ฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคจากเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดิน

ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST THE GROWTH OF PATHOGENIC MICROORGANISMS FROM SOIL ACTINOBACTERIA

นิตยา สัมพุทธ
ปาลิดา มุลิกา
พสธร เตชะติ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST THE GROWTH OF PATHOGENIC MICROORGANISMS FROM SOIL ACTINOBACTERIA

NITTAYA SUMPOOT
PALIDA MULIKA
POTSATON TACHATI

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 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคจากเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดิน Antimicrobial Activity Against the Growth of Pathogenic Microorganisms from Soil Actinobacteria
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนิตยา สัมพุทธ รหัสนักศึกษา 56050853 นางสาวปาลิดา มุลิกา รหัสนักศึกษา 56050863 นายพสธร เตชะติ รหัสนักศึกษา 56050873
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.กานต์ วงศาริยะ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ	
ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์ กรรมการ	
ดร.กานต์ วงศาริยะ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคจากเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดิน

ชื่อนักศึกษา นางสาวนิตยา สัมพุทธ รหัสนักศึกษา 56050853
นางสาวปาลิดา มุลิกา รหัสนักศึกษา 56050863
นายพสธร เตชะติ รหัสนักศึกษา 56050873

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2559

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.กานต์ วงศาริยะ

บทคัดย่อ

ดินเป็นแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์หลากหลายชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีท ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินเพื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งในการทดลองนี้สามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ทั้งหมดจำนวน 34 ไอโซเลต โดย 12 ไอโซเลตคัดแยกได้จากดินจังหวัดลำปาง 15 ไอโซเลตคัดแยกจากดินบริเวณจังหวัดน่าน และ 7 ไอโซเลต แยกจากดินบริเวณจังหวัดเพชรบุรี ผลจากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *Micrococcus luteus Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 15 ไอโซเลต สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ได้อย่างน้อย 1 สายพันธุ์ ได้แก่ LP3Ye LP8Br LP11Ye N7Ye N9WC N22Br N29GC N37WC N38Gr N39Wh N42Wh N43WG N44Cr PBR6Cr และ PBR13Ye โดยที่เชื้อแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ PBR13Ye สามารถผลิตสารยับยั้งที่มีฤทธิ์กว้างสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ทั้ง 7 สายพันธุ์ และผลจากการศึกษาการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของแอคติโนมัยสีทต่อเชื้อราก่อโรค *Aspergillus flavus* ด้วยวิธี dual culture พบว่าแอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *A. flavus* คือ LP14Wh N7Ye N13GY N37WC N38Gr N39Wh N42Wh N43WG N44Cr และ PBR5Ye นอกจากนี้ผลจากการจัดจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นพบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่มีความคล้ายกับเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* ผลการทดลองนี้อาจกล่าวได้ว่า เชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินเป็นแหล่งสำคัญของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : แอคติโนมัยสีท จุลินทรีย์ก่อโรค ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antimicrobial Activity Against the Growth of Pathogenic Microorganisms from Soil Actinobacteria
Students	MissNittaya Sumpoot Student ID 56050853
	MissPalida Mulika Student ID 56050863
	Mr.Potsaton Tachati Student ID 56050873
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Dr.Karn Wongsariya

Abstract

Soil is a habitat of various kinds of microorganisms, especially the group of actinobacteria. In this experiment, the antimicrobial activity of soil actinomycete against the growth of pathogenic microorganisms was determined. The 34 isolates of soil actinomycete were isolated from Lampang province for 12 isolates, Nan province for 15 isolates, and Phetchaburi province for 7 isolates. From the results of antimicrobial activity against the growth of *Bacillus subtilis,* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Micrococcus luteus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus,* and *Candida albicans* found that the 15 strains of soil actinomycete, LP3Ye, LP8Br, LP11Ye, N7Ye, N9WC, N22Br, N29GC, N37WC, N38Gr N39Wh, N42Wh, N43WG, N44Cr, PBR6Cr, and PBR13Ye could inhibit the growth of tested pathogens at least 1 strain. While the best antimicrobial activity was obtained from strain PBR13Ye because it was able to secrete the broad spectrum antimicrobial substance for inhibiting all strains of pathogenic microorganisms. The antagonistic interaction between soil actinomycete and *Aspergillus flavus* was determined by dual culture test and the result show that the actinomycete strains

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

LP14Wh, N7Ye N13GY, N37WC, N38Gr, N39Wh, N42Wh, N43WG, N44Cr, and PBR5Ye exhibited the antagonistic property against the growth of *A. flavus*. Moreover, according to the primary classification based on morphological assay demonstrated that most of soil actinomycete presented the morphology similar to the genus *Streptomyces*. According to results of the experiment may conclude that soil actinobacteria are the abundant sources of bioactive compound.

Keywords : Actinomycetes, Pathogenic microorganism, Antimicrobial activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร.กานต์ วงศาริยะ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษาตลอดจนตรวจทานแก้ไขรูปเล่มโครงงานพิเศษให้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ และ ดร.วิภาวี เดชติศักดิ์ กรรมการที่กรุณาตรวจทานและพิจารณาโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่กรุณาอบรมสั่งสอน และให้คำแนะนำตลอดการศึกษา รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ห้องธุรการภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ช่วยเหลือ และแนะนำการดำเนินงานต่างๆ

ขอขอบคุณเพื่อนๆที่ให้การช่วยเหลือด้านต่างๆระหว่างการดำเนินงาน และให้กำลังใจที่ดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดาที่กรุณาอบรมสั่งสอน และให้การสนับสนุนในทุกๆด้าน ทำให้คณะผู้จัดทำสามารถสำเร็จการศึกษาได้ด้วยดี

นิตยา สัมพุทธ
ปาลิดา มุลิกา
พสธร เตชะติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ค
กิตติกรรมประกาศ.....จ
สารบัญ.....ฉ
สารบัญตาราง.....ช
สารบัญรูปภาพ.....ฌ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ..... 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ..... 1
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ..... 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3
2.1 ลักษณะทั่วไปของแอคติโนมัยสีท..... 3
2.2 เทคนิคการคัดแยกแอคติโนมัยสีท..... 4
2.2.1 แอคติโนมัยสีทจากดิน..... 5
2.2.2 เทคนิคการคัดแยกแอคติโนมัยสีทหายาก..... 5
2.3 สัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีท..... 7
2.3.1 ลักษณะเส้นใย..... 8
2.3.2 ลักษณะสปอร์..... 8
2.4 สารปฏิชีวนะ..... 12
2.4.1 ประเภทของสารปฏิชีวนะ..... 12
2.5 บทบาทและความสำคัญของเชื้อแอคติโนมัยสีท..... 14
2.5.1 ด้านสิ่งแวดล้อมและนิเวศวิทยา..... 14
2.5.2 ด้านเกษตรกรรม..... 14
2.5.3 ด้านการแพทย์และเภสัชกรรม..... 15
2.6 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค..... 15
2.6.1 *Bacillus subtilis*..... 15
2.6.2 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)..... 16
2.6.3 *Micrococcus luteus*..... 18
2.6.4 *Escherichia coli*..... 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6.5 *Pseudomonas aeruginosa* 20
2.6.6 *Staphylococcus aureus* 22
2.6.7 *Candida albicans* 23
2.6.8 *Aspergillus flavus* 23
2.7 อะฟลาทอกซิน 26
2.7.1 ชนิดของอะฟลาทอกซิน 26
2.7.2 ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซิน 27
2.7.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน 28
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 29
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 31
3.1 อุปกรณ์ 31
3.2 สารเคมี 31
3.3 การแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดิน 32
3.3.1 การเตรียมตัวอย่างดินเพื่อคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท 32
3.3.2 วิธีการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทออกจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น 32
3.4 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 33
3.4.1 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของแอคติโนมัยสีท 33
3.4.2 การทดสอบความสามารถการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 33
3.4.3 การทดสอบด้วยวิธีทดสอบประสิทธิภาพการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยวิธี dual culture 34
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 35
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 47
เอกสารอ้างอิง 48
ภาคผนวก 52
ภาคผนวก ก 53
ภาคผนวก ข 56
ภาคผนวก ค 57
ภาคผนวก ง 67
ภาคผนวก จ 78
ภาคผนวก ฉ 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตโดยแอคติโนมัยสีท 14

4.1 รหัสเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้และแหล่งที่เก็บตัวอย่าง 35

4.2 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร
yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน 36

4.3 ผลการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค 40

4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยวิธี dual culture 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ หน้า

2.1 การสร้างสปอร์เดี่ยว 8

2.2 การสร้างสปอร์คู่ 9

2.3 ชนิดของสปอร์สายยาว 10

2.4 ถุงหุ้มสปอร์ของแอคติโนมัยสีทสกุลต่างๆที่สร้างบนเส้นใยอาหาร 11

2.5 ถุงหุ้มสปอร์ของแอคติโนมัยสีทสกุลต่างๆที่สร้างบนเส้นใยอากาศ 12

2.6 เชื้อ *Bacillus subtilis* 15

2.7 เชื้อ *Micrococcus luteus* 18

2.8 เชื้อ *Escherichia coli* 19

2.9 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* 20

2.10 เชื้อ *Staphylococcus aureus* 22

2.11 เชื้อ *Candida albicans* 23

2.12 ลักษณะของ *Aspergillus flavus* ที่เจริญบนเมล็ดถั่วลิสง 24

2.13 โคโลนีของ *Aspergillus flavus* บนอาหาร PDA 25

2.14 เชื้อรา *Aspergillus flavus* 25

2.15 โครงสร้างของอะฟลาทอกซิน 27

4.1 ผลการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค 41

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยวิธี dual culture 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัจจุบันโรคที่มีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆ รวมทั้งปัญหาการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดยังคงเป็นปัญหาทางด้านการแพทย์และสาธารณสุข ทำให้มีความจำเป็นต้องค้นคว้าหาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ ซึ่งแหล่งของสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่จะได้มาจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นหลัก โดยเฉพาะจุลินทรีย์กลุ่มแอคติโนมัยสีท ซึ่งมีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย รา โปรโตซัว และไวรัส รวมทั้งยังสามารถสร้างสารต้านเซลล์มะเร็ง นอกจากประโยชน์ทางด้านการแพทย์และสาธารณสุขแล้ว ยังมีการใช้ประโยชน์จากแอคติโนมัยสีทในด้านการเกษตร โดยใช้เป็นเชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น *Colletotrichum capsici Curvularia lunata* และ *Fusarium solani*

สารออกฤทธิ์ส่วนใหญ่ที่จุลินทรีย์กลุ่มแอคติโนมัยสีทสร้างขึ้นจัดเป็นสารในกลุ่มเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่ผลิตในช่วงระยะสุดท้ายของการเจริญ (late log phase) จนถึงช่วงระยะคงที่ (stationary phase) จุลินทรีย์ในกลุ่มแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุด คือ เชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* โดยพบว่าสารปฏิชีวนะที่แยกได้จากเชื้อในกลุ่มแอคติโนมัยสีทร้อยละ 70 มาจากแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* เอนไซม์ที่แอคติโนมัยสีทสามารถผลิตได้มีหลายชนิด ได้แก่ ไซลาเนส (xylanase) เซลลูเลส (cellulose) อะไมเลส (amylase) และไคติเนส (chitinase) เป็นต้น (กิ่งจันทน์, 2555)

ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้จึงมุ่งเน้นที่จะคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ จากตัวอย่างดินที่เก็บจากจังหวัดลำปาง จังหวัดน่าน และจังหวัดเพชรบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีระบบนิเวศอุดมสมบูรณ์และมีความหลากหลายทางชีวภาพเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีท และอาจเป็นแหล่งที่มีโอกาสค้นพบเชื้อแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ใหม่ได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินตัวอย่างของจังหวัดลำปาง น่าน และเพชรบุรี

1.2.2 เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคจากเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

แยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดิน และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ตลอดจนศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อแอ คติโน-มัยสีทที่คัดแยกได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้เชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

1.4.2 สามารถนำความรู้ทางด้านสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ไป เป็นข้อมูลในการศึกษาและวิจัยต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปของแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีปริมาณเบสกวานีน และไซโตซีน บนสายดีเอ็นเอในระดับสูง ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลาย ตั้งแต่ลักษณะรูปร่างกลม แท่ง เส้นสาย ที่แตกกิ่งก้านและสามารถสร้างสปอร์ได้ โดยแอคติโนมัยสีทเป็นชื่อเรียกแบคทีเรียกลุ่มหนึ่งที่มีลักษณะคล้ายกับเชื้อรา โดยมีลักษณะที่แตกต่างจากเชื้อรา คือ แอคติโนมัยสีทไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสจึงจัดเป็นสิ่งมีชีวิตพวกโปรคาริโอต และลักษณะเส้นใยและสปอร์ของแอคติโนมัยสีทมีขนาดเล็กกว่าเชื้อรา เส้นใยของแอคติโนมัยสีทแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ เส้นใยอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) โดยเส้นใยทั้ง 2 ประเภทนี้มักมีผนังกั้นและยืดยาวที่ส่วนปลายของเส้นใย โดยโครงสร้างเส้นใยประกอบด้วยผนังเซลล์ ถัดมาเป็นเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งทำหน้าที่ห่อหุ้มส่วนของไซโทพลาซึมซึ่งประกอบไปด้วยสารพันธุกรรมตลอดจนสารต่างๆที่สะสมอยู่ภายในเซลล์ (จิตติ, 2557)

โคโลนีของแอคติโนมัยสีท มีลักษณะที่จำเพาะและแตกต่างจากโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่น ซึ่งลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งในห้องปฏิบัติการเกิดจากเส้นใยที่อัดกันแน่นเป็นก้อนแข็ง และจะสังเกตเห็นเส้นใยบางส่วนฝังอยู่ในเนื้อวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทั่วไปแล้วโคโลนีของแอคติโนมัยสีทมักจะปกคลุมไปด้วยเส้นใยอากาศ โดยแต่ละสปีชีส์เส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศจะมีสีเฉพาะ ในบางสปีชีส์สามารถสร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ โดยการสร้างโคโลนีของแอคติโนมัยสีทเริ่มจากการถ่ายชิ้นส่วนของเชื้อลงบนอาหารเพาะเชื้อ ชิ้นส่วนต่างๆจะเริ่มงอกเส้นใยใหม่ โดยเส้นใยอาหารจะแทงลงไปใต้ผิวอาหาร และสร้างเส้นใยที่ชูขึ้นบนอากาศ คือ เส้นใยอากาศ และจะรวมตัวเป็นกลุ่มเส้นใยและอัดตัวแน่นมีขอบเขตที่ชัดเจน โดยโคโลนีของแอคติโนมัยสีทโดยทั่วไปมีการเจริญแบบเป็นวงกระจายออกจากจุดศูนย์กลางในแนวรัศมี และอาจจะมีลักษณะนูน เรียบแบน ความแข็งของโคโลนีอาจจะมีลักษณะระดับอ่อนมากหรือเหลวไปจนถึงแข็งมาก และสีของโคโลนีมีตั้งแต่สีขาว เหลือง ส้ม แดง ชมพู ม่วง ฟ้า เขียว น้ำตาล และสีดำ ผิวของโคโลนีอาจจะมีลักษณะเรียบ เป็นสันนูน เหี่ยวย่น และเป็นตุ่ม ส่วนขนาดของโคโลนีนั้นจะขึ้นอยู่กับอายุ สปีชีส์ และสภาวะของการเจริญ (จิตติ, 2557)

เชื้อแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่สืบพันธุ์โดยสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศและการเรียงตัวของสปอร์มีความหลากหลาย โดยอาจจะเป็นสปอร์เดี่ยว สปอร์คู่ หรือสร้างสปอร์เป็นสายยาวโดยไม่มีสิ่งห่อหุ้มสปอร์ เรียกว่า โคนิเดีย (conidia) อยู่บนเส้นใยอากาศและบางสกุลอาจจะสร้างสปอร์ภายในโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายถุงหุ้ม เรียกว่า สปอร์แรงเจียม (Sporangium) โดยมีรูปแบบที่หลากหลาย เช่น ทรงกลม รูปแท่งคล้ายนิ้วมือ ไปจนถึงมีรูปร่างไม่แน่นอน และโดยทั่วไปแอคติโนมัยสีทมักจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างสปอร์เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ แต่เมื่อสภาพแวดล้อมมีความเหมาะสมต่อการเจริญ สปอร์จะงอกเป็นเส้นใย สามารถพบแอคติโนมัยสีทได้ในสภาพแวดล้อมทั่วไป เช่น ดิน แหล่งน้ำจืด มหาสมุทร ขั้วโลก ทะเลทราย อากาศ เนื้อเยื่อพืช สัตว์ คน สิ่งปฏิกูลหรือของเสียต่างๆ โดยเฉพาะดินจัดเป็นแหล่งที่อยู่ของแอคติโนมัยสีทมากที่สุด ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ 1 กรัม สามารถพบแอคติโนมัยสีทได้มากถึง 1 ล้านเซลล์ ซึ่งเชื้อเหล่านี้สามารถมีชีวิตอยู่ได้โดยการย่อยสลายและดูดซึมสารอินทรีย์ที่มีอยู่เพียงเล็กน้อยในดินเป็นแหล่งอาหาร และแอคติโนมัยสีทเจริญได้ไม่ดีในดินเปียกหรือดินตะกอนใต้น้ำ เนื่องจากเป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเซลล์จึงไม่ทนต่อความแห้งแล้ง แต่สปอร์สามารถทนต่อความแห้งแล้งได้ดี ซึ่งแอคติโนมัยสีทสามารถทนต่อสภาวะที่เป็นด่างได้ดี ดังนั้นจึงสามารถพบแอคติโนมัยสีทในดินที่มีสภาวะเป็นกลางถึงด่าง ซึ่งดินจัดเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติของแอคติโนมัยสีท ดังนั้นความหลากหลายของแอคติโนมัยสีทในดินจึงสูงมาก จึงทำให้สามารถพบเชื้อได้เป็นจำนวนมากและมีความหลากหลายสูง พบได้ทั้งในดินสำหรับทำการเกษตร ดินธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ ตลอดจนดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ในภูมิภาคต่างๆทั่วทุกแห่งของโลก ซึ่งโดยทั่วไปเชื้อกลุ่มนี้ดำรงชีวิตแบบอิสระสามารถเจริญได้โดยอาศัยการ ย่อยสลายสารอินทรีย์ แต่พบเชื้อบางสกุล เช่น *Frankia* มักอาศัยอยู่ร่วมกับรากพืชและต้นไม้ใหญ่โดยมีส่วนช่วยตรึงไนโตรเจนแก่พืช (จิตติ, 2557)

นอกจากนี้แอคติโนมัยสีทหลายสกุล เช่น *Streptomyces* *Micromonospora* และ *Streptoverticillium* สามารถผลิตสารเมแทบอไลต์ที่สำคัญได้หลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะ เอนไซม์ วิตามิน และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามแอคติโนมัยสีทบางชนิดสามารถก่อโรคในมนุษย์ เช่น *Mycobacterium leprae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเรื้อน *M. tuberculosis* เป็นสาเหตุของโรควัณโรค และ *Actinomadura pelletieri* ก่อให้เกิดโรคทางผิวหนังและเนื้อเยื่อ เป็นต้น แอคติโนมัยสีทบางชนิดก่อโรคในพืชและสัตว์ แต่ส่วนใหญ่แอคติโนมัยสีทมักจะไม่เป็นอันตราย (จิตติ, 2557)

2.2 เทคนิคการคัดแยกแอคติโนมัยสีท

นักวิจัยจำเป็นต้องมีทักษะในการจำแนกโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งให้ได้ว่าโคโลนีของแอคติโนมัยสีทมีลักษณะอย่างไร วิธีสังเกตว่าโคโลนีใดเป็นโคโลนีของแอคติโนมัยสีทนั้น ให้สังเกตลักษณะการสร้างเส้นใย ขนาดของเส้นใย และลักษณะผิวหน้าโคโลนี โคโลนีของแบคทีเรียทั่วไปไม่สร้างเส้นใย ผิวโคโลนีเป็นมันวาว โคโลนีของเชื้อราส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นเส้นใยฟู เส้นใยจะแผ่กว้างออกเป็นวงและไม่อัดแน่น ส่วนโคโลนีของแอคติโนมัยสีททั่วไปมักมีลักษณะแข็ง ไม่มันวาว โดยมากผิวหน้าโคโลนีมีลักษณะเป็นผง (powder) บางสกุลผิวหน้ามีลักษณะเป็นเมือกชื้น (หลายสกุลในวงศ์ Micromonosporaceae) โคโลนีเกิดจากเส้นใยอัดตัวกันแน่น ไม่แผ่เป็นวงกว้างมากนัก มีขอบเขตจำกัด หากไม่แน่ใจให้ยกจานอาหารเพาะเชื้อขึ้นในทิศทางตามแนวการเดินทางของแสง แล้วส่องดูโคโลนีจากใต้จานอาหารเพาะเชื้อนั้น ถ้าเป็นโคโลนีของแอคติโนมัยสีทจะเห็นเส้นใยเล็กๆ แผ่ออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านข้างโคโลนีหรืออาจใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อขูดลงบนโคโลนีนั้นๆ ถ้าเป็นโคโลนีของแบคทีเรียทั่วไป เซลล์ของแบคทีเรียจะติดมากับห่วงเขี่ยเชื้อและไม่มีร่องรอยจุดของเส้นใยใดๆ ติดฝังอยู่ในเนื้อวุ้น หากเป็นโคโลนีของแอคติโนมัยสีทจะเห็นร่องรอยเส้นใยเป็นจุดติดฝังลงในเนื้อวุ้น และมักไม่ติดมากับห่วงเขี่ยเชื้อ วิธีที่ดีที่สุดสำหรับการคัดเลือกแอคติโนมัยสีทให้ได้ตรงตามสกุลที่ต้องการ คือ ทำการคัดเลือกเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance lens) พร้อมใช้เข็มเขี่ยเชื้อขนาดเล็ก (micro-needle) ทำการเขี่ยเชื้อ วิธีการนี้สามารถทำให้เห็นลักษณะการเรียงตัวของสายสปอร์ของเชื้อแต่ละสกุลได้ค่อนข้างชัดเจน แต่ทั้งนี้ประสบการณ์ของผู้คัดเลือกยังเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งในการคัดเลือกเชื้อให้ได้ตามสกุลที่ต้องการ (จิตติ, 2557)

2.2.1 แอคติโนมัยสีทจากดิน

แอคติโนมัยสีทจัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่มีการสำรวจและศึกษาเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสกุล *Streptomyces* จัดเป็นแอคติโนมัยสีททั่วไป ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุด จึงได้รับความสนใจในการศึกษาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ สารปฏิชีวนะที่แยกได้จากเชื้อสกุล *Streptomyces* มีมากถึง 70% ของสารปฏิชีวนะที่พบจากแอคติโนมัยสีททั้งหมด แต่ในปัจจุบันพบว่าแอคติโนมัยสีทหายาก (rare actinomycete) เป็นเชื้อกลุ่มที่น่าสนใจอีกกลุ่ม เนื่องจากสามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีลักษณะเป็นโครงสร้างทางเคมีที่หลากหลายอีกทั้งมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่กว้าง และครอบคลุมต่อเชื้อก่อโรคดื้อยาหลายชนิด แต่เชื้อกลุ่มนี้เจริญเติบโตยากและช้า จึงมักถูกแบคทีเรียชนิดอื่นปกคลุม แย่งพื้นที่ในการเจริญทำให้ไม่สามารถคัดแยกจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ตลอดจนแอคติโนมัยสีทหายากบางชนิดอาศัยอยู่ในแหล่งธรรมชาติที่จำกัด บางชนิดพบได้เฉพาะที่ หากไม่ทราบข้อมูลการกระจายตัวและแหล่งที่อยู่ อาจทำให้ไม่สามารถแยกเชื้อในกลุ่มที่ต้องการได้ ดังนั้นการที่จะได้มาซึ่งแอคติโนมัยสีทหายากเหล่านี้ ต้องมีวิธีการแยกเชื้อที่เหมาะสม ทั้งนี้เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นและช่วยชักนำแอคติโนมัยสีทเหล่านี้ให้สามารถเจริญได้ (จิตติ, 2557)

2.2.2 เทคนิคการคัดแยกแอคติโนมัยสีทหายาก

แอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียที่พบอยู่ทั่วไปในดิน นอกจากในดินจะมีเชื้อแอคติโนมัยสีทแล้วยังมีสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นอีกหลายชนิดอาศัยอยู่ เช่น แบคทีเรีย รา และโปรโตซัว โดยสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ทำให้เกิดความสมดุลของระบบนิเวศ ด้วยเหตุที่ในดินมีสิ่งมีชีวิตอยู่หลายชนิด ดังนั้นการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจึงจำเป็นต้องกำจัดเชื้อชนิดอื่นก่อน โดยอาศัยลักษณะพิเศษของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แตกต่างจากสิ่งมีชีวิตทั่วไป คือ สามารถสร้างสปอร์ที่สามารถทนต่อความแห้งแล้ง ทนต่อความร้อน และทนต่อสารเคมีได้ ในกลุ่มของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่พบในดิน เชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* พบได้เป็นจำนวนมากที่สุด เนื่องจากเชื้อสกุลนี้เจริญเติบโตได้ง่ายและรวดเร็ว ทำให้เกิดการแย่งและบดบังการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุลอื่นๆ ดังนั้นจำเป็นต้องมีการนำเทคนิคต่างๆ มาใช้ในการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่หายาก เช่น เทคนิคการเพิ่มเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ต้องการในตัวอย่างดิน (enrichment) หรือเทคนิคการเตรียมดินตัวอย่าง (pretreatment) เพื่อลด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ผู้ใดนำเอกสารนี้ไปใช้ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนหรือขจัดเชื้อในสกุล *Streptomyces* และเชื้อจุลนทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่ไม่ต้องการ การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากมีเทคนิคการคัดแยกหลายวิธีได้แก่ (นันทวัน, 2555)

2.2.2.1 การใช้แบคเทอริโอเฟจ (bacteriophage)

เฟจ (phage) ถูกใช้ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มที่ไม่ต้องการ ทำให้สามารถแยกเชื้อกลุ่มเป้าหมายได้ โดยเฟจมีความไวต่อแบคทีเรียทั่วไป ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ขัดขวางการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทหายาก การใช้แบคเทอริโอเฟจในการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากอาจใช้เฟจที่มีความจำเพาะกับแบคทีเรียมากกว่า 1 สปีชีส์ เรียกว่า โพลีวาเลนท์เฟจ (polyvalent phages) เพื่อลดจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการบนจานอาหาร ซึ่งเป็นการเพิ่มโอกาสให้มีการตรวจพบเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากและเชื้อแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ใหม่ได้ ตัวอย่างเช่น การใช้แบคเทอริโอเฟจของเชื้อ *Bacillus* (*Bacillus* phages) และการใช้เชื้อแบคเทอริโอเฟจของเชื้อ *Streptomyces* (*Streptomyces* phages) เป็นต้น (นันทวัน, 2555)

2.2.2.2 การใช้เทคนิคการเตรียมตัวอย่าง (pretreatment techniques)

เป็นการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่หายากโดยใช้เทคนิคการเตรียมตัวอย่างในวิธีต่างๆ รวมกับการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม และมีการเติมสารปฏิชีวนะลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย การเพิ่มโอกาสเพื่อทำให้แยกเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากได้ดีขึ้นทำได้โดยมีวิธี ดังนี้ (นันทวัน, 2555)

(1) การกำจัดเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* และเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ เป็นการขจัดหรือลดจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ รวมทั้งเชื่อสกุล *Streptomyces* ซึ่งจัดเป็นเชื้อแอคติโนมัยสีทที่พบได้ทั่วไปและอยู่เป็นจำนวนมากในดิน โดยจะใช้คุณสมบัติที่แตกต่างกันของสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทแต่ละสกุล การเตรียมตัวอย่าง (pretreatment) มีหลายวิธี ได้แก่

การใช้ความร้อนแห้ง (dry heating) การให้ความร้อนแก่ตัวอย่างดินแห้งที่อุณหภูมิ 100 หรือ 120 องศาเซลเซียส สามารถลดจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่สร้างเส้นใยและเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* ในขณะที่เชื้อแอคติโนมัยสีทหายากบางกลุ่มยังมีชีวิตรอด เช่น *Microbispora* และ *Streptosporangium* (นันทวัน, 2555)

การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อ (chemical germicides) ความทนทานต่อสารเคมีของสปอร์แอคติโนมัยสีทชนิดต่างๆ สามารถใช้เป็นกลยุทธ์ในการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากได้อย่างจำเพาะ (specific rare actinomycete) ความทนทานของสปอร์ต่อสารเคมีฆ่าเชื้อ เช่น สารละลายฟีนอล (phenol) ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 สารละลายคลอร์เฮกซิดีนกลูโคเนต (chlorhexidine gluconate) ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 สามารถใช้เป็นวิธีในการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากได้ (นันทวัน, 2555)

การใช้การปั่นเหวี่ยงด้วยแรงที่แตกต่าง (differential centrifugation) เชื้อแอคติโนมัยสีทกลุ่มสร้างซูโอสปอร์ (zoospore) ที่สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา เช่น *Actinoplanes* *Dactylosporagium* *Actinokineospora* *Actinosynnema* และ *Kineospora* เป็นต้น

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปั่นเหวี่ยงสามารถนำมาใช้ในการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เคลื่อนที่ออกจากเชื้อสกุล *Streptomyces* และเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุลอื่นที่ไม่เคลื่อนที่ (นันทวัน, 2555)

(2) การเพิ่มจำนวนแอคติโนมัยสีทหายาก (enrichment of rare actinomycete population)

การเพิ่มจำนวนก่อนการบ่ม (prior incubation of thesubstrate) เป็นการเพิ่มจำนวนเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากในตัวอย่างที่ต้องการแยกก่อนเพาะลงบนอาหาร ซึ่งอาจทำได้โดยวิธีการบ่มตัวอย่างดินโดยตรงลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเฉพาะเพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อแอคติโนมัยสีทหายาก เช่น *Microbispora* และ *Microtetraspora* การใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์-ซอยเอ็กแทรกท์ (phosphate buffer-soil extract) สามารถเพิ่มจำนวนเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สร้างซูโอสปอร์ได้ เช่น *Actinoplanes Dactylosporagium Actinokineospora Actinosynnema Kineospora* และ *Sporichthya* ได้เช่นกัน (นันทวัน, 2555)

2.2.2.3 การใช้สารปฏิชีวนะ

การเติมสารปฏิชีวนะลงไปในอาหารที่ใช้แยกเชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ สารปฏิชีวนะที่ใช้มักเป็นสารลดการปนเปื้อนของเชื้อรา เช่น ไซโคลเฮกซิไมด์ (cycloheximide) นิสเตติน (nystatin) และไพมาริซิน (pimaricin) เป็นต้น สำหรับการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย มักนิยมใช้สารปฏิชีวนะหลายชนิดร่วมกัน เช่น การใช้เพนนิซิน จี (penicillin G) ร่วมกับโพลีมิกซิน บี (polymyxin B) ในการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัย-สีทจากดิน นอกจากนี้สารปฏิชีวนะยังสามารถใช้คัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากเฉพาะกลุ่มได้ เช่น การใช้ทูนิคามัยซิน (tunicamycin) สำหรับแยกเชื้อสกุล *Micromonospora* การใช้ ลิวโคมัยซิน (leucomycin) สำหรับแยกเชื้อสกุล *Streptosporagium* เป็นต้น การใช้สารปฏิชีวนะชนิดที่แตกต่างร่วมกันสามารถใช้คัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เฉพาะในระดับสกุลหรือระดับสปีชีส์ได้ เช่น การใช้กานามัยซิน (kanamycin) นอร์ฟลอกซาซิน (norfloxacin) และกรดนาลิดิซิก (nalidixic acid) ร่วมกันสำหรับการคัดแยกเชื้อ *Microtetraspora* spp. การใช้ฟราดิโอมัยซิน (fradiomycin) กานามัยซิน (kanamycin) กรดนาลิดิซิก (nalidixic acid) และไตรเมโทพริม (trimethoprim) ร่วมกันสำหรับคัดแยกเชื้อ *Actinokineospora* เป็นต้น (นันทวัน, 2555)

2.3 สัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีท

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถทำการศึกษาได้จากลักษณะรูปร่าง และโครงสร้างของแอคติโนมัยสีท เช่น ลักษณะของเส้นใยอากาศ เส้นใยอาหาร และลักษณะสปอร์ ซึ่งสามารถศึกษาได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีเลนส์ส่องระยะไกล เป็นเลนส์วัตถุ หรือในกรณีที่ต้องการรายละเอียดที่ชัดเจนมากขึ้นอาจศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (นันทวัน, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 ลักษณะเส้นใย

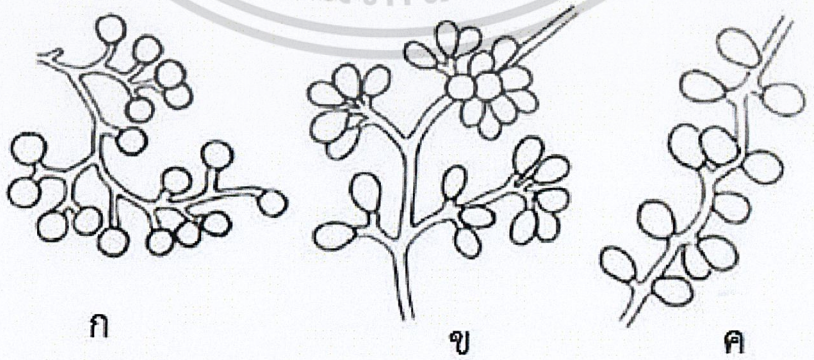
ลักษณะของเส้นใยสามารถบ่งบอกลักษณะของเชื้อในแต่ละสกุลได้โดยเส้นใยแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ เส้นใยที่เจริญแทรกลงไปใต้ผิวอาหาร เรียกว่า เส้นใยอาหาร และเส้นใยที่ชูขึ้นมาบนอากาศ เรียกว่า เส้นใยอากาศ โดยปกติเชื้อแอคติโนมัยสีทจะสร้างเส้นใยทั้ง 2 ชนิด แต่จะมีเชื้อแอคติโนมัยสีทในบางสกุลสร้างเส้นใยอาหารเท่านั้น เชื้อแอคติโนมัยสีทมีการสร้างเส้นใยที่มีลักษณะแตกต่างกัน เช่น บางสกุลอาจสร้างเส้นใยที่มีการหักเป็นท่อนๆ บางสกุลสร้างเส้นใยที่แตกเป็นกิ่งก้านเป็นต้น (นันทวัน, 2555)

2.3.2 ลักษณะสปอร์

สปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท มีทั้งสปอร์ที่ไม่มีถุงหุ้ม (conidia) และสปอร์ที่มีถุงหุ้ม (sporangiospore) การเรียงตัวของสปอร์สามารถใช้ในการจำแนกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ โดยการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถแบ่งออกได้ 3 ลักษณะดังนี้ (นันทวัน, 2555)

2.3.2.1 สปอร์เดี่ยว (single spore หรือ monosporous)

การสร้างสปอร์เดี่ยวเรียกว่า Monosporous พบในหลายสกุล ในสกุล *Micromonospora* ก้านชูสปอร์ (Sporophore) เกิดขึ้นบนเส้นใยอาหารสปอร์ติดอยู่ที่ฐานหรือพองตัวจากนั้นมีการสร้างผนังกั้นและสร้างเป็นผนังสปอร์ในส่วนของสกุล *Thermomonospora* สร้างสปอร์เดี่ยวบนเส้นใยอากาศ ที่ปลายก้านชูสปอร์ ที่แตกแขนงหรือไม่แตกแขนง การแตกแขนงทำให้เกิดการสร้างเป็นกลุ่มของสปอร์ สกุลอื่นๆที่สร้างสปอร์เดี่ยว ได้แก่ *Saccharomonospora* มีการสร้างสปอร์เดี่ยวรูปไข่ที่ปลายเส้นใยอากาศ ก้านชูสปอร์ไม่แตกแขนงถ้าใช้ศัพท์ทางราอาจเรียกการสร้างสปอร์เดี่ยวของ *Micromonospora* *Thermomonospora* และ *Saccharomonospora* ว่า aleuriospores เพราะสปอร์เกิดจากปลายเส้นใยที่แตกแขนงมีการโป่งออก ลักษณะการสร้างสปอร์เดี่ยวของ *Micromonospora* *Thermomonospora* และ *Saccharomonospora* แสดงดังรูปที่ 2.1 (กิ่งจันทน์, 2555)



รูปที่ 2.1 การสร้างสปอร์เดี่ยวของสกุล *Micromonospora* (ก) สกุล *Thermomonospora* (ข) และสกุล *Saccharomonospora* (ค) (กิ่งจันทน์, 2555)

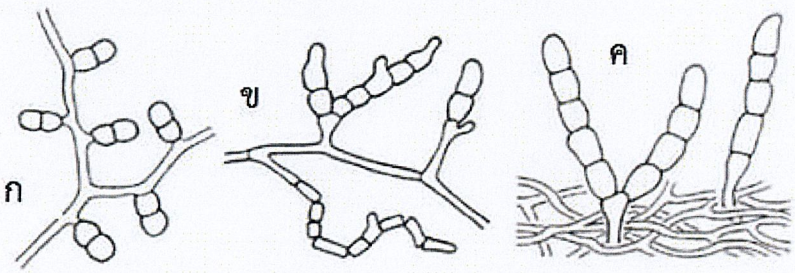
เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.2 สปอร์ที่สร้างต่อกันเป็นสาย (spore formed in chains)

สปอร์ที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย เกิดจากการสร้างผนังกั้นเส้นใยในแต่ละห้องทำให้เส้นใยเปลี่ยนไปเป็นสปอร์ เชื้อแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่มีการสร้างสปอร์ในลักษณะนี้ การเรียกชนิดของสปอร์จะเรียกตามลักษณะของสปอร์ ความยาวของสปอร์ และจำนวนสปอร์ เช่น สปอร์คู่ (disporous) สปอร์สายสั้น (oligosporous) และสปอร์สายยาว (polysporous) (นันทวัน, 2555)

สปอร์คู่ เป็นคู่ของสปอร์ที่มีการเรียงตัวตามยาว สปอร์มีลักษณะกลมไปจนถึงรูปไข่ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 ไมโครเมตร ผนังสปอร์มีความหนามากกว่าเส้นใย 3 ถึง 4 เท่า ก้านชูสปอร์มีขนาดสั้นมากอยู่บนเส้นใยอากาศ การสร้างสปอร์ในช่วงแรกเกิดจากการแยกตัวออกทางด้านข้างของเส้นใยอากาศทำให้เกิดเป็นแขนงสั้นๆ และเกิดการโป่งพองพร้อมกับสร้างผนังกั้นตรงกลางตามแนวขวาง เชื้อที่มีลักษณะการเรียงตัวของสปอร์แบบนี้ เช่น สกุล *Microbispora* (รูปที่ 2.2) (นันทวัน, 2555)

สปอร์สายสั้น เป็นการสร้างสปอร์ที่มีลักษณะเป็นสายสั้นๆ ส่วนมากในแต่ละสายจะมีสปอร์ประมาณ 7 ถึง 20 สปอร์ น้อยที่สุด 3 สปอร์ หรือบางสายพันธุ์สร้างได้มากถึง 30 สปอร์ ตัวอย่างเช่น เชื้อ *Nocardia brevicatena* (รูปที่ 2.2) มีการสร้างสปอร์สายสั้นจำนวน 2 ถึง 7 สปอร์อยู่บนเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ โดยก้านชูสปอร์และสายสปอร์อาจเกิดมาจากเส้นใยที่มีการแตกหักเป็นท่อนๆ เชื้อ *Saccharopolyspora rectivirgura* มีการสร้างสายสปอร์ที่มักมีสปอร์จำนวนน้อยกว่า 5 สปอร์อยู่ที่ด้านข้างหรือส่วนปลายของเส้นใยที่ไม่มีการแตกกิ่งก้าน เชื้อสกุล *Actinomadura* และ *Microtetraspora* มีการสร้างสปอร์สายสั้นที่มีลักษณะเฉพาะอยู่บนเส้นใยอากาศ จำนวนสปอร์ต่อสายนั้นแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อ โดยสกุล *Microtetraspora* มีสปอร์จำนวน 4 สปอร์ต่อสาย ส่วนสกุล *Actinomadura* มีสปอร์จำนวน 10 ถึง 20 สปอร์ต่อสาย สายสปอร์อาจมีลักษณะตรง โค้งงอเป็นรูปตะขอ หรือมีลักษณะเป็นเกลียว ในบางสายพันธุ์ เช่น *Actinomadura pusilla* สายของสปอร์มีลักษณะขดกันเป็นก้อนหนา ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อสกุล *Streptosporangium* เรียกสปอร์ลักษณะนี้ว่าซูโดสปอแรงเจีย (pseudosporangia) เชื้อสกุล *Catellatospora* (รูปที่ 2.2) สร้างสายสปอร์ที่มีลักษณะตรงหรือโค้งงอ มีสปอร์จำนวน 5 ถึง 30 สปอร์ ซึ่งโผล่ออกมาโดยตรงจากอาหารบนก้านชูสปอร์ที่สั้น ก้านชูสปอร์อาจมีการแตกแขนงหรือไม่มีการแตกแขนงก็ได้ (นันทวัน, 2555)



รูปที่ 2.2 การสร้างสปอร์คู่ของ *Microbispora* (ก) และสปอร์สายสั้นของ *Nocardia brevicatena* (ข) และ *Catellatospora* (ค) (กิ่งจันทน์, 2555)

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น เว้นแต่ได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สปอร์สายยาว ตัวอย่างเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สร้างสปอร์สายยาว คือ สกุล *Streptomyces* ซึ่งมีการสร้างสปอร์เป็นสายมากกว่า 50 สปอร์ มักเรียกสปอร์ที่เป็นสายยาวนี้ว่า อาร์โทสปอร์ (arthospores) ลักษณะของสายสปอร์ที่แตกต่างกันสามารถใช้ในการจัดกลุ่มของเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ การสร้างสปอร์ของเชื้อสกุล *Streptomyces* สามารถแบ่งได้เป็น 4 ชนิด (รูปที่ 2.3) คือ rectiflexbiles สายของสปอร์มีลักษณะตรง หรือโค้งงอ retinaculiaperti สายสปอร์มีลักษณะคล้ายรูปตะขอ หรือหมุนเป็นเกลียว 1-3 รอบ spira สายของสปอร์มีลักษณะเป็นเกลียว ซึ่งแบ่งเป็น 2 แบบ คือ เกลียวแบบวงปิดติดกันแน่น และเกลียวแบบวงเปิดไม่ติดกันแน่น มีลักษณะยาวยืดออกไป verticillati สายสปอร์ขดเป็นก้นหอย และแตกแขนงออกเป็นช่อ

นอกจากเชื้อสกุล *Streptomyces* แล้ว ยังมีสมาชิกของเชื้อแอคติโนมัยสีทในวงศ์ Pseudonocardiaceae อีกจำนวนมากที่มีการสร้างสปอร์สายยาว เช่น เชื้อสกุล *Pseudonocardia* สร้างสายสปอร์ที่เส้นใยอากาศ ซึ่งสายสปอร์มักจะเป็นรูปซิกแซก (zigzag) เชื้อสกุล *Actinopolyspora* สร้างสปอร์สายยาวอยู่บนเส้นใยอากาศ เชื้อสกุล *Kibdelosporagium* สร้างสปอร์สายยาวและมีการสร้างโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายถุงหุ้มสปอร์อยู่บนเส้นใยอากาศ รวมทั้งเส้นใยมีการแตกหักเป็นท่อน (นันทวัน, 2555)

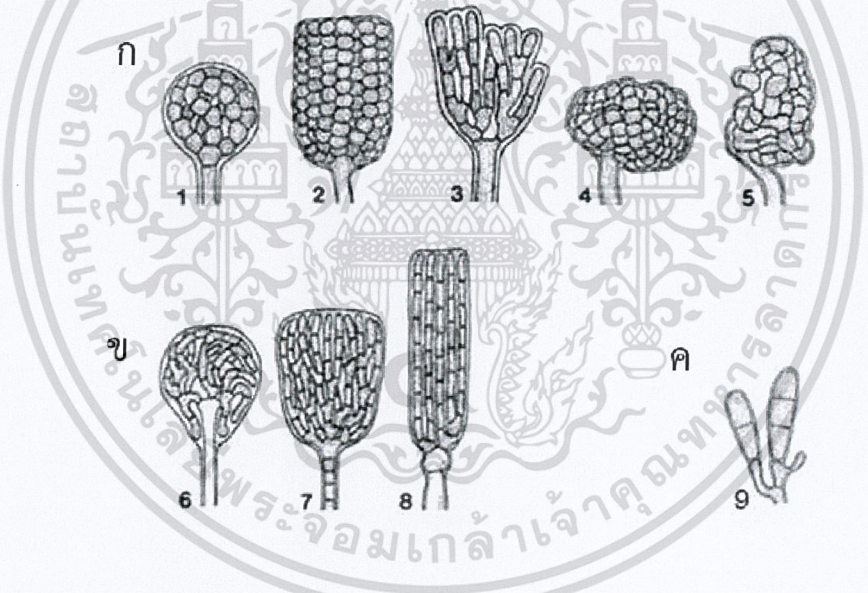
รูปที่ 2.3 ชนิดของสปอร์สายยาวแบบต่างๆ ที่สร้างโดยเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* (ก) rectiflexbiles (ข) retinaculiaperti (ค) spira (ง) verticillati (กิ่งจันทน์, 2555)

2.3.2.3 สปอร์ที่สร้างอยู่ภายในถุงหุ้ม (spores formed within sporangia)

เชื้อแอคติโนมัยสีทหลายสกุลสร้างสปอร์อยู่ภายในถุงหุ้ม โดยถุงหุ้มสปอร์จะสร้างขึ้นมาห่อหุ้มสปอร์ตั้งแต่เริ่มมีการสร้างสปอร์ไปจนกระทั่งสปอร์แก่ จึงมีการปล่อยสปอร์ออกมาจากถุงหุ้ม ถุงหุ้มสปอร์มีความแตกต่างกันทั้งขนาดและรูปร่าง โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 2 ถึง 50 ไมโครเมตร แต่ส่วนใหญ่จะมีขนาดประมาณ 10 ไมโครเมตร มีรูปร่างต่างๆ เช่น รูปทรงกระบอก (cylindrical) รูปกระบอง (clavate) รูปทรงคล้ายท่อ (tubular) รูปขวด

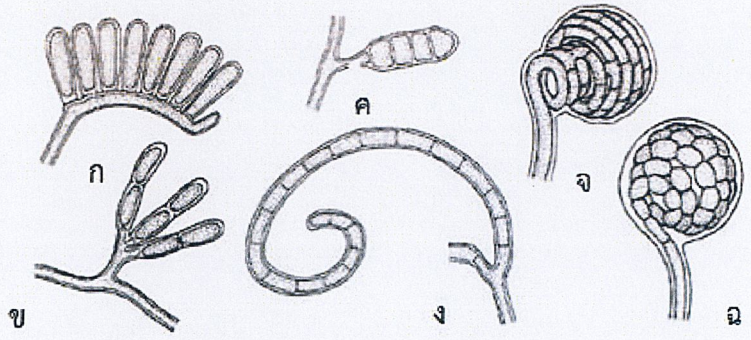
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(bottle shaped) รูประฆัง (campanulate) รูปนิ้วมือ (digitate) รูปร่างที่ไม่เป็นทรง (irregular) รูปแฉก (lobate) รูปร่างคล้ายร่ม (umbellifrom) รูปผลแพร์ (pyriform) หรือรูปทรงกลม (globose) เราสามารถจำแนกชนิดของสปอร์ที่สร้างอยู่ภายในถุงหุ้มได้โดยการสังเกตจำนวนสปอร์ที่อยู่ภายในถุงหุ้มสปอร์ การเรียกชื่อสปอร์ในกรณีที่มีสปอร์จำนวนน้อยอยู่ภายในถุงหุ้ม เช่น มี 1 สปอร์ เรียก โมโนสปอรัส (monosporous) มี 2 สปอร์ เรียก ไดสปอรัส (disporous) แต่ในกรณีที่มีสปอร์จำนวนมากอยู่ภายในถุงหุ้ม เรียก โพลีสปอรัส (polysporous) โครงสร้างภายในของสปอร์แบบโพลีสปอรัสนี้สปอร์อาจอยู่ขดกันเป็นวง หรือเรียงตัวขนานกันเป็นแถวอยู่ภายในถุงหุ้ม ซึ่งถุงหุ้มสปอร์นี้จะเชื่อมกับผนังชั้นนอกของก้านชูสปอร์ เชื้อแอคติโนมัยสีทที่สร้างสปอร์อยู่ภายในถุงหุ้มนี้มีทั้งสกุลที่สร้างสปอร์อยู่บนเส้นใยอาหาร เช่น *Actinoplanes Ampullariella Dactyosporangium* และ *Pilimelia* (รูปที่ 2.4) และสกุลที่สร้างสปอร์อยู่บนเส้นใยอากาศ เช่น *Planomonospora Planobispora Planotetraspora Planopolyspora Spirillospora* และ *Streptosporangium* (รูปที่ 2.5) (นันทวัน, 2555)



รูปที่ 2.4 ถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุลต่างๆ ที่สร้างบนเส้นใยอาหาร (กิ่งจันทน์, 2555)
(ก) ถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อสกุล *Actinoplanes* รวมทั้งสกุล *Ampullariella*
1. ทรงกลม 2. ทรงกระบอก 3. รูปแฉก 4. กึ่งทรงกลม 5. รูปร่างที่ไม่เป็นทรง
(ข) ถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อสกุล *Pilimelia*
6. รูปไข่ 7. รูประฆัง 8. ทรงกระบอก
(ค) ถุงหุ้มสปอร์รูปกระบองของเชื้อสกุล *Dactylosporangium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 ถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุลต่างๆที่สร้างบนเส้นใยอากาศ (กิ่งจันทน์, 2555)
(ก) ถุงหุ้มสปอร์แบบโมโนสปอรัสของเชื้อสกุล *Planomonospora* สปอร์รูปทรงกระบอก
(ข) ถุงหุ้มสปอร์แบบไดสปอรัสของเชื้อสกุล *Planobispora* สปอร์รูปทรงกระบอก
(ค) ถุงหุ้มสปอร์แบบเตตระสปอรัสของเชื้อสกุล *Planotetraspora* สปอร์รูปทรงกระบอก
(ง) ถุงหุ้มสปอร์แบบโพลีสปอรัสของเชื้อสกุล *Planopolyspora* สปอร์รูปทรงคล้ายท่อ
(จ) ถุงหุ้มสปอร์แบบโพลีสปอรัสของเชื้อสกุล *Spirillospora* สปอร์รูปทรงกลม
(ฉ) ถุงหุ้มสปอร์แบบโพลีสปอรัสของเชื้อสกุล *Streptosporangium* สปอร์รูปทรงกลม

2.4 สารปฏิชีวนะ

สารปฏิชีวนะ หมายถึง สารประกอบอินทรีย์ที่สร้างจากจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญหรือฆ่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ สารปฏิชีวนะที่สร้างจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะสร้างในช่วง late log phase จนถึงช่วง stationary phase ซึ่งเป็นช่วงที่จุลินทรีย์เริ่มมีการเจริญคงที่จัดเป็น secondary metabolite ที่ไม่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเจริญของเซลล์ นอกจากนี้ยังช่วยยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์รอบข้างบางชนิดได้เมื่อต้องอยู่ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นในสภาวะแวดล้อมที่ต้องแก่งแย่งอาหารเพื่อช่วยในการยืดอายุของจุลินทรีย์ที่ผลิตสารปฏิชีวนะให้อยู่ได้นานขึ้น ปัจจุบันมีการค้นคว้าเกี่ยวกับสารปฏิชีวนะที่จุลินทรีย์สร้างและมีการใช้เพื่อเป็นยาปฏิชีวนะอย่างแพร่หลาย ตัวอย่างสารปฏิชีวนะที่ผลิตจากจุลินทรีย์ แสดงในตารางที่ 2.1 (วสุ, 2553)

2.4.1 ประเภทของสารปฏิชีวนะ

จัดจำแนกประเภทของสารปฏิชีวนะตามความสามารถในการเข้าทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ แบ่งออกเป็น 5 ประเภท

2.4.1.1 สารปฏิชีวนะที่มีผลต่อผนังเซลล์

ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรง มีหน้าที่ทำให้เซลล์คงรูปร่างอยู่ได้ และยังป้องกันอันตรายจากการแตกของเซลล์เนื่องจากแรงดันออสโมติกสูงๆ สารปฏิชีวนะจะมีผลไปขัดขวางการสร้างองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถแบ่งเซลล์ได้ เกิดการบวมเต่งและแตกในที่สุด สารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ ได้แก่ เพนิซิลิน

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

(penicillin) แบคซิทราซิน (bacitracin) แวนโคมัยซิน (vancomycin) และไซโคลเซรีน (cycloserine) เป็นต้น (วสุ, 2553)

2.4.1.2 สารปฏิชีวนะที่มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติเป็น semipermeable membrane สารที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ส่วนมากเป็นแบบ active transport ซึ่งใช้พลังงานเข้าช่วยและมีการขับสารบางอย่างออกนอกเซลล์ เช่น เอนไซม์สำหรับสร้างผนังเซลล์ สารปฏิชีวนะจะไปขัดขวางการทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้การนำสารต่างๆ เข้าสู่เซลล์และออกนอกเซลล์ผิดปกติ เมื่อเป็นเช่นนี้ไปนานๆ จะทำให้เซลล์ตายได้ ตัวอย่างสารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ เช่น แอมโฟเทอริซิน บี (amphotericin B) เจนตามัยซิน (gentamicin) ไนสแตติน (nystatin) และสเตรปโตมัยซิน (streptomycin) เป็นต้น (วสุ, 2553)

2.4.1.3 สารปฏิชีวนะที่ขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน

การสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์แบคทีเรียจัดเป็นกระบวนการที่สำคัญสำหรับการซ่อมแซมและเสริมสร้างเพื่อทำให้เซลล์เจริญ และเพิ่มจำนวน การยับยั้ง หรือขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนจึงทำให้เซลล์ตายได้ ตัวอย่างสารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ เช่น คลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol) อิริโทรมัยซิน (erythromycin) นีโอมัยซิน (neomycin) และเตตราไซคลีน (tetracycline) เป็นต้น (วสุ, 2553)

2.4.1.4 สารปฏิชีวนะที่ขัดขวางหน้าที่ของกรดนิวคลีอิค

กรดนิวคลีอิคเป็นสารอินทรีย์ที่สำคัญสำหรับแบคทีเรีย เพราะมีหน้าที่ควบคุมเมตาบอลิซึมต่างๆ ทั้งทางตรงและทางอ้อม เมื่อมีการยับยั้งการทำหน้าที่ของกรดนิวคลีอิคจึงทำให้เมตาบอลิซึมของเซลล์ผิดปกติไปด้วย ตัวอย่างสารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ เช่น ไรฟามัยซิน (rifamycin) แอคติโนมัยซิน ดี (actinomycin D) กริซีโอฟุลวิน (griseofulvin) ไรแฟมพิน และ(rifampin) เป็นต้น (วสุ, 2553)

2.4.1.5 สารปฏิชีวนะที่ขัดขวางการสร้างพลังงานของเซลล์

พลังงานจัดเป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับจุลินทรีย์ เนื่องจากพลังงานจะถูกนำไปใช้ในกิจกรรมของเซลล์เพื่อดำรงชีวิต เช่น การสังเคราะห์โปรตีน การเพิ่มจำนวน เป็นต้น เมื่อการสร้างพลังงานถูกขัดขวางก็จะทำให้กิจกรรมของเซลล์ลดลง ถ้าหากเป็นเช่นนี้ไปนานๆ ในที่สุดแล้วเซลล์ก็จะตาย ตัวอย่างสารปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ เช่น โอลิโกมัยซิน (oligomycin) แกรมิซิดิน (gramicidin) และแอนติมัยซิน (antimycin) เป็นต้น (วสุ, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตโดยแอคติโนมัยสีท (กิ่งจันทน์, 2555)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	แอคติโนมัยสีท	Activity
Abyssomicins	*Verrucosispora* sp.	antibacterial
Bonactin	*Streptomyces* sp.	antibacterial antifungal
Chandrananimycins	*Actinomadura* sp.	antialgal antibacterial antifungal anticancer
Frigocyclinone	*Streptomyces griseus*	antibacterial
Gutingimycin	*Streptomyces* sp.	antibacterial
Helquinoline	*Janibacter limosus*	antibacterial
Himalomycins	*Streptomyces* sp.	antibacterial
Lajollamycin	*Streptomyces nodosus*	antibacterial
Chinikomycins	*Streptomyces* sp.	anticancer
3,6-disubstituted indoles	*Streptomyces* sp.	anticancer
Aureoverticillactam	*Streptomyces aureoverticillatus*	anticancer
Trioxacarcins	*Streptomyces* sp.	antibacterial anticancer antimalarial

2.5 บทบาทและความสำคัญของเชื้อแอคติโนมัยสีท

บทบาทของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สำคัญส่วนใหญ่จะเกิดจากเชื้อสกุล *Streptomyces* แต่อย่างไรก็ตามเชื้อแอคติโนมัยสีทที่หายากก็ยังเป็นกลุ่มที่น่าสนใจเนื่องจากเป็นกลุ่มที่มีความสามารถหลากหลาย

2.5.1 ด้านสิ่งแวดล้อมและนิเวศวิทยา

สามารถสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสารประกอบที่ซับซ้อนในเนื้อเยื่อพืชและสัตว์ ในดินที่มีสารประกอบเชิงเดี่ยวของอินทรียสารต่างๆและมีพีเอชเป็นกลางพบแอคติโนมัยสีทน้อยมาก เนื่องจากไม่สามารถเจริญแข่งขันกับแบคทีเรียอื่นๆได้ แต่ถ้าในดินที่มีสารประกอบอินทรีย์ที่ซับซ้อนและย่อยสลายได้ยาก จะพบแอคติโนมัยสีทเจริญอย่างรวดเร็ว เนื่องจากย่อยสลายสารเหล่านี้ได้ดีกว่าราและแบคทีเรีย เป็นการช่วยสร้างฮิวมัสในดินทำให้สารเหล่านี้เปลี่ยนเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ จิราพร และคณะ (2554)

2.5.2 ด้านเกษตรกรรม

สามารถช่วยในการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบต่างๆ ในที่ที่มีอุณหภูมิสูง เช่น การหมักอินทรียวัตถุเพื่อทำปุ๋ยคอกและช่วยในการควบคุมศัตรูพืชได้ เช่น ผลิตสารเพื่อใช้เป็นยาฆ่าแมลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้แก่ phosphinothrcin เป็นต้น ช่วยควบคุมสมดุลของจุลินทรีย์ในดิน โดยสร้างสารปฏิชีวนะและเอนไซม์ทำลายแบคทีเรียและราในดินได้ จิราพร และคณะ (2554)

2.5.3 ด้านการแพทย์และเภสัชกรรม

สามารถสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารปฏิชีวนะต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย รา และไวรัส เป็นต้น โดยเชื้อในกลุ่มแอคติโนมัยสีทสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากถึง 2 ใน 3 ของสารปฏิชีวนะทั้งหมดที่เรารู้จักกัน โดยตัวอย่างของยาปฏิชีวนะที่ผลิตได้จากเชื้อในกลุ่มแอคติโนมัยสีท ได้แก่ นิสตาติน (nystatin) โพลีออกซิน (polyoxin) และแอนทราซัยคลิน (anthracycline) เป็นต้น จิราพร และคณะ (2554)

2.6 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

2.6.1 *Bacillus subtilis*

รูปที่ 2.6 ตำแหน่งสปอร์และการเรียงตัวของ *B. subtilis*
(ที่มา : ศูนย์ข้อมูลโรคติดเชื้อและพาหะนำโรค, 2560)

B. subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก แบบที่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ (Aerobic Bacteria) ที่มีรูปร่างเป็นท่อนขนาดกว้าง 0.7 ถึง 0.8 ไมโครเมตร และยาว 2 ถึง 3 ไมโครเมตร เรียงตัวเป็นสาย พบได้ทั่วไปในดิน น้ำจืด และน้ำเค็ม เป็นต้น สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 4 ถึง 55 องศาเซลเซียส และพีเอชที่สามารถเจริญได้อยู่ในช่วง 4 ถึง 8 แต่จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และสามารถใช้สารประกอบอินทรีย์ได้หลายชนิดและเจริญได้ดีในสูตรอาหารอย่างง่ายที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานรวมทั้งมีเกลือแอมโมเนียเป็นแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน เมื่อเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เป็นอาหารแข็ง เช่น Nutrient agar (NA) โคโลนีจะแบน แห้ง และมีขนาดใหญ่ โดยลักษณะโคโลนีจะเปลี่ยนแปลงไปตามอายุ ซึ่งลักษณะของโคโลนี อาจกลมหรือไม่กลม ขอบไม่เรียบ ผิวนูน สีขุ่น หรืออาจมีลักษณะย่น สีครีม หรือน้ำตาล ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหารแข็งที่ใช้เพาะเลี้ยง และจะเจริญได้ดีเมื่อมีอาหารแข็งนั้นมีความชื้นเหมาะสม (วาสนา, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

โรคติดเชื้อจาก *Staphylococcus aureus* ในอดีตใช้ยาเพนนิซิลลิน (penicillin) รักษาได้ผลดี แต่หลังจากเริ่มใช้เพนนิซิลลินได้ไม่นาน มีรายงานพบเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาเพนนิซิลลิน โดยการสร้างเอนไซม์บีต้า-แลคเทมเมส จึงมีการพัฒนายาเมธิซิลลินซึ่งทนต่อเอนไซม์บีต้า-แลคเทมเมสของ *S. aureus* อย่างไรก็ตามหลังจากการใช้ยาเมธิซิลลินได้ไม่นาน มีรายงานพบ *S. aureus* ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน เรียกว่า methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) อรุณลักษณ์ และคณะ (2555)

MRSA จัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *S. aureus* ที่ดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่ม Penicillinase-resistant penicillins เช่น เมธิซิลลิน (methicillin) ออกซาซิลลิน (oxacillin) นาฟซิลลิน (nafcillin) คลอกซาซิลลิน (cloxacillin) และ ไดคลอกซาซิลลิน (dicloxacillin) เป็นต้น บ่อยครั้งจะดื้อยาปฏิชีวนะอื่นๆร่วมด้วย เช่น คลินดามัยซิน (clindamycin) อิริโทรมัยซิน (erythromycin) เตตราไซคลีน (tetracycline) และ อะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycosides) เป็นต้น โดยทั่วไปสามารถพบ *S. aureus* ได้ที่ผิวหนังและเยื่อบุของร่างกาย เช่น ในรูจมูกของคนทั่วไป โดยที่ไม่ก่อให้เกิดโรค พบได้ประมาณร้อยละ 30 ถึง 40 ของประชากรทั่วไป แต่หากกลไกการป้องกันตัวเองของคนเราเสียหาย เช่น มีแผลที่ผิวหนัง หรือคนที่ฉีดยาเสพติดเข้าเส้นเลือดโดยที่ไม่ได้ทำความสะอาดผิวหนัง เชื้อก็จะเข้าสู่ร่างกายและทำให้เกิดโรคได้หลายระบบ เช่น ผิวหนังอักเสบ ฝี หนอง ปอดอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และถ้าแพร่เข้าสู่กระแสโลหิตทำให้ลิ้นหัวใจอักเสบอาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ ซึ่งสามารถก่อโรคทั้งในโรงพยาบาลและในชุมชนโดยพบในโรงพยาบาลมากกว่าชุมชน การติดเชื้อแบคทีเรีย MRSA มักพบในผู้ป่วยที่นอนพักรักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นระยะเวลานาน โดยเฉพาะผู้ป่วยหนัก ผู้ป่วยสูงอายุ ผู้ป่วยแผลกดทับ ผู้ป่วยที่ต้องใช้สายสวนปัสสาวะหรือสายให้น้ำเกลือ ผู้ป่วยที่ต้องให้ยาทางหลอดเลือด และการคลุกคลีใกล้ชิดกับผู้ติดเชื้อแบคทีเรีย MRSA และผู้ที่เป็นพาหะ โดยพบว่านอกจากก่อโรคในโรงพยาบาลแล้วยังมีการแพร่กระจายของแบคทีเรีย MRSA จากโรงพยาบาลออกสู่ชุมชน โดยสามารถแพร่กระจายได้ทั้งทางอากาศและการสัมผัสโดยตรง ปัจจุบันเริ่มมีรายงานออกมาแล้วว่าแบคทีเรีย MRSA เริ่มดื้อต่อยาแวนโคมัยซิน (vancomycin) ซึ่งเป็นยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย MRSA (กิจติศักดิ์, 2551)

2.6.2.1 ชนิดของแบคทีเรีย MRSA

แบคทีเรีย MRSA เริ่มพบตั้งแต่ในระยะแรกที่มีการนำยากลุ่มเพนิซิลลิน (penicillin) มาใช้รักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* แต่ในระยะนั้นยังไม่มีการศึกษากลไกการดื้อยา และการควบคุมทางพันธุกรรมของเชื้อมากนัก รวมทั้งเข้าใจว่าเชื้อส่วนใหญ่จะเป็นแบบ “true” MRSA หรือ intrinsic resistant หรือ methicillin resistant (หมายถึงแบคทีเรีย MRSA ที่ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน เกิดจากการเปลี่ยนแปลง penicillin-binding protein (PBP) ซึ่งเป็นเป้าหมายของยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Penicillinase-resistant penicillins โดยยีน *mecA* จะ encode ให้ PBP2a ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ ไม่สามารถจับกับโปรตีนเป้าหมายได้) (วสุ, 2553) ต่อมาจึงพบว่าแบคทีเรีย MRSA มีหลายชนิดดังนี้

(1) "true" MRSA "true" MRSA เป็นแบคทีเรีย MRSA ที่พบได้บ่อยที่สุดทางคลินิก โดยมีค่า MIC (Minimum Inhibitory Concentration) ของยาเมธิซิลลินมากกว่า 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MIC ของยาออกซาซิลลินมากกว่า หรือเท่ากับ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแบคทีเรีย MRSA ชนิด "true" MRSA ยังแบ่งออกได้อีก 2 สายพันธุ์ คือ heterogeneous และ homogeneous

(2) Borderline-resistant *S. aureus* (BORSA) แบคทีเรีย MRSA ชนิดนี้จะมีค่า MIC ของยาเมธิซิลลินเท่ากับ 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MIC ของยาออกซาซิลลินน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และจะไม่มีการผลิต PBP2a แต่จะมีการผลิตเอนไซม์บีต้า-แลคเทมเมสที่มากเกิน (hyperproduced beta-lactamase) อย่างไรก็ตามเอนไซม์ดังกล่าวสามารถยับยั้งได้ด้วยกรดคลาวูลานิก (clavulanic acid) เนื่องจากกรดคลาวูลานิกจะออกฤทธิ์ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์บีต้า-แลคเทมเมส (กิจติศักดิ์, 2551)

(3) Modified-resistant *S. aureus* (MODSA) แบคทีเรีย MRSA ชนิดนี้จะมีค่า MIC ของยาเมธิซิลลินและออกซาซิลลินอยู่ในระดับเดียวกับชนิด BORSA แต่จะไม่มีการผลิต PBP2a และเอนไซม์บีต้า-แลคเทมเมสที่มากเกิน โดยทั่วไปยังไม่ทราบอุบัติการณ์ที่แน่นอน (กิจติศักดิ์, 2551)

(4) Methicillin-aminoglycoside-resistant *S. aureus* (MARSA) แบคทีเรีย MRSA ชนิดนี้จะดื้อต่อยาเมธิซิลลินและยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ ซึ่งพบว่าแบคทีเรีย MRSA ที่ตรวจพบทางห้องปฏิบัติการบางส่วนเป็นชนิดนี้ แต่ส่วนใหญ่ยังไม่ทราบอุบัติการณ์ที่แน่นอน เนื่องจากไม่ค่อยมีการทดสอบความไวต่อยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ โดยทั่วไปแบคทีเรีย MRSA ชนิด MARSA หมายถึง แบคทีเรีย *S. aureus* สายพันธุ์ที่มีการผลิตเอนไซม์ aminoglycoside-modifying ชนิดที่เรียกว่า bifunctional enzyme ซึ่งประกอบด้วย AAC (6') และ APH (2") ร่วมกับการผลิต PBP2a (กิจติศักดิ์, 2551)

2.6.2.2 กลไกการดื้อยาของแบคทีเรีย MRSA แต่ละชนิด

กลไกการดื้อยาทางชีวเคมีของแบคทีเรีย MRSA แต่ละชนิดแตกต่างกันออกไปขึ้นกับการควบคุมทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย MRSA แต่ละชนิด ซึ่งมีทั้งโครโมโซม พลาสมิด และทรานสโปซอน ซึ่งเป็นเหตุให้แบบแผนความไวต่อยาปฏิชีวนะแตกต่างกัน ดังนี้

(1) กลไกการดื้อยาของ "true" MRSA เกิดจากการสร้าง penicillin-binding protein (PBP) ที่ผิดปกติ (PBP2a) ซึ่งมีผลให้ affinity ต่อยาเมธิซิลลินต่ำลง โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ไวต่อยาเมธิซิลลินมี PBP ที่ปกติ 5 ตัว คือ PBP1 PBP2 PBP3 PBP3' และ PBP4 โดย PBP ที่เป็นเป้าหมายสำคัญในการออกฤทธิ์ของยาเมธิซิลลินและยาปฏิชีวนะกลุ่มบีต้า-แลคเทมจะมี 3 ตัว คือ PBP1 PBP2 และ PBP3 (PBP เหล่านี้ คือ เอนไซม์เอนโดเพปทิเดส (endopeptidase) ทรานสเพปทิเดส (transpeptidase) และ คาร์บอกซีเพปทิเดส (carboxypeptidase) ตามลำดับ) แต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

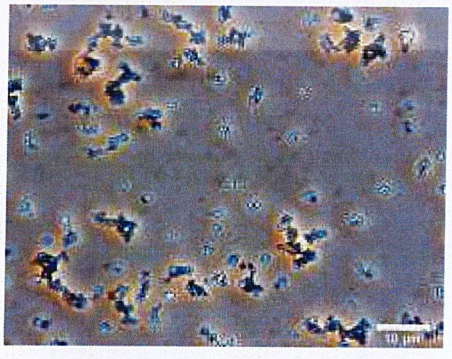
ใน “true” MRSA นั้น PBP2a จะทำหน้าที่แทน PBP ตัวอื่น ทำให้เป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาเปลี่ยนแปลงไปจึงทำให้เชื้อดื้อต่อยาดังกล่าว และจากรายงานพบว่า “true” MRSA ทั้งสายพันธุ์ heterogeneous และ homogeneous จะมีปริมาณของ PBP2a ไม่แตกต่างกัน แต่การแสดงออกของการดื้อยาต่างกัน โดยยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการผลิต PBP2a คือ ยีน *mecA* ซึ่งนอกจากยาเมธิซิลลินและยาปฏิชีวนะกลุ่มบีต้า-แลคเทมแล้ว ยีน *mecA* ยังเหนี่ยวนำให้แบคทีเรีย MRSA ดื้อต่อยาปฏิชีวนะอื่นๆร่วมด้วย เช่น สเปคทิโนมัยซิน (spectinomycin) อิริโทรมัยซิน (erythromycin) สเตรปโตกรามิน กรุ๊ป B (streptogramin group B) เตตราไซคลีน (tetracycline) และคลินดามัยซิน (clindamycin) เป็นต้น (กิจติศักดิ์, 2551)

(2) กลไกการดื้อยาของ BORSA แบคทีเรีย *S. aureus* ที่มีค่า MIC ของยาเมธิซิลลินสูงกว่าสายพันธุ์ที่ไวต่อยาเล็กน้อย และเรียกสายพันธุ์ดังกล่าวว่า borderline หรือ intermediate susceptible และยังพบว่ามีการผลิตเอนไซม์บีต้า-แลคเทมเมส ซึ่งถูกควบคุมโดยยีนที่อยู่บนพลาสมิดในปริมาณที่มากพอที่จะสามารถย่อยสลายเมธิซิลลินได้บางส่วน แต่ไม่มีรายงานการผลิต PBP2a รวมทั้งไม่ดื้อยาปฏิชีวนะชนิดอื่น อย่างไรก็ตามแบคทีเรีย BORSA สามารถกลับมาไวต่อยาเมธิซิลลินได้อีกครั้งเมื่อเติมสารต้านเอนไซม์บีต้า-แลคเทมเมส (กิจติศักดิ์, 2551)

(3) กลไกการดื้อยาของ MODSA เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้ไม่มีการสังเคราะห์เอนไซม์บีต้า-แลคเทมเมส ที่มากเกินและไม่สร้าง PBP2a มีค่า MIC ของยาเมธิซิลลิน และออกซาซิลลิน อยู่ในระดับเดียวกันกับ BORSA อิสยา และคณะ (2546)

(4) กลไกการดื้อยาของ MARSA กลไกการดื้อยาของแบคทีเรียชนิดนี้เกิดจากการผลิตเอนไซม์ aminoglycoside modifying ชนิด bifunctional ซึ่งประกอบด้วย AAC (6’) และ APH (2”) มาย่อยสลายยา ร่วมกับการผลิต PBP2a และพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้จะดื้อยาปฏิชีวนะกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ทุกตัว ซึ่งประกอบด้วย กานามัยซิน (kanamycin) เจนตามัยซิน (gentamicin) โทบรามัยซิน (tobramycin) เนติลมัยซิน (netilmicin) และ อะมิคาซิน (amikacin) (กิจติศักดิ์, 2551)

2.6.3 *Micrococcus luteus*



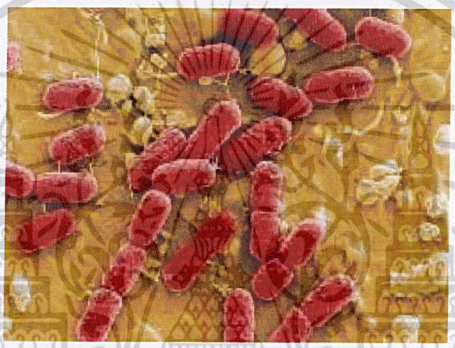
รูปที่ 2.7 เชื้อ *Micrococcus luteus* (ภิญญามนตร์, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะเป็นเซลล์รูปกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ถึง 3.5 ไมโครเมตร ติดสีแกรมบวก ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ที่ 25 ถึง 35 องศาเซลเซียส และสามารถทนเกลือสูงถึง 5% สามารถสร้างสารสีเหลืองเมื่อเจริญเติบโตบนอาหาร ทริปทิเคสซอย เอการ์ (trypticase soy agar : TSA) พบได้ทั่วไปในดิน น้ำจืด ผิวหนังของคนและสัตว์อื่นๆ (ภิญญามนตร์, 2557)

โดยปกติทั่วไปเชื้อชนิดนี้ไม่ก่อให้เกิดโรคได้ในคนปกติ เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่น (microflora) ที่พบได้ในบริเวณผิวหนังของร่างกายและเยื่อบุผิวส่วนต่างๆ แต่พบว่าสามารถก่อให้เกิดแผลติดเชื้ออักเสบได้ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง (ณัฐกฤตา, 2555)

2.6.4 *Escherichia coli*



รูปที่ 2.8 เชื้อ *Escherichia coli* (ภิญญามนตร์, 2557)

E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง (rod shape) จัดอยู่ใน Family Enterobac teriaceae สายพันธุ์ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ (motile) โดยอาศัยแฟลกเจลลา (flagella) ที่มีอยู่รอบตัว ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน (aerobe) และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ปกติสามารถเจริญได้บนอาหารธรรมดาที่ใช้ในห้องปฏิบัติการที่ช่วงอุณหภูมิ 7 ถึง 46 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช (pH) ของอาหารตั้งแต่ 4.4 ถึง 10 เชื้อ *E. coli* มี แคปซูล (capsule) บางๆหุ้มรอบตัวทำให้เชื้อทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เช่น มีชีวิตอยู่ตามเสื้อผ้าแห้งและในฝุ่นละอองได้หลายวัน อยู่ในน้ำได้นานหลายสัปดาห์ แต่ถูกทำลายเมื่อถูกต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และผลิต Shiga-like toxins (SLT) โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin-Methylene Blue Agar ซึ่งมีลักษณะสีน้ำตาลอมแดงและวาวต่อแสง (metallic sheen) เชื้อ *E. coli* แยกได้ครั้งแรกจากอุจจาระเด็ก ที่ป่วยด้วยโรคท้องร่วงในปี ค.ศ. 1885 โดยนักจุลชีววิทยา ชาวเยอรมันชื่อ ทีโอดอร์ เอสเชอริช (Theodor Escherich) ต่อมาได้รับการตั้งชื่อเป็น *Escherichia coli (E. coli)* ก่อนปี ค.ศ. 1982 (วฤษณี, 2554)

E. coli เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ที่พบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่นโดยปกติจะไม่ทำอันตรายหรือก่อโรคร้ายแรง แต่หากเชื้อ *E. coli* ลุกล้ำเข้าสู่ระบบต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของร่างกายก็จะทำให้เกิดโรคติดเชื้อรุนแรง เช่น โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และการติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น และมีเชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ โดยการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารหรือเครื่องดื่ม ทั้งนี้เชื้อ *E. coli* ที่สามารถก่อโรคอุจจาระร่วง (diarrheagenic *E. coli*) จะมีกลไกการก่อโรคและสามารถสร้างสารพิษได้แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ เช่น เชื้อ enterotoxigenic *E. coli* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ enterotoxin ทำให้เกิดอาการท้องร่วงแบบเฉียบพลัน ถ่ายเหลวเป็นน้ำ หรือเชื้อ enterohaemorrhagic *E. coli* ที่สร้างสารพิษ Shiga ทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง ถ่ายเป็นมูกเลือด ก่อให้เกิดกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกหรือไตวายเฉียบพลัน

การติดต่อ โดยปกติแล้วเชื้อ *E. coli* จะอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและยังอาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์ เช่น สุกร โค กระบือ เป็นต้น ดังนั้นเชื้อจะถูกขับผ่านออกมากับอุจจาระสัตว์ได้ ถ้าสัตว์ถ่ายอุจจาระลงดินหรือแหล่งน้ำ ซึ่งใช้เป็นแหล่งเพาะปลูกหรืออุปโภค บริโภค เชื้อที่ปนเปื้อนไปกับผลผลิตและน้ำดื่มจะเข้าสู่ร่างกายคนโดยการรับประทาน นอกจากนี้เชื้อยังสามารถติดต่อจากผู้ป่วยสู่คนอื่นได้โดยตรง (person to person contact)

อาการที่เกิดจากการติดเชื้อ *E. coli* มีได้ตั้งแต่ไม่แสดงอาการจนถึงอาการรุนแรง บางรายถ่ายเหลวเป็นน้ำ บางรายอาจมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน มีไข้ต่ำร่วมด้วย และอาจรุนแรงถึงขั้นมีอาการปวดบิด ถ่ายเป็นมูกเลือด และมีอาการแทรกซ้อน คือ เกิดกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตวาย ทั้งนี้อาการรุนแรงต่างๆ ขึ้นอยู่กับสภาพร่างกายของแต่ละคนที่ได้รับเชื้อ ปัจจัยในการก่อโรคและปริมาณของเชื้อที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย

การป้องกันการติดเชื้อ ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งหลังเข้าห้องน้ำ หลังสัมผัสสัตว์ ก่อนรับประทานอาหาร และก่อนปรุงอาหาร ถ่ายอุจจาระลงในห้องส้วมที่ถูกสุขลักษณะ ไม่ทิ้งอุจจาระหรือสิ่งปฏิกูลลงในแหล่งน้ำ และที่สำคัญดื่มน้ำที่สะอาดและรับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ๆ (ภิญญามนตร์, 2557)

2.6.5 *Pseudomonas aeruginosa*

รูปที่ 2.9 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* กนกพร และคณะ (2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

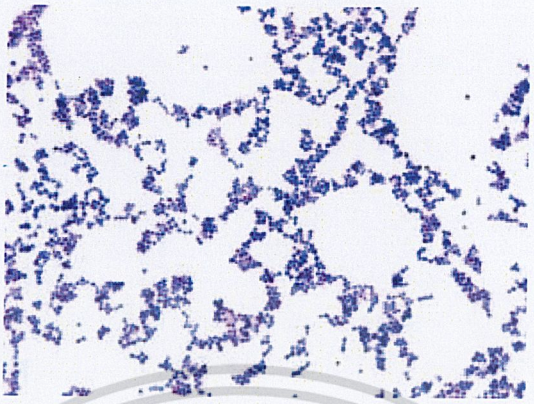
เชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* มีลักษณะเป็น รูปท่อนตรง หรือโค้งเล็กน้อย (ไม่มีลักษณะเป็นเกลียว) มีขนาด 0.5 – 1.0 x 1.5 – 5.0 ไมโครเมตร ติดสีแกรมลบ (gram negative bacilli) ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่ปลายเซลล์ (polar flagella) ซึ่งมีอย่างน้อยที่สุด 1 เส้น บางสายพันธุ์เคลื่อนที่โดยอาศัยแฟลกเจลลาด้านข้าง (lateral flagella) ไม่สร้างสปอร์ (non – spore forming) มีค่าโมลเปอร์เซ็นต์ G + C ของ DNA เท่ากับ 58 ถึง 68 เป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นทั้งแหล่งพลังงานและแหล่งของอิเลคตรอน (chemoorganotrophs) สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ ไม่ไวต่อยาปฏิชีวนะเพนนิซิลลิน (penicillin sensitivity) ต้องการอากาศ (strictly aerobes) ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอนตัวสุดท้าย (terminal electron acceptor) ในกระบวนการเมตาบอลิซึม สร้างพลังงานแบบออกซิเดทีฟ ฟอสโฟไรเลชัน (oxidative phosphorylation) จึงให้ผลบวกกับการทดสอบเอนไซม์ไซโตโครม ออกซิเดส (cytochrome oxidase test) และในสภาวะที่ไม่มีอากาศจะไม่หมัก (fermentation) น้ำตาลกลูโคส ดังนั้นเมื่อทดสอบการหมักน้ำตาลกลูโคสแบบออกซิเดทีฟ หรือเฟอร์เมนท์เตตีฟ (oxidative-fermentative test หรือ O-F test) จึงให้ผลเป็นแบบออกซิเดทีฟ (oxidative) แบคทีเรียกลุ่มอื่นที่เป็นแกรมลบไม่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคส กนกพร และคณะ (2559)

2.6.5.1 การดื้อยาของแบคทีเรีย *P. aeruginosa*

เชื้อ *P.aeruginosa* มีกลไกการดื้อต่อสารต้านจุลชีพหลายกลไก ได้แก่ การมี surface slime ที่เชื้อสร้างขึ้นเป็นด่านป้องกันการซึมผ่านของสารต้านจุลชีพเข้าสู่เซลล์ และป้องกันการถูกกลืนกินโดยเม็ดเลือดขาว การมีพลาสมิดที่มียีนควบคุมการดื้อยาหรือการกลายพันธุ์ทำให้ผนังเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงจนทำให้ยาบางชนิดผ่านเข้าสู่เซลล์ไม่ได้ และรวมถึงการสร้างเอนไซม์ทำลายสารต้านจุลชีพทำให้เชื้อดื้อต่อยาเพนิซิลลิน (penicillins) แอมพิซิลลิน (ampicillin) เซฟาโลทิน (cephalosporin) เตตราไซคลีน (tetracycline) คลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol) ซัลโฟนาไมด์ (Sulfonamides) และยากลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์รุ่นแรก ได้แก่ สเตรปโทไมซิน คานาไมซิน เชื้อจะไวต่อกลุ่มบีต้า-แลคแทมที่ผลิตออกมาต้านเชื้อโดยตรง (antipseudomonal beta-lactam) ได้แก่ พิเพอราซิลลิน (piperacillin) มีโซซิลลิน (mesocillin) และไทคาร์ซิลลิน (ticarcillin) เซฟาโลสปอ-รินส์ รุ่นที่ 3 และ 4 ได้แก่ เซฟทาซิดิม (ceftazidime) เซฟาเพอราโซน (cefoperazone) เซฟีพิม (cefepime) กลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ ได้แก่ เจนทาไมซิน โทบราไมซิน อะมิคาซิน และเนทิลไมซินรวมถึง อิมิพีเนม (aztreonam) และกลุ่มควิโนโลน ในการรักษาบางครั้งอาจใช้ยาร่วมกัน 2 กลุ่มเพื่อป้องกันการดื้อยา (พินิจ, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.6 *Staphylococcus aureus*



รูปที่ 2.10 เชื้อ *Staphylococcus aureus* อิสรา และคณะ (2548)

เชื้อสกุล *Staphylococcus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลมมีการเรียงตัวเป็นกลุ่ม (Grampositive cocci in cluster) คล้ายพวงองุ่น (grape-like cluster) จัดอยู่ในวงศ์ Staphylococcaceae ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ เซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ไมโครเมตร มีค่าโมลเปอร์เซ็นต์ G + C ของ DNA เท่ากับ 30 ถึง 39 ให้ผลบวกต่อการทดสอบคาทาเลส เชื้อในสกุลนี้มีมากกว่า 40 สปีชีส์ ส่วนใหญ่เป็น facultative anaerobes เชื้อ *S. aureus* เป็นกลุ่ม coagulase-positive Staphylococci แยกได้จากคน และสัตว์ เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์มากที่สุดในสกุลนี้ โดยจะพบที่บริเวณผิวหนัง (skin flora) และในรูจมูก (nasal carrier) ร้อยละ 20 ถึง 40 ของคนปกติ อิสรา และคณะ (2548)

2.5.6.1 โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจาก *S. aureus*

(1) ฝี (boil, furuncle, impetigo) เกิดการติดเชื้อที่บริเวณรูขน (hair follicle) ทำให้มีอาการอักเสบ บวมแดง และเป็นหนอง อิสรา และคณะ (2548)

(2) ฝีฝักบัว (carbuncle) มีการติดเชื้อที่รูขน ต่อมไขมัน (sebaceous gland) ต่อมเหงื่อ (sweat gland) ทำให้เกิดการอุดตันบริเวณท่อต่อมเหงื่อ ท่อต่อมไขมัน เกิดเป็นลักษณะฝีหลายอันมารวมกัน มองดูลักษณะคล้ายฝักบัว ผู้ป่วยจะมีอาการเจ็บปวดรุนแรงกว่าฝีธรรมดา อิสรา และคณะ (2548)

(3) กุ้งยิง (Sty, Stye, Hordeolum) เป็นการติดเชื้อที่บริเวณหนังขอบตา ทำให้หนังขอบตาเกิดการอักเสบบวมแดง และมีหนอง อิสรา และคณะ (2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.7 *Candida albicans*

รูปที่ 2.11 เชื้อ *Candida albicans* (สุรชัย, 2557)

Candida เป็นราประเภทยีสต์ที่แตกต่างจากยีสต์โดยทั่วไป คือ มีความสามารถสร้างเส้นใย (hypae) และเส้นใยเทียม (pseudohypae) บางครั้งอาจเรียกว่า yeast-like fungi ไม่เหมือนกับรากลุ่ม dimorphic fungi ซึ่งมีเพียงสองรูปร่าง และการเป็นรูปร่างแบบสายหรือแบบยีสต์นั้นจะต้องมีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เช่น อุณหภูมิ ส่วนรา *Candida* นั้นสามารถมีได้หลายรูปร่างไม่ขึ้นกับอุณหภูมิ (ภิญญามนตร์, 2557)

C. albicans เป็นยีสต์ที่มีรูปร่างทั้งแบบวงรี (oval shape) และทรงไข่ (ellipsoidal shape) ที่ไม่มีแคปซูลหุ้ม เพิ่มจำนวนด้วยการแตกหน่อ (budding) สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 25 ถึง 37 องศาเซลเซียส บริเวณที่พบเชื้อนี้สามารถพบได้ทั้งบริเวณผิวหนัง เยื่อบุเมือก โดยเฉพาะเยื่อ เมือกในทางเดินอาหาร รวมถึงบริเวณของอวัยวะสืบพันธุ์ *Candida* เป็นเชื้อยีสต์ฉวยโอกาสก่อโรคในบางสายพันธุ์ โดยเฉพาะ *C. albicans* ในสภาวะที่ร่างกายแข็งแรง สามารถพบเชื้อกลุ่มนี้ได้บริเวณ หู ตา ระบบทางเดินอาหาร อวัยวะสืบพันธุ์ ผิวหนัง และช่องคลอด เป็นต้น ซึ่งพบว่าเชื้อกลุ่มนี้ได้ถูกจัดเป็นเชื้อประจำถิ่นที่มีความสำคัญต่อร่างกายของคนเรา แต่เมื่อร่างกายอ่อนแอลง ซึ่งทำให้เกิดสภาวะที่ไม่สมดุลของเชื้อประจำถิ่น จะทำให้ *C. albicans* เกิดการเพิ่มจำนวนขึ้นมากกว่าปกติทำให้เกิดการติดเชื้อ หรือ Candidiasis หรือโรคติดเชื้อแคนดิดา ส่วนใหญ่จะพบกับเนื้อเยื่อเมือกของร่างกาย อาการที่ พบเห็นได้บ่อย คือ เกิดฝ้าขาวๆ ในช่องปากและลำคอ ช่องคลอด ผิวหนัง และขาหนีบ ซึ่งพบว่า *C. albicans* เป็นกลุ่มเชื้อที่พบบ่อยเมื่อเกิด Candidiasis ตัวอย่างของโรคที่เกิดจากเชื้อ *C. albicans* เช่น การติดเชื้อราในปาก โรคเชื้อราที่ช่องคลอด โรคเชื้อราในหลอดอาหาร การติดเชื้อบริเวณอวัยวะเพศ รอบๆทวารหนัก และขาหนีบ (สุรชัย, 2557)

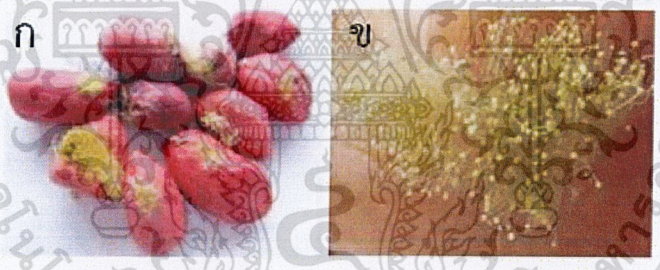
2.6.8 *Aspergillus flavus*

เชื้อรา *A. flavus* เป็นเชื้อราในกลุ่ม yellow-green aspergilli เชื้อรา *A. flavus* group ซึ่งจัดอยู่ใน sub-division Deuteromycotina class Hypomycetes เมื่อเลี้ยงบนอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงเชื้อ Czapek's solution agar จะเจริญได้อย่างรวดเร็ว โคโลนีมีสีเขียวแกมเหลือง เชื้อจะสร้าง conidial-head จำนวนมาก มีรูปร่างเป็นก้อนกลม (globose) หรือค่อนข้างกลม(subglobose) หรือเป็นรูปไข่ ส่วนใหญ่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 300 ถึง 400 ไมครอน conidiophore เป็นก้านยาวไม่แตกกิ่งก้าน ไม่มีสี ผนังหนา ผิวขรุขระ ตามปกติยาวน้อยกว่า 1.0 มิลลิเมตร ส่วนใหญ่ยาวประมาณ 700 ถึง 800 ไมครอน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ถึง 25 ไมครอน ผนังหนา 1.0 ไมครอน ซึ่งจะเจริญมาจากส่วนของ foot cell ซึ่งมี ผนังหนา ไม่มีสี ส่วนปลายของ conidiophore โป่งออกเป็น vesicle รูปร่าง globose หรือ subglobose ส่วนใหญ่จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 ถึง 45 ไมครอน บริเวณ vesicle นี้ เป็นที่เกิดของ sterigma มีทั้งแบบชั้นเดียว (uniseriate) และแบบสองชั้น (biseriate) ที่ปลาย sterigma จะทำให้เกิดสปอร์โดยเกิดติดต่อเป็นลูกโซ่ conidium มีรูปร่างกลม ผนังขรุขระ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 ถึง 4.5 ไมครอน (อาภากร, 2554)

A. flavus เป็นเชื้อราที่สร้างสารอะฟลาทอกซิน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งตับทั้งในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เชื้อรา *A. flavus* สามารถเจริญได้บนผลิตผลทางการเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวหลายชนิด พบมากในเมล็ดธัญพืช และพืชน้ำมันชนิดต่างๆ ที่มีองค์ประกอบของแป้ง และโปรตีนสูง เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว ข้าวสาลี ถั่วลิสง พริก มะพร้าว เครื่องเทศ และสมุนไพร (อาภากร, 2554)

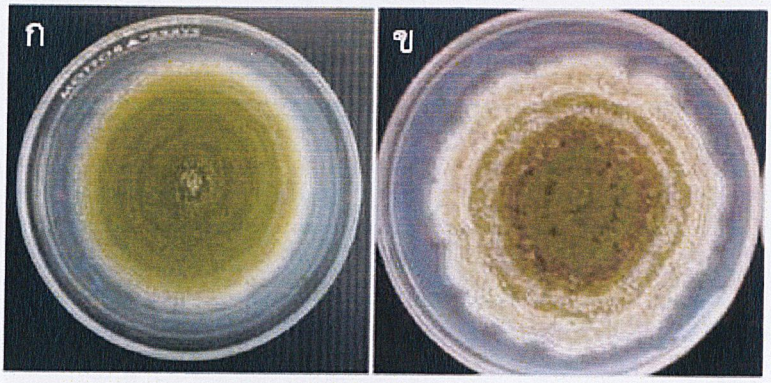


รูปที่ 2.12 (ก) ลักษณะของเชื้อรา *A. flavus* ที่เจริญบนเมล็ดถั่วลิสง
(ข) ลักษณะของเชื้อรา *A. flavus* ภายใต้แว่นขยาย (อาภากร, 2554)

2.6.8.1 สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *A. flavus*

ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *A. flavus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) มีสีเขียว หรือเขียวอมเหลือง เส้นใยละเอียดสีขาว บางครั้งพบว่าเชื้อราสามารถสร้างเม็ดสเคลอโรเตียม (sclerotium) สีน้ำตาลบริเวณขอบของโคโลนี เชื้อรา *A. flavus* เป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารอะฟลาทอกซินสูง จะมีจำนวนเม็ดสเคอโรเตียมจำนวนมาก (อาภากร, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 โคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus flavus* บนอาหาร PDA (อาภากร, 2554
ก) การเจริญของ *A. flavus* ที่ไม่สร้างเม็ดสเคลอโรเตียม (sclerotium)
ข) การเจริญของ *A. flavus* สร้างเม็ดสเคลอโรเตียม

A. flavus เป็นเชื้อราที่มีเส้นใยเจริญแผ่บางๆ สร้างโคนิเดียลเฮด (conidial head) เป็นช่อคล้ายดอกกระถิน มีสีเขียวอมเหลือง เมื่ออายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมน้ำตาล และแตกออกเป็นท่อนหลวมๆ เส้นใยปกติ หรือเส้นใยพิเศษที่เรียกโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) ผนังหนาและมีหนาม เวสซิเคิลรูปร่างค่อนข้างกลม ไฟอะลายด์ (Phialide) เกิดโดยตรงบนเวสซิเคิล หรือบนเมตูเล (metulae) โคนิเดียรูปร่างทรงกลมถึงรูปไข่ ผิวไม่เรียบ โคนิเดียต่อกันเป็นสายยาว (อาภากร, 2554)

รูปที่ 2.14 เชื้อรา *A. flavus* (อาภากร, 2554)
ก) โครงสร้างของเชื้อรา *A. flavus* ข) และ ค) ลักษณะโคนิเดียลเฮด (conidial head) และ โคนิเดีย (conidia)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 อะฟลาทอกซิน

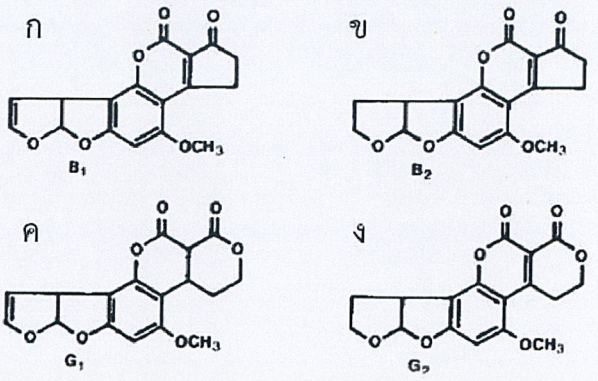
อะฟลาทอกซินคือสารพิษที่สร้างจากเชื้อรา สายพันธุ์ *A. flavus A. parasiticus A. nomius A. tamarii* และ *A. bombycis* ในปี ค.ศ. 1962 มีการประชุม กลุ่มงานวิจัยการเกิดพิษในถั่วลิสงจึงได้ร่วมกันพิจารณาตั้งชื่อสารพิษจากเชื้อราเหล่านี้ว่า "อะ-ฟลา-ทอกซิน (A-fla-toxin)" โดยพิจารณาคำว่า "อะ (A)" มาจาก "แอสเปอร์จิลลัส (*Aspergillus*)" และคำว่า "ฟลา (fla)" มาจาก "ฟลาวัส (*flavus*)" สารนี้จัดเป็น "สารพิษหรือทอกซิน (toxin)" จึงนำมาเรียกรวมกันว่า "อะฟลาทอกซิน (Aflatoxin)" อะฟลาทอกซินจัดเป็นสารพิษ secondary metabolite เป็นสารก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็ง เป็นพิษต่อตับ ทำให้เกิดตับอักเสบ ตับแข็ง เนื้องอกในตับและมะเร็งที่ตับ มีพิษต่อคนและสัตว์โดยความเป็นพิษมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับปริมาณของสารพิษที่ได้รับ ความถี่ของการได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย อายุ เพศ ชนิดของพันธุ์สัตว์และสภาวะของการทำงานของเอนไซม์ตับ ผลความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินภายในร่างกายและอวัยวะบางแห่งเป็นตำแหน่งที่จำเพาะต่อความเป็นพิษ โดยเฉพาะที่ตับ รองลงมาคือ ท่อน้ำดีและไต ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

การศึกษาในคนเริ่มเมื่อปี พ.ศ.2506 โดยเรียกอาการป่วยของเด็กที่ไม่ทราบสาเหตุว่า "Reye's Symdrome" ซึ่งมีอาการคล้ายอาการที่เกิดจากพิษของอะฟลาทอกซิน คือ ผู้ป่วยมีอาการไข้ หมดสติ ชัก หายใจลำบาก ตรวจพบน้ำตาลในเลือดต่ำ น้ำไขสันหลังใสและปราศจากเชื้อ มีการเสื่อมสลายของไขมันที่ตับ หัวใจ และสมองบวมน้ำ ซึ่งต่อมาภายหลังพบว่ามีสาเหตุเนื่องจากได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินปนอยู่ ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.7.1 ชนิดของอะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินมีลักษณะเป็นกลุ่มของสารประกอบ บิสฟูราโนคูมาริน (bisfuranocoumarin) ที่พบมี 17 ชนิดด้วยกัน คือ B_1 B_2 G_1 G_2 B_{2a} G_{2a} M_1 M_2 M_4 GM_1 GM_2 M_{2a} GM_{2a} B_3 P_1 Q_1 และ R_0 อย่างไรก็ตามชนิดที่มีความสำคัญและพบมากที่สุดคือ ชนิด B_1 มีคุณสมบัติละลายได้ในเมทานอลและคลอโรฟอร์ม ทนต่อความร้อนสูงมาก ไม่ถูกทำลายหรือเสื่อมสลายที่อุณหภูมิต่ำกว่า 260 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปอะฟลาทอกซินที่พบในอาหารมี 4 ชนิดได้แก่ B_1, B_2, G_1 และ G_2 นอกจากนี้ยังพบอะฟลาทอกซินอีกหลายชนิด เช่น M_1 (milk toxin), M_2 และ P เป็นต้น อะฟลาทอกซิน M_1 ที่พบในนมวัว เกิดจากวัวบริโภคอาหารสัตว์ที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B_1 มีการรายงานว่าวัวที่บริโภคอาหารสัตว์ที่มีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน B_1 จะตรวจพบอะฟลาทอกซิน M_1 สูงกว่า 0.1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่อะฟลาทอกซิน B (AFB) เป็น Bisfurano – isocumarin เชื่อมกับ Cyclopentanone ring ส่วนอะฟลาทอกซินชนิด G (AFG) เป็น Bisfurano – isocumarin เชื่อมกับ Lactone ring นอกจากนี้แล้วการที่อะฟลาทอกซินมีสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน ยังสามารถแบ่งอะฟลาทอกซินออกตามคุณสมบัติการเรืองแสง คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.15 โครงสร้างของอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด (จีรพา, 2557)

ก) โครงสร้างอะฟลาทอกซิน B1 (AFB1) ข) โครงสร้างอะฟลาทอกซิน B2 (AFB2)

ค) โครงสร้างอะฟลาทอกซิน G1 (AFG1) ง) โครงสร้าง อะฟลาทอกซิน G2 (AFG2)

2.6.1.1 อะฟลาทอกซิน B_1 (AFB_1) สามารถเรืองแสงสีน้ำเงิน (blue fluorescent) ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.6.1.2 อะฟลาทอกซิน B_2 (AFB_2) เป็น derivative ของ AFB_1 ต่างกันที่วงแหวนวงที่ 1 ของ AFB_1 จะมีพันธะคู่ สามารถเรืองแสงสีน้ำเงิน (ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.6.1.3 อะฟลาทอกซิน G_1 (AFG_1) สามารถเรืองแสงสีเขียวแกมเหลือง (yellowish-green fluorescent) ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.6.1.4 อะฟลาทอกซิน G2 (AFG2) ต่างกับ AFG1 ตรงที่วงแหวนวงที่ 1 ของ AFG1 มีพันธะคู่ ชื่อ ชนิดของอะฟลาทอกซินตั้งขึ้นตามคุณสมบัติการเรืองแสงบนแผ่นโครมาโตรกราฟีผิวบาง (Thin-layer chromatographic plate) ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 365 ถึง 366 นาโนเมตร โดยอะฟลาทอกซิน B1 และ B2 เรืองแสงสีน้ำเงิน (Blue) และอะฟลาทอกซิน G1 และ G2 เรืองแสงสีเขียว ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.7.2 ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซิน

2.7.2.1 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราอยู่ในช่วง 27 ถึง 43 องศาเซลเซียส แต่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ 30 องศาเซลเซียส สารพิษจะถูกสร้างได้ดีที่อุณหภูมิ 12 ถึง 27 องศาเซลเซียส ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.7.2.2 ความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราอยู่ในช่วง 62 ถึง 99 แต่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือร้อยละ 85 และความชื้นในวัตถุดิบอยู่ในช่วงร้อยละ 13 ถึง 20 แต่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือร้อยละ 18 ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.7.2.3 ออกซิเจน เชื้อราสามารถดึงออกซิเจนไปใช้เพื่อการเจริญในเมล็ดพืชได้ในช่วงเวลาหนึ่ง การควบคุมออกซิเจนและการทำให้อุณหภูมิขึ้นสูง เป็นผลให้เชื้อราเจริญไม่ได้ ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างอะฟลาทอกซิน

การสร้างอะฟลาทอกซิน ต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ดังนี้

2.6.3.1 ชนิดของเชื้อรา

เชื้อราสายพันธุ์ของ *Aspergillus* สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ตามธรรมชาติ สายพันธุ์ที่สำคัญ *A. flavus A. parasiticus A. nomius A. tamarii* และ *A. bombycis* มีการรวบรวมรายงานจากหลายประเทศ พบว่า *A. flavus* จากประเทศต่างๆสามารถสร้างสารอะฟลาทอกซินได้แตกต่างกัน โดยประเทศอังกฤษสร้างได้ร้อยละ 75 ในถั่วลิสง และอาหารสังเคราะห์ ประเทศอัฟริกาสร้างได้ร้อยละ 52 ในข้าวโพด ประเทศอินเดียสร้างได้ร้อยละ 6 ในถั่วลิสง ประเทศอิสราเอลสร้างได้ร้อยละ 71 ในถั่วลิสง ประเทศเนเธอร์แลนสร้างได้ร้อยละ 40 ในอาหารสังเคราะห์ และประเทศสหรัฐอเมริกาสร้างได้ร้อยละ 86 ในถั่วลิสง ข้าว และอาหารสังเคราะห์ สำหรับประเทศไทยสร้างได้ร้อยละ 80 ในถั่วลิสง ข้าวโพด และข้าวชนิดต่างๆ ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.6.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อรา

เชื้อราสามารถเจริญเติบโตบนอาหารเมล็ดพืชต่างๆและ สามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้ปริมาณที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับธาตุอาหารที่มีอยู่ในอาหารหรือเมล็ดพืชชนิดต่างๆ ดังนี้คือ

(1) ธาตุอาหารคาร์บอน ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น กลูโคส ซูโครส ฟรักโทส ไซโลส ไรโบส และมอลโทส เป็นต้น ซึ่งซูโครสทำให้เชื้อสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีที่สุด

(2) ธาตุอาหารไนโตรเจน ได้แก่เกลือแอมโมเนียชนิดต่างๆ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต ทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีมากกว่าเกลือแอมโมเนียมชนิดอื่นๆ

(3) ธาตุอาหารเกลือแร่ต่างๆ ได้แก่ สังกะสีไอออนที่มีในอาหารหรือจับตัวกับสารอื่นๆ ถ้ามีน้อยทำให้เชื้อราสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อย เช่น ถั่วเหลืองมีปริมาณกรดไฟติก (phytic acid) มาก และจับตัวกับสังกะสีไอออนได้มาก จึงมีสังกะสีไอออนเหลือบนเมล็ดถั่วเหลืองน้อย ทำให้เชื้อสร้างสารอะฟลาทอกซินได้น้อยกว่าถั่วชนิดอื่นๆ

(4) การเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารที่มีโมเลกุลใหญ่ให้เป็นธาตุคาร์บอนและออกซิเจน ได้แก่ กรดแอซิติก กรดแอมิโนเมไทโอนิน เป็นต้น เช่นธาตุอาหารที่มีโมเลกุลใหญ่เปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดแอซีติก และใช้เป็นสารเริ่มต้นที่จะให้ธาตุคาร์บอน และธาตุออกซิเจนในโมเลกุลของอะฟลาทอกซินเป็นส่วนใหญ่ ส่วนกรดแอมิโนไทโอนินจะให้ธาตุคาร์บอนของกลุ่มเมทิลในกลุ่มของอะฟลาทอกซิน ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.6.3.3 ความชื้น

ความชื้นในอาหารต่ำ มีผลทำให้เชื้อสร้างอะฟลาทอกซินได้น้อย ซึ่งเชื้อรา *Aspergillus* เจริญเติบโตได้ดีที่ความชื้นประมาณร้อยละ 10 ถึง 17 นอกจากนี้ความชื้นในอากาศต่ำทำให้สร้างอะฟลาทอกซินได้น้อยเช่นกัน ซึ่งความชื้นสัมพัทธ์ ในอากาศที่ทำให้เชื้อราเหล่านี้เจริญได้ดีอยู่ที่ประมาณร้อยละ 70 ถึง 90 ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3.4 อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *A. flavus*

A. flavus เจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 36 ถึง 38 องศาเซลเซียส และเจริญได้ที่อุณหภูมิ 6 ถึง 8 องศาเซลเซียส หรือ 44 ถึง 46 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดระหว่างวันที่ 11 ถึง 13 ของการเลี้ยง เชื้อราที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุดระหว่างวันที่ 7 ถึง 9 ของการเลี้ยงเชื้อรา และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อราสามารถสร้างอะฟลาทอกซินได้สูงสุด ระหว่างวันที่ 5 ถึง 7 ของการเลี้ยง สำหรับประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตภูมิอากาศร้อนชื้นจึงมีความเหมาะสมต่อการสร้างอะฟลาทอกซินได้ดีในระหว่างวันที่ 7 ถึง 14 ของการเลี้ยงเชื้อรา ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.6.3.5 ปริมาณก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ปริมาณก๊าซออกซิเจนมากทำให้สร้างสารอะฟลาทอกซินได้มาก และในทางตรงข้ามปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์น้อยทำให้สร้างอะฟลาทอกซินได้มาก นอกจากนี้ก๊าซออกซิเจน 1 เปอร์เซ็นต์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการสร้างสปอร์ของเชื้อราได้ ประภาภรณ์ และคณะ (2547)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Singh และคณะ (2013) ได้วิจัยเกี่ยวกับการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท เพื่อใช้ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดิน การศึกษาทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น โดยสังเกตลักษณะเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) และเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) ของโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง และทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากเชื้อแอคติโนมัยสีทด้วยวิธี Agar well diffusion เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้งหมด 12 สายพันธุ์ จากเชื้อแอคติโนมัยสีททั้งหมด 31 ไอโซเลต พบว่าไอโซเลต AS14 AS27 และ AS28 มีฤทธิ์ในการยับยั้งสูง ในขณะที่ไอโซเลต AS1 มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียก่อโรคต่ำ ไอโซเลต AS7 มีฤทธิ์ต้าน *Bacillus cereus* ได้สูงสุดถึง 24 มิลลิเมตร และไอโซเลต AS16 มีฤทธิ์ต้าน *Enterococcus faecalis* ได้สูงสุด 21 มิลลิเมตร และความเข้มข้นของสารสกัดจากเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคได้ คือ ยับยั้ง *Shigella dysenteriae* Vancomycin-resistant enterococci (VRE) และ *Klebsiella-pneumoniae* 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และยับยั้ง *Staphylococcus saprophyticus Streptococcus pyogenes Staphylococcus epidermidis Bacillus cereus Staphylococcus xylosus* Methicillin-resistant-*Staphylococcus aureus* (MRSA) *Enterococcus faecalis* และ *Staphylococcus aureus* 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดหยาบจากเชื้อแอคติโนมัยสีท เชื้อแอคติโนมัยสีททุกไอโซเลตมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* และมีฤทธิ์ยับยั้ง *S. dysenteriae* ได้น้อย โดยแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์เหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียก่อโรคและสามารถนำมาใช้ในการพัฒนายาปฏิชีวนะชนิดใหม่หรือใช้ในทางการเกษตรต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Beryl และคณะ (2004) ได้วิจัยเกี่ยวกับการยับยั้งเชื้อราโดยใช้แอคติโนมัยสีทที่มีความจำเพาะ แอคติโนมัยสีทเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญซึ่งอาศัยอยู่ในดิน โดยมีหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายสารพอลิเมอร์เชิงซ้อน เช่น ลิกโนเซลลูโลส และไคติน นอกจากนี้แอคติโนมัยสีทยังมีความสามารถในการยับยั้งและต่อต้านการเจริญของเชื้อรา งานวิจัยนี้มุ่งเน้นไปที่การศึกษาแอคติโนมัยสีทที่พบได้ทั่วไปในดิน คือ *Streptomycetes* ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่อยู่ในดิน ความสามารถในการยับยั้งเชื้อราอาจเกี่ยวข้องกับการผลิตไคติเนส (chitinase) และผลของสารสกัดไคติเนสจาก *Streptomycetes* ยังแสดงให้เห็นว่าสามารถย่อยเส้นใย (hypha) ของเชื้อราก่อโรคพืชบางชนิดได้ จากการทดสอบพบว่าแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินซึ่งมีความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์มากที่สุด คือ *Streptomyces halstedii* และ *Streptomyces rochei*

Khasabuli และ Kibera (2557) ได้วิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้เก็บตัวอย่างดินครึ่งกิโลกรัมที่อยู่ใต้พื้นดิน 15 เซนติเมตร. โดยใช้อาหาร Starch Casein Agar (SCA) ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีท และได้เชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 15 ไอโซเลต ได้แก่ Is.1-Is.15 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้นั้นมีความแตกต่างกันทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยา และโครงสร้างของเส้นใย สารปฏิชีวนะจากแอคติโนมัยสีทนำมาทดสอบเพื่อหากิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้วิธีการ disk diffusion ซึ่งเชื้อที่ใช้ทดสอบคือ *Bacillus subtilis E. Coli Klebsiella pneumoniae Staphylococcus aureus Shigella sonei* และ *Salmonella typhi* จากการทดสอบพบว่าสารปฏิชีวนะที่ได้จากเชื้อแอคติโนมัยสีทมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

1. ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ (incubator) 30 และ 37 องศาเซลเซียส
2. หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
3. กล้องจุลทรรศน์
4. ตู้ปลอดเชื้อ
5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
7. ตู้อบฆ่าเชื้อ 180 องศาเซลเซียส
8. เครื่องเขย่าผสมสาร (vortex)
9. ตู้อบลมร้อน 70 และ 100 องศาเซลเซียส
10. ตู้เย็น

3.2 สารเคมี

1. สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)
2. กรดเคซามิโน (casamino acids)
3. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (NH_2HPO_4)
4. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)
5. แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)
6. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)
7. วุ้น (agar)
8. น้ำกลั่น
9. แคลเซียมซัลเฟต ($CaSO_4.2H_2O$)
10. แคลเซียมไดไนเตรด ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$)
11. ไดโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)
12. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)
13. โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ($NaHCO_3$)
14. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)
15. กลูโคส (glucose)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16. สารสกัดจากดิน (soil extract)
17. สารสกัดจากมอลต์ (malt extract)
18. ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4.7H_2O$)
19. โซเดียมเทตระบอเรต ($Na_2B_4O_7.10H_2O$)
20. ไอออนซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)
21. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)
22. โคบอลคลอไรด์ ($CoCl_2.6H_2O$)
23. คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)
24. แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2.4H_2O$)
25. โซเดียมโมลิบเดท ($Na_2MoO_4.2H_2O$)
26. ดิน (humic soil)
27. ทริปทิเคสซอย เอการ์ (trypticase soy agar)
28. โพเทโทเดกโทรส เอการ์ (Potato dextrose agar)

3.3 การแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดิน

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างดินเพื่อคัดแยกเชื้อด้วยวิธีการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (dried-heat treatment)

นำตัวอย่างมาเก็บเศษวัสดุที่ไม่ต้องการออก ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และบดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยโกร่ง อบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เจือจางตัวอย่างที่อบแล้ว 5 กรัม ในสารละลายทวีน 80 (tween 80) ความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยเครื่องผสมสาร เป็นเวลา 1 นาที และเจือจางต่อในสารละลายทวีน 80 (tween 80) ความเข้มข้น 0.01% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร และสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ให้มีความเจือจางที่ระดับ 10^{-2} ถึง 10^{-5} ดูดสารละลายที่ระดับความเจือจาง 10^{-3} และ 10^{-4} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ย (Spread plate technique) ลงบนจานอาหารสูตรดัดแปลงซอยเอ็กแทรกท์ เอการ์ (soil extract agar, modified) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ถึง 5 วัน

3.3.2 วิธีการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทออกจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น

ให้พิจารณาโคโลนีต่างๆ ด้วยสายตาก่อน โคโลนีของแบคทีเรียมีลักษณะเป็นสีครีมไม่มีเส้นใย โคโลนีของเชื้อราส่วนใหญ่จะมีลักษณะฟู เส้นใยจะแผ่กว้างออกเป็นวงและไม่อัดแน่น ส่วนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทจะมีลักษณะเป็นเส้นใยอัดกันแน่น ไม่แผ่เป็นวงกว้างมากนักเพื่อให้แน่ชัดให้ยกจานอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้นในทิศทางตามแนวการเดินทางของแสง และดูโคโลนีใต้อาหารเลี้ยงเชื้อนั้น โคโลนีของแอคติโนมัยสีทจะเห็นเป็นเส้นใยเล็กๆ ถ้ายังไม่แน่ใจอีกให้ใช้เข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (loop) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อขูดลงบนโคโลนีนั้นๆ ถ้าเป็นโคโลนีของแบคทีเรียเมื่อขูดด้วยเข็มเขี่ยเชื้อจะพบว่ามี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคโลนีติดมากับเข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (loop) และไม่มีจุดหรืออะไรติดฝังอยู่ในเนื้อวุ้น หากเป็นโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทจะยังคงเห็นจุดซึ่งจุดเล็กๆนั้นคือกลุ่มของเส้นใยอาหารฝังอยู่ใต้ผิววุ้นและมักจะไม่ติดมากับเข็มเขี่ยเชื้อ เมื่อสังเกตโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทเป็นแล้ว หากต้องการพวกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่หายากมีหลักการง่ายๆ คือให้คัดเลือกโคโลนีที่มีขนาดเล็กมากๆ หรือโคโลนีที่ไม่สร้างเส้นใยอากาศในจานอาหารแยกเชื้อนั้น ไม่แนะนำให้ดูจากโทนของสีโคโลนี เนื่องจากเชื้อ *Streptomyces* มีโทนสีที่กว้าง และหากแยกเชื้อด้วยอาหาร HV สีน้ำตาลเข้มของอาหารจะรบกวนการสังเกตสีหรือทำให้สีโคโลนีของเชื้อคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง วิธีที่ดีที่สุดสำหรับการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทให้ได้ตรงตามสกุลที่ต้องการคือ ทำการคัดเลือกเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance lens) โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อขนาดเล็ก (micro-needle) ทำการเขี่ยเชื้อ วิธีการนี้สามารถทำให้เห็นลักษณะของสปอร์ของเชื้อตามลักษณะในแต่ละสกุลได้ ทั้งนี้ยังคงต้องใช้ประสบการณ์ของผู้คัดเลือกเป็นสิ่งสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งด้วย

3.4 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.4.1 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อ

นำเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์เอ็กแทรกท์ มอลท์เอ็กแทรกท์ เอการ์ (Yeast Extract Malt Extract agar : ISP2) ด้วยวิธีการครอสสตรีก (cross streak plate) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน ตรวจผลโดยดูการเจริญ และสีของโคโลนีทั้งด้านบนและด้านล่างเทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน และส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโดยใช้เลนส์ส่องระยะไกลเพื่อดูลักษณะสัณฐานวิทยา (จิตติ, 2550)

3.4.2 การทดสอบความสามารถการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen)

นำเข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (loop) ที่เผาไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงไว้ขีดเป็นเส้นตรงบนอาหาร ISP2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน นำเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Bacillus subtilis* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *Micrococcus luteus Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus* มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อทริปทิเคส ซอย เอการ์ (Trypticase soy agar : TSA) และ *Candida albicans* เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อโปเตโต้ เดกซ์โทรส เอการ์ (Potato dextrose agar : PDA) นำ *B. subtilis* MRSA *M. luteus E. coli P. aeruginosa* และ *S. aureus* ไปบ่มที่ตู้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วน *C. albicans* นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยก่อนที่จะใช้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคมาทดสอบกับแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทต้องทำการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารใหม่ (subculture) ก่อน 1 วัน ใช้เข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (loop) ที่เผาไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคขีดลงบนจานอาหารที่เลี้ยงแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทไว้ครบ 14 วัน โดยขีดเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคเป็นเส้นตรงในแนวตั้งฉากให้ใกล้กับโคโลนีของแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทแต่ไม่ให้โดนโคโลนีของแอคติโนมัยสีท โดยขีดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเรียงกันทั้ง 7 ชนิดในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการใช้

กลุ่มแอคติโนมัยสีท 1 ชนิด นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน และบันทึกผลโดยวัดบริเวณที่แบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทสร้างสารออกมายับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (จิตติ, 2550)

3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยวิธี dual culture

นำเชื้อรา *Aspergillus flavus* มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 3 วัน นำเข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (loop) ที่เผาไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงไว้ขีดเป็นเส้นตรงบนอาหาร ISP2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ทดสอบประสิทธิภาพการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับเชื้อรา *A. flavus* ด้วยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอ-คติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ โดยใช้วิธี dual culture โดยเจาะวุ้นบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 3 วัน ด้วยหลอดที่ฆ่าเชื้อแล้วให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ย้ายมาวางบนอาหาร PDA โดยวางให้ห่างจากตำแหน่งที่จะวางเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีท 2.5 เซนติเมตร ใช้หลอดที่ฆ่าเชื้อแล้วที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เจาะแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 7 วัน วางลงบนอาหาร PDA โดยห่างจากเชื้อรา 2.5 เซนติเมตร นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ *A. flavus* โดยสังเกตุจากบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นรอบๆ เชื้อแบคทีเรียแอคติโนมัยสีทวิไลลักษณ์ และสมเกียรติ (2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการแยกและการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีท

เมื่อทำการแยกและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินในพื้นที่จังหวัดลำปาง น่าน และเพชรบุรี ที่ผ่านกระบวนการคัดแยกเชื้อด้วยวิธี Heat treatment ซึ่งสามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ได้ทำการคัดเลือกเชื้อจำนวน 50 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินจังหวัดลำปาง 16 ไอโซเลต เชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินตัวอย่างจังหวัดน่าน 24 ไอโซเลต และเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินตัวอย่างจังหวัดเพชรบุรี 10 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 รหัสเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้และแหล่งที่เก็บตัวอย่าง

สถานที่	รหัสเชื้อ
ลำปาง	LP1Or, LP2Ye, LP3Ye, LP4Ye, LP5Ye, LP6Wh, LP7Ye, LP8Br, LP11Ye, LP12Ye, LP13Ye, LP14Wh, LP15Wh, LP16Ye, LP17WY, LP18Ye
น่าน	N1Ye, N2Ye, N7Ye, N8Pi, N9WC, N10Br, N11Wh, N12Or, N13GY, N14Bl, N21Pi, N22Br, N23Cr, N29GC, N30Ye, N31OR, N34Ye, N35Ye, N37WC, N38Gr, N39Wh, N42Wh, N43WG, N44Cr
เพชรบุรี	PBR1Wh, PBR2Or, PBR3Re, PBR5Ye, PBR6Cr, PBR9BY, PBR11YC, PBR13Ye, PBR14Cr, PBR15Ye

หมายเหตุ LP คือ จังหวัดลำปาง N คือ จังหวัดน่าน และ PBR คือ จังหวัดเพชรบุรี
อักษรภาษาอังกฤษด้านหลังหมายเลข คือ สีโคโลนีของแอคติโนมัยสีท
เช่น LP1Ye คือ แอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินบริเวณพื้นที่จังหวัดลำปาง มีลักษณะโคโลนีเป็นสีเหลือง

4.2 การตรวจสอบสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อ

นำเชื้อแอคติโนมัยสีท 50 ไอโซเลต มาเลี้ยงบนอาหาร yeast extract – malt extract agar (ISP2) เพื่อตรวจสอบการเจริญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ โดยสังเกตลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า) หลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเป็นเวลา 14 วัน เพื่อตรวจสอบการเจริญ สีของเส้นใยอากาศ สีของเส้นใยอาหาร ลักษณะสปอร์ และสีของรงควัตถุของเชื้อ แสดงผลดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน

เชื้อ	การเจริญ	สีเส้นใยอากาศ	สีเส้นใยอาหาร	สีรงควัตถุ	ลักษณะสปอร์
LP1Or	ดี	Grayish Reddish Brown, 9.0r 3.4 2.4	Moderate Brown, 5.6yr 3.5 3.9	-	เกลียวยาว
LP2Ye	ปานกลาง	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	Olive Gray, 8.1y 3.5 0.9	-	เกลียวยาว
LP3Ye	ดี	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	Vivid Yellow, 3.3y 8.0 14.3	-	สายสั้น
LP4Ye	ดีมาก	Bluish Gray, 8.9b 5.5 0.9	Strong Yellowish Brown, 8.8yr 4.6 8.5	-	เกลียวยาว
LP5Ye	ดีมาก	Yellowish Gray, 3.8y 7.4 1.4	Light Olive Brown, 2.1y 4.9 7.9	-	เกลียวยาว
LP6Wh	ดี	Light Greenish Gray, 3.0g 7.5 0.9	Greenish Gray, 7.5g 5.5 1.0	-	เกลียวยาว
LP7Ye	ดีมาก	Grayish Yellowish Brown, 9.5yr 4.6 2.1	Deep Brown, 5.6yr 2.4 5.2	Deep Yellowish Brown, 8.8yr 3.1 5.0	เกลียวยาว
LP8Br	ดี	Medium Gray, 3.3gy 5.4 0.1	Deep Orange, 4.1yr 5.1 11.3	-	เกลียวยาว
LP11Ye	ดีมาก	Grayish Yellowish Brown, 9.5yr 4.6 2.1	Strong Yellowish Brown, 8.8yr 4.6 8.5	-	ขดคล้ายก้นหอย
LP12Ye	ดีมาก	Light Grayish Yellowish Brown, 9.7yr 6.4 2.5	Deep Orange Yellow, 8.6yr 6.0 12.1	-	เกลียวยาว
LP13Ye	ดีมาก	Light Grayish Yellowish Brown, 9.7yr 6.4 2.5	Deep Orange Yellow, 8.6yr 6.0 12.1	-	ขดคล้ายก้นหอย
LP14Wh	ดีมาก	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	Pale Yellow, 4.7y 9.0 3.8	Strong Brown, 4.6yr 3.5 7.6	สายยาว
LP15Wh	ดีมาก	Olive Gray, 8.1y 3.5 0.9	Deep Greenish Yellow, 9.2y 5.9 9.2	-	เกลียวยาว
LP16Ye	ดีมาก	Light Grayish Yellowish Brown, 9.7yr 6.4 2.5	Strong Orange Yellow, 9.1yr 7.1 11.6	-	เกลียวสั้น

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน

เชื้อ	การเจริญ	สีเส้นใยอากาศ	สีเส้นใยอาหาร	สีรงควัตถุ	ลักษณะสปอร์
LP17WY	ดีมาก	Light Orange, 4.8yr 7.8 7.2	Deep Orange Yellow, 8.6yr 6.0 12.1	Vivid Orange Yellow, 8.6yr 7.3 15.2	สายยาว
LP18Ye	ดีมาก	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	Deep Orange Yellow, 8.6yr 6.0 12.1	Strong Orange Yellow, 9.1yr 7.1 11.6	ขดคล้ายก้นหอย
N1Ye	ดี	Pinkish White, 5.8r 9.0 0.8	Pale Yellow, 4.7y 9.0 3.8	-	ตะขอ
N2Ye	ดี	Light Greenish Gray, 3.0g 7.5 0.9	Pale Yellow, 4.7y 9.0 3.8	-	ตะขอ
N7Ye	ดี	Light Gray, 6.7y 7.4 0.2	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	-	ตะขอ
N8Pi	ดี	Pinkish White, 5.8r 9.0 0.8	Pale Yellowish Pink, 4.2yr 8.6 2.2	-	สายยาว
N9WC	ค่อนข้างช้า	White, 2.5pb 9.5 0.2	White, 2.5pb 9.5 0.2	Pale Orange Yellow, 9.2yr 8.7 4.4	สายยาว
N10Br	ดี	Purplish White, 2.5rp 9.0 0.8	Strong Orange Yellow, 9.1yr 7.1 11.6	Brilliant Yellow, 4.4y 8.7 8.9	เกลียวสั้น
N11Wh	ดี	Medium Gray, 3.3gy 5.4 0.1	Light Gray, 6.7y 7.4 0.2	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	ตะขอ
N12Or	ค่อนข้างช้า	-	Brilliant Orange, 4.0yr 9.0 12.0	Light Orange Yellow, 9.4yr 8.3 6.8	สายสั้นแตกแขนง
N13GY	ดีมาก	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	Reddish Gray, 7.0r 5.4 1.3	Dark Brown, 5.3yr 1.6 3.4	สายยาว
N14Bl	ดีมาก	Dark Gray, 2.5pb 3.5 0.0	Medium Gray, 3.3gy 5.4 0.1	Dark Gray, 2.5pb 3.5 0.0	สายสั้นแตกแขนง
N21Pi	ดีมาก	Moderate Pink, 2.8r 7.2 5.3	Pale Blue, 0.6pb 6.5 2.6	Dark Brown, 5.3yr 1.6 3.4	สายยาว
N22Br	ดีมาก	Medium Gray, 3.3gy 5.4 0.1	Olive Gray, 8.1y 3.5 0.9	-	เกลียวสั้น
N23Cr	ดี	Pale blue, 0.6pb 6.5 2.6	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	Dark Brown, 5.3yr 1.6 3.4	เกลียวสั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน

เชื้อ	การเจริญ	สีเส้นใยอากาศ	สีเส้นใยอาหาร	สีรงควัตถุ	ลักษณะสปอร์
N29GC	ค่อนข้างช้า	-	Medium Gray, 3.3gy 5.4 0.1	Dark Brown, 5.3yr 1.6 3.4	เกลียวสั้น
N30Ye	ค่อนข้างช้า	-	Moderate orange yellow, 8.7yr 7.2 8.3	-	เกลียวยาว
N31OR	ดี	Medium Gray, 3.3gy 5.4 0.1	Moderate orange yellow, 8.7yr 7.2 8.3	Dark Brown, 5.3yr 1.6 3.4	สายยาว
N34Ye	ดี	Pale blue, 0.6pb 6.5 2.6	Purplish White, 2.5rp 9.0 0.8	-	สายเดี่ยวสั้น
N35Ye	ค่อนข้างช้า	-	Light Yellow, 4.3y 8.8 6.8	-	สายเดี่ยวแบบยาว
N37WC	ดีมาก	Light Grayish Yellowish Brown, 9.7yr 6.4 2.5	Dark Brown, 5.3yr 1.6 3.4	-	อยู่ในถุงหุ้มสปอร์แบบทรงกลม
N38Gr	ดีมาก	Pinkish White, 5.8r 9.0 0.8	Light brown, 5.4yr 5.4 4.8	Dark Brown, 5.3yr 1.6 3.4	สายหมุนเป็นเกลียว
N39Wh	ดีมาก	Light Gray, 6.7y 7.4 0.2	Dark Brown, 5.3yr 1.6 3.4	-	ขดคล้ายก้นหอย
N42Wh	ดี	-	reddish black, 2.0r 0.9 0.9	light brown, 5.4yr 5.4 4.8	ขดคล้ายก้นหอย
N43WG	ดี	-	Olive Black, 9.0y 1.1 0.9	-	อยู่ในถุงหุ้มสปอร์
N44Cr	ดีมาก	Bluish Gray, 8.9b 5.5 0.9	Bluish White, 9.2b 9.1 1.2	light brown, 5.4yr 5.4 4.8	สายยาว
PBR1Wh	ดี	Bluish White, 9.2b 9.1 1.2	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	-	เกลียวสั้น
PBR2Or	ค่อนข้างช้า	Purplish White, 2.5rp 9.0 0.8	Moderate Orange Yellow, 8.7yr 7.2 8.3	-	เกลียวยาว
PBR3Re	ค่อนข้างช้า	White, 2.5pb 9.5 0.2	moderate Brown, 5.6yr 3.5 3.9	Pale Orange Yellow, 9.2yr 8.7 4.4	เกลียวยาว
PBR5Ye	ดี	White, 2.5pb 9.5 0.2	Pale Yellow, 4.7y 9.0 3.8	-	สายยาว
PBR6Cr	ค่อนข้างช้า	White, 2.5pb 9.5 0.2	Light Gray, 6.7y 7.4 0.2	Greenish White, 10.0g 9.2 0.8	ตะขอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน

เชื้อ	การเจริญ	สีเส้นใยอากาศ	สีเส้นใยอาหาร	สีรงควัตถุ	ลักษณะสปอร์
PBR9BY	ดี	Light Gray, 6.7y 7.4 0.2	Yellowish Gray, 3.8y 7.4 1.4	-	เกลียวสั้น
PBR11Ye	ดี	White, 2.5pb 9.5 0.2	Light Bluish Gray, 8.2b 7.5 1.0	Pale Yellowish Pink, 4.2yr 8.6 2.2	สายยาว
PBR13Ye	ดี	Pinkish White, 5.8r 9.0 0.8	Strong Reddish Orange, 9.3r 5.4 12.2	Light Orange, 4.8yr 7.8 7.2	สายยาว
PBR14Cr	ค่อนข้างช้า	White, 2.5pb 9.5 0.2	Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2	-	เกลียวยาว
PBR15Ye	ดี	White, 2.5pb 9.5 0.2	Grayish Yellow, 4.4y 7.2 3.8	-	เกลียวยาว

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ

4.2.1 ผลการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

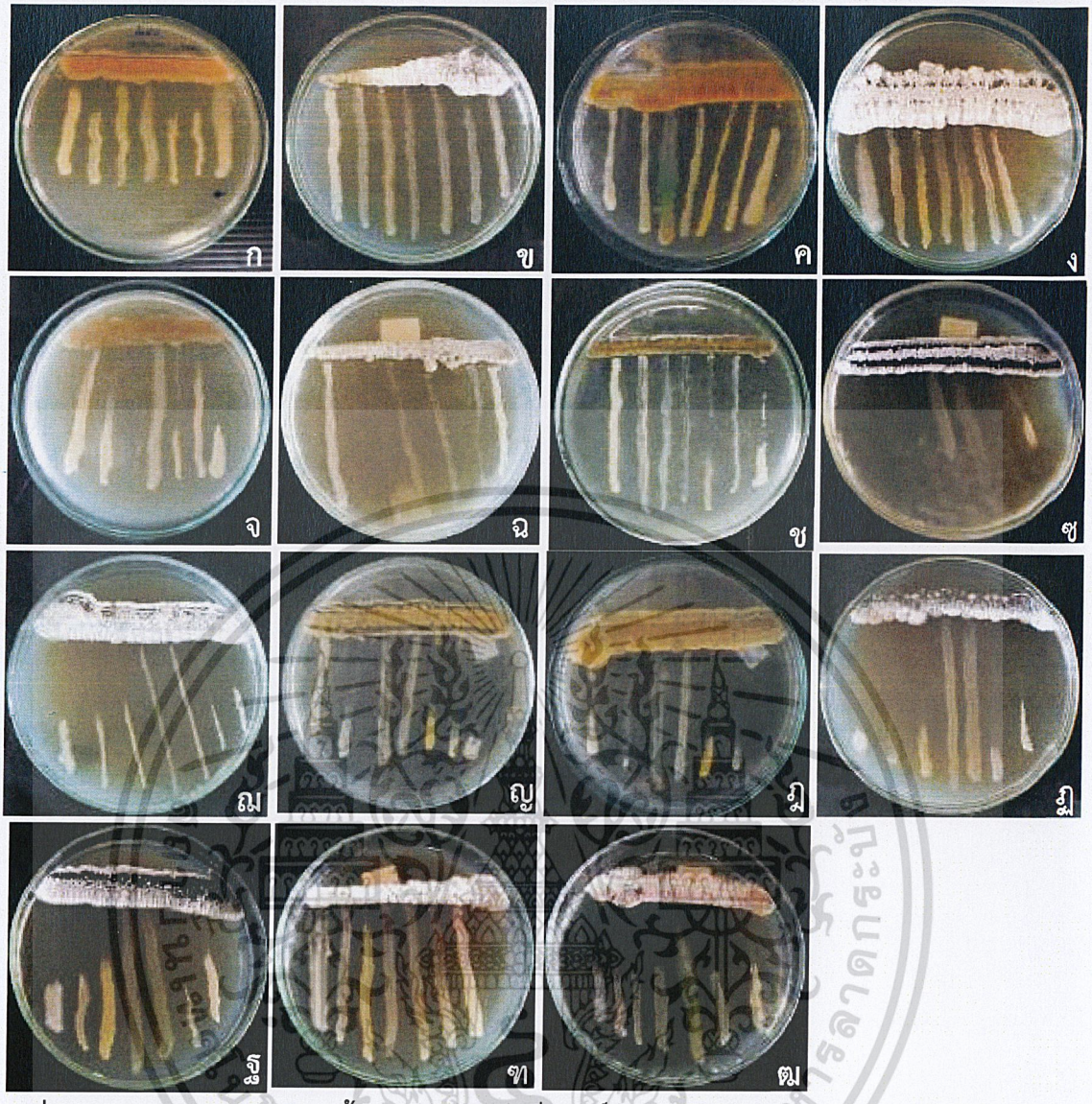
ในจำนวนเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ 34 ไอโซเลต พบว่ามีเชื้อแอคติโมนัยสีทจำนวน 15 ไอโซเลต สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้ คิดเป็นร้อยละ 44.12 ของเชื้อแอคติโนมัยสีททั้งหมด ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี แต่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้น้อย พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* จำนวน 10 ไอโซเลต สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* จำนวน 10 ไอโซเลต สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* จำนวน 13 ไอโซเลต สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* จำนวน 2 ไอโซเลต สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* จำนวน 3 ไอโซเลต สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* จำนวน 11 ไอโซเลต และสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* จำนวน 7 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้ง (มิลลิเมตร)						
	B. subtilis	MRSA	*M. luteus*	*E. coli*	*P. aeroginosa*	*S. aureus*	*C. albicans*
LP3Ye	-	11	12	-	-	11	3
LP8Br	-	-	-	-	-	5	-
LP11Ye	10	-	-	-	-	-	-
N7Ye	-	-	10	-	15	-	-
N9WC	33	12	34	-	-	20	-
N22Br	-	54	48	58	49	44	-
N29GC	31	-	39	-	-	-	-
N37WC	23	26	24	-	-	28	15
N38Gr	29	23	21	-	-	28	17
N39Wh	38	30	27	-	-	25	-
N42Wh	-	25	30	-	-	37	15
N43WG	38	36	36	-	-	42	31
N44Cr	27	25	19	-	-	28	15
PBR6Cr	4	-	8	-	-	-	-
PBR13Ye	23	27	25	25	15	26	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงผลการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค; LP3Ye (ก) LP8Br (ข) LP11Ye (ค) N7Ye (ง) N9WC (จ) N22Br (ฉ) N29GC (ช) N37WC (ซ) N38Gr (ฌ) N39Wh (ญ) N42Wh (ฎ) N43WG (ฏ) N44Cr (ฐ) PBR6Cr (ฑ) และ PBR13Ye (ฒ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลการทดสอบด้วยวิธีทดสอบประสิทธิภาพการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยวิธี dual culture

ผลการทดสอบด้วยวิธีทดสอบประสิทธิภาพการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับเชื้อรา *A. flavus* ในจำนวนเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ 34 ไอโซเลต พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 10 ไอโซเลต สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ได้ คิดเป็นร้อยละ 29.41 ของเชื้อแอคติโนมัยสีททั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* โดยวิธี dual culture

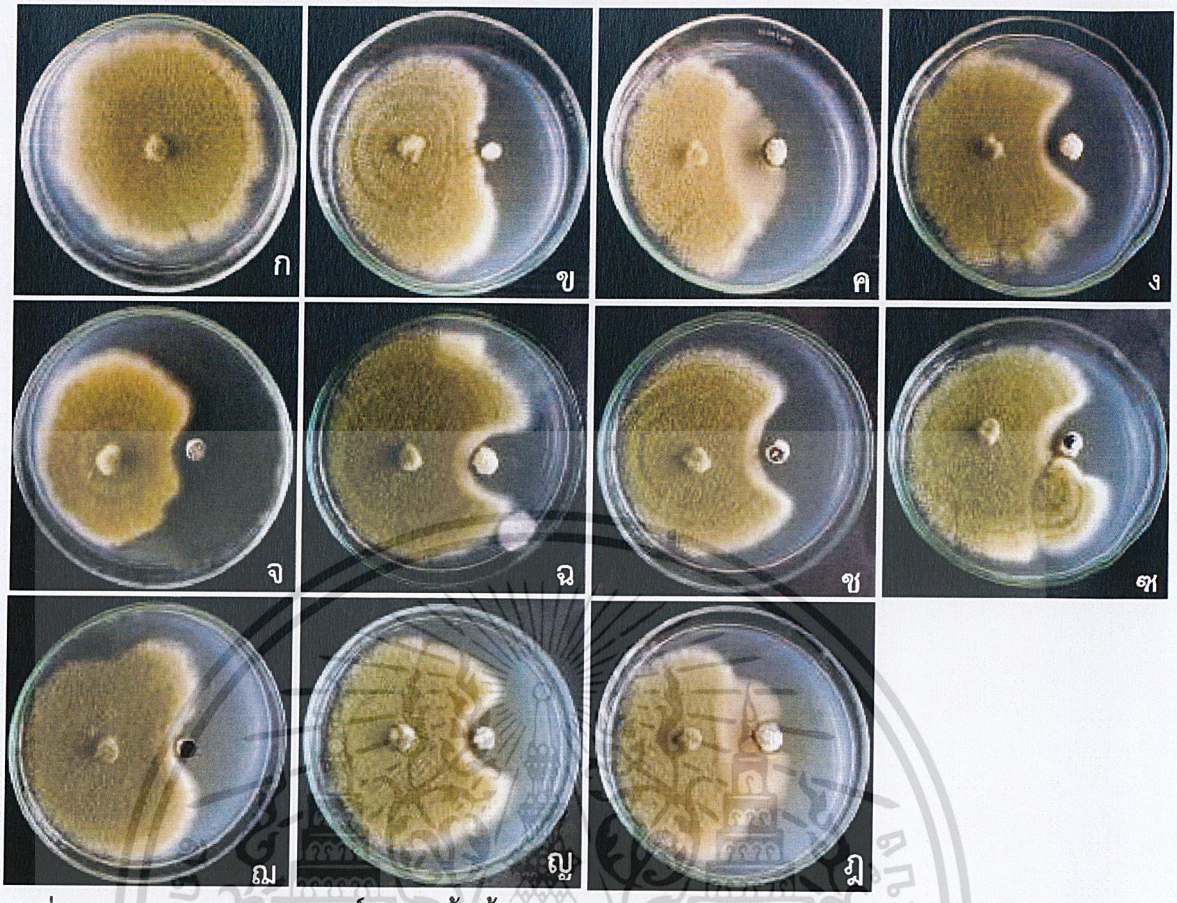
ชื่อ	ความสามารถในการยับยั้ง *A. flavus*
LP1Or	✗
LP3Ye	✗
LP4Ye	✗
LP7Ye	✗
LP8Br	✗
LP11Ye	✗
LP12Ye	✗
LP13Ye	✗
LP14Wh	✓
LP16Ye	✗
LP17WY	✗
LP18Ye	✗
N7Ye	✓
N9WC	✗
N10Br	✗
N13GY	✓
N14Bl	✗
N21Pi	✗
N22Br	✗
N23Cr	✗
N29GC	✗

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 (ต่อ) แสดงผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* โดยวิธี dual culture

ชื่อ	ความสามารถในการยับยั้ง *A. flavus*
N37WC	✓
N38Gr	✓
N39Wh	✓
N42Wh	✓
N43WG	✓
N44Cr	✓
PBR2Or	✗
PBR5Ye	✓
PBR6Cr	✗
PBR9BY	✗
PBR11YC	✗
PBR13Ye	✗
PBR14Cr	✗

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *A. flavus* โดยวิธี dual culture ; จานควบคุม (ก) LP14Wh (ข) N7Ye (ค) N13GY (ง) N37WC (จ) N38Gr (ฉ) N39Wh (ช) N42Wh (ซ) N43WG (ฌ) N44Cr (ญ) และ PBR5Ye (ฎ)

เชื้อแอคติโนมัยสีททั้งหมดจำนวน 50 ไอโซเลต แยกได้จากตัวอย่างดินที่เก็บจากบริเวณพื้นที่จังหวัดลำปาง จังหวัดน่าน และจังหวัดเพชรบุรี เมื่อพิจารณาการแยกเชื้อด้วยวิธีการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (dried-heat treatment) พบว่าเชื้อที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายเชื้อในสกุล *Actinomadura Actinoplanes Nocardia Streptomyces* และ *Streptosporagium*

เชื้อแอคติโนแบคทีเรียจำนวนทั้งหมด 50 ไอโซเลต มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน ซึ่งมีลักษณะสัณฐานวิทยาดังนี้ ทุกไอโซเลตของเชื้อแอคติโนมัยสีทมีลักษณะของการสร้างสปอร์เป็นแบบ conidia คือ จะสร้าง conidia ต่อกันเป็นเส้นสาย เส้นสายบริเวณปลายสายขดคล้ายตะขอ เส้นสายบิดเป็นเกลียว เส้นสายขดคล้ายก้นหอย ลักษณะของสีเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) มีความหลากหลาย เช่น สีเทา เหลือง น้ำตาล ขาว ชมพู ม่วง และสีส้ม การผลิตรงควัตถุ (melanin pigment) ที่แพร่ลงสู่อาหาร พบว่าส่วนใหญ่ไม่ผลิตรงควัตถุ (melanin pigment) แต่ถ้าผลิตรงควัตถุ (melanin pigment) จะผลิตสีน้ำตาลเป็นส่วนใหญ่ รองลงมาคือสีเหลือง ทุกไอโซเลตของเชื้อแอคติโนมัยสีทมีลักษณะเส้นใย (mycelium) ไม่แตกหัก เมื่อจัดจำแนกแอคติโนแบคทีเรียที่คัดแยกได้โดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทางสัณฐานวิทยานำมาเทียบเคียงกับเอกสารอ้างอิง พบว่า 26 ไอโซเลตมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับสกุล *Streptomyces* มีลักษณะ conidia ต่อกันเป็นสายโซ่ยาว ส่วน 18 ไอโซเลตมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับสกุล *Actinomadura* ซึ่งมีลักษณะการสร้างสปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่ ส่วน 1 ไอโซเลตมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับสกุล *Actinoplanes* ซึ่งมีลักษณะการสร้างสปอร์อยู่ภายในถุงหุ้มสปอร์ ส่วน 4 ไอโซเลตมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับสกุล *Nocardia* ซึ่งมีลักษณะการสร้างสปอร์เป็นสายยาว และอีก 1 ไอโซเลตมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกับจีนัส *Streptosporagium* ซึ่งมีลักษณะการสร้างสปอร์อยู่ภายในถุงหุ้มทรงกลมบนเส้นใยอากาศ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Dhanasekaran และคณะ (2009) ได้ทำการคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติของแอคติโนมัยสีทในดินจากเมือง Vellar Estuary Annagkoil และ Tamil Nadu ประเทศอินเดียพบว่า เมื่อจัดจำแนกกลุ่มประชากรของแอคติโนมัยสีทด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และคุณสมบัติทางเคมี ส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายคลึงกับจีนัส *Streptomyces* ซึ่งเป็นดินจากเมือง Vellar Estuary และจากรายงานของ Mishra (2007) ศึกษาลักษณะโคโลนีของไอโซเลต เชื้อแอคติโนมัยสีททั้งหมด 159 ไอโซเลต ลักษณะโคโลนียกตัวนูน บางโคโลนีมีสีเทาหรือสีขาว โคโลนีมีลักษณะแบน บางโคโลนีสีเหลือง คล้ายผงแป้ง สีสปอร์ส่วนใหญ่สีขาวรองลงมาคือสีเทา สีครีม และสีเหลืองตามลำดับ

จากผลการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทพบว่าสามารถแยกเชื้อจากตัวอย่างดิน ที่เก็บจากบริเวณพื้นที่จังหวัดลำปาง จังหวัดน่าน และจังหวัดเพชรบุรีได้เป็นจำนวนมากและพบได้หลายสกุล สอดคล้องกับงานวิจัยของ Waksman (1950) ที่ว่าดินเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติของเชื้อแอคติโนมัยสีท ดังนั้นความหลากหลายของเชื้อแอคติโนมัยสีทในดินจึงมีสูง ทำให้สามารถพบเชื้อเป็นจำนวนมากในหลายสกุลและหลายสปีชีส์ ซึ่งพบได้ทั้งในดินจากแหล่งการเกษตรและดินที่ไม่ได้ทำการเกษตร ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์และดินที่ไม่มีความอุดมสมบูรณ์ในภูมิภาคต่างๆ ทั่วทุกแห่งของโลก

ในปัจจุบันมีงานวิจัยและการค้นคว้าสารจากธรรมชาติจากเชื้อจุลินทรีย์อย่างต่อเนื่อง เพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) ที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีทกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก Verma และคณะ (2009)

แอคติโนมัยสีทสามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งในมนุษย์และสัตว์ เป็นที่ทราบกันดีว่ายาปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆที่ค้นพบนั้นผลิตมาจากแอคติโนมัยสีทสามารถออกฤทธิ์ได้อย่างครอบคลุม ตัวอย่างเช่น alnumycin phthoxazolin A phthoxazolin B-D polyene antibiotics (AB023) vinylmycin และ geldanamycin Berd และคณะ (2005)

เชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น cellulose hemicellulose chitinase amylase และ glucanase เป็นต้น เอนไซม์เหล่านี้สามารถย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ให้มีขนาดเล็กลงได้ และพบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทในสกุล *Streptomyces* เป็นสกุลที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลากหลายที่สุด Thaummabenjapone และคณะ (2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาครั้งนี้พบว่าจากเชื้อแอคติโนมัยสีท 34 ไอโซเลท ที่แยกได้จากดิน มี 15 ไอโซเลตที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบได้ โดยสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้หลายชนิด แต่อย่างไรก็ตามเชื้อที่คัดแยกได้ส่วนใหญ่ไม่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากองค์ประกอบของผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวกที่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ นุกูล (2554) การแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากป่าชายเลน จากตัวอย่างดินในประเทศไทย ซึ่งสามารถแยกแอคติโนมัยสีทได้ทั้งหมด 14 สกุล เป็นจำนวน 151 สายพันธุ์ ซึ่งในจำนวนนี้ 95 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ และ 27 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ *Candida albicans* ได้

จากการศึกษาแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากตัวอย่างดิน 3 จังหวัด สามารถคัดเลือกเชื้อที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันได้จำนวน 34 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช คือ *Aspergillus flavus* พบว่าแอคติโนมัยสีทจำนวน 10 ไอโซเลต สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของ *A. flavus* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ บัวสาย และคณะ (2555) รายงานว่าจากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 12 สายพันธุ์ ของเชื้อแอคติโนมัยสีท พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทมีความสามารถที่แตกต่างกันในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งเป็นผลมาจากการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันในเชื้อราแต่ละสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินจังหวัดลำปาง จังหวัดน่าน และจังหวัดเพชรบุรี สามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ทั้งหมดจำนวน 50 ไอโซเลต โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างดินจังหวัดลำปาง 16 ไอโซเลต เชื้อแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินจังหวัดน่าน 24 ไอโซเลต และเชื้อแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินจังหวัดเพชรบุรี 10 ไอโซเลต จากการพิสูจน์เอกลักษณ์เบื้องต้นโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเชื้อจำนวน 50 ไอโซเลตนั้นคล้ายคลึงกับเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces Actinomadura Nocardia Actinoplanes* และ *Streptosporangium*

การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis* Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) *Micrococcus luteus Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 15 ไอโซเลต ได้แก่ LP3Ye LP8Br LP11Ye N7Ye N9WC N22Br N29GC N37WC N38Gr N39Wh N42Wh N43WG N44Cr PBR6Cr และ PBR13Ye มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดย LP8Br และLP11Ye มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้อย่างน้อย 1 สายพันธุ์ และ LP3Ye N7Ye N9WC N22Br N29GC N37WC N38Gr N39Wh N42Wh N43WG N44Cr PBR6Cr PBR13Ye มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้อย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ในขณะที่เชื้อแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ PBR13Ye นั้นสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ทั้ง 7 สายพันธุ์

การทดสอบด้วยวิธีทดสอบประสิทธิภาพการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับเชื้อรา *Aspergillus flavus* โดยวิธี dual culture พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 10 ไอโซเลต ที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* ได้ ได้แก่ เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต LP14Wh N7Ye N13GY N37WC N38Gr N39Wh N42Wh N43WG N44Cr และ PBR5Ye

5.2 ข้อเสนอแนะ

โครงงานพิเศษนี้ได้คัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินบริเวณพื้นที่จังหวัดลำปาง จังหวัดน่าน และจังหวัดเพชรบุรี และได้ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้ โดยสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับศึกษาวิจัยเกี่ยวกับชนิดของสารปฏิชีวนะที่เชื้อแอคติโนมัยสีทสร้างขึ้น ซึ่งโครงงานพิเศษนี้อาจจะค้นพบสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ นอกจากนี้ยังสามารถนำข้อมูลเบื้องต้นมาใช้ให้เกิดประโยชน์ทางด้านการแพทย์ และการเกษตรต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ แสวงหาประโยชน์ เชิงพาณิชย์ หรือการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกพร ไชยอนันต์พร, ศรวณีย์ ทนุชิต, สุทธิวรรณ ธรรมวัตร, ทศพล ไชยอนันต์พร. 2559. "การดื้อต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมในจังหวัดมหาสารคามและจังหวัดหนองบัวลำภู." วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 2(35) : 174-181.

กิ่งจันทน์ มะลิซ้อน. 2555. "ความหลากหลายของแอคติโนแบคทีเรียในดิน." สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.

กิจติศักดิ์ ชววิสิฐ. 2551. "ฤทธิ์ของชีวสารที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Brevibacillus laterosporus* SA14 ต่อการยับยั้งแบคทีเรีย methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์.

จิตติ ท่าไว. 2550. "การแยกและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดิน." รายงานการวิจัย สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จิตติ ท่าไว. "บทที่ 1 การแยกเชื้อแอคติโนแบคทีเรีย." หน้า 4-14. ใน **เอกสารประกอบการเรียน วิชาปฏิบัติการแบคทีเรียและรา.** กรุงเทพฯ : โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จิราพร ใจตรง, เมทนี มูลศรี และสุภาพร เนินหอม. 2554. "การคัดกรองและการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สร้างสารปฏิชีวนะที่แยกจากดินในประเทศไทย." โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จีรพา บุญญคง. 2557. "การเตรียมวัสดุอ้างอิงรับรองอะฟลาทอกซินในเนยถั่วสำหรับวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน." สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ. 16(81) : 8-11

ชัยวุฒิ สุดทองคง. 2551. "การใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1) และน้ำหมักสับปะรดในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล." ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร.

ณัฐกฤตา สุวรรณทีป. 2555. "ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดชบา." รายงานการวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.

นุกูล อินทระสังขา และชัยสิทธิ์ นิยะสม. 2555. "การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินบริเวณมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง." รายงานการวิจัย สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาทักษิณ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นันทวัน เนียมหอม. 2555. “ฤทธิ์ทางชีวภาพและอนุกรมวิธานของเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากจากป่าพรุเขตอบอุ่นในประเทศไทย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

บัวสาย เพชรสุริยวงศ์, นงพงา คุณจักร, อาภรณ์ วงษ์วิจารณ์. 2555. “การแยกและการจัดจำแนกแบคทีเรียจากดินที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา.” 4. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50.** กรุงเทพฯ : สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประภาภรณ์ ศรีโลหะสิน, เสาวลักษณ์ ศรีภักดี และอรพรรณ พัฒนวาณิชชัย. 2547. “การยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus flavus* IMI 242684 โดยน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพร.” โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พินิจ กล่ำคลองตัน “การแพร่ กระจายเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa.* ในสถานพยาบาล : กรณีศึกษาโรงพยาบาลนภาลัย จังหวัดสมุทรสงคราม” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภิญญามนตร์ สีขาว. 2557. “การยับยั้งเชื้อ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* และ *MICROCOCCUS LUTEUS* ของสารสกัดใบสาบเสือในสบู่เหลว.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

วรรณดี บัญญัติรัชต. 2552. “การคัดเลือกเชื้อ *Pseudomonas spp.* จากดินที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชและการบ่งเอกลักษณ์.” รายงานฉบับสมบูรณ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วฤษณี ปรีชานฤชิตกุล. 2554. “สิ่งเล็กๆที่เรียกว่าอีโคไล.” กสิกรเกษตรน่ารู้. 84(4) : 78

วาสนา กิตติกนกรัตน์. 2546. “การศึกษาสูตรและอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ *Bacillus subtilis* TISTR 001.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

วสุ ปฐมอารีย์. 2553. “การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีทจากถ้ำและความสามารถในการสร้างสารยับยั้งการเจริญของสแตฟฟิโลคอคคัส ออเรียสดื้อยา.” สังกัดภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุรชัย รัตนสุข. 2557 “ประสิทธิภาพของสมุนไพรพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญของ *Candida-albicans.*” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท.). 1(2) : 34-35.

อรุณลักษณ์ ลุลิตานนท์ และคณะ. 2555. "การติดตามสถานการณ์ของเชื้อ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ที่ไวต่อ vancomycin และ chlorhexidine ลดลงในโรงพยาบาลศรีนครินทร์." วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด. 24(1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาภากร ศิลป์ประเสริฐ. 2554. "ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการควบคุมเชื้อรา *Aspergillus flavus*." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกาแพงแสน.

อิสยา จันทร์วิทยานุชิต สมหญิง งามอุรุเลิศ พรทิพย์ พึ่งม่วง และวัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์. 2546. "ระบาดวิทยาของเชื้อ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* โดยวิธี coagulase gene polymorphism." มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.

อิสรา จันทร์วิทยานุชิต และคณะ. 2548. "*Staphylococcus aureus*." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการพยาบาลด้านการควบคุมการติดเชื้อ, มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.

Berd, D. 1973. "Laboratory identification of clinically inportant aerobic actinomycetes." Applied Microbiology.

Berdy, J. 2005. "Bioactive microbial metabolites." Journal of Antibiotics 58, 1: 1-26.

Dhanasekaran, D., Selvamani, S., Panneerselvam, A. and Thajuddin, N. 2009. "Isolation and characterization of actinomycetes in Vellar Estuary, Annakoil, Tamil Nadu." African Journal of Biotechnology.

Mishra, A. 2007. "Biology of higher actinomycetes from soil of Kanpur in relation of cultural and physiological characteristics." PhD thesis. Chhatrapati Shahu Ji Maharaj Univ., Kanpur.

Oskay, M., Tamer A. U. and Cem A. 2004. "Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey." Afiican Journal of Biotechnology 3, 9(September): 441-446.

Singh, S., Yadav, J., Shrivastava, A. and Gopalan, N. 2013. "Antibacterial activity of actinomycetes isolated from different soil samples of Sheopur (A city of central India)." Department of Biotechnology Madhav Institute of Technology and Science Gwalior India.

Thaummabenjapone, P. and Assanee, P. "Streptomyces potential biological control agent for bacteria fruit blotch and gummy stem blight disease cucurbits." In Proceeding of The frist international coferences on topical and subtopical plant diseaese. November 5-8, 2002. Thailand: Chiang Mai university.

Verma, V.C. Surendra, K.G. Anuj, K., Ashish M., Ravindra N.K. and Alan C.G. 2009. "Endophytic actinomycetes from Azadirachta indica A. Juss.: isolation, diversity, and anti-microbial activity." Microbial Ecology.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Waksman, S.A. 1950. "The Actinomycetes : Their nature, occurrence,activities,and importance." Chronica Botanica. USA.

Zaitlin, B., Turkington, K., Parkinson, D., and Clayton, G. 2004. "Effects of tillage and inorganic fertilizers on culturable soil actinomycete communities and inhibion of fungi by specific actinomycetes." Applied Soil Ecology. 26 : 53-62.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

Yeast extract – malt extract agar (ISP2)

Glucose	4.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Malt extract	10.0	กรัม
Agar	18.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH: 7.3

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Humic acid-vitamin agar (สูตรดัดแปลง) ที่เติมสารปฏิชีวนะ

Humic acid (ละลายใน 0.2 N NaOH 10 มิลลิลิตร)	1.0	กรัม
Yeast extract	0.050	กรัม
Casamino acids	0.020	กรัม
Na_2HPO_4	0.2	กรัม
KCl	1.7	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.050	กรัม
$CaCl_2$	0.010	กรัม
Trace elements mix 1	0.2	มิลลิลิตร
Agar	18.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

pH 7.0

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Vitamins mix A1	1.0	มิลลิลิตร

สารปฏิชีวนะ

Nalixidic acid (ละลายใน 0.2 N NaOH)	0.025	กรัม
Cycloheximide (ละลายใน 95% EtOH)	0.050	กรัม
Terbinafin (ละลายใน MtOH)	0.001	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Soil extract agar (สูตรดัดแปลง)

$CaSO_4.2H_2O$	0.5	กรัม
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	0.25	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.05	กรัม
K_2SO_4	0.03	กรัม
KH_2PO_4	0.02	กรัม
$NaHCO_3$	0.1	กรัม
Trace element mix 1	0.3	มิลลิลิตร
$CaCl_2 2H_2O$	0.02	กรัม
Yeast extract	0.1	กรัม
Casamino acids	0.1	กรัม
Glucose	0.2	กรัม
Soil extract	100	มิลลิลิตร
Agar	18.0	กรัม

pH: 7.0

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Potato Dextrose Agar (PDA)

PDA	39	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

Trypticase soy agar (TSA)

Tryptone	15	กรัม
Soytone	5	กรัม
NaCl	5	กรัม
Agar	15	กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบเพิ่มเติม

Soil extract

Humic soil	1.0	กิโลกรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

กรองด้วยสำลี และทำให้ตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (นำส่วนใสไปใช้)

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

Trace elements mix 1

$CaCl_2.2H_2O$	4.0	กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	2.0	กรัม
$Na_2B_4O_7.10H_2O$	0.1	กรัม
$FeSO_4.7H_2O$	5.0	กรัม
KI	0.05	กรัม
$CoCl_2.6H_2O$	0.5	กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	0.2	กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	2.0	กรัม
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.05	กรัม
H_2SO_4 95 – 97 % p.a.	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

Vitamins mix A1

p-aminobenzoic acid	0.05	กรัม
Calcium pantothenate	0.05	กรัม
Inositol	0.05	กรัม
Niacin	0.05	กรัม
Pyridoxin HCl	0.05	กรัม
Riboflavin	0.05	กรัม
Thiamine HCl	0.05	กรัม
Biotin	0.025	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

กรองด้วยแผ่นกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สารเคมี

Tween 80 solution

Tween 80	0.1	มิลลิลิตร
KH_2PO_4	1.75	กรัม
K_2HPO_4	3.5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

pH 6.8-7.0 (KOH/HCl)

ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

กระดาษสีมาตรฐาน

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color system, Mundie 1995)

Centroid	Munsell	RGB	Swatch
Red, Pink			
1 Vivid Pink	1r 8.0 13.0	#FF7E93	
2 Strong Pink	1.2r 6.9 8.2	#FD7B7C	
3 Deep Pink	2.1r 6.0 11.1	#F3545E	
4 Light Pink	2.6r 8.5 4.0	#FFBCAD	
5 Moderate Pink	2.8r 7.2 5.3	#EE9086	
6 Dark Pink	2.7r 5.9 6.1	#C76864	
7 Pale Pink	2.0r 8.7 2.1	#FFCBBB	
8 Grayish Pink	2.6r 7.2 2.3	#CF9B8F	
9 Pinkish White	5.8r 9.0 0.8	#F9DBC8	
10 Pinkish Gray	9.8r 7.4 1.0	#C8A696	
11 Vivid Red	5.0r 3.9 15.4	#C10020	
12 Strong Red	4.0r 4.4 12.1	#BF2233	
13 Deep Red	5.1r 2.8 10.1	#7B001C	
14 Very Deep Red	6.5r 1.7 8.4	#4F0014	
15 Moderate Red	3.8r 4.4 9.1	#AB343A	
16 Dark Red	4.0r 2.8 6.8	#681C23	
17 Very Dark Red	2.0r 1.2 4.8	#320A18	
18 Light Grayish Red	5.3r 5.9 3.5	#B17267	
19 Grayish Red	4.0r 4.4 4.8	#8C4743	
20 Dark Grayish Red	2.9r 2.7 2.1	#482A2A	
21 Blackish Red	3.9r 0.8 1.7	#1F0E11	
22 Reddish Gray	7.0r 5.4 1.3	#8B6C62	
23 Dark Reddish Gray	6.0r 3.4 1.0	#523C36	
24 Reddish Black	2.0r 0.9 0.9	#1E1112	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

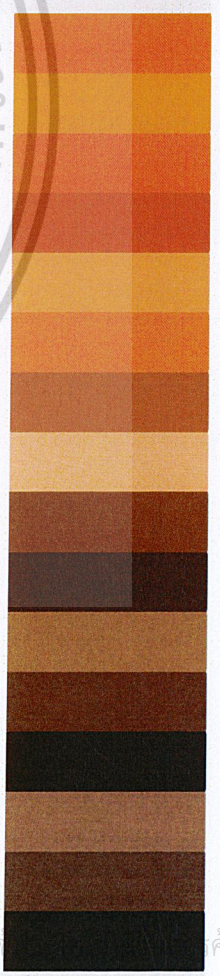
Yellowish Pink		
25 Vivid Yellowish Pink	8.0r 8.0 13.0	#FF845C
26 Strong Yellowish Pink	8.4r 7.0 9.5	#FF7A5C
27 Deep Yellowish Pink	5.5r 5.8 12.1	#F64A46
28 Light Yellowish Pink	1.9yr 8.2 4.6	#FFB28B
29 Moderate Yellowish Pink	0.7yr 7.2 4.9	#EE9374
30 Dark Yellowish Pink	7.0r 6.0 6.1	#CC6C5C
31 Pale Yellowish Pink	4.2yr 8.6 2.2	#FFC8A8
32 Grayish Yellowish Pink	1.3yr 7.2 2.4	#D39B85
Reddish Orange, Reddish Brown		
33 Brownish Pink	7.0yr 7.1 2.3	#CD9A7B
34 Vivid Reddish Orange	9.8r 5.4 14.5	#F13A13
35 Strong Reddish Orange	9.3r 5.4 12.2	#FFB961
36 Deep Reddish Orange	9.2r 3.9 12.1	#A91D11
37 Moderate Reddish Orange	9.3r 5.5 9.2	#D35339
38 Dark Reddish Orange	9.3r 4.0 9.1	#9B2F1F
39 Grayish Reddish Orange	0.4yr 5.4 6.2	#B85D43
40 Strong Reddish Brown	0.3yr 3.1 9.9	#7F180D
41 Deep Reddish Brown	1.6yr 1.5 8.3	#490005
42 Light Reddish Brown	0.5yr 5.5 4.1	#AA6651
43 Moderate Reddish Brown	9.0r 3.4 5.2	#712F26
44 Dark Reddish Brown	9.6r 1.3 3.6	#321011
45 Light Grayish Reddish Brown	2.9yr 5.4 2.3	#966A57
46 Grayish Reddish Brown	9.0r 3.4 2.4	#5E3830
47 Dark Grayish Reddish Brown	9.0r 2.0 2.0	#371F1C
Orange Brown		
48 Vivid Orange	4.1yr 6.5 15.0	#FF6800
49 Brilliant Orange	4.0yr 9.0 12.0	#FFB841
50 Strong Orange	4.3yr 6.5 12.2	#FF6F1A
51 Deep Orange	4.1yr 5.1 11.3	#C34D0A
52 Light Orange	4.8yr 7.8 7.2	#FFA161

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือคัดลอกทั้งหมดหรือส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารนี้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่ว่าจะเป็นการกระทำเพื่อการค้าหรือไม่ก็ตาม นอกจากจะได้รับอนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์เป็นลายลักษณ์อักษรก่อนทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

53 Moderate Orange	4.6yr 6.5 8.2	#E8793E
54 Brownish Orange	4.1yr 5.0 8.0	#B15124
55 Strong Brown	4.6yr 3.5 7.6	#753313
56 Deep Brown	5.6yr 2.4 5.2	#4D220E
57 Light Brown	5.4yr 5.4 4.8	#A86540
58 Moderate Brown	5.6yr 3.5 3.9	#673923
59 Dark Brown	5.3yr 1.6 3.4	#35170C
60 Light Grayish Brown	6.4yr 5.4 2.2	#946B54
61 Grayish Brown	5.5yr 3.5 1.8	#5A3D30
62 Dark Grayish Brown	5.5yr 2.0 1.5	#32221A
63 Light Brownish Gray	7.0yr 5.4 1.2	#8B6D5C
64 Brownish Gray	5.65r 3.4 0.9	#503D33
65 Brownish Black	7.8yr 0.6 0.9	#140F0B

Orange Yellow, Yellowish Brown

66 Vivid Orange Yellow	8.6yr 7.3 15.2	#FF8E00
67 Brilliant Orange Yellow	0.1y 8.1 10.5	#FFB02E
68 Strong Orange Yellow	9.1yr 7.1 11.6	#FF8E0D
69 Deep Orange Yellow	8.6yr 6.0 12.1	#D76E00
70 Light Orange Yellow	9.4yr 8.3 6.8	#FFB961
71 Moderate Orange Yellow	8.7yr 7.2 8.3	#F7943C
72 Dark Orange Yellow	9.3yr 6.0 7.9	#C37629
73 Pale Orange Yellow	9.2yr 8.7 4.4	#FFCA86
74 Strong Yellowish Brown	8.8yr 4.6 8.5	#95500C
75 Deep Yellowish Brown	8.8yr 3.1 5.0	#593315
76 Light Yellowish Brown	8.7yr 6.5 5.0	#BB8B54
77 Moderate Yellowish Brown	9.5yr 4.4 3.9	#7D512D
78 Dark Yellowish Brown	9.4yr 2.3 3.3	#3F2512
79 Light Grayish Yellowish Brown	9.7yr 6.4 2.5	#B48764
80 Grayish Yellowish Brown	9.5yr 4.6 2.1	#785840
81 Dark Grayish Yellowish Brown	8.8yr 2.5 1.6	#3D2B1F



Yellow, Olive Brown

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

82 Vivid Yellow	3.3y 8.0 14.3	#FFB300
83 Brilliant Yellow	4.4y 8.7 8.9	#FFCF40
84 Strong Yellow	3.7y 7.2 9.3	#E59E1F
85 Deep Yellow	3.7y 5.9 9.1	#B57900
86 Light Yellow	4.3y 8.8 6.8	#FFD35F
87 Moderate Yellow	3.8y 7.1 6.5	#D79D41
88 Dark Yellow	3.9y 6.0 6.4	#B07D2B
89 Pale Yellow	4.7y 9.0 3.8	#FFDB8B
90 Grayish Yellow	4.4y 7.2 3.8	#CEA262
91 Dark Grayish Yellow	3.8y 5.9 4.0	#A47C45
92 Yellowish White	4.5y 9.2 1.2	#FFE2B7
93 Yellowish Gray	3.8y 7.4 1.4	#CAA885
94 Light Olive Brown	2.1y 4.9 7.9	#945D0B
95 Moderate Olive Brown	2.7y 3.6 5.5	#64400F
96 Dark Olive Brown	2.0y 1.9 2.2	#302112

Greenish Yellow, Olive

97 Vivid Greenish Yellow	9.1y 8.2 12.0	#F4C800
98 Brilliant Greenish Yellow	9.8y 8.8 9.5	#FFDC33
99 Strong Greenish Yellow	9.2y 7.2 9.2	#CCA817
100 Deep Greenish Yellow	9.2y 5.9 9.2	#9F8200
101 Light Greenish Yellow	9.8y 8.9 7.0	#FFDE5A
102 Moderate Greenish Yellow	9.5y 7.1 6.5	#C4A43D
103 Dark Greenish Yellow	9.4y 5.9 6.3	#9B8127
104 Pale Greenish Yellow	9.5y 9.0 4.2	#FFDF84
105 Grayish Greenish Yellow	9.0y 7.2 3.9	#C4A55F
106 Light Olive	8.2y 5.1 5.6	#846A20
107 Moderate Olive	7.6y 3.8 5.4	#5E490F
108 Dark Olive	8.9y 2.4 3.1	#362C12
109 Light Grayish Olive	7.85y 5.5 2.5	#8B734B
110 Grayish Olive	8.0y 3.6 2.0	#52442C
111 Dark Grayish Olive	9.7y 2.0 1.8	#2B2517

เอกสารนี้จัดทำขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้เพื่อการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้ง

112 Light Olive Gray	6.9y 5.5 1.3	#887359
113 Olive Gray	8.1y 3.5 0.9	#4D4234
114 Olive Black	9.0y 1.1 0.9	#121910
Yellow Green, Olive Green		
115 Vivid Yellowish Green	5.4gy 6.8 11.2	#93AA00
116 Brilliant Yellow Green	4.9gy 8.2 9.1	#CED23A
117 Strong Yellow Green	5.4gy 6.0 8.7	#7F8F18
118 Deep Yellow Green	7.4gy 4.2 7.1	#425E17
119 Light Yellow Green	5.0gy 8.4 5.6	#DCD36A
120 Moderate Yellow Green	4.8gy 6.0 5.0	#8B8940
121 Pale Yellowish Green	3.4gy 8.7 2.4	#F0D698
122 Grayish Yellowish Green	4.4gy 6.0 2.3	#90845B
123 Strong Olive Green	4.0gy 3.0 11.0	#0A4500
124 Deep Olive Green	4.0gy 1.5 11.0	#142300
125 Moderate Olive Green	5.7gy 3.6 4.8	#434B1B
126 Dark Olive Green	8.0gy 2.2 3.6	#232C16
127 Grayish Olive Green	4.6gy 3.5 2.0	#48442D
128 Dark Grayish Olive Green	5.4gy 2.0 1.8	#27261A
129 Vivid Yellowish Green	1.1g 5.9 11.2	#379931
Yellowish Green		
130 Brilliant Yellowish Green	0.3g 7.7 8.6	#8CCB5E
131 Strong Yellowish Green	0.4g 5.4 8.7	#478430
132 Deep Yellowish Green	0.9g 3.5 9.0	#00541F
133 Very Deep Yellowish Green	10.0gy 1.5 11.0	#002800
134 Very Light Yellowish Green	0.2g 8.6 4.6	#C6DF90
135 Light Yellowish Green	0.7g 7.4 5.2	#007BA7
136 Moderate Yellowish Green	0.5g 5.5 4.8	#657F4B
137 Dark Yellowish Green	0.6g 3.5 5.0	#304B26
138 Very Dark Yellowish Green	0.3g 1.8 4.3	#132712
Green		
139 Vivid Green	3.2g 4.9 11.1	#007D34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

140 Brilliant Green	6.2g 6.5 8.3	#47A76A
141 Strong Green	5.8g 4.4 8.7	#006B3C
142 Deep Green	5.1g 3.0 8.1	#004524
143 Very Light Green	6.5g 7.8 4.9	#98C793
144 Light Green	6.0g 6.4 5.1	#719B6E
145 Moderate Green	6.3g 4.5 5.1	#386646
146 Dark Green	6.6g 2.8 4.6	#203A27
147 Very Dark Green	8.0g 1.8 3.0	#16251C
148 Very Pale Green	7.3g 8.8 1.9	#D8DEBA
149 Pale Green	7.6g 6.4 1.7	#8D917A
150 Grayish Green	8.8g 4.5 1.8	#575E4E
151 Dark Greenish Yellowish Green	1.0bg 2.9 1.8	#313830
152 Blackish Green	10.0g 1.0 1.4	#141613
153 Greenish White	10.0g 9.2 0.8	#F5E6CB
154 Light Greenish Gray	3.0g 7.5 0.9	#BAAF96
155 Greenish Gray	7.5g 5.5 1.0	#7A7666
156 Dark Greenish Gray	1.5bg 3.5 0.9	#45433B
157 Greenish Black	8.7g 1.0 0.7	#181513
Bluish Green		
158 Vivid Bluish Green	5.0bg 5.0 13.0	#00836E
159 Brilliant Bluish Green	2.9bg 6.0 9.6	#009B76
160 Strong Bluish Green	4.6bg 4.5 8.5	#006D5B
161 Deep Bluish Green	2.8bg 2.4 8.3	#00382B
162 Very Light Bluish Green	4.4bg 8.3 4.6	#A0D6B4
163 Light Bluish Green	4.6bg 6.5 4.9	#669E85
164 Moderate Bluish Green	4.6bg 4.5 5.0	#2F6556
165 Dark Bluish Green	4.9bg 2.7 5.0	#013A33
166 Very Dark Bluish Green	3.6bg 1.2 4.0	#001D18
167 Vivid Greenish Blue	5.0b 5.0 13.0	#007BA7
Greenish Blue		
168 Brilliant Greenish Blue	4.6b 5.9 7.7	#2A8D9C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

169 Strong Greenish Blue	4.9b 4.5 8.4	#00677E
170 Deep Greenish Blue	5.0b 5.0 13.0	#007BA7
171 Very Light Greenish Blue	4.0b 8.0 4.0	#A3C6C0
172 Light Greenish Blue	4.5b 6.5 5.4	#649A9E
173 Moderate Greenish Blue	4.7b 4.5 5.2	#30626B
174 Dark Greenish Blue	3.7b 2.7 5.0	#003841
175 Very Dark Greenish Blue	5.0b 1.5 3.6	#022027
Blue		
176 Vivid Blue	5.0b 5.0 14.0	#007CAD
177 Brilliant Blue	1.6pb 5.9 9.4	#4285B4
178 Strong Blue	2.9pb 4.1 10.4	#00538A
179 Deep Blue	2.8pb 2.5 7.9	#002F55
180 Very Light Blue	2.7pb 7.9 6.0	#A6BDD7
181 Light Blue	1.6pb 6.4 6.9	#6C92AF
182 Moderate Blue	3.0pb 4.3 6.8	#395778
183 Dark Blue	2.2pb 1.7 5.5	#002137
184 Very Pale Blue	1.5pb 8.3 3.3	#C1CACA
185 Pale Blue	0.6pb 6.5 2.6	#919192
186 Grayish Blue	0.2pb 4.2 3.0	#4A545C
187 Dark Grayish Blue	9.2b 2.7 2.0	#2C3337
188 Blackish Blue	9.8b 1.3 1.5	#161A1E
189 Bluish White	9.2b 9.1 1.2	#F9DFCF
190 Light Bluish Gray	8.2b 7.5 1.0	#BEADA1
191 Bluish Gray	8.9b 5.5 0.9	#7D746D
192 Dark Bluish Gray	0.3pb 3.6 1.1	#464544
193 Bluish Black	9.6b 1.1 0.8	#151719
Purplish Blue		
194 Very Purplish Blue	7.8pb 2.0 12.5	#20155E
195 Brilliant Purplish Blue	7.3pb 5.1 9.0	#62639B
196 Strong Purplish Blue	8.0pb 4.0 10.9	#474389
197 Deep Purplish Blue	7.8pb 1.5 8.0	#1A153F

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้ง

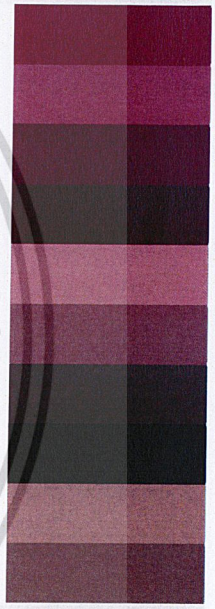
198 Very Light Purplish Blue	7.4pb 7.6 5.2	#BAACC7
199 Light Purplish Blue	7.3pb 6.0 6.5	#837DA2
200 Moderate Purplish Blue	7.9pb 3.5 6.5	#423C63
201 Dark Purplish Blue	8.0pb 1.3 4.3	#1A162A
202 Very Pale Purplish Blue	7.0pb 8.0 3.7	#CBBAC5
203 Pale Purplish Blue	7.0pb 6.0 3.9	#8A7F8E
204 Grayish Purplish Blue	6.9pb 3.4 3.8	#413D51
Violet		
205 Vivid Violet	2.0p 5.0 14.0	#884BAE
206 Brilliant Violet	9.9pb 5.1 9.4	#755D9A
207 Strong Violet	0.2p 3.7 10.1	#53377A
208 Deep Violet	1.1p 1.2 8.6	#240935
209 Very Light Violet	2.0p 8.5 7.0	#EEBEF1
210 Light Violet	0.5p 5.6 7.1	#876C99
211 Moderate Violet	1.4p 3.6 7.0	#543964
212 Dark Violet	1.4p 1.3 4.9	#22132B
213 Very Pale Violet	9.7pb 7.9 3.7	#D8B1BF
214 Pale Violet	1.3p 6.0 4.0	#957B8D
215 Grayish Violet	1.2p 3.3 3.9	#46394B
Purple		
216 Vivid Purple	6.0p 4.5 14.0	#943391
217 Brilliant Purple	6.0p 7.0 11.0	#DD80CC
218 Strong Purple	6.5p 4.3 9.2	#803E75
219 Deep Purple	6.3p 2.7 9.1	#531A50
220 Very Deep Purple	5.0p 1.5 8.0	#320B35
221 Very Light Purple	6.5p 7.8 5.1	#E3A9BE
222 Light Purple	6.2p 6.5 6.5	#BA7FA2
223 Moderate Purple	6.6p 4.5 7.1	#7F4870
224 Dark Purple	6.3p 2.8 4.9	#472A3F
225 Very Dark Purple	6.9p 1.0 4.5	#230D21
226 Very Pale Purple	5.5p 8.2 3.2	#E6BBC1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

227 Pale Purple	7.9p 6.4 3.1	#AE848B
228 Grayish Purple	8.1p 4.5 2.7	#72525C
229 Dark Grayish Purple	0.5rp 2.8 2.0	#452D35
230 Blackish Purple	0.8rp 0.9 1.6	#1D1018
231 Purplish White	2.5rp 9.0 0.8	#FADBC8
232 Light Purplish Gray	0.3rp 7.5 1.1	#C8A99E
233 Purplish Gray	1.0rp 5.5 0.9	#88706B
234 Dark Purplish Gray	1.0rp 3.6 1.0	#564042
235 Purplish Black	9.54p 0.9 0.6	#1B1116

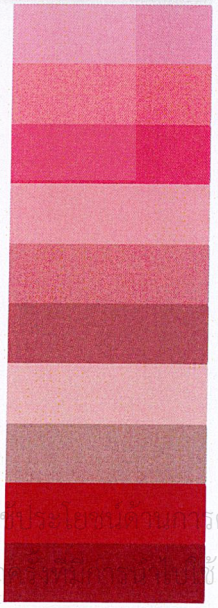
Reddish Purple

236 Vivid Reddish Purple	1.0rp 3.0 14.0	#7E0059
237 Strong Reddish Purple	1.3rp 4.4 10.2	#9A366B
238 Deep Reddish Purple	1.0rp 2.8 9.5	#641349
239 Very Deep Reddish Purple	0.9rp 1.9 8.9	#470736
240 Light Reddish Purple	0.7rp 6.0 6.9	#BB6C8A
241 Moderate Reddish Purple	0.8rp 4.5 7.0	#8C4566
242 Dark Reddish Purple	1.3rp 2.8 4.8	#4F273A
243 Very Dark Reddish Purple	1.5rp 1.0 4.8	#270A1F
244 Pale Reddish Purple	1.3rp 6.0 4.2	#AC7580
245 Grayish Reddish Purple	1.0rp 4.5 4.2	#7D4D5D



Purplish Pink, Purplish Red

246 Brilliant Purplish Pink	6.0rp 8.5 11.0	#FF97BB
247 Strong Purplish Pink	5.6rp 6.8 9.0	#F6768E
248 Deep Purplish Pink	4.4rp 6.0 12.2	#EB5284
249 Light Purplish Pink	4.6rp 8.0 5.5	#FFA8AF
250 Moderate Purplish Pink	4.6rp 6.8 6.7	#E28090
251 Dark Purplish Pink	6.4rp 5.9 7.0	#C76574
252 Pale Purplish Pink	3.7rp 8.4 3.3	#FDBDBA
253 Grayish Purplish Pink	3.7rp 7.0 3.5	#CC9293
254 Vivid Purplish Red	7.6rp 4.9 13.6	#D5265B
255 Strong Purplish Red	7.3rp 4.4 11.4	#B32851



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

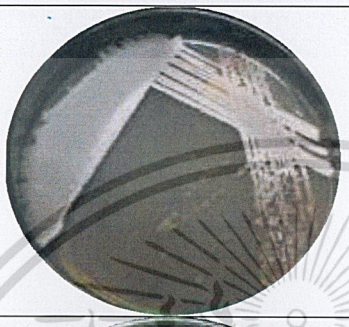
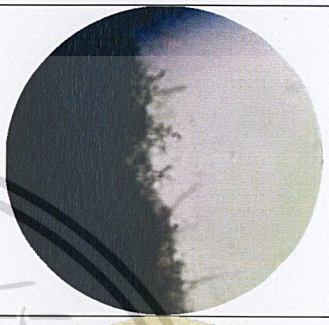
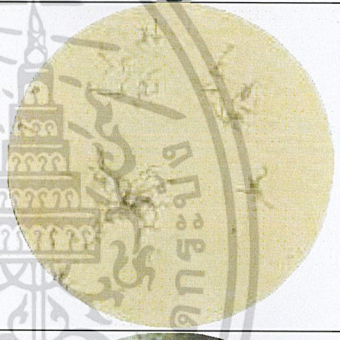
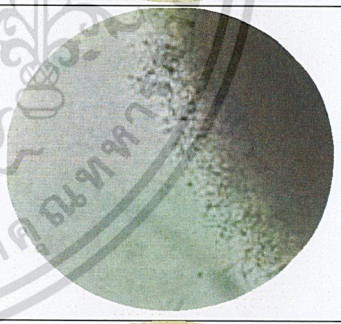
256 Deep Purplish Red	7.3rp 2.6 10.1	#6F0035
257 Very Deep Purplish Red	6.8rp 1.7 8.0	#470027
258 Moderate Purplish Red	7.1rp 4.5 9.0	#A73853
259 Dark Purplish Red	7.1rp 2.7 6.0	#5B1E31
260 Very Dark Purplish Red	6.6rp 0.9 4.8	#28071A
261 Light Grayish Purplish Red	7.8rp 5.9 4.2	#B27070
262 Grayish Purplish Red	7.0rp 4.5 5.1	#8C4852
263 White	2.5pb 9.5 0.2	#FFC9D7
264 Light Gray	6.7y 7.4 0.2	#C2A894
265 Medium Gray	3.3gy 5.4 0.1	#817066
266 Dark Gray	2.5pb 3.5 0.0	#49423D
267 Black	2.5pb 0.8 0.0	#131313

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

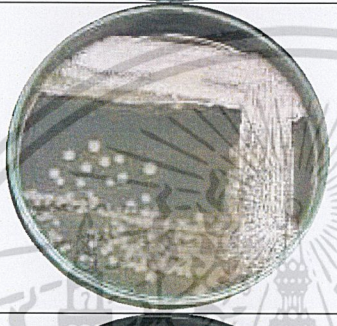
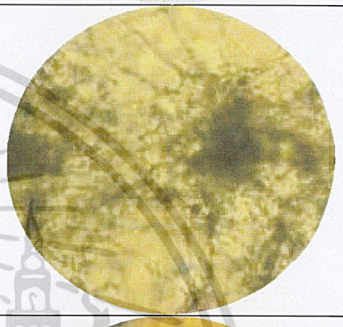
ผลการตรวจสอบทางสัณฐานวิทยา

ตารางที่ ง1 แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
LP1Or		
LP2Ye		
LP3Ye		
LP4Ye		

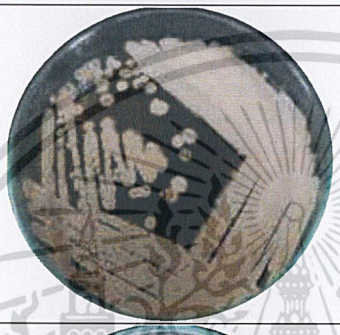
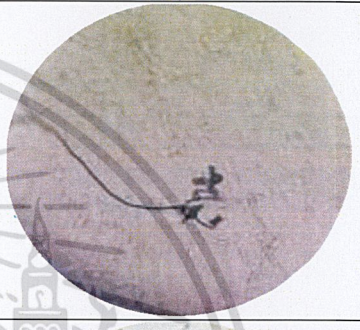
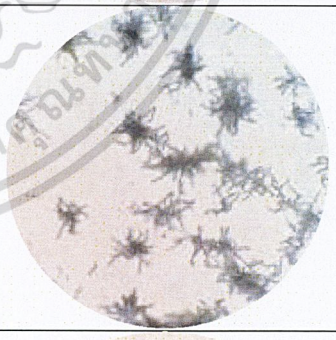
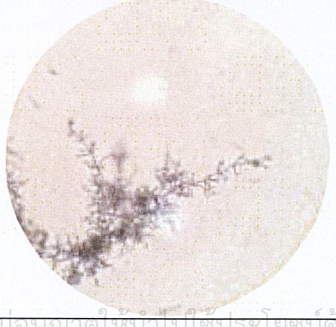
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
LP5Ye		
LP6Wh		
LP7Ye		
LP8Br		
LP11Br		

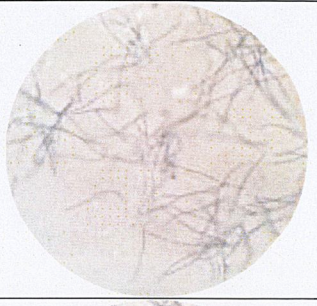
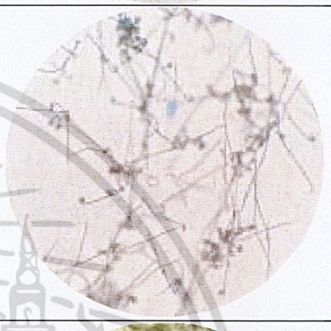
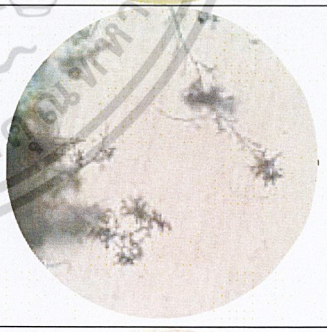
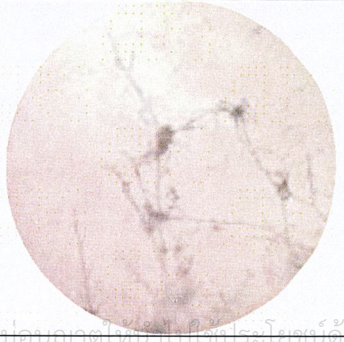
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
LP12Ye		
LP13Ye		
LP14Wh		
LP15Wh		
LP16Ye		

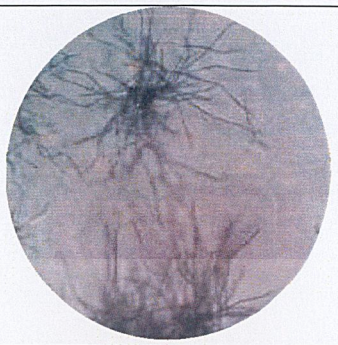
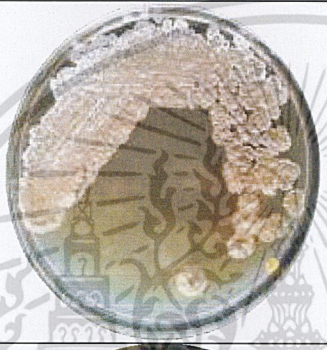
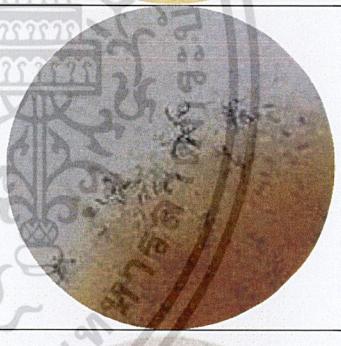
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
LP17WY		
LP18Ye		
N1Ye		
N2Ye		
N7Ye		

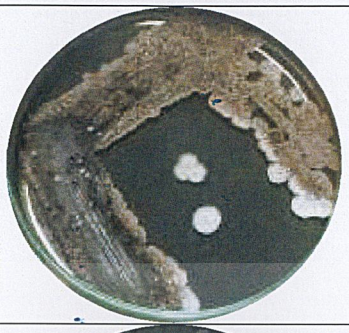
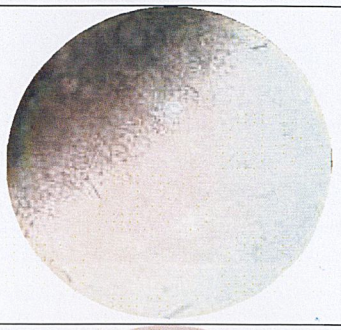
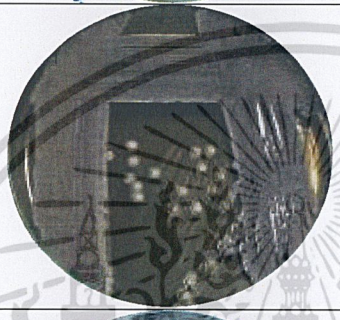
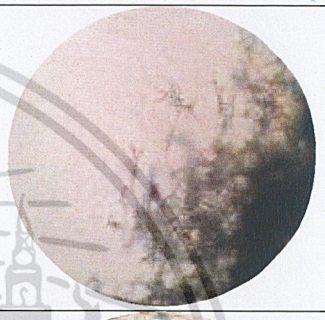
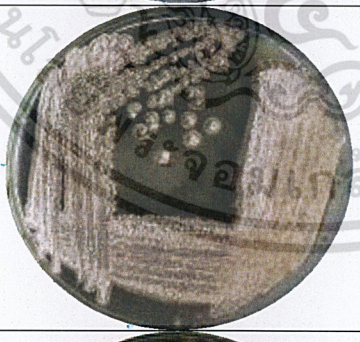
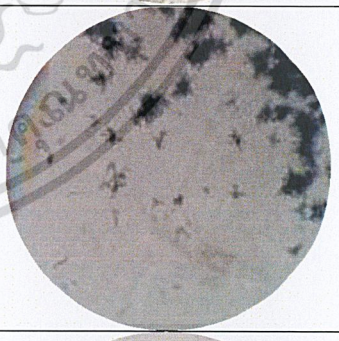
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
N8Pi		
N9WC		
N10Br		
N11Wh		
N12Or		

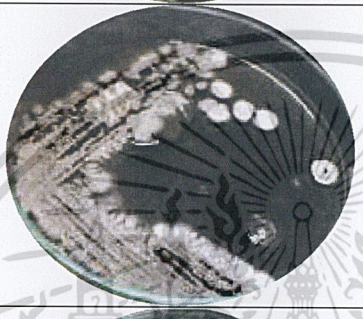
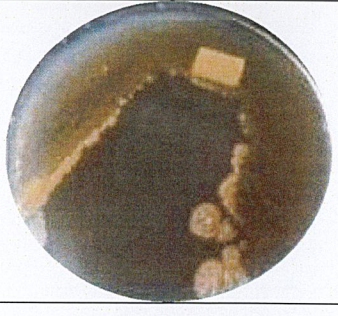
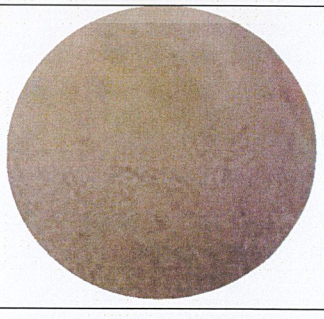
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
N13GY		
N14Bl		
N21Pi		
N22Br		
N23Cr		

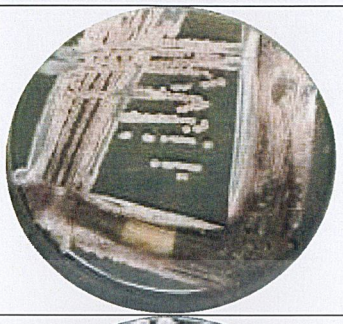
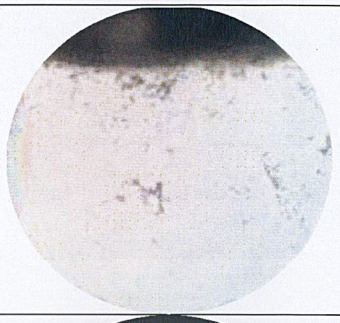
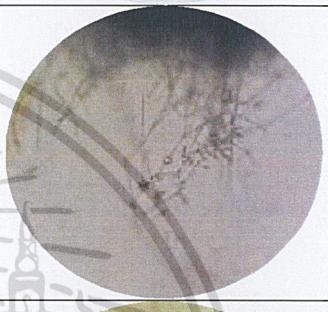
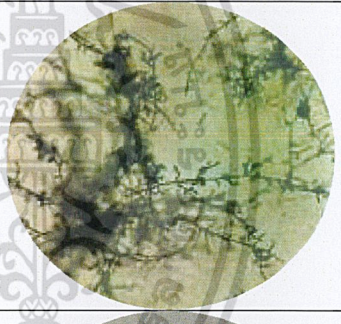
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
N29GC		
N30Ye		
N31OR		
N34Ye		
N35Ye		

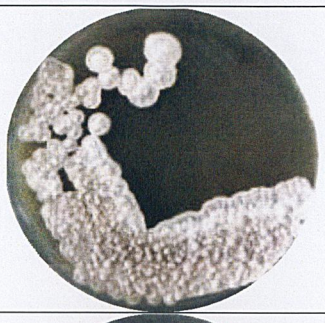
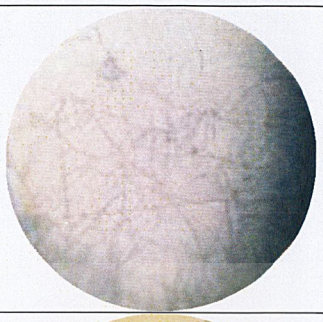
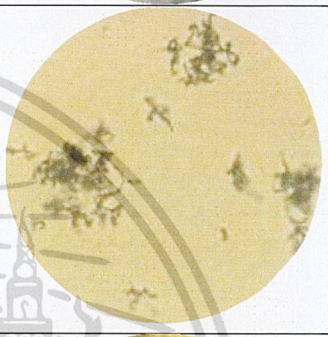
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
N37WC		
N38Gr		
N39Wh		
N42Wh		
N43WG		

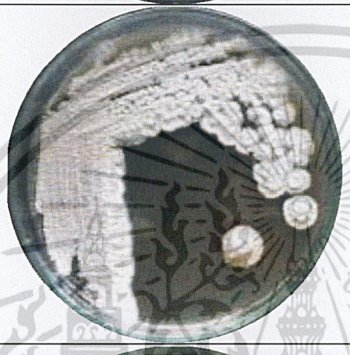
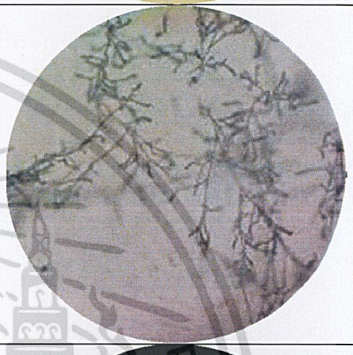
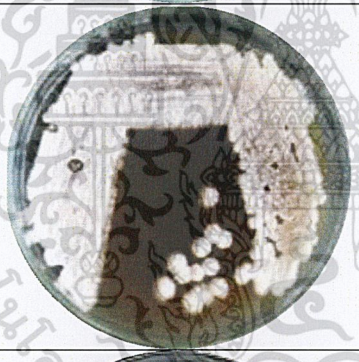
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
N44Cr		
PBR1Wh		
PBR2Or		
PBR3Re		
PBR5Ye		

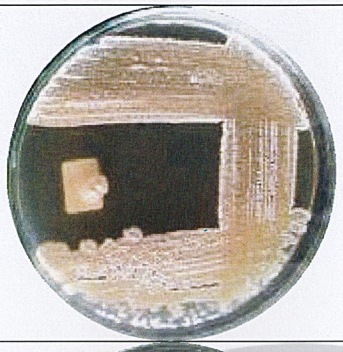
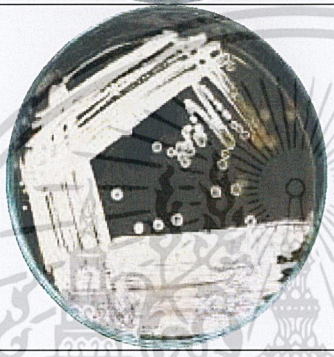
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
PBR6Cr		
PBR9BY		
PBR11YC		
PBR13Ye		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2 และลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (กำลังขยาย 400 เท่า)

เชื้อ	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร ISP2	ลักษณะสปอร์
PBR14Cr		
PBR15Ye		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ผลการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีท
ที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

ตารางที่ จ1 ผลการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้ง (มิลลิเมตร)						
	B. subtilis	MRSA	*M. luteus*	*E. coli*	*P. aeroginosa*	*S. aureus*	*C. albicans*
LP1Or	-	-	-	-	-	-	-
LP3Ye	-	11	12	-	-	11	3
LP4Ye	-	-	-	-	-	-	-
LP7Ye	-	-	-	-	-	-	-
LP8Br	-	-	-	-	-	5	-
LP11Ye	10	-	-	-	-	-	-
LP12Ye	-	-	-	-	-	-	-
LP13Ye	-	-	-	-	-	-	-
LP14Wh	-	-	-	-	-	-	-
LP16Ye	-	-	-	-	-	-	-
LP17WY	-	-	-	-	-	-	-
LP18Ye	-	-	-	-	-	-	-
N7Ye	-	-	10	-	15	-	-
N9WC	33	12	34	-	-	20	-
N10Br	-	-	-	-	-	-	-
N13Gy	-	-	-	-	-	-	-
N14Bl	-	-	-	-	-	-	-
N23Cr	-	-	-	-	-	-	-
N21Pi	-	-	-	-	-	-	-
N22Br	-	54	48	58	49	44	-
N23Cr	-	-	-	-	-	-	-
N29GC	31	-	39	-	-	-	-
N37WC	23	26	24	-	-	28	15
N38Gr	29	23	21	-	-	28	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ1 (ต่อ) ผลการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

รหัสเชื้อ	บริเวณการยับยั้ง (มิลลิเมตร)						
	B. subtilis	MRSA	*M. luteus*	*E. coli*	*P. aeroginosa*	*S. aureus*	*C. albicans*
N39Wh	38	30	27	-	-	25	-
N42Wh	-	25	30	-	-	37	15
N43WG	38	36	36	-	-	42	31
N44Cr	27	25	19	-	-	28	15
PBR2Or	-	-	-	-	-	-	-
PBR5Ye	-	-	-	-	-	-	-
PBR6Cr	4	-	8	-	-	-	-
PBR9BY	-	-	-	-	-	-	-
PBR11Ye	-	-	-	-	-	-	-
PBR14Cr	-	-	-	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

สถานที่เก็บตัวอย่างดิน

ตาราง ฉ1 แสดงสถานที่เก็บดินตัวอย่าง

หมู่บ้าน	ตำบล	อำเภอ	จังหวัด	ประเทศ
มั่ว	ทุ่งงาม	เสริมงาม	ลำปาง	ไทย
มณีพฤกษ์	ปอน	ทุ่งช้าง	น่าน	ไทย
ห้วยยาง	หนองจอก	ท่ายาง	เพชรบุรี	ไทย
หนองส้ม	สระพัง	เขาย้อย	เพชรบุรี	ไทย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้