หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary)

1. **ชื่อโครงการ** การแยก การคัดเลือก และการผลิตยีสต์จากทะเลเพื่อนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

   Isolation, screening and production of marine yeasts used as probiotics in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) cultivation

2. **ชื่อหัวหน้าโครงการ**

ผศ.ดร.ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112
โทรศัพท์ (074) 286-361, 286-371
โทรสาร (074) 446-727
E-mail: tipparat.h@psu.ac.th
สัดส่วนที่ทำการวิจัย 85 %

ผู้ร่วมงานวิจัย รศ. ดร. กิจการ ศุภมาตย์
ภาควิชาวาริชศาสตร์
คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
สัดส่วนที่ทำการวิจัย 15 %

3. **ประเภทของการวิจัย**

   การวิจัยและพัฒนา (Research and Development)

4. **สาขาวิชาที่ทำการวิจัย**

   สาขาเทคโนโลยีชีวภาพและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

5. **งบประมาณรวมทั้งโครงการ** 800,000 บาท

6. **ระยะเวลาดำเนินงาน** 2 ปี ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2547 ถึงเดือน กันยายน 2549

7. **ได้เสนอโครงการนี้หรือโครงการที่มีส่วนเหมือนกับเรื่องนี้บางส่วน เพื่อขอทุนต่อแหล่งทุนอื่นที่ใดบ้าง**

☐ ไม่ได้เสนอต่อแหล่งทุนอื่น

☐ เสนอต่อ .....

8. **ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย และการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง (Reviewed Literature)**

อุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ของไทยได้พัฒนาไปอย่างรวดเร็วจากระบบของการเลี้ยงแบบธรรมชาติไปเป็นการเลี้ยงแบบพัฒนา กุ้งกุลาดำจัดเป็นสินค้าที่ทำรายได้ให้กับประเทศไทยนับพันล้านเหรียญสหรัฐต่อปี อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงกุ้งในไทย กำลังประสบปัญหาใหญ่และมีแนวโน้มมากขึ้น ควบคู่ไปกับควรเพิ่มจำนวนของระบบการเลี้ยงแบบพัฒนา ซึ่งเป็นปัญหาเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในประเทศอื่นๆ ทั่วโลก สืบเนื่องจากการระบาดของโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย ไวรัส และปรสิต รวมทั้งสาเหตุที่เกิดจากสภาพแวดล้อม คุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสม (Rengpipat *et al.*, 2000; Lightner and Redman, 1998; Scholz *et al.*, 1999) จึงมีการใช้สารเคมีและยาหลายชนิดเพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำ และดินตลอดจนป้องกันและควบคุมโรคระบาด (Gomez-Gil *et al.* 2000) โดยเฉพาะในประเทศกลุ่มลาตินอเมริกัน และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมถึงประเทศไทย ซึ่งไม่มีกฎหมายเข้มงวดในการใช้ยาและสารเคมี ดังเช่นในกลุ่มประเทศที่พัฒนาที่มีกฎหมายเข้มงวดในการใช้สารเคมี ซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่ถูกต้องทำให้แบคทีเรียสามารถพัฒนาสายพันธุ์ที่ต้านต่อยาได้ในที่สุด และส่งผ่านยีนที่มีคุณสมบัติต้านยาไปยังสายพันธุ์อื่นๆ โดยผ่านทางพลาสมิด (plasmid) หรือ bacteriophage ทำให้ต้องเพิ่มปริมาณการใช้ยาขึ้นเรื่อยๆ ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น และก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้างในกุ้ง ซึ่งประเทศผู้ซื้อไม่ยอมรับ ด้วยเหตุนี้นักวิทยาศาสตร์และผู้เกี่ยวข้องจึงหันมาใช้ความสนใจวิธีการควบคุมทางชีวภาพ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก (probiotic) กันมากขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่จัดว่าเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและปลอดภัยต่อผู้บริโภค เนื่องจากวิธีนี้เป็นการใช้ศัตรูทางธรรมชาติในการควบคุมและกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรค เพิ่มภูมิคุ้มกัน และรักษาคุณภาพน้ำตลอดจนส่งเสริมความสามารถในการย่อยและดูดซึมสารอาหารให้กับกุ้ง .

การศึกษาเกี่ยวกับโปรไบโอติก ในช่วงแรกนั้นมุ่งเน้นในคนและสัตว์เศรษฐกิจ เช่น วัว ควาย ไก่ และหมู นักวิทยาศาสตร์ท่านแรก Elie Metchnikoff ได้ให้คำจำกัดความของโปรไบโอติกว่าเป็นจุลินทรีย์ และสารซึ่งไปทำให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ และต่อมาก็ขยายเป็นอาหารเสริมที่มีจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งส่งผลดีต่อสุขภาพโดยไปปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Gomez-Gil *et al.*, 2000) แต่เมื่อมีการนำโปรไบโอติกมาใช้ในสัตว์น้ำ คำจำกัดความจึง

ถูกดัดแปลงไปเนื่องจากไม่เพียงแต่ทางเดินอาหารเท่านั้นที่สำคัญ แต่ยังรวมถึงคุณภาพน้ำที่สัตว์น้ำนั้นอาศัยด้วย Gatesoupe (1999) จึงให้คำจำกัดความโปรไบโอติกว่าเป็นเซลล์จุลินทรีย์มีชีวิตที่สามารถเข้าไปอยู่ในทางเดินอาหารของสัตว์น้ำเพื่อฟื้นฟูสุขภาพของสัตว์น้ำนั้นๆ ในขณะที่ Gram *et al.* (1999) ได้ขยายความว่าเป็นสารเสริมจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ให้ประโยชน์กับสัตว์โดยไปฟื้นฟูสมดุลของจุลินทรีย์ในสัตว์นั้นๆ กล่าวได้ว่าการใช้โปรไบโอติกเป็นการป้องกันความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งหลายกรณีมักเป็นการแข่งขันการเจริญโดยการสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

การศึกษาคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกในสัตว์น้ำของจุลินทรีย์ที่มีการศึกษากันมาก มักเป็นแบคทีเรียเสียเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ การใช้ *Bacillus* ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (Rengpipat *et al.* 1998), การใช้ *Vibrio anquillarum* ในการเลี้ยงหอยเชลล์ (Riquelme *et al.*, 1997), กุ้ง (Gomez-Gil *et al.*, 2000), การใช้ *Aeromonas media* ในหอยนางรม (Gibson *et al.*, 1998), การใช้ *Thalassobacter utilis* ในการเลี้ยงปู ฯลฯ ซึ่งการศึกษาเหล่านี้มุ่งเน้นถึงการเพิ่มผลผลิตอัตราการเจริญและผลต่อการลดจุลินทรีย์ก่อโรคในสัตว์น้ำ แต่การศึกษากลไกที่โปรไบโอติกมีในสัตว์น้ำนั้นมีไม่มากนัก นอกจากนี้จุลินทรีย์โปรไบโอติกที่มีขายในทางการค้านั้นมักเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ไปมีผลต่อการปรับสภาพน้ำเป็นสำคัญ ซึ่งส่งให้เกิดผลประโยชน์ต่อสุขภาพของสัตว์น้ำ โดยที่ผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกเหล่านั้นมี nitrifying bacteria และ/หรือ *Bacillus* sp. เป็นหลัก โดยเฉพาะกลุ่มแรกมักไม่พบในทางเดินอาหารของสัตว์น้ำเลยหลังจากการใช้ (Gatesoupe, 1999)

การนำยีสต์มาใช้เป็นโปรไบโอติกในสัตว์น้ำ ยังมีการศึกษากันน้อยกว่าการใช้แบคทีเรีย ทั้งๆที่ยีสต์มีศักยภาพสูงในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เนื่องจากยีสต์มีองค์ประกอบหลายชนิดที่มีผลโดยตรงต่อการต้านทานโรค และเสริมสร้างภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ เช่น บีต้ากลูแคน (Supamattaya, *et al.*, 2000; Sitthipun *et al.*, 2000) ไคติน และ polyamines รวมทั้ง secondary metabolite อื่นๆ เช่น astaxanthine (Chien *et al.*, 2002)

ยีสต์ที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทางการค้ามักเป็น Baker's yeast หรือ *Saccharomyces cerevisiae* หรือ ยีสต์ขนมปัง เนื่องจากหาซื้อได้ง่ายในปริมาณมาก แต่ยังมีราคาแพงเนื่องจากเป็นสินค้าที่ผลิตและนำเข้ามาจากต่างประเทศ นอกจากนี้ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับประสิทธิภาพการเป็นโปรไบโอติกของยีสต์ชนิดนี้มากนัก อย่างไรก็ตามข้อมูลที่มีอยู่ระบุถึงปัญหาเกี่ยวกับความมีชีวิต และความสามารถในการเจริญของยีสต์ชนิดนี้ในสภาวะที่มีเกลือซึ่งค่อนข้างจำกัด (Aguirre-Guzman *et al.*, 2002) และการศึกษาการใช้ยีสต์ขนมปังเปรียบเทียบกับการใช้ยีสต์ชนิดอื่นพบว่า ยีสต์ขนมปังมีความสามารถในการเพิ่มความต้านทานโรค และความสามารถในการหลั่งน้ำย่อยค้อยกว่ายีสต์อื่นๆ ที่แยกมาจากลำไส้ปลา (Tovar *et al.*, 2002) ดังนั้นการนำยีสต์จากทะเลมาใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้ง จึงมีศักยภาพสูงในแง่ของการนำไปใช้เป็น

โปรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากมีแหล่งกำเนิดในสภาวะที่ใกล้เคียงกับในสภาวะที่จะนำไปใช้ในการเลี้ยงกุ้ง อีกทั้งยังมีความหลากหลายในองค์ประกอบต่างๆที่มีผลต่อการเจริญและเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำได้ดี

9. วัตถุประสงค์

9.1 เพื่อแยกและคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์จากตะกอนดิน, น้ำทะเล พืชและสัตว์น้ำในทะเล สิ่งมีชีวิตประเภทต่างๆในทะเล และทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ

9.2 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกเบื้องต้นของยีสต์ที่แยกได้

9.3 จำแนกสายพันธุ์ยีสต์ที่คัดเลือกได้

9.4 ศึกษาผลของการใช้ยีสต์ที่คัดเลือกได้ต่อการเจริญ อัตราการรอด และภาวะภูมิคุ้มกันของกุ้ง

9.5 ศึกษาผลของการใช้ยีสต์ที่คัดเลือกได้ต่อความสามารถของกุ้ง ในการกำจัดแบคทีเรียก่อโรคออกจากระบบเลือด

10. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

10.1 ได้สายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถเจริญและขยายพันธุ์ได้ดีในน้ำทะเล และมีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก (เช่นยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค, กระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้ง) ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงกุ้งที่อาศัยการควบคุมโรคในทางชีวภาพ ซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

10.2 สามารถปรับปรุงและเพิ่มผลผลิตในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ

10.3 สามารถลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงกุ้ง ซึ่งนำไปสู่การตลาดและลดการสะสมของยาและสารเคมีในสภาพแวดล้อม

10.4 ข้อมูลที่ได้เป็นแนวทางในการใช้ยีสต์เป็นโปรไบโอติก ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดอื่นๆนอกเหนือจากกุ้งกุลาดำ