ผลของสภาวะโลกร้อนต่อความหลากหลายของแบคทีเรียทางทะเลบริเวณชายหาดบางแสน และพัทยา จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

กิตติธัช สุพรรณพันธุ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ธันวาคม 2558
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ กิตติธัช สุพรรณพันธุ์ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุบัณฑิต นิ่มรัตน์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)

.....กรรมการ
(ดร.วาสินี พงษ์ประยูร)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยบูรพา

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ ศรีสุข)
วันที่ 9 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2558

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ ดร. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รวมถึงรองศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร ประธานคณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์และกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำและตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.วีระวัฒน์ แช่มปรีดา หัวหน้าห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเอนไซม์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเอนไซม์จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดารัตน์ สวนจิตร ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยจนลุล่วงได้ด้วยดีตลอดมา จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องของข้าพเจ้าทุกคนที่ให้กำลังใจ คำแนะนำสั่งสอน และสนับสนุนทุนการศึกษาด้วยดีตลอดมาโดยไม่ขาดตกบกพร่อง ตลอดจน คุณไตรมาศ บุญไทย คุณวีรสิทธิ์ ขาวผ่อง คุณจำลอง แสงส่ง รวมทั้งพี่ ๆ น้อง ๆ และเพื่อน ๆ ทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือทั้งแรงกายและแรงใจในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวาริชศาสตร์ และฝ่ายบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ที่ให้ความช่วยเหลือด้านเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่ในการทดลอง ตลอดจนประสานงานด้านต่าง ๆ ในช่วงระยะเวลาการทำวิทยานิพนธ์นี้

กิตติธัช สุพรรณพันธุ์

53910954: สาขาวิชา: จุลชีววิทยา; วท.ม. (จุลชีววิทยา)
คำสำคัญ: สภาวะโลกร้อน/ แบคทีเรียทางทะเล/ ชายหาดบางแสน/ ชายหาดพัทยา/ ชลบุรี/ ประเทศไทย

กิตติธัช สุพรรณพันธุ์: ผลของสภาวะโลกร้อนต่อความหลากหลายของแบคทีเรียทางทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย (EFFECT OF GLOBAL WARMING ON MARINE BACTERIAL DIVERSITY AT BANGSAEN AND PATTAYA BEACHES, CHON BURI PROVINCE, THAILAND) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, Ph.D., วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, Ph.D. 140 หน้า. ปี พ.ศ. 2558.

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาถึงผลของสภาวะโลกร้อนต่อความหลากหลายของแบคทีเรียทางทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2554 จากผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิของน้ำทะเลและอุณหภูมิอากาศบริเวณบางแสน (ได้แก่ ตลาดอ่างศิลา, ท่าเรืออ่างศิลา, ชายหาดบางแสน และชายหาดวอนนภา) และพัทยา (ได้แก่ ตลาดนาเกลือ, ชายหาดพัทยาเหนือ, ชายหาดพัทยาใต้ และชายหาดจอมเทียน) ทั้ง 8 บริเวณ ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 25.00 ± 0.00 ถึง 34.90 ± 0.00 และ 25.30 ± 0.60 ถึง 35.00 ± 0.00 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และจากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทะเลและดินตะกอน ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเล, ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอน ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และความเค็ม ของทุกบริเวณที่ทำการศึกษาของหาดบางแสนและหาดพัทยาพบว่ามีค่าเท่ากับ 6.30 ± 0.00 ถึง 9.69 ± 0.01, 7.35 ± 0.01 ถึง 9.60 ± 0.10, 4.36 ± 0.10 ถึง 10.71 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 14 ถึง 34.0 พีพีที ตามลำดับ ส่วนการศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำทะเลกับแบคทีเรียทางทะเลพบว่าอุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำทะเลบริเวณหาดวอนนภาเพียงบริเวณเดียวเท่านั้น ($r^2 = 0.801$, p-value = 0.005) ส่วนบริเวณอื่นพบว่าอุณหภูมิไม่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียทางทะเล รวมทั้งการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐานจากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนพบว่าสามารถจัดจำแนกได้เป็น 4 วงศ์ คือ วงศ์ Bacillales, วงศ์ Pseudomonaceae, วงศ์ Vibrionaceae และ วงศ์ Enterobacteriaceae และชนิดของแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนในแต่ละบริเวณจะพบแตกต่างกันไป ซึ่งจะพบชนิดของแบคทีเรียในวงศ์ Bacillales มากที่สุด รองลงมาคือวงศ์ Pseudomonaceae, วงศ์ Vibrionaceae และวงศ์ Enterobacteriaceae ตามลำดับ ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ในดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี ส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Proteobacterium

คือ คลาส Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteria อีกทั้งยังพบแบคทีเรียในไฟลัม Cyanobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Acidobacteria, Actinobacteria ในปริมาณต่ำ ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบความหลากหลายของชนิดแบคทีเรียทางทะเลพบว่าแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้มีความหลากหลายมากกว่าแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้

53910954: MAJOR: MICROBIOLOGY; M.Sc. (MICROBIOLOGY)

KEYWORDS: GLOBAL WARMING/ MARINE BACTERIA/ BANGSAEN BEACH/ PATTAYA BEACH/ CHON BURI PROVINCE/ THAILAND

KITTITACH SUPANNAPAN: EFFECT OF GLOBAL WARMING ON MARINE BACTERIAL DIVERSITY AT BANGSAEN AND PATTAYA BEACHES, CHON BURI PROVINCE, THAILAND. ADVISOR COMMITTEE: SUBUNTITH NIMRAT, Ph.D., VERAPONG VUTHIPHANDCHAI, Ph.D. 140 P. 2015.

In this study, the effect of global warming on marine bacterial diversity at Bangsaen and Pattaya beaches, chon buri province, Thailand in the year 2011 was investigated. The results showed that seawater and air temperature of eight sampling sites from Bangsaen (as Ang-Sila market, Ang-Sila Pier, Bangsaen beach and Won Napha beach) and Pattaya (as Na Klua Market, North Pattaya beach, South Pattaya beach and Jomtein beach) beach areas in this study changed in the range of 25.00 ± 0.00 to 34.90 ± 0.00 and 25.30 ± 0.60 to 35.00 ± 0.00 °C, respectively. The physical properties of seawater and sediments including pH of seawater, pH of sediment, dissolved oxygen and salinity at Bangsaen and Pattaya beach were 6.30 ± 0.00 to 9.69 ± 0.01, 7.35 ± 0.01 to 9.60 ± 0.10, 4.36 ± 0.10 to 10.37 ± 0.01 mg/L and 3.0 to 34.0 ppt, respectively. Correlation analysis study revealed significant correlations between seawater temperature values and total marine bacterial concentration at Won-Napha beach site only (r^2 = 0.801, *p*-value = 0.005). The other sites showed no correlations between seawater temperature values and total marine bacterial concentration. Moreover, the identification of total culturable marine bacteria with standard technique isolated from seawater and sediment were classified into four families which were Bacillales, Pseudomonadaceae, Vibrionaceae and Enterobacteriaceae. Types of marine bacteria found in seawater and sediment in each area were different. The highest frequency found of those marine bacteria were Bacillales followed by Pseudomonaceae, Enterobacteriaceae and Vibrionaceae, respectively. While the most prevalent unculturable marine bacteria recovered from seawaters and sediment samples were identified as Proteobacteria which were class Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria and Deltaproteo-bacteria. A small numbers of bacterial phyla Cyanobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Acidobacteria and Actinobacteria were also observed. Unculturable marine bacteria found in this study showed a higher diversity, compared to culturable marine bacteria.

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย……..		ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ…….		จ
สารบัญ…..…….....		ง
สารบัญตาราง……..……..…..		ซ
สารบัญภาพ……...……...…...		ญ
บทที่		
1	บทนำ……..……	1
	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา…….....….	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย……..……...	3
	สมมติฐานของการทำวิจัย……..……..	3
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ……..…....…	3
	ขอบเขตของการทำวิจัย……..……..…	4
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……...…..…....…	5
	สภาวะโลกร้อน.....	5
	แบคทีเรียทางทะเล.....	15
	การตรวจหาแบคทีเรียด้วยวิธีทางอณูพันธุศาสตร์.....	17
	รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา.....	21
3	วิธีดำเนินการวิจัย.....	25
	วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี……..……..……..	25
	วิธีดำเนินการวิจัย……...……..…..….....	28
4	ผลการวิจัย……..……..……..	39
5	อภิปรายและสรุปผล……..……..…	97
	สรุปผล……..……...	97
	อภิปรายผล……..……..…	98
บรรณานุกรม……..……..…….....		106
ภาคผนวก……...…….		118

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่

ภาคผนวก ก……...……. 119

ภาคผนวก ข……...……. 126

ภาคผนวก ค……...……. 127

ประวัติย่อของผู้วิจัย……...…….. 140

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา……..…….....……..	27
2	ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี…..…	40
3	ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี……..	42
4	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของน้ำทะเลบริเวณบางแสน และพัทยา จังหวัดชลบุรี.....……..…..…….…….	45
5	อุณหภูมิน้ำทะเล (องศาเซลเซียส) ของบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี…..	48
6	อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส) ของบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี…….	50
7	ความเค็ม (พีพีที) ของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	53
8	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา….	56
9	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา	63
10	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียทางทะเลและอุณหภูมิบริเวณชายหาด บางแสนและพัทยา…….....	69
11	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณตลาดอ่างศิลา……...	71
12	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณตลาดอ่างศิลา.....……	72
13	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณท่าเรืออ่างศิลา....……..	73
14	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณท่าเรืออ่างศิลา……...…..	74
15	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณหาดบางแสน……...	75
16	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณหาดบางแสน.....……	76
17	แบคทีเรียทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณหาดวอนภา...…….	77
18	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณหาดวอนนภา.....……	78
19	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณนาเกลือ.....……	79
20	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณนาเกลือ.....…….....	80
21	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณพัทยาเหนือ.....…….	81
22	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณพัทยาเหนือ.....……	82
23	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณพัทยาใต้.....…….	83
24	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณพัทยาใต้.....……	84

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
25	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณหาดจอมเทียน.....	85
26	แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณหาดจอมเทียน……..	86
27	ความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ในดินตะกอนและน้ำทะเล บริเวณบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี…….……	88
28	การเปรียบเทียบความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้และกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้บริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี……	92

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปรากฏการณ์เรือนกระจก (Geenhouse effect) เป็นผลมาจากกระบวนการและปัจจัยต่าง ๆ ร่วมกันมีอิทธิพลต่อสมดุลของพลังงานในบรรยากาศโลกการเพิ่มขึ้นของก๊าซบางชนิด เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทน และก๊าซไนตรัสออกไซด์.....	6
2	ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะที่ผ่านมา.....	8
3	ปริมาณก๊าซมีเทนที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา.....	8
4	ปริมาณก๊าซไนตรัสออกไซด์ที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา.....	9
5	ปริมาณก๊าซคลอโรฟูโอโรคาร์บอน หรือ CFC ที่เพิ่มมมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา.....	10
6	การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเฉลี่ยของโลกในช่วงระยะเวลาระหว่างปี ค.ศ. 1860 – 2000.....	11
7	การละลายของธารน้ำแข็ง Uppsala ที่ประเทศอาร์เจนตินา.....	11
8	การละลายของธารน้ำแข็ง Pasterze ที่ประเทศออสเตรีย.....	12
9	การเกิดพายุเฮอริเคน Katnina ทำให้เมือง New Orleans เสียหาย.....	13
10	การจัดลำดับอนุกรมวิธานของสิ่งมีชีวิต ออกเป็น 3 กลุ่ม.....	19
11	ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป GF-1 Soil Sample DNA Extraction Kit.....	27
12	ชุดทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์สำเร็จรูป.....	28
13	กระดาษกรอง ขนาดรูกรอง 0.2 ไมโครเมตร.....	28
14	ขวดเก็บตัวอย่าง.....	28
15	เครื่อง Thermocycler.....	29
16	เครื่อง Electrophoresis.....	30
17	เครื่อง UV-transilluminator.....	30
18	อุปกรณ์และเครื่อง Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE).....	31
19	เครื่อง Gel Document.....	32
20	บริเวณเก็บตัวอย่างทั้ง 8 จุด.....	33
21	การเก็บตัวอย่างโดยใช้เครื่องมือ Grab sampler.....	35
22	ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	41

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	43
24	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	46
25	อุณหภูมิน้ำทะเล (องศาเซลเซียส) ของบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	49
26	อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส) ของบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	51
27	ความเค็ม (พีพีที) ของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี.....	54
28	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา...	57
29	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณตลาดอ่างศิลา.....	58
30	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณท่าเรืออ่างศิลา.....	58
31	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสน.....	59
32	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดวอนนภา.....	59
33	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณตลาดนาเกลือ.....	60
34	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดพัทยาเหนือ.....	60
35	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดพัทยาใต้.....	61
36	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดจอมเทียน.....	61
37	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา.....	64
38	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณตลาดอ่างศิลา.....	65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
39	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณท่าเรืออ่างศิลา	65
40	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสน	66
41	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดวอนนภา	66
42	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณตลาดนาเกลือ	67
43	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดพัทยาเหนือ	67
44	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดพัทยาใต้	68
45	ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดจอมเทียน	68
46	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนมีนาคม	130
47	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนเมษายน	131
48	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนพฤษภาคม	132
49	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนมิถุนายน	133
50	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนกรกฎาคม	134
51	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนสิงหาคม	135
52	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนกันยายน	136
53	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนตุลาคม	137
54	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนพฤศจิกายน	138
55	รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนธันวาคม	139

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันปรากฏการณ์โลกร้อน (Global warming) พบได้มากขึ้นและชัดเจนขึ้นทั่วโลก โดยที่ปรากฏการณ์โลกร้อน ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิเฉลี่ยของอากาศใกล้พื้นผิวโลกและน้ำในมหาสมุทรตั้งแต่ช่วงครึ่งหลังของคริสต์ศตวรรษที่ 20 และมีการคาดการณ์ว่าอุณหภูมิเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยพบว่าในช่วง 100 ปีที่ผ่านมา นับถึง พ.ศ. 2548 อากาศใกล้ผิวดินทั่วโลกโดยเฉลี่ยมีค่าสูงขึ้น 0.74 ± 0.18 องศาเซลเซียส (Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007) ซึ่งคณะกรรมการระหว่างรัฐบาลว่าด้วยการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Intergovernmental Panel on Climate Change: IPCC; McMichael, Woodruff, & Hales, 2006; Hays, Richardson, & Robinson, 2005) ของสหประชาชาติได้สรุปไว้ว่า "จากการสังเกตการณ์การเพิ่มอุณหภูมิโดยเฉลี่ยของโลกที่เกิดขึ้นตั้งแต่กลางคริสต์ศตวรรษที่ 20 (ตั้งแต่ พ.ศ. 2490) ค่อนข้างแน่ชัดว่าเกิดจากการเพิ่มความเข้มของแก๊สเรือนกระจกที่เกิดขึ้นโดยกิจกรรมของมนุษย์ที่เป็นผลในรูปของปรากฏการณ์เรือนกระจก" (Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007) นอกจากนี้ปรากฏการณ์ธรรมชาติบางอย่าง เช่น ความผันแปรของการแผ่รังสีจากดวงอาทิตย์และการระเบิดของภูเขาไฟอาจส่งผลเพียงเล็กน้อยต่อการเพิ่มอุณหภูมิในช่วงก่อนยุคอุตสาหกรรมจนถึง พ.ศ. 2490 และมีผลเพียงเล็กน้อยต่อการลดอุณหภูมิหลังจากปี 2490 เป็นต้นมา (Hegerl et al., 2007; Ammann, Joos, Schimel, Otto-Bliesner, & Tomas, 2007)

นอกจากนั้นจากการศึกษาแบบจำลองการคาดคะเนภูมิอากาศที่สรุปโดย IPCC บ่งชี้ว่าอุณหภูมิโลกโดยเฉลี่ยที่ผิวโลกจะเพิ่มขึ้น 1.1 ถึง 6.4 องศาเซลเซียส ในช่วงคริสต์ศตวรรษที่ 21 (พ.ศ. 2544–2643; Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007) และระดับน้ำทะเลก็จะสูงขึ้นต่อเนื่องไปอีกหลายสหัสวรรษ แม้ว่าระดับของแก๊สเรือนกระจกจะเข้าสู่ภาวะเสถียรแล้วก็ตาม การที่อุณหภูมิและระดับน้ำทะเลเข้าสู่สภาวะดุลยภาพได้ช้าเป็นเหตุมาจากความจุความร้อนของน้ำในมหาสมุทรซึ่งมีค่าสูงมาก (Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007) ซึ่งจากการที่อุณหภูมิของโลกเพิ่มสูงขึ้นจะมีผลทำให้ระดับน้ำทะเลสูงขึ้นและคาดว่าทำให้เกิดภาวะลมฟ้าอากาศที่มีความแปรปรวนอย่างมากและรุนแรงมากขึ้น (Extreme weather) ปริมาณและรูปแบบการเกิดหยาดน้ำฟ้าจะเปลี่ยนแปลงไป ผลกระทบอื่น ๆ ของปรากฏการณ์โลกร้อน ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของผลิตผลทางเกษตร การเคลื่อนถอยของธารน้ำแข็ง การสูญพันธุ์ของพืชและสัตว์ต่าง ๆ รวมทั้งการกลายพันธุ์และแพร่กระจายของเชื้อโรคต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น ยกตัวอย่างเช่น

การแพร่ระบาดของโรค Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS; McMichael & Woodruff, 2008; Frumkin & McMichael, 2008) และโรคติดเชื้ออื่น ๆ

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้มีความสนใจเกี่ยวกับผลของสภาวะโลกร้อนต่อความหลากหลายของแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียก่อโรคที่อาจจะก่อให้เกิดการระบาด เนื่องจากการรายงานที่ผ่านมาพบว่าในน้ำทะเลนั้นจะประกอบด้วยแบคทีเรียหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio*) และแอโรโมแนส (*Aeromonas*) (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2552) Laughlin and Lavery (1995) พบว่า *Vibrio vulnificus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียทางทะเลชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุให้เกิดอัตราการตายของคนจำนวนมาก และพบว่าเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในอ่าวเม็กซิโก มหาสมุทรแอตแลนติกและมหาสมุทรแปซิฟิก รวมทั้งพบในหอยที่อาศัยในบริเวณที่ทำการศึกษาดังกล่าว และพบว่ามีการรายงานถึงผลของสภาวะโลกร้อนต่อการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียบางกลุ่ม (Epstein, 2001; Bunyavanich, 2003; Zell, 2004) ยกตัวอย่างเช่น Paz, Bisharat, Paz, Kidar, and Cohen (2007) รายงานว่าอุณหภูมิของน้ำเพาะเลี้ยงปลาในประเทศอิสราเอลในช่วงปี ค.ศ. 1996-1998 โดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อนที่มีอุณหภูมิสูงมากใน 40 ปีที่ผ่านมามีผลทำให้เกิดการระบาดของ *Vibrio vulnificus* นอกจากนั้นสภาวะโลกร้อนเนื่องจากการเกิด Warm water ยกตัวอย่างเช่น ปรากฏการณ์ El Nino พบว่าเกิดการแพร่จำนวนของ *Vibrio parahaemolyticus* ในประเทศเปรูและในมลรัฐอลาสกา ประเทศสหรัฐอเมริกา รวมทั้งพบการเพิ่มขึ้นของโรคติดเชื้อกลุ่ม *Vibrio vulnificus* อันเนื่องมาจากการบริโภคหอยนางรมที่เก็บมาจากอ่าวเม็กซิโก ในช่วงเดือนเมษายนและเดือนพฤศจิกายน ในปี ค.ศ 1998 (Martinez-Urtaza, Bowers, Trinanes, & DePaola, 2010)

จากหลักการและเหตุผลที่สภาวะโลกร้อนมีต่ออุบัติการณ์ของแบคทีเรียในบริเวณต่าง ๆ ของโลกตามที่กล่าวมาแล้ว ทำให้น่าจะมีการศึกษาอย่างเป็นระบบเกี่ยวกับผลกระทบของโลกร้อนที่มีต่อแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ หาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี ซึ่งเป็นที่ตั้งของมหาวิทยาลัยบูรพา โดยที่หาดบางแสน (Bangsaen Beach) เป็นชายหาดที่มีชื่อเสียงและเป็นที่รู้จักในหมู่นักท่องเที่ยวมาช้านาน อยู่ห่างจากตัวเมืองชลบุรีประมาณ 13 กิโลเมตร มีหาดทรายยาวประมาณ 2.5 กิโลเมตร กว้าง 50-200 เมตร ในบริเวณหาดมีเครื่องดื่ม และอาหารทะเล เช่น ปลาหมึก หอยแมลงภู่และห่อหมก เป็นต้น รวมทั้งมีกิจกรรมต่าง ๆ มากมาย เหมาะสำหรับนักท่องเที่ยวทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติ (Vuthiphandchai et al., 2004; Office of Environment Policy and planning, 1997; Thongra-ar, Putchakarn, Musika, Poonpium, & Wongsudawan, 1995) พัทยาเป็นสถานที่ที่มีชื่อเสียง เนื่องจากมีแหล่งบันเทิง ร้านค้า ร้านอาหาร และกิจกรรมมากมายเช่นเดียวกัน (ธนาคารกสิกรไทย, 2553)

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อผลของการเปลี่ยนแปลงปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการต่อแบคทีเรียทางทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรีทั้งชนิดที่เพาะเลี้ยงได้และชนิดที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ซึ่งเป็นงานวิจัยแรก ๆ เพื่อทราบการเปลี่ยนแปลงที่มีต่อความเป็นกรด-ด่าง ความเค็ม และสภาวะทางกายภาพของชายหาดด้านอื่น ๆ รวมทั้งทำการศึกษาถึงแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ทั้งชนิดที่เพาะเลี้ยงได้ด้วยวิธีมาตรฐานและชนิดที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลในน้ำทะเลและดินตะกอน จากการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้และเพาะเลี้ยงไม่ได้ โดยทำการศึกษาทุกเดือนเป็นระยะเวลานานถึง 10 เดือน ซึ่งทำให้คาดว่าจะสามารถทราบถึงปริมาณและชนิดของแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดรวมทั้งแบคทีเรียก่อโรค และอาจทราบถึงแบคทีเรียชนิดใหม่ที่อาจจะมีการปนเปื้อนหรือเพิ่มจำนวนอย่างผิดปกติอันเนื่องมาจากสภาวะโลกร้อน ซึ่งจะมีผลกระทบต่อเนื่องมาสู่ระบบนิเวศและสุขภาพของประชากรที่อาศัยในบริเวณชายหาดทั้ง 2 แห่ง รวมทั้งข้อมูลที่จะได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทั้งทางด้านสุขภาพของประชาชนในพื้นที่และนักท่องเที่ยวทั้งภายในและนักท่องเที่ยวต่างประเทศ เนื่องจากสามารถทราบถึงการระบาดของแบคทีเรียเพื่อเป็นการเฝ้าระวังการระบาดของโรคที่อาจเกิดจากความผิดปกติของปริมาณและชนิดของแบคทีเรียที่มีผลมากจากสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการต่อแบคทีเรียทางทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรีทั้งชนิดที่เพาะเลี้ยงได้และชนิดที่เพาะเลี้ยงไม่ได้

สมมติฐานของการวิจัย

การเปลี่ยนแปลงปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียทางทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรีทั้งชนิดที่เพาะเลี้ยงได้และชนิดที่เพาะเลี้ยงไม่ได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

จากการศึกษาในครั้งนี้อาจสามารถนำข้อมูลที่ได้ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเฝ้าระวังแบคทีเรียก่อโรค การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียในอนาคต รวมทั้งการจัดการเกี่ยวกับระบบสาธารณสุข และ/หรือสุขาภิบาล นอกจากนี้อาจพบแบคทีเรียทางทะเลชนิดใหม่ ๆ บริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการแบคทีเรียทางทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรีทั้งชนิดที่เพาะเลี้ยงได้โดยการใช้วิธีมาตรฐาน (Spread plate technique) ร่วมกับ 16S rRNA และชนิดที่เพาะเลี้ยงไม่ได้โดยการใช้วิธีทางชีวโมเลกุล (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพต่อแบคทีเรียทางทะเลเป็นระยะเวลา 10 เดือน

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาจำแนกได้เป็น 4 หัวข้อ ได้แก่

1. สภาวะโลกร้อน
2. แบคทีเรียทางทะเล
3. การตรวจหาแบคทีเรียด้วยวิธีทางอณูพันธุศาสตร์
4. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

1. สภาวะโลกร้อน (Global warming)

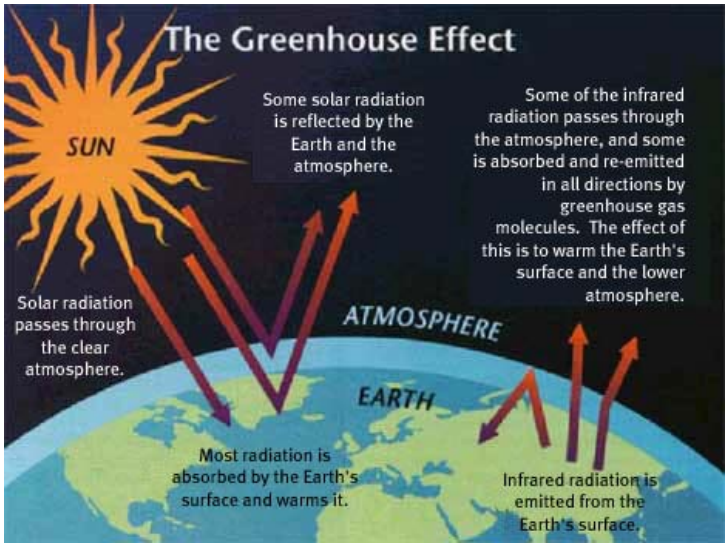
สภาวะโลกร้อน (Global warming) หมายถึงสภาวะที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยของผิวโลกและมหาสมุทรเพิ่มสูงขึ้นจากเดิมและมีแนวโน้มว่าจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ อันเป็นผลมาจากกิจกรรมของมนุษย์ที่ปล่อยก๊าซเรือนกระจกสู่ชั้น บรรยากาศ (Macilwain, 2000)

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันแล้วว่าการที่อุณหภูมิสูงขึ้นเรื่อย ๆ จากสภาวะโลกร้อนนี้ส่งผลให้เกิดสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปจากปกติ ทำให้เกิดความแปรปรวนของสภาพดิน ฟ้า อากาศ สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมนี้เรียกว่าการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate Change) (Alexiadis,2007; Khasnis & Nettleman,2005; Kojiri, Hamaguchi, & Ode, 2008) ซึ่งในปัจจุบันกลายเป็นปัญหาใหญ่ที่สร้างความเสียหายต่อชีวิตและความเป็นอยู่ของสิ่งมีชีวิตทั่วไป สภาวะโลกร้อนนี้เกิดทั้งจากฝีมือมนุษย์และธรรมชาติ แต่ส่วนใหญ่เกิดจากฝีมือมนุษย์ และสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดสภาวะโลกร้อนหรืออุณหภูมิสูงขึ้นเรื่อย ๆ นี้ คือ ปรากฏการณ์เรือนกระจก (Greenhouse effect)

บรรยากาศของโลกประกอบด้วย ก๊าซไนโตรเจน 78% ก๊าซออกซิเจน 21% ก๊าซอาร์กอน 0.9% นอกจากนั้นเป็นไอน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นจำนวนเล็กน้อย แม้ว่าไนโตรเจน ออกซิเจนและอาร์กอน จะเป็นองค์ประกอบหลักของบรรยากาศ แต่ไม่ได้มีอิทธิพลต่ออุณหภูมิของโลก ในทางกลับกันก๊าซโมเลกุลใหญ่เช่น ไอน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน ไนตรัสออกไซด์ และโอโซน แม้จะมีอยู่ในบรรยากาศเพียงเล็กน้อยแต่ก็มีความสามารถในการดูดกลืนรังสีอินฟราเรด (Infrared - IR) ได้ดี ทำให้อุณหภูมิพื้นผิวโลกอบอุ่น เหมาะแก่การดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตเราเรียกก๊าซเหล่านี้ว่า ก๊าซเรือนกระจก (Greenhouse gas) (Khasnis & Nettleman, 2005) เนื่องจากคุณสมบัติในการเก็บกักความร้อน หากเราไม่มีก๊าซเรือนกระจกแล้ว พื้นผิวโลกจะมีอุณหภูมิเพียง -18 องศาเซลเซียส ซึ่งนั่นหมายความว่าน้ำทั้งหมดบนโลกจะกลายเป็นน้ำแข็ง ก๊าซเหล่านี้จึงถือเป็น

ส่วนประกอบสำคัญในช่วงแรกของการพัฒนาโลกในล้านปีมาแล้ว (Buchdahl, Twigg, & Cresswell, 2002) เนื่องจากช่วยในการเก็บกักความร้อนเพื่อให้โลกมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต แต่ในปัจจุบันก๊าซกลุ่มนี้กำลังกลายเป็นผู้ร้าย เนื่องจากปัญหาสภาวะโลกร้อน

โดยปกติจะได้รับพลังงานประมาณ 99.95% จากดวงอาทิตย์ โดยการแผ่รังสี ซึ่งโลกจะมีการรักษาสมดุลของพลังงานที่ได้รับโดยมีการสะท้อนความร้อนและการแผ่รังสีจากโลกกลับไปจนพลังงานที่ได้รับมอบหมายเท่ากับศูนย์ จึงทำให้โลกมีสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต กลไกหนึ่งที่ทำให้ โลกรักษาพลังงานความร้อนไว้ได้คือ ปรากฏการณ์เรือนกระจก (Geenhouse effect)โดยโลกจะมีชั้นบาง ๆ ของก๊าซ เรียกว่า ก๊าซเรือนกกระจกปกคลุมอยู่ก๊าซนี้จะทำหน้าที่ดักและสะท้อนความร้อนที่โลกแผ่กลับออกไปในบรรยากาศให้กลับเข้ามาในโลกอีก หากไม่มีก๊าซกลุ่มนี้โลกจะไม่สามารถเก็บพลังงานไว้ได้ และจะมีอุณหภูมิแปรปรวน แต่ในช่วงระยะเวลาหลายสิบปีที่ผ่านมา โลกได้มีการสะสมก๊าซเรือนกระจกในชั้นบรรยากาศมากขึ้น (Aronson & McNulty, 2009)



ภาพที่ 1 ปรากฏการณ์เรือนกระจก (Geenhouse effect) เป็นผลมาจากกระบวนการและปัจจัยต่าง ๆ ร่วมกันมีอิทธิพลต่อสมดุลของพลังงานในบรรยากาศโลกการเพิ่มขึ้นของก๊าซบางชนิด เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทน และก๊าซไนตรัสออกไซด์ (http://www.laohamutuk.org/Agri/Climate/09ClimateChange.htm)

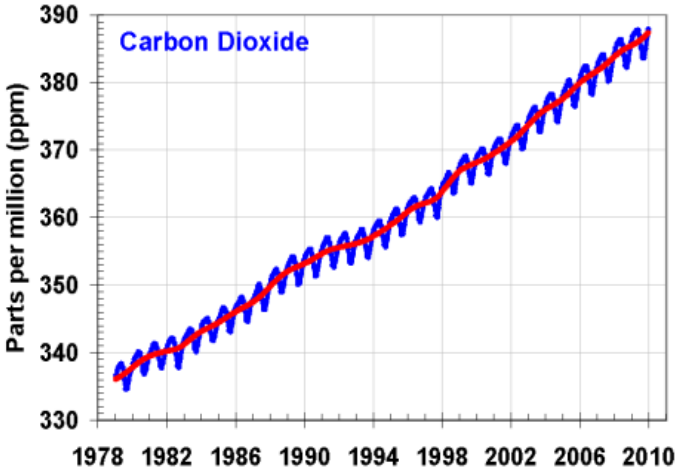
1.1 ก๊าซเรือนกระจก (Geenhouse effect)

ก๊าซเรือนกระจก (Geenhouse gas) มีหลายชนิด ได้แก่ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ก๊าซมีเทน (CH_4) ก๊าซไนตรัสออกไซด์ (N_2O) และก๊าซคลอโรฟลูโอโรคาร์บอน (Chlorofluoro-carbon) หรือที่เรียกกันว่า CFC นอกจากนี้ยังมีอีก 2 ชนิด ที่มีสัดส่วนรองลงมาคือ ก๊าซไฮโดรฟลูโอโรคาร์บอน (Hydrofluorocarbon) และก๊าซเพอร์ฟลูโอโรคาร์บอน (Perfluorocarbon; Khasnis & Nettleman, 2005) ซึ่งก๊าซต่าง ๆ เหล่านี้จะมีปริมาณการสะสมในสัดส่วนที่แตกต่างกัน โดยมีการสะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มากที่สุด ซึ่งก๊าซเรือนกระจกที่สำคัญได้แก่

1) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon dioxide; CO_2) เป็นก๊าซที่มีการสะสมมากที่สุดซึ่งมีประมาณ 53 เปอร์เซ็นต์ ในชั้นบรรยากาศโลก และเป็นก๊าซที่ส่งผลกระทบต่อบรรยากาศโลกที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจกมากที่สุดเช่นกัน ซึ่งเกิดจากการเผาไหม้เชื้อเพลิงโรงงานอุตสาหกรรม การตัดไม้ทำลายป่าการเผาป่า เป็นต้น เนื่องจากต้นไม้มีคุณสมบัติในการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไม่ให้ลอยสู่ชั้นบรรยากาศ ดังนั้นเมื่อป่าลดลงจากการกระทำของมนุษย์ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศจึงเพิ่มมากขึ้น ซึ่งความจริงแล้วโลกก็ขาดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศจึงเพิ่มมากขึ้น ซึ่งความจริงแล้วโลกก็ขาดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไม่ได้เพราะพืชใช้สังเคราะห์แสงและสร้างอาหาร เพียงแต่ว่าหากมีมากเกินไปที่ธรรมชาติต้องการแล้วมันก็จะกลายเป็นพิษ (Buchdahl et al., 2002) จากการสำรวจในปี ค.ศ. 2002 ประเทศที่ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาในปริมาณมากที่สุด 10 อันดับแรก (Wikipedia, 2015) ได้แก่

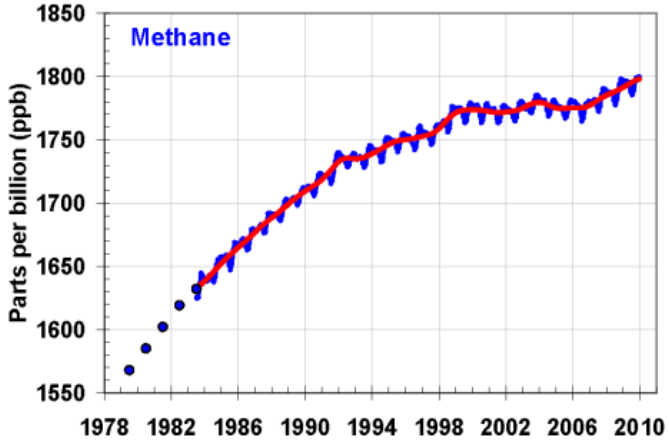
1. จีน	21.5%
2. สหรัฐอเมริกา	20.2%
3. รัสเซีย	5.5%
4. อินเดีย	5.3%
5. ญี่ปุ่น	4.6%
6. เยอรมนี	2.8%
7. สหราชอาณาจักร	2.0%
8. แคนาดา	1.9%
9. เกาหลีใต้	1.7%
10. อิตาลี	1.7%

สำหรับประเทศไทยนั้นอยู่ในลำดับที่ 22 คิดเป็น 1.0%



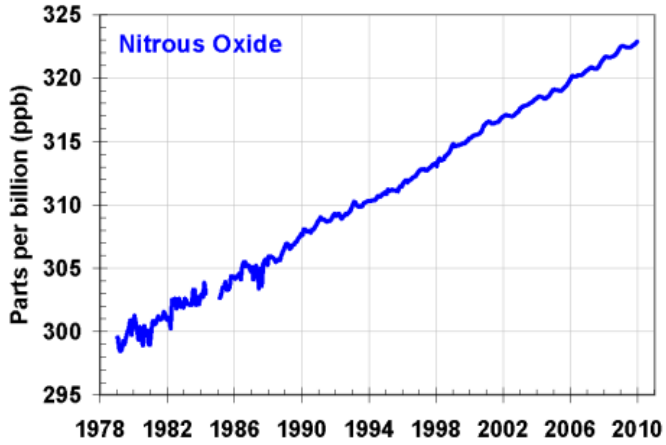
ภาพที่ 2 ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะที่ผ่านมา
(http://www.esrl.noaa.gov/gmd/aggi/)

2) ก๊าซมีเทน (Methane; CH_4) เป็นก๊าซอีกชนิดหนึ่งซึ่งมีอยู่ในโลกถึง 17 เปอร์เซ็นต์ และเป็นก๊าซที่เกิดจากการปลูกข้าว การเลี้ยงสัตว์ การเกษตรกรรม การย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิตในพื้นที่ที่มีน้ำท่วมขัง เช่น นาข้าว เมื่อนาข้าวมีน้ำท่วมขังจะทำให้ดินขาดออกซิเจน แบคทีเรียบางชนิดจึงผลิตก๊าซมีเทนมากขึ้น ซึ่งก๊าซมีเทนนี้จะกักความร้อนได้ดีมาก ทำให้ภูมิอากาศของโลกร้อนขึ้น (Buchdahl et al., 2002)



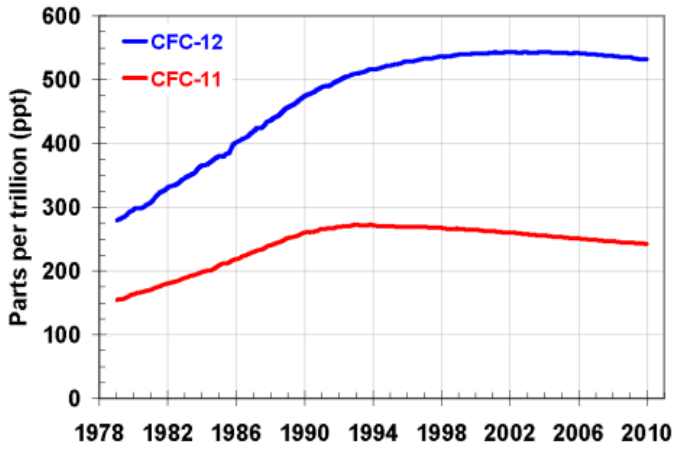
ภาพที่ 3 ปริมาณก๊าซมีเทนที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา
(http://www.esrl.noaa.gov/gmd/aggi/)

3) ก๊าซไนตรัสออกไซด์ (Nitrous oxide; N_2O) มีประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ในชั้นบรรยากาศโลก ก๊าซชนิดนี้เกิดจากอุตสาหกรรมที่ใช้กรดไนตริกในขบวนการผลิต รวมทั้งการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในการเกษตรกรรม เพราะขบวนการผลิตนี้จะปล่อยก๊าซชนิดนี้ขึ้นสู่ชั้นบรรยากาศ ถ้ามีการปล่อยก๊าซไนตรัสออกไซด์มากขึ้นจะส่งผลให้ความร้อนในชั้นบรรยากาศเพิ่มขึ้น (Buchdahl et al., 2002)



ภาพที่ 4 ปริมาณก๊าซไนตรัสออกไซด์ที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา (http://www.esrl.noaa.gov/gmd/aggi/)

4) ก๊าซคลอโรฟูโอโรคาร์บอน (Chlorofluorocarbon; CFC) ซึ่งมีอยู่ประมาณ 5% ซึ่งก๊าซประเภทนี้มีสารคลอโรฟูออโรคาร์บอนซึ่งมีอยู่ในตู้เย็น เครื่องปรับอากาศ สเปย์ น้ำยาดับเพลิง โดยสารตัวนี้ทำให้เกิดรูโหว่ในชั้นบรรยากาศทำให้รังสีอัลตราไวโอเลตส่องลงมาถึงพื้นโลกมากขึ้น ส่งผลให้โลกร้อนมากขึ้น (Buchdahl et al., 2002)

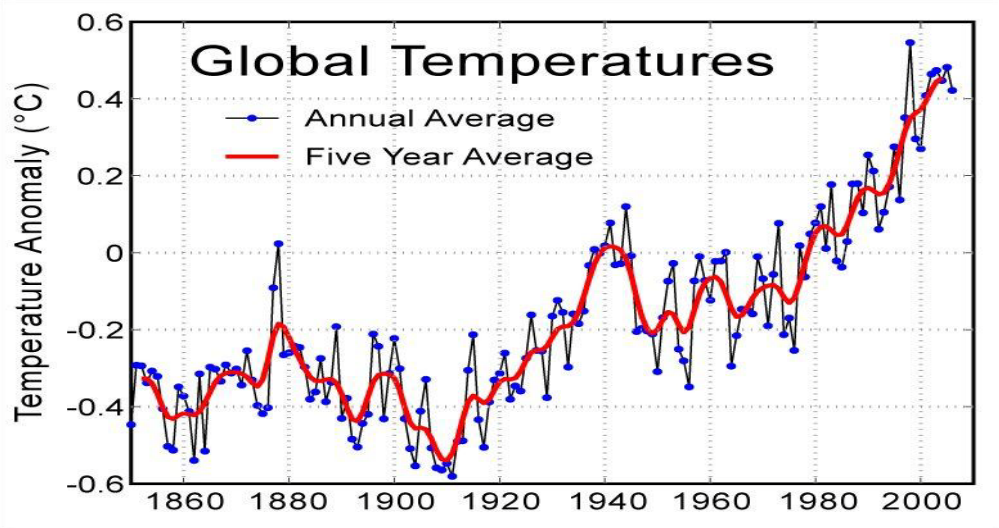


ภาพที่ 5 ปริมาณก๊าซคลอโรฟูโอโรคาร์บอน หรือ CFC ที่เพิ่มมมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา (http://www.esrl.noaa.gov/gmd/aggi/)

ก๊าซสำคัญเหล่านี้จะเป็นตัวการที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์เรือนกระจกในบรรยากาศชั้นบนของโลก (Khasnis & Nettleman, 2005) ซึ่งแท้จริงแล้วเป็นกระบวนการรักษาตัวเองของโลกโดยปกติหากเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ โลกจะกลับมาสู่สภาวะสมดุลได้ในเวลาไม่นานนัก ตัวอย่างเช่น เมื่อโลกที่ความร้อนมากขึ้นป่าดิบชื้นก็จะขยายตัวออกไปมากขึ้น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ก็จะถูกขับออกโดยพืช ทำให้ชั้นเหล่านี้บางลง โลกจึงปลดปล่อยความร้อนคืนไปได้มากขึ้น ดังนั้นโลกจึงเย็นลง วนเวียนเป็นวัฏจักรไปเรื่อย ๆ แต่เนื่องจากมนุษย์มีการผลิตก๊าซเรือนกระจกออกมามากเกินขีดความสามารถของโลกที่ฟื้นตัวได้ทัน (Buchdahl et al., 2002) นอกจากนี้ป่าไม้ยังถูกบุกรุกทำลายมากขึ้น สภาวะโลกร้อนจึงเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและรุนแรง

1.2 ผลกระทบจากสภาวะโลก

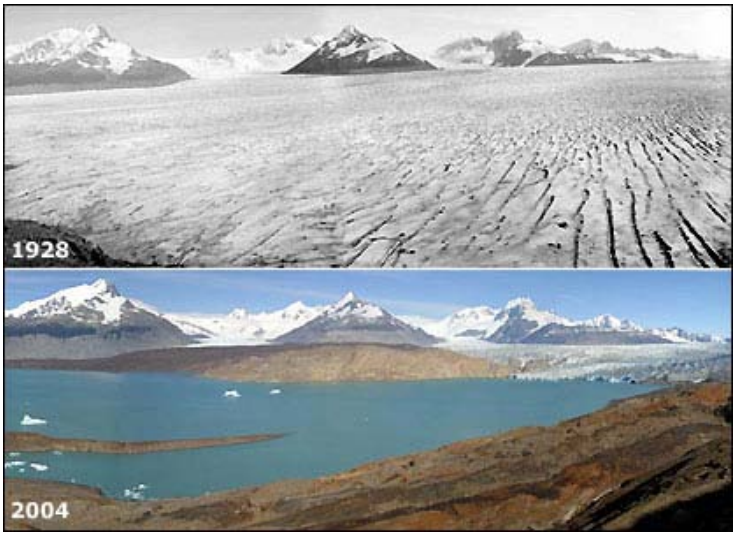
สภาวะโลกร้อนทำให้อุณหภูมิเฉลี่ยสูงขึ้น ซึ่งจากการเฝ้าติดตามความผันแปรของอุณหภูมิโลก พบว่าในระยะ 10 ปีที่ผ่านมา (พ.ศ.2539-2007) เป็นช่วงที่อุณหภูมิเฉลี่ยของโลกสูงที่สุด (Nordell, 2003; Green & Armstrong, 2007) และคาดว่าอุณหภูมิเฉลี่ยของโลกจะเพิ่มสูงขึ้น 1.4 – 5.8 องศาเซลเซียส ภายในปี ค.ศ. 2001 (Khasnis & Nettleman, 2005; Yergeau, 2008)



ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเฉลี่ยของโลกในช่วงระยะเวลาระหว่างปี ค.ศ. 1860 – 2000 (Abrigo, 2008)

1.3 สภาวะโลกร้อนมีผลกระทบทั่วโลก

การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิเฉลี่ยทั่วโลกทำให้ธารน้ำแข็งทั่วโลกลดน้อยลงเนื่องจากมีสัดส่วนของการละลายสุทธิในช่วงฤดูร้อนมากกว่าการสร้างเพิ่มขึ้นใหม่ในช่วงฤดูหนาว การละลายของธารน้ำแข็งหลายแห่งทั่วโลกจะทำให้เกิดผลกระทบมหาศาลต่อสมดุลของทรัพยากร ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์จำนวนมาก (Hodges, 2007)



ภาพที่ 7 การละลายของธารน้ำแข็ง Uppsala ที่ประเทศอาร์เจนตินา (http://news.bbc.co.uk)

ภาพที่ 8 การละลายของธารน้ำแข็ง Pasterze ที่ประเทศออสเตรีย
(www.worldviewofglobalwarming.org)

สภาวะโลกร้อนทำให้สภาพภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งคาดว่าระดับน้ำทะเลจะสูงขึ้น 20-25 เซนติเมตร ในระยะเวลา 10-15 ปีข้างหน้า มีผลทำให้ระดับน้ำทะเลเฉลี่ยสูงขึ้นซึ่งมีผลทำให้เกิดน้ำท่วมบริเวณชายฝั่งทะเลและพื้นที่ราบลุ่มริมฝั่งได้ เป็นผลทำให้พื้นที่ชายฝั่งลดลง และเมื่ออุณหภูมิโลกเพิ่มขึ้นจะเป็นต้นเหตุของความแห้งแล้งที่รุนแรง เกิดอุทกภัย วาตภัย แผ่นดินถล่ม (Hodges, 2007) เกิดภัยธรรมชาติแปลก ๆ อย่างที่ไม่เคยเกิดมาก่อน และเป็นสาเหตุทำให้ระบบนิเวศวิทยาเปลี่ยน นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิเฉลี่ยทั่วโลกยังมีผลต่อสภาพภูมิอากาศเกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำฝนทั่วโลกทำให้บางพื้นที่ได้รับน้ำฝนเพิ่มมากขึ้นและในอีกหลายพื้นที่เผชิญกับสภาพความแห้งแล้งที่ไม่เคยเกิดขึ้นมาก่อน และเมื่ออุณหภูมิเฉลี่ยของโลกสูงขึ้นความกดอากาศเปลี่ยนแปลง ก่อให้เกิดพายุเฮอริเคนที่มีความรุนแรงมากขึ้น เช่น พายุเฮอริเคน Katrina ที่ถล่มเมือง New Orleans ของสหรัฐอเมริกา (www.katnina.noaa.org) ซึ่งมีเกิดความเสียหายและส่งผลกระทบอย่างมากต่อมนุษย์

ภาพที่ 9 การเกิดพายุเฮอริเคน Katnina ทำให้เมือง New Orleans เสียหาย
(www.katnina.noaa.org)

สภาวะโลกร้อนมีผลกระทบต่อความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตและระบบนิเวศ สภาพภูมิอากาศกำหนดการกระจายของพืชและสัตว์ทั่วโลก พืชหลายชนิดสามารถเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้เฉพาะบริเวณที่มีอุณหภูมิและปริมาณน้ำฝนที่พอเหมาะเท่านั้น และสิ่งมีชีวิตทุกชนิดจะต้องปรับตัวให้เข้ากับสภาพภูมิอากาศใหม่ที่เปลี่ยนแปลงไปสิ่งมีชีวิตบางชนิดจะเจริญเติบโตได้ดีและขยายพันธุ์ได้มาก ในขณะที่อีกหลายชนิดอาจลดจำนวนลงและบางชนิดอาจสูญพันธุ์ สัตว์หลายชนิดอาจอพยพไปยังบริเวณที่มีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสม แต่อีกหลายชนิดไม่สามารถอพยพได้ (Karvonen, Rintamaki, Jokela, & Valtonen, 2010)

การเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรของสิ่งมีชีวิตจะมีผลกระทบทำให้องค์ประกอบของระบบนิเวศและห่วงโซ่อาหารเปลี่ยนแปลง การละลายของน้ำแข็งที่ขั้วโลกเหนือมีผลกระทบโดยตรงต่อทั้งสัตว์และมนุษย์ เช่น การละลายของน้ำแข็งขั้วโลกเหนือมีผลกระทบต่อหมีขาวที่ต้องว่ายน้ำไปหาอาหารเป็นระยะทางที่ไกลมากกว่าเดิมและทำให้มนุษย์เสี่ยงชีวิตมากขึ้นในการดำรงชีวิตที่ขั้วโลก การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำทะเลทำให้สัตว์หลายชนิดมีการเคลื่อนย้ายถิ่นฐาน อุณหภูมิมีอิทธิพลโดยตรงต่อแมทอลิซึมและการเจริญเติบโตของสัตว์ และยังมีอิทธิพลโดยอ้อมต่อห่วงโซ่อาหารทั้งในด้านปริมาณผู้ล่า เหยื่อ และอาหาร นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีอิทธิพลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลวางไข่ และอัตราการอยู่รอด เป็นต้น (Karvonen et al., 2010)

1.4 สภาวะโลกร้อนที่มีผลกระทบต่อระดับน้ำทะเลและพื้นที่ชายฝั่ง

สภาวะโลกร้อนที่มีผลกระทบต่อระดับน้ำทะเลและพื้นที่ชายฝั่งที่เห็นได้ชัดเจน ยกตัวอย่างเช่น การเพิ่มขึ้นของน้ำทะเล การละลายของภูเขาน้ำแข็งขั้วโลก และการกัดเซาะชายฝั่งทะเล เป็นต้น สิ่งเหล่านี้เป็นผลมาจากสภาวะของโลกที่เปลี่ยนแปลงไป โดยจากการสำรวจของนักวิทยาศาสตร์และผู้เชี่ยวชาญด้านสภาวะโลกร้อนได้มีการคาดการณ์ว่าภายในปี พ.ศ. 2563 ระดับน้ำในทะเลจะเพิ่มสูงขึ้นประมาณ 50 เซนติเมตร โดยสภาวะโลกร้อนได้ทำให้การละลายของภูเขาน้ำแข็งขั้วโลกเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งทำให้เกิดการขยายตัวของผิวน้ำทะเลและการกัดเซาะชายฝั่งทะเล ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อมนุษย์ที่มีการตั้งถิ่นฐานบริเวณชายฝั่งทะเล เนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำทะเลทำให้เกิดการสูญเสียที่ดินทำกิน ยกตัวอย่างเช่น ประเทศสหรัฐอเมริกาได้สูญเสียพื้นที่เกาะเวลสเกท (Whale Skate) ในบริเวณหมู่เกาะฮาวายซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำทะเล เป็นต้น ผลกระทบต่าง ๆ เหล่านี้จะเห็นได้ชัดเจนกับประเทศที่มีอาณาเขตติดต่อกับทะเลและอยู่ต่ำกว่าระดับน้ำทะเล หรือมีภูมิประเทศเป็นเกาะจะได้รับผลกระทบอย่างรุนแรงจากสภาวะโลกร้อน (Office of Environmental Policy and Planning, 2000)

สำหรับประเทศไทย ชายฝั่งบริเวณอ่าวไทยได้รับผลกระทบจากการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำทะเล โดยบริเวณชายฝั่งที่ประสบปัญหารุนแรง คือ กรุงเทพมหานคร สมุทรปราการ ระยอง เพชรบุรี ลงไปถึงนราธิวาส บริเวณดังกล่าวกำลังถูกคลื่นกัดเซาะชายฝั่งทำให้บริเวณถิ่นที่อยู่อาศัยของประชาชนหายไปและต้องเคลื่อนย้ายบ้านเรือนหลายครั้ง ส่งผลกระทบต่อวิถีชีวิต การประกอบอาชีพประมงและการท่องเที่ยวเป็นอย่างมาก ทำให้สูญเสียรายได้จากกิจกรรมดังกล่าว และสิ้นเปลืองงบประมาณมหาศาลของประเทศในการป้องกันและฟื้นฟูสภาพ (Office of Environmental Policy and Planning, 2000)

1.5 สภาวะโลกร้อนที่มีผลกระทบต่อการเกิดภัยธรรมชาติ

ความแปรปรวนของสภาวะโลกที่มีผลมาจากการที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นพบได้มากขึ้นในปัจจุบัน เช่น การมีฤดูร้อนที่ยาวนานขึ้น การมีฤดูหนาวที่สั้นลง ความแปรปรวนของฤดูกาล เป็นต้น ซึ่งส่งผลต่อเนื่องไปถึงการเกิดภัยพิบัติทางธรรมชาติ ยกตัวอย่างเช่น การเกิดพายุเฮอร์ริเคนมิตช์ที่ทำให้ประชาชนในประเทศแถบแคริเบียนและอเมริกากลางเสียชีวิตกว่า 75,000 คน ในปี พ.ศ. 2541 นอกจากนั้นในปี พ.ศ. 2548 เฮอร์ริเคนแคทรีนาได้สร้างความเสียหายอย่างใหญ่หลวงมากที่สุดในประวัติศาสตร์ของประเทศสหรัฐอเมริกา รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงฤดูกาลอย่างผิดปกติในประเทศแถบยุโรป เช่น การหายไปของฤดูใบไม้ผลิแต่ข้ามไปเป็นฤดูร้อนที่ร้อนจัดเกินปกติ (ประกาย กิจธิคุณ, 2550) นอกจากนี้สำหรับประเทศไทยก็ได้รับผลกระทบจากภัยธรรมชาติ

เช่นเดียวกัน เช่น เหตุการณ์น้ำท่วม การเกิดโคลนถล่ม การเกิดฝนตกหนักติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน จนทำให้เกิดภาวะน้ำท่วมหนักในช่วงปี พ.ศ. 2549 (Office of Environmental Policy and Planning, 2000) รวมทั้งในปี พ.ศ. 2554 เป็นต้น

1.6 สภาวะโลกร้อนที่มีผลกระทบต่อมนุษย์

สภาวะโลกร้อนมีผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อมนุษย์ เช่นคลื่นความร้อนและช่วงอากาศหนาว น้ำท่วม ความแห้งแล้ง การเปลี่ยนแปลงของระบบนิเวศ การเกิดโรคระบาด แหล่งน้ำจืด และอาหาร เป็นต้น อุณหภูมิเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นมีแนวโน้มทำให้มีการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อบางชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่มีสัตว์เป็นพาหะ เช่นโรคมาลาเรีย ที่มียุงเป็นพาหะ เชื้อโรคที่เป็นสาเหตุ คือ โปรโตซัวในกลุ่ม Plasmodium ซึ่งแพร่ระบาดจากคนไปสู่คนโดยยุง และเชื่อว่าภูมิอากาศเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดขอบเขตการระบาดของโรคนี้ในทวีปแอฟริกา ดังนั้นอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากสภาวะโลกร้อนจะเหมาะสมต่อการเพิ่มพื้นที่การระบาดของโรคได้ นอกจากนี้โรคที่มีสาเหตุจากอาหารเป็นพิษและน้ำไม่สะอาดเช่น ท้องร่วง มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เพราะอุณหภูมิที่สูงเอื้อให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีมากยิ่งขึ้น (Khasnis & Nettleman, 2005)

2. แบคทีเรียทางทะเล (Marine bacteria)

แบคทีเรียทางทะเลส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มพิกโคแพลงก์ตอน (Picoplankton) เป็นแพลงก์ตอนที่มีขนาด 0.2-2.0 ไมโครเมตร แบคทีเรียทางทะเลที่พบส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มที่ชอบเค็ม (Halophilic bacteria; Rheinheimer, 1980) และชอบอุณหภูมิต่ำ (Psychrophilic bacteria; Macleod, 1965) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำระหว่าง 0-4 องศาเซลเซียส โดยปกติแล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 18-22 องศาเซลเซียส (Stokes, 1962) และการเจริญของแบคทีเรียในทะเลพบว่ามีอัตราการเจริญช้ากว่าแบคทีเรียในดิน (Zobell, 1946) แบคทีเรียในน้ำทะเลจะมีชนิดและปริมาณแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเค็ม ความลึก พีเอช สารอาหารในน้ำทะเล เป็นต้น

ในน้ำทะเลตามธรรมชาติทั่วไปสามารถตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มที่ย่อยสลายหรือกลุ่มเฮทเทอโรโทรป (Heterotroph) ได้แม้บริเวณใจกลางมหาสมุทรซึ่งมีสารอาหารอยู่ในปริมาณน้อยมากก็สามารถพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ ซึ่งในน้ำทะเลระดับลึก ๆ จะพบแบคทีเรียได้น้อยมาก เนื่องจากบริเวณเหล่านี้ขาดสารอาหารที่เป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอนที่จำเป็นต่อการเจริญรวมทั้งเป็นบริเวณที่มีแรงดันของน้ำทะเลสูง โดยที่ระดับความลึกทุก ๆ 1 เมตร จะมีแรงดันเพิ่มขึ้น 0.1 บรรยากาศ (Zobell & Oppenheimer, 1950) ดังนั้นในท้องทะเลหรือมหาสมุทรที่ลึกที่สุดจะมีความ

ดันประมาณ 1,000 บรรยากาศ หรือ 15,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่ความดันบรรยากาศดังกล่าวนี้จุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ เรียกว่า Barophilic microorganism (Schmidt, Deming, Jumars, & Keil, 1998; Pascal, Dupuy, Mallet, Richard, & Niquil, 2008; Tamburini et al., 2009) ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์เป็นอย่างมาก ทั้งยังทำให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุกลับมาใช้ใหม่ได้ (Akagi, Taga, & Simidu, 1977) ปริมาณจุลินทรีย์มีความสำคัญกับปริมาณแร่ธาตุในแหล่งน้ำถ้าในแหล่งน้ำนั้นมีแร่ธาตุสูงปริมาณจุลินทรีย์ก็จะสูงตามไปด้วย การปนเปื้อนของแหล่งน้ำเนื่องจากการไหลเข้ามาของน้ำจากระบบบำบัดน้ำเสีย ท่อน้ำทิ้ง หรือของเสียที่เป็นสารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายได้จากชุมชน โรงแรม หรือโรงงานอุตสาหกรรม มักสามารถตรวจนับปริมาณแบคทีเรียได้ในปริมาณมากและบริเวณปากแม่น้ำซึ่งมีปริมาณแร่ธาตุสูงเนื่องจากดินตะกอน สารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ที่ถูกกระแสน้ำพัดพาตามแม่น้ำสายต่าง ๆ ลงสู่บริเวณปากแม่น้ำ ดังนั้นจะพบว่าบริเวณปากแม่น้ำมักจะมีปริมาณแบคทีเรียสูงกว่าน้ำชายฝั่งบริเวณอื่น ๆ (Akagi et al., 1977; Pascal et al., 2008; Tamburini et al., 2009)

แบคทีเรียในทะเลส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-negative) สามารถเคลื่อนที่ได้ (Zobell & Upham, 1942) และต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Aerobe) หรือสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) ได้แก่ *Pseudomonas* และ *Vibrio* ซึ่งเป็นแบคทีเรียสกุลที่เด่นในทะเล นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียสกุล *Flavobacterium*, *Spirillum*, *Alcaligenes*, *Hyphomicrobium*, *Cytophaga*, *Micrococus*, *Actinomycetes*, และ *Achromobacter* (Akagi et al., 1977; Zobell, 1946; Kriss, Mishustina, Mitskevich, & Zemtsova, 1967) ส่วนแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) ที่สามารถพบได้แก่ แบคทีเรียสุกล *Bacillus*, *Micrococcus* และ *Coryneforms* เป็นต้น (Ruiter, 1995; Eilers, Pernthaler, Glockner, & Amann, 2000) ซึ่งพบในดินตะกอนและแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Anaerobe) เช่น แบคทีเรียสกุล *Desulfovibrio* และแบคทีเรียกลุ่มเมทาโนเจน (Methanogens) ซึ่งพบในชั้นดินตะกอนลึก (Toffin, Webster, Weightman, Fry, & Prieur, 2004; Pascal et al., 2008) โดยบทบาทสำคัญของจุลินทรีย์ในทะเลมีดังนี้

1) การย่อยสลายสาร

แบคทีเรียในทะเลมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ โดยที่สารอินทรีย์ประมาณ 60% จะถูกย่อยสลายเป็นแร่ธาตุต่าง ๆ ส่วนอีก 40% จะเปลี่ยนเป็นสารประกอบของเซลล์จุลินทรีย์ สารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายได้เร็วได้แก่ กรดอะมิโนและคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างไม่

ซับซ้อน ส่วนไขมันและโพลีแซคคาไรด์ที่ซับซ้อนมาก ๆ จะถูกย่อยสลายช้า (Queric, Soltwedel, & Arntz, 2004)

2) การเปลี่ยนแปลงวัฏจักรสารในทะเล

แบคทีเรียในทะเลช่วยให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในวัฏจักรสารต่าง ๆ ที่สำคัญได้แก่ วัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen cycle; Fuhrman, Sleeter, Carlson, & Procton, 1989) แบคทีเรียในทะเลหลายชนิดสามารถตรึงก๊าซไนโตรเจน (N_2) ได้ โดยผลผลิตที่ได้คือแอมโมเนีย (NH_3) และจะถูกเปลี่ยนแปลงในกระบวนการไนทริฟิเคชั่น (Nitrification) นอกจากนี้แอมโมเนียที่ได้จะมีความสัมพันธ์กับวัฏจักรของคาร์บอน ในการถูกนำไปเป็นวัตถุดิบสังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ของไนโตรเจนและสารอนินทรีย์ต่าง ๆ สำหรับวัฏจักรซัลเฟอร์ (Sulfur cycle) มีแบคทีเรียในทะเลหลายชนิดที่สามารถย่อยสลายโปรตีนแล้วให้ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) นอกจากนี้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ของซัลเฟอร์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนก็จะให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ออกมาด้วย จากนั้นจะมีแบคทีเรียพวกที่เปลี่ยนไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นซัลเฟต (SO_4^{2-}) ในกระบวนการซัลเฟตรีดักชัน (Sulfate reduction) ส่วนแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้ก็จะใช้ไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์ด้วยแสงและให้ซัลเฟอร์ออกมา (Queric et al., 2004)

3) การก่อให้เกิดโรค

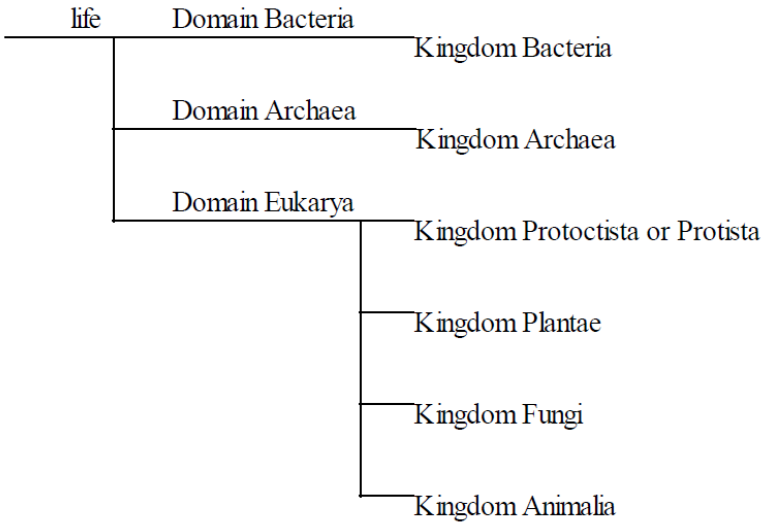
แบคทีเรียทางทะเลหลายชนิดสามารถก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ กับสัตว์ทะเลได้ เช่น *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *Mycobacterium marinum* และ *Francisella tularensis* ทำให้เกิดโรคกับปลา เป็นต้น นอกจากนี้แบคทีเรียทางทะเลบางชนิดยังอาศัยสัตว์ทะเลเป็นพาหะในการทำให้เกิดโรคมนุษย์ อาทิเช่น แบคทีเรียสกุล *Vibrio* (*V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* และ *V. cholerae* 01 เป็นต้น), *Staphylococcus aureus* (Leamaster, Walsh, Brock, & Fujioka, 1997; Nodoluha & Westhoff, 1997), *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* และ *A. hydrophila* เป็นต้น (Jaksic, Uhitil, Petrak, Bazulic, & Karolyi, 2002; Hansen, 2005)

3. การตรวจหาแบคทีเรียด้วยวิธีทางอณูพันธุศาสตร์

การจัดจำแนกแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปที่ผ่านมานั้นจะทำการจัดจำแนกแบคทีเรียด้วยวิธีการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2551; 2552, Buchanan et al., 1974; Krieg & Holt, 1984; Holt & Krieg, 1989; Holt, Krieg, Sneath, Staley, & Williams, 1994)

ประกอบกับการจัดจำแนกแบคทีเรียโดยใช้ลักษณะพื้นฐานในการจัดจำแนกร่วมด้วย เช่น โครงสร้างของเซลล์ ขบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ หรือความแตกต่างขององค์ประกอบของเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ กรดไขมัน รงควัตถุ แอนติเจน และควินโนน (Thomson & Bertram, 2001) เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันการจัดจำแนกแบคทีเรียมีวิธีการที่ทันสมัยมากยิ่งขึ้นซึ่งหนึ่งในวิธีการนั้นก็คือการใช้วิธีการทางอณูพันธุศาสตร์ในการจัดจำแนกชนิด การจัดกลุ่ม ตรวจหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต เป็นต้น ในการใช้ข้อมูลระดับโมเลกุลที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วนั้นทำให้จำนวนข้อมูลของจีโนมในการจำแนกแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงและการขยายตัวตามไปด้วย (Rappe & Giovannoni, 2003; Doolittle, 2005)

การจัดหมวดหมู่และจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียในระดับโมเลกุลที่เพิ่มมากขึ้นจำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือและวิธีการที่ซับซ้อนที่เกี่ยวกับดีเอ็นเอ เช่น ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction: PCR) ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความจำเพาะและรวดเร็วมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการจัดจำแนกแบบดั้งเดิม (Louie, Louie, & Simor, 2000) โดย Carl R. Woese ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับอาร์เอ็นเอและได้แบ่งสิ่งมีชีวิตกลุ่มโพรคาริโอตออกเป็นสองกลุ่ม (Domain) คือ ยูแบคทีเรีย (Eubacteria) และอาร์เคียแบคทีเรีย (Archaebacteria) ต่อมายูแบคทีเรียได้ถูกเรียกว่า แบคทีเรีย (Bacteria) และอาร์เคียแบคทีเรียได้ถูกเรียกว่า อาร์เคีย (Archaea) ซึ่งมีวิวัฒนาการเป็นอิสระจากบรรพบุรุษ และเมื่อพิจารณาถึงลำดับความใกล้ชิดระหว่างอาร์เคียและสิ่งมีชีวิตกลุ่มยูคาริโอต (Eukarya) พบว่ามีความใกล้ชิดกันมากกว่าแบคทีเรีย ซึ่งในปี ค.ศ. 1990 Woese ได้เสนอให้มีการจัดอนุกรมวิธานที่เรียกว่า Domain และถูกเสนอในการจัดลำดับในตำแหน่งที่สูงสุด (Woese, Kandler, & Wheelis, 1990; Dagan, Roettger, Bryant, & Martin, 2010) และมีการผสมผสานกันระหว่างการจัดลำดับอนุกรมวิธานสิ่งมีชีวิตระหว่างระบบดังเดิม (5 อาณาจักร) และระบบใหม่ (3 Domain) ซึ่งในปัจจุบันทั้งแบคทีเรีย อาร์เคีย และสิ่งมีชีวิตกลุ่มยูคาริโอต ถูกนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกสิ่งมีชีวิต (Woese et al., 1990) และต่อมาได้มีการเรียกให้เป็นมาตรฐานเดียวกันโดยการเรียกว่า 6 อาณาจักร (ภาพที่ 10) ซึ่งใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับนักจุลชีววิทยาในปัจจุบัน (Gupta, 2000)



ภาพที่ 10 การจัดลำดับอนุกรมวิธานของสิ่งมีชีวิตออกเป็น 3 กลุ่ม (Woese et al., 1990)

และในการศึกษาครั้งนี้ขอกล่าวถึงหลักการของวิธีการที่ใช้ตรวจหาแบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ ได้แก่ ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction: PCR) และเทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) ซึ่งในปัจจุบันเป็นวิธีการที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในงานด้านจุลชีววิทยา ดังนี้

1) ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction: PCR)

เป็นขบวนการสังเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอในหลอดทดลอง ซึ่งขบวนการนี้เลียนแบบขบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิต ผู้คิดค้นเทคนิคพีซีอาร์ คือ Kary Mullis (Bartlett & Stirling, 2003) พีซีอาร์ประกอบไปด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

a) การแยกสายดีเอ็นเอเกลียวคู่ออกจากกัน (Denaturation) ใช้อุณหภูมิ ประมาณ 94 องศาเซลเซียส เมื่อเริ่มต้นดีเอ็นเอแม่แบบ จะอยู่ในลักษณะที่เป็นเกลียวคู่ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิถึงประมาณ 94 องศาเซลเซียส จะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบสของดีเอ็นเอถูกทำลาย ทำให้เส้นดีเอ็นเอแยกออกจากกัน โดยขั้นตอนนี้จะแตกต่างจากการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในธรรมชาติ คือ ในสิ่งมีชีวิตจะมีเอนไซม์เฮลิเคส (Helicase) ช่วยในการแยกสายและคลายเกลียวดีเอ็นเอ (Mandel & Marmur, 1968)

b) การจับของไพร์เมอร์กับดีเอ็นเอแม่แบบ (Annealing) ใช้อุณหภูมิประมาณ 40-62 องศาเซลเซียส เมื่อแยกสายดีเอ็นเอออกจากกันแล้ว จะลดอุณหภูมิลงเหลือ 40-62 องศาเซลเซียส เพื่อให้ดีเอ็นเอสังเคราะห์ขนาดสั้นประมาณ 15-25 เบส ที่เรียกว่า ไพร์เมอร์ (Primer) เข้ามาจับ

บริเวณที่มีลำดับเบสคู่สมกัน ในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ไม่สามารถที่จะเริ่มจากศูนย์ได้เนื่องจากเอ็นไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอร์เรส (DNA polymerase) ต้องการปลาย -OH ทางด้าน 3' เพื่อนำนิวคลีโอไทด์ตัวต่อมาต่อ ซึ่งในสิ่งมีชีวิตจะมีเอ็นไซม์ที่มีชื่อว่า ไพรเมส (Primase) เป็นตัวสร้างอาร์เอ็นเอไพรเมอร์ขึ้น (Rychlik, Spencer, & Rhoads, 1990)

c) การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ต่อจากไพร์เมอร์ (Extension) ใช้อุณหภูมิประมาณ 72-80 องศาเซลเซียส (Chien, Edgar, & Trela, 1976) ในขั้นตอนนี้จะเป็นการสร้างสายดีเอ็นเอต่อจากไพร์เมอร์ โดยอุณหภูมิที่ใช้จะพอเหมาะกับการทำงานของ *Taq* DNA polymerase

2) เทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) เป็นเทคนิคใช้แยกความแตกต่างของดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) และโปรตีน (Protein) ด้วยกระแสไฟฟ้า (Creighton, 1999)โดยอาศัยตัวกลางเป็นอะคริละไมด์เจล (Acrylamide gel) โดยจะแยกโมเลกุลของดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสต่างกันได้แม้ว่าขนาดความยาวของดีเอ็นเอจะเท่ากัน ซึ่งจะอาศัยความแตกต่างของความเข้มข้นของสาร (ยูเรียและฟอร์มาไมด์; Ruamkuson & Ketudat-Cairns, 2009) ที่มีคุณสมบัติในการแยกสายดีเอ็นเอ (Denaturing) ที่มีสัดส่วนความเข้มข้นของสาร (Gradient) จากส่วนบนของเจลที่มีความเข้มข้นน้อยไปส่วนล่างของเจลที่มีความเข้มข้นมาก รวมไปถึงการใช้อุณหภูมิสูงในการทำลายพันธะระหว่างคู่เบส G-C ซึ่งเป็นการจับกันโดยใช้พันธะที่เหนี่ยวแน่น ซึ่งความเข้มข้นหรือปริมาณคู่เบส G-C ที่มีในดีเอ็นเอแต่ละคู่ที่แตกต่างกันนี้ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ในตัวกลางดังที่กล่าวมาข้างต้นแตกต่างกัน จึงสามารถมองเห็นรูปแบบของแถบดีเอ็นเอ (DNA pattern) ที่ปรากฏบนเจลแตกต่างกัน (Ferris, Muyzer, & Ward, 1996) ดังนั้นดีจีจีอีจึงเป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถแยกชนิดของสิ่งมีชีวิตที่สนใจได้ แม้สิ่งมีชีวิตดังกล่าวจะมีลำดับเบสต่างกันเพียงหนึ่งตำแหน่งแต่มีขนาดของชิ้นดีเอ็นเอเท่ากันก็ตาม (Muyzer, Waal, & Uitterlinden, 1993) นอกจากนี้ยังสามารถตัดแถบดีเอ็นเอที่สนใจไปทำการวิเคราะห์หาลำดับเบสเพื่อใช้ศึกษาในเชิงลึกต่อไปได้

คุณภาพของดีจีจีอีขึ้นอยู่กับคุณภาพของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR product) ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ในส่วนที่ต้องการศึกษา โดยผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้เป็นดีเอ็นเอที่มีความบริสุทธิ์ มีขนาดที่เหมาะสมและมีปริมาณที่เพียงพอ การศึกษาปริมาณแบคทีเรียโดยใช้เทคนิคดีจีจีอีเริ่มขึ้นจากการศึกษาจุลินทรีย์ในดิน (Muyzer et al., 1993) ต่อมาได้มีการประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ในด้านต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย ซึ่งเทคนิคนี้สามารถใช้ในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงและความแตกต่างของกลุ่มจุลินทรีย์ได้ (Sandaa, Brunvold, Magnesen, & Bergh, 2003)

นอกจากวิธีการที่นำมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณู-พันธุศาสตร์แล้วนั้นก็มีเครื่องมือที่มีความสำคัญอีกอย่างหนึ่งที่เรียกว่า เครื่องหมายโมเลกุล (Molecular marker) คือ ชิ้นส่วนของลำดับดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับจีโนม ซึ่งถูกนำมาใช้ในการจัดจำแนก โดยเฉพาะอย่างยิ่งลำดับดีเอ็นเอ ซึ่งในปัจจุบันมีการขยายตัวของการวิจัยทางพันธุกรรมและการจัดจำแนกแบคทีเรีย จึงทำให้เครื่องหมายโมเลกุลเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรีย ซึ่งมีบทบาท ที่สำคัญทางด้านคลินิกวิทยา ด้านการแพทย์ และอุตสาหกรรมอาหาร โดยเครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย ได้แก่ ยีน 16S rRNA, 23S rRNA, *rpo*B, *gyr*B, *dna*K, *dsra*B, *amo*B, *mip*, *hor*A, *hit*AM , *rec*A, *ica* , *frc*, *oxc*, ISR และ IS256 เป็นต้น (Liu, Li, Khan, & Zhu, 2012)

ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เครื่องหมายโมเลกุล (Molecular marker) คือ16S rRNA ในการตรวจสอบวิเคราะห์ดีเอ็นเอของแบคทีเรียในการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียซึ่งเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่นิยมตรวจสอบตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ยีน 16S rRNA เป็น mRNA ที่มีเพียงชุดเดียวในจีโนมของแบคทีเรีย พบในแบคทีเรียทุกชนิด ซึ่งยีน 16S rRNA มีขนาดประมาณ 1,541 นิวคลีโอไทด์เป็นองค์ประกอบหลักของ Small subunit (30S) โดยประกอบด้วย 16S rRNA และโปรตีนจำนวน 21 ชนิด (Patel, 2001; Janda & Abbott, 2007) ยีน 16S rRNA เป็นดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ดีในการใช้ศึกษาวิวัฒนาการและความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตเนื่องจากเป็นโมเลกุลที่มีหน้าที่แน่นอนในสิ่งมีชีวิตโดยการผลิตโปรตีนชนิดเดิมเสมอเพื่อความอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตนั้น มีการกระจายตัวของโมเลกุลนี้อย่างกว้างขวางนิยมใช้จัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับความคล้ายกันของลำดับเบส 16S rRNA gene แต่อย่างไรก็ตามในด้านการปฏิบัติก็ยังคงต้องใช้วิธีการดั้งเดิม เช่น สัณฐานวิทยา การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และการทดสอบกับสิ่งมีชีวิต (Bioassay) ประกอบกันไปจะเป็นการกลั่นกรองในเบื้องต้นและลดจำนวนซ้ำของตัวอย่างที่จะตรวจวิเคราะห์ได้ (คำรพ ทองธวัช, 2553; Patel, 2001; Janda & Abbott, 2007)

4. รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

Paz et al. (2007) รายงานว่าในปี ค.ศ. 1996 พบการระบาดโรคซึ่งไม่สามารถอธิบายได้โดยโรคที่ระบาดนั้นมีความสำคัญต่อระบบการติดเชื้อซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ *Vibrio vulnificus* ในคนงานตลาดปลาอิสราเอล ซึ่งต้นกำเนิดของโรคติดเชื้อนี้ยังไม่มีความชัดเจนมากนักและเหตุผลหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ของการระบาดครั้งนี้อาจมีความเชื่อมโยงกันระหว่างการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศและการระบาดของโรค จากการตรวจสอบข้อมูลของอุตุนิยมวิทยาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1981-

1998 รายงานว่าการระบาดของ *V. vulnificus* ซึ่งตั้งอยู่ในบริเวณของอุตสาหกรรมฟาร์มปลา พบว่าในช่วง 40 ปีที่ผ่านมา ในปี ค.ศ. 1996-1998 ในช่วงฤดูร้อนพบว่ามีอุณหภูมิสูงที่สุดที่เคยบันทึกในประเทศอิสราเอล นอกจากนี้ยังพบว่ามีอุณหภูมิเฉลี่ยเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อเทียบกับในฤดูร้อนในระยะเวลา 18 ปีที่ผ่านมา ซึ่งการบันทึกอุณหภูมิในช่วงฤดูร้อน ในปี ค.ศ. 1996 กับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างค่าอุณหภูมิและวันที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นนี้เกิดขึ้น 25-30 วันหลังจากที่สภาพความร้อนสูงมากในปี ค.ศ. 1996 ในฤดูร้อน และ 3 สัปดาห์ในฤดูร้อนในปี ค.ศ. 1997 ขณะที่ปี ค.ศ. 1998 เกิดขึ้นน้อยกว่าหนึ่งสัปดาห์ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการตรวจพบค่าของอุณหภูมิในแต่ละในปี ค.ศ. 1996 ในช่วงฤดูร้อนมีความสอดคล้องกับการระบาดของโรค ซึ่งจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิของน้ำที่สูงขึ้นอาจมีผลต่อระบบนิเวศของพื้นที่ที่ใช้ในการศึกษาและการระบาดของโรคที่เป็นผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศโลกนั่นเอง

Colwell (1996) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสภาพภูมิอากาศของโลกและโรคติดเชื้ออหิวาซึ่งหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ชี้ให้เห็นว่าโรคดังกล่าวเป็นโรคติดเชื้อที่มาจากน้ำ อย่างไรก็ตามวิธีมาตรฐานสำหรับการคัดแยกแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคอหิวาจากตัวอย่างในสิ่งแวดล้อม รวมถึงการระบาดโดยทั่วไปไม่ประสบความสำเร็จ *Vibrio cholera* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในทะเลต้องการเกลือในการเจริญ แต่จะไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเจริญ ความสัมพันธ์ระหว่าง *V. cholerae* กับแพลงก์ตอน Copepods โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าแหล่งกำเนิดของอหิวาตกโรคในสิ่งแวดล้อมนั้นสามารถเกิดขึ้นได้เป็นระยะ ๆ และความผิดปกติของการระบาดของโรคอหิวาตกโรค ซึ่งในระดับโลกการระบาดของอหิวาตกโรคในปัจจุบันมีความเกี่ยวข้องกับสภาพภูมิอากาศและเหตุการณ์สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนไป

Rose et al. (2001) การปรากฏของจุลินทรีย์ก่อโรคจากน้ำและอาหารนั้นสามารถพบได้จากน้ำดื่ม (ซึ่งมีสัมพันธ์กับการปนเปื้อนด้วยอุจจาระ) อาหารทะเล (เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย สารพิษ หรือน้ำเสียจากกระบวนการบำบัด) หรือพืชผักสด (การชลประทานหรือกระบวนการที่น้ำมีการปนเปื้อน) สภาพอากาศมีอิทธิพลต่อการเคลื่อนย้ายและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ผ่านทางน้ำฝนและการไหลของน้ำและการมีชีวิตรอดและหรือการเจริญ เนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น อุณหภูมิ เป็นต้น อย่างไรก็ตามถ้ามีการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิมิอากาศที่เพิ่มสูงขึ้นในปัจจุบันและอนาคตยังขาดการป้องกัน เช่นการป้องการแหล่งต้นน้ำ โครงสร้างภายในและระบบการระบายน้ำฝนอาจจะเพิ่มความเสี่ยงต่อเหตุการณ์ที่เกิดการปนเปื้อนได้ จากความรู้เกี่ยวกับกระบวนการการแพร่กระจายและความสามารถของจุลินทรีย์ก่อโรคที่สัมพันธ์กับปริมาณน้ำฝนและการละลายของหิมะ ซึ่งเป็นจุดสำคัญในการทำนายความเสี่ยงจากการเปลี่ยนแปลงในฤดู

การที่มีความแปรปรวน แม้ว่าการศึกษาในปัจจุบันมีการบอกถึงความเชื่อมโยงระหว่างความแปรปรวนของสภาพภูมิอากาศและการอุบัติขึ้นของจุลินทรีย์ในแหล่งน้ำ แต่ยังต้องศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์กับปัจจัยอื่น ๆ เพิ่มอีกในอนาคต เช่น ในสิ่งแวดล้อมทางทะเลยังไม่มีการศึกษามากนักและยังไม่มีความเพียงพอสำหรับการอธิบายถึงการแปรปรวนของสภาพภูมิอากาศที่มีผลกระทบต่อสุขภาพรวมถึงปัจจัยอื่น ๆ ที่มีความเกี่ยวข้อง อาทิเช่น การทำการประมงที่มากเกินไป สัตว์ต่างถิ่น และการเพิ่มสูงขึ้นของระดับน้ำทะเล การทำการตรวจติดตามในระดับสูงซึ่งมีความจำเป็นต่อการเตือนภัยที่ดีและความสามารถในการป้องกันที่มีศักยภาพต่อไป

Motes et al. (1998) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิและความเค็มต่อการระบาดของ *Vibrio vulnificus* ซึ่งจากการศึกษาดังกล่าวพบว่าน้ำและหอยนางรมมีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อทางอาหารจาก *V. vulnificus* ได้ทำการศึกษาตั้งแต่เดือนกรกฎาคม ค.ศ. 1994 ถึงกันยายน ค.ศ. 1995 โดยสองบริเวณที่ทำการศึกษาได้แก่ Black Bay และ Apalachicola Bay ซึ่งเป็นแหล่งที่มีการเลี้ยงหอยนางรมมากที่สุดและยังตรวจพบว่าน่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการระบาดของ *V. vulnificus* หอยนางรมในพื้นที่ทั้งหมดที่ทำการศึกษาพบว่าการแพร่กระจายของ *V. vulnificus* ตามฤดูกาลมีความคล้ายคลึงกันและมีความสม่ำเสมอ (MPN เท่ากับ 2,300 เซลล์ต่อกรัม) ซึ่งพบตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม จากนั้นลดลงในช่วงเดือนพฤศจิกายนและธันวาคม ลดลงเหลือ ≤ 10 ต่อกรัม และยังสามารถพบตั้งแต่เดือนมกราคมถึงกลางเดือนมีนาคมและจะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นในช่วงปลายเดือนมีนาคมและเมษายนในช่วงฤดูร้อน การเกิดอุทกภัยในช่วงปลายฤดูร้อนซึ่งเป็นสาเหตุให้ระดับความเค็มลดลงในบริเวณปากแม่น้ำ North Carolina ซึ่งทำให้ปริมาณของ *V. vulnificus* เพิ่มขึ้น และยังพบว่าปริมาณของ *V. vulnificus* ที่เพิ่มขึ้นนั้นขึ้นกับอุณหภูมิของน้ำที่เพิ่มขึ้นถึง 26 องศาเซลเซียสและคงที่อยู่ที่อุณหภูมิสูง ซึ่งปริมาณ *V. vulnificus* ที่พบมากจะมีค่าเท่ากับ $>10^3$ CFU/g จะพบในหอยนางรมที่ระดับความเค็มอยู่ระหว่าง 5 ถึง 25 ส่วนในพันส่วน และการพบปริมาณ *V. vulnificus* ที่ต่ำจะมีค่าเท่ากับ $<10^2$ CFU/g ซึ่งจะพบในระดับความเค็มมากกว่า 28 ส่วนในพันส่วน

Lipp, Huq, and Colwell (2002) ได้รายงานเกี่ยวกับผลกระทบของสภาวะโลกร้อนต่อโรคติดเชื้อ ซึ่งบทบาทของสภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศในการเกิดโรคการเปลี่ยนแปลงได้กลายเป็นเรื่องที่น่าสนใจเป็นอย่างมากต่อนักจุลชีววิทยา, ด้านการแพทย์, ระบาดวิทยา และนักนิเวศวิทยา โดยปัญหาที่พบ ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของการดื้อต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียก่อโรค, การเกิดโรคติดเชื้อ และ/หรือการเกิดโรคอุบัติซ้ำของโรคติดเชื้อในทั่วโลกเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ซึ่งโรคอหิวาตกโรคเป็นโรคที่มีความสำคัญที่เกิดจาก *Vibrio cholerae* และได้ถูกนำไปวิเคราะห์เกี่ยวกับบทบาทของสภาพภูมิอากาศที่มีผลต่อการเกิดโรคติดเชื้อ

ควบคู่กับการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ก่อโรค และยังพบว่าประชากรของ *V. cholerae* ในสภาพแวดล้อมที่จะขึ้นอยู่กับปัจจัยแวดล้อม เช่น อุณหภูมิของน้ำ, ความเค็ม, และ Copepods นอกจากนี้รูปแบบของอหิวาตกโรคในสิ่งแวดล้อมไปสู่มนุษย์เกี่ยวข้องกับความแปรปรวนของสภาพภูมิอากาศซึ่งในการศึกษาครั้งนี้จะส่งผลให้การพัฒนาวิธีการที่ซับซ้อนมากขึ้นสำหรับการทำนายการระบาดของโรคนี้ในอนาคต

Mendelsohn and Dawson (2008) ได้ทำการสรุปได้ว่าผลกระทบของสภาพภูมิอากาศและสิ่งแวดล้อม ในด้านต่างๆ เช่น ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิพื้นผิวทะเล ระดับความสูงของน้ำทะเลและปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ทำการรวบรวมข้อมูลจากดาวเทียมและจากการวัดในภาคพื้นดินทำให้เกิดการระบาดอย่างรวดเร็วของโรคอหิวาตกโรคในเมือง KwaZulu – Natal ประเทศแอฟริกาใต้ในช่วงปี ค.ศ. 2000-2001 โดยพบว่าอุณหภูมิพื้นผิวทะเลและปริมาณน้ำฝนมีผลกระทบที่มากที่สุด รองลงมาคือ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ส่วนระดับความสูงของน้ำทะเลมีผลต่อการระบาดของโรคอหิวาตกโรคน้อยที่สุด ดังนั้นจากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้เกิดการตระหนักถึงการพัฒนาข้อมูลของกลไกการเชื่อมโยงระหว่างแหล่งสะสมของโรคอหิวาตกโรคตามชายฝั่งทะเลและระบบการสำรวจสภาวะภูมิอากาศในระดับภูมิภาคในอนาคตเพื่อทำให้สามารถเฝ้าระวังการระบาดของโรคนี้ในภูมิภาคและทำให้สามารถคาดการณ์ในด้านระบาดวิทยาก่อนที่จะมีการเกิดโรคระบาดขึ้นซึ่งจะทำให้มีผลต่อการพัฒนาระบบเตือนภัยและเตรียมความพร้อมเมื่อเกิดโรคระบาดของโรคนี้ได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพต่อไป

Martinez-Urtaza et al. (2010) ได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของความแปรปรวนของสภาพภูมิอากาศต่อการเจ็บป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio vulnificus* จากการบริโภคอาหารทะเล โดยทำการเก็บข้อมูลทางสภาวะภูมิอากาศจากพื้นที่ที่ทำการศึกษาซึ่งเป็นแหล่งที่ทำการผลิตอาหารทะเลร่วมกับการเกิดโรคระบาดที่เกิดเนื่องจาก *V. parahaemolyticus* ในประเทศเปรูและมลรัฐอลาสกา ประเทศสหรัฐอเมริกา ผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าการระบาดของโรคดังกล่าวน่าจะมีความสอดคล้องอย่างใกล้ชิดกับความผิดปกติของสภาพภูมิอากาศซึ่งนำมาสู่การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้ำทะเล รวมทั้งพบว่าการเจ็บป่วยที่เกิดจาก *V. vulnificus* น่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการบริโภคหอยนางรมที่เก็บเกี่ยวจากอ่าวเม็กซิโกในช่วงเดือนเมษายนและพฤศจิกายน ปีค.ศ. 1989-2008 ที่พบว่ามีอุณหภูมิของน้ำทะเลเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ตระหนักว่าความผิดปกติของสภาพภูมิอากาศได้มีการขยายตัวทั่วโลกและน่าจะมีผลต่อการระบาดของโรคในกลุ่มวิบริโอซิสที่เกิดจากแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอจึงทำให้ควรมีการปรับเปลี่ยนกระบวนการต่าง ๆ เพื่อเป็นการป้องกันและควบคุมการเกิดโรคระบาดจากแบคทีเรียที่อาจจะมีจำนวนที่เพิ่มขึ้นจากสภาวะโลกร้อนหรือสภาวะอากาศแปรปรวนนั่นเอง

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. ตัวอย่าง

1.1 ตัวอย่างน้ำทะเล จำนวน 8 ตัวอย่าง จากบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา

1.2 ดินตะกอน จำนวน 8 ตัวอย่าง จากบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา

หมายเหตุ: เก็บตัวอย่าง 1 ครั้งต่อเดือน ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2554 เป็นระยะเวลา 10 เดือน

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 Tryptic Soy Agar (TSA; Difco, สหรัฐอเมริกา)

2.2 Tryptic Soy Broth (TSB; Difco, สหรัฐอเมริกา)

2.3 Marine Agar (MA; Lab-Scan, ประเทศไทย)

3. สารเคมี

3.1 Oxidase reagent (ยี่ห้อ Bactidrop, สหรัฐอเมริกา)

3.2 Catalase reagent (H_2O_2; ยี่ห้อศิริบัญชา, ประเทศไทย)

3.3 Crystal violet solution

3.4 Safranin O solution

3.5 Gram's iodine solution

3.6 Gram's alcohol

3.7 0.85% Normal saline (ยี่ห้อ Ajax, ประเทศนิวซีแลนด์)

3.8 0.3% (w/v) Creatine solution (ยี่ห้อ Himedia, สาธารณรัฐอินเดีย)

3.9 Kovac's reagent

3.10 Methyl red reagent

3.11 5% (w/v) α-napthol reagent

3.12 40% (w/v) Potassium hydroxide (ยี่ห้อ Meurk, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

3.13 Tris (ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)

3.14 Urea (ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)

3.15 EDTA, Disodium salt, Dihydrate (ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)

3.16 Acry/Bis 37.5:1 (ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)

3.17 Sodium dodecyl sulphate (SDS; (ยี่ห้อ GE Healthcare, ราชอาณาจักรสวีเดน)

3.18 Ammonium persulfate (APS; ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)

3.19 TEMED (ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)

3.20 Agarose (ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)

3.21 Phenol (ยี่ห้อ Amresco, สหรัฐอเมริกา)

3.22 Iso-propanol

3.23 Ethyl alcohol

3.24 Chloroform

3.25 Ethidium bromide

4. รีเอเจนต์และสารเคมีสำหรับงานชีวโมเลกุล

4.1 10 mM dNTP mix (ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)

4.2 *Taq* DNA Polymerase (ประกอบด้วย 10X PCR reaction buffer, 50 mM $MgCl_2$ และเอนไซม์ *Taq* DNA Polymerase; ยี่ห้อ Vivantis, สหพันธรัฐมาเลเซีย)

4.3 ไพรเมอร์ (สังเคราะห์จากบริษัท Biodesign, ประเทศไทย; ดังแสดงในตารางที่ 1)

4.4 6X Loading buffer

4.5 8% Polyacrylamide

4.6 50X TAE buffer

ตารางที่ 1 ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา

ไพรเมอร์	ลำดับเบส (5′----3′)	วัตถุประสงค์	ขนาดของผลิตภัณฑ์ (คู่เบส)	อ้างอิง
ไพรเมอร์สำหรับการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้				
fD1	AGA-GTT-TGA-TCC-TGG-CTC-AG	เพิ่มปริมาณยีน 16 S rRNA `	~ 1,500	Weiburg, Barns, Pelletier, and Lane (1991)
rP2	ACG-GCT-ACC-TTG-TTA-CGA-CTT			
ไพรเมอร์สำหรับการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้				
338GC-F	CGC-CCG-CCG-CGC-GCG-GCG-GGC-GGG-GCG-GGG-GCA-CGG-GGG-GAC-TCC-TAC-GGG-AGG-CA	เพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ในขั้นตอนการทำ PCR ในข้อ 5.3	~ 200	Wongwilaiwalin et al. (2010)
518R	ATT-ACC-GCG-GCT-GCT-GG			
338GC-F-M13R	CAG-GAA-ACA-GCT-ATG-ACG-GGC-GGG-GCG-GGG-GCA-CGG-GGG-GAC-TCC-TAC-GGG-AGG-CA	เพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ที่ได้จากเจลหลังการทำ DGGE ในข้อ 5.4 และเป็น Sequencing primer	~ 200	Wongwilaiwalin et al. (2010)
518R-AT-M13F	GTA-AAA-CGA-CGG-CCA-GTA-AAT-AAA-ATA-AAA-ATG-TAA-AAA-AAT-TAC-CGC-GGC-TGC-TGG			

5. ชุดสำเร็จรูปสำหรับงานชีวโมเลกุล

5.1 ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป GF-1 Soil Sample DNA Extraction Kit (ยี่ห้อ Vivantis, ประเทศมาเลเซีย; ภาพที่ 11)

ภาพที่ 11 ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป GF-1 Soil Sample DNA Extraction Kit
(ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

5.2 ชุดทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์สำเร็จรูป (ยี่ห้อ Promega, ประเทศฝรั่งเศส; ภาพที่ 12)

ภาพที่ 12 ชุดทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์สำเร็จรูป (ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

6. อุปกรณ์

6.1 กระดาษกรอง ขนาดรูกรอง 0.2 ไมโครเมตร (ภาพที่ 13)

ภาพที่ 13 กระดาษกรอง ขนาดรูกรอง 0.2 ไมโครเมตร (ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

6.2 ขวดเก็บตัวอย่าง (ภาพที่ 14)

ภาพที่ 14 ขวดเก็บตัวอย่าง (ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

7. เครื่องมือ

7.1 เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge; ยี่ห้อ Eppendoff, รุ่น Centrifuge 5804R, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

7.2 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Microcentrifuge; ยี่ห้อ Sartorius, รุ่น Sigma 1-14, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

7.3 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator; ยี่ห้อ Memmert, รุ่น BE400, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

7.4 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave; ยี่ห้อ Tommy, รุ่น SS-325, ประเทศญี่ปุ่น)

7.5 เครื่องชั่งแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Mettler Toledo, รุ่น PG802-S, สมาพันธรัฐสวิส)

7.6 เครื่องปั่นผสม (Vortex mixer; Vortex-2 Genie, สหรัฐอเมริกา)

7.7 เครื่องปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump; Gast รุ่น 0211-V45F-G230CX, สหรัฐอเมริกา)

7.8 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow; Super clean VC150, กรุงเทพมหานคร, ประเทศไทย)

7.9 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven; WTB Binder, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

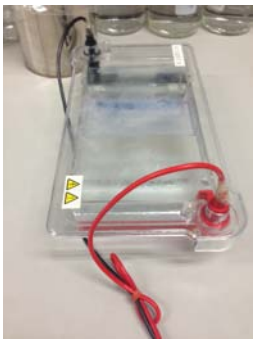
7.10 เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ (Multiprobe; ยี่ห้อ Horiba, ประเทศญี่ปุ่น)

7.11 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

7.12 เครื่อง Thermocycler (ยี่ห้อ Biometra, รุ่น T-Gradient, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี; ภาพที่ 15)

ภาพที่ 15 เครื่อง Thermocycler (ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

7.13 เครื่อง Electrophoresis (ยี่ห้อ Bio-Rad, รุ่น Bio-Rad sub-cell GT; ภาพที่ 16)

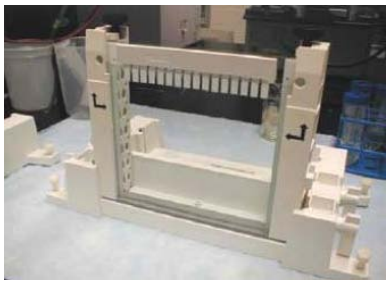


ภาพที่ 16 เครื่อง Electrophoresis (ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

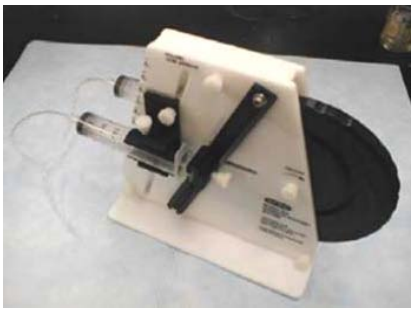
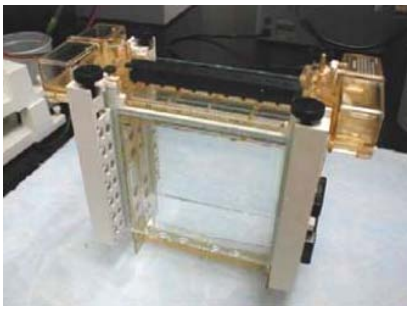
7.14 เครื่อง UV-transilluminator (ยี่ห้อ Spectroline, รุ่น Model TVC-312A, สหรัฐอเมริกา; ภาพที่ 17)

ภาพที่ 17 เครื่อง UV-transilluminator (ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

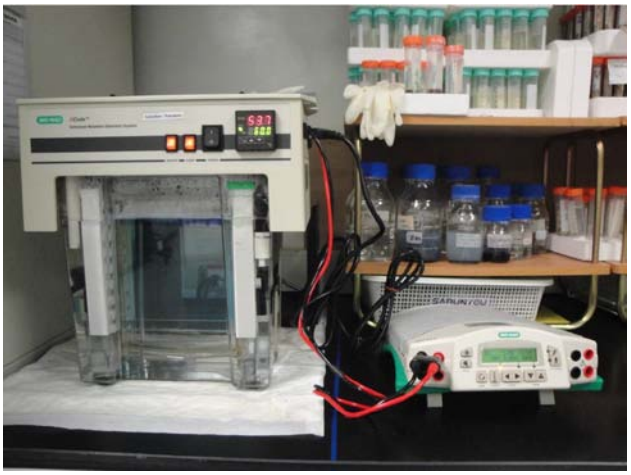
7.15 เครื่อง Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) (DCodeTM system, Bio-Rad; ภาพที่ 18)



ก)

ข) ค)



ง)

ภาพที่ 18 อุปกรณ์และเครื่อง Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)
(ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)
ก) อุปกรณ์ในการเซตเจล, ข) อุปกรณ์ในการปล่อยเจล, ค) อุปกรณ์ประกอบก่อนรันเจล, ง) เครื่อง Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) ที่ประกอบสมบูรณ์

7.16 เครื่อง Gel Document (Molecular Imager® Gel DocTM XR System รุ่น Universal Hood II; ภาพที่ 19)

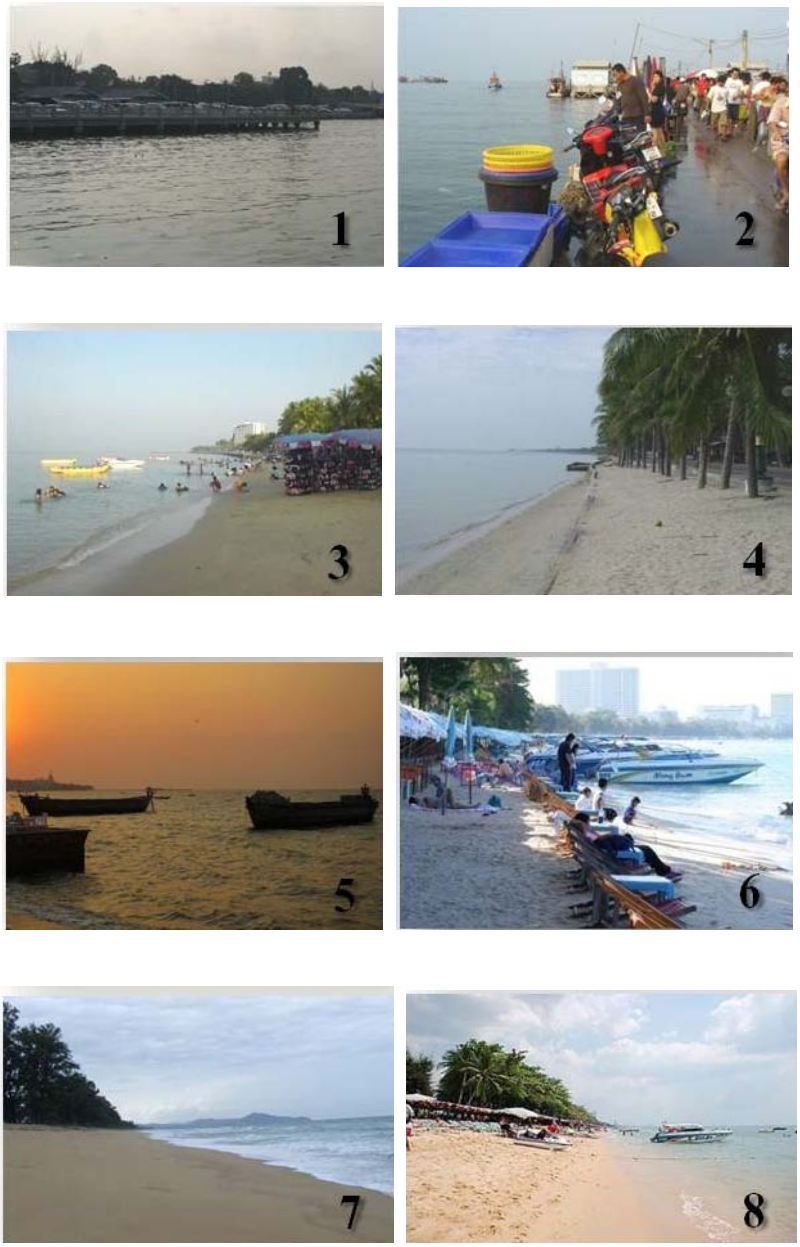
ภาพที่ 19 เครื่อง Gel Document (ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สถานที่ศึกษา (กรมควบคุมมลพิษ)

บริเวณหาดบางแสน ได้แก่ ตลาดอ่างศิลา ท่าเรืออ่างศิลา ชายหาดบางแสน และชายหาดวอนนภา ส่วนบริเวณพัทยา ได้แก่ ตลาดนาเกลือ ชายหาดพัทยาเหนือ ชายหาดพัทยาใต้ และชายหาดจอมเทียน โดยแต่ละบริเวณที่ทำการศึกษาเก็บตัวอย่างจุดละ 1 ตัวอย่าง เป็นระยะเวลา 10 เดือน ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2554

โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนในแต่ละบริเวณตามระยะทางที่ห่างจากชายฝั่ง ดังนี้ 1) ตลาดอ่างศิลา ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 500 เมตร 2) ท่าเรืออ่างศิลา ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 100 เมตร 3) ชายหาดบางแสน ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 10 เมตร 4) ชายหาดวอนนภา ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 100 เมตร 5) ตลาดนาเกลือ ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 100 เมตร 6) ชายหาดพัทยาเหนือ ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 10 เมตร 7) ชายหาดพัทยาใต้ ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 10 เมตร และ 8) ชายหาดจอมเทียน ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 500 เมตร (ภาพที่ 20) ซึ่งรายละเอียดในการเก็บตัวอย่างจะกล่าวต่อไปในข้อที่ 4



ภาพที่ 20 บริเวณเก็บตัวอย่างทั้ง 8 จุด (ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

1) ตลาดอ่างศิลา ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 500 เมตร, 2) ท่าเรืออ่างศิลา ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 100 เมตร, 3) ชายหาดบางแสน ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 10 เมตร, 4) ชายหาดวอนนภา ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 100 เมตร, 5) ตลาดนาเกลือ ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 100 เมตร, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 10 เมตร, 7) ชายหาดพัทยาใต้ ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 10 เมตร และ 8) ชายหาดจอมเทียน ระยะห่างจากฝั่งเท่ากับ 500 เมตร

2. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทะเล (Cavallo & Stabili, 2002, 2004; Stabili, Acquaviva, & Cavallo, 2005)

ทำการตรวจวัดค่าความเค็ม ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved oxygen; DO) และอุณหภูมิของน้ำทะเลโดยใช้โดยใช้เครื่องมือวัดคุณภาพน้ำ

3. การวัดอุณหภูมิของอากาศ

ตรวจวัดอุณหภูมิโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์และจดบันทึกผล

4. การศึกษาปริมาณแบคทีเรียในน้ำทะเลและดินตะกอนกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้ด้วยวิธีมาตรฐาน (Spread plate technique) และวิธีทางชีวโมเลกุล (ตามวิธีการของ Cavallo & Stabili, 2002, 2004; Stabili et al., 2005)

4.1 เก็บตัวอย่างน้ำทะเลจากบริเวณที่กำหนดไว้ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร โดยทำการเปิดฝาขวดเก็บตัวอย่างต่ำลงจากบริเวณผิวน้ำประมาณ 20 - 30 เซนติเมตร ใส่ในขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อ เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนจากบริเวณผิวหน้าน้ำ จากนั้นทำไปตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียทางทะเล โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Marine agar (MA) นำตัวอย่างมาเจือจางแบบ Ten - fold dilution ให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วยสารละลาย 0.85% Normal saline ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อและเกลี่ยเชื้อด้วยเทคนิคสเปรดเพลท (Spread plate technique) (ระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

4.2 เก็บตัวอย่างดินตะกอน นำตัวอย่างดินตะกอนหนัก 10 กรัม โดยเก็บต่ำลงจากบริเวณผิวดินประมาณ 10 - 20 เซนติเมตร (ส่วนบริเวณเก็บตัวอย่างที่ 1, 2 และ 8 จะทำการเก็บตัวอย่างโดยใช้เครื่องมือ Grab sampler เนื่องเป็นบริเวณน้ำลึก; ภาพที่ 21) ใส่ในขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นนำมาใส่ลงในสารละลาย 0.85% Normal saline ปริมาตร 90 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 10^{-1} เจือจางตัวอย่างแบบ Ten-fold dilution จนได้ตัวอย่างที่มีระดับความเจือจางตามต้องการ จากนั้นถ่ายตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MA จานละ 0.1 มิลลิลิตร และเกลี่ยเชื้อด้วยเทคนิคสเปรดเพลท (ระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ) บ่มอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

ภาพที่ 21 การเก็บตัวอย่างโดยใช้เครื่องมือ Grab sampler (ภาพโดย กิตติธัช สุพรรณพันธุ์)

4.3 นำตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอน มาทำการนับจำนวนโคโลนีในแต่ละจานเพาะเชื้อ หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีใน 1 จาน คำนวณหาค่า CFU/(g หรือ mL) และนำจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะต่างกันไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพื่อจัดจำแนกแบคทีเรียตาม Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology (Krieg & Holt, 1984; Holt et al., 1994)

4.4 คัดแยกแบคทีเรียที่ได้ให้บริสุทธิ์และนำไปจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยใช้ 16S rRNA โดยนำแบคทีเรียที่ได้ไปสกัดดีเอ็นเอ และนำมาเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR reaction โดยสารที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่จำเพาะประกอบด้วย 2.5 mM $MgCl_2$, 100 µM dNTP, 0.64 µM ของไพรเมอร์ fD1 forward primer และ rP2 reverse primer และ 1X PCR reaction buffer ที่เติม 1.25 U ของ *Taq* DNA Polymerase ต่อปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ผสมให้เข้ากัน ปิดหลอดปฏิกิริยาให้สนิท นำไปเข้าเครื่อง Thermocycler โดยตั้งโปรแกรมดังนี้

Initiation denaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	5	นาที	(1 รอบ)

จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ตามขั้นตอนต่อไปนี้ จำนวน 30 รอบ

Denaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
Annealing	55 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
Elongation	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที

Final extention	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	30	นาที	(1 รอบ)

จากนั้นนำไปเทียบกับฐานข้อมูล GenBank บน National Center for Biotechnology Information (NCBI) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) ด้วยโปรแกรม BLAST (Altschul, Gish, Miller, Myers, & Lipman, 1990; DeSantis et al., 2006)

5. การศึกษาชนิดแบคทีเรียในน้ำทะเลและดินตะกอนกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

5.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างดินตะกอน 0.5-1.0 กรัม มาสกัดด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป GF-1 Soil Sample DNA Extraction Kit (Vivantis, Malaysia) ส่วนตัวอย่างน้ำทะเลให้นำน้ำทะเล 50 มิลลิลิตร มากรองด้วยกระดาษกรอง Microfilter ขนาดรูกรอง 0.22 ไมโครเมตร จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้มาสกัดดีเอ็นเอต่อไป

5.2 การสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างดินตะกอนและแผ่นกระดาษกรองจากข้อ 5.1 มาสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป GF-1 Soil Sample DNA Extraction Kit (Vivantis, Malaysia)

5.3 การเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (ตามวิธีการของ Weisburg et al., 1991)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากข้อ 5.2 มาเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR reaction โดยสารที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่จำเพาะประกอบด้วย 2.5 mM $MgCl_2$, 100 µM dNTP, 0.64 µM ของไพรเมอร์ 338GC-F forward primer และ 518R reverse primer และ 1X PCR reaction buffer ที่เติม 1.25 U ของ *Taq* DNA Polymerase ต่อปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ผสมให้เข้ากัน ปิดหลอดปฏิกิริยาให้สนิท นำไปเข้าเครื่อง Thermocycler โดยตั้งโปรแกรมดังนี้

Initiation denaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	5	นาที	(1 รอบ)

จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ตามขั้นตอนต่อไปนี้ จำนวน 40 รอบ

Denaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
Annealing	55 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
Elongation	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที

Final extention	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	30	นาที	(1 รอบ)

5.4 การศึกษาชนิดของแบคทีเรียด้วยเทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) (ตามวิธีการของ Griffiths, Melville, Cook, & Vincent, 2001)

5.4.1 นำ PCR product ที่ได้จากข้อ 5.3 มาละลายดีเอ็นเอใน DGGE gel loading buffer

5.4.2 แยกดีเอ็นเอบน 8% Polyacrylamide ใน 1X TAE โดยให้ Linear gradient ของ Urea กับ Formamide อยู่ระหว่าง 40-60% ด้วยเครื่อง Electrophoresis เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ที่กำลังไฟฟ้า 80 โวลต์ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

5.4.3 ตรวจสอบดีเอ็นเอพร้อมบันทึกภาพด้วยเครื่อง Gel Documentation

5.4.4 ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) อีกครั้ง โดยตัดแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏบนแผ่นเจลแต่ละตำแหน่งใส่มาแช่ใน TE buffer เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (แต่ละแบนคือ 1 ตัวอย่างในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในข้อต่อไป)

5.4.5 นำดีเอ็นเอจากข้อ 5.4.4 ไปเพิ่มจำนวนดีเอ็นเออีกครั้ง โดยสารที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่จำเพาะประกอบด้วย 2.5 mM $MgCl_2$, 100 μM dNTP, 0.64 μM ของไพรเมอร์ 338GC-F-M13R และ 518R-AT-M13F และ 1X PCR reaction buffer ที่เติม 1.25 U ของ *Taq* DNA Polymerase ต่อปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ผสมให้เข้ากัน ปิดหลอดปฏิกิริยาให้สนิท นำไปเข้าเครื่อง Thermocycler โดยตั้งโปรแกรมดังนี้

Initiation denaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	5	นาที	(1 รอบ)

จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ตามขั้นตอนต่อไปนี้ จำนวน 40 รอบ

Denaturation	95 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
Annealing	55 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที
Elongation	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	1	นาที

Final extention	72 องศาเซลเซียส	เป็นเวลา	30	นาที	(1 รอบ)

5.4.6 นำ PCR product ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยชุดทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์สำเร็จรูป (Promega, France) และส่งวิเคราะห์ลำดับเบส จากนั้นวิเคราะห์ลำดับเบสที่ได้ด้วยโปรแกรม BLAST เพื่อจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยเทียบกับฐานข้อมูล GenBank บน National Center for Biotechnology Information (NCBI) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) ด้วยโปรแกรม BLAST (Altschul et al., 1990; DeSantis et al., 2006)

6. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพต่อแบคทีเรียทางทะเล

ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทางทะเลกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้โดยการหาค่าสัมประสิทธิแบบสหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; r^2) โดยศึกษาความสัมพันธ์ดังต่อไปนี้

6.1 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแบคทีเรียทางทะเล

6.2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเค็มต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแบคทีเรียทางทะเล

6.3 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแบคทีเรียทางทะเล

6.4 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำทะเล (DO) ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแบคทีเรียทางทะเล

7. การวิเคราะห์ข้อมูลสถิติ

นำค่าที่ได้จากการวัดข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและนำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี 2-Way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows version 21.0 และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างปัจจัยทางกายภาพและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้โดยการหาค่าสัมประสิทธิแบบสหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; r^2)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพ (ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อุณหภูมิ และความเค็ม) และความหลากหลายของแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรีทั้งชนิดที่เพาะเลี้ยงได้และชนิดที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ โดยทำการศึกษาระยะเป็นเวลา 10 เดือน ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

1. การศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำทะเลและดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา

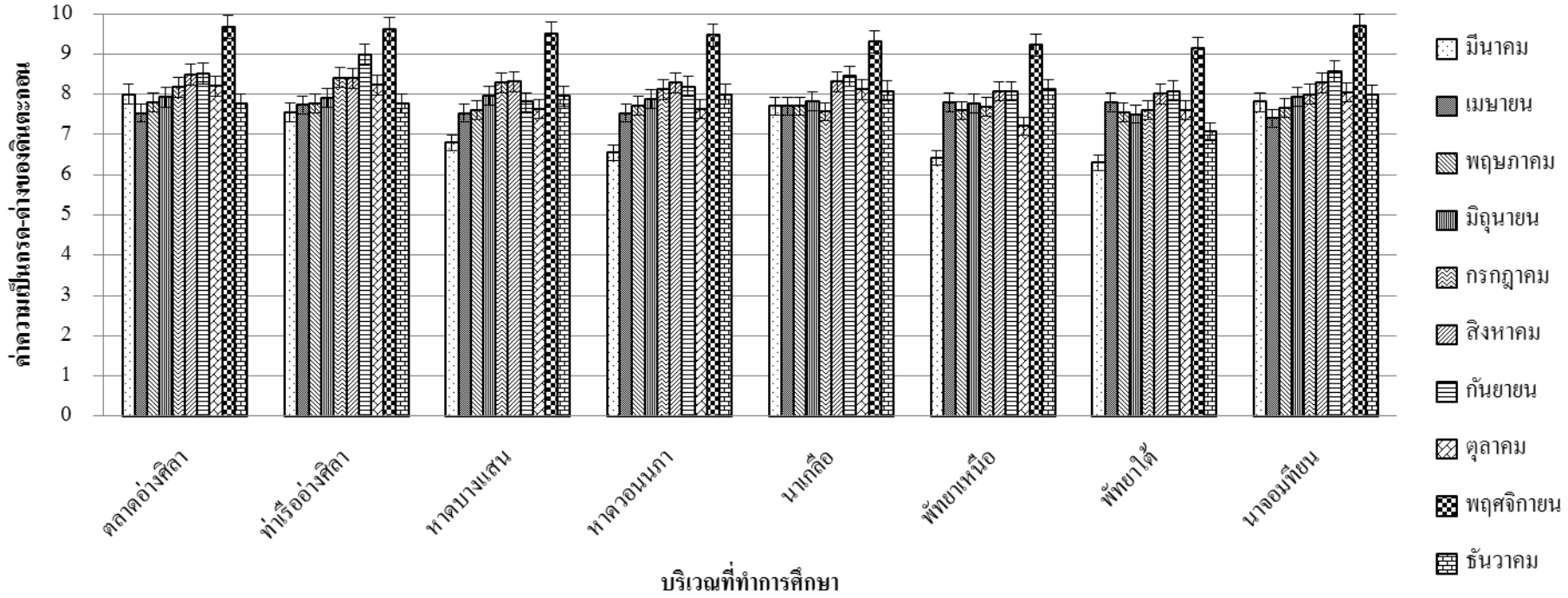
1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนบริเวณหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนมีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการศึกษา โดยมีค่าอยู่ในช่วง 6.30 ± 0.00 - 9.69 ± 0.01 ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนในทุกบริเวณที่ทำการศึกษามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการศึกษา โดยดินตะกอนของเดือนพฤศจิกายนทั้งสองแหล่งที่ทำการศึกษาคือ บริเวณชายหาดบางแสน (ตลาดอ่างศิลา ท่าเรืออ่างศิลา หาดบางแสนและหาดวอนนภา) มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 9.47 ± 0.01-9.67 ± 0.02ในขณะที่บริเวณพัทยา (นาเกลือ พัทยาเหนือ พัทยาใต้ และนาจอมเทียน) มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 9.15 ± 0.01-9.69 ± 0.01 ดังแสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 22

สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลมีค่าค่อนข้างเป็นด่างมีค่าอยู่ในช่วง 7.35 ± 0.01 - 9.60 ± 0.10 และมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาของการศึกษา โดยค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลมีแนวโน้มเช่นเดียวดินตะกอน กล่าวคือค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลบริเวณบางแสน (ตลาดอ่างศิลา ท่าเรืออ่างศิลา หาดบางแสนและหาดวอนนภา) มีค่าสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2554 โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 9.30 ± 0.01 ถึง 9.60 ± 0.10 ในขณะที่บริเวณพัทยา (นาเกลือ พัทยาเหนือ พัทยาใต้และนาจอมเทียน) มีค่าสูงสุดในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2554 โดยมีค่าเท่ากับ 8.93 ± 0.01 ถึง 9.58 ± 0.01 ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 23

ตารางที่ 2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

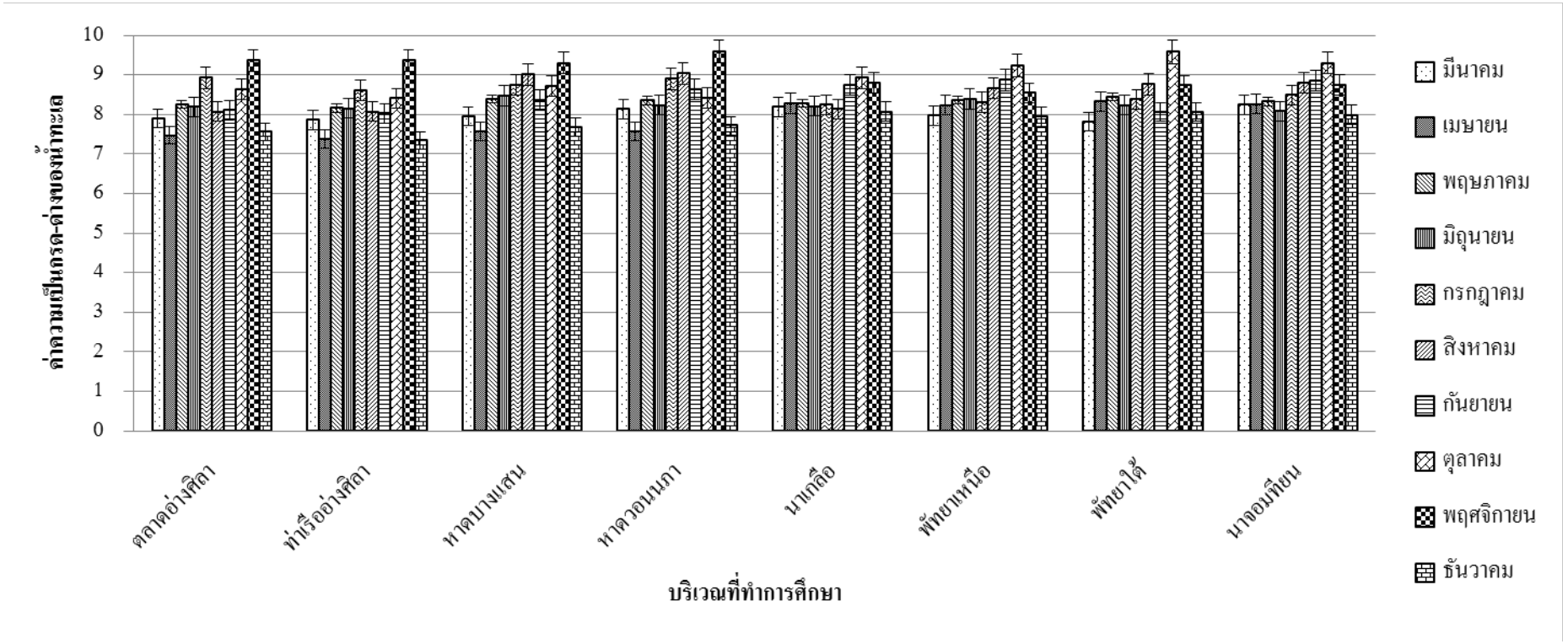
บริเวณ	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม
ตลาดอ่างศิลา	8.00 ± 0.05	7.53 ± 0.06	7.80 ± 0.00	7.92 ± 0.03	8.17 ± 0.02	8.49 ± 0.01	8.51 ± 0.01	8.20 ± 0.02	9.67 ± 0.02	7.76 ± 0.01
ท่าเรืออ่างศิลา	7.55 ± 0.05	7.73 ± 0.06	7.78 ± 0.03	7.90 ± 0.00	8.41 ± 0.04	8.39 ± 0.01	8.98 ± 0.02	8.23 ± 0.01	9.61 ± 0.01	7.77 ± 0.01
หาดบางแสน	6.79 ± 0.04	7.53 ± 0.06	7.60 ± 0.00	7.97 ± 0.06	8.29 ± 0.01	8.32 ± 0.00	7.81 ± 0.02	7.64 ± 0.01	9.51 ± 0.01	7.95 ± 0.01
หาดวอนนภา	6.55 ± 0.01	7.53 ± 0.06	7.72 ± 0.03	7.87 ± 0.12	8.12 ± 0.03	8.28 ± 0.01	8.19 ± 0.02	7.64 ± 0.01	9.47 ± 0.01	8.00 ± 0.01
นาเกลือ	7.70 ± 0.02	7.70 ± 0.00	7.70 ± 0.00	7.82 ± 0.00	7.57 ± 0.02	8.32 ± 0.01	8.45 ± 0.03	8.12 ± 0.03	9.31 ± 0.01	8.08 ± 0.01
พัทยาเหนือ	6.42 ± 0.03	7.80 ± 0.00	7.59 ± 0.02	7.76 ± 0.00	7.69 ± 0.01	8.07 ± 0.01	8.07 ± 0.01	7.21 ± 0.01	9.22 ± 0.02	8.12 ± 0.02
พัทยาใต้	6.30 ± 0.00	7.80 ± 0.00	7.55 ± 0.01	7.50 ± 0.00	7.60 ± 0.01	8.01 ± 0.01	8.08 ± 0.03	7.60 ± 0.03	9.15 ± 0.01	7.07 ± 0.03
นาจอมเทียน	7.81 ± 0.01	7.40 ± 0.00	7.66 ± 0.02	7.94 ± 0.00	8.00 ± 0.08	8.29 ± 0.01	8.57 ± 0.02	8.05 ± 0.03	9.69 ± 0.01	7.99 ± 0.02



ภาพที่ 22 ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

ตารางที่ 3 ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

บริเวณ	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม
ตลาดอ่างศิลา	7.89 ± 0.01	7.47 ± 0.02	8.25 ± 0.01	8.19 ± 0.01	8.93 ± 0.07	8.07 ± 0.01	8.11 ± 0.00	8.64 ± 0.01	9.36 ± 0.02	7.56 ± 0.01
ท่าเรืออ่างศิลา	7.86 ± 0.02	7.38 ± 0.01	8.16 ± 0.01	8.15 ± 0.01	8.61 ± 0.01	8.07 ± 0.01	8.02 ± 0.00	8.41 ± 0.00	9.36 ± 0.01	7.35 ± 0.01
หาดบางแสน	7.96 ± 0.02	7.58 ± 0.01	8.39 ± 0.01	8.48 ± 0.01	8.75 ± 0.03	9.01 ± 0.01	8.37 ± 0.02	8.71 ± 0.01	9.30 ± 0.01	7.69 ± 0.00
หาดวอนนภา	8.14 ± 0.03	7.57 ± 0.01	8.35 ± 0.01	8.23 ± 0.01	8.90 ± 0.02	9.04 ± 0.02	8.63 ± 0.01	8.42 ± 0.01	9.60 ± 0.10	7.72 ± 0.02
นาเกลือ	8.19 ± 0.01	8.28 ± 0.03	8.29 ± 0.02	8.21 ± 0.01	8.24 ± 0.04	8.13 ± 0.03	8.75 ± 0.01	8.93 ± 0.01	8.80 ± 0.01	8.07 ± 0.01
พัทยาเหนือ	7.97 ± 0.02	8.23 ± 0.02	8.37 ± 0.01	8.39 ± 0.01	8.31 ± 0.01	8.67 ± 0.01	8.87 ± 0.00	9.24 ± 0.01	8.54 ± 0.01	7.94 ±0.01
พัทยาใต้	7.82 ± 0.01	8.33 ± 0.01	8.44 ± 0.02	8.23 ± 0.06	8.38 ± 0.06	8.76 ± 0.01	8.06 ± 0.01	9.58 ± 0.01	8.73 ± 0.02	8.06 ± 0.01
นาจอมเทียน	8.25 ± 0.02	8.26 ± 0.01	8.32 ± 0.01	8.08 ± 0.02	8.49 ± 0.02	8.80 ± 0.01	8.85 ± 0.01	9.30 ± 0.01	8.74 ± 0.01	7.99 ± 0.02



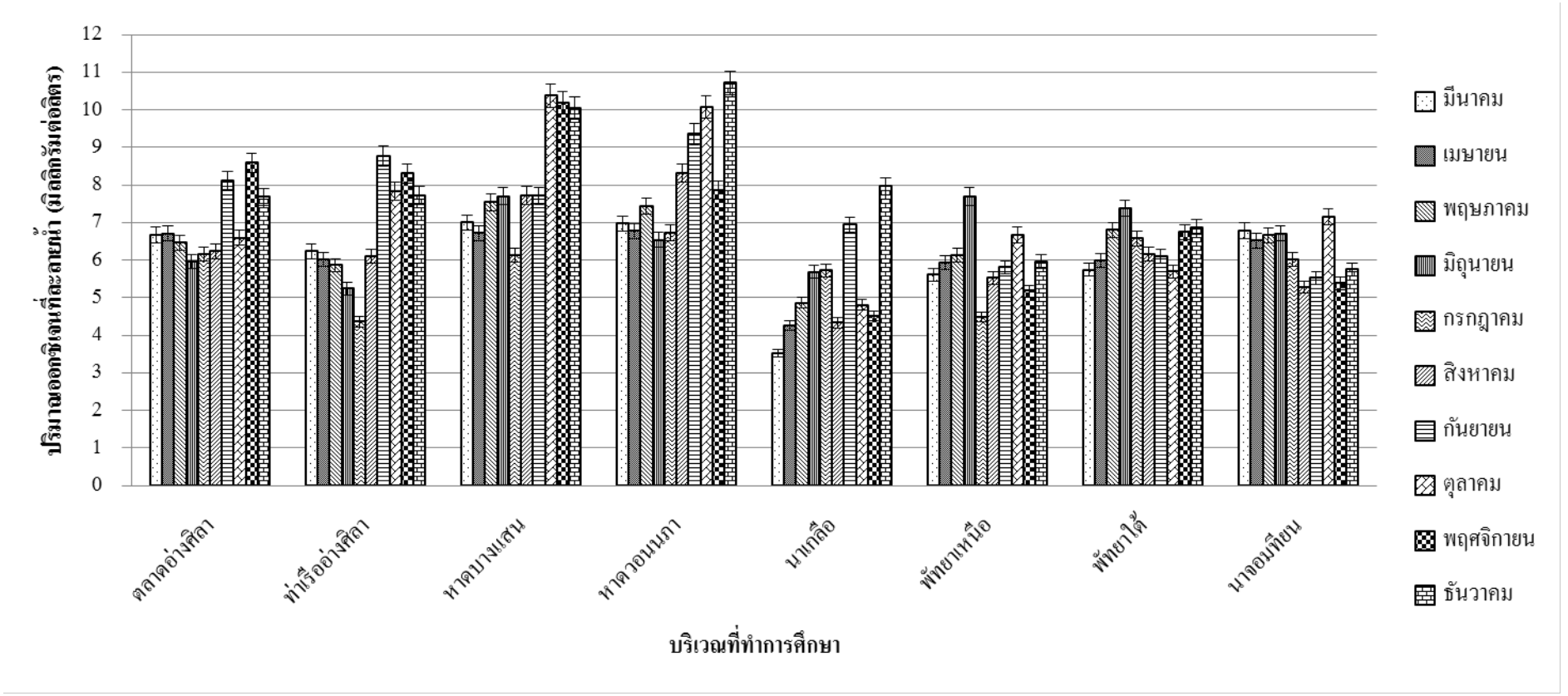
ภาพที่ 23 ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

1.2 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำบริเวณหาดบางแสนและพัทยาระหว่างเดือนมีนาคมถึงธันวาคม พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 3.52 ± 0.09 - 10.37 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบว่านาเกลือเป็นบริเวณที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำที่สุด คือมีค่าอยู่ในช่วง 3.52 ± 0.09 - 7.96 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งเดือนมีนาคมมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเท่ากับ 3.52 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อลิตร และบริเวณหาดวอนนภาเป็นบริเวณที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำสูงที่สุด คือมีค่าอยู่ในช่วง 6.54 ± 0.03 - 10.71 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 24

ตารางที่ 4 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

บริเวณ	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม
ตลาดอ่างศิลา	6.67 ± 0.08	6.71 ± 0.03	6.46 ± 0.05	5.96 ± 0.02	6.15 ± 0.06	6.23 ± 0.05	8.12 ± 0.01	6.59 ± 0.01	8.59 ± 0.01	7.68 ± 0.03
ท่าเรืออ่างศิลา	6.23 ± 0.06	6.02 ± 0.03	5.86 ± 0.06	5.24 ± 0.01	4.36 ± 0.10	6.10 ± 0.05	8.77 ± 0.01	7.84 ± 0.01	8.30 ± 0.02	7.72 ± 0.01
หาดบางแสน	7.00 ± 0.06	6.72 ± 0.04	7.55 ± 0.09	7.70 ± 0.03	6.14 ± 0.04	7.72 ± 0.01	7.71 ± 0.03	10.37 ± 0.01	10.19 ± 0.01	10.04 ± 0.02
หาดวอนนภา	6.97 ± 0.05	6.77 ± 0.05	7.44 ± 0.06	6.54 ± 0.03	6.73 ± 0.07	8.32 ± 0.02	9.35 ± 0.02	10.07 ± 0.01	7.86 ± 0.01	10.71 ± 0.01
นาเกลือ	3.52 ± 0.09	4.25 ± 0.05	4.86 ± 0.06	5.68 ± 0.41	5.73 ± 0.02	4.33 ± 0.32	6.94 ± 0.01	4.81 ± 0.01	4.52 ± 0.02	7.96 ± 0.02
พัทยาเหนือ	5.62 ± 0.09	5.93 ± 0.05	6.12 ± 0.04	7.69 ± 0.33	4.49 ± 0.06	5.53 ± 0.04	5.81 ± 0.01	6.67 ± 0.03	5.18 ± 0.02	5.97 ± 0.01
พัทยาใต้	5.74 ± 0.05	5.99 ± 0.07	6.80 ± 0.01	7.38 ± 0.11	6.58 ± 0.02	6.15 ± 0.12	6.10 ± 0.01	5.70 ± 0.07	6.75 ± 0.01	6.88 ± 0.01
นาจอมเทียน	6.78 ± 0.03	6.52 ± 0.03	6.66 ± 0.04	6.71 ± 0.01	6.02 ± 0.03	5.28 ± 0.02	5.52 ± 0.01	7.16 ± 0.05	5.38 ± 0.02	5.76 ± 0.22



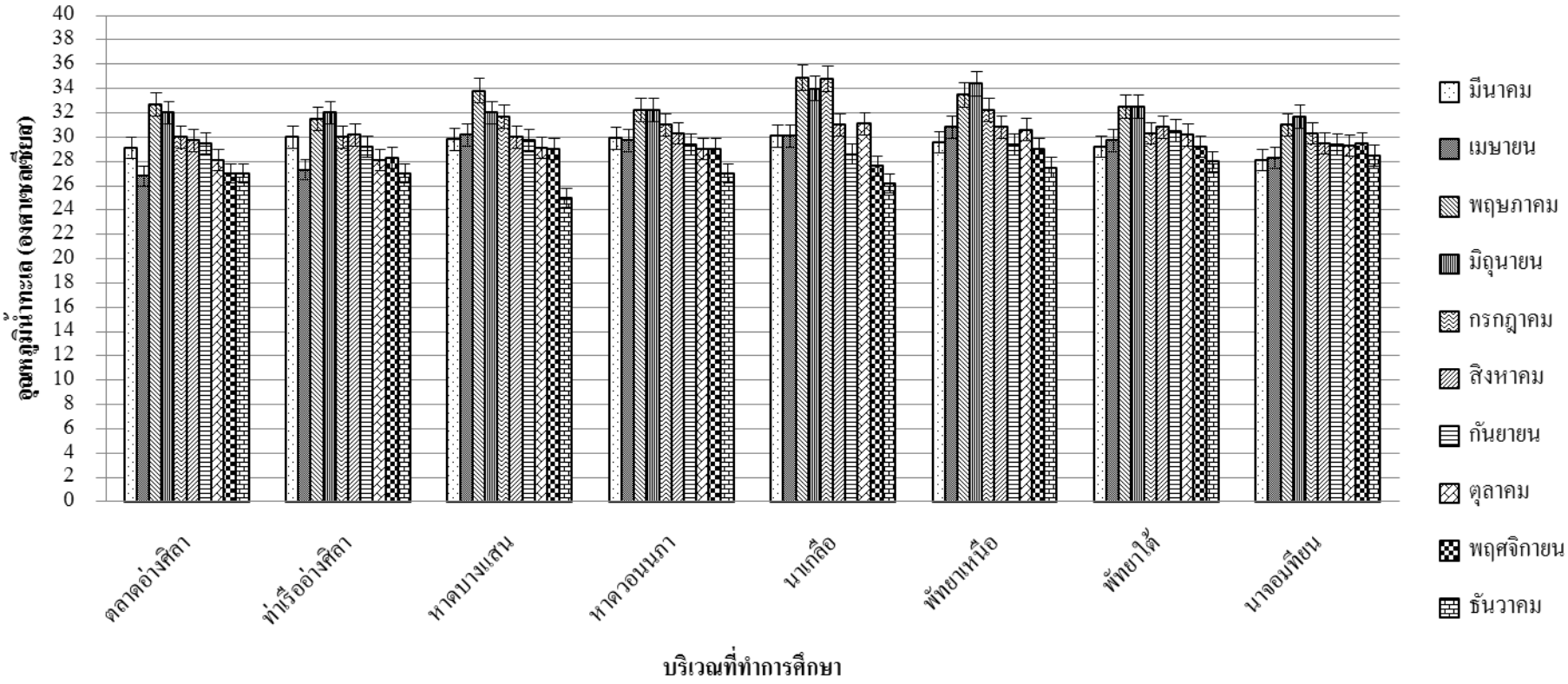
ภาพที่ 24 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

1.3 อุณหภูมิ

อุณหภูมิของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยาพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพภูมิอากาศตลอดระยะเวลาการทดลอง พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 25.0 ± 0.00 – 34.8 ± 0.30 โดยพบว่าบริเวณชายหาดบางแสนมีค่าอยู่ในช่วง 25.0 ± 0.00 – 33.8 ± 0.30 โดยพบว่าในช่วงเดือนธันวาคมและพฤษภาคมเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำที่สุดและสูงที่สุด ตามลำดับ และบริเวณชายหาดพัทยามีค่าอยู่ในช่วง 26.2 ± 0.30– 34.8 ± 0.30 โดยพบว่าในช่วงเดือนธันวาคมและกรกฎาคมเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำที่สุดและสูงที่สุด ตามลำดับ ส่วนอุณหภูมิของอากาศบริเวณบางแสนและพัทยาโดยพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพภูมิกาศตลอดระยะเวลาการทดลอง พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 25.3 ± 0.60 – 35.0 ± 0.00 โดยพบว่าบริเวณชายหาดบางแสนมีค่าอยู่ในช่วง 25.7 ± 0.3 – 35.0 ± 0.00 โดยพบว่าในช่วงเดือนกันยายนและกรกฎาคมเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำที่สุดและสูงที่สุด ตามลำดับ และบริเวณชายหาดพัทยามีค่าอยู่ในช่วง 27.0 ± 0.00– 35.0 ± 0.00 โดยพบว่าในช่วงเดือนตุลาคมและพฤษภาคมเป็นช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำที่สุดและสูงที่สุด ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5 - 6 และภาพที่ 25 - 26

ตารางที่ 5 อุณหภูมิน้ำทะเล (องศาเซลเซียส) ของบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

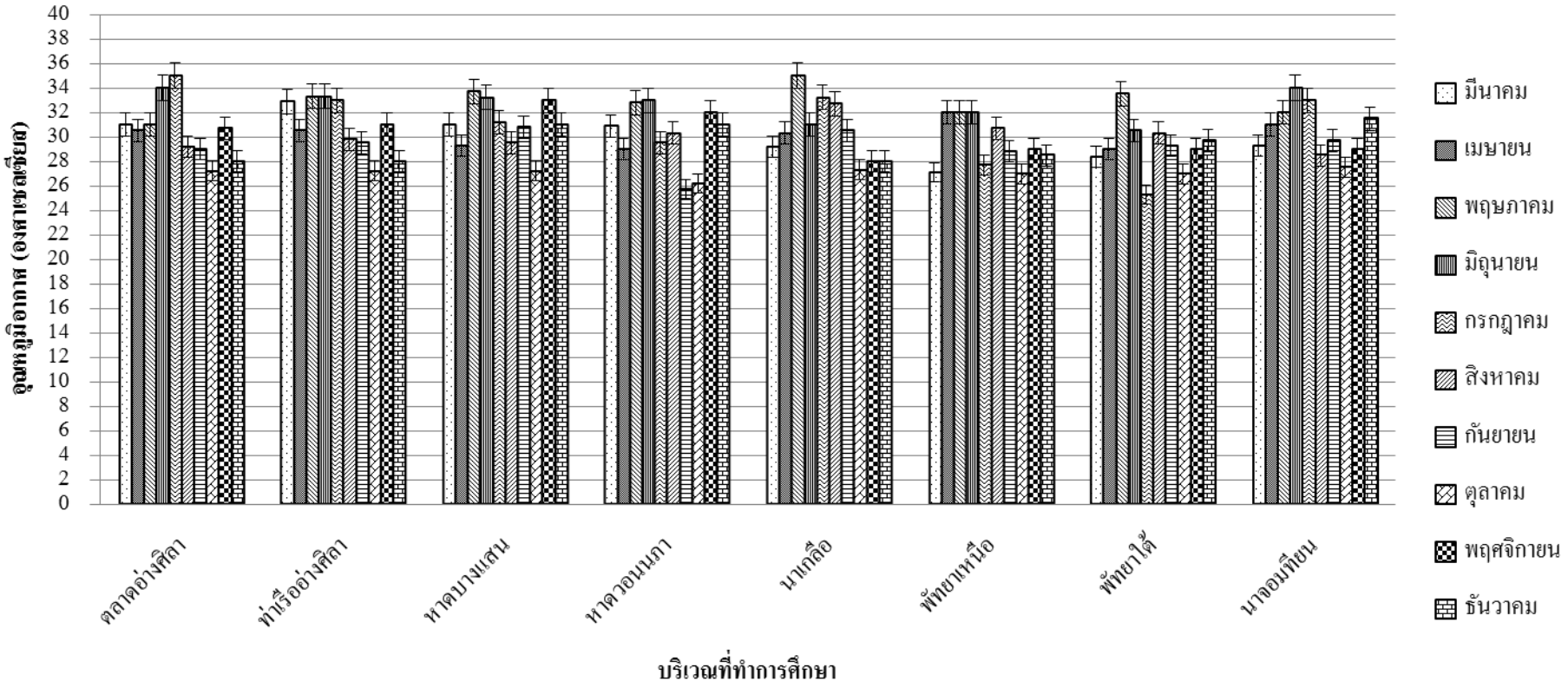
บริเวณ	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม
ตลาดอ่างศิลา	29.1 ± 0.4	26.8 ± 0.3	32.7 ± 0.6	32.0 ± 0.0	30.0 ± 0.0	29.7 ± 0.6	29.5 ± 0.0	28.1 ± 0.3	27.0 ± 1.0	27.0 ± 0.0
ท่าเรืออ่างศิลา	30.0 ± 0.3	27.3 ± 0.6	31.5 ± 0.0	32.0 ± 0.0	30.0 ± 0.0	30.2 ± 0.3	29.2 ± 0.8	28.1 ± 0.3	28.3 ± 0.6	27.0 ± 0.0
หาดบางแสน	29.8 ± 0.3	30.2 ± 0.3	33.8 ± 0.3	32.0 ± 0.0	31.7 ± 0.3	30.0 ± 0.0	29.7 ± 0.6	29.1 ± 0.3	29.0 ± 0.0	25.0 ± 0.0
หาดวอนนภา	29.9 ± 0.1	29.7 ± 0.3	32.2 ± 0.3	32.2 ± 0.3	31.0 ± 0.0	30.3 ± 0.3	29.4 ± 0.5	29.0 ± 0.0	29.0 ± 0.0	27.0 ± 0.0
นาเกลือ	30.1 ± 0.4	30.1 ± 0.8	34.9 ± 0.0	34.0 ± 0.0	34.8 ± 0.3	31.0 ± 0.0	28.6 ± 0.4	31.1 ± 0.3	27.6 ± 0.6	26.2 ± 0.3
พัทยาเหนือ	29.6 ± 0.1	30.8 ± 0.1	33.5 ± 0.0	34.4 ± 0.0	32.2 ± 0.3	30.8 ± 0.3	29.4 ± 0.1	30.6 ± 0.0	29.0 ± 0.0	27.5 ± 0.0
พัทยาใต้	29.2 ± 0.3	29.7 ± 0.0	32.5 ± 0.0	32.5 ± 0.0	30.3 ± 0.6	30.8 ± 0.3	30.5 ± 0.4	30.2 ± 0.2	29.2 ± 1.1	28.0 ± 0.0
นาจอมเทียน	28.1 ± 0.2	28.3 ± 0.1	31.0 ± 0.0	31.7 ± 0.0	30.3 ± 0.3	29.5 ± 0.0	29.4 ± 0.3	29.3 ± 0.0	29.5 ± 0.5	28.5 ± 0.5



ภาพที่ 25 อุณหภูมิน้ำทะเล (องศาเซลเซียส) ของบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

ตารางที่ 6 อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส) ของบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

บริเวณ	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม
ตลาดอ่างศิลา	31.0 ± 0.5	30.5 ± 0.5	31.0 ± 0.0	34.0 ± 0.0	35.0 ± 0.0	29.2 ± 0.8	29.0 ± 0.0	27.2 ± 0.3	30.7 ± 0.6	28.0 ± 0.0
ท่าเรืออ่างศิลา	32.9 ± 0.3	30.5 ± 0.5	33.3 ± 0.3	33.3 ± 0.3	33.0 ± 0.0	29.8 ± 0.8	29.5 ± 0.5	27.2 ± 0.3	31.0 ± 0.0	28.0 ± 0.0
หาดบางแสน	31.0 ± 0.4	29.3 ± 0.3	33.7 ± 0.8	33.2 ± 0.3	31.2 ± 0.3	29.5 ± 1.5	30.8 ± 0.8	27.2 ± 0.8	33.0 ± 0.0	31.0 ± 0.0
หาดวอนนภา	30.9 ± 0.1	29.0 ± 0.0	32.8 ± 0.3	33.0 ± 0.0	29.5 ± 0.9	30.3 ± 0.3	25.7 ± 0.3	26.2 ± 0.8	32.0 ± 0.0	31.0 ± 0.0
นาเกลือ	29.2 ± 0.3	30.3 ± 0.6	35.0 ± 0.0	31.0 ± 0.0	33.2 ± 0.3	32.7 ± 0.6	30.5 ± 0.5	27.3 ± 0.6	28.0 ± 0.0	28.0 ± 0.0
พัทยาเหนือ	27.1 ± 0.4	32.0 ± 0.0	32.0 ± 0.0	32.0 ± 0.0	27.7 ± 0.3	30.7 ± 0.6	28.8 ± 0.7	27.0 ± 0.0	29.0 ± 0.0	28.5 ± 0.0
พัทยาใต้	28.4 ± 0.4	29.0 ± 0.0	33.5 ± 0.0	30.5 ± 0.0	25.3 ± 0.6	30.3 ± 0.8	29.3 ± 0.6	27.0 ± 0.0	29.0 ± 0.0	29.7 ± 0.3
นาจอมเทียน	29.3 ± 0.3	31.0 ± 0.0	32.0 ± 0.0	34.0 ± 0.0	33.0 ± 0.0	28.5 ± 0.0	29.7 ± 0.6	27.5 ± 0.0	29.0 ± 0.0	31.5 ± 0.5



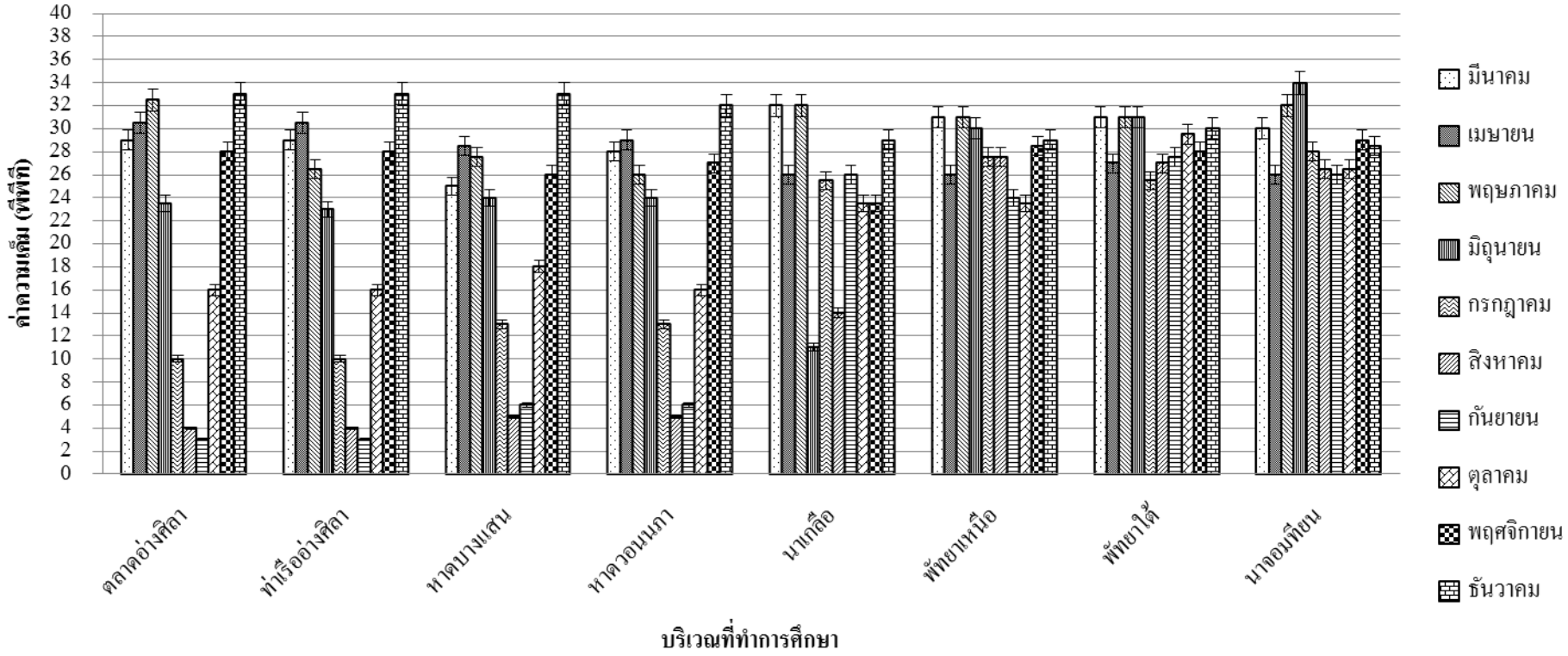
ภาพที่ 26 อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส) ของบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

1.4 ความเค็ม

ความเค็มของน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 3.0-33.0 พีพีที โดยในช่วงเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม พบว่ามีค่าความเค็มของน้ำทะเลต่ำ (3.0-18.0) เมื่อเปรียบเทียบกับเดือนอื่น ๆ ส่วนชาดหาดพัทยาพบว่ามีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 11.0-34.0 พีพีที ซึ่งในบริเวณชายหาดพัทยามีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนักตลอดระยะเวลาทำการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับบริเวณชายหาดบางแสน ดังแสดงในตารางที่ 7 และภาพที่ 27

ตารางที่ 7 ความเค็ม (พีพีที) ของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

บริเวณ	มีนาคม	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	ตุลาคม	พฤศจิกายน	ธันวาคม
ตลาดอ่างศิลา	29	30.5	32.5	23.5	10.0	4.0	3.0	16.0	28.0	33.0
ท่าเรืออ่างศิลา	29	30.5	26.5	23.0	10.0	4.0	3.0	16.0	28.0	33.0
หาดบางแสน	25	28.5	27.5	24.0	13.0	5.0	6.0	18.0	26.0	33.0
หาดวอนนภา	28	29	26	24.0	13.0	5.0	6.0	16.0	27.0	32.0
นาเกลือ	32	26	32	11.0	25.5	14.0	26.0	23.5	23.5	29.0
พัทยาเหนือ	31	26	31	30.0	27.5	27.5	24.0	23.5	28.5	29.0
พัทยาใต้	31	27	31	31.0	25.5	27.0	27.5	29.5	28.0	30.0
นาจอมเทียน	30	26	32	34.0	28.0	26.5	26.0	26.5	29.0	28.5



ภาพที่ 27 ความเค็ม (พีพีที) ของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

2. ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมด

2.1 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา

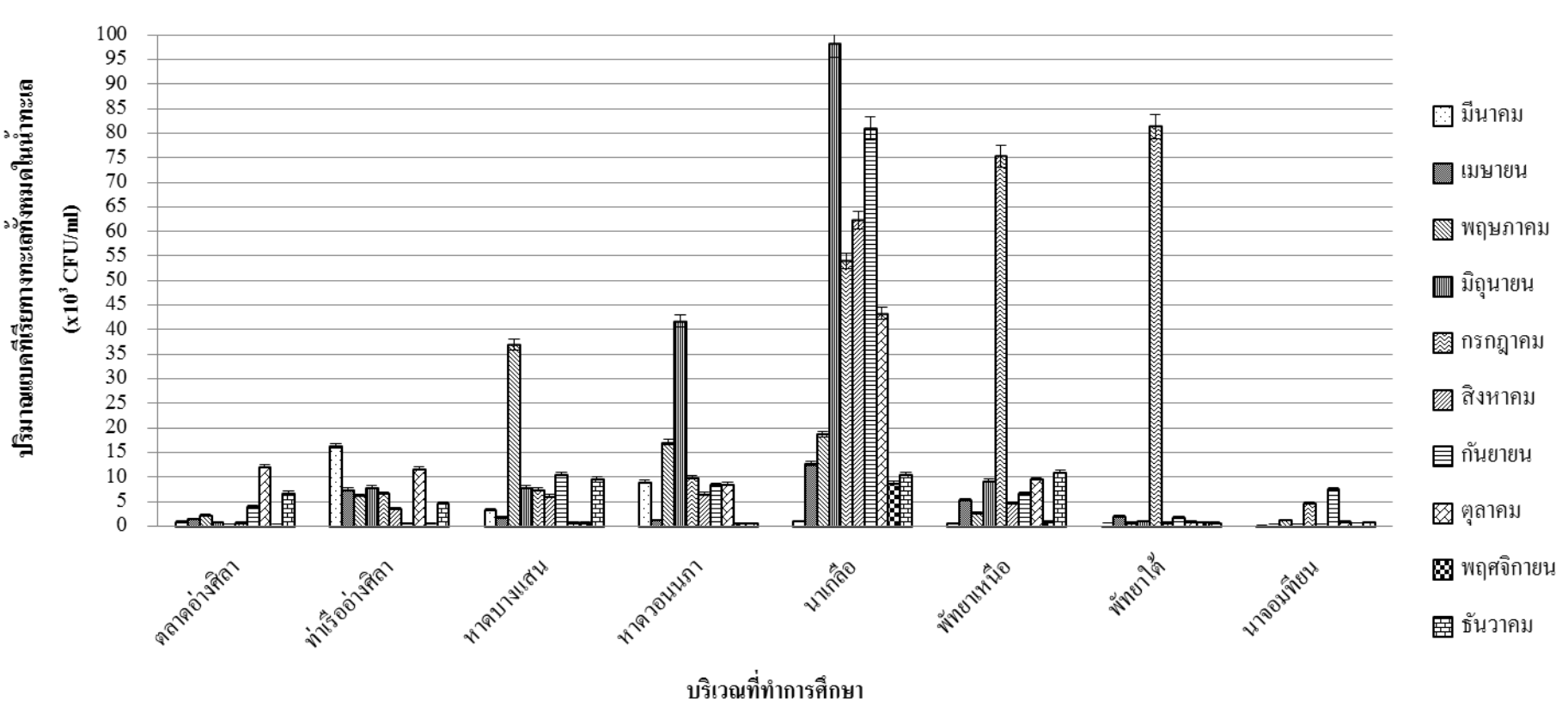
ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลจาก 8 จุด บริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2554 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 จากผลการทดลองพบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนมีค่าอยู่ในช่วง $4.50\pm1.41\times10^{2}$ ถึง $4.17\pm1.69\times10^{4}$ CFU/mL ส่วนปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดพัทยาพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง $1.83\pm0.76\times10^{2}$ ถึง $9.83\pm1.50\times10^{4}$ CFU/mL ดังแสดงในตารางที่ 8 และภาพที่ 28

ตารางที่ 8 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

เดือน	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมด (CFU/mL)							
	ตลาดอ่างศิลา	ท่าเรืออ่างศิลา	หาดบางแสน	หาดวอนนภา	ตลาดนาเกลือ	พัทยาเหนือ	พัทยาใต้	หาดจอมเทียน
มีนาคม	$1.04\pm0.20\times10^{3\ c,3}$	$1.64\pm0.99\times10^{4\ a,1}$	$3.47\pm0.06\times10^{3\ b,3}$	$9.07\pm2.08\times10^{3\ b,2}$	$1.09\pm0.19\times10^{3\ d,3}$	$7.33\pm1.99\times10^{2\ c,4}$	$6.17\pm0.45\times10^{2\ c,4}$	$1.83\pm0.76\times10^{2\ d,5}$
เมษายน	$1.61\pm0.23\times10^{3\ c,3}$	$7.50\pm1.86\times10^{3\ b,2}$	$1.95\pm0.42\times10^{3\ c,3}$	$1.35\pm0.44\times10^{3\ c,4}$	$1.28\pm0.38\times10^{4\ c,1}$	$5.37\pm0.17\times10^{3\ c,2}$	$2.07\pm0.21\times10^{3\ d,4}$	$3.43\pm1.23\times10^{2\ c,5}$
พฤษภาคม	$2.30\pm0.45\times10^{3\ c,4}$	$6.40\pm1.06\times10^{3\ b,3}$	$3.70\pm0.25\times10^{4\ a,1}$	$1.71\pm0.27\times10^{4\ a,2}$	$1.88\pm0.10\times10^{4\ c,2}$	$2.80\pm0.36\times10^{3\ d,4}$	$8.60\pm8.20\times10^{2\ b,5}$	$1.34\pm0.41\times10^{3\ a,4}$
มิถุนายน	$8.77\pm0.1.38\times10^{2\ d,4}$	$8.03\pm0.76\times10^{3\ b,3}$	$8.00\pm2.16\times10^{3\ b,3}$	$4.17\pm1.69\times10^{4\ a,2}$	$9.83\pm1.50\times10^{4\ a,1}$	$9.33\pm1.36\times10^{3\ b,2}$	$1.18\pm0.32\times10^{3\ d,4}$	$4.10\pm0.53\times10^{2\ c,5}$
กรกฎาคม	$4.50\pm1.41\times10^{2\ d,5}$	$6.83\pm0.58\times10^{3\ b,3}$	$7.53\pm1.53\times10^{3\ b,3}$	$9.93\pm1.53\times10^{3\ a,2}$	$5.40\pm1.41\times10^{4\ b,2}$	$7.53\pm0.58\times10^{4\ a,1}$	$8.13\pm1.53\times10^{4\ a,1}$	$4.80\pm2.00\times10^{3\ a,4}$
สิงหาคม	$7.95\pm0.71\times10^{2\ d,4}$	$3.60\pm1.00\times10^{3\ c,3}$	$6.23\pm2.08\times10^{3\ b,2}$	$6.63\pm1.15\times10^{3\ c,2}$	$6.23\pm2.52\times10^{4\ a,1}$	$4.73\pm2.08\times10^{3\ c,3}$	$7.93\pm2.52\times10^{2\ c,4}$	$3.60\pm2.65\times10^{2\ d,5}$
กันยายน	$4.13\pm2.12\times10^{3\ b,4}$	$7.43\pm1.53\times10^{2\ d,4}$	$1.06\pm0.58\times10^{4\ a,2}$	$8.50\pm3.46\times10^{3\ b,3}$	$8.10\pm2.00\times10^{4\ a,1}$	$6.70\pm1.73\times10^{3\ c,3}$	$1.97\pm1.00\times10^{3\ b,5}$	$7.67\pm0.58\times10^{3\ c,3}$
ตุลาคม	$1.22\pm1.41\times10^{4\ a,2}$	$1.18\pm7.00\times10^{4\ a,2}$	$7.87\pm2.08\times10^{2\ d,5}$	$8.63\pm4.93\times10^{3\ b,3}$	$4.33\pm0.58\times10^{4\ b,1}$	$9.63\pm0.58\times10^{3\ b,3}$	$1.08\pm3.06\times10^{3\ b,4}$	$9.77\pm0.58\times10^{2\ b,4}$
พฤศจิกายน	$5.17\pm2.83\times10^{2\ d,4}$	$5.47\pm4.51\times10^{2\ d,3}$	$7.87\pm1.53\times10^{2\ d,3}$	$6.90\pm2.00\times10^{2\ d,5}$	$8.90\pm1.00\times10^{3\ d,1}$	$1.04\pm2.08\times10^{3\ d,2}$	$9.07\pm1.53\times10^{2\ b,2}$	$6.10\pm2.65\times10^{2\ c,3}$
ธันวาคม	$6.90\pm7.07\times10^{3\ b,2}$	$4.87\pm2.52\times10^{3\ c,5}$	$9.70\pm6.93\times10^{3\ a,2}$	$6.67\pm2.52\times10^{2\ d,4}$	$1.07\pm2.52\times10^{4\ c,1}$	$1.11\pm3.00\times10^{4\ b,1}$	$7.87\pm3.06\times10^{2\ c,4}$	$9.70\pm1.73\times10^{2\ b,3}$

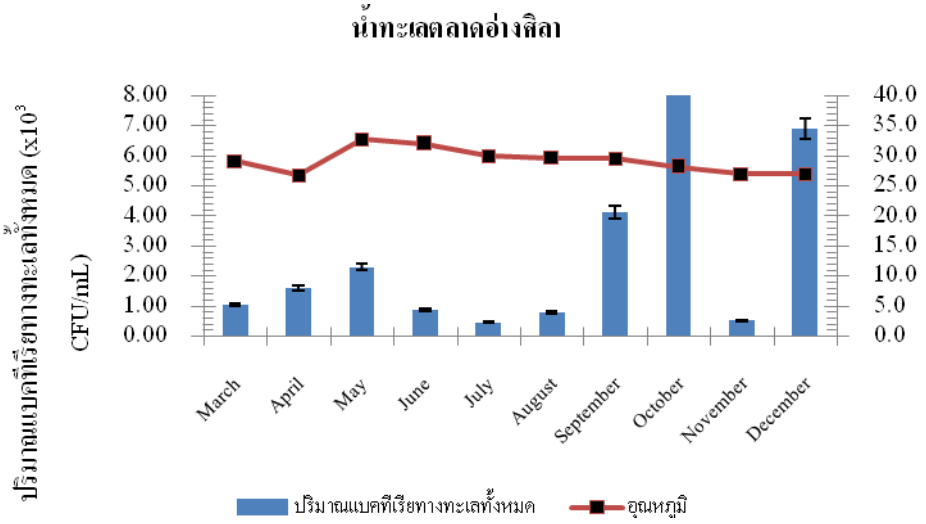
หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

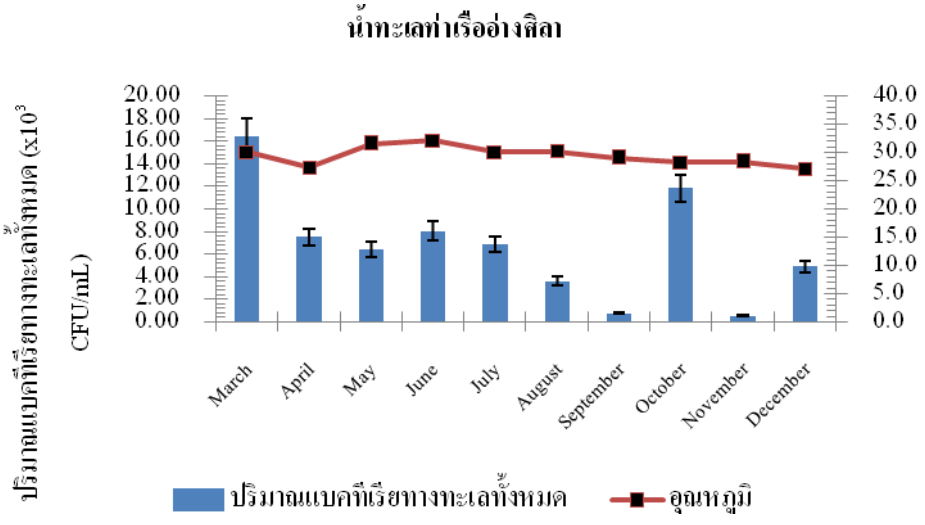


ภาพที่ 28 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

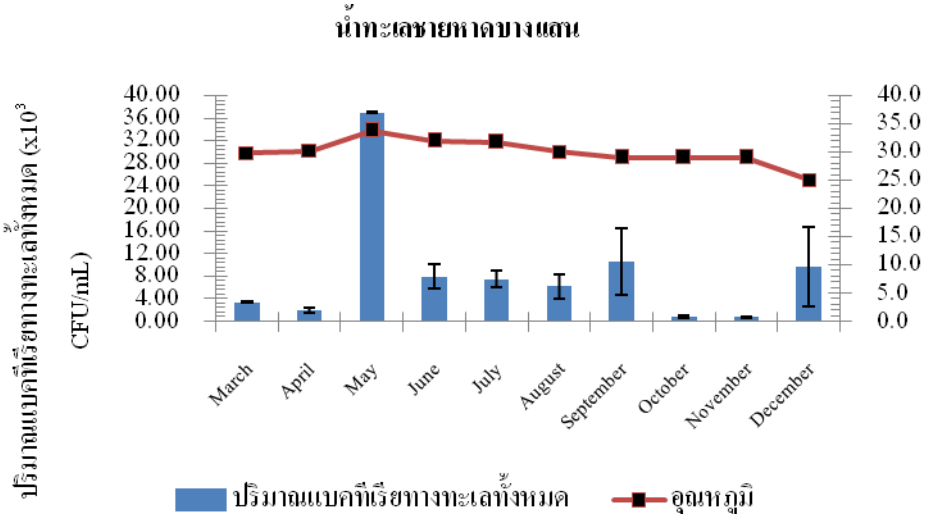
และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทางทะเลตลอดระยะเวลาการศึกษาในน้ำทะเลพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก และไม่เปลี่ยนแปลงตามการเพิ่มหรือลดลงของอุณหภูมิ แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในช่วงนี้เพียงปัจจัยเดียวไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียทางทะเลในบริเวณที่ทำการศึกษา แสดงดังภาพที่ 29 - 36 ยกเว้นปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำทะเลของบริเวณหาดวอนนภาที่พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอุณหภูมิน้ำทะเล (r^2 = 0.801, P value = 0.005) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิน้ำทะเลมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 10



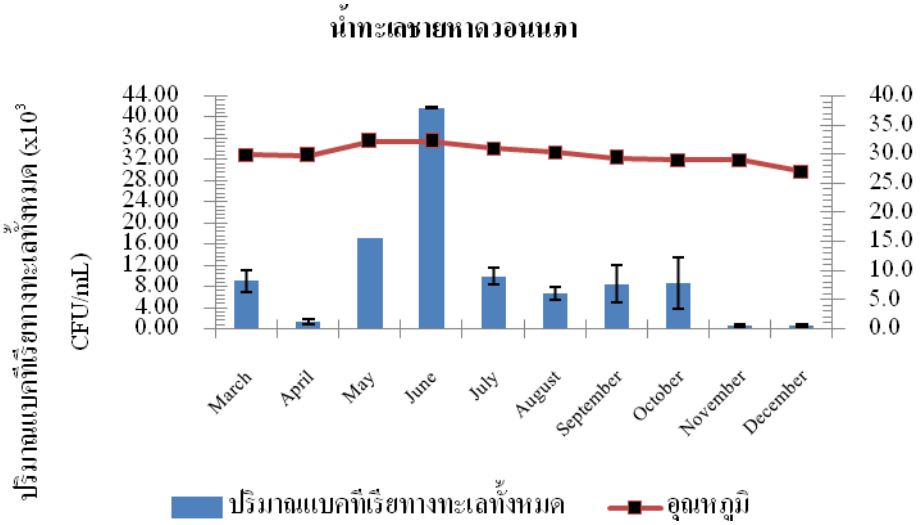
ภาพที่ 29 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณตลาดอ่างศิลา



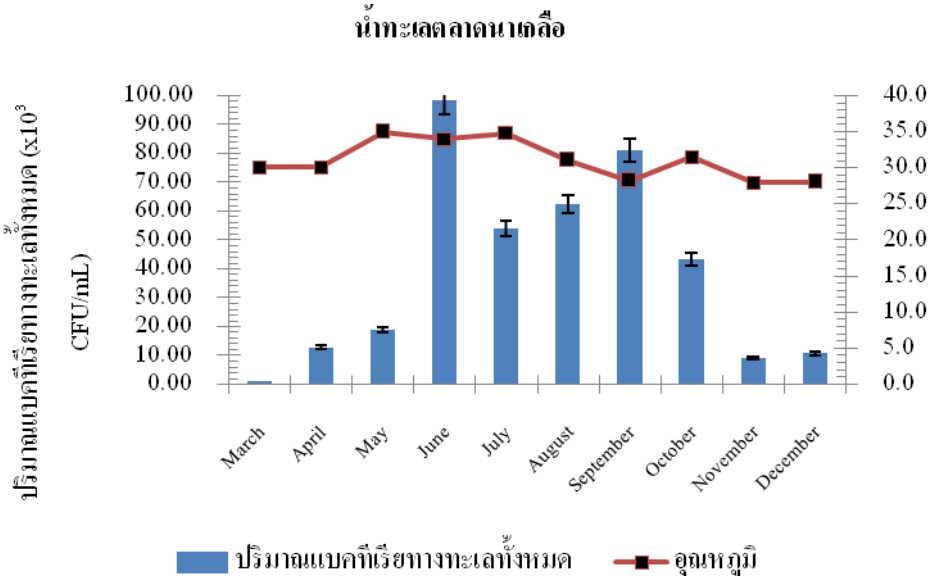
ภาพที่ 30 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลบริเวณท่าเรืออ่างศิลา



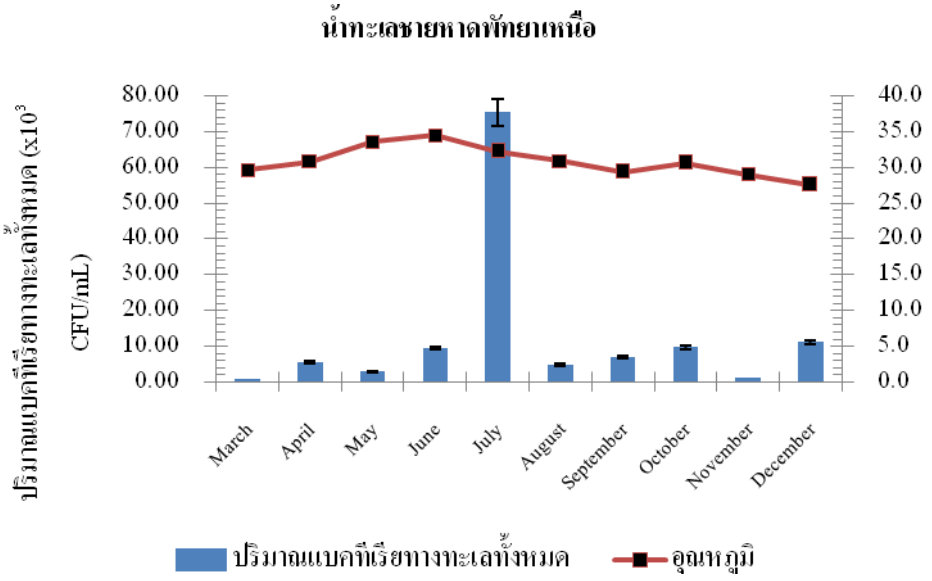
ภาพที่ 31 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเล บริเวณชายหาดบางแสน



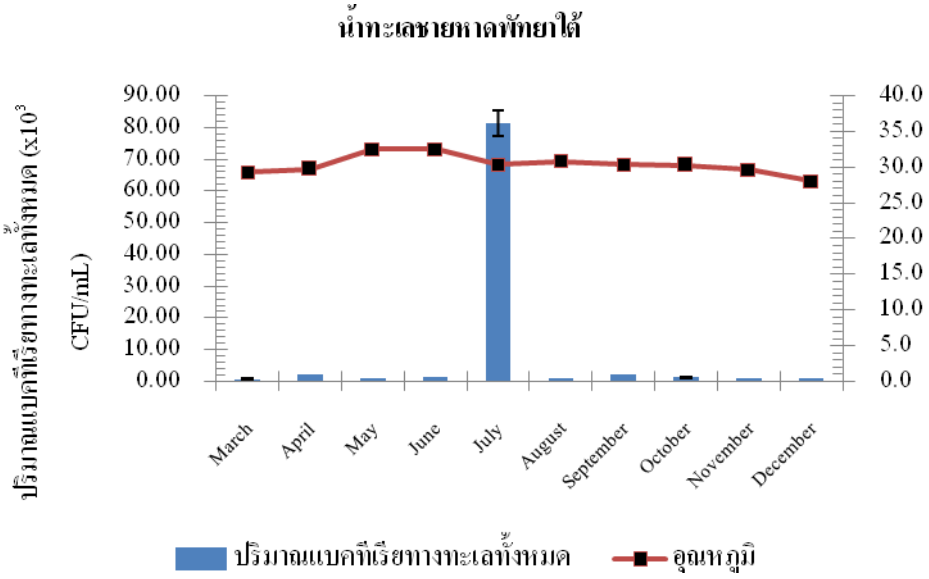
ภาพที่ 32 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเล บริเวณชายหาดวอนนภา



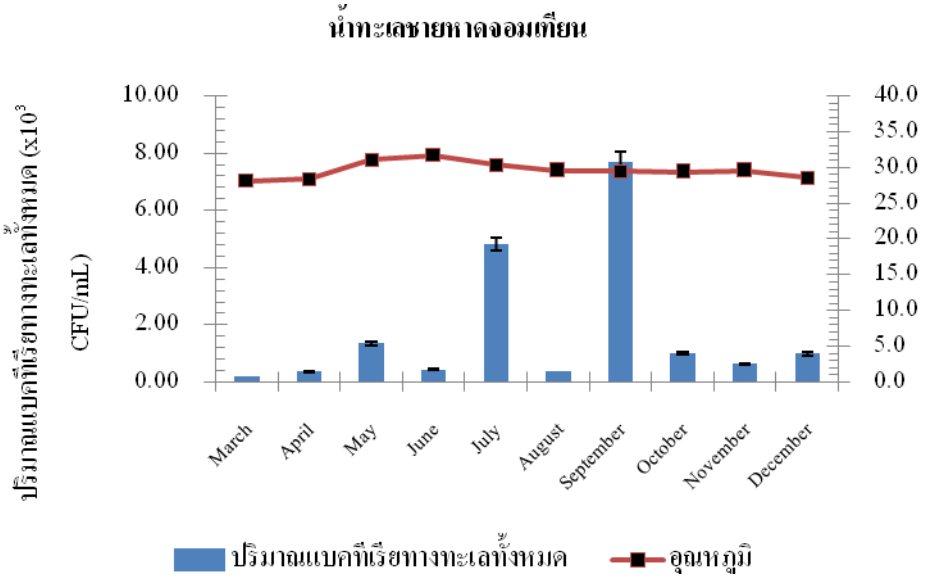
ภาพที่ 33 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเล บริเวณตลาดนาเกลือ



ภาพที่ 34 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเล บริเวณชายหาดพัทยาเหนือ



ภาพที่ 35 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเล บริเวณชายหาดพัทยาใต้



ภาพที่ 36 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเล บริเวณชายหาดจอมเทียน

1.2 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา

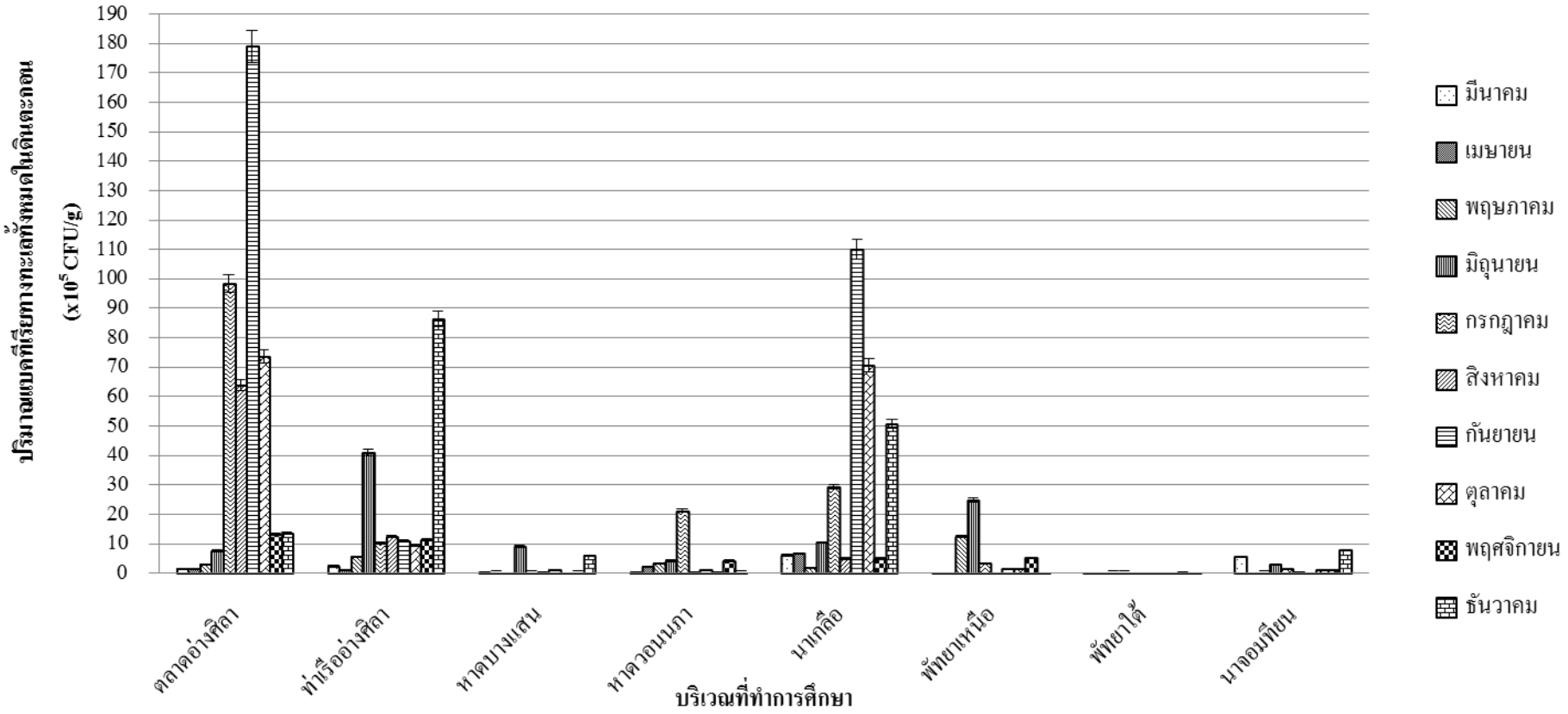
ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนจาก 8 จุด บริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา ตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ. 2554 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2555 จากผลการทดลองพบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสนมีค่าอยู่ในช่วง $1.58\pm0.18\times10^{4}$ ถึง $9.85\pm1.41\times10^{6}$ CFU/g ส่วนปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดพัทยาพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง $3.80\pm2.65\times10^{3}$ ถึง $5.93\pm0.58\times10^{6}$ CFU/g ดังแสดงในตารางที่ 9 และภาพที่ 37

ตารางที่ 9 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

เดือน	ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมด (CFU/mL)							
	ตลาดอ่างศิลา	ท่าเรืออ่างศิลา	หาดบางแสน	หาดวอนนภา	ตลาดนาเกลือ	พัทยาเหนือ	พัทยาใต้	หาดจอมเทียน
มีนาคม	$1.67\pm0.31\times10^{5\ d,3}$	$2.47\pm1.05\times10^{5\ d,3}$	$4.00\pm1.04\times10^{4\ d,4}$	$4.53\pm0.97\times10^{4\ d,4}$	$6.10\pm0.30\times10^{5\ c,1}$	$7.03\pm0.32\times10^{3\ c,5}$	$6.07\pm0.31\times10^{3\ d,5}$	$5.67\pm1.72\times10^{5\ b,2}$
เมษายน	$1.49\pm0.16\times10^{5\ d,2}$	$1.17\pm0.17\times10^{5\ d,2}$	$8.97\pm0.60\times10^{4\ c,3}$	$2.21\pm0.36\times10^{5\ c,2}$	$6.67\pm1.63\times10^{5\ c,1}$	$3.23\pm0.70\times10^{3\ d,5}$	$2.07\pm0.35\times10^{4\ b,4}$	$1.00\pm0.06\times10^{4\ d,4}$
พฤษภาคม	$3.04\pm0.67\times10^{5\ d,3}$	$5.58\pm0.29\times10^{5\ c,2}$	$1.58\pm0.18\times10^{4\ d,5}$	$3.35\pm0.74\times10^{5\ b,2}$	$1.91\pm0.21\times10^{5\ d,3}$	$1.24\pm0.15\times10^{6\ a,1}$	$8.60\pm1.01\times10^{4\ a,4}$	$9.17\pm0.42\times10^{4\ c,4}$
มิถุนายน	$7.60\pm7.00\times10^{5\ c,3}$	$4.10\pm0.66\times10^{6\ b,1}$	$9.03\pm0.90\times10^{5\ a,2}$	$4.37\pm0.55\times10^{5\ b,4}$	$1.04\pm0.11\times10^{6\ c,2}$	$2.47\pm2.11\times10^{6\ a,2}$	$8.67\pm1.86\times10^{3\ c,5}$	$3.13\pm1.23\times10^{5\ b,3}$
กรกฎาคม	$9.85\pm1.41\times10^{6\ a,1}$	$1.03\pm1.53\times10^{6\ b,3}$	$9.27\pm0.58\times10^{4\ c,4}$	$2.12\pm1.53\times10^{6\ a,2}$	$5.93\pm0.58\times10^{6\ b,2}$	$3.30\pm1.00\times10^{5\ b,4}$	$1.09\pm2.52\times10^{4\ c,5}$	$1.39\pm2.08\times10^{5\ c,4}$
สิงหาคม	$6.40\pm1.41\times10^{6\ b,1}$	$1.26\pm2.08\times10^{6\ b,2}$	$3.73\pm1.15\times10^{4\ d,4}$	$6.23\pm2.08\times10^{4\ c,4}$	$5.03\pm0.58\times10^{5\ c,3}$	$6.13\pm1.53\times10^{3\ c,5}$	$3.80\pm2.65\times10^{3\ d,5}$	$4.37\pm1.15\times10^{4\ c,4}$
กันยายน	$1.79\pm2.12\times10^{7\ a,1}$	$1.11\pm1.53\times10^{6\ b,2}$	$1.17\pm0.58\times10^{5\ b,3}$	$1.25\pm1.73\times10^{5\ c,3}$	$1.10\pm2.00\times10^{7\ a,2}$	$1.55\pm0.58\times10^{5\ c,3}$	$2.47\pm0.58\times10^{4\ b,4}$	$1.79\pm0.58\times10^{4\ d,5}$
ตุลาคม	$7.37\pm4.24\times10^{6\ b,1}$	$9.53\pm1.53\times10^{5\ c,3}$	$6.87\pm1.53\times10^{3\ c,4}$	$4.90\pm3.61\times10^{4\ d,4}$	$7.07\pm1.53\times10^{6\ b,2}$	$1.39\pm2.89\times10^{5\ b,4}$	$1.53\pm1.00\times10^{4\ c,5}$	$1.34\pm0.58\times10^{5\ d,4}$
พฤศจิกายน	$1.33\pm0.71\times10^{6\ c,1}$	$1.13\pm1.15\times10^{6\ b,2}$	$9.83\pm1.53\times10^{4\ c,4}$	$4.33\pm2.31\times10^{5\ b,3}$	$5.00\pm1.73\times10^{5\ c,3}$	$5.20\pm1.00\times10^{5\ b,3}$	$4.70\pm1.73\times10^{4\ b,5}$	$1.16\pm1.73\times10^{5\ c,4}$
ธันวาคม	$1.35\pm1.41\times10^{6\ c,2}$	$8.63\pm1.53\times10^{6\ a,1}$	$6.07\pm5.69\times10^{5\ b,3}$	$8.23\pm2.08\times10^{4\ c,4}$	$5.07\pm0.58\times10^{6\ b,2}$	$9.13\pm2.52\times10^{3\ c,5}$	$8.90\pm1.73\times10^{3\ c,5}$	$7.77\pm1.15\times10^{5\ a,3}$

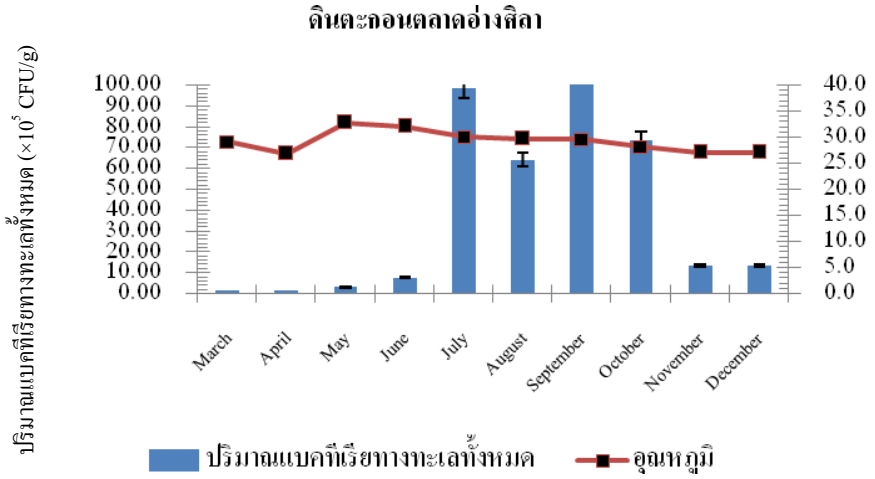
<u>หมายเหตุ</u> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

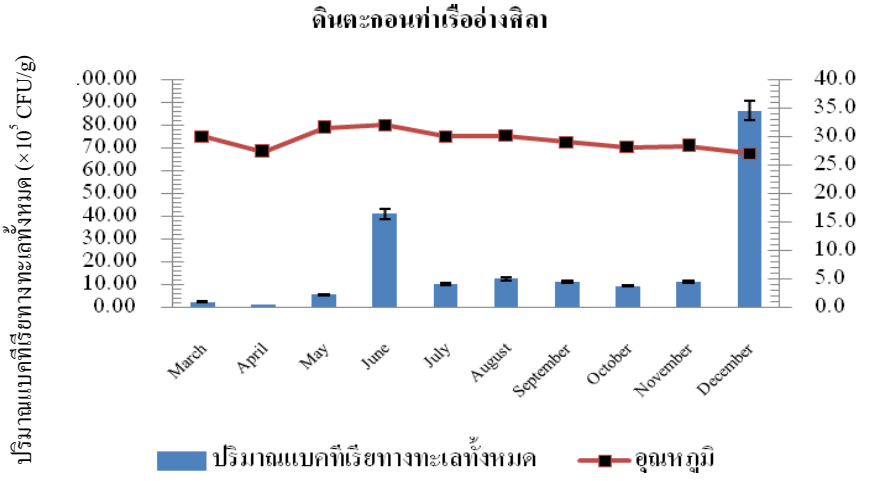


ภาพที่ 37 ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

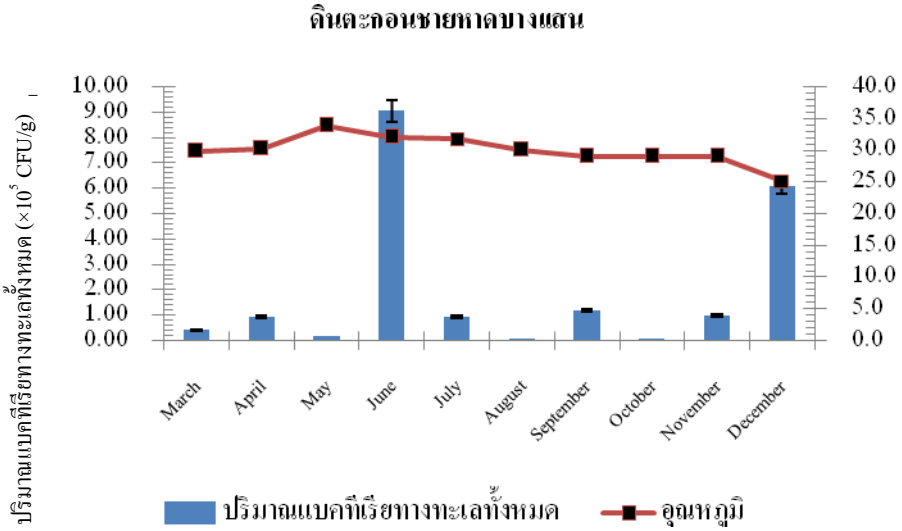
และเมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนที่พบในแต่บริเวณที่ทำการศึกษาซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละเดือนพบว่าตลอดระยะเวลาการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทางทะเลมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก และพบว่ามักไม่เปลี่ยนแปลงตามการเพิ่มหรือลดลงของอุณหภูมิ แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิเพียงปัจจัยเดียวไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียทางทะเลในบริเวณที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ แสดงดังภาพที่ 38 - 45



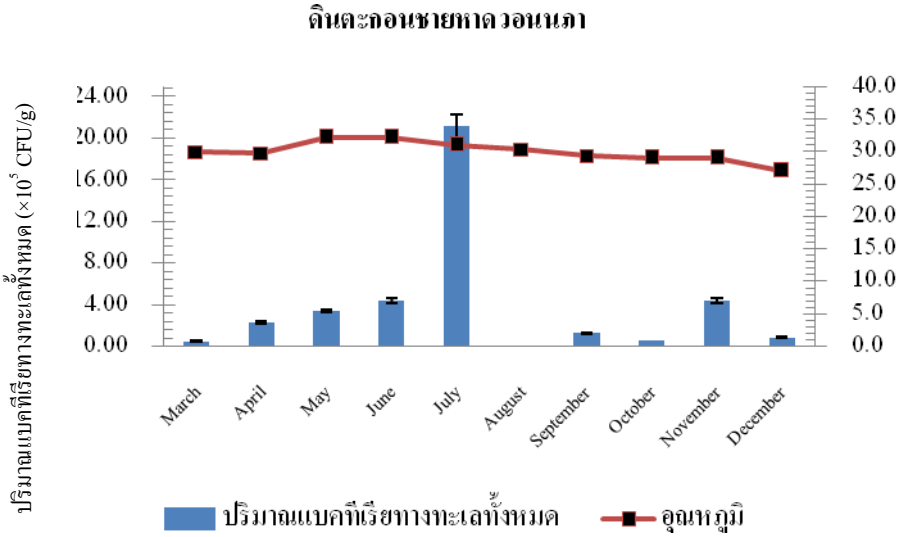
ภาพที่ 38 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณตลาดอ่างศิลา



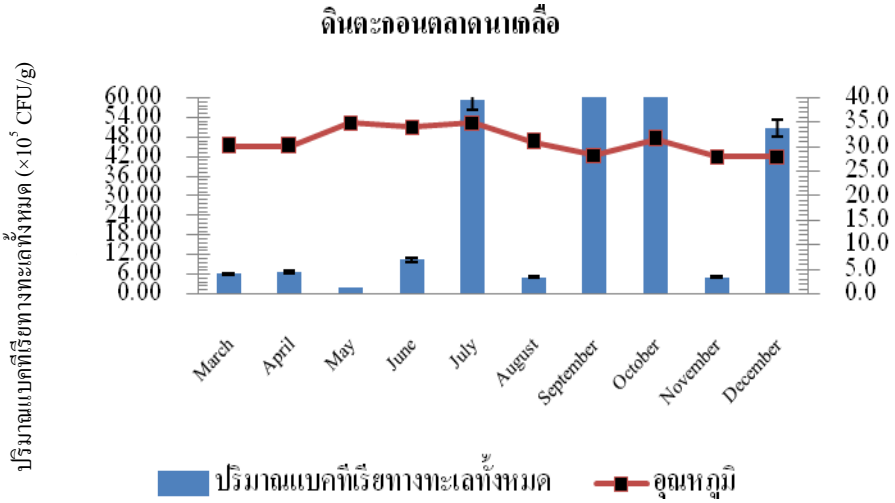
ภาพที่ 39 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณท่าเรืออ่างศิลา



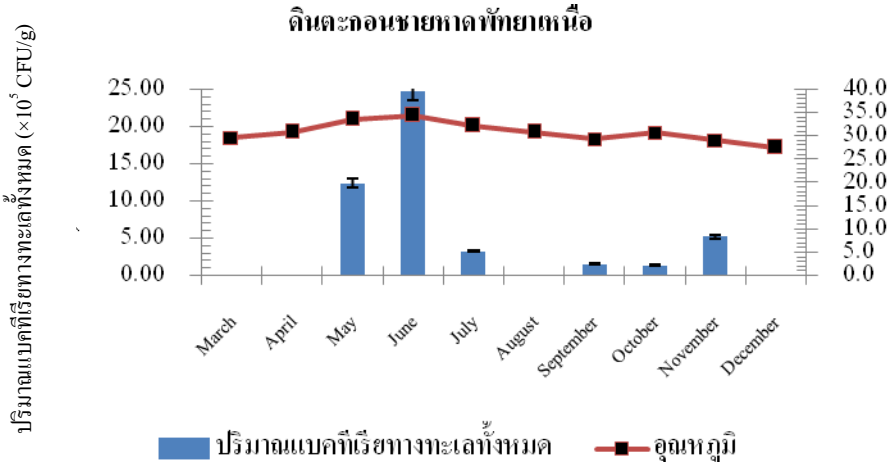
ภาพที่ 40 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสน



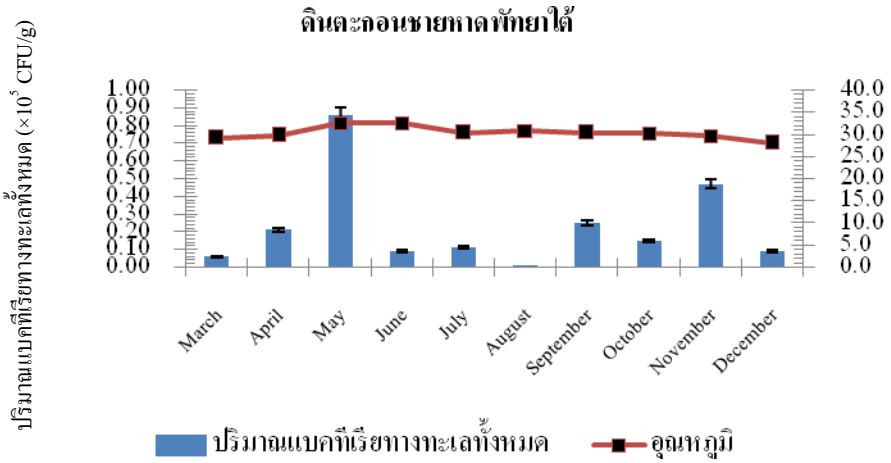
ภาพที่ 41 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดวอนนภา



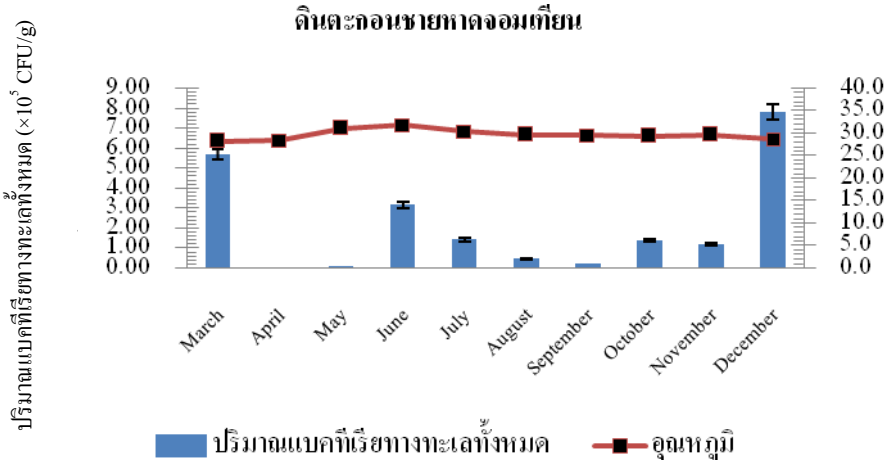
ภาพที่ 42 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณตลาดนาเกลือ



ภาพที่ 43 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดพัทยาเหนือ



ภาพที่ 44 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดพัทยาใต้



ภาพที่ 45 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในดินตะกอนบริเวณชายหาดจอมเทียน

ตารางที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียทางทะเลและอุณหภูมิบริเวณชายหาดบางแสน และพัทยา จังหวัดชลบุรี

บริเวณที่ทำการศึกษา	ตัวอย่าง	Correlation coefficients (r^2)	P-value
ตลาดอ่างศิลา	ดินตะกอน	n.s.	n.s.
	น้ำทะเล	n.s.	n.s.
ท่าเรืออ่างศิลา	ดินตะกอน	n.s.	n.s.
	น้ำทะเล	n.s.	n.s.
หาดบางแสน (โอเชียลเวิลด์)	ดินตะกอน	n.s.	n.s.
	น้ำทะเล	n.s.	n.s.
หาดวอนนภา	ดินตะกอน	n.s.	n.s.
	น้ำทะเล	0.801	0.005
ตลาดนาเกลือ	ดินตะกอน	n.s.	n.s.
	น้ำทะเล	n.s.	n.s.
ชายหาดพัทยาเหนือ	ดินตะกอน	n.s.	n.s.
	น้ำทะเล	n.s.	n.s.
ชายหาดพัทยาใต้	ดินตะกอน	n.s.	n.s.
	น้ำทะเล	n.s.	n.s.
หาดจอมเทียน	ดินตะกอน	n.s.	n.s.
	น้ำทะเล	n.s.	n.s.

n.s.; Not significant

2. การจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมด

2.1 การจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐาน

การจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐานจากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนบริเวณชายหาดบางแสนและพัทยา ทั้ง 8 จุดที่ทำการศึกษาในเดือนมีนาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2554 จากผลการทดลองพบว่าการจัดจำแนกแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐาน (จัดจำแนกตามคุณสมบัติทางชีวเคมี) และการยืนยันด้วยวิธีทางอณูพันธุศาสตร์โดยใช้ 16S rDNA สามารถจัดจำแนกได้เป็น 4 วงศ์ คือ วงศ์ Bacillales, วงศ์ Pseudomonaceae, วงศ์ Vibrionaceae และวงศ์ Enterobacteriaceae และชนิดของแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนในแต่ละบริเวณจะพบชนิดที่แตกต่างกันไป ซึ่งจะพบชนิดของแบคทีเรียในวงศ์ Bacillales มากที่สุด (*Bacillus brevis*/*B. sphaericus*, *B. cereus* subsp. *mycoides*/*B. anthracis*, *B. circulans*, *B. firmus*, *B. laterosporus*, *B. lentimorbus*, *B. macerans* และ *B. polymyxa*) รองลงมาคือวงศ์ Pseudomonaceae (*Acinetobacter* sp., *Acinetobacter johnsoniii*/*A. junii* และ *Neisseria weaver*/Gilardi rod group I), วงศ์ Vibrionaceae (Aeromonas caviae, *A. salmonicida* subsp. *smithia*, *Vibrio damselae* และ *V. fluvialis*) และวงศ์ Enterobacteriaceae (*Obesumbacterium proteus* biogroup 2, *Tatumella ptyseos* และ *Xenorhabdus luminescens*/*X. nematophilus*) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 11 - 26

ตารางที่ 11 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณตลาดอ่างศิลา

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	95
Aeromonas caviae	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	98
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-	97
Bacillus brevis/ B. sphaericus	-	✓	-	✓	-	-	-	-	✓	-	96
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	98
B. laterosporus	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	-	-	97
B. lentimorbus	✓	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	97
B. macerans	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	98
B. polymyxa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neisseria weaver/Gilardi rod group I	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	95
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	97
V. fluvialis	✓	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	97
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 12 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณตลาดอ่างศิลา

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	✓	-	-	-	✓	-	-	✓	✓	96
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	94
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	95
B. brevis/ B. sphaericus	-	✓	-	-	-	-	✓	-	✓	-	96
Bacillus cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-	97
B. firmus	✓	✓	-	✓	-	✓	✓	-	✓	-	97
B. laterosporus	✓	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	97
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	✓	✓	✓	96
B. polymyxa	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	96
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	94
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	95
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	-	✓	-	-	-	✓	✓	-	✓	-	96
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<u>หมายเหตุ</u> ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 13 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณท่าเรืออ่างศิลา

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	✓	-	-	✓	✓		✓	✓	-	96
Acinetobacter johnsoniii/A. junii	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	94
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	97
B. brevis/ B. sphaericus	-	✓	-	✓	-	✓	-	-	✓	-	95
Bacillus cereus subsp. *mycoides/B. anthracis*	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	95
B. circulans	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96
B. firmus	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	97
Bacillus laterosporus	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	97
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	96
B. polymyxa	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	97
Neisseria weaver/Gilardi rod group I	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	94
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96
Vibrio damselae	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	96
V. fluvialis	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 14 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณท่าเรืออ่างศิลา

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	✓	-	-	-	✓	✓	-	-	✓	95
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus brevis/ B. sphaericus	-	✓	-	✓	✓	✓	-	-	✓	✓	94
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	97
B. laterosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	-	✓	✓	✓	✓	-	-	-	✓	-	98
B. polymyxa	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	96
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	95
Tatumella ptyseos	✓	-	-	-	-	✓	-	-	✓	-	95
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96
V. fluvialis	✓	✓	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	96
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓ ; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 15 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณหาดบางแสน

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	94
Acinetobacter johnsoniii/A. junii	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	95
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	93
Bacillus cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	95
B. laterosporus	-	✓	✓	-	-	-	✓	-	✓	✓	96
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	-	-	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	-	97
B. brevis/ B. sphaericus	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	95
B. polymyxa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neisseria weaver/Gilardi rod group I	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	94
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	✓	-	-	-	✓	✓	-	-	✓	✓	96
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	96

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 16 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณหาดบางแสน

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	✓	-	-	-	✓	✓	-	✓	-	96
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-	95
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus brevis/ B. sphaericus	✓	-	-	-	-	✓	-	-	✓	-	95
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	97
B. laterosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	-	-	✓	✓	-	-	✓	✓	-	✓	96
B. polymyxa	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	96
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-	97
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	✓	✓	-	-	-	-	✓	✓	✓	-	95
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 17 แบคทีเรียทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณหาดวอนนภา

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	✓	-	-	✓	✓	-	-	✓	✓	93
Acinetobacter johnsoniii/A. junii	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	93
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. brevis/ B. sphaericus	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	94
Bacillus cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓	-	-	✓	95
B. laterosporus	✓	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	96
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	-	-	✓	✓	-	-	✓	✓	✓	✓	97
B. polymyxa	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	97
Neisseria weaver/Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	95
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 18 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินทะเลบริเวณหาดวอนนภา

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	94
Acinetobacter johnsoniii/A. junii	-	✓	-	-	✓	-	-	✓	-	✓	94
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus brevis/ B. sphaericus	-	✓	-	-	-	-	✓	-	-	-	93
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	-	97
B. laterosporus	✓	✓	-	-	-	-	✓	-	-	-	97
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	-	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	✓	✓	98
B. polymyxa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	✓	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	93
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	95
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	95
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 19 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณนาเกลือ

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	-	-	✓	✓	-	-	92
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. brevis/ B. sphaericus	✓	✓	-	✓	-	✓	-	-	✓	-	95
Bacillus cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	✓	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	94
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	98
B. laterosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	-	-	✓	✓	✓	✓	-	-	-	✓	99
B. polymyxa	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	96
Neisseria weaver/Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	97
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	✓	✓	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	98
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 20 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณนาเกลือ

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	✓	-	-	✓	-	-	-	✓	✓	91
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus brevis/ B. sphaericus	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	-	-	93
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	✓	-	✓	✓	-	-	-	-	-	93
B. circulans	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	98
B. firmus	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	99
B. laterosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	97
B. polymyxa	-	✓	-	-	✓	-	-	-	✓	-	97
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 21 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณพัทยาเหนือ

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	-	✓	-	✓	-	-	94
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	94
Bacillus brevis/ B. sphaericus	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	✓	-	91
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	99
B. laterosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. lentimorbus	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	98
B. macerans	✓	-	✓	✓	-	✓	✓	-	-	✓	98
B. polymyxa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neisseria weaver/Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	97
V. fluvialis	-	✓	-	-	✓	✓		-	✓	✓	96
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 22 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณพัทยาเหนือ

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	-	-	✓	✓	-	-	92
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus brevis/ B. sphaericus	✓	-	-	✓	✓	-	-	-	✓	✓	93
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	✓	-	-	-	-	-	-	✓	✓	94
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	✓	-	✓	✓	✓	-	98
B. laterosporus	-	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	99
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	✓	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	✓	-	97
B. polymyxa	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	98
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	✓	-	-	-	✓	✓	-	-	✓	✓	97
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<u>หมายเหตุ</u> ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 23 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณพัทยาใต้

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	✓	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	94
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus brevis/ B. sphaericus	✓	✓	-	✓	-	✓	-	-	✓	-	93
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	✓	-	✓	✓	-	✓	99
B. laterosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	✓	-	✓	✓	-	✓	✓	-	✓	-	98
B. polymyxa	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	98
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	✓	-	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	95
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 24 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณพัทยาใต้

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus brevis/ B. sphaericus	-	✓	-	-	✓	-	-	-	✓	-	93
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	93
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	98
B. laterosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	-	-	✓	✓	-	-	✓	✓	✓	✓	99
B. polymyxa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	✓	✓	-	-	-	✓	-	97
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	✓	-	-	-	-	✓	✓	-	✓	✓	95
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 25 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณหาดจอมเทียน

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	✓	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	95
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus brevis/ B. sphaericus	-	✓	-	-	✓	-	-	-	✓	-	93
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	-	98
B. laterosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. lentimorbus	✓	-	-	-	✓	-	-	-	✓	-	99
B. macerans	-	-	✓	✓	✓	✓	-	-	-	✓	98
B. polymyxa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tatumella ptyseos	✓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

ตารางที่ 26 แบคทีเรียทางทะเลที่พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณหาดจอมเทียน

เชื้อ	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	% Similarity*
Acinetobacter sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acinetobacter johnsoniii/ A. junii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aeromonas caviae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. salmonicida subsp. *smithia*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus brevis/ B. sphaericus	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	✓	✓	94
B. cereus subsp. *mycoides/ B. anthracis*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. circulans	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. firmus	-	✓	-	✓	✓	✓	✓	-	✓	-	99
B. laterosporus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. lentimorbus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. macerans	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓	✓	✓	✓	97
B. polymyxa	-	✓	-	-	-	✓	-	-	-	-	97
*Neisseria weaver/*Gilardi rod group I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Obesumbacterium proteus biogroup 2	-	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	97
Tatumella ptyseos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vibrio damselae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V. fluvialis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xenorhabdus luminescens/ X. nematophilus	✓	-	-	-	✓	-	-	-	✓	-	96

<u>หมายเหตุ</u> ✓; พบ, -; ไม่พบ, *; % Similarity = เปอร์เซ็นความคล้ายคลึงเมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์

2.2. ความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้บริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

จากการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้บริเวณบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี ด้วยเทคนิค Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Proteobacterium (Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria และ Deltaproteobacteria) ซึ่งพบได้ทั้งในตัวอย่างดินตะกอนและน้ำทะเลในทุกบริเวณที่ทำการศึกษา นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียไฟลัมอื่น ๆ ได้แก่ แบคทีเรียไฟลัม Cyanobacteria ซึ่งพบในตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณตลาดอ่างศิลาและท่าเรือตลาดอ่างศิลา แบคทีเรียไฟลัม Flavobacteria-Bacteroidetes (*Arenibacter latericius*, Bacteroidetes, Flavobacteriaceae bacterium, *Flavobacterium* sp., Uncultured *Flavobacterium* sp., Uncultured Flavobacteria bacterium, Uncultured Bacteroidetes bacterium, *Winodgradskyella epiphytica*) พบในดินตะกอนบริเวณท่าเรืออ่างศิลาและพบในน้ำทะเลบริเวณชายหาดวอนนภา นาเกลือ ชายหาดพัทยาเหนือ ชายหาดพัทยาใต้ และชายหาดนาจอมเทียน แบคทีเรียไฟลัม Actinobacteria (*Streptomyces* sp.) พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณท่าเรืออ่างศิลา แบคทีเรียไฟลัม Firmicutes (*Enterococcus* sp.) พบในดินตะกอนบริเวณชายหาดพัทยาเหนือ และแบคทีเรียไฟลัม Acidobacteria (Uncultured Acidobacteria bacterium) พบในตัวอย่างดินตะกอนบริเวณชายหาดนาจอมเทียน ดังแสดงในตารางที่ 27

ตารางที่ 27 ความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ในดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

บริเวณที่ศึกษา	ตัวอย่าง	ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มแบคทีเรีย	% Similarity
ตลาดอ่างศิลา	ดินตะกอน	Uncultured proteobacterium	Proteobacteria	80
		Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria	80
		Uncultured Geobacteraceae	Deltaproteobacteria	81
		Enterobacter sp.	Gammaproteobacteria	94
		Shewanella woodyi	Gammaproteobacteria	97
	น้ำทะเล	Uncultured proteobacterium	Proteobacteria	83
		Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria	79
		Uncultured *Synechococcus* sp.	Cyanobacteria	80
		Marine gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria	78
		Pantoea agglomerans pv. *betae*	Gammaproteobacteria	89
		Caulobacter sp.	Alphaproteobacteria	91
		Shewanella sp.	Gammaproteobacteria	91
		Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	95
ท่าเรืออ่างศิลา	ดินตะกอน	Uncultured *Salmonella* sp.	Gammaproteobacteria	85
		Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria	82
		Uncultured delta proteobacterium	Deltaproteobacteria	81
		Uncultured *Pseudoalteromonas* sp.	Gammaproteobacteria	84
		Uncultured *Flavobacterium* sp.	Flavobacteria-Bacteriodetes	79
		Halomonas sp.	Gammaproteobacteria	97
		Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	97
		Streptomyces sp.	Actinobacteria	92
	น้ำทะเล	Uncultured *Alteromonas* sp.	Gammaproteobacteria	90
		Uncultured proteobacterium	Proteobacteria	83
		Uncultured cyanobacterium	Cyanobacteria	83
		Uncultured *Shigella* sp.	Gammaproteobacteria	78
		Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria	71
		Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	91
ท่าเรืออ่างศิลา	น้ำทะเล	*Zymobacter palmae*	Gammaproteobacteria	92
		Oceanospirillum multiglobuliferum	Gammaproteobacteria	91

ตารางที่ 27 (ต่อ)

บริเวณที่ศึกษา	ตัวอย่าง	ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มแบคทีเรีย	% Similarity
หาดบางแสน	ดิน ตะกอน	Uncultured Acetobacteraceae	Alphaproteobacteria	71
		Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria	70
		Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria	82
		Shewanella sp.	Gammaproteobacteria	81
		Oceanisphaera sp.	Gammaproteobacteria	91
		Oceanospirillum multiglobuliferum	Gammaproteobacteria	94
		Erwinia chrysanthemi	Gammaproteobacteria	99
		Erwinia papayae	Gammaproteobacteria	99
	น้ำทะเล	Uncultured proteobacterium	Proteobacteria	80
		Uncultured beta proteobacterium	Betaproteobacteria	75
		Uncultured Comamonadaceae	Betaproteobacteria	73
		Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	97
		Shewanella sp.	Gammaproteobacteria	98
		Oceanospirillum multiglobuliferum	Gammaproteobacteria	99
หาดวอนนภา	ดิน ตะกอน	Uncultured gamma proteobacterium	Proteobacteria	77
		Halomonas sp.	Gammaproteobacteria	94
		Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	93
		Enterobacter sp.	Gammaproteobacteria	93
	น้ำทะเล	Uncultured Flavobacteria bacterium	Flavobacteria-Bacteriodetes	71
		Uncultured proteobacterium	Proteobacteria	72
		Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	93
		Winodgradskyella epiphytica	Flavobacteria-Bacteriodetes	99
		Bacteroidetes	Flavobacteria-Bacteriodetes	77
นาเกลือ	ดิน ตะกอน	Uncultured delta proteobacterium	Deltaproteobacteria	78
		Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria	88
		Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	94
	น้ำทะเล	Uncultured proteobacterium	Proteobacteria	72
		Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria	74
		Uncultured *Shewanella* sp.	Gammaproteobacteria	74
		Uncultured Bacteroidetes bacterium	Flavobacteria-Bacteriodetes	82
		Shewanella oneidensis	Gammaproteobacteria	98
		Psychrobacter sp.	Gammaproteobacteria	94

ตารางที่ 27 (ต่อ)

บริเวณที่ศึกษา	ตัวอย่าง	ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มแบคทีเรีย	% Similarity
พัทยาเหนือ	ดิน ตะกอน	Uncultured Neisseriaceae	Betaproteobacteria	81
		Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria	71
		Flavobacteriaceae bacterium	Flavobacteria-Bacteriodetes	70
		Enterococcus sp.	Firmicutes	96
		Shigella flexneri	Gammaproteobacteria	99
	น้ำทะเล	Uncultured proteobacterium	Proteobacteria	71
		Uncultured *Pseudoalteromonas* sp.	Proteobacteria	77
		Marine gamma proteobacterium	Proteobacteria	85
		Pseudoalteromonas sp.	Proteobacteria	85
		Flavobacterium sp.	Flavobacteria-Bacteriodetes	87
		Arenibacter latericius	Flavobacteria-Bacteriodetes	94
พัทยาใต้	ดิน ตะกอน	Uncultured bacterium	Proteobacteria	73
		Vibrio sp.	Gammaproteobacteria	84
		Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	92
		Halomonas sp.	Gammaproteobacteria	92
	น้ำทะเล	Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria	73
		Uncultured proteobacterium	Proteobacteria	70
		Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	85
		Flavobacterium sp.	Flavobacteria-Bacteriodetes	84
		Psychrobacter sp.	Gammaproteobacteria	88
		Arenibacter latericius	Flavobacteria-Bacteriodetes	95
นาจอมเทียน	ดิน ตะกอน	Uncultured Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria	74
		Uncultured Acidobacteria bacterium	Acidobacteria	74
		Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria	71
		Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria	71
		Alpha proteobacterium	Alphaproteobacteria	70
		Pseudomonas fluorescens	Gammaproteobacteria	97
	น้ำทะเล	Uncultured Flavobacteria bacterium	Flavobacteria-Bacteriodetes	83
		Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria	84
		Uncultured Bacteroidetes bacterium	Flavobacteria-Bacteriodetes	71
		Uncultured *Erwinia* sp.	Gammaproteobacteria	75
		Psychrobacter celer	Gammaproteobacteria	92
		Enterobacter sp.	Gammaproteobacteria	92

3. การเปรียบเทียบความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้และกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้บริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

จากการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้และแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้บริเวณบางแสนและพัทยาจังหวัดชลบุรี เป็นระยะเวลา 10 เดือน ตั้งแต่เดือนมีนาคม ถึงธันวาคม พ.ศ. 2554 จากการศึกษาของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้บริเวณบางแสนและพัทยา พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Firmicutes (*Bacillus* sp.) และไฟลัม Proteobacterium (Gammaproteobacteria) ส่วนแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้พบว่าจัดอยู่ในไฟลัม Proteobacterium (Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria และ Deltaproteobacteria), Cyanobacteria, Flavobacteria-Bacteroidetes, Actinobacteria (*Streptomyces* sp.), Firmicutes (*Enterococcus* sp.) และ Acidobacteria (Uncultured Acidobacteria bacterium) ดังแสดงในตารางที่ 28

ตารางที่ 28 การเปรียบเทียบความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้และกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ บริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี

บริเวณที่ศึกษา	ตัวอย่าง	Culturable bacteria		Non-culturable bacteria	
		ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย	ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย
ตลาดอ่างศิลา	ดินตะกอน	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured proteobacterium	Proteobacteria
				Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria
				Uncultured Geobacteraceae	Deltaproteobacteria
		Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	*Enterobacter* sp.	Gammaproteobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	*Shewanella woodyi*	Gammaproteobacteria
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria		
	น้ำทะเล	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured proteobacterium	Proteobacteria
				Uncultured *Synechococcus* sp.	Cyanobacteria
				Caulobacter sp.	Alphaproteobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria	Marine gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria
				Pantoea agglomerans pv. *betae*	Gammaproteobacteria
				Shewanella sp.	Gammaproteobacteria
				Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria
ท่าเรืออ่างศิลา	ดินตะกอน	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria
				Uncultured delta proteobacterium	Deltaproteobacteria
				Uncultured *Flavobacterium* sp.	Flavobacteria-Bacteriodetes
				Streptomyces sp.	Actinobacteria
		Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	Uncultured *Salmonella* sp.	Gammaproteobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Uncultured *Pseudoalteromonas* sp.	Gammaproteobacteria
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria	*Halomonas* sp.	Gammaproteobacteria

ตารางที่ 28 (ต่อ)

บริเวณที่ศึกษา	ตัวอย่าง	Culturable bacteria		Non-culturable bacteria	
		ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย	ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย
ท่าเรืออ่างศิลา	ดินตะกอน			*Pseudoalteromonas* sp.	Gammaproteobacteria
	น้ำทะเล	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria
				Uncultured proteobacterium	Proteobacteria
				Uncultured cyanobacterium	Cyanobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Uncultured *Shigella* sp.	Gammaproteobacteria
				Uncultured *Alteromonas* sp.	Gammaproteobacteria
				Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria
				Zymobacter palmae	Gammaproteobacteria
				Oceanospirillum multiglobuliferum	Gammaproteobacteria
หาดบางแสน	ดินตะกอน	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured Acetobacteraceae	Alphaproteobacteria
				Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria
		Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria		
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria	*Shewanella* sp.	Gammaproteobacteria
				Oceanisphaera sp.	Gammaproteobacteria
				Oceanospirillum multiglobuliferum	Gammaproteobacteria
				Erwinia chrysanthemi	Gammaproteobacteria
				Erwinia papayae	Gammaproteobacteria
	น้ำทะเล	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured proteobacterium	Proteobacteria
				Uncultured beta proteobacterium	Betaproteobacteria
				Uncultured Comamonadaceae	Betaproteobacteria
		Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	*Pseudoalteromonas* sp.	Gammaproteobacteria

ตารางที่ 28 (ต่อ)

บริเวณที่ศึกษา	ตัวอย่าง	Culturable bacteria		Non-culturable bacteria	
		ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย	ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย
หาดบางแสน	น้ำทะเล	Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	*Shewanella* sp.	Gammaproteobacteria
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria	*Oceanospirillum multiglobuliferum*	Gammaproteobacteria
					Gammaproteobacteria
หาดวอนนภา	ดินตะกอน	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured gamma proteobacterium	Proteobacteria
		Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	*Halomonas* sp.	Gammaproteobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	*Pseudoalteromonas* sp.	Gammaproteobacteria
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria	*Enterobacter* sp.	Gammaproteobacteria
	น้ำทะเล	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured proteobacterium	Proteobacteria
				Uncultured Flavobacteria bacterium	Flavobacteria-Bacteriodetes
				Bacteroidetes	Flavobacteria-Bacteriodetes
				Pseudoalteromonas sp.	Flavobacteria-Bacteriodetes
		Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	*Winodgradskyella epiphytica*	Gammaproteobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria		
นาเกลือ	ดินตะกอน	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured delta proteobacterium	Deltaproteobacteria
				Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	*Pseudoalteromonas* sp.	Gammaproteobacteria
	น้ำทะเล	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured proteobacterium	Proteobacteria
				Uncultured Bacteroidetes bacterium	Flavobacteria-Bacteriodetes
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria		
				Uncultured *Shewanella* sp.	Gammaproteobacteria
				Shewanella oneidensis	Gammaproteobacteria
				Psychrobacter sp.	Gammaproteobacteria

ตารางที่ 28 (ต่อ)

บริเวณที่ศึกษา	ตัวอย่าง	Culturable bacteria		Non-culturable bacteria	
		ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย	ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย
พัทยาเหนือ	ดินตะกอน	*Bacillus* sp.	Firmicutes	*Enterococcus* sp.	Firmicutes
				Uncultured Neisseriaceae	Betaproteobacteria
				Flavobacteriaceae	Flavobacteria-
				bacterium	Bacteriodetes
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Uncultured gamma	Gammaroteobacteria
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria	proteobacterium	
				Shigella flexneri	Gammaproteobacteria
	น้ำทะเล	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured	Proteobacteria
				proteobacterium	
				Uncultured	Flavobacteria-
				Pseudoalteromonas sp.	Bacteriodetes
				Pseudoalteromonas sp.	Flavobacteria-
					Bacteriodetes
				Flavobacterium sp.	Flavobacteria-
					Bacteriodetes
				Arenibacter latericius	Flavobacteria-
					Bacteriodetes
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	Marine gamma	Gammaproteobacteria
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria	proteobacterium	
พัทยาใต้	ดินตะกอน	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured bacterium	Proteobacteria
		Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	*Vibrio* sp.	Gammaproteobacteria
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria	*Pseudoalteromonas* sp.	Gammaproteobacteria
				Halomonas sp.	Gammaproteobacteria
	น้ำทะเล	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured	Proteobacteria
				proteobacterium	
				Flavobacterium sp.	Flavobacteria-
					Bacteriodetes
				Arenibacter latericius	Flavobacteria-
					Bacteriodetes
				Pseudoalteromonas sp.	Gammaproteobacteria
				Uncultured gamma	Gammaproteobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria	proteobacterium	
		Vibrionaceae	Gammaproteobacteria	*Psychrobacter* sp.	Gammaproteobacteria

ตารางที่ 28 (ต่อ)

บริเวณที่ศึกษา	ตัวอย่าง	Culturable bacteria		Non-culturable bacteria	
		ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย	ชนิดแบคทีเรีย	กลุ่มของแบคทีเรีย
นาจอมเทียน	ดินตะกอน	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured Acidobacteria bacterium	Acidobacteria
				Uncultured *Burkholderia* sp.	Betaproteobacteria
				Alpha proteobacterium	Alphaproteobacteria
		Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	Uncultured *Pseudoalteromonas* sp.	Gammaproteobacteria
				Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria
				Pseudomonas fluorescens	Gammaproteobacteria
	น้ำทะเล	*Bacillus* sp.	Firmicutes		
				Uncultured Flavobacteria bacterium	Flavobacteria-Bacteriodetes
				Uncultured Bacteroidetes bacterium	Flavobacteria-Bacteriodetes
		Enterobacteriaceae	Gammaproteobacteria	Uncultured gamma proteobacterium	Gammaproteobacteria
		Pseudomonadaceae	Gammaproteobacteria		
				Uncultured *Erwinia* sp.	Gammaproteobacteria
				Psychrobacter celer	Gammaproteobacteria
				Enterobacter sp.	Gammaproteobacteria

บทที่ 5
สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผล

1. อุณหภูมิของน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยาทั้ง 8 บริเวณที่ทำการศึกษาในครั้งนี้มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 25.00 ± 0.00 ถึง 34.90 ± 0.00 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิน้ำทะเล ณ บริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี ของกรมควบคุมมลพิษตั้งแต่ พ.ศ. 2540 ถึง 2554 ของทั้ง 8 บริเวณเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าในเดือนมีนาคมถึงเมษายน ณ ปัจจุบัน น้ำทะเลมีอุณหภูมิที่ต่ำกว่า แต่ในเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายนน้ำทะเลมีอุณหภูมิที่สูงขึ้น ส่วนเดือนสิงหาคมและตุลาคมมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิทั้งที่เพิ่มขึ้นและลดลงของบริเวณเก็บตัวอย่างทั้ง 8 บริเวณ

2. จากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทะเลและดินตะกอน ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และความเค็ม ของทุกบริเวณที่ทำการศึกษาของหาดบางแสนและหาดพัทยาพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าอยู่ระหว่าง 6.30 ± 0.00 ถึง 9.69 ± 0.01 และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 4.36 ± 0.10 ถึง 10.37 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนความเค็มของน้ำทะเลทุกจุดที่ทำการศึกษาพบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 14 ถึง 34.0 พีพีที

3. การศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิต่อปริมาณแบคทีเรียทางทะเลกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำทะเลอยู่ในช่วง 25.00 ± 0.00 ถึง 34.90 ± 0.00 องศา-เซลเซียส อุณหภูมิของน้ำทะเลที่เปลี่ยนแปลงดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียทางทะเลในบางบริเวณ คือ อุณหภูมิมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในน้ำทะเลบริเวณหาดวอนนภาเพียงบริเวณเดียวเท่านั้น ส่วนบริเวณอื่นพบว่าอุณหภูมิไม่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียทางทะเล

4. การจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐานจากตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนพบว่าสามารถจัดจำแนกได้เป็น 4 วงศ์ คือ วงศ์ Bacillales, วงศ์ Pseudomonaceae, วงศ์ Vibrionaceae และ วงศ์ Enterobacteriaceae และชนิดของแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดที่พบในตัวอย่างน้ำทะเลและดินตะกอนในแต่ละบริเวณจะพบแตกต่างกันไป ซึ่งจะพบชนิดของแบคทีเรียในวงศ์ วงศ์ Bacillales มากที่สุด รองลงมาคือวงศ์ Pseudomonaceae, วงศ์ Vibrionaceae และ วงศ์ Enterobacteriaceae ตามลำดับ

5. แบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ในดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี ส่วนใหญ่จัดอยู่ในไฟลัม Proteobacterium ได้แก่

1) คลาส Alphaproteobacteria ได้แก่ *Caulobacter* sp. และ Uncultured Acetobacteraceae

2) คลาส Betaproteobacteria ได้แก่ Uncultured *Burkholderia* sp., Uncultured Comamonadaceae และ Uncultured Neisseriaceae

3) คลาส Gammaproteobacteria ได้แก่ *Enterobacter* sp., *Shewanella woodyi*, Marine gamma proteobacterium, *Pantoea agglomerans* pv. *betae*, *Shewanella* sp., *Pseudoalteromonas* sp., Uncultured *Salmonella* sp., Uncultured *Pseudoalteromonas* sp., *Halomonas* sp., Uncultured *Alteromonas* sp., Uncultured *Shigella* sp., *Zymobacter palmae*, *Oceanospirillum multiglobuliferum*, *Oceanisphaera* sp., *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia papaya*, *Pseudoalteromonas* sp., *Enterobacter* sp., Uncultured *Shewanella* sp., *Shewanella oneidensis*, *Psychrobacter* sp., *Shigella flexneri*, *Vibrio* sp., *Halomonas* sp., *Psychrobacter* sp., *Pseudomonas fluorescens*, Uncultured *Erwinia* sp. และ *Psychrobacter celer*

4) คลาส Deltaproteobacteria ได้แก่ Uncultured Geobacteraceae

นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียในไฟลัม Cyanobacteria ได้แก่ Uncultured *Synechococcus* sp. ไฟลัม Bacteroidetes ได้แก่ Bacteroidetes, Uncultured Bacteroidetes bacterium, *Flavobacterium* sp., *Arenibacter latericius* และ Flavobacteriaceae bacterium ไฟลัม Firmicutes ได้แก่ *Enterococcus* sp. ไฟลัม Acidobacteria ได้แก่ Uncultured Acidobacteria bacterium และไฟลัม Actinobacteria ได้แก่ *Streptomyces* sp.

6. เมื่อเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้และกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ พบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มที่พบในการศึกษาในครั้งนี้มีความแตกต่างกันอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้มีความหลากหลายมากกว่าแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้

อภิปรายผลการทดลอง

1. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทะเล

จากการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนบริเวณหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนมีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการศึกษา โดยมีค่าอยู่ในช่วง 6.30 ± 0.00 - 9.69 ± 0.01 ซึ่งผ่านมาตรฐานของกรมควบคุมมลพิษ (2550) ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตะกอนในทุกบริเวณที่ทำการศึกษามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการศึกษา สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลมีค่าค่อนข้างเป็นด่างมีค่าอยู่ในช่วง 7.35 ± 0.01

- 9.60 ± 0.10 และมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาของการศึกษา โดยค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำทะเลมีแนวโน้มเช่นเดียวดินตะกอน

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำบริเวณหาดบางแสนและพัทยาระหว่างเดือนมีนาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2554 พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 3.52 ± 0.09 - 10.37 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบว่านาเกลือเป็นบริเวณที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำที่สุด คือมีค่าอยู่ในช่วง 3.52 ± 0.09 - 7.96 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบว่าในเดือนมีนาคมมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเท่ากับ 3.52 ± 0.09 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่ผ่านมาตรฐานน้ำทะเลเพื่อการนันทนาการของกรมควบคุมมลพิษที่กำหนดให้มีค่ามากกว่า 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2550) อีกทั้งเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานประจำปีสำนักจัดการคุณภาพน้ำ ปี พ.ศ. 2552 พบปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 1.31–7.67 มิลลิกรัมต่อลิตร และบริเวณที่พบว่าไม่เป็นไปตามเกณฑ์คือบริเวณตลาดนาเกลือเช่นเดียวกันกับการศึกษาในครั้งนี้ (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, 2552)

จากการศึกษาอุณหภูมิของน้ำทะเลและอากาศบริเวณบางแสนและพัทยาพบว่าอุณหภูมิของน้ำทะเลมีค่าอยู่ในช่วง 25.0 ± 0.00 – 34.8 ± 0.30 และอุณหภูมิของอากาศมีค่าอยู่ในช่วง 26.2 ± 0.80 – 35.0 ± 0.00 โดยพบว่าบริเวณชายหาดบางแสนมีค่าในช่วง 25.0 ± 0.00 – 33.8 ± 0.30 โดยอุณหภูมิของน้ำทะเลและอากาศมีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพภูมิกาศตลอดระยะเวลาการทดลอง

ตลอดระยะเวลาการศึกษาตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2554 ความเค็มของน้ำทะเลบริเวณพัทยาทั้ง 4 บริเวณ ได้แก่ นาเกลือ พัทยาเหนือ พัทยาใต้และนาจอมเทียนมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนักเมื่อเทียบกับบริเวณบางแสน (ตลาดอ่างศิลา ท่าเรืออ่างศิลา หาดบางแสนและหาดวอนนภา) โดยในช่วงฤดูฝนตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงตุลาคมเป็นช่วงที่มีความเค็มต่ำกว่าระยะเวลาอื่น (14 ถึง 29.5 พีพีที) โดยในช่วงระยะเวลาอื่นนั้นมีความเค็มอยู่ระหว่าง 23.5 ถึง 34.0 พีพีที ยกเว้นบริเวณนาเกลือในเดือนมิถุนายนที่วัดค่าความเค็มได้เพียง 11 พีพีที เท่านั้น ในขณะที่บางแสนเป็นบริเวณที่ได้รับอิทธิพลของน้ำจืดอย่างชัดเจน กล่าวคือในช่วงฤดูฝนความเค็มของทั้ง 4 บริเวณมีค่าต่ำลงอย่างมาก (3.0 ถึง18.0 พีพีที) และในช่วงฤดูหนาว (ธันวาคม) เป็นช่วงที่บางแสนมีค่าความเค็มสูงที่สุด โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 32 ถึง 33 พีพีที นอกจากนี้บริเวณบางแสนที่พบว่ามีความเค็มลดลงในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงกันยายนนั้นอาจได้รับอิทธิพลจากน้ำจืดเนื่องจากเป็นแหล่งที่อยู่ใกล้กับแหล่งน้ำจืด (แม่น้ำบางปะกง) มากกว่าทางบริเวณพัทยาจึงส่งผลให้ความเค็มลดลงมากเมื่อมีการปล่อยน้ำจืดลงทะเล

และจากผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งจากการเปรียบเทียบกับคุณภาพน้ำ 2 ปีย้อนหลัง พบว่าคุณภาพน้ำทะเลโดยรวมเสื่อมโทรมลงโดยเฉพาะอ่าวไทยตอนในบริเวณปากแม่น้ำสายหลัก 4 สาย ได้แก่ เจ้าพระยา ท่าจีน แม่กลอง และบางปะกง ทุกพื้นที่มีคุณภาพน้ำเสื่อมโทรม

มากเนื่องจากเป็นแหล่งรองรับ ของเสียที่มาจากแม่น้ำสายหลัก โดยปัจจัยที่บ่งชี้ถึงปัญหาคุณภาพน้ำเสื่อมโทรมถึงเสื่อมโทรมมาก ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด (Total coliform bacteria) กลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์ม (Fecal coliform bacteria) กลุ่มเอ็นเทอโรคอกไค (Enterococci) และสารอาหาร (ไนเตรท -ไนโตรเจน (NO_3) ฟอสเฟต - ฟอสฟอรัส (PO_4) รวมทั้งปริมาณเหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) และน้ำมันและไขมันบนผิวน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่พบว่ามีค่าสูงในบริเวณปากแม่น้ำ แหล่งท่องเที่ยว และแหล่งชุมชน นอกจากนี้ยังพบเศษขยะบริเวณชายฝั่งอีกด้วย (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, 2552)

จากการศึกษาปัจจัยทางกายภาพของน้ำทะเลและดินตะกอนดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นพบว่ามีเพียงปัจจัยเดียวคือ อุณหภูมิของน้ำทะเลบริเวณชายหาดวอนนภาเท่านั้นที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้ ส่วนปัจจัยด้านอื่น ๆ ได้แก่ ความค่าเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ และความเค็มนั้นพบว่าไม่มีความพันธ์กับปริมาณแบคทีเรียในการศึกษาครั้งนี้

2. การศึกษาแบคทีเรียในน้ำทะเลและดินตะกอนกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้ด้วยวิธีมาตรฐานและวิธีทางชีวโมเลกุล

จากผลการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในตัวอย่างดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณหาดบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี พบว่าในดินตะกอนมีปริมาณมากกว่าในน้ำทะเลในทุกบริเวณที่ทำการทดลอง ซึ่งการพบแบคทีเรียในน้ำสิ่งแวดล้อมทางทะเลนั้นยังสอดคล้องกับรายงานประจำปีสำนักจัดการคุณภาพน้ำ ปี พ.ศ. 2552 ที่ผ่านมาได้ทำการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมดพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง < 1.8–2,100,000 MPN/100 มิลลิลิตร ซึ่งบริเวณที่ไม่เป็นไปตามมาตรฐานฯ หรือควรเฝ้าระวัง ได้แก่ อ่าวชลบุรีบางแสน (โอเชี่ยนเวิล) บางพระ ศรีราชา (เกาะลอย) ท่าเรือแหลมฉบัง (ตอนท้าย) ตลาดนาเกลือ อ่างศิลา (ท่าเรือ) และหาดจอมเทียน (กลาง) รวมทั้งปริมาณแบคทีเรียกลุ่มฟีคัลโคลิฟอร์มพบมีค่าอยู่ในช่วง < 1–45,000 CFU/100 มิลลิลิตร ซึ่งบริเวณที่ไม่เป็นไปตามมาตรฐานฯ หรือควรเฝ้าระวัง ได้แก่ อ่าวชลบุรี บางแสน (โอเชี่ยนเวิล) บางพระ ศรีราชา (เกาะลอย) ท่าเรือแหลมฉบัง (ตอนท้าย) พัทยาใต้ (ปากคลอง) อ่าวอุดม (สะพานปลา) ตลาดนาเกลือ และพัทยาใต้ (ปากคลอง) และปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเอนเทอโรคอคไคพบมีค่าอยู่ในช่วง 1–21,000 CFU/100 มิลลิลิตร ซึ่งบริเวณที่ไม่เป็นไปตามมาตรฐานฯ หรือควรเฝ้าระวัง ได้แก่ อ่าวชลบุรี อ่าวชลบุรี (ฟาร์มหอยนางรม) อ่างศิลา (ท่าเรือ) บางแสน (โอเชี่ยนเวิล) ศรีราชา (เกาะลอย) ท่าเรือแหลมฉบัง (ตอนท้าย) ตลาดนาเกลือ (สโมสรเรือใบ พัทยา) บางพระอ่าวอุดม (สะพานปลา) พัทยาใต้ (ปากคลอง) ท่าเรือสัตหีบ หาดจอมเทียน

(กลาง) พัทยาเหนือ (รร.แกรนด์พาเลซ) และช่องแสมสาร (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, 2552)

นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Jayanth et al. (2002) ที่รายงานว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณชายฝั่ง Tuticorin ในรัฐ Tamil Nadu ประเทศอินเดีย พบว่ามีค่าเท่ากับ 10^7 CFU/g และ 10^6 CFU/ml ตามลำดับ และรายงานของ Park et al. (2002) ที่ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียทางทะเลที่เก็บจากบริเวณชายฝั่งของเกาะ Cheju ประเทศเกาหลี ซึ่งพบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลในดินตะกอนและน้ำทะเลพบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 10^9-10^{10} CFU/g และ 10^6 CFU/ml ตามลำดับ และ Ramkumar et al. (2011) รายงายว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลที่พบบริเวณชายฝั่ง Kottaipattinam (Palk Strait, Southeast coast of India) พบว่าในดินตะกอน (~10^6 CFU/g) มีปริมาณแบคทีเรียสูงกว่าในน้ำทะเล (10^4 CFU/ml) นอกจากนี้อีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ในตัวอย่างดินตะกอนมีปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดสูงกว่าในน้ำทะเลนั้นอาจเนื่องมาจากลักษณะของเนื้อดินซึ่งเนื้อดินเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีอิทธิพลต่อการกระจายตัวของแร่ธาตุ สารอินทรีย์ ชีวมวล จุลินทรีย์ และคุณสมบัติอื่น ๆ ของดิน (Hamarashid, Othman, and Hussain, 2010) กล่าวคือในบางบริเวณเช่นบริเวณตลาดอ่างศิลา ท่าเรืออ่างศิลา และตลาดนาเกลือ มีลักษณะของเนื้อดินที่เป็นดินโคลนหรือดินเหนียว ในขณะที่บริเวณอื่น ๆ มีลักษณะของเนื้อดินเป็นดินทรายจึงทำให้มีการสะสมของแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดน้อยกว่าบริเวณที่เป็นดินโคลนหรือดินเหนียว และการสะสมแบคทีเรียในดินนั้นเนื่องจากแบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องการที่อยู่อาศัยโดยจะยึดเกาะเม็ดดินหรืออนุภาคต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูงจะทำให้มีปริมาณของแบคทีเรียสูงตามไปด้วย (สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, 2549) และในบริเวณดังกล่าวก็มีแหล่งที่มาของสารอินทรีย์เช่น เป็นแหล่งชุมชน แหล่งปล่อยน้ำทิ้ง เป็นต้น จึงยิ่งทำให้บริเวณดังกล่าวนั้นมีการสะสมของแบคทีเรียในปริมาณสูง

ในการศึกษาครั้งนี้แบคทีเรียทางทะเลที่พบในบริเวณทดลองอาจมีความเกี่ยวข้องกับปริมาณสารอินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมซึ่งเป็นผลมาจากการมีกิจกรรมบนชายฝั่งและการชะล้างของน้ำลงสู่ทะเล โดยสิ่งแวดล้อมที่พบว่ามีการปนเปื้อนด้วยสารมลพิษต่าง ๆ นั้นทำให้แบคทีเรียบางชนิดสามารถเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นมาได้ นอกจากนี้การสะสมของสารอาหารในดินตะกอนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงและการแพร่กระจายของแบคทีเรีย (Gonzalez-Acosta et al., 2006) อีก ทั้งบทบาทของแบคทีเรียทางทะเลมีความเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยกิจกรรมของเอนไซม์ เอนไซม์ของแบคทีเรียเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่ามีความสำคัญในการะบวนการเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์ที่อยู่ในทะเล (De Long et al., 1993; Pinhassi et al., 1999) ยกตัวอย่างเช่น *Pseudomonas* มีบทบาทในการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ในวัฏจักรไนโตรเจนและในกระบวนการ

ย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์สังเคราะห์ (Luz et al., 2004) โดยส่วนใหญ่สารอินทรีย์สามารถเกิดการย่อยสลายในส่วนของน้ำทะเลและบริเวณผิวหน้าของดินตะกอนโดยแบคทีเรียหลากหลายชนิด รวมทั้งแบคทีเรียทางทะเลยังมีความสามารถในการใช้สารอินทรีย์คาร์บอนที่ละลายน้ำ (Dissolved organic carbon; DOC) จึงทำให้สารดังกล่าวใช้ได้ในห่วงโซ่อาหารที่แตกต่างกัน (Ramkumar et al., 2011)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ของอุณหภูมิกับปริมาณของแบคทีเรียทางทะเล พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันในบริเวณตลาดอ่างศิลา ท่าเรืออ่างศิลา และชายหาดบางแสน ยกเว้นบริเวณชายหาดวอนนภาที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำทะเลที่สูงขึ้นและความเค็มที่ลดลงระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม จากการเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Pomeroy and Wiebe (2001) รายงานว่าพบปริมาณแบคทีเรียทางทะเลสูงในอ่าว Depeng ประเทศจีน ซึ่งเป็นช่วงที่น้ำทะเลมีความเค็มต่ำและอุณหภูมิของน้ำทะเลที่สูง และการศึกษาที่ผ่านมาของ Kelly (1982) ที่ได้รายงานว่า *Vibrio vulnificus* สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มต่ำและเจริญในอุณหภูมิที่ค่อนข้างสูง เช่นเดียวกันกับอิทธิพลของอุณหภูมิและความเค็มต่อการเกิดขึ้นของ *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ในสองทะเลสาบบนชายฝั่งมหาสมุทรแอตแลนติกของ Atlantic Coast of Veracruz, Mexico (Chavez et al., 2005) นอกจากนี้ Heidelberg et al. (2002) ได้รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของ *V. cholerae* ในตัวอย่างน้ำที่เก็บจากแม่น้ำ Choptank River ในอ่าว Chesapeake ในช่วงฤดูร้อนมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิของน้ำทะเล

ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้นอกจากอุณหภูมิของน้ำทะเลที่มีความสัมพันธ์เชิงสถิติต่อการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียทางทะเลแล้วยังจะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของความเค็มยังมีผลสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนกับปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมด ยกตัวอย่างเช่นในเดือนมิถุนายนบริเวณตลาดนาเกลือที่พบว่าเมื่อความเค็มลดลงเหลือ 11 พีพีที จะส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นทั้งในตัวอย่างน้ำทะเล ($9.83\pm1.50 \times 10^4$ CFU/ml) และดินตะกอน ($1.04\pm0.11 \times 10^6$ CFU/g) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Chavez et al. (2005) ได้อธิบายว่าการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลในด้านอุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเลนั้นควบคุมการระบาดของ *V. cholerae* นอกจากนี้ในกรณีของ *V. parahaemolyticus* พบว่ามีปริมาณเชื้อสูงในช่วงเดือนที่ร้อนที่สุด (Daniels et al., 2000) การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิของน้ำทะเลในช่วงฤดูร้อนส่งเสริมการเจริญของ *V. parahaemolyticus* (Martinez-Urtaza et al., 2010) รวมทั้งรายงานของ Reyes-Velazquez (2010) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลจะสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงความเค็มในช่วงฤดูแล้ง (ความเค็มสูง) โดยพบปริมาณของ *V. alginolyticus* เท่ากับ

6.46 MPN/g ในขณะที่ในช่วงฤดูฝน (ความเค็มลดลง) จะพบปริมาณของแบคทีเรียดังกล่าวเพิ่มขึ้นเป็น 9.70 MPN/g เป็นต้น

นอกจากปัจจัยทางด้านกายภาพที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดดังที่กล่าวมาแล้วนั้น ในการการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าในบางบริเวณเช่น พัทยาเหนือ และพัทยาใต้ พบว่าปริมาณแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดในน้ำทะเลมีการเพิ่มสูงขึ้นอย่างผิดปกติในเดือนกรกฎาคมอาจเนื่องมาจากมีกิจกรรมทาวน้ำจากนักท่องเที่ยวที่มาเที่ยวในบริเวณเก็บตัวอย่างอีกทั้งบริเวณดังกล่าวยังเป็นบริเวณที่สามารถท่องเที่ยวได้ตลอดทั้งปี

จากการจัดจำแนกแบคทีเรียทางทะเลทั้งหมดทั้งในตัวอย่างดินตะกอนและน้ำทะเลในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ประกอบด้วยวงศ์ Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Vibrionaceae และแบคทีเรียแกรมบวก คือ Bacillales ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่ผ่านมาของ Matin (1976) ที่รายงานว่าสามารถตรวจพบแบคทีเรียในวงศ์ Vibrionaceae ได้บ่อยที่สุดในตัวอย่างหอยและน้ำทะเล Kueh and Chan (1985) ได้ทำการตรวจสอบแบคทีเรียในตัวอย่างหอยและน้ำทะเลบริเวณเพาะเลี้ยง ซึ่งพบว่าแบคทีเรียที่จำแนกได้ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ Pseudomonadaceae (*Pseudomanas* และ *Acinetobacter*) และวงศ์ Vibrionaceae (*Vibrio* และ *Aeromonas*) เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Beleneva et al. (2003) ที่พบแบคทีเรียแกรมลบที่จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และ Vibrionaceae (*Aeromonas*) นอกจากนี้การศึกษาของ Uad et al. (2010) ตรวจพบแบคทีเรียทางทะเลในบริเวณ Prestige wreck ประเทศสเปน พบแบคทีเรียสกุล *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Halomonas*, *Pseudualteromonas*, *Brevibacterium*, *Marinobacter* และแบคทีเรียทางทะเล ซึ่งแบคทีเรียที่พบในการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Cavallo et al. (1999), Jorgensen and Des Marais (1988) และ Zaccone et al. (2002) ที่พบแบคทีเรียแกรมลบวงศ์ Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae และ Vibrionaceae นอกจากนี้แบคทีเรียแกรมบวกที่พบในการศึกษาครั้งนี้ คือ *Bacillus* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าแบคทีเรียดังกล่าวพบได้ประมาณ 25-30 % ใน สภาพแวดล้อมทางทะเลบริเวณเขตร้อนและเย็น (Cavallo et al., 1999; Jensen & Fanical, 1995; Pujalte et al., 1999; Stabili & Cavallo, 2001)

3. การศึกษาชนิดแบคทีเรียในน้ำทะเลและดินตะกอนกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

ผลการศึกษาพบแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ทั้งในดินตะกอนและน้ำทะเลบริเวณบางแสนและพัทยา จังหวัดชลบุรี ประกอบด้วยแบคทีเรียกลุ่ม Proteobacteria เป็นแบคทีเรียส่วนใหญ่ ได้แก่ Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria และ Deltaproteobacteria และมีแบคทีเรียกลุ่มอื่นในปริมาณน้อย คือ Actinobacteria, Bacteroidetes,

Firmicutes และ Acidobacteria โดยแบคทีเรียในแต่ละกลุ่มที่พบในการศึกษาในครั้งนี้จำแนกชนิดดังนี้ 1) คลาส Alphaproteobacteria ได้แก่ *Caulobacter* sp. และ Uncultured Acetobacteraceae 2) คลาส Betaproteobacteria ได้แก่ Uncultured *Burkholderia* sp., Uncultured Comamonadaceae และ Uncultured Neisseriaceae 3) Gammaproteobacteria ได้แก่ *Enterobacter* sp., *Shewanella woodyi*, Marine gamma proteobacterium, *Pantoea agglomerans* pv. *betae*, *Shewanella* sp., *Pseudoalteromonas* sp., Uncultured *Salmonella* sp., Uncultured *Pseudoalteromonas* sp., *Halomonas* sp., Uncultured *Alteromonas* sp., Uncultured *Shigella* sp., *Zymobacter palmae*, *Oceanospirillum multiglobuliferum*, *Oceanisphaera* sp., *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia papaya*, *Pseudoalteromonas* sp., *Enterobacter* sp., Uncultured *Shewanella* sp., *Shewanella oneidensis*, *Psychrobacter* sp., *Shigella flexneri*, *Vibrio* sp., *Halomonas* sp., *Psychrobacter* sp., *Pseudomonas fluorescens*, Uncultured *Erwinia* sp. และ *Psychrobacter celer* 4) Deltaproteobacteria ได้แก่ Uncultured Geobacteraceae 5) Cyanobacteria ได้แก่ Uncultured *Synechococcus* sp. 6) Bacteroidetes ได้แก่ Bacteroidetes, Uncultured Bacteroidetes bacterium, *Flavobacterium* sp., *Arenibacter latericius* และ Flavobacteriaceae bacterium 7) Firmicutes ได้แก่ *Enterococcus* sp. 8) Acidobacteria ได้แก่ Uncultured Acidobacteria bacterium และ 9) Actinobacteria ได้แก่ *Streptomyces* sp.

ซึ่งแบคทีเรียในไฟลัมแต่ละไฟลัม ได้แก่ Proteobacteria (Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria และ Deltaproteobacteria) ที่พบในการศึกษาครั้งนี้จัดเป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทางทะเลในบริเวณชายฝั่งและในน้ำทะเล (Imhoff, 2001; Sekiguchi et al., 2002; Wagner-Dobler et al., 2002; Singh & Ramaiah, 2011; Pommier et al., 2005; Riemann et al.,1999) นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบแบคทีเรียกลุ่ม Bacteroidetes ซึ่งจากรายงานวิจัยหลายฉบับที่ผ่านมาพบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายอินทรียวัตถุในทะเลและมีรายงานว่าพบแบคทีเรียกลุ่มนี้มากในช่วงที่เกิด Algal bloom (Riemann et al., 2000) และจะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาลอีกด้วย (Schauer et al., 2003) ส่วนแบคทีเรียกลุ่ม Actinobacteria โดยจะสามารถพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ในสิ่งแวดล้อมบริเวณชายฝั่งทะเล และความหลากหลายของแบคทีเรียกลุ่มนี้จะลดลงไปตามระยะห่างจากชายฝั่งทะเล (Okazaki & Okami, 1972; Fuhrman & Hagstrom, 2008)

เมื่อทำการเปรียบเทียบชนิดของแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้และกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ พบว่า ผลการศึกษาที่พบมีความแตกต่างกันอย่างมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้มีความหลากหลายมากกว่าแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้ อาจเนื่องจากข้อจำกัดในการเพาะเลี้ยงชื้อ

กล่าวคือแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้ที่พบนั้นต้องพบในปริมาณที่ค่อนข้างสูงและต้องสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงได้ (Marine agar) จึงจะสามารถตรวจนับปริมาณและนำไปจัดจำแนกชนิดต่อไปได้ ส่วนการตรวจหาแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้จากการหาจากตัวอย่างโดยตรงด้วยวิธีการทางอณูพันธุศาสตร์นั้นทำให้พบแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีอยู่จริงในตัวอย่างได้มีความหลากหลายมากกว่าแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้

ดังนั้นจากข้อสังเกตที่ได้จากการศึกษาถึงความหลากหลายของแบคทีเรียในสิ่งแวดล้อมนั้นควรทำการศึกษาทั้ง 2 แบบควบคู่กันไป เนื่องจากจะทำให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนซึ่งจะนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการค้นพบสำหรับแบคทีเรียกลุ่มที่เพาะเลี้ยงได้และนำแบคทีเรียมาศึกษาอย่างต่อเนื่อง ส่วนการศึกษาแบคทีเรียในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงไม่ได้แสดงถึงการบ่งชี้ความหลากหลายของแบคทีเรียอีกทั้งอาจเป็นการค้นพบแบคทีเรียชนิดใหม่ ๆ ซึ่งอาจนำมาซึ่งการประยุกต์ใช้ได้ต่อไป

บรรณานุกรม

การเกิดพายุเฮอริเคน Katnina ทำให้เมือง New Orleans เสียหาย. (2554). เข้าถึงได้จาก http://www.katnina.noaa.org)

การละลายของธารน้ำแข็ง Uppsala ที่ประเทศอาร์เจนตินา. (2554). เข้าถึงได้จาก http://news.bbc.co.uk

การละลายของธารน้ำแข็ง Pasterze ที่ประเทศออสเตรีย. (2554). เข้าถึงได้จาก http://www.worldviewofglobalwarming.org

คำรพ ทองธวัช. (2553). *ความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียในลำไส้ไก่โดยวิธีทางชีวโมเลกุล*. ปัญหาพิเศษหลักสูตรสัตวศาสตร์, สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประกาย กิจธิคุณ. (2550). วิกฤติโลกร้อนความจริงที่โลกต้องเผชิญ: ผลกระทบต่อประเทศไทยและภาคการเกษตร. *วารสารเศรษฐกิจการเกษตร*, *53*, 16-19.

ปรากฏการณ์เรือนกระจก. (2554). เข้าถึงได้จาก http://www.laohamutuk.org/Agri/Climate/09ClimateChange.htm.

ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา. (2554). เข้าถึงได้จาก http://www.esrl.noaa.gov/gmd/aggi/

ปริมาณก๊าซมีเทนที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา. (2554). เข้าถึงได้จาก http://www.esrl.noaa.gov/gmd/aggi/

ปริมาณก๊าซไนตรัสออกไซด์ที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา. (2554). เข้าถึงได้จาก http://www.esrl.noaa.gov/gmd/aggi/

ปริมาณก๊าซคลอโรฟูโอโรคาร์บอน หรือ CFC ที่เพิ่มมมากขึ้นในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมา. (2554). เข้าถึงได้จาก http://www.esrl.noaa.gov/gmd/aggi/

ธนาคารกสิกรไทย. (2553). *พัทยา*. เข้าถึงได้จาก http://www.kbeautifullife.com/travel.html .

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2549). *จุลชีววิทยาทางดิน*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2551). *การจัดจำแนกแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างท่อน : วงศ์วิบริโอนาซีอี*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2552). *การจัดจำแนกแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน วงศ์เอนเทอโรแบคทีเรียซีอี*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2552). *การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน บทบาทของจุลินทรีย์และการประยุกต์ใช้*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักงานจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ. (2552). *รายงานประจำปีสำนักงานจัดการคุณภาพกรมควบคุมมลพิษ*. กรุงเทพฯ: สำนักงานจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

Akagi, Y., Taga, N., & Simidu. (1977). Isolation and distribution of oligotrophic marine bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, *23*, 981-987.

Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, *215*, 403–410.

Ammann, C. M., Joos, F., Schimel, D. S., Otto-Bliesner, B. L., & Tomas, R. A. (2007). Solar influence on climate during the past millennium: Results from transient simulations with the NCAR Climate System Model. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(10), 3713-3718.

Alexiadis, A. (2007). Global warming and human activity: Amodel for studying the potential instability of the carbon dioxide/temperature feedback mechanism. *Ecological Modelling*, *203*, 243–256.

Aronson, E. L., & McNulty, S. G. (2009). Appropriate experimental ecosystem warming methods by ecosystem, objective, and practicality. *Agricultural and Forest Meteorology*, *149*, 1791-1799.

Bartlett, J. M. S., & Stirling, D. (2003). A Short History of the Polymerase Chain Reaction. *PCR Protocols*, (226), 3–6. doi:10.1385/1-59259-384-4:3.

Bernstein, L., Bosch, P., Canziani, O., Chen, Z., Christ, R., Davidson, O., Hare, W., Huq, S., Karoly, D., Kattsov, V., Kundzewicz, Z., Liu, J., Lohmann, U., Manning, M., Matsuno, T.,Menne, B., Metz, B., Mirza, M., Nicholls, N., Nurse, L., Pachauri, R., Palutikof, J., Parry, M., Qin, D., Ravindranath, N., Reisinger, A., Ren, J., Riahi, K., Rosenzweig, C., Rusticucci, M., Schneider, S., Sokona, Y., Solomon, S., Stott, P., Stouffer, R., Sugiyama, T., Swart, R.,Tirpak, D., Vogel, C., & Yohe, G. (2007). Summary for Policymakers. In S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis,K.B. Averyt, M. Tignor, & H. L. Miller (Eds.), *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on*

Climate Change, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Braconnot, P., Gillett, N. P., Luo, Y., Marengo-Orsini, J. A., Nicholls, N., Penner, J. E., & Stott, P. A. (2007). Understanding and Attributing Climate Change In S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, M. Tignor, & H. L. Miller (Eds.), *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom New York, NY, USA.

Buchanan, R., Gibbons, N. E., Cowan, S. T., Holt, J. G., Liston, J., Murray, R. G. E., Niven, C. F., Ravin, A. W., & Stanier, R. Y. (1974). *Bergey's manual of determinative bacteriology* (8th ed.). Baltimore: William & Wilkins.

Buchdahl, J., Twigg, R., & Cresswell, L. (2002). *Global warming.* Department of Environment, Food & Rural Affairs, Atmosphere, Climate & Environment Information Programme.

Bunyavanich, S., Landrigan, C. P., McMichael A. J., & Epstein, P. R. (2004). The impact of climate change on child health. *Ambulatory Pediatrics*, *3*(1), 44-52.

Cavallo, R. S., & Stabili, L. (2002). Presence of vibrios in seawater and *Mytilus galloprovincialis* (Lam.) from the Mar Piccolo of Taranto (Ionian Sea). *Water Research*, *36*, 3719-3726.

Cavallo, R. A., & Stabili, L. (2004). Culturable vibrios biodiversity in the Northern Ionian Sea (Italian coasts). *Scientia Maria*, *68*, 23-29.

Chavez, M. del R. C., Sedas, V. P., Borunda, E. O., & Reynoso, F. L. (2005). Influence of water temperature and salinity on seasonal occurrences of *Vibrio cholerae* and enteric bacteria oyster-producing areas of Veracruz, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, *50*, 1641–1648.

Chien, A., Edgar, D. B., & Trela, J. M. (1976). Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. *Journal of Bacteriology*, 127, 1550-1557.

Colwell, R. R. (1996). Global climate and infectious disease: The cholera paradigm. *Science*, *274*(5295), 2025-2031.

Creighton, T. C. (1999). *Encyclopedia of Molecular Biology*, Volumes 1-4. John Wiley & Sons.

Dagan, T., Roettger, M., Bryant, D., & Martin, W. (2010). Genome networks root the tree of life between prokaryotic domains. *Genome Biology and Evolution*, *2*, 379–392.

Daniels, N. A., MacKinnon, L., Bishop, R., Altekruse, S., Ray, B., Hammond, R. M., Thompson, S., Wilson, S., Bean, N. H., Griffin, P. M., & Slutsker, L. (2000). *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973–1998. *The Journal of Infectious Diseases*, *181*, 1661–1666.

De Long, E. F., Franks, D. G., & Alldredge, A. L. (1993). Phylogenetic diversity of aggregate attached vs. free-living marine bacterial assemblages. *Limnology and Oceanography*, *38*, 924-934.

DeSantis, T. Z., Hugenholtz, P., Larsen, N., Rojas, M., Brodie, E. L., Keller, K., Huber, T., Dalevi, D., Hu, P., & Andersen, G. L. (2006). Greengenes, a chimerachecked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Applied Environmental and Microbiology*, *72*, 5069–5072.

Doolittle, W. F. (2005). The origin and early evolution of life. In J. Cracraft, & R.W. Bybee (Eds.), *Evolutionary Science and Society: Educating a New Generation* (pp. 35-42). American Institute of Biological Sciences, Washington.

Eilers, H., Pernthaler, J., Glockner, F. O., & Amann, R. (2000). Culturability and in situ abundance of pelagic bacteria from the North Sea. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*(7), 3044-3051.

Epstein, P. R. (2001). Climate change and emerging infectious diseases. *Microbes and Infection*, *3*(9), 747-754.

Ferris, M. J., Muyzer, G., & Ward, D. M. (1996). Denaturing gradient gel electrophoresis profiles of 16s rRNA-defined populations inhabiting a hot spring microbial mat community. *Applied and Environmental Microbiology*, *62*(2), 340-346.

Frumkin, H., & McMichael, A. J. (2008). Climate change and public health: Thinking, Communicating, Acting. *American Journal of Preventive Medicine*, *35*(5), 403-410.

Fuhrman, J. A., & Hagstrom, A. (2008). Bacteria and archaeal community structure and its pattern. In D. L. Kirchman (Ed.), *Microbial ecology of the ocean 2nd Edn*. (pp. 45-90). Canada: Wiley-Blackwell.

Gonzalez-Acosta, B., Bashan, Y., Hernandez-Saavedra, N. Y., Ascencio, F., & De la Cruz-Aguero, G. (2006). Seasonal seawater temperature as the major determinant for populations of culturable bacteria in the sediments of an intact mangrove in an arid region. *FEMS Microbiology & Ecology*, *55*, 311–321.

Griffiths, S., Melville, K., Cook, M., & Vincent, S. (2001). Profiling of bacterial species associated with haddock larviculture by PCR amplification of 16S rDNA and denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Aquatic Animal Health*, *13*, 355–363.

Green, K. C., & Armstrong, J. S. (2007). Global warming: Forecasts by scientists versus scientific forecasts. *Energy & Environment*, *18*(7-8), 996-1021.

Gupta, R. (2000). The natural evolutionary relationships among prokaryotes.*Critical Reviews in Microbiology*, *26*(2), 111-131.

Hamarashid, N. H., Othman, M. A., & Hussain, M.-A. H. (2010). Effects of soil texture on chemical compositions, microbial populations and carbon mineralization in soil. *The Egyptian Society of Experimental Biology*, *6*(1), 59-64.

Hansen, M. L. K. (2005). *Isolation and characterization of antiviral marine microorganism*. Master' s thesis, Microbiology, Faculty of Science, University of Hawaii.

Hays, G. C., Richardson, A. J., & Robinson, C. (2005). Climate change and marine plankton. *Trends in Ecology & Evolution*, *20*(6), 337-344.

Hegerl, G., Crowley, T., Allen, M., Hyde, W., Pollack, H., Smerdon, J., & Zorita, E. (2007). Detection of human influence on a new, validated, 1500 year temperature reconstruction. *Journal of Climate*, *20*, 650-666.

Hodges, C. N. (2007). *Global Warming: Effect, Solution, Opportunity*. New York: The Seawater Foundation.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey' s manual of determinative bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins.

Holt, J. G., & Krieg, N. R. (1989*). Bergey's manual of systematic bacteriology* (4th ed.). Baltimore: Williams and Wilkins.

Imhoff, J. F. (2001). True marine and halophilic anoxygenic phototrophic bacteria. *Archives of Microbiology*, *176*, 243-254.

Jaksic, S., Uhitil, S., Petrak, T., Bazulic, D., & Karolyi, L. D. (2002). Occurrence of *Vibrio* spp. in sea fish, shrimps and bivalve mollusks harvested from Adriatic Sea. *Food Control*, *13*, 491–493.

Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, *45*(9), 2761–2764

Jensen, P. R., & Fenical, W. (1995). The relative abundance and seawater requirements of gram positive bacteria in near-shore tropical marine samples. *Microbial Ecology*, *29*, 249-257.

Jorgensen, B., & Des Marais, D. (1988). Optical properties of benthic photosynthetic communities:Fiber optic studies of cyanobacterial mats. *Limnology and Oceanography*, *33*, 99-113.

Kalmbach, S., Manz, W., & Szewzyk, U. (1997). Isolation of new bacterial species from drinking water biofilms and proof of their in situ dominance with highly specific 16S rRNA probes. *Applied and Environmental Microbiology*, *63*, 4164–4170.

Karvonen, A., Rintamaki, P., Jokela, J., & Valtonen, E. T. (2010). Increasing water temperature and disease risks in aquatic systems: Climate change increases the risk of some, but not all, diseases. *International Journal for Parasitology*, *40*, 1483-1488.

Kelly, M. T. (1982). Effect of temperature and salinity on *Vibrio* (*Beneckea*) *vulnificus* occurrence in a gulf coast environment. *Applied and Environmental Microbiology*, *44*(4), 820-824

Khasnis, A. A., & Nettleman, M. D. (2005). Global warming and infectious disease. *Archives of Medical Research*, *36*, 689-696.

Kojiri, T., Hamaguchi, T., & Ode, M. (2008). Assessment of global warming impacts on water resources and ecology of a river basin in Japan. *Journal of Hydroenvironment Research*, *1*, 164-175.

Krieg N.R., & Holt J. G. (1984). *Bergey 's manual of systematic bacteriology.* Baltimore: Williams & Wilkins.

Kriss, A. E., Mishustina, I. E., Mitskevich, N., & Zemtsova, E. V. (1967). *Microbial population of oceans and seas*. London: Edward Arnold.

Laughlin, T. J., & Lavery L. A. (1995). Lower extremity manifestations of *Vibrio vulnificus* infection. *The Journal of Foot and Ankle Surgery*, *34*(4), 354-357.

Leamaster, B. R., Walsh, W. A., Brock, J. A., & Fujioka, R. S. (1997). Cold stress-induced changes in the aerobic heterotrophic gastrointestinal-tract bacterial-flora of red hybrid tilapia. *Journal of Fish Biology*, *50*(4), 770-780.

Lipp, E. K., Huq, A., & Colwell, R. R. (2002). Effects of global climate on infectious disease: The cholera model. *Clinical Microbiology Reviews*, *15*(4), 757-770.

Liu, W., Li, L., Khan, M. A., & Zhu, F. (2012). Popular molecular markers in bacteria. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, *3*, 14-17.

Louie, M., Louie, L., & Simor, A. E. (2000). The role of DNA amplification technology in the diagnosis of infectious diseases. *Canadian Medical Association Journal*, *163*(3), 301-309.

Macilwain, C. (2000). Global warming skeptics left out in the cold. *Nature*, *403*, 233.

Mandel, M., & Marmur, J. (1968). Use of ultraviolet absorbance temperature profile for determining the guanine plus cytosine content of DNA. *Methods Enzymology*, *12B*, 195-206.

Mendelsohn, J., & Dawson, T. (2008). Climate and cholera in KwaZulu-Natal, South Africa: The role of environmental factors and implications for epidemic preparedness. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, *211*, 156-162.

Martinez-Urtaza, J., Bowers, J.C., Trinanes, J., & DePaola, A. (2010). Climate anomalies and the increasing risk of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* illnesses. *Food Research International*, *43*, 1780–1790.

McMichael, A. J., & Woodruff, R. E. (2008). Climate change and infectious diaeases. *The Social Ecology of Infectious Diseases*, 378-407.

McMichael, A. J., Woodruff, R. E., & Hales, S. (2006). Climate change and human health: present and future risks. *The Lancet*, *367*(9513), 859-869.

Motes, M. L., DePaola, A., Cook, D. W., Veazey, J. E., Hunsucker, J. C., Garthright, W. E., Blodgett, R. J., & Chirtel, S. J. (1998). Influence of water temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* in Northern Gulf and Atlantic Coast oysters (*Crassostrea virginica*). *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(4), 1459-1465.

Muyzer, G., Waal, E. C. D., & Uitterlinden, A. G. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplied genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, *59*(3), 695-700.

Nedoluha, P.C., & Westhoff, D. (1997). Microbiological analysis of striped bass (*Morone saxatilis*) grown in a recirculating system. *Journal of Food Protection*, *60*, 948-953.

Nordell, B. (2003). Thermal pollution causes global warming. *Global and Planetary Change*, *38*, 305-312.

Office of Environmental Policy and Planning. (1997). *Final report of the project titled the carrying capacity of the development of natural resources and environments in selected areas (Petcha Buri, Chum Porn, and Chonburi)*. Bangkok: Ministry of Science, Technology and Environment.

Okazaki, T., & Okami, Y. (1972). Studies on marine microorganisms II. Actinomycetes in Sagami Bay and their antibiotic substances. *Journal of Antibiotic (Tokyo)*, *25*, 461-466.

Paillard, C., Gausson, S., Nicolas, J. L., Paul le Pennec, J., & Haras, D. (2006). Molecular identification of *Vibrio tapetis*, the causative agent of the brown ring disease of *Ruditapes philippinarum*. *Aquaculture*, *253*, 25-38.

Park, S. H., Kwon, K. K., Lee, D.-S., & Lee, H. K. (2002). Morphological diversity of marine microorganisms on different isolation media. *The Journal of Microbiology*, *40*(2), 161-165

Pascal, P. Y., Dupuy, C., Mallet, C., Richard, P., & Niquil, N. (2008). Bacterivory by benthic organisms in sediment: Quantification using ^{15}N-enriched bacteria. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *355*, 18-26.

Patel, J. B. (2001). 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. *Journal of Molecular Diagnostics*, *6*, 313–321.

Paz, S., Bisharat, N., Paz, E., Kidar, O., & Cohen D. (2007). Climate change and the emergence of *Vibrio vulnificus* disease in Israel. *Environmental Research*, *103*(3), 390-396.

Pinhassi, J., Azam, F., Hemphala, J., Long, R. A., Martinez, J., Zweifel, U. L., & Hagstrom, A. (1999). Coupling between bacterioplankton species composition, population dynamics, andorganic matter degradation. *Aquatic Microbial Ecology*, *17*, 13-26.

Pommier, T., Pinhassi, J., & Hagstrom, A. (2005). Biogeography analysis of ribosomal RNA clusters from marine bacterioplankton. *Aquatic Microbial Ecology*, *41*, 79-89.

Pujalte, M. J., Ortigosa, M., Macian, M. C., Garay, E. (1999). Aerobic and facultative anaerobic heterotrophic bacteria associated to Mediterranean oysters and seawater. *International Microbiology*, *2*, 259–266.

Queric, N. V., Soltwedel, T., & Arntz, W. E. (2004). Application of a rapid direct viable count method to deep-sea sediment bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, *57*, 351-367.

Ramkumar, V. S., Kannapiran, E., & Palanisamy, M. (2011). Prevalence and distribution of total heterotrophic bacteria from Kottaipattinam coast, Palk Strait, Southeast coast of India. *Archives of Applied Science Research*, *3*(5), 593-598.

Rappe, M. S., & Giovannoni, S. J. (2003). The uncultured microbial majority. *Annual Review of Microbiology*, *57*, 369-394.

Rheinheimer, G. (1980). *Aquatic microbiology* (2rd ed.). New York: Wiley & Sons.

Riemann, L., Steward, G. F., & Azam, F. (2000). Dynamics of bacterial community composition and activity during a mesocosm diatom bloom. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*, 578-587.

Riemann, L., Steward, G. F., Fandino, L. B., Campbell, L., Landry, M. R., & Azam, F. (1999). Bacterial community composition during two consecutive NE monsoon periods in the Arabian sea studied by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of rRNA genes. *Deep-Sea Research II*, 46, 1791-1811.

Rose, J. B., Epstein, P. R., Lipp, E. K., Sherman, B. H., Bernard, S. M., & Patz, J. A. (2001). Climate variability and change in the United States: Potential impacts on water- and foodborne diseases caused by microbiologic agents. *Environmental Health Perspectives*, *109*(2), 211-220.

Ruiter, A. (1995). Conntaminants in fish. In A. Ruiter (Ed.), *Fish and fishery products*. Wallingford: CAB International.

Rychlik, W., Spencer, W. J., & Rhoads, R. E. (1990). Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro. *Nucleic Acids Research*, *18*(21), 6409-6412.

Sandaa, R. A., Magnesen, T., Torkildsen, L., & Bergh, O. (2003). Characterisation of the bacterial community associated with early stages of great scallop (*Pecten maximus*), using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). *Systematic and Applied Microbiology*, *26*, 302-311.

Saulnier, D., Avarre, J.C., Le Moullac, G., Ansquer, D., Levy, P., & Vonau, V. (2000). Rapid and sensitive PCR detection of *Vibrio penaeicida*, the putative etiological agent of syndrome 93 in New Caledonia. *Disease of Aquatic Organisms*, *40*, 109-115.

Schauer, M., Balague, V., Pedros-Alio, C., & Massana, R. (2003). Seasonal changes in the taxonomic composition of bacterioplankton in a coastal oligotrophic system. *Aquatic Microbial Ecology*, *31*, 163-174.

Schmidt, J. L., Deming, J. W., Jumars, P. A., & Keil, R. G. (1998). Constancy of bacteria abundance in surficial marine sediments. *Limnology and Oceanography*, *43*, 976-982.

Sekiguchi, H., Watanabe, M., Nakahara, T., Xu, B., & Uchiyama, H. (2002). Succession of bacterial community structure along the Changjiang river determined by denaturing gradient gel electrophoresis and clone library analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*, 5142-5150.

Singh, S. K., & Ramaiah, N. (2011). Denaturing gradient gel electrophoresis profiling of bacterial communities composition in Arabian Sea. *Journal of Environmental Biology*, *32*, 339-346.

Stabili, L., Acquaviva, M. I., & Cavallo, R. A. (2005). *Mytilus galloprovincialis* filter feeding on the bacterial community in a Mediterranean area (Northern Ionian Sea, Italy. *Water Research*, *39*, 469-477.

Stokes, J. L. (1962). *Recent progress in microbiology*. In Symposia, VIII International Congress for Microbiology. Toranto: Toranto Press.

Tamburini, C., Garel, M., Ali, B. A., Merigot, B., Kriwy, P., Charriere, B., & Budillon, G. (2009). Distribution and activity of bacteria and archaea in the different water masses of the Tyrrhenian sea. *Deep-Sea Research II*, *56*, 700-712.

Thomson, R., & Bertram, H. (2001). Laboratory diagnosis of central nervous system infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, *15*(4), 1047-1471.

Thongra-ar, W., Putchakarn, S., Musika, C., Poonpium, P., & Wongsudawan, W. (1995). *Impact of the Estern seaboard development programme on the water quality of marine recreation areas. Research report.* Chon Buri: Institute of Marine Science, Burapha University.

Toffin, L., Webster, G., Weightman, A. J., Fry, J. C., & Prieur, D. (2004). Molecular monitoring of culturable bacteria from deep-sea sediment of the Nankai Trough, Leg 190 Ocean Drilling Program. *FEMS Microbiology Ecology*, *48*(3), 357-367.

Vuthiphandchai, V., Thongra-ar, W., Rungsupa, S., Mokkongpai, P., Musika, C., Sriwilat, P., Juntaropakorn, M., Intarachart, A., Narksuwan, P., Rattana, S., Wisuttiphaet, M., & Nimrat, S. (2004). *Chonburi Initial Risk Assessment. GEF/UNDP/IMO Regional Programme on Building Partnerships in Environmental Management for the Seas of East Asia (PEMSEA) and the Chonburi Integrated Coastal Management National Demonstration Site*. Chon Buri: Institute of Marine Science, Burapha University.

Wagner-Dobler, I., Beil, W., Lang, S., Meiners, M., & Laatsch, H. (2002). Integrated approach to explore the potential of marine microorganisms for the production of bioactive metabolites. *Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology*, *74*, 207-238.

Weiburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S Ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, *173*(2), 697-703.

Wikipedia. (2015). *List of countries by carbon dioxide emissions.* Retrieved from http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_countries_by_carbon_dioxide_emissions

Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *87*(12), 4576-4579.

Wongwilaiwalin, S., Rattanachomsri, U., Laothanachareon, T., Eurwilaichitr, L., Igarashi, Y., & Champreda, V. (2010). Analysis of a thermophilic lignocellulose degrading microbial consortium and multi-species lignocellulolytic enzyme system. *Enzyme and Microbial Technology*, *47*, 283-290.

Yergeau, E. (2008). *Effects of global warming on Antarctic soil microorganisms and associated functions*. Doctoral dissertation, Faculty of Biotechnology, Vrije Unvisiteit Amsterdam.

Zaccone, R., Caruso, G., & Cali, C. (2002). Heterotrophic bacteria in the northern Adriatic Sea: Seasonal changes and ectoenzyme profile. *Marine Environmental Research*, *54*, 1-19.

Zell, R. (2004). Global climate change and the emergence/re-emergence of infectious diseases. *International Journal of Medical Microbiology Supplements*, *293*(37), 16-26.

Zobell, C. E. (1942). Bacteria of the marine world. *ScientificMonthly*, *55*, 320-330.

Zobell, C. E. (1946). *Marine microbiology: A monograph on hydrobacteriology*. Massachusette: Chronica Botanica.

ZoBell, C. E., & Oppenheimer, C. H. (1950). Some effects of hydrostatic pressure on the multiplication and morphology of marine bacteria. *Journal of Bacteriology*, *60*, 771-781.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Carbohydrate metabolism (O/F medium) test

ส่วนประกอบของอาหาร

Pancreatic digest of casein	2.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Dipotassium phosphate	0.3	กรัม
Glucose	10.0	กรัม
Bromthymol blue	0.08	กรัม
Agar	2.0	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งอาหารให้เย็นและอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จะมีสีเขียว

2. Citrate utilization test

ส่วนประกอบอาหาร

Magnesium sulfate	0.2	กรัม
Ammonium dihydrogen phosphate	1.0	กรัม
Dipotassium phosphate	1.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Sodium citrate	2.0	กรัม
Bromthymol blue	0.08	กรัม
Agar	15.0	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว วางหลอดอาหารแบบเอียง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีสีเขียว

3. Lysine Indole Motility medium (LIM)

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	10.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Dextrose	1.0	กรัม
L-lysine dihydrochloride	10.0	กรัม
L-tryptophan	0.5	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม
Agar	3.0	กรัม

pH 6.6 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เนื้ออาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. Methyl Red test และ Vogas-Prokauer test (MR-VP test)

ส่วนประกอบ MR-VP broth

Peptone	9	กรัม
Glucose	5	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	5	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. Nitrate และ Nitrite test

ส่วนประกอบของอาหาร

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Potassium nitrate	1	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. Ornithine decaboxylase test

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	5	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Dextrose	1	กรัม
Ornithine	5	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม

pH 6.8 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้ออาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

7. Phenol red broth for carbohydrate/sugar utilization

ส่วนประกอบของอาหาร

Pancreatic digest of casein	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
D-mannitol	5	กรัม
Phenol red	18	มิลลิกรัม
Agar	0.5-1	กรัม

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น นำไปต้มจนอาหารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จะมีสีแดง

8. Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) agar

ส่วนประกอบของอาหาร

Yeast extract	5	กรัม
Peptone	10	กรัม
Sodium citrate	10	กรัม
Sodium thiosulfate	7	กรัม
Oxgall	5	กรัม

Sodium chloride	10	กรัม
Saccharose (Sucrose)	20	กรัม
Sodium chlorate	3	กรัม
Ferric citrate	1	กรัม
Bromthymol blue	0.04	กรัม
Thymol B blue	0.04	กรัม
Agar	15	กรัม

pH 8.8 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่ออาหารเย็นลงที่อุณหภูมิ 45 -50 องศาเซลเซียส จึงเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยไม่ต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีสีเขียวมะกอก

9. Tryptic Soy Agar (TSA)

ส่วนประกอบของอาหาร

Pancreatic Digest of Casein	15	กรัม
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Agar	15	กรัม

pH 7.3 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

10. Tryptic Soy Broth (TSB)

ส่วนประกอบของอาหาร

Pancreatic Digest of Casein	15	กรัม
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม

pH 7.3 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

12. Vibriostatic compound (O/129) susceptibility

ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller hinton agar

Beef extract power	2	กรัม
Acid digest of casein	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม

pH 7.3 ± 0.1 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จะมีสีเหลืองจาง

16. การหมักย่อยน้ำตาลต่าง ๆ

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	10	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม
Sugar	10	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ใช้เป็น Basal medium แล้วจึงเติมน้ำตาลที่ต้องการทดสอบลงไป เช่น ถ้าต้องการใช้น้ำตาลกลูโคสให้ผสมกับ Basal medium โดยความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 1% (w/v) และบรรจุในหลอดทดลองหลอดละ 6-7 มิลลิลิตร ซึ่งจะมีหลอดดักก๊าซอยู่ในหลอดทดลอง ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นก็ทำในลักษณะเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 6 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที

17. ความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่าง ๆ

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	0.1	กรัม

Sodium chloride (เติมตามความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ)

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายใส่หลอดขนาด 13 × 100 มิลลิเมตร หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

18. Marine agar

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	5.0	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
Ferric citrate	0.1	กรัม
Sodium chloride	19.45	กรัม
Magnesium chloride	8.8	กรัม
Sodium sulfate	3.24	กรัม
Calcium chloride	1.8	กรัม
Potassium chloride	0.55	กรัม
Sodium bicarbonate	0.16	กรัม
Potassium bromide	0.88	กรัม
Strotium chloride	34.0	มิลลิกรัม
Boric acid	22.0	มิลลิกรัม
Sodium silicate	4.0	มิลลิกรัม
Sodium fluoride	2.4	มิลลิกรัม
Ammonium nitrate	1.6	มิลลิกรัม
Disodium phosphate	8.0	มิลลิกรัม
Agar	15.0	มิลลิกรัม

pH 7.6 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้ละลายเป็นเนื้อเดียว นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จะมีสีขาวขุ่นและมีตะกอน

ภาคผนวก ข

วิธีการเตรียมน้ำยาทดสอบ

1. ชุดย้อมแกรม (Gram strain solution)

การเตรียมรีเอเจนต์

Crystal violet stain

Crystal violet (Gentain violet)	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

Decolourizer

95 % ethanol	250	มิลลิลิตร
Acetone	250	มิลลิลิตร

Gram iodine solution

Iodine	1	กรัม
Potassium iodine	2	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

Safranin O solution

Safranin	2.5	กรัม
Ethanol	100	มิลลิลิตร

2. 3% Hydrogen peroxide solution

การเตรียมรีเอเจนต์

H_2O_2	3	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

3. Kovac' s reagent

การเตรียมรีเอเจนต์

Amyl หรือ Isoamyl alcohol	150	มิลลิลิตร
p-dimethyl aminobenzaldehyde	10	กรัม
Hydrochloric acid (conc.)	50	มิลลิลิตร

ละลาย *p*-dimethyl aminobenzaldehyde ในแอลกอฮอล์ จากนั้นจึงค่อย ๆ เติมกรดลงไปอย่างช้า ๆ

4. MR reagent

การเตรียมรีเอเจนต์

Methyl red	0.5	กรัม
Ethyl alcohol 95%	300	มิลลิลิตร
Distilled water	200	มิลลิลิตร

ละลาย Methyl red ในแอลกอฮอล์ จากนั้นเติมน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน

6. Nitrate reagent

การเตรียมรีเอเจนต์

Solution A

Sulfanilic acid	8	กรัม
Acetic acid, 5 N	1,000	มิลลิลิตร

Solution B

Alpha-naphthylamine	5	กรัม
Acetic acid, 5 N	1,000	มิลลิลิตร

7. Oxidase test

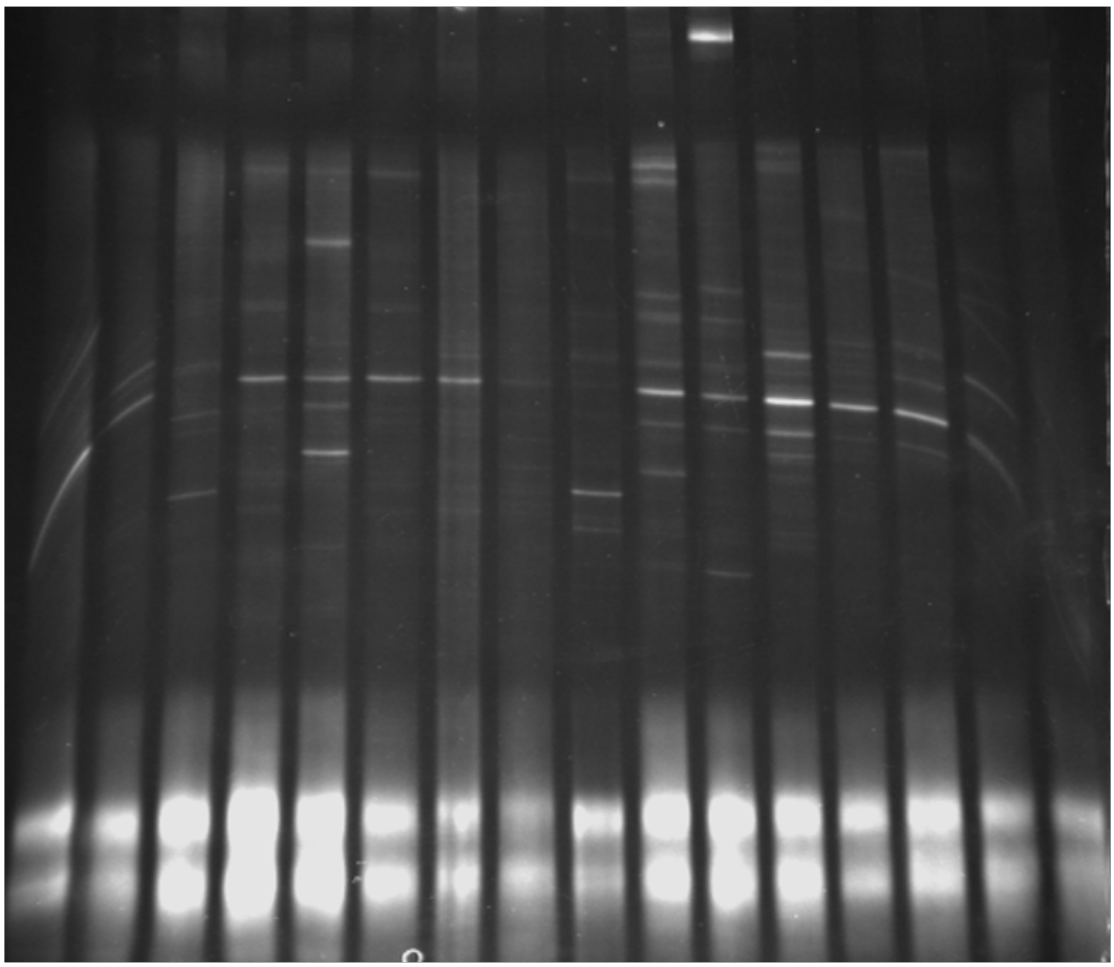
การเตรียมรีเอเจนต์

N,N,N,N-Tetramethyl-*p*-phenylene diamine dihydrochloride		
($C_{10}H_8Cl_2N_2$)	10	กรัม
Distilled water	100	มิลลิลิตร

ละลายสารนี้ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมทั้งหมดให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา (ห้ามถูกแสง)

ภาคผนวก ค

รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE

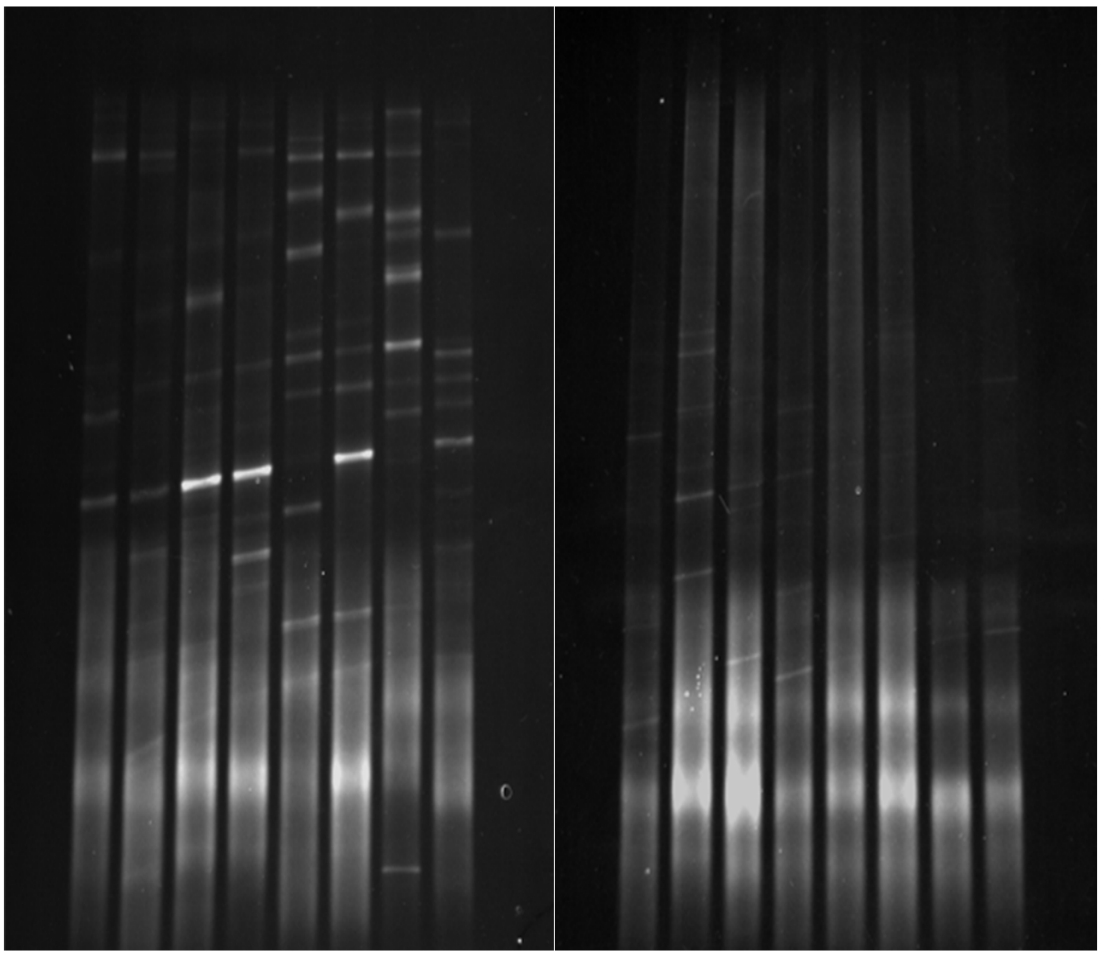


ภาพที่ 46 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนมีนาคม

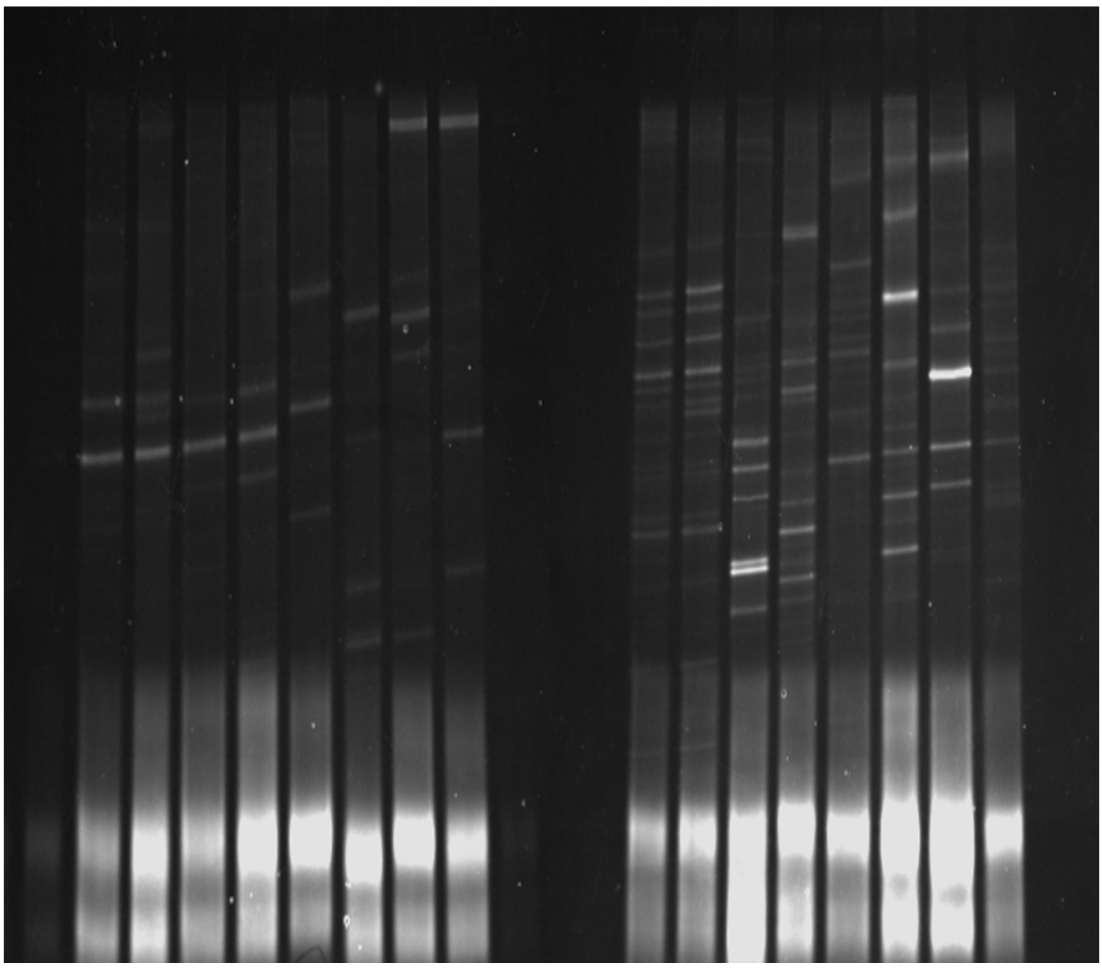
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล

S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน

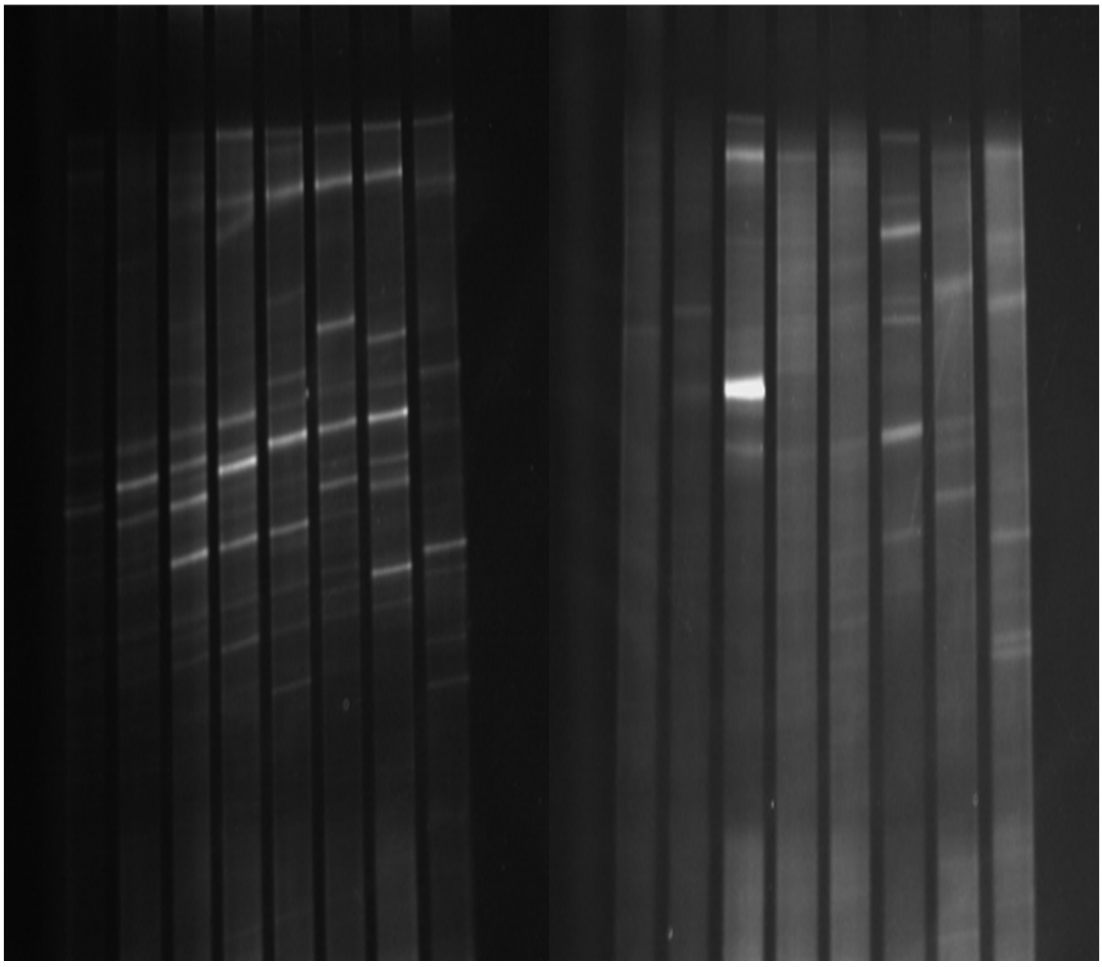
ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน



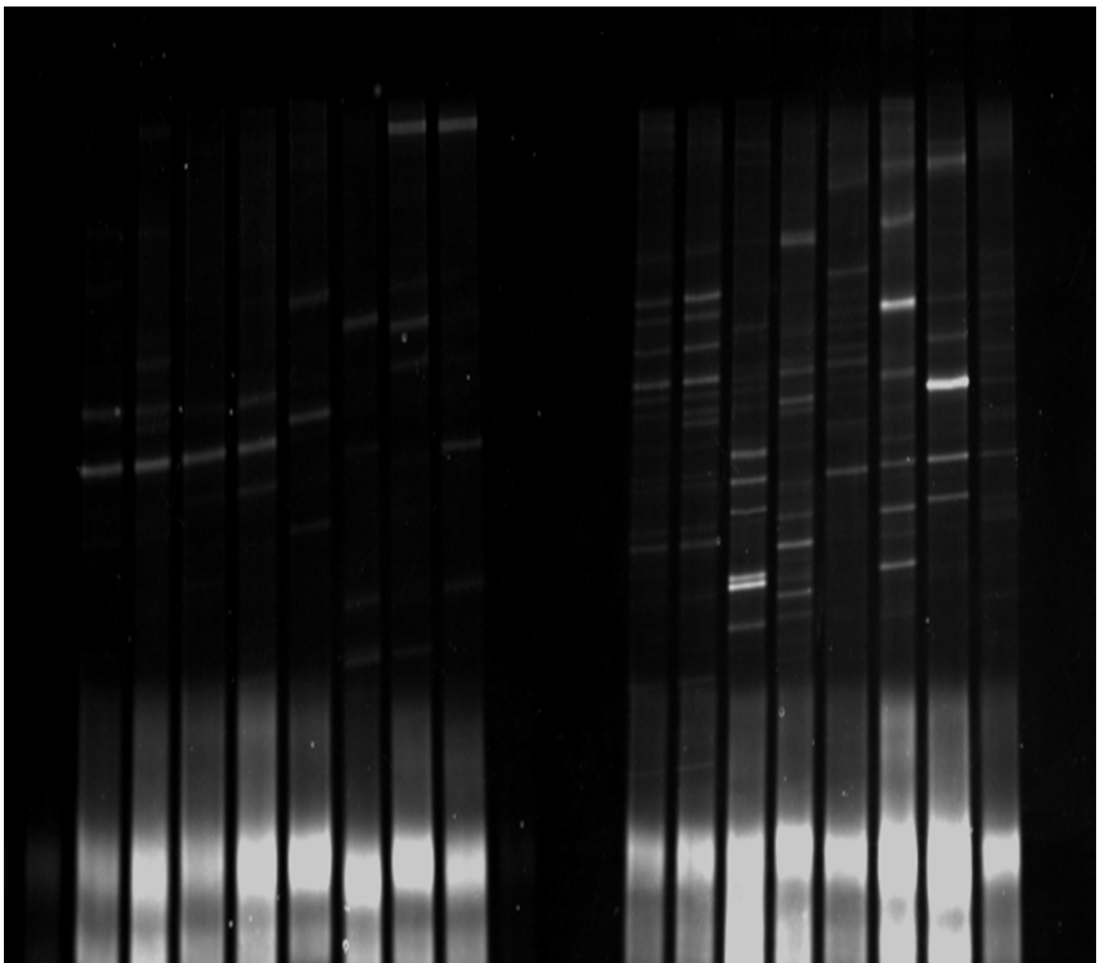
ภาพที่ 47 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนเมษายน
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล
S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน
ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน



ภาพที่ 48 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนพฤษภาคม
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล
S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน
ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน



ภาพที่ 49 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนมิถุนายน
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล
S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน
ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน

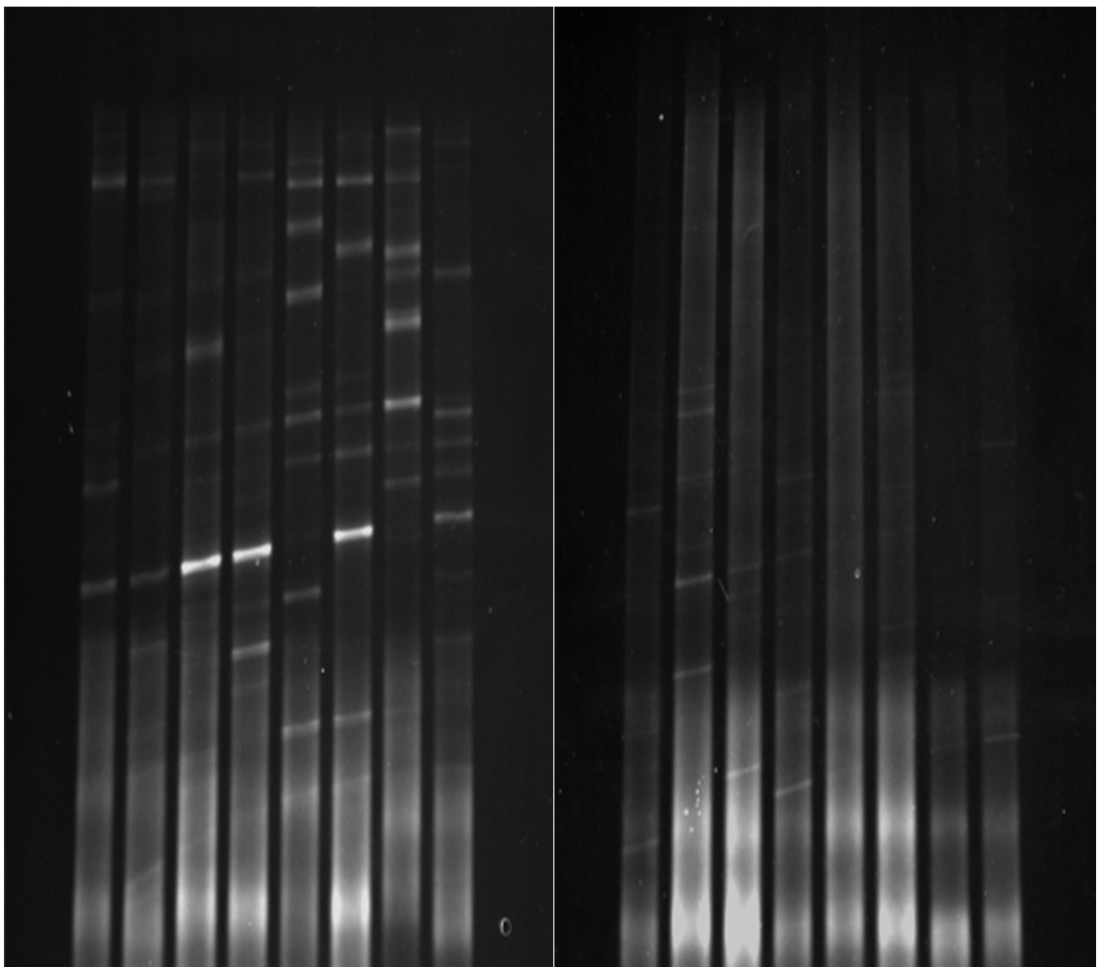


ภาพที่ 50 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนกรกฎาคม

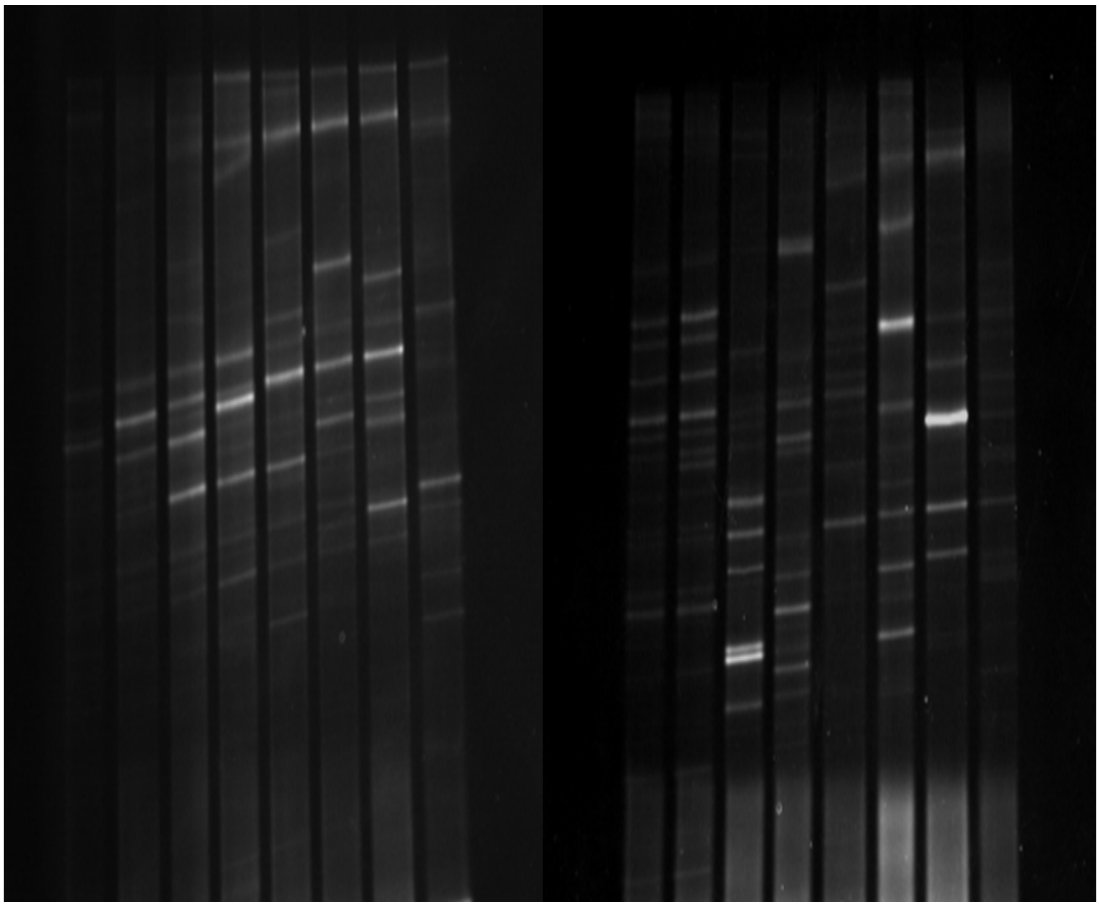
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล

S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน

ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน

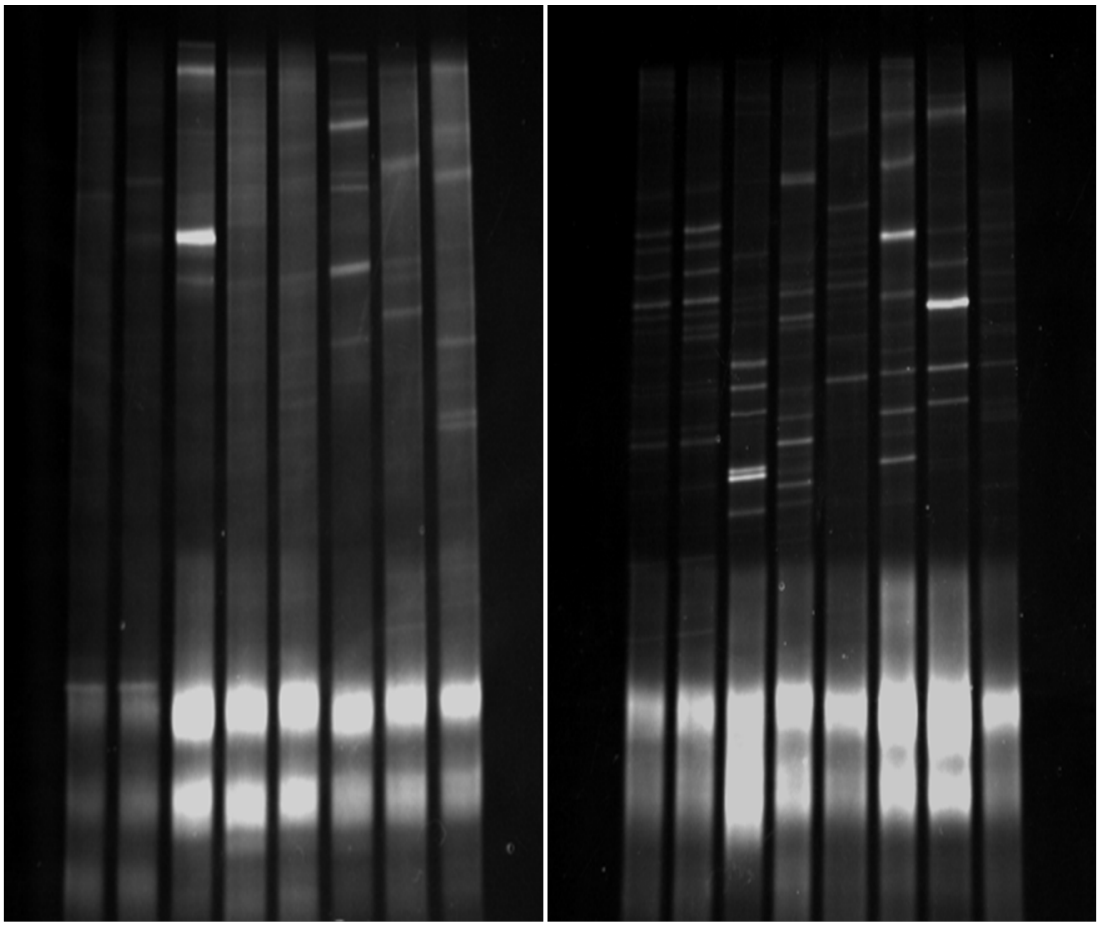


ภาพที่ 51 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนสิงหาคม
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล
S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน
ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน

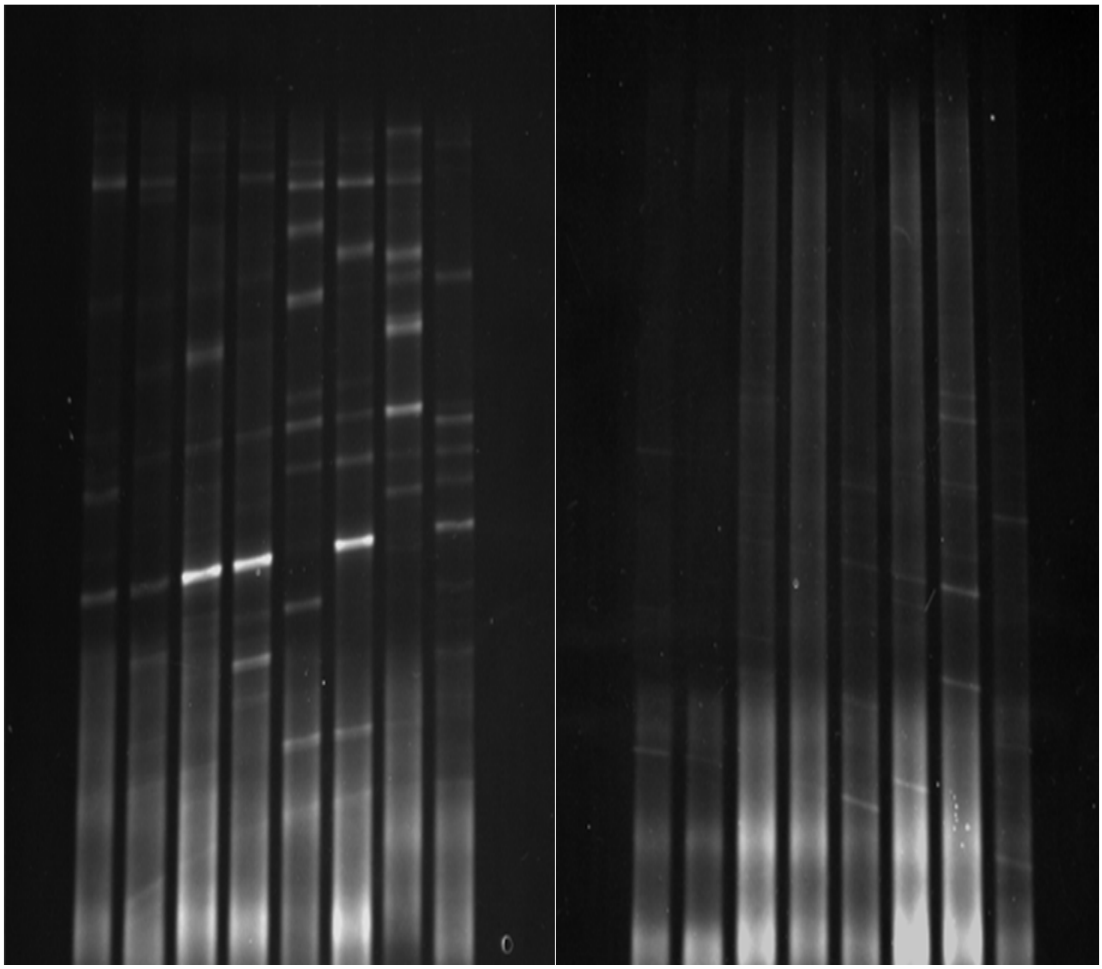


W1 W2 W3 W4 W5 W6 W7 W8 S1 S2 S3 S4 S5 S6 S7 S8

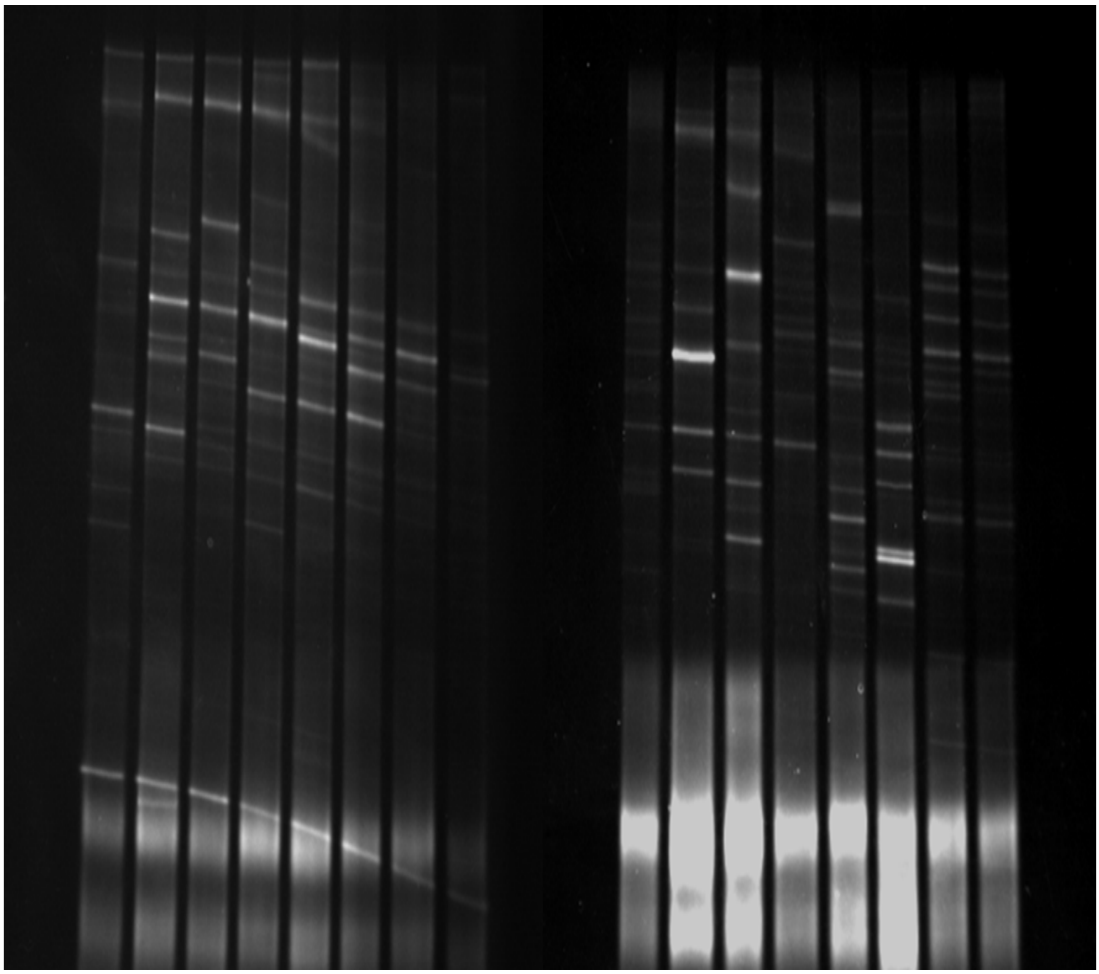
ภาพที่ 52 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนกันยายน
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล
S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน
ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน



ภาพที่ 53 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนตุลาคม
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล
S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน
ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน



ภาพที่ 54 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนพฤศจิกายน
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล
S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน
ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน



ภาพที่ 55 รูปแบบดีเอ็นเอบนเจลที่ได้จากการทำ DGGE เดือนธันวาคม
W คือ ตัวอย่างจากน้ำทะเล
S คือ ตัวอย่างจากดินตะกอน
ตัวเลข คือ จุดที่เก็บตัวอย่าง 1) ตลาดอ่างศิลา, 2) ท่าเรืออ่างศิลา, 3) ชายหาดบางแสน, 4) ชายหาดวอนนภา, 5) ตลาดนาเกลือ, 6) ชายหาดพัทยาเหนือ, 7) ชายหาดพัทยาใต้ และ 8) ชายหาดจอมเทียน