คำนำ

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจเป็นอันดับ 1 ของไทย สามารถตอบสนองความต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศเป็นอย่างดี แนวโน้มการเพาะเลี้ยงปลาชนิดนี้ยังมีลู่ทางแจ่มใส หากได้รับการสนับสนุนให้มีการพัฒนาศักยภาพการผลิตอย่างครบวงจร ตั้งแต่กระบวนการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ การปรับปรุงพันธุ์ การเพาะเลี้ยงจนถึงการแปรรูป โดยคำนึงถึงคุณภาพและมาตรฐานเป็นสำคัญ เชื่อว่าจะช่วยยกระดับให้สินค้าปลานิลมีความน่าสนใจยิ่งขึ้น ตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคได้มากและสามารถนำรายได้เข้าประเทศอีกทางหนึ่ง (หนังสือพิมพ์บ้านเมือง ฉบับวันที่ 30 สิงหาคม 2555) ตลาดส่งออกหลัก ได้แก่ สหภาพยุโรป รองลงมาคือ ประเทศในกลุ่มตะวันออกกลาง ส่วนตลาดในสหรัฐอเมริกาอยู่ในลำดับที่ 3 โดยในปี 2554 มีปริมาณส่งออกรวม 11,910.6 ตัน มูลค่า 747.7 ล้านบาท โดยส่งออกในรูปแบบปลานิลทั้งตัวแช่แข็ง 82 เปอร์เซ็นต์ เนื้อปลาแล่แช่เย็น 10 เปอร์เซ็นต์ (TFFA Newsletter March 2012)

ดังนั้น การเลี้ยงปลานิลให้มีคุณภาพปราศจากกลิ่นโคลน ไม่มีสารพิษหรือยาปฏิชีวนะตกค้าง ย่อมจะส่งผลดีต่อการบริโภค การจำหน่ายและการให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่า ส่วนมากมีการนำปลานิลไปบริโภคทดแทนปลาที่มีเนื้อสีขาว เช่น ปลากะพงแดง เป็นต้น ซึ่งมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคในต่างประเทศ จึงทำให้มีการเลี้ยงในระบบหนาแน่นกันเป็นส่วนมาก เพื่อให้มีปริมาณผลผลิตที่เพียงพอต่อความต้องการของตลาดผู้บริโภค (ชุดิมาและกิจการ 2552)

อย่างไรก็ตามการเลี้ยงปลานิลในประเทศยังเผชิญปัญหาโรคที่เกิดจากปรสิตและแบคทีเรียอยู่มาก ทำให้ผู้เลี้ยงเกิดความเสียหาย เพราะปลานิลเป็นโรคแล้วหายยาก โดยทั่วไปผู้เลี้ยงปลานิลจะนำยาปฏิชีวนะและสารเคมีมาใช้ในการรักษา ซึ่งอาจทำให้เชื้อดื้อยา เกิดการตกค้างของสารเคมีในน้ำและในตัวปลา ทำให้ปลาไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค จึงเกิดแนวคิดในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะ เพื่อตอบสนองความต้องการทางตลาดต่างประเทศและในประเทศ โดยเฉพาะผู้บริโภคที่เน้นความปลอดภัยเป็นหลัก การหาแนวทางการเพาะเลี้ยงปลานิลโดยเน้นหลักชีวภาพจึงเกิดขึ้น เช่น การคิดค้นสูตรอาหารใหม่เพื่อเร่งการเจริญเติบโต เพิ่มภูมิคุ้มกันและเพิ่มอัตรารอด เป็นต้น

งานวิจัยนี้เป็นการใช้โปรไบโอติกหรือจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ผสมอาหารปลานิลเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกัน ลดการเกิดโรค เลี่ยงการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเป็นแนวทางในการสร้างสูตรอาหารที่ดีเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสร้างองค์ความรู้เกี่ยวกับสุขภาพ โรคและการเลี้ยงปลานิลในปัจจุบัน
2. เพื่อหาแนวทางในการเพาะเลี้ยงปลานิลของประเทศไทยให้ยั่งยืน ลดการใช้สารเคมี
3. เพื่อเป็นการพบปะของเกษตรกรและผู้ที่เกี่ยวข้องกับการเลี้ยงปลานิล มีการเก็บบันทึกข้อมูลด้านโรคอย่างต่อเนื่อง อันเป็นแนวทางในการนำไปสู่การรวมกลุ่มเป็นชมรมหรือสมาคมผู้เพาะเลี้ยงปลานิลต่อไป
4. เพื่อหาแนวทางในการใช้จุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงปลานิล

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำองค์ความรู้ไปสู่การลดความเสี่ยงของการเกิดโรคในปลานิล
2. เป็นแนวทางในการลดการใช้ยาและสารเคมีในการเลี้ยงปลานิล
3. สถานการณ์ด้านโรคปลานิลในเขตจังหวัดเชียงใหม่ เชียงรายและลำพูน
4. แบคทีเรียที่อาจจะเป็นประโยชน์ในการใช้เพาะเลี้ยงปลานิลและยับยั้งการเกิดโรคระบาด อันเป็นแนวทางในการลดการใช้สารเคมี

ตรวจเอกสาร

ปลานิล (Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*) เป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว มีความอดทนและปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถเลี้ยงได้ทั้งน้ำจืดและน้ำกร่อย กินอาหารง่าย กินทั้งแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ สัตว์หน้าดินเล็ก ๆ และซากเน่าเปื่อย (ศักดิ์ชัย, 2536) ปลานิลเป็นปลาที่มีความต้องการสูงในตลาด ดังนั้นจึงมีผู้นิยมเลี้ยงปลานิลกันอย่างแพร่หลาย ทั้งเลี้ยงไว้บริโภคภายในครัวเรือน ถึงเลี้ยงเชิงพาณิชย์ ผลตอบแทนทางการลงทุนของธุรกิจฟาร์มอนุบาลลูกปลานิลจากผลการวิเคราะห์ทางการลงทุนอนุบาลลูกปลานิล พบว่า ฟาร์มที่มีขนาด 20 ไร่มีมูลค่าปัจจุบันสุทธิ (NPV) เท่ากับ 227,029.55 บาท อัตราผลตอบแทนของโครงการ (IRR) มีค่าเท่ากับร้อยละ 46 ดังนั้นการลงทุนทำฟาร์มอนุบาลลูกปลานิลให้ผลตอบแทนที่คุ้มค่าต่อการลงทุนโดย NPV มีค่าเป็นบวก หมายความว่า มูลค่าปัจจุบันของผลตอบแทนสูงกว่ามูลค่าปัจจุบันของค่าใช้จ่ายที่จ่ายเหมาะแก่การลงทุน (ปารมี, 2553) และจากมูลค่าการเลี้ยงและการส่งออก ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2546 – 2551 พบว่ามีแนวโน้มส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปี โดยเฉพาะในปี พ.ศ.2551 มีปริมาณการส่งออกสูงถึง 19,745 ตัน คิดเป็นมูลค่าส่งออกเท่ากับ 1300 ล้านบาท ทำให้ธุรกิจการเลี้ยงปลานิลในประเทศไทยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว การผลิตปลานิลในประเทศให้ผลผลิตเป็นอันดับหนึ่ง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 37.80 ของปริมาณสัตว์น้ำจืดจากการเพาะเลี้ยงทั้งประเทศ (กรมประมง, 2551)

ลักษณะทั่วไปของปลานิล

อุดม (2547) รายงานว่าปลานิลเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งอยู่ในตระกูลซิคลิดี (Cichlidae) ที่มีความอดทน สามารถปรับตัวให้เข้ากับธรรมชาติได้ง่าย ปลานิลมีรูปร่างลักษณะคล้ายกับปลาหมอเทศ ลำตัวสั้นแบนข้าง แต่ลักษณะพิเศษของปลานิลคือ ริมฝีปากบนและล่างเสมอกัน บริเวณแก้มมีเกล็ด 4 แถว สีของลำตัวจะเปลี่ยนไปตามสภาพแวดล้อมของแหล่งที่อยู่อาศัย คือตั้งแต่สีดำอ่อนจนถึงสีเขียวดำ ท้องสีขาว ที่ลำตัวมีลายพาดขวางประมาณ 9 – 10 แถบ ตั้งแต่หัวจรดโคนหาง ครีบหลัง ครีบก้นและครีบหางมีจุดสีขาวและเส้นสีดำตัดขวางมีเกล็ด 3 แถวที่บริเวณแก้มและอีก 1 แถวที่บริเวณเหนือเส้นข้างลำตัวเล็กน้อย ครีบหลังมีอันเดียวยาวจรดถึงดอดหาง ครีบหลังประกอบด้วย ก้านครีบแข็ง 15 – 18 อันและก้านครีบอ่อน 12 – 14 อัน ครีบก้นประกอบด้วย ก้านครีบแข็ง 3 อัน และก้านครีบอ่อน 9 – 10 อัน ครีบหางตัดตรงบนแถบเส้นข้างลำตัวมีเกล็ด 33 เกล็ด ทางด้านข้างมีเกล็ดตามแนวเฉียง จากตอนต้นของครีบหลังลงมาถึงเส้นข้างลำตัว 5 เกล็ด และจากเส้นข้างลำตัวลงมาถึงส่วนหน้าของครีบก้น 13 เกล็ด ตรงกลางเกล็ดมีสีเข้ม บริเวณปลายอ่อนของครีบหลัง ครีบก้น และครีบหางมีจุดสีขาวและเส้นสีดำ ตัดขวางดูคล้ายลายข้าวตอกอยู่ โดยทั่วไปที่กระดูกแก้มมีจุดสีเข้มอยู่ 1 จุด ลักษณะฟันบริเวณขากรรไกรและคอหอยจะมีหลายขนาด ตั้งแต่ค่อนข้างหยาบจนถึงละเอียด เหงือกมีซี่กรองประมาณ 15 – 17 อัน

ความแตกต่างระหว่างเพศ (เห็นได้ชัดเจนจากลักษณะของติ่งเพศ)

ปลานิลเพศผู้ อวัยวะสืบพันธุ์ที่อยู่บริเวณใกล้กับช่องทวารจะมีลักษณะเรียวยาวขึ้นออกมา จะมีรูเปิด 2 รู คือ รูก้น (anus) และรูเปิดรวมของท่อน้ำเชื้อและปัสสาวะ (urogenital pore) สีของลำตัวจะมีสีเข้มสดใส แถบขวางข้างจะมีสีชมพูออกแดง และใต้คางจะมีสีแดง

ปลานิลเพศเมีย อวัยวะสืบพันธุ์จะมีลักษณะเป็นรูค่อนข้างใหญ่และกลม ปลาเพศเมียจะมีรูเปิด 3 รู คือ รูก้น (anus) รูท่อนำไข่ (genital pore) และรูท่อปัสสาวะ (urinary pore) อวัยวะจะมีลักษณะค่อนข้างกลมใหญ่และมีช่องเปิดเป็นขีดขวางตรงกลางอวัยวะเพศ สีของตัวปลาจะซีดกว่าเพศผู้ มองเห็นแถบขวางข้างลำตัวได้ชัดเจน ใต้คางจะมีสีเหลืองและขนาดตัวปลาโดยทั่วไปจะเล็กกว่าเพศผู้

ในปัจจุบันการเลี้ยงปลานิลนิยมเลี้ยงแต่เฉพาะปลานิลเพศผู้เท่านั้น เนื่องจากปลานิลเพศผู้จะโตเร็วกว่าเพศเมียประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ เพราะปลานิลเพศผู้ไม่ต้องใช้พลังงานในการวางไข่และเลี้ยงลูก การเลี้ยงปลานิลเพศผู้จะทำให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้น อีกทั้งจะได้ปลาที่มีขนาดใหญ่ขายได้ราคาดีกว่าปลานิลขนาดเล็ก นอกจากนี้ถ้าเลี้ยงปลานิลสองเพศรวมกันจะขยายพันธุ์ตั้งแต่เล็ก อาหารและพลังงานที่ได้รับจะหมดไปกับการพัฒนาระบบสืบพันธุ์มากกว่าจะเอาไปใช้ในการเจริญเติบโต ทำให้ในบ่อเต็มไปด้วยลูกปลาเล็กๆ หนาแน่นไปหมด ดังนั้นจึงนิยมเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่นและเลี้ยงเฉพาะเพศผู้เท่านั้น

คุณสมบัติและนิสัยของปลานิล

ปลานิลมีนิสัยชอบอยู่รวมกันเป็นฝูง (ยกเว้นเวลาสืบพันธุ์) ในแหล่งน้ำจืดและน้ำกร่อย เป็นปลาที่มีคุณสมบัติพิเศษ มีความอดทน ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถทนต่อความเค็มได้ถึง 20 ส่วนในพัน (อำพล และอารีย์, 2532) สอดคล้องกับการศึกษาของกฤษณุพันธ์และคณะ (2543) ที่พบว่า ปลานิลสายพันธุ์จิตรลดา 2 สามารถดำรงชีวิตและเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีความเค็มตั้งแต่ 5 – 20 ส่วนในพัน โดยสามารถมีชีวิตอยู่ในช่วงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิกว้างมาก ตั้งแต่ 11 – 42 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ระหว่าง 4.0 – 11.0 โดยพบว่า ช่วงอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 28 – 35 องศาเซลเซียส และ 7.0 – 10.0 ตามลำดับ ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำถึงระดับ 2.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ปลานิลสามารถทนได้ แต่จะมีผลต่อการเจริญเติบโต (ทัศนีย์, 2544) ปลานิลเป็นปลาที่มีความต้านทานต่อโรคสูง สามารถเลี้ยงได้อย่างหนาแน่น สามารถเจริญเติบโตด้วยอาหารธรรมชาติและอาหารสำเร็จรูป (สุภาพ และธีระยุทธ์, 2547) ในด้านอุปนิสัยการกินจัดว่า เป็นปลาที่กินได้ทั้งพืชและสัตว์ (omnivorous) แต่โดยส่วนมากพบว่า กินแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหาร และสามารถใช้ประโยชน์จากกลุ่มพืชสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวได้ นอกจากนี้ยังสามารถกินสัตว์หน้าดิน ตะไคร่น้ำที่เน่าเปื่อยต่าง ๆ เป็นอาหารได้

ด้วย โดยปลานิลจะออกหากินเวลากลางวัน ส่วนเวลากลางคืนกินอาหารเล็กน้อยหรือไม่กินเลย ลูกปลานิลขนาดเล็กกว่า 6 เซนติเมตร สามารถกินอาหารได้หลากหลายและเมื่อโตขึ้นก็สามารถยอมรับอาหารเม็ดได้ดี (ทัศนีย์, 2544)

แม้ว่าปลานิลสามารถเลี้ยงได้ในทุกสภาพทั้งในบ่อดินและในกระชัง อุปสรรคที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงปลานิล คือ โรคปลานิล ปลานิลเป็นโรคได้ง่ายขึ้น เพราะเกษตรกรนิยมปล่อยหนาแน่นมากและขาดการจัดการที่ดี รวมทั้งสภาวะแวดล้อมที่แย่ลง มีความแปรปรวนสูง (Ghiraldelli *et al.*, 2006) การจัดการสุขภาพปลานิลจึงเป็นวิธีการที่ใช้ในเพื่อวางแผนป้องกันไม่ให้ปลาเกิดโรคและมีความจำเป็นอย่างยิ่ง หากปลานิลเป็นโรคแล้วโอกาสที่จะรักษาทำได้ยากมากและการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นการเพิ่มต้นทุนที่สูงขึ้นมากจนอาจทำให้ผู้เลี้ยงไม่สามารถแบกภาระได้ รวมทั้งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นการที่จะประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จะต้องมีการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำที่ดี อันได้แก่ การเตรียมบ่อที่ดี มีการรักษาความสะอาดบ่อ เครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ เพื่อลดโอกาสความเสี่ยงในการเกิดโรคและแพร่ระบาดของโรคสัตว์น้ำ การใช้ลูกพันธุ์ปลาที่แข็งแรง การจัดการคุณภาพน้ำที่ดี ไม่ใช้ยาและสารเคมีต้องห้าม การให้อาหารที่ดีมีคุณภาพสูง ทำให้สัตว์น้ำโตไว ได้ผลผลิตสูงคุณภาพดี สร้างกำไรสูงแก่ผู้เลี้ยงและไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม การให้อาหารผสมจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ก็มีส่วนช่วยทำให้สัตว์น้ำโตเร็ว แข็งแรงและทนต่อโรค (ชนกันต์, 2556)

โรคปลาเป็นสาเหตุที่สำคัญที่ก่อให้เกิดผลเสียทางเศรษฐกิจอย่างมากมาย สาเหตุของการเกิดโรคปลา มี 3 ประการหลัก คือ

1. ความแข็งแรงของปลา ซึ่งจะขึ้นอยู่กับอายุของปลา ชนิด สายพันธุ์ สภาพร่างกาย ความสามารถในการต้านทานโรคตามธรรมชาติที่ปลามี ได้แก่ ความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาวและแมคโครฟาจ โดยในแต่ละช่วงชีวิตของปลาจะมีความแข็งแรงแตกต่างกันไป เช่น ความสามารถในการต้านทานโรคจะลดลงในระยะสืบพันธุ์ ดังนั้นหากปลาไม่แข็งแรงโอกาสที่ทำให้เกิดโรคปลาจะมีมากขึ้น
2. สภาพแวดล้อม หมายรวมถึง รูปแบบการเลี้ยง คุณภาพน้ำ ความสมดุลของอาหารและการให้อาหาร ความหนาแน่นของปลาในบ่อ มลพิษแหล่งน้ำทั้งภายในและภายนอก การจัดการสุขาภิบาลที่ไม่ดี การย้ายบ่อ การขนส่ง ล้วนมีผลทำให้ปลาเครียดและง่ายต่อการเกิดโรค ฤดูกาล คุณภาพของสภาพแวดล้อมจะมีความผกผันกับสภาพของโรค คือ ในสภาพแวดล้อมที่ย่ำแย่ ความรุนแรงของโรคจะเพิ่มสูงขึ้น Brown (1993) กล่าวว่า อุณหภูมิมีผลต่อการรักษาแผลโดยอุณหภูมิต่ำแผลจะหายช้า
3. เชื้อโรค ได้แก่ ปรสิต แบคทีเรีย เชื้อราและไวรัส ซึ่งความรุนแรงของเชื้อโรค ขึ้นอยู่กับความไวในการติดเชื้อ สายพันธุ์ จำนวนของเชื้อที่มีชีวิต มีการศึกษาพบว่า *Aeromonas* sp. ที่เจริญในสภาพที่ขาดอาหารจะมีความรุนแรงของเชื้อเพิ่มสูงขึ้น โดยเชื้อโรคที่อาจจะก่อให้เกิดโรคสัตว์น้ำ อาจมาจากแหล่งที่มาดังนี้

3.1 ปลาป่วย ตาย หรือ ปลาที่มีเชื้อแฝงแต่ไม่แสดงอาการของโรค

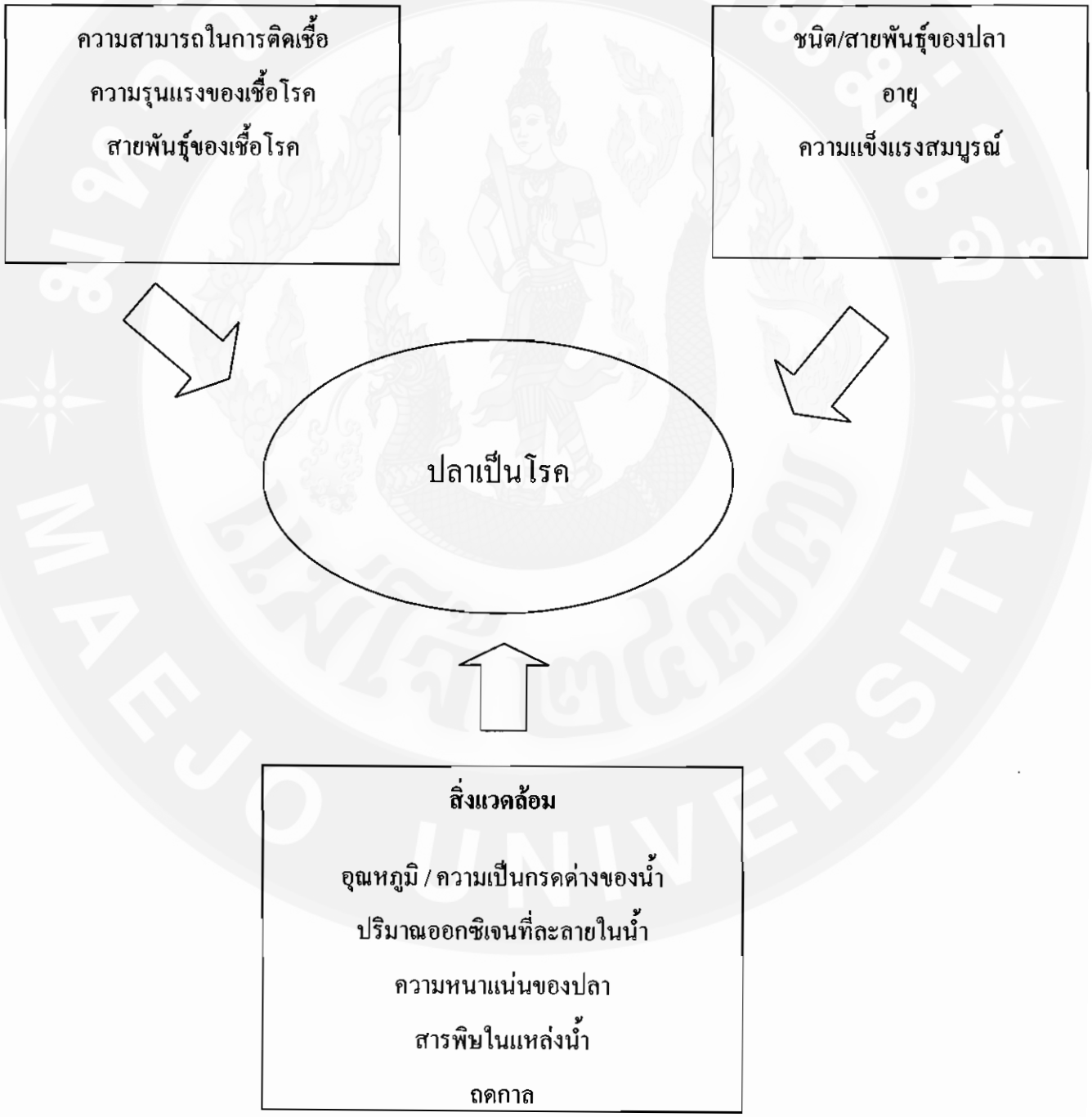
3.2 ไข่ปลาที่ติดเชื้อ

3.3 แหล่งน้ำ น้ำทิ้ง

3.4 ตะกอนดิน

3.5 อาหารสดและอาหารมีชีวิต

3.6 การติดเชื้อจากการใช้เครื่องมือเครื่องใช้ปนกัน



ภาพ 1. สาเหตุของการเกิดโรคปลา

ผลของความเครียดต่อการเกิดโรค

ความเครียด (stress) หมายถึง ปัจจัยทางกายภาพและเคมีที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาในร่างกายซึ่งอาจส่งผลชักนำให้ปลาเกิดโรคและตายได้ นอกจากนี้ความเครียดยังมีผลทำให้อัตราการเจริญพันธุ์ลดลง การเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าปกติ เชื้อโรคที่ก่อให้เกิดโรคปลาหลายชนิดพบทั่วไปในแหล่งน้ำ ดิน อากาศหรือแม้แต่ในตัวปลาเอง ปลาในธรรมชาติมักจะมีความทนทานต่อการติดเชื้อและจะแสวงหาแหล่งที่อยู่ที่ดีที่สุดสำหรับตัวเอง แต่ในสภาพการเพาะเลี้ยงในพื้นที่จำกัด อาจทำให้ปลาอ่อนแอได้เนื่องจากความเครียด อันเนื่องมาจาก

1. สิ่งกระตุ้นทางเคมี สภาพคุณสมบัติของน้ำที่แย่ลง (DO ต่ำ อุณหภูมิ pH ที่ไม่เหมาะสม ปริมาณแอมโมเนียในน้ำสูง มีก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ปริมาณสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำสูง การปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงและโลหะหนัก รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงอย่างกะทันหันของคุณสมบัติของน้ำตัวใดตัวหนึ่งหรือหลายตัวรวมกัน)

2. สิ่งกระตุ้นทางชีวภาพ การเพิ่มความหนาแน่นของปลาในแหล่งน้ำ การถูกรุกรานจากสัตว์น้ำชนิดอื่น เชื้อโรค การจัดการที่ไม่ดีในเรื่องความสะอาด

3. สิ่งกระตุ้นทางกายภาพ การบาดเจ็บจากการขนส่ง การคัดขนาด การจับ การเคลื่อนย้ายแสงและเสียง

สาเหตุต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น มีส่วนเหนี่ยวนำให้ความต้านทานโรคของปลาลดลง และอาจก่อให้เกิดการระบาดของแบคทีเรียและปรสิตได้ง่าย ส่วนการตอบสนองของความเครียดของปลานั้นจะเหมือนในสัตว์ชั้นสูง เช่น มีการหายใจที่ถี่ขึ้น การเพิ่มขึ้นของระดับ cortisol ในเลือด ซึ่งเกิดจากการขนส่ง พบว่า การขนส่งปลา largemouth bass มีการเพิ่มขึ้นของระดับ cortisol ในเลือด การเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสในซีรั่ม (การหลั่งฮอร์โมนจาก adrenal gland เนื่องจากการสลายตัวของไกลโคเจนในตับ เป็นการระเบิดพลังงานมาใช้ยามคับขัน)

โรคติดเชื้อที่พบบ่อยในปลานิล คือ

1. เห็บระฆัง *Trichodina* sp. เป็นโปรโตซัวชนิดหนึ่งที่ดำรงชีพเป็นปรสิตในปลา เป็นสัตว์เซลล์เดียวที่มีขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงจึงจะเห็นรูปร่างของเห็บระฆังชัดเจน ถ้ามองด้านล่างจะเห็นเป็นวงกลมมีขน (cilia) อยู่รอบๆ ทำหน้าที่ช่วยในการ

เคลื่อนที่ ภายในวงกลมจะมีแผ่นดูดเกาะเรียกว่าจักร (denticulate) ประกอบด้วยฟันเล็ก ๆ ทำหน้าที่ช่วยในการเกาะติดกับตัวปลา ถ้ามองเห็บระฆังจากด้านข้างจะเห็นรูปร่างคล้ายระฆังคว่ำ ซึ่งเป็นที่มาของชื่อว่า เห็บระฆัง พบเกาะอยู่ที่บริเวณซี่เหงือก ผิวหนังและครีบของปลาชะโด ปลาดุก ปลาช่อน ปลาสวาย ปลานิล ปลาไหลยุโรป (Chitmanat และคณะ, 2005)

เห็บระฆังทำให้ปลาเป็นโรค trichodiniasis ปลาที่ถูกเห็บระฆังเกาะจะมีเมือกมาก อาจทำให้เกล็ดหลุด ถ้าเกาะที่เหงือกมาก ๆ จะทำให้เหงือกกร่อน อาจมีการติดเชื้อแบคทีเรียได้ เห็บระฆังกินเนื้อเยื่อผิวหนังที่ถูกทำลายเป็นอาหาร ถ้าเห็บระฆังเข้าเกาะถูกปลาขนาดเล็กหรือปลาที่มีสภาพอ่อนแอจากสาเหตุอื่นๆ อยู่ก่อนแล้ว ปลาเหล่านี้จะมีความสามารถในการป้องกันตัวเองต่ำ จึงทำให้เห็บระฆังยิ่งเพิ่มปริมาณขึ้นได้อย่างรวดเร็ว ในกรณีที่ปลามีเห็บระฆังเกาะเป็นจำนวนมากจะทำให้ปลามีสีซีดผิดปกติอันเนื่องมาจากการขับเมือกออกมามากและมีเซลผิวหนังที่หลุดลุ่ย ครีบกร่อน ครีบแหว่ง หนวดกุด เหงือกกร่อนเน่า เซื่องซึม และลอยตัวอยู่ตามผิวน้ำหรือขอบบ่อ กินอาหารน้อยลง บางครั้งจะว่ายน้ำเอาตัวถูกับก้อนหิน พื้นบ่อหรือวัสดุในน้ำ ถ้าพบว่าปลาบางตัวในบ่อว่ายน้ำเอาตัวถูข้างบ่อ จะเป็นสัญญาณเตือนให้ทราบว่าปลาเกิดความระคายเคือง เนื่องจากมีปรสิตเกาะตามตัวปลา ควรรีบแช่ด้วยน้ำยาฟอร์มาลินเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของปรสิต

การรักษาปลาที่มีเห็บระฆังเกาะจนแสดงอาการผิดปกติต่าง ๆ ให้แช่ด้วยน้ำยาฟอร์มาลินในอัตรา 25 – 30 พีพีเอ็ม หรือ 25 – 30 ซีซีต่อน้ำหนึ่งลูกบาศก์เมตร หรือน้ำยาฟอร์มาลิน 40 – 48 ลิตรต่อบ่อขนาด 1 ไร่ ที่มีระดับน้ำลึก 1 เมตร (1 ไร่ = 1,600 ตารางเมตร) สำหรับในบ่อปูนหรือตู้กระจกเมื่อเชื้อเห็บระฆังถูกกำจัดหมดสิ้นไปด้วยฟอร์มาลินแล้ว อาจจะแช่ตามด้วยเกลือแกงในอัตรา 0.1 – 0.3% หรือ 100 – 300 กรัมต่อน้ำ 100 ลิตร นาน 3 – 5 วัน แต่ถ้าเป็นปลาที่เลี้ยงในบ่อดินควรจะปรับคุณภาพน้ำควบคู่ไปกับการแช่ฟอร์มาลินจะช่วยให้ปลาหายป่วยไวขึ้น อย่างไรก็ตาม การใช้ฟอร์มาลินทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลงจึงควรมีการให้อากาศด้วย นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ด่างทับทิม 4 ppm ในการกำจัดเห็บระฆังมีผลทำให้ปลาไหลยุโรป (*Anguilla anguilla*) ตายถึง 60% (Madsen *et al.* 2000) จะเห็นว่า การใช้สารเคมีในการกำจัดเห็บระฆังทำได้ยาก จึงควรเน้นการป้องกันโดยการเตรียมบ่อที่ดี ไม่เลี้ยงปลาหนาแน่นจนเกินไป มีการใส่เกลือเพื่อช่วยลดความเครียดของปลาระหว่างการเลี้ยง

2. ปลิงใส ส่วนใหญ่พบเกาะอยู่ตามซี่เหงือกและบริเวณผิวหนัง ที่พบบ่อยในปลาน้ำจืด คือ ไจโรแดคทิลัส (*Gyrodactylus* sp.) และแดคทิโรไจรัส (*Dactyrogyrus* sp.) ส่วนปลิงใสที่มักพบในปลานิล ชื่อว่า ซิคลิโดไจรัส (*Cichlidogyrus* sp.) ปลาที่มีปรสิตพวกนี้เกาะอาจจะมีสีตัวเข้มกว่าปกติ กินอาหารน้อยลง หากมีเกาะบริเวณซี่เหงือกในปริมาณมาก ทำให้เหงือกบวม อักเสบและการแลกเปลี่ยนอากาศของปลาลดลง มีผล

ให้ปลาตายได้เช่นกัน พบปรสิตกลุ่มนี้ในปลาเกือบทุกชนิด วิธีการรักษาเช่นเดียวกับเห็บระฆัง คือ ใช้ฟอร์มาลิน 25–50 ซีซีต่อน้ำ 1,000 ลิตร (ชนกันต์, 2554: ออนไลน์)

เอกรัฐ (2554) ได้ตรวจปรสิตปลิงใสบริเวณเหงือกปลาทับทิมที่เพาะเลี้ยงในกระชัง จ.ปทุมธานี พบปรสิตปลิงใส 6 ชนิด ได้แก่ *Cichlidogyrus halli, C. rognoni, C. sclerosus, C. thurstonae, C. tilapiae* และ *Scutogyrus longicornis* ปลิงใสทุกชนิดตรวจพบตลอดทั้งปี ยกเว้น *C. tilapiae* ที่ไม่พบในเดือนมีนาคมโดยปลิงใสชนิด *C. sclerosus* และ *C. halli* เป็นชนิดที่พบในปลาตัวอย่างมากที่สุดร้อยละ 83.89 และ *C.tilapiae* พบในปลาตัวอย่างน้อยที่สุดร้อยละ 18.33 จากการศึกษาความหนาแน่นของปรสิตปลิงใสในปลา พบว่าเดือนพฤศจิกายนเชื้อปรสิตปลิงใสหนาแน่นมากที่สุด คือ 45.93 ตัวต่อปลา 1 ตัว ส่วนในเดือนมีนาคม พบอัตราการติดเชื้อปรสิตปลิงใสต่ำที่สุดเท่ากับ 5.73 ตัว ต่อปลา 1 ตัว

3. *Streptococcus* spp. พบการระบาดครั้งแรกในปลาเรนโบว์เทร้าท์ที่ญี่ปุ่น (Inglis *et al.*, 1993) ต่อมาพบในปลานิลและปลาบู่ ปลากระพง ปลาไหลญี่ปุ่น ก่อให้เกิดโรคระบาดช่วงหน้าหนาว มักก่อให้เกิดการติดเชื้อในปลาน้ำกร่อยและปลาทะเลมากกว่าปลาน้ำจืด *Streptoccus agalactiae* (β-hemolytic group B) ก่อให้เกิดโรคในปลากระบอกที่คูเวต โดยเฉพาะในช่วงที่มีอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น อัตราตายสูงถึง 90% การติดเชื้อสเตรปโตคอคคัสทำให้เกิดภาวะติดเชื้อทั่วร่างกาย (Septicemia) สมองและเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningoencephalitis) เซลล์ตับเกิดการเสื่อม (vacuolar degeneration) และตาย อาการที่พบมีการตกเลือดบริเวณรอบปาก ท้อง ครีบและอวัยวะภายใน ตาโปน ปลากระพงขนาดเล็กกว่า 200–300 g จะติดเชื้อได้ง่ายกว่าปลาตัวโต เชื้อนี้สามารถติดต่อสู่คนทางบาดแผล (Weinstein *et al.*, 1997)

เชื้อสเตรปโตคอคคัสเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีความสามารถในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (alpha and beta hemolysis) ไม่สามารถสร้างเอนไซม์แคทาเลส (catalase negative) มีรูปร่างกลม (cocci) ต่อยาวเป็นสายโซ่ เชื้อสเตรปโตคอคคัสที่พบในสัตว์น้ำ ได้แก่เชื้อ *S. iniae, S. agalactiae, S. parauberis* (Evans *et al*, 2002, Shoemaker *et al.*, 2001, Baeck *et al.*, 2006) นอกจากนั้นเชื้อ *S. iniae* ยังเป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถติดสู่คน (zoonotic agent) ได้ด้วย (Lau *et al.*, 2003) Shoemaker and Klesius (1997) ได้ประมาณความสูญเสียอันเกิดจากการติดเชื้อสเตรปโตคอคคัส ราว 150 ล้านดอลล่าร์สหรัฐ

4. *Flavobacterium columnare* (*Flexibacter columnaris*) แบคทีเรียชนิดนี้อาศัยอยู่บนเมือกของปลาปกติและปลาที่เป็นโรค ปลาที่ติดเชื้อได้ง่ายเมื่อเกิดความเครียดจากการขนส่ง โดยเฉพาะในช่วงหน้าร้อน ปลาจะมีตัวด่างซีดเป็นแถบ ๆ มีเมือกมากผิดปกติ ครีบกร่อน เหงือกกร่อน อาจมีการสร้างสารสีเหลืองเกิดขึ้นบริเวณบาดแผล แผลจะเกิดการตายของเซล ป้องกันการระบาดของโรค โดยการลดความบอบช้ำจากการจับและคัดขนาดปลา ไม่เลี้ยงปลาหนาแน่น เยาวนิดย์และคณะ (2527) พบว่า การใช้ด่างทับทิม 20 มิลลิกรัมต่อลิตรสาดในกระชังปลากะพงที่เป็นโรค

5. *Edwardsiella* spp. มี 2 species คือ *Edwardsiella ictaluri* และ *Edwardsiella tarda* ก่อให้เกิดโรค Enteric septieemia of catfish (ESC) หรืออาจเรียกว่า hole-in-the-head เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความ

เสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมากในปลาดุก ปลากระพง ปลานิล อาการจะแตกต่างกันตาม species ของปลา ปลาไหลจะมีการว่ายน้ำเฉื่อยชา ลอยอยู่ตามผิวน้ำ มีการตกเลือดบริเวณด้านข้าง พบมีตุ่มแกสเกิด (gas pocket) ขึ้นบริเวณบาดแผล กล้ามเนื้อและผิวหนัง ตับ ไตและม้ามจะซีดและอาจพบฝี ส่วนในปลาอื่นๆ อาจพบว่า มีการตกเลือด ดาโปน มีบาดแผล ฝีในอวัยวะภายใน (Plumb, 1994)

6. โรค Epitheliocystis มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียแกรมลบขนาดเล็กคล้ายริกเกตเซีย มักสร้างปัญหาในลูกปลานิลขนาดเล็ก หากติดเชื้อรุนแรงทำให้ปลาตายได้ ปลาที่เป็นโรคจะพบการติดเชื้อในเซลล์เหงือกจำนวนมาก มีลักษณะคล้ายซีสต์บริเวณซี่เหงือกทำให้เกิดปัญหาในการแลกเปลี่ยนออกซิเจน เบญจพรและคณะ (2552) แนะนำว่า การเปลี่ยนถ่ายน้ำ ใส่เกลือ 2 ppt หรือ ฟอร์มาลิน 30 ppm มีผลทำให้จำนวนซีสต์บริเวณเหงือกลูกปลานิลลดลง

การสร้างภูมิคุ้มกันแก่ปลานิล จึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการป้องกันโรคสัตว์น้ำ ซึ่งอาจทำได้หลายวิธีการให้อาหารผสมจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยให้สัตว์น้ำแข็งแรง โดเร็ว

ระบบภูมิคุ้มกันของปลา

การสร้างภูมิคุ้มกันเป็นขบวนการป้องกันร่างกายของสัตว์น้ำเพื่อการอยู่รอดในสภาพที่มันคุ้นเคย สัตว์ที่ไม่สามารถพัฒนาการสร้างภูมิคุ้มกันได้ก็จะตายไป โดยธรรมชาติแล้วปลาเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังที่ด้อยพัฒนามากที่สุด แต่มันก็สามารถมีวิวัฒนาการในการสร้างภูมิคุ้มกันขึ้น เพื่อป้องกันตัวเองจากเชื้อโรคหรือปรสิตได้ ปลาที่อาศัยอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำ ไม่ต้องมีการพัฒนาการสร้างภูมิคุ้มกันให้มีประสิทธิภาพมากนัก เพราะเชื้อโรคต้องใช้เวลาในการฟักตัวนานกว่าปกติ แต่ถ้าเป็นปลาที่อาศัยอยู่ในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงและอยู่กันเป็นฝูง เชื้อโรคจะเข้าสู่ร่างกายปลาได้ง่ายและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว จำเป็นต้องมีระบบการสร้างภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพสูง (Fishesfocus, 2547) หากปลาและเชื้อโรคอยู่รวมกันมาหลายชั่วอายุ ปลาในรุ่นถัด ๆ ไปจะสามารถสร้างภูมิคุ้มกันสำหรับโรคนั้นได้ ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นภายหลัง (acquired immunity) เกิดขึ้นได้โดยการที่ปลาถูกกระตุ้นโดยการสัมผัสกับ antigen จากเชื้อโรคก่อน เรียกวิธีการสร้างภูมิคุ้มกันแบบนี้ว่า active immunity และการ active acquired immunity จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อปลามีการติดเชื้อโรคโดยธรรมชาติหรือสัมผัสกับ antigen ของเชื้อขึ้นภายในร่างกาย (Fishesfocus, 2547)

ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Non-specific or Innate Immunity)

ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเป็นภูมิคุ้มกันที่มีมาตั้งแต่กำเนิด เป็นการปกป้องร่างกายด่านแรกจากสิ่งแปลกปลอม หรือเชื้อก่อโรคต่าง ๆ ซึ่งมีรูปแบบที่ไม่จำเพาะเจาะจง และมีกลไกทั้งทางกายภาพ และชีวเคมี ภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะประกอบด้วย ผิวหนังและเยื่อเมือกต่าง ๆ แมคโครฟาจ (Macrophage) natural killer

cell (NK cell) ซึ่งมีบทบาทในการทำลายเซลล์มะเร็ง และเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส ไลโซไซม์ (lysozyme) ซึ่งช่วยทำลายเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและคอมพลีเมนต์ (complement) (อุษาศิริ, 2547) ภูมิคุ้มกันชนิดนี้จะแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดและอายุของสัตว์น้ำ สิ่งแวดล้อมก็มีผลต่อการกระตุ้นหรือกดการทำงานของภูมิคุ้มกันชนิดนี้

ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Specific or Acquired Immunity)

เมื่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะไม่สามารถต้านทานเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามารุกรานในร่างกายได้ ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะจะถูกชักนำ และได้รับการกระตุ้นเพื่อให้สามารถตอบสนองต่อเชื้อโรคได้อย่างเฉพาะเจาะจง ทั้งนี้การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันอย่างจำเพาะนั้นต้องอาศัยกลไกการปกป้องอย่างมีประสิทธิภาพ และมีการปรับตัวตามความเหมาะสม ลักษณะของการตอบสนองภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ คือ มีความสามารถที่จะจดจำสิ่งแปลกปลอม และยังคงจำสิ่งแปลกปลอมนี้ได้เพื่อเพิ่มความสามารถในการต้านสิ่งแปลกปลอม เมื่อสัมผัสในครั้งต่อไป เซลล์ภูมิคุ้มกันที่มีบทบาทสำคัญ คือ B และ T lymphocytes ระบบภูมิคุ้มแบบจำเพาะ แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ภูมิคุ้มกันที่เป็นสารน้ำ (Humoral immunity) และภูมิคุ้มกันแบบเซลล์ (Cell mediated immunity, CMI) (อุษาศิริ, 2547)

โปรไบโอติก (Probiotics)

โปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่เสริมในอาหารสัตว์แล้วมีผลทำให้เกิดสมดุลในระบบทางเดินอาหาร (intestinal balance) ของสัตว์ชนิดนั้น และช่วยทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นโทษให้น้อยลง (Fuller, 1989) แบคทีเรียที่ดีมีประโยชน์อาศัยอยู่ในลำไส้ซึ่งเข้าไปอยู่ในระบบของร่างกายมนุษย์และสัตว์ในปริมาณที่เพียงพอ แล้วก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ปัจจุบันมีหลักฐานการศึกษาชัดเจนว่า โปรไบโอติกช่วยย่อยอาหารและผลิตสารอาหารที่ดีมีประโยชน์ให้กับเราได้แก่ กรดอะมิโน กรดแลคติก พลังงาน ไวตามินเค ไวตามินบี และสารปฏิชีวนะธรรมชาติหลายชนิด (ธารารัตน์, 2542) โปรไบโอติกยังมีประสิทธิภาพในการป้องกันและลดอาการของโรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร นอกจากนี้อาจมีบทบาทสำคัญในการรักษาภาวะภูมิแพ้ เสริมสร้างการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกัน ตลอดจนการรักษาและป้องกันโรคต่าง ๆ อีกหลายโรค (พีร์, 2551)

ประโยชน์ของโปรไบโอติก (ธารารัตน์, 2542)

1. กรดแลคติกที่แบคทีเรียผลิตออกมา จะทำให้สภาวะภายในลำไส้ มีความเป็นกรดมากพอที่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค

2.วิตามินบีที่ได้ จะทำให้เซลล์ในระบบภูมิต้านทานทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ และยังทำให้มีการผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้นด้วย

3. แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ยังช่วยลดระดับน้ำตาลและโคเลสเตอรอลในเลือดด้วย

4. ลดอาการท้องเสีย โดยเฉพาะที่เกิดจากการติดเชื้อโรคของไวรัส

5.อาจมีผลในการช่วยลดสารพิษและสารก่อมะเร็งหลายชนิด

การใช้โปรไบโอดิกเป็นการใช้เพื่อป้องกันโรคซึ่งแตกต่างจากการใช้สารปฏิชีวนะ(antibiotic) ซึ่งจะใช้สำหรับการรักษาและก่อให้เกิดปัญหายาตกค้างได้ลักษณะการใช้โปรไบโอติกเป็นการนำจุลินทรีย์ซึ่งมีชีวิตที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์เสริมลงในอาหาร ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้จัดโปรไบโอติกหรือสารเสริมชีวนะว่าเป็นวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต มีประโยชน์ต่อร่างกายสัตว์ ทำให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารอยู่ในสมดุลช่วยให้ระบบย่อยอาหารดีขึ้น ทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้นและไม่มีปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมรวมทั้งการดื้อยาหรือสารตกค้าง (คะนึงนิจ, 2541)

การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในสัตว์น้ำ

ชนกันต์และคณะ (2550) ได้ศึกษาแบคทีเรียที่แยกจากปลานิลซึ่งเลี้ยงในระบบต่างกัน พบว่า มีการตรวจพบแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 2 สกุลได้แก่ *Micrococcus* และ *Staphylococcus* แต่ตอนนั้นยังไม่ได้นำมาพัฒนาเพื่อเป็นโปรไบโอติก *Micrococcus* เป็นแบคทีเรียสกุลที่พบเด่นชัดในทางเดินอาหารของปลานิล (Chowdhury *et al.*, 1989)

Mohapatra *et al.* (2012) ทดลองให้อาหารผสม *Bacillus subtilis* + *Lactococcus lactis* + *Saccharomyces cerevisiae* ในอัตรารวมทั้งสิ้น 10^{11} CFU ต่ออาหารปลา 1 กิโลกรัมแก่ลูกปลา *Labeo rohita* นาน 30 วัน ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของปลาและเสริมภูมิคุ้มกันต่อความเครียดที่ได้รับจากสารเคมีป้องกันแมลงเฟนวาเลอเรต (Fenvalerate)

ทศพร (2547) ได้แยกแลกติกแอซิดแบคทีเรียจากทางเดินอาหารของปลากะพงขาว เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีสมบัติเป็นโปรไบโอติก ด้วยเทคนิค well agar diffusion พบ 5 ไอโซเลต (กำหนดให้เป็น LAB-1 – LAB-5) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aeromonas hydrophila* แบคทีเรียก่อโรคในปลาได้ ผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบในอาหารผสมแบบเปียก พบว่า ในอาหารมีปริมาณสารอาหารต่าง ๆ เพียงพอกับความต้องการของปลากะพงขาว ยกเว้นปริมาณไขมันที่ต่ำเกินไป ความเข้มข้นของ *A. hydrophila* ที่ทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC50) หลังจากที่ปลาได้รับเชื้อแล้ว 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 7.76 $\log_{10}$ เซลล์/มิลลิลิตร และที่ 96 และ 120 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 7.47 และ 7.26 $\log_{10}$ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ นำอาหารที่เตรียมได้ไปเลี้ยงปลากะพงขาวในตู้กระจก โดยผสมอาหารกับแต่ละไอโซเลตที่คัดแยกได้ให้มีความเข้มข้น 0.3×10^7 เซลล์/กรัมอาหาร พบว่า มีเพียง LAB-4 เท่านั้น ที่มีความสามารถในการเสริมการเจริญเติบโตของปลาและต้านโรคที่เกิดจาก *A. hydrophila* ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อทำการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังโดยใช้ LAB-4 ผสมในอาหารปลาโดยใช้ความเข้มข้น 0.3×10^7 เซลล์/กรัมอาหาร พบว่า ทุกกลุ่มทดลองมีอัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโตและความสามารถในการต้านโรคที่เกิดจาก *A. hydrophila*

ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) สามารถตรวจพบ LAB-4 ในลำไส้ของปลากะพงขาวทั้ง 2 กลุ่มทดลองและไม่พบ LAB-4 ในกลุ่มควบคุม ปลากะพงขาวที่ตายจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *A. hydrophila* แสดงอาการของโรคอย่างชัดเจน และสามารถตรวจพบ *A. hydrophila* ในเนื้อเยื่อของปลาที่ตายด้วยเทคนิคทาง Immunohistochemistry พิสูจน์เอกลักษณ์ของ LAB-4 ด้วยการตรวจสอบรูปร่าง ลักษณะ ปริมาณกรดแลกติกด้วยเทคนิค HPLC และสมบัติบางประการทางชีวเคมี รวมทั้งการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA เพื่อใช้เทียบเคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ของ *Weissella* ที่มีรายงานใน Genbank พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LAB-4 มีความใกล้เคียงกับ *Weissella* sp.

พันธ์ธิดา (2554) คัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกที่แยกได้จากเหงือกและลำไส้ของปลานิล จำนวน 25 ตัว พบว่า เชื้อแบคทีเรียจำนวน 2 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่ผลิตเอนไซม์คาตาเลส มีความสามารถในการทนเกลือน้ำดี การย่อยโปรตีน ไขมัน ทนต่อสภาพความเป็นกรดด่างสูงที่ pH 10 มีความสามารถต้านทานต่อสารปฏิชีวนะได้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค *Aeromonas hydrophila, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus agalactiae* ได้ และสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงที่ 35 องศาเซลเซียส เมื่อนำเชื้อดังกล่าวไปจัดจำแนกสายพันธุ์โดยใช้วิธีการหมักน้ำตาลและใช้เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลในการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน 16S rRNA พบว่าไอโซเลท 3TG51 และ 3 เป็นเชื้อ *Lactococcus garvieae* ซึ่งสามารถนำมาใช้แทนยาปฏิชีวนะได้ลดต้นทุนการใช้ยาและลดปัจจัยเสี่ยงต่อผู้บริโภคได้

ภัทริดาและคณะ (2554) ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 3 สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่ *B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (*Aeromonas hydrophila* ABRCA1 และ *Streptococcus agalactiae* ABRCS1) ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยวิธี cross streak method พบว่า *B. licheniformis* สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* ABRCA1 ส่วนเชื้อ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถเจริญครอบครองโคโลนีของเชื้อ *S. agalactiae* ABRCS1 หลังจากนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีความสามารถในการเจริญครอบครองโคโลนีมาทดสอบความสามารถในการลดปริมาณเชื้อก่อโรคในอาหารเหลว โดยวิธี broth co-culture โดยนำ *B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. subtilis* เลี้ยงร่วมกับ *S. agalactia* ABRCS1 ในอาหารเหลว nutrient broth (NB) ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันคือ 10^5 CFU/มิลลิลิตร พบว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง *B. licheniformis, B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถลดจำนวน *S. agalactiae* ABRCS1 ได้ 46.79 เปอร์เซ็นต์ 53.58 เปอร์เซ็นต์ และ44.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยที่ปริมาณของเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 ชนิดไม่เปลี่ยนแปลง การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Bacillus* spp. ทั้ง 3 ชนิดมีคุณสมบัติที่ดีในการนำไปใช้ลดปริมาณเชื้อก่อโรคในการเลี้ยงปลานิลต่อไป

สุกัญญา (2552) คัดแยกและศึกษาศักยภาพการใช้โปรไบโอติก *Bacillus* sp. UBRU 4 เสริมในอาหารทดลองสำหรับปลานิล 3 ชุดทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ในถังขนาด 150 ลิตร โดยกลุ่มแรกให้อาหารปกติ ปลากลุ่มที่ 2 ให้อาหารผสม Oxytetracyclin ร้อยละ 0.05 และกลุ่มที่สามเสริม *Bacillus* sp.

UBRU $4.1x10^{12}$ เซลล์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม หลังจากเลี้ยงปลาเป็นเวลา 60 วัน จากนั้น เลือกปลาที่แข็งแรง จำนวน 15 ตัว จากแต่ละกลุ่มทดลองมาศึกษาความด้านทานต่อ *A.hydrophila* ด้วยวิธี Challenge test เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นตรวจวัดอัตราการรอด การเกิดไมโครนิวเคลียสในเม็ดเลือดแดง และมีปริมาณแอนติบอดี (Antibody titer) พบว่า กลุ่มทดลองที่ 1 วัดได้ ร้อยละ 30 ร้อยละ 0.42 และ 85.3 ตามลำดับ กลุ่มทดลองที่ 2 วัดค่าได้ 50 % , 0.61% , 26.6 ตามลำดับ กลุ่มทดลองที่ 3 วัดค่าได้ 60%, 0.3% , 85.3 ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองพบว่ากลุ่มที่เสริม *Bacillus* sp. UBRU $4.1x10^{12}$ เซลล์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีการกระตุ้นการเกิดภูมิคุ้มกันได้มากกว่ากลุ่มอื่นๆ

ประพันธ์ศักดิ์ (2548) ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรีย AQBS01 ต่อระบบภูมิคุ้มกันและการยับยั้งแบคทีเรียในปลานิล พบว่า ในการนำแบคทีเรีย *B.pumilus* ในสภาพที่มีชีวิตไปผสมอาหารไปอัตรา 0 (กลุ่มควบคุม) 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม แล้วนำไปเลี้ยงปลานิลขนาด 50 กรัม เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในห้องปฏิบัติการ พบว่า แบคทีเรีย *B.pumilus* ในอัตรา 1.0 – 5.0 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มระดับของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง โดยสังเกตจากค่า Phagocytic activity, Phagocytic index และ Phagocytic efficiency รวมถึงปริมาณ Superoxide anion (O2-) ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับอัตราการรอดตายของปลาภายหลังจากการฉีดและให้กินเชื้อ *S.agalactiae* ที่พบว่าปลาทดลองที่ได้รับแบคทีเรีย *B.pumilus* ในอาหารในอัตรา 1.0 – 5.0 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม จะมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Del'Duca *et al.* (2013) ทดลองให้อาหารผสม *Bacillus* sp. and *Enterococcus* sp. ในอัตรา 10^6 เซลล์ต่ออาหาร 1 กรัม แก่ลูกปลานิลนาน 30 วัน พบว่า มีการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในกระเพาะอาหาร

Nikoskelainen *et al.* (2003) ได้ให้อาหารผสม *Lactobacillus rhamnosus* (LAB) ใน 5 ความเข้มข้น คือ 7.9×10^4(LAB4), 2.1×10^6(LAB6), 2.8×10^8(LAB8), 1.9×10^{10}(LAB10) และ 9.7×10^{10}(LAB11) CFU ต่ออาหาร 1 กรัม แก่ปลาเรนโบว์เทราต์ นาน 2 สัปดาห์ พบว่า ระหว่างการให้อาหารมีแบคทีเรีย *L. rhamnosus* อยู่ในลำไส้ปลาจำนวนมาก และปลามี respiratory burst activity สูงขึ้น อย่างไรก็ตามแบคทีเรีย *L. rhamnosus* ได้หายไปจากลำไส้หลังจากหยุดให้อาหารผสมแบคทีเรียดังกล่าวเพียงแค่ 1 สัปดาห์

***Staphylococcus* spp.**

ไพรินทร (2544:หน้า 19) กล่าวว่า *S.aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม การเรียงตัวคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีมีสีเหลืองทอง เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C และภาวะที่มีเกลือเข้มข้น เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยง

เชื้อธรรมดาเกือบทุกชนิดที่ pH 4.8 – 7.4 สร้างรงควัตถุได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 20 °C ในบรรยากาศที่มี CO_2 สูงกว่าปกติ สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 30 นาที และทนความเย็นที่ 4 °C ได้นานหลายเดือน *Staphylococcus* เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (microbial spoilage) ของอาหารหลายประเภท บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ คือ เอนเทอโรทอกซิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้ดี ทำให้อาหารเป็นพิษ *Staphyloccus sciuri* เป็นจุลินทรีย์หนึ่งใน 23 ชนิดที่อยู่ในประกาศแนบท้ายของกระทรวงสาธารณสุข ว่าด้วยเรื่อง การใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในอาหาร

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์

1. กระชังขนาด 1.0 x 3.0 x 1.5 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง)
2. ลูกพันธุ์ปลานิล
3. อาหารปลากินพืชสำเร็จรูปเม็ดเล็ก
4. เชื้อแบคทีเรียที่ได้จากปลานิลที่แข็งแรง
5. เครื่องชั่งน้ำหนัก
6. ไม้บรรทัดวัดความยาว
7. หลอด capillary
8. เครื่อง Microplate Reader
9. เข็มฉีดยาขนาด 0.1 มิลลิเมตร
10. เชื้อแบคทีเรียที่แยกจากปลานิลแดงที่เป็นโรคในฟาร์มเอกชน อ.ปง จ.พะเยา
11. ถาดสำหรับผสมอาหาร
12. ผ้าสะอาด
13. ถุงมือยาง
14. แทงค์น้ำขนาด 1000 ลิตร 2 แทงค์
15. เครื่อง spectrophotometer

ภาพที่ 2. การเตรียมกระชังในบ่อดิน ในการทดลอง

การวิจัยส่วนที่ 1 การแยกเชื้อแบคทีเรียและทดลองอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกในตู้กระจก

1) เตรียมอุปกรณ์ในการทดลอง

เตรียมตู้ทดลองขนาด 30x36x39 เซนติเมตร จำนวน 3 ตู้ ทำความสะอาดตู้ทดลอง จากนั้นเตรียมน้ำในตู้ทดลอง

2) การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำลูกปลานิลจากฟาร์มธงชัย จำนวน 300 ตัว มาพักไว้ในตู้ทดลองทดลองขนาด 30x36x39 เซนติเมตร เติมน้ำ 40 ลิตร จำนวน 3 ตู้ ตู้ละ 100 ตัว เป็นเวลา 20 วัน เพื่อให้ปลาปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ได้ แล้วคัดปลาจำนวน 150 ตัวมาทดลอง ตู้ละ 50 ตัว จากนั้นทำการชั่งน้ำหนัก

ภาพที่ 3. เครื่อง spectrophotometer

3) การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

สุ่มแยกเชื้อแบคทีเรียจากลูกปลานิลที่แข็งแรงไม่เป็นโรค มาทำให้บริสุทธิ์

4.1 ถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรค ลงในหลอดทดลองขนาด 15 ml ที่มีน้ำเกลือ 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 3 ml เขย่าให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน

4.2 ทำการวัดปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยการวัดค่า OD ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 620 nm วัดค่า ODให้ได้ประมาณ 0.5

4.3 ดูดเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นปริมาตร 25 µl หยดลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 mm ทิ้งไว้ 1--3 นาที เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียซึมลงบนกระดาษกรอง จึงใช้คีมคีบ ชุบแอลกอฮอล์ 95% แล้วเผาไฟให้ร้อน ทิ้งให้เย็น คีบกระดาษกรองวางลงบนอาหารวุ้น TSA โดยแผ่นดิสยาสำเร็จรูปเป็นชุดควบคุมการทดลอง

ภาพที่ 4. เตรียมเชื้อที่ได้จากฟาร์ม อ.ปง จ.พะเยา

4.4 บ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 28-29 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.5 ทำการวัดขนาดโคโลนีเชื้อที่เจริญกระจายออก

4.6 ถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค ลงในหลอดทดลองขนาด 15 ml ที่น้ำเกลือ 0.85% ที่ฆ่าเชื้อแล้ว วัดปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยวัด OD ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 620 nm ให้ได้ประมาณ 0.3 แล้วดูดเชื้อแบคทีเรีย 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีอาหาร TSA 0.85% อุ่น ๆ อยู่แล้ว 10 ml (TSA 0.85% 10 ml + เชื้อแบคทีเรียก่อโรค500 µl) เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน แล้วเททับลงบนอาหารวุ้นที่มีเชื้อไม่ก่อโรคเจริญอยู่

4.7 รอให้อาหารวุ้นแข็งตัว บ่มเชื้อต่อในตู้บ่มอุณหภูมิ 28–29 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.8 ตรวจผลประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

4.9 นำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่แยกได้ ข้างต้น จากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากปลานิลที่แข็งแรง นำมาขยายเชื้อในขวดที่มีอาหารแบคทีเรียแล้วนำไปไว้ในเครื่องเขย่าสารไว้ 2 วัน จึงนำเชื้อมาล้างน้ำเกลือแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่เครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบของการปั่น 5000 RPM เป็นเวลา 5 นาที ทำซ้ำ 3 รอบ แล้วนำไปวัดค่า OD ที่เครื่อง สเปกโตรมิเตอร์ ให้ได้ 0.1xxx (ในการทดลองใช้ 0.171) ที่แสง 625 แล้วนำไปคลุกเค้าให้เข้ากันกับอาหารที่เตรียมไว้ (อาหารเม็ดสำเร็จรูปจาก ซีพี) นำไปเก็บไว้ในตู้เย็น

4) แผนการทดลอง

วางแผนการแบบสุ่มตลอด (Complete Randomized Design; CRD) แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารไม่ผสมแบคทีเรีย (ควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารผสมแบคทีเรีย (1 ml ต่ออาหาร 10 กรัม)

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารผสมแบคทีเรีย (2 ml ต่ออาหาร 10 กรัม)

โดยการให้อาหารจะให้อาหารวันละ 3 ครั้ง คือ ช่วงเวลา 09.00 น. 12.00 น.และ 15.00 น. โดยปริมาณอาหารที่ให้คือ 2 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักเฉลี่ยของปลานิล ในช่วงวันที่ 10 พฤษภาคม พ.ศ. 2555 ถึงวันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2555 แล้วเพิ่มเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงวันที่ 21 พฤษภาคม พ.ศ. 2555 จนสิ้นสุดการทดลองวันที่ 22 มิถุนายน พ.ศ. 2555 ซึ่งในการทดลองมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ/ดูดตะกอนทุกวัน

การเก็บรวบรวมข้อมูลการวิเคราะห์ข้อมูล

ศึกษาการเจริญเติบโตของปลา ชั่งน้ำหนักปลาทุก 10 วัน โดย สุ่มปลามา 10 ตัว ก่อนการทดลองและการชั่งครั้งแรก สุ่มปลามา 25 ตัว ในการชั่งครั้งที่ 2 และ 3 แล้วชั่งปลาทั้งหมดในวันที่ 22 มิถุนายน พ.ศ. 2555 แล้วหาค่าเฉลี่ย เก็บข้อมูลแล้วนำไปประเมินค่า อัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการรอดตาย โดยใช้สูตรดังนี้

1. อัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADG; กรัม/วัน)

$$= \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย - น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวัน}}$$

2. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)

= น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง

3.อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR เปอร์เซ็นต์/วัน)

$$= \frac{\text{In น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{In น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาในการทดลอง}}$$

4. อัตราการรอด

= (จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - จำนวนปลาก่อนการทดลอง) X 100

การวิจัยส่วนที่ 2 ทดลองอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกในกระชังในบ่อดิน พร้อมทดสอบความต้านทานโรค

การเตรียมกระชังทดลอง

ใช้บ่อดินของคณะประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการทดลอง เริ่มด้วยทำการปักหลักด้วยไม้ไผ่เพื่อผูกกระชัง ผูกกระชังขนาด 1.0 x 3.0 x 1.5 เมตร (กว้าง x ยาว x สูง) จำนวน 6 กระชัง ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ จึงปล่อยปลานิลแปลงเพศลงเลี้ยงในกระชัง จำนวน 20 ตัว ต่อ กระชัง รวมปลาทั้งหมดที่ใช้ในการทดลอง จำนวน 120 ตัว

สัตว์ทดลอง

ใช้ลูกปลานิลแปลงเพศความยาวประมาณ 6 เซนติเมตร จากฟาร์มเพาะเลี้ยงเอกชน นำมาพักในกระชัง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนทำการสุ่มนับ และชั่งน้ำหนักลูกปลาเริ่มต้นก่อนทำการปล่อยลงเลี้ยงในกระชังทดลองทั้งหกกระชัง กระชังละ 20 ตัวต่อกระชัง หรือด้วยความหนาแน่น 1 ตัวต่อตารางเมตร โดยปล่อยให้ปลาปรับตัว และงดให้อาหาร 1 วัน ก่อนให้อาหารทดลอง ให้อาหารด้วยอาหารควบคุมเป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ปลาปรับสภาพ และสามารถกินอาหารได้ดีขึ้น ก่อนให้อาหารทดลอง

อาหารปลาที่ใช้ในการทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองมีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้คือ

- อาหารควบคุม (Control)
- อาหารควบคุมผสมเชื้อแบคทีเรีย 0.1 เปอร์เซ็นต์

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลอง โดยใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูป และอาหารผสมเชื้อที่ได้จากปลานิลดำที่แข็งแรงเป็นอาหารทดลอง เริ่มให้อาหารที่ผสมเชื้อโปรไบโอติก อัตราอาหารที่ให้ตลอดการทดลอง คือ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน วันละ 2 ครั้ง (09:00-10:00 น. และ 15:00-16:00 น.) ปรับปริมาณอาหารที่ให้ ทุก 7 วัน และทำการวัดขนาดและชั่งน้ำหนักทุกสัปดาห์หลังจากครบกำหนด 45 วันจะทำการชั่งน้ำหนักและวัดขนาดและนำปลาขึ้นมาพักไว้ที่แท็งก์น้ำให้อาหารตามปกติ 1 สัปดาห์ และทำการฉีดเชื้อที่ได้มาจากปลานิลแดงที่

เป็นโรค ของฟาร์มเอกชนใน อ.ปง จ.พะเยา เข้าตัวปลาบริเวณช่องท้องแล้วสังเกตอาการโดยรวมของปลาทดลองที่เปลี่ยนแปลงไปโดยเปรียบเทียบกับตัว Control

ภาพที่ 5. การฉีดเชื้อก่อโรค เข้าบริเวณช่องท้องปลานิล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

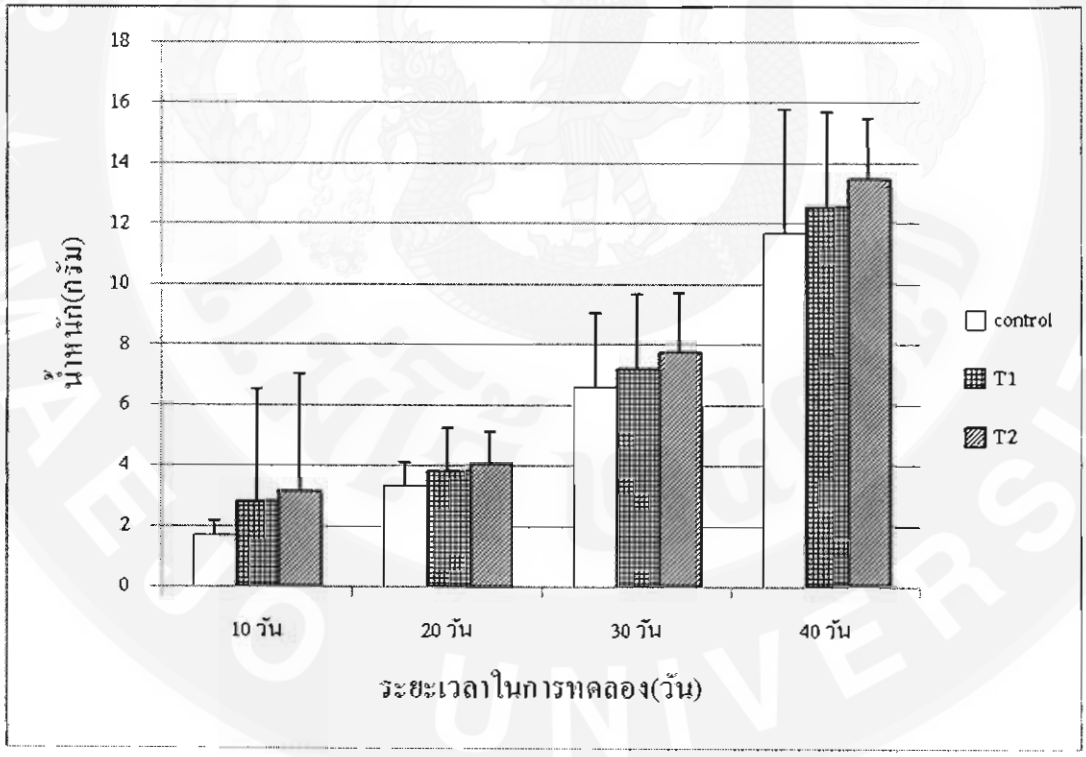
นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละทรีตเมนต์ จากนั้น เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ โดยวิธีการของ Tuky's Test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 15.0

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยส่วนที่ 1 การอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกในตู้กระจก

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

จากการศึกษาน้ำหนักของปลานิลหลังการทดลอง โดยให้อาหารผสมแบคทีเรียที่ระดับต่างกัน คือ ระดับ 0 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (ชุดควบคุม) อาหารผสมแบคทีเรีย (1 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 10 กรัม) และอาหารผสมแบคทีเรีย (2 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 10 กรัม) ตลอดการทดลอง หลังการทดลอง 40 วัน พบว่าปลาที่ให้อาหารผสมแบคทีเรีย 2 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 10 กรัม มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นสูงสุด 11.99 กรัม รองลงมาเป็นปลาที่ให้อาหารผสมแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 10 กรัมมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 11.03 กรัม ในขณะที่ปลาที่ให้อาหารไม่ผสมแบคทีเรียมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นต่ำสุด 10.25 กรัม (ภาพที่ 6)

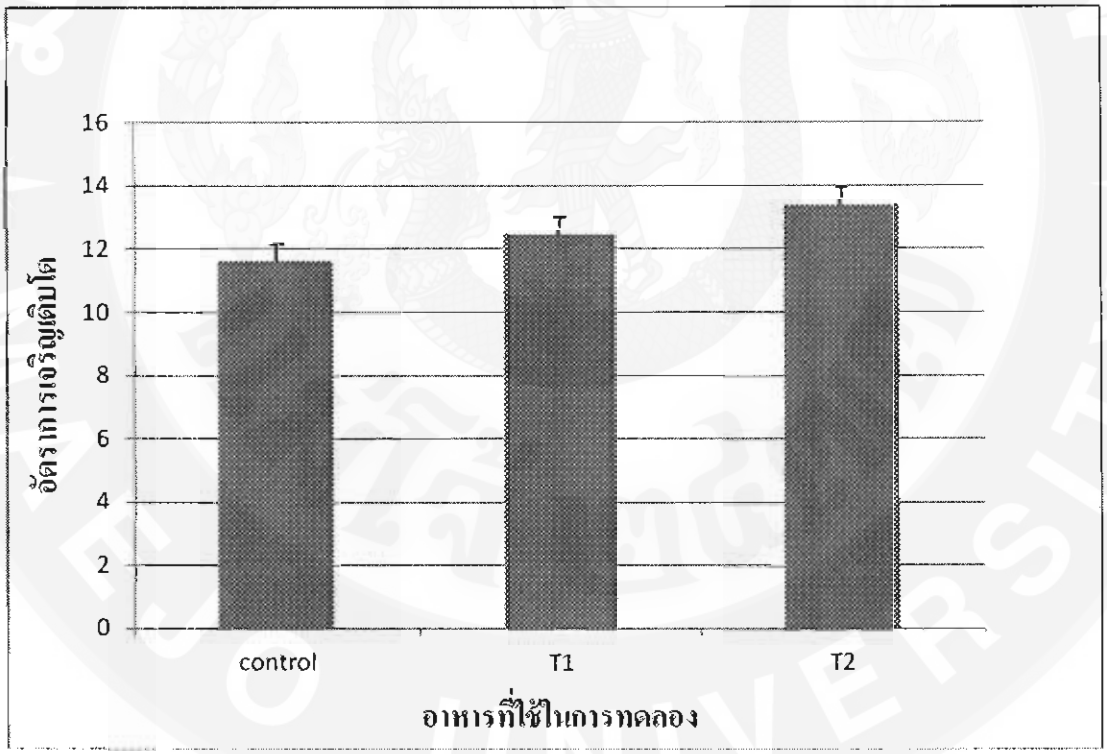


ภาพที่ 6. น้ำหนักของลูกปลานิลที่อนุบาล โดยการให้อาหารผสมแบคทีเรีย เป็นเวลา10 – 40 วัน

ตารางที่ 1. น้ำหนักก่อนการทดลอง น้ำหนักหลังการทดลอง อัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate; SGR) เปอร์เซ็นต์/วัน และอัตราการรอด (%)

การทดลอง	น้ำหนักก่อนการทดลอง (กรัม)	น้ำหนักหลังการทดลอง (กรัม)	อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/วัน)	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(กรัม)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(specific growth rate;SGR) เปอร์เซ็นต์/วัน	อัตราการรอด (%)
control	1.42	11.67±4.09[a]	11.6345±0.08[a]	10.25	0.052±0.01[a]	94±1.33[a]
T1	1.5	12.53±3.18[a]	12.4925±0.02[b]	11.03	0.053±0.01[a]	98±2.67[b]
T2	1.46	13.45±2.03[b]	13.4135±0.90[a]	11.99	0.055±0.02[a]	94±1.33[a]

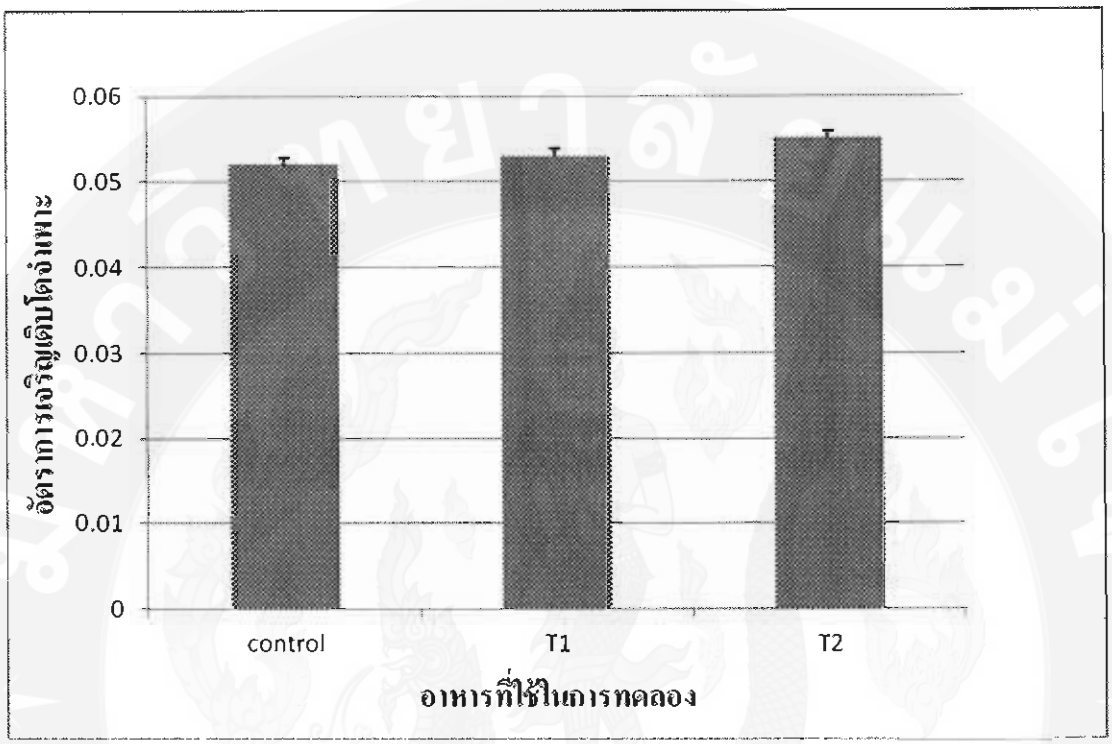
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรภาษาอังกฤษในคอลัมน์เดียวกันเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 7. อัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADC: กรัม/วัน)

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADC :กรัม/วัน) โดยให้อาหารผสมแบคทีเรียที่ระดับต่างกัน คือ ระดับ 0 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (ชุดควบคุม) อาหารผสม 1 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 10 กรัม และอาหารผสมแบคทีเรีย 2 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 10 กรัม ตลอดการทดลอง พบว่า อัตราการเจริญเติบโต ชุดการทดลองที่ 3 อาหารผสม 2 มิลลิลิตรต่ออาหาร 10 กรัม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ (P>0.05) กับ ชุดการทดลองที่ 2 อาหารผสม 1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 10 กรัม และชุดการทดลองที่ 1 อาหารควบคุม ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโต เท่ากับ 13.4135±0.90, 11.6345±0.08 และ 12.4925±0.02 กรัม/วัน ตามลำดับ

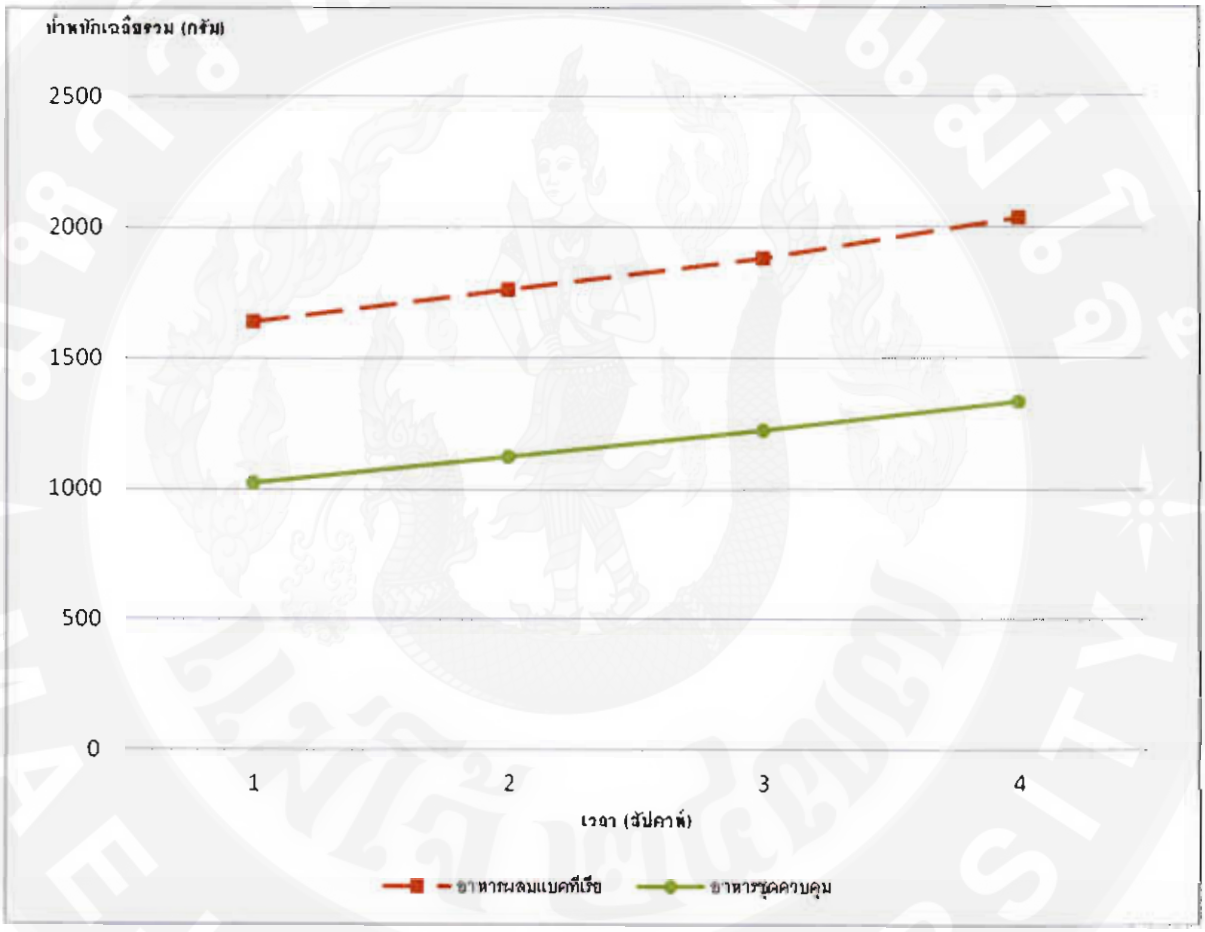


ภาพที่ 8. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; SGR: เปอร์เซ็นต์/วัน)

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; SGR: เปอร์เซ็นต์/วัน) โดยให้อาหารผสมแบคทีเรียที่ระดับต่างกัน คือ ระดับ 0 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (ชุดควบคุม) อาหารผสมแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 10 กรัม และอาหารผสมแบคทีเรีย 2 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 10 กรัม ตลอดการทดลอง พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ชุดการทดลองที่ 1 อาหารควบคุม ชุดการทดลองที่ 2 อาหารผสมแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 10 กรัม และชุดการทดลองที่ 3 อาหารผสมแบคทีเรีย 2 มิลลิลิตรต่ออาหาร 10 กรัม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P<0.05) ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เท่ากับ 0.052 ±0.01, 0.053±0.01 และ 0.055±0.02 เปอร์เซ็นต์/วันตามลำดับ

ผลการวิจัยส่วนที่ 2 ทดลองอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกในกระชังในบ่อดิน พร้อมทดสอบความต้านทานโรค

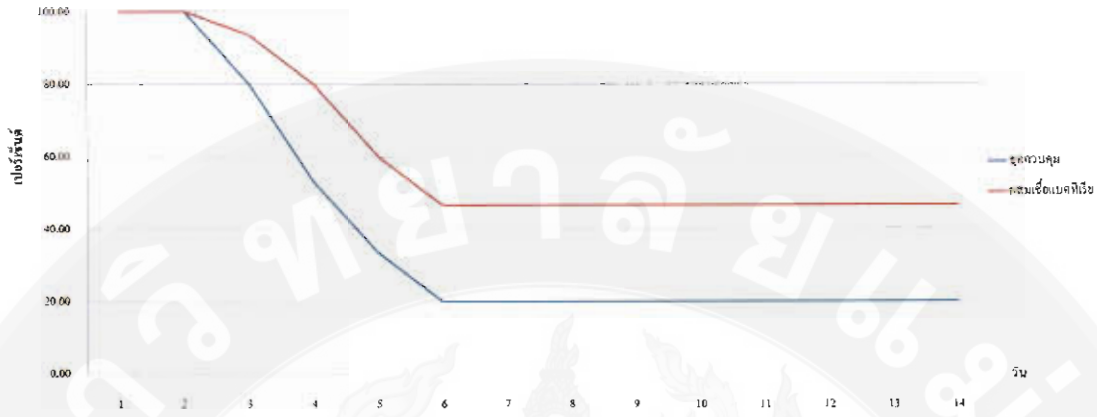
ในส่วนที่สองของงานวิจัย เป็นการทดลองอนุบาลลูกปลาในกระชัง เพื่อนำผลที่ได้ไปเป็นแนวทางในการส่งเสริมเกษตรกร จึงได้ทดลองในบ่อดิน ผลที่ได้ชี้เห็นว่า น้ำหนักเฉลี่ยรวมของลูกปลานิลที่อนุบาลในกระชังซึ่งวางไว้ในบ่อดินมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมซึ่งไม่ได้มีการผสมโปรไบโอติก (ภาพ 9)



ภาพที่ 9. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate, FCR)

หลังจากได้อนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมเชื้อแบคทีเรีย ครบ 45 วัน ได้นำปลาขึ้นมาพักในถังน้ำ 1 สัปดาห์ ก่อนฉีดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเข้าช่องท้อง พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมเชื้อแบคทีเรียมีอัตรารอดสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการผสมเชื้อแบคทีเรีย (ภาพ 10)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้



ภาพที่ 10. อัตรารอดของลูกปลานิลที่อนุบาลในกระชังซึ่งวางไว้ในบ่อดิน แล้วนำมาทดสอบความทนต่อการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยการฉีดเชื้อที่แยกจากปลานิลแดงที่เป็นโรคในฟาร์มเอกชน อ.ปง จ.พะเยา

วิจารณ์ผลการวิจัย

มีการทดลองใช้แบคทีเรียโปรไบโอติกชนิดต่าง ๆ ผสมอาหารเลี้ยงปลาเพื่อเป็นทางเลือกในการลดการใช้สารเคมีหรือยาปฏิชีวนะป้องกันรักษาโรค พบว่า มีการใช้เชื้อ *Lactobacillus rhamnosus* ป้องกันการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Aeromonas salmonicida, Vibrio anguillarum* และ *Flavobacterium psychrophilum* ในปลาเรนโบว์เทราต์ (Nikoskelainen *et al.*, 2001) นอกจากนี้มีการใช้ *Enterococcus faecium* เพื่อควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรีย *E. tarda* ในปลาไหล (Gatesoupe, 1999) มีการใช้โปรไบโอติกที่ได้จากมนุษย์ (*L. rhamnosus*) 10^{10} CFU/อาหาร 1 กรัมให้ปลานิล ทำให้ปลานิลเจริญได้ดีขึ้นเช่นกัน (Pirarat *et al.*, 2011) (ภาพ 11) ส่วนงานวิจัยนี้ได้ทดลองแยกเชื้อแบคทีเรียจากทางเดินอาหารของลูกปลานิลที่แข็งแรงเพื่อผสมอาหาร แล้วนำไปอนุบาลลูกปลานิลนาน 40 วัน พบว่า อาหารที่ผสมแบคทีเรีย 2 ml /อาหาร 10 กรัม ได้ผลดีที่สุดในด้านการเจริญเติบโต เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ โดยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมีค่าเท่ากับ 11.99 กรัม/ตัว การเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันมีค่าเท่ากับ 0.055±0.02 อัตราการเจริญเติบโตต่อวันมีค่าเท่ากับ 13.4135±0.90 เมื่อสิ้นสุดการทดลองแต่ในส่วนของอัตราการรอด พบว่า มีค่าน้อยกว่าชุดการทดลองที่ผสมแบคทีเรีย 1 ml ต่อ อาหาร 10 กรัม โดยมีค่าเท่ากับ 94 ± 1.33 เมื่อสิ้นสุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การให้โปรไบโอติกแก่สัตว์น้ำมีส่วนช่วยให้สัตว์น้ำใช้อาหารได้ดีขึ้นเป็นผลให้การเจริญเติบโตสูงขึ้น นอกจากนั้นยังช่วยในการสร้างสมดุลย์ของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ ช่วยให้มีการผลิตไบโอตินและวิตามิน B 12 (Suzer *et al.*, 2008; Balcázar *et al.*, 2006)

Growth performance	Control	Probiotic
Initial mean body weight	22.77	22.35
Mean body weight (14 days)	26.79	26.85
Mean body weight (30 days)	30.03	30.52
Weight gain (%) 14 days	15.95	18.65
Weight gain (%) 30 days	23.55	24.60
Specific growth rate (14 days)	1.04	1.13
Specific growth rate (30 days)	0.89	1.01
Feed conversion ratio	1.46	1.24

ภาพ 11 การใช้โปรไบโอติก *L. rhamnosus*) 10^{10} CFU/อาหาร 1 กรัมให้ปลานิล ทำให้ปลานิลเจริญดีขึ้น ในขณะที่ FCR ลดต่ำลง (Pirarat *et al.*, 2011)

Pirarat *et al.* (2011) กล่าวว่า ปลาที่ได้รับโปรไบโอติกจะมี วิลลัส (villus) หรือส่วนยื่นเล็ก ๆ เป็นตุ่มบริเวณลำไส้สูงขึ้น ซึ่งวิลลัสที่สูงขึ้นจะเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการดูดซึมสารอาหาร (Caspary, 1992) มีการพิสูจน์ให้เห็นว่า โปรไบโอติกช่วยเพิ่มการสร้างเซลล์ผิวในกระเพาะอาหารของหนู (Ichikawa *et al.*, 1999) กลไกการทำงานของโปรไบโอติกที่อาจจะเกิดขึ้นหลังจากเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกาย มันจะไปเพิ่มจำนวนในลำไส้และใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตเพื่อสร้างกรดไขมันสายสั้นที่ช่วยในการเพิ่มความสูงของวิลลัส (Pelicano *et al.*, 2005) กรดไขมันสายสั้นโดยเฉพาะกรดบิวทิริก (butyric acid) เป็นแหล่งพลังงานสำคัญสำหรับเซลล์ผิวลำไส้และสามารถกระตุ้นการสร้างเซลล์ (Blottiere *et al.*, 2007)

Abd El-Rhman *et al.* (2009) ได้ทดลองให้อาหารผสมเชื้อ *Pseudomonas* sp. มาทำโปรไบโอติกให้ปลานิล พบว่า ปลาเจริญช้าลงและให้อัตรารอดไม่ดี จึงแนะนำว่าแบคทีเรียนี้ไม่เหมาะสมสำหรับการใช้เป็นโปรไบโอติกในปลานิล อย่างไรก็ตามมีการใช้แบคทีเรีย *P. fluorescens* strain เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกในการป้องกันโรค *Vibrio anguillarum* ในปลาเทราต์ ดังนั้นปฏิกิริยาระหว่างแต่ละเชื้อแบคทีเรียอาจจะมีความแตกต่างกัน จึงควรนำมาเป็นตัวพิจารณาในการคัดเลือกโปรไบโอติก

Lara-Flores *et al.* (2003) ทดลองให้อาหารผสมยีสต์ *Saccharomyces cerevisae* นาน 9 สัปดาห์ทำให้ลูกปลาโตดีขึ้น ซึ่ง Oliva-Teles *et al.* (2001) รายงานว่า ยีสต์น่าจะเป็นแหล่งโปรตีนที่ใช้ทดแทนปลาป่นได้อีกด้วย อย่างไรก็ตาม Liu *et al.* (2013) ได้ใช้ *Lactobacillus brevis* JCM 1170 (HALB) และ *Lactobacillus acidophilus* JCM 1132 (LALB) ซึ่งมีความสามารถในการยึดเกาะติดผนังลำไส้แตกต่างกัน มาผสมอาหาร 0 - 10^9 เซลล์ต่ออาหาร 1 กรัม ทดลองให้ปลานิลกินนาน 5 สัปดาห์ พบว่า ปลาทั้งสองกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกไม่ทำให้เกิดความแตกต่างทั้งในแง่ของการเจริญเติบโตและอัตราแลกเนื้อแต่อย่างใด ทีมนักวิจัยได้ตั้งข้อสังเกตว่า ปลาอาจจะใช้พลังงานบางส่วนจากปลานิลไปช่วยในเพิ่มการตอบสนองด้านความเครียด

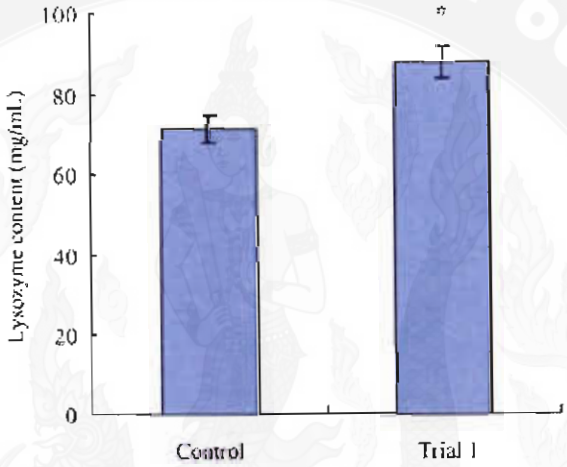
ปลากะรัง (*Epinephelus coioides*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Bacillus* 1.0×10^8 CFU/ อาหาร 1 กรัม นาน 60 วัน ช่วยทำให้มีอัตราแลกเนื้อ (FCR) ดีขึ้น (Sun *et al.*, 2010) ในขณะที่ปลาที่ได้อาหารผสม *B. subtillis* 10^4, 10^6, และ 10^8 CFU/อาหาร 1 กรัมจะมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Liu *et al.*, 2012) ส่วนปลา yellow croaker (*Larimichthys crocea*) ที่ได้อาหารผสม *B. subtillis* 1.35×10^7 CFU /อาหาร 1 กรัมมีส่วนให้อัตรารอดสูงขึ้น (Ai *et al.*, 2011); ในขณะที่ปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio*) ที่ได้รับอาหารผสม *B. subtilis* 10^7 CFU /อาหาร 1 กรัม ทำให้ปลาโตดีขึ้นได้เช่นกัน (He *et al.*, 2011) จะเห็นว่า ประสิทธิภาพของโปรไบโอติกแตกต่างกันตามชนิดของปลาและปริมาณของแบคทีเรียที่ใช้

Wang *et al.* (2008) ได้ใส่เชื้อ *Enterococcus faecium* ZJ4 ลงในน้ำ 1×10^7 cfu/ ml ทุก 4 วัน หลังจากทดลอง 40 วัน พบว่า ปลาที่ได้รับเชื้อแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตดีขึ้นกว่าปลาที่ไม่ได้รับเชื้อแบคทีเรีย ผลของเชื้อโบรไบโอติกชนิดอื่นที่ช่วยเพิ่มการเจริญของปลาคาร์พ คือ *Streptococcus faecium* (Noh *et al.*, 1994) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของประพันธ์ศักดิ์และคณะ (2555) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus pumilus* AQBS01 ต่อการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกันและการยับยั้งแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่ก่อโรคในปลานิล ซึ่งพบว่า แบคทีเรีย *B. pumilus* ในอัตรา 1.0 – 5.0 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม สามารถเพิ่มการจับกินสิ่งแปลกปลอมและอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การให้อาหารผสมโปรไบโอติกในสัตว์น้ำจะมีผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ เช่น การกระตุ้นคอมพลีเมนต์ (complement) ซึ่งเป็นสารน้ำช่วยในการย่อยสลายจุลินทรีย์ (Ellis, 1999) ปลานิลที่ได้รับเชื้อ *E. faecium* ZJ4 ระหว่างการเลี้ยงมีปริมาณคอมพลีเมนต์สูงขึ้น (Wang *et al.*, 2008) เซลล์จับกินสิ่ง

แปลกปลอมมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย และสามารถสร้างอนุมูลอิสระ ซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion) ซึ่งช่วยฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Ellis, 1999)

ไลโซไซม์ (Lysozyme) พบในเมือกปลา ซีรั่มและเนื้อเยื่อที่มีเม็ดเลือดขาว (Ellis, 1999) มีรายงานการเพิ่มขึ้นของไลโซไซม์ในปลาที่ได้รับโปรไบโอติก (Panigrahi *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตามปลาที่ได้รับ *E. faecium* ZJ4 ไม่มีผลต่อไลโซไซม์ ($P > 0.05$) ซึ่งงานวิจัยชิ้นนี้เป็นการใส่เชื้อแบคทีเรียลงในน้ำ ซึ่งอาจจะชี้ให้เห็นว่า วิธีการให้โปรไบโอติกที่ต่างกันอาจจะมีผลต่อภูมิคุ้มกันต่างกันด้วย (Wang *et al.*, 2008)



ภาพ 12 ปลาที่ได้อาหารผสมแบคทีเรีย *E. faecium* นาน 40 วัน ทำให้ไลโซไซม์สูงขึ้น ($P > 0.05$) (Wang *et al.*, 2008)

ไซโตไคน์ (Cytokines) คือสารที่หลั่งจากเซลล์ต่าง ๆ ในระบบภูมิคุ้มกันในภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนหรือตอบสนองต่อภาวะการอักเสบ เช่น IL-1β เป็นสารน้ำที่ถูกสร้างขึ้นก่อนการอักเสบ TNF-α เป็นอินเตอร์เฟอรอนที่ช่วยทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อ ส่วน TGF-β ช่วยเพิ่มจำนวนและการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาว Liu *et al.* (2013) รายงานปลานิลที่ได้รับโปรไบโอติก *Lactobacillus* spp. มีการทำงานของไซโตไคน์ IL-1β, TGFβ และ TNFα เพิ่มสูงขึ้น

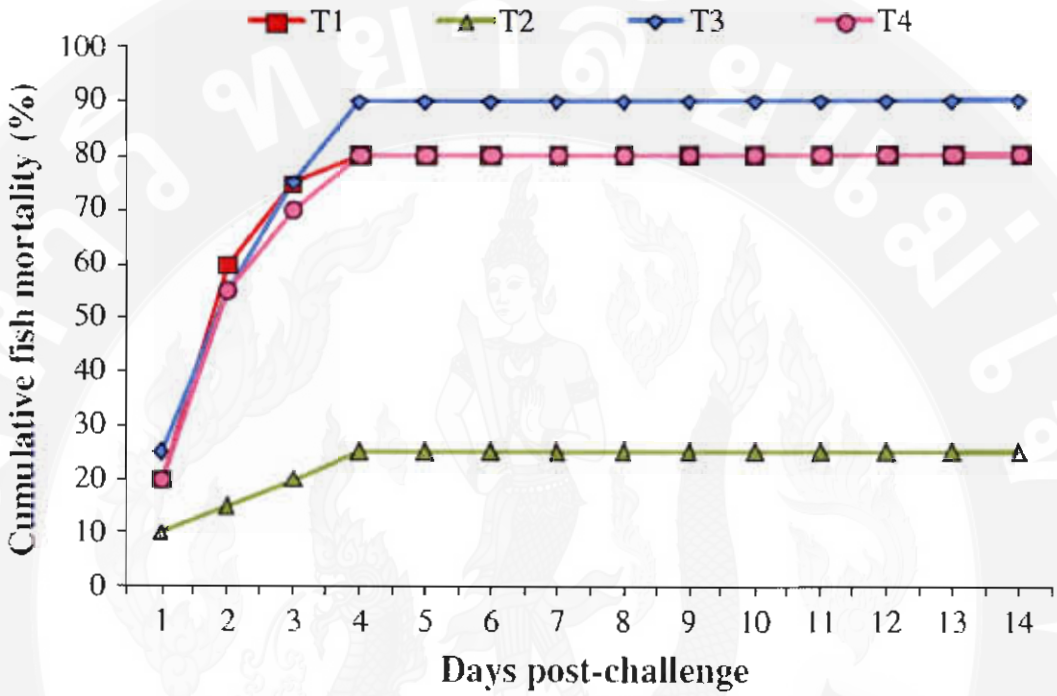
TGF-β การทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเป็นกลไกการควบคุมอุณหภูมิร่างกายในขณะที่อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ไม่เป็นอันตรายต่อสภาพทางสรีรวิทยาและภายในเซลล์ร่างกายของสัตว์ ในระดับโมเลกุลเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดเมื่อเกิดความเครียด เนื่องจากความร้อนจะตอบสนองโดยการสร้างโปรตีนจำเพาะชื่อ heat shock protein (HSP) ซึ่งโปรตีนที่ได้รับความสนใจและมีการศึกษามากคือ กลุ่ม HSP70 เนื่องจากเป็นโปรตีนกลุ่มที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ (Kregel, 2002) จากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับ HSP70 พบว่าหากพบโปรตีน HSP70 ในปริมาณมากแสดงถึงความสามารถทนต่อความร้อนได้ดี (สุรางคนา, 2551) HSP70 ยังสามารถพบในปลาที่เลี้ยงในสภาพ

หนาแน่นสูง คุณภาพไม่ดีหรือได้รับอาหารไม่เหมาะสม (Rollo *et al.*, 2006) โดยทั่วไปการแสดงออกของ HSP70 จะลดลงในปลาที่ได้รับโปรไบโอติก (Avella *et al.*, 2010)

ส่วนการวิจัยในด้านของการใช้แบคทีเรียที่ผสมเชื้อที่ได้จากปลานิลดำที่แข็งแรงที่ใช้เลี้ยงปลานิลนั้น โดยใช้วิธีผสมเชื้อแบคทีเรียตามเปอร์เซ็นต์ลงในอาหาร แล้วทดลองให้ปลานิลกิน หลังจากนั้นจึงทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาว ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตาย ตามแผนการวิจัยที่กำหนดไว้ ผลการวิจัยพบว่า อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลานิลทั่วไปประมาณ 1 ไม่เกิน 2 เพราะฉะนั้นอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อในการวิจัยนี้มีค่าสูงกว่าปกติ อาจจะเกิดจากการให้อาหารมากเกินความต้องการของปลานิล

Aly *et al.* (2008) ชี้ว่า *B. pumilus* อาจจะนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกสำหรับควบคุมการติดเชื้อ *A. hydrophila* ในปลานิล สำหรับงานทดลองนี้ปลานิลที่ได้รับการฉีดเชื้อแบคทีเรีย จะมีอัตราการรอดสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ไม่มีการผสมเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุกัญญาและอุบลรักษ์ (2552) ที่ได้แยกเชื้อแบคทีเรียจากระบบทางเดินอาหารของปลานิลจากฟาร์มปลากระชังในแม่น้ำมูล และคัดเลือกโปรไบโอติก *Bacillus* sp. ที่ไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกและต่อต้านเชื้อ *Aeromonas hydrophila* เมื่อจัดจำแนกสายพันธุ์ด้วยวิธีทางชีวเคมี พบว่า เชื้อดังกล่าวมีลักษณะเป็น *B. brevis* จึงได้นำไปเสริมในอาหารปลานิล 3 ชุดการทดลองชุดการทดลองละ 3 ซ้ำในถังขนาด 150 ลิตร เปรียบเทียบกับ 1. กลุ่มให้อาหารปกติ 2. กลุ่มเสริม Oxytetracyclin ร้อยละ 0.05 ในอาหาร และ 3. กลุ่มเสริม *Bacillus* sp. UBRU $4.1X10^{12}$ เซลล์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม หลังจากเลี้ยงปลาเป็นเวลา 60 วัน จึงเลือกปลาที่แข็งแรงจำนวน15 ตัว จากแต่ละกลุ่มมาทดลองศึกษาความด้านทานต่อ *Aeromonas hydrophila* ด้วยวิธี Challenge test เป็นเวลา 14 วัน ตรวจวัดอัตราการรอด พบว่า อัตรารอดของปลากลุ่มทดลองที่ 1 – 3 คือ ร้อยละ 30, 50 และ 60 ตามลำดับ

อัตราการตายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติค *M. luteus* 10^7 เซลล์ต่ออาหาร 1 กรัม ลดลงหลังได้รับเชื้อ *A. hydrophila* ฉีดเข้าช่องท้อง (Abd El-Rhman *et al.*, 2009) (ภาพ 13) ปลานิลที่ได้รับอาหารผสม *Bacillus subtilis* และ *Lactobacillus acidophilus* จะมีการตายลดลงเมื่อได้รับเชื้อ A. *hydrophila* หรือ *P. fluorescens* (Aly *et al.*, 2008)



ภาพ 13 อัตราการตายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก นาน 90 วันแล้วทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อโรค *A. hydrophila* (T1 = อาหารชุดควบคุม, T2 = อาหารผสม *M. luteus*, T3 = อาหารผสม *Pseudomonas* sp., T4 = อาหารผสมแบคทีเรีย *M. luteus* และ *Pseudomonas* sp.)

จะเห็นได้ว่า การใช้โปรไบโอติกมีประโยชน์ต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำ แต่ควรศึกษาถึงปริมาณที่ใช้ที่เหมาะสม รวมทั้งหาเทคนิคในการเก็บรักษาโปรไบโอติกให้อยู่ในสภาพที่มีชีวิตในสภาวะที่แห้ง

สรุปผลการวิจัย

ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียที่ได้จากปลานิลที่แข็งแรงโตเร็ว จะมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มอัตรารอดจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค อย่างไรก็ตามต้องคำนึงถึงต้นทุน ปริมาณ และระยะเวลาที่ให้ควบคู่ไปด้วย รวมทั้งต้องมีการศึกษาถึงผลของปัจจัยแวดล้อมในบ่อต่อการทำงานของเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก