

บทที่ 5

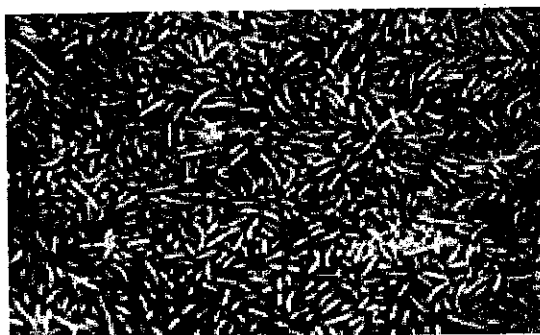
สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

1. แผ่นฟิล์มแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะไซพริต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .01$) คือ IMS 279-7 ปมแบคทีเรียระยะเวลา 24 ชั่วโมง ความหนาแน่นเซลล์ $21.00 (\pm 2.67) \times 10^4$ เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร โดยมีจำนวนการลงเกาะของไซพริต 1.00 ± 1.00 แบคทีเรียนี้คัดแยกจากฟองน้ำพุ่มสีม่วงแดง *Oceanapia sagittaria* ดังแสดงในภาพ 23 และจากการจัดจำแนกแบคทีเรียนี้จัดอยู่ในกลุ่ม *Aeromonas* ดังแสดงในภาพ 24



ภาพที่ 23 ฟองน้ำพุ่มสีม่วงแดง *Oceanapia sagittaria* จากเกาะคลุ้ม
(ชุตีวรรณ เดชสกุลวัฒนา, 2544)



ภาพที่ 24 แสดงแบคทีเรีย IMS 279 - 7 บ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงภายใต้กล้องอีพิฟลูออเรสเซนซ์ ที่กำลังขยาย 5000 เท่า

2. น้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียจำนวน 11 ตัวอย่าง IMS 329 - 1, IMS 329 - 4, IMS 279 - 4, IMS 278 - 3, IMS 307 - 1, IMS 278 - 4, IMS 278 - 2, IMS 314 - 3 และ IMS 279 - 5 สามารถยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะไซพริดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .01$) แบคทีเรียเหล่านี้จัดอยู่ในกลุ่ม *Aeromonas* จำนวน 2 สายพันธุ์, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* จำนวน 3 สายพันธุ์, *Caulobacter*, *Cytophaga*, *Flexibacter* และสรุปได้ดังนี้

2.1 น้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย IMS 329 - 4 เปรียบเทียบกับน้ำทะเลกรองที่อัตราส่วน 1:1 และ 1:9 ลดการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะลงเกาะ และน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย IMS 329 - 1 เปรียบเทียบกับน้ำทะเลกรองที่อัตราส่วน 1:1 มีผลลดการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะลงเกาะ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < .01$) แบคทีเรีย IMS 329 - 4 และ IMS 329 - 1 จัดอยู่ในกลุ่ม *Aeromonas* และ *Flavobacterium* ตามลำดับ คัดแยกแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้มาจากฟองน้ำเคลือบหินสีม่วงเข้ม ซึ่งยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ดังแสดงในภาพ 25

2.2 น้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย IMS 279 - 7 และ IMS 279 - 4 เปรียบเทียบกับน้ำทะเลกรองที่อัตราส่วน 1:1 ลดการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะลงเกาะ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < .01$) แบคทีเรีย IMS 279 - 7 และ IMS 279 - 4 จัดอยู่ในกลุ่ม *Aeromonas* และ *Pseudomonas* ตามลำดับ คัดแยกแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้มาจาก ฟองน้ำท่อพุ่มสีม่วงแดง *Oceanapia sagittaria* (ภาพ 23)

2.3 น้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย IMS 278 - 3 เปรียบเทียบกับน้ำทะเลกรองที่อัตราส่วน 1:1 ลดการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะลงเกาะ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < .01$) แบคทีเรีย IMS 278 - 3 จัดอยู่ในกลุ่ม *Caulobacter* คัดแยกแบคทีเรียชนิดนี้มาจากฟองน้ำกระชาย สกุล *Biemna* sp. ดังแสดงในภาพ 26

2.4 น้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย IMS 307-1 เจือจางกับน้ำทะเลกรองที่อัตราส่วน 1:1 ลดการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะลงเกาะ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < .01$) แบคทีเรีย IMS 307-1 จัดอยู่ในกลุ่ม *Cytophaga* คัดแยกแบคทีเรียชนิดนี้มาจาก ฟองน้ำสีน้ำเงิน สกุล *Haliciona* sp. ดังแสดงในภาพ 27

2.5 น้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย IMS 278 - 4 เจือจางกับน้ำทะเลกรองที่อัตราส่วน 1:1 ลดการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะลงเกาะ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < .01$) แบคทีเรีย IMS 278 - 4 จัดอยู่ในกลุ่ม *Pseudomonas* คัดแยกแบคทีเรียชนิดนี้มาจาก ฟองน้ำกระชาย สกุล *Biemna* sp. ดังแสดงในภาพ 26

2.6 น้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย IMS 278 - 2 เจือจางกับน้ำทะเลกรองที่อัตราส่วน 1:1 ลดการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะลงเกาะ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < .01$) แบคทีเรีย IMS 278 - 2 จัดอยู่ในกลุ่ม *Pseudomonas* คัดแยกแบคทีเรียชนิดนี้มาจาก ฟองน้ำกระชาย สกุล *Biemna* sp. ดังแสดงในภาพ 26

2.7 น้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย IMS 314 - 3 เจือจางกับน้ำทะเลกรองที่อัตราส่วน 1:1 ลดการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะลงเกาะ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < .01$) แบคทีเรีย IMS 314 - 3 จัดอยู่ในกลุ่ม *Alteromonas* คัดแยกแบคทีเรียชนิดนี้มาจาก ฟองน้ำหมวงน้ำตาลสกุล *Chondrilla* sp. ดังแสดงในภาพ 28

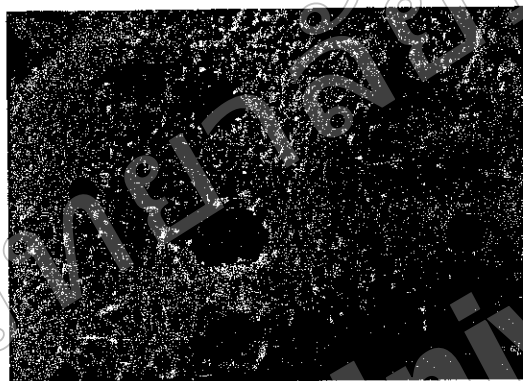
2.8 น้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย IMS 279 - 5 เจือจางกับน้ำทะเลกรองที่อัตราส่วน 1:1 และ 1:9 ลดการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินระยะลงเกาะเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < .01$) แบคทีเรีย IMS 279 - 5 จัดอยู่ในกลุ่ม *Flexibacter* คัดแยกแบคทีเรียชนิดนี้มาจาก ฟองน้ำท่อพุ่มสีม่วงแดง *Oceanapia sagittaria* (ภาพ 23)



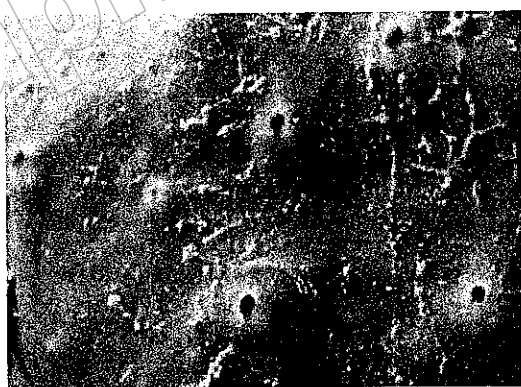
ภาพที่ 25 ฟองน้ำเคลือบหินสีม่วงเข้ม จากเกาะพร้าวนอก (ชุดีวรรณ เดชสกุลวัฒนา, 2544)



ภาพที่ 26 ฟองน้ำกระชาย สกุล *Biemna* sp. จากเกาะคลุ้ม (ชุดีวรรณ เดชสกุลวัฒนา, 2544)



ภาพที่ 27 ฟองน้ำสีน้ำเงิน สกุล *Haliclona* sp. จากเกาะเหลายา (ชุดีวรรณ เดชสกุลวัฒนา, 2544)



ภาพที่ 28 ฟองน้ำหนังม้วนน้ำตาล สกุล *Chondrilla* sp. จากเกาะเหลายา (ชุดีวรรณ เดชสกุลวัฒนา, 2544)

อภิปรายผล

1. ผลการนำปะการังอ่อนและฟองน้ำมาคัดแยกแบคทีเรียพบว่าได้จำนวนเซลล์แบคทีเรียในหน่วยโคโลนีต่อกรัม (CFU/g) อยู่ระหว่าง 0.29×10^3 – มากกว่า 60×10^5 CFU/g ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อของฟองน้ำหรือปะการังอ่อน มีแบคทีเรียอาศัยอยู่ เช่นเดียวกับการศึกษาของ เฟนดิส และคณะ (Friedrich *et al.*, 1999) ศึกษาเนื้อเยื่อของฟองน้ำ *Aplysina carvernicola* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบแบคทีเรียหลายชนิดในชั้นมีโซฟิลล์ (mesohyl) เช่น *Cytophaga* และ *Flavobacterium* และมีรายงานความหนาแน่นของ แบคทีเรียในเนื้อเยื่อฟองน้ำ 60 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักฟองน้ำ (Wilkinson, Newark, Austin, & Cowell, 1981) ซึ่งแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับฟองน้ำบางชนิดมีประโยชน์ในทางเภสัชวิทยา เช่นการศึกษาของ อ็อกลาริตและคณะ (Oclarit *et al.*, 1994) คัดแยกแบคทีเรียสีม่วงจากฟองน้ำ *Adocia* sp. พบว่าแบคทีเรียนี้สามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus subtilis* ได้ซึ่งจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า สามารถที่จะค้นหาแบคทีเรีย ที่มีคุณค่าทางเภสัชวิทยา ด้านการแพทย์ หรือด้านอื่น จากฟองน้ำและปะการังอ่อน ตามหมู่เกาะต่าง ๆ ของประเทศไทยได้

2. จากการศึกษาพบว่าชนิดของแบคทีเรีย มีผลต่อการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน ซึ่งจากการทดลองกับเชื้อแบคทีเรียจำนวน 30 ชนิด พบว่าเชื้อ IMS 279-7 ที่บ่มไว้เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่ความหนาแน่นของเซลล์แบคทีเรีย $2.1(\pm 2.67) \times 10^5$ เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร ยับยั้งการลงเกาะของไซฟริด ซึ่งความหนาแน่นของแบคทีเรียทดสอบทั้ง 30 ชนิด ที่บ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง คือ 2.5×10^4 – 4.6×10^5 เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร เช่นเดียวกับการศึกษาของโฮมสโตรมและคณะ (Holmstrom *et al.*, 1992) คัดแยกแบคทีเรียทะเลจำนวน 40 ชนิด พบ 5 ชนิดมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของตัวอ่อนเพรียงหิน ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีเพียงแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนทดสอบได้ จึงต้องมีการค้นหาแบคทีเรียจากแหล่งต่างๆ ที่มีความเฉพาะที่สามารถยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดจากแหล่งที่มาที่แตกต่างกัน จะมีคุณสมบัติแตกต่างกัน จึงมีโอกาที่จะได้แบคทีเรียเฉพาะชนิดในประเทศไทยที่สามารถยับยั้งการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน ซึ่งนำมาใช้ภายในประเทศได้ในอนาคต

3. ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า ระยะเวลาในการบ่มเชื้อแบคทีเรียเพื่อให้เกิดแผ่นฟิล์มมีผลต่อการลงเกาะของไซฟริด *Balanus amphitrite* ในการศึกษา พบว่าที่ความหนาแน่นเซลล์ $2.1(\pm 2.67) \times 10^5$ เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร ของแบคทีเรีย IMS 279-7 ซึ่งบ่มไว้เป็นระยะเวลา

24 ชั่วโมง แสดงผลยับยั้งการลงเกาะของไซพริต อย่างมีนัยสำคัญ ($p < .01$) จากการศึกษาของโฮมสโตรมและคณะ (Holmstrom, et al., 1992) พบว่าแบคทีเรียดี 2 ที่บ่มไว้เป็นระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงสามารถยับยั้งการลงเกาะของไซพริตอายุ 3 วัน ชนิด *Balanus amphitrite* ได้ที่ความหนาแน่นของเซลล์ 1.75×10^7 และ 2.54×10^7 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียผลิตสารซึ่งมีผลต่อการลงเกาะของไซพริต เช่นเดียวกับการศึกษาของโอรีเวียร์และคณะ (Olivier, et al, 2000) ที่กล่าวว่าแบคทีเรียที่ลงเกาะบนผิวจานทดสอบเป็นปัจจัยหลักในการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน (cyprid) และอายุของแผ่นฟิล์มแบคทีเรียที่มากขึ้น มีผลลดจำนวนการลงเกาะของไซพริต พบว่าแบคทีเรียทะเลที่ได้จากธรรมชาติ ที่ความหนาแน่น 1.1×10^5 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ลดการลงเกาะของไซพริตได้

4. ในการทดสอบการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินบนผิวจานทดสอบควบคุม (ไม่มีเซลล์หรือน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย) พบว่าเปอร์เซ็นต์การลงเกาะของไซพริตอยู่ระหว่าง 50 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าส่วนหนึ่งความผันแปรของผลการทดสอบการลงเกาะของไซพริตเกิดจากพฤติกรรมของไซพริต และความเป็นไปได้ในการเกิดการตายของไซพริต ในระหว่างการทดลอง เช่นเดียวกับการศึกษาของคอนเนอร์ และริชาร์ดสัน (O' Connor & Richardson, 1996)

5. ในการทดสอบการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน *Balanus amphitrite* บนผิวจานทดสอบ ที่มีน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียต่อน้ำทะเลกรอง อัตราส่วน 1:1 แสดงให้เห็นว่าน้ำเลี้ยงเซลล์มีผลลดการลงเกาะของไซพริตอย่างมีนัยสำคัญ ($p < .01$) แสดงว่าแบคทีเรียสร้างสารที่มีผลต่อการลงเกาะของไซพริต เช่นเดียวกับการศึกษาของโฮมสโตรมและคณะ (Holmstrom, et al, 1992) พบว่าน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียที่บ่มไว้เป็นระยะเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ซึ่งมีความหนาแน่นของเซลล์ 1.75×10^7 และ 2.5×10^7 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร ที่นำมาเจือจางกับน้ำทะเลในอัตราส่วน 1:1 และน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ได้เจือจางเป็นพิษต่อตัวอ่อนทดสอบที่อยู่ในระยะนอเพลียส และระยะไซพริต 100 เปอร์เซ็นต์

6. พบว่าน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียบ่มไว้ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่มีผลลดการลงเกาะของไซพริตคือ *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Caulobacter*, *Cytophaga*, *Alteromonas*, และ *Flexibacter* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้อาจผลิตสารออกมาภายนอกเซลล์และมีความเป็นพิษต่อตัวอ่อนเพรียงหิน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละชนิดที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันแบ่งออกเป็นช่วงการเจริญจึงควรมีการศึกษาอัตราการเจริญของแบคทีเรีย เพื่อทราบระยะการเจริญของแบคทีเรียทดสอบคือระยะเพิ่มจำนวนเซลล์ (log phase) ระยะสมดุล (stationary phase) เพื่อให้ทราบแน่ชัดว่าแบคทีเรียทดสอบสร้างสารที่มีผลต่อการลงเกาะของไซพริด ไม่ได้มาจากสภาวะแวดล้อมที่เนื่องมาจากปัจจัยอื่น เช่น เซลล์เข้าสู่ระยะการตาย อาจมีผลทำให้สภาพแวดล้อมในระบบเปลี่ยนแปลงไป
2. จากการศึกษาพบว่าปัจจัยอื่น ที่มีความสำคัญในการพิจารณาศึกษาการลงเกาะของตัวอ่อน คือพฤติกรรมกรรมการลงเกาะของตัวอ่อน และเลือกลงเกาะ จึงควรมีวิธีการที่จะเคลือบฟิล์มแบคทีเรียบนผิวจานทดสอบให้กระจายทั่วพื้นผิวจานทดสอบ เพื่อแสดงให้เห็นว่าเซลล์แบคทีเรียมีผลต่อการทดสอบการลงเกาะของไซพริด
3. ควรศึกษาเปรียบเทียบการลงเกาะของไซพริดกับฟิล์มแบคทีเรียทั้งในห้องปฏิบัติการและธรรมชาติ
4. จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียทดสอบส่วนใหญ่กระตุ้นการลงเกาะของไซพริด ซึ่งผลที่ได้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาด้าน อาหารสัตว์น้ำวัยอ่อนของสิ่งมีชีวิตประเภทลงเกาะติดชนิดอื่น หรือศึกษาในเรื่องสารชักนำให้เกิดการลงเกาะของตัวอ่อนหอยชนิดต่าง ๆ ได้
5. ควรมีการศึกษาต่อเนื่องเกี่ยวกับโครงสร้างของสารที่แบคทีเรียผลิตว่าเป็นสารประกอบประเภทใด