การศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยการอยู่รอดของสปอร์เชื้อไมโครไบสปอราสำหรับการพัฒนาเทคนิคการแยกเชื้อเหล่านั้นจากตัวอย่างดินธรรมชาติ

THE COMPARATIVE STUDIES OF THE SURVIVAL FACTOR OF *MICROBISPORA* SPORES FOR THEIR ISOLATION TECHNIQUE DEVELOPING FROM NATURAL SOIL SAMPLES

นภัสสร สมพงศ์
ปานรวี หัสนิสสัย

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยการอยู่รอดของสปอร์เชื้อไมโครไบสปอราสำหรับการพัฒนาเทคนิคการแยกเชื้อเหล่านั้นจากตัวอย่างดินธรรมชาติ

THE COMPARATIVE STUDIES OF THE SURVIVAL FACTOR OF *MICROBISPORA* SPORES FOR THEIR ISOLATION TECHNIQUE DEVELOPING FROM NATURAL SOIL SAMPLES

นภัสสร สมพงศ์
ปานรวี หัสนิสสัย

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE COMPARATIVE STUDIES OF THE SURVIVAL FACTOR OF *MICROBISPORA* SPORES FOR THEIR ISOLATION TECHNIQUE DEVELOPING FROM NATURAL SOIL SAMPLES

NAPATSORN SOMPONG
PANRAWEE HASNISSAI

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
BACHELOR OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยการอยู่รอดของสปอร์เชื้อไมโครไบ-สปอราสำหรับการพัฒนาเทคนิคการแยกเชื้อเหล่านั้นจากตัวอย่างดินธรรมชาติ The comparative studies of the survival factor of *Microbispora* spores for their isolation technique developing from natural soil samples.
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนภัสสร สมพงศ์ รหัสนักศึกษา 57050708 นางสาวปานรวี หัสนิสสัย รหัสนักศึกษา 57050726
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.จิตติ ท่าไว

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยการอยู่รอดของสปอร์เชื้อไมโครไบ-สปอราสำหรับการพัฒนาเทคนิคการแยกเชื้อเหล่านั้นจากตัวอย่างดินธรรมชาติ

ชื่อนักศึกษา นางสาวนภัสสร สมพงศ์ รหัสนักศึกษา 57050708

นางสาวปานรวี หัสนิสสัย รหัสนักศึกษา 57050726

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2560

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.จิตติ ท่าไว

บทคัดย่อ

จุดมุ่งหมายของการศึกษานี้คือค้นหาปัจจัยที่ทำให้การรอดชีวิตของสปอร์เชื้อไมโครไบสปอราและสเตรปโตมัยเซสมีคววมแตกต่างกันเพื่อใช้พัฒนาเทคนิคในการแยกเชื้อ

เชื้อไมโครไบสปอร่า จำนวน 17 ไอโซเลต และเชื้อสเตรปโตมัยเซส จำนวนs 6 ไอโซเลต ถูกนำมาใช้ในการศึกษานี้ เชื้อเหล่านี้ถูกยืนยันในระดับสกุลด้วยการลักษณะทางสัณฐานวิทยา วิธีการทดสอบทางเคมี ได้แก่ (1) ทดสอบสารละลายสปอร์ด้วยฟีนอล, (2) ทดสอบสารละลายสปอร์ด้วยสารคลอเฮกซิดีนไดกลูโคเนต (3) ทดสอบสารละลายสปอร์ด้วยสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (4) ทดสอบสารละลายสปอร์ด้วยสารทวีน 80 สำหรับวิธีการทดสอบทางกายภาพ ได้แก่ (5) ทดสอบสารละลายสปอร์ทดสอบด้วยความร้อนแห้ง (6) ทดสอบสารละลายสปอร์ด้วยคลื่นไมโครเวฟ (7) ทดสอบสารละลายสปอร์ด้วยรังสียูวี (8) ทดสอบสารละลายสปอร์ทดสอบกับความแห้ง

วิธีการส่วนมากที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อการเจริญของเชื้อไมโครไบสปอร่า และสเตรปโตมัยเซส ในทางตรงกันข้ามการทดสอบการรอดชีวิตของสารละลายสปอร์ด้วยความแห้งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เป็นปัจจัยที่มีประสิทธิภาพต่อการแยกเชื้อไมโครไบสปอร่าออกจากเชื้อสเตรปโตมัยเซส

คำสำคัญ : ไมโครไบสปอร่า เทคนิคการแยกเชื้อ ปัจจัยการรอดชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The comparative studies of the survival factor of *Microbispora* spores for their isolation technique developing from natural soil samples
Students	Miss Napatsorn Sompong Student ID 57050708
	Miss Panrawee Hasnissai Student ID 57050726
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Chitti Thawai

Abstract

The aim of this study is to investigate the different survival factors for developing the selective method for *Microbispora* and separating microbisporae from streptomycetes.

Seventeen *Microbispora* isolates and six *Streptomyces* isolates were used for this study. These isolates were taxonomically confirmed to genera level using morphological observation. Elements of the procedure for the chemical tests were (1) treatment of spore suspension with phenol, (2) treatment of spore suspension with chlorhexidine digluconate, (3) treatment of spore suspension with Sodium dodecyl sulfate, (4) treatment of spore suspension with Tween80. Elements of the procedure for the physical tests were (5) treatment of spore suspension with hot-air dried, (6) treatment of spore suspension with microwave radiation, (7) treatment of spore suspension with ultraviolet radiation, (8) treatment of spore suspension with desiccation.

Almost treatments used in this study revealed no significant difference for growth between the members of the genus *Microbispora* and *Streptomyces*. In contrast, the treatment of spore suspension with desiccation at 30°C for 14 day was an effective factor for separating the microbisporae from streptomycetes.

Keywords : *Microbispora* Isolation Survival factor

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร. จิตติ ท่าไว อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ แก้ไขข้อบกพร่อง ตลอดจนช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ มาโดยตลอดจนปริญญานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ ผู้ศึกษาจึงกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการ และ ดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ ซึ่งกรุณารับเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิในการตรวจสอบปริญญานิพนธ์นี้พร้อม ทั้งได้กรุณาให้ข้อเสนอแนะ และปรับปรุงปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ นางสาวนันทวรรณ เนียมหอม นางสาวสุชาดา กิตติศรีโสภิต นายสักการ ชนะเดช และผู้เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุน คอยช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดจนปริญญานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณ นักวิทยาศาสตร์เจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาที่ได้อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ขอขอบพระคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย ท้ายที่สุดนี้ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งสำหรับบิดามารดา และครอบครัวของผู้วิจัยที่คอยเป็นกำลังใจ ให้โอกาส และสนับสนุนในทุกด้านเป็นอย่างดีมาโดยตลอดคุณค่าและประโยชน์ที่พึงมีจากปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

นภัสสร สมพงศ์
ปานรวี หัสนิสสัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ช
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อแอคติโนมัยสีท 3
2.1.1 การจัดจำแนกประเภทของเชื้อแอคติโนมัยสีท 3
2.2 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) ของเชื้อแอคติโนมัยสีท 5
2.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristic) 5
2.3 ลักษณะของเชื้อไมโครไบสปอรา (Microbispora) 12
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 14
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 16
3.1 เครื่องมือ 16
3.2 สารเคมี 16
3.3 สายพันธุ์ และสภาวะในการเลี้ยงเชื้อ 16
3.4 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) ของเชื้อแอคติโนมัยสีท 17
3.5 การเตรียมสารละลายสปอร์ 17
3.6 ทดสอบการรอดชีวิตทางเคมี 18
3.6.1 Phenol 18
3.6.2 Chlorhexidine diglucose 18
3.6.3 Sodium dodecyl sulfate 18
3.6.4 Tween 80 18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

3.7 ทดสอบการรอดชีวิต 19
3.7.1 ความร้อนแห้ง 19
3.7.2 ความแห้ง 19
3.7.3 คลื่นไมโครเวฟ 19
3.7.4 รังสียูวี 19
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 21
4.1 ผลการศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท 21
4.2 ผลการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมี 35
4.2.1 การทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Phenol 35
4.2.2 การทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Chlohexidine digluconate (CG) .. 37
4.2.3 การทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Sodium dodecyl sulfate (SDS) ... 39
4.2.4 การทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Tween 80 41
4.3 ผลการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพ 43
4.3.1 ทดสอบโดยความร้อนแห้ง 43
4.3.2 ทดสอบโดยคลื่นไมโครเวฟ 48
4.3.3 ทดสอบโดยรังสียูวี 50
4.3.4 ทดสอบโดยความแห้ง 53
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 56
เอกสารอ้างอิง 58
ภาคผนวก 60
ภาคผนวก ก 61
ภาคผนวก ข 62
ภาคผนวก ค 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 ไอโซเลตแอคติโนมัยสีทที่นำมาใช้ในการทดลอง..... 17
4.1 ลักษณะการเจริญและสัญฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน..... 33
4.2 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Phenol.... 35
4.3 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Chlohexidine digluconate..... 37
4.4 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Sodium dodecyl sulfate..... 39
4.5 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Tween 80..... 41
4.6 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยการ ให้ความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส..... 43
4.7 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยการ ให้ความร้อนแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส..... 45
4.8 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยการ ให้ความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส..... 47
4.9 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดย คลื่นไมโครเวฟ..... 49
4.10 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยใช้รังสียูวี..... 51
4.11 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยความแห้ง..... 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียบนอาหาร	5
2.2	การสร้างสปอร์เดี่ยวเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล	7
2.3	ลักษณะสปอร์แบบสาย	9
2.4	การสร้างสปอร์แบบเป็นสายยาวของ *Streptomyces*	10
2.5	รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนอาหาร	11
2.6	รูปทรงของอับสปอร์	12
2.7	แสดงลักษณะสปอร์ของเชื้อสกุล Microbispora ที่มีลักษณะเป็นสปอร์คู่บนก้านชูสปอร์ที่สั้น	13
4.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ST2	21
4.2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ST3	22
4.3	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ST5	22
4.4	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ST6	23
4.5	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ST7	23
4.6	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ST9	24
4.7	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต AN2-5	24
4.8	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต BR3-3	25
4.9	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต CL1-1	25
4.10	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต CL2-2	26
4.11	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต CS-R-4	26
4.12	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต KE1-2	27
4.13	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต KE1-3	27
4.14	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต KE2-2	28
4.15	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต KE2-4	28
4.16	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต KK1-10	29
4.17	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต KK1-11	29
4.18	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต KM1-1	30
4.19	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต KM1-2	30
4.20	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ZO-H-11	31
4.21	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ZZ1-4	31
4.22	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ZZ2-2	32
4.23	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต ZZ-H-4	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.24 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง Streptomyces และ Microbispora หลังทดสอบกับPhenol..... 36

4.25 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง Streptomyces และ Microbispora หลังทดสอบกับChlorhexidine digluconate..... 38

4.26 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง Streptomyces และ Microbispora หลังทดสอบกับSodium dodecyl sulfate..... 40

4.27 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง Streptomyces และ Microbispora หลังทดสอบกับ Tween 80..... 42

4.28 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่างStreptomyces และ Microbispora หลังทดสอบโดยความร้อนแห้ง 100°C..... 44

4.29 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง Streptomyces และ Microbispora หลังทดสอบโดยความร้อนแห้ง 110°C..... 46

4.30 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง Streptomyces และ Microbispora หลังทดสอบโดยความร้อนแห้ง 120°C..... 48

4.31 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง Streptomyces และ Microbispora หลังทดสอบกับคลื่นไมโครเวฟ..... 50

4.32 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง Streptomyces และ Microbispora หลังทดสอบกับรังสียูวี..... 53

4.33 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง Streptomyces และ Microbispora หลังทดสอบกับความแห้ง..... 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แบคทีเรียที่ดื้อยาเป็นหนึ่งในภัยคุกคามที่สำคัญต่อสุขภาพมนุษย์ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่และมีประสิทธิภาพ ในปี 1928 มีการค้นพบเพนนิซิลินผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีต้นกำเนิดจากจุลินทรีย์ซึ่งเป็นแหล่งที่มาของยาปฏิชีวนะจำนวนมากที่ใช้เพื่อรักษาโรคติดเชื้อ แอคติโนมัยสีทผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีที่สุด โดยประมาณ 2ใน3 ของ ยาปฏิชีวนะจากธรรมชาติ ถูกผลิตขึ้นจากแอคติโนมัยสีท(Aouiche *et al*. 2012; Smaoui *et al*. 2012; Tawiah *et al*. 2012)

เชื้อแอคติโนมัยสีทเป็นเชื้อที่พบทั่วไปตามธรรมชาติทั้งในดิน บนบก ทะเลลึก บริเวณใกล้ชายฝั่ง และป่าชายเลน แอคติโนมัยสีทมีความสำคัญต่อระบบนิเวศน์ เนื่องจากเป็นผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน และแอคติโนมัยสีทยังเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์มากกว่าครึ่งพบว่ามาจากแอคติโนมัยสีท ซึ่งสารเหล่านี้มีความสำคัญทางด้านการแพทย์ นำไปใช้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น สารปฏิชีวนะ และสารต้านมะเร็ง เป็นต้น(Goodfellow *et al*., 1988) การแยกแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างต่างๆ เช่น ดิน มักจะพบเชื้อ *Streptomyces* อยู่เป็นจำนวนมาก ประมาณ 70-95% ของแอคติโนมัยสีททั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจากแอคติโนมัยสีทชนิดอื่นๆมีปริมาณน้อย และเจริญได้ช้ากว่า จัดเป็นแอคติโนมัยสีทอื่นๆ นอกเหนือจากสกุล *Streptomyces* เป็นแอคติโนมัยสีทที่หายาก ซึ่งได้แก่สกุล *Micromonospora* , *Nocardia* , *Actinomadura* , *Microtetraspora* , *Microbiospora* , *Streptosporangium* , *Dectylosporangium* และ *Actinoplanes* เป็นต้น ซึ่งบทบาทส่วนใหญ่ของแอคติโนมัยสีทมักมาจากเชื้อในสกุล *Streptomyces* อย่างไรก็ตามเชื้อแอคติโนมัยสีทที่หายากก็ยังเป็นกลุ่มที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นกลุ่มที่มีความสามารถหลากหลาย(ศรีสกุล, 2552)

เมื่อเร็วๆนี้ *Microbispora* และ *Micromonospora* กลายเป็นแหล่งใหม่ที่น่าสนใจของสารที่มีประโยชน์ต่ออุตสาหกรรม เช่น สารปฏิชีวนะ(Goodfellow *et al*., 1988) ซึ่งเราเชื่อว่าหากมีวิธีการคัดแยกเชื้อได้อย่างรวดเร็วจะนำไปสู่การค้นพบสารปฏิชีวนะและจะช่วยแก้ปัญหาแบคทีเรียดื้อยาได้ ดังนั้นเราจึงทำโครงงานพิเศษเพื่อค้นหาวิธีการแยกเชื้อ *Microbispora* ออกจาก *Streptomyces*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการคัดเลือกเชื้อ *Microbispora*

1.2.2 เพื่อพัฒนาวิธีการแยกเชื้อแอคติมัยสีทในสกุล *Microbispora* ออกจาก *Streptomyces*

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ทำการศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่นำมาใช้ทดสอบ

1.3.2 ทดสอบการรอดชีวิตโดยวิธีทางเคมี โดยใช้สารเคมี 4 ชนิด คือ Sodium dodecyl sulfate, tween80, phenol และ chlorhexidine digluconate

1.3.3 ทดสอบการรอดชีวิตโดยวิธีทางกายภาพโดย ความร้อนแห้ง, ความแห้ง, การใช้คลื่นไมโครเวฟ, การใช้รังสียูวี

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถแยกเชื้อแอคติมัยสีทในสกุล *Microbispora* ออกจาก *Streptomyces*

1.4.2 สามารถนำไปใช้ในการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการแยกเชื้อแอคติมัยสีทในสกุล *Microbispora* ออกจาก *Streptomyces* เพิ่มเติมในอนาคตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปของแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทจัดเป็นแบคที่เรียแกรมบวกที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ หลากหลายตั้งแต่ลักษณะเป็นท่อน ทรงกลม มีลักษณะเป็นเส้นสายคล้ายเชื้อรา เชื้อในกลุ่มนี้มีการ สร้างสปอร์แบบไม่อาศัยอาศัยเพศเกิดจากการแตกหักของเส้นใย (Fragmentation) สามารถสร้าง สปอร์ชูขึ้นมาในอากาศ (Aerial mycelium) แอคติโนมัยสีทเมื่อเจริญบนอาหารแข็งสามารถสร้างเส้น ใยที่เจริญลงไปใต้ผิวอาหาร (Substrate mycelium) ซึ่งเกิดในการเจริญในช่วงแรก โคโลนีจะมีผิว เรียบ ต่อมามีการสร้างเส้นใยชูขึ้นมาในอากาศท้าให้โคโลนีที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนคล้าย กำมะหยี่ (Velvet) หรือเป็นผงฝุ่นคล้ายแป้ง (Powdery) ผิวโคโลนีจะมีลักษณะเรียบหรือขรุขระ สี ของโคโลนีนั้นจะขึ้นอยู่กับสีของสปอร์ที่เกิดขึ้น เช่น ขาว เทา เหลือง ส้ม เขียว แดง ม่วง และฟ้าเงิน ส่วนใหญ่เส้นใยด้านล่างอาหารมักมีสีฟ้าตาลเป็นส่วนใหญ่ แต่ก็อาจจะพบมีสีเหมือนสปอร์ได้เช่นกัน สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิด ได้แก่ สารต่อต้านเชื้อรา (Anti-fungal agent) เช่น Candicidin และสารพวก Polyene macrolide ซึ่งผลิตโดยเชื้อ *S. griseus* ที่มีคุณสมบัติ สามารถยับยั้งผนังเซลล์ของเชื้อราได้

2.1.1 การจัดจำแนกประเภทของแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทถูกจัดจำแนกออกเป็นกลุ่มโดยใช้ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology เล่มที่ 4 (Williams R.H., 1989) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ แบ่งออกเป็น 8 กลุ่มดังนี้

1. Nocardioform

เป็นกลุ่มที่เส้นใยมีการแตกหักเป็นแท่งหรือกลม บางชนิดสร้างโคนิเดีย เชื้อ แอคติโนมัยสีทกลุ่มนี้ทุกสกุลเป็นพวกที่ต้องการอากาศ ยกเว้นสกุล *Oerskoviae* ที่ต้องการอากาศ เพียงเล็กน้อยในการเจริญ เชื้อในกลุ่มนี้มีผนังเซลล์แบบ LL-DAP ในสกุล *Nocardia* และ *Rhodococcus* จะพบกรดไมโคลิก (mycolic acid) ในผนังเซลล์ และพบน้ำตาลภายในเซลล์เป็น อะราบิโนส และกาแล็คโตส

2. Multilocularsporangia

เชื้อแอคติโนมัยสีทกลุ่มนี้มีทั้งหมด 3 สกุล ได้แก่ *Dermatophilus, Geodermatophilus* และ *Frankia* ทั้ง 3 สกุลนี้ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ

3. Actinoplanetes

เชื้อแอคติโนมัยสีทในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 5 สกุล ได้แก่ *Actinoplanes, Ampullariella, Pilimelia, Dactylospoangium,* และ *Micromonospora* เชื้อในกลุ่มนี้ส่วนมากอยู่ในน้ำ เพราะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นกลุ่มที่มีสปอร์เคลื่อนที่ได้ในน้ำในช่วงหนึ่งของวงจรชีวิต ยกเว้นสกุล *Micromonospora* เชื้อในกลุ่มนี้มีผนังเซลล์แบบ Meso-DAP และ OH-DAP มีน้ำตาลในเซลล์คือ น้ำตาลไซโลส และอะราบิโนส *Micromonospora* สร้างสปอร์แบบไม่เคลื่อนที่ เกิดขึ้นเดี่ยวๆไม่มีก้านหรือมีเพียงสั้นๆมักพบรวมกันเป็นกลุ่ม มีลักษณะกลม รูปไข่ หรือวงรี ผนังหนา บางครั้งพบตุ่ม หรือหนามที่ผนัง

4. Streptomycetes และสกุลที่ใกล้เคียง

เชื้อแอคติโนมัยสีทในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 4 สกุล ได้แก่ *Streptomyces, Streptoverticillium, Kineosporia* และ *Sporichthya* เส้นใยเป็นแบบมีผนังกั้น มีการสร้างเส้นใยอากาศ เมื่อเจริญเต็มที่จะสร้างสปอร์เป็นลูกโซ่ มีจ้านวนสปอร์ตั้งแต่ 3 ขึ้นไป ผิวโคโลนีจะมีลักษณะย่นๆ เมื่อมีอายุมากขึ้น ที่ผิวหน้าของเส้นใยจะมีลักษณะเป็นฝุ่นผง เชื้อในกลุ่มนี้มี DAP ที่ผนังเซลล์เป็นแบบ LL-DAP

5. Maduromycetes

เชื้อแอคติโนมัยสีทในกลุ่มนี้ มีทั้งหมด 7 สกุล ได้แก่ *Microbispora, Microtetraspora, Actinomadura, Planobispora, Planomonospora, Spirillorospora* และ *Streptosporangium* กลุ่มนี้ต้องการอากาศในการเจริญ สร้างเส้นใยราบมีการแตกแขนง ผนังเซลล์เป็นแบบ Meso-DAP พบน้ำตาลภายในเซลล์ ได้แก่ น้ำตาลมาดูโรส

6. Thermomonospora และสกุลใกล้เคียง

เชื้อแอคติโนมัยสีทกลุ่มนี้ มีทั้งหมด 4 สกุล ได้แก่ *Thermomonospora, Actinosynnema, Nocardiopsis* และ *Streptoalloteichus* กลุ่มนี้ต้องการอากาศในการเจริญและสร้างสปอร์อยู่บนเส้นใยที่แตกกิ่งก้านชูขึ้นในอากาศ ผนังเซลล์เป็นแบบ Meso-DAP ไม่มีกรดไมโคลิก (mycolic acid) แต่มี เมนาควิโนน(menaquinone) ที่มี ไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid) จำนวน 9-10 หน่วย (MK-9, MK-10) การเรียงตัวและลักษณะของสปอร์จะแตกต่างกันไปตามแต่ละสกุล

7. Thermoactinomycetes

กลุ่มนี้มีเพียง 1 สกุล ได้แก่ *Thermoactinomyces* ซึ่งเป็นพวกที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูง ซึ่งในกลุ่มนี้จะมีเอ็นโดสปอร์ที่แท้จริง ทนความร้อนได้ดี มีคุณสมบัติของเอ็นโดสปอร์ของ แบคทีเรียครบถ้วน มีปริมาณกวานีนและไซโตซีน ต่ำกว่าพวกแอคติโนมัยสีททั่วไป มีความสัมพันธ์ ใกล้เคียงกับพวก Bacillus แต่มีสัณฐานวิทยาที่ต่างจากพวก Bacillus กลุ่มนี้ยังสามารถสร้างเส้นใย อากาศ (Aerial mycelium) ทุกสปีชีส์ ผนังเซลล์กลุ่มนี้เป็นแบบ Meso-DAP ไม่พบน้ำตาลและกรดอะมิโนภายในเซลล์ พบเมนาควิโนน (Menaquinone) แบบไม่อิ่มตัว เช่น MK-7 หรือ MK-9

8. กลุ่มอื่น ๆ

เชื้อแอคติโนมัยสีทในกลุ่มนี้มีทั้งหมด4สกุลได้แก่ *Glycomyces, Kibdelosporangium, Kitasatosporia* และ *Saccharothrix* เป็นกลุ่มที่ยังหาความสัมพันธ์กับเชื้อแอคติโนมัยสีทกลุ่มอื่นไม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

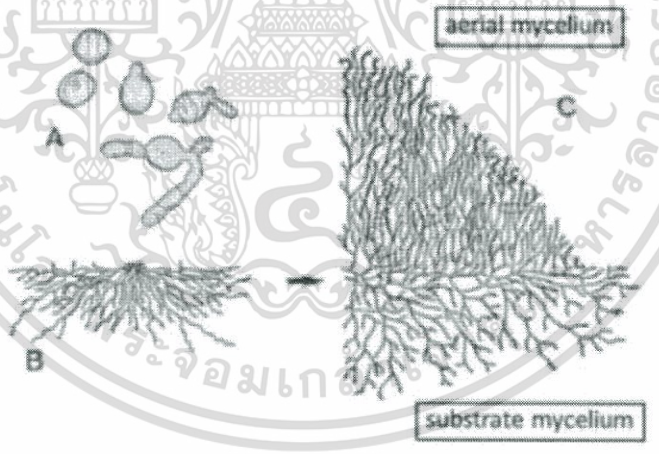
2.2 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) ของเชื้อแอคติโนมัยสีท

เป็นลักษณะต่าง ๆ ที่ปรากฏให้เห็น เช่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะการเจริญ ลักษณะทางสรีระวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมี การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทด์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท มีดังนี้ คือ

2.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristic) ทำโดยการศึกษาลักษณะรูปร่างและโครงสร้างของเชื้อแอคติโนมัยสีท เช่น ลักษณะของเส้นใยอากาศ เส้นใยอาหาร และลักษณะสปอร์ ซึ่งศึกษาได้โดยการใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มี เลนต์ส่องระยะไกล (Long working distance) เป็นเลนต์วัตถุ หรือในกรณีที่ต้องการรายละเอียดที่ ชัดเจนมากขึ้นอาจศึกษาโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

2.2.1.1 การสร้างโคโลนีและลักษณะโคโลนี

โคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียเกิดจากการรวมกันของเส้นใยเป็นกลุ่มเส้นใยที่หนาแน่น การสร้าง โคโลนีบนอาหารแข็ง (รูปที่ 2.1) เริ่มจากการลงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งอาจเป็นสปอร์เดี่ยวอับสปอร์ส่วนของเส้นใยที่หัก หรือจากบางส่วนของโคโลนีเดิม



รูปที่2.1 ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียบนอาหาร

A: อับสปอร์มีการพัฒนาเป็นเส้นใย

B: สายใยอาหารเจริญแทงผ่านลงไปในอาหาร (substrate mycelium)

C: เส้นใยเจริญเหนืออาหารและมีการสร้างสปอร์ (aerial mycelium)

ที่มา: Atlas of Actinomycetes (1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.2 ลักษณะของโคโลนี

ลักษณะของโคโลนีมีความแตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ เช่นใน *Streptomyces* มีทั้งเส้นใยแบบ aerial mycelium และ substrate mycelium ซึ่งเป็นโครงสร้างหลัก ของโคโลนี ใน *Micromonospora* และ *Actinoplanes* ไม่มีเส้นใยแบบ aerial mycelium ส่วน Sporichthya การสร้างเส้นใยถูกจำกัดทำให้มี aerial mycelium ทำให้โคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียฟู หรือเรียบแบนบางครั้งลักษณะคล้ายหนังสัตว์ มีความหลากหลายตั้งแต่นูน, เหนียว จนถึงแข็ง ผิวหน้า โคโลนีอาจเรียบ, นูน, ขรุขระหรือ เป็นเกล็ดขนาดโคโลนีขึ้นกับสปีชีส์อายุและสภาวะการเจริญเส้นผ่าน ศูนย์กลางของโคโลนี มีความแตกต่างตั้งแต่หน่วยมิลลิเมตรจนถึงเซนติเมตร

ลักษณะโดยทั่วไปของโคโลนีแอคติโนแบคทีเรีย

1) ลักษณะของโคโลนี(configuration)รูปร่างของโคโลนีบนจานอาหารอาจมีรูปร่างกลม (round) รูปร่างไม่แน่นนอนและเจริญลามไปบนจานอาหาร (irregular and spreading)หรือเจริญเป็นเส้นคล้าย รากไม้ (rhizoid) เป็นต้น

2) ขนาด (size) โคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์มีขนาดตั้งแต่เล็กเท่าปลายเข็ดหมุดจนถึงเส้นผ่านศูนย์กลางความยาวมิลลิเมตร

3) การยกตัวของโคโลนี (elevation) จานพื้นอาหารโคโลนีที่เจริญบนอาหารอาจแบนราบหรือนูน

4) ขอบของโคโลนีจุลินทรีย์ (margin) มีตั้งแต่ขอบเรียบหรือไม่เรียบ

2.2.1.3 ลักษณะเส้นใยและโครงสร้างภายใน

ลักษณะของเส้นใยสามารถบ่งบอกลักษณะของเชื้อในแต่ละสกุลได้โดยเส้นใยแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือเส้นใยที่เจริญแทรกลงไปใต้ผิวอาหาร เรียกว่า เส้นใยอาหารและเส้นใยที่ชูสูงขึ้นมาบนอากาศเรียกว่า เส้นใยอากาศ โดยปกติเชื้อแอคติโนมัยสีทจะสร้างเส้นใยทั้งสองชนิดแต่จะมีเชื้อแอคติโนมัยสีทในบางสกุลสร้างแค่เส้นใยอาหารเท่านั้นเชื้อแอคติโนมัยสีทมีการสร้างเส้น ใยที่มีลักษณะแตกต่างกัน เช่น บางสกุลอาจสร้างเส้นใยที่มีการหักเป็นท่อน ๆ บางสกุลอาจสร้างเส้นใย ที่แตกเป็นกิ่งก้าน เป็นต้น

โครงสร้างภายในของเส้นใยมีความหนาประมาณ 0.4 - 1.2 ไมโครเมตร เส้นใยเป็นแบบมีผนังกั้นและเจริญออกทางด้านปลายสามารถแตกแขนงได้โครงสร้างหลักใน เส้นใยที่แสดงว่าเป็นโปรคาริโอตคือในไซโตพลาสซึมประกอบไปด้วยสายดีเอ็นเอ ไรโบโซม และสาร ต่างๆ ที่รวมอยู่ด้วยกัน เช่น Polyphosphate, Lipid หรือ Polysaccharides เยื่อหุ้มเซลล์ติดกับไซโตพลาสซึมอาจเกิดมีโซโซมซึ่งมักต่อกับโครงสร้างของผนังเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.4 ลักษณะสปอร์

สปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท มีทั้งสปอร์ที่ไม่มีถุงหุ้ม (Conidia) และสปอร์ที่มีถุงหุ้ม (Sporangiospore) การเรียงตัวของสปอร์สามารถใช้ในการจำแนกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ โดยเชื้อแอคติโนมัยสีทมักมีการสร้างสปอร์โดยแบ่งออกเป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

(1) สปอร์เดี่ยว

การสร้างสปอร์เดี่ยวเรียกว่า Monosporous พบในหลายสกุล ใน *Micromonospora* พบในหลายสกุล ใน *Micromonospora* ก้านชูสปอร์(Sporophore) เกิดขึ้นบนสายใยอาหารสปอร์ติดอยู่ที่ฐานหรือพองตัว จากนั้นมีการสร้างผนังกั้น และสร้างเป็นผนังสปอร์ในส่วนของสกุล *Thermomonospora* สร้างสปอร์เดี่ยวบนสายใยอากาศ ที่ ปลายก้านชูสปอร์ ที่แตกแขนงหรือไม่แตกแขนง การแตกแขนงทำให้เกิดการสร้างเป็นกลุ่มของสปอร์ สกุลอื่นๆที่สร้างสปอร์เดี่ยวคือ *Saccharomonospora* มีการสร้างสปอร์เดี่ยวรูปไข่ที่ปลายสายใย อากาศก้านชูสปอร์ไม่แตกแขนง ถ้าใช้ศัพท์ทางราอาจเรียกว่าการสร้างสปอร์เดี่ยวของ *Micromonospora, Thermomonospora* และ *Saccharomonospora* ว่า aleuriospores เพราะ สปอร์เกิดจากปลายเส้นใยที่แตกแขนงมีการโป่งออกลักษณะการสร้างสปอร์เดี่ยวของ *Micromonospora, Thermomonospora* และ *Saccharomonospora* ดังรูปที่2.2

ที่มา: Atlas of Actinomycetes (1997)

รูปที่2.2 การสร้างสปอร์เดี่ยวเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล

A: *Micromonospora*

B: *Thermomonospora*

C: *Saccharomonospora*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

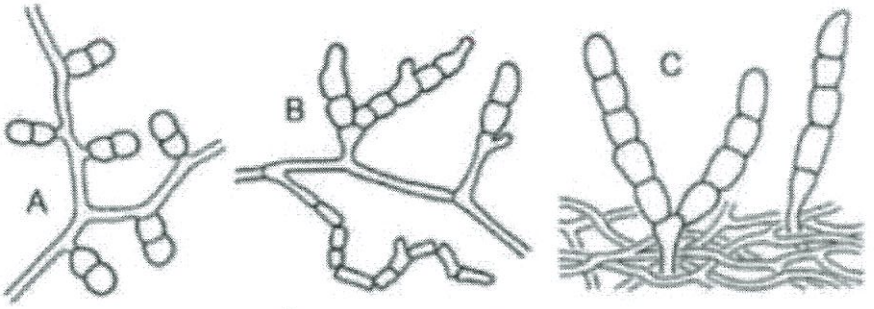
(2) สปอร์ที่สร้างต่อกันเป็นสาย(Spores formed in chains)

สปอร์มีลักษณะเป็นเส้นสาย เกิดจากผนังกั้นเส้นใยในแต่ละห้องท้าให้เส้นใยเปลี่ยนไปเป็นสปอร์ เชื้อแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่มีการสร้างสปอร์ในลักษณะนี้ การเรียกชนิดของสปอร์จะเรียกตามลักษณะของสปอร์ ความยาวของสายสปอร์และจ้านวนสปอร์ เช่น สปอร์คู่ (Disporous) สปอร์สายสั้น (Oligosporous) และสปอร์สายยาว (Polysporous)

สปอร์คู่ เป็นคู่ของสปอร์ที่มีการเรียงตัวตามยาว สปอร์มีลักษณะกลมไปจนถึงรูปไข่ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2ไมโครเมตร ผนังสปอร์มีความหนามากกว่าเส้นใย 3 ถึง 4 เท่า ก้านชูสปอร์มีลักษณะสั้นมากอยู่บนเส้นใยอากาศ การสร้างสปอร์ในช่วงแรกเกิดการแยกตัวออกทางด้านข้างของส้นใยอากาศ ท้าให้เกิดเป็นแขนงสั้นๆ และเกิดการโปร่งพองพร้อมกับสร้างผนังกั้นตรงกลางตามแนวขวาง เช่น เชื้อสกุล *Microbospora* แสดงดังรูปที่ 2.3

สปอร์สายสั้น เป็นการสร้างสปอร์ที่มีลักษณะเป็นสายสั้น ๆ ส่วนมากในแต่ละสายจะมีสปอร์ประมาณ 7 ถุง 20 สปอร์ น้อยที่สุด 3 สปอร์ หรือบางสายพันธุ์สร้างได้มากสุดถึง 30 สปอร์ ตัวอย่างเช่น เชื้อ *Nocardia brevicatena* (แสดงดังรูปที่ 2.3) มีการสร้างสปอร์สายสั้นจำนวน 2 ถึง 7 สปอร์อยู่บน เส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ โดยก้านชูสปอร์และสายสปอร์อาจเกิดมาจากเส้นใยที่มีการแตกหักเป็น ท่อน ๆ เชื้อ *Saccharopolyspora rectivirgura* มีการสร้างสายสปอร์ที่มีสปอร์จานวนน้อยกว่า 5 สปอร์อยู่ที่ด้านข้างหรือส่วนปลายของเส้นใยที่ไม่มีการแตกกิ่งก้าน *Actinomadura* และ *Microtetraspora* มีการสร้างสปอร์สายสั้นที่มีลักษณะเฉพาะอยู่บนเส้นใยอากาศ จำนวนสปอร์ต่อสาย นั้นแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อ โดยสกุล *Microtetraspora* มีสปอร์จำนวน 4 สปอร์และจนถึง 10 ถึง20 สปอร์ สายสปอร์อาจตรง เป็นขอ มีลักษณะเป็นวงเปิด (open loop) หรือเป็นเกลียว (spiral) ซ้อน 1 ชั้นจนถึง 4 ชั้น *Actinomadura pusila* ในสกุล *Streptoverticllium* มีลักษณะเฉพาะคือก้าน ชูสปอร์อยู่เป็นวงรอบเส้นใยแกน สายสปอร์เป็นเกลียวซ้อนติดกันกับเส้นใยแกนที่มีสายสปอร์จะเกิดการ บิดสายสปอร์สั้น อาจจะตรงโค้งงอปลายเป็นขอ การสร้างสปอร์ในสกุล *Macrospora, Microcelosporia* และ *Elytrosporangium* มีลักษณะสปอร์ใหญ่บนสายสปอร์สั้นหรือสายสั้นๆ บน สายใยอาหาร สายสปอร์สั้นพบใน *Sporichthya polymorpha* ซึ่งสายใยอากาศมีสปอร์เป็นรูปแท่ง จนถึงสปอร์กลม *Catellatopora* สายสปอร์มีลักษณะตรงจนโค้งงอ มีสปอร์ 5 – 30 สปอร์ ซึ่งแทง ขึ้นมาจากอาหารเป็นสายสั้นไม่แตกแขนงหรือมีก้านชูสปอร์ที่แตกแขนง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.3 ลักษณะสปอร์แบบสาย

A : การสร้างแบบ disporous ของ *Microbispora*

B : การสร้างสปอร์ oligosporous ของ *Nocardia brevicatena*

C : การสร้างสปอร์ oligosporous ของ *Catellatospora*

ที่มา: Atlas of Actinomycetes (1997)

สปอร์สายยาว แอคติโนมัยสีทที่สร้างสปอร์แบบสายยาว (polysporous) ที่สำคัญสปีชีส์ในสกุล*Streptomyces* ซึ่งมีการสร้างสปอร์เป็นสายมากกว่า 50 สปอร์ ดังรูปที่2.4 สปอร์ของ *Streptomyces* และแอคติโนมัยสีทชนิดอื่นๆที่มี สปอร์มากกว่ามักเรียกว่า อาร์โทสปอร์ (Arthospores) ซึ่งสอดคล้องกับ Arthospores ของกลุ่มรา ในกลุ่ม*Deuteromycota* ที่มีการสร้างสปอร์และมีการแตกหักของเส้นใย ความแตกต่างของลักษณะของสายสปอร์สามารถใช้เป็นมาตรฐานใน การจัดหมวดหมู่ได้ การสร้างสปอร์บนสายใยอากาศของ *Streptomyces* มีความแตกต่างกันสามารถ แบ่งออกได้เป็น 4 ลักษณะคือ

1) Rectiflexbiles ลักษณะของสายสปอร์ตรง หรือโค้งงอ

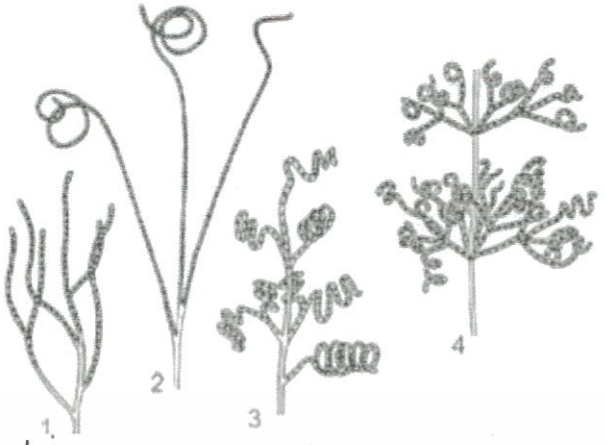
2) Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (hook) เป็นวงเปิดหรือเป็นเกลียวซ้อนกัน 1–3 ชั้น

3) Spira สายสปอร์เป็นเกลียวแยกได้เป็น 2 แบบคือเป็นวงปิดเป็นเกลียวติดกันแน่นและเป็นเกลียวแบบวงเปิดเกลียวยาว ยืด ไม่ติดกันแน่น

4) Verticillati สายสปอร์ขดคล้ายก้นหอย และแตกแขนงกันแน่น

ในบางกรณีสายสปอร์เป็นเกลียวขดกันแน่นและแยกออกมา ทำให้มีลักษณะเหมือนกับอับสปอร์ หรือ Pycnidia นอกจากนี้ในวงศ์*Pseudoncardiaceae* เกิดสายสปอร์บนสายใยอาหารและสายใย อากาศอีกสกุลที่มีสปอร์เป็นสายยาว คือ *Nocardiopsis* ซึ่งเกิดขึ้นบนสายใยอากาศ อาจเป็นสายใยตรง งอ หรือซิกแซก เชื้อสกุล *Kibdelosporangium* สร้างสปอร์สายยาและมีการสร้างโครงสร้างที่มี ลักษณะคล้ายถุงหุ้มสปอร์อยู่บนเส้นใยอากาศ ร่วมทั้งเส้นใยมีการแตกหักเป็นท่อน เชื้อสกุล *Actinopolyspora* สร้างสปอร์สายยาวอยู่บนเส้นใยอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.4 การสร้างสปอร์แบบเป็นสายยาวของ *Streptomyces*

1) Rectiflexbiles

2) Retinaculiaperti

3) Spira

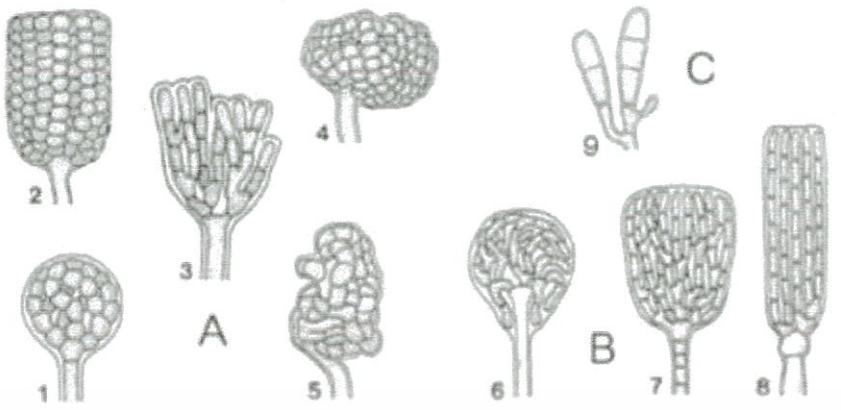
4) Verticillati

(3) การสร้างสปอร์ในอับสปอร์

การสร้างสปอร์ในอับสปอร์มีหลายสกุลที่สร้างสปอร์ในอับสปอร์ภายในอับสปอร์มีสปอร์อยู่มากมาย สามารถแบ่งกลุ่มการสร้างอับสปอร์ได้เป็น 2 กลุ่ม

3.1) กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนสายใยอาหาร ประกอบด้วยสกุล *Actinoplans* อับสปอร์มีลักษณะทรงกลม หรือเกือบกลมจนไปถึงไม่เป็นรูปทรงที่แน่นอน มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 – 15 ไมโคเมตรและอยู่บนสายใยอาหารโดยตรง มีสปอร์ต่อกันเป็นสายและแตกแขนงขดกันเป็นก้อนอยู่ภายในผนังห่อหุ้ม (รูปที่2.6) สปีชีส์*Ampullariella* ในสกุล *Atinoplans* สร้างอับสปอร์มีรูปร่างแตกต่างกันไป คือ รูปทรงกระบอก ทรงขวด เป็นต้น ขนาดของอับสปอร์เฉลี่ยกว้าง 10 ไมโครเมตร ยาว 5 ไมโครเมตร สปอร์เป็นรูปแท่งต่อกันเป็นสายอีกสกุลที่มีการสร้างสปอร์ในอับสปอร์คือ Pilimelia อับ สปอร์สร้างขึ้นบนผิวของอาหาร มีรูปทรงกระบอก ทรงกลม ขนาดประมาณ 10 – 15 ไมโครเมตร สปอร์เป็นรูปแท่ง มีการเรียงตัวกันเป็นแถวขนานกันหรือวกวนไม่เป็นระเบียบ นอกจากนี้ยังมีอีกสกุล คือ *Dactylosporangium* สกุลนี้มีจำนวนสปอร์แบบ Oliosporous คือมีสปอร์ประมาณ 2 – 5 สปอร์ อยู่ในอับสปอร์ที่มีรูปร่างคล้ายนิ้วมือ

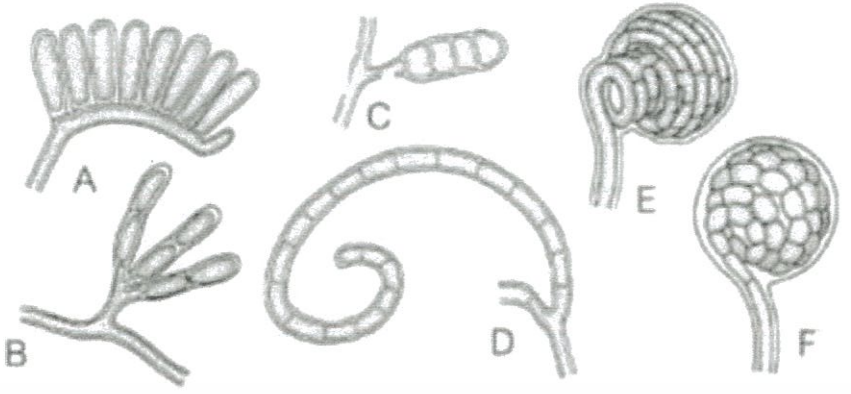
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนอาหาร
(A) ถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อสกุล *Actinoplanes* รวมถึง *Ampullariella*
1. ทรงกลม 2. ทรงกระบอก 3.เป็นพู 4. กึ่งทรงกลม 5. ไม่เป็นรูปทรง
(B) ถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อสกุล *Pilimelia*
6. ทรงรี 7. รูปทรงระฆัง 8. ทรงกระบอก
(C) ถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อสกุล *Dactylosporangium*
9. รูปทรงกระบอก

3.2) กลุ่มที่มีการสร้างอับสปอร์บนสายใยอากาศ(รูปที่ 2.7) ประกอบด้วยสกุล *Planomonospora* มีอับสปอร์รูปทรงกระบอก ภายในทรงกระบอกมีเพียง 1สปอร์ สกุล *Planobispora* มีสปอร์คู่ต่อกันอยู่ในอับสปอร์ สกุล *Planotetraspora* มีอับสปอร์ทรงกระบอกยาว ภายในมี 4 สปอร์ ต่อกันเป็นหนึ่งแถวสกุล *Planoplyspora* มีสปอร์จำนวนมากภายในสปอร์อับสปอร์ 12 เมื่อโตเต็มที่อับสปอร์จะเป็นแผ่นแบบยาวประมาณ 30 ไมโครเมตร มีสปอร์จำนวนมหาศาลต่อกันเป็น แถวเดี่ยวอยู่ภายใน สกุล*Streptosporangium* ส่วนมากอับสปอร์เป็นทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร มีการสร้างผนังกั้นเป็นสปอร์เดี่ยวๆ ต่อกันเป็นเส้นใยยาวขดเป็นวงอยู่ในภายในอับสปอร์ สกุล*Kutzneria* ได้ถูกแยกออกจากสกุล *Streptosporangium* มีอับสปอร์ลูกกลมขนดใหญ่ เส้นผ่าน ศูนย์กลางมากกว่า 48 ไมโครเมตร และมีผนังอับสปอร์บาง อยู่บนก้านชูสปอร์ สกุล *Spirllospora* มีอับ สปอร์เรียงตัวเป็นสายแตกแขนง หรือเป็นวงสปอร์เป็นรูปแท่งและโค้งงอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.6 รูปทรงของอับสปอร์

(A) ถุงหุ้มสปอร์แบบโมโนสปอรัสของเชื้อสกุล *Planomonospora* สปอร์รูปทรงกระบอก

(B) ถุงหุ้มสปอร์แบบไดสปอรัสของเชื้อสกุล *Planobispora* สปอร์รูปทรงกระบอก

(C) ถุงหุ้มสปอร์แบบเตตระสปอรัสของเชื้อสกุล *Planotetraspora* สปอร์รูปทรงกระบอก

(D) ถุงหุ้มสปอร์แบบโพลีสปอรัสของเชื้อสกุล *Planopolyspora* สปอร์รูปทรงคล้ายท่อ

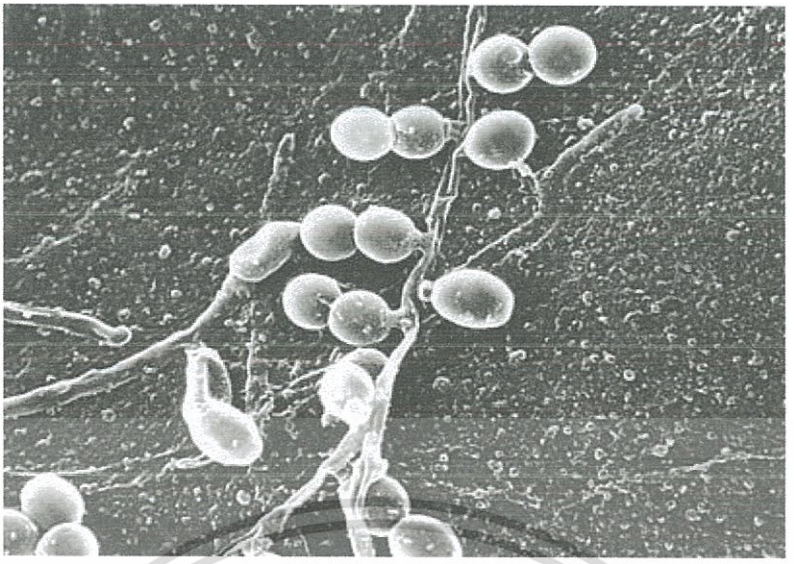
(E) ถุงหุ้มสปอร์แบบโพลีสปอรัสของเชื้อสกุล *Spirillospora* สปอร์รูปทรงกลม

(F) ถุงหุ้มสปอร์แบบโพลีสปอรัสของเชื้อสกุล *Streptosporangium* สปอร์รูปทรงกลม

2.3 ลักษณะของเชื้อไมโครไบสปอรา (*Microbispora*)

เชื้อสกุลไมโครไบสปอราจัดอยู่ในแฟมิลี่ *Streptosporangiaceae* ซึ่งประกอบด้วยเชื้อสกุล *Actinocapospora Clavisporangium Herbidospora Microbispora Microtetraspora Nonomoraea Planobispora Planomonospora Planotetraspora Sphaerosporangium Streptosporangium Thermopolyspora Acrocarspora* และ *Microbispora* ซึ่งเชื้อในสกุล *Microbispora* มีลักษณะที่ต่างออกไปจากเชื้อสกุลอื่นๆในแฟมิลี่นี้คือ สามารถสร้างสปอร์มีลักษณะต่อกันเป็นคู่ เกิดบนก้านชูสปอร์ที่สั้นบนส่วนของเส้นใยอากาศ สปอร์มีรูปร่างกลมจนถึงรูปไข่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 ไมโครเมตร (Nonomora, 1989) ดังรูปที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.7 แสดงลักษณะสปอร์ของเชื้อสกุล *Microbispora* ที่มีลักษณะเป็นสปอร์คู่บนก้านชูสปอร์ที่สั้น (ที่มา: Hayakawa และคณะ, 1991)

เชื้อสกุล *Microbispora* ค้นพบครั้งแรกโดย Nonomura และ Ohara ในปี 1957 โดยจัดว่าเป็นเชื้อในกลุ่มแอคติโนมัยสีท ซึ่งพิจารณาจากลักษณะการสร้างสปอร์ เชื้อสกุล *Microbispora* สายพันธุ์แรกที่มีการค้นพบนั่นคือ *Microbispora rosea* แยกได้จากตัวอย่างดินในสวน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ที่ 28-31 องศาเซลเซียส ในอาหาร GYM *Streptomyces* Medium Rolled Oats Mineral Medium และ Organic Medium ต่อมาได้ถูกเสนอให้เป็นกลุ่ม *Microbispora rosea* subsp. *rosea* เชื้อสกุลนี้ส่วนมากเจริญได้ในช่วงอุณภูมิแระมาณ 20-37 องศาเซลเซียส (Mesophilic) แต่มีบางสายพันธุ์เช่น *Microbispora thermodiastatica* และ *Microbispora thermorasea* ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิได้ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส (Thermophilic) (Hayakawa และคณะ, 1991)

ในปี 1957 Henssen ได้เสนอเชื้อ *Microbispora bispora* ขึ้น แต่จากการศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีนในช่วง 16s rRNA gene (Weng และคณะ, 1996) แสดงให้เห็นว่า *Microbispora bispora* มีลำดับวิวัฒนาการที่ห่างไกลออกไปจากกลุ่มของ *Microbispora rasea* และกลุ่มอื่นๆ รวมไปถึงในแฟมิลี่ *Streptosporangiaceae* ดังนั้นจึงได้เสนอให้มีการเปลี่ยนกลุ่มของ *Thermobispora* ให้มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Thermobispora bispora*

Nonomura และ Ohara เสนอชื่อเชื้อ *Microbispora psrvs Microbispora chromogenes Microbispora amethystogenes* และ *Microbispora diastatica* ขึ้นในปี 1960 แต่เมื่อได้รับการศึกษาเพิ่มเติมโดยละเอียดอีกครั้ง กลับพบว่าเป็นไปจามลักษณะเดียวกันกับ *Microbispora rosea* subsp. *rosea*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gerber และ Lechevalier ได้พบเชื้อ *Microbispora aerate* ในปี 1964 ซึ่งเจริญได้ที่อุณภูมิสูงถึง 50 องศาเซลเซียส และเจริญได้ดีบนอาหาร Rolled Oats MineralMedium ต่อมาปี 1991 Miyadoh และคณะ ได้ทำการศึกษาเชื้อสายพันธุ์นี้ใหม่พร้อมกับเสนอให้เป็นเชื้อ *Microbispora rasea* subsp. aerate

ปี 1969 Nonomura และ Ohara ได้เสนอชื่อของ *Microbispora thermodiastatica* และ *MIcrobispora thermorosea* ขึ้นอีกครั้ง โดยจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกับ *Microbispora rasea* subsp. aerate ต่อมาในปี 1971 ได้พบเชื่อ *Microbispora echinospora* เมื่อศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานอย่างละเอียดพบว่าเชื้อในสกุล *Actinomadura* จึงเสนอให้เปลี่ยนเป็นเชื้อ *Actinomadura echinospora*

นอกจากนี้ในจำนวนรายชื่อของเชื้อแบคทีเรียที่ได้รับบันทึกไว้นั้น Sherman และคณะ 1980 ได้กล่าวไว้ว่ามีจำนวนเชื้อแอคติโนมัยสีท 10 สายพันธุ์ที่จัดว่ามีลักษณะเป็นไปตามเชื้อสกุล *Microbispora* เมื่อศึกษาเพิ่มเติมพบว่า สายพันธุ์ *Microbispora viridis* (Miyadoh และคณะ, 1985) *Microbispora karatakensis* และ *Microbispora indica* (Rao และคณะ, 1987) ควรได้รับการเสนอให้เป็นเชื้อแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ใหม่ ต่อมา Kroppensted และ Miyadoh ได้ศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของอนุกรมวิธานทางเคมีในปี 1990 และได้ทำการย้ายเชื้อ *Microbispora echinospora* และ *Microbispora viridis* ไปสู่อีกสกุลหนึ่งคือ สกุล *Actinomadura* ชื่อว่า *Actinomadura echinospora* และ *Actinomadura rugatobispora* ตามลำดับ (Nakajima และคณะ, 1999)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ando และคณะ (1958) ทำการทดสอบผลกระทบของ Tween 80 ต่อการเจริญของ *Erysipelothrix incidiosa* โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1 และ 1.0% ซึ่งจากการทดสอบปรากฏว่า ที่ความเข้มข้น 0.1% จะช่วยส่งเจริญการเจริญของเชื้อให้มีการเจริญที่ดีขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นสูงถึง 1.0% ปรากฏว่าไปยับยั้งการเจริญของเชื้อ ทำให้มีอัตราการเจริญลดน้อยลง

Cunningham (1979) ทำการศึกษาอิทธิพลของคลื่นไมโครเวฟต่อแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ โดยทำการทดสอบด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ 915 หรือ 2450 MHz ผลปรากฏว่ายิ่งเวลาเพิ่มมากขึ้นการเจริญของแบคทีเรียก็จะลดน้องลงตามลำดับ

Hayakawa และคณะ (1991) ทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดิน เพื่อหาวิธิการใหม่สำหรับคัดแยก *Micromonospora* และ *Microbispora* ซึ่งได้ทำการทดสอบเชื้อกับ 1.5% phenol และ0.01% Chlohexidine gluconate ซึ่งจากการทดสอบปรากฏว่า *Microbispora* สามารถทนต่อสารทั้ง 2 ชนิดได้ ในขณะที่ *Streptomyces* สามารถเจริญได้เพียงเล็กน้อย ในบางสปีชีส์ไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเจริญได้เลย และก็ได้ทำการทดสอบเชื้อโดยใช้ความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า *Microbispora* มีอัตราการเจริญสูงกว่า *Streptomyces* อยู่มาก

Hayakawa และคณะ (1991) ทำการแยกเชื้อแอคโนมัยสีทจากดิน เพื่อหาวิธีการใหม่เพื่อแยกแอคติโนมัยสีทจากดิน โดยทำการทดสอบกับ Sodium dodecyl sulfate(SDS) 0.05% พบว่า SDS สามารถทำลายเซลล์แบคทีเรียในดินได้ ในขณะที่แอคติโนมัยสีทยังสามารถเจริญได้

Kolarova และคณะ (2007) ค้นพบสารอัลคาลอยด์ธรรมชาติชนิดใหม่จากการเลี้ยง *Microbispora aerate* สายพันธุ์ IMBAS-11A ที่แยกมาจากเกาะลิฟวิงสตอน ประเทศแอนตาร์กติกา โดยสารอัลคาลอยด์ที่พบเป็นสารปฏิชีวนะ 2, bacillamide

Lakshman และคณะ (2006) สามารถแยก Polyhydroxyalkanoate จากเซลล์ของ *Sinorhizobium meliloti* โดยใช้เอนไซม์ของ *Microbispora* sp. ในการหมักแบบ secondary fermentation

Miyadoh และคณะ (1985) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีระวิทยา ของไมโครไบสปอราสายพันธุ์ใหม่ *Microbispora viridis* พบว่ามีเส้นใยอากาศสีเขียว และสปอร์มีลักษณะเป็นคู่แนวยาวอยู่บนเส้นใยอากาศ

Mertz และคณะ (1982) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีระวิทยา ของสเตรปโตมัยเซสสายพันธุ์ใหม่ *Streptomyces cupillispirulis* พบว่าสปอร์เป็นสีเทา และมีลักษณะเป็นเกลียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องดูดสารอัตโนมัติ (Automatic pipette)
4. กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)
5. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
6. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
7. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
8. ไมโครเวฟ (Microwave)
9. โถดูดความชื้น (Desiccator)
10. เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
11. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)
12. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

3.2 สารเคมี

Glucose , Agar , Yeast extract , Malt extract , Soluble starch , KNO_3 , NaOH , Chlorhexidine digluconate , HCl , DMSO , Sodium dodecyl sulfate (SDS) , Tween 80 , Phenol , Silica gel , Nalidixic acid , Nystatin , NaCl

3.3 สายพันธุ์ และสภาวะในการเลี้ยงเชื้อ

Microbisprora ทั้งหมด 17 ไอโซเลต จากโครงงานพิเศษของ นางสาวนันทวรรณ เนียมหอม และ *Streptomyces* ทั้งหมด 6 ไอโซเลต จากห้องปฏิบัติการทางแอคติโนมัยสีท คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง นำเชื้อที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยการขีดลากเชื้อลงบนจานอาหาร ISP2 (Yeast extract - Malt extract agar) (ภาคผนวก ก.) โดยวิธีครอส สตีก (Cross streak)เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว (Single colony) หลังจากนั้นนำโคโลนีเดี่ยวที่ได้มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารเอียง ISP2 (Yeast extract - Malt extract agar) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเก็บรักษาเชื้อแอคติโนมัยสีทบริสุทธิ์ (Pure culture) นี้ไว้ได้ 7-14 วัน หลังจากนั้นสามารถถ่ายเชื้อลงหลอดอาหารเอียงใหม่ได้เรื่อยๆหรือเรียกว่าการต่อเชื้อ (Sub culture) เพื่อเก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ใช้ในการทดลองขั้นต่อๆไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ไอโซเลตแอคติโนมัยสีทที่นำมาใช้ในการทดลอง

	ไอโซเลต
Microbisprora	AN2-5 BR3-3 CL1-1 CL2-2 CS-R-4 KE1-2 KE1-3 KE2-2 KE2-4 KK1-10 KK1-11 KM1-1 KM1-2 ZO-H-11 ZZ-H-4 ZZ1-4 ZZ2-2
Streptomyces	ST2 ST3 ST5 ST6 ST7 ST9

3.4 การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) ของเชื้อแอคติโนมัยสีท

ขีดเชื้อแอคติโนมัยสีทลงบนจานอาหาร ISP2 (Yeast extract - Malt extract agar) โดยวิธีครอส สตีก (Cross streak) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 ถึง 28 วัน หรือ จนกว่าเชื้อจะสร้างสปอร์ ตรวจดูการเจริญของเชื้อ ลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร การสร้างเส้นใยอากาศหรือสปอร์ของเชื้อ สีของโคโลนีทั้งด้านบนและด้านล่าง ดูการสร้างรงควัตถุที่สามารถละลายน้ำได้โดยเทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน ตรวจดูลักษณะสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เลนส์ส่องระยะไกล (Long-Working distance) กำลังขยาย 400 เท่า ทั้ง *Microbisprora* และ *Streptomyces*

3.5 การเตรียมสารละลายสปอร์

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทจากหลอดอาหารเอียง ISP2 (Yeast extract - Malt extract agar) มาทำการ Cross streak ลงบนอาหารแข็ง ZSSE (Zhang's starch soil extract) (ภาคผนวก ก.) ที่เติมนิสตาติน (Nystatin) และ กรดนาลิดิซิก (Nalidixic acid) เพาะเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส เพื่อกระตุ้นให้มีการเกิดสปอร์ หลังจากนั้น ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ ขูดที่ผิวหน้าวุ้นเพื่อเก็บสปอร์ของเชื้อลงในสารละลายเกลือความเข้มข้น 0.85% (Normal saline solution) ที่มี Sodium dodecyl sulfate (SDS) 0.01% เขย่าโดยเครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) จนสปอร์ละลาย นำมาเทียบกับสารละลายมาตรฐานMcFaland No. 0.5 จะได้สปอร์ที่มีความเข้มข้นประมาณ $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร แล้วนำมาทำการทดสอบต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 ทดสอบการรอดชีวิตทางเคมี

3.6.1 Phenol

นำละลายสปอร์ที่มีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน 4.5 มิลลิลิตร ของสารละลายPhenol ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% w/v ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ผสมสารละลายให้เข้ากัน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา30 นาที โดยเขย่าเป็นระยะ หลังจากนั้นนำไปเจือจางด้วยสารละลายเกลือ 0.85% (1:1000) ในหลอดทดลอง นำ 0.2 มิลลิลิตร มาทำการ spread plate ทำ 2 ซ้ำ บนอาหารISP2 (Yeast extract - Malt extract agar) นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีที่รอดชีวิต

3.6.2 Chlorhexidine digluconate

นำละลายสปอร์ที่มีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน 4.5 มิลลิลิตร ของสารละลายChlorhexidine digluconate ที่มีความเข้มข้น 0.001, 0.01 และ 0.1% v/v ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ผสมสารละลายให้เข้ากัน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา30 นาที โดยเขย่าเป็นระยะ หลังจากนั้นนำไปเจือจางด้วยสารละลายเกลือ 0.85% (1:1000) ในหลอดทดลอง นำ 0.2 มิลลิลิตร มาทำการ spread plate ทำ 2 ซ้ำ บนอาหาร ISP2 (Yeast extract - Malt extract agar) นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีที่รอดชีวิต

3.6.3 SDS

นำละลายสปอร์ที่มีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน 4.5 มิลลิลิตร ของ สารละลาย Sodium dodecyl sulfate (SDS) ที่ความเข้มข้น 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.1% w/v ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ผสมสารละลายให้เข้ากัน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา30 นาที โดยเขย่าเป็นระยะ หลังจากนั้นนำไปเจือจางด้วยสารละลายเกลือ 0.85% (1:1000) นำ 0.2 มิลลิลิตร มาทำการ spread plate ทำ 2 ซ้ำ บนอาหาร ISP2 (Yeast extract - Malt extract agar) นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีที่รอดชีวิต

3.6.4 tween80

นำละลายสปอร์ที่มีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน 4.5 มิลลิลิตร ของ tween80 ที่ความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1 และ 1.0% w/w ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ผสมสารละลายให้เข้ากัน บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยเขย่าเป็นระยะ หลังจากนั้นนำไปเจือจางด้วยสารละลายเกลือ 0.85% (1:1000) นำ 0.2 มิลลิลิตร มาทำการ spread plate ทำ 2 ซ้ำ บนอาหาร ISP2 (Yeast extract - Malt extract agar) นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีที่รอดชีวิต

การทดสอบทั้ง 4 สาร ใช้สารละลายสปอร์ที่ไม่สัมผัสสารละลายเคมี เป็นชุดควบคุม ทำการเจือจางด้วยสารละลายเกลือ 0.85% นำไป spread plate แล้วบ่มภายใต้สภาวะเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 ทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพ

3.7.1 โดยการให้ความร้อนแห้ง

นำละลายสปอร์ที่มีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่น Blank disc ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำแผ่น disc ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อแบบแก้ว นำเข้าตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 100, 110 และ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที หลังจากนั้นนำมาแผ่น Blank disc ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มี 1.0 มิลลิลิตร ของสารละลายเกลือ 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำทิปที่ติดอยู่กับเครื่องดูดสารอัตโนมัติขูดบนแผ่น disc เพื่อให้สปอร์หลุดออกมา สารละลายที่ได้นำมาเจือจางด้วยสารละลายเกลือความเข้มข้น 0.85% ให้ได้ 1:100 นำ 0.2 มิลลิลิตร ไปทำการ spread plate ทำ 2 ซ้ำ บนอาหาร ISP2 นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน แล้วทำการนับจำนวนโคโลนี

3.7.2 โดยความแห้ง

นำละลายสปอร์ที่มีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่น Blank disc ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำแผ่น disc ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อแบบแก้ว แล้วนำไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ที่มี Silica gel อยู่ด้านล่าง ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 และ 14 วัน หลังจากนั้นนำมาแผ่น disc ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มี 1.0 มิลลิตร ของสารละลายเกลือ 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ที่มีสารละลายเกลือ นำทิปที่ติดอยู่กับเครื่องดูดสารอัตโนมัติขูดบนแผ่น disc เพื่อให้สปอร์หลุดออกมา สารละลายที่ได้นำมาเจือจางด้วยสารละลายเกลือความเข้มข้น 0.85% ให้ได้ 1:100 นำ 0.2 มิลลิลิตร ไปทำการ spread plate ทั้งหมด 2 ซ้ำ บนอาหารISP2 นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน แล้วทำการนับจำนวนโคโลนี

3.7.3 โดยการใช้คลื่นไมโครเวฟ

นำละลายสปอร์ที่มีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วนำไปทดสอบด้วยคลื่นไมโครเวฟ ด้วยไมโครเวฟ โดยใช้กำลังไฟ 450 วัตต์ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 วินาที หลังจากนั้นนำมาทำให้เย็นลงในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปเจือจางด้วยสารละลายเกลือความเข้มข้น 0.85% ให้ได้ 1:1000 นำ 0.2 มิลลิลิตร มาทำการ spread plate ทั้งหมด 2 ซ้ำ บนอาหาร ISP2 นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน แล้วทำการนับจำนวนโคโลนี

3.7.4 โดยการใช้รังสียูวี

นำละลายสปอร์ที่มีความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่น Blank disc ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำแผ่น disc ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อแบบแก้ว เปิดฝาจานเพาะเลี้ยงเชื้อแล้วเปิดหลอดไฟยูวีในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที หลังจากนั้นนำมาแผ่น disc ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มี 1.0 มิลลิลิตร ของสารละลายเกลือ 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว อยู่นำทิปที่ติดอยู่กับเครื่องดูดสารอัตโนมัติขูดบนแผ่น disc เพื่อให้สปอร์หลุดออกมา สารละลายที่ได้นำมาเจือจางด้วยสารละลายเกลือความเข้มข้น 0.85%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ได้ 1:100 นำ 0.2 มิลลิลิตร ไปทำการ spread plate ทั้งหมด 2 ซ้ำ บนอาหารISP2 นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน แล้วทำการนับจำนวนโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4. ผลการศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท

นำเชื้อแอคติโนมัยสีททั้งหมด 24 ไอโซเลต แบ่งเป็น *Streptomyces* 7 ไอโซเลตและ *Microbispora* 17 ไอโซเลต มาเลี้ยงบนอาหาร yeast extract – malt extract agar (ISP2) เพื่อตรวจสอบการเจริญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีทโดยสังเกตจากโคโลนีหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเป็นเวลา 14 วัน เพื่อศึกษาการเจริญ สีของเส้นใยอากาศ สีของเส้นใยอาหาร ลักษณะสปอร์ และสีของรงควัตถุของแอคติโนมัยสีท พบว่า

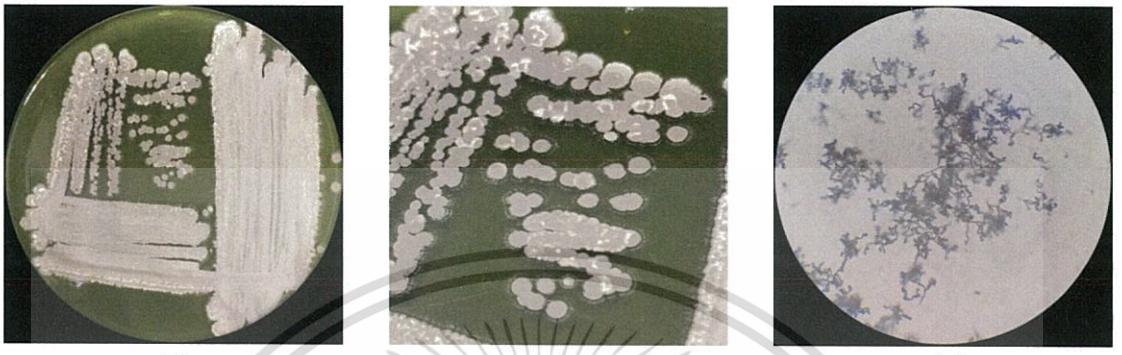
แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST2 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 เมื่อถึงระยะสร้างสปอร์โคโลนีมีลักษณะแข็ง สร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) สร้างเส้นใยอาหารสีขาวนวล (Yellowish White) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สร้างสปอร์เป็นแบบเกลียวแบบวงเปิดไม่ติดกันแน่น ยาวยืดอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.1 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST3 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 โคโลนีมีลักษณะนูน เรียบโคโลนีสร้างเส้นใยอากาศสีเทากลาง (Medium Gray) เส้นใยอาหารขาวนวล (Yellowish White) มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำสีส้มเหลือง (Moderate Orange Yellow) สายของสปอร์ขดเป็นก้นหอย และแตกแขนงออกเป็นช่อ มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.2 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST3 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

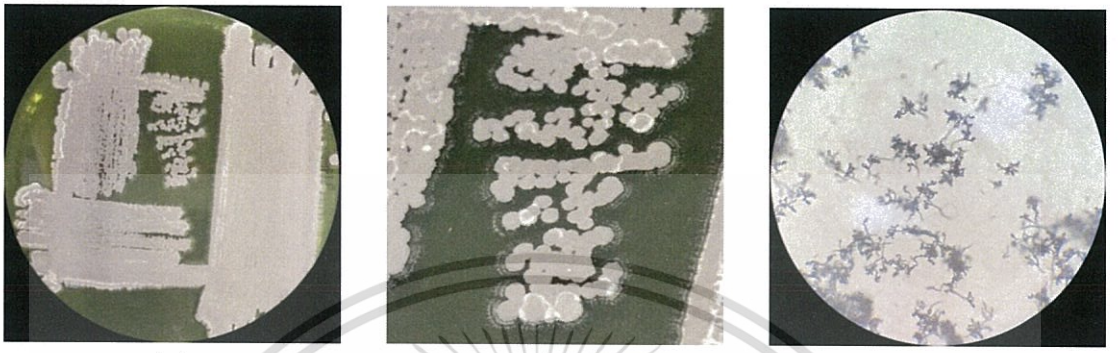
แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST5 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีแข็ง เมื่อถึงระยะสร้างสปอร์โคโลนีมีการสร้างเส้นใยอากาศสีส้มสว่าง (Light Orange) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลสว่าง (Light Brown) มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำสีเหลืองเข้ม (Strong Yellow) สายของสปอร์มีลักษณะคล้ายรูปตะขอ มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.3 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST5 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค)แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST6 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีแข็ง นูน เรียบ มีการสร้างเส้นใยอากาศเป็นสีเทา (Bluish Gray) เส้นใยอาหารสีส้มอมน้ำตาล (Deep Orange Yellow) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สร้างสปอร์ขดเป็นก้นหอย และแตกแขนงออกเป็นช่อ มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.4 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST6 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

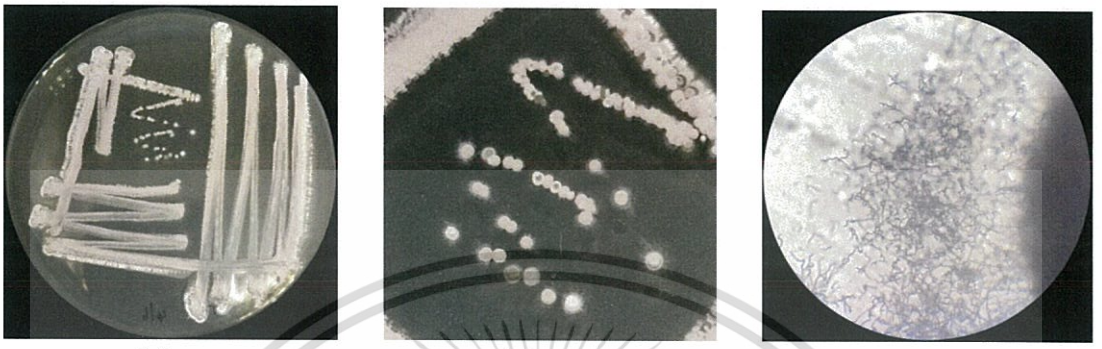
แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST7 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาอมเขียวอ่อน (Pale Green) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลสว่าง (Light Brown) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สร้างสปอร์เป็นแบบเกลียวแบบวงเปิดไม่ติดกันแน่น ยาวยืดอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.5 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST7 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST9 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับที่ขอบโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาอมฟ้า (Light Bluish Gray) เส้นใยอาหารสีส้มอมน้ำตาล (Deep Orange Yellow) ไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์เป็นแบบตะขอ มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.6 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ST9 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต AN2-5 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับที่ขอบโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีขาว (White) เส้นใยอาหารสีส้มอมน้ำตาล (Deep Orange Yellow) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.7 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต AN2-5 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต BR3-3 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) เส้นใยอาหารสีส้มอมชมพู (Strong Yellowish Pink) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.8 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต BR3-3 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต CL1-1 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลสว่าง (light Brown) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.9 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต CL1-1 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

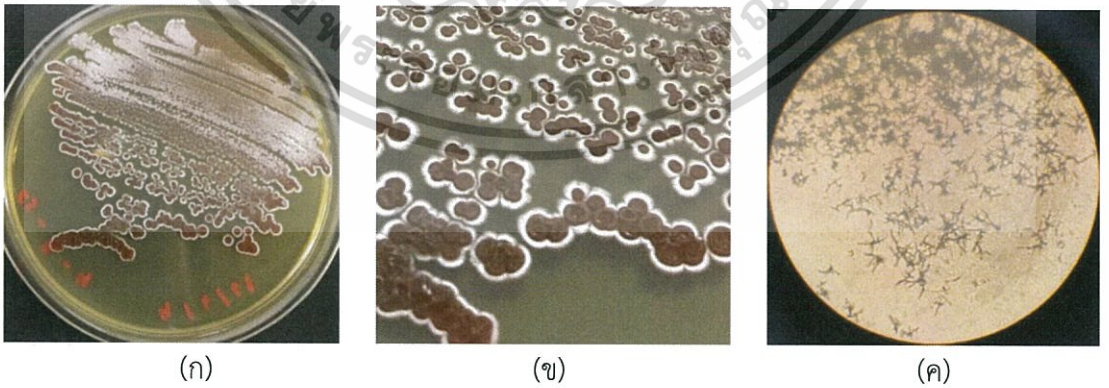
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต CL2-2 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีขาว (White) เส้นใยอาหารสีส้มสว่าง (Light Orange) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.10 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต CL2-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต CS-R-4 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลกลาง (Moderate Brown) มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำสีน้ำตาลสว่างน้ำตาลสว่าง (Light Brown) สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

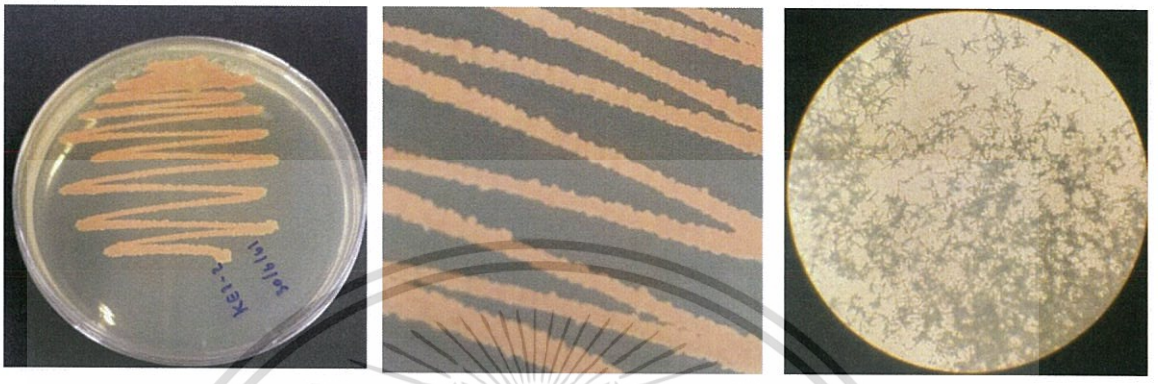


(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.11 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต CS-R-4 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

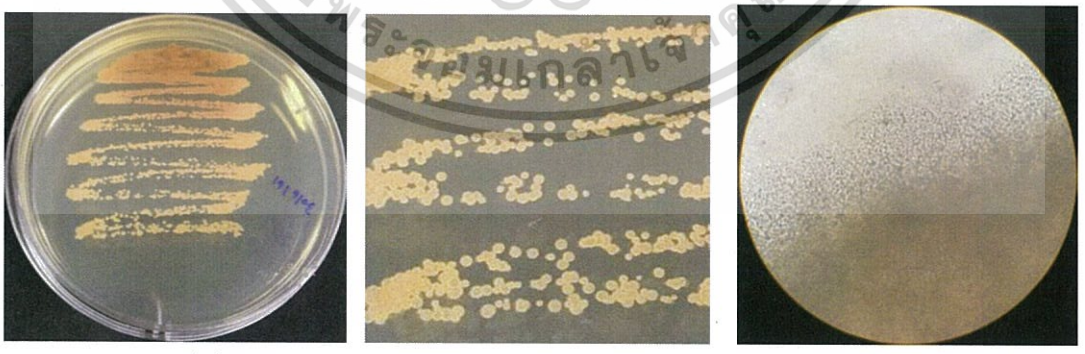
แอคติโนมัยสีทไอโซเลต KE1-2 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) เส้นใยอาหารสีส้มสว่าง (Light Orange) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.14 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต KE1-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต KE1-3 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) เส้นใยอาหารสีส้มสว่าง (Light Orange) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.14 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต KE1-3 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต KE2-2 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีขาว(White) เส้นใยอาหารสีชมพูกลาง (Moderate Pink) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

(ข) (ข) (ค)

รูปที่ 4.14 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต KE2-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต KE2-4 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีน้ำตาลกลาง (Moderate Brown) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลสว่าง (light Brown) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.15 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต KE2-4 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

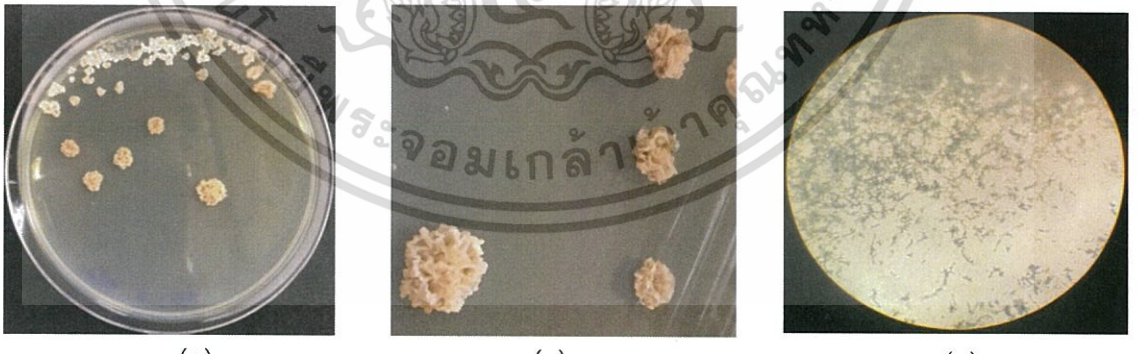
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต KK1-10 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนูน มีรอยพับไปมาบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (light Gray) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลสว่าง (light Brown)ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.17 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต KK1-10 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต KK1-11 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน ฟู มีรอยพับไปมาบนโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีขาว (White) เส้นใยอาหารสีชมพูอมส้ม (Light Yellowish Pink) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

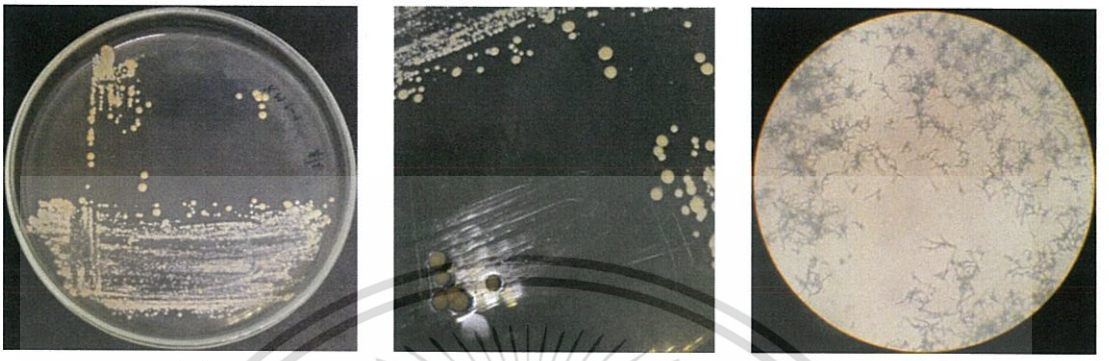


(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.17 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต KK1-11 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

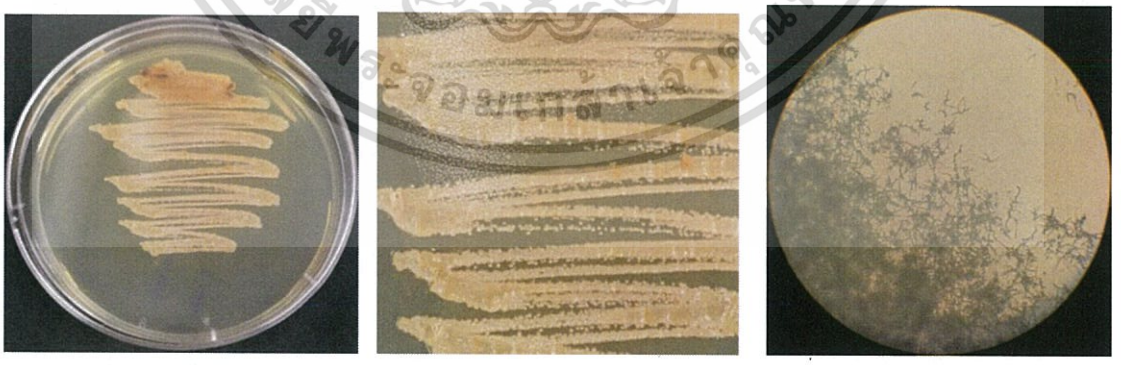
แอคติโนมัยสีทไอโซเลต KM1-1 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับที่ขอบโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีขาว (White) เส้นใยอาหารสีส้มอมเหลือง (Pale Orange Yellow) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.18 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต KM1-1 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต KM1-2 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับที่ขอบโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) เส้นใยอาหารสีเหลืองอมชมพู (Moderate Yellowish Pink) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.19 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต KM1-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ZO-H-11 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับที่ขอบโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) เส้นใยอาหารสีส้มแก่ (Strong Orange) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.20 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ZO-H-11 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

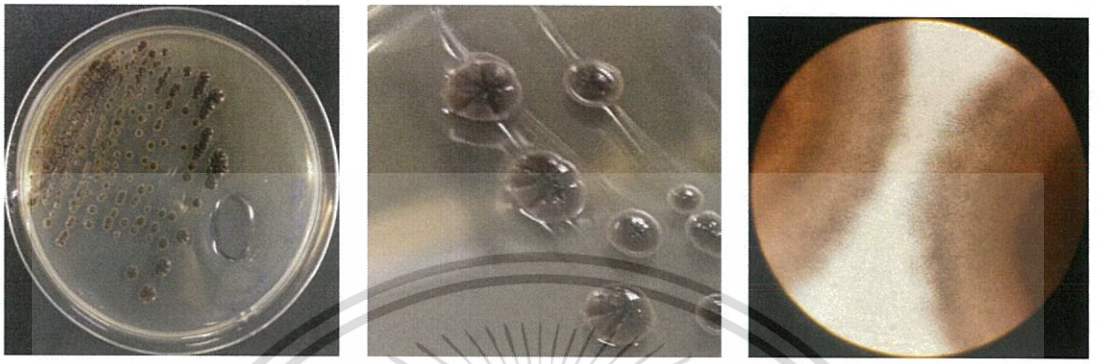
แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ZZ1-4 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับที่ขอบโคโลนี มีการสร้างเส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) เส้นใยอาหารสีส้มกลาง (Moderate Orange) ไม่มีการสร้างรงควัตถุละลายน้ำ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*

(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.21 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ZZ1-4 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

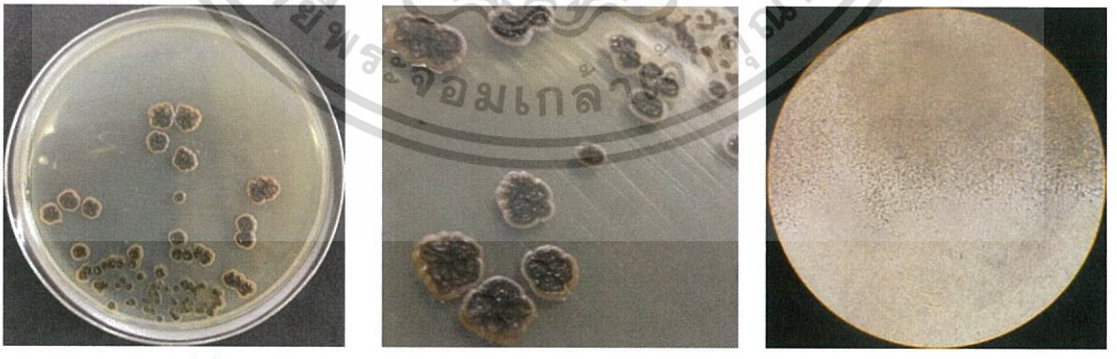
แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ZZ2-2 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับบนโคโลนี ไม่มีการสร้างเส้นใยอากาศ เส้นใยอาหารสีดำอมน้ำตาล (Dark Grayish Yellowish Brown) ไม่มีการสร้างรงควัตถุ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.22 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ZZ2-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต ZZ-H-4 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 ลักษณะโคโลนีนูน มีรอยพับที่ขอบโคโลนี ไม่มีการสร้างเส้นใยอากาศ เส้นใยอาหารสีดำอมน้ำตาล (Dark Grayish Yellowish Brown) ไม่มีการสร้างรงควัตถุ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้นมาก มีลักษณะคล้ายคลึงกับแอคติโนมัยสีทสกุล *Microbispora*



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 4.23 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต ZZ-H-4 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงด้วยเลนส์ส่องระยะไกล (long working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ลักษณะการเจริญและสัญฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน

เชื้อ	การเจริญ	สีเส้นใยอากาศ	สีเส้นใยอาหาร	สีรงควัตถุ
ST2	ดี	เทาสว่าง (Light Gray)	ขาวนวล (Yellowish White)	-
ST3	ดีมาก	เทากลาง (Medium Gray)	ขาวนวล (Yellowish White)	ส้มเหลือง (Moderate Orange Yellow)
ST5	ดีมาก	ส้มสว่าง (Light Orange)	น้ำตาลสว่าง (Light Brown)	มีสีเหลืองเข้ม (Strong Yellow)
ST6	ดีมาก	เทา (Bluish Gray)	ส้มอมน้ำตาล (Deep Orange Yellow)	-
ST7	ดีมาก	เทาอมเขียวอ่อน (Pale Green)	น้ำตาลสว่าง (Light Brown)	-
ST9	ดีมาก	เทาอมฟ้า (Light Bluish Gray)	ส้มอมน้ำตาล (Deep Orange Yellow)	-
AN2-5	ดี	ขาว (White)	ส้มอมน้ำตาล (Deep Orange Yellow)	-
BR3-3	ดี	ขาว (White)	ส้มอมชมพู (Strong Yellowish Pink)	น้ำตาลสว่าง (Light Brown)
CL1-1	ดี	เทาสว่าง (Light Gray)	น้ำตาลสว่าง (light Brown)	
CL2-2	ดี	ขาว (White)	ส้มสว่าง (Light Orange)	-
CS-R-4	ดี	เทาสว่าง (Light Gray)	น้ำตาลกลาง (Moderate Brown)	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ลักษณะการเจริญและสัญฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน (ต่อ)

เชื้อ	การเจริญ	สีเส้นใยอากาศ	สีเส้นใยอาหาร	สีรงควัตถุ
KE1-2	ดี	เทาสว่าง (Light Gray)	ส้มสว่าง (Light Orange)	-
KE1-3	ดี	เทาสว่าง (Light Gray)	ส้มสว่าง (Light Orange)	-
KE2-2	ดี	ขาว(White)	สีชมพูกลาง (Moderate Pink)	-
KE2-4	ดี	น้ำตาลกลาง (Moderate Brown)	น้ำตาลสว่าง (light Brown)	-
KK1-10	ดี	เทาสว่าง (Light Gray)	น้ำตาลสว่าง (light Brown)	-
KK1-11	ดี	ขาว (White)	ชมพูอมส้ม (Light Yellowish Pink)	-
KM1-1	ดี	ขาว (White)	ส้มอมเหลือง (Pale Orange Yellow)	-
KM1-2	ดี	เทาสว่าง (Light Gray)	สีเหลืองอมชมพู (Moderate Yellowish Pink)	-
ZZ1-4	ดี	เทาสว่าง (Light Gray)	สีส้มกลาง (Moderate Orange)	-
ZZ2-2	ดี	-	ดำอมน้ำตาล (Dark Grayish Yellowish Brown)	-
ZO-H-11	ดี	-	ส้มแก่ (Strong Orange)	-
ZZ-H-4	ดี	-	ดำอมน้ำตาล (Dark Grayish Yellowish Brown)	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมี

4.2.1การทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Phenol

ในการทดสอบการรอดชีวิตสปอร์ของแอคติโนมัยสีทในสกุล *Microbispora* 17 ไอโซเลต และ *Streptomyces* 6 ไอโซเลต ด้วย Phenol 4 ความเข้มข้นพบว่าสปอร์ของเชื้อส่วนใหญ่มีอัตราการรอดชีวิตน้อยลง เมื่อความเข้มข้นของ Phenol เพิ่มขึ้น ซึ่งจากเชื้อทั้งหมด 23 ไอโซเลต พบว่าความที่เข้มข้น 1.5% phenol มีเพียง 13 ไอโซเลตที่สามารถเจริญได้และที่ความเข้มข้น 2.0% phenol มีเพียง 5 ไอโซเลตที่ยังสามารถเจริญได้เล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติของสปอร์ของแอคติโนมัยสีททั้ง 2 สกุล พบว่าที่ความเข้มข้น 1.0% phenol อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดย*Streptomyces* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 81.26% และ *Microbispora* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 61.96% แต่ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.5 และ 2.0% phenol ไม่พบความแตกต่าง ของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของเชื้อทั้ง 2 สกุล ดังแสดงในรูปที่ 4.20

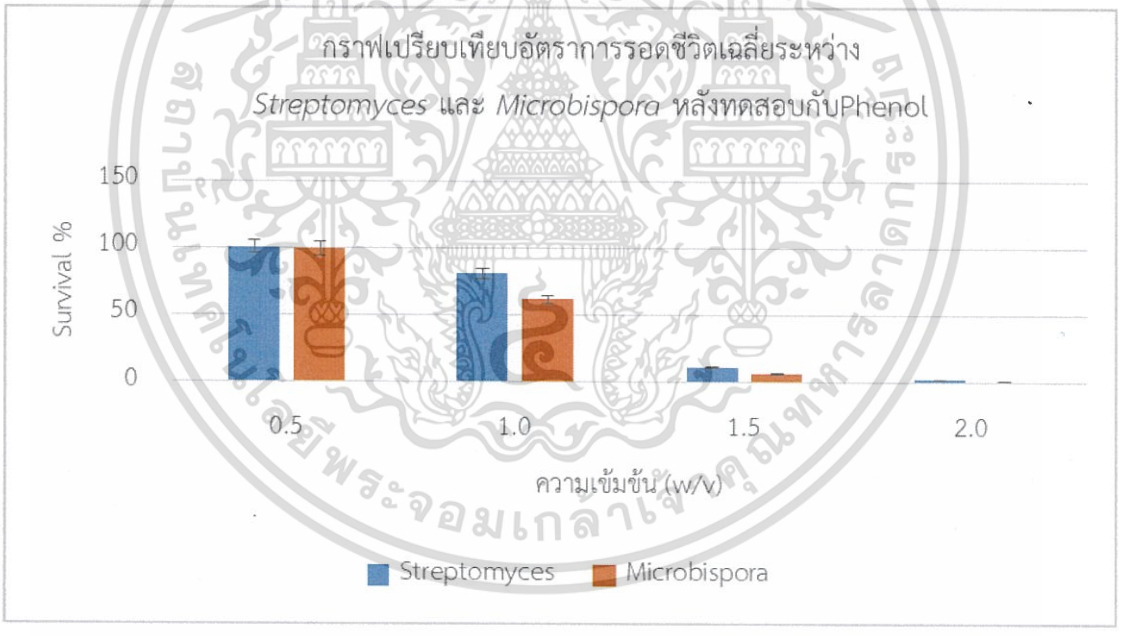
ตารางที่ 4.2 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Phenol

Species	Survival %			
	0.5% phenol	1.0% phenol	1.5% phenol	2.0% phenol
Streptomyces sp. ST2	≥100±0	≥100±0	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST3	≥100±0	69.33±0	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST5	≥100±0	≥100±0	61.67±2.12	12±0
Streptomyces sp. ST6	≥100±0	80.67±2.12	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST7	≥100±0	≥100±0	4.67±0	3.67±0.71
Streptomyces sp. ST9	≥100±0	34.53±6.36	0±0	0±0
Microbispora sp. AN2-5	≥100±0	90.67±4.95	4.33±.5.66	0±0
Microbispora sp. BR3-3	≥100±0	91.33±0.71	9.33±1.41	0±0
Microbispora sp. CL1-1	≥100±0	27.33±1.41	0±0	0±0
Microbispora sp. CL2-2	≥100±0	14±2.83	0±0	0±0
Microbispora sp. CS-R-4	≥100±0	74.67±3.54	28.67±2.83	5±4.95
Microbispora sp. KE1-2	≥100±0	64±0.71	9.67±2.12	0±0
Microbispora sp. KE1-3	≥100±0	88±6.36	3.67±3.54	0±2.12
Microbispora sp. KE2-2	≥100±0	27.53±1.41	0±0	0±0.71
Microbispora sp. KE2-4	≥100±0	7.53±3.54	0±0	0±0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Phenol (ต่อ)

Species	Survival %			
	0.5% phenol	1.0% phenol	1.5% phenol	2.0% phenol
Microbispora sp. KK1-11	≥100±0	≥100±0	5.67±0.71	0±0
Microbispora sp. KM1-1	≥100±0	≥100±0	17.33±2.12	0±0
Microbispora sp. KM1-2	≥100±0	33.33±0.71	11.67±0.71	7.67±1.41
Microbispora sp. ZO-H-11	≥100±0	67.33±4.95	5.67±2.83	0±0
Microbispora sp. ZZ1-4	≥100±0	50.33±7.07	5.67±3.54	0±0
Microbispora sp. ZZ2-2	≥100±0	≥100±0	6±1.41	0±0
Microbispora sp. ZZ-H-4	≥100±0	≥100±0	0±0	0±1.41



Species	Survival %			
	0.5	1	1.5	2
Streptomyces spp.	101^{a}±0	81.26^{b}±26.44	11.06^{d}±24.87	2.61^{d}±4.83
Microbispora spp.	99.92^{a}±4.45	61.96^{c}±35.02	6.69^{d}±7.41	0.96^{d}±2.26

รูปที่ 4.24 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับPhenol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Chlohexidine digluconate (CG)

ในการทดสอบการรอดชีวิตของสปอร์แอคติโนมัยสีทในสกุล *Microbispora* 17 ไอโซเลต และ *Streptomyces* 6 ไอโซเลต ด้วย Chlohexidine digluconate 3 ความเข้มข้น ซึ่งจากเชื้อทั้งหมด 23 ไอโซเลต พบว่าสปอร์ของเชื้อส่วนใหญ่มีอัตราการรอดชีวิตลดลง เมื่อความเข้มข้นของ Chlohexidine digluconate เพิ่มขึ้นโดยที่ความเข้มข้น 0.001% CG พบว่าสปอร์ของเชื้อส่วนใหญ่มีอัตราการรอดชีวิตสูง แต่ที่ความเข้มข้น 0.01% CG และ 0.1% CG มีสปอร์ของเชื้อที่ยังสามารถมีชีวิตรอดเพียง 11 ไอโซเลต และ 5 ไอโซเลต ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และเมื่อเปรียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์ของเชื้อทั้ง 2 สกุลทางสถิติจะเห็นได้ว่าทุกความเข้มข้นของ Chlohexidine digluconate ไม่พบความแตกต่างของอัตราการรอดชีวิต ดังแสดงในรูปที่ 4.21

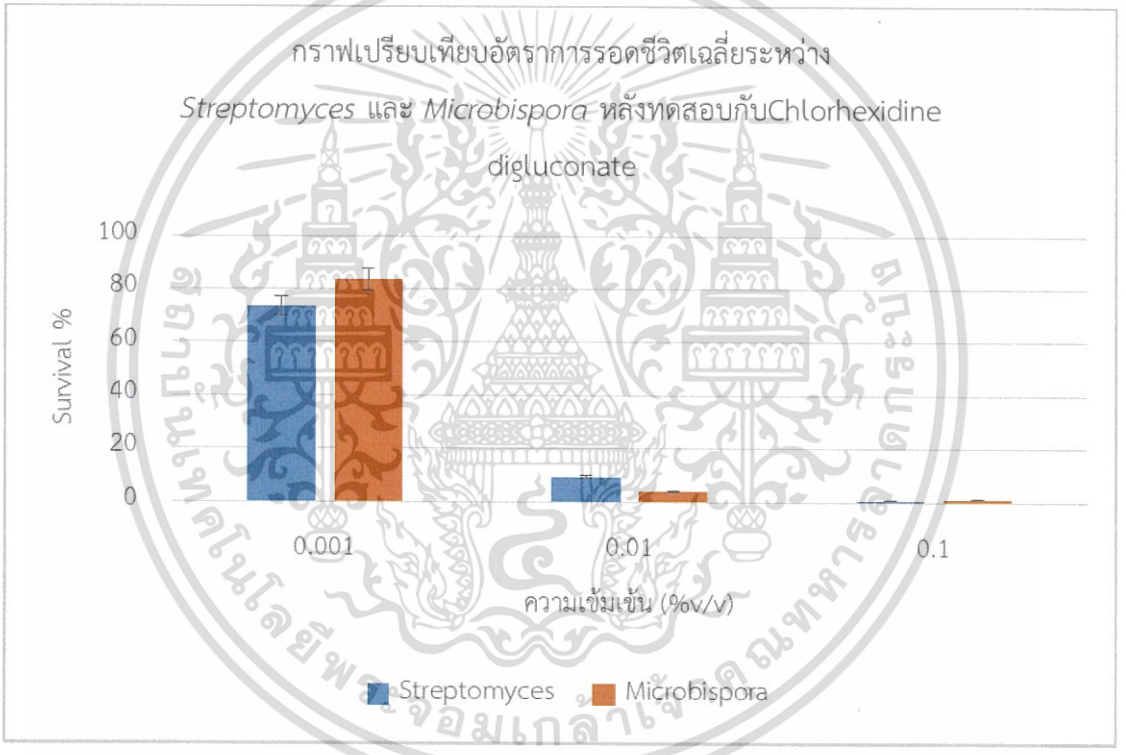
ตารางที่ 4.3 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Chlohexidine digluconate

Species	Survival %		
	0.001% CG	0.01% CG	0.1% CG
Streptomyces sp. ST2	53.53±0.71	7±8.49	0±0
Streptomyces sp. ST3	≥100±2.12	36±9.19	0±0
Streptomyces sp. ST5	9.67±3.54	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST6	76±2.12	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST7	≥100±0	7.67±5.66	3.33±1.41
Streptomyces sp. ST9	≥100±0	5±2.83	0±0
Microbispora sp. AN2-5	≥100±1.41	0±0	0±2.12
Microbispora sp. BR3-3	≥100±0	0±0	0±0
Microbispora sp. CL1-1	51±2.83	0±0	0±1.41
Microbispora sp. CL2-2	≥100±0	5.67±3.54	0±0
Microbispora sp. CS-R-4	96±1.41	0±0	0±0
Microbispora sp. KE1-2	≥100±0	5.67±0.71	3.67±2.12
Microbispora sp. KE1-3	≥100±0	8.67±2.12	0±0
Microbispora sp. KE2-2	≥100±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KE2-4	9±12.73	0±0	0±4.24
Microbispora sp. KK1-10	86±9.19	0±0	0±0
Microbispora sp. KK1-11	≥100±0.71	7.33±5.66	0±0
Microbispora sp. KM1-1	≥100±0	16.2±2.83	3.33±0.71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Chlohexidine digluconate (ต่อ)

Species	Survival %		
	0.001% CG	0.01% CG	0.1% CG
Microbispora sp. ZO-H-11	≥100±0	3.67±0.71	0±0
Microbispora sp. ZZ1-4	≥100±0	7.8±2.12	4.33±3.54
Microbispora sp. ZZ2-2	24.33±12.02	6.33±1.41	0±0
Microbispora sp. ZZ-H-4	48±9.19	0±0	0±0



Species	Survival %		
	0.001	0.01	0.1
Streptomyces spp.	73.7^{a}±36.74	9.28^{b}±13.51	0.56^{b}±1.36
Microbispora spp.	83.84^{a}±30.51	4.05^{b}±4.66	1.06^{b}±2.07

รูปที่ 4.25 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลัง ทดสอบกับChlorhexidine digluconate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 การทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Sodium dodecyl sulfate (SDS)

ในการทดสอบการรอดชีวิตของสปอร์แอคติโนมัยสีทในสกุล *Microbispora* 17 ไอโซเลต และ *Streptomyces* 6 ไอโซเลต ด้วย Sodium dodecyl sulfate 4 ความเข้มข้น ซึ่งจากสปอร์ของเชื้อทั้งหมด 23 ไอโซเลตพบว่า ทุกความเข้มข้นของ Sodium dodecyl sulfate ไม่มีผลต่อการเจริญของสปอร์ของเชื้อทั้ง 23 ไอโซเลต (Survival % ≥ 100) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์เชื้อในสกุล *Microbispora* และ *Streptomyces* ทางสถิติ พบว่า ไม่พบความแตกต่างของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของเชื้อทั้ง 2 สกุล ที่ทุกความเข้มข้น ดังแสดงในรูปที่ 4.22

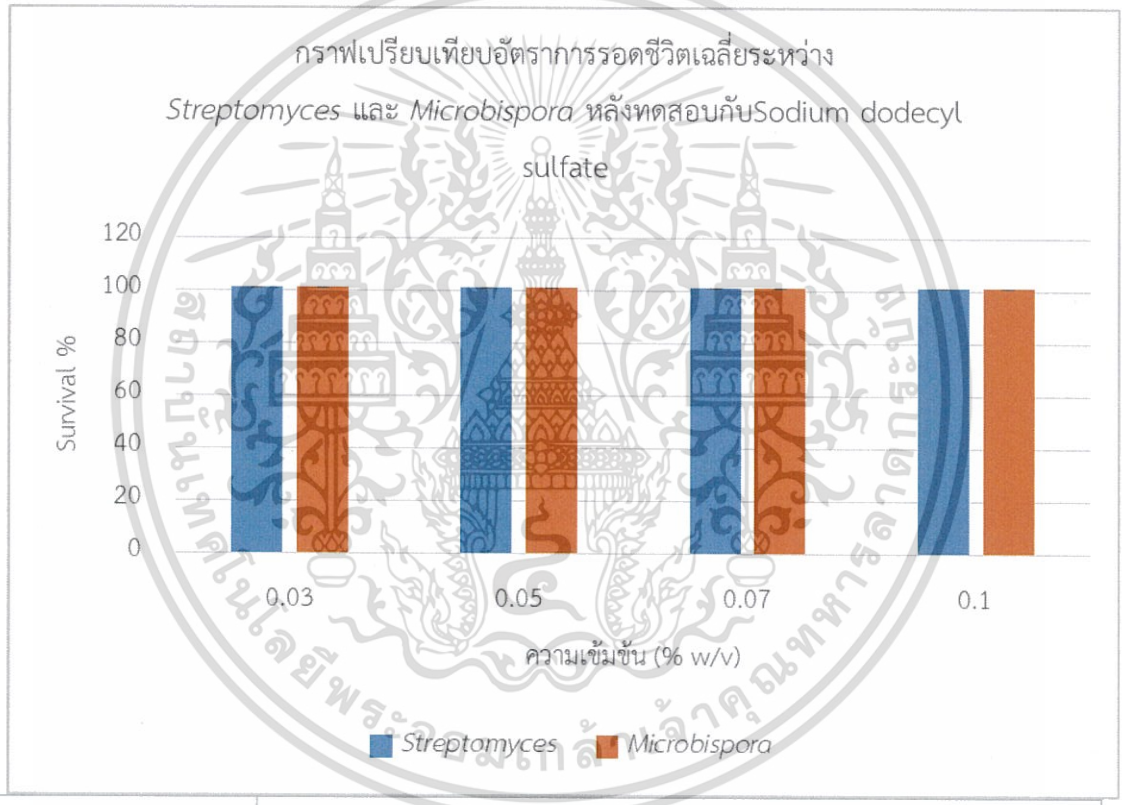
ตารางที่ 4.4 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Sodium dodecyl sulfate

Species	Survival %			
	0.03% SDS	0.05% SDS	0.07% SDS	0.1% SDS
Streptomyces sp. ST2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Streptomyces sp. ST3	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Streptomyces sp. ST5	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Streptomyces sp. ST6	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Streptomyces sp. ST7	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Streptomyces sp. ST9	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. AN2-5	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. BR3-3	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. CL1-1	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. CL2-2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. CS-R-4	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KE1-2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KE1-3	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KE2-2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KE2-4	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KK1-10	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KK1-11	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KM1-1	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Sodium dodecyl sulfate (ต่อ)

Species	Survival %			
	0.03% SDS	0.05% SDS	0.07% SDS	0.1% SDS
Microbispora sp. ZO-H-11	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. ZZ1-4	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. ZZ2-2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. ZZ-H-4	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0



Species	Survival %			
	0.03	0.05	0.07	1.0
Streptomyces sp.	101[a]±0	101[a]±0	101[a]±0	101[a]±0
Microbispora sp.	101[a]±0	101[a]±0	101[a]±0	101[a]±0

รูปที่ 4.26 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับSodium dodecyl sulfate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 การทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Tween 80

ในการทดสอบการรอดชีวิตของสปอร์แอคติโนมัยสีทในสกุล *Microbispora* 17 ไอโซเลต และ *Streptomyces* 6 ไอโซเลต ด้วย Tween 80 จำนวน 4 ความเข้มข้น ซึ่งจากสปอร์เชื้อทั้งหมด 23 ไอโซเลต พบว่าเชื้อส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ในทุกความเข้มข้น ซึ่งมีเพียง *Streptomyces* sp. ST2 ที่มีอัตราการรอดชีวิตลดน้อยลง เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์สกุล *Microbispora* และ *Streptomyces* ในทุกๆ ความเข้มข้น พบว่า ที่ความเข้มข้น 1.0% Tween80 อัตราการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อทั้ง 2 สกุล ทางสถิติ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดย*Streptomyces* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 91.33% และ *Microbispora* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 101% แต่ที่ความเข้มข้น 0.001, 0.01 และ 0.1% Tween 80 ไม่พบความแตกต่าง ของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์เชื้อทั้ง 2 สกุล ดังแสดงในรูปที่ 4.15

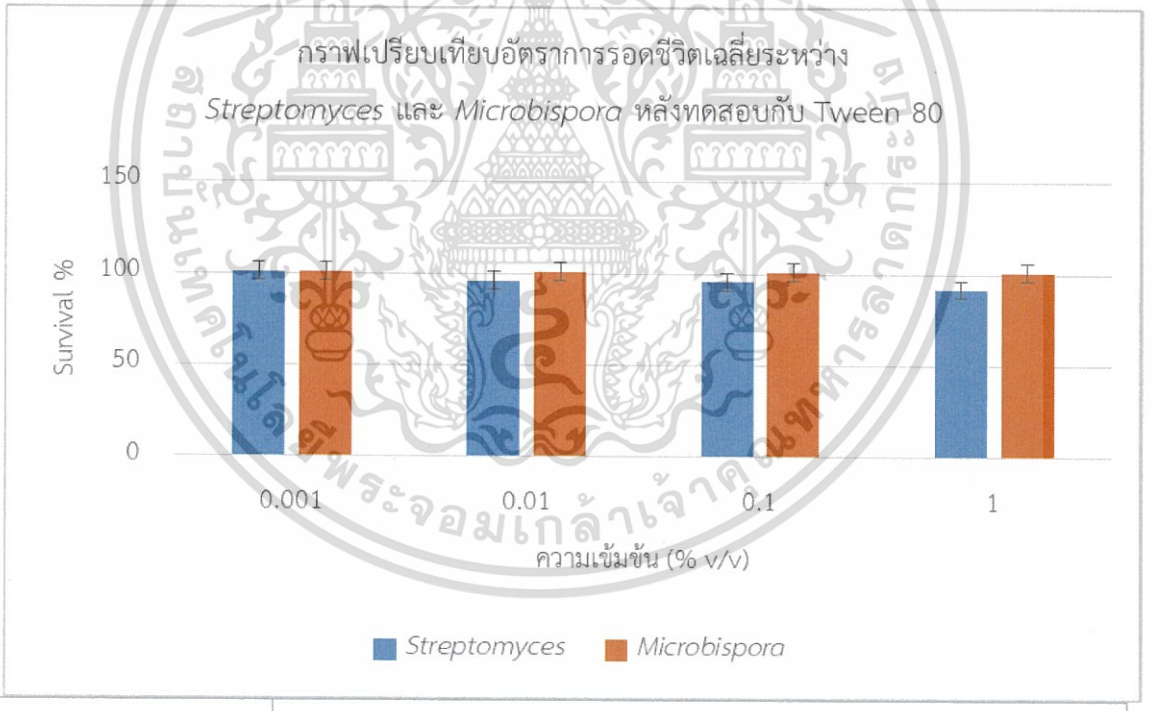
ตารางที่ 4.5 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Tween 80

Species	Survival %			
	0.001% Tween80	0.01% Tween80	0.1% Tween80	1.0% Tween80
Streptomyces sp. ST2	≥100±0	70.67±21.45	68±23.34	43±19.80
Streptomyces sp. ST3	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Streptomyces sp. ST5	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Streptomyces sp. ST6	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Streptomyces sp. ST7	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Streptomyces sp. ST9	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. AN2-5	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. BR3-3	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. CL1-1	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. CL2-2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. CS-R-4	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KE1-2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KE1-3	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KE2-2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KE2-4	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางเคมีโดย Tween 80 (ต่อ)

Species	Survival %			
	0.001% Tween80	0.01% Tween80	0.1% Tween80	1.0% Tween80
Microbispora sp. KK1-11	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KM1-1	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KM1-2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. ZO-H-11	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. ZZ1-4	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. ZZ2-2	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. ZZ-H-4	≥100±0	≥100±0	≥100±0	≥100±0



Species	Survival %			
	0.001	0.01	0.1	1.0
Streptomyces spp.	101^{a}±0	95.95^{ab}±12.38	95.50^{ab}±19.47	91.33^{b}±23.68
Microbispora spp.	101^{a}±0	101^{a}±0	101^{a}±0	101^{a}±0

รูปที่ 4.27 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับ Tween 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพ

4.3.1 ทดสอบโดยความร้อนแห้ง

ในการทดสอบการรอดชีวิตของสปอร์แอคติโนมัยสีทในสกุล *Microbispora* 17 ไอโซเลต และ *Streptomyces* 6 ไอโซเลต ด้วยความร้อนแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ และเวลาต่างๆ ซึ่งจากสปอร์ทั้งหมด 23 ไอโซเลต พบว่า อัตราการรอดชีวิตของสปอร์ทั้ง 2 สกุลจะลดลงเมื่อเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น และ/หรือ เมื่ออุณหภูมิในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น โดยที่ 100 องศาเซลเซียส ในทุกเวลา สปอร์ของแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่ยังคงสามารถเจริญเติบโตได้, ที่ 110 องศาเซลเซียส 30 นาที และ 60 นาที สปอร์ทุกไอโซเลตยังคงสามาถเจริญเติบโตได้แต่เมื่อเวลา 90 นาที และ 120 นาที มีเพียงสปอร์ของเชื้อ 14 และ 1 ไอโซเลต ตามลำดับ ที่ยังสามารถเจริญได้เล็กน้อย และณ.อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส พบว่าที่ 30 นาทีสปอร์ของแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้ มีเพียง 9 ไอโซเลตที่ยังสามารถเจริญได้เล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 4.6, 4.7 และ 4.8 และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์ทั้ง 2 สกุล ทางสถิติ จะเห็นได้ว่า ไม่พบความแตกต่างในทุกๆอุณหภูมิ และ/หรือ เวลา ดังแสดงในรูปที่ 4.24, 4.25 และ 4.26

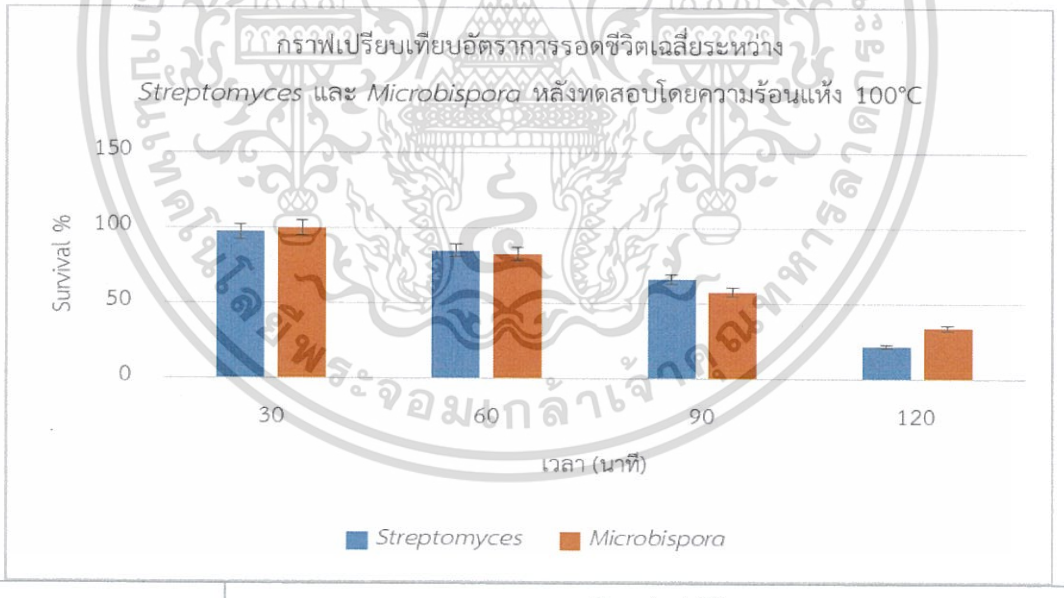
ตารางที่ 4.6 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยการให้ความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส

Species	Survival %			
	100°C, 30 min	100°C, 60 min	100°C, 90 min	100°C, 120 min
Streptomyces sp. ST2	≥100±0	≥100±0.71	68±0.71	20.67±0.71
Streptomyces sp. ST3	92±3.54	81.33±2.12	66±2.83	18±0.71
Streptomyces sp. ST5	≥100±0	90±4.95	72.67±0.71	28.67±2.83
Streptomyces sp. ST6	≥100±0	82±1.41	63±2.12	6±1.41
Streptomyces sp. ST7	88±5.66	70.67±3.54	65.67±0.71	26±0.71
Streptomyces sp. ST9	≥100±0	84.67±0.71	63.33±2.12	34±0.71
Microbispora sp. AN2-5	≥100±0	98.67±0.71	58.67±2.12	32±2.83
Microbispora sp. BR3-3	≥100±0	94.67±2.12	52.33±2.83	36.33±2.83
Microbispora sp. CL1-1	≥100±0	95.33±2.83	79.33±1.41	40.67±0.71
Microbispora sp. CL2-2	≥100±0	93.33±1.41	80.67±3.54	47.33±2.12
Microbispora sp. CS-R-4	≥100±0	82.67±1.41	60±0.71	30.67±2.12
Microbispora sp. KE1-2	≥100±0	67.33±2.83	34±2.83	28±2.83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยการให้ความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส (ต่อ)

Species	Survival %			
	100°C, 30 min	100°C, 60 min	100°C, 90 min	100°C, 120 min
Microbispora sp. KE2-2	≥100	92±4.95	62±2.82	32.67±0.71
Microbispora sp. KE2-4	85.33±3.54	78.67±0.71	80±8.49	63.67±1.41
Microbispora sp. KK1-10	≥100±2.12	76±0.71	55±1.41	35.33±1.41
Microbispora sp. KK1-11	≥100±0	9.67±3.54	0±0.71	0±2.12
Microbispora sp. KM1-1	≥100±0	87.33±2.12	58.33±1.41	32±2.83
Microbispora sp. KM1-2	≥100±0.71	96.67±1.41	61.33±2.83	37.33±5.66
Microbispora sp. ZO-H-11	≥100±0	76.67±3.54	57.7±3.54	30±3.54
Microbispora sp. ZZ1-4	≥100±0	95.33±2.12	55.33±0.71	33±2.12
Microbispora sp. ZZ2-2	≥100±0	71.33±0.71	49±2.83	30±0.71
Microbispora sp. ZZ-H-4	≥100±0	≥100±0	74±1.41	36.67



Species	Survival %			
	30	60	90	120
Streptomyces sp.	97.33^{ab}±5.82	84.95^{bc}±10.09	66.45^{d}±3.56	22.22^{e}±9.78
Microbispora sp.	100.08^{a}±3.80	82.90^{c}±21.45	57.69^{d}±19.09	34.06^{e}±12.18

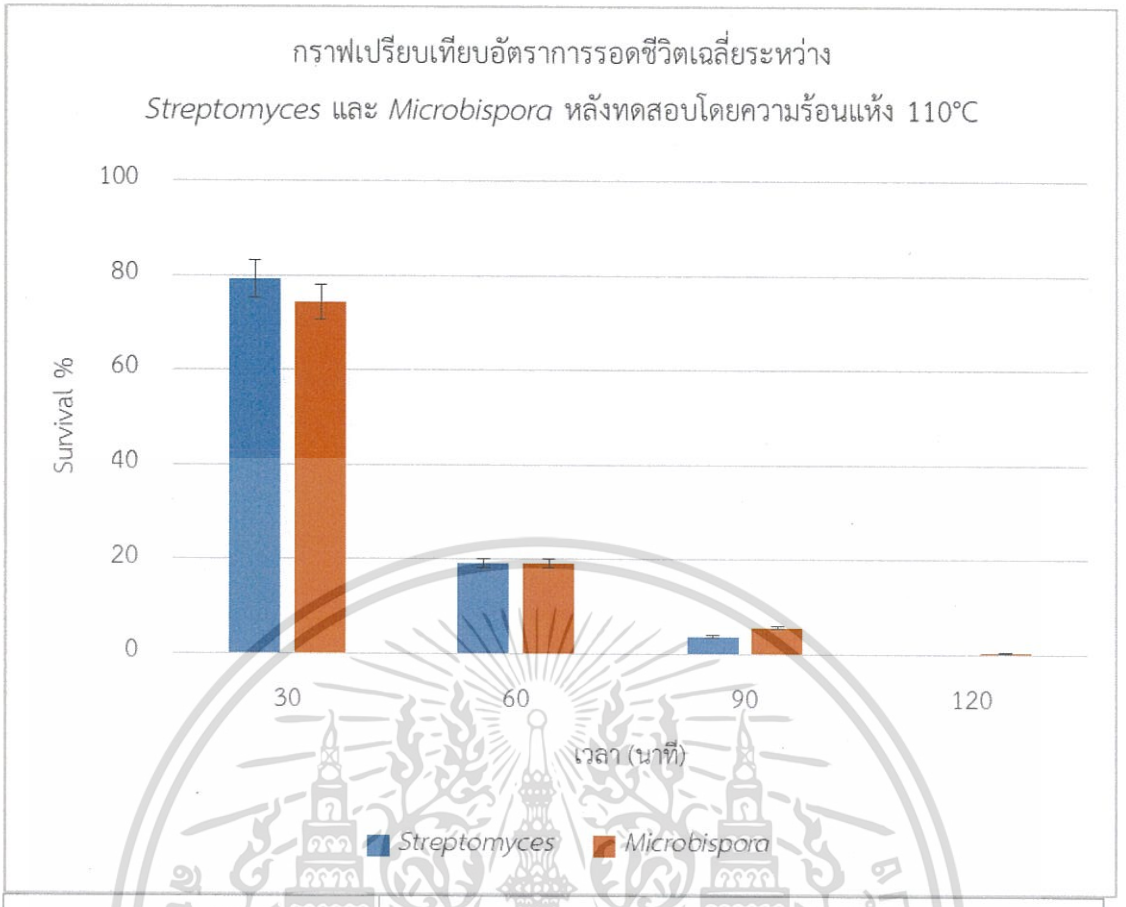
รูปที่ 4.28 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง*Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบโดยความร้อนแห้ง 100 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยการให้ความร้อนแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส

Species	Survival %			
	110°C, 30 min	110°C, 60 min	110°C, 90 min	110°C, 120 min
Streptomyces sp. ST2	87.33±0	15±1.41	9±0	0±0
Streptomyces sp. ST3	66±4.95	19.67±2.12	6.67±0	0±0
Streptomyces sp. ST5	80.67±3.54	20.67±2.12	7±2.12	0±0.71
Streptomyces sp. ST6	66.67±0	19±1.41	5.33±1.41	0±0
Streptomyces sp. ST7	78.67±2.12	23±3.54	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST9	60±1.41	18±0.71	6±0	0±0
Microbispora sp. AN2-5	74±0	19.67±0.71	0±0	0±0
Microbispora sp. BR3-3	86.67±0.71	18.67±3.54	5.67±1.41	0±0
Microbispora sp. CL1-1	65.33±2.83	20.67±1.41	0±0.71	0±0.71
Microbispora sp. CL2-2	86.67±1.41	19.33±0.71	8.33±2.83	0±0
Microbispora sp. CS-R-4	80±0.71	14±0.71	6.33±1.41	0±0
Microbispora sp. KE1-2	87.33±2.12	22.67	8±2.12	0±0
Microbispora sp. KE1-3	85±0	22.33±1.41	0±0	0±0
Microbispora sp. KE2-2	72±2.12	13.4±1.41	5±0	0±0
Microbispora sp. KE2-4	70.67±6.36	18.2±4.95	7±3.54	6.33±2.12
Microbispora sp. KK1-10	62.67±2.12	13±0.71	0±0	0±2.82
Microbispora sp. KK1-11	35±0	19.67±0.71	0±0	0±0
Microbispora sp. KM1-1	62.67±0	13±3.54	0±0	0±0
Microbispora sp. KM1-2	94.67±2.12	19.67±1.41	7.67±0.71	0±0
Microbispora sp. ZO-H-11	74±3.54	20.67±2.12	0±0	0±0
Microbispora sp. ZZ1-4	89±0	33±1.41	6±0.71	0±0
Microbispora sp. ZZ2-2	69.33±2.71	18.33±0.71	6±2.12	0±0
Microbispora sp. ZZ-H-4	68.67±0	17.33±2.83	3.67±0	0±0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Species	Survival %			
	30	60	90	120
Streptomyces spp.	$79.22^{a}\pm10.53$	$19.06^{b}\pm2.68$	$3.75^{c}\pm3.04$	$0.00^{c}\pm0$
Microbispora spp.	$74.33^{a}\pm14.20$	$19.22^{b}\pm4.74$	$5.67^{c}\pm3.40$	$0.37^{c}\pm1.54$

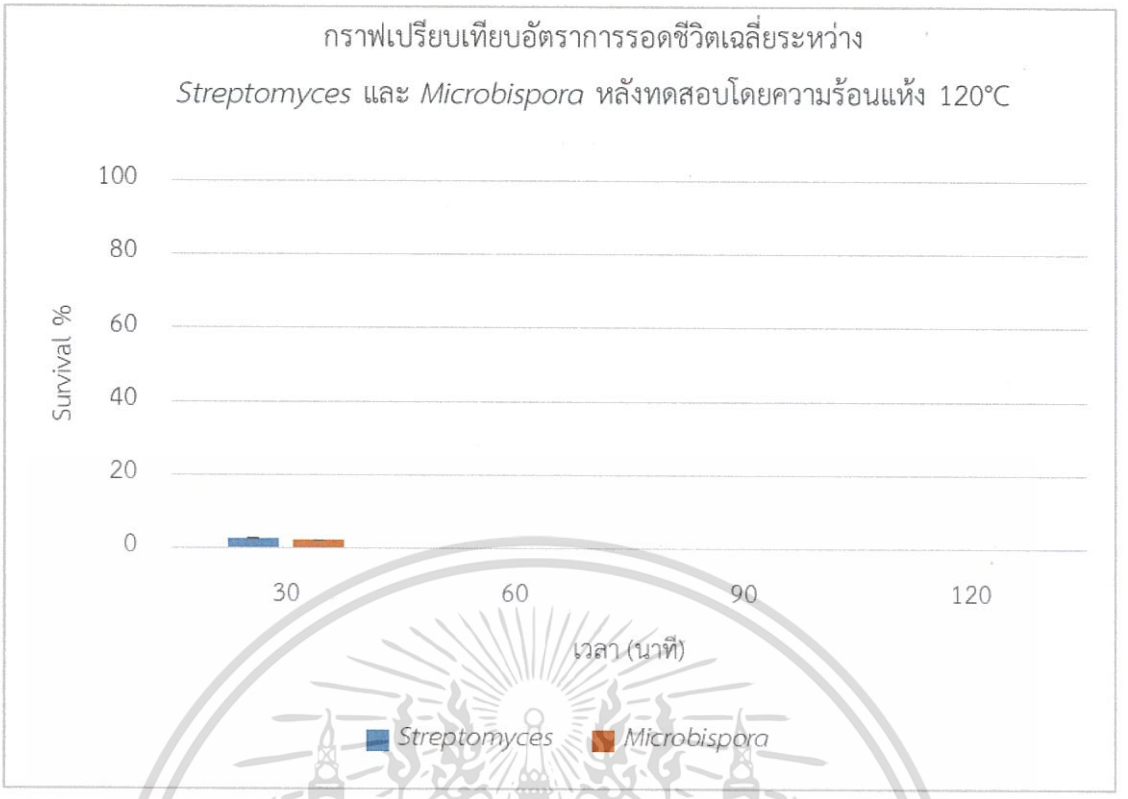
รูปที่ 4.29 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบโดยความร้อนแห้ง 110 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยการให้ความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส

Species	Survival %			
	120°C, 30 min	120°C, 60 min	120°C, 90 min	120°C, 120 min
Streptomyces sp. ST2	0±0	0±0	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST3	5.33±0.71	0±0	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST5	0±0	0±0	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST6	0±0	0±0	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST7	7.33±1.41	0±0.71	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST9	3.33±0.71	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. AN2-5	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. BR3-3	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. CL1-1	6.67±0.71	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. CL2-2	4±2.83	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. CS-R-4	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KE1-2	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KE1-3	7±3.54	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KE2-2	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KE2-4	6.67±7.07	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KK1-10	5.33±0.71	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KK1-11	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KM1-1	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KM1-2	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. ZO-H-11	6±1.41	0±0.71	0±0	0±0
Microbispora sp. ZZ1-4	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. ZZ2-2	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. ZZ-H-4	0±0	0±0	0±0	0±0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Species	Survival %			
	30	60	90	120
Streptomyces spp.	$2.67^{a}\pm3.18$	$0^{b}\pm0$	$0^{b}\pm0$	$0^{b}\pm0$
Microbispora spp.	$2.10^{a}\pm2.10$	$0^{b}\pm0$	$0^{b}\pm0$	$0^{b}\pm0$

รูปที่ 4.30 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบโดยความร้อนแห้ง 120 องศาเซลเซียส

4.3.2 ทดสอบโดยคลื่นไมโครเวฟ

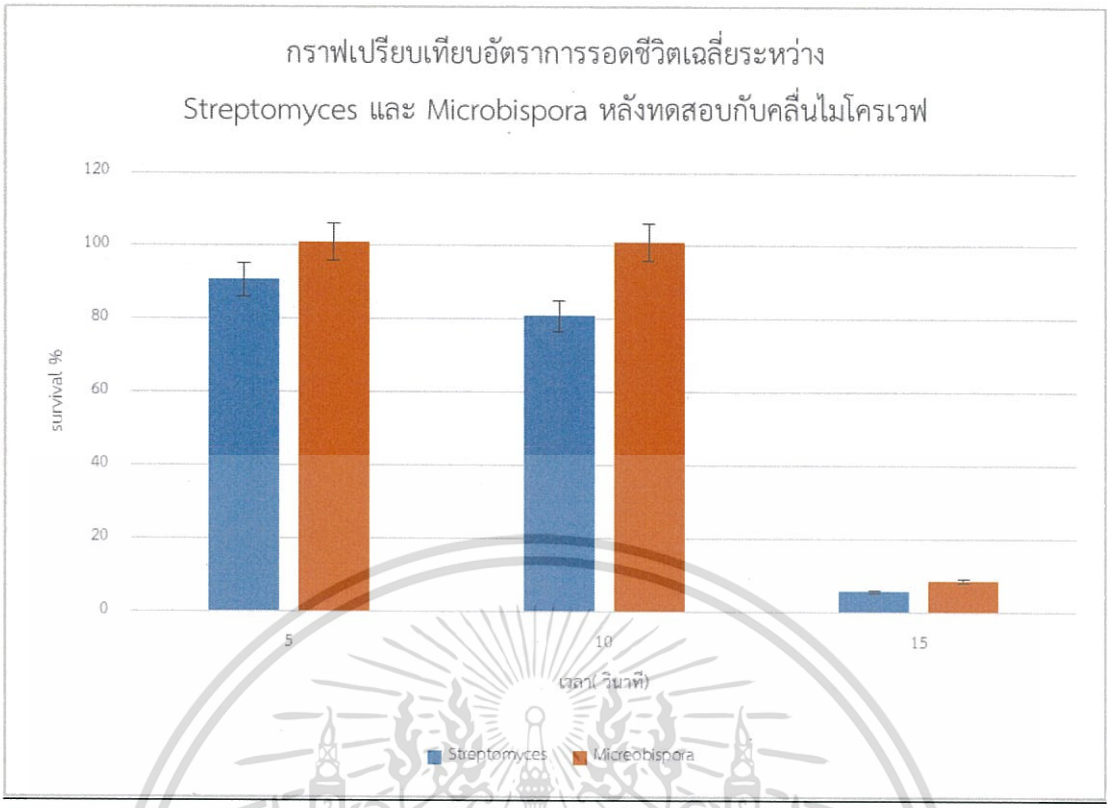
ในการทดสอบการรอดชีวิตของสปอร์แอคติโนมัยสีทในสกุล *Microbisprora* 17 ไอโซเลต และ *Streptomyces* 6 ไอโซเลต ด้วยคลื่นไมโครเวฟ โดยทำการทดสอบทั้งหมด 3 ช่วงเวลา คือ 5, 10, และ15 วินาที พบว่าสปอร์มีอัตราการรอดชีวิตน้อยลง เมื่อเวลามากขึ้น ซึ่งจากแอคติโนมัยสีททั้งหมด 23 ไอโซเลต พบว่าสปอร์ของแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ที่ 5 และ 10 วินาที แต่ที่ 15 วินาที อัตราการเจริญของสปอร์ของแอคติโนมัยสีททั้ง 2 สกุล ลดลงอย่างเห็นได้ชัด ดังแสดงในตารางที่ 4.9 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติของสปอร์ของเชื้อทั้ง 2 สกุล พบว่าทุกช่วงเวลา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของแอคติโนมัยสีททั้งสองสกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยคลื่นไมโครเวฟ

Species	Survival %		
	450 Watt, 5 sec	450 Watt, 10 sec	450 Watt, 15 sec
Streptomyces sp. ST2	39.53±1.41	9.87±14.14	5.33±0.71
Streptomyces sp. ST3	≥100±0	71.33±0.71	9.33±2.83
Streptomyces sp. ST5	≥100±0	≥100±0	7.33±2.12
Streptomyces sp. ST6	≥100±0	≥100±0	6.67±6.36
Streptomyces sp. ST7	≥100±0	≥100±1.41	0±0.71
Streptomyces sp. ST9	≥100±0	≥100±0	6.33±2.83
Microbispora sp. AN2-5	≥100±0	≥100±0	6.67±1.41
Microbispora sp. BR3-3	≥100±0	≥100±0.71	7.67±1.41
Microbispora sp. CL1-1	≥100±0	≥100±0	22±0
Microbispora sp. CL2-2	≥100±0	≥100±0	0±1.41
Microbispora sp. CS-R-4	≥100±0	≥100±0	54±1.41
Microbispora sp. KE1-2	≥100±0	≥100±0	5±4.95
Microbispora sp. KE1-3	≥100±0	≥100±0	0±7.07
Microbispora sp. KE2-2	≥100±0	≥100±2.83	3.67±0.71
Microbispora sp. KE2-4	≥100±0.71	≥100±0	4.33±1.41
Microbispora sp. KK1-10	≥100±0	≥100±0	4.33±2.12
Microbispora sp. KK1-11	≥100±0	≥100±0	7.67±2.83
Microbispora sp. KM1-1	≥100±0	≥100±0	0±0
Microbispora sp. KM1-2	≥100±0	51.33±3.54	7±3.54
Microbispora sp. ZO-H-11	≥100±0	29±1.41	7±7.07
Microbispora sp. ZZ1-4	≥100±1.41	≥100±0	9.67±2.12
Microbispora sp. ZZ2-2	≥100±0	≥100±0	8±1.41
Microbispora sp. ZZ-H-4	≥100±0	≥100±0	1.2±0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Species	Survival %		
	5	10	15
Streptomyces spp.	90.76^{ab}±25.31	80.87^{b}±36.75	5.83^{c}±3.16
Microbispora spp.	101^{a}±0	93.84^{a}±20.60	8.72^{c}±44.70

รูปที่ 4.31 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับคลื่นไมโครเวฟ

4.3.3 ทดสอบโดยรังสียูวี

ในการทดสอบการรอดชีวิตของสปอร์แอคติโนมัยสีทในสกุล *Microbisprora* 17 ไอโซเลต และ *Streptomyces* 6 ไอโซเลต ด้วยรังสียูวี โดยทำการทดสอบ 6 ช่วงเวลา คือ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที พบว่าสปอร์มีอัตราการรอดชีวิตน้อยลง เมื่อเวลามากขึ้น ซึ่งจากแอคติโนมัยสีททั้งหมด 23 ไอโซเลต พบว่าส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ที่ 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที แต่ที่ 30 นาที มีเพียง 9 ไอโซเลตเท่านั้น ที่สามารถเจริญได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.10 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติของสปอร์เชื้อทั้ง 2 สกุล พบว่าที่ 5 และ 10 นาที อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์แอคติโนมัยสีททั้ง 2 สกุล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่เวลา 5 นาที *Streptomyces* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 57.98% และ *Microbispora* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 95.06% และที่เวลา 10 นาที *Streptomyces* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 29.35% และ *Microbispora* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 59.45% ดังแสดงในรูปที่ 4.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

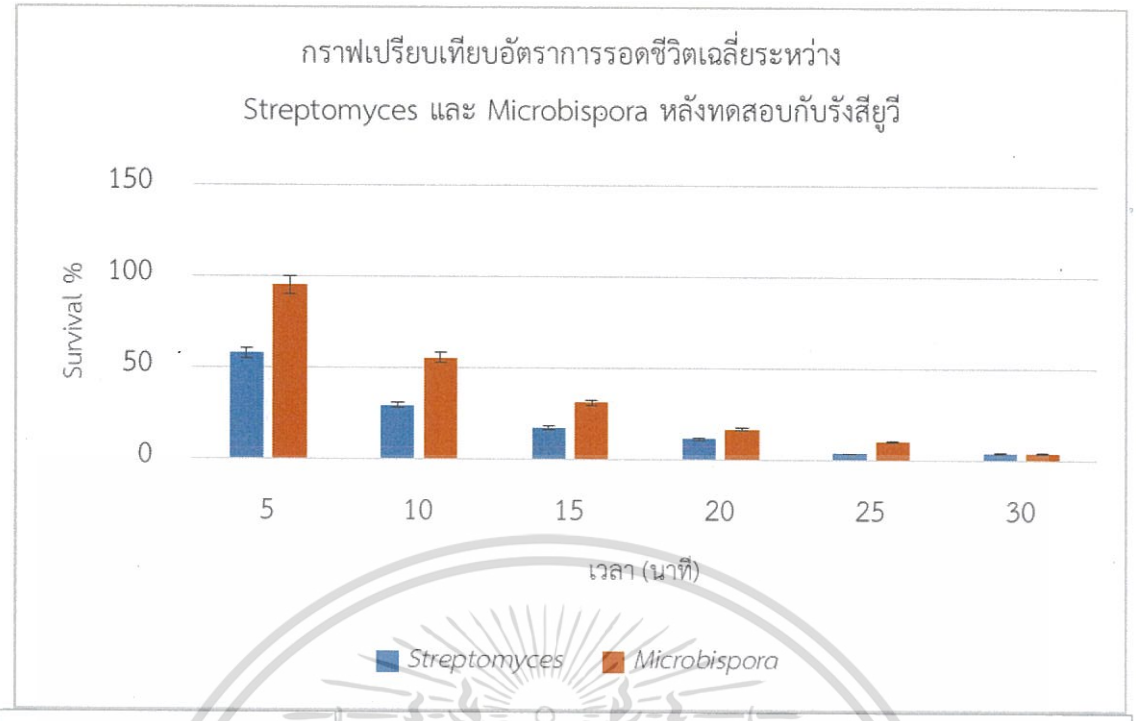
ตารางที่ 4.10 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยใช้รังสียูวี

Species	Survival %					
	UV 5 min	UV 10 min	UV 15 min	UV 20 min	UV 25 min	UV 30 min
Streptomyces sp. ST2	4.67±0	0±0.71	0±0	0±0	0±0	0±0
Streptomyces sp. ST3	52.2±1.41	8.33±1.41	8±2.12	5±2.12	3.33±0.71	2.67±0
Streptomyces sp. ST5	≥100±0	60.7±2.12	35±2.83	28±0.71	4±1.41	0±0
Streptomyces sp. ST6	≥100±0	52±2.83	27±2.83	17.33±1.41	5±0.71	9±1.41
Streptomyces sp. ST7	9±0.71	8.67±3.54	7±1.41	0±0.71	3.67±0	0±0
Streptomyces sp. ST9	80±2.12	46.4±2.12	27±1.41	18.33±0	6.33±2.12	11.53±0.71
Microbispora sp. AN2-5	≥100±0	28.5±0.71	28±2.12	15.33±2.12	8±0	0±0
Microbispora sp. BR3-3	≥100±0	20±2.12	14±1.41	8.33±1.41	0±0	0±0
Microbispora sp. CL1-1	≥100±0	59.7±0	45±3.54	21.67±0.71	6.33±0.71	0±0
Microbispora sp. CL2-2	≥100±0	≥100±0	27.53±2.12	7.33±2.12	6±1.41	3.67±3.54
Microbispora sp. CS-R-4	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. KE1-2	≥100±0	48.7±0.71	28.33±1.41	19.67±1.41	4.33±2.12	0±0
Microbispora sp. KE1-3	≥100±0	11±2.12	10±3.54	6.67±0	4±2.83	0±0
Microbispora sp. KE2-2	≥100±0	≥100±0.71	≥100±0	21.67±0.71	9.33±0.71	7.33±2.12

ตารางที่ 4.10 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยใช้รังสียูวี(ต่อ)

Species	Survival %					
	UV 5 min	UV 10 min	UV 15 min	UV 20 min	UV 25 min	UV 30 min
Microbispora sp. KE2-4	≥100±0	≥100±0	35.67±1.41	17.33±1.41	13.33±0.71	2±0.71
Microbispora sp. KK1-10	≥100±0	84±0.71	66±0.71	35±2.12	27.33±1.41	0±0
Microbispora sp. KM1-1	≥100±0	52±0.71	27.33±0	30±7.07	2.33±0	0±0
Microbispora sp. KM1-2	≥100±0	≥100±0	56.33±2.83	36±2.12	18±2.83	1.67±1.41
Microbispora sp. ZO-H-11	≥100±0	64±2.12	9±2.12	0±0	0±0	0±0
Microbispora sp. ZZ1-4	≥100±0	91.3±0.71	56±1.41	25.33±0.71	17±0	3.33±2.12
Microbispora sp. ZZ2-2	≥100±0	14.7±1.41	20.33±0	9.33±2.12	7.67±1.41	1.67±0
Microbispora sp. ZZ-H-4	≥100±0	64±3.54	18.67±2.12	8.67±0.71	4.67±2.12	3.67±0.71

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



Species	Survival %					
	5	10	15	20	25	30
Streptomyces spp.	57.98^{b} ±43.50	29.35^{c} ±26.52	17.33^{cd} ±14.09	11.44^{cd} ±11.49	3.72^{d} ±2.12	3.87^{d} ±5.13
Microbispora spp.	95.06^{a} ±24.50	55.45^{b} ±37.41	31.18^{c} ±19.75	16.96^{cd} ±11.29	10.35^{cd}± 12.08	3.94^{d} ±10.44

รูปที่ 4.32 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับรังสียูวี

4.3.4 ทดสอบโดยความแห้ง

ในการทดสอบการรอดชีวิตของสปอร์แอคติโนมัยสีทในสกุล *Microbisprora* 17 ไอโซเลต และ *Streptomyces* 6 ไอโซเลต ด้วยความแห้ง โดยทำการทดสอบ 2 ช่วงเวลา คือ 7 และ 14 วัน พบว่าสปอร์ของแอคติโนมัยสีทมีอัตราการรอดชีวิตน้อยลง เมื่อเวลามากขึ้น ซึ่งทั้งหมด 23 ไอโซเลต พบว่าที่ 7 วัน สปอร์ของแอคติโนมัยสีทสามารถเจริญได้ทุกไอโซเลต และที่เวลา 14 วันแอคติโนมัยสีทในสกุล *Microbisprora* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยสูงสุดถึง 49% แต่ *Streptomyces* มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดอยู่เพียง 14% เท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติ พบว่าที่ทั้ง 2 ช่วงเวลา อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์ของทั้ง 2 สกุล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่เวลา 7 วัน *Streptomyces* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 28.11% และ *Microbispora* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 67.31% และที่เวลา 14 วัน *Streptomyces* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 4.61%

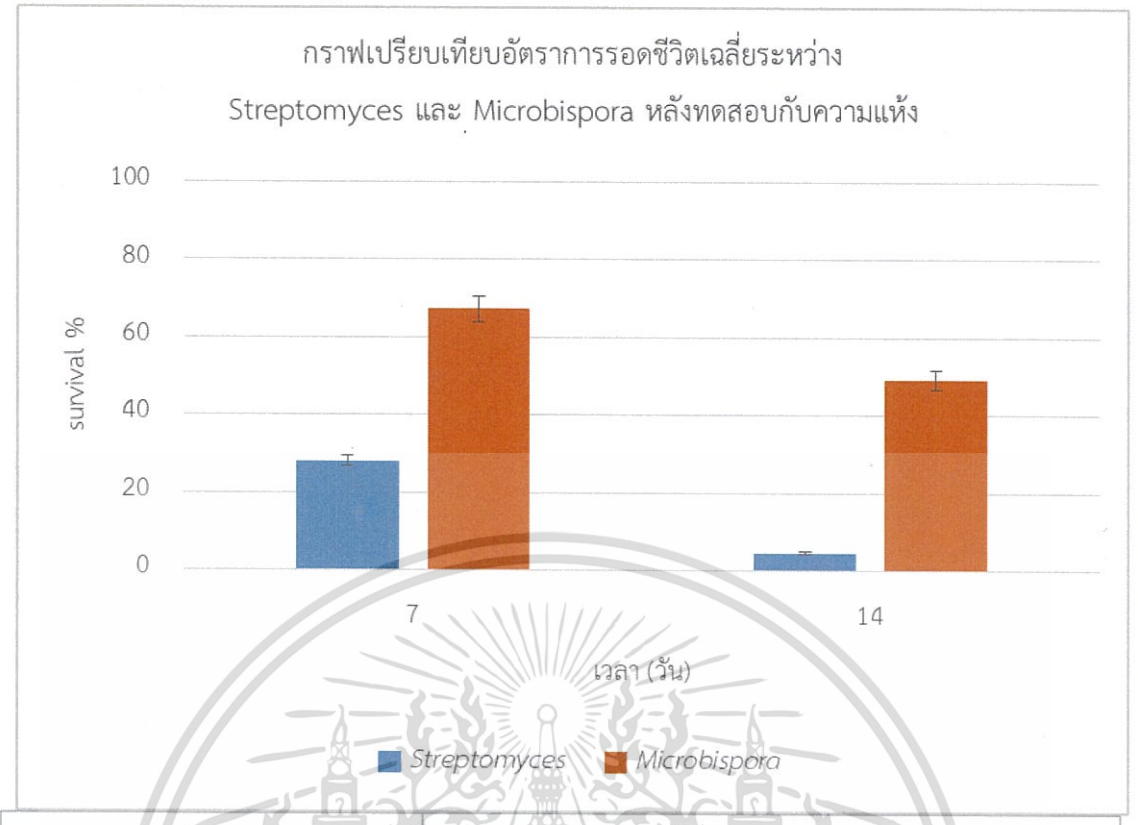
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ *Microbispora* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 49.08% ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และ รูปที่ 4.21

ตารางที่ 4.11 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบการรอดชีวิตทางกายภาพโดยความแห้ง

Species	Survival %	
	7 day	14 day
Streptomyces sp. ST2	25.67±0	3.67±0.71
Streptomyces sp. ST3	21.33±2.12	1.67±1.41
Streptomyces sp. ST5	28.33±2.12	1±0
Streptomyces sp. ST6	32.33±2.83	2.33±2.83
Streptomyces sp. ST7	33.66±0.71	14±2.12
Streptomyces sp. ST9	27.33±1.41	5±0.71
Microbispora sp. AN2-5	27.67±0	5±0.71
Microbispora sp. BR3-3	25.33±6.36	5.67±2.12
Microbispora sp. CL1-1	≥100±0	84.67±3.54
Microbispora sp. CL2-2	≥100±0	75.33±2.83
Microbispora sp. CS-R-4	35.87±2.12	78.67±2.83
Microbispora sp. KE1-2	19±1.41	6.33±1.41
Microbispora sp. KE1-3	≥100±0	10.2±3.54
Microbispora sp. KE2-2	78±5.66	72.67±2.12
Microbispora sp. KE2-4	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KK1-10	≥100±0	10.33±0.71
Microbispora sp. KK1-11	31.33±0.71	83.33±1.41
Microbispora sp. KM1-1	≥100±0	≥100±0
Microbispora sp. KM1-2	74.67±0.71	65±2.12
Microbispora sp. ZO-H-11	86.67±1.41	62.33±0
Microbispora sp. ZZ1-4	22±1.41	7±3.54
Microbispora sp. ZZ2-2	84.67±2.83	57.53±2.12
Microbispora sp. ZZ-H-4	53±5.66	8.33±0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Species	Survival %	
	7	14
Streptomyces spp.	28.11^{cb}±4.50	4.61^{c}±4.82
Microbispora spp.	67.31^{a}±33.41	49.08^{ab}±37.53

รูปที่ 4.33 กราฟเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับความแห้ง

จากผลการศึกษาลักษณะสปอร์ของแอคติโนมัยสีทสอดคล้องกับงานวิจัยของ Miyadoh และคณะ (1985) ที่ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีระวิทยาของไมโครไบสปอรา พบว่าสปอร์มีลักษณะเป็นคู่แนวยาวอยู่บนเส้นใยอากาศ และMertz และคณะ (1982) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีระวิทยาของสเตรปโตมัยเซส พบว่าสปอร์มีลักษณะเป็นเกลียว

จากผลการศึกษาการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทโดยสารเคมีและวิธีทางกายภาพสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hayakawa และคณะ (1991) ที่พบว่าที่ความเข้มข้น0.05%SDS, 1.5% phenol และ 0.01%CG *Microbispora* สามารถเจริญได้ อีกทั้งยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cunningham (1979) ที่พบว่าการทดสอบด้วยคลื่นไมโครเวฟที่เวลาเพิ่มขึ้นทำให้อัตราการรอดชีวิตของเชื้อลดลง แต่ Hayakawa และคณะ(1991) พบว่าที่ความร้อนแห้ง 120 องศาเซลเซียส *Microbispora* ยังสามารถเจริญได้อยู่ซึ่งไม่สอดคล้องกับโครงงานพิเศษนี้ คาดว่าเกิดจาก 1.แหล่งที่มาของแอคติโนมัยสีทต่างกัน 2.แอคติโนมัยสีทที่นำมาทดลองอาจไม่ใช่สปีชีส์เดียวกันจึงทนต่อสภาวะต่างๆได้ไม่เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) ของเชื้อแอคติโนมัยสีทใน *Streptomyces* ทั้งหมด 6 ไอโซเลต และ สกุล *Microbisprora* ทั้งหมด 17 ไอโซเลต พบว่าเชื้อในสกุล *Streptomyces* ทุกไอโซเลตมีการสร้างเส้นใยอากาศ สปอร์มีลักษณะเป็นสายยาว พบทั้งหมด 3 แบบ คือ สปอร์ที่มีลักษณะคล้ายตะขอ, สปอร์ที่มีลักษณะเป็นเกลียวแบบวงเปิด และสปอร์ที่มีลักษณะขดเป็นก้นหอย แต่ในสกุล *Microbispora* จะมีเพียงบางไอโซเลตที่สร้างเส้นใยอากาศ สปอร์มีลักษณะกลมเป็นคู่เรียงตัวตามยาว (Disporous) ก้านชูสปอร์สั้น

เมื่อนำสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีททั้งหมด 23 ไอโซเลตมาทดสอบด้วยวิธีทางเคมี โดยสารเคมีทั้ง 4 ชนิด แล้วเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์เชื้อในสกุล *Microbispora* และ *Streptomyces* พบว่าที่ความเข้มข้น 1.0% phenol และที่ความเข้มข้น 1.0% Tween80 อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และการทดสอบด้วยวิธีทางกายภาพทั้ง 4 วิธี พบว่าเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์เชื้อทั้ง 2 สกุล มีเพียง 4 สภาวะ ที่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ คือ 1.การทดสอบด้วยรังสียูวี 5 นาที 2.การทดสอบด้วยรังสียูวี 10 นาที 3.การทดสอบด้วยความแห้ง 7 วัน 4.การทดสอบด้วยความแห้ง 14 วัน

ซึ่งหากต้องการหาสภาวะที่จะนำไปใช้ในการแยกเชื้อ *Microbispora* ออกจาก *Streptomyces* ควรจะเลือกสภาวะที่เชื้อในสกุล Streptomyces ไม่สามารถเจริญได้ หรือ เจริญได้เพียงเล็กน้อยจึงจะเหมาะสม ด้วยเหตุนี้ ผลการทดสอบด้วยความแห้งเป็นเวลา14วัน เหมาะสมที่สุดที่จะนำมาพัฒนาเป็นเทคนิคใหม่ในการแยกเชื้อ *Microbispora* ออกจาก *Streptomyces* เนื่องจากการทดสอบด้วยความแห้ง ที่เวลา 14 วัน มีความแตกต่างของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของสปอร์เชื้อในสกุล *Microbispora* และ *Streptomyces* มากที่สุด (*Streptomyces* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 4.61% และ *Microbispora* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 49.08%) อีกทั้ง ยังเห็นได้ว่าที่ความแห้ง 14 วัน เชื้อในสกุล *Streptomyces* มีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยน้อยมาก หรือ ไม่ถึง 5% แต่อัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของ *Microbispora* สูงถึง 49.08% การทดสอบเชื้อ Microbispora โดยความแห้ง ยังไม่เคยมีผู้ใดศึกษามาก่อนหน้านี้ จึงถือได้ว่าเป็นวิธีการใหม่ที่น่าศึกษาต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรนำสภาวะใหม่ที่เหมาะต่อการคัดเลือกเชื้อ *Microbispora* นี้ ไปพัฒนาต่อยอดเป็นเทคนิคการคัดแยกเชื้อ เช่น นำตัวอย่างดินธรรมชาติมาทำการทดสอบกับสภาวะดังกล่าวโดยตรง

2. เนื่องจากพบสภาวะใหม่ที่เหมาะสมต่อการคัดเลือกเชื้อ *Microbispora* จึงควรนำไปศึกษาเพิ่มเติมเช่น อาจทำการเพิ่มหรือลดจำนวนเวลาในการทดสอบ หรือ อาจนำสภาวะสองสภาวะมาทำการทดสอบร่วมกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

Cunningham F. E.. (1979). Influence of Microwave Radiation on Psychrotrophic Bacteria. Journal of Food Protection, 651-655.

Kolarova, M. *et al.* (2007). "Microbiaeratin, a New Natural Indole Alkaloid from a *Microbispora aerate* Strain, Isolated from Livingston Island, Antarctica." Quality Technology& Quantitative Management 161-168.

Lakshman, K. *et al.* (2006). "Extraction of polyhydroxyalkanoate from *Sinorhizobium meliloti* cell using *Microbispora* sp. Culture and its enzymes." Enzyme and Microbial Technology 1471-1475.

Masayuki Hayakawa, Tetsuo Sadakata, Takayuki Kajiura and Hideo Nonomura. (1991). New Methods for the Highly Selective Isolation of *Micromonospora* and *Microbispora* from Soil. Journal of fermentation and bioengineering 320-326.

Masayuki Hayakawa, Hideo Nonomura. (1989). A New Method for the Intensive Isolation of Actinomycetes from Soil. Actinomycetol 3:95-104.

Mertz, F. P. and Higgens, C. E. (1982). "*Streptomyces cupillispirulis* sp. nov." International Journal of Systematic Bacteriology. 32(1) : 116-124.

Miyadoh, S. , *et al.* (1985). "Microbispora viridis, a New Species of Actinomycetales." International Journal of Systematic Bacteriology. 35(3) : 281-284.

Navneet, K. (2016) . "Endophytic actinomycetes from Azadirachta indica A. Juss. : Characterization and anti-microbial activity." International Journal of Advanced Research. 4(6) : 676-684

Passari, A.K. , Mishra, V.K. , Saikia, R. , Gupta, V.K. and Singh, B.P. (2015) . "Isolation, abundance and phylogenetic affiliation of endophytic actinomycetes associatedwith medicinal plants and screening for their in vitro antimicrobial biosynthetic potential." Frontiers in Microbiology. 6 : 273

Qiu, P., *et al.* (2015). "Diversity, bioactivities, and metabolic potentials of endophytic actinomycetes isolated from traditional medicinal plants in Sichuan, China." Chinese Journal of Natural Medicines. 13(12) : 0942-0953

Radha, S. and A.K. Dubey. (2015). "Endophytic Actinomycetes as Emerging Source for Therapeutic Compounds." Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences. 5(2) : 106-116

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sheng, Q. , *et al.* (2009) . "Isolation, Diversity, and Antimicrobial Activity of Rare Actinobacteria from Medicinal Plants of Tropical Rain Forests in Xishuangbanna China." Applied and Environmental Microbiology. 75(19) : 6176–6186

Sonashia, V. and N.M. Kamat. (2011). "Antimicrobial Screening of Actinobacteria using a Modified Cross-Streak Method." Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 73(2) : 223-228

Taechowisan, T. , Chanaphat, S. , Ruensamran, W. and Phutdhawong, S.W. (2014) . " Antibacterial activity of new flavonoids from Streptomyces sp. BT01; an endophyte in Boesenbergia rotunda (L.) Mansf. " Journal of Applied Pharmaceutical Science. 4 (04) : 008-013

Zaidan, M.R.S., Noor Rain, A., Badrul, A.R., Adlin, A., Norazah, A. and Zakiah, I. (2005). "In vitro screening of five local medicinal plants for antibacterial activity using disc diffusion method." Tropical Biomedicine. 22(2) : 165-70.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

Yeast extract-Malt extract agar (ISP2)

Yeast extract	4	กรัม
Malt extract	10	กรัม
Glucose	4	กรัม
Agar	18	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

pH 7.2

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ZSSE

Soluble starch	5	กรัม
KNO_3	1	กรัม
Agar	18	กรัม
Nalidixic acid	50	มิลลิกรัม
Nystatin	100	มิลลิกรัม
Soil extract	1	ลิตร

pH 7.2

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

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	
Yellowish Pink			
25 Vivid Yellowish Pink	8.0r 8.0 13.0	#FF845C	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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
53 Moderate Orange	4.6yr 6.5 8.2	#E8793E
54 Brownish Orange	4.1yr 5.0 8.0	#B15124

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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		
82 Vivid Yellow	3.3y 8.0 14.3	#FFB300
83 Brilliant Yellow	4.4y 8.7 8.9	#FFCF40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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
112 Light Olive Gray	6.9y 5.5 1.3	#887359
113 Olive Gray	8.1y 3.5 0.9	#4D4234

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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
140 Brilliant Green	6.2g 6.5 8.3	#47A76A
141 Strong Green	5.8g 4.4 8.7	#006B3C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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
169 Strong Greenish Blue	4.9b 4.5 8.4	#00677E
170 Deep Greenish Blue	5.0b 5.0 13.0	#007BA7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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
198 Very Light Purplish Blue	7.4pb 7.6 5.2	#BAACC7
199 Light Purplish Blue	7.3pb 6.0 6.5	#837DA2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

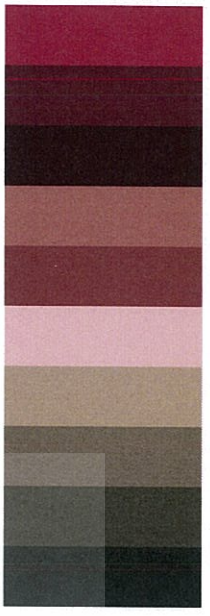
200 Moderate Purplish Blue	7.9pb 3.5 6.5	#423C63
201 Dark Purplish Blue	8.0pb 1.3 4.3	#1A162A
202 Very Pale Purplish Blue	7.0pb 8.0 3.7	#CBBAC5
203 Pale Purplish Blue	7.0pb 6.0 3.9	#8A7F8E
204 Grayish Purplish Blue	6.9pb 3.4 3.8	#413D51
Violet		
205 Vivid Violet	2.0p 5.0 14.0	#884BAE
206 Brilliant Violet	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
227 Pale Purple	7.9p 6.4 3.1	#AE848B
228 Grayish Purple	8.1p 4.5 2.7	#72525C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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
256 Deep Purplish Red	7.3rp 2.6 10.1	#6F0035
257 Very Deep Purplish Red	6.8rp 1.7 8.0	#470027

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

จำนวนโคโลนีหลังทำการทดสอบ

ตารางที่ 1 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดย Phenol

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)			
	2.0% phenol	1.5% phenol	1.0% phenol	0.5% phenol
Streptomyces sp. ST2	0	0	0	0
Streptomyces sp. ST3	TNTC	$1.04x10^6$	0	0
Streptomyces sp. ST5	TNTC	TNTC	$9.25x10^5$	$1.80x10^5$
Streptomyces sp. ST6	TNTC	$1.21x10^6$	0	0
Streptomyces sp. ST7	TNTC	TNTC	<30	<30
Streptomyces sp. St9	TNTC	$5.18x10^5$	0	0
Microbispora sp. AN2-5	TNTC	$1.36x10^6$	<30	0
Microbispora sp. BR3-3	TNTC	$1.37x10^6$	<30	0
Microbispora sp. CL1-1	TNTC	$4.10x10^5$	0	0
Microbispora sp. CL2-2	TNTC	$2.10x10^5$	0	0
Microbispora sp. CS-R-4	TNTC	$1.12x10^6$	$4.3x10^5$	<30
Microbispora sp. KE1-2	TNTC	$9.6x10^5$	<30	0
Microbispora sp. KE1-3	TNTC	$1.32x10^6$	<30	0
Microbispora sp. KE2-2	TNTC	$4.13x10^5$	0	0
Microbispora sp. KE2-4	TNTC	$1.13x10^5$	0	0
Microbispora sp. KK1-10	$1.24x10^6$	$2.00x10^5$	<30	<30
Microbispora sp. KK1-11	TNTC	TNTC	<30	0
Microbispora sp. KM1-1	TNTC	TNTC	$2.60x10^5$	0
Microbispora sp. KM1-2	TNTC	$5.00x10^5$	$1.75x10^5$	<30
Microbispora sp. ZO-H-11	TNTC	$1.01x10^6$	<30	0
Microbispora sp. ZZ1-4	TNTC	$7.55x10^5$	<30	0
Microbispora sp. ZZ2-2	TNTC	TNTC	<30	0
Microbispora sp. ZZ-H-4	TNTC	$1.50x10^6$	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

รูปที่ 1 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดย Phenol

(ก) โคโลนีหลังทดสอบกับ 0.5% Phenol

(ข) โคโลนีหลังทดสอบกับ 1.0% Phenol

(ค) โคโลนีหลังทดสอบกับ 1.5% Phenol

(ง) โคโลนีหลังทดสอบกับ 2.0% Phenol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดย Chlohexidine digluconate

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)		
	0.001% CG	0.01% CG	0.1% CG
Streptomyces sp. ST2	$8.03x10^5$	<30	0
Streptomyces sp. ST3	TNTC	<30	0
Streptomyces sp. ST5	<30	0	0
Streptomyces sp. ST6	$1.14x10^6$	0	0
Streptomyces sp. ST7	TNTC	<30	<30
Streptomyces sp. St9	TNTC	<30	0
Microbispora sp. AN2-5	$9.9x10^5$	0	0
Microbispora sp. BR3-3	TNTC	0	0
Microbispora sp. CL1-1	$7.65x10^5$	0	0
Microbispora sp. CL2-2	TNTC	<30	0
Microbispora sp. CS-R-4	$1.44x10^6$	0	0
Microbispora sp. KE1-2	TNTC	<30	<30
Microbispora sp. KE1-3	TNTC	<30	0
Microbispora sp. KE2-2	<30	0	0
Microbispora sp. KE2-4	TNTC	0	0
Microbispora sp. KK1-10	$1.29x10^6$	0	0
Microbispora sp. KK1-11	TNTC	<30	0
Microbispora sp. KM1-1	TNTC	$2.43x10^5$	<30
Microbispora sp. KM1-2	TNTC	$1.12x10^5$	<30
Microbispora sp. ZO-H-11	TNTC	<30	0
Microbispora sp. ZZ1-4	TNTC	$1.17x10^5$	<30
Microbispora sp. ZZ2-2	$3.65x10^5$	<30	0
Microbispora sp. ZZ-H-4	$7.20x10^5$	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 2 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดย Chlohexidine digluconate

(ก) โคโลนีหลังทดสอบกับ 0.001% CG

(ข) โคโลนีหลังทดสอบกับ 0.01% CG

(ค) โคโลนีหลังทดสอบกับ 0.1% CG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดย Sodium dodecyl sulfate

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)			
	0.03% SDS	0.05% SDS	0.07% SDS	0.1% SDS
Streptomyces sp. ST2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Streptomyces sp. ST3	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Streptomyces sp. ST5	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Streptomyces sp. ST6	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Streptomyces sp. ST7	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Streptomyces sp. St9	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. AN2-5	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. BR3-3	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. CL1-1	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. CL2-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. CS-R-4	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KE1-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KE1-3	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KE2-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KE2-4	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KK1-10	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KK1-11	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KM1-1	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KM1-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. ZO-H-11	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. ZZ1-4	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. ZZ2-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. ZZ-H-4	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดย Sodium dodecyl sulfate

ตารางที่ 4 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดย Tween 80

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)			
	0.0001% Tween80	0.001% Tween80	0.01% Tween80	0.1% Tween80
Streptomyces sp. ST2	TNTC	$1.06x10^6$	$1.02x10^6$	$6.45x10^5$
Streptomyces sp. ST3	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Streptomyces sp. ST5	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Streptomyces sp. ST6	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Streptomyces sp. ST7	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Streptomyces sp. St9	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. AN2-5	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. BR3-3	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. CL1-1	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. CL2-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. CS-R-4	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KE1-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KE1-3	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 การรอดของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดย Tween 80 (ต่อ)

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)			
	0.0001% Tween80	0.001% Tween80	0.01% Tween80	0.1% Tween80
Microbispora sp. KE2-4	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KK1-10	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KK1-11	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KM1-1	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KM1-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. ZO-H-11	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. ZZ1-4	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. ZZ2-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. ZZ-H-4	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC

รูปที่ 4 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดย Tween80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

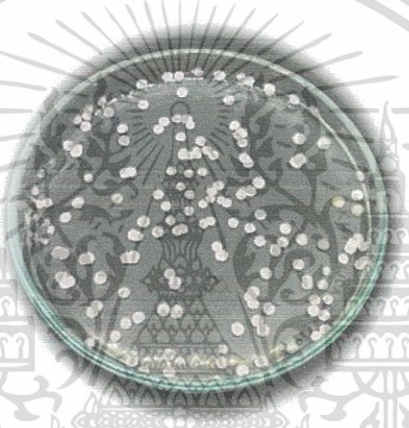
0

ตารางที่ 5 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยการให้ความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)			
	100°C, 30 min	100°C, 60 min	100°C, 90 min	100°C, 120 min
Streptomyces sp. ST2	TNTC	TNTC	1.02×10^5	3.1×10^4
Streptomyces sp. ST3	1.38×10^5	1.22×10^5	9.9×10^4	2.7×10^4
Streptomyces sp. ST5	TNTC	1.35×10^5	1.09×10^5	4.3×10^4
Streptomyces sp. ST6	TNTC	1.23×10^5	9.45×10^4	<30
Streptomyces sp. ST7	1.32×10^5	1.06×10^5	9.85×10^4	3.9×10^4
Streptomyces sp. St9	TNTC	1.27×10^5	9.5×10^4	5.1×10^4
Microbispora sp. AN2-5	TNTC	1.48×10^5	8.8×10^4	4.8×10^4
Microbispora sp. BR3-3	TNTC	1.42×10^5	7.85×10^4	5.45×10^4
Microbispora sp. CL1-1	TNTC	1.43×10^5	1.19×10^5	6.1×10^4
Microbispora sp. CL2-2	TMTC	1.4×10^5	1.21×10^5	7.1×10^4
Microbispora sp. CS-R-4	TNTC	1.24×10^5	9.0×10^4	4.6×10^4
Microbispora sp. KE1-2	TNTC	1.01×10^5	5.1×10^4	4.2×10^4
Microbispora sp. KE1-3	TNTC	1.39×10^5	9.45×10^4	5.0×10^4
Microbispora sp. KE2-2	1.38×10^5	9.3×10^4	4.9×10^4	1.38×10^5
Microbispora sp. KE2-4	1.28×10^5	1.18×10^5	1.2×10^5	9.55×10^4
Microbispora sp. KK1-10	TNTC	1.14×10^5	8.25×10^4	5.3×10^4
Microbispora sp. KK1-11	TNTC	<30	0	0
Microbispora sp. KM1-1	TNTC	1.31×10^5	8.75×10^4	4.8×10^4
Microbispora sp. KM1-2	TNTC	1.45×10^5	9.2×10^4	5.6×10^4
Microbispora sp. ZO-H-11	TNTC	1.15×10^5	8.65×10^4	4.5×10^4
Microbispora sp. ZZ1-4	TNTC	1.43×10^5	8.3×10^4	4.95×10^4
Microbispora sp. ZZ2-2	TNTC	1.07×10^5	7.35×10^4	4.4×10^4
Microbispora sp. ZZ-H-4	TNTC	TNTC	1.11×10^5	5.5×10^4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก) (ข)



(ค)

รูปที่ 5 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส

(ก) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส 30 นาที

(ข) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส 60 นาที

(ค) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส 90 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยการให้ความร้อนแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)			
	110°C, 30 min	110°C, 60 min	110°C, 90 min	110°C, 120 min
Streptomyces sp. ST2	1.31×10^5	2.25×10^4	<30	0
Streptomyces sp. ST3	9.9×10^4	2.95×10^4	<30	0
Streptomyces sp. ST5	1.21×10^5	3.1×10^4	<30	0
Streptomyces sp. ST6	1×10^5	2.85×10^4	<30	0
Streptomyces sp. ST7	1.18×10^5	3.45×10^4	0	0
Streptomyces sp. St9	9.0×10^4	2.7×10^4	<30	0
Microbispora sp. AN2-5	1.11×10^5	2.95×10^4	0	0
Microbispora sp. BR3-3	1.24×10^5	2.8×10^4	<30	0
Microbispora sp. CL1-1	9.8×10^4	3.1×10^4	0	0
Microbispora sp. CL2-2	1.3×10^5	2.9×10^4	<30	0
Microbispora sp. CS-R-4	1.2×10^5	2.1×10^4	<30	0
Microbispora sp. KE1-2	1.31×10^5	3.4×10^4	<30	0
Microbispora sp. KE1-3	1.28×10^5	3.35×10^4	0	0
Microbispora sp. KE2-2	1.08×10^5	2.01×10^4	<30	0
Microbispora sp. KE2-4	1.06×10^5	2.73×10^4	<30	<30
Microbispora sp. KK1-10	9.4×10^4	1.95×10^4	0	0
Microbispora sp. KK1-11	5.25×10^4	2.95×10^4	0	0
Microbispora sp. KM1-1	1.43×10^5	2.1×10^4	<30	0
Microbispora sp. KM1-2	1.42×10^5	2.95×10^4	<30	0
Microbispora sp. ZO-H-11	1.11×10^5	3.1×10^4	0	0
Microbispora sp. ZZ1-4	1.34×10^5	3.3×10^4	9.0×10^3	0
Microbispora sp. ZZ2-2	1.04×10^5	2.75×10^4	<30	0
Microbispora sp. ZZ-H-4	1.03×10^5	2.6×10^4	<30	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

รูปที่ 6 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส
(ก) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส 30 นาที
(ข) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส 60 นาที
(ค) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส 90 นาที
(ง) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส 120 นาที

ตารางที่ 7 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยการให้ความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)			
	120°C, 30 min	120°C, 60 min	120°C, 90 min	120°C, 120 min
Streptomyces sp. ST2	0	0	0	0
Streptomyces sp. ST3	<30	0	0	0
Streptomyces sp. ST5	0	0	0	0
Streptomyces sp. ST6	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยการให้ความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส (ต่อ)

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)			
	120°C, 30 min	120°C, 60 min	120°C, 90 min	120°C, 120 min
Streptomyces sp. St9	<30	0	0	0
Microbispora sp. AN2-5	0	0	0	0
Microbispora sp. BR3-3	0	0	0	0
Microbispora sp. CL1-1	<30	0	0	0
Microbispora sp. CL2-2	<30	0	0	0
Microbispora sp. CS-R-4	0	0	0	0
Microbispora sp. KE1-2	0	0	0	0
Microbispora sp. KE1-3	<30	0	0	0
Microbispora sp. KE2-2	0	0	0	0
Microbispora sp. KE2-4	<30	0	0	0
Microbispora sp. KK1-10	<30	0	0	0
Microbispora sp. KK1-11	0	0	0	0
Microbispora sp. KM1-1	0	0	0	0
Microbispora sp. KM1-2	0	0	0	0
Microbispora sp. ZO-H-11	6	0	0	0
Microbispora sp. ZZ1-4	0	0	0	0
Microbispora sp. ZZ2-2	0	0	0	0
Microbispora sp. ZZ-H-4	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 7 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส

(ก) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส 30 นาที

(ข) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส 60 นาที

(ค) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส 90 นาที

(ง) โคโลนีหลังทดสอบโดยความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส 120 นาที

ตารางที่ 8 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยคลื่นไมโครเวฟ

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)		
	450 Watt, 5 sec	450 Watt, 10 sec	450 Watt, 15 sec
Streptomyces sp. ST2	5.93×10^5	1.48×10^5	<30
Streptomyces sp. ST3	TNTC	1.07×10^6	<30
Streptomyces sp. ST5	TNTC	TNTC	<30
Streptomyces sp. ST6	TNTC	TNTC	<30
Streptomyces sp. ST7	TNTC	TNTC	0
Streptomyces sp. St9	TNTC	TNTC	<30
Microbispora sp. AN2-5	TNTC	TNTC	<30
Microbispora sp. BR3-3	TNTC	TNTC	<30
Microbispora sp. CL1-1	TNTC	TNTC	3.3×10^5
Microbispora sp. CL2-2	TNTC	TNTC	0
Microbispora sp. CS-R-4	TNTC	TNTC	8.1×10^5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ผลการรอดชีวิตของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยคลื่นไมโครเวฟ (ต่อ)

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)		
	450 Watt, 5 sec	450 Watt, 10 sec	450 Watt, 15 sec
Microbispora sp. KE1-3	TNTC	TNTC	0
Microbispora sp. KE2-2	TNTC	TNTC	<30
Microbispora sp. KE2-4	TNTC	TNTC	<30
Microbispora sp. KK1-10	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KK1-11	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KM1-1	TNTC	TNTC	0
Microbispora sp. KM1-2	TNTC	7.70×10^5	1.04×10^6
Microbispora sp. ZO-H-11	TNTC	4.35×10^5	<30
Microbispora sp. ZZ1-4	TNTC	TNTC	<30
Microbispora sp. ZZ2-2	TNTC	TNTC	<30
Microbispora sp. ZZ-H-4	TNTC	TNTC	1.8×10^4

รูปที่ 8 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดยคลื่นไมโครเวฟ

(ก) โคโลนีหลังทดสอบโดยคลื่นไมโครเวฟ 450 วัตต์ 5 วินาที

(ข) โคโลนีหลังทดสอบโดยคลื่นไมโครเวฟ 450 วัตต์ 10 วินาที

(ค) โคโลนีหลังทดสอบโดยคลื่นไมโครเวฟ 450 วัตต์ 15 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยรังสียูวี

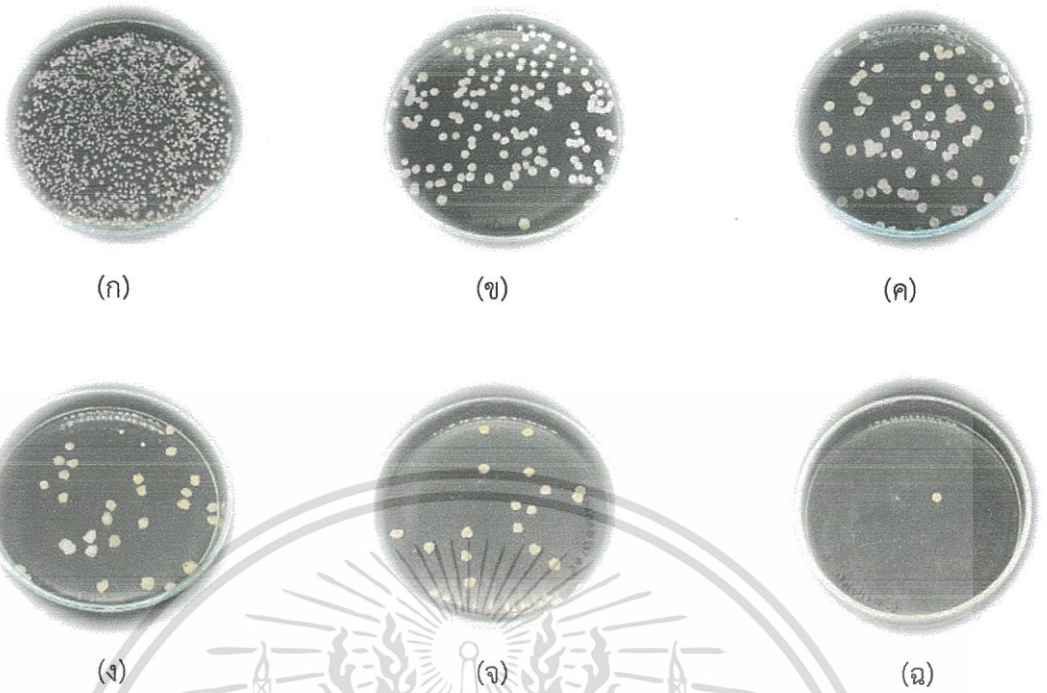
Species	(Colony/มิลลิลิตร)					
	UV 5 min	UV 10 min	UV 15 min	UV 20 min	UV 25 min	UV 30 min
Streptomyces sp. ST2	<30	0	0	0	0	0
Streptomyces sp. ST3	$7.83x10^4$	<30	<30	<30	<30	<30
Streptomyces sp. ST5	TNTC	$9.1x10^4$	$5.25x10^4$	$4.2x10^4$	<30	0
Streptomyces sp. ST6	TNTC	$7.8x10^4$	$4.05x10^4$	$2.6x10^4$	<30	<30
Streptomyces sp. ST7	<30	<30	<30	0	<30	0
Streptomyces sp. ST9	$1.2x10^5$	$6.96x10^4$	$4.05x10^4$	$2.75x10^4$	<30	$1.73x10^4$
Microbispora sp. AN2-5	TNTC	$4.28x10^4$	$4.2x10^4$	$2.3x10^4$	<30	0
Microbispora sp. BR3-3	TNTC	$3.0x10^4$	$2.1x10^4$	<30	0	0
Microbispora sp. CL1-1	TNTC	$8.95x10^4$	$6.75x10^4$	$3.25x10^4$	<30	0
Microbispora sp. CL2-2	TNTC	TNTC	$4.13x10^4$	<30	<30	<30
Microbispora sp. CS-R-4	0	0	0	0	0	0
Microbispora sp. KE1-2	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KE1-3	$7.3x10^4$	$7.3x10^4$	$7.3x10^4$	$7.3x10^4$	$7.3x10^4$	$7.3x10^4$
Microbispora sp. KE2-2	TNTC	TNTC	TNTC	$3.25x10^4$	<30	<30
Microbispora sp. KE2-4	TNTC	TNTC	$5.35x10^4$	$2.6x10^4$	$2.0x10^4$	<30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยรังสียูวี(ต่อ)

Species	(Colony/มิลลิลิตร)					
	UV 5 min	UV 10 min	UV 15 min	UV 20 min	UV 25 min	UV 30 min
Microbispora sp. KK1-11	TNTC	$9.7x10^4$	$8.5x10^4$	$3.9x10^4$	$7.15x10^4$	$6.55x10^4$
Microbispora sp. KM1-1	TNTC	$7.8x10^4$	$4.1x10^4$	$4.5x10^4$	<30	0
Microbispora sp. KM1-2	TNTC	TNTC	$8.45x10^4$	$5.4x10^4$	$2.7x10^4$	<30
Microbispora sp. ZO-H-11	TNTC	$3.6x10^4$	<30	0	0	0
Microbispora sp. ZZ1-4	TNTC	$1.37x10^5$	$8.4x10^4$	$3.8x10^4$	$2.55x10^4$	<30
Microbispora sp. ZZ2-2	TNTC	$2.2x10^4$	$3.05x10^4$	<30	<30	<30
Microbispora sp. ZZ-H-4	TNTC	$9.6x10^4$	$2.8x10^4$	<30	<30	<30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) (ข) (ค)

(ง) (จ) (ฉ)

รูปที่ 9 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดยรังสียูวี

(ก) โคโลนีหลังทดสอบโดยรังสียูวี 5 นาที

(ข) โคโลนีหลังทดสอบโดยรังสียูวี 10 นาที

(ค) โคโลนีหลังทดสอบโดยรังสียูวี 15 นาที

(ง) โคโลนีหลังทดสอบโดยรังสียูวี 20 นาที

(จ) โคโลนีหลังทดสอบโดยรังสียูวี 25 นาที

(ฉ) โคโลนีหลังทดสอบโดยรังสียูวี 30 นาที

ตารางที่ 10 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยความแห้ง

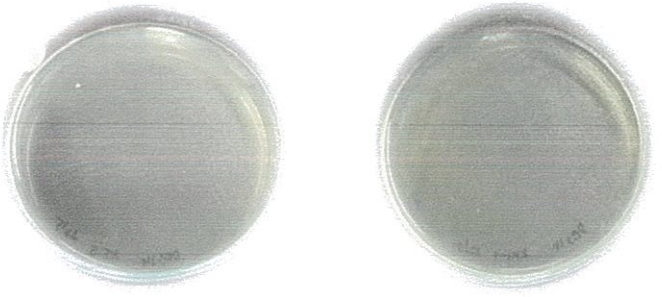
Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)	
	7 day	14 day
Streptomyces sp. ST2	$3.85x10^4$	<30
Streptomyces sp. ST3	$3.2x10^4$	<30
Streptomyces sp. ST5	$4.25x10^4$	<30
Streptomyces sp. ST6	$4.85x10^4$	<30
Streptomyces sp. ST7	$5.05x10^4$	$2.1x10^4$
Streptomyces sp. St9	$4.1x10^4$	<30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 จำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยสีทหลังทำการทดสอบโดยความแห้ง (ต่อ)

Species	Colony (CFU/มิลลิลิตร)	
	7 day	14 day
Microbispora sp. AN2-5	$4.15x10^4$	<30
Microbispora sp. BR3-3	$3.8x10^4$	<30
Microbispora sp. CL1-1	TNTC	$1.27x10^5$
Microbispora sp. CL2-2	TNTC	$1.13x10^5$
Microbispora sp. CS-R-4	35.87	78.67
Microbispora sp. KE1-2	$2.85x10^4$	$2.85x10^4$
Microbispora sp. KE1-3	<30	<30
Microbispora sp. KE2-2	$1.17x10^5$	$1.09x10^5$
Microbispora sp. KE2-4	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KK1-10	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KK1-11	$1.55x10^4$	$1.55x10^4$
Microbispora sp. KM1-1	TNTC	TNTC
Microbispora sp. KM1-2	$1.12x10^5$	$9.75x10^4$
Microbispora sp. ZO-H-11	$1.30x10^5$	$9.35x10^4$
Microbispora sp. ZZ1-4	$3.3x10^4$	<30
Microbispora sp. ZZ2-2	$1.27x10^5$	$8.63x10^4$
Microbispora sp. ZZ-H-4	$7.95x10^4$	<30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)

(ข)

รูปที่ 9 ตัวอย่างการเจริญของเชื้อหลังทำการทดสอบโดยความแห้ง

(ก) โคโลนีหลังทดสอบโดยความแห้ง 7 วัน

(ข) โคโลนีหลังทดสอบโดยความแห้ง 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณค่าทางสถิติ

ตารางที่ 11 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับ Phenol

Survival%

Duncan[a,b]

		Subset for alpha = 0.05			
phenol	N	1	2	3	4
M 2.0	17	.9612			
S2.0	6	2.6117			
M 1.5	17	6.6871			
S 1.5	6	11.0567			
M1.0	17		61.9635		
S 1.0	6			81.2550	
M 0.5	17				99.9218
S 0.5	5				101.0000
Sig.		.304	1.000	1.000	.903

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.553.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

ตารางที่ 12 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับ Chohexidine digluconate

Survival %

Duncan[a,b]

		Subset for alpha = 0.05	
CG	N	1	2
S 0.1	6	.5550	
M 0.1	17	1.0588	
M 0.01	17	4.0476	
S 0.01	6	9.2783	
S 0.001	6		73.7000
M 0.001	17		83.8429
Sig.		.389	.268

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.870.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับ Sodium dodecyl sulfate

Survival %

Duncan[a,b]

SDS	N	Subset for alpha = 0.05
		1
S 0.1	6	101.0000
S 0.07	6	101.0000
S 0.05	6	101.0000
S 0.03	6	101.0000
M 0.03	17	101.0000
M 0.05	17	101.0000
M 0.07	17	101.0000
M 0.1	17	101.0000
Sig.		.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.110.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

ตารางที่ 14 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับ Tween 80

Survival %

Duncan[a,b]

Tween	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
S1	6	91.3333	
M 0.1	6	95.5000	95.5000
M0.01	6	95.9450	95.9450
S0.001	7		101.0000
M0.001	17		101.0000
S 0.01	17		101.0000
S 0.1	17		101.0000
M 1	17		101.0000
Sig.		.205	.169

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.110.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับ ความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส

Survival %

Duncan[a,b]

		Subset for alpha = 0.05				
hot100	N	1	2	3	4	5
S 120	6	22.2233				
M 120	17	34.0588				
M 90	17		57.6876			
S 90	6		66.4450			
M 60	17			82.9024		
S 60	6			84.9450	84.9450	
S 30	6				97.3333	97.3333
M 30	17					100.0782
Sig.		.084	.199	.763	.070	.686

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.870.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

ตารางที่ 16 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับ ความร้อนแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส

Survival %

Duncan[a,b]

		Subset for alpha = 0.05		
hot110	N	1	2	3
S 120	6	.0000		
M 120	17	.3724		
M 90	17	3.7453		
S 90	6	5.6667		
M 60	17		19.0359	
S 60	6		19.2233	
S 30	6			73.2233
M 30	17			74.3341
Sig.		.139	.957	.749

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.870.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับ ความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส

Survival %

Duncan[a,b]

hot120	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
S 60	6	.0000	
M 60	17	.0000	
S 90	6	.0000	
M 90	17	.0000	
S 120	6	.0000	
M 120	17	.0000	
M 30	17		2.0982
s 30	6		2.6650
Sig.		1.000	.435

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.870.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

ตารางที่ 18 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับไมโครเวฟ

Survival %

Duncan[a,b]

micro	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
S 15	6	5.8317		
M15	17	8.7182		
S 10	6		80.8667	
s 5	6		90.6667	90.6667
M 10	17		93.8371	93.8371
M 5	17			101.0000
Sig.		.730	.147	.248

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.870.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 19 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับรังสียูวี

Survival %

Duncan[a,b]

UV	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
S 25	6	3.7217			
S 30	6	3.8667			
M 30	17	3.9418			
M 25	17	10.3524	10.3524		
s 20	6	11.4433	11.4433		
M 20	17	16.9606	16.9606		
S 15	6	17.3333	17.3333		
S 10	6		29.3500		
M 15	17		31.1788		
M 10	17			55.4471	
S 5	6			57.9783	
M 5	17				95.0588
Sig.		.264	.079	.806	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.846.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

ตารางที่ 20 ค่าทางสถิติของอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยระหว่าง *Streptomyces* และ *Microbispora* หลังทดสอบกับความแห้ง

Survival %

Duncan[a,b]

dessication	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
S 14	6	4.6117		
S 7	6	28.1083	28.1083	
M 14	17		49.0818	49.0818
M 7	17			67.3065
Sig.		.119	.163	.224

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.870.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

แบบฟอร์มการตรวจสอบการคัดลอกผลงานทางวิชาการ

ข้าพเจ้า นางสาว นภัสสร สมพงศ์ รหัสนักศึกษา 57050708

นางสาว ปานรวี หัสนิสสัย รหัสนักศึกษา 57050726

ระดับ ปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ ได้เสนอโครงงานพิเศษหัวข้อเรื่อง

ชื่อภาษาไทย การศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยการอยู่รอดของสปอร์ เชื้อไมโครไบสปอราสำหรับการพัฒนาเทคนิคการแยกเชื้อ เหล่านั้นจากตัวอย่างดินธรรมชาติ

ชื่อภาษาอังกฤษ The comparative studies of the survival factor of *Microbispora* spores for their isolation technique developing from natural soil samples.

ได้ตรวจเช็คผลงานวิชาการข้างต้นแล้ว ในภาคเรียนที่ 2 วันที่ 18 เดือน กรกฎาคม ปี 2561

โดยใช้โปรแกรม อักขราวิสุทธิ์ ตรวจสอบพบความเหมือนของเนื้อหา 0.00 %

โดยอาจารย์ที่ปรึกษายอมรับได้ว่าไม่ได้คัดลอกข้อความที่มีสาระสำคัญจากผลงานของผู้อื่น

ลายมือชื่อนักศึกษา นภัสสร สมพงศ์

(นางสาว นภัสสร สมพงศ์)

ลายมือชื่อนักศึกษา ปานรวี หัสนิสสัย

(นางสาว ปานรวี หัสนิสสัย)

วันที่ 18 เดือน กรกฎาคม ปี 2561

ได้รับความเห็นชอบจากอาจารย์ที่ปรึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

(รศ.ดร.จิตติ ท่าไว)

วันที่ 18 เดือน กรกฎาคม ปี 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้