



## รายงานผลการวิจัย

เรื่อง ผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งโรคติดเชื้อใน  
ปลานิล (Nile tilapia: *Oreochromis niloticus*)

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

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ: การพัฒนาระบบการผลิตปลานิลเพื่อเข้าสู่มาตรฐานการส่งออก

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย      ประจำปี 2555  
จำนวน 234,000 บาท

หัวหน้าโครงการ  
ผู้ร่วมโครงการ

นางอุดมลักษณ์ สมพงษ์  
นางสาวจิรพร เพกเกาะ

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

26 สิงหาคม 2556

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือและความร่วมมือจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้

และขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ รวมทั้งนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาช่วยงาน คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้ให้การสนับสนุนอนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์การวิเคราะห์ รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จ

คณะผู้วิจัย

## สารบัญ

|                           | หน้า |
|---------------------------|------|
| สารบัญตาราง               | (ข)  |
| สารบัญภาพ                 | (ช)  |
| สารบัญภาคผนวก             | (ซ)  |
| บทคัดย่อ                  | 1    |
| Abstract                  | 3    |
| คำนำ                      | 4    |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย   | 5    |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 5    |
| ขอบเขตของการวิจัย         | 5    |
| กรอบแนวคิดการวิจัย        | 6    |
| การตรวจเอกสาร             | 7    |
| อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย   | 36   |
| ผลการวิจัย                | 53   |
| วิจารณ์ผลการทดลอง         | 94   |
| สรุปผลการทดลอง            | 102  |
| บรรณานุกรม                | 103  |
| ภาคผนวก                   | 110  |

## สารบัญตาราง

|             |                                                                                                                                                                                            |      |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
|             |                                                                                                                                                                                            | หน้า |
| ตารางที่ 1  | ลักษณะการเลี้ยงปลานิลจากฟาร์มในจังหวัดเชียงใหม่                                                                                                                                            | 39   |
| ตารางที่ 2  | ลักษณะการเลี้ยงปลานิลจากฟาร์มในจังหวัดเชียงราย                                                                                                                                             | 42   |
| ตารางที่ 3  | น้ำหนักปลานิล และวัดขนาดความยาวปลานิล ในจังหวัดเชียงใหม่ และ<br>จังหวัดเชียงราย (Mean±SE)                                                                                                  | 45   |
| ตารางที่ 4  | คุณภาพน้ำบางประการจากฟาร์มเลี้ยงปลานิลในจังหวัดเชียงใหม่ และ<br>จังหวัดเชียงราย (Mean±SE)                                                                                                  | 46   |
| ตารางที่ 5  | ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียก่อโรคปลานิลที่คัด แยกได้จากปลา<br>นิลเป็นโรค                                                                                                                 | 54   |
| ตารางที่ 6  | ทดสอบเชื้อก่อโรคในปลานิลเพื่อคัดอัตราการตายในระยะเวลา 5 วัน<br>( <i>In vivo</i> test)                                                                                                      | 56   |
| ตารางที่ 7  | ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่คัดแยกจากปลานิล<br>น้ำ และตะกอนดินในจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงรายที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อ<br>โรคได้                                       | 57   |
| ตารางที่ 8  | ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ<br>แบคทีเรียก่อโรคในปลานิล โดยวิธีการ agar well diffusion (วัดความกว้าง<br>Clear zone, เซนติเมตร)                           | 63   |
| ตารางที่ 9  | อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของปลานิล เมื่อฉีดเชื้อโปรไบโอติกส์แต่<br>ละไอโซเลท ( <i>in vivo</i> test) จำนวนปลาเริ่มต้น 10 ตัวต่อตู้                                                      | 64   |
| ตารางที่ 10 | เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ใน<br>หลอดพลาสติก                                                                                                           | 68   |
| ตารางที่ 11 | น้ำหนัก และความยาวของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริม<br>จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน<br>(Mean±SE)                                       | 69   |
| ตารางที่ 12 | ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) ของปลานิลที่<br>เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในแต่ละ<br>หน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE) | 70   |

|             |                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ตารางที่ 13 | ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Total biomass increase) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วย<br>อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในแต่ละหน่วยทดลอง<br>ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)                                                            | 71 |
| ตารางที่ 14 | ค่าอัตราการรอดตาย อัตราการแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน<br>Productive Protein Value (PPV) Productive Fat Value (PFV) ของปลานิล<br>ที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในแต่ละหน่วย<br>ทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน | 72 |
| ตารางที่ 15 | ค่าน้ำหนักปลาเฉลี่ย (กรัม) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์<br>โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง<br>ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)                                                           | 73 |
| ตารางที่ 16 | ความยาวปลาเฉลี่ย (เซนติเมตร) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม<br>จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิลในแต่ละหน่วย<br>ทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)                                                         | 74 |
| ตารางที่ 17 | อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (กรัมต่อวัน) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วย<br>อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อ<br>โรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์<br>(Mean±SE)                                  | 74 |
| ตารางที่ 18 | อัตราการรอดของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์<br>โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง<br>ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)                                                                  | 75 |
| ตารางที่ 19 | อัตราการแลกเนื้อ (FCR) กรัมต่อวัน ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ด<br>สำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลา<br>นิลในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)                                              | 76 |
| ตารางที่ 20 | ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป<br>ที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละ<br>หน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)                                                 | 76 |
| ตารางที่ 21 | ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อคอปปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม<br>จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละ<br>หน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ เดือน (Mean±SE)                                                | 77 |

|                                                                                                                                                                                                           | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 22 Productive Protein Value (PPV) ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิลในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)         | 77   |
| ตารางที่ 23 Productive Fat Value (PFV) ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)            | 78   |
| ตารางที่ 24 ค่าอุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)                                      | 78   |
| ตารางที่ 25 ความเป็นกรด - ค่าง (pH) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)                                          | 79   |
| ตารางที่ 26 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำในบ่อเลี้ยงปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)                                       | 79   |
| ตารางที่ 27 ความเป็นด่าง (Alkalinity) mg/l ในบ่อเลี้ยงปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)                            | 80   |
| ตารางที่ 28 ปริมาณแอมโมเนียในบ่อเลี้ยงปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)                                             | 81   |
| ตารางที่ 29 อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส) ในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE) | 84   |
| ตารางที่ 30 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)   | 85   |

|                                                                                                                                                                                                            | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 31 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) ในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (M±SE) | 85   |
| ตารางที่ 32 ค่าความเป็นด่างของน้ำในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิลในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)         | 86   |
| ตารางที่ 33 ค่าแอมโมเนียของน้ำในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)            | 86   |
| ตารางที่ 34 เปอร์เซ็นต์ความชื้น เถ้า ไขมัน เยื่อใย โปรตีน ของเนื้อปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์แต่ละชนิดในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการทดลองเลี้ยง 4 เดือน              | 88   |
| ตารางที่ 35 ค่าความชื้นในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)                         | 89   |
| ตารางที่ 36 เถ้าในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)                                | 90   |
| ตารางที่ 37 ปริมาณไขมัน เปอร์เซ็นต์ ในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)            | 90   |
| ตารางที่ 38 เปอร์เซ็นต์เยื่อใยในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)                  | 91   |
| ตารางที่ 39 ค่าโปรตีนในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)                          | 92   |

ตารางที่ 40 คาร์โบไฮเดรตในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม  
จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลอง  
ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

## สารบัญภาพ

|                                                                                                                                                | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ภาพที่ 1 ปลานิล ( <i>Oreochromis niloticus</i> )                                                                                               | 7    |
| ภาพที่ 2 การตายของปลาที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย <i>Streptococcus agalactiae</i>                                                            | 14   |
| ภาพที่ 3 การตายของปลาที่มีสาเหตุมาจากเชื้อโรคที่กำลังระบาดอยู่ในปัจจุบัน                                                                       | 14   |
| ภาพที่ 4 สถานที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงใหม่ (CM1-CM5)                                                                                       | 40   |
| ภาพที่ 5 สถานที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงราย (CR1-CR11)                                                                                       | 43   |
| ภาพที่ 6 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล 8 ไอโซเลท                                                                           | 55   |
| ภาพที่ 7 แสดงอัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของปลานิลเมื่อนิยเชื้อโปรไบโอติกส์แต่ละไอโซเลท ( <i>In vivo</i> test) จำนวนปลาเริ่มต้น 10 ตัวต่อตู้  | 56   |
| ภาพที่ 8 ลักษณะโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลานิล                                                                                    | 59   |
| ภาพที่ 9 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลานิล                                                                              | 60   |
| ภาพที่ 10 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลานิล                                                                             | 61   |
| ภาพที่ 11 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลานิล                                                                             | 62   |
| ภาพที่ 12 แสดงอัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของปลานิลเมื่อนิยเชื้อโปรไบโอติกส์แต่ละไอโซเลท ( <i>In vivo</i> test) จำนวนปลาเริ่มต้น 10 ตัวต่อตู้ | 65   |
| ภาพที่ 13 ปฏิกริยาการแตกของเม็ดเลือดแดง (Blood agar hemolysis) ของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์                                                  | 66   |
| ภาพที่ 14 การทดสอบปฏิกริยาของสายพันธุ์แบคทีเรีย กลุ่ม <i>Staphylococci</i>                                                                     | 67   |
| ภาพที่ 15 การเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับพีเอชแตกต่างกัน                                                                        | 67   |
| ภาพที่ 16 การทดสอบประสิทธิภาพการเกาะติดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในหลอดทดลอง                                                                    | 68   |
| ภาพที่ 17 กราฟการกระจาย (Scatter plot) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตและคุณภาพน้ำในกระชังระหว่างเดือนกันยายน ถึง ธันวาคม 2555           | 82   |
| ภาพที่ 18 กราฟการกระจาย (Scatter plot) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตและคุณภาพน้ำในกระชังระหว่างเดือนกันยายนถึงธันวาคม 2555             | 83   |

สารบัญภาคผนวก

|           |                         |          |
|-----------|-------------------------|----------|
| ภาคผนวก ก | สัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย | หน้า 111 |
| ภาคผนวก ข | การนำเสนอผลงานวิชาการ   | 122      |



ผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งโรคติดเชื้อ

ในปลานิล (Nile tilapia: *Oreochromis niloticus*)

Effect of Endemic Probiotics to Growth and Inhibit Bacterial Infection

in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

อุดมลักษณ์ สมพงษ์<sup>1</sup> และจีรพร เพกเกาะ<sup>2</sup>

Udomluk Sompong<sup>1</sup> and Jeeraporn Pekkoh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 50290

<sup>2</sup>ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

### บทคัดย่อ

การศึกษาผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยเก็บตัวอย่างปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ดิน และน้ำจากฟาร์มในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงราย จำนวน 16 แหล่ง 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 ทำให้ปลาอัตราการรอดตายสูงสุด 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 ปลามีขนาดและน้ำหนักเพิ่มมากที่สุด 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 อุณหภูมิน้ำมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอัตราการรอด ของปลานิล สามารถจัดกลุ่มข้อมูลออกเป็น 3 กลุ่ม และสรุปได้ว่า ปลานิลในชุดการทดลองที่เสริม ด้วยโปรไบโอติกส์มีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดสูง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-4 เดือน ในส่วนการศึกษาทางด้านโภชนาศาสตร์ของเนื้อปลานิลพบว่าโปรตีนมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 6 เปอร์เซ็นต์ ในเนื้อปลานิลที่เสริมด้วยโปรไบโอติกส์ มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าชุดควบคุมเล็กน้อย ทำการศึกษาอัตราการด้านทานเชื้อก่อโรค P4, P6 และ AH พบว่า ปลานิลที่เสริมด้วยจุลินทรีย์ CR7-8 มีอัตราการรอดสูงสุดถึง 83.33 % รองลงมาคือ CR1-2 และ CR10-5 แต่ไม่มีความแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ในด้านคุณภาพทางด้านโภชนาศาสตร์ของเนื้อปลานิลในแต่ละ 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

## คำนำ

### ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยมีมูลค่าผลผลิตต่อปีสูงสุดในบรรดาสัตว์น้ำจืดทั้งหมด เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่ายขยายพันธุ์รวดเร็ว เป็นที่ต้องการทั้งตลาดใน และต่างประเทศสูง (กรมประมง, 2550) จึงทำให้มีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง จนเป็นระบบการเลี้ยงเชิงพาณิชย์มากขึ้น และยังพบว่า ทั้งหน่วยงานภาครัฐ และเอกชนพยายามปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีอัตราการเจริญเติบโตดี และปริมาณเนื้อเยอะ เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค สามารถสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรเป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตามเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลส่วนใหญ่จะประสบปัญหาการตายของปลา ซึ่งจะเกิดในช่วงหน้าร้อนไปจนถึงต้นฤดูฝน และยังมีปัญหาหลายประการในการเพาะเลี้ยง เช่น ปัญหาด้านต้นทุนที่เพิ่มสูงขึ้นตามภาวะเศรษฐกิจ ปัญหาด้านการตลาดรวมถึงปัญหาทางด้านแหล่งเงินทุน และการสนับสนุนจากภาครัฐ และเอกชนยังไม่ทั่วถึงเท่าที่ควร (ชนกันต์, 2556)

ปัญหาการตายของปลานิล มีสาเหตุมาจากปลามีภูมิคุ้มกันต่ำ จึงทำให้อ่อนแอ และเกิดโรคได้ง่าย สร้างความเสียหายแก่เกษตรกรเป็นอย่างมาก โรคปลานั้น อาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น สภาพอากาศร้อนจัด ฝนตก หรือมีศัตรูโรคติดต่อกันหลายวัน ทำให้อุณหภูมิของน้ำในรอบวันแตกต่างกันมาก ส่งผลถึงกระบวนการย่อยสลายของเสียภายในบ่อ เกิดการสะสมของสารอินทรีย์ และสารอินทรีย์ ส่งผลให้คุณภาพน้ำทั้งทางชีวภาพ กายภาพ และเคมีเกิดการเปลี่ยนแปลงมากขึ้น ตลอดจนเกิดสารปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม และสาเหตุอื่นๆ ที่ทำให้ปลาอ่อนแอมีภูมิคุ้มกันต่ำ ทำให้ปลามีอาการป่วยทยอยตายอย่างต่อเนื่อง (ประพันธ์ศักดิ์ และนนทวิทย์, 2555)

ในปัจจุบันได้มีการป้องกัน และการรักษาโรคในปลานิลโดยการใส่ยาปฏิชีวนะ และสารเคมีบางชนิด แต่ไม่สามารถหยุดยั้งการตายของปลาได้ โดยปลายังแสดงการตายต่อเนื่องจนเกษตรกรส่วนใหญ่ประสบภาวะขาดทุนอย่างหนัก ซึ่งการใส่ยาปฏิชีวนะในการรักษาปริมาณสูง อาจทำให้มียาตกค้างในปลานิล และในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งอาจทำให้แบคทีเรียเกิดการดื้อยาปฏิชีวนะ การหาวิธีต่าง ๆ ที่จะป้องกันโรคที่เกิดขึ้นทดแทนการใส่ยาปฏิชีวนะ ซึ่งการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ (Probiotics) เสริมลงไปผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูป ซึ่งจะช่วยในกระบวนการย่อย และการต้านทานของเชื้อโรคเมื่อเข้าสู่ร่างกาย โดยสร้างกรด และหลังสารพิษที่มีผลทำให้เชื้อบล่าได้สลับสับ ทำให้เกิดสภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ อีกทั้งยังช่วยปรับสมดุลในลำไส้ให้ต่อสู้กับเชื้อโรคได้อีกด้วย (สุญาณี, 2549)

จากประโยชน์ของการใช้เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ทำให้เกิดความคิดในการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่น จากลำไส้ปลานิล รวมทั้งน้ำ และดินจากแหล่งน้ำ ที่เพาะเลี้ยงปลานิลในเขตบริเวณภาคเหนือตอนบน เพื่อทดสอบประสิทธิภาพ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโต และป้องกันเชื้อก่อโรคในปลานิล รวมทั้งความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความหลากหลายของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์จากระบบทางเดินอาหารของปลานิล น้ำ และดิน
2. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคในปลานิล
3. เพื่อศึกษาผลของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่น ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิล
4. เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์
5. เพื่อศึกษาคุณภาพเนื้อของปลานิล ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพิ่มประสิทธิภาพของการผลิต ทั้งในด้านผลผลิตและต้นทุนในการผลิตปลานิลของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิล
2. สามารถพัฒนาสายพันธุ์เชื้อโปรไบโอติกส์ ให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรค และมีแนวโน้มที่จะนำจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ไป ใช้ในเชิงพาณิชย์ต่อไปได้
3. ช่วยลดอัตราการติดเชื้อก่อโรคในปลานิลและลดการใช้ยาปฏิชีวนะ
4. เป็นองค์ความรู้ในการทำงานวิจัยครั้งต่อไปได้

### ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาวิจัยเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆในห้องปฏิบัติการ
2. ศึกษาผลของการยับยั้งเชื้อก่อโรค โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่ทำการคัดแยกได้มาทำการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่แยกได้จากปลานิลที่ป่วย

### กรอบแนวคิดการวิจัย

ผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นต่อการเจริญเติบโต และการ  
ยับยั้งโรคติดเชื้อในปลานิล  
(Nile tilapia: *Oreochromis niloticus*)



#### ปัจจัยที่ทำการศึกษา

1. ชนิดโปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นที่แยกได้จากระบบทางเดินอาหารของปลานิล และจากบ่อเพาะเลี้ยงปลานิล
2. ผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่น ต่อการเจริญเติบโตของปลานิล
3. ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิล
4. คุณภาพเนื้อปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกส์



#### ตัวชี้วัด

1. นำเสนอระดับชาติหรือนานาชาติ จำนวน 1 เรื่อง
2. ตีพิมพ์ผลงานวิจัยระดับชาติหรือนานาชาติ จำนวน 1 เรื่อง

#### เป้าประสงค์ องค์ความรู้ด้านการพัฒนา

คุณภาพผลผลิตของปลานิล

เพื่อ

ถ่ายทอดองค์ความรู้สู่เกษตรกร  
พัฒนาองค์ความรู้สู่ภาคอุตสาหกรรม

ผลิตนักศึกษาระดับปริญญาโท จำนวน 1 คน



★ ผลผลิตปลาที่ได้มีคุณภาพ เพื่อพัฒนาการแข่งขันและส่งออก ★

### การตรวจเอกสาร

ปลานิล (Nile tilapia) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่ง ในวงศ์ปลาหมอสี (Cichlidae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2556ก) (ภาพที่ 1) เป็นปลาที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย และได้รับความนิยมในการเพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวาง เพราะสามารถขยายพันธุ์ได้เองในบ่อเลี้ยง ให้ลูกตกเลี้ยงง่าย และเจริญเติบโตเร็ว ปัจจุบันมีความต้องการบริโภคปลานิลทั้งตลาดในท้องถิ่น ในเมือง หรือแม้กระทั่งตลาดในต่างประเทศ ได้เพิ่มปริมาณมากขึ้นเป็นลำดับ ดังนั้นเพื่อให้เกษตรกรได้ปลานิลสายพันธุ์ดีมาเลี้ยง กรมประมงจึงได้ดำเนินการปรับปรุงสายพันธุ์ปลานิลในด้านต่างๆ เช่น การเจริญเติบโต ปริมาณความดกของไข่ ผลผลิต และความต้านทานโรค เป็นต้น ทั้งนี้ เพื่อผู้เลี้ยงปลานิลจะได้มีความมั่นใจในการเลี้ยงปลานิล เพื่อเพิ่มผลผลิตสัตว์น้ำให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค (อุดม, 2549)



ภาพที่ 1 ปลานิล (*Oreochromis niloticus*)

ที่มา: นงเยาว์ (2550)

### การดำรงชีวิตของปลานิล

ตามธรรมชาติแล้วปลานิลชอบอาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูง (ยกเว้นเวลาสืบพันธุ์) ตามแม่น้ำ ลำคลอง บึง ทะเลสาบ ที่เป็นแหล่งน้ำจืด แต่สามารถนำไปเลี้ยงในบริเวณที่เป็นน้ำกร่อยได้เนื่องจากมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในช่วงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิกว้างมาก คือตั้งแต่ 11-42 องศาเซลเซียส แต่ในอุณหภูมิต่ำ 10 องศาเซลเซียส พบว่า ปลานิลปรับตัว และเจริญเติบโตได้ไม่ดี ทั้งนี้เป็นเพราะถิ่นกำเนิดของปลานิลนี้อยู่ในเขตร้อน ส่วนความทนทานของปลานิลต่อความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ โดยเจริญเติบโตได้ดีในช่วงระดับ pH 6.5-8.5 ปลานิลจะเริ่มตาย ในน้ำที่ระดับ pH 6.5-5.5 เหลือ 10 เปอร์เซนต์ ระดับ pH

5.5-4.5 เฉลี่ย 70 เปอร์เซ็นต์ และค่า pH 4.5-3.5 นอกจากนี้ ปลานิลยังมีความทนทานต่อความเค็มของน้ำ กล่าวคือ ปลานิลสามารถอยู่ได้ปกติในน้ำที่มีความเค็มสูงสุด 20 ppm ซึ่งปลานิลนับเป็นปลาที่เหมาะสมจะนำมาเลี้ยงในบ่อได้เป็นอย่างดี

### นิสัยการกินอาหาร

ปลานิลสามารถกินได้ทั้งสัตว์ และพืชรวมทั้งซากพืชที่เน่าเปื่อย รวมทั้ง สาหร่าย โรติเฟอร์ สัตว์หน้าดิน และแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น ตัวอ่อนของแมลงน้ำ และไรน้ำกินตั้งแต่ระดับผิวน้ำไปถึงพื้นท้องน้ำ นอกจากนี้สามารถฝึกให้ปลานิลกินอาหารเม็ด หรืออาหารผสม และเศษอาหารได้ง่าย (อุดม, 2549)

### การเพาะเลี้ยงปลานิล

การเลี้ยงปลาในกระชังเป็นรูปแบบการเลี้ยงที่ให้ผลผลิตสูง ก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในเชิงเศรษฐศาสตร์ และการใช้ประโยชน์จากแหล่งน้ำทั่วไป อีกทั้งยังช่วยให้ผู้ที่ไม่มีที่ดินทำกินสามารถหันมาเลี้ยงปลาได้ หากปล่อยปลาในอัตราที่เหมาะสม จะทำให้ปลาไม่อ้วนการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น สามารถช่วยลดระยะเวลาการเลี้ยงให้สั้นลงได้ นอกจากนี้ยังสะดวกในการดูแลจัดการการเคลื่อนย้าย รวมทั้งการเก็บเกี่ยวผลผลิต และมีการลงทุนต่ำกว่ารูปแบบการเลี้ยงอื่นๆ ในขณะที่ผลตอบแทนต่อพื้นที่สูง อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงปลานิลในกระชัง อาจจะมีข้อเสียอยู่บ้าง เช่น ปัญหาโรคพยาธิที่มากับน้ำ ซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ นอกจากนั้นยังอาจก่อให้เกิดปัญหาเรื่องสภาพแวดล้อม หากไม่มีการคำนึงถึงปริมาณ และที่ตั้งของกระชัง ตลอดจนความเหมาะสมของลำน้ำ (นิตยสารการเกษตร, 2550)

### การให้อาหาร และการจัดการระหว่างการเลี้ยง

การเลี้ยงปลาในกระชังเป็นรูปแบบการเลี้ยงปลาแบบพัฒนา (Intensive) หรือกึ่งพัฒนา (Semi-intensive) เน้นการให้อาหารเพื่อเร่งผลผลิต และการเจริญเติบโต จึงควรจะใช้อาหารที่มีคุณค่าทางโปรตีนค่อนข้างสูง และเหมาะสมกับความต้องการของปลาแต่ละขนาด ปัจจัยที่สำคัญควรนำมาประกอบการพิจารณาเกี่ยวกับการให้อาหารปลาในกระชัง ได้แก่

1. ระดับโปรตีนในอาหาร ปริมาณโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของปลานิลที่มีอายุต่างกันจะแตกต่างกัน สำหรับลูกปลาวัยอ่อน (Juvenile) และลูกปลานิ้ว (Fingerling) จะต้องการอาหารที่มีระดับโปรตีนประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ แต่ในปลาใหญ่จะต้องการอาหารที่มีโปรตีนประมาณ 25-30 เปอร์เซ็นต์

2. เวลาในการให้อาหาร เนื่องจากปลานิลจะกินอาหารได้ดี เมื่อมีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำสูง จะเป็นช่วงเวลากลางวันดังนั้น ส่วนใหญ่จึงควรให้อาหารในช่วงเวลาดังกล่าว

3. ความถี่ในการให้อาหาร ปลานิลเป็นปลาที่ไม่มีกระเพาะอาหารจึงสามารถกินอาหารได้ที่ละน้อย และมีการย่อยอาหารที่ค่อนข้างช้า การให้อาหารครั้งละมากๆ จะทำให้สูญเสียอาหาร และก่อให้เกิดสภาวะน้ำเสียได้ ดังนั้น เพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารเมื่อดูดจึงควรให้อาหารแต่น้อย แต่ให้บ่อยๆ โดยความถี่ที่เหมาะสม คือ ประมาณ 4-5 ครั้งต่อวัน จะช่วยเร่งการเจริญเติบโต และทำให้ผลตอบแทนในเชิงเศรษฐศาสตร์สูงสุด

4. อัตราการให้อาหาร ปริมาณอาหารที่ให้ปลากินจะขึ้นอยู่กับขนาดของปลา และอุณหภูมิ หากอุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น จะทำให้อัตราการกินอาหารของปลาสูงขึ้นตามไปด้วย อุณหภูมิ น้ำที่เหมาะสมประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส ควรให้อาหาร 20 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักปลา สำหรับปลานิลเล็กในปลารุ่น อัตราการให้อาหารจะลดลงเหลือ ประมาณ 6-8 เปอร์เซ็นต์ และสำหรับปลาใหญ่ อัตราการให้อาหารจะเหลือเพียง ประมาณ 3-4 เปอร์เซ็นต์

5. การจัดการระหว่างการเลี้ยง ควรมีการตรวจสอบกระชังเพื่อซ่อมแซมส่วนที่ชำรุดต่างๆ สัปดาห์ รวมทั้งสัปดาห์มาตรวจสอบน้ำหนักเพื่อปรับปริมาณอาหารที่ให้ได้อย่างเหมาะสม

6. การเก็บเกี่ยวผลผลิต การเก็บเกี่ยวผลผลิตเป็นข้อควรคำนึงอีกประการหนึ่งสำหรับการจัดการ การเก็บเกี่ยวผลผลิตจากการเลี้ยงในกระชังควรคำนึงถึงขนาดของปลา และปริมาณที่ตลาดต้องการ (สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, 2540)

### คุณภาพน้ำในการเลี้ยงปลานิล

คุณสมบัติของน้ำที่จะนำมาใช้ในการเลี้ยงปลา นับว่ามีความสำคัญเพราะเป็นปัจจัยในการดำรงชีวิตของปลา หากปลาได้อาศัยอยู่ในน้ำที่มีคุณสมบัติมีความเหมาะสม ก็จะทำให้ปลาดำรงชีวิตอยู่ได้เป็นปกติ การเจริญเติบโต มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง ปราศจากโรค และปรสิต ดังนั้น การเลี้ยงปลาให้ได้ผลผลิตที่มีประสิทธิภาพสูงนั้น ควรคำนึงถึงการจัดการ ให้น้ำในบ่อมีคุณสมบัติที่ดี และมีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของปลาเป็นสำคัญ สำหรับคุณสมบัติของน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลามีดังนี้ (สุนชัยวิชัย และพัฒนาประมงน้ำจืดตาก, 2553)

#### อุณหภูมิ

อุณหภูมิของน้ำจะมีผลต่อกระบวนการต่างๆ ภายในร่างกายของปลาเป็นอย่างมาก เช่น การกินอาหาร การย่อยอาหารของปลา การเคลื่อนไหว การหายใจ การสืบพันธุ์ และการเจริญเติบโต

นอกจากนี้ยังมีผลต่อปฏิกิริยาย่อยสลายอินทรีย์สารของแบคทีเรียในน้ำด้วย ซึ่งทั้งหมดนี้ จะมีผลโดยตรงต่อปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตทั้งสิ้น ปลานิลสามารถทนต่อระดับอุณหภูมิได้ในช่วงกว้างคือ ตั้งแต่ 21.1- 42.0 องศาเซลเซียส แต่ถ้าอุณหภูมิน้ำต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 42 องศาเซลเซียส ปลานิลจะอยู่ได้ไม่นาน และทำให้ตายได้ ปลานิลจะไม่กินอาหาร และไม่เจริญเติบโต เมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส และจะไม่วางไข่ ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการวางไข่ อยู่ระหว่าง 26-29 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต อยู่ระหว่าง 19-28 องศาเซลเซียส (อุดม, 2549)

### ความเป็นกรดด่าง (pH)

บริเวณที่สร้าง บริเวณดินเปรี้ยวมักจะทำให้น้ำในบ่อเป็นกรด ในบ่อเลี้ยงปลาจะมีการเปลี่ยนแปลงของ pH ในรอบวันโดยแฟลงค์คอนฟิซ และฟิชน้ำใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อสังเคราะห์แสงในตอนกลางวัน ทำให้ค่า pH สูงขึ้น ส่วนในเวลากลางคืน มีเฉพาะการหายใจ ฟิซคายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา จึงทำให้ค่า pH ลดลง น้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาไม่ควรเปลี่ยนแปลงของ pH เกินกว่า 2 หน่วยในรอบวัน และน้ำที่มีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.5-8.5 ก่อนพระอาทิตย์ขึ้น เป็นที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงปลามากที่สุด ส่วนในช่วง pH 4-6 และ 9-11 ปลาจะเจริญเติบโตช้า และอ่อนแอ เพราะในน้ำที่เป็นด่างมากปลาจะตาย และถ้าเป็นกรดปลาจะไม่อยากกินอาหาร อัตราการเจริญเติบโตลดลง และมีความต้านทานต่อโรคต่ำ อ่อนแอ และเป็นโรคร่าย แต่โดยทั่วไป ปลานิลสามารถอาศัยอยู่ได้ในระดับ pH ตั้งแต่ 7.2-8.3 หรือในช่วงเช้า pH 7 และช่วงบ่าย pH 10 ก็สามารถอาศัยอยู่ได้

อย่างไรก็ตาม การพิจารณาถึงผลของ pH ต่อปลานั้น นอกจากผลโดยตรงแล้วจะต้องพิจารณาถึงผลโดยอ้อมควบคู่กันไปด้วย เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำจะไปมีผลต่อความเป็นพิษของสารพิษชนิดอื่นๆ ด้วย เช่น แอมโมเนีย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น (อุดม, 2549)

### ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ มีความสำคัญมากที่สุดในการเลี้ยงปลา เนื่องจากปลาต้องใช้ ออกซิเจนในการหายใจ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลา มีค่าตั้งแต่ 3 ppm ขึ้นไป (วัดในตอนเช้ามืด) หากในน้ำที่มีออกซิเจนต่ำเกินไป ปลาจะลอยหัวขึ้นมาใช้ออกซิเจนจากผิวหนัง และอากาศ ซึ่งส่งผลให้ปลาเกิดอาการเครียด และการเจริญเติบโตลดลง

ปัญหาการขาดออกซิเจนมักจะเกิดในบ่อที่มีสารอินทรีย์สะสมอยู่ในปริมาณมาก ซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้อาจมาจากเศษเหลือของอาหาร ของเสียจากปลา ตะกอนสารอินทรีย์ที่ติดมากับน้ำ และแพลงก์ตอนพืชที่ตายลง ซึ่งจุดวิกฤตในการเกิดปัญหาการขาดออกซิเจน มักจะเป็นในช่วงเช้ามืดที่ยังไม่มีการสังเคราะห์แสง (อุดม, 2549)

#### ความเป็นด่าง (Alkalinity)

ความเป็นด่างหมายถึง ความเข้มข้นของสารประกอบพวกด่างที่มีอยู่ในน้ำ โดยมีปฏิกิริยาสมดุลกับแคลเซียมคาร์บอเนต ระดับค่าความเป็นด่าง และความกระด้างที่เหมาะสมกับการเลี้ยงปลาอยู่ระหว่าง 20-300 ppm ถ้าหากต่ำกว่านี้สามารถทำให้เพิ่มขึ้นโดยการใส่ปูนขาว โดยทั่วไปบ่อเลี้ยงปลาที่มีน้ำเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ควรมีค่าความเป็นด่าง สูงกว่า 100 ppm (อุดม, 2549)

#### แอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ )

ปริมาณแอมโมเนีย (Ammonia) ในบ่อปลาได้มาจากการถ่ายของเสียจากตัวปลา และจากการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุโดยแบคทีเรีย ความเป็นกรดเป็นด่าง และอุณหภูมิของน้ำจะเป็นตัวควบคุมอัตราการแตกตัวของแอมโมเนีย คือ ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างสูงจะทำให้แอมโมเนียแบบที่ไม่แตกตัวมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นอันตรายต่อปลา ถ้าอุณหภูมิของน้ำเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของแอมโมเนียทั้งหมดอาจสูงถึง 3.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้โดยไม่เป็นพิษต่อปลา ในน้ำที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7 แต่ถ้าความเป็นกรดเป็นด่างสูงถึง 9 แอมโมเนีย ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 0.054 มิลลิกรัมต่อลิตร มิฉะนั้นแล้วปลาอาจเป็นอันตรายเนื่องจากพิษของแอมโมเนีย (มันสิน และไพพรรณ, 2536)

#### โรค และการป้องกันโรค

การเลี้ยงปลาในปัจจุบันปัญหาที่สร้างความเสียหายให้แก่ผู้เลี้ยงอยู่เสมอ คือ ปัญหาปลาเป็นโรค โรคที่เกิดกับปลานั้นหมายถึง พวกรั้วโรส แบคทีเรีย สัตว์เซลล์เดียว และพวกหนอนที่อันตรายต่อปลาโดยตรง โดยเข้าทำลายอวัยวะของปลา เช่น ไต ตับ และยังทำลายอวัยวะภายนอก เช่น เหงือก และลำตัวของปลาอีกด้วย ซึ่งจะทำให้เกิดโรค และตายในเวลาต่อมา นอกจากนี้โรคปลา ยังเกิดขึ้นเนื่องจากสภาพแวดล้อม และอาหาร ได้อีกทางหนึ่งด้วย ในการเกิดโรคของปลาในแต่ละครั้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย จะสร้างความเสียหายให้กับเกษตรกร ไม่มากนักน้อย ทั้งนี้เป็นเพราะว่าการที่ผู้เลี้ยงจะรู้ว่าปลาเป็นโรคก็ต่อเมื่อปลาดายลอยขึ้นมาให้เห็น เมื่อปล่อยให้ปลาเป็น

โรคแล้ว การรักษาต้องใช้เวลา และในระหว่างที่ทำการรักษาอยู่นั้น ขอมมีการสูญเสียปลาไปด้วย วิธีที่ดีที่สุด คือ การกำจัดต้นเหตุต่างๆ ที่ทำให้ปลาเป็นโรค ดังนั้น การแก้ไขหาวิธีการ ที่จะไม่ให้ปลาเกิดโรคดีกว่า ที่จะปล่อยให้ปลาเกิดโรคแล้วทำการรักษา เพราะการนอกจากจะไม่ค่อยได้ผลแล้วยังทำให้ต้องสูญเสียปลาที่เลี้ยง และเงินทุนอีกมาก (อุดม, 2549)

### สาเหตุของการเกิดโรค

สาเหตุที่ทำให้ปลาเป็นโรคนั้นมีอยู่หลายประการ ได้แก่

1. น้ำ เป็นสาเหตุให้ปลาเกิดโรค คือ น้ำเสียเช่น น้ำมีกลิ่นเหม็น มีออกซิเจนน้อย ไม่พอกับความต้องการของปลา หรือน้ำมีคาร์บอนไดออกไซด์มากเกินไป สาเหตุที่ทำให้ น้ำเสียอาจมาจากการปล่อยปลาลงเลี้ยงในบ่อหนาแน่นเกินไป ให้อาหารมากเกินไปจนอาหารที่เหลือนั้นบูดเน่า หรืออาจจะเกิดจากของเสีย หรืออาจจะเกิดจากของเสียที่ปลาถ่ายออกมาแล้วสะสมกันอยู่มากๆ เนื่องจากไม่มีการถ่ายน้ำในบ่อจนเกิดการเน่าเสีย ในกรณีที่น้ำเสียมากๆ จนทำให้ออกซิเจนในน้ำไม่มีเลย จะทำให้ปลาตายได้ หากช่วยเหลือไม่ทัน นอกจากนี้ น้ำที่มีความเป็นกรด หรือเป็นด่างมากเกินไปมีส่วนทำให้ลูกปลาตายได้ทันที หรือทำให้ลูกปลาเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียได้ หรือการเจริญเติบโตของปลาไม่เป็นไปตามปกติ

2. ความบอบช้ำ อาจเกิดจากบาดแผลที่เกิดขึ้นในระหว่างการจับ หรือการขนย้าย ซึ่งจะทำให้ปลาอ่อนแอรับเอาเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราได้ง่าย โดยเฉพาะลูกปลาที่ต้องขนย้ายในระยะทางไกลๆ โดยใช้ถุงพลาสติก หรือถัง ไม่ควรใส่ปลาลงหนาแน่นเกินไป เพราะปลาอาจบอบช้ำมาก ร่างกายอ่อนเพลีย และมีโอกาสตายได้ในเวลาต่อมา ดังนั้น ในขณะลำเลียงควรใส่เกลือในปริมาณ 0.1-0.2 เปอร์เซ็นต์ หรือใส่ยาเกลือเข้มข้น 1-3 ppm อาจช่วยลดอัตราการตายได้ และที่สำคัญ ก่อนปล่อยปลาลงเลี้ยงในบ่อควรระวังว่าอุณหภูมิในถุง กับน้ำในบ่อไม่ควรแตกต่างกันมากนัก

3. ความหนาแน่นของปลา การปล่อยหนาแน่นนั้นอาจไม่มีปัญหาในระยะที่ปลายังมีขนาดเล็กอยู่ แต่เมื่อปลามีขนาดใหญ่ขึ้นความหนาแน่นของปลาก็เพิ่มขึ้น ทำให้ออกซิเจนไม่พอ กับความต้องการของปลา น้ำเสียได้ง่ายทั้งนี้เพราะปลาทุกตัวต้องใช้ ออกซิเจนในการหายใจ และขณะเดียวกันก็ต้องถ่ายของเสียเช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และมูลปลาที่ออกมาด้วย ซึ่งเมื่อมีปลามากของเสียที่ถ่ายออกมาก็มากเช่นเดียวกัน เมื่อสภาพไม่ดีแล้ว ปลา ก็จะ ไม่ค่อยกินอาหาร การเจริญเติบโตไม่ดี และยังทำให้ปลาไม่ค่อยแข็งแรง เกิดโรคได้ง่าย ฉะนั้น ควรปล่อยปลาลงเลี้ยงในอัตราที่เหมาะสมที่สุด (มันสิน และไพพรรณ, 2536)

4. โรคที่เกิดจากปรสิต ปรสิตเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ เนื่องจากปรสิตส่วนมากสามารถเข้าสู่ปลาได้โดยตรง หรืออาจแฝงตัวมากับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ ที่ปลากินเป็นอาหารได้ ดังนั้น การกำจัด และการป้องกันปรสิตเหล่านั้น ไม่ให้เข้ามาสู่ตัวปลา ปรสิตที่พบในปลามีตั้งแต่สัตว์เซลล์เดียวขนาดเล็ก หนองพยาธิ ไปจนถึงปรสิตเปลือกแข็งที่มีขนาดใหญ่ สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งในแต่ละกลุ่ม จะมีความจำเพาะเจาะจงกับชนิดของปลาแตกต่างกันไป ปรสิตบางชนิดมีความจำเพาะเจาะจงกับปลาเข้าบ้านมาก พบได้ในปลาเพียงไม่กี่ชนิด ในขณะที่ปรสิตบางชนิดมีความจำเพาะเจาะจงกับเจ้าบ้านน้อยมาก สามารถพบได้ในปลาหลายชนิด ทำให้การกระจายของปรสิตมีความแตกต่างกันไป และส่งผลต่อการเกิดโรคในปลาแตกต่างกันด้วย การศึกษาเกี่ยวกับปรสิตที่พบในปลานิล และก่อให้เกิดโรคส่วนใหญ่จะเป็นปรสิตที่พบเกาะอยู่ภายนอก ส่วนปรสิตภายในพบน้อย และไม่ค่อยมีผลกระทบต่อสุขภาพของปลานิล ตัวปรสิตที่ติดกับปลามียู่หลายชนิด ซึ่งจะเกาะติดตามตัวปลา พบได้ทั้งภายนอก และภายใน บางชนิดก็ทำให้ปลาตายโดยตรง บางชนิดทำให้ปลามีบาดแผล เจ็บปวดระคายเคือง อ่อนแอ เสี่ยงการทรงตัว และมีบางชนิดถ้าเกิดขึ้นมากๆ จะทำให้ปลาไม่เจริญเติบโต และทำให้เกิดปัญหาต่อการเลี้ยงปลานิลได้

5. โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลส่วนใหญ่ มักประสบปัญหาการตายของปลาที่รุนแรงในปลานิลขนาดใหญ่อายุตั้งแต่ 3-4 เดือน หรือขนาดตั้งแต่ 200-800 กรัม ซึ่งการตายของปลามักจะเกิดในช่วงหน้าร้อนไปจนถึงต้นฤดูฝน นับตั้งแต่เดือนมีนาคมจนถึงเดือนกรกฎาคมของทุกปี ลักษณะอาการของปลาที่เริ่มแสดงความผิดปกติ จะกินอาหารน้อยลง เมื่อเวลาผ่านไป 3-4 วัน ปลาบางส่วนจะเริ่มว่ายน้ำเชื่องช้าที่ผิวน้ำ ลำตัวอาจมีสีคล้ำ หรือมีบาดแผลตามผิวหนัง ครีบ และเกล็ด บางตัวครีบทู ครีบอก ครีบหางกร่อน และตกเลือดบริเวณโคนครีบ ท้องบวมน้ำเล็กน้อย บางตัวแสดงอาการตาโปน หรือตาช่นออกมา (ภาพที่ 2) บางครั้ง จะพบร่วมกับการว่ายน้ำควงส่ว้นไร้ทิศทางที่บริเวณผิวน้ำ ในปลาที่เลี้ยงในบ่อดิน ปลาที่ป่วยส่วนใหญ่จะลอย และเริ่มทยอยแสดงอาการความผิดปกติดังกล่าว และทยอยตายโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณท้ายบ่อ (ภาพที่ 3) อัตราการตายอาจสูงถึง 60-70 เปอร์เซ็นต์ หรือปลาที่เลี้ยงในกระชัง อัตราการตายอาจสูงถึง 85-90 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 5-7 วัน นับตั้งแต่ปลาแสดงอาการ เมื่อทำการผ่าตรวจดูความผิดปกติภายในช่องท้องพบว่า มีน้ำสีเหลืองทะลักออกมา ดับมีสีซีด เกิดการตกเลือด และอักเสบ ถุงน้ำดีและม้ามบวมโตมาก



ภาพที่ 2 การตายของปลาที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae*  
ที่มา: ประพันธ์ศักดิ์ และนนทวิทย์, (2555)



ภาพที่ 3 การตายของปลาที่มีสาเหตุมาจากเชื้อโรคที่กำลังระบาดอยู่ในปัจจุบัน  
ที่มา: ประพันธ์ศักดิ์ และนนทวิทย์, (2555)

การตรวจวินิจฉัยโรคในหอยปฏิบัติการใช้ยาปฏิชีวนะ และสารเคมีบางชนิดในการรักษา แต่ไม่สามารถหยุดยั้งการตายของปลาได้ โดยปลายังแสดงการตายต่อเนื่อง และรุนแรง จนเกษตรกรส่วนใหญ่ขาดทุนอย่างหนัก นอกจากติดเชื้อ *Streptococcus* แล้วยังพบว่า มีเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ที่ส่งผลให้ปลาเกิดโรคได้เช่น

โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* sp. ก่อให้เกิดโรค Bacteria Hemorrhagic Septicemia หรือ Motile *Aeromonas septicemia* โรคเกล็ดตั้งพอง โรคตกเลือด โรคท้องบวม โรคที่เกิดจากเชื้อนี้พบได้ในปลาน้ำจืดทั่วโลก เชื้อนี้จะแพร่กระจายอยู่ในน้ำจืดทั่วไป และพบมากในน้ำที่มีปริมาณสารอินทรีย์มาก การติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มักเป็นการติดเชื้อแบบแทรกซ้อน (Secondary infection) อาการอาจมีความแตกต่างกันไปตามชนิดปลา อาการโดยทั่วไปคือ ปลาจะไม่กินอาหาร เฉื่อย สูญเสียการทรงตัว ครีบหลุดกร่อน เกิดบาดแผล และบางครั้งพบเชื้อราพวก *Saprolegnia* sp. เกาะที่บาดแผล ปลาที่ติดโรคอาจมีการสะสมของเหลวจนท้องบวมขึ้น บางครั้งจะเห็นเกล็ดปลาตั้งพองขึ้น ตาโปน

โรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* spp. ปลานิลที่ติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จะมีตาขุนขาว ขุ่นน้ำขุ่นๆ ลอยนิ่งๆ รอบๆ ซ่องขับถ่ายจะบวมแดง โดยส่วนใหญ่ปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรียนี้ จะมีผลต่อตา ปลาจะเกิดการตาโปน หรือตกเลือดบริเวณตา มักพบระบาดในฤดูหนาว

โรคตัวดำ *Flexibacter columnarie* พบในปลานิลที่เลี้ยงในน้ำจืด ส่วนปลานิลที่เลี้ยงในน้ำกร่อยจะเป็นชนิด *F. maritimus* โรคนี้มักจะพบในช่วงที่อากาศมีการเปลี่ยนแปลงกะทันหัน ในช่วงอากาศเย็น ในช่วงฝนตกหนัก และหลังจากการขนย้ายปลา ปลาที่พบมักจะมีอาการตัวดำ มักตายในเวลาอันรวดเร็ว ถ้าไม่ได้มีการรักษาทันทีปลาจะตายหมดบ่อภายใน 24-48 ชั่วโมง

### แนวทางการป้องกันปัญหาการเกิดโรค

เพื่อให้การป้องกันโรค เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ควรมีหลักในการปฏิบัติดังต่อไปนี้ (อุดม, 2549)

1. เน้นการจัดการในช่วงวิกฤติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงที่อากาศร้อน ฝนตกติดต่อกันหลายวัน อุณหภูมิเปลี่ยนแปลงฉับพลัน น้ำหลาก หรือน้ำนิ่งเป็นเวลานาน โดยเฉพาะช่วงฤดูร้อนต่อฤดูฝน และช่วงปลายฝนต้นหนาว เกษตรกรสามารถป้องกันการระบาดของโรคโดยการเสริมวิตามินที่จำเป็นเช่น วิตามินซี (3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) ร่วมกับการให้ยาปฏิชีวนะ (3-5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) ติดต่อกันเป็นเวลา 5-7 วัน จนกว่าสภาวะอากาศจะกลับเข้าสู่ปกติ

2. ลด หรืออย่าปล่อยปลาในอัตราที่หนาแน่นสูง หรือหลีกเลี่ยงการเลี้ยงปลาในบางช่วงเวลา โดยเฉพาะการเลี้ยงในช่วงระยะเวลาวิกฤติ เนื่องจากปลาจะมีความเสี่ยงสูงมากต่อการ

เกิดโรค นอกจากนี้การปล่อยปลาในอัตราที่หนาแน่นจะช่วยทำให้ การจัดการสภาพการเลี้ยงได้ง่ายขึ้น

3. ระวางการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ หากเป็นไปได้ควรติดตั้งเครื่องให้อากาศเพื่อเติมอากาศในน้ำอย่างต่อเนื่อง ให้เพียงพอต่อความต้องการของปลา โดยเฉพาะช่วงเวลากลางคืน จนถึงช่วงเช้านี้ และช่วงฟ้าปิดติดต่อกันหลายวัน

4. เพิ่มแหล่งของเกลือแร่ให้แก่ปลา โดยการเติมเกลือแกง เนื่องจากในช่วงระยะเวลาวิกฤติปลาส่วนใหญ่จะเกิดความเครียดได้ง่าย และอาจส่งผลให้ปลาสูญเสียระบบควบคุมสมดุลของน้ำ และเกลือแร่ การให้เกลือแกงจะเป็นการชดเชยเกลือที่สูญเสียไป ระหว่างเกิดความเครียด ทำให้ระบบต่างๆ ของร่างกายปลาสามารถทำงานต่อไปได้อย่างต่อเนื่อง วิธีการเติมควรใส่เกลือในถุงผ้าแขวนไว้เป็นจุดๆ ให้เกลือละลายออกมาช้าๆ ตามขอบบ่อ หรือกระชังให้ติดต่อกันจนสภาพแวดล้อมของการเลี้ยงกลับเข้าสู่ภาวะปกติ

5. อย่าใช้ยา หรือสารเคมีมากเกินไป เนื่องจากจะเป็นการสูญเสียค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงแล้ว การใช้ยาดังกล่าวยังมีผลทำให้เชื้อโรคเกิดการดื้อยา ทำให้เมื่อเกิดโรคแล้วอาจส่งผลให้การเลี้ยง และสารเคมีดังกล่าวไม่สามารถใช้ในการควบคุมโรคได้

6. สาเหตุที่แท้จริงของการเกิดโรค โดยการนำตัวอย่างปลาป่วยส่งให้หน่วยงานของรัฐที่รับผิดชอบเพื่อทำการตรวจวินิจฉัยให้ทันท่วงที โดยปลาที่จะนำส่งตรวจนั้นต้องอยู่ในสภาพที่มีชีวิตเท่านั้น จึงจะทำให้การตรวจวินิจฉัยสามารถทำได้ถูกต้อง และแม่นยำที่สุด

7. นำปลาที่เป็นโรคออกจากพื้นที่บ่อเลี้ยง หรือกระชัง โดยการนำไปฝัง เผาทำลาย หรือใช้ความร้อนที่ใช้การประกอบอาหาร จะเป็นการลด หรือตัดวงจรของการแพร่ระบาดของเชื้อโรคได้ โดยเฉพาะการเลี้ยงปลาในบ่อดินขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าปลาเป็นโรคส่วนใหญ่ จะว่ายลอยบริเวณท้ายบ่อ (ประพันธ์ศักดิ์ และนทวิทย์, 2555)

### จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

ปลานิลที่มีคุณภาพดี ต้องมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค การพัฒนาระบบการเลี้ยงปลานิลของเกษตรกร เพื่อช่วยลดต้นทุนให้น้อยที่สุด การลดต้นทุนไม่ได้อยู่ที่การเลือกซื้อลูกปลานิลที่มีราคาถูก ลดอาหาร หรือประหยัดค่าไฟฟ้า แต่เป็นการลดความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นในการเลี้ยงด้วยวิธีการต่างๆ แนวทางหนึ่ง ที่จะช่วยลดต้นทุนการผลิตคือ การเลี้ยงในระบบโปรไบโอติกส์ฟาร์มมิ่ง (เสนอ, 2547)

โปรไบโอติกส์ เป็นเทคโนโลยีชีวภาพในการใช้จุลินทรีย์ หรือแบคทีเรียที่มาจากธรรมชาติ ไม่เป็นภัยต่อสิ่งแวดล้อม มาใช้ในการเลี้ยงปลานิล ทดแทนการใช้สารเคมี ด้วยหลักการการใช้

จุลินทรีย์ที่ดีไปควบคุมจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ในปลานิลควบคู่ไปกับการจัดการสภาพแวดล้อมภายในบ่อปลานิล ให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นมิตรต่อปลานิล เพื่อสร้างภูมิคุ้มกัน และป้องกันไม่ให้ปลานิลที่เลี้ยงเกิดโรค แทนการรักษาด้วยยาหรือสารเคมีเมื่อปลานิลเกิดอาการแล้ว การเลี้ยงในระบบนี้ ยังมีความจำเป็นที่จะต้องป้องกันโรคที่อาจจะเข้ามาจากภายนอก สำหรับอาหารที่ใช้เลี้ยงจะผสมกับจุลินทรีย์ที่เหมาะสม เพื่อปรับสมดุลระบบทางเดินอาหาร เท่ากับเป็นการแข่งขันที่แบคทีเรียที่เป็นอันตรายในลำไส้ ช่วยให้การย่อยอาหารดีขึ้น ประสิทธิภาพในการใช้อาหารดีขึ้น ของเสียที่ขับถ่ายออกก็มีปริมาณน้อยลง ทำให้ได้ผลผลิตปลานิลที่มีสุขภาพแข็งแรง ขณะเดียวกัน ในระบบโปรไบโอติกส์ ยังมีการนำแบคทีเรียที่เหมาะสมมาใช้ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายของเสีย และอินทรีย์สารภายในบ่อ ทำให้ปลานิลมีอาหารธรรมชาติเพิ่มขึ้น และช่วยให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำอยู่ในสภาพคงที่ ปลานิลจะไม่เครียด และสามารถเติบโตได้อย่างแข็งแรง ซึ่งผลการเลี้ยงด้วยระบบนี้ จะมีความเสียหายน้อยมาก (เสนอ, 2547)

โปรไบโอติกส์ ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ในปี ค.ศ. 1965 เพื่อกล่าวถึง สารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้าม กับการทำงานของยาปฏิชีวนะ ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด ในปี ค.ศ. 1974 Parker ได้ให้คำจำกัดความโปรไบโอติกส์คือ สิ่งมีชีวิต และสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ต่อมาในปี ค.ศ. 1989 Fuller อธิบายคำว่าโปรไบโอติกส์คือ อาหารเสริม ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย จนในที่สุดปี ค.ศ. 1992 Havenaar และ Veid ได้ขยายคำจำกัดความของโปรไบโอติกส์ว่า จะต้องประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งอาจมีเพียงชนิดเดียว หรือเป็นส่วนผสมของจุลินทรีย์หลายชนิด ที่สามารถไปปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิม ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์นั้น โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปของเซลล์แห้งจากขบวนการระเหิดแห้ง (Freeze-Dried Cells) หรืออยู่ในรูปผลิตภัณฑ์หมัก ซึ่งนอกจากไปส่งเสริมการเจริญเติบโตแล้ว ยังทำให้คน และสัตว์มีสุขภาพดีขึ้นด้วย และ โปรไบโอติกส์ไม่ได้จำกัดการใช้ เฉพาะในระบบทางเดินอาหารเท่านั้น ยังอาจไปมีผลต่อระบบอื่นๆ เช่น ทางเดินหายใจ ส่วนต้น หรือระบบปัสสาวะ และระบบสืบพันธุ์ (Bic Chemical CO.,LTD, 2012)

จุลินทรีย์ที่เป็นโปรไบโอติกส์ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ ทำให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคโดยมีกลไกการหลั่งสารหลายชนิดออกมาต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเพื่อต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคไม่ให้เจริญเติบโตภายในลำไส้ได้ (สุญาณี, 2549)

คุณสมบัติของเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาเป็นโปรไบโอติกส์ คือ

1. ระบุปริมาณแบคทีเรียจำเพาะขั้นต่ำ (เช่น CFU/g) ที่จะทำให้จุลินทรีย์เป็นประโยชน์ ในระบบทางเดินอาหาร สามารถเกาะติดได้อย่างถาวร (Permanent colonization หรือ Establishment)

2. เชื้อเริ่มต้นจะต้องแห้ง

3. เชื้อเริ่มต้นจะต้องมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่ผันแปรได้

4. เชื้อเริ่มต้นจะต้องมีการกระตุ้นในสัตว์มีการตอบสนองในระดับที่เหมาะสมกับปริมาณที่ได้รับ (พุทธา, 2549)

แนวคิดในการใช้โปรไบโอติกส์ในสัตว์ ในระบบทางเดินอาหารจะมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่หลายชนิด จุลินทรีย์แต่ละชนิดก็มีการทำงานที่แตกต่างกัน เพื่อการเจริญเติบโต และมีการขยายจำนวนให้มากขึ้น ทำให้สัดส่วนของเชื้อจุลินทรีย์ และปริมาณสารที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดที่ผลิตขึ้นมีความแตกต่างกัน ส่งผลต่อความอยู่รอดของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และสุขภาพของสัตว์ (Host) ซึ่งมีทั้งประโยชน์ และโทษ ในสภาพการเลี้ยงสัตว์โดยทั่วไป มักจะทำให้สัตว์เกิดความเครียด เนื่องจากสภาพอากาศ การเลี้ยงรวมกันอย่างหนาแน่น การใช้วัคซีน การเปลี่ยนอาหาร การขนย้าย หรือความเครียดอื่นๆ ล้วนส่งผลให้สัดส่วนของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางที่เพิ่มปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคพร้อมๆ กับการลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ลดลง ผลก็คือ สัตว์จะโตช้า กินอาหารลดลง หรือระบบภูมิคุ้มกันโรคลดลง การเติมโปรไบโอติกส์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acids forming bacteria หรือ LAB) ลงในอาหารในปริมาณที่มากพอ จะทำให้เกิดผลดีต่อสมรรถนะการผลิต และสุขภาพของสัตว์โดยโปรไบโอติกส์เหล่านี้จะมีบทบาทดังนี้

1. เพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้ง การเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยการแข่งพื้นที่ในการยึดเกาะ แย่งอาหาร และปรับสภาพแวดล้อมในระบบทางเดินอาหารให้เหมาะสม อันเป็นการช่วยลดการฟุ้งกระจายของจุลินทรีย์ก่อโรคเหล่านั้นผลิตขึ้นมา

2. ผลิตสารด้านการเจริญเติบโต

3. ผลิตเอนไซม์ ที่มีผลในการทำลายสารพิษในอาหาร หรือที่เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผลิตขึ้นมา

4. กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในการต้านทานเชื้อก่อโรคในสัตว์

5. ผลิตเอนไซม์ช่วยย่อยอาหารเพิ่มเติมให้แก่สัตว์

### บทบาทของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในระบบทางเดินอาหาร

การเติมโปรไบโอติกส์ลงในอาหารสัตว์ จึงมีผลคล้ายกับการเติมยาปฏิชีวนะในแง่ของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ และเนื่องจากโปรไบโอติกส์ เป็นแบคทีเรียที่ได้จากธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยจากสารพิษตกค้าง จึงมีแนวโน้มว่าโปรไบโอติกส์ จะเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ทดแทนยาปฏิชีวนะต่อไปในอนาคต (Bic Chemical CO., LTD, 2012) แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร มีทั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน และใช้ออกซิเจน ในการเจริญเติบโตทั้งนี้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในกระเพาะอาหารส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่ใช้ออกซิเจนในการเติบโต และมีปริมาณน้อยกว่า  $10^3$  CFU/g ปริมาณสูงสุดของเชื้อจุลินทรีย์จะพบในลำไส้ใหญ่ โดยแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้จะมีประมาณ  $10^{14}$  CFU/g ซึ่งมากกว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในร่างกายถึง 10 เท่า

เนื่องด้วยอาหารจะเคลื่อนที่ผ่านกระเพาะอาหาร และลำไส้เล็กอย่างรวดเร็ว (4-6 ชั่วโมง) เมื่อเปรียบเทียบกับเคลื่อนที่ผ่านลำไส้ใหญ่ จะใช้เวลาประมาณ 48-70 ชั่วโมง (ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของ Host) ทำให้ในลำไส้ใหญ่มีปริมาณ และเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น ประกอบกับสภาวะที่ค่อนข้างเป็นกลาง และลำไส้ใหญ่มีสภาวะการดูดซึมต่ำ จึงเป็นการช่วยส่งเสริมให้เชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้เจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนมากขึ้น เชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ จะเป็นประเภทที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต และได้พลังงานมาจากการหมัก ซึ่งสารที่ได้จากการหมักมาจากการย่อยคาร์โบไฮเดรต และโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก เมื่ออาหารเคลื่อนที่มาสู่ตอนปลายของลำไส้ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกรดอะมิโนที่เหลือ จะกลายเป็นแหล่งพลังงานของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่

แบคทีเรียแลคติกที่จัดเป็น โปรไบโอติกส์มีความสามารถในการทนกรดได้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อย่างเช่น *Lactobacillus* สายพันธุ์ BFE 1058 และ 1061 พบว่า ทนต่อพีเอชต่ำได้ดีกว่าสายพันธุ์ BFE 1059 ระดับ พีเอชในระบบทางเดินอาหาร ก็มีผลต่อการเหลือรอดไปถึงลำไส้ใหญ่พบว่า ระดับพีเอชที่เป็นกรดสูงจะส่งผลให้การเหลือรอดไปถึงลำไส้ใหญ่ของแบคทีเรียได้น้อย เช่น แบคทีเรีย *Lactobacillus gasseri* มีการเจริญที่พีเอช 3, 2 และ 1 ตามลำดับ เมื่อบ่มเป็นเวลา 5 ชั่วโมง (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2554)

### กลไกการทำงานของโปรไบโอติกส์

เมื่อเจ้าบ้าน (Host) ได้รับโปรไบโอติกส์เข้าไปแล้ว มันจะผ่านกระเพาะเข้าไปเจริญเติบโตหรือเกาะติดกับผนังลำไส้เล็กทุกส่วน โดยเฉพาะการแทรกตัวอยู่ตามร่องวิลไล (Villi) ของลำไส้เล็ก

มีการย่อยสลายกากอาหารแล้วสร้างกรดแลกติก กรดแลกติกจะทำลาย หรือยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค การเกาะติดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ จะแพร่กระจายทุกพื้นที่ ทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ไม่มีพื้นที่สำหรับการเกาะติดการรับจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เข้าไป เป็นสิ่งแปลกปลอมจะดึงดูดพวก แมคโคฟาร์จ จึงเป็นการกระตุ้นให้มีภูมิคุ้มกันได้ยิ่งขึ้น โปรไบโอติกส์แท้จริงแล้วเป็นจุลินทรีย์ที่เป็น ประโยชน์ ซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติแล้ว ส่วนหนึ่งอยู่ในระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์เหล่านี้มี ความสามารถในการต่อต้านการยึดเกาะของเชื้อจุลินทรีย์ใหม่ เชื้อบนผนังลำไส้ โดยกระบวนการที่ เรียกว่า Competitive exclusion หรือ Colonization resistance กลไกการต่อต้านการเกาะของ เชื้อจุลินทรีย์ชนิดใหม่ โดยเชื้อจุลินทรีย์เฉพาะถิ่น นอกจากจะขัดขวางการยึดเกาะของจุลินทรีย์ก่อ โรค โดยตรงแล้วจุลินทรีย์เฉพาะถิ่นในทางเดินอาหาร ยังผลิตสาร ซึ่งเป็นพิษต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้า ไปใหม่ เช่น ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ กรดน้ำดีอิสระเช่น Deoxycholic acid ซึ่งสารเหล่านี้ช่วย ป้องกันการยึดเกาะ และตั้งถิ่นฐาน (Colonization) ของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคส่วนใหญ่ จากปัญหาการ ปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* sp. ในผลิตภัณฑ์สัตว์ ทำให้สัตว์ได้รับเชืชนิดนี้เข้าไปมาก จึงเกิดแนวคิด ที่จะนำโปรไบโอติกส์มายับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. ในระบบทางเดินอาหาร โดยนอกจากนี้จุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ยัง มีความสามารถในการผลิตสาร ซึ่งจำเป็นต่อเจ้าบ้านเช่น กรดอะมิโน กรดแลก ดิก และวิตามิน เพื่อรักษาความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร จึงทำให้คน และสัตว์มี ความสามารถในการต้านทานจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะ โรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร ซึ่ง ในการสร้างความสมดุลนี้เรียกว่า แบคทีเรียแอนตาโกนิซึม (Bacterial Antagonism) หรือโคโลไน เซชัน รีซิสแตนซ์ (Colonization resistance) ซึ่งจะมีผลทำให้เกิด ยูไบโอซิส (Eubiosis) เกิดขึ้นโดย จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้จะทำให้ระบบการย่อยอาหาร และการดูดซึมดีขึ้นตามปกติ ใน การเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร จะเกิดขึ้นจากสภาพแวดล้อม และอาหาร ที่กินเข้าไป การใช้สารปฏิชีวนะ และความเครียด ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดการสูญเสียสมดุลของ เชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ จะมีผลทำให้เกิดแบคทีเรียก่อโรคเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะ โคลิฟอร์ม ซึ่ง เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ สามารถลดอาการดังกล่าวได้โดยการทำงานดังนี้

1. สามารถสร้างกรดโดยเฉพาะกรดแลกติกได้ ซึ่งกรดที่เกิดขึ้นนี้สามารถทำลาย เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้
2. สร้างสารบางชนิดที่ออกฤทธิ์ในการทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ที่เรียกว่า Bacteriocin
3. สามารถเจริญเติบโตในลำไส้ และแพร่กระจายยึดเกาะกับผนังของลำไส้ป้องกัน ไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเจริญเติบโตได้

4. สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างสาร Antibody ขึ้นได้โดยเฉพาะที่เรียกว่า Local immunity

5. สร้างสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายของคน และสัตว์ เช่น กรดไขมัน กรดอะมิโน และวิตามิน

6. สามารถกระตุ้น ให้เกิดเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ หรือแมโครฟาจ มารวมตัวกัน ซึ่งแมโครฟาจ จะเป็นตัวทำลายเชื้อโรค (ไบโอเทค, 2554)

โปรไบโอติกส์ ผลิตรายการด้านการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ สารต้านเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ที่โปรไบโอติกส์ผลิตขึ้นมี Bacteriocins, Bacteriocin-like substances และสารยับยั้งอื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกรดอินทรีย์บางชนิด ตัวอย่างเช่น Bacteriocins ที่จุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* สร้างขึ้น ออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยตรง ส่วนกรดอินทรีย์โดยเฉพาะ กรดไขมันที่ระเหยได้เช่น กรดแลคติก อะซิติก โพรพิโอนิก และบิวทีริก นอกจากจะช่วยลด pH ของลำไส้ และไส้ติ่งลง ให้ไม่เหมาะสมสำหรับการขยายตัวของเชื้อจุลินทรีย์ใหม่แล้ว กรดที่ยังไม่ไอออนไนซ์ ยังมีผลในการยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียอย่างชะงัดด้วย

โปรไบโอติกส์ จะกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันด้านของโรคสัตว์ กลไกการกระตุ้นในสัตว์เกิดภูมิคุ้มกันด้านโรคของสัตว์ยังไม่แน่นอนนัก แต่เป็นที่ยอมรับกันแล้วว่าโปรไบโอติกส์ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้านโรคของสัตว์ ทั้งในแง่เพิ่มความต้านทานโรคโดยตัวสัตว์เอง (Non-specific defence mechanisms of the hosts) และในแง่การกระตุ้นทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Immune system) โดยโปรไบโอติกส์จะไปกระตุ้นการทำงานของ แมโครฟาจ และเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการกินเซลล์ที่แปลกปลอม และกระตุ้นการทำงานของ Immunocompetent cell เช่น ลิมโฟไซต์ ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง กับ Cell-mediated immune โดยไม่มีการหลั่ง Antibodies รวมทั้งกระตุ้นการทำงานของ Secretory Immune System โดยการหลั่ง Antibodies เช่น IgA ออกมาจับเชื้อจุลินทรีย์แปลกปลอมไม่ให้เกาะกับเซลล์บุผนังลำไส้เล็กได้

โปรไบโอติกส์ ส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก แหล่งที่มาของจุลินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ จุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์นั้น *Enterococcus* spp. พบในลำไส้ของสัตว์ปีก *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida pintolopesii* เชื้อรา *Aspergillus niger* จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ส่วนใหญ่จะเจาะจงในการเจริญเติบโตในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ที่เป็นที่มาของเชื้อ (Host Specific) แต่ก็มีส่วนที่ สามารถเติบโตในสัตว์ต่างชนิดได้ หรือจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในห้องทดลองการเติบโตในสัตว์หลาย Species ได้ส่วนมากโปรไบโอติกส์ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน จะมีจุลินทรีย์หลายชนิดผสมกันอยู่ และอาจอยู่ในรูปผง เม็ด Granule หรือรูปแบ่งเปียก การให้สัตว์กิน อาจจะทำโดยการกรอกให้สัตว์กินโดยตรง หรือผสมกับอาหาร เติมน้ำ คุณสมบัติของ

โปรไบโอติกส์ที่ดี จะต้องเตรียมให้ได้เชื่อเป็นที่สามารถมีชีวิตอยู่ในสภาพการเก็บรักษาตามปกติ และต้องสามารถคงอยู่ในทางเดินอาหารสัตว์ รวมทั้งต้องให้ผลที่เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์ด้วย การเติมโปรไบโอติกส์ในบางกรณี ต้องมีการเติมหลายครั้ง หรือให้กินติดต่อกันไประยะหนึ่งเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์สร้างสารปฏิชีวนะ และมีการยึดเกาะกับเยื่อเมือกในลำไส้ได้อย่างถาวร (Bic Chemical CO.,LTD, 2012)

มีการศึกษาชนิด และสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์พบว่า มีจุลินทรีย์มากถึง 1,014 เซลล์ บนผิวของร่างกาย และในทางระบบเดินอาหาร จากพฤติกรรมของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้สามารถแบ่งเชื้อจุลินทรีย์ตามพฤติกรรมของมันได้ 4 กลุ่มดังนี้

กลุ่มแรก เป็นกลุ่มก่อโรค ซึ่งปกติมักไม่อยู่ในทางเดินอาหาร แต่ถ้าเข้ามาในทางเดินอาหารมากพอจะก่อโรค เช่น *Vibrio cholerae*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp.

กลุ่มที่สอง เป็นกลุ่มฉวยโอกาสก่อการอักเสบ หากมีการเสียสมดุลเช่น ได้ยาปฏิชีวนะทำลายเชื้อดี ๆ ให้ลดลง เชื้อกลุ่มนี้กลายเป็นเชื้อหมุ่มาก ก็จะฉวยโอกาสก่อโรคได้แก่ *Pseudomonas* sp., *Staphylococci*, *Proteus* sp., *Clostridium* sp., *Veillonellae* sp. เชื้อกลุ่มนี้ใช้โปรตีนเป็นอาหาร

กลุ่มที่สาม เป็นกลุ่มที่อยู่กลางๆ อาจฉวยโอกาสก่อโรค หรือทำหน้าที่ป้องกันได้ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Streptococci*, *Bacteroides* sp. และ *Enterococci* กลุ่มนี้ใช้ทั้งแป้ง และโปรตีนเป็นอาหาร

กลุ่มที่สี่ เป็นกลุ่มที่ทำหน้าที่ปกป้องระบบทางเดินอาหาร ถือว่าเป็นจุลินทรีย์สุขภาพได้แก่ เชื้อ *Bifidobacteria* sp., *Lactobacilli* sp. และ *Eubacteria* sp. กลุ่มนี้หมักใยอาหารที่ไม่ย่อยที่ลำไส้ส่วนบนเช่น พวกรำใยย่อยยาก (Resistant starch) โอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharides) และ อินูลิน (Inulin) (วันดี, 2551)

การเสียสมดุลของระบบนิเวศในระบบทางเดินอาหาร ส่งผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลง และทำให้เกิดโรค ระบบนิเวศในระบบทางเดินอาหาร ถ้ามีความสมดุลจะลดปัญหาดังกล่าวลงได้ วิธีทำให้เชื้อจุลินทรีย์เข้าสู่ภาวะสมดุลคือ การทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งทำได้ 2 วิธี ได้แก่

วิธีแรก คือ เสริมจุลินทรีย์ลงในอาหาร

วิธีที่สอง คือ ให้อาหารกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในเยื่อเมือกในลำไส้ ให้เจริญเติบโตได้สมดุลกับเชื้อกลุ่มอื่นๆ (พุทรา, 2549)

### บทบาทด้านการป้องกันโรค และภูมิคุ้มกัน

ในผนังลำไส้มีเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด ซึ่งเซลล์จะต้องแยกแยะให้ออกว่าเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ดี หรือเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ภายได้เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ยังมีเยื่อน้ำเหลือง เรียกว่า Gut Associated Lymphoid Tissue (GALT) เป็นเซลล์ทำหน้าที่สอดแนม (Sensor) สามารถบอกได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์นั้นเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ดี หรือไหม จะไม่ผลิตสารด้านทานมากำจัด แต่ถ้าเป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ก็ จะสร้าง Secretory IgA ออกมากำจัดเชื้อดี มีการยึดเกาะกับเยื่อบุผนังลำไส้ มีการสร้างเมือกหยุด ยับยั้ง แย่งพื้นที่ในการเกาะจับของเชื้อก่อโรคบริเวณผนังลำไส้ นอกจากนี้ยังมีกระบวนการผลิตสาร ของเชื้อจุลินทรีย์บริเวณเยื่อบุผนังลำไส้ (Bacterial-epithelial cross talk) มีผลดังนี้

1. กระตุ้นการสร้างเยื่อเมือกให้ชั้นเยื่อเมือกหนาขึ้น และมีคุณภาพเฉพาะสำหรับ ล่อให้เชื้อไวรัสโรต้า (Pseudoreceptor) จับแทนๆ ที่จะจับที่เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้
2. กระตุ้นเม็ดเลือดขาวให้เคลื่อนไหวยังตำแหน่งที่เชื้อโรครุกล้ำเข้ามาสู่ Host
3. กระตุ้นเม็ดเลือดขาวให้จับกินแบคทีเรีย
4. ทำให้เนื้อเยื่อที่อักเสบบรรเทาลง
5. ซ่อมแซมเซลล์ที่บาดเจ็บให้ฟื้นตัว

### กลไกการยับยั้งเชื้อก่อโรคของแบคทีเรียโปรไบโอติกส์

1. เมื่อสัตว์นำกินจุลินทรีย์เช่น แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกส์เข้าไป แบคทีเรีย นั้นจะแพร่พันธุ์ และก่อตัวที่ผิวทางเดินอาหาร เป็นผลให้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งสัตว์เข้าไป ภายหลังเจริญ และเกาะที่ผนังลำไส้ได้ยากขึ้น
2. Lactic acid bacteria จะสร้างกรดอินทรีย์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นผลให้ค่า pH ในระบบทางเดินอาหารเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งผลดังกล่าวไม่เหมาะสม กับการคงตัว หรือการเพิ่ม จำนวนของจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรค (Tramer 1966, Gilliland 1977)
3. การสร้างเอนไซม์ แบคทีเรียบางชนิด เช่น *Lactobacilli* สร้างแล็กเทส และ อะไมเลส (Sen and Chakrabarty 1984.) ทำให้ร่างกายได้รับเอนไซม์มากขึ้น เป็นผลทำให้การย่อยอาหารดีขึ้น โดยมีการทำงานเป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน และกัน ของเอนไซม์ในทางเดินอาหาร และกระบวนการ ย่อยอาหาร
4. การสร้างวิตามินบี เป็นที่ทราบว่าจุลินทรีย์เป็นโปรไบโอติกส์สามารถสร้างวิตามินบี หลายชนิดในทางเดินอาหาร ทำให้การเจริญเติบโตของสัตว์ดีขึ้น เนื่องจากมีส่วนเกี่ยวข้องกับ

สังเคราะห์ กรดอะมิโน การสร้างสาร โปรตีน และยังเกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง

5. ลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อโรค โดยการให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์แรกเกิดจำนวนมาก อาจช่วยเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ และช่วยขจัด หรือควบคุมจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

6. เป็นตัวกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่ไม่เฉพาะเจาะจง โดยกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางเดินอาหาร

ยีสต์บางชนิด ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณภาพ มีโปรตีนสูง ยีสต์บางชนิดใช้เป็น โปรไบโอติกส์ คือ *Saccharomyces boulardii* ซึ่งเป็นเชื้อที่ไม่ก่อโรค สามารถอยู่ได้ในสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหาร ซึ่งส่งเสริมระบบการย่อยอาหาร และสามารถอาศัยอยู่ร่วมกับแบคทีเรียเจ้าถิ่นได้

### การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และการทดสอบประสิทธิภาพ

ควรมีการทดสอบความปลอดภัยของโปรไบโอติกส์ ในระดับห้องปฏิบัติการก่อนการศึกษาคุณสมบัติด้านอื่นๆ

วงใส (Clear zone) คือบริเวณที่สารต้านจุลินทรีย์สามารถยับยั้ง หรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ ทำให้เกิดบริเวณใสๆ คือ เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตได้ อติภัทร และคณะ (2546) ศึกษาแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ในการเลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* CRIT5 ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเชื้อจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ที่ดี เนื่องจากสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาชนิด *Aeromonas caviae*, *A. hydrophila* และ *Streptococcus* sp. ที่ใช้ในการทดสอบได้ (Gaon, 2002)

### ตัวอย่างโปรไบโอติกส์ที่มีขายในปัจจุบัน (พ.ศ. 2547)

#### 1. *Lactobacilli*

1.1 *L. acidophilus*

1.2 *L. casei*

1.3 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

1.4 *L. reuteri*

1.5 *L. brevis*

1.6 *L. rhamnosus*

## 2. Gram-positive cocci

2.1 *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*

2.2 *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*

2.3 *Enterococcus faecium*

## 3. Bifidobacteria

3.1 *B. bifidum*

3.2 *B. adolescentis*

3.3 *B. animalis*

3.4 *B. infantis*

3.5 *B. longum*

3.6 *B. thermophilum* (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2554)

จุลินทรีย์ที่สามารถใช้เป็นโปรไบโอติกส์ได้จะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีระดับ (GRAS: Generally Recognized as Safe) ค่อมมนุษย์และสัตว์ ต้องแสดงให้เห็นผลที่ดีกว่า การไม่เติมโปรไบโอติกส์ได้ชัดเจน

### การทดสอบคุณสมบัติความเป็นโปรไบโอติกส์

เท่าที่มีรายงาน การทดสอบส่วนใหญ่เป็นการทดสอบกับโปรไบโอติกส์ที่เป็นแบคทีเรียกรดแลกติก โดยทดสอบความสามารถต่างๆ ดังนี้ (อัจฉรา, 2547)

#### ความสามารถในการทนกรด-ด่าง

กระบวนการเมแทบอลิซึมของสารต่างๆ ในร่างกาย จะให้คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นแหล่งของ  $H^+$  ที่สำคัญที่สุดของร่างกาย เพราะมีการสร้างออกมาตลอดเวลา นอกจากนี้ในภาวะที่มีการอดอาหาร จะมีการสลายไขมันมาก มีการสร้างคีโตนบอดี้มากขึ้น ทำให้ร่างกายเป็นกรดมาก การควบคุมภาวะกรด - ด่างด้วยวิธีทางเคมี (Chemical regulation of acid - base balance) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าบัฟเฟอร์ริง (Buffering) ระบบบัฟเฟอร์ จะป้องกันการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดและด่างของร่างกายไม่ให้รวดเร็วเกินไปกรด และด่าง บัฟเฟอร์ ประกอบด้วยกรดอ่อน เป็นคู่ๆ ซึ่งจะแตกตัว (Ionized) ได้เกลือของกรด หรือด่างอย่างเดียวกัน ทำให้กรดแก่ หรือด่างแก่เจือจางลง ภาวะที่แบคทีเรียที่มีประโยชน์สามารถเพิ่มจำนวน และทำงานได้ดีคือ ที่ระดับความเป็นกรดเล็กน้อยที่ pH 5.9 ถึง 6.9 ซึ่งสภาวะนี้ถือว่าเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียใน

ระบบทางเดินอาหาร (หนังสือพิมพ์โพสทูเดย์, 2556) แบคทีเรีย กลุ่ม แลคโตบาซิลไล และบิฟิโดแบคทีเรีย จะช่วยสร้างกรดแลคติก ทำให้สภาพในลำไส้ใหญ่กลายเป็นกรด จึงควบคุมแบคทีเรียก่อโรคไม่ให้เจริญเติบโตมากเกินไป ทำให้สุขภาพของลำไส้ใหญ่ดีขึ้น เมื่อแบคทีเรียกินน้ำตาลเชิงซ้อนจะเกิดกรดไขมันสายสั้นๆ ที่สำคัญได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรปรีโอนิก และกรดบิวทีริก เมื่อเป็นดังนี้ สภาพภายในลำไส้ใหญ่ ก็จะกลายเป็นกรด ทำให้แบคทีเรียก่อโรคเจริญเติบโตไม่ได้ในขณะเดียวกันสภาพความเป็นกรดของลำไส้ใหญ่จะทำให้การดูดซึมของเกลือแร่สำคัญบางตัวเพิ่มมากขึ้น ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม และธาตุเหล็ก เป็นต้น ทำให้กระดูกแข็งแรงขึ้น และมีผลต่อการสร้างเม็ดเลือด (ไบโอฟูด, 2556)

### ความสามารถในการเกาะติดของแบคทีเรีย

การได้รับแบคทีเรียโปรไบโอติกส์เข้าไปเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่โดยตรงในลำไส้ใหญ่มีการยึดเกาะของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย แลคโตบาซิลลัส และแบคทีเรียก่อโรค เช่น อีโคไล และคลอสตริเดียม ในสภาวะที่ร่างกายมีสุขภาพดี สัดส่วนของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ ต้องมีอย่างน้อย 15 เปอร์เซ็นต์ และแบคทีเรียก่อโรค ต้องมีไม่เกิน 85 เปอร์เซ็นต์ โดยทั่วไปแบคทีเรียในลำไส้จะมีการควบคุมจำนวนซึ่งกัน และกันไม่ให้แบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งมีมากเกินไป จนเป็นอันตรายต่อร่างกาย แต่ทั้งนี้ทั้งนั้น การควบคุมของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ขึ้นอยู่กับอาหาร โดยเฉพาะปัจจุบันนี้พบว่าแบคทีเรียที่มีประโยชน์ ในร่างกายมีจำนวนลดลง เช่น การใช้ยาปฏิชีวนามากเกินไป ก็มีผลต่อการควบคุมจำนวนของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ หรือสภาวะที่เรียกกันว่า ดิสไบโอซิส (Dysbiosis) (ไบโอฟูด, 2556)

### การเกิด Hemolysis

Hemolysis คือ การแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งเป็นผลมาจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากการเหนียวน้ำ ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตก เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Blood agar (ใช้จำแนกกลุ่มแบคทีเรีย) วิธีการนี้นิยมใช้จำแนกแบคทีเรียกลุ่ม *Streptococcus* หรือ *Staphylococcus* แบคทีเรียเหล่านี้ จะทำการสร้างสาร Hemolysin ซึ่งทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (วิกิพีเดีย สารานุกรม, 2556)

โดยปฏิกิริยาการแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดงแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ดังนี้

1. Alpha hemolysis ( $\alpha$ -hemolysis) เมื่อเม็ดเลือดแดงแตกจะมีสีเขียวคล้ำที่เกิดจากฮีโมไลซิน ทำปฏิกิริยากับ Blood agar มีการสร้าง Enzyme สำหรับเปลี่ยน  $Fe^{2+}$  ใน

Hemoglobin ให้เป็น  $\text{Fe}^{3+}$  Alpha hemolysis คือ Hemolysate แบบไม่สมบูรณ์เม็ดเลือดแดงไม่เกิดการแตกเหมือน ( $\beta$ -hemolysis)

2. Beta hemolysis ( $\beta$ -hemolysis) เม็ดเลือดแดงแตก เรียกว่าสภาวะเม็ดเลือดแดงแตกแบบสมบูรณ์คือ Hemolysis ที่สมบูรณ์ เซลล์ของเม็ดเลือดแดงจะมี Clear zone (สีเหลือง) รอบๆ โคโลนีเอนไซม์ที่ออกซิเจนที่ผลิตโดยแบคทีเรีย Streptolysin ซึ่งเป็นสาเหตุของการสลายแบบสมบูรณ์ของเซลล์เม็ดเลือดแดง

3. Gamma hemolysis คือ การ Hemolysate ไม่สมบูรณ์ เม็ดเลือดแดงแบบสลายไม่หมดก็เลยไม่เกิด Clear zone (Media and Biochem, 2555)

### การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกส์ในสัตว์น้ำ

โปรไบโอติกส์เป็นตัวกระตุ้นระบบการทำงานของระบบการย่อยของสัตว์น้ำ จึงเป็นเรื่องที่ดีในระบบทางเดินอาหารของหอย และปลาจะมีกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ ที่มีคุณสมบัติในการเจริญเติบโตในสภาวะไร้ออกซิเจน ถึงแม้จะมีการอยู่ร่วมกัน ของแอนแอโรบิกแบคทีเรีย ซึ่งอาจจะ เป็นสายพันธุ์หลักในลำไส้เล็กของปลากินพืชเขตร้อน ส่วนในปลาทะเล และครัสเตเชียน และหอยสองฝาจะมี *Vibrio* และ *Pseudomonas* มากส่วนในปลาน้ำจืดจะมีพวก *Aeromonas*, *Plesiomonas* และ *Enterobacteriaceae* เป็นสายพันธุ์ที่มีมากดังนั้น การที่จะหาสายพันธุ์ที่เป็นโปรไบโอติกส์ในสัตว์น้ำย่อมมีความแตกต่างกัน (Sugita et al., 1982)

จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารส่วนมากในสัตว์น้ำ จะอยู่ในสภาวะชั่วคราว เพราะสัตว์น้ำเป็นสัตว์เลือดเย็น ปลาทะเลจะต้องมีระบบการป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากตัว สังเกตได้จากสัตว์พวกกินอาหารแบบกรองกิน เช่น หอยสองฝา ตัวอ่อนกุ้ง เพราะฉะนั้นจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ อาจจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ส่วนที่พบในน้ำ และตะกอน เป็นชนิดเดียวกันกับจุลินทรีย์ที่พบในลำไส้ของ *Penaeus japonicus* (Jueliang et al., 2012)

สินธิ และลิลา (2541) รายงานว่า *Bacillus* จำนวน 6 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผิวดินพื้นก้นบ่อเลี้ยงเปรียบเทียบกับอัตราการรอดตาย น้ำหนัก และความยาวที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งอัตราการเจริญเติบโตของลูกกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกส์เป็นเวลา 15, 25, 35, 45 และ 55 วันติดต่อกันพบว่า โปรไบโอติกส์ *Bacillus* sp. PO<sub>27</sub> เป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ โดยพบอัตราการรอดตายมีค่าสูงในทุกชุดการทดลองคือ 95.32, 92.00, 82.00, 76.66 และ 75.33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับโปรไบโอติกส์เป็นเวลา 15, 25, 35, 45 และ 55 วันตามลำดับ โดยมีค่าอัตราการรอด ตั้งแต่ 25.00 ถึง 53.26 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่โปรไบโอติกส์สายพันธุ์ PO<sub>28</sub> และ

PO<sub>25</sub> ให้อัตราการรอดลงมาตามลำดับ สำหรับประสิทธิภาพในการเพิ่มน้ำหนัก และการเจริญเติบโตนั้นพบว่า โปรไบโอติกส์สายพันธุ์ PO<sub>26</sub> และ PO<sub>27</sub> จะให้ผลสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ โดยอัตราการเพิ่มของน้ำหนักจะมีค่าสูงในชุดทดลองที่ได้รับโปรไบโอติกส์ติดต่อกันเป็นเวลานาน ส่วนโปรไบโอติกส์จาก *Bacillus* sp. สายพันธุ์อื่นๆ มีประสิทธิภาพต่ำกว่ากลุ่มควบคุม

จตุพงษ์ และคณะ (2546) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อโปรไบโอติกส์หลายสายพันธุ์โดยเปรียบเทียบอัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาเว (*Penaeus monodon*) ระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ หลังจากการทดสอบด้วยเชื้อก่อโรค (*Vibrio harveyi* D1526) พบว่า เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่เตรียมจากเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*, *L. panthallum*, *L. pentosus*, *Enterococcus* และ *Vibrio alginolyticus* เป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพพบว่า ลูกกุ้งมีอัตราการรอดตายที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ ) ส่วนเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์บางชนิด เช่น เชื้อ *Pediococcus* spp. และ *Alteromonas* spp. เป็นสายพันธุ์ที่ให้อัตราการรอดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ )

ทศพร (2547) แยกแยกดิกแอซิดแบคทีเรียจากทางเดินอาหารของปลากะพงขาวเพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกส์ ด้วยเทคนิค Agar well diffusion พบว่า 5 ไอโซเลต (LAB-1 - LAB-5) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aeromonas hydrophila* แบคทีเรียก่อโรคในปลาได้ ความเข้มข้นของ *A. hydrophila* ที่ทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC50) หลังจากที่ได้รับเชื้อแล้ว 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ  $7.76 \log_{10}$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่ 96 และ 120 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 7.47 และ  $7.26 \log_{10}$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร การเลี้ยงปลากะพงขาวในตู้กระจก โดยผสมอาหารกับไอโซเลตที่คัดแยกได้ ให้มีความเข้มข้น  $10^7$  เซลล์ต่อกรัม ของอาหารพบว่า มีเพียง LAB-4 เท่านั้น ที่มีความสามารถในการเสริมการเจริญเติบโตของปลา และต้านโรคที่เกิดจาก *A. hydrophila* ได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เมื่อทำการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังโดยใช้ LAB-4 ผสมในอาหารปลาโดยใช้ความเข้มข้น  $10^5$  และ  $10^7$  เซลล์ต่อกรัม พบว่าทุกกลุ่มทดลองมีอัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโต และความสามารถในการต้านโรคที่เกิดจาก *A. hydrophila* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ )

ชนกันต์ (2548) ศึกษาจำนวน และชนิดของแบคทีเรียซึ่งแยกจากปลานิลในฟาร์มที่เลี้ยงแบบปกติ และผสมผสานในหมู่บ้านแม่แก้ว สุ่มแยกเชื้อแบคทีเรียจากเหงือก เนื้อ และกระเพาะอาหารของปลานิล การวิเคราะห์พบว่า จำนวนแบคทีเรียที่เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากส่วนต่างๆ ของปลานิลจากฟาร์มทั้ง 2 ระบบ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และสามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้ 8 ชนิด แบคทีเรียที่พบมากที่สุดคือ แกรมลบรูปแท่ง (39.53 เปอร์เซ็นต์) ได้แก่สกุล *Aeromonas* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia* sp., *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas* sp.,

และ *Plesiomonas* sp. ส่วนแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (20.93 เปอร์เซ็นต์) ได้แก่ *Micrococcus* sp. และ *Staphylococcus* sp.

ชัยวุฒิ (2551) ศึกษาการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในการบำบัดคุณภาพน้ำ และป้องกันโรคสัตว์น้ำ ในพื้นที่ ที่พบการแพร่ระบาดของโรคที่เกิดจากไวรัสหัวเหลือง ทอราซินโดรมไวรัส และไวรัสตัวแดงดวงขาว ในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนา โดยผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์กับอาหารเม็ดสำเร็จรูปพบว่า กุ้งมีการเจริญเติบโตดีไม่แสดงอาการป่วยของโรคที่เกิดจากไวรัสทั้ง 3 ชนิด ปริมาณสะสมของ ของเสียในบ่อลดลง และไม่มีการล้มตายของกุ้งหลังจากการจับกุ้ง ที่ไม่ได้ใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ พบการเกิดโรค และหลังการจับกุ้งมีเลนสะสมปริมาณมาก และมีกลิ่นเหม็นรุนแรง

นรสิงห์ และคณะ (2549) ศึกษาชนิด และปริมาณแบคทีเรีย ในระบบทางเดินอาหาร และการประยุกต์ใช้โปรไบโอติกส์ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่า แบคทีเรียในเนื้อกุ้งมี *Aeromonas hydrophila* และ *Enterobacter cloacae* ปริมาณเชื้อที่พบในระบบทางเดินอาหารส่วนต้น และเนื้อกุ้ง เท่ากับ  $3.6 \times 10^6$ ,  $3.1 \times 10^7$  และ  $2.56 \times 10^7$  CFU/g ในน้ำพบแบคทีเรียรวม  $4.5 \times 10^4$  CFU/ml จากนั้น นำแบคทีเรียที่เป็นโปรไบโอติกส์ เช่น *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. brevis* และ *L. plantarum* เพื่อมายับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* และ *V. Parahaemolyticus* แต่ *Lactobacillus* ทั้ง 4 ชนิด ไม่สามารถยับยั้ง *Vibrio*

ปวเรศวร์ และคณะ (2549) ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียแลคติกจำนวน 54 สายพันธุ์ ต่อการยับยั้งเชื้อโรคของกุ้งก้ามกราม คือ *Aeromonas sobria* และ *Vibrio alginolyticus* พบว่ามีแบคทีเรียแลคติก 22 สายพันธุ์ ที่สามารถยับยั้งเชื้อโรคดังกล่าวได้ โดยแบคทีเรียแลคติกทั้ง 22 สายพันธุ์นี้เป็น *Lactobacillus plantarum* มีความเหมาะสมในการเป็นโปรไบโอติกส์ พบว่า มี 6 สายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมในการเป็นโปรไบโอติกส์ จึงได้คัดเลือกแบคทีเรียดังกล่าว จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ TISTR 541 และ TISTR 543 เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกส์สำหรับเลี้ยงกุ้งก้ามกราม โดยผสมเชื้อดังกล่าวในอาหารสูตรที่ 1 (T1) และ 2 (T2) พบว่า ลูกกุ้งมีความยาวเฉลี่ยดังนี้  $21.45 \pm 0.979$ ,  $20.66 \pm 0.880$  และ  $21.51 \pm 1.457$  มิลลิเมตร. ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) อัตราการรอดเฉลี่ยของลูกกุ้งเป็นดังนี้  $20.03 \pm 1.41$  20ม,  $52 \pm 2.09$  และ  $20.60 \pm 0.67$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) คุณสมบัติน้ำ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 27-33 องศาเซลเซียส และความชื้นเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 7.1-7.3

วลัยพร และคณะ (2549) ศึกษาการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกส์ ในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม โดยคัดแยกเชื้อจากลำไส้ของสัตว์น้ำจืด ทั้งหมด 267 ไอโซเลตนำเชื้อไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคในกุ้งก้ามกรามได้แก่ *Aeromonas sobria* และ *Vibrio*

*alginolyticus* พบว่า เชื้อที่เจริญบนอาหาร MRS จำนวน 54 ไอโซเลท มีความสามารถในการยับยั้ง เชื้อก่อโรคในกุ้งก้ามกรามได้ จึงทำการทดสอบคุณสมบัติของเชื้อที่มีความเหมาะสมเพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกส์ โดยการทดสอบกับเซลล์เม็ดเลือดแดง การเจริญในความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) 0-10 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ความเข้มข้นกลีโกลีนน้ำดี 1-7 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ความเป็นกรดต่าง ตั้งแต่ 2 ถึง 10 การเจริญในสภาพที่มี และไม่มีอากาศพบว่า เชื้อแบคทีเรียรหัส LP64, LM64, LM67, LM62-1, LM66 และ LS15 มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกส์

จิตวิวัฒนา และคณะ (2550) โรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* ในกุ้งก้ามกรามที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ในระยะรุนแรง พบว่ามี อัตราการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 96 ชั่วโมง มีค่าประมาณ  $1.66 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร กุ้งที่รอดตายจะมีลักษณะจุดดำที่เปลือก

สุบัตินิต และคณะ (2550) คัดแยกแบคทีเรียจากผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกส์จำนวน 6 ตัวอย่าง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ A, B, C, D, E, และ F พบปริมาณแบคทีเรียอยู่ในช่วง  $613.3 \pm 344.4$  ถึง  $85,666.7 \pm 3,511.9$  CFU/g ทุกผลิตภัณฑ์ คือแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ผสมกับแบคทีเรียสกุล *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Coryneform* และ *Lactic acid bacterium*

สุบัตินิต และคณะ (2550) ศึกษาการใช้โปรไบโอติกส์ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ฟาร์มเพาะพันธุ์ และฟาร์มเลี้ยงในบริเวณภาคตะวันออก จำนวน 70 ฟาร์ม ผลจากการสำรวจพบว่า ผู้ประกอบการฟาร์มเพาะพันธุ์กุ้งกุลาดำจำนวน 35 ฟาร์ม ส่วนใหญ่ไม่มีการใช้โปรไบโอติกส์ (28.57 เปอร์เซ็นต์) การใช้ผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ พบว่า การใช้โปรไบโอติกส์สามารถช่วยลดการเกิดโรค สุขภาพลูกกุ้งแข็งแรงขึ้น และมีอัตราการรอดตายสูงขึ้น ส่วนจากการสำรวจฟาร์มเลี้ยงกุ้งกุลาดำ จำนวน 35 ฟาร์มพบว่า ส่วนใหญ่ (51.43 เปอร์เซ็นต์) ในการสำรวจครั้งนี้มีการใช้โปรไบโอติกส์พบว่า การใช้โปรไบโอติกส์ผสมในอาหารกุ้งมีการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายสูงขึ้น

พันธุ์ธิดา และคณะ (2554) นำแบคทีเรียโปรไบโอติกส์มาใช้ทดแทนสารปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ มีวัตถุประสงค์หลักในการแยก และคัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกส์ ที่แยกได้จากเหงือก และลำไส้ของปลานิล จำนวน 25 ตัว พบว่า เชื้อแบคทีเรียจำนวน 2 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีความสามารถในการทนกลีโกลีนน้ำดี การย่อยโปรตีนไขมัน ทนต่อสภาพความเป็นกรดสูงที่ pH 10 มีความสามารถต้านทานต่อสารปฏิชีวนะได้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus agalactiae*

รัตนสุดา (2554) ศึกษาการใช้อีเอ็มเป็นโปรไบโอติกส์ในการเลี้ยงปลาหมอ ทำการทดลองโดยใช้อีเอ็ม (Effective microorganism, EM) ผสมในอาหารด้วยวิธี และระดับที่แตกต่างกัน 5 ชุด

การทดลองพบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาโมงมีน้ำหนักตัว 15.01-17.06 กรัม น้ำหนักเพิ่ม 4.87 ถึง 6.39 กรัม น้ำหนักตัวเพิ่มต่อวัน 1.06 ถึง 1.21 กรัมต่อวัน อัตราการรอดตาย 91 ถึง 98 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการแลกเนื้อ 2.13 ถึง 3.01 การใช้เอ็มเป็นโปรไบโอติกส์ ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายของปลาโมง

วิลาวัณย์ และคณะ (2554) ศึกษาผลของการเสริมคิว.พี.โปรไบโอติกส์ต่อการเจริญเติบโตของปลานิล โดยใช้คิว.พี.โปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาที่ได้รับคิว.พี.โปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูป ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยน้ำหนัก ที่เพิ่มขึ้นสูงสุด คือ  $86.52 \pm 6.217$  กรัม ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลพบว่า ปลาที่ได้รับคิว.พี.โปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะดีที่สุด คือ  $2.01 \pm 0.116$  กรัมต่อวัน ส่วนค่าเฉลี่ยความอุดมสมบูรณ์ และค่าเฉลี่ยอัตราการรอดตายของปลานิลที่ได้รับคิว.พี.โปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีระดับความเข้มข้นแตกต่าง 3 ระดับ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

ยุทธพล และนางนุช (2555) ศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* เป็น โปรไบโอติกส์ ต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และการป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสในกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) โดยใช้ผลิตภัณฑ์ ชื่อทางการค้า PondSafe ผสมลงในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ระยะโพสลาอ์ว 15 พบว่า น้ำหนัก และอัตราการรอดตายกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกส์มากกว่าชุดควบคุม ( $P < 0.05$ ) ซึ่งกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกส์ PondSafe 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีน้ำหนักเท่ากับ  $0.4652 \pm 0.00485$  กรัม และอัตราการรอดตายเท่ากับ  $82.3 \pm 1.15$  เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียไวรัสในกุ้งพบว่า กุ้งที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกส์ มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียไวรัสต่ำกว่าชุดควบคุม ( $P < 0.05$ )

ภัทรดา และคณะ (2556.) ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 3 สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (*Aeromonas hydrophila* ABRC A1 และ *Streptococcus agalactiae* ABRC S1) ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยวิธี Cross streak method พบว่า *B. licheniformis* สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* ABRC A1 ส่วนเชื้อ *B. licheniformis*, *B. pumilus* และ *B. subtilis* สามารถเจริญทับโคโลนีของเชื้อ *S. agalactiae* ABRC S1 ได้

Sugita et al. (1982) รายงานว่าในระบบทางเดินอาหารของปลานิล แบคทีเรียที่พบเด่นชัด ได้แก่ *Pseudomonas* และ *Aeromonas* ส่วนฟาร์มเลี้ยงแบบผสมผสาน จะพบแบคทีเรียชนิด *Salmonella* sp. และ *Escherichia* sp. เนื่องจากแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้พบอยู่บริเวณทางเดินอาหาร

ของไก่ การศึกษาครั้งนี้มีการตรวจพบแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 2 สกุล ได้แก่ *Micrococcus* sp. และ *Staphylococcus* sp. งานวิจัยที่กล่าวว่า *Micrococcus* sp. เป็นแบคทีเรียสกุลที่พบเด่นชัดในทางเดินอาหารของปลานิล

Byun et al. (1997) ศึกษาประสิทธิภาพของ *Lactobacillus* sp. DS-12 พบว่า *Lactobacillus* sp. DS-12 สามารถใช้เป็นโปรไบโอติกส์ในการเลี้ยงปลาตาเดียวได้ (*Paralichthys olivaceus*) และ *Lactobacillus* sp. DS-12 ยังทนต่อเกลือ น้ำดี และกรดต่าง รวมทั้งมีผลต่อการเจริญเติบโตอีกด้วย

Phianphak et al. (1997) ทดลองนำ *Bacillus* ผสมกับอาหารกุ้งเพื่อทำเป็นโปรไบโอติกส์ให้แก่ลูกกุ้งกุลาดำกินในอัตราส่วนต่างๆ กันพบว่า ลูกกุ้งที่ได้รับโปรไบโอติกส์ มีอัตราการรอดตายจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรค *Vibrio harveyi* สูงร้อยละ 100 โดยกุ้งทดลองมีสุขภาพที่แข็งแรงดี และการเจริญเติบโตได้ดี ในขณะที่กลุ่มควบคุม มีอัตราการรอดเพียงร้อยละ 26 และมีอาการผิดปกติในตับ ตับอ่อน และลำไส้

Rengpipat and Wannipa (1998) แยกเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ซึ่งใช้เป็นโปรไบโอติกส์ลงในไรสีน้ำตาล (*Artemia* sp.) เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่า การใช้โปรไบโอติกส์จาก *Bacillus* สายพันธุ์ S11 ในการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว ความยาว ของลูกกุ้ง และอัตราการรอดตายของกลุ่มควบคุมร้อยละ 85 และกลุ่มทดลองร้อยละ 89 เมื่อเหนี่ยวนำให้ลูกกุ้งให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* พบว่า ลูกกุ้งที่ได้รับโปรไบโอติกส์ มีอัตราการรอดตายร้อยละ 13 และกลุ่มควบคุมร้อยละ 4

Gomez-Gil. et al. (2000) คัดเลือกแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ เพื่อใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยมีการทดสอบการเลี้ยงในกุ้ง ปู ลอสเตอร์ และปลา ซึ่งแบคทีเรียที่เป็นโปรไบโอติกส์ ได้แก่ *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Bacillus* และ *Lactobacilli* ซึ่งช่วยเพิ่มคุณค่าของสัตว์น้ำ และได้มีการนำมาใช้เลี้ยงในเชิงการค้าเพิ่มมากขึ้น

Al-Harbi et al. (2003) รายงานจำนวนแบคทีเรียที่เจริญได้ในลำไส้ปลานิลลูกผสมมีค่าแตกต่างกันไปตามฤดูกาล โดยพบว่า จำนวนแบคทีเรียในลำไส้ จะมีค่าสูงสุดในฤดูใบไม้ร่วง มีค่าระหว่าง  $(3.1 \pm 1.4) \times 10^8$  ถึง  $(1.3 \pm 2.2) \times 10^9$  CFU/g และมีค่าต่ำสุดในช่วงฤดูหนาว ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง  $(8.9 \pm 1.8) \times 10^5$  ถึง  $(1.3 \pm 0.9) \times 10^7$  CFU/g

Anadon et al. (2005) ได้มีการควบคุม และประเมินความปลอดภัยในการใช้โปรไบโอติกส์ในกลุ่มการค้ายุโรป จุลินทรีย์ที่นำมาให้อาหารสัตว์นั้น จะเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* และสายพันธุ์ของยีสต์ ได้แก่ *Sacharomyces cerevisiae* และ *Kluyveromyces* ซึ่งส่วนใหญ่แล้ว จะมีความปลอดภัย และมีผลต่อการยับยั้งสารพิษ และพวก *Bacilli* โดยเฉพาะพวก *B. cereus* ที่จะมีการผลิตสารพิษออกมา

Kitancharoen et al. (2006) ศึกษาเกี่ยวกับใช้วัคซีนเพื่อการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิส ในปลานิล การให้วัคซีนจะใช้ วิธีการฉีดโดยเปรียบเทียบการฉีดเข้าช่องท้อง และการฉีดเข้า กล้ามเนื้อ ปลานิลที่ใช้ในการศึกษามีขนาด  $230.0 \pm 5.7$  กรัม วัคซีนที่ใช้ เตรียมจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* สายพันธุ์ KKU 44002 ที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลิน โดยมีความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  CFU ต่อมิลลิลิตร โดยฉีดในปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักปลา 100 กรัม จากผลการศึกษาพบว่า ปลาที่ได้รับวัคซีน มีค่าแอนติบอดีไคเตอร์ และอัตราการรอดสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และ ปลาที่ได้รับวัคซีนโดยการฉีดเข้าช่องท้อง มีค่าแอนติบอดีไคเตอร์ และอัตราการรอดสูงกว่าปลาที่ได้รับ วัคซีน โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

Pirarat et al. (2006) ศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ ในการนำมาใช้เป็น อาหารเสริม เพื่อป้องกันการติดเชื้อต่างๆในปลา การตรวจสอบผลการป้องกันของ *Lactobacillus rhamnosus* ต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Edwardsiella tarda* ในการติดเชื้อในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) พบว่า ปลาที่เสริมโปรไบโอติกส์มีอัตราการตายสะสมต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญของปลาใน ชุดควบคุม ( $P < 0.05$ )

Planas et al. (2006) ประเมินผลของโปรไบโอติกส์แบคทีเรีย *Roseobacter* ในตัวอ่อนของ ปลา Turbot ในการติดเชื้อ *Vibrio (Listonella) anguillarum* พบว่า เซลล์ของ *Roseobacter* ไม่เป็น อันตรายต่อตัวอ่อน การตายสะสมของตัวอ่อน เนื่องจากการติดเชื้อ *Vibrio* มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเป็น 80–90 เปอร์เซ็นต์ ใน 10 วัน ในขณะที่ชุดควบคุมมีอัตราการตายอยู่ในช่วง 60 ต่อ 70 เปอร์เซ็นต์ สามารถตรวจพบเชื้อโปรไบโอติกส์ *Roseobacter* ในตัวอ่อน โดยวิธี Agar plating และ Immunohistochemistry พบว่า จำนวนแบคทีเรียก่อโรคลดลงเมื่อเสริมอาหารด้วย *Roseobacter*

Yanbo and Zirong (2006) ศึกษาผลของโปรไบโอติกส์ที่ส่งเสริมต่อการเจริญเติบโตและ กิจกรรมการย่อยของเอนไซม์ในปลาแคร์พ (*Cyprinus carpio*) ซึ่งโปรไบโอติกส์ที่นำมา ทดสอบนั้น แยกได้จากบ่อเลี้ยงปลาแคร์พ ซึ่งพบว่า แบคทีเรียสังเคราะห์แสง และ *Bacillus* sp. นั้น สามารถเพิ่ม การเจริญเติบโต และเพิ่มกิจกรรมการย่อยของเอนไซม์ได้มากกว่าตัวควบคุม

Ziaei-Nejad et al. (2006) ศึกษาผลของแบคทีเรียบาซิลลัสที่ใช้เป็นโปรไบโอติกส์ ใน กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับทางเดินอาหาร การรอดชีวิต และการเจริญเติบโต ในกุ้งขาวอินเดีย *Fenneropenaeus indicus* ซึ่งแบคทีเรียบาซิลลัส สามารถเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ การรอดชีวิต และการเจริญเติบโต โดยมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าตัวควบคุม ถึง 11 ถึง 17 เปอร์เซ็นต์ และมี น้ำหนักเพิ่มขึ้น 8 ถึง 22 เปอร์เซ็นต์

Aly et al. (2006) ศึกษาประสิทธิภาพของโปรไบโอติกส์ (*Bacillus pumilus*, *B. firmus* และ *Citrobacter freundii*) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Aeromonas hydrophila* และ *Citrobacter*

*freundii* ภายหลังการฉีดเชื้อเข้าไปในตัวปลานิล และพบว่าปลามีอัตราการรอดตายมากที่สุด ปลาที่กินอาหารที่ผสม *B. pumilus*

Balcázar et al. (2008) ศึกษาการประเมินความสามารถของเชื้อแบคทีเรียแลคติก (LAB) ที่แยกได้จากปลา เช่น *Lactococcus lactis* CLFP 101, *Lactobacillus plantarum* CLFP 238, และ *Lactobacillus fermentum* CLFP 242 เพื่อยับยั้งการยึดเกาะของเชื้อก่อโรคในปลาเช่น (*Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Yersinia ruckeri* และ *Vibrio anguillarum*) เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยในเมือกภายในลำไส้ ในสภาวะ *In vitro* พบว่า มีเพียง *L. lactis* CLFP 101 ลดการยึดเกาะของเชื้อก่อโรคในปลาได้ทุกชนิด ในขณะที่ *L. plantarum* CLFP 238 ลดการยึดเกาะของ *A. hydrophila* และ *A. salmonicida* ส่วน *L. fermentum* CLFP 242 สามารถลดการยึดเกาะของเชื้อก่อโรคในปลาได้เกือบชนิด ยกเว้นเชื้อ *V. anguillarum*

Vendrell et al. (2008) เสริมโปรไบโอติกส์ในการควบคุมโรค *Lactococcosis* ในเรนโบว์เทราท์ โดยเสริมโปรไบโอติกส์ *Leuconostoc mesenteroides* CLFP 196 และ *Lactobacillus plantarum* CLFP 238 ที่ความเข้มข้น  $10^7$  CFU/g เป็นเวลา 30 วัน หลังจากนั้นฉีดเชื้อ *Lactococcus garvieae* พบว่าในปลากลุ่มที่เสริมโปรไบโอติกส์ มีอัตราการตายลดลงอย่างมีนัยสำคัญเพียง 46-54 เปอร์เซ็นต์ โดยในกลุ่มควบคุมมีอัตราการตาย 78 เปอร์เซ็นต์

Zhou et al. (2009) ศึกษาผลของโปรไบโอติกส์ *Bacillus coagulans* SC8168 ที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งตัววัยอ่อน (*Penaeus vannamei*) คุณภาพน้ำ อัตราการรอดตาย และการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหาร ในแต่ละช่วงของการเจริญเติบโต ในชุดการทดลองปรับระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของ *B. coagulans* SC8168 ดังนี้  $1.0 \times 10^5$  CFU/ml<sup>-1</sup> (T1),  $5.0 \times 10^5$  CFU/ml<sup>-1</sup> (T2) และ  $1.0 \times 10^6$  CFU/ml<sup>-1</sup> (T3) และชุดควบคุม (ไม่เสริมโปรไบโอติกส์) โดยเสริมทุกๆ วัน พบว่า อัตราการรอดตายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในอาหารที่เสริมโปรไบโอติกส์ ( $P < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง T2 และ T3 ในตัวอ่อนของกุ้ง

Merrifield et al. (2010) ศึกษาการทำงานร่วมกันระหว่างจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และอาหารในปลาแซลมอนพบว่า สามารถช่วยลดการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ยับยั้งการทำงานของ Virulence gene เพิ่มประสิทธิภาพการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน รวมทั้งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยได้ดียิ่งขึ้น

Zhang et al. (2010) ทดสอบความสัมพัทธ์ของโปรไบโอติกส์ *Bacillus subtilis* และฟรีไบโอติกส์ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกันจุลินทรีย์ภายในลำไส้ และความต้านทานต่อเชื้อโรค *Vibrio splendidus* ของปลิงทะเล (Sea cucumber, *Apostichopus japonicus*) โดยใช้ *B. subtilis* แยกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0,  $1.82$  และ  $4.95 \times 10^7$  cfu/g

พบว่า การเสริม *B. subtilis* ในอาหารช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ Total Coelomocytes count (TCC), Phagocytosis และต้านทานเชื้อ *V. splendidus* ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่มีผลต่อ Phenoloxidase activity สรุปได้ว่า *B. subtilis* และ FOS ในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรค ให้แก่ปลิงทะเล

Dimitroglou et al. (2011) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ภายในลำไส้ และปลาที่เป็นโฮสต์ โดยจุลินทรีย์เหล่านี้ช่วยป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรครายในระบบทางเดินอาหาร (GI tract) จากการสร้างเอนไซม์ช่วยย่อยอาหาร ศึกษาการใช้โปรไบโอติกส์ในปลาแถบเมดิเตอร์เรเนียน พบว่า จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เสริมสร้างการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการกินอาหาร ประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการย่อยอาหาร เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ การแสดงออกของยีนต้านทานโรค ความทนทานต่อการติดเชื้อ อัตราการรอดของตัวอ่อน รวมทั้งการลดความเครียดในปลา

Essa et al. (2011) ศึกษาประสิทธิภาพของยีสต์ *S. cerevisiae* ที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลา Egyptian African catfish (*Clarias gariepinus*) โดยผสมยีสต์ในอาหารที่ระดับ 0.0, 1.0, 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ทดลองเป็นระยะเวลา 214 วัน พบว่า การผสมยีสต์ในอาหาร ทุกระดับทำให้ปลา Egyptian African catfish มีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่ระดับ 2.0 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงที่สุด และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด ส่วนอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกัน ( $P > 0.05$ )

## อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในลำไส้ พร้อมกับตัวอย่างน้ำ และตะกอนดินพื้นท้องน้ำ เพื่อแยกจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์บางชนิดที่มีศักยภาพที่จะเป็นเชื้อโปรไบโอติกส์ ได้ จากฟาร์ม เพาะเลี้ยงต่างๆ ในจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย รวม 16 แห่ง

### วัสดุและอุปกรณ์

#### 1. วัสดุในการแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

##### 1.1 ปลายิน

##### 1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2.1 MRS (Lactobacilli MRS broth) บริษัท Hardy diagnostics

1.2.2 TSA (Tryptic Soy Agar) บริษัท Hardy diagnostics

1.2.3 BHI (Brain Heart Infusion Agar) บริษัท Hardy diagnostics

##### 1.3 เหล็กเขี่ยเชือรูปร่างกลม (Loop)

##### 1.4 หลอดทดลอง

##### 1.5 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)

##### 1.6 Cork borer ขนาด 0.5 มม.

##### 1.7 น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

##### 1.8 ขวดเก็บตัวอย่างดินและน้ำ

#### 2. อุปกรณ์ในการแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

##### 2.1 เครื่องมือผ่าตัด

##### 2.2 ตะเกียงแอลกอฮอล์

##### 2.3 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) บริษัท WTB binder รุ่น 78532 Tuttlingen/Germany

##### 2.4 เครื่องชั่งดิจิตอล ความละเอียด 4 ตำแหน่ง บริษัท Sartorius รุ่น AC2115

##### 2.5 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) บริษัท Becthai รุ่น Hirayama

##### 2.6 Hot plate

##### 2.7 ตู้เขี่ยเชื้อ Lamina (Holten) รุ่น HVR 2448

#### 3. เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงปลายินในกระชังในบ่อดิน

##### 3.1 บ่อดินขนาด 400 ตร.ม.

3.2 กระชังขนาด 1 ตร.ม.

3.3 ลูกปลานิลขนาดความยาว 1 นิ้ว

3.4 เชือกฟาง

3.5 ปูนขาว

3.6 ไซ่ว์สูบน้ำ

3.7 อาหารสำเร็จรูปสำหรับเลี้ยงปลานิล

#### 4. การวิเคราะห์ คุณภาพน้ำบางประการ

4.1 อุณหภูมิน้ำโดยใช้ Thermometer

4.2 pH โดย pH meter (บริษัท EUTECH INSTRUMENTSแบบตั้งโต๊ะ รุ่น Cyber scan pH510 ยี่ห้อ EUTEC)

4.3 ปริมาณออกซิเจนละลาย (Dissolve doxygen) โดยวิธีการAzide modification (APHA, 1998)

4.4 ความเป็นด่าง (Alkalinity) (APHA, 1998)

4.5 แอมโมเนีย โดยวิธีการวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร (nm)โดยวิธีการ Phenol-hypochlorite Method

#### วิธีการวิจัย

ทำการเก็บตัวอย่างปลานิล เพื่อศึกษาเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในลำไส้ พร้อมกับตัวอย่างน้ำ และตะกอนดินพื้นท้องน้ำเพื่อแยกจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์บางชนิดที่มีศักยภาพที่จะเป็นเชื้อโปรไบโอติกส์ได้ โดยขั้นตอนต่างๆ มีดังนี้

#### 1. การเก็บตัวอย่างปลานิล

1.1 เก็บตัวอย่างปลานิลจากฟาร์มเพาะเลี้ยงต่างๆ รวม 16 แห่ง แบ่งเป็นฟาร์มเพาะเลี้ยงปลานิลในจังหวัดเชียงใหม่ 5 แห่ง และฟาร์มในจังหวัดเชียงราย 11 แห่ง

สถานที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงใหม่รวม 5 แห่ง ได้แก่

แหล่งที่ 1 ปลานิลจาก ประมวลฟาร์ม (CM1)

13 หมู่ 5 ต.หนองจ่อม อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

แหล่งที่ 2 ปลานิลจาก อาจารย์อนันต์ฟาร์ม (CM2)

14หมู่ 2 ต.ช่อแล อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่

แหล่งที่ 3 ปลานิลจาก คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ (CM3)

64 หมู่ 3 ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

แหล่งที่ 4 ปลานิลจาก ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่ (CM4)

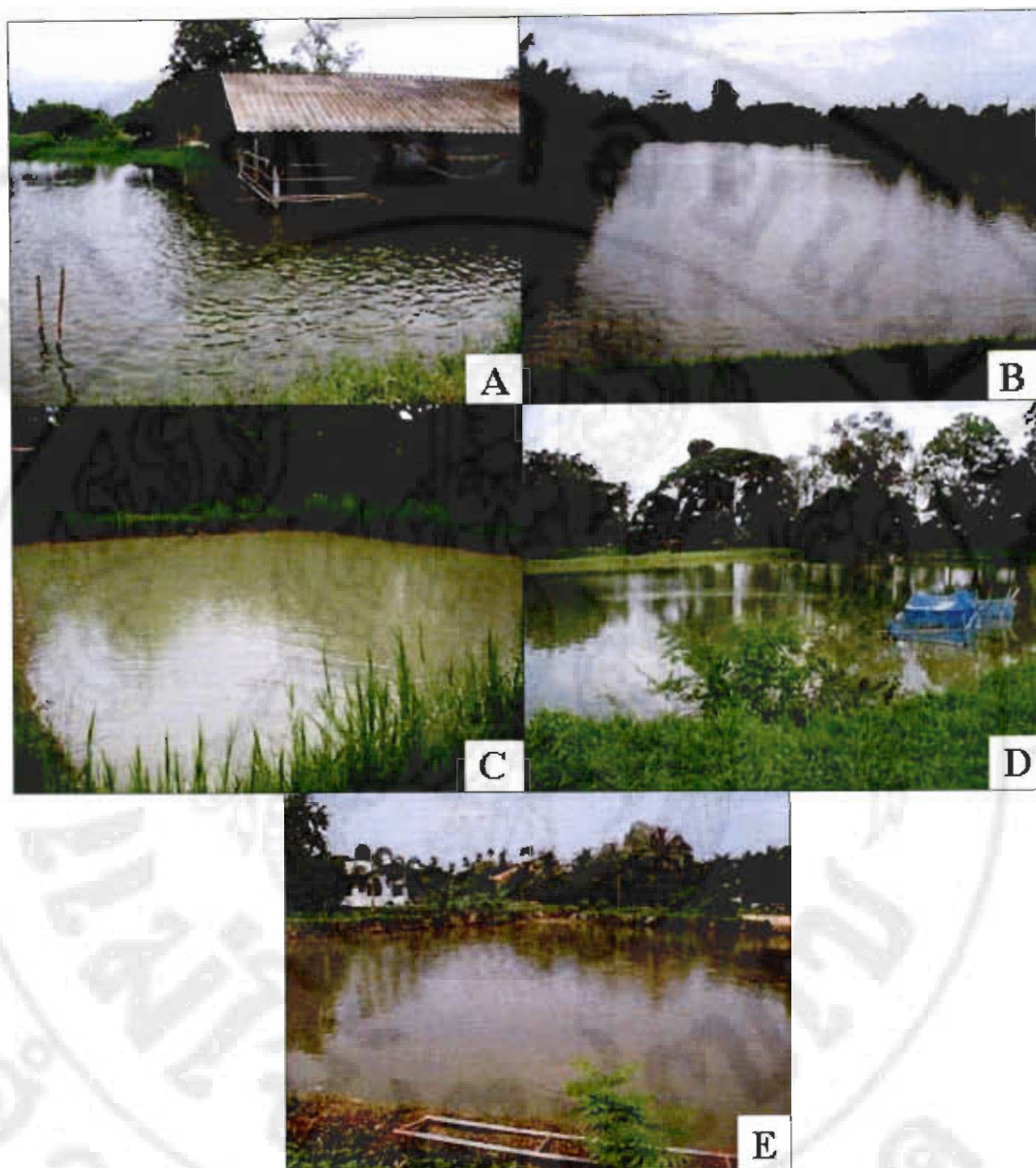
90 หมู่ 12 ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

แหล่งที่ 5 ปลานิลจาก บุญธรรมฟาร์ม (CM5)

30 /1 หมู่ 5 ต.หนองจ่อม อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

ตารางที่ 1 ลักษณะการเลี้ยงปลานิลจากฟาร์มในจังหวัดเชียงใหม่

| ฟาร์มเลี้ยงปลานิล                                | ลักษณะการเลี้ยงปลานิล                                                                                                         |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. ประมวลฟาร์ม                                   | มีการเลี้ยงไก่อบนบ่อปลา มีการให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียว                                     |
| 2. อนันต์ฟาร์ม                                   | ไม่มีการเลี้ยงสัตว์ชนิดอื่นบนบ่อปลา โดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว ลักษณะน้ำมีสีเขียว                                |
| 3.คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ ม.แม่โจ้ | ไม่มีการเลี้ยงสัตว์ชนิดอื่นบนบ่อปลา ส่วนใหญ่เป็นอาหารธรรมชาติ โดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปบางครั้ง                                |
| 4. ศูนย์วิจัย และพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่       | มีการเลี้ยงปลาชนิดอื่นในกระชัง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียว                                   |
| 5. บุญธรรมฟาร์ม                                  | ไม่มีการเลี้ยงสัตว์ชนิดอื่นบนบ่อปลา ให้อาหารธรรมชาติเป็นส่วนใหญ่ ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปเป็นบางครั้ง ลักษณะสีน้ำมีน้ำตาลอมเขียว |



ภาพที่ 4 สถานที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงใหม่ (CM1-CM5)

- (A) ประมวลฟาร์ม (CM1)      (D) ศูนย์วิจัยประมงฯ (CM4)  
 (B) อาจารย์อนันต์ฟาร์ม (CM2)      (E) บุญธรรมฟาร์ม (CM5)  
 (C) คณะเทคโนโลยีการประมงฯ (CM3)

**สถานที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงรายรวม 11 แหล่ง ได้แก่**

แหล่งที่ 1 ปลูกจาก ลลิตดาฟาร์ม (CR1)

82/1 หมู่ 2 ต.สันติสุข อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 2 ปลูกจาก แม่ควาโดนฟาร์ม (CR2)

119 หมู่ 2 ต.สันติสุข อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 3 ปลูกจาก สงกรานต์ฟาร์ม (CR3)

290/6 หมู่ 15 ต.สันกลาง อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 4 ปลูกจาก ศักดิ์ฟาร์ม (CR4)

102 หมู่ 16 ต.สันกลาง อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 5 ปลูกจาก อภิรดีฟาร์ม (CR5)

77 หมู่ 4 ต.สันกลาง อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 6 ปลูกจาก ทวีฟาร์ม (CR6)

223/7 หมู่ 10 ต.สันกลาง อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 7 ปลูกจาก ทองคำฟาร์ม (CR7)

299 หมู่ 14 ต.เมืองพาน อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 8 ปลูกจาก จ้านงค์ฟาร์ม (CR8)

732 หมู่ 14 ต.เมืองพาน อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 9 ปลูกจาก เอ็น เอส ฟาร์ม (CR9)

121 หมู่ 3 ต.เมืองพาน อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 10 ปลูกจาก นัยสิทธิ์ฟาร์ม (CR10)

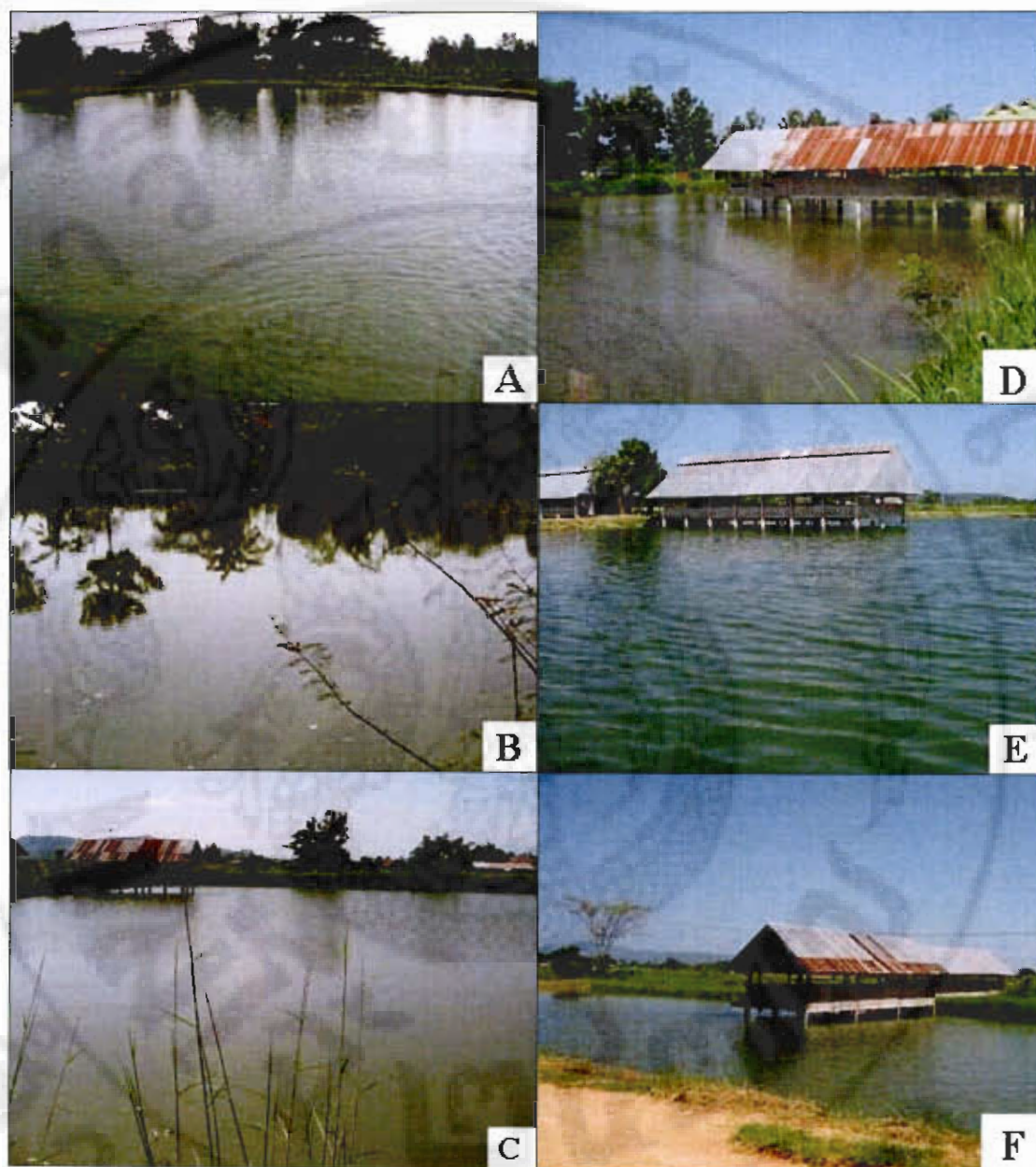
167 หมู่ 3 ต.สันติสุข อ.พาน จ.เชียงราย

แหล่งที่ 11 ปลูกจาก หนองบัวฟาร์ม (CR11)

157 หมู่ 3 ต.แม่เป็น อ.พาน จ.เชียงราย

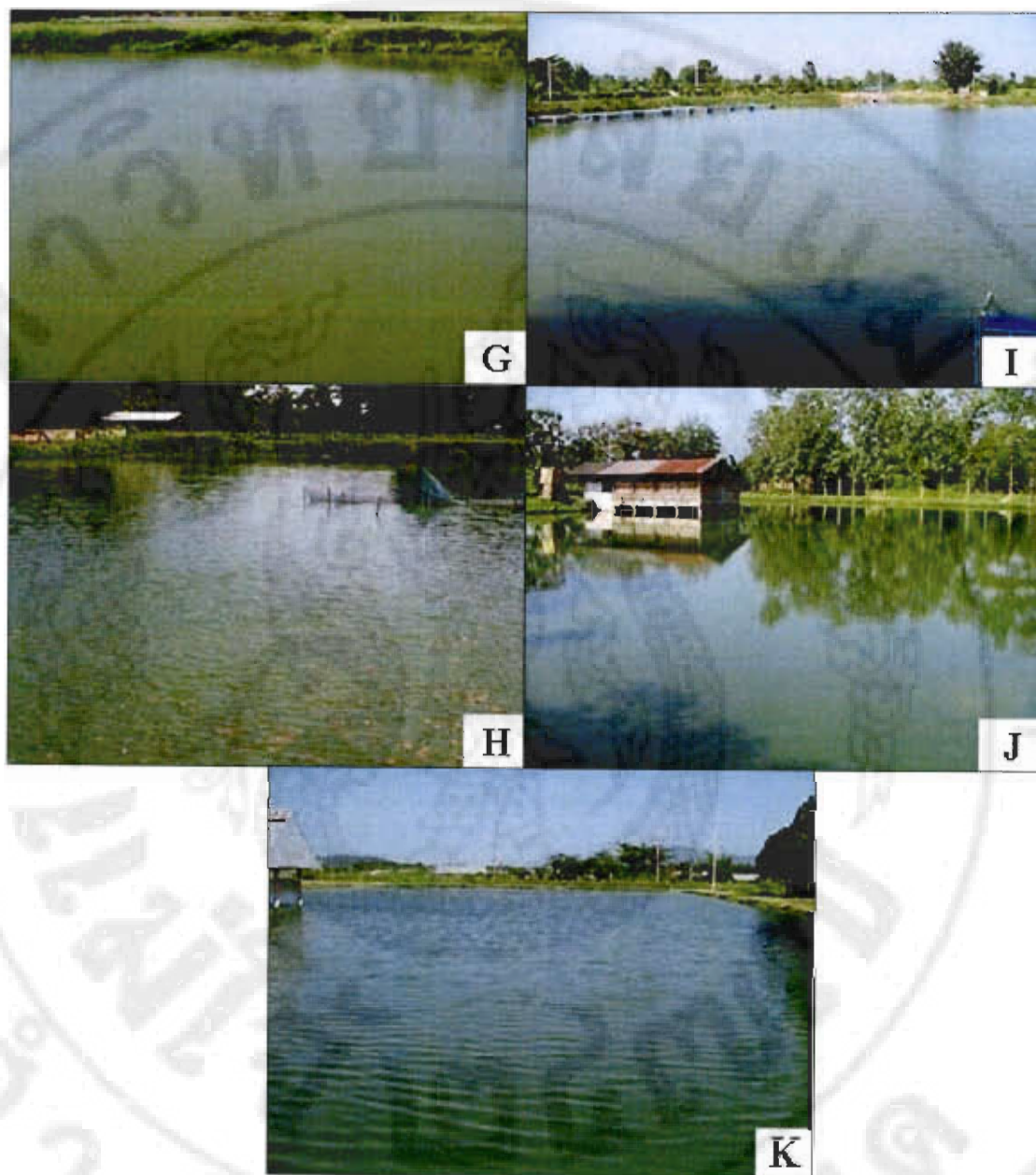
ตารางที่ 2 ลักษณะการเลี้ยงปลานิลจากฟาร์มในจังหวัดเชียงราย

| ฟาร์มเลี้ยงปลานิล  | ลักษณะการเลี้ยงปลานิล                                                                                |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. ลลิตาฟาร์ม      | ไม่มีการเลี้ยงสัตว์ชนิดอื่นบนบ่อปลา โดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว ลักษณะน้ำมีสีเขียวเข้ม   |
| 2. แม่ขาวโดนฟาร์ม  | ไม่มีการเลี้ยงสัตว์ชนิดอื่นบนบ่อปลา โดยให้อาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียวเข้ม                       |
| 3. สงกรานต์ฟาร์ม   | มีการเลี้ยงไก่บนบ่อปลา ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียวเข้ม              |
| 4. ศักดิ์ฟาร์ม     | มีการเลี้ยงไก่บนบ่อปลา ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีน้ำตาลอมเขียว          |
| 5. อภิรดีฟาร์ม     | มีการเลี้ยงไก่บนบ่อปลา ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียวเข้ม              |
| 6. ทวีฟาร์ม        | มีการเลี้ยงไก่บนบ่อปลา ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียวเข้ม              |
| 7. ทองคำฟาร์ม      | ไม่มีการเลี้ยงสัตว์ชนิดอื่นบนบ่อปลา โดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป ร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียว |
| 8. จ่านงฟาร์ม      | ไม่มีการเลี้ยงสัตว์ชนิดอื่นบนบ่อปลา โดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป ร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียว |
| 9. เอ็น เอส ฟาร์ม  | มีการเลี้ยงปลาชนิดอื่นในกระชัง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว ลักษณะน้ำมีสีเขียว               |
| 10. นัยสิทธิ์ฟาร์ม | มีการเลี้ยงไก่บนบ่อปลาให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียวเข้ม               |
| 11. หนองบัวฟาร์ม   | มีการเลี้ยงไก่บนบ่อปลา ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปร่วมกับอาหารธรรมชาติ ลักษณะน้ำมีสีเขียวเข้ม              |



ภาพที่ 5 สถานที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงราย (CR1-CR6)

- |                          |                       |
|--------------------------|-----------------------|
| (A) ลลิตาฟาร์ม (CR1)     | (D) สักดิ์ฟาร์ม (CR4) |
| (B) แม่ดาวโดนฟาร์ม (CR2) | (E) อภิรดีฟาร์ม (CR5) |
| (C) สงกรานต์ฟาร์ม (CR3)  | (F) ทวีฟาร์ม (CR6)    |



ภาพที่ 5 สถานที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงราย (CR7-CR11) (ต่อ)

(G) ทองคำฟาร์ม (CR7) (I) เอ็น เอส ฟาร์ม (CR9)

(H) จันทกัฟาร์ม (CR8) (J) นัยสิทธิ์ฟาร์ม (CR10)

(K) หนองบึงฟาร์ม (CR11)

1.2 เก็บรวบรวมตัวอย่างปลานิลและบันทึกข้อมูลที่สำคัญบางประการ เช่น ตำแหน่งที่ตั้ง ลักษณะการเลี้ยง ชั่งน้ำหนักปลา และการวัดขนาดความยาวปลา อุณหภูมิ น้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) เป็นต้น

1.3 บันทึกข้อมูลที่จำเป็นเบื้องต้น เช่น ชื่อฟาร์ม ตำแหน่งที่ตั้ง เป็นต้น

ตารางที่ 3 น้ำหนัก และความยาวของปลานิลในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงราย (Mean±SE)

| ฟาร์มเลี้ยงปลานิล                                       | น้ำหนักปลานิล<br>(กรัม) | ความยาวปลานิล<br>(ซม.) |
|---------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------|
| 1. ประมวลฟาร์ม                                          | 258.00±5.77             | 12.00±0.50             |
| 2. อนันต์ฟาร์ม                                          | 262.00±17.32            | 12.40±0.50             |
| 3. คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากร<br>ทางน้ำ น. แม่โจ้ | 255.00±9.29             | 11.20±0.20             |
| 4. ศูนย์วิจัย และพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่              | 260.00±10.00            | 12.20±0.68             |
| 5. บุญธรรมฟาร์ม                                         | 257.00±8.50             | 12.00±0.28             |
| 6. สถิตาฟาร์ม                                           | 258.00±7.50             | 11.40±0.40             |
| 7. แม่ลาวโดนฟาร์ม                                       | 257.00±11.01            | 11.20±0.52             |
| 8. สงกรานต์ฟาร์ม                                        | 262.00±4.04             | 12.60±0.65             |
| 9. สักดิ์ฟาร์ม                                          | 255.00±7.63             | 11.00±0.50             |
| 10. อภิรดีฟาร์ม                                         | 259.00±7.09             | 12.00±0.50             |
| 11. ทวีฟาร์ม                                            | 260.00±2.51             | 12.40±0.50             |
| 12. ทองคำฟาร์ม                                          | 260.00±2.88             | 12.20±0.66             |
| 13. จ่านงฟาร์ม                                          | 256.00±4.16             | 11.00±0.50             |
| 14. เอ็น เอส ฟาร์ม                                      | 258.00±1.52             | 11.20±0.51             |
| 15. นัยสิทธิ์ฟาร์ม                                      | 261.00±3.00             | 12.80±0.57             |
| 16. หนองบัวฟาร์ม                                        | 258.00±2.00             | 11.00±0.28             |

ตารางที่ 4 คุณภาพน้ำบางประการจากฟาร์มเลี้ยงปลานิลในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงราย  
(Mean±SE)

| ฟาร์มเลี้ยงปลานิล                                    | pH        | อุณหภูมิ<br>(°C) | DO<br>(mg/l) |
|------------------------------------------------------|-----------|------------------|--------------|
| 1. ประมวลฟาร์ม                                       | 8.02±0.01 | 28.40±0.07       | 6.00±0.11    |
| 2. อนันต์ฟาร์ม                                       | 8.06±0.02 | 29.80±0.15       | 7.80±0.10    |
| 3. คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากร<br>ทางน้ำ แม่โจ้ | 8.08±0.03 | 29.60±0.17       | 12.6±0.15    |
| 4. ศูนย์วิจัย และพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่           | 8.46±0.08 | 30.80±0.20       | 8.60±0.05    |
| 5. บุญธรรมฟาร์ม                                      | 8.20±0.04 | 27.00±0.50       | 6.80±0.26    |
| 6. ลลิตาฟาร์ม                                        | 7.60±0.05 | 25.00±0.28       | 9.20±0.10    |
| 7. แม่ควาโดนฟาร์ม                                    | 7.60±0.07 | 27.00±0.28       | 5.00±0.11    |
| 8. สงกรานต์ฟาร์ม                                     | 8.60±0.05 | 26.00±0.25       | 4.80±0.05    |
| 9. ศักดิ์ฟาร์ม                                       | 8.20±0.07 | 27.00±0.28       | 5.80±0.15    |
| 10. อภิรดีฟาร์ม                                      | 7.90±0.02 | 26.00±0.50       | 7.00±0.25    |
| 11. ทวีฟาร์ม                                         | 8.50±0.04 | 27.00±0.10       | 9.20±0.11    |
| 12. ทองคำฟาร์ม                                       | 7.70±0.00 | 28.00±0.28       | 6.40±0.11    |
| 13. จ้างฟาร์ม                                        | 7.60±0.04 | 27.00±0.23       | 9.80±0.05    |
| 14. เอ็น เอส ฟาร์ม                                   | 7.90±0.20 | 27.00±0.23       | 5.20±0.20    |
| 15. นัยสิทธิ์ฟาร์ม                                   | 7.60±0.01 | 25.00±0.49       | 6.80±0.15    |
| 16. หนองบัวฟาร์ม                                     | 7.80±0.02 | 27.00±0.28       | 7.20±0.20    |

## 2. การแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลานิล

ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ภายในลำไส้ของปลานิล และคัดแยกเชื้อจากตัวอย่างดินและน้ำ โดยเฉพาะเลี้ยงบนอาหารMRSโดยคัดแยกจากโคโลนีที่เกิดขึ้น ทำการตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น โดยใช้การย้อมสีแกรม เพื่อดูลักษณะรูปร่างเซลล์ และการจัดเรียงตัวของเซลล์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์

2.1 ขูดผนังลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนปลาย โดยใช้รูป เผลาไฟเขี่ยเชื้อจากร้อนแดง แล้วนำมาผสมกับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

2.2 ดูดเชื้อตัวอย่างมา 1 ml. โดยนำมาเจือจางแบบ Serial Dilution เจือจางไปเรื่อยๆ ตั้งแต่  $10^{-1}$  -  $10^{-5}$  แล้วเขย่าให้เข้ากัน

2.3 นำเชื้อที่ dilution แล้วไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MRS ที่เติม bromocresol green 0.004% เป็นอินดิเคเตอร์ โดยวิธีการทำให้เชื้อกระจาย (spread plate) บนอาหารแข็ง MRS จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $35-37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

2.4 นับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่ได้ในแต่ละ Dilution โดยจำนวนโคโลนีอยู่ในระหว่าง 3-300 โคโลนี

2.5 คัดเลือกโคโลนีที่แยกได้มา ทำการขีดเชื้อ (Streak plate) ลงบนอาหารแข็ง TSA แล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิ  $35-37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนเกิดโคโลนีเดี่ยวๆ

2.6 นำโคโลนีที่เกิดขึ้น ไปตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น โดยใช้การตรวจสอบการติดสีแกรม เพื่อดูลักษณะรูปร่างเซลล์ และการจัดเรียงตัวของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

2.7 แล้วนำเชื้อที่ได้มาทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคต่อไป

\* การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในดินน้ำ ทำวิธีเช่นเดียวกับการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลา

### 3. การคัดแยกเชื้อก่อโรคในปลานิลที่เป็นโรค

สุ่มเก็บปลานิลที่เป็นโรค โดยส่วนที่ใช้ในการแยกเชื้อก่อโรค คือบริเวณบาดแผลบนลำตัว ใต้ ไค ม้าม เป็นต้น เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง TSA คัดเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้ไปตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น โดยใช้การตรวจสอบการติดสีแกรม เพื่อดูลักษณะรูปร่างเซลล์ และการจัดเรียงตัวของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.1 นำลูป (Loob) เช็บเชื้อเหาไฟจนร้อนแดงใช้ลูปจิ้มหรือชุบบริเวณบาดแผล และตำแหน่งที่ต้องการ

3.2 จากนั้นนำเชื้อที่ได้มาทำการขีดเชื้อ (streak plate) ลงบนอาหารแข็ง TSA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $35-37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนเกิดโคโลนีเดี่ยวๆ

3.3 เมื่อได้โคโลนีเดี่ยวๆแล้วนำไปตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น โดยใช้การตรวจสอบการติดสีแกรม เพื่อดูลักษณะรูปร่างเซลล์ และการจัดเรียงตัวของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

### 4. การคัดเลือกและทดสอบเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคในปลานิล

การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ เพื่อหาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคในปลานิล ทำการศึกษาอัตราการเกิดโรคในปลานิล

(in vivo test) โดยฉีดเชื้อก่อโรคที่คัดแยกได้ (รวมทั้งเชื้อโปรไบโอติกส์ที่คัดแยกได้) ความเข้มข้นที่  $3 \times 10^6$  เซลล์ เข้าตัวปลานิลที่เตรียมไว้บริเวณช่องท้อง และให้อาหารลูกปลานิลขนาดเล็ก วันละ 2 ครั้ง ค่อยวันทดลอง

4.1 นำเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่แยกได้ในขั้นตอนข้างต้นที่มีลักษณะโคโลนีต่างกัน มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่แยกได้จากปลานิลในข้อ 2 โดยวิธี Agar well diffusion (Chaveerach *et al.*, 2003)

4.2 โดยทำอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่แยกได้ลงบนอาหารแข็ง BHI จากนั้นทาบผิวหน้าอาหารแข็ง BHI ด้วยเชื้อก่อโรคที่ผสมอยู่ใน BHI Agar medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $35-37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

4.3 หลังจากนั้น ตรวจสอบเชื่อว่าเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่แยกได้นั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้หรือไม่ โดยดูจากวงใส (Clear zone) ที่เกิดรอบๆ หลุมหยดเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่แยกได้

4.4 ทดสอบประสิทธิภาพความสามารถของเชื้อที่แยกได้ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค โดยวิธี Agar well diffusion เพาะเชื้อที่แยกได้ใน BHI broth จนเชื้อเข้าสู่ Stationary phase

4.5 ทำการเตรียมเชื้อก่อโรคปลา โดยผสมซัสเพนชันของเชื้อก่อโรคลงใน BHI soft agar หลังจากให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว แล้วเจาะหลุมด้วย Cork borer ขนาด 0.5 mm

4.6 จากนั้นนำไปซัสเพนชันของเชื้อที่เจริญอยู่ใน BHI Broth มาหยดลงในหลุมที่เจาะไว้ นำจานเพาะอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ  $35-37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

4.7 ตรวจสอบว่าเชื้อที่แยกได้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้หรือไม่ โดยสังเกตจากวงใสๆ (Clear zone) ที่เกิดรอบๆ หลุมที่เจาะไว้ แล้วบันทึกผลการทดลอง

## 5. การศึกษาปฏิบัติการเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง (Hemolysis)

ทดสอบการแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยแบคทีเรียก่อโรบบางกลุ่มสามารถสร้างสารฮีโมไลซิน ซึ่งสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงเกิดฮีโมไลซิสได้ โดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Blood agar plate ที่เติมเลือดแกะ 5% สังเกตการแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดง เชื้อโปรไบโอติกส์ที่เลือกจะต้องไม่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกตัว (Gamma hemolysis)

5.1 เตรียมอาหาร Blood agar base ทำการฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่  $121^{\circ}\text{C}$  ความดัน 10 ปอนด์ นาน 15 นาที จากนั้นรอให้เย็นที่ประมาณ  $45-50^{\circ}\text{C}$  จึงเติม sterile sheep blood ในอัตราส่วน 5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตร Media ที่เตรียมไว้เขย่าเบาๆ ให้เป็นเนื้อเดียวกัน เทลงบน Plate ที่ Sterile รอให้ Media แข็งตัว แล้วเก็บที่  $2-8^{\circ}\text{C}$

5.2 ทำการขีดเชื้อโปรไบโอติกส์ และเชื้อก่อโรคในพลาเน็ต ที่ได้จากลำไส้ลา นิล และดินน้ำ จากเชื้อที่ผ่านวิธีการทดสอบดูประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในพลาเน็ตลงบน แล้วยนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 24-48 ชั่วโมง

5.3 ทำการเก็บข้อมูลผล hemolysis ในการตรวจผลการทดสอบ

- เบต้า ฮีโมไลซิส เกิดเคลียร์โซน รอบโคโลนีแบคทีเรีย
- แอลฟา ฮีโมไลซิส เกิดสีเขียวถึงสีน้ำตาลบริเวณรอบรอบโคโลนีของแบคทีเรีย
- แกมมา ฮีโมไลซิส ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงบนอาหาร Blood agar

### การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญ และการผลิตสารปฏิชีวนะ

#### 6. การเพาะเลี้ยง และการติดตามการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

##### 6.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญ และการผลิตสารปฏิชีวนะ

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารเหลว Nutrient broth เขย่าบน เครื่องเขย่า Rotary shaker ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที โดยให้มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ  $1 \times 10^8$  เซลล์/ml หรือวัดค่าความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเทียบเท่ากับ 0.5 McFarland

##### 6.2 ศึกษาสภาวะความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช) ที่เหมาะสม

เติมเชื้อแบคทีเรียตั้งต้น 10% ลงในอาหารเหลว Nutrient broth ปรับสภาวะพีเอช ต่างๆ ดังนี้ 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่สภาวะอุณหภูมิปกติ ทดสอบการเจริญ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จากนั้นนำอาหารเพาะเลี้ยงที่พีเอชต่างๆ กัน มาปั่นเหวี่ยง ให้เซลล์แบคทีเรียตกตะกอน ด้วย เครื่องเซนตริฟิวจ์ ที่มีความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แยกอาหารส่วนใส ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปวัดค่าพีเอช และส่วนที่สองนำไปประสิทธิภาพการผลิตสารปฏิชีวนะ

##### 6.3 การทดสอบความสามารถในการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

นำหัวเชื้อโปรไบโอติกส์แต่ละชนิด มาเลี้ยงลงในอาหาร TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองพลาสติก จนมีอายุครบ 24 ชั่วโมง แล้วเทส่วนใสทิ้ง จากนั้นหยดสี Methylene Blue แล้วสังเกตการณ์เกาะกลุ่มด้วยตาเปล่า ทำ 3 ซ้ำ เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่น 100 เปอร์เซ็นต์ ของการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในหลอดทดลอง

## 7. การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ในปลานิล

ก่อนทำการศึกษาทดลองเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิลที่จะนำมาใช้ในการทดลองจริง จึงได้มีการทดลองในห้องปฏิบัติการในตู้ปลา และยืนยันว่าเชื้อที่ทำการคัดแยกได้เป็นเชื้อก่อโรคในปลานิลจริง โดยทำการเลี้ยงเชื้อก่อโรคที่ทำการคัดแยกได้มาเลี้ยงในอาหาร TSB ใช้ในปริมาณความเข้มข้นที่  $3 \times 10^6$  เซลล์ ของเชื้อก่อโรค แล้วนำมาฉีดเข้าตัวปลานิลที่เตรียมไว้บริเวณช่องท้อง และให้อาหารลูกปลานิลขนาดเล็ก วันละ 2 ครั้ง ต่อวัน มีวิธีการดังนี้

7.1 เตรียมตู้ปลาขนาด  $25 \times 50 \times 30$  ลบ.ซม. และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยฟอมาลิน

7.2 เตรียมลูกพันธุ์ปลานิลขนาด 30 – 50 กรัม ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาว และทำการปรับสภาพปลานิลก่อนการทดลองเป็นเวลา 7 วัน ในตู้ปลาขนาด  $25 \times 50 \times 30$  ลบ.ซม. อัตราการปล่อยเลี้ยง 10 ตัว/ตู้ พร้อมกับการให้อากาศตลอดเวลา และอาหารลูกปลาเล็กตลอดระยะเวลาการทดลอง

7.3 ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่คัดแยกได้จากอวัยวะปลานิลที่ป่วยในอาหาร TSB นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ  $35 - 37^\circ \text{C}$  เวลา 24 ชั่วโมง

7.4 นำเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร TSB มาทำการปรับความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นให้ได้ปริมาณ  $3 \times 10^6$  เซลล์ ด้วยวิธีการ spread plate

7.5 นำเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่เตรียมไว้เรียบร้อยแล้ว มาทำการฉีดเข้าปลานิลบริเวณช่องท้อง ใช้เข็มเบอร์ 1 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ฉีด 0.1 ml. ต่อตัว พร้อมกับการให้อากาศตลอดเวลาตลอดระยะเวลาการทดลอง และให้อาหารลูกปลาทุกเล็ก วันละ 2 มื้อ ต่อวัน ในเวลา 09.00 น. และ 15.30 น.

7.6 บันทึกการทดลอง โดยดูอัตราการตายของปลานิลในแต่ละวันของการทดลอง และลักษณะอาการของปลานิลที่แสดงออกหลังจากการได้รับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเข้าไป เช่น แผล เกร็ดพอง ครีบกร่อน ตกเลือด วายน้ำซำ และไม่กินอาหาร เป็นต้น

\* การจัดการน้ำโดยทำการดูดของเสียในตู้ปลาทุกวันตลอดระยะเวลาในการทดลอง

## 8. การตรวจเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในปลานิล

ทำการศึกษาทดลองเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิลก่อนจะนำมาใช้ในการทดลองจริงในปลานิลทดลอง จึงได้มีการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ตู้ปลาขนาด  $25 \times 50 \times 30$  ลบ.ซม. มาใช้ในการทดลองในครั้งนี้ และยืนยันว่าเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ที่ทำการคัดแยกได้ไม่เป็นเชื้อก่อโรคในปลานิลจริง และส่งผลต่อการเจริญในปลา โดยทำการเลี้ยงเชื้อก่อโรคที่ทำการคัดแยกได้มาเลี้ยงในอาหาร TSB ใช้ในปริมาณความเข้มข้นที่  $1 \times 10^8$

เซลล์ ของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ แล้วนำมาฉีดเข้าตัวปลานิลที่เตรียมไว้บริเวณช่องท้อง และให้อาหารลูกปลานิลขนาดเล็ก วันละ 2 ครั้ง ต่อวัน มีวิธีการดังนี้

8.1 เตรียมตู้ปลาขนาด 25 x 50 x 30 ลบ.ซม. และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลิน

8.2 เตรียมลูกพันธุ์ปลานิลขนาด 3-4 นิ้ว ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาว และทำการปรับสภาพปลานิลก่อนการทดลองเป็นเวลา 7 วัน ในตู้ปลาขนาด 25 x 50 x 30 ลบ.ซม. อัตราการปล่อยเลี้ยง 10 ตัวต่อตู้ พร้อมกับการให้อากาศตลอดเวลา และอาหารปลาถุงเล็ก

8.3 ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ที่คัดแยกได้จากลำไส้ปลานิล และดินในอาหาร TSB นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 -37 °C เวลา 24 ชั่วโมง

8.4 นำเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร TSB มาทำการปรับความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นให้ได้ปริมาณ  $3 \times 10^6$  เซลล์ ด้วยวิธีการ spread plate

8.5 นำเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่เตรียมไว้เรียบร้อยแล้ว มาทำการฉีดเข้าปลานิลบริเวณช่องท้อง โดยใช้เข็มเบอร์ 1 ใช้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ปริมาณ 0.1 ml. ต่อตัว พร้อมกับการให้อากาศตลอดเวลา ตลอดระยะเวลาการทดลอง และให้อาหารปลาถุงเล็กวันละ 2 มื้อ ต่อวัน ในเวลา 09.00 น. และ 15.30 น.

8.6 บันทึกการทดลอง โดยคู่อัตราการรอดตายของปลานิลในแต่ละวันของการทดลอง และลักษณะอาการของปลานิลที่แสดงออกหลังจากการได้รับเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ เข้าไป เป็นต้น

\* การจัดการน้ำโดยทำการดูดของเสียในตู้เลี้ยง ทุกวันตลอดระยะเวลาในการทดลอง

## 9. การเตรียมหน่วยทดลอง (การเพาะเลี้ยงปลาในกระชัง)

ใช้กระชัง 1 ตร.ม. กางในน้ำลึกประมาณ 1.5 เมตร โดยให้น้ำไหลเวียนน้ำในบ่อตลอดการทดลองและใช้บ่อดินขนาด 400 ตร.ม. รักษาระดับน้ำให้ลึก 1 ม. ตลอดการทดลอง

## 10. สัตว์ทดลอง (ปลานิล)

ใช้ลูกปลานิลขนาดความยาวประมาณ 1 นิ้ว ซื้อจากฟาร์มเชียงใหม่พัฒนา จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำลูกปลามาพักให้ปรับตัวในกระชัง ก่อนทำการสุ่มนับ และชั่งน้ำหนักปลาเริ่มต้นเพื่อปล่อยลงเลี้ยงในกระชังที่ทำการทดลอง ให้อาหารสำเร็จรูปปลานิลกินพืชเป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ปลาปรับสภาพ ก่อนเริ่มให้อาหารทดลอง

## 11. การศึกษาประสิทธิภาพอาหารที่ผสมเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในการเพาะเลี้ยงปลานิล

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  เซลล์ต่อกรัม โดยชุดควบคุมจะไม่ผสมโปรไบโอติกส์กับอาหารที่ให้อาหารกินจนอิ่ม วันละ 2 ครั้ง ปล่อยปลานิลขนาด 1 นิ้ว ลงกระชังด้วยความหนาแน่น 50 ตัวต่อตารางเมตร ตรวจวัดการเจริญเติบโต 14 วัน และทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำบางประการของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงปลา 4 เดือน ทำการจับปลามาตรวจวัดคุณภาพเนื้อ ลักษณะทางกายภาพ และทางประสาทสัมผัส

## 12. ทดสอบอัตราการรอด และการต้านทานเชื้อก่อโรค

ในการทดลองใช้ลูกปลาซึ่งมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยประมาณ 44 กรัม โดยแบ่งลูกปลาออกเป็น 2 กลุ่ม ซึ่งกลุ่มที่ 1 เลี้ยงด้วยอาหารปลาปกติ ในขณะที่กลุ่มที่ 2 เลี้ยงอาหารปลาที่ผสมเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ในความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  เซลล์ต่อกรัมของอาหารปลาเป็นเวลา 15 วัน ก่อนนำมาทดสอบอัตราการรอดและการต้านทานเชื้อก่อโรค โดยการฉีดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ในปริมาณ  $3 \times 10^6$  เซลล์ เข้าใต้ผิวหนังตรงบริเวณช่องของตัวปลา (Peritoneal cavity)

## 13. การตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงปลานิล

ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำในกระชังทดลอง และ บ่อทดลอง เมื่อเริ่มต้นและทุก 14 วันจนเสร็จสิ้นการทดลอง ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนละลาย (dissolved oxygen) ด้วย Azide modification (APHA, 1998) Total ammonia โดยวิธีการ Phenol-hypochlorite Method วัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ส่วนค่าอุณหภูมิโดยใช้ Thermometer และ pH ทำการวัดด้วยเครื่อง pH meter (บริษัท EUTECH INSTRUMENTS แบบตั้งโต๊ะรุ่น Cyber scan pH510 ยี่ห้อ EUTEC)

## 14. การวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตของปลานิล องค์ประกอบของเนื้อปลา และอาหาร

14.1 ทำการเก็บตัวอย่าง ชั่งน้ำหนักปลาในกระชัง ทุกๆ 14 วัน ตลอดการทดลองในแต่ละการทดลอง กำหนดหาค่าต่างๆ ได้แก่ อัตราการรอด SGR, FCR, PER, Total biomass increase, PPV และ PFV รวมทั้งองค์ประกอบของเนื้อปลานิล และสารอาหารในอาหารทดลอง

ก. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ( Specific Growth Rate;SGR) (%/วัน)

$$= 100 \times (\ln \text{ น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{ น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง})$$

จำนวนวันที่ทดลอง

ข. อัตรารอด (Survival) % =  $\frac{\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{(จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง)}} \times 100$

ค. อัตราการแลกเนื้อ (FCR) =  $\frac{\text{น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน (ก.)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (ก.)}}$

ง. Protein efficiency ratio (PER) =  $\frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (ก.)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (ก.)}}$

จ. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Total biomass increase) กรัม  
= น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ก.) - น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (ก.)

ฉ. Productive Protein value (PPV) =  $\frac{\text{Protein gain (ก.)} \times 100}{\text{Protein fed (ก.)}}$

ช. Productive Fat value (PFV)

=  $100 \times (\text{Final carcass fat} - \text{Initial carcass fat}) / \text{Initial carcass fat}$

14.2 วิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารอาหารในอาหารทดลอง และเนื้อปลานิลเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลอง โดยวิธีการดังต่อไปนี้

- วิเคราะห์โปรตีนโดย Micro-Kjeldahl
- วิเคราะห์ไขมันโดยวิธี Dichloromethane extraction ตาม Soxhlet method
- วิเคราะห์เยื่อใย โดยวิธี Fritted glass crucible
- วิเคราะห์เถ้า โดยการเผาใน Muffle furnace 550 °C 12 ชม.
- วิเคราะห์ความชื้น โดยการอบแห้งในตู้อบ 105 °C 24 ชม. ตามวิธีการของ AOAC (1990)

## 15. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยหาค่าความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละทรีตเมนต์ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์ โดยวิธีการของ Duncan's Test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 11.5

## ผลการวิจัย

### ศึกษาความหลากหลายของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล

1. จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ปลานิล พบว่า ลักษณะโคโลนีส่วนใหญ่มีความคล้ายคลึงกัน โดยพบโคโลนีที่มีสีเหลือง และสีขาว รูปร่างกลม มันวาว พื้นผิวเรียบ ขอบเรียบ เป็นส่วนใหญ่ และเมื่อนำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์แตกต่างกัน เช่น แท่งสั้น แท่งยาว และกลม การจัดเรียงตัวของเซลล์จุลินทรีย์ที่ต่อกัน 2-3 เซลล์ แบบกลุ่มก้อน และแบบเดี่ยว ส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้จำนวน 110 ไอโซเลท (ภาคผนวก ก)

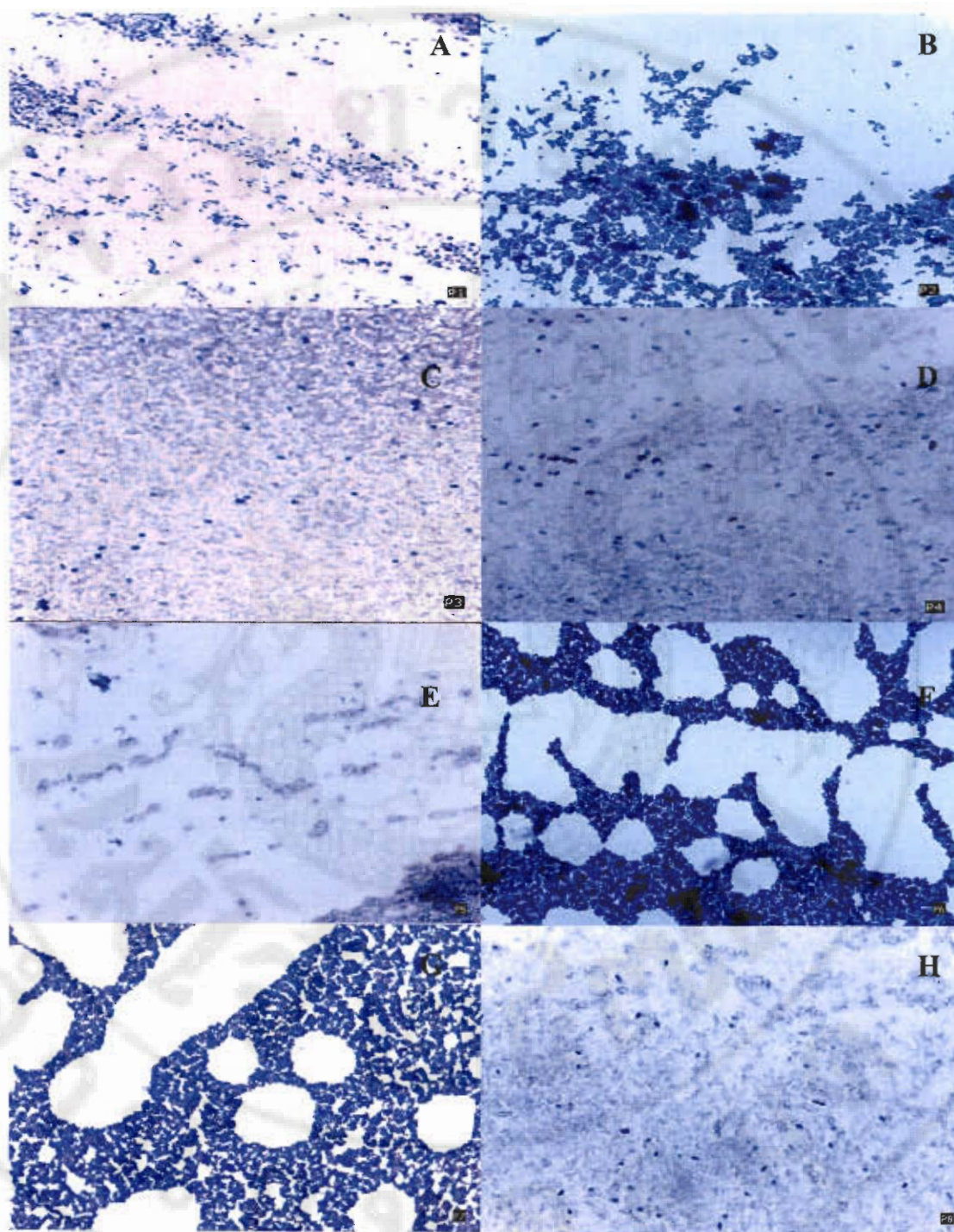
2. จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิลเป็นจำนวนทั้งหมด 8 ไอโซเลท พบว่า ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียมีความคล้ายคลึงกัน เช่น สี รูปร่าง พื้นผิว เป็นต้น และเมื่อนำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ส่วนใหญ่ติดสีแกรมบวก ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์มีความแตกต่างกัน มีทั้งแท่งยาว แท่งสั้น และกลมอยู่กันเป็นกลุ่ม การจัดเรียงตัวของเซลล์มีทั้งอยู่แบบเดี่ยว และแบบกลุ่ม (ตารางที่ 5, ภาพที่ 6)

#### 2.1 ตรวจสอบความรุนแรงของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (*In vivo test*)

ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ไอโซเลท P2, P3, P4, P6, และ P8 รวมทั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยการฉีดเชื้อเข้าไปบริเวณช่องท้องของปลานิล สังเกตการเกิดโรค และอัตราการตายของปลานิลเป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่า P8 มีอัตราการตายสูงสุด 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วน P4 มีอัตราการตายต่ำสุด 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ไม่ฉีด) มีอัตราการรอดตายเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบอัตราการเกิดโรคของเชื้อ *A. hydrophila* พบว่า ปลานิลที่มีการฉีดเชื้อ *A. hydrophila* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล (Positive control) มีอัตราการตายสูง 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 6, ภาพที่ 7)

ตารางที่ 5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล ที่คัดแยกได้จากปลานิลเป็นโรค

| ชนิดแบคทีเรียก่อโรค | ลักษณะโคโลนี                                  | ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์                        |
|---------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| P1                  | สีขาวใส รูปร่างกลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว หรืออยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม |
| P2                  | สีขาว รูปร่างกลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                      |
| P3                  | สีขาวใส รูปร่างกลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว หรืออยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม |
| P4                  | สีขาวใส รูปร่างกลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว                          |
| P5                  | สีขาวใส รูปร่างกลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว                          |
| P6                  | สีขาวใส รูปร่างกลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                      |
| P7                  | สีขาวขุ่น รูปร่างกลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                      |
| P8                  | สีขาวใส รูปร่างกลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว หรืออยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม |



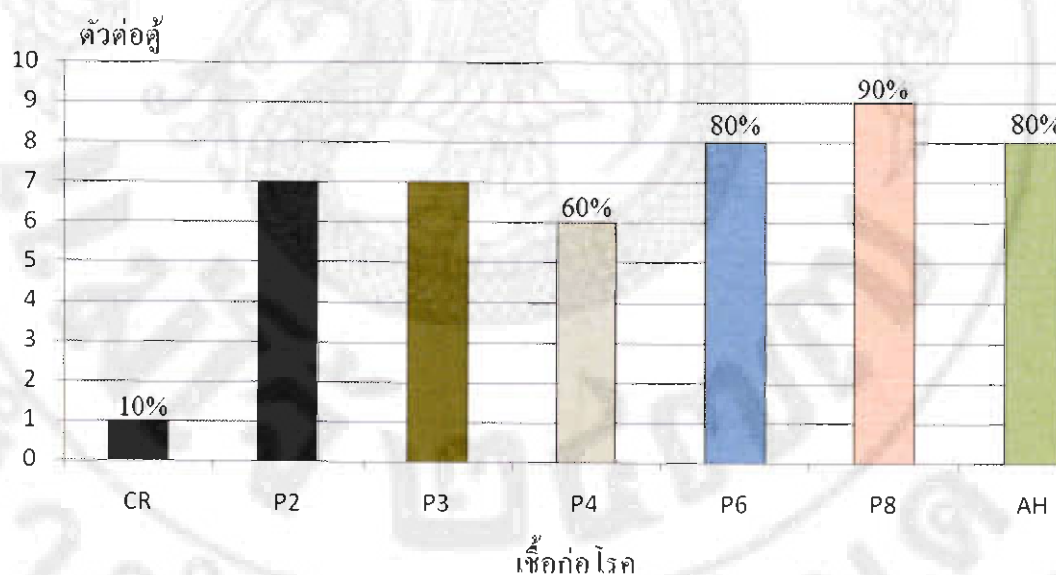
ภาพที่ 6 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาซันดา 8 ไอโซเลท

- |                             |                             |
|-----------------------------|-----------------------------|
| (A) เชื้อแบคทีเรียก่อโรค P1 | (E) เชื้อแบคทีเรียก่อโรค P5 |
| (B) เชื้อแบคทีเรียก่อโรค P2 | (F) เชื้อแบคทีเรียก่อโรค P6 |
| (C) เชื้อแบคทีเรียก่อโรค P3 | (G) เชื้อแบคทีเรียก่อโรค P7 |
| (D) เชื้อแบคทีเรียก่อโรค P4 | (H) เชื้อแบคทีเรียก่อโรค P8 |

ตารางที่ 6 ทดสอบเชื้อก่อโรคในปลานิลเพื่อดูอัตราการตายในระยะเวลา 5 วัน (*In vivo* test)

| จำนวนวันทดลอง   | เชื้อก่อโรค |    |    |    |    |    |    |
|-----------------|-------------|----|----|----|----|----|----|
|                 | Control     | P2 | P3 | P4 | P6 | P8 | AH |
| วันที่ 1        | 0           | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
| วันที่ 2        | 0           | 2  | 1  | 1  | 2  | 2  | 2  |
| วันที่ 3        | 0           | 1  | 2  | 2  | 3  | 2  | 1  |
| วันที่ 4        | 0           | 2  | 2  | 2  | 2  | 3  | 3  |
| วันที่ 5        | 1           | 2  | 3  | 1  | 1  | 2  | 2  |
| อัตราการตาย (%) | 10          | 70 | 70 | 60 | 80 | 90 | 80 |

หมายเหตุ: Control = ไม่ได้ฉีดเชื้อโรคเข้าไปในตัวปลา



ภาพที่ 7 แสดงอัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของปลานิลเมื่อฉีดเชื้อ โปรไบโอติกส์แต่ละไอโซเลท (*In vivo* test) จำนวนปลาเริ่มต้น 10 ตัวต่อตู้

การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 110 ไอโซเลท ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง (ภาพที่ 8) นำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคปลานิลได้ โดยมีวิธีการ Agar

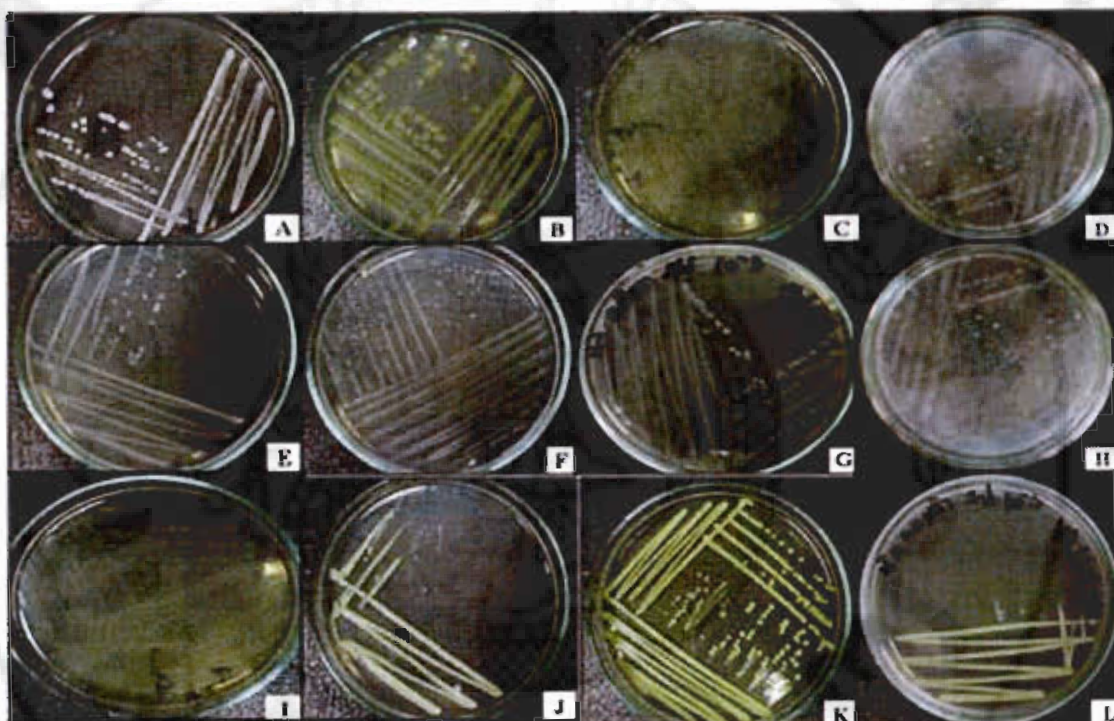
well diffusion มีจำนวนทั้งสิ้น 15 ไอโซเลท (ตารางที่ 7-8, ภาพที่ 9-11) หลังจากนั้นทำการ ทดสอบ คุณสมบัติของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ที่มีคุณสมบัติในการเป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์อันได้แก่ วิธีการทดสอบดังต่อไปนี้

ตารางที่ 7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่คัดแยกจากปลานิล น้ำ และ ตะกอนดินในจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงรายที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้

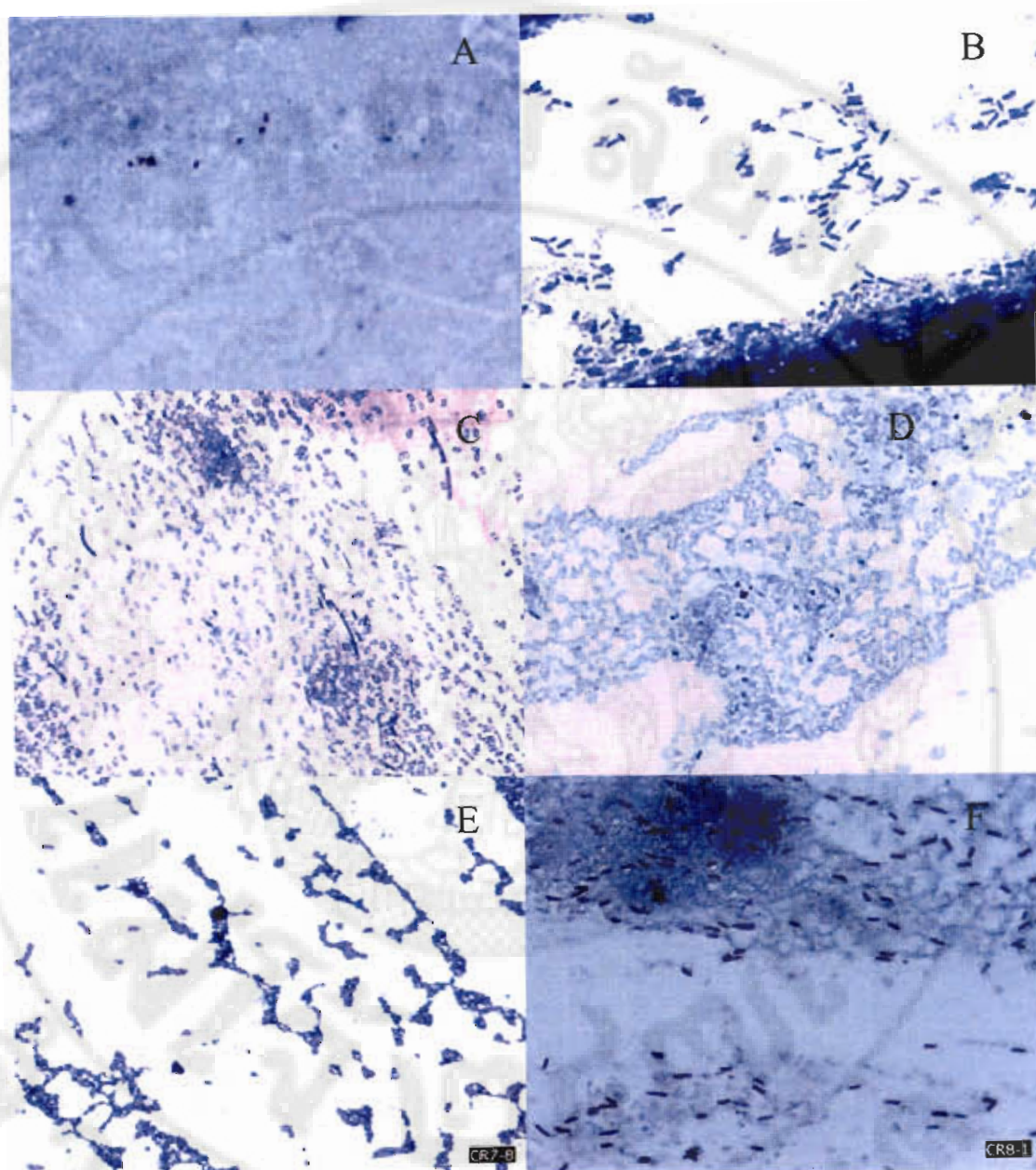
| ลำดับ<br>ที่ | สถานที่          | รหัส<br>ไอโซ<br>เลท | ลักษณะโคโลนี                                  | ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้<br>กล้องจุลทรรศน์                        |
|--------------|------------------|---------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| 1            | ลลิตา<br>ฟาร์ม   | CR1-2               | สีขาวขุ่น กลม มันวาว ผิว<br>เรียบ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์<br>เดี่ยว                          |
| 2            |                  | CR1-4               | สีขาวใส กลม ไม่มันวาว<br>ขอบเรียบ ผิวเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์<br>เดี่ยว                           |
| 3            | ศักดิ์<br>ฟาร์ม  | CR4-1               | สีขาว กลม มันวาวขอบ<br>เรียบ ผิวเรียบ         | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์<br>เดี่ยว สร้างสปอร์                |
| 4            | ทองคำ<br>ฟาร์ม   | CR7-1               | สีเหลืองเข้ม กลม มันวาว<br>ขอบเรียบ ผิวเรียบ  | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์<br>เดี่ยว สร้างสปอร์               |
| 5            |                  | CR7-8               | สีขาวขุ่น กลม มันวาวขอบ<br>เรียบ ผิวเรียบ     | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์<br>เดี่ยว หรืออยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม |
| 6            | จ่านงค์<br>ฟาร์ม | CR8-1               | สีขาวใส กลม มันวาวขอบ<br>เรียบ ผิวเรียบ       | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์<br>เดี่ยว สร้างสปอร์                |
| 7            |                  | CR8-3               | สีขาว กลม มันวาวขอบ<br>เรียบ ผิวหยาบ          | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์<br>เดี่ยว สร้างสปอร์               |
| 8            |                  | CR8-9               | สีเหลืองเข้ม กลม มันวาว<br>ขอบเรียบผิวเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์<br>เดี่ยว สร้างสปอร์                |
| 9            |                  | CR8-11              | สีเหลืองอ่อน กลม ขอบ<br>เรียบ ผิวเรียบ มันวาว | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่<br>ร่วมกันเป็นกลุ่ม                      |

ตารางที่ 7 ลักษณะฐานวิทยาของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่คัดแยกจาก ปลานิล น้ำ และ ตะกอนดินในจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย (ต่อ)

| ลำดับ<br>ที่ | สถานที่                       | รหัส<br>ไอโซ<br>เลข | ลักษณะโคโลนี                               | ลักษณะฐานวิทยาภายใต้<br>กล้องจุลทรรศน์            |
|--------------|-------------------------------|---------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 10           | นัยสิทธิ์<br>ฟาร์ม            | CR10-5              | สีขาวใส กลม ขอบเรียบ ผิว<br>หยาบ ไม่มันวาว | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์<br>เดี่ยว สร้างสปอร์ |
| 11           |                               | CR10-7              | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิว<br>หยาบ มันวาว      | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่<br>ร่วมกันเป็นกลุ่ม       |
| 12           |                               | CR10-8              | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิว<br>เรียบ มันวาว     | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์<br>เดี่ยว สร้างสปอร์ |
| 13           | ศูนย์วิจัย<br>และพัฒนา        | CM4-3               | สีขาวใส กลม ขอบเรียบ ผิว<br>เรียบ มันวาว   | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่<br>ร่วมกันเป็นกลุ่ม       |
| 14           | ประมงน้ำ<br>จืด               | CM4-6               | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิว<br>เรียบ มันวาว     | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่<br>ร่วมกันเป็นกลุ่ม       |
| 15           | เชียงใหม่<br>บุญธรรม<br>ฟาร์ม | CM5-2               | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิว<br>เรียบ มันวาว     | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์<br>เดี่ยว สร้างสปอร์ |

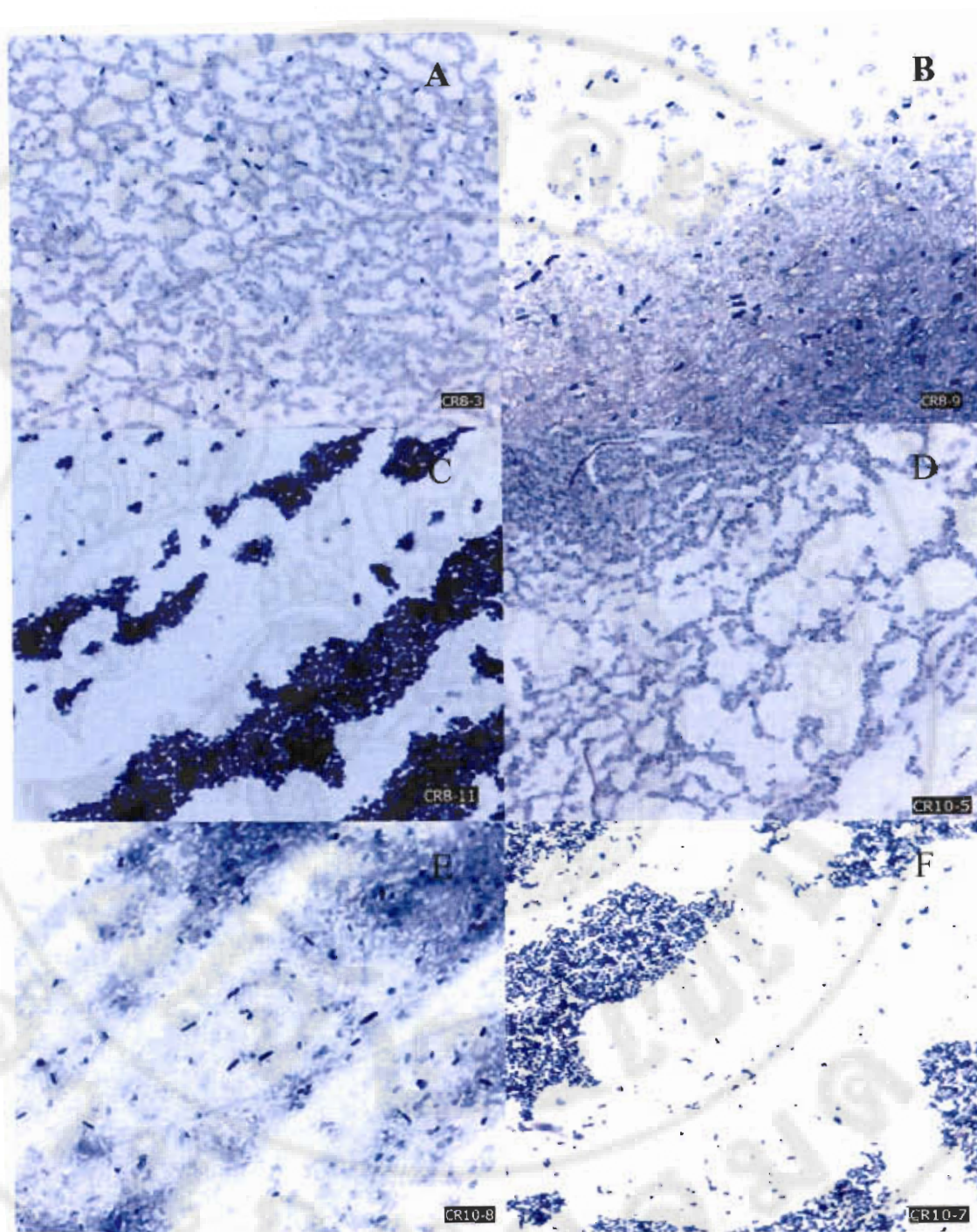


ภาพที่ 8 ลักษณะโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลาเน็ต



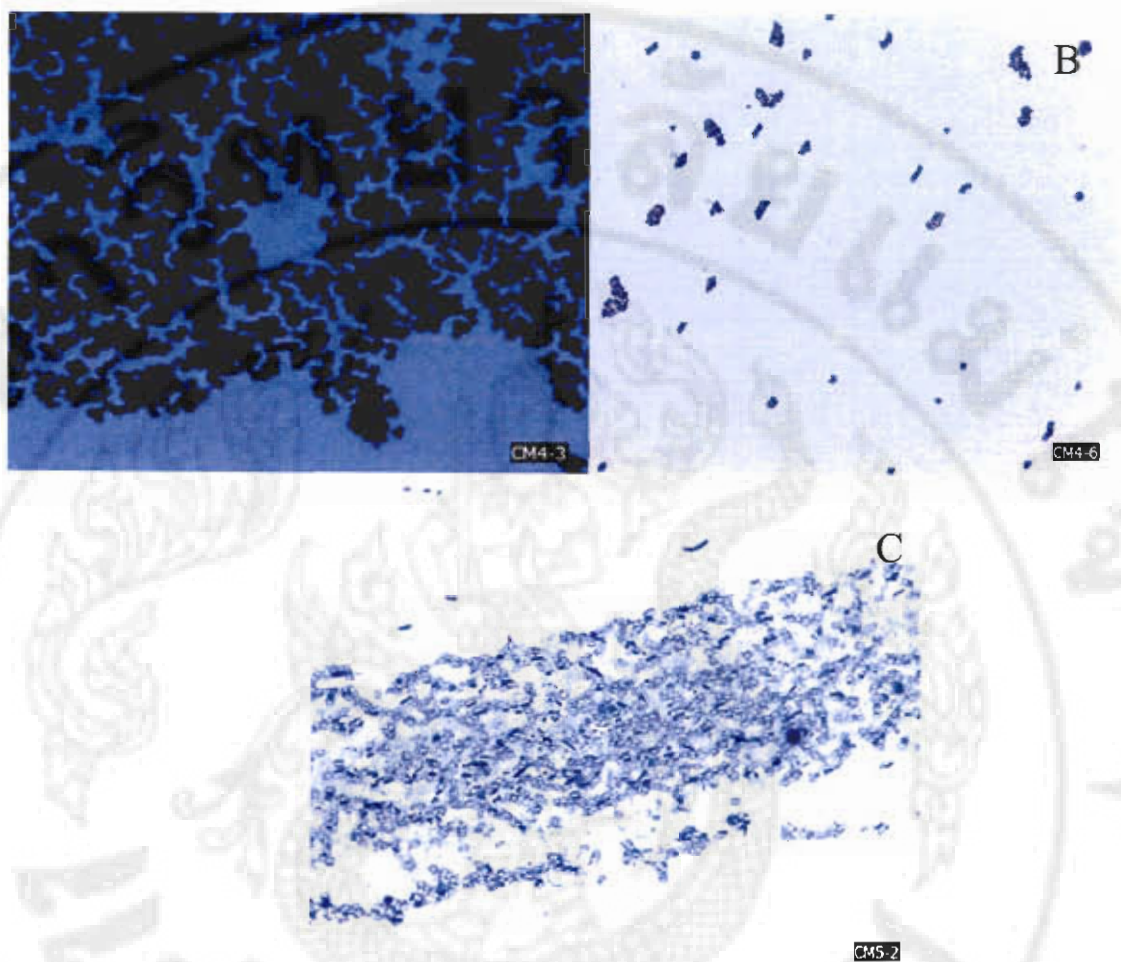
ภาพที่ 9 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเยื่อจูลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลานิล

- |                                      |                                    |
|--------------------------------------|------------------------------------|
| (A) CR1-2 ลิติดาฟาร์ม ไอโซเลทที่ 2   | (D) CR7-1 ทองคำฟาร์ม ไอโซเลทที่ 1  |
| (B) CR1-4 ลิติดาฟาร์ม ไอโซเลทที่ 4   | (E) CR7-8 ทองคำฟาร์ม ไอโซเลทที่ 8  |
| (C) CR4-1 ศักดิ์ดีฟาร์ม ไอโซเลทที่ 1 | (F) CR8-1 จำนงค์ฟาร์ม ไอโซเลทที่ 1 |



ภาพที่ 10 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลานิล

- |                                         |                                        |
|-----------------------------------------|----------------------------------------|
| (A) CR8-3 จำนวน 3 ฟาร์ม ไอโซเลตที่ 3    | (D) CR10-5 นัยสิทธิ์ฟาร์ม ไอโซเลตที่ 5 |
| (B) CR8-9 จำนวน 9 ฟาร์ม ไอโซเลตที่ 9    | (E) CR10-7 นัยสิทธิ์ฟาร์ม ไอโซเลตที่ 7 |
| (C) CR8-11 จำนวน 11 ฟาร์ม ไอโซเลตที่ 11 | (F) CR10-8 นัยสิทธิ์ฟาร์ม ไอโซเลตที่ 8 |



ภาพที่ 11 ลักษณะรูปร่างเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในพลาณิด

(A) CM4-3 ศูนย์วิจัยฯ ไอโซเลทที่ 3

(B) CM4-6 ศูนย์วิจัยฯ ไอโซเลทที่ 1

(C) CM5-2 บุญธรรมฟาร์ม ไอโซเลทที่ 2

ตารางที่ 8 ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาไนล์ โดยวิธีการ agar well diffusion  
(วัดความกว้าง Clear zone, เซนติเมตร)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์ |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |        |        |
|-------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
|             | CM4-3        | CM4-6 | CM5-2 | CR1-2 | CR1-4 | CR4-1 | CR7-1 | CR7-8 | CR8-1 | CR8-3 | CR8-9 | CR8-11 | CR10-5 | CR10-7 | CR10-8 |
| P1          | 0.70         | 1.00  | -     | 0.80  | 0.85  | -     | -     | -     | -     | -     | 0.80  | -      | -      | -      | 1.00   |
| P2          | 1.00         | 0.70  | -     | 1.40  | 1.25  | 0.90  | 1.15  | 0.70  | 1.05  | -     | 0.90  | 1.00   | 1.00   | 0.80   | 1.30   |
| P3          | 0.6          | 0.75  | 1.05  | 1.35  | 0.6   | 0.60  | 0.60  | 0.95  | 0.85  | 0.95  | 0.95  | 0.95   | 0.85   | 0.75   | 1.10   |
| P4          | 0.65         | 1.10  | 0.95  | 0.90  | 1.10  | 0.85  | 0.6   | 0.95  | 1.05  | 0.95  | 1.00  | 1.05   | 0.8.0  | 0.90   | 1.15   |
| P5          | 1.20         | 0.60  | -     | 0.75  | 0.95  | -     | -     | 0.60  | 1.00  | 0.95  | 0.80  | 0.95   | 0.60   | 0.95   | 1.50   |
| P6          | 0.70         | 0.60  | 0.75  | 1.20  | 1.10  | 1.30  | 0.80  | 0.80  | 0.80  | 0.85  | 0.95  | 0.70   | 0.70   | 0.60   | 1.25   |
| P7          | 1.05         | 1.00  | 1.00  | 1.50  | 1.00  | 0.95  | 1.00  | 1.00  | 0.85  | 1.15  | 0.85  | 1.00   | 0.95   | 0.70   | 1.00   |
| P8          | 0.60         | 0.65  | 1.15  | 1.50  | 0.60  | 0.95  | 0.75  | 0.90  | 0.70  | 0.85  | 0.90  | 1.00   | 1.00   | 0.60   | 1.15   |
| AH          | 0.70         | 0.75  | 0.60  | 0.85  | 0.70  | 0.80  | 0.70  | 0.95  | 0.95  | 0.65  | 0.80  | 0.95   | 1.00   | 0.65   | 0.95   |

หมายเหตุ : (-) ไม่สามารถยับยั้งไม่ได้

### 1. ตรวจสอบการเกิดโรคของเชื้อจุลินทรีย์ในสัตว์ทดลอง (*In vivo* test)

ตรวจสอบการเกิดโรคของเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 15 ไอโซเลตในปลานิล (*In vivo* test) เพื่อดูอัตราการรอดของปลานิล เป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่า CR1-2, CR10-5 และ CM4-3 มีอัตราการรอดสูงสุดเท่ากัน 80 เปอร์เซ็นต์ และ CR10-7 มีอัตราการรอดต่ำสุด 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 9, ภาพที่ 12)

**ตารางที่ 9** อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของปลานิลเมื่อนิยเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้แต่ละไอโซเลต (*In vivo* test) จำนวนปลาเริ่มต้น 10 ตัวต่อตู้

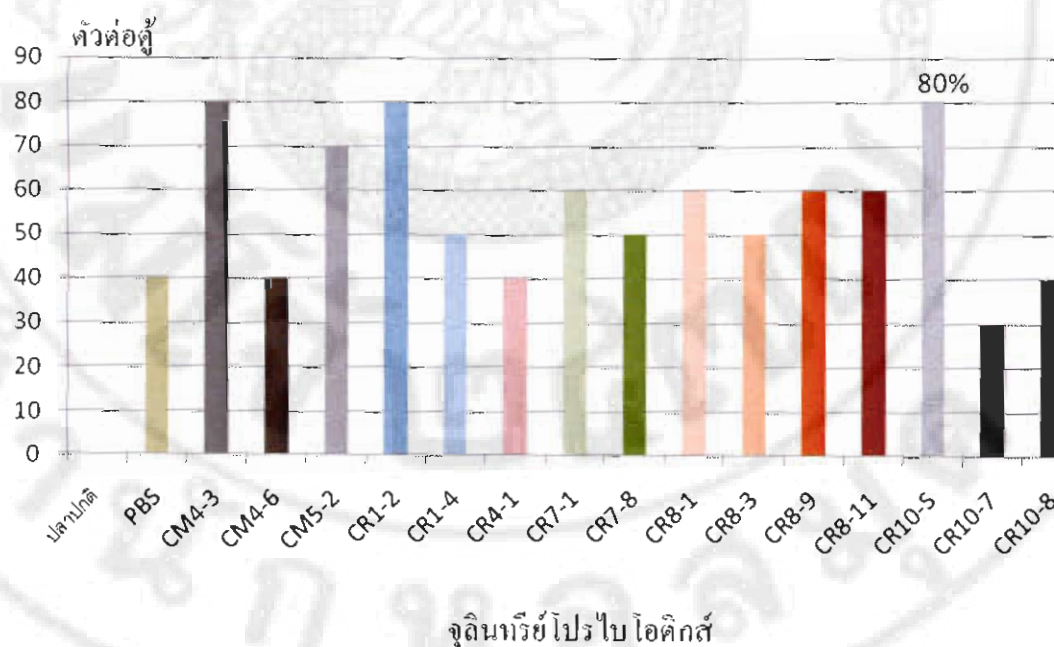
| โปรไบโอติกส์ | อัตราการรอดตาย |               |
|--------------|----------------|---------------|
|              | (ตัว)          | (เปอร์เซ็นต์) |
| ปลาปกติ      | 0              | 0             |
| PBS          | 4              | 40            |
| CM4-3        | 8              | 80            |
| CM4-6        | 4              | 40            |
| CM5-2        | 7              | 70            |
| CR1-2        | 8              | 80            |
| CR1-4        | 5              | 50            |
| CR4-1        | 4              | 40            |
| CR7-1        | 6              | 60            |
| CR7-8        | 5              | 50            |
| CR8-1        | 6              | 60            |

หมายเหตุ: ปลาปกติ = (ไม่มีการฉีดเชื้อโปรไบโอติกส์เข้าไป)

ตารางที่ 9 อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของปลานิลเมื่อฉีดเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้แต่ละ  
ไอโซเลท (*In vivo test*) จำนวนปลาเริ่มต้น 10 ตัวต่อตู้ (ต่อ)

| โปรไบโอติกส์ | อัตราการรอดตาย |               |
|--------------|----------------|---------------|
|              | (ตัว)          | (เปอร์เซ็นต์) |
| CR8-3        | 5              | 50            |
| CR8-9        | 6              | 60            |
| CR8-11       | 6              | 60            |
| CR10-5       | 8              | 80            |
| CR10-7       | 3              | 30            |
| CR10-8       | 4              | 40            |

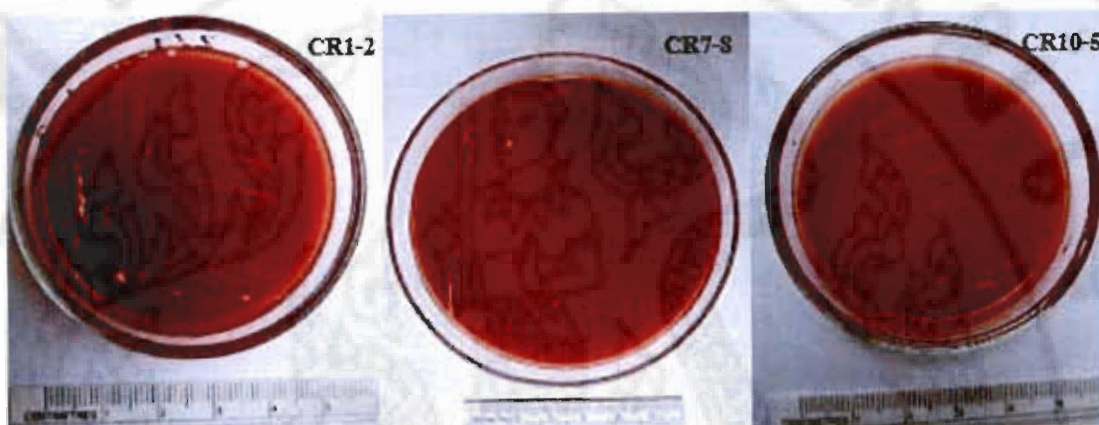
หมายเหตุ: ปลาปกติ = (ไม่มีการฉีดเชื้อโปรไบโอติกส์เข้าไป)



ภาพที่ 12 แสดงอัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของปลานิลเมื่อฉีดเชื้อโปรไบโอติกส์แต่ละ  
ไอโซเลท (*In vivo test*) จำนวนปลาเริ่มต้น 10 ตัวต่อตู้

## 2. การศึกษาปฏิบัติการเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง (Blood agar hemolysis)

ทดสอบปฏิบัติการแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดง (Hemolysis) จะทำการคัดเลือกเชื้อที่ไม่สามารถทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกได้ ซึ่งจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ทั้ง 15 ไอโซเลท ไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงแตกตัว (Non hemolysis) (ภาพที่ 13)

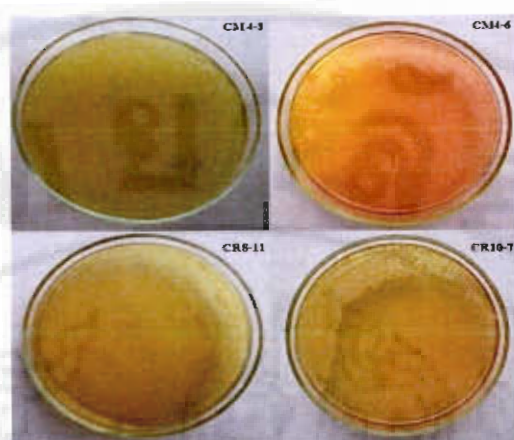


ภาพที่ 13 ปฏิบัติการแตกของเม็ดเลือดแดง (Blood agar hemolysis) ของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

## 3. การตรวจสอบสายพันธุ์แบคทีเรีย กลุ่ม *Staphylococci*

จากการตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococci* ที่ทำการคัดแยกได้ 4 ไอโซเลท (ตรวจสอบโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา) ได้แก่ CM4-3, CM4-6, CR8-11 และ CR10-7 ได้ผลดังนี้ แบคทีเรียที่ทำการคัดแยกได้ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Salt Agar และทำให้อาหารเปลี่ยนสีได้ จากอาหารสีชมพูเป็นสีเหลือง เนื่องจากแบคทีเรียมีการสร้างกรดทำให้ pH ของอาหารเปลี่ยนไป สรุปได้ว่า ทั้ง 4 ไอโซเลท ที่ทำการทดสอบเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ *Staphylococcus* ทั้งหมด (ภาพที่ 14)

แบคทีเรียในกลุ่ม *Staphylococci* ส่วนใหญ่มักจะเป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคในคน และสัตว์ หรือทำให้อาหารเน่าเสีย จึงไม่ควรใช้แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นโปรไบโอติกส์ (ถึงแม้ว่า *Staphylococcus* บางสายพันธุ์ จะใช้เป็นโปรไบโอติกส์ก็ตาม) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข 2554



ภาพที่ 14 การทดสอบปฏิกิริยาของสายพันธุ์แบคทีเรีย กลุ่ม Staphylococci

#### 4. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญ และยับยั้งเชื้อก่อโรค

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ ทั้ง 15 ไอโซเลท ไม่สามารถเจริญได้ใน pH 4 มีเพียง 2 ไอโซเลท ที่ไม่สามารถเจริญที่ระดับ pH 5 โดยสภาวะ pH ที่เหมาะสม คือ pH 7 นำอาหารส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง ไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค P4 และ P7 พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ CR1-2 และ CR4-1 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค P4 ได้ ที่ระดับ pH 5 มี Clear zone = 0.60 ซม. และที่ระดับ pH 7 มี Clear zone = 0.76 ซม. ที่ระดับ pH 8 มี Clear zone = 0.90 ซม. และที่ระดับ pH 9 มี Clear zone = 0.63 ซม. และเชื้อจุลินทรีย์ CM5-2, CR4-1, CR7-1 และ CR10-5 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค P7 ได้ ที่ระดับ pH 6 มี Clear zone = 0.92 ซม. ที่ระดับ pH 9 มี Clear zone = 1.00 ซม. ที่ระดับ pH 7 มี Clear zone = 1.12 ซม. pH 8 มี Clear zone = 0.93 ซม. ที่ระดับ pH 9 มี Clear zone = 1.00 ซม. และที่ระดับ pH 7 มี Clear zone = 1.00 ซม. ตามลำดับ เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์มีความสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคเมื่อในระดับ pH ที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 การเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับพีเอชแตกต่างกัน

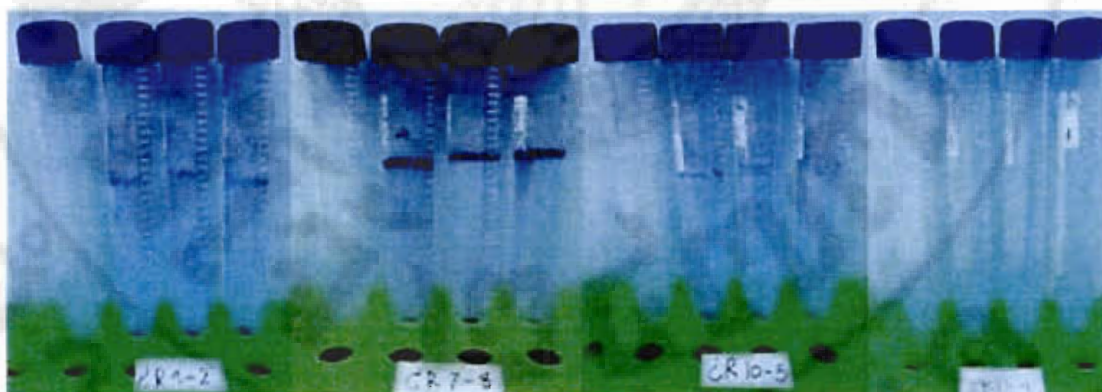
### 5. การทดสอบความสามารถในการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

สังเกตการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่น 100 เปอร์เซ็นต์ ของการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในหลอดทดลอง พบว่า เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR8-1, CR1-2 และ CR7-8 มีการยึดเกาะกับผนังหลอดทดลองได้ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อโปรไบโอติกส์ที่มีการยึดเกาะได้น้อยที่สุด ได้แก่ CR1-4 โดยยึดเกาะได้เพียง 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 10 ภาพที่ 16)

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์ในการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในหลอดพลาสติก

| เชื้อโปรไบโอติกส์     | CM  | CR  | CR  | CR  | CR  | CR  | CR  | CR  | CR  | CR   | CR   |
|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|
|                       | 5-2 | 1-2 | 1-4 | 4-1 | 7-1 | 7-8 | 8-1 | 8-3 | 8-9 | 10-5 | 10-8 |
| เปอร์เซ็นต์การเกาะติด | 40  | 80  | 30  | 70  | 70  | 80  | 80  | 60  | 50  | 70   | 50   |

หมายเหตุ: ทำการทดลองเฉพาะเซลล์ที่มีลักษณะเป็นรูปแท่งสั้น และแก่งยาว



ภาพที่ 16 การทดสอบประสิทธิภาพการเกาะติดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในหลอดทดลอง

### การศึกษาประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลานิลโดยใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่น

คัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์ ที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ มีประสิทธิภาพดีที่สุด สามารถเจริญในอาหารที่ทนต่อการดัดดี (pH ต่ำ) หรือเป็นด่างได้ดี (pH สูง) สามารถเกาะติดที่ผนังหลอดทดลองได้ดีที่สุด และไม่ทำให้ปลาตาย โดยทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ CR1-2, CR7-8 และ CR10-5 ทำการเพาะเลี้ยงปลานิลใน

กระชังโดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เหมาะสม และไม่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์แต่ละชนิด (ชุดควบคุม) แก่ปลานิลเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่า

### 1 การเจริญเติบโตของปลานิลในกระชัง

1.1 น้ำหนักปลา เมื่อเริ่มต้นทดลองน้ำหนักเฉลี่ยรวมของปลานิลอยู่ในช่วง  $12.41 \pm 0.05$  ถึง  $12.90 \pm 0.09$  กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่คัดเลือกไว้ ทั้ง 3 สายพันธุ์ และชุดควบคุม พบว่า ค่าน้ำหนักเฉลี่ยของปลานิลที่เสริมจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ CR7-8 มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด  $430.39 \pm 8.30$  กรัม โดยอัตราการเจริญเติบโต มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม ( $P < 0.05$ ) (ตารางที่ 11)

1.2 ความยาวปลา เมื่อเริ่มต้นการทดลองความยาวเฉลี่ยของปลานิลอยู่ในช่วง  $2.52 \pm 0.01$  ถึง  $2.55 \pm 0.07$  เซนติเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ค่าความยาวของปลานิลที่เสริมจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ CR7-8 มีค่าความยาวเฉลี่ยสูงที่สุดโดยมีค่า  $10.33 \pm 0.14$  เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม ( $P < 0.05$ ) (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 น้ำหนักและความยาวของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean $\pm$ SE)

| โปรไบโอติกส์ | น้ำหนักเริ่มต้น<br>(กรัม) | น้ำหนักสุดท้าย<br>(กรัม) | ความยาวเริ่มต้น<br>(เซนติเมตร) | ความยาวสุดท้าย<br>(เซนติเมตร) |
|--------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Control      | $12.86 \pm 0.10$          | $292.83 \pm 10.17^d$     | $2.55 \pm 0.07$                | $6.60 \pm 0.10^d$             |
| CR1-2        | $12.41 \pm 0.05$          | $367.58 \pm 5.64^c$      | $2.52 \pm 0.02$                | $8.20 \pm 0.05^c$             |
| CR7-8        | $12.90 \pm 0.09$          | $430.39 \pm 8.30^a$      | $2.47 \pm 0.07$                | $10.33 \pm 0.14^a$            |
| CR10-5       | $12.68 \pm 0.05$          | $399.85 \pm 8.69^b$      | $2.52 \pm 0.01$                | $9.36 \pm 0.06^b$             |

หมายเหตุ พหุคูณชะยกกำลัง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในโปรไบโอติกส์แต่ละชนิด

1.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) พบว่า ในเดือนกันยายน ค่าSGR ของปลานิลที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR1-2 มีค่าสูงที่สุด  $5.42 \pm 0.22$  เปอร์เซ็นต์ต่อวัน โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) พบว่าอัตราการเจริญเติบโตในช่วงแรกของปลาในทุกชุดการทดลอง มีค่า SGR สูง หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) (เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean $\pm$ SE)

| โปรไบโอติกส์ | กันยายน              | ตุลาคม               | พฤศจิกายน             | ธันวาคม              |
|--------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| Control      | $2.14 \pm 0.21^{dB}$ | $1.87 \pm 0.11^{cB}$ | $2.85 \pm 0.13^{bA}$  | $2.33 \pm 0.08^{dB}$ |
| CR1-2        | $5.42 \pm 0.22^{aA}$ | $3.77 \pm 0.08^{aB}$ | $2.96 \pm 0.15^{bC}$  | $2.96 \pm 0.05^{cC}$ |
| CR7-8        | $3.81 \pm 0.05^{cA}$ | $3.01 \pm 0.01^{bC}$ | $3.84 \pm 0.09^{aA}$  | $3.48 \pm 0.07^{aB}$ |
| CR10-5       | $4.51 \pm 0.08^{bA}$ | $3.65 \pm 0.04^{aB}$ | $3.31 \pm 0.18^{bBC}$ | $3.23 \pm 0.07^{bC}$ |

หมายเหตุ พัยุณณะยกกำลังพิมพ์เล็ก แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในแต่ละชุดการทดลอง (แนวตั้ง) พัยุณณะยกกำลังพิมพ์ใหญ่ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในแต่ละเดือน (แนวนอน)

1.4 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Total biomass increase) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ในแต่ละชุดการทดลอง น้ำหนักปลามีค่าเพิ่มสูงขึ้นทุกๆ เดือน ตั้งแต่กันยายนถึงธันวาคม เมื่อพิจารณา พบว่า CR7-8 ทำให้ปลานิลมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด เมื่อสิ้นสุดการทดลอง  $418.24 \pm 8.22$  กรัม พบว่า อาหารที่ผสมโปรไบโอติกส์ แต่ละชนิด ทำให้ปลานิลมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นมากกว่าชนิดที่ไม่ผสมโปรไบโอติกส์ อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 คำนวณน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Total biomass increase) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)

| โปรไบโอติกส์ | กันยายน                   | ตุลาคม                    | พฤศจิกายน                  | ธันวาคม                    |
|--------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Control      | 64.21±6.29 <sup>dC</sup>  | 112.23±6.32 <sup>cB</sup> | 256.93±11.60 <sup>bA</sup> | 280.34±10.10 <sup>dA</sup> |
| CR1-2        | 162.63±6.63 <sup>aE</sup> | 226.53±4.51 <sup>aC</sup> | 266.48±13.34 <sup>bB</sup> | 355.31±5.63 <sup>cA</sup>  |
| CR7-8        | 114.3±1.58 <sup>cE</sup>  | 180.90±0.71 <sup>bC</sup> | 345.91±8.40 <sup>aB</sup>  | 418.24±8.22 <sup>aA</sup>  |
| CR10-5       | 135.5±2.41 <sup>bE</sup>  | 219.11±2.36 <sup>aC</sup> | 298.05±15.87 <sup>bB</sup> | 387.70±8.68 <sup>bA</sup>  |

หมายเหตุ พหุคูณชะงักกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ในแต่ละชุดการทดลอง (แนวตั้ง) พหุคูณชะงักกำลังพิมพ์ใหญ่ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ในแต่ละเดือน (แนวนอน)

**1.5 อัตราการรอดตาย (%Survival)** เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงปลานิลในกระชัง ด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-2, CR7-8 และ CR10-5 และชุดควบคุม เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ค่าอัตราการรอดตายของปลานิลที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR1-2 และ CR7-8 มีค่าอัตราการรอดตายสูงสุดคือ  $99.00\pm0.58$  เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ปลาที่ผสมด้วย CR10-5 และ ชุดควบคุม เท่ากับ  $93.33\pm1.33$  และ  $96.66\pm1.76$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า อัตราการรอดในทุกระชังการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) ซึ่งจำนวนปลาที่ตายเกิดจากการบอบช้ำจากการชั่งน้ำหนักสังเกตได้จากปลาตายหลังจากชั่งน้ำหนัก 1 วัน (ตารางที่ 14)

**1.6 อัตราการแลกเนื้อ (FCR)** เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงปลานิลในกระชังด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-2, CR7-8 และ CR10-5 และชุดควบคุม เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ค่าอัตราการแลกเนื้อของปลานิลที่ไม่ได้เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ (ชุดควบคุม) มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อสูง  $2.25\pm0.04$  มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่เสริมด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นๆ โดยมีค่าอยู่ในช่วง  $1.65\pm0.01$  ถึง  $1.80\pm0.02$  มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P<0.05$ ) แต่ไม่มีความแตกต่างภายในชุดการทดลอง (ตารางที่ 14)

**1.7 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER)** เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงปลานิลในกระชัง ด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ทั้ง 3 สายพันธุ์ และชุดควบคุม เป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลานิลที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR1-2 มีค่า

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงสุดที่  $0.61 \pm 0.04$  เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ CR7-8, CR10-5 และชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ  $0.58 \pm 0.00$ ,  $0.54 \pm 0.01$  และ  $0.49 \pm 0.01$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดย CR1-2 และ CR7-8 มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงกว่า CR10-5 และชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (ตารางที่ 14)

**1.8 Productive Protein Value (PPV)** เมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยงปลานิลในกระชัง พบว่าค่า PPV ของปลานิลที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR1-2 มีค่า PPV สูงที่สุด  $10.11 \pm 6.13$  อย่างไรก็ตาม PPV ในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (ตารางที่ 14)

**1.9 Productive Fat Value (PFV)** มีค่าคิดลบทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ในการวิเคราะห์ไขมันของเนื้อปลานิลเริ่มต้นการทดลองได้นำตัวอย่างของปลานิลทั้งตัว มาทำการวิเคราะห์หาไขมันเพราะปลานิลในระยะเริ่มต้นมีขนาดลำตัวเล็ก ไม่สามารถนำเนื้อปลานิลมาทำการวิเคราะห์หาไขมันได้ แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองสามารถนำเนื้อปลานิลมาวิเคราะห์ได้ ทำให้ค่าของไขมันเริ่มต้นมีค่าสูงกว่าค่าสิ้นสุดการทดลอง จึงทำให้ไม่สามารถหาค่า (PFV) ได้ ค่า PFV จึงมีค่าติดลบ (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 ค่าอัตราการรอดตาย อัตราการแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน Productive Protein Value (PPV) Productive Fat Value (PFV) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean $\pm$ SE)

| โปรไบโอติกส์ | Survival%        | FCR               | PER%                 | PPV%             | PFV%              |
|--------------|------------------|-------------------|----------------------|------------------|-------------------|
| Control      | $96.66 \pm 1.76$ | $2.25 \pm 0.04^a$ | $0.49 \pm 0.01^b$    | $6.07 \pm 2.80$  | $-41.69 \pm 3.18$ |
| CR1-2        | $99.00 \pm 0.58$ | $1.80 \pm 0.02^b$ | $0.61 \pm 0.04^a$    | $10.11 \pm 6.13$ | $-40.51 \pm 1.23$ |
| CR7-8        | $99.00 \pm 0.58$ | $1.65 \pm 0.01^c$ | $0.58 \pm 0.00^a$    | $6.69 \pm 3.41$  | $-41.93 \pm 1.46$ |
| CR10-5       | $93.33 \pm 1.33$ | $1.79 \pm 0.03^b$ | $0.54 \pm 0.01^{ab}$ | $6.06 \pm 3.74$  | $-41.69 \pm 0.25$ |

หมายเหตุ พหุชนะยกกำลัง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในแต่ละชนิดของโปรไบโอติกส์แต่ละชนิด

## 2. การเจริญเติบโตของปลานิลในตู้กระจก

2.1 น้ำหนักปลาเฉลี่ย น้ำหนักของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-2, CR7-8, CR10-5, PBS และชุดควบคุม และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิลทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ P4, P6 และ AH พบว่า น้ำหนักปลาเฉลี่ยต่อตัวเริ่มต้นการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง  $37.05 \pm 0.48$  ถึง  $37.64 \pm 0.48$  กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองก็พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยก็ไม่มี ความแตกต่างเช่นกัน (ตารางที่ 15)

2.2 ความยาวปลา ความยาวปลาเฉลี่ยต่อตัว ในขณะเริ่มต้นการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง  $13.99 \pm 0.05$  ถึง  $14.05 \pm 0.10$  เซนติเมตร พบว่า ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละชุดการทดลอง ( $P > 0.05$ ) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ความยาวปลาเฉลี่ยต่อตัวมีค่าอยู่ในช่วง  $14.41 \pm 0.49$  ถึง  $15.33 \pm 0.18$  เซนติเมตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 15 ค่าน้ำหนักปลาเฉลี่ย (กรัม) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean $\pm$ SE)

| เชื้อก่อโรค         | โปรไบโอติกส์     |                  |                  |                  |                  |
|---------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|                     | Control          | PBS              | CR1-2            | CR7-8            | CR10-5           |
| <b>ก่อนการทดลอง</b> |                  |                  |                  |                  |                  |
| P4                  | $37.50 \pm 0.48$ | $37.18 \pm 0.13$ | $37.54 \pm 0.18$ | $37.37 \pm 0.21$ | $37.30 \pm 0.15$ |
| P6                  | $37.50 \pm 0.48$ | $37.18 \pm 0.13$ | $37.64 \pm 0.48$ | $37.10 \pm 0.02$ | $37.24 \pm 0.14$ |
| AH                  | $37.50 \pm 0.48$ | $37.18 \pm 0.13$ | $37.05 \pm 0.48$ | $37.10 \pm 0.02$ | $37.56 \pm 0.14$ |
| <b>หลังการทดลอง</b> |                  |                  |                  |                  |                  |
| P4                  | $38.66 \pm 0.47$ | $38.48 \pm 0.51$ | $38.61 \pm 0.13$ | $37.47 \pm 0.69$ | $38.36 \pm 0.20$ |
| P6                  | $38.66 \pm 0.47$ | $38.48 \pm 0.51$ | $38.21 \pm 0.70$ | $38.66 \pm 0.44$ | $38.91 \pm 0.51$ |
| AH                  | $38.66 \pm 0.47$ | $38.48 \pm 0.51$ | $37.85 \pm 0.28$ | $38.62 \pm 0.22$ | $37.88 \pm 0.87$ |

ตารางที่ 16 ความยาวปลาเฉลี่ย (เซนติเมตร) ที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิลในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค         | โปรไบโอติกส์ |            |            |            |            |
|---------------------|--------------|------------|------------|------------|------------|
|                     | Control      | PBS        | CR1-2      | CR7-8      | CR10-5     |
| <b>ก่อนการทดลอง</b> |              |            |            |            |            |
| P4                  | 13.51±0.28   | 13.44±0.30 | 13.99±0.05 | 13.99±0.05 | 14.05±0.10 |
| P6                  | 13.51±0.28   | 13.44±0.30 | 13.80±0.01 | 13.87±0.03 | 13.71±0.14 |
| AH                  | 13.51±0.28   | 13.44±0.30 | 13.86±0.20 | 13.46±0.19 | 13.69±0.25 |
| <b>หลังการทดลอง</b> |              |            |            |            |            |
| P4                  | 14.81±0.31   | 14.41±0.49 | 14.91±0.11 | 14.95±0.11 | 15.08±0.33 |
| P6                  | 14.81±0.31   | 14.41±0.49 | 15.33±0.18 | 15.13±0.10 | 14.99±0.21 |
| AH                  | 14.81±0.31   | 14.41±0.49 | 15.25±0.13 | 14.86±0.13 | 14.65±0.47 |

2.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อตัว (SGR) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-2, CR7-8, CR10-5, PBS และชุดควบคุม และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล 3 สายพันธุ์ ได้แก่ P4, P6 และ AH พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิล มีค่าอยู่ในช่วง  $0.007 \pm 0.017$  ถึง  $0.036 \pm 0.007$  กรัมต่อวัน ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 17 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (กรัมต่อวัน) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์ |             |             |             |             |
|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|             | Control      | PBS         | CR1-2       | CR7-8       | CR10-5      |
| P4          | 0.026±0.003  | 0.030±0.010 | 0.023±0.007 | 0.003±0.012 | 0.023±0.009 |
| P6          | 0.026±0.003  | 0.030±0.010 | 0.013±0.012 | 0.020±0.012 | 0.036±0.007 |
| AH          | 0.026±0.003  | 0.030±0.010 | 0.018±0.009 | 0.026±0.001 | 0.007±0.017 |

2.4 อัตราการรอด (เปอร์เซ็นต์) พบว่า อัตราการรอดของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมด้วย จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ทั้ง 3 สายพันธุ์มีอัตราการรอด ไม่มีความแตกต่างกัน ( $P>0.05$ ) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีการฉีดเชื้อก่อโรคเข้าไป (Control P) พบว่า อัตราการรอดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) โดยชุด Control P ปลานิลหลังจากฉีดเชื้อก่อโรค ดายทั้งหมด หลังจากฉีดเชื้อเป็นระยะเวลา 4 วัน (ตารางที่ 18)

2.5 อัตราการแลกเนื้อ (FCR) อัตราการแลกเนื้อของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมด้วย จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR10-5 ที่ฉีดเชื้อก่อโรค P4 และ AH มีค่าอยู่ที่  $1.93\pm0.03$  กรัมต่อวัน มีความแตกต่างกับ PBS และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ส่วน (P6) พบว่า ค่า FCR ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม PBS มีค่า FCR สูง  $2.25\pm0.075$  มีความแตกต่างทางสถิติกับชุด การทดลอง ( $P<0.05$ ) แต่ไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุม ( $P>0.05$ ) และ AH พบว่า ค่า FCR ของ ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR1-2 และ CR10-5 มีค่า FCR ต่ำ  $1.93\pm0.029$  มีความแตกต่างกับ PBS และชุดควบคุม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 18 อัตราการรอดของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean $\pm$ SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์     |                  |                  |
|-------------|------------------|------------------|------------------|
|             | P4               | P6               | AH               |
| Control     | $66.66\pm8.33^a$ | $66.66\pm8.33^a$ | $66.66\pm8.33^a$ |
| Control P   | $0.00\pm0.00^b$  | $0.00\pm0.00^b$  | $0.00\pm0.00^b$  |
| PBS         | $66.66\pm8.33^a$ | $66.66\pm8.33^a$ | $66.66\pm8.33^a$ |
| CR1-2       | $75.00\pm0.00^a$ | $75.00\pm0.00^a$ | $75.00\pm0.00^a$ |
| CR7-8       | $83.33\pm8.33^a$ | $75.00\pm0.00^a$ | $75.00\pm0.00^a$ |
| Cr10-5      | $66.66\pm8.33^a$ | $75.00\pm0.00^a$ | $66.66\pm8.33^a$ |

หมายเหตุ พหุคูณชนัยกำลังตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) ใน (แนวตั้ง)

ตารางที่ 19 อัตราการแลกเนื้อ (FCR) กรัมต่อวัน ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์             |                         |                          |                          |                         |
|-------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
|             | Control                  | PBS                     | CR1-2                    | CR7-8                    | CR10-5                  |
| P4          | 2.11±0.04 <sup>abA</sup> | 2.25±0.08 <sup>aA</sup> | 2.01±0.04 <sup>bcA</sup> | 1.96±0.05 <sup>bcA</sup> | 1.93±0.03 <sup>cA</sup> |
| P6          | 2.11±0.04 <sup>abA</sup> | 2.25±0.08 <sup>aA</sup> | 1.96±0.01 <sup>bA</sup>  | 1.94±0.03 <sup>bA</sup>  | 1.94±0.09 <sup>bA</sup> |
| AH          | 2.11±0.04 <sup>abA</sup> | 2.25±0.08 <sup>aA</sup> | 1.93±0.02 <sup>cA</sup>  | 1.98±0.06 <sup>bcA</sup> | 1.93±0.03 <sup>cA</sup> |

2.6 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) พบว่า ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีค่าอยู่ในช่วง 0.15±0.013 ถึง 0.20±0.025 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) กับชุดควบคุม (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์ |            |            |            |            |
|-------------|--------------|------------|------------|------------|------------|
|             | Control      | PBS        | CR1-2      | CR7-8      | CR10-5     |
| P4          | 0.18±0.032   | 0.19±0.044 | 0.16±0.003 | 0.16±0.003 | 0.16±0.003 |
| P6          | 0.18±0.032   | 0.19±0.044 | 0.15±0.013 | 0.17±0.003 | 0.17±0.003 |
| AH          | 0.18±0.032   | 0.19±0.044 | 0.20±0.025 | 0.17±0.006 | 0.20±0.025 |

2.7 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Total biomass increase) พบว่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัว มีค่าอยู่ในช่วง 0.50±0.30 ถึง 1.15±0.08 กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันกับชุดควบคุม ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 คำนวณน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัว ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ เดือน (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์ |           |           |           |           |
|-------------|--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|             | Control      | PBS       | CR1-2     | CR7-8     | CR10-5    |
| P4          | 1.15±0.08    | 0.99±0.68 | 1.08±0.28 | 1.16±0.37 | 0.87±0.25 |
| P6          | 1.15±0.08    | 0.99±0.68 | 0.65±0.15 | 0.50±0.30 | 1.05±0.16 |
| AH          | 1.15±0.08    | 0.99±0.68 | 0.97±0.09 | 0.86±0.34 | 0.61±0.18 |

2.8 Productive Protein Value (PPV) พบว่าค่า PPV มีอยู่ในช่วง -5.07±3.31 ถึง 4.36±3.73 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 22)

2.9 Productive Fat Value (PFV) พบว่าค่า PFV มีค่าอยู่ในช่วง 12.50±3.57 ถึง 19.68±4.02 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันกับชุดควบคุม ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 23)

ตารางที่ 22 Productive Protein Value (PPV) ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม จุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิลในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์ |            |            |            |            |
|-------------|--------------|------------|------------|------------|------------|
|             | Control      | PBS        | CR1-2      | CR7-8      | CR10-5     |
| P4          | 0.65±3.17    | -0.93±6.36 | -5.07±3.31 | -3.14±3.79 | -4.60±3.64 |
| P6          | 0.65±3.17    | -0.93±6.36 | -4.14±4.73 | -0.40±3.63 | 4.36±3.73  |
| AH          | 0.65±3.17    | -0.93±6.36 | 0.28±3.13  | -2.30±0.45 | -5.44±1.24 |

ตารางที่ 23 Productive Fat Value (PFV) ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์ |            |            |            |            |
|-------------|--------------|------------|------------|------------|------------|
|             | Control      | PBS        | CR1-2      | CR7-8      | CR10-5     |
| P4          | 17.65±4.51   | 13.60±1.08 | 13.00±1.80 | 18.90±2.03 | 17.23±1.14 |
| P6          | 17.65±4.51   | 13.60±1.08 | 18.31±0.94 | 14.87±1.15 | 19.68±4.02 |
| AH          | 17.65±4.51   | 13.60±1.08 | 12.08±0.60 | 14.07±0.57 | 12.50±3.57 |

#### การวิเคราะห์คุณภาพน้ำบางประการ

##### 1. คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลานิลในกระชัง

1.1 อุณหภูมิ น้ำ ในบ่อเพาะเลี้ยงปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมด้วยจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-2, CR7-8 และ CR10-5 และชุดควบคุม พบว่าค่าอุณหภูมิ น้ำ ในระหว่างเดือนกันยายนถึงธันวาคม มีค่าอยู่ในช่วง 28.36±0.08 ถึง 31.28±0.08 อุณหภูมิ น้ำ เริ่มสูงขึ้นในเดือนตุลาคมมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) เพราะในช่วงเดือน ตุลาคมเป็นช่วงปรับเปลี่ยนฤดูกาลจากฤดูร้อน และหนาว และอุณหภูมิ น้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ในเดือนพฤศจิกายนจนถึงสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 24)

ตารางที่ 24 ค่าอุณหภูมิ น้ำ (องศาเซลเซียส) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)

| โปรไบโอติกส์ | กันยายน                  | ตุลาคม                   | พฤศจิกายน                | ธันวาคม                  |
|--------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Control      | 29.24±0.05 <sup>bb</sup> | 31.00±0.06 <sup>ba</sup> | 28.68±0.05 <sup>ac</sup> | 28.66±0.12 <sup>ac</sup> |
| CR1-2        | 29.22±0.08 <sup>bb</sup> | 31.28±0.08 <sup>aa</sup> | 28.83±0.05 <sup>ac</sup> | 28.67±0.11 <sup>ac</sup> |
| CR7-8        | 29.71±0.09 <sup>aa</sup> | 30.55±0.09 <sup>ca</sup> | 28.87±0.14 <sup>ab</sup> | 28.39±0.07 <sup>ac</sup> |
| CR10-5       | 29.89±0.07 <sup>aa</sup> | 29.93±0.09 <sup>da</sup> | 28.59±0.05 <sup>aa</sup> | 26.26±2.13 <sup>ab</sup> |

1.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในบ่อเพาะเลี้ยงปลานิล พบว่า ค่า pH เริ่มต้นในเดือน กันยายน และเดือนธันวาคม ค่า pH ไม่มีความแตกต่างกันกับชุดควบคุม ค่า pH อยู่ในช่วง

7.48±0.02 ถึง 7.55±0.00 และ 7.45±0.02 ถึง 7.52±0.05 ส่วนในเดือนตุลาคม และพฤศจิกายน มีความแตกต่างกันกับชุดการทดลอง ( $P<0.05$ ) แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับชุดควบคุม ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 25 ความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)

| โปรไบโอติกส์ | กันยายน                 | ตุลาคม                   | พฤศจิกายน                | ธันวาคม                 |
|--------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Control      | 7.55±0.06 <sup>aB</sup> | 7.96±0.08 <sup>aA</sup>  | 7.65±0.05 <sup>bB</sup>  | 7.46±0.03 <sup>aB</sup> |
| CR1-2        | 7.48±0.02 <sup>aB</sup> | 7.73±0.07 <sup>abA</sup> | 7.60±0.09 <sup>bB</sup>  | 7.51±0.04 <sup>aB</sup> |
| CR7-8        | 7.48±0.11 <sup>aB</sup> | 7.65±0.09 <sup>bB</sup>  | 8.09±0.09 <sup>aA</sup>  | 7.52±0.05 <sup>aB</sup> |
| CR10-5       | 7.51±0.01 <sup>aC</sup> | 7.71±0.10 <sup>abB</sup> | 7.86±0.10 <sup>abA</sup> | 7.45±0.02 <sup>aC</sup> |

หมายเหตุ พหุคูณชนัยกำลังพิมพ์เล็ก แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ในแต่ละชุดการทดลอง (แนวนอน) พหุคูณชนัยกำลังพิมพ์ใหญ่ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ในแต่ละเดือน (แนวนอน)

1.3 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) mg/l ในบ่อเพาะเลี้ยงปลานิล พบว่า ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ตลอดระยะเวลาการทดลอง มีค่าอยู่ในช่วง 3.83±0.03 ถึง 8.06±0.18 อุณหภูมิในบ่อเพิ่มขึ้น และลดลงตามสภาพอากาศในแต่ละวัน ในเดือนตุลาคมสภาพอากาศร้อน ในชุดควบคุม อยู่ใกล้กับทางน้ำเข้า กระแสน้ำที่ไหลเข้ามาทำให้น้ำบริเวณกระชัง ชุดควบคุม มีค่า DO สูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ประกอบกับบริเวณกระชังมีการเจริญของแพลงก์ตอนพืชมากกว่าชุดการทดลองอื่น ส่งผลให้ค่า DO สูงขึ้น (ตารางที่ 26)

ตารางที่ 26 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำในบ่อเลี้ยงปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)

| โปรไบโอติกส์ | กันยายน                 | ตุลาคม                  | พฤศจิกายน               | ธันวาคม                 |
|--------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Control      | 4.90±0.26 <sup>aC</sup> | 8.06±0.18 <sup>aA</sup> | 6.46±0.19 <sup>aB</sup> | 6.86±0.09 <sup>aB</sup> |
| CR1-2        | 3.83±0.03 <sup>bC</sup> | 5.43±0.23 <sup>bB</sup> | 6.16±0.09 <sup>aA</sup> | 6.33±0.07 <sup>bA</sup> |
| CR7-8        | 4.73±0.09 <sup>aC</sup> | 5.40±0.10 <sup>bB</sup> | 4.60±0.06 <sup>bA</sup> | 6.16±0.12 <sup>bA</sup> |
| CR10-5       | 4.96±0.09 <sup>aC</sup> | 5.63±0.27 <sup>bB</sup> | 6.20±0.06 <sup>aC</sup> | 6.50±0.15 <sup>bA</sup> |

หมายเหตุ พืชระยะยกกำลังพิมพ์เล็ก แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ในแต่ละชุดการทดลอง (แนวตั้ง) พืชระยะยกกำลังพิมพ์ใหญ่ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ในแต่ละเดือน (แนวนอน)

**1.4 ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity)** ในบ่อเพาะเลี้ยงปลานิล พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง  $22.16 \pm 0.58$  ถึง  $56.54 \pm 0.49$  (mg/l) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ค่าความเป็นด่างเริ่มมีความแตกต่างกันตั้งแต่สองเดือนแรกของการทดลอง และเริ่มมีค่าความเป็นด่างสูงขึ้นในเดือนพฤศจิกายนจนถึงสิ้นสุดการทดลอง (ตารางที่ 27)

ตารางที่ 27 ความเป็นด่าง (Alkalinity) mg/l ในบ่อเลี้ยงปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริม จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean $\pm$ SE)

| โปรไบโอติกส์ | กันยายน               | ตุลาคม                | พฤศจิกายน             | ธันวาคม               |
|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Control      | $29.36 \pm 0.11^{bD}$ | $46.59 \pm 0.52^{aC}$ | $56.54 \pm 0.49^{aA}$ | $48.44 \pm 0.51^{cB}$ |
| CR1-2        | $32.22 \pm 0.07^{aD}$ | $46.22 \pm 0.55^{aC}$ | $52.02 \pm 1.02^{bB}$ | $55.54 \pm 0.21^{aA}$ |
| CR7-8        | $22.16 \pm 0.58^{dD}$ | $39.55 \pm 0.26^{cC}$ | $55.43 \pm 1.06^{aA}$ | $52.25 \pm 0.88^{bB}$ |
| CR10-5       | $27.13 \pm 0.22^{cC}$ | $42.04 \pm 0.22^{bB}$ | $51.12 \pm 0.17^{bA}$ | $51.47 \pm 0.31^{bA}$ |

หมายเหตุ พืชระยะยกกำลังตัวพิมพ์เล็ก แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ใน (แนวตั้ง) พืชระยะยกกำลังตัวพิมพ์ใหญ่ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ใน (แนวนอน)

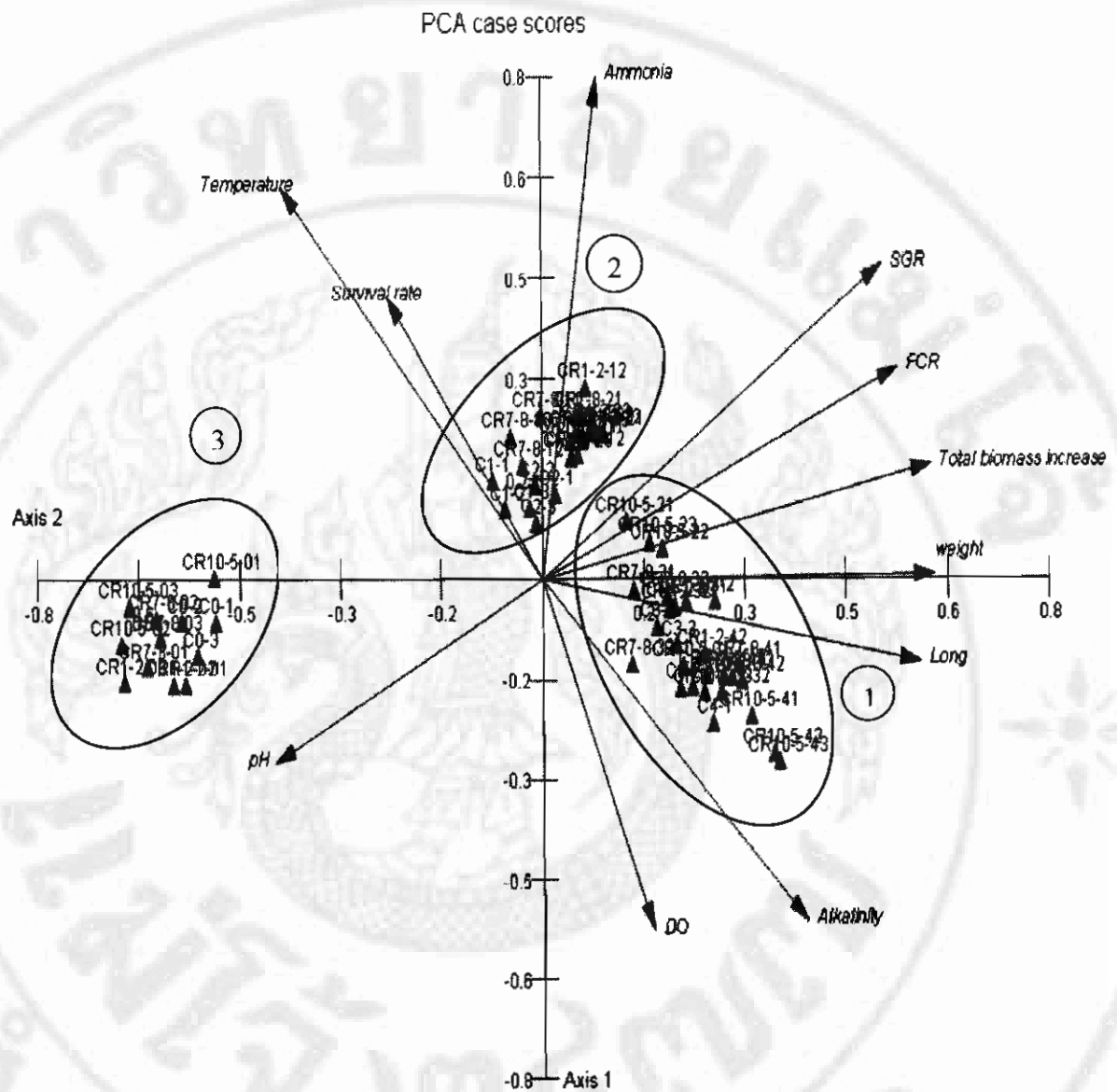
**1.5 แอมโมเนีย ( $NH_3$ )** ปริมาณแอมโมเนียในบ่อเพาะเลี้ยงปลานิล พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง  $0.0294 \pm 0.001$  ถึง  $0.0066 \pm 0.000$  mg/l ในแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) ตั้งแต่สามเดือนแรกของการทดลอง และแอมโมเนียมีค่าสูงสุดในเดือนตุลาคม และเริ่มลดลงในเดือนธันวาคม (ตารางที่ 28)

ตารางที่ 28 ปริมาณแอมโมเนียในบ่อเลี้ยงปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์  
โปรไบโอติกส์ ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean±SE)

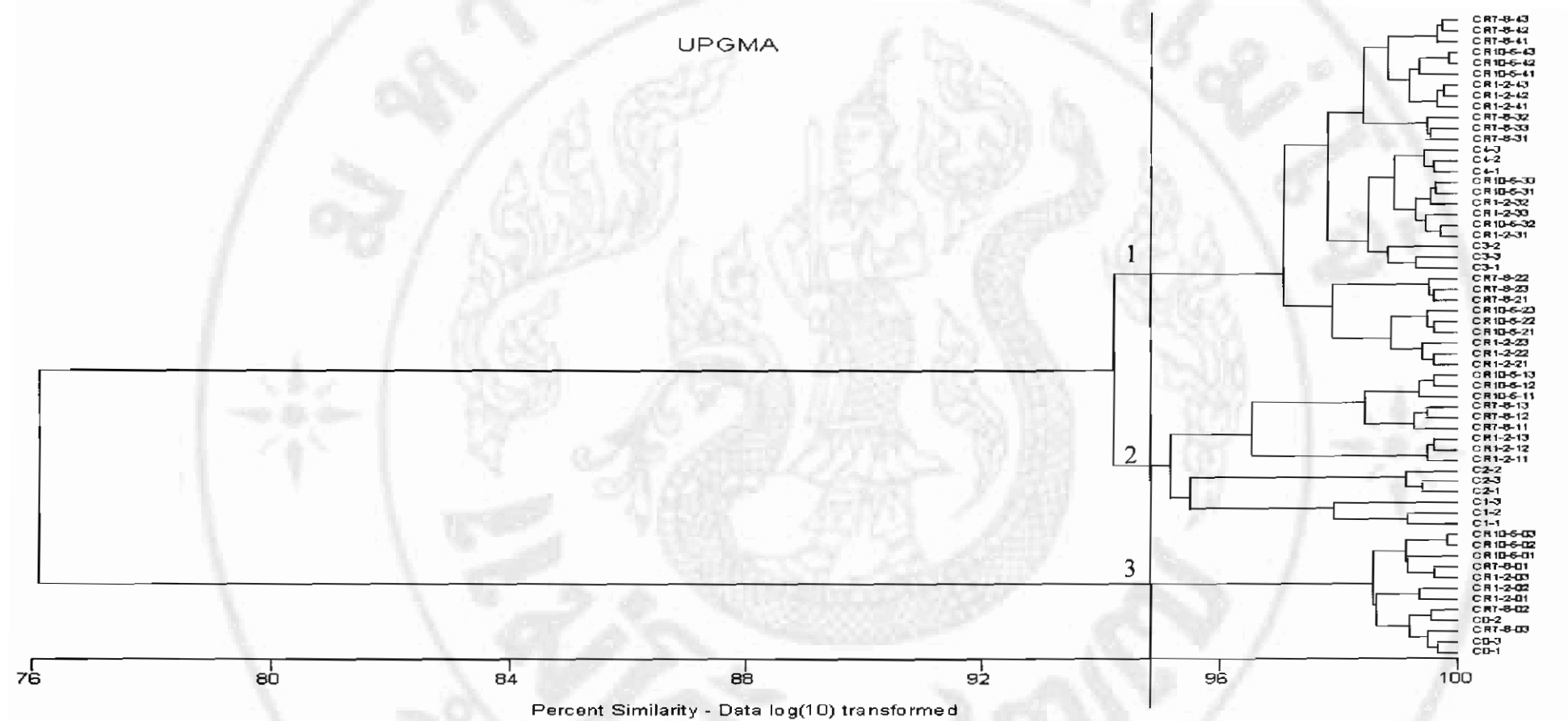
| โปรไบโอติกส์   | กันยายน                    | ตุลาคม                     | พฤศจิกายน                   | ธันวาคม                    |
|----------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| <b>Control</b> | 0.013±0.0005 <sup>bb</sup> | 0.029±0.0017 <sup>aA</sup> | 0.014±0.0000 <sup>abB</sup> | 0.011±0.0056 <sup>aB</sup> |
| <b>CR1-2</b>   | 0.013±0.0018 <sup>ba</sup> | 0.023±0.0005 <sup>ba</sup> | 0.015±0.0001 <sup>aA</sup>  | 0.007±0.0001 <sup>aA</sup> |
| <b>CR7-8</b>   | 0.013±0.0005 <sup>bb</sup> | 0.025±0.0005 <sup>ba</sup> | 0.009±0.0030 <sup>bbC</sup> | 0.006±0.0002 <sup>aC</sup> |
| <b>CR10-5</b>  | 0.019±0.0009 <sup>aB</sup> | 0.023±0.0004 <sup>ba</sup> | 0.015±0.0008 <sup>aC</sup>  | 0.007±0.0000 <sup>aD</sup> |

หมายเหตุ พหุคูณชนัยกำลังตัวพิมพ์เล็ก แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ใน (แนวตั้ง) พหุคูณชนัยกำลังตัวพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ( $P<0.05$ ) ใน (แนวนอน)

2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต และคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลานิลในกระชัง  
ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของปลานิล และคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยง  
ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในระหว่างเดือนกันยายนถึง  
ธันวาคม 2555 โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์หลายตัวแปร (Multi variate analysis) โดยใช้  
โปรแกรม MVSP Version 3.1 สามารถสร้างกราฟการกระจาย (Scatter plot) (ภาพที่ 17 ) โดย Axis  
1 (แกน x) และ Axis 2 (แกน y) โดยค่า Eigen value ของทั้งสองแกนมีค่าเท่ากับ 5.836 และ 1.663  
โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ ความแปรปรวนรวมทั้งสองแกนเท่ากับ 68.18 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเราสามารถจัดกลุ่ม  
ความสัมพันธ์ของแต่ละชุดการทดลอง ในการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้ง ได้ออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ โดย  
พบว่า กลุ่มที่ 1 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ SGR, FCR, Total Biomass increase, weight, Long,  
Alkalinity และ DO สมาชิกในกลุ่มที่ 2 มีความสัมพันธ์เชิงบวก กับ  $\text{NH}_3$ , Temperature และ  
เปอร์เซ็นต์อัตราการรอด ในขณะที่กลุ่มที่ 3 มีความสัมพันธ์เชิงลบกับกลุ่มที่ 1 และ 2 จากข้อมูล  
ดังกล่าว จัดกลุ่ม (Cluster analysis) โดยสร้างเป็น Dendogram UPGMA ได้ดัง (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 17 กราฟการกระจาย (Scatter plot) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต และคุณภาพน้ำในกระชังระหว่างเดือนกันยายน ถึง ธันวาคม 2555



ภาพที่ 18 กราฟการกระจาย (Scatter plot) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต และคุณภาพน้ำในกระชังระหว่างเดือนกันยายนถึงธันวาคม 2555

### 3. คุณภาพน้ำบางประการในตู้กระจก

**3.1 อุณหภูมิ** น้ำอุณหภูมิในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-2, CR7-8, CR10-5, PBS และชุดควบคุม และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล P4, P6 และ AH พบว่า อุณหภูมิมีค่าอยู่ในช่วง  $27.86 \pm 0.035$  ถึง  $28.03 \pm 0.03$  องศาเซลเซียส มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) อุณหภูมิมีค่าสูงในชุดการทดลอง CR7-8 (ตารางที่ 29)

ตารางที่ 29 อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิลในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean $\pm$ SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์           |                        |                        |                       |                       |
|-------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
|             | Control                | PBS                    | CR1-2                  | CR7-8                 | CR10-5                |
| P4          | $27.90 \pm 0.57^{aA}$  | $27.86 \pm 0.08^{aA}$  | $27.96 \pm 0.03^{aA}$  | $28.00 \pm 0.11^{aA}$ | $27.80 \pm 0.05^{aA}$ |
| P6          | $27.90 \pm 0.57^{aA}$  | $27.86 \pm 0.08^{aA}$  | $27.96 \pm 0.03^{aA}$  | $27.86 \pm 0.03^{aA}$ | $27.93 \pm 0.06^{aA}$ |
| AH          | $27.90 \pm 0.57^{abA}$ | $27.86 \pm 0.08^{abA}$ | $27.86 \pm 0.06^{abA}$ | $28.03 \pm 0.03^{aA}$ | $27.76 \pm 0.03^{bA}$ |

หมายเหตุ พหุคูณชะยกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (แนวนอน) พหุคูณชะยกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) (แนวตั้ง)

**3.2 ความเป็นกรด - ด่าง (pH)** พบว่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าอยู่ในช่วง  $7.95 \pm 0.10$  ถึง  $8.29 \pm 0.07$  ในชุดการทดลอง CR10-5 เชื้อก่อโรคทั้ง 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) (ตารางที่ 30)

**3.3 ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO)** ในน้ำตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-2, CR7-8, CR10-5 PBS และชุดควบคุม และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล P4, P6 และ AH พบว่า ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ มีค่าอยู่ในช่วง  $8.29 \pm 0.07$  ถึง  $8.61 \pm 0.05$  ในชุดการทดลอง PBS และ CR10-5 เชื้อก่อโรคทั้ง 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) (ตารางที่ 31)

ตารางที่ 30 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์             |                         |                          |                          |                         |
|-------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
|             | Control                  | PBS                     | CR1-2                    | CR7-8                    | CR10-5                  |
| P4          | 8.09±0.02 <sup>aA</sup>  | 8.00±0.01 <sup>aA</sup> | 7.98±0.03 <sup>aA</sup>  | 8.02±0.01 <sup>aA</sup>  | 8.10±0.08 <sup>aA</sup> |
| P6          | 8.09±0.02 <sup>abA</sup> | 8.00±0.01 <sup>bA</sup> | 8.11±0.07 <sup>abA</sup> | 8.10±0.08 <sup>abA</sup> | 8.29±0.07 <sup>aA</sup> |
| AH          | 8.09±0.02 <sup>aA</sup>  | 8.00±0.01 <sup>aA</sup> | 7.95±0.10 <sup>aA</sup>  | 8.10±0.07 <sup>aA</sup>  | 8.12±0.05 <sup>aA</sup> |

หมายเหตุ พหุชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวนอน)  
พหุชนะยกกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวตั้ง)

ตารางที่ 31 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) ในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (M±SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์             |                         |                          |                          |                         |
|-------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
|             | Control                  | PBS                     | CR1-2                    | CR7-8                    | CR10-5                  |
| P4          | 8.47±0.02 <sup>aA</sup>  | 8.60±0.03 <sup>aA</sup> | 8.47±0.09 <sup>aA</sup>  | 8.41±0.06 <sup>aA</sup>  | 8.61±0.05 <sup>aA</sup> |
| P6          | 8.47±0.02 <sup>abA</sup> | 8.60±0.03 <sup>aA</sup> | 8.37±0.04 <sup>bcA</sup> | 8.32±0.05 <sup>ca</sup>  | 8.54±0.02 <sup>aA</sup> |
| AH          | 8.47±0.02 <sup>abA</sup> | 8.60±0.03 <sup>aA</sup> | 8.48±0.07 <sup>abA</sup> | 8.51±0.10 <sup>abA</sup> | 8.29±0.07 <sup>aB</sup> |

หมายเหตุ พหุชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวนอน)  
พหุชนะยกกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวตั้ง)

3.4 Alkalinity (ความเป็นด่าง) พบว่าค่าความเป็นด่างของน้ำในตู้ทดลองมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง  $62.73\pm0.71$  ถึง  $60.90\pm0.60$  มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 32)

ตารางที่ 32 ค่าความเป็นต่างของน้ำในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิลในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการ เลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค | โปรไบโอติกส์              |                           |                           |                          |                          |
|-------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
|             | Control                   | PBS                       | CR1-2                     | CR7-8                    | CR10-5                   |
| P4          | 61.86±0.06 <sup>aA</sup>  | 62.06±0.28 <sup>aA</sup>  | 62.73±0.71 <sup>aA</sup>  | 62.16±0.69 <sup>aA</sup> | 61.25±0.15 <sup>aA</sup> |
| P6          | 61.86±0.06 <sup>aA</sup>  | 62.06±0.28 <sup>aA</sup>  | 61.63±0.27 <sup>abA</sup> | 62.36±0.14 <sup>aA</sup> | 60.90±0.60 <sup>aA</sup> |
| AH          | 61.86±0.06 <sup>abA</sup> | 62.06±0.28 <sup>abA</sup> | 61.73±0.57 <sup>abA</sup> | 62.80±0.75 <sup>aA</sup> | 61.10±0.30 <sup>bA</sup> |

หมายเหตุ พหุชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวนอน)  
พหุชนะยกกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวตั้ง)

3.5 แอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) พบว่าปริมาณแอมโมเนียมีค่าอยู่ในช่วง  $0.006\pm 0.0002$  ถึง  $0.009\pm 0.0001$  มิลลิกรัมต่อลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) (ตารางที่ 33)

ตารางที่ 33 ค่าแอมโมเนียของน้ำในตู้ปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล ในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการ เลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| โปรไบโอติกส์ | เชื้อก่อโรค             |                         |                         |
|--------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|              | P4                      | P6                      | AH                      |
| Control      | $0.006\pm 0.0002^{bA}$  | $0.006\pm 0.0002^{bA}$  | $0.006\pm 0.0002^{dA}$  |
| PBS          | $0.008\pm 0.0003^{aA}$  | $0.008\pm 0.0003^{aA}$  | $0.008\pm 0.0003^{bA}$  |
| CR1-2        | $0.007\pm 0.0000^{abB}$ | $0.006\pm 0.0002^{bC}$  | $0.009\pm 0.0001^{aA}$  |
| CR7-8        | $0.007\pm 0.0006^{abA}$ | $0.007\pm 0.0005^{abA}$ | $0.007\pm 0.0001^{dcA}$ |
| CR10-5       | $0.007\pm 0.0002^{abA}$ | $0.007\pm 0.0003^{abA}$ | $0.007\pm 0.0001^{bcA}$ |

หมายเหตุ พหุชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวตั้ง)  
พหุชนะยกกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวนอน)

## ส่วนประกอบทางโภชนาการ

### 1. เนื้อปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง

**1.1 ความชื้น** ค่าความชื้นเริ่มต้นการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับความชื้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองโดยมีค่าความชื้นเริ่มต้นอยู่ในช่วง  $3.23 \pm 0.02$  ถึง  $3.29 \pm 0.01$  เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีค่าความชื้นอยู่ในช่วง  $1.95 \pm 0.11$  ถึง  $2.88 \pm 0.09$  เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) เนื่องจากใช้เฉพาะเนื้อปลามาใช้ในการวิเคราะห์และมีหนัง เกล็ด กระดูกชิ้นเล็กติดปะปนไปกับเนื้อปลา (ตารางที่ 34)

**1.2 ไขมัน** ปริมาณไขมันเริ่มต้นทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับไขมันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยมีค่าไขมันเริ่มต้นอยู่ในช่วง  $32.73 \pm 0.29$  ถึง  $33.26 \pm 0.06$  เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีค่าไขมันอยู่ในช่วง  $40.96 \pm 0.83$  ถึง  $37.48 \pm 0.11$  เปอร์เซ็นต์ ความแตกต่างกันภายในชุดการทดลอง ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) เนื่องจากใช้เฉพาะเนื้อปลามาใช้ในการวิเคราะห์และมีหนัง เกล็ด กระดูกชิ้นเล็กติดปะปนไปกับเนื้อปลา (ตารางที่ 34)

**1.3 ไขมัน** ปริมาณไขมันในตัวปลานิลทดลองทั้งตัวที่บดผง พบว่า ไขมันเริ่มต้นการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับไขมันในเนื้อปลานิลเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยมีค่าไขมันเริ่มต้นอยู่ในช่วง  $24.11 \pm 0.60$  ถึง  $24.67 \pm 0.14$  เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีค่าไขมันลดลงอยู่ในช่วง  $14.02 \pm 0.39$  ถึง  $14.54 \pm 0.07$  เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) เพราะใช้เฉพาะเนื้อปลามาใช้ในการวิเคราะห์และมีหนัง เกล็ด กระดูกชิ้นเล็กติดปะปนไปกับเนื้อปลา (ตารางที่ 34)

**1.4 เยื่อใย** เปอร์เซ็นต์เยื่อใยเริ่มต้นการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับเปอร์เซ็นต์เยื่อใยในเนื้อปลานิล เมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยมีค่าเยื่อใยเริ่มต้นสูงอยู่ในช่วง  $49.24 \pm 0.38$  ถึง  $51.38 \pm 1.26$  เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีค่าเยื่อใยลดลงอยู่ในช่วง  $23.74 \pm 1.22$  ถึง  $25.71 \pm 2.95$  เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม ( $P > 0.05$ ) เนื่องจากใช้เฉพาะเนื้อปลามาใช้ในการวิเคราะห์และมีหนัง เกล็ด กระดูกชิ้นเล็กติดปะปนไปกับเนื้อปลา (ตารางที่ 34)

**1.5 โปรตีน** เปอร์เซ็นต์โปรตีนของปลานิลในขณะเริ่มต้นการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน มีค่าอยู่ในช่วง  $28.00 \pm 0.00$  ถึง  $29.40 \pm 0.81$  เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง

เปอร์เซ็นต์ โปรตีนในเนื้อปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าสูงขึ้น พบว่า ในชุดการทดลองที่เสริมด้วย CR1-2 และ CR10-5 มีค่าความแตกต่างกับชุดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (ตารางที่ 34)

ตารางที่ 34 เปอร์เซ็นต์ความชื้น เถ้า ไขมัน เยื่อใย โปรตีน ของเนื้อปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์แต่ละชนิดในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 4 เดือน (Mean $\pm$ SE)

| โปรไบโอติกส์        | คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อปลานิลทดลอง |                                |                               |                               |                                |
|---------------------|--------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                     | ความชื้น%                            | เถ้า%                          | ไขมัน %                       | เยื่อใย%                      | โปรตีน %                       |
| <b>ก่อนการทดลอง</b> |                                      |                                |                               |                               |                                |
| Control             | 3.23 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>         | 32.73 $\pm$ 0.29 <sup>c</sup>  | 24.11 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup> | 51.38 $\pm$ 1.26 <sup>a</sup> | 28.00 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>  |
| CR1-2               | 3.24 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>         | 33.26 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>  | 24.30 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup> | 49.24 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup> | 28.00 $\pm$ 0.81 <sup>b</sup>  |
| CR7-8               | 3.29 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>         | 33.20 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>  | 24.42 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup> | 49.51 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup> | 28.46 $\pm$ 0.93 <sup>ab</sup> |
| CR10-5              | 3.28 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>         | 33.06 $\pm$ 0.40 <sup>c</sup>  | 24.67 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup> | 49.97 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup> | 29.40 $\pm$ 0.81 <sup>ab</sup> |
| <b>หลังการทดลอง</b> |                                      |                                |                               |                               |                                |
| Control             | 2.88 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>         | 40.32 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>  | 14.02 $\pm$ 0.39 <sup>b</sup> | 24.54 $\pm$ 1.85 <sup>b</sup> | 29.82 $\pm$ 0.84 <sup>ab</sup> |
| CR1-2               | 2.77 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>         | 37.48 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>  | 14.45 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup> | 25.71 $\pm$ 2.95 <sup>b</sup> | 31.03 $\pm$ 1.39 <sup>a</sup>  |
| CR7-8               | 1.95 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>         | 38.91 $\pm$ 2.13 <sup>ab</sup> | 14.18 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup> | 23.74 $\pm$ 1.22 <sup>b</sup> | 30.47 $\pm$ 0.81 <sup>ab</sup> |
| CR10-5              | 2.04 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>         | 40.96 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup>  | 14.54 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup> | 24.00 $\pm$ 1.32 <sup>b</sup> | 31.22 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup>  |

## 2 เนื้อปลานิลที่เลี้ยงในตู้กระจก

2.1 ความชื้น (เปอร์เซ็นต์) ในเนื้อปลานิลทดลอง ที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ CR1-2, CR7-8, CR10-5, PBS และชุดควบคุม และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล P4, P6 และ AH พบว่า ค่าความชื้นเริ่มต้นการทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 7.08 $\pm$ 0.41 ถึง 4.00 $\pm$ 0.00 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีค่าอยู่ในช่วง 5.90 $\pm$ 0.40 ถึง 3.10 $\pm$ 0.23 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) (ตารางที่ 35)

ตารางที่ 35 ค่าความชื้นในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์  
โพรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง  
6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค         | โพรไบโอติกส์             |                          |                          |                          |                          |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                     | Control                  | PBS                      | CR1-2                    | CR7-8                    | CR10-5                   |
| <b>ก่อนการทดลอง</b> |                          |                          |                          |                          |                          |
| P4                  | 7.08±0.36 <sup>aA</sup>  | 7.08±0.41 <sup>aA</sup>  | 4.11±0.05 <sup>cA</sup>  | 4.00±0.00 <sup>cA</sup>  | 4.66±0.66 <sup>bcA</sup> |
| P6                  | 7.08±0.36 <sup>aA</sup>  | 7.08±0.41 <sup>aA</sup>  | 4.22±0.22 <sup>bcA</sup> | 4.00±0.00 <sup>bcA</sup> | 4.00±0.00 <sup>bcA</sup> |
| AH                  | 7.08±0.36 <sup>aA</sup>  | 7.08±0.41 <sup>aA</sup>  | 4.22±0.22 <sup>bcA</sup> | 4.00±0.00 <sup>bcA</sup> | 4.00±0.00 <sup>bcA</sup> |
| <b>หลังการทดลอง</b> |                          |                          |                          |                          |                          |
| P4                  | 4.62±0.19 <sup>bcA</sup> | 4.40±0.75 <sup>cA</sup>  | 5.22±0.32 <sup>bcA</sup> | 4.86±0.15 <sup>bcA</sup> | 5.90±0.40 <sup>bcA</sup> |
| P6                  | 4.62±0.19 <sup>bcA</sup> | 4.40±0.75 <sup>bcA</sup> | 5.45±0.96 <sup>bA</sup>  | 4.98±0.51 <sup>bcA</sup> | 3.66±0.08 <sup>cB</sup>  |
| AH                  | 4.62±0.19 <sup>bA</sup>  | 4.40±0.75 <sup>bcA</sup> | 4.73±0.61 <sup>bA</sup>  | 5.38±0.70 <sup>bA</sup>  | 3.10±0.23 <sup>bB</sup>  |

หมายเหตุ พหุคูณระยะก่าลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวนอน)

พหุคูณระยะก่าลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวตั้ง)

2.2 เถ้า (เปอร์เซ็นต์) พบว่า ปริมาณเถ้าในเนื้อปลานิลทดลองทั้งตัวที่บดผงในขณะเริ่มต้นการทดลอง มีค่าอยู่ระหว่าง 18.22±0.80 ถึง 20.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 39.49±1.50 ถึง 43.11±1.29 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (ตารางที่ 36)

2.3 ไขมัน (เปอร์เซ็นต์) ในเนื้อปลานิลทดลองในขณะเริ่มต้นการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 14.83±0.12 ถึง 15.44±0.16 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 16.88±0.17 ถึง 18.23±0.13 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละชุดการทดลอง ( $P<0.05$ ) (ตารางที่ 37)

ตารางที่ 36 เติบโตในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคนในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค         | โปรไบโอติกส์              |                          |                           |                           |                           |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                     | Control                   | PBS                      | CR1-2                     | CR7-8                     | CR10-5                    |
| <b>ก่อนการทดลอง</b> |                           |                          |                           |                           |                           |
| P4                  | 18.88±1.45 <sup>CA</sup>  | 18.22±0.80 <sup>CA</sup> | 20.22±0.97 <sup>CA</sup>  | 19.34±0.00 <sup>CA</sup>  | 20.00±0.00 <sup>CA</sup>  |
| P6                  | 18.88±1.45 <sup>CA</sup>  | 18.22±0.80 <sup>CA</sup> | 19.56±0.22 <sup>CA</sup>  | 19.56±0.22 <sup>CA</sup>  | 18.44±0.44 <sup>CB</sup>  |
| AH                  | 18.88±1.45 <sup>CA</sup>  | 18.22±0.80 <sup>CA</sup> | 19.11±0.58 <sup>CA</sup>  | 19.11±0.58 <sup>CA</sup>  | 19.11±0.58 <sup>CAB</sup> |
| <b>หลังการทดลอง</b> |                           |                          |                           |                           |                           |
| P4                  | 41.44±0.50 <sup>abA</sup> | 43.11±1.2 <sup>aA</sup>  | 39.49±1.50 <sup>bA</sup>  | 42.39±0.59 <sup>abA</sup> | 41.23±0.54 <sup>abA</sup> |
| P6                  | 41.44±0.50 <sup>abA</sup> | 43.11±1.29 <sup>aA</sup> | 40.55±0.10 <sup>abA</sup> | 39.81±0.94 <sup>bA</sup>  | 41.25±1.13 <sup>abA</sup> |
| AH                  | 41.44±0.50 <sup>abA</sup> | 43.11±1.29 <sup>aA</sup> | 38.50±3.050 <sup>bA</sup> | 40.97±0.78 <sup>abA</sup> | 41.90±0.87 <sup>abA</sup> |

หมายเหตุ พหุชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) (แนวนอน)

พหุชนะยกกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) (แนวตั้ง)

ตารางที่ 37 ปริมาณไขมัน เปอร์เซ็นต์ในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสม จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคนในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค         | โปรไบโอติกส์              |                          |                            |                          |                           |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                     | Control                   | PBS                      | CR1-2                      | CR7-8                    | CR10-5                    |
| <b>ก่อนการทดลอง</b> |                           |                          |                            |                          |                           |
| P4                  | 14.90±0.3 <sup>CA</sup>   | 14.99±0.37 <sup>CA</sup> | 15.44±0.16 <sup>CA</sup>   | 15.34±0.17 <sup>CA</sup> | 15.35±0.05 <sup>CA</sup>  |
| P6                  | 14.90±0.3 <sup>bA</sup>   | 14.99±0.37 <sup>bA</sup> | 15.07±0.26 <sup>bA</sup>   | 15.04±0.27 <sup>bA</sup> | 14.83±0.12 <sup>bA</sup>  |
| AH                  | 14.90±0.31 <sup>bA</sup>  | 14.99±0.37 <sup>bA</sup> | 15.06±0.19 <sup>bA</sup>   | 15.24±0.08 <sup>bA</sup> | 15.11±0.35 <sup>bA</sup>  |
| <b>หลังการทดลอง</b> |                           |                          |                            |                          |                           |
| P4                  | 17.51±0.51 <sup>abA</sup> | 17.04±0.58 <sup>bA</sup> | 17.45±0.11 <sup>abAB</sup> | 18.23±0.13 <sup>aA</sup> | 18.00±0.20 <sup>abA</sup> |
| P6                  | 17.51±0.51 <sup>aA</sup>  | 17.04±0.58 <sup>aA</sup> | 17.83±0.31 <sup>aA</sup>   | 17.27±0.27 <sup>ab</sup> | 17.76±0.69 <sup>aA</sup>  |
| AH                  | 17.51±0.51 <sup>aA</sup>  | 17.04±0.58 <sup>aA</sup> | 16.88±0.17 <sup>ab</sup>   | 17.39±0.17 <sup>ab</sup> | 16.98±0.32 <sup>aA</sup>  |

หมายเหตุ พัยุชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวนอน)

พัยุชนะยกกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวตั้ง)

**2.4 เชื้อไข (เปอร์เซ็นต์)** พบว่า เปอร์เซ็นต์เชื้อไข เริ่มต้นการทดลอง มีค่าอยู่ในช่วง  $2.29\pm0.09$  ถึง  $3.46\pm0.08$  เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า มีค่าอยู่ในช่วง  $2.97\pm0.06$  ถึง  $3.60\pm0.06$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละชุดการทดลอง ( $P<0.05$ ) (ตารางที่ 38)

ตารางที่ 38 เปอร์เซ็นต์เชื้อไขในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์ โปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6 สัปดาห์ (Mean $\pm$ SE)

| เชื้อก่อโรค         | โปรไบโอติกส์         |                     |                      |                     |                     |
|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
|                     | Control              | PBS                 | CR1-2                | CR7-8               | CR10-5              |
| <b>ก่อนการทดลอง</b> |                      |                     |                      |                     |                     |
| <b>P4</b>           | $3.39\pm0.29^{abA}$  | $2.63\pm0.24^{cdA}$ | $3.59\pm0.08^{aA}$   | $2.51\pm0.04^{cdA}$ | $2.39\pm0.12^{dB}$  |
| <b>P6</b>           | $3.39\pm0.29^{abA}$  | $2.63\pm0.24^{cdA}$ | $3.00\pm0.16^{bcB}$  | $2.29\pm0.09^{dB}$  | $3.46\pm0.08^{abA}$ |
| <b>AH</b>           | $3.39\pm0.29^{abA}$  | $2.63\pm0.24^{dA}$  | $3.24\pm0.09^{bcAB}$ | $2.82\pm0.06^{cdB}$ | $3.32\pm0.14^{bcA}$ |
| <b>หลังการทดลอง</b> |                      |                     |                      |                     |                     |
| <b>P4</b>           | $2.97\pm0.06^{bcA}$  | $3.45\pm0.08^{abA}$ | $3.44\pm0.24^{abAB}$ | $3.37\pm0.12^{abA}$ | $3.56\pm0.17^{aA}$  |
| <b>P6</b>           | $2.97\pm0.06^{bcA}$  | $3.45\pm0.08^{abA}$ | $3.16\pm0.05^{abB}$  | $3.60\pm0.06^{aA}$  | $3.40\pm0.22^{abA}$ |
| <b>AH</b>           | $2.97\pm0.06^{bcdA}$ | $3.45\pm0.08^{abA}$ | $3.72\pm0.05^{aA}$   | $3.45\pm0.13^{abA}$ | $3.17\pm0.19^{bcA}$ |

หมายเหตุ พัยุชนะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวนอน)

พัยุชนะยกกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวตั้ง)

**2.5 โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)** พบว่า ปริมาณโปรตีนเริ่มต้นการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง  $26.92\pm0.04$  ถึง  $28.94\pm1.13$  เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง  $26.46\pm0.66$  ถึง  $28.51\pm0.16$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 39)

ตารางที่ 39 ค่าโปรตีนในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์  
โพรไบโอติกส์และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลอง ระยะเวลาการเลี้ยง  
6 สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค         | โพรไบโอติกส์             |                          |                          |                          |                          |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                     | Control                  | PBS                      | CR1-2                    | CR7-8                    | CR10-5                   |
| <b>ก่อนการทดลอง</b> |                          |                          |                          |                          |                          |
| P4                  | 27.75±0.64 <sup>aA</sup> | 28.70±1.21 <sup>aA</sup> | 28.38±0.96 <sup>aA</sup> | 28.94±1.13 <sup>aA</sup> | 28.42±1.28 <sup>aA</sup> |
| P6                  | 27.75±0.64 <sup>aA</sup> | 28.70±1.21 <sup>aA</sup> | 28.35±0.55 <sup>aA</sup> | 28.63±1.25 <sup>aA</sup> | 26.92±0.04 <sup>aA</sup> |
| AH                  | 27.75±0.64 <sup>aA</sup> | 28.70±1.21 <sup>aA</sup> | 27.49±0.99 <sup>aA</sup> | 27.99±0.60 <sup>aA</sup> | 28.09±0.68 <sup>aA</sup> |
| <b>หลังการทดลอง</b> |                          |                          |                          |                          |                          |
| P4                  | 27.95±0.57 <sup>aA</sup> | 28.42±0.71 <sup>aA</sup> | 26.86±0.37 <sup>aA</sup> | 28.00±0.24 <sup>aB</sup> | 27.03±0.52 <sup>aA</sup> |
| P6                  | 27.95±0.57 <sup>aA</sup> | 28.42±0.71 <sup>aA</sup> | 27.11±1.01 <sup>aA</sup> | 28.51±0.16 <sup>aA</sup> | 28.23±1.15 <sup>aA</sup> |
| AH                  | 27.95±0.57 <sup>aA</sup> | 28.42±0.71 <sup>aA</sup> | 27.58±0.21 <sup>aA</sup> | 27.30±0.48 <sup>aB</sup> | 26.46±0.66 <sup>aA</sup> |

หมายเหตุ พหุคูณชนัยกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวนอน)  
พหุคูณชนัยกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) (แนวตั้ง)

2.6 คาร์โบไฮเดรต (เปอร์เซ็นต์) พบว่า ปริมาณคาร์โบไฮเดรตเริ่มต้นการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง  $27.98\pm2.05$  ถึง  $32.32\pm0.54$  เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง  $3.13\pm0.44$  ถึง  $8.57\pm3.84$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) (ตารางที่ 40)

ตารางที่ 40 คาร์โบไฮเดรตในเนื้อปลานิลทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์  
โพรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในแต่ละหน่วยทดลองระยะเวลาการเลี้ยง 6  
สัปดาห์ (Mean±SE)

| เชื้อก่อโรค         | โพรไบโอติกส์             |                          |                           |                           |                           |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                     | Control                  | PBS                      | CR1-2                     | CR7-8                     | CR10-5                    |
| <b>ก่อนการทดลอง</b> |                          |                          |                           |                           |                           |
| P4                  | 27.98±2.05 <sup>aA</sup> | 28.36±1.58 <sup>aA</sup> | 28.24±1.87 <sup>aA</sup>  | 29.86±1.06 <sup>aA</sup>  | 29.16±0.81 <sup>aB</sup>  |
| P6                  | 27.98±2.05 <sup>aB</sup> | 28.36±1.58 <sup>bA</sup> | 29.78±0.46 <sup>abA</sup> | 30.47±1.35 <sup>abA</sup> | 32.32±0.54 <sup>aA</sup>  |
| AH                  | 27.98±2.05 <sup>aA</sup> | 28.36±1.58 <sup>aA</sup> | 30.86±1.58 <sup>aA</sup>  | 30.83±0.98 <sup>aA</sup>  | 30.36±1.02 <sup>aAB</sup> |
| <b>หลังการทดลอง</b> |                          |                          |                           |                           |                           |
| P4                  | 5.49±0.38 <sup>bcA</sup> | 3.56±1.29 <sup>bcA</sup> | 7.52±1.48 <sup>bA</sup>   | 3.13±0.44 <sup>cA</sup>   | 4.27±1.15 <sup>bcA</sup>  |
| P6                  | 5.49±0.38 <sup>cA</sup>  | 3.56±1.29 <sup>cA</sup>  | 5.88±1.18 <sup>cA</sup>   | 5.81±1.14 <sup>cA</sup>   | 5.69±0.94 <sup>cA</sup>   |
| AH                  | 5.49±0.38 <sup>bA</sup>  | 3.56±1.29 <sup>bA</sup>  | 8.57±3.84 <sup>bA</sup>   | 5.50±0.58 <sup>bA</sup>   | 8.38±1.33 <sup>bA</sup>   |

หมายเหตุ พหุคูณระยะยกกำลังพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (แนวนอน)

พหุคูณระยะยกกำลังพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (แนวตั้ง)

## วิจารณ์ผลการทดลอง

### การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ไปไบโอดักส์เฉพาะถิ่น

#### การเก็บตัวอย่าง และคุณภาพน้ำบางประการในฟาร์มเพาะเลี้ยงปลานิล

จากการเก็บตัวอย่างปลานิล ดิน และน้ำ จากฟาร์มเลี้ยงปลานิลในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงรายรวม 16 แห่ง ฟาร์มโดยส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบผสมผสาน มีการเลี้ยงไก่บนบ่อปลา สีของน้ำเป็นสีเขียวเข้ม จนถึงสีน้ำตาล คุณภาพน้ำโดยทั่วไป พบว่า pH มีค่าเป็นกลาง หรือค่าเล็กน้อย และค่า DO มีค่าในช่วง  $5.00 \pm 0.11$  ถึง  $12.60 \pm 0.15$  mg/l พบว่า ปริมาณ DO มีค่าสูงในบางฟาร์ม เนื่องจากปริมาณแพลงก์ตอนพืชในฟาร์มมีปริมาณมาก เกิดการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนพืชมากในตอนกลางวัน ส่งผลให้ DO ในการวิเคราะห์มีค่าสูง

### การคัดแยก และทดสอบแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล

แยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิลที่ป่วย ทั้งอวัยวะ ภายนอก และอวัยวะใน ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียมีขนาดเล็ก สีขาวครีม ขอบเรียบจำนวนมาก เมื่อทำการข้อมสแกรมแล้วพบว่าแบคทีเรียที่แยกได้มีลักษณะเป็นแท่งยาว แท่งสั้น และกลม อาจอยู่เป็นเชลล์เดี่ยวๆ หรือต่อเป็นสายยาว เชื้อส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีบางไอโซเลทเชื้อเป็นแกรมลบ ซึ่งจากการทดสอบประสิทธิภาพการก่อโรค แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มก็สามารถทำให้ก่อโรคได้เช่นกัน ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของปริมาณเชื้อ และสภาพแวดล้อมที่แบคทีเรียอาศัยอยู่ ซึ่งทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้เชื้อบางชนิดสามารถผลิต Enterotoxin ที่ทำให้เกิดความเป็นพิษในลำไส้ การติดเชื้อแบคทีเรียนี้เป็นการติดเชื้อในระบบภายในลำตัวปลา โดยที่เชื้อจะเข้าทางปาก ทางผิวหนังหรือเหงือกที่เป็นแผลอยู่แล้ว เชื้อก็จะเพิ่มจำนวนในร่างกายของปลา และบริเวณที่เข้าไปต่อจากนั้นเชื้อก็แพร่เข้าสู่กระแสเลือด ถ้าเป็นอาการรุนแรงแบบเฉียบพลันปลาจะป่วยและตายอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าเป็นแผลเรื้อรังตามตัวปลาที่รอดตาย ส่วนมากจะมีแผลเป็นสีดำ (ประพันธ์ศักดิ์ และ นนทวิทย์, 2555)

นำเชื้อที่คัดแยกจากปลาป่วย ทั้งหมด 8 ไอโซเลท มาตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ดูอัตราการตายในปลานิลเป็นระยะเวลา 5 วัน P8 มีอัตราการตายสูงสุด เมื่อตรวจดูบริเวณภายนอกข้างลำตัวชำเลือด บริเวณปาก และลำตัวมีแผล คาซุนขาว ลำตัวซีด ว่ายน้ำช้าเริ่มมีการตายในวันที่ 2 และ P4 มีอัตราการตายต่ำสุด บริเวณลำตัวจะมีแผลหลุม บริเวณข้างลำตัวจะชำเลือด คาซุนขาวว่ายน้ำช้า เริ่มมีการตายในวันที่ 2 ส่วน *Aeromonas hydrophila* มีอัตราการตายสูง ซึ่งตรงกับรายงานของ

นุรฮาซีกิน, (2547) พบว่า *A. hydrophila* ก่อให้เกิดโรคที่เรียกว่า Motile Aeromonas disease เป็นเชื้อที่อยู่ใน Family Vibrionaceae ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำชนิดต่างๆมากมาย โดยเฉพาะปลา ซึ่งเชื่อนี้ทำให้เกิดโรคต่างๆในปลา เช่น เกิดการตกเลือดในปลา มีการตกเลือดรอบปากโดยที่อาการของโรคแบ่งออกเป็น อาการรุนแรงแบบเฉียบพลัน อาการรุนแรงแบบเฉียบพลันที่มีลักษณะท้องมาน บวมน้ำ และแผลคื่น แบบเป็นแผลเรื้อรังตามตัว และแบบไม่แสดงอาการของโรค

### การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล

การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคโดยโปรไบโอติกส์ ได้ทั้งหมด 15 ไอโซเลท ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่ง และบางส่วนเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลม ซึ่งในการศึกษาวิจัยนี้เป็นการศึกษาโปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นในปลานิล ซึ่งเชื่อที่พบอาจมีความแตกต่างกับเชื้อโปรไบโอติกส์ในพื้นที่อื่นๆ ส่งผลให้มีประสิทธิภาพแตกต่างหรือใกล้เคียงกันกับโปรไบโอติกส์ในปลานิลจากพื้นที่อื่นๆ โดยประสิทธิภาพของเชื้อโปรไบโอติกส์จะขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อเริ่มต้น (หรือในขณะนั้น) ชนิดปลา ระบบการเลี้ยง และคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำนั้นๆ

ในการคัดเลือก และทดสอบสมบัติของเชื้อในการนำมาใช้เป็น โปรไบโอติกส์นั้น จะทำการศึกษาไอโซเลทที่มีความปลอดภัยโดยไม่ทำให้เกิดเลือดแดงแตก (Non hemolysis) เชื้อส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดเลือดแดงแตกจะเป็นกลุ่มเชื้อก่อโรค เช่น *Streptococcus* บางสายพันธุ์ซึ่งนิลบล และคณะ, (2545) ทำการทดสอบคุณสมบัติของเชื้อ *Streptococcus* ส่วนใหญ่พบว่า กลุ่มที่ทำให้เกิดเลือดแดงแตกแบบ Beta และ Alpha - hemolysis เป็นสาเหตุการตายของปลานิล มีรายงานดังเช่น การตายของปลาลูกผสมระหว่าง *O.niloticus* และ *O.aureus* ที่เลี้ยงในประเทศซาอุดีอาระเบีย และอิสราเอล สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของโรค *Streptococcosis* ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Streptococcus* ที่ทำให้เกิด Beta-haemolysis จากรายงานของปวเรศวร, (2547) ทดสอบความสามารถในการย่อยเม็ดเลือดแดงของแบคทีเรียแลคติกทั้ง 54 สายพันธุ์ พบว่า มีแบคทีเรียแลคติก 13 สายพันธุ์ ที่ไม่ทำให้เกิดเลือดแดงแตก ได้แก่ *L. plantarum* อีก 41 สายพันธุ์ ทำให้เม็ดแดงแตก และจากการศึกษาของ นิลบล และคณะ, (2545) กล่าวว่าเชื้อสกุล *Streptococcus* นั้นเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรค *Streptococcosis* ระบาดมากในปลานิล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S.iniae*

จากการศึกษาสภาวะพีเอชที่เหมาะสม เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ทั้ง 15 ไอโซเลท โดยให้มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ  $1 \times 10^8$  CFU/ml สภาวะ pH ที่เหมาะสมคือ pH 7 จากการทดลองเชื้อไม่สามารถเจริญได้ใน pH ต่ำ (<5) เนื่องจากการเจริญของเชื้อในระยะเริ่มแรก การผลิตกรดออกมามากขึ้น ในอาหารทำให้ระดับ pH ต่ำลง เชื้อจึงไม่สามารถเจริญได้อีก โดยสังเกตได้จากอาหารจะใสขึ้น และเชื้อที่สร้างสปอร์คือ *Bacillus* จะเจริญได้อีกในสภาวะ pH ที่เหมาะสม

นอกจากนั้นทดสอบการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในหลอดทดลองพลาสติกพบว่า เชื้อ CR8-1, CR1-2 และ CR7-8 มีการยึดเกาะกับผนังหลอดทดลองได้ดีที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ พุทรา, (2549) ทดสอบการยึดเกาะของจุลินทรีย์ในหลอดทดลองโดยใช้ *Bacillus* (BFK 702) พบว่า เมื่อหยดสี Methylene Blue ลงในหลอดทดลองแล้วสีมีการเกาะติดกับ ผนังหลอดทดลอง โดยมีการยึดเกาะไม่หนาแน่นเท่าที่ควรซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองนี้กับ งานของพุทรา, (2549) เชื้อที่ทำการคัดแยกได้มีประสิทธิภาพการเกาะติดดีกว่า ในขั้นตอนสุดท้าย ทำการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ (*In vivo* test) อัตรารอดในปลานิล พบว่า CR1-2, CR10-5 และ CM4-3 มีอัตราการรอดสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการฉีดเชื้อที่ความเข้มข้น  $3 \times 10^6$  CFU/ml

จากนั้นจึงทำการคัดเลือกสามสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ CR1-2, CR7-8 และ CR10-5 มาศึกษาต่อโดยทำการศึกษาเลี้ยงปลานิลโดยใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสม โปรไบโอติกส์ พบว่า CR7-8 มีน้ำหนักสูงสุด และความยาว ดีกว่าชุดการทดลองอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของยุทธพล และนนุช, (2555) โดยใช้แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* เป็น โปรไบโอติกส์พบว่า น้ำหนักกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกส์มีค่าเฉลี่ยมากกว่าชุดควบคุม ( $P < 0.05$ ) ซึ่งกุ้งที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติกส์ 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีน้ำหนักเท่ากับ  $0.46 \pm 0.004$  กรัม จากการทดลองอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ในเดือนกันยายนที่ CR1-2 มีค่าสูงสุด  $5.42 \pm 0.22$  กรัมต่อวัน เป็นช่วงเดือนแรกของการทดลองโดยใช้ลูกปลานิลขนาดเล็กจะมีความ ต้องการอาหารและสะสมพลังงานเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต CR1-2 มีผลในการกระตุ้นการดูดซึม สารอาหารในลำไส้ได้ดีกว่าชุดการทดลองอื่นมีค่าใกล้เคียง 1 มีรายงานวิลาวัณย์ และคณะ, (2554) ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิล พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ของปลาที่ได้รับคิว.พี. โปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูป ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะดีที่สุด คือ  $2.01 \pm 0.116$  กรัมต่อวัน อัตราการรอดตาย ในชุดการทดลอง CR1-2 และ CR7-8 มีอัตราการรอดสูงสุด  $99.00 \pm 0.58$  เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมี เปอร์เซ็นต์การรอดดีกว่า ยุทธพล และนนุช, (2555) ที่ศึกษาการใช้แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* เป็น โปรไบโอติกส์ มีอัตราการรอดตาย เท่ากับ  $82.3 \pm 1.15$  เปอร์เซ็นต์ อัตราการแลกเนื้อ (FCR) ในชุด การทดลอง CR7-8 มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุด  $1.65 \pm 0.01$  กรัมต่อวัน แต่มีค่ามากกว่า รายงานธีรศักดิ์, (2551) ที่ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของปลาหมอไทยที่อนุบาลในกระชัง โดยแบ่ง ออกเป็น 3 ชุดการทดลอง อาหารปลาตุ๊กเล็ก อาหารผสมวิตามินซี อาหารผสมโปรไบโอติกส์ พบว่า ในชุดการทดลอง 1, 2 และ 3 มีอัตราการแลกเนื้อเฉลี่ย  $1.36 \pm 0.03$ ,  $1.41 \pm 0.01$  และ  $1.31 \pm 0.02$  กรัม ต่อวัน ในชุดการทดลองที่ 3 ที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์จะมีอัตราการแลกเนื้อดีกว่าประสิทธิภาพ

การใช้โปรตีน (PER) ในชุดการทดลอง CR1-2 มีสูงสุด  $0.61 \pm 0.04$  เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักที่เพิ่ม ขึ้นในเดือนธันวาคมที่ CR7-8 มีค่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นดีที่สุด  $418.24 \pm 8.22$  กรัม ซึ่งมีค่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นดีกว่ารายงานวิจัยของ วิลาวรรณ และคณะ, (2554) มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลานิลสูงสุด คือ  $86.52 \pm 6.217$  กรัม รองมา คือปลานิลที่ได้รับคิว.พี. โปรไบโอติกส์ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปความเข้มข้น 0.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ  $75.20 \pm 4.04$  และ  $61.32 \pm 3.28$  กรัม ในรายงานธีรศักดิ์, (2551) ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของปลาหมอไทยที่อนุบาลในกระชัง โดยแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง อาหารปลาตุ๊กเล็ก อาหารผสมวิตามินซี อาหารผสมโปรไบโอติกส์ พบว่า ในชุดการทดลอง 1, 2 และ 3 มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ  $283.33 \pm 15.28$ ,  $286.67 \pm 11.55$  และ  $240.00 \pm 10.00$  กรัม ตามลำดับ และมีค่าน้ำหนักเฉลี่ยดีกว่า วิลาวรรณ และคณะ, (2554) ส่วนค่า Productive Protein value (PPV) ในชุดการทดลอง CR1-2 มีค่าสูงสุด  $10.11 \pm 6.13$  เปอร์เซ็นต์ มีค่า PPV น้อยกว่างานวิจัยของ Ahmad et al., (2000) ศึกษาผลของระดับโปรตีน (25, 35 และ 45 เปอร์เซ็นต์) องค์ประกอบของเนื้อปลานิล พบว่า PPV ในปลาเริ่มต้นการทดลอง และในปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในชุดการทดลองที่ระดับโปรตีน 45 เปอร์เซ็นต์ มีค่า PPV ค่าสุด 25.18 และ 19.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับปลาเริ่มต้นการทดลอง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) Productive Fat value (PFV) ไม่สามารถหาค่าได้เพราะปริมาณไขมันเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าน้อยการปริมาณไขมันเริ่มต้นการทดลอง

คุณสมบัติของน้ำในบ่อทดลองที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ตลอดการทดลอง อุณหภูมิ น้ำมีค่าระหว่าง  $28.36 \pm 0.08$  ถึง  $31.28 \pm 0.08$  องศาเซลเซียส มีค่าการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาขึ้นอยู่กับสภาพดินฟ้าอากาศ และฤดูกาลในแต่ละช่วง ปลานิลสามารถทนต่อระดับอุณหภูมิได้ในช่วงกว้างตั้งแต่ 21.1 ถึง 42.0 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิ น้ำต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 42 องศาเซลเซียส ปลาไม่สามารถทนได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตมีค่าอยู่ระหว่าง 19-28 องศาเซลเซียส ระดับ pH อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ  $7.45 \pm 0.02$  ถึง  $8.09 \pm 0.09$  ในน้ำที่เป็นด่างมากปลาจะตาย และถ้าเป็นกรดปลาจะไม่อยากกินอาหาร โดยทั่วไป ปลานิลสามารถอาศัยอยู่ได้ในน้ำที่ระดับ pH ตั้งแต่ 7.2 ถึง 8.3 เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง pH ของน้ำจะมีผลต่อความเป็นพิษของสารพิษชนิดอื่นๆ ด้วยเช่น แอมโมเนีย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา มีระหว่าง  $3.83 \pm 0.03$  ถึง  $8.06 \pm 0.18$  มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลามีค่าตั้งแต่ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นไป (วัดในตอนเช้ามืด) หากในน้ำที่มีออกซิเจนต่ำเกินไป ปลา ก็จะลอยหัวขึ้นมาใช้ออกซิเจนจากผิวน้ำ และอากาศ ซึ่งส่งผลให้ปลาเกิดอาการเครียด และการเจริญเติบโตลดลง ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) มีค่าระหว่าง  $22.16 \pm 0.58$  ถึง  $56.54 \pm 0.49$  มิลลิกรัมต่อลิตร ระดับค่าความเป็นด่าง ที่เหมาะสมกับการ

เลี้ยงปลาอยู่ระหว่าง 20-300 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ้าต่ำกว่านี้ทำให้เพิ่มได้โดยใช้ปูนขาว โดยทั่วไปบ่อเลี้ยงปลาที่มีน้ำเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตควรมีค่าความเป็นด่างสูงกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียมีค่าระหว่าง  $0.006 \pm 0.0002$  ถึง  $0.029 \pm 0.0017$  มิลลิกรัมต่อลิตร ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียที่ 0.10 ถึง 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตช้า และที่ระดับความเข้มข้นที่ 2 ถึง 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สัตว์น้ำมีอาการเครียด หายใจเร็ว อ่อนแอ เกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย และเริ่มตาย วิธีการควบคุมปริมาณแอมโมเนียเพื่อไม่ให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถทำได้ดังนี้

1. ควบคุมปริมาณอาหารการให้อาหารไม่ให้เหลือ หรืออาจลดปริมาณอาหารที่ให้อาหารลงครึ่งหนึ่ง
2. ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำให้อยู่ระหว่าง 7.5 ถึง 8.0
3. เปลี่ยนถ่ายน้ำ 10 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการเช็กระดับแอมโมเนียภายหลังการเติมน้ำใหม่แล้ว 12-24 ชม.
4. เพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำให้เต็มที่
5. การดูดเก็บตะกอนภายในบ่อ

อย่างไรก็ตามการทดสอบแอมโมเนียในบ่อเพาะเลี้ยงเป็นประจำว่ามีปริมาณแอมโมเนียเท่าใดเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโต และคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงปลานิล พบว่ากลุ่ม 1 DO และ Alkalinity มีความสัมพันธ์เชิงบวก กับค่า SGR, FCR, มวลชีวภาพที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งน้ำหนัก และความยาวของปลา โดยพบว่า ในบ่อปลาที่มีปริมาณแพลงก์ตอนหนาแน่นมาก จะมีการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นมากในตอนกลางวัน ค่า DO รวมทั้งค่า Alkalinity จะมีค่าเพิ่ม เมื่อทำการจัดกลุ่มตัวอย่าง ทั้งหมด โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ PCA และ Cluster analysis พบว่า โปรไบโอติกส์ทั้งสามสายพันธุ์ให้ผลลัพธ์ในประสิทธิภาพการเจริญเติบโต การต้านทานโรค รวมทั้งเปอร์เซ็นต์ ที่ดีกว่าชุดควบคุม

การตรวจสอบคุณภาพเนื้อปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ พบว่า ปริมาณความชื้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับความชื้นเริ่มต้น ปริมาณเถ้าเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น ปริมาณไขมัน และปริมาณเยื่อใย เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าลดลง การผสมเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในอาหารไม่ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณโปรตีนในปลานิล และคาร์โบไฮเดรตไม่สามารถหาค่าได้มีค่าติดลบอันเนื่องมาจากการวิเคราะห์ได้นำเอาตัวอย่างปลานิลทั้งตัว ซึ่งประกอบไปด้วย เกล็ด กระดูก หนวดติดปะปนกับตัวอย่างเนื้อปลานิล บดจึงทำให้ค่า ปริมาณเถ้า และปริมาณเยื่อใยมีค่าสูง เมื่อนำเอาค่าทั้งหมดมาทำการคำนวณหา

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตค่าที่ได้ออกมาติดลบ เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์เนื้อ, (2556) ในเนื้อสัตว์มีน้ำเป็นส่วนประกอบอยู่ถึงประมาณร้อยละ 70 จุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์เจริญเติบโตได้ และเอ็นไซม์ในเนื้อ จะทำงานได้ดีเมื่อมีน้ำเพียงพอ ดังนั้น การลดความชื้น หรือการทำให้อาหารแห้งก็จะช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หรือชะลอการทำงานของเอ็นไซม์ การทำแห้งเป็นการดึงเอาน้ำอิสระ (Free water) ในอาหาร ส่วนน้ำที่เหลือจากการทำแห้งเป็นน้ำที่ถูกยึดไว้กับองค์ประกอบของอาหาร (Bound water) ซึ่งเป็นน้ำที่อยู่ในโครงสร้าง หรือในเซลล์ที่ประกอบเป็นกล้ามเนื้อสัตว์ ซึ่งจุลินทรีย์ไม่สามารถดึงออกมาใช้ประโยชน์ หรือเพื่อการดำรงชีพได้การทำแห้งด้วยความร้อน (Hot air drying) ให้มีความชื้นสม่ำเสมอ ทำให้น้ำระเหยไปกับลมร้อนโดยทางช่องระบายลมภายในตู้อบใช้อุณหภูมิประมาณ 50 ถึง 70 องศาเซลเซียส ไขมันเมื่อได้รับความร้อนจะหลอม และหยดออกจากเนื้อเยื่อ ปริมาณไขมัน ที่จะสูญเสียจะมาก หรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณความร้อน และระยะเวลาที่ทำให้เนื้อสุก โปรตีน ความร้อนทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ ความร้อนชื้นจะช่วยทำให้โปรตีนย่อยง่ายขึ้น แต่ถ้าใช้ความร้อนสูง และเวลานานเกินไป จะทำให้โปรตีนย่อยยากขึ้น ทำให้ร่างกายไม่ได้รับประโยชน์อย่างเต็มที่

จากการศึกษาเลี้ยงปลานิลด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมโปรไบโอติกส์ และมีการฉีดเชื้อก่อโรคในปลานิล พบว่า น้ำหนักสุดท้ายสูงสุด CR10-5 ที่ฉีดเชื้อ P6 ( $38.91 \pm 0.51$ ) ความยาวมากที่สุด CR1-2 ที่ฉีดเชื้อ P6 ( $15.33 \pm 0.18$ ) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด CR10-5 ที่ฉีดเชื้อ P6 ( $0.036 \pm 0.007$ ) อัตราการแลกเนื้อดีที่สุด CR1-2 ที่ฉีดเชื้อ AH ( $1.93 \pm 0.02$ ) และ CR10-5 ที่ฉีดเชื้อ P4 และ P6 ( $1.93 \pm 0.03$ ) ในชุด Control P มีอัตราการรอดเท่ากับศูนย์ โดยที่ชุด Control P จะมีการฉีดเชื้อก่อโรคเข้าไปอย่างเดียวไม่มีการเสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และชุด Control จะไม่มีการฉีดเชื้อก่อโรคจึงทำให้ในชุดการทดลอง Control P มีเปอร์เซ็นต์รอดแตกต่างกันชุดการทดลองที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงสุด CR1-2 และ CR10-5 ที่ฉีดเชื้อ AH ( $0.20 \pm 0.025$ ) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงสุด ในชุด Control ( $1.15 \pm 0.08$ ) ค่า Productive Protein value ในชุดควบคุมมีค่าสูงสุด ( $0.65 \pm 3.17$ ) และค่า Productive fat value CR10-5 ที่ฉีดเชื้อ P6 ( $19.68 \pm 4.02$ ) ซึ่งแตกต่างจากรายงานทศพร, (2547) เลี้ยงปลากะพงขาวในตู้กระจก ผสมอาหารกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด ที่คัดแยกได้ ใช้ความเข้มข้น  $10^7$  เซลล์ต่อกรัมอาหาร พบว่า มีเพียง LAB-4 เท่านั้น ที่มีส่งเสริมการเจริญเติบโตของปลา และด้านเชื้อ *A. hydrophila* ได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานรัชนิวรรณ, (2556) ทดสอบเชื้อโรคในปลานิล *Oreochromis nilotica* ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมแบคทีเรียแลคติกแอซิด พบว่า ปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมโปรไบโอติกส์ และซุบเชื้อโรคปลา (นำปลาไปจุ่มในอ่างเลี้ยงเชื้อ) มีอัตราการตายต่ำกว่า (ชุดควบคุม) มีอัตราการตายเพียง 75 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ปลานิลที่กินอาหารเสริมโปรไบโอติกส์ F10, E7 และ E26 มีอัตราการตาย 5, 15

และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และอาหารเสริมโปรไบโอติกส์ E26 สามารถเพิ่มน้ำหนักปลาได้ดีที่สุดถึง 46.28 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าอาหารเสริมโปรไบโอติกส์สามารถเพิ่มความต้านทานโรคของปลา และทำให้ปลาเจริญเติบโตคมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น

การตรวจสอบคุณภาพเนื้อปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และฉีดเชื้อก่อโรค และนำมาเปรียบเทียบกับปลานิลที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์อย่างเดียว พบว่า ปริมาณความชื้นมีความแตกต่างกัน 3.02 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไขมันมีความแตกต่างกัน 1.43 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไขมันมีความแตกต่างกัน 3.69 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเยื่อใยมีความแตกต่างกัน 22.11 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีนมีความแตกต่างกัน 2.8 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณคาร์โบไฮเดรต 8.57 เปอร์เซ็นต์

### ข้อเสนอแนะ และการนำไปประยุกต์ใช้ของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลา

การทดลองวิจัยผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในอนาคต ควรศึกษาระดับที่เหมาะสมที่ส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ และไม่จำเพาะ โดยคำนึงระยะเวลาการในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่ดีที่สุด และระยะเวลาที่มีคอบสนอง หลังจากการหยุคให้อาหารผสมสารภูมิคุ้มกัน ชนิดโปรไบโอติกส์

การนำไปใช้ประโยชน์ของเกษตรกร ในการทดลองในครั้งนี้ได้ทดลองเลี้ยงปลานิลในกระชัง ซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่ใกล้เคียงกันกับการเลี้ยงของเกษตรกรในเชิงพาณิชย์ จึงเป็นเรื่องง่ายของเกษตรกรที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการเลี้ยงปลานิล และปลาชนิดอื่นๆ ซึ่งเป็นวิธีการง่ายที่สุดคือ

1. การนำไปคลุกกับอาหารเม็ดลอยน้ำโดยแนะนำให้ใช้ร่วมกับโคโคซาน หรือ ยีสต์เสริมในอาหาร เพราะมีประสิทธิภาพการทำงานที่ไม่แตกต่างกันกับการเสริมยีสต์ได้โดยนำยีสต์ผงไปกระตุ้นด้วยน้ำอุ่น 5 นาที แล้วนำไปเคลือบด้วยอาหารเม็ด แต่อย่าให้อาหารและก็นำไปผึ่งในร่มให้แห้งก่อนนำไปใช้
2. การใช้โคโคซานแบบผงละเอียดผสมน้ำนำไปเคลือบให้ทั่วอาหารเม็ด ผึ่งในร่มให้แห้งก่อนนำไปใช้
3. การเสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในอาหารนั้นอาจเสริมในช่วงที่ปลาขนาดเล็ก และปลาที่อ่อนแอ เพื่อช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และเพิ่มอัตราการรอดตาย เนื่องจากปลาเล็ก และปลาที่อ่อนแอจะมีระบบภูมิคุ้มกันต่ำ และการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันยังไม่สมบูรณ์เท่ากับปลาขนาดใหญ่ และปลาที่แข็งแรง เมื่อปลาขนาดใหญ่ขึ้น หรือมีการเสริมเป็นช่วงๆ เพราะปลาที่มีระบบ

ภูมิคุ้มกันที่พัฒนาดีแล้ว และการเสริมในอาหารเป็นช่วงๆ เป็นการประหยัดต้นทุนค่าอาหารมากกว่า การเสริมตลอดระยะเวลาการเลี้ยง



### สรุปผลการทดลอง

การศึกษาผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล จากการทดลองทั้ง 2 ส่วน คือ ในส่วนของการเพาะเลี้ยงปลานิลในกระชัง และการทดลองในตู้กระจก พบว่าปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปที่เสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR1-2 CR7-8 และ CR10-5 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของปลานิลในกระชัง พบว่าชุดที่เสริม CR7-8 ปลานิลมีขนาด และน้ำหนักสุดท้ายมากที่สุด อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการแลกเนื้อ (FCR) น้ำหนักที่เพิ่ม มีค่าสูงขึ้นเช่นกัน อัตราการรอดตาย (Survival%) ในชุดการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p>0.05$ ) จำนวนปลาที่ตายเกิดจากการบอบช้ำจากการชั่ง น้ำหนักสังเกตได้จากหลังชั่งน้ำหนักเป็นเวลา 1 วัน จะมีปลาทายลอยขึ้นมา ในชุดการทดลองที่เสริมด้วย CR1-2 มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) และค่า Productive Protein value (PPV) สูงสุด ค่า Productive Fat value (PFV) ก่อนการทดลองมีค่าสูงกว่าหลังการทดลอง ในระหว่างการทดลองทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ ด้านคุณภาพการเจริญเติบโต และคุณสมบัติของน้ำบางประการ ในบ่อเลี้ยงปลานิล (Multivariate analysis) พบว่า คุณภาพน้ำบางประการ แอมโมเนีย อุณหภูมิ ความเป็นด่าง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ มีความสัมพันธ์กับปัจจัยการเจริญเติบโตของปลานิลในทุกชุดการทดลองที่เสริมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ปลานิลทดลองที่เสริมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี และอัตราการรอดสูง เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3-4 เดือน มีการศึกษาทางด้านโภชนศาสตร์ของเนื้อปลานิลทดลองพบว่า ปริมาณโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น 6 เปอร์เซ็นต์ ในเนื้อปลานิลที่เสริมด้วยโปรไบโอติกส์มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าชุดควบคุมเล็กน้อย

การศึกษาอัตราการต้านทานเชื้อก่อโรค P4, P6 และ AH ในตู้กระจกพบว่า ปลานิลที่เสริมด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR1-2 มีอัตราการแลกเนื้อดีที่สุด รองลงมาคือ CR10-5 ส่วนอัตราการรอด CR7-8 มีค่าสูงสุด รองลงมาคือ CR1-2 และ CR10-5 แต่มีค่าอัตราการรอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) คุณภาพน้ำบางประการทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน และคุณภาพทางด้านโภชนศาสตร์ของเนื้อปลาในแต่ละชุดการทดลองพบว่า ไม่มีความแตกต่าง จากการศึกษาทดลองวิจัยผลของอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ทั้งส่วนที่เลี้ยงในกระชัง และในส่วนตู้กระจก พบว่า CR7-8 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมให้ปลานิลทดลองมีอัตราการเจริญ และอัตราการรอดจากเชื้อก่อโรคได้ดี และมีศักยภาพที่เหมาะสมในการจะนำจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์มาใช้ ในระบบการเลี้ยงปลานิลต่อไป และมีการนำจุลินทรีย์เฉพาะถิ่นในปลานิลไปประยุกต์ใช้ในสัตว์น้ำชนิดอื่นได้ในอนาคตข้างหน้า

## บรรณานุกรม

- กรมประมง. 2550. การเพาะเลี้ยงปลานิลในบ่อดิน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา [http://gms.oae.go.th/Z\\_Show.asp?ArticleID](http://gms.oae.go.th/Z_Show.asp?ArticleID). (13 มิถุนายน 2556).
- จตุพงษ์ มณีชัย, วิศณุ บุญญาวิวัฒน์ และพิกุล จิรวาณิชไพศาล. 2546. ผลของ Probiotic bacteria ในการป้องกันการก่อโรคของเชื้อ *Vibrio harveyi* D1526 ในลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาва. กรุงเทพฯ: การวิจัยของนิสิตสัตวแพทยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 23 น.
- จิตวัฒนา เหลืองบำรุง เต็มดวง สมศิริ และสุดา ตัณฑวณิช. 2550. การเกิดโรค *Aeromonas hydrophila* ในกุ้งก้ามกราม *Macrobrachium rosenbergii*. วารสารการประมง มีนาคม – เมษายน, 60: 147-151 น.
- ชนกันต์ จิตมนัส. 2548. เอกสารประกอบการสอนวิชาโรคปลา. เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 156 น.
- ชนกันต์ จิตมนัส, ภาสินันท์ สารมาศ และน้ำเพชร ประกอบศิลป์. 2556. แบคทีเรียที่แยกจากปลานิลซึ่งเลี้ยงในระบบต่างกัน บริเวณหมู่บ้านแม่แก้ว จ.เชียงใหม่. เชียงใหม่: ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่. 8 น.
- ชัยวุฒิ สุกทองคง. 2551. การใช้น้ำหมักชีวภาพเป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) แบบพัฒนา. ใน สัมมนาวิชาการด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง ประจำปี 2551 ณ โรงแรมเวียงอินน์ จังหวัดเชียงราย 15-19 มิถุนายน 2551. กรุงเทพฯ: สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง กรมประมง.
- ทศพร เรืองรักษลิจิต. 2547. แยกแยะดิกแอซิดแบคทีเรียจากทางเดินอาหารของปลากะพงขาว. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://cuir.car.chula.ac.th>. (14 กันยายน 2554).
- เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์เนื้อ. 2556. การถนอมรักษาเนื้อสัตว์. [ระบบออนไลน์ได้]. แหล่งที่มา <http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning46/ft470/chaptert06.doc> (22 เมษายน 2556).
- ธีระศักดิ์ เกษม. 2551. ผลของการเสริมวิตามินซี และโปรไบโอติกส์ในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลามอไทย. เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่. 56 น.
- นรสิงห์ เพ็ญประไพ, มาโนช ขำเจริญ และชุตินุช สุจริต. 2549. การศึกษาชนิดและปริมาณแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารและการประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ตรัง: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขต ตรัง. 34-56 น.

- นงเยาว์ มุนจันทา. 2550. การเลี้ยงปลาน้ำจืด. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://nongyao1201.wordpress.com>. (14 เมษายน 2556).
- นิตยสารการเกษตร. 2550. การเลี้ยงปลาในกระชัง. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.farmkaset.org/contents/?content=00225> (10 สิงหาคม 2556).
- นิลบล ขูาส, ชุตินา หาญจวนิช และนงนุช สุวรรณเพ็ง. 2545. การพัฒนาวิธีการในการป้องกันรักษาโรคที่เกิดกับปลาที่เลี้ยงในกระชังในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 27 น.
- นิวุฒิ หวังชัย. 2556. โภชนศาสตร์สัตว์น้ำ. เชียงใหม่: คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่. 226 น.
- นุรฮาซีกิน สุลุดอโรฮิง. 2547. นิเวศวิทยาจุลินทรีย์. ยะลา: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา. 26 น.
- ไบโอเทค. 2554. กลไกการทำงานของโปรไบโอติกส์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.click2chiangmai.com> (10 สิงหาคม 2554).
- ไบโอฟู้ด. 2556. โพลีแซคคาไรด์แปปไทด์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.au-om.com/psp3.asp> (24 กรกฎาคม 2556).
- ปณรัตน์ ผาดี. 2552. โรคและการวินิจฉัยโรคปลา. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 192 น.
- ประพันธ์ศักดิ์ ศิริชะภา และนนทวิทย์ อารีย์ชน. 2555. โรคที่เป็นสาเหตุของการตายที่รุนแรงของปลานิลในประเทศไทย. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.rdi.ku.ac.th> (10 สิงหาคม 2554).
- ปวเรศวร์ อินทุเศรษฐ, ศศิวิมล ปิติพรชัย, พรรณทิพย์ สุวรรณสาครกุล, บดินทร์ อธิพิงษ์ และสิริรัตน์ จงฤทธิพร. 2549. การใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. ชลบุรี: ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดชลบุรี กรมประมง, 45-78 น.
- พุทรา เชื้อจันทร์. 2549. การแยกแบคทีเรียบาซิลลัส จากมูลไก่ เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกส์. มหาสารคาม: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 67 น.
- พันธุ์ธิดา อนันต์, จารุณี เกสรพิกุล, สุรวุฒน์ ชะลอสันติสกุล และสาธิต บุญน้อม. 2554. การแยกเชื้อและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ที่แยกได้จากปลานิล. เพชรบุรี: คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี วารสารคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร. 8-14 น.
- ภัทรดา ไปฏ, ชลล ล้อมสุวรรณ, วชิรยา ภูริวิโรจน์กุล และนิติ ชูเชิด. 2556. ผลของการใช้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Aeromonas hydrophila*

- และ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*). กรุงเทพฯ: คณะ  
ประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยาประมง. 8 น.
- มันสิน ดันทุเลวสน์ และไพพรรณ พรประภาพร. 2536. การจัดการคุณภาพ และการบำบัดน้ำเสียใน  
บ่อเลี้ยงปลา. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา [http://opac.phuket.psu.ac](http://opac.phuket.psu.ac.th/BibDetail.aspx?bibno=182)  
[th/BibDetail.aspx?bibno=182](http://opac.phuket.psu.ac.th/BibDetail.aspx?bibno=182) (24 เมษายน 2556).
- ยุทธพล คงกระจำ และนงนุช เลาหะวิสุทธิ. 2555. การใช้แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp. เป็น  
โปรไบโอติกส์ที่มีต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอด และปริมาณเชื้อไวรัสในกุ้งขาวแวนนา  
ไม. กรุงเทพฯ: วิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระ  
จอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 8 น.
- รัชนีวรรณ ทวีแก้ว. 2554. โปรไบโอติกกับเทคนิคการแยกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากตัวอย่าง  
ปลา และกุ้งก้ามกราม. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา  
[http://web.yru.ac.th/dolah/notes/4034605-2-48/PTR-12/PRT\\_404652007-12.pdf](http://web.yru.ac.th/dolah/notes/4034605-2-48/PTR-12/PRT_404652007-12.pdf).  
(22 เมษายน 2556).
- รัตนสุตา ไชยเชษฐ. 2554. การใช้อีเอ็มเป็นโปรไบโอติกส์ในอาหารปลาโมง. วารสารวิจัย  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น. กุมภาพันธ์ 16 (2): 136 -144 น.
- วลัยพร ทิมนุญธรรม, มังกร โรจน์ประภากร, สุริยา สาสนรักกิจ และเสรี เจริญกิจมงคล. 2549. การ  
คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. ใน การ  
ประชุมสัมมนาทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 ภาควิชา  
เทคโนโลยีชีวภาพ กรุงเทพฯ: คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 370-  
377 น.
- วิลาวัณย์ รุ่งรวบ สุรวัดน์ ชะลอสันติสกุล สมฤดี ศิลาฤดี และจารุณี เกษรพิบูล. 2554. ผลของคิ.พี.  
โปรไบโอติกส์ต่อการเจริญเติบโตของปลานิล. เพชรบุรี: วารสารคณะสัตวศาสตร์คณะ  
สัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2(3): 7 น.
- วันดี วราวิทย์. 2551. โปรไบโอติกและพรีไบโอติก (Probiotics and Prebiotics). วารสารคลินิก  
เล่ม: 278 [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://dev.doctor.or.th/node/6931>  
(19 กุมภาพันธ์ 2556).
- วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2554. โปรไบโอติกส์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา  
<http://th.wikipedia.org/wiki.com> (10 สิงหาคม 2554).
- วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2556ก. ปลานิล. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา.  
[http://th.wikipedia.org/wiki.Nile\\_tilapia](http://th.wikipedia.org/wiki.Nile_tilapia) (25 กรกฎาคม 2556).

- วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2556ข. เม็ดเลือดแดงแตก (จุลชีววิทยา). [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา [http://en.wikipedia.org/wiki/Hemolysis\\_\(microbiology\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Hemolysis_(microbiology)) (14 เมษายน 2556).
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดตาก. 2553. คุณสมบัติของน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลานิล. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.fisheries.go.th/iftak/web2index.php?option=com> (13 มีนาคม 2556).
- สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ. 2540. การเพาะเลี้ยงปลานิลเทศผู้ฉวน. ประทุมธานี: กรมประมง กระทรวงเกษตร และสหกรณ์. 22 น..
- สนธิ แดงสกุล และลิลา เรืองแป้ง. 2541. ประสิทธิภาพของโปรไบโอติกส์ที่ผลิตจาก *Bacillus* เพื่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วารสารการประมง, 51(5): 446-456 น.
- เสนอ มิ่งมงคลกุลดิลก. 2547. กุ้งไทยไร้สารตกค้าง-โปรไบโอติกส์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.nicaonline.com/webboard/index.php?topic=1638.0>. (13 มีนาคม 2556).
- สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, มานพ กาญจนบุรากร, ปิยาภรณ์ สมสมัคร, นเรศ เชื้อสุวรรณ, ปฎิมา ชัยพิริยะศักดิ์ และวีรพงษ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2550. คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกส์ที่จำหน่ายในประเทศไทย. วารสารการประมง มกราคม-กุมภาพันธ์, 60 (1): 223-234 น.
- สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และรณชัย ทองสนธิ. 2550. การใช้โปรไบโอติกส์ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วารสารการประมง 60 (2) มีนาคม - เมษายน. 128-135 น.
- สุญาณี พงษ์ชนานิกร. 2549. โปรไบโอติกและโปรไบโอติก: อาหารสุขภาพ. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา [http://www.giffarinethailand.com/th/interesting\\_info.php?nid=59](http://www.giffarinethailand.com/th/interesting_info.php?nid=59) (23 มิถุนายน 2556).
- หนังสือพิมพ์โพสต์ทูเดย์. 2556. ทำไมถ้าใส่ต้องมีแบคทีเรีย. 16:44 น. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.dek-d.com/board/view/1411798/>. (8 มิถุนายน 2556).
- อุดม เรืองนพคุณ. 2549. การเพาะพันธุ์และเลี้ยงปลานิล. กรุงเทพฯ: เกษตรสยามบุ๊คส์. 95 น.
- เอกพล วังกะฮาด และปวีณา รัตนเสนา. 2555. ประสิทธิภาพของวัคซีนแบบฉีดที่ผลิตจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ฆ่าด้วยฟอร์มาลินในปลาอุกอุกผสม (*Clarias macrocephalus*, *Clarias gariepinus*). วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง มกราคม-มิถุนายน, 6 (1): 12 น.
- อัจฉรา หนูเพชร. 2547. การคัดเลือกโปรไบโอติกส์แบคทีเรียแลคติกสำหรับมนุษย์ จากอาหารหมักของไทย. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 659-670. น.
- Ahmad, M., Mohsen, A. T. and. Yassir. A. E. K. 2000. Effect of Diet Ary Protein Levels on Growth Performance and Protein Utilization in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) with Different Initial Body Weight. **Journal Aquaculture Research**, 37 (14): 249-263.

- Al-Harbi, A.H. and Uddin, M. N. 2003. Seasonal Variation in the Intestinal Bacteria Flora of Hybrid Tilapia Cultured in Earthen Ponds in Saudi Arabia. **Journal Aquaculture**, 229: 37-44.
- Aly, M., Abd-El-Rahman A.M., John G. and Mohamed M.F. 2006. Characterization of Some Bacteria Isolated from *Oreochromis niloticus* and their Potential Use as Probiotics. **Journal Aquaculture**, 277 (1-2): 1-6.
- Anadon, A., Martinnez – Larranaga, M. R. and Martinez, M. A. 2005. Probiotics for Animal in the European Union Regulation and Safety Assessment. **Journal Toxicology and Pharmacology**, 84(8): 91-95.
- Balcázar, J.L., Vendrell, D. Blas, I., Ruiz-Zarzuela I., José, L. and Girones, M.O. 2008. Characterization of Probiotic Properties of Lactic acid Bacteria Isolated from Intestinal. **Journal Aquaculture**, 278 (1-4): 188–191.
- Bic Chemical CO., LTD. 2012. **Animal Feed**. [Online]. Available <http://www.bicchemical.com> (10 October 2555).
- Byun, T.D., Park, S.C. Benno, Y. and Oh, T.K. 1997. Probiotic Effect of *Lactobacillus* sp. DS-12 in Flounder (*Aralichthys olivaceus*). **Journal. Gen. Appl. Microbiology**. 43: 305 - 308.
- Chaveerach, P., Huurne, A. H. M. T., Lipman, L. J. A. and Knapen F. V. 2003. Survival and Resuscitation of Ten Strains of *Campylobacter jejuni* and *campylobacter coli* Under Acid Conditions. **Journal Applied and Environmental Microbiology**, 69(1):711-4.
- Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Carnevali, O., Picchiatti, S., Avella, M., Daniels, C., Güroy, D. and Davies, S. J. 2011. Microbial Manipulations to Improve Fish Health and Production A Mediterranean Perspective. **Journal Fish & Shellfish Immunology**. 30(1): 1-16.
- Essa, M. A., Mabrouk, H. A., Mohamed, R. A. and Michael, F. R. 2011. Evaluating Different Additive Levels of Yeast, *Sacharomyces cerevisiae*, on the Growth and Production Performances of a Hybrid of Two Population of Egyptian African Catfish, *Clarias gariepinus*. **Journal Aquaculture**. 320: 137-141.
- Gaon, D., Garmendia, C. and Murrielo, N.O. 2002. **Effect of *Lactobacillus* Strains (*L. casei* and *L. acidophilus* strains cereal) on Bacterial Overgrowth-related Chronic Diarrhea**. *Medicina (B Aires)*, 62:159 -163.

- Gilliand, S. E. 1977. Antagonistic Action of *Lactobacillus acidophilus* To ward Intestinal and Food - Born Pathogen in Associative culture. **Journal of Food Protection**, 40: 823–829.
- Gomez - Gil B., Roque, A. and Turnbull, JF. 2000. The Use and Selection of Probiotic Bacteria for Use in the Culture of Larval Aquatic Organisms. **Journal Aquaculture**, 268(8): 259–270.
- Jueliang, P., Limsuwan, C., Chuchird, N and Purivirojku, W. 2012. **Effect of Spore-forming Bacteria on *Vibrio* spp., Growth and Survival of *Litopenaeus vannamei* in Shrimp Farm**. Bangkok: Kasetsart University Annual Conference, 21(6): 1-4
- Kitancharoen, N., Hanjavani, C., and Suwannapeng, N. 2006. **Efficiency of Vaccination with *Streptococcus agalactiae* Bacterin on Streptococcosis Prevention in Nile Tilapia**. 13 p
- Media and Biochem. 2012. **Blood agar**. [Online]. Available [www.medtechzone.com](http://www.medtechzone.com) (14 September 2554)
- Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S. J., Baker, R.T.M., Børgwald, J. and Castex, M. 2010. The Current Status and Future Focus of Probiotic and Prebiotic Applications for Salmonids. **Journal Aquaculture**, 302 (1-2): 1-18.
- Phianphak, W., Piyativarakul, S., Menasveta, P. and Rengpipat, S. 1997. Use of Probiotics in *Penaeus monodon*. **Journal Pacific Marine Biotechnology**, 768(7): 147-166.
- Pirarat, N., Kobayashi, T., Katagiri, T., Maita, M. and Endo, M. 2006. Protective Effects and Mechanisms of a Probiotic Bacterium *Lactobacillus rhamnosus* Against Experimental *Edwardsiella tarda* Infection in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal Veterinary Immunology and Immunopathology**, 113 (3-4): 339-347.
- Planas, M., Pérez-Lorenzo, M., Hjelm, M., Gram, L., Fiksdal, I. U., Bergh, I. and Pintado, J. 2006. Probiotic Effect *In Vivo* of *Roseobacter* Strain 27-4 Against *Vibrio* (*Listonella*) *anguillarum* Infections in Turbot (*Scophthalmus maximus* L.) Larvae. **Journal Aquaculture**, 255 (1-4): 323-333.
- Rengpipat, S. and Wannipa, P. 1998. Effect a Probiotic Bacterium no Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon* Survival and Growth. **Journal Aquaculture** 167: 301-313.
- Sen, S. and Chakrabarty, S. L. 1984 Amylase From *Lactobacillus cellobiosus* Isolate from Vegetable Wastes. **Journal of Fermentation Technology**, 15(3): 407–413.

- Sugita, H., Ishida, Y., Deguchi, Y. and Kadota, H. 1982. Aerobic Microflora Attached to the Wall Surface in the Gastrointestine of *Oreochromis niloticus*. **Jour Bull. Coll. Agric. Vet. Med. Nihon University**. 39: 302-306.
- Swingle, H.S. 1960. **Comparative Evaluation of Two Tilapias as Pondfishes in Alabama**. Transfer. Amer. Fish. Soc., 89: 142 – 148.
- Tramer, J. 1966. Inhibitory Effect of *Lactobacillus acidophilus*. **Journal Nature**, 71(3): 204 – 205.
- Vendrell D., Balcázar J.L., Blas I., Ruiz-Zarzuela I., Gironés O. and Múzquiz J.L. 2008. Protection of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) from Lactococcosis by Probiotic Bacteria. **Journal Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 31 (4): 337-345.
- Yanbo, W. and Zirong, X. 2006. Effect of Probiotics for Common Carp (*Cyprinus carpio*) on Growth Performance and Digestive Enzyme Activities. **Journal Animal Feed Science and Technology**, 108(6): 283 – 292.
- Zhang, Q., Ma, H., Mai, K., Zhang, W., Liufu., Z. and Xu, W. 2010. Interaction of Dietary *Bacillus subtilis* and Fructooligosaccharide on the Growth Performance, Non – Specific Immunity of Sea Cucumber, *Apostichopus japonicus*. **Journal Fish & shellfish Immunology**, 25(2): 04 – 211.
- Zhou, X., Wang, Y. and Wei-fen, L., 2009. Effect of Probiotic on Larvae Shrimp (*Penaeus vannamei*) Based on Water Quality, Survival Rate and Digestive Enzyme Activities. **Journal Aquaculture**, 287 (3-4): 349-353.
- Ziaei – Nejad, S., Rezaei, M. H., Takami, G. A., Lovett D. L., Mirvaghefi A. R. and Shakouri, M. 2006. The Effect of *Bacillus* spp. Bacteria Used as Probiotics Enzyme Activity, Survival and Growth in the Indian White Shrimp *Fenneropenaeus indicus*. **Journal Aquaculture**, 171(7): 516 – 524.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

ฐานานุกรมของแม่ศรี

ตารางผนวก 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์แบคทีเรียเมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากฟาร์มต่างๆ

| ลำดับที่             | สถานที่         | รหัสไอโซเลท | ลักษณะโคโลนี                               | ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์                   | แหล่งที่มา |
|----------------------|-----------------|-------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------|
| จังหวัด<br>เชียงใหม่ |                 |             |                                            |                                                         |            |
| 1                    | ประมวล<br>ฟาร์ม | CM1-1       | สีเหลืองอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ  | แกรมบวก รูปร่างกลม เซลล์เดี่ยว หรืออยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ลำไ้       |
| 2                    |                 | CM1-2       | สีเหลืองอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ  | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                  | ลำไ้       |
| 3                    |                 | CM1-3       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ       | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม             | ลำไ้       |
| 4                    |                 | CM1-4       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ         | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                  | ลำไ้       |
| 5                    |                 | CM1-5       | สีเหลืองใส กลม ไม่มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมลบ รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว                       | ดิน        |
| 6                    |                 | CM1-6       | สีเหลืองใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว                     | ดิน        |
| 7                    | อนันต์ฟาร์ม     | CM2-1       | สีเหลืองอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ  | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                 | ลำไ้       |
| 8                    |                 | CM2-2       | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                  | ลำไ้       |

ตารางผนวก 1(ต่อ)

| ลำดับที่ | สถานที่                                         | รหัสไอโซเลท | ลักษณะโคโลนี                                 | ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์       | แหล่งที่มา |
|----------|-------------------------------------------------|-------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------|------------|
| 9        | คณะเทคโนโลยีการ<br>ประมงฯ ม.แม่โจ้<br>เชียงใหม่ | CM2-3       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบ<br>หยาบ      | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ลำไ้       |
| 10       |                                                 | CM2-4       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบหยาบ            | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม      | ลำไ้       |
| 11       |                                                 | CM2-5       | สีเหลืองอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ<br>ขอบเรียบ | แกรมลบ รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว           | ดิน        |
| 12       |                                                 | CM2-6       | สีเหลือง กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบ<br>เรียบ    | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว         | ดิน        |
| 13       |                                                 | CM3-1       | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวเรียบ ขอบ<br>เรียบ    | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น ต่อกันเป็นเส้นสาย    | ลำไ้       |
| 14       |                                                 | CM3-2       | สีเหลืองอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ<br>ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม     | ลำไ้       |
| 15       |                                                 | CM3-3       | สีเหลืองเข้ม กลม มันวาว ผิวเรียบ<br>ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม     | ลำไ้       |
| 16       |                                                 | CM3-4       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ           | แกรมลบ รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว           | ดิน        |

ตารางผนวก 1(ต่อ)

| ลำดับที่ | สถานที่                      | รหัสไอโซเลท | ลักษณะโคโลนี                               | ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์       | แหล่งที่มา |
|----------|------------------------------|-------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|------------|
| 17       | ศูนย์วิจัย และ               | CM4-1       | สีเหลืองเข้ม กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม     | ลำไ้       |
| 18       | พัฒนา                        | CM4-2       | สีขาวขุ่น กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม     | ลำไ้       |
| 19       | ประมง<br>น้ำจืด<br>เชียงใหม่ | CM4-3       | สีขาวใส กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม     | ลำไ้       |
| 20       |                              | CM4-4       | สีเหลืองเข้ม กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม     | ลำไ้       |
| 21       |                              | CM4-5       | สีเหลืองเข้ม กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม      | ลำไ้       |
| 22       |                              | CM4-6       | สีขาว กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม      | ลำไ้       |
| 23       |                              | CM4-7       | สีเหลืองเข้ม กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม     | ลำไ้       |
| 24       |                              | CM4-8       | สีขาวใส กลม ไม่ม้วนวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ    | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว          | ลำไ้       |
| 25       |                              | CM4-9       | สีขาว กลม ไม่ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบหยาบ      | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว ต่อกันเป็นเส้นสาย    | ดิน        |
| 26       |                              | CM4-10      | สีเหลืองอ่อน กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม     | ดิน        |
| 27       |                              | CM4-11      | สีเหลืองเข้ม กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ดิน        |
| 28       |                              | CM4-12      | สีขาวใส กลม ม้วนวาว ผิวเรียบ ขอบหยาบ       | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว          | ดิน        |
| 29       |                              | CM4-13      | สีขาว กลม ไม่ม้วนวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ      | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม     | ดิน        |

ตารางผนวก 1(ต่อ)

| ลำดับที่ | สถานที่      | รหัสไอโซเลท | ลักษณะโคโลนี                             | ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์                     | แหล่งที่มา |
|----------|--------------|-------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------|
| 30       | บุญธรรมฟาร์ม | CR5-1       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ       | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                   | ลำไ้       |
| 31       |              | CR5-2       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ       | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม<br>สร้างสปอร์ | ลำไ้       |
| 32       |              | CR5-3       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ       | แกรมลบ รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว                         | ลำไ้       |
| 33       |              | CR5-4       | สีขาวขุ่น กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                   | ลำไ้       |
| 34       |              | CR5-5       | สีขาวขุ่น กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                    | ดิน        |
| 35       |              | CR5-6       | สีขาวใส กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                   | ดิน        |
| 36       |              | CR5-7       | สีขาวขุ่น กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบหยัก    | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                   | ดิน        |
| 37       |              | CR5-8       | สีเหลืองใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบหยัก   | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว                       | ดิน        |
| 38       |              | CR5-9       | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบหยัก      | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว                        | ดิน        |
| 39       |              | CR5-10      | สีขาวขุ่น กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบหยัก  | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้นเซลล์เดี่ยว                        | ดิน        |

ตารางผนวก 1 (ต่อ)

| ลำดับที่ | สถานที่        | รหัสไอโซเลท | ลักษณะโคโลนี                              | ลักษณะพื้นฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์  | แหล่งที่มา |
|----------|----------------|-------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|------------|
| จังหวัด  |                |             |                                           |                                         |            |
| เชียงราย |                |             |                                           |                                         |            |
| 40       | ลลิตาฟาร์ม     | CR1-1       | สีขาวขุ่น กลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างยาว อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ลำไ้       |
| 41       |                | CR1-2       | สีขาวขุ่น กลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างสั้น เซลล์เดี่ยว         | ลำไ้       |
| 42       |                | CR1-3       | สีขาวขุ่น กลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ    | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม  | ดิน        |
| 43       |                | CR1-4       | สีขาวใส กลม ไม่ม้วนาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว      | ดิน        |
| 44       | แม่คำวโดนฟาร์ม | CR2-1       | สีเหลืองอ่อน กลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ลำไ้       |
| 45       |                | CR2-2       | สีเหลืองใส กลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมลบ รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว       | ลำไ้       |
| 46       |                | CR2-3       | สีเหลืองใส กลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม  | ลำไ้       |
| 47       |                | CR2-4       | สีขาว กลม ไม่ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ     | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว      | ดิน        |
| 48       |                | CR2-5       | สีขาว กลม ไม่ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ     | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ดิน        |
| 49       | สงกรานต์ฟาร์ม  | CR3-1       | สีขาว กลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม  | ลำไ้       |
| 50       |                | CR3-2       | สีขาว กลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม  | ลำไ้       |

ตารางผนวก 1 (ต่อ)

| ลำดับที่ | สถานที่     | รหัสไอโซเลท | ลักษณะโคโลนี                              | ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์                   | แหล่งที่มา |
|----------|-------------|-------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------|
| 51       | ศักดิ์ฟาร์ม | CR3-3       | สีเหลืองเข้ม กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                 | ดิน        |
| 52       |             | CR3-4       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                  | ดิน        |
| 53       |             | CR3-5       | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวเรียบ ขอบหยัก      | แกรมบวก รูปร่างวงรี เซลล์เดี่ยว                         | ดิน        |
| 54       |             | CR4-1       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว สร้างสปอร์           | ลำไ้       |
| 55       |             | CR4-2       | สีขาวขุ่น กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                 | ลำไ้       |
| 56       | อภิรดีฟาร์ม | CR4-3       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                  | ดิน        |
| 57       |             | CR4-4       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                 | ดิน        |
| 58       |             | CR5-1       | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ      | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มต่อกัน 2-3 เซลล์ | ลำไ้       |
| 59       |             | CR5-2       | สีเหลืองอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                 | ลำไ้       |
| 60       |             | CR5-3       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม             | ลำไ้       |
| 61       |             | CR5-4       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ       | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว                      | ดิน        |
| 62       |             | CR5-5       | สีขาวขุ่น กลม มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ     | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                 | ดิน        |

ตารางผนวก 1(ต่อ)

| ลำดับที่ | สถานที่    | รหัสไอโซเลท | ลักษณะโคโลนี                              | ลักษณะพื้นฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์                       | แหล่งที่มา |
|----------|------------|-------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|------------|
| 63       | ทวีฟาร์ม   | CR6-1       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบหยัก       | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                      | ต้นไม้     |
| 64       |            | CR6-2       | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบขอบเรียบ       | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                      | ต้นไม้     |
| 65       |            | CR6-3       | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ     | แกรมบวก รูปร่างวงรี อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                     | ดิน        |
| 66       |            | CR6-4       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                 | ดิน        |
| 67       |            | CR6-5       | สีขาวขุ่น กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ  | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                      | ดิน        |
| 68       |            | CR6-6       | สีขาวใส กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว หรืออยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ดิน        |
| 69       | ทองคำฟาร์ม | CR6-7       | สีขาวขุ่น กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ  | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                      | ดิน        |
| 70       |            | CR7-1       | สีเหลืองเข้ม กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยวสร้างสปอร์                | ต้นไม้     |
| 71       |            | CR7-2       | สีขาวเข้ม กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ    | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                  | ต้นไม้     |
| 72       |            | CR7-3       | สีเหลืองเข้ม กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                      | ต้นไม้     |
| 73       |            | CR7-4       | สีขาวขุ่น กลม มันวาว ผิวเรียบขอบเรียบ     | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                 | ต้นไม้     |
| 74       |            | CR7-5       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมลบ รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว                            | ต้นไม้     |

ตารางผนวก 1(ต่อ)

| ลำดับที่ | สถานที่     | รหัสไอโซเลท | ลักษณะโคโลนี                                 | ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์                      | แหล่งที่มา |
|----------|-------------|-------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------|
| 75       |             | CR7-6       | สีเหลืองอ่อน กลม ไม่มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                     | ลำไ้       |
| 76       |             | CR7-7       | สีขาวใส กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ       | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                    | ลำไ้       |
| 77       |             | CR7-8       | สีขาวขุ่น กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ       | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้นเซลล์เดี่ยว หรืออยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ลำไ้       |
| 78       | จำนงค์ฟาร์ม | CR8-1       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ         | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว สร้างสปอร์              | ลำไ้       |
| 79       |             | CR8-2       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ           | แกรมบวก รูปร่างวงรีอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                    | ลำไ้       |
| 80       |             | CR8-3       | สีขาว กลม มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ            | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้นเซลล์เดี่ยว สร้างสปอร์              | ลำไ้       |
| 81       |             | CR8-4       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ           | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                    | ลำไ้       |
| 82       |             | CR8-5       | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ           | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้นอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                | ดิน        |
| 83       |             | CR8-6       | สีชมพูอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมบวก รูปไข่ เซลล์เดี่ยว                                 | ดิน        |
| 84       |             | CR8-7       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ         | แกรมบวก รูปไข่อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                         | ดิน        |
| 85       |             | CR8-8       | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ         | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                | ดิน        |
| 86       |             | CR8-9       | สีเหลืองเข้ม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยวสร้างสปอร์               | ดิน        |

ตารางผนวก 1(ต่อ)

| ลำดับที่ | สถานที่        | รหัสไอโซเลข | ลักษณะโคโลนี                              | ลักษณะฐานนิเวศภายใต้กล้องจุลทรรศน์                  | แหล่งที่มา |
|----------|----------------|-------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------|
| 87       | เอ็น เอส ฟาร์ม | CR8-10      | สีชมพูอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปไข่ อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม                 | ดิน        |
| 88       |                | CR8-11      | สีเหลืองอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม             | ดิน        |
| 89       |                | CR9-1       | สีเหลืองใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น เซลล์เดี่ยว                  | ลำไ้       |
| 90       |                | CR9-2       | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ     | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม              | ลำไ้       |
| 91       |                | CR9-3       | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวขรุขระ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม             | ดิน        |
| 92       | นัยสิทธิ์ฟาร์ม | CR9-4       | เชื้อราสีดำ                               | ไม่ได้ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์                    | ดิน        |
| 93       |                | CR10-1      | เหลืองอ่อน กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม             | ลำไ้       |
| 94       |                | CR10-2      | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม         | ลำไ้       |
| 95       |                | CR10-3      | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมลบ แท่งสั้น เซลล์เดี่ยวหรืออยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ลำไ้       |
| 96       |                | CR10-4      | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม              | ดิน        |
| 97       |                | CR10-5      | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว สร้างสปอร์       | ดิน        |
| 98       |                | CR10-6      | สีขาวใส กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบหยัก     | แกรมบวก รูปร่างกลม ต่อกันเป็นเส้นสาย                | ดิน        |

ตารางผนวก 1(ต่อ)

| ลำดับที่ | สถานที่      | รหัสไอโซเลท | ลักษณะโคโลนี                              | ลักษณะพื้นฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์         | แหล่งที่มา |
|----------|--------------|-------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------|------------|
| 99       | หนองบัวฟาร์ม | CR10-7      | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม        | ดิน        |
| 100      |              | CR10-8      | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมบวก รูปร่างรูปแท่งยาว อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม | ดิน        |
| 101      |              | CR10-9      | สีขาวยุ่น กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ    | แกรมบวก รูปร่างแท่งสั้น ค่อกันเป็นเส้นสาย      | ดิน        |
| 102      |              | CR11-1      | สีขาว กลม มันวาว ผิวหยาบ ขอบหยัก          | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว ค่อกันเป็นเส้นสาย       | ลำไ้       |
| 103      |              | CR11-2      | สีขาว กลม ไม่มันวาว ผิวหยาบ ขอบหยัก       | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว             | ลำไ้       |
| 104      |              | CR11-3      | สีขาวยุ่น กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบหยัก     | แกรมบวก รูปร่าง เซลล์เดี่ยว                    | ลำไ้       |
| 105      |              | CR11-4      | สีขาวยุ่น กลม ไม่มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | แกรมลบ รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม         | ลำไ้       |
| 106      |              | CR11-5      | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม        | ลำไ้       |
| 107      |              | CR11-6      | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม        | ดิน        |
| 108      |              | CR11-7      | สีขาวใส กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ      | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม        | ดิน        |
| 109      |              | CR11-8      | สีขาวยุ่น กลม มันวาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ     | แกรมบวก รูปร่างกลม อยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม        | ดิน        |
| 110      |              | CR11-9      | สีขาว กลม มันวาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ        | แกรมบวก รูปร่างแท่งยาว เซลล์เดี่ยว             | ดิน        |



ภาคผนวก ข

การนำเสนอผลงานวิชาการ

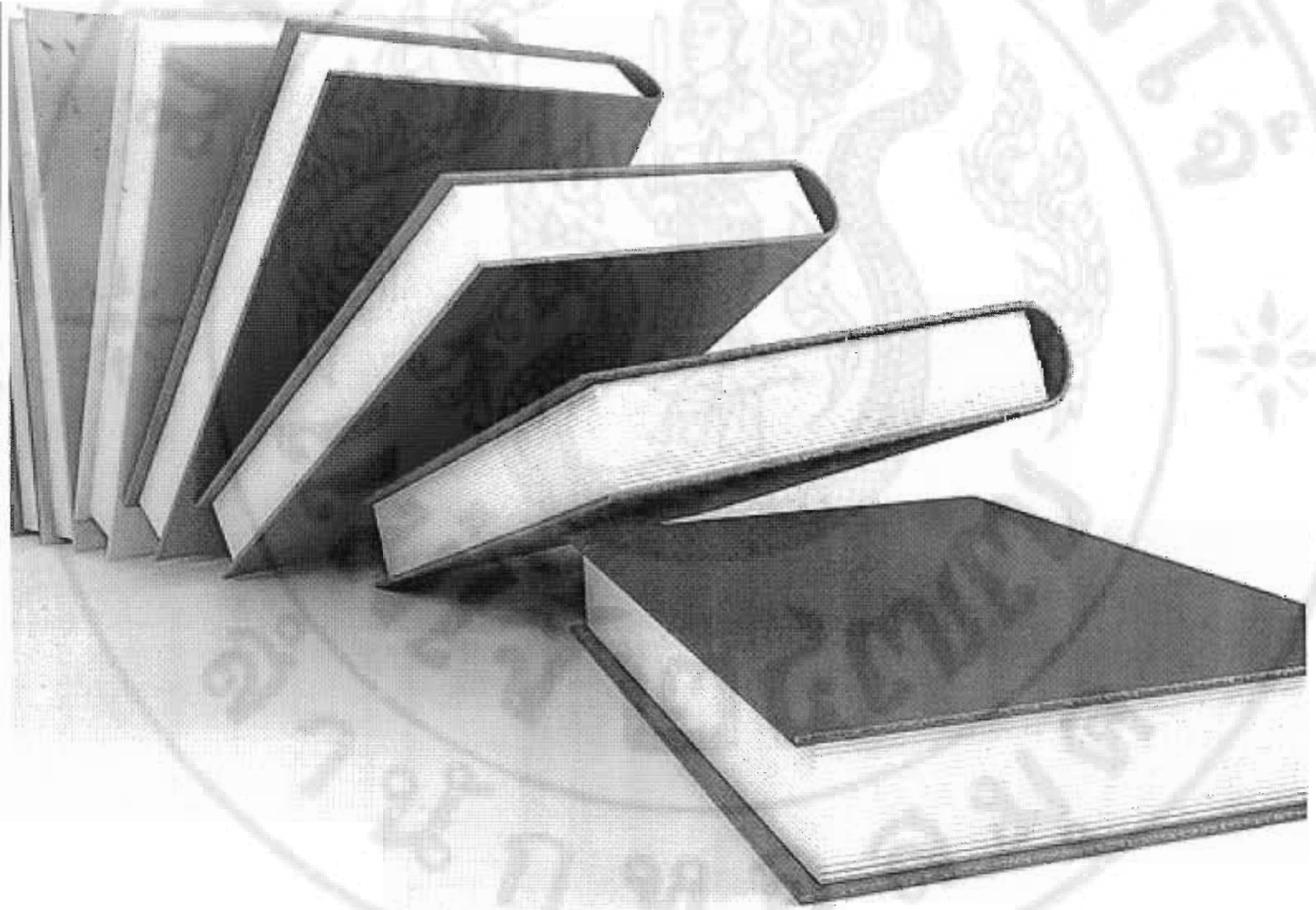
## รายงานการประชุม

1) การนำเสนอผลงานทางวิชาการภาคบรรยาย เรื่อง ผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล ในการประชุมเสนอผลงานวิจัย ระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ ๓ ในวันที่ ๒๓ พฤศจิกายน ๒๕๕๕ ณ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2). ตีพิมพ์ผลงานทางวิชาการ เรื่อง ผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล



វិទ្យាល័យការព្រឹទ្ធប  
ការព្រឹទ្ធបស្រេចយល់ឆ្លើយ ចំណុចបណ្តឹងពិធីការ  
បរិច្ឆេទប្រចាំឆ្នាំ ២០១២ លេខ ៣  
២២ បណ្តាញការព្រឹទ្ធប ២៤៤៤



# Proceedings

The 3<sup>rd</sup> CMU Graduate Research Conference  
November 23, 2012

# ผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล

## Effect of Endemic Probiotics to Inhibit Bacterial Pathogen

### in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

อนุสรณ์ ช่วยทอง\* บัญญัติ มนเทียรอาสน์\*\* ชนกกันต์ จิตมนัส\*\*\* อุดมลักษณ์ สมพงษ์\*\*\*\*

คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

#### บทคัดย่อ

การศึกษาผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ดิน และน้ำจากฟาร์มในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงราย จำนวน 16 แหล่ง เพื่อทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เลี้ยงในอาหาร MRS พบว่า สามารถแยกเชื้อได้ 110 ไอโซเลท ตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น โดยทดสอบการติดสีแกรมลักษณะรูปร่าง และการจัดเรียงตัวของเซลล์ ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 8 ไอโซเลท ด้วยเทคนิค Agar well diffusion ในอาหาร BHI พบว่าเชื้อโปรไบโอติกส์ เพียง 15 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค CR10-8, CR1-2, CR1-4, CR8-9, CM4-3 และCM4-6 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรค P1-P8 และ *Aeromonas hydrophila* แต่ชนิดอื่นๆสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้เพียง5-7ชนิดเท่านั้น ทดสอบการแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดง (Blood agar hemolysis)ไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกทั้งหมด(Non hemolysis)ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญ และการผลิตสารปฏิชีวนะในระดับ pH 4-9 เพาะเลี้ยงในอาหาร TSB เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อไม่สามารถเจริญได้ที่ระดับ pH4 สภาวะpH ที่เหมาะสม คือ pH7 ทดสอบความสามารถในการเกาะติดของเชื้อพบว่าเชื้อมีความสามารถยึดเกาะผนังหลอดทดลองได้ 30-50 % ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโต และการยับยั้งเชื้อก่อโรคในปลานิลเป็นขั้นตอนต่อไป

#### Abstract

Effective of endemic probiotics to inhibit bacterial pathogen was studied. The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) soil and water were collected from 16 fish farms in Chiang mai and Chiang rai provinces. Isolating probiotics was tested by using MRS medium. One hundred and ten isolates were picked and tested gram stain, cell shape and colonization. Inhibition of bacterial pathogen was tested by Agar well diffusion technique on BHI agar. Fifteen isolates of probiotics could inhibited pathogen CR10-8, CR1-2, CR1-4, CR8-9, CM4-3 and CM4-6 could inhibited all nine pathogen strains (P1-P8 and *Aeromonas hydrophila*). But, other probiotic strains could inhibited 5-7 strains. Blood agar hemolysis were tested. All probiotics could be identified to non-hemolysis strains. Optimal temperature and antibiotics production at pH 4-9 were tested in TSB medium for 24 hr. optimal pH condition was pH7 and all strains could not grew at pH4. Adhesion characteristic was tested in test tube. Probiotics could adhered at test tube wall 30-50%. Efficiency of growth stimulator and inhibition in bacterial pathogen of selected probiotics were tested in the field of Nile tilapia culture.

\* นักศึกษาหลักสูตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ e-mail address: anusorn\_kak@windowslive.com

\*\* ผู้ช่วยศาสตราจารย์ (ดร.) คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ e-mail address: bunyal@mju.ac.th

\*\*\* ผู้ช่วยศาสตราจารย์ (ดร.) คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ e-mail address: chanagunl@hotmail.com

\*\*\*\* อาจารย์ (ดร.) คณะเทคโนโลยีการประมง และทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ e-mail address: udomluk@mju.ac.th

## บทนำ

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยมีมูลค่าผลผลิตต่อปีสูงสุดในบรรดาสัตว์น้ำจืดทั้งหมด เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่ายขยายพันธุ์รวดเร็ว เป็นที่ต้องการทั้งภายใน และต่างประเทศสูง จึงทำให้มีการพัฒนารูปแบบการเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง จนเป็นระบบการเลี้ยงเชิงพาณิชย์มากขึ้น อีกทั้งหน่วยงานภาครัฐ และเอกชนได้ปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีอัตราการเจริญเติบโต และปริมาณเนื้อเยื่อเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค สามารถสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรเป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตาม เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลส่วนใหญ่มักประสบปัญหาการตายของปลา ซึ่งการตายของปลามักจะเกิดในช่วงหน้าร้อนถึงต้นฤดูฝน และยังมีปัญหาหลายประการ เช่น ปัญหาด้านต้นทุนที่เพิ่มสูงขึ้นตามภาวะเศรษฐกิจ ปัญหาด้านการตลาดปัญหาทางด้านแหล่งเงินทุน และการสนับสนุนจากภาครัฐ และเอกชนยังไม่ทั่วถึง

ในปัจจุบันได้มีการป้องกันและการรักษาโรคในปลานิลโดยการใช้ยาปฏิชีวนะ และสารเคมีบางชนิด แต่ไม่สามารถหยุดยั้งการตายของปลาได้โดยปลายังแสดงการตายต่อเนื่อง จนเกษตรกรส่วนใหญ่ประสบภาวะขาดทุนอย่างหนัก ซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะในปริมาณสูงอาจทำให้เกิดสารตกค้างในปลา และในสิ่งแวดล้อม รวมทั้งทำให้เกิดแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ เกษตรกรจึงคิดหาวิธีต่าง ๆ ที่จะป้องกันโรคที่เกิดขึ้นทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ โดยการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ เสริมลงไปผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปซึ่งจะช่วยในกระบวนการย่อย และการต้านทานของเชื้อโรคเมื่อเข้าสู่ร่างกาย โดยสร้างกรด และหลังสารพิษที่มีผลทำให้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ อีกทั้งยังช่วยปรับสมดุลในลำไส้ให้ต่อสู้กับเชื้อโรคได้อีกด้วย (สุญญาณี, 2549)

จากการศึกษาการใช้โปรไบโอติกส์ ทำให้เกิดความคิดในการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบลำไส้ของปลานิล เพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์ที่ยัง

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆ ดังนั้น การวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่น ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล

## ระเบียบวิธีวิจัย

## 1. การเก็บตัวอย่าง

ศึกษาเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ พร้อมกับตัวอย่างน้ำ และตะกอนดินพื้นท้องน้ำเพื่อแยกจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่มีศักยภาพที่จะเป็นเชื้อโปรไบโอติกส์ ได้จากฟาร์มปลานิล ในจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย รวม 16 ฟาร์ม ได้แก่ ประมวลฟาร์ม, อนันต์ฟาร์ม, คณะเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยแม่โจ้, ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่, บุญธรรมฟาร์ม, สลิตดาฟาร์ม, แม่ควาโดนฟาร์ม, สงกรานต์ฟาร์ม, สักดิ์ฟาร์ม, อภิรัตน์ฟาร์ม, ทวีฟาร์ม, ทองคำฟาร์ม, จานงค์ฟาร์ม, เอ็นเอส ฟาร์ม, นัยสิทธิ์ฟาร์ม และหนองบัวฟาร์ม

## 2. การแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ จากลำไส้ของปลานิล อย่างดิน และน้ำ โดยเฉพาะเลี้ยงบนอาหาร MRS โดยคัดแยกจากโคโลนีที่เกิดขึ้น ทำการตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น โดยใช้การย้อมสีแกรม เพื่อดูลักษณะรูปร่างเซลล์ และการจัดเรียงตัวของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2.1. การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล

การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ เพื่อหาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคในปลานิล ศึกษาอัตราการเกิดโรคในปลานิล (*In vivo* test) โดยฉีดเชื้อก่อโรคที่คัดแยกได้ ความเข้มข้น  $3 \times 10^6$  CFU/ml เข้าช่องท้องปลานิล และให้อาหารลูกปลานิลขนาดเล็ก วันละ 2 ครั้ง (ปนรัตน์ ผาดี, 2552)

### 3. การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

สุ่มเก็บปลานิลที่เป็นโรค บริเวณบ่อดิน ปลาตัวโต และน้ำ เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง TSA คัดแยกเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้ไปตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น โดยใช้การตรวจสอบการดิสแกรม เพื่อดูลักษณะรูปร่าง เซลล์ และการจัดเรียงตัวของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

#### 3.1 การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล ก่อนนำมาใช้ในการทดลอง เพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล (P2, P3, P4, P6, P8 และ AH) เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร TSB (Tryptic Soy Broth) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ใช้ความเข้มข้น  $3 \times 10^6$  CFU/ml แล้วนำมาฉีดเข้าช่องท้องปลานิลที่เตรียมไว้บริเวณช่องท้อง อัตราการปล่อย 10 ตัวต่อตู้ และให้อาหารลูกปลานิลขนาดเล็ก วันละ 2 ครั้ง (ปณรัตน์ ผาดี, 2552)

#### 3.2 การศึกษาปฏิกิริยาการเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง (Blood agar hemolysis)

ทดสอบการแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยแบคทีเรียก่อโรคบางกลุ่มสามารถสร้างสารฮีโมไลซิน ซึ่งสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงเกิดฮีโมไลซิสได้ โดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร Blood agar plate ที่เติมเลือดแกะ 5% ตรวจสอบการแตกตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดง เชื้อโปรไบโอติกส์ที่เลือกจะต้องไม่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกตัว (Non hemolysis) (Media and Biochem, 2555)

#### 3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญ และการยับยั้งเชื้อก่อโรค

เพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ และเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในอาหารเหลว Nutrient broth เขย่าบนเครื่องเขย่า Rotary shaker ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที โดยให้มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ  $1 \times 10^8$  CFU/ml หรือวัดค่าความขุ่นของอาหาร

เลี้ยงเชื้อ ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเทียบเท่ากับ 0.5 McFarland (พุทรา เชื้อจันทร์, 2549)

#### 3.4 การศึกษาสภาวะความเป็นกรด-ด่าง

(พีเอช) ที่เหมาะสม

เติมเชื้อแบคทีเรียตั้งต้น 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว Nutrient broth ปรับสภาวะพีเอชต่างๆ เท่ากับ 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ทดสอบการเจริญ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จากนั้น นำอาหารเลี้ยงมาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ ด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์ ที่มีความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แยกส่วนใส ออกเป็น 2 ส่วน นำส่วนแรกไปวัดค่าพีเอช และนำส่วนที่สอง วัดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (พุทรา เชื้อจันทร์, 2549)

#### 3.5 การทดสอบความสามารถในการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

นำหัวเชื้อโปรไบโอติกส์แต่ละชนิด มาเลี้ยงลงในอาหาร TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองพลาสติก เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเทส่วนใสทิ้ง จากนั้นหยดสี Methylene Blue แล้วสังเกตการณ์เกาะกลุ่มด้วยตาเปล่า ทำ 3 ซ้ำ เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่น 100 เปอร์เซ็นต์ ของการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในหลอดทดลอง (พุทรา เชื้อจันทร์, 2549)

#### ผลการวิจัย และอภิปรายผล

จากการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่แยกได้ในลำไส้ปลานิล และเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ที่แยกจากบริเวณบ่อดินปลาตัวโต และน้ำ ในปลานิลจากฟาร์มเลี้ยงแบบผสมผสานในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงราย

## 1. การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในปลาไน และตะกอนดิน

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ปลาไน พบว่า ลักษณะโคโลนีส่วนใหญ่คล้ายคลึงกัน สีเหลือง และสีขาว รูปร่างกลม มันวาว พื้นผิวเรียบ ขอบเรียบ เป็นส่วนใหญ่ และเมื่อนำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรีย Balcázar *et al.* (2008) ศึกษาการประเมินความสามารถของเชื้อแบคทีเรียแลคติก (LAB) ที่แยกได้จากปลา เช่น *Lactococcus lactis* CLFP 101, *Lactobacillus plantarum* CLFP 238, และ *Lactobacillus fermentum* CLFP 242 แกรมบวกลักษณะรูปร่างเซลล์ของจุลินทรีย์ ที่มีเซลล์แตกต่างกัน มีทั้ง แท่งสั้น แท่งยาว กลม การจัดเรียงตัวของเซลล์จุลินทรีย์ที่ต่อกัน 2-3 เซลล์ แบบกลุ่มก้อน และแบบเดี่ยว เชื้อแบคทีเรียที่แยก จำนวน 110 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาไน พบว่า มีเชื้อแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคปลาไนได้ จำนวน 15 ไอโซเลท (ตารางที่ 1, และ ตารางที่ 2) มาเป็นโปรไบโอติกส์ ชนกันดีและคณะ (2555) รายงาน จำนวนแบคทีเรียที่เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากส่วนต่าง ๆ ของปลาไนจากฟาร์มทั้ง 2 ระบบ สามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียได้ 8 ชนิด แบคทีเรียที่พบมาก คือ แกรมลบรูปแท่ง (39.53%) ได้แก่ สกุล *Aeromonas* ส่วนแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (20.93%) ได้แก่ *Micrococcus* และ *Staphylococcus* นอกจากนี้ยังได้มีการนำเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์มาทดสอบความสามารถของเชื้อในการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Aeromonas hydrophila* สำหรับอ้างอิงเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาไนพบว่า เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ทั้ง 15 ไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้ดี (ตารางที่ 2)

## 2. การคัดแยกเชื้อก่อโรค

ศึกษาเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาไน ที่แยกได้ทั้งหมด 8 ไอโซเลท พบว่าลักษณะของโคโลนีของ

แบคทีเรียจะคล้ายคลึงกัน เช่น สี รูปร่าง พื้นผิว เป็นต้น และเมื่อนำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ส่วนใหญ่ติดสีแกรมบวก ลักษณะรูปร่างเซลล์มีความแตกต่างกัน มีทั้ง แท่งยาว แท่งสั้น และกลมอยู่กันเป็นกลุ่ม การจัดเรียงตัวของเซลล์มีทั้งอยู่แบบเดี่ยวและแบบกลุ่ม (ตารางที่ 3) ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียก่อโรค อัตราการตายในปลาไน เป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่า P8 มีอัตราการตายสูงสุด และ P4 มีอัตราการตายต่ำสุด เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังได้มีการนำเชื้อ *Aeromonas hydrophila* สำหรับอ้างอิงเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาไน พบว่า มีอัตราการตายสูงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โสภะและกนกพร (2542) รายงาน การตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อแซลมอนเนลล่าในน้ำและเนื้อปลาอุกบึกอุย ซึ่งเชื้อแซลมอนเนลล่าเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคท้องเสีย อุจจาระร่วงในมนุษย์ ทศพร (2547) แยกแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากทางเดินอาหารของปลากะพงขาว เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกส์ด้วยเทคนิค well agar diffusion พบ 5 ไอโซเลท (LAB-1 - LAB-5) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aeromonas hydrophila* Aly *et al.* (2006) รายงานว่า ศึกษาประสิทธิภาพของโปรไบโอติกส์ (*Bacillus pumilus*, *B. firmus* และ *Citrobacter freundii*) ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter freundii* ภายหลังการฉีดเชื้อเข้าไปในตัวปลา พบว่า ปลา มีอัตราการรอดตายมากที่สุดในปลาที่กินอาหารที่ผสม

*B. pumilus*

### 2.1 การศึกษาปฏิกิริยาการเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง (Blood agar hemolysis)

จากการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) คัดเลือกเชื้อที่ไม่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกตัวได้ผลดังนี้ จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่คัดแยกได้ทั้ง 15 ไอโซเลท ไม่สามารถทำให้เม็ดเลือดแดงแตกตัว (Non hemolysis) (ตารางที่ 4) รวมทั้ง ทำการทดสอบปฏิกิริยาการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงของเชื้อก่อโรคทั้ง 8 ไอโซเลท พบว่า 7 ไอโซเลท ไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก มีเพียง 1 ไอโซเลท ที่ให้ผลเป็น  $\alpha$ -hemolysis (ตารางที่ 5)

## 2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและยับยั้งเชื้อก่อโรค

จากการศึกษาสภาวะความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช) ที่เหมาะสม พบว่า เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ ทั้ง 15 ไอโซเลท ไม่สามารถเจริญได้ใน pH4 มีเพียง 2 ไอโซเลท ที่ไม่สามารถเจริญที่ระดับ pH5 โดยสภาวะ pH ที่เหมาะสม คือ pH7 นำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค P4 และ P7 พบว่า เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค P7 ได้แก่ (CM5-2 ที่ระดับ pH6 มี Clear zone = 0.92 มม.), (CR10-5 ที่ระดับ pH7 มี Clear zone = 1.0 มม.), (CR4-1 ที่ระดับ pH7 มี Clear zone = 1.12 มม. และที่ระดับ pH8 มี Clear zone = 0.93 มม.) และเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค P4 ได้แก่ (CR1-2 ที่ระดับ pH5 มี Clear zone = 0.6 มม.), (CR4-1 ที่ระดับ pH7 มี Clear zone = 0.76 มม., ที่ระดับ pH8 มี Clear zone = 0.9 มม. และที่ระดับ pH9 มี Clear zone = 0.63 มม.) เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์มีความสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคเมื่อในระดับ pH ที่แตกต่างกัน (รูปที่ 1) พุทรา เชื้อจันทร์ (2549) รายงานว่า จากการทดสอบความสามารถในการทนกรด โดยทดสอบกับเอนโดสเปอร์ ที่ผ่านการกระตุ้นให้งอกโดยใช้ความร้อนที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที ไปเลี้ยงในอาหารที่มีค่า pH เท่ากับ 2.0, 2.5, 3.0, และ 4.0 ตามลำดับ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการนับ

จำนวนเซลล์ที่เวลา 0 และ 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกันพบว่า มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 102.3, 105.8, 106.8, 106.96 และ 98.81 ตามลำดับ และเชื้อแบคทีเรียจินัสบาซิลลัส ไอโซเลท BFK 702 ซึ่งเป็นตัวแทนของกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35, 37 และ 40 องศาเซลเซียส แล้วนำมาทดสอบการผลิตสารยับยั้งแบคทีเรีย ซึ่งได้แก่ *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Enterobacter cloacae* พบว่า แบคทีเรียมีการเจริญ แต่ไม่ผลิตสารปฏิชีวนะมายับยั้งแบคทีเรีย

## 2.3 การทดสอบความสามารถในการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

สังเกตการเกาะกลุ่ม เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่น 100 เปอร์เซ็นต์ ของการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในหลอดทดลอง พบว่า เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ CR8-1, CR1-2, และ CR7-8 มีการยึดเกาะกับผนังหลอดทดลองได้ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อโปรไบโอติกส์ที่มีการยึดเกาะได้น้อยที่สุด ได้แก่ CR1-4 โดยยึดเกาะได้เพียง 30 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 2) พุทรา เชื้อจันทร์ (2549) รายงานว่า แบคทีเรียจินัสบาซิลลัส ไอโซเลท BFK 702 ที่คัดเลือกได้มาทดสอบการเกาะติดพบว่า เมื่อหยดสี Methylene Blue ลงในหลอดทดลอง และมีการเกาะติดกับผนังหลอด โดยมีการเกาะติดไม่หนาแน่นเท่าที่ควร

ตารางที่ 1 ลักษณะโคลนนี้ รูปร่าง การจัดเรียงตัวของเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ปลานิล น้ำ และตะกอนดิน

| ลำดับที่ | สถานที่                                | รหัสไอโซ<br>เลข | ลักษณะโคลนนี้                              | ลักษณะรูปร่างเซลล์เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ |
|----------|----------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1        | ลลิตาฟาร์ม                             | CR1-2           | สีขาวนุ่น กลม ม้วนยาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ    | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น แบบเดี่ยว |
|          |                                        | CR1-4           | สีขาวใส กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ไม่ม้วน      | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น แบบเดี่ยว |
| 2        | ศักดิ์ฟาร์ม                            | CR4-1           | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ม้วนยาว        | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งยาว แบบเดี่ยว  |
| 3        | ทองคำฟาร์ม                             | CR7-1           | สีเหลืองเข้ม กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ม้วนยาว | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น แบบเดี่ยว |
|          |                                        | CR7-8           | สีขาวนุ่น กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ม้วนยาว    | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น แบบกลุ่ม  |
| 4        | จันทน์ฟาร์ม                            | CR8-1           | สีขาวใส กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ม้วนยาว      | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งยาว แบบเดี่ยว  |
|          |                                        | CR8-3           | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิวหยาบ ม้วนยาว         | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น แบบเดี่ยว |
|          |                                        | CR8-9           | สีเหลืองเข้ม กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ม้วนยาว | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งยาว แบบเดี่ยว  |
|          |                                        | CR8-11          | สีเหลืองอ่อน กลม ขอบเรียบ ม้วนยาว ผิวเรียบ | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างกลม แบบกลุ่ม       |
| 5        | นัยสิทธิ์ฟาร์ม                         | CR10-5          | สีขาวใส กลม ไม่ม้วนยาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ    | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งยาว แบบเดี่ยว  |
|          |                                        | CR10-7          | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิวหยาบ ม้วนยาว         | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างกลม แบบกลุ่ม       |
|          |                                        | CR10-8          | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ม้วนยาว        | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งยาว แบบเดี่ยว  |
| 6        | ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่ | CM4-3           | สีขาวใส กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ม้วนยาว      | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างกลม แบบกลุ่ม       |
|          |                                        | CM4-6           | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ม้วนยาว        | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างกลม แบบกลุ่ม       |
| 7        | บุญธรรมฟาร์ม                           | CM5-2           | สีขาว กลม ขอบเรียบ ผิวเรียบ ม้วนยาว        | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งยาว แบบกลุ่ม   |

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคลานิล (Clear zone) (มิลลิเมตร)

| เชื้อโปรไบโอติกส์<br>เชื้อก่อโรค | CM4-3 | CM4-6 | CM5-2 | CR1-2 | CR1-4 | CR4-1 | CR7-1 | CR7-8 | CR8-1 | CR8-3 | CR8-9 | CR8-11 | CR10-5 | CR10-7 | CR10-8 |
|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
| P1                               | 0.7   | 1     | -     | 0.8   | 0.85  | -     | -     | -     | -     | -     | 0.8   | -      | -      | -      | 1      |
| P2                               | 1     | 0.7   | -     | 1.4   | 1.25  | 0.9   | 1.15  | 0.7   | 1.05  | -     | 0.9   | 1      | 1      | 0.8    | 1.3    |
| P3                               | 0.6   | 0.75  | 1.05  | 1.35  | 0.6   | 0.6   | 0.6   | 0.95  | 0.85  | 0.95  | 0.95  | 0.95   | 0.85   | 0.75   | 1.1    |
| P4                               | 0.65  | 1.1   | 0.95  | 0.9   | 1.1   | 0.85  | 0.6   | 0.95  | 1.05  | 0.95  | 1     | 1.05   | 0.8    | 0.9    | 1.15   |
| P5                               | 1.2   | 0.6   | -     | 0.75  | 0.95  | -     | -     | 0.6   | 1     | 0.95  | 0.8   | 0.95   | 0.6    | 0.95   | 1.5    |
| P6                               | 0.7   | 0.6   | 0.75  | 1.2   | 1.1   | 1.3   | 0.8   | 0.8   | 0.8   | 0.85  | 0.95  | 0.7    | 0.7    | 0.6    | 1.25   |
| P7                               | 1.05  | 1     | 1     | 1.5   | 1     | 0.95  | 1     | 1     | 0.85  | 1.15  | 0.85  | 1      | 0.95   | 0.7    | 1      |
| P8                               | 0.6   | 0.65  | 1.15  | 1.5   | 0.6   | 0.95  | 0.75  | 0.9   | 0.7   | 0.85  | 0.9   | 1      | 1      | 0.6    | 1.15   |
| AH                               | 0.7   | 0.75  | 0.6   | 0.85  | 0.7   | 0.8   | 0.7   | 0.95  | 0.95  | 0.65  | 0.8   | 0.95   | 1      | 0.65   | 0.95   |

หมายเหตุ: เชื้อแบคทีเรียก่อโรค (P) จังหวัดเชียงใหม่ (CM) จังหวัดเชียงราย (CR) ไม่สามารถยับยั้ง (-)

ตารางที่ 3 ลักษณะ โคลนีส รูปร่าง และการจัดเรียงตัวของเซลล์ของแบคทีเรียก่อโรคปลาที่คัดแยกได้จากปลานิลป่วย

| ชนิดแบคทีเรียก่อโรค | ลักษณะโคลนีส                                  | ลักษณะรูปร่างเซลล์เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์             |
|---------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| P1                  | สีขาวใส รูปร่างกลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น ก่อนข้างกลม แบบเดี่ยว |
| P2                  | สีขาว รูปร่างกลม ไม่ม้วนาว ผิวหยาบ ขอบเรียบ   | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างกลม แบบกลุ่ม                   |
| P3                  | สีขาวใส รูปร่างกลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น ก่อนข้างกลม แบบเดี่ยว |
| P4                  | สีขาวใส รูปร่างกลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น แบบเดี่ยว             |
| P5                  | สีขาวใส รูปร่างกลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น แบบเดี่ยว             |
| P6                  | สีขาวใส รูปร่างกลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างกลม แบบกลุ่ม                   |
| P7                  | สีขาวขุ่น รูปร่างกลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างกลม แบบกลุ่ม                   |
| P8                  | สีขาวใส รูปร่างกลม ม้วนาว ผิวเรียบ ขอบเรียบ   | ติดสีม่วง (แกรมบวก) รูปร่างแท่งสั้น ก่อนข้างกลม แบบเดี่ยว |

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบ Beta hemolysis กับเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์

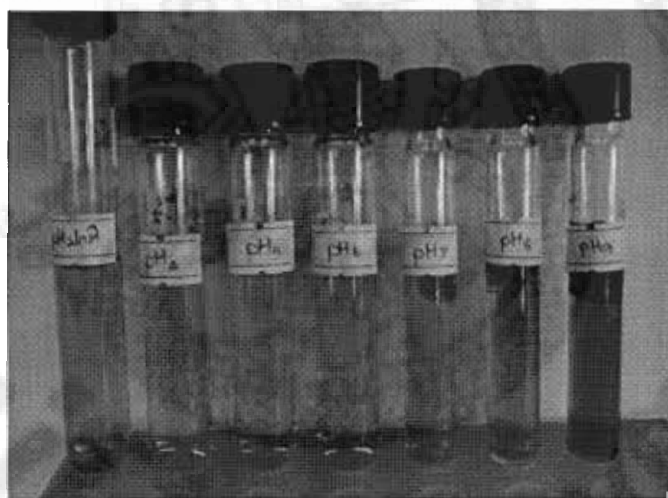
| Beta hemolysis | Alpha hemolysis | Gamma hemolysis |
|----------------|-----------------|-----------------|
| -              | -               | CM4-3           |
| -              | -               | CM4-6           |
| -              | -               | CM5-2           |
| -              | -               | CR1-2           |
| -              | -               | CR1-4           |
| -              | -               | CR4-1           |
| -              | -               | CR7-1           |
| -              | -               | CR7-8           |
| -              | -               | CR8-1           |
| -              | -               | CR8-3           |
| -              | -               | CR8-9           |
| -              | -               | CR8-11          |
| -              | -               | CR10-5          |
| -              | -               | CR10-7          |
| -              | -               | CR10-7          |
| -              | -               | CR10-8          |

หมายเหตุ : ไม่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตก (-)

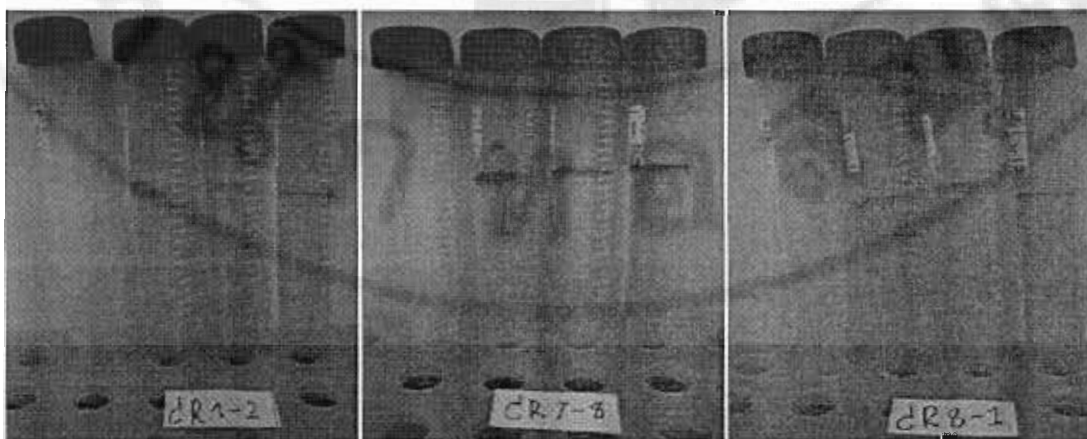
ตารางที่ 5 ผลการทดสอบ Beta hemolysis กับเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

| Beta hemolysis | Alpha hemolysis | Gamma hemolysis |
|----------------|-----------------|-----------------|
| -              | P6              | AH              |
| -              | -               | P1              |
| -              | -               | P2              |
| -              | -               | P3              |
| -              | -               | P4              |
| -              | -               | P5              |
| -              | -               | P7              |
| -              | -               | P8              |

หมายเหตุ : ไม่ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงแตก (-)



รูปที่ 1: การวัดค่าความขุ่นแบคทีเรียในระดับ (pH) ที่แตกต่างกัน



รูปที่ 2: การทดสอบประสิทธิภาพการเกาะติดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในหลอดทดลอง

## สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์เฉพาะถิ่นในระบบทางเดินอาหารของปลานิลจากฟาร์มเลี้ยงปลานิลในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงรายรวม 16 แห่ง โดยส่วนใหญ่ลักษณะการเลี้ยงแบบผสมผสาน มีการเลี้ยงไก่บนบ่อปลา สามารถคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ทั้งหมด 15 ไอโซเลท โดยขั้นตอนต่อไปจะทำการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรค และศึกษาประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตในปลานิล รวมทั้งการศึกษาค้นคว้าของเชื้อโปรไบโอติกส์ต่อระดับภูมิคุ้มกัน ในปลานิลเป็นขั้นตอนต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ในการให้ทุนสนับสนุนการวิจัยนี้ และคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำที่ศูนย์เคราะหส์สถานที่ อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

## เอกสารอ้างอิง

ชนกันต์ จิตมนัส ภาสินันท์ สารมาศ และน้ำเพชร ประกอบศิลป์. (2555). แบคทีเรียที่แยกจากปลานิลซึ่งเลี้ยงในระบบ ต่างกันบริเวณหมู่บ้านแม่แก้ว

จ.เชียงใหม่. มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่.

ทศพร เรืองรักษ์ลิขิต. (2547). แยกแลกดิกแอซิด

แบคทีเรียจากทางเดินอาหารของปลากระพง

ขาว. ออนไลน์: <http://cuir.car.chula.ac.th>.

(14/09/2554).

ปณรัตน์ ผาดี. (2552). โรคและการวินิจฉัยโรค.

กรุงเทพฯ: โอเดียมสโตร์.

พุทธา เชื้อจันทร์. (2549). การแยกแบคทีเรียบาซิลลัสจากมูลไก่เพื่อใช้เป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกส์.

รายงานวิจัย

ประจำปี 2549. มหาสารคาม: สาขาวิชา

ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย

มหาสารคาม.

สุญาณี พงษ์ชนานิกร. (2549). โปรไบโอติกและโปรไบโอติกส์. ภาควิชาอาหารเคมี คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.

โสภาค อาริรัตน์ และกนกพรรณ ศรีมโนภาส. (2543). การปนเปื้อนของเซลล์โมเนลล่าในปลาอุกบึกอู๋ที่มีการเลี้ยงในระบบต่างกัน. วารสารกรมประมง 52(6): 554-563.

Aly M., Abd-El-Rahman A.M., John G. and Mohamed M.F. 2006. Characterization of Some Bacteria Isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics. Aquaculture, 277(1-2): 1-6.

Balcázar J.L., Vendrell D. Blas I., Ruiz-Zarzuela I., José L. and Girones M.O. 2008. Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal. Laboratory of Fish Pathology.

Media and Biochem. (2555). Blood Agar. ออนไลน์: [www.mediatechzone.com](http://www.mediatechzone.com). (14/09/2554).

## รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาผลงานทางวิชาการ

| ชื่อ-นามสกุล                       | คณะ             | มหาวิทยาลัย            |
|------------------------------------|-----------------|------------------------|
| 1. รศ.ดร.ทพ. ปิยวัฒน์ พันธุ์โกศล   | ทันตแพทยศาสตร์  | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  |
| 2. อ.ดร. ฐานบ ธิติมากร             | วิทยาศาสตร์     | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  |
| 3. ผศ.ดร. ธนากร วาสนาเพียรพงศ์     | วิทยาศาสตร์     | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  |
| 4. รศ.ดร. หารษา ปุณณะพยัคฆ์        | วิทยาศาสตร์     | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  |
| 5. รศ.ดร. ธเรศ ศรีสถิตย์           | วิศวกรรมศาสตร์  | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  |
| 6. อ.ดร. เบญจพร สุวรรณศิลป์        | วิศวกรรมศาสตร์  | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  |
| 7. อ.ดร. สีนินาฏ เสริมชีพ          | เศรษฐศาสตร์     | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  |
| 8. รศ.ดร. ประภา ศรีพิจิตร          | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| 9. รศ.ดร. เอ็ง สโรบล               | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| 10. ผศ. พงศ์เชษฐ พิชิตกุล          | ประมง           | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| 11. รศ.ดร. วิชัย สุระพัฒน์         | วิศวกรรมศาสตร์  | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| 12. รศ.ดร. สิริพร ทิพย์คง          | ศึกษาศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| 13. รศ.ดร. เสาวคนธ์ สุดสวาศดี      | สังคมศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| 14. ศ.ดร.สพ.ญ. เฉลียว ศาลากิจ      | สัตวแพทยศาสตร์  | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| 15. รศ.ดร. มังกร โรจน์ประภากร      | อุตสาหกรรมเกษตร | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ |
| 16. รศ. เทอดศักดิ์ คำเหม็ง         | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 17. รศ.ดร. เพ็ญพรรณ ศรีสกุลเดียว   | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 18. ผศ.ดร. แสง รวยสูงเนิน          | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 19. รศ.ดร. ชาญวิทย์ ลีลาวัฒน์      | เทคนิคการแพทย์  | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 20. รศ.ดร. นงนุช เศรษฐเสถียร       | เทคนิคการแพทย์  | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 21. รศ.ดร. รุ่งทิพย์ พันธเมธากุล   | เทคนิคการแพทย์  | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 22. รศ. วรณัฐ ศรีเกษมราษฎร์        | เทคโนโลยี       | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 23. รศ.ดร. เกษราวัลย์ นิลวางกูร    | พยาบาลศาสตร์    | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 24. รศ.ดร. วิพร เสนารักษ์          | พยาบาลศาสตร์    | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 25. รศ.ดร. สุรศักดิ์ วงศ์รัตนชีวิน | แพทยศาสตร์      | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 26. รศ.ดร. นาถธิดา วีระปรียากร     | เภสัชศาสตร์     | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 27. อ.ดร. ถ้าย ธีรตันพันธ์         | วิทยาศาสตร์     | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 28. รศ. วิชุดา ไชยสีวามงคล         | วิทยาศาสตร์     | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 29. ผศ.ดร. สิริภัทร เขียวชาญวัฒนา  | วิทยาศาสตร์     | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 30. รศ.ดร. อำนวย มณีศรีวงศ์กุล     | วิทยาศาสตร์     | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 31. อ.ดร. วิชชา เพื่องจันทร์       | วิศวกรรมศาสตร์  | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 32. รศ.ดร. สุจินต์ บุรีรัตน์       | วิศวกรรมศาสตร์  | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |
| 33. ผศ.ดร. สุธาสินี เนรมิตคกพงศ์   | วิศวกรรมศาสตร์  | มหาวิทยาลัยขอนแก่น     |

| ชื่อ-นามสกุล                       | คณะ                            | มหาวิทยาลัย                           |
|------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| 34. รศ.ดร. กาญจนา ไชยพันธุ์        | ศึกษาศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยขอนแก่น                    |
| 35. รศ.ดร. ชัญญา อภิบาลกุล         | ศึกษาศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยขอนแก่น                    |
| 36. ผศ.ดร. ไพศาล สุวรรณน้อย        | ศึกษาศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยขอนแก่น                    |
| 37. ผศ.ดร. เสาวณี ตรีพุทธรัตน์     | ศึกษาศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยขอนแก่น                    |
| 38. ผศ.ดร. สมศักดิ์ พิทักษานุรัตน์ | สาธารณสุขศาสตร์                | มหาวิทยาลัยขอนแก่น                    |
| 39. อ.ดร. ธนพันธุ์ ปัทมานนท์       | วิทยาศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยทักษิณ                     |
| 40. รศ.ดร. นิคม ชูศิริ             | วิทยาศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยทักษิณ                     |
| 41. ผศ.ดร. สมภพ อินทสุวรรณ         | วิทยาศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยทักษิณ                     |
| 42. ผศ.ดร. อนิรุท ลวดทรง           | วิทยาศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี |
| 43. รศ.ดร. เฉลิมราช วันทวิน        | วิศวกรรมศาสตร์                 | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี |
| 44. รศ.ดร. ภาณุวัฒน์ สุริยมิตร     | วิศวกรรมศาสตร์                 | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี |
| 45. ศ.ดร. สำเริง จักรใจ            | วิศวกรรมศาสตร์                 | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี |
| 46. ผศ.ดร. อธิญา บุญญาอรุณเนตร     | วิศวกรรมศาสตร์                 | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี |
| 47. รศ.ดร. บุญทรัพย์ วิชญางกูร     | วิศวกรรมศาสตร์                 | มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์                 |
| 48. อ.ดร. พรเทพ โรจนวสุ            | เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร | มหาวิทยาลัยพะเยา                      |
| 49. รศ.ดร. สุชีรา ภัทรายุตวรรตน์   | แพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล        | มหาวิทยาลัยมหิดล                      |
| 50. ศ.ดร. รัชนิย์ อุดมแสงเพชร      | วิทยาศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยมหิดล                      |
| 51. รศ.พญ. จรวยพร สุภาพ            | สาธารณสุขศาสตร์                | มหาวิทยาลัยมหิดล                      |
| 52. รศ.ดร. บุญสม วราเอกศิริ        | ผลิตภัณฑ์การเกษตร              | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 53. ผศ.ดร. ประพันธ์ โอธภาพพันธุ์   | ผลิตภัณฑ์การเกษตร              | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 54. ผศ.ดร. ประสิทธิ์ ไนรี          | ผลิตภัณฑ์การเกษตร              | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 55. รศ.ดร. ยงยุทธ ขำสี่            | วิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร     | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 56. ผศ.ดร. ฐิตินันท์ รัตนพรหม      | วิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร     | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 57. รศ.ดร. จงกลณี เกิดพิบูลย์      | เศรษฐศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 58. รศ. ธนรักษ์ เมฆขยา             | เศรษฐศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 59. รศ.ดร. ประเสริฐ จรรยาสุภาพ     | เศรษฐศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 60. ผศ.ดร. เรียงชัย ดันสุชาติ      | เศรษฐศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 61. รศ.ดร. ศิริพร กิรติการกุล      | เศรษฐศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 62. ผศ.ดร. สุรัชย์ กังวล           | เศรษฐศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 63. ผศ.ดร. เสาวลักษณ์ ชายทวีป      | สังคมศาสตร์                    | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 64. ผศ.ดร. ประภากร ธาราฉาย         | สัตวศาสตร์และเทคโนโลยี         | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 65. รศ.ดร. สุทัศน์ ศิริ            | สัตวศาสตร์และเทคโนโลยี         | มหาวิทยาลัยแม่โจ้                     |
| 66. อ.ดร. โกวิทย์ นามบุญมี         | สาธารณสุขศาสตร์                | มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง                 |
| 67. อ.ดร. จุฑารัตน์ แก่นจันทร์     | เทคโนโลยีการเกษตร              | มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม            |

| ชื่อ-นามสกุล                       | คณะ             | มหาวิทยาลัย            |
|------------------------------------|-----------------|------------------------|
| 68. รศ.ดร. ทวนทอง จูทาเกตุ         | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี |
| 69. รศ.ดร. กรวรรณ กฤตวรกาญจน์      | การสื่อสารมวลชน | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 70. ผศ.ดร. กมล งามสมสุข            | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 71. รศ.ดร. บุญล้อม ชีวะอิสระกุล    | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 72. อ.ดร. วรณพร ทะพิงค์แก          | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 73. ศ.ดร. สันชัย จตุรสิทธา         | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 74. รศ.ดร. สุชน ตั้งทวีพัฒน์       | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 75. ผศ.ดร. สุรินทร์ นิลสำราญจิต    | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 76. รศ.ดร. อรรถชัย จินตะเวช        | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 77. ศ.ดร. อารี วิบูลย์พงศ์         | เกษตรศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 78. ผศ.ทพญ. จูไรรัตน์ คุณะไชยโชติ  | ทันตแพทยศาสตร์  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 79. ผศ.ดร.ทพญ. ปิยะนุช เพิ่มพานิช  | ทันตแพทยศาสตร์  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 80. ผศ.ทพญ. มารศรี ชัยวรวิทย์กุล   | ทันตแพทยศาสตร์  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 81. ผศ.ทพญ. สาครรัตน์ คงขุนเทียน   | ทันตแพทยศาสตร์  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 82. ผศ.ทพญ. สุพัตรา แสงอินทร์      | ทันตแพทยศาสตร์  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 83. รศ.ดร. ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา      | เทคนิคการแพทย์  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 84. ผศ. สุภาวดี พุฒิน้อย           | เทคนิคการแพทย์  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 85. รศ. สมชาย ปรีชาศิลปกุล         | นิติศาสตร์      | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 86. ผศ. ปิยพรรณ กลั่นกลิ่น         | บริหารธุรกิจ    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 87. รศ.ดร. พัชรา ตันติประภา        | บริหารธุรกิจ    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 88. อ.ดร. วรท วิณี                 | บริหารธุรกิจ    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 89. อ.ดร. อติศักดิ์ ธีรานุพัฒน์    | บริหารธุรกิจ    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 90. รศ. อรชร มณีสงฆ์               | บริหารธุรกิจ    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 91. รศ.ดร. อรพิน สันติธีรกุล       | บริหารธุรกิจ    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 92. อ. เอก บุญเจือ                 | บริหารธุรกิจ    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 93. รศ.ดร. ชวพรพรรณ จันท์ประสิทธิ์ | พยาบาลศาสตร์    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 94. ผศ.ดร. จิตินันท์ อัครเดชอนันต์ | พยาบาลศาสตร์    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 95. ผศ.ดร. วราภรณ์ บุญเชียง        | พยาบาลศาสตร์    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 96. อ.ดร. พรรษา เศรษฐบุปผา         | พยาบาลศาสตร์    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 97. รศ.นพ. จาตุรงค์ กันชัย         | แพทยศาสตร์      | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 98. ศ.นพ. ธานินทร์ ภูพัฒน์         | แพทยศาสตร์      | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 99. รศ.ดร. ศิริวรรณ องค์ไชย        | แพทยศาสตร์      | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 100. รศ.ภญ. วราภรณ์ ปันณวลี        | เภสัชศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |
| 101. รศ.ภญ. เอื้อพร ไชยวรรณ        | เภสัชศาสตร์     | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่   |

| ชื่อ-นามสกุล                          | คณะ                          | มหาวิทยาลัย          |
|---------------------------------------|------------------------------|----------------------|
| 102. รศ. จารุณี วงศ์ละคร              | มนุษยศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 103. ผศ.ดร. ทิรวรรณ ทิระพงษ์          | มนุษยศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 104. รศ.ดร. พลอยศรี ไปรณานนท์         | มนุษยศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 105. ผศ.ดร. พิระพล กดบัว              | มนุษยศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 106. รศ.ดร. สมพงษ์ วิทยศักดิ์พันธุ์   | มนุษยศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 107. ผศ.ดร. ชันยวัฒน์ รัตนศักดิ์      | รัฐศาสตร์และรัฐประศาสนศาสตร์ | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 108. รศ. ศิริพงษ์ ลดาวัลย์ ณ อยุธยา   | รัฐศาสตร์และรัฐประศาสนศาสตร์ | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 109. อ. สุรัชย์ จงจิตงาม              | จิตรศิลป์                    | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 110. ผศ.ดร. จันทราวรรณ พุ่มชูศักดิ์   | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 111. รศ.ดร. จิรยุทธ ไชยจารุณิช        | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 112. รศ.ดร. ชโลบล วงศ์สวัสดิ์         | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 113. อ.ดร. ชัยพร ตั้งทอง              | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 114. อ.ดร. ดร.ชนัน พัทธวรกร           | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 115. ผศ.ดร. ธนียา เจติยานุกรกุล       | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 116. รศ.ดร. นริทธิ์ สีตะสุวรรณ        | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 117. ผศ.ดร. นฤมล ทองไผ่               | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 118. ผศ.ดร. นันทิยา อัจฉิมรังษี       | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 119. อ.ดร. ปริมาณันท์ เชิญธงไชย       | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 120. รศ. พรณิภา ไพบูลย์นิมิตร         | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 121. ผศ.ดร. ยี่งมณี ตระกูลพั่ว        | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 122. รศ.ดร. ยุวดี พิรพรพิศาล          | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 123. ผศ.ดร. รุจิรา อุ่นเจริญ          | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 124. รศ.ดร. วัฒนาดี ศรีวัฒนพงศ์       | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 125. ศ.ดร. สมชาย ทองเต็ม              | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 126. รศ.ดร. สรศักดิ์ ลีรัตนาวลี       | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 127. รศ.ดร. สุรศักดิ์ วัฒนเสถ์        | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 128. รศ. สุรินทร์ ขนานศักดิ์          | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 129. ผศ.ดร. เสมอแซย สมหอม             | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 130. ผศ.ดร. อานนท์ ชัยพานิช           | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 131. ผศ.ดร. อุยวดี ขนสุด              | วิทยาศาสตร์                  | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 132. ผศ.ดร. จักรพงษ์ นาทวีชัย         | วิศวกรรมศาสตร์               | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 133. ผศ.ดร. จิตเทพ ประสิทธิ์อยู่ศิลป์ | วิศวกรรมศาสตร์               | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 134. รศ.ดร. นิวิธ เจริญใจ             | วิศวกรรมศาสตร์               | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 135. ผศ.ดร. ประพนธ์ เขมดำรง           | วิศวกรรมศาสตร์               | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |

| ชื่อ-นามสกุล                     | คณะ                                  | มหาวิทยาลัย          |
|----------------------------------|--------------------------------------|----------------------|
| 136. ผศ.ดร. พุทธิพล คำราชชัย     | วิศวกรรมศาสตร์                       | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 137. ผศ.ดร. ศิวะ อัจฉริยวิริยะ   | วิศวกรรมศาสตร์                       | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 138. รศ.ดร. สุรนนท์ น้อยมณี      | วิศวกรรมศาสตร์                       | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 139. รศ.ดร. เสนีย์ กาญจนวงศ์     | วิศวกรรมศาสตร์                       | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 140. อ.ดร. อนิรุท ไชยจารุณิช     | วิศวกรรมศาสตร์                       | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 141. รศ.ดร. ชรินทร์ มั่งคั่ง     | ศึกษาศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 142. อ.ดร. น้ำผึ้ง อินทะเนตร     | ศึกษาศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 143. รศ.ดร. วีระพงษ์ แสง-ชูโต    | ศึกษาศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 144. รศ.ดร. ศิวรักษ์ ศิวามย์     | ศึกษาศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 145. ผศ. สุนทรี คนเที่ยง         | ศึกษาศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 146. รศ.ดร. เสริมศรี ไชยสร       | ศึกษาศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 147. ศ.ดร. อนูรักษ์ ปัญญาวัฒน์   | ศึกษาศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 148. รศ.ดร. ธเนศ ศรีวิชัยลำพันธ์ | เศรษฐศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 149. อ.ดร. ประพัฒน์ จริยะพันธ์   | เศรษฐศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 150. รศ.ดร. ศศิเพ็ญ พวงสายใจ     | เศรษฐศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 151. นาย พงศธร ธรรมถนอม          | สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี   | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 152. นาย สุวิทย์ วงศ์ศิลา        | สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี   | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 153. อ.ดร. ประสิทธิ์ สิปรีชา     | สังคมศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 154. ผศ.ดร. ไพโรจน์ คงทวีศักดิ์  | สังคมศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 155. ผศ.ดร. ศุภินี ดนตรี         | สังคมศาสตร์                          | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 156. อ.ดร. กราคร สุริย์พงษ์      | สำนักวิชาการ ศิลปะ สื่อ และเทคโนโลยี | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 157. อ.ดร. ปิติพงษ์ ยอดมงคล      | สำนักวิชาการ ศิลปะ สื่อ และเทคโนโลยี | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 158. ผศ.ดร. ชาดิชยา โขนงนุช      | อุตสาหกรรมเกษตร                      | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 159. รศ.ดร. พชรินทร์ ระวียัน     | อุตสาหกรรมเกษตร                      | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |
| 160. ผศ.ดร. สุทัศน์ สุระวัง      | อุตสาหกรรมเกษตร                      | มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ |