รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย ประสิทธิภาพการใช้สารอาหาร และอัตราการเจริญเติบโตของปลานิลแปลงเพศ

Applications of Microbial as Feed Supplements for Enhancements of Digestible Efficiency, Nutrients Utilization Efficiency and Growth Performances in Sex Reversed Nile Tilapia

โดย

สุภฎา คีรีรัฐนิคม

อานุช คีรีรัฐนิคม

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัย

จากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2558

มหาวิทยาลัยทักษิณ

คำนำ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ได้ให้ความกรุณาช่วยเหลือและอำนวยการในการขอรับงบประมาณสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 ครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง รวมทั้งศิษย์เก่า และศิษย์ปัจจุบัน ที่ต่างให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการวิจัย และเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ผลการทดลอง ยังผลให้การวิจัยนี้สำเร็จลุล่วง และบรรลุวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ทุกประการ

คณะผู้วิจัย

มิถุนายน 2559

บทคัดย่อ

การทดลองที่ 1 ศึกษาการใช้จุลินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ **Lactobacillus rhamnosus**, **Lactobacillus plantarum**, **Bacillus subtilis**, **Bacillus licheniformis**, จุลินทรีย์ ปม. 1 จุลินทรีย์ พด.1 และผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ผสมในอาหารปลานิลให้มีปริมาณจุลินทรีย์ 10^6 CFU/g อาหาร เท่ากันทุกสูตร เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ผสมจุลินทรีย์ ทำการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ โดยเลี้ยงปลานิลแปลงเพศ ขนาด 2-3 เซนติเมตร จำนวน 30 ตัว ในถังทดลองพลาสติกปริมาตรน้ำ 250 ลิตร ด้วยอาหารแต่ละชุดการทดลองในปริมาณ 3-5% ของน้ำหนักตัวต่อวัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปลามีน้ำหนักที่เพิ่มอยู่ในช่วง 7,100.77-6,785.11 % โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) อาหารทุกสูตรไม่มีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบจำเพาะ (SGR) ค่าอัตราแลกเนื้อ (FCR) และการรอดตายของปลา (P>0.05) ปลานิลที่ได้รับอาหารทุกสูตรมีค่าความชื้นไม่แตกต่างกัน (P>0.05) แต่โปรตีนในตัวปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Lactobacillus plantarum** มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ ปริมาณไขมันในตัวปลาที่ได้รับอาหารทุกสูตรมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม มีปริมาณเถ้าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ พด. 1 อย่างไรก็ตามปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์สูตรอื่นๆ มีปริมาณเถ้าไม่แตกต่างทางสถิติกับทั้งปลาชุดควบคุม และปลาที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ พด. 1 (P>0.05) ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง (P>0.05) ปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Lactobacillus plantarum** มีค่าประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (protein retention) 39.73 ± 0.30 % ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (lipid retention) ของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Lactobacillus plantarum** มีค่าสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม การเสริม **Lactobacillus plantarum** ในอาหารยังมีผลให้ปลานิลมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และปลาที่ได้รับอาหารเสริม **Bacillus licheniformis** (P<0.05) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมจุลินทรีย์ **Lactobacillus plantarum** ในอาหารมีผลให้ปลานิลมีปริมาณโปรตีนในตัวเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งมีค่าการสะสมโปรตีน และไขมันในตัวปลาสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ อีกทั้งยังพบว่า **Lactobacillus plantarum** ทำให้ปลานิลมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเพิ่มมากขึ้น

การทดลองที่ 2 ดำเนินการใช้ **Lactobacillus plantarum** ผสมในอาหารในระดับที่มีปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร 1×10^4, 1×10^5, 1×10^6 และ 1×10^7 CFU/g เทียบกับชุดควบคุมซึ่งได้รับอาหารสูตรเดียวกันแต่ไม่ผสมจุลินทรีย์ ทำการทดลองในสภาวะเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 พบว่า ปลาในการทดลองนี้มีน้ำหนักที่เพิ่มสูงกว่า และมีค่าอยู่ในช่วง 10,510.70-10,312.31 % โดยไม่มีความแตกต่างกัน

ทางสถิติ (P>0.05) ผลการทดลองพบว่าระดับของ **Lactobacillus plantarum** ไม่มีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบจำเพาะ อัตราแลกเนื้อ และการรอดตาย (P>0.05) ตลอดจนองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา รวมทั้งประสิทธิภาพการใช้สารอาหารของปลาที่ได้รับอาหารทดลองทุกสูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (P>0.05) ผลการศึกษาแสดงว่า **Lactobacillus plantarum** ส่งผลดีต่อปลาเมื่อประยุกต์ใช้สภาวะการเลี้ยง หรือในสภาพแวดล้อมที่มีปัจจัยจำกัดและปลามีการเจริญเติบโตต่ำ แต่การใช้ **Lactobacillus plantarum** จะไม่แสดงผลที่แตกต่างจากชุดควบคุม เมื่อประยุกต์ใช้ในระบบการเลี้ยงที่ดี และปลามีการเจริญเติบโตได้ดี

คำสำคัญ : ปลานิล แบคทีเรียแลคติก แบคทีเรียบาซิลลัส การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพอาหาร ประสิทธิภาพการย่อย

Abstract

Experiment I was undertaken to determine the efficiency of **Lactobacillus rhamnosus**, **Lactobacillus plantarum**, **Bacillus subtilis**, **Bacillus licheniformis**, PM 1, PD 1 and commercial yoghurt at the same concentration of 10^6 CFU/g in Nile tilapia diet. Feed each test diet to 30 juvenile of Nile tilapia (2-3 cm body length) cultured in 250 L plastic tank in triplicates at 3-5% body weight daily, for 10 week. At the end of experiment found 7,100.77-6,785.11 % weight gain with no significantly different were observed (P>0.05). Specific growth rate, feed conversion and survival were not different among treatment (P>0.05). Moisture in final fish body did not different, but protein content in the fish fed diet added with **Lactobacillus plantarum** was higher than other diets. Lipid content were not significantly different among treatments (P>0.05) but ash content in tilapia fed control diet was higher than the fish received PD 1 supplemented diet. However ash content in tilapia fed other diet were not different to the fish fed either control or PD 1 diets (P>0.05). Protein efficiency ratio (PER) were not statistically different among treatments. But 39.73 ± 0.30 % of protein retention was observed in the fish fed **Lactobacillus plantarum**, this value was higher than other treatment. Moreover, lipid retention in fish fed **Lactobacillus plantarum** was significantly higher than control (P<0.05). Supplementation of **Lactobacillus plantarum** in the test diet resulted in increasing of protein digestibility and significantly higher than fish fed either control or **Bacillus licheniformis** (P<0.05). Because **Lactobacillus plantarum** supplemented diet resulted in increasing of fish protein content, protein and lipid retention and protein digestibility, so this organism was selected for the application in experiment II.

Experiment II was undertaken by applying **Lactobacillus plantarum** into test diet at different levels **i.g.** 1 x 10^4, 1 x 10^5, 1 x 10^6 and 1 x 10^7 CFU/g compared to control group. All experimental system and management were comparable to the previous study. Results showed higher weight gain of the fish and ranging between 10,510.70-10,312.31 % with no significantly different was observed (P>0.05). Average body weight, specific growth rate, feed conversion and survival in this study were not statistically different among each test diets (P>0.05). Body composition, protein and lipid retention did not significantly different compared to control (P>0.05). Our results indicated beneficial effects of **Lactobacillus plantarum** supplemented diet

when the fish was cultured in the limited factor condition or environment and had marked low growth rate. But no improved parameter was observed when the fish grown in excellent culture condition with high weight gain.

Keywords : **Oreochromis niloticus** Lactic acid bacteria Bacillus Growth performance Feed efficiency Digestible efficiency

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
ที่มาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์	3
ขอบเขตการศึกษา	3
ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย	4
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	5
ประโยชน์ และการประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในอาหารปลา	5
การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในอาหารสัตว์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร และเพิ่มการเจริญเติบโต การใช้พืชบำบัดของเสียในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	12
- การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหาร ของปลานิลแปลงเพศ	12
- การทดลองที่ 2 ศึกษาผลการเสริมจุลินทรีย์ในระดับต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหาร ของปลานิลแปลงเพศ	16
บทที่ 4 ผลการศึกษา	20
- การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหาร ของปลานิลแปลงเพศ	20

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

- การทดลองที่ 2 ศึกษาผลการเสริมจุลินทรีย์ในระดับต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหาร ของปลานิลแปลงเพศ 35

บทที่ 5 วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา 46

เอกสารอ้างอิง 51

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

ตารางที่ 1 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง 14

ตารางที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (g) ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 20

ตารางที่ 3น้ำหนักที่เพิ่ม (%) อัตราการเจริญเติบจำเพาะ (SGR, %) อัตราแลกเนื้อ (FCR) และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 21

ตารางที่ 4องค์ประกอบทางเคมี (%) ของตัวปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 22

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein retention, %) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid retention, %) และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (%) ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 24

ตารางที่ 6 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (g) ของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 35

ตารางที่ 7 น้ำหนักที่เพิ่ม (%) อัตราการเจริญเติบจำเพาะ (SGR, %) อัตราแลกเนื้อ (FCR) และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 36

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางเคมี (%) ของตัวปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 37

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein retention, %) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid retention, %) และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (%) ของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 38

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

ภาพที่ 1 ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา (บาท ต่อปลา 1 กิโลกรัม)
ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 25
ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (T1) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 26
ภาพที่ 3 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus rhamnosus** (T2)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 27
ภาพที่ 4 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** (T3)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 27
ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Bacillus subtilis** (T4)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 28
ภาพที่ 6 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Bacillus licheniformis** (T5)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 28
ภาพที่ 7 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ ปม. 1 (T6)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 29
ภาพที่ 8 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ พด.1 (T7)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 29
ภาพที่ 9 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์จากโยเกิร์ต (T8)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 30
ภาพที่ 10 ตับปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (T1) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 30
ภาพที่ 11 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus rhamnosus** (T2)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 31
ภาพที่ 12 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** (T3)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 31
ภาพที่ 13 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Bacillus subtilis** (T4)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 32
ภาพที่ 14 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Bacillus licheniformis** (T5)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 32

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

ภาพที่ 15 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ ปม. 1 (T6) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 33
ภาพที่ 16 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ พด.1 (T7) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 33
ภาพที่ 17 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์จากโยเกิร์ต (T8)
เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 34
ภาพที่ 18 ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต (บาท ต่อปลา 1 กิโลกรัม) ของปลานิล
ที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 39
ภาพที่ 19 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (T1) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 40
ภาพที่ 20 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum**
10^4 CFU/g (T2) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 41
ภาพที่ 21 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum**
10^5 CFU/g (T3) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 41
ภาพที่ 22 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum**
10^6 CFU/g (T4) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 42
ภาพที่ 23 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum**
10^7 CFU/g (T5) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 42
ภาพที่ 24 ตับปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (T1) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 43
ภาพที่ 25 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum**
10^4 CFU/g (T2) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 43
ภาพที่ 26 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum**
10^5 CFU/g (T3) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 44
ภาพที่ 27 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum**
10^6 CFU/g (T4) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 44
ภาพที่ 28 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum**
10^7 CFU/g (T5) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 45

บทที่ 1

บทนำ

อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดมีการขยายตัวเพิ่มมากขึ้นตามความต้องการของตลาด ทั้งภายในประเทศ และส่งผลผลิตออกยังต่างประเทศในปริมาณมาก และมีมูลค่าผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้นในแต่ละปี ทั้งนี้ต้นทุนค่าอาหารถือเป็นต้นทุนหลักของการดำเนินการอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยวัตถุดิบสำหรับนำมาใช้ผลิตอาหารสัตว์น้ำมีราคาเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากสถานการณ์ราคาน้ำมัน และพลังงานทดแทนที่มีราคาเพิ่มขึ้น รวมทั้งปริมาณพืชผลการเกษตรไม่เพียงพอต่อความต้องการอาหารของประชากรโลก ส่งผลให้อาหารปลามีราคาเพิ่มสูงขึ้นมาก ก่อให้เกิดปัญหาของอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาน้ำจืดในปัจจุบัน คือปัญหาต้นทุนอาหาร เกิดภาวะขาดทุนของผู้ประกอบการเพาะเลี้ยงปลาน้ำจืดรายย่อย ซึ่งเป็นผลมาจากการจัดการอาหาร และประสิทธิภาพการใช้สารอาหารของปลาน้อยกว่าที่ควร นอกเหนือจากการจัดการอาหารให้เหมาะสมในระบบการเลี้ยงปลาแล้ว การพัฒนาสูตรอาหาร หรือส่วนผสมในอาหารที่ช่วยให้ปลาสามารถย่อยนำไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้นรวมทั้งดูดซึมสารอาหารเข้าสู่ร่างกายได้ดีขึ้นเป็นแนวทางสำคัญในการพัฒนาการผลิตปลาในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น เพิ่มผลกำไรจากการประกอบการ ขยายศักยภาพการแข่งขันสินค้าเกษตร และก่อให้เกิดความยั่งยืนของอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลาน้ำจืดในอนาคต

ต้นทุนค่าอาหารปลานับเป็นต้นทุนที่สูงที่สุด และมักเป็นสาเหตุหลักของปัญหาต้นทุนสูงในอุตสาหกรรมการเลี้ยงปลา ราคาอาหารปลาที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องเกิดจากราคาวัตถุดิบโปรตีนในอาหาร โดยเฉพาะราคาปลาป่นที่มีราคาสูงขึ้น ในปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยแนวทางลดปัญหาดังกล่าวโดยใช้วัตถุดิบจากเศษเหลือของอุตสาหกรรมต่างๆ โดยเฉพาะวัตถุดิบโปรตีนทดแทนปลาป่น เช่น กากปาล์ม กากมะพร้าว ทำให้สามารถลดต้นทุนค่าอาหารปลาลงได้บางส่วน แต่อาหารปลาที่ใช้วัตถุดิบโปรตีนจากพืช จะมีองค์ประกอบกรดอะมิโนไม่สมดุลย์ และองค์ประกอบของเยื่อใยสูง ทำให้มีประสิทธิภาพการย่อยต่ำ ปลานำไปใช้ประโยชน์ได้น้อย อัตราแลกเนื้อสูง สิ้นเปลืองอาหารในปริมาณมาก และเกิดมลภาวะจากอาหารที่ย่อยไม่หมด การพัฒนาอาหารวัตถุดิบโปรตีนจากพืชทดแทนปลาป่นที่ทำให้ปลาสามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น สามารถทำได้โดยการดัดแปลงโครงสร้างตามธรรมชาติของวัตถุดิบ (pretreatment) ให้อยู่ในรูปแบบที่น้ำย่อยในทางเดินอาหารของปลาสามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น ได้แก่การใช้กระบวนการทางเคมี เช่นเอนไซม์ช่วยย่อยวัตถุดิบ กระบวนการทางกายภาพ เช่น การให้ความร้อนสูงเพื่อเปลี่ยนโครงสร้างของแป้งในวัตถุดิบ และกระบวนการชีวภาพ เช่น การใช้จุลินทรีย์ผสมในอาหารเพื่อผลิต hydrolytic enzyme ช่วยย่อยวัตถุดิบต่างๆ

จากรายงานการศึกษาทั้งในปลา และสัตว์เศรษฐกิจอื่นๆ พบว่า แบคทีเรียหลายชนิดในกลุ่มบาซิลลัส และแลคติกแบคทีเรีย สามารถสร้างเอนไซม์ช่วยในการย่อยอาหารได้ดีเมื่อผสมในอาหารสัตว์จะช่วยให้มีประสิทธิภาพการย่อยอาหารเพิ่มขึ้น รวมทั้งยังทำให้อัตราการแลกเนื้อลดลง รวมทั้งยังมีความต้านทานโรคเพิ่มขึ้น รายงานการศึกษาในปลาดุกแอฟริกัน (**Clarias gariepinus**) พบว่า การเสริมแบคทีเรียแลกติกในอาหารมีผลให้ปลามีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารไม่เสริมแบคทีเรีย และยังมีความต้านทานต่อโรคติดเชื้อมากขึ้น (Ayoola, Ajani and Fashae, 2013) แบคทีเรียแลคติกช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลา เนื่องจากการสร้างเอนไซม์ช่วยย่อยอาหาร สร้างกรดอินทรีย์ในอาหาร และทางเดินอาหารเพื่อให้น้ำย่อยของปลาทำงานได้มากขึ้น (Welker and Lim, 2011) แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารยั้บยั้งจุลินทรีย์ และโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแลคติกยังสามารถทำหน้าที่กระตุ้นเม็ดเลือดขาวให้มีการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเพิ่มมากขึ้นด้วย (Zhou, Wang, Yao and Li, 2010) วิลาวัณย์ รุ่มรวย, สุรวัฒน์ ชะลอสันติสกุล, สมฤดี ศิลาฤดี และจารุณี เกสรพิกุล (2554) ศึกษาผลของการเสริมโปรไบโอติกเชิงการค้า (QP probiotic™) ต่อการเจริญเติบโตของปลานิล พบว่าปลาที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูป ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ส่วนความอุดมสมบูรณ์ (condition factor) และอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกันกับชุดควบคุม ขณะที่ รัตนสุดา ไชยเชษฐ์ (2554) ใช้จุลินทรีย์อีเอ็ม (effective microorganism, EM) ผสมในอาหาร เลี้ยงปลาโมง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักตัวเฉลี่ย น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย น้ำหนักตัวเพิ่มต่อวัน อัตราการรอดตาย และอัตราการแลกเนื้อของปลาโมงไม่มีความแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าการใช้อีเอ็มเป็นโปรไบโอติกไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาโมงในสภาวะการเลี้ยงปลาขนาดเล็กที่ความหนาแน่นต่ำ และมีการจัดการอาหารและคุณภาพน้ำที่ดี Essa, EL-Serafy, El-Ezabi, Daboor, Esmael and Lall (2010) ทดลองใช้แบคทีเรีย **Bacillus subtilis**, **Lactobacillus plantarum** และเชื้อผสมทั้ง **Bacillus subtilis**, **Lactobacillus plantarum** และ **Saccharomyces cerevisiae** ผสมอาหารทดลองในปริมาณ 10^7 CFU/g เลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 60 วัน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทุกชุดการทดลอง มีการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ผสมโปรไบโอติก และยังพบว่าปลาทดลองที่ได้รับอาหารผสม **Bacillus subtilis** และ **Lactobacillus plantarum** มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase, protease และ lipase มากขึ้นกว่าชุดควบคุม และส่งผลให้ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตจากอาหารได้มากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ผสมในอาหารเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพอาหารในอาหารไก่ (Sen et al., 2012) อาหารสุกร (Giang, Quoc Viet, Ogle and Lindberg, 2012) และอาหารปลาเรนโบว์เทร้าท์ (Adineh, Jafaryan, Sahandi and Alizadeh, 2013) อย่างไรก็ตามชนิดของจุลินทรีย์ และปริมาณที่ควรใช้นับเป็นปัจจัยสำคัญที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเลี้ยงปลาในระบบอุตสาหกรรม (จุลินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่มที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในแง่การช่วยเพิ่ม

การเจริญเติบโต เพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร และเพิ่มความต้านทานโรคปลาส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม **Bacillus** และ **Lactobacillus** ปัจจุบันจุลินทรีย์ดังกล่าวในประเทศไทยมีทั้งเชื้อสำเร็จรูปที่ผลิตเชิงการค้าภายในประเทศ และนำเข้าจากต่างประเทศ ตลอดจนเชื้อผสมที่หน่วยงานรัฐบาลผลิตขึ้นเพื่อพัฒนาการเกษตรด้านต่างๆ เช่นจุลินทรีย์ ปม.1 ผลิตโดยกรมประมง และ พด.1 ผลิตโดยกรมพัฒนาที่ดิน ตลอดจนจุลินทรีย์จากผลิตภัณฑ์อาหาร เช่นนมเปรี้ยว และโยเกิร์ต ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ภายในประเทศที่มีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารปลา และอาหารสัตว์อื่นๆ ในแง่ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต และประมิทธิภาพการใช้อาหาร ตลอดจนนเพิ่มความต้านทานโรค จุลินทรีย์เหล่านี้ยังไม่มีรายงานการประยุกต์ใช้ในอาหารปลานิล ซึ่งเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย ที่มักเกิดปัญหาเกี่ยวกับต้นทุนค่าอาหาร ปัญหาประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำ และการจัดการอาหารไม่เหมาะสม

การวิจัยนี้จัดทำขึ้นเพื่อคัดเลือกและตรวจสอบผลการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในอาหารปลานิล ในด้านการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย การใช้ประโยชน์จากอาหาร และการสะสมสารอาหารในตัวปลา เพื่อให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิลเพิ่มมากขึ้น และนำไปสู่การลดต้นทุนค่าอาหาร และเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตปลานิลให้มากขึ้นโดยใช้เทคโนโลยีที่พัฒนาขึ้นเองภายในประเทศ และมีความเหมาะสมต่อสภาพท้องถิ่น

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ทั้งในลักษณะเชื้อบริสุทธ์ และเชื้อผสมในท้องถิ่นต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาและการรอดตายของปลานิล
2. ศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ทั้งในลักษณะเชื้อบริสุทธ์ และเชื้อผสมในท้องถิ่นต่อประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหารของปลานิล
3. ศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์ที่มีความเหมาะสมในระดับต่างๆ ต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และการรอดตายของปลานิล
4. ศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์ที่มีความเหมาะสมในระดับต่างๆ ต่อประสิทธิภาพการใช้อาหาร ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหารของปลานิล

ขอบเขตของโครงการวิจัย

การศึกษานี้มุ่งเน้นตรวจสอบผลของการเสริมจุลินทรีย์ลักษณะต่างๆ ทั้งจากแหล่งเชื้อบริสุทธิ์ ได้แก่ **Lactobacillus rhamnosus**, **Lactobacillus plantarum** และ **Bacillus subtilis**, **Bacillus licheniformis** และแหล่งเชื้อผสมที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น ได้แก่จุลินทรีย์ ปม. 1 จุลินทรีย์ พด.1 และจุลินทรีย์จากโยเกิร์ต ในอาหารในปริมาณเชื้อ 10^6 CFU/g อาหาร เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ผสม

จุลินทรีย์ ต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหารของปลานิลแปลงเพศ จากนั้นเลือกจุลินทรีย์ชนิดที่เหมาะสมมาประยุกต์ใช้ในอาหารในระดับต่างๆ เพื่อตรวจสอบผลของจุลินทรีย์ในระดับต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหารของปลานิลแปลงเพศ

ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย

ปลานิลนับเป็นปลาเศรษฐกิจที่มีผลผลิต และมูลค่าการตลาดสูง แต่มักประสบปัญหาต้นทุนค่าอาหารสูง เกิดภาวะขาดทุนในการประกอบการ จากการศึกษาในสัตว์บก และปลาชนิดอื่นๆ พบว่าการเสริมจุลินทรีย์ในกลุ่มบาซิลลัส แลคโตบาซิลลัส และยีสต์ในอาหาร สามารถเพิ่มการเจริญเติบโต เพิ่มประสิทธิภาพการย่อย เพิ่มอัตราการสะสมสารอาหารในตัวปลา ทำให้ลดปริมาณอาหารที่ต้องใช้ลงในระหว่างการเลี้ยง และเพิ่มการรอดตายของปลาให้มากขึ้น เป็นการลดต้นทุนการผลิตปลาได้โดยตรง ทั้งนี้จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพการทำงานแตกต่างกันออกไป ดังนั้นการทดลองนี้จึงทำการทดสอบผลการเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ทั้งชนิดที่เป็นเชื้อบริสุทธ์สายพันธุ์ในประเทศ และเชื้อผสมในรูปแบบที่เกษตรกรสามารถนำมาใช้ได้ง่าย เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ชนิดที่ดีที่สุด ที่จะส่งผลให้ปลานิลมีการเพิ่มการเจริญเติบโต เพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการรอดตาย และตรวจสอบระดับที่เหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้ ทั้งในด้านการเจริญเติบโต เพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการรอดตาย และตรวจสอบประสิทธิภาพในด้านผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ ในระดับอุตสาหกรรม

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ประโยชน์ และการประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในอาหารปลา

การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในอาหารสัตว์เป็นแนวทางที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์ให้เพิ่มมากขึ้น อาจกล่าวได้ว่า โปรไบโอติกคือการเสริมเซลล์จุลินทรีย์ลงในอาหารให้กับสัตว์ เพื่อก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพสัตว์ ทั้งในด้านสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร เพิ่มความต้านทานโรค และเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหาร

โดยส่วนใหญ่การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในอาหารปลามักมุ่งเน้นผลในด้านการป้องกันและควบคุมโรคติดเชื้อเป็นหลัก มีรายงานการคัดเลือก และนำแลกติกแอซิดแบคทีเรีย เช่น **Lactobacillus** spp. และ **Bifidobacterium** spp. มาใช้เป็นโปรไบโอติกผสมลงในอาหารในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เนื่องจากแลกติกแอซิดแบคทีเรียสามารถย่อยน้ำตาลแลกโตสเป็นกรดแลกติก และทำให้ pH ภายในระบบทางเดินอาหารลดลง ทำให้มีสภาพไม่เหมาะสมในการยึดเกาะของจุลินทรีย์ก่อโรค จุลินทรีย์กลุ่มแลกติกแอซิดแบคทีเรีย มีความสามารถในการยึดเกาะเซลล์บุผิว และผลิต bacteriocins ที่มีฤทธิ์เป็น antibiotic และกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (Fuller, 1989)

โปรไบโอติกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคโดยการแย่งยึดเกาะภายในลำไส้กับจุลินทรีย์ก่อโรค และ/หรือ สร้างสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้เช่น bacteriocins ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกรดอินทรีย์บางชนิด รวมทั้งกระตุ้นภูมิคุ้มกันของปลาให้มีความต้านทานต่อเชื้อก่อโรคมากขึ้น (Verschuere, Rombaut, Sorgeloos and Verstraete, 2000 ; Balcazar, Blas, Ruiz-Zarzuela, Cunngham, Vndrell, and Mu-zquiz, 2006) ในกรณีที่โปรไบโอติกทำหน้าที่ป้องกันการเกิดโรคโดยอาศัยการแข่งขันยึดเกาะในระบบทางเดินอาหาร เกิดขึ้นได้จากการที่แบคทีเรียหลายชนิดในทางเดินอาหารจะเกิดการแข่งขันกันแย่งตัวรับ (recepter) ในกรณีที่การลงเกาะของโปรไบโอติกเกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่า จะทำให้แบคทีเรียก่อโรคไม่สามารถเข้ามายึดเกาะกับตัวรับภายในลำไส้ (Verschuere, Rombaut, Sorgeloos and Verstraete (2000) โปรไบโอติกผลิตสารประกอบที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคเกิดจากการสร้าง bactericidal หรือ bacteriostatic ที่มีผลขัดขวางการก่อโรคในลำไส้ สารยับยั้งเชื้อก่อโรคอาจเป็นได้ทั้งสารชนิดเดียวหรือหลายชนิด เช่นการผลิต antibiotic (Temmerman, Pot, Huys and Swing, 2003) การผลิต bacteriocins (Bruno and Montville, 1993) siderophores, lyzosyme, protease, hydrogen peroxide, การเปลี่ยนแปลง pH โดยการสร้างกรดอินทรีย์ (Sugita, Matso, Hirose, Iwato and Deguchi, 1997) เป็นต้นส่วนแบคทีเรียแลกติกสามารถสร้าง bacteriocins ที่มีความสามารถในการทำลาย

เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อก่อโรค และช่วยลด pH ในระบบทางเดินอาหารจากผลของเมตาบอลิซึม CO_2 หรือกรดอินทรีย์ต่างๆ (Ringo and Gatesoupe, 1997) นอกจากนี้โปรไบโอติกยังทำหน้าที่ป้องกันเชื้อก่อโรคโดยอาศัยการแข่งขันใช้สารเคมีหรือพลังงาน โดยทั่วไปเป็นการแข่งขันกับจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มในการใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น แหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงานอื่นๆ (Rico-mora, Voltolina, and Villaescusa-Celaya, 1998) รวมทั้งการแก่งแย่งแร่ธาตุบางชนิด เช่นการแย่งใช้ธาตุเหล็กโดยจุลินทรีย์

แบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้าง siderophores ในการแข่งขันกับเชื้อก่อโรค โดย siderophore แย่งใช้ธาตุเหล็กในการเจริญเติบโต (Gatesoupe, 1997) มีรายงานว่าสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลาได้โดยใช้โปรไบโอติกเสริมในอาหาร ทั้งนี้ Nikoskelainen, Ouwehand, Bylund, Salminen, and Lilius (2003) ได้ทำการทดลองใช้แลกติกแบคทีเรีย **Lactobacillus rhamnosus** ATCC 53103 ผสมลงในอาหารปลาที่ระดับ 10^5cfu/g ปรากฏว่าสามารถกระตุ้น Respiratory burst ในปลา rainbow trout ได้มากขึ้น ในขณะที่ Ayoola, Ajani and Fashae (2013) ทดลองใช้เชื้อแบคทีเรีย **Lactobacillus** และ **Bifidobacterium** เป็นโปรไบโอติกผสมในอาหารให้กับปลาดุกแอฟริกัน โดยผสมโปรไบโอติกในอาหารปริมาณ 0.5, 1, 1.5 และ 2 % ในอาหาร พบว่า ปลาดุกที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก 0.5% และอาหารชุดควบคุมมีการเจริญเติบโตดีกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมโปรไบโอติก ในระดับ 1-2% ในขณะที่โปรไบโอติกมีผลต่อองค์ประกอบเลือดของปลาดุก โดยปลาที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก 0.5-1.5% มีปริมาณเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และค่า % PCV เพิ่มสูงขึ้นกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม อย่างไรก็ตามปลาที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกในปริมาณ 2% มีค่าองค์ประกอบเลือดลดลงและไม่แตกต่างจากปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม ขณะที่ Zhou, Wang, Yao and Li (2010) ได้ทดลองใช้ **Lactobacillus lactis** ผสมในน้ำเลี้ยงปลานิล (เติมในน้ำ 10^7 CFU/ml ทุก 4 วัน) เลี้ยงปลาเป็นเวลา 40 วัน พบว่าปลาที่ได้รับโปรไบโอติกมีน้ำหนักต่อตัว และอัตราการเจริญต่อวันสูงกว่าปลาในชุดควบคุม นอกจากนี้ยังมีปริมาณโปรตีนรวม และ globulin ในเลือดมีค่าสูงขึ้นกว่าปลาชุดควบคุม ในด้านระบบภูมิคุ้มกัน พบว่าค่า respiratory bust, lyzozyme content, myeloperoxidase และ superoxide dismutase ของปลาที่ได้รับโปรไบโอติกมีค่าเพิ่มมากขึ้นกว่าปลาในชุดควบคุมที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก Dagá, Feijoo, Moreira, Costas, Villanueva and Lema (2013) รายงานผลการศึกษาการใช้เชื้อผสมของ Lactobacillus กับ Enterococcus (FAA) และเชื้อผสมของ Lactobacillus กับ Pediococcus (FAB) เป็นโปรไบโอติกเสริมลงในอาร์ทีเมียวัยอ่อน เพื่อใช้อนุบาลลูกปลา turbot (**Psetta maxima**) เป็นระยะเวลา 34 วัน ผลการทดลองพบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกทั้ง 2 ชุดการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียแกรมลบ กลุ่ม Vibrio ในทางเดินอาหารลดลง แต่จะมีปริมาณของ Lactobacillus เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารทดลองชุดควบคุม นอกจากนี้การเสริมโปรไบโอติก ยังช่วยให้ลูกปลามีอัตราการรอดตายในช่วง 35-80 วันหลังฟักออกจากไข่เพิ่มมากขึ้นอีกด้วย

วิลาวัณย์ รุ่มรวย, สุรวัฒน์ ชะลอสันติสกุล, สมฤดี ศิลาฤดี และ จารุณี เกสรพิกุล (2554) ทำการศึกษาผลของการเสริมโปรไบโอติกเชิงการค้า (QP probiotic™) ต่อการเจริญเติบโตของปลานิล โดยใช้คิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 60 วัน พบว่าปริมาณคิวพีโปรไบโอติกส์ในอาหารเม็ดสำเร็จรูปมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิล โดยปลาที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูป ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด คือ 86.52± 6.217 กรัม รองมา คือปลานิลที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปความเข้มข้น 0.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ โดยมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ 75.20 ± 4.043 และ 61.32 ± 3.285 กรัม ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปลาที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะดีที่สุด คือ 2.01 ± 0.116 กรัมวัน รองมา คือ ปลาที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปความเข้มข้น 0.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 1.78 ± 0.07 และ 1.44 ± 0.06 กรัมวัน ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยความอุดมสมบูรณ์ (condition factor) และค่าเฉลี่ยอัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับความเข้มข้นแตกต่าง 3 ระดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

รัตนสุดา ไชยเชษฐ์ (2554) ทำการศึกษาการใช้อีเอ็มเป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงปลาโมง (**Pangasius bocourti**) โดยใช้จุลินทรีย์อีเอ็ม (effective microorganism, EM) ผสมในอาหารด้วยวิธีและระดับที่แตกต่างกัน คือ ชุดควบคุมใช้อาหารอัดเม็ดไม่ใช้อีเอ็ม, และใช้อีเอ็มผสมอาหารก่อนอัดเม็ดในอัตรา 10 และ 20 % ของอาหาร และชุดการทดลองที่ใช้อาหารอัดเม็ดแล้วนำมาคลุกอีเอ็มในอัตรา 5 และ 10% ของอาหาร เลี้ยงปลาโมงที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 1.54 กรัมต่อตัว ในกระชังขนาด 0.5 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 20 ตัวต่อกระชัง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า น้ำหนักตัวเฉลี่ย น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย น้ำหนักตัวเพิ่มต่อวัน อัตราการรอดตาย และอัตราการแลกเนื้อ ของปลาโมงไม่มีความแตกต่างกัน โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาโมงมีน้ำหนักตัว 15.01-17.06 กรัม น้ำหนักเพิ่ม 4.87-6.39 กรัม น้ำหนักตัวเพิ่มต่อวัน 1.06-1.21 กรัมต่อวัน อัตราการรอดตาย 91-98 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการแลกเนื้อ 2.13-3.01 ผลการทดลองสรุปว่า การใช้อีเอ็มเป็นโปรไบโอติกไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาโมงในสภาวะการเลี้ยงปลาขนาดเล็กที่ความหนาแน่นต่ำที่มีการจัดการอาหารและคุณภาพน้ำที่ดี

Welker and Lim (2011) รายงานว่ากลุ่มของจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกในปลานิล ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส และแลคโตบาซิลลัส และจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ ทั้งนี้จุลินทรีย์ที่เสริมในอาหารจะเข้าสู่ทางเดินอาหารของปลาและมีผลต่อสรีรวิทยา และการเจริญเติบโตของปลา โดยมีผลสร้างสารยับยั้งเชื้อก่อโรค ยับยั้งการเกาะตัวของเชื้อโรคในทางเดินอาหาร ตลอดจนยับยั้งการทำงานของยีนที่สร้างสารพิษที่มีในเชื้อโรค รวมทั้งมีผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้กับปลาที่ได้รับโปรไบโอติก จุลินทรีย์ที่ทำ

หน้าที่เป็นโปรไบโอติกจะสามารถสร้างสารอาหารที่จำเป็นต่อปลา รวมทั้งสร้างเอนไซม์ช่วยย่อยอาหารในทางเดินอาหารของปลาได้มากขึ้น นอกจากนี้การเสริมโปรไบโอติกลงในอาหารให้กับปลาจะมีผลช่วยเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของระบบทางเดินอาหารให้เซลล์บุผิวลำไส้มีการยกตัว และเกิด brushborder มากขึ้น ซึ่งจะทำให้พื้นที่ผิวในการดูดซึมสารอาหารภายในลำไส้ปลาเพิ่มมากขึ้นได้ (Nayak, 2010)

โปรไบโอติกทำหน้าที่ช่วยเป็นแหล่งอาหารและสร้างเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยอาหาร โดยเมื่อปลากินโปรไบโอติกผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารแล้ว พบว่าปลาสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตและสร้างเอนไซม์ที่ช่วยในกระบวนการย่อยอาหารเช่น amylase, protease และ lipase ได้มากขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการย่อยอาหารและกระบวนการย่อยสารอินทรีย์และโปรตีน เสริมสร้างการเจริญเติบให้สูงขึ้นและป้องกันโรคต่างๆในลำไส้ (Lara-Flores, Olivera-Novoa, Guzman-Mendez and Lopez-Madrid, 2003) Lara-Flores, Olivera-Castillo and Olivera-Novoa (2010) พบว่า activity ของ alkaline phosphate สูงขึ้นในปลานิล (**Oreochromis niloticus**) ที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าโปรไบโอติกช่วยกระตุ้นในการทำงานของ brush border membrane ของ enterocytes

Essa, EL-Serafy, El-Ezabi, Daboor, Esmael and Lall (2010) ทดลองใช้แบคทีเรีย **Bacillus subtilis**, **Lactobacillus plantarum** และเชื้อผสมทั้ง **Bacillus subtilis**, **Lactobacillus plantarum** และ **Saccharomyces cerevisiae** โดยผสมเชื้อแต่ละชุดการทดลองในปริมาณ 10^7 CFU/g ในอาหารเลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 60 วัน ผลการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทุกชุดการทดลอง มีการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ผสมโปรไบโอติก และยังพบว่าปลาทดลองที่ได้รับอาหารผสม **Bacillus subtilis** และ **Lactobacillus plantarum** มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase, protease และ lipase มากขึ้นกว่าชุดควบคุม และส่งผลให้ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตจากอาหารได้มากขึ้นกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่ผสมโปรไบโอติก

การเสริมแบคทีเรียทั้งในกลุ่ม Bacillus และ Lactobacillus ในอาหารมีผลช่วยให้ปลามีประสิทธิภาพการย่อยสารอาหารได้มากขึ้น Ghazalah, Ali, Gehad, Hammouda and Abo-State (2010) รายงานการทดลองใช้ส่วนผสมเชิงการค้า Premalac® ซึ่งประกอบด้วยเชื้อผสมของ **Lactobacillus acidophilus**, **Aspergilus oryzae**, **Bifidobacterium bifedum**, **Streptococcus faecium** Torula yeast และส่วนผสมเชิงการค้า Biogen® ซึ่งประกอบด้วย hydrolytic enzyme กับ **Bacillus subtilis** เสริมในอาหารสำหรับปลานิลโดยทดลองในอาหารที่มีระดับโปรตีนต่างกันที่ระดับ 25, 27.5 และ 30% โปรตีน ผลการทดลองพบว่าทั้ง Premalac® และ Biogen® เสริมในอาหารโปรตีน 27.5 และ 30% ที่ระดับ 2 g/kg มีผลให้ปลามีการเจริญเติบโตมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อทำการคำนวณค่าประสิทธิภาพการผลิตเชิงเศรษฐกิจ พบว่าการใช้ Biogen® เสริมในอาหารที่มีระดับโปรตีน 27.5% จะทำให้เกิดความคุ้มค่าเชิงเศรษฐกิจในการเลี้ยงปลามากที่สุด

การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในอาหารสัตว์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร และเพิ่มการเจริญเติบโต

Sen **et al.** (2012) ทำการทดลองใช้แบคทีเรีย **Bacillus subtilis** LS 1-2 ผสมในอาหารไก่ ในปริมาณ 0.15 0.3 และ 0.45 % (หรือเท่ากับ 10^7 10^8 และ 10^9 CFU/kg) เลี้ยงไก่เป็นเวลา 35 วัน พบว่าระดับการเสริม **Bacillus subtilis** LS 1-2 มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของไก่ โดยไก่ที่ได้รับอาหารผสม **Bacillus subtilis** LS 1-2 ในปริมาณมากจะมีน้ำหนักตัวเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการผสม **Bacillus subtilis** LS 1-2 ทำให้มีการสะสมพลังงาน และโปรตีนในตัวไก่เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งยังพบว่าไก่ที่ได้รับอาหารผสม **Bacillus subtilis** LS 1-2 เป็นเวลา 35 วัน มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม **Clostridium** spp. และ Coliforms ในลำไส้ลดลงเมื่อเทียบกับไก่ที่ได้รับอาหารชุดควบคุม

การเสริม **Bacillus subtilis** LS 1-2 ยังมีผลต่อโครงสร้างของลำไส้ จากการศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของลำไส้ พบว่า ไก่ที่ได้รับอาหารเสริม **Bacillus subtilis** LS 1-2 มีความยาวของ villus เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะเป็นผลดีในการทำให้การดูดซึมสารอาหารของเซลล์บุผิวลำไส้เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ความลึกของ crypt ยังมีค่าไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งนี้กรณีที่ความลึกของ crypt ลดลงจะทำให้อัตราการดูดซึมสารอาหารลดลง แต่อัตราการขับถ่ายจะเพิ่มมากขึ้น (Xu, Hu, Xia, Zhan and Wang, 2003) นอกจากนี้ Zhang, Cho and Kim (2013) รายงานผลการทดลองใช้แบคทีเรีย **Bacillus subtilis** UBT-MO_2 เสริมในอาหารให้แก่ไก่เป็นเวลา 35 วัน พบว่าการใช้ **Bacillus subtilis** UBT-MO_2 ที่ระดับ 10^5 CFU/kg มีผลให้การเจริญเติบโตของไก่เพิ่มขึ้น 4.4% นอกจากนี้ **Bacillus subtilis** UBT-MO_2 ยังช่วยให้ของเสียที่ไก่ขับถ่ายออกมามีปริมาณแอมโมเนียลดลง 26.9% และไฮโดรเจนซัลไฟด์ลดลง 37.9% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เสริมบาซิลลัสในอาหาร

นอกจากนี้ Giang, Quoc Viet, Ogle and Lindberg (2012) ยังรายงานว่าสามารถนำ **Bacillus subtilis** มาใช้ในอาหารสุกร เพื่อช่วยให้ลูกสุกรที่มีอายุ 26-28 วัน มีอัตราการกินอาหารต่อวันเพิ่มขึ้น มีอัตราการแลกเนื้อลดลง โดยที่มีความสามารถในการย่อยอาหารในลำไส้ส่วน ileum และความสามารถในการย่อยอาหารตลอดความยาวลำไส้เพิ่มมากขึ้น การเสริม **Bacillus subtilis** ในอาหารสุกรมีผลให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหารของลูกสุกรเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้อาหารเสริมแบคทีเรียแลคติก ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียบาซิลลัสสามารถสร้างไฮโดรไลติก เอนไซม์ได้ในปริมาณมาก เช่น เอนไซม์ amylase arabinase cellulose dextranase levansucreas maltase alkaline protease neutral protease และ glucanase ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวเกิดขึ้นในทางเดินอาหาร และช่วยในการย่อยอาหารในลำไส้ให้เพิ่มมากขึ้นได้

Sun, Yang, Ma and Lin (2010) ได้รายงานการศึกษาการใช้ **Bacillus pumilus** และ **Bacillus clausii** ในอาหารสำหรับเลี้ยงปลากะรัง (**Epinephelus coioides**) โดยพบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ดี เมื่อแยกผสมเชื้อทั้ง 2 ชนิดในอาหารปลาในระดับ

1x 10^8 CFU/g และเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 60 วัน ปรากฏว่าอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลาที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรีย และอาหารชุดควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่อัตราการแลกเนื้อลดลงในปลาที่ได้รับอาหารทดลองที่ผสมเชื้อบาซิลลัสทั้ง 2 ชนิด ค่า phagocytic activity และ phagocytic index ตลอดจนค่า serum lysozyme activity และระดับของ IgM ในน้ำเลือดปลามีค่า เพิ่มมากขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารผสมบาซิลลัส ขณะที่ค่า SOD ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมบาซิลลัส และชุดควบคุม

Essa, EL-Serafy, El-Ezabi, Daboor, Esmael and Lall (2010) ทดลองใช้แบคทีเรีย **Bacillus subtilis**, **Lactobacillus plantarum** และเชื้อผสมทั้ง **Bacillus subtilis**, **Lactobacillus plantarum** และ **Saccharomyces cerevisiae** โดยผสมเชื้อแต่ละชุดการทดลองในปริมาณ 10^7 CFU/g ในอาหารเลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 60 วัน ผลการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทุกชุดการทดลอง มีการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ผสมโปรไบโอติก และยังพบว่าปลาทดลองที่ได้รับอาหารผสม **Bacillus subtilis** และ **Lactobacillus plantarum** มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase, protease และ lipase มากขึ้นกว่าชุดควบคุม และส่งผลให้ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตจากอาหารได้มากขึ้นกว่าปลาที่ได้รับอาหารไม่ผสมโปรไบโอติก

Adineh, Jafaryan, Sahandi and Alizadeh (2013) ศึกษาการประยุกต์ใช้ **Bacillus** spp. ในอาหารต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพอาหารในปลาเรนโบว์เทร้าท์วัยอ่อน โดยผสมแบคทีเรียลงในอาหารในปริมาณต่างกัน ได้แก่ 1x10^5, 2x10^5, 3x10^5 และ 4x10^5 CFU/g เทียบกับอาหารชุดควบคุมที่ไม่ผสมแบคทีเรีย เลี้ยงปลาแต่ละชุดการทดลองเป็นเวลา 30 วัน ผลการทดลองพบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Bacillus** spp. ในปริมาณ 2x10^5 CFU/g มีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม โดยที่มีค่าอัตราแลกเนื้อต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม อย่างไรก็ตามอัตราแลกเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารผสม **Bacillus** spp. ในปริมาณ 1x10^5, 3x10^5 และ 4x10^5 CFU/g มีค่าไม่แตกต่างกันกับทั้งชุดควบคุม และปลาในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Bacillus** spp. ในปริมาณ 2x10^5 CFU/g

Kolndadacha, Adikwu, Orgem, Atiribom and Badmus (2013) ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากผิวหนังของปลาดุก (**Clarias anguilaris**) และได้รายงานว่าพบเชื้อแบคทีเรีย **Bacillus firmus** และ **Pseudomonas aeruginosa** ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ได้ดีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขณะที่ El-Haroun (2007) ได้ทำการทดลองใช้ส่วนผสมจุลินทรีย์เชิงการค้า Biogen® ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรีย **Bacillus subtilis** ในระดับความเข้มข้น 6x10^7 CFU/g ในอาหาร และเอนไซม์ไฮโดรไลติกโดยผสมจุลินทรีย์เชิงการค้า Biogen® ในอาหารให้กับปลาดุกแอฟริกัน (**Clarias gariepinus**) ในปริมาณ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2% ในอาหาร พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองผสมจุลินทรีย์เชิงการค้า Biogen® ในปริมาณ 0.5% ขึ้นไปมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเพิ่ม

มากขึ้นกว่าชุดควบคุม ผลการทดลองดังกล่าวทำให้เห็นว่าสามารถลดปริมาณอาหารที่ต้องใช้เลี้ยงปลาลงได้โดยที่ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี เป็นการลดต้นทุนค่าอาหารได้

บทที่ 3

วิธีการศึกษา

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหารของปลานิลแปลงเพศ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (complete randomized design, CRD) ประกอบด้วยการศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์ลักษณะต่างๆ ทั้งจากแหล่งเชื้อบริสุทธิ์ ได้แก่ **Lactobacillus rhamnosus**, **Lactobacillus plantarum** และ **Bacillus subtilis**, **Bacillus licheniformis** และแหล่งเชื้อผสมที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น ได้แก่จุลินทรีย์ ปม. 1 จุลินทรีย์ พด.1 และจุลินทรีย์จากโยเกิร์ต ในอาหารในปริมาณเชื้อ 10^6 CFU/g อาหาร เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ผสมจุลินทรีย์ รวมทั้งสิ้น 8 ชุดการทดลอง ดำเนินการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

การเตรียมปลาทดลอง

นำปลานิลแปลงเพศ ขนาด 2-3 เซนติเมตร จำนวน 2,000 ตัว จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดพัทลุง มาเลี้ยงในบ่อคอนกรีตขนาดความจุ 3,000 ลิตร เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนการทดลอง เพื่อปรับสภาพปลาให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม และทำการสุ่มปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันจำนวน 30 ตัวลงเลี้ยงในถังทดลองแบบพลาสติกกลม ขนาดความจุ 500 ลิตร โดยเลี้ยงปลาทดลองที่ระดับน้ำ 250 ลิตร จำนวน 24 ถัง ติดตั้งระบบให้อากาศ และระบบเปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตราการถ่ายน้ำ 200% ต่อวัน ด้วยระบบเติมน้ำแบบน้ำไหลผ่านตลอด

การเตรียมเซลล์จุลินทรีย์

แบคทีเรียบาซิลลัสที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ **Bacillus subtilis Bacillus licheniformis** และแบคทีเรียแลคติก **Lactobacillus rhamnosus**, **Lactobacillus plantarum** จัดซื้อจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย (TISTR) นำมาเตรียมเซลล์แบคทีเรียเพื่อใช้ผสมอาหารทดลอง ตามวิธีการของ Essa, EL- Serafy, El-Ezabi, Daboor, Esmael, and Lall (2010) โดยเลี้ยงหัวเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียแลคติกแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ขณะที่บาซิลลัสเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB broth ขยายปริมาณเชื้อโดยเลี้ยงในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30-35^0 C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำเชื้อที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ที่ 10000 rpm 15 นาที ล้างเซลล์ที่แยกได้ 2 ครั้งด้วย phosphate buffer saline (PBS) pH 7 และนำมาใช้ผสมในอาหารทดลองแต่ละสูตร ตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ในก่อนนำไปใช้เลี้ยงปลาโดยตรวจนับด้วยวิธี total viable count (TVC) ตามวิธีการของ Daga **et al.** (2013) โดยการเพาะเชื้อบนจานอาหาร plate count agar เพื่อตรวจนับแบคทีเรียทั้งหมด และตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติกโดยเพาะเชื้อบนจานอาหาร MRS agar ส่วนเชื้อผสม

ได้แก่จุลินทรีย์ ปม. 1 จุลินทรีย์ พด.1 ขอรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์โดยตรงจากผู้ผลิต ในลักษณะเชื้อผง และผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต จัดซื้อจากตัวแทนจำหน่ายในท้องถิ่น ตรวจสอบปริมาณ เชื้อผสมโดยตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี total viable count (TVC) ตามวิธีการของ Daga **et al.** (2013) โดยการเพาะเชื้อบนจานอาหาร plate count agar เพื่อตรวจนับแบคทีเรียทั้งหมด และตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติกโดยเพาะเชื้อบนจานอาหาร MRS agar ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลองโดยใช้สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลานิลที่มีปริมาณโปรตีน 30% ไขมัน 8-10 % ด้วยวิธีการ extrusion ในลักษณะอาหารเม็ดลอยน้ำ โดยใช้กากปาล์ม 25% เป็นวัตถุดิบโปรตีนทดแทนปลาป่น (ตารางที่ 1) ทำอาหารทดลองตามขั้นตอนการผลิตอาหารปลาของ Kiriratnikom and Kiriratnikom (2012) อบแห้งอาหาร แล้วนำอาหารสำหรับเลี้ยงปลาในแต่ละชุดการทดลองมาผสมเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิด ตามชุดการทดลองโดยฉีดพ่นเซลล์จุลินทรีย์ในสารละลาย PBS ลงบนอาหารทดลองในปริมาณที่มีเซลล์จุลินทรีย์ $1x10^6$ CFU/g โดยเตรียมอาหารผสมจุลินทรีย์ดังกล่าวในปริมาณที่ใช้หมดใน 24 ชั่วโมง ส่วนอาหารทดลองชุดควบคุมเตรียมโดยผสมอาหารด้วยสารละลาย PBS ที่ไม่มีจุลินทรีย์ ในปริมาณ 1% (v/w) ของอาหารทดลอง ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารแต่ละสูตรก่อนนำไปใช้ตามวิธีการของ Daga **et al.** (2013)

เลี้ยงปลานิลด้วยอาหารในแต่ละชุดการทดลอง โดยให้อาหารวันละ 3 เวลา คือ 08.00-9.00 น. 12.00-13.00 น. และ 16.00-17.00 น. โดยให้อาหารในปริมาณ 3-5% ของน้ำหนักตัวต่อวัน เป็นเวลาการทดลอง 10 สัปดาห์

การเก็บข้อมูล

การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักปลาทั้งหมดในแต่ละถังทดลองเมื่อเริ่มทดลอง และทุก 2 สัปดาห์ของการทดลอง เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ นับจำนวนปลาทุกครั้งที่มีการชั่งน้ำหนัก บันทึกปริมาณอาหารที่ใช้ แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ข้อมูลด้านการเจริญเติบโต การรอดตาย และการแลกเนื้อ ตามสมการดังต่อไปนี้ (Halver and Hardy, 2002)

1. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain ,WG; เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}} \times 100$$

2. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; เท่าต่อวัน)

= (lnน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย – lnน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น)

เวลาในการทดลอง

3. อัตราการรอดตาย (Survival rate;เปอร์เซ็นต์)

= จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง x 100

จำนวนปลาเริ่มต้น

4. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

= น้ำหนักรวมของอาหารทั้งหมดที่ปลากินในแต่ละหน่วยการทดลอง (กรัม)

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาทดลองในแต่ละหน่วยการทดลอง (กรัม)

ตารางที่ 1 สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง

	%
ปลาป่น	8
กากถั่วเหลือง	35
เศษไก่ป่น	17.5
รำละเอียด	16
มันสำปะหลังบด	10
ปลายข้าวบด	10
วิตามินรวม	0.5
แร่ธาตุรวม	1
น้ำมันถั่วเหลือง	1.5
Methionine	0.3
Lysine	0.2

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ค่าการสะสมโปรตีน (protein retention) และค่าการสะสมไขมัน (lipid retention)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำปลานิล จากแต่ละชุดการทดลองจำนวน 9 ตัว สลบให้หมดความรู้สึกด้วยสารละลายน้ำมันกานพลู (clove oil) 100 ppm เป็นเวลา 15 นาที แล้วมาใช้ในการวิเคราะห์หา

องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ปริมาณโปรตีน ความชื้น ไขมัน และปริมาณเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990)

นำผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา คำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ค่าการสะสมโปรตีน (protein retention) และ การสะสมไขมัน (lipid retention) ตามวิธีการของ Halver and Hardy (2002)

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (g)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (g)}}$$

$$\text{ค่าการสะสมโปรตีน (protein retention, \%)} = \frac{\text{น้ำหนักโปรตีนในตัวปลาที่เพิ่มขึ้น (g)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (g)}} \times 100$$

$$\text{ค่าการสะสมไขมัน (lipid retention, \%)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันในตัวปลาที่เพิ่มขึ้น (g)}}{\text{น้ำหนักไขมันที่ปลากิน (g)}} \times 100$$

การตรวจสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหาร

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง เลี้ยงปลาที่เหลือจากการเก็บตัวอย่าง จำนวน 15 ตัวต่อถัง ด้วยอาหารทดลองผสม 0.5% chromic oxide และผสมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ แต่ละสูตร เป็นระยะเวลา 7-10 วัน เก็บตัวอย่างอาหารก่อนให้ปลากิน และมูลปลาที่ขับถ่ายออกมาในช่วง 3-5 ชั่วโมงหลังให้อาหารแต่ละมื้อ เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และปริมาณ chromic oxide และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การย่อย (apparent digestibility coefficienct) ตามวิธีการของ Furukawa and Tsukahara (1966)

การตรวจสอบผลทางเนื้อเยื่อวิทยา

เมื่อสิ้นสุดการทดลองตรวจสอบความผิดปกติด้านโครงสร้างของเนื้อเยื่อ ตับ และลำไส้ของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตร โดยเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปลา 6 ตัว จากแต่ละชุดการทดลองดองในสารละลาย Bouin's Fixative แล้วนำไปศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาตามวิธีการของ Humason (1972) ย้อมสี H&E จากนั้นบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ถ่ายภาพ เพื่อเปรียบเทียบผลของจุลินทรีย์ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของอวัยวะดังกล่าว

การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์ของการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในอาหารปลานิลแปลงเพศ

ตรวจสอบปริมาณผลผลิต และต้นทุนการผลิตโดยคำนวณต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตระหว่างสูตรอาหารที่มีการผสมจุลินทรีย์แต่ละชนิด เทียบกับอาหารชุดควบคุม ตามสมการ (Halver and Hardy, 2002)

ต้นทุนต่อปริมาณผลผลิต = FCR x ราคาอาหารต่อกิโลกรัม

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแบบ One way analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Ducan multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติสำเร็จรูป SPSS version 17 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลการเสริมจุลินทรีย์ในระดับต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหารของปลานิลแปลงเพศ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (complete randomized design, CRD) ประกอบด้วยการศึกษาผลของจุลินทรีย์ที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 ในระดับที่มีปริมาณจุลินทรีย์ในอาหาร 1 x 10^4, 1 x 10^5, 1 x 10^6 และ 1 x 10^7 CFU/g เทียบกับชุดควบคุมซึ่งได้รับอาหารสูตรเดียวกันแต่ไม่ผสมจุลินทรีย์ รวมทั้งสิ้น 5 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ

การเตรียมปลาทดลอง

จัดเตรียมปลาทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดย นำปลานิลแปลงเพศ ขนาด 2-3 เซนติเมตร จำนวน 2,000 ตัว จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดพัทลุง มาเลี้ยงในบ่อคอนกรีตขนาดความจุ 3,000 ลิตร เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนการทดลอง เพื่อปรับสภาพปลาให้เข้ากับสิ่งแวดล้อม และทำการสุ่มปลาที่มีขนาดใกล้เคียงกันจำนวน 30 ตัวลงเลี้ยงในถังทดลองแบบพลาสติกกลม ขนาดความจุ 500 ลิตร โดยเลี้ยงปลาทดลองที่ระดับน้ำ 250 ลิตร จำนวน 15 ถัง ติดตั้งระบบให้อากาศ และระบบเปลี่ยนถ่ายน้ำในอัตราการถ่ายน้ำ 200% ต่อวัน ด้วยระบบเติมน้ำแบบน้ำไหลผ่านตลอด

การเตรียมเซลล์จุลินทรีย์

เตรียมจุลินทรีย์ชนิดที่ให้ผลดีที่สุด จากการทดลองที่ 1 โดยคัดเลือกจากผลในด้านการเจริญเติบโต และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิล ผลิตเซลล์จุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้ตามวิธีการในการทดลองที่ 1

การเตรียมอาหารทดลอง

เตรียมอาหารทดลอง และ วิธีการผสมจุลินทรีย์ที่ให้ผลดีที่สุด ตามวิธีการทดลองที่ 1 โดย โดยฉีดพ่นเซลล์จุลินทรีย์ในสารละลาย PBS ลงบนอาหารทดลองในปริมาณที่มีเซลล์จุลินทรีย์ 1×10^4, 1×10^5, 1×10^6 และ 1×10^7 CFU/g โดยเตรียมอาหารผสมจุลินทรีย์ดังกล่าวในปริมาณที่ใช้หมดใน 24 ชั่วโมง ส่วนอาหารทดลองชุดควบคุมเตรียมโดยผสมอาหารด้วยสารละลาย PBS ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรีย ในปริมาณ 1% (v/w) ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารแต่ละสูตรก่อนนำไปใช้ตามวิธีการของ Daga **et al.** (2013)

เลี้ยงปลาด้วยอาหารในแต่ละชุดการทดลอง โดยให้อาหารวันละ 3 เวลา คือ 08.00-9.00 น. 12.00-13.00 น. และ 16.00-17.00 น. โดยให้อาหารในปริมาณ 3-5% ของน้ำหนักตัวต่อวัน เป็นเวลาการทดลอง 10 สัปดาห์

การเก็บข้อมูล

การตรวจสอบการเจริญเติบโตของปลา

ชั่งน้ำหนักปลาทั้งหมดในแต่ละถังทดลองเมื่อเริ่มทดลอง และทุก 2 สัปดาห์ของการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยทำการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ นับจำนวนปลาทุกครั้งที่มีการชั่งน้ำหนัก บันทึกปริมาณอาหารที่ใช้ แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ข้อมูลด้านการเจริญเติบโต การรอดตาย และการแลกเนื้อ ตามสมการดังต่อไปนี้ (Halver and Hardy, 2002)

1. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain ,WG; เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}} \times 100$$

2. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; เท่าต่อวัน)

$$= \frac{(\ln\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \ln\text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น})}{\text{เวลาในการทดลอง}}$$

3. อัตราการรอดตาย (Survival rate;เปอร์เซ็นต์)

= จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง x 100
จำนวนปลาเริ่มต้น

4. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio, FCR)

= น้ำหนักรวมของอาหารทั้งหมดที่ปลากินในแต่ละหน่วยการทดลอง (กรัม)
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาทดลองในแต่ละหน่วยการทดลอง (กรัม)

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ค่าการสะสมโปรตีน (protein retention) และค่าการสะสมไขมัน (lipid retention)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำปลานิลแปลงเพศ จากแต่ละชุดการทดลองจำนวน 9 ตัว สลบให้หมดความรู้สึกด้วยสารละลายน้ำมันกานพลู (clove oil) 100 ppm เป็นเวลา 15 นาที แล้วมาใช้ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ได้แก่ปริมาณโปรตีน ความชื้น ไขมัน และปริมาณเถ้า ตามวิธีการของ AOAC (1990)

นำผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา คำนวณค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ค่าการสะสมโปรตีน (protein retention) และ การสะสมไขมัน (lipid retention) ตามวิธีการของ Halver and Hardy (2002)

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER)} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (g)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (g)}}$$

$$\text{ค่าการสะสมโปรตีน (protein retention, \%)} = \frac{\text{น้ำหนักโปรตีนในตัวปลาที่เพิ่มขึ้น (g)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (g)}} \times 100$$

$$\text{ค่าการสะสมไขมัน (lipid retention, \%)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันในตัวปลาที่เพิ่มขึ้น (g)}}{\text{น้ำหนักไขมันที่ปลากิน (g)}} \times 100$$

การตรวจสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหาร

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง ตรวจสอบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนในอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยเลี้ยงปลาที่เหลือจากการเก็บตัวอย่าง จำนวน 15 ตัวต่อถัง ด้วยอาหารทดลองผสม 0.5% chromic oxide และผสมจุลินทรีย์ที่ระดับต่างๆ เป็นระยะเวลา 7-10 วัน เก็บตัวอย่างอาหารก่อนให้ปลากิน และมูลปลาที่ขับถ่ายออกมาในช่วง 3-5 ชั่วโมงหลังให้อาหารแต่ละมื้อ เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และปริมาณ chromic oxide และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การย่อย (apparent digestibility coefficient) ตามวิธีการของ Furukawa and Tsukahara (1966)

การตรวจสอบผลทางเนื้อเยื่อวิทยา

เมื่อสิ้นสุดการทดลองตรวจสอบความผิดปกติด้านโครงสร้างของเนื้อเยื่อ ตับ และลำไส้ของปลานิลแปลงเพศที่ได้รับอาหารทดลองแต่ละสูตร โดยเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อปลา 6 ตัว จากแต่ละชุดการทดลองดองในสารละลาย Bouin's Fixative แล้วนำไปศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาตามวิธีการของ Humason (1972) ย้อมสี H&E จากนั้นบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ถ่ายภาพ เพื่อเปรียบเทียบผลของจุลินทรีย์ในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของอวัยวะดังกล่าว

การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์ของการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในอาหารปลานิลแปลงเพศ

ตรวจสอบปริมาณผลผลิต และต้นทุนการผลิตโดยคำนวณต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตระหว่างสูตรอาหารที่มีการผสมจุลินทรีย์แต่ละระดับ เทียบกับอาหารชุดควบคุม ตามสมการ (Halver and Hardy, 2002)

ต้นทุนต่อปริมาณผลผลิต = FCR x ราคาอาหารต่อกิโลกรัม

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแบบ One way analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Ducan multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติสำเร็จรูป SPSS version 17 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดลอง

ผลการทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหารของปลานิลแปลงเพศ

น้ำหนักตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์จากแต่ละแหล่งในปริมาณที่มีเชื้อจุลินทรีย์ $1x10^6$ CFU/g เท่ากันทุกสูตร แสดงในตารางที่ 2 ผลการทดลองพบว่าการเสริมจุลินทรีย์จากแต่ละแหล่งในปริมาณที่มีเชื้อจุลินทรีย์ $1x10^6$ CFU/g ไม่มีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาตลอดการทดลอง ทั้งนี้น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลในแต่ละชุดการทดลองทุกช่วงระยะเวลาที่ทำการตรวจสอบมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 1.29-1.31 กรัมต่อตัว และเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการทดลอง โดยในสัปดาห์ที่ 2 มีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.47-4.62 กรัมต่อตัว และเพิ่มเป็น 13.87 - 14.30, 30.64-31.73 และ 54.88 - 56.75 กรัมต่อตัวในสัปดาห์ที่ 4, 6 และ 8 ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารแต่ละสูตร มีค่าอยู่ในช่วง 89.70 - 93.99 กรัมต่อตัว

ตารางที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (g) ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

	0 week	2 Week	4 Week	6 Week	8 Week	10 Week
T1 Control	1.29 ± 0.00^a	4.51 ± 0.06^a	14.10 ± 0.36^a	31.17 ± 1.31^a	55.12 ± 2.04^a	90.59 ± 4.42^a
T2 Rhamno	1.31 ± 0.03^a	4.56 ± 0.20^a	14.30 ± 0.03^a	31.73 ± 0.12^a	56.75 ± 1.03^a	93.99 ± 2.61^a
T3 Planta	1.32 ± 0.04^a	4.61 ± 0.12^a	14.14 ± 0.53^a	31.36 ± 1.22^a	55.71 ± 2.31^a	90.96 ± 4.33^a
T4 Subtil	1.31 ± 0.02^a	4.59 ± 0.07^a	14.15 ± 0.30^a	31.26 ± 0.56^a	55.73 ± 1.34^a	89.94 ± 2.99^a
T5 Lichen	1.31 ± 0.04^a	4.59 ± 0.07^a	14.19 ± 0.34^a	31.36 ± 0.66^a	55.88 ± 0.64^a	90.90 ± 1.13^a
T6 ปม. 1	1.30 ± 0.05^a	4.62 ± 0.06^a	14.11 ± 0.40^a	30.91 ± 0.67^a	54.88 ± 1.39^a	89.70 ± 1.90^a
T7 พด. 1	1.29 ± 0.02^a	4.59 ± 0.08^a	13.96 ± 0.42^a	30.64 ± 0.61^a	55.81 ± 1.19^a	91.18 ± 2.74^a
T8 Yogurt	1.30 ± 0.02^a	4.47 ± 0.05^a	13.87 ± 0.15^a	31.19 ± 0.77^a	55.57 ± 1.08^a	90.36 ± 0.88^a

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ($P<0.05$)

การเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

น้ำหนักที่เพิ่มอัตราการเจริญเติบจำเพาะ (SGR) ค่าอัตราแลกเนื้อ (FCR) และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 3 ผลการทดลองพบว่าน้ำหนักที่เพิ่มของปลานิลที่ได้รับอาหารทุกสูตรมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยพบว่าตลอดระยะเวลา 10 สัปดาห์ของการทดลองน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลามีค่าอยู่ในช่วง 6,811.71 ± 190.54 - 7,100.77 ± 200.50 % เช่นเดียวกันกับค่าอัตราการเจริญเติบจำเพาะของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทุกสูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 6.05 ± 0.04 - 6.11 ± 0.04 % ต่อวัน และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละชุดทดลอง ($p>0.05$) ทั้งค่าอัตราแลกเนื้อ และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุมและอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าในช่วง 1.15 ± 0.03 - 1.19 ± 0.02 และ 96.67 ± 5.77 - 99.00 ± 1.92 % ตามลำดับ

ตารางที่ 3น้ำหนักที่เพิ่ม (%) อัตราการเจริญเติบจำเพาะ (SGR, %) อัตราแลกเนื้อ (FCR) และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

	Weight gain (%)	SGR (%)	FCR	Survival (%)
T1 Control	6,932.11 ± 365.41[a]	6.07 ± 0.07[a]	1.19 ± 0.02[a]	96.67 ± 5.77[a]
T2 Rhamno	7,100.77 ± 200.50[a]	6.11 ± 0.04[a]	1.15 ± 0.06[a]	96.67 ± 3.33[a]
T3 Planta	6,818.61 ± 331.37[a]	6.05 ± 0.07[a]	1.15 ± 0.03[a]	98.89 ± 1.92[a]
T4 Subtil	6,785.11 ± 182.23[a]	6.05 ± 0.04[a]	1.16 ± 0.02[a]	98.89 ± 1.92[a]
T5 Lichen	6,819.52 ± 286.02[a]	6.05 ± 0.06[a]	1.15 ± 0.03[a]	99.00 ± 1.92[a]
T6 ปม. 1	6,811.71 ± 190.54[a]	6.05 ± 0.04[a]	1.17 ± 0.02[a]	98.89 ± 1.92[a]
T7 พด. 1	6,951.41 ± 105.99[a]	6.08 ± 0.02[a]	1.15 ± 0.03[a]	98.89 ± 1.92[a]
T8 Yogurt	6,877.89 ± 73.28[a]	6.06 ± 0.01[a]	1.17 ± 0.03[a]	97.78 ± 3.85[a]

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ($P<0.05$)

องค์ประกอบทางเคมีของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ แสดงในตารางที่ 4 ปริมาณความชื้น, โปรตีน, ไขมัน และเถ้าในตัวปลานิลเริ่มต้นการทดลองมีค่า 81.13, 56.34, 22.04 และ 15.25 % ตามลำดับ (ตารางที่ 5) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าปริมาณความชื้นในตัวปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์มีค่าอยู่ในช่วง 71.81 ± 0.70 - 73.05 ± 0.37 % โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง (P>0.05) ขณะที่ปริมาณโปรตีนในตัวปลานิลมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) ทั้งนี้พบว่าปริมาณโปรตีนในตัวปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Lactobacillus plantarum** มีค่า 52.54 ± 0.22 % ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ ที่พบว่ามีค่าในช่วง 47.50 ± 2.48 - 49.34 ± 2.19 % อย่างไรก็ตามปริมาณไขมันในตัวปลาทดลองที่ได้รับอาหารทุกสูตรมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยปริมาณไขมันมีค่าอยู่ในช่วง 28.70 ± 3.16 - 33.21 ± 3.41 % ส่วนปริมาณเถ้าของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) โดยปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมที่ไม่เสริมจุลินทรีย์ มีปริมาณเถ้าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ พด. 1 อย่างไรก็ตามปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์สูตรอื่นๆ มีปริมาณเถ้าไม่แตกต่างทางสถิติกับทั้งปลาชุดควบคุม และปลาที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ พด. 1 (P>0.05)

ตารางที่ 4องค์ประกอบทางเคมี (%) ของตัวปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

	Moisture (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Ash (%)
Initial	81.13	56.34	22.04	15.25
T1 Control	72.00 ± 1.85 [a]	47.50 ± 2.48 [a]	28.70 ± 3.16 [a]	17.88 ± 2.01 [b]
T2 Rhamno	71.81 ± 0.70 [a]	48.45 ± 1.65 [a]	31.86 ± 1.91 [a]	16.04 ± 1.46 [ab]
T3 Planta	71.70 ± 0.69 [a]	52.54 ± 0.22 [b]	33.21 ± 3.41 [a]	15.14 ± 0.86 [ab]
T4 Subtil	73.05 ± 0.37 [a]	48.20 ± 1.89 [a]	30.09 ± 0.80 [a]	15.69 ± 2.29 [ab]
T5 Lichen	72.26 ± 1.13 [a]	47.85 ± 1.69 [a]	32.27 ± 1.24 [a]	15.41 ± 1.71 [ab]
T6 ปม. 1	72.76 ± 0.85 [a]	48.52 ± 0.87 [a]	30.56± 0.55 [a]	15.47 ± 1.92 [ab]
T7 พด. 1	72.34 ± 0.74 [a]	49.34 ± 2.19 [a]	31.60 ± 2.94 [a]	13.67 ± 1.67 [a]
T8 Yogurt	72.19 ± 0.69 [a]	48.97 ± 1.86 [a]	30.74 ± 2.45 [a]	15.18 ± 0.70 [ab]

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05)

ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการย่อยของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein retention) ตลอดจนค่าประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid retention) และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์แสดงในตารางที่ 5 ผลการทดลอง พบว่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ มีค่าอยู่ในช่วง 2.57 ± 0.04 – 2.67 ± 0.07 โดยที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง ($P>0.05$) ขณะที่ค่าประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Lactobacillus plantarum** มีค่าประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน 39.73 ± 0.30 % ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ ที่พบว่ามีค่าในช่วง 34.20 ± 0.72-36.63 ± 2.54 % นอกจากนี้ยังพบว่าค่าประสิทธิภาพการสะสมไขมันของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Lactobacillus plantarum** มีค่าสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม อย่างไรก็ตามปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์สูตรอื่นๆ มีประสิทธิภาพการสะสมไขมันไม่แตกต่างกับทั้งปลาในชุดควบคุม และปลาที่ได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** ($P>0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริม **Lactobacillus plantarum** ในอาหารมีผลให้ปลานิลมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเพิ่มสูงขึ้น และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม และปลาที่ได้รับอาหารเสริม **Bacillus licheniformis** ($P<0.05$) โดยพบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** มีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน 80.36 ± 4.58 % ขณะที่ปลาในชุดควบคุมมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน 68.06 ± 7.11 % ส่วนปลาที่ได้รับอาหารเสริม **Bacillus licheniformis** มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน 70.36 ± 3.33 % ทั้งนี้ปลาในชุดการทดลองที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนไม่แตกต่างทางสถิติกับทั้งปลาในชุดควบคุม และปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Lactobacillus plantarum** และ **Bacillus licheniformis** ($P>0.05$)

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein retention, %) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid retention, %) และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (%) ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

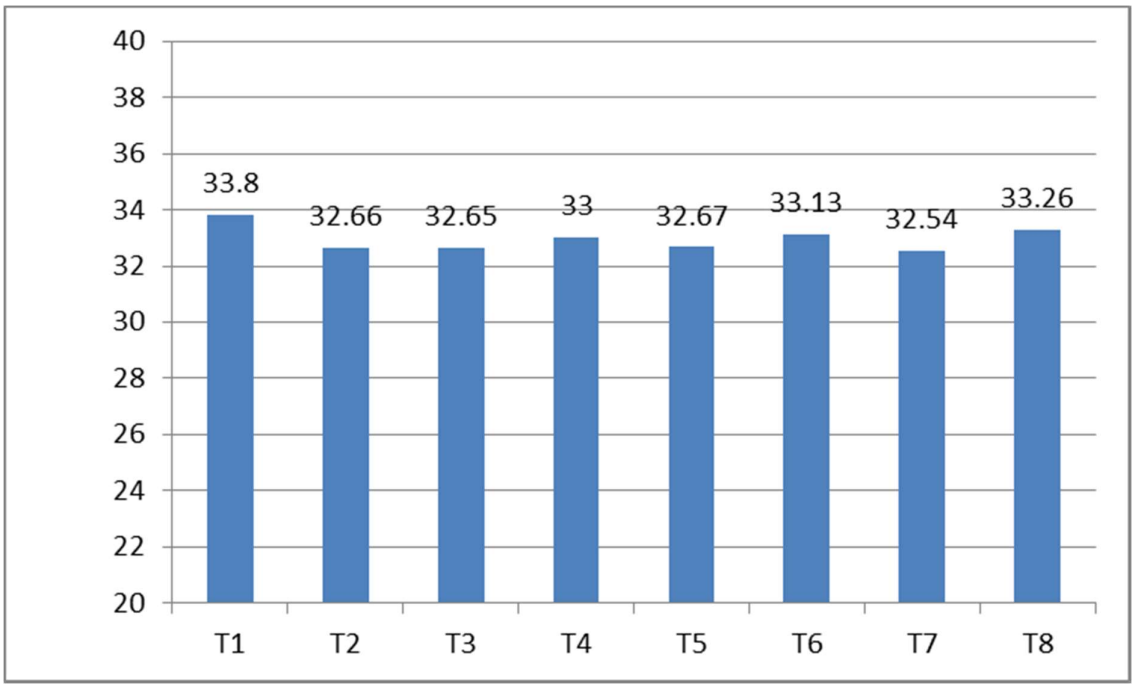
	PER	Protein retention (%)	Lipid retention (%)	Protein digestibility (%)
T1 Control	2.57 ± 0.04^{a}	34.20 ± 0.72^{a}	66.69 ± 10.76^{a}	68.06 ± 7.11^{a}
T2 Rhamno	2.66 ± 0.14^{a}	36.47 ± 1.39^{a}	77.05 ± 5.78^{ab}	77.81 ± 3.98^{bc}
T3 Planta	2.66 ± 0.07^{a}	39.73 ± 0.30^{b}	80.61 ± 8.96^{b}	80.36 ± 4.58^{c}
T4 Subtil	2.63 ± 0.04^{a}	34.28 ± 1.27^{a}	68.71 ± 1.64^{ab}	74.12 ± 2.87^{abc}
T5 Lichen	2.66 ± 0.07^{a}	36.63 ± 2.54^{a}	75.32 ± 3.84^{ab}	70.36 ± 3.33^{ab}
T6 ปม. 1	2.62 ± 0.04^{a}	34.75 ± 0.48^{a}	70.31 ± 3.20^{ab}	75.03 ± 6.39^{abc}
T7 พด. 1	2.67 ± 0.07^{a}	36.58 ± 2.51^{a}	75.16 ± 7.45^{ab}	75.53 ± 0.81^{abc}
T8 Yogurt	2.61 ± 0.07^{a}	35.70 ± 1.82^{a}	72.13 ± 9.25^{ab}	73.32 ± 2.73^{abc}

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ($P<0.05$)

การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์ของการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในอาหารปลานิลแปลงเพศ

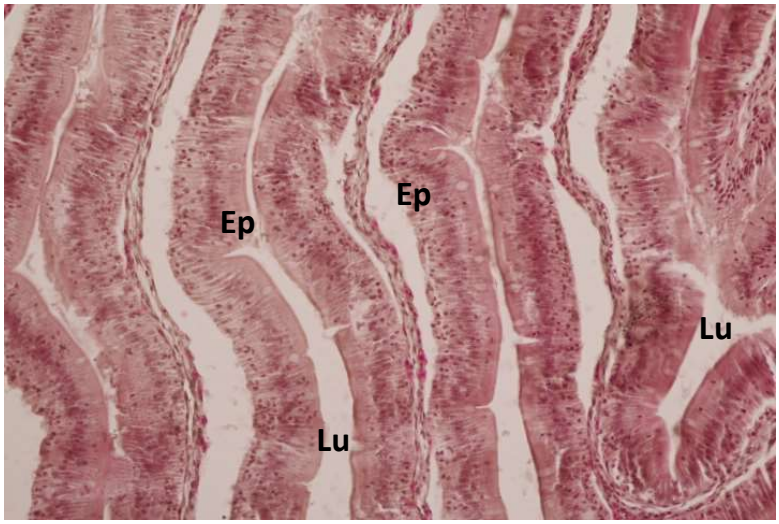
เมื่อตรวจสอบปริมาณผลผลิต และต้นทุนค่าอาหารเพื่อคำนวณต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต ระหว่างสูตรอาหารที่มีการผสมจุลินทรีย์ เทียบกับอาหารชุดควบคุม พบว่าการเสริมจุลินทรีย์ทุกชนิด และอาหารไม่เสริมจุลินทรีย์มีผลให้ต้นทุนค่าอาหารต่อปลา 1 กิโลกรัม มีค่าอยู่ในช่วง 32.54-33.80 บาท ต่อปลานิล 1 กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา (บาท ต่อปลา 1 กิโลกรัม) ของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริม จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์



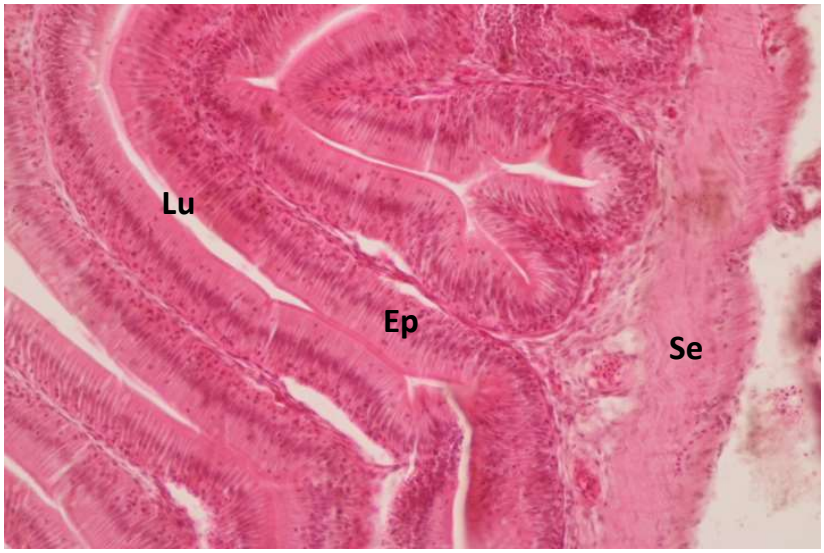
การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของตับ และลำไส้

ไม่พบลักษณะผิดปกติทางเนื้อเยื่อของลำไส้ และตับของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทุกสูตร โดยลักษณะทางเนื้อเยื่อลำไส้ประกอบด้วยชั้น Mucosa ยื่นยาวเข้าไปใน Lumen และมีการแตกแขนงเพียงเล็กน้อย เซลล์เยื่อบุเป็นรูปสี่เหลี่ยมทรงสูงชั้นเดียว (Simple columnar epithelium) มีนิวเคลียสรูปรีอยู่ค่อนไปทางด้านฐาน ระหว่างเซลล์เยื่อบุมีต่อมเมือกแทรกอยู่ ถัดลงไปเป็นชั้น Lamina Propria ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางๆ ค้ำจุนส่วนของ Mucosa ใต้ลงมาเป็นชั้น Submucosa ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเรียงตัวกันแน่น ถัดมาเป็นชั้น Muscularis ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ 2 ชั้น และชั้นนอกสุด คือ ชั้น Serosa มีเซลล์รูปแบนชั้นเดียว ดังแสดงในภาพที่ 2-9 จากการตรวจสอบลักษณะทางเนื้อเยื่อตับ พบโครงสร้างของตับประกอบด้วย Hepatic tubules ซึ่งล้อมรอบด้วย hepatocytes เรียงตัวเป็นแถวโดยมีช่องว่าง Vascular sinusoids กั้นระหว่างแถว พบเส้นเลือดดำ (Hepatic vein) และท่อน้ำดี (Bile duct) ดังแสดงในภาพที่ 10-17

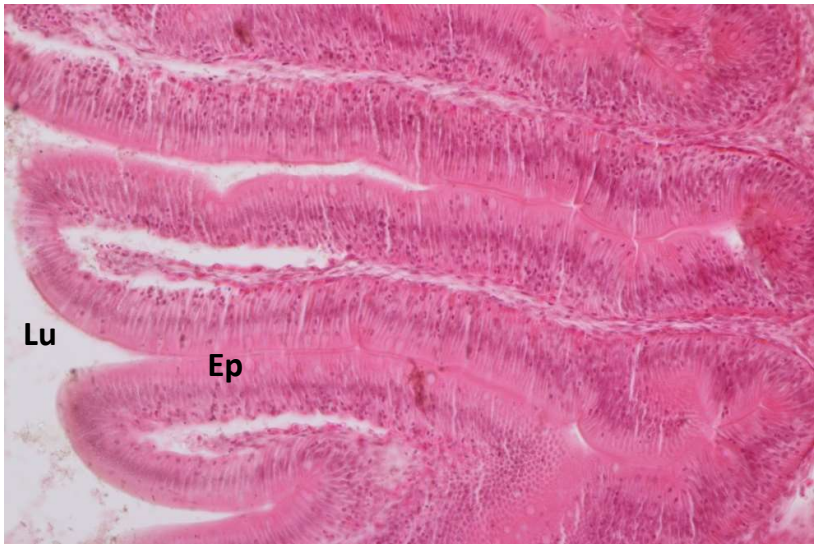


ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (T1) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
(Lu = Lumen; Ep = Epithelium) (400X)

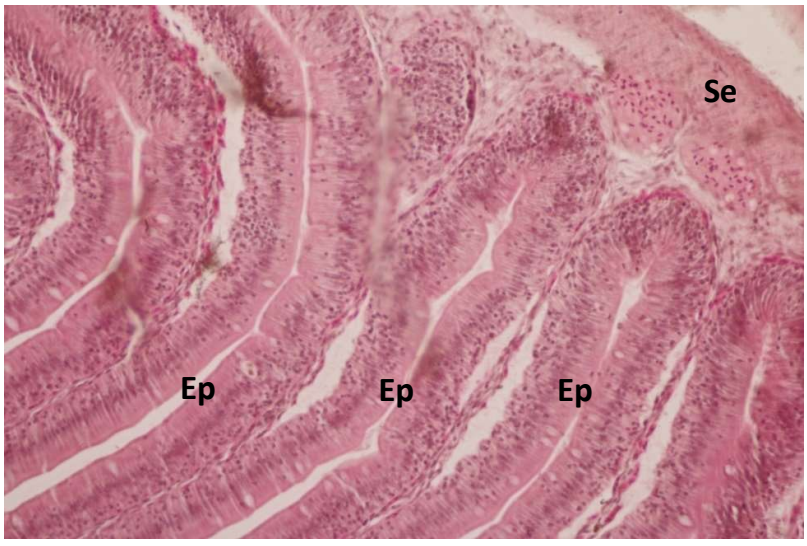
ภาพที่ 3 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus rhamnosus** (T2) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Lu = Lumen; Ep = Epithelium; Lp = Lamina propria) (400X)



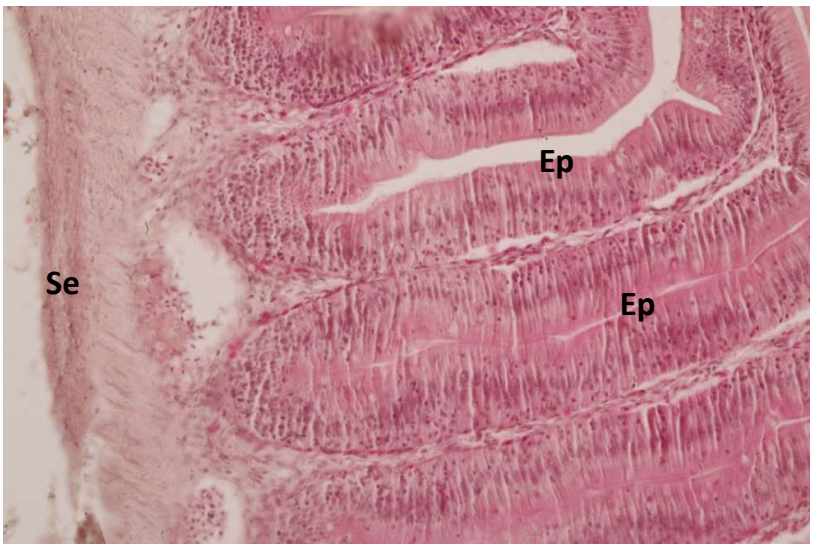
ภาพที่ 4 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** (T3) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Lu = Lumen; Ep = Epithelium; Se = Serosa) (400X)



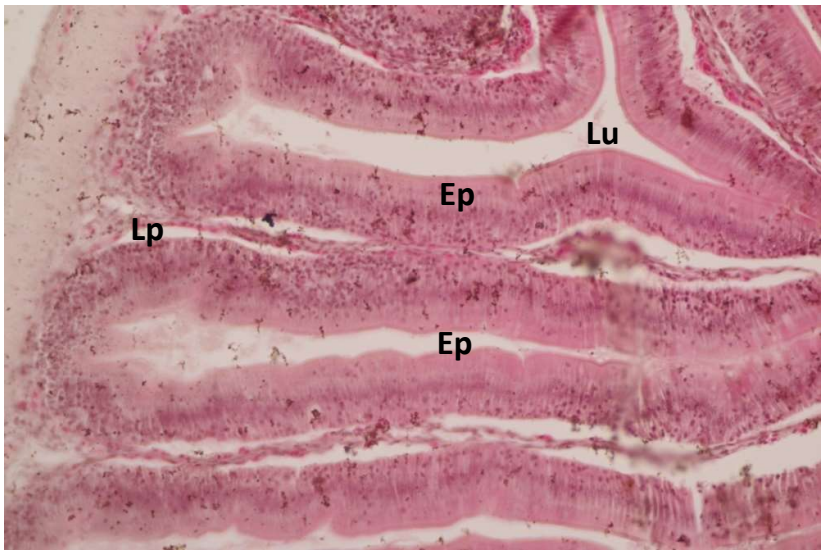
ภาพที่ 5 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Bacillus subtilis** (T4) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Lu = Lumen; Ep = Epithelium) (400X)



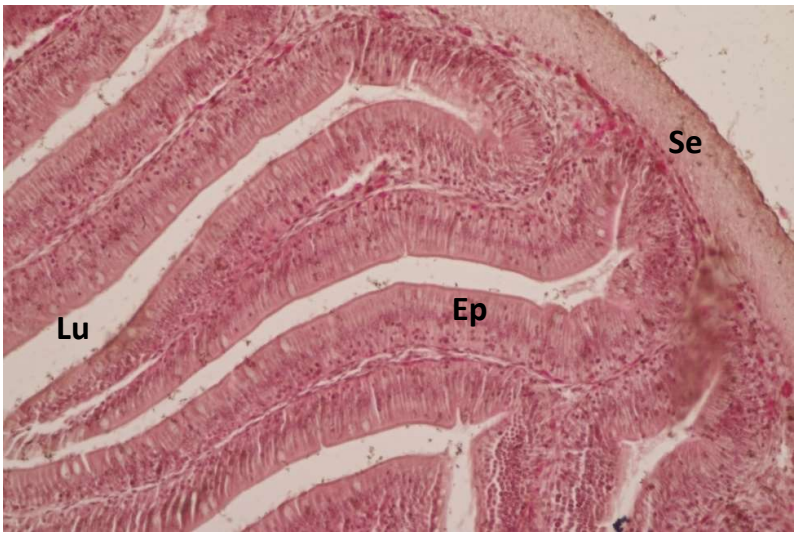
ภาพที่ 6 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Bacillus licheniformis** (T5) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Ep = Epithelium; Se = Serosa) (400X)



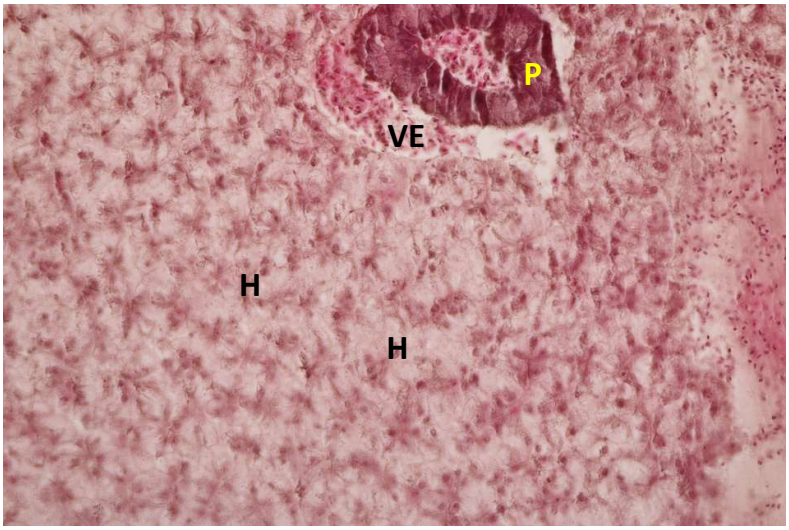
ภาพที่ 7 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ ปม. 1 (T6) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Ep = Epithelium; Se = Serosa) (400X)



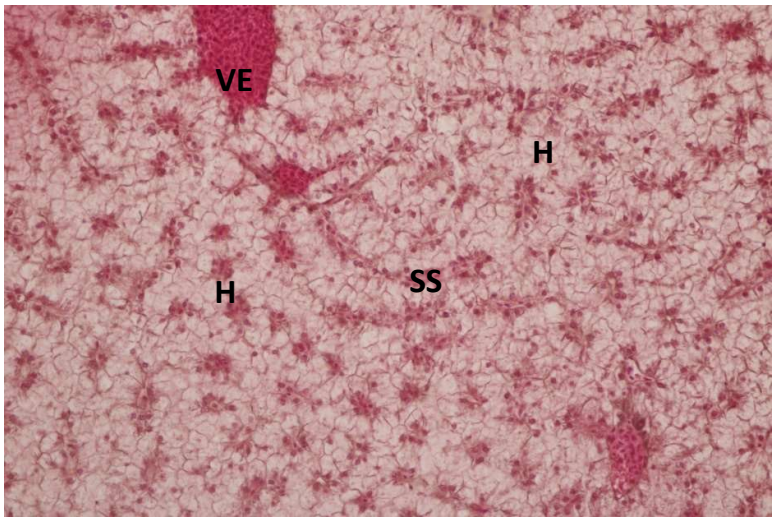
ภาพที่ 8 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ พด.1 (T7) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Lu = Lumen; Ep = Epithelium; Lp = Lamina propria) (400X)



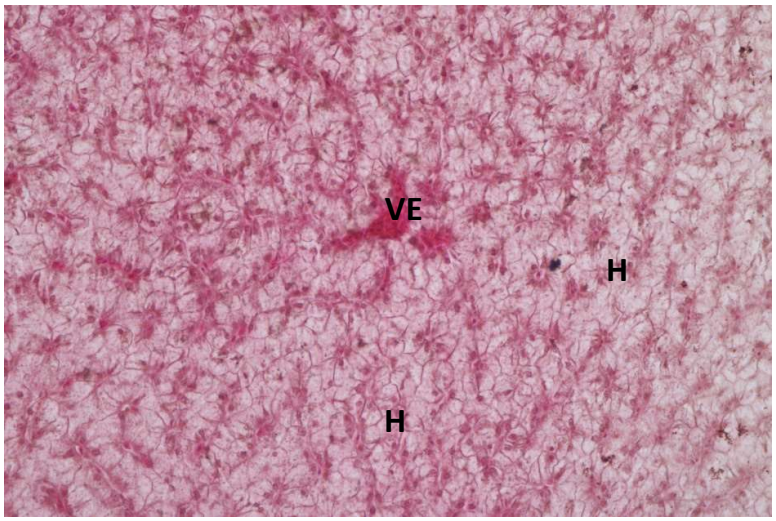
ภาพที่ 9 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์จากโยเกิร์ต (T8) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
(Lu = Lumen; Ep = Epithelium; Se = Serosa) (400X)



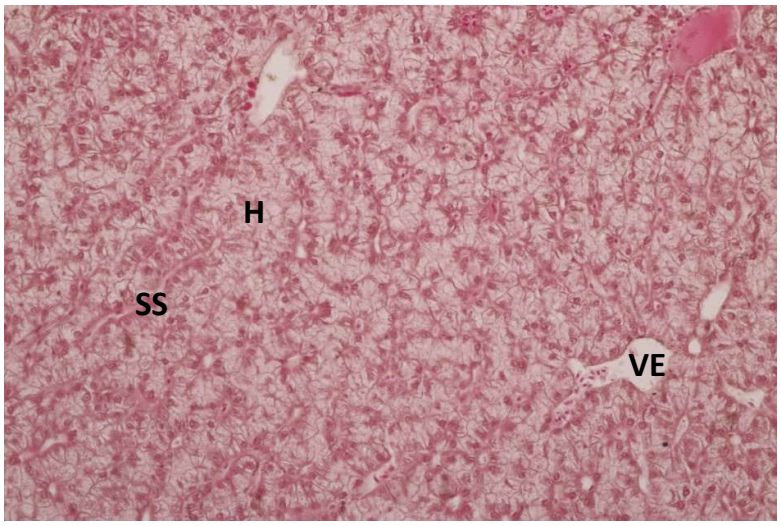
ภาพที่ 10 ตับปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (T1) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
(H = Hepatocyte; VE = Vein; P = Pancreas) (400X)



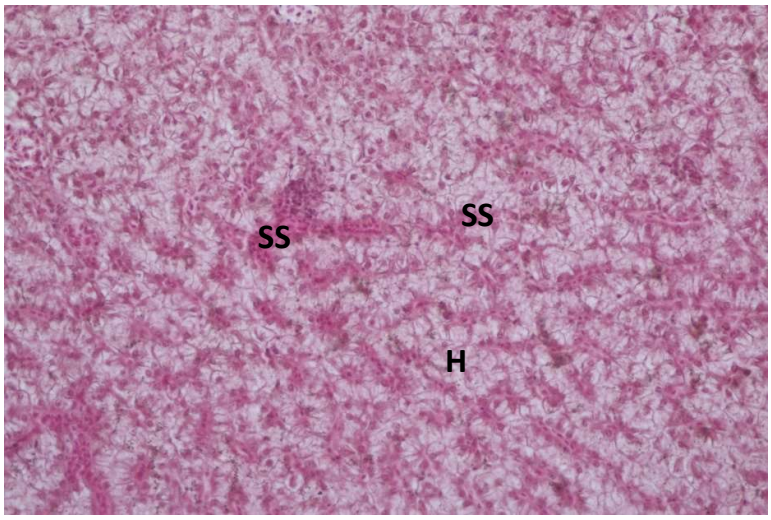
ภาพที่ 11 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus rhamnosus** (T2) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (H = Hepatocyte; VE = Vein; SS = Sinusoid) (400X)



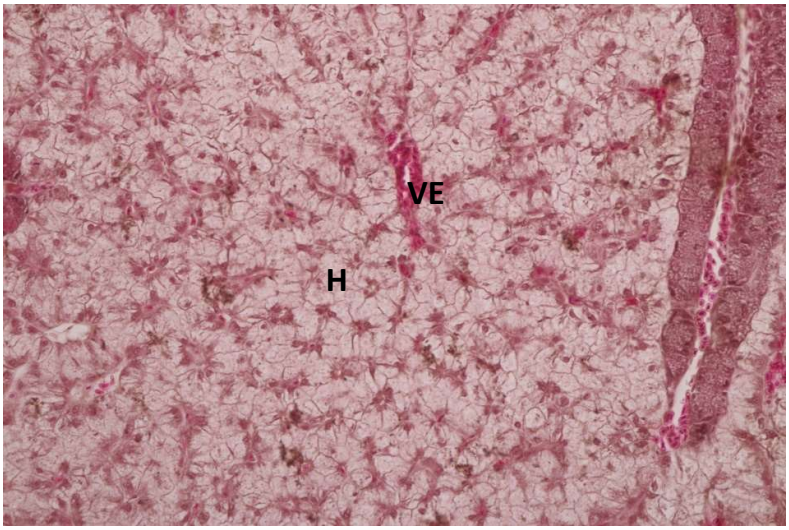
ภาพที่ 12 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** (T3) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (H = Hepatocyte; VE = Vein) (400X)



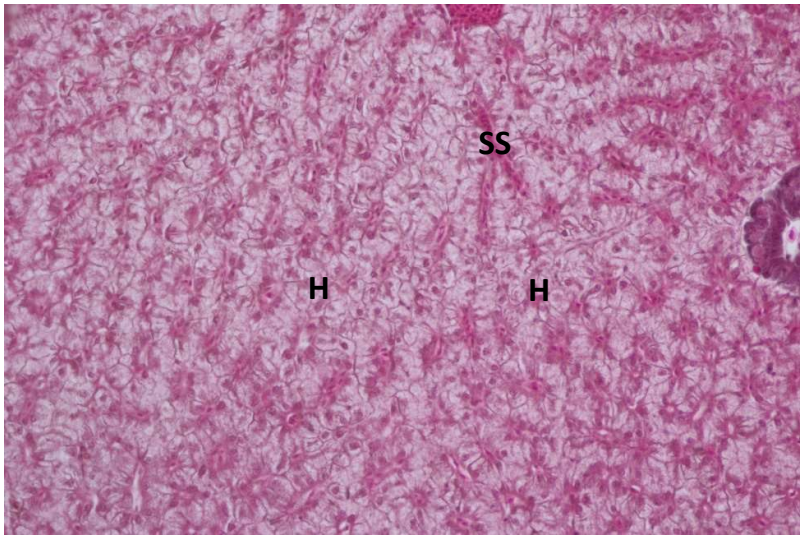
ภาพที่ 13 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Bacillus subtilis** (T4) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
(H = Hepatocyte; VE = Vein; SS = Sinusoid) (400X)



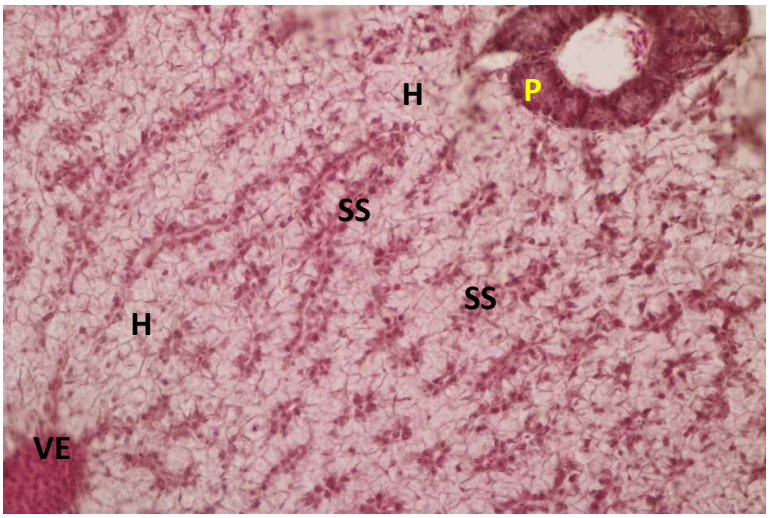
ภาพที่ 14 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Bacillus licheniformis** (T5) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
(H = Hepatocyte; SS = Sinusoid) (400X)



ภาพที่ 15 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ ปม. 1 (T6) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
(H = Hepatocyte; VE = Vein) (400X)



ภาพที่ 16 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์ พด.1 (T7) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
(H = Hepatocyte; SS = Sinusoid) (400X)



ภาพที่ 17 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริมจุลินทรีย์จากโยเกิร์ต (T8) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (H = Hepatocyte; VE = Vein; SS = Sinusoid; P = Pancreas) (400X)

ผลการทดลองที่ 2 ศึกษาผลการเสริมจุลินทรีย์ในระดับต่างๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร องค์ประกอบทางเคมี ประสิทธิภาพการย่อย และประสิทธิภาพการสะสมสารอาหารของปลานิลแปลงเพศ

น้ำหนักตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ

น้ำหนักของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ แสดงในตารางที่ 6 ผลการทดลองพบว่าการเสริมจุลินทรีย์ **L. plantarum** ในปริมาณที่มีเชื้อจุลินทรีย์ $1x10^4$- $1x10^7$ CFU/g ไม่มีผลต่อน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลตลอดการทดลองเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ ทั้งนี้น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลในแต่ละชุดการทดลองทุกช่วงระยะเวลาที่ทำการตรวจสอบมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลเมื่อเริ่มการทดลองมีค่าโดยเฉลี่ย 1.04 กรัมต่อตัว และมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการทดลอง โดยในสัปดาห์ที่ 2 มีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 6.37-6.44 กรัมต่อตัว และเพิ่มเป็น 18.09-18.60, 37.50-39.02 และ 69.21-71.94 กรัมต่อตัวในสัปดาห์ที่ 4, 6 และ 8 ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลานิลที่ได้รับอาหารแต่ละสูตร มีค่าอยู่ในช่วง 108.16 – 110.64 กรัมต่อตัว

ตารางที่ 6 น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว (g) ของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

	0 week	2 Week	4 Week	6 Week	8 Week	10 Week
T1 Control	1.04 ± 0.01^a	6.41 ± 0.15^a	18.60 ± 0.82^a	38.40 ± 2.33	71.19 ± 2.96^a	108.94 ± 9.51^a
T2 Planta 10^4	1.04 ± 0.03^a	6.37 ± 0.18^a	18.09 ± 0.77^a	37.50 ± 1.61^a	69.21 ± 3.57^a	108.16 ± 6.62^a
T3 Planta 10^5	1.04 ± 0.01^a	6.35 ± 0.20^a	18.52 ± 0.39^a	38.39 ± 1.30^a	70.94 ± 2.16^a	110.64 ± 4.94^a
T4 Planta 10^6	1.04 ± 0.01^a	6.44 ± 0.14^a	18.46 ± 0.43^a	39.02 ± 1.75^a	71.94 ± 3.66^a	108.50 ± 6.79^a
T5 Planta 10^7	1.04 ± 0.02^a	6.42 ± 0.11^a	18.52 ± 0.39^a	38.96 ± 1.02^a	71.87 ± 2.70^a	109.30 ± 1.57^a

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ($P<0.05$)

การเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า น้ำหนักที่เพิ่มอัตราการเจริญเติบจำเพาะ (SGR) ค่าอัตราแลกเนื้อ (FCR) และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยพบว่าตลอดระยะเวลา 10 สัปดาห์ของการทดลองน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลมีค่าอยู่ในช่วง 10,312.31 ± 747.56 - 10,510.70 ± 561.74 % เช่นเดียวกันกับค่าอัตราการเจริญเติบจำเพาะของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองทุกสูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 6.63 ± 0.10 - 6.66 ± 0.08 % ต่อวัน และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง ($p>0.05$) ทั้งค่าอัตราแลกเนื้อ และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารทุกสูตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าในช่วง 1.03 ± 0.02 - 1.07 ± 0.05 และ 86.67 ± 5.77 – 91.11 ± 5.09 % ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 น้ำหนักที่เพิ่ม (%) อัตราการเจริญเติบจำเพาะ (SGR, %) อัตราแลกเนื้อ (FCR) และการรอดตายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

	Weight gain (%)	SGR (%)	FCR	Survival (%)
T1 Control	10,380.91 ± 989.25[a]	6.64 ± 0.13[a]	1.07 ± 0.02[a]	86.67 ± 5.77[a]
T2 Planta 10^4	10,332.25 ± 833.36[a]	6.64 ± 0.12[a]	1.03 ± 0.02[a]	91.11 ± 5.09[a]
T3 Planta 10^5	10,510.70 ± 561.74[a]	6.66 ± 0.08[a]	1.04 ± 0.01[a]	88.89 ± 3.85[a]
T4 Planta 10^6	10,312.31 ± 747.56[a]	6.63 ± 0.10[a]	1.07 ± 0.05[a]	87.78 ± 6.94[a]
T5 Planta 10^7	10,409.80 ± 44.88[a]	6.65 ± 0.01[a]	1.04 ± 0.11[a]	90.00 ± 10.00[a]

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ($P<0.05$)

องค์ประกอบทางเคมีของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ

องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ แสดงในตารางที่ 8 ปริมาณความชื้น, โปรตีน, ไขมัน และเถ้าในตัวปลานิลเริ่มต้นการทดลองมีค่า 79.79, 54.31, 20.67 และ 15.28 % ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณความชื้นในตัวปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ มีค่าอยู่ในช่วง 72.05 ± 1.19 – 72.77 ± 1.06 % โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง ($P>0.05$) เช่นเดียวกับค่าปริมาณโปรตีนในตัวปลานิลที่มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าในช่วง 54.23 ± 2.58 – 55.98 ± 3.13 % และปริมาณไขมันในตัวปลาทดลองที่ได้รับอาหารทุกสูตรมีค่าอยู่ในช่วง 32.14 ± 1.75 - 36.32 ± 2.30 % ปริมาณเถ้าของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ มีค่าอยู่ในช่วง 12.53 ± 1.14 – 16.15 ± 0.09 % ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางเคมี (%) ของตัวปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

	Moisture (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Ash (%)
Initial	79.79	54.31	20.67	15.28
T1 Control	72.05 ± 1.19 [a]	54.53 ± 3.09 [a]	32.14 ± 1.75 [a]	16.15 ± 0.09 [a]
T2 Planta 10^4	72.77 ± 1.06 [a]	55.98 ± 3.13 [a]	34.47 ± 1.98 [a]	13.36 ± 0.80 [a]
T3 Planta 10^5	72.29 ± 0.98 [a]	54.71 ± 1.77 [a]	35.33 ± 2.85 [a]	13.21 ± 0.88 [a]
T4 Planta 10^6	72.24 ± 0.52 [a]	54.23 ± 2.58 [a]	36.32 ± 2.30 [a]	12.53 ± 1.14 [a]
T5 Planta 10^7	72.29 ± 0.92 [a]	54.78 ± 0.84 [a]	34.92 ± 1.25 [a]	12.87 ± 0.68 [a]

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different ($P<0.05$)

ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และประสิทธิภาพการย่อยของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ที่ระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein retention) ตลอดจนค่าประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid retention) และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารเสริม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลที่ได้รับอาหารสูตรต่างๆ มีค่าอยู่ในช่วง 2.87 ± 0.13 – 2.98 ± 0.32 ขณะที่ค่าประสิทธิภาพการสะสมโปรตีนของปลานิลมีค่าในช่วง 43.25 ± 2.69- 45.46 ± 1.15 % ส่วนค่าประสิทธิภาพการสะสมไขมันมีค่าระหว่าง 69.54 ± 5.86 – 79.17 ± 8.24 % ทั้งนี้ค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนมีค่าในช่วง 78.42 ± 4.62 – 83.85 ± 1.72 % ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติในทุกชุดการทดลอง (P>0.05) (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (Protein retention, %) ประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (Lipid retention, %) และประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน (%) ของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

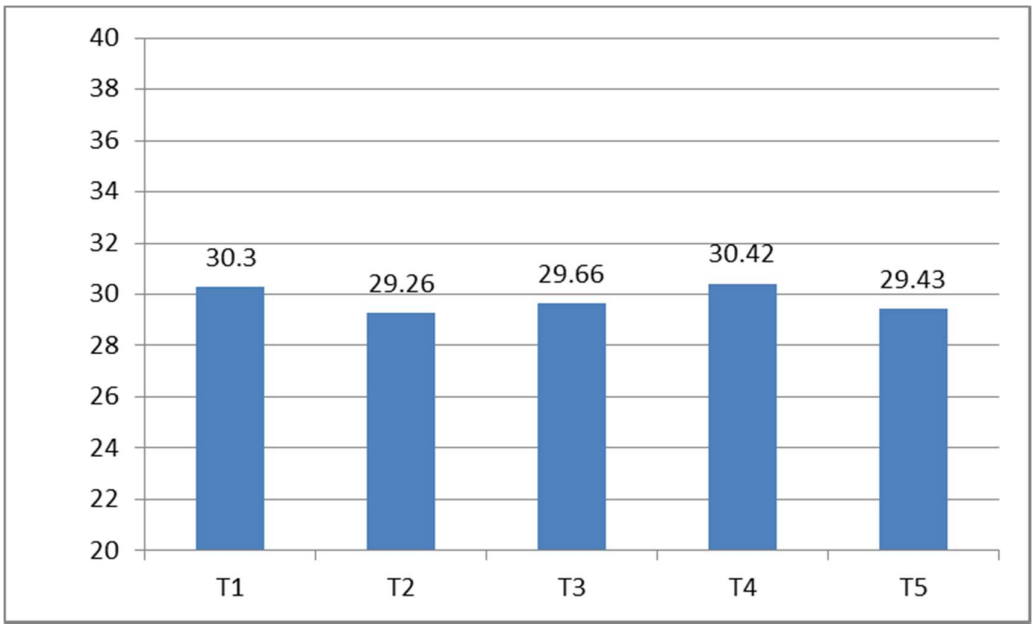
	PER	Protein retention (%)	Lipid retention (%)	Protein digestibility (%)
T1 Control	2.88 ± 0.07^{a}	43.25 ± 2.69^{a}	69.54 ± 5.86^{a}	78.42 ± 4.62^{a}
T2 Planta 10^{4}	2.98 ± 0.05^{a}	45.46 ± 1.15^{a}	76.46 ± 7.04^{a}	83.85 ± 1.72^{a}
T3 Planta 10^{5}	2.94 ± 0.04^{a}	44.64 ± 0.57^{a}	78.71 ± 8.26^{a}	79.63 ± 3.38^{a}
T4 Planta 10^{6}	2.87 ± 0.13^{a}	43.32 ± 3.34^{a}	79.17 ± 8.24^{a}	81.41 ± 3.01^{a}
T5 Planta 10^{7}	2.98 ± 0.32^{a}	45.34 ± 3.98^{a}	78.90 ± 9.48^{a}	81.84 ± 4.08^{a}

Mean within column not sharing the same superscript are significantly different (P<0.05)

การวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์ของการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในอาหารปลานิลแปลงเพศ

เมื่อตรวจสอบปริมาณผลผลิต และต้นทุนค่าอาหารเพื่อคำนวณต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต ระหว่างสูตรอาหารที่มีการผสมจุลินทรีย์ ในระดับต่างๆ เทียบกับอาหารชุดควบคุม พบว่าการเสริมจุลินทรีย์ทุกระดับ และอาหาร ไม่เสริมจุลินทรีย์มีต้นทุนค่าอาหารต่อปลา 1 กิโลกรัม ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 29.26-30.42 บาท ต่อปลานิล 1 กิโลกรัม (ภาพที่ 18)

ภาพที่ 18 ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต (บาท ต่อปลา 1 กิโลกรัม) ของปลานิลที่ได้รับอาหารผสม **L. plantarum** ที่ระดับต่างๆ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

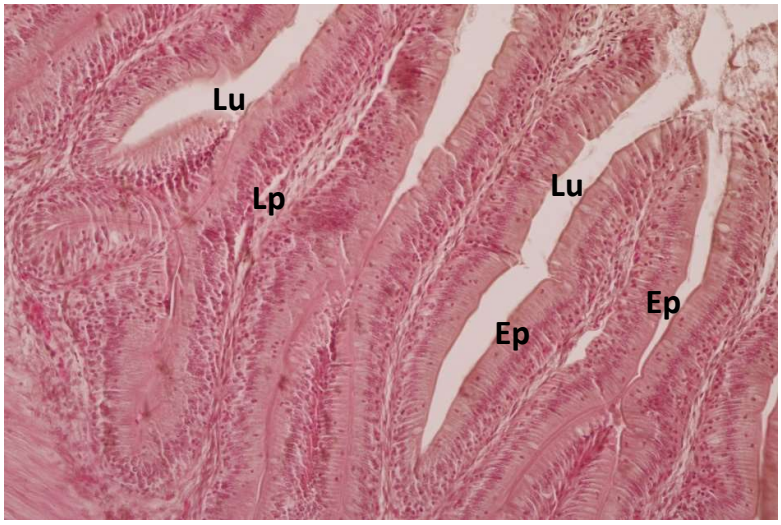


การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อตับ และลำไส้

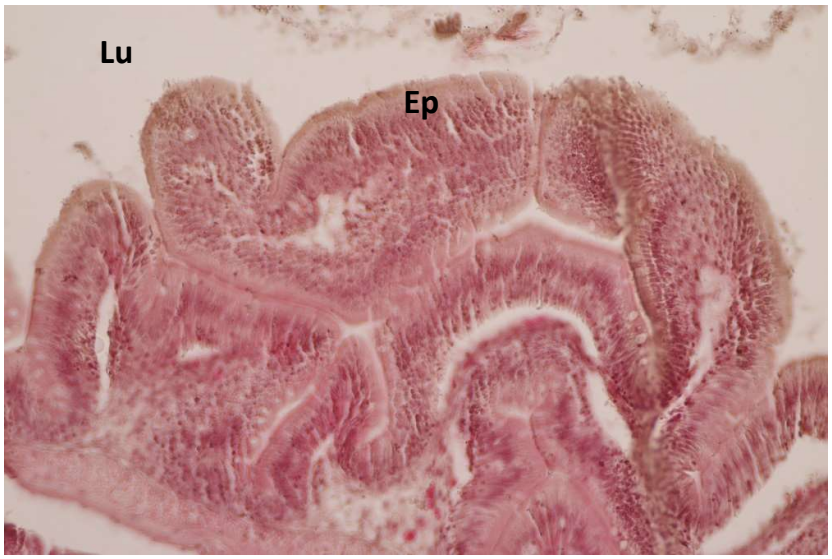
ลำไส้ของปลานิลในการทดลองนี้มีลักษณะปกติ ประกอบด้วยชั้น Mucosa, Submucosa, Muscularis และ Serosa ดังแสดงในภาพที่ 19-23 ไม่พบพยาธิสภาพ และการเปลี่ยนแปลงที่โครงสร้างของตับ (ภาพที่ 24-28) โดยตับปลานิลในการทดลองนี้ประกอบด้วย hepatocytes และ Vascular sinusoids โดยไม่พบ lipid droplet หรือลักษณะ vacuolation

ภาพที่ 19 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (T1) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
(Lu = Lumen; Ep = Epithelium; Lp = Lamina propria; Se = Serosa) (400X)

ภาพที่ 20 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** 10^4 CFU/g (T2) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Lu = Lumen; Ep = Epithelium) (400X)

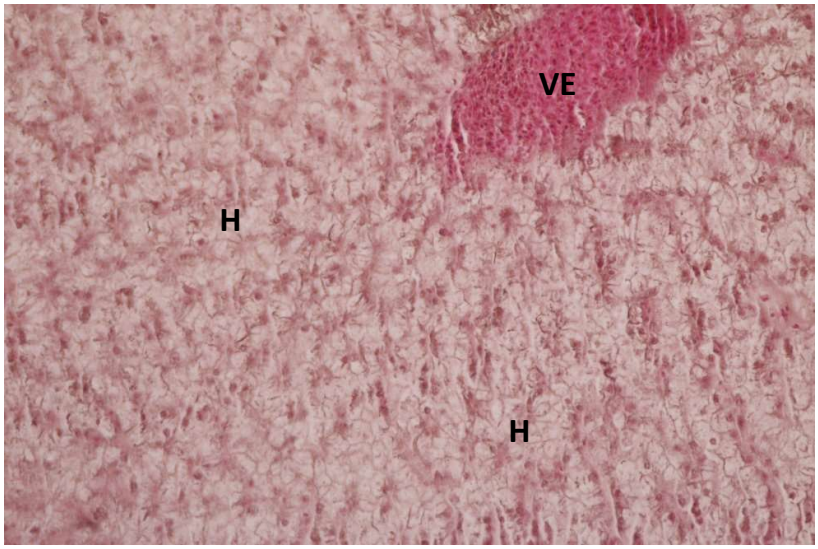


ภาพที่ 21 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** 10^5 CFU/g (T3) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Lu = Lumen; Ep = Epithelium; Lp = Lamina propria) (400X)

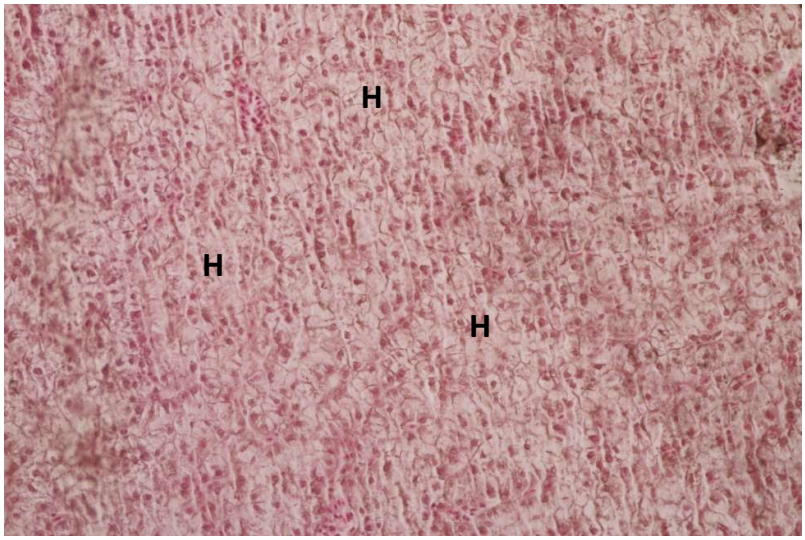


ภาพที่ 22 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** 10^6 CFU/g (T4) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Lu = Lumen; Ep = Epithelium) (400X)

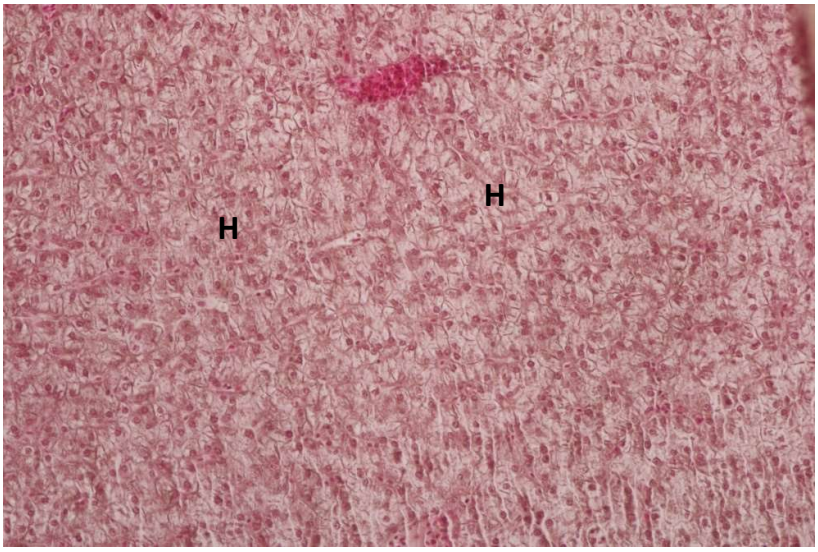
ภาพที่ 23 เนื้อเยื่อลำไส้ปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** 10^7 CFU/g (T5) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (Lu = Lumen; Ep = Epithelium; Lp = Lamina propria; Se = Serosa) (400X)



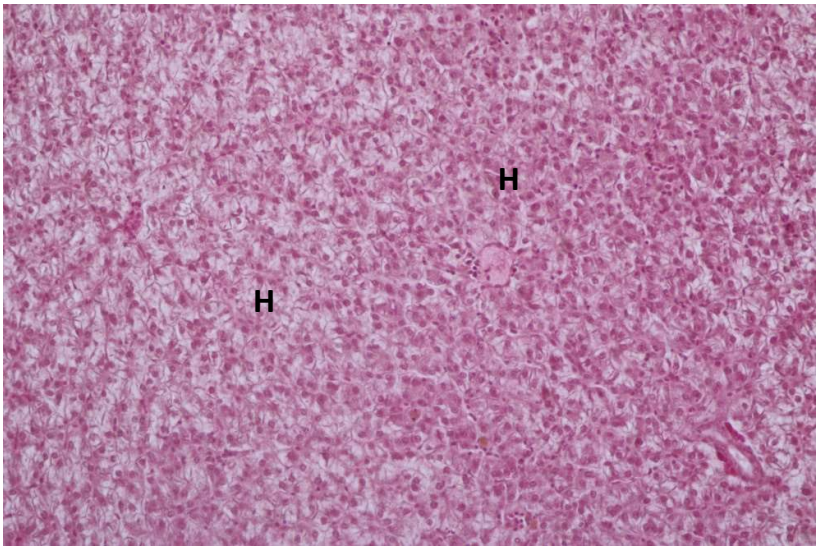
ภาพที่ 24 ตับปลานิลที่ได้รับอาหารชุดควบคุม (T1) เป็นเวลา 10 สัปดาห์
(H = Hepatocyte; VE = Vein) (400X)



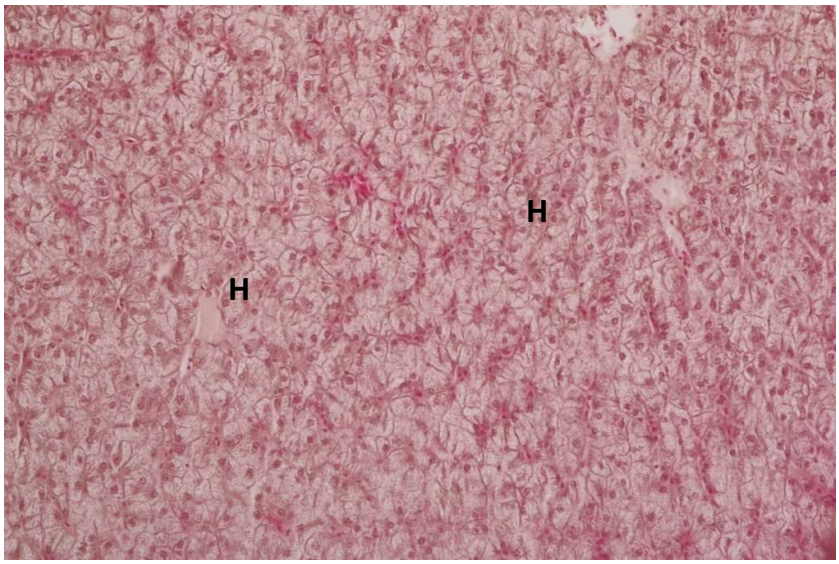
ภาพที่ 25 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** 10^4 CFU/g (T2) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (H = Hepatocyte) (400X)



ภาพที่ 26 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** 10^5 CFU/g (T3) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (H = Hepatocyte) (400X)



ภาพที่ 27 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** 10^6 CFU/g (T4) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (H = Hepatocyte) (400X)



ภาพที่ 28 ตับปลานิลได้รับอาหารเสริม **Lactobacillus plantarum** 10^7 CFU/g (T5) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (H = Hepatocyte) (400X)

บทที่ 5

วิจารณ์ และสรุปผลการทดลอง

จากการทดลองใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ **Lactobacillus rhamnosus**, **Lactobacillus plantarum** และ **Bacillus subtilis**, **Bacillus licheniformis** และจุลินทรีย์ ปม. 1 จุลินทรีย์ พด.1 และผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ผสมในอาหารปลานิลให้มีปริมาณจุลินทรีย์ 10^6 CFU/g อาหาร เทียบกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมที่ไม่ผสมจุลินทรีย์ โดยทดลองในปลานิลแปลงเพศ ขนาด 2-3 เซนติเมตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ซึ่งพบว่า การใช้ใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ผสมในอาหาร ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลา ในระยะเวลา 10 สัปดาห์ ทั้งนี้การทดลองในปลานิลขนาดเล็กในระบบการเลี้ยงที่เริ่มต้นด้วยปลาขนาดเล็ก ให้อากาศต่อเนื่อง มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำและการจัดการระบบการเลี้ยงที่ดี ตลอดจนการในอาหารในปริมาณเพียงพอ และสม่ำเสมอจะมีผลในปลามีภาวะความเครียดต่ำ และมีสุขภาพสมบูรณ์เต็มที่ รวมทั้งมีปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคน้อยมาก ปลาที่อาศัยในสภาพแวดล้อมที่ดีดังกล่าวจะมีการเจริญเติบโตสูง และมีปัญหาด้านสุขภาพน้อยมาก ส่งผลให้ไม่พบความแตกต่างในด้านการเจริญเติบโต การแลกเนื้อ การรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้อาหารในระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก กับปลาในกลุ่มควบคุม ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ รัตนสุดา ไชยเชษฐ์ (2554) ซึ่งทดลองใช้จุลินทรีย์อีเอ็ม (effective microorganism, EM) เป็นโปรไบโอติกผสมในอาหารเพื่อเลี้ยงปลาโมง (**Pangasius bocourti**) โดยแบ่งเป็นชุดควบคุมใช้อาหารอัดเม็ดไม่ใช้อีเอ็ม, และใช้อีเอ็มผสมอาหารก่อนอัดเม็ดในอัตรา 10 และ 20 % ของอาหาร และชุดการทดลองที่ใช้อาหารอัดเม็ดแล้วนำมาคลุกอีเอ็มในอัตรา 5 และ 10% ของอาหาร เลี้ยงปลาโมงที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 1.54 กรัมต่อตัว เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า น้ำหนักตัวเฉลี่ย น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ย น้ำหนักตัวเพิ่มต่อวัน อัตราการรอดตาย และอัตราการแลกเนื้อของปลาโมงไม่มีความแตกต่างกัน ผลจากการทดลองดังกล่าวผู้วิจัยได้สรุปว่า การใช้อีเอ็มเป็นโปรไบโอติกไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาโมงขนาดเล็ก เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีความหนาแน่นต่ำ และมีการจัดการอาหารและคุณภาพน้ำที่ดี อย่างไรก็ตามมีรายงานการใช้จุลินทรีย์เชิงการผสมในอาหารปลาแล้วมีผลให้การเจริญเติบโตของปลาเพิ่มมากขึ้นด้วยเช่นกัน ดังเช่น รายงานของ วิลาวัณย์ รุ่มรวย, สุรวัฒน์ ชะลอสันติสกุล, สมฤดี ศิลาฤดี และ จารุณี เกสรพิกุล (2554) ซึ่งทดลองเสริมโปรไบโอติกเชิงการค้า (QP probiotic™) ในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นำไปเลี้ยงปลานิล เป็นเวลานาน 60 วัน พบว่าปริมาณคิวพีโปรไบโอติกส์ที่ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปมีผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิล โดยปลาที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมใน

อาหารเม็ดสำเร็จรูป ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด รองมา คือปลานิลที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปความเข้มข้น 0.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยปลาที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะดีที่สุด รองมาคือปลาที่ได้รับคิวพีโปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปความเข้มข้น 0.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการทดลองดังกล่าวดำเนินการโดยใช้ส่วนผสมเชิงการค้าผสมลงในอาหารสำเร็จรูป ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าส่วนผสมดังกล่าวมิได้มีเฉพาะจุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบเพียงอย่างเดียว อาจมีส่วนผสมของสารอาหารอื่น เช่นกรดอะมิโนจำเป็น วิตามิน และ/หรือสารกระตุ้นการกินอาหารของปลาเป็นองค์ประกอบอยู่ในผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์เชิงการค้า ซึ่งจะมีผลให้ปลาที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมดังกล่าวได้รับสารอาหารมากขึ้น หรือกินอาหารได้มากขึ้น ส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตมากขึ้นกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารชุดควบคุม โดยที่ผลที่เกิดขึ้นนั้นอาจจะไม่ได้เกิดขึ้นจากกลไกการทำงานของจุลินทรีย์ในส่วนผสม แต่เกิดจากส่วนประกอบอื่นๆ ที่ผสมอยู่ในผลิตภัณฑ์เชิงการค้าดังกล่าว ในขณะที่ Merrifield et al. (2010) พบว่าการเจริญเติบโต การใช้ประโยชน์จากอาหารและองค์ประกอบทางเคมีในปลาเรนโบว์เทราท์ที่ใช้ **Bacillus subtilis** และ **B. licheniformis** เป็นโปรไบโอติกไม่มีความแตกต่างกัน เช่นเดียวกันกับ Barbosa et al. (2011) ศึกษาการเจริญเติบโตของปลา Snook (**Centropomus parallelus**) พบว่า การเสริมโปรไบโอติก **L. plantarum** ลงในอาหารปลาไม่มีผลต่อ การเจริญเติบโต อัตรารอดตาย หรือ องค์ประกอบของร่างกาย แต่ค่าเปอร์เซ็นต์ของตับต่อน้ำหนักตัว (HSI) ของปลาที่ได้รับอาหารเสริมโปรไบโอติกสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

แม้ว่าจุลินทรีย์ **Lactobacillus rhamnosus**, **Lactobacillus plantarum** และ **Bacillus subtilis**, **Bacillus licheniformis** และจุลินทรีย์ ปม. 1 จุลินทรีย์ พด.1 และผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ที่ได้ผสมในอาหารปลานิลให้มีปริมาณจุลินทรีย์ 10^6 CFU/g อาหาร จะไม่มีผลช่วยให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นกว่าปลาที่ได้รับอาหารปกติ แต่การทดลองใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ผสมในอาหารปลานิลครั้งนี้ พบว่ามีจุลินทรีย์ บางชนิดมีผลให้องค์ประกอบทางเคมี และการย่อยอาหารของปลาเพิ่มมากขึ้นกว่าชุดควบคุม กล่าวคือโปรตีนในตัวปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Lactobacillus plantarum** มีค่าสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ รวมทั้งยังมีค่าประสิทธิภาพการสะสมโปรตีน (protein retention) สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพการสะสมไขมัน (lipid retention) ของปลานิลที่ได้รับอาหารทดลองเสริม **Lactobacillus plantarum** มีค่าสูงกว่า เมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม การเสริม **Lactobacillus plantarum** ในอาหารยังมีผลให้ปลานิลมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุม ผลที่เกิดขึ้นดังกล่าวนี้เกี่ยวข้องกับเรื่องของการย่อย และดูดซึมสารอาหาร ทั้งนี้ Welker and Lim (2011) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกในปลานิล ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มบาซิลลัส และแลคโต

บาซิลลัส และยีสต์ ที่เสริมในอาหารจะเข้าสู่ทางเดินอาหารของปลาและมีผลต่อสรีรวิทยา และการเจริญเติบโตของปลา โดยมีผลสร้างสารยับยั้งเชื้อก่อโรค ยับยั้งการเกาะตัวของเชื้อโรคในทางเดินอาหาร ตลอดจนยับยั้งการทำงานของยีนที่สร้างสารพิษที่มีในเชื้อโรค รวมทั้งมีผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้กับปลาที่ได้รับโปรไบโอติก จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เป็นโปรไบโอติกจะสามารถสร้างสารอาหารที่จำเป็นต่อปลา รวมทั้งสร้างเอนไซม์ช่วยย่อยอาหารในทางเดินอาหารของปลาได้มากขึ้น นอกจากนี้การเสริมโปรไบโอติกลงในอาหารให้กับปลาจะมีผลช่วยเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของระบบทางเดินอาหารให้เซลล์บุผิวลำไส้มีการยกตัว และเกิด brushborder มากขึ้น ซึ่งจะทำให้พื้นที่ผิวในการดูดซึมสารอาหารภายในลำไส้ปลาเพิ่มมากขึ้นได้ (Nayak, 2010) นอกจากนี้ Pirarat et al. (2011) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้และภูมิคุ้มกันในปลานิล (**Oreochromis niloticus**) โดย การใช้อาหารเสริม **Lactobacillus rhamnosus** GG ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิลน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ในแง่ของการที่โปรไบโอติกทำหน้าที่ช่วยเป็นแหล่งอาหารและสร้างเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยอาหาร เกิดขึ้นได้เนื่องจากเมื่อปลากินโปรไบโอติกผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารแล้ว พบว่าปลาสามารถสร้างเอนไซม์ที่ช่วยในกระบวนการย่อยอาหารเช่น amylase, protease และ lipase ได้มากขึ้น ทำให้ใช้คาร์โบไฮเดรตในอาหารได้มากขึ้น และมีประสิทธิภาพในกระบวนการย่อยอาหารและกระบวนการย่อยสารอินทรีย์และโปรตีนได้มากขึ้น (Lara-Flores, Olivera-Novoa, Guzman-Mendez and Lopez-Madrid, 2003)

มีรายงานการวิจัยหลายเรื่องที่แสดงให้เห็นว่าการเสริมจุลินทรีย์ลงในอาหารมีผลให้ปลาย่อยอาหารได้มากขึ้น Balcazar, Blas, Ruiz-Zarzuela, Cunngham, Vndrell, and Mu-zquiz (2006) รายงานว่าจุลินทรีย์บางชนิดเช่น Agrobacterium sp. Pseudomonas sp., Brevibacterium sp., Microbacterium sp. และ Staphylococcus sp. อาจมีส่วนช่วยในกระบวนการย่อยอาหารในปลาอาร์กติกชาร์ (Salvelinusalpinus) Lara-Flores, Olivera-Castillo and Olivera-Novoa (2010) พบว่า activity ของ alkaline phosphate สูงขึ้นในปลานิล (**Oreochromis niloticus**) ที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าโปรไบโอติกช่วยกระตุ้นในการทำงานของ brush border membrane ของ enterocytes จากการศึกษาการใช้จุลินทรีย์ในอาหารปลานิล โดย Essa, EL-Serafy, El-Ezabi, Daboor, Esmael and Lall (2010) ได้ทดลองใช้แบคทีเรีย **Bacillus subtilis**, **Lactobacillus plantarum** และเชื้อผสมทั้ง **Bacillus subtilis**, **Lactobacillus plantarum** และ **Saccharomyces cerevisiae** ผสมอาหารในปริมาณ 10^7 CFU/g เลี้ยงปลานิลเป็นเวลา 60 วัน พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกทุกชุดการทดลอง มีการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ผสมโปรไบโอติก และยังพบว่าปลาทดลองที่ได้รับอาหารผสม **Bacillus subtilis** และ **Lactobacillus plantarum** มีกิจกรรมของเอนไซม์ amylase, protease และ lipase มากขึ้นกว่าชุดควบคุม และส่งผลให้ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตมากขึ้น นอกจากนี้ Ghazalah, Ali, Gehad, Hammouda and

Abo-State (2010) ได้รายงานการใช้จุลินทรีย์เชิงการค้า Premalac® ประกอบด้วยเชื้อผสมของ **Lactobacillus acidophilus**, **Aspergilus oryzae**, **Bifidobacterium bifedum**, **Streptococcus faecium** Torula yeast และส่วนผสมเชิงการค้า Biogen® ซึ่งประกอบด้วย hydrolytic enzyme กับ **Bacillus subtilis** เสริมในอาหารสำหรับปลานิลโดยทดลองในอาหารที่มีระดับโปรตีนต่างกันที่ระดับ 25, 27.5 และ 30% โปรตีน ผลการทดลองพบว่าทั้ง Premalac® และ Biogen® เสริมในอาหารโปรตีน 27.5 และ 30% ที่ระดับ 2 g/kg มีผลให้ปลามีการเจริญเติบโตมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อทำการคำนวณค่าประสิทธิภาพการผลิตเชิงเศรษฐกิจ พบว่าการใช้ Biogen® เสริมในอาหารที่มีระดับโปรตีน 27.5% จะทำให้เกิดความคุ้มค่าเชิงเศรษฐกิจในการเลี้ยงปลามากที่สุด

จุลินทรีย์ที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ และลำไส้ของปลานิล ซึ่งแตกต่างจากการทดลองในสัตว์ปีกของ Xu, Hu, Xia, Zhan and Wang (2003) ที่พบว่าการเสริม **Bacillus subtilis** LS 1-2 มีผลต่อโครงสร้างของลำไส้ จากการศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของลำไส้ พบว่า ไก่ที่ได้รับอาหารเสริม **Bacillus subtilis** LS 1-2 มีความยาวของ villus เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะเป็นผลดีในการทำให้การดูดซึมสารอาหารของเซลล์บุผิวลำไส้เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ความลึกของ crypt ยังมีค่าไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งนี้กรณีที่ความลึกของ crypt ลดลงจะทำให้อัตราการดูดซึมสารอาหารลดลง แต่อัตราการขับถ่ายจะเพิ่มมากขึ้น ซึ่งคล้ายคลึงกับการทดลองในสัตว์ปีก โดย Zhang, Cho and Kim (2013) รายงานผลการทดลองใช้แบคทีเรีย **Bacillus subtilis** UBT-MO_2 เสริมในอาหารไก่เป็นเวลา 35 วัน พบว่าการใช้ **Bacillus subtilis** UBT-MO_2 ที่ระดับ 10^5 CFU/kg มีผลให้การเจริญเติบโตของไก่เพิ่มขึ้น 4.4% นอกจากนี้ **Bacillus subtilis** UBT-MO_2 ยังช่วยให้ของเสียที่ไก่ขับถ่ายออกมามีปริมาณแอมโมเนียลดลง 26.9% และไฮโดรเจนซัลไฟด์ลดลง 37.9% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เสริมบาซิลลัสในอาหาร

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่นำมาเสริมอาหารไม่มีผลให้ต้นทุนค่าอาหารเลี้ยงปลาลดลง เนื่องจากการเจริญเติบโต และอัตราการแลกเนื้อของปลาในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน เฉพาะในกรณีที่การเสริมจุลินทรีย์ในอาหารแล้วมีผลให้การเจริญเติบโตของปลาเพิ่มขึ้น หรือในกรณีที่จุลินทรีย์ในอาหารมีผลช่วยลดอัตราการแลกเนื้อลงจึงจะทำให้ต้นทุนค่าอาหารเลี้ยงปลาลดลงได้ เช่น El-Haroun (2007) ได้ทำการทดลองใช้ส่วนผสมจุลินทรีย์เชิงการค้า Biogen® ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรีย **Bacillus subtilis** และเอนไซม์ไฮโดรไลติก โดยผสมผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในอาหารให้กับปลาดุกแอฟริกัน (**Clarias gariepinus**) ในปริมาณ 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2% ในอาหาร พบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองผสม Biogen® ในปริมาณ 0.5% ขึ้นไปมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเพิ่มมากขึ้นกว่าชุดควบคุม ผลการทดลองดังกล่าวทำให้เห็นว่าสามารถลดปริมาณอาหารที่ต้องใช้เลี้ยงปลาลงได้โดยที่ปลามีการเจริญเติบโตที่ดี เป็นการลดต้นทุนค่าอาหารได้

จากการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริมจุลินทรีย์ **Lactobacillus plantarum** ในอาหารมีผลให้ปลานิลมีปริมาณโปรตีนในตัวเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งมีค่าการสะสมโปรตีน และไขมันในตัวปลาสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองสูตรอื่นๆ อีกทั้งยังพบว่า **Lactobacillus plantarum** ทำให้ปลานิลมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงได้เลือกศึกษาผลของการเสริมเชื้อ **Lactobacillus plantarum** ที่มีต่อการเจริญเติบโต และการย่อยอาหารของปลานิลโดยมุ่งเน้นการเสริม **Lactobacillus plantarum** ในปริมาณ 1×10^4, 1×10^5, 1×10^6 และ 1×10^7 CFU/g เทียบกับชุดควบคุมซึ่งได้รับอาหารสูตรเดียวกันแต่ไม่ผสมจุลินทรีย์ ซึ่งผลการศึกษาพบว่าการเสริม **Lactobacillus plantarum** ในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต การแลกเนื้อ องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา ตลอดจนประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การสะสมโปรตีน และไขมันในตัวปลา เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งปรากฏการณ์ดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Liu et al. (2014) ซึ่งพบว่าโปรไบโอติกสามารถเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหารภายในลำไส้ของปลานิลแดง และปรับปรุงประชากรจุลินทรีย์ประจำถิ่นภายในลำไส้ แต่ในบางกรณีการใช้โปรไบโอติกในอาหารอาจไม่ได้ผล เนื่องจากในทางปฏิบัติประสิทธิภาพของโปรไบโอติกขึ้นกับอิทธิพลของหลายปัจจัย ได้แก่ ความชื้นในอาหาร กระบวนการอัดเม็ด และปัจจัยภายนอก นอกจากนี้ประสิทธิภาพของโปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำขึ้นอยู่กับอุณหภูมิน้ำ ระดับเอนไซม์ และคุณภาพน้ำ (Martínez-Cruz et al., 2012) จากการศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของตับและลำไส้ของปลานิลหลังจากได้รับอาหารผสมจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ และ **Lactobacillus plantarum** ที่ระดับต่างๆ พบว่า ตับและลำไส้ของปลานิลแดงมีโครงสร้างปกติ แสดงให้เห็นว่าการเสริมจุลินทรีย์ในการทดลองนี้ไม่เป็นอันตรายต่อปลา ผลการทดลองไม่พบพยาธิสภาพของเซลล์ตับ ตลอดจนเนื้อเยื่อลำไส้มีโครงสร้างปกติ ทำให้อาจกล่าวได้ว่าจุลินทรีย์ในการทดลองนี้ไม่ส่งผลต่อทางเดินอาหารของปลานิล ซึ่งขัดแย้งกับรายงานการทดลองเสริมโปรไบโอติกแล้วพบว่ามีผลช่วยปรับปรุงโครงสร้างของระบบทางเดินอาหาร เช่น Sharifuzzaman, Al-Harbi and Austin (2014) ศึกษาผลของโปรไบโอติก **Kocuria** sp. (SM1) และ **Rhodococcus** sp. (SM2) ต่อโครงสร้างภายในลำไส้ของปลาเรนโบว์เทราท์ พบว่า โครงสร้างโดยรวมของลำไส้ส่วนกลางและลำไส้ส่วนปลาย มีลักษณะการปรับตัวดีขึ้นหลังจากให้อาหารที่เสริมโปรไบโอติก SM1 และ SM2 ในระยะเวลา 14 วัน ในปลาที่กินอาหารผสม SM1 สามารถลดแวคิวโอล ภายในเอนเทอโรไซต์ได้มากที่สุด และอิพิเดอร์มอลมิวคัส และเซลล์กอบเลท ในปลาที่กินอาหารผสม SM1 และ SM2

ผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าการเสริมจุลินทรีย์ **Lactobacillus plantarum** ในอาหารมีผลให้ปลานิลมีปริมาณโปรตีนในตัวเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งมีค่าการสะสมโปรตีน และไขมันในตัวปลาสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารทดลองเสริมจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ อีกทั้งยังพบว่า **Lactobacillus plantarum** ทำให้ปลานิลมีค่าประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนเพิ่มมากขึ้น แต่ในกรณีที่ปลาอาศัยในสภาพแวดล้อมที่ดี ปลาก็จะมีการ

เจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้ การย่อยอาหาร และการรอดตายที่ดี และเสริมจุลินทรีย์ในอาหารอาจไม่มีผลที่เห็นได้ชัดเจนเมื่อเทียบกับปลาที่ได้รับอาหารปกติ

เอกสารอ้างอิง

รัตนสุดา ไชยเชษฐ์. 2554. การใช้อีเอ็มเป็นโปรไบโอติกในอาหารปลาโมง. วารสารวิจัย มข. 16 (2) : 136-144.

วิลาวัณย์ รุ่มรวย, สุรวัฒน์ ชะลอสันติสกุล, สมฤดี ศิลาฤดี และ จารุณี เกสรพิกุล. (2554). ผลของคิว.พี. โปรไบโอติกส์ต่อการเจริญเติบโตของปลานิล. วารสารคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร. 2 (3) : 1-7.

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. 15th ed. Washington, DC.; The Association of official Analytical Chemists.

Adineh, H., Jafaryan, H., Sahandi, J. & Alizadeh, M. (2013) Effect of **Bacillus** spp. Probiotic on growth and feeding performance of rainbow trout (**Oncorhynchus mykiss**) larvae. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 16 (1), 29-36.

Ayoola, S.O., Ajani E.K. & Fashae, O.F. (2013) Effect of Probiotics (Lactobacillus and Bifidobacterium) on Growth Performance and Hematological Profile of **Clarias gariepinus** Juveniles. World Journal of Fish and Marine Sciences. 5 (1), 1-8.

Balcazar, J.L., Blas, I.D., Ruiz-Zarzuela, I., Cunngham, D., Vndrell, D. & Mu-zquiz, J.L. (2006). The role of probiotic in aquaculture. Veterinary Microbiology. 114, 173-186.

Barbosa, M. C., Jatobá, A., Vieira, F. D. N., Silva, B. C., Mourino, J. L. P., Andreatta, E. R., Seiffert, W. Q. and Cerqueira, V. R. (2011). Cultivation of juvenile fat snook (**Centropomus parallelus** Poey, 1860) fed probiotic in laboratory conditions, Brazilian Archives of Biology and Technology. 54, 795-801.

Bruno, M.E.C. & Montville, T.J. (1993). Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. Applied Environment Microbiology. 59, 3003-3010.

Dagá, P., Feijoo, G., Moreira, M. T., Costas, D., Villanueva, A. G. & Lema, J. M. (2013) Bioencapsulated probiotics increased survival, growth and improved gut flora of turbot (**Psetta maxima**) larvae. Aquaculture International. 21, 337–345.

El Haroun, E. R. (2007) Improved growth rate and feed utilization in farmed African catfish **Clarias gariepinus** (Burchell 1822) through a growth promoter Biogen® supplementation. Journal of Fisheries and Aquactic Science. 2(5), 319-327.

Essa, M. A., EL- Serafy, S. S., El-Ezabi, M. M., Daboor, S. M., Esmael, N. A. & Lall, S. P. (2010) Effect of different dietary probiotics on growth, feed utilization and digestive enzymes activities of Nile tilapia, **Oreochromis niloticus**. Journal of the Arabian Aquaculture Society. 5(2), 143-162.

Fuller, R. (1989) A review probiotics in man and animals. Aquaculture. 66, 365-378.

Furukawa, A. & Tsukahara, H. (1966). On the acid digestion method for the determination of chromic oxides as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bull. Jap. Soc. Fish. 32 : 502

Gatesoupe, F.J. (1997). Siderophore production and probiotic effect of **Vibrio** sp. Associated with turbot larvae, **Scophthalmus maximus**. Aquatic Living Resources. 10, 236-246.

Ghazalah, A. A., Ali, H. M., Gehad, E. A., Hammouda, Y. A. & Abo-State, H. A. (2010) Effect of Probiotics on performance and nutrients digestibility of Nile tilapia **(Oreochromis niloticus)** Fed Low Protein Diets. Nature and Science. 8(5), 46-53.

Giang, H. H., Quoc Viet, T., Ogle, B. & Lindberg, J. E. (2012) Growth performance, digestibility and health status in weaned piglets fed a diet supplemented with a complex of lactic acid bacteria alone or in combination with **Bacillus subtilis** and **Saccharomyces boulardii**. Livestock Science. 143, 132-141.

Halver, J. E. & Hardy, R. W. (2002). Fish Nutrition, 3rd ed. New York; Academic Press.

Humason, G.L. (1972). Animal Tissue Technique, 4th ed. San Francisco; Freeman Press.

Kiriratnikom, S. & Kiriratnikom, A. (2012) Growth, feed utilization, survival and body composition of fingerlings of Slender walking catfish, **Clarias nieuhofii**, fed diets containing different protein levels. Songklanakarin J. Sci. Technol. 34(1), 37-43.

Kolndadacha, O. D., Adikwu I. A., Orgem C. M., Atiribom R. Y., & Badmus O. (2013) The potential probiotic bacteria associated with catfish (**Clarias anguillaris** and **Heterobranchus bidorsalis**) in concrete tanks in Kanji Lake area, Nigeria. International Journal of Microbiology and Immunology Research. 2(3), 24-28.

Lara-Flores, M., Olivera-Novoa, M.A., Guzman-Mendez, B.E. & Lopez-Madrid, W. (2003). Use of bacteria **Streptococcus faecium** and **Lactobacillus acidophilus** and yeast **Saccharomyces cerevisiae** as growth promoter in Nile tilapia (**Oreochromis niloticus**). Aquaculture. 216, 193-201.

Lara-Flores, M., Olivera-Castillo, L. & Olivera-Novoa, M.A. (2010). Effect of the inclusion of a mix (**Streptococcus faecium** and **Lactobacillus acidophilus**), and yeast (**Saccharomyces cerevisiae**) on growth, feed utilization and intestinal enzymatic activity of Nile tilapia (**Oreochromis niloticus**). Internatioonal Journal of Fisheries and Aquaculture. 2, 93-101.

Liu, H., Li, Z., Tan, B., Lao, Y., Duan, Z., Sun, W. and Dong, X. (2014). Isolation of a putative probiotic strain S12 and its effect on growth performance, non-specific immunity and disease-resistance of white shrimp, **Litopenaeus vannamei**, Fish & Shellfish Immunology. 41, 300-307.

Martínez Cruz, P., Ibáñez, A. L., Monroy Hermosillo, O. A., and Ramírez Saad, H. C. (2012). Use of probiotics in aquaculture, ISRN Microbiology. 2012, 1-13.

Merrifield, D. L., Dimitroglou, A., Bradley, G. and Baker, R. T. M. (2010). Probiotic applications for rainbow trout (**Oncorhynchus mykiss** Walbaum) I. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria, Aquaculture Nutrition. 16, 504-510.

Nayak, S. K. 2010. Probiotic and Immunity : a fish perspective. Fish and Shellfish Immunology 29 : 2-14.

Pirarat, N., Pinpimai, K., Endo, M., Katagiri, T., Ponpornpisit, A., Chansue, N. and Maita, M. (2011). Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (**Oreochromis niloticus**) by **Lactobacillus rhamnosus** GG" Research in Veterinary Science. 91, 92-97.

Ringo, E. & Gatesoupe, F.J. (1998). Lactic acid bacteria in fish : a review. Aquaculture. 160, 177-203.

Sen, S., Ingale, S. L., Kim, Y. W., Kim, J. S., Kim, K. H., Lohakare, J. D., Kim, H. S., Ryu, M. H., Kwon, I. K. & Chae, B. J. (2012) Effect of supplementation of **Bacillus** LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. Research in Veterinary Science. 93, 264-268.

Sharifuzzaman, S. M., Al-Harbi, A. H., and Austin, B. (2014). Characteristics of growth, digestive system functionality, and stress factors of rainbow trout fed probiotics Kocuria SM1 and Rhodococcus SM2, Aquaculture. 418, 55-61.

Sugita, H., Matso, N., Hirose, Y., Iwato, M. & Deguchi, Y. (1997) Vibrio strain NM 10, isolate from intestine of Japan costal fish, has an inhibitory effect against **Pasteurella piscicida**. Applied Environment Microbiology. 63, 4986-4989.

Sun, Y. Z., Yang, H. L., Ma, R. L. & Lin, W. Y. (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 Immunology. 29, 803-809.

Temmerman, R., Pot, B.,Huys, G. & Swing, J. (2003). Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. International Journal of Food Microbiology. 81, 1-10.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. & Verstraete, W. (2000) Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Review 64, 655-671.

Welker, T. L. & Lim, C. (2011) Use of Probiotics in Diets of Tilapia. Journal of Aquaculture Research & Development. S01:014.

Zhou, X., Wang, Y., Yao, J. & Li, W. (2010) Inhibition ability of probiotic, **Lactococcus lactis**, against **A.hydrophila** and study of its immunostimulatory effect in tilapia (**Oreochromis niloticus**). International Journal of Engineering, Science and Technology. 2 (7), 73-80.

Xu, Z. R., Hu, C. H., Xia, M. S., Zhan, X. A. & Wang, M. Q. (2003) Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. Poultry Science. 82, 1030-1036.

Zhang, Z. F., Cho, J. H. & Kim, I. H. (2013) Effects of Bacillus subtilis UBT-MO_2 on growth performance, relative immune organ weight, gas concentration in excreta, and intestinal microbial sheding in broiler chickens. Livestock Science. 155, 343-347.