ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของแอคติโนมัยซีท จากดินนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ACTINOMYCETES FROM SALTERN FIELD SOIL, BANG KAEW SAMUTSONGKHAM.

พิชชาพร ครุฑธมงคล

พิมพ์ชนก กาไชย

สุภนิดา เอกทวีกูล

อารียา คำสี

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ACTINOMYCETES FROM SALTERN FIELD SOIL, BANG KAEW SAMUTSONGKHAM

Pitchaporn Krutthamomgkon
Pimchanok Karchai
Suphanida Ektaweekool
Areeya Khamsee

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE IN INDUSTRIAL
MICROBIOLOGY, DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม Antimicrobial Activity of Actinomycetes from Saltern Field Soil, Bang Kaew, Samutsongkham
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิชชาพร ครุฑธมงคล รหัสนักศึกษา 58050942 นางสาวพิมพ์ชนก กาไชย รหัสนักศึกษา 58050944 นางสาวสุภนิดา เอกทวีกูล รหัสนักศึกษา 58051001 นางสาวอารียา คำสี รหัสนักศึกษา 58051016
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. คนึงกานต์ กลั่นบุศย์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.จิตติ ท่าไว กรรมการ	
ดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม Antimicrobial Activity of Actinomycetes from Saltern Field Soil, Bang Kaew, Samutsongkham.
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิชชาพร ครุฑธมงคล รหัสนักศึกษา 58050942 นางสาวพิมพ์ชนก กาไชย รหัสนักศึกษา 58050944 นางสาวสุภนิดา เอกทวีกูล รหัสนักศึกษา 58051001 นางสาวอารียา คำสี รหัสนักศึกษา 58051016
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. คนึงกานต์ กลั่นบุศย์

บทคัดย่อ

แอคติโนมัยสีทจำนวน 35 ไอโซเลท ซึ่งคัดแยกได้จากดินนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม โดยใช้อาหาร Starch casein agar (SCA) และอาหาร ZSSE agar ที่เสริมด้วยความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 ถึง 3 การศึกษาการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12 และ 15 ในอาหาร Yeast extract Malt extract agar (YEME agar) พบว่าไอโซเลทแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่เจริญได้ดีในช่วงเกลือร้อยละ 0 ถึง 3 ซึ่งไอโซเลทหมายเลข SMK14061 สามารถเจริญได้ในความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7 จากนั้นทำการคัดเลือกไอโซเลทแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นด้วยวิธีการขั้นต้น (Pre-Test) พบไอโซเลทที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น 10 ไอโซเลท ได้แก่ SMK01011, SMK06021, SMK08042, SMK09042, SMK13061, SMK16072, SMK20101, SMK28161, SMK30201 และ SMK32042 และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพโดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion โดยมีเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 พบ 4 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งได้แก่ SMK06021, SMK09042, SMK13061และ SMK30201

คำสำคัญ : ดินนาเกลือ ฟอสโฟลิปิด แอคติโนมัยสีท ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antimicrobial activity of actinomycetes from saltern field soil, Bang Kaew Samutsongkham	
Students	Miss Pitchaporn Krutthamomgkon	Student ID 58050942
	Miss Pimchanok Karchai	Student ID 58050944
	Miss Suphanida Ektaweekool	Student ID 58051001
	Miss Areeya Khamsee	Student ID 58051016
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology Program)	
Department	Biology	
Faculty	Science	
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
Academic Year	2018	
Advisor	Dr. Khanungkan Klanbut	

Abstact

Thirty-five actinomycetes were isolated from saltern field soil, Bang Kaew Samutsongkhram using Starch casein agar (SCA) and ZSSE agar with NaCl 0 - 3%.The effect of NaCl on growth were examined along the gradients of 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12, and 15 % (W/V) using Yeast Malt extract (YEME agar) and found that most of the actinomycetes had optimum growth at 0 to 3 % (W/V). Isolate number SMK14061 had maximum growth at 7 % (W/V). Antimicrobial activity Pre-Test technical and agar disc diffusion method against test microorganism; *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Candida albicans* ATCC 10231, ten isolates were found activities including SMK01011, SMK06021, SMK08042, SMK09042, SMK13061, SMK16072, SMK20101, SMK28161, SMK30201 and SMK32042. Four isolates were found activities in Agar disc diffusion method; SMK06021, SMK09042, SMK13061 and SMK30201

Keyword : Actinomycetes, Antimicrobial activity, Phospholipid, Saltern field so

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้จะไม่สำเร็จลุล่วงไปได้ หากขาดความช่วยเหลือจากบุคคลเหล่านี้ อันดับแรก ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ผู้ที่คอยอบรมสั่งสอนในการดำรงชีวิต ผู้ที่คอยสนับสนุนในการศึกษา อีกทั้งยังเป็นกำลังใจทำให้ผู้วิจัยสามารถสำเร็จการศึกษาได้ด้วยดี

ขอบพระคุณ ดร. คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ ผู้ให้คำแนะนำและเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการจัดทำโครงงานพิเศษ รวมทั้งให้ความอนุเคราะห์ในส่วนของอุปกรณ์และสารเคมีซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการจัดทำโครงงาน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างสูง

ขอบพระคุณ ผศ. วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการ และ รศ.ดร. จิตติ ท่าไว กรรมการ ผู้ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ ตรวจทานและพิจารณาโครงงานพิเศษเล่มนี้

ขอบพระคุณนายบุญปรอด เจริญฤทธิ์ ผู้ดูแลโรงเรียน คนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม ผู้ให้คำแนะนำและความรู้เกี่ยวกับนาเกลือ ตลอดจนอนุเคราะห์สถานที่ในการเก็บตัวอย่างดินนาเกลือและช่วยเหลือในขั้นตอนการเก็บตัวอย่างดิน

ขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดวิชาความรู้ คำแนะนำรวมทั้งให้คำปรึกษาที่ถือเป็นประโยชน์อย่างยิ่งตลอดการศึกษา และขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตึกจุฬาภรณ์วลัยลักษณ์ อาคารพระจอมเกล้า และตึกปฏิบัติการวิทยาศาสตร์เก่า ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการช่วยจัดหาอุปกรณ์เครื่องมือและสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการทำการทดลอง

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ ในภาควิชาชีววิทยาที่ให้คำแนะนำต่าง ๆ ควบคุมดูแลสอนเทคนิคปฏิบัติการที่เป็นประโยชน์ อนุเคราะห์อุปกรณ์ในการจัดทำโครงงาน ทำให้โครงงานพิเศษดำเนินและสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

พิชชาพร ครุฑธมงคล
พิมพ์ชนก กาไชย
สุภนิดา เอกทวีกูล
อารียา คำสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 นาเกลือ 4
2.2 การทำนาเกลือ 4
2.3 ฤดูกาลทำนาเกลือ 5
2.4 เพศของเกลือ 5
2.5 ผลิตผลจากนาเกลือ 6
2.6 นิเวศวิทยาของแอคติโนแบคทีเรีย 7
2.7 การคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือ 7
2.8 แอคติโนมัยสีท (Actinomycetes) 8
2.9 สัณฐานวิทยาของแอคติโนแบคทีเรีย 10
2.10 ความสามารถและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอคติโนมัยสีท 20
2.11 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง 21
2.12 สารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.13 สารปฏิชีวนะที่สร้างขึ้นโดยแอคติโนมัยสีท 23
2.14 กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพ 24
2.15 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง 26
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 27
3.1 เครื่องมือ 27
3.2 อุปกรณ์ 28
3.3 สารเคมี 29
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ 30
3.5 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 31
3.6 วิธีการดำเนินการวิจัย 32
3.6.1 การเก็บตัวอย่างดิน 32
3.6.2 การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท 32
3.6.3 การหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่าง 32
3.6.3.1. การวัดค่าความเป็นกรดด่าง 32
3.6.4 การแยกเชื้อและการเก็บรักษา 33
3.6.5 การเตรียม spore suspension 33
3.6.6 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีท 33
3.6.7 การศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท 34
3.6.7.1. การย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม 34
3.6.7.2. การย่อยสลายเจลาติน 34
3.6.7.3. การย่อยสลายแป้ง 34
3.6.7.4. การศึกษาความสามารถในการหมักน้ำตาล 35
3.6.7.5. การศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์คะตะเลส 35
3.6.7.6. การศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ออกซิเดส 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

3.6.8 การศึกษาการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทในอาหาร ISP 2 ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12 และ 15 35
3.6.9 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ (Pre-test) 36
3.6.10 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar Disc Diffusion 36
3.6.10.1. การเตรียมหัวเชื้อและการเพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีท 36
3.6.10.2. การสกัดสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิจากแอคติโนมัยสีท 36
3.6.10.3. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 37
3.6.10.4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar Disc Diffusion 37
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 38
4.1 การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท 38
4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตัวอย่าง 44
4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ 45
4.3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีท 45
4.3.3 ลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท 85
4.4. การศึกษาการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์. 90
4.5. การทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธีการทดสอบขั้นต้น (Pre-Test) 94
4.6 การทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar Disc Diffusion 102
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 109
5.1 สรุปผลการวิจัย 109
5.2 ข้อเสนอแนะ 112
เอกสารอ้างอิง 113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก 121
ภาคผนวก ก 122
ภาคผนวก ข 127
ภาคผนวก ค 128
ภาคผนวก ง 129
ภาคผนวก จ 133
ภาคผนวก ฉ 135
ประวัติผู้วิจัย 136

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 แสดงหมายเลขไอโซเลทที่คัดแยกได้ 35 ไอโซเลท 43
ตารางที่ 4.2 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดินทั้ง 20 จุด 44
ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติมัยซีทจำนวน 35 ไอโซเลทด้วยระบบสี มาตรฐานThe ISCC-NBS Color system 83
ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท 85
ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด 88
ตารางที่ 4.6 แสดงผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร ISP2 ที่เติมด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12 และ 15 90
ตารางที่ 4.7 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ 95
ตารางที่ 4.8 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักและเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK06021 โดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion 103
ตารางที่ 4 9 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักและเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK09042 โดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion 104
ตารางที่ 4.10 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักและเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK13061 โดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion 105
ตารางที่ 4.11 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักและเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK30201 โดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion 106
ตารางที่ 1(ฉ) แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน 20 จุด 135

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงภาพเพศของเกลือ....5
รูปที่ 2.2 แสดงภาพของขี้แดดนาเกลือ....6
รูปที่ 2.3 ตัวอย่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลายของแอคติโนมัยสีท....9
รูปที่ 2.4 ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง....10
รูปที่ 2.5 รูปร่างและลักษณะผิวสปอร์ของแอคติโนมัยสีท....13
รูปที่ 2.6 ก้านชูสปอร์ (sporophores) และก้านชูอับสปอร์ (sporangiophores)....15
รูปที่ 2.7 การสร้างสปอร์เดี่ยว....16
รูปที่ 2.8 ลักษณะสปอร์ที่เป็นสาย....17
รูปที่ 2.9 การสร้างสปอร์แบบเป็นสายยาวของ Streptomyces....18
รูปที่ 2.10 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนอาหาร....19
รูปที่ 2.11 รูปทรงของอับสปอร์....20
รูปที่ 2.12 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพต่อจุลินทรีย์....25
รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่างนาปรง....38
รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่างนาปรง และ บริเวณคันนาปรง....39
รูปที่ 4.3 แสดงการเก็บตัวอย่างดินนาปรง....39
รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่าง นารองเชื้อ....40
รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่าง นาเชื้อ....40
รูปที่ 4.6 บริเวณยุ้งเก็บเกลือ....41
รูปที่ 4.7 ขี้แดดนาเกลือ และนาตาก....41
รูปที่ 4.8 รางหลอด และ รางน้ำแก่....41
รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่าง นาปรง....42
รูปที่ 4.10 แสดงแผนผังนาเกลือของ โรงเรียนคนทำนาเกลือ จังหวัดสมุทรสงคราม....42
รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK01011....46
รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK02011....47
รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK03021....48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK04021 49
รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK05021 50
รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK06021 51
รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK07031 52
รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK08042 53
รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK09042 54
รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK10051 55
รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK11051 56
รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK12061 57
รูปที่ 4.23 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK13061 58
รูปที่ 4.24 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK14061 59
รูปที่ 4.25 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK15072 60
รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK16072 61
รูปที่ 4.27 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK17081 62
รูปที่ 4.28 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK18091 63
รูปที่ 4.29 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK19101 64
รูปที่ 4.30 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK20101 65
รูปที่ 4.31 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK21111 66
รูปที่ 4.32 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK22121 67
รูปที่ 4.33 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK23131 68
รูปที่ 4.34 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK24131 69
รูปที่ 4.35 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK25132 70
รูปที่ 4.36 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK26151 71
รูปที่ 4.37 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK27151 72
รูปที่ 4.38 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK28161 73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.39 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK29171 74
รูปที่ 4.40 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK30201 75
รูปที่ 4.41 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK31031 76
รูปที่ 4.42 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK32042 77
รูปที่ 4.43 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK33131 78
รูปที่ 4.44 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK34131 79
รูปที่ 4.45 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK35071 84
รูปที่ 4.46 แสดงลักษณะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลทลำดับที่ 1-20..... 85
รูปที่ 4.47 แสดงลักษณะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแอคติโนมัยสีททั้งไอโซเลทลำดับที่ 21-35 82
รูปที่ 4.48 แสดงผลการทดสอบการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียม คลอ-ไรด์ต่าง ๆ บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP.2)..... 93
รูปที่ 4.49 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK01011..... 96
รูปที่ 4.50 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK06021..... 96
รูปที่ 4.51 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK08042..... 97
รูปที่ 4.52 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK09042..... 98
รูปที่ 4.53 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK13061..... 98
รูปที่ 4.54 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK16072..... 99
รูปที่ 4.55 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK20101..... 99
รูปที่ 4.56 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK28161..... 100
รูปที่ 4.57 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK30201..... 101
รูปที่ 4.58 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK32042..... 101
รูปที่ 4.59 บริเวณยับยั้งต่อเชื้อทดสอบของ Negative control และ Positive control 102
รูปที่ 4.60 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 ของไอโซเลท SMK06021 . 103
รูปที่ 4.61 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ของไอโซเลท SMK09042 104
รูปที่ 4.62 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ของไอโซเลท SMK13061 105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.63 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ของไอโซเลท SMK30201 106
รูปที่ 4.64 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ของไอโซเลทSMK30201 107
รูปที่ 1(ง) แสดงลักษณะของตัวอย่างดินจุดที่ 1-5 129
รูปที่ 2(ง) แสดงลักษณะของตัวอย่างดินจุดที่ 6-10 130
รูปที่ 3(ง) แสดงลักษณะของตัวอย่างดินจุดที่ 11-15 131
รูปที่ 4(ง) แสดงลักษณะของตัวอย่างดินจุดที่ 16-20 132
รูปที่ 1(จ) แสดงผลการทดสอบการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม (Casein hydrolysis) 133
รูปที่ 2(จ) แสดงผลการทดสอบการย่อยสลายเจลาติน (Gelatin liquefaction) 133
รูปที่ 3(จ) แสดงผลการทดสอบการย่อยสลายแป้งในอาหาร Inorganic salt-starch agar (ISP 4) 134
รูปที่ 4(จ) แสดงผลทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด 134

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แอคติโนมัยสีท (Actinomycete) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่เจริญเป็นเส้นใยและสร้างสปอร์คล้ายเชื้อรา มีปริมาณเบสกวานีนและไซโตซีน (G+C) ในดีเอ็นเอมากกว่า 55% แอคติโนมัยสีทพบแพร่หลายกระจายอยู่ในแหล่งธรรมชาติต่าง ๆ เช่น ดิน น้ำ ทะเลสาบ แม่น้ำ ปุ๋ยคอกและปุ๋ยหมัก (Bizuye *et al.*, 2013) แอคติโนมัยสีท ถือเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สำคัญในการสร้างสารต้านจุลชีพ (Antimicrobial) และเป็นแหล่งของแอนติไบโอติก (antibiotic) ที่ดีที่สุด (Semedo. *et al.*, 2001) แอคติโนมัยสีทยังเป็นที่รู้จักกันดีผู้ผลิตสารเมทาบอไลต์ทุติยภูมิหลายชนิดที่ใช้กับการเกษตร, อุตสาหกรรมยาและการแพทย์ เช่น ยาปฏิชีวนะยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (Novel nature product) (Himaman *et al.*, 2016)

แอคติโนมัยสีทเป็นแหล่งของยาต้านจุลชีพ ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและเป็นส่วนประกอบในการผลิตยาปฏิชีวนะ (Mahajan and Balachandran, 2012) การค้นหายาปฏิชีวนะชนิดใหม่เป็นสิ่งสำคัญในการต่อต้านการพัฒนาของเชื้อที่ดื้อยา ซึ่งเป็นสาเหตุในการวิวัฒนาการของโรคและความเป็นพิษของสารบางชนิด (Micha., 2014) ความก้าวหน้าในการสังเคราะห์ทางเคมีและการสังเคราะห์ทางชีวโมเลกุลเป็นสิ่งสำคัญในการพัฒนายาปฏิชีวนะตัวใหม่ๆ แต่อย่างไรก็ตามธรรมชาติยังคงเป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์และง่ายที่สุดสำหรับค้นหาสารประกอบต้านจุลชีพชนิดใหม่ (Manivasagan *et al.*, 2013) แต่การค้นพบแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ใหม่ จากสภาพแวดล้อมทั่วไปลดลงอย่างมากในช่างเวลาไม่กี่ปีที่ผ่านมา (Zotchev, 2012) ดังนั้นการหาแอคติโนมัยสีทจากแหล่งธรรมชาติใหม่ ๆ เป็นอีกทางเลือกที่จะช่วยหายาปฏิชีวนะที่หลากหลายได้ เช่น ดินนาเกลือ ดินป่าชายเลน ดินรังปลวก เป็นต้น

ดินเป็นแหล่งใหญ่ที่สุดที่ค้นพบแอคติโนมัยสีท โดยพบแอคติโนมัยสีทได้ประมาณ 10% ของจุลินทรีย์ทั้งหมดในดิน (Janssen, 2006) นาเกลือเป็นสภาพแวดล้อมที่มีเอกลักษณ์โดนเด่นด้วยความเข้มข้นของเกลือสูงและ pH เป็นด่าง (Zafrilla *et al.*, 2010) ในประเทศไทยมีแหล่งนาเกลือจำนวนมากที่ผลิตเกลือเผื่อการบริโภคและใช้ในอุตสาหกรรม มีรายงานว่าพบแอคติโนมัยสีทในนาเกลือหลายชนิดมีความสามารถในการผลิตยาปฏิชีวนะและเอนไซม์ (Jose and Jebakumar, 2012) ดังนั้นดินนาเกลือจึงเป็นแหล่งที่น่าสนใจในการหาแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ใหม่ ๆ

แอคติโนมัยสีทสามารถสร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่ผลิตได้ในช่วง stationary phase ซึ่งเป็นช่วงท้ายของการเจริญ โดยเป็นสารที่ไม่จำเป็นต่อการเจริญ จึงผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปริมาณน้อย สารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิมีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความหลากหลาย สารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่เซลล์สร้างขึ้น ได้แก่ สารปฏิชีวนะต้านทานแบคทีเรีย เชื้อรา และ ไวรัส เป็นต้น (Goodfellow and Williams, 1983) สารปฏิชีวนะส่วนใหญ่ที่สร้างโดยแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีท พบมากที่สุดในสกุล *Streptomyces* ซึ่งผลิตสารปฏิชีวนะได้ 70% (ประมาณ 8,000 ชนิด) ของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากแอคติโนมัยสีททั้งหมด (McCarthy and Williams, 1990)

จากความสามารถของแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้นั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินนาเกลือ การศึกษาครั้งนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นแนวทางต่อผู้ที่สนใจและสามารถนำความรู้ที่ได้ไปต่อยอดการศึกษาหรืองานวิจัยในอนาคตได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากแหล่งดินนาเกลือโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว อำเภอเมืองสมุทรสงคราม จังหวัดสมุทรสงคราม
2. เพื่อทำการสกัดสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิและทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์จากแอคติโนมัยสีทที่แยกจากดินนาเกลือต่อจุลินทรีย์ทดสอบ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

เป็นการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีท จากดินนาเกลือ โดยทำการคัดแยกเชื้อด้วยอาหาร Starch casein agar (SCA) และอาหาร ZSSE agar ที่เสริมด้วยความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 – 3 และเติม cycloheximide ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เติม 0.9% NaCl ในการเจือจางตัวอย่างดิน และเลี้ยงเชื้อที่บริสุทธิ์ในอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP 2) ที่ไม่เติมยาปฏิชีวนะ จากนั้นทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีเบื้องต้น ศึกษาสภาวะการเจริญของแอคติโนมัยสีทที่ระดับความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อการเจริญ รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพจากสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่สกัดได้จากแอคติโนมัยสีทด้วยวิธี Agar Disc Diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถศึกษาเกี่ยวกับแอคติโนมัยสีทที่สามารถทนสภาวะความเค็มได้และแอคติโนมัยสีทที่ชอบเจริญในความเค็มสูงได้จากแหล่งตัวอย่างดินนาเกลือ โรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว อำเภอเมืองสมุทรสงคราม จังหวัดสมุทรสงคราม

2. สามารถทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือได้และทำการเพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ให้บริสุทธิ์

3. ทราบถึงการออกฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพจากสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินนาเกลือกับจุลินทรีย์อื่นได้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 นาเกลือ

การทำนาเกลือ ถือเป็นอาชีพที่ต้องอาศัยภูมิปัญญา ประสบการณ์ และการสังเกตร่วมกับการพึ่งพาอาศัยธรรมชาติ โดยพื้นที่ที่เหมาะกับการทำนาเกลือนั้น นอกจากเป็นพื้นที่ติดริมชายฝั่ง ทะเลแล้ว ลักษณะภูมิประเทศยังต้องเป็นที่ราบลุ่ม และที่สำคัญคือดินต้องเป็นดินเหนียว อุ้มน้ำได้ดี ซึ่งปัจจัยเหล่านี้เป็นเหตุผลว่าเพราะเหตุใดที่ประเทศไทยมีชายฝั่งทะเลยาวถึง 2,600กิโลเมตร แต่กลับมีไม่กี่จังหวัดเท่านั้นที่ทำเกลือสมุทรได้ แม้ผลึกเกลือสีขาวที่เราเห็นจะมีลักษณะที่เหมือนกัน แต่เส้นทางความเป็นมาของเกลือ และกระบวนการผลิตก็ไม่ได้เหมือนกันเสียทีเดียวนัก โดยแหล่งกำเนิดเกลือในประเทศไทยมี 2 แหล่ง ใหญ่ๆ คือ เกลือสมุทร และ เกลือสินเธาว์ (สุภาพรรณ, 2556)

เกลือสมุทร ลักษณะของพื้นที่การทำนาเกลือประเภทนี้ต้องมีอาณาบริเวณใกล้ทะเลเป็นที่ราบ ดินต้องเหนียวอุ้มน้ำได้ดี พื้นที่ที่เอื้อต่อการทำนาเกลือคือบริเวณอ่าวไทยตอนบน เพราะมีความลาดชันของพื้นที่และปัจจัยสำคัญของการระเหยของน้ำทะเลคือ แสงแดดและลมที่เหมาะสำหรับการทำนาเกลือ ซึ่งจังหวัดที่พบว่ายังมีการทำนาเกลือมีอยู่ 4 จังหวัดคือ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ และเพชรบุรี (บุญปรอด, 2562)

เกลือสินเธาว์ เป็นเกลือที่ผลิตได้จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวเมื่อหลายล้านปีก่อนเคยเป็นมหาสมุทร มีการระเหยของน้ำทะเล ทำให้เกลือตกผลึกทับถมกันเกิดเป็นกลุ่มแร่หิน เมื่อแผ่นดินมีการเคลื่อนตัว พื้นที่ที่เคยเป็นมหาสมุทรจึงกลายมาเป็นแผ่นดินซึ่งแร่เหล่านี้จะแฝงอยู่ในดิน ทำให้บริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดนครราชสีมา มหาสารคาม อุดรธานี สกลนคร หนองคาย และชัยภูมิที่อุดมไปด้วยแร่หินเกลือที่สามารถนำมาผลิตเป็นเกลือสินเธาว์ได้ (บุญปรอด, 2562)

2.2 การทำนาเกลือ (บุญปรอด, 2562)

ก่อนถึงฤดูกาลทำนาเกลือชาวนาเกลือจะซ่อมคันนาให้แข็งแรง ขุดลอกช่องทางน้ำไหลระหว่างนาเกลือที่ตื้นเขินซึ่งชาวนาเกลือเรียกว่า อันนา หรือ กระทงนา เพื่อให้น้ำไหลเข้าออกได้สะดวก และทำการขูดขี้แดดนาเกลือออกให้หมดเพราะถ้าปล่อยไว้จะทำให้เกลือเกิดน้อย และเม็ดเกลือสกปรก โดยพื้นที่สำหรับการทำนาเกลือแบ่งออกเป็น 4 ส่วนคือ นาวัง นาตาก นาเชื้อ และนาปรง

การทำนาเกลือต้องอาศัยน้ำทะเลจากคลองธรรมชาติที่น้ำเค็มไหลเข้ามาเมื่อถึงเดือนพฤศจิกายน ฝนทิ้งช่วงไม่ตกแล้วก็เริ่มวิดน้ำทะเลเข้ามาขังใน นาวัง หรือ นาขัง ซึ่งเป็นแปลงที่ใช้เก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำทะเลเพื่อใช้ผลิตเกลือตลอดฤดูกาลทำนาเกลือ โดยน้ำทะเลที่ขังไว้ชาวนาเกลือจะเรียกว่า น้ำอ่อน น้ำอ่อนจะไหลตามช่องหูนา (ช่องน้ำไหลระหว่างนา) จากนาวังเข้าสู่ นาตาก ซึ่งมีอยู่มากกว่านาส่วนอื่น ๆ ทำหน้าที่ดักสิ่งสกปรกและเศษตะกอนให้ตกลงมาในนานี้ก่อนปล่อยน้ำเค็มไปยัง นาเชื้อ เพื่อให้เกลือจืดตกผลึกและเพิ่มระดับความเค็มเป็น 20 – 24 ดีกรี สังเกตความเค็มของน้ำจากสีบนขอบนา หากเป็นสีส้มก็ถือว่าใช้ได้ ระหว่างรอชาวนาเกลือจะทำการปรับพื้นนาให้แน่นป้องกันพื้นนาแยกเป็นรอยร้าว จากนั้นจะปล่อยน้ำเค็มเข้าสู่ นาปรง เป็นแปลงที่น้ำเค็มเข้มข้นจนตกผลึกเป็นเม็ดเกลือ ชาวนาเกลือจะปล่อยให้เกลือตกผลึกอยู่ในนาปรงประมาณ 9 - 10 วัน จึงจะรื้อเกลือชักแถวกองเกลือแล้วตักเกลือขึ้นบุ้งกี๋หาบเข้าเก็บในยุ้งเกลือ เพื่อผึ่งให้แห้ง และเตรียมขายต่อไป

2.3 ฤดูกาลทำนาเกลือ (บุญปรอด, 2562)

การทำนาเกลือสมุทรต้องอาศัยการสังเกตและการพึ่งพาอาศัยธรรมชาติ ลักษณะของพื้นที่ทำนาต้องเป็นที่ราบดินเหนียวอุ้มน้ำได้ดี พื้นที่มีความลาดชัน โดยปัจจัยสำคัญในการผลิตเกลือสมุทรคือ น้ำทะเล กระแสลม และแสงแดด จากปัจจัยดังกล่าวชาวนาเกลือจึงสามารถทำนาเกลือได้เฉพาะในช่วงปลอดฝน ซึ่งจะเริ่มในช่วงฤดูแล้งตั้งแต่ต้นเดือนพฤศจิกายน ถึงประมาณกลางเดือนพฤษภาคมของปีถัดไป ระยะเวลาประมาณ 6 - 7 เดือน ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศเนื่องจากการทำนาเกลือไม่สามารถจะทำได้ในช่วงฤดูฝน และจะเริ่มเก็บผลผลิตเกลือได้ประมาณกลางเดือนมกราคม เป็นต้นไป

2.4 เพศของเกลือ (สุภาพรรณ, 2556)

ผลึกของเกลือมีรูปร่างสองแบบคือ เกลือตัวผู้ เม็ดเกลือจะมีรูปร่างลักษณะเป็นเม็ดยาวแหลม ชาวนาเกลือจะใช้ประโยชน์ภูมิปัญญาท้องถิ่น คือนำไปผสมน้ำมะนาวจะแก้ไอได้ดี หรือใช้อุดฟันแก้ปวดได้ และเกลือตัวเมีย โดยเม็ดเกลือจะมีรูปร่างลักษณะแบนเป็นเหลี่ยม ประโยชน์ของเกลือตัวเมียสามารถใช้ได้สารพัดประโยชน์ใช้บริโภค ใช้ดองผัก ดองปลา ทำน้ำปลา และใช้ในงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ

รูปที่ 2.1 แสดงภาพเพศของเกลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ที่มา : http://e-library.dmsc.moph.go.th

2.5 ผลิตผลจากนาเกลือ (บุญปรอด, สัมภาษณ์ 2562)

2.5.1 เกสรเกลือ หรือ ดอกเกลือ เป็นเกลือที่พบในนาปรงลอยอยู่บนผิวน้ำทะเล ทำให้เกสรเกลือมีความสะอาดสูง เพราะมันจะยังไม่ตกถึงพื้นดิน โดยชาวนาเกลือจะตักเกสรเกลือขึ้นมาตากให้แห้ง ก่อนนำไปปรุงอาหาร หรือนำไปบำรุงรักษาผิวพรรณได้อีกด้วย

2.5.2 เม็ดเกลือ คือเกลือที่ได้จากการตกผลึกของน้ำเค็ม ถือเป็นวัตถุประสงค์หลักของการทำนาเกลือ โดยเม็ดเกลือแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิดตามคุณภาพ

2.5.2.1 เกลือขาว เป็นเกลือที่มีคุณภาพดี เรียกว่า เกลือคัด เกลือชนิดนี้จะไม่มีดินหรือตะกอนปะปน โดยเม็ดเกลือจะใหญ่และมีราคาแพง ส่วนใหญ่จะขายเพื่อการบริโภค

2.5.2.2 เกลือกลาง เป็นเกลือที่มีคุณภาพรองลงมา มีสีคล้ำเล็กน้อย มีดินหรือตะกอนปะปนอยู่บ้าง เม็ดเกลือจะเล็กกว่าเกลือคัด เกลือชนิดนี้สามารถนำไปใช้ในการล้างผัก และนิยมนำไปดองปลาเพราะมีราคาถูกกว่าเกลือคัด

2.5.2.3 เกลือดำ เป็นเศษเกลือหรือเกลือก้นกอง เม็ดจะเล็กและมีตะกอนปนอยู่มาก เกลือชนิดนี้ใช้ในการเติมบ่อกุ้งเลี้ยงปลา และปรับสภาพดินในสวนผลไม้ มีราคาถูกสุด

2.5.3 เกลือจืด หรือ ยิปซัม พบปะปนอยู่บนพื้นดินในนาเชื้อ หลังจากเก็บเกลือแกงนาปรงแล้ว ชาวบ้านจะมารื้อเกลือไปทำดินสอพอง

2.5.4 ขี้แดดนาเกลือ หรือ ดินหนังหมา เป็นผลผลิตที่ได้ในช่วงหยุดทำนาเกลือหรือพักนาช่วงฤดูฝน ซึ่งจะมีน้ำจืดมาขังในนาเกลือเกิดเป็นแอ่งน้ำกร่อยโดยสาหร่าย ตะไคร่น้ำ รวมถึงจุลินทรีย์ต่าง ๆ จะเจริญเติบโตอยู่บนผิวน้ำ เมื่อน้ำนาแห้งจะได้แผ่นสีน้ำตาลดำตกสะเก็ดอยู่บนพื้นนา มีกลิ่นเหม็น ชาวนาเกลือจะเรียกว่า ดินหนังหมา สามารถนำไปใส่ต้นไม้ใช้แทนปุ๋ยเคมีได้

2.5.5 ดีเกลือ เกิดจากน้ำทะเลในนาปรงได้รับแสงแดดมากจนมีความเค็มเกินกว่า 27 ดีกรี ซึ่งเกลือที่ได้จะมีรสเค็มจัดจนขม ดีเกลือจะมีลักษณะแหลมคล้ายเข็ม มักตำเท้าจึงเป็นสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ของชาวนาเกลือ แต่ดีเกลือเป็นยาสามัญประจำบ้านมีสรรพคุณช่วยถ่ายท้อง แก้อาการท้องผูก และถ่ายพยาธิได้ จึงกลายเป็นส่วนประกอยของตำรับยาโบราณหลายขนาน

รูปที่ 2.2 แสดงภาพของขี้แดดนาเกลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มา : ศูนย์การเรียนรู้โรงเรียนคนทำนาเกลือ สมุทรสงคราม

จากงานวิจัยของ ปวีณา และคณะ (2555) ที่ทำการคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือ 3 จังหวัดได้แก่ จังหวัดสมุทรสาคร สมุทรสงคราม และเพชรบุรี จำนวน 29 ตัวอย่าง บันทึกลักษณะของตัวอย่าง ตรวจสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเกลือ นำตัวอย่างดินมาตากให้แห้ง บดและร่อน จากนั้นนำตัวอย่างดินมาทำการคัดแยกแอคติโนมัยสีทโดยทำการเจือจางลำดับส่วนด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปั่นผสมให้เข้ากัน นำไปแช่ในอ่างน้ำปรับอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 6 นาที จากนั้นนำสารผสมแขวนลอยไปเกลี่ยลงบนอาหาร starch casein agar (SCA) ทั้งแบบเติมเกลือและไม่เติมเกลือ (โซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร) และเติม nystatin และ nalidixic acid เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ นำจานอาหารไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ได้จำนวนแอคติโนมัยสีท 455 ไอโซเลท โดยเป็นไอโซเลทที่คัดแยกได้จากอาหารที่ผสมเกลือและไม่ผสมเกลือจำนวน 93 และ 362 ไอโซเลตตามลำดับ ซึ่งแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินนาเกลือนั้นสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ *Candida albican* และสามารถสร้างเอนไซม์ L-asparaginase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีการนำมาใช้รักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวในมนุษย์ได้ (Zhang, 2011) ทำการคัดแยกแอคติโนมัยสีทโดยใช้อาหารในการคัดแยกทั้งหมด 6 ชนิดได้แก่ Soil extracts agar, Glycerol-asparagine agar, Gause's No.1, HV agar, CHV agar และ ZSSE agar ที่มีการเติม nalidixic acid 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ nystatin 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการ พบว่าจำนวนของแอคติโนมัยสีทมีมากที่สุดในอาหาร ZSSE agar ซึ่งอาหาร ZSSE agar ส่งผลให้พบความหลากหลายของแอคติโนมัยสีทรวมถึงแอคติโนมัยสีทที่หายาก

2.6 นิเวศวิทยาของแอคติโนแบคทีเรีย

สภาพดินที่พบแอคติโนแบคทีเรียเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันคือ นอกจากจะพบในดินที่เป็นสภาพธรรมชาติแล้วยังจะพบในกองปุ๋ยหมักที่มีอุณหภูมิสูงมาก ๆ ในโคลน แม่น้ำ ใต้ทะเลสาบ แต่โดยปกติมักจะเจริญอยู่ผิวดินหรือในดินที่ไม่ลึกไปกว่า 4 เซนติเมตร ในดินที่มีสภาพที่เป็นด่าง จะพบ แอคติโนแบคทีเรียในจำนวนมากกว่า เช่น ดินที่มี pH 6.5 - 8 จะมีจำนวนสูงถึง 95% ของจุลินทรีย์ในดินทั้งหมด แต่ในดินมี pH เป็นด่างทั่ว ๆ ไปจะพบประมาณ 10 - 70% ของจุลินทรีย์ในดินทั้งหมด จากความสามารถในการทนต่อความแห้งแล้งได้ดี ทำให้สภาพดินที่แห้งจะพบแอคติโนมัยสีทได้เป็นส่วนมาก จึงมักพบในดินเขตร้อนมากกว่าเขตอบอุ่น (นฤมล, 2550)

2.7 การคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสาร ... ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ...

การแยกเชื้อแอคติโนมันสีทจากแหล่งธรรมชาตินั้นมีแนวทางหลักๆคือ การแยกเชื้อโดยมีสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นตัวคัดเลือก ใช้สารอาหารที่แอคติโนมัยสีทใช้ได้เติมลงไปในอาหารที่

ใช้เพื่อแยกเชื้อควรจะต้องมี ไคติน แป้ง กลีเซอรอล อาร์จินิน แอสปาราจีน เคซีน และไนเตรทเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนเพื่อการเจริญ และอีกแนวทางหนึ่งคือการใช้สารบางอย่าง เช่น ยาปฏิชีวนะเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่น และควรทำการบ่มจานเพาะเลี้ยงไว้นาน 14 วัน ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส การแยกเชื้อแอคติโนแบคทีเรียที่หายาก จะต้องมีการนำดินตัวอย่างไปทา pre-treatment ด้วยวิธีการต่าง ๆ ก่อนที่จะนำดินนั้นมาทำการคัดแยก เพื่อเป็นการกำจัดแบคทีเรียและเชื้อราในดินออกบ้าง ขณะเดียวกันก็เป็นการลดจำนวนเชื้อแอคติโนแบคทีเรียที่ไม่ต้องการลงและกระตุ้นการงอกของสปอร์แอคติโนแบคทีเรียที่อยู่ในระยะพักให้พร้อมที่จะเจริญขึ้น (รัตนาภรณ์ และคณะ, 2548)

การใช้วิธีการอบดินที่อุณหภูมิ 100-200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงสามารถแยกเชื้อ *Streptosporagium Microbispora Microtetraspora Actinomadura Micromonospora* ได้ในสัดส่วนที่มากขึ้น (ชนินทร์, 2545)

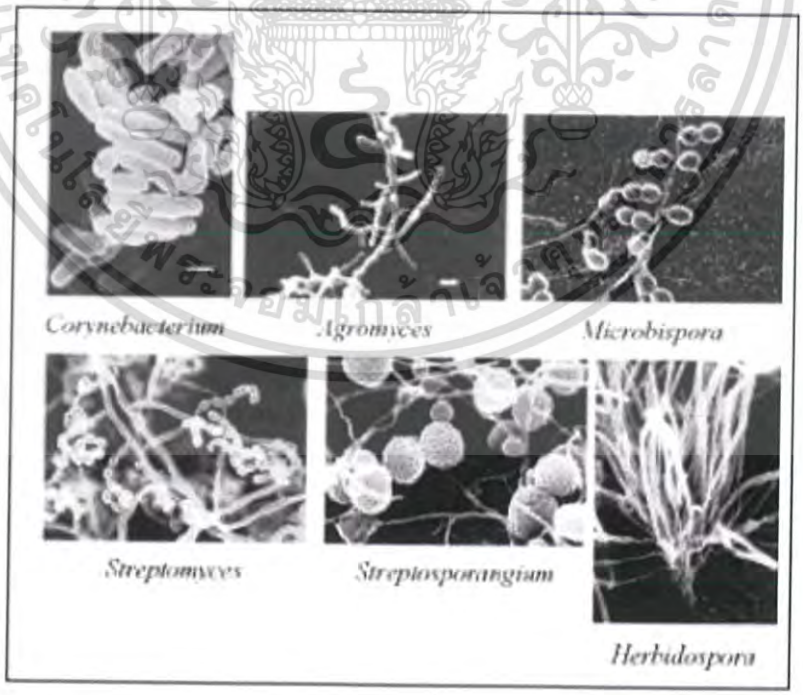
2.8 แอคติโนมัยสีท (Actinomycetes)

ลักษณะโดยทั่วไปของแอคติโนมัยสีท เป็นแบคทีเรียแกรมบวก จัดอยู่ในคลาส (class) Actinobateria ในซับคลาส (subclass) Actinobacteridae และถูกจัดไว้อยู่ในอันดับ (order) Actinomycetales แอคติโนมัยสีทแตกต่างจากแบคทีเรียแกรมบวกทั่วไป คือ มีปริมาณของเบสกัวนีนและไซโตซีน (G+C) สูง ประมาณ 57 - 75 mol% (Dhananjeyan, Selvan และ Dhanapal, 2010 : Naikpatil และ Rathod, 2011) แอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะคล้ายเชื้อรา ซึ่งมีรูปร่างที่หลากหลาย คือ มีรูปร่างตั้งแต่ทรงกลมไปจนถึงรูปร่างท่อนหรือมีรูปร่างไม่แน่นอน มีรูปร่างที่แตกแขนงเป็นเส้นสายหรือหักเป็นท่อน ส่วนใหญ่สร้างเส้นใยแตกแขนงเป็นกิ่งก้านที่มีขนาดประมาณ 0.5 - 1.0 ไมโครเมตร (รูปที่ 2.3) ส่วนใหญ่สร้างเส้นใย 2 ชนิด คือ เส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) หรืออาจพบเฉพาะเส้นใยใต้ผิวอาหาร (Lechevalier and Pine, 1974) โดย substrate mycelium จะเจริญบนผิวอาหารก่อนและแทงเส้นใยเข้าไปในอาหารเพื่อดูดซึมสารอาหารไปใช้ได้อย่างเต็มที่ เมื่อโคโลนีเจริญขึ้น aerial mycelium จะเกิดขึ้นภายหลังและยื่นไปในอากาศเพื่อทำหน้าที่หลัก คือ การสืบพันธุ์ (Mendez *et al.*, 1985) แอคติโนมัยสีทสามารถสร้างสปอร์ได้ทั้งบนเส้นใยเหนือผิวอาหารและเส้นใยใต้ผิวอาหารหรือสร้างบนเส้นใยชนิดใดชนิดหนึ่ง บางชนิดมีการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า โคนิดิโอสปอร์ (conidiospore) หรือโคนิเดีย (conidia) ไปจนถึงสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้และอยู่ภายในถุงหุ้มสปอร์ (sporangia) เส้นใยเหนือผิวอาหารมีการเจริญแตกกิ่งก้านยึดเกาะกันไปมาทำให้เห็นโคโลนีมีลักษณะคล้ายแผ่นหนังและเจริญฝังแน่นลงในเนื้ออาหาร ส่วนโคโลนีที่มีลักษณะอ่อนนิ่มและร่วนเกิดจากเส้นใยแตกหักเป็นรูปท่อนหรือทรงกลมโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลายสกุล เช่น *Streptomyces* จะปก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลุมไปด้วยเส้นใยเหนือผิวอาหารที่ห่อหุ้มด้วยชั้นของผิวที่เป็นไฮโดรโฟ-บิก (hydrophobic) และเจริญขึ้นสู่ด้านบน ในระยะเริ่มแรกเส้นใยเหนือผิวอาหารมีสีขาวและจะเปลี่ยนเป็นสีต่าง ๆ เมื่อเริ่มมีการสร้างสปอร์ ทำให้เห็นโคโลนีที่มีลักษณะคล้ายผงแป้งหรือคล้ายกำมะยี่ (Williams *et al*., 1989) สีของเส้นใยใต้ผิวอาหารและเส้นใยเหนือผิวอาหาร มีหลายสี ได้แก่ สีขาว น้ำตาล เหลือง ส้ม ชมพู ดำ เทา และแดง เป็นต้น บางชนิดสร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำแพร่ออกมาในอาหารและมีสีต่าง ๆ

แบคทีเรียหลายชนิดในกลุ่มแอคติโนมัยสีทมีความสามารถในการสร้างสารแอนติไบโอติกที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย รา ไวรัส โปรโตซัว รวมทั้งสามารถต้านเซลล์มะเร็ง หรือเซลล์เนื้องอก ส่วนใหญ่เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีท จะมีถิ่นอาศัยในดิน แต่ก็พบแพร่กระจายในปุ๋ยหมัก น้ำโคลนตม และบริเวณรากพืช เป็นต้น การแยกแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างต่าง ๆ เช่น ดิน มักจะพบเชื้อ *Streptomyces* อยู่เป็นจำนวนมาก ประมาณ 70 – 95 % ของ แอคติโนมัยสีททั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจากแอคติโนมัยสีทชนิดอื่น ๆ มีปริมาณน้อย และเจริญได้ช้ากว่าจึงจัด แอคติโนมัยสีทอื่น ๆ นอกเหนือจากสกุล *Streptomyces* เป็นแอคติโนมัยสีทที่หายาก ซึ่งได้แก่สกุล *Micromonospora, Nocardia, Streptosporangium, Actinomadura, Microtetraspora, Microbiospora, , Dectylosporangium* และ *Actinoplanes* เป็นต้น (Hayakawa *et al*., 1988)



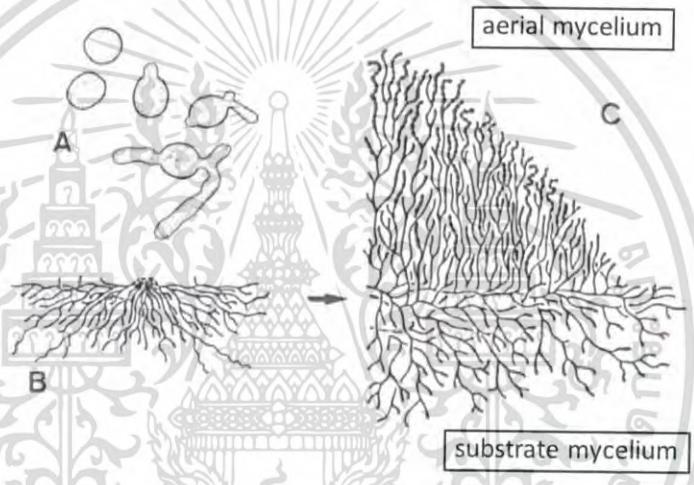
รูปที่ 2.3 ตัวอย่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลายของแอคติโนมัยสีท
ที่มา: Shinji, 1993

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 สัณฐานวิทยาของแอคติโนแบคทีเรีย

2.9.1 การสร้างโคโลนี

โคโลนีของแอคติโนมัยสีทเกิดจากการรวมตัวของเส้นใย การเกิดโคโลนีใหม่อาจเริ่มจากการถ่ายเชื้อลงอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ซึ่งอาจจะเป็นเพียง 1 สปอร์ของชิ้นส่วนเล็ก ๆ ของโคโลนี หรือจากเชื้อที่เก็บไว้บนอาหารแข็ง ก่อนเชื้อจะเริ่มเจริญเป็นเส้นใยแทรกลงไปในอาหารแข็ง (เส้นใยใต้อาหาร : substrate mycelium) ซึ่งจะเรียกว่า primary หรือ vegetative mycelium หลังจากนั้นจึงมีการเจริญของเส้นใยในแนวตั้งขึ้นจากอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วกลายมาเป็น secondary mycelium หรือเส้นใยที่อยู่เหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) จะเป็นส่วนที่สัมผัสอากาศ (รูปที่2.4)



รูปที่ 2.4 ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง

A: อับสปอร์มีการพัฒนาเป็นเส้นใย

B: สายใยอาหารเจริญแทงผ่านลงไปในอาหาร (substrate mycelium)

C: เส้นใยเจริญเหนืออาหารและมีการสร้างสปอร์ (aerial mycelium)

ที่มา: http://www.nih.go.jp/saj/DigitalAtlas

ความแตกต่างระหว่างธรรมชาติที่ชอบน้ำของเส้นใยใต้ผิวอาหารและธรรมชาติที่ไม่ชอบน้ำของเส้นใยเหนือผิวอาหารนี้ยังเป็นที่น่าสงสัยมาก และที่สามารถสังเกตได้ง่าย ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คือ เมื่อเรามองเห็นเส้นใยแห้ง ๆ เส้นใยใต้ผิวอาหารจะยอมให้แสงผ่านเห็นเป็นเส้นใยใส ๆ และมีพื้นสีเข้ม ขณะที่เส้นใยเหนือผิวอาหารจะตรงกันข้าม คือ จะสะท้อนแสงขณะที่พื้นสว่าง ความแตกต่างของเส้นใยใต้ผิวอาหารและเส้นใยเหนือผิวอาหาร จึงเป็นลักษณะหลักของการพิจารณารูปร่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะภายนอกและภายในของโคโลนี อย่างไรก็ตามอาจเป็นไปได้ที่มีอะไรที่แตกต่างไปจากนี้ เช่น อาจไม่มีเส้นใยเหนือผิวอาหารอย่างในกรณีของ *Micromonospora* หรือ *Actinoplanes* หรือ mycelium phase ของวงชีวิตอาจพบเพียง aerial hyphae เท่านั้น เช่น *Sporichthya* โคโลนีของแอคติโนมัยสีทอาจยกสูงขึ้น (raise) หรือแบน (flat) หรือปกคลุมด้วยชั้นที่คล้ายหนังสัตว์ และมี ตั้งแต่โคโลนีที่อ่อนมากและเละๆไปจนถึงโคโลนีที่แข็งมาก นอกจากนี้ยังมีสีขาว เหลือง ส้ม สี กุหลาบ แดง ม่วง เขียว น้ำเงิน น้ำตาล และสีดำ ผิวหน้าโคโลนีอาจเรียบ (smooth) เป็นสันนูน (ridged) เหี่ยวย่น (wrinkled) เป็นเม็ด (granular) หรืออาจพบเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัส (squamous) บางโคโลนีอาจอัดกันแน่น หรืออาจมีหลายโซนของการเจริญในลักษณะของโคโลนีที่เป็นวงๆหรือ กระจายออกจากจุดศูนย์กลางในลักษณะรัศมี และมักจะมีสองโซน ส่วนขนาดของโคโลนีจะขึ้นอยู่กับอายุ สภาวะการเจริญ และอาจมีความแตกต่างกันได้ตั้งแต่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมิลลิเมตรจนถึงหลายเซนติเมตรขึ้นไป (รัตนาภรณ์, 2548)

2.9.2 ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีท

โคโลนีของแอคติโนมัยสีท เกิดจากการรวมตัวกันของกลุ่มเส้นใยโคโลนีของแอคติโนมัยสีทต่างจากโคโลนีของแบคทีเรีย เนื่องจากโคโลนีของแบคทีเรียเกิดจากเซลล์เดียว หรือกลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะเหมือนกัน แต่โคโลนีของแอคติโนมัยสีทเกิดจากการรวมกันของเส้นใยเป็นกลุ่มเส้นใยที่มีความหนาแน่นการเจริญของโคโลนีเริ่มจากการที่หัวเชื้อเจริญในปริมาณที่พอเหมาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หัวเชื้ออาจมาจากสปอร์เดี่ยวอับสปอร์ ส่วนที่แตกหักของเส้นใย หรือจากส่วนของโคโลนีที่มีอายุมาก จะพัฒนาเป็นสายใยอาหารเมื่อสายใยอาหารเจริญเต็มที่ในแนวตั้งแทงผ่านอาหารขึ้นมาเป็นสายใยอากาศ และจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนี เช่น สร้างสปอร์ เส้นใยจะเริ่มแบ่งตัวเริ่มจากการสร้างผนังกั้นภายในโดยทั่วไปเส้นใยมีผนังกั้นชั้นเดียวเพื่อความคงตัว และสร้างเป็นเส้นใยแข็ง จึงเป็นการยากที่จะสรุปความหลากหลายทั้งหมดของลักษณะโคโลนีเช่นเดียวกับการบ่งชี้สปีชีส์ของแอคติโนมัยสีท ความแตกต่างของเส้นใยอาหารและสายใยอากาศจึงนำมาใช้เป็นหลักในการแยกชนิดของโคโลนี เช่น ในกรณีของ*Streptomyces* มีทั้งสายใยอาหารและสายใยอากาศเป็นโครงสร้างหลัก ส่วนของโคโลนีของ *Micromonospora* และ *Actinnoplanes* ไม่มีสายใยอากาศ นอกจากนี้ยังพบว่า *Sporichthya* จะมีวงชีวิตที่สมบูรณ์เมื่อมีการสร้างสายใยอากาศสั้น ๆ โคโลนีของแอคติโนมัยสีทอาจฟู (Raised) หรือเรียบแบน (Flat) บางครั้งปกคลุมด้วยชั้นมีลักษณะคล้ายหนัง (Leather) ลักษณะอาจมีตั้งแต่นุ่มมากเหนียวจนถึงแข็งมากสีของโคโลนี เช่น ขาว เหลือง ส้ม ชมพู แดงม่วงฟ้า เขียว น้ำตาล และดำ พื้นผิวของโคโลนีมีลักษณะเรียว (Smooth) นูน (Ridged) ขรุขระ (Rough) เป็นรอยย่น (Wrinkled) เป็นเม็ดเล็ก (Granular) เป็นผง (Powder) หรือเป็นเกล็ด (Squamous) ขนาดของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคโลนีขึ้นอยู่กับ สปีชีส์ อายุ และสภาวะในการเจริญเติบโตเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีความแตกต่างตั้งแต่หน่วยมิลลิเมตรจนถึงเซนติเมตร (สายพิณ, 2550)

2.9.3 ลักษณะโครงสร้างของเส้นใยของแอคติโนมัยสีท

เส้นใยเดี่ยว ๆ มีความหนาประมาณ 0.4 - 1.3 ไมโครเมตร โดยปกติแล้วจะมีผนังกั้นและยืดยาวออกที่ส่วนปลายเส้นใย สามารถสร้างเป็นกิ่งแขนงในระยะที่มีการเจริญ องค์ประกอบภายในเซลล์ของเส้นใยมีองค์ประกอบเช่นเดียวกับองค์ประกอบในเซลล์ของโปรคาริโอตทั่วไป คือ มีไซโตพลาซึมที่มี fibrillar DNA, ไรโบโซม และโครงสร้างขนาดเล็กที่อยู่ภายในเซลล์หลายชนิด โดยเฉพาะโครงสร้างที่สะสมอาหาร เช่น โพลีฟอสโฟลิปิด หรือสารโพลีแซคคาไรด์ มีเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) และอาจมี mesosome ซึ่งจะเชื่อมต่อกับโครงสร้างของ ผนังเซลล์ ผนังของเส้นใยจะประกอบด้วยผนังชั้นเดียว หนาประมาณ 10 - 20 นาโนเมตร ผนังกั้นเส้นใยของ vegetative hyphae ที่ไม่แตกหักมีลักษณะโครงสร้างเช่นเดียวกัน และจะเรียกว่า เป็นโครงสร้างผนังกั้นเซลล์ชนิดที่ 1 (Type 1) เส้นใยเหนือผิวอาหารจะประกอบด้วย fibrous sheath ซึ่งเป็นชั้นบาง ๆ ที่ห่อหุ้ม ผนังเส้นใยอีกชั้นหนึ่ง และ fibrous sheath นี้พบใน aerial hyphae ที่มีการสร้างสปอร์ด้วย เนื่องจากผิวของสปอร์จะมีความแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับลักษณะของสปอร์แต่ละชนิดว่าจะเป็นชนิดมีหนาม หรือเป็นชนิดมีปุ่ม เป็นต้น (รัตนาภรณ์, 2548)

2.9.4 สปอร์ของแอคติโนมัยสีท

นอกจากการเจริญของเส้นใยแล้ว การสร้างสปอร์ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญทางสัณฐานวิทยาที่ทำให้สามารถจำลักษณะของแอคติโนมัยสีทได้ สมัยก่อนนั้นหลายคนอาจคิดว่าการสร้างสปอร์นั้นจำกัดอยู่เพียงแอคติโน-มัยซีทในกลุ่ม *Sporoactinomycetes* เท่านั้น ในขณะที่กระบวนการสร้างสปอร์นั้นเกิดขึ้นในส่วนของเส้นใย ทั้งนี้ไม่รวมถึงกรณีของ *Nocardioform* actinomycetes ที่มีการแตกหักของเส้นใยไปเป็นชิ้นส่วนเล็ก ๆ รูปร่างกลมบ้าง เป็นแท่งบ้าง และในที่สุดก็มีการเจริญไปเป็นเส้นใยอันใหม่ นอกจากนี้ยังมีหลักฐานที่แน่ชัดที่ทำให้ทราบว่า หน้าที่ของสปอร์ที่แท้จริงกับสปอร์ที่เกิดจากการแตกหักของเส้นใยนี้เหมือนกันและในบางสกุลก็ยากที่จะแยกความแตกต่างของสปอร์ทั้ง 2 ชนิดนี้ ดังนั้นด้วยเหตุผลนี้ขบวนการสร้างสปอร์จึงมีความหมายรวมไปถึงการแตกหักของเส้นใยเป็นท่อน ๆ ด้วย ซึ่งสามารถเห็นได้จากแอคติโนมัยซีทในสกุล *Nocardia, Nocardiopsis, Oerskovia, Promicromonospora* และ *Intraspongium*

สปอร์นั้นอาจเกิดขึ้นเดี่ยว ๆ หรือเกิดเป็นเส้นสายสั้นๆ และโดยทั่วไปแล้วก็มีความหนามากกว่าเส้นใย แต่ในบางชนิดที่มีการสร้างสปอร์เป็นเส้นสายยาว ๆ มักจะมีขนาดเท่า ๆ กับขนาดของเส้นใย ความหนาของสปอร์จึงมีประมาณ 1 - 2 ไมโครเมตร และมีรูปร่างหรือผิวสปอร์ที่แตกต่างกันออกไป (รูปที่ 2.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ (planospores หรือ zoospores) มักจะมีแฟลกเจลลาซึ่งทำให้สามารถเคลื่อนที่ได้ในน้ำ monotrichous spores จะมีเพียง 1 แฟลกเจลลา เช่น *Sporichthya* ถ้ามีหลายแฟลกเจลลา โดยรอบสปอร์ เช่น *Actinosynnema* หรือ *Catenuloplanes* เรียกว่า peritrichous spore ส่วนสปอร์ที่เรียก polytrichous นั้นจะพบอยู่เป็นประจุก เช่น *Actinoplanes* ซึ่งอาจพบอยู่ที่บริเวณขั้วใดขั้วหนึ่งของสปอร์ (lophotrichous) เช่น พบใน *Ampullariella* หรืออาจพบใกล้ ๆ ขั้วเซลล์ เช่น *Spirillospora* หรืออยู่ที่บริเวณด้านข้างของเซลล์ เช่น *Pilimelia* ซึ่งถ้าเป็น zoospore ก็จะมีผิวสปอร์ที่เรียบ

รูปที่ 2.5 รูปร่างและลักษณะผิวสปอร์ของแอคติโนมัยสีท

A. กลม (globose), B. รูปไข่ (ovoid), C. รูปแท่งสั้นอ้วน (doliform), D. รูปแท่ง (rod-14 shape), E. รูปแท่ง โค้ง (allantoid), F. รูปไต (reniform), G. มีแฟลกเจลลา 1 อันที่ปลายเซลล์ (monopolar monotrichous), H. มีแฟลกเจลลารอบเซลล์ (peritrichous), I. มีแฟลกเจลลาหลายอัน (polytrichous), J. มีแฟลกเจลลาหลายอันที่ปลายขั้วเซลล์ (monopolar polytrichous, lophotrichous), K. มีแฟลกเจลลาหลายอันใกล้ขั้วเซลล์ (sublopar polytrichous), L. มีแฟลกเจลลาหลายอันที่ด้านข้างเซลล์ (lateral polytrichous), M. ผิวสปอร์เรียบ (smooth), N. ผิวสปอร์เหี่ยวย่นไม่เป็นระเบียบ (irregular rugose), O. ผิว สปอร์เหี่ยวย่นแบบขนาน (parallel rugose), P. ผิวสปอร์เป็นปุ่ม ๆ (warty), Q. ผิวสปอร์เป็น ตุ่มเล็ก ๆ (tuberculate), R. ผิวสปอร์เป็นตุ่มมีดอก (verrucose), S. ผิวสปอร์มีหนามแหลม (spiny) และ T. ผิวสปอร์มีขน (hairy)

ที่มา: รัตนาภรณ์, 2548

สปอร์ที่เคลื่อนที่ไม่ได้ (aplanospore) อาจมีผิวเรียบหรือผิวขรุขระแบบต่าง ๆ จากการศึกษา ultrastructure พบว่า *Streptomyces* มีผิวสปอร์หลายแบบ เช่น ผิวเรียบ (smooth) มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขน (hairy) เป็นหนาม (spine) เป็นปุ่ม (warty) เหี่ยวย่น (rugose) หรือเป็นตุ่มเล็ก เป็นต้น ซึ่งลักษณะของผิวสปอร์หลาย ๆ ลักษณะนี้ สามารถพบได้ในสกุล *Actinomadura, Microtetraspora, Microbispora* ได้เช่นกัน ซึ่งพบสปอร์ชนิดผิวเรียบ เหี่ยวย่น หนามแหลม เป็นปุ่ม ๆ หรือเป็นตุ่มที่เหมือนดอกเล็ก ๆ หรือมีรูปร่างไม่แน่นอน ผิวสปอร์ชนิดเป็นตุ่มและมีดอกเล็ก ๆ ค่อนข้างหายาก พบใน *Actinomadura verrucosospora* เท่านั้น ซึ่งจะคล้ายกับสปอร์ของ *Streptomyces torulosus* แต่ถ้าเป็นสปอร์ของ *Micromonospora* ก็จะพบสปอร์ชนิดผิวที่มีหนามไม่แหลมซึ่งสร้างขึ้นที่เส้นใยใต้ผิวอาหาร และเป็นสปอร์ที่ไม่ได้ปกคลุมด้วย fibrous sheath ซึ่งโดยปกติแล้วถ้าผิวสปอร์มีลักษณะเหมือนมีเครื่องตกแต่ง (ornamentation) ก็ต้องมี fibrous sheath ซึ่งกรณีที่ผิวสปอร์เป็นหนามที่ไม่แหลมแบบนี้ อาจเกิดจากผิวชั้นนอกของสปอร์เจริญมาเป็นปุ่ม ๆ ซึ่งเมื่อพิจารณาลักษณะแล้วจะเหมือนกับพื้นผิวของผนังเส้นใยที่ทำให้เกิดสปอร์นั้น (รัตนาภรณ์, 2548)

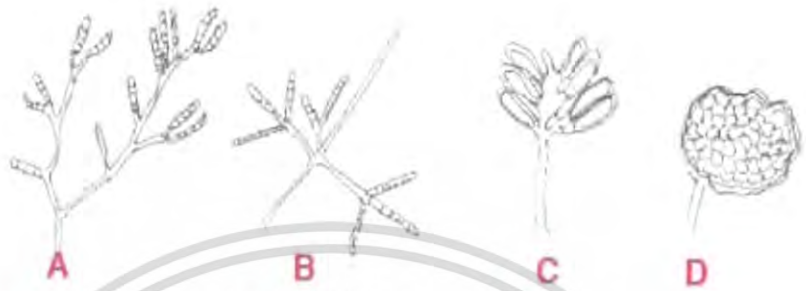
2.9.4.1 ก้านชูสปอร์และก้านชูอับสปอร์ (Sporophores และ Sporangiophores)

สปอร์เดี่ยว ๆ และสปอร์ที่อยู่เป็นเส้นสายจะเจริญอยู่บนก้านชู ซึ่งเป็นเส้นใย (fertile hyphae) ที่ไม่แตกแขนงหรือมีแขนงและมีการสร้างสปอร์ หรือรองรับสปอร์ไว้ และอาจเกิดขึ้นได้ทั้งที่เส้นใยเหนือผิวอาหารหรือเส้นใยใต้ผิวอาหาร ก้านชูสปอร์อาจสร้างรวมตัวกันคล้าย เส้นใยซึ่งอาจเปลี่ยนแปลงไปเป็นก้านหลัก ๆ หนึ่งหรือสองก้านพร้อมกับทำหน้าที่รองรับไปด้วย ต่อจากนั้นจะเจริญไปเป็นส่วนที่จะสร้างเป็นสปอร์ สปอร์อาจถูกสร้างขึ้นที่ด้านข้างหรือส่วนปลายของก้านชูที่เป็นแบบเดี่ยว ๆ หรือแบบแตกแขนงที่มีลักษณะซับซ้อน เช่น ใน *Streptoverticillium* ซึ่งก้านชูสปอร์จะประกอบด้วยก้านหลักที่มี 3 - 4 แขนงด้านข้าง โดยเรียงตัวโดยรอบแกน (verticils) เป็นช่วง ๆ และมีระยะความยาวที่แน่นอน แต่ละแขนงจะมีเส้นสายสปอร์จัดเรียงตัวแบบ umbel ลักษณะการเรียงตัวชนิดนี้เรียกว่า umbellate monoverticillate แต่ถ้ามีการเรียงตัวแบบ vertical 2 ชั้น จะเรียกก้านชูสปอร์แบบนี้ว่า biverticillate

"ก้านชูสปอร์" (sporophore) มักจะมีความหมายเฉพาะโครงสร้างที่มีการสร้างสปอร์คล้ายกับเป็นโครงสร้างที่ช่วยรองรับสปอร์ และในบางกรณีอาจเป็นเส้นใยที่จะเจริญไปเป็นสปอร์ (sporogenous hyphae) ซึ่งจะเป็นเส้นใยที่จะเจริญไปเป็นสปอร์ได้โดยตรงเท่านั้นส่วน "ก้านชู้อับ-สปอร์" (sporangiophore) อาจให้นิยามว่าเป็นเส้นใยที่สร้างหรือรองรับอับสปอร์ มักจะพบที่ส่วนปลายเส้นใย อาจไม่มีการแตกแขนงหรือแตกกิ่งก้าน และบางครั้งอาจมีลักษณะที่สอดคล้องกับอับสปอร์ซึ่งแตกแขนงคล้ายใบปาล์ม เช่น *Planomospora venezuelensis* ก้านชูสปอร์มักเกิดอยู่บนเส้นใยเหนือผิวอาหาร และมีขนาดไม่แตกต่างจากเส้นใยที่ไม่สร้างอับสปอร์ (nonfertile aerial hypha) มาก ขณะที่ก้านชูอับสปอร์ที่เกิดจากเส้นใยใต้ผิวอาหารโดยตรง อาจจะมีขนาดหนากว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

vegetative hypha ถึง 2 - 3 เท่า ถ้ามีการเรียงตัวขนานกันไปในแนวตั้ง จะเรียกว่า palisade hyphae ซึ่ง พบได้ใน *Actinoplanes* (รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.6 ก้านชูสปอร์ (sporophores) และก้านชูอับสปอร์ (sporangiophores)

A. ก้านชูสปอร์ที่แตกแขนงของ *Microtetraspora*, B. ก้านชูชนิด umbella monoverticillate ของ *Streptoverticillium*, C. ก้านชูอับสปอร์ของ *Planomonospora*, D. ก้านชูอับสปอร์เดี่ยว ๆ ของ *Actinoplanes*

ที่มา: รัตนาภรณ์, 2548

2.9.4.2 ลักษณะการเกิดสปอร์แบบต่าง ๆ (Sporulation types) และโครงสร้างสืบพันธุ์อื่น

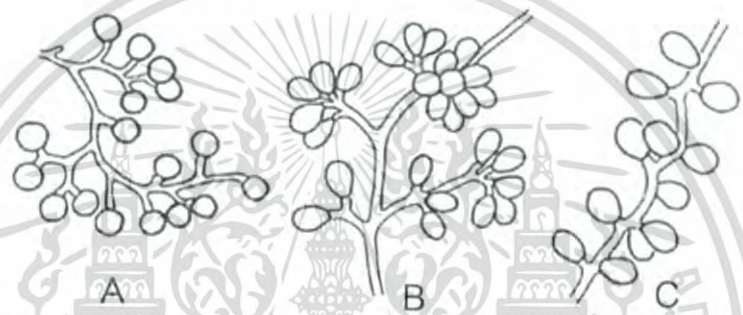
แอคติโนมัยซีทมีการสร้างอยู่ 3 ลักษณะใหญ่ ๆ ดังนี้

2.9.4.2.1 สปอร์ที่ถูกสร้างขึ้นเดี่ยว ๆ เรียกสปอร์แบบนี้ว่า monosporous มักพบได้ ทั่วไปในหลายๆสกุล เช่น *Micromonospora* ซึ่งมีก้านชูสปอร์เกิดอยู่บนเส้นใยใต้ผิวอาหารหรือ บางครั้งเป็นสปอร์ชนิดไม่มีก้าน (sessile) หรือมีก้านสั้นๆหรืออาจอยู่เป็นกระจุก (racemes) การเกิดสปอร์มักเริ่มที่ปลายเส้นใยมีการขยายขนาดขึ้น ต่อจากนั้นมีการสร้างผนังกั้น ในสกุล *Thermomonospora* มีการสร้างสปอร์เดี่ยว ๆ ที่ปลาย aerial hypha หรืออาจสร้างอยู่บน sporophore ที่แตกแขนงหรือไม่แตกแขนง เมื่อมีการแตกแขนงซ้ำ ๆ และมีก้านสั้นก็จะทำให้มองเห็นสปอร์อยู่เป็นกระจุก การสร้างสปอร์อาจเกิดขึ้นที่เส้นใยใต้ผิวอาหารด้วย ตัวอย่างอื่นที่สร้างสปอร์เดี่ยว ๆ เช่น *Saccharomonospora* ซึ่งสร้างสปอร์ที่เส้นใยเหนืออาหารเป็นก้านชูสปอร์ที่ไม่แตกกิ่งแขนง สปอร์มีลักษณะรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสั้น ๆ สปอร์ของ *Micromonospora,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thermomonospora และ *Sacharomonospora* สามารถเรียกได้ว่าเป็น aleuriospores เนื่องจากเป็นสปอร์ที่ไม่สร้างสี โดยมีการเจริญมาจากปลายของแขนงของเส้นใย

Thermoactinomyces มีความใกล้เคียงกับ *Bacillus* มากกว่าแอคติโนมัยสีทกลุ่มอื่น ๆ เมื่อเปรียบเทียบยีนของเส้นใยของมันซึ่งเหมือนกับเส้นใยใน *Sporoactinomycetes* อื่น ๆ แต่ที่เหมือนกับ *Bacillus* คือ *Thermoactinomyces* สร้าง endospore ที่แท้จริงที่ทนต่อความร้อนมาก และมี calcium dipicolinate สูงเช่นเดียวกัน และทั้ง 2 สกุลก็สามารถสร้างสปอร์เดี่ยว ๆ ทั้งที่เส้นใยเหนือผิวอาหารและที่เส้นใยใต้ผิวอาหาร ไม่ว่าจะเป็นสปอร์ที่ไม่มีก้านหรืออยู่บนก้านที่ไม่แตก แขนงหรือแตกแบบ dichotomous (รูปที่ 2.7)



รูปที่ 2.7 การสร้างสปอร์เดี่ยว

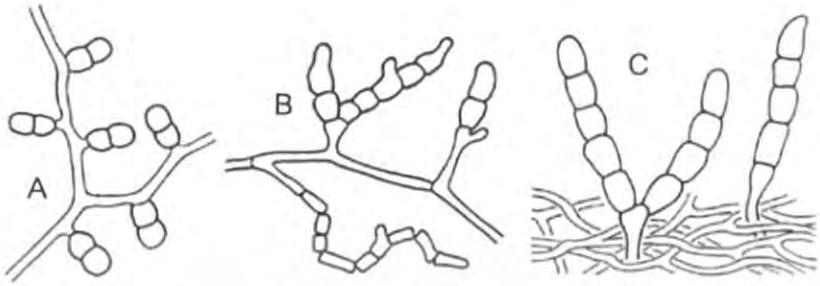
A: *Micromonospora* B: *Thermomonospora* C: *Saccharomonospora*

ที่มา: http://www.nih.go.jp/saj/DigitalAtlas

2.9.4.2.2 สปอร์ที่สร้างต่อกันเป็นเส้นสาย การสร้างสปอร์เป็นเส้นสายทำให้เข้าใจโครงสร้างของเส้นใยที่เป็นระบบมากขึ้น เมื่อมีการสร้างผนังกั้นเส้นใยขึ้นในแต่ละห้องก็สามารถเปลี่ยนไปเป็นสปอร์ได้ และการสร้างสปอร์แบบนี้ก็เป็นแบบที่แอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่สร้างขึ้น การเรียกชนิดสปอร์จะเรียกตามลักษณะความยาวหรือตามจำนวนสปอร์ เช่น bi- หรือ bisporous เมื่อมี 2 สปอร์ เรียก oligosporous เมื่อมีประมาณ 7 - 20 สปอร์ หรือเรียก polysporous มีหลาย ๆ สปอร์ต่อกันเป็นสายยาว ส่วนที่พบสปอร์เรียงตัวกันตามยาว 2 สปอร์พบในสกุล *Microbispora* ซึ่งเป็นแบบที่หายาก โดยสปอร์มีลักษณะกลมหรือรูปไข่และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 -3 ไมโครเมตร ซึ่งใหญ่เป็น 3 - 4 เท่าของความหนาของเส้นใย และอาจพบเรียงตัวอยู่ที่ aerial hyphae หรืออยู่บนก้านชูสปอร์ที่สั้นมาก ๆ การสร้างสปอร์จะเริ่มต้นจากที่มีการแตกหน่อ (lateral budding) ที่ด้านล่างของ aerial hyphae สร้างเป็นแขนงด้านข้างสั้น ๆ และขยายขนาดขึ้นพร้อมกับมีผนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กั้นห้องตรงกลาง ลักษณะการเรียงตัวของสปอร์แบบนี้ อาจพบได้ใน *Actinomadura echinospora* และ *Actinomadura rugatobispora* ด้วย



รูปที่ 2.8 ลักษณะสปอร์ที่เป็นสาย
A: การสร้างแบบ disporous ของ Microbispora, B และ C: การสร้างสปอร์ oligosporous ของ Nocardia brevicaten และ Catellatospora ตามลำดับ
ที่มา: http://www.nih.go.jp/saj/DigitalAtlas

สปอร์ที่เรียงตัวต่อกันเป็นสายยาวอาจเป็นเส้นตรง ๆ (rectiflexibile) หรือมีลักษณะคล้ายกับตะขอ (hook) หรืออาจบิดเป็นเกลียว (spiral) 1 - 4 รอบ ในบาง species เช่น *Actinomadura pusilla* จะสร้างสายสปอร์ที่หมุนเป็นเกลียวแน่น ๆ และฝังอยู่ในส่วนที่เป็นเมือกแห้ง ๆ คล้ายกับอับสปอร์ของ *Streptosporangium* ซึ่งจะเรียกว่า เป็นส่วนที่คล้ายอับสปอร์ (pseudosporangium) เท่านั้น

สปอร์สายสั้น ๆ สามารถพบได้ใน *Sporichthya polymorpha* ในขณะที่ aerial hyphae สามารถแบ่งออกเป็นสปอร์ที่รูปร่างเป็นแท่งหรือกลม ส่วนใน *Catellatospora* สร้างสปอร์เป็นสายตรงหรือ flexuous และมีประมาณ 5 - 30 สปอร์ ซึ่งเจริญขึ้นมา จาก substrate ได้โดยตรงจากก้านชูที่แตกแขนงหรืออาจไม่แตกแขนง ในสกุล *Herbidospora* มีการสร้างสปอร์ต่อเป็นสายตรง หรือ flexuous โผล่ขึ้นมาจากเส้นใยใต้ผิวอาหารเช่นกัน แต่มีก้านชูสปอร์เป็นกลุ่ม

ตัวอย่างที่ดีของแอคติโนมัยสีทที่สร้างสปอร์จำนวนมาก (polyporous actinomycetes) คือที่พบในสกุล *Streptomyces* ซึ่งสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาว ปกติแล้วมีมากกว่า 50 สปอร์ สปอร์ของ *Streptomyces* และ polysporous actinomycetes อื่น ๆ มักเรียกว่า arthrospore ใน *Streptomyces* ส่วนมากแล้วสร้างสปอร์ขึ้นที่เส้นใยเหนือผิวอาหาร และมีหลายลักษณะต่าง ๆ กัน ดังนี้

1). Rectiflexibiles เป็นลักษณะเส้นสายของสปอร์ที่ตรง และมีการ โค้งงอ (flexuous) เล็กน้อย

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2). Retinaculiaperti เส้นสายสปอร์มีลักษณะเป็นตะขอ หรือห่วงปลายเปิด หรือที่ปลายมีการบิดเป็นเกลียวสั้น ๆ 1 - 3รอบ

3). Spirales เส้นสายสปอร์มีการบิดเป็นเกลียว อาจเป็นเกลียวที่ชิดกันแน่ ๆ หรืออาจเป็นเกลียวหลวม ๆหรือเป็นเกลียวห่าง ๆ มีความยาวและมีปลายเปิด

4). Verticillati เส้นสายสปอร์เรียงตัวแบบ whorls และมีแขนง แบบ umbels

ในบางกรณีสายสปอร์เป็นเกลียวขดกันแน่นและแยกออกมาทาให้มีลักษณะเหมือนกับอับสปอร์หรือ Pycnidia นอกจากนี้ในวงศ์ Pseudoncardiaceae เกิดสายสปอร์บนสายใยอาหารและสายใยอากาศ อีกสกุลที่มีสปอร์เป็นสายยาว คือ *Nocardiopsis* ซึ่งเกิดขึ้นบนสายใยอากาศ อาจเป็นสายใยตรง,งอ หรือซิกแซก

รูปที่ 2.9 การสร้างสปอร์แบบเป็นสายยาวของ Streptomyces
1: Rectiflexbiles 2: Retinaculiaperti
3: Spira 4: Verticillati
ที่มา: http://www.nih.go.jp/saj/DigitalAtlas

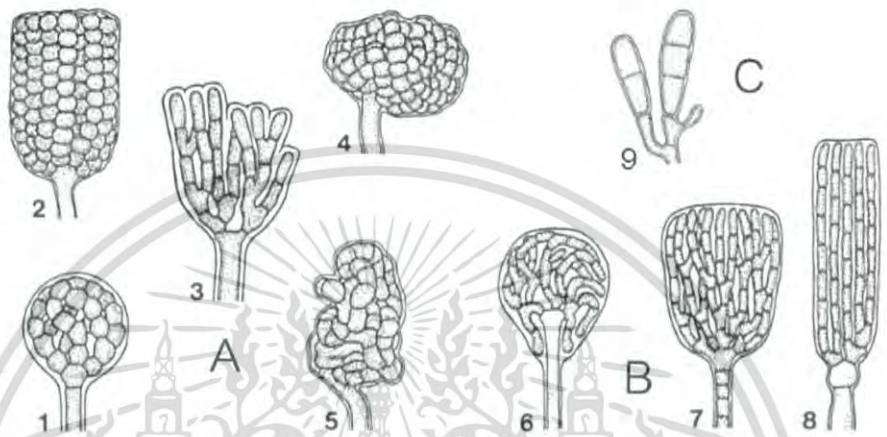
2.9.4.3 สปอร์ที่สร้างอยู่ภายในอับสปอร์

การสร้างสปอร์ในอับสปอร์มีหลายสกุลที่สร้างสปอร์ในอับสปอร์ภายในอับสปอร์มีสปอร์อยู่มากมายสามารถแบ่งกลุ่มการสร้างอับสปอร์ได้เป็น 2 กลุ่ม

1). กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนสายใยอาหาร ประกอบด้วยสกุล *Actinoplans* อับสปอร์มีลักษณะทรงกลม หรือเกือบกลมจนไปถึงไม่เป็นรูปทรงที่แน่นอน มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 – 15 ไมโครเมตร และอยู่บนสายใยอาหารโดยตรง มีสปอร์ต่อกันเป็นสายและแตกแขนงขดกันเป็นก้อนอยู่ภายในผนังห่อหุ้ม (ภาพที่ 5) สปีชีส์ *Ampullariella* ในสกุล *Atinoplans* สร้างอับสปอร์มีรูปร่างแตกต่างกันไป คือ รูปทรงกระบอก ทรงขวด เป็นต้น ขนาดของอับสปอร์เฉลี่ยกว้าง 10 ไมโครเมตร ยาว 5 ไมโครเมตร สปอร์เป็นรูปแท่งต่อกันเป็นสาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีกสกุลที่มีการสร้างสปอร์ในอับสปอร์คือ *Pilimelia* อับสปอร์สร้างขึ้นบนผิวของอาหาร มีรูปทรงกระบอก ทรงกลม ขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร สปอร์เป็นรูปแท่ง มีการเรียงตัวกันเป็นแถวขนานกันหรือวกวนไม่เป็นระเบียบนอกจากนี้ยังมีอีกสกุล คือ *Dactylosporangium* สกุลนี้มีจำนวนสปอร์แบบ Oliosporous คือมีสปอร์ประมาณ 2 – 5 สปอร์อยู่ในอับสปอร์ที่มีรูปร่างคล้ายนิ้วมือ (รูปที่ 2.10)



รูปที่ 2.10 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนอาหาร

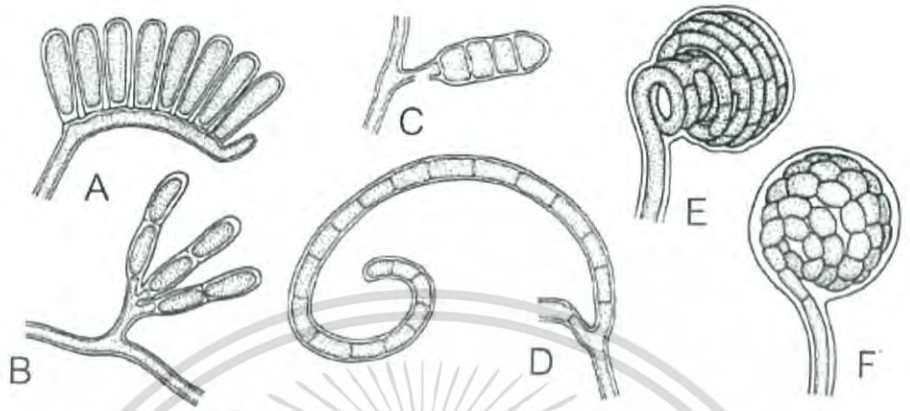
A: สกุล *Actinoplanes* (รวมถึง *Ampullariella*) 1. ทรงกลม 2. ทรงกระบอก 3.เป็นพู 4. กึ่งทรงกลม 5. ไม่เป็นรูปทรง B: สกุล *Pilimelia* 6. ทรงรี 7. รูปทรงระฆัง 8. ทรงกระบอก C: สกุล *Dactylosporangium* 9. รูปทรงกระบอก

ที่มา: http://www.nih.go.jp/saj/DigitalAtlas

2). กลุ่มที่มีการสร้างอับสปอร์บนสายใยอากาศ ประกอบด้วยสกุล *Planomonospora* มีอับสปอร์รูปทรงกระบอก ภายในทรงกระบอกมีเพียง 1 สปอร์ สกุล *Planobispora* มีสปอร์คู่ต่อกันอยู่ในอับสปอร์ สกุล *Planotetraspora* มีอับสปอร์ทรงกระบอกยาว ภายในมี 4 สปอร์ ต่อกันเป็นหนึ่งแถว สกุล *Planoplyspora* มีสปอร์จำนวนมากภายในสปอร์อับสปอร์ เมื่อโตเต็มที่อับสปอร์จะเป็นแผ่นแบบยาวประมาณ 30 ไมโครเมตร มีสปอร์จำนวนมหาศาลต่อกันเป็นแถวเดี่ยวอยู่ภายใน สกุล *Streptosporangium* ส่วนมากอับสปอร์เป็นทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร มีการสร้างผนังกั้นเป็นสปอร์เดี่ยว ๆ ต่อกันเป็นเส้นใยยาวขดเป็นวงอยู่ในภายในอับสปอร์ ในปัจจุบัน สกุล *Kutzneria* ได้ถูกแยกออกจากสกุล *Streptosporangium* มีอับสปอร์ลูกกลมขนดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 48ไมโครเมตร และมีผนังอับสปอร์บาง อยู่บนก้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชูสปอร์ สกุล *Spirllospora* มีอับสปอร์เรียงตัวเป็นสายแตกแขนง หรือเป็นวงสปอร์เป็นรูปแท่งและโค้งงอ (รูปที่ 2.11)



รูปที่ 2.11 รูปทรงของอับสปอร์

A: *Planomospora* : monosporous, รูปกระบอง

B: สกุล *Planobispora*: disporous ทรงกระบอก

C: สกุล *Planotatraspora*: tetrasporous, ทรงกระบอก

D: สกุล *Planopolyspora*: polysporous, รูปทรงคล้ายท่อ

E: สกุล *Spirllspora*: polysporous ทรงกลม

F: สกุล *Streptosporangium*: polysporous, ทรงกลม

ที่มา: http://www.nih.go.jp/saj/DigitalAtlas

2.10 ความสามารถและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทเป็นแหล่งผลิตสารประกอบที่มีอย่างไม่จำกัดเนื่องจากความหลากหลายและความสามารถที่พิสูจน์แล้วว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้มีความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แปลกใหม่ มีสารประกอบทุติยภูมิที่เป็นที่รู้จักมากกว่า 22,000 ชนิดโดย 70% ผลิตโดย แอคติโนมัยสีท 20% จากเชื้อรา 7% จาก *Bacillus* spp. และ 1-2% โดยแบคทีเรียอื่น ๆ ในบรรดาแอคติโนมัยสีท นั้น *Streptomyces* นั้นถือว่ามีความสำคัญทางเศรษฐกิจเพราะมียาปฏิชีวนะที่รู้จักกันมากกว่า 10,000 ตัวโดย 50-55% ผลิตโดยสกุลนี้ ในบรรดาจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน แอคติโนมัยสีทนั้นเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้ผลิตสารทุติยภูมิที่ใหญ่ที่สุดอย่างไม่ต้องสงสัย (Berdy, 2005) ในบรรดาจุลินทรีย์ที่รู้จักกันในปัจจุบันนั้นมีการแยกสารประกอบได้จากจุลินทรีย์ในกลุ่ม แอคติโนมัยสีทโดย75% มาจาก *Streptomyces* และ 25% มาจาก แอคติโนมัยสีทที่หายาก (Berdy, 2005)

Castillo *et al.* (2003) รายงานว่าสารปฏิชีวนะ kakadumycins ที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp. NRRL 30566 สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี *Streptomyces padanus* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ fungichromin ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ (Shih *et al.*, 2003)

แอคติโนแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบมากในดิน สามารถผลิตเอนไซม์ขับออกนอกเซลล์ (extracellular enzyme) ที่ช่วยย่อยสลายสารต่าง ๆ เช่น ลิกนิน ไคติน เซลลูโลส เป็นต้น นอกจากนี้บางชนิดสามารถย่อยสลายยาปราบศัตรูพืช เช่น diuron (Castillo *et al.*, 2006) และ alachlor ซึ่งเป็นยาปราบศัตรูพืชที่มีพิษรุนแรง (Sette *et al.*, 2005) และย่อยสลายยาฆ่าแมลง lindane (Benimeli *et al.*, 2008)

2.11 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่จะเป็นอาหาร Actinomycete isolation agar วิธีการแยกเชื้อและอาหารที่ใช้ในการแยกเชื้อเฉพาะกลุ่มจะแตกต่างกันของงวิธีการและส่วนประกอบของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง แอคติโนมัยสีทสามารถใช้อาหารได้หลายชนิดซึ่งอาหารนั้นจะต้องมีไคติน แป้ง แร่ธาตุต่าง ๆ แหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนเพื่อการเจริญ และจะต้องมีการเติม Antibiotic ในอาหารเพื่อฆ่าเชื้อราหรือแบคทีเรียที่ไม่ต้องการ ในการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจะต้องมีการนำตัวอย่างดินไปทำการ Pre-treatment ด้วยวิธีการต่าง ๆ

2.11.1 ความต้องการสารอาหารของแบคทีเรียเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (นงลักษณ์, 2541)

2.11.1.1 แหล่งพลังงาน แบคทีเรียจำเป็นต้องใช้แหล่งพลังงานจากแสงในการเจริญเติบโตหรือเรียกว่า Phototroph แหล่งพลังงานจากกระบวนการออกซิเดชั่นของแบคทีเรียหรือเรียกว่า Chemotroph

2.11.1.2 แหล่งคาร์บอนแหล่งคาร์บอนอยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์และสารอินทรีย์แบคทีเรียต้องการสารอาหารในรูปของสารอนินทรีย์สามารถเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์เป็นคาร์โบไฮเดรตเรียกว่า Autotroph

2.11.1.3 แหล่งของอิเล็กตรอนแบคทีเรียต้องการใช้อิเล็กตรอนเพื่อกระบวนการเมทาบอลิซึมพวกที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอิเล็กตรอนเรียกว่า Oranotroph

2.11.1.4 แหล่งไนโตรเจนแหล่งไนโตรเจนมีทั้งแบบเป็นสารอนินทรีย์และอินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน โปรตีน เปปไทด์ เกลือไนไตรท์ไนเตรท หรือ แอมโมเนีย เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.1.5 วิตามินแบคทีเรียต้องการวิตามินในปริมาณน้อยแต่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตมาก

2.11.2 ส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อแบบธรรมดา (Basic nutrient media) (นงลักษณ์, 2541)

2.11.2.1 Peptone เปปโตนคือ โปรตีนที่ถูกย่อยแล้วไปเป็นอะมิโนแอซิด คุณสมบัติของเปปโตนจะขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์คุณภาพโปรตีนที่ใช้และวิธีการย่อยโปรตีน ด้วยกรด ด่าง หรือเอนไซม์ โปรตีนที่ใช้ในการผลิตเปปโตนจะจำเป็นมากสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

2.11.2.2 Infusion และ Extract เป็นสารสกัดจากเซลล์ต่าง ๆ เช่น Yeast Extract, Malt Extract, Beef Extract เป็นสิ่งที่สามารถใช้แทนเปปโตนได้ อาหารเลี้ยงเชื้อ Infusion และ Extract นี้เป็นสารสกัดที่มีส่วนประกอบไม่ชัดเจนเนื่องจากเป็นการผสมระหว่างโปรตีนพอลิเพปไทด์ Amino Acid คาร์โบไฮเดรตรวมถึงวิตามินหลายชนิด

2.11.2.4 Indicator ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ มักมีอินดิเคเตอร์เพื่อบอกสภาวะต่าง ๆ เช่น ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อได้แก่ Phenol red เป็นต้น

2.11.2.5 เกลือ การเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อปรับสภาวะ Osmotic pressure ของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็น isotonic สำหรับเซลล์แบคทีเรีย

2.11.2.6 น้ำ น้ำเป็นส่วนประกอบที่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสารละลาย ที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ส่วนใหญ่จะนิยมใช้น้ำกลั่น (Distilled water)

2.11.2.7 Selective agent เป็นสารเคมีที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้แบคทีเรียบางชนิดเจริญได้เท่านั้น ซึ่งแบคทีเรียตัวอื่น ๆ จะถูกยับยั้งไม่ให้เจริญ Selective agent ที่นิยมใช้กันส่วนใหญ่ เช่น crystal violet และ brilliant green ใช้เพื่อยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก sodium chloride ใช้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียตัวอื่น ๆ ที่ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือสูง นอกจากนั้นการปรับความเป็นกรดด่างให้ต่ำกว่าหรือสูงกว่าปกติก็สามารถใช้เป็น selective character ได้

2.11.2.8 การใช้แป้งเป็นแหล่งทดแทนคาร์บอนในอาหาร อาหารที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบเช่น Starch casein agar (SCA) (Williams, 1989) และ Inorganic salts starch (ISP4) (Miyadoh et al., 1989) เป็นการศึกษาความสามารถในการใช้แป้งของเชื้อแอคติโนมัยสีทในการเจริญได้ ซึ่งถ้าเชื้อสามารถใช้แป้งในกรเจริญได้จะเป็นการลดต้นทุนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ แทนการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นที่ราคาค่อนข้างสูง

2.11.2.9 การใช้อาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีท อาหาร International Streptomyces Project

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

medium no.2 (ISP2) จะมีสารอาหารที่ใกล้เคียงกับ Yeast-extract-Malt extract (YEME) แต่ไม่มี peptone (Klanbut, 2013) จะนิยมนำมาใช้ในงานวิจัยเนื่องจากมีราคาถูกและมีสารอาหารเพียงพอที่เชื้อแอคติโนมัยซีทสามารถใช้ในการเจริญได้

2.12 สารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolites)

สารทุติยภูมิ หรือสารรอง คือ สารที่จุลินทรีย์เริ่มสร้างเมื่อเข้าสู่ระยะ stationary เป็นระยะช่วงท้ายของการเจริญ จัดเป็นสารที่ไม่จำเป็นต่อการเจริญหรือการแพร่พันธุ์ของจุลินทรีย์จึงผลิตในปริมาณน้อย และปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่

สารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิ ได้แก่ ยาปฏิชีวนะผลิตออกมาเพื่อทำหน้าที่ป้องกันและการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตที่ผลิตออกมาได้ และยังมีหน้าที่อื่น เช่น เป็นตัวแทนขนส่งโลหะหรือชะลอการงอกของสปอร์จนสภาพแวดล้อมการแข่งขันน้อยเพื่อให้มีอัตราการรอดสูงขึ้น (Wringley *et al.*, 2000) มี primary metabolites เป็นสารตั้งต้น (precursors) ไม่จำเป็นต่อการคงชีพของสิ่งมีชีวิต แต่อาจมีบทบาทสำคัญต่อการอยู่ร่วมกันหรือการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ เป็นลักษณะเฉพาะหรือพบได้ในสิ่งมีชีวิตเฉพาะกลุ่ม เช่น family หรือ genus ชนิดเดียวกันได้แก่ alkaloids, terpenoids, antibiotics, flavonoids, tannis, cardiac glycosides ดังนั้นสารประกอบทุติยภูมิจึงเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีววิทยาซึ่งพืชสร้างขึ้นเพื่อที่จะสื่อสารกับสิ่งแวดล้อม มิได้สร้างขึ้นเพื่อที่จะเป็นแหล่งสะสมวัตถุดิบเพื่อใช้ในการสร้างสารประกอบ ปฐมภูมิ

แอคติโนมัยสีทเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีความน่าสนใจ มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ แอคติโนมัยสีทเป็นที่รู้จักกันดีว่าสามารถผลิตแอนติไบโอติกและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ (bioactive molecule) และมีความสำคัญในทางอุตสาหกรรม (Naikpatil and Rathod., 2011) โดยมีความสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์สาร และสามารถสร้างสารเมทาบอไลท์ หรือ เอนไซม์ ต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ เช่น เอนไซม์ไซลาเนส (xylanase) เซลลูเลส (cellulase) อะไมเลส (amylase) และไคติเนส (chitinase) เป็นต้น (กิ่งจันทร์, 2555) แอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะหรือเอนไซม์ต่าง ๆ สารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิมีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) มีความหลากหลายของสารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิที่เซลล์สร้างขึ้น และเป็นสารเมทาบอไลท์ที่มีโครงสร้างที่มีการพัฒนาที่ซับซ้อนหลายชนิด ได้แก่ สารปฏิชีวนะต้านการเจริญเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส และสารต้าน เนื้องอก เป็นต้น

2.13 สารปฏิชีวนะที่สร้างขึ้นโดยแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทผลิตสารปฏิชีวนะหลากหลาย ซึ่งสองในสามของสารปฏิชีวนะที่ใช้อยู่ในปัจจุบันผลิตโดยแอคติโนมัยสีทซึ่งยับยั้งการเจริญหรือฆ่าแบคทีเรียอื่น ยีสต์ และรา (Alexander, 1977) บางชนิดสามารถใช้รักษามนุษย์และสัตว์ได้ (Nolan and Cross, 1988) เชื่อว่าการผลิตสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิชีวนะของแอคติโน-มัยสีทอาจมีผลต่อระบบนิเวศวิทยาในดิน เนื่องจากการเพาะปลูกที่ใช้ยากำจัดศัตรูพืชทำให้ดินเสื่อมคุณภาพและสารพิษตกค้างอยู่ในดิน สารปฏิชีวนะเหล่านี้ได้ถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์อย่างกว้างขวางเนื่องจากเป็นสารประกอบที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ มีความเป็นพิษน้อย ย่อยสลายได้ง่าย และราคาถูกกว่าสารประกอบที่สร้างขึ้นจากปฏิกิริยาเคมี (Goodfellow, 1985) นอกจากสารปฏิชีวนะ แบคทีเรียในกลุ่มนี้ยังสามารถผลิตสารที่ช่วยส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นเช่น thiamineriboflavin flavoprotein วิตามินบี 12 และ coenzyme A (Santos *et al.*, 1976) เป็นต้น ตัวอย่างยาปฏิชีวนะที่มีขายในท้องตลาดทั้งยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และราหลายชนิดที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย และเป็นยาที่ผลิตจากเชื้อในจีนัส *Streptomyces* ได้แก่ streptomycin, spectinomycin, neomycin, tetracycline, chlorotracycline, erythromycin, clindamycin, amphoteracin B และ chloramphenical เป็นต้น จึงได้มีการคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น คัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารต่อต้านเชื้อราโดยสารปฏิชีวนะจะทำลายผนังเซลล์ของรา (Ouhdouch *et al.*, 2001) สารต่อต้านเชื้อราหลายชนิดเช่น nikkomycin และ polyoxin มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไคตินซินเทสของเชื้อรา (Nolan and Cross, 1988)

Miyadoh (1993) ได้รายงานการศึกษาว่า ประมาณ 70% ของสารปฏิชีวนะที่มีการตีพิมพ์ตั้งแต่ปี 1984 - 1993 สามารถแยกได้จากเชื้อ Actinomycetes เมื่อเทียบกับสารปฏิชีวนะที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียอื่น ๆ และรา เมื่อคิดสัดส่วนของสารปฏิชีวนะที่ได้จาก Actinomycetes พบว่าได้จากสกุล *Streptomyces* ประมาณ 75%

2.14 กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพ

สารต้านจุลชีพมีชนิดต่าง ๆ มากมายทั้งที่ผลิตจากจุลินทรีย์ จากการสังเคราะห์และสารกึ่งสังเคราะห์ สารต้านจุลชีพจึงมีชนิดที่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต่าง ๆ นานา กล่าวคือ มีชนิดออกฤทธิ์ขอบข่ายกว้างและขอบข่ายแคบ ชนิดออกฤทธิ์เฉพาะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Bacteriostatic effect) เช่น Chloramphenicol, Tetracycline และฆ่าทำลายแบคทีเรีย (Bactericidal effect) เช่น Penicillin, Colistin, Streptomycin (ศิริพร, 2549) ยาต้านจุลชีพสามารถจัดจำแนกเป็นประเภทต่าง ๆได้หลายแบบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหลักเกณฑ์ในการจำแนก (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา) จำแนกตามขอบเขตการออกฤทธิ์

1. Broad spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น แอมพิซิลลิน (ampicillins)

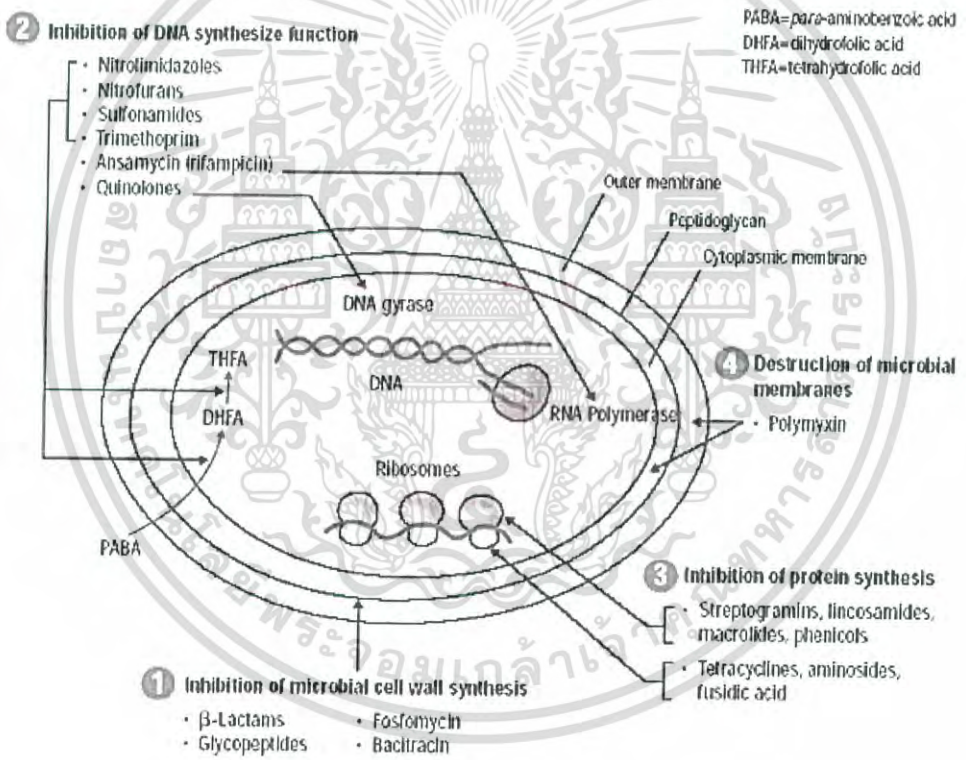
2. Medium spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางชนิดเท่านั้น ได้แก่ ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Narrow spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียบางชนิด มีฤทธิ์ส่วนใหญ่ต่อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ คล็อกซาซิลลิน (cloxacillin) หรือมีฤทธิ์ส่วนใหญ่ต่อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ อะมิโนกลัยโคไซด์ (aminoglycosids)

จำแนกตามกลไกการออกฤทธิ์

1. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เช่น เพนนิซิลลิน แวนโคมัยซิน ฟอสโฟมัยซิน
2. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลิอิค เช่น ควิโนโลน ไนโตรฟูแรน ไรฟามพิซิน
3. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน เช่น คลอแรมเฟนิคอล เตตร้าซัยคลิน อีริโทรมัยซิน
4. ออกฤทธิ์ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์เช่น โพลิมิซิน บี



รูปที่ 2.12 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลชีพต่อจุลินทรีย์

ที่มา: http://cuir.car.chula.ac.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.15 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง

2.15.1 Disc diffusion techniques

วิธี disc diffusion method เป็นวิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด เนื่องจากสะดวก ประหยัดและใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่า เชื้อมีความไวต่อสารทดสอบหรือไม่ หลักการคือ เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทในอาหารเหลว Yeast extract Malt extract (YEME) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในฟาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นทำการบ่มในสภาวะเขย่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน ที่ความเร็วรอบ 200 rpm หลังจากนั้นทำการกรองตัวเซลล์ออกจากน้ำหมักด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 เก็บส่วนของตัวเซลล์ไปทำการหมักต่อด้วยเมทานอลเป็นเวลา 3 วัน และส่วนของน้ำหมักนำไปทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทในกรวยแยกสาร แยกส่วนที่เป็นตัวทำละลายไปทำการระเหยสารด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศในส่วนของตัวเซลล์หลังจากที่ทำการบ่มครบตามเวลาแล้ว ให้ทำการกรองตัวเซลล์ออกจากเมทานอลเก็บส่วนของเมทานอลที่กรองได้นำไประเหยสารด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ส่วนที่เหลือจากการระเหยทั้งในเอทิลอะซิเตทและเมทานอลจะเรียกว่า สารสกัดหยาบ จะถูกนำมาละลายด้วยเมทานอลเพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งและเพื่อศึกษาด้วยว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งนั้นเกิดจากภายในเซลล์หรือผลิตออกมานอกเซลล์ โดยใช้วิธี agar disc diffusion ซึ่งจะทำการเลี้ยงเชื้อทดสอบและปรับความเข้มข้นของเชื้อทดสอบด้วยร้อยละ 0.85 normal saline และเทียบความขุ่นกับสารมาตรฐาน 0.5 McFarland โดยอาหารที่ใช้สำหรับการทดสอบประกอบด้วย Mueller Hinton Agar (MHA) สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) สำหรับเชื้อยีสต์ โดยจะใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อในการเกลี่ยเชื้อลงบนผิวหน้าอาหาร นำดิสก์ที่ปราศจากเชื้อมาหยดด้วยสารสกัดหยาบทั้ง 2 ชนิดด้วยความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นวางแผ่นดิสก์บนอาหารที่มีเชื้อทดสอบแล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Klanbut *et al.*, 2017)

2.15.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือ

แอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถพบได้ทั่วไปโดยเฉพาะในดิน สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ที่ใช้กันแพร่หลาย เช่น สารปฏิชีวนะ สารกดภูมิคุ้มกัน และสารต้านมะเร็ง เป็นต้น (Anibou *et al.*, 2008). มีรายงานเปิดเผยว่าจุลินทรีย์ที่ต้องการเกลือนั้นเป็นแหล่งของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและยาชนิดใหม่ๆ (Fencial, 1997). โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Streptomyces* ที่สามารถผลิตยาปฏิชีวนะได้เป็นจำนวนมากประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของการผลิตยาปฏิชีวนะทั้งหมด (Remya and Vijayakumar, 2008). และเป็นที่ยอมรับกันว่าแอคติโนมัยสีทที่ชอบเกลือจะเป็นแหล่งของการสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ ๆ ที่น่าสนใจในอุตสาหกรรม (Cragg and Newman, 2005). *Streptomyces* spp. SBU1 ที่แยกได้จากดินเค็มในประเทศอินเดียแสดงกิจกรรมการต่อต้านเชื้อ *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *S. aureus* (Sudhakar *et al.* 2012).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ

3.1.1	หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)	TOMY รุ่น ES-315, JAPAN
3.1.2	ตู้ปลอดเชื้อ (Lamina air flow)	TELSTAR รุ่น Bio-ll-Advance 4 TECHNOLOGY, Spain
3.1.3	ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) 30 องศาเซลเซียส	N-Biotech รุ่น NB-205Q
3.1.4	ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) 37 องศาเซลเซียส	Memmert รุ่น IBN 500
3.1.5	ตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่า (Incubator shaker)	Unitron
3.1.6	ตู้อบด้วยความร้อนแห้ง (Hot air oven) 100 องศาเซลเซียส	Memmert รุ่น IBN 500
3.1.7	ตู้อบด้วยความร้อนแห้ง (Hot air oven) 180 องศาเซลเซียส	Memmert รุ่น UN110
3.1.8	อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)	Memmert
3.1.9	ตู้แช่แข็งระบบน้ำ	Panasonic SF-PC697
3.1.10	ตู้เย็น -4 องศาเซลเซียส	Distar freezer & Refrigelator รุ่น DR-082
3.1.11	ตู้แช่แข็ง -20 องซาเซลเซียส	Panasonic SF-PC697 Thailand
3.1.12	เครื่องปั่นแยกสาร (Centrifuge)	Hermle รุ่น Z 326 K, Germany
3.1.13	เครื่องผสมสารละลาย (Vortex)	Scientific Industries รุ่น Vortex Genie 2, 230VG56E
3.1.14	เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	SHIMDAZU รุ่น UV-1601

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.15	เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)	OHAUS รุ่น STARTER 3000
3.1.16	เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)	SevenGo pro รุ่น SG-28
3.1.17	กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)	OLYMPUS รุ่น CH3, Japan
3.1.18	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	AND รุ่น GF-800 Japan
3.1.19	เครื่องไมโครเวฟ (Microwave)	Sharp รุ่น R-250
3.1.20	เครื่องปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)	Gast รุ่น 0523-101
3.1.21	เครื่องระเหยสุญญากาศ (Evaporator)	HEIDOLPH, Germany

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 ห่วงเขี่ยเชื้อและเข็มเขี่ยเชื้อ (Loop and Needle)

3.2.2 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.3 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)

3.2.4 หลอดทดลองและฝาปิด

3.2.5 ที่วางหลอดทดลอง (Test tube rack)

3.2.6 สไลด์และกระจกปิดสไลด์

3.2.7 ปิเปตและเครื่องดูดจ่ายสารละลาย (pipette and Autopipette)

3.2.8 ลูกยางและทิป (Pipette bulb and Tips)

3.2.9 ขวดฉีดน้ำกลั่น

3.2.10 ขวดฉีดแอลกอฮอล์

3.2.11 หลอดหยดสาร (Dropper)

3.2.12 บีกเกอร์ (Beaker)

3.2.13 กระบอกตวง (Cylinder)

3.2.14 ช้อนตักสาร

3.2.15 แท่งแก้วคนสาร

3.2.16 แท่งแก้วรูปตัวแอลล (Spreader)

3.2.17 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)

3.2.18 ขวดแก้วเล็ก (Vial)

3.2.19 ขวดแก้วฝาเกลียว (Schott Duran)

3.2.20 เหล็กคีบ (Forceps)

3.2.21 กระดาษกรอง Whatman No.1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร

3.2.22 แผ่น Paper disc Whatman ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.23 Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิเมตร

3.2.24 เวเนียร์คาลิปเปอร์ (Vernier caliper)

3.2.25 ชุดกรองสุญญากาศ (Vacuum filter set)

3.2.26 โถดูดความชื้น (Desiccator)

3.2.27 กระดาษทิชชู

3.2.28 กระดาษชั่งสาร

3.2.29 กระดาษฟอยล์

3.2.30 สำลีและผ้าก๊อซ

3.2.31 ไม้พันสำลี

3.3 สารเคมี

3.3.1	วุ้น (Agar)	บริษัท Bio Agar
3.3.2	แอมโมเนียมซัลเฟต $((NH_4)_2SO_4)$ MW 132.14 g/mol	บริษัท Merch
3.3.3	เคซีน (Casein)	บริษัท Fluka
3.3.4	แคลเซียมคาบอเนต $(CaCo_3)$ MW 100.0869 g/mol	บริษัท Clarlo erba
3.3.5	เฟอรัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต $(FeSO_4.7H_2O)$ MW 278.0146 g/mol	บริษัท Fluka
3.3.6	เจลาติน (Gelatin)	บริษัท Ajex Finechem
3.3.7	กลูโคส (Glucose) MW 180.1559 g/mol	บริษัท Fluka
3.3.8	แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต $(MgSo_4.7H_2O)$ MW246.4746 g/mol	บริษัท Univar
3.3.9	สารสกัดจากมอลต์ (Malt extract)	บริษัท Himedia
3.3.10	แมงกานีสคลอไรด์เฮปตะไฮเดรต $(MnCl_2.4H_2O)$ MW197.90 g/mol	บริษัท Univar
3.3.11	เปปโทน (Peptone)	บริษัท Srichem
3.3.12	โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) MW101.11 g/mol	บริษัท Fluka
3.3.13	หางนมผง (Skim milk powder)	บริษัท Himedia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.15 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) MW 58.44 g/mol — บริษัท Univar

3.3.16 แป้งที่ละลายน้ำได้ (Soluble strach) — บริษัท Srichem

3.3.17 ไดโพแทสเซียมไฮโรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) MW 174.18 g/mol — บริษัท Univar

3.3.18 สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) — บริษัท Scharlau

3.3.19 cycloheximide — ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3.20 kanamycin — ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3.21 แอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 75 และ 95 (v/v)

3.3.22 กลีเซอรอล

3.3.23 สารละลายแกรมไอโอดีน

3.3.24 เมทานอล (CH_3OH) MW 32.04 g/mol — บริษัท Ajex Finechem

3.3.25 เอทิลอะซิเตท ($CH_3COOC_2H_5$) MW 880110 g/mol — บริษัท Avantor

3.3.26 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) MW 98.079 g/mol — บริษัท Calo Erba

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4.1 Starch casein agar (SCA)

3.4.2 Yeast extract-malt extract agar (YEME agar)

3.4.3 Yeast extract-malt extract broth (YEME broth)

3.4.4 International Streptomyces Project medium no.2 (ISP.2)

3.4.5 Inorganic salt starch agar (ISP medium no.4)

3.4.6 Bouillon gelatin broth

3.4.7 Nutrient agar

3.4.8 Skim milk agar

3.4.9 Mueller-Hinton agar (MHA)

3.4.10 Sabourand dextrose agar (SDA)

3.4.11 Zhang' Starch Soil Extract agar (ZSSE)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

3.5.1 แบคทีเรียในการทดสอบ

3.5.1.1 *Bacillus subtilis* ATCC 6633

3.5.1.2 *Escherichia coli* ATCC 25922

3.5.1.3 *Kocuria rhizophila* ATCC 9341

3.5.1.4 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

3.5.1.5 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

3.5.2 ยีสต์ในการทดสอบ

3.5.2.1 *Candida albicans* ATCC 10231

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.6.1 การเก็บตัวอย่างดิน

เลือกจุดเก็บตัวอย่างดิน โดยทำการเก็บแบบสุ่ม (Gayathri *et al.*, 2011) เก็บดินลึกจากผิวหน้า 2-3 เซนติเมตร (Klanbut *et al.*, 2017) เก็บตัวอย่างดินนาเกลือประมาณ 500 กรัม ในแต่ละจุด (Deepika and Kannabiran, 2010) ใส่ในถุงหรือขวดพลาสติกปลอดเชื้อและเก็บในถังน้ำแข็งขณะขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ (Trabelsi *et al.*, 2016) วัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ณ ตำแหน่งที่ทำการเก็บตัวอย่างดินด้วย pH meter บันทึกค่าความเป็นกรดด่างที่ได้ บันทึกลักษณะของดินที่ทำการเก็บรวมทั้งลักษณะของสภาพแวดล้อมของบริเวณจุดเก็บตัวอย่างและบันทึกภาพตำแหน่งที่ทำการเก็บตัวอย่าง

3.6.2 การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท

นำตัวอย่างดินข้อ 3.6.1 มาแยกเชื้อโดยนำตัวอย่างดินที่ทำการเก็บมานำไปเกลี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้เต็ม ตากให้ดินแห้งสนิทที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 - 5 วัน ครบเวลานำดินไปบดด้วยโกร่ง ชั่งดิน 1 กรัม ใส่ลงหลอดทดลองที่มี 0.9 % NaCl ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องเขย่าผสมสาร (vortex miter) กำหนดเป็นความเจือจางที่ 10^{-1} ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำตัวอย่างดินที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ไปทำการเจือจางต่อจนถึงระดับความเจือจาง 10^{-3} ดูดสารละลายตัวอย่างที่เจือจางไว้ระดับความเจือจางละ 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยลงบนผิวหน้าอาหาร Starch casein agar (SCA) และอาหาร ZSSE agar (Fadhilah *et al.*, 2018) ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 - 3 (Klanbut *et al.*, 2018) และเติม cycloheximide ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร ทำจำนวนสองซ้ำ บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ตรวจสอบการเจริญของเชื้อที่แยกได้เป็นระยะ (Jose and Jebakuma, 2012)

3.6.3 การหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่าง (ภาคผนวก ซ)

3.6.3.1. การวัดค่าความเป็นกรดด่าง

ชั่งตัวอย่างดินนาเกลือ 2 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ค่อย ๆ เติมน้ำกลั่นลงไปทีละน้อย โดยคนตัวอย่างด้วยแท่งแก้ว จนสังเกตเห็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ บนผิวน้ำ (ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีถึง 1 ชั่วโมง) จึงทำการวัดค่าความเป็นกรดด่าง ทำซ้ำ 3 ครั้ง บันทึกผลและรายงานในรูปของค่าเฉลี่ยจากการวัด 3 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.4 การเก็บรักษา (Shirling & Gottlieb, 1966)

แยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 3.6.2 โดยทำการแยกเชื้อเพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวด้วยเทคนิค cross streak บนอาหาร Starch casein agar (SCA) และอาหาร ZSSE agar ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 - 3 (Klanbut *et al.*, 2018) และเติม cycloheximide ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 - 14 วัน เมื่อแยกได้โคโลนีเดี่ยวแล้วทำการถ่ายเชื้อ (Sub-culture) ลงบนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP 2) ที่ไม่เติมยาปฏิชีวนะ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญเต็มที่เก็บไว้สำหรับทำการทดลองในขั้นต่อไป และทำการกำหนดหมายเลขไอโซเลท

3.6.5 การเตรียม spore suspension (Klanbut, 2013)

เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เจริญเต็มที่ทุกไอโซเลทบนอาหาร ISP 2 ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 – 3 จากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อขูดเอาสปอร์บริเวณผิวหน้าอาหารจนทั่ว แล้วจึงทำการเทลง centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที เพื่อทำให้เส้นใยสปอร์เกิดการแตกหักออกจากกัน จากนั้นนำไปกรองผ่านสำลีฆ่าเชื้อเพื่อกรองเอาส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่อาจติดมากับสปอร์ออก นำส่วนที่กรองถ่ายใส่ centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร หลอดใหม่ ทำการปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนสารละลายใสทิ้งไป แล้วจึงทำการละลายตะกอนสปอร์ของเชื้อ (resuspension) ด้วย กลีเซอรอล 20% (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำสปอร์ที่ได้ไปทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำเป็น stock culture

3.6.6 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีท

การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบริสุทธิ์ที่คัดแยกได้จากข้อ 3.6.4 ทำโดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร ISP 2 ด้วยเทคนิคการ cross streak (Shirling & Gottlieb,1966) ตรวจผลโดยสังเกตสีและรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวหน้าอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสีมาตรฐาน The NBS/ISCC Color system (Klanbut *et al.*, 2018) การสังเกตเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) เส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) และลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค Slide culture โดยเตรียมอาหาร Yeast Extract Malt Extract Agar (YEME agar) สำหรับนำไปเพาะเชื้อ นำใบมีดหรือเข็มเขี่ยเชื้อตัดชิ้นวุ้นนำไปวางบนแผ่นสไลด์ที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ แล้วทำการถ่ายเชื้อโดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อลงด้านข้างของชิ้นวุ้นจนครบทั้ง 4 ด้าน จากนั้นคีบแผ่นกระจกปิดสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปิดทับลงบนชิ้นวุ้น เติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงบนกระดาษทิชชูให้มีความชื้นทั่วแผ่น หลังจากนั้นพันปิดรอยต่อของจานเพาะเชื้อด้วยแผ่นพาราฟิล์ม (parafilm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อให้ภายในจานเพาะเชื้อมีความชื้นและป้องกันน้ำระเหยออก แล้วนำไปบ่มเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจนกระทั่งเชื้อสร้างสปอร์ 7 - 14 วัน แล้วตรวจดูลักษณะเส้นใยและการสร้างสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (ลลิดา, 2554)

3.6.7 การศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท

3.6.7.1. การย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม (ลลิดา, 2554)

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทจุดลงบนอาหาร skim milk บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน หากเชื้อสามารถย่อยสลายโปรตีนในอาหารได้จะเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อให้บันทึกผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่เกิดขึ้นและให้เครื่องหมายดังนี้

+ หมายถึง เกิดบริเวณใสรอบโคโลนี เกิดการย่อยสลายโปรตีนในอาหาร

- หมายถึง ไม่เกิดบริเวณใสรอบโคโลนี ไม่เกิดการย่อยสลายโปรตีนในอาหาร

3.6.7.2. การย่อยสลายเจลาติน

เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีทลงในอาหาร Bouillon gelatin broth (Arai, 1975) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 - 14 วัน บันทึกผลโดยการนำหลอดไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หากเชื้อสามารถย่อยเจลลาตินในอาหารได้ อาหารจะเปลี่ยนเป็นอาหารเหลวให้บันทึกผลเป็นบวกและหากไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงให้บันทึกผลเป็นลบคือไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ โดยให้เครื่องหมายดังนี้

+ หมายถึง อาหารเหลวหลังบ่มที่ 4 องศาเซลเซียส เกิดการย่อยสลายเจลาตินในอาหาร

- หมายถึง ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ไม่เกิดการย่อยสลายเจลาตินในอาหาร

3.6.7.3. การย่อยสลายแป้ง

เตรียมอาหาร ISP 4 แล้วนำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาขีดบนอาหาร (Shirling & gottileb, 1966) มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 - 14 วัน นำสารละลายไอโอดีนมาราดบนผิวหน้าอาหาร หากเชื้อสามารถย่อยสลายแป้งในอาหารได้จะเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีให้บันทึกผลเป็นบวกและหากไม่เกิดบริเวณใสให้บันทึกผลเป็นลบคือไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ (ลลิดา, 2554) โดยให้เครื่องหมายดังนี้

+ หมายถึง เกิดบริเวณใสรอบโคโลนี เกิดการย่อยสลายแป้งในอาหาร

- หมายถึง ไม่เกิดบริเวณใสรอบโคโลนี ไม่เกิดการย่อยสลายแป้งในอาหาร

w หมายถึง เกิดบริเวณใสรอบโคโลนีเล็กน้อย เกิดการย่อยสลายแป้งในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.7.4. การศึกษาความสามารถในการหมักน้ำตาล (Mary *et al.*,1967)

เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีทบริสุทธิ 1 ลูป ลงในอาหาร Phenol Red broth ที่มีน้ำตาลที่ต้องการทดสอบหลอดละ 1 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, แลคโตส, ซูโครส, ไซโลส และแมนนิทอล ที่มีหลอดดักแก๊ส (durham tube) อยู่ภายในหลอดอาหาร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 - 14 วัน ตรวจผลการทดสอบ โดยเทียบกับหลอดควบคุม (control) ที่ไม่มีเชื้อแอคติโนมัยสีทใด ๆ ในอาหาร หากหลอดอาหารเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีเหลืองแสดงว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถหมักน้ำตาลและเกิดกรดขึ้น และสังเกตภายในหลอดดักแก๊ส ถ้ามีแก๊สในหลอดดักแก๊สแสดงว่าเชื้อเกิดแก๊สในกระบวนการเมตาบอลิซึม โดยให้เครื่องหมายดังนี้

A คือ Acid = เกิดการหมักน้ำตาล มีการเปลี่ยนสีของอาหารจากสีแดงเป็นสีเหลือง

K คือ Alkaline = ไม่เกิดการหมักน้ำตาล

w คือ weakly = เกิดการหมักน้ำตาลเพียงเล็กน้อย มีการเปลี่ยนสีของอาหารจากสีแดงเป็นสีส้ม

\+ = เกิดการสร้างแก๊ส

\- = ไม่เกิดการสร้างแก๊ส

3.6.7.5. การศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์คะตะเลส

หยดสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3% ลงบนแผ่นสไลด์เปล่า เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีท แตะลงบนหยดสาร สังเกตการเกิดฟองฟู่ ให้ผลเป็นบวก สังเกตระดับความแรงการเกิดฟองและหากไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงบันทึกผลเป็นลบ (ธนากร และ บวรศักดิ์, 2554) โดยให้เครื่องหมายดังนี้ (+++): เกิดฟองฟู่อย่างรุนแรง, (++): เกิดฟองฟู่, (+): เกิดฟองฟู่เพียงเล็กน้อย, (-): ไม่เกิดปฏิกิริยา

3.6.7.6. การศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ออกซิเดส

เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีท แตะลงบนสไลด์ หยดสารละลาย 1% Tetramethyl-p-phenylenediamine (TPD) ลงบนเชื้อ สังเกตการเปลี่ยนของสารทันที หากเปลี่ยนเป็นสีสารละลายเป็นสีม่วงบันทึกผลเป็นบวกและหากไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงบันทึกผลเป็นลบ (ธนากร และ บวรศักดิ์, 2554) โดยให้เครื่องหมายดังนี้

\+ หมายถึง เกิดการเปลี่ยนของสารทดสอบ เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์

\- หมายถึง ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ไม่เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์

3.6.8 การศึกษาการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทในอาหาร ISP 2 ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12 และ 15 (Roshan et al., 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทบริสุทธ์ที่คัดแยกได้จากข้อ 3.6.4 มาศึกษาระดับความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญของเชื้อที่แยกได้จากดินนาเกลือโดยนำโคโลนีเดี่ยวที่ได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร ISP 2 ที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12 และ 15 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน และตรวจดูการเจริญของเชื้อ

3.6.9 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ (Pre-test) (Waskman, 1940)

ทำการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 6 ชนิดซึ่งได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 ด้วยวิธี agar cross streak method โดยการนำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาขีดลากเป็นเส้นยาวบนอาหาร ISP 2 แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งทั้ง 6 ชนิดมาขีดตั้งฉากกับแอคติโนมัยสีท แล้วนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน ตรวจสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้จากการเกิดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ระหว่างโคโลนีของแอคติโนมัยสีทและเชื้อทดสอบ

3.6.10 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar Disc Diffusion (Klanbut *et al.*, 2018)

3.6.10.1. การเตรียมหัวเชื้อและการเพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีท

ทำการเขี่ยสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทมาจำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเหลว Yeast extract Malt extract (YEME) ที่มีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0 และ 1 ตามที่ศึกษาจากข้อ 3.6.8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จำนวน 2 ฟลาสก์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.2 บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นทำการเติม 0.1% $CaCO_3$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

3.6.10.2. การสกัดสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิจากแอคติโนมัยสีท

นำน้ำหมักเชื้อแอคติโนมัยสีทจากข้อ 3.6.10.1 มาทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no. 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพื่อแยกเอาเส้นใยของเชื้อแอคติโนมัยสีทและอาหารออกจากกัน จากนั้นนำน้ำหมักส่วนที่ปราศจากเส้นใยมาทำการสกัด โดยใช้ตัวทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลาย-อินทรีย์ คือ เอทิลอะซิเตท โดยทำการเติมเอทิลอะซิเตทลงไปในอัตราส่วน 1:1 (V/V) จากนั้นทำการพลิกกลับไปมาเพื่อทำให้เฟสบนของเอทิลอะซิเตทที่มีสารมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ออกจากเฟสน้ำ สำหรับเฟสของน้ำปล่อยทิ้ง โดยขั้นตอนนี้จะทำการพลิกกลับไปมา 3 รอบ จากนั้นนำเฟสของเอทิลอะซิเตทนำไประเหยให้แห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะทำให้ได้สารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตท จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ สำหรับเซลล์และเส้นใยที่ติดอยู่บนกระดาษกรองทำการล้างด้วยเมทานอล 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มต่อในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำน้ำหมักเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ได้มาทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no. 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพื่อแยกเอาเส้นใยของเชื้อแอคติโนมัยสีทและอาหารเหลวออกจากกัน จากนั้นนำไประเหยให้แห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจะทำให้ได้สารสกัดหยาบในชั้นเมทอนอล แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปทำการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

3.6.10.3. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

จุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 6 ชนิดซึ่งได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 เลี้ยงบนอาหาร Muller-Hinton broth (MHA) และ *Candida albicans* ATCC 10231 เลี้ยงบนอาหาร Sabouraud's agar (SDA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบผสมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.85% เพื่อปรับความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐานแมคฟาแลนหมายเลข 0.5 (0.5 McFarland Standard) ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์โดยประมาณ $1.0x10^8$ CFU/ml

3.6.10.4. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งโดยเทคนิค Agar Disc Diffusion

ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มลงในสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่เตรียมในข้อ 3.6.10.3. มา swab ลงบนผิวหน้าอาหาร Muller-Hinton broth (MHA) และ Sabouraud's agar (SDA) ด้วยวิธี aseptic technique ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์จะใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการเจือจางสารสกัดหยาบและใช้เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) ยาปฏิชีวนะ Kanamycin จะใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control)

เตรียมแผ่นดิสก์ ขนาด 6 มิลลิเมตรวางบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเชื้อ บรรจุสารละลายของสารสกัดหยาบในปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในแผ่นดิสก์ที่เตรียมไว้ รอจนแห้ง จากนั้นนำไปวางบนผิวหน้าอาหารที่มีการทาเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบเอาไว้ นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้นในหน่วยมิลลิเมตร ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ (ลลิดา, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท

จากการเก็บตัวอย่างดินนาเกลือแบบสุ่ม จำนวน 20 จุด ดังรูปที่ 4.1 - 4.8 ในวันที่ 15 มกราคม 2562 จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ จังหวัดสมุทรสงคราม (13.417300 °N, 100.027311 ° W) ในเดือนพฤศจิกายนจะมีการสูบน้ำทะเลมาเก็บไว้ในบ่อเก็บ เมื่อฝนทิ้งช่วงก็จะเริ่มวิดน้ำทะเลเข้ามาขังใน นาวัง หรือ นาขัง ซึ่งเป็นแปลงที่ใช้เก็บน้ำทะเลเพื่อใช้ผลิตเกลือตลอดฤดูกาลทำนาเกลือ โดยน้ำทะเลที่ขังไว้ชาวนาเกลือจะเรียกว่า น้ำอ่อน น้ำอ่อนจะไหลตามช่องหูนา (ช่องน้ำไหลระหว่างนา) หรือ รางน้ำอ่อน จากนาวังเข้าสู่ นาตาก ซึ่งมีอยู่มากกว่านาส่วนอื่น ๆ ทำหน้าที่ดักสิ่งสกปรกและเศษตะกอนให้ตกลงมาในนานี้ก่อนปล่อยน้ำเค็มไปยังนารองเชื้อ และ นาเชื้อ ผ่านรางน้ำแก่ เพื่อให้เกลือจืดตกผลึกและเพิ่มระดับความเค็มเป็น 20 – 24 ดีกรี ระหว่างรอชาวนาเกลือจะทำการปรับพื้นนาให้แน่นป้องกันพื้นนาแยกเป็นรอยร้าว จากนั้นในช่วงเดือนมกราคมหรือระยะที่ฝนทิ้งช่วงอีกครั้งก็จะเริ่มปล่อยน้ำเค็มเข้าสู่ นาปรง เป็นแปลงที่น้ำเค็มเข้มข้นจนตกผลึกเป็นเม็ดเกลือ (บุญปรอด, 2562) ทำให้ลักษณะของตัวอย่างดินที่ทำการเก็บตัวอย่างนั้นมีตั้งแต่ ดินเหนียว ดินทราย และ ดินโคลน โดยลักษณะของดินนั้นแตกต่างตามนาเกลือนาต่าง ๆ ดังแสดงในภาคผนวก ง

รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่างนาปรง จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่างนาปรง และ บริเวณคันนาปรง จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ จังหวัดสมุทรสงคราม

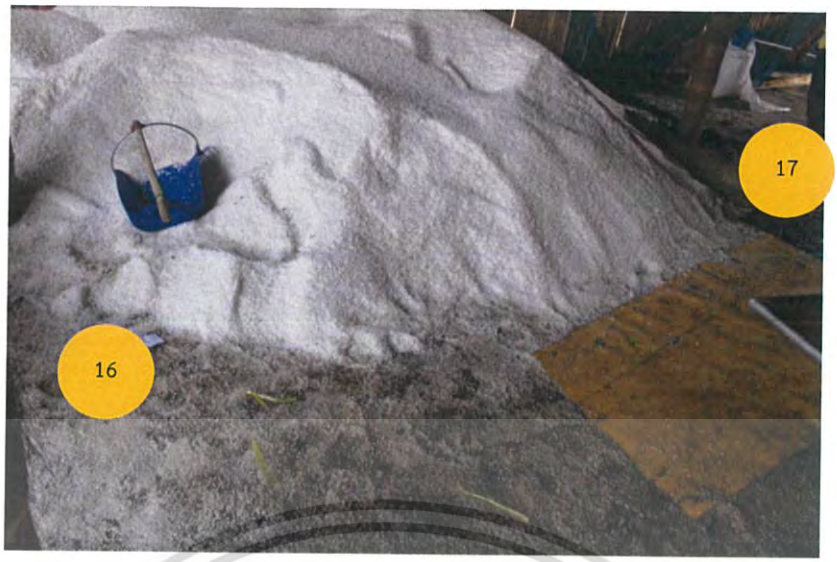
รูปที่ 4.3 แสดงการเก็บตัวอย่างดินนาปรง จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่าง นารองเชื้อ จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่าง นาเชื้อ จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

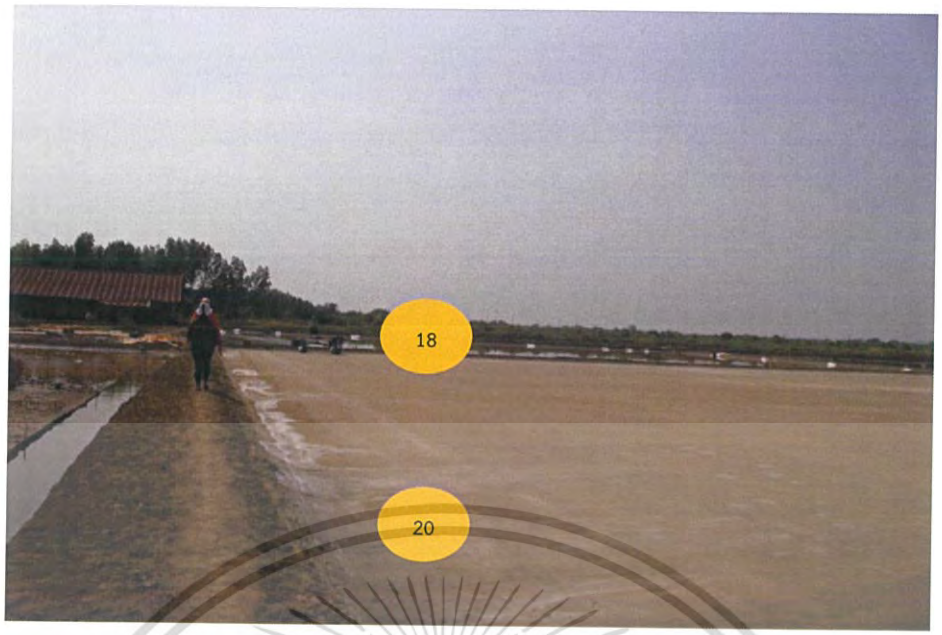


รูปที่ 4.6 บริเวณยุ้งเก็บเกลือ จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

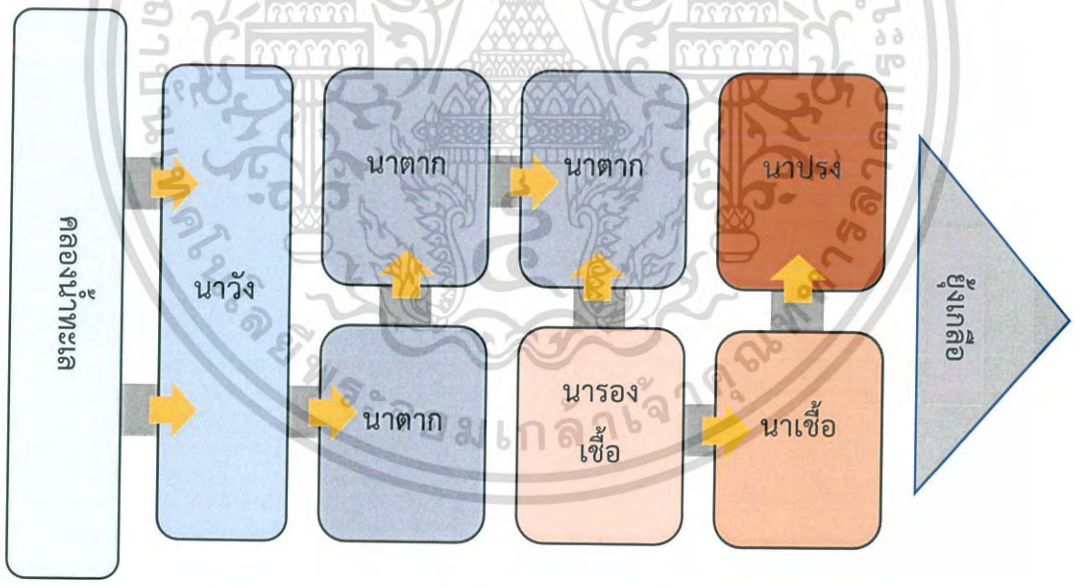
รูปที่ 4.7 (ซ้าย) ขี้แดดนาเกลือ และ (ขวา) นาตากจากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

รูปที่ 4.8 (ซ้าย) เก็บตัวอย่างดินรางน้ำอ่อน (ขวา) เก็บตัวอย่างดินบริเวณรางน้ำแก่ จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะจุดเก็บตัวอย่าง นาปรง จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม



รูปที่ 4.10 แสดงแผนผังนาเกลือของ โรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำตัวอย่างดินมาทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจนได้เชื้อบริสุทธิ์ตามวิธีการที่ 3.7.4 และกำหนดหมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่บริสุทธิ์ดังตารางที่ 4.1 ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถแยกแอคติโนมันสีทได้มากที่สุดคือ อาหาร ZSSE agar ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 – 3 โดยในน้ำทะเลนั้นจะมีความเข้มข้นของเกลือละลายอยู่ 35 กรัมในน้ำทะเล 1 ลิตร (3.5 เปอร์เซ็นต์)(ดวงกมล, 2540) ผู้ทำการทดลองจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงสุดที่ร้อยละ 3 ในการคัดแยกแอคติโนมัยสีท ซึ่งแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินเค็มสามารถเจริญในอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้สูงสุดถึงร้อยละ 3 (Chen *et al.*, 2008) Hamaki *et al.* (2005) ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหารที่หลากหลายพบว่า อาหาร ZSSE agar ให้ผลการเจริญได้ดีที่สุด และอาหาร ZSSE agar ทำให้พบเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ง่ายยิ่งขึ้น (Zhang *et al.*,2011) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้

ตารางที่ 4.1 หมายเลขไอโซเลทที่คัดแยกได้ 35 ไอโซเลท จากการเก็บตัวอย่างดินนาเกลือ 20 จุด

จุดที่	จุดเก็บตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลท	หมายเลขไอโซเลท
1	นาปรง	2	SMK01011, SMK02011
2	นารองเชื้อ	4	SMK03021, SMK04021, SMK05021, SMK06021
3	นาเชื้อ	2	SMK07031, SMK31031
4	รางน้ำแก่	3	SMK08042, SMK09042, SMK32042
5	รางน้ำอ่อน	2	SMK10051, SMK11051,
6	นาตาก	3	SMK12061, SMK13061, SMK14061
7	นาเชื้อ	3	SMK15072, SMK16072, SMK35071
8	นาปรง	1	SMK17081
9	นาปรง	1	SMK18091
10	นาปรง	2	SMK19101, SMK20101
11	นาปรง	1	SMK21111
12	นาปรง	1	SMK22121
13	คันนาปรง	5	SMK23131, SMK24131, SMK25132, SMK33131, SMK34131
14	นาปรง	-	-
15	นาปรง	2	SMK26151, SMK27151

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 หมายเลขไอโซเลทที่คัดแยกได้ 35 ไอโซเลท จากการเก็บตัวอย่างดินนาเกลือ 20 จุด (ต่อ)

จุดที่	จุดเก็บตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลท	หมายเลขไอโซเลท
16	ยุ้งเกลือ	1	SMK28161
17	ยุ้งเกลือ	1	SMK29171
18	ดินภูนาเกลือ	-	-
19	ขี้แดดนาเกลือ	-	-
20	นาปรง	1	SMK30201

***หมายเหตุ หมายเลขหลักที่หนึ่ง คือ ลำดับของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้

หมายเลขหลักที่สอง คือ ตำแหน่งของตัวอย่างดินที่แยกได้

หมายเลขหลักที่สาม คือ ระดับความเจือจางที่แยกได้

4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินตัวอย่าง

จากการเก็บตัวอย่างดินนาเกลือ โรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม เมื่อวันที่ 15 มกราคม 2562 ซึ่งเป็นช่วงที่สภาพดินจะมีความเค็ม เนื่องจากเป็นช่วงที่มีดอกเกลือเกิดขึ้น และมีการทำการตากผลึกเกลือ ลักษณะดินเป็นดินเหนียว ดินทราย และดินโคลน มีการเก็บตัวอย่างดินจากจุดต่าง ๆ ในบริเวณนาเกลือได้ทั้งหมด 20 จุด นำมาหาคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน ตามวิธีการที่ 3.6.3 พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง ได้ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดินทั้ง 20 จุด

จุดที่	จุดเก็บตัวอย่าง	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	จุดที่	จุดเก็บตัวอย่าง	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
1	นาปรง	7.47	11	นาปรง	7.70
2	นารองเชื้อ	7.80	12	นาปรง	7.27
3	นาเชื้อ	7.67	13	คันนาปรง	7.53
4	รางน้ำแก่	8.37	14	นาปรง	7.70
5	รางน้ำอ่อน	8.13	15	นาปรง	7.90
6	นาตาก	8.03	16	ยุ้งเกลือ	7.90
7	นาเชื้อ	7.60	17	ยุ้งเกลือ	7.97
8	นาปรง	8.07	18	ดินภูนาเกลือ (นาปรง)	8.17
9	นาปรง	7.23	19	ขี้แดดนาเกลือ	6.93
10	นาปรง	7.60	20	นาปรง	7.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lacey (2009) ทำการศึกษาการคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากดินเค็มพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมกับการเจริญของแอคติโนมัยสีทเท่ากับ 8 โดยผลค่าความเป็นกรด-ด่างในตัวอย่างดินนาเกลือทั้ง 20 จุด แสดงผลอยู่ในช่วง 6.93 – 8.37 ซึ่งในตัวอย่างขี้แดดนาเกลือที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำเท่ากับ 6.93 จึงไม่พบแอคติโนมัยสีทในการทดลองนี้ และช่วงที่พบแอคติโนมัยสีทจะอยู่ในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.0-8.0 จากงานวิจัยของ นฤมล (2550) กล่าวว่าโดยปกติแอคติโนมัยสีทจะเจริญบนผิวดินที่ไม่ลึกไปกว่า 4 เซนติเมตร ในดินที่มีสภาพเป็นด่าง เช่น ในดินที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.5 - 8 จะมีจำนวนสูงสุดถึง 95 เปอร์เซ็นของจุลินทรีย์ทั้งหมด

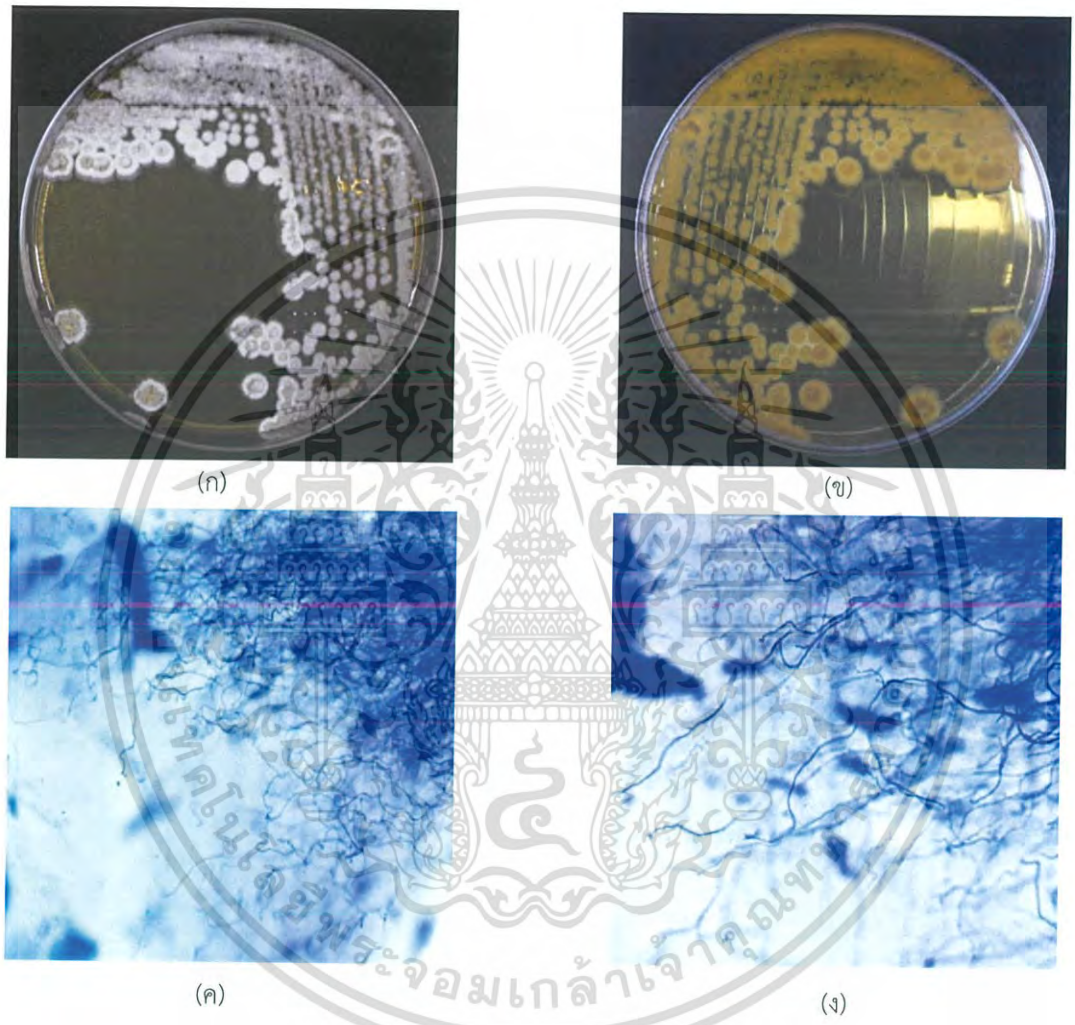
4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

4.3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีท

จากการเก็บตัวอย่างดินนาเกลือจากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม เมื่อวันที่ 15 มกราคม 2562 นำตัวอย่างมาทำการเจือจางที่ระดับความเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ทำการเกลี่ยสารละลายตัวอย่างลงบนผิวหน้าอาหาร Starch casein agar (SCA) และอาหาร ZSSE agar ที่เสริมด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 – 3 และเติม cycloheximide ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน พบว่าสามารถคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดิน 20 จุดได้จำนวน 35 ไอโซเลท และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทโดยสังเกตสีและรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหารและใต้ผิวอาหาร โดยเปรียบเทียบกับระบบสีมาตรฐาน The NBS/ISCC Color system และสังเกตลักษณะของเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) เส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) และศึกษาลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค Slide culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.1 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK01011 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Deep orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Strong orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี White มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK01011 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

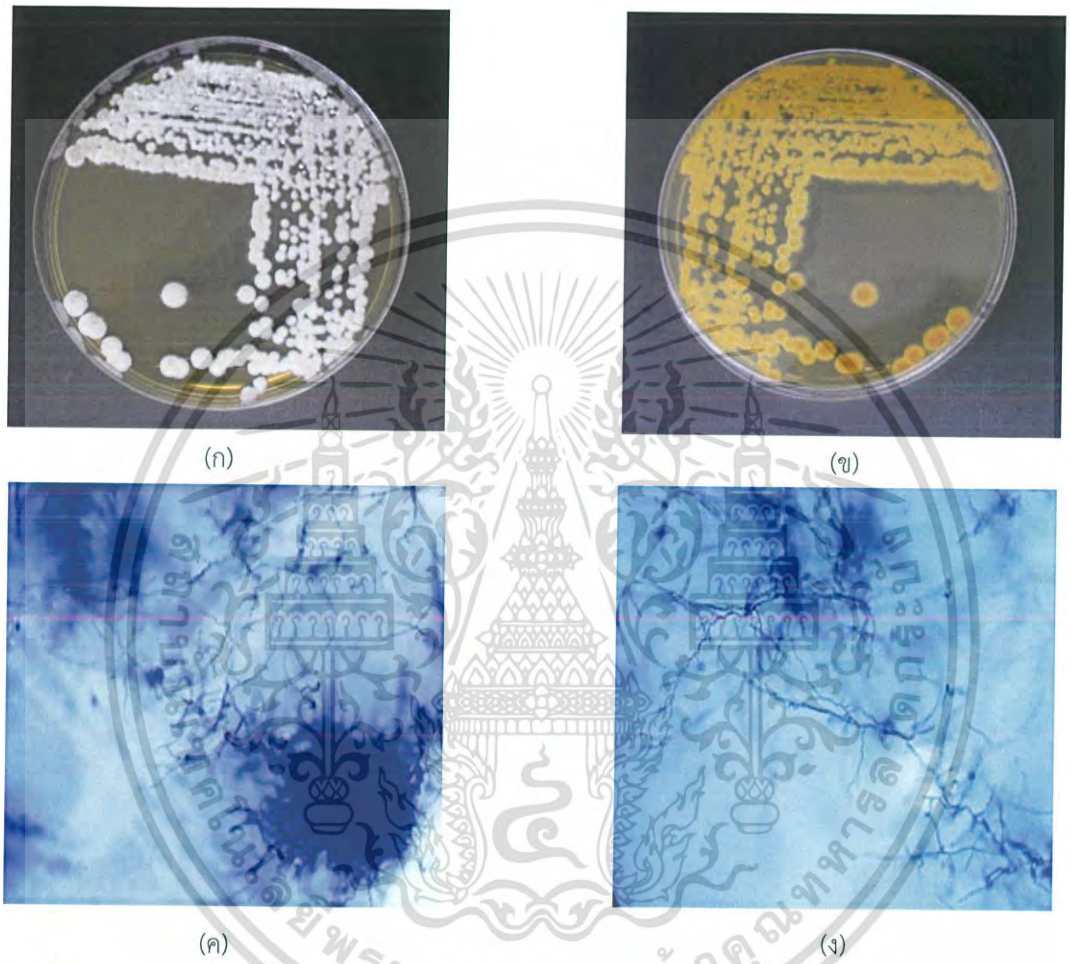
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.2 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK02011 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Strong yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Strong yellow และมีการสร้างสปอร์สี Pinkish gray มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรงและมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK02011 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

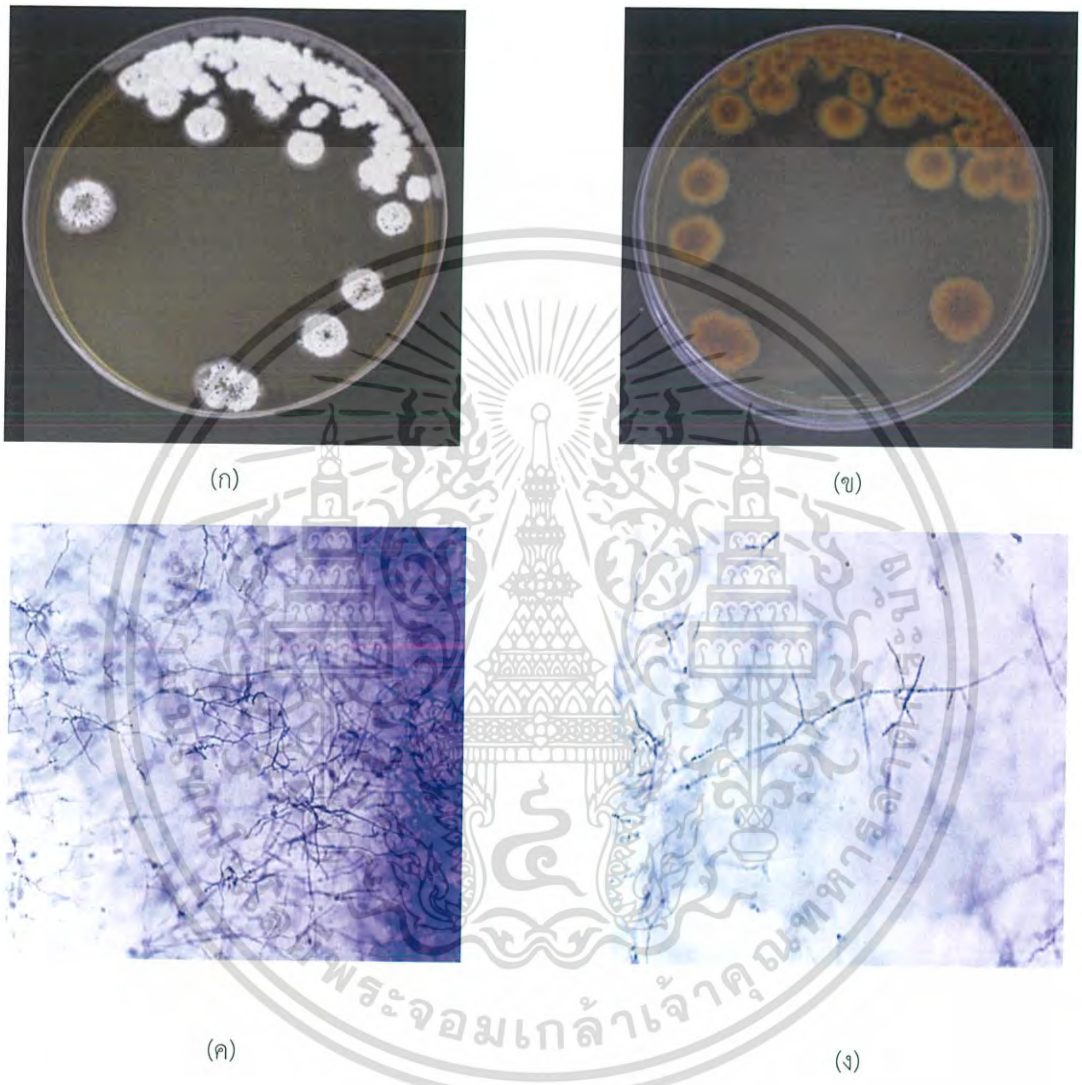
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.3 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK03021 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Deep brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Brownish orange และมีการสร้างสปอร์สี Yellowish white ต่อกันเป็นสายยาว (polysporous) มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรงและมีการ โค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK03021 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

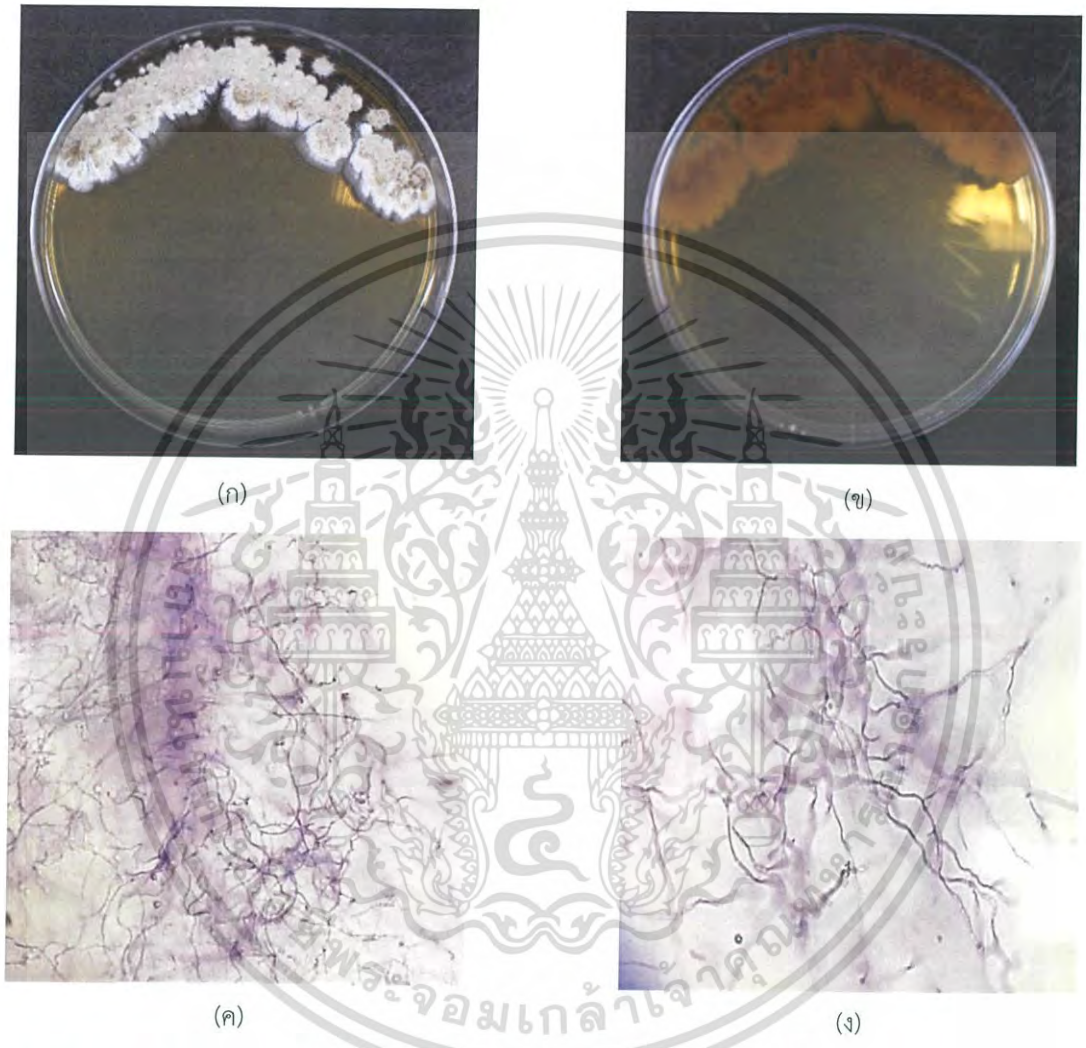
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.4 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK04021 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Brownish orange สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี Light yellowish brown เป็นสปอร์แบบเดี่ยว (monosporous) ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK04021 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

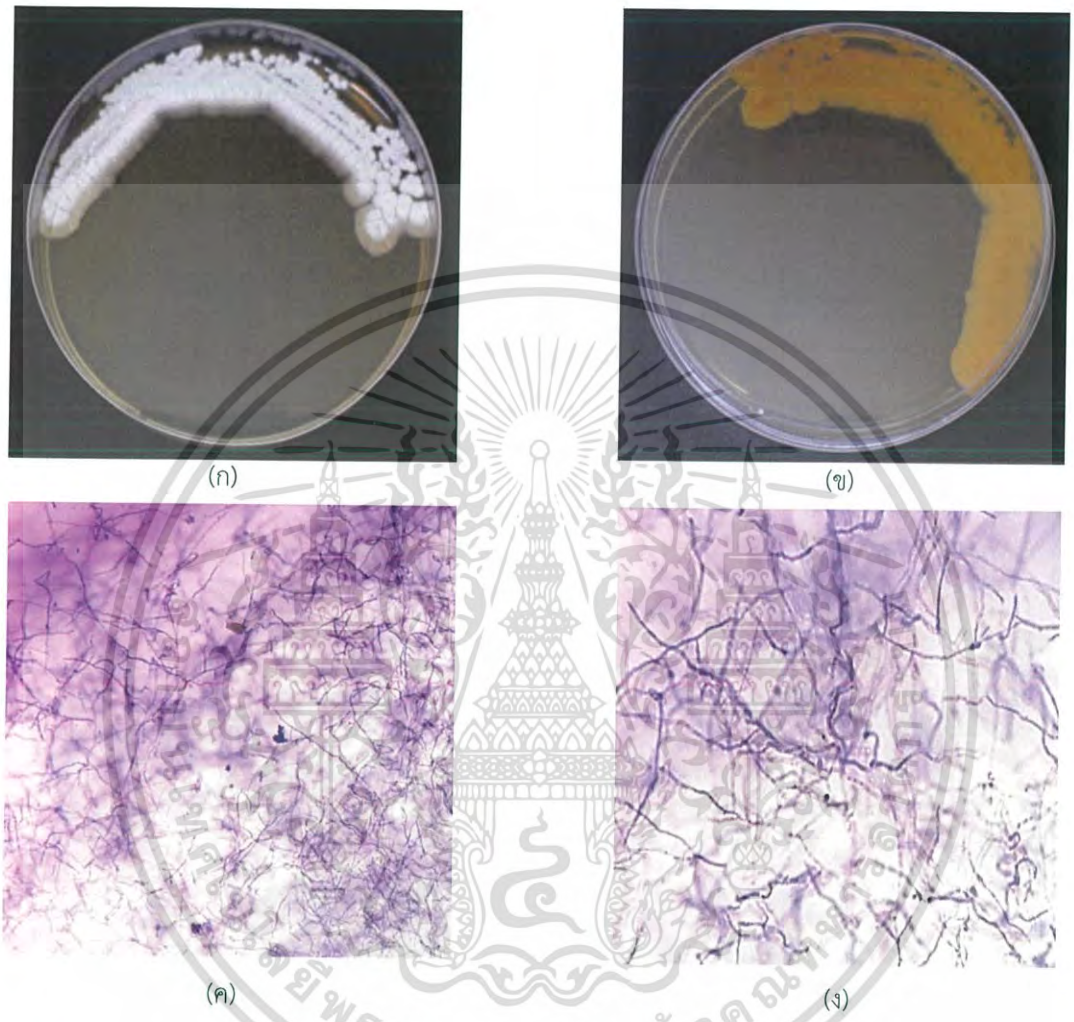
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.5 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK05021 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellow สร้างเส้นใยอาหารสี Strong orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light orange yellow และและมีการสร้างสปอร์สี White เส้นสายสปอร์มีลักษณะเป็นตะขอ หรือห่วงปลายเปิด (Retinaculiaperti)



รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK05021 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

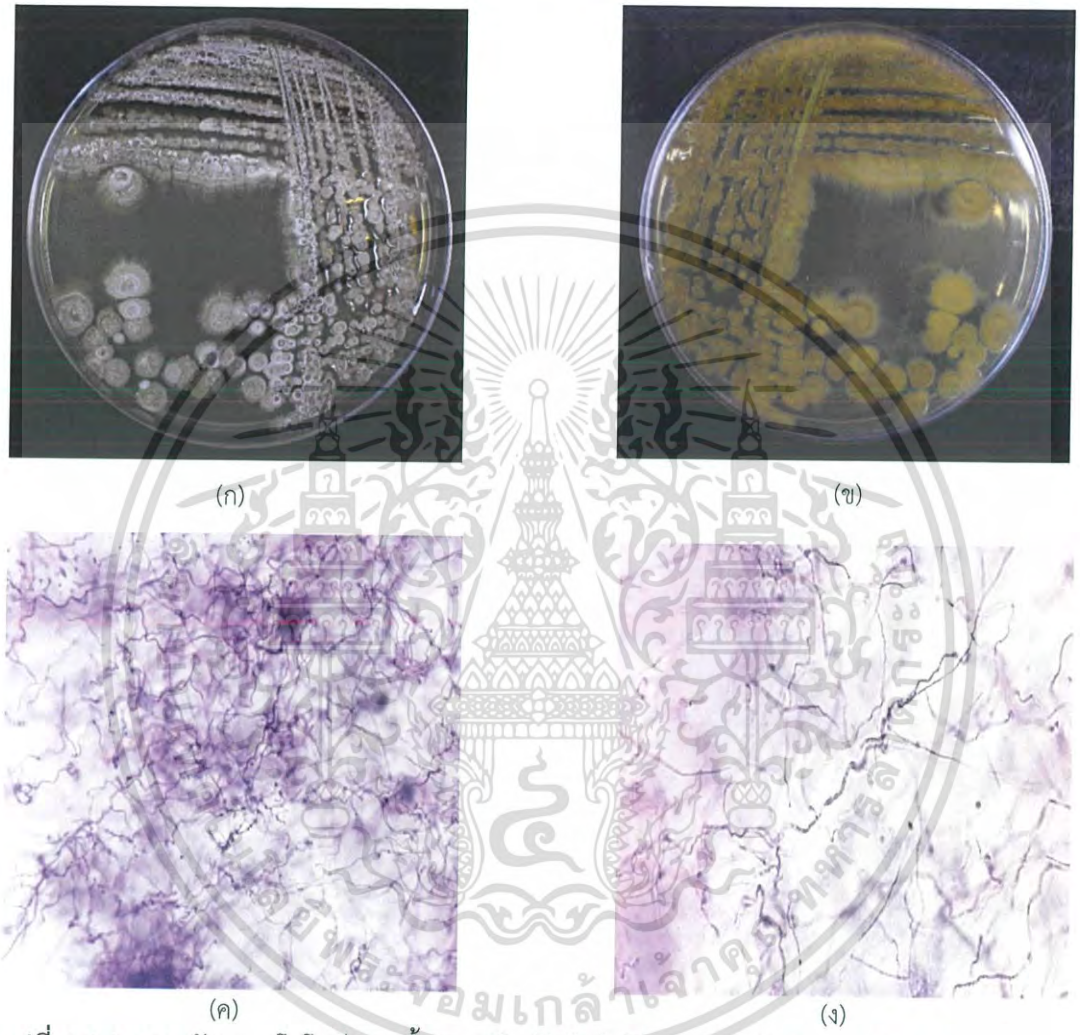
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.6 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK06021 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellow สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate olive สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light yellow และมีการสร้างสปอร์สี Light grayish olive เส้นสายสปอร์มีการบิดเป็นเกลียว



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK06021 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

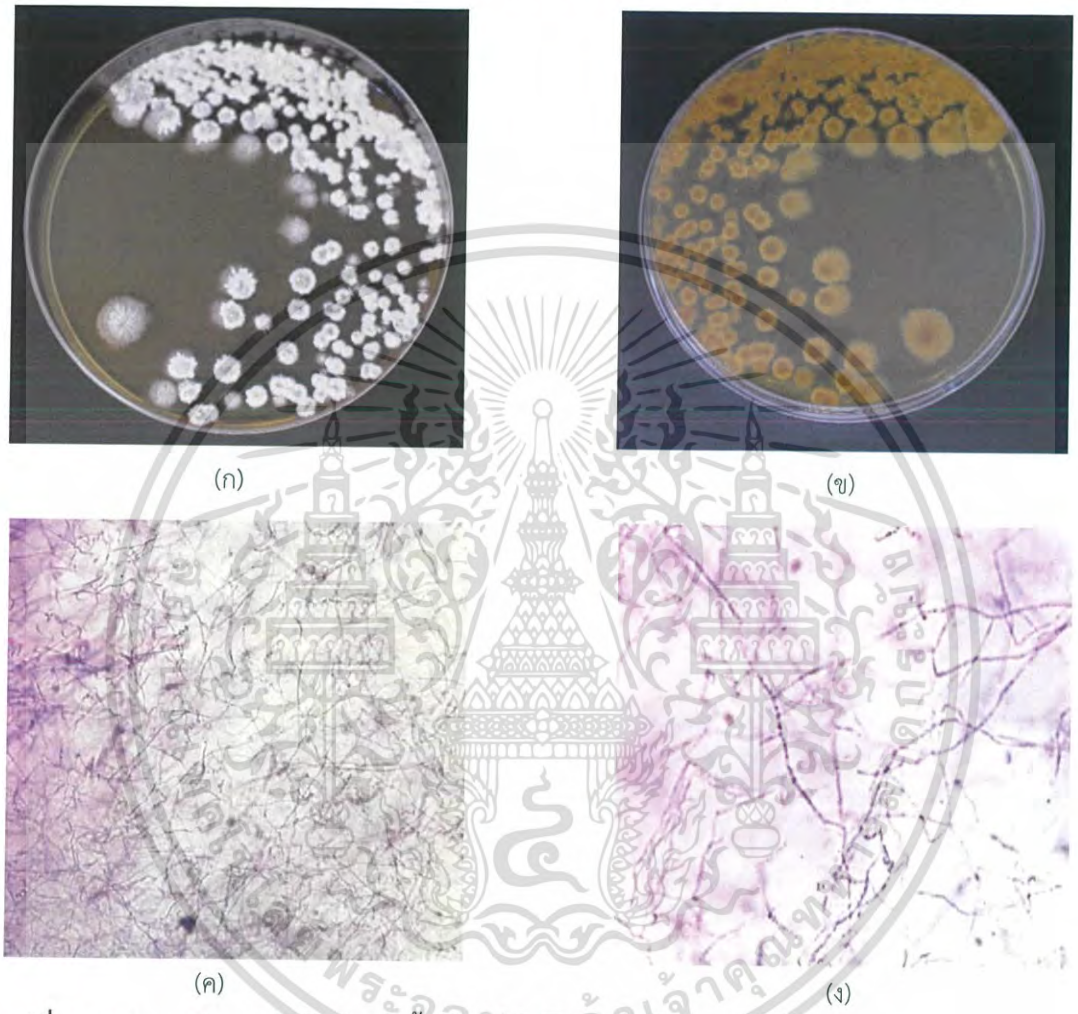
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.7 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK07031 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Strong brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี Yellowish white มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK07031 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

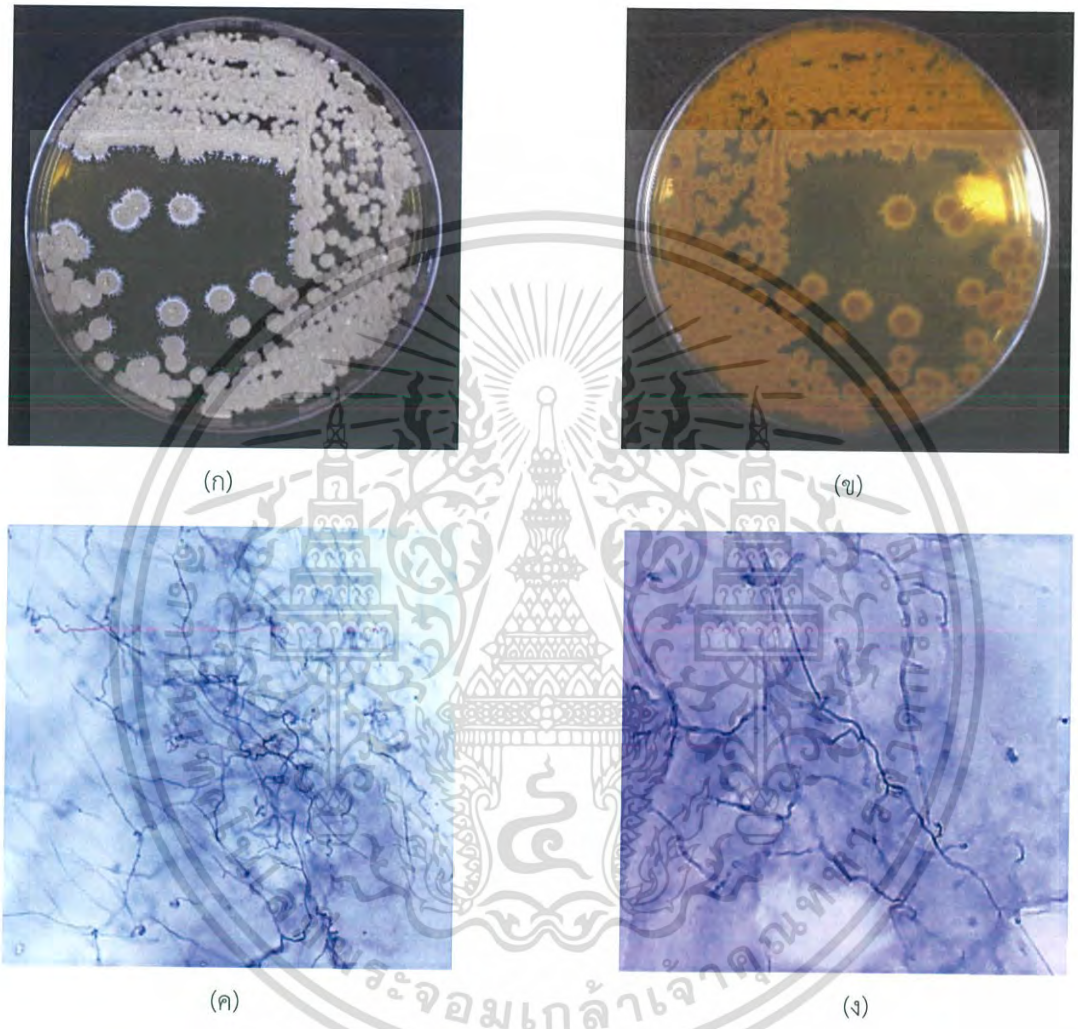
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.8 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK08042 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Strong brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Moderate orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี Light yellowish brown เส้นสายสปอร์มีลักษณะเป็นตะขอ หรือห่วงปลายเปิด (Retinaculiaperti)



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK08042 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

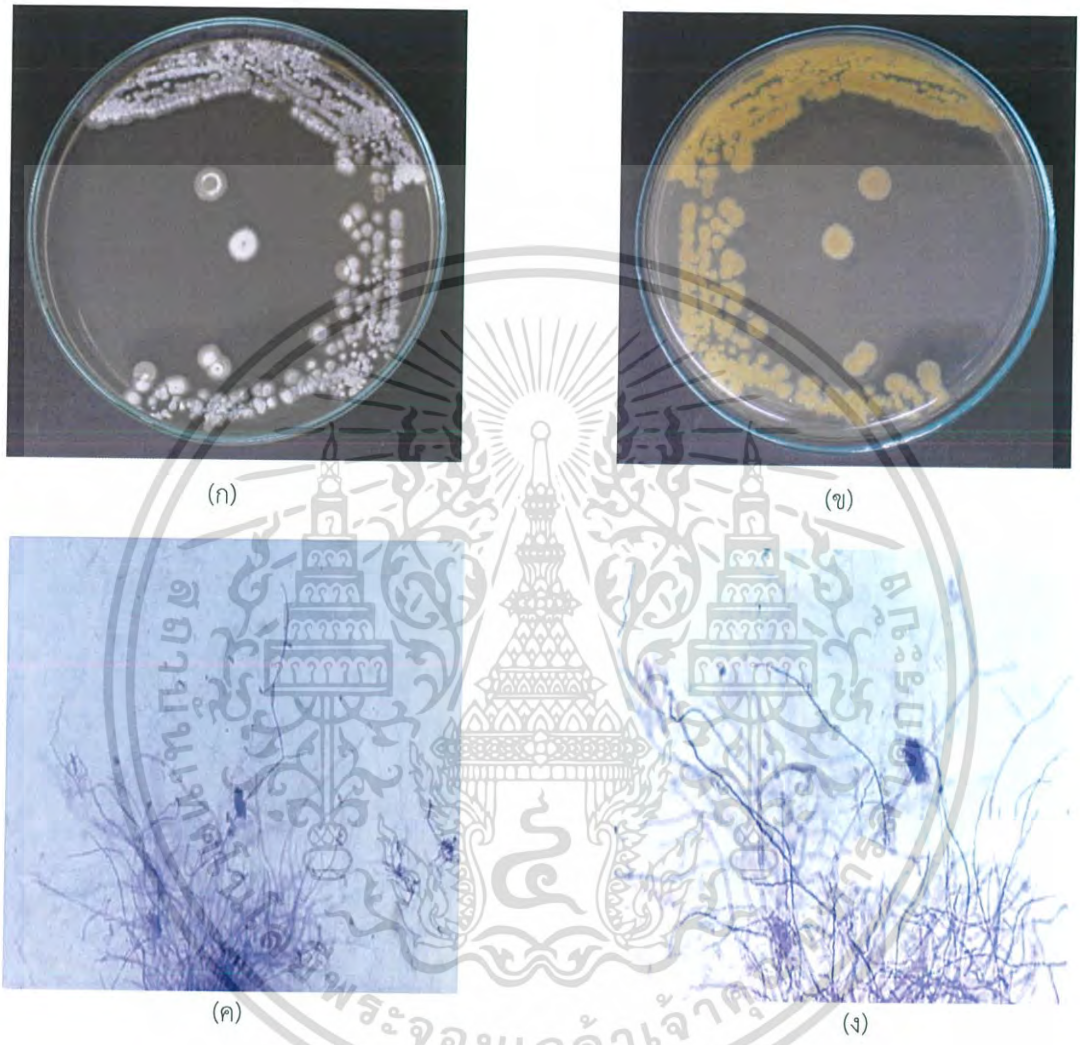
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.9 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK09042 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Strong yellow และมีการสร้างสปอร์สี Grayish green มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK09042 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

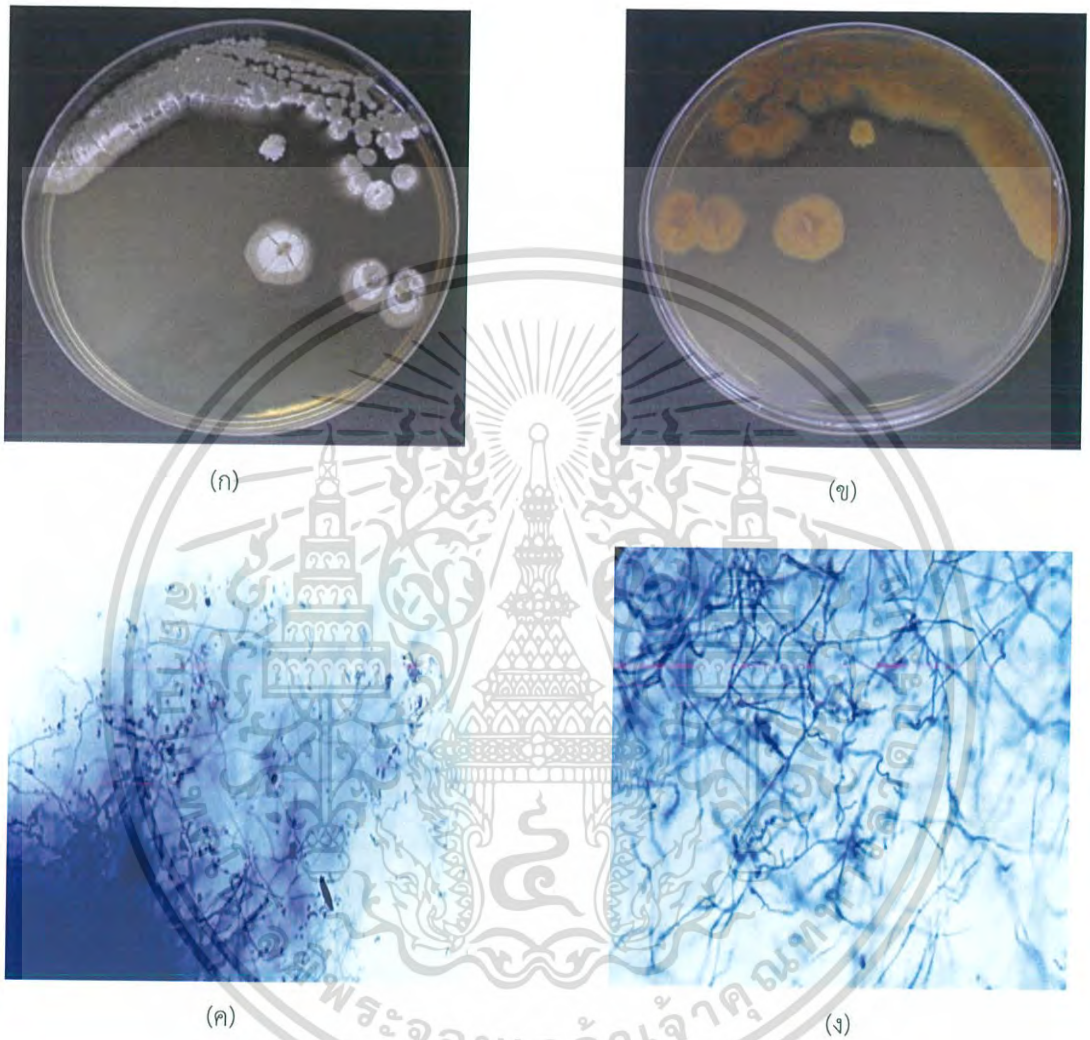
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.10 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK10051 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Grayish green สร้างเส้นใยอาหารสี Deep yellowish brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Dark orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี Medium gray เป็นสายตรง ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK10051 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

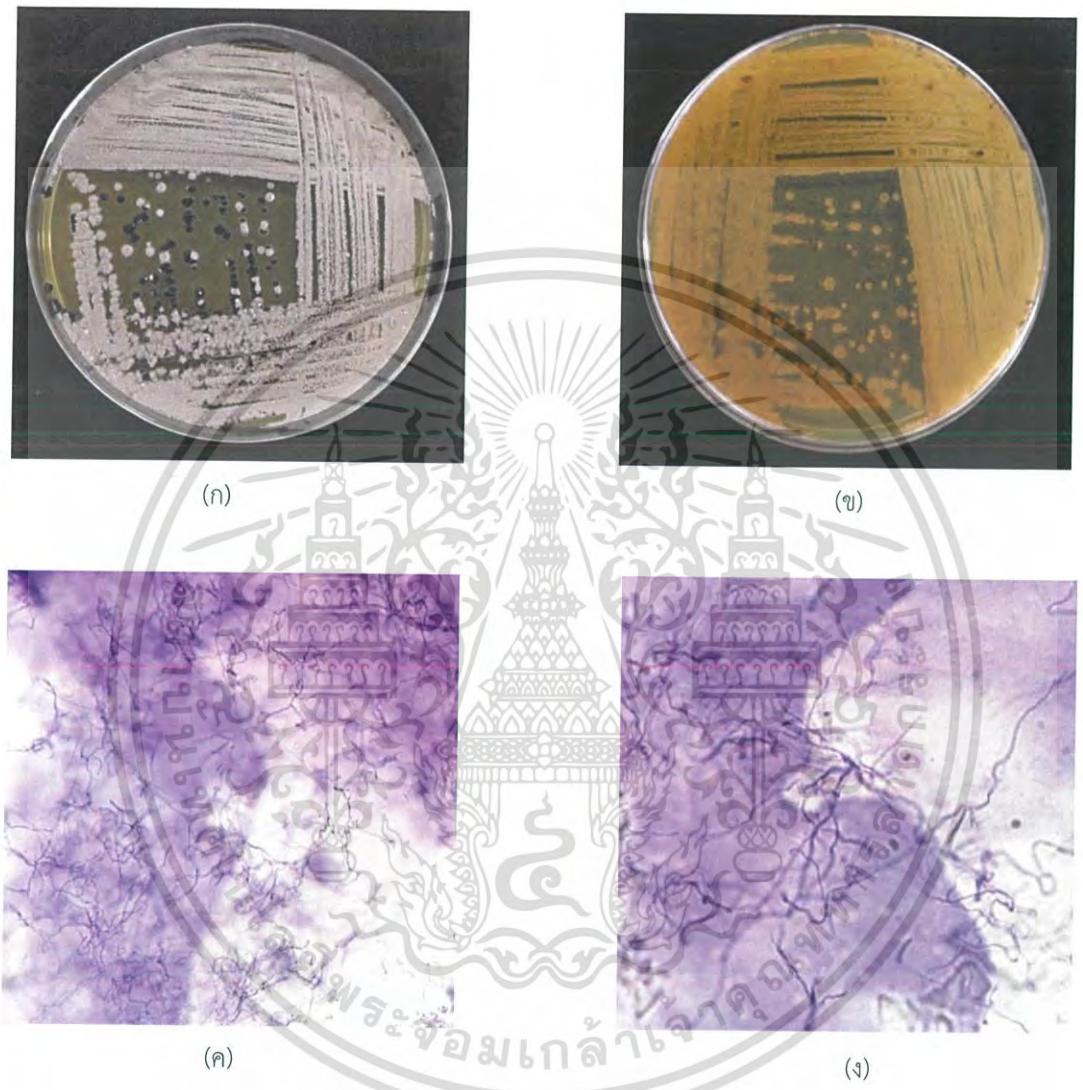
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.11 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK11051 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Blackish purple สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate olive สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Brilliant yellow และมีการสร้างสปอร์สี Purplish gray ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK11051 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

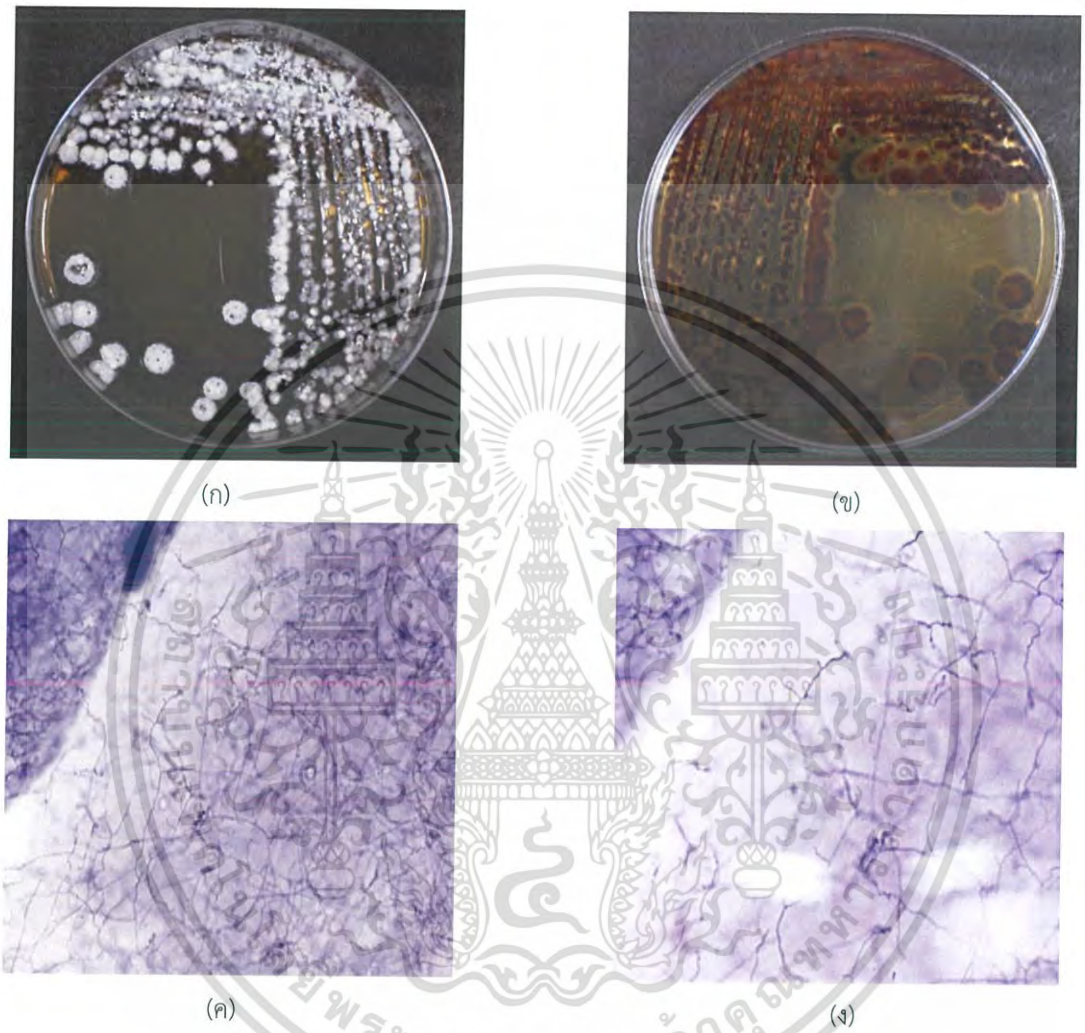
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.12 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK12061 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Very dark purplish red สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light olive brown และมีการสร้างสปอร์สี Purplish white มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK12061 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

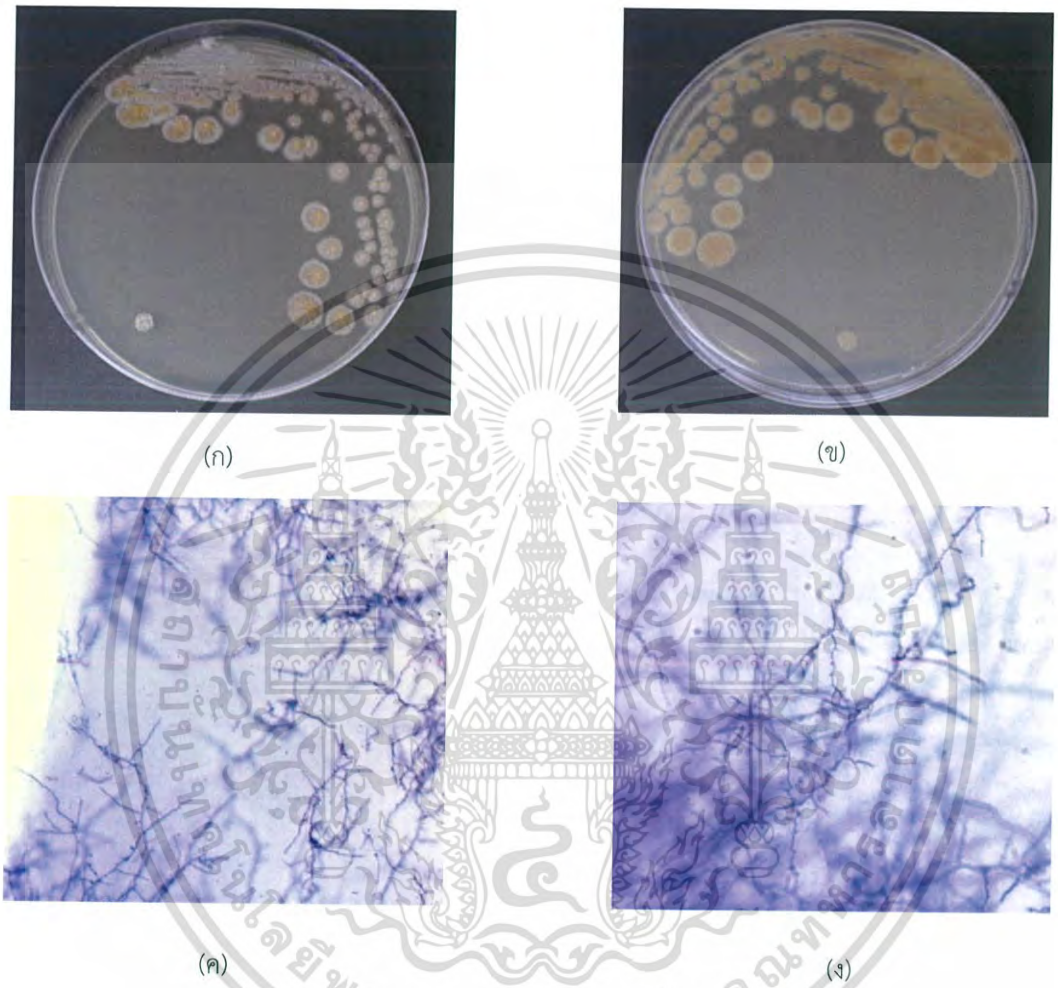
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.13 เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SMK13061 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Moderate orange yellow สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และไม่มีการสร้างสปอร์



รูปที่ 4.23 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK13061 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

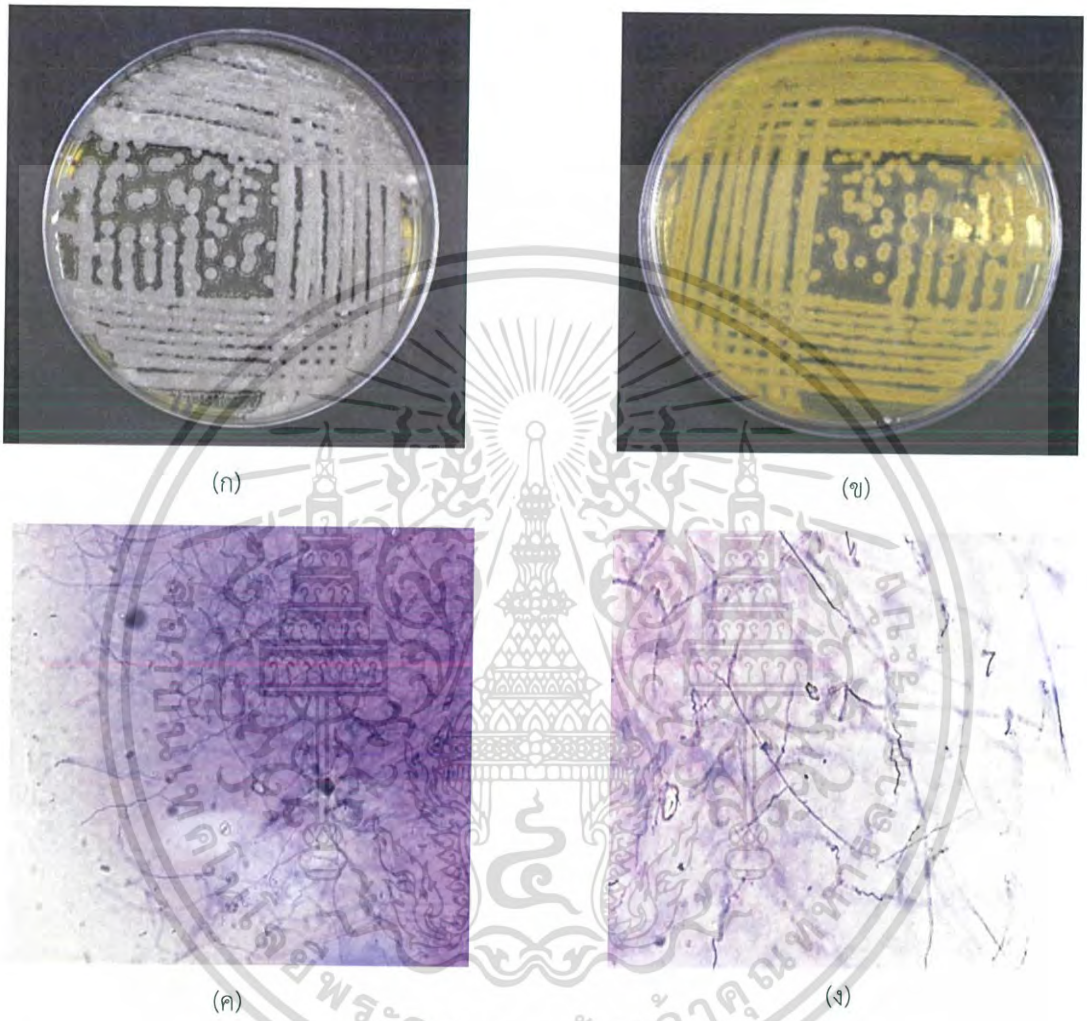
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.14 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK14061 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White Medium gray สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate olive ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และมีการสร้างสปอร์สี Medium gray ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.24 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK14061 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

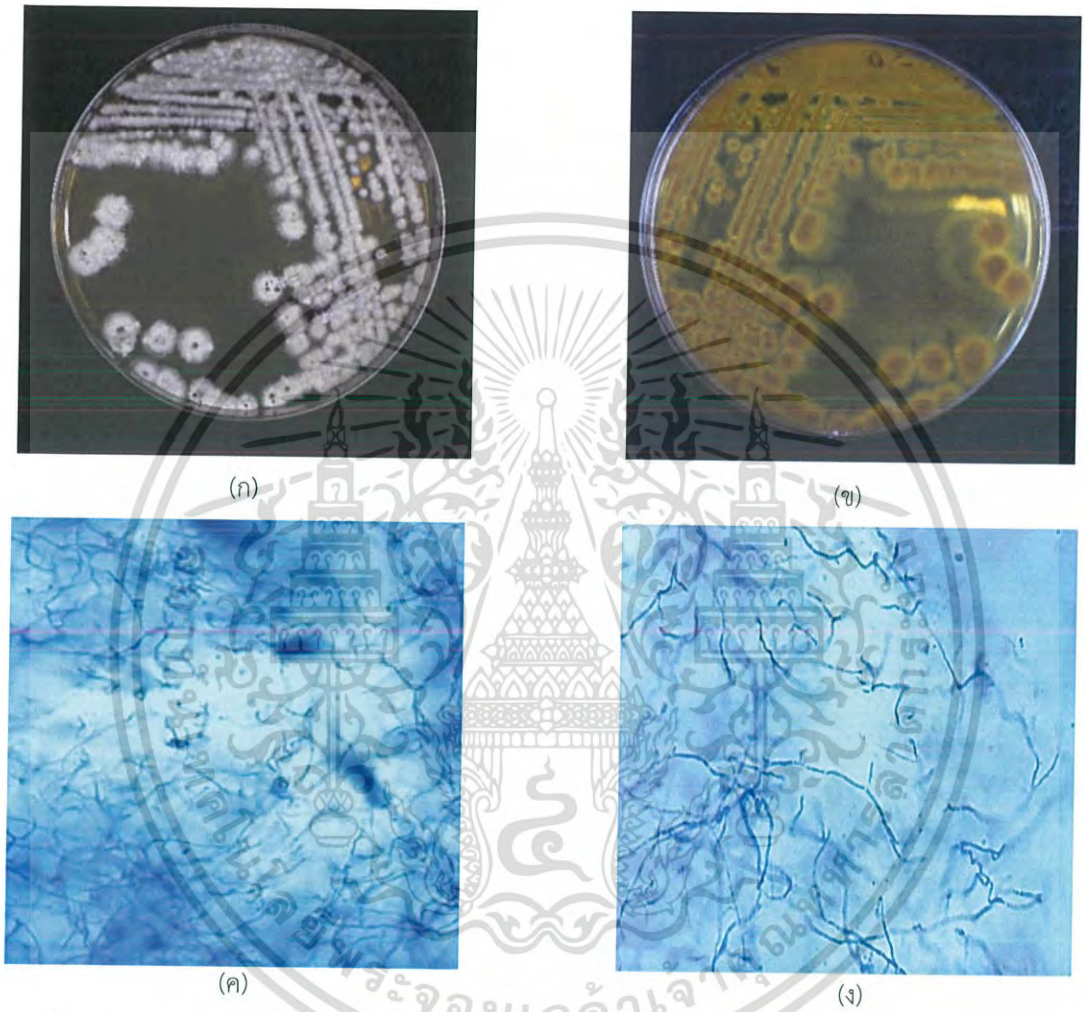
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.15 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK15072 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Deep yellowish brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Dark orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี Yellowish white มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.25 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK15072 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

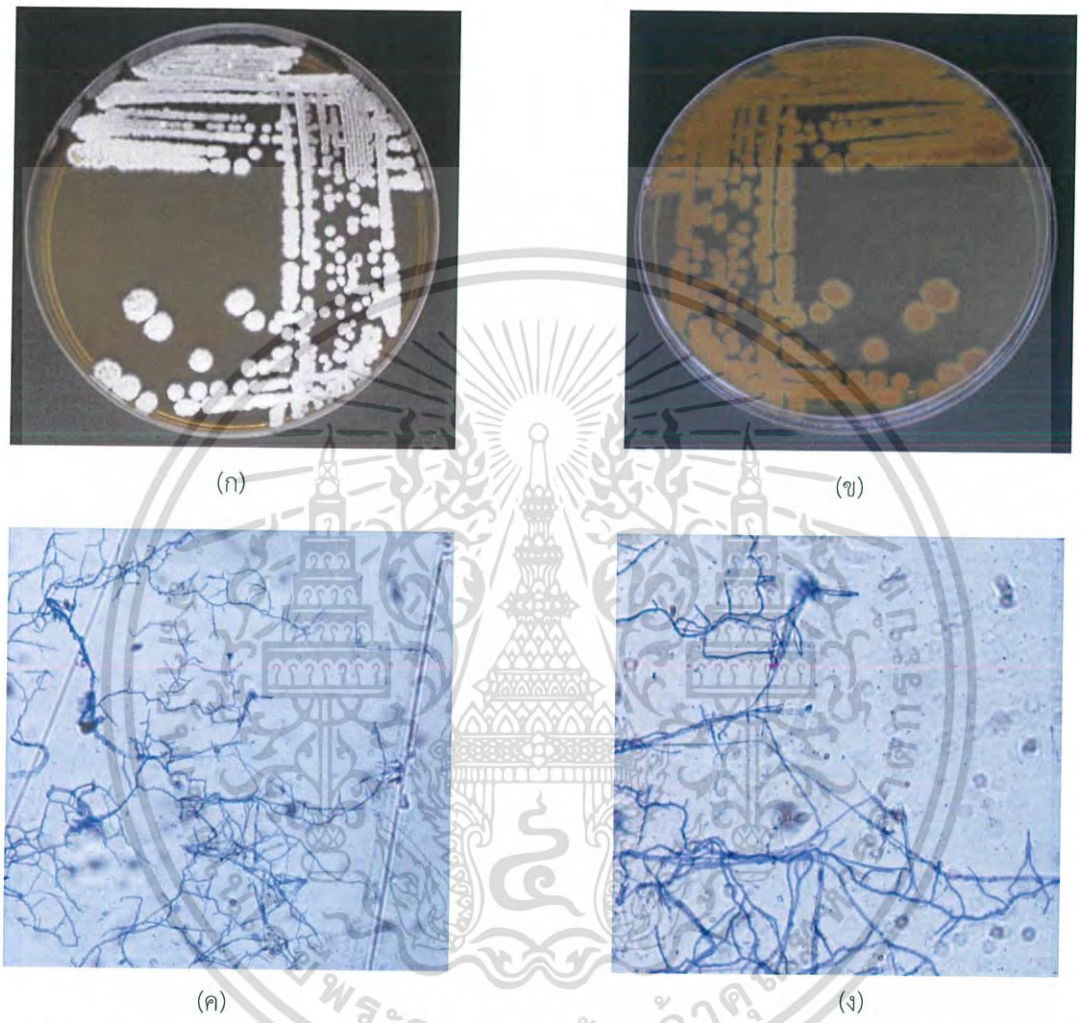
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.16 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK16072 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Deep orange สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Deep orange และมีการสร้างสปอร์สี White ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะเคเลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK16072 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

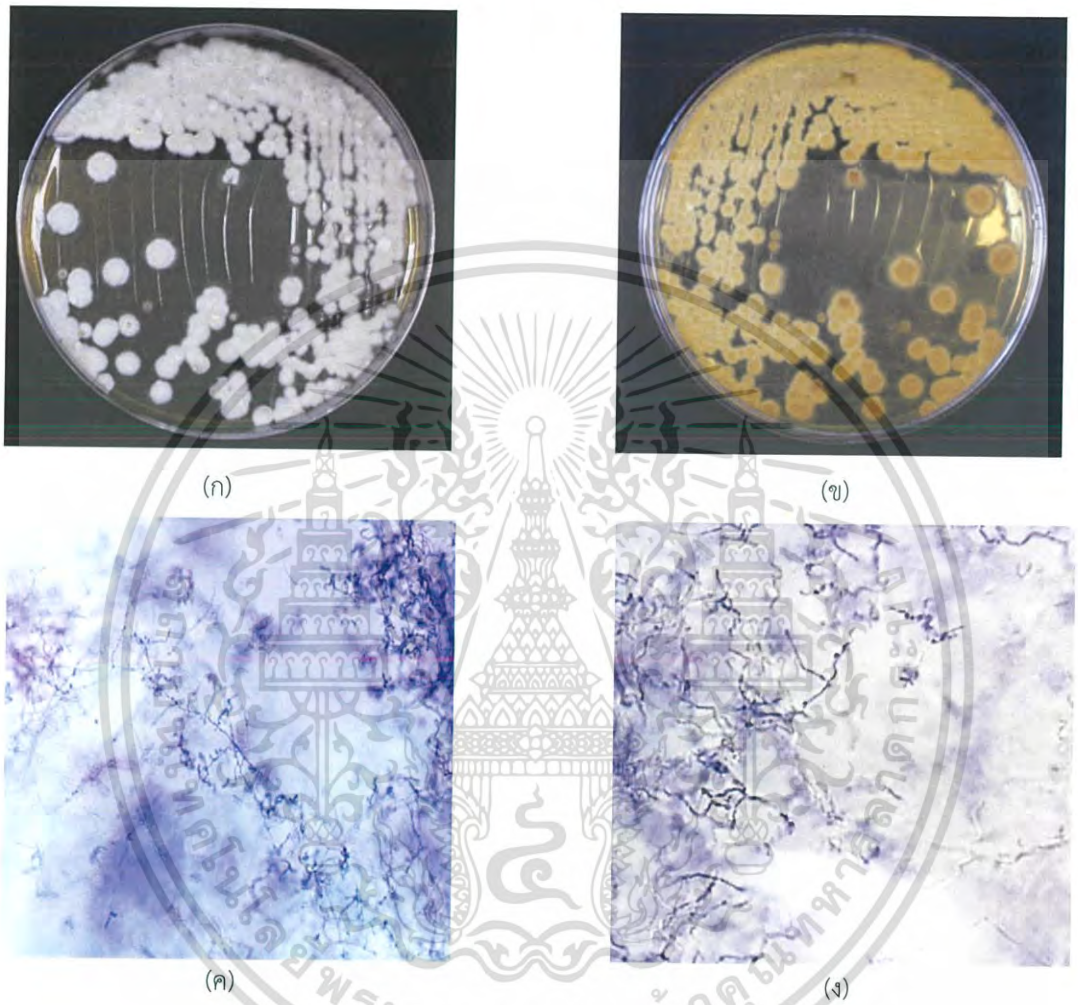
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.17 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK17081 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Light orange สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Dark orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี White มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.27 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK17081 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

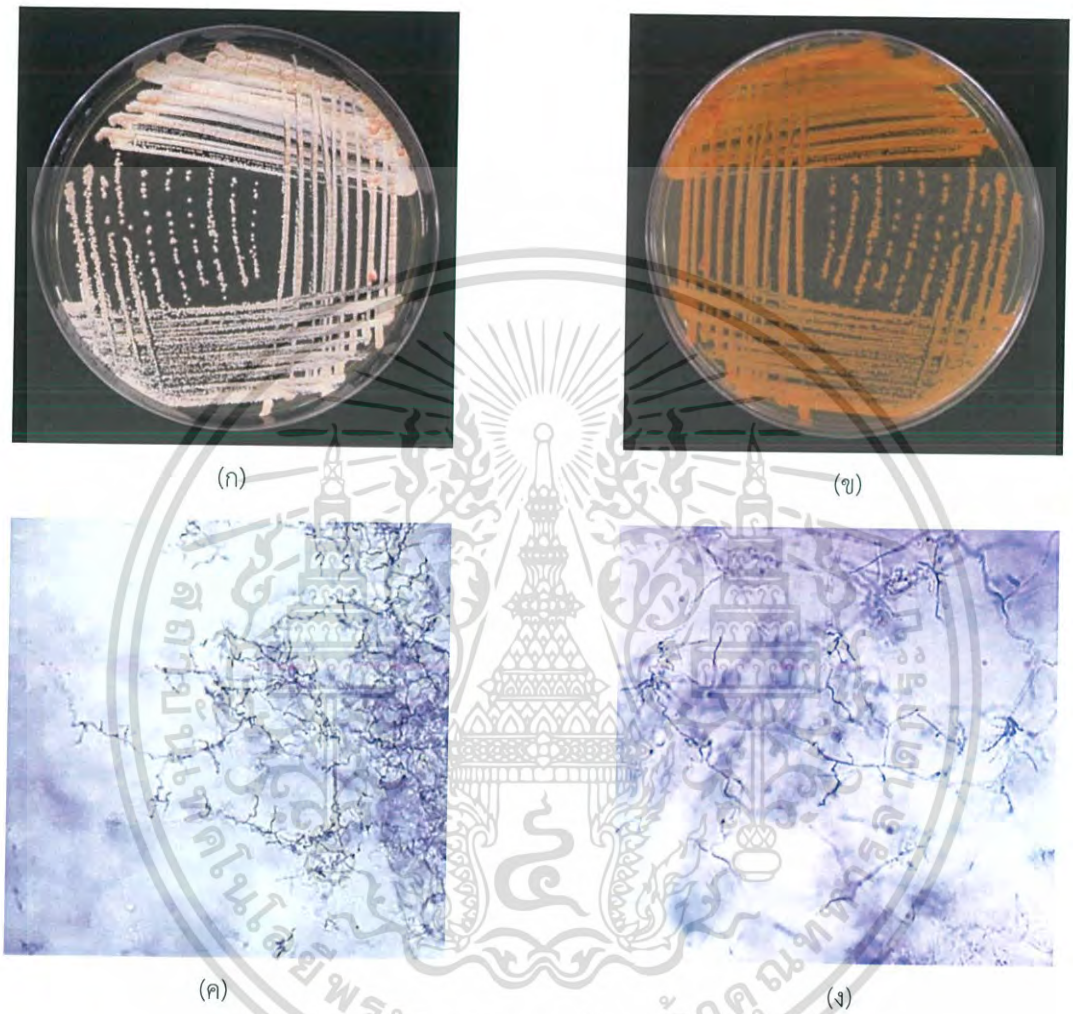
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.18 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK18091 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Light orange สร้างเส้นใยอาหารสี Strong orange ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และมีการสร้างสปอร์สี Light orange ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.28 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK18091 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

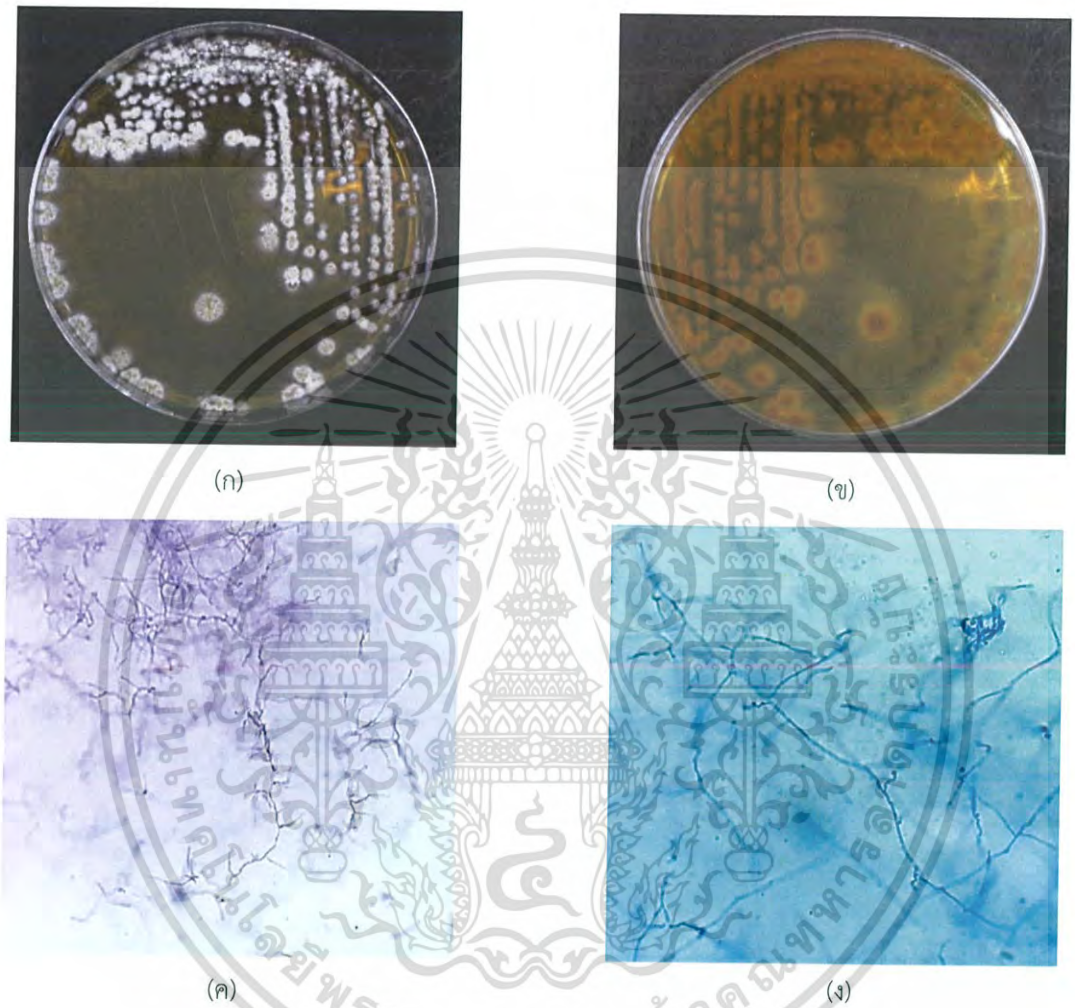
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.19 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK19101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Strong brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี White ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.29 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK19101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

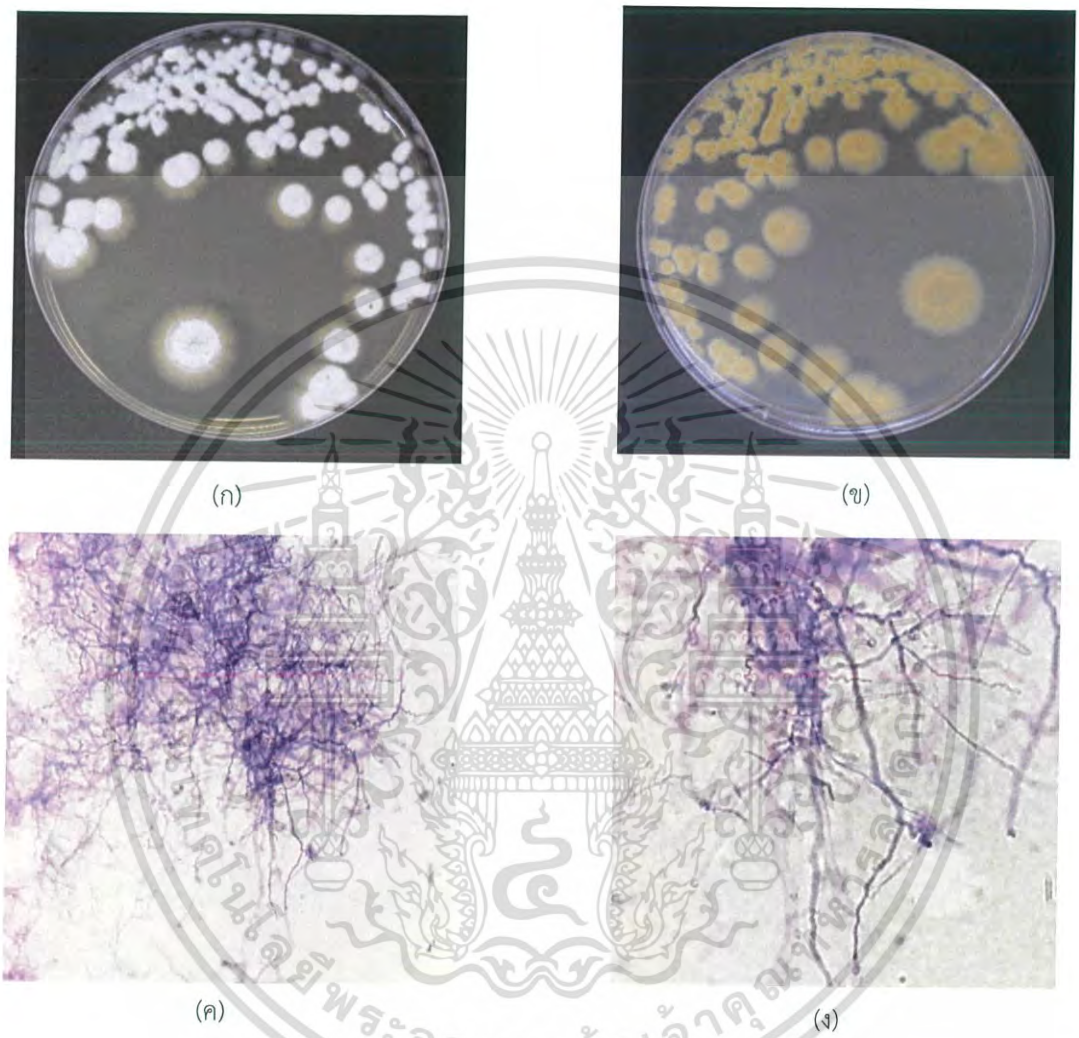
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.20 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK20101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศ White สร้างเส้นใยอาหารสี Strong brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี Yellowish white ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.30 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK20101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

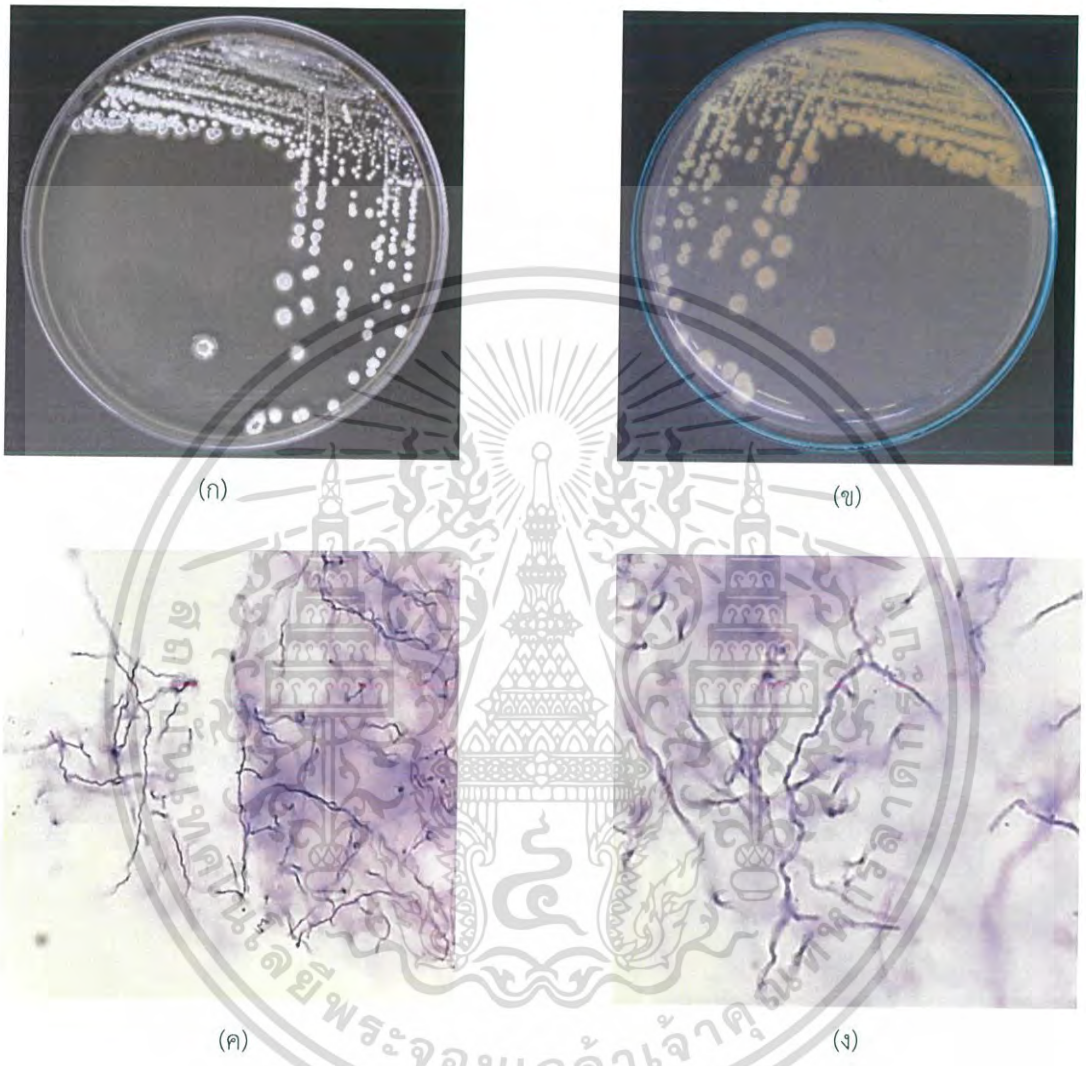
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.21 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK21111 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish white สร้างเส้นใยอาหารสี Light orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี Grayish olive green ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.31 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK21111 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

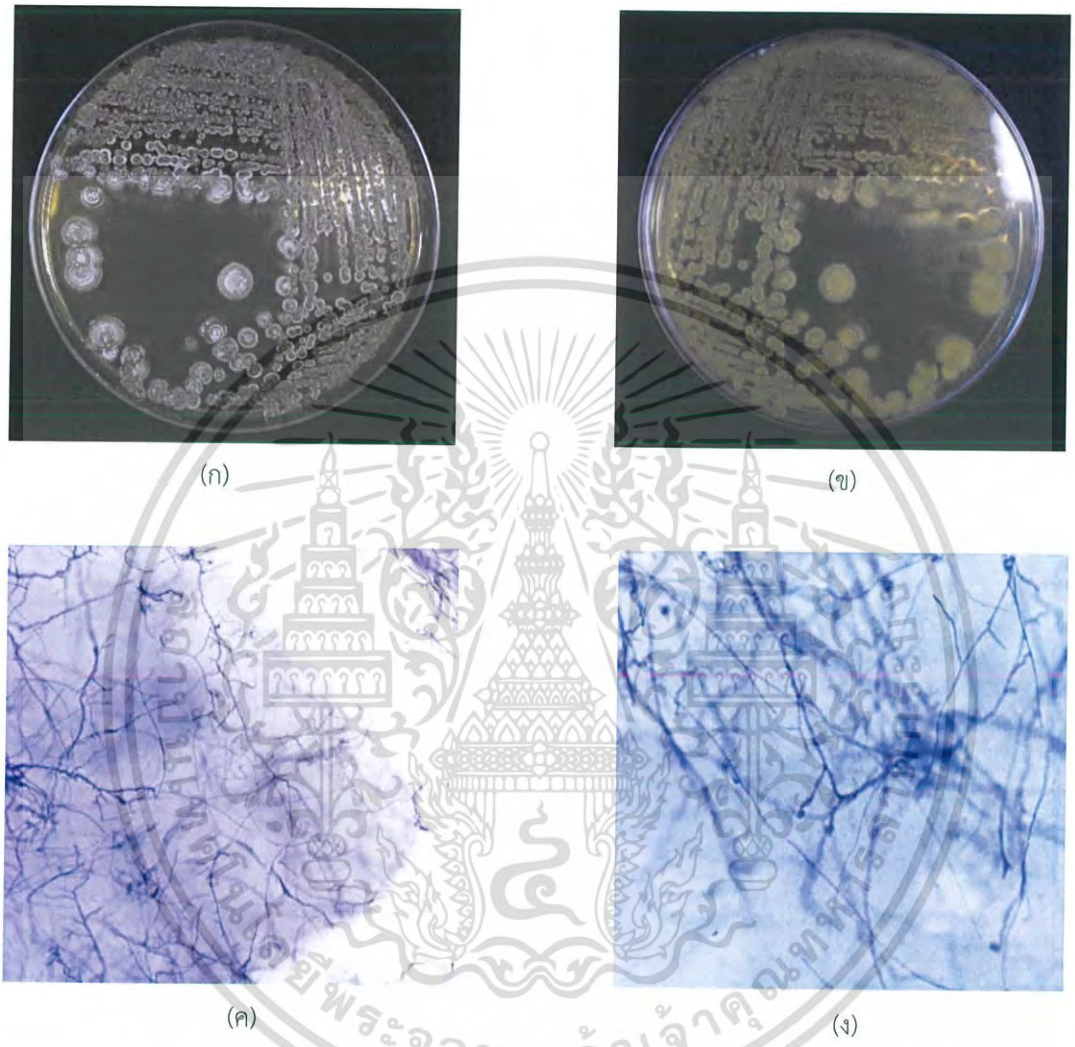
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.22 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK22121 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellow สร้างเส้นใยอาหารสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และมีการสร้างสปอร์สี White ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.32 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK22121 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

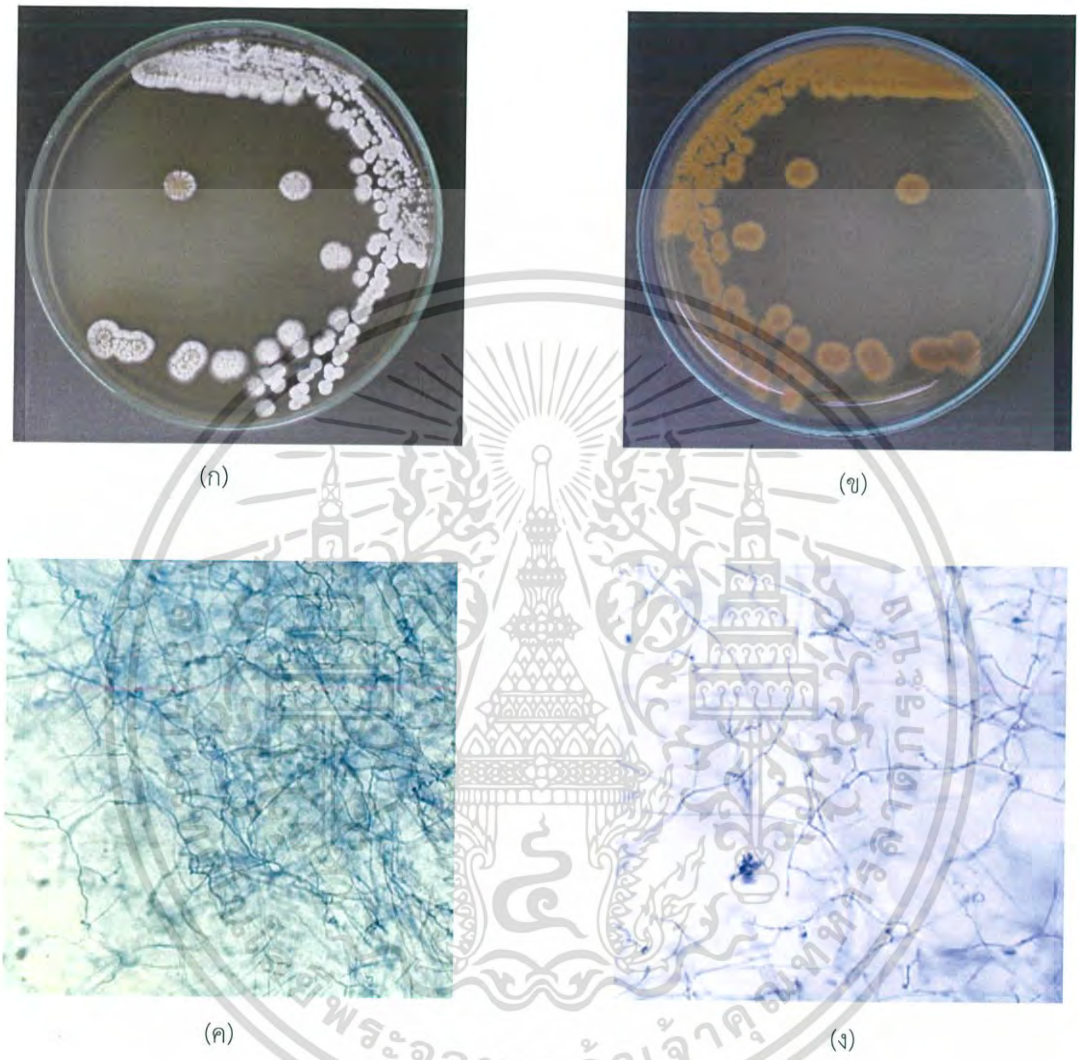
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.23 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK23131 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Brownish orange สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Moderate orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี White มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.33 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK23131 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

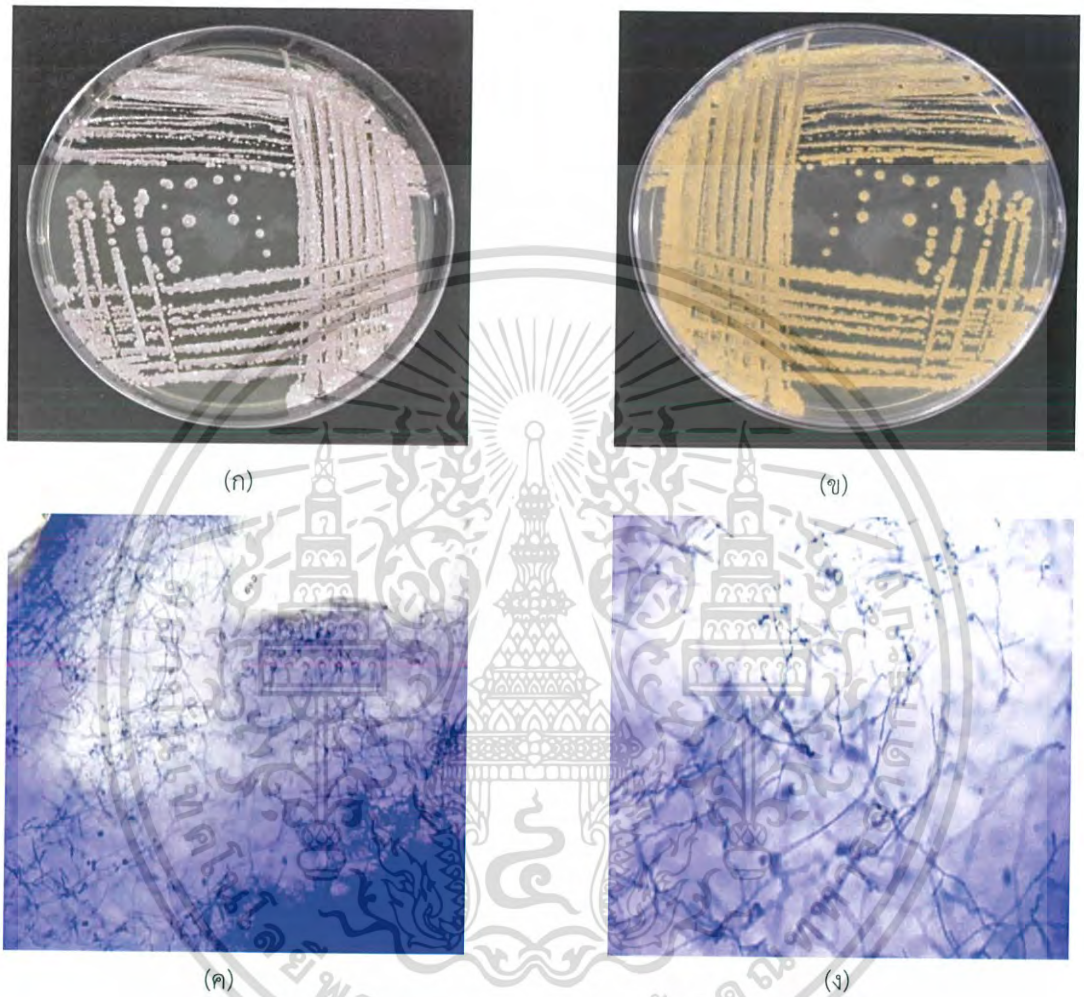
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.24 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK24131 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และมีการสร้างสปอร์สี Light gray มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.34 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK24131 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

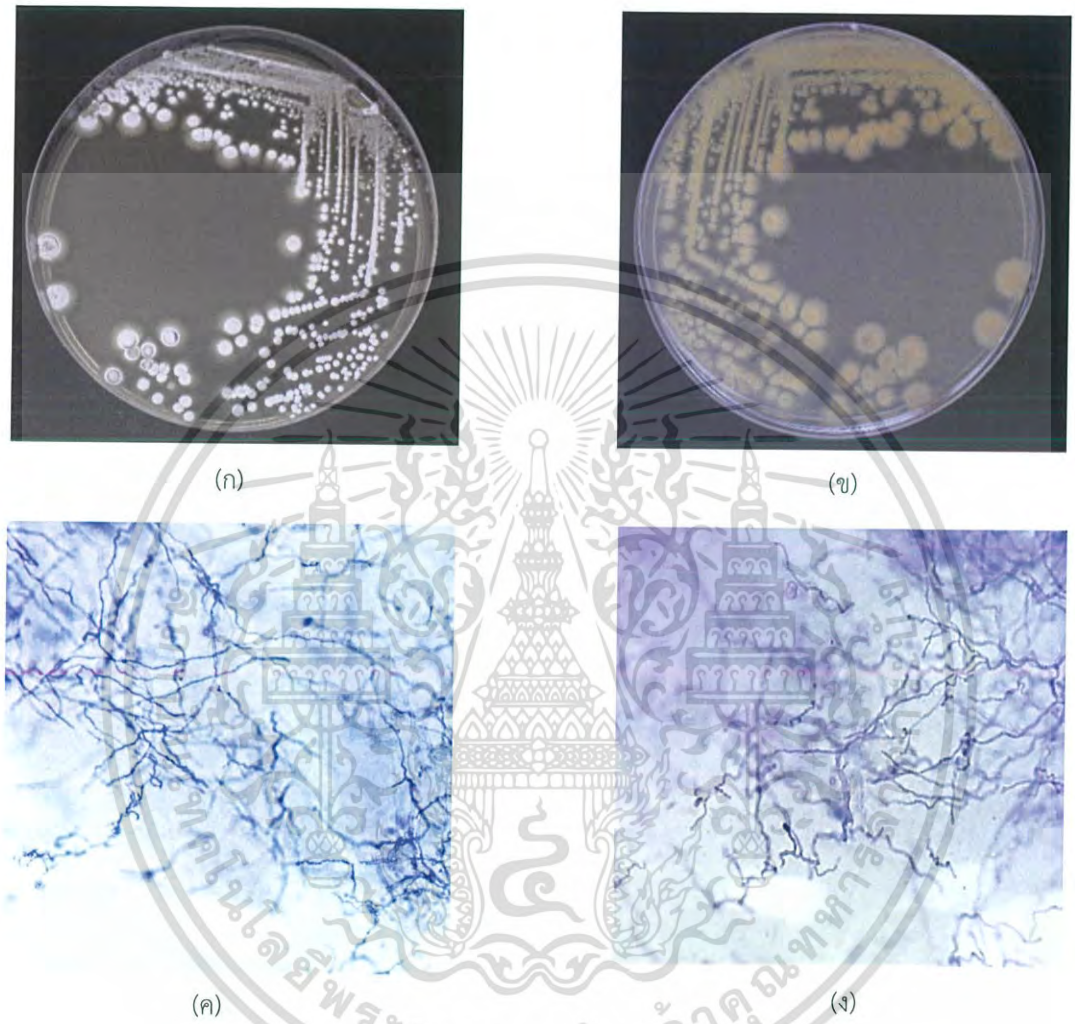
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.25 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK25132 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และมีการสร้างสปอร์สี White มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.35 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK25132 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

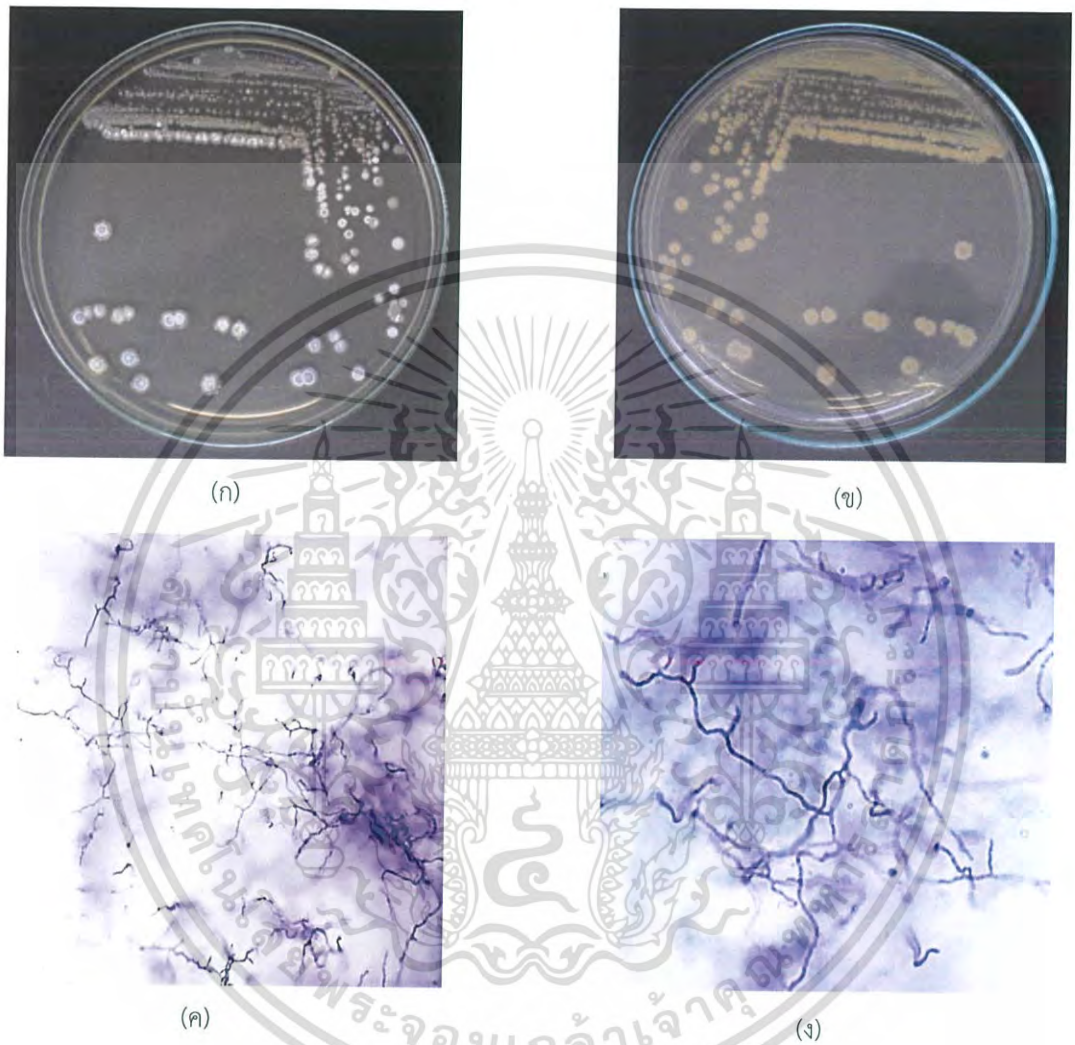
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.26 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK26151 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate olive ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำและมีการสร้างสปอร์สี Grayish olive green ลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.36 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK26151 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

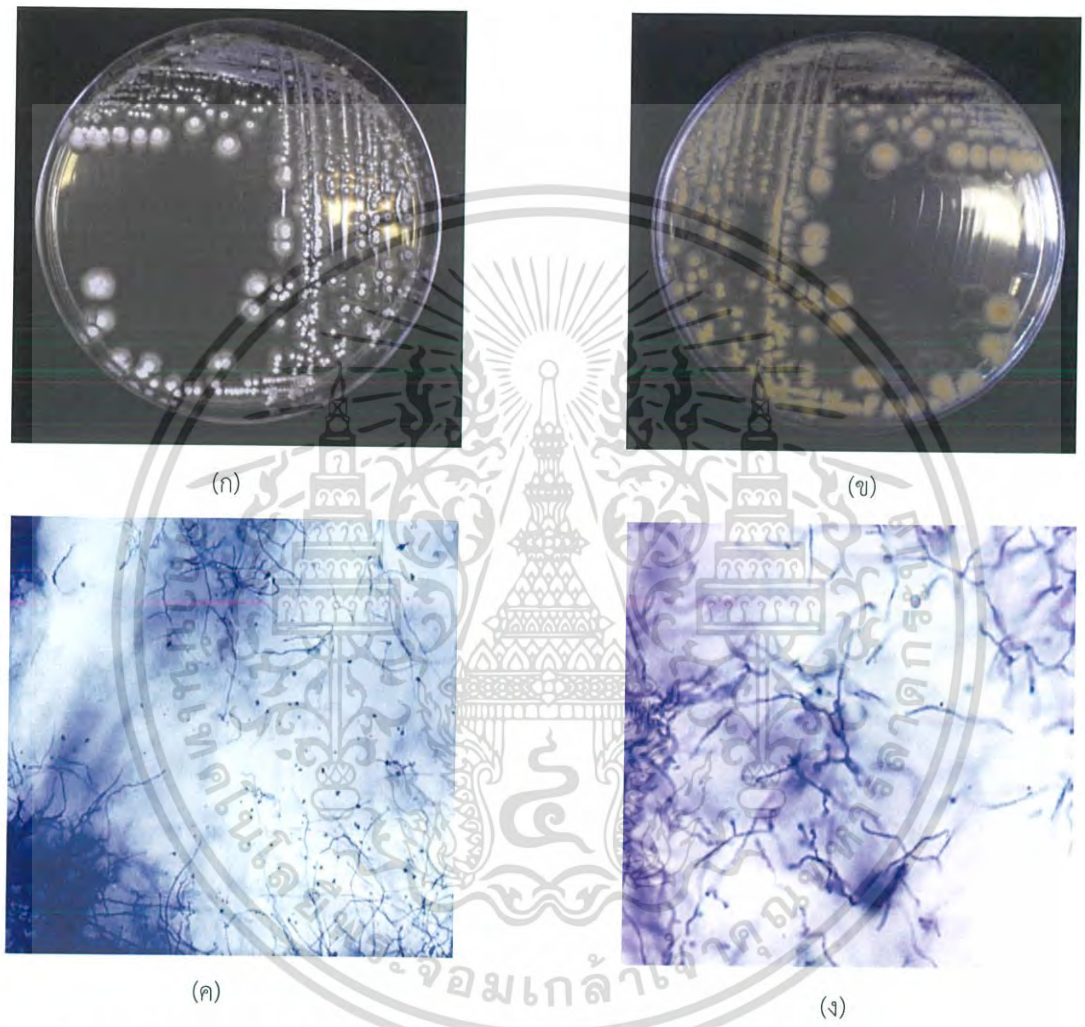
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.27 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK27151 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และมีการสร้างสปอร์สี White มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.37 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK27151 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

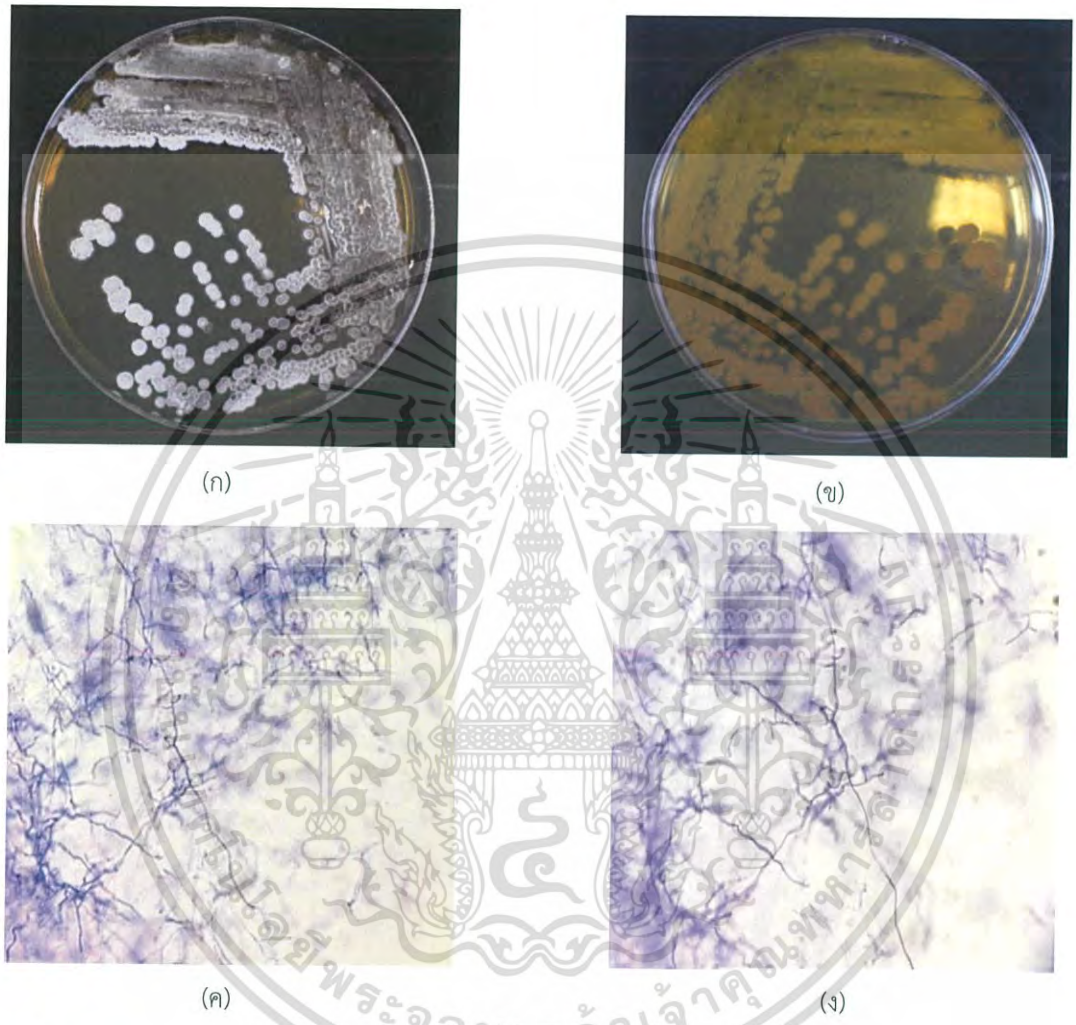
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.28 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK28161 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light yellowish brown และมีการสร้างสปอร์สี White ลักษณะของสปอร์คล้ายรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์



รูปที่ 4.38 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK28161 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

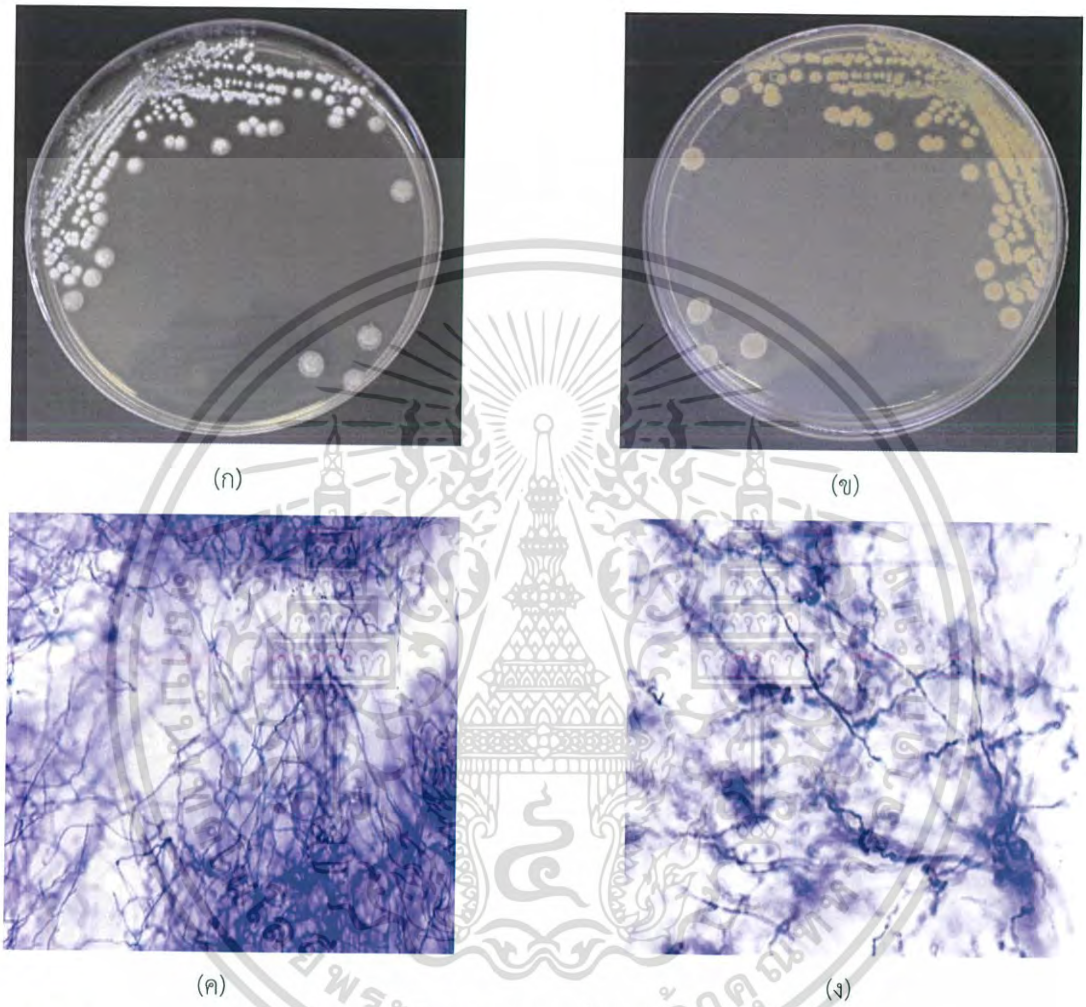
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.29 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK29171 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และมีการสร้างสปอร์สี White มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการ โค้งงอ (Rectiflexibiles)



(ก) (ข)

(ค) (ง)

รูปที่ 4.39 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK29171 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

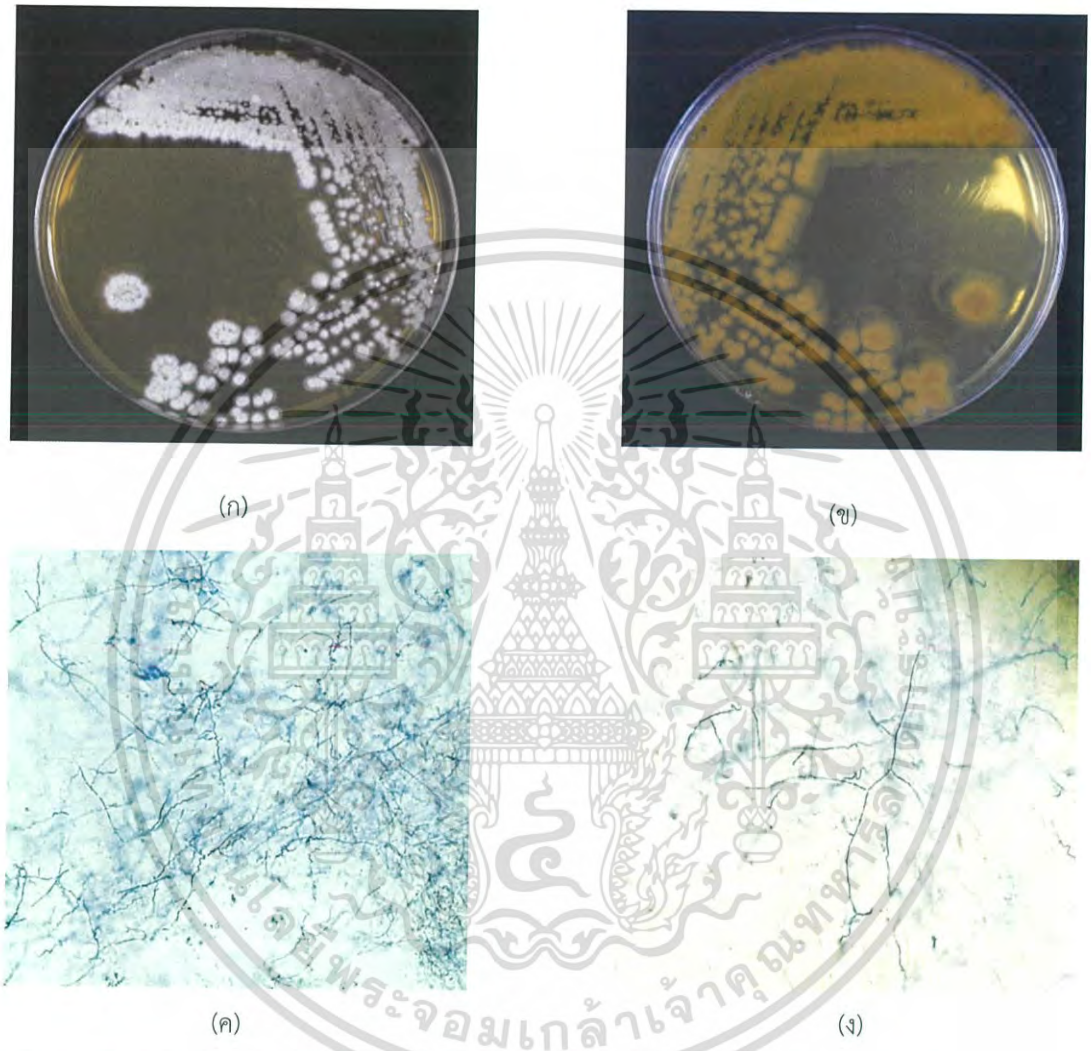
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.30 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK30201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Deep orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Brownish orange และมีการสร้างสปอร์สี White มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.40 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK30201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

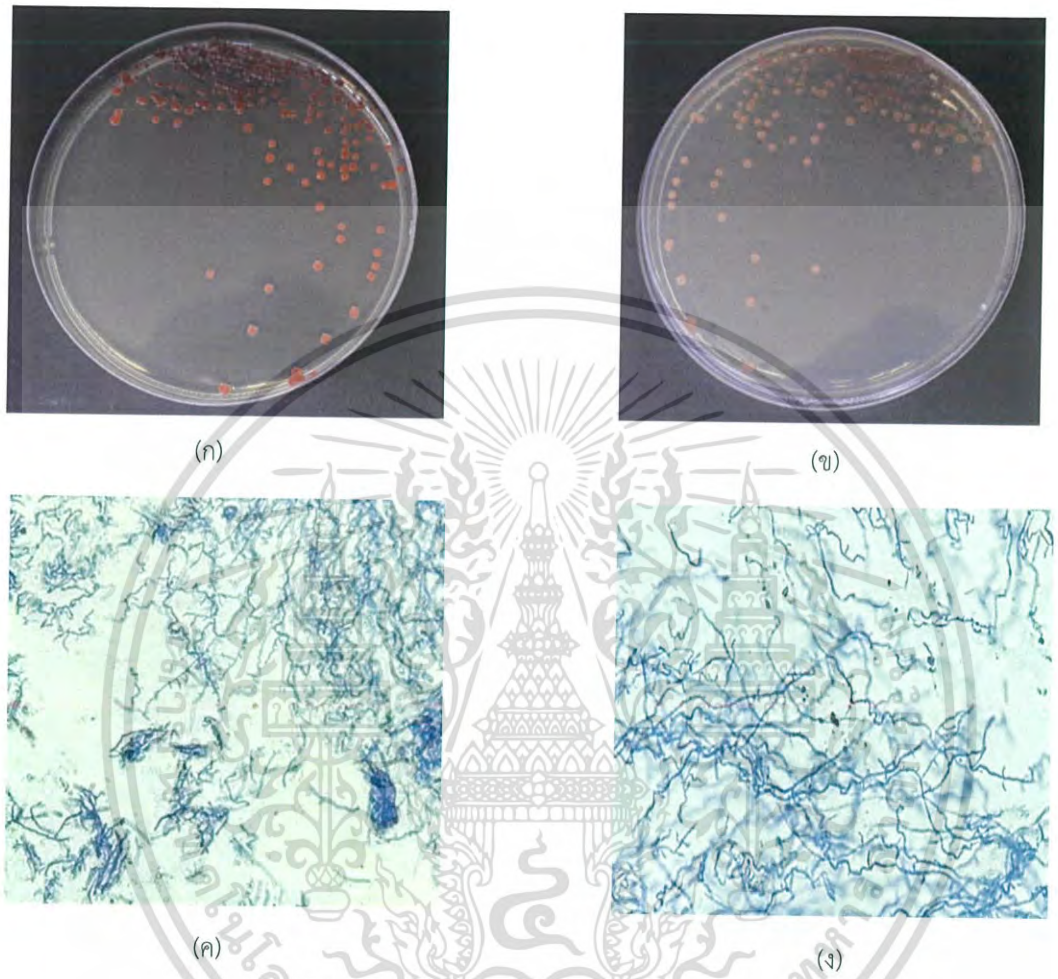
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.31 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK31031 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Dark red สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และไม่มีการสร้างสปอร์



รูปที่ 4.41 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK31031 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

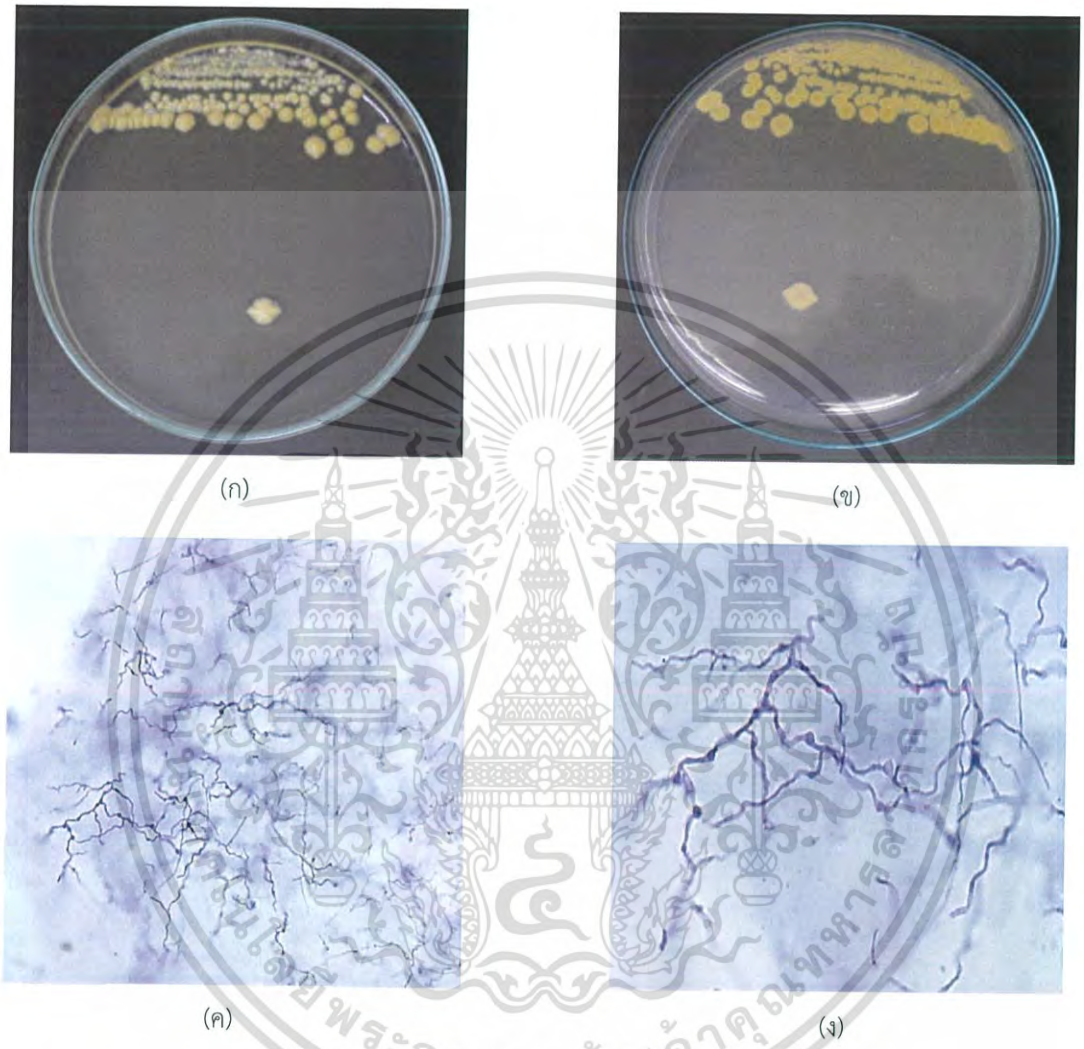
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.32 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK32042 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Pale yellow สร้างเส้นใยอาหารสี Brilliant yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และไม่มีการสร้างสปอร์



รูปที่ 4.42 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK32042 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

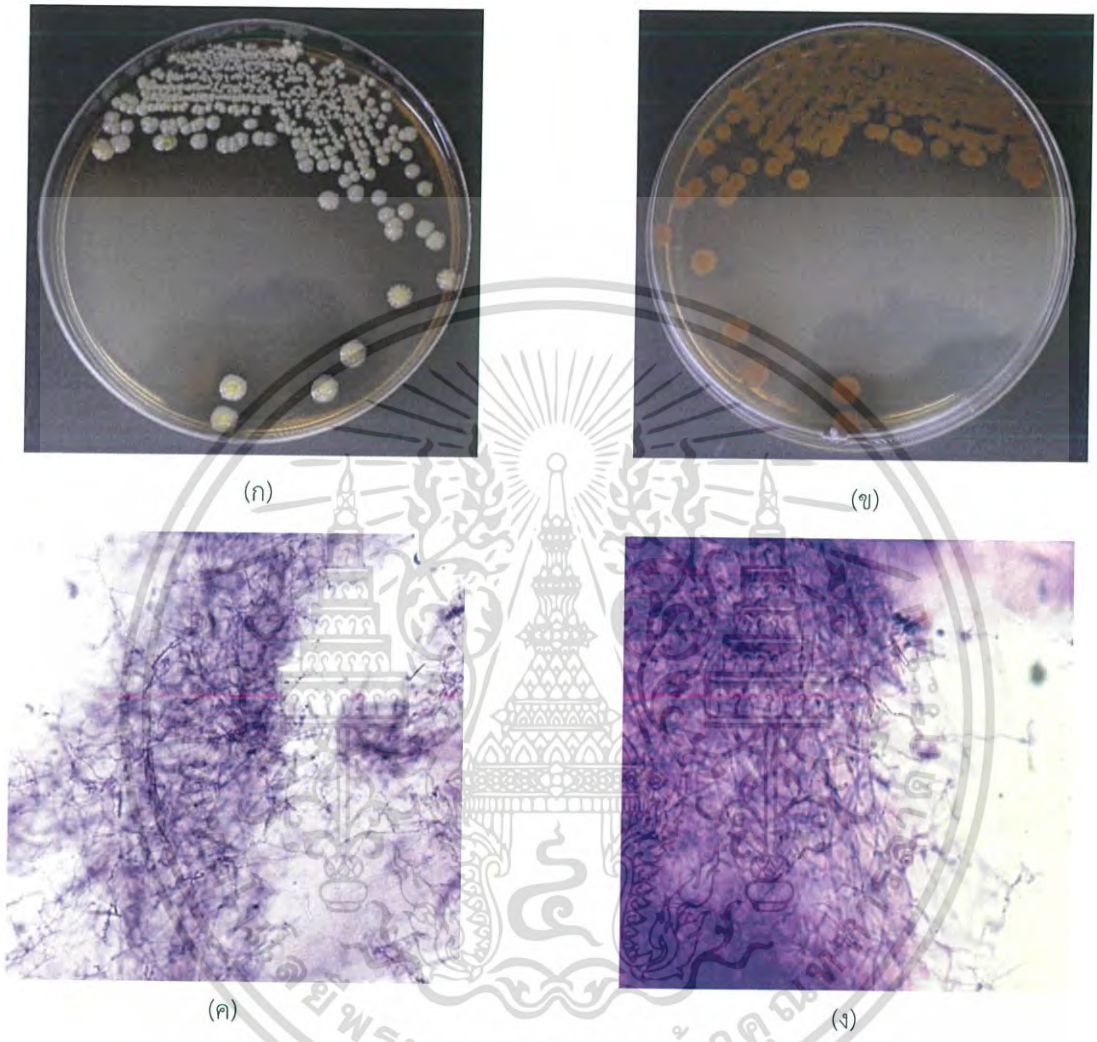
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.33 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK33131 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Dark yellow สร้างเส้นใยอาหารสี Brownish orange สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light olive brown และไม่มีการสร้างสปอร์



รูปที่ 4.43 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK33131 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

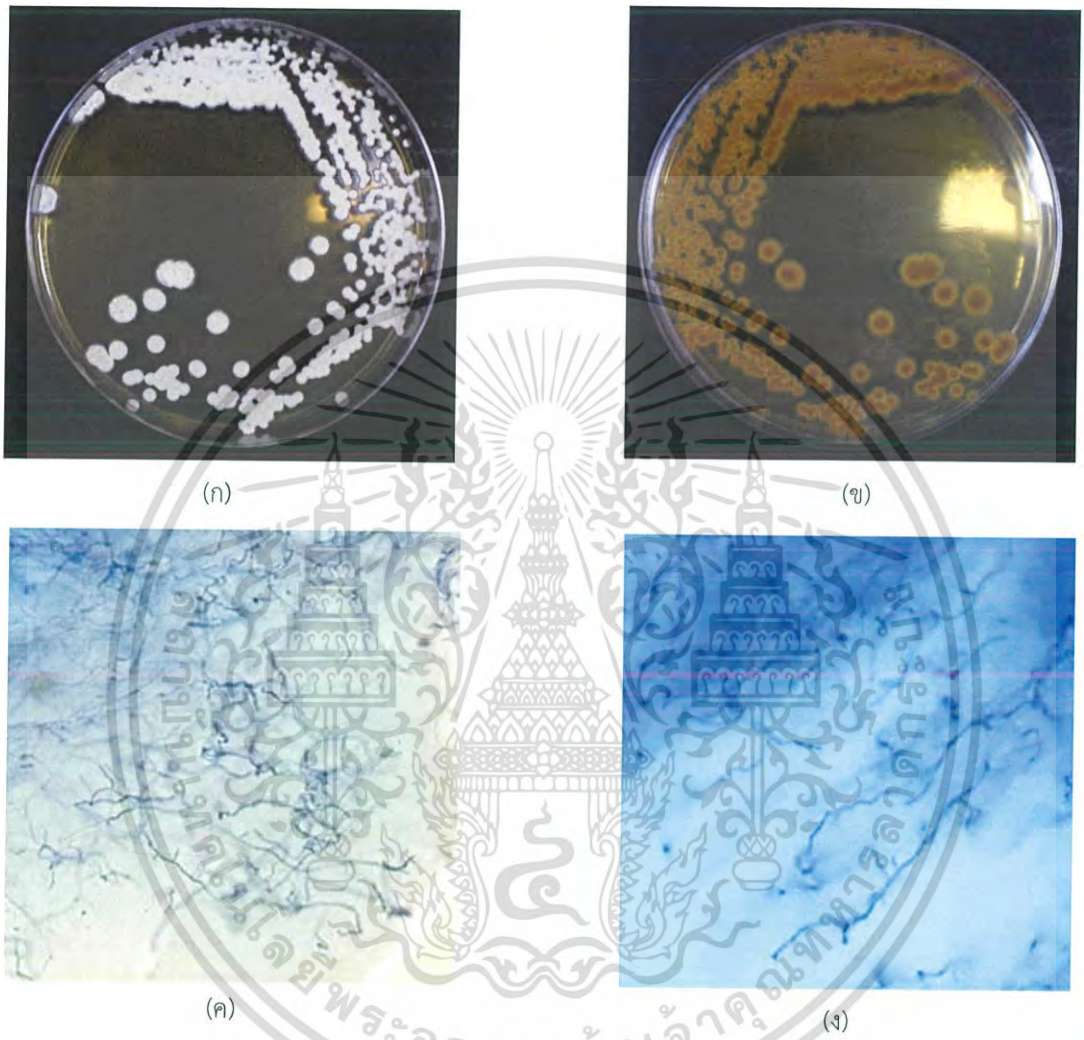
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.34 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK34131 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Strong brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Moderate Orange yellow และมีการสร้างสปอร์สี Yellowish white มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรงและมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.44 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK34131 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

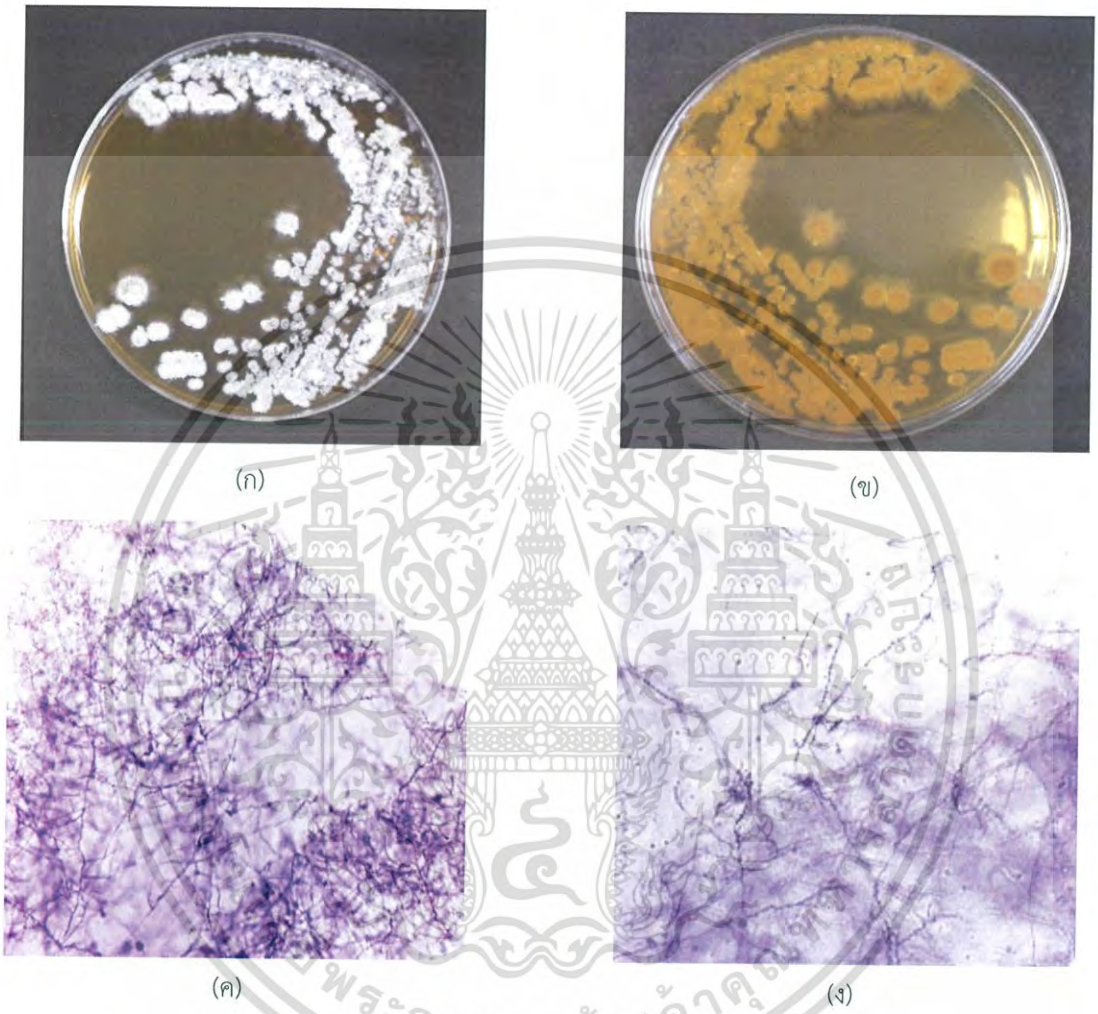
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1.35 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK35071 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Moderate orange yellow และมีการสร้างสี White มีลักษณะของสปอร์เป็นแบบตรง และมีการโค้งงอ (Rectiflexibiles)



รูปที่ 4.45 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK35071 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

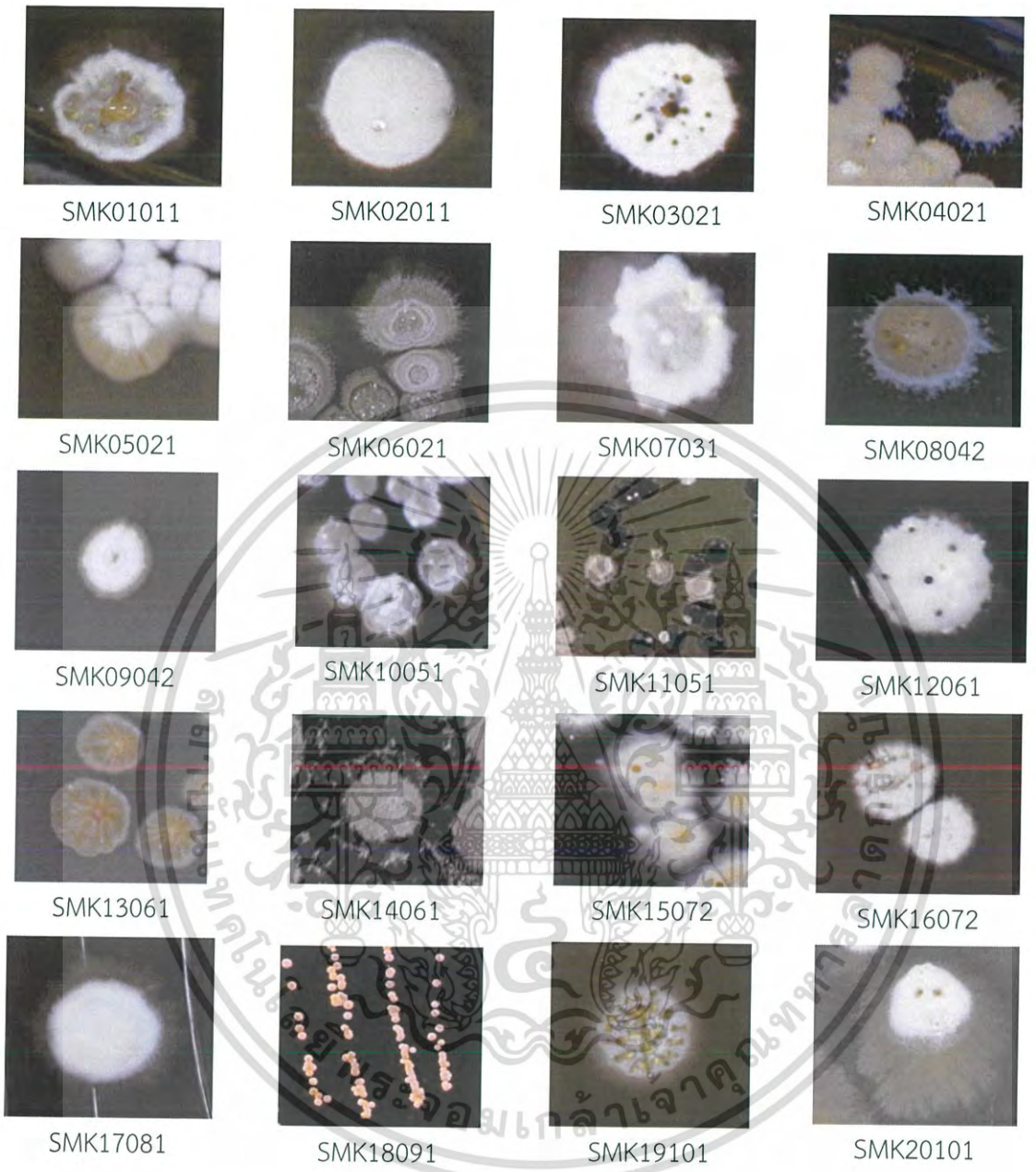
(ข) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 400 เท่า

(ง) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

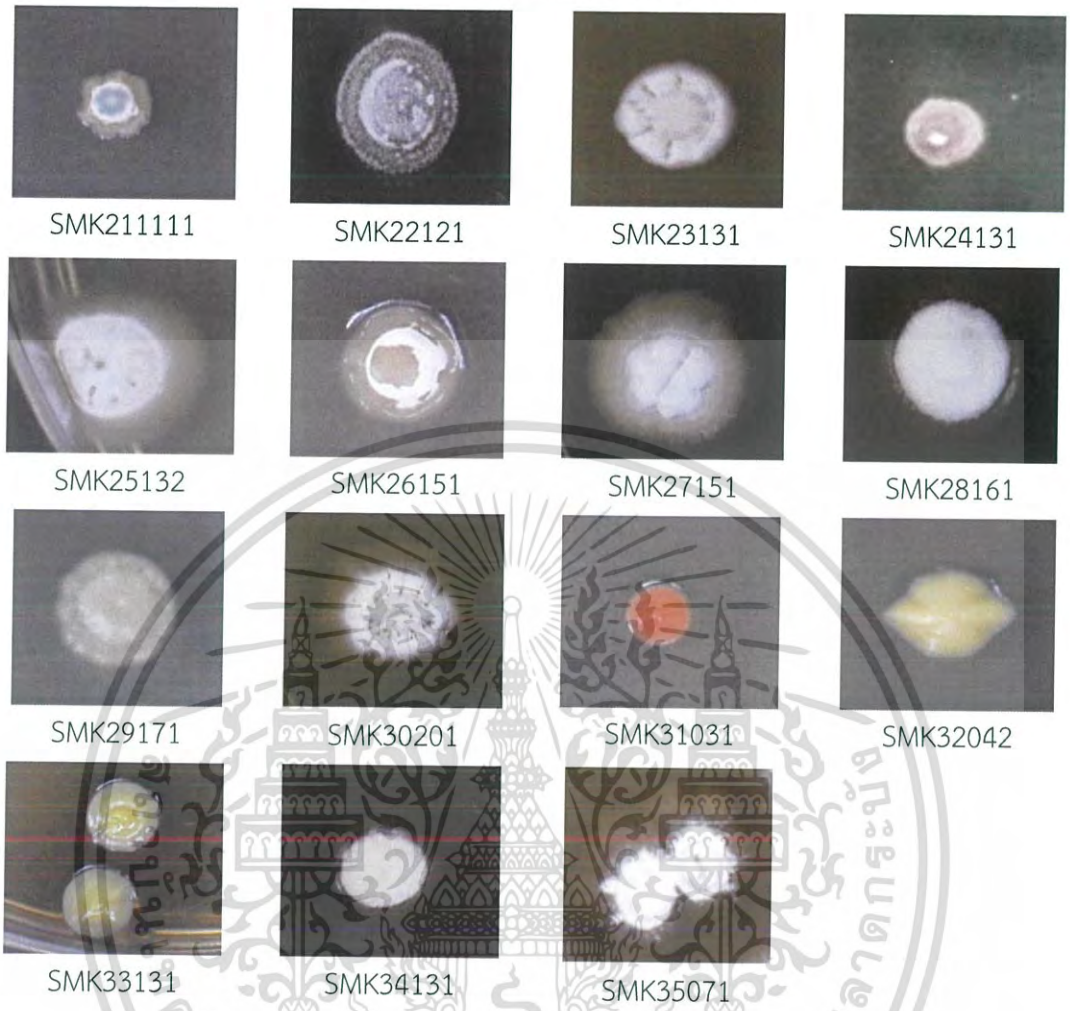
4.3.2 โคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีท 35 ไอโซเลทที่คัดแยกได้



รูปที่ 4.46 แสดงลักษณะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลทลำดับที่ 1-20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 โคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีท 35 ไอโซเลทที่คัดแยกได้(ต่อ)



รูปที่ 4.47 แสดงลักษณะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแอคติโนมัยสีททั้งไอโซเลทลำดับที่ 21-35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติมัยซีทจำนวน 35 ไอโซเลทด้วยระบบสีมาตรฐาน The ISCC-NBS Color system

หมายเลขไอโซเลท	สีเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้ผิวหน้าอาหาร	สีรงควัตถุ
SMK01011	White	Deep orange yellow	Strong orange yellow
SMK02011	White	Strong yellow	Strong yellow
SMK03021	White	Deep brown	Brownish orange
SMK04021	White	Brownish orange	Light orange yellow
SMK05021	Yellow	Strong orange yellow	Light orange yellow
SMK06021	Yellow	Moderate olive	Light yellow
SMK07031	White	Strong brown	Light orange yellow
SMK08042	White	Strong brown	Moderate orange yellow
SMK09042	White	Dark yellow	Strong yellow
SMK10051	White	Deep yellowish brown	Dark orange yellow
SMK11051	Blackish purple	Moderate olive	Brilliant yellow
SMK12061	White	Very dark purplish red	Light olive brown
SMK13061	Moderate orange yellow	Moderate orange yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK14061	White	Moderate olive	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK15072	White	Deep yellowish brown	Dark orange yellow
SMK16072	White	Deep orange	Deep orange
SMK17081	White	Light orange	Dark orange yellow
SMK18091	Light orange	Strong orange	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK19101	White	Strong brown	Light orange yellow
SMK20101	White	Strong brown	Light orange yellow
SMK21111	White	Light orange yellow	Light orange yellow

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติมัยซีทจำนวน 35 ไอโซเลทด้วยระบบสีมาตรฐาน The ISCC-NBS Color system (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	สีเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้ผิวหน้าอาหาร	สีรงควัตถุ
SMK22121	White	Light yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK23131	White	Brownish orange	Moderate orange yellow
SMK24131	White	Light yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK25132	White	Light yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK26151	White	Moderate olive	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK27151	White	Light yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK28161	White	Moderate orange yellow	Light yellowish brown
SMK29171	White	Light yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK30201	White	Deep orange yellow	Brownish orange
SMK31031	Dark red	Moderate brown	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK32042	Pale yellow	Brilliant yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ
SMK33131	Dark yellow	Brownish orange	Light olive brown
SMK34131	White	Strong brown	Moderate Orange yellow
SMK35071	White	Moderate orange yellow	Moderate orange yellow

การเกิดสีของเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร (Aerial mycelium) และ สีของเส้นใยใต้ผิวอาหาร (Substrate mycelium) นั้นเกิดแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของเชื้อ เช่น กลุ่มของ *Streptomyces* สร้างสีของเส้นใยบนผิวหน้าอาหารได้หลากหลาย ได้แก่ ขาว เทา แดง เหลือง เขียว น้ำเงิน และ ม่วง ส่วนใหญ่จะสามารถสร้างสีของเส้นใยใต้ผิวอาหารเป็นสีน้ำตาลหรือสีเดียวกันกับสีของเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร (Williams *et al.*, 1989) กลุ่มของ *Actinoplanete* เช่น *Micromonospora* สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างสีของเส้นใยใต้ผิวหน้าอาหารได้ทั้งส้ม แดง ดำ น้ำตาล เขียวและม่วง จุลินทรีย์กลุ่มนี้ยังสามารถสร้างรงควัตถุสีเหลือง แดง ม่วงหรือดำ ในอาหารแข็งได้อีกด้วย (Kawamoto, 1989: กิตติธัช, 2550)

จากผลในตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 35 ไอโซเลทเทียบกับระบบสีมาตรฐาน The ISCC-NBS Color system พบว่าส่วนใหญ่สีของเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร (Aerial mycelium) จะมีสีขาว และสีของเส้นใยใต้ผิวอาหาร (Substrate mycelium) ส่วนใหญ่จะมีสีเหลือง ตัวอย่างเช่น ไอโซเลท SMK22121 ที่มีเส้นใยบนผิวหน้าอาหารเป็นสีขาว (White) และ ไอโซเลท SMK32042 ที่มีเส้นใยใต้ผิวอาหารเป็นสีเหลืองสด (Brilliant yellow) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ming *et al.*, (2003) ที่ทำการศึกษาและคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ชอบเกลือซึ่งแยกได้จากตัวอย่างดินเค็มในประเทศจีน โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Nocardiopsis xinjiangensis* sp. nov. ที่ศึกษาบนอาหาร ISP2 มีสีของเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร (Aerial mycelium) เป็นสี White และสีของเส้นใยใต้ผิวอาหาร (Substrate mycelium) เป็นสี Brilliant yellow.

4.3.3 ลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท

สำหรับการศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม มีวิธีการทดสอบทางชีวเคทีทั้งหมด 5 การทดสอบ ได้แก่ การทดสอบการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม (Casein hydrolysis), การย่อยสลายเจลาติน (Gelatin liquefaction), การย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis), การศึกษาความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด และการศึกษาการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase) และเอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase) ตามวิธีการที่ 3.6.7 มีผลการทดสอบดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท

หมายเลขไอโซเลท	Casein hydrolysis (มิลลิเมตร)	Gelatin liquefaction	Starch hydrolysis	** Catalase test	Oxidase test
SMK01011	-	-	+	+	+
SMK02011	-	-	+	++	-
SMK03021	-	-	+	+	+
SMK04021	-	-	+	++	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท(ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	Casein hydrolysis (มิลลิเมตร)	Gelatin liquefaction	Starch hydrolysis	** Catalase test	Oxidase test
SMK05021	-	-	w	+++	-
SMK06021	-	+	+	+++	-
SMK07031	-	-	+	++	+
SMK08042	-	-	w	++	-
SMK09042	14.82	+	+	+++	-
SMK10051	-	-	+	++	-
SMK11051	-	-	+	++	-
SMK12061	-	+	+	++	-
SMK13061	-	-	-	-	+
SMK14061	-	+	+	+++	-
SMK15072	-	-	+	+++	-
SMK16072	-	-	w	+	-
SMK17081	-	-	+	++	+
SMK18091	-	-	+	+	+
SMK19101	-	-	w	++	+
SMK20101	-	-	+	+++	-
SMK21111	16.48	-	+	+++	-
SMK22121	13.94	-	+	+++	-
SMK23131	-	-	-	+++	-
SMK24131	-	+	-	+++	-
SMK25132	15.76	-	+	+++	-
SMK26151	7.94	+	+	+++	-
SMK27151	12.32	+	-	+++	-
SMK28161	-	+	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท(ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	Casein hydrolysis (มิลลิเมตร)	Gelatin liquefaction	Starch hydrolysis	** Catalase test	Oxidase test
SMK29171	-	-	+	+++	-
SMK30201	-	+	+	++	-
SMK31031	8.24	-	-	++	-
SMK32042	-	-	w	++	-
SMK33131	-	-	+	+++	+
SMK34131	-	-	+	++	+
SMK35071	-	-	w	++	+

*** **หมายเหตุ**: (+): positive reaction, (-): negative reaction, (w): weakly positive reaction

** **Catalase test**: (+++): เกิดฟองฟู่อย่างรุนแรง, (++): เกิดฟองฟู่, (+): เกิดฟองฟู่เพียงเล็กน้อย, (-): ไม่เกิดปฏิกิริยา

Temsaah et al. (2018) ได้มีการทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ ของเชื้อแอคติโนมัยสีท โดยแอคติโนมัยสีทนั้นมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ได้หลากหลาย เช่นเดียวกับงานวิจัยของลักษมี,(2556) ที่กล่าวไว้ว่า แอคติโนมัยสีทเป็นกลุ่มที่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ เช่น แป้ง (starch) เซลลูโลส (cellulose) เคราติน (keratin) และ ไคติน (chitin) เป็นต้น จากตารางผลการทดสอบทางชีวเคมี 7 ไอโซเลทจากทั้งหมด สามารถย่อยสลายโปรตีน (Casein hydrolysis) โดยการสังเคราะห์เอนไซม์โปรติเอส (protease) ทำให้เกิดบริเวณใส (clear zone) บนอาหาร skim milk ได้ การทดสอบการย่อยสลายเจลาติน (Gelatin liquefaction) พบ 9 ไอโซเลทที่ให้ผลเป็นบวกหรือสามารถย่อยสลาย เจลาตินได้อันเนื่องมาจากการสังเคราะห์เอนไซม์เจลาติเนส (gelatinase) เจลาตินจึงถูกไฮโดรไลซ์โดยเชื้อแอคติโนมัยสีท ผลการย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis) เชื้อแอคติโนมัยซีท 30 ไอโซเลทจากทั้งหมด 35 ไอโซเลท สามารถย่อยสลายแป้งได้ ผลการทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์คะตะเลส (Catalase test) มีเพียง 1 ไอโซเลทเท่านั้นที่ไม่มีการสังเคราะห์เอนไซม์คะตะเลส ผลการทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase test) พบ 7 ไอโซเลทที่สังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดสได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ glucose, lactose, sucrose, xylose และ mannitol

แอคติโนมัยสีททั้ง 35 ไอโซเลทถูกนำมาทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาลทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ glucose, lactose, sucrose, xylose และ mannitol โดยในการทดสอบมีการใช้อาหาร Phenol Red broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่มีน้ำตาลหลอดละ 1 ชนิดซึ่งมีหลอดดักแก๊ส (durham tube) อยู่ในหลอดอาหารด้วย เมื่อครบระยะเวลา 7 - 14 วัน และตรวจผลเทียบกับหลอดควบคุม พบว่าแอคติโนมัยสีทกว่า 24 ไอโซเลทไม่สามารถหมักน้ำตาลทั้ง 5 ชนิดที่นำมาทดสอบได้เลย แต่ในขณะเดียวกันแอคติโนมัยสีท หมายเลข SMK14061 สามารถหมักน้ำตาลได้ถึง 4 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส, น้ำตาลซูโครส, น้ำตาลแลคโตส และ น้ำตาลแมนนิทอล แต่ไม่สามารถหมักน้ำตาลไซโลสได้ แอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่ที่สามารถหมักน้ำตาลได้นั้นให้ผลการหมักน้ำตาลกลูโคสสูงสุด รองลงมาได้แก่ น้ำตาลซูโครส พบ 3 ไอโซเลทที่สามารถหมักน้ำตาลชนิดนี้ได้ น้ำตาลแลคโตสและ น้ำตาลแมนนิทอล พบชนิดละ 2 ไอโซเลท ส่วนน้ำตาลไซโลสพบเพียง 1 ไอโซเลทเท่านั้นที่สามารถหมักน้ำตาลชนิดนี้ได้ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถที่แตกต่างกันไปตามแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท (Mary, 1967; ณัฐจิรา และ วนัชภรณ์, 2560) ทั้งนี้แอคติโนมัยสีทกว่า 24 ไอโซเลทที่ไม่พบผลการหมักน้ำตาล อาจเนื่องมาจากแอคติโน-มัยสีทเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ (Martin, 1961) และการใช้อาหารเหลวปริมาตร 10 มิลลิลิตรในหลอดทดลองซึ่งมีความลึกของหลอดอาจทำให้การเจริญของแอคติโนมัยสีทในอาหารนั้นไม่เหมาะสม เนื่องจากแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่เป็นพวกต้องการออกซิเจนในการเจริญ จึงพบว่าแอคติโนมัยสีทไม่แสดงผลการหมักหรือใช้น้ำตาล

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ glucose, lactose, sucrose, xylose และ mannitol

หมายเลขไอโซเลท	น้ำตาล กลูโคส (Glucose)	น้ำตาล ซูโครส (Sucrose)	น้ำตาล แลคโตส (Lactose)	น้ำตาล ไซโลส (Xylose)	น้ำตาล แมนนิทอล (Mannitol)
SMK01011	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK02011	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK03021	W/-	W/-	K/-	K/-	K/-
SMK04021	K/-	K/-	K/-	A/-	K/-
SMK05021	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ glucose, lactose, sucrose, xylose และ mannitol (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	น้ำตาล กลูโคส (Glucose)	น้ำตาล ซูโครส (Sucrose)	น้ำตาล แลคโตส (Lactose)	น้ำตาล ไซโลส (Xylose)	น้ำตาล แมนนิทอล (Mannitol)
SMK06021	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK07031	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK08042	A/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK09042	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK10051	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK11051	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK12061	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK13061	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK14061	A/-	A/-	A/-	K/-	A/-
SMK15072	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK16072	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK17081	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK18091	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK19101	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK20101	A/-	A/-	K/-	K/-	K/-
SMK21111	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK22121	A/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK23131	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK24131	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK25132	K/-	K/-	K/-	K/-	A/-
SMK26151	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK27151	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK28161	A/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK29171	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ glucose, lactose, sucrose, xylose และ mannitol (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	น้ำตาลกลูโคส (Glucose)	น้ำตาลซูโครส (Sucrose)	น้ำตาลแลคโตส (Lactose)	น้ำตาลไซโลส (Xylose)	น้ำตาลแมนนิทอล (Mannitol)
SMK30201	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK31031	K/-	K/-	A/-	K/-	K/-
SMK32042	K/-	A/-	K/-	K/-	K/-
SMK33131	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK34131	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
SMK35071	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-

***หมายเหตุ : A คือ Acid = เกิดการหมักน้ำตาล มีการเปลี่ยนสีของอาหารจากสีแดงเป็นสีเหลือง
K คือ Alkaline = ไม่เกิดการหมักน้ำตาล
W คือ weakly = เกิดการหมักน้ำตาลเพียงเล็กน้อย มีการเปลี่ยนสีของอาหารจากสีแดงเป็นสีส้ม
+ = เกิดการสร้างแก๊ส
- = ไม่เกิดการสร้างแก๊ส

4.4. การศึกษาการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์

แอคติโนมัยสีททั้ง 35 ไอโซเลทถูกนำมาศึกษาระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญ โดยมีการใช้อาหาร ISP 2 ที่มีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12 และ 15 จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ผลการเจริญของแอคติโน-มัยสีทแต่ละไอโซเลทแสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร ISP2 ที่เติมด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12 และ 15

หมายเลขไอโซเลท	ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)							
	0	1	3	5	7	10	12	15
SMK01011	+++++	+++	-	-	-			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร ISP2 ที่เติมด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12 และ 15 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)							
	0	1	3	5	7	10	12	15
SMK02011	+++++	+++	+++	++	-	-	-	-
SMK03021	+++++	+++	++	+	-	-	-	-
SMK04021	+++++	+++++	++++	+++	-	-	-	-
SMK05021	+++++	+++	+	+	-	-	-	-
SMK06021	+++++	++++	+++	++	-	-	-	-
SMK07031	+++++	+++++	+++	++	-	-	-	-
SMK08042	+++++	+++++	+++	++	-	-	-	-
SMK09042	+++++	++++	+++	++	-	-	-	-
SMK10051	+++++	++++	++++	+++	-	-	-	-
SMK11051	+++++	++++	++++	+++	-	-	-	-
SMK12061	+++++	-	-	-	-	-	-	-
SMK13061	+++++	-	-	-	-	-	-	-
SMK14061	+++++	+++++	++++	+++	++	-	-	-
SMK15072	+++++	+++++	+++	-	-	-	-	-
SMK16072	+++++	++	++	-	-	-	-	-
SMK17081	+++++	++++	+	-	-	-	-	-
SMK18091	+++++	+++++	-	-	-	-	-	-
SMK19101	+++++	+++	++	+	-	-	-	-
SMK20101	+++++	++	+	-	-	-	-	-
SMK21111	+++++	++++	+++	+++	-	-	-	-
SMK22121	+++++	++++	+++	+++	-	-	-	-
SMK23131	+++++	++++	++	+	-	-	-	-
SMK24131	+++++	++++	++++	+++	-	-	-	-
SMK25132	+++++	+++	++	+	-	-	-	-
SMK26151	+++++	++++	+++	-	-	-	-	-
SMK27151	+++++	+++	++	-	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

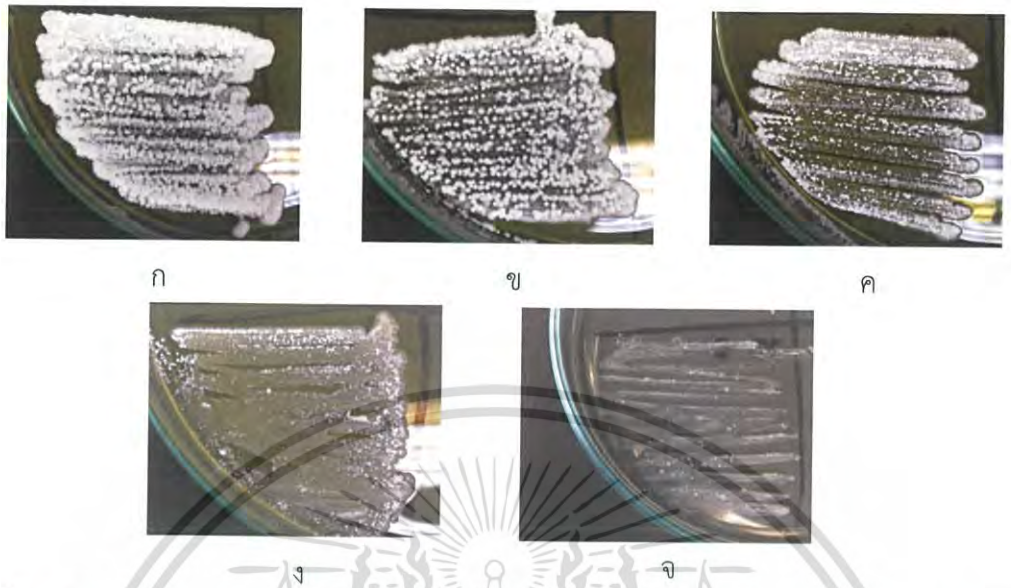
ตารางที่ 4.6 แสดงผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร ISP2 ที่เติมด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 12 และ 15 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)							
	0	1	3	5	7	10	12	15
SMK28161	+++++	+++++	+++	+	-	-	-	-
SMK29171	+++++	+++	+++	++	-	-	-	-
SMK30201	+++++	+	+	-	-	-	-	-
SMK31031	+++++	-	-	-	-	-	-	-
SMK32042	+++++	+++	+	-	-	-	-	-
SMK33131	+++++	-	-	-	-	-	-	-
SMK34131	+++++	+++	-	-	-	-	-	-
SMK35071	+++++	+++	-	-	-	-	-	-

***หมายเหตุ

+++++	หมายถึงเชื้อเจริญได้ดีมาก
++++	หมายถึงเชื้อเจริญได้ดี
+++	หมายถึงเชื้อเจริญได้ปานกลาง
++	หมายถึงเชื้อเจริญได้น้อย
+	หมายถึงเชื้อเจริญได้น้อยมาก
-	หมายถึงไม่มีการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก ข ค

ง จ

รูปที่ 4.48 แสดงผลการทดสอบการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอ- ไรด์ต่าง ๆ บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP.2)

(ก) การเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 %

(ข) การเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 1 %

(ค) การเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 3 %

(ง) การเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 %

(จ) การเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 7 %

การทำนาเกลือนั้นหัวใจสำคัญคือการระเหยน้ำทะเลเพื่อนำเกลือที่ได้ไปใช้ประโยชน์ ซึ่งเกลือจะละลายอยู่ในน้ำทะเล 35 กรัมทุก ๆ น้ำทะเล 1 ลิตร (ดวงกมล, 2540) จากผลการเจริญของเชื้อแอคติโน-มัยสีทบนอาหาร ISP 2 ที่เสริมด้วยความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์แตกต่างกันนั้น พบว่าส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ดีในความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ร้อยละ 0 – 3 สอดคล้องกับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ใช้ในการคัดแยกแอคติโนมัยสีท และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen *et al*., 2008 แอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินเค็มไอโซเลทรหัส YIM 28A4^{T} สามารถเจริญในอาหารที่เสริมเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้สูงสุดถึงร้อยละ 3 การศึกษาครั้งนี้มีเพียง 4 ไอโซเลทที่ไม่สามารถเจริญต่อได้ในอาหารที่เสริมเกลือโซเดียมคลอไรด์อาจเนื่องมาจากแหล่งดินที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำอย่างคันนาปรง หรือนาเชื้อ พบ 18 ไอโซเลทที่ยังสามารถเจริญต่อได้ในอาหารที่เสริมด้วย

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา ใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มของเกลือโซเดียมคลอ-ไรด์ร้อยละ 5 และความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงสุดที่แอคติโนมัยสีทสามารถเจริญได้เมื่อเสริมบนอาหาร คือความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7 ได้แก่ ไอโซเลทหมายเลข SMK14061 ดังนั้นจึงจัดได้ว่าแอคติโนมัยสีทที่พบอยู่ในกลุ่มของ Moderately halophilic actinomycete โดยเจริญได้ที่ช่วงความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 - 12% (Arasu *et al.*, 2016: ณัฐจิรา, วนัชภรณ์, 2560)

การจำแนกนาต่าง ๆ ด้วยความเข้มข้นของเกลือ โดยใช้เครื่อง salinity meter จำแนกได้ดังนี้ นาตาก 6 - 12 ดีกรี, นารองเชื้อ 18 - 20 ดีกรี, นาเชื้อ 22 - 23 ดีกรี และ นาปรง 24 - 25 ดีกรี (บุญปรอด, 2562) เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ใช้ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ร้อยละ 0–3 จึงไม่สามารถคัดแยกแอคติโนมัยสีทที่ทนความเข้มข้นของเกลือสูง ๆ ได้ การศึกษาในอนาคตจึงควรปรับความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อให้สูงขึ้นเพื่อเป็นแนวทางในการคัดแยกแอคติโนมัยสีทที่ สามารถทนความเข้มข้นของเกลือสูง ๆ ได้

4.5. การทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธีการทดสอบขั้นต้น (Pre-Test)

การทดสอบหาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพต่อจุลินทรีย์ทดสอบเบื้องต้นนั้น จะใช้จุลินทรีย์ทดสอบ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยทำการทดสอบกับเชื้อแอคติโนมัยสีททั้ง 35 ไอโซเลท ที่แยกได้จากดินนาเกลือ ทดสอบบนอาหาร YEME agar หลังจากลงเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบร่วมกับไอโซเลทของเชื้อแอคติโนมัยสีทครบ 1 วัน ตรวจผลเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลทที่พบบริเวณยับยั้งแก่เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีท 10 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลทหมายเลข SMK01011 SMK06021 SMK08042 SMK09042 SMK13061 SMK16072 SMK20101 SMK28161 SMK30201 และ SMK32042 สามารถสร้างฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพแก่จุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ได้ แสดงผลระยะยับยั้งของจุลินทรีย์ทดสอบดังตารางที่ 4.7

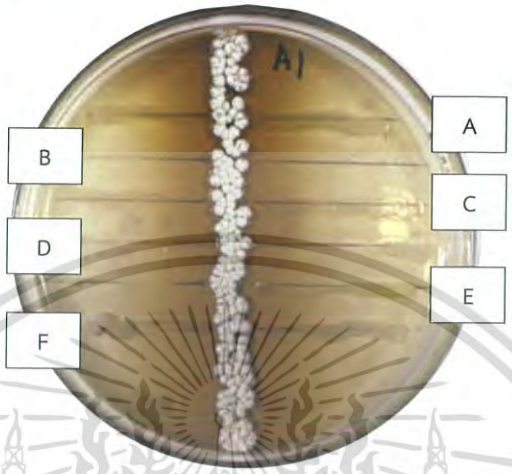
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

หมายเลขไอโซเลท	แหล่งดิน	บริเวณยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)											
		B. subtilis ATCC 6633		*E. coli* ATCC 25922		*K. rhizophila* ATCC 9341		*P. aeruginosa* ATCC 27853		*S. aureus* ATCC 25923		*C. albicans* ATCC 10231	
		ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา
SMK01011	นาปรัง	24.60	25.10	21.24	22.10	25.20	28.12	15.50	13.40	23.72	27.80	7.50	11.42
SMK06021	นารองเชื้อ	-	-	22.30	23.62	-	-	-	-	-	-	7.82	10.90
SMK08042	รางน้ำแก่	25.54	26.26	14.20	13.44	-	-	-	-	-	-	-	-
SMK09042	รางน้ำแก่	8.82	9.12	-	-	-	-	-	-	25.74	24.82	-	-
SMK13061	นาตาก	-	-	-	-	17.24	14.60	-	-	14.62	14.12	-	-
SMK16072	นาเชื้อ	31.22	31.34	-	-	17.68	19.74	14.54	13.52	27.10	19.74	11.42	6.22
SMK20101	นาปรัง	27.42	30.20	-	-	23.20	23.40	-	-	21.82	28.42	21.32	25.00
SMK28161	ยุ้งเกลือ	29.12	29.56	-	-	17.64	15.58	7.30	6.22	23.20	15.56	-	-
SMK30201	นาปรัง	24.32	25.32	11.22	11.44	20.30	25.20	-	-	23.90	27.46	-	-
SMK32042	รางน้ำแก่	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.40	12.84

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK01011 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *K. rhizophila* และ *C. albicans* ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.49



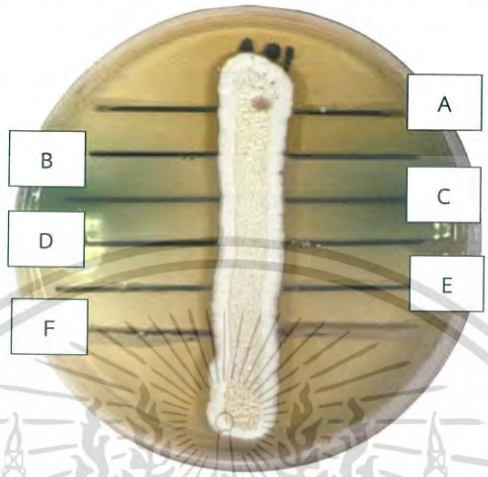
รูปที่ 4.49 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK01011 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (A), *S. aureus* (B), *P. aeruginosa* (C), *B. subtilis* (D), *K. rhizophila* (E) และ *C. albicans* (F)

จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK06021 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *C. albicans* ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.50

รูปที่ 4.50 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK06021 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (A), *S. aureus* (B), *P. aeruginosa* (C), *B. subtilis* (D), *K. rhizophila* (E) และ *C. albicans* (F)

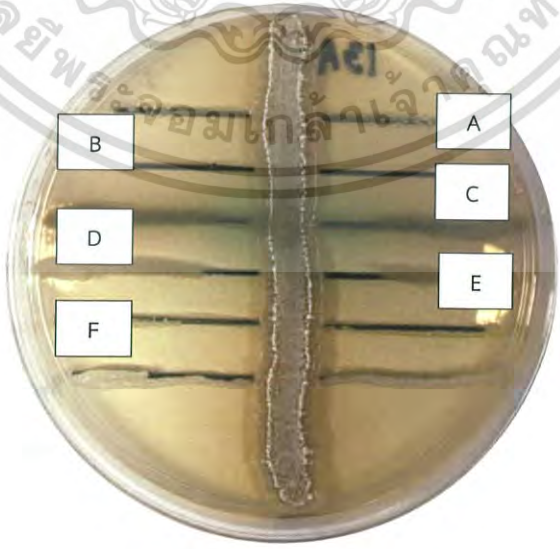
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK08042 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *B. subtilis* ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.51



รูปที่ 4.51 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK08042 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (A), *S. aureus* (B), *P. aeruginosa* (C), *B. subtilis* (D), *K. rhizophila* (E) และ *C. albicans* (F)

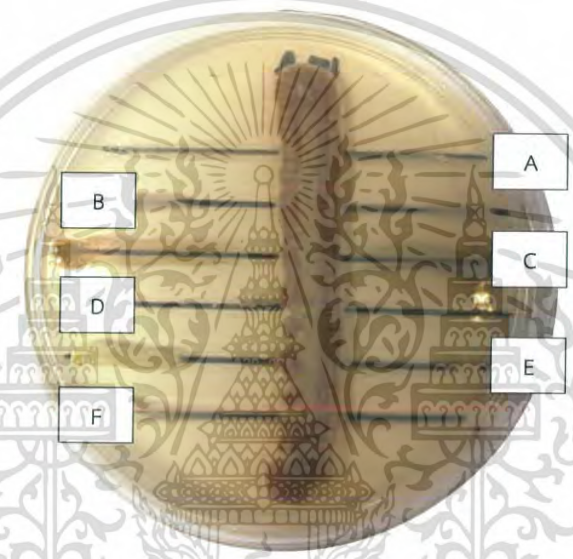
จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK09042 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.52



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.52 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK09042 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (A), *S. aureus* (B), *P. aeruginosa* (C), *B. subtilis* (D), K. rhizophila (E) และ *C. albicans* (F)

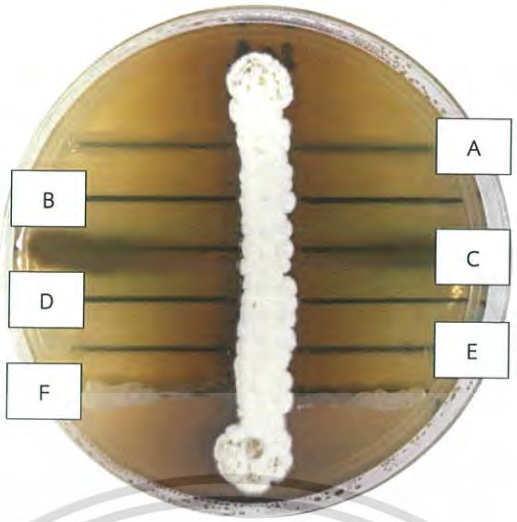
จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK13061 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *K. rhizophila* ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.53



รูปที่ 4.53 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK13061 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (A), *S. aureus* (B), *P. aeruginosa* (C), *B. subtilis* (D), *K. rhizophila* (E) และ *C. albicans* (F)

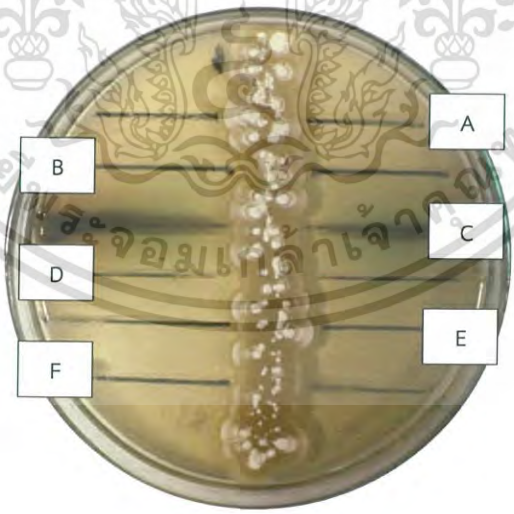
จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK16072 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *S. aureus, P. aeruginosa, B. subtilis, K. rhizophila* และ *C. albicans* ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.54 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK16072 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (A), *S. aureus* (B), *P. aeruginosa* (C), *B. subtilis* (D), *K. rhizophila* (E) และ *C. albicans* (F)

จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK20101 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *B. subtilis*, *K. rhizophila* และ *C. albicans* ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.55



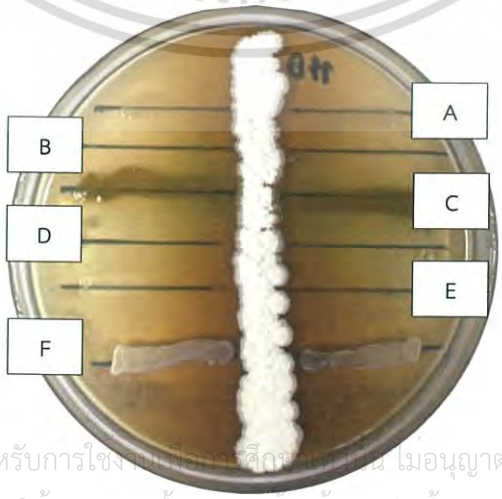
รูปที่ 4.55 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK20101 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ E. coli (A), S. aureus (B), P. aeruginosa (C), B. subtilis (D), K. rhizophila (E) และ C. albicans (F)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK28161 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* และ *K. rhizophila* ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.56

รูปที่ 4.56 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK28161 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (A), *S. aureus* (B), *P. aeruginosa* (C), *B. subtilis* (D), *K. rhizophila* (E) และ *C. albicans* (F)

จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK30201 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* และ *K. rhizophila* ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.57



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.57 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK30201 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (A), *S. aureus* (B), *P. aeruginosa* (C), *B. subtilis* (D), *K. rhizophila* (E) และ *C. albicans* (F)

จากการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK32042 สามารถสร้างสารทุติยภูมิยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.58

รูปที่ 4.58 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK32042 ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* (A), *S. aureus* (B), *P. aeruginosa* (C), *B. subtilis* (D), *K. rhizophila* (E) และ *C. albicans* (F)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การทดสอบกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar Disc Diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเบื้องต้นจากแอคติโนมัยสีทซึ่งทดสอบกับจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี Pre-Test พบแอคติโนมัยสีท 10 ไอโซเลทที่สร้างฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพต่อจุลินทรีย์ทดสอบ แอคติโนมัย-สีททั้ง 10 ไอโซเลทจึงถูกนำมาศึกษากิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยเทคนิค Agar Disc Diffusion ดังวิธีการในข้อ 3.7.10. โดยมีเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Candida albicans* ATCC 10231 ทำการสกัดสารผ่านตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เอทิลอะซีเตทใช้สกัดสารที่อยู่ภายนอกเซลล์และเมนาทอลใช้สกัดสารที่อยู่ภายในเซลล์ ปรับความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้ให้มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงแผ่น disc ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีททั้ง 10 ไอโซเลท โดยไอโซเลทหมายเลข SMK13061, SMK20101 และ SMK30201 มาจากอาหารที่มีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 ส่วนของไอโซเลทหมายเลขนั้น SMK01011, SMK06021, SMK08042, SMK09042, SMK16072, SMK28161 และ SMK32042 มาจากอาหารที่มีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1

รูปที่ 4.59 แสดงลักษณะบริเวณยับยั้งต่อเชื้อทดสอบเมื่อ Negative control คือ เมทานอล และ Positive control คือ Kanamycin ความเข้มข้น 1.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักและเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK06021 โดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion

หมายเลข SMK06021		บริเวณยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)					
		B. subtilis ATCC 6633	*E. coli* ATCC 25922	*K. rhizophila* ATCC 9341	*P. aeruginosa* ATCC 27853	*S. aureus* ATCC 25923	*C. albicans* ATCC 10231
น้ำหมัก	50 mg/ml	-	-	-	-	-	-
	1 mg/ml	-	-	-	-	-	-
ตัวเซลล์	50 mg/ml	-	-	-	-	-	8.76
	1 mg/ml	-	-	-	-	-	-

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจากไอโซเลทหมายเลข SMK06021 กับเชื้อทดสอบ *Candida albicans* ATCC 10231 บนอาหาร Mueller' Hinton agar (MHA) พบบริเวณใส (clear zone) จากในส่วนของสารสกัดที่ได้จากเส้นใยที่หมักด้วยเมทานอลความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่พบบริเวณใสจากส่วนของสารสกัดจากน้ำหมัก

รูปที่ 4.60 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ATCC 10231 ของไอโซเลท SMK06021

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักและเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK09042 โดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion

หมายเลข SMK09042		บริเวณยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)					
		B. subtilis ATCC 6633	*E. coli* ATCC 25922	*K. rhizophila* ATCC 9341	*P. aeruginosa* ATCC 27853	*S. aureus* ATCC 25923	*C. albicans* ATCC 10231
น้ำหมัก	50 mg/ml	11.24	-	-	-	-	-
	1 mg/ml	-	-	-	-	-	-
ตัวเซลล์	50 mg/ml	-	-	-	-	-	-
	1 mg/ml	-	-	-	-	-	-

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจากไอโซเลทหมายเลข SMK09042 กับเชื้อทดสอบ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 บนอาหาร Mueller' Hinton agar (MHA) พบบริเวณใส (clear zone) จากส่วนของสารสกัดจากน้ำหมักความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่พบบริเวณใสจากในส่วนของสารสกัดจากเส้นใยที่หมักด้วยเมทานอล

รูปที่ 4.61 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ของไอโซเลท SMK09042

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักและเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK13061 โดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion

หมายเลข SMK13061		บริเวณยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)					
		B. subtilis ATCC 6633	*E. coli* ATCC 25922	*K. rhizophila* ATCC 9341	*P. aeruginosa* ATCC 27853	*S. aureus* ATCC 25923	*C. albicans* ATCC 10231
น้ำหมัก	50 mg/ml	6.26	-	-	-	-	-
	1 mg/ml	-	-	-	-	-	-
เซลล์	50 mg/ml	-	-	-	-	-	-
	1 mg/ml	-	-	-	-	-	-

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจากไอโซเลทหมายเลข SMK13061 กับเชื้อทดสอบ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 บนอาหาร Mueller' Hinton agar (MHA) พบบริเวณใส (clear zone) จากส่วนของสารสกัดจากน้ำหมักความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่พบบริเวณใสจากในส่วนของสารสกัดจากเส้นใยที่หมักด้วยเมทานอล

รูปที่ 4.62 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ของไอโซเลท SMK13061

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงบริเวณยับยั้งของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักและเส้นใยที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK30201 โดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion

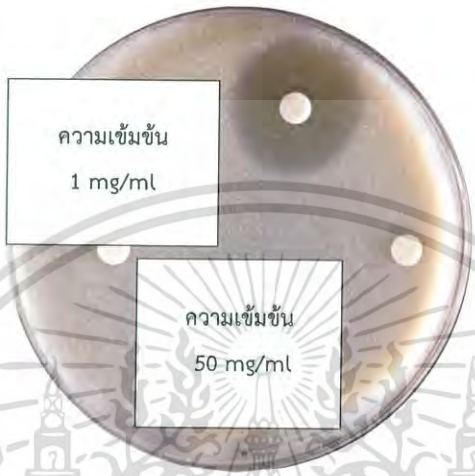
หมายเลข SMK30201		บริเวณยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)					
		B. subtilis ATCC 6633	*E. coli* ATCC 25922	*K. rhizophila* ATCC 9341	*P. aeruginosa* ATCC 27853	*S. aureus* ATCC 25923	*C. albicans* ATCC 10231
น้ำหมัก	50 mg/ml	26.32	-	-	-	-	-
	1 mg/ml	21.40	-	-	-	23.24	-
เซลล์	50 mg/ml	-	-	-	-	-	-
	1 mg/ml	-	-	-	-	-	-

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจากไอโซเลทหมายเลข SMK30201 กับเชื้อทดสอบ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 บนอาหาร Mueller' Hinton agar (MHA) พบบริเวณใส (clear zone) จากในส่วนของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและน้ำหมักความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่พบบริเวณใสจากในส่วนของสารสกัดจากเส้นใยที่หมักด้วยเมทานอล

รูปที่ 4.63 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ของไอโซเลท SMK30201

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจากไอโซเลทหมายเลข SMK30201 กับเชื้อทดสอบ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 บนอาหาร Mueller' Hinton agar (MHA) พบบริเวณใส (clear zone) จากในส่วนของสารสกัดที่ได้จากน้ำหมักความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่พบบริเวณใสจากในส่วนของสารสกัดที่ได้จากเส้นใยที่หมักด้วยเมทานอล



รูปที่ 4.64 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ของไอโซเลท SMK30201

จากผลการทดสอบกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar Disc Diffusion ของแอคติโนมัยสีททั้ง 10 ไอโซเลทที่มีผลแสดงระยะล่นยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธีเบื้องต้น (Pre-test) 4 ไอโซเลทจาก 10 ไอโซเลทเกิดผลยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบเมื่อใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion ได้แก่ ไอโซเลท SMK06021 สารสกัดจากเส้นใยที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งเชื้อทดสอบ 1 ตัว คือ *C. albicans* ATCC 10231, ไอโซเลท SMK09042, ไอโซเลท SMK13061 เป็นสารสกัดจากน้ำหมักที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเช่นเดียวกัน ยับยั้งเชื้อทดสอบ 1 ตัวเหมือนกัน คือ *B. subtilis* ATCC 6633 และไอโซเลท SMK30201 สารกัดจากน้ำหมักที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรยับยั้งเชื้อทดสอบ 1 ตัว คือ *B. subtilis* ATCC 6633 สารกัดจากน้ำหมักที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรยับยั้งเชื้อทดสอบได้ 2 ตัวคือ *B. subtilis* ATCC 6633 และ *S. aureus* ATCC 25923 การเกิดบริเวณยับยั้งในสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำแต่ไม่เกิดบริเวณยับยั้งในสกัดที่มีความเข้มข้นสูงของไอโซเลท SMK30201 นี้ควรต้องทำการศึกษาต่อหรือทำการทดลองซ้ำอีกครั้งเพื่อยืนยันความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ *S. aureus* ATCC 25923

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในส่วนของผลการทดสอบสารที่มีทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion ของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SMK30201 ที่มีฤทธิ์ยับยั้งในส่วนของสารสกัดหยาบจากน้ำหมักต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยสารสกัดหยาบจากน้ำหมักความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแต่ไม่เกิดผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยสารสกัดหยาบจากน้ำหมักความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงเป็นที่น่าสนใจว่าฤทธิ์ยับยั้งที่เกิดขึ้นอาจจะเกิดจากเมทานอลที่ใช้ในการเตรียมสารสกัด แต่ผลการยับยั้งของเมทานอลต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบเมื่อใช้ Negative control เป็นเมทานอลนั้น พบว่าเมทานอลไม่เกิดผลยับยั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ยับยั้งนั้นเกิดขึ้นโดยมาจากสารสกัดหยาบไม่ได้เกิดจากเมทานอล การเกิดบริเวณยับยั้งในสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่ำแต่ไม่เกิดบริเวณยับยั้งในสารสกัดที่มีความเข้มข้นสูงของไอโซเลท SMK30201 นี้ควรต้องทำการศึกษาต่อหรือทำการทดลองซ้ำอีกครั้งเพื่อยืนยันความสามารถในการยับยั้งจุลินทรียืทดสอบ *S. aureus* ATCC 2592

ข้อมูลการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Basilo *et al.*, 2003 ที่ว่าสามารถยับยั้งจุลินทรีย์แกรมบวกได้มากกว่าจุลินทรีย์แกรมลบ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Saadoun *et al.*, 1999 ที่พบว่าสามารถยับยั้งจุลินทรีย์แกรมบวกกลุ่ม cocci และ bacilli ได้มากกว่าจุลินทรีย์แกรมลบอย่างเช่น *E. coli* และมีความเป็นไปได้ว่าแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินนาเกลือในการศึกษาครั้งนี้อาจจัดอยู่ในกลุ่มของ streptomycetes เพราะมักสร้างสารออกฤทธิ์ได้ในอาหารที่ไม่เติมเกลือ ตรงกันข้ามกับกลุ่มของ non-streptomycetes ที่มักสร้างสารออกฤทธิ์ได้ดีเมื่อเติมเกลือ ด้วยเหตุนี้ 6 ไอโซเลทที่ไม่พบผลยับยั้งเมื่อใช้เทคนิค Agar Disc Diffusion อาจเกิดจากการอยู่ในสภาวะการเจริญที่ไม่ส่งเสริมให้เกิดการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ (ปวีณา และคณะ, 2555) รวมทั้งผลของการใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วอย่าง Ethyl acetate มาใช้ในการสกัดหยาบสารยับยั้งของแอคติโนมัยสีทนี้อาจไม่สามารถสกัดแยกสารได้ดีที่สุด ในงานวิจัยของ Veronica and Magdalena, 2014 กล่าวว่า ตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสารยับยั้งจุลินทรีย์จาก *Streptomyces* sp. คือ 1-butanol โดยคุณสมบัติตัวทำละลายที่มีขั้วสูงจะสกัดสารยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี สอดคล้องกับการทดลองเปรียบเทียบการใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ Ethyl acetate และ 1-butanol ของ ทายาท และคณะ (2560) พบว่า การใช้ 1-butanol ให้ผลของการเกิดบริเวณยับยั้งต่อเชื้อทดสอบได้ดีกว่าการใช้ Ethyl acetate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือจากโรงเรียนคนทำนา-เกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม พบว่าสามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้จำนวนทั้งหมด 35 ไอโซเลท ซึ่งแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้จากการเก็บตัวอย่าง 20 จุด (ตารางที่ 4.1) เก็บตัวอย่างในวันที่ 15 มกราคม พ.ศ. 2562 ลักษณะของดินมีทั้ง ดินเหนียว ดินทราย และดินโคลน เนื่องจากการใช้ประโยชน์ในการทำนาเกลือในแต่ละบริเวณมีความแตกต่างกัน จึงส่งผลให้บริเวณที่เก็บตัวอย่างแต่ละจุดมีความเค็มที่แตกต่างกัน จากดินตัวอย่างทั้ง 20 จุด พบว่ามีค่าความเป็นกรดด่างตั้งแต่ 6.93 – 8.37 มีปริมาณความชื้นตั้งแต่ 5.51 – 71.13 จากนั้นนำไปทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโน-มัยสีทบนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) พบว่าเชื้อแอคติโนมัย-สีทที่คัดแยกได้สามารถเจริญและสร้างสปอร์ได้ดีในระยะเวลาประมาณ 2-4 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังมีการการสังเกตสีจากเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) เส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) และสีของ รงควัตถุที่ละลายน้ำได้ โดยนำไปเปรียบเทียบกับระบบสีมาตรฐาน The ISCC-NBS Color system ได้ดังนี้ แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Pink มีจำนวน 1 ไอโซเลท ได้แก่ SMK02011 แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Red มีจำนวน 1 ไอโซเลท ได้แก่ SMK31031 แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Orange มีจำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ SMK13061 และ SMK18091 แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Brown มีจำนวน 1 ไอโซเลท ได้แก่ SMK08042 แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Yellow มีจำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ SMK03021, SMK07031, SMK15072, SMK20101, SMK32042, SMK33121 และ SMK34131 แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Olive มีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ SMK04021, SMK21111 และ SMK26151 แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Green มีจำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ SMK06021 และ SMK09042 แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Purple มีจำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ SMK11051 และ SMK12061 แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี White มีจำนวน 13 ไอโซเลท ได้แก่ SMK01011, SMK05021, SMK16072, SMK17081, SMK19101, SMK22121, SMK23131, SMK25132, SMK27151, SMK28161, SMK29171, SMK30201 และ SMK35071 แอคติโนมัยสีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Gray มีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ SMK10051, SMK14061 และ SMK24131

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ทั้งหมด 35 ไอโซเลท ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 4.4) จากการทดสอบการย่อยโปรตีนในน้ำนม (Casein hydrolysis) ในอาหาร Skim milk agar พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีท 7 ไอโซเลทที่สามารถผลิตเอนไซม์ Protease ได้ คือ เกิดวงใส (Clear zone) แสดงว่าเกิดการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมบนอาหาร Skim milk agar จากการทดสอบการย่อยสลายเจลาติน (Gelatin liquefaction) ในหลอดอาหาร Bouillon Gelatin Broth พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีท 9 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตเอนไซม์ Gelatinase ได้ คือ ไม่เกิดการแข็งตัวของอาหาร Bouillon Gelatin Broth เมื่อนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส แสดงว่าเกิดการย่อยสลาย เจลลาตินในอาหาร Bouillon Gelatin Broth จากการทดสอบการย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis) ในอาหาร Inorganic salt starch agar (ISP4) พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีท 30 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตเอนไซม์ Amylase ได้ คือ เมื่อหยดสารละลายไอโอดีนแล้ว เกิดวงใส (Clear zone) แสดงว่าเกิดการย่อยสลายแป้งในอาหาร Inorganic salt starch agar (ISP4) จากการทดสอบการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase) และเอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase) พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีท 34 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตเอนไซม์ Catalase ได้ คือ เกิดฟองฟู่เมื่อหยดสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3% ลงบนเชื้อ แอคติโนมัยสีทและพบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีท 11 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตเอนไซม์ Oxidase ได้ คือ เกิดสีม่วงเมื่อหยดสาร 1% Tetramethyl-p-phenylenediamine (TPD) ลงบนเชื้อแอคติโนมัยสีท จากการศึกษาความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด (ตารางที่ 4.5) พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถหมักน้ำตาล Glucose ได้ 7 ไอโซเลท และไม่สามารถสร้างแก๊สได้ มีเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถหมักน้ำตาล Sucrose ได้ 4 ไอโซเลท และไม่สามารถสร้างแก๊สได้ มีเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถหมักน้ำตาล Lactose ได้ 2 ไอโซเลท และไม่สามารถสร้างแก๊สได้ มีเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถหมักน้ำตาล Xylose ได้ 1 ไอโซเลท และไม่สามารถสร้างแก๊สได้ เชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถหมักน้ำตาล Mannitol ได้ 2 ไอโซเลท และไม่สามารถสร้างแก๊สได้

จากการศึกษาความสามารถทนเกลือของเชื้อแอคติโนมัยสีท โดยทำการทดลองในอาหาร Yeast extract Malt extract agar (YEME) พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีท 35 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 % มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 30 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 1 % มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 27 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 3 % มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 19 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 % มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 1 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียม-คลอไรด์ 7 % (ตารางที่ 4.9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยสีททั้ง 35 ไอโซเลทต่อเชื้อจุลินทร์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 ด้วยวิธีการทดสอบเบื้องต้น (Pre-test) พบว่ามีเชื้อแอคติโนมันซีท 10 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ได้แก่ SMK01011, SMK06021, SMK08042, SMK09042, SMK13061, SMK16072, SMK20101, SMK28161, SMK30201 และ SMK32042 โดยที่มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 7 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้ มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 4 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Escherichia coli* ATCC 25922 มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 6 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 3 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 7 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 5 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Candida albicans* ATCC 10231 (ตารางที่ 4.7)

จากการทดสอบนำเชื้อแอคติโนมัยสีททั้ง 10 ไอโซเลท มาทำการศึกษาการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar Disc Diffusion โดยเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทในอาหาร Yeast extract Malt extract (YEME) ที่มีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าในส่วนของน้ำหมักที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 3 ไอโซเลท คือ SMK09042, SMK13061 และ SMK30021 (ตารางที่ 4.9, 4.10 และ 4.11) ในส่วนของตัวเซลล์ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ มีเชื้อแอคติโนมัยสีท 1 ไอโซเลท คือ SMK06021 (ตารางที่ 4.8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากการศึกษางานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินนาเกลือที่ศูนย์การเรียนรู้คนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม พบว่าสามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถทนเกลือที่โซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันได้ 31 ไอโซเลท ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่สูงสุดเชื้อสามารถเจริญได้คือ 7% เนื่องจากช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่างดินนั้นเป็นช่วงที่การตกผลึกของเม็ดเกลือยังไม่สมบูรณ์ ทำให้ดินบริเวณนั้นมีปริมาณเกลืออยู่ไม่สูงมาก ดังนั้น อาจจะต้องเลือกเก็บตัวอย่างดินจากนาเกลือหลาย ๆ แหล่ง เพื่อที่จะค้นหาเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการทนเกลือความเข้มข้นสูงได้

5.2.2 จากการศึกษาในครั้งนี้ สามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ซึ่งก็คือ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ด้วยความเข้มข้นของสารเพียง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงควรมีการนำไปศึกษาต่อเพื่อพัฒนาและนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์ หรืออุตสาหกรรมการผลิตยา เช่น ยาแต้มสิว แต่อย่างไรก็ตามต้องมีการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกับเชื้อก่อสิวอื่น ๆ เพิ่มเติม

5.2.3 จากการศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท ด้วยอาหาร Starch casein agar (SCA) พบว่าจำนวนของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร SCA มีน้อยมาก จึงทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้คัดแยกเป็นอาหาร ZSSE agar ซึ่งเป็นอาหารที่มีสารสกัดจากดินเป็นส่วนประกอบในอาหาร พบว่า จำนวนของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร ZSSE agar มีมากกว่าที่เจริญบนอาหาร SCA ดังนั้นอาหาร ZSSE agar จึงเป็นอาหารเลี้ยงเชื้ออีกหนึ่งชนิดที่เหมาะสำหรับการนำมาใช้เพื่อคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กิ่งจันทน์ มะลิซ้อน. 2555. ความหลากหลายของแอคติโนแบคทีเรียในดิน. Biodiversity of Actinibacteria in soil. สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.

กิตติธัช พบูประภาพ. 2550. การคัดเลือกจุลินทรีย์กลุ่มแอคติโนมัยสีทในดินที่สร้างสารปฏิชีวนะได้. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะศิลปะศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชนินทร์ สุริยกุล ณ อยุธยา. 2545. เชื้อแอคติโนมัยสีทในดินป่าเบญจพรรณและป่าเต็งรังบริเวณสถานีวิจัยสัตว์ป่าเขานางรำ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ณัฐจิรา ปานมณี, วนัชภรณ์ หนูจ่าแสง. 2560. ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพและฟอสโฟลิปิดของแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือ ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร. โครงงานพิเศษ สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ดวงกมล สุริยฉัตร. 2540. การจำลองบ่อน้ำเกลือระเหยแบบใช้พลังงานแสงอาทิตย์ที่อำเภอบำเหน็จณรงค์ จังหวัดชัยภูมิ, กองเทคโนโลยีการทำเหมืองใต้ดิน, กรมทรัพยากรธรณี.

ทายาท ศรียาภัย, กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์, อรินทม์ งามนิยม และ พิชาภัค ศรียาภัย. 2560. การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทปฏิปักษ์เพื่อใช้ในการเตรียมสารสกัดหยาบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพและพัฒนาสูตรหัวเชื้อผงสำหรับควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคข้าว, วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 22 (ฉบับที่ 3), 423-437

ธนากร บำรุงภักดี, บวรศักดิ์ ลีลานนท์. 2554. การแยกและจำแนกแบคทีเรียแลคติกจากหน่อไม้ดองเพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นผสมในการหมัก. The Graduated Research Conference 12th. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, BMP15.

นฤมล เถื่อนกูล. 2550. การศึกษาการใช้สารสีจากแอคติโนมัยสีทเพื่อเป็นสีย้อมในห้องปฏิบัติการชีววิทยา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม. พิษณุโลก.

นงลักษณ์ คุณปรีชา. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. ครั้งที่ 2.กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,

บุญปรอด เจริญฤทธิ์ ให้สัมภาษณ์, 15 มกราคม 2562. พิมพ์ชนก กาไชย ผู้สัมภาษณ์. สมุทรสงคราม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปวีณา สุขสะอาด, กรรณิการ์ ดวงมาลย์, ชัยวัฒน์ กิตติกูล, กันทิมาณี ประเดิมวงศ์ และ วสุ ปฐมอารีย์. 2555. แอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือและการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์. 2548. แอคติโนมัยซีส. ชลบุรี:โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยบูรพา.

รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์, มรกต สุกโชติรัตน์ และ ชินจิ โตกูยามา. 2548. แอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ใหม่จากดินชายฝั่งที่สร้างสารยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา. ใน 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18 – 20 October 2005.

ลลิดา วชังเงิน. 2554. การคัดกรองและการพิสูจน์เอกลักษณ์แอคติโนมัยสีทหายากที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยศิลปากร. นครปฐม

ลักษมี ศุกระกาญจนะ. 2556. การคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ. ปริญญานิพนธ์. สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ.

วิชา นิยม. 2535. อุทกวิทยาป่าไม้. ภาควิชาอนุรักษ์วิทยา, คณะวนศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 284 น.

ศิริพร วงศ์ดินดำ. 2549. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจหา ESBLs และ *AmpC* และอุบัติการณ์ของ CTX-M gene ในเชื้อ *Enterobacteriaceae*. ภาคนิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สายพิณ ไชยนันท์. 2550. จุลินทรีย์ดิน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี.

สุภาพรรณ ม่วงพรม. 2556 โครงการศูนย์การเรียนรู้กินได้. สำนักงานบริหารและพัฒนาองค์ความรู้.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2562. ยาต้านจุลชีพ.
[omline]. Availabal : http://elib.fda.moph.go.th

ศูนย์วิทยทรัพยากรจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2562. สารต้านจุลชีพ.
[Online]. Available : http://cuir.car.chula.ac.th

Alexander M. 1997. Introduction to Soil Microbiology. 2 ed. New York John Wiley and Sons Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Anibou M., A. Chait, A. Zyad, M. Taourirt, Y. Ouhdouch and A. Benherref. 2008. Actinomycetes from Moroccan habitats: isolation and screening for cytotoxic activities. *World J. Microbiol Biotechnol*. 24: 2019-2025.

Arai T.1975. Culture Media for Actinomycetes. Tokyo: The society for actinomycetes.

Basilo A., I. Gonzalez, M.F. Vicente, J. Gorrochategui, A. Cabello, A. Gonzalez, O. Genillo ud. 2003. Pattern of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different condition of pH and salinity. *J. Appl. Microbiol*., 95, 814-823.

Benimeli, C.S., Fuentes, M.S., Abate, C.M. and Amoroso, M.J. (2008). Bioremediation of lindane-contaminated soil by *Streptomyces* sp. M7 and its effects on *Zea mays* growth. Int. Biodeterior. Biodegrad, 61, 233-239.

Berdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolite. *J. Antibiot*. (Tokyo)58 :1-26.

Bizuye A., Feleke Moges, Berhanu Andualem. 2013. Isolation and screening of antibiotic producing actinomycetes from soils in Gondar town, North West Ethiopia. *Asian J Pac Trap Dis*., 3(5), 375-381.

Cragg GM, Newman DJ. 2005. Plants as source of anticancer agents. *J Ethnopharmacol* 100:72–79

Castillo, M.A., Felis, N., Arago, P., Cuesta, G. and Sabater, C. 2006. Biodegradation of the herbicide diuron by streptomycetes isolated from soil. Int. Biodeterior. Biodegrad, 58, 196-202.

Castillo U., James K. Harper, Gary A. Strobel, Joseph Sears, Kara Alesi, Eugene Ford, Janine Lin, Michelle Hunter, Michelle Maranta, Haiyan Ge, Debbie Yaver, James B. Jensen, Heidi Porter, Richard Robison, D. Millar, Wilford M. Hess, Margret Condron, David Teplow. 2003. Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces sp*. NRRL 30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia*. *FEMS Microbiol*. Lett, 224, 183-190.

Deepika L. and Kannabiran K. 2010. Biosurfactant and Heavy Metal Resistance Activity of *Streptomyces* spp. Isolated from Saltpan Soil. British Journal of Pharmacology and Toxicology 2010, 1(1): 33-39.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dhananjeyan, V., Selvan N., and Dhanapal. 2010. Isolation, Characterization, screening and antibiotic sensitivity of Actinomycetes from Locally (Near MCAS) collected soil

samples. Journal of Biological Sciences 10, 6: 514-519.

Fencial, W. 1997.New pharmaceuticals from marine organisms. *Trends Biotechnol*, 15: 339–341

Gayathri A., Madhanraj P. and Panneerselvam A. 2011. Diversity, Antibacterial Activity and Molecular Characterization of Actinomycetes Isolated from Salt Pan Region of Kodiakarai, Nagapattinam DT. *Asian J. Pharm. Tech.* 2011, Vol. 1, Issue 3, 79-81.

Goodfellow M., and Williams S.T. 1983. Ecology of actinomycetes. Annual Review of Microbiology 37, 189-216.

Goodfellow M. 1985. Quarterly Journal of Forestry. Royal Forestry Society of England, Wales and Northern Ireland., 79-80.

Hayakawa, M., Kenya I., and Hideo N. 1988. Distribution of rare actinomycetes in Japanese

soils. Journal of Fermentation Technology 66, 4: 367-373.

Himaman W., Arinthip Thamchaipenet, Wasu Pathom-aree, Kannika Duangmal. 2016. Actinomycetes from Eucalyptus and their biological activities for controlling Eucalyptus leaf and shoot blight. *Microbiological Res.*, 188-189, 42-52.

Janssen Peter H. 2006 Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. 2006, Vol. 72, No. 3

Jinhua Zhang. 2011. Improvement of an Isolation Medium for Actinomycetes. Modern Applied Science. Vol. 5, No. 2

Jose, P. A., and Jebakumar, S. R. D. 2012. Phylogenetic diversity of actinomycetes cultured from coastal multipond solar saltern in Tuticorin, India. Aquat. Biosyst. 8:23.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kawamoto I. 1989. Genus *Micromonospora* In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. IV, pp. 2442-2450, edited by Holt, J. G.,Williams & Wilkins Company, Baltimore.

Khanungkan Klanbut. 2013. The role of phospholipid in the growth and development of Streptomyces. Ph.D in Microbiology (SIPBS). University of Strathcly, Glasgow, UK., 50 - 51.

Khanungkan Klanbut, Duangduen Ploymukda, Nuntapop Pitijanyawong and Pranapda Numprapai. 2018. Antimicrobial activities of actinomycetes isolated from solar saltern soil, Thailand. Agriculture and Natural Resources. 138-141.

Khanungkan Klanbut, Siranan Klanbut, Charanyarut Sukphattanaudomchoke, Natticha Namboon and Sorawit Buraphawat. 2017. Phospholipids and antimicrobial activity of actinomycetes from mangrove forest soils in Eastern part of Thailand. The 29th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference November, 23-25.

Lacey J. 2009. Actinomycetes in composts. Annual Agriculture and Environments. Academic Press, San Diego, 2: 50-58.

Lechevalier, H.A. and Pine L. 1974. The Actinomycetes. Handbook of Microbiology, Cleveland: 194-211.

Mahajan, G. B., and Balachandran, L. 2012. Antibacterial agents from Actinomycetes - A Review. *Front. Biosci.* E4, 240–253.

Manivasagan P., Venkatesan J., Sivakumar K. and Kim SK. 2013 Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. *Microbiol Res* 13: 125-200.

Mariaghas Valan Arasu, Galal Ali Esmail and Naif Abdullah Al-Dhabi. 2016. Hypersaline Actinomycetes and their Biological Applications. Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications. Chapter 9, 229-245

Mary. Gerencser. John M. Slack. 1967. Isolation and Characterization of *Actinomyces propionicus*. Department of Microbiology, Medical center, West Virginia University, Morgantown, West Virginia 26506.

Martin A. 1961. Actinomycetes. In Introduction to Soil Microbiology. New York: John Wiley & Sons Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

McCarthy, J.A. and Williams T.S. 1990. Methods for studying the ecology of actinomycetes. In R Grigorova and JR Norris (Eds.) Method in Microbiology, pp.535. London: Academic Press Limited.

Mendez, C., Alfredo F. B., Manuel B. M., and Carios H. 1985. Role of substrate mycelium in colony development in Streptomyces. Canadian Journal of Microbiology 31, 5:446-450.

Micha H., Ilan M. 2014 Diversity and antibacterial activity of bacteria cultured from Mediterranean *Axinella* spp. sponges. *J Appl Microbiol.* 116: 519-532.

Ming-Gang Li, Wen-Jun Li, Ping Xu, Xiao-Long Cui, Li-Hua Xu and Cheng-Lin Jiang. 2003. *Nocardiopsis xinjiangensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from a saline soil sample in China. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 53, 317–321.

Miyadoh, S. 1993. Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: A producing microorganism approach. Actinomycetologica 7, 2: 100-106.

Miyadoh, S., Anzai, H., Amano, S. & Shomura, T. 1989. *Actinomadura malachitica* and *Microtetraspora viridis* are synonyms, and should be transferred as *Actinomadura viridis* comb. nov. International Journal of Systematic Bacteriology 39, 152-1 58

Mojtaba Mohseni, Hamed Norouzi, Javad Hamedi, Aboulghasem Roohi. 2013, Screening of Antibacterial Producing Actinomycetes from Sediments of the Caspian Sea. 2013, 2, 2.

Naikpatil, S. V., and Rathod J. L. 2011. Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. Journal of Ecobiotechnology 3,10: 48-53.

Nolan R, Cross T 1988. Isolation and Screening of actinomycetes, In: Goodfellow M, Williams ST, Mordarski M (ed). Actinomycetes in Biotechnology. Academic Press, Inc., San Diego, 1-32.

Ouhdouch Y, Barakate M, Finanse C. 2001. Actinomycetes of Moroccan habitats: Isolation and screening for antifungal activities. *Eur. J. Soil Biol.* 37: 69-74.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Q. G. Fadhilah, I. Santoso, and Y. Yasman. 2018. Isolation and screening antibacterial activity of actinomycetes from mangrove ecosystem, Pramuka Island, Kepulauan Seribu, Jakarta, Indonesia. AIP Conference Proceedings. 2023, 020119.

Remya M, Vijayakumar R. 2008. Isolation and characterization of marine antagonistic actinomycetes from west coast of India. *Facta Univ Ser Med Biol.* 15(1): 13–19.

Saadoun, I., Hameed, K.M. and Moussauui, A. 1999. Characterization and analysis of antibiotic activity of some aquatic actinomycetes. *Microbios*. 99, 173–179.

Semedo L. T. A. s., A. A. Linhares, R. C. Gomes, G. P. Manfi, C. S. Alviano, L. F. Linhares, R. R. R. Coelho. 2001. Isolation and characterization of actinomycetes from Brazilian tropical soils. *Microbial Res.*, 155, 291-299.

Santos, P.S., Abad, E.J., Paguia, A.G. and Lat, B.S. 1976. Vitamin B12 and antibiotics of actinomycetes isolated by a selective method from soil samples. *Philips J. Res.*, 103, 208-220.

Sette, L.D., de Oliveira, V.M. and Manfio, G.P. 2005. Isolation and characterization of alachlor-degrading actinomycetes from soil. Antonie van Leeuwenhoek, 87, 81-89.

Shih, H., Liu, Y. Hsu, F. Mulabagal, V. Dodda, R. and Huang, J. 2003. Fungichromin: a substance from *Streptomyces padanus* with inhibitory effects on *Rhizoctonia solani*. *J. Agricult*. Food Chem, 51, 95-99.

Shinji *et al.*, 1997. Digital Atlas of Actinomycetes. 15, 03, 62.

Shirling, E. B. & Gottlieb, D. 1966. Methods for characterization of Streptomyces species. Int *J. Syst Bacteriol* 16, 313–340.

Sudhakar T, Krishnakumar S, Premkumar J, Rani R. 2012.Characterization of halophilic antagonistic Actinomycetes isolated from solar saltpan of Tamilnadu, India. *Int J Res Rev Pharm Appl Sci* 2(4):793–802.

Takefumi Hamaki, Motomasa Suzuki, RyosukE Fudou, Yasuko Jojima, Takayuki Kajiura, Akira Tabuchi, Kikuo Sen and Hiroshiro Shibai. 2005. Isolation of Novel Bacteria and Actinomycetes Using Soil-Extract Agar Medium Journal of Bioscience and Bioengineering. Vol. 99, No. 5, 485–492.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Temsaah H. R., Ahmed F. Azmy, Mai Raslan, Amr E. Ahmed and Walaa G. Hozayen. 2018. Isolation and Characterization of Thermophilic Enzymes Producing Microorganisms for Potential Therapeutic and Industrial Use. Journal of Pure and Applied Microbiology, 2018, 12(4), 1687-1702.

Trabelsi I., Daniel Oves, Beatriz Gutierrez Magan, Angel Manteca, Olga Genilloud and Mohamed Nour. 2016. Isolation, Characterization and Antimicrobial Activities of Actinomycetes Isolated from a Tunisian Saline Wetland. Journal of Microbial & Biochemical Technology., 2016, 8:6.

Veronica Lay B.W., & Magdalena S. 2014. Isolation and characterization of new antibiotics from Indonesian coastal marine bacteria. *Microbiology Indonesia*, 8, 87-93.

Waskman S. A. and Woodruft, H. B. 1940. Bacterioatatic and Bactericidal substances produced by soil actinomycetes. *J. Bacteribiol*. 40:609.

Wringley SK, Hayes MA, Thomas R, Chrystal EJT, and Nicholson N, ed. A past with a future. In: Biodiversity: new leads for pharmaceutical and agrochemical industries. Microbial natural products. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, 3-16.

Williams S.T., Sharpe M. E. and Holt J.G. 1989. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. United states.

Williams R.H. 1989. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol4 . Baltimore:Willams & Wilkins,

Yi-Guang Chen, Xiao-Long Cui, Reiner M. Kroppenstedt, Erko Stackebrandt, Meng-Liang Wen, Li-Hua Xu and Cheng-Lin Jiang. 2008. *Nocardiopsis quinghaiensis* sp. nov., isolated from saline soil in China. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 58, 699-705.

Zafrilla, B., Martínez-Espinosa, R. M., Alonso, M. A., and Bonete, M. J. 2010. Biodiversity of Archaea and floral of two inland saltern ecosystems in the Alto Vinalopó Valley, Spain. Saline Systems 6:10.

Zotchev S. B. (2012). Marine actinomycetes as an emerging resource for the drug development pipelines. *J. Biotechnol.* 158, 168–175.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

International Streptomyces Project Medium no.2 (ISP2)

ส่วนประกอบ

Malt extract	10.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Glucose	4.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH 7.3

*ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี Autoclave ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

Starch Casein Agar (SCA)

ส่วนประกอบ

Soluble starch	1.0	กรัม
Casein	0.3	กรัม
NaCl	4.6	กรัม
KNO_3	2.0	กรัม
$MgSo_4 .7H_2O$	0.05	กรัม
$CaCo_3$	0.02	กรัม
$FeSO_4.7H_2O$	0.01	กรัม
Agar	18	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH 7.0 – 7.2

ละลาย KNO_3, Casein, NaCl, $MgSo_4 .7H_2O$ และ $FeSO_4.7H_2O$ ให้เข้ากันก่อนจากนั้นจึงเติมสารที่เหลือ และเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรตามที่ต้องการ

*ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี Autoclave ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhang' Starch Soil Extract Agar (ZSSE)

Soluble starch	5.0	กรัม
KNO_3	1.0	กรัม
Soil extract	1000	
มิลลิลิตร		
Agar	10.0	กรัม

pH 7.2

Soil extract

Humic soil (ดินคณะเทคโนโลยีการเกษตร, สจล.) 1.0
กิโลกรัม
น้ำกลั่น 1.0 ลิตร
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
กรองผ่านสำลีและทำให้ดินตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (นำส่วนใสไปใช้)
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Yeast extract Malt extract broth (YEME)

ส่วนประกอบ

Malt extract	10.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Glucose	4.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH 7.3

*ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี Autoclave ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

Bouillon Gelatin Broth

ส่วนประกอบ

Peptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Malt extract	5.0	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gelatin	150.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH 7.0 – 7.2

*ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี Autoclave ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

Peptonization and Coagulation test medium

ส่วนประกอบ

Solution A

Skim milk	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	

มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

Solution B

Agar	1	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	

มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว รอให้สารละลายเย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส

จึงนำ Solution A มาผสมกับ Solution B

Inorganic Salt-Starch Agar, ISP4 Medium no.4

ส่วนประกอบ

Soluble starch	10.0	กรัม
K_2HPO_4	1.0	กรัม
$MgSo_4 .7H_2O$	1.0	กรัม
NaCl	1.0	กรัม
$(NH_4)_2SO_4$	1.0	กรัม
$CaCO_3$	2.0	กรัม
Trace salts solution	1.0	มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Agar	18.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH 7.0 – 7.4

*ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี Autoclave ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

Mueller-Hinton agar

ส่วนประกอบ

Beef infusion solids	2.0	กรัม
Casein hydrolysate	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17.5	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH 7.3±0.2 (25°C)

*ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี Autoclave ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

Trace salts solution

ส่วนประกอบ

$FeSO_4.7H_2O$	0.1	กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	0.1	กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	100.0	มิลลิลิตร

Sabouraud'dextose agar

ส่วนประกอบ

Mycological peptone	10.0	กรัม
Dextose	40.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH 5.6±0.2 (25°C)

เอกสารนี้จัดทำขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*ทำให้ปราศจากเชื้อโดยวิธี Autoclave ที่ความดัน 15 psi อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

Phenol Red glucose (หรือน้ำตาลชนิดอื่น) broth

ส่วนประกอบ

Trypticase (proteose peptone)	10.0	กรัม
Beef extract	1.0	กรัม
Glucose	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH 7.4

*น้ำตาลที่ใช้ทดสอบได้แก่ กลูโคส, ซูโคส, แลคโตส, ไซโลส และ แมนนิทอล โดยเตรียมแยกหลอดกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมีและบัฟเฟอร์

0.9% NaCl (W/V)

ส่วนประกอบ

NaCl	0.9	กรัม
น้ำกลั่น	100	
มิลลิลิตร		

NaOH ความเข้มข้น 1 N

ส่วนประกอบ

NaOH	8.0	กรัม
น้ำกลั่น	200.0	
มิลลิลิตร		

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารละลาย McFarland standard No. 0.5

(โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ, 2555)

ส่วนประกอบของสารละลาย McFarland standard No. 0.5

1% (V/V) conc. H_2SO_4	99.50	มิลลิลิตร
1.175% (V/V) $BaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.50	มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

1. ปิเปต conc. H_2SO_4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในขวดปรับปริมาตรที่มีน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้ 1% (V/V) conc. H_2SO_4

2. ชั่ง $BaCl_2$ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้ 1.175% (V/V) $BaCl_2 \cdot 2H_2O$

3. นำสารละลาย 1% conc. H_2SO_4 ปริมาตร 99.50 มิลลิลิตร ผสมกับ 1.175% $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร จากนั้นบรรจุใส่หลอดฝาเกลียวปิดสนิทกันการระเหย นำเก็บในที่มืดที่มีอุณหภูมิ 2 - 30 องศา-เซลเซียส

4. ก่อนการใช้งานทุกครั้งต้องเขย่าสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน รวมทั้งตรวจสอบความขุ่นของสารทุกเดือนโดยสารจะมีอายุการใช้งานประมาณ 6 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ภาพถ่ายสถานที่เก็บตัวอย่างดิน

จุดเก็บตัวอย่างดินในวันที่ 15 มกราคา 2562 บริเวณโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม ซึ่งมีสภาพดินที่มีความเค็มแตกต่างกันตามแต่ละจุดเก็บ

รูปที่ 1(ง) แสดงลักษณะของตัวอย่างดินจุดที่ 1-5
จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

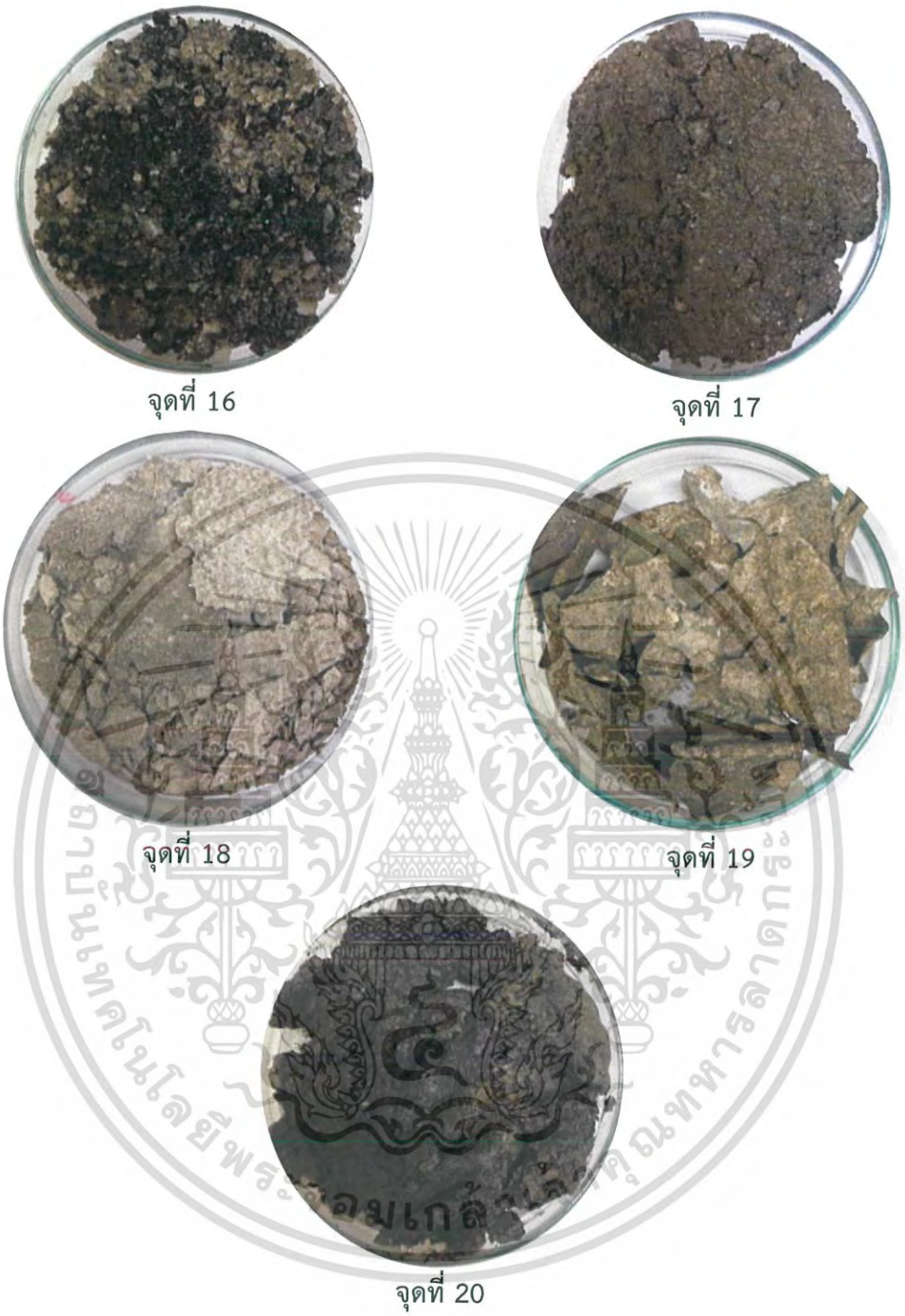
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2(ง) แสดงลักษณะของตัวอย่างดินจุดที่ 6-10
จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3(ง) แสดงลักษณะของตัวอย่างดินจุดที่ 11-15
จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



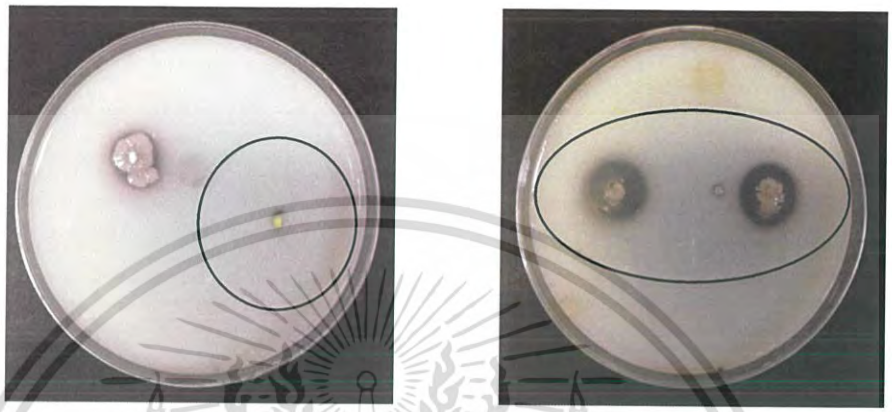
รูปที่ 4(ง) แสดงลักษณะของตัวอย่างดินจุดที่ 16-20
จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัดสมุทรสงคราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ภาพแสดงตัวอย่างผลการทดสอบทางชีวเคมี

1. การทดสอบการย่อยสลายโปรตีน (Peptonization) บนอาหาร Skim milk agar



ก ข

รูปที่ 1(จ) แสดงผลการทดสอบการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม (Casein hydrolysis)

(ก) ไม่เกิดการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม

(ข) เกิดการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม

2. การทดสอบการย่อยสลายเจลาติน (Gelatin liquefaction)

ก ข ค

รูปที่ 2(จ) แสดงผลการทดสอบการย่อยสลายเจลาติน (Gelatin liquefaction)

(ก) ตัวแปรควบคุม (Control)

(ข) ไม่เกิดการย่อยสลายเจลาติน

(ค) เกิดการย่อยสลายเจลาติน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การทดสอบการย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis)

รูปที่ 3(จ) แสดงผลการทดสอบการย่อยสลายแป้งในอาหาร Inorganic salt-starch agar (ISP 4)
(ก) แสดงผล (-) บริเวณที่ไม่เกิดการย่อยสลายแป้งในอาหาร Inorganic salt-starch agar (ISP 4)
(ข) แสดงผล (w) เกิดการย่อยสลายแป้งเล็กน้อยในอาหาร Inorganic salt-starch agar (ISP 4)
(ค) แสดงผล (+) เกิดการย่อยสลายแป้งในอาหาร Inorganic salt-starch agar (ISP 4)

4. ความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, ซูโครส, แลคโตส, ไซโลส และ แมนนิทอล

รูปที่ 4(จ) แสดงผลทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, ซูโครส, แลคโตส, ไซโลส และ แมนนิทอล
(ก) ชุดควบคุม (ข) ไม่เกิดการหมักน้ำตาล (ค) เกิดการหมักน้ำตาลเล็กน้อย (ง) เกิดการหมักน้ำตาล

A (Acid) = เมื่อมีการหมักน้ำตาล อาหารเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง
K (Alkaline) = เมื่อไม่เกิดการหมักน้ำตาล
W (weakly) = เมื่อเกิดการหมักน้ำตาลเพียงเล็กน้อย อาหารเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีส้ม
+ = เกิดการสร้างแก๊ส
- = ไม่เกิดการสร้างแก๊ส

** ในกรณีที่สีของอาหารเปลี่ยนสีหรือมีสีเข้มกว่าหลอดควบคุมแสดงถึงผลการใช้สารอาหารอื่นเป็นแหล่งพลังงานแต่ไม่เกิดการหมักน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

ค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างดิน

1. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างดินนาเกลือที่ใช้ในการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท

ตารางที่ 1(ฉ) แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน 20 จุด จากโรงเรียนคนทำนาเกลือ ตำบลบางแก้ว จังหวัด สมุทรสงคราม

จุดที่	วัดครั้งที่ 1	วัดครั้งที่2	วัดครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
1	7.3	7.6	7.5	7.47
2	7.8	7.8	7.8	7.80
3	7.7	7.6	7.7	7.67
4	8.4	8.3	8.4	8.37
5	8.2	8.1	8.1	8.13
6	8.0	8.0	8.1	8.03
7	7.6	7.6	7.6	7.60
8	8.1	8.0	8.1	8.07
9	7.3	7.2	7.2	7.23
10	7.5	7.7	7.6	7.60
11	7.7	7.8	7.6	7.70
12	7.3	7.2	7.3	7.27
13	7.6	7.5	7.5	7.53
14	7.7	7.6	7.8	7.70
15	7.9	8.0	7.8	7.90
16	7.9	7.9	7.9	7.90
17	8.0	7.9	8.0	7.97
18	8.2	8.2	8.1	8.17
19	6.3	7.1	7.4	6.93
20	7.3	7.2	7.3	7.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล นางสาวพิชชาพร ครุฑธมงคล

E-mail preaw3740@gmail.com

ประวัติการศึกษา

2557 มัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์)
โรงเรียนนวมินทราชูทิศ มัชฌิม นครสวรรค์

2561 ปริญญาวิทศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อ-นามสกุล นางสาวพิมพ์ชนก กาไชย

E-mail pim240909@gmail.com

ประวัติการศึกษา

2557 มัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์)
โรงเรียนองค์การบริหารส่วนจังหวัดเพชรบูรณ์
(วังชมภูวิทยาคม)

2561 ปริญญาวิทศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อ-นามสกุล นางสาวสุภนิดา เอกทวีกูล

E-mail Suphanida.ek@gmail.com

ประวัติการศึกษา

2557 มัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์)
โรงเรียนศึกษานารีวิทยา กรุงเทพมหานคร

2561 ปริญญาวิทศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อ-นามสกุล นางสาวอารียา คำสี

E-mail Areeya215939@gmail.com

ประวัติการศึกษา

2557 มัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์)
โรงเรียนหนองแค “สรกิจพิทยา” สระบุรี

2561 ปริญญาวิทศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้