สรุปผลการทดลอง

ในการแยกเชื้อยีสต์จากแหล่งธรรมชาติทางทะเล คณะผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างจาก กุ้งเลี้ยง กุ้งธรรมชาติ ตะกอนดิน พืชทะเล สัตว์ทะเลและน้ำทะเล จากทะเลฝั่งอันดามัน บริเวณ เกาะพีพี จังหวัดกระบี่, เกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี, ชายหาดรอบๆเกาะภูเก็ต, เกาะกระ จังหวัดนครศรีธรรมราช, ชายหาดปากเมง จังหวัดตรัง และจากทางเดินอาหารปลาชนิดต่างๆ ที่ได้จากจากสะพานปลา จังหวัดสงขลา เพื่อคัดแยกเชื้อยีสต์จนได้เชื้อยีสต์บริสุทธิ์จำนวน 130 ไอโซเลต ซึ่งเมื่อทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* ซึ่งจากพบว่า มีเชื้อยีสต์เพียง 4 ไอโซเลตเท่านั้นที่แสดงกิจกรรมการยับยั้ง *V.harveyi* ได้แก่เชื้อยีสต์รหัส KT 1.12, KT 1.14, PHK 3.1 และ PHK 4.1

ในจำนวน 130 ไอโซเลต มีเพียง 5 ไอโซเลตเท่านั้นที่สามารถย่อยแป้งได้คือ FS 9, KT 1.12, PHK 3.1, TR 15, KK25 และมีเพียง 2 และ 3 ไอโซเลตที่สามารถย่อยสลายเคซีน และ Tributyrinในระดับสูง คือ FS 9, KK 25 และ FS 9, KT 1.15, KK25 ตามลำดับ ส่วนการทดสอบความสามารถในการใช้เกลือไนเตรท ไนไตรท์ มียีสต์ 12 ไอโซเลต ได้แก่รหัส KT 1.8, HK 1.2, PHK 4.2, PHK 7.2, PHK 9.2,FS 7, FS13.2, FS25.2, FS 26, FS 5, KK 4 และ KK 40 ที่ให้ผลบวก ดังนั้นจึงทำการคัดเลือกยีสต์รหัส KT 1.12 และ FS 9 เพื่อนำมาศึกษาการนำมาใช้ในการควบคุม *V. harveyi* ซึ่งยีสต์รหัส KT1-12 และ FS 9 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 จัดเป็น antagonists ต่อแบคทีเรียที่ก่อโรคในกุ้ง *Vibrio harveyi* เมื่อเลี้ยงร่วมกัน (co-culture technique) ในอาหารเลี้ยงเชื้อคือสามารถควบคุมการเจริญของ *V. harveyi* ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเลี้ยงในสภาวะมีอากาศ แต่ประสิทธิภาพในการควบคุม *V. harveyi* จะลดลงหากเลี้ยงในสภาวะไร้อากาศ โดยสามารถลด *V. harveyi* ลง 4.08 และ 4.26 Log CFU/ml *C. tropicalis* TH 112 และ *P. antractica* TH 9 ตามลำดับ ในสภาวะที่มีอากาศ

กุ้งกุลาดำกินอาหารที่มีการผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* จำนวน 2-5x10^8 CFU/กรัมอาหาร โดยมีกุ้งชุดที่กินอาหารปกติที่เคลือบน้ำมันปลาทูน่าแต่ไม่มียีสต์ พบว่า การเพิ่มของน้ำหนักกุ้งที่กินอาหารผสมยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* สัปดาห์ที่ 6 และ 8 พบว่า กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์มีการเพิ่มน้ำหนักตัวสูงกว่ากุ้งที่เลี้ยงโดยอาหารที่ไม่ผสมยีสต์อย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในสัปดาห์ที่ 8 กุ้งชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *C. tropicalis* TH 112 มีมีน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุด คือ 18.53 กรัม/ตัว รองลงมาเป็นกุ้งที่เลี้ยง

ด้วยอาหารผสมยีสต์ *P. antractica* TH 9, ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 และชุดควบคุม ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 18.2 , 17.89, 17.32 กรัม/ตัว ตามลำดับ และกุ้งที่เลี้ยงด้วย *C. tropicalis* TH 112 มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดคือ 2.16 % รองลงมาเป็นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *P. antractica TH 9, ยีสต์ขนมปัง S. cerevisiae TISTR 5055 และชุด* ควบคุม ซึ่งมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ 2.24 , 2.32, 2.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

นอกจากนี้กุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *C. tropicalis* TH 112 มีอัตราการรอดสูงสุด คือ 98.33 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *P. antractica* TH 9, ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 และชุดควบคุม ซึ่งมีอัตราการรอดเท่ากับ 96.66 , 96.66, 93.33เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่ากุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม *P. antractica* TH 9 มีปริมาณเม็ดเลือดรวมสูงที่สุด คือ 3.63×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112, ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 และชุดควบคุม ซึ่งมีปริมาณเม็ดเลือดเท่ากับ 3.22×10^6 , 2.98×10^6 และ 2.29×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการทดสอบความสามารถในการต้านแบคทีเรียก่อโรค *V. harveyi* (challenge test) ของกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 หรือ *P. antractica* TH 9 หรือ ยีสต์ขนมปัง *S. cerevisiae* TISTR 5055 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีอัตราการรอดสูงกว่ากุ้งกุลาดำที่ผ่านการเลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมที่ไม่ผสมยีสต์เลย โดยมีอัตราการรอดเป็น 91.25, 87.50 และ 75.00 % ตามลำดับ ในขณะที่กุ้งที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีอัตราการรอดเพียง 45 % เท่านั้น แสดงว่าการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารที่มีการผสมยีสต์ที่มีชีวิตส่งผลให้กุ้งกุลาดำมีความสามารถในการต้านทานและรอดชีวิตจากการติดเชื้อ *V. ha rveyi* ได้ดีซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจนับเม็ดเลือดที่สูงกว่าของกุ้งที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำระหว่างอาหารที่มียีสต์ทั้ง 3 ชนิด พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 มีอัตราการรอดสูงสุด ในขณะที่กุ้งที่เลี้ยงด้วยยีสต์ขนมปังมีอัตราการรอดต่ำกว่า ซึ่งผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกับผลของน้ำหนัก % FCR และการนับเม็ดเลือด ที่ยืนยันว่าการใช้ยีสต์ที่แยกมาจากทะเลให้ผลในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำดีกว่าในภาพรวม เมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารผสมยีสต์ขนมปัง ซึ่งให้ผลดีกว่าการเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยอาหารที่ไม่ผสมยีสต์เลย

ผลลัพธ์จากงานวิจัย

1. ได้สายพันธุ์ยีสต์จากทะเลเพื่อนำมาใช้เป็นโปรไบโอติก เพื่อลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงกุ้ง ซึ่งนำไปสู่การลดต้นทุนและการสะสมของสารเคมีในสภาพแวดล้อมได้
2. ได้สายพันธุ์ยีสต์อื่นๆ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการวิจัยต่อยอดในขั้นต่อไปได้ เช่น ความสามารถในการย่อยน้ำมันชนิดต่างๆ เป็นต้น
3. สามารถนำยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ มาประยุกต์ใช้เป็นแนวทางสำหรับโปรไปโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้

แนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์

งานวิจัยชิ้นนี้ให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์มากในการนำยีสต์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างในทะเล มาใช้ค วบคุมจุลินทรียก่อโรค *V.harveyi* ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในระดับการทดลองในถังเลี้ยง ดังนั้นจึงสามารถที่จะนำยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 มาใช้เป็นโปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้ โดยนำมาผลิตเป็นอาหารเสริมสร้างภูมิคุ้มกันซึ่งจะทำให้กุ้งกุลาดำมีอัตราการรอดจากการติดเชื้อ *V. harveyi* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคระบาดในกุ้งกุลาดำได้สูง อีกทั้งส่งเสริมการเจริญของกุ้งและเพิ่มอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อได้สูง ส่งผลให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ช่วยลดต้นทุนการผลิตกุ้งกุลาดำในสภาวะเศรษฐกิจที่มีการแข่งขันสูงได้อีกทางหนึ่งด้วย ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงดำเนินแผนการทำวิจัยในเรื่องของการพัฒนาการใช้เชื้อผสมระหว่างยีสต์และแบคทีเรียแลคติกที่สามารถผลิตสารยับยั้ง *V. harveyi* ได้สูง มาใช้ร่วมกับยีสต์ *C. tropicalis* TH 112 เพื่อเพิ่มศักยภาพของกุ้งในการลดการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงพัฒนากระบวนการผลิตยีสต์ *C. tropicalis* TH 112โดยใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูกมาใช้ในการผลิตยีสต์ และรูปแบบของการนำมาใช้ในอาหารเลี้ยงกุ้งที่เหมาะสมต่อไป