



แบคทีเรียแลคติกในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ

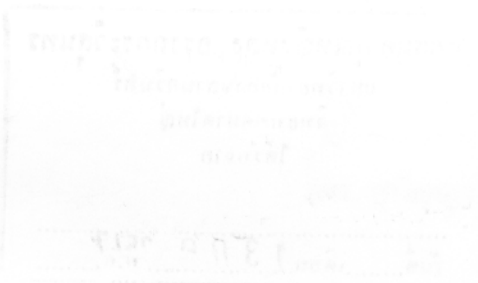
(*Penaeus monodon*)

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

2547

เลขหมู่	QR121 ม33 2547 0.1
Bib Key	2A2740
	14.ค.ค. 2547

ชื่อวิทยานิพนธ์ แบคทีเรียแลกติกในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ
(Penaeus monodon)
ชื่อผู้เขียน นางสาวมณฑกานต์ ทองสม
สาขาวิชา จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา 2546

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาแบคทีเรียแลกติกจากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำปกติ 20 ตัว และกุ้งเป็นโรค 5 ตัว พบว่าปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดที่พบในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำปกติอยู่ระหว่าง $<20 - 1.2 \times 10^5$ CFU/g และปริมาณของแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดที่พบในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำเป็นโรครอยู่ระหว่าง $1.4 \times 10^2 - 1.5 \times 10^5$ CFU/g ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณของแบคทีเรียแลกติกที่พบในแต่ละส่วนของทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำปกติและกุ้งกุลาดำเป็นโรคพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยพบว่าในกุ้งทั้งสองกลุ่มมีแบคทีเรียแลกติกมากที่สุดในส่วนของลำไส้ตอนต้น 1.3×10^4 CFU/g และ 3.7×10^4 CFU/g ตามลำดับ และต่ำสุดในส่วนของตับ 5.2×10^2 CFU/g และ 6.3×10^2 CFU/g ตามลำดับ ได้สุ่มคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกจำนวน 140 สายพันธุ์ จากกุ้งกุลาดำปกติและ 10 สายพันธุ์จากกุ้งกุลาดำเป็นโรคผลการเทียบเคียงชนิดแบคทีเรียแลกติกจากกุ้งกุลาดำปกติพบว่าประกอบด้วย *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 ทั้งนี้พบว่ากุ้งกุลาดำเป็นโรครจะพบแต่ *E. faecium* 10 สายพันธุ์ ซึ่ง *E. faecium* สามารถพบได้ทั้งในกุ้งปกติและกุ้งเป็นโรคร โดยจะพบ *E. faecium* 10 สายพันธุ์ จากกุ้งเป็นโรคร 3 ตัว 38 สายพันธุ์ จากกุ้งปกติ 9 ตัว อย่างไรก็ตามจะพบ *E. faecalis* ได้สูง 66 สายพันธุ์ในกุ้งกุลาดำปกติ 11 ตัว นอกจากนี้พบ

L. salivarius 18 สายพันธุ์ จากกุ้งปกติ 5 ตัว ทำการทดสอบสมบัติการเป็นโปรไบโอติกของแบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้ต่อกุ้งกุลาดำได้แก่ การทนต่อกรดที่ระดับ pH 1-5 การย่อยโปรตีน ไขมัน และแป้ง การเจริญทั้งในสถานะที่มีและไม่มีออกซิเจน การยับยั้งแบคทีเรียอินดิเคเตอร์จำนวน 21 สายพันธุ์ ซึ่งรวมทั้ง *Vibrio harveyi* และ *V. parahaemolyticus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งกุลาดำสามารถคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกได้ 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* พบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 9 สายพันธุ์ สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่ pH 6.0 และอุณหภูมิ 35°C และให้ผลการยับยั้งสูงสุดใน ชั่วโมงที่ 36 นอกจากนี้พบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 9 สายพันธุ์ ยังคงสามารถยับยั้ง *V. harveyi* ได้แม้เลี้ยงในสถานะที่จำกัดปริมาณน้ำตาลและอากาศเพียงอย่างเดียวหรือทั้งสองอย่างเมื่อนำแบคทีเรียแลคติกทั้ง 9 สายพันธุ์มาผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นเวลา 30 วัน พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับแบคทีเรียแลคติกมีอัตราการเจริญและมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับแบคทีเรียแลคติกแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จากการตรวจนับปริมาณของแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดในทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำทั้งสองกลุ่มพบว่าปริมาณของแบคทีเรียแลคติกในกุ้งที่ได้รับแบคทีเรียแลคติกมากกว่ากลุ่มควบคุมแต่อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ขณะที่พบ *Vibrio* sp. ในปริมาณน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) เมื่อนำกุ้งกุลาดำที่รอดตายมาทดสอบความต้านทานต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคจาก *V. harveyi* บันทึกลงผล 7 วัน หลังจากติดเชื้อพบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่ผสมแบคทีเรียแลคติกมีอัตราการรอดตายสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ทั้งนี้กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารที่ผสมแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ *E. faecalis* AM35, *E. faecium* AM107, *L. salivarius* AM111 และ *L. farciminis* AM115 มีอัตราการรอดตาย 100% ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ได้รับแบคทีเรียแลคติกซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมมีอัตราการรอดตายเพียง 50%

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. The maximum growth and inhibition activity against *V. harveyi* and *V. parahaemolyticus* of nine isolates were at pH 6.0 and 35°C, though the 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.