

อุบลพรรณ เหลืองอุบล 2550: การคัดเลือกเมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่มีความสามารถสูงในการตรึงฟอสฟอรัส ประชุมวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา ประชานกรรมการที่ปรึกษา: อาจารย์นันทนา สีสุข, Ph.D. 165 หน้า

ทำการแยกเมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียที่สามารถใช้เมทานอลในอาหารแข็งเพื่อการเจริญที่ 45 องศาเซลเซียส ได้ทั้งสิ้น 76 ไอโซเลทจากตัวอย่างที่เก็บจากธรรมชาติจำนวน 20 ตัวอย่าง แต่พบว่ามีเพียง 24 ไอโซเลทที่สามารถเจริญในอาหารเหลวที่มีเมทานอลเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนที่ 45 องศาเซลเซียส โดยในจำนวนนี้มี 19 ไอโซเลทที่จัดเป็นเมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูง การศึกษาพื้นฐานวิทยาของเซลล์เมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงทั้ง 19 ไอโซเลท พบว่าเป็นแบคทีเรียรูปท่อน 17 ไอโซเลท แบ่งเป็นกลุ่มที่ติดสีแกรมบวกจำนวน 11 ไอโซเลท ซึ่งสร้างเอนโดสปอร์จำนวน 6 ไอโซเลทและไม่สร้างเอนโดสปอร์จำนวน 5 ไอโซเลท กลุ่มที่ติดสีแกรมแปรผันจำนวน 2 ไอโซเลท ซึ่งสร้างเอนโดสปอร์ได้ทั้ง 2 ไอโซเลท และกลุ่มที่ติดสีแกรมลบจำนวน 4 ไอโซเลท ซึ่งสร้างเอนโดสปอร์ได้จำนวน 3 ไอโซเลทและไม่สร้างเอนโดสปอร์ 1 ไอโซเลท แบคทีเรียรูปร่างเป็นทรงกลมมี 2 ไอโซเลท ซึ่งพบว่าติดสีแกรมบวกและไม่สร้างเอนโดสปอร์ทั้งสอง ไอโซเลท การคัดเลือกเมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่สามารถเจริญได้ที่ 45 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีฟอสฟอรัสความเข้มข้นสูง ทำโดยการพิจารณาความเข้มข้นต่ำสุดของฟอสฟอรัสที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) พบว่าเมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียรหัส SB4 TE1 และ TB2 ทนต่อฟอสฟอรัสในอาหารเหลวที่มีเมทานอล 1 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ได้สูงที่สุด คือ 2.5 2.4 และ 1.9 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีฟอสฟอรัสเป็นแหล่งคาร์บอนหลักพบว่า แบคทีเรียดังกล่าวมีค่า MIC ของฟอสฟอรัส เท่ากับ 0.8 0.7 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ จึงทำการศึกษาการตรึงฟอสฟอรัสของเมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียรหัส SB4 TE1 และ TB2 ในสภาวะที่มีฟอสฟอรัสในอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 0.8 0.7 และ 0.5 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียรหัส TE1 ตรึงฟอสฟอรัสได้ดีที่สุดโดยสามารถลดฟอสฟอรัสในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ 93 เปอร์เซ็นต์และมีฟอสฟอรัสสะสมภายในเซลล์น้อยที่สุด (0.374 มิลลิโมลต่อกรัมเซลล์แห้ง) เมื่อเทียบกับแบคทีเรียรหัสอื่น อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทซึ่งทดสอบแล้วว่าใช้วิถี RuMP สำหรับตรึงฟอสฟอรัสนั้น มีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ HPS และ PHI ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักของวิถี RuMP อยู่ในระดับสูงเมื่อเทียบกับค่าที่มีรายงานไว้สำหรับเมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์อื่น การจัดจำแนกเมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียรหัส SB4 TE1 และ TB2 ทำโดยการเปรียบเทียบลำดับเบสบางส่วนของ 16S rDNA ของแบคทีเรียที่ศึกษากับลำดับเบสจากฐานข้อมูล GenBank ร่วมกับการพิจารณาสมบัติทางชีวเคมีบางประการและพื้นฐานวิทยาของเซลล์และโคไลนีพบว่า เมทิลโลโทรฟิเคแบคทีเรียรหัส SB4 TE1 และ TB2 มีความใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Bacillus sporothermodurans*, *Bacillus badius* และ *Brevibacillus choshimensis* มากที่สุด ตามลำดับ