

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5080208

ชื่อโครงการ : ความหลากหลายทางชีวภาพและไฮโดรไลติกเอนไซม์ของแบคทีเรียชอบเค็ม

ชื่อนักวิจัย : ดร. ศิริลักษณ์ นามวงษ์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

E-mail Address : sirilak_pook@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ: 1 กรกฎาคม 2550-1 กรกฎาคม 2552

แบคทีเรียชอบเค็มจำนวน 430 ไอโซเลต ถูกคัดเลือกจากอาหารหมัก และ ดิน ซึ่งแบ่งเป็นแบคทีเรียชอบเค็มปานกลางจำนวน 194 ไอโซเลต (52 ไอโซเลตสร้างเอนไซม์โปรติเอส และ 23 ไอโซเลตสร้างเอนไซม์ไลเปส) และ แบคทีเรียชอบเค็มสูงจำนวน 236 ไอโซเลต (25 ไอโซเลตสร้างเอนไซม์โปรติเอส และ 41 ไอโซเลตสร้างเอนไซม์ไลเปส) โดยอาศัยความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ตัวแทนแบคทีเรียชอบเค็มปานกลาง (17 ไอโซเลต) แบคทีเรียชอบเค็มสูง (2 ไอโซเลต) และแบคทีเรียชอบเค็มที่คล้ายเชื้อรา (4 ไอโซเลต) เพื่อนำไปศึกษาอนุกรมวิธาน โดยอาศัยผลจากการศึกษาลักษณะทางฟิโนไทป์ ลักษณะทางอนุกรมวิธานเคมี และ DNA-DNA similarity รวมทั้งการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S rRNA ซึ่งสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียชอบเค็มจำนวน 23 ไอโซเลต ได้เป็น 9 สกุล คือ *Oceanobacillus* ประกอบด้วย 1 ไอโซเลต คือ SSK2-2 ซึ่งเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ โดยตั้งชื่อ *O. kapialis* sp. nov สำหรับแบคทีเรียชอบเค็มที่เหลือจัดอยู่ในสกุล *Virgibacillus*, *Salinivibrios*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Alkalibacillus*, *Haloarcula*, *Haloferax*, และ *Actinopolyspora*

แบคทีเรียชอบเค็มปานกลางจำนวน 11 ไอโซเลต ที่สามารถย่อยสลายหางนม และ เจลาติน ได้ดีที่สุด คือ *V. halodenitrificans* (SSK3-2, SSK9-1, SSK10-5, PN2-3, PN2-10, PN5-1, PN8-4 และ PN2-19 and *Salinivibrio costicola* subsp. *vallismortis* (K4-1 และ K4-2) ถูกคัดเลือกเพื่อเป็นตัวแทนในการศึกษาการผลิตเอนไซม์โปรติเอส หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติม 1% เจลาติน พบว่าเพียง 5 ไอโซเลต *S. costicola* subsp. *vallismortis* (K4-1 และ K4-2) และ *V. halodenitrificans* (PN2-19, PN8-4 and PN5-1) สามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสได้มากที่สุด การศึกษาผลแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอนไซม์โปรติเอส พบว่า 1% ของ แป้งถั่วเขียว หางนม และ เจลาติน เป็นตัวกระตุ้นการสร้างเอนไซม์โปรติเอสที่ดีที่สุดของ *S. costicola* subsp. *vallismortis* (K4-1), *V. halodenitrificans* (PN5-1) และ *V. halodenitrificans* (PN2-19 และ PN8-4) ตามลำดับ การศึกษาผลของความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน พบว่า 3% เจลาติน และ 3-4% เจลาติน สามารถกระตุ้นการสร้างเอนไซม์โปรติเอสจาก *V. halodenitrificans* (PN8-4 และ PN2-19) และ *V. halodenitrificans* (PN5-1) ได้ดีที่สุดประมาณ 4.78, 3.85 และ 3.5 units ตามลำดับ สำหรับ *S. costicola* subsp. *vallismortis* (K4-1) การเติม 2% แป้งถั่วเขียวจัดเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับสร้างเอนไซม์โปรติเอสมากที่สุด (8.0 units)

คำหลัก: แบคทีเรียชอบเค็มปานกลาง แบคทีเรียชอบเค็มสูง อนุกรมวิธาน โปรติเอส

Abstract

Project Code : MRG5080208
Project Title : Biodiversity and Hydrolytic Enzymes of Halophilic Bacteria
Investigator : Dr. Sirilak Namwong Suan Sunandha Rajabhat University
E-mail Address : sirilak_pook@yahoo.com
Project Period : 1 July 2007-1 July 2009

430 halophilic microorganisms were isolated from fermented food and soil samples. Based on NaCl concentration for their growth, 194 moderate halophilic bacteria (52 protease-producing halophiles and 23 lipase-producing halophiles) and 236 halophilic archaea (25 protease-producing halophiles and 41 lipase-producing halophiles) were discovered. The representative isolates of moderate halophiles (17 isolates), of extreme halophiles (2 isolates) and funig-like halophiles (4 isolates) were selected for taxonomic studies by using the standard methods (phenotypic and chemotaxonomic characteristics, DNA-DNA similarity and 16S rRNA gene sequencing). According to the taxonomic investigations, 23 isolates were divided to be 9 genus. A novel species of *Oceanobacillus* genus (SSK2-2) were proposed and named as *O. kapialis* sp. nov. and the other halophiles were identified as the genus of *Virgibacillus*, *Salinivibrio*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Alkalibacillus*, *Haloarcula*, *Haloferax* and *Actinopolyspora*.

10 halophilic isolates shown the biggest clear zone on skim milk plates and jelatin, *V. halodenitrificans* (SSK3-2, SSK9-1, SSK10-5, PN2-3, PN2-10, PN5-1, PN8-4 and PN2-19 and *Salinivibrio costicola* subsp. *vallismortis* (K4-1 and K4-2) were selected for assay of protease activities. After cultivation in the basal mdium supplemented with 1% jelatin, *S. costicola* subsp. *vallismortis* (K4-1) and *V. halodenitrificans* (PN2-19, PN8-4 and PN5-1) were the highest protease-producing halophiles. The best inducers of protease production from *S. costicola* subsp. *vallismortis* (K4-1), *V. halodenitrificans* (PN5-1) and *V. halodenitrificans* (PN2-19 and PN8-4) were soy bean flour (8.0 units), skim milk (0.9 units) and jelatin (2.8 units and 3.0 units), respectively. In the present of optimal concentration of skim milk (3-4%) and jelatin (3%), the protease production from *V. halodenitrificans* (PN5-1) and *V. halodenitrificans* (PN8-4 and PN2-19) were the highest approximately 4.78, 3.85 and 3.5 units, respectively. In case of *S. costicola* subsp. *vallismortis* (K4-1), addition of 3% soy bean flour in the medium were the suitable concentration for maximum of protease secretion(9.7 units).

Keyword: Moderate halophiles, Extreme halophiles, Taxonomy, and Protease