



รายงานการวิจัย

ความหลากหลายของสายพันธุ์แลคโตแบซิลลัสในหญ้าหมักของไทย

(Diversity of *Lactobacillus* Strains in Thai Silage)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรสิทธิ์ รอดทอง

สาขาวิชาจุลชีววิทยา

สำนักวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

1. รองศาสตราจารย์ ดร. หนึ่ง เตียอำรุง

2. นายพงษ์ฤทธิ์ ครอบปรัชญา

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2539

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

บทคัดย่อ

แลคโตแบซิลไล (Lactobacilli) เป็นแบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus* ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตหญ้าหมักหรือ Silage ซึ่งใช้เป็นอาหารสัตว์และผลิต Probiotics เพื่อเป็นอาหารเสริมของสัตว์ที่มีผลในการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์นั้น การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ข้อมูลด้านความหลากหลายของสายพันธุ์ของ Lactobacilli ที่พบใน Silage จากแหล่งผลิตในประเทศไทย ซึ่งจะช่วยให้ประโยชน์ในการพัฒนาหัวเชื้อเพื่อใช้ในการผลิต Silage และจุลินทรีย์ที่อาจใช้เป็น Probiotics สำหรับสัตว์ จากการวิเคราะห์หา Lactobacilli ในตัวอย่าง Silage จำนวน 27 ตัวอย่าง ที่ได้จากการบวนการหมักโดยธรรมชาติจากแหล่งผลิต 6 แหล่ง ในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งตัวอย่าง Silage ที่ได้นี้มี 3 ชนิดหรือประเภทหลัก ตามพืชวัตถุดิบที่ใช้ผลิต คือ Sorghum silage, Grass silage และ Corn silage พบปริมาณ Lactobacilli โดยเฉลี่ยใน Sorghum silage และ Grass silage ใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 10^5 ถึง 10^7 CFU/กรัมของ Silage (น้ำหนักเปียก) สำหรับ Corn silage มีปริมาณ Lactobacilli ที่ตรวจพบโดยเฉลี่ยสูงถึง 10^8 CFU/กรัม และเมื่อเลือกเก็บไอโซเลทของ Lactobacilli ได้จำนวน 370 ไอโซเลท ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีที่แตกต่างกันเพื่อวิเคราะห์ชนิดของแบคทีเรียโดยอาศัยสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการสามารถระบุชนิดของ Lactobacilli ชนิดเด่นซึ่งส่วนใหญ่แยกได้จาก Silage ทุกประเภทที่ศึกษาได้จำนวน 10 ชนิด คือ *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. casei*, *L. delbrueckii*, *L. farciminis*, *L. fermentum*, *L. fructosus* และ *L. gasseri* และจากการพัฒนาวิธี Random amplified polymorphic DNA (RAPD) เพื่อศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์ของ Lactobacilli ชนิดเด่นได้ผลสรุปดังนี้ *Lactobacillus plantarum* มีความหลากหลายของสายพันธุ์อย่างน้อย 8 สายพันธุ์ Lactobacilli ชนิดที่มีความหลากหลายของสายพันธุ์อย่างน้อย 3 สายพันธุ์คือ *L. casei* และ *L. fermentum* และชนิดที่มีความหลากหลายของสายพันธุ์อย่างน้อย 2 สายพันธุ์คือ *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. delbrueckii* และ *L. gasseri* ซึ่ง Lactobacilli บางชนิด ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* และ *L. delbrueckii* มีรายงานการใช้เพื่อผลิต Probiotics สำหรับสัตว์

Abstract

Lactobacilli are bacteria belonging to the genus *Lactobacillus*. They play their important roles in the production of both silage, an animal feed, and probiotics, a live microbial feed supplement. This study aims to obtain the diversity data of *Lactobacillus* strains found in natural Thai silage. The data will be useful for the development of silage inoculants as well as probiotics in local areas. Twenty seven silage samples naturally produced were collected from six silage production places in the Central and North-eastern Thailand. Three principal types of silage samples categorized according to plant species used as raw materials: sorghum, grass, and corn silages, were obtained. From the investigation of lactobacilli in these silage samples, sorghum and grass silages contained the similar average lactobacillus numbers which were in the range of 10^5 to 10^7 CFU/g (wet weight). Corn silage contained the approximate numbers of 10^8 CFU/g. Three hundred and seventy lactobacillus isolates were selected according to their difference in colony morphology for identification and differentiation. The dominant isolates mostly found in all silage samples were identified as to species of *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. casei*, *L. delbrueckii*, *L. farciminis*, *L. fermentum*, *L. fructosus*, and *L. gasseri* by traditional phenotypic and biochemical tests. At least 8 strains of *L. plantarum*, 3 strains of *L. casei* and *L. fermentum*, and 2 strains of *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. delbrueckii*, and *L. gasseri* were found when the random amplified polymorphic DNA (RAPD) method was used for differentiating lactobacillus strains. *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, and *L. delbrueckii* have been reported to be applied as probiotics.