แอคติโนมัยสีทจากดินบริเวณต้นและดินรอบรากพืชสมุนไพร 7 ชนิด และฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ

ACTINOMYCETES FROM SOIL AND EPIPHYTIC ROOT'S SOIL OF 7 HERBAL PLANTS AND THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY

กุลิสรา รักษามั่นคง
ณัฐกุล เลาหไทยมงคล
ธนวรรณ คำยา

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACTINOMYCETES FROM SOIL AND EPIPHYTIC ROOT'S SOIL OF 7 HERBAL PLANTS AND THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY

KULISSARA RUKSAMUNKONG
NUTTAKUL LAOHATHAIMONGKOL
THANAWAN KHAMYA

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	แอคติโนมัยสีทจากดินบริเวณต้นและดินรอบรากพืชสมุนไพร 7 ชนิด และฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ Actinomycetes from soil and epiphytic root's soil of 7 herbal plants and thier antimicrobial activity
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกุลิสรา รักษามั่นคง รหัสนักศึกษา 58050714 นางสาวณัฐกุล เลาหไทยมงคล รหัสนักศึกษา 58050745 นางสาวธนวรรณ คำยา รหัสนักศึกษา 58050763
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.จิตติ ท่าไว กรรมการ	
ดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ แอคติโนมัยสีทจากดินบริเวณต้นและดินรอบรากพืชสมุนไพร 7 ชนิด และฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ

ชื่อนักศึกษา นางสาวกุลิสรา รักษามั่นคง รหัสนักศึกษา 58050714
นางสาวณัฐกุล เลาหไทยมงคล รหัสนักศึกษา 58050745
นางสาวธนวรรณ คำยา รหัสนักศึกษา 58050763

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินบริเวณรอบรากพืชสมุนไพร 7 ชนิด ได้แก่ ต้นกะเพราแดง ต้นชงโคขาว ต้นตะไคร้ ต้นไทรย้อย ต้นมะม่วง ต้นมะระขี้นก และโหระพา ซึ่งคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ทั้งหมดจำนวน 39 ไอโซเลท จากนั้นนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทดสอบทางชีวเคมี โดยทำการคัดเลือกทดสอบฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ โดยวิธีการ preliminary test เพื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Kocuria rhizophila* ATCC *9341*, *Pseudomonas oeruginoso* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีท 5 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ จากนั้นทำการเลี้ยงเชื้อแคติโนมัยสีท 5 ไอโซเลท บนอาหาร Yeast-extract Malt-extract (YEME) นำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามี 1 ไอโซเลท ได้แก่ OB302 จากสารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซิเตทที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341ได้

คำสำคัญ : แอคติโนมัยสีท, สมุนไพร, ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Actinomycetes from soil and epiphytic root's soil of 7 herbal plants and thier antimicrobial activity		
StudenFB	Miss Kulissara	Ruksamunkong	Student ID 58050714
	Miss Nuttakul	Laohathaimongkol	Student ID 58050745
	Miss Thanawan	Khamya	Student ID 58050763
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2561		
Advisor	Dr.Khanungkan Klunbut		

Abstract

This project were isolated from around root soil of 7 herbs such as Thai red holybasil, White orchid tree, Lemon grass, Fritus tree, Mango, Bitter gourd and Thai Basil. A total 39 actinomycetes strains were isolated then morphological and biochemical tests. Antimicrobial activity against tests microorganisms ; *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Pseudomonas oeruginasa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida albicans* ATCC 10231 found 5 isolates which have inhibition zone. Agar disc diffusion were performed on Yeast-extract Malt-extract (YEME) at concentration 50 mg/ml and 1 mg/ml and found that 1 isolated is OB302 from crude extraction in 50 mg/ml ethyacetate could inhibited Kocuria rhizophila ATCC 9341.

Keywords : : Actinomycete, Herbal, Antimicrobial activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความอนุเคราะห์จากหลายๆฝ่าย ทั้งด้านคำแนะนำ ความรู้ การให้หยิบยืมอุปกรณ์ในการทดลองต่างๆ และขาดไม่ได้ก็คือความกรุณา และความช่วยเหลือต่างๆจากดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษา ข้อคิดเห็นต่างๆตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่อง และได้สละเวลาตรวจทานพิจารณาโครงงานพิเศษฉบับนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้มอบความรู้ตลอดจนอบรมสั่งสอนให้คำปรึกษาแนะนำตลอดการศึกษา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตึกจุฬาภรณ์วลัยลักษณ์ อาคารพระจอมเกล้า และตึกวิทย์เก่า ตลอดจนเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกอุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สำนักงานหอสมุดกลาง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการค้นคว้าหาข้อมูล รวมทั้งยืม-คืนหนังสือภายในหอสมุดกลาง

ขอขอบคุณบิดา มารดา และสมาชิกภายในครอบครัว รวมถึงผู้อุปการะคุณทุกท่าน ที่อบรมสั่งสอน และสนับสนุนให้กำลังใจแก่คณะผู้ทำวิจัย รวมทั้งขอบคุณพี่ๆและเพื่อนๆทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจตลอดมา

ผู้วิจัยหวังว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่บุคลากรทางการศึกษา และผู้ที่สนใจจนเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่จะศึกษา และนำไปพัฒนาต่อไป

กุลิสรา รักษามั่นคง
ณัฐกุล เลาหไทยมงคล
ธนวรรณ คำยา

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 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขต 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 บทบาทและความสำคัญของจุลินทรีย์ในการเกษตร 3
2.1.1 จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญทั้งในแง่การเป็นประโยชน์และการเกิดโรค 3
2.1.2 จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนทรัพยากรให้ใช้ประโยชน์ได้ใหม่ในวัฏจักรของธาตุอาหาร 3
2.1.3 จุลินทรีย์หลายชนิดมีบทบาทในการสังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อน 3
2.2 จุลินทรีย์ที่มีบทบาทต่อความสมบูรณ์ของดิน 4
2.2.1 แบคทีเรีย (Bacteria) 4
2.2.2 เชื้อรา (Fungi) 4
2.2.3 แอคติโนมัยสีท 4
2.2.4 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue Green Algae หรือ Cyanobacteria) 4
2.3 แอคติโนมัยสีทที่มีบทบาทต่อความสมบูรณ์ของดิน 4
2.4 นิเวศวิทยาของแอคติโนมัยสีท 5
2.5 ลักษณะทั่วไปของแอคติโนมัยสีท 5
2.6 การจัดจำแนกแอคติโนมัยสีท 6
2.6.1 *Micrococcus, Microbacterium* และสกุลที่เกี่ยวข้อง 6
2.6.2 *Mycobacterium*, *Nocardia* และสกุลที่เกี่ยวข้อง 6
2.6.3 Family *Pseudonocardiaceae* และ สกุลที่เกี่ยวข้อง 6
2.6.4 Family *Micromonosporaceae* 7
2.6.5 Family *Thermomonosporaceae* 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6.6 Family *Streptosporangiacea* 7
2.6.7 Family *Streptomycetaceae* 7
2.6.8 สกุลอื่น ๆ 7
2.7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีท 8
2.7.1 การสร้างโคโลนีของแอคติโนมัยสีท 8
2.7.2 ลักษณะของโคโลนี 8
2.8 ลักษณะโดยทั่วไปของโคโลนีแอคติโนแบคทีเรีย 9
2.9 การสร้างสปอร์ 9
2.9.1 ลักษณะการเกิดสปอร์แบบต่าง ๆ (Sporulation types) 11
2.9.1.1 สปอร์ที่ถูกสร้างขึ้นเดี่ยว ๆ 11
2.9.1.2 สปอร์ที่สร้างต่อกันเป็นเส้นสาย 11
2.9.1.3 สปอร์ที่สร้างอยู่ภายในอับสปอร์ 12
2.9.1.4 โครงสร้างสืบพันธุ์ลักษณะอื่น ๆ 12
2.10 ก้านชูสปอร์และก้านชูอับสปอร์ (Sporophores และ Sporangiophores) 12
2.11 โครงสร้างที่สำคัญสำหรับการจัดจำแนกระดับสกุล 13
2.11.1 เส้นใย (mycelium) 13
2.11.2 โคนิเดีย (conidia) 14
2.11.2.1 โคนิเดียเดี่ยว (single conidia) 14
2.11.2.2 โคนิเดียคู่ (pairs of conidia) 14
2.11.2.3 โคนิเดียต่อกันเป็นโซ่สายสั้นๆ (short chain of conidia) 14
2.11.2.4 โคนิเดียต่อกันเป็นโซ่สายยาว (long chain of conidia) 14
2.11.3 อับสปอร์ (sporangium) 14
2.11.4 โครงสร้างอื่นๆ 14
2.12 วัฏจักรของเชื้อแอคติโนมัยสีท 14
2.13 อาหารสำหรับการเจริญของ *Streptomycetes* 15
2.14 ความสำคัญของเชื้อแอคติโนมัยสีท 16
2.15 การผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยสีท 16
2.16 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนสีท . 16
2.17 สมุนไพร 18
2.18 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากบริเวณรอบรากพืช สมุนไพร 23
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 26
3.1 เครื่องมือ 26
3.2 อุปกรณ์ 26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3 สารเคมี 27
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ 28
3.5 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 28
3.6 วิธีการดำเนินการวิจัย 29
3.6.1 การเก็บตัวอย่างดิน 29
3.6.2 การเพาะเลี้ยง การแยก และการเก็บรักษาเชื้อแอคติโนมัยสีท 29
3.6.3 การหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน 29
3.6.3.1 การหาน้ำหนักดิน 29
3.6.3.2 การหาปริมาณความชื้น 29
3.6.3.3 การวัดค่าความเป็นกรดด่าง 29
3.6.4 การแยกเชื้อและการเก็บรักษา 29
3.6.5 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อ 30
3.6.6 การตรวจสอบลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ 30
3.6.6.1 การย่อยสลายโปรตีนในนม Peptornization 30
3.6.6.2 การย่อยสลายเจลาติน 30
3.6.6.3 การย่อยสลายแป้ง 30
3.6.6.4 การตรวจสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, ซูโครส, ไซโลส, แลคโตส และแมนนิทอล 30
3.6.6.5 การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส 31
3.6.6.6 การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส 31
3.6.7 การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น 31
3.6.8 การทดสอบกิจกรรมต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดนใช้เทคนิค Agar disc diffusion 31
3.6.8.1 การเตรียมหัวเชื้อและการเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีท 31
3.6.8.2 การสกัดสารทุติยภูมิจากน้ำหมักเชื้อแอคติโนมัยสีท 32
3.6.8.3 การสกัดสารทุติยภูมิจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท 32
3.6.8.4 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 32
3.6.8.5 การเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบ 32
3.6.8.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยเทคนิค Agar disc diffusion 32
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 33
4.1 การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท 33
4.2 จุดเก็บตัวอย่างดิน 34
4.3 สมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท 37
4.4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีท 37
4.4.2 ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ จำนวนทั้งหมด 39 ไอโซเลทจากดินบริเวณรอบรากพืชสมุนไพร 7 ชนิด 81
4.4.3 ลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท 82
4.4.3.1 การย่อยสลายโปรตีนในนม Peptonization, การย่อยสลายเจลาติน, การย่อยสลายแป้ง, การสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลสและการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส 82
4.4.3.2 การศึกษาเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำตาล โดยใช้น้ำตาลทดสอบจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, แมนนิทอล, ไซโลส, ซูโครส และ แลคโตส 84
4.5 การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น 86
4.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion 89
4.6.1 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 89
4.6.2 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 89
4.6.3 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 89
4.6.4 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 90
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 93
เอกสารอ้างอิง 96
ภาคผนวก 104
ภาคผนวก ก 105
ภาคผนวก ข 108
ภาคผนวก ค 109
ภาคผนวก ง 110
ภาคผนวก จ 111
ภาคผนวก ฉ 113
ภาคผนวก ช 115
ประวัติผู้วิจัย 119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

ตารางที่ 4.1 หมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จำนวน 39 ไอโซเลท 33
ตารางที่ 4.2 สมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน 36
ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 39 ไอโซเลท เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The NBs-ISCC system) 76
ตารางที่ 4.4 แสดงความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนในนม Peptonization, การย่อยสลายเจลาติน, การย่อยสลายแป้ง, การสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส และการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส 82
ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการย่อยน้ำตาลของเชื้อแอคติโนมัยสีท โดยใช้น้ำตาลในการทดสอบจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, แมนนิทอล, ไซโลส, ซูโครส และแลคโตส 84
ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการยับยั้งฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีท 88
ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion 90
ตารางที่ 4.8 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion 90
ตารางที่ 4.9 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบในชั้นของเมทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion 91
ตารางที่ 4.10 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบในชั้นของเมทานอลความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion 91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปภาพที่ **หน้า**

2.1 ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง 8
2.2 ตัวอย่างของโคโลนีของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดิน 9
2.3 รูปร่างและลักษณะผิวสปอร์ชองแอคติโนมัยสีท 10
2.4 ก้านชูสปอร์ (sporophores) และก้านชูอับสปอร์ (sporangiophores) 13
2.5 วัฏจักรของเชื้อแอคติโนมัยสีท 15
2.6 ต้นกะเพราแดง 19
2.7 ต้นชงโคขาว 19
2.8 ต้นตะไคร้ 20
2.9 ต้นไทรย้อย 21
2.10 ต้นมะม่วง 21
2.11 ต้นมะระขี้นก 22
2.12 ต้นโหระพา 23
4.1 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากรากต้นตะไคร้ 34
4.2 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากรากต้นกะเพราแดง 34
4.3 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากรากต้นโหระพา 34
4.4 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากรากต้นมะระขี้นก 34
4.5 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากรากต้นชงโคขาว 35
4.6 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากรากต้นมะม่วง 35
4.7 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากรากต้นไทรย้อย 35
4.8 แสดงลักษณะโคโลนีชองเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP202 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 37
4.9 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 38
4.10 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI305 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 39
4.11 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB304 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 40
4.12 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB202 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 41
4.13 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 42
4.14 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB301 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปภาพที่ **หน้า**

4.15 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS102 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 44
4.16 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS105 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 45
4.17 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 46
4.18 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB106 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 47
4.19 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 48
4.20 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 49
4.21 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP102 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 50
4.22 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB103 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 51
4.23 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB303 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 52
4.24 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB307 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 53
4.25 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC202 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 54
4.26 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC204 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 55
4.27 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC304 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 56
4.28 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท CC205 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 57
4.29 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB107 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 58
4.30 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 59
4.31 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI301 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปภาพที่ **หน้า**

4.32 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท CC203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 61
4.33 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB104 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 62
4.34 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI304 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 63
4.35 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB303 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 64
4.36 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP103 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 65
4.37 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 66
4.38 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 67
4.39 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 68
4.40 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI303 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 69
4.41 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 70
4.42 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 71
4.43 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC305 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 72
4.44 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท CC201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 73
4.45 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB301 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 74
4.46 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) 75
4.47 แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทจำนวนทั้งหมด 39 ไอโซเลท 81
4.48 เชื้อแอคติโนมัยสีท 5 ไอโซเลทที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ได้ 87
4.49 การทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc Diffusion 91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เชื้อแอคติโนมัยสีทบางชนิดนั้นสามารถนำไปผลิตเป็นยาปฏิชีวนะได้ จึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งในการศึกษาเชื้อแอคติโนมัยสีทจากแหล่งต่างๆ เพื่อนำมาต่อยอดในการพัฒนาด้านการรักษาโรคไม่ว่าจะเป็นคนหรือพืชก็ตาม สมุนไพรไทยที่รู้จักนั้นมีสรรพคุณในการรักษาโรคมากมายไม่ว่าจะเป็นแก้ขับลม อาหารเป็นพิษ ท้องอืด เบาหวาน สมานแผล เป็นต้น ดวยเหตุนี้การวิจัยในครั้งนี้จึงมุงเนนที่จะนำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของดินรอบรากต้นสมุนไพร รวมทั้งการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดินด้วย

จุลินทรีย์ สามารถพบได้โดยทั่วไปในธรรมชาติทั้งในดิน น้ำ และบริเวณรอบรากพืช โดยเฉพาะดินที่ทำการเกษตรในระบบเกษตรอินทรีย์ที่ไม่มีการปนเปื้อนจากปุ๋ยเคมีและสารกำจัดศัตรูพืช น่าจะมีความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์ และทำให้ระบบนิเวศมีความสมดุล ซึ่งจุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์ดังกล่าวมีศักยภาพในการช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ในด้านต่างๆ ให้แก่ดิน ซึ่งเชื้อในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกแบคทีเรียกินซาก (saprophyte) ที่มีความสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์สาร โดยจะสามารถย่อยสลายเคอราติน ไคติน เซลลูโลส และแป้ง และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญที่ผลิตสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อรา เป็นสารต่อต้านมะเร็ง สารกดระบบภูมิคุ้มกัน สารฆ่าแมลง และสารปราบวัชพืช เป็นต้น (Goodfellow *et al.*, 1988)

แบคทีเรียที่มีความสำคัญต่อระบบนิเวศซึ่งทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายในระบบนั้นสำคัญเป็นอย่างยิ่งที่ทำให้ระบบนิเวศเกิดความสมดุลคือ แอคติโนมัยสีท (actinomycetes) ซึ่งแอคติโนมัยสีทพบมากบริเวณผิวหน้าดินเนื่องจากต้องการออกซิเจนในการเจริญ โดยทั่วไปพบแอคติโนมัยสีทประมาณ 100,000 - 1,000,000 เซลล์ต่อดินหนึ่งกรัม เจริญได้ดีในดินที่เป็นด่าง แหล่งธรรมชาติอื่นที่พบแอคติโนมัยสีท เช่น แหล่งน้ำต่างๆ ดินโคลน ดินใต้น้ำ และยังสามารถพบได้ในพืช รากพืช ดินรอบรากพืช และอากาศ เป็นต้น การดำรงชีวิตของแอคติโนมัยสีทส่วนมากเป็นแซโพรไฟท์ แต่บางชนิดเป็นปรสิตทำให้เกิดโรคกับมนุษย์พืชและสัตว์อื่นๆ (Martin, 1961)

แอคติโนมัยสีท (actinomycetes) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกพบมากในดิน เจริญเป็นเส้นใย (hypha) และสร้างสปอร์คล้ายเชื้อรา เจริญดีเมื่อมีออกซิเจน ดำรงชีพเป็นผู้ย่อยสลายของระบบนิเวศเพื่อเกิดความสมดุล แพร่กระจายมากบริเวณแหล่งอินทรีย์วัตถุอันมีสิ่งได้จากการย่อยสลายของสารอินทรีย์ แหล่งน้ำ ธรรมชาติ และดิน โดยเฉพาะรอบรากพืชและตะกอน (งามนิจ, 2547) บางสายพันธุ์เป็นจุลชีพเกิดโรคของคน สัตว์ และพืช บางสายพันธุ์ผลิตสารชีวภาพอันเป็นประโยชน์ เปนตนสารปฏิชีวนะสวนใหญประมาณรอยละ 70 ผลิตโดยแอคติโนมัยสีทวงศ *Streptomyces* แอคติโนมัยสีทยังสามารถผลิตเอนไซมหลายชนิดไดแก เซลลูเลส อะไมเลส ไลเปส ไคติเนส และสารสี (นฤมล, 2547)

ในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้จะทำการมุ่งเน้นไปที่การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินรอบรากต้นสมุนไพร (ต้นกะเพราแดง, ต้นขงโค, ต้นตะไคร้, ต้นไทรย้อย, ต้นมะม่วง, ต้นมะระขี้นก และต้นโหระพา) และดินบริเวณรอบรากพืชสมุนไพร เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้ด้วยวิธี agar disc diffusion

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินรอบรากต้นสมุนไพร ได้แก่ ต้นกะเพราแดง, ต้นชงโค, ต้นตะไคร้, ต้นไทรย้อย, ต้นมะม่วง, ต้นมะระขี้นก และต้นโหระพา และกำหนดหมายเลขไอโซเลท

2) เพื่อทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาจากเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินบริเวณรอบรากต้นสมุนไพรที่แยกได้จากไอโซเลทต่างๆ และการทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีท

3) เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารทุติยภูมิจากเชื้อแอคติโนมัยสีทและทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์โดยใช้วิธี agar disc diffusion

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ดำเนินการเก็บตัวอย่างดินจากธรรมชาติบริเวณรอบรากของต้นสมุนไพรนำมาคัดแยกเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยสีทเพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ โดยทำการคัดแยกเชื้อในอาหาร Zhang'starch Soil Extract agar (ZSSE) จากนั้นเลี้ยงเชื้อที่บริสุทธิ์ในหลอดอาหารเอียง Yeast extract - Malt extract agar (ISP 2) ที่ไม่ใส่ยาปฏิชีวนะ นำเชื้อที่ได้กำหนดหมายเลขไอโซเลท ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาจากเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากไอโซเลทต่างๆ จากนั้นนำเชื้อที่ได้ไปทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินรอบรากสมุนไพร ได้แก่ ต้นกะเพราแดง, ต้นชงโค, ต้นตะไคร้, ต้นไทรย้อย, ต้นมะม่วง, ต้นมะระขี้นก และต้นโหระพา

2) สามารถทราบถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากพืชสมุนไพรสามชนิดได้แก่ ต้นกะเพราแดง, ต้นชงโค, ต้นตะไคร้, ต้นไทรย้อย, ต้นมะม่วง, ต้นมะระขี้นก และต้นโหระพา

3) สามารถทำการสกัดสารทุติยภูมิจากเชื้อแอคติโนมัยสีทและทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทบาทและความสำคัญของจุลินทรีย์ในการเกษตร

จุลินทรีย์มีหลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา แอคติโนมัยสีท สาหร่าย โปรโตซัว ไมโครพลาสมาโรติเฟอร์ และไวรัส เป็นต้น บทบาทและความสำคัญของจุลินทรีย์มีอยู่มากมายดังนี้

2.1.1 จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญทั้งในแง่การเป็นประโยชน์และการเกิดโรค จุลินทรีย์หลายชนิดอาจเป็นสาเหตุของโรคพืชและสัตว์ ทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิตทางการเกษตร แต่ในสภาพธรรมชาติจุลินทรีย์ที่มีอยู่อย่างหลากหลายจะมีการควบคุมกันเองในวัฏจักรของสิ่งมีชีวิต มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่ทำหน้าที่ป้องกัน กำจัด และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นรวมทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืช

2.1.2 จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนทรัพยากรให้ใช้ประโยชน์ได้ใหม่ในวัฏจักรของธาตุอาหาร โดยจุลินทรีย์ทำหน้าที่ย่อยสลายวัสดุสารอินทรีย์ต่างๆ (Organic Decomposition) ให้เป็นธาตุอาหาร เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารกลับมาใช้ใหม่ของสารอินทรีย์วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร หรือเศษเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทางการเกษตร ให้กลับอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช โดยกระบวนการย่อยสลายหรือสังเคราะห์สารชนิดอื่นๆ ขึ้นมาใหม่ในธรรมชาติ เช่น การย่อยสลายเศษซากพืชซากสัตว์ในดินให้อยู่ในรูปฮิวมัส เปลี่ยนจากรูปสารอินทรีย์ไปเป็นสารอนินทรีย์ (Mineralization) เพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืชได้แก่ กระบวนการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen Fixation) โดยจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถสร้างอาหารเองได้โดยใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์ เช่น แหนแดง และจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศ และสร้างความอุดมสมบูรณ์ให้กับดินได้ เช่น เชื้อไรโซเบียม

2.1.3 จุลินทรีย์หลายชนิดมีบทบาทในการสังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อน เช่น จุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างกรดอนินทรีย์ที่สามารถละลายแร่ธาตุอาหารพืชในดินให้เป็นประโยชน์ต่อพืช บางชนิดสร้างสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชหรือฮอร์โมน ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และยังสามารถผลิตสารต่างๆ รวมถึงสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ และกรดแลคติค เช่น แบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างสารพวก Gramicidine และ Tyrotidine เชื้อราบางชนิด สามารถสร้างสารพวก Pennicilin และ Gliotoxin เชื้อแอคติโนมัยสีทบางชนิดสามารถสร้างสาร Actinomycin และ Aureomycin ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะสามารถใช้ในการยับยั้งเชื้อโรคต่างๆ และยังช่วยสนับสนุนปฏิกิริยาทางเคมีในดินให้เกิดขึ้นเป็นปกติได้ โดยถ้าปราศจากเอนไซม์ปฏิกิริยาทางเคมีที่ซับซ้อนในดินก็จะไม่สามารถเกิดขึ้นได้ภายในระยะเวลาอันสั้น (ธานีชิตี้, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 จุลินทรีย์ที่มีบทบาทต่อความสมบูรณ์ของดิน

จุลินทรีย์มีหลายชนิดได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา แอคติโนมัยสีท และสาหร่าย แต่ละชนิดจะมีบทบาทและกิจกรรมต่อความอุดมสมบูรณ์ ได้แก่

2.2.1 แบคทีเรีย (Bacteria) เป็นจุลินทรีย์ขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา โปรโตซัว และ สาหร่าย มีรูปร่างแบบง่ายๆ 3 รูปร่างคือ กลม (Cocci) ท่อน (Rod) เกลียว (Spiral) ไม่มีรงควัตถุภายในเซลล์ คือ เซลล์มักจะใส มีทั้งเคลื่อนที่ได้และไม่เคลื่อนที่

2.2.2 เชื้อรา (Fungi)

2.1 ยีสต์ เป็นเชื้อราซึ่งมีลักษณะแปลกตรงที่มีการดำรงชีวิตอยู่ในสภาพเซลล์เดียว (Unicellular) แทนที่จะเจริญเป็นเส้นใยเหมือนเชื้อราอื่นๆ จริงอยู่ที่แม้ยีสต์บางชนิดมีการสร้างเส้นใยบ้าง แต่ก็ไม่เด่นเช่นเชื้อรา ปกติยีสต์จะมีการเพิ่มจำนวนและแบ่งเซลล์โดยการแตกหน่อ (Budding) ซึ่งเซลล์ยีสต์จะใหญ่กว่าแบคทีเรียและมีนิวเคลียสที่เห็นได้ชัดเจน นอกจากนี้ในเซลล์ยีสต์มักจะสังเกตเห็นแวคิวโอล (Vacuole) ขนาดใหญ่ พร้อมทั้งเม็ดสาร (Granule) ต่างๆ ในไซโตพลาสซึม (Cytoplasm) เสมอ

2.2 ราเส้นใย เป็นจุลินทรีย์ที่มีการพัฒนามาดำรงชีวิตอยู่ในสภาพหลายเซลล์ (Multicellular) โดยส่วนใหญ่จะมีลักษณะการเจริญเป็นเส้นใย (Hyphae) ซึ่งอาจมีผนังกั้น (Septate Hypha) หรือไม่มีผนังกั้น (Non Septate Hypha หรือ Coenocytic Hypha) เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่มีความหลากหลาย มีความแตกต่างกันมากในคน ขนาดรูปร่างของโครงสร้างและระบบการสืบพันธุ์ โดยทั่วไปเชื้อรามีการสืบพันธุ์ด้วยการสร้างสปอร์ ซึ่งมีทั้งสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual Spares) และสปอร์แบบอาศัยเพศ (Sexual Spores)

2.2.3 แอคติโนมัยสีท (Actinomycetes) เป็นจุลินทรีย์จำพวกเซลล์เดียวที่มีลักษณะคล้ายคลึงทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา โดยมีขนาดเล็กคล้ายแบคทีเรีย แต่มีการเจริญเป็นเส้นใยและสร้างสปอร์คล้ายเชื้อรา มีเส้นใยที่ยาวเรียวและอาจจะแตกสาขาออกไปเส้นใยเรียกว่า Hyphae หรือ Filaments

2.2.4 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue Green Algae หรือ Cyanobacteria) แตกต่างจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นตรงที่มีคลอโรฟิลล์มักเห็นเซลล์เป็นสีเขียว เซลล์เป็น Procaryote ซึ่งเหมือนกับแบคทีเรีย และมีสาร Mucopeptide เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เช่นเดียวกับแบคทีเรีย สาหร่ายพวกนี้ไม่มีคลอโรพลาสต์ ดังนั้นคลอโรฟิลล์จึงกระจายอยู่ทั่วไปในเซลล์

2.3 แอคติโนมัยสีทที่มีบทบาทต่อความสมบูรณ์ของดิน

สำหรับแบคทีเรียที่มีความสำคัญในระบบนิเวศซึ่งทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายในระบบนิเวศมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งที่ทำให้ระบบนิเวศเกิดความสมดุลคือ แอคติโนแบคทีเรีย (actinobacteria)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือแอคติโนมัยสีท (actinomycetes) ซึ่งแอคติโนมัยสีทแพร่กระจายเป็นจำนวนมาก ในแหล่งที่มีการเน่าเปื่อยของอินทรีย์วัตถุตลอดจนในสิ่งขับถ่ายจากสัตว์ พบมากบริเวณผิวหน้าดินเพราะต้องการออกซิเจนในการเจริญโดยทั่วไปพบแอคติโนมัยสีทประมาณ 100,000 - 1,000,000 เซลล์ต่อดินหนึ่งกรัม เจริญได้ดีในดินที่เป็นด่าง แหล่งธรรมชาติอื่นที่พบแอคติโนมัยสีทเช่น แหล่งน้ำต่างๆ ดินโคลน ดินใต้น้ำ ดินที่อยู่ลึกลงไปใต้ผิวโลก ดินบริเวณเทือกเขา และยังสามารถพบได้ในพืช รากพืช ดินรอบรากพืช และอากาศ เป็นต้น การดำรงชีวิตของแอคติโนมัยสีทส่วนมากเป็นแซโพรไฟท์ แต่บางชนิดเป็นปรสิตทำให้เกิดโรคกับมนุษย์พืชและสัตว์อื่นๆ (Martin, 1961)

ประโยชน์ของแอคติโนมัยสีทที่รู้จักกันดีคือ สามารถผลิตสารเมแทบอไลต์เช่น สารปฏิชีวนะ และ เอนไซม์ได้ จากข้อมูลล่าสุดพบว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่สร้างมาจากแอคติโนมัยสีท (45%) โดยจุลินทรีย์ กลุ่มแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดในสกุล *Streptomyces* ซึ่งผลิตสารปฏิชีวนะ ได้ 70% (ประมาณ 8,000 ชนิด) ของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากแอคติโนมัยสีททั้งหมด (McCarthy and Williams, 1990) เอนไซม์ที่แอคติโนมัยสีทสามารถผลิตได้มีหลายชนิดได้แก่ xylanase, cellulose, amylase และ chitinase เป็นต้น และยังมีสารสีที่แอคติโนมัยสีทสามารถผลิตได้ เพื่อเป็นการใช้ประโยชน์ของแอคติโนมัยสีทอย่างสูงสุด

2.4 นิเวศวิทยาของแอคติโนมัยสีท

สภาพดินที่พบแอคติโนแบคทีเรียเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันคือ นอกจากจะพบในดินที่เป็นสภาพธรรมชาติแล้วยังจะพบในกองปุ๋ยหมักที่มีอุณหภูมิสูงมากๆ ในโคลน แม่น้ำ ใต้ทะเลสาบ แต่โดยปกติมักจะเจริญอยู่ผิวดินหรือในดินที่ไม่ลึกไปกว่า 4 เซนติเมตร พบว่าในดินทั่วไปมีจำนวนใกล้เคียงกับแบคทีเรีย แต่ถ้าในดินที่มีสภาพที่เป็นด่างจะพบแอคติโนแบคทีเรียในจำนวนมากกว่า เช่น ดินที่มี pH 6.5-8 จะมีจำนวนสูงถึง 95% ของจุลินทรีย์ในดินทั้งหมด แต่ในดินมี pH เป็นด่างทั่วๆ ไปจะพบประมาณ 10-70% ของจุลินทรีย์ในดินทั้งหมด สภาพที่เหมาะแก่การเจริญของแอคติโนแบคทีเรียได้แก่ บริเวณทุ่งหญ้าธรรมชาติ ทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ แต่ในดินที่ทำการเกษตรจะพบน้อยและจะไม่ค่อยพบในดินที่ค่อนข้างเป็นกรด

การทนความแห้งแล้ง เนื่องจากความสามารถในการทนความแห้งแล้งได้ดี จึงพบแอคติโนแบคทีเรียในดินเขตร้อนมากกว่าเขตอบอุ่น โดยสภาพดินแห้งจะมีจำนวนมาก

การทนความร้อน โดยทั่วไปสปอร์ของแอคติโนแบคทีเรียทนความร้อนได้สูงกว่าเซลล์ปกติเพียงเล็กน้อยเท่านั้น พบว่าสปอร์ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ความสามารถในการแข่งขันจากลักษณะการเจริญที่ช้ากว่าแบคทีเรียและเชื้อรา ทำให้ไม่สามารถที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นได้ในสภาพธรรมชาติ แต่แอคติโนแบคทีเรียมีความสามารถพิเศษในการย่อยสลายสารประกอบที่แบคทีเรียและเชื้อราไม่สามารถย่อยสลายได้ จึงพบแอคติโนแบคทีเรียมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นหลังจากที่จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มีจำนวนลดลงแล้วสภาพที่เหมาะสมกับแอคติโนแบคทีเรียคือสภาพที่ไม่มีจุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญได้ เช่น ดินที่ค่อนข้างเป็นด่าง แห้งแล้ง และอุณหภูมิสูง เป็นต้น (งามนิจ, 2547)

2.5 ลักษณะทั่วไปของแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทจัดอยู่ใน Order *Actinomycetales* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่พบมากในดิน มีลักษณะเป็นเส้นสาย มีลักษณะร่วมระหว่างเชื้อราและแบคทีเรีย แต่เดิมเคยถูกจัดจำแนกว่าเป็นเชื้อราเนื่องจากมีโครงสร้างที่คล้ายรา คือมีการสร้างไมซีเลียม (mycelium) ที่ประกอบด้วยไฮฟา

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(hypha) แตกกิ่งก้าน แต่ไฮฟาเดี่ยวๆ ของแอคติโนมัยสีทมีขนาดเล็กกว่าของเชื้อรา คือมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร ในขณะที่ไฮฟาของรามีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-10 ไมโครเมตร และยังสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า โคนิดิโอสปอร์ (conidiospore) หรือโคนิเดีย (conidia) ซึ่งทำให้โคโลนีของแอคติโนมัยสีทมีลักษณะเป็นฝุ่นหรือคล้ายผงชอล์ค โดยแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่จะมีการสร้างเส้นใยแตกแขนงเป็นกิ่งก้าน สามารถสร้างได้ทั้งเส้นในใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) และสร้างเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) หรืออาจพบเฉพาะเส้นใยใต้ผิวอาหาร โคโลนีของแอคติโนมัยสีทจะมีลักษณะแตกต่างจากโคโลนีของแบคทีเรียอื่นๆ คือมีลักษณะทึบแสง เส้นใยเหนือผิวอาหารแห้ง และมีลักษณะเป็นผงเมื่อมองด้วยตาเปล่าและสามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจน หรือผิวโคโลนีอาจเรียบคล้ายหนังสัตว์ หรือเป็นรอยย่นเป็นเส้นในสั้นๆ สังเกตด้วยตาเปล่าคล้ายกำมะหยี่ สามารถสร้างรงควัตถุสีต่าง ๆ เช่น สีขาว เทา เขียว เหลือง ส้ม แดง น้ำตาล ชมพู และดำ เป็นต้น (Goodfellow and Williams, 1983)

2.6 การจัดจำแนกแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีท สามารถแบ่งออกได้เป็น 8 กลุ่ม ตาม Bergey's Manual of Determinative Bacteriology โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ โดยแบ่งเป็น 8กลุ่ม *Nocardioforms*, *Multilocularsporangia*, *Actinoplanetes*, *Streptomycetes*, *Moduromycete*, *Thermomanospora*, *Thermoactinomycetes* และสกุลที่เกี่ยวข้อง

แต่ต่อมาในปี ค.ศ. 1997 ได้มีการจัดกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยสีทขึ้นใหม่ โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและองค์ประกอบของผนังเซลล์ ตามวิธีการของ The Atlas of Actinomycetes ซึ่งสามารถแบ่งเชื้อแอคติโนมัยสีทออกเป็น 8 กลุ่ม ดังนี้ (Shinji, 1997)

2.6.1 *Micrococcus, Microbacterium* และสกุลที่เกี่ยวข้อง

เชื้อแอคติโนมัยสีทกลุ่มนี้จัดเป็นเชื้อนี้มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม บางสปีชีส์ (species) นั้นเป็นเชื้อก่อโรคที่พบในคน สัตว์และพืช เชื้อกลุ่มนี้ไม่สามารถสร้างสปอร์ในรูปกลมและรูปแท่งได้ เป็นพวก aerobic สามารถใช้ลักษณะของ DAP บนผนังเซลล์ในการจำแนกได้ เชื้อกลุ่ม นี้มีทั้งหมด 8 สกุลคือ *Arthrobacter*, *Pramicromonospora*, *Oerskovia*, *Dermatophilus*,*Aureobacterium*, *Curtabacterium*, *Argomyces* และ *Nocordoides*

2.6.2 *Mycobacterium, Nocardia* และสกุลที่เกี่ยวข้อง

เชื้อในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 8 สกุลคือ *Mycobacterium*, *Nocardio*, *Gordona*, *Dielzia*, *Rhodococcus*, *Tsukamurella* และ *Turicella* โดยเชื้อในกลุ่มนี้จะมีโครงสร้างของผนังเซลล์ที่ซับซ้อน และลักษณะผนังเซลล์ของเชื้อกลุ่มนี้จะพบ *meso*-A_2pm บน peptidoglycan และพบ mycolic acid และ arabi-galactan ซึ่งเป็นลักษณะหนึ่งที่ใช้สำหรับการจัดจำแนกเชื้อกลุ่มนี้ได้

2.6.3 Family *Pseudonocardiaceae* และ สกุลที่เกี่ยวข้อง

เชื้อในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 6 สกุลคือ *Saccharopolyspora*, *Actinopolyspora*, *Amycolatopsis*, *Kibdelosporangium*, *Pseudonocardio* และ *Saccharomonospora* ซึ่งเชื้อในกลุ่มนี้จะมี DAP บนผนังเซลล์เป็นแบบ *meso*-A_2pm จะมีน้ำตาลในเซลล์เป็นอะราบิโนสและกาแลคโทส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4 Family *Micromonosporaceae*

เชื้อในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 3 สกุลคือ *Actinoplanes*, *Dactylosporangium* และ *Pilimelia* ซึ่งลักษณะสำคัญของเชื้อในกลุ่มนี้คือ สามารถสร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ โดยสปอร์จะอยู่ภายใน sporangium หรือ spore vesicle ที่พบบน substrate mycelium ผนังเซลล์เป็นแบบ glycolyl type พบน้ำตาลไซโลสและกรดอะมิโน L-lysine หรือ *meso*-A_2pm บนผนังเซลล์

2.6.5 Family *Thermomonosporaceae*

เชื้อในกลุ่มนี้จะมีเชื้อทั้งหมด 4 สกุล คือ *Thermomonosporo*, *Actinomadura*, *Spirillospora* และ *Actinocorollia* ซึ่งในผนังเซลล์ของสกุล *Thermomonospora* จะพบกรดอะมิโนแบบ *meso*-A_2pm แต่จะไม่พบน้ำตาลไซโลส อะราบิโนส และกาแลคโทส และจัดเป็นประเภทที่ชอบความร้อน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ที่ 45-55 องศาเซลเซียส

2.6.6 Family *Streptosporangiacea*

เชื้อในกลุ่มนี้จะมีเชื้อทั้งหมด 6 สกุล คือ *Microbisporo*, *Microtetrasporo* *Planobispora*, *Plonomonospora*, *Herbidospora* และมี *Streptosporongium* เป็นสกุลหลัก (type genus) ซึ่งลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกคือลักษณะของการสร้างหรือไม่สร้าง sporangia รวมถึงจำนวนสปอร์ที่พบบน sporophore และ sporangia โดยผนังเซลล์ของเชื้อในกลุ่มนี้จะพบ DAP แบบ *meso*-A_2pm จะพบน้ำตาลมาดูโรสซึ่งเป็นน้ำตาลที่พบได้ในเชื้อสกุล *Actinomadura* โดยเชื้อสกุลนี้จะไม่ได้จัดอยู่ใน Family *Streptosporongiaceae* จากการศึกษาลำดับเบสบริเวณ 16S rDNA ร่วมกับการศึกษา lipid composition ทำให้สามารถแยกเชื้อกลุ่มนี้ออกจากสกุล *Actinomadura* ได้

2.6.7 Family *Streptomycetaceae*

เชื้อสกุล *Streptomyces* นั้นถูกจัดอยู่ใน Family *Streptomycetaceae* โดยเชื้อสกุลนี้จะเป็นกลุ่มที่มีการกระจายตัวในสิ่งแวดล้อม เช่น ทะเล แม่น้ำ อากาศ และจะพบมากที่สุดในดิน โดยเชื้อบางสายพันธุ์เป็นเชื้อก่อโรคในคน สัตว์ และพืช ซึ่งในสกุลนี้จะพบลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และลักษณะทางชีวเคมี (biochemical characteristic) ที่มีความหลากหลาย และต่อมาได้พบเชื้ออีก 6 สกุล ได้แก่ *Kitasatoa*, *Chainia*, *Microellobosporia*, *Elyrosporangium*, *Actinosporangium* และ *Actinopycnidium* ซึ่งได้ให้อยู่จัดอยู่ในสกุลของ *Streptomyces* โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะโครงสร้างที่คล้ายกับ sporangium, sclerotia และ pyenidia เป็นต้น ลักษณะของ aerial mycelium นั้นจะพบสปอร์ที่ต่อกันเป็นสายยาวจะมีเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้นที่จะพบสปอร์สายสั้น และจะไม่พบการแตกหักของ substrate mycelium ลักษณะการเกิดสปอร์ (sporulation) ลักษณะของสายโซ่สปอร์และพื้นผิวของสปอร์นั้นสามารถนำมาใช้ในการจัดกลุ่ม และจัดจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อในกลุ่มนี้ได้

2.6.8 สกุลอื่น ๆ

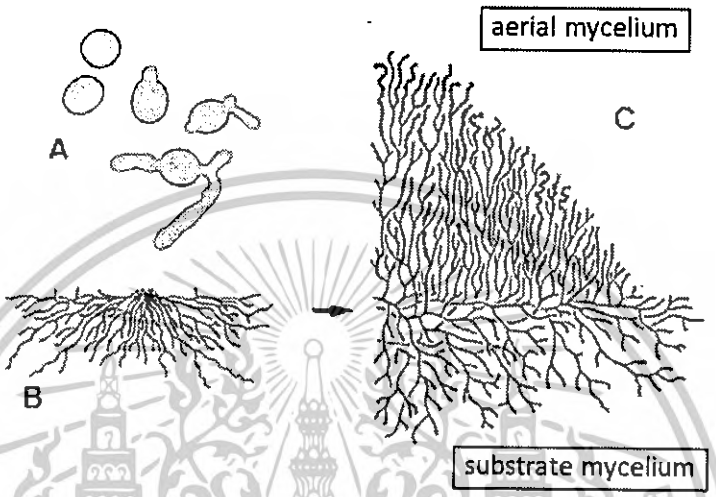
เชื้อในกลุ่มนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเคมีอนุกรมวิธานที่หลากหลาย เช่น เชื้อสกุล *Actinobispora* มีผนังเซลล์ประกอบด้วยกรดอะมิโนแบบ *meso*-A_2pm จะพบน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโทส และไซโลส ในสกุล *Actinocorallio* ประกอบไปกรดอะมิโนแบบ *meso*-A_2pm แต่จะไม่พบน้ำตาลที่จำเพาะบนผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังพบเชื้อสกุลอื่นๆ เช่น *Geodermotophilus*, *Nocardiopsis*, *Kineosporia*, *Spirillospora*, *Sporichtha*, *Actinocorallia*, *Actinobispora*, *Glycomyces* และ *Frankia*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีท

2.7.1 การสร้างโคโลนีของแอคติโนมัยสีท

โคโลนีของแอคติโนมัยสีทแบคทีเรียเกิดจากการรวมกันของเส้นใย ซึ่งเป็นกลุ่มเส้นใยที่มีความหนาแน่น การสร้างโคโลนีบนอาหารแข็ง โดยเริ่มจากการลงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งอาจเป็นสปอร์เดี่ยวอับสปอร์ส่วนของเส้นใยที่หัก หรือจากบางส่วนของโคโลนีเดิม (กิ่งจันทน์, 2555)



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง
A : อับสปอร์มีการพัฒนาเป็นเส้นใย
B : สายใยอาหารเจริญแทงผ่านลงไปในอาหาร (substrate mycelium)
C : เส้นใยเจริญเหนืออาหารและมีการสร้างสปอร์ (aerial mycelium)
ที่มา: (Shinji, 1997 และ กิ่งจันทร์, 2555)

2.7.2 ลักษณะของโคโลนี

โคโลนีของแอคติโนมัยสีทเกิดจากการรวมกันของกลุ่มเส้นใยที่มีความหนาแน่น โดยการเจริญของโคโลนีเริ่มจากการที่หัวเชื้อเจริญในปริมาณที่พอเหมาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หัวเชื้ออาจมาจากสปอร์เดี่ยวอับสปอร์ ส่วนที่แตกหักของเส้นใยหรือจากส่วนของโคโลนีที่มีอายุมาก และจะมีการพัฒนาเป็นสายใยอาหารเมื่อสายใยอาหารเจริญเต็มที่ในแนวตั้งจะมีการแทงผ่านอาหารขึ้นมาเป็นสายใยอากาศและจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนี โดยโคโลนีของแอคติโนมัยสีทอาจมีลักษณะฟู (Raised) หรือเรียบแบน (Flat) บางครั้งอาจปกคลุมด้วยขั้นมีลักษณะคล้ายหนัง (Leather) ลักษณะอาจมีตั้งแต่นุ่มมากเหนียวจนถึงแข็งมาก สีของโคโลนี พื้นผิวของโคโลนีอาจมีลักษณะเรียบ (Smooth) นูน (Ridged) ขรุขระ (Rough) เป็นรอยย่น (Wrinkled) เป็นเม็ดเล็ก (Granular) เป็นผง (Powder) หรือเป็นเกล็ด (Squamous) โดยขนาดของโคโลนีขึ้นอยู่กับสปีชีส์ อายุ และสภาวะในการเจริญเติบโต เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี ความแตกต่างตั้งแต่หน่วยมิลลิเมตรจนถึงเซนติเมตร (จามจุรี และคณะ, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 ลักษณะโดยทั่วไปของโคโลนีแอคติโนแบคทีเรีย (กิ่งจันทน์, 2555)

1. ลักษณะของโคโลนี (configuration) รูปร่างของโคโลนีบนจานอาหารอาจมีรูปร่างทรงกลม (round) รูปร่างที่ไม่แน่นนอนและเจริญลามไปบนจานอาหาร (irregular and spreading) หรืออาจมีการเจริญเป็นเส้นลักษณะคล้ายรากไม้ (rhizoid) เป็นต้น

2. ขนาด (size) โคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์จะมีขนาดตั้งแต่เล็กเท่าปลายเข็มหมุดจนไปถึงเส้นผ่าศูนย์กลางความยาวมิลลิเมตร

3. การยกตัวของโคโลนี (elevation) จากจานพื้นอาหารโคโลนีที่เจริญบนอาหารอาจแบนราบหรือนูน จึงทำให้โคโลนีที่ยกตัวมีหลากหลายรูปแบบ

4. ขอบของโคโลนีจุลินทรีย์ (margin) อาจมีทั้งขอบเรียบและขอบไม่เรียบ

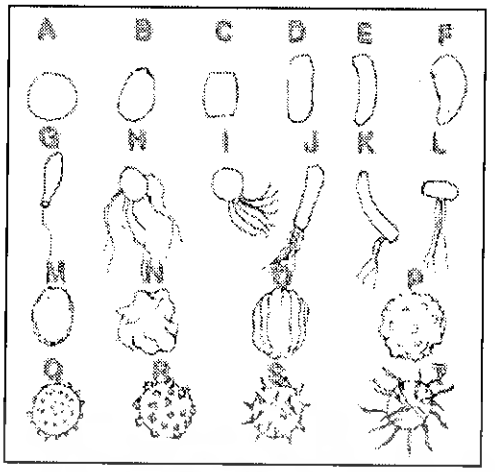
รูปที่ 2.2 ตัวอย่างของโคโลนีของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดิน
ที่มา: Mahidol University and Osaka University collaborative Research Center for Bioscience and Biotechnology

2.9 การสร้างสปอร์ของแอคติโนมัยสีท

นอกจากการเจริญของเส้นใยแล้วการสร้างสปอร์ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญทางสัณฐานวิทยาที่ทำให้สามารถจำลักษณะของแอคติโนมัยสีทได้สมัยก่อนนั้นหลายคนอาจคิดว่าการสร้างสปอร์นั้นจำกัดอยู่เพียงแอคติโนมัยสีทในกลุ่ม *Sporoactinomycetes* เท่านั้น ในขณะที่กระบวนการสร้างสปอร์นั้นเกิดขึ้นในส่วนของเส้นใย ทั้งนี้ไม่รวมถึงกรณีของ nocardioform actinomycetes ที่มีการแตกหักของเส้นใยไปเป็นชิ้นส่วนเล็กๆ รูปร่างกลมบ้าง เป็นแท่งบ้าง และในที่สุดก็มีการเจริญไปเป็นเส้นใยอันใหม่ นอกจากนี้ยังมีหลักฐานที่แน่ชัดที่ทำให้ทราบว่าหน้าที่ของสปอร์ที่แท้จริงกับสปอร์ที่เกิดจากการแตกหักของเส้นใยนี้เหมือนกัน และในบางสกุลก็ยากที่จะแยกความแตกต่างของสปอร์ทั้ง 2 ชนิดนี้ ดังนั้นด้วยเหตุผลนี้ขบวนการสร้างสปอร์จึงมีความหมายรวมไปถึงการแตกหักของเส้นใยเป็นท่อนๆ ด้วย ซึ่งสามารถเห็นได้จากแอคติโนมัยสีทในสกุล *Nocardia*, *Nocardiopsis*, *Oerskovia*, *Promicromonospora* และ *Intraspongium*

สปอร์นั้นอาจเกิดขึ้นเดี่ยวๆหรือเกิดเป็นเส้นสายสั้นๆ และโดยทั่วไปแล้วก็มีความหนามากกว่าเส้นใย แต่ในบางชนิดที่มีการสร้างสปอร์เป็นเส้นสายยาวๆ มักจะมีขนาดเท่าๆกับขนาดของเส้นใย ความหนาของสปอร์จึงมีประมาณ 1-2 ไมโครเมตร และมีรูปร่างหรือผิวสปอร์ที่แตกต่างกันออกไป (รูปที่ 2.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 รูปร่างและลักษณะผิวสปอร์ของแอคติโนมัยสีท ; A. กลม (globose), B. รูปไข่(ovoid), C. รูปแท่งสั้น อ้วน (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. ผิวสปอร์เป็นปุ่มๆ (warty), Q. ผิวสปอร์เป็นตุ่มเล็กๆ (tuberculate), R. ผิวสปอร์เป็นตุ่มมีดอก (verrucose), S. ผิวสปอร์มีหนามแหลม (spiny) และ T. ผิวสปอร์มีขน (hairy)
ที่มา: รัตนาภรณ์, 2548

สปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ (planospores หรือ zoospores) มักจะมี flagella ซึ่งทำให้สามารถเคลื่อนที่ได้ในน้ำ monotrichous spores จะมีเพียง 1 flagella เช่น Sporichthya ถ้ามีหลาย flagella โดยรอบสปอร์ เช่น *Actinosynnema* หรือ *Catenuloplanes* เรียกว่า peritrichous spore ส่วนสปอร์ที่เรียก polytrichous นั้นจะพบอยู่เป็นประจุก เช่น *Actinoplanes* ซึ่งอาจพบอยู่ที่บริเวณขั้วใดขั้วหนึ่งของสปอร์ (lophotrichous) เช่น พบใน *Ampulloriella* หรืออาจพบใกล้ๆขั้วเซลล์ เช่น *Spirillospora* หรืออยู่ที่บริเวณด้านข้างของเซลล์ เช่น Pilimelia ซึ่งถ้าเป็น zoospore ก็จะมีผิวสปอร์ที่เรียบ

สปอร์ที่เคลื่อนที่ไม่ได้ (aplanospore) อาจมีผิวเรียบหรือผิวขรุขระแบบต่างๆ จากการศึกษา ultrastructure พบว่า *Streptomyces* มีผิวสปอร์หลายแบบ เช่น ผิวเรียบ (smooth) มีขน (hairy) เป็นหนาม (spine) เป็นปุ่ม (warty) เหี่ยวย่น (rugose) หรือเป็นตุ่มเล็ก เป็นต้น ซึ่งลักษณะของผิวสปอร์หลายๆ ลักษณะนี้สามารถพบได้ในสกุล *Actinomadura*, *Microtetraspora*, *Microbispora* ได้เช่นกัน ซึ่งพบทั้งชนิดผิวเรียบ เหี่ยวย่น หนามแหลม เป็นปุ่มๆ หรือเป็นตุ่มที่เหมือนดอกเล็กๆหรือมีรูปร่างไม่แน่นอน ผิวสปอร์ชนิดเป็นตุ่มและมีดอกเล็กๆ ค่อนข้างหายากพบใน *Actinomadura verrucosospora* เท่านั้น ซึ่งจะคล้ายกับสปอร์ของ *Streptomyces torulosus* แต่ถ้าเป็นสปอร์ของ *Micromonospora* ก็จะพบสปอร์ชนิดผิวที่มีหนามไม่แหลมซึ่งสร้างขึ้นที่เส้นใย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใต้ผิวอาหาร และเป็นสปอร์ที่ไม่ได้ปกคลุมด้วย fibrous sheath ซึ่งโดยปกติแล้วถ้าผิวสปอร์มีลักษณะเหมือนมีเครื่องตกแต่ง (ornamentation) ก็ต้องมี fibrous sheath ซึ่งกรณีที่ผิวสปอร์เป็นหนามที่ไม่ 15 แหลมแบบนี้ อาจเกิดจากผิวชั้นนอกของสปอร์เจริญมาเป็นปุ่มๆ ซึ่งเมื่อพิจารณาลักษณะแล้วจะเหมือนกับพื้นผิวของผนังเส้นใยที่ทำให้เกิดสปอร์นั้น (รัตนาภรณ์, 2548)

2.9.1 ลักษณะการเกิดสปอร์แบบต่างๆ (Sporulation types) และโครงสร้างสืบพันธุ์อื่นๆ แอคติโนมัยสีทมีการสร้างอยู่ 3 ลักษณะใหญ่ๆ ดังนี้ (รัตนาภรณ์, 2548)

2.9.1.1 สปอร์ที่ถูกสร้างขึ้นเดี่ยวๆ เรียกสปอร์แบบนี้ว่า monosporous มักพบได้ทั่วไปในหลายๆสกุล เช่น *Micromonospara* ซึ่งมีก้านชูสปอร์เกิดอยู่บนเส้นใยใต้ผิวอาหารหรือบางครั้งเป็นสปอร์ชนิดไม่มีก้าน (sessile) หรือมีก้านสั้นๆ หรืออาจอยู่เป็นกระจุก (racemes) การเกิดสปอร์มักเริ่มที่ปลายเส้นใยมีการขยายขนาดขึ้น ต่อจากนั้นมีการสร้างผนังกั้น ในสกุล *Thermomonospora* มีการสร้างสปอร์เดี่ยวๆที่ปลาย aerial hypha หรืออาจสร้างอยู่บน sporophore ที่แตกแขนงหรือไม่แตกแขนง เมื่อมีการแตกแขนงซ้ำๆ และมีก้านสั้นก็จะทำให้มองเห็นสปอร์อยู่เป็นกระจุก การสร้างสปอร์อาจเกิดขึ้นที่เส้นใยใต้ผิวอาหารด้วย ตัวอย่างอื่นที่สร้างสปอร์เดี่ยวๆ เช่น *Saccharamonospora* ซึ่งสร้างสปอร์ที่เส้นใยเหนืออาหารเป็นก้านชูสปอร์ที่ไม่แตกกิ่งแขนง สปอร์มีลักษณะรูปไข่ติดอยู่ที่ปลายก้านชูสั้นๆสปอร์ของ *Micromonospora*, *Thermomonospora* และ *Sacharomonospora* สามารถเรียกได้ว่าเป็น aleuriospores เนื่องจากเป็นสปอร์ที่ไม่สร้างสี โดยมีการเจริญมาจากปลายของแขนงของเส้นใย

2.9.1.2 สปอร์ที่สร้างต่อกันเป็นเส้นสาย การสร้างสปอร์เป็นเส้นสายทำให้เข้าใจโครงสร้างของเส้นใยที่เป็นระบบมากขึ้น เมื่อมีการสร้างผนังกั้นเส้นใยขึ้นในแต่ละห้องก็สามารถเปลี่ยนไปเป็นสปอร์ได้ และการสร้างสปอร์แบบนี้ก็เป็นแบบที่แอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่สร้างขึ้น การเรียกชนิดสปอร์จะเรียกตามลักษณะความยาวหรือตามจำนวนสปอร์ เช่น di- หรือ bisporous ถ้ามี 2 สปอร์ เรียก oligosporous ถ้ามีประมาณ 7-20 สปอร์ หรือเรียก polysporous มีหลายๆ สปอร์ต่อกันเป็นสายยาว ส่วนที่พบสปอร์เรียงตัวกันตามยาว 2 สปอร์พบในสกุล *Microbispara* ซึ่งเป็นแบบที่หายาก โดยสปอร์มีลักษณะกลมหรือรูปไข่และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 ไมโครเมตร ซึ่งใหญ่เป็น 3-4 เท่าของความหนาของเส้นใย และอาจพบเรียงตัวอยู่ที่ aerial hyphae หรืออยู่บนก้านชูสปอร์ที่สั้นมากๆ การสร้างสปอร์จะเริ่มต้นจากที่มีการแตกหน่อ (lateral budding) ที่ด้านล่างของ aerial hyphae สร้างเป็นแขนงด้านข้างสั้นๆ และขยายขนาดขึ้นพร้อมกับมีผนังกั้นห้องตรงกลาง ลักษณะการเรียงตัวของสปอร์แบบนี้ อาจพบได้ใน *Actinomadura echinospora* และ *Actinamadura rugatobispora* ด้วย

ตัวอย่างที่ดีของแอคติโนมัยสีทที่สร้างสปอร์จำนวนมาก (polyporous actinomycetes) คือที่พบในสกุล *Streptomyces* ซึ่งสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาว ปกติแล้วมีมากกว่า 50 สปอร์ สปอร์ของ *Streptomyces* และ polysporous actinomycetes อื่นๆ มักเรียกว่า arthrospore ใน *Streptomyces* ส่วนมากแล้วมีการสร้างสปอร์ขึ้นที่เส้นใยเหนือผิวอาหาร และมีหลายลักษณะต่างๆกัน ดังนี้ (รัตนาภรณ์, 2548)

1. Rectiflexibiles เป็นลักษณะเส้นสายของสปอร์ที่ตรง และมีการโค้งงอ (flexuous) เล็กน้อย

2. Retinaculiaperti เส้นสายสปอร์มีลักษณะเป็นตะขอหรือห่วงปลายเปิด หรือที่ปลายมีการบิดเป็นเกลียวสั้นๆ 1-3 รอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Spirales เส้นสายสปอร์มีการบิดเป็นเกลียว อาจเป็นเกลียวที่ชิดกันแน่นๆ หรืออาจเป็นเกลียวหลวมๆ หรือเป็นเกลียวห่างๆ มีความยาวและมีปลายเปิด

4. Verticillati เส้นสายสปอร์เรียงตัวแบบ whorls และมีแขนง แบบ umbels

แอคติโนมัยสีทใน Family *Pseudonocardiaceae* หลายๆ ชนิดก็จัดว่าเป็น polysporous actinomycetes เช่น *Pseudonocardia* สร้างสปอร์ที่เป็นสายที่มีลักษณะซิกแซก (zig-zag) ทั้งที่สายเส้นใยเหนือผิวอาหารและเส้นใยใต้ผิวอาหาร และมีการแตกหน่อ (budding) ให้เห็นลักษณะเส้นสายสปอร์ของ *Amycolata* มีลักษณะคล้ายกับของ *Pseudonocardia* แต่ไม่มี budding ส่วนใน Kibdelo sporangium ก็มีการสร้างสปอร์เป็นสายยาว และมีโครงสร้างที่คล้ายอับสปอร์ที่ aerial hyphae มีเส้นใยที่แตกหักเป็นท่อน และมีการแตกกิ่งแขนงแบบ dichotomous ทำให้มองคล้ายเส้นใยเจริญออกเป็นรัศมีจากเส้นใยตรงกลางอันเดียวกันจากเส้นใยใต้ผิวอาหาร ในสกุล *Actinoneospora* และ *Saccharothix* ก็จัดเป็น polysporous actinomycetes เช่นกัน

เส้นสายของสปอร์ยาวๆ อีกลักษณะหนึ่งคือพบใน *Nocardiopsis* ซึ่งสร้างขึ้นที่เส้นใยเหนือผิวอาหารในลักษณะตรง โค้ง หรือซิกแซก และสามารถแตกหักเป็นสปอร์ที่มีขนาดความยาวต่างๆกัน *Glycomyces* ก็สร้างเส้นสายสปอร์ที่แตกหักเป็นท่อนเช่นกัน และที่หายากมากได้แก่ *Streptoallateichus* ซึ่งสร้างเส้นสายสปอร์ทั้งสั้นและยาวบนเส้นใยเหนือผิวอาหาร และมีการสร้างถุง (vesicles) ขนาดเล็กที่ดูคล้ายอับสปอร์ที่มีสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ 1-23 สปอร์อยู่ภายใน

2.9.1.3 สปอร์ที่สร้างอยู่ภายในอับสปอร์ แอคติโนมัยสีทในหลายๆ สกุลมีการสร้างสปอร์อยู่ภายในอับสปอร์ที่มีลักษณะคล้ายเป็น vesicles โดยสปอร์จะถูกปล่อยออกมาภายนอก เมื่อสปอร์มีอายุแก่จะเหลือเพียงอับสปอร์ว่างๆ อับสปอร์ของแอคติโนมัยสีทมีรูปร่างและขนาดหลายแบบ มีตั้งแต่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-50 ไมโครเมตร ขนาด 10 ไมโครเมตร เป็นขนาดที่พบได้ทั่วไป และรูปร่างลักษณะอาจมีตั้งแต่ทรงกระบอกคล้ายกระบอง (clavate) คล้ายท่อยาว คล้ายขวด คล้ายระฆัง (campanulate) คล้ายลูกแพร์ (pyriform) หรือมีลักษณะกลมแป้น (globose) หรืออาจมีรูปร่างไม่แน่นอน มีลักษณะเป็นก้อนๆ และเช่นเดียวกับสปอร์ การให้ชื่อสปอร์อาจเรียกตามจำนวนสปอร์ที่ 19 พบอยู่ภายอับสปอร์ที่มี 2-3 จนถึง 5 สปอร์อยู่ภายในอาจเรียกว่า oligosporous sporangia ถ้ามีอยู่จำนวน 1 สปอร์จะเรียกว่า monosporous sporangia และถ้ามีอยู่ 2 สปอร์จะเรียกว่า bisporous sporangia อับสปอร์ที่สร้างสปอร์จำนวนมากอยู่ภายในจะเรียกว่า polysporous sporangia โครงสร้างการเรียงตัวของสปอร์มีหลายลักษณะ โดยจะมีตั้งแต่ลักษณะบิดเป็นเกลียว หรือเรียงตัวตามขนานเป็นแถวๆ แต่อย่างไรก็ตาม สปอร์ทั้งหมดจะถูกห่อหุ้มไว้ด้วยกันด้วยผนังของอับสปอร์ ซึ่งจะกลายเป็นผนังชั้นนอกของอับสปอร์ ยกเว้นในสกุล *Streptosporangium* และ *Kutzneria* ซึ่งภายในอับสปอร์สร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้

2.9.1.4 โครงสร้างสืบพันธุ์ลักษณะอื่นๆ โครงสร้างบางชนิดก็ยากที่จะจัดอยู่ในกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง เนื่องจากมีลักษณะรูปร่างที่แตกต่างออกไป ตัวอย่างเช่นในสกุล *Intrasporangium* ที่เส้นใยจะมี vesicles ถูกสร้างขึ้นบริเวณระหว่างแขนงของเส้นใยและที่ปลายเส้นใย ส่วนใน *Actinosporangium violaceus* จะพบ clamydospores ที่มีผนังหนาอยู่ภายในเส้นใย

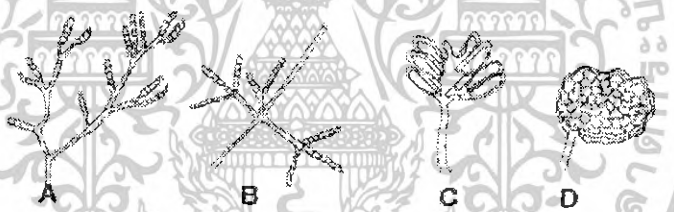
2.10 ก้านชูสปอร์และก้านชูอับสปอร์ (Sporophores และ Sporangiophores)

สปอร์เดี่ยวๆ และสปอร์ที่อยู่เป็นเส้นสายจะเจริญอยู่บนก้านชูซึ่งเป็นเส้นใย (fertile hyphae) ที่ไม่แตกแขนงหรือมีแขนงและมีการสร้างสปอร์ หรือรองรับสปอร์ไว้ และอาจเกิดขึ้นได้ทั้งที่เส้นใยเหนือผิวอาหารหรือเส้นใยใต้ผิวอาหาร ก้านชูสปอร์อาจสร้างรวมตัวกันคล้ายเส้นใยซึ่งอาจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลงไปเป็นก้านหลักหนึ่งหรือสองก้านพร้อมกับการทำหน้าที่รองรับไปด้วย ต่อจากนั้นจะเจริญไปเป็นส่วนที่จะสร้างเป็นสปอร์ ซึ่งสปอร์อาจถูกสร้างขึ้นที่ด้านข้างหรือส่วนปลายของก้านชูที่เป็นแบบเดี่ยวๆ หรือแบบแตกแขนงที่มีลักษณะซับซ้อนเช่นพบใน *Streptoverticillium* ซึ่งก้านชูสปอร์จะประกอบด้วยก้านหลักที่มี 3-4 แขนงด้านข้าง โดยเรียงตัวโดยรอบแกน (verticils) เป็นช่วงๆ และมีระยะความยาวที่แน่นอน โดยแต่ละแขนงจะมีเส้นสายสปอร์จัดเรียงตัวแบบ umbel ลักษณะการเรียงตัวชนิดนี้เรียกว่า umbellate monoverticillate แต่ถ้ามีการเรียงตัวแบบ vertical 2 ชั้น จะเรียกก้านชูสปอร์แบบนี้ว่า biverticillate

ก้านชูสปอร์ (sporophore) มักจะมีความหมายเฉพาะโครงสร้างที่มีการสร้างสปอร์คล้ายกับเป็นโครงสร้างที่ช่วยรองรับสปอร์ และในบางกรณีอาจเป็นเส้นใยที่จะเจริญไปเป็นสปอร์ (sporogenous hyphae) ซึ่งจะเป็นเส้นใยที่จะเจริญไปเป็นสปอร์ได้โดยตรงเท่านั้นส่วนก้านชูอับสปอร์ (sporangiophore) อาจให้นิยามว่าเป็นเส้นใยที่สร้างหรือรองรับอับสปอร์ มักจะพบที่ส่วนปลายเส้นใย อาจไม่มีการแตกแขนงหรือแตกกิ่งก้าน และบางครั้งอาจมีลักษณะที่สอดคล้องกับอับสปอร์ซึ่งแตกแขนงคล้ายใบปาล์ม เช่น *Planomosporo venezuelensis* ก้านชูสปอร์มักเกิดอยู่บนเส้นใยเหนือผิวอาหาร และมีขนาดไม่แตกต่างจากเส้นใยที่ไม่สร้างอับสปอร์ (nonfertile aerial hypha) มากนัก ขณะที่ก้านชูอับสปอร์ที่เกิดจากเส้นใยใต้ผิวอาหารโดยตรงอาจจะมีขนาดหนากว่า vegetative hypha ถึง 2-3 เท่า ถ้ามีการเรียงตัวขนานกันไปในแนวตั้ง จะเรียกว่า palisade hyphae ซึ่งพบได้ใน Actinoplanes (รูปที่ 2.11)



รูปที่ 2.4 ก้านชูสปอร์ (sporophores) และก้านชูอับสปอร์ (sporangiophores); A. ก้านชูสปอร์ที่แตกแขนงของ *Microtetrosporo*, B. ก้านชูชนิด umbella monoverticillate ของ *Streptoverticillium*, C. ก้านชูอับสปอร์ของ *Planomonospora*, D. ก้านชูอับสปอร์เดี่ยวๆของ *Actinoplanes*

ที่มา : รัตนาภรณ์, 2548

2.11 โครงสร้างที่สำคัญสำหรับการจัดจำแนกระดับสกุลของแอคติโนมัยสีท (ศรีสกุล, 2553)

2.11.1 เส้นใย (mycelium) มีหลายลักษณะถ้าเกิดการแตกหักควรสังเกตรูปร่างของชิ้นส่วนที่แตกหักหรือดูว่ามีการเคลื่อนที่ได้หรือไม่ สังเกตจากการแตกกิ่งแขนงของเส้นใยว่ามีลักษณะแบบใด มีทั้งเส้นใยเหนือผิวอาหารและเส้นใยใต้ผิวอาหารหรือไม่ หรืออาจมีเพียงเส้นใยใต้ผิวอาหารซึ่งพบได้บ่อยครั้ง หรืออาจมีเฉพาะเส้นใยเหนือผิวอาหาร เช่น *Sporichthya* ที่เส้นใยของเชื้อแอคติโนมัยสีทอาจมีการสร้างถุงเล็กๆระหว่างข้อปล้องของเส้นใย (intercalary vesicles) ที่ไม่มีการสร้างสปอร์ภายใน เช่น *Intrasporangium* หรืออาจมีสปอร์อยู่ภายใน เช่น *Frankia* นอกจากนี้ยังต้องสังเกตลักษณะของสปอร์ และการติดกันของสปอร์ที่เส้นใยนั้นอยู่เหนือผิวอาหาร รวมทั้งที่อยู่ใต้ผิวอาหารด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.2 โคนิเดีย (conidia) เป็นสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual spore) ที่ไม่ใช่คลาไมโดสปอร์ที่อยู่ระหว่างข้อปล้องของเส้นใย (Intercalary chlamydospore) หรือสปอร์ที่อยู่ภายในอับสปอร์ (sporanggiospore) เชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถสร้างโคนิเดียได้หลายแบบ ดังนี้

2.11.2.1 โคนิเดียเดี่ยว (single conidia) สามารถพบในหลายสกุลโดยเฉพาะในกลุ่มของ *Saccharomonaspora, Promicromonospora* และ *Micromonospora* ซึ่งเป็นโคนิเดียที่ไม่ทนความร้อนในส่วนของโคนิเดียที่ทนความร้อน เช่น *Thermoactinomyces*

2.11.2.2 โคนิเดียคู่ (pairs of conidia) เป็นโคนิเดียติดกันเป็นคู่ตามความยาวเส้นใยเหนือผิวอาหาร เช่น *Microbispora* แต่บางชนิดนั้นสามารถสร้างเส้นใยได้ทั้งเหนืออาหารและใต้อาหาร

2.11.2.3 โคนิเดียต่อกันเป็นโซ่สายสั้นๆ (short chain of conidia) ถ้ามีสปอร์ที่เรียงต่อกัน 20 สปอร์จะยังคงเรียกว่าเป็นโซ่สายสั้น พบในหลายสกุล เช่น *Glycomyces, Actinomoduro, Sparichthya, Pseudonocordia* และ *Nocardai*

2.11.2.4 โคนิเดียต่อกันเป็นโซ่สายยาว (long chain of conidia) พบในหลายสกุล เช่น *Kitosatospori, Streptpolloteichus, Glycomyces Actinosynnema, Actinopolysporo, Pseudonocardio* และ *Nocardioides* เป็นต้น บางชนิดโคนีเดียสามารถเคลื่อนที่ได้

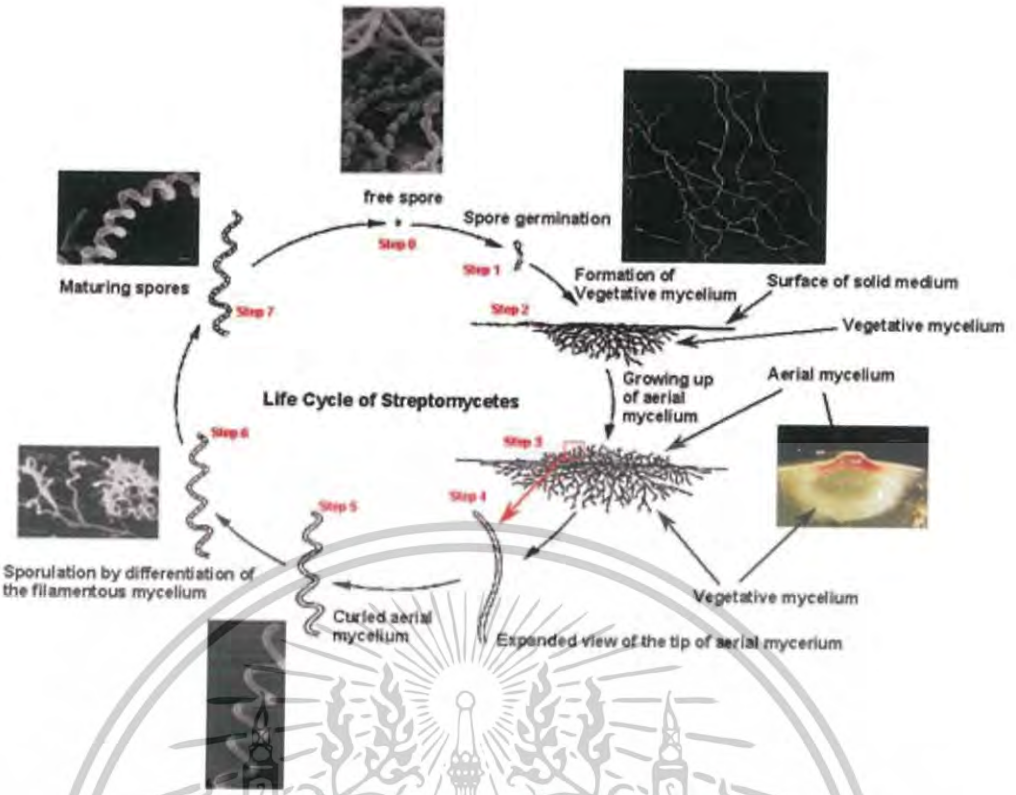
2.11.3 อับสปอร์ (sporangium) เป็นโครงสร้างที่ภายในสปอร์ ซึ่งอาจมีการสร้างที่เส้นใยเหนือผิวอาหาร หรือที่ผิวหน้าของโคโลนีซึ่งอาจมีเส้นใยเหนือผิวอาหารอยู่เล็กน้อยหรืออาจไม่มีเลย

2.11.4 โครงสร้างอื่นๆ เชื้อแอคติโนมัยสีทบางชนิดสร้างโครงสร้างที่มีลักษณะต่างกันออกไป เช่น การสร้าง synnemata ที่มีสปอร์ หรือบางกลุ่มอาจมีการสร้างสปอร์จำนวนมากจากการแบ่งเซลล์หลายๆระนาบ และอับสปอร์ ลักษณะนี้เรียกว่า multilocular sporangia นอกจากนี้เชื้อแอคติโนมัยสีทหลายชนิดยังสามารถสร้างโครงสร้างกลมๆที่เส้นใยเหนือผิวอาหาร ซึ่งภายในอาจไม่มีสปอร์อยู่เลย หรืออาจเป็นเพียงหยดน้ำที่ล้อมรอบสายโซ่ของสปอร์ที่ม้วนงอไว้ หรือไม่มีสปอร์อัดแน่นอยู่ภายใน

2.12 วัฏจักรของเชื้อแอคติโนมัยสีท (ชัฏฏาภาญจน์, 2557)

เริ่มจากสปอร์อิสระปลิวตกลงบริเวณที่เหมาะสมกับการเจริญ ขั้นที่ 1 สปอร์ที่ตกจะมีการงอก และการสร้างเส้นใย substrate mycelium เจริญลงด้านล่างจนมีความหนาแน่น ขั้นที่ 2 เมื่อเส้นใยมีความหนาแน่นจะมีการเจริญของเส้นใยขึ้นมาด้านบนเหนือบริเวณที่เจริญเรียกว่า aerial mycelium ขั้นที่ 3 เมื่อมีการเจริญที่หนาแน่นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น aerial spore ซึ่งจะเกิดการขดงอเป็นรูปร่างต่างๆ ขั้นที่ 4-6 เส้นใยหรือผิวอาหารเปลี่ยนเป็นสายสปอร์จำนวนมาก ขั้นที่ 7 โคโลนีจะถูกปกคลุมด้วยเส้นใยจำนวนมาก และมีสีที่แตกต่างกันออกไป เมื่อสปอร์ตกไปในสภาวะที่เหมาะสมจะงอกเป็นเส้นใยแล้วเริ่มวงชีวิตใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 วัฏจักรของเชื้อแอคติโนมัยสีท

ที่มา : Ludwig *et al.*, 2011

2.13 อาหารสำหรับการเจริญของ *Streptomycetes* (สุจรรยา, 2556)

Streptomyces เป็นสกุลของเชื้อที่ไม่ต้องการปัจจัยสำหรับการเจริญเติบโต (growth factor) ที่เฉพาะเจาะจง และสามารถที่จะใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนได้หลากหลายชนิด อย่างไรก็ตามเนื่องจาก *Streptomyces* นั้นมีหลายชนิดจึงมีความหลากหลายในด้านของความต้องการสารอาหาร จึงเป็นเรื่องยากที่จะสรุปได้ว่าองค์ประกอบของอาหารที่เหมาะสมต่อการแยกเชื้อสำหรับ *Streptomyces* นั้นมีอะไรบ้างที่จะมีความจำเพาะสำหรับ *Streptomyces* และพวกแบคทีเรีย หรือเชื้อราอื่นๆจะไม่มีการเจริญขึ้นมาด้วย เนื่องจากทั้งเชื้อราและแบคทีเรียจะเจริญได้เร็วกว่า *Streptomyces* ดังนั้นในการเตรียมอาหารสำหรับการแยกเชื้อส่วนมากจะมีการเติมสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นลงไปพร้อมอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง *Streptomyces*

อย่างไรก็ตามองค์ประกอบสำหรับการแยกเชื้อนั้น มักจะต้องเติมสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราลงไป เช่น สาร nystatin หรือ cyclohexamide ปริมาณ 50-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีผลต่อการยับยั้ง *Streptomyces* และควรปรับ pH ของอาหารให้เป็นกลาง เนื่องจาก *Streptomyces* เป็นพวกที่ชอบ pH เป็นกลาง นอกจากต้องการคัดเลือกหาพวกที่ชอบความเป็นกรดจะต้องปรับ pH ให้อยู่ประมาณ 4.5

อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อมักจะใช้ที่ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 14 วัน ถ้าต้องการแยกหา *Streptomyces* ที่ทนอุณหภูมิสูงจะบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน การแยกความแตกต่างระหว่าง *Streptomyces* กับแบคทีเรียชนิดอื่นๆ และเชื้อราทำได้โดยการส่องกล้องจุลทรรศน์ ตรวจดูเส้นใยซึ่งจะมีขนาดเส้นใยที่เล็กกว่าเชื้อรา และรงควัตถุที่สร้างขึ้นจะทำให้ลักษณะโคโลนีของ *Streptomyces* ด้าน มีสีต่างๆ และทึบแสงต่างจากโคโลนีของแบคทีเรียทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.14 ความสำคัญของเชื้อแอคติโนมัยสีท

เชื้อแอคติโนมัยสีทเป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางด้านการแพทย์ และด้านเภสัชกรรม เนื่องจากสามารถผลิตสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิ และมีความสำคัญทางการเกษตร อุตสาหกรรม และนิเวศวิทยา (สุจรรยา, 2556)

เชื้อแอคติโนมัยสีทบางชนิด เช่น *Streptomycetes rubiginosus*, *Streptomycetes bambergenesis* และ *Streptomycetes violaceoniger* นั้นสามารถผลิตเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลฟรุกโทสได้ ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากเชื้อแอคติโนมัยสีทช่วยในการผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญในทางอุตสาหกรรม (เสานิตย์ และคณะ, 2559)

ประโยชน์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่รู้จักกันดีคือ สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ สารสี เอนไซม์ หรือสารอื่นๆได้ ซึ่งข้อมูลล่าสุดพบว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่นั้นสร้างมาจากเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 45 เชื้อราร้อยละ 38 และแบคทีเรียชนิดอื่นร้อยละ 17 โดยจุลินทรีย์พวกกลุ่มแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดจะเป็นเชื้อในสกุล *Streptomycetes* ซึ่งสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้ถึงร้อยละ 70 (Sharma, 2014)

ปัจจุบันได้มีการใช้ประโยชน์จากเชื้อแอคติโนมัยสีทในการผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญด้านอุตสาหกรรม ทางการเกษตรมีการใช้เชื้อแอคติโนมัยสีทในการผลิตยาฆ่าแมลง วัชพืช และสารกดภูมิคุ้มกัน เป็นต้น ในทางการแพทย์และเภสัชกรรมมีการใช้เชื้อแอคติโนมัยสีทเพื่อผลิตสารปฏิชีวนะในการตานเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส (Meena *et al., 2013*)

2.15 การผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยสีท

เชื้อแอคติโนมัยสีทเป็นเชื้อที่น่าสนใจ เนื่องจากเชื้อกลุ่มนี้มีความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพได้ โดยเฉพาะยาปฏิชีวนะที่คาดกันว่าได้จากสารที่มีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 22,500 ชนิด ที่สร้างมาจากเชื้อจุลินทรีย์ประมาณ 10,100 ชนิด โดยมีการสร้างมาจากเชื้อใน order *Actinomycetales* และมีการคาดการณ์ว่า 7,630 ชนิด สร้างจากเชื้อในจีนัส *Streptomyces* ซึ่งสารส่วนใหญ่นั้นจะเป็นยาปฏิชีวนะ ซึ่งในความจริงอาจมีสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพที่สร้างโดนจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้แต่ยังไม่ถูกเป็นที่ค้นพบอีกมาก ซึ่งมียาปฏิชีวนะมากกว่า 60 ชนิดที่ผลิตโดยเชื้อจากกลุ่ม *Streptomyces* ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ ตัวอย่างยาปฏิชีวนะที่มีขายในท้องตลาดนั้นอาจมีทั้งยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียและราหลายชนิดที่เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย และเป็นยาที่ผลิตจากเชื้อในจีนัส *Streptomyces* ได้แก่ streptomycin, spectinomycin, neomycin, tetracycline, erythromycin, chlorotetracycline, clindamycin, nystatin, amphotericinB และ chloramphenicol เป็นต้น (นุกูล และ ชัยสิทธิ์, 2554)

2.16 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยสีท

จากการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพส่วนใหญ่ถูกสร้างขึ้นโดยแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* หลายชนิด ได้แก่ ampicillin และ penicillin-N ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเพปติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย นอกจากนั้น *S. clovuligerus* สามารถผลิต clavams มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เบตาแลคตาเมสที่ผลิตโดยแบคทีเรีย *staphylococci* และแบคทีเรียแกรมลบ

ส่วน streptomycin ที่ผลิตโดย *S. griseus* และ neomycin ที่ผลิตโดย *S. fradiae* ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหลายชนิด (Lazzarini *et al.*, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาการผลิตสารทุติยภูมิของเชื้อแอคติโนมัยสีท 3 สายพันธุ์ พบว่าระยะในการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตสารคือ 7-7.6 วัน อัตราเร็วในการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิตสารปฏิชีวนะคือ 180-240 รอบต่อนาที (Katzer *et al*., 2001)

จากการศึกษาการคัดแยกแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*, *Micromonospora* และ *Nocardia* จากดินบริเวณรอบรากพืชตระกูลส้ม (*Citrus limon* และ *C. sinensis*) และคัดแยกได้ *Streptomyces hygroscopicus* ซึ่งสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ polyethers, azalomycin B และ nonpolyenic macrolide antibiotics (Gesheva, 2002)

แอคติโนมัยสีทเป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญและการผลิตสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นอัตราการให้อากาศจึงมีผลต่อการเจริญและผลิตสารปฏิชีวนะ จากรายงานพบว่าอัตราการให้อากาศจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ 2 อย่างคือ อัตราส่วนอาหารต่อปริมาตรภาชนะบรรจุ โดยส่วนใหญ่แล้วอัตราส่วนนี้จะอยู่ระหว่าง 1:2.5 - 1:5 และความเร็วรอบในการเขย่า โดยมีค่าที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 90 - 400 รอบต่อนาที (Stritzke *et al*., 2004)

ประโยชน์ของแอคติโนมัยสีทที่รู้จักกันดีคือ สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ เอนไซม์สารสี หรือสารอื่นๆ ได้ จากข้อมูลล่าสุดพบว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่สร้างมาจากแอคติโนมัยสีท (45%) เชื้อรา (38%) และ แบคทีเรียชนิดอื่น (17%) โดยจุลินทรีย์กลุ่มแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดเป็นเชื้อในสกุล *Streptomyces* ซึ่งผลิตสารปฏิชีวนะได้ 70% (ประมาณ 8,000 ชนิด) ของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากแอคติโนมัยสีททั้งหมด (McCarthy and Williams, 1990)

จากการศึกษาพบว่าสารปฏิชีวนะ kakadumycins ที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp. NRRL 30566 สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี (Castillo *et al*., 2003) ส่วนสารปฏิชีวนะ meroparamycin ที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp. MAR01 สามารถยับยั้งได้ดีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบและ *Candida albicans* (El-Naggar *et al*., 2006) หรือ *Streptomyces padonus* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ fungichromin ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา Rhizoctonia solani ได้ (Shih *et al*., 2003)

แอคติโนมัยสีท *S. hygroscopicus* PACCH24 เป็นเชื้อที่มีศักยภาพสูงเหมาะสำหรับการนำไปพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์เพื่อควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริก รวมทั้งการพัฒนาร่วมกับปุ๋ยอนินทรีย์รูปแบบต่างๆ เพื่อประโยชน์ในการควบคุมโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืชต่อไป (ปราณี และ ชนิตาภา, 2555)

จากงานวิจัยได้มีการศึกษาเกี่ยวกับ *S. sannanensis* strain RJT-1 พบว่าสามารถผลิตสารที่มีฤทธิยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี เมื่อศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่ผลต่อการเจริญและการผลิตสารปฏิชีวนะ ทดสอบโดยการเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร nutrient agar, starch agar, gelatin agar และ actinomycete agar ที่มี NaCl ร้อยละ 5 พบว่าการเลี้ยงบน starch agar มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อชนิดนี้ได้ดี นอกจากนั้นยังได้ทำการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม พบว่ากลูโคสและแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารปฏิชีวนะ และศึกษาแหล่งของไนโตรเจนที่เหมาะสม พบว่า inorganic nitrogen ได้แก่ โซเดียมซัลเฟต โซเดียมซิเตรต และยูเรีย จะให้ผลต่อการเจริญและผลิตสารได้ดีกว่าพวก organic nitrogen (Vasavada *et al*., 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ใหม่ จากการวิเคราะห์ลำดับเบสของ 16S rRNA พบว่ามีลำดับเบสใกล้เคียงกับ *Streptomyces reseoflavus* และสามารถสร้างสารปฏิชีวนะอย่างน้อย 3 ชนิด จัดอยู่ในกลุ่ม macrolide ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและเชื้อรา (Fguira *et al*., 2004)

2.17 สมุนไพรไทย

สมุนไพรไทย เป็นพืชที่มีสรรพคุณมากมายที่ช่วยในการรักษาโรค ดังนั้นแอคติโนมัยสีทที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากพืชสมุนไพรอาจมีความสามารถในการผลิตสารชีวภาพที่มีความสำคัญได้ (กิ่งจันทน์, 2555) โดยแอคติโนมัยสีทที่พบมากที่สุดในดิน คือ *Streptomyces* พบประมาณ 70-90% ซึ่งโดยทั่วไป *Streptomyces* เป็นกลุ่มหลักของเอนโดไฟต์แอคติโนมัยสีท *Micromonospora*, *Microbispora*, *Nocardiopsis*, *Pseudonocardia* และ *Streptosporangium* ซึ่งจะเป็นสกุลสามัญของแอคติโนมัยสีทในพืช ที่พบรองลงมาจาก *Streptomyces* คือ *Nocardia* พบประมาณ 10-30% และ *Micromonaspora* พบประมาณ 1-15% แอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่เป็นพวก saprophyte (Alexander, 1977) ซึ่งมีความสำคัญในการย่อยอินทรีย์สาร (Goodfellow, 1985) ย่อยเคอราติน ไคติน เซลลูโลส และแป้ง (McCarthy and William, 1992 และ Holmalahi *et al*., 1994) ซึ่งแอคติโนมัยสีทเป็นที่รู้จักกันดีว่าเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่สำคัญในการผลิตยาปฏิชีวนะเช่น streptomycin, aminoglycosides, macrolides, tetracyclines, glycopeptides, β-lactams, polyenes, peptides และ quinones (Okami and Hotta, 1988) เป็นต้น

สมุนไพรไทยเป็นพืชที่สามารถหาได้จากธรรมชาติ ซึ่งเป็นพืชที่มีความสำคัญต่อมนุษย์โดยเฉพาะในทางด้านสุขภาพ เพราะสมุนไพรส่วนใหญ่นิยมนำมาทำเป็นยารักษาโรค โดยสมุนไพรที่นำมาใช้ทำเป็นยานั้นสามารถใช้ได้ทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็นในส่วนของราก ลำต้น ใบ ดอก และผล เพราะในทุกๆ ส่วนของต้นพืชนั้นจะมีสรรพคุณที่แตกต่างกันทำให้สามารถนำมาทำเป็นยารักษาได้ทุกส่วน ซึ่งในปัจจุบันอาจมีการแปรรูปเพื่อที่จะสามารถให้ทานได้ง่ายขึ้น และยังมีสรรพคุณมากมาย เช่น

ต้นกะเพราแดง (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Ocimum sanctum* L.) ลักษณะของต้นกะเพราะแดงจะมีใบและลำต้นเป็นสีเขียวอมม่วงแดง ใบทั้งสองด้านมีขนมากโดยเฉพาะส่วนยอด เนื้อใบจะบาง ใบมีรูปร่างรีหรือรีขอบขนานกว้าง 1-2.5 เซนติเมตร ยาว 2-4.5 เซนติเมตร ปลายใบและโคนใบอาจแหลมหรือมน ขอบใบค่อนข้างหยัก ใบและยอดมีรสเผ็ดร้อน มีกลิ่นหอมและนิยมมาใช้ปรุงอาหาร อีกทั้งต้นกะเพราแดงยังมีสรรพคุณที่สามาถใช้เป็นยารักษาได้เช่น ลดอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับลม แก้ปวดท้อง บำรุงธาตุ ขับผายลม แก้อาการจุกเสียดในท้อง ทำให้เรอ แก้ท้องร่วง แก้คลื่นไส้อาเจียน ขับเสมหะ ขับเหงื่อ ใช้ทาภายนอกแก้โรคผิวหนัง แก้อาการปวดท้องในเด็กทารก ในสมัยโบราณจะนำใบกะเพรามาคั้นเพื่อใช้ทานเป็นยาโดยจะช่วยในเรื่องของการขับเหงื่อ แก้ไข้ ขับเสมหะ ขับลม แก้ปวดท้อง แก้ท้องเสีย ทาผิวหนังแก้กลากเกลื้อนและโรคผิวหนังอื่นๆ ใช้หยอดหู แก้อาการปวดหู และใบกะเพราะยังสามารถนำมาทำเป็นยาชงเพื่อใช้เป็นยาบำรุงธาตุ และขับลมในเด็กอ่อน และมีรายงานว่าในใบกะเพรานั้นมีสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสารฟีนอลิก โดยมีทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ cirsilineol, cirsimaritin, isothymusin, isothymonin, apigenin และ rosmarinic acid และพบว่าสารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารบริสุทธิ์ urolic acid ที่ได้จากกะเพรานั้นพบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงถึง 60% และสามารถลดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในตับ และไมโครโซมของหัวใจสัตว์ทดลองที่ได้รับยา Adriamycin จากองค์ประกอบทางเคมีที่พบในกะเพรา และยังพบสารต้านอนุมูลอิสระอีกหลายชนิด เช่น วิตามินซี เบต้าแคโรทีน สารฟลาโวนอยด์ และสารฟีนอลิกหลายชนิด (สุกัญญา, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.6 ต้นกะเพราแดง
ที่มา : อรุณวตรี, 2561

ต้นชงโคขาว (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Bauhinia pottsii* var. decipiens) ชงโคเป็นไม้ยืนต้นขนาดย่อมมีความสูงประมาณ 5-10 เมตร กิ่งอ่อนจะมีขนปกคลุม ใบเป็นใบเดี่ยวรูปหัวใจ ปลายใบเว้าลึกมาก ปลายใบทั้งสองด้านกลมมน มองดูคล้ายใบแฝดติดกัน (คล้ายใบกาหลง แต่เว้าลงลึกกว่า) ใบทั้งสองด้านมักพันเข้าหากันเหมือนปีกผีเสื้อ ทำให้คนส่วนใหญ่เข้าใจว่าเป็นใบแฝด เพราะปกติใบไม้ทั่วไปจะมีปลายใบแหลม หรือกลมมน ลักษณะของชงโคเป็นพุ่มค่อนข้างกว้างและใบดกทึบ เป็นต้นไม้ผลัดใบในฤดูหนาว (พฤศจิกายน-ธันวาคม) แล้วมีการผลิใบใหม่ในช่วงของเดือนเมษายน-พฤษภาคม ส่วนในด้านของสรรพคุณที่นำมาใช้เป็นยานั้นจะมีการใช้ในส่วนเปลือกต้น เพื่อช่วยอาการแก้ท้องเสีย แก้บิด ส่วนของดอกจะช่วยแก้พิษไข้ร้อนจากเลือดและน้ำดี เป็นยาระบาย ส่วนใบใช้ในการฟอกฝี แผล และส่วนรากจะช่วยในเรื่องของการขับลม (เดชา, 2548)

รูปที่ 2.7 ต้นชงโคขาว
ที่มา : Medthai, 2560

ตะไคร้ (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Cymbopogon citratus*) เป็นพืชล้มลุก มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินโดนีเซีย ศรีลังกา พม่า อินเดีย ไทย ในทวีปอเมริกาใต้ และคองโก โดยลักษณะของต้นตะไคร้จะความสูงประมาณ 4-6 ฟุต ลักษณะใบจะมีความยาวเรียว ปลายใบมีขนหนาม ลำต้นรวมกันเป็นกอ มีกลิ่นหอม ดอกออกเป็นช่อยาวมีดอกเล็กฝอยเป็นจำนวนมาก ตะไคร้เป็นพืชที่สามารถนำส่วนต้นหัวไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกอบอาหาร และยังจัดเป็นพืชสมุนไพรอีกด้วย โดยตะไคร้จะมีสรรพคุณที่สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคได้ เช่น ใช้เป็นยารักษาโรคหืด แก้ปวดท้อง ขับปัสสาวะและแก้อหิวาตกโรค หรือสามารถนำมาทำเป็นยาทาไว้สำหรับนวดก็ได้ และยังสามารถใช้รวมกับสมุนไพรชนิดอื่นที่รักษาโรคได้ เช่น บำรุงธาตุ เจริญอาหาร และขับเหงื่อ อีกทั้งยังมีกลิ่นฉุนที่สามารถไล่แมลงได้ ในส่วนของหัวของตะไคร้นั้นจะนำมาใช้เป็นยาในรักษาโรคเกลื้อน แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้ปัสสาวะพิการ แก้นิ่ว บำรุงไฟธาตุ แก้อาการขัดเบา และถ้ามีการนำมาใช้รวมกับสมุนไพรชนิดอื่นก็สามารถเป็นยาแก้อาเจียน แก้ทราง ยานอนหลับ ลดความดันสูง แก้ลมอัมพาต แก้กษัยเส้น และแก้ลมใบ ในส่วนของใบสดๆ นั้นจะช่วยลดความดันโลหิตสูง แก้ไข้ ยาแก้ไข้เหนือ ปวดท้อง และท้องเสีย ใช้เป็นยาแก้ขับลม แก้เบื่ออาหาร แก้ผมแตก แก้โรคทางเดินปัสสาวะ นิ่ว เป็นยาบำรุงไฟธาตุให้เจริญ แต่ถ้านำผสมกับสมุนไพรชนิดอื่นจะช่วยแก้โรคหนองใน นอกจากนั้นยังใช้ในการดับกลิ่นคาวได้อีกด้วย (กาญจนา, 2552 และ กมลวรรณ, 2551)

รูปที่ 2.8 ต้นตะไคร้

ที่มา : Puechkaset, 2015

ต้นไทรย้อย (ชื่อทางวิทยาศาสตร์: *Ficus benjamina* L.) ต้นไทรย้อยเป็นไม้ต้นที่มีขนาดกลาง สูง 5-15 เมตร กิ่งก้านสาขาทิ้งใบห้อยย้อยลงตามลำต้นมีรากอากาศแตกย้อยลงสู่พื้นดินเป็นจำนวนมาก ลักษณะของรากอากาศจะเป็นเส้นสีน้ำตาล รูปกลมยาว รากอากาศมีขนาดใหญ่มีเนื้อไม้ ลักษณะของใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงสลับ รูปรีแกมรูปไข่ รูปกลมป้อม รูปยาวรี ปลายใบเรียวแหลม โคนใบสอบ ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย แผ่นใบค่อนข้างหนาเป็นสีเขียวเรียบเป็นมันมีต่อมไขที่โคนเส้นกลางใบ มีหูใบร่วงง่าย เกลี้ยงหรือมีขนขึ้นประปราย ลักษณะของดอกเป็นช่อออกตามซอกใบ มีขนาดเล็ก เกิดภายในฐานรองดอกที่มีรูปทรงกลมคล้ายผล ออกเป็นคู่ ไม่มีกลีบดอก ดอกมี 3 ประเภท คือ ดอกเพศผู้ ดอกเพศเมีย และดอกกอลล์ และลักษณะของผลจะมีรูปทรงกลมหรือรี ออกผลเป็นคู่ ผลอ่อนสีเขียว เมื่อสุกเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม สีน้ำตาล สีชมพู สีส้มแดง หรือสีม่วงดำเมื่อแก่ไร้ก้าน และสรรพคุณของต้นไทรย้อย ในส่วนของรากอากาศจะมีสรรพคุณเป็นยาแก้กาฬโลหิต มีสรรพคุณช่วยในการบำรุงโลหิต แก้ตกโลหิต ใช้เป็นยาแก้กษัย ช่วยแก้อาการท้องเสีย ใช้เป็นยาขับพยาธิ ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ แก้ขัดเบา ขับปัสสาวะให้คล่อง แก้นิ่ว แก้ปัสสาวะมีสีต่าง ๆ ช่วยแก้ไตพิการ ช่วยแก้อาการอักเสบหรือลดการติดเชื้อ เช่น ฝีหรือรอยฟกช้ำ (ราชันย์ และคณะ, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.9 ต้นไทรย้อย
ที่มา : Medthai, 2560

ต้นมะม่วง (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Mangifera indica* L.) ต้นมะม่วงเป็นไม้ยืนต้นสูง 10-30 เมตร ใบเดี่ยวเรียงสลับ มีรูปใบหอก รูปวงรีหรือวงรีแคบ มีขนาดกว้าง 2-9.5 เซนติเมตร ยาว 10-30 เซนติเมตร ลักษณะผิวเรียบมัน เนื้อในหนาและเหนียวคล้ายแผ่นกระดาษ มีดอกช่อแยกแขนงขนาดใหญ่ออกที่บริเวณปลายกิ่ง ดอกย่อยจำนวนมากเรียงตัวกันแน่น กลีบดอกสีเหลืองแกมเขียวหรือครีม ผลสดมีรูปร่างหลายขนาดมีสีเขียวแกมเหลืองฉ่ำ โดยสรรพคุณของต้นมะม่วงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางด้านอาหาร ในส่วนของผลดิบที่มีรสเปรี้ยวสามารถนำมาปรุงรสแทนมะนาว ผลสุกที่มีรสหวานนำมารับประทานเป็นผลไม้ได้ และในทางด้านยานั้นจะมีการใช้ในส่วนของเปลือกลำต้นซึ่งสามารถต้มกับน้ำทานเป็นยาแก้ไข้ แก้โรคคอตีบ แก้เยื่อปากอักเสบ แก้เยื่อเมือกในจมูกอักเสบ ใบสามารถนำมาต้มทานแก้ลำไส้อักเสบเรื้อรัง แก้ช้างตานขโมยในเด็ก แก้อีดแน่น ผลสดสามารถนำมาทานเป็นยาแก้คลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน แก้โรคเลือดออกตามไรฟัน ขับปัสสาวะ เป็นยาระบาย และในส่วนของเมล็ดสามารถนำมาต้มกินเป็นยาถ่ายพยาธิตัวกลม แก้ท้องร่วง แก้บิดเรื้อรัง แก้ริดสีดวงทวาร ตกขาว ตกเลือด ท้องอืดได้ (สัจจะ, 2555)

รูปที่ 2.10 ต้นมะม่วง
ที่มา : นภาลัย, 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะระขี้นก (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Momordica charantia* L.) มะระเป็นไม้เถา โดยมีมือเกาะ ใบเป็นใบเดี่ยว รูปฝ่ามือ มีความกว้างและยาวประมาณ 4-7 เซนติเมตร ขอบใบหยักเป็นซี่ห่างๆ ใบเว้าเป็นแฉกลึก 5-7 แฉก ใบและลำต้นมีขนสากอยู่ทั่วไป ดอกมะระมีสีเหลือง ออกเดี่ยวตามซอกใบ ดอกแยกเพศอยู่บนต้นเดียวกัน รูปแตร ปลายกลีบดอกแยกเป็น 5 แฉก เมื่อบานเต็มที่จะมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 เซนติเมตร มะระในประเทศไทยส่วนใหญ่พบสองพันธุ์คือ มะระขี้นก (มะระไทย) และมะระจีน โดยมะระขี้นกสามารถนำมารับประทานเป็นอาหารและเป็นยาได้ซึ่งสรรพคุณของมะระขี้นกนั้นมีมากมาย เช่น ในส่วนของรากสามารถแก้พิษ แก้พิษดับร้อน แผลฝีบวมอักเสบ สมานแผล เถา แก้พิษทั้งปวง ในส่วนของใบจะช่วยในแก้พิษและรักษาแผล ในส่วนของดอกสามารถแก้พิษได้ ในส่วนของผลสามารถแก้พิษฝีและดับพิษร้อน และในส่วนสุดท้ายคือส่วนของเมล็ดนั้นจะใช้ในการดับพิษทั้งปวง และในปัจจุบันมีรายงานการวิจัยว่ามีการพบสารรสขมชาแรนทิน (charantin) ในผลของมะระขี้นก ซึ่งเป็นสารผสมของสเตียรอยด์ที่มีฤทธิ์ในการช่วยลดน้ำตาลในเลือดได้ และยังพบอีกว่ามีการใช้มะระขี้นกในการรักษาโรคเบาหวาน (สุธาทิพ, 2550)

รูปที่ 2.11 ต้นมะระขี้นก
ที่มา : โต๊ะข่าวเกษตร, 2560

โหระพา (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Ocimum basilicum* L.) ซึ่งโหระพามีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียและแอฟริกา ทั้งยังเป็นพืชพื้นเมืองของอินเดียอีกด้วย แต่โหระพานั้นได้มีการแพร่หลายทั้งในเอเชียและดินแดนตะวันตก โดยโหระพานั้นเป็นพืชตระกูลเดียวกับกะเพราและแมงลักแต่จะมีกลิ่นรสที่ต่างกัน ซึ่งใบโหระพาจะมีคุณค่าทางยาที่ช่วยในการย่อยอาหาร ช่วยให้เจริญอาหาร ขับลมในลำไส้ แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องร่วง แก้อาการคลื่นไส้อาเจียน โดยเด็กที่มีอาการปวดท้องให้นำใบโหระพา 20 ใบ มาชงด้วยน้ำร้อน และนำมาผสมชงในนมให้เด็กดื่ม ซึ่งมีความปลอดภัยกว่ายาขับลมที่ผสมแอลกอฮอล์ ในส่วนของยอดอ่อน นำมาต้มกับน้ำดื่มเป็นชา หรือทานเป็นผักสดซึ่งจะช่วยรักษาโรคหวัด รักษาอาการปวดศีรษะ แต่เมื่อนำใช้ร่วมกับขิงจะช่วยในการแก้ไอ และช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และส่วนของเมล็ดของโหระพานั้นเมื่อนำมาแช่น้ำจะพองตัวเป็นเมือกเมื่อทานจะช่วยอาการแก้บิด ช่วยหล่อลื่นลำไส้ใช้เป็นยาระบายเนื่องจากมีการไปเพิ่มจำนวนของกากอาหาร (สุธาทิพ, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูที่ 2.12 ต้นโหระพา
ที่มา : ภิญญโชติ, 2559

เนื่องจากแอคติโนมัยสีทจะอาศัยอยู่ในบริเวณที่เป็นดิน ปุ๋ยหมัก น้ำ โคลนตม และบริเวณราก ดังนั้นจึงได้ทำการคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์จากพืชสมุนไพรไทยเพราะสมุนไพรไทยมีสรรพคุณมากมายที่ช่วยในการรักษาโรคต่างๆ และยังสามารถผลิตเป็นยาปฏิชีวนะได้อีกด้วย

2.18 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากบริเวณรอบรากพืชสมุนไพร

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทบริเวณรอบรากสมุนไพร และจากเอนโดไฟติคของสมุนไพร พบงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

จากงานวิจัยได้ทำการแยกและคัดเลือกแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีทที่เป็นปฏิปักษ์ต่อรา *Curvularia oryzae* ที่ทำให้เกิดโรคใบจุดของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน โดยทำการแยกจากดินบริเวณรอบรากต้นมะขามป้อมที่สมบูรณ์ไม่แสดงอาการโรคใดๆ บริเวณรอบอ่างเก็บน้ำในพื้นที่มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์วิทยาเขตหาดใหญ่ จำนวน 32 ตัวอย่าง ซึ่งแยกได้ทั้งหมด 89 ไอโซเลท จากนั้นทำการทดสอบด้วยวิธี dual culture พบว่ามี 3 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Curvularia oryzae* ได้ (อรณิชา และคณะ, 2559)

จากงานวิจัยได้ทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท 52 สายพันธุ์จากดินรอบรากพืชสมุนไพรทองพันชั่งและว่านมหากาฬ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้กับ *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida utilis* พบว่า 58% ของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้นั้นสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบอย่างน้อย 1 ชนิด และมี 5 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบทุกชนิด (กรรณิการ์ และคณะ, 2550)

จากงานวิจัยได้ทำการศึกษาผลของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกจากดินบริเวณรอบรากพริกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช *Colletotrichum capsici, Curvularia lunata* และ *Fusarium solani* บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และ McBeth Scale Agar (MBS) ด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 10 วัน พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของ *C. capsici* ได้ดีบนอาหาร PDA สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. lunata* ได้ดีบนอาหารPDA และ MBS สามารถยับยั้งการเจริญของ *F. solani* ได้ดีบนอาหาร PDA ในขณะที่บนอาหาร MBS สามารถยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญของ *F. solani* ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชทั้ง 3 สายพันธุ์บนอาหารที่ต่างชนิดกัน พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้นั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชทั้ง 3 สายพันธุ์บนอาหาร PDA ได้ดีกว่าอาหาร MBS (วิไลลักษณ์ และ สมเกียรติ, 2559)

จากงานวิจัยได้ทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินรอบรากของตนมะเขือเทศใน อ.เมือง จ. กาญจนบุรี ทำการทดสอบด้วยวิธี agar cross streak พบว่าเชื้อสายพันธุนี้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่กอใหเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ต้าน *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, *Staphylococcus aureus* 25923 และ *Pseudomonas aeruginosa* 9027 สารสกัดหยาบจากอาหารเหลวที่สกัดตวยเอทิลอะซิเตทของเชื้อรหัส KM1 มีฤทธิ์สามารถต้าน *R. solanacearum* ได้ (นวลรัตน และคณะ, 2554)

จากงานวิจัยได้ทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินรอบรากพืชจากแปลงเกษตรกรในเขตจังหวัดอุบลราชธานี และจังหวัดศรีสะเกษ ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ enrichment media for isolation of chitinase-producing actinomycetes (EMCA agar) สามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ จำนวน 283 ไอโซเลท นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า *Sclerotium rolfsii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ cornmeal agar (CMA agar) พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีมีจำนวน 13 ไอโซเลท จาก 283 ไอโซเลท ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเกิดจากการที่เชื้อแอคติโนมัยสีทสร้างเอนไซม์ไคติเนสมาทำลายหรือย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคในต้นพริกพบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากชนิดของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคในต้นพืชกับประสิทธิภาพการยับยั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีความสัมพันธ์กัน (ปราณี และ ชนิดาภา, 2555)

จากงานวิจัยได้ทำการแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถควบคุมเชื้อรา *Curvularia lunata* ที่เป็นสาเหตุของโรคเมล็ดด่างในข้าว โดยการแยกแอคติโนมัยสีทจากดินและดินรอบรากข้าวที่เก็บจากนาข้าวในจังหวัดลพบุรี ด้วยอาหาร starch casein agar ได้จานวน 116 ไอโซเลท นำแอคติโนมัยสีทที่แยกได้ทั้งหมดมาทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *C.lunata* ด้วยวิธี dual culture พบว่าแอคติโนมัยสีท 5 ไอโซเลท มีค่าการยับยั้งเชื้อรา *C. lunata* ได้สูง แต่มีเพียงไอโซเลทเดียวมีค่าการยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 91.94% และเมื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อราของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหารแข็ง พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลทที่มีค่าการยับยั้งได้สูงสุดที่ความเข้มข้น 10% (v/v) สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. lunata* บนอาหารแข็งได้เท่ากับ 88.16% นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและโปรดิเอสได้ เมื่อนาแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SR13-2 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (เจนจิรา และ สลิลา, 2561)

จากงานวิจัยได้ทำการแยกเชื้อเอนโดไฟติคแอคติแอคติโนมัยสีทจากส่วนของใบ ลำต้นและรากของพืชสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ กระชาย (*Baesenbergia rotunda* (L.) Mansf A.), ขมิ้น (*Curcuma longa* Linnaeus), ข่า (*Alpinia galanga* (L.) Wild.) และขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) โดยทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธี surface sterile โดยวิธีการฆ่าเชื้อที่พื้นผิว (surface sterile) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แยกเชื้อบนอาหาร Humic-acid vitamin (HV) agar ทั้งหมด 16 ไอโซเลท ได้นำมาความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยมี 14 ไอโซเลท ที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococus aureus*) แบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi* และ *Serratia marcescens*) และยีสต์ (*Candida albicans*) โดยมี 4 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด และได้มีการทำการสกัดสารสกัดหยาบจากเชื้อแอคติโนมัยสีททั้ง 4 ไอโซเลทด้วยตัวทำละลาย Ethyl acetate พบว่าสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบและมีความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ (สุจรรยา, 2556)

จากงานวิจัยได้ทำการศึกษาการแยกเชื้อเอ็นโดไฟติคแอคติโนมัยสีทจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ รางจืด ฟ้าทะลายโจร เหงือกปลาหมอ พญายอ และย่านาง โดยวิธี surface sterilized ได้ 52 ไอโซเลท นำมาทดสอบความสามารถในการด้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus cereus* ATCC6633, *Candida albicans* ATCC90028, *Escherichia coli* ATCC10536, *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Alternaria porri*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae*, *Curvularia* sp. , *Drechslera* sp., *Exserohilum* sp., *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* sp. และ *Sclerotium rolfsii* พบว่ามีเพียง 16 ไอโซเลทเท่านั้นที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ โดยมีเพียงไอโซเลทเดียวที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด จากการศึกษาสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อ TL-19 พบก้านชูสปอร์เป็นสายเดี่ยวสร้างสปอร์รูปไข่ผิวเรียบต่อกันเป็นสายยาวโค้ง เมื่อนำมาศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA พบว่าเชื้อ TL-19 จัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* และจากการทำ phylogenetic tree ของ 16S rDNA พบว่า เชื้อ TL-19 มีความใกล้เคียงกับ *Streptomyces caviscabies* ATCC 51928 และ *Streptomyces stonii* AICC 25497 ถึง 99% และจากการศึกษา chemotaxonomy พบว่า whole cell hydrolysates ของเชื้อ TL-19 มี 2,6 diaminopimelic acid (DAP) ชนิด LLDAP จึงสรุปได้ว่า *Streptomyces* sp. TL-19 เป็นเชื้อที่แยกได้จากใบรางจืดมีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ นำสารสกัดหยาบที่สกัดได้จาก *Streptomyces* sp. TL-19 มาศึกษาความเป็นพิษกับเซลล์ Human keratinocyte และ L929 ตรวจสอบความเป็นพิษด้วยวิธี MTI assay นำสารสกัดหยาบมาศึกษาการงอกของสปอร์เชื้อราทดสอบพบว่า การงอกของสปอร์เชื้อราทดสอบจะลดลงเมื่อสารสกัดหยาบมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น นำสารสกัดหยาบมาทดสอบความสามารถในการป้องกันโรค แอนแทรคโนสในพริกแดงและมะเขือเทศ พบว่าสามารถป้องกันโรคได้ (ศรีสกุล, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ

3.1.1	ตู้ปลอดเชื้อ (Lamina flow)	รุ่น 120 BS ยี่ห้อ Super clean, Major scientific Thailand
3.1.2	ตู้อบความร้อน (Hot Air Oven)	รุ่น 110 บริษัท MeMIert, Ger
3.1.3	ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)	รุ่น 1300 ยี่ห้อ Contherm, New Zealand
3.1.4	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	รุ่น GF-800 ยี่ห้อ AND, Japan
3.1.5	เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)	รุ่น Starter 3000 ยี่ห้อ OHAUS, USA
3.1.6	หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)	รุ่น ES-315 ยี่ห้อ TOMY, Japan
3.1.7	เครื่องไมโครเวฟ	รุ่น R-250 sharp, Thailand
3.1.8	เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker)	ยี่ห้อ Gallenkamp, UK
3.1.9	เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)	ยี่ห้อ HEIDOLPH, Germany
3.1.10	เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex meter)	รุ่น Vortex-genin 2, 230v-g560e บริษัท Scientific industries, USA
3.1.11	กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)	รุ่น CH30 ยี่ห้อ Olympus, Japan
3.1.12	เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)	HERMEL Labotechnik

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)
3.2.2 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)
3.2.3 ทิป (Tip)
3.2.4 Auto pipette ขนาด 50 ไมโครลิตร, 200 ไมโครลิตร และ 1,000 ไมโครลิตร
3.2.5 ช้อนตักสาร (Spatula)
3.2.6 ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)
3.2.7 บีกเกอร์ (Beaker)
3.2.8 ขวดดูแรน (Duran)
3.2.9 ปิเปตแก้ว (Measuring pipette)
3.2.10 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
3.2.11 ลูกยาง (Rubber for pipette)
3.2.12 มีดผ่าตัด (Scalpel)
3.2.13 หลอดทดลองและฝาปิด (Test tube and Cap for test tube)
3.2.14 ไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (Cotton Swab Sterile)
3.2.15 เข็มเขี่ยเชื้อปลายแหลม (Needle)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.16 กระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 (Filter paper Grade 1)
3.2.17 แผ่นทดสอบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (Paper disc)
3.2.18 สำลี (Cotton)
3.2.19 Centrifuge tube
3.2.20 Microcentrifuge tube
3.2.21 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
3.2.22 หลอดหยดสาร (Dropper tube)
3.2.23 กรวยแยก (Separatory funnel)
3.2.24 ขวดแก้วเล็ก (Vial)
3.2.25 เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier caliper)
3.2.26 ปากคีบ (Forceps)
3.2.27 กระดาษทิชชู่ (Tissue paper)
3.2.28 แท่งแก้วรูปตัวแอล (Spreader glass)
3.2.29 กระจกสไลด์ (Microscope slide)
3.2.30 กระจกปิดสไลด์ (Microscope coverslip)
3.2.31 หลอดดักแก๊ส (Durham tubes)

3.3 สารเคมี

3.3.1 สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)
3.3.2 สารสกัดจากมอลต์ (Malt extract)
3.3.3 น้ำตาลกลูโคส (Glucose) MW 180.1559 g/mol
3.3.4 วุ้น (Agar)
3.3.5 แป้งที่ละลายน้ำได้ (Soluble starch)
3.3.6 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) MW 58.44 g/mol
3.3.7 เคซีน (Casein)
3.3.8 แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgS0_4.7H_2O$) MW 120.366 g/mol
3.3.9 แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) MW 100.0869 g/mol
3.3.10 Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4) MW 174.1759 g/mol
3.3.11 น้ำกลั่น
3.3.12 แอลกอออล์ 95 เปอร์เซ็นต์ และ 70 เปอร์เซ็นต์
3.3.13 เมทานอล MW 32.0419 g/mol
3.3.14 Cyclohexamide ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
3.3.15 Skim milk powder
3.3.16 เปปโตน (Peptone)
3.3.17 โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) MW 101.11 g/mol
3.3.18 เจลาติน (Gelatin)
3.3.19 แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)2S0_4$) MW 132.1395 g/mol
3.3.20 Tryptocase (protease peptone)
3.3.21 Beef extract

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.22 Phenol red MW 354.38 g/mol

3.3.23 Acid Hydrolysate of Casein

3.3.24 น้ำตาลไซโลส (Xylose) MW 150.13 g/mol

3.3.25 น้ำตาลแลคโตส (Lactose) MW 342.30 g/mol

3.3.26 น้ำตาลซูโครส (Sucrose) MW 342.30 g/mol

3.3.27 น้ำตาลแมนนิทอล (Mannitol)

3.3.28 สารละลายเมทิลีนบลู (Methylene blue)

3.3.29 สารละลายมาตรฐานแมกฟาแลนเบอร์ 5

3.3.30 Tween 80

3.3.31 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ซาลีน (Phosphate Buffer Saline, PBS)

3.3.32 สารละลายแกรมไอโอดีน

3.3.33 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) 3%

3.3.34 Tetramethyl-p-phenylenediamine (TPD) 1%

3.3.35 คลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$) MW 119.38 g/mol

3.3.36 Ethyl acetate ($C_4H_8O_2$) MW 88.1051 g/mol

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4.1 Zhang's Starch Soil Extract agar (ZSSE)

3.4.2 International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

3.4.3 Skim milk agar

3.4.4 Bouilon Gelatin broth

3.4.5 Inorganic salts-starch agar (ISP4)

3.4.6 Phenol Red Glucose (or other Sugar) broth

3.4.7 Yeast Extract-Malt Extract (YEME) medium

3.4.8 Yeast extract-Malt Extract (YEME) broth

3.4.9 Sabourand Dextrose Agar (SDA)

3.4.10 Mueller's hinton Agar (MHA)

3.4.11 Nutrient Agar (NA)

3.4.12 Potato Dextrose Agar (PDA)

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 (ปราณี และ ชนิดาภา, 2555)

เลือกจุดเก็บตัวอย่างดินจากดินรอบรากใต้ต้นสมุนไพร ได้แก่ ต้นกะเพราแดง ต้นขงโคขาว ต้นตะไคร้ ต้นไทรย้อย ต้นมะม่วง ต้นมะระขี้นก และต้นโหระพา ก่อนเก็บตัวอย่างดินให้เก็บเศษขยะทั่วดินให้เรียบร้อยก่อน จากนั้นขุดดินลึกลงไป 5-10 เซนติเมตร ใช้ช้อนตักดินใส่ถุงพลาสติกใส จากนั้นนำกลับห้องปฏิบัติการ

3.6.2 การเพาะเลี้ยง การแยก และการเก็บรักษาเชื้อแอคติโนมัยสีท (Klanbut *et al.*, 2017)

นำตัวอย่างดินจากข้อ 3.6.1 ตากดินให้แห้งเป็นเวลา 5 วันที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างดินไปอบที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วชั่งดินมา 1 กรัม บดตัวอย่างดินด้วยโกร่งให้ละเอียด ใส่หลอดทดลองที่มี 0.1% Tween 80 ปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร หลังจากนั้นผสมส่วนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร (vortex mixer) กำหนดให้เป็นระดับการเจือจางที่ 10^{-1} ทิ้งไว้ 5 นาทีให้ตกตะกอน จากนั้นทำการเจือจางด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน 0.1% (Phosphate Buffer Saline, PBS) ปลอดเชื้อให้มีระดับเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-4} จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่างการเจือจางที่ 10^{-1} ถึง 10^{-4} ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยบนอาหาร Zhang's Starch Soil Extract agar (ZSSE) (ภาคผนวก ก) ด้วยเทคนิค spread plate จำนวน 2 ซ้ำ เติมยาปฏิชีวนะ cycloheximide ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมตร 500 ไมโครลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 500 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7-14 วัน (ตรวจสอบการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีททุกสัปดาห์)

3.6.3 การหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน (ภาคผนวก จ) (Yang *et al.*, 2014)

3.6.3.1 การหาน้ำหนักดิน

นำตัวอย่างดินประมาณ 2-3 กรัม ใส่ลงในกระดาษฟอยล์ จากนั้นนำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนน้ำระเหยหมด และน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง คำนวณหาน้ำหนักของดินที่ใช้ในการแยกเชื้อ จากผลต่างของน้ำหนักกระดาษฟอยล์ก่อนและหลังอบ

3.6.3.2 การหาปริมาณความชื้น

นำตัวอย่างดินมา 1-2 กรัมใส่บีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนัก แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิห้องจนน้ำหนักของดินคงที่ และคำนวณปริมาณความชื้นของดิน

3.6.3.3 การวัดค่าความเป็นกรดด่าง

ชั่งตัวอย่างดิน 2 กรัมใส่บีกเกอร์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ค่อยๆเติมน้ำกลั่นทีละน้อย และในขณะเดียวกันให้คนตัวอย่างดินด้วยช้อนตักสารหรือแท่งแก้ว จนเห็นแผ่นฟิล์มบางๆบนหน้าผิวของดิน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที - 1 ชั่วโมง และทำการวัดค่าความเป็นกรดต่างของดินจำนวน 3 ซ้ำ รายงานในรูปของค่าเฉลี่ยจากการวัด

3.6.4 การแยกเชื้อและการเก็บรักษา

นำตัวอย่างของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ได้จากข้อ 3.6.2 ทำการแยกเชื้อเพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยวด้วยเทคนิค cross streak บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) ที่เติมยาปฏิชีวนะ cycloheximide ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมตร 500 ไมโครลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เมื่อได้โคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดี่ยวๆ แล้วทำการถ่ายเชื้อ (subculture) ลงบนหลอดอาหารเอียง International Streptomyces Project medium no.2 (ISP 2) ที่ไม่ใส่ยาปฏิชีวนะ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7-14 วัน จนเชื้อเจริญเต็มที่ และเก็บไว้สำหรับการทดลองในขั้นต่อไป และทำการกำหนดหมายเลขไอโซเลท

3.6.5 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อ (Arumugam *et al.*, 2017)

ตรวจสอบลักษณะทางการเจริญโดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) โดยวิธี Cross steak ตรวจผลโดยการดูการเจริญเนื้อและสีของโคโลนี้ด้านบน สีของโคโลนีด้านล่างและรงควัตถุที่ละลายน้ำได้เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The NBs/IBCC system) ตรวจดูลักษณะของเส้นใยและการสร้างสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.6.6 การตรวจสอบลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ

3.6.6.1 การย่อยสลายโปรตีนในนม Peptornization (จาตุรงค์ และคณะ, 2553)

เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 1 ลูปลงในอาหาร Skim milk agar เป็นเส้นตรงแนวยาวจากด้านหนึ่งไปจนถึงอีกด้านหนึ่ง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน ถ้ามีการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมเกิดขึ้นจะเกิดวงใสใสรอบโคโลนี บันทึกผลเป็น

\+ เมื่อมีการย่อยโปรตีนในนม เกิดบริเวณใส รอบโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีท

\- เมื่อไม่มีการย่อยโปรตีนในนม ไม่เกิดบริเวณใส รอบโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีท

3.6.6.2 การย่อยสลายเจลาติน (กุสุมา และคณะ, 2557)

เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทในอาหาร Bouilon Gelatin broth จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10-14 วันจากนั้นนำหลอดทดลองที่เพาะเลี้ยงไว้ไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที เปรียบเทียบกับหลอดควบคุม ถ้ามีการย่อยสลายเจลาตินของเชื้อแอคติโนมัยสีทจะไม่เกิดการแข็งตัวของอาหาร

\+ เมื่อมีการย่อยเจลาตินจะไม่เกิดการแข็งตัว

\- ไม่มีการย่อยเจลาติน

3.6.6.3 การย่อยสลายแป้ง (กุสุมา และคณะ, 2557)

เลี้ยงแอคติโนมัยชีทบนอาหาร Inorganic salt-starch agar (ISP4) (Shirling *et al.*, 1966) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ตรวจผลโดยการเติมสารละลายแกรมไอโอดีนลงบนอาหารที่เลี้ยงเชื้อ ถ้ามีการย่อยสลายแป้งเกิดขึ้นจะเกิดเป็นบริเวณใสรอบๆโคโลนีของเชื้อ แต่ถ้าไม่มีการย่อยสลายแป้งจะเกิดเป็นสีน้ำเงิน บันทึกผลเป็น

\+ เมื่อเกิดการย่อยสลายแป้งจะเกิดบริเวณใส (Clear zone) รอบโคโลนีของเชื้อ

\- เมื่อไม่เกิดการย่อยสลายแป้งจะไม่เกิดบริเวณใส (Clear zone) รอบโคโลนีของเชื้อ

3.6.6.4 การตรวจสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, ซูโครส, ไซโลส, แลคโตส และแมนนิทอล (ลักษมี, 2556)

ศึกษาการหมักน้ำตาลโดยเขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีทเลี้ยงในอาหาร Phenol Red Glucose (or other Sugar) broth (pH 7.4) ที่ใส่หลอดดักแก๊ส จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน ตรวจผลโดยการสังเกตการเปลี่ยนสีของอาหาร บันทึกผลเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A (Acid)	เมื่อมีการหมักน้ำตาล สารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
K (Alkaline)	เมื่อไม่เกิดการหมักน้ำตาล
W (Weakty)	เมื่อเกิดการหมักน้ำตาลเพียงเล็กน้อย ลารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงส้ม
+	เมื่อมีการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส
-	เมื่อไม่มีการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส

3.6.6.5 การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส (ดัดแปลงจากดวงพร, 2537) เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงบนอาหารแข็งอายุไม่เกิน 5 วัน ด้วยไม้จิ้มฟันปลอดเชื้อลงบนแผ่นสไลด์ หลังจากนั้นทำการหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ลงบนเชื้อ สังเกตฟองก๊าซที่เกิดขึ้น

+	เมื่อเชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส เกิดฟองก๊าซขึ้น
-	เมื่อเชื้อแอคติโนมัยสีทไม่สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส ไม่เกิดฟองก๊าซขึ้น

3.6.6.6 การทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส (Kovac, 1956)

ทำการหยด 1% Tetramethyl-p-phenylenediamine (TPD) ลงบนกระดาษกรอง หลังจากนั้นเขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงบนอาหารแข็งอายุไม่เกิน 5 วัน ด้วยไม้จิ้มฟันปลอดเชื้อลงบนแผ่นสไลด์ สังเกตสีที่เกิดขึ้น

+	เมื่อเชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถผลิตเอนไซม์ออกซิเดส กระดาษกรองเกิดสีม่วง
-	เมื่อเชื้อแอคติโนมัยสีทไม่สามารถผลิตเอนไซม์ออกซิเดส กระดาษกรองไม่เกิดสี

3.6.7 การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น (ดัดแปลงจาก Meena *et al.*, 2013)

ทำการลากเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร Yeast Extract-Malt Extract (YEME) medium โดยขีดเส้นเป็นเส้นตรงตามแนวยาวจากด้านหนึ่งไปสู่อีกด้านหนึ่ง บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-7 วัน จากนั้นทำการทดลองกับเชื้อทดสอบ 6 ชนิด ได้แก่ 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 โดยลากเชื้อทดสอบตั้งฉากกับเชื้อแอคติโนมัยสีในทิศทางออกจากรอยลากของเชื้อแอคติโนมัยสีท นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบสังเกตระยะห่างระหว่างแนวการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทกับเชื้อทดสอบที่เกิดขึ้น จากการศึกษานี้จะสามารถคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ในเบื้องต้น

3.6.8 การทดสอบกิจกรรมต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยใช้เทคนิค Agar disc diffusion (Phongsopitanun *et al.*, 2014)

3.6.8.1 การเตรียมหัวเชื้อและการเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีท

ทำการเขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 1 ลูป ใส่ลงในอาหาร Yeast extract-Malt extract (YEME) บ่มในสภาะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเติม 0.1% $CaCO_3$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มเลี้ยงต่อในสภาวะเขย่า ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.8.2 การสกัดสารทุติยภูมิจากน้ำหมักเชื้อแอคติโนมัยสีท

นำน้ำหมักเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ได้จากข้อ 3.6.8.1 มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 ขนาด 90 มิลลิเมตร เพื่อแยกเอาเส้นใยของเชื้อแอคติโนมัยสีทออกจากอาหารเหลว จากนั้นนำส่วนของน้ำหมักที่ปราศจากเส้นใยมาทำการสกัดโดยใช้เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ โดยทำการเติมลงไปในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ซึ่งในส่วนของเอทิลอะซิเตทนำไประเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

3.6.8.3 การสกัดสารทุติยภูมิจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท

ทำการกรองตัวเซลล์แยกออกจากน้ำหมัก แล้วทำการล้างตัวเซลล์ด้วยเมทานอลประมาณ 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปบ่มต่อในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำน้ำหมักเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ได้มาทำการกรอง จากนั้นนำไประเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจะทำให้ได้สารสกัดหยาบในขั้นเมทานอลแล้วนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.6.8.4 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ (วสุ, 2554)

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ 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 ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (Normal Saline) ที่ปลอดเชื้อ แล้วปรับให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐานแมคฟาเลน หมายเลข 0.5 ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ 1.0×10^8 CFU/ml

3.6.8.5 การเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบ

เตรียมอาหาร Mueller's hinton agar (MHA) สำหรับอาหารที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงเชื้อทดสอบแบคทีเรีย และเตรียมอาหาร Sabourand Dextrose agar (SDA) เป็นอาหารสำหรับใช้เลี้ยงเชื้อทดสอบยีสต์โดยทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ จากนั้นเทลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อให้อาหารกระจายแล้วทิ้งไว้ให้แข็งตัว

3.6.8.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยเทคนิค Agar disc diffusion

ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (Cotton Swab Sterile) ชุบเชื้อที่แขวนลอยไว้ในข้อ 3.6.8.3 แล้วทา (Swab) ลงบนอาหารแข็งที่เตรียมไว้จากข้อ 3.6.8.4 ให้ทั่วด้วยวิธีปลอดเชื้อ (Aseptic Technique) เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบจากข้อ 3.6.8.2 และ 3.6.8.3 ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นทดสอบปริมาตร 20 ไมโครลิตร และวางบนอาหารที่ Swab เชื้อไว้แล้ว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงสำหรับยีสต์ และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงสำหรับแบคทีเรีย การทดสอบนี้อาศัยหลักการแพร่ของสาร ซึ่งสารสกัดจะแพร่กระจายตัวรอบแผ่นทดสอบ การมีสารสกัดฤทธิ์ยับยั้งจะเกิดวงใสรอบแผ่นทดสอบตรวจผลการทดสอบได้ด้วยการวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสจากด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งในหน่วยที่เป็นมิลลิเมตรด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปราย

4.1 การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท

จากการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ ต้นกะเพราแดง (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ocimum sanctum* L.), ต้นชงโคขาว (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Bauhinia pottsii* var. Decipiens), ต้นตะไคร้ (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cymbopogon citratus*), ต้นไทรย้อย (ชื่อทางวิทยาศาสตร์: *Ficus benjamina* L.), ต้นมะม่วง (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Mangifera indica* L.), ต้นมะระขี้นก (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Momordica charantia* L.) และต้นโหระพา (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Ocimum basilicum* L.) ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.1 โดยทำการเก็บตัวอย่างดินรอบรากสมุนไพรทั้งหมด 7 ชนิด นำมาคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.2 จนได้เชื้อบริสุทธิ์จำนวน 39 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 หมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จำนวน 39 ไอโซเลท

ตัวอย่างดิน	หมายเลขไอโซเลท
ต้นกะเพราแดง	OS102, OS105, OS201, OS203, OS302
ต้นชงโคขาว	BP101, BP102, BP103, BP201, BP202, BP203
ต้นตะไคร้	CC201, CC203, CC205
ต้นไทรย้อย	FB301, FB302, FB,303 ,FB304
ต้นมะม่วง	MI301, MI302, MI303, MI304, MI305
ต้นมะระขี้นก	MC201, MC202, MC203, MC204, MC304, MC305
ต้นโหระพา	OB101, OB103, OB104, OB106, OB107, OB202, OB301, OB302, OB303, OB307

***หมายเหตุ: ตัวหนังสือ คือ ชื่อย่อของชื่อวิทยาศาสตร์ของตัวอย่างต้นสมุนไพร
ตัวเลขตัวเลข คือ ความเจือจางของสารละลายดินที่ใช้ในการ spread plate
ตัวเลขตัวที่สอง คือ ลำดับไอโซเลท
ตัวเลขตัวสุดท้าย คือ ลำดับไอโซเลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 จุดเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพร 7 ชนิด

รูปที่ 4.1 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดิน รอบรากรากต้นตะไคร้

รูปที่ 4.2 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดิน รอบรากรากต้นกะเพราแดง

รูปที่ 4.3 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดิน รอบรากรากต้นโหระพา

รูปที่ 4.4 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดิน รอบรากรากต้นมะระขี้นก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.5 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากรากต้นชงโคขาว

รูปที่ 4.6 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากรากต้นมะม่วง

รูปที่ 4.7 แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดินรอบรากต้นไทรย้อย

จะเห็นได้ว่าจากสมุนไพรทั้ง 7 ชนิดที่ได้นำมาศึกษานั้นอาจจะมีทั้งพืชที่เป็นไม้ล้มลุกและไม้ยืนต้น ซึ่งก็จะมีข้อดีที่แตกต่างกันออกไป โดยข้อดีของไม้ล้มลุก คือ เป็นพืชที่นิยมปลูกทั้งตามบ้านเรือนและสวนสาธารณะ เพราะเป็นพืชที่มีขนาดของลำต้นไม่ใหญ่มากนักจึงทำให้นิยมนำมาปลูก ซึ่งพืชล้มลุกนั้นก็จะมีระยะในการปลูกไม่นานและยังมีการใช้พื้นที่ในการปลูกน้อยอีกด้วย (บุศบรรณ, 2551) ส่วนข้อดีของไม้ยืนต้น คือ เป็นพืชที่มีอายุยืน โดยจะมีรากแก้วที่ช่วยในการค้ำจุนลำต้นเอาไว้ ทำให้พืชมีความมั่นคงแข็งแรง โดยไม้ยืนต้นส่วนใหญ่จะช่วยในเรื่องของความร่มเย็น (Adisak, 2014) แต่ก็จะมีพืชบางชนิดที่เป็นสมุนไพรและยังเป็นไม้ยืนต้นทำให้มีข้อดีมากกว่าเรื่องของการให้ความร่มเย็น

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าจากข้อดีของไม้ล้มลุกและข้อดีของไม้ยืนต้นที่ได้กล่าวมาดังข้างต้นนั้นเป็นเหตุผลที่ทำให้มีการเลือกพืชสมุนไพรทั้ง 7 ชนิดมาศึกษา อีกทั้งพืชสมุนไพรทั้ง 7 ชนิดที่ได้นำมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการศึกษานั้นมีคุณสมบัติและสรรพคุณมากมายหลายอย่าง โดยเฉพาะในเรื่องของสรรพคุณที่ช่วยในการรักษาโรคต่างๆ ซึ่งพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่นำมาศึกษานั้นก็จะมีสรรพคุณที่ช่วยในการรักษาโรคที่แตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของพืช และพืชสมุนไพรที่นำมาศึกษานั้นยังเป็นพืชสมุนไพรที่คนส่วนใหญ่คุ้นเคยกันดีแต่อาจจะยังไม่ทราบถึงสรรพคุณของพืชแต่ละชนิดว่ามีส่วนที่ช่วยในการรักษาโรคได้ และเป็นพืชที่สามารถมีการเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาศึกษาได้ง่าย อีกทั้งยังเป็นพืชสมุนไพรที่ยังไม่มีการศึกษาในเรื่องของการต้านฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ

4.3 สมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน

จากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณต้นและดินรอบรากพืชสมุนไพร โดยทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณต้นและดินรอบรากพืชสมุนไพร 7 ชนิด นำมาหาคุณสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดินประกอบไปด้วย 3 การทดสอบ ได้แก่ การหาน้ำหนักดิน (ดังวิธีการที่ 3.6.3.1) , หาปริมาณความชื้น (ดังวิธีการที่ 3.6.3.2), และการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ดังวิธีการที่ 3.6.3.3) ได้ผลแสดงดังตาราง 4.2

ตารางที่ 4.2 สมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน

ตัวอย่างดิน	น้ำหนัก (g)	ปริมาณความชื้น (%)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
ต้นกะเพราแดง	1.041	47.96	7.3
ต้นชงโคขาว	1.204	32.16	7.2
ต้นตะไคร้	1.145	40.31	7.4
ต้นไทรย้อย	1.001	48.39	7.2
ต้นมะม่วง	1.009	43.73	7.0
ต้นมะระขี้นก	1.118	39.92	7.8
ต้นโหระพา	1.048	43.28	7.3

การหาน้ำหนักดิน

จากผลการทดลองตาราง 4.2 ซึ่งเป็นการชั่งดินในปริมาณที่ใกล้เคียง 1 กรัมเท่ากันทุกตัวอย่าง แล้วนำมาทำการเจือจางที่ 10^{-1} ถึง 10^{-4} เพื่อที่จะสามารถนำมาเปรียบเทียบปริมาณเชื้อแอคติโนมัยสีทและสมบัติทางเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีทได้

ปริมาณความชื้น

จากผลการทดลองตาราง 4.2 ซึ่งเป็นความชื้นจริงของดินก่อนอบหาน้ำหนักดิน

ค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากผลการทดลองตาราง 4.2 พบว่าบริเวณจุดเก็บตัวอย่างที่สามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ ส่วนใหญ่มีค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งแต่ 7.0-7.4 แต่ดินบริเวณต้นมะระขี้นกมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 7.8 ซึ่งมีค่าที่แตกต่างจากดินบริเวณอื่น อาจเนื่องมาจากจากใส่ปูนทางการเกษตร เช่น ปูนขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

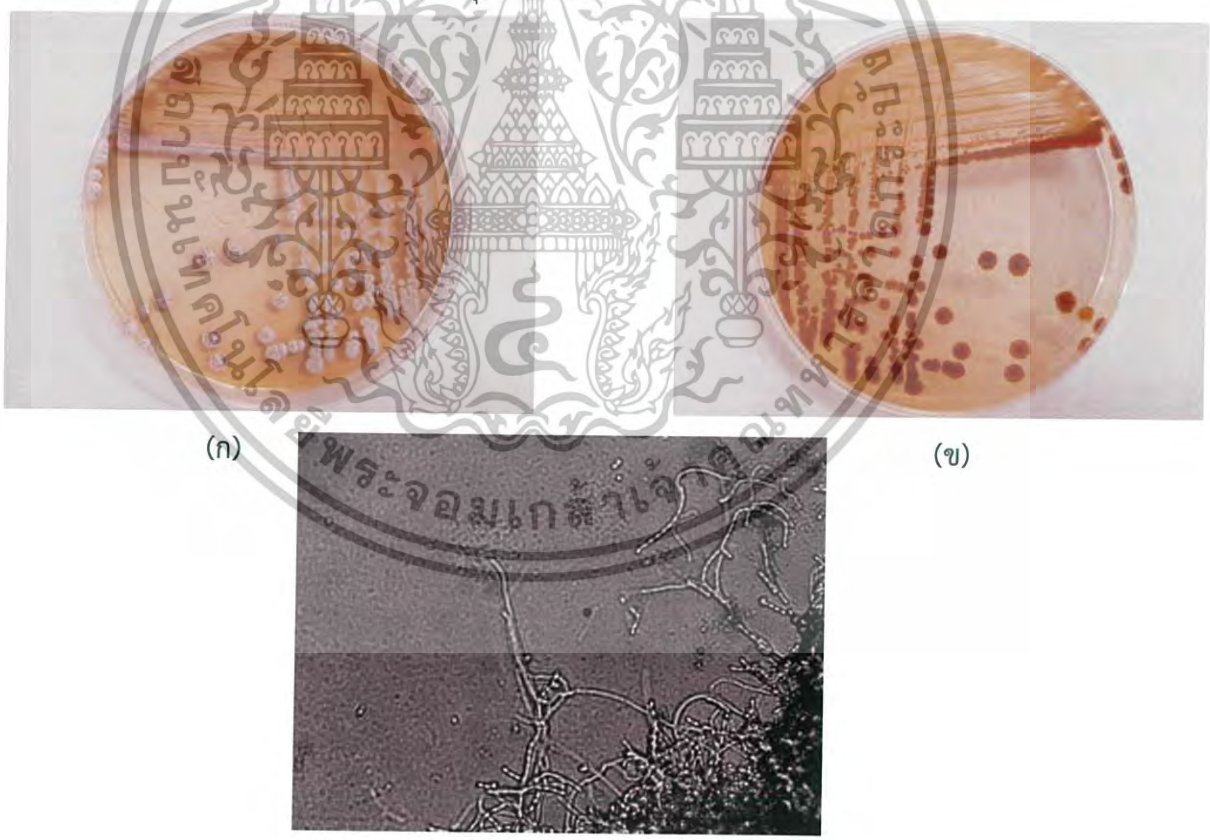
หินปูนบด เป็นต้น และใส่ปุ๋ยอินทรีย์ในปริมาณมาก ทำให้ดินมีค่าความเป็นด่างมากขึ้น (อลิสรา, 2554) ดังนั้นจึงทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของดินบริเวณนั้นสูงกว่าดินบริเวณอื่น

4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท

4.4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทที่ถูกทำการแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยว ด้วยเทคนิคการ cross streak บนอาหาร Zhang's Starch Soil Extract Agar (ZSSE) ที่มีส่วนผสมของดิน โดยใช้ดิน 500 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร คัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้จำนวนทั้งหมด 39 ไอโซเลท (ดังแสดงในตารางที่ 4.1) บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) คัดแยกสีของเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) สีของเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) และรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ (soluble pigment) โดยเทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (วิธีการที่ 3.6.5) ตรวจดูลักษณะเส้นใยและสปอร์ด้วยวิธี Slide culture (ภาคผนวก ค) โดยทำการส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 1000 เท่า เพื่อให้เห็นลักษณะของเส้นใยและการเรียงตัวของสปอร์อย่างชัดเจน พบว่าได้ผลทดลองดังนี้

4.4.1.1 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP202 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Grayish Yellowish Pink สร้างเส้นใยอาหารสี Light Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



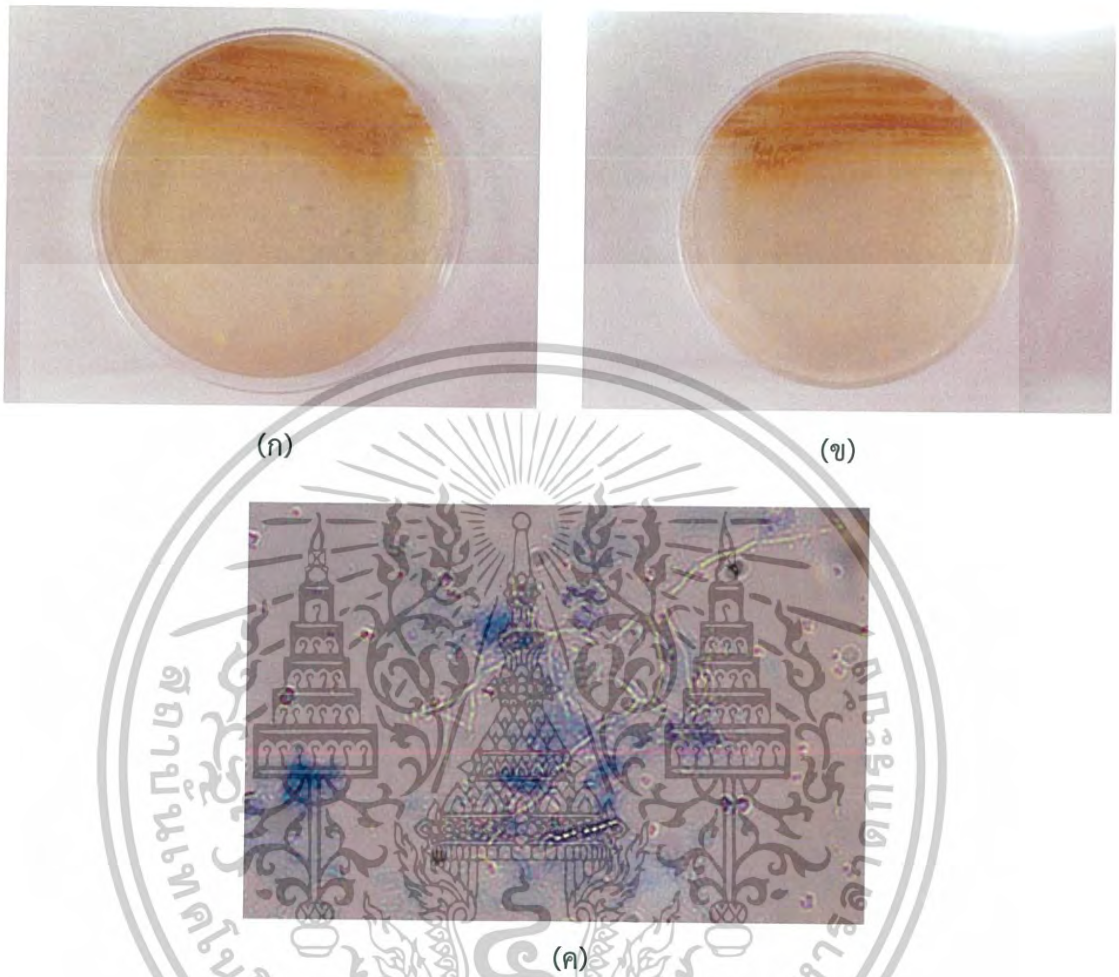
(ก) (ข)

(ค)

รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP202 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

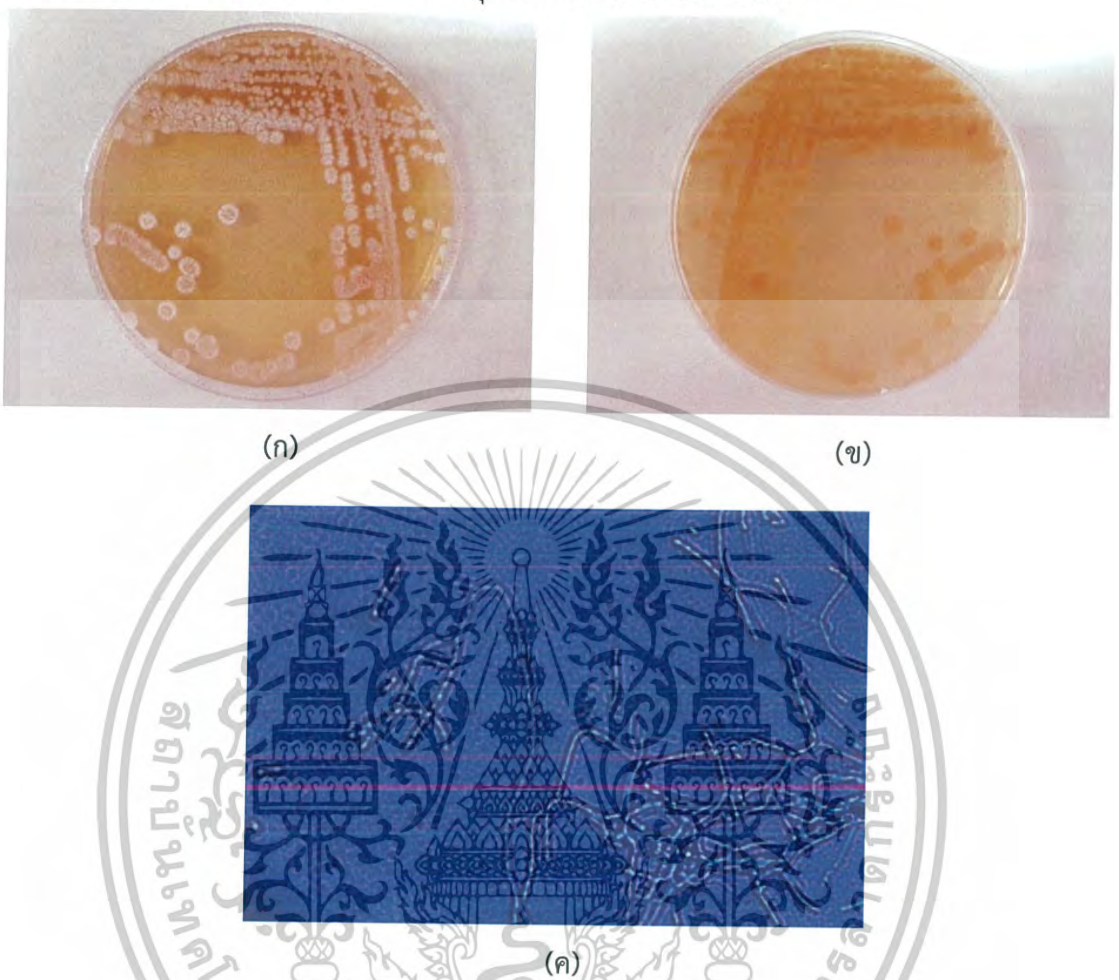
4.4.1.2 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Brownish Pink สร้างเส้นใยอาหารสี Yellowish Gray ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.3 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI305 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Pale Yellowish Pink สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate Yellowish Pink สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Pale Yellow



(ก) (ข)

(ค)

รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI305 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

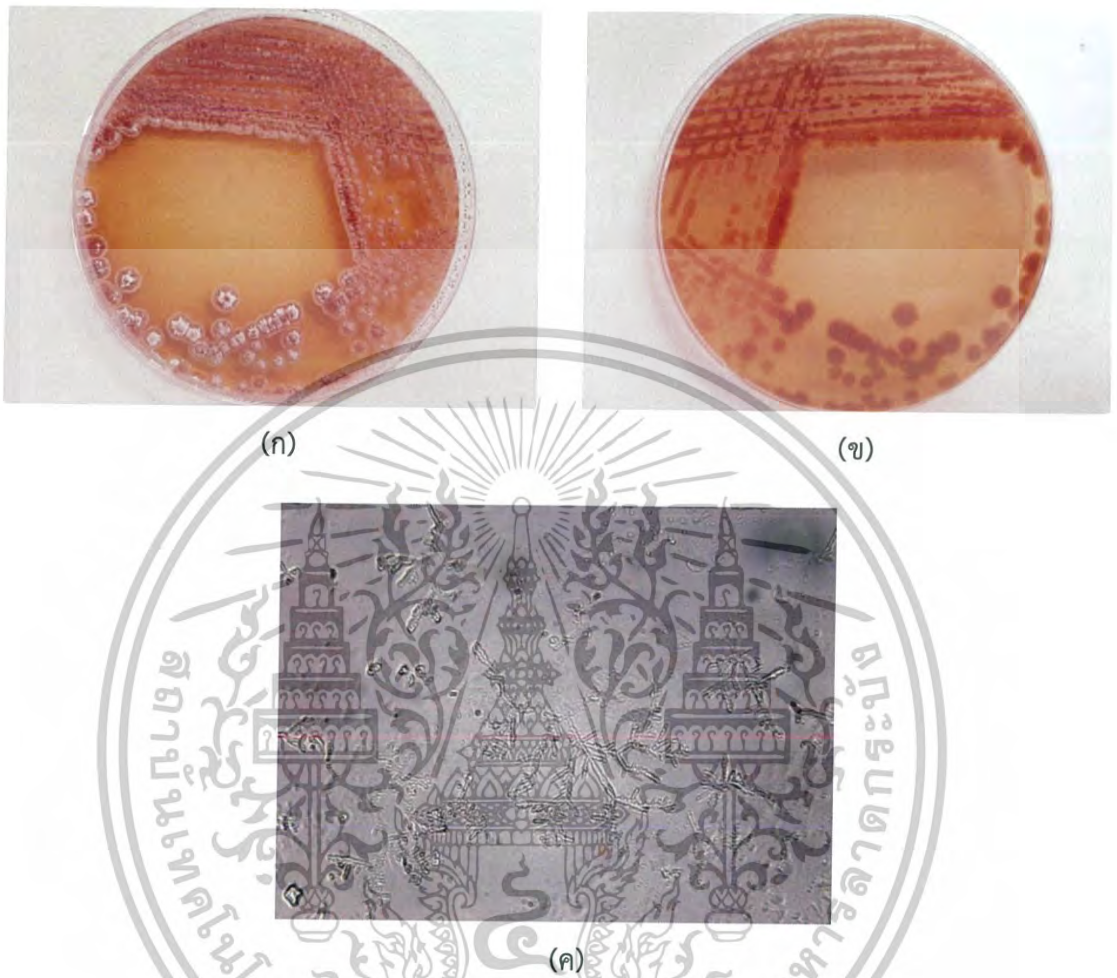
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

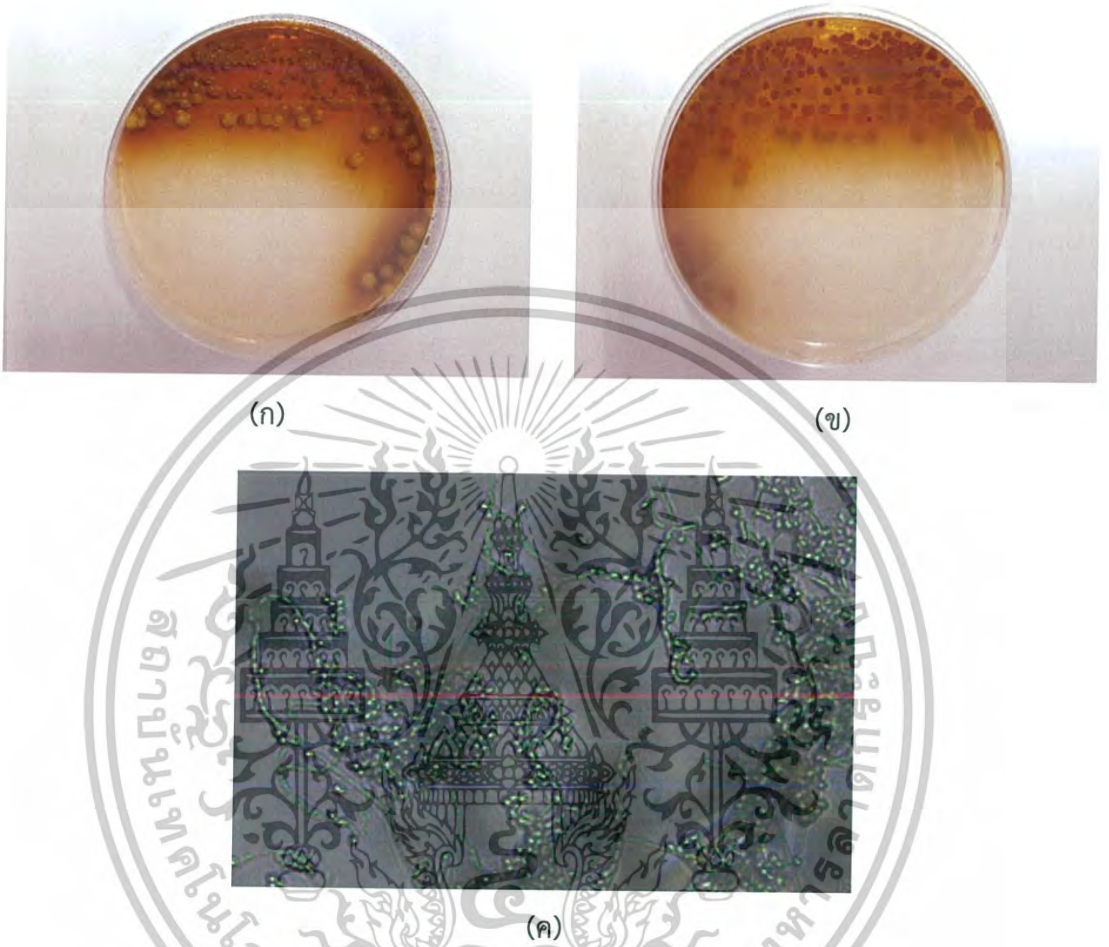
4.4.1.4 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB304 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Grayish Yellowish Pink สร้างเส้นใยอาหารสี Grayish Yellowish Pink สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Dark Orange Yellow



รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB304 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

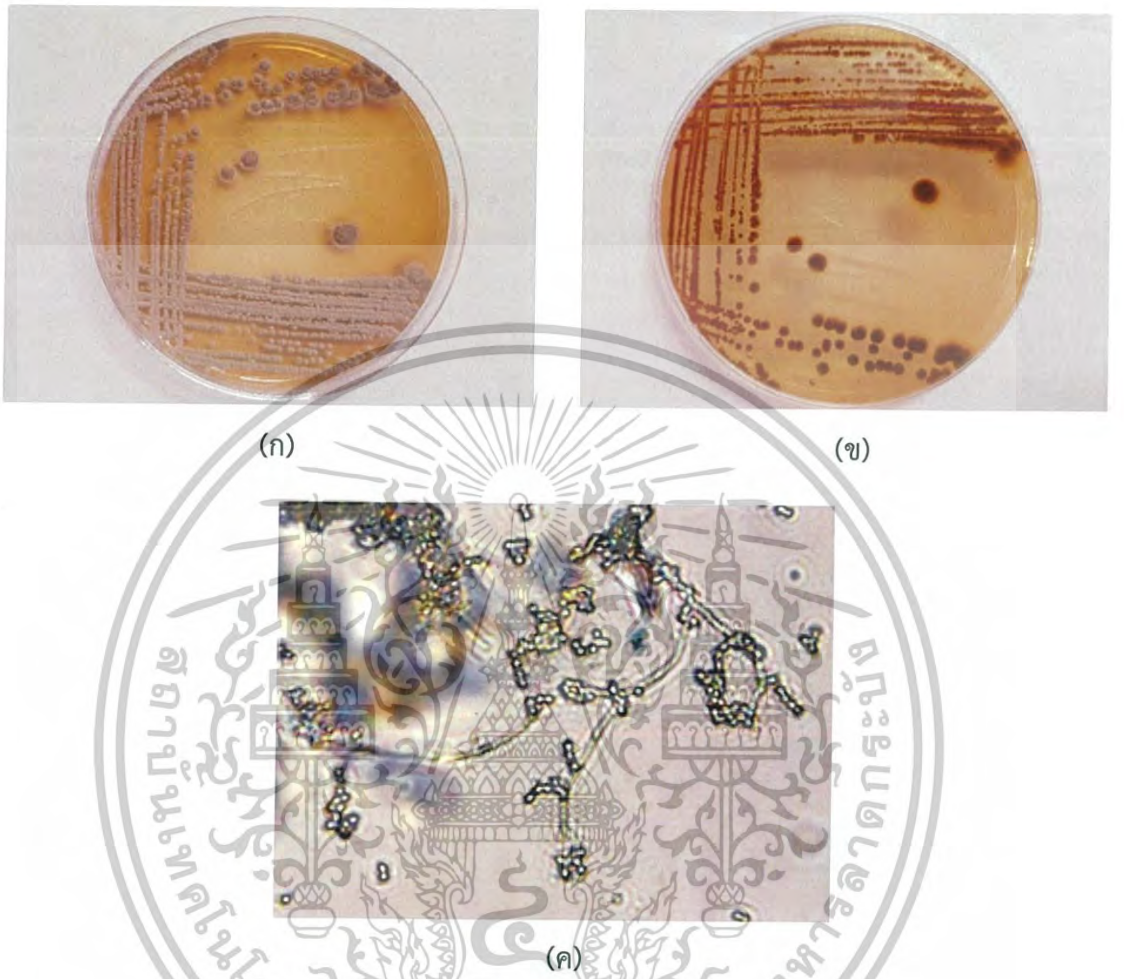
4.4.1.5 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB202 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Dark Orange Yellow สร้างเส้นใยอาหารสี Brilliant Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Strong Yellowish Brown



รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB202 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

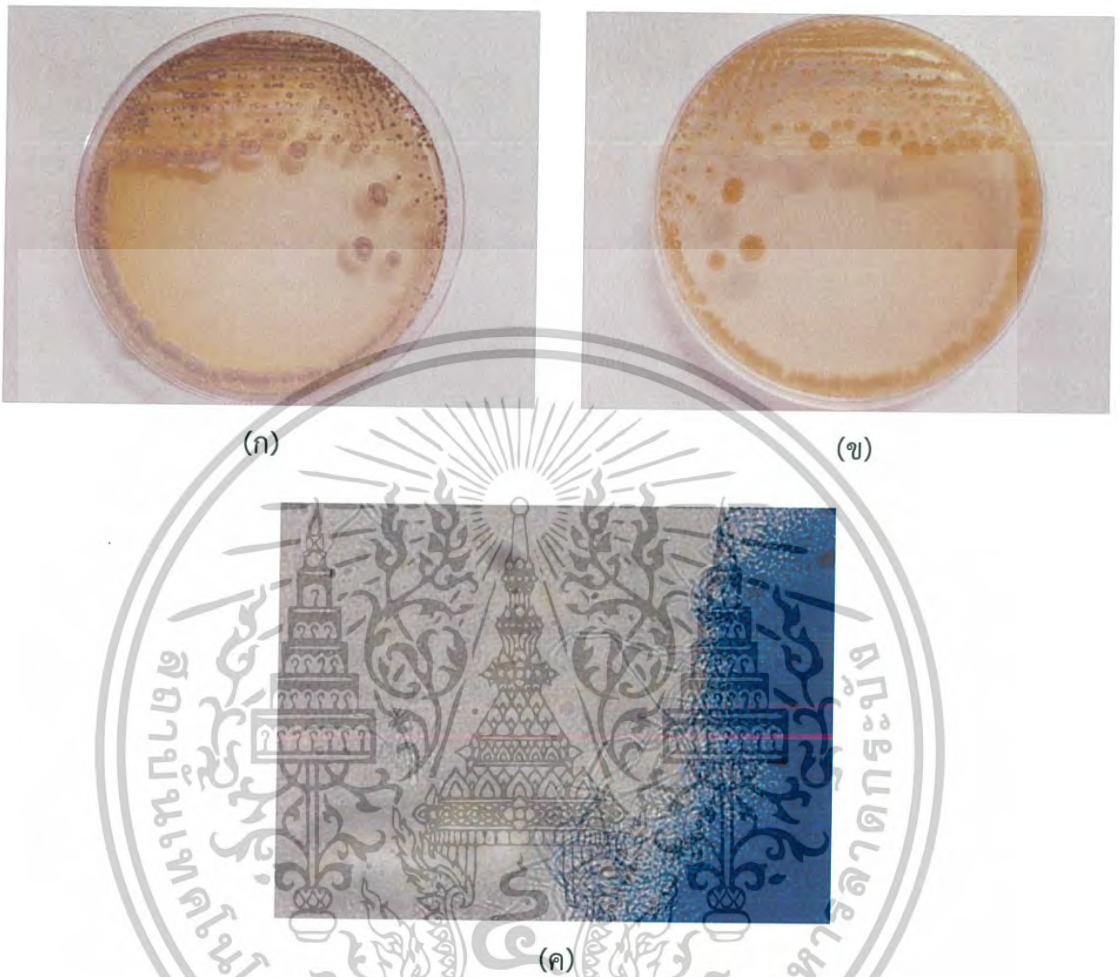
4.4.1.6 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Light Brownish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Orange Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

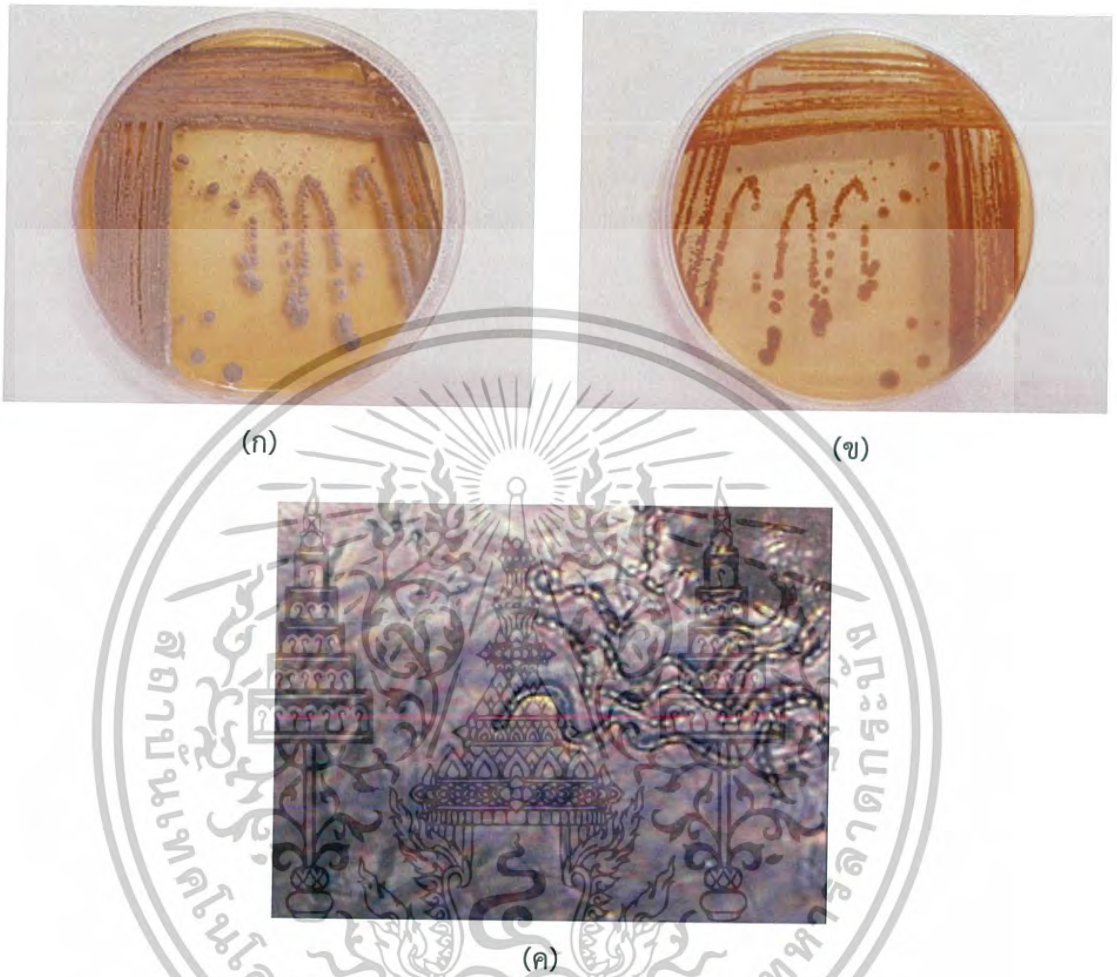
4.4.1.7 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB301 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Brownish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB301 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

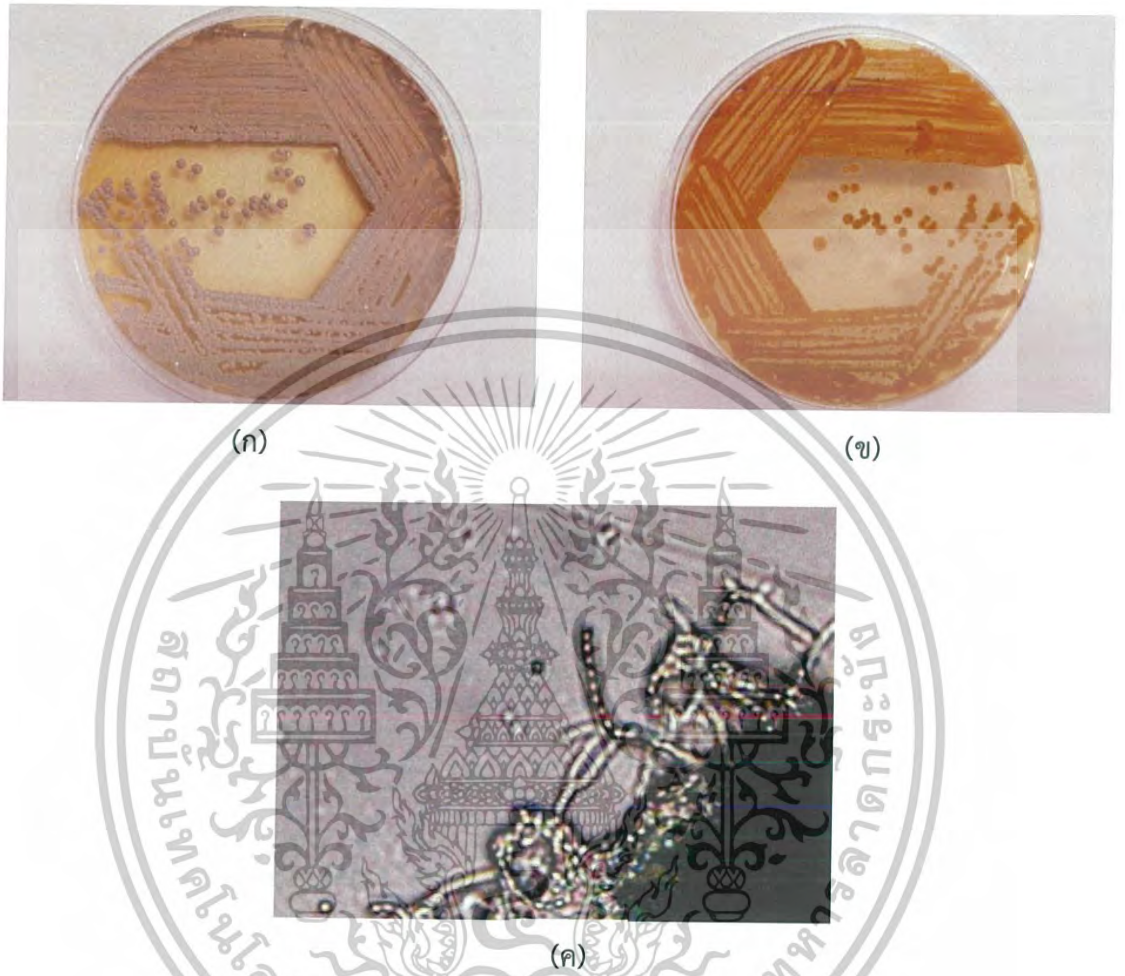
4.4.1.8 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS102 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Light Brownish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Orange Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS102 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.9 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS105 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Light Brownish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS105 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

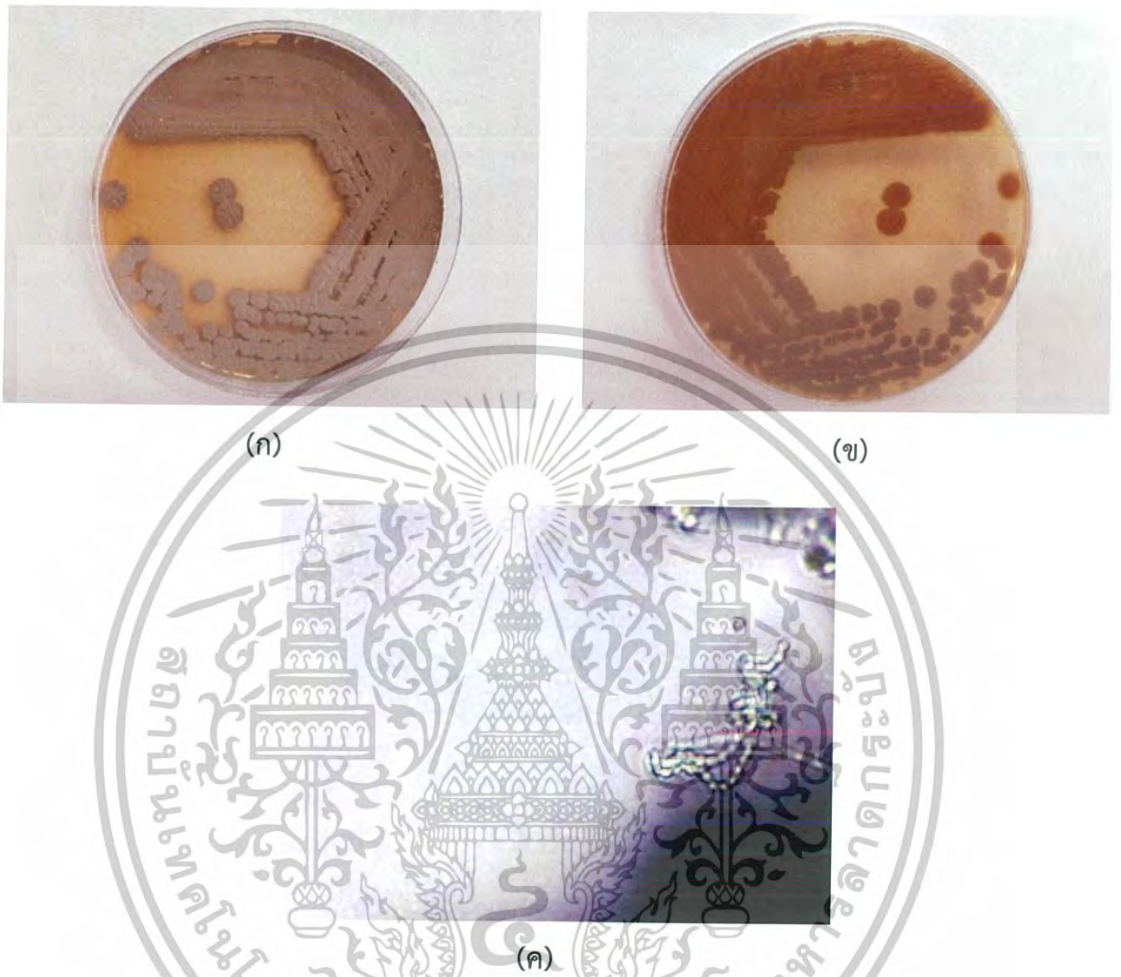
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.10 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Light Grayish Brown สร้างเส้นใยอาหารสี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ

รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

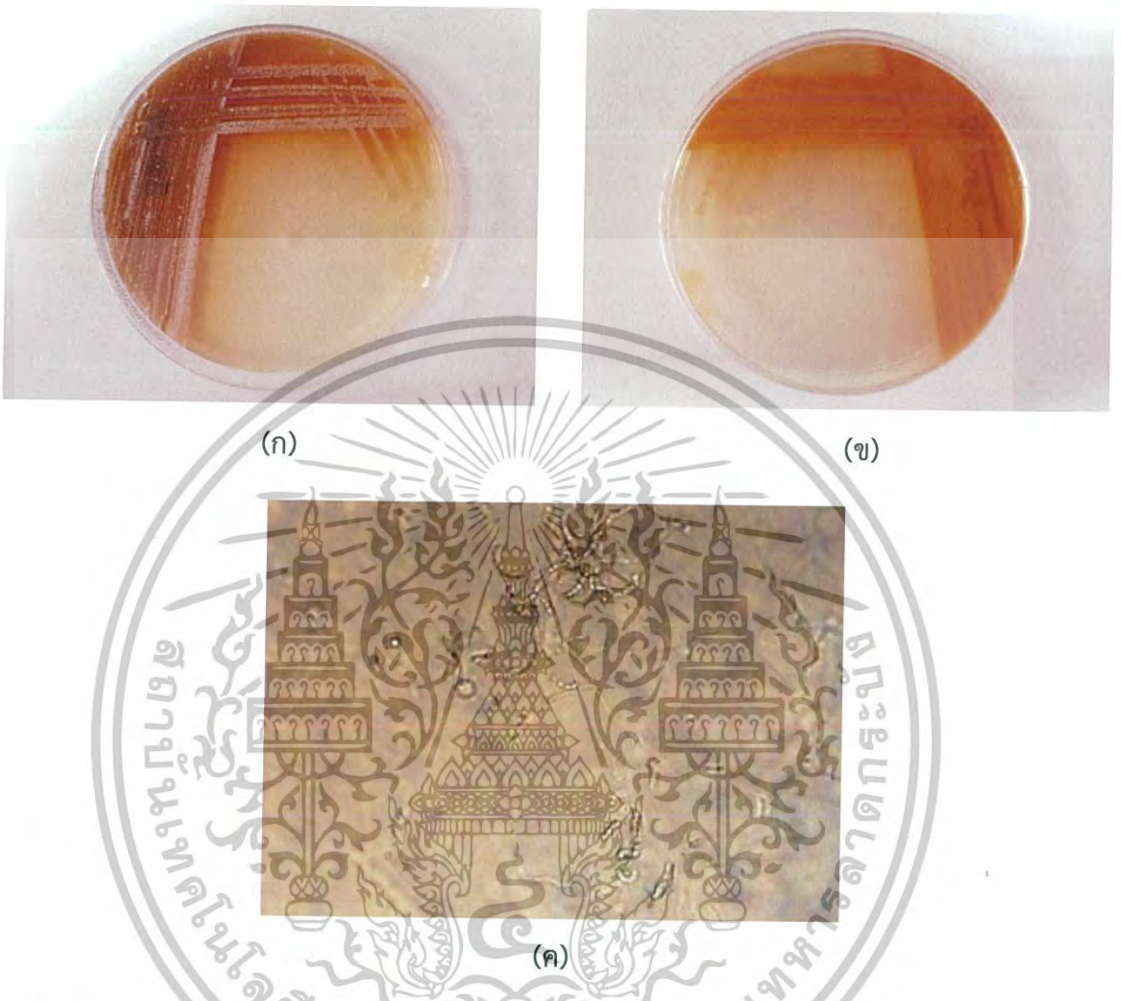
4.4.1.11 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB106 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Grayish Yellowish Brown สร้างเส้นใยอาหารสี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB106 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.12 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Deep Yellowish Brown สร้างเส้นใยอาหารสี Light Greenish Gray สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Moderate Yellow



รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

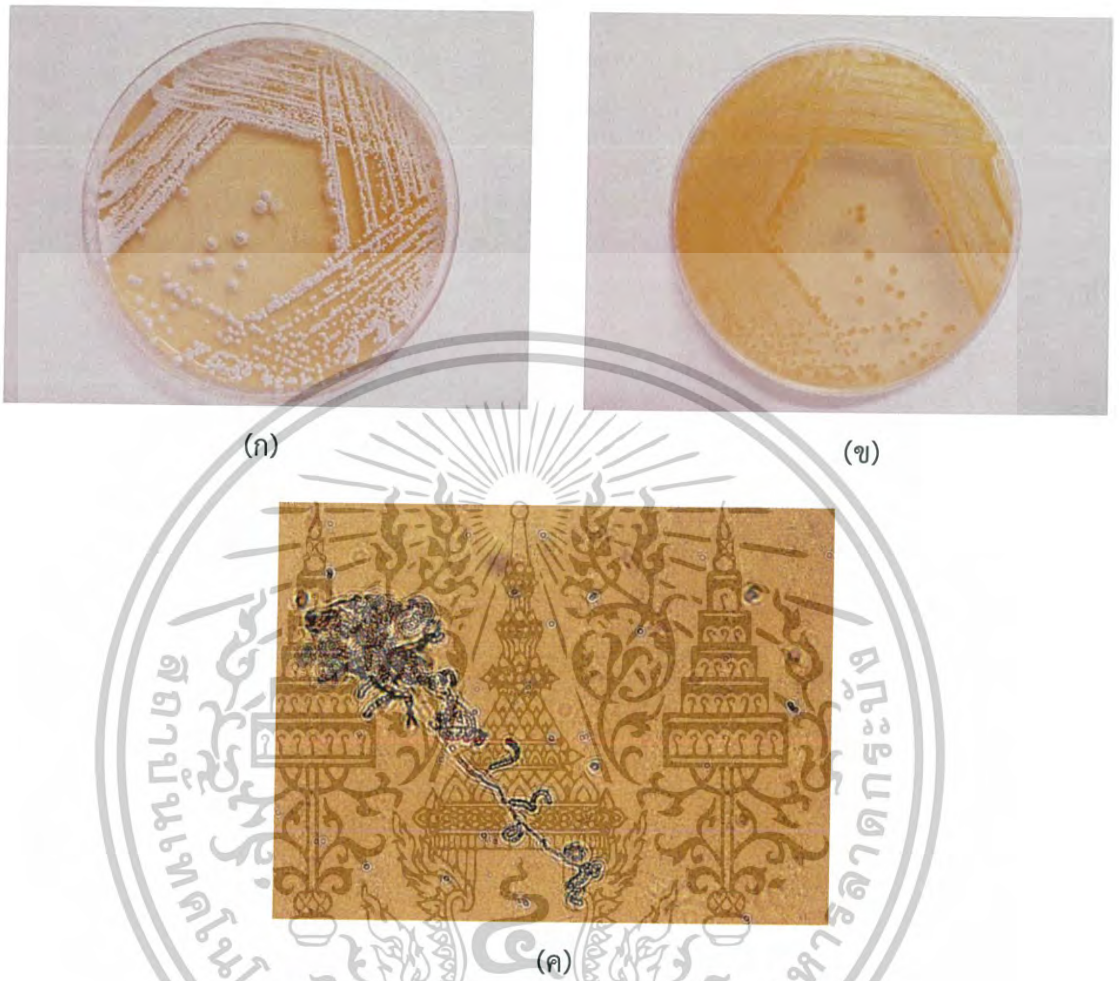
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.13 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White สร้างเส้นใยอาหารสี Brilliant Orange Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Brownish Orange

รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP101 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

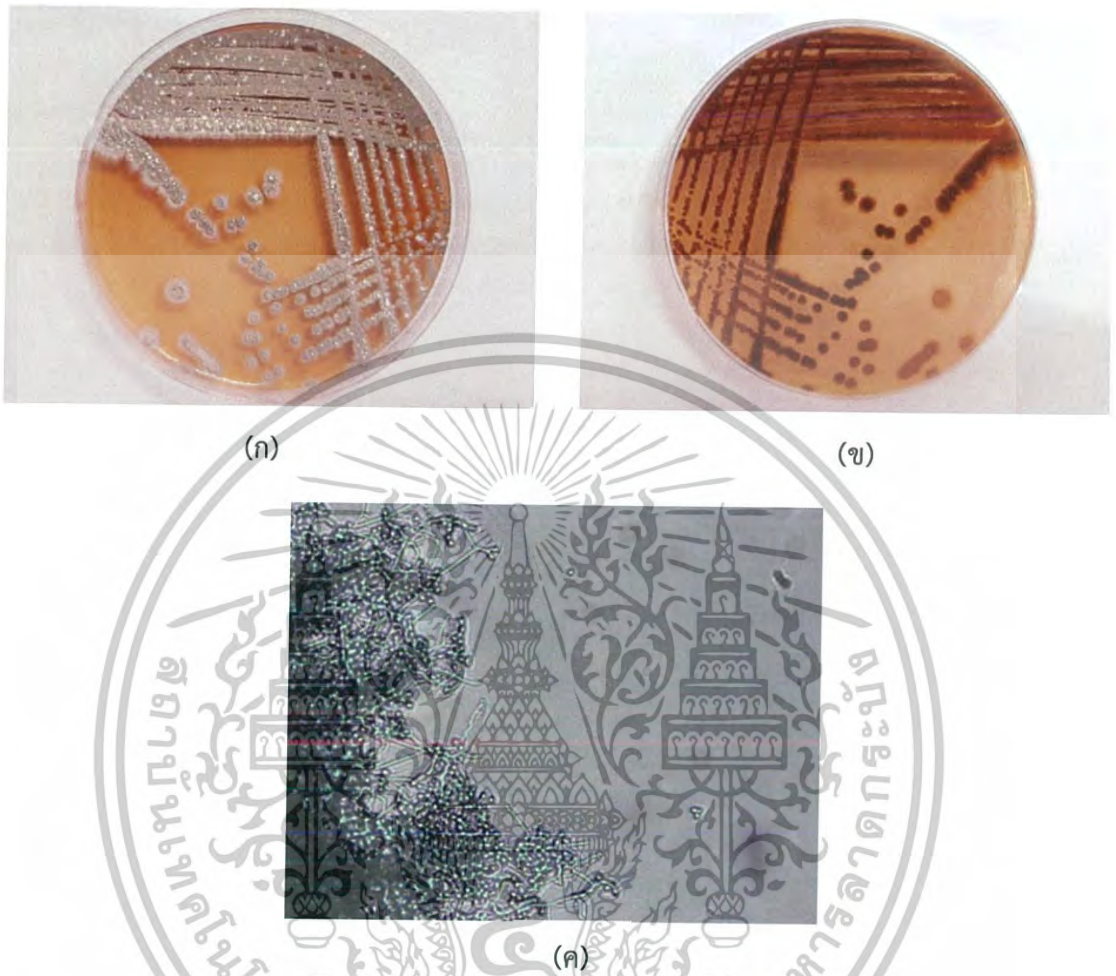
4.4.1.14 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP102 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White สร้างเส้นใยอาหารสี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP102 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.15 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB103 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Light Grayish Brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Light Yellowish Pink



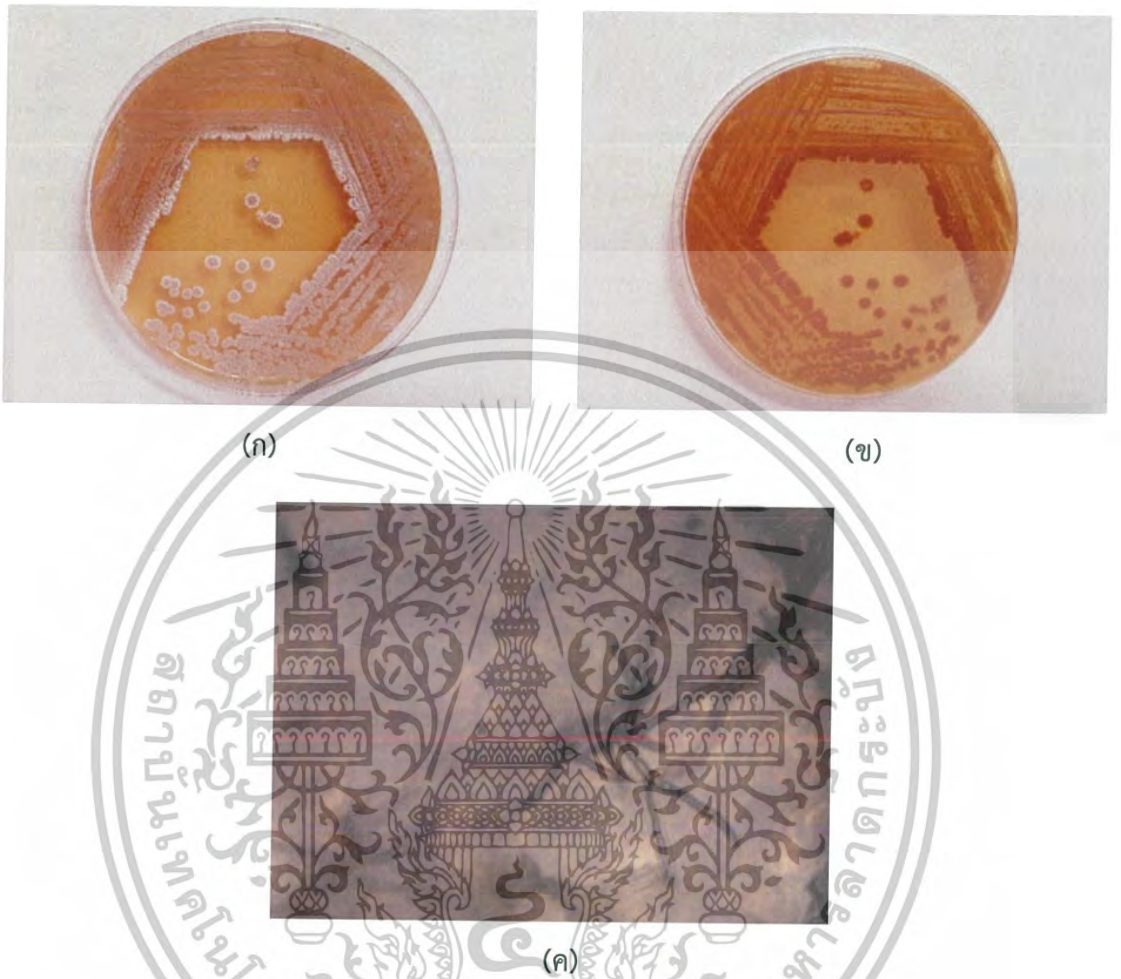
(ก) (ข)

(ค)

รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB103 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

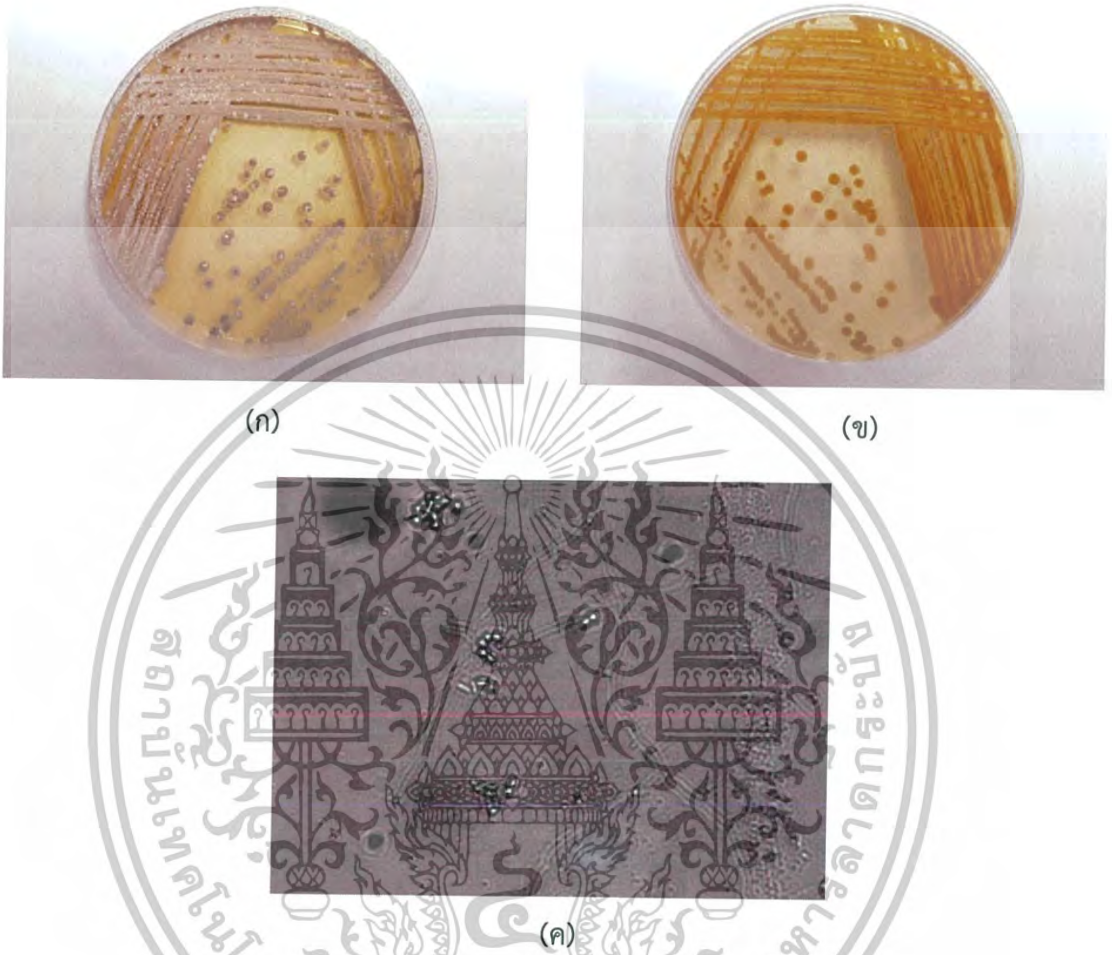
4.4.1.16 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB303 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White สร้างเส้นใยอาหารสี Grayish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.23 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB303 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

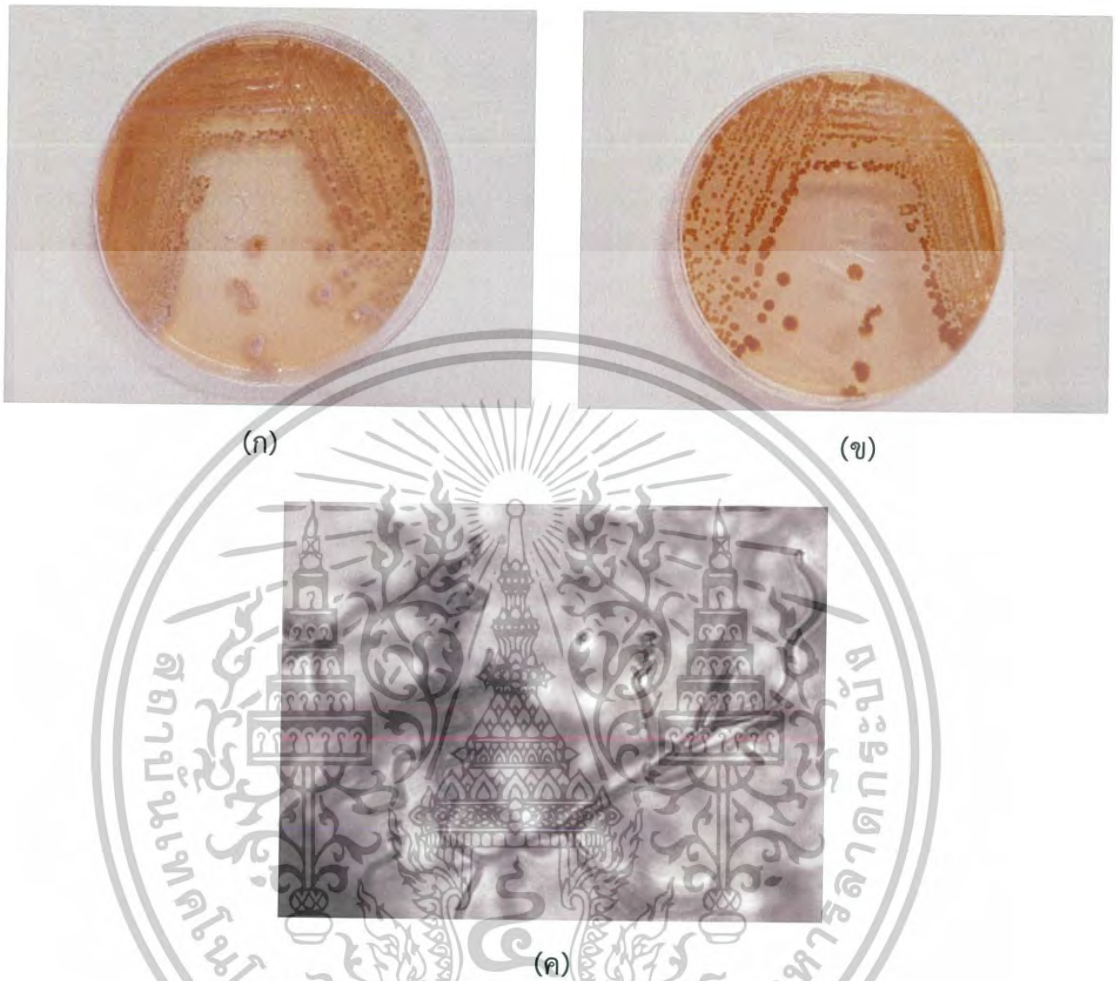
4.4.1.17 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB307 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Deep Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.24 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB 307 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

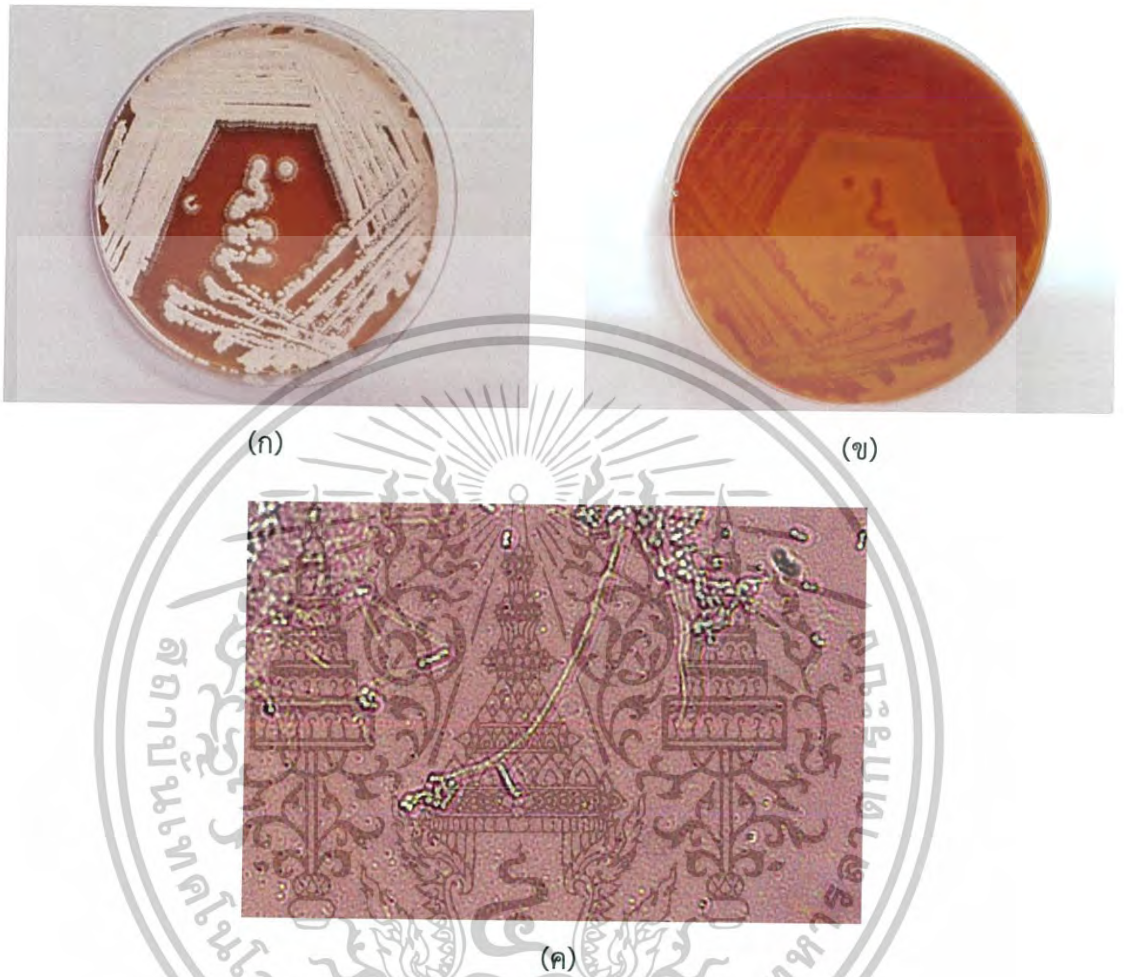
4.4.1.18 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC202 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Grayish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.25 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC202 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.19 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC204 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White สร้างเส้นใยอาหารสี Deep Orange Yellowสร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Grayish Greenish Yellow



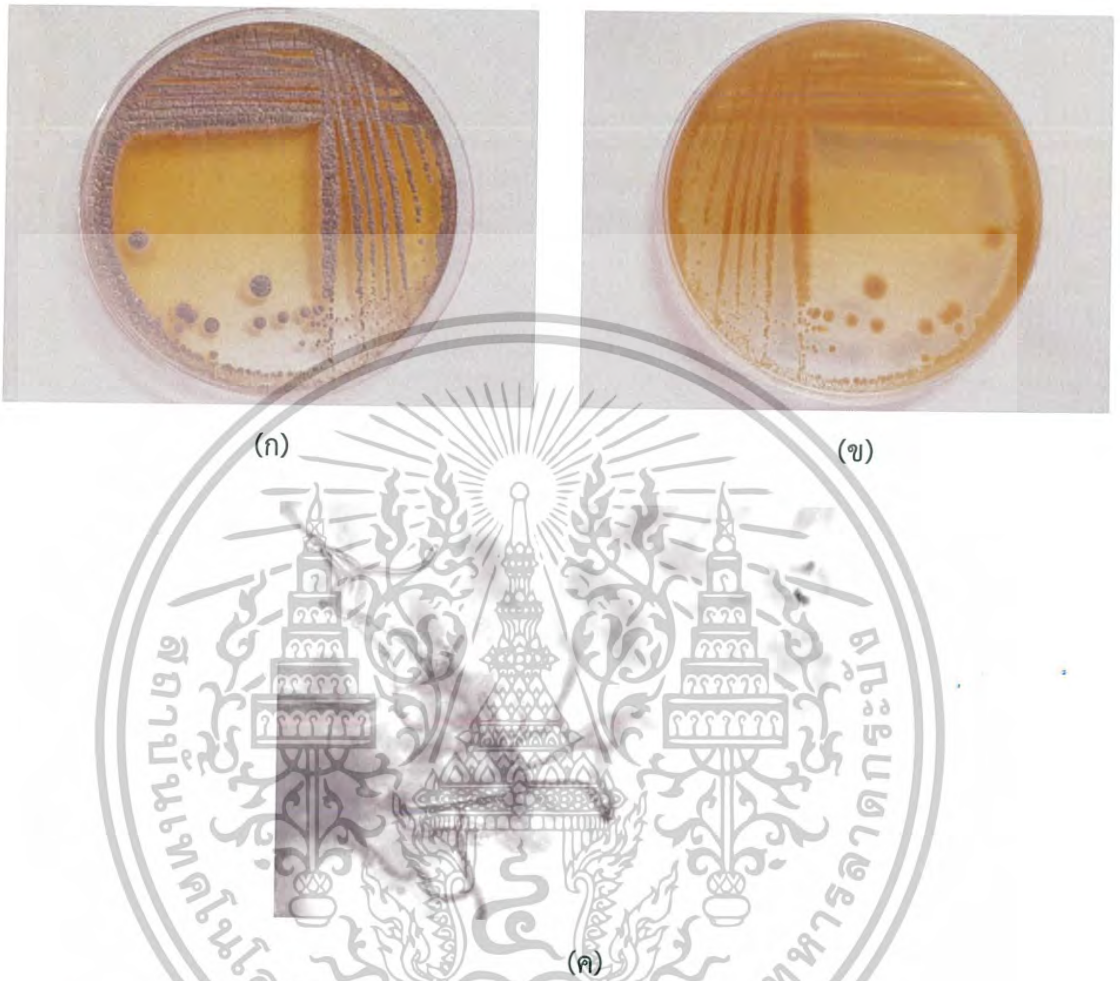
(ก) (ข)

(ค)

รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC204 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

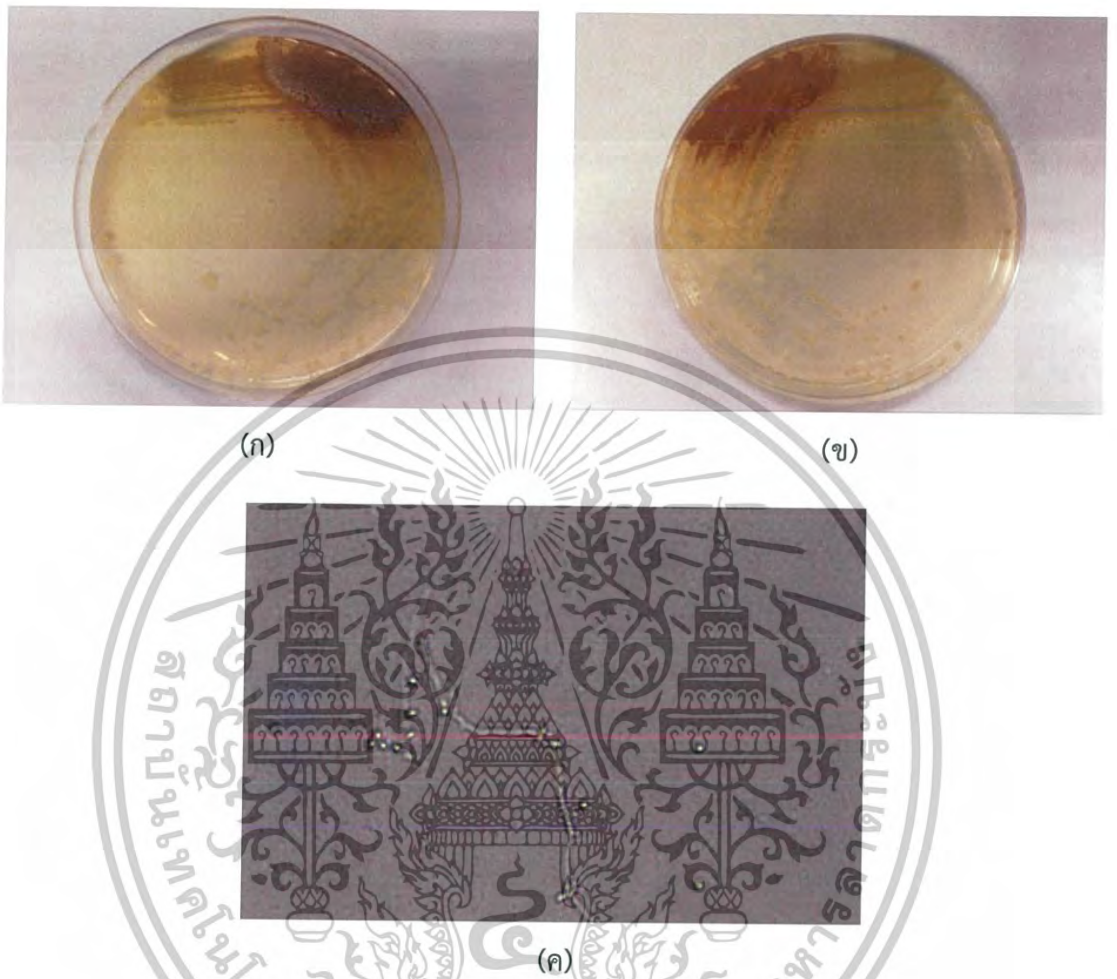
4.4.1.20 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC304 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White สร้างเส้นใยอาหารสี Light Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Grayish Greenish Yellow



รูปที่ 4.27 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC304 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

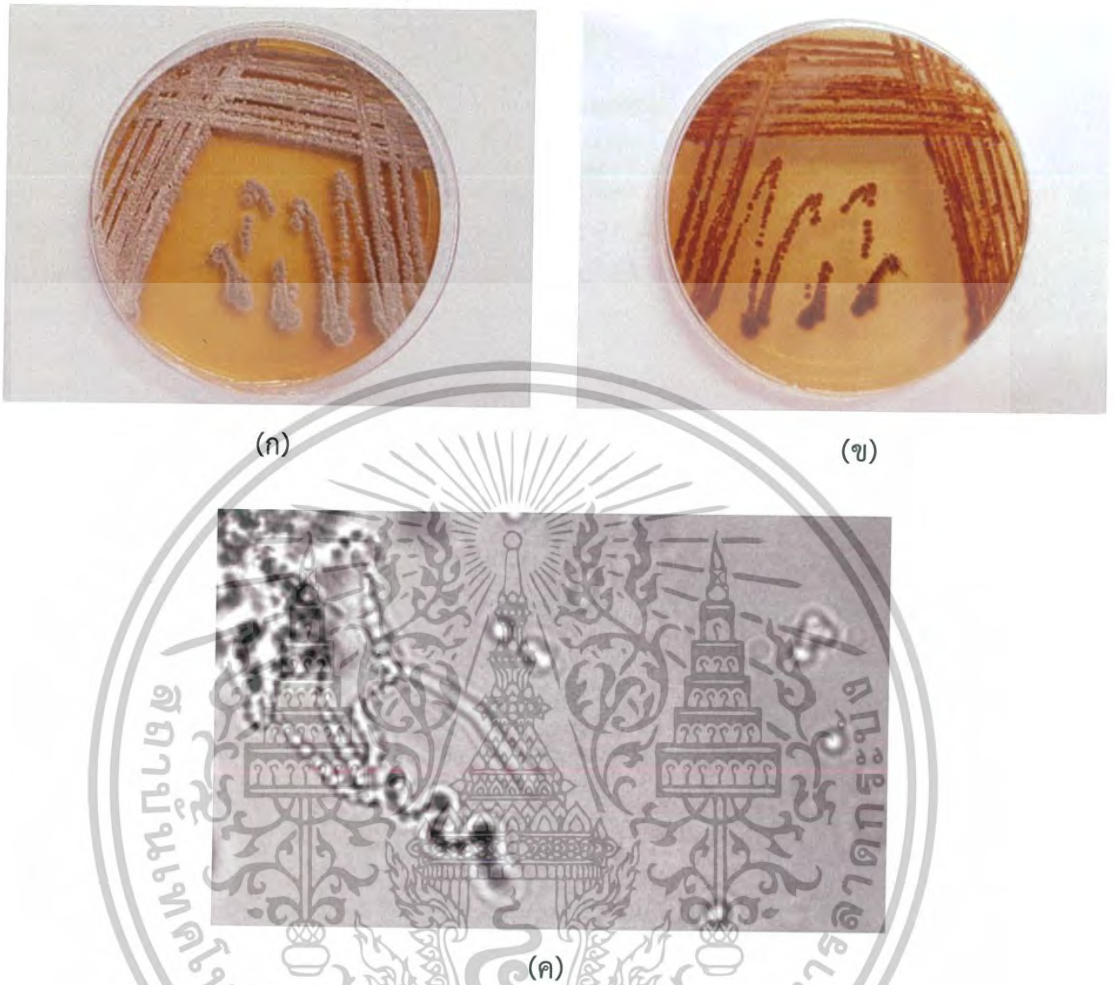
4.4.1.21 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท CC205 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Pale Yellow สร้างเส้นใยอาหารสี Brilliant Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.28 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท CC205 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.22 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB107 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Light Greenish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Moderate Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



(ก) (ข)

(ค)

รูปที่ 4.29 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB107 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

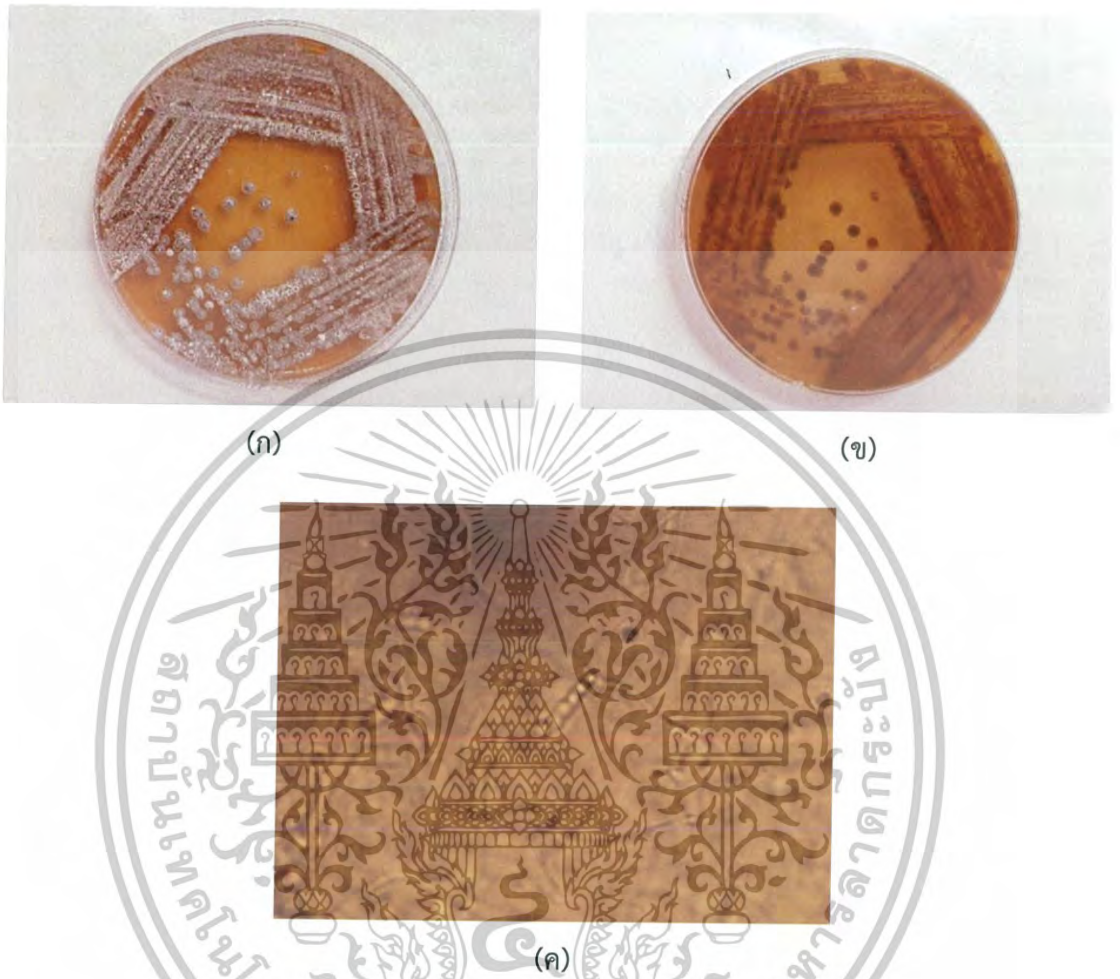
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.23 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Blackish Green สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Orange Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Pale Yellow

รูปที่ 4.30 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

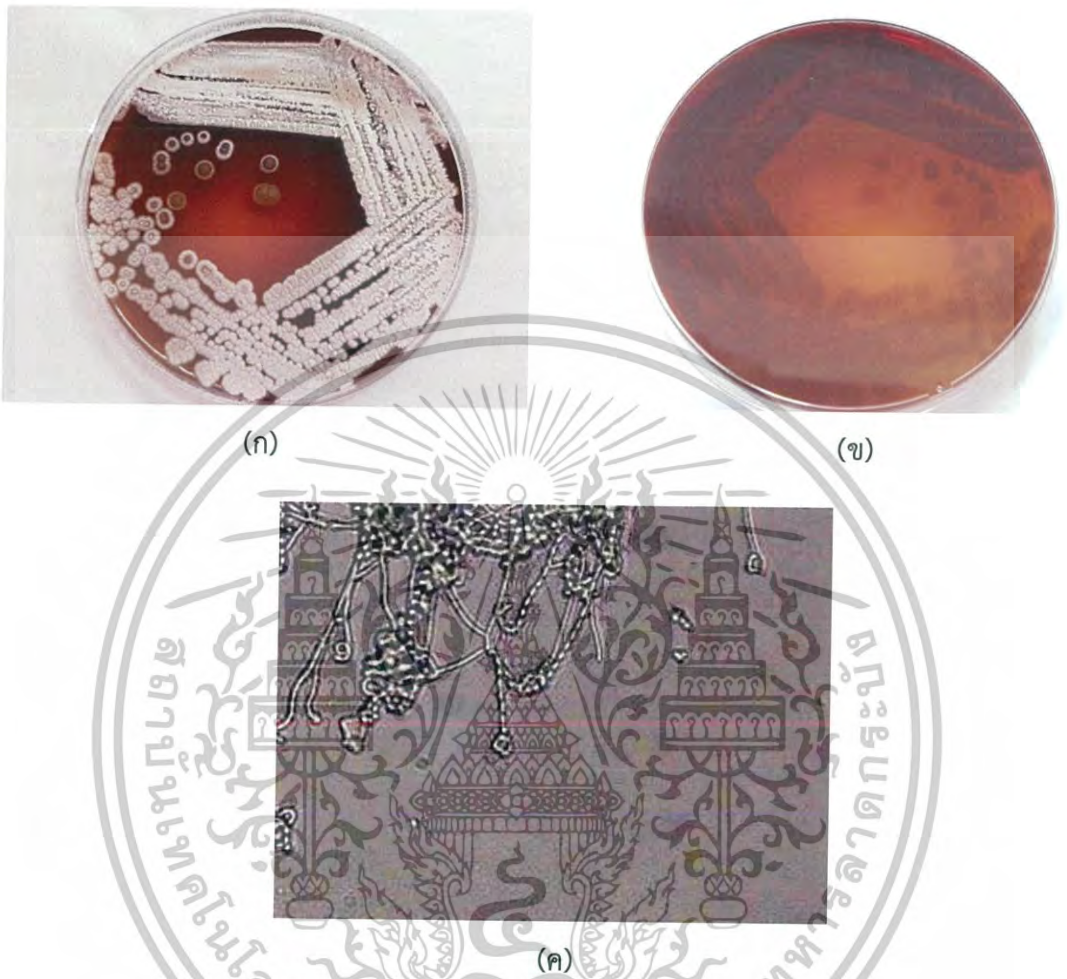
4.4.1.24 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI301 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Greenish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้



รูปที่ 4.31 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI301 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.25 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท CC203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Light Greenish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Pale Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Grayish Reddish Brown



(ก) (ข)

(ค)

รูปที่ 4.32 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท CC203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

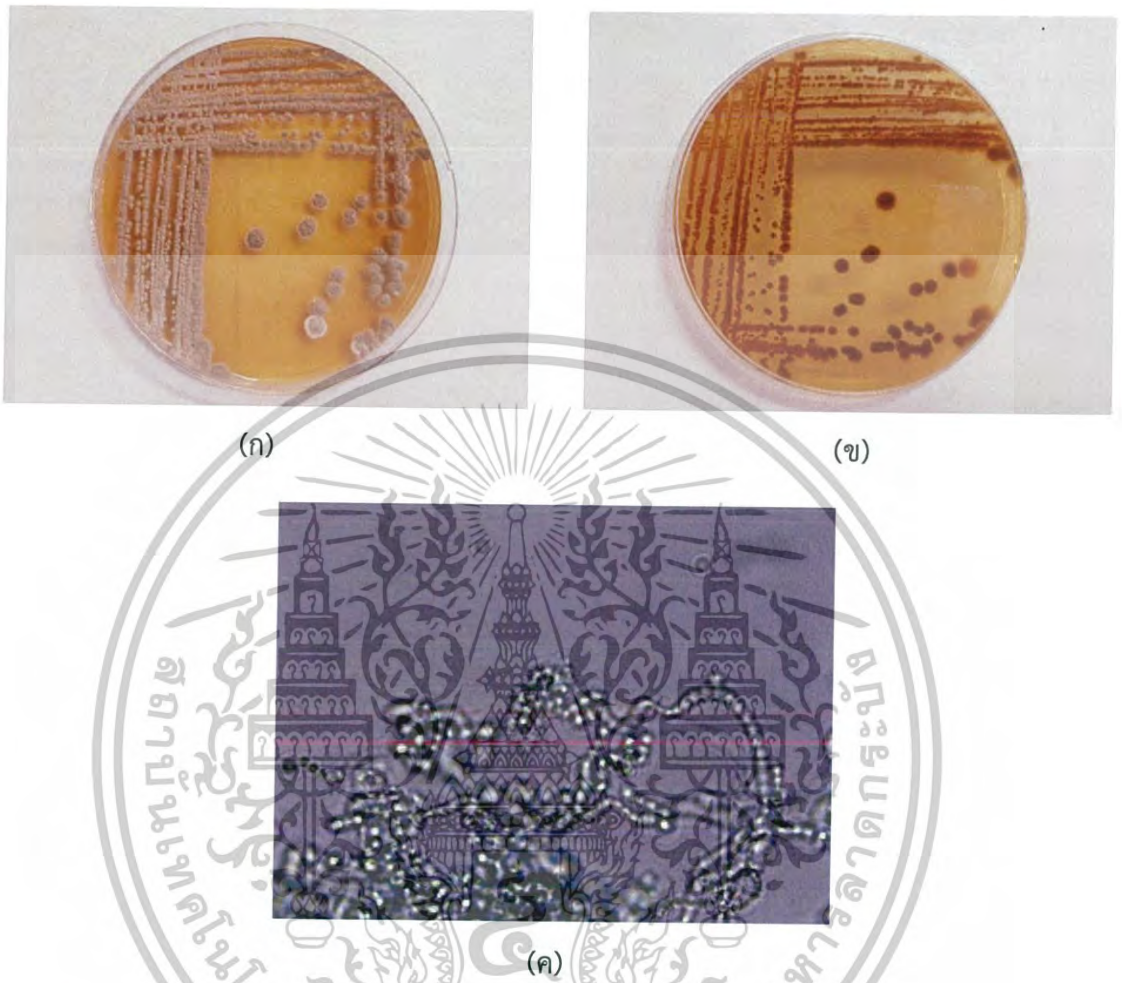
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

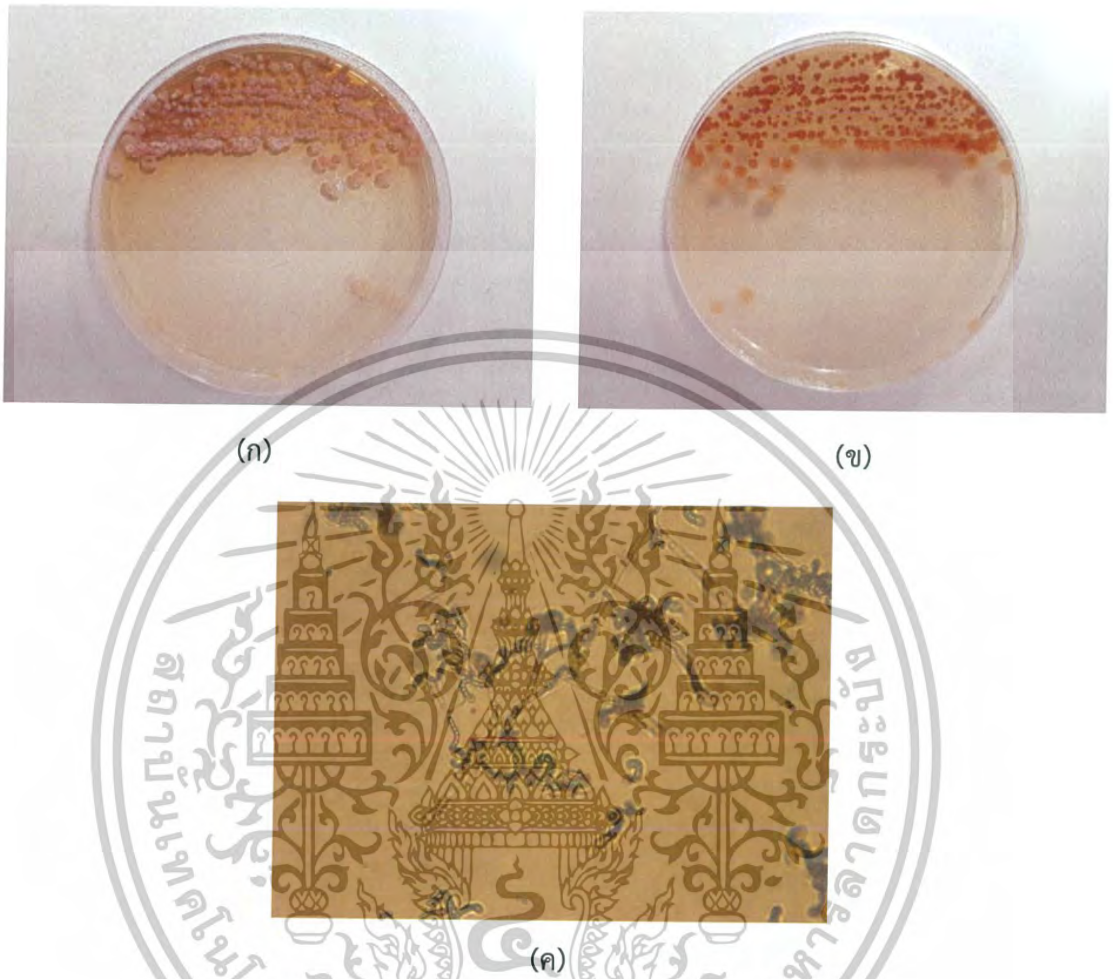
4.4.1.26 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB104 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Light Bluish Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.33 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OB104 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

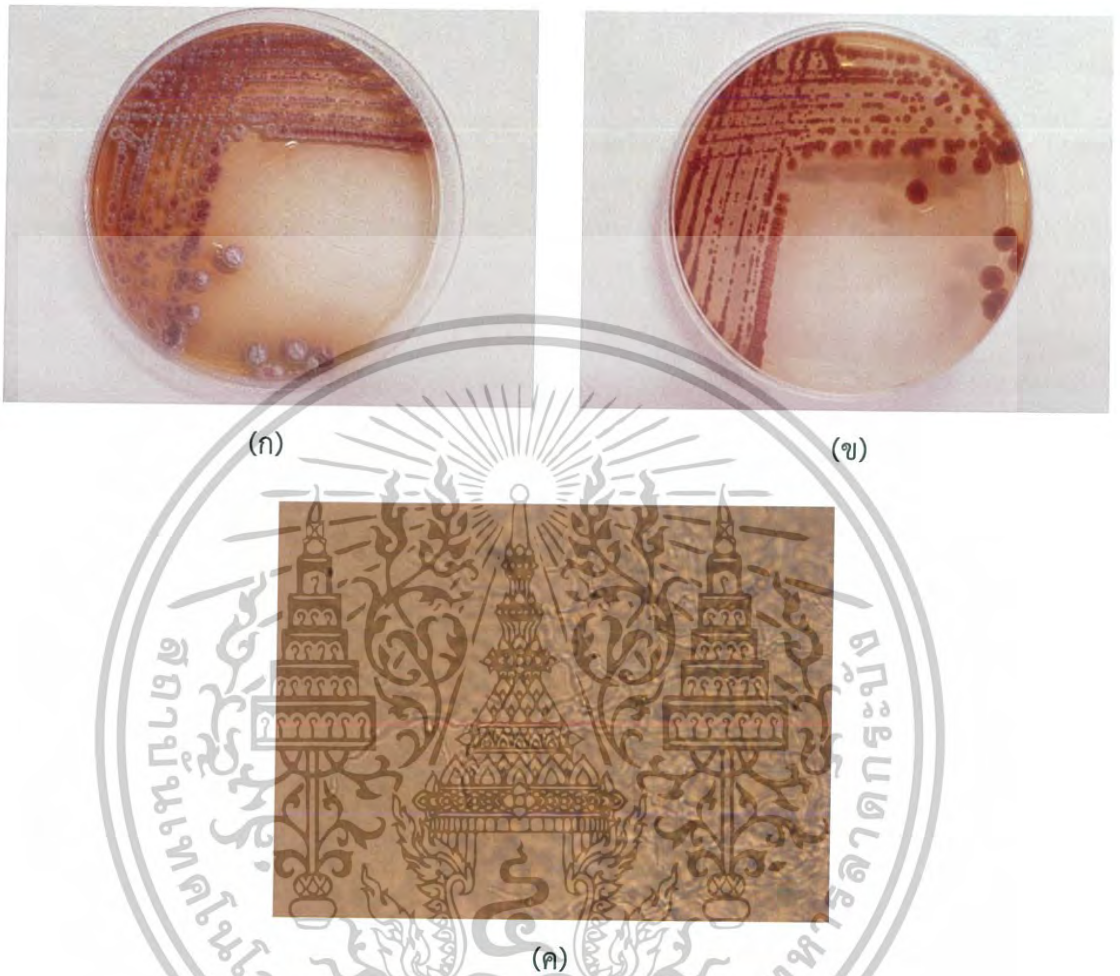
4.4.1.27 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI304 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Very Pale Purple สร้างเส้นใยอาหารสี Very Deep Purple สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Moderate Yellowish Brown



รูปที่ 4.34 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI304 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

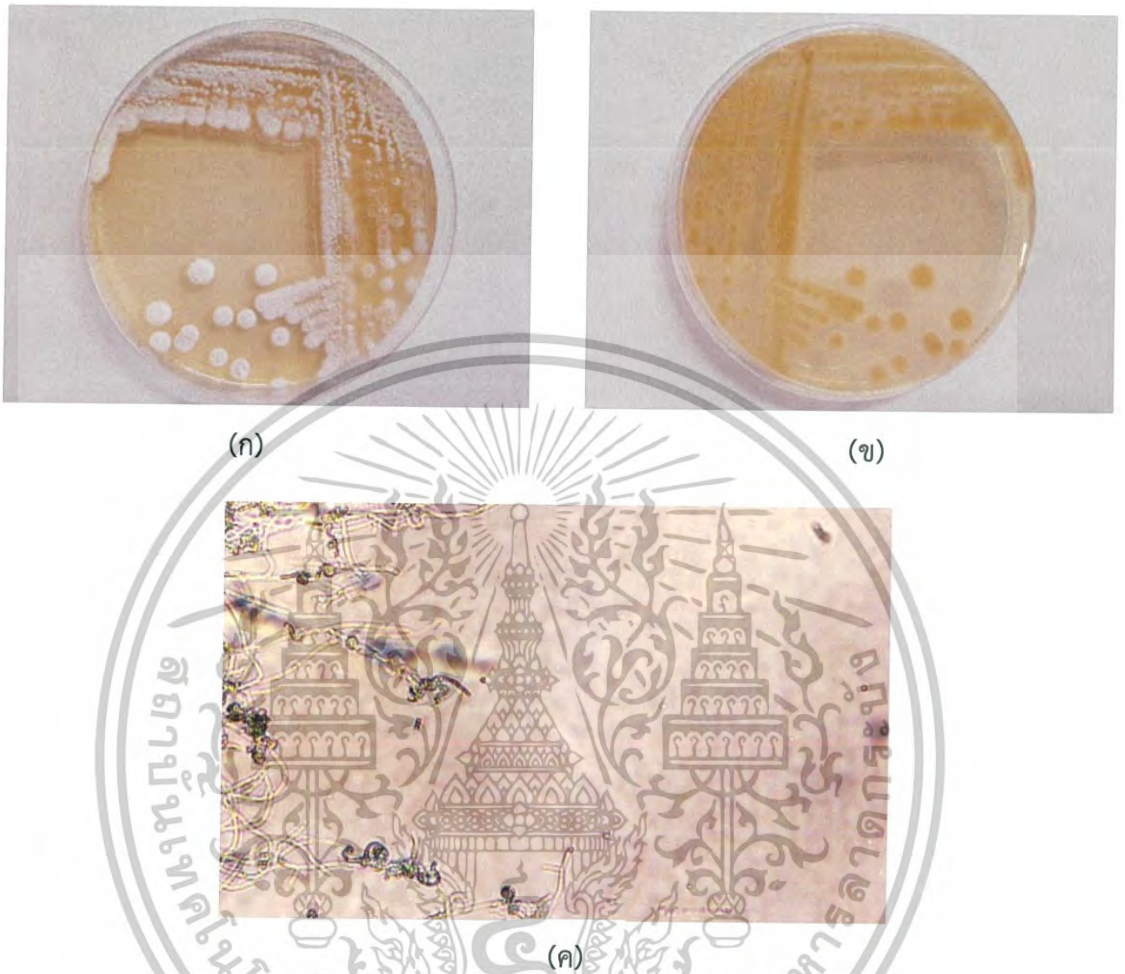
4.4.1.28 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB303 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Pale Purplish Pink สร้างเส้นใยอาหารสี Vivid Yellowish Pink สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Dark Orange Yellow



รูปที่ 4.35 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB303 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

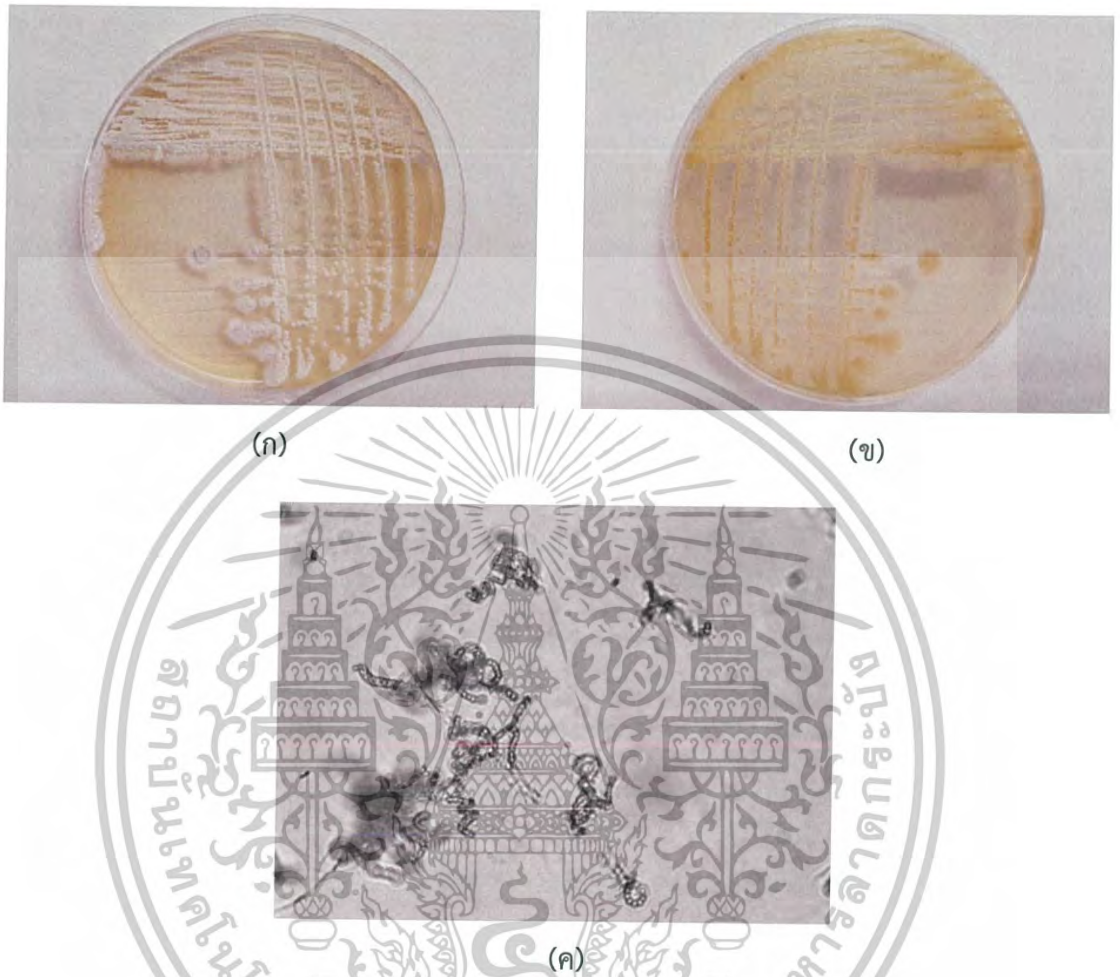
4.4.1.29 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP103 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี White ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.36 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP103 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

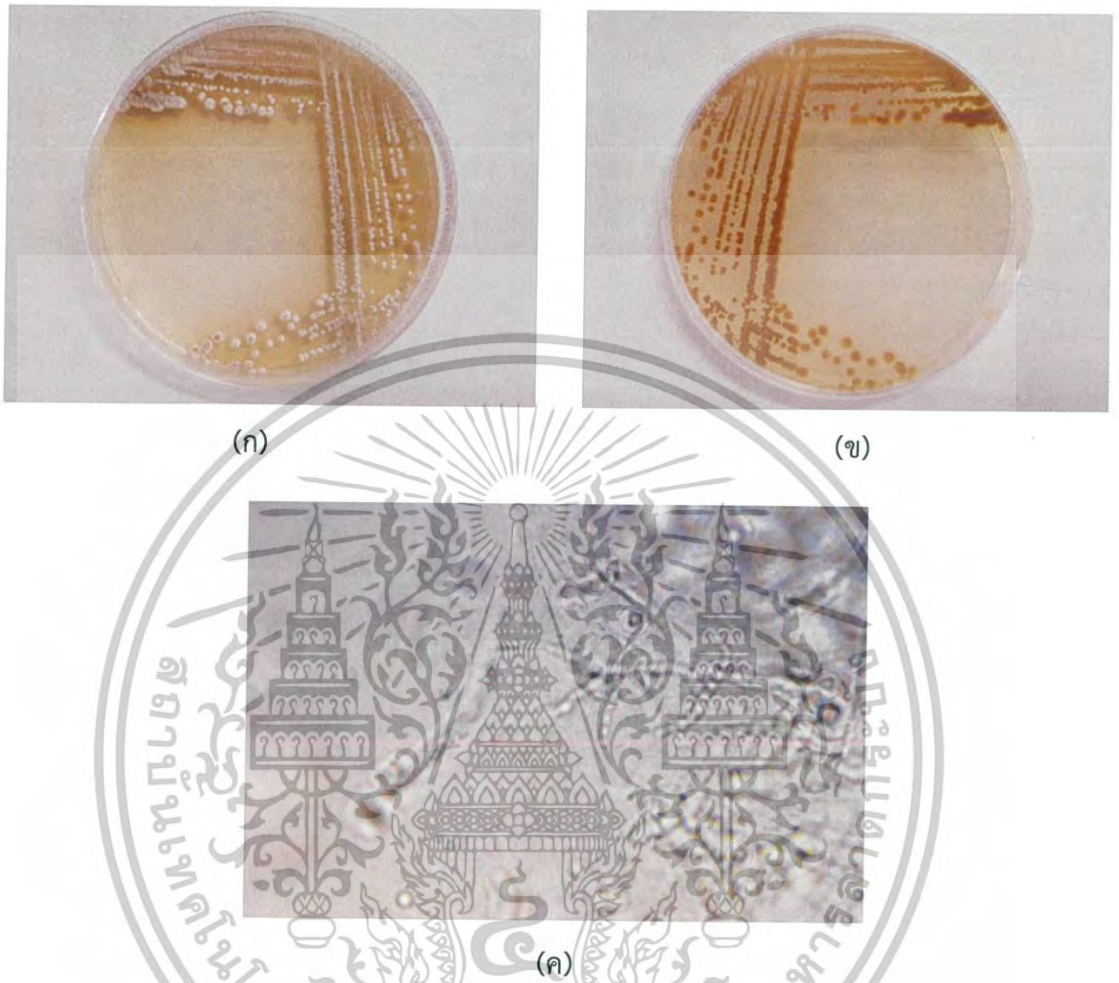
4.4.1.30 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.37 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

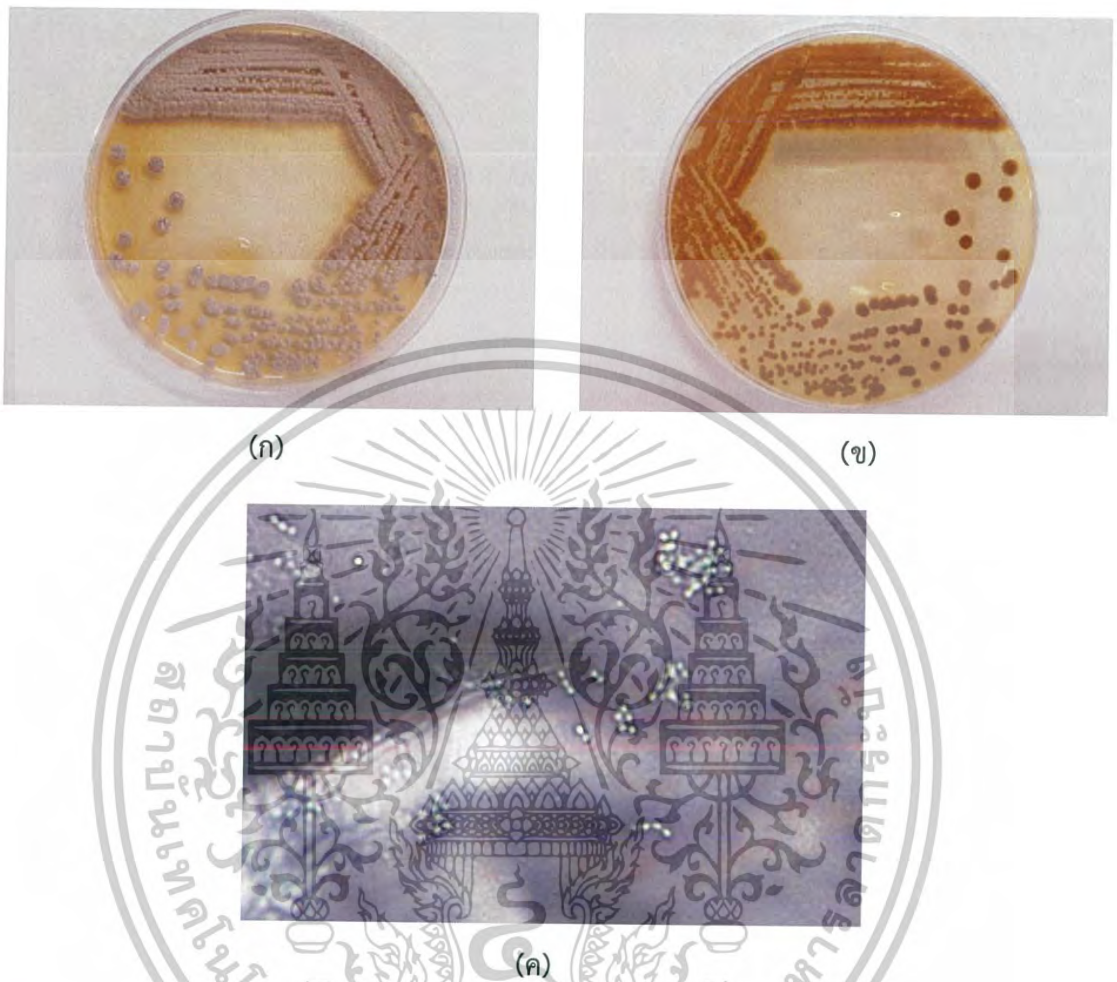
4.4.1.31 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.38 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท BP203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

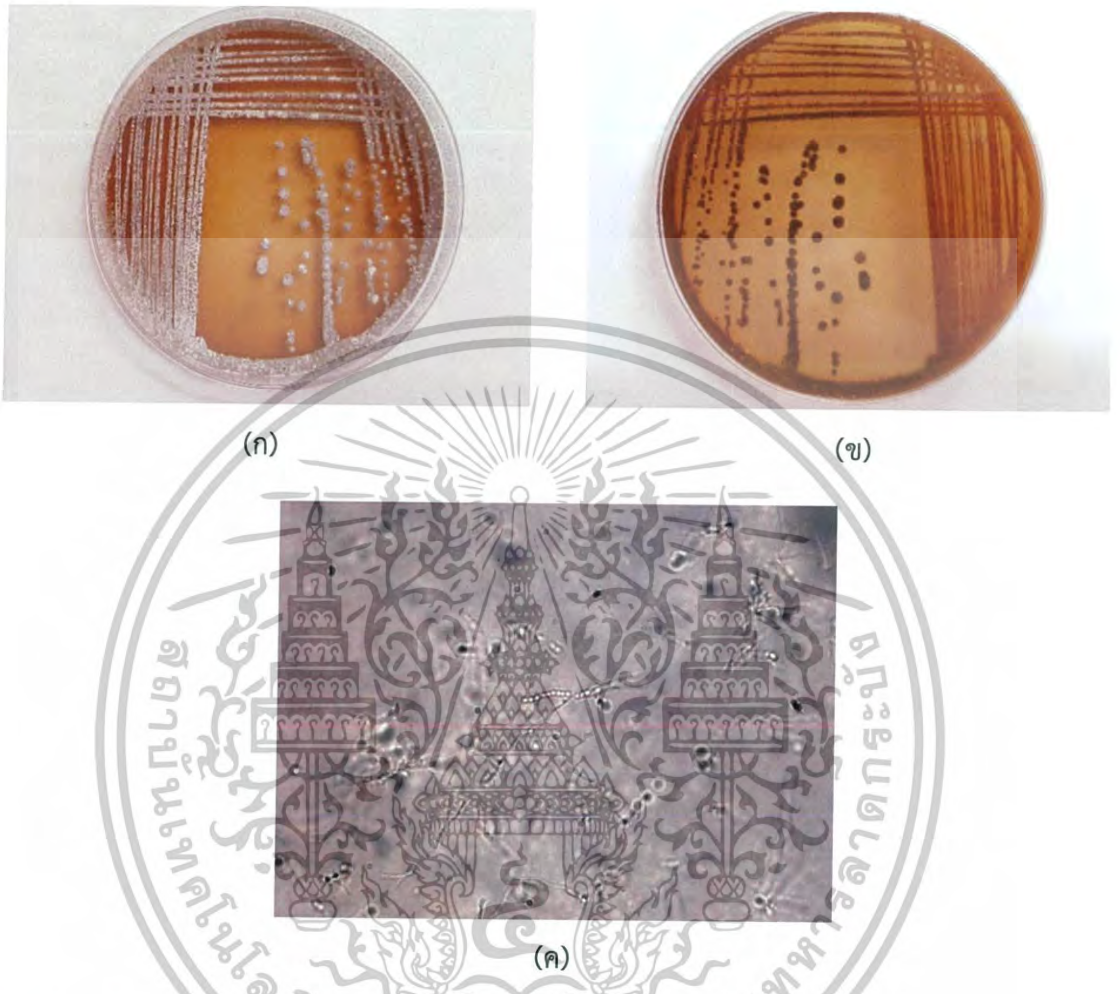
4.4.1.32 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Brilliant Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.39 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท OS201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

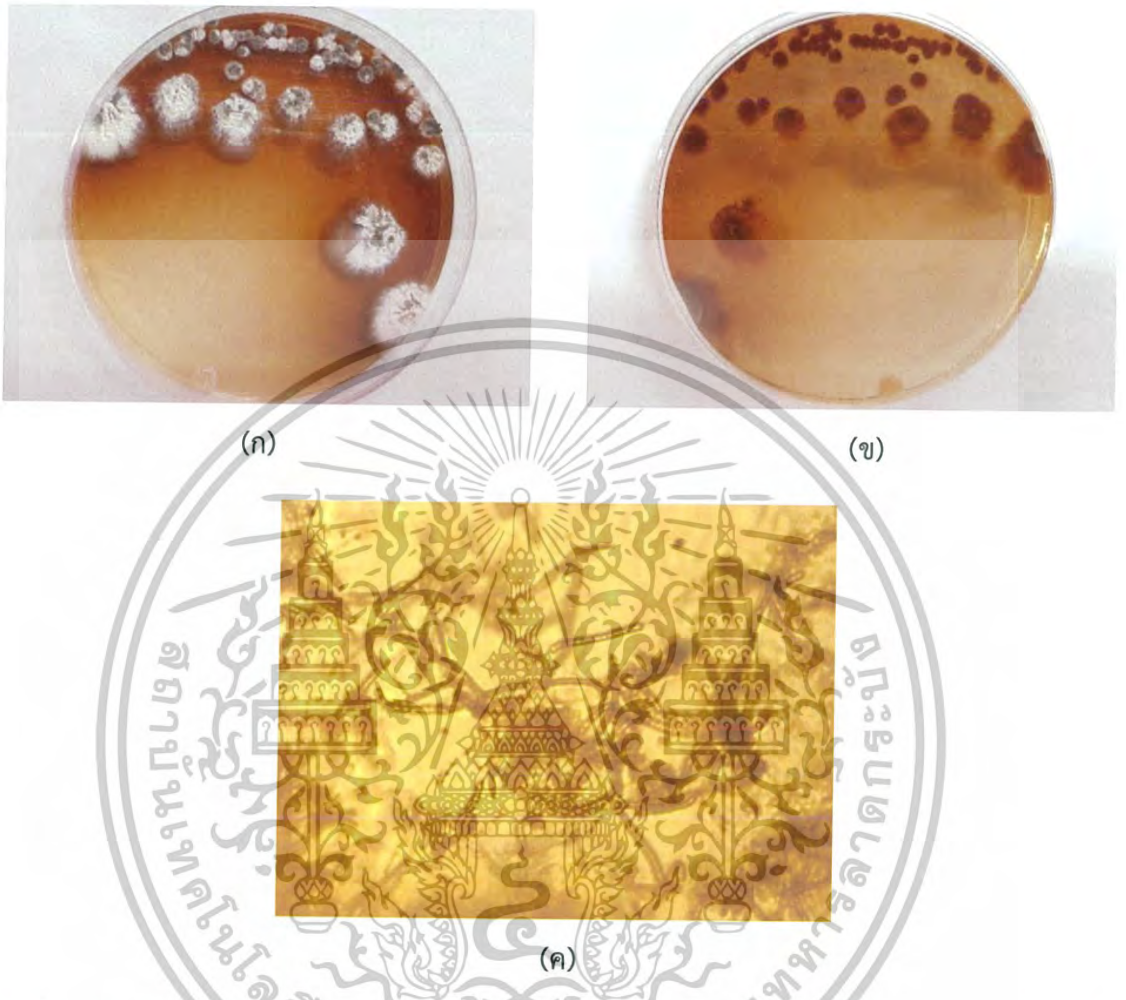
4.4.1.33 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI303 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี Light Gray สร้างเส้นใยอาหารสี Pale Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Brilliant Orange Yellow



รูปที่ 4.40 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MI303 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

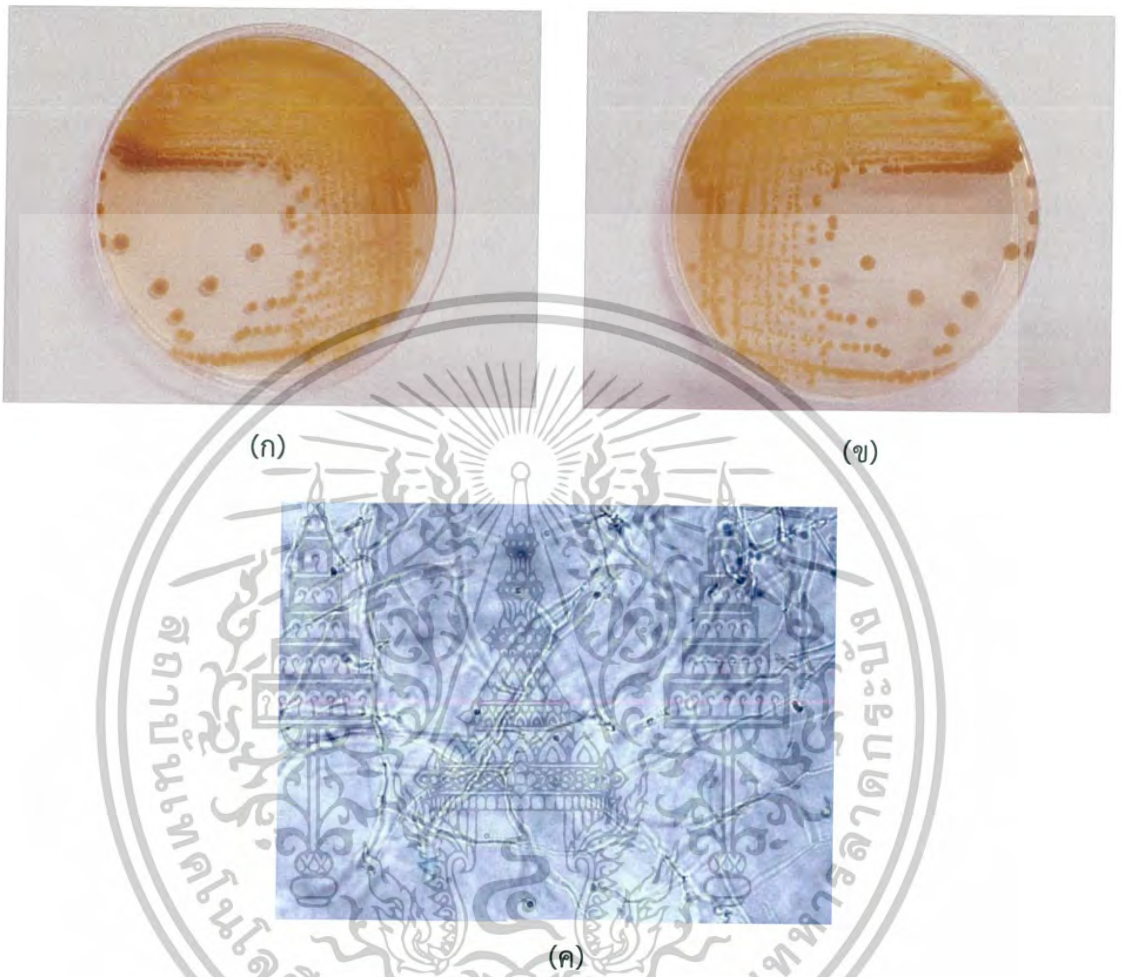
4.4.1.34 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Moderate Olive Brown



รูปที่ 4.41 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.35 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.42 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC203 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

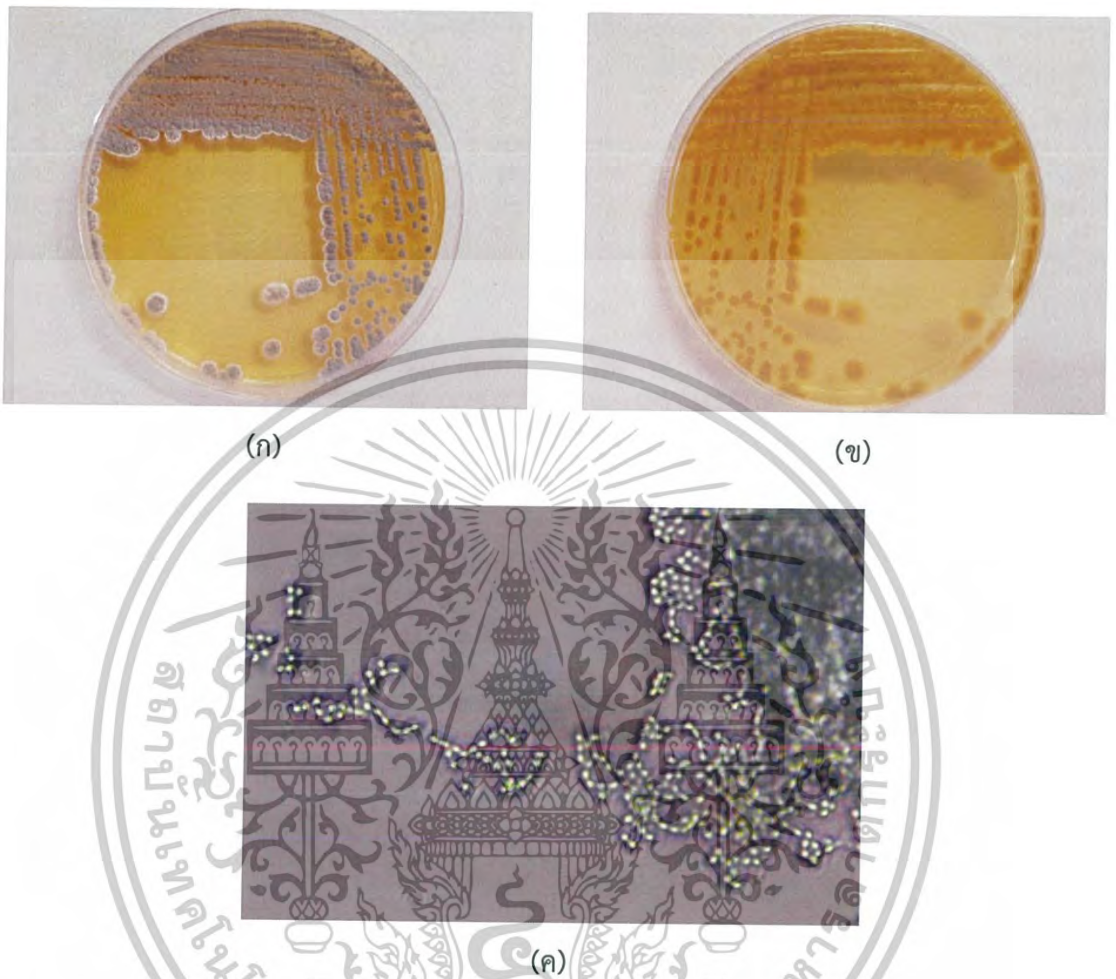
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

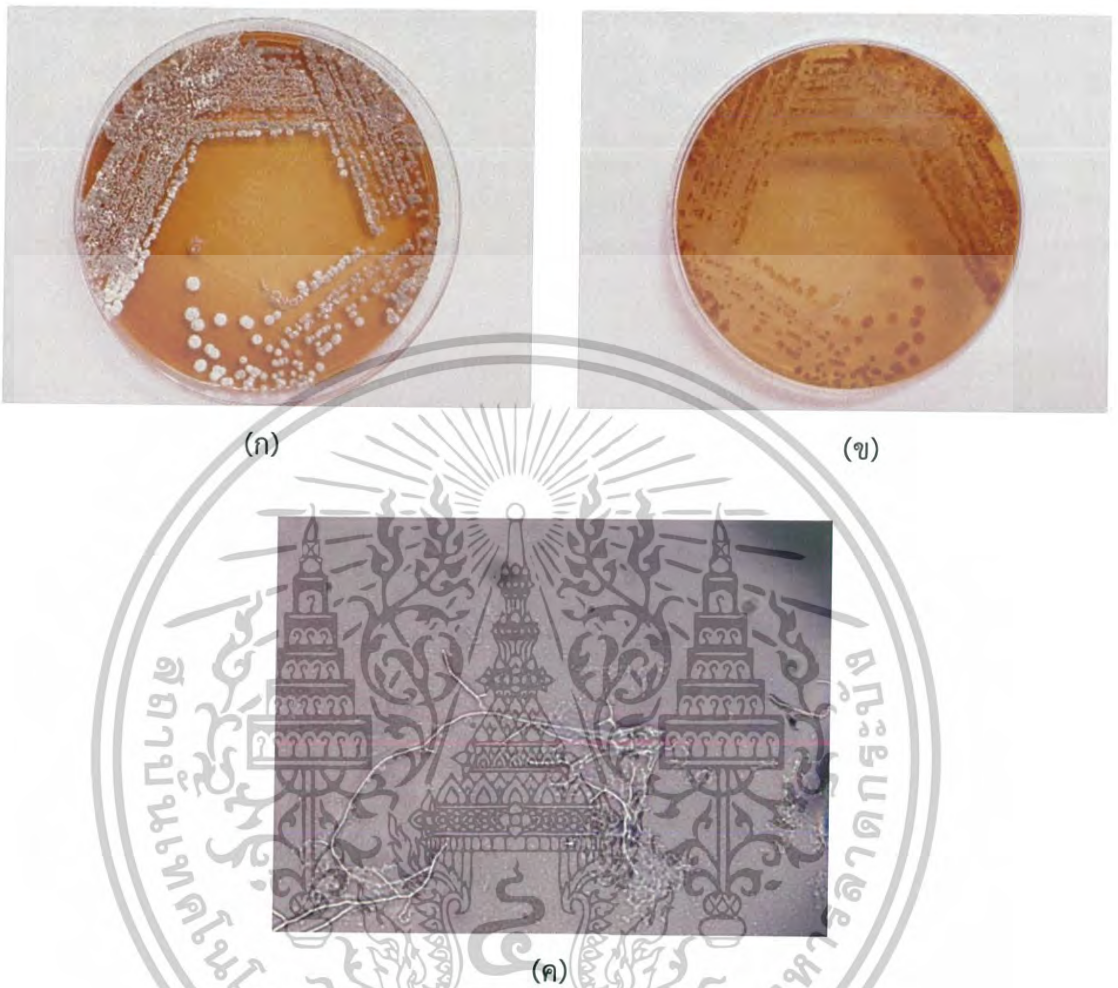
4.4.1.36 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC305 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ



รูปที่ 4.43 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท MC305 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.37 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท CC201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Grayish Greenish Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Moderate Greenish Yellow



(ก) (ข)

(ค)

รูปที่ 4.44 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท CC201 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)

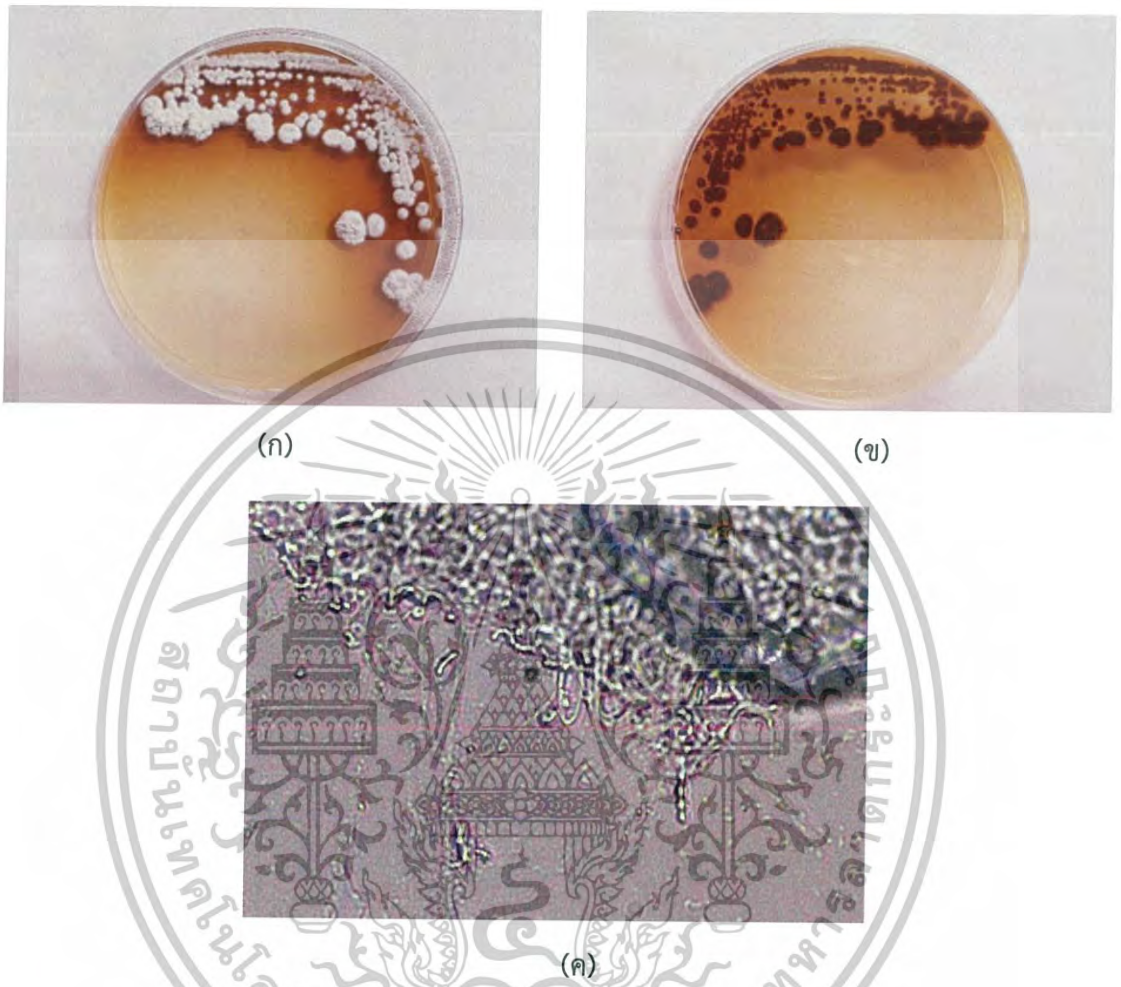
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)

(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.38 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB301 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Orange Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light Yellowish Brown



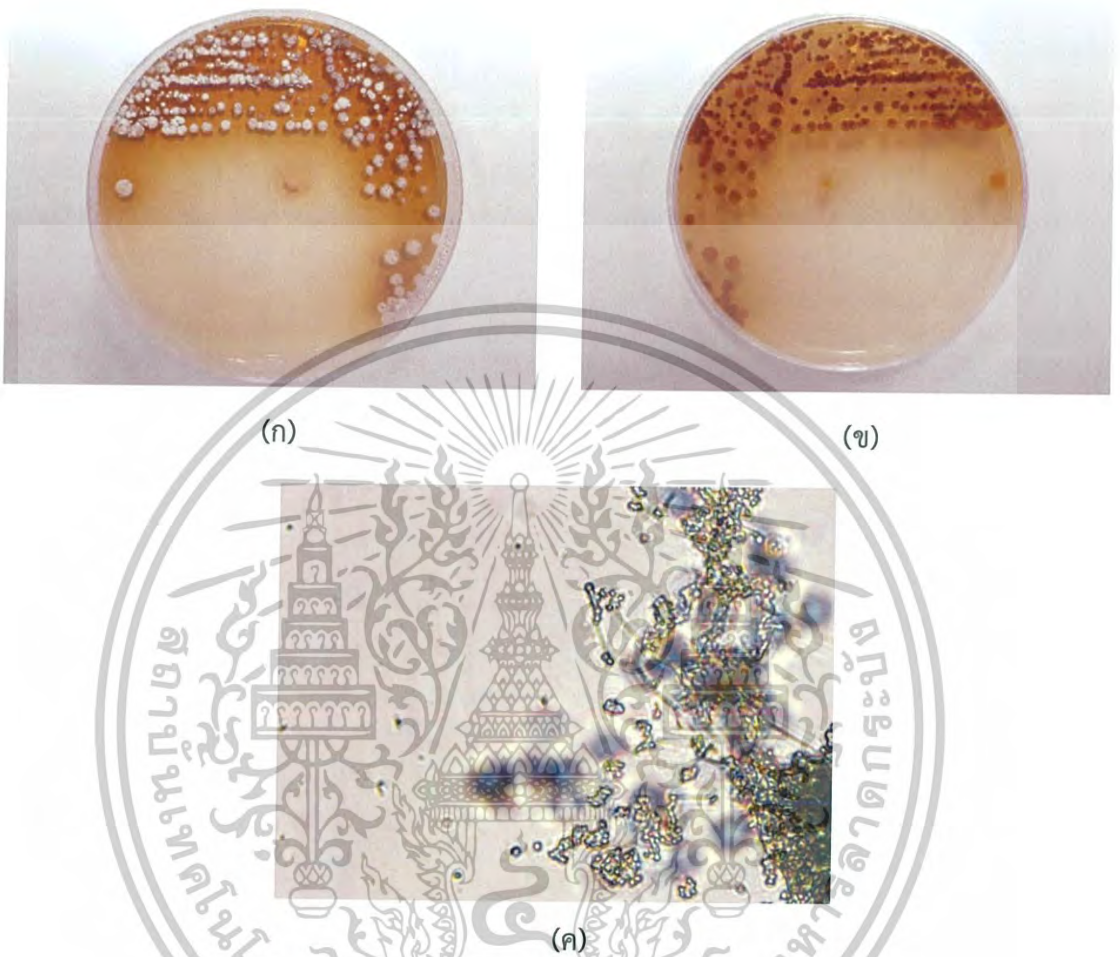
(ก) (ข)

(ค)

รูปที่ 4.45 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB301 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.39 เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) สร้างเส้นใยอากาศสี White สร้างเส้นใยอาหารสี Dark Yellowish Brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Dark Orange Yellow



รูปที่ 4.46 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท FB302 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2)
(ก) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium)
(ข) แสดงลักษณะ การสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium)
(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 39 ไอโซเลท เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The NBs-ISCC system)

หมายเลขไอโซเลท	Aerial mycelium	Substrate mycelium	รงควัตถุที่ละลายน้ำได้
OB302	Brownish Pink	Yellowish Gray	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
BP202	Grayish Yellowish Pink	Light Yellowish Brown	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
MI305	Pale Yellowish Pink	Moderate Yellowish Pink	Pale Yellow
FB304	Grayish Yellowish Pink	Grayish Yellowish Pink	Dark Orange Yellow
OB202	Dark Orange Yellow	Brilliant Yellow	Strong Yellowish Brown
OB101	Light Brownish Gray	Dark Orange Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
OB301	Brownish Gray	Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 39 ไอโซเลท เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The NBs-ISCC system) (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	Aerial mycelium	Substrate mycelium	รงควัตถุที่ละลายน้ำได้
OS102	Light Brownish Gray	Dark Orange Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
OS105	Light Brownish Gray	Moderate Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
OS203	Light Grayish Brown	Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
OB106	Grayish Yellowish Brown	Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
MI302	Deep Yellowish Brown	Light Greenish Gray	Moderate Yellow
BP101	Yellowish White	Brilliant Orange Yellow	Brownish Orange
BP102	Yellowish White	Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
OB103	Yellowish Gray	Light Grayish Brown	Light Yellowish Pink

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 39 ไอโซเลท เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The NBs-ISCC system) (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	Aerial mycelium	Substrate mycelium	รงควัตถุที่ละลายน้ำได้
OB303	Yellowish White	Grayish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
OB307	Yellowish White	Grayish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
MC202	Yellowish Gray	Grayish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
MC204	Yellowish White	Deep Orange Yellow	Grayish Greenish Yellow
MC304	Yellowish White	Light Yellow	Grayish Greenish Yellow
CC205	Pale Yellow	Brilliant Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
OB107	Light Greenish Gray	Moderate Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
OS302	Blackish Green	Dark Orange Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 39 ไอโซเลท เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The NBs-ISCC system) (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	Aerial mycelium	Substrate mycelium	รงควัตถุที่ละลายน้ำได้
MI301	Greenish Gray	Dark Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
CC203	Light Greenish Gray	Pale Yellow	Grayish Reddish Brown
OB104	Light Bluish Gray	Dark Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
MI304	Very Pale Purple	Very Deep Purple	Moderate Yellowish Brown
FB303	Pale Purplish Pink	Vivid Yellowish Pink	Dark Orange Yellow
BP103	White	Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
BP201	White	Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
BP203	White	Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ

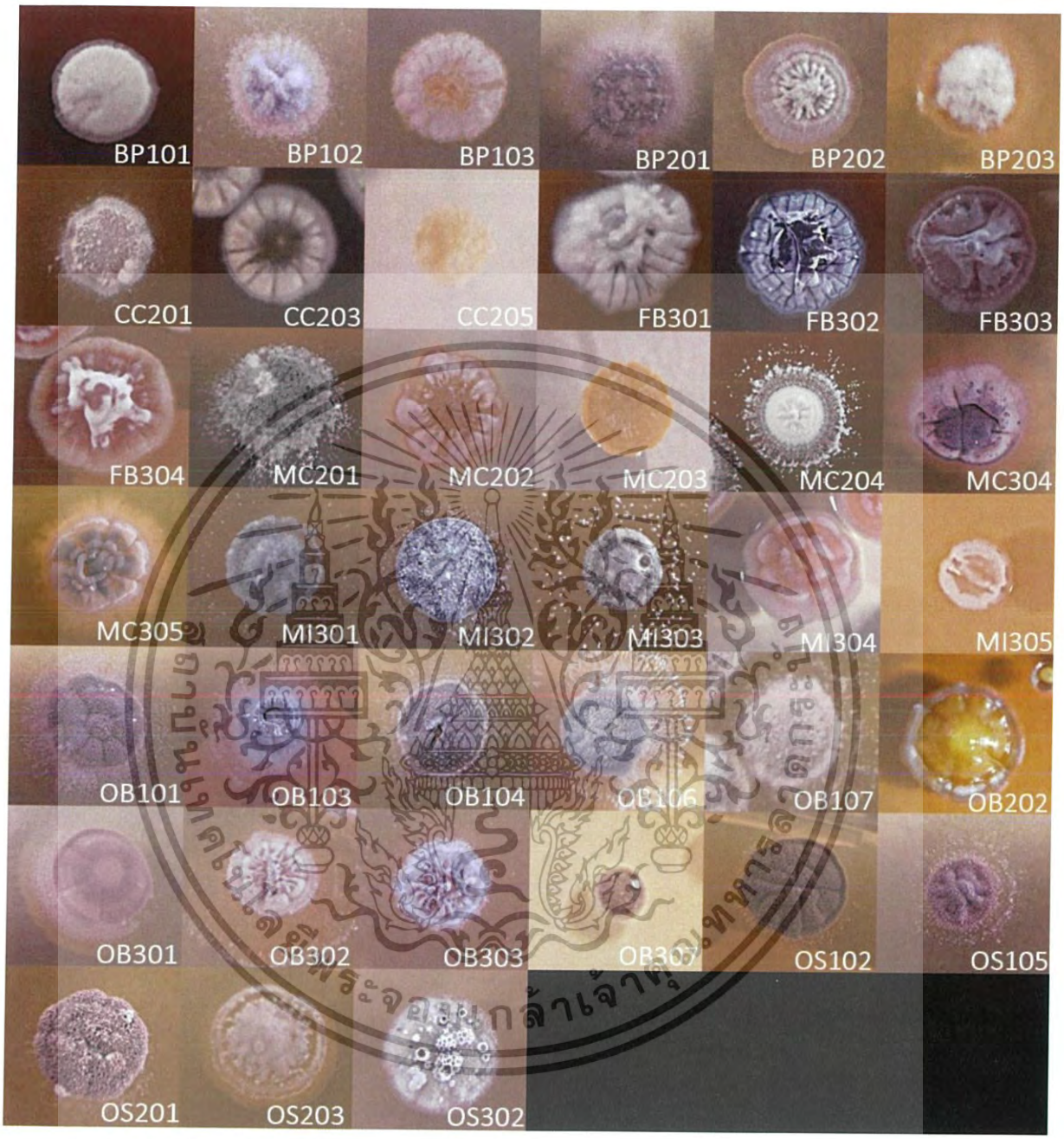
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 39 ไอโซเลท เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The NBs-ISCC system) (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	Aerial mycelium	Substrate mycelium	รงควัตถุที่ละลายน้ำได้
OS201	White	Brilliant Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
MI303	Light Gray	Pale Yellow	Brilliant Orange Yellow
MC201	White	Dark Yellow	Moderate Olive Brown
MC203	White	Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
MC305	White	Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ
CC201	White	Grayish Greenish Yellow	Moderate Greenish Yellow
FB301	White	Dark Orange Yellow	Light Yellowish Brown
FB302	Light Gray	Dark Yellowish Brown	Dark Orange Yellow

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ จำนวนทั้งหมด 39 ไอโซเลทจากดินบริเวณรอบรากพืชสมุนไพร 7 ชนิด



รูปที่ 4.47 แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทจำนวนทั้งหมด 39 ไอโซเลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 ลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีท

4.4.3.1 การย่อยสลายโปรตีนในนม Peptonization, การย่อยสลายเจลาติน, การย่อยสลายแป้ง, การสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส และการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส

ในการศึกษาผลชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินรอบรากต้นสมุนไพร 7 ชนิด จำนวน 39 ไอโซเลท (วิธีการที่ 3.6.6) ทำการทดสอบการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk agar พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทละ 30.76 ที่เกิดวงใส (Clear zone) รอบโคโลนี แสดงถึงความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสในการย่อยสลายโปรตีนได้, ทำการทดสอบการย่อยสลายแป้งบนอาหาร พบว่าเกิดวงใสรอบโคโลนีร้อยละ 17.94 แสดงว่ามีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในการย่อยสลายแป้งได้, ทำการทดสอบการย่อยสลายเจลาติน พบว่าแอคติโนมัยสีทร้อยละ 28.21 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้จากการผลิตเอนไซม์ Gelatinase ของแอคติโนมัยสีท, ทำการทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส พบว่ากระดาษกรองเกิดสีม่วงพบว่าแอคติโนมัยสีทร้อยละ 97.43 สามารถสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลสได้ และการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดสพบว่าแอคติโนมัยสีทร้อยละ 15.38 สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดสได้ แสดงผลในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนในนม Peptonization, การย่อยสลายเจลาติน, การย่อยสลายแป้ง, การสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส และการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส

หมายเลขไอโซเลท	การย่อยสลายโปรตีนในนม (Peptonization)	การย่อยสลายแป้ง	การย่อยสลายเจลาติน	Catalase	Oxidase
BP101	-	-	-	+	-
BP102	+	-	-	+	-
BP103	-	-	+	-	-
BP201	-	-	-	-	+
BP202	-	+	-	+	-
BP203	-	+	-	+	-
CC201	-	+	-	+	-
CC203	-	-	-	+	-
CC205	-	-	-	+	+
FB301	+	-	-	+	-
FB302	-	-	+	+	-
FB303	+	-	-	+	-
FB304	+	-	-	+	-
MC201	-	-	-	+	-
MC202	-	-	-	+	-
MC203	-	-	-	+	-
MC204	+	-	-	+	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนในนม Peptonization, การย่อยสลายเจลาติน, การย่อยสลายแป้ง, การสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส และการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดส (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	การย่อยสลายโปรตีนในนม (Peptonization)	การย่อยสลายแป้ง	การย่อยสลายเจลาติน	Catalase	Oxidase
MC304	-	-	+	+	+
MC305	-	-	-	+	-
MI301	-	-	+	+	-
MI302	-	-	-	+	-
MI303	-	-	+	+	-
MI304	-	-	-	+	-
MI305	+	-	+	+	-
OB101	+	-	+	+	-
OB103	-	+	+	+	+
OB104	-	-	-	+	-
OB106	-	-	-	+	-
OB107	+	+	-	+	-
OB202	-	-	+	+	-
OB301	+	-	-	+	-
OB302	-	-	-	+	-
OB303	-	+	-	+	-
OB307	+	-	-	+	+
OS102	-	-	+	+	-
OS105	-	-	+	+	-
OS201	+	-	-	+	+
OS203	-	+	-	+	-
OS302	-	-	-	+	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3.2 การศึกษาเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำตาลโดยใช้น้ำตาลทดสอบจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, แมนนิทอล, ไซโลส, ซูโครส และแลคโตส

การทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาลในอาหารเหลว Phenol red glucose ทำการตรวจผลโดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีอาหาร (ดังวิธีการที่ 3.6.6.5)

จากการศึกษาสมบัติทางชีวเคมี โดยการทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล พบว่าในน้ำตาลกลูโคสมีเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 30.77, น้ำตาลแมนนิทอลมีเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 2.56, น้ำตาลไซโลสไม่มีเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถหมักน้ำตาลได้, น้ำตาลซูโครสมีเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 7.69 และน้ำตาลแลคโตสมีเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 12.82

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการย่อยน้ำตาลของเชื้อแอคติโนมัยสีท โดยใช้น้ำตาลในการทดสอบจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, แมนนิทอล, ไซโลส, ซูโครส และแลคโตส

หมายเลขไอโซเลท	น้ำตาลทดสอบ 5 ชนิด				
	กลูโคส	แมนนิทอล	ไซโลส	ซูโครส	แลคโตส
BP101	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
BP102	A/-	K/-	K/-	K/-	K/-
BP103	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
BP201	A/-	K/-	K/-	K/-	K/-
BP202	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
BP203	W/-	W/-	W/-	W/-	W/-
CC201	K/-	K/-	K/-	K/-	K/-
CC203	W/-	K/-	W/-	W/-	W/+
CC205	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
FB301	W/-	W/-	W/+	W/-	A/+
FB302	A/-	W/-	W/-	W/-	W/-
FB303	W/-	W/-	K/-	W/-	W/-
FB304	A/-	A/-	W/-	A/-	A/+
MC201	A/-	K/-	K/-	W/-	K/-
MC202	A/-	K/-	W/-	W/-	W/-
MC203	A/-	K/-	K/-	W/-	K/-
MC204	A/-	K/-	K/-	K/-	K/-
MC304	A/-	W/-	W/-	A/-	A/-
MC305	A/-	K/-	K/-	W/-	K/-
MI301	A/-	K/-	W/-	W/-	W/-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการย่อยน้ำตาลของเชื้อแอคติโนมัยสีท โดยใช้น้ำตาลในการทดสอบจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส, ซูโครส, ไซโลส, แลคโตส และแมนนิทอล (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	น้ำตาลทดสอบ 5 ชนิด				
	กลูโคส	แมนนิทอล	ไซโลส	ซูโครส	แลคโตส
MI302	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
MI303	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
MI304	W/-	W/-	K/-	K/-	W/-
MI305	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
OB101	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
OB103	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
OB104	W/-	K/-	K/-	A/-	K/-
OB106	K/-	K/-	K/-	W/-	K/-
OB107	A/-	K/-	K/-	W/-	K/-
OB202	A/-	K/-	K/-	W/-	K/-
OB301	W/-	W/-	W/-	W/-	W/+
OB302	W/-	K/+	K/-	K/-	K/-
OB303	A/-	K/-	K/-	K/-	K/-
OB307	W/-	K/+	K/-	K/-	K/-
OS102	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
OS105	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
OS201	W/-	W/-	K/+	K/-	W/+
OS203	W/-	K/-	K/-	K/-	K/-
OS302	W/-	K/-	W/-	K/-	W/-

***หมายเหตุ

A คือ Acid = เกิดการหมักน้ำตาลสีอาหารเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง

K คือ Alkaline = ไม่เกิดการหมักน้ำตาล

W คือ Weakly = เกิดการหมักน้ำตาลเพียงเล็กน้อยสีอาหารเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีส้ม

\+ = เกิดการสร้างแก๊ส

\- = ไม่เกิดการสร้างแก๊ส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแอคติโนมัยสีทที่แยกได้แต่ละไอโซเลทนั้นสามารถหมักน้ำตาลกลูโคส, ซูโครส, ไซโลส, แลคโตส และแมนนิทอลได้แตกต่างกัน เนื่องมาจากแอคติโนมัยสีทที่แยกได้แต่ละไอโซเลทนั้นน่าจะมีสายพันธุ์ที่แตกต่างกันดังนั้นจึงมีการใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (ลักษมี, 2556) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chandrakar and Gupta (2015) ได้ทำการคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแอคติโนมัยสีทจากพืชสมุนไพร 6 ชนิดได้แก่ มะกล่ำตาหนู (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Abrus precatorius* L.), ว่านหางจระเข้ (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Aloevera* (L.) Burm. f.), ผักชีช้าง (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Asparagus racemoses* Willd), เสนียด (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Adhatoda vasica* Nees), แพงพวยฝรั่ง (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Catharanthus roseus* (L.) G. Don.) และเจตมูลเพลิงขาว (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Plumbago zeylanica* L.) โดยการศึกษาการใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญ พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิดเช่น Meso-inositol, Sucrose, Mannitol, L-Rhamnose, Raffinose, D-Melezitose, Adonitol, D-Melibiose, Dextran และ Xylitol

4.5 การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น

เชื้อแอคติโนมัยสีท 39 ไอโซเลทที่สามารถคัดแยกได้ ถูกนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพต้านเชื้อทดสอบจำนวน 6 ชนิด ประกอบไปด้วย แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichio coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยใช้วิธีการทดสอบขั้นต้น (ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.7) จากการทดสอบพบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 5 ไอโซเลทที่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ แสดงในตารางที่ 4.6 และมีจำนวนของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ ดังนี้

1.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 มี 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท OB103 และ OB302

2.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 มี 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท OB103, OB302, OS105, OS201 และ MC304

3.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Kacuria rhizophila* ATCC 9341 มี 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท OB302, OS105, OS201 และ MC304

4.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 มี 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท OB302, OS201 และ MC304

5.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ไม่มี

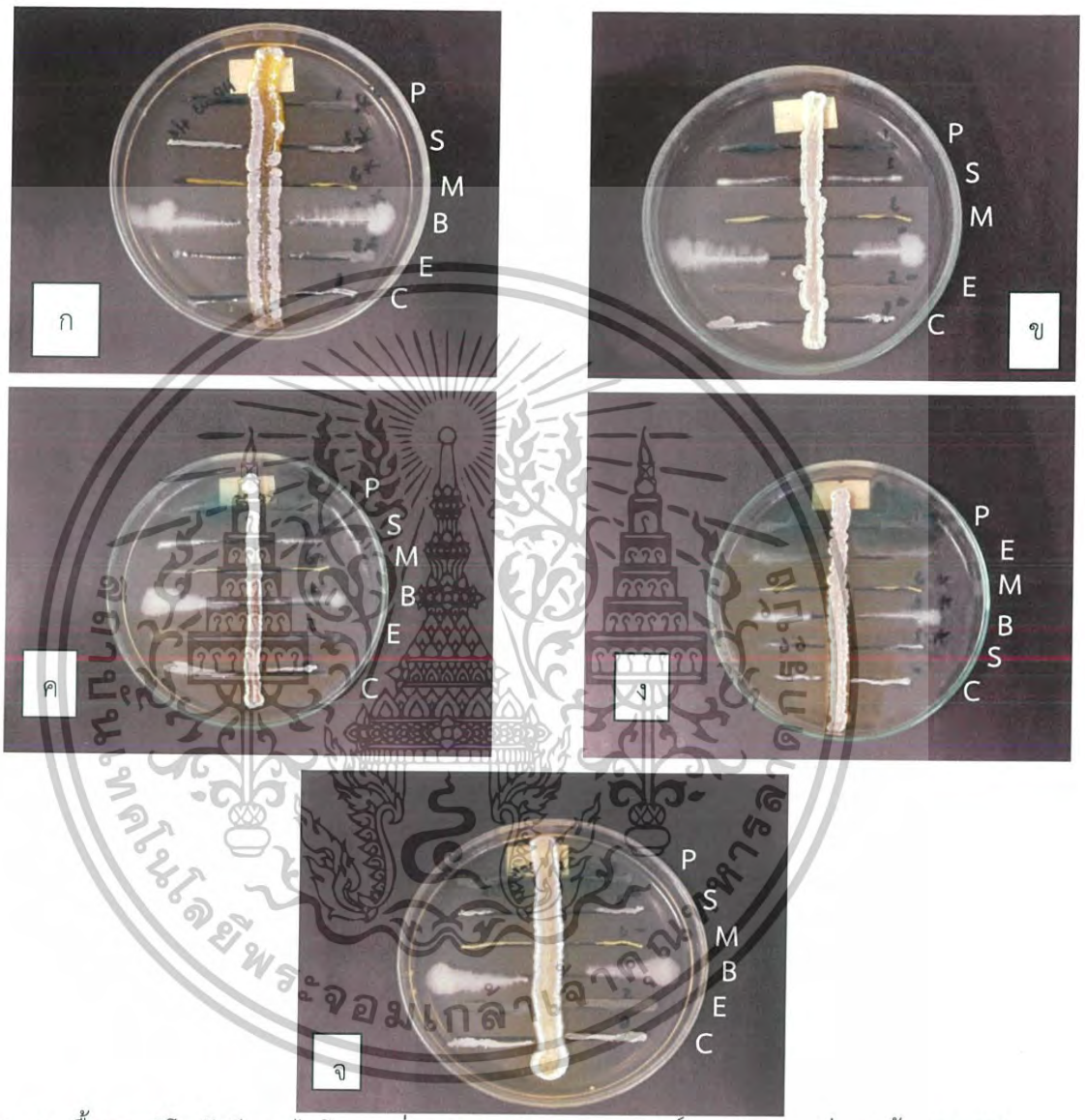
6.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 10231 มี 1 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท OB302

จากผลของการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพเบื้องต้น พบว่ามีแอคติโนมัยสีทจำนวน 5 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ ได้แก่ ไอโซเลท OB103, OB302, OS105, OS201 และ MC304 โดยผลการศึกษานั้นพบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่จะมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ และยีสต์

จากการทดสอบความสามารถในการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพต้านเชื้อทดสอบจำนวน 6 ชนิด ประกอบไปด้วย แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Kocuria*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

rhizophila ATCC 9341และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichai coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยวิธี Modified Cross-Streak Method (วิธีการที่ 3.6.7) ของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 5 ไอโซเลทที่เกิดระยะร่น ได้แก่ ไอโซเลท OB103, OB302, OS105, OS201 และ MC304 ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.48 เชื้อแอคติโนมัยสีท 5 ไอโซเลทที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ได้

หมายเลขไอโซเลท

ก : OB103, ข : OB302, ค : OS105, ง : OS201 และ จ : MC304

จุลินทรีย์ทดสอบ

P : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 , S : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

M : *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 , B : *Bacillus subtilis* ATCC 6633

E : *Escherichia coli* ATCC 25922 , C : *Candida albicans* ATCC 10231

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการยับยั้งฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีท

บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร) \ เชื้อทดสอบ			*P. aeruginosa*	*S. aureus*	*K. rhizophila*	*B. subtilis*	*E. coli*	*C. albicans*
หมายเลขไอโซเลท	OB103	ซ้าย	11.3	15.2	14.3	-	-	-
		ขวา	-	-	-	-	-	-
	OB302	ซ้าย	13.2	11.5	13.4	11.2	-	15.35
		ขวา	12.2	10.6	13.2	12.35	-	11.4
	OS105	ซ้าย	-	21.1	11.6	-	-	-
		ขวา	-	11.2	24.15	-	-	-
	OS201	ซ้าย	-	16.5	12.6	12.3	-	-
		ขวา	-	17.2	23.2	-	-	-
	MC304	ซ้าย	-	13.3	8.3	11.5	-	-
		ขวา	-	13.2	-	12.1	-	-

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

4.6 การทดสอบฤทธิ์การด้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Condida albicans* ATCC 10231 ด้วยวิธีตามข้อ3.6.7 พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 5 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ได้นำเชื้อแอคติมัยสีททั้ง 5 ไอโซเลทมาเลี้ยงในอาหารเหลว Yeast Extract-Malt Extract (YEME) Broth เป็นเวลา 14 วัน ทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion (ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.8) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.7-4.10 พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีท 1 ไอโซเลทจากสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตทที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ดังนี้

4.6.1 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ดังตารางที่ 4.7)

1.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

2.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

3.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Kocuria rhizophila* ATCC 9341ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

4.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

5.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

6.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicons* ATCC 10231 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

4.6.2 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ดังตารางที่ 4.8)

1.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

2.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

3.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 มี 1 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท OB302

4.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

5.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

6.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 10231 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

4.6.3 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ดังตารางที่ 4.9)

1.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

2.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

3.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

4.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

6.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 10231 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

4.6.4 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ดังตารางที่ 4.10)

1.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

2.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

3.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

4.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Bocillus subtilis* ATCC 6633 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

5.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

6.เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 10231 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิดร ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion

หมายเลขไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
	P. aeruginosa	*S. aureus*	*K. rhizophila*	*B. subtilis*	*E. coli*	*C. albicans*
MC304	-	-	-	-	-	-
OS105	-	-	-	-	-	-
OS201	-	-	-	-	-	-
OB103	-	-	-	-	-	-
OB302	-	-	-	-	-	-

***หมายเหตุ : รวมขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางแผ่นทดสอบ ขนาด 6.0 มิลลิเมตร

ตารางที่ 4.8 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion

หมายเลขไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
	P. aeruginosa	*S. aureus*	*K. rhizophila*	*B. subtilis*	*E. coli*	*C. albicans*
MC304	-	-	-	-	-	-
OS105	-	-	-	-	-	-
OS201	-	-	-	-	-	-
OB103	-	-	-	-	-	-
OB302	-	-	32.3	-	-	-

***หมายเหตุ : รวมขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางแผ่นทดสอบ ขนาด 6.0 มิลลิเมตร

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบในชั้นของเมทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion

หมายเลขไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
	P. aeruginosa	*S. aureus*	*K. rhizophila*	*B. subtilis*	*E. coli*	*C. albicans*
MC304	-	-	-	-	-	-
OS105	-	-	-	-	-	-
OS201	-	-	-	-	-	-
OB103	-	-	-	-	-	-
OB302	-	-	-	-	-	-

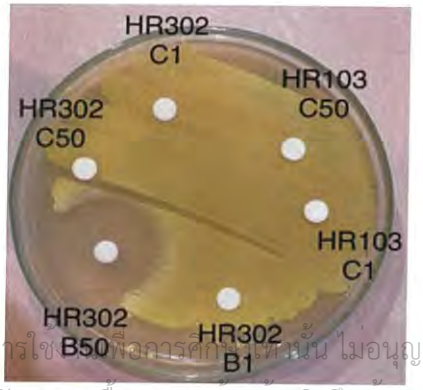
***หมายเหตุ : รวมขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางแผ่นทดสอบ ขนาด 6.0 มิลลิเมตร

ตารางที่ 4.10 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบในชั้นของเมทานอลความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion

หมายเลขไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
	P. aeruginosa	*S. aureus*	*K. rhizophila*	*B. subtilis*	*E. coli*	*C. albicans*
MC304	-	-	-	-	-	-
OS105	-	-	-	-	-	-
OS201	-	-	-	-	-	-
OB103	-	-	-	-	-	-
OB302	-	-	-	-	-	-

***หมายเหตุ : รวมขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางแผ่นทดสอบ ขนาด 6.0 มิลลิเมตร

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion พบว่ามี 1 ไอโซเลท ได้แก่ OB302 จากสารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ดังในรูปที่ 4.42



รูปที่ 4.49 การทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ : *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 (B1:ของสารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, B50:ของสารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซิเตทความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, C1:สารสกัดหยาบในชั้นของเมทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ C50:สารสกัดหยาบในชั้นของเมทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ซึ่งให้ผลไม่สอดคล้องกับการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี preliminary test สอดคล้องกับงานวิจัยของชัยสิทธิ์ (2554) ซึ่งนำแอคติโนมัยสีทมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสามารถยับยั้งได้เฉพาะ *Staphylococcus aureus* เท่านั้น ซึ่งผลที่ได้ไม่สอดคล้องกับการทดสอบด้วยวิธี cross streak ที่มี 61 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้อย่างน้อยที่สุด 1 ชนิด และสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก, แกรมลบ และยีสต์ได้ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ทำการทดลองและทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง ดังนั้นอาจจะมีสภาวะไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่ใช้ในการทดลอง ดังนั้นจึงทำให้ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่มากเกินความเป็นจริง (ชัยสิทธิ์, 2554)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่ามีเพียง 1 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบอื่น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของชัยสิทธิ์ (2554) ซึ่งทำการแยกและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินบริเวณมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง มาทำการทดสอบการยับยั้งของสารสกัดหยาบต่อเชื้อแบคทีเรียทดสอบด้วยวิธี Agar well พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดได้ด้วยเอทิลอะซิเตตสามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* ได้เพียงชนิดเดียว และไม่สอดคล้องกับ Mohseni *et al*., (2013) ซึ่งได้ทำการสกัดสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อแอคติโนมัยสีทด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ อาจเนื่องมาจากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตและเมทานอลที่ใช้ในการสกัดนี้ไม่สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นได้ (ชัยสิทธิ์, 2554) จึงทำให้สารสกัดที่สกัดได้ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Candida albicans* ATCC 10231 ได้ ดังนั้นจึงควรจะใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น ที่สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียทดสอบชนิดอื่นนอกจากเชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ซึ่งจากงานวิจัยของ Kumar *et al*., (2012) ได้ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเชื้อแอคติโนมัยสีทด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิดได้แก่ hexane, ethyl acetate, dichloromethane และ butanol พบว่าส่วนของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย dichloromethane และ ethyl acetate สามารถยังยั้งการเจริญของ *Enterococcus durans* ได้มากที่สุด ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับเชื้อทดสอบและสารสกัดซึ่งแต่ละไอโซเลทจะเหมาะกับตัวทำละลายที่แตกต่างกันจึงจะให้ฤทธิ์ที่ดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทให้บริสุทธิ์จากดินบริเวณรอบรากพืชสมุนไพร 7 ชนิด ได้แก่ ต้นกะเพราแดง ต้นชงโคขาว ต้นตะไคร้ ต้นไทรย้อย ต้นมะม่วง ต้นมะระขี้นก และ ต้นโหระพา โดยบริเวณจุดเก็บตัวอย่างที่สามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ส่วนใหญ่มีค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งแต่ 7.0-7.4 แต่ดินบริเวณต้นมะระขี้นกมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 7.8 ซึ่งสามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ทั้งหมดจำนวน 39 ไอโซเลท โดยสามารถแยกจากต้นโหระพาได้มากที่สุดจำนวน 10 ไอโซเลท, ต้นชงโคขาวและต้นมะระขี้นกสามารถแยกได้จำนวน 6 ไอโซเลท, ต้นกะเพราแดงและต้นมะม่วงสามารถแยกได้จำนวน 5 ไอโซเลท, ต้นไทรย้อยสามารถแยกได้จำนวน 4 ไอโซเลท และต้นตะไคร้สามารถแยกได้ 3 ไอโซเลท ซึ่งได้ทำการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Zhang's Starch Soil Extract agar (ZSSE) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7-14 วัน จากนั้นจึงทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) และทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทมีการเจริญและสร้างสปอร์ในช่วงระยะเวลา 7-14 วัน ซึ่งเชื้อแอคติโนมัยสีทจะมีการสร้างสีของเส้นใยอากาศ สีของเส้นใยอาหาร และสร้างสร้างรงควัถตุที่ละลายน้ำได้

ในการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินรอบรากต้นสมุนไพร 7 ชนิด จำนวน 39 ไอโซเลท ทำการทดสอบการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk agar พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 30.76 ที่เกิดวงใส (Clear zone) รอบโคโลนี แสดงถึงความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสในการย่อยสลายโปรตีนได้, ทำการทดสอบการย่อยสลายแป้งบนอาหาร พบว่าเกิดวงใสรอบโคโลนีร้อยละ 17.94 แสดงว่ามีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสในการย่อยสลายแป้งได้, ทำการทดสอบการย่อยสลายเจลาติน พบว่าแอคติโนมัยสีทร้อยละ 28.21 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้จากการผลิตเอนไซม์เจลาติเนสของเชื้อแอคติโนมัยสีท, ทำการทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส พบว่าแอคติโนมัยสีทร้อยละ 97.43 สามารถสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลสได้ และการสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดสพบว่าแอคติโนมัยสีทร้อยละ 15.38 สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ออกซิเดสได้ และการทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล พบว่าในน้ำตาลกลูโคสมีเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 30.77, น้ำตาลแมนนิทอลมีเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 2.56, น้ำตาลไซโลสไม่มีเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถหมักน้ำตาลได้, น้ำตาลซูโครสมีเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 7.69 และน้ำตาลแลคโตสมีเชื้อแอคติโนมัยสีทร้อยละ 12.82

ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิดได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Candida olbicans* ATCC 10231 พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 5 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bocillus subtilis* ATCC 6633, *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 และยีสต์ เช่น *Candida albicans* ATCC 10231 โดยมีผลทดสอบดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีท ไอโซเลทที่ OB103 สามารถยับยั้งเชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 14.3 มิลลิเมตร ด้านขวาไม่เกิดฤทธิ์ยับยั้ง, เชื้อ *Staphylacoccus aureus* ATCC 25923 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 15.2 มิลลิเมตร ด้านขวาไม่เกิดฤทธิ์ยับยั้ง และเชื้อ *Pseudomanas aeruginosa* ATCC 27853 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 11.3 มิลลิเมตร ด้านขวาไม่เกิดฤทธิ์ยับยั้ง

เชื้อแอคติโนมัยสีท ไอโซเลทที่ OB302 สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 11.2 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 12.35 มิลลิเมตร, เชื้อ *Candida albicans* ATCC 10231 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 15.35 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 11.4 มิลลิเมตร, เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 13.2 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 12.2 มิลลิเมตร, เชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 11.5 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 10.6 มิลลิเมตร และเชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 13.4 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 13.2 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยสีท ไอโซเลทที่ OS105 สามารถยับยั้งเชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 11.6 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 24.15 มิลลิเมตร และเชื้อ *Staphylocaccus aureus* ATCC 25923 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 21.1 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 11.2 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยสีท ไอโซเลทที่ OS201 สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 12.3 มิลลิเมตร ด้านขวาไม่เกิดฤทธิ์ยับยั้ง, เชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 16.5 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 17.2 มิลลิเมตร และเชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 12.6 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 23.2 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยสีท ไอโซเลทที่ MC304 สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 11.5 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 12.1 มิลลิเมตร, เชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 18.3 มิลลิเมตร ด้านขวาไม่เกิดฤทธิ์ยับยั้ง และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ด้านซ้ายมีค่าเท่ากับ 13.3 มิลลิเมตร ด้านขวามีค่าเท่ากับ 13.2 มิลลิเมตร

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 5 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ นำเชื้อแอคติมัยสีททั้ง 5 ไอโซเลทมาเลี้ยงในอาหารเหลว Yeast Extract-Malt Extract (YEME) เป็นเวลา 14 วัน ทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าไม่มีฤทธิ์ยับยั้งในสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตทที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แต่ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่ามี 1 ไอโซเลท มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 คือ ไอโซเลท OB302 และไม่มีฤทธิ์ยับยั้งในสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และจากสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากการศึกษางานวิจัยในครั้งนี้สามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินรอบรากสมุนไพร โดยมีการเก็บตัวอย่างดินเพียง 1 แหล่ง ซึ่งควรมีการเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่อื่นเพื่อนำมาเปรียบเทียบหาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยสีท

5.2.2 จากการศึกษางานวิจัยในครั้งนี้หากมีการศึกษาต่อเพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยสีท รวมไปถึงวิธีการสกัดสารทุติยภูมิจากเชื้อแอคติโนมัยสีทให้มีความบริสุทธิ์และได้สารดังกล่าวในปริมาณมาก เพื่อนำความรู้ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมและทางการแพทย์

5.2.3 พบว่ามีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพืชสมุนไพรแต่เป็นการศึกษาเอนโดไฟติคแอคติโนมัยสีทโดยมีการศึกษาอย่างแพร่หลาย เนื่องจากการศึกษาเอนโดไฟติคแอคติโนมัยสีทนั้นจะให้เชื้อแอคติโนมัยสีทที่อยู่ภายในต้นพืชสมุนไพรโดยตรงมากกว่าบริเวณดินรอบรากต้นสมุนไพรโดยไม่มีปัจจัยอื่นมาเกี่ยวข้อง ผู้ทำการวิจับจึงสนใจที่จะศึกษาเอนโดไฟติคแอคติโนมัยสีทในอนาคตอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ ดวงมาลย์, รัชนี มิ่งมา, ชาคริต บุญอยู่, อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต และวสุ ปฐมอารีย์. (2550). "การคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากสมุนไพรทองพันชั่งและว่าน มหากาฬและประสิทธิภาพใน การยับยั้งจุลินทรีย์". เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45: สาขาวิทยาศาสตร์ หน้า 334-341

กรรณิการ์ ดวงมาลย์ และอรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต. (2554). "การคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากรากและดินรอบรากต้นยางพาราที่สามารถยับยั้ง *Corynespora cassiicola* และ *Phytophthora botryosa*". The Journal of Antibiotics, ปีที่ 64, ฉบับที่ 4, เมษายน 2011, หน้า 293-296

กมลวรรณ ตระการชัยวงศ์. (2551). "การพัฒนาครีมของชาดำ น้ำมันตะไคร้และน้ำมันมะนาว และศึกษาปัจจัยที่มีปลต่อการใช้ครีมบรรเทาอาการเซลลูไลท์บริเวณหน้าท้อง"

กาญจนา ชยัน. (2552)."การอบแห้งตะไคร้ด้วยเทคนิคการให้ความร้อนแบบไดอิเล็กตริกโดยใช้เครื่องอบไมโครเวฟที่ควบคุมอุณหภูมิได้"

กวินศักดิ์ จัตุทะศรี. (2560). Anicura *Staphylococcus aureus* ninalsnamnstiuirasansañaจาก *ใบและผลกระทุ (Rhodomyrtus tomentosa)* และการประยุกต์ใช้กับน้ำสลัด Effect of *Rhodomyrtus tomentosa* Leaf and Fruit Extracts on Food Poisoning *Staphylococcus aureus* and its Application as Salad Dressing: หน้า11

กิ่งจันทน์ มะลิซ้อน. (2555). "ความหลากหลายของแอคติโนแบคทีเรียในดิน Biodiversity of Actinobacteria in Soil": หน้า 5

กุสุมา บ่วงราบ, เกศแก้ว พูลรักษา, วงศกร พงศ์โสภิตานันท์, ธีรภัทร เหลืองศุภบูลย์, มนตรี แสงลาภเจริญกิจ, ภัครพล พูลสุขโข และเอก แสงวิเชียร. (2557). "การแยกและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของแอคติโนแบคทีเรียชนความร้อนจากไลเคน" ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแพง.

งามนิจ นนทโส. (2537). "การแยกเชื้อสเตร็บโตมัยสีทจากดิน. มหาวิทยาลัยขอนแก่น คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา"

งามนิจ นนทโส. (2547). "Systematic bacteriology laboratory". มหาวิทยาลัยขอนแกน.

จาตุรงค์ จงจีน และ สุพรรนี แก่นสาร อะโอกิ. (2010). "การคัดเลือก *Bacillus* spp. ที่ผลิตเอนไซม์โปรติเอสและไคติเนสจากดิน". ว. วิทย์. กษ. 41(3/1)(พิเศษ):317-320 (2553)

จามจุรี เกตุบัวขาว, ณิชาภา ชมภู และสุพัตรา ชาวสวน. (2555). "การคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากมูลสัตว์เพื่อใช้ในการย่อยสลายวัสดุทางการเกษตรเบื้องต้น" Isolation of Actinomycetes from Animal Waste for Agricultural Materials Degradation: หน้า4

เจนจิรา เดชรักษา และ สลิลา สุรวัฒนกิ. (2561). "การแยกแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้ง *Curvularia lunata* สาเหตุของโรคเมล็ดด่างในข้าว" Isolation of Actinomycetes with Inhibitory Activity against *Curvularia lunata* Causing Dirty Panicle Disease in Rice.(2)(พิเศษ): 201-204

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชัฏฏากาญน์ สิงห์โตทอง. (2557). “การแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากพืชบางชนิดในมหาวิทยาลัยศิลปากรและคุณสมบัติทางชีวภาพ”: หน้า 7

ชัยสิทธิ์. (2554). “การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินบริเวณมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง” : หน้า 59

โต๊ะข่าวเกษตร. (2560). “มะระขี้นก”ฆ่าน้ำตาล! ป้องเบาหวาน” [Online] Available: http://www.komchadluek.net/news/agricultural/257501 (สืบค้นวันที่ 25 พฤษภาคม 2562)

ธานีซิตี้. (2550). “บทบาทและความสำคัญของจุลินทรีย์ในการเกษตร” [Online]. Available : http://oknation.nationtv.tv/blog/kontan/2007/08/13/entry-2 (สืบค้นวันที่ 2 มิถุนายน 2562)

นภาลัย ชูศรี. (2560). “ขายดีถล่มทลาย!? เกษตรกรชาวสวนมะม่วงน้ำดอกไม้ เริ่มทาบกิ่งมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองขาย มีคนสนใจจำนวนมากจนต้องสั่งจอง!? ” [Online]. Available : https://www.tnews.co.th/region (สืบค้นวันที่ 25 พฤษภาคม 2562)

นฤมล เถื่อนกูล. (2547). “การใช้สารสีจากจุลินทรียในการยอมสีเสนใยจากธรรมชาติและเสนใยสังเคราะห [วิทยานิพนธ]”. พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยราชภัฏ พิบูลสงคราม.

นุกูล และ ชัยสิทธิ์. (2554). “การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินบริเวณหมาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง”

นวลรัตน หนูขาว, บุษยาอภิชัยเสถียรโชติ, สมบูรณธนาศุภวัฒน และชุติมา ลิ้มมัทวาภิรัติ์. (2554). “องคประกอบทางเคมีและฤทธิ์ตานแบคทีเรียของแอคติโนมัยสทจากดิน”. ศิลปากรวิจัย ครั้งที่ 4 บูรณาการศาสตรและศิลปะคือ ศิลปากร 19-21 มกราคม 2554 มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทรนครปฐม

บุศบรรณ ณ สงขลา. (2551). “ไม้ล้มลุก”: หน้า 88

บงกชวรรณ สุตะวรรณ. (2550). การตรวจพิสูจน์เชื้อราก่อโรคทางห้องปฏิบัติการ. โครงการส่งเสริมงานแต่งตำราคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล และ ขนิดาภา นวะพิฒ. (2555). “การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium Rolfsii* ด้วยเชื้อแอคติโนมยัสีท *Streptomyces hygroscopicus* PACCH24 ที่สร้างเอนไซมไคติเนส”. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ปีที่ 14 ฉบับที่ 1 มกราคม – มีนาคม 2555

เดชา ศิริภัทร. (2548). “ชงโค : เสน่ห์แห่งใบและดอกจากพงไพร”. นิตรสารหมอชาวบ้าน, ต้นไม้ใบหญ้า. 318 (2548)

ดวงพร คันธโชติ. (2537). “การจัดจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรปส์”. สำนักพิมพ์โดเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 202 น.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ ศาสตราจารย์ ดร.นิธิยา รัตนาปนนท์. (2553) “Candida” [Online]. Available : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3086/cadada (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

พินิจ กล่ำคลองตัน. (2553). การแพร่กระจายเชื้อ *Pseudomonas aeruginasa* ในสถานพยาบาล : กรณีศึกษาโรงพยาบาลนภาลัย จังหวัดสมุทรสงคราม: หน้า17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์. (2550). การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของส่วนสกัดจากเข็มทองและหญ้าเกล็ดหอย Antibacterial activities of the extracFB from *Ixora javanica* (Linn) DC. And *Drymari diandra* Blume.

ภิญญโชติ เหมธานันท์. (2559) "ต้นโหระพา บ้านทรงภพ (กรุงเทพฯ)" [Online]. Available : https://www.nanagarden.com/product/259569 (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์. (2548). แอคติโนมัยซีส. ชลบุรี: สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลมหาวยาลัยบูรพา.

ราชันย์ ภู่มา และ สมราน สุดดี. (บรรณาธิการ). (2557). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิตินันท์ ฉบับ แก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2557. กรุงเทพฯ: สานักงานหอพรรณไม้ สานักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช

โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ. (2551). การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ. หน้า 2-4 [Online]. Available : http:/www.hospital.tu.ac/LABWEBSITE/Work%20Instruction/WI%20-%202410%20-%20009.pdf (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

ลลิดา วชังเงิน. (2554). "การคัดกรองและการพิสูจน์เอกลักษณ์แอคติโนมัยสีทหายากที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ [วิทยานิพนธ์]". ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลักษมี ศุภระกาญจนะ. (2556). "การคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ". ปริญญานิพนธ์ วท.ม. เทคโนโลยีชีวภาพ. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

วสุ ปฐมอารีย์. (2557). "แอคติโนมัยสีทจากตะกอนชายฝั่งทะเลและป่าชายเลนภาคตะวันออกของไทย และความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ". ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิไลลักษณ์ โคมพันธุ์ และ สมเกียรติ ทับทิม. (2559). "ผลของแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกจากดินรอบรากพริกต่อการยับยั้งการเจริญของ *Colletatrichum capsici, Curvularia lunata* และ *Fusarium solani*".แก่นเกษตร 44 ฉบับพิเศษ 1 : (2559)

ศรีสกุล ชนะพันธ์ . (2553). "การแยกและคัดกรองเชื้อเอ็นโดไฟติคแอคติโนมัยซีสที่สามารถสร้างสารต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบและการประยุกต์ใช้ (Isolation and screening for Endophytic Actionomycetes with inhibitory effects on tested microorganisms and their applications)"

สัจจะ ประสงค์ทรัพย์. (2555). "มะม่วง" [Online]. Available : http://hort.ezathai.org/?p=524 (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

สุกัญญา เขียวสะอาด. (2555). "กะเพรากับการต้านอนุมูลอิสระ". วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 21(2):54-65 (2555)

สุจรรยา ฉายแสง. (2556). การแยกเชื้อเอนโดไฟติคแอคติโนมัยซีสจากข่าและกระชาย : สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ การต้านอนุมูลอิสระและการต้านเซลล์มะเร็ง Goodfellow, Michael, and S. T.Williams. (1983). "Ecology of actinomycetes." Annual Reviews in Microbiology 37, 1: 189-216.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุธาทิพย์ ภมรประวัติ . (2550). “มะระต้านเบาหวาน” [Online]. Available : https://www.doctor.or.th/article/detail/4135 (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

สุธาทิพย์ ภมรประวัติ . (2551). “โหระพา คุณค่าที่มากกว่าความอร่อย” [Online]. Available : https://www.doctor.or.th/article/detail/5821 (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

เสาวนิตย์ ชอบบุญ. (2559). “การพัฒนาการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบางเขียด อำเภอสิงห์นคร จังหวัดสงขลา

อรณิชา ตันติพลานนท์, เอกพันธ์ หมะหมีน, ปัทมาศ อารีเอื้อ, กัลยา เหร็มล่า และ ชนินันท์ พรสุริยา. (2559). “การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทปฏิปักษ์เพื่อยับยั้งการเจริญของรา *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมัน”. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ปีที่3 ฉบับพิเศษ (I): M09/43-48, 2559

อลิสรา. (2554). “ความเป็นกรด-ด่างของดิน”[Online]. Available : https://www.tistr.or.th/tistrblog/?p=1115 (สืบค้นวันที่ 16 มิถุนายน 2562)

อรุณวตรี รัตนธารี. (2561). “ลิ้มรสร้อนแรง แห่งต้มยำ ‘กะเพราแดง’” [Online]. Available : https://www.greenery.org/articles/rosban-kapraodaeng/ (สืบค้นวันที่ 25 พฤษภาคม 2562)

อาหารเสริม. (2561). “มะม่วง สรรพคุณ ที่เป็นประโยชน์และโทษของมะม่วง” บทความสมุนไพร (2561)

Adisak Mahawan, (2014). “ไม้ยืนต้น” [Online]. Available : https://sites.google.com/a/web1.dara.ac.th/botany/sara-na-ru/1miyuntn (สืบค้นวันที่ 25 พฤษภาคม 2562)

Alexander, M. (1977). Introduction to soil Microbiology. 2nd ed. Wiley&Sons, New York. 427p.

Arumugam Sathya, Rajendran Vijayabharathi and Subramaniam Gopalakrishnan. (2017). "Plant growth-promoting actinobacteria: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes"

Association of Official Analytical Chemusts. 1990. Moisture in Animal feed. (7.007) Official Methods of Analysis. 15th ed. Animal feeding stuffs - Determination of moisture and other volatile matter content ISO 6496.

Ben-Fguira, L.F., S. Fosto, R.B. Mehdi, L. Mellouli, and H. Laatsch. 2005. “Purification and structure elucidation of antifungal and antibacterial activities of newly isolated Streptomyces sp. strain US80. Microbiol”. Res. 156, 341-347.

Castillo *et al.*, 2003. “Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces* sp. NRRL 30566, an endophyte of Grevillea pteridifolia”

Christine Marie Berkhout, 1923. “รูปโคโลนี *Candida albicans*” [Online]. Available :https://en.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans#/media/File:SEM_of_C_albicans.tif (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

E. B. Shirling and D. Gottlieb. (1966). “METHODS FOR CHARACTERIZATION OF STREPTOMYCES SPECIES” Department of Botany and Bacteriology Ohio

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wesleyan University, Delaware, Ohio and Department of Plant Pathology Universityof Illinois, Urbana, Illinois

El-Naggar, M.Y., El-Assar, S.A. and Abdul-Gawad, S.M. (2006). Meroparamycin production by newly isolated Streptomyces sp. strain MAR01: taxonomy, fermentation, purification and structural elucidation. J. Microbiol, 44, 432-438.

Ferdinand Julius Cohn, (1872). "รูปโคโลนี *Kocuria rhizophila*" : [Online]. Available : https://fr.wikipedia.org/wiki/Micrococcus_luteus (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

Gesheva, V.2002. Rhizoshere miccroflora of some citrus as a source of antagonistic actinomycetes. European Journal of Soil Biology 38(1) : 85-88.

Goodfellow, Michael, and S. T. Williams. (1983). "Ecology of actinomycetes." Annual Reviews in Microbiology 37, 1: 189-216.

Goodfellow, M. (1985). The actinomycetes, pp. 211-231. In N. A. Logan, ed. Baceterial Systematic. Blackwell Scientific Publication, London.

Harikrishnan, H., Shanmugaiah, V., Balasubramanian, N., Sharma, M.P. and Kotchoni, S.O. (2014). Antagonistic potential of native strain Streptomyces aurantiogriseus VSMGT1014 against sheath blight of rice disease, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 30:3149-3161.

Holmalahti, J.,Von Wright and Raatikainen, A. O. (1994). Variation in the spectra of biological activities of actinomycetes isolation from different soils. Lett. Appl. Microbiol. 18:1544-1546

Hsin-Der Shih,Yung-Chuan Liu,Fen-Lin Hsu,Vanisree Mulabagal,Rajasekhar Dodda.Jenn-Wen Huang. (2003). "Fungichromin: A Substance from *Streptomyces padanus* with Inhibitory Effects on *Rhizoctonia solani*"

Jinhua Zhang. (2011). " Improvement of an Isolation Medium for Actinomycetes" . College of Life Science, Hebei University. : page 24

Katzer, W., Blackburn, M.,Charman, K.,Maetin,S., Penn, J. and Wrigley, S. (2001) . "Scale-up of filamentous organisms from tubes and shake-flasks into stirred vessels" , The Biochemical Engineering Journal. 7(2), 127-134

Klanbut K, Klanbut S, SuOShattanaudomchoke C, Namboon N, Buraphawat S. (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. 2017 November 23-25th; Bangkok, Thailand.

Kovacs, G., J. Burghardt, S. Pradella, P. Schumann, E. Stackebrandt, and K. Marialigeti. (1999) *Int J Syst Bacteriol* 49 Pt 1:167-73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lazzarini, A., Cavaletti L., Toppo,L.G. and Marinelli F. (2000). "Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. Antonie van Leeuwenhoek. 78: 399-405.

Leer más. (2017). "รูปโคโลนี *Bacillus subtilis*" [Online]. Available: https://blacktab.luvoratory.eseficacia-probadabacillus-sp (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

Ludwig, W., Euzeby, J., Schumann, P., Busse, H., Trujillo, M. E., Kampfer, P. and Whitman,W. B., (2011), Road map of the Actinobacteria, Bergy' s Manual System. Bacteriol.,5: 25-50.

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

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

McCarthy, A. J. and William, S.T. (1992). Actinomycetes as agent of biodegradation in the environment-a review. Gene. 115:189-192.

Medthai. (2014). "ไทรย้อย สรรพคุณและประโยชน์ของต้นไทรย้อยใบแหลม 15 ข้อ". [Online]. Available : https://medthai.com/ไทรย้อย\ (สืบค้นวันที่ 25 พฤษภาคม 2562)

Medthai. 2560. "ขงโคขาว สรรพคุณของต้นชงโคขาว ! (ตะโป)" [Online]. Available : :https://medthai.com/ (สืบค้นวันที่ 25 พฤษภาคม 2562)

Meena, B., L. A. Rajan, N. V. Vinithkumar and R. Kirubagaran. (2013). "Novel marine actinobacteria from emerald Andaman & Nicobar Islands: a prospective source for industrial and pharmaceutical byproducts." BMC Microbiol. 13:145.

Michael Goodfellow. (1988). "Numerical Taxonomy and Selective Isolation of Industrially Important Actinomycetes"

Miyadoh. (1997). โคโลนีของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดิน. Mahidol and Osaka University Collaborative Research Center for Biosciences and Biotechnology.

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

Mohanraj, D. , S. Bharathi, M. Radhakrishnan and R. Balagurunathan. (2011). " Bioprospecting of actinobacteria from Yelagiri hills with special reference to antibacterial activity"

Mukesh Sharma, Pinki Dangi and Meenakshi Choudhary. (2014). "Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications"

Nicholas Kovacs. (1956). " Identification of Pseudomonas pyocyanea by the Oxidase Reaction". Nature. 1956 Sep 29;178(4535):703.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nierman, W. C. and K. E. Nelson. (2002). Genomics for Applied Microbiology. Advances in Applied Microbiology. 51 : 202,213.

Okami, Y., & Hotta, K. (1988). Search and discovery of new antibiotics (M. Goodfellow, S.T. Williams & M. MordarskEds.). London: Academicpress

Pachaiyappan Saravana Kumar, John Poonga Preetam Raj, Veeramuthu Duraipandiyan, Savarimuthu Ignacimuthu. (2012). "Antibacterial activity of some actinomycetes from Tamil Nadu, India"

Phongsopitanun, W., Thawai, C., Suwanborirux, K., Kudo, T.,Ohkuma, M. & Tanasupawat, S. (2014).Streptomyces chumphonensissp.nov., isolated from marine sediments.Int J Syst Evol Microbiol64, 2605–2610.

Puechkaset , (2015) "ตะไคร้หอม สรรพคุณ และการปลูกตะไคร้หอม". [Online]. Available : https://puechkaset.com/ (สืบค้นวันที่ 25 พฤษภาคม 2562)

Qin, S., Li, J., Chen, H. H., Zhao, G. Z., Zhu, W. Y., Jiang, C. L., . . . Li, W. J. (2009). Isolation, diversity, and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China. Appl Environ Microbiol, 75(19), 6176-6186. doi: 10.1128/AEM.01034-09

Qin, S., Xing, K., Jiang, J. H., Xu, L. H., & Li, W. J. (2011). Biodiversity, bioactive natural products and biotechnological potential of plant-associated endophytic actinobacteria. Appl Microbiol Biotechnol, 89(3), 457-473. doi: 10.1007/s00253-010-2923-6

Rosenbach. (1884). "รูปโคโลนี *Staphylococcus aureus*" [Online]. Available : https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

Sandhya Chandrakar and A. K. Gupta.(2015). " Antibiotic Potential of Endophytic Actinomycetes of Medicinal Herbs Against Human Pathogenic Bacteria"

Steve Gschmeissner, (2013). "รูปโคโลนี *Pseudomonas aeruginos*" 2013 Apr: 67(3):159-73. doi: 10.1111/2049-632X.12033. Epub 2013 Mar 15.

Stritzke, K., Schulz, S., Laatsch, H., Helmke, E. and Beil, W. (2004). "Novel caprolactones from a marine streptomycete", Journal of Natural Products 67,395-401.

S. H. Vasavada, J. T. Thumar and S. P. Singh . (2006). "Secretion of a potent antibiotic by salt-tolerant and alkaliphilic actinomycete Streptomyces sannanensis strain RJT-1"

Theodur Escherich. (1885). "รูปโคโลนี *Escherichia coli*" [Online]. Available : https://th.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli (สืบค้นวันที่ 15 พฤษภาคม 2562)

Yang, Q., Lei, A.P., Li, F.L., Liu, L.N., Q.J. Zan, P.K.S. Shin, S.G. Cheung, N.F.Y. Tam. (2014). "Structure and function of soil microbial community in artificially

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

planted Sonneratia apetala and S. caseolaris forests at different stand ages in Shenzhen Bay, China". Marine Pollution Bulletin. 85 : 754-763.

Yokota. (1997). Phylogenetic relationship of actinomycetes. In M. Shinji. Atlas of actinomycetes. Japan: Asakura publishing

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ด้วยความดันไอน้ำร้อน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

1. Zhang's Starch Soil Extract agar (ZSSE) (Zhang, 2011)

Soluble starch	5.0	กรัม
KNO_3	1.0	กรัม
Soil extract solution	1,000	มิลลิลิตร
Agar	10.0	กรัม

pH 7.2

Soil extract

Humic soil	1,000	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

กรองด้วยสำลี และทำให้ตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (นำส่วนใสไปใช้)

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

2. International Streptomyces Project medium no.2 (ISP2) (ลักษมี, 2556)

Malt extract	10.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Glucose	4.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 7.0-7.3

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

3. Skim milk agar

Solution A

Skim milk powder	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที

Solution B

Agar	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	50.0	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว รอให้สารละลายเย็นลงจนมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส จึงนำ Solution A และ Solution B มาผสมกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Bouilon Gelatin broth

Peptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
KNO_3	5.0	กรัม
Gelatin	150.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 7-7.2

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

5. Inorganic salts-starch agar (ISP4) (Shirling *et al.*, 1966)

K_2HP0_4	1.0	กรัม
$MgS0_4.7H_2O$	1.0	กรัม
NaCl	1.0	กรัม
$(NH_4)2S0_4$	2.0	กรัม
$CaC0_3$	2.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 7.0-7.4

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

6. Phenol Red Glucose (or other Sugar) broth

Tryptocase (protease peptone)	10.0	กรัม
Beef extract	1.0	กรัม
Dextrose	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 7.4

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

***หมายเหตุ น้ำตาลแต่ละชนิดเตรียมแยกหลอดกัน ได้แก่ Dextrose, Sucrose, Xylose, Lactose และ Mannitol

7. Yeast Extract-Malt Extract (YEME) medium

Malt extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Glucose	10.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 7.3

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. Yeast extract-Malt Extract (YEME) broth

Malt extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Glucose	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 7.3

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

9. Mueller's hinton Agar (MHA)

Acid Hydrolysate of Casein	17.5	กรัม
Beef extract	2.0	กรัม
Strach	1.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 7.2-7.4

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

10. Sabourand's Agar (SDA) (ศรีสกุล, 2553)

Dextrose	40.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 5.4-5.8

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

11. Nutrient Agar (NA)

Peptone	5.0	กรัม
Malt extract	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

12. Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato	200.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	17.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การคำนวณหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่าง

ดัดแปลงมาจาก (AOAC, 1990)

วิธีการคำนวณน้ำหนักดิน

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักของบีกเกอร์ และน้ำหนักดินก่อนอบ

น้ำหนักบีกเกอร์และน้ำหนักดินก่อนอบ = น้ำหนักบีกเกอร์ (กรัม) + น้ำหนักดิน (กรัม)

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักดินที่ใช้ในการแยกเชื้อ

ปริมาณน้ำหนักดิน (กรัม) = น้ำหนักดินและบีกเกอร์ก่อนอบ (กรัม) – น้ำหนักดินและบีกเกอร์หลังอบ (กรัม)

วิธีการคำนวณปริมาณความชื้นในดิน

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักดินหลังอบ (กรัม)

น้ำหนักดินหลังอบ (กรัม) = น้ำหนักดินและบีกเกอร์หลังอบ (กรัม) – น้ำหนักดินและบีกเกอร์ก่อนอบ (กรัม)

คำนวณหาปริมาณความชื้นในดิน (%)

$$\text{ปริมาณความชื้นในดิน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักดินก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักดินหลังอับ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักดินก่อนอบ (กรัม)}} \times 100\%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อบนแผ่นสไลด์ (Slide culture) และการ Mount ด้วยสี Methylene blue

(บงกชกรรณ, 2550)

ในการศึกษาลักษณะเส้นใยของเชื้อแอคติโนมัยสีท นิยมใช้เทคนิค Slide culture จากเส้นใยจะไม่มีการแตกหักเกิดขึ้น ทำให้สปอร์ไม่หลุดออกจากเส้นใย ซึ่งจะทำให้เราเห็นเส้นใยที่สมบูรณ์ได้ และสามารถส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยเทคนิค wet mount ย้อมด้วยสี methylene blue เพื่อดูโครงสร้างของเส้นใยได้ง่ายขึ้น ด้วยเทคนิค Slide culture ทำได้ ดังนี้

1. นำสำลี, คอตตอนบัด 2 อัน, สไลด์ และกระจกปิดสไลด์ ใส่ลงในเพลท นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ด้วยความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
2. เทอาหาร Yeast Extract-Malt Extract (YEME) medium สูงประมาณ 2 มิลลิเมตร ปล่อยให้อาหารแข็งตัว
3. ใช้มีดผ่าตัดจุ่มแอลกอฮอล์ 95% เผาไฟเพื่อทำการฆ่าเชื้อ กรีดอาหารเลี้ยงเชื้อออกเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1x1 มิลลิเมตร
4. วางอาหารที่ผ่านการตัดแล้วลงบนสไลด์ที่วางในเพลทที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
5. เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีทวางทั้ง 4 มุมของวุ้นอาหาร และนำกระจกปิดสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ววางทับ
6. เทน้ำกลั่นที่ผ่านฆ่าเชื้อแล้วลงบนสำลี จากนั้นปิดฝาเพลท และพันเพลทด้วยพาราฟิล์ม
7. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำกระปิดสไลด์มาย้อมด้วยสี Methylene blue และส่องใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การเตรียมสารละลาย McFarland standard No.0.5

(โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ์, 2555)

สารละลาย McFarland standard No.0.5 ถูกนำมาใช้ในการเทียบความขุ่นมาตรฐานของการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ สำหรับกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อ ซึ่งสารละลาย McFarland standard No.0.5 สามารถเทียบเท่าได้กับจำนวนเซลล์โดยประมาณ 1.0×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร (ซึ่งเทียบกับการปรับระดับความขุ่นให้มีค่าอยู่ในช่วง 0.08-0.1 โดยการวัดที่ความยาวคลื่น 624 นาโนเมตร)

ส่วนประกอบสารละลาย McFarland standard No.0.5

1 % v/v Conc. H_2SO_4	99.50	มิลลิลิตร
1.175 % w/v $BaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.50	มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

1. ปิเปตกรดซัลฟิวริก 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรที่มีน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร และทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร
2. ชั่งแบเรียมคลอไรด์ 1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรและทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. นำสารละลายจากข้อ 1. ปริมาตร 99.5 มิลลิลิตร และสารละลายในข้อ 2. ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร มาผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำสารละลาย McFarland standard No.0.5 มาบรรจุใส่หลอดฝาเกลียวปิดสนิมเพื่อป้องกันการระเหย และนำไปเก็บในที่มืดที่มีอุณหภูมิ 2-30 องศาเซลเซียส
4. ก่อนนำไปใช้งานต้องทำการเขย่าสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน รวมทั้งตรวจสอบความขุ่นทุกเดือน โดยสารดังกล่าวมีอายุการใช้งานประมาณ 6 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ตารางที่ 1 (จ) ปริมาตรความชื้นในตัวอย่างดินที่หายไป หลังจากนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักดินคงที่

ตัวอย่างดิน	น้ำหนักบีกเกอร์ (g)	น้ำหนักดินก่อนอบ (g)	น้ำหนักดินและบีกเกอร์หลังอบ (g)	น้ำหนักดินหลังอบ (g)	น้ำหนักของน้ำ (g)	ปริมาณความชื้น (%)
ต้นกะเพราแดง	50.096	1.041	50.963	0.867	0.174	47.96
ต้นชงโคชาว	48.390	1.504	49.874	1.484	0.020	32.16
ต้นตะไคร้	46.214	1.145	47.299	1.085	0.060	40.31
ต้นไทร	48.194	1.001	49.436	1.242	0.241	48.39
ต้นมะม่วง	44.004	1.009	45.129	1.125	0.116	43.73
ต้นมะระขี้นก	43.563	1.318	44.709	1.146	0.172	32.92
ต้นโหระพา	45.384	1.048	46.405	1.021	0.027	43.28

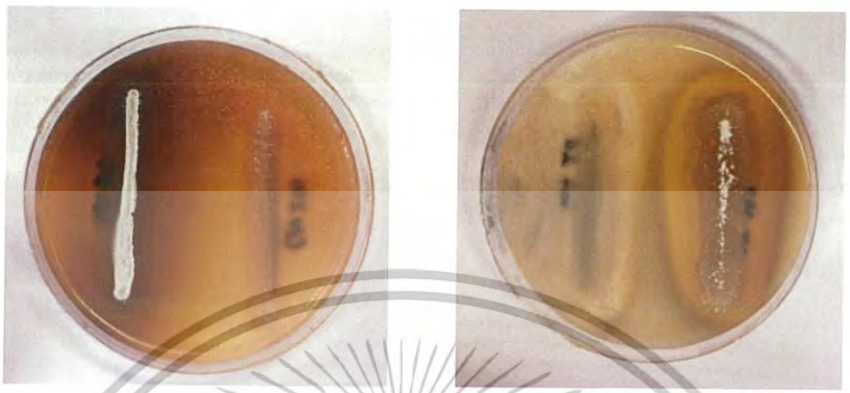
ตารางที่ 2 (จ) ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-เบสของตัวอย่างดิน

ตัวอย่างดิน	น้ำหนักดิน (g)	ค่าความเป็นกรด-เบส			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
ต้นกะเพราแดง	1.041	7.3	7.4	7.3	7.3
ต้นชงโคขาว	1.204	7.2	7.2	7.3	7.2
ต้นตะไคร้	1.145	7.6	7.4	7.4	7.4
ต้นไทรย้อย	1.001	7.2	7.2	7.3	7.2
ต้นมะม่วง	1.009	7.0	7.2	7.2	7.0
ต้นมะระขี้นก	1.118	7.7	7.8	7.8	7.8
ต้นโหระพา	1.048	7.4	7.3	7.3	7.3

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ฉ
ภาพแสดงตัวอย่างผลการทดสอบลักษณะทางชีวเคมี

1. การย่อยสลายโปรตีนในนม (Peptonization)



(ก) (ข)

รูปที่ 1 (ฉ) ผลการทดสอบการย่อยโปรตีนในนม (Peptonization)
(ก) ไม่เกิดการย่อยสลายโปรตีนในนม แสดงผล –
(ข) เกิดการย่อยสลายโปรตีนในนม แสดงผล +

2. การย่อยสลายเจลาติน (Gelatinization)

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 2 (ฉ) ผลการทดสอบการย่อยสลายเจลาตินในอาหาร Bouilon Gelatin broth
(ก) ชุดควบคุมการทดสอบ
(ข) เกิดการย่อยสลายเจลาติน แสดงผล +
(ค) ไม่เกิดการย่อยสลายเจลาติน แสดงผล -

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis)

(ก)

(ข)

รูปที่ 3 (ฉ) ผลการทดสอบการย่อยสลายแป้งในอาหาร Inorganic salt-strach agar (ISP4)
(ก) ไม่เกิดการย่อยสลายแป้ง แสดงผล –
(ข) เกิดการย่อยสลายแป้ง แสดงผล +

4. การย่อยสลายน้ำตาล 5 ชนิด คือ กลูโคส ซูโครส ไซโลส แลคโตส และแมนนิทอล

(ก) (ข) (ค) (ง)

รูปที่ 5 (ฉ) ผลการทดสอบการย่อยสลายน้ำตาล กลูโคส ซูโครส ไซโลส แลคโตส และแมนนิทอล
(ก) ชุดควบคุมการทดลอง
(ข) ไม่เกิดการย่อยสลายน้ำตาล แสดงผล K/-
(ค) เกิดการย่อยสลายน้ำตาลเล็กน้อย แสดงผล W/+
(ง) เกิดการย่อยสลายน้ำตาล แสดงผล A/+

*** หมายเหตุ

A (Acid)	มีการหมักน้ำตาล สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
K (Alkaline)	ไม่มีการหมักน้ำตาล
W (Weakly)	มีการหมักน้ำตาลเพียงเล็กน้อย สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม
+	มีการสร้างแก๊ส
-	ไม่มีการสร้างแก๊ส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช
จุลินทรีย์ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ

1. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis จัดอยู่ใน Class Bacillales เป็นแบคทีเรียแกรมบวก หายใจโดยการใช้ออกซิเจน มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา สามารถเจริญได้โดยไม่ต้องอาศัยออกซิเจน เป็นเชื้อที่สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนความร้อนได้สูงและทนความแห้งได้ดี เชื้อส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อที่มีบทบาทสำคัญในอาหารจำพวกแป้งที่มีความชื้นสูง หรืออาจพบเชื้อในจำพวกเนื้อสัตว์ (พุฒิพงษ์, 2550)

รูปที่ 1 (ช) แสดงลักษณะรูปร่างของ *Bacillus subtilis*

ที่มา: Leer más, 2017

2. *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะเป็นแท่ง (rod shape) สายพันธุ์ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้โดยอาศัย flagella ที่มีอยู่รอบตัว ไม่มีการสร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน (aerobe) และที่สภาวะไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 7-46 องศาเซลเซียส ค่า pH ในช่วงตั้งแต่ 4.4-10 ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้จะมี capsule บาง ๆ หุ้มอยู่รอบตัวทำให้เชื้อทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี ซึ่งพบได้บ่อยอยู่ในลำไส้คนและสัตว์ โดยเชื้อส่วนใหญ่จะไม่ก่อโรคในคน แต่ก็มีบางสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร และระบบอื่นของร่างกายได้ทั้งในคนและสัตว์ (Nierman, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2 (ช) แสดงลักษณะรูปร่างของ *Escherichia coli*

ที่มา: Theodur, 1885

3. *Pseudomonas aeruginosa*

เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง (rod) ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต สามารถเคลื่อนที่ได้โดยแฟลกเจลลาชนิดโมโนไทรคัส ให้รงควัตถุสีฟ้า ไพโอไซแอนิน (pyocyanin) และไพโอเวอดิน (pyoverdin) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ฟลูออเรสเซนต์ที่ละลายน้ำได้เป็นแซไพรไฟต์ในดิน น้ำ และเป็น normal flora ในลำไส้คน และสามารถทำให้เกิดโรคในคน สัตว์ แมลงและต้นไม้ได้บ้าง (พินิจ, 2553)

รูปที่ 3 (ช) แสดงลักษณะรูปร่างของ *Pseudomonas aeruginosa*

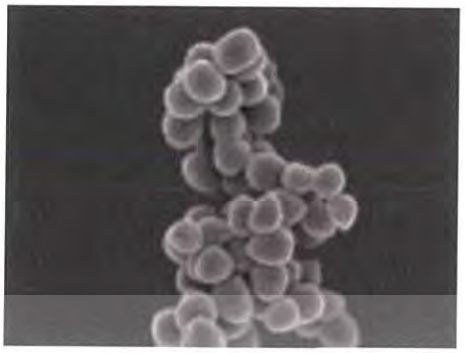
ที่มา: Steve, 2013

4. *Kocuria rhizophila*

เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก มีลักษณะรูปร่างกลม สกุล *Kocuria* ถูกสร้างขึ้นจากสกุล *Micrococcus* บนพื้นฐานของการตัดสายพันธุกรรมและทางเคมีของสกุล *Micrococcus* ซึ่ง *Kocuria* สามารถถูกแยกจากแหล่งธรรมชาติที่หลากหลายรวมถึงผิวหนังของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม, ดิน, rhizosphere แต่เดิมแบคทีเรีย *Kocurai rhizophila* ATCC 9341 มีชื่อเดิมคือ *Micrococcus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

luteus ซึ่งถูกกำหนดให้เป็นสายพันธุ์ที่ควบคุมคุณภาพจำนวนมากรวมถึงความไวต่อการตรวจหายาปฏิชีวนะที่หลากหลาย (Kovacs *et al.*, 1999)

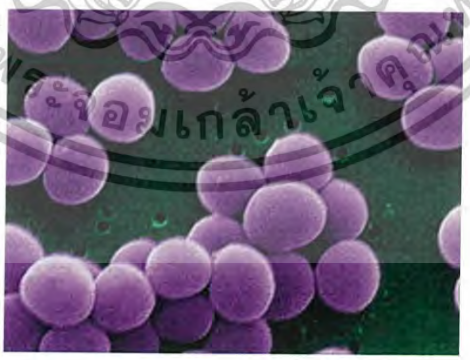


รูปที่ 4 (ช) แสดงลักษณะรูปร่างของ *Kocuria rhizophila*

ที่มา: Cohn, 1872

5. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก จัดอยู่ในวงศ์ มักพบเป็นคู่หรือเรียงตัวเป็นสายสั้น ๆ หรือเป็นลักษณะพวงองุ่น สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ อุณหภูมิที่สามารถเจริญเติบโตได้คือ 15-45 องศาเซลเซียส และเจริญได้ในระดับที่มีความเข้มข้นเกลือสูงถึงร้อยละ 15 ซึ่งเป็นสาเหตุการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น การติดเชื้อบริเวณเนื้อเยื่อ และโรคอาหารเป็นพิษ เชื้อ *Staphylococcus aureus* ยังสามารถสร้างเอนไซม์ Catalase ใช้กลูโคสได้ทั้งสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ และการจำแนกเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากเชื้อชนิดอื่น ๆ ของกลุ่ม *Staphylococcus* จะใช้ความสามารถในการทำให้พลาสมาแข็งตัวเนื่องจากการสร้างเอนไซม์โคแอคกูเลส (Coagulase) (กวินศักดิ์, 2560)



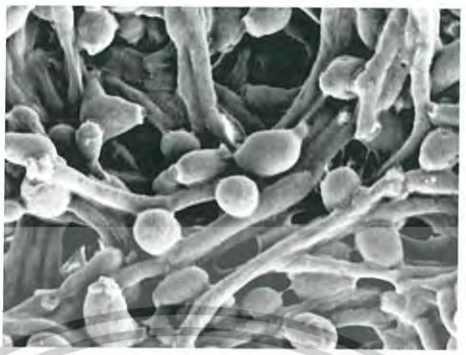
รูปที่ 5 (ช) แสดงลักษณะรูปร่างของ *Staphylococcus aureus*

ที่มา: Rosenbach, 1884

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. *Candida albicans*

Candida เป็นเชื้อวงศ์ของยีสต์ ซึ่งเป็น fungi เซลล์มีลักษณะรูปทรงกลมหรือรูปทรงไข่ ผิวหน้าโคโลนีเรียบหรือย่น สามารถสร้างสายราเทียมบางครั้งมีการสร้างสายราแท้ ไม่สร้างโคนิเดียป่อง มีความสามารถในการก่อโรค (พิมพ์เพ็ญ และ นิติยา, 2553)



รูปที่ 6 (ช) แสดงลักษณะรูปร่างของ *Candida albicans*

ที่มา: Christine, 1923

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้