รายงานผลการวิจัย

เรื่อง ผลของการใช้ prebiotic probiotic และ synbiotic ในการอนุบาลและเลี้ยงปลานิลแดง (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) เพื่อเข้าสู่ระบบการผลิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (1)

Effect of Prebiotic Probiotic and Synbiotic on Hybrid Red Tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) for Eco-Friendly Culture System (I)

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : ระบบการผลิตสัตว์น้ำที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพื่ออาหารปลอดภัยและเพิ่มมูลค่าของทรัพยากรสัตว์น้ำ

ได้รับจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2556
จำนวน 250,030 บาท

หัวหน้าโครงการ เทพรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์
ผู้ร่วมโครงการ นิวุฒิ หวังชัย

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
24 กุมภาพันธ์ 2557

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนในการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2556 จำนวนเงิน 250,030 บาท สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้และขอขอบคุณคณาจารย์ ข้าราชการและเจ้าหน้าที่ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้และบุคคลอื่นที่มิได้กล่าวถึงในที่นี้ ที่ได้ให้ความเกื้อหนุน ทำให้การวิจัยในครั้งนี้เสร็จสิ้นอย่างสมบูรณ์

ผู้วิจัย

สารบัญเรื่อง

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	3
คำนำ	4
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
การตรวจเอกสาร	6
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	13
ผลการวิจัย	17
วิจารณ์ผลการวิจัย	25
สรุปผลการวิจัย	28
เอกสารอ้างอิง	29

สารบัญตาราง

หน้า

การทดลองที่ 1

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหารทดลอง 17

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการเติบโตของลูกปลานิลแดงที่ใช้พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) เสริมในอาหารทดลอง 18

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของเลือดลูกปลานิลแดงที่ใช้พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) เสริมในอาหารทดลอง 19

ตารางที่ 4 คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง การอนุบาลลูกปลานิลแดงด้วยสูตรอาหารเสริมพรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) 20

การทดลองที่ 2

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหารทดลอง 21

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพการเติบโตของลูกปลานิลแดงที่ใช้โปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เสริมในอาหารทดลอง 22

ตารางที่ 7 องค์ประกอบของเลือดลูกปลานิลแดงที่ใช้โปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เสริมในอาหารทดลอง 23

ตารางที่ 8 คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง การอนุบาลลูกปลานิลแดงด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) 24

สารบัญภาพ

		หน้า
	การทดลองที่ 1	
ภาพที่ 1	การทดสอบความทนทานต่อความเครียด ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมพรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS)	18
ภาพที่ 2	อัตราการตายของลูกปลานิลแดงที่ถูกทดสอบความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* 5×10^5 cells/mL เป็นระยะเวลา 10 วัน	19
	การทดลองที่ 2	
ภาพที่ 3	การทดสอบความทนทานต่อความเครียด ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*)	22
ภาพที่ 4	อัตราการตายของลูกปลานิลแดงที่ถูกทดสอบความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* 5×10^5 cells/mL เป็นระยะเวลา 10 วัน	23

ผลของการใช้ prebiotic probiotic และ synbiotic ในการอนุบาลและเลี้ยงปลานิลแดง (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) เพื่อเข้าสู่ระบบการผลิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (1)

Effect of Prebiotic Probiotic and Synbiotic on Hybrid Red Tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) for Eco-Friendly Culture System (I)

เทพรัตน์ อึ้งเสรษฐพันธ์ และ นิวุฒิ หวังชัย

Thepparath Ungsethaphand and Niwooti Whangchai

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

การทดลองที่ 1 ศึกษาการใช้พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) เสริมในอาหารทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต ความทนทานต่อความเครียด และภูมิคุ้มกันในการอนุบาลลูกปลานิลแดง วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ผลิตอาหารทดลอง 4 สูตร โดยใช้รำละเอียดผสมปลาป่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 เป็นอาหารพื้นฐาน (โปรตีน 46%) ส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ อาหารที่เสริมด้วย FOS 0.1%, 0.3% และ 0.5% ของน้ำหนักอาหาร อนุบาลลูกปลานิลแดงในกระชัง อัตราการปล่อย 150 ตัว/ตร.ม.ให้อาหาร 5% ของน้ำหนักตัว เป็นระยะเวลา 90 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วย FOS ในอัตราอย่างน้อย 0.3% โดยน้ำหนักทำให้ลูกปลานิลแดงมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตราแลกเนื้อ (FCR) ความทนทานต่อความเครียด ความทนทานต่อเชื้อ *Aromonas hydophila* และซีรัมไลโซไซม์ ดีกว่าลูกปลาที่อนุบาลด้วยอาหารควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

การทดลองที่ 2 ศึกษาการใช้โปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เสริมในอาหารทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต ความทนทานต่อความเครียด และภูมิคุ้มกันในการอนุบาลลูกปลานิลแดง วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ผลิตอาหารทดลอง 4 สูตร โดยใช้ รำละเอียดผสมปลาป่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 เป็นอาหารพื้นฐาน (โปรตีน 46%) ส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ อาหารที่เสริมด้วยยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) 0.1%, 0.5% และ 1.0% ของ

น้ำหนักอาหาร อนุบาลลูกปลานิลแดงในกระชัง อัตราการปล่อย 150 ตัว/ตร.ม.ให้อาหาร 5% ของน้ำหนักตัว เป็นระยะเวลา 75 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยอาหารที่เสริมยีสต์ 0.5 % และ 1.0 % มีอัตราการเจริญเติบโดจำเพาะ (SGR) อัตราการรอดตาย ปริมาณเม็ดเลือดขาวและซีรัมไลโซไซม์สูงกว่า ชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) การทดสอบความทนทานต่อความเครียด สูตรอาหารเสริมยีสต์ (*S. cerevisiae*) ทั้ง 3 สูตร มีความทนทานต่อความเครียดดีกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) การทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า prebiotic (0.3% FOS) และ probiotic (0.5% yeast) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต และกระตุ้นภูมิคุ้มกันบางประการในลูกปลานิลแดง

คำสำคัญ: พรีไบโอติก; โปรไบโอติก; ยีสต์; การเจริญเติบโต; ความทนทานต่อความเครียด; ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ; ปลานิลแดง

ABSTRACT

Two experiments were conducted in order to study the effect of dietary fructo-oligosaccharide (FOS) and yeast *Saccharomysis cerevisiae* (YOS) on hybrid red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) fingerlings. The effect of prebiotic (FOS) and probiotic (YOS) on growth performance, survival, stress tolerance, innate immune response and *Aromonas hydophila* challenge were evaluated with treatments in triplicate for 75 days. Experiment I was destined to assess the effect of dietary FOS (0%, 0.1%, 0.3% and 0.5%) on fish fed diets containing fishmeal and rice brand (2:1). The results showed that specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), stress resistance, serum lysozyme and the survival (%) after challenging with *A. hydrophila* were affected by 0.3% and 0.5% FOS compared with non-supplemented (0% FOS) group ($p<0.05$). Experiment II was designed to assess the effect of yeast (0%, 0.1%, 0.5% and 1.0%) on fish fed fishmeal and rice brand (2:1) diets. The probiotic significantly increased the stress tolerance in fish. The SGR, survival (%), white blood cell and serum lysozyme was significantly higher ($p<0.05$) in 0.5% and 1.0% yeast (YOS) supplemented groups. The results indicated that prebiotic (0.3% FOS) and probiotic (0.5% yeast) has beneficial effects on the growth performance and some indicators of the immune response in hybrid red tilapia fingerlings.

Key word: Prebiotie; Probiotic; *Saccharomysis cerevisiae*; Growth; Stress tolerance; Non-specific immune responses; Red tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*)

คำนำ

ปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*) เป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว และเนื้อมีรสชาติดี ทำให้ปลานิลกลายเป็นปลาที่ได้รับความนิยมในการบริโภคและเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย สามารถทำรายได้ให้แก่ผู้เลี้ยงปีละเป็นจำนวนมาก สามารถส่งออกสู่ตลาดต่างประเทศได้ปีละหลายหมื่นตัน โดยนำปลานิลไปบริโภคทดแทนปลาที่มีเนื้อขาว ที่มีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคในต่างประเทศ (ปกรณ์, 2527; เครือวัลย์, 2542) โดยสถานการณ์และแนวโน้มของการเพาะเลี้ยงปลานิลในประเทศไทย ในปี 2550 พบว่าปลานิลเป็นสัตว์น้ำจืดที่มีผลผลิตมากที่สุด จำนวน 203,737 ตัน คิดเป็นร้อยละ 36.87 ของผลผลิตสัตว์น้ำจืดทั้งหมดของไทย ส่วนมูลค่าประมาณ 5,884 ล้านบาท คิดเป็นร้อยละ 36.87 ของมูลค่าผลผลิตสัตว์น้ำจืดทั้งหมดของไทย (กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง, 2553)

จากนโยบายอาหารปลอดภัย และการมุ่งสู่ครัวของโลกของรัฐบาล ประกอบกับกระแสสากลในการรักษาสิ่งแวดล้อม ทำให้แนวทางการเลี้ยงสัตว์น้ำที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมจึงเป็นทางออกในการ สร้างผลผลิตที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและรักษาสิ่งแวดล้อม แต่ในภาวะปัจจุบันการเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงอุตสาหกรรม และสภาวะแวดล้อมที่เสื่อมโทรมลง การใช้ยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นสาเหตุให้ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในตัวสัตว์น้ำและถ่ายทอดต่อมายังผู้บริโภค ส่งผลเสียทำให้เชื้อแบคทีเรียพัฒนาตัวเองจนเป็นสายพันธุ์ที่ทนทานต่อยาปฏิชีวนะ (FAO, 2002) การศึกษาแนวทางในการผลิตสัตว์น้ำโดยไม่ใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีจึงเป็นแนวทางสำคัญ เพื่อพัฒนาวิธีการในการส่งเสริมสุขภาพสัตว์น้ำและป้องกันโรค เช่น การใช้วัคซีนและโปรไบโอติก แต่ยังคงมีปัญหาในวิธีการปฏิบัติอยู่มาก ทั้งด้านต้นทุนและแรงงานในการใช้วัคซีน ชนิด และความหนาแน่นของปริมาณโปรไบโอติก ที่ใช้อย่างได้ผลในสภาวะแวดล้อมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่แตกต่างกัน

ดังนั้นการใช้พรีไบโอติก ซึ่งเป็นส่วนประกอบในอาหารที่ร่างกาย สัตว์น้ำไม่สามารถย่อยได้แต่มีประโยชน์ในการช่วยการเติบโตและการทำงานของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ และการใช้พรีไบโอติก ร่วมกับ โปรไบโอติก เพื่อเสริมซึ่งกันและกันในสภาวะซินไบโอติก จึงเป็นแนวทางในการช่วยเสริมสร้างภูมิต้านทานโรค และการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ เพื่อเป็นอาหารปลอดภัย และสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ผลผลิตได้เช่นเดียวกับที่ประสบความสำเร็จอย่างดีในการใช้กับสัตว์ปีกและสุกรรวมถึงในมนุษย์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของการใช้พรีไบโอติก และ โปรไบโอติก เสริมในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตในการอนุบาลลูกปลานิลแดง

2. เพื่อศึกษาผลของการใช้พรีไบโอติก และ โปรไบโอติก เสริมในอาหารต่อความต้านทานความเครียดในการอนุบาลลูกปลานิลแดง

3. เพื่อศึกษาผลของการใช้พรีไบโอติก และโปรไบโอติก เสริมในอาหารต่อภูมิต้านทานแบบไม่เฉพาะและความต้านทานโรคในการอนุบาลลูกปลานิลแดง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบผลการเสริม พรีไบโอติก และโปรไบโอติก ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ความต้านทานความเครียด ภูมิต้านทานแบบไม่จำเพาะและความต้านทานโรคในการอนุบาลลูกปลานิลแดง

2. เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเลี้ยงปลานิลแดง ลดการใช้ยาและสารเคมีในการป้องกันโรค

3. เป็นแหล่งข้อมูลแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลแดง

การตรวจเอกสาร

ประวัติความเป็นของปลานิลแดง

ปลานิลแดง (Red Tilapia) เป็นลูกผสมระหว่างปลานิลกับปลาหมอเทศ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*) โดยแรกเริ่มนั้นประเทศไทยได้มีการนำปลานิลมาเลี้ยงในประเทศ โดยสมเด็จพระจักรพรรดิอากิฮิโตแห่งญี่ปุ่น ได้ทูลเกล้าถวายพันธุ์ปลานิลเป็นจำนวน 50 ตัว แด่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวเมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ. 2508 ซึ่งพระองค์ทรงโปรดเกล้าฯ ให้เพาะและขยายพันธุ์ปลาดังกล่าวในพระราชวังสวนจิตลดาและโปรดเกล้าพระราชทานชื่อปลาชนิดนี้ว่า "ปลานิล" (ยุพินท์, 2541)

แต่จากการเพาะขยายพันธุ์ปลานิลในระยะหลังปรากฏมีลูกปลานิลจำนวนหนึ่งมีสีสันผิดไปจากเดิมอย่างชัดเจน กล่าวคือ สีของลำตัวได้เปลี่ยนเป็นสีขาวอมชมพู เหลือง ส้มหรือแดง ซึ่งได้จัดว่าเป็นปลาลูกผสม ข้ามสายพันธุ์ระหว่างปลานิลกับปลาหมอเทศ พบครั้งแรกที่สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดอุบลราชธานี เมื่อปี พ.ศ. 2511 (มานพ และคณะ, 2527) และสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามมกุฎราชกุมารี ได้ทรงตั้งชื่อปลานิลชนิดนี้ว่า ปลานิลแดง ในปี พ.ศ. 2527 (พรรณศรี, 2531)

ลักษณะทั่วไปของปลานิลแดง

ลักษณะลำตัวของปลานิลแดงมีความคล้ายคลึงกับปลานิลธรรมดามาก ต่างกันแต่เพียงสีของลำตัว คือ ปลานิลแดงมีสีบริเวณลำตัวเป็น สีส้ม ส้มแดง แดง ส้มเหลือง หรือชมพู บางตัวอาจมีเม็ดสี สีดำ (Melanin pigment) ขนาดเล็กกระจายทั่วไปบนบริเวณลำตัว ครีบหลัง ครีบก้น และครีบหาง มักมีจุดสีส้มแดงเล็กเรียงกันเป็นแถวทำให้เห็นเป็นแถบสีส้มแดงมีลักษณะต่างจากปลานิลธรรมดา ซึ่งมีลำตัวสีเขียวปนน้ำตาลหรือเทาปนน้ำเงิน ลักษณะที่มีความแตกต่างกันเห็นได้ชัดคือสีของผนังช่องท้องในปลานิลแดง ผนังช่องท้องจะมีสีขาว เนื่องจากไม่มีเม็ดสีสีดำ ส่วนรูปร่างของลำตัวจะมีลักษณะเหมือนปลานิลธรรมดาแต่มีริมฝีปากเฉียงขึ้น นัยน์ตาปลานิลแดงมีหลายแบบ คือ นัยน์ตาสีแดง วงรอบตาสีเหลือง หรือนัยน์ตาสีดำ วงรอบตาสีแดง (ปกรณ์, 2527; มานพ และคณะ, 2527)

ปลานิลเป็นปลาที่กินทั้งพืชและเนื้อ (Omnivores) ชอบกินสาหร่าย แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์และอินทรียวัตถุที่อยู่ก้นบ่อ ปลานิลมีฟันอยู่ตำแหน่งขากรรไกรและกระดูกคอทำหน้าที่บดอาหารให้มีขนาดเล็กก่อนส่งผ่านเข้ากระเพาะ ซึ่งกระเพาะอาหารตอนต้นมีลักษณะพิเศษ คือ น้ำย่อยมีความเป็นกรดสูง ค่าพีเอชอาจต่ำกว่า 1.5 สามารถย่อยแพลงก์ตอนพืช และสิ่งเน่าเปื่อยได้ดี ลำไส้มีความยาวประมาณ 6-8 เท่า ของความยาวลำตัว กินอาหารตลอดเวลาและกินจุ

ปลานิลขนาดต่างๆ ชอบกินอาหารต่างกันเล็กน้อย ปลาขนาด 1-2 นิ้ว กินรำ แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ และสาหร่ายเส้น ปลาขนาด 3-5 นิ้ว ส่วนใหญ่กินสาหร่ายเส้น และซากเน่าเปื่อย ส่วนน้อยจะกินแพลงก์ตอนพืช ตัวอ่อนของกุ้ง ปู แพลงก์ตอนสัตว์ ปลาขนาด 6-8 นิ้ว ส่วนใหญ่กินซากเน่าเปื่อย สาหร่ายเส้น มูลไก่ ตะไคร่น้ำ และของเน่าเปื่อยต่างๆ ปลาขนาดใหญ่และตัวโตเต็มวัย อาหารส่วนใหญ่เป็นพวกพืช เนื่องจากมีทางเดินอาหารยาว (บรรเจิด, 2546)

ฤดูผสมพันธุ์และวางไข่

ปลานิลแดงมีลักษณะทางเพศที่คล้ายคลึงกับปลานิลธรรมดา คือ สามารถผสมพันธุ์และวางไข่ได้ประมาณ 3-4 ครั้งต่อปี โดยตัวเมียเริ่มวางไข่เมื่ออายุได้ประมาณ 2 เดือนเป็นต้นไป หรือมีความยาวเฉลี่ย 6.5 เซนติเมตร ที่น้ำหนักเฉลี่ย 200-250 กรัม ซึ่งมีปริมาณลูกรุ่นละ 400-1,000 ตัว (มานพ และคณะ, 2527)

โปรไบโอติก (Probiotic)

โปรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน มีผลต่อความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ มีคุณสมบัติทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหารและทนต่อเกลือน้ำดีในลำไส้ โดยส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มแบคทีเรียพวก *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* นอกจากนี้ยังมีกลุ่มอื่นๆที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก ซึ่งเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ หรืออาหารเสริมที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิต ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ ซึ่งสามารถปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหาร เช่น microflora ในทางเดินอาหาร (Parker, 1974; Fuller, 1989) Gatesoupe (1999) กล่าวว่าโปรไบโอติก คือเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปโดยวิธีการใดๆก็ตาม แล้วสามารถเข้าไปอยู่ในลำไส้ของเจ้าบ้าน และสามารถมีชีวิตอยู่ได้เพื่อพร้อมที่จะไปปรับปรุงสุขภาพของตัวเจ้าบ้านนั้นๆให้ดีขึ้น จุลินทรีย์โปรไบโอติกมีหลายชนิดทั้งแบคทีเรีย เชื้อราและยีสต์

โปรไบโอติก เป็นจุลินทรีย์ซึ่งอาจเป็นชนิดเดียวหรือเป็นส่วนผสมของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตหลายชนิดที่สามารถไปปรับคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์ โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปของเซลล์แห้ง จากกระบวนการระเหิดแห้ง (freeze dried cells) หรืออยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์หมัก เมื่อคนหรือสัตว์บริโภคเข้าไปแล้วจุลินทรีย์เหล่านี้จะสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในระบบทางเดินอาหาร และก่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้บริโภค จุลินทรีย์ที่เป็นโปรไบโอติกจะทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพ ทำให้เกิดสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ลดปริมาณเชื้อที่เป็นโทษและเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ให้มีปริมาณมากขึ้น (ธวัชชัย และคณะ, 2547)

กลไกการทำงานของจุลินทรีย์โปรไบโอติก

เมื่อเจ้าบ้าน (host) ได้รับโปรไบโอติกเข้าไปแล้วมันจะผ่านกระเพาะอาหารเข้าไปเจริญเติบโตหรือเกาะติดผนังลำไส้เล็กทุกส่วน โดยเฉพาะการแทรกตัวตามร่อง (villi) ของลำไส้เล็ก มีการย่อยสลายกากอาหารแล้วสร้างกรดแลคติก ซึ่งกรดแลคติกจะทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค การเกาะติดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกจะแพร่กระจายทุกพื้นที่ ทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคไม่มีพื้นที่สำหรับการเกาะติด การรับจุลินทรีย์โปรไบโอติกเข้าไปเป็นสิ่งแปลกปลอมจะดึงดูดพวก แมคโคฟาร์จ จึงเป็นการกระตุ้นให้มีภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้น นอกจากนี้จุลินทรีย์โปรไบโอติกยังมีความสามารถในการผลิตสารซึ่งจำเป็นต่อเจ้าบ้าน เช่น กรดอะมิโนและวิตามิน (อัจฉรา, 2550)

ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*)

ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) คือสารเสริมชีวนะชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ มีอยู่ 2 ชนิด คือ ชนิดแรกเป็นยีสต์ที่ตายแล้วกับชนิดที่สองเป็นยีสต์เป็นหรือยีสต์ที่ยังมีชีวิตอยู่ การใช้ยีสต์ที่ตายแล้วเป็นเพียงการเพิ่มคุณค่าทางอาหารสัตว์ แต่การใช้ยีสต์มีชีวิตในอาหาร ยีสต์จะสามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ในกระเพาะและระบบทางเดินอาหารของสัตว์ โดยยีสต์ใช้อาหารพวกคาร์โบไฮเดรตและเยื่อใย (Fiber) แล้วขับถ่ายอาหารที่ประกอบด้วยสารพวกโปรตีน วิตามิน แร่ธาตุออกมา ซึ่งสัตว์สามารถย่อยและใช้ประโยชน์ได้ รวมทั้งตัวเซลล์ยีสต์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อถูกย่อยสลายจะได้สารอาหารโปรตีนเพิ่มขึ้นด้วย ยีสต์ชนิดนี้จะประกอบด้วยเอนไซม์จำนวนมาก บางส่วนถูกขับออกมาในลำไส้และช่วยเสริมเอนไซม์ที่มีอยู่แล้วในทางเดินอาหาร จึงช่วยให้เพิ่มอัตราการย่อยได้ ทำให้การกินอาหารเพิ่มขึ้น ผลที่ได้คือการเพิ่มน้ำหนักหรือผลผลิต ช่วยสนับสนุนสมดุลย์ของจุลชีพในลำไส้หากมีการให้อย่างสม่ำเสมอ (Jonewell, 1993) ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* มีองค์ประกอบที่เป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น ß-glucans , nucleic acids , mannan oligosaccharides ซึ่งสามารถเพิ่มการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (Andcrson และคณะ, 1995; Ortuno และคณะ, 2002) Abdcl-Tawwab และคณะ (2008) พบว่ายีสต์ *S. cerevisiae* เพิ่มเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันในปลานิล *Oreochromis niloticus* ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้เพื่อป้องกันโรคในการเลี้ยงปลานิล

พรีไบโอติก (Prebiotic)

พรีไบโอติก เป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถถูกย่อย และไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร แต่มีแบคทีเรียบางกลุ่มโดยเฉพาะกลุ่มที่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ สามารถใช้สารอาหารเหล่านั้นในการเจริญและส่งผลต่อการเสริมสร้างสุขภาพของเจ้าบ้านให้ดีขึ้น อาทิเช่น *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* และ *Eubacterium* (Cumming และคณะ, 2001) นอกจากนั้น พรีไบโอติกบางชนิดมีหน้าที่จับจุลินทรีย์ ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) เช่น *E.coli* และ Salmonella แล้วกำจัดออกจากระบบทางเดินอาหารไปกับอุจจาระ (เฉลิมขวัญ และมัลลิกา, 2548) ส่วนใหญ่สารที่นำมาใช้มักเป็นใยอาหารธรรมชาติจากพืชที่มี oligosaccharides ที่ย่อยไม่ได้ หรือคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนชนิดอื่น ซึ่งยังจะช่วยลดอาการท้องผูก ช่วยรักษาสมดุลน้ำและเกลือแร่ในร่างกายและช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และสังกะสี (พีร์, 2551) สารอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกนั้นต้องสามารถทนต่อการย่อยของกรดในกระเพาะอาหาร และลงสู่ลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง และไม่ดูดซึมในลำไส้เล็ก เพื่อที่จุลินทรีย์ประจำถิ่น (microflora) ที่อาศัยอยู่ในลำไส้สามารถใช้สารเหล่านี้ในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน (Gibson, 2004)

กลไกการทำงานของพรีไบโอติก

1. เลือกกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ โดยกลไกช่วยในการเลือกทำงาน 2 กลไก คือ

1.1 การแก่งแย่งเพื่อขจัดออก (competitive exclusion, CE) ถูกย่อยได้โดยเอนไซม์จำเพาะ อาทิ เอนไซม์ ß-fructosidase และ ß-galactosidase เป็นต้น (สาโรช, 2547)

1.2 พรีไบโอติกจับเกาะกับเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถยึดเกาะกับเยื่อบุผนังลำไส้ได้ จึงถูกขจัดออกไป (Aniansson และคณะ, 1990)

2. กระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยพรีไบโอติกทำปฏิกิริยากับ protein receptors บนผนังเซลล์สร้างภูมิคุ้มกันของเยื่อบุผนังลำไส้ ยังผลให้มีการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น (Chesson, 1993;Savage และคณะ, 1996)

3. เพิ่มจำนวนของเซลล์ goblet ซึ่งเป็นเซลล์สร้างเยื่อเมือก (mucins) ของผนังลำไส้เล็กช่วยปกป้องลำไส้จากการติดเชื้อ (Savage และคณะ, 1997)

4. อาจมีผลในการยับยั้งมะเร็งโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์และการต้านอนุมูลอิสระ (Chorvaticova และคณะ, 1999; Krizkova และคณะ, 2001)

ประโยชน์ของการใช้พรีไบโอติกในอาหารสัตว์

1. เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นที่มีอยู่ในธรรมชาติ จึงไม่มีผลข้างเคียงเรื่องสารพิษตกค้างหรือก่อโรค (สาโรช, 2547)

2. ทนทานต่ออุณหภูมิสูงในกระบวนการผลิตอาหาร และทนทานต่อความเป็นกรดในกระเพาะจึงใช้ได้ง่ายไม่ต้องกังวลเรื่องการถูกทำลาย หรือจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอดก่อนที่จะออกฤทธิ์ในตัวสัตว์ (สาโรช, 2547)

3. การใช้สารพรีไบโอติก ลดการย่อยโปรตีนในลำไส้ใหญ่ โดยไบฟีโดแบคทีเรียและแลคโตบาซิลัส มีเอนไซม์สลายโปรตีนกลุ่ม azoreductase, nitroreductase, nitrate reductase และ ß-glucuronidase ต่ำจึงสลายโปรตีนให้เกิดสารพิษกลุ่มแอมโมเนีย อินโดล (indoles) และฟีนอล (phenols) ลดลง ทำให้โอกาสที่สารพิษเหล่านี้จะก่อให้เกิดการหลุดลอกของเยื่อบุผนังลำไส้ใหญ่อันเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ลดลง (Swanson และ Fahey, 2002) นอกจากนั้นการเสริมพรีไบโอติกในสูตรอาหารสามารถช่วยลดกลิ่นเหม็นและแอมโมเนียในมูลได้ (ศุภวันจักรี และ สมชัย, 2545)

4. สังเคราะห์ได้ง่ายและต้นทุนการผลิตต่ำ (สาโรช, 2547)

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide; FOS)

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลเชิงซ้อน สังเคราะห์ได้จากน้ำตาลซูโครส (sucrose) โดยใช้ เอนไซม์ทรานสฟรุคโตซิเลส (transfructosylase) ซึ่งมีโครงสร้างของกลูโคส (glucose) เชื่อมกับ ฟรุคโตส (fructose) 2-4 หน่วย หรือใช้การสกัดอินนูลิน (inulin) จากหัวชิคอรี (chicory roots) (Monsan และ Paul, 1995) คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของ FOS คือ เป็นผงละเอียดสีขาว ไม่มีกลิ่น มีความหวานเป็นร้อยละ 30 ของน้ำตาลซูโครสดูดความชื้นเล็กน้อย ให้พลังงานต่ำ (ประมาณ 1.5 กิโลแคลอรีต่อกรัม) เนื่องจากไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร มีความคงตัวสูงค่าพีเอชมากกว่า 3 และทนต่ออุณหภูมิไม่เกิน 140 องศาเซลเซียส (สุญาณี, 2549)

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่เอนไซม์ในระบบทางเดิน อาหารของคน และสัตว์ไม่สามารถย่อยได้ แต่จะถูกหมักย่อยโดยจุลินทรีย์บริเวณลำไส้ใหญ่ ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* เป็นต้น แบคทีเรียเหล่านี้สามารถควบคุมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ก่อให้เกิดโรคโดยการผลิตกรดไขมันสายโซ่สั้น ส่งผลให้ความเป็นกรด ด่างในลำไส้ลดลง ทำให้เกิดความไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ก่อโรค (Ross, 1999)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Panigrahi และคณะ (2005) ทดลองใช้ โปรไบโอติก (*Lactobacillus rhamnosus*) ในสภาวะ heat-killed, live-sprayed และ freeze-dried เสริมในอาหารปลา rainbow trout พบว่า โปรไบโอติกในสภาวะ live-sprayed และ freeze-dried สามารถช่วยเพิ่ม phagocytic ในปลาได้ นอกจากนี้ Pirarat และคณะ (2006) ใช้ โปรไบโอติก ชนิดเดียวกันนี้เสริมในอาหารเลี้ยงปลานิล พบวาช่วยเพิ่ม phagocytic และช่วยเพิ่มความต้านทานโรคที่เกิดจาก เชื้อ *Edwardsiella tarda* ได้

ด้วยความก้าวหน้าของการศึกษา ด้านองค์ประกอบในร่างกายปลา พบว่าชนิดและปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ของปลาส่งผลต่อการเจริญเติบโตและความต้านทานโรคของปลาเช่นเดียวกับมนุษย์ (Irianto และ Austin, 2002) และองค์ประกอบของอาหารส่งผลต่อการเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ในลำไส้ของปลาเช่นกัน (Ringo และ Olsen, 1999) การเสริม พรีไบโอติก ลงในอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถช่วยเสริมความต้านทานโรค ลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และยังช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำได้อีกด้วย (Li และ Gatlin III, 2005) Losada และOlleros (2002) รายงานว่าการใช้ พรีไบโอติก (Fructooligasaccharide, FOS) จะช่วยทำให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้เพิ่มจำนวนขึ้นได้

Lara-Flores และคณะ (2003) ทดลองใช้ โปรไบโอติก 3 ชนิด (*Streptococcus faecium, Lactobacillus acidophilus* และ yeast) เสริมในอาหารเลี้ยงปลานิล พบว่า ทั้ง 3 ชนิดช่วยเสริมประสิทธิภาพการเติบโตของปลานิลได้ดีกว่าปลานิลกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ

แต่การใช้ โปรไบโอติก ให้มีประสิทธิภาพยังคงมีปัญหาในทางปฏิบัติ เพราะประสิทธิภาพของโปรไบโอติก นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของ bacteria และปริมาณความหนาแน่นของ cell ในลำไส้ ซึ่งความหนาแน่นของ cell ต้องไม่ต่ำกว่า 10^7 CFU/g อาหารที่สัตว์น้ำบริโภคจึงจะได้ผล (Gomes และ Malcata, 1999)

Abdel-Tawwab และคณะ (2008) ศึกษาเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันในปลานิล *Oreochromis niloticus* ในลูกปลาขนาด 0.33 กรัม สุ่ม 25 ตัวต่อถัง 140 ลิตร อาหารปลาเสริมด้วยยีสต์ 0, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0 และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ให้อาหารเป็นเวลา 12 สัปดาห์ หลังจากที่ทดลองเสร็จ นำปลามาทดสอบด้วยเชื้อก่อโรค *Aeromonas hydrophila* ซึ่งจะฉีดเข้าที่ช่องท้อง สังเกต 10 วัน จดบันทึกลักษณะอาการและอัตราการตายต่อวัน พบว่ามีการเจริญเติบโตสูงสุด การใช้ประโยชน์จากอาหาร และ Protein turn-over ในอาหารที่มียีสต์ 1.0-5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ยีสต์ที่เสริม 1.0 กรัมต่อกิโลกรัม จะเพิ่มการสะสมโปรตีนในตัวปลา ปลาตายทั้งหมด ในวันที่ 10 หลังจากฉีดเข้าช่องท้องด้วยเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และจำนวนเชื้อในซีรั่มลดลง เมื่อเพิ่มระดับของยีสต์ในอาหารปลา อย่างไรก็ตามในปลาที่กินอาหารเสริมยีสต์

5.0 กรัมต่อกิโลกรัม มีจำนวนปลาที่ตายและจำนวนแบคทีเรียน้อยที่สุด ผลบ่งชี้ว่ายีสต์ขนมปัง เป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้เป็นยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันโรคในการเลี้ยงปลานิล

การเสริมยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) โดยใช้อาหารที่เสริมยีสต์แตกต่างกัน 4 ระดับคือ 0, 1, 5 และ 10 กรัมต่อกิโลกรัม ทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่าการเสริมยีสต์ช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของปลา Gilthead seabream การใช้ยีสต์สามารถใช้เป็นตัวกระตุ้นทางภูมิคุ้มกันได้ (Ortuno และคณะ, 2002)

Zhou และคณะ (2010) ได้ศึกษาการเสริมพรีไบโอติก 4 ชนิด คือ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) ที่ได้จากอินนูลิน, กาแลตโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS), Bio-MOS และ Previda™ ในปริมาณ 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยควบคุมระดับโปรตีน 41% และไขมัน 10% ที่ใช้เลี้ยง Red drum (*Sciaenops ocellatus*) จะให้อาหาร 2 ครั้งต่อวันและกินจนอิ่ม พบว่า ปลา Red drum ที่ได้รับอาหารเสริม Previda™ มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ และปลาที่ได้รับอาหารเสริม Bio-MOS มีอัตราการรอดตายต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรอื่นๆ ส่วนกิจกรรมไลโซไซม์ของปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมต่ำกว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมพรีไบโอติก ทั้ง 4 ชนิด ($p<0.05$) ดังนั้นการเสริมพรีไบโอติกมีผลต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองภูมิคุ้มกัน แต่ก็ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา

อุปกรณ์และวิธการวิจัย

การเตรียมหน่วยทดลอง

ใช้กระชังทำด้วยตาข่ายไนลอน ขนาด 1.8×3.0×1.2 ม. (กว้าง×ยาว×ลึก) ขึงในบ่อดินขนาด 1,000 ตร.ม. ด้วยเสาไม้ไผ่ให้ก้นกระชังอยู่เหนือระดับพื้นบ่ออย่างน้อย 0.5 ซม. รักษาระดับให้ขอบด้านบนของกระชังอยู่เหนือผิวน้ำ 20 ซม. เพื่อให้มีส่วนของกระชังแช่อยู่ในน้ำ 100 ซม. ตลอดการทดลอง

สัตว์ทดลอง

ใช้ลูกปลานิลแดงแปลงเพศขนาดความยาวประมาณ 3 ซม. (น้ำหนักเฉลี่ย 0.45±0.01 กรัม) ซื้อจากโรงเพาะฟักเอกชน โดยนำลูกปลามาพักให้ปรับตัวในกระชังขนาด 5 ตร.ม. ด้วยความหนาแน่น 200 ตัว/ตร.ม เป็นเวลา 18 ชม. ก่อนทำการสุ่มนับและชั่งน้ำหนักลูกปลาเริ่มต้นเพื่อปล่อยลงเลี้ยงในกระชังทดลองด้วยความหนาแน่น 150 ตัว/ตร.ม.ให้อาหารด้วยอาหารอนุบาลลูกปลาสำเร็จรูปเป็นเวลา 7 วันเพื่อให้ปลาปรับสภาพ ก่อนเริ่มให้อาหารทดลอง อัตราอาหารที่ให้ตลอดการทดลองของทุกการทดลอง คือ 5% ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง (09:00-10:00 น. และ 15:00-16:00 น.) ปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก 14 วัน

อาหารทดลอง

ใช้รำละเอียดกับปลาป่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ผสมวัตถุดิบอาหารให้เข้ากัน บรรจุอาหารทดลองในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตลอดช่วงเวลาทดลอง

การวิเคราะห์ส่วนประกอบของอาหารและคุณภาพน้ำ

วิเคราะห์โปรตีนในอาหารทดลอง โดยวิธี Micro-Kjeldahl ตามวิธีการของ AOAC (1990)

ตรวจสอบคุณภาพน้ำในบ่อทดลองเมื่อเริ่มต้นและทุกๆ 14 วันจนเสร็จสิ้นการทดลอง ได้แก่ อุณหภูมิและ dissolved oxygen ด้วยเครื่อง oxygen meter (YSI Model 59), Total ammonia วิเคราะห์หาค่าโดยใช้ spectrophoto meter (Hach DR/2000) ส่วนค่า pH ทำการวัดโดยใช้เครื่อง pH meter (Schott-Gerate CG 840)

การวางแผนการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาการใช้พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) เสริมในอาหารทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต ความทนทานต่อความเครียด และภูมิคุ้มกันในการอนุบาลลูกปลานิลแดง

วางแผนการทดลอง แบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ผลิตอาหารทดลอง จำนวน 4 สูตร โดยใช้รำละเอียดผสมปลาป่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 เป็นอาหารควบคุม ส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ อาหารที่เสริมด้วย FOS 0.1%, 0.3% และ 0.5% ของน้ำหนักอาหาร

การทดลองที่ 2 ศึกษาการใช้โปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เสริมในอาหารทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต ความทนทานต่อความเครียด และภูมิคุ้มกันในการอนุบาลลูกปลานิลแดง

วางแผนการทดลอง แบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ผลิตอาหารทดลอง จำนวน 4 สูตร โดยใช้รำละเอียดผสมปลาป่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 เป็นอาหารควบคุม ส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ อาหารที่เสริมด้วยยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) 0.1%, 0.5% และ 1.0% ของน้ำหนักอาหาร

การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูลด้านประสิทธิภาพและการเติบโต

นับและชั่งน้ำหนักปลาในแต่ละกระชัง ทุกๆ 14 วัน ตลอดการทดลองในแต่ละการทดลอง นำข้อมูลที่ได้ไปปรับปริมาณการให้อาหาร และคำนวณหาค่าต่าง ๆ ดังนี้

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

$$= 100 \times \frac{(\ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง})}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$

ข. อัตรารอด (Survival) %

= (จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง / จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง) x 100

ค. อัตราการแลกเนื้อ (FCR)

= น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน (g.) / น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (g.)

ง. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Total biomass increase) g.

= น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (g.) – น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง (g.)

การวิเคราะห์ด้านประสิทธิภาพทางเศรษฐกิจ

ก. ต้นทุนค่าอาหารต่อปลา 1 กิโลกรัม

= (ปริมาณอาหารที่ปลากิน x ราคาอาหาร) / น้ำหนักปลา

Stress tolerance test

เมื่อสิ้นสุดแต่ละการทดลอง สุ่มตัวอย่างลูกปลาในแต่ละชุดการทดลอง จำนวน 10 ตัว มาทดสอบความทนทานต่อความเครียด โดยการเช็ดลำตัวให้แห้ง แล้วใส่ไว้ในถุงตาข่ายปล่อยให้อยู่เหนือน้ำเป็นเวลา 10 นาที ก่อนปล่อยคืนลงในน้ำ สังเกตและจดบันทึกจำนวนลูกปลาที่แสดงอาการผิดปกติหรือตายในแต่ละชุดการทดลอง ตามวิธีการของ Koshio และคณะ (1997)

Pathogen challenge test

เมื่อสิ้นสุดแต่ละการทดลอง ลูกปลาแต่ละชุดการทดลอง จำนวน 10 ตัว จะถูกทดสอบความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* 5×10^5 cells/mL ใน Phosphate buffer saline (PBS) solution โดยใช้เชื้อก่อโรค 0.1 ml ฉีดเข้าใต้ผิวหนังปลาแต่ละตัว ซึ่งการทดสอบจะใช้เวลา 10 วัน โดยยังคงให้อาหารทดลองในแต่ละชุดการทดลอง อย่างต่อเนื่อง สังเกตและจดบันทึกจำนวนลูกปลาที่แสดงอาการผิดปกติหรือตายในแต่ละชุดการทดลอง ทุกวัน

การตรวจสอบระบบภูมิคุ้มกัน (non-specific immune responses)

เมื่อสิ้นสุดแต่ละการทดลอง สุ่มตัวอย่างปลาในแต่ละชุดการทดลองมาทดสอบระบบภูมิคุ้มกันโรค ดังรายละเอียดต่อไปนี้ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากปลาซ้ำละ 3 ตัว โดยดูดเลือดจากบริเวณโคนครีบหางปลาตัวละประมาณ 0.5 มิลลิลิตร

1. เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดอัดแน่น Hematocrit (%) นำเลือดใส่หลอด microhematocrit ประมาณ ¾ ของความยาวหลอด ใช้ดินน้ำมันอุดปลายด้านที่มีเลือดอยู่ ทิ้งไว้ค้างคืนในตู้เย็นให้เลือดแข็งตัว แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที คำนวณหาเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดอัดแน่นโดยใช้สูตร

$$\%\ \text{เม็ดเลือดอัดแน่น} = \frac{\text{ความสูงของเม็ดเลือด (มิลลิเมตร)} \times 100}{\text{ความสูงของเลือดทั้งหมด (มิลลิเมตร)}}$$

2. ปริมาณไลโซไซม์ และโปรตีน นำเลือดที่เหลือใส่หลอด microfuge เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ 24 ชั่วโมง เพื่อให้เลือดแข็งตัว จากนั้นนำไปปั่นแยกซีรั่มที่ความเร็ว 10,000 รอบเป็นเวลา 10 นาที เก็บซีรั่มไว้ที่อุณหภูมิ –20 °ซ จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ปริมาณไลโซไซม์และโปรตีน

2.1 วิเคราะห์ปริมาณไลโซไซม์ในซีรั่มตามวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Puangkaew และคณะ (2004) กล่าวคือ ใช้ซีรัม 100 ไมโครลิตร เติมลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ แล้วเติมสารละลายแบคทีเรีย *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) ความเข้มข้น 0.2 มก./มล. (ในสารละลาย 0.04 PBS, pH 6.0) จำนวน 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดความสามารถของไลโซไซม์ในซีรัมในการย่อยสลายเชื้อแบคทีเรีย โดยสังเกตจากความขุ่นของเซลล์แบคทีเรีย ที่ลดลงทุก 5 นาที ที่ความยาวคลื่นแสง 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader

2.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีการ Lowry (1951) โดยใช้ซีรัมปลา 25 ไมโครลิตร เติมลงในถาดหลุมขนาดเล็ก (96-well plate) ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ จากนั้นเติม Folin reagent 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที อ่านผลที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader โดยใช้ Bovine serum albumin (sigma) เป็นโปรตีนมาตรฐานในการเปรียบเทียบ

3. จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว นำเลือดปลาหยดลงบนสไลด์ ที่สะอาด เกลี่ยเลือดให้เป็นฟิล์มบางๆ ทิ้งให้แห้ง แล้วย้อมสีด้วยวิธี Dip Quick ด้วยชุดน้ำยา Wright instant stain set โดยจุ่มสไลด์ ลงใน Fixative Solution จำนวน 5 ครั้ง และจุ่มสไลด์ลงใน Wright stain A จำนวน 5 ครั้ง และจุ่มสไลด์ลงใน Wright stain B จำนวน 5 ครั้ง ล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นทิ้งให้แห้ง ทำการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยเลือกบริเวณพื้นที่ของเม็ดเลือดที่บางที่สุด และหยด mineral oil เพื่อส่องดูด้วยเลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละทรีตเมนต์ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ โดยวิธีของ Tukey's test และ T-test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาการใช้พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) เสริมในอาหารทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต ความทนทานต่อความเครียด และภูมิคุ้มกันในการอนุบาลลูกปลานิลแดง

ด้านประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

จากการทดลองพบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริม พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) ทั้ง 3 สูตร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความยาวสุดท้าย ความยาวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการรอดตาย ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) แต่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ในสูตรอาหารเสริม FOS ทั้ง 3 สูตร มีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนอัตราการแลกเนื้อ (FCR) ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยอาหารเสริม FOS 0.3 % และ 0.5 % มีค่าดีกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) แต่ไม่แตกต่างจากอาหารที่เสริม FOS 0.1 % (p>0.05) ตารางที่ 2

การวิเคราะห์ด้านประสิทธิภาพทางเศรษฐกิจ

ต้นทุนการผลิตต่อปลา 1 กิโลกรัม (ตารางที่ 2) ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริม FOS 0.5 % มีต้นทุนสูงที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) รองลงมาคือสูตรอาหารเสริม FOS 0.3 % ส่วนสูตรอาหารเสริม FOS 0.1 % มีค่าไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหารทดลอง

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์โปรตีน
FOS 0.0 %	46.61
FOS 0.1 %	46.39
FOS 0.3 %	46.39
FOS 0.5 %	46.31

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการเติบโตของลูกปลานิลแดงที่ใช้พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) เสริมในอาหารทดลอง

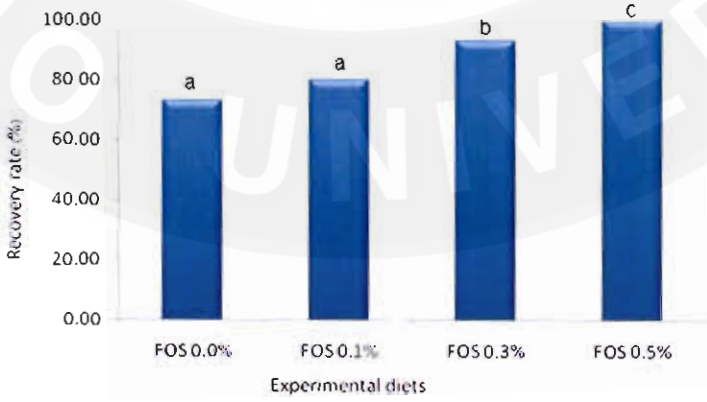
พารามิเตอร์	FOS 0.0 %	FOS 0.1 %	FOS 0.3 %	FOS 0.5 %
น้ำหนักเริ่มต้น(กรัม/ตัว)	0.45±0.01	0.44±0.00	0.46±0.01	0.46±0.01
น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	6.00±0.20	6.61±0.30	6.92±0.15	6.89±0.26
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	5.55±0.19	6.17±0.30	6.46±0.16	6.43±0.25
ความยาวเริ่มต้น (ซม.)	2.15±0.00	2.15±0.01	2.15±0.01	2.14±0.02
ความยาวสุดท้าย (ซม.)	8.10±0.04	8.13±0.05	8.24±0.03	8.20±0.04
ความยาวที่เพิ่มขึ้น (ซม.)	5.96±0.04	5.98±0.05	6.10±0.04	6.06±0.04
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%ต่อวัน)	2.56±0.01^{a}	2.72±0.05^{b}	2.74±0.04^{b}	2.75±0.05^{b}
อัตราการแลกเนื้อ	2.05±0.01^{a}	1.89±0.06^{ab}	1.82±0.04^{b}	1.83±0.06^{b}
อัตราการรอดตาย (%)	75.77±1.92	77.48±0.30	78.96±0.58	79.11±1.34
ต้นทุน (บาท/กิโลกรัมปลา)	77.17±0.49^{a}	83.93±2.27^{a}	103.40±2.01^{b}	127.00±3.63^{c}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ปลาป่น ราคา 55 บ/กก. รำละเอียด ราคา 15 บ/กก. Fructo-oligosaccharide (FOS) ราคา 17 บ/2.5 ก.

การทดสอบความทนทานต่อความเครียด

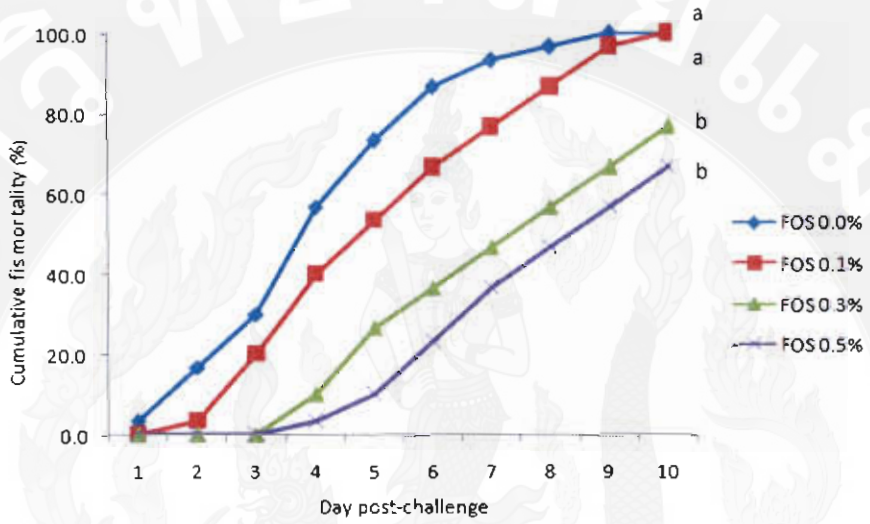
เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมพรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) 0.5% มีความทนทานต่อความเครียดดีที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) รองลงมาคือสูตรอาหารเสริม FOS 0.3 % ส่วนสูตรอาหารเสริม FOS 0.1 % มีค่าไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การทดสอบความทนทานต่อความเครียด ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมพรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS)

การทดสอบความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila*

อัตราการตายของลูกปลานิลแดงที่ฉีดเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* เข้าช่องท้องแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) มีการตายสูงสุดในวันที่ 10 หลังจากฉีดเชื้อก่อโรค และหลังจากนั้น ไม่มีการตายเพิ่ม (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 อัตราการตายของลูกปลานิลแดงที่ถูกทดสอบความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* 5×10^5 cells/mL เป็นระยะเวลา 10 วัน ตัวอักษรที่ต่างกันในกราฟแต่ละเส้น แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของเลือดลูกปลานิลแดงที่ใช้พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) เสริมในอาหารทดลอง

พารามิเตอร์	อาหารทดลอง			
	FOS 0.0 %	FOS 0.1 %	FOS 0.3 %	FOS 0.5 %
Hematocrit (%)	31.58±1.22	33.11±2.90	33.75±0.43	29.20±0.50
Plasma protein (mg/L)	0.50 ± 0.06^{a}	0.53 ± 0.01^{ab}	0.57 ± 0.05^{ab}	0.71 ± 0.04^{b}
Serum lysozyme (µg/mL)	14.91 ± 0.97^{a}	17.91 ± 1.46^{ab}	20.84 ± 0.16^{b}	20.91 ± 0.15^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ด้านระบบภูมิคุ้มกัน

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริม พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) ทั้ง 3 สูตร มีค่าฮีมาโตคริต ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) สูตรอาหารเสริม FOS 0.5 % มีปริมาณโปรตีนในซีรัม สูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนซีรัมไลโซไซม์ สูตรอาหารเสริม FOS 0.3 % และ 0.5 % มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ตารางที่ 3

คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง

คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง พบว่า pH ออกซิเจนละลายในน้ำ อุณหภูมิ และแอมโมเนีย มีค่าไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ตารางที่ 4

ตารางที่ 4 คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง การอนุบาลลูกปลานิลแดงด้วยสูตรอาหารเสริม พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS)

พารามิเตอร์	FOS 0.0 %	FOS 0.1 %	FOS 0.3 %	FOS 0.5 %
pH	8.19±0.04	8.24±0.02	8.13±0.03	8.19±0.02
DO (มล./ล.)	3.58±0.04	3.53±0.03	3.53±0.06	3.63±0.07
อุณหภูมิ (°ซ)	30.64±0.05	30.66±0.01	30.65±0.02	30.69±0.02
แอมโมเนีย (มล./ล.)	0.14±0.00	0.15±0.00	0.14±0.01	0.14±0.00

การทดลองที่ 2 ศึกษาการใช้โปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เสริมในอาหารทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต ความทนทานต่อความเครียด และภูมิคุ้มกันในการอนุบาลลูกปลานิลแดง

ด้านประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

จากการทดลองพบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ทั้ง 3 สูตร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความยาวสุดท้าย และความยาวที่เพิ่มขึ้น ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการรอดตาย ในสูตรอาหารเสริมยีสต์ 0.5 % และ 1.0 % มีค่าสูงกว่า ชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนอัตราการแลกเนื้อ (FCR) ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยอาหารเสริมยีสต์ 0.5 % และ 1.0 % มีค่าดีกว่าสูตรอาหารเสริมยีสต์ 0.1 % อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ตารางที่ 6

การวิเคราะห์ด้านประสิทธิภาพทางเศรษฐกิจ

ต้นทุนการผลิตต่อปลา 1 กิโลกรัม (ตารางที่ 6) ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ทั้ง 3 สูตร ไม่มีค่าแตกต่างกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหารทดลอง

ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์โปรตีน
yeast 0.0 %	46.58
yeast 0.1 %	46.18
yeast 0.5 %	46.23
yeast 1.0 %	46.36

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพการเติบโตของลูกปลานิลแดงที่ใช้โปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เสริมในอาหารทดลอง

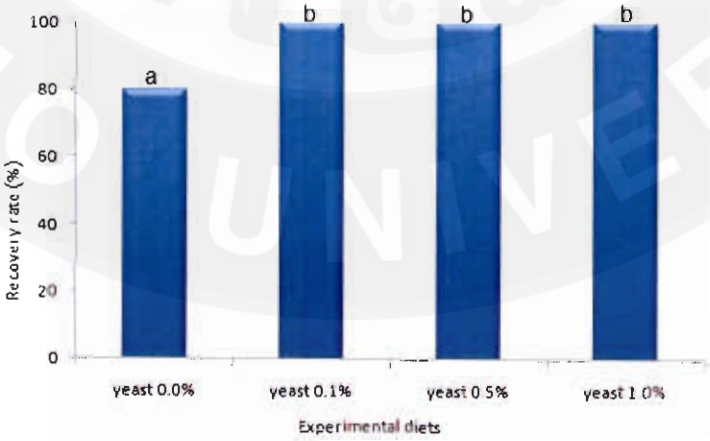
พารามิเตอร์	Yeast 0.0 %	Yeast 0.1 %	Yeast 0.5 %	Yeast 1.0 %
น้ำหนักเริ่มต้น(กรัม/ตัว)	1.06±0.01	1.07±0.03	1.07±0.01	1.05±0.03
น้ำหนักสุดท้าย (กรัม/ตัว)	9.53±0.18	9.66±0.13	10.10±0.17	9.85±0.20
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	8.46±0.19	8.59±0.16	9.03±0.16	8.78±0.17
ความยาวเริ่มต้น (ซม.)	3.73±0.06	3.71±0.03	3.70±0.04	3.73±0.02
ความยาวสุดท้าย (ซม.)	9.26±0.04	9.32±0.10	9.42±0.17	9.48±0.13
ความยาวที่เพิ่มขึ้น (ซม.)	5.53±0.06	5.60±0.13	5.72±0.13	5.75±0.15
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(%ต่อวัน)	2.43±0.03^{a}	2.45±0.05^{a}	2.64±0.01^{b}	2.67±0.03^{b}
อัตราการแลกเนื้อ	2.66±0.02^{ab}	2.71±0.04^{a}	2.56±0.03^{b}	2.54±0.03^{b}
อัตราการรอดตาย (%)	69.11±0.59^{a}	69.77±0.26^{a}	77.26±0.78^{b}	79.40±0.91^{b}
ต้นทุน (บาท/กิโลกรัมปลา)	93.20±0.73	96.12±1.03	95.31±1.20	97.70±1.00

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ปลาป่น ราคา 55 บ/กก. รำละเอียด ราคา 15 บ/กก. ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ราคา 138 บ/500 ก.

การทดสอบความทนทานต่อความเครียด

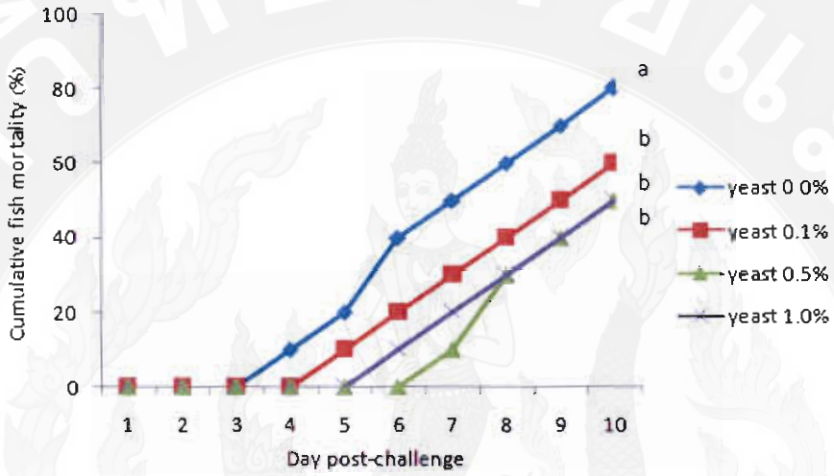
เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ทั้ง 3 สูตร มีความทนทานต่อความเครียดแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การทดสอบความทนทานต่อความเครียด ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*)

การทดสอบความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila*

อัตราการตายของลูกปลานิลแดงที่ฉีดเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* เข้าช่องท้องแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) มีการตายสูงสุดในวันที่ 10 หลังจากฉีดเชื้อก่อโรค และหลังจากนั้น ไม่มีการตายเพิ่ม (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 อัตราการตายของลูกปลานิลแดงที่ถูกทดสอบความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* 5×10^5 cells/mL เป็นระยะเวลา 10 วัน ตัวอักษรที่ต่างกันในกราฟแต่ละเส้น แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตารางที่ 7 องค์ประกอบของเลือดลูกปลานิลแดงที่ใช้โปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เสริมในอาหารทดลอง

พารามิเตอร์	อาหารทดลอง			
	Yeast 0.0 %	Yeast 0.1 %	Yeast 0.5 %	Yeast 1.0 %
Hematocrit (%)	30.15±0.57^{a}	33.83±2.62^{ab}	34.56±0.91^{ab}	37.11±0.60^{b}
Plasma protein (mg/L)	2.19±0.11^{a}	2.23±0.12^{a}	2.83±0.40^{ab}	3.71±0.32^{b}
Serum lysozyme (µg/mL)	10.63±1.02^{a}	15.37±2.25^{ab}	17.27±0.42^{b}	19.75±1.06^{b}
เม็ดเลือดแดง (10^6 เซลล์/ลบ.มม.)	1.64±0.04^{a}	1.72±0.08^{a}	2.21±0.03^{b}	2.22±0.02^{b}
เม็ดเลือดขาว (%)	7.94±0.23^{a}	8.76±0.20^{ab}	9.33±0.41^{b}	9.98±0.21^{b}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± SE ตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ด้านระบบภูมิคุ้มกัน

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) 1.0 % มีค่าฮีมาโตคริต และปริมาณโปรตีนในซีรัม สูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนซีรัมไลโซไซม์ และปริมาณเม็ดเลือดขาวของลูกปลาที่อนุบาลด้วยอาหารเสริมยีสต์ 0.5 % และ 1.0 % มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตารางที่ 7

คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง

คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง พบว่า pH ออกซิเจนละลายในน้ำ อุณหภูมิ และแอมโมเนีย มีค่าไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ตารางที่ 8

ตารางที่ 8 คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง การอนุบาลลูกปลานิลแดงด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*)

พารามิเตอร์	Yeast 0.0 %	Yeast 0.1 %	Yeast 0.5 %	Yeast 1.0 %
pH	8.26±0.05	8.24±0.07	8.36±0.03	8.27±0.05
DO (มล./ล.)	3.52±0.01	3.54±0.01	3.49±0.02	3.53±0.00
อุณหภูมิ (°ซ)	30.84±0.03	30.75±0.04	30.77±0.01	30.84±0.00
แอมโมเนีย (มล./ล.)	0.16±0.00	0.16±0.00	0.15±0.01	0.13±0.01

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ 1 ศึกษาการใช้พรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) เสริมในอาหารทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต ความทนทานต่อความเครียด และภูมิคุ้มกันในการอนุบาลลูกปลานิลแดง พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ในสูตรอาหารเสริม FOS ทั้ง 3 สูตร มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนอัตราการแลกเนื้อ (FCR) ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วย อาหารเสริม FOS 0.3 % และ 0.5 % มีค่าดีกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) สอดคล้องกับการทดลองของ Hui-yuan และคณะ (2007) ที่เสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ เพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.10) และมีอัตราการแลกเนื้อที่ลดลง แต่ไม่มีผลต่ออัตราการรอดตายของปลานิลพันธุ์ผสม Zhou และคณะ (2007) ทำการทดลองเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (ScFOS,Profeed 95%) ลงในอาหารอนุบาลกุ้งขาวัยอ่อน พบว่ากุ้งที่ได้รับอาหารเสริม ScFOS มีการเจริญเติบโตจำเพาะดีขึ้น และอัตราการแลกเนื้อลดลง จิณณพัต และคณะ (2551) พบว่าการเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ จะช่วยเพิ่มน้ำหนัก ความยาว และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวันของลูกปลานิล อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) Soleimani และคณะ (2012) พบว่าการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่ระดับ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารลูกปลา Caspian Roach (*Rutilus rutilus*) เป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ ทำให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงขึ้นกว่าชุดควบคุม และการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ระดับ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเสริมพรีไบโอติกลงในอาหาร ทำให้แบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ สามารถใช้สารอาหารเหล่านั้นในการเจริญ ส่งผลต่อการเสริมสร้างสุขภาพของเจ้าบ้านให้ดีขึ้น อาทิเช่น *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* และ *Eubacterium* (Cumming และคณะ, 2001) สอดคล้องกับการทดลองของ Mahious และคณะ (2006) กล่าวว่าฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ของ turbot (*Psetta maxima*)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมพรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) 0.5 % มีปริมาณโปรตีนในซีรัม สูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนซีรัมไลโซไซม์ สูตรอาหารเสริม FOS 0.3 % และ 0.5 % มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) สอดคล้องกับการทดลองของ Zhou และคณะ (2010) ที่เสริม ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ในปริมาณ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สามารถเพิ่มกิจกรรมไลโซไซม์ของปลา red drum (*Sciaenops ocellatus*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) Soleimani และคณะ (2012) ทดลองเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ระดับ 1, 2 และ 3 ปอร์เซ็นต์ ในอาหาร

ลูกปลา Caspian Roach พบว่ามีปริมาณไลโซไซม์สูงขึ้นจากการได้รับอาหารเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง 3 ระดับ Helland และคณะ (2008) พบว่าการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ 10 กรัม/กิโลกรัมอาหาร จะช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของปลาแซลมอนให้ดีขึ้น จิณณพัต และคณะ (2551) พบว่าการเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์มีผลช่วยให้ลูกปลานิลมีความต้านทานต่อเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ได้ดีกว่าลูกปลาในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การเพิ่มขึ้นของปัจจัยทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะจากการเสริมพรีไบโอดิก ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์นี้ อาจมาจากการไปเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์เฉพาะถิ่นในกลุ่มที่มีประโยชน์ และจุลินทรีย์เหล่านั้นไปกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลานิล รวมทั้งแข่งขัน และแย่งพื้นที่ในการยึดเกาะบริเวณลำไส้กับเชื้อก่อโรคที่เข้ามาสู่ร่างกาย (Cumming และคณะ, 2001; Gibson, 2004; Sherman และคณะ, 2009; Thirabunyanon, 2011) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริม พรีไบโอติก ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ 0.5 % ส่งผลทำให้ลูกปลานิลแดง มีความทนทานต่อความเครียดดีที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สอดคล้องกับ Soleimani และคณะ (2012) ทดลองเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่ระดับ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารลูกปลา Caspian Roach เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า การเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทุกระดับ ทำให้ลูกปลา Caspian Roach สามารถทนต่อความเครียดจากเกลือเพิ่มขึ้น

จากผลการทดลองที่ 2 ศึกษาการใช้โปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) เสริมในอาหารทดลอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโต ความทนทานต่อความเครียด และภูมิคุ้มกันในการอนุบาลลูกปลานิลแดง พบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) 0.5 % และ 1.0 % มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตราการรอด สูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สอดคล้องกับการทดลอง ชัชนนท์ และสมเกียรติ (2552) ที่พบว่าการเสริม บริเวอร์ยีสต์ 1.0% ส่งผลทำให้ปลากะพงขาวมีอัตราการรอดสูงสุด ยีสต์มีองค์ประกอบที่ช่วยในการกระตุ้นการเจริญเติบโต เช่น ß-glucans, nucleic acids และ mannan oligosaccharides (Abdel-Tawwab และคณะ, 2008; Rumsey และคณะ, 1992) Ai และคณะ (2007) กล่าวว่าการเสริม ß-1, 3 glucan ซึ่งเป็นองค์ประกอบของยีสต์ ลงในอาหารปลา large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของปลาให้ดีขึ้น Abdel-Tawwab และคณะ (2008) พบว่าการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ในอาหาร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ส่งผลทำให้ลูกปลานิลมีการเจริญเติบโตสูงสุด Ortuño และคณะ (2002) กล่าวว่า สามารถใช้ยีสต์เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับสัตว์น้ำทำให้สัตว์น้ำโตเร็วขึ้น Li และ Gatlin (2003) รายงานว่า ยีสต์สามารถใช้ทดแทนปลาป่น ได้ถึง 50% โดยไม่ส่งผลเสียต่อการเจริญของปลากะพงลูกผสม Essa และคณะ (2011)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พบว่าการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลา Egyptian African catfish (*Clarias gariepinu*) มีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงที่สุด และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อต่ำที่สุด Barnes และคณะ (2006) ทำการทดสอบยีสต์ *S. Cerevisiae* จากผลิตภัณฑ์ DVAQUA ในอาหารปลา rainbow trout พบว่าปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ที่ระดับ 0.25 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีอัตราการรอดตายดีกว่ากลุ่มควบคุม

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริมโปรไบโอติกยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) 1.0 % มีค่าฮีมาโตคริต และปริมาณโปรตีนในซีรัม สูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนซีรัมไลโซไซม์ และปริมาณเม็ดเลือดขาวของลูกปลาที่อนุบาลด้วยอาหารเสริมยีสต์ 0.5 % และ 1.0 % มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สอดคล้องกับการทดลอง He และคณะ (2009) ที่พบว่าการเสริม ยีสต์ *S. cerevisiae* ทำให้ปลานิลมีซีรัมไลโซไซม์สูงขึ้น Abdel-Tawwab และคณะ (2008) พบว่าการเสริม *S. cerevisiae* ในอาหารที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ช่วยเพิ่มค่าฮีมาโตคริตให้สูงขึ้น และ Ortuno และคณะ (2002) กล่าวว่าการเสริมยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ระดับ 5 และ 10 กรัมต่อกิโลกรัมอาหารช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลา Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) โดยไปเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอมให้สูงขึ้น ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* มีองค์ประกอบที่เป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น ß-glucans, nucleic acids, mannan oligosaccharides และพบว่ามีปริมาณแมนแนน 31 เปอร์เซ็นต์ และกลูแคน 30.8 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งเป็นที่ยอมรับว่าสามารถเพิ่มการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้นได้ (Ortuno และคณะ, 2002; Abdel-Tawwab และคณะ, 2008) Ai และคณะ (2007) ศึกษาผลของการเสริม ß -l, 3 glucan ลงในอาหารปลา yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) ที่ระดับ 0, 0.09 และ 0.18 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุด การทดลอง พบว่า ปลา yellow croaker มีปริมาณซีรัมไลโซไซม์เพิ่มขึ้นตามการเพิ่มของระดับ ß -l, 3 glucan ในอาหาร Abdel-Tawwab และคณะ (2008) ศึกษาเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0 และ 5.0 กรัมต่อกิโลกรัม ในปลานิล *Oreochromis niloticus* เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำปลามาทดสอบด้วยเชื้อก่อโรค *Aeromonas hydrophila* พบว่าอัตราการตายของปลาลดลง ตามการเพิ่มระดับของการเสริมยีสต์ในอาหาร

สรุปผลการทดลอง

1. การเสริมพรีไบโอติก Fructo-oligosaccharide (FOS) ลงในอาหารอนุบาลลูกปลานิลแดงในอัตราอย่างน้อย 0.3% โดยน้ำหนัก ทำให้ลูกปลานิลแดงมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตราแลกเนื้อ (FCR) ความทนทานต่อความเครียด ความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* และซีรัมไลโซไซม์ สูงกว่าลูกปลาที่อนุบาลด้วยอาหารควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

2. การเสริมโปรไบโอติก ยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ลงในอาหารอนุบาลลูกปลานิลแดงในอัตราอย่างน้อย 0.5% โดยน้ำหนัก ทำให้ลูกปลานิลแดงมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตราการรอด ความทนทานต่อความเครียด และความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* รวมทั้งมีปริมาณภูมิคุ้มกันไม่จำเพาะ เช่น ซีรัมไลโซไซม์ และปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงกว่าลูกปลาที่อนุบาลด้วยอาหารควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

เอกสารอ้างอิง

เครือวัลย์ สถิติรัต. 2542. **ตลาดสัตว์น้ำดระดูลปลาหมอเทศ/ปลานิล (Tilapia) ในซีกโลกตะวันออก.** ว. การประมง. 52: 263-266.

จิณณพัต สำรองพันธุ์, นนทวิทย์ อารีย์ชน, ประพันธ์ศักดิ์ ศีรษะภูมิ. 2551. ผลของการเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อการเจริญเติบโตอัตรารอดและความด้านทานโรคของลูกปลานิล(*Oreochromis niloticus* Linnaeus). **เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46**: สาขาประมง. กรุงเทพฯ, น. 147-155.

เฉลิมขวัญ ตำคำ และ มัลลิกา ชมนาวัง. 2548. คุณรู้จัก Prebiotic แล้วหรือยัง. **อาหาร.** 35 (2): 96-102.

ธวัชชัย โพธิ์เฮือง, เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และกัลยา เจือจันทร์. 2547. ประสิทธิภาพของการใช้โปรไบโอติกในการเลี้ยงไก่. **วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.** 14(2): น. 52-61.

ธวัชนนท์ พุ่มโภคัย และสมเกียรติ ปิยะธีนธิติวรกุล. 2552. ผลของบริเวอร์ยีสต์และนิวคลีโอไทด์ในอาหารต่อการเจริญเติบโตและอัตรารอดของปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*). น. 444-452 ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 47: สาขาประมง.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บรรเจิต สอนสุภาพ. 2546. **การใช้ประโยชน์จากอาหารและการขับถ่ายไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของปลานิลแดง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 85 หน้า.

ปกรณ์ อุ่นประเสริฐ. 2527. **ปลานิลแดง.** ว.การประมง. 37 : 229-234.

พรรณศรี จริโมภาส. 2531. **ปลานิลสีแดงสายพันธุ์ไทย.** ว.การประมง 1 : 41-43.

พีร์ เหมะรัชตะ. 2551. **ความสำคัญของ Probiotics ต่อการแพทย์.** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. จุฬาลงกรณ์เวชสาร.52(3): น. 193-204.

มานพ ตั้งตรงไพโรจน์, สุภัทรา อุไรวรรณ และพรรณศรี เชิดชูพรรณเสวี. 2527. **ปลานิลสีแดง.** สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง กรุงเทพฯ. 20 หน้า.

ยุพินท์ วิวัฒนชัยเศรษฐ์. 2541. การเลี้ยงปลานิลในกระชังที่จังหวัด ขอนแก่น. **การประมง** 51(2) : 167 – 178.

ศุภวันจักรี พลมีศักดิ์ และ สมชัย จันทร์สว่าง. 2545. ผลการใช้จุลินทรีย์และโอลิโกแซคคาไรด์จากพืช เยรูซาเล็ม อาร์ติโค ในอาหารสุกรรุ่น-ขุนเพื่อลดกลิ่นเหม็นและแอมโมเนียของมูลสุกร, น. 265. ใน **การประชุมวิชาการสมุนไพรไทยโอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมผลิตสัตว์** . คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาโรช ค้าเจริญ. 2547. **อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง**. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. หน้า 321-327.

สุญาณี พงษ์ธนานิกร. 2549. **พรีไบโอติก และ โพรไบโอติก : อาหารสุขภาพ**. ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อัจฉรา เพิ่ม. 2550. **จุลชีววิทยา**. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W, U, W; and Li, H. 2007. Effects of dietary β-1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea.* **Fish & Shellfish Immunology** 22: 394-402.

AOAC, 1990. **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 15th edn., AOAC, Arlington, VA. 1360 p.

Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M., and Ismael N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture** 280, 185–189.

Anderson, D.P., Siwicki, A.K., Rumsey, G.L., 1995. Injection or immersion delivery of selected immunostimulants to trout demonstrate enhancement of nonspecific defense mechanisms and protcctive immunity. In: Shariff, M., Arthur, J.R., Subasinghe, R.P. (Eds.), Diseases in Asian Aquaculture: II. **Fish Health Section. Asian Fisheries Society**, Manila, 413–426.

Aniansson G., B. Andersson, R. Lindstedt and C. Svanbrong. 1990. Anti-adhesive activity of humun casein against *Streptococus pneumoniae* and *Haemophilus* influenzae. **Microbial Pathology** 8: 315-323.

Barnes, M. E., Durben, D. J., Reeves, S. G. and Sanders, R. 2006.Dietary yeast culture supplementation improves initialrearing of McConaughy strain rainbow trout. **Aquaculture Nutrition** 12: 338-394.

Chesson, A. 1993. **Probiotics and other intestinal mediators.** In Cole, D.J.A., J. Wiseman and M.A. Varley eds. Principles of Pig Science. Nottingham University Press. Longhborough, UK. pp. 197-214.

Chorvaticova, D., E. Machova, J. Sandula and G. Kogan. 1999. **Mutation Research** 444: 117-122.

Cumming, J. H., Macfarlane, G. T. and Englyst, H. N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. **American Journal of Clinical Nutrition**. 73: 415S-420S.

Essa, M. A., Mabrouk, H. A., Mohamed, R. A. and Michael, F. R.2011.Evaluating different additive levels of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, on the growth and production performances of a hybrid of two populations of Egyptian African catfish, *Clarias gariepinus*. **Aquaculture** 320: 137-141.

FAO, 2002, **Antibiotics residue in aquaculture products, the State of World Fisheries and aquaculture**. pp. 74-82 (Rome , Italy).

Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animal. **Journal of applied bacteriology**. 66:365-378.

Gatesoupe F. J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture**, 180. 147 - 165 p.

Gibson, G. R. 2004. Prebiotic. **Journal of Gastroenterology Supplement** . 18: 287-298.

Gomes, A.M.P., Malcata, F.X., 1999. *Bifidobacteria* spp. and *Lactobacillus acidophilus* biological, biochemical, technological and therapeutic properties relevant for use as probiotics. **Trends Food Sci.** Technol. 10, 139-157.

He, S., Zhou, Z., Liu, Y., Shi, P., Yao, B., Ringo, E. and Yoon, I. 2009. Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (DVAQUA®) on growth performance, intcstinal autochthonous bacterial community and non-specific immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀×*O. aureus* ♂) cultured in cages. **Aquaculture** 294: 99-107.

Hui-yuan, LV., Zhi-gang, Z., Rudeaux, F: and Respondek, F., 2007. Effects of dietary Short Chain Fructo-oligosaccharides on intestinal microflora, mortality and growth performance of *Oreochromis aureus* ♂× *O. niloticus* ♀. **Chinese Journal of Animal Nutrition** . 19(6).

Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture. **J Fish Dis**. 95, 155-163.

Jonewell, s. 1993. Thc Use of Yeast Cultures in Animal Feeds, **Feed Mix**. 1(4).

Krizkova L., Z. Durackova, J. Sasinkova and J. Krajcovic. 2001. Antioxidative and antimuagenic activity of yeast cell wall mannans *in vitro*. **Mutation Restriction** (497): 213-222.

Lara-Floves, M., Olvera-Novoa, M.A., Guzman-Mendez, B.E., Lopez-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cererisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*O. niloticus*). **Aquaculture**. 216, 153-201.

Li, P., Gatlin III, D.M., 2003. Evaluation of brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (Morone chrysops×M. saxatilis). **Aquaculture** 219, 681–692.

Li, P., Gatlin III , D.M., 2005. Evaluation of prebiotic GroBiotic-A and brewer's yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) challenged in situ with *Macbacterium marinum*. **Aquaculture**. 248, 197-205.

Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R; and Ollervier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, Psetta maxima (Linnaeus, C. 1758). **Aquaculture International** 14: 219-229.

Monsan, P. F., and P. Paul, P. 1995. Oligosaccharides feed additives. In: **Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding** (Ed. R. J. Wallace and A. Chesson) p. 232. VCH, New York.

Ortuno, J., Cuesta, A., Rodriguez, A., Esteban, M. A; and Meseguer, J. 2002. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune respone of gilhead seabream (*Sparus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 85: 41-50.

Panigrahi, A., Kiron, V., Puangkaew, J., Kobayashi, T., Satoh, S., Sugita, H., 2005. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing The immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**. 243, 241-254.

Parker, R. B. 1974. Probiotic, the other half of the antibiotic story. **Animal Nutrition and Health**. 29:4-8.

Pirarat, N., Fobayashi, T., Katagiri, T., Maita, M., Endo, M., 2006. Protective effects and mechanisms of probiotic bacterium *Lactobacillus rhammosus* against experimental *Edwardsiella tarda* infection in tilapia (*Oreochromic niloticus*). Vet. Immunol. **Immunopathol**. 113, 339-345.

Ringo, E., Olsen, R.E., 1999. The effect of diet on aerobic bacterial flora associated with intestine of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. J. Appl. **Microbiol**. 86, 22-28.

Ross, G.C. 1999. **Prebiotic**, pp. 141-156. *In* W.T. Geral (ed.). Prebiotics a Critical Review. Horizon Scientific Press, Wymondham.

Savage, T.F., P.F. Cotter and E.I. Zakrzewska. 1996. **Journal of Poultry Science** 75 (Suppl.1):143.

Savage, T.F., E.I. Zakrzewska and J.R. Andreasen. 1997. **Journal of Poultry Science** 76 (Suppl.1): 139.

Sherman, P. M., Cabana, M.,Gibson, G.R., Koletzko, B.V., Neu, J., Veereman-Wauters., Ziegler, E.E. and Walker, W.A. 2009. Potential Roles and Clinical Utility of Prebiotics in Newborns, Infants, and Children. **The Journal of pediatrics** 155: 61-70.

Swanson, K.S. and G.C. Fahey Jr. 2002. Prebiotics in compention animal nutrion. In Lyons, T.P. and K.A. Jacques. Eds. **Biotechnology in the Feed Industry**. Proc. Alltech's 18th Ann. Symp. Nottingham University Press. Loughborough, U.K. pp.461-473.

Thirabunyanon, M. 2011. Biotherapy for and protection against gastrointestinal pathogenic infections via action of probiotic bacteria. **Maejo International Journal of Science and Technology** 5(01): 108-128.

Zhou, Q.C., Buentello, J.A and Gatlin III, D.M. 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*) **Aquac. Int**. 629314: 1- 5.

Zhou, Z., Ding, Z. and Huiyuan, L.V. 2007. Effects of Dietary Short-chainFructooligosaccharides on Intestinal Microflora, Survival, and Growth Performance of Juvenile White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal World Aquaculture Society** 38: 296–301.