

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้ ทำการศึกษาคัดแยกแบคทีเรีย จากฟองน้ำทะเล 16 ชนิด ที่เก็บจากพื้นที่ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี บริเวณเกาะแรต อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี พบว่ามีแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำในปริมาณที่แตกต่างกันคือ ครั้งที่ 1 ในเดือนมกราคม 2555 ฟองน้ำจำนวน 11 ตัวอย่าง คัดแยกแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีได้ 86 ไอโซเลต โดยมีปริมาณแบคทีเรียเจริญได้แตกต่างกัน คือฟองน้ำครกสีน้ำตาลเหลือง RAD55-B-POR02 พบมีปริมาณต่ำสุดที่ 1.1×10^5 ส่วนฟองน้ำเคลือบสีม่วง RAD55-A-POR02 *Haliclona* sp."purple" มีสูงที่สุดที่ 6.1×10^6 โคโลนีต่อกรัม ครั้งที่ 2 ในเดือนพฤษภาคม เก็บตัวอย่างฟองน้ำได้ 5 ตัวอย่าง คัดแยกแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีได้ 40 ไอโซเลต โดยมีปริมาณแบคทีเรียเจริญได้แตกต่างกัน คือ ฟองน้ำก้อนสีขาว RAD55-G-POR01 พบมีปริมาณต่ำสุดที่ 1.1×10^5 โคโลนีต่อกรัม ส่วนฟองน้ำเคลือบบางสีแดง RAD55-F-POR02 มีปริมาณสูงสุด 4.88×10^6 โคโลนีต่อกรัม ดังแสดงในตารางที่ 1 และแผ่นภาพที่ 1 และทำการเก็บรักษาสายพันธุ์แบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ modified Zobell 0.3% agar เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

เมื่อทำการคัดเลือกไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เมื่อนำแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำจำนวน 78 สายพันธุ์ มาทำการตรวจสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญ กับตัวแทนแบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC25923; *Bacillus subtilis* ATCC6633; และแกรมลบได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853; *Vibrio anguillarum*; *Escherichia coli* ATCC25922) ด้วยวิธี Disc Diffusion Agar Assay พบว่า แบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำจำนวน 10 สายพันธุ์ ได้แก่ R55B1-4, R55B2-9, R55F1-9, R55F1-10, R55F2-2, R55F3-2, R55F3-11, R55G1-3, R55G1-6or, R55G2-1BK, แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ดี คิดเป็นร้อยละ 12.8 ของแบคทีเรียที่ทดสอบ โดยในจำนวนนี้มีแบคทีเรียทะเล 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ R55B 1-4, R55B2-9, R55B2-11Br, R55F1-9, R55G2-1BK, แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ทั้ง 4 แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำที่จะเป็นแหล่งใหม่ของสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่น่าสนใจที่จะทำการวิจัยต่อไป ดังแสดงในตารางที่ 2

การบ่งชี้แบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำทะเล ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA และ 23S rRNA

จากการศึกษาในปีที่ผ่านมาจึงได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำที่น่าสนใจมา ทำการศึกษากการบ่งชี้แบคทีเรีย 4 ไอโซเลต ที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำทะเล 4 ชนิด ได้แก่ RAD55-B-POR01, RAD55-B-POR02, RAD55-F-POR01, และ RAD55-G-POR02 ด้วยการสกัด DNA เพื่อนำไปศึกษาลำดับ

วคลีโอไทด์บริเวณยีน *16S rRNA* และ *23S rRNA* ต่อไปให้สามารถบ่งชี้ชนิดแบคทีเรียด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนที่ยีน *16S rRNA* ถึงยีน *23S rRNA* ด้วยไพรเมอร์ 16S-23S_F/R พบว่าได้ผลผลิต PCR ที่มีขนาดแตกต่างกัน หลังจากโคลนและอ่านลำดับเบสพบว่ามีความยาว 884 - 1,409 คู่เบส แล้วนำไปเทียบเคียงลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำทะเลกับฐานข้อมูล GeneBank ในส่วนของยีน *16S rRNA* จะสามารถบ่งชี้แบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลตได้