

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดที่นิยมเลี้ยงและบริโภคกันมากที่สุดในประเทศไทย (นิลกุล กิจอันเจริญและคณะ, 2549) โดยที่การเพาะเลี้ยงปลานิลในกระชังให้ผลตอบแทนสูงกว่าการเพาะเลี้ยงในบ่อร้อยละ 30-40 จังหวัดอุบลราชธานีมีเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลในกระชังมากกว่า 7,000 กระชัง (สุพรม พวงอินทร์, 2555) การเลี้ยงปลานิลในกระชังในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝนมีความเสี่ยงจากโรคระบาดเกิดจากแบคทีเรียซึ่งเป็นเชื้อเจ้าถิ่นในน้ำ คือแบคทีเรียในสกุล *Aeromonas* โดยเฉพาะ *A. hydrophila* อาการคือ ปลาตกเลือดตามตัว ท้องบวมมีเลือดปน มีแผลหลุม เชื้อกลุ่มนี้ทนอุณหภูมิสูงได้ดี หากมีเชื้อกลุ่มนี้เหลือรอดในการแปรรูปปลาจะก่อโรคลำไส้อักเสบในผู้บริโภค (ตรี วาทกิจ, 2549) สำหรับฤดูที่มีน้ำหลาก หรือฤดูหนาว หรือการที่สภาพแวดล้อมระหว่างวันแปรปรวนสูง จะพบโรคระบาดที่ทำให้ปลาตายมาก คือมีรอยดำสีเทาตามลำตัว ครีบ และที่ส่วนหัว มีการตกเลือดเป็นจุดเล็กๆ บ้างตามขอบรอยดำ ลำตัวเปื่อยเป็นแผลตะกอนสีเหลือง และปลาเมื่อมากเมื่อนำเมื่อมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบแบคทีเรียรูปท่อนพอมยาว ซึ่งมีลักษณะตรงกับเชื้อก่อโรคคอตัมมาเรียส (พริเลศ จันทร์รัชชกุลและคณะ, 2531) Tripathi และคณะ (2005) รายงานว่าพบปลาน้ำจืดเป็นโรคนี้ได้ตลอดปี ซึ่งเกิดจากเชื้อ *F. columnare* หรือ *Flexibacter columnaris* ถ้าหากแหล่งน้ำขณะนั้นมีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส อาจทำให้ปลาตายได้ยกบ่อหรือกระชัง ในประเทศไทยพบการระบาดของเชื่อดังกล่าวในช่วงที่มีอากาศเย็น หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมมากในรอบวัน พบทั้งในลูกปลานขนาดเล็กและปลาขนาดใหญ่ การรักษาลูกปลาที่ติดเชื้อของโรคระบาดทั้งสองดังกล่าวทำโดยใช้สารปฏิชีวนะผสมกับอาหารให้ปลากินติดต่อกัน 7 วัน แต่การใช้สารปฏิชีวนะเป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์ก่อโรคเกิดการดื้อยา ต้องใช้ในปริมาณที่มากขึ้น และมีสารปฏิชีวนะตกค้างในผลผลิต ที่สำคัญคือประเทศไทยต้องนำเข้าสารปฏิชีวนะจากต่างประเทศ จึงเกิดปัญหาการขาดดุลทางด้านการค้ากับต่างประเทศ ตลอดจนบางประเทศของสมาชิกสหภาพยุโรปได้ห้ามใช้สารปฏิชีวนะผสมในอาหารสัตว์ และไม่อนุญาตให้นำเข้าผลิตภัณฑ์จากฟาร์มที่ใช้สารปฏิชีวนะ (เสาวนิต ทองพิมพ์และคณะ, 2549)

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ช่วยปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหารซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิต โดยผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย ปรับปรุงคุณภาพน้ำในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และทำให้สัตว์มีสุขภาพดี การใช้โพรไบโอติกผสมในอาหารสัตว์ช่วยควบคุมและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ช่วยให้สัตว์ใช้ประโยชน์จากอาหารดี

ขึ้นเพิ่มความต้านทานโรคความแข็งแรง การเจริญเติบโต และผลผลิตของสัตว์ การศึกษาการผสมโปรไบโอติกบาซิลลัสและ/หรือยีสต์ในอาหารปลาได้ผลดีในปลาหลายชนิด เช่น การใช้ *B. circulans* ในปลา Rohu หรือปลาคาร์พ (Ghosh และคณะ, 2004) การใช้ *Saccharomyces cerevisiae* ในปลา Rainbow trout (Wache และคณะ, 2006) โปรไบโอติกที่มาจากระบบทางเดินอาหารปลานิลนั้น ได้มีการคัดเลือกและใช้ *B. brevis* UBRU4 ร่วมกับ bakers' yeast ในการเพาะเลี้ยงปลานิลและเดิมเชื้อ *A. hydrophila* เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคระดับภาคสนาม และพบว่ากลุ่มทดลองมีอัตราการรอดในสถานะที่มีเชื้อ *A. hydrophila* ร้อยละ 100 ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอัตราการรอดในสถานะที่มีเชื้อ *A. hydrophila* ร้อยละ 0 (เกศินี จันทร โสภณและคณะ, 2553) อย่างไรก็ตาม ปลานิลกระชังยังพบโรคระบาดอื่นที่ทำให้ปลาตายอย่างรวดเร็วและจำนวนมาก โดยปลามีลักษณะที่สังเกตเห็น คือมีรอยดำสีเทาตามลำตัว ครีบ และที่ส่วนหัว ปลามีเมือกมาก ซึ่งจะพบลักษณะนี้มากในฤดูฝน และช่วงรอยต่อระหว่างฤดู เมื่อเก็บตัวอย่างปลานิลกระชังที่มีอาการดังกล่าวนำมาขูดเอาเมือกและตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบแบคทีเรียที่มีลักษณะตรงกับเชื้อก่อโรคคอดัมมาริส ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งคัดแยกเชื้อ *F. columnare* และเชื้อกลุ่ม *Bacillus* จากระบบทางเดินอาหารปลานิล เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus* ที่ยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* TISTR 1321 และ *F. columnare* ที่คัดแยกได้จากปลานิลกระชังที่มีอาการของโรค และใช้เปรียบเทียบกับ bakers' yeast ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันของปลานิล ซึ่งจะเป็นทางเลือกเพื่อลดการใช้สารปฏิชีวนะกับปลานิลที่เพาะเลี้ยงในกระชัง ช่วยแก้ปัญหาปลาที่เพาะเลี้ยงในกระชังอ่อนแอ ทำให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นและลดภาระค่าใช้จ่ายสารปฏิชีวนะ ลดความเสี่ยงของเกษตรกรกลุ่มผู้เลี้ยงปลาและผู้บริโภคไปพร้อมกัน ตลอดจนศึกษาเพื่อหาวัสดุและวิธีในการผลิตและขยายกล้าเชื้อโปรไบโอติก ให้อยู่ในรูปแบบที่สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีให้ผู้ประกอบการใช้และขยายเชื้อได้เอง ซึ่งเป็นการช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์ปลานิลเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากกว่าการใช้สารปฏิชีวนะ

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดแยกและจัดจำแนกแบคทีเรีย *F. columnare* และคัดแยกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* จากระบบทางเดินอาหารปลานิล

1.2.2 เพื่อคัดเลือกและจัดจำแนกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่ยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* TISTR 1321 และ *F. columnare* ได้

1.2.3 เพื่อศึกษาการใช้ *Bacillus* ที่คัดเลือกได้ร่วมกับ bakers' yeast ต่อการเจริญและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในการเพาะเลี้ยงปลานิลระดับห้องปฏิบัติการและภาคสนาม

1.2.4 เพื่อศึกษาวิธีการผลิตและการขยายกล้าเชื้อโพรไบโอติกสำหรับปลานิลเชิงอุตสาหกรรม และถ่ายทอดเทคโนโลยีแก่กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลที่สนใจเข้าร่วมโครงการ

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัยและนิยามศัพท์ที่ใช้ในงานวิจัย

1.3.1 สํารวจข้อมูลการเลี้ยงปลา ปัญหาโรคระบาด และความต้องการเข้าร่วมโครงการวิจัยของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลในเขตจังหวัดอุบลราชธานี โดยมีนางพานทอง ทুমคำ บ้านท่าไห ตำบลท่าไห อำเภอเมืองใน จังหวัดอุบลราชธานีเป็นเกษตรกรต้นแบบ

1.3.2 สํารวจการเกิดโรคระบาดของปลานิลเป้าหมายที่เลี้ยงในกระชังแม่น้ำมูล เขตบ้านท่าลาด ตำบลห้วยชะยุ่ง อำเภวารินชำราบ เขตบ้านคูเค็ด ตำบลแจระแมและเขตบ้านบุงกาแขว ตำบลในเมือง อำเภอเมือง แม่น้ำชี บ้านท่าไห ตำบลท่าไห อำเภอเมืองใน เก็บตัวอย่างปลานิลจากกระชังเป้าหมายที่มีอาการติดโรคจากเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย เพื่อนำไปคัดแยกและจัดจำแนกแบคทีเรีย *F. columnare* ที่จะใช้เป็นเชื้อก่อโรคตัวทดสอบ พร้อมกันนี้ทำการคัดแยกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* จากระบบทางเดินอาหารของกลุ่มปลานิลตัวอย่าง

1.3.3 คัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* TISTR 1321 และ *F. columnare* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคตัวทดสอบได้ในระดับหลอดทดลอง

1.3.4 ศึกษาศักยภาพของการใช้เชื้อที่คัดเลือกได้เป็นโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงปลานิลโดยวิธี Challenge test ในระดับต้นแบบห้องปฏิบัติการและภาคสนาม โดยตรวจวัด อัตราการเจริญ อัตราการรอดชีวิต จำนวนเม็ดเลือดทั้งหมด ปริมาณฮีมาโตคริต และค่าแอนติบอดีไตเตอร์ต่อเชื้อ *A. hydrophila* TISTR 1321 และ *F. columnare* ในซีรัมปลานิล

1.3.5 จัดจำแนกโพรไบโอติกที่คัดเลือกได้โดยใช้สมบัติด้านสัณฐานวิทยา ได้แก่ ขนาด รูปร่าง การสร้างสปอร์ การติดสีแกรม ด้านชีวเคมี ได้แก่ การย่อยแป้ง การย่อยเจลาติน เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ของสภาวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

1.3.6 ศึกษาวิธีการผลิตและการขยายกล้าเชื้อโพรไบโอติกสำหรับปลานิลเชิงอุตสาหกรรม และถ่ายทอดเทคโนโลยีแก่กลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาในกระชัง

นิยามศัพท์ที่ใช้ในงานวิจัย

ระบบทางเดินอาหารปลานิล หมายถึง ส่วนของไส้ปลาและกากอาหารที่อยู่ภายในไส้ทั้งหมด

F. columnare ที่ใช้เป็นเชื้อก่อโรคตัวทดสอบ หมายถึง แบคทีเรีย *F. columnare* ที่คัดแยกได้จาก เมือกที่ผิว แผลที่ผิวและเหงือกของกลุ่มปลานิลตัวอย่างที่มีอาการ มีรอยด่างสีเทาตามลำตัว

ครีบ และที่ส่วนหัว มีการตกเลือดเป็นจุดเล็กๆ บ้างตามขอบรอยต่าง ปลามีเมือกมาก และลำตัวเปื่อย เป็นแผลตะกอนสีเหลือง

คัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* TISTR 1321 และเชื้อ *F. columnare* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคตัวทดสอบได้ในระดับหลอดทดลอง หมายถึง การคัดเลือกและทดสอบในขอบเขตการทดลองนี้ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*)

การใช้เชื้อที่คัดเลือกได้เป็น โพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงปลานิล หมายถึง การใช้เชื้อที่คัดเลือกได้ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*)

1.4 สถานที่ทำการทดลอง

1.4.1 ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาจุลชีววิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์ ห้องปฏิบัติการอาคารวิจัยและพัฒนาภูมิปัญญาท้องถิ่น คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

1.4.2 บริษัท อุบล อาร์ ไอ เอ จำกัด สาขาอำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี

1.4.3 สถานที่ประกอบการที่เข้าร่วมโครงการ

-กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากระชัง บ้านบุงกาแซว อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี

-กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากระชัง บ้านท่าไห อำเภอเขื่องใน จังหวัดอุบลราชธานี

-เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาอนุบาลบ่อดิน บ้านคำไฮ ตำบลคำไฮ อำเภอสำโรง จังหวัดอุบลราชธานี

-กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลาเศรษฐกิจซึ่งเป็นลูกฟาร์มของ บริษัท เมทาโกรอุตสาหกรรม จำกัด ในเขตจังหวัดอุบลราชธานี

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ผลงานวิจัยได้รับการเผยแพร่ในวารสาร และได้มาซึ่งข้อมูลเกี่ยวกับ การเลี้ยงปลาในกระชังในแม่น้ำมูล แม่น้ำชี และบ่อดิน จากกลุ่มเป้าหมายในเขตจังหวัดอุบลราชธานี คัดแยกได้แบคทีเรีย *F. columnare* ที่ใช้เป็นเชื้อก่อโรคตัวทดสอบจากกลุ่มปลานิลตัวอย่างที่มีอาการของโรคคอดมันไวรัส คัดแยกได้จุลินทรีย์จากระบบทางเดินอาหารปลานิลที่เป็น โพรไบโอติก การจัดจำแนก โพรไบโอติกที่คัดเลือกได้ ได้ตัวกลางและสภาวะที่เหมาะสมในการขยายกล้าเชื้อเชิงอุตสาหกรรม เพื่อช่วยสร้างเครือข่ายความร่วมมือในการแก้ปัญหาของชุมชน สามารถให้คำปรึกษา เผยแพร่ความรู้ที่ได้จากการวิจัยไปสู่ผู้ใช้งานจริง และสู่ผู้บริโภคโดยทางอ้อม ซึ่งส่งผลต่อการดำรงชีวิตของประชาชนในภูมิภาคให้ดีขึ้น

1.5.2 ได้กลุ่มนาร่องที่จัดเป็นแหล่งศึกษาดูงานของกลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาอื่นหรือผู้สนใจทั่วไป และเป็นการพัฒนาผู้เข้าร่วม โครงการเพื่อสามารถใช้เป็นแนวทางแก้ปัญหาที่พบในชีวิตประจำวัน ตลอดจนได้ผลการวิจัยไปเผยแพร่ในรูปของการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ การตีพิมพ์ในวารสารระดับประเทศ

1.5.3 ทำให้นักวิชาการเข้าถึงชุมชนผู้ใช้ประโยชน์จากงานวิจัย เกิดการเรียนรู้แลกเปลี่ยนภูมิปัญญาท้องถิ่นกับสากลร่วมกัน ซึ่งช่วยเพิ่มศักยภาพการแข่งขันด้านการผลิตและเพิ่มแนวทางการประกอบอาชีพให้แก่ประชาชน

1.5.4 ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อองค์กร/หน่วยงานซึ่งประกอบด้วย

- 1) สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี
- 2) ประมงจังหวัด โดยเฉพาะประมงจังหวัดอุบลราชธานี
- 3) ศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร และภาควิทยาศาสตร์เทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- 4) กลุ่มเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงปลากระชัง จังหวัดอุบลราชธานีที่เข้าร่วมโครงการ และบริษัท เบทาโกรอุตสาหกรรม จำกัด

1.6 ผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ

การดำเนินงานวิจัยของโครงการนี้มีการประเมินผลสำเร็จและความคุ้มค่าของการวิจัยจากดัชนีชี้วัด เมื่อวิจัยครบ 1 ปี ดังนี้

1.6.1 ผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงปลานิลกระชังที่เข้าร่วมโครงการมีความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้อง และสามารถใช้โพรไบโอติกทดแทนสารปฏิชีวนะ พัฒนาการเพิ่มผลผลิต ลดค่าใช้จ่ายโดยใช้วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีจากงานวิจัย เพื่อเพิ่มความสามารถในการแข่งขันและผลิตอาหารปลอดภัย

1.6.2 ผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงปลานิลกระชังที่เข้าร่วมโครงการสามารถขยายโพรไบโอติกเพื่อใช้ได้เองอย่างถูกวิธีและมีประสิทธิภาพ

1.6.3 ผู้ประกอบการที่เข้าร่วมโครงการมีศักยภาพที่จะเป็นแหล่งเรียนรู้และศึกษาดูงานของผู้ที่สนใจทั่วไปได้