200095

สุปราณี พึ่งแพง 2550: ผลของแบคทีเรียที่แยกได้จากบ่อเลี้ยงปลาต่อการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ที่ก่อโรคในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: อาจารย์ประพันธ์ศักดิ์ ศิรษะภูมิ, Ph.D. 93 หน้า

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากบ่อเลี้ยงปลาในสถานีวิจัยประมงกำแพงแสน คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม โดยทำการเก็บตัวอย่างจากน้ำจำนวน 6 ตัวอย่าง ลำไส้และเมือกของปลานิลอย่างละ 2 ตัวอย่าง ได้เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 114 isolates และเมื่อนำแบคทีเรียดังกล่าวไปทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* โดยวิธี Cross streak technique พบว่ามีแบคทีเรียเพียง 4 isolates คือ isolate B-1, isolate B-2, isolate B-3 และ isolate B-4 ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้และภายหลังจากการนำแบคทีเรียทั้ง 4 isolates ไปทดสอบทางชีวเคมี พบว่า isolates B-1, B-2 และ B-4 คือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* และ isolate B-3 คือ เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย isolates B-1, B-3 และ B-4 ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ด้วยวิธี Agar well diffusion technique พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. licheniformis* รหัส B-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* สูงที่สุด นอกจากนี้ได้ทำการประเมินหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนจากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีแบคทีเรียชนิดนี้เจริญอยู่โดยวิธี SDS-PAGE ยังพบว่าโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลประมาณ 4 kDa มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. agalactiae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้อย่างชัดเจนและเมื่อนำแบคทีเรีย *B. licheniformis* รหัส B-1 ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. agalactiae* ภายใต้สภาพห้องทดลองโดยการแช่เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวที่ความเข้มข้น 10^5, 10^6 และ 10^7 cfu/มิลลิลิตร ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ที่ความเข้มข้น 10^6 cfu/มิลลิลิตร นาน 14 วัน พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. licheniformis* รหัส B-1 ทั้ง 3 ความเข้มข้นสามารถลดอัตราการตายของปลานิลได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยมีอัตราการตายสะสมที่ 14 วัน ของการทดลองเป็น 15.33±2.93, 13.67±2.62, 8.33±2.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อ *B. licheniformis* รหัส B-1 มีอัตราการตายสะสมสูงถึง 61.67±2.58 เปอร์เซ็นต์

200095

Supranee Pungpang 2007: Effect of Bacteria Isolated from Fish Culture Ponds on Inhibition of *Streptococcus agalactiae*, the Pathogenic Bacteria in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Master of Science (Agricultural Biotechnology), Major Field: Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Mr. Prapansak Srisapoome, Ph.D. 93 pages.

The efficiency of bacteria isolated from fish culture ponds in Kamphangsaen Fisheries Research Station (Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Nakornprathom Province) on inhibition of pathogenic bacteria, *Streptococcus agalactiae* was investigated. Total of 114 isolates were collected from water (6 samples) and some components of fish bodies of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) such as intestine (2 samples) and mucus (2 samples). The preliminary screening test of these bacteria using the cross streak method was employed. The result revealed that there were only 4 isolates that showed high performance in inhibiting of *S. agalactiae*. These bacteria were named B-1, B-2, B-3 and B-4, and were consequently known as *Bacillus licheniformis* for isolates B-1, B-2 and B-4, while isolate B-3 was *B. subtilis*. However, in second screening using the well diffusion assay, the highest efficiency of inhibition was obviously observed in *B. licheniformis* B-1 bacteria. Using the SDS-PAGE assay, a protein fragment approximately 4 kDa extracted from culturing broth medium of *B. licheniformis* B-1 was identified to be able in controlling *S. agalactiae in vitro*. Additionally, the efficiency of *B. licheniformis* B-1 bacteria was also evaluated the ability of protection fingerling fishes (25 days old) from *S. agalactiae* in lab scale. Interestingly, application of 10^5, 10^6 and 10^7 cfu/ml of *B. licheniformis* B-1 by long immersion could protect experminental fishes significantly different ($P<0.05$) from control group when they were simultaneously exposed to 10^6 cfu/ml of *S. agalactiae* for 14 days by accumulated mortality of 15.33±2.93, 13.67±2.62, 8.33±2.77 and 61.67±2.58 % respectively.