## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: PDF/57/2544

ชื่อโครงการ: การคัดเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์ธรรมชาติที่มีประโยชน์จากระบบทางเดินอาหารกุ้งกุลาดำ

ชื่อนักวิจัย: นางสาวอำไพทิพย์ สุขหอม

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

E-mail Address : ampaithip.s@psu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี +

ศึกษาจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ 3 กลุ่มคือ กุ้งแข็งแรง กุ้งติดเชื้อแบคทีเรีย และไวรัส อย่างละ 13 ตัว พบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่เจริญบนอาหาร Tryptic soy agar (TSA) และปริมาณเชื้อวิบริโอที่เจริญบนอาหาร TCBS แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ (*P*<0.05) ระหว่างกุ้งทั้ง ทั้งนี้พบว่ากุ้งที่ติดเชื้อไวรัสมีปริมาณแบคทีเรียและวิบริโอทั้งหมดสูงกว่ากุ้งอีกสองกลุ่ม กล่าวคือมีปริมาณ 9.01 $\pm$  0.45 และ 6.56  $\pm$  0.06  $\log_{10}$  cfu/g ตามลำดับ ส่วนกุ้งติดเชื้อแบคทีเรียมี ปริมาณ 8.80  $\pm$  0.30 และ 6.15  $\pm$  0.37  $\log_{10}$  cfu/g และกุ้งปกติมีปริมาณ 8.44  $\pm$  0.32 และ 6.36  $\pm$ 0.37 log<sub>10</sub> cfu/g ตามลำดับ บนอาหาร TSA พบแบคทีเรีย 8 ชนิด ที่พบสูงสุด 3 อันดับแรกคือ Micrococcus spp., Corynebacterium spp. และ Staphylococcus spp. ชนิดอื่น ๆ ที่พบได้แก่ คือ Bacillus spp., Enterobacter spp., E. coli, Flavobacterium spp. และ Vibrio spp. จากการเทียบเคียง เฉพาะกลุ่ม *Vibrio* spp. จากอาหาร TCBS พบทั้งหมด 15 สปีชีส์ ที่พบสูงสุด 3 อันดับแรกคือ *V.* cincinatiensis, V. vulnificus B<sub>2</sub> และ V. carchariae ส่วนชนิดอื่น ๆ ที่พบได้แก่ คือ V. alginolyticus, V. V. damsela, V. harveyi, V. logei, V. marinus, V. mediteranei, V. mimicus, V. cambellii, ส่วนการศึกษาชนิดของแบคทีเรียแล V. orientalis, V. pelagius I และ V. pelagius II natriegens, คติกจากระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำที่เจริญบนอาหาร โดยอาศัยความสัมพันธ์ทาง MRS วิวัฒนาการพบว่าส่วนใหญ่เป็นเชื้อในกลุ่ม *Enterococcus* spp.

เมื่อนำเชื้อที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคเรื่องแสง *V. harveyi* พบว่ามีการยังยั้งจาก filamentous actinomycetes, lactic acid bacteria, *Bacillus* spp., และ *V. alginolyticus* แต่ไม่พบการยั้บยั้งจากยีสต์

จากการคัดเลือกจุลินทรีย์โปรไบโอติกด้วยการเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่มีการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรื่อง แสงด้วยอาหารที่ผสมเชื้อแบคทีเรียแลคติกและยีสต์พบว่ามีแบคทีเรียแลคติกจำนวน 4 สายพันธุ์ และ ยีสต์จำนวน 1 สายพันธุ์ ที่ทำให้กุ้งกุลาดำมีอัตราการรอดตายถึง100%

การศึกษาในครั้งนี้ยืนยันได้ว่าระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำมีเชื้อจุลินทรีย์ที่หลากหลาย อาศัยอยู่ร่วมกัน และการเสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่เป็นประโยชน์ลงในอาหารเลี้ยงกุ้งสามารถช่วยให้ กุ้งมีชีวิตรอดจากการรุกรานของเชื้อก่อโรคได้ดี

คำหลัก : กุ้งกุลาดำ จุลินทรีย์ประจำถิ่น โปรไบโอติกของกุ้ง

## Abstract

Project Code:: PDF/57/2544

Project Title: Selection of beneficial microflora from digestive tracts of black tiger shrimps

Investigator: MS. Ampaitip Sukhoom

Department of Microbiology, Faculty of Science Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla.

E-mail Address : ampaithip.s@psu.ac.th

Project Period: 2 years +

Microorganisms from digestive tracts of 3 groups of black tiger shrimps have been investigated from 13 each of healthy, bacterial and viral infected shrimps. The results showed that the total bacterial count TSA medium and the total vibrio count from TCBS medium were not significantly different (P<0.05) between the three groups of shrimps. However, the highest number of both groups was found from viral infected shrimps;  $9.01\pm0.45$  and  $6.56\pm0.06$   $\log_{10}$ cfu/g, respectively. While in bacterial infected and healthy shrimps were 8.80  $\pm$  0.30, 6.15  $\pm$  $0.37 \log_{10} \text{cfu/g}$  and  $8.44 \pm 0.32$ ,  $6.36 \pm 0.37 \log_{10} \text{cfu/g}$ , respectively. Eight genus of bacteria were found from the TSA medium; Bacillus spp., Corynebacterium spp., Enterobacter spp., E. coli, Flavobacterium spp., Micrococcus spp., Staphylococcus spp. and Vibrio spp. 15 species of vibrios isolated from the TCBS medium; V. cincinatiensis, V. vulnificus B2, V. carchariae, V. alginolyticus, V. cambellii, V. damsela, V. harveyi, V. logei, V. marinus, V. V. orientalis, V. pelagius I และ V. pelagius II. The mediteranei, V. mimicus, V. natriegens, phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences showed that Enterococcus spp. was the dominant group of lactic acid bacteria in the digestive tracts of black tiger shrimps.

Microorganisms isolated from black tiger shrimps were tested for inhibition activity against *V. harveyi*, the causative agent of luminous disease. The inhibition activity was found from actinomycetes, lactic acid bacteria, *Bacillus* spp. and *V. alginolyticus* but not from yeast.

Selection of probiotic bacteria and yeast were conducted by mixing them with shrimp commercial feed for black tiger shrimps cultivation system. There were 4 and 1 isolates of lactic acid bacteria and yeast, respectively that shrimps could survive for 100% when *V. harveyi* was added for challenging.

This study confirmed that there were diverse species of microflora occupied in digestive tracts of black tiger shrimps and supplemented shrimp feed with beneficial probiotics could help shrimps to survive well from invasion of harmful bacteria.

Keywords: black tiger shrimp, normal flora, shrimp probiotics