

การแยกและคัดกรองแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูโลสจากมูล

ช้างม้าแพะและโคอาลา

Isolation and Screening for Cellulase Producing Bacteria from Dung of Elephant, Horse, Goat and Koala

รัฐพร จันทร์เดช

Ruttaporn Chundet

หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

จากการคัดแยกแบคทีเรียจากมูลสัตว์ 4 ชนิดได้แก่ ช้าง ม้า แพะ และโคอาลา สามารถแยกได้เชื้อ ทั้งหมด 40 ไอโซเลท จากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร carboxymethylcellulose (CMC) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดสอบและคัดเลือกแบคทีเรีย ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้วยวิธี congo red ปรากฏผลของการเกิดวงไฮรอลรอบเจริญของเชื้อพบว่าแบคทีเรีย 3 ไอโซเลท ที่สร้างวงไฮรอลขนาดใหญ่ คือ แบคทีเรียไอโซเลทที่ 16 ของช้าง แบคทีเรียไอโซเลทที่ 2 ของม้า และแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 ของโคอาลา เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของทั้ง 3 ไอโซเลทโดยเพาะเลี้ยงใน CMC broth เขย่าด้วยความเร็วรอบ 140 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 30, 60, 120 และ 180 นาที พบว่าแบคทีเรียไอโซเลทที่ 16 ของช้าง ที่เวลา 60 นาที ให้ค่า enzyme activity ได้สูงสุดเท่ากับ 0.290 U/ml แบคทีเรียไอโซเลทที่ 2 ของม้า ที่เวลา 30 นาที ให้ค่า enzyme activity ได้สูงสุดเท่ากับ 0.878 U/ml และแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 ของโคอาลา ที่เวลา 30 นาที ให้ค่า enzyme activity ได้สูงสุดเท่ากับ 168.237 U/ml

ผลการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท ด้วยการเปรียบเทียบลำดับเบสของ 16S rDNA กับฐานข้อมูล GenBank พบว่าแบคทีเรียไอโซเลทที่ 16 ของช้างคล้ายคลึงกับแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus sp.* แบคทีเรียไอโซเลทที่ 2 ของม้า คล้ายคลึงกับแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus pumilus.* และแบคทีเรียไอโซเลทที่ 4 ของโคอาลา คล้ายคลึงกับแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus subtilis.*

คำสำคัญ: กิจกรรมเซลลูเลส การแยก แบคทีเรีย (CMC) วงไฮรอล

Abstract

Bacterial strains were isolated from dung of elephants, horses, goats and koalas. Initially, 40 strains were isolated in selective agars (carboxymethylcellulose, CMC) at 37°C for 24 hours. After monitoring, 3 strains (from elephants, horses and koalas) were selected. The strains were evaluated their cellulose activity by cultured in CMC broth. The results showed that the strain which isolated from koalas displayed the highest enzyme activity (168.237U/ml).

A partial 16S rDNA sequence analysis and standard biochemical and physiological tests were used for the assignment of 3 isolates. The analysis of these strains using its 16S rDNA sequence data showed that strain 16 (from elephant) had highest homology (98%) with *Bacillus sp.*, strain 2 (from horse) showed 100% similarity with *Bacillus pumilus* and strain 4 (from koalas) showed similarity with *Bacillus subtilis*.

Keywords: Cellulase activity, Isolation, carboxymethyl cellulose, clear zone