

ผลของการเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS)
 ในอาหารต่อการเจริญเติบโต ความต้านทานความเครียด
 และความต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของลูกปลานิลแดง
 Effects of fructooligosaccharide (FOS) as feed supplement on growth
 performance, stress resistance and disease resistance against
Aeromonas hydrophila infection in hybrid red tilapia fingerlings
 (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*)

เพชรรัตน์ อึ้งเศรษฐพันธ์ นิวุฒิ หวังชัย กระสินธุ์ หังสพฤกษ์ จอมสุตา ดวงวงษา และ ขวัญฤทัย ดวงใจสัก
 Thepparath Ungsethaphand Niwooti Wangchai Krasindh Hangsapreurke Jomsuda Duangwongsa
 and Khwanruthai Duangjaisak

คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources

Maejo University, Chiang Mai, 50290 Thailand

บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) เสริมในอาหารทดลองต่อประสิทธิภาพการเติบโต ความทนทานต่อความเครียดและความต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในลูกปลานิลแดง ใช้อาหารทดลอง 4 สูตร ได้แก่ รำละเอียดผสมปลาป่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 เป็นอาหารควบคุม ส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ อาหารที่เสริมด้วย FOS 0.1%, 0.3% และ 0.5% ของน้ำหนักอาหาร อนุบาลลูกปลานิลแดง (0.45 ± 0.01 กรัม) ในกระชัง อัตราการปล่อย 150 ตัว/ตร.ม.ให้อาหาร 5% ของน้ำหนักตัว เป็นระยะเวลา 90 วัน ผลการทดลอง พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตราแลกเนื้อ (FCR) ความทนทานต่อความเครียดและความต้านทานเชื้อ *A. hydrophila* ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยอาหารที่เสริม FOS 0.3% และ 0.5% ดีกว่าอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ : ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS), ปลานิลแดง, *Aeromonas hydrophila*, การเจริญเติบโต, ความทนทานต่อความเครียด

Abstract

The experiment was conducted to study the effects of fructooligosaccharide (FOS) as feed supplement on growth performance, stress resistance and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* infection in hybrid red tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). A control diet with fish meal and rice bran (2:1) was compared to diets with three incremental levels (0.1%, 0.3% and 0.5%) of FOS supplementation. Fingerlings (0.45 ± 0.01 g) were stocked at 150 fish/m² in nylon net cage and fed twice daily at 5% (bw/day) with experimental diets for 90 days. The results indicated that specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), stress resistance,

and disease resistance against *A. hydrophila* were significantly ($p < 0.05$) improved in those fed diet supplemented FOS of 0.3% and 0.5%.

Keywords : Prebiotics, Fructooligosaccharide (FOS), Red tilapia, *Aeromonas hydrophila*, Growth performance, Stress resistance

คำนำ

ปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus*) เป็นปลาที่เลี้ยงง่าย โตเร็ว และเนื้อมีรสชาติดี ทำให้ปลานิลกลายเป็นปลาที่ได้รับความนิยมในการบริโภคและเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย แต่ในปัจจุบันการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงอุตสาหกรรม มีการเลี้ยงแบบหนาแน่นส่งผลทำให้สภาพแวดล้อมเสื่อมโทรม ปลาเป็นโรคมากขึ้น จึงมีการใช้ยาและสารเคมีเพิ่มมากขึ้น เป็นสาเหตุให้ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในตัวสัตว์น้ำถูกถ่ายทอดมาสู่ผู้บริโภค และส่งผลเสียทำให้เชื้อแบคทีเรียพัฒนาตัวเองจนเป็นสายพันธุ์ที่ทนทานต่อยาปฏิชีวนะ (FAO, 2002) การศึกษาแนวทางในการผลิตสัตว์น้ำโดยไม่ใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีจึงเป็นแนวทางสำคัญเพื่อพัฒนาวิธีการในการส่งเสริมสุขภาพสัตว์น้ำและป้องกันโรค ซึ่งการใช้พรีไบโอติกเป็นส่วนประกอบในอาหารที่ร่างกายสัตว์น้ำไม่สามารถย่อยได้ แต่มีประโยชน์ในการช่วยการเจริญเติบโตและการทำงานของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ จึงเป็นแนวทางในการช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรค และการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ เพื่อเป็นอาหารปลอดภัย (Zhang และคณะ, 2014)

Song และคณะ (2014) กล่าวว่า มีงานวิจัยจำนวนมากที่แสดงถึงการใช้พรีไบโอติกช่วยสร้างภูมิคุ้มกันในตัวสัตว์น้ำได้ โดยพรีไบโอติกสามารถช่วยสร้างภูมิคุ้มกันในตัวสัตว์น้ำได้ 2 ช่องทางคือ ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะโดยตรง หรือช่วยเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียสร้างภูมิคุ้มกันในตัวสัตว์น้ำได้ Losada และ Olleros (2002) รายงานว่าการใช้ fructooligosaccharide (FOS) จะช่วยทำให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้เพิ่มจำนวนขึ้นได้ Li และ Gatlin III (2005) รายงานว่า การเสริมพรีไบโอติกลงในอาหารเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถช่วยเสริมความต้านทานโรค ลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และยังช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำได้อีกด้วย Song และคณะ (2014) กล่าวว่าพรีไบโอติกที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีหลายชนิด ได้แก่ inulin, beta-glucan, chitosan oligosaccharides (COS), mannan oligosaccharide (MOS), fructooligosaccharide (FOS) และ galactooligosaccharide (GOS) อย่างไรก็ตามการวิจัยเกี่ยวกับการใช้ fructooligosaccharide (FOS) ในสัตว์น้ำยังมีอยู่ค่อนข้างน้อย (Akrami และคณะ, 2013) การวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ fructooligosaccharide (FOS) เสริมในอาหารทดลองต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ความต้านทานความเครียด และความต้านทานเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ในการอนุบาลลูกปลานิลแดง

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

การเตรียมหน่วยทดลอง

ใช้กระชังทำด้วยตาข่ายไนลอน ขนาด 1.8x3.0x1.2 ม. (กว้างxยาวxลึก) ซึ่งในบ่อดินขนาด 1,000 ตร.ม. ด้วยเสาไม้ไผ่ โดยให้กั้นกระชังอยู่เหนือระดับพื้นบ่ออย่างน้อย 0.5 ม. รักษาระดับให้ขอบด้านบนของกระชังอยู่เหนือผิวน้ำ 20 ซม. เพื่อให้มีส่วนของกระชังแช่อยู่ในน้ำ 100 ซม. ตลอดการทดลอง 90 วัน

สัตว์ทดลอง

ใช้ลูกปลานิลแดงแปลงเพศขนาด น้ำหนักเฉลี่ย 0.45 ± 0.01 ก. จากโรงเพาะฟักเอกชน นำลูกปลามาพักให้ปรับตัวในกระชังขนาด 5 ตร.ม. ด้วยความหนาแน่น 200 ตัว/ตร.ม. เป็นเวลา 18 ชม. ให้อาหารด้วยอาหารอนุบาลลูกปลาสำเร็จรูปเป็นเวลา 7 วันเพื่อให้ปลาปรับสภาพ ก่อนสูมน้ำและซังน้ำหนักรวมของปลาในแต่ละกระชังเพื่อหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักของลูกปลาเริ่มต้นเพื่อปล่อยลงเลี้ยงในกระชังทดลอง ให้อาหารทดลองในอัตรา 5% ของน้ำหนักตัว/วัน วันละ 2 ครั้ง (09.00-10.00 น. และ 15.00-16.00 น.) ปรับปริมาณอาหารที่ให้ทุก 14 วัน ตลอดระยะเวลา 90 วันของการทดลอง โดยการใช้สัตว์ทดลองและการปฏิบัติต่อสัตว์ทดลองดำเนินการตามตามวิธีการของ CCAC (2005) และผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการควบคุมการใช้สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยแม่โจ้

อาหารทดลองและการวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลอง แบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 2 ซ้ำ ต่อที่รีทเมนต์ ผลิตอาหารทดลอง จำนวน 4 สูตร โดยใช้ รำละเอียดผสมปลาป่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 เป็นอาหารควบคุม ส่วนอาหารอีก 3 สูตร ได้แก่ อาหารควบคุมที่เสริมด้วย fructooligosaccharide (FOS) 0.1%, 0.3% และ 0.5% ของน้ำหนักอาหาร เตรียมอาหารผง โปรตีนเฉลี่ย 46.42% (Table 1) สำหรับใช้ในการทดลองเลี้ยงลูกปลา โดยผสมวัตถุดิบอาหารให้เข้ากัน บรรจุอาหารทดลองในถุงพลาสติกแล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตลอดช่วงเวลาทดลอง

Table 1 Proximate analysis on crude protein (%; on dry matter basis) of experimental diet

Diets	Crude protein (%)
FOS 0.0 %	46.61±0.59
FOS 0.1 %	46.39±0.30
FOS 0.3 %	46.39±0.21
FOS 0.5 %	46.31±0.20

การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูลด้านประสิทธิภาพและการเติบโต

นับและชั่งน้ำหนักปลาในแต่ละกระชัง ทุกๆ 14 วัน ตลอดการทดลอง นำข้อมูลที่ได้ไปปรับปริมาณการให้อาหาร และคำนวณหาค่าต่าง ๆ ดังนี้

- ก. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Body weight gain) ก.
 = น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ก.) – น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง (ก.)
- ข. อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate; SGR) (%/วัน)
 =
$$\frac{100 \times (\ln \text{ น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{ น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง})}{\text{จำนวนวันที่ทดลอง}}$$
- ค. อัตรารอด (Survival) %
 =
$$(\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} / \text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}) \times 100$$
- ง. อัตราการแลกเนื้อ (FCR)
 =
$$\text{น้ำหนักของอาหารที่ปลากิน (ก.)} / \text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (ก.)}$$

การทดสอบความทนทานต่อความเครียด (Stress resistance test)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มตัวอย่างลูกปลาชุดการทดลองละ 10 ตัว เพื่อทดสอบความทนทานต่อความเครียด โดยเขี่ยลำตัวปลาให้แห้ง แล้วใส่ไว้ในถุงตาข่ายปล่อยให้ลูกปลายู่เหนือน้ำเป็นเวลา 10 นาที ก่อนปล่อยคืนลงในน้ำ สังเกตและจดบันทึกจำนวนลูกปลาที่แสดงอาการผิดปกติ (หงายท้อง ว่ายวน ช้อง เหงือกเปิดปิดถี่) หรือตายในแต่ละชุดการทดลอง ตามวิธีการของ Yokoyama และคณะ (2006) และ Wendelaar Bonga (1997)

$$\text{คำนวณ Recovery rate \%} = \frac{100 \times (\text{จำนวนปลาที่ใช้ในการทดลอง} - \text{จำนวนปลาที่แสดงอาการผิดปกติหรือตาย})}{\text{จำนวนปลาที่ใช้ในการทดลอง}}$$

การทดสอบความทนทานต่อเชื้อก่อโรค (Pathogen challenge test)

เลี้ยงเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ใน Triplic Soy Broth (TSB) ที่อุณหภูมิ 35°C นาน 18 ชม. แล้วรวบรวมเชื้อโดยการปั่นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ล้างเชื้อที่รวบรวมได้ด้วย Phosphate buffer saline solution (PBS) แล้วเก็บเชื้อที่ได้ใน PBS ประเมินความเข้มข้นของเชื้อด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nm ตามวิธีการของ Iwashita และคณะ (2015)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มตัวอย่างลูกปลาชุดการทดลองละ 10 ตัว เพื่อทดสอบความทนทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (5×10^5 cells/mL ใน PBS) โดยใช้เชื้อก่อโรค 0.1 มล. ฉีดเข้าช่องท้องปลาแต่ละตัว แล้วปล่อยลงเลี้ยงในตู้กระจก ใช้เวลาทดสอบ 10 วัน (Abdel-Tawwab และคณะ, 2008) โดยยังคงให้อาหารทดลองในแต่ละชุดการทดลองอย่างต่อเนื่อง สังเกตและจดบันทึกจำนวนลูกปลาที่แสดงอาการผิดปกติหรือตายในแต่ละชุดการทดลองทุกวัน

การวิเคราะห์ส่วนประกอบของอาหารและคุณภาพน้ำ

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในอาหารทดลอง โดยวิธี Micro-Kjeldahl ตามวิธีการของ AOAC (1990) และตรวจสอบคุณภาพน้ำในบ่อทดลองเมื่อเริ่มต้นและทุก ๆ 14 วันจนเสร็จสิ้นการทดลอง ได้แก่ อุณหภูมิและออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) ด้วยเครื่อง oxygen meter (YSI Model 59), แอมโมเนีย (total ammonia nitrogen) วิเคราะห์หาค่าโดยใช้ spectrophotometer (Hach DR/2000), pH วัดด้วยเครื่อง pH meter (Schott-Gerate CG 840)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เพื่อศึกษาความแตกต่างของแต่ละที่รีตเมนต์ จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของที่รีตเมนต์ โดยวิธีของ Tukey's test และ t-test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพการเจริญเติบโต

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยอาหารเสริม fructooligosaccharide (FOS) ทั้ง 3 สูตร มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ความยาวสุดท้าย และอัตราการรอดตาย ไม่แตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยอาหารเสริม FOS ทั้ง 3 สูตร มีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และอัตราการแลกเนื้อของลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วย อาหารเสริม FOS 0.3 % และ 0.5 % มีค่าดีกว่าชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากอาหารที่เสริม FOS 0.1% (Table 2)

ผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Hui-yuan และคณะ (2007) ที่พบว่าปลานิลลูกผสม (*Oreochromis aureus* X *O. niloticus*) ที่ได้รับอาหารเสริม short-chain fructo-oligosaccharides (ScFOS) 0.8 และ 1.2 ก./กก. อาหาร มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตราการแลกเนื้อที่ดีขึ้น แต่มีอัตราการรอด ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม Grisdale-Helland และคณะ (2008) พบว่าการเสริม mannanoligosaccharide (MOS), fructooligosaccharide (FOS) และ galactooligosaccharide (GOS) ในอาหารที่ระดับ 10 ก./กก. อาหาร ทำให้ปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) มีน้ำหนักเพิ่ม และอัตราการรอด ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม Soleimani และคณะ (2012) พบว่าการเสริม FOS ที่ระดับ 1, 2 และ 3% ในอาหารลูกปลา Caspian Roach (*Rutilus rutilus*) ทำให้ลูกปลามีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าชุดควบคุม และการเสริม FOS ระดับ 2 และ 3% ทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลง โดย Cumming และคณะ (2001) กล่าวว่า การเสริมพรีไบโอติกในอาหาร ทำให้แบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ สามารถใช้สารอาหารเหล่านั้นในการเจริญ ส่งผลต่อการเสริมสร้างสุขภาพของเจ้าบ้านให้ดีขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Mahious และคณะ (2006) กล่าวว่า FOS มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ของปลา turbot (*Psetta maxima*)

Table 2 Growth performance and feed conversion ratio of hybrid red tilapia fingerlings fed diet containing different levels of FOS for 90 days

Parameters	Control	FOS 0.1 %	FOS 0.3 %	FOS 0.5 %
Initial weight (g)	0.45±0.01	0.44±0.00	0.46±0.01	0.46±0.01
Final weight (g)	6.00±0.20	6.61±0.30	6.92±0.15	6.89±0.26
Body weight gain (g)	5.55±0.19	6.17±0.30	6.46±0.16	6.43±0.25
Initial total length (cm)	2.15±0.00	2.15±0.01	2.15±0.01	2.14±0.02
Final total length (cm)	8.10±0.04	8.13±0.05	8.24±0.03	8.20±0.04
Specific Growth Rate (%/day)	2.56±0.01 ^a	2.72±0.05 ^b	2.74±0.04 ^b	2.75±0.05 ^b
Feed Conversion Ratio	2.05±0.01 ^a	1.89±0.06 ^{ab}	1.82±0.04 ^b	1.83±0.06 ^b
Survival (%)	75.77±1.92	77.48±0.30	78.96±0.58	79.11±1.34

Values in row (mean ± standard error) with different superscripts letters are significantly different determined by Tukey's (p<0.05)

แต่ก็มีรายงานการทดลองที่ให้ผลต่างจากการทดลองนี้ โดย Samrongpan และคณะ (2551) รายงานว่าการเสริม MOS ในอาหารสำหรับปลาดุกปลานิล 4 ระดับคือ 0, 2, 4 และ 6 ก./กก. อาหาร พบว่าการเสริม MOS ที่ระดับ 4 และ 6 ก./กก. อาหาร ทำให้ปลาดุกมีน้ำหนักและความยาวสูงกว่าชุดควบคุม Akrami และคณะ (2013) พบว่าการเสริม FOS ที่ระดับ 1% ในอาหารปลา stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) ทำให้ปลาดุกมีน้ำหนักสุดท้าย และน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น สูงกว่าชุดควบคุม Mahious และคณะ (2006) รายงานว่า FOS ช่วยกระตุ้นการเติบโตและเพิ่มจำนวนของ *Bacillus* spp. ในลำไส้ปลาดุก Turbot ส่งผลให้ปลาดุกมีการเจริญเติบโตดีขึ้น อย่างไรก็ตาม Abu-Elala และคณะ (2013) กล่าวว่า การที่ฟรีไบโอติกไม่ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตที่พบในสัตว์น้ำหลายชนิดนั้น เนื่องจากการแสดงผลของฟรีไบโอติกนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านระยะเวลาที่ได้รับการเสริม ซึ่งก็แตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์น้ำ โดย Gibson และ Roberfroid (1995) รายงานว่า MOS ช่วยเพิ่มจำนวน *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* ในระบบลำไส้ จึงช่วยให้ประสิทธิภาพการย่อยอาหารดีขึ้น สอดคล้องกับ Zhang และคณะ (2014) กล่าวว่า ประโยชน์ของ FOS ได้แก่ ช่วยเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่มีประโยชน์ ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค เพิ่มภูมิคุ้มกัน และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย จึงทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

ความทนทานต่อความเครียด และความทนทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาดุกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเสริม FOS 0.3% และ 0.5% มีความทนทานต่อความเครียดดีกว่าปลาดุกปลานิลแดงในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ตามภาพ Fig. 1 สอดคล้องกับ Ibrahem และคณะ (2010) พบว่าการเสริม FOS 5 ก./กก. อาหาร ช่วยให้ปลาดุกมีความต้านทานความเครียดดีขึ้น และ Hoseinifar และคณะ (2014) พบว่า การเสริม FOS ในอาหารที่ระดับ 2 และ 3% ทำให้ปลาดุก common carp (*Cyprinus carpio*) มีความทนทานต่อความเครียดดีกว่า ปลาดุกในชุด

ควบคุม เช่นเดียวกับ Soleimani และคณะ (2012) พบว่าการเสริมในอาหารอนุบาลลูกปลา Caspian Roach (*Rutilus rutilus*) ที่ระดับ 1, 2 และ 3% ทำให้ลูกปลามีความทนทานความเครียดจากความเค็ม ดีกว่ากลุ่มควบคุม (Fig. 1)

ในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ สาเหตุที่ทำให้เกิดความเครียดในสัตว์น้ำอาจเกิดจากการจับ การขนย้าย ความหนาแน่น คุณภาพน้ำ สารพิษในน้ำ และโรคพยาธิ ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโต สุขภาพและความต้านทานโรคของสัตว์น้ำ (Martinez-Porchas และคณะ, 2009) Liu และคณะ (2012) กล่าวว่า ความเครียดทำให้เกิดอนุมูลอิสระ และปฏิกิริยา lipid peroxidation ซึ่งจะทำลายเซลล์และทำให้การทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญเปลี่ยนแปลงไป และเมื่อปล่อยทิ้งไว้ จะทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์มากขึ้น และยังทำให้สัตว์น้ำมีภูมิคุ้มกันลดลง การที่ลูกปลานิลแดงที่ได้รับอาหารเสริม FOS มีความทนทานต่อความเครียดมากขึ้น สามารถช่วยให้ปลาไม่อ่อนแอ เกิดโรคได้ง่าย ในสภาวะการเพาะเลี้ยงท่ามกลางความเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศในปัจจุบัน

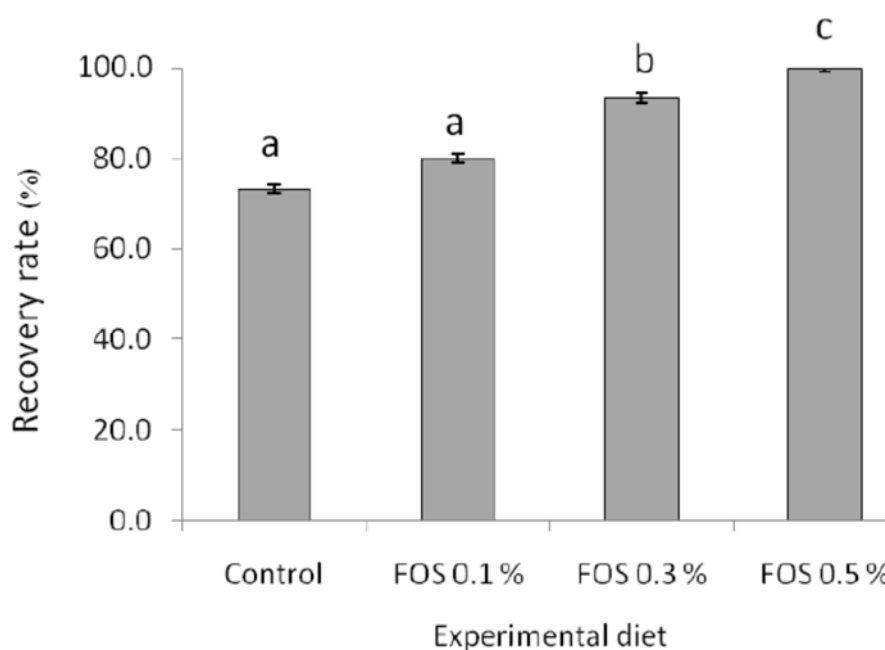


Fig. 1 Recovery rate after stress resistance test of hybrid red tilapia fingerlings after 90 days feeding on different levels of dietary FOS, Bars assigned with different superscripts letters are significantly different determined by t-test ($p < 0.05$)

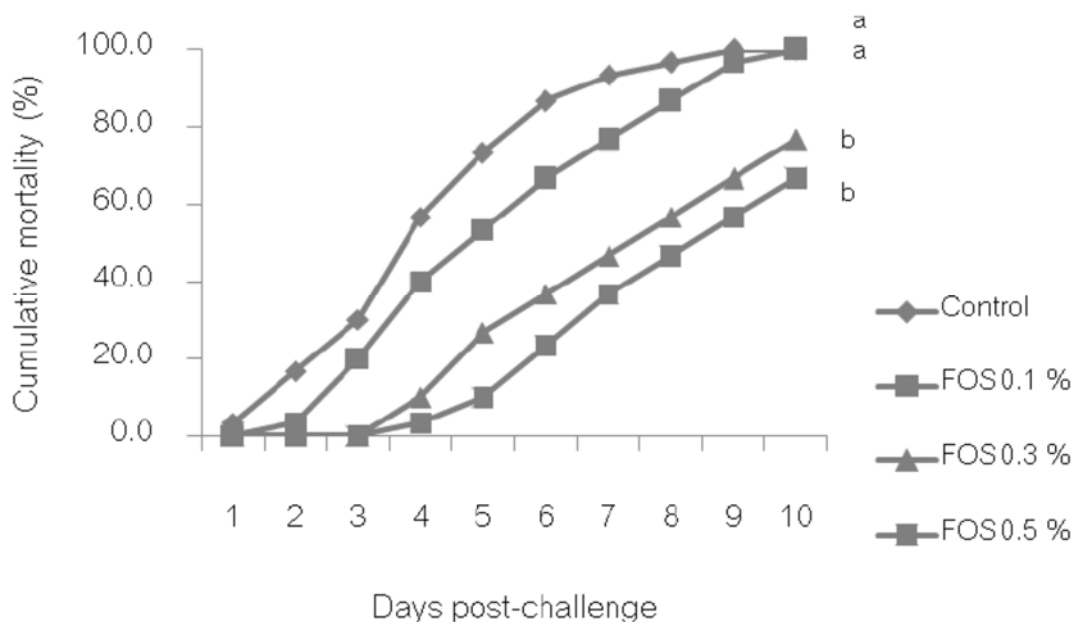


Fig. 2 Mortality rate of red tilapia fingerlings fed diet containing different levels of FOS for 90 days and challenged by *A. hydrophila* for 10 days, Lines assigned with different superscripts letters are significantly different determined by t-test ($p < 0.05$)

ด้านความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* พบว่า อัตราการตายของลูกปลานิลแดงที่ได้รับการฉีดเชื้อ *A. hydrophila* เข้าช่องท้องแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีการตายสะสมสูงสุดในวันที่ 10 หลังจากฉีดเชื้อก่อโรค และไม่มีการตายเพิ่มขึ้นหลังจากนั้น (Fig. 2) โดยลูกปลานิลแดงที่อนุบาลด้วยสูตรอาหารเสริม FOS 0.3% และ 0.5% มีอัตราการตายสะสมหลังจากฉีดเชื้อ *A. hydrophila* ต่ำกว่าลูกปลานิลแดงในชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Samrongpan และคณะ (2551) ทดสอบผลของการเสริม MOS ในอาหารอนุบาลลูกปลานิลแปลงเพศที่ระดับ 2, 4 และ 6 ก./กก. อาหาร พบว่าการเสริม MOS ในอาหารทุกระดับ ทำให้ลูกปลานิลมีความต้านทานต่อเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ได้ดีกว่าลูกปลานิลในชุดควบคุม เช่นเดียวกับ Lin และคณะ (2012) ที่ศึกษาผลของ chitosan oligosaccharides (COS) ต่อความต้านทานโรคของปลาแคร์ฟ (*Cyprinus carpio koi*) พบว่าการเสริม COS ในอาหาร 0.2% ทำให้ปลาแคร์ฟมีความต้านทานต่อเชื้อ *Aeromonas veronii* สูงกว่ากลุ่มควบคุม Abu-Elala และคณะ (2013) รายงานว่า การเสริม MOS ในอาหาร ช่วยให้ปลานิลมีการเจริญเติบโตดีขึ้น มีภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและความต้านทานเชื้อ *A. hydrophila* เพิ่มขึ้น โดยพบว่าฟรีไบโอติก ช่วยเพิ่มจำนวนและความยาวของ villi ในลำไส้ปลานิล Losada และ Olleros (2002) รายงานว่าการใช้ FOS จะช่วยทำให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้เพิ่มจำนวนขึ้นได้ สอดคล้องกับ Crittenden (1999) กล่าวว่า ฟรีไบโอติกมีส่วนช่วยเพิ่มสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในร่างกาย เพิ่มกิจกรรมและจำนวนของจุลินทรีย์เหล่านี้ในลำไส้ เพื่อควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นโทษให้ลดลง และช่วยปรับความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในให้เหมาะสม เพื่อลดการติดเชื้อ สามารถช่วยเสริมความต้านทานโรค

อย่างไรก็ตาม Ai และคณะ (2011) รายงานว่า การเสริม FOS 0.2% และ 0.4% ไม่ส่งผลกระทบต่อภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* ในปลา yellow croaker ทั้งนี้เพราะการเสริม FOS ในอาหารเลี้ยงปลาอาจให้ผลแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณ FOS, ชนิดของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์น้ำแต่ละชนิด และสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยง โดยสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยงมีผลต่อประชากรของแบคทีเรียในลำไส้ Li และคณะ (2007) พบว่า FOS มีความจำเพาะเจาะจงต่อแบคทีเรียในลำไส้ของกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*)

คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง

คุณภาพน้ำในกระชังทดลอง พบว่า pH ออกซิเจนละลายในน้ำ อุณหภูมิ และแอมโมเนียมีค่าไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงใน Table 4

Table 4 Water quality in the net cage after 90 days of experiment

Parameters	Control	FOS 0.1 %	FOS 0.3 %	FOS 0.5 %
pH	8.19±0.04	8.24±0.02	8.13±0.03	8.19±0.02
DO (mg/L)	3.58±0.04	3.53±0.03	3.53±0.06	3.63±0.07
Temp. (°C)	30.64±0.05	30.66±0.01	30.65±0.02	30.69±0.02
Total ammonia (mg/L)	0.14±0.00	0.15±0.00	0.14±0.01	0.14±0.00

สรุปผลการทดลอง

การทดลองในครั้งนี้ สรุปได้ว่า การเสริมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ Fructooligosaccharide (FOS) ลงในอาหารอนุบาลลูกปลานิลแดง ที่ระดับ 0.3% และ 0.5% ของน้ำหนักอาหาร ทำให้ลูกปลานิลแดงมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) อัตราแลกเนื้อ (FCR) ความทนทานต่อความเครียด และความทนทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* สูงกว่าลูกปลาที่อนุบาลด้วยอาหารควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยระดับที่เหมาะสมในการทดลองครั้งนี้คือ 0.3% ของน้ำหนักอาหาร

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติ และสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการทดลอง (รหัสวิจัย มจ.1-56-023.1/57-0.36.1) รวมทั้งคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M., Ismael N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 280, 185–189.
- Abu-Elala, N., Marzouk, M., Moustafa, M. 2013. Use of different *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 1, 21–29.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. 15th ed., AOAC, Arlington, VA., 1360 p.
- Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J., Zhang, W. 2011. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. *Aquaculture* 317, 155-161.
- Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H. K., Mansour, M. R. 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish & shellfish immunology* 35, 1235-1239.
- CCAC, 2005. CCAC guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care. Ottawa, Canada. 87 p.
- Cumming, J. H., Macfarlane, G. T., Englyst, H. N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition* 73, 415S-420S.
- FAO, 2002. Antibiotics residue in aquaculture products, the State of World Fisheries and aquaculture. Rome, Italy, pp. 74-82.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation on the human colonic microflora: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 125, 1404-1412.
- Grisdale-Helland, B., Helland, S. J., Gatin III, D. M. 2008. The effect of dietary supplementation with mannanoligosaccharide fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 283, 163-167.
- Hoseinifar, S.H., Soleimani, N., Ringø, E. 2014. Effects of dietary fructo-oligosaccharide supplementation on the growth performance, haemato-immunological parameters, gut microbiota and stress resistance of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *British Journal of Nutrition* 112 (8), 1296 - 1302.

- Hui-yuan, LV., Zhi-gang, Z., Rudeaux, F., Respondek, F. 2007. Effects of dietary Short Chain Fructooligosaccharides on intestinal microflora, mortality and growth performance of *Oreochromis aureus* × *O. niloticus*. Chinese Journal of Animal Nutrition 19, 1-6.
- Ibrahem, M.D., Fathi, M., Meslhy, S., El-Aty, A.M.A. 2010. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth hematology, innate immunity and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish & shellfish immunology 29, 241-216.
- Iwashita, M.K.P., Nakandakare, I.B., Terhune, J.S., Wood, T., Ranzani-Paiva, M.J.T., 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 Immunology 43, 60-66.
- Koshio, S., Sakakura, Y., Iida, Y., Tsukamoto, K., Kida, T., Dabrowski, K. 1997. The effect of vitamin C intake on schooling behavior of amphidromous fish, ayu *Plecoglossus altivelis*. Fisheries science 63(4), 619-624.
- Li, P., Gatlin III, D.M. 2005. Evaluation of prebiotic GroBiotic® - A and brewer,s yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*) challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. Aquaculture 248, 197-205.
- Li, E., Chen, L., Zeng, C., Chen, X., Yu, N., Lai, Q., Qin, J.G. 2007. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* at different salinities. Aquaculture 265, 385-390.
- Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Luo, L., Luo, L., Pan, Y. 2012. Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). Aquaculture 342, 36-41.
- Liu, B., Xie, J., Ge, X., Xu, P., Miao, L., Zhou, Q., Pan, L., Chen, R. 2012. Comparison Study of the Effects of Anthraquinone Extract and Emodin from *Rheum officinale* Bail on the Physiological Response, Disease Resistance of *Megalobrama amblycephala* under High Temperature Stress. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 12, 905-916.
- Losada, M.A., Olleros, T. 2002. Towards a healthier diet of the colon: The influence of fructooligosaccharides and *lactobacilli* on intestinal health. Nutrition Research 22, 71-84.
- Mahious, A. S., Gatesoupe, F. J., Hervi, M., Metailler, R., Ollervier, F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International 14(3), 219-229.

- Martinez-Porchas, M., Martinez-Cordova, L.R., Ramos-Enriquez, R. 2009. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress?. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 4(2), 158-178.
- Samrongpan, C., Areechon, N., Srisapoome, P. 2551. Effects of mannan-oligosaccharide as feed supplement on growth, survival and disease resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Proceedings of 46th Kasetsart University Annual Conference*, Bangkok, Thailand, 147-151.
- Soleimani, N., Hoseinifar, S.H., Merrifield, D.L., Barati, M., Abadi, Z.H. 2012. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish & shellfish immunology* 32, 321-316.
- Song, S.K., Beck, B.R., Kim, D., Park, J., Kim, J., Kim, H.D., Ringø, E. 2014. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. *Fish & shellfish immunology* 10, 40-48.
- Wendelaar Bonga, S.E. 1997. The Stress Response in Fish. *Physiological Reviews* 77, 591-625.
- Yokoyama, S., Koshio, S., Takakura, N., Oshida, K., Ishikawa, M., Gallardo-Cigarroa, F.J., Catacutan, M.R., Teshima, S. 2006. Effect of dietary bovine lactoferrin on growth response, tolerance to air exposure and low salinity stress conditions in orange spotted grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture* 255, 507-513.
- Zhang, Q., Yu, H., Tong, T., Tong, W., Dong, L., Xu, M., Wang, Z. 2014. Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide enhance the growth, non-specific immunity of juvenile ovate pompano, *Trachinotus ovatus* and its disease resistance against *Vibrio vulnificus*. *Fish & Shellfish Immunology* 38, 7-14.