ผลของการใช้คองยักกลูโคแมนแนนไฮโดรไลเสทเป็นสารเสริมพรีไบโอติกส์ต่อการเจริญเติบโต ค่าโลหิตวิทยา แบคทีเรียในลำไส้ และความต้านทานโรคของปลานิล

Effects of Konjac Glucomannan Hydrolysate as a Prebiotic on Growth Performance, Hematological Values, Intestinal Microflora and Disease Resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

อัจฉรา จุฑาเกตุ[1*] จำเริญศรี ถาวรสุวรรณ[2] อรอนงค์ ไชยรา[3] และ เอกสิทธิ์ อ่อนสอาด[4]

Achara Jutagate[1*] Jumroensri Thawonsuwan[2] Aonanong Chaiyara[3] and Ekasit Onsaard[4]

[1] สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จ. อุบลราชธานี 34190

[2] ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำสงขลา จ. สงขลา 90100

[3]สาขาวิชาการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร จ. สกลนคร 47000

[4] สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จ. อุบลราชธานี 34190

[1] Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani Province 34190

[2] Songkhla Aquatic Animal Health Research Center, Songkhla Province 90100

[3]Department of Fisheries, Faculty of Agricultural Technology, Sakon Nakhon Rajabhat University, Sakon Nakhon Province 47000

[4]Department of Food Science Tecnology, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani Province 34190

*E-mail: achara.j@ubu.ac.th

Received: 31 Jan 20

Revised: 11 Nov 20

Accepted: 16 Nov 20

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของพรีไบโอติกส์คองยักกลูโคแมนแนนไฮโดรไลเสท (Konjac Glucomannan Hydrolysate; KGH) ต่อการเจริญเติบโต ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ ค่าโลหิตวิทยาบางประการ และความต้านทานโรคของลูกปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยแบ่งปลาจำนวน 360 ตัว ออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ใช้ปลานิลวัยรุ่นขนาด 11.04±0.51 กรัม เลี้ยงปลาด้วยอาหารสำเร็จรูปที่ผสม KGH ที่ปริมาณ 0 (กลุ่มควบคุม), 1, 2 และ 3 % เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากผลการศึกษาพบว่าปลาที่ได้รับ KGH ทุกกลุ่มการทดลองมีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับ KGH โดยมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวสุดท้าย ค่าเฉลี่ยของน้ำหนังที่เพิ่มขึ้น และ ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และปลาที่ได้รับ KGH ที่ระดับ 1 และ 2 % ยังมีค่าอัตราแลกเนื้อที่ดีกว่าปลากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณแบคทีเรียรวมที่พบในลำไส้ของปลาที่ได้รับ KGH มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการเพิ่มขึ้นของปริมาณแบคทีเรียกรดแลคิกในสำไส้ของปลาทุกชุดการทดลอง และพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณเม็ดเลือดแดง ค่าเฉลี่ยของปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (haematocrit) ค่าเฉลี่ยของปริมาณเม็ดเลือดขาว ปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophils และ monocytes ในปลาทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ปลาที่ได้รับ KGH ในปริมาณ 1 และ 2 % มีเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytes มากกว่าปลากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าปลากลุ่มที่ได้รับ KGH มีความต้านทานต่อเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ดีกว่าปลากลุ่มควบคุม แม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ: ปลานิล พรีไบโอติกส์ คองยักกลูโคแมนแนนไฮโดรไลเสท

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of prebiotics, Konjac glucomannan hydrolysate (KGH) on growth, hematology, intestinal bacteria and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. A total of 360 fish (11.04±0.51 g) were randomly distributed into four experimental treatment groups with triplicates and fed with commercial diets containing 0 (control), 1, 2 and 3 % KGH for 4 weeks. The results showed that fish fed diet supplemented with KGH had significant improvements in growth performances including, average final weight, average weight gain and average daily gain, compared to those fed on control diet ($P<0.05$). The feed conversion ratio of fish fed with 1 and 2 % KGH was also significantly higher than the control group. Total intestinal

bacterial counts were significantly decreased in the groups fed with KGH, while their quantities of lactic acid bacteria were not significantly increased, compared to the control. The results showed no significant differences in red blood cell, hematocrit, white blood cell, neutrophils and monocyte levels among all groups, but levels of lymphocyte in the fish fed with 1 and 2 % KGH was significantly increased, compared to the control. Moreover, the fish fed with KGH showed higher but not significant resistance against pathogenic bacteria, *Aeromonas hydrophila.*
Keywords: Nile tilapia, Prebiotics, Konjac glucomannan hydrolysate

1. บทนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลก มีการเลี้ยงในหลายประเทศโดยเฉพาะในแถบทวีปแอฟริกา อเมริกา และเอเชีย [1] เนื่องจากเป็นปลาที่เจริญเติบโตเร็ว และเลี้ยงง่าย อีกทั้งยังได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค ปลานิลจึงเป็นปลาที่ได้รับความนิยมและเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายรวมถึงประเทศไทย ซึ่งปลานิลนั้นจัดว่าเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญที่สุดทางเศรษฐกิจของประเทศ โดยมีปริมาณผลผลิตรวมกว่า 185,000 ตัน ในปี 2560 [2] คิดเป็นมูลค่ากว่า 6,000 ล้านบาท ซึ่งถือว่าสูงที่สุดในกลุ่มสัตว์น้ำจืด

อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงปลานิลในปัจจุบัน เป็นการเลี้ยงแบบพัฒนา มีอัตราการปล่อยปลาที่หนาแน่น ส่งผลให้ปลาเกิดความเครียด อ่อนแอ และเกิดโรคขึ้นได้ง่าย โดยโรคที่เป็นสาเหตุสำคัญที่สร้างความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงปลานิลในประเทศไทย ได้แก่ โรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus* spp. ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความสัมพันธ์ในทางลบระหว่างปลาและเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่มีอยู่ในระบบการเพาะเลี้ยง และปลาต้องสัมผัสหรือได้รับเข้าสู่ตัวปลาอยู่เสมอ [3], [4], [5] โดยเฉพาะทางเดินอาหารถือว่าเป็นอวัยวะที่รับเชื้อที่มากับน้ำและอาหารอยู่เป็นประจำ โดยทั่วไปในลำไส้จะมีขบวนการที่จำกัดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคโดยการทำงานของแบคทีเรียประจำถิ่น เช่น แบคทีเรียแลคติค (Lactic acid bacteria, LAB) ที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค ป้องกันการตั้งรกรากและการเพิ่มปริมาณของเชื้อก่อโรคหรือเชื้อฉวยโอกาสอันจะส่งผลให้ปลาเกิดการเจ็บป่วย [6] นอกจากนี้แบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ปลายังมีส่วนช่วยในการผลิตเอนไซม์ในการย่อยอาหาร การสังเคราะห์วิตามินและกรดไขมันที่จำเป็น [7]- [9] และยังช่วยกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และความต้านทานโรค[3], [10], [11] เมื่อไม่นานมานี้ มีรายงานการวิจัยในปลาม้าลายที่แสดงให้เห็นว่าว่าจุลินทรีย์ประจำถิ่นสามารถควบคุมการแสดงออกของยีนในทางเดินอาหารได้ถึง 212 ยีน และยีนจำนวนหนึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการแบ่งตัวหรือเพิ่มจำนวนของเซลล์บุผนังลำไส้ การส่งเสริมขบวนการเผาผลาญอาหาร และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน [12] ดังนั้นความสมดุลของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญยิ่งต่อการต้านทานการติดเชื้อโรคตามธรรมชาติในทางเดินอาหาร [6] อย่างไรก็ตาม สภาพแวดล้อมระหว่างการเลี้ยงปลาย่อมส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้จนเป็นสาเหตุทำให้ปลาป่วยเป็นโรคและตายได้ในที่สุด ดังนั้นการจัดการเพื่อเพิ่มปริมาณแบคทีเรียประจำถิ่นที่เป็นมิตรในลำไส้ปลาจึงเป็นวิธีการหรือแนวทางหนึ่งที่เป็นประโยชน์และมีศักยภาพต่อการป้องกันและควบคุมโรคในการเพาะเลี้ยง

Konjac Glucomannan Hydrolysate (KGH) (Konjac Glucomannan Oligosaccharide KGO) หรือ Konjac Mannan Oligosaccharide (KMOS) คือ พรีไบโอติกส์ที่ได้จากการย่อยสายน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ glucomannan ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในหัวบุก โดยเฉพาะบุกสายพันธุ์ *Amorphophallus konjac* จากการศึกษาคุณสมบัติของ KGH ในห้องปฏิบัติการพบว่า KGH สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ เช่น แบคทีเรียแลคติก และไปยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ไม่พึงประสงค์เมื่อถูกนำมาเลี้ยงรวมกันในอาหารที่ผสม KGH [13], [14], [15] โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้กลไกต่าง ๆ เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค เช่น การผลิตกรด การผลิตสารยับยั้งแบคทีเรีย (antibiotic substance) การเข้าครอบครองพื้นที่อยู่อาศัยและการแก่งแย่งสารอาหาร [16] นอกจากนี้ผลการวิจัยหลายชิ้นยังชี้ว่า KGH สามารถส่งเสริมสุขภาพของระบบทางเดินอาหาร [13], [14], [17] ช่องปาก [18] และผิวหนัง [19] สำหรับในสัตว์น้ำ มีรายงานว่าปลา yellow catfish ที่ได้รับ KGH ซึ่งได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์มีการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในการย่อยอาหารในลำไส้ที่สูงขึ้น และการเพิ่มขึ้นของปริมาณแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ปลาอย่าง *Bifidobacterium* spp. และการลดลงของจำนวนแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโทษอย่าง *Escherichia coli* และ *Aeromonas* spp. [20] เช่นเดียวกับกับการศึกษาของ Zheng และคณะ [21] ที่พบว่า KGH ที่ได้จากการอ๊อกซิไดซ์ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ลักษณะทางกายภาพของลำไส้ และมีผลต่อแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของปลา *Schizothorax prenanti* นอกจากนี้ยังพบว่า KGH ที่ได้จากการ อ๊อกซิไดซ์และผลผลิตของมันที่เกิดจากการนำไปย่อยต่อด้วยกรดให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงนั้นช่วยส่งเสริมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในปลา *S. prenanti* หลังจากได้รับการฉีดด้วยเชื้อ *A. hydrophila* [22] อย่างไรก็ตามการตอบสนองต่อการใช้

พรีไบโอติกส์ในสัตว์น้ำแต่ละชนิด รวมถึงชนิดและปริมาณของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของสัตว์น้ำมีความแตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษาศักยภาพของ KGH ในฐานะพรีไบโอติกส์ในปลาเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างเช่นปลานิลจึงมีความสำคัญ เพื่อนำมาใช้เป็นแนวทางในการป้องกันและควบคุมโรคที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงปลานิล

การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ KGH ต่อการเจริญเติบโต ค่าโลหิตวิทยา แบคทีเรียในลำไส้ และความต้านทานต่อเชื้อ *A. hydrophila* ของปลานิล

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมแป้งบุกไฮโดรไลเสท (Konjac Glucomannan Hydrolysate, KGH)

เตรียมแป้งบุกไฮโดรไลเสทด้วยกรดซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Chen et al. [23] ทำการชั่งแป้งบุก 100 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริค (HCl) ความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล (25 g/L) จำนวน 250 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนบนเตาให้ความร้อน (Hot plate) อุณหภูมิ 100-110 °C นาน 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น นำสารละลายที่ได้ไปปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 หรือ 0.1 นอร์มอล นำสารละลายแป้งบุกไฮโดรไลเสทมาทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบระเหิด แล้วสุ่มตัวอย่างเพื่อหาอัตราการย่อยด้วยกรด (degree of polymerization; DP) [24]

2.2 ปลา การให้อาหาร และการวางแผนการทดลอง

นำปลานิลเพศผู้ล้วนขนาดประมาณ 10 กรัม/ตัว จำนวน 360 ตัว กระจายใส่ตู้ทดลองตู้ขนาด 60 X 70 X 50 เซนติเมตร ตู้ทดลองละ 30 ตัว ให้อาหารสำเร็จรูปที่ไม่ผสม KGH ในอัตรา 5% ของน้ำหนักตัว วันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น เป็นเวลา 1 สัปดาห์ มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน และให้อากาศระหว่างการทดลอง โดยลูกพันธุ์ปลา ได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดโดยแบ่งปลาออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 30 ตัว โดยปลากลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับอาหารที่ไม่มี KGH กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารที่ผสม KGH 1% (10 g/kg diet) กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารที่ผสม KGH 2% (20 g/kg diet) กลุ่มที่ 4 ได้รับอาหารที่ผสม KGH 3% (30 g/kg diet) โดยให้อาหารปลาทุกกลุ่มเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และทำการชั่งน้ำหนักปลาทุกกลุ่มการทดลองสัปดาห์ละครั้งเพื่อปรับปริมาณอาหารที่ให้สอดคล้องกัน

2.3 การนับปริมาณแบคทีเรียในลำไส้

สุ่มเก็บตัวอย่างปลากลุ่มทดลองละ 6 ตัว (ซ้ำละ 2 ตัว) ณ วันสุดท้ายของการทดลอง ผ่าท้องและตัดส่วนของลำไส้ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ล้างลำไส้ด้วยน้ำเกลือ 0.89% ตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วสุ่มออกมาผสมกับน้ำเกลือ 0.89% ในอัตราส่วน 1/10 ทำการเจือจางตัวอย่าง 10 เท่า และใช้ตัวอย่างที่เจือจางจำนวน 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar ที่ผสม 1% $CaCO_3$ สำหรับการนับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกและอาหาร Trypticase soy agar (TSA) สำหรับแบคทีเรียรวม ก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เกิดโซนใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และโคโลนีที่ขึ้นทั้งหมดบนอาหาร TSA

2.4 การศึกษาการเจริญเติบโตของปลา

วิเคราะห์การเจริญเติบโตของปลาทุกตัวจากทุกกลุ่มทดลองของการทดลองเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยการชั่งน้ำหนักปลาเพื่อหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Body weight gain) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน (Average daily weight) และอัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion rate, FCR) ดังสูตรข้างล่างนี้

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Body weight gain):

= น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง – น้ำหนักปลาเริ่มต้น

อัตราการแลกเนื้อ (FCR) = $\frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}$

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อวัน (Average daily weight):

= $\frac{\text{น้ำหนักปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - น้ำหนักปลาเริ่มต้น}}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยง}}$

2.5 การศึกษาค่าทางโลหิตวิทยา

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่างปลาจากทุกกลุ่มทดลองชุดการทดลองละ 15 ตัว เพื่อตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยา (งดอาหาร 24 ชั่วโมง ก่อนการเก็บตัวอย่าง) โดยนำปลาที่ต้องการเก็บตัวอย่างมาทำให้สลบในถังที่มียาสลบ (200 mg/ml MS-222) จนกว่าปลาจะหยุดการเคลื่อนไหว หลังจากนั้นทำการเจาะเลือดปลาแต่ละตัวจากเส้นเลือดบริเวณคอดหาง (Caudal vein) ด้วยหลอดฉีดยาขนาดความจุ 1 มิลลิลิตร ที่เคลือบด้วยสารกันการแข็งตัวของเลือด หัวเข็มเบอร์ 27 ความยาว 1 นิ้ว นำเลือดที่เจาะได้มาหาปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) จำนวนเม็ดเลือดแดง และจำนวนเม็ดเลือดขาวตามวิธีการของ Anderson & Siwicki [25] หาเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแต่ละชนิดโดยการย้อมสไลด์เม็ดเลือดด้วย May-Grunwald-Giemsa stain และนำไปนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2.6 การทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

ทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการฉีดเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นเชื้อ 10^6 CFU/มิลลิลิตร เข้าช่องท้อง (Peritoneal injection) ปลาทดลอง จำนวน 15 ตัวต่อชุดการทดลอง ตัวละ 100 ไมโครลิตร โดยใช้เชื้อ *A. hydrophila* ตรวจนับจำนวนปลาตายทุกวันเป็นเวลา 15 วัน พร้อมทั้งเขี่ยเชื้อจากปลาที่ตายเพื่อยืนยันสาเหตุการตาย นำมาคำนวณอัตรารอดตาย

2.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ one way analysis of variance (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างทางสถิติตามวิธีของ TukeyHSD Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมประมวลผลทางสถิติ

3. ผลการวิจัย

ผู้วิจัยได้รับอนุญาตให้ใช้สัตว์เพื่องานวิทยาศาสตร์ เลขที่ใบอนุญาตใช้สัตว์ U1-02140-2558

3.1 การเจริญเติบโตและอัตราการรอด

จากการศึกษาผลของการเสริม KGH ลงในอาหารต่อการเจริญเติบโตของปลานิลเพศผู้ล้วน พบว่า ปลาที่ได้รับ KGH ในปริมาณ 1, 2 และ 3 % เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าปลากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับ KGH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 1) โดยมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวสุดท้าย อยู่ที่ 25.01±4.86, 24.92±4.95 และ 26.35±5.27 กรัม ตามลำดับ และค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (WG) อยู่ที่ 14.79±0.26, 14.22±0.72 และ 13.49±0.53 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่ปลากลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวสุดท้าย และค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นอยู่ที่ 11.02±0.44 กรัม ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน (ADG) ซึ่งพบว่าปลากลุ่มที่ได้รับ KGH ในปริมาณ 1, 2 และ 3 % มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน โดยมีค่าอยู่ที่ 0.53±0.01, 0.51±0.03 และ 0.48±0.02 กรัม/วัน ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุมมีค่าอยู่ที่ 0.39±0.02 กรัม/วัน และไม่มีความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวันระหว่างปลาที่ได้รับ KGH ในปริมาณ 1 และ 2 % นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่ได้รับ KGH ในปริมาณ 1 และ 2 % มีค่าอัตราการแลกเนื้อ (FCR) ที่ต่ำกว่าปลากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่พบการตายของปลาตลอดระยะเวลาที่ทำทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 1

Table 1 Growth performance of Nile tilapia juveniles fed with different levels of Konjac glucomannan hydrolysate for 4 weeks

Parameters	Mean ± SD			
	control	1% KGH	2% KGH	3% KGH
Initial body weight (g)	10.7±1.13^{a}	10.65±1.5^{a}	11.06±1.44^{a}	11.75±1.09^{a}
Final body weight (g)	21.72±4.58^{a}	25.01±4.86^{b}	24.92±4.95^{bc}	26.35±5.27^{c}
Weight gain (g)	11.02±0.44^{a}	14.79±0.26^{b}	14.22±0.72^{b}	13.49±0.53^{b}
Average daily growth (g/day)	0.39±0.02^{a}	0.53±0.01^{b}	0.51±0.03^{bc}	0.48±0.02^{c}
Feed conversion ratio (FCR)	1.57±0.03^{a}	1.14±0.01^{b}	1.20±0.09^{b}	1.43±0.11^{a}
Survival rate (%)	100	100	100	100

Values with different superscripts within rows are significantly different ($P<0.05$).

3.2 ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ปลา

หลังจากให้อาหารที่ผสม KGH ในปริมาณต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ปลาทุกกลุ่มได้ถูกสุ่มนำไปตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียกรดแลคติกในลำไส้ ผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ปลาแสดงในภาพที่ 1 จากการศึกษาพบว่าปลาที่ได้รับ KGH ในปริมาณ 1, 2 และ 3 % มีค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียรวมอยู่ที่ 1.56±0.29X10^{6} , 1.68±0.13X10^{6} และ 1.60±0.21X10^{6} CFU ต่อลำไส้ 1 กรัม ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับปลากลุ่มควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียรวมอยู่ที่ 2.79±0.71 X 10^{6} CFU ต่อลำไส้ 1 กรัม และไม่พบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียรวมระหว่างกลุ่มที่ได้รับ KGH ในปริมาณที่ต่างกัน ขณะที่ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกของปลาที่ได้รับ KGH มีค่ามากกว่าปลากลุ่มควบคุม แม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างปลาทุกกลุ่ม ($P>0.05$) โดยปลากลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก อยู่ที่ 1.20±0.24X10^{6} CFU ต่อลำไส้ 1 กรัม ส่วนปลาที่ได้รับ KGH ปริมาณ 1, 2 และ 3 % มีค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติก อยู่ที่ 1.30±0.74X10^{6}, 1.25±0.13X10^{6} และ 1.45±0.22X10^{6} CFU ต่อลำไส้ 1 กรัม ตามลำดับ

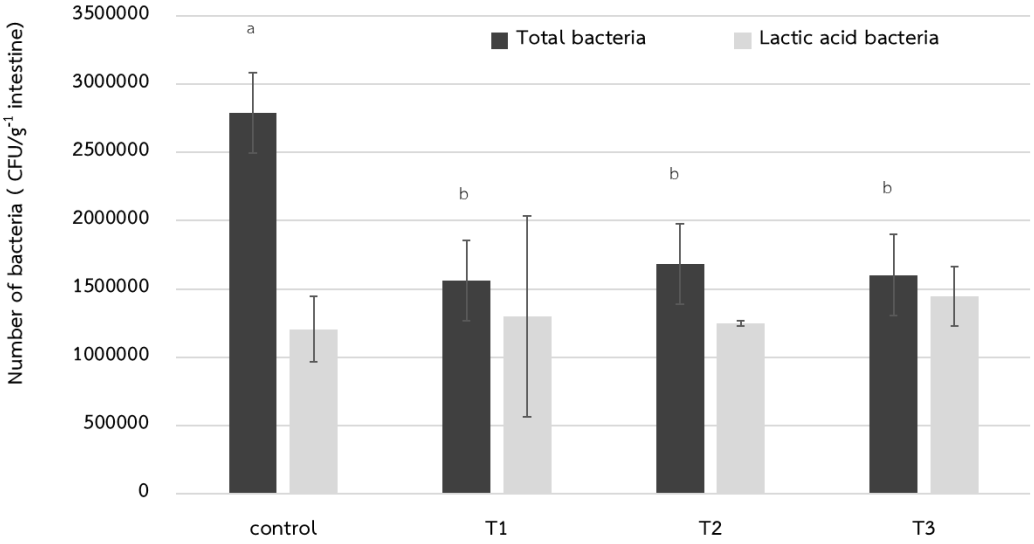

Figure 1 Effects of Konjac glucomannan hydrolysate on number of total bacteria and lactic acid bacteria in Tilapia intestines

3.3 ค่าทางโลหิตวิทยา

ปลาที่ได้รับ KGH และปลากลุ่มควบคุม มีค่าโลหิตวิทยาดังแสดงในตารางที่ 3 จากการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณเม็ดเลือดแดงในปลาที่ได้รับ KGH ในปริมาณ 1 , 2 และ 3 % มีค่าไม่แตกต่างจากปลากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าอยู่ที่ $1.33\pm0.28X10^6$ $1.32\pm0.45X10^6$ และ $1.38\pm0.69X10^6$ cell/µl ตามลำดับ ส่วนปลากลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยของปริมาณเม็ดเลือดแดงอยู่ที่ $1.36\pm0.36X10^6$ cell/µl เช่นเดียวกับค่าเฉลี่ยของปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (haematocrit) ค่าเฉลี่ยของปริมาณเม็ดเลือดขาว ปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophils และ monocytes ในปลาทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามปลาที่ได้รับ KGH ในปริมาณ 1 และ 2 % มีเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytes มากกว่าปลากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าอยู่ที่ 67.81±0.64 และ 67.93±0.77 % ตามลำดับ ในขณะที่ปลาที่ได้รับ KGH ในปริมาณ 3 % มีเปอร์เซ็นต์ lymphocytes อยู่ที่ 66.12±0.60 % ซึ่งไม่แตกต่างจากปลากลุ่มควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์ lymphocytes อยู่ที่ 66.08 ±045 % ดังแสดงในตารางที่ 3

3.4 การทดสอบความต้านทานต่อการติดเชื้อ *A. hydrophila*

จากการทดสอบความต้านทานโรคในปลากลุ่มที่ได้รับ KGH และกลุ่มควบคุมพบว่า ปลาเริ่มทยอยตายในวันที่ 2 หลังจากถูกฉีดด้วยเชื้อ *A. hydrophila* และภายในระยะเวลา 15 วันของการทดสอบ ปลาที่ได้รับ KGH มีอัตราการรอดตายที่สูงกว่าปลากลุ่มควบคุม แม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยปลาที่ได้รับ KGH ที่ปริมาณ 1 % มีอัตราการรอดตายสูงสุดอยู่ที่ 36.67 % ในขณะที่ปลาที่ได้รับ KGH ที่ปริมาณ 2 และ 3 % และปลากลุ่มควบคุม มีอัตราการรอดอยู่ที่ 33.34, 26.67 และ 23.34 % ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2 และเมื่อนำปลาที่ตายไปแยกเชื้อหาสาเหตุการตายพบว่าเชื้อที่แยกได้คือ *A. hydrophila*

Table 2 Effect of different levels of Konjac glucomannan hydrolysates on some hematological values

Parameters	Mean ± SD			
	control	1% KGH	2% KGH	3% KGH
RBCs (10^6 /µl)	1.36±0.36	1.33±0.28	1.32±0.45	1.38±0.69
WBCs (10^3/µl)	12.75±4.60	13.00±3.35	15.70±7.12	12.64±4.32
Hematocrit (%)	32.33±3.17	31.47±4.16	31.17±3.38	33.34±2.92
Lymphocytes (%)	66.08±0.45^a	67.81±0.64^b	67.93±0.77^b	66.12±0.60^a
Neutrophils (%)	29.97±2.09	29.56±1.39	28.82±0.84	29.67±0.77
Monocytes (%)	2.81±0.92	3.4±0.42	3.25±0.07	2.98±0.47

Values with different superscripts within rows are significantly different (P<0.05).
RBCs: Red blood cells. WBCs: White blood cells.

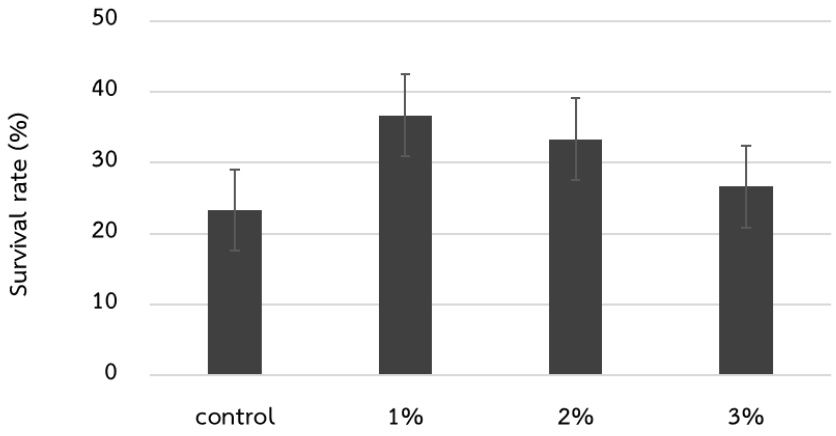

Figure 2 Survival rate of Nile tilapia fed with different levels of Konjac glucomannan hydrolysate

4. อภิปรายผล

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมานี้ได้มีการนำผลิตภัณฑ์เสริมอาหารมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำกันอย่างกว้างขวาง ไม่ว่าจะเป็นวิตามินซี โปรไบโอติกส์ และพรีไบโอติกส์ ทั้งนี้สืบเนื่องมาจากเกษตรกรต้องการเพิ่มความแข็งแรงหรือภูมิต้านทานให้แก่สัตว์น้ำ โดยเฉพาะการเลี้ยงสัตว์น้ำแบบพัฒนาที่มีการปล่อยเลี้ยงอย่างหนาแน่น

คองยักกลูโคแมนแนนไฮโดรไลเสท (KGH) หรือคองยักแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (KMOS) เป็นผลผลิตที่ได้จากการย่อยแป้งคองยักหรือแป้งบุกให้มีโมเลกุลเล็กลง มีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติกส์ โดยสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์หรือโปรไบโอติกส์ และลดปริมาณแบคทีเรียที่อาจเป็นอันตรายแก่เจ้าบ้าน [26] อย่างไรก็ตามมีการศึกษาการใช้ KGH ในสัตว์น้ำเพียง 2 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [20] และ *S. prenanti* [21], [22], [27] โดยผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหรือที่ถูกนำมาทดสอบส่วนใหญ่คือแมนแนนโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (MOS) ที่ได้ผนังเซลล์ของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* อีกทั้งประสิทธิภาพของการใช้พรีไบโอติกส์ยังขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของแบคทีเรียประจำถิ่นในทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ ซึ่งมีความผันแปรในปลาแต่ละชนิด รวมถึงวิธีการเลี้ยง [28] จากการศึกษาการใช้ KGH ในการเลี้ยงปลานิลเพศผู้ล้วนเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารที่เสริม KGH สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของปลานิลได้ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในปลา yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) และ ปลา *S. prenanti* ที่ได้รับการเสริม KGH ลงในอาหาร[20], [21], [27] นอกจากนี้ผลการทดลองลักษณะเดียวกันนี้ยังพบได้ในปลาหลายชนิดที่ได้รับอาหารที่มีการเสริม MOS เช่น Atlantic salmon [29] Nile tilapia [30] gilthead seabream [31] และ rainbow

trout [32] เป็นต้น ซึ่งผลของพลีไบโอติกส์ต่อการเจริญเติบโตนี้อาจมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในทางเดินอาหารและความสามารถในการย่อยอาหารของสัตว์น้ำที่ดีขึ้น [20] โดยปริมาณ KGH ที่ส่งผลดีที่สุดต่อค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน และอัตราแลกเนื้อคือ การให้ KGH 1% หรือ 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Zheng et al. [21] ที่พบว่า การให้ KGH ที่ได้จากการออกซิไดซ์ด้วยกรดแก่ปลา *S. prenanti* ในระดับ 8 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ส่งผลให้ปลามีการอัตราการเจริญเติบโต และอัตราแลกเนื้อดีที่สุด ในขณะที่การให้ KGH ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ แก่ปลา yellow catfish ในระดับ 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมส่งให้ปลามีอัตราการเจริญเติบโต และอัตราแลกเนื้อดีที่สุด [20] ซึ่งปริมาณการใช้ที่แตกต่างกันนี้น่าจะมีผลมาจากขนาดโมโลกุลของแมนแนนโอลิโกแซคคาร์ไรด์ที่ได้จากการย่อยด้วยวิธีที่ต่างกันมีความแตกต่างกัน กล่าวคือขนาดหรือโครสร้างของกลูโคแมนแนนมีผลต่อความสามารถในการนำไปใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหาร [21] โดยกลไกหนึ่งที่สำคัญของแบคทีเรียพลีไบโอติกส์ที่อาจส่งผลต่อสุขภาพของปลาคือการส่งเสริมการตั้งรกรากของจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหาร เช่น Bifidobacteria, Lactobacili, *Saccharomyces* sp. และ *E. coli* สายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรค [33] และ แมนแนนโอลิโกแซคคาร์ไรด์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลคติกในลำไส้ปลาและช่วยยับยั้งการเจริญของจุลชีพก่อโรคโดยการผลิตสารแบคทีรีโอซิน [34] โดยแบคทีเรียที่มีเอนไซม์แมนแนนเอส สามารถใช้ประโยชน์จากแมนแนนโอลิโกแซคคาร์ไรด์เพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวน ซึ่งส่งเสริมการเจริญเติบโตและการย่อยอาหารของปลาผ่านการผลิตเอนไซม์ย่อยอาหาร [35] อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกระหว่างกลุ่มทดลอง แต่ปลาที่ได้รับ KGH มีค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกสูงกว่าปลากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับการศึกษาการเสริมแมนแนนโอลิโกแซคคาร์ไรด์ในปลา beluga [36] และ rainbow trout [32] ในขณะที่ค่าเฉลี่ยของปริมาณแบคทีเรียรวมที่นับได้ในปลาที่ได้รับ KGH มีค่าต่ำกว่าปลากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการเสริม KGH มีผลต่อการควบคุมปริมาณแบคทีเรียในทางเดินอาหารของปลา Wu et al. [20] พบว่าปริมาณ *Bifidobacteria* spp. ในลำไส้ปลา yellow catfish ที่ได้รับคองยักแมนแนนโอลิโกแซคคาร์ไรด์ที่ระดับ 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณของ *E. coli* และ *Aeromonas* spp. ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจเป็นผลจากปริมาณของ Bifidobacteria สายพันธุ์ต่างๆในทางเดินอาหารที่ผลิตสารต้านแบคทีเรีย ซึ่งมีผลต่อปริมาณแบคทีเรียก่อโรค [37]

ค่าโลหิตวิทยาเป็นพารามิเตอร์หนึ่งที่ช่วยบ่งบอกสุขภาพของปลา [38] ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเสริม KGH ในอาหารปลาไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดง ฮีมาโตคริต และปริมาณเม็ดเลือดขาว ซึ่งบ่งชี้ถึงความปลอดภัยของการใช้สารเสริมนี้ สอดคล้องกับการศึกษาในลูกปลานิล [39] beluga [36] และ rainbow trout [32] ที่ได้รับการเสริม MOS ลงในอาหาร ตรงกันข้ามกับการศึกษาของ Andrews et al. [34] ที่พบว่า ปลา Rohu ที่ได้รับ MOS มีค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ดเลือดแดง และปริมาณเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากสิ่งแวดล้อมและปัจจัยเฉพาะต่าง ๆที่มีอิทธิพลต่อค่าทางโลหิตวิทยาของสัตว์น้ำซึ่งเป็นสัตว์เลือดเย็น [39] โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นองค์ประกอบที่มีความสำคัญต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด (innate immune response) อันส่งผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคในปลากระดูกแข็ง [40] แม้ว่าในการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของปริมาณเม็ดเลือดขาวโดยรวมระหว่างปลาทุกกลุ่ม แต่การเสริม KGH ที่ระดับ 1 กรัม และ 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมมีผลต่อจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte อย่างมีนัยสำคัญ การเพิ่มขึ้นของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ซึ่งเป็นเซลล์สร้างแอนติ้บอดีจะช่วยส่งเสริมกลไกการป้องกันตัวเองของปลาขณะติดเชื้อ [41] ที่ผ่านมามีรายงานว่าการเสริม MOS ช่วยส่งเสริมกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันบางกิจกรรม (immune parameter) ในปลาหลายชนิด เช่น ปลา Rainbow trout [42] snakehead [43] และ red drum [44] ขณะที่ในบางการศึกษาพบว่าการเสริม MOS ไม่มีผลต่อกิจกรรมดังกล่าว [28] ความผันแปรนี้พบได้เช่นเดียวกับการศึกษาผลของ MOS ต่อความต้านทานโรค [30] รายงานว่าลูกปลานิลที่ได้รับการเสริม MOS ในระดับ 2, 4 และ 6 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ในช่วงการแปลงเพศ มีอัตราการรอดตายสูงหลังจากได้รับเชื้อ *Streptococcus agalactiae* เช่นเดียวกับลูกปลา Rohu ที่ได้รับการเสริม MOS ที่ระดับ 10 กรัม ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 60 วัน มีอัตราการรอดตายสูง หลังจากได้รับเชื้อ *A. hydrophila* [34] Ahmad et al. [45] พบว่าลูกปลานิลที่ได้รับการเสริม MOS ในระดับ 0.5, 1 และ 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ มีอัตราการรอดตายสูงหลังจากได้รับเชื้อ *A. hydrophila* ในขณะที่การเสริม MOS ที่ระดับ 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ แล้วเปลี่ยนมาให้อาหารปกติ 2 สัปดาห์ [46] และ การเสริม MOS เป็นระยะเวลา 1-2 สัปดาห์ [47] ไม่ส่งผลต่ออัตราการรอดตายของปลา channel catfish หลังได้รับเชื้อ *Edwarsiella ictaluri* เช่นเดียวกับการให้อาหารเม็ดลอยที่ผสม MOS ที่ระดับ 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ หรือการให้อาหารที่ผสม MOS ที่ระดับ 4 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยผ่านเครื่องอัดอาหารด้วยความร้อนสูง แก่ปลา channel catfish เป็นระยะเวลา 9 สัปดาห์ ไม่ส่งผลต่ออัตราการรอดตายของปลาหลังได้รับเชื้อ *E. ictaluri* แต่เมื่อให้

อาหารที่ผสม MOS ที่ระดับ 4 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม โดยผ่านเครื่องอัดด้วยความร้อนต่ำแก่ปลาเป็นระยะเวลา 9 สัปดาห์ หรือให้อาหารจมที่ผสม MOS ที่ระดับ 2 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าปลามีอัตราการรอดตายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ [48], [49] ส่วนผลของ MOS ที่ได้จากการย่อยแป้งบุก (KGH) ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันนั้นมีเพียงการศึกษาของ Zheng et al. [22] ซึ่งได้รายงานว่า KGH ช่วยส่งเสริมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในปลา *S. prenanti* หลังจากได้รับการฉีดด้วยเชื้อ *A. hydrophila* อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาผลของ KGH ต่อความต้านทานโรคในปลา สำหรับการศึกษาครั้งนี้ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของอัตราการรอดตายระหว่างปลานิลกลุ่มควบคุมและปลากลุ่มที่ได้รับการเสริม KGH เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากได้รับเชื้อ *A. hydrophila* ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากปริมาณ และระยะเวลาในการให้ KGH [28]

5. บทสรุป

การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเสริมอาหารด้วย KGH ในปริมาณ 2% เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ให้แก่ปลานิลสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของปลา และการเปลี่ยนแปลงของประชากรแบคทีเรียในลำไส้ปลาได้ นอกจากนี้ยังมีผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา ส่วนผลของ KGH ต่อความต้านทานโรคในปลานั้นมีความไม่ชัดเจน ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของระยะเวลาของการให้ต่อไป

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ สำหรับทุนสนับสนุนงานวิจัย และ สำนักงานไร่ฝึกทดลอง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่ให้การสนับสนุนสถานที่ และเครื่องมือสำหรับงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงอย่างอย่างสมบูรณ์

7. References

[1] Gupta, M. V. and Acosta, B. O. 2004. A review of global tilapia farming practices. **Aquacuture Asia** 11 (1): 7-16.

[2] Department of Fisheries. 2018. **Production and trade of tilapia and its products in 2017 and the trends in 2018.** 8 pp. *(in Thai)*

[3] Olafsen, J. A. 2001. Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. **Aquaculture** 200: 223-247.

[4] Romero, J. and Navarrete. P. 2006. 16S rDNA-based analysis of dominant bacterial populations associated with early life stages of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). **Microbiological Ecology** 51: 422-430.

[5] Bjornsdottir, R. and el al. 2009. Survival and quality of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) in intensive farming: Possible impact of the intestinal bacterial community. **Aquaculture** 286: 53-63.

[6] Ringo, E., and et al. 2003. Electron microscopy of the intestinal microflora of fish. **Aquaculture** 227 395-415.

[7] Sugita, H., Miyajima, C and Deguchi, Y. 1991. The vitamin B12- producing ability of the intestinal microflora of freshwater fish. **Aquaculture** 92: 267-276.

[8] Ringo, E. and Birkbeck, T. K. 1999. Intestinal microflora of fish larvae and fry. **Aquaculture Research** 30: 73-93.

[9] Bairagi, A. and Ray, A. K. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. **Aquaculture International** 10: 109-121.

[10] Sugita, H., R. and et al. 2002. Antibacterial abilities of intestinal bacteria from larval and juvenile Japanese flounder against fish pathogens. **Fishery Science** 68: 1004-1011.

[11] Gomes, G.D. and Balcazar, J. L. 2008. A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish. **FEMS Immunological Medical Microbiology** 52: 145-154.

[12] Rawls, J., Samuel, B. and Gordon, J. 2004. Gnotobiotic zebrafish reveal evolutionarily conserved responses to the gut microbiota. Proceeding of. **Natural Academic Science USA** 101:4596-4601.

[13] Chen, H-L. and et al. 2005. Unhydrolyzed and hydrolysed konjac glucomannans modulated cecal and fecal microflora in Balb/c mice. **Nutrition** 21: 1059-1064.

[14] Al-Ghazzewi, F. H., and et al. 2007. The potential use of hydrolysated konjac glucomannan as a prebiotic. **Journal of the Science Food Agriculture** 87: 1758-1766.

[15] Connolly, M. L., Lovegrove, J. A. and Tuohy, K. M. 2010. Konjac glucomannan hydrolysate beneficially modulates bacterial composition and activity within the faecal microbiota. **Journal of Functional Food** 2: 219-224.

[16] Gibson, G. R., McCartney, A. L. and Rastall, R. A. 2005. Prebiotics and resistance to gastrointestinal infections. **British Journal of Nutrition** 93: 531-554.

[17] Elamir, A. A. and et al. 2008. Effects of konjac glucomannan hydrolysates on the gut microflora of mice. **Nutritional Food Science** 38: 422-429.

[18]Tester, R. F. and Al-Ghazzewi, F. H. 2016. Beneficial health characteristics of native and hydrolysed konjac (*Amorphophallus konjac*) glucomannan. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 96 (10): 3283-3291.

[19] Al-Ghazzewi, F. H. and Tester, R.F. 2010. Effect of konjac glucomannan hydrolysates and probiotics on the growth of the skin bacterium *Propionibacterium acnes in vitro.* **Journal of Cosmetic Science** 32: 139-142.

[20] Wu, Z. and et al. 2014. Effect of prebiotic konjac mannanoligosaccharide on growth performances, intestinal microflora, and digestive enzyme activities in yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. **Fish Physiology and Biochemistry** 40: 763–771.

[21] Zheng, Q., Wu, Y. and Xu, H. 2015. Effect of dietary oxidized konjac glucomannan on *Schizothorax prenanti* growth performance, body composition, intestinal morphology and intestinal microflora**. Fish Physiology and Biochemistry** 41: 733-743.

[22] Zheng, Q. and et al. 2016. Immune responses to *Aeromonas hydrophila* infection in *Schizothorax prenanti* fed with oxidized konjac glucomannan and its acidolysis products. **Fish & Shellfish Immunology** 49: 260-267.

[23] Chen, H-L. and et al. 2005. Unhydrolyzed and hydrolysed konjac glucomannan modulated cecal and fecal microflora in Balb/c mice**. Nurition** 21: 1059-1064.

[24] Dubois, M. and et al. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry** 28 (3): 350–356.

[25] Anderson, D. P. and Siwicki, A. K. 1995. Basic hematology and serology for fish health programs. In: M. Shariff and J. P. Subasinghe (eds) **Diseases in Asian Aquaculture II**. (p 185-202). Manila: Fish Health Section, Asian Fisheries Society.

[26] Sutherland, A. R. and et al. 2008. Glucomannan hydrolysate (GMH) inhibition of Candida albicans growth in the presence of Lactobacillus and Lactococcus species. **Microbial Ecology in Health and Disease** 20: 127-134.

[27] Zhang, L. and et al. 2013. Effects of oxidized konjac glucomannan (OKGM) on growth and immune function of *Schizothorax prenanti*. **Fish & Shellfish Immunology** 35: 1105–1110.

[28] Torrecillas, S., Montero, D. and Izquierdo, M. 2014. Improved health and growth of fish fed mannan oligosaccharides: Potential mode of action. **Fish & Shellfish Immunology** 36: 525-544.

[29] Grisdale-Helland, B., Helland, S.J. and Gatlin, D.M. 2008. The effects of dietary supplementation with mannanoligosac-charide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture** 283: 163-167.

[30] Samrongpan, C. and et al. 2008. Effects of mannanoligosaccharide on growth survival and disease resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus linnaeus*) fry. In: **Proceedings of the 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture**, 12-14 October 2008, Cairo, Egypt.

[31] Gultepe, N. and et al. 2011. Dietary supplementation with Mannanoligosaccharides (MOS) from Bio- Mos enhances growth parameters and digestive capacity of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) . **Aquaculture Nutrition** 17: 482-487.

[32] Denji, K. A. and et al. 2015. Effect of Dietary Prebiotic Mannan Oligosaccharide (MOS) on Growth Performance, Intestinal Microflora, Body Composition, Haematological and Blood Serum Biochemical Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Juveniles. **Journal of Fisheries and Aquatic Science** 10 (4): 255-265.

[33] Buentello J. A., Neill, W.H. and Gatlin, D. M. 2010. Effects of dietary prebiotics on the growth, feed efficiency and non- specific immunity of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus* fed soybean- based diets. **Aquaculture Research** 41: 411-418.

[34] Andrews, S. R. and et al. 2009. Haematological Modulation and Growth of *Labeo Rohita* Fingerlings: Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide, Yeast Extract, Protein Hydrolysate and Chlorella. **Aquaculture Research** 41: 61-69.

[35] Titapoka, S. and et al. 2008. Selection and characterization of mannanse-producing bacteria useful for the formation of prebiotic manno-oligosaccharides from copra meal. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 24 (8): 1425-1433.

[36] Razeghi Mansour, M. R. and et al. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso* Linnaeus, 1754). **Fish Physiology and Biochemistry** 38: 829-835.

[37] Fernandez, F., Hinton, M. and Van, G. B. 2002. Dietary mannan-oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to *Salmonella enteritidis* colonization. **Avian Pathology** 31:49-58.

[38] Schütt, D. A. and et al 1997. Haematology of swordtail, *Xiphophorus helleri*. I: blood parameters and light microscopy of blood cells. **Journal of Applied Ichthyology** 13: 83-89.

[39] Sado, R. Y., Bicudo, A. J. D. A. and Cyrino, J. P. E. 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. **Journal of World Aquaculture Society** 39: 821-826.

[40] Ballarin, L. and et al. 2004. Haematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae) : a comparison between diploid and triploid specimens. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A Mol. Integrate Physiology** 138: 45-51.

[41] Jalali, M. A. and et al. 2009. Growth efficiency, body composition, survival and haematological changes in great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. **Aquaculture Research** 40: 804-809.

[42] Staykov, Y. and et al. 2007. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) . **Aquaculture International** 15: 153-161.

[43] Talpur, A. D., and et al. 2014. Dietary probiotics and prebiotics improved food acceptability, growth performance, haematology and immunological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in snakehead (*Channa striata*) fingerlings. **Aquaculture** 426-427: 14-20.

[44] Zhou, Q. C., Buentello, J.A. and Gatlin, D.M. 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). **Aquaculture** 309: 253-257.

[45] Ahmad, M. H. and et al. 2014. Evaluation of Bio-Mos® as a feed additive on growth performance, physiological and immune responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L). **Journal of Applied Sciences Research** 9(10): 6441-6449.

[46] Welker, T. L. and et al. 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. **Journal of World Aquaculture Society** 38: 24-35.

[47] Welker, T. L. and et al. 2011. Effect of short-term feeding duration of diets containing commercial whole- cell yeast or yeast subcomponents on immune function and disease resistance in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Journal of Animal Phyisology and Animal Nutrition** 96: 159-171.

[48] Peterson, B. C. 2010. Effects of Bio-Mos on growth and survival of channel catfish challenged with *Edwardsiella ictaluri*. **Journal of World Aquaculture Society** 41: 149-55.

[49] Peterson, B. C. and Manning, B. B. 2012. Improved survival in channel catfish fed mannanoligosaccharides in an extruded diet. **Open Journal of Animal Science** 2: 57-61.