

170678

ทศพร เรืองรักษาลิขิต : แลกติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้เป็นโพรไบโอติกสำหรับปลากะพงขาว *Lates calcarifer* (LACTIC ACID BACTERIA AS PROBIOTICS IN WHITE SEABASS *Lates calcarifer*) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรวิตรกุล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. ศิริรัตน์
เร่งพิพัฒน์ 165 หน้า. ISBN 974-17-6477-4.

แยกแลกติกแอซิดแบคทีเรียจากทางเดินอาหารของปลากะพงขาว เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีสมบัติเป็นโพรไบโอติก ด้วยเทคนิค well agar diffusion พบ 5 ไอโซเลต (กำหนดให้เป็น LAB-1 - LAB-5) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aeromonas hydrophila* แบคทีเรียก่อโรคในปลาได้ ผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบในอาหารผสมแบบเปียก พบว่า ในอาหารมีปริมาณสารอาหารต่างๆเพียงพอกับความต้องการของปลากะพงขาว ยกเว้นปริมาณไขมันที่ต่ำเกินไป ความเข้มข้นของ *A. hydrophila* ที่ทำให้ปลาตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC₅₀) หลังจากที่ได้รับเชื้อแล้ว 72 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 7.76 log₁₀ เซลล์/มิลลิลิตร และที่ 96 และ 120 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 7.47 และ 7.26 log₁₀ เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ นำอาหารที่เตรียมได้ไปเลี้ยงปลากะพงขาวในตู้กระจก โดยผสมอาหารกับแต่ละไอโซเลตที่คัดแยกได้ให้มีความเข้มข้น 10⁷ เซลล์/กรัมอาหาร พบว่า มีเพียง LAB-4 เท่านั้น ที่มีความสามารถในการเสริมการเจริญเติบโตของปลาและต้านโรคที่เกิดจาก *A. hydrophila* ได้อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) เมื่อทำการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังโดยใช้ LAB-4 ผสมในอาหารปลาโดยใช้ความเข้มข้น 10⁵ และ 10⁷ เซลล์/กรัมอาหาร พบว่า ทุกกลุ่มทดลองมีอัตราการรอดชีวิต การเจริญเติบโตและความสามารถในการต้านโรคที่เกิดจาก *A. hydrophila* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) สามารถตรวจพบ LAB-4 ในลำไส้ของปลากะพงขาวทั้ง 2 กลุ่มทดลองและไม่พบ LAB-4 ในกลุ่มควบคุม ปลากะพงขาวที่ตายหลังจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *A. hydrophila* แสดงอาการของโรคอย่างชัดเจนและสามารถตรวจพบ *A. hydrophila* ในเนื้อเยื่อของปลาที่ตายด้วยเทคนิคทาง Immunohistochemistry พิสูจน์เอกลักษณ์ของ LAB-4 ด้วยการตรวจสอบรูปร่างลักษณะ ปริมาณกรดแลกติกด้วยเทคนิค HPLC และสมบัติบางประการทางชีวเคมี รวมทั้งการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA เพื่อใช้เทียบเคียงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ของ *Weissella confusa* ที่มีรายงานใน Genbank พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ LAB-4 มีความใกล้เคียงกับ *Weissella* sp.

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ.....ลายมือชื่อนิสิต.....
ปีการศึกษา.....2547.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

KEY WORD: LACTIC ACID BACTERIA / PROBIOTICS / WHITE SEABASS *Lates calcarifer*

THOSAPORN RUEANGRUKLHIT : LACTIC ACID BACTERIA AS PROBIOTICS
IN WHITE SEABASS *Lates calcarifer*. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SOMKIAT
PIYATIRATITIVORAKUL, Ph.D., THESIS-COADVISED : ASSOC. PROF. SIRIRAT
RENGPIPAT, Ph.D., 165 pp. ISBN 974-17-6477-4.

Lactic acid bacteria were screened from gastrointestinal tract (GI tract) of white seabass in order to investigate the possibility of being probiotics. Using well agar diffusion technique, five isolates (designated as LAB-1 – LAB-5) were found and could inhibit *Aeromonas hydrophila*, a causative agent in white seabass *in vitro*. Proximate analysis of prepared fish feed reached the nutrient requirement for white seabass growth, only lipid was low. Median lethal concentration (LC₅₀) of *A. hydrophila* in white seabass were tested at 7.76, 7.47 and 7.26 log₁₀ cells/ml for 72, 96 and 120 hours, respectively. Culturing white seabass in aquarium with individual LAB at the concentration of 10⁷ cells/g feed were tested. Only LAB-4 could grow and resist to *A. hydrophila* infection better than those of the control group (p<0.05). White seabass cultured in net cages with LAB-4 feed at two different doses (10⁵ and 10⁷ cells/g) did not show any significant difference on growth, survival and *A. hydrophila*'s resistance as compared to those results from the control group (p>0.05). Under scanning electron microscopic examination showed LAB-4 adherence on fish intestines' surface in both LAB-4 treatment groups while no detection in control group. Confirmation of *A. hydrophila* challenge on white seabass was performed by observing disease manifestation and immunohistochemistry technique. After examination of morphology, biochemical test, lactic acid determination by HPLC from LAB-4 broth culture, including 16S rDNA sequencing (E=0.0 and 99% homology with 16S rDNA of *Weissella confusa*, Genbank), LAB-4 was identified as *Weissella* sp.

Field of study.....Biotechnology.....Student's signature.....

Academic year.....2004.....Advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....