

แบคทีเรียแลกติกในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาคำ

(Penaeus monodon)

Lactic Acid Bacteria in Digestive Tract of Black Tiger Prawn

(Penaeus monodon)

มณฑกานต์ ทองสม Montakarn Thongsom

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Microbiology
Prince of Songkla University

A	2547
Lauri QR121	233 2544 0.1
Bib Key	JA 2740
	n.A. 2547

ชื่อวิทยานิพนธ์ แบคทีเรียแลกติกในระบบทางเคินอาหารของกุ้งกุลาคำ (Penaeus monodon)

ชื่อผู้เขียน นางสาวมณฑกานต์ ทองสม

สาขาวิชา จุลชีววิทยา ปีการศึกษา 2546

2546

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาแบคทีเรียแลกติกจากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาคำปกติ 20 ตัว และกุ้งเป็นโรค 5 ตัว พบว่าปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมคที่พบในระบบทางเคิน อาหารของกุ้งกุลาคำปกติอยู่ระหว่าง <20 – 1.2 x 10⁵ CFU/g และปริมาณของแบคทีเรีย แลกติกทั้งหมดที่พบในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำเป็นโรคอยู่ระหว่าง 1.4 x 10²- $1.5 imes 10^5 ext{CFU/g}$ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \!\! < \!\! 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ ของแบคที่เรียแลกติกที่พบในแต่ละส่วนของทางเดินอาหารของกุ้งกุลาคำปกติและ กุ้งกุลาคำเป็นโรคพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) โคยพบว่าในกุ้งทั้งสอง กลุ่มมีแบคทีเรียแลกติกมากที่สุดในส่วนของลำไส้ตอนต้น 1.3 x 10⁴CFU/g และ $3.7 \times 10^4 \, \text{CFU/g}$ ตามลำคับ และต่ำสุดในส่วนของตับ $5.2 \times 10^2 \, \text{CFU/g}$ และ $6.3 \times 10^2 \, \text{CFU/g}$ CFU/g ตามลำคับ ได้สุ่มคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกจำนวน 140 สายพันธุ์ จากกุ้งกุลาคำ ปกติและ 10 สายพันธุ์จากกุ้งกุลาดำเป็นโรคผลการเทียบเคียงชนิดแบคทีเรียแลกติกจาก กุ้งกุลาคำปกติพบว่าประกอบด้วย Lactobacillus salivarius 18 สายพันธุ์ , Lactobacillus farciminis 3 สายพันธุ์, Enterococcus faecalis 66 สายพันธุ์, Enterococcus faecium 38 สายพันธุ์, Lactococcus lactis subsp. lactis 1 สายพันธุ์, Leuconostoc mesenteroid 1 สายพันธุ์, Leuconostoc lactis 3 สายพันธุ์, Leuconostoc dextranicum 2 สายพันธุ์, Pediococcus halophilus 4 สายพันธุ์, Pediococcus pentosaceus 2 สายพันธุ์ และ Streptococcus duran 2 สายพันธุ์ ทั้งนี้พบว่ากุ้งกุลาคำเป็นโรคจะพบแต่ E. faecium 10 สายพันธุ์ ซึ่ง E. faecium สามารถพบได้ทั้งในกุ้งปกติและกุ้งเป็นโรค โดยจะพบ E. faecium 10 สายพันธุ์ จากกุ้งเป็นโรค 3 ตัว 38 สายพันธุ์ จากกุ้งปกติ 9 ตัว อย่างไร ก็ตามจะพบ E. faecalis ใค้สูง 66 สายพันธุ์ในกุ้งกุลาคำปกติ 11 ตัว นอกจากนี้พบ

L. salivarius 18 สายพันธุ์ จากกุ้งปกติ 5 ตัว ทำการทคสอบสมบัติการเป็นโปรใบโอติก ของแบคที่เรียแลกติกที่คัดเลือกได้ต่อกุ้งกุลาดำได้แก่ การทนต่อกรคที่ระคับ pH 1-5 การ ย่อยโปรตีน ไขมัน และแป้ง การเจริญทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน การยับยั้ง แบคที่เรียอินคิเคเตอร์จำนวน 21 สายพันธุ์ ซึ่งรวมทั้ง Vibrio harveyi และ V. parahaemolyticus ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งกุลาคำสามารถคัดเลือกแบคทีเรีย แลกติกที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกได้ 9 สายพันธุ์ คือ L. dextranicum AM20, E. faecalis AM35, P. halophilus AM46, E. faecalis AM92, L. salivarius AM101, E. faecalis AM107, L. salivarius AM111, L. farciminis AM115 และ E. faecium AM119 จากการศึกษาการเจริญและการสร้างสารยับยั้ง V. harveyi และ V. parahaemolyticus พบว่าแบคทีเรียแลกติกทั้ง 9 สายพันธุ์ สามารถเจริญได้คีที่สุดที่ pH 6.0 และอุณหภูมิ 35°C และให้ผลการยับยั้งสูงสุคใน ชั่วโมงที่ 36 นอกจากนี้พบว่า แบคทีเรียแลกติกทั้ง 9 สายพันธุ์ ยังคงสามารถยับยั้ง V. harveyi ได้แม้เลี้ยงในสภาวะที่ จำกัดปริมาณน้ำตาลและอากาศเพียงอย่างเดียวหรือทั้งสองอย่างเมื่อนำแบคทีเรียแลกติก ทั้ง 9 สายพันธุ์มาผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาคำเป็นเวลา 30 วัน พบว่ากุ้งกุลาคำที่ ใค้รับแบคทีเรียแลกติกมีอัตราการเจริญและมีอัตราการรอคตายสูงกว่ากุ้งกุลาคำกลุ่มควบ คุมที่ไม่ได้รับแบคทีเรียแลกติกแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (*P*<0.05) จากการตรวจนับ ปริมาณของแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาคำทั้งสองกลุ่มพบว่ามี ปริมาณของแบคทีเรียแลกติกในกุ้งที่ได้รับแบคทีเรียแลกติกมากกว่ากลุ่มควบคุมแต่อย่าง ไม่มี้นัยสำคัญ (P<0.05) ขณะที่พบ Vibrio ${
m sp.}$ ในปริมาณน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ เทียบกับกลุ่มควบคุม (P<0.05) เมื่อนำกุ้งกุลาดำที่รอคตายมาทคสอบความต้านทานต่อ การเหนี่ยวนำให้เกิดโรกจาก V. harveyi บันทึกผล 7 วัน หลังจากติดเชื้อพบว่ากุ้งกุลาดำที่ ใค้รับอาหารที่ผสมแบคทีเรียแลกติกมีอัตราการรอคตายสูงกว่าชุคควบคุมอย่างมี นัยสำคัญ (P<0.05) ทั้งนี้กุ้งกุลาคำที่ได้รับอาหารที่ผสมแบคทีเรียแลกติกสายพันธุ์ E. faecalis AM35, E. faecium AM107, L. salivarius AM111 และ L. farciminis AM115 มีอัตราการรอคตาย 100% ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ได้รับแบคทีเรียแลกติกซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม มีอัตราการรอดตายเพียง 50%

Thesis Title

Lactic Acid Bacteria in Digestive Tract of Black Tiger Prawn

(Penaeus monodon)

Author

Miss Montakarn Thongsom

Major Program

Microbiology

Academic Year

2003

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) isolated from digestive tracts of 20 healthy and

5 infected black tiger prawns were studied. The total counts of LAB were found in the range of $<20 - 1.2 \times 10^5$ CFU/g and $1.4 \times 10^2 - 1.5 \times 10^5$ CFU/g in healthy and infected prawns, respectively. These data were shown no significantly different when they were compared by two way ANOVA (P<0.05). However, There were also no significantly different when the total counts of LAB located in each part of digestive tracts were compared between both prawns (P<0.05), though in both prawns the highest number of LAB were found in midgut 1.3 x 10⁴ CFU/g and 3.7 x 10⁴ CFU/g in healthy and weak prawns respectively while the lowest number of LAB were found in hepatopancreas 5.2 x 10² CFU/g and 6.3 x 10² CFU/g. 140 isolates of LAB from healthy prawns and 10 isolates from weak prawns were randomly isolated and identified as Lactobacillus salivarius 18 strains, Lactobacillus farciminis 3 strains, Enterococcus faecalis 66 strains, Enterococcus faecium 38 strains, subsp. lactis 1 strain, Leuconostoc mesenteroid 1 strain. Leuconostoc lactis 3 strains, Leuconostoc dextranicum 2 strains, Pediococcus halophilus 4 strains, Pediococcus pentosaceus 2 strains and Streptococcus duran 2 strains. The results showed that E. faecium was the most frequently found in both prawns, 10 isolates from 3 infected prawns and 38 isolates from 9 healthy prawns. Whereas, E. faecalis was the highest number found in this study, were isolated from 11 healthy prawns. L. salivarius was also promising as 18 isolates

were found from 5 healthy prawns. While the rest of LABs were occasionally found in healthy prawns. All 150 isolates of LAB were subjects for prawn probiotic selective tests; acidity tolerance (pH 1-5), utilization of protein, fat and starch, growth under both aerobic and anaerobic condition, inhibition of 21 indicator strains of bacteria including Vibrio harveyi and V. parahaemolyticus, pathogenic bacteria of black tiger prawn. Nine isolates of LAB; L. dextranicum AM20, E. faecalis AM35, P. halophilus AM46, E. faecalis AM92, L. salivarius AM101, E. faecalis AM107, L. salivarius AM111, L. farciminis AM115 and E. faecium AM119 were selected and they were subjects for further investigation in this studies. maximum growth and inhibition activity against V. harvevi V. parahaemolyticus of nine isolates were at pH 6.0 and 35°C, though maximum inhibition activity was found when they were cultivated for 36 hours. Nine isolates still gave inhibition activity against V. harveyi even when they were grown under limited conditions of either sugar or air. More over, each of them was added to commercial feed for black tiger prawn rearing, after 30 days black tiger prawns were observed and weighed black tiger prawn that feed with LAB had higher growth and survival rate than control group which was not fed with LAB but with no significant differently (P<0.05). Total counts of LAB found in digestive tract of black tiger prawns fed with LAB were not significantly higher than control group while the total counts of Vibrio sp. were significantly lower than those of control group (P<0.05). Survived black tiger prawns These were fed with LAB and control group were challenged by V. harveyi, 7 days after infection the survival rate of black tiger prawns fed with LAB was significantly higher than control group (P<0.05). Surprisingly, 100% survival rate of black tiger prawns was found in treatments that fed by four LAB isolates of E. faecalis (AM35), E. faecium (AM107), L. salivarius (AM111) and L. farciminis (AM115) while only 50% survival rate was found in the control group.