ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ตารางที่ 9 แสดงรายงายการบันทึกการจำแนกแบคทีเรียโดยวิธีทางชีวเคมี (Austin, 1983)

GENOUS	Gram	Motility	Oxidase	Gluconate Oxidation	Indole production	Methyl red test	Voger – Proskauer reaction	Growth at 4 °C	Growth at 37 °C	Growth on 4 % (w/vNacL)	Growth on 6 % (w/vNacL)	Gelatin hydrolysis	Lecitin degration	DNA degradation	Moitose utilization
Coryneforms	D	-	-	D	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-
Coryneforms	+	+	-	-	-	-	-	D	-	+	+	D	-	D	+
Micrococcus roscus	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
Micrococcus varians	+	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	-	D	-	-
Acinetobacter calcoaceticus	-	D	-	-	-	-	-	-	-	+	D	-	-	-	-
Acinetobacter sp.	-	+	+	D	-	-	-	D	+	+	+	-	-	-	D
Alcaligens denitrificans	-	+	+	D	-	-	-	D	+	+	+	-	-	-	D
Alcaligenes sp.	-	+	+	-	-	-	-	-	D	+	-	-	-	D	+
Alcaligenes denitrificans	-	+	+	D	-	-	-	D	+	+	+	-	-	-	D
Alcaligenes faccalis	-	+	+	-	-	-	-	D	-	-	-	D	-	-	+
Alcaligenes sp.	-	+	+	-	-	-	-	-	D	+	-	-	-	D	+
Moraxella sp.	-	D	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	+
Alcaligenes piechaudii	-	+	D	-	-	-	-	D	-	+	+	-	-	-	-
Bacillus firmus	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
Staphylococcus sp.	+	-	-	-	-	D	D	-	+	+	+	-	D	-	-
Staphylococcus epidermids	+	-	D	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	D	+
Bacillus cereus	+	D	D	-	-	-	-	+	+	+	+	-	D	+	+
Bacillus megaterium	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Enterobacter aerogenes	-	+	-	+	D	D	+	D	+	+	+	-	-	-	+
Flavobacterium sp.	-	+	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 9 (ต่อ)

GENOUS	Gram	Motility	Oxidase	Gluconate Oxidation	Indole production	Methyl red test	Voger – Proskauer reaction	Growth at 4 °C	Growth at 37 °C	Growth on 4 % (w/vNacL)	Growth on 6 % (w/vNacL)	Gelatin hydrolysis	Lecitin degration	DNA degradation	Moltose utilization
Flexibacter - Cytophaga	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
Aeromonas salmonicida	-	-	+	-	-	D	+	D	-	-	-	+	+	+	-
Aeromonas sp.	-	+	+	D	D	-	D	+	+	+	-	+	D	D	-
Aeromonas sp.	-	+	+	-	-	-	-	D	+	+	-	+	D	+	-
Aeromonas sp.	-	+	D	-	-	-	-	-	-	-	-	+	D	D	+
Cytophaga hutchinsonii	-	D	+	-	-	-	-	+	+	D	-	+	D	+	-
Cytophaga salmonicolor	-	-	D	-	-	-	-	+	+	D	-	+	D	+	+
Cytophaga fermentans	-	-	+	-	-	-	-	+	-	D	-	+	-	+	+
Flexibacter succinicans	-	D	+	-	-	-	-	+	D	+	-	+	-	-	+
Flexibacter aggregans	-	+	D	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	D	+
Vibrio sp.	-	+	+	ND	D	+	ND	ND	-	-	ND	ND	ND	+	-
Cytophaga-Flexibacter	-	+	+	ND	-	-	ND	ND	+	-	ND	ND	ND	+	+
Caulobacter sp'	-	+	+	ND	D	+	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	+	+
Vibrio nercis	-	D	+	ND	-	-	ND	ND	-	+	ND	ND	ND	+	+
V. fischeri	-	+	+	ND	-	-	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	+	+
V. costicola	-	+	+	ND	-	-	ND	ND	D	+	ND	ND	ND	+	+
Photobacterium phosphorium	-	D	D	ND	-	-	ND	ND	+	-	ND	ND	ND	+	-
V. camphellii	-	D	-	ND	-	-	ND	ND	-	-	ND	ND	ND	+	-
V. harveyi	-	+	-	ND	-	-	ND	ND	-	-	ND	ND	ND	+	-
Photobacterium logei	-	-	+	ND	-	-	ND	ND	-	+	ND	ND	ND	+	+

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 9 (ต่อ)

GENOUS	Gram	Motility	Oxidase	Gluconate Oxidation	Indole production	Methyl red test	Voger – Proskauer reaction	Growth at 4 °C	Growth at 37 °C	Growth on 4 % (w/vNacL)	Growth on 6 % (w/vNacL)	Gelatin hydrolysis	Lecitin degration	RNA degradation	Moltose utilization
Alteromonas haloplanktis	-	-	+	ND	+	-	ND	ND	-	+	ND	ND	ND	+	+
Alcaligenes faccalis	-	+	+	ND	-	-	ND	ND	+	+	ND	ND	ND	-	-
Pseudomonas multivorans	-	+	+	ND	-	+	ND	ND	-	+	ND	ND	ND	+	+
Pseudomonas sp.	-	+	D	ND	-	-	ND	ND	D	-	ND	ND	ND	+	-
Flavobacterium sp.	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	D	-
Pseudomonas fluorescens	-	+	+	D	-	-	-	+	-	+	D	+	D	-	D
Aeromonas hydrophila	-	D	+	D	+	D	D	+	+	D	-	+	+	+	+
Vibrio fluvialis	-	+	+	-	-	D	+	-	-	-	-	+	D	D	+

หมายเหตุ: - หมายถึง น้อยกว่า 20 % ให้ผลบวก

\+ หมายถึง มากกว่า 80 % ให้ผลบวก

D หมายถึง 21 – 79 % ให้ผลบวก

ND หมายถึง ไม่มีข้อมูล

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ตารางที่ 10 แสดงจำนวนไซพริดที่ลงเกาะบนภาชนะทดสอบที่ระยะเวลาบ่มเชื้อแบคทีเรีย ทดสอบ 2 และ 24 ชั่วโมง

เชื้อทดสอบ	จำนวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินบนแผ่นฟิล์มแบคทีเรีย									
	ระยะเวลาบ่มเชื้อ 2 ชั่วโมง				เปอร์เซ็นต์	ระยะเวลาบ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง				เปอร์เซ็นต์
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	การลงเกาะ(%)	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	การลงเกาะ(%)
IMS 278-11	7	3	6	5.33	53.33	9	9	10	9.33	93.33
IMS 307-6	7	5	2	4.67	46.67	10	7	8	8.33	83.33
CONTROL	4.5	6.5	5	5.33	53.33	10	10	9.5	9.83	98.33
IMS 306-2	10	7	6	7.67	76.67	8	5	7	6.67	66.67
IMS 306-5	7	10	8	8.33	83.33	9	3	6	6.00	60.00
CONTROL	7	5	5	5.67	56.67	6	5.5	4.5	5.33	53.33
IMS 329-1	10	10	10	10.00	100.00	2	4	4	3.33	33.33
IMS 329-4	5	8	8	7.00	70.00	3	3	4	3.33	33.33
CONTROL	4.5	5.5	5	5.00	50.00	5	6	5.5	5.50	55.00
IMS 279-7	8	7	8	7.67	76.67	0	2	1	1.00	10.00
IMS 279-4	8	10	10	9.33	93.33	10	8	7	8.33	83.33
CONTROL	8.5	9.5	10	9.33	93.33	7.5	5.5	6	6.33	63.33
IMS 278-1	0	1	0	0.33	3.33	1	2	7	3.33	33.33
IMS 284-1	3	3	0	2.00	20.00	6	8	3	5.67	56.67
CONTROL	3	2.5	5	3.50	35.00	2	3.5	6	3.83	38.33
IMS 278-3	10	9	5	8.00	80.00	8	7	10	8.33	83.33
IMS 278-8	6	6	9	7.00	70.00	9	6	8	7.67	76.67
CONTROL	5.5	6.5	6	6.00	60.00	9.5	9	8.5	9.00	90.00
IMS 278-7	4	4	6	4.67	46.67	5	6	7	6.00	60.00
IMS 307-1	6	6	10	7.33	73.33	8	10	8	8.67	86.67
CONTROL	8	9	10	9.00	90.00	6.5	6	3	5.17	51.67
IMS 278-4	7	9	5	7.00	70.00	8	7	8	7.67	76.67
IMS 278-10	9	9	10	9.33	93.33	7	8	6	7.00	70.00
CONTROL	8	8	7	7.67	76.67	5	7	4	5.33	53.33

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 10 (ต่อ)

เชื้อทดสอบ	จำนวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินบนแผ่นฟิล์มแบคทีเรีย									
	ระยะเวลาบ่มเชื้อ 2 ชั่วโมง				เปอร์เซ็นต์	ระยะเวลาบ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง				เปอร์เซ็นต์
IMS 307-7	10	10	10	10.00	100.00	4	7	10	7.00	70.00
IMS 307-9	10	10	10	10.00	100.00	6	6	6	6.00	60.00
CONTROL	9	9	7.5	8.50	85.00	5	8	5	6.00	60.00
IMS 284-5	9	9	7	8.33	83.33	1	10	8	6.33	63.33
IMS 278-2	8	7	10	8.33	83.33	2	10	7	6.33	63.33
CONTROL	9.5	9	5.5	8.00	80.00	5	7	5	5.67	56.67
IMS 279-11	10	10	10	10.00	100.00	2	4	5	3.67	36.67
IMS 279--10	10	10	10	10.00	100.00	8	8	7	7.67	76.67
CONTROL	10	7.5	7.5	8.33	83.33	5	7.5	5	5.83	58.33
IMS 296-3	10	10	10	10.00	100.00	4	1	4	3.00	30.00
IMS 296-5	5	8	10	7.67	76.67	10	7	8	8.33	83.33
CONTROL	9	8.5	10	9.17	91.67	8	5	2	5.00	50.00
IMS 314-3	7	7	6	6.67	66.67	2	0	4	2.00	20.00
IMS 317-2	4	8	5	5.67	56.67	4	7	5	5.33	53.33
CONTROL	7	7	5	6.33	63.33	8	9	5	7.33	73.33
IMS 289-6	5	9	7	7.00	70.00	8	8	10	8.67	86.67
IMS 279-5	10	9	4	7.67	76.67	9	6	8	7.67	76.67
CONTROL	6.5	5.5	7	6.33	63.33	8	7.5	3.5	6.33	63.33
IMS 315-2	9	10	8	9.00	90.00	10	10	10	10.00	100.00
IMS 315-3	9	10	9	9.33	93.33	10	10	7	9.00	90.00
CONTROL	10	5	5.5	6.83	68.33	4.5	4.5	3	4.00	40.00

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 11 แสดงจำนวนไซพริดที่ลงเกาะบนภาชนะทดสอบที่มีน้ำเลี้ยงเซลล์เจือจาง

เชื้อทดสอบ	จำนวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินในน้ำเลี้ยงเซลล์เจือจาง									
	น้ำเลี้ยงเซลล์ต่อน้ำทะเลกรอง 1:1				เปอร์เซ็นต์	น้ำเลี้ยงเซลล์ต่อน้ำทะเลกรอง 1:9				เปอร์เซ็นต์
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	การลงเกาะ(%)	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	การลงเกาะ(%)
IMS278-11	2	5	1	2.67	26.67	4	1	7	4.00	40.00
IMS307-6	3	4	1	2.67	26.67	5	6	6	5.67	56.67
CONTROL	4	4	5	4.33	43.33	6	7	7	6.67	66.67
IMS306-2	3	1	5	3.00	30.00	6	6	5	5.67	56.67
IMS306-5	0	0	0	0.00	0.00	3	3	2	2.67	26.67
CONTROL	7	4	1	4.00	40.00	2	8	5	5.00	50.00
IMS329-1	0	1	0	0.33	3.33	3	7	6	5.33	53.33
IMS329-4	0	0	0	0.00	0.00	0	1	1	0.67	6.67
CONTROL	6	6	7	6.33	63.33	7	6	8	7.00	70.00
IMS279-7	1	1	0	0.67	6.67	7	7	6	6.67	66.67
IMS279-4	0	1	1	0.67	6.67	3	8	6	5.67	56.67
CONTROL	6	3	7	5.33	53.33	5	6	7	6.00	60.00
IMS278-1	2	1	3	2.00	20.00	0	2	2	1.33	13.33
IMS284-1	5	1	1	2.33	23.33	2	8	7	5.67	56.67
CONTROL	5	5	7	5.67	56.67	3	2	5	3.33	33.33
IMS278-3	3	1	5	3.00	30.00	7	10	10	9.00	90.00
IMS278-8	6	10	7	7.67	76.67	8	10	10	9.33	93.33
CONTROL	10	3	3	5.33	53.33	9	8	8	8.33	83.33
IMS278-7	7	4	8	6.33	63.33	10	10	8	9.33	93.33
IMS307-1	2	7	2	3.67	36.67	10	8	10	9.33	93.33
CONTROL	10	9	10	9.67	96.67	9	10	8	9.00	90.00
IMS278-4	4	1	3	2.67	26.67	5	7	7	6.33	63.33
IMS278-10	6	10	8	8.00	80.00	6	8	9	7.67	76.67
CONTROL	8	5	7	6.67	66.67	10	7	9	8.67	86.67

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 11 (ต่อ)

เชื้อทดสอบ	จำนวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหินในน้ำเลี้ยงเซลล์เจือจาง									
	น้ำเลี้ยงเซลล์ต่อน้ำทะเลกรอง 1:1				เปอร์เซ็นต์	น้ำเลี้ยงเซลล์ต่อน้ำทะเลกรอง 1:9				เปอร์เซ็นต์
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	การลงเกาะ(%)	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	การลงเกาะ(%)
IMS284-5	4	9	6	6.33	63.33	7	9	10	8.67	86.67
IMS278-2	0	3	3	2.00	20.00	9	7	9	8.33	83.33
CONTROL	9	8	10	9.00	90.00	7	7	10	8.00	80.00
IMS279-11	8	8	8	8.00	80.00	9	9	7	8.33	83.33
IMS279--10	5	7	5	5.67	56.67	10	9	10	9.67	96.67
CONTROL	9	8	5	7.33	73.33	8	7	6	7.00	70.00
IMS396-3	7	7	10	8.00	80.00	9	10	9	9.33	93.33
IMS396-5	5	7	8	6.67	66.67	7	10	8	8.33	83.33
CONTROL	8	5	6	6.33	63.33	10	7	9	8.67	86.67
IMS314-3	0	0	1	0.33	3.33	8	7	6	7.00	70.00
IMS317-2	5	2	5	4.00	40.00	8	4	7	6.33	63.33
CONTROL	7	4	10	7.00	70.00	6	8	7	7.00	70.00
IMS289-6	5	2	2	3.00	30.00	9	10	10	9.67	96.67
IMS279-5	2	1	1	1.33	13.33	0	1	7	2.67	26.67
CONTROL	9	7	4	6.67	66.67	7	7	7	7.00	70.00
IMS315-2	1	2	3	2.00	20.00	10	9	9	9.33	93.33
IMS315-3	6	2	6	4.67	46.67	9	10	8	9.00	90.00
CONTROL	5	5	6	5.33	53.33	8	7	10	8.33	83.33
IMS307-7	7	5	4	5.33	53.33	10	5	5	6.67	66.67
IMS307-9	6	9	7	7.33	73.33	10	9	10	9.67	96.67
CONTROL	8	4	6	6.00	60.00	7	9	5	7.00	70.00

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 12 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน *Balanus amphitrite* ต่อฟิล์มแบคทีเรียที่บ่มระยะเวลา 2 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทางสถิติ โดยใช้ one way ANOVA

	SS	*df*	*MS*	*F*	*p*
แบคทีเรีย IMS 278 –11, IMS 307-6					
ระหว่างกลุ่ม	1.000	2	.500	0 .138	.87
ภายในกลุ่ม	32.667	9	3.630		
รวม	33.667	11			
แบคทีเรีย IMS 306 -2 , IMS 306 -5					
ระหว่างกลุ่ม	11.556	2	5.778	2.167	.37
ภายในกลุ่ม	16.000	6	2.667		
รวม	27.556	8			
แบคทีเรีย IMS 329 -1 , IMS 329 -4					
ระหว่างกลุ่ม	13.556	2	6.778	5.545	.05
ภายในกลุ่ม	7.333	6	1.222		
รวม	20.889	8			
แบคทีเรีย IMS 279 -7 , IMS 279 -4					
ระหว่างกลุ่ม	5.556	2	2.778	3.704	.09
ภายในกลุ่ม	4.500	6	.750		
รวม	10.056	8			
แบคทีเรีย IMS 278 -1 , IMS 284 -1					
ระหว่างกลุ่ม	15.056	2	7.528	4.443	.06
ภายในกลุ่ม	10.167	6	1.694		
รวม	25.222	8			

$^{**}p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 12 (ต่อ)

	SS	*df*	*MS*	*F*	*p*
แบคทีเรียIMS 278 -3 , IMS 278 - 8					
ระหว่างกลุ่ม	6.000	2	3.000	0.878	.46
ภายในกลุ่ม	20.500	6	3.417		
รวม	26.500	8			
แบคทีเรีย IMS 278 -7 , IMS 307 -1					
ระหว่างกลุ่ม	28.667	2	14.333	5.609	.04
ภายในกลุ่ม	15.333	6	2.556		
รวม	44.000	8			
แบคทีเรีย IMS 278 -4 , IMS 278 -10					
ระหว่างกลุ่ม	8.667	2	4.333	2.786	.14
ภายในกลุ่ม	9.333	6	1.556		
รวม	18.000	8			
แบคทีเรีย IMS 307 - 7, IMS 307 -9					
ระหว่างกลุ่ม	1.556	2	.778	1.167	.02
ภายในกลุ่ม	4.000	6	.667		
รวม	5.556	8			
แบคทีเรีย IMS 284 -5 ,IMS 278 -2					
ระหว่างกลุ่ม	.222	2	.111	0.040	.96
ภายในกลุ่ม	16.833	6	2.806		
รวม	17.056	8			
แบคทีเรีย IMS 279 -11, IMS 279 -10					
ระหว่างกลุ่ม	2.000	2	1.000	1.500	.79
ภายในกลุ่ม	4.000	6	.667		
รวม	6.000	8			

$^{**}p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 12 (ต่อ)

	SS	*df*	*MS*	*F*	*p*
แบคทีเรีย IMS 296 -3 , IMS 296 -5					
ระหว่างกลุ่ม	8.389	2	4.194	1.819	.24
ภายในกลุ่ม	13.833	6	2.306		
รวม	22.222	8			
แบคทีเรีย IMS 314 -3 ,IMS 317 -2					
ระหว่างกลุ่ม	1.556	2	.778	0.389	.04
ภายในกลุ่ม	12.000	6	2.000		
รวม	13.556	8			
แบคทีเรีย IMS 289 -6, IMS 279 -5					
ระหว่างกลุ่ม	2.667	2	1.333	0.268	.77
ภายในกลุ่ม	29.833	6	4.972		
รวม	32.500	8			
แบคทีเรีย IMS 315 -2 , IMS 315 -3					
ระหว่างกลุ่ม	11.05	2	5.52	1.86	.24
ภายในกลุ่ม	17.83	6	2.97		
รวม	28.88	8			

$^{**}p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 13 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน *Balanus amphitrite* ที่ระยะเวลาบ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทางสถิติโดยใช้ one way ANOVA

	SS	*df*	*MS*	*F*	*p*
แบคทีเรีย IMS 278 -11,IMS 207 -6					
ระหว่างกลุ่ม	3.50	2	1.75	1.90	.23
ภายในกลุ่ม	5.50	6	0.91		
รวม	9.00	8			
แบคทีเรีย IMS 306 -2, IMS 306 -5					
ระหว่างกลุ่ม	2.66	2	1.33	0.33	.73
ภายในกลุ่ม	23.83	6	3.97		
รวม	26.50	8			
แบคทีเรีย IMS 329 -1 , IMS 329 -4					
ระหว่างกลุ่ม	9.38	2	4.69	7.34	.03
ภายในกลุ่ม	3.83	6	0.63		
รวม	13.22	8			
แบคทีเรีย IMS 278 -1, IMS 284 -1					
ระหว่างกลุ่ม	9.05	2	4.52	0.65	.55
ภายในกลุ่ม	41.5	6	6.91		
รวม	50.5	8			
แบคทีเรีย IMS 278 -3 , IMS 278 -8					
ระหว่างกลุ่ม	2.66	2	1.33	0.81	.48
ภายในกลุ่ม	9.83	6	1.63		
รวม	12.5	8			

$^{**}p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 13 (ต่อ)

	SS	*df*	*MS*	*F*	*p*
แบคทีเรีย IMS 278 -7 ,IMS 307 -1					
ระหว่างกลุ่ม	20.05	2	10.02	5.08	.05
ภายในกลุ่ม	11.83	6	1.97		
รวม	31.88	8			
แบคทีเรีย IMS 278 -4 , IMS 278 -10					
ระหว่างกลุ่ม	8.66	2	4.33	3.54	.09
ภายในกลุ่ม	7.33	6	1.22		
รวม	16.00	8			
แบคทีเรีย IMS 307 -7, IMS 307 -9					
ระหว่างกลุ่ม	2.00	2	1.00	0.25	.78
ภายในกลุ่ม	24.00	6	4.00		
รวม	26.00	8			
แบคทีเรีย IMS 284 -5 ,IMS 278 -2					
ระหว่างกลุ่ม	0.88	2	0.44	0.03	.97
ภายในกลุ่ม	80.00	6	13.33		
รวม	80.88	8			
แบคทีเรีย IMS 279 -11, IMS 279 -10					
ระหว่างกลุ่ม	24.05	2	12.02	7.59	.02
ภายในกลุ่ม	9.50	6	1.58		
รวม	33.55	8			
แบคทีเรีย IMS 296 -3, IMS 296 -5					
ระหว่างกลุ่ม	43.55	2	21.77	4.55	.06
ภายในกลุ่ม	28.66	6	4.77		
รวม	72.22	8			

$^{**}p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 13 (ต่อ)

	SS	*df*	*MS*	*F*	*p*
แบคทีเรีย IMS 314 -3,IMS 317 -2					
ระหว่างกลุ่ม	43.55	2	21.77	6.12	.03
ภายในกลุ่ม	21.33	6	3.55		
รวม	64.88	8			
แบคทีเรีย IMS 289 -6,IMS 279 -5					
ระหว่างกลุ่ม	8.22	2	4.11	1.26	.34
ภายในกลุ่ม	19.50	6	3.25		
รวม	27.72	8			
แบคทีเรีย IMS 279 -7 , IMS 279 -4					
ระหว่างกลุ่ม	86.22	2	43.11	29.28**	.001
ภายในกลุ่ม	8.83	6	1.47		
รวม	95.06	8			
แบคทีเรีย IMS 315 -2 , IMS 315 -3					
ระหว่างกลุ่ม	62.00	2	31.00	24.80**	.001
ภายในกลุ่ม	7.50	6	1.25		
รวม	69.50	8			

**$p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 ผลวิเคราะห์ความแปรปรวนการลงเกาะของตัวอ่อนเพรียงหิน *Balanus amphitrite* ต่อน้ำเลี้ยงแบคทีเรียที่อัตราส่วน 1:1 และ 1:9 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมทางสถิติ โดยใช้ two way ANOVA

แหล่งความแปรปรวน	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*p*
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 329 -1 , IMS 329 -4					
ความเข้มข้น	20.05	1	20.05	19.00	.001**
ชนิดเชื้อทดสอบ	122.11	2	61.05	57.84	.000**
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	18.77	2	9.38	8.89	.004**
ค่าความคลาดเคลื่อน	12.66	12	1.05		
รวม	367.00	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 279 -7 , IMS 279 -4					
ความเข้มข้น	68.05	1	68.05	32.23	.000**
ชนิดเชื้อทดสอบ	21.00	2	10.5	4.97	.027
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	24.11	2	12.05	5.71	.018
ค่าความคลาดเคลื่อน	25.33	12	2.11		
รวม	451.00	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 301 -3 ,IMS 278 -8					
ความเข้มข้น	56.88	1	56.88	11.63	.005**
ชนิดเชื้อทดสอบ	19.44	2	9.72	1.98	.180
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	14.77	2	7.38	1.51	.260
ค่าความคลาดเคลื่อน	58.66	12	4.88		
รวม	1060.00	18			

**$p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 (ต่อ)

แหล่งความแปรปรวน	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*p*
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 278 -7 , IMS 307 -1					
ความเข้มข้น	32.00	1	32.00	11.52	.005**
ชนิดเชื้อทดสอบ	24.11	2	12.05	4.34	.038
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	30.33	2	15.16	5.46	.021
ค่าความคลาดเคลื่อน	33.33	12	2.77		
รวม	1240.00	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 278 -4 , IMS 278 -10					
ความเข้มข้น	14.22	1	14.22	5.81	.033
ชนิดเชื้อทดสอบ	42.33	2	21.16	8.65	.005**
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	12.11	2	6.05	2.47	.126
ค่าความคลาดเคลื่อน	29.33	12	2.44		
รวม	898.00	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 284 -5 , IMS 278 -2					
ความเข้มข้น	29.38	1	29.38	10.37	.007**
ชนิดเชื้อทดสอบ	35.11	2	17.55	6.19	.014
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	40.44	2	20.22	7.13	.009**
ค่าความคลาดเคลื่อน	34.00	12	2.83		
รวม	1035.00	18			

**$p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 (ต่อ)

แหล่งความแปรปรวน	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*p*
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 314 -3 , IMS 317 -2					
ความเข้มข้น	40.50	1	40.50	13.01	.004**
ชนิดเชื้อทดสอบ	33.44	2	16.72	5.37	.022
ความเข้มข้น *	34.33	2	17.16	5.51	.020
ชนิดเชื้อทดสอบ					
ค่าความคลาดเคลื่อน	37.33	12	3.11		
รวม	647.00	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 289 -6 , IMS 279 -5					
ความเข้มข้น	34.72	1	34.72	8.56	.013
ชนิดเชื้อทดสอบ	84.77	2	42.38	10.45	.002**
ความเข้มข้น *	34.77	2	17.38	4.28	.039
ชนิดเชื้อทดสอบ					
ค่าความคลาดเคลื่อน	48.66	12	4.05		
รวม	663.00	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 315 -2 , IMS 315 -3					
ความเข้มข้น	107.55	1	107.55	62.45	.000**
ชนิดเชื้อทดสอบ	5.44	2	2.72	1.58	.246
ความเข้มข้น *	14.77	2	7.38	4.29	.039
ชนิดเชื้อทดสอบ					
ค่าความคลาดเคลื่อน	20.66	12	1.72		
รวม	896.00	18			

**$p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 (ต่อ)

แหล่งความแปรปรวน	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*p*
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 307 -7 , IMS 307 -9					
ความเข้มข้น	10.88	1	10.88	3.06	.106
ชนิดเชื้อทดสอบ	21.00	2	10.50	2.95	.091
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	1.44	2	0.72	0.20	.819
ค่าความคลาดเคลื่อน	42.66	12	3.55		
รวม	958.00	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 279 -11 , IMS 279 -10					
ความเข้มข้น	8.00	1	8.00	5.76	.034
ชนิดเชื้อทดสอบ	3.00	2	1.50	1.08	.370
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	16.33	2	8.16	5.88	.017
ค่าความคลาดเคลื่อน	16.66	12	1.38		
รวม	1102.00	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 296 -3 , IMS 296 -5					
ความเข้มข้น	14.22	1	14.22	6.73	.023
ชนิดเชื้อทดสอบ	5.44	2	2.72	1.28	.311
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	0.77	2	0.38	0.18	.834
ค่าความคลาดเคลื่อน	25.33	12	2.11		
รวม	1166.00	18			

**p <.01

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 (ต่อ)

แหล่งความแปรปรวน	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*p*
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 278 -11, IMS 307 -6					
ความเข้มข้น	1.33	1	1.33	5.73	.034
ชนิดเชื้อทดสอบ	1.13	2	0.56	2.44	.129
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	0.16	2		0.36	.703
ค่าความคลาดเคลื่อน	2.79	12	0.23		
รวม	5.43	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 306 -2, IMS 306 -5					
ความเข้มข้น	18.00	1	18.00	4.69	.051
ชนิดเชื้อทดสอบ	34.11	2	17.05	4.44	.036
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	2.33	2	1.16	0.30	.743
ค่าความคลาดเคลื่อน	46.00	12	3.83		
รวม	314.00	18			
น้ำเลี้ยงแบคทีเรีย IMS 278 -1 ,IMS 284 -1					
ความเข้มข้น	0.005	1	0.005	.015	.903
ชนิดเชื้อทดสอบ	27.44	2	13.72	3.80	.053
ความเข้มข้น * ชนิดเชื้อทดสอบ	25.44	2	12.72	3.52	.063
ค่าความคลาดเคลื่อน	43.33	12	3.61		
รวม	303.00	18			

$^{**}p < .01$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ค

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

การเตรียมอาหารในการทดลอง

1. การเตรียมอาหารเหลวใช้เลี้ยงไดอะตอมสูตรกิลลาร์ด " f/2 "

1.1 ธาตุอาหารหลัก (major nutrients)

1.1.1	$NaNO_3$	75	มิลลิกรัม
1.1.2	NaH_2	5	มิลลิกรัม
1.1.3	$Na_2Sio_3.9H_2O$	15	มิลลิกรัม

1.2 ธาตุอาหารรอง

1.2.1	Na_2EDTA	4.36	มิลลิกรัม
1.2.2	$FeCl_3.6H_2O$	3.15	มิลลิกรัม
1.2.3	$CuSO_4.5H_2O$	0.01	มิลลิกรัม
1.2.4	$ZnSO_4.7H_2O$	0.022	มิลลิกรัม
1.2.5	$CoCl_2.6H_2O$	0.01	มิลลิกรัม
1.2.6	$MnCl_2.4H_2O$	0.18	มิลลิกรัม
1.2.7	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.006	มิลลิกรัม

1.3 Vitamin

1.3.1	Thiamin.HCl	0.1	มิลลิกรัม
1.3.2	Biotin	0.5	มิลลิกรัม
1.3.3	B_{12}	0.5	มิลลิกรัม

ในปริมาณน้ำทะเล 1 ลิตร

ที่มา Guillard (1973)

2. ORI Medium (Ocean Research Institute) มีองค์ประกอบดังนี้

2.1 Proteose peptone No.3 (DIFCO)	1	กรัม
2.2 Yeast extract (MERCK)	1	กรัม
2.3 Phytone (BBL)	0.5	กรัม
2.4 Sodium thiosulfate	0.2	กรัม
2.5 Sodium sulfite	0.05	กรัม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.6 Feric citrate	0.2	มิลลิลิตร
2.7 น้ำทะเล	900	มิลลิลิตร
2.8 น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
2.9 ปริมาตร	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรับ pH ที่ 7.5 – 7.6 ด้วย 1 นอร์มอลโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และ 1 นอร์มอลกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ในกรณีที่จะเทอาหารลงในจานเพาะเชื้อให้เติมวุ้นลงไป (bacto agar) 15 g/L ในกรณีเตรียมอาหารเพื่อทำ stock เติมวุ้นที่ 0.3 % ลงในส่วนผสม (DIFCO) ให้ความร้อนจนวุ้นละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดัน15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. **การเตรียมยาปฏิชีวนะ**

3.1 Sodium Penicillin G	1.5	กรัม
3.2 Streptomycin Sulphate	2.5	กรัม
3.3 น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ใช้ในปริมาณ 1 ไมโครลิตรต่อ 1 มิลลิลิตร (µ/ml)

4. **การเตรียม** O-F Basal Medium **มีส่วนประกอบดังนี้**

4.1 Bacto tryptone	2	กรัม
4.2 Sodium chloride	1.5	กรัม
4.3 Dipotassium phosphate	0.3	กรัม
4.4 Bacto Brom Thymol Blue	0.08	กรัม
4.5 น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมต่าง ๆ ให้เป็นเนื้อเดียวกัน (pH 6.8) อาหารนี้ใช้ในการทดสอบความสามารถของเชื้อในการใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้ ในการทดสอบใช้น้ำตาล (D+) – Glucose Fluka อัตราส่วน 1% แยกละลายในน้ำกลั่นก่อนนำไปผสมใน O-F Basal medium นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

5. **การเตรียม** Halophism medium **มีส่วนประกอบดังนี้**

A : Proteaes peptone No.3	0.1	%
Yeast extract	0.1	%
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
B : A + NaCl 3 % หรือ น้ำทะเล 90 %		
pH	7.6	

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

นำส่วนผสมต่าง ๆ แยกส่วน A และ B ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารนี้ใช้ในการทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อในอาหารที่มีความเค็ม (ทนความเค็ม) เปรียมเทียบกันระหว่างความเค็มระหว่าง 0% NaCl (ส่วนผสม A) กับที่ 3% Nacl (ส่วนผสม B) เชื้อที่สามารถเจริญได้ใน 3% NaCl ไม่เจริญใน 0% NaCl เป็นแบคทีเรียที่ทนเค็มได้ แบคทีเรียที่เจริญทั้งใน 3% NaCl และ 0% NaCl เป็นแบคทีเรียชนิดไม่ทนเค็ม

6. **การเตรียม** Dnase – Nucleic Acid Hydrolysis (agar) **มีส่วนประกอบดังนี้**

6.1 ORI medium	100	มิลลิลิตร
6.2 DNA	0.2	%
6.3 Agar	2	%

วิธีเตรียม นำอาหารเลี้ยงเชื้อ ORI ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ปรับ pH ที่ 7.6 (1 N NaOH กับ 1 N HCl) เติมวุ้นจำนวน 2 กรัม ละลายให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน ใส่แท่งแม่เหล็กลงในขวด ORI medium ที่เตรียมเสร็จแล้ว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อพร้อมกับขวดน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ความดัน15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นชั่ง DNA (Decxyribonucleic acid from Herring Sperm) SIGMA ปริมาณ 0.2 กรัม ต่อปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร นำมาละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ แล้วนำไปกรองเพื่อให้ปราศจากเชื้อ ด้วย 0.22 ไมครอน กระดาษกรองในโตรเซลลูโลส นำสารละลายที่ได้เทรวมกับ ORI medium ที่เตรียมไว้โดยวิธีปลอดเชื้อ และนำมาผสมเข้ากัน ก่อนนำมาเทลงอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการทดสอบ ใช้ Loop ตัดเชื้อที่ต้องการมาลากบนอาหาร บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 2 – 3 วัน หลังจากนั้นหยด 1 N HCl ลงไปบนเชื้อ ถ้าให้ผลบวกจะเกิด clear zone รอบ ๆ เชื้อทดสอบ

7. **การเตรียม** Gelatin (Hydrolysis) Medium **มีส่วนประกอบดังนี้**

7.1 ORI medium	100	มิลลิลิตร
7.2 Gelatin	0.4	%
7.3 Agar	2.0	%
7.4 pH	7.6	

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันด้วยความร้อน นำไปปรับ pH ที่ 7.6 นำไปฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดัน15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

วิธีทดสอบ ใช้ Loop ใช้ Loop ตัดเชื้อที่ต้องการมาลากบนอาหาร บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 2 – 3 วัน หลังจากนั้นหยด 15% $HgCl_2$ ใน 20% (V/V) HCl กรดไฮโดรคลอริกให้ท่วมเชื้อ ถ้าให้ผลบวกจะพบ clear zone รอบ ๆ เชื้อทดสอบ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สีย้อมแกรม

1.1 Gram's crystal violet มีส่วนประกอบดังนี้

1.1.1 สารละลาย A

1.1.1.1 Cystal violet	2	กรัม
1.1.1.2 Ethyl alcohol	20	มิลลิลิตร

1.1.2 สารละลาย B

1.1.2.1 Ammonium oxalate	0.80	กรัม
1.1.2.2 น้ำกลั่น	20	มิลลิลิตร

นำสารละลาย A และ B ผสมให้เข้ากัน และนำไปกรองด้วยกระดาษกรองก่อนนำไปใช้

1.2 Gram's Iodine มีส่วนประกอบดังนี้

1.2.1 Iodine	1	กรัม
1.2.2 Potassium iodine	2	กรัม
1.2.3 น้ำกลั่น	300	มิลลิลิตร

ละลายโปแตสเซียมไอโอไดด์ ในน้ำกลั่นก่อน จึงใส่ไอโอดีนลงไป ละลายให้เข้ากัน

1.3 Gram's alcohol มีส่วนประกอบดังนี้

1.3.1 Ethyl alcohol	98	มิลลิลิตร
1.3.2 Acetone	2	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปใช้

1.4 Gram's safanine มีส่วนประกอบดังนี้

1.4.1 Safanine (2.5 % solution in 95 % ethyl alcohol)	17.9	กรัม
1.4.2 น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้ง 2 ให้เข้ากัน

2. สารละลายที่ใช้ในการตรวจหาเอ็นไซด์ cytocrom oxydase มีส่วนประกอบดังนี้

2.1 tetramethyl - p – phenylenediamine dihydrochloride	1	%
2.2 น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลายในน้ำกลั่นก่อนนำไปใช้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิธีการทดสอบ ทำได้โดยการหยด oxydase reagent ลงบนโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรีย แบคทีเรียที่มีเอ็นไซด์ oxydase (cytocrom c) จะทำปฏิกิริยากับ p – phenylenediamine ได้สารสีม่วง – ดำ

3. การเตรียม 2% formalin มีส่วนประกอบดังนี้

3.1 formalin	0.5	มิลลิลิตร
3.2 น้ำกลั่น	9.5	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน

4. การเตรียม 0.01 % arcridine orange มีส่วนประกอบดังนี้

4.1 arcridine orange	0.01	กรัม
4.2 น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน

5. การเตรียมสีย้อมแฟลกเจลลา (Leifson method for staining flagella)

A : Sodium chloride	1.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
B : Tannic acid	3.0	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
C : Parassaniline	0.9	กรัม
Pararosaniline hydrochloride	0.3	กรัม
Ethanol	100	มิลลิลิตร

นำสารละลาย A และ B ที่ละลายดีแล้วมาผสมกันในอัตราส่วน 1:1 เติมลงในสารละลาย C 1 ส่วน ลงใน A กับ B (2:1) ผสมให้เข้ากันเก็บไว้ในตู้เย็นได้ประมาณ 1 – 2 เดือน

6. การเตรียม 15% $HgCl_2$ ใน 20% (V/V) HCl

6.1 $HgCl_2$	15	กรัม
6.2 HCl	20	มิลลิลิตร HCl ในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน

7. การเตรียม 1 N HCl

7.1 HCl	8.3	มิลลิลิตร
7.2 น้ำกลั่น	91.7	มิลลิลิตร

เติมกรดลงในน้ำกลั่นที่เตรียมไว้ ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปใช้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University