

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: BGJ/31/2543

ชื่อโครงการ: การศึกษากลุ่มไนโตริไฟอิงแบคทีเรียในนากุ้งโดยใช้เทคนิคเชิงชีวโมเลกุล

ชื่อนักวิจัย: รศ. ดร. พูนสุข ประเสริฐสรรพ

นางสาว จรรย์รัตน์ พ่วงฟู

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ 90112

E-mail address: pchanyarat19@yahoo.com หรือ g4283003@malian.psu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ นำแบคทีเรียไนโตริไฟอิงจากน้ำและตะกอนของนากุ้งและจากหัวเชื้อทางการค้ามาเพิ่มจำนวนในระบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor, SBR) คัดเลือกที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแอมโมเนียได้ดีที่สุดของแต่ละแหล่ง นำไปเลี้ยงใน SBR โดยป้อนน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน และความเข้มข้นแอมโมเนีย 100 มิลลิกรัม/ลิตร ตรวจสอบปริมาณของแบคทีเรียที่กำจัดแอมโมเนียและแบคทีเรียที่กำจัดไนโตรัสโดยวิธี Most Probable Number (MPN) พบว่าจำนวนของแบคทีเรียไนโตริไฟอิงทั้ง 2 กลุ่มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงใน SBR ทั้ง 2 ถัง ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนีย ในไตรท์ และไนเตรท เมื่อระบบเข้าสู่ภาวะคงที่ในการกำจัดแอมโมเนีย นำตัวอย่างตะกอนแบคทีเรียไปศึกษาโครงสร้างประชากรด้วยเทคนิคเชิงชีวโมเลกุล คือ fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) และ phylogenetic analysis พบว่าจากการใช้เทคนิค FISH แบคทีเรียที่กำจัดแอมโมเนียของตัวอย่างจากนากุ้งและหัวเชื้อทางการค้า มีปริมาณ $44 \pm 4\%$ and $61 \pm 4\%$ เทียบกับแบคทีเรียทั้งหมด ตามลำดับ และตรวจไม่พบแบคทีเรียที่กำจัดไนโตรัสด้วย FISH probe ที่มีอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งคาดว่าอาจจะมีแบคทีเรียกำจัดไนโตรัสชนิดใหม่จากเชื้อทั้ง 2 แหล่ง จึงศึกษาโครงสร้างประชากรของกลุ่มแบคทีเรียไนโตริไฟอิงด้วยเทคนิคทาง phylogenetic analysis พบว่า *Cytophaga-Flavobacterium* group (CFB) และ *alphaproteobacteria* เป็นประชากรกลุ่มหลักในระบบ ผลสัมฤทธิ์จากการวิจัยนี้คือ การจำแนกกลุ่มเชื้อด้วยวิธี phylogenetic analysis และการออกแบบตัวติดตาม (probe) จำเพาะสำหรับเทคนิค FISH ของแบคทีเรียที่กำจัดแอมโมเนียในนากุ้ง

คำหลัก การกำจัดแอมโมเนีย, แบคทีเรียไนโตริไฟอิง, fluorescence *in situ* hybridisation (FISH), ระบบเอสบีอาร์ (SBR), นากุ้ง

Abstract

Project Code: BGJ/31/2543

Project Title: Use of Molecular Biology Techniques in Studying the Nitrifying Bacteria Community from Shrimp Farming System

Investigator: Assoc. Prof. Poonsuk Prasertsan

Miss Chanyarat Paungfoo

Department of Industrial Biotechnology, Faculty of Agro-Industry,

Prince of Songkla University, Hatyai 90112

E-mail Address: pchanyarat19@yahoo.com or g4283003@malian.psu.ac.th

Project Period: 2 years

Abstract Nitrifying bacteria from shrimp farm water and sediment and from commercial seed cultures were enriched in sequencing batch reactors (SBR). The microbial consortia from each source giving the best ammonia removal were used as inocula for two SBRs. Nitrifiers were cultivated in the SBRs containing artificial wastewater with 25 ppt salinity and 100 mg NH₄-N/l. The quantity of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and nitrite-oxidizing bacteria (NOB) was determined using the most probable number (MPN) technique. Both AOB and NOB increased in number over the long-term operation of both SBRs. This agreed with the quantity changes of ammonia, nitrite and nitrate. When the system was steady state on ammonia removal, the microbial consortia samples was taken for community structure studies using the fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) and phylogenetic analysis. According to FISH probing, AOB from the natural seed and commercial seed comprised of $44 \pm 4\%$ and $61 \pm 4\%$ of total bacteria, respectively. NOB could not be detected with currently-reported FISH probes, suggesting that novel NOB may be present in both sources. Therefore, the bacterial community structure of nitrifying bacteria was determined by phylogenetic analysis. *Cytophaga-Flavobacterium* group, CFB and *alphaproteobacteria* of bacterial phylum were the dominant group in the system. Phylogenetic identification and design of a specific probe for FISH (fluorescence *in situ* hybridization) of AOB in shrimp farming were achieved in this study.

Keywords ammonia removal; nitrifying bacteria; fluorescent *in situ* hybridization (FISH); sequencing batch reactor (SBR); shrimp farm