกลือร้อยละ 3 ที่เวลา 0, 3, 7, 14 และ 30 วัน จำนวน $1.22\pm0.24x10^{10}$, $1.01\pm0.35x10^{9}$, $1.96\pm2.47x10^{6}$, $7.0\pm4.12x10^{3}$ และ $9.3\pm0.58x10^{1}$ CFU/g ตามลำดับ

5.11 ผลของการใช้ *S. cerevisiae* เป็นโพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลานิลระดับห้องปฏิบัติการ

ใช้ปลานิลน้ำหนักประมาณ 40~50 กรัม จำนวน 450 ตัว จากฟาร์มปลานิลเครือข่ายบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ จำกัด อำเภอสว่างวีระวงศ์ จังหวัดอุบลราชธานี นำไปเลี้ยงในห้องทดลอง ณ สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี แบ่งปลานิลเป็น 3 กลุ่มการทดลองๆ 3 ซ้ำๆ ละ 50 ตัว และให้โพรไบโอติก ดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1 (T1) อาหารปลา

กลุ่มทดลองที่ 2 (T2) อาหารปลา + 10^9 CFU *S. cerevisiae* ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

กลุ่มทดลองที่ 3 (T3) อาหารปลา + 0.05% Oxytetracycline

เลี้ยงปลาเป็นเวลา 30 วันและตรวจวัดค่าอัตราการรอด อัตราการเจริญ ค่าทางโลหิตวิทยา และการเกิดไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง พบว่า T1, T2 และ T3 มีอัตราการรอดสูงโดยวัดได้ร้อยละ 99.5±0.5, 98.2±0.0 และ 99.55±0.45 ตามลำดับ กลุ่มการทดลอง T2 และกลุ่มการทดลอง T3 มีอัตราการเจริญสูงกว่ากลุ่มควบคุม T1 อย่างมีนัยสำคัญ โดยกลุ่มการทดลอง T2 มีอัตราการเจริญสูงสุดโดยมีค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อวัน คือ T1 (3.02±0.03 g/d), T2 (5.23±0.19 g/d) และ T3 (4.59±0.15 g/d) และค่าอัตราการแลกเนื้อ คือ T1 (1.79±0.14), T2 (1.12±0.04) และ T3 (1.60±0.02) การใช้โพรไบโอติก (T2) และการใช้ Oxytetracycline (T3) ทำให้ค่า %Lymphocytes และปริมาณเม็ดเลือดขาว แตกต่างกันและแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ปริมาณเม็ดเลือดแดง เกล็ดเลือด ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นใน T2 (16.1±1.02) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จาก T1 (23.6±2.52) และ T3 (21.0±0.09) การเกิดไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดงของแต่ละกลุ่มการทดลองให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

5.12 ผลของการใช้ *S. cerevisiae* เป็นโพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลานิลในกระชังระดับภาคสนาม

ใช้ปลานิลน้ำหนักประมาณ 40~50 กรัม จำนวน 9,000 ตัว เลี้ยงในแม่น้ำชี ขนาดกระชัง 3 x 6 x 3 เมตร แบ่งปลานิลเป็น 2 กลุ่มการทดลองๆ 2 ซ้ำๆ ละ 1,500 ตัว เลี้ยงปลาให้ปรับตัวเป็นเวลา 14 วัน และให้โพรไบโอติก ดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1 (T1) อาหารปลา

กลุ่มทดลองที่ 2 (T2) อาหารปลา + 10^9 CFU *S. cerevisiae* ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

เลี้ยงปลาเป็นเวลา 120 วันและตรวจวัดค่า อัตราการรอด อัตราการเจริญ ค่าทางโลหิตวิทยา และการเกิดไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง พบว่า กลุ่มควบคุม (T1) และกลุ่มที่ใช้ *S. cerevisiae* (T2) มีอัตราการรอดเป็นร้อยละ 80.9±0.5 และ 87.65±0.1 ตามลำดับ โดยที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กลุ่มการทดลอง T2 มีอัตราการเจริญสูงกว่า T1 คือ มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อวันเป็น 6.62±0.01

g/d และ 6.33±0.01 g/d ตามลำดับ และค่าอัตราการแลกเนื้อ คือ T1 (1.63±0.02) และ T2 (1.57±0.01) ทำให้ค่า %Lymphocytes และเม็ดเลือดแดงของ T1 และ T2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือดและไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดงของแต่ละกลุ่มการทดลองให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

5.13 ผลของการใช้ *Bacillus* sp. UBRU22 เป็นโพรไอติกในการเพาะเลี้ยงปลานิลระดับห้องปฏิบัติการ

ใช้ปลานิลน้ำหนักประมาณ 40~50 กรัม จำนวน 300 ตัว นำไปเลี้ยงในห้องทดลอง ณ สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ แบ่งปลานิลเป็น 3 กลุ่มการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว และให้โพรไบโอติก ดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1 (T1) อาหารปลา

กลุ่มทดลองที่ 2 (T2) อาหารปลา + 10^9 CFU *Bacillus* sp. UBRU22 ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

กลุ่มทดลองที่ 3 (T3) ให้อาหารปลา + 0.05% Oxytetracycline

เลี้ยงปลาเป็นเวลา 30 วันและตรวจวัดค่า อัตราการรอด อัตราการเจริญ ค่าทางโลหิตวิทยา และการเกิดไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง พบว่า T1, T2 และ T3 มีอัตราการรอดร้อยละ 66.66±13.34, 86.67±6.66 และ 73.34±6.66 ตามลำดับ โดยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (T2) และ (T3) มีอัตราการเจริญสูงกว่ากลุ่มควบคุม (T1) อย่างมีนัยสำคัญ กลุ่มการทดลอง T2 มีอัตราการเจริญสูงสุดโดยพบได้จากค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อวัน คือ T1 (3.56±0.10 g/d), T2 (4.97±0.13 g/d) และ T3 (4.57±0.14 g/d) และค่าอัตราการแลกเนื้อคือ T1 (1.72±0.14), T2 (1.22±0.14) และ T3 (1.58±0.02) การใช้โพรไบโอติก (T2) และการใช้ Oxytetracycline (T3) ทำให้ค่า %Lymphocytes ปริมาณเม็ดเลือดขาว ปริมาณเกล็ดเลือด และการเกิดไมโครนิวเคลียสไม่แตกต่างกันและแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญโดย T1 วัดได้ 99.0±0.50; 595.85±75.06; 59.75±34.42 และ 0.52±0.03, T2 วัดได้ 99.33±0.67; 565.96±31.13; 53.4±20.18 และ 0.49±0.03 และ T3 วัดได้ 99.33±0.67; 463.56±209.08; 74.5±51.33และ 0.51±0.04 ตามลำดับ ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น T1 วัดได้ 28.67±2.72, T2 วัดได้ 25.82±2.47 และ T3 วัดได้ 14.35±10.25 ตามลำดับ

5.14 ผลการต้านทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* และ *F. columnare* ของปลานิลที่ใช้ *Bacillus* sp. UBRU22 เป็นโพรไบโอติกในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Challenge test

นำปลานิลที่ให้ *Bacillus* sp. UBRU22 กับ 0.05% Oxytetracycline มาทดสอบการต้านทาน (Challenge test) ต่อเชื้อ *A. hydrophila* และ *F. columnare* โดยการฉีดเชื้อผสมแบบ

Intraperitoneal พบว่า ค่าแอนติบอดีไตเตอร์ของปลานิล ก่อนการฉีดเชื้อของกลุ่มการทดลองที่ใช้ *Bacillus* sp. UBRU22 (T2) มีค่าสูงสุด รองลงมาคือ กลุ่มการทดลองที่ใช้ 0.05% Oxytetracycline (T3) และ กลุ่มควบคุม (T1) โดยวัดได้ 8.0±0.0, 5.0±0.0 และ 2.33±0.67 ตามลำดับ และหลังจากการฉีดเชื้อ 7 วัน ค่าของแอนติบอดีไตเตอร์ และอัตราการรอดที่วัดได้สูงสุด คือ T2 (8.33±0.58; 64.92±5.27) รองลงมาคือ T3 (6.33±0.58; 28.58±9.53) และสำหรับ T1 ปลาตายทั้งหมด ส่วนค่าทางโลหิตวิทยาของ T2 และ T3 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

5.15 ผลของการใช้เชื้อ *Bacillus* sp. UBRU22 เป็นโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงปลานิลกระชัง

ใช้ปลานิลน้ำหนักประมาณ 30-40 กรัม จำนวน 1,000 ตัว นำไปเลี้ยงในกระชังโดย แบ่งปลานิลออกเป็น 3 กลุ่มการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 100 ตัว และให้โพรไบโอติก ดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1 (T1) อาหารปลา (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มทดลองที่ 2 (T2) อาหารปลา + 10^9 CFU *B. licheniformis* TISTR 004 ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

กลุ่มทดลองที่ 3 (T3) อาหารปลา + 10^9 CFU *Bacillus* sp. UBRU22 ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 21 วันและตรวจวัดค่า อัตราการเจริญ อัตราการรอด ค่าทางโลหิตวิทยา และการเกิดไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง พบว่า T1, T2 และ T3 มีอัตราการรอดสูงโดยวัดได้ร้อยละ 99.50±0.5, 99.82±0.18 และ 100±0.0 ตามลำดับ โดยที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กลุ่มการทดลอง T2 และ T3 มีอัตราการเจริญต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (T1) อย่างมีนัยสำคัญ โดย T1 มีอัตราการเจริญสูงสุดโดยพบได้จากค่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อวัน คือ T1 (6.41±0.63 g/d), T2 (3.74±0.1 g/d) และ T3 (3.39±0.88 g/d) และค่าอัตราการแลกเนื้อวัดได้ T1 (1.35±0.07), T2 (1.77±0.15) และ T3 (1.81±0.05) การใช้โพรไบโอติก (T3) และ (T2) ทำให้ค่า %Lymphocytes แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณเม็ดเลือดขาว การเกิดไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดงของแต่ละกลุ่มการทดลองให้ผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณเม็ดเลือดแดงของ T1, T2 และ T3 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและเกล็ดเลือดของ T3 แตกต่างจาก T2 และ T1 อย่างมีนัยสำคัญ

5.16 ผลการต้านทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* และ *F. columnare* ของปลานิลกระชังที่ใช้ *B. licheniformis* TISTR 004 และ *Bacillus* sp. UBRU22 เป็นโพรไบโอติกแบบ Challenge test

เลือกปลานิลจาการทดลองที่ใช้ *B. licheniformis* TISTR 004 และ *Bacillus* sp. UBRU22 เป็นโพรไบโอติก กลุ่มละ 30 ตัว มีน้ำหนักระหว่าง 60-70 กรัม มาเลี้ยงในกระชังเล็กขนาด 1 x 1 x

3 เมตร และทดสอบการต้านทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* และ *F. columnare* โดยการฉีดเชื้อผสมแบบ Intraperitoneal พบว่า ค่าแอนติบอดีไตเตอร์ของปลานิลก่อนการฉีดเชื้อใน T3 และ T2 มีค่าสูงสุด รองลงมาคือ กลุ่มควบคุม (T1) โดยวัดได้ 8.0±0.0, 8.0±0.0 และ 3.0±0.0 ตามลำดับ และหลังจากการฉีดเชื้อ 7 วัน ค่าของแอนติบอดีไตเตอร์ที่วัดได้สูงสุด คือ T3 (8.66±0.58) รองลงมาคือ T2 (8.33±0.58) และ T1 (5.0±0.0) การเกิดไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดงของแต่ละกลุ่มการทดลองมีผลที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญใน T1, T2 และ T3 ซึ่งวัดได้ร้อยละ 0.48±0.12, 0.56±0.08 และ 0.53±0.07 ตามลำดับ อัตราการรอดหลังจากฉีดเชื้อ *A. hydrophila* และ *F. columnare* เป็นเวลา 7 วัน ที่สูงสุด คือ T2 รองลงมา คือ T3 และ T1 มีค่าเป็นร้อยละ 86.7±0.0, 73.4±1.09 และ 13.4±0.5 ตามลำดับ

5.17 ผลการถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้โพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลาเศรษฐกิจ

ผลการถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้โพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลานิลและปลาเศรษฐกิจโดยจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการให้แก่กลุ่มเป้าหมายดังนี้ดังนี้

5.17.1 กลุ่มปลากระชังบ้านท่าไห ซึ่งเป็นกระชังต้นแบบที่มีการใช้ *S. cerevisiae* และ *Bacillus* sp. UBRU22 เป็นโพรไบโอติกในช่วงเดือนมิถุนายน ถึงสิงหาคม 2555 ซึ่งพบว่า การใช้โพรไบโอติก *Bacillus* ช่วยรักษาโรคระบาดจากแบคทีเรียในปลานิลได้โดยมีอัตราการรอดถึงร้อยละ 86.7±0.0 ในขณะที่ปลานิลกลุ่มที่ไม่ใช้โพรไบโอติกรอดตายเพียงร้อยละ 13.4±0.5 และพบว่าการใช้โพรไบโอติกยีสต์ช่วยให้ปลานิลเติบโตมากกว่าการไม่ใช้โพรไบโอติกโดยมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวันเป็น 6.62±0.0 กรัม ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ใช้โพรไบโอติกมีน้ำหนักเป็น 6.33±0.01 กรัม เมื่อจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่องการใช้โพรไบโอติกในปลาเศรษฐกิจ ในวันที่ 1-2 ตุลาคม 2555 พบว่ามีผู้เข้าร่วมการอบรม 17 คน ผลการประเมินของผู้เข้าอบรมที่มีต่อการอบรมครั้งนี้พบว่า มีความรู้เพิ่มขึ้น มีความต้องการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงปลาทดแทนสารปฏิชีวนะและมีความพึงพอใจมากถึงมากที่สุดร้อยละ 100

5.17.2 กลุ่มไร่นาสวนผสม บ้านหนองไฮ ตำบลหนองไฮ อำเภอสำโรง จังหวัดอุบลราชธานี โดยมีคุณศักดินา นักรำ เป็นหัวหน้ากลุ่ม กลุ่มได้เพาะเลี้ยงปลาจากลูกปลาขนาดเล็กหรือเรียกว่าปลาเซนต์ และอนุบาลจนเป็นปลารุ่นหรือเรียกว่าปลานิ้ว โดยเพาะเลี้ยงในบ่อดิน มีวงรอบการเพาะเลี้ยงประมาณ 60 วัน ก่อนจับขายให้แก่เจ้าของกระชังในเขตอำเภอดอนมดแดง ซึ่งมารับซื้อเองในฟาร์ม ปัญหาของกลุ่มคือ พบว่าลูกปลาเซนต์ที่นำมาอนุบาลนั้นจะเหลือรอดประมาณร้อยละ 10-20 โดยพบว่าลูกปลาจะเริ่มหมุนควงสว่านในช่วงที่เพาะเลี้ยงไปได้ประมาณ 45 วัน และทยอยตายจากอาการตัวด่างหรือท้องบวม เนื่องจากกลุ่มนี้เป็นกลุ่มตัวอย่างทำเกษตรอินทรีย์

และเป็นสถานที่อบรมเกษตรกร กลุ่มจึงไม่ได้ใช้สารปฏิชีวนะในการรักษาโรคทำให้ได้ผลผลิตต่ำ ในเดือนมิถุนายน 2555 กลุ่มพบการเกิดโรคระบาดในปลานิลซึ่งมีลักษณะเป็นการติดเชื้อกลุ่ม *A. hydrophila* และ *F. columnare* จึงแนะนำวิธีการขยายเชื้อและการใช้เชื้อโพรไบโอติกให้แก่หัวหน้ากลุ่มและสมาชิกบางส่วนได้ใช้งานเพื่อแก้ปัญหาปลาตาย จากนั้นจึงจัดอบรมการใช้โพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลาเศรษฐกิจให้แก่กลุ่มใหญ่อีกครั้ง พบว่ามีผู้เข้าร่วมอบรม 23 คน ผลการประเมินของผู้เข้าอบรมที่มีต่อการอบรมครั้งนี้พบว่า มีความรู้เพิ่มขึ้น มีความต้องการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงปลาทดแทนสารปฏิชีวนะ และมีความพึงพอใจมากถึงมากที่สุดร้อยละ 100 เมื่อกลุ่มสามารถใช้โพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลานิลในบ่อดินแล้ว พบว่าผลผลิตของกลุ่มที่ได้ทดลองใช้โพรไบโอติกบาซิลัสรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียแล้วนั้น เมื่อเก็บผลผลิตในวันที่ 20 ตุลาคม 2555 สามารถเก็บผลผลิตได้ร้อยละ 60-80

5.17.3 กลุ่มลูกฟาร์มปลากระชัง บริษัท เบทาโกรอุตสาหกรรม จำกัด โดยมีนายสัตวแพทย์พิศิษฐ์ สุภาพ เป็นผู้ประสานงานโดยในเดือนพฤษภาคม 2555 ผู้ประสานงานพบการเกิดโรคระบาดในปลานิลกระชังของเกษตรกรซึ่งเป็นลูกฟาร์มจึงเก็บตัวอย่างเข้ามาวินิจฉัยเชื้อก่อโรคในห้องปฏิบัติการสาขาจุลชีววิทยา ผลการตรวจวิเคราะห์เชื้อจากรอยโรคพบว่าปลาติดเชื้อกลุ่ม *A. hydrophila* และ *F. columnare* ระหว่างนี้ได้มีการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคไปแล้ว จึงจัดอบรมการใช้โพรไบโอติก *Bacillus* เพื่อรักษาโรคให้กลุ่มเกษตรกรลูกฟาร์มและกลุ่มผู้ประสานงานในวันที่ 18-19 สิงหาคม 2555 มีผู้เข้าอบรม 23 คน โดยบริษัทได้ทำเรื่องขอใช้โพรไบโอติกมายังมหาวิทยาลัยอย่างเป็นทางการ เกษตรกรลูกฟาร์มของบริษัทได้ทดลองใช้โพรไบโอติก *Bacillus* รักษาโรคระบาดในกระชังปลาตั้งแต่วันที่ 18 สิงหาคม 2555 จำนวน 2 กลุ่ม โดยเปรียบเทียบกับการใช้ยาปฏิชีวนะและพบว่า ผลการใช้โพรไบโอติก *Bacillus* พบว่าสามารถรักษาโรคได้ดีกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะ โดยจากเดิมที่ปลาในกระชังตายวันละประมาณ 100 ตัว ก็จะตายลดลงเหลือประมาณร้อยละ 50 ของการตายในวันก่อน ณ วันที่สองของการใช้เชื้อจนกระทั่งปลาไม่ตายภายใน 7 วันของการใช้เชื้อ และพบว่าปลาที่ใช้โพรไบโอติกมีอัตราการรอดมากกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะ ผลการประเมินของผู้เข้าอบรมที่มีต่อการอบรมพบว่า มีความรู้เพิ่มขึ้น มีความต้องการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงปลาทดแทนสารปฏิชีวนะ และมีความพึงพอใจมากถึงมากที่สุดร้อยละ 100

5.17.4 กลุ่มปลากระชังบ้านบุ่งกาแซว ซึ่งมีการเลี้ยงปลาทั้งแบบอนุบาลและแบบปลาตลาด เกษตรกรพบปัญหาการเกิดโรคระบาดเป็นระยะและมีการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นประจำในปริมาณมาก ในเดือนมิถุนายน 2555 เมื่อเกษตรกรทดลองใช้โพรไบโอติกรักษาโรคระบาดแล้วพบว่าการใช้โพรไบโอติกจะให้ผลกับปลาอนุบาลดีกว่าปลาตลาด ซึ่งเป็นผลมาจากผลของสารปฏิชีวนะที่ใช้กับปลาตลาดมาก่อนไปยับยั้งการเจริญของโพรไบโอติก ซึ่งทำให้การใช้โพรไบโอติก

กับปลาขนาดใหญ่ได้ผลไม่ดีเท่ากับการใช้โพรไบโอติกในปลาขนาดเล็กที่ยังไม่ใช้ยาปฏิชีวนะ โดยที่พบว่าถ้าใช้ยาปฏิชีวนะในช่วงมีโรคระบาดปลาจะตายรวมแล้วประมาณร้อยละ 60 เมื่อทดลองใช้โพรไบโอติกทดแทนยาปฏิชีวนะปลาจะตายรวมแล้วประมาณร้อยละ 40 สมาชิกของกลุ่มยินดีเข้าร่วมโครงการใช้โพรไบโอติกเพาะเลี้ยงปลานิลกกระชังเพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะต่อไป จึงจัดอบรมการใช้โพรไบโอติกในปลาเศรษฐกิจให้แก่เกษตรกรจำนวน 6 คน ในวันที่ 20 ตุลาคม 2555 ผลการประเมินของผู้เข้าอบรมที่มีต่อการอบรมพบว่า มีความรู้เพิ่มขึ้น มีความต้องการใช้โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงปลาทดแทนสารปฏิชีวนะ และมีความพึงพอใจมากถึงมากที่สุดร้อยละ 100