

ผลของการเสริมอินูลินในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ประชากรจุลินทรีย์ ในลำไส้ และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลาอุกผสม

Effects of dietary supplementation of inulin on the growth performance,
gut microbiota and immune response of hybrid catfish

(*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*)

ณัฐนันท์ เทียงธรรม* และ พูลทรัพย์ ศิริसानต์

Nattanan Tiengtam* and Poolsap Sirisant

สาขาวิชาประมง คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนครพนม จังหวัดนครพนม 48000

Division of Fisheries, Faculty of Agriculture and Technology, Nakhon Phanom University, Nakhon Phanom 48000

*Corresponding author Email: nattanan_tga@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบการใช้อินูลินเป็นสารเสริมโปรไบโอติกในอาหารปลาอุกผสม (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) การทดลองนี้มีกลุ่มทดลอง 4 กลุ่ม ประกอบไปด้วยกลุ่มทดลองที่มีการเสริมอินูลินในระดับที่ต่างกัน ได้แก่ กลุ่มที่ไม่มีการเสริมอินูลิน (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่มีการเสริมอินูลินที่ระดับ 1%, 2% และ 3% ทำการทดลองเลี้ยงปลาในบ่อคอนกรีตเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 1% มีผลทำให้ปลามีสมรรถนะการเจริญเติบโตดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) และมีค่าลดลงต่ำสุดในกลุ่มปลาที่ได้รับเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 3% ($P > 0.05$) ปลาทุกกลุ่มทดลองมีอัตราการรอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) การเสริมอินูลินที่ระดับ 1% มีผลทำให้ค่าอิมมูโนโกลบูลินรวม ค่าการทำงานของไลโซไซม์ และค่า ACH50 เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) การเสริมอินูลินส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ปลา การเสริมอินูลินที่ระดับ 1% ทำให้จำนวนแบคทีเรียรวมทั้งหมด แบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria แบคทีเรียในกลุ่ม *Bifidobacterium* spp. เพิ่มขึ้น และมีจำนวนแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. ลดลง ($P < 0.05$) จากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 1% มีประโยชน์ต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลาอุกผสมได้

คำสำคัญ: อินูลิน ปลาอุกผสม สมรรถนะการเจริญเติบโต การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน

Abstract

This study evaluated the prebiotic effects of dietary inulin on hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*). Four dietary treatments were designed to incorporate inulin at 0 (control), 1%, 2% and 3%. Fish were reared in concrete ponds for 12 weeks. Fish fed the 1% inulin diets had the best growth performances compared with that of fish fed the control diet ($P < 0.05$), and the lowest was observed in fish fed on 3% inulin. There were not significant differences in survival rates among experimental diets ($P > 0.05$). Inulin supplementation at 1% improved total immunoglobulin content, lysozyme activity, and ACH50 activity ($P < 0.05$). Inulin supplementation

affected the population of intestinal microbiota. Dietary supplementation with 1% inulin led to increase intestinal total bacteria, lactic acid bacteria, *Bifidobacterium* spp. and decrease the population of *Vibrio* spp. ($P < 0.05$). These findings indicate that inulin supplementation at 1% had positive effects on growth performance and health of hybrid catfish.

Keywords: inulin, hybrid catfish, growth performance, immune response

คำนำ

ปลาดุกเป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่เป็นที่นิยมบริโภคและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยเป็นปลาน้ำจืดที่มีการเลี้ยงมากเป็นอันดับสองของประเทศ รองจากปลานิล มีปริมาณผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงสูงถึง 113,825 ตัน ในปี พ.ศ. 2557 คิดเป็นมูลค่าสูงถึง 5,333.8 ล้านบาท (Information center of fisheries, 2016) และปลาดุกที่นิยมเลี้ยงมากที่สุด คือ ปลาดุกลูกผสม (hybrid catfish) ซึ่งได้จากการนำปลาดุกยักษ์เพศผู้ (*Clarias gariepinus*) มาผสมพันธุ์กับปลาดุกอุยเพศเมีย (*C. macrocephalus*) ได้ปลาลูกผสมที่เนื้อมีรสชาติดี เลี้ยงง่าย และเจริญเติบโตเร็ว อย่างไรก็ตาม การขยายตัวของการเลี้ยงแบบหนาแน่นที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดปัญหาการระบาดของโรคตามมา ก่อให้เกิดการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีจำนวนมากในการป้องกันและรักษาโรค ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญให้เกิดสารตกค้างในตัวปลา และส่งผลกระทบต่อมายังสุขภาพของผู้บริโภค (FAO, 2002)

พรีไบโอติก (prebiotic) เป็นสารอาหารที่ไม่สามารถถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ของสัตว์ แต่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์โดยการช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นการช่วยส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (Gibson and Roberfroid, 1995) โดย อินูลิน (inulin) เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งในกลุ่มฟรุกแทน ซึ่งพรีไบโอติกที่นิยมใช้ในอาหารสำหรับสัตว์น้ำ โครงสร้างของอินูลินประกอบด้วย ฟรุกโตส และกลูโคส ยึดต่อกันด้วยพันธะ β -2,1 ไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร แต่ถูกย่อยได้ที่ลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย (*bifidobacteria*) และกลุ่มของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (*lactic acid bacteria*) ทำให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์เหล่านี้เพิ่มจำนวนมากขึ้น (Roberfroid, 2002) แม้ว่าอินูลินได้ส่งผลกระทบต่อการตอบสนองของการเจริญเติบโตของปลาบางชนิด (Akrami *et al.*, 2013; Reza *et al.*, 2009) แต่ในหลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่าอินูลินมีประสิทธิภาพต่อการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อัตรารอด และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันให้กับปลาได้ เช่นในปลา Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) (Mahious *et al.*, 2006a) ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) (Ibrahim *et al.*, 2010) ปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Ortiz *et al.*, 2013) และปลาไน (*Cyprinus carpio*) (Mousavi *et al.*, 2016) เป็นต้น อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลใดๆ เกี่ยวกับประสิทธิภาพผลของการเสริมอินูลินในอาหารสำหรับปลาดุกลูกผสม ซึ่งเป็นปลาน้ำจืดที่มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างกว้างขวาง และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาถึงผลของการเสริมอินูลินในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลาดุกลูกผสม เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเพิ่มศักยภาพการเพาะเลี้ยงปลาดุกลูกผสมต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การวางแผนการทดลองและการเตรียมอาหารทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) โดยมี 4 กลุ่มการทดลอง ในแต่ละกลุ่มการทดลองมี 3 ซ้ำ ได้แก่ กลุ่มที่ไม่มีการเสริมอินูลิน (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่มีการเสริมอินูลินที่ระดับ 1%, 2% และ 3% ตามลำดับ ส่วนผสมและองค์ประกอบทางเคมี (ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า) ของอาหารพื้นฐานได้แสดงใน Table 1 โดยวิเคราะห์ตามวิธีการมาตรฐานของ AOAC (1990) อาหารทดลองทั้งหมดได้ถูกผลิตโดยใช้เครื่องอัดเม็ดอาหารชนิดเม็ดลอยน้ำ เม็ดอาหารมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร อาหารที่ผลิตได้จะถูกนำไปตากแดดให้แห้ง ประมาณ 2-3 วัน เมื่ออาหารแห้งดีแล้วจึงทำการบรรจุอาหารทดลองลงในภาชนะที่ปิดมิดชิด ซึ่งอาหารพื้นฐานในการทดลองครั้งนี้ได้มีระดับความชื้นในอาหารเท่ากับ 7% โปรตีนเท่ากับ 33.2% ไขมันเท่ากับ 6.9% เยื่อใยเท่ากับ 4.5% และเถ้าเท่ากับ 9.8%

2. ปลาทดลองและการเลี้ยงปลา

นำปลาดุกกลมผสม น้ำหนักเฉลี่ย 7.62-7.64 กรัม มาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ ขนาด 2x2x1 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 12 บ่อ (3 ซ้ำ 4 กลุ่มการทดลอง) บ่อละ 30 ตัว สภาพบ่อทดลองมีการให้อากาศอย่างเพียงพอ นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำปริมาณ 1/3 ของน้ำที่มีอยู่ในแต่ละบ่อทุกสัปดาห์ ทำการเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดลองตามกลุ่มการทดลองโดยให้ปลากินอาหารจนอิ่ม วันละ 2 มื้อ เช้า-เย็น ตลอดการทดลองเป็นเวลา 12 สัปดาห์ สภาพอุณหภูมิน้ำตลอดการทดลองอยู่ในช่วงระหว่าง 25-28 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ อยู่ในช่วง 5.21-5.96 มิลลิกรัม/ลิตร และค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.42-8.01

3. การศึกษาผลของการเสริมอินูลินต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและอัตราการรอด

เมื่อครบกำหนดการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ นับจำนวนปลาที่เหลือในทุกๆ ซ้ำของทุกกลุ่มการทดลองเพื่อคำนวณอัตราการรอด และสุ่มปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มการทดลองมาจำนวนซ้ำละ 4 ตัว ชั่งน้ำหนัก และทำการประเมินน้ำหนักสุดท้าย (final weight) น้ำหนักปลาเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (weight gain) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth; SGR) และชั่งน้ำหนักอาหารที่เหลือของแต่ละกลุ่มการทดลองเพื่อนำไปคำนวณหาอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion ratio; FCR)

4. การศึกษาผลของการเสริมอินูลินต่อค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่มการทดลองมาจำนวนซ้ำละ 4 ตัว เพื่อวิเคราะห์ค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากบริเวณคอดหางปริมาตร 1 มิลลิลิตร แบ่งเลือดเป็น 2 ส่วน คือเลือดส่วนที่หนึ่งใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด EDTA (1.5 mg/เลือด 1 ml) นำไปปั่นเหวี่ยงเก็บพลาสมาที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สำหรับวิเคราะห์ค่าอิมมูโนโกลบูลินรวม (total Ig) ตามวิธีการของ Siwicki *et al.* (1994) เลือดอีกส่วนหนึ่งไม่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด โดยปล่อยให้เลือดแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บซีรัมที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าการทำงานของไลโซไซม์ (lysozyme activity) ตามวิธีการของ Pitaksong *et al.* (2013) และวิเคราะห์ค่า alternative complement haemolytic 50 activity (ACH50) ตามวิธีการของ Sunyer and Tort (1995)

Table 1 Ingredients and chemical composition (g kg⁻¹) of the basal diet

Ingredients	g kg ⁻¹
Fish meal	368
Soybean meal	249
Rice bran	119
Broken rice	149
Cassava chips	100
Soybean oil	10
Premix ¹	5
Proximate composition (g kg ⁻¹ dry weight)	
Dry matter	930
Crude protein	332
Crude lipid	69
Crude fibre	45
Crude ash	98
Nitrogen-free extract ²	386

Remark: ¹ Vitamin and trace mineral mix provided the following (IU kg⁻¹ or g kg⁻¹ diet): biotin, 0.125 g; folic acid, 0.0015 g; inositol, 0.125 mg; niacin, 0.0158 g; pantothenic acid, 0.015 g; vitamin A, 2500 IU; vitamin B1, 0.0013 g; vitamin B2, 0.0006 g; vitamin B6, 0.0038 g; vitamin B12 0.00003 mg; vitamin D3, 500 IU; vitamin K, 0.004 g; copper, 0.01 g; iron, 0.1 g; selenium, 0.15 mg; zinc, 0.16 g

² Nitrogen-free extract = dry matter - (crude protein + crude lipid + crude fibre + crude ash)

5. การศึกษาผลของการเสริมอินูลินต่อปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้

เมื่อครบกำหนดการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ทำการสุ่มตัวอย่างปลาจากแต่ละซ้ำของทุกกลุ่ม การทดลองมาจำนวนซ้ำละ 4 ตัว เพื่อทำการศึกษาผลของการเสริมอินูลินในอาหารต่อปริมาณประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลา โดยการนำลำไส้ทั้งหมดมาบดให้ละเอียดด้วยวิธีการปลอดเชื้อ (Aseptic technique) หลังจากนั้นทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ผ่านการบดละเอียดแล้ว ตัวอย่างละ 0.5 กรัม มาเจือจางด้วย 0.9% NaCl ให้ได้ระดับความเจือจางตั้งแต่ 10¹-10⁴ ด้วยวิธี Ten-fold serial dilution ตามวิธีการของ Leboffe and Pierce (2011) แล้วนำตัวอย่างของเหลวในลำไส้มา Spread plate (150 ไมโครลิตร) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (ศึกษาปริมาณประชากรแบคทีเรียรวมทั้งหมด), อาหารเลี้ยงเชื้อ de Man Rogosa and Sharpe agar (ประชากรแบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria), อาหารเลี้ยงเชื้อ Bifidobacterium agar (ประชากร *Bifidobacterium* spp.) และอาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate citrate bile salts sucrose agar (ประชากร *Vibrio* spp.) อาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดจะถูกบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-48 ชั่วโมง หลังจากบ่มเสร็จแล้วจึงทำการนับและคำนวณหาปริมาณเชื้อตามวิธีการของ Rawling *et al.* (2009)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองของข้อมูลสมรรถนะการเจริญเติบโต อัตรารอดประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัย

ผลการเสริมอินูลินในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตรารอดของปลาตุ๊กตากลูผสม (Table 2) พบว่าปลาที่ได้รับการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 1% มีผลทำให้ปลามีน้ำหนักตัวสุดท้าย น้ำหนักปลาเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น (WG) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) สูงขึ้น และมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) ดีที่สุด ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม สมรรถนะการเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ ของปลาตุ๊กตากลูผสมมีแนวโน้มลดลงตามระดับของการเสริมอินูลินที่เพิ่มขึ้น และมีค่าลดลงต่ำสุดในกลุ่มปลาที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 3% แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับอัตรารอดของปลาตุ๊กตากลูผสมจากทุกกลุ่มการทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 12 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) Table 3 แสดงผลของการเสริมอินูลินในอาหารต่อค่าภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง พบว่าการเสริมอินูลินที่ระดับ 1% มีผลทำให้ค่าอิมมูโนโกลบูลินรวม ค่าการทำงานของไลโซไซม์ และค่า ACH50 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การเสริมอินูลินในอาหารต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ของปลาตุ๊กตากลูผสม พบว่าปลาตุ๊กตากลูผสมที่ได้รับการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 1% มีจำนวนแบคทีเรียรวมทั้งหมด แบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria แบคทีเรียในกลุ่ม *Bifidobacterium* spp. เพิ่มขึ้น และมีจำนวนแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ปลาตุ๊กตากลูผสมที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 2% และ 3% มีจำนวนแบคทีเรียดังกล่าวไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) ดังแสดงใน Table 4

Table 2 Growth performance of hybrid catfish fed an experimental diets for 12 weeks (mean±SD, $n = 4$)¹

Growth performance	Diet			
	Control	1%	2%	3%
Initial weight (g)	7.64±0.37	7.62±0.36	7.63±0.38	7.62±0.33
Final weight (g)	152.76±5.18 ^b	169.85±6.45 ^a	158.42±5.06 ^{ab}	151.03±5.40 ^b
Weight gain (g)	145.12±5.33 ^b	162.23±5.75 ^a	150.79±4.89 ^{ab}	143.41±5.13 ^b
SGR (% day ⁻¹)	3.33±0.07 ^b	3.49±0.05 ^a	3.37±0.06 ^b	3.31±0.07 ^b
FCR	1.39±0.10 ^b	1.15±0.11 ^a	1.28±0.14 ^{ab}	1.41±0.13 ^b
Survival rate (%)	93.33±3.85	95.00±1.92	94.17±3.19	93.33±2.72

¹ Means with different superscripts in each row differ significantly from each other ($P < 0.05$)

Table 3 Immunological parameters of hybrid catfish fed an experimental diet for 12 weeks (mean±SD, $n = 4$)¹

Immunological parameter	Diet			
	Control	1%	2%	3%
Total Ig (g L ⁻¹)	24.70±1.60 ^b	28.60±1.70 ^a	27.50±1.90 ^{ab}	24.30±1.80 ^b
Lysozyme activity (µg mL ⁻¹)	7.14±0.93 ^b	9.26±1.02 ^a	7.07±0.97 ^b	6.98±0.96 ^b
ACH50 (units mL ⁻¹)	199.94±16.27 ^b	241.04±14.38 ^a	208.90±14.61 ^b	197.85±12.09 ^b

¹ Means with different superscripts in each row differ significantly from each other ($P < 0.05$)

Table 4 Intestinal microbiota of hybrid catfish (log CFU g⁻¹) fed an experimental diets for 12 weeks (mean±SD, $n = 4$)¹

Intestinal microbiota	Diet			
	Control	1%	2%	3%
Total bacteria	5.65±0.17 ^b	5.97±0.12 ^a	5.80±0.15 ^{ab}	5.62±0.16 ^b
Lactic acid bacteria	3.18±0.10 ^b	3.46±0.08 ^a	3.19±0.11 ^b	3.07±0.07 ^b
<i>Bifidobacterium</i> spp.	4.61±0.07 ^b	4.92±0.09 ^a	4.63±0.08 ^b	4.50±0.06 ^b
<i>Vibrio</i> spp.	4.70±0.11 ^a	4.35±0.10 ^b	4.52±0.13 ^{ab}	4.73±0.09 ^a

¹ Means with different superscripts in each row differ significantly from each other ($P < 0.05$)

วิจารณ์ผล

การเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 1% มีผลทำให้ปลาตุ๊กตากลูผสมมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น ซึ่งจะเห็นได้จากค่าน้ำหนักตัวสุดท้าย น้ำหนักปลาเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อที่ได้ทำการวัดตลอดการทดลองมีค่าดีกว่ากลุ่มทดลองอื่น ๆ ซึ่งผลการศึกษารังนี้สอดคล้องกับการรายงานการศึกษาในปลาชนิดต่างๆ ได้แก่ ปลานิล ปลา Siberian sturgeon และปลา rainbow trout (Ibrahem *et al.*, 2010; Tiengtam *et al.*, 2015; Mahious *et al.*, 2006a; Ortiz *et al.*, 2013) อย่างไรก็ตาม การเสริมอินูลินในอาหารกลับไม่มีผลต่อการตอบสนองของการเจริญเติบโตในปลา weaning turbot (*Psetta maxima*) และปลา hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) (Mahious *et al.*, 2006b; Burr *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การเสริมอินูลินส่งผลกระทบต่ออัตราการตอบสนองของการเจริญเติบโตของปลา beluga (*Huso huso*) (Reza *et al.*, 2009) ซึ่งผลการเสริมอินูลินในอาหารต่อค่าสมรรถนะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน อาจเกิดจากความแตกต่างกันของชนิดปลา ระดับของการเสริมอินูลิน และช่วงระยะเวลาในการได้รับอาหารที่แตกต่างกัน โดยสมรรถนะการเจริญเติบโตของปลาตุ๊กตากลูผสมจะมีแนวโน้มลดลงตามระดับของการเสริมอินูลินที่เพิ่มขึ้น และมีค่าลดลงต่ำสุดในกลุ่มปลาที่ได้รับการเสริมอินูลินที่ระดับ 3% ผลการเจริญเติบโตที่ลดลงนี้อาจเกิดจากจุลินทรีย์ในลำไส้ไม่สามารถหมักย่อยอินูลินในระดับที่สูงมากเกินไปได้และเกิดการสะสมภายในลำไส้ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อการดูดซึมสารอาหารของเซลล์ผนังลำไส้

การกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลาโดยการใช้สารเสริมในอาหารเป็นที่ได้รับความสนใจมากสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเชิงพาณิชย์ จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ปลาอุกกลุ่มผสมที่ได้รับอาหารเสริมอินูลินที่ระดับ 1% มีผลทำให้ค่าภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ค่าอิมมูโนโกลบูลินรวม ค่าการทำงานของไลโซไซม์ และค่า ACH50 เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในปลานิลที่พบว่า การเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 0.5% เป็นเวลา 8 สัปดาห์ สามารถกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เช่น ค่าอิมมูโนโกลบูลินรวม ค่าการทำงานของไลโซไซม์ และค่า ACH50 ได้ (Tiengtam *et al.*, 2015) โดยฟรีไบโอติกสามารถช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์ได้ด้วยการช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของประชากรแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ และมีผลต่อการทำหน้าที่ของตัวรับคาร์โบไฮเดรตบนเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้ และเซลล์ภูมิคุ้มกัน (Seifert and Watzl, 2007) ซึ่งส่วนประกอบของเซลล์ เช่น lipopolysaccharides ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์จะสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในตัวสัตว์ได้ (Bricknell and Dalmo, 2005) โดยความจริงแล้วแบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria และแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacterium* spp. เป็นที่ทราบกันดีว่าสามารถใช้ประโยชน์จากอินูลิน และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้ (Kaplan and Hutkins, 2000; Roller *et al.*, 2004) ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ส่วนใหญ่จะถูกจัดให้เป็นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในระบบนิเวศลำไส้ของสัตว์โดยการผลิตแบคทีริโอซิน (bacteriocins) กรดแลคติก และสารต้านการเจริญเติบโตของเชื้อโรคอื่น ๆ ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ (Ringo *et al.*, 2010) จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าปลาอุกกลุ่มผสมที่ได้รับการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 1% มีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียกลุ่ม lactic acid bacteria จำนวนแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacterium* spp. เพิ่มขึ้น และจำนวนแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ซึ่งเป็นกลุ่มที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารมีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยเช่นกัน สอดคล้องกับผลการศึกษาในปลาชนิดต่าง ๆ ก่อนหน้านี้ เช่น Reza *et al.* (2009) รายงานว่าการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 1% เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในปลา beluga เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม Mourino *et al.* (2012) พบว่าการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 0.5% เป็นเวลา 15 วัน มีผลทำให้จำนวนประชากรแบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria ในปลา hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Ortiz *et al.* (2013) พบว่าการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 0.5-1% เป็นเวลา 49 วัน สามารถลดจำนวนแบคทีเรียในกลุ่ม *Vibrio* spp. จนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ ในบริเวณลำไส้ส่วนปลายของปลา rainbow trout จากการศึกษาครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการเสริมอินูลินในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของปลาอุกกลุ่มผสม โดยพบว่าระดับการเสริมอินูลินในอาหารที่ระดับ 1% มีประโยชน์ต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตและสุขภาพของปลาอุกกลุ่มผสมได้ดีที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณสุจิตตา จำปา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการดูแลปลาและสถานที่ทดลอง ขอขอบคุณ ทีมนักวิจัยห้องปฏิบัติการอาหารและสุขภาพสัตว์น้ำ สาขาวิชาประมง คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนครพนม ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและเป็นกำลังใจในการทำงานเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

- Akrami, R., Iri, Y., Khoshbavar R.H., and Razeghi, M.M. 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 Immunol.* 35(4): 1235-1239.
- AOAC. 1990. AOAC Official methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 14th ed. AOAC, Arlington, VA. 70 p.
- Bricknell, I., and Dalmo, R.A. 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish Shellfish Immunol.* 19: 457-472.
- Burr, G., Hume, M., Ricke, S., Nisbet, D., and Gatlin III, D. 2010. In vitro and in vivo evaluation of the prebiotics GroBiotic[®]-A, inulin, mannanoligosaccharide, and galactooligosaccharide on the digestive microbiota and performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). *Microb. Ecol.* 59: 187-198.
- FAO. 2002. Antibiotics residue in aquaculture products. Rome: The state of world fisheries and aquaculture. 168 p.
- Gibson, G.R., and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125: 1401-1412.
- Ibrahem, M.D., Fathi, M., Mesalhy, S., and Abd, E.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 Immunol.* 29: 241246.
- Information center of fisheries. 2016. Fisheries statistics of Thailand 2014. Department of fisheries, Bangkok, Thailand. Report No. 11/2016. [in Thai]
- Kaplan, H., and Hutkins, R.W. 2000. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(6): 2682-2684.
- Leboffe, M. J., and Pierce, B.E. 2011. A photographic atlas for the microbiology laboratory, 4th ed. Morton Publishing Company, New York, USA. 138 p.
- Mahious, A.S., Van Loo, J., and Ollevier, F. 2006a. Impact of the prebiotics, inulin and oligofructose on microbial fermentation in the spiral valve of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). In: Proceedings of the World Aquaculture Society Meeting. World Aquaculture Society and European Aquaculture Society, Florence, Italy, pp. 564-565.
- Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Métailleur, R., and Ollevier, F. 2006b. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C 1758). *Aquac. Int.* 14: 219-229.

- Mourino, J.L.P., Vieira, F.N., Jatoba, A.B., Silva, B.C., Jesus, G.F.A., Seiffert, W.Q., and Martins, M.L. 2012. Effect of dietary supplementation of inulin and *W. cibaria* on haemato-immunological parameters of hybrid surubim (*Pseudoplatystoma* sp.). *Aquac. Nutr.* 18: 73-80.
- Mousavi, E., Mohammadiazarm, H., Mousavi, S.M., and Ghatrami, E.R. 2016. Effects of inulin, savory and onion powders in diet of juveniles carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus 1758) on gut micro flora, immune response and blood biochemical parameters. *Turk. J. Fish. & Aquat. Sci.* 16(4): 831-838.
- Ortiz, L.T., Rebolé, A., Velasco, S., Rodríguez, M.L., Treviño, J., Tejedor, J.L., and Alzueta, C. 2013. Effects of inulin and fructooligosaccharides on growth performance, body chemical composition and intestinal microbiota of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult. Nutr.* 19: 475-482.
- Pitaksong, T., Kupittayanant, P., and Boonanuntanasarn, S. 2013. The effects of vitamins C and E on the growth, tissue accumulation and prophylactic response to thermal and acidic stress of hybrid catfish. *Aquac. Nutr.* 19: 148-162.
- Rawling, M., Merrifield, D.L., and Davies, S.J. 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. *Aquaculture.* 294: 118-122.
- Reza, A., Abdolmajid, H., Abbas, M., and Abdolmohammad, A.K. 2009. Effect of dietary prebiotic inulin on growth performance, intestinal microflora, body composition and hematological parameters of juvenile beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *J. World Aquac. Soc.* 40: 771-779.
- Ringø, E., Løvmo, L., Kristiansen, M., Bakken, Y., Salinas, I., Myklebust, R., and Mayhew, T.M. 2010. Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review. *Aquac. Res.* 41(4): 451-467.
- Roberfroid, M.B. 2002. Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *Br. J. Nutr.* 87(S2): S139-S143.
- Roller, M., Rechkemmer, G., and Watzl, B. (2004). Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* modulates intestinal immune functions in rats. *J. Nutr.* 134(1): 153-156.
- Seifert, S., and Watzl, B. 2007. Inulin and oligofructose: review of experimental data on immune modulation. *J. Nutr.* 137: 2563S-2567S.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P., and Rumsey, G.L. 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affect non-specific immunity and protection against furunculosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 41: 125-139.

- Steel, R.G., and Torrie, J.H. 1980. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach, 2nd ed. McGraw-Hill, New York, USA. 633 p.
- Sunyer, J.O., and Tort, L. 1995. Natural hemolytic and bactericidal activities of seabream, *Sparus aurata* serum are affected by the alternative complement pathway. Vet. Immunol. Immunopathol. 45: 333-345.
- Tiengtam, N., Khempaka, S., Paengkoum, P., and Boonanuntanasarn, S. 2015. Effects of inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as prebiotic ingredients in the diet of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Anim. Feed Sci. Technol. 207: 120-129.