รายงานผลงานวิจัย

เรื่อง

การวินิจฉัยโรคและแนวทางในการป้องกันแก้ไขโรคในลูกปลานิล

Disease diagnosis in tilapia fingerling and practical methods

to control diseases

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : การพัฒนาระบบการผลิตปลานิลเพื่อเข้าสู่มาตรฐาน การส่งออก

โดย

ชนกันต์ จิตมนัส

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2556

รหัสโครงการวิจัยมจ.1 – 55 - 021.7

รายงานผลงานวิจัย

เรื่อง การวินิจฉัยโรคและแนวทางในการป้องกันแก้ไขโรคในลูกปลานิล

Disease diagnosis in tilapia fingerling and practical methodsto control diseases

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ : การพัฒนาระบบการผลิตปลานิลเพื่อเข้าสู่มาตรฐานการส่งออก

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2555

จำนวน 179,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นายชนกันต์ จิตมนัส

ผู้ร่วมโครงการ นางทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

10 สิงหาคม 2556

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย การวินิจฉัยโรคและแนวทางในการป้องกันแก้ไขโรคในลูกปลานิล (Disease diagnosis in tilapia fingerling and practical methods to control diseases) เป็นโครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ การพัฒนาระบบการผลิตปลานิลเพื่อเข้าสู่มาตรฐานการส่งออก ได้สำเร็จลุล่วงโดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2554 – 2555 ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อนุเคราะห์สถานที่ และอุปกรณ์บางอย่างที่ใช้ในการทำวิจัยในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	18
ผลการวิจัย	23
วิจารณ์ผลการวิจัย	28
สรุปผลการวิจัย	33
เอกสารอ้างอิง	34
ภาคผนวก	41
ภาคผนวก ก ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาการ	
ภาคผนวก ข บทความปริทัศน์ โรคปลานิล โดย ชนกันต์ จิตมนัส	

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 น้ำหนักก่อนการทดลอง น้ำหนักหลังการทดลอง อัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate;SGR) เปอร์เซ็นต์/วัน และอัตราการรอด (%) 24

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	สาเหตุของการเกิดโรคปลา	8
ภาพที่ 2	การเตรียมกระชังในบ่อดิน ในการทดลอง	18
ภาพที่ 3	เครื่อง spectrophotometer	18
ภาพที่ 4	เตรียมเชื้อที่ได้จากฟาร์ม อ.ปง จ.พะเยา	19
ภาพที่ 5	การฉีดเชื้อก่อโรค เข้าบริเวณช่องท้องปลานิล	22
ภาพที่ 6	น้ำหนักของลูกปลานิลที่อนุบาล โดยการให้อาหารผสมแบคทีเรียสตาฟิโลค็อกคัส เป็นเวลา10-40 วัน	23
ภาพที่ 7	อัตราการเจริญเติบโต (Average daily growth; ADC :กรัม/วัน)	24
ภาพที่ 8	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; SGR:เปอร์เซ็นต์/วัน)	25
ภาพที่ 9	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate, FCR)	26
ภาพที่ 10	อัตรารอดหลังฉีดเชื้อที่ได้มาจากปลานิลแดงที่เป็นโรค ของฟาร์มเอกชนใน อ.ปง จ.พะเยา	27
ภาพที่ 11	การใช้โปรไบโอติก *L. rhamnosus*) 10^{10} CFU/อาหาร 1 กรัมให้ปลานิล ทำให้ปลานิลเจริญดีขึ้น ในขณะที่ FCR ลดต่ำลง (Pirarat *et al*., 2011)	28
ภาพที่ 12	ปลาที่ได้อาหารผสมแบคทีเรีย *E. faecium* นาน 40 วัน ทำให้ไลโซไซม์สูงขึ้น ($P > 0.05$) (Wang *et al*., 2008)	30
ภาพที่ 13	อัตราการตายของปลานิลที่ได้รับอาหารผสมโปรไบโอติก นาน 90 วันแล้วทดสอบความสามารถในการต้านทานเชื้อโรค *A. hydrophila* (T1 = อาหารชุดควบคุม, T2 = อาหารผสม *M. luteus*, T3 = อาหารผสม *Pseudomonas* sp., T4 = อาหารผสมแบคทีเรีย *M. luteus* และ *Pseudomonas* sp.)	32

การวินิจฉัยโรคและแนวทางในการป้องกันแก้ไขโรคในลูกปลานิล

Disease diagnosis in tilapia fingerling and practical methods to control diseases

ชนกันต์ จิตมนัส และ ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล

Chanagun Chitmanat and Tipsukhon Pimpimol

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

.....

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาผลของโปรไบโอติกที่แยกจากลูกปลานิลที่แข็งแรงต่อการเจริญเติบโตและอัตรารอดของลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เชื้อที่แยกจะนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค *Aeromonas hydrophila* ในห้องปฏิบัติการ แบคทีเรียที่แยกได้จะนำมาผสมอาหารปลา โดยแบ่งการวิจัยออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกคือปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแบคทีเรียแตกต่างกัน 2 ระดับเปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุมในตู้กระจก และการวิจัยส่วนที่สองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมแบคทีเรียในกระชังที่วางไว้ในบ่อดิน ในการวิจัยส่วนแรกได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ อาหารควบคุม อาหารผสมแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 10 กรัม และอาหารผสมแบคทีเรีย 2 มิลลิลิตรต่ออาหาร 10 กรัม นาน 40 วัน เก็บข้อมูลทุก ๆ 10 วัน และศึกษาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของปลานิล ซึ่งผลการทดลองพบว่าในชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3 มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 11.6345±0.08, 12.4925±0.02 กรัม และ 13.4135±0.90 กรัม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยเท่ากับ 0.052±0.01, 0.053±0.01กรัม และ 0.055±0.02 อัตราการรอด 94±1.33, 98±2.67 และ 94±1.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังนั้นอาหารผสมแบคทีเรีย 1 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 10 กรัม ให้ผลดีในแง่ของการเจริญเติบโตและอัตรารอดของลูกปลานิล ส่วนการวิจัยส่วนที่สองได้ทำการอนุบาลลูกปลานิลในกระชังซึ่งวางไว้ในบ่อดิน โดยเปรียบเทียบอาหารที่ไม่ผสมเชื้อแบคทีเรีย (ชุดควบคุม) กับอาหารผสมเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากปลานิลดำที่แข็งแรง โดยให้อาหารในอัตรา 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน วันละ 2 ครั้ง ปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก 7 วัน ทำการวัดขนาดและชั่งน้ำหนักทุกสัปดาห์จนครบ 45 วัน ทดสอบภูมิคุ้มกันโดยการฉีดเชื้อที่ได้จากปลานิลแดงที่เป็นโรคของฟาร์มเอกชนใน อ.ปง จ.พะเยา และสังเกตอาการเป็นเวลา 14 วัน เมื่อสิ้นสุดการวิจัยพบว่าอัตราการรอดของอาหารผสมเชื้อที่ได้รับจากปลานิลดำที่แข็งแรงสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารควบคุม สรุปได้ว่า การให้อาหารเสริมแบคทีเรียจากปลานิลดำที่แข็งแรงมีส่วนช่วยเสริมการเจริญเติบโตและป้องกันการเกิดโรคในลูกปลานิลได้บางส่วน

คำสำคัญ: **ปลานิล,** โปรไบโอติก, ภูมิคุ้มกันปลา

Abstract

The aim of this research was to evaluate the effect of a probiotic bacterium isolated from healthy tilapia on growth performances and immune responses of tilapia (*Oreochromis niloticus*). Isolated probiotics were tested for antagonization with *Aeromonas hydrophila*. Bacteria were added to a basal diet with 30% crude protein to evaluate their efficacy on the growth-performance and survival rate. The experiments were divided into 2 parts. The first part, tilapia were equally divided into three treatments of triplet replicates. T_1 was given basal diet (control), T_2 was given basal diet with isolated probiotic (1 ml/g feed), and T_3 was given basal diet with isolated probiotic (2 ml/g feed). Fishes were fed twice daily until satiation for forty days. The average weights of tilapia in T_1, T_2, and T_3 were 11.6345±0.08, 12.4925±0.02, and 13.4135±0.90, respectively. Average specific growth rates were 0.052±0.01, 0.053±0.01, 0.055±0.02 %/day, respectively. The survivate rates were 94±1.33, 98±2.67, and 94±1.33%, respectively. In short, probiotic supplementary diet could enhance growth performances and survival rates in tilapia. For second part, tilapia was raised in cages in earthen pond. Isolated probiotics were mixed with feed and applied to tilapia for 45 days. Fish were fed at 3% of body weight twice a day. Feed were adjusted every 7 days. Fish were then challenged by *A. hydrophila* (0.3×10^7 cells ml^{-1}) via intra-peritoneal injection and kept for 14 more days. The relative level of protection was higher against *A. hydrophila,* in the bacterial mixture treated group, after 45 days of the feeding trial. In conclusion, probiotics isolated from healthy tilapia could enhance their growth and health.

Keywords: **Nile tilapia**, probiotic, fish immunity

คำนำ

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

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

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

งานวิจัยนี้เป็นการใช้โปรไบโอติกหรือจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ผสมอาหารปลานิลเพื่อเพิ่มภูมิคุ้มกัน ลดการเกิดโรค เลี่ยงการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเป็นแนวทางในการสร้างสูตรอาหารที่ดีเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

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

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

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

ตรวจเอกสาร

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

ลักษณะทั่วไปของปลานิล

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

ความแตกต่างระหว่างเพศ (เห็นได้ชัดเจนจากลักษณะของติ่งเพศ)

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

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

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

คุณสมบัติและนิสัยของปลานิล

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

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

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

โรคปลาเป็นสาเหตุที่สำคัญที่ก่อให้เกิดผลเสียทางเศรษฐกิจอย่างมากมาย สาเหตุของการเกิดโรคปลา มี 3 ประการหลัก คือ

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

3.1 ปลาป่วย ตาย หรือ ปลาที่มีเชื้อแฝงแต่ไม่แสดงอาการของโรค

3.2 ไข่ปลาที่ติดเชื้อ

3.3 แหล่งน้ำ น้ำทิ้ง

3.4 ตะกอนดิน

3.5 อาหารสดและอาหารมีชีวิต

3.6 การติดเชื้อจากการใช้เครื่องมือเครื่องใช้ปนกัน

ภาพ 1. สาเหตุของการเกิดโรคปลา

ผลของความเครียดต่อการเกิดโรค

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

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

2. สิ่งกระตุ้นทางชีวภาพ การเพิ่มความหนาแน่นของปลาในแหล่งน้ำ การถูกรุกรานจากสัตว์น้ำชนิดอื่น เชื้อโรค การจัดการที่ไม่ดีในเรื่องความสะอาด

3. สิ่งกระตุ้นทางกายภาพ การบาดเจ็บจากการขนส่ง การคัดขนาด การจับ การเคลื่อนย้ายแสงและเสียง

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

โรคติดเชื้อที่พบบ่อยในปลานิล คือ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

การสร้างภูมิคุ้มกันแก่ปลานิล จึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการป้องกันโรคสัตว์น้ำ ซึ่งอาจทำได้หลายวิธีการให้อาหารผสมจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยให้สัตว์น้ำแข็งแรง โตเร็ว

ระบบภูมิคุ้มกันของปลา

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

ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Non-specific or Innate Immunity)

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

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

ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Specific or Acquired Immunity)

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

โปรไบโอติก (Probiotics)

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

ประโยชน์ของโปรไบโอติก (ธารารัตน์, 2542)

1. กรดแลคติกที่แบคทีเรียผลิตออกมา จะทำให้สภาวะภายในลำไส้ มีความเป็นกรดมากพอที่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค

2.วิตามินบีที่ได้ จะทำให้เซลล์ในระบบภูมิต้านทานทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ และยังทำให้มีการผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้นด้วย

3. แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ยังช่วยลดระดับน้ำตาลและโคเลสเตอรอลในเลือดด้วย

4. ลดอาการท้องเสีย โดยเฉพาะที่เกิดจากการติดเชื้อโรคของไวรัส

5.อาจมีผลในการช่วยลดสารพิษและสารก่อมะเร็งหลายชนิด

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

การประยุกต์ใช้โปรไบโอติกในสัตว์น้ำ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

***Staphylococcus* spp.**

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

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

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์

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

ภาพที่ 2. การเตรียมกระชังในบ่อดิน ในการทดลอง

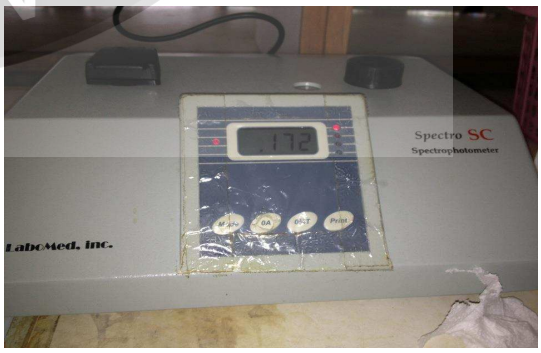
การวิจัยส่วนที่ 1 การแยกเชื้อแบคทีเรียและทดลองอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกในตู้กระจก

1) เตรียมอุปกรณ์ในการทดลอง

เตรียมตู้ทดลองขนาด 30x36x39 เซนติเมตร จำนวน 3 ตู้ ทำความสะอาดตู้ทดลอง จากนั้นเตรียมน้ำในตู้ทดลอง

2) การเตรียมสัตว์ทดลอง

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



ภาพที่ 3. เครื่อง spectrophotometer

3) การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

สุ่มแยกเชื้อแบคทีเรียจากลูกปลานิลที่แข็งแรงไม่เป็นโรค มาทำให้บริสุทธิ์

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

4.2 ทำการวัดปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยการวัดค่า OD ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 620 nm วัดค่า ODให้ได้ประมาณ 0.5

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

ภาพที่ 4. เตรียมเชื้อที่ได้จากฟาร์ม อ.ปง จ.พะเยา

4.4 บ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 28-29 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.5 ทำการวัดขนาดโคโลนีเชื้อที่เจริญกระจายออก

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

4.7 รอให้อาหารวุ้นแข็งตัว บ่มเชื้อต่อในตู้บ่มอุณหภูมิ 28–29 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.8 ตรวจผลประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

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

4) แผนการทดลอง

วางแผนการแบบสุ่มตลอด (Complete Randomized Design; CRD) แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารไม่ผสมแบคทีเรีย (ควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารผสมแบคทีเรีย (1 ml ต่ออาหาร 10 กรัม)

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารผสมแบคทีเรีย (2 ml ต่ออาหาร 10 กรัม)

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

การเก็บรวบรวมข้อมูลการวิเคราะห์ข้อมูล

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

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

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

2. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)

= น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง

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

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

4. อัตราการรอด

= (จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - จำนวนปลาก่อนการทดลอง) X 100

การวิจัยส่วนที่ 2 ทดลองอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกในกระชังในบ่อดิน พร้อมทดสอบความต้านทานโรค

การเตรียมกระชังทดลอง

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

สัตว์ทดลอง

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

อาหารปลาที่ใช้ในการทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองมีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ดังนี้คือ

- อาหารควบคุม (Control)
- อาหารควบคุมผสมเชื้อแบคทีเรีย 0.1 เปอร์เซ็นต์

การวางแผนการทดลอง

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

เป็นโรค ของฟาร์มเอกชนใน อ.ปง จ.พะเยา เข้าตัวปลาบริเวณช่องท้องแล้วสังเกตอาการโดยรวมของปลาทดลองที่เปลี่ยนแปลงไปโดยเปรียบเทียบกับตัว Control

ภาพที่ 5. การฉีดเชื้อก่อโรค เข้าบริเวณช่องท้องปลานิล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

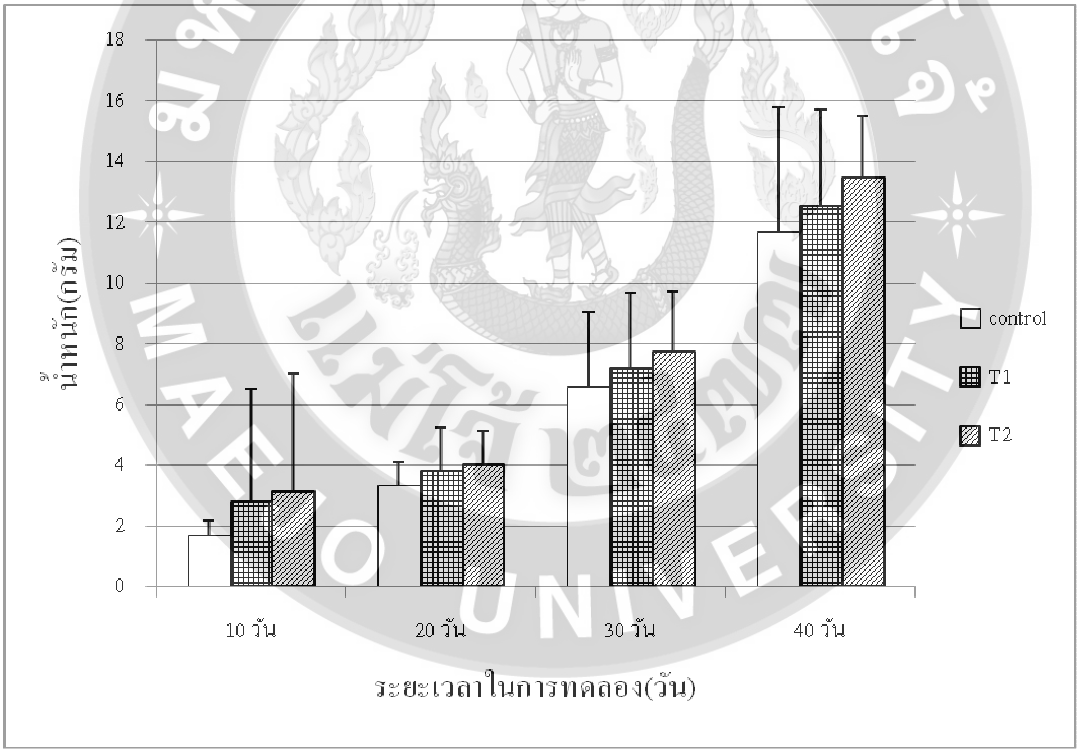
นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละทรีตเมนต์ จากนั้น เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ โดยวิธีการของ Tuky's Test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 15.0

ผลการวิจัย

ผลการวิจัยส่วนที่ 1 การอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกในตู้กระจก

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

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

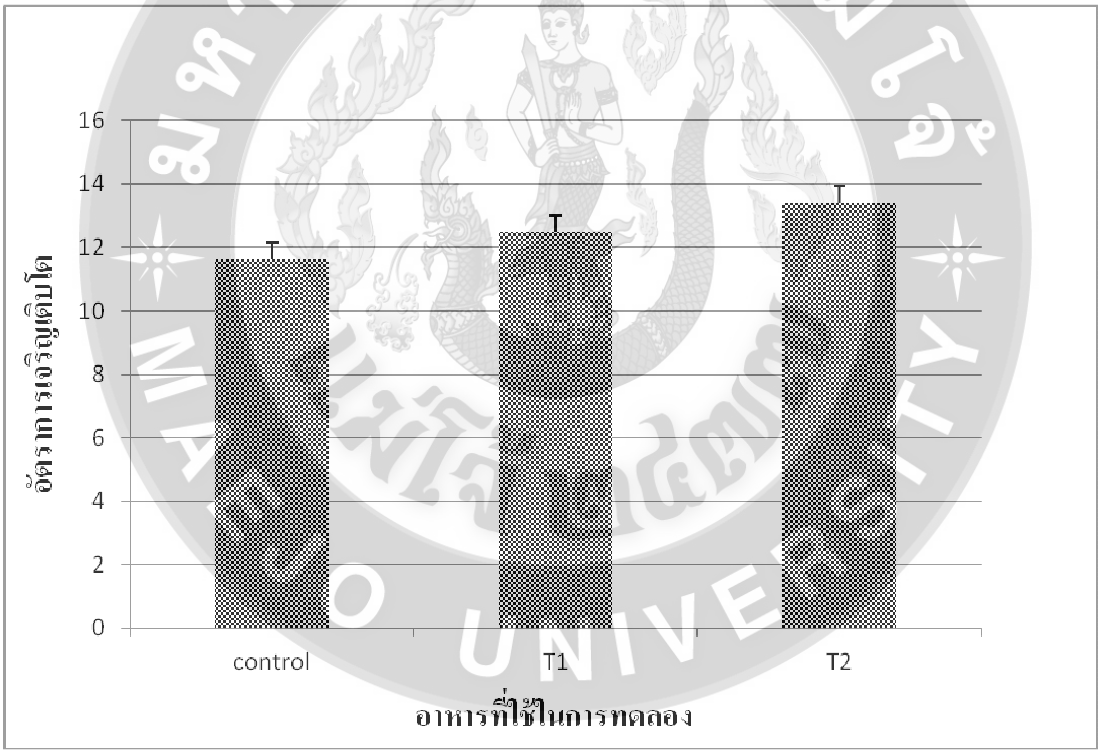


ภาพที่ 6. น้ำหนักของลูกปลานิลที่อนุบาล โดยการให้อาหารผสมแบคทีเรีย เป็นเวลา10 – 40 วัน

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

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

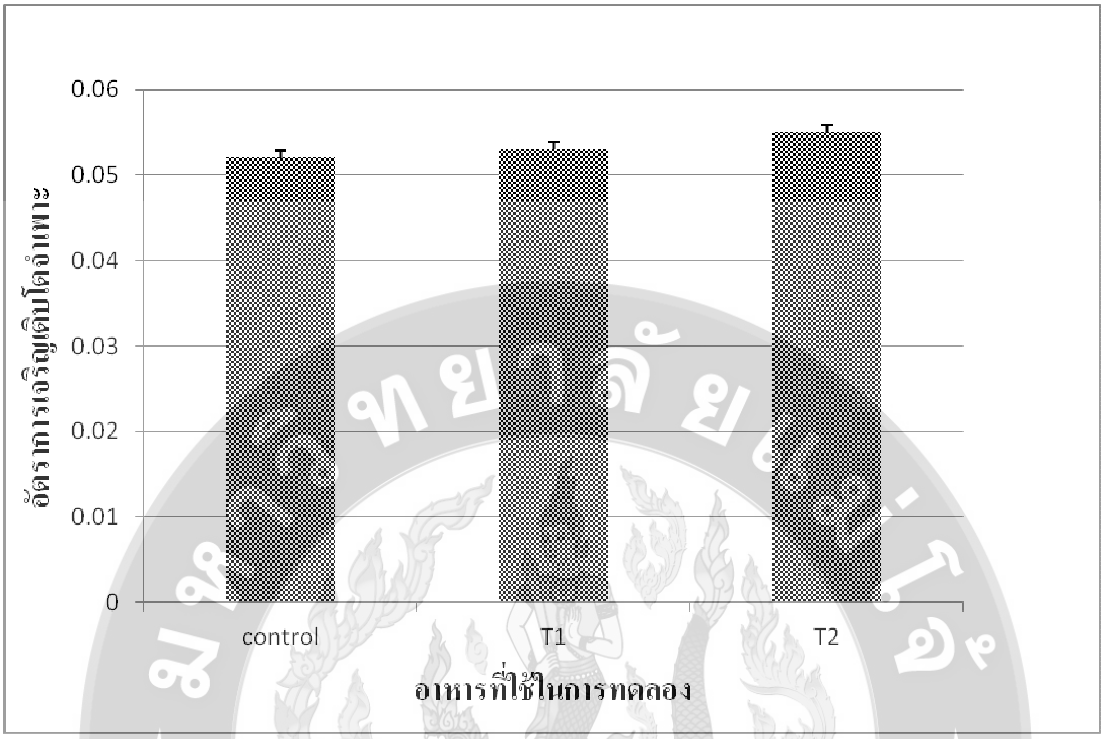
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรภาษาอังกฤษในคอลัมน์เดียวกันเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$)



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

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

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

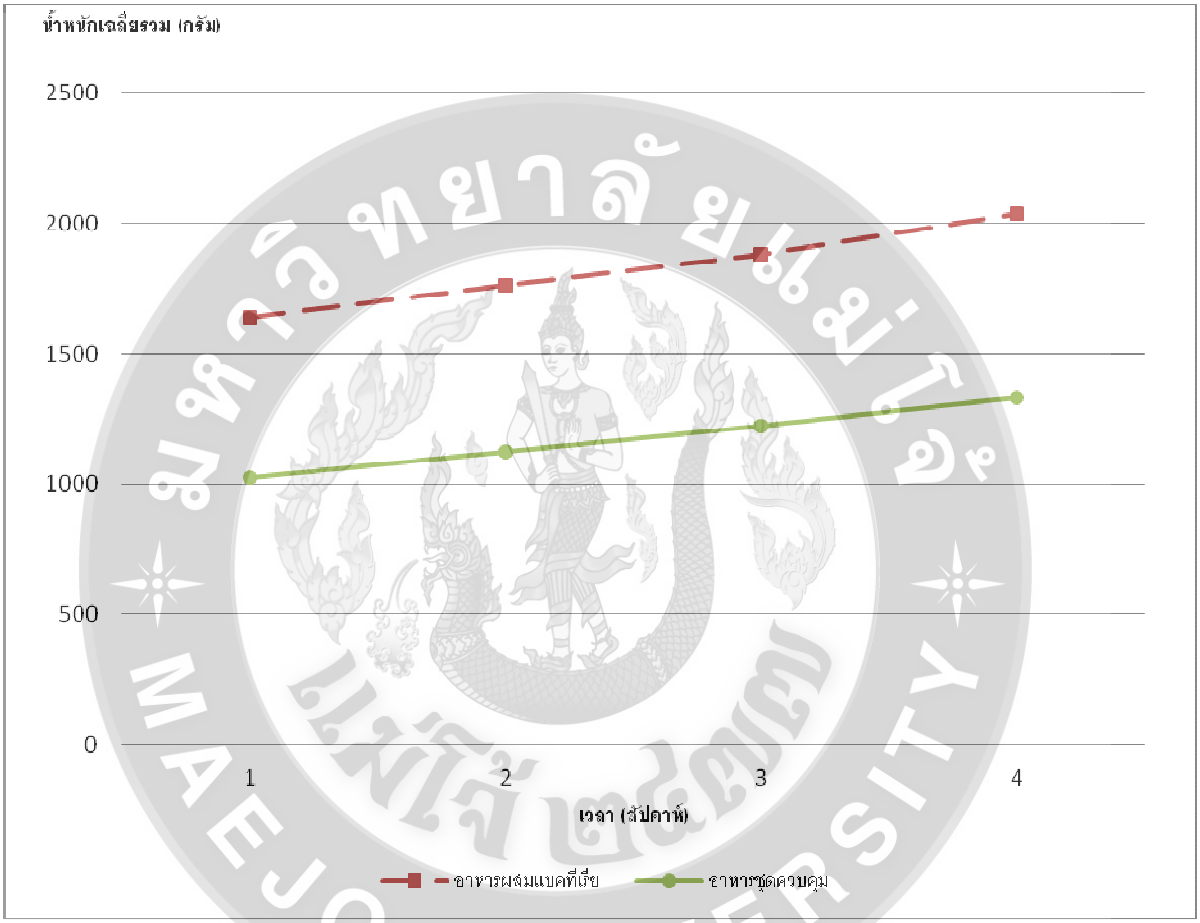


ภาพที่ 8. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; SGR: เปอร์เซ็นต์/วัน)

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

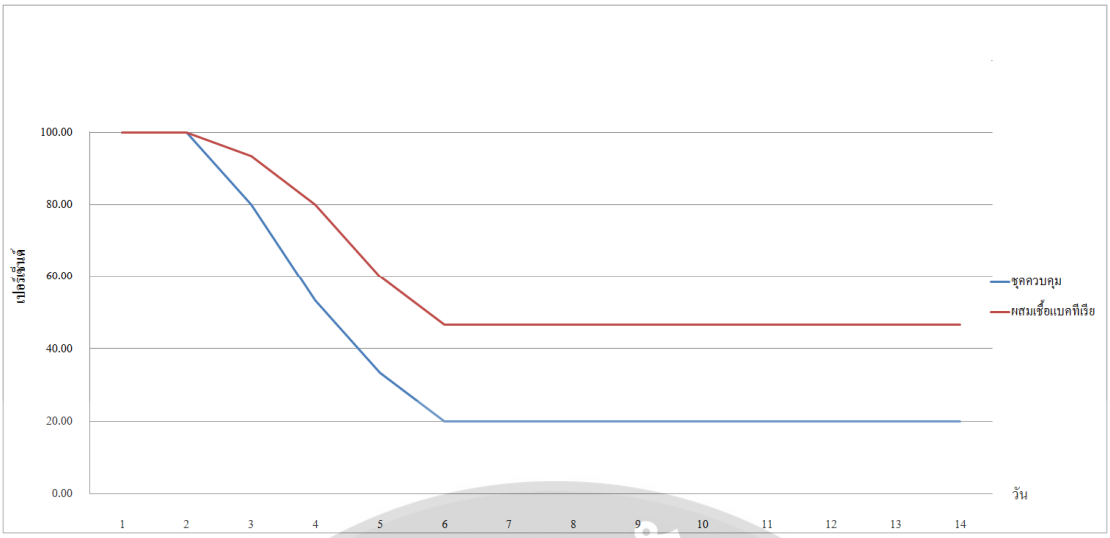
ผลการวิจัยส่วนที่ 2 ทดลองอนุบาลลูกปลานิลด้วยอาหารผสมโปรไบโอติกในกระชังในบ่อดิน พร้อมทดสอบความต้านทานโรค

ในส่วนที่สองของงานวิจัย เป็นการทดลองอนุบาลลูกปลาในกระชัง เพื่อนำผลที่ได้ไปเป็นแนวทางในการส่งเสริมเกษตรกร จึงได้ทดลองในบ่อดิน ผลที่ได้ชี้เห็นว่า น้ำหนักเฉลี่ยรวมของลูกปลานิลที่อนุบาลในกระชังซึ่งวางไว้ในบ่อดินมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมซึ่งไม่ได้มีการผสมโปรไบโอติก (ภาพ 9)



ภาพที่ 9. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate, FCR)

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



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

วิจารณ์ผลการวิจัย

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

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

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

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

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

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

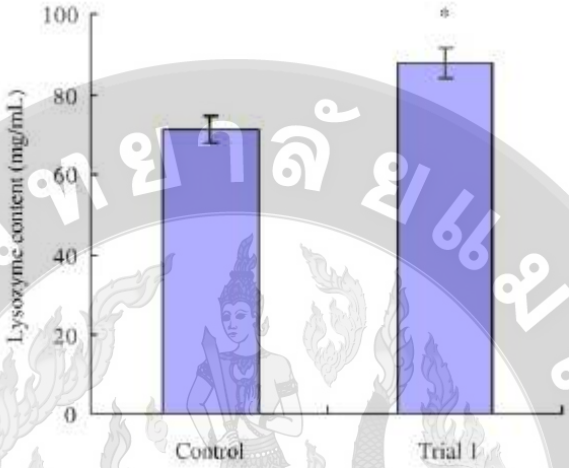
ปลากะรัง (*Epinephelus coioides*) ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *Bacillus* 1.0×10^8 CFU/ อาหาร 1 กรัม นาน 60 วัน ช่วยทำให้มีอัตราแลกเนื้อ (FCR) ดีขึ้น (Sun *et al*., 2010) ในขณะที่ปลาที่ได้อาหารผสม *B. subtillis* 10^4, 10^6, และ 10^8 CFU/อาหาร 1 กรัมจะมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น (Liu *et al*., 2012) ส่วนปลา yellow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

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

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

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

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



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

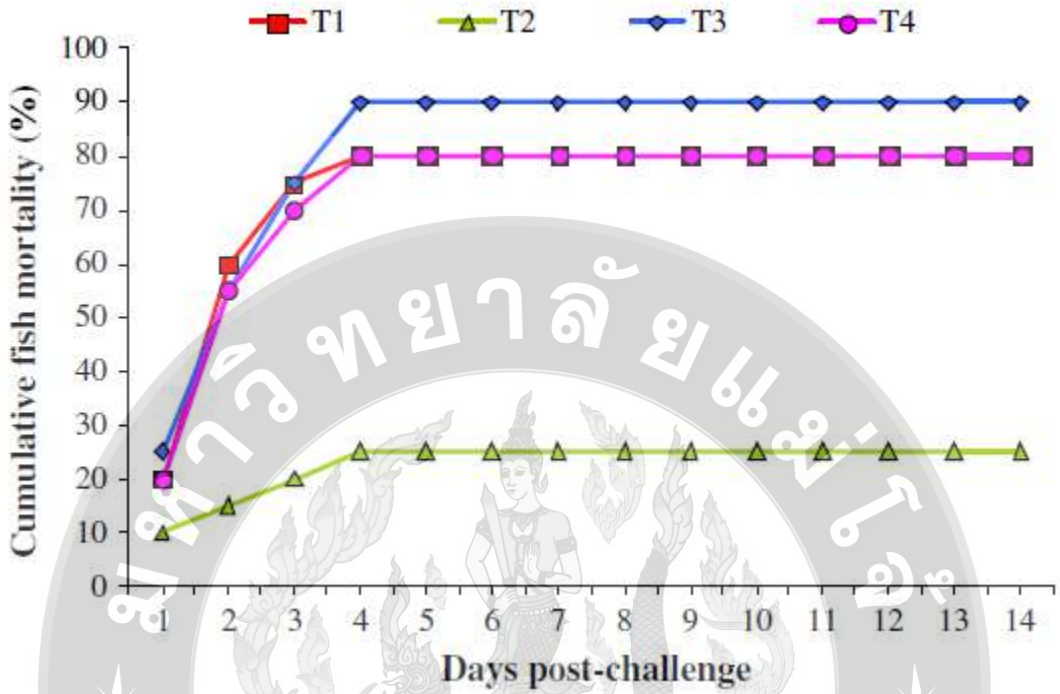
ไซโตไคน์ (Cytokines) คือสารที่หลั่งจากเซลล์ต่าง ๆ ในระบบภูมิคุ้มกันในภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนหรือตอบสนองต่อภาวะการอักเสบ เช่น IL-1β เป็นสารน้ำที่ถูกสร้างขึ้นก่อนการอักเสบ TNF-α เป็นอินเตอร์เฟอรอนที่ช่วยทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อ ส่วน TGF-β ช่วยเพิ่มจำนวนและการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาว Liu *et al.* (2013)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

TGF-β การทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเป็นกลไกการควบคุมอุณหภูมิร่างกายในขณะที่อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ไม่เป็นอันตรายต่อสภาพทางสรีรวิทยาและภายในเซลล์ร่างกายของสัตว์ ในระดับโมเลกุลเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดเมื่อเกิดความเครียด เนื่องจากความร้อนจะตอบสนองโดยการสร้างโปรตีนจำเพาะชื่อ heat shock protein (HSP) ซึ่งโปรตีนที่ได้รับความสนใจและมีการศึกษามากคือ กลุ่ม HSP70 เนื่องจากเป็นโปรตีนกลุ่มที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ (Kregel, 2002) จากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับ HSP70 พบว่าหากพบโปรตีน HSP70 ในปริมาณมากแสดงถึงความสามารถทนต่อความร้อนได้ดี (สุรางคนา, 2551) HSP70 ยังสามารถพบในปลาที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นสูง คุณภาพไม่ดีหรือได้รับอาหารไม่เหมาะสม (Rollo *et al*., 2006) โดยทั่วไปการแสดงออกของ HSP70 จะลดลงในปลาที่ได้รับโปรไบโอติก (Avella *et al*., 2010)

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

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

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



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

จะเห็นได้ว่า การใช้โปรไบโอติกมีประโยชน์ต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำ แต่ควรศึกษาถึงปริมาณที่ใช้ที่เหมาะสม รวมทั้งหาเทคนิคในการเก็บรักษาโปรไบโอติกให้อยู่ในสภาพที่มีชีวิตในสภาวะที่แห้ง

สรุปผลการวิจัย

ลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสมแบคทีเรียที่ได้จากปลานิลที่แข็งแรงโตเร็ว จะมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มอัตรารอดจากการติดเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค อย่างไรก็ตามต้องคำนึงถึงต้นทุน ปริมาณและระยะเวลาที่ให้ควบคู่ไปด้วย รวมทั้งต้องมีการศึกษาถึงผลของปัจจัยแวดล้อมในบ่อต่อการทำงานของเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก

เอกสารอ้างอิง

กรทิพย์ กันนิการ์, ดุจฤดี ปานพรหมมินทร์, นิวุฒิ หวังชัย และชนกันต์ จิตมนัส. 2552. **ผลของการใช้บริเวอร์ยีสต์ในอาหารปลานิลต่อการเจริญเติบโตและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4904048.pdf (วันที่ค้นข้อมูล: 16 กุมภาพันธ์ 2555).

กรมประมง.**การเลี้ยงปลานิลในกระชัง,กระทรวงเกษตรและสหกรณ์**.ออนไลน์[เข้าถึงได้จาก] สืบค้นจาก: http://www.fisheries.go.th/freshwater/web3/index.php?option=com_content&view=article&id=60&Itemid=72 วันที่ 15 ตุลาคม 2555

กรมประมง. 2551. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ.2548. เอกสารฉบับที่ 6/2550.**ศูนย์สารสนเทศกรมประมง**. 91 หน้า.

คีรี กออนันตกุล. 2549. การเลี้ยงปลานิลในกระชัง. **ศูนย์ประสานงานสารนิเทศ สาขาเกษตรศาสตร์.** กรุงเทพ หน้า 27 – 58.

ชนกันต์ จิตมนัส. 2556. โรคปลานิล. **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร**. 11(1): 75 – 86.

ชนกันต์ จิตมนัส และคณะ. 2550.**แบคทีเรียที่แยกจากปลานิลซึ่งเลี้ยงในระบบต่างกันบริเวณหมู่บ้านแม่แก้ด จ.เชียงใหม่**. ภาควิชาเทคโนโลยีการประมง คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่

ชุติมา ตันติกิตติ และ กิจการ ศุภมาตย์. 2552. ผลของแร่ธาตุสังกะสีต่อการเจริญเติบโต ระบบภูมิคุ้มกัน ความต้านทานโรค และพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในปลานิลแดงแปลงเพศ. **รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**.

ชัชวิน เพชรเลิศ.2549.**พรีไบโอติกส์คืออะไร**. [ระบบออนไลน์].แหล่งที่มาhttp://www.uniservbuu.ac.th:/forum2/topic.asp?TOPIC_ID=1375 (วันที่ค้นข้อมูล: 15 กุมภาพันธ์ 2555).

ดวงกมล แสนสวาท นิลุบล กิจอันเจริญ ชุติมา หาญจวณิช และพรทิพย์ วงศ์แก้ว.2552.**การทดสอบผลของไคโตซานต่อการทำงานของเซลล์จับกินในปลานิล**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://intranet.gs.kku.ac.th/ejournal/index.php/gs/article/view/155. (วันที่ค้นข้อมูล:29 กุมภาพันธ์ 2555).

ธารารัตน์ ศุภศิริ. 2542. **“PROBIOTIC:แบคทีเรียเพื่อสุขภาพ**.[ระบบออนไลน์].แหล่งที่มา : http://jimmysiri.blogspot.com/2011_09_01_archive.html (วันที่ค้นข้อมูล: 26 กุมภาพันธ์ 2555).

ทศพร เรืองรักษ์ลิขิต. 2547. **แลกติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้เป็นโพรไบโอติกสำหรับปลากะพงขาว *Lates calcarifer*.** วิทยานิพนธ์. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร. 165 หน้า.

บุญศรี จงเสรีจิตต์, ผุสดี นาคพลายพันธุ์ และสุวบุญ จิรชาญชัย .2547. "การยับยั้งแบคทีเรียในอาหารโดยไคโตซาน". **วารสารวิทยาศาสตร์.** 58, 2: 88 – 95.

ปัญญา สุวรรณสมุทร. ปลาในกระชัง.พิมพ์ครั้งที่ 2. **สำนักพิมพ์เกษตรสาส์น**, กรุงเทพฯ. หน้า. 10 – 11

ปารมี จินดาจำนง. **การลงทุนทำธุรกิจฟาร์มอนุบาลลูกปลานิลในเขตพื้นที่อำเภอเมืองจังหวัดขอนแก่น** .[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://gsbooks.gs.kku.ac.th/54/grc12/files/hmp8.pdf. (วันที่ค้นข้อมูล: 28 กุมภาพันธ์ 2555).

พันธ์ธิดา อนันต์, จารุณี เกสรพิกุล, สุรวัฒน์ ชะลอสันติสกุล และสาธิต บุญน้อม.2554. การแยกเชื้อและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ที่แยกได้จากปลานิล.**วารสารคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร**.2,3: 8-14

พีร์ เหมะรัชตะ.2551. ความสำคัญของ Probiotics ต่อการแพทย์ . ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. **จุฬาลงกรณ์เวชสาร**.52, 3: 193 – 204.

ภัทริดา โปฎก, ชลอ ลิ้มสุวรรณ, วัชริยา ภูรีวิโรจน์กุล, นิติ ชูเชิด. 2554.**ผลของการใช้แบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล** *(Oreochromis niloticus)*.[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4904009.pdf. (วันที่ค้นข้อมูล: 17กุมภาพันธ์ 2555).

" ภูมิคุ้มกันในตัวปลา ". Fishes focus ฉบับที่ 13 ประจำเดือน ตุลาคม 2547. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.nicaonline.com/webboard/index.php?topic=1774.0. (วันที่ค้นข้อมูล: 15 กุมภาพันธ์ 2555).

มนต์สรวง ยางทอง.2549 "บทบาทของไคติน – ไคโตซานต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ". **วารสารสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร** . 14,1 : 44-48 .

ประพันธ์ศักดิ์ ศิรษะภูมิ.2554.**การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus pumilus* AQBS01 ต่อระบบภูมิคุ้มกันและการยับยั้งแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่ก่อโรคในปลานิล*Oreochromis niloticus***. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาการประมง. กรุงเทพ

วิศิษฐิพร สุขสมบัติ. 2532. "ยีสต์มีชีวิตในอาหารโคนม" . **วารสารโคนม.** 9 , 4 : 22-24.

ศักดิ์ชัย ชูโชติ.2536.**การเลี้ยงปลาน้ำจืด.**สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์,กรุงเทพฯ. หน้า.201

สุกัญญา นิลมณี.2552.**ศักยภาพของการใช้โพรไบโอติก *Bacillus* ในอาหารปลานิลต่อการเจริญและความต้านทานโรคจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila*.** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา :

http://www.sci.ubru.ac.th/microbio/images/stories/thesis/thesis52/09_52.pdf. (วันที่ค้นข้อมูล: 21 กุมภาพันธ์ 2555).

ส่งศรี มหาสวัสดิ์ และ รุ่งกานต์ กล้าหาญ. 2553. **สรีรวิทยาของปลาในลุ่มน้ำเขื่อนป่าสักชลสิทธิ์**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4104043.pdf. (วันที่ค้นข้อมูล: 29 กุมภาพันธ์ 2555).

สุญาณี พงษ์ธนานิกร.2549.พรีไบโอติก และ โพรไบโอติก : **อาหารสุขภาพ .ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย** . [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.pharm .chula.ac.th/clinic101_5/article/Radio89.pdf. (วันที่ค้นข้อมูล: 30 มกราคม 2555).

สุภาพร สุกสีเหลือง. 2546. **มีนวิทยา**. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัทพิมพ์ดีจำกัด, กรุงเทพฯ. หน้า. 122 – 123

สุรางคนา สุขเลิศ. 2551. **ผลของฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ แบบแผนโปรตีนและปริมาณ HSP70 ในน้ำเชื้อพ่อพันธุ์โคโฮลสไตน์-ฟรีเชียน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สิริรัตน์ จงฤทธิพรม, อัธยา กังสุวรรณ และสุดิป คูมาร์. 2546. “การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคโดยไคโตซาน”.**วารสารการประมง** .56, 2 :139-143.

สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2552 . **ศักยภาพการผลิตและการตลาดปลานิล .** [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.oae .go.th/download/article/article_20090306163215.pdf (วันที่ค้นข้อมูล: 27 มกราคม 2555).

อุดมชัย อาภากุลอนุ. 2553.**คุณภาพน้ำเพื่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ.**[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.fisheries.go.th/iftak/web2/index.php?option=com_content&view=article&id=53:2010 -04-05-04-02-56&catid=22:2010-06-08-08-28-54 . (วันที่ค้นข้อมูล: 17กุมภาพันธ์2555).

อุดม เรืองนพคุณ.2547.**การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงปลานิล**.อักษรเจริญทัศน์.กรุงเทพ.หน้า 5-10

อนุวัติ อุปนันชัย และคณะ. 2551. การใช้ยีสต์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารกบนา. **รายงานการประชุม วิชาการประมง**. กรมประมง. หน้า. 157 – 172.

อุษาศิริ ศรีสกุล. 2547. **ระบบภูมิคุ้มกัน IMMUNOLOGY**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.cyberclass.msu.ac.th/cyberclass/cyberclass.../ImmunologyP_2_47_b2ee.doc. (วันที่ค้นข้อมูล: 27 กุมภาพันธ์ 2555).

Abd El-Rhman, A.M., A.E. Yassir. Khattab, and M.E. Adel Shalaby. 2009. *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology Volume. 27**(2) : 175-180.

Aly, S.M., A.M. Abd-El-Rahman, G. John, and F.M. Mohamed. 2008. Characterization of some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics. **Aquaculture**.

277 : 1 – 6.

Aly, S.M., Yousef Abdel-Galil Ahmed, Ahlam Abdel-Aziz Ghareeb, and Moahmed Fathi Mohamed.2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. ***Fish & Shellfish Immunology***. *25 (1–2*) : *128-136*.

Avella, M.A., I. Olivotto, S. Silvi, A.R. Place, and O. Carnevali. 2010. Effect of dietary probiotics on clowfish: a molecular approach to define how lactic acid bacteria modulate development in a marine fish. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. 298 : 359–371.

Blottiere, H.M., B. Buecher, J.P. Galmiche, and C. Cherbut. 2007. Molecular analysis of the effect of short-chain fatty acids on intestinal cell proliferation. **Proceedings of the Nutrition Society**. 62. (2007) : 101 – 106.

Caspary, W.F. 1992. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. **American Journal of Clinical Nutrition**. 55 : 299.

Chowdhury, M.B.R., Muniruzzaman, M., Uddin, and M.N. 1989. Study on the intestinal bacterial flora of tilapia. **Bangladesh J. Aquac**. 11 : 65 - 70.

Delbert, P. L., and Gatlin, M. 2005. "Evaluation of the prebiotic GroBiotic® -A and brewers yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*". **Aquaculture**. 248 : 197-205.

Del'Duca , A., Dionéia Evangelista Cesar, Cláudio Galuppo Diniz, and Paulo César Abreu. 2013. Evaluation of the presence and efficiency of potential probiotic bacteria in the gut of tilapia (*Oreochromis niloticus*) using the fluorescent *in situ* hybridization technique. **Aquaculture** .388–391 : 115–121.

He, S., Yu Zhang, Li Xu, Yalin Yang, Toshihiro Marubashi, Zhigang Zhou, and Bin Yao.1999. Effects of dietary *Bacillus subtilis* C-3102 on the production, intestinal cytokine expression and autochthonous bacteria of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂ *Aquaculture*, ***In Press, Accepted Manuscript***, *Available online 18 July 2013* Ellis, A.E. Immunity to bacteria in fish. **Fish Shellfish Immunol**. 9 : 291–308.

Fuller, R., 1989. Probiotic in man and animals. **J. Appl. Bacteriol.** 66 : 365 – 378.

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

Ghiraldelli L, ML. Martins, WB. Adamante, and MM. Yamashita. 2006. "First Record of *Trichodina compacta* Van As and Basson, 1989 (Protozoa: Ciliophora) from Cultured Nile Tilapia in the State of Santa Catarina, Brazil". **International Journal of Zoological Research**. 2 : 369 – 375.

Grisdale-Helland,B., Helland, S.J. and Gatlin III, D.M. 2008. "The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosac- charide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*)". **Aquaculture** 283 : 163–167.

Hadwiger, L.A., Fristensky, B. and R.C. Riggleman. 1984. Chitin, Chitosan and related enzymes . **J.P. Zikakis, ed, Academic press Inc** : 291 – 302.

Hidaka, Toshiaki, Takizawa, Tokunaga, Tashiro. 1980 . Effect of fructooligosaccharide on Intestinal Flora and Human Health" Bifidobacteria Microflora. : http// : www. efranchiseworld .com. /index.php.?potion=com_content&view=article&id=52:research&catid=40:faqs&Itemid=56 &lang=th. [2012 February 17].

Hirano, S. 1996. Chitin biotechnology applications. **Biotechnology Annual Review**. 2: 237 – 258.

Ichikawa, H., T. Kuroiwa, A. Inagaki, R. Shineha, T. Nishihira, S. Satomi, and T. Sakata. 1999. Probiotic bacteria stimulate gut epithelial cell proliferation in rat. **Digestive Diseases and Sciences**. 44 : 2119 – 2123.

Kregel, K.C. 2002. Molecular biology of thermoregulation invited review: Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. **J. Appl. Physiol**. 92 : 2177 – 2186.

Lara-Flores, M., Miguel A Olvera-Novoa, Beatrız E Guzmán-Méndez, nad Wilberth López-Madrid. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture, Volume 216**. 1–4. 10 February 2003 : 193-201.

Losada, M.A., Olleros, and T. 2002 . Towards a healthier diet of the colon: The influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health. **Nutr**. **Res**. 22 : 71-84.

Mohapatra, S., Tapas Chakraborty, Ashisa Kumar Prusty, Kundan Kumar, K. Pani Prasad, and Kedar Nath Mohanta. 2012 . Fenvalerate induced stress mitigation by dietary supplementation of multispecies probiotic mixture in a tropical freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton**). Pesticide Biochemistry and Physiology** 104 : 28 – 37.

Ndoong, D., and J. Fall. 2008. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia . **Department of Aquaculture, College of Life Scinces, National Taiwan**

Ocean University, Keelung, Taiwan. 22 p.

Nikoskelainen, S., Arthur C. Ouwehand, Göran Bylund, Seppo Salminen, and Esa-Matti Lilius. 2003 . Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). **Fish & Shellfish Immunology**. 15 : 443 – 452.

Nikoskelainen, S., A.C. Ouwehand, G. Bylund, S. Salminen. 2001. Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*. **Aquaculture.** 198 : 229–236.

Noh, S.H., K. Han, T.H. Won, and Y.J. Choi. 1994. Effect of antibiotics, enzyme, yeast culture and probiotics on the growth performance of Israeli carp. **Korean J. Anim. Sci**. 36 : 480–486.

Oliva-Teles, A., and P. Gonçalves. 2001. Partial replacement of fishmeal by brewers yeast *Saccaromyces cerevisae* in diets for sea bass *Dicentrarchus labrax* juveniles. **Aquaculture**. 202 : 269–278.

Paker, R. B. 1974. Probiotic, the other half of the antibiotics story. **Anin. Nutr. Health**. 29 : 4 – 8.

Pelicano, E.R.L., P.A. Souza, H.B.A. Souza, D.F. Figueiredo, M.M. Boiago, S.R. Carvalho, and V.F. Bordon. 2005. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. **Revista Brasileira de Ciencia Accola**, 7 : 221 – 229.

Pirarat, N., K. Pinpimai, M. Endo, T. Katagiri, A. Ponpornpisit, N. Chansue, and M. Maita. 2011. Modulation of intestinal morphology and immunity in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Research in Veterinary Science Volum**e. 91. 3 December 2011: 92 – 97.

Polk, A., Amsden. B., Scarrtt, D., Gonzal, A., Oknamafe, O., Goosen, and M. 1994. Oral delivery in aquaculture: controlled release of proteins from chitosan-alginate microcapsules. **Aqucult. Eng**. 13 : 311-323.

Rollo, A., R. Sulpizio, M. Nardi, S. Silvi, C. Orpianesi, and M. Caggiano. 2006. Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. **Fish Physiol Biochem**. 32 : 167 – 177.

Suzer, C., D. Coban, H.O. Kamaci, S. Saka, K. Firat, O. Otgucuoglu, and H. Kucuksari. *2008. Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata,* L.) larvae: effects on growth performance and digestive enzyme activities. **Aquaculture**. 280 : 140 – 145.

Wang, Y., Zi-Qiang Tian, Jiang-Tao Yao, and Wei-fen Li. 2008. Effect of probiotics, *Enteroccus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. **Aquaculture.** 277. (3– 4). 3 June 2008 : 203 – 207.

ภาคผนวก

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

โดยที่เป็นการสมควรกำหนดหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก ให้เป็นไปอย่างถูกต้องเหมาะสม และปลอดภัยต่อการบริโภค

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ และมาตรา ๖ (๓) (๔) (๕) และ (๑๐) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ อันเป็นกฎหมายที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา ๒๙ ประกอบกับมาตรา ๓๓ มาตรา ๔๑ มาตรา ๔๓ และมาตรา ๔๕ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข ออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ในประกาศนี้

“จุลินทรีย์โพรไบโอติก (Probiotic)” หมายความว่า จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเมื่อร่างกายได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ทั้งนี้ไม่รวมถึง

(๑) จุลินทรีย์ ที่ใช้เป็นสารชีวบำบัด (biotherapeutic agents)

(๒) จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (beneficial microorganisms) ที่ไม่ใช้ในอาหาร

(๓) จุลินทรีย์ที่ได้จากการดัดแปลงพันธุกรรม (Genetically Modified Microorganism, GMM)

(๔) จุลินทรีย์ บักเตรี แบคทีเรีย หรือยีสต์ ตามที่กำหนดไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ดังต่อไปนี้

(๔.๑) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๔๔ (พ.ศ. ๒๕๓๕) เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ลงวันที่ ๒ กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๓๕ ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๓๐๑) พ.ศ. ๒๕๔๙ เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ฉบับที่ ๔) ลงวันที่ ๒๘ กันยายน พ.ศ. ๒๕๔๙

(๔.๒) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๕๖ (พ.ศ. ๒๕๓๗) เรื่อง นมดัดแปลงสำหรับทารกและนมดัดแปลงสูตรต่อเนื่องสำหรับทารกและเด็กเล็ก ลงวันที่ ๑๔ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

(๔.๓) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๕๗ (พ.ศ. ๒๕๓๗) เรื่อง อาหารทารกและอาหารสูตรต่อเนื่องสำหรับทารกและเด็กเล็ก ลงวันที่ ๑๔ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

(๔.๔) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๕๘ (พ.ศ. ๒๕๓๗) เรื่อง อาหารเสริมสำหรับทารกและเด็กเล็ก ลงวันที่ ๑๔ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

(๔.๕) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๖๖) พ.ศ. ๒๕๔๕ เรื่อง นมปรุงแต่ง ลงวันที่ ๑๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๔๕

(๔.๖) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๖๗) พ.ศ. ๒๕๔๕ เรื่อง ผลิตภัณฑ์ของนม ลงวันที่ ๑๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๔๕

(๕) จุลินทรีย์ตามที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายประกาศฉบับนี้ ที่ใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่นตามความจำเป็นในกระบวนการผลิตอาหารและได้ปฏิบัติตามประกาศว่าด้วยเรื่องนั้น ๆ แล้ว

"การกล่าวอ้างทางสุขภาพ (Health Claim)" หมายความว่า การแสดงรูป รูปภาพ รอยประดิษฐ์ เครื่องหมาย เครื่องหมายการค้า หรือข้อความใด ๆ บนฉลาก ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร ส่วนประกอบของอาหาร หรือสารอาหารซึ่งเกี่ยวข้องกับสุขภาพทั้งทางตรงและทางอ้อม แบ่งเป็น ๓ ลักษณะ ได้แก่

(๑) การกล่าวอ้างหน้าที่สารอาหาร (Nutrient function claim) หมายความว่า การแสดงสรรพคุณ หรือคุณประโยชน์เกี่ยวกับบทบาทของสารอาหารที่มีผลต่อสรีรวิทยาของร่างกาย เช่น การเจริญเติบโต การพัฒนา หรือการกระทำหน้าที่ตามปกติของร่างกาย ซึ่งผ่านการพิสูจน์และเป็นที่ยอมรับในทางวิชาการแล้ว เช่น แคลเซียมช่วยให้กระดูกและฟันแข็งแรง

(๒) การกล่าวอ้างหน้าที่อื่น (Other function claim) หมายความว่า การแสดง สรรพคุณ หรือคุณประโยชน์นอกเหนือจาก (๑) ของอาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่มีผลในทางเสริมสุขภาพอย่างเฉพาะเจาะจง (specific beneficial effects) หรือช่วยในการกระทำหน้าที่ให้ดียิ่งขึ้น (improvement of function) เช่น การกล่าวอ้างหน้าที่ส่วนประกอบของอาหารที่มีผลช่วยกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียม

(๓) การกล่าวอ้างการลดความเสี่ยงของการเกิดโรค (Reduction of disease risk claim) หมายความว่า การแสดงสรรพคุณ คุณประโยชน์ของอาหาร หรือส่วนประกอบของอาหาร ที่มีผลในการลดความเสี่ยงของการเกิดโรค อาการ หรือสภาวะใด ๆ ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพ (health-related condition) โดยเป็นการเปลี่ยนแปลงปัจจัยเสี่ยงหลัก (major risk factor) สำหรับโรคนั้น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ เช่น การกล่าวอ้างว่าอาหารที่มีแคลเซียมสูงมีผลช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคกระดูกพรุน

ข้อ ๒ อาหารที่มีการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกต้องได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และต้องใช้จุลินทรีย์ตามที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายประกาศฉบับนี้ และมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ คงเหลืออยู่ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU ต่ออาหาร ๑ กรัม ตลอดอายุการเก็บรักษาของอาหารนั้น

การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกอื่นนอกเหนือจากที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายประกาศฉบับนี้ ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าต้องส่งมอบหลักฐานแสดงผลการประเมินความปลอดภัย และคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก ตามหลักการใน Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, ปี ค.ศ. ๒๐๐๒ พร้อมรายละเอียดข้อมูลประกอบการยื่นขออนุญาต ดังนี้

(๑) การตรวจเอกลักษณ์ของสกุล (genus) ชนิด (species) สายพันธุ์ (strain) ด้วยวิธีการที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ทั้งทางลักษณะ (phenotype) และทางพันธุกรรม (genotype) และการเรียกชื่อ (nomenclature) ของจุลินทรีย์นั้นต้องเป็นชื่อที่ใช้อยู่ในปัจจุบันและเป็นที่รู้ทั่วกัน ในทางวิทยาศาสตร์

(๒) การทดสอบคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก ดังนี้

(๒.๑) การทนต่อสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร (resistance to gastric acidity)

(๒.๒) การทนต่อสภาวะของเกลือน้ำดี (bile salt resistance)

(๒.๓) ความสามารถในการเกาะติดกับเยื่อมูก หรือ เซลล์ผิวเยื่อบุของมนุษย์หรือเซลล์ไลน์ (adherence to mucus and/or human epithelial cells and cell line)

(๒.๔) ฤทธิ์ของเอนไซม์ไฮโดรเลสในการย่อยเกลือน้ำดี (bile salt hydrolase activity) และ

(๒.๕) คุณสมบัติอื่น ๆ (ถ้ามี) แล้วแต่กรณี

(๓) การประเมินความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อมนุษย์ โดยการทดสอบ นอกกาย (in vitro) หรือในสัตว์ (in vivo) และการศึกษาในมนุษย์ เพื่อประเมินความปลอดภัย และปฏิกิริยาของร่างกายต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติก ดังนี้

(๓.๑) การดื้อต่อสารปฏิชีวนะ

(๓.๒) การประเมินฤทธิ์ทางเมแทบอลิก เช่น การผลิตดี - แลกเทต (D-lactate) หรือการสลายเกลือน้ำดี เป็นต้น

(๓.๓) การประเมินผลข้างเคียงระหว่างการศึกษาในมนุษย์

(๓.๔) การเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของอุบัติการณ์ที่ไม่พึงประสงค์ในผู้บริโภคหลังออกจำหน่ายในท้องตลาด

(๓.๕) การสร้างสารพิษ กรณีที่สายพันธุ์ที่ประเมินนั้นเป็นจุลินทรีย์ชนิดที่มีการผลิตสารพิษ และ

(๓.๖) ฤทธิ์ทางฮีโมไลติก กรณีที่สายพันธุ์ที่ประเมินนั้นอยู่ในกลุ่มของจุลินทรีย์ ชนิดที่มีโอกาสทำให้เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง

ข้อ ๓ การกล่าวอ้างทางสุขภาพสำหรับการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหารต้องเป็นไปตามหลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไข ดังนี้

(๑) ผู้ผลิต หรือผู้นำเข้าต้องแจ้งรายละเอียดของอาหารและส่วนประกอบของอาหารในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการกล่าวอ้างนั้นให้ครบถ้วนและเพียงพอ และต้องส่งมอบผลการศึกษาในมนุษย์อย่างน้อยจากสองสถาบัน เพื่อประกอบการพิจารณาประสิทธิผลของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อสุขภาพ ดังนี้

(๑.๑) การศึกษาในมนุษย์ที่มีการออกแบบอย่างดี (well design human intervention study) หรือ

(๑.๒) การศึกษาในมนุษย์ที่มีการออกแบบอื่น ๆ ที่เหมาะสมโดยมีจำนวน ตัวอย่างและผลการศึกษาเบื้องต้นที่เพียงพอที่จะพิจารณาประสิทธิผลของสายพันธุ์หรืออาหาร

การออกแบบการศึกษาในมนุษย์ตามข้อ (๑.๑) และข้อ (๑.๒) ต้องมีการออกแบบการศึกษาที่คำนึงถึงรายละเอียดดังต่อไปนี้

(ก) กลุ่มศึกษาต้องเป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรเป้าหมายได้ (study groups that are representative of the target group)

(ข) กลุ่มควบคุม (control) ต้องเหมาะสม (appropriate control)

(ค) ช่วงระยะการได้รับสัมผัสที่เพียงพอและมีการติดตามเพื่อแสดงผลที่มุ่งหมายให้เกิดขึ้น (an adequate duration of exposure and follow up to demonstrate the intended effect)

(ง) การแสดงพื้นฐานการบริโภคอาหารและรูปแบบการใช้ชีวิตด้านอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องของกลุ่มศึกษา (characterization of the study groups' background diet and other aspects of relevant of lifestyle)

(จ) ปริมาณของอาหารและส่วนประกอบของอาหารที่สอดคล้องกับรูปแบบการบริโภคที่มุ่งหมาย (an amount of the food or food component consistent with it intended pattern of consumption)

(ฉ) ประเภทและบริบทของอาหารที่ส่งผลต่อหน้าที่ของจุลินทรีย์ โพรไบโอติก (the influence of the food matrix and dietary context on the functional effect of the component)

(ช) การตรวจติดตามความเป็นไปตามข้อกำหนดในการบริโภคอาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ทดลองของกลุ่มศึกษา (monitoring of subjects' compliance concerning intake of food or food component under test)

(ซ) วิธีทางสถิติที่มีความหนักแน่นและเหมาะสมในการทดสอบสมมติฐาน (the statistical power to test the hypothesis)

ผลการศึกษาตามข้อ (๑.๑) และข้อ (๑.๒) ดังกล่าว อย่างน้อยต้องระบุตัวแปร หรือปัจจัยที่กำหนด (parameter) ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ชนิดและประเภทของอาหาร ขนาดหน่วยบริโภค ปริมาณของจุลินทรีย์โพรไบโอติก และระยะเวลาที่ทำให้เกิดผลตามความมุ่งหมายในการใช้ กรณีที่ผลการศึกษานั้นไม่สามารถวัดจุดสิ้นสุด (endpoint) โดยตรงได้ เนื่องจากผลกระทบต่อสุขภาพหรือ ประโยชน์หลักที่ต้องใช้เวลาเนิ่นนานจึงจะปรากฏให้เห็น ความเป็นไปได้หรือประเด็นทางจริยธรรม และข้อจำกัดทางทรัพยากร เช่น ค่าตรวจวิเคราะห์ที่มีค่าใช้จ่ายสูง อาจใช้ตัวชี้วัด (markers) ที่เหมาะสมแทน โดยตัวชี้วัดดังกล่าวต้องมีความถูกต้องทางชีวภาพซึ่งสัมพันธ์ต่อผลลัพธ์สุดท้ายและความแปรผันภายในประชากรกลุ่มเป้าหมาย และต้องมีความถูกต้องทางวิธีการวิเคราะห์คุณลักษณะ ของตัวชี้วัดนั้น

(๒) การกล่าวอ้างทางสุขภาพต้องพิสูจน์ได้ทางวิทยาศาสตร์ โดยคำนึงถึงความครบถ้วนสมบูรณ์ของข้อมูลและหลักฐานที่มีน้ำหนักเพียงพอในประเด็นต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

(๒.๑) ผลที่ได้สอดคล้องกับผลจากหลักฐานหรือวิธีการอื่น

(๒.๒) ความถูกต้องตามวิธีการด้านเทคโนโลยีการอาหาร

(๒.๓) การเก็บตัวอย่างเป็นแบบสุ่มเลือก

(๒.๔) ความสัมพันธ์ด้านการตอบสนองระหว่างปริมาณอาหารหรือส่วนประกอบของอาหาร และผลทางสุขภาพที่เกี่ยวข้อง

(๒.๕) ความเป็นไปได้ทางชีวภาพ

(๓) เงื่อนไขการแสดงการกล่าวอ้างทางสุขภาพบนฉลาก ต้องเป็นดังนี้

การกล่าวอ้างทางสุขภาพต้องไม่ทำให้เข้าใจว่าการบริโภคอาหาร ส่วนประกอบของอาหาร หรือสารอาหารนั้น สามารถบำบัด บรรเทา รักษา หรือป้องกันโรคได้ และต้องแสดงข้อความเป็นภาษาไทย ด้วยขนาดตัวอักษรที่ใกล้เคียงกัน เห็นได้ง่าย อ่านได้ชัดเจน และอาจมีข้อความเป็นภาษาอื่นที่มีความหมายทำนองเดียวกันกับภาษาไทยแสดงไว้ด้วยก็ได้ และข้อความแสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๓.๑) ข้อความว่า “ผลิตภัณฑ์นี้ไม่ใช้สำหรับรักษา บำบัด บรรเทา หรือป้องกันโรค”

(๓.๒) สกุล (Genus) ชนิด (Species) และสายพันธุ์ (Strain) ของจุลินทรีย์ โพรไบโอติกที่เป็นส่วนผสม

(๓.๓) ปริมาณและช่วงระยะเวลาที่แนะนำให้บริโภคซึ่งให้ผลต่อสุขภาพตามกล่าวอ้าง

(๓.๔) ข้อความกล่าวอ้างทางสุขภาพ เช่น “จุลินทรีย์โพรไบโอติก” “โพรไบโอติก” หรือข้อความกล่าวอ้างอื่น

(๓.๕) ข้อแนะนำการใช้ และสภาวะการเก็บรักษาที่เหมาะสม

(๓.๖) ช่องทางสำหรับให้ข้อมูลแก่ผู้บริโภค เช่น สถานที่ติดต่อ หมายเลข โทรศัพท์ หรือเว็บไซต์

ข้อ ๔ การแสดงฉลากของอาหารที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกให้เป็นไปตาม

(๑) ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

(๒) ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลากโภชนาการ

(๓) ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องของอาหารนั้น

ข้อ ๕ ให้ผู้ผลิตหรือนำเข้าอาหารตามข้อ ๒ อยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ปฏิบัติให้เป็นไปตามประกาศฉบับนี้ภายในหนึ่งปีนับแต่วันที่ประกาศนี้มีผลใช้บังคับ และให้ใช้ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไปได้แต่ไม่เกินหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้มีผลใช้บังคับ

ข้อ ๖ ประกาศฉบับนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๗ มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๕๔
จุรินทร์ ลักษณวิศิษฏ์
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

บัญชีรายชื่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกสำหรับใช้ในอาหาร

แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

๑.	บาซิลลัส โคแอกกูแลน	*Bacillus coagulans*
๒.	บิฟิโดแบคทีเรียม อะโดเลสเซนทิส	*Bifidibacterium adolescentis*
๓.	บิฟิโดแบคทีเรียม อะนิมอลิส	*Bifidobacterium animalis*
๔.	บิฟิโดแบคทีเรียม บิฟิดัม	*Bifidobacterium bifidum*
๕.	บิฟิโดแบคทีเรียม เบรเว	*Bifidobacterium breve*
๖.	บิฟิโดแบคทีเรียม อินฟานทิส	*Bifidobacterium infantis*
๗.	บิฟิโดแบคทีเรียม แล็กทิส	*Bifidobacterium lactis*
๘.	บิฟิโดแบคทีเรียม ลองกัม	*Bifidobacterium longum*
๙.	บิฟิโดแบคทีเรียม ซูโดลองกัม	*Bifidobacterium pseudolongum*
๑๐.	เอ็นเทอโรค็อกคัส ดูแรน	*Enterococcus durans*
๑๑.	เอ็นเทอโรค็อกคัส เฟเซียม	*Enterococcus faecium*
๑๒.	แล็กโทบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส	*Lactobacillus acidophilus*
๑๓.	แล็กโทบาซิลลัส คริสปาทัส	*Lactobacillus crispatus*
๑๔.	แล็กโทบาซิลลัส แก๊สเซอรี	*Lactobacillus gasseri*
๑๕.	แล็กโทบาซิลลัส จอห์นโซนอิ	*Lactobacillus johnsonii*
๑๖.	แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ	*Lactobacillus paracasei*
๑๗.	แล็กโทบาซิลลัส รียูเทอรี	*Lactobacillus reuteri*
๑๘.	แล็กโทบาซิลลัส รามโนซัส	*Lactobacillus rhamnosus*
๑๙.	แล็กโทบาซิลลัส ซาลิวาเรียส	*Lactobacillus salivarius*
๒๐.	แล็กโทบาซิลลัส ซีอี	*Lactobacillus zeae*
๒๑.	โพรพิโอนิแบคทีเรียม อะราไบโนซัม	*Propionibacterium arabinosum*
๒๒.	สแตปฟิโลคอคคัส ไซน์ยูรี	*Staphylococcus sciuri*
๒๓.	แซ็กคาโรไมซีส เซรีวิซิอี สับสปีชีย์ บัวลาดิอิ	*Saccharomyces cerevisiae subsp. Boulardii*

อ้างอิงจาก Bulletin of the International Dairy Federation No.377/2002

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2556; 11(1): 75-86

บทความปริทัศน์

โรคปลานิล

ชนกันต์ จิตมนัส

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทคัดย่อ งานเขียนนี้มีจุดประสงค์เพื่อนำเสนอเกี่ยวกับโรคปลานิลที่ได้จากการทบทวนเอกสารและการสำรวจโรคปลานิลในเขตภาคเหนือตอนบน พบว่า ความเสียหายกับลูกปลานิลมักเกิดจากความบอบช้ำจากการขนส่งที่ทำให้ปลาอ่อนแอและเสี่ยงต่อการเกิดโรค โดยเฉพาะการติดเชื้อแบคทีเรีย *Flavobacterium columnarae* แทรกซ้อน นอกจากนี้ยังพบลูกปลาติดเชื้อปรสิตเห็บระฆัง *(Trichodina* spp.*)* และเป็นโรค Epitheliocystis รายละเอียดเกี่ยวกับโรคติดเชื้อและไม่ติดเชื้อจะมีการอภิปรายในงานนี้ เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลมักจะละเลยเกี่ยวกับการจัดการคุณสมบัติของน้ำที่เหมาะสม ไม่มีการตรวจวัดปริมาณออกซิเจนในบ่อเลี้ยง มักจะมีการให้ออกซิเจนหรือเปลี่ยนถ่ายน้ำ หลังจากพบปลาตายจำนวนมาก ทำให้การแก้ไขค่อนข้างช้าเกินไป เกษตรกรที่ปล่อยปลานิลหนาแน่นสูง มักจะประสบปัญหาปลาตายเนื่องจากการขาดออกซิเจนเมื่อปลาโตขึ้น การจับปลาขายบางส่วนไม่ใช่เป็นทางออกที่ดี เพราะทำให้ปลาที่เหลือในบ่อช้ำ อ่อนแอและเกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย ก่อให้เกิดความสูญเสียจำนวนมากรวมทั้งการไม่นำปลาที่ตายหรือป่วยออกจากบ่อ ทำให้น้ำเสีย เกิดการเพิ่มจำนวนของเชื้อโรคและมีแพร่ระบาดของเชื้อโรคไปยังปลาที่อ่อนแอ **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2556; 11(1): 75-86**

คำสำคัญ: ปลานิล โรคปลา ปรสิต เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่: ชนกันต์ จิตมนัส คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 64 หมู่ 3 ต.หนองหาร อ.สันทราย จ. เชียงใหม่ 50290 E-mail address: chanagun1@hotmail.com ได้รับบทความวันที่ 30 สิงหาคม 2555

ปลานิล *(Oreochromis niloticus)* เป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากปลานิลเป็นอาหารโปรตีนที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ไขมันต่ำ เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว การบริโภคปลานิลในประเทศไทยสูงถึง 30% ของการบริโภคปลาทั้งหมด (Piumsombun, 2003) และมีแนวโน้มการบริโภคที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ไทยได้ผลิตปลานิลได้สูงถึง 221,042 ตันในปี 2552 (ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง, 2552) คิดเป็น 42% ของผลผลิตการเลี้ยงสัตว์น้ำจืดมีแนวโน้มการส่งออกสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในปี 2552 มีปริมาณผลผลิตปลานิลส่งออกรวม 14,103 ตัน มูลค่าการส่งออกสูงถึง 1,153 ล้านบาท (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง, 2555) ปัจจุบันผลผลิตปลานิลยังไม่เพียงพอกับความต้องการของตลาด ทำให้การเลี้ยงปลานิลเป็นธุรกิจการเกษตรที่ได้รับความสนใจของประชาชนทั่วไป

แม้ว่าปลานิลสามารถเลี้ยงได้ในทุกสภาพทั้งในบ่อดินและในกระชัง อุปสรรคที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงปลานิล คือ โรคปลานิล ปลานิลเป็นโรคได้ง่ายขึ้น เพราะเกษตรกรนิยมปล่อยหนาแน่นมากและขาดการจัดการที่ดี รวมทั้งสภาวะแวดล้อมที่แย่ลงมีความแปรปรวนสูง (Ghiraldelli, Laterca Martins, Barros Adamante, & Yamashita, 2006) การจัดการสุขภาพปลานิลจึง

เป็นวิธีการที่ใช้เพื่อวางแผนป้องกันไม่ให้ปลาเกิดโรค และมีความจำเป็นอย่างยิ่งหากปลานิลเป็นโรคแล้ว โอกาสที่จะรักษาทำได้ยากมากและการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นการเพิ่มต้นทุนที่สูงขึ้นมากจนอาจทำให้ผู้เลี้ยงไม่สามารถแบกภาระได้ รวมทั้งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคดังนั้นการที่จะประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จะต้องมีการจัดการสุขภาพสัตว์น้ำที่ดี อันได้แก่ การเตรียมบ่อที่ดี มีการรักษาความสะอาดบ่อ เครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ เพื่อลดโอกาสความเสี่ยงในการเกิดโรคและแพร่ระบาดของโรคสัตว์น้ำ การใช้ลูกพันธุ์ปลาที่แข็งแรง การจัดการคุณภาพน้ำที่ดี ไม่ใช้ยาและสารเคมีต้องห้าม การให้อาหารที่ดีมีคุณภาพสูง ทำให้สัตว์น้ำโตไว ได้ผลผลิตสูงคุณภาพดี สร้างกำไรสูงแก่ผู้เลี้ยงและไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม

รูปที่ 1 การอนุบาลลูกปลานิลในกระชังก่อนปล่อยลงในบ่อจะช่วยเพิ่มอัตรารอด

การเฝ้าสังเกตพฤติกรรมและการกินอาหารของปลาอย่างสม่ำเสมอ จะมีส่วนช่วยในการตรวจสอบเบื้องต้นว่า ปลามีปัญหาหรือไม่ ช่วยให้มีการแก้ไขสถานการณ์ได้อย่างรวดเร็ว ก่อนที่ปลาทั้งกลุ่มจะป่วยอย่างรุนแรง ผู้เลี้ยงปลาจะต้องทราบและคุ้นเคยว่า ปลาที่ปกติมีลักษณะของพฤติกรรมเป็นอย่างไร ซึ่งส่วนใหญ่เรามักจะมองไม่เห็นปลาที่อาศัยอยู่ในบ่อ ยกเว้นเวลาให้อาหารและจะสังเกตเห็นปลาได้ชัดเมื่อปลาเป็นโรคคือมีปลาตายหรือปลากำลังใกล้ตาย ปลาที่ป่วยจะเฉื่อยชาและไม่กินอาหาร อาจมีการแขวนลอยตัวอยู่ที่ผิวน้ำ ขึ้นเกยอยู่ตามขอบบ่อ พฤติกรรมของปลาที่ผิดปกติเหล่านี้จะเป็นตัวบ่งชี้ว่า ปลาส่ออาการของโรคเกิดขึ้น นอกจากนี้ลักษณะทางกายรูปที่เปลี่ยนไป ไม่ว่าจะเป็นฝี การตกเลือด ครีบหักกร่อน ท้องบวม ตาโปน หากพบว่า ปลามีลักษณะผิดปกติ เราควรนำปลาไปตรวจว่าปลามีการติดเชื้อปรสิตหรือแบคทีเรียหรือไม่ พร้อมทั้งมีการตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำควบคู่ไปด้วย การตรวจวินิจฉัยโรคที่รวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ จะทำให้ช่วยหาแนวทางแก้ไขและป้องกันการแพร่ระบาดโรคได้ทันเวลา

รูปที่ 2 ควรสังเกตพฤติกรรมและการกินอาหารของปลาอย่างสม่ำเสมอ

รูปที่ 3 ควรเฝ้าสังเกตพฤติกรรมของปลา หากเห็นปลาขึ้นมาลอยหัวบนผิวน้ำ ต้องตรวจสอบปริมาณออกซิเจนในน้ำหรือติดตั้งเครื่องให้อากาศ

สิ่งแรกที่เกษตรกรจะถามนักวิชาการเมื่อปลาเกิดโรคคือ ควรใช้ยาหรือสารเคมีอะไรในการรักษา ซึ่งไม่ถูกต้อง โรคปลานิลอาจเกิดจากคุณสมบัติของน้ำไม่ดี ทำให้

ปลาอ่อนแอ ง่ายต่อการติดเชื้อ เกษตรกรควรตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำอย่างสม่ำเสมอ

รูปที่ 4 จำนวนกระชังปลาและความหนาแน่นของปลาที่ปล่อยควรมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติของน้ำ

ปัจจุบันปัญหาการตายของปลานิลในบ่อและกระชังบ่อยครั้ง มีสาเหตุมาจากปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำที่ต่ำ โดยเฉพาะในช่วงหน้าร้อน ปลาจะเครียดและอ่อนแอ ดังนั้นเกษตรกรต้องมีเครื่องช่วยเพิ่มออกซิเจนไว้ใช้งานยามฉุกเฉิน ปริมาณแอมโมเนียที่สูงเป็นสาเหตุหนึ่งที่เหนี่ยวนำให้เกิดการระบาดของโรคปลาได้ หากเป็นไปได้ควรมีบ่อพักน้ำหรือแหล่งน้ำที่สะอาดเพื่อการเปลี่ยนถ่ายน้ำ โดยทั่วไปเราจะต้องตรวจสอบปริมาณออกซิเจนในน้ำ แอมโมเนีย ไนไตร์ทและความเป็นกรดด่างของน้ำเป็นประจำ เนื่องจากคุณสมบัติของน้ำเหล่านี้เป็นประโยชน์ต่อการตรวจวินิจฉัยโรคปลา

การบันทึกคุณสมบัติของน้ำประจำวันจะเป็นตัวอ้างอิงเมื่อมีการระบาดของโรค ในการบันทึกควรบันทึกวันที่ปล่อยปลา ขนาดของปลาที่ปล่อย แหล่งที่มาของปลา อัตราการให้อาหาร อัตราการเจริญเติบโต จำนวนปลาที่ตายในแต่ละวันและคุณสมบัติของน้ำ ข้อมูลเหล่านี้จำเป็นสำหรับนักวิชาการเพื่อใช้ประกอบการตรวจวินิจฉัยโรคและแก้ไขปัญหา การบันทึกข้อมูลอย่างละเอียดถูกต้อง การบรรยายลักษณะอาการและพฤติกรรมของปลาที่ป่วย ผลของการตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำ จะมีส่วนช่วยในการวิเคราะห์โรคได้อย่างดี

ชนิดของโรคปลานิล

โรคปลาสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดหลัก คือ โรคติดเชื้อ (infectious diseases) และโรคไม่ติดเชื้อ (non-infectious diseases) โรคติดเชื้อมีสาเหตุมาจากเชื้อโรคซึ่งส่วนใหญ่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมหรือติดมากับปลาซึ่งเป็นพาหะของโรค โรคเหล่านี้สามารถติดต่อกันได้ (contagious diseases) และต้องการการจัดการเพื่อที่จะควบคุมการระบาดของโรค ในทางตรงกันข้ามโรคไม่ติดเชื้อซึ่งเกิดจากสภาวะแวดล้อมอันไม่เหมาะสม การขาดสารอาหาร ความบกพร่องทางพันธุกรรมเป็นโรคซึ่งไม่ติดต่อและไม่สามารถใช้ยาในการรักษาได้

โรคติดเชื้อ

อาจมีสาเหตุเกิดมาจากปรสิต แบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา

โรคที่เกิดจากปรสิต

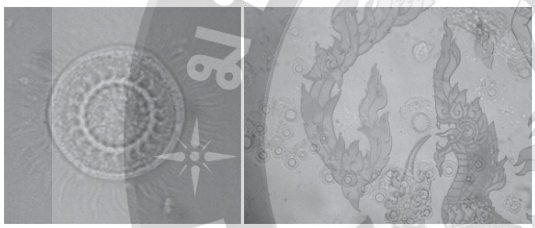
ปรสิตพบได้ทั่วไป โดยเฉพาะบริเวณเหงือกและผิวหนัง ปลาจะมีเมือกมากผิดปกติ เพื่อพยายามที่จะกำจัดปรสิตให้หลุดออกไป อาจสังเกตเห็นแผลตามลำตัว ปรสิตบางชนิดก่อให้เกิดมีจุดขาว ๆ บนลำตัว สีของลำตัวปลาที่มีปรสิตเกาะอาจจะซีดหรือเข้มผิดปกติ ว่ายน้ำทุรนทุราย ทำให้ปลาระคายเคือง น้ำหนักลด

ตัวอย่างของปรสิตที่พบบ่อยในปลานิลได้แก่

1. เห็บระฆัง (Trichodina spp.)

เป็นโปรโตซัวที่มีขนาดเล็กมาก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 50 ไมครอน (Ghiraldelli et al., 2006) ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงจึงจะเห็นรูปร่างของเห็บระฆังชัดเจน มีลักษณะคล้ายระฆังคว่ำ มีขนเล็ก ๆ รอบตัว (cilia) บริเวณผิวด้านล่างมีอวัยวะยึดเกาะตัวปลาคล้ายกงจักร ปรสิตนี้พบในเหงือกและผิวตัวปลานิลเกือบทุกตัว ปลาที่มีปรสิตพวกนี้เกาะมาก ๆ จะไม่ค่อยกินอาหาร ว่ายน้ำกระวนกระวาย พลิกตัวไปมา มีการใช้ลำตัวสีผนังบ่อเพื่อให้ปรสิตหลุดออก และอาจทำให้ลูกปลาตายในปริมาณมากได้ พบระบาดในบ่อที่มีการเลี้ยงปลาหนาแน่นสูงและมีสารอินทรีย์สูง การป้องกัน

ดีกว่ารักษา เพราะปรสิตนี้แพร่ได้รวดเร็ว เกษตรกรมักจะสังเกตเห็นปัญหาการติดเชื้อปรสิตเห็บระฆัง เมื่อมีการระบาดอย่างรุนแรงทำให้ยากแก่การจัดการ การป้องกันทำโดยตรวจปลาก่อนที่จะนำมาเลี้ยง หากปลามีปรสิตติดมาต้องกำจัดโดยการใช้ฟอร์มาลิน 25 – 50 ซีซีต่อน้ำ 1,000 ลิตร อย่างไรก็ตาม การใช้ฟอร์มาลินทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลงจึงต้องมีการให้อากาศ ด้วยน้ำมันกระเทียมและกระเทียมบดสามารถใช้สำหรับกำจัดเห็บระฆังได้ (Chitmanat, Tongdonmuan, & Nunsong, 2005; Abd El-Galil & Aboelhadid, 2012) อย่างไรก็ตามการใส่น้ำมันกระเทียมและกระเทียมบดทดแทนสารเคมี ควรระมัดระวังเรื่องน้ำเสียที่อาจจะเกิดขึ้นได้



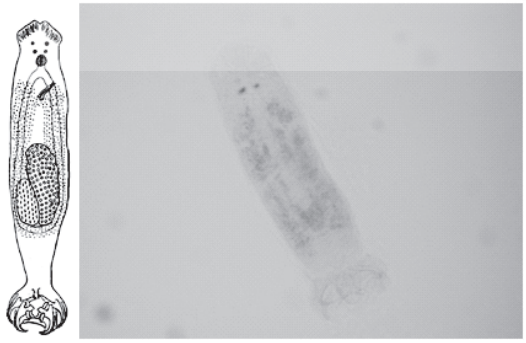
รูปที่ 5 เห็บระฆัง

2. ปลิงใส (monogenes)

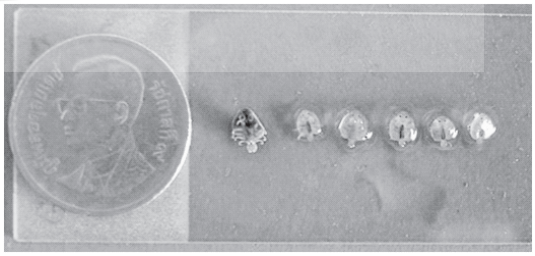
ส่วนใหญ่พบเกาะอยู่ตามซี่เหงือกและบริเวณผิวหนัง ที่พบบ่อยในปลาน้ำจืด คือ ไจโรแดคทิลัส *(Gyrodactylus* sp.*)* และแดคทิโรไจรัส *(Dactyrogyrus* sp.*)* ส่วนปลิงใสที่มักพบในปลานิล ชื่อว่า ซิคลิโดไจรัส *(Cichlidogyrus* sp.*)* ปลาที่มีปรสิตพวกนี้เกาะอาจจะมีสีตัวเข้มกว่าปกติ กินอาหารน้อยลง หากมีเกาะบริเวณซี่เหงือกในปริมาณมาก ทำให้เหงือกบวม อักเสบ และการแลกเปลี่ยนอากาศของปลาลดลง มีผลให้ปลาตายได้เช่นกัน พบปรสิตกลุ่มนี้ในปลาเกือบทุกชนิด วิธีการรักษาเช่นเดียวกับเห็บระฆัง คือ ใช้ฟอร์มาลิน 25 – 50 ซีซีต่อน้ำ 1,000 ลิตร

3. โรคเห็บปลา (Fish Louse)

ปลาที่มีเห็บปลาเกาะจะสังเกตเห็นพยาธิรูปร่างกลม สีเขียวปนน้ำตาล ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 – 7 มิลลิเมตร พบตามลำตัวและครีบในปลามีเกล็ด เช่น ปลานิล ปลาไน ปลาตะเพียน ปลาช่อน เป็นต้น ปลาที่มีปรสิตพวกนี้เกาะหนาแน่นจะเกิดแผลตกเลือด ปลาว่ายน้ำทุรนทุราย และพยายามถูตัวเองกับข้างบ่อหรือตู้ เพื่อให้ปรสิตหลุดออก รักษาโดยการแช่ปลาในสารละลายยาฆ่าแมลงกลุ่มไตรคลอฟอน 0.5 – 0.75 กรัมต่อน้ำ 1,000 ลิตร หรือดิพเทอร์เรกซ์ (dipterex) 0.25 – 0.5 กรัมต่อน้ำ 1,000 ลิตร อย่างไรก็ตามการใช้ไตรคลอฟอนเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลินเอสเตอเรสซึ่งเป็นเอนไซม์ควบคุมการทำงานของระบบประสาทลดลงถึง 75% แต่ไม่ได้ทำให้ปลาตายอย่างใด (Guimarães, Silva de Assis, & Boeger, 2007) ดังนั้นการใช้สารเคมีนี้จึงควรระมัดระวังไม่ให้ปลาเครียดเกินไปและไม่ใช้กับปลาในระยะใกล้จับ เพราะสารเคมีอาจจะปนเปื้อนในเนื้อปลาได้



รูปที่ 6 ปลิงใสที่มักพบในปลานิล ชื่อว่า ซิคลิโดไจรัส *(Cichlidogyrus* sp.*)*



รูปที่ 7 เห็บปลา

4. โรคหมัดปลา (Isopod)

หมัดปลามีลำตัวยาวรีและเป็นปล้อง ตัวเต็มวัยมีขนาดประมาณ 1.0 – 1.5 เซนติเมตร มีสีแดงเข้มจนเกือบดำ ปลาที่มีหมัดปลาเกาะจะว่ายน้ำทุรนทุราย กระโดดขึ้นผิวน้ำหากหมัดปลาดูดเลือดระบาดจำนวนมาก ทำให้ปลาตายได้ ถ้ามีหมัดปลาเข้าเกาะลูกปลานิลขนาด 2 - 3 เซนติเมตร เพียง 3 - 4 ตัว จะทำให้ปลาตายได้ภายในเวลา 3 - 4 ชั่วโมง เนื่องจากสูญเสียเลือด (สุดา ตัณฑวณิช และคนอื่น ๆ., 2554) รักษาโดยการแช่ไตรคลอฟอน 0.25 – 0.5 กรัม ต่อน้ำ 1,000 ลิตร สัปดาห์ละครั้ง ติดต่อกัน 3 – 4 สัปดาห์

รูปที่ 8 หมัดปลาหรือเห็บสายฟ้า

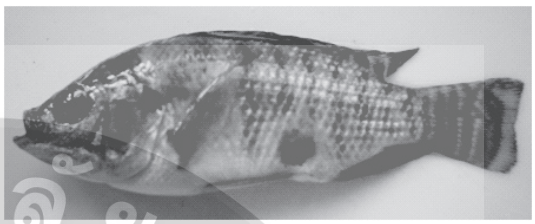
โรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย

ลักษณะการติดเชื้อทางแบคทีเรียจะคล้าย ๆ กัน จะมีการตกเลือด มีแผลตามลำตัว ครีบกร่อน มีน้ำในช่องท้อง ไม่กินอาหาร ที่พบบ่อยมี 2 ชนิด คือ

1. โรคที่เกิดจากเชื้อแอโรโมแนส (Aeromonas hydrophila)

เป็นโรคที่มีก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจและมักพบบ่อยในบ่อที่เลี้ยงโดยให้อาหารสดหรือการเลี้ยงแบบผสมผสาน จะพบเชื้อแบคทีเรียนี้ในแหล่งน้ำที่มีสารอินทรีย์ปริมาณสูง สาเหตุเหนี่ยวนำให้ปลาติดเชื้อ ได้แก่ ความเครียดหรือการบาดเจ็บจากการขนส่ง การเคลื่อนย้าย ปริมาณออกซิเจนที่ต่ำ การให้อาหารที่มีคุณภาพไม่เหมาะสมรวมทั้งบาดแผลที่เกิดจากปรสิต

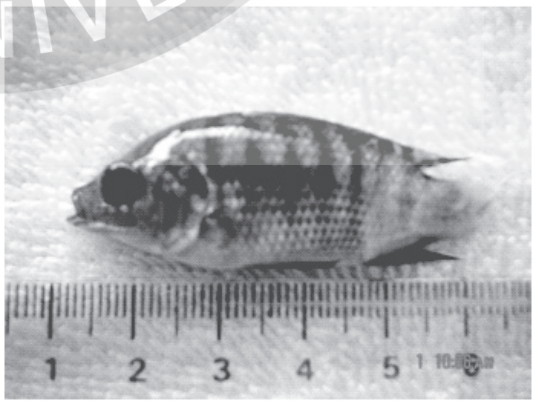
ปลาติดเชื้อจะว่ายน้ำเฉื่อยชา ไม่กินอาหาร ครีบกร่อน มีการตกเลือด เกิดบาดแผล ท้องบวม ตับเหลือง มีการตกเลือดบริเวณลำไส้



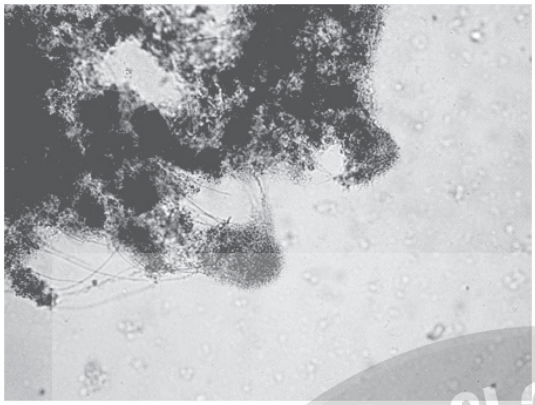
รูปที่ 9 ปลานิลเป็นแผลเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียแอโรโมแนส

2. โรคคอลัมนาริส

เกิดจากเชื้อฟลาโวแบคทีเรียม *(Flavobacterium columnarae)* ชื่อเดิมคือ แฟลกซิแบคเตอร์ *(Flexibacter columnaris)* โรคนี้มักเกิดจากปัจจัยต่าง ๆ เหนี่ยวนำ เช่น ความเครียดจากการขนส่ง โดยเฉพาะในช่วงหน้าร้อน และการเปลี่ยนแปลงอากาศกะทันหัน อาการทางคลินิก ลำตัวปลามีสีด่างซีดเป็นแถบ ๆ มีเมือกมาก ครีบและเหงือกกร่อน อาจมีสีเหลืองเกิดขึ้นบริเวณบาดแผลการป้องกันการระบาดของโรค ทำได้โดยการลดความบอบช้ำจากการจับและคัดขนาดปลา ไม่เลี้ยงปลาหนาแน่นเผ้าระวังอย่าให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำ



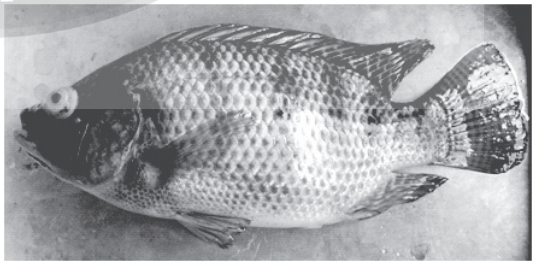
รูปที่ 10 ลูกปลานิลหางกร่อน จากการติดเชื้อแบคทีเรียฟลาโวแบคทีเรียม



รูปที่ 11 การรวมกลุ่มของแบคทีเรีย *F. columnare* มีลักษณะคล้ายกองฟาง (haystack-like) จากการทำสไลด์เปียก (wet mount)

3. โรคติดเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส (Streptococcus spp.)

อาการของปลาที่เป็นโรคมีตาขุ่นขาวและโปนไม่ค่อยว่ายน้ำ ลอยนิ่ง บางตัวว่ายน้ำควงสว่าน ช่องขับถ่ายบวมแดง พบระบาดรุนแรงในหน้าร้อน สามารถทำให้ปลาตายจำนวนมากในเวลาอันสั้นหากมีการติดเชื้อรุนแรง Mian et al. (2009) รายงานว่า อัตราการตายจากโรคนี้พบสูงเมื่ออุณหภูมิน้ำสูงกว่า 26 °C โรคติดเชื้อนี้สามารถติดต่อจากปลาที่เป็นโรคที่อาศัยอยู่ในบ่อหรือกระชังเดียวกันเชื้อมีความไวต่อยาปฏิชีวนะ 4 ชนิด คือ เพนนิซิลิน อิริโทรมัยซิน แอมพิซิลินและออกซีเตตร้าซัยคลิน และดื้อต่อยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด คือ ซัลฟาเมธท็อกซาโซล/ไตรเมธ-โธพริม นาลิดิซิค แอซิดและออกโซลินิคแอซิค (นเรศ ช่วนยุก, หิรัญ กังแฮ, เรวัตร คงประดิษฐ์, และกิจการ ศุภมาตย์, 2009) มีรายงานวิจัยหลายชิ้นที่พยายามพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ (Evans, Klesius, & Shoemaker, 2004; Pridgeon & Klesius, 2011; Eldar, Shapiro, Bejerano, & Bercovier, 1995; Klesius, Shoemaker, & Evans, 2000) ซึ่งผลที่ได้ยังไม่ชัดเจน บางวัคซีนจะป้องกันโรคได้จำเพาะ *S. iniae* แต่ไม่ป้องกันโรคติดเชื้อจาก *S. agalactiae* (Evans et al., 2004) สำหรับวัคซีนปลานิลในประเทศไทย นิลุบลและคณะ (นิลุบล กิจอันเจริญ, ชุติมา หาญจวณิช และนงนุช สุวรรณเพ็ง, 2549) ทดลองให้วัคซีนเชื้อตายแก่ปลานิลที่เลี้ยงในกระชัง ในแม่น้ำชี จ.มหาสารคาม พบว่า ปลาที่ได้รับวัคซีนมีอัตรารอดสูงกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีนสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ได้ยกย่องผลงานวิจัยวัคซีนป้องกันโรคสเตร็ปโตค็อกโคซิสในปลานิลภายใต้การควบคุมของ ดร.เจนนุช ว่องธวัชชัย จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นผลงานวิจัยเด่นประจำปี 2553 (สำนักงานสารสนเทศ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2553) ผลจากการวิจัยนี้ทำให้ได้วัคซีนที่สามารถฉีดเข้าไปในตัวปลานิลขนาดตัวตั้งแต่ 10 กรัม ไปจนถึงระดับปลาพ่อพันธุ์แม่พันธุ์จากการใช้วัคซีนดังกล่าวสามารถสร้างภูมิคุ้มกันโรคได้นานไม่ต่ำกว่า 6 เดือน ซึ่งเพียงพอต่อระยะเวลาการเลี้ยงจนถึงขนาดตลาดซึ่งมักจะใช้ระยะเวลาประมาณ 4 – 5 เดือน โดยมีต้นทุนค่าวัคซีนเพิ่มขึ้นเพียงตัวละ 50 สตางค์เท่านั้น ในขณะที่ลูกปลาที่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันมีโอกาสรอดจากการเลี้ยงในกระชังถึงร้อยละ 80 – 87 จัดว่าคุ้มค่าทางเศรษฐกิจอย่างมาก เป็นทางออกที่ดีสำหรับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลและเป็นแนวทางในการลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเลี้ยงปลานิล



รูปที่ 12 ปลานิลมีตาโปนขุ่นขาว เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส

4. โรค Epitheliocystis

มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียแกรมลบขนาดเล็กคล้ายริกเกตเซีย (a rickettsia-like organism หรือ *Piscirickettsia* sp.) มักสร้างปัญหาในลูกปลานิลขนาดเล็ก หากติดเชื้อรุนแรงทำให้ปลาตายได้ ปลาที่ติดเชื้อนี้จะพบรอยโรคมีลักษณะคล้ายซีสต์บริเวณเซลล์ของซี่เหงือก (รูปที่13) ทำให้เกิดปัญหาในการแลกเปลี่ยนออกซิเจน เบญจพรและคณะ (เบญจพร สัมฤทธิเวช, ปวีณา ทวีกิจการ, เต็มดวง สมศิริ และชลดา มีอนันต์, 2552) แนะนำว่า การเปลี่ยนถ่ายน้ำ ใส่เกลือ 1 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร หรือ ฟอร์มาลิน 30 ซีซีต่อน้ำ 1,000 ลิตร มีผลทำให้จำนวนซีสต์ บริเวณเหงือกลูกปลานิลลดลง

รูปที่ 13 ลูกปลาเป็นโรค Epitheliocystisติดเชื้อแบคทีเรีย ลักษณะเป็นซีสต์บริเวณซี่เหงือกสีน้ำตาลเหลือง

โรคติดเชื้อแบคทีเรียมักจะเป็นการติดเชื้อภายใน ซึ่งต้องรักษาด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะ โดยทั่วไปปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรียจะมีการตกเลือดหรือเป็นแผลฝีบริเวณผิวลำตัว รอบตาและปาก บางครั้งจะพบว่าท้องบวม ตาโปน กลุ่มยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ ออกซิเตตร้าซัยคลิน เททราซัยคลิน ออกโซลินิคแอซิค (oxolinic acid) นาลิดิกแอซิค (nalidixic acid) และซัลฟาเมทท็อกซิน/ออเมโทรพริม (sulfamethoxaxde/trimethoprim) ควรใช้ยาติดต่อกัน 5 – 14 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของยา อย่างไรก็ตามไม่ควรใช้ยาต้านจุลชีพในการป้องกันโรค เพราะจะทำให้เกิดการดื้อยา ควรหยุดใช้ยาอย่างน้อย 21 วัน ก่อนจับขาย เพื่อมิให้ยาเกิดการตกค้างในสัตว์น้ำ หากเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียภายนอก เช่น ปลาที่เป็นโรคคอลัมนาลิส ปลาจะมีลักษณะตัวด่าง โรคนี้อาจเกิดขึ้นหลังจากการเคลื่อนย้ายปลา หรือช่วงที่มีอากาศเปลี่ยนแปลงกะทันหัน ช่วงอากาศเย็น หรือช่วงฝนตกหนัก การรักษาอาจทำได้โดยใช้ยาเหลือง (acriflavin) แช่ในอัตราความเข้มข้น 1 – 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

โรคติดเชื้อไวรัส

โรคนี้ไม่สามารถตรวจวินิจฉัยตามห้องปฏิบัติการทั่วไปและไม่สามารถใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษามีรายงานว่า เชื้อไวรัส Bohleiridovirus เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคควงสว่าน (spinning tilapia syndrome) ในปลา *O. mossambicus* (Ariel & Owens, 1997) ส่วนไวรัส aquatic birnavirus สามารถเพิ่มจำนวนและก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในม้าม (infectious pancreatic necrosis) ในลูกปลานิลที่เลี้ยงหนาแน่นสูง (Cy et al., 2003) มีการแยกเชื้อไวรัส Nodavirus จากปลานิล *O. mossambicus* และปลานิล *O. niloticus* (Skliris & Richards, 1999)

สำหรับปลานิลในประเทศไทยมีรายงานว่าได้แยกเชื้อไวรัสคล้ายรีโอไวรัส (Reo-like virus) จากปลานิลที่ตายด้วยโรคระบาดโดยสถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์น้ำจืด ในช่วงปี พ.ศ. 2551 ปลานิลป่วยจะมีอาการซึมมีจุดเลือดตามลำตัวเหงือกและตับมีสีซีดลง อย่างไรก็ตามปลานิลที่ติดเชื้อไวรัสนี้มักมีการติดเชื้อแบคทีเรียและปรสิตร่วมด้วยจึงทำให้ปลาที่ป่วยมีอัตราการตายสูง (สุดา ตัณฑวณิช และคนอื่น ๆ., 2554)

โรคปลาที่เกิดจากเชื้อรา

เชื้อราที่พบเป็นกลุ่ม *Achly* sp. หรือ *Saprolegnia* sp. โดยพบสปอร์ของเชื้อราอยู่ทั่วไปในแหล่งน้ำ ส่วนใหญ่จะติดเชื้อในไข่ที่มีการฟักที่ไม่ดี มักเป็นการติดเชื้อแทรกซ้อน (secondary infection) คือมีปรสิตภายนอกหรือเชื้อแบคทีเรียเช่นแอโรโมแนสเข้าทำอันตราย

ผิวหนังปลาก่อน (สุดา ตัณฑวณิช และคนอื่น ๆ., 2554) หรือเมื่อปลาเกิดบาดแผลจากการจับและบอบช้ำจากการขนส่ง เชื้อราสามารถที่จะไปเจริญบนบาดแผลดังกล่าว ทำให้เห็นเป็นปุยสีขาวหรือสีน้ำตาลปรากฏอยู่ สารเคมีใช้ในการรักษา คือฟอร์มาลินและด่างทับทิม เนื่องจากส่วนใหญ่แล้วการติดเชื้อจะเกิดขึ้นมาจากสาเหตุอื่นเหนี่ยวนำมาก่อน ดังนั้นควรตรวจหาสาเหตุเบื้องต้นว่า ทำไมปลาจึงติดเชื้อราเพื่อจะได้แก้ไขที่ต้นเหตุ

โรคไม่ติดเชื้อ

สามารถแบ่งได้เป็นโรคที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม โรคที่เกิดจากอาหารและโรคที่เกิดจากความบกพร่องทางพันธุกรรม

โรคที่เกิดจากสิ่งแวดล้อม

สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจแก่วงการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจำนวนมาก ซึ่งอาจเกิดจากปัญหาออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำมีปริมาณต่ำ (ไม่ควรต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร) การเลี้ยงปลาในอัตราที่หนาแน่นเกินไป เมื่อเลี้ยงไประยะหนึ่งปลาจะว่ายน้ำลอยหัวในช่วงเช้า ถ้าไม่รีบแก้ไข ปลาจะทยอยตาย สาเหตุเกิดจากออกซิเจนในบ่อไม่เพียงพอ หรือมีปริมาณแอมโมเนียในรูปที่ไม่มีประจุสูง (ค่าที่เหมาะสมไม่ควรเกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร) ควรมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำหรือใช้เครื่องตีน้ำหรือดูดน้ำพ่นไปในอากาศเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในบ่อ

ปัญหาความแปรปรวนของสภาพอากาศเป็นปัญหาที่อยู่เหนืออำนาจเกษตรกรที่จะควบคุมได้ ผู้เลี้ยงปลาต้องเฝ้าระวังไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิน้ำอย่างรวดเร็วเกินไป การจัดการคุณภาพน้ำที่ดีจะเป็นวิธีการในการป้องกันโรคที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมได้ ในช่วงฤดูหนาวต้องสังเกตว่ามีปลาในแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นโรคหรือไม่ หากเจอปลาในแหล่งน้ำเป็นโรค ให้รีบปิดทางน้ำเข้าและหยุดการเติมน้ำจากบ่อธรรมชาติ

ระมัดระวังอย่าให้ปลาบอบช้ำเมื่อมีการขนย้ายปลา อาจใช้เกลือแกง 0.5 – 1% เพื่อลดความเครียดจากการขนส่งและเคลื่อนย้ายปลา

ปลาที่ได้รับสารพิษในปริมาณมาก อาจจะเป็นพิษจากยาฆ่าแมลง ยาปราบวัชพืช หรือ น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม อาจทำให้ปลาตายจำนวนมาก มักพบการขับเมือกออกจากตัวจำนวนมาก กระพุ้งแก้มเปิดกว้าง การตายในลักษณะนี้แก้ไขได้ยาก ต้องมีการป้องกันที่ดี ผู้เลี้ยงปลาในกระชังในแม่น้ำต่าง ๆ ควรมีการร่วมมือกันสร้างเครือข่ายในการตรวจสอบคุณภาพน้ำและอนุรักษ์แหล่งน้ำให้มีคุณภาพดีเพียงพอในการเลี้ยงปลา รวมทั้งช่วยเตือนภัยยามที่เกิดปัญหาน้ำหลาก น้ำท่วม หรือการลอบปล่อยน้ำทิ้งที่ไม่ได้บำบัดลงสู่แหล่งน้ำ

บ่อที่เลี้ยงปลามาแล้วหลายรุ่น หากไม่มีการลอกเลนทำให้เกิดการสะสมของเสียต่าง ๆ ที่พื้นบ่อ เกิดสารพิษที่เป็นอันตรายต่อปลา ทำให้ปลาโตช้า เกิดโรคได้ง่าย รวมทั้งอาจส่งผลให้ปลามีกลิ่นโคลนและขายได้ราคาไม่ดี ดังนั้นก่อนปล่อยปลาเลี้ยงทุกครั้งต้องมีการเตรียมบ่อที่ดี กำจัดเลนก้นบ่อ ตากบ่อให้แห้งสนิท ปรับสภาพพื้นบ่อด้วยปูนขาว ระวังไม่ให้อาหารมากจนเกินไป

โรคที่เกิดจากอาหาร

ในช่วงฤดูหนาวปลาจะกินอาหารลดลง เราจะต้องปรับปริมาณอาหารที่ให้ลงด้วย เพื่อไม่ให้อาหารเหลือและน้ำในบ่อเน่าเสีย ควรจัดหาอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารครบถ้วน จัดเก็บไว้ในที่แห้ง และไม่ควรจัดเก็บเกิน 3 เดือน อย่างไรก็ตาม จากการสังเกตพบว่าการให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปมากเกินความจำเป็นทำให้ปลานิลอ้วนและมีก้อนไขมันสะสมในช่องท้องจำนวนมาก ถุงน้ำดีจะขยายขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้ปลาเหล่านี้อ่อนแอและตายได้ง่ายหากสภาพแวดล้อมไม่ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lim *et al.* (Lim, Yildirim-Aksoy, Li, Welker, & Klesius, 2009) ที่รายงานว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงกว่า 12% จะเจริญเติบโตช้าและมีไขมันสะสม ปลามีงานวิจัยหลายชิ้นทดลองให้อาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันปลานิล เช่น ชนกันต์และคณะ (ชนกันต์ จิตมนัส, น้ำเพชร ประกอบศิลป์ และสุฤทธิ์

สมบูรณ์ชัย, 2549) ได้ทดลองใช้กระเจี๊ยบแดงในการผสมอาหารเพื่อเลี้ยงปลานิล พบว่า กระเจี๊ยบแดงสามารถช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะแต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตรารอดตายและอัตราแลกเนื้อของปลา Christybapita *et al.* (Christybapita, Divyagnaneswari, & Michael, 2007) ได้ใช้ใบกระเม็ง (*Eclipta alba*) ผสมอาหารให้ปลานิล พบว่า ปลานิลมีภูมิคุ้มกันโรคแบบไม่จำเพาะเพิ่มสูงขึ้นและมีอัตราการตายลดลงเมื่อทดสอบให้ปลาได้รับเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*

โรคที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม

ทำให้ปลามีลักษณะร่างกายที่ไม่สมบูรณ์ อ่อนแอ ติดโรคได้ง่าย อัตรารอดต่ำ สาเหตุน่าจะมาจากการใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวนน้อยคู่ ทำให้เกิดการผสมเลือดชิดสายพันธุ์มีผลต่อการต้านทานโรค Cai (Cai, Li, & Ma, 2004) กล่าวว่า ปลานิลลูกผสมระหว่างปลานิลเพศเมีย (*Oreochromis niloticus*) กับ blue tilapia (*Oreochromis aureus*) เพศผู้ ทนต่อโรคที่ดีขึ้น

การตายของปลานิลและโรคระบาดปลา ส่วนใหญ่มีสาเหตุเหนี่ยวนำมาจากปลาเกิดอาการเครียด เนื่องจากคุณภาพน้ำที่แย่ลง การเลี้ยงที่หนาแน่นเกินไป การเลี้ยงปลาในน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำ การให้อาหารไม่เพียงพอ การตัดสินใจในการรักษาโรคปลานั้น ต้องวินิจฉัยโรคให้ถูกต้องก่อน ว่า ปลาเกิดโรคจากการติดเชื้ออะไร หรือปลาเป็นโรคไม่ติดเชื้อ เพื่อที่จะทำการป้องกันรักษาได้ถูกต้องและทันเวลา ส่วนใหญ่โรคระบาดปลา มักจะเกิดจากสาเหตุร่วมกันของเชื้อโรคและสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม การรักษาป้องกันจึงต้องใช้วิธีการจัดการควบคู่ไปกับการใช้ยาและสารเคมี ควรมีการปรึกษานักวิชาการประมงหรือสัตวแพทย์ใกล้บ้าน เนื่องจากการใช้ยาในบ่อขนาดใหญ่อาจจะไม่คุ้มค่ากับค่ายา

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2555

เอกสารอ้างอิง

เบญจพร สัมฤทธิเวช, ปวีณา ทวีกิจการ, เต็มดวง สมศิริ และชลดา มีอนันต์. (2552). *การรักษาโรค epitheliocystis ในลูกปลานิล การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. 17 – 20 มีนาคม 2552.* กรุงเทพ ฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชนกันต์ จิตมนัส, น้ำเพชร ประกอบศิลป์ และสุฤทธิ์ สมบูรณ์ชัย. (2549). การใช้กระเจี๊ยบแดงผสมอาหารเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลานิล. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

นเรศ ซ่วนยุก, หิรัญ กังแฮ, เรวัตร คงประดิษฐ์และกิจการ ศุภมาตย์. (2009). โรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในปลานิล *(Oreochromis niloticus). Vet Microbiol, 14* (136), 180–183.

นิลุบล กิจอันเจริญ, ชุติมา หาญจวณิช และนงนุช สุวรรณเพ็ง. (2549). ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล. วารสารวิจัย มข, *11*, 53–61.

ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง. (2552). สถิติการประมง ปี 2552. กรมประมง. ค้นจาก http://www.fisheries.go.th/it-stat/yearbook/

สำนักงานสารสนเทศ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (2553). ผลงานวิจัยจากคณาจารย์จุฬาฯ 5 ใน 12 ผลงานวิจัยเด่น สกว. ปี 2553. ค้นจาก http://www.

chula.ac.th/idcucm1/groups/guniverity/documents/ cu_ researchawards/cu_p012011.pdf

สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง. (2555). โครงการยกระดับมาตรฐานฟาร์มปลานิลเพื่อการส่งออก. ค้นจาก http://www.fisheries.go.th/freshwater/web3/

สุดา ตัณฑวณิช, เต็มดวง สมศิริ, วรวิทย์ มณีพิทักษ์สันติ, จารี ผลชนะ, วารินี ปัญญาวชิร, ฐิติพร หลาวประเสริฐ, ... จิราภรณ์ บำรุงกิจ. (2554). โรคปลานิล. กรุงเทพ ฯ: สถาบันวิจัยสุขภาพน้ำจืด กรมประมง.

Abd El-Galil, M. A. A., & Aboelhadid, S. M. (2012). Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic. *Veterinary parasitology, 185*(2-4), 57–63. doi:10.1016/j.vetpar.2011.10.035

Ariel, E., & Owens, L. (1997). Epizootic mortalities in tilapia *Oreochromis mossambicus. Diseases of aquatic organisms, 29*(1), 1–6.

Cai, W., Li, S., & Ma, J. (2004). Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia×male blue tilapia) to Aeromonas sobria. *Aquaculture, 229*(1-4), 79–87. doi:10.1016/S0044-8486(03)00357-0

Chitmanat, C., Tongdonmuan, K., &Nunsong, W. (2005). The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate Trichodina sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Songklanakarin Journal of Science and Technology, 27* (Suppl.1), 359–364.

Christybapita, D., Divyagnaneswari, M., & Michael, R. D. (2007). Oral administration of Ecliptaalba leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish & shellfish immunology, 23* (4), 840–852. doi:10.1016/j.fsi.2007.03.010

Cy T., Yh L., Yl W., Cw S., Sw H., & Ws *Wang. (2003). In vitro and in vivo replication of aquatic birnavirus in tilapia (*Oreochromis aureus*) tissues. *Taiwan Veterinary Journal, 29*(4), 323–332.

Eldar, A., Shapiro, O., Bejerano, Y., &Bercovier, H. (1995). Vaccination with whole-cell vaccine and bacterial protein extract protects tilapia against *Streptococcus difficile* meningoencephalitis. *Vaccine, 13*(9), 867–870.

Evans, J. J., Klesius, P. H., & Shoemaker, C. A. (2004). Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration. *Vaccine, 22*(27-28), 3769–3773. doi:10.1016/j.vaccine.2004.03.012

Ghiraldelli, L., Laterca Martins, M., Barros Adamante, W., & Yamashita, M. (2006). First

Record of Trichodinacompacta Van As and Basson, 1989 (Protozoa: Ciliophora) from Cultured Nile Tilapia in the State of Santa Catarina, Brazil. *International Journal of Zoological Research, 2*(4), 369–375. doi:10.3923/ijzr.2006.369.375

Guimarães, A. T. B., Silva de Assis, H. C., & Boeger, W. (2007).The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus. Ecotoxicology and environmental safety, 68*(1), 57–62. doi:10.1016/j.ecoenv.2006.08.005

Klesius, P. H., Shoemaker, C. A., & Evans, J. J. (2000). Efficacy of single and combined *Streptococcus iniae* isolate vaccine administered by intraperitoneal and intramuscular routes in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture, 188* (3-4), 237–246. doi:10.1016/S0044-8486(00) 00345-8

Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Li, M. H., Welker, T. L., &Klesius, P. H. (2009). Influence of dietary levels of lipid and vitamin E on growth and resistance of Nile tilapia to *Streptococcus iniae* challenge. *Aquaculture, 298,* 76–82. doi:10.1016/j.aquaculture.2009. 09.025

Mian, G. F., Godoy, D. T., Leal, C. A. G., Yuhara, T. Y., Costa, G. M., & Figueiredo, H. C. P. (2009). Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. *Veterinary microbiology, 136*(1-2), 180–183. doi:10.1016/j.vetmic.2008.10.016

Piumsombun, S. (2003). Analysis of demand for fish consumed at home in Thailand. *Fisheries Gazette, 56,* 113–121.

Pridgeon, J. W., & Klesius, P. H. (2011). Development and efficacy of a novobiocin-resistant *Streptococcus iniae* as a novel vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Vaccine, 29*(35), 5986–5993. doi:10.1016/j.vaccine.2011.06.036

Skliris, G. P., & Richards, R. H. (1999). Nodavirus isolated from experimentally infected tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Journal of Fish Diseases, 22*(4), 315–318. doi:10.1046/j.1365-2761.1999.00171.x