

การยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน (*Balanus amphitrite*) โดยแบคทีเรียทะเล
ที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำหรือปะการังอ่อนจากหมู่เกาะช้าง จังหวัดตราด

ใบเนพาหึ่งศนย์บ่อ
ภาคตะวันออก

ปัทมา ระจับพิศม์

22 ส.ค. 2546

110006688

160886

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวาริชศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา

มิถุนายน 2545

ISBN 974 - 616 - 665 - 4

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

..... ประธาน

(ดร. ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร์ เฉลิมวัฒน์)

..... กรรมการ

(ดร. ศิริโฉม ท่งแก้ว)

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

..... ประธาน

(ดร. ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา จันทองจีน)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. คเชนทร์ เฉลิมวัฒน์)

..... กรรมการ

(ดร. ศิริโฉม ท่งแก้ว)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมถวิล จิตตวร)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประทุม ม่วงมี)

วันที่ 14 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2545

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี โดยผู้วิจัยได้รับความกรุณาจากประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ดร.ชุตีวรรณ เดชสกุลวัฒนา กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.คเชนทร์ เฉลิมวัฒน์ ดร.ศิริโสม พุ่งแก้ว รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา จันทองจีน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมถวิล จริตควร คณะกรรมการสอบ ที่กรุณาให้คำปรึกษา ให้คำแนะนำในการทำวิจัย ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณทบวงมหาวิทยาลัย และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่กรุณาสนับสนุนงบประมาณในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล และทีมค้ำน้ำของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ที่กรุณาให้ความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ ความอนุเคราะห์ได้อะตอม เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณภาคิวิชาวาริชศาสตร์และ ภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์และให้ความช่วยเหลือในการเบิกจ่ายอุปกรณ์ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิภูษิต มั่นชาติตร ผศ.ดร.สมศักดิ์ ไสภณพินิจ คุณประหยัด มะหมัด ที่กรุณาให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขอขอบพระคุณ คุณสุเมตต์ ปุจฉากการ คุณนพดล คำชาย คุณวันชัย วงสุดาวรรณ คุณธิดารัตน์ น้อยรักษา คุณขวัญเรือน ปิ่นแก้ว คุณอมรรัตน์ ชมรุ่ง คุณเอกสิทธิ์ ผดุงจิตร คุณชนิดา เรืองจรรณ ตลอดจนเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ที่กรุณาให้ข้อมูลและคำแนะนำ ให้การช่วยเหลือ อีกทั้งเป็นแบบอย่างและเป็นกำลังใจ ทำให้ผู้วิจัยสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ท้ายสุดขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ พี่สาว ที่เป็นพลังใจ ให้ความช่วยเหลือและให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านตลอดมา

ปัทมา ระจับพิศม์

41910942 : สาขาวิชา : วาริชศาสตร์; วท.ม. (วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต)

คำสำคัญ : ยับยั้งการลงเกาะ/ ไชพริต / *Balanus amphitrite* / แบคทีเรียทะเล/ ฟองน้ำ/
ปะการังอ่อน/ หมู่เกาะช้าง จังหวัดตราด

บทมา ระบัพิคม: การยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน (*Balanus amphitrite*) โดยแบคทีเรียทะเลที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำ หรือปะการังอ่อนจากหมู่เกาะช้าง จังหวัดตราด (INHIBITION OF SETTLEMENT IN BARNACLE LARVAE, *Balanus amphitrite*; BY SOME BACTERIA ISOLATED FROM SPONGES OR SOFT CORALS FROM CHANG ISLAND TRAD PROVINCE) อาจารย์ที่ปรึกษา: ชุตติวรรณ เดชสกุลวัฒนา, ดร.,
คเชนทร เฉลิมวัฒณ์, รศ.ดร., ศิริโสม หุ่นแก้ว, ดร. 99 หน้า. ISBN 974-616-665-4

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อการศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำหรือปะการังอ่อนที่สามารถยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินชนิด *Balanus amphitrite* โดยคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งมาจากฟองน้ำ หรือปะการังอ่อนจากเกาะคลุ้ม กองหินแหลมโปง เกาะหวายด้านใน เกาะหวายด้านนอก เกาะเหลายา และเกาะพร้าวนอก ทำการสุ่มเลือกเชื้อบริสุทธิ์ที่คัดแยกจำนวน 30 ชนิด เลี้ยงและบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ได้ฟิล์มแบคทีเรียหนาแน่น $10^4 - 10^6$ เซลล์/ตารางมิลลิเมตร ทดสอบกับเพรียงหินระยะลงเกาะ (cyprid) อายุ 2 - 4 วัน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ควบคุมแสงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (12 ชม. สว่าง 12 ชม. มืด) และน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย นำมาทดสอบเช่นเดียวกัน

ผลการศึกษาวิจัยพบว่าฟิล์มแบคทีเรียจำนวน 1 สายพันธุ์ คือ IMS 279 - 7 แสดงผลยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .01$) แบคทีเรียนี้จัดอยู่ในสกุล *Aeromonas* คัดแยกแบคทีเรียมาจากฟองน้ำท่อพุ่มสีม่วงแดง *Oceanapia sagittaria* จากเกาะคลุ้ม และน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียที่ความเข้มข้น 1:1 จำนวน 11 สายพันธุ์แสดงผลยับยั้งการลงเกาะของไชพริตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .01$) ได้แก่แบคทีเรียสกุล *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Caulobacter*, *Cytophaga*, *Alteromonas*, *Flexibacter* และ *Vibrio*

41910942 : MAJOR : MASTER OF SCIENCE PROGRAM IN AQUATIC SCIENCE;
M.SC.(AQUATIC SCIENCE)

KEYWORDS : SETTLEMENT INHIBITION/ CYPRID LARVAE/*Balanus amphitrite*/
MARINE BACTERIUM / SPONGES / SOFT CORAL/ CHANG ISLAND/
TRAD PROVINCE

PATTAMA RANGUBPIT : INHIBITION OF SETTLEMENT IN BARNACLE
LARVAE, *Balanus amphitrite*; BY SOME BACTERIA ISOLATED FROM SPONGES
OR SOFT CORALS FROM CHANG ISLAND TRAD PROVINCE. THESIS ADVISORS :
CHUTIWAN DECHSAKULWATTANA Ph.D., KASHANE CHALERMWAT Ph.D., SIRICHOM
THUNGKAO Ph.D. 99 P. ISBN 974-616-665-4

The objective of this study was to screen for bacterial secondary metabolites, isolated from sponges or soft coral, that could inhibit barnacle (*Balanus amphitrite*) settlement. Organisms from Chang Island group were selected. A total of 30 bacterial strains were randomly selected and incubated for 2 and 24 hr at 25 °C. Bacterial film of density 10^4 - 10^6 cell /mm² were test 2 and 24 hr settlement inhibition using 2-4 day old cyprids. These were incubated at 25 °C on a 12/12 light - dark cycle. Bacterial supernatant was also studied.

After 24 hours , a film from bacterium strain IMS 279 -7 from the sponge, *Oceanapia sagittaria* showed a significant inhibitory strain effect on the settlement of barnacle larvae ($p < .01$). This active strain was identified as genus of *Aeromonas* . Furthermore, the supernatant of 11 strains at a concentration ratio 1:1 also showed strong inhibitory effect with significance at $p < .01$. These active strains were identified as the genera *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Caulobacter*, *Cytophaga*, *Alteromonas*, *Flexibacter* and *Vibrio*

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ญ

บทที่

1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	2
สมมุติฐานการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
ขอบเขตของการศึกษาวิจัย.....	3
ข้อจำกัดของการวิจัย.....	3
สถานที่ทำการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
แนวคิดที่เรื้อย.....	4
แนวคิดที่เรื้อยทะเล.....	5
อนุกรมวิธานของเพรียงหิน.....	13
วงชีวิตของเพรียงหิน.....	14
3 วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า.....	21
วัสดุและอุปกรณ์.....	21
วิธีดำเนินการศึกษา.....	23

บทที่	หน้า
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	38
5 สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ.....	54
สรุปผลการศึกษา.....	54
อภิปรายผล.....	58
ข้อเสนอแนะ.....	60
บรรณานุกรม.....	61
ภาคผนวก.....	72
ภาคผนวก ก.....	73
ภาคผนวก ข.....	77
ภาคผนวก ค.....	93
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	99

สารบัญตาราง

ตารางที่

หน้า

1	แสดงแบคทีเรียทะเลจากแหล่งต่าง ๆ และการออกฤทธิ์ของโมเลกุลอินทรีย์ของแบคทีเรีย	7
2	แสดงชนิดหรือกลุ่มแบคทีเรียที่ค้นพบจากรายงานการวิจัยที่มีผลยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนทดสอบ.....	12
3	แสดงชนิดแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำและปะการังอ่อนที่ใช้ในการทดลอง.....	26
4	แสดงจำนวนชนิดและโคโลนีแบคทีเรียที่คัดแยกจากฟองน้ำและปะการังอ่อนจากหมู่เกาะช้าง จ. ตรัง.....	38
5	แสดงผลจำนวนเซลล์แบคทีเรียเฉลี่ยและความเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ปริมัยะเวลา 2 และ 24 ชั่วโมง.....	41
6	แสดงค่าเฉลี่ยและความเบี่ยงเบนมาตรฐานการทดสอบการลงเกาะของไซพริดกับฟิล์มแบคทีเรียที่ป่มเป็นระยะเวลา 2 และ 24 ชั่วโมง.....	43
7	แสดงค่าเฉลี่ยและความเบี่ยงเบนมาตรฐานการทดสอบการลงเกาะของไซพริดในภาชนะทดสอบกับน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียเจือจาง.....	45
8	แสดงการจำแนกแบคทีเรียทะเลที่นำมาใช้ในการทดสอบ.....	52
9	แสดงรายงานการบันทึกการจำแนกแบคทีเรียโดยวิธีทางชีวเคมี.....	74
10	แสดงจำนวนไซพริดที่ลงเกาะบนภาชนะทดสอบที่ระยะเวลาป่มเชื้อแบคทีเรียทดสอบ 2 และ 24 ชั่วโมง.....	78
11	แสดงจำนวนไซพริดที่ลงเกาะบนภาชนะทดสอบที่มีน้ำเลี้ยงเซลล์เจือจาง.....	80
12	ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน <i>Balanus amphitrite</i> ต่อฟิล์มแบคทีเรียที่ป่มระยะเวลา 2 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA.....	82

- 13 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน *Balanus amphitrite* ที่ระยะเวลาบ่มเชื้อ 24 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทางสถิติ โดยใช้ one way ANOVA..... 85
- 14 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน *Balanus amphitrite* ต่อน้ำเลี้ยงแบคทีเรียที่อัตราส่วน 1:1 และ 1:9 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทางสถิติโดยใช้ two way ANOVA..... 88

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

1	รูปแบบโครงสร้างของสิ่งมีชีวิตประเภทลงเกาะติด.....	10
2	แสดงลักษณะโครงสร้างภายนอกของเพรียงหิน.....	13
3	แสดงวงชีวิตของเพรียงหิน.....	15
4	แสดงคาราเปส นอเพรียงระยะที่ 1-6 ของ <i>Balanus amphitrite</i>	16
5	แสดงลาบรัม นอเพรียงระยะที่ 1-6 ของ <i>Balanus amphitrite</i>	17
6	แสดงขบวนการเปลี่ยนแปลงที่ช่องท้องและหนามที่ส่วนหางนอเพรียงระยะที่ 1-6 ของ <i>Balanus amphitrite</i>	17
7	แสดง Gnathobase ของหนวดนอเพรียงระยะที่ 2-6 ของ <i>Balanus amphitrite</i>	17
8	แสดงหนวดคู่ที่ 1 (ซ้าย) และ ขากรรไกร (ขวา) นอเพรียงระยะที่ 1-6 ของ <i>Balanus amphitrite</i>	18
9	แสดงหนวดคู่ที่ 2 นอเพรียงระยะที่ 1-6 ของ <i>Balanus amphitrite</i>	18
10	แสดงจุดเก็บตัวอย่างบริเวณหมู่เกาะช้าง จ.ตราด.....	24
11	แผนภาพแสดงการแยกตัวอย่างแบบที่เรียจากฟองน้ำและปะการังอ่อน.....	25
12	สถานีเก็บเพรียงหินบริเวณเสาหินปูนสะพานแหลมแท่น จ.ชลบุรี.....	28
13	แสดงไขเพรียงหินระยะพร้อมฟักตัว โดยมีจุดตาอยู่ภายในไข่แต่ละฟองที่กำลังขยาย 1125 เท่า.....	28
14	แสดงฟูไข่ ที่ส่วนฐานของเพรียงหินตัวเต็มวัย.....	29
15	แสดงตัวอ่อนเพรียงหิน <i>Balanus amphitrite</i> ระยะไซพริต.....	29
16	แสดงแบบที่เรีย IMS 289-6 ย้อมด้วยสีอาร์ครีตินออเรนจ์ภายใต้กล้องอิพิฟลูออเรสเซนส์ที่กำลังขยาย 6250 เท่า.....	32
17	แสดงขั้นตอนการเตรียมน้ำเลี้ยงแบบที่เรีย ทดสอบการลงเกาะของไซพริต.....	32
18	แผนผังการทดสอบการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะไซพริตกับแบบที่เรีย.....	33

19	แผนภาพแสดงปฏิกิริยาทางชีวเคมี ในการจัดจำแนกแบคทีเรียทะเล.....	34
20	แผนโครงสร้างการทดสอบการลงเกาะของไซพริตกับเซลล์แบคทีเรียที่ป่มระยะเวลา 2 และ 24 ชั่วโมง.....	36
21	แผนโครงสร้างการทดสอบการลงเกาะของไซพริตกับน้ำเลี้ยงเซลล์เชื้อจาก.....	37
22	แสดงการลงเกาะของไซพริตแบบถาวรบนผิวจานทดสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 750 เท่า	40
23	ฟองน้ำท่อพุ่มสีม่วงแดง <i>Oceanapia sagittaria</i> จากเกาะคลุ้ม	54
24	แสดงแบคทีเรีย IMS 279-7 บ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงภายใต้กล้องอีพิฟลูออเรสเซนซ์ที่กำลังขยาย 5000 เท่า	55
25	ฟองน้ำเคลือบหินสีม่วงเข้ม จากเกาะพร้าวนอก	56
26	ฟองน้ำกระชาย สกุล <i>Biemna</i> sp. จากเกาะคลุ้ม.....	57
27	ฟองน้ำสีน้ำเงินสกุล <i>Haliclona</i> sp. จากเกาะเหลายา.....	57
28	ฟองน้ำหนังม่วงน้ำตาลสกุล <i>Chondrilla</i> sp. จากเกาะเหลายา.....	57