

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* สายพันธุ์ AQBS01 ซึ่งแยกได้จากลำไส้ของปลานิล ในป่อเลี้ยงต่อระบบภูมิคุ้มกันและการต้านทานโรคของปลานิล ซึ่งภายหลังจากการนำไปจำแนกชนิดโดยอาศัยเทคนิคทางจุลชีววิทยาและอณูชีวโมเลกุล พบว่าแบคทีเรียชนิดนี้คือ *Bacillus pumilus* และเมื่อนำแบคทีเรียดังกล่าวในสภาพที่มีชีวิตไปผสมอาหารในอัตรา 0 (กลุ่มควบคุม), 0.5, 1.0, 3.0 และ 5.0 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม แล้วนำไปเลี้ยงปลานิลขนาด 50 กรัม ในอัตรา 5% นำหนักตัวทุก ๆ วัน โดยแบ่งเป็น 5 กลุ่ม โดยเลี้ยงในตู้ทดลองขนาด 80 ลิตร ตู้ละ 15 ตัว โดยจัดเป็น 4 ซ้ำ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการตรวจสอบ อัตราการเจริญเติบโต ความยาวและจุลพยาธิของลำไส้ ปริมาณเม็ดเลือดขาว จำนวนแบคทีเรียในลำไส้ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง และความสามารถในการต้านทานต่อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ใน 3 แบบคือ การแช่ การฉีดเข้าช่องท้องและการป้อนเข้าไปในช่องปาก พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus pumilus* ในอัตรา 1-5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัมสามารถเพิ่มระดับของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง โดยสังเกตจากค่า Phagocytic activity, Phagocytic index และ Phagocytic efficiency รวมถึงปริมาณ Superoxide anion (O_2^-) สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับอัตราการรอดตายของปลาภายหลังการแช่ ฉีดและให้กินเชื้อ *S. agalactiae* ที่พบว่าปลาทดลองที่ได้รับแบคทีเรีย *Bacillus pumilus* ในอาหารในอัตรา 1-5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม จะมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และยังพบว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรียในอาหารไม่ได้แสดงอาการผิดปกติออกมาให้เห็นในช่วงการทดลองแต่อย่างใด อย่างไรก็ตามผลจากการศึกษา อัตราการเจริญเติบโตของปลาแต่ละกลุ่ม โดยพิจารณาจากความยาวและน้ำหนัก ความยาวลำไส้ของปลาในแต่ละกลุ่มพบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ตลอดระยะเวลาการทดลอง และเมื่อนำเอาแบคทีเรีย *Bacillus pumilus* ไปศึกษาในสภาพการเลี้ยงจริงกับปลานิลที่เลี้ยงในกระชังในแม่น้ำท่าจีนเขตพื้นที่อำเภอเดิมบางนางบวช จังหวัดสุพรรณบุรี โดยใช้เวลาเลี้ยงทั้งหมด 110 วัน เริ่มตั้งแต่วันที่ 2 กุมภาพันธ์ถึงวันที่ 18 มิถุนายน 2552 จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าระหว่างการทดลองได้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำอย่างต่อเนื่อง ที่สำคัญได้แก่ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิที่สูงขึ้นเกิน 32°C รวมทั้งการลดลงของออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ได้ส่งผลต่อการกินอาหารของปลา และปริมาณแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหาร ทำให้ปลาทดลองทุกกลุ่มทยอยเกิดโรคและตายอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามก็พบว่าปลาทดลองที่ได้รับแบคทีเรีย 1.0 และ 3.0 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม จะมีอัตราการตายต่ำกว่าปลาในกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในช่วงกลางเดือนเมษายนถึงต้นเดือนพฤษภาคมที่มีการระบาดของโรคเท่านั้น และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรีย *Bacillus pumilus* ในอาหารในอัตรา 1 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราการตายต่ำสุดที่ 20.86% ใกล้เคียงกับปลาในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรียในอาหาร 3 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ที่มีอัตราการตาย 23.33% ขณะที่ปลาในกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรียในอาหาร 0.5 กรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม และกลุ่มควบคุมมีอัตราการตายใกล้เคียงกันที่ 27.31% และ 29.62% ตามลำดับ แต่ก็ไม่พบว่ามีค่าแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($P>0.05$) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ รวมถึงผลผลิตของปลาด้วยที่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่อย่างใด ($P>0.05$)

Abstract

Efficacy of a *Bacillus* bacterium strain AQBS01 isolated from Nile tilapia intestine on immune system and antibacterial activity was carried out in both lab and on-farm scales. Identification by molecular and micro-biochemical techniques revealed that this bacterium showed highly identical to *Bacillus pumilus*. In laboratory scale, viable form of this bacterium was supplemented at 0 (control), 0.5, 1.0, 3.0 and 5.0 g/kg diet to feed 5 different groups of Nile tilapia for 4 weeks. This bacterium had no any side effects on growth and mortality of fish when they were fed with 0.5-5.0 g/kg diet and fish that received feed supplemented with *B. pumilus* showed no evidences of disease during feeding periods. The non-specific immune responses of fish were determined and showed that fish fed with 1.0-5.0 g of *B. pumilus* expressed significant higher of phagocytic activity, phagocytic index and phagocytic efficiency including superoxide anion (O_2^-) levels than that of control. Interestingly, challenging experimental fish with bath infection, intraperitoneal injection and orally infected route of viable *S. agalactiae* exhibited high performance of *B. pumilus* application against this pathogenic bacterium. The fish mortality during 15 days after oral and intraperitoneal injection with *S. agalactiae* was found to be decreased dramatically in fish group fed on diet supplemented with *Bacillus pumilus* at concentration of 1.0-5.0 g/kg diet ($P<0.05$). However, significant differences of growth rate among fish groups were not found. These indicated that intestinal tracts of experimental fish may be successfully colonized by adding 1.0-5.0 g of *Bacillus pumilus*/kg diet, which exhibited improved health than that control. Additionally, application of *B. pumilus* on cage culture fish farm was also conducted on Tachin River, at Dermbang-Nangbuach district, Suphanburi province where streptococcosis usually occurs in summer. The trial was 110 days carrying from February 2nd to June 18th, 2009. Four different groups of fish were fed 5% body weight with commercial diet containing 0, 0.5, 1.0 and 3.0 g of *Bacillus pumilus*/kg diet along experimental periods. Surprisingly, clinical signs of streptococcosis were not recorded in this experiment. But experimental fish were seriously sick with other bacterial diseases mainly caused by *Flavobacterium* spp., *Aeromonas* spp. and some kinds of external parasites in the middle to the end of April. Performance of *B. pumilus* application at concentration of 1.0 and 3.0 g *B. pumilus* /kg diet against fish diseases were discovered in short period, since fish fed with those concentrations were showed significantly low mortality than the control and 0.5 g *B. pumilus*/kg feed in out-breaking times ($P<0.05$). At the end of trail, the mortality rates of fish consuming 1.0 and 3.0 g probiotics/kg diet were 20.86% and 23.33% while control and fish fed with 0.5 g *B. pumilus*/kg diet were 29.62% and 27.31%, respectively. However, no significant differences of survival rate and growth parameters were either not found in this experiment ($P>0.05$).