วิชัย ดำรงโภคภัณฑ์ 2552: การคัดเลือกสายพันธุ์และการผลิตบาซิลัสต้านวิบริโอสำหรับการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์, Ph.D. 200 หน้า

คัดเลือก *Bacillus* spp. จำนวน 25 ไอโซเลทจากตับกุ้งกุลาดำ ที่มีกิจกรรมยับยั้งแบคทีเรีย *Vibrio* spp. จำนวน 10 สายพันธุ์ ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่า *Bacillus* spp. จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ B17, B19, B21 และ B25 ซึ่งจัดจำแนกเป็น *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens* และ *B. megaterium* ตามลำดับ สามารถยับยั้ง *Vibrio* spp. ได้ทุกสายพันธุ์ ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.03±0.04 ถึง 2.20±0.07 cm และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเท่ากับ $5.0x10^7$, $5.0x10^7$, $5.0x10^7$ และ $5.0x10^6$ cfu/ml ตามลำดับ นอกจากนี้ยังวัดค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งด้วยวิธี co-culture ใน nutrient broth พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ B17 และ B21 ที่ยับยั้งการเติบโตของ *Vibrio harveyi* VH05 เท่ากับ $5.0x10^6$ และ $5.0x10^7$ cfu/ml ตามลำดับ นอกจากนี้ยังศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ B17, B19, B21 และ B25 ในฟลาสก์แบบเขย่า พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อดัดแปรโมลาสที่มีส่วนผสมของ Sandril salt และ 5% โมโนโซเดียมกลูตาเมตร่วมกับการเติมโซเดียมคลอไรด์ปริมาณ 0 ถึง 15 g/l เหมาะสมกับการเติบโตของ *Bacillus* spp. ที่อุณหภูมิ 30 ถึง 37°C ส่วนผลของพีเอชต่อการเติบโต ของ B17, B21 และ B25 ในถังหมักขนาด 2 ลิตร พบว่าพีเอช 6.0 เหมาะสมกับการเติบโตที่สุด โดยให้อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.4985, 0.4387 และ 0.4938 h^{-1} ตามลำดับ การศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอยของ B17 ในอาหาร ระยะเวลาเพาะเลี้ยง และสารพาที่แตกต่างกัน พบว่าหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอยเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร nutrient broth เป็นเวลา 36 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด (9.28%) เมื่อใช้ 15% มอลโทเดกซ์ทรินผสม 5% โมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นสารพา พบว่าหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอยเซลล์มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด (63.48%) ภายใต้การเก็บรักษาเชื้อผงที่อุณหภูมิ 4°C และ 30°C เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าเซลล์รอดชีวิตสูงกว่าเมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้พบว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการเก็บรักษาไม่มีผลต่อความสามารถในการผลิตสารยับยั้ง การศึกษาในสัตว์ทดลอง ศึกษาผลของ B17, B21 และ B25 ต่อการรอดชีวิตของกุ้งกุลาดำ ใส่เซลล์ของแบคทีเรียทดสอบในอาหารกุ้งที่ความเข้มข้น 10^8 และ 10^6 cfu/g หลังจากการทดลองให้อาหารกุ้งที่มี *Bacillus* spp. และไม่มี (กลุ่มควบคุม) เป็นเวลา 28 วัน และทำให้ติดโรคด้วย *V. harveyi* VH05 พบว่ากลุ่มที่ได้รับเชื้อปริมาณ 10^8 cfu/g มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่า กลุ่มที่ได้รับเชื้อปริมาณ 10^6 cfu/g อย่างไรก็ตาม B17 มีศักยภาพสูงสุดที่ยับยั้งเชื้อก่อโรค กลุ่มที่ได้รับ B17 ลดอัตราการตายเหลือ 23.08-42.86% ซึ่งขึ้นกับความเข้มข้นของเชื้อ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีอัตราการตายเท่ากับ 69.23% ผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการใช้ B17 ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่ากุ้งกุลาดำมีการรอดชีวิตที่ไม่แตกต่างกัน (70.83-54.55%)

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ