

สรุปผลการดำเนินงานและข้อเสนอแนะ

จากผลการดำเนินงานวิจัยทั้ง 6 โครงการย่อยในปีที่ 1 ในแต่ละโครงการวิจัยสามารถดำเนินการวิจัยได้ตามแผนงาน ซึ่งสรุปได้ดังนี้

1. ตัวอย่างฟองน้ำทะเลที่เก็บจากหมู่เกาะทะเลใต้ อ. ขนอม จ. นครศรีธรรมราช จาก 4 จุดสำรวจ จำนวน 94 ตัวอย่าง โดย 74 ตัวอย่าง ทำการจำแนกชนิดเป็นหลักฐานอ้างอิง จำแนกชนิดได้ 45 ชนิด จาก 35 สกุล 25 วงศ์ 10 อันดับ มีความหลากหลายของฟองน้ำในเกาะราบและเกาะวังนอกมากที่สุด
2. เชื้อแบคทีเรียจำนวน 210 สายพันธุ์ แยกจากฟองน้ำทะเล จำนวน 52 ตัวอย่าง ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ แบคทีเรียกรัมบวก *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียกรัมลบ ได้แก่ *Vibrio alginolyticus* และ *Escherichia coli* โดยวิธี Disc Diffusion Agar Assay พบว่า ฟองน้ำ 38 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ เชื้อ WNAI56-1 จากฟองน้ำทอสีเทา (*Cladocroce* sp. "grey") ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ขณะที่เชื้อ RAB56-A-28 จากฟองน้ำสีม่วง (*Petrosia hoeksemai*) สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *E. coli* ได้ดี
3. การแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากฟองน้ำทะเลและจากตะกอนป่าชายเลนชายฝั่งของ อ. ขนอม จังหวัดนครศรีธรรมราช สามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากฟองน้ำเกาะราบ 2 ไอโซเลต จากเกาะวังนอกพบ 2 ไอโซเลต และจากป่าชายเลนพบแอคติโนมัยซีท 52 ไอโซเลต นำเชื้อที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MRSA, *B. subtilis*, *C. albicans*) พบแอคติโนมัยซีท 27 ไอโซเลต ที่แยกจากดินป่าชายเลน และ เชื้อ *Micromonospora* 2 isolates สามารถสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทดสอบ สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีท ได้แก่ เลี้ยงในอาหารเหลว ISP2 ที่ค่า pH 7-5 และ pH 8.0 จะสามารถสร้างออกฤทธิ์ได้มาก
4. แอคติโนมัยซีทที่ได้จากดินตะกอนป่าชายเลน 3 สายพันธุ์ (PL 2-2, PL 4-6 และ WN- POR-02-1) มีกรดไขมันที่จำเป็นชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนชนิด C18:2n6 ในปริมาณสูงสุด โดย PL2-2 มีปริมาณของกรดไขมัน C18:2n6 และ C18:3n3 สูงสุดเท่ากับ $37.38 \pm 0.27\%$ และ $4.07 \pm 0.09\%$ ตามลำดับ รองลงมาคือ PL 4-6 ($36.26 \pm 0.88\%$ และ $2.75 \pm 0.14\%$ ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดแอคติโนมัยซีทสายพันธุ์ PL7-4, PL2-3 และ PL2-5 มีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด (IC_{50} 49.11 ± 2.37 , 56.63 ± 0.39 และ 64.79 ± 1.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ขณะที่สายพันธุ์ PL4-6 และ PL2-3 ออกฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ดีที่สุด (IC_{50} 14.25 ± 2.82 และ 22.17 ± 0.72 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) สารสกัด

5. หยาบชั้นเซลล์ของเชื้อราสายพันธุ์ RB-POR2 เพียงเชื้อเดียวที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง DPPH และ ABTS ดีที่สุด
6. ขณะที่สภาวะการเลี้ยงยีสต์ที่เหมาะสมของยีสต์ BS6-2 ในการนำไปศึกษาการเตรียมอาหารสัตว์น้ำ ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อกากขานอ้อยที่ความเค็ม 25 พีพีที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มีการเจริญสูงสุด จากการศึกษาลำดับเบสของบริเวณ D1/D2 region ของยีสต์ BS6-2 และเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้ใน GenBank พบว่าใกล้เคียงที่สุดกับยีสต์ในจีโนม *Pichia jadinii* Type strain CBS 1600^T ยีสต์สายพันธุ์ BS6-2 ที่เลี้ยงในอาหารกากขานอ้อยมีการสะสมกรดไขมันที่จำเป็นชนิด linoleic acid; C18:2n6 และ α -linolenic acid; C18:3n3 มากที่สุด โดยมีปริมาณกรดไขมันชนิด 19.91±0.21% และ 7.63±0.05% ตามลำดับ ยีสต์ที่เลี้ยงที่ความเค็ม 25 พีพีที มีปริมาณกรดไขมันชนิด C18:2n6 สูงสุด (22.58 ± 1.24%) เมื่อทำการตรึงยีสต์ *Pichia sp.* ด้วยแคลเซียมอัลจินเต พบชนิดและปริมาณกรดไขมันจากเมล็ดหลัก ได้แก่ กรดปาล์มิติกมากที่สุดร้อยละ 21.20±0.57 กรดโอเลอิกและกรดไลโนเลอิกร้อยละ 17.83±0.35 และ 3.14±0.10 ตามลำดับ และโซเดียมอัลจินเตที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.2 และแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 1.5 มีความเหมาะสมมากที่สุดในการใช้ตรึงเซลล์ยีสต์

ปัญหาและอุปสรรค

1. ปัญหาอุปสรรคที่สำคัญในการสำรวจวิจัยครั้งนี้คือ สภาพภูมิอากาศแปรปรวนก่อให้เกิดคลื่นลมในทะเลรุนแรงจนไม่สามารถออกเก็บตัวอย่างได้อย่างต่อเนื่องและไม่สามารถเข้าถึงจุดสำรวจตามแผนที่วางไว้ โดยเฉพาะทิศที่รับลมทำให้ขาดข้อมูลบางส่วนไป อีกทั้งงบประมาณในการสำรวจมีจำกัดทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถขยายระยะเวลาในการสำรวจได้มากนัก
2. สารสกัดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทมีปริมาณน้อย และบางครั้งเกิดการปนเปื้อนทำให้การทดลองล่าช้า

งานที่จะดำเนินการต่อไปในปีที่ 2

- เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากดินตะกอนป่าชายเลน จังหวัดชุมพร
- จากโครงการที่ 3 จะดำเนินการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และสารรงควัตถุต่อไปในปีที่ 2
- วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันของเชื้อแอคติโนมัยซีทจากพื้นที่จังหวัดชุมพร
- โครงการวิจัยการพัฒนาการผลิตวัคซีนและสารเสริมอาหารโดยเทคนิคการตรึงเพื่อกระตุ้น

ภูมิคุ้มกันของปลาทะเลต่อปรสิตสัตว์น้ำหรือแบคทีเรียในปีที่ 1 สามารถตรึงเซลล์ยีสต์และปรสิต *C. irritans* ระยะ theront ด้วยแคลเซียมอัลจินเต สำหรับนำไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์น้ำเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันปลาให้สามารถต้านเชื้อปรสิต *C. irritans* ที่ทำให้เกิดโรคจุดขาวน้ำเค็มในปีที่ 2 ต่อไป