เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2560; 15(1): 15-24. DOI: 10.14456/cmvj.2016.2

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร

Chiang Mai Veterinary Journal

ISSN; 1685-9502 (print) 2465-4604 (online)

Website; www.vet.cmu.ac.th/cmvj

บทความปริทัศน์

การประยุกต์ใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงปลานิล

ชาญวิทย์ สุวรรณ์ และ ชนกันต์ จิตมนัส *

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ บทความนี้มีจุดประสงค์เพื่อรวบรวม เรียบเรียงและสังเคราะห์งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงปลานิล แหล่งของโพรไบโอติกที่นำมาใช้อาจจะแยกมาจากทางเดินอาหาร อวัยวะสืบพันธุ์ น้ำหรือดินในบ่อเลี้ยงปลา หรือผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายในท้องตลาดทั่วไป ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละแหล่งจะให้ผลที่แตกต่างกัน มีการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งชนิดเดียวและหลายชนิดในรูปผสมอาหารปลา ใส่ในน้ำหรือในบ่อเลี้ยง ปริมาณและระยะเวลาที่ใช้โพรไบโอติกจะให้ผลที่แตกต่างกัน โดยโพรไบโอติกจะช่วยเร่งการเจริญเติบโต เสริมภูมิคุ้มกันและเพิ่มอัตรารอดของปลานิล เป็นแนวทางในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในการเลี้ยงปลา อย่างไรก็ตามผู้ใช้ควรคำนึงถึงต้นทุนผลตอบแทนของการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วย

คำสำคัญ โพรไบโอติก ปลานิล ภูมิคุ้มกันปลา

* **ผู้รับผิดชอบบทความ** ชนกันต์ จิตมนัส คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

อีเมล์: chanagun1@hotmail.com

ข้อมูลบทความ *วันที่ได้รับบทความ 12 มกราคม พ.ศ.2560 วันที่ได้รับการตีพิมพ์ 8 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2560 วันที่ตีพิมพ์ออนไลน์ 14 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2560*

Review article

The application of probiotics for Tilapia culture

Chanwit Suwan and Chanagun Chitmanat*

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Sansai, Chiangmai 50290

Abstract This article aimed to gather and synthesize the researches about the use of probiotics in tilapia culture. Probiotics could be isolated from gastrointestinal tract, gonad organs, water and sediments from fish ponds, or commercial products. However, probiotics from different sources provide the different effects. Probiotic applications can be either mono or multiple strains which apply by mixing into the feed or putting directly into the ponds. Dosage and duration of application are important factors in providing desired results including growth promotion, immune stimulation, and increased survival rates of tilapia. The probiotic application in tilapia culture is an alternative mean to reduce antibiotic and chemical usages; however, fish farmers have to consider about the cost/benefit of its usages.

Keywords; probiotic, tilapia, fish immunity

* **Corresponding author**: Chanagun Chitmanat, Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Sansai, Chiangmai 50290
E-mail; chanagun1@hotmail.com

Article history; *received manuscript: 12 January 2017, accepted manuscript: 8 February 2017, published online: 14 February 2017*

บทนำ

ปลานิลเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เลี้ยงง่าย โตเร็ว รสชาติดี ทนต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวน อัตราการขยายตัวของผลผลิตปลานิลของไทยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา โดยปริมาณเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อปีร้อยละ 7 ซึ่งในปี พ.ศ. 2556 มีผลผลิตปลานิลจำนวน 197,925 ตัน (Noorit, 2014) อย่างไรก็ตาม ปัญหาเรื่องโรคระบาดเป็นอุปสรรคหลักที่ทำให้เกษตรกรขาดทุน รายงานของ Chitmanat *และคณะ* (2016) พบว่าฟาร์มส่วนใหญ่ (ร้อยละ 84) ประสบปัญหาเรื่องโรคปลานิล จึงมีการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีจำนวนมากในการป้องกันและรักษาโรคสัตว์น้ำ ซึ่งอาจจะทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อโรค และก่อให้เกิดสารตกค้างในเนื้อปลาและสิ่งแวดล้อม ทำให้ผู้บริโภคไม่ต้องการ จึงมีการคิดวิธีหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะโดยเปลี่ยนไปอาศัยการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่ปลาได้สัมผัสอย่างต่อเนื่อง นำมาคัดกรองเพื่อพัฒนาเป็นโพรไบโอติก (probiotic)

มีงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้โพรโบโอติกในสัตว์น้ำหลายชนิด แต่รายงานการใช้โพรไบโอติกในปลานิลมีไม่มาก บทความนี้เป็นการสืบค้นและสังเคราะห์งานวิจัยเกี่ยวกับประสิทธิภาพของการใช้โพรไบโอติกในปลานิล รวมไปถึงแนวคิดในการสร้างงานวิจัยเพื่อให้เกษตรกร นักวิชาการหรือผู้มีส่วนได้ส่วนเสียนำไปปรับใช้ในธุรกิจการเพาะเลี้ยงปลานิลให้ประสบผลสำเร็จอย่างยั่งยืน

ความสำคัญของโพรไบโอติกต่อการเลี้ยงสัตว์น้ำ

โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อบริโภคเข้าไปในปริมาณที่เหมาะสมจะให้ผลดีต่อสุขภาพ ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันและป้องกันปลาจากเชื้อโรค มีความปลอดภัยต่อปลาและผู้บริโภคปลา ไม่เป็นเชื้อก่อโรค โพรไบโอติกที่มีศักยภาพในการนำใช้มาผสมอาหารปลา ได้แก่ *Bacillus* sp., *Lactobacillus brevis*, *L. collinoides*, *L. coryniformis*, *L. Farciminis*, *Psychrobacter namhaensis* และ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งสามารถแยกได้จากทางเดินอาหารปลานิล น้ำและดินในบ่อเลี้ยงปลา (Del'Duca *et al*., 2015) อย่างไรก็ตามชนิดและแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ ระยะเวลาและปริมาณที่ใช้จะมีผลต่อการเจริญเติบโตและความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน จึงจำเป็นต้องมีความเข้าใจเกี่ยวกับขบวนการทำงานเพื่อช่วยให้การใช้โพรไบโอติกอย่างถูกต้องและให้ผลชัดเจน

กลไกการทำงานของโพรไบโอติก

1. ความสามารถในการรวมกลุ่มและยึดเกาะ

โพรไบโอติกให้ผลเหมือนสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดอื่น คือ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน เพิ่มการเจริญเติบโต ทำให้เกิดสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร (Merrifield *et al*., 2010) แต่โพรไบโอติกเป็นสิ่งมีชีวิต หากมีการคงอยู่หรือเพิ่มจำนวนในตัวปลาอาจจะทำให้ประสิทธิภาพการทำงานดีกว่าสารกระตุ้นที่ไม่มีชีวิต จุลินทรีย์โพรไบโอติกจะแก่งแย่งพื้นที่ยึดเกาะกับเชื้อที่ก่อโรคและสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Newaj-Fyzul *et al*., 2014) การพบ *B. amyloliquefaciens* ในทางเดินอาหารของปลานิลแสดงให้เห็นถึงการรวมกลุ่มของแบคทีเรียซึ่งมีความจำเป็นในการทำงาน (Ridha *et al*., 2012) จุลินทรีย์โพรไบโอติกมีชีวิตในทางเดินอาหารปลานิลนานถึง 48 ชั่วโมง หลังปลากินเข้าไป (Shelby *et al*., 2006) ปลานิลที่ได้อาหารผสม

B. subtilis C-3102 จะมีปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น มีการทำงานของไซโตไคน์เพิ่มขึ้น (IL-1b, TGF-b และ TNF-a) แต่ฮีทช็อคโปรตีน (HSP70) ซึ่งทำหน้าที่ช่วยในการม้วนพับโปรตีน ไม่ให้โปรตีนเสียสภาพเมื่อโดนความร้อน ช่วยในการสร้างภูมิคุ้มกันเมื่อร่างกายอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม กลับมีการทำงานลดลง รายงานของ Zhang *et al*. (2013) และ Makled *et al*. (2017) ถึงผลของโพรไบโอติกที่มีต่อการแสดงออกของยีนฮีทช็อคโปรตีน พบว่ามีความแตกต่างกัน ขึ้นกับหลายปัจจัยเช่น ชนิดของสัตว์น้ำ ขนาดของสัตว์น้ำ ปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ ระยะเวลาและสภาพแวดล้อมของสัตว์น้ำที่เลี้ยง

2. การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น

การใช้โพรไบโอติกมีส่วนช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลานิล โดยปลาที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติก *B. subtilis*, *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* จะมีเม็ดเลือดแดงที่แข็งแรงสมบูรณ์ ระดับเม็ดเลือดขาวที่สูงขึ้นและมีการทำงานของ Respiratory burst activity ดีขึ้น (Iwashita *et al*., 2015) ความหนาแน่นของปลาที่เลี้ยงมักเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดความเครียดและอาจจะทำให้ปลาโตช้าลง การให้โพรไบโอติกเหมาะสำหรับการเลี้ยงสัตว์น้ำในความหนาแน่นที่สูง พบว่าปลานิลที่ให้อาหารผสม *B. subtilis* ที่เลี้ยงในความหนาแน่นที่สูง (ปลา 62.50 ตัวต่อตารางเมตร ปลาขนาดเฉลี่ยตัวละ 32 กรัม) มีปริมาณไลโซไซม์ต่ำลง (Telli *et al*., 2014) ทั้ง *B. pumilus* และ *P. fluorescens* ช่วยปรับการตอบสนองของการกระตุ้นภูมิคุ้มกันปลานิล (Eissa *et al*., 2014)

3. ความสามารถในการคุ้มกันโรค

โพรไบโอติกจาก *Bacillus* sp. ช่วยลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas* spp.และ *Pseudomonas* spp. ในทางเดินอาหารปลานิล (Del'Duca *et al*., 2013) ในขณะที่เชื้อ *B. pumilus* และ *P. fluorescens* ช่วยทำให้ปลามีสุขภาพดีและมีความสามารถในการต้านทานโรคที่ดีขึ้น (Eissa *et al*., 2014) ปลาที่ได้รับอาหารผสม *B. subtilis* จะมีความสามารถในการต้านทานแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* สูงขึ้น ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารผสม *L. brevis* ช่วยป้องกันแบคทีเรีย *Aromonas hydrophila* (Liu *et al*., 2013)

ปลานิลที่ได้รับอาหารมี *L. acidophilus* ผสมอยู่สามารถช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยศึกษาจากการแสดงออกของยีน *IL-1*β และ *transferrin* เมื่อทดสอบความต้านทานเชื้อ *A. hydrophila* (Villamil *et al*., 2014) พบว่าอัตรารอดชีวิตของปลานิลหลังจากได้รับเหนี่ยวนำให้เกิดโรคกับเชื้อ *A. hydrophila* และ *S. iniae* ในปลากลุ่มที่ได้กินอาหารผสม *B. subtilis*, *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* เพิ่มมากขึ้น (Iwashita *et al*., 2015) พบว่าจุลินทรีย์ *L. pla*ntarum JCM 1149 ลดความรุนแรงของการติดเชื้อ *A. hydrophila* NJ-1 ในลำไส้ปลานิลลูกผสม (Ren *et al*., 2013) โพรไบโอติกจากเชื้อ *B. pumilus* ช่วยควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* (Aly *et al*., 2008) อาหารที่เสริมยีสต์ลดการตายของปลา (Abdel-Tawwab *et al*., 2008)

4. การเร่งการเจริญเติบโตและเพิ่มอัตรารอด

ปลานิลที่ได้อาหารผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก 3 ชนิดมีการกินอาหารดีขึ้น ทำให้การดูดซึมอาหารเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตดีและอัตราแลกเนื้อต่ำลง (Newaj-Fyzul *et al*., 2014) Essa *et al*. (2014) รายงานว่า การทำงานของเอนไซม์อะไมเลส โปรเตส และไลเปสในลำไส้ปลานิลที่กินอาหารเสริม *B. subtilis* และ *L. rhamnosus* ดีขึ้น ซึ่งอาจจะมีส่วนทำให้ปลาโตได้เร็วขึ้น โพรไบโอติกจากเชื้อ *Enterococcus faecium* ช่วยเพิ่มน้ำหนักปลานิล (Wang *et al*., 2008) ส่วนโพรไบโอติกจากเชื้อ *B. amyloliquefaciens* นอกจากเพิ่มการเจริญเติบโตแล้วยังทำให้อัตราแลกเนื้อลดลง

(Ridha *et al*., 2012) โพรไบโอติก *B. pumilus* ทำให้อัตราเจริญเติบโตปลานิลดีขึ้น (Aly *et al*., 2008) ปลานิลที่ได้รับอาหารผสม *L. acidophilus* มีอัตรารอดที่สูงขึ้นเมื่อทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* (Villamil *et al*., 2014) อัตรารอดของปลาสูงขึ้นหลังจากให้อาหารผสม *B. subtilis* หรือ *L. acidophilus* นาน 1 ถึง 2 เดือน (Aly *et al*., 2008) ยีสต์ *S. cerevisiae* ทำให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นมากกว่าการใช้โพรไบโอติก *S. faecium* ผสมกับ *L. acidophilus* (Meurer *et al*., 2006)

แหล่งที่มาของโพรไบโอติก

จุลินทรีย์หลายชนิดถูกนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทั้งแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก เช่น Lactobacili, Lactococci, Leuconostoc, Enterococci, Carnobacteria, Shewanelli, Bacilli, Aeromonas, Vibrio, Enterobacter, Pseudomonas, Clostridium และ Saccharomyces (Nayak, 2010) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะพบได้ทั่วไปในทางเดินอาหารของสัตว์ (Newaj-Fyzul *et al*., 2014) มีการแยกจุลินทรีย์โพรไบโอติกจากลำไส้ปลานิล น้ำและดินในบ่อเลี้ยงปลา (Apún-Molina *et al*., 2009) หรือแม้แต่จากอวัยวะสืบพันธุ์ (El-Rhman *et al*., 2009) รวมทั้งการใช้จุลินทรีย์ที่มีขายเชิงพาณิชย์ (Standen *et al*., 2016) มีรายงานการศึกษาพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescens*, Aeromonas และ Vibrio ซึ่งก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำบางชนิด แต่หากแยกจากปลานิลที่อาศัยในแหล่งน้ำกร่อย สามารถนำมาเป็นโพรไบโอติกสำหรับปลานิลที่เลี้ยงในน้ำจืดได้ (Eissa *et al*., 2014) ในปี 2017 Makled และคณะได้แยกเชื้อแบคทีเรีย *P. namhaensis* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในทะเลและและทนต่ออุณหภูมิต่ำมาใช้เสริมอาหารปลานิล

มีการใช้โพรไบโอติกกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) อย่างกว้างขวางในมนุษย์ สัตว์บกและสัตว์น้ำ (Apún-Molina, *et al*., 2009) ได้แก่ *L. acidophilus* (Aly *et al*., 2008), *L. brevis* (Liu *et al*., 2013), *L. plantarum* (Ren, *et al*., 2013) นอกจากนี้มีการใช้ *B. subtilis*, *B. pumilus* (Aly et al., 2008) *B. amyloliquefaciens*, *Aspergillus oryzae* (Iwashita *et al*., 2015), *Bifidobacterium bifiduim* (Ayyat *et al*., 2014) , *E. faecium* (Wang *et al*., 2008), *Micrococcus luteus* (El-Rhman *et al*., 2009), *Pediococcus acidilactici* (Standen *et al*., 2013), *P. fluorescens* (Eissa *et al*., 2014) *Psychrobacter namhaensis* (Makled *et al*., 2017; Saad *et al*., 2017) *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (ชื่อเดิม คือ *Streptococcus thermophilus*) (Ayyat *et al*., 2014) เบเกอร์ยีสต์ (Baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae*) (Abdel-Tawwab *et al*., 2008) ซึ่งจุลินทรีย์หลายชนิดถูกผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ (Ng *et al*., 2014)

การให้โพรไบโอติกแก่ปลานิล

1. วิธีการให้

มีการให้โพรไบโอติกผสมในอาหารสัตว์น้ำทั้งในการทำเป็นอาหารเม็ด อาหารผง อาหารแผ่น การเคลือบบนอาหารสำเร็จรูป หรือการใช้อาหารมีชีวิตเป็นตัวนำพาโพรไบโอติก แต่ก็มีการใส่โพรไบโอติกลงไปในน้ำโดยตรง (Apún-Molina *et al*., 2009) ซึ่งยังไม่มีการยืนยันชัดเจนว่า วิธีการใดจะให้ผลที่ดีกว่า หากใช้โพรไบโอติกแบบแห้งควรบ่มพร้อมเติมอากาศ 16 ถึง 18 ชั่วโมง (Fečkaninová *et al*., 2017)

2. ปริมาณที่ใช้

มีการใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงปลานิลในปริมาณที่แตกต่างกัน แต่ส่วนใหญ่จะใช้ผสมอาหารที่ความเข้มข้น 10^5 – 10^9 CFU/g (Hai *et al*., 2015) มีการใช้ *B. subtilis* C-3102 ความเข้มข้น 10^5 CFU/g ผสมในอาหาร พบว่า ส่งผลดีต่อสุขภาพปลานิล (Zhang *et al*., 2014) โพรไบโอติก *B. subtilis* ความเข้มข้น 5 X 10^6 CFU/g ผสมในอาหาร จะช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (Telli *et al*., 2014) การใช้จุลินทรีย์ *P. acidilactici* ความเข้มข้น 2.81 X 10^6 CFU/g เสริมในอาหารปลานิล จะช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Standen *et al*., 2013) นอกจากนี้มีการเสริม *P. fluorescens* ในอาหาร ที่ความเข้มข้น 10^8 CFU/g จะช่วยทำให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตและการต้านทานโรคที่ดีขึ้น (Eissa *et al*., 2014) การใช้แบคทีเรียรวมกันสามชนิด ได้แก่ *B. subtilis*, *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* ในปริมาณ 5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม (ความเข้มข้น 1.5 X 10^9, 10^9 และ 2 X 10^9 CFU/g ตามลำดับ) หรือ 10 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม (ความเข้มข้น 3.0 X 10^9, 2.0 X 10^9 และ 4.0 X 10^9 CFU/g ตามลำดับ) ก่อให้เกิดผลดีต่อปลานิล (Iwashita *et al*., 2015) อาหารผสม *L. brevis* ความเข้มข้น 10^9 CFU/g ช่วยป้องกันปลานิลลูกผสม (*O. niloticus* X *O. aureus*) ต่อเชื้อ *A. hydrophila* (Liu *et al*., 2013) ในปี 2016 Standen และคณะ ทดลองใช้โพรไบโอติก (AquaStar® Growout) ขนาด 3 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ใช้ติดต่อกันนาน 6 สัปดาห์ พบว่าปลานิลมีการเจริญเติบโตและการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในลำไส้ดีขึ้น

มีการทดลองใช้โพรไบโอติกใส่ลงไปในน้ำ ความเข้มข้น 10^7 – 10^9 CFU/ml พบว่า การใช้ *L. plantarum* JCM 1149 ความเข้มข้น 1.0 X 10^9 CFU/ml ช่วยให้ลดการอักเสบของลำไส้ปลานิล (*O. niloticus* X *O. aureus*) (Ziaei-Nejad *et al*., 2006; Ren *et al*., 2013) จะเห็นว่าปริมาณการใช้โพรไบโอติกใส่ลงในน้ำจะสูงกว่าการใช้ผสมอาหารให้ปลานิลกิน โดยทั่วไปจะใช้ในความเข้มข้น 10^5 CFU/ml จึงจะได้ผล (Ziaei-Nejad *et al*., 2006)

การใช้ยีสต์และสาหร่ายผสมอาหารจะใช้ในปริมาณน้อยกว่าการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยปริมาณที่เหมาะสมของยีสต์ในการผสมอาหารปลานิล คือ 1.0 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Abdel-Tawwab *et al*., 2008) อัตรารอดตายของปลานิลที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ลดลงเมื่อได้รับอาหารผสมสาหร่าย *Spirulina* ในปริมาณที่มากขึ้น โดยปริมาณสาหร่ายที่เหมาะสม คือ 5 ถึง 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Abdel-Tawwab *et al*., 2009)

3. ระยะเวลาที่ให้

มีการให้โพรไบโอติกแตกต่างกันตั้งแต่ 15 ถึง 94 วัน แต่บางรายใช้นานถึง 8 เดือน (Aly *et al*., 2008) แต่ยังไม่มีรายงานว่า ระยะเวลาที่เหมาะสมคือกี่วัน บางครั้งปลานิลที่ได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกไม่ได้เพิ่มการเจริญเติบโต แต่กลับมีอัตราแลกเนื้อที่ดีขึ้น (Iwashita *et al*., 2015) ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมว่า สภาพแวดล้อมอย่างไรที่ทำให้การทำงานของจุลินทรีย์เหล่านี้เกิดขึ้นได้ดี หรือมีการใช้ในเวลาที่เหมาะสม มีการใช้โพรไบโอติก (*B. subtilis* และ *L. acidophilus*) นาน 1 เดือน พบว่า สามารถป้องกันการตายจากการติดเชื้อ *A. hydrophila* ในขณะที่โพรไบโอติก *L. acidophilus* สามารถป้องกันโรคติดเชื้อ *S. iniae* หลังจากมีการให้เพียง 2 สัปดาห์ (Aly *et al*., 2008) จึงเกิดคำถามว่า ความสามารถในการป้องกันโรคจะมีมากขึ้นหรือไม่ หากมีการใช้อย่างต่อเนื่องหรือมีการใช้ในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น จากการใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงปลานิลนาน 8 เดือน พบว่า ปลามีภูมิคุ้มกันและต้านทานโรคดีขึ้น (Aly *et al*., 2008)

4. การให้จุลินทรีย์ชนิดเดียวหรือใช้หลายชนิดรวมกัน

มีการใช้จุลินทรีย์ชนิดเดียวและร่วมกันหลายชนิด เช่น การใช้ *L. acidophilus* หรือ *B. bifiduim* ผสม

อาหารให้ปลานิลสามารถป้องกันการตายจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* (Ayyat *et al*., 2014) การใช้จุลินทรีย์ *Bacillus* sp. และแบคทีเรียกลุ่ม LAB ไม่ว่าจะเป็นอย่างใดอย่างหนึ่งหรือผสมรวมกัน ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและอัตรารอดของปลานิล (Apún-Molina *et al*., 2009) การใช้ *S. thermophilus*, *L. acidophilus* และ *B. bifiduim* ช่วยลดการตายจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* (Ayyat *et al*., 2014) ปลาที่ได้รับอาหารผสม *B. subtilis*, *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* จะมีความสามารถในการทำลายเชื้อโรคโดยขบวนการจับกินสิ่งแปลกปลอมที่ดีขึ้น โดยวัดจากปฏิกิริยา respiratory burst activity ในขณะที่พบการแตกหักของเม็ดเลือดแดงลดลง (Iwashita *et al*., 2015) โพรไบโอติกสายพันธุ์เดียวจะให้ผลดีน้อยกว่าการใช้โพรไบโอติกผสมกันหลากหลายสายพันธุ์ (Hai *et al*., 2009) ปลานิลที่ได้รับโพรไบโอติกผสมกันระหว่างเชื้อ *B. subtilis* และ *L. acidophilus* จะทำให้ค่าความสามารถในการกำจัดแบคทีเรียในน้ำเลือดสูงขึ้น (Aly *et al*., 2008) อย่างไรก็ตามเหตุการณ์นี้ไม่ได้เกิดขึ้นทุกกรณี เช่น การใช้ B. *subtilis*, *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* ไม่ทำให้การเจริญเติบโตของปลานิลดีขึ้นแต่อย่างใด แม้ว่า ปลาที่ได้รับโพรไบโอติกแต่ละตัวจะมีอัตราแลกเนื้อดีขึ้น (Iwashita *et al*., 2015) ดังนั้นผู้ใช้อาจจะต้องพิจารณาถึงสภาวะแวดล้อมของการเลี้ยงซึ่งอาจจะมีผลทำให้ผลการทดลองแตกต่างกันไป

แนวทางการวิจัยปัจจุบันและอนาคต

ปลานิลกินอาหารที่หลากหลาย ดังนั้นการคัดกรองจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมทำได้ยากและใช้เวลานาน Del'Duca *et al*. (2013) แนะนำว่า ควรใช้เทคนิค Fluorescent in situ Hybridization (FISH) เป็นเครื่องมือเพื่อศึกษาการคงอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหารและความสามารถในการควบคุมเชื้อก่อโรค การใช้เทคนิคทางอนูชีวโมเลกุลเพื่อทำให้เข้าใจกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์เหล่านี้

การเตรียมอาหารผสมโพรไบโอติกมีส่วนทำให้การทำงานของจุลินทรีย์ดีขึ้นในตัวสัตว์น้ำ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องเข้าใจถึงสภาพอุณหภูมิที่เหมาะสมระยะพักตัวและการเก็บอาหารก่อนให้สัตว์น้ำ (Aly *et al*., 2008) กล่าวว่า อาหารที่ผสมโพรไบโอติก (*B. subtilis* และ *L. acidophilus*) สามารถเก็บได้ยาวนานถึง 4 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส การใช้โพรไบโอติกแล้วไม่ให้ผลที่ดีขึ้นอาจจะต้องกลับมาพิจารณาถึงการเก็บรักษาหรือการเตรียมอาหารผสมจุลินทรีย์ก่อนใช้

ผลของจุลินทรีย์ในสัตว์น้ำแต่ละชนิด แต่ละช่วงอายุแตกต่างกัน จึงควรมีการพิจารณาปรับใช้ตามความเหมาะสม แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* จะยังคงอยู่ในทางเดินอาหารปลานิลแม้ว่าจะหยุดการให้อาหารผสมแบคทีเรียดังกล่าว แต่โพรไบโอติก *Lactobacillus* spp. จากโยเกริตจะไม่คงอยู่ในทางเดินอาหาร (Ridha *et al*., 2012) เนื่องจากผลของการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกไม่ชัดเจน ทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาหลายรายไม่เชื่อมั่นในการใช้ จึงจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์ต้นทุนผลตอบแทนในการใช้จุลินทรีย์

บทสรุป

การใช้โพรไบโอติกเป็นทางเลือกในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีในการเลี้ยงปลานิล ทำให้ปลาเจริญเติบโตได้ดี แข็งแรง ต้านทานโรค มีอัตรารอดสูง เป็นแนวทางในการผลิตสัตว์น้ำอินทรีย์ที่มีความปลอดภัยต่อการบริโภค การใช้โพรไบโอติกสำหรับการเลี้ยงปลายุคใหม่ที่มีความหนาแน่นสูงและมีปัญหาน้ำเพื่อการเปลี่ยนถ่ายจึงเป็นสิ่งจำเป็น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บจก. กรีนเทค อควาคัลเจอร์ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม-พวอ. ที่ให้ทุนสนับสนุนบางส่วนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

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

Abdel-Tawwab, M., Ahmad, H.M. 2009., Live Spirulina (*Arthrospira platensis*) as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), challenged with pathogenic *Aeromonas hydrophila*. Aquac. Res. 40, 1037-1046.

Aly, M.S., Abdel-Galil, Y.A., Abdel-Aziz, A.G., Mohamed, F.M., 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 Immunol. 25, 128-136.

Aly, M.S., Abd-El-Rahman, M.A., John, G., Mohamed, F.M., 2008. Characterization of some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics. Aquaculture 277, 1-6.

Aly, M.S., Mohamed, F.M., John, G. 2008., Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). Aquac. Res.39, 647-656.

Apún-Molina, P.J., Santamaría-Miranda, A., Luna-Gonzalez, A., Martínez-Díaz, F.S., Rojas-Contreras, M., 2009. Effect of potential probiotic bacteria on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and suboptimum temperature. Aquac. Res. 40, 887-894.

Ayyat, S.M., Labib H.M., Mahmoud, K.H., 2014. A probiotic cocktail as a growth promoter in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Appl. Aquac. 26, 208-215.

Chitmanat, C., Lebel, P., Whangchai, N., Promya, J, and Lebel, L., 2016. Tilapia diseases and management in river-based cage aquaculture in northern Thailand. Journal of Applied Aquaculture 28, 9 – 16. http://dx.doi.org/10.1080/10454438.2015.1104950

Chiu, H-K., Liu, S-W., 2014. Dietary administration of the extract of *Rhodobacter sphaeroides* WL-APD911 enhances the growth performance and innate immune responses of seawater red tilapia (*Oreochromis mossambicus Oreochromis niloticus*), Aquaculture. 418-419, 32-38.

Del'Duca, A., Cesar, E.D., Abreu, C.P., 2015. Bacterial community of pond's water, sediment and in the guts of tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles characterized by fluorescent in situ hybridization technique. Aquac. Res. 46,707-715.

Del'Duca, A., Cesar, E.D., Diniz, G.C., Abreu, C.P., 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, 115-121.

Eissa, N., Abou-ElGheit, E., 2014. Dietary supplementation impacts of potential nonpathogenic isolates on growth performance, hematological parameters and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). J. Veterinary Adv. 4 (10), 712-719.

EL-Haroun, R.E., Goda A.M.A.-S., C, M.A. K., 2016. Effect of dietary probiotic Biogen®supplementation as a grow th promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). Aquac. Res. 37, 1473-1480.

El-Rhman, Abd. M.A., Khattab, A.Y., Shalaby, M.A., 2009. *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish Shellfish Immunol. 27, 175-180.

Fuller, R., 1989. A review: probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66, 365-378.

Hai, V.N., 2015. Research findings from the use of probiotics in tilapia aquaculture: A review. Fish & Shellfish Immunology. 45(2), 592 – 597.

Hai, V.N., Buller, N., Fotedar, R., 2009. Effects of probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the growth, survival and immune parameters of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus Kishinouye*, 1896). Aquac. Res. 40, 590-602.

Hai, V.N., Fotedar, R., 2009. Comparison of the effects of the prebiotics (Bio-Mos® and [beta]-1,3-D-glucan) and the customised probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the culture of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus Kishinouye*, 1896). Aquaculture. 289 (3-4), 310-316.

He, S., Zhang, Y., Xu, L., Yang, Y., Marubashi, T., Zhou, Z., Yao, B., 2013. Effects of dietary *Bacillus subtilis* C-3102 on the production, intestinal cytokine expression and autochthonous bacteria of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*. Aquaculture. 412-413, 125-130.

Iwashita, P.K.M., Nakandakare, B.I., Terhune, S.J., Wood, T., Ranzani-Paiva, T.J.M., 2015. Dietary supplementation with *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* enhance immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* infection in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. Fish Shellfish Immunol. 43, 60-66.

Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, A.M., Guzman-Mendez, E.B., Lopez-Madrid, W., 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 216, 193-201.

Liu, W., Ren, P., He, S., Xu, L., Yang, Y., Gu, Z., Zhou, Z., 2013. Comparison of adhesive gut bacteria composition, immunity, and disease resistance in juvenile hybrid tilapia fed two different *Lactobacillus* strains. Fish Shellfish Immunol. 35 (1), 54-62.

Makled, S.O., Hamdan, A.M., El-Sayed, A.M., Hafez, E.E., 2017. Evaluation of marine psychrophile, *Psychrobacter namhaensis* SO89, as a probiotic in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. Fish Shellfish Immunol. 61, 194 – 200.

Merrifield, L.D., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, J.S., Baker, M.T.R., Bøgwald, J., Castex, M., Ringø, E., 2010. Review: the current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. Aquaculture. 302, 1-18.

Meurer, F., Hayashi, C., Costa da, M.M., Mauerwek, L.V., Freccia, A., 2006. *Saccharomyces cerevisiae* as probiotic for Nile tilapia during the sexual reversion phase under a sanitary challenge. Rev. Brasilian Zootechnol. 35, 1881-1886.

Moriarty, W.J.D., 1998. Control of luminous Vibrio species in penaeid aquaculture Ponds. Aquaculture. 164 (1-4), 351-358.

Nayak, K.S., 2010. Review: probiotics and immunity: a fish perspective. Fish Shellfish Immunol. 29, 2-14.

Newaj-Fyzul, A., Al-Harbi, H.A., Austin, B., 2014. Review: developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. Aquaculture. 431, 1-11.

Ng, K-W., Kim, C-Y., Romano, N., Koh, B-C., Yang, Y-S., 2014. Effects of dietary probiotics on the growth and feeding efficiency of red hybrid Tilapia, *Oreochromis* sp., and subsequent resistance to *Streptococcus agalactiae*. J. Appl. Aquac. 26, 22-31. Noorit, K., 2014. Tilapia status and its products in B.C 2556 and trend in year 2014.

Noorit, K., 2014. Tilapia status and its products in B.C 2556 and trend in year 2014. http://fishco.fisheries.go.th/fisheconomic/Doc/fishnews_169.pdf (in Thai)

Ren, P., Xu, L.,Yang, Y., He, S., Liu, W., Ringø, E., Zhou, Z., 2013. *Lactobacillus planarum* subsp. *plantarum* JCM 1149 vs. *Aeromonas hydrophila* NJ-1 in the anterior intestine and posterior intestine of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus* : an ex vivo study. Fish Shellfish Immunol. 35, 146-153.

Ridha, T.M., Azad, S.I., 2012. Preliminary evaluation of growth performance and immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* supplemented with two putative probiotic bacteria. Aquac. Res. 43, 843-852.

Saad, S.O., Hamdan, A.M., El-Sayed, A.F.M., Hafez, E.E., 2017. Evaluation of marine psychrophile, *Psychrobacter namhaensis* SO89, as a probiotic in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. Fish & Shellfish Immunology, In Press, Available online 3 January 2017

Shelby, A.R., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Delaney, A.M., 2006. Effects of probiotic diet supplements on disease resistance and immune response of young Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. J. Appl. Aquac. 18, 23-34.

Standen, T.B., Rawling, M.D., Davies, J.S., Castex, M., Foey, A., Gioacchini, G., Carnevali, O., Merrifield, L.D., 2013. Probiotic *Pediococcus acidilactici* modulates both localised intestinal- and peripheral-immunity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Shellfish Immunol. 35 (4), 1097-1104.

Telli, S.G., Ranzani-Paiva, T.J.M., Ishikawa, M.C., Tachibana, L., 2014. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. Fish Shellfish Immunol., 39, 305 – 311.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64, 655-671.

Villamil, L., Reyes, C., Martínez-Silva, A.M., 2014. In vivo and in vitro assessment of Lactobacillus acidophilus as probiotic for tilapia (*Oreochromis niloticus*, Perciformes: Cichlidae) culture improvement. Aquac. Res. 45, 1116-1125.

Wang, B.Y., Tian, Q.Z., Yao, T.J., Li, W., 2008. Effect of probiotics, *Enteroccus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. Aquaculture. 277 (3-4), 203-207.

Ziaei-Nejad, S., Rezaei, H.M., Takami, A.G., Lovett, L.D., Mirvaghefi, R-A., Shakouri, M., 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture 252, 516-524.