บทคัดย่อ

ชื่อโครงการวิจัย การแยก การคัดเลือก และการผลิตยีสต์จากทะเลเพื่อนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

ผู้วิจัย ผศ.ดร.ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี

ที่อยู่ E-mail tipparat.h@psu.ac.th

ระยะเวลาการวิจัย 2 ปี

จากการแยกเชื้อยีสต์จากแหล่งธรรมชาติทางทะเล ได้เชื้อยีสต์บริสุทธิ์จำนวน 130 ไอโซเลต พบเชื้อยีสต์เพียง 4, 5, 2 และ 3 ไอโซเลตเท่านั้นที่แสดงกิจกรรมการยับยั้ง *V.harveyi* ย่อยแป้ง, เคซีน และ Tributyrinในระดับสูง ตามลำดับ โดยมียีสต์รหัส KT 1.12 ที่มีผลการยับยั้งและสามารถย่อยแป้งได้ และ FS 9 สามารถย่อยแป้ง, เคซีน และ Tributyrinในระดับสูง ได้รับการจำแนกเป็น *Candida tropicalis* TH 112 และ *Pseudozyma antractica* TH 9 ตามลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณ D1/D2 บน 26s rRNA ของยีสต์

ยีสต์ *Candida tropicalis* TH 112 และ *Pseudozyma antractica* TH 9 แสดงคุณสมบัติที่เป็น antagonists ต่อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* เมื่อเลี้ยงร่วมกัน (co-culture technique) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยปรับจำนวนเชื้อเริ่มต้นให้เป็น 5.13, 5.14 และ 5.16 log CFU/ml ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 30°ซ 24 ชั่วโมง โดยพบว่า ยีสต์สามารถควบคุมการเจริญของ *V. harveyi* ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเลี้ยงในสภาวะมีอากาศ โดยสามารถลด *V. harveyi* ลง 4.08 และ 4.26 Log CFU/ml เมื่อเลี้ยงร่วมกับยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 และ *P. antractica* TH 9 ตามลำดับ ในสภาวะที่มีอากาศ แต่ประสิทธิภาพในการควบคุม *V. harveyi* จะลดลงหากเลี้ยงในสภาวะไร้อากาศ

กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่มีการผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* จำนวน 2-5x10^8 CFU/กรัมอาหาร มีการเพิ่มของน้ำหนักตัวสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงโดยอาหารที่ไม่ผสมยีสต์อย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในสัปดาห์ที่ 8 กุ้งชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *C. tropicalis* TH 112 มี เปอร์เซ็นต์การเพิ่มน้ำหนักเป็น 77.57, 74.76 และ 72.05 % ในขณะที่กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มียีสต์มี เปอร์เซ็นต์การเพิ่มน้ำหนักเป็น 66.35 % ตามลำดับ นอกจากนี้กุ้งที่เลี้ยงด้วย *C. tropicalis* TH 112 มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดคือ 2.16 % รองลงมาเป็นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *P. antractica* TH 9, ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 และชุดควบคุม ซึ่งมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 2.24 , 2.32, 2.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มียีสต์ *C. tropicalis* TH 112 มีอัตราการรอดสูงสุด คือ 98.33 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *P. antractica* TH 9, ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 และอาหารชุดควบคุม ซึ่งมีอัตราการรอดเท่ากับ

96.66 , 96.66, 93.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *P. antractica* TH 9 มีปริมาณเม็ดเลือดรวมสูงที่สุด คือ $3.63x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112, ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 และชุดควบคุม ซึ่งมีปริมาณเม็ดเลือดเท่ากับ $3.22x10^6$, $2.98x10^6$ และ $2.29x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทดสอบความสามารถในการต้านแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* (challenge test) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 จนครบ 8 สัปดาห์ พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์มีอัตราการรอดสูงกว่ากุ้งกุลาดำที่ผ่านการเลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมที่ไม่ผสมยีสต์เลย โดยมีอัตราการรอดเป็น 91.25, 87.50 และ 75.00 % ตามลำดับ ในขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีอัตราการรอดเพียง 45 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น แสดงว่าการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่มีการผสมยีสต์ที่มีชีวิตส่งผลให้กุ้งกุลาดำมีความสามารถในการต้านทานและรอดชีวิตจากการติดเชื้อ *V. harveyi* ได้ดีซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจนับเม็ดเลือดที่สูงกว่าของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำระหว่างอาหารที่มียีสต์ทั้ง 3 ชนิด พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 มีอัตราการรอดสูงสุด ในขณะที่กุ้งที่เลี้ยงด้วยยีสต์ *P. antractica* TH 9 มีอัตราการรอดต่ำกว่า และ กุ้งที่เลี้ยงด้วยยีสต์ขนมปังมีอัตราการรอดต่ำสุด เมื่อถูกฉีดด้วย *V. harveyi* ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกับผลของน้ำหนัก % FCR และการนับเม็ดเลือด ที่ยืนยันว่าการใช้ยีสต์ที่แยกมาจากทะเลให้ผลในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำดีกว่าในภาพรวม เมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ขนมปัง ซึ่งให้ผลดีกว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารชุดควบคุมที่ไม่ผสมยีสต์

Keywords: black tiger shrimp, *marine yeasts*, probiotics, *Vibrio harveyi*, *Candida tropicalis*, *Pseudozyma antractica*, *Saccharomyces cerevisia*