

ผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งโรคติดเชื้อ

ในปลานิล (*Nile tilapia: Oreochromis niloticus*)

**Effect of Endemic Probiotics to Growth and Inhibit Bacterial Infection
in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)**

อุดมลักษณ์ สมพงษ์¹ และจีรพร เพกเกาะ²

Udomluk Sompong¹ and Jeeraporn Pekkoh²

¹คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 50290

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยเก็บตัวอย่างปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ดิน และน้ำจากฟาร์มในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงราย จำนวน 16 แห่ง เพื่อทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ โดยใช้อาหาร MRS พบว่าสามารถแยกเชื้อได้ 110 ไอโซเลท ตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น โดยการย้อมสีแกรม ลักษณะรูปร่าง และการจัดเรียงตัวของเซลล์ จากนั้นทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 9 ไอโซเลท ด้วยเทคนิค Agar well diffusion ในอาหาร BHI พบว่า (โปรไบโอติกส์) แบคทีเรียที่คัดแยกได้จำนวน 15 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โปรไบโอติกส์ CR10-8, CR1-2, CR1-4, CR8-9, CM4-3 และ CM4-6 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคทุกชนิด ทดสอบการแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดง (Blood hemolysis) พบว่าเชื้อโปรไบโอติกส์ทุกชนิดไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (Non hemolysis) ทดสอบสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococci* ซึ่งเป็นสายพันธุ์แบคทีเรียก่อโรค ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญ และการผลิตสารปฏิชีวนะระดับ pH 4-9 พบว่าระดับ pH ที่เหมาะสม คือ 7 โดยเชื้อทุกชนิดไม่สามารถเจริญได้ที่ระดับ pH 4 ทดสอบความสามารถในการเกาะติดของเชื้อ พบว่าเชื้อมีความสามารถยึดเกาะผนังหลอดทดลองได้ 30-80 % และตรวจสอบโอกาสในการเกิดโรคของเชื้อจุลินทรีย์ในสัตว์ทดลอง (*In vivo test*) พบว่า CR1-2, CR10-5 และ CM4-3 ทำให้ปลา มีอัตราการรอดตายสูงสุด 80 % คัดเลือกสายพันธุ์โปรไบโอติกส์ตามคุณสมบัติข้างต้น 3 สายพันธุ์ นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการ

ส่งเสริมการเจริญเติบโต โดยการใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่คัดเลือกได้ 3 สายพันธุ์ คือ CR1-2, CR7-8 และ CR10-5 ให้ปลานิลกินจนอิ่ม เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ชุดที่เสริม CR7-8 ปลา มีขนาดและน้ำหนักเพิ่มมากที่สุด รวมทั้งมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และ อัตราการแลกเนื้อ (FCR) สูงเช่นกัน อัตราการรอดตาย (%Survival) ในแต่ละชุดการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ชุดการทดลองที่เสริมด้วย CR1-2 มีค่าประสิทธิภาพการใช้ โปรตีน (PER) และ ค่า Productive Protein Value (PPV) สูงสุด ในระหว่างการทดลองได้ ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ ด้านการเจริญเติบโต และคุณภาพน้ำบางประการใน บ่อเลี้ยงปลานิล ทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์หลายตัวแปร (Multivariate analysis) พบว่าคุณภาพ บางประการ มีความสัมพันธ์กับปัจจัยการเจริญเติบโต โดยส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิลใน ทุกชุดการทดลองที่เสริมด้วยโปรไบโอติกส์ อุณหภูมิมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอัตราการรอด ของปลานิล สามารถจัดกลุ่มข้อมูลออกเป็น 3 กลุ่ม และสรุปได้ว่า ปลานิลในชุดการทดลองที่เสริม ด้วยโปรไบโอติกส์มีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดสูง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 เดือน ในส่วนการศึกษาทางด้าน โภชนศาสตร์ของเนื้อปลานิลพบว่าโปรตีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 6 เปอร์เซ็นต์ ในเนื้อปลานิลที่เสริมด้วยโปรไบโอติกส์ มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าชุดควบคุมเล็กน้อย ทำการศึกษาอัตราการต้านทานเชื้อก่อโรค P4, P6 และ AH พบว่า ปลานิลที่เสริมด้วยจุลินทรีย์ CR7-8 มีอัตราการรอดสูงสุดถึง 83.33 % รองลงมาคือ CR1-2 และ CR10-5 แต่ไม่มีความแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในด้านคุณภาพทางด้าน โภชนศาสตร์ของเนื้อปลานิลในแต่ละ ชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกัน จากการทดลอง สรุปได้ว่า CR7-8 ส่งผลให้ปลานิลมีอัตราการ เจริญเติบโต และอัตราการรอดจากเชื้อก่อโรค ซึ่งมีศักยภาพเหมาะสมในการนำมาเป็น โปรไบโอติกส์ในปลานิล

คำสำคัญ: โปรไบโอติกส์ ปลานิล การเจริญเติบโต การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

Abstract

The effect of endemic probiotics on bacterial pathogen inhibition was studied. From 16 fish farms in Chiang Mai and Chiang Rai provinces. The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) soil and water were collected. Isolating probiotics were tested by using MRS medium. One hundred and ten isolates were picked and tested for gram stain, cell shape and colonization. Inhibition of bacterial pathogen was tested by Agar well diffusion technique on BHI agar. Fifteen isolates of bacteria could inhibit pathogen. CR10-8, CR1-2, CR1-4, CR8-9, CM4-3 and CM4-6 could inhibit all nine pathogen strains. Blood hemolysis was tested. All probiotics could be identified to non-hemolysis strains. Isolated bacteria strains (*Staphylococci*), the tested reactions to pathogenic strains. Optimal temperature and antibiotics production at pH 4-9 were tested. Optimal pH condition was pH7 and all strains could not grow at pH 4. Adhesion characteristic was tested in a test tube. Probiotics could adhere at the test tube wall 30-80%, *In vivo* test was examined for pathogen infection. Fish which fed with CR1-2, CR10-5 and CM4-3 had the highest survival rate (80%) Three strains of probiotics were selected from these methodology. Efficiency of growth stimulation was tested. Probiotics CR 1-2, CR 7-8 and CR 10-5 were selected. Each strain was mixed with dry pellet food. Nile tilapias were fed for 4 months. Tilapia fed with CR7-8 had the maximum size and weight. The specific growth rate (SGR) and feed conversion ratio (FCR) were highest as well. Survival rate in each treatment was statistically in significant difference ($P>0.05$). Treatment was supplemented with CR1-2 protein efficiency rate (PER) and productive protein value (PPV). Some water quality parameters were analyzed and correlation analysis among varies factors were tested. Multivariate analysis was done. It found that some water quality factors stimulated the relation with the effect growth. By water temperature was positively correlated with the survival rate of Nile tilapia and all data could be classified into three groups. Pathogen resistance rate was tested with P4 and AH pathogen. Tilapia fed with CR7-8 had the highest survival rate, up to 83.33%, followed by CR1-2 and CR10-5 respectively. However, there were not significantly differences ($P>0.05$). Proximate analysis of fresh inlater Tilapia were tested. All characteristics of the experiments were not significantly difference. The conclusion of these studies, probiotics CR7-8 could be effective in promotion the growth rate and pathogen resistance. It was suitable as potential probiotics in Nile Tilapia culture.

Key words: Probiotics, Nile tilapia, Growth, Pathogen inhibition