

การศึกษาการเพาะเลี้ยงและฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ
ของเชื้อแอคติโนมัยซีท จากดินป่าชายเลน ตำบลบางปะกง
จังหวัดฉะเชิงเทรา

CULTURAL CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL
ACTIVITY OF ACTINOMYCETES FROM MANGROVE
FOREST SOIL, BANGPAKONG CHACHOENGSAO



ณัฏชา บุญลือกุลธร
ฐวิภาณจน์ จีรวงศ์วัฒนะ
ธมลวรรณ อิศถงคาร

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

การศึกษาการเพาะเลี้ยงและฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ
ของเชื้อแอคติโนมัยซีท จากดินป่าชายเลน ตำบลบางปะกง
จังหวัดฉะเชิงเทรา

CULTURAL CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL
ACTIVITY OF ACTINOMYCETES FROM MANGROVE
FOREST SOIL, BANGPAKONG CHACHOENSAO



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CULTURAL CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL
ACTIVITY OF ACTINOMYCETES FROM MANGROVE
FOREST SOIL, BANGPAKONG CHACHOENSAO



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การศึกษาการเพาะเลี้ยงและฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีท จากดินป่าชายเลน ตำบลบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา
Cultural Characterization and Antimicrobial Activity of Actinomycetes from Mangrove Forest Soil, Bangpakong Chachoengsao

ชื่อนักศึกษา นางสาวณัชชา บุญลือกุลธร รหัสนักศึกษา 56050985
นางสาวฐวิภาญจน์ จีรวงศ์วิฒนะ รหัสนักศึกษา 56050997
นางสาวธมลวรรณ อิศฤงคาร รหัสนักศึกษา 56051006

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

ปีการศึกษา 2559

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.จิตติ ท่าไผ่ ประธานกรรมการ	
ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการ	
ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาการเพาะเลี้ยงและฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอกติโนมัยซีท จากดินป่าชายเลน ตำบลบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา			
ชื่อนักศึกษา	นางสาวณัชชา	บุญลือกุลธร	รหัสนักศึกษา	56050985
	นางสาวรัฐวิภาญจน์	จิรวงศ์วัฒน์	รหัสนักศึกษา	56050997
	นางสาวธมลวรรณ	อิสฤงคาร	รหัสนักศึกษา	56051006
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)			
ภาควิชา	ชีววิทยา			
คณะ	วิทยาศาสตร์			
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)			
ปีการศึกษา	2559			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์			

บทคัดย่อ

เชื้อแอกติโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท ซึ่งคัดแยกได้จากดินป่าชายเลน ตำบลบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา นำมาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและตรวจสอบลักษณะทางชีวเคมี ของเชื้อ จากนั้นทำการคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยซีทมาจำนวน 1 ไอโซเลท จากความสามารถในการ ย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุด นั่นคือ ไอโซเลทที่ BBA 1453 จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) เพื่อเปรียบเทียบการเจริญที่ความเป็นกรด-ด่าง, ความเข้มข้นของเกลือ และอุณหภูมิต่างๆ โดยบ่มเขย่าที่ความเร็วรอบ 230 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บผลทุกๆ 6 ชั่วโมง โดยการชั่งน้ำหนักเซลล์แห้ง แล้วนำไปคำนวณหาค่าอัตราการเจริญ จำเพาะ (μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อ การเจริญอยู่ที่ 8 และค่าความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ที่ 4 เปอร์เซ็นต์ และ คัดเลือกแอกติโนมัยซีทจำนวน 3 ไอโซเลท ที่ย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุดสามอันดับ ได้แก่ ไอโซเลทที่ BBA 5103, BBA 1453 และ BBA 21103 มาทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยวิธีการ Modified cross-streak และ Agar disc diffusion เพื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028 พบว่า ไอโซเลทที่ BBA 5103 และ BBA 21103 สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้ โดยที่ ระดับความเข้มข้น 50 มก/มล. สามารถวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 11.59 มม. และ 12.04 มม. ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 1 มก/มล. สามารถวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 7.50 มม. และ 6.97 มม. ตามลำดับ

คำสำคัญ : ดินป่าชายเลน แอกติโนมัยซีท สภาวะการเพาะเลี้ยง ความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของ เกลือ อุณหภูมิ ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Cultural Characterization and Antimicrobial Activity of Actinomycetes from Mangrove Forest Soil, Bangpakong Chachoengsao		
Students	Miss.Nutcha Boonluekul-lathorn	Student ID	56050985
	Miss.Thawikan Jirawongwattana	Student ID	56050997
	Miss.Thamonwan Itsaringkan	Student ID	56051006
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2016		
Advisor	Dr. Khanungkan Klanbut		

Abstract

34 isolates of actinomycetes were isolated from Bangpakong, Chachoengsao mangrove forest soil. The morphology and biochemical characteristics of the organism were examined. One of them, isolate BBA 1453 was selected from the best starch digestion and was cultured in International *Streptomyces* Project (ISP2) broth. The growth rate could be examined by difference conditions; pH, salt concentration and temperatures and the cultures were shaken at 230 rpm for 48 hours. Samples were collected every 6 hours by cell dry weight measurement to calculate the specific growth rate (μ) and the doubling time (t_d). The optimum temperature for growth was 37 °C and exhibited optimum growth at pH 8 and 4% NaCl respectively. Three isolates were selected from the starch digestion include BBA 5103, BBA 1453 and BBA 21103, their antimicrobial activity could be measured by clear zone to inhibit 6 tested microorganisms including *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 and *Candida albicans* ATCC 90028 by a modified cross-streak method and agar disc diffusion. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 could be inhibited by BBA 5103 and BBA 21103 concentration of 50 mg/ml, the diameter could be measured at 11.59 mm and 12.04 mm, respectively and at concentration of 1 mg/ml, the diameter could be measured at 7.50 mm and 6.97 mm, respectively.

Key words : Mangrove forest soil, Actinomycetes, Culture conditions, pH, %NaCl, Temperature, Antimicrobial activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษางานวิจัยในครั้งนี้ผ่านไปได้ด้วยดี เพราะความอนุเคราะห์จากหลายฝ่าย ทั้งด้านความรู้ คำแนะนำ การเดินทาง การอำนวยความสะดวกในการทดลองต่างๆ งานวิจัยเล่มนี้จะไม่สำเร็จ ลุล่วงไปได้หากขาดความกรุณาและการช่วยเหลือจาก ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ ที่ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่างๆ ในการวิจัยตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ และสละเวลาตรวจทาน พิจารณาโครงการพิเศษนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณ รศ.ดร.จิตติ ท่าไฉ และ ดร. วิมลมาศ บุญมี ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำข้อเสนอแนะโครงการพิเศษนี้

ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ตลอดจนอบรมสั่งสอนให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดการศึกษา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตึกจุฬารัตน์วิทยาลัยลักษณะ ตึกวิทย์เก่า และตึกปฏิบัติการ พระจอมเกล้า ตลอดจนเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ ในการเบิกอุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งสถานที่ และเครื่องมือที่ใช้ในการทำการทดลอง

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่สำนักหอสมุดกลาง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการค้นคว้าหาข้อมูล รวมทั้งยืม-คืนหนังสือภายในหอสมุดกลาง ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณบิดา มารดา และสมาชิกภายในครอบครัว รวมถึงผู้มีอุปการะคุณทุกท่าน ที่คอยอบรมสั่งสอนให้เป็นคนดี และสนับสนุนให้กำลังใจ กำลังกายแก่คณะผู้ทำการวิจัย รวมทั้งขอบคุณเพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจตลอดมา

ณัชชา
ฐวิภาณูจน์
ธมลวรรณ

บุญลือกุลธร
จิรวงศ์วัฒนะ
อิศฤงคาร

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ระบบนิเวศน์ป่าชายเลน	4
2.1.1 ลักษณะดินป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา	5
2.2 นิเวศน์วิทยาของแอกติโนมัยซีท	6
2.3 ลักษณะทั่วไปของแอกติโนมัยซีท	7
2.3.1 แอกติโนมัยซีทจีนัส <i>Streptomyces</i>	8
2.4 การจัดจำแนกแอกติโนมัยซีท	8
2.4.1 Nocardioform Actinomycetes	8
2.4.2 Actinomycetes กับ Multilocuar sporangina	9
2.4.3 Actinoplanetes	9
2.4.4 Streptomyces	10
2.4.5 Maduromycetes	10
2.4.6 Thermomonospora	11
2.4.7 Thermoactinomycetes	11
2.4.8 สกุลอื่นๆ	12
2.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยซีท	13
2.5.1 การสร้างโคโลนีของแอกติโนมัยซีท	14
2.5.2 โครงสร้างภายในเส้นใยของแอกติโนมัยซีท	15
2.5.3 การสร้างสปอร์	15
2.5.4 ชนิดสปอร์ของแอกติโนมัยซีท	17
2.5.5 ลักษณะการสร้างสปอร์ของแอกติโนมัยซีท	18
2.5.6 ประเภทการสร้างสปอร์ของแอกติโนมัยซีท	19
2.5.7 การสร้างสปอร์ในอับสปอร์	21
2.5.8 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแอกติโนมัยซีท	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอน ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6 การคัดแยกแอสกีโตไมซีต	24
2.7 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง	25
2.7.1 ความต้องการสารอาหารของแบคทีเรียเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต	25
2.7.2 ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อแบบธรรมดา	26
2.8 ลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมี	30
2.8.1 คุณสมบัติในการย่อยสลายโปรตีน	30
2.8.2 คุณสมบัติในการรีดิวซ์ไนเตรท	30
2.8.3 คุณสมบัติในการย่อยสลายแป้ง	30
2.8.4 คุณสมบัติในการทนความเป็นกรด-ด่าง	30
2.8.5 ความสามารถในการทนเกลือ	30
2.8.6 ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ	31
2.9 ประโยชน์ของแอสกีโตไมซีตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	31
2.10 การทดสอบฤทธิ์ต้านทานทางชีวภาพ	35
2.10.1 การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยเทคนิค Agar disc diffusion	35
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	37
3.1 เครื่องมือ	37
3.2 อุปกรณ์	38
3.3 สารเคมี	39
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ	40
3.5 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	41
3.6 วิธีการดำเนินงานวิจัย	41
3.6.1 การเก็บตัวอย่างดิน	41
3.6.2 การเพาะเลี้ยง การแยก และการเก็บรักษาเชื้อแอสกีโตไมซีต	41
3.6.3 การหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน	42
3.6.3.1 การหาน้ำหนักดิน	42
3.6.3.2 การหาปริมาณความชื้น	42
3.6.3.3 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	42
3.6.4 การเตรียม Spore suspension	42
3.6.5 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อ	43
3.6.6 การตรวจสอบลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ	43
3.6.6.1 การย่อยสลายแป้ง	43
3.6.6.2 การย่อยสลายและการตกตะกอนโปรตีนนม	43
3.6.6.3 การย่อยสลายเจลาติน	44
3.6.6.4 การย่อยสลายไนเตรต	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์โดยผู้แต่งเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้วยการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.6.7 Spore germination	44
3.6.8 Spore pre-germination และการ Inoculation	44
3.6.9 การศึกษาอัตราการเจริญในสภาวะที่เหมาะสมของเชื้อแอสคิโนมัยซีท ในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2)	46
3.6.10 การทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยวิธี Modified cross-streak	46
3.6.11 การทดสอบกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยเทคนิค Agar disc diffusion	47
3.6.11.1 การเตรียมหัวเชื้อและการเพาะเลี้ยงเชื้อแอสคิโนมัยซีท	47
3.6.11.2 การสกัดสารทุติยภูมิจากน้ำหมักเชื้อแอสคิโนมัยซีท	47
3.6.11.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ	47
3.6.11.4 การเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบ	47
3.6.11.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยเทคนิค Agar disc diffusion	48
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	49
4.1 สมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน	49
4.2 การคัดแยกเชื้อแอสคิโนมัยซีท	50
4.3 ลักษณะพื้นฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอสคิโนมัยซีท	51
4.3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอสคิโนมัยซีท จำนวน 34 ไอโซเลท	51
4.3.2 การศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอสคิโนมัยซีท จำนวน 34 ไอโซเลท	86
4.4 การศึกษาระยะเวลาการงอกของสปอร์ของเชื้อแอสคิโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BBA 1453 (Spore germination)	90
4.5 ความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสคิโนมัยซีทในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) เพื่อทดสอบหาสภาวะ ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อแอสคิโนมัยซีท	97
4.6 การศึกษาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	111
4.6.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านทานทางชีวภาพโดยวิธี Modified cross-streak	111
4.6.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion	116
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	138
5.1 สรุปผลการวิจัย	138
5.2 ข้อเสนอแนะ	140

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	141
ภาคผนวก	148
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	149
ภาคผนวก ข เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อบนแผ่นสไลด์ และการ Mount ด้วยสี Methylene blue	153
ภาคผนวก ค การเตรียมสารละลาย McFarland standard No. 0.5	154
ภาคผนวก ง ภาพถ่ายสถานที่เก็บตัวอย่างดิน	155
ภาคผนวก จ การคำนวณหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน	158
ภาคผนวก ฉ ปริมาตรของน้ำหนักสารแขวนลอย, ปริมาณความชื้น และค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างดิน	159
ภาคผนวก ช ภาพแสดงตัวอย่างผลการทดสอบลักษณะทางชีวเคมี	162
ภาคผนวก ซ ผลการทดสอบชีวเคมี (ความสามารถในการย่อยสลายแป้ง)	165
ภาคผนวก ฌ ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง	170
ภาคผนวก ฎ ตารางเทียบกระดาษสีมาตรฐาน (The NBS/IBCC Color System)	173
ภาคผนวก ฏ ลักษณะสีมาตรฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีท จำนวน 34 ไอโซเลท	200
ประวัติผู้วิจัย	205

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ผลิตโดยแอสโคดีโนแบคทีเรีย	33
4.1 สมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน	49
4.2 หมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทที่คัดแยกได้จำนวน 34 ไอโซเลท	50
4.3 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท	87
4.3 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท (ต่อ)	88
4.4 ผลความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลทต่างๆ	89
4.5 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ต่างกัน	98
4.6 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่ระดับความเข้มข้น NaCl ที่ต่างกัน	102
4.7 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่ระดับการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างกัน	107
4.8 ผลการวัดระยะร่นของการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีททั้ง 3 ไอโซเลทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิด	111
4.9 ผลการวัดวงใส (Inhibition zone) จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ที่ได้จากเชื้อแอสโคดีโนมัยซีททั้ง 3 ไอโซเลท ในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disc diffusion	117
1 (ฉ) ปริมาตรของน้ำหนักรสแขวนลอยของดินที่ความเจือจาง 10^{-1}	159
2 (ฉ) ปริมาณความชื้นในตัวอย่างดินจากน้ำหนักรสของดินที่หายไป	160
3 (ฉ) ค่าเฉลี่ยค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างดิน	161
1 (ฅ) ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม) จากการเจริญของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในการเพาะเลี้ยงลงในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่แตกต่างกัน	170
2 (ฅ) ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม) จากการเจริญของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในการเพาะเลี้ยงลงในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) ที่มีระดับความเข้มข้นของ NaCl (%) ที่แตกต่างกัน	171
3 (ฅ) ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม) จากการเจริญของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในการเพาะเลี้ยงลงในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) ที่มีระดับอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน	172
1 (ญ) ตารางเทียบกระดาษสีมาตรฐาน (The NBS/IBCC Color System)	173
1 (ฎ) ลักษณะสีฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท	200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 สถานที่เก็บตัวอย่างดิน จากพิพิธภัณฑฯ นิเวศป่าชายเลน บางปะกง	5
2.2 <i>Nocardia asteroides</i>	9
2.3 <i>Frankia</i> sp.	9
2.4 <i>Micromonospora</i> sp.	10
2.5 <i>Streptomyces</i> sp.	10
2.6 <i>Streptosporangium roseum</i>	11
2.7 <i>Nocardiopsis lucentensis</i>	11
2.8 <i>Thermoactinomyces</i> sp.	12
2.9 <i>Glycomyces rutgersensis</i>	12
2.10 ภาพรวมลักษณะของเส้นสายสปอร์จากแอกติโนมัยซีท	13
2.11 การสร้างโคโลนีของแอกติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง	14
2.12 แสดงลักษณะต่างๆ ของโคโลนีแบคทีเรีย	15
2.13 ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์	17
2.14 ลักษณะของก้านชูสปอร์และถุงหุ้มสปอร์	18
2.15 การสร้างสปอร์เดี่ยว	19
2.16 ลักษณะสปอร์เป็นสาย	20
2.17 การสร้างสปอร์แบบเป็นสายยาวของ <i>Streptomyces</i>	21
2.18 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนอาหาร	22
2.19 รูปทรงของอับสปอร์	23
2.20 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง	29
4.1 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 153	52
4.2 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 362	53
4.3 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 462	54
4.4 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 5103	55
4.5 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 643	56
4.6 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 7104	57
4.7 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 853	58
4.8 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1062	59
4.9 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1143	60
4.10 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1212	61
4.11 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1453	62
4.12 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1583	63
4.13 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1732	64
4.14 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1872	65
4.15 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1983	66

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์สงขลา อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้วยการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.16 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 2012	67
4.17 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 21103	68
4.18 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 22104	69
4.19 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 2383	70
4.20 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 2453	71
4.21 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 2574	72
4.22 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 26105	73
4.23 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 2962	74
4.24 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 32103	75
4.25 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 35105	76
4.26 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 3612	77
4.27 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 3983	78
4.28 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 40102	79
4.29 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4133	80
4.30 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4212	81
4.31 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4312	82
4.32 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4652	83
4.33 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4722	84
4.34 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4893	85
4.35 ผลความสามารถการย่อยสลายแบ่งของไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่มีการย่อยสลายแบ่งได้ดีที่สุด	90
4.36 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 0	91
4.37 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 1	91
4.38 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 2	92
4.39 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 3	92
4.40 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 4	93
4.41 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 5	93
4.42 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453	94

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.43 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 7	94
4.44 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 8	95
4.45 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 9	95
4.46 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 10	96
4.47 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับจำนวนชั่วโมง ของการทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คือ 7, 8, 9 และ 10	99
4.48 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการศึกษาทดลองที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คือ 7, 8, 9 และ 10	100
4.49 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการศึกษาทดลองที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยง ในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คือ 7, 8, 9 และ 10	100
4.50 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับจำนวนชั่วโมง ของการทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเข้มข้น NaCl คือ 0%, 0.5%, 1% และ 2% NaCl	103
4.50 (ต่อ) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับจำนวนชั่วโมง ของการทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเข้มข้น NaCl คือ 3%, 4%, 5% และ 6% NaCl	104
4.51 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไฮสไพร์ไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการศึกษาทดลองที่ 2 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเข้มข้น NaCl คือ 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6%	105

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.52 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 2 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเข้มข้น NaCl คือ 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6%	105
4.53 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับจำนวนชั่วโมงของการทดลองที่ 3 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส	108
4.54 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 3 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 30 องศาเซลเซียส, 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส	109
4.55 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 3 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International <i>Streptomyces</i> Project (ISP2) โดยเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 30 องศาเซลเซียส, 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส	109
4.56 ผลการทดสอบเบื้องต้นของการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท BBA 5103	112
4.57 ผลการทดสอบเบื้องต้นของการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท BBA 1453	113
4.58 ผลการทดสอบเบื้องต้นของการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท BBA 21103	114
4.59 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	118
4.60 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	119
4.61 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	120
4.62 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 118 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	121
4.63 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Micrococcus luteus</i> TISTR 2374 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	122

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.64 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	123
4.65 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion	124
4.66 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion	125
4.67 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion	126
4.68 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 118 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion	127
4.69 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Micrococcus luteus</i> TISTR 2374 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion	128
4.70 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion	129
4.71 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Candida albicans</i> ATCC 90028 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	130
4.72 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	131
4.73 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	132
4.74 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 118 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีตาไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	133

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.75 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Micrococcus luteus</i> TISTR 2374 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	134
4.76 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion	135
1 (ง) แสดงถึงสภาพแวดล้อมของบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง	155
2 (ง) แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดิน จุดที่ 1-5 อยู่ในบริเวณป่าโกงกาง	156
3 (ง) แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดิน จุดที่ 6-10 อยู่ในบริเวณป่าเสม	157
1 (ช) ผลการทดสอบการย่อยสลายแป้งในอาหาร Inorganic salt-strach agar (ISP4)	162
2 (ช) ผลการทดสอบการย่อยสลายโปรตีนในอาหาร Skim milk agar	162
3 (ช) ผลการทดสอบการตกตะกอนโปรตีนนมในอาหาร Skim milk	163
4 (ช) ผลการทดสอบการย่อยสลายเจลาตินในอาหาร Bouillon gelatin broth	163
5 (ช) ผลการทดสอบการย่อยสลายไนเตรดในอาหาร Peptone nitrite broth	164
1 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 153	165
2 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 362	165
3 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 462	165
4 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 5103	166
5 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 1062	166
6 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 1583	166
7 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 1872	167
8 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 1983	167
9 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 21103	167
10 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 2383	168
11 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 2453	168
12 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 26105	168
13 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 35102	169
14 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 4212	169

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

พิพิธภัณฑ์ฯ นิเวศ-ป่าชายเลน โรงเรียนบวรวิทยายน ตำบลบางปะกง อำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ตั้งอยู่ริมฝั่งแม่น้ำบางปะกง พื้นที่ของโรงเรียนมีทั้งหมด 68 ไร่ แบ่งเป็นพื้นที่ป่าชายเลน 40 ไร่ สภาพป่าโดยทั่วไปเป็นป่าโกงกาง และป่าเสม เป็นแหล่งธรรมชาติที่มีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตซึ่งสำคัญต่อการศึกษาด้านความหลากหลายทางชีวภาพ (หทัยทิพย์, 2557) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านจุลชีววิทยา เพื่อเป็นการค้นพบแอคติโนมัยซีทแหล่งใหม่ที่มีความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสำคัญในด้านการแพทย์ การผลิตยา เกษตรกรรม หรือด้านวิทยาศาสตร์อื่นๆ จากดินป่าชายเลนเป็นจำนวนมาก (กิ่งจันทร์, 2555)

แอคติโนมัยซีท (*Actinomycetes*) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก จัดอยู่ใน Order *Actinomycetales* และ Class *Actinobacteria* ส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ยกเว้นมีบางชนิดที่ไม่ต้องการหรือต้องการในปริมาณน้อยในการเจริญ มีรูปร่างหลากหลาย มีการสร้างสปอร์ และเส้นใยคล้ายเชื้อรา แต่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่า (มานิตา, 2556) แอคติโนมัยซีทมีการสร้างเส้นใยอาหาร (*Substrate mycelium*) และเส้นใยที่ชูขึ้นบนอากาศ (*Aerial mycelium*) แตกแขนงออกไป ซึ่งแอคติโนมัยซีทมีปริมาณเบสกวานีน (*Guanine*) และไซโตซีน (*Cytosine*) ที่สูงประมาณ 55% (Ruan, 1994)

แอคติโนมัยซีทที่พบในดินมีปัจจัยหลายอย่างต่อการดำรงชีวิต เช่น สารอาหาร, อากาศ, pH, อุณหภูมิ, ความเค็ม, ความชื้น และปริมาณสารอินทรีย์ (Jiang *et al.*, 2016) ซึ่งสารอาหารเป็นหนึ่งในปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต โดยแอคติโนมัยซีทส่วนใหญ่สามารถใช้ความหลากหลายของสารประกอบ เช่น กลูโคส, แป้ง, โปรตีน และกรดอะมิโนเป็นแหล่งพลังงาน ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มแบคทีเรียอื่นๆ ที่ใช้เพียงสารประกอบคาร์บอนและไนโตรเจนเท่านั้น (Malek *et al.*, 2014)

ในปัจจุบันเชื่อกันว่าโรคมีความต้านทานต่อยานั้นมีกำลังเพิ่มขึ้น และมีการค้นพบพัฒนา ยาปฏิชีวนะที่ลดลงอย่างมาก จึงมีความต้องการยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ เพื่อต่อสู้กับแบคทีเรีย หรือสายพันธุ์ที่ทนต่อยาปฏิชีวนะที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งแอคติโนมัยซีทเป็นกลุ่มที่มีความสำคัญในการผลิตสารทุติยภูมิที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารปฏิชีวนะในการต่อต้านแบคทีเรีย รา ไวรัส รวมถึงสารต้านมะเร็ง และสารกดระบบภูมิคุ้มกัน ในการสร้างสารปฏิชีวนะของแอคติโนมัยซีท พบว่ากลุ่มที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดคือ *Streptomyces*, *Actinoplanes* และ *Nocardioform* (นวลรัตน์, 2554)

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยใช้วิธีการ Disc diffusion เป็นเทคนิคมาตรฐานที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน และเป็นที่ยอมรับและแนะนำโดยองค์การอนามัยโลก เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถปฏิบัติได้ง่าย สะดวก ประหยัด และรวดเร็ว รวมทั้งสามารถให้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำ (Biemer, 1973)

ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงโดยมีปัจจัยหลายอย่างเป็นตัวบ่งชี้ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH), ความเข้มข้นของเกลือ (%NaCl) และอุณหภูมิ ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ *International Streptomyces Project (ISP2)* เพื่อหาความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตของเชื้อแอกติโนมัยซีท และศึกษาความสามารถการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอกติโนมัยซีท จากดินป่าชายเลน ต.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้จัดทำขึ้นเพื่อที่จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของแอกติโนมัยซีทและสามารถนำความรู้ที่ได้ไปต่อยอดการศึกษาหรือการวิจัยต่อไปในอนาคตได้อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1.2.1 เพื่อศึกษาการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทจากแหล่งดินธรรมชาติบริเวณป่าชายเลน ต.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา และทำการกำหนดหมายเลขไอโซเลท

1.2.2 เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแอกติโนมัยซีทจากเชื้อไอโซเลททั้งหมดที่สามารถทำการคัดแยกได้

1.2.3 เพื่อศึกษาสภาวะที่มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตของเชื้อแอกติโนมัยซีทจากเชื้อไอโซเลทที่สามารถทำการคัดแยกได้

1.2.4 เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารทุติยภูมิของเชื้อแอกติโนมัยซีท และฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ทดสอบ จากแอกติโนมัยซีทที่สามารถทำการคัดแยกได้ โดยใช้วิธี Agar disc diffusion

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

งานวิจัยนี้ดำเนินการโดยการเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งดินธรรมชาติในบริเวณป่าชายเลน ต.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา มาทำการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทให้บริสุทธิ์ และทำการกำหนดเป็นหมายเลขไอโซเลท โดยหลังจากนั้นนำมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมี ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทหมายเลขต่างๆ ในอาหาร *International Streptomyces Project (ISP2)* และทำการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ โดยทำการสกัดจากน้ำหมักที่ได้จากการเลี้ยงแอกติโนมัยซีทในอาหาร Yeast extract-Malt extract แล้วนำมาตรวจสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทจากแหล่งดินธรรมชาติบริเวณป่าชายเลน ต.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา

1.4.2 สามารถจัดจำแนกแอกติโนมัยซีท โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางชีวเคมีเบื้องต้นของแอกติโนมัยซีทได้

1.4.3 สามารถทราบถึงสถานะที่มีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงและการเจริญเติบโตของเชื้อแอกติโนมัยซีทจากเชื้อไอโซเลทที่สามารถทำการคัดแยกได้

1.4.4 สามารถทำการสกัดสารทุติยภูมิของเชื้อแอกติโนมัยซีท เพื่อการทดสอบฤทธิ์การต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ระบบนิเวศน์ป่าชายเลน

ป่าชายเลน (Mangrove forest) มาจากภาษาโปรตุเกสว่า “mangue” ซึ่งหมายความว่า กลุ่มสังคมพืชที่ขึ้นอยู่ตามชายฝั่งทะเล และใช้กันแพร่หลายในแถบประเทศลาตินอเมริกา สำหรับประเทศไทยนิยมเรียกพื้นที่ลักษณะนี้ว่า “ป่าชายเลน” หรือ “ป่าโกงกาง” ป่าชายเลนเป็นป่าที่เกิดขึ้นบริเวณรอยต่อระหว่างพื้นดินกับพื้นน้ำทะเล ผสมผสานกันเป็นน้ำกร่อย หากบริเวณนั้นเป็นอ่าว คลื่นลมสงบตะกอนที่มากับแม่น้ำจะตกตะกอนลงสู่พื้น สะสมรวมตัวเป็นหาดเลนกว้างใหญ่ ซึ่งได้มีการให้ความหมายของป่าชายเลนในประเทศไทยไว้ว่าเป็นกลุ่มสังคมพืชซึ่งขึ้นอยู่ในเขตน้ำทะเลลงต่ำสุดและน้ำทะเลขึ้นสูงสุด พบได้ในบริเวณชายฝั่งทะเล และบริเวณปากแม่น้ำ ที่ได้รับอิทธิพลจากน้ำเค็มในทะเล และน้ำจืดจากแผ่นดิน รวมทั้งได้รับอิทธิพลจากน้ำขึ้นน้ำลงทำให้พืชที่ขึ้นในป่าชายเลนมีลักษณะทางสรีรวิทยาและการปรับตัวทางโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน เพื่อสามารถดำรงอยู่ภายใต้สภาพแวดล้อมเหล่านี้ได้ (สนิท, 2542)

สภาพแวดล้อมโดยทั่วไปของป่าชายเลนมีความแตกต่างจากป่าแบบอื่นๆ มาก โดยเฉพาะดินในป่าชายเลนมีความอุดมสมบูรณ์สูงจากธาตุอาหารที่มาจากกร่อนเขาะตามชายฝั่งและแหล่งน้ำลำธาร สารอินทรีย์จากซากพืชซากสัตว์ในบริเวณป่าชายเลนเอง ที่มาจากใบไม้แห้งที่ทับถมกันจำนวนมาก แพลงคัตอนพืชและสาหร่าย ซึ่งน้ำบริเวณนี้มีความเค็มค่อนข้างต่ำ ระดับความเค็มของน้ำจะเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาตามระดับน้ำที่ขึ้นลงและปริมาณน้ำจืดไหลมาจากแม่น้ำลำคลอง

เอกลักษณ์ของป่าชายเลนที่แตกต่างจากป่าบกอย่างชัดเจน คือ ลักษณะดินที่เป็นเลน มีความอุดมสมบูรณ์ของดินมากกว่าป่าบก สามารถวัดได้จากสิ่งมีชีวิตที่อาศัยภายในดิน และการแพร่กระจายของพันธุ์ไม้มีลักษณะแบ่งออกเป็นแนวเขต (Zonation) ค่อนข้างชัดเจน โดยขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพและเคมีของดิน ความเค็มของน้ำ การท่วมถึงของน้ำทะเล กระแสน้ำ การระบายน้ำและความเปียกชื้นของดิน (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน, 2554)

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีบทบาทสำคัญในการดำรงชีวิตของพืชและสัตว์ในป่าชายเลน (สนิท, 2541)

1. ลักษณะภูมิประเทศชายฝั่ง ป่าชายเลนโดยทั่วไปชอบขึ้นอยู่บริเวณชายฝั่งทะเลที่มีสภาพเป็นดินเลนและเป็นที่ราบกว้างมีน้ำทะเลท่วมถึงอย่างสม่ำเสมอ
2. ภูมิอากาศ ปัจจัยสภาวะแวดล้อมที่เกี่ยวกับภูมิอากาศที่สำคัญ ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ฝน และลม ป่าชายเลนส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่ในเขตร้อน เพราะมีสภาพภูมิอากาศเหมาะสม
3. น้ำขึ้น-น้ำลง เป็นปัจจัยที่สำคัญในการกำหนดการแบ่งเขตการขึ้นอยู่ของพันธุ์ไม้ หรือ สัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. คลื่นและกระแสน้ำ
5. ความเค็มของน้ำและดิน
6. ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ
7. ดินในป่าชายเลนเป็นดินที่เกิดจากการทับถมของตะกอนที่ไหลมากับน้ำจากแหล่งต่างๆ
8. ธาตุอาหารและสารอินทรีย์ที่จำเป็นในการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในป่าชายเลน

2.1.1 ลักษณะดินป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา



รูปที่ 2.1 สถานที่เก็บตัวอย่างดิน จากพิพิธภัณฑ์ฯ นิเวศป่าชายเลน บางปะกง

ดินป่าชายเลนในจังหวัดฉะเชิงเทรา มีหน้าตัดลึกประมาณ 50 เซนติเมตร ลักษณะดินที่พบเกือบทั้งหมดประมาณร้อยละ 99 เป็นดินเหนียว ความละเอียดของเนื้อดินส่วนมากเป็นดินที่มีเนื้อละเอียดมาก หรือมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคดินน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร ส่วนมากไม่มีกัลลิน แต่บางส่วนมีกัลลินของซากพืช ซากสัตว์ สีของดินส่วนมากหรือประมาณร้อยละ 40 ของพื้นที่หน้าตัดอยู่ในกลุ่มสีเทาอมเขียว (G1) พื้นที่อื่นมีสีอยู่ในกลุ่มสีน้ำตาล (7.5YR) น้ำตาลอมเหลืองมะกอก (2.5Y) น้ำตาลอมเหลือง (10YR) และน้ำตาลอมแดง (2.5YR) ตามลำดับ อุณหภูมิดินอยู่ในช่วง 26.0-32.0 (เฉลี่ย 28.3 องศาเซลเซียส) มีค่า pH อยู่ในช่วง 5.4-7.5 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มดินที่มีความเป็นกลางมากกว่าร้อยละ 88 ของหน้าตัดดิน พบรากไม้และจุดประ (Jarosite) สีน้ำตาลแดง ระหว่างร้อยละ 2-20 ไม่พบหินปะปนในชั้นหน้าตัดดินที่ความลึกของชั้นดิน 5-40 เซนติเมตรอุณหภูมิอยู่ในช่วงระหว่าง 23-29 องศาเซลเซียส (เฉลี่ย 25.9 องศาเซลเซียส) มีค่า pH อยู่ในช่วง 5.4-7.1 ประมาณร้อยละ 85 ของพื้นที่หน้าตัด พบรากไม้และจุดประ (Jarosite) บนชั้นหน้าตัดดินระหว่างร้อยละ 2-20 แต่ไม่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หินปะปนในชั้นหน้าตัดดิน ปริมาณคาร์บอนรวมอยู่ในช่วง 1.33-7.88 กรัม C/ดินแห้ง 100 กรัมเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 3.78 มีปริมาณไนโตรเจนรวมอยู่ในช่วง 0.19-0.54 ค่าเฉลี่ยร้อยละ 0.32 ค่า C:N ratio ของดินมีค่าระหว่าง 7:1-15:1 ซึ่งบ่งบอกว่าดินบริเวณนี้มีอินทรีย์วัตถุที่เป็นแหล่งของคาร์บอนในดินค่อนข้างน้อย ปริมาณฟอสฟอรัสรวมที่พบอยู่ในช่วงร้อยละ 0.070-0.165 เฉลี่ยประมาณร้อยละ 0.11 (บุญชอบ, 2555)

2.2 นิเวศน์วิทยาของแอกติโนมัยซีท

แอกติโนมัยซีทสามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป เช่น ดิน แหล่งน้ำจืด มหาสมุทร ขั้วโลก ทะเลทราย อากาศ เนื้อเยื่อพืช สัตว์ คน สิ่งปลูกสร้างหรือของเสียต่างๆ โดยเฉพาะดิน จัดเป็นแหล่งที่อยู่ของแอกติโนมัยซีทมากที่สุด แต่โดยปกติมักจะเจริญอยู่ผิวดินหรือในดินที่ไม่ลึกไปกว่า 4 เซนติเมตร ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ 1 กรัม สามารถพบแอกติโนมัยซีทได้มากถึง 1 ล้านเซลล์ เชื้อเหล่านี้สามารถมีชีวิตอยู่ได้โดยการย่อยสลายและดูดซึมสารอินทรีย์ที่มีอยู่เพียงเล็กน้อยในดินเป็นแหล่งอาหาร (Miyadoh, 1997) แอกติโนมัยซีทเจริญได้ดีในดินเปียกหรือดินตะกอนใต้น้ำ เนื่องจากเป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ เซลล์ไม่ทนต่อความแห้งแล้ง แต่สปอร์ทนต่อความแห้งแล้งได้ดี แอกติโนมัยซีทสามารถทนความเป็นด่างได้ดี ดังนั้นจึงสามารถพบแอกติโนมัยซีทได้ในดินที่มีสภาพเป็นกลางถึงด่าง ในทางตรงกันข้ามแอกติโนมัยซีททนต่อสภาพดินที่เป็นกรดได้ไม่ดีนัก พบว่าถ้าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดินต่ำกว่า 5 ประชากรของแอกติโนมัยซีทอาจลดลงเหลือเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ (%) เท่านั้น (Coyne, 1999)

การทนความร้อน โดยทั่วไปสปอร์ของแอกติโนมัยซีททนความร้อนได้สูงกว่าเซลล์ปกติเพียงเล็กน้อยเท่านั้น พบว่าสปอร์ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 39 °C

การทนความแห้งแล้ง เนื่องจากความสามารถในการทนความแห้งแล้งได้ดี จึงพบแอกติโนมัยซีทในดินเขตร้อนมากกว่าเขตอบอุ่น โดยสภาพดินแห้งจะมีจำนวนมาก

ความสามารถในการแข่งขัน จากลักษณะการเจริญที่ช้ากว่าแบคทีเรียและเชื้อรา ทำให้ไม่สามารถที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นได้ในสภาพธรรมชาติ แต่แอกติโนมัยซีทมีความสามารถพิเศษในการย่อยสลายสารประกอบที่แบคทีเรียและเชื้อราไม่สามารถย่อยสลายได้ จึงพบแอกติโนมัยซีทมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นหลังจากที่จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มีจำนวนลดลงแล้ว สภาพที่เหมาะสมกับแอกติโนมัยซีทคือสภาพที่ไม่มีจุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญได้ เช่น ดินที่ค่อนข้างเป็นด่าง แห้งแล้ง และอุณหภูมิสูง เป็นต้น (งามนิจ, 2537)

การกระจายตัวของแอกติโนมัยซีทหายาก (Rare actinomycetes) นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของดิน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ลักษณะของกรดฮิวมิก (Humic acid) และปริมาณฮิวมัส (Humus) ที่พบในดิน โดยดินที่ใช้เพาะปลูกนั้นจะพบปริมาณฮิวมัสสูง ส่วนดินที่มีปริมาณฮิวมัสสูงแต่สภาพเป็นกรด (ค่า pH 5-6.5) จะพบเชื้อแอกติโนมัยซีทหายากสกุล *Microbispora* และ *Streptosporangium* มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนดินที่เป็นต่างและมีปริมาณฮิวมัสต่ำจะพบเชื้อในสกุล *Saccharomonospora* (Hayakawa *et al.*, 1998)

ดินป่าชายเลนมีความอุดมสมบูรณ์สูงและมีความหลากหลายทางชีวภาพทั้งชนิดของสัตว์และจุลินทรีย์เป็นอย่างมากเนื่องจากผลผลิตซากพืชทับถมเป็นจำนวนมาก อีกทั้งยังเป็นระบบนิเวศที่เชื่อมต่อกับระบบนิเวศทางบกและทางทะเลซึ่งมีประโยชน์อย่างมากในการดำรงชีวิตมนุษย์ (ทนายท และคณะ, 2558) โดยสิ่งแวดล้อมของป่าชายเลนมีความแตกต่างจากสิ่งแวดล้อมอื่นๆ อย่างมาก ลักษณะการกระจายตัวและลักษณะทางชีวภาพของแอคติโนมัยซีทจากป่าชายเลนคาดว่าจะมีความแตกต่างจากแอคติโนมัยซีทที่ได้จากดินทั่วไป (Thawai *et al.*, 2008) นอกจากนี้ ดินในป่าชายเลนยังมีความหลากหลายของเชื้อแอคติโนมัยซีทมากกว่าดินที่ใช้ในการทำเกษตร ซึ่งเมื่อความอุดมสมบูรณ์ลดลงปริมาณของเชื้อแอคติโนมัยซีทก็จะมีปริมาณลดลงไปด้วย (ลักขมี, 2556)

แอคติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียที่รู้จักในด้านการสามารถผลิตสารปฏิชีวนะ มีหลายงานวิจัยที่พยายามคัดแยกแอคติโนมัยซีทเพื่อค้นหาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ และตั้งแต่ในช่วงปี ค.ศ. 1988-2008 ที่ผ่านมา พบว่า นักวิจัยได้ให้ความสนใจในการคัดแยกและศึกษาแอคติโนมัยซีทจากดินป่าชายเลนและในทะเลมากขึ้น เนื่องจากมีการค้นพบว่าแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากป่าชายเลนและในทะเลเป็นแหล่งของสารปฏิชีวนะที่สำคัญ โดยมีการค้นพบสารปฏิชีวนะจากทะเลมากกว่า 659 ชนิด ในจำนวนนี้ได้จากแอคติโนมัยซีทถึง 256 ชนิด (Williams, 2009) และในปัจจุบันก็ยังคงมีความพยายามในการค้นหาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ ที่ผลิตได้จากแอคติโนมัยซีท โดยเฉพาะสารปฏิชีวนะในกลุ่มที่สามารถต้านโรคมะเร็งได้ (Molinski *et al.*, 2009)

2.3 ลักษณะทั่วไปของแอคติโนมัยซีท

แอคติโนมัยซีท (Actinomycetes) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่พบได้ทั่วไปในดิน สามารถสร้างสปอร์ และใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต จัดอยู่ใน Order Actinomycetales โดยมีลักษณะการสร้างเส้นใยแบบ substrate mycelium (สร้างเส้นใยใต้ผิวอาหาร) และ aerial mycelium (สร้างเส้นใยบนผิวอาหาร) ซึ่งแอคติโนมัยซีทมีปริมาณ Guanine และ Cytosine (G+C) ของ DNA มากกว่า 55% (Chaudhary *et al.*, 2013) ส่วนใหญ่เชื้อแอคติโนมัยซีทมีรูปร่างลักษณะภายนอกเป็นเส้นใยคล้ายกับเชื้อรา สร้างสปอร์บนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศ โดยผนังเซลล์ของแอคติโนมัยซีทประกอบด้วย peptidoglycan มีลักษณะโคโลนีที่ทึบแสง มีผิวเรียบคล้ายหนังสัตว์หรือเป็นรอยย่น สามารถสร้างรงควัตถุต่างๆ เช่น สีขาว เทา เขียว ส้ม แดง ชมพู น้ำตาล ม่วง ดำ เป็นต้น ซึ่งโคโลนีลักษณะด้านขนาด และสีของโคโลนีสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามอาหารที่ใช้และสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น (วสุ, 2553) โดยลักษณะที่เจริญบนอาหารจะมีลักษณะที่แตกต่างกัน โดยในอาหารแข็ง (Surface culture) เชื้อจะเจริญแบบสร้างเส้นใย (Filamentous form) ยึดติดแน่นกับผิวหน้าอาหารร่วน และเมื่อเวลาผ่านไปเส้นใยจะมีการแตกหัก (Fragmentation) ส่วนการเจริญในอาหารเหลว (Submerge culture) เซลล์จะจับกันเป็นกลุ่มเส้นใยที่เรียกว่า pellets (ธีรศักดิ์, 2543) การค้า

เอกลีวนเป็นเอกลักษณ์ของประเทศไทยซึ่งมีคุณค่าทางเศรษฐกิจและสังคมสูงมาก การค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 แอคติโนมัยซีทจีนัส *Streptomyces* (สุนัดดา, 2016)

Streptomyces เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive) สร้างเส้นใย (Mycelium) ที่แตกแขนงได้ ทำให้มีลักษณะคล้ายเชื้อรา เมื่อนำ *Streptomyces* มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โคลนินี (Colony) ของ *Streptomyces* มีเส้นใยที่เจริญลงไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อเรียกว่า substrate mycelium vegetative mycelium จากนั้นเส้นใยบางส่วนจะเจริญบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อและชูเส้นใยขึ้นไปในอากาศ เรียกว่า aerial mycelium ในระยะแรกโคลนินีจะมีลักษณะเรียบ แต่เมื่อเส้นใยของ *Streptomyces* มีอายุมากขึ้นจะสร้างสปอร์โดยที่ aerial mycelium จะมีนิวเคลียสหลายนิวเคลียสและสร้างผนังกันภายในเส้นใยทำให้ได้เซลล์หลายเซลล์ แต่ละเซลล์จะพัฒนาไปเป็นสปอร์และต่อกันเป็นสายทำให้ด้านบนโคลนินีมีลักษณะคล้ายแป้ง (Powdery) หรือกำมะหยี่ (Velvet) สปอร์มีหลายสีขึ้นกับสายพันธุ์ของ *Streptomyces* เช่น ขาว เขียว แดง เหลือง และม่วง *Streptomyces* พบมากในดิน เมื่ออยู่ในภาวะแห้งแล้งจะสร้างสปอร์ที่ทนต่อความร้อนและความแห้งแล้ง เมื่อฝนตก สปอร์ที่อยู่ในดินจะฟุ้งกระจายไปในอากาศทำให้หลังฝนตกจะมีกลิ่นที่มีลักษณะเฉพาะเกิดขึ้นคล้ายกับกลิ่นดิน (Earthy odor) ซึ่งกลิ่นนี้มาจากสารจีโอสมิน (Geosmin) ที่สร้างจากสปอร์

2.4 การจัดจำแนกแอคติโนมัยซีท (ยูวดี, 2546)

โดยทั่วไปข้อมูลพื้นฐานในการจำแนกแอคติโนมัยซีทที่เรีย คือ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของสายใยอากาศ สายใยอาหาร (Conidia) และอับสปอร์นอกจากนี้ลักษณะทางเคมีของเซลล์ คือ dibasic amino acid ในผนังเซลล์และการวิเคราะห์น้ำตาลภายในเซลล์ จัดจำแนกแอคติโนมัยซีทที่เรียได้อีก นอกจากนี้องค์ประกอบอื่นที่มีความสำคัญในการจัดจำแนกแอคติโนมัยซีทที่เรีย คือ ลักษณะรูปร่าง สีของสายใยสปอร์ การสร้างรงควัตถุที่แพร่สู่อาหาร (Diffusile pigment) การสร้างรงควัตถุเมลานิน และการวิเคราะห์ลำดับเบสที่ประมวลรหัสของ 16 rRNA ซึ่งจะสามารถใช้ในการจำแนกแอคติโนมัยซีทที่เรียออกได้เป็น 8 กลุ่มใหญ่ ดังนี้

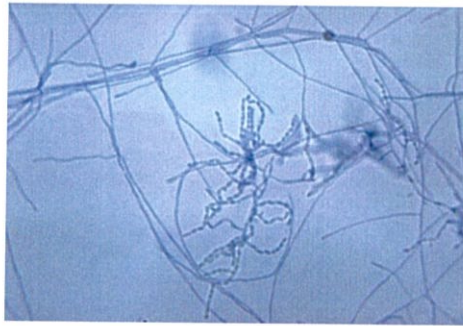
2.4.1 Nocardioform Actinomycetes กลุ่มนี้มีลักษณะแตกต่างกันส่วนมากมีการแตกหักของเส้นใยบางกลุ่มมีการสร้างสายใยอากาศอาจมี หรือไม่มี Mycolic acid สามารถแบ่ง กลุ่มย่อยได้ดังนี้

2.4.1.1 แอคติโนมัยซีทที่เรียที่พบ Mycolic acid

2.4.1.2 Pseudonocardia และสกุลใกล้เคียง

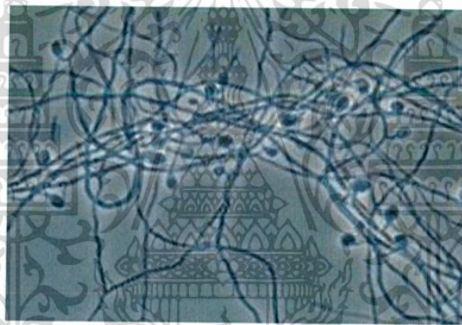
2.4.1.3 Nocardiosis และ Terrabacter

2.4.1.4 Promicronospora และสกุลใกล้เคียง



รูปที่ 2.2 *Nocardia asteroides* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ High-power microscopic
ที่มา : Kurdgelashvili (2016)

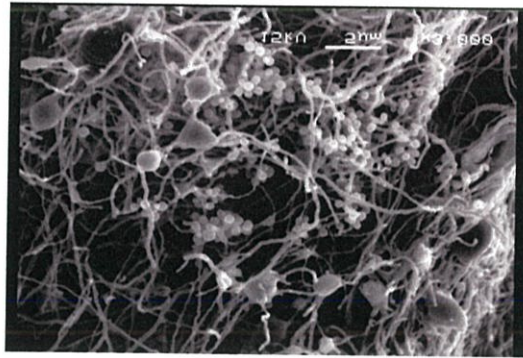
2.4.2 Actinomycetes กับ *Multilocular sporangina* กลุ่มนี้เส้นใยมีการสร้างผนังกัน
แบ่งตามยาวและตามขวางมีการสร้างสปอร์ขนาดใหญ่สปอร์อาจ เคลื่อนที่ได้ เช่นสกุล
Dermatophilus และ *Geodermatophilus* เป็นต้น หรือเคลื่อนที่ไม่ได้เช่น สกุล *Frankia*



รูปที่ 2.3 *Frankia* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Phase contrast
ที่มา : Benson (1993)

2.4.3 Actinoplanetes มีการสร้างเส้นใยที่แข็งแรงไม่พบการสร้างสายใยอากาศหรือมีการ
สร้างน้อย สปอร์เคลื่อนที่ได้เกิดในอับสปอร์ (*Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Dactylosporngium*
และ *Pilimelia*) หรือสปอร์สร้างเดี่ยวที่ไม่ เคลื่อนที่ได้แก่ *Micromonospora* หรือสปอร์ต่อกันเป็น
สาย ได้แก่ *Catellatospora* ผนังเซลล์ประกอบด้วย meso-DAP และไกลซีน ในเซลล์ที่ถูกย่อย
พบอะราบีโนส และ ไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 *Micromonospora* sp. ภายใต้อุปกรณ์ Scanning Electron Microscope
ที่มา : Ramírez and Calzadiaz (2016)

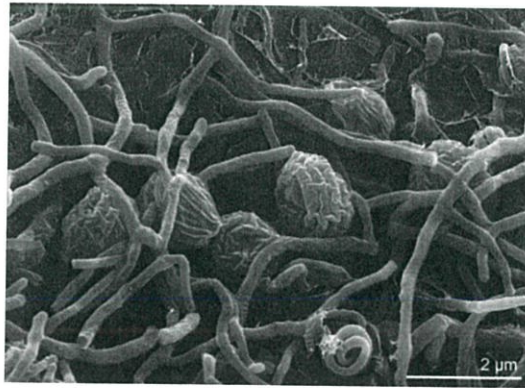
2.4.4 Streptomycetes และสกุลที่ใกล้เคียง ผนังเซลล์ประกอบด้วย L-DAP และไกลซีน มีการสร้างสายใยสปอร์ สปอร์ต่อกันเป็นสายยาว ได้แก่ *Streptomyces* และ *Streptoverticillium* ในสกุลอื่นคือ *Kineosporia* และ *Sporichthya* มีการสร้างสายใยอากาศน้อยหรือไม่สร้างและมีการสร้างสปอร์ในลักษณะที่แตกต่างกันไป



รูปที่ 2.5 *Streptomyces* sp. ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์แบบใช้แสง
ที่มา : Kumar (2011)

2.4.5 Maduromycetes สร้างสปอร์สายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ มีการสร้างสปอร์ 2 สปอร์พบในสกุล *Microbispora* การสร้างสปอร์สี่สปอร์ พบในสกุล *Microtetraspora* และใน *Actinomadura* มีการสร้างสปอร์ที่หลากหลาย ในบางสกุลมีการสร้างสปอร์ในอับสปอร์และสปอร์เคลื่อนที่ได้ ได้แก่ *Planbispora*, *Planomospira* และ *Spirillora* หรือ สปอร์เคลื่อนที่ไม่ได้ ได้แก่ *Streptosporangium* ผนังเซลล์ประกอบด้วย meso-DAP ในเซลล์ที่ถูกล้อม พบ Madurose

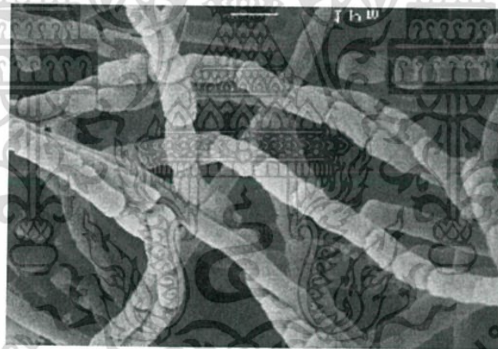
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 *Streptosporangium roseum* ภายใต้กล้อง Scanning Electron Microscope

ที่มา : Nolan *et al.* (2010)

2.4.6 *Thermomonospora* และสกุลใกล้เคียง สร้างสปอร์บนสายใยอากาศอาจเป็นสปอร์เดี่ยว ได้แก่ *Thermomonospora* สปอร์ต่อกันเป็นสายพบใน *Atinosynnema* และ *Nocardiopsis* หรือสร้างสปอร์ในโครงสร้างที่คล้ายกับอับสปอร์คือ *Streptoalloteichus* ผนังเซลล์ประกอบด้วย meso-DAP

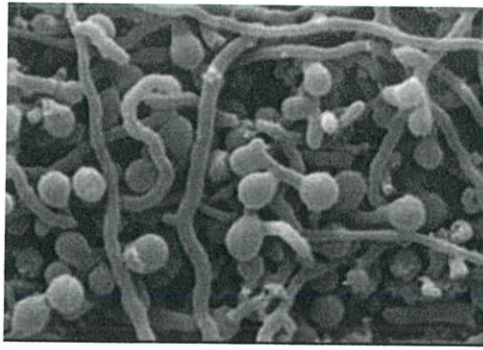


รูปที่ 2.7 *Nocardiopsis lucentensis* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Scanning Electron Microscope

ที่มา : Yassin *et al.* (1993)

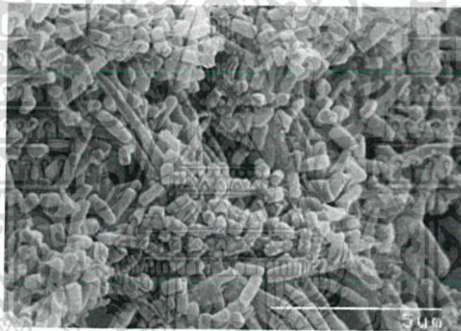
2.4.7 *Thermoactinomyces* ประกอบด้วยสกุล *Thermoactinomyces* เพียงสกุลเดียว สร้างสปอร์เดี่ยวซึ่งเป็น Endospore มีการสร้างทั้งสายใยอากาศและสายใยอาหาร ทุกสปีชีส์เจริญได้ที่อุณหภูมิสูง (Thermophilic) ผนังเซลล์ประกอบด้วย meso-DAP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



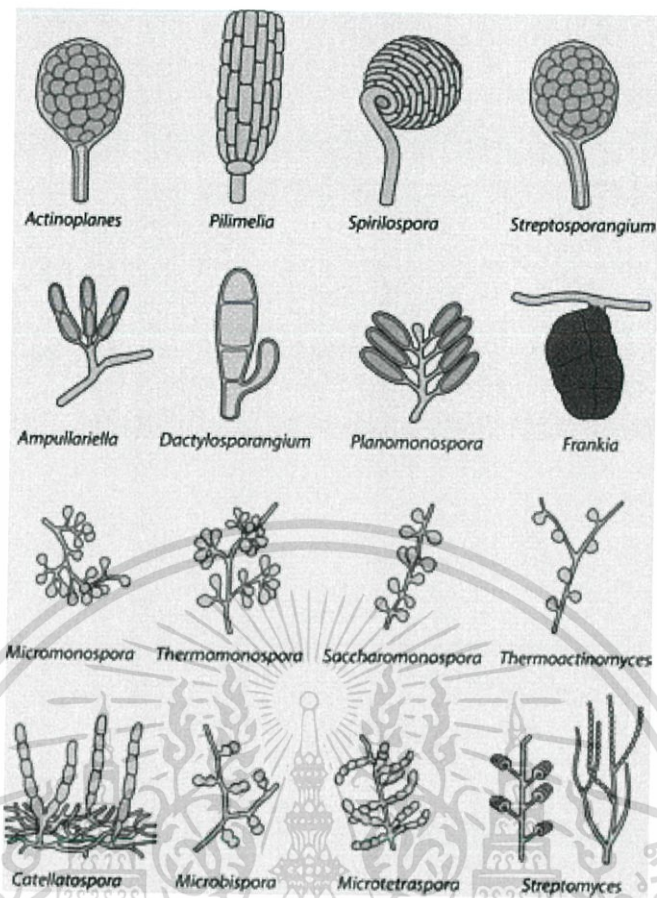
รูปที่ 2.8 *Thermoactinomyces* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Scanning Electron Microscope
ที่มา : Su *et al.* (2014)

2.4.8 สกุลอื่นๆ เป็นกลุ่มที่ไม่สามารถจัดเข้าในกลุ่มอื่นได้ ประกอบด้วยสกุก *Kitasatoporia*, *Glycomyces*, *Kibdelosporangium* และ *Sacchaothrix* ทุกสกุกมีการสร้างสายสปอร์บนสายใยอากาศ (ยวดี, 2546)



รูปที่ 2.9 *Glycomyces rutgersensis* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Scanning Electron Microscope
ที่มา : Labeda *et al.* (1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 ภาพรวมลักษณะของเส้นสายสปอร์จากแอคติโนมัยซีท
ที่มา : Essaid (2016)

2.5 ลักษณะพื้นฐานวิทยาของแอคติโนมัยซีท

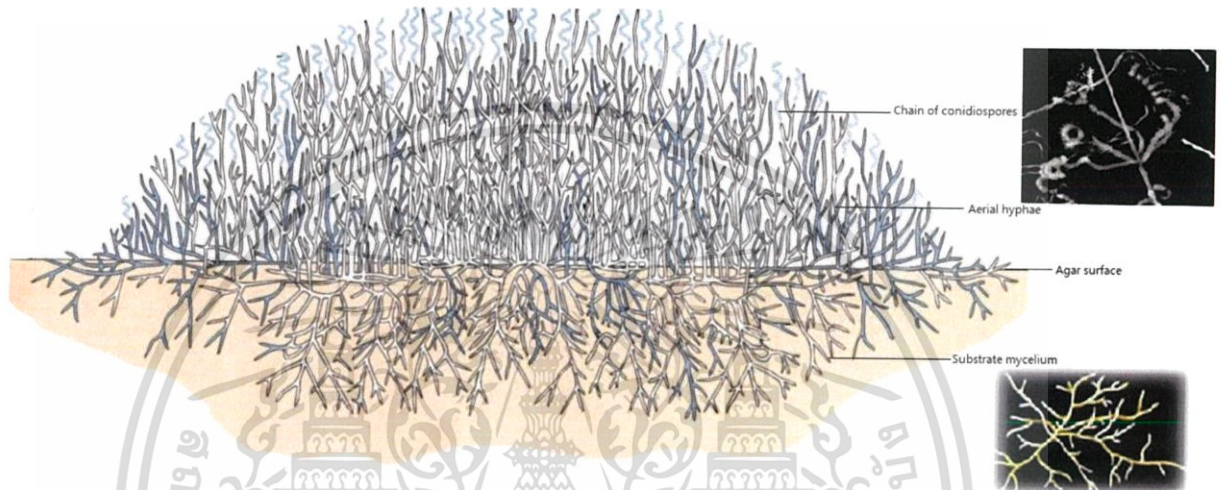
แอคติโนมัยซีท (Actinomycetes) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างหลายแบบ เช่น กลม ท่อน หรือเป็นเส้นสาย มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายเชื้อรา คือมี mycelium แตกกิ่งก้าน และสามารถสร้างสปอร์ไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า conidiospore หรือ conidia และ sporangiospore อยู่ใน sporangium ลักษณะที่แตกต่างจากราที่สำคัญของแอคติโนมัยซีทคือ ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส ซึ่งจัดเป็นเซลล์โปรคาริโอต และขนาดของเส้นใยมีขนาดเล็กกว่ารา ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.0 ไมโครเมตร ลักษณะของโคโลนีที่พบบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะต่างจากแบคทีเรียแกรมบวกชนิดอื่นตรงที่พบว่าโคโลนีเกาะแน่น และมีลักษณะจมอยู่ในอาหาร โคโลนีคล้ายผงหรือฝุ่นแป้ง หยาบ ขรุขระคล้ายหนังสัตว์ หรือเป็นผงคล้ายกัมมะหยี่ และไม่มีลักษณะมันวาว บางชนิดอาจมี การสร้างรงควัตถุสีต่างๆ เช่น สีส้ม สีครีม สีเทา เป็นต้น นอกจากนั้นค่า G+C content จะมีค่ามากกว่าแบคทีเรียแกรมบวกชนิดอื่น (รัตนารณ, 2548) ส่วนการเจริญของเส้นใยสามารถเจริญไปเป็นเส้นใยใต้ผิวอาหาร (Substrate mycelium) และเส้นใยเหนือผิวอาหาร (Aerial mycelium) ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญหรือช่วงอายุจะยาวนานกว่าแบคทีเรียมาก แอคติโนแบคทีเรียจึงเจริญได้อย่างช้าๆ อันเป็นลักษณะสำคัญประการหนึ่งของแอคติโน (Martin, 1961)

2.5.1 การสร้างโคโลนีของแอคติโนมัยซีท (กิงจันท์, 2555)

การสร้างโคโลนี โคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียเกิดจากการรวมกันของเส้นใยเป็นกลุ่มเส้นใยที่หนาแน่น การสร้างโคโลนีบนอาหารแข็ง โดยเริ่มจากการลงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งอาจเป็นสปอร์เดี่ยว อับสปอร์ ส่วนของเส้นใยที่หัก หรือจากบางส่วนของโคโลนีเดิม



รูปที่ 2.11 การสร้างโคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียบนอาหารแข็ง

ที่มา : Qinyuan (2016)

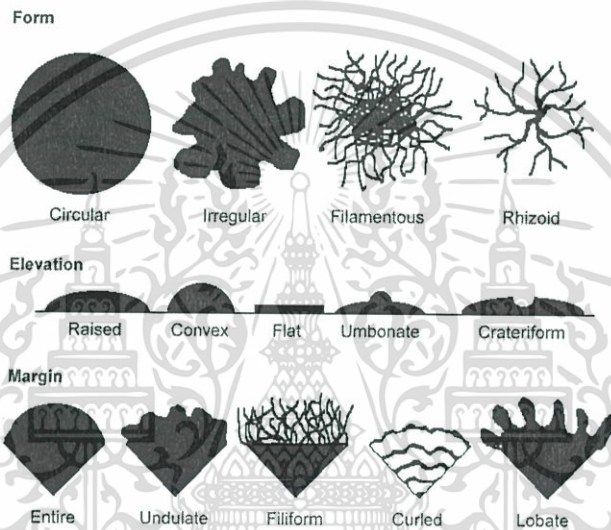
2.5.1.1 ลักษณะของโคโลนี

ลักษณะของโคโลนีมีความแตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ เช่นใน *Streptomyces* มีทั้งเส้นใยแบบ aerial mycelium และ substrate mycelium ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของโคโลนีใน *Micromonospora* และ *Actinoplanes* ไม่มีเส้นใยแบบ aerial mycelium ส่วน *Sporichthya* การสร้างเส้นใยถูกจำกัดทำให้มี aerial mycelium ทำให้โคโลนีของแอคติโนแบคทีเรียฟูหรือเรียบแบนบางครั้งลักษณะคล้ายหนังสัตว์ มีความหลากหลายตั้งแต่เนียน เหนียว จนถึงแข็ง ผิวหน้าโคโลนีอาจเรียบ นูน ขรุขระ หรือเป็นเกล็ด ขนาดโคโลนีขึ้นกับสปีชีส์อายุ และสภาวะการเจริญเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี มีความแตกต่างตั้งแต่หน่วยมิลลิเมตรจนถึงเซนติเมตร (ยิวดี, 2546)

ลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยซีทเป็นแบบ complex colony เนื่องจากการสร้าง arthrospores โดยแอคติโนมัยซีทพวกที่สามารถสร้างสปอร์ได้จะถูกจัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* และสกุล *Trasporangium*, *Kineosporia*, *Sporichthya* และ *Streptoverticillium* การรวมตัวของเส้นใยที่แอคติโนมัยซีทสร้างขึ้นทำให้เกิดเป็นโคโลนี การเกิดโคโลนีใหม่อาจเกิดจากเพียงแค่ 1 สปอร์หรือ 1 ท่อนของเส้นใยก็สามารถเจริญเป็นโคโลนีใหม่ได้ (รัตนภรณ์, 2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ลักษณะของโคโลนี (Configuration) รูปร่างของโคโลนีบนจานอาหารอาจมีรูปร่างกลม (Round) รูปร่างไม่แน่นอนและเจริญลามไปบนจานอาหาร (Irregular and spreading) หรือเจริญเป็นเส้นคล้ายรากไม้ (Rhizoid) เป็นต้น
2. ขนาด (Size) โคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์มีขนาดตั้งแต่เล็กเท่าปลายเข็มจนถึงเส้นผ่านศูนย์กลางความยาวมิลลิเมตร
3. การยกตัวของโคโลนี (Elevation) จานพื้นอาหารโคโลนีที่เจริญบนอาหารอาจแบนราบหรือนูน จึงทำให้โคโลนีที่ยกตัวมีหลายแบบ
4. ขอบของโคโลนีจุลินทรีย์ (Margin) มีตั้งแต่ขอบเรียบหรือไม่เรียบ (ยิวดี, 2546)



รูปที่ 2.12 แสดงลักษณะต่างๆของโคโลนีแบคทีเรีย
ที่มา : Holt *et al.* (1994)

2.5.2 โครงสร้างภายในเส้นใยของแอกติโนมัยซีท

เส้นใยมีความหนาประมาณ 0.4-1.2 ไมโครเมตร เส้นใยเป็นแบบมีผนังกันและเจริญออกทางด้านปลายสามารถแตกแขนงได้โครงสร้างหลักในเส้นใยที่แสดงว่าเป็นโปรคาริโอต คือ ไนไซโตพลาสซึม ประกอบไปด้วย สายดีเอ็นเอ ไรโบโซม และสารต่างๆ ที่รวมอยู่ด้วยกัน เช่น Polyphosphate, Lipid หรือ Polysaccharides เยื่อหุ้มเซลล์ติดกับไซโตพลาสซึมอาจเกิดมีไซโซมซึ่งมักต่อกับโครงสร้างของผนังเซลล์ (กิงจันท์, 2555)

2.5.3 การสร้างสปอร์ (Spore formation, Sporulation) (สุวรรณพินิจ, 2550)

เอนโดสปอร์ (Endospore) เป็นโครงสร้างที่ทำให้แบคทีเรียมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ เอนโดสปอร์เกิดขึ้นภายในเซลล์ และสร้างได้เพียง 1 สปอร์ต่อ 1 เซลล์เท่านั้น ดังนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างสปอร์จึงไม่ใช่เพื่อการสืบพันธุ์ เอนโดสปอร์สามารถทนแห้งแล้ง ทนสารเคมีฆ่าเชื้อ สีย้อม รังสี และทนความร้อนได้ ซึ่งส่วนใหญ่ทนได้ 80 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 10 นาที

โครงสร้างของเอนโดสปอร์ ประกอบด้วย

1. ชั้นในสุด เป็นชั้น spore body หรือแกน (Core) หรือสปอร์ไซโทพลาสซึม (Spore cytoplasm) เป็นชั้นที่มีไซโทพลาสซึมรวมทั้งโครโมโซม ไรโบโซม และเอนไซม์ต่างๆล้อมรอบด้วยเยื่อเมมเบรน

2. ผนังสปอร์ (Spore wall) เป็นส่วนที่จะเจริญไปเป็นผนังเซลล์ใหม่ของแบคทีเรีย

3. สปอร์คอร์เทกซ์ (Spore cortex) มีปริมาตรมากที่สุด หนาที่สุด และทนความร้อนที่สุด เนื่องจากประกอบด้วยเกลือแคลเซียมของกรดไดพิกอลินิก (Dipicolinic acid) ชั้นนี้สามารถถูกย่อยด้วยไลโซไซม์ได้

การย้อมสีพิเศษจะเห็นชั้นคอร์เทกซ์ ประกอบด้วยชั้นบางๆที่พันอยู่

4. สปอร์โคท (Spore coat) เป็นชั้นที่ทนทานมาก มีความหนาและความเหนียว อาจมีชั้นเดียวหรือหลายชั้น แต่เห็นชัดเจน 2 ชั้น คือ ชั้นในบางกว่าอยู่ล้อมรอบคอร์เทกซ์กับชั้นนอกหนาแน่นที่สุด ชั้นนี้จะป้องกันการถูกย่อยด้วยไลติกเอนไซม์ เพราะประกอบด้วยสารคล้ายเคราตินและมีซิสทีนมากด้วยจึงเกิดพันธะไดซัลไฟด์เชื่อมระหว่างพอลิเปปไทด์ ทำให้สปอร์ทนการซึมผ่านของสารได้

5. เอกโซสปอเรียม (Exosporium) เป็นชั้นบางๆ อยู่กันหลวมๆ ประกอบด้วยลิโปโปรตีนเป็นส่วนใหญ่ ชั้นนี้ไม่ยอมให้สารต่างๆ ผ่านเข้าออก และเป็นชั้นนอกสุด

ซิสต์ (Cyst) เป็นโครงสร้างที่มีผนังหนา ทนความแห้งแล้งได้คล้ายเอนโดสปอร์ แต่โครงสร้างและองค์ประกอบเคมีที่ต่างกัน ผนังของซิสต์มี 2 ชั้นคือ ชั้นในหรืออินทีน (Intine) และชั้นนอกหรือเอกซ์ซึน (Exine)

เอกโซสปอร์ (Exospore) เป็นสปอร์ที่เกิดภายนอกเซลล์ปกติ โดยเกิดการแตกหน่อที่ปลายข้างหนึ่งของเซลล์ ทนความร้อนและความแห้งแล้งได้เหมือนเอนโดสปอร์ แต่ไม่มีกรดไดพิกอลินิก

โคนิดิโอสปอร์ (Conidiospore) และสปอร์แรงกีโอสปอร์ (Sporangiospore)

แบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยซีท สร้างเส้นใยที่แตกกิ่งก้าน และสร้างสปอร์เดี่ยวหรือเป็นเส้นสายที่ปลายเส้นใย สปอร์ที่เกิดที่ปลายอาจเป็นสปอร์แรงกีโอสปอร์ เกิดในสปอร์แรงเกียม (Sporangium) หรือเกิดเป็นสายเรียกโคนิดี (Conidia) หรือโคนิดิโอสปอร์ สปอร์นี้ไม่ทนความร้อนเหมือนเอนโดสปอร์ ไม่มีชั้นคอร์เทกซ์ ไม่มีกรดไดพิกอลินิก ไม่สะท้อนแสง แต่ทนความแห้งแล้งได้

เมื่อจะเริ่มสร้างสปอร์ จะมีการสร้างผนังกันเซลล์เล็กๆ ปลายเซลล์ ส่วนของไซโทพลาสซึม และ DNA จะแยกจากส่วนที่เหลือส่วนของเซลล์ที่เหลือที่มีขนาดใหญ่กว่าจะล้อมส่วนเล็กกว่ากลายเป็น fore spore และจะมีการสร้างส่วนประกอบของสปอร์ ได้แก่ ชั้นคอร์เทกซ์ ซึ่งจะถูกสร้างชั้นระหว่างเยื่อหุ้มสปอร์ชั้นในและชั้นนอก และสร้างสปอร์โคทเกิดอยู่รอบนอก และเกิดเอกโซสปอเรียมห้อมล้อมสปอร์โคทอีกทีหนึ่ง หลังจากสร้างเอนโดสปอร์เรียบร้อยแล้ว เซลล์เดิมจะสลายไป สปอร์ที่เหลือจะกลายเป็นเอกโซสปอร์หรือสปอร์อิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างสปอร์เป็นกลไกเพื่อการอยู่รอดที่ขึ้นกับพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมทางสรีรวิทยาที่เหมาะสม สิ่งแวดล้อมมีทั้งภายนอกและภายในที่จำเป็นในการสร้างสปอร์ สภาพทางกายภาพ ได้แก่

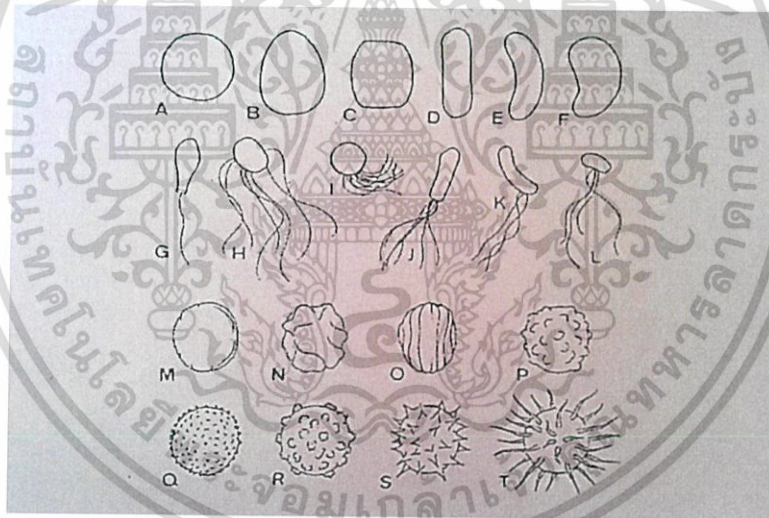
1. ช่วงอุณหภูมิที่พอเหมาะกับการเจริญของเซลล์ปกติ
2. ช่วงของ pH ใกล้เคียงกับ pH ที่เหมาะสมของการเจริญของเซลล์ปกติ
3. ออกซิเจนเพิ่มขึ้น (ในกรณีที่ใช้ออกซิเจน)

2.5.4 ชนิดสปอร์ของแอกติโนมายซีท

สปอร์ของแอกติโนมายซีทแบ่งเป็น 2 ชนิดตามความสามารถในการเคลื่อนที่ คือ

2.5.4.1 สปอร์ชนิดที่เคลื่อนที่ได้ (Planospore หรือ Zoospore) จะอาศัยแฟลกเจลลาแบบ monotrichous polytrichous และ peritrichous ในการเคลื่อนที่ในน้ำ หรือของเหลว เช่น สปอร์ของ Actinosynnema Actinoplanes และ Ampullariella เป็นต้น

2.5.4.2 สปอร์ชนิดที่เคลื่อนที่ไม่ได้ (Aplanospore หรือ Conidia) ซึ่งลักษณะผิวนอกของสปอร์จะมีหลายลักษณะ เช่น มีผิวเรียบ มีผิวขรุขระ มีปุ่มปม มีลักษณะคล้ายกำมะหยี่ มีลักษณะคล้ายทรงกระบอก



รูปที่ 2.13 ลักษณะสัณฐานวิทยาของสปอร์

รูปร่างทั่วไป A : globose, B : doloform, C : rod-shaped, E : allantoid, F : reniform

ชนิดของแฟลกเจลลา G : monopolar monotrichous, H : peritrichous, I : polytrichous,

J : monopolar polytrichous (lophotrichous), K : subpolar polytrichous, L : lateral polytrichous

ลักษณะพื้นผิว M : smooth, N : irregular rugose, O : parallel rugose, P : warty,

Q : tuberculate, R : verrucose, S : spiny, T : hairy

ที่มา : วิวัฒน์ และเอกภพ (2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

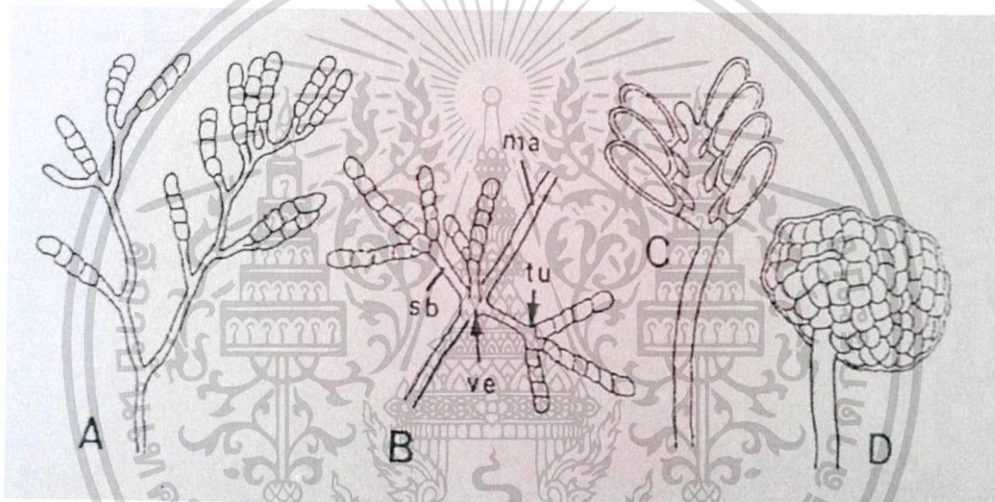
2.5.5 ลักษณะการสร้างสปอร์ของแอกติโนมัยซีท

ลักษณะการสร้างสปอร์ของแอกติโนมัยซีท สามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

2.5.5.1 เอนโดจีนัส ฟอรัมเช้น (Endogenous formation) เป็นสปอร์ที่มีคุณสมบัติทนความร้อนได้ดี อยู่ภายในไซโตพลาสซึมของเส้นใยเดิม (Parent hyphae) พบในพวกเทอร์โมฟิลิกแอกติโนมัยซีท (Thermophilic actinomycetes) เช่น *Thermoactinomyces* และ *Actinobifida*

2.5.5.2 เอกโซจีนัส ฟอรัมเช้น (Exogenous formation) แอกติโนมัยซีทส่วนใหญ่สร้างสปอร์แบบเอกโซจีนัสโดยเฉพาะ *Streptomyces* spp.

เนื่องจากเชื้อแอกติโนมัยซีท มีการสร้างสปอร์เพื่อใช้ในการสืบพันธุ์และลักษณะของสปอร์ที่สร้างขึ้นก็มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงใช้ลักษณะรูปร่าง การเจริญของสปอร์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งในการจัดจำแนกเชื้อแอกติโนมัยซีท



รูปที่ 2.14 ลักษณะของก้านชูสปอร์ (Sporophore) และถุงหุ้มสปอร์ (Sporangiophores)

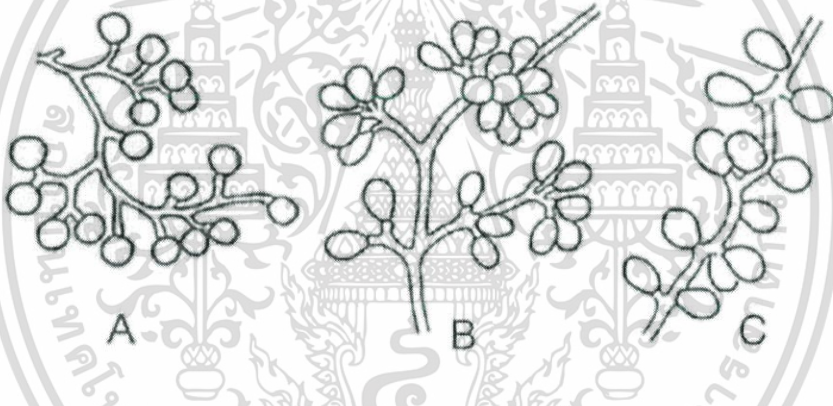
- A : ลักษณะของก้านชูสปอร์แบบแตกกิ่งก้านสาขาของ *Microtetraspora*
- B : ลักษณะของก้านชูสปอร์แบบ umbellate monoverticillate ของ *Streptoverticillium* (ma = main axis, ve = vertical, sb = side branch, tu = terminal umbel)
- C : ลักษณะถุงหุ้มสปอร์ของ *Planomonospora venezuelensis* ประกอบด้วยกิ่งสั้นๆ ของ monosporous sporangia มีรูปร่างคล้ายใบปาล์ม
- D : ลักษณะถุงหุ้มสปอร์แบบไม่แตกกิ่งก้านของ *Acinoplanes*

ที่มา : วิวัฒน์ และเอกภพ (2549)

2.5.6 ประเภทการสร้างสปอร์ของแอคติโนมัยซีท

การสร้างสปอร์แบ่งออกได้ 3 ประเภท ตามลักษณะโครงสร้างภายนอก ดังนี้

2.5.6.1 การสร้างสปอร์เดี่ยว การสร้างสปอร์เดี่ยวเรียกว่า Monosporous พบในหลายสกุลใน Micromonospora ก้านชูสปอร์ (Sporophore) เกิดขึ้นบนสายใยอาหารสปอร์ติดอยู่ที่ฐานหรือพองตัว จากนั้นมีการสร้างผนังกันและสร้างเป็นผนังสปอร์ในส่วนของสกุล Thermomonospora สร้างสปอร์เดี่ยวบนสายใยอากาศที่ปลายก้านชูสปอร์ ที่แตกแขนงหรือไม่แตกแขนง การแตกแขนงทำให้เกิดการสร้างเป็นกลุ่มของสปอร์สกุลอื่นๆ ที่สร้างสปอร์เดี่ยว คือ Saccharomonospora มีการสร้างสปอร์เดี่ยวรูปไข่ที่ปลายสายใยอากาศ ก้านชูสปอร์ไม่แตกแขนง ถ้าใช้ศัพท์ทางราอาจเรียกว่าการสร้างสปอร์เดี่ยวของ Micromonospora, Thermomonospora และ Saccharomonospora ว่า aleuriospores เพราะสปอร์เกิดจากปลายเส้นใยที่แตกแขนงมีการโป่งออก ลักษณะการสร้างสปอร์เดี่ยวของ Micromonospora, Thermomonospora และ Saccharomonospora



รูปที่ 2.15 การสร้างสปอร์เดี่ยว

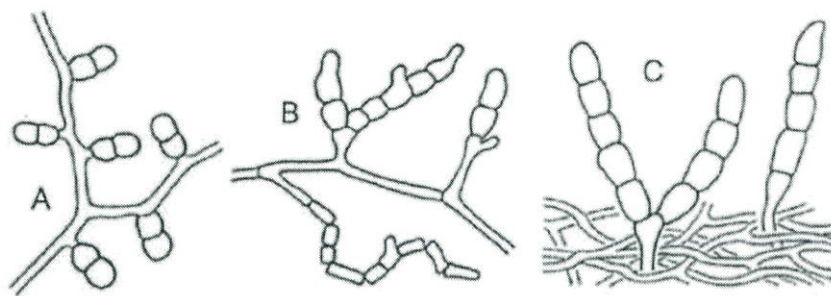
A: Micromonospora

B: Thermomonospora

C: Saccharomonospora

2.5.6.2 การสร้างสปอร์เป็นสาย ในแอคติโนมัยซีทที่เรียมีการสร้างสปอร์แบบนี้เป็นส่วน สามารถแบ่งลักษณะของสายสปอร์ โดยพิจารณาจากความยาวหรือจำนวนของสปอร์นั้นคือ di หรือ bisporous, oligosporous หรือ polysporous สาย bisporous ประกอบด้วย สปอร์คู่ต่อกันตามยาว พบในสกุล Microbispora เป็นการสร้างสปอร์ที่พบได้ยาก สปอร์ทรงรี 2 สปอร์มีเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 2 ไมโครเมตร อาจเกิดขึ้นบนเส้นใยอากาศโดยตรงหรือเกิดบนก้านชูสปอร์สั้นๆ นอกจากนี้สกุล Actinobispora มีสปอร์แบบ disporous เช่น การสร้างสปอร์เริ่มจากนั้นมีการพองออกและสร้างผนังกันตรงกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.16 ลักษณะสปอร์เป็นสาย

A: การสร้างแบบ disporous ของ *Microbispora*

B และ C: การสร้างสปอร์ oligosporous ของ *Nocardia brevicatena* และ *Catellatospora* ตามลำดับ

แอกติโนแบคทีเรียที่สร้างสปอร์แบบ oligosporous พัฒนาจากสปอร์สายสั้นๆ ส่วนมากพบ 7-10 สปอร์ต่อสาย น้อยที่สุดคือ 3 สปอร์ และบางสปีชีส์จะมีสปอร์มากถึง 30 สปอร์ *Nocardia brevicatena* สร้างสายสปอร์สั้นๆ คือ 2-7 สปอร์ บนสายใยอาหารในสปีชีส์ *Saccharopolyspora rectivirgula* ในสายสปอร์มีสปอร์ต่อกันน้อยกว่า 5 สปอร์ บนด้านข้างหรือปลายของก้านชูสปอร์ *N. brevicatena* และ *S. rectivirgula* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกัน สปีชีส์ในสกุล *Actinomadura* และ *Microtetraspora* สร้างสปอร์สายสั้นๆ บนสายใยอากาศ จำนวนสปอร์บนสายสปอร์มีตั้งแต่ 4 สปอร์และจนถึง 10-20 สปอร์ สายสปอร์อาจตรง เป็นขอ มีลักษณะเป็นวงเปิด (Open loop) หรือเป็นเกลียว (Spiral) ซ้อน 1 ชั้นจนถึง 4 ชั้น *Actinomadura pusila* ในสกุล *Streptoverticillium* มีลักษณะเฉพาะคือก้านชูสปอร์อยู่เป็นวงรอบเส้นใยแกน สายสปอร์เป็นเกลียว ซ้อนติดกันกับเส้นใยแกนที่มีสายสปอร์จะเกิดการบิดสายสปอร์สั้น อาจจะตรงโค้งงอปลายเป็นขอ การสร้างสปอร์ในสกุล *Macrospora*, *Microcelosporia* และ *Elytrosporangium* มีลักษณะสปอร์ใหญ่ บนสายสปอร์สั้นหรือสายสั้นๆ บนสายใยอาหาร สายสปอร์สั้นพบใน *Sporichthya polymorpha* ซึ่งสายใยอากาศมีสปอร์เป็นรูปแท่งจนถึงสปอร์กกลม *Catellatospora* สายสปอร์มีลักษณะตรงโค้งงอ มีสปอร์ 5-30 สปอร์ ซึ่งแทงขึ้นมาจากอาหารเป็นสายสั้นไม่แตกแขนงหรือมีก้านชูสปอร์ที่แตกแขนง

แอกติโนแบคทีเรียที่สร้างสปอร์แบบ polysporous ที่สำคัญ สปีชีส์ในสกุล *Streptomyces* ซึ่งมีการสร้างสปอร์เป็นสายมากกว่า 50 สปอร์ สปอร์ของ *Streptomyces* และแอกติโนแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่มีสปอร์มากกว่ามักเรียกว่า arthospores ซึ่งสอดคล้องกับ arthospores ของกลุ่มรา ในกลุ่ม Deuteromycota ที่มีการสร้างสปอร์และมีการแตกหักของเส้นใย ความแตกต่างของลักษณะของสายสปอร์สามารถใช้เป็นมาตรฐานในการจัดหมวดหมู่ได้ การสร้างสปอร์บนสายใยอากาศของ *Streptomyces* มีความแตกต่างกันสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ลักษณะคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Rectiflexbiles ลักษณะของสายสปอร์ตรง หรือโค้งงอ
2. Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (Hook) เป็นวงเปิดหรือเป็นเกลียวซ้อนกัน 1-3 ชั้น
3. Spira สายสปอร์เป็นเกลียวแยกได้เป็น 2 แบบ คือ เป็นวงปิดเป็นเกลียวติดกันแน่นและเป็นเกลียวแบบวงเปิดเกลียวยาว ยืด ไม่ติดกันแน่น
4. Verticillati สายสปอร์ขดคล้ายกันหอย และแตกแขนงกันแน่น ในบางกรณีสายสปอร์เป็นเกลียวขดกันแน่นและแยกออกมาทำให้มีลักษณะเหมือนกับอับสปอร์หรือ Pycnidia นอกจากนี้ในวงศ์ Pseudoncardiaceae เกิดสายสปอร์บนสายใยอาหารและสายใยอากาศ อีกสกุลที่มีสปอร์เป็นสายยาว คือ Nocardiosis ซึ่งเกิดขึ้นบนสายใยอากาศ อาจเป็นสายใยตรงงอหรือซิกแซก



รูปที่ 2.17 การสร้างสปอร์แบบเป็นสายยาวของ *Streptomyces*

- 1 : Rectiflexbiles
- 2 : Retinaculiaperti
- 3 : Spira
- 4 : Verticillati

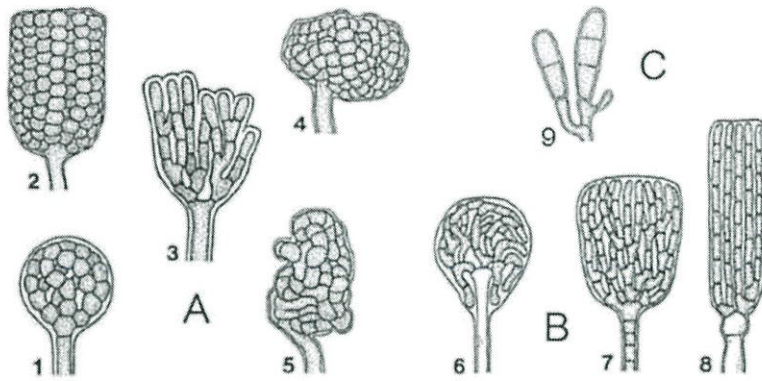
ที่มา: Vobis (1977)

2.5.7 การสร้างสปอร์ในอับสปอร์ (กิ่งจันทร์, 2555)

การสร้างสปอร์ในอับสปอร์มีหลายสกุลที่สร้างสปอร์ในอับสปอร์ภายในอับสปอร์มีสปอร์อยู่มากมาย สามารถแบ่งกลุ่มการสร้างอับสปอร์ได้เป็น 2 กลุ่ม

2.5.7.1 กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนสายใยอาหาร ประกอบด้วยสกุล Actinoplans อับสปอร์มีลักษณะทรงกลม หรือเกือบกลมจนไปถึงไม่เป็นรูปทรงที่แน่นอน มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5-15 ไมโครเมตร และอยู่บนสายใยอาหารโดยตรง มีสปอร์ต่อกันเป็นสายและแตกแขนงขดกันเป็นก้อนอยู่ภายในผนัง ห่อหุ้ม สปิซีส์ Ampullariella ในสกุล Atinoplans สร้างอับสปอร์มีรูปร่างแตกต่างกันไป คือ รูป ทรงกระบอก ทรงขวด เป็นต้น ขนาดของอับสปอร์เฉลี่ยกว้าง 10 ไมโครเมตร ยาว 5 ไมโครเมตร สปอร์เป็นรูปแท่งต่อกันเป็นสาย อีกสกุลที่มีการสร้างสปอร์ในอับใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



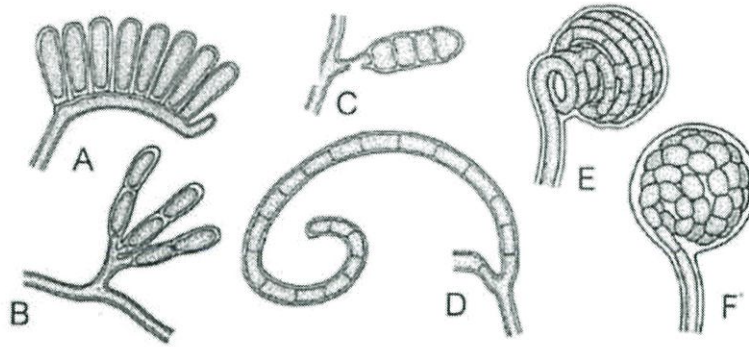
รูปที่ 2.18 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนอาหาร

A : สกุล Actinoplanes (รวมถึง Ampullariella)

B : สกุล Pilimelia

C : สกุล Dactylosporangium

2.5.7.2 กลุ่มที่มีการสร้างอับสปอร์บนสายใยอากาศ (รูปที่ 2.6) ประกอบด้วยสกุล Planomonospora มีอับสปอร์รูปทรงกระบอก ภายในทรงกระบอกมีเพียง 1 สปอร์ สกุล Planobispora มีสปอร์คู่ต่อกันอยู่ในอับสปอร์ สกุล Planotetraspora มีอับสปอร์ทรงกระบอกยาว ภายในมี 4 สปอร์ ต่อกันเป็นหนึ่งแถว สกุล Planoplyspora มีสปอร์จำนวนมากภายในอับสปอร์ เมื่อโตเต็มที่อับสปอร์จะเป็นแผ่นแบนยาวประมาณ 30 ไมโครเมตร มีสปอร์จำนวนมากต่อกันเป็นแถวเดี่ยวอยู่ใน สกุล Streptosporangium ส่วนมากอับสปอร์เป็นทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตร มีการสร้างผนังกันเป็นสปอร์เดี่ยวๆต่อกันเป็นเส้นใยยาวขดเป็นวงอยู่ในอับสปอร์ ในปัจจุบัน สกุล Kutzneria ได้ถูกแยกออกจากสกุล Streptosporangium มีอับสปอร์ลูกกลมขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 48 ไมโครเมตร และมีผนังอับสปอร์บางอยู่บนก้านชูสปอร์ สกุล Spirillospora มีอับสปอร์เรียงตัวเป็นสายแตกแขนงหรือเป็นวงสปอร์เป็นรูปแหง



รูปที่ 2.19 รูปทรงของอับสปอร์

- A : สกุล Planomospora : monosporous, ทรงกระบอก
 B : สกุล Planobispora : disporous, ทรงกระบอก
 C : สกุล Planotetraspore : tetrasporous, ทรงกระบอก
 D : สกุล Planopolyspora : polysporous, ทรงคล้ายท่อ
 E : สกุล Spirillspora : polysporous, ทรงกลม
 F : สกุล Streptosporangium : polysporous, ทรงกลม
 ที่มา : Vobis (1977)

เนื่องจากแอกติโนมัยซีทสามารถสร้างเส้นใยได้ โดยพบว่าการสร้างเส้นใย 2 ชนิด คือ substrate mycelium ใช้ในการยึดเกาะกับอาหารและดูดอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโต และ aerial mycelium ใช้ในการสืบพันธุ์จากการศึกษาพบว่าเส้นใยที่แก่จะมีการสร้างผนังกัน (Septate) เพื่อแบ่งเซลล์โดยที่แต่ละเซลล์จะมีขนาดประมาณ 20 ไมครอน และอาจมี nucleoid หลายชุดภายใน 1 เซลล์ จากนั้นจึงหักหลุดเป็นท่อนๆ มีรูปร่างหลายแบบ เช่น pleomorphic, club shape cell เป็นต้น กลายเป็น spore ซึ่งส่วนมากจะเป็น asexual spore สปอร์ส่วนใหญ่จะไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (Non-motile spore) แต่ก็มีบางชนิดที่เป็นส่วนน้อยที่สามารถเคลื่อนที่ได้ (Flagellate spore) จากการศึกษพบว่าจะมีการสร้าง substrate mycelium ก่อน แล้วจึงมีการสร้าง aerial mycelium เพื่อการสืบพันธุ์หรือภายใต้สภาวะเครียด เช่น สร้างเมื่อขาดน้ำ ขาดอาหาร หรือมีการสะสมของ inhibition compound และจะมี hydrophobic sheath หุ้มเส้นใยอยู่ เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ นอกจากนี้ยังพบว่าเส้นใยของแอกติโนมัยซีทมีหลายสีขึ้นอยู่กับชนิด (Species) ของแอกติโนมัยซีท เช่น ขาว ใส ไม่มีสี เหลืองอ่อน น้ำตาลอ่อน แดงชมพู ส้ม เขียว หรือดำ และสี (Pigment) ที่สร้างมีทั้งที่ละลายน้ำได้และละลายน้ำไม่ได้ หากละลายน้ำได้จะปรากฏสีบนอาหาร แต่หากละลายน้ำไม่ได้จะไม่ปรากฏสีบนอาหารเลย (สายสมร, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.8 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแอกติโนมัยซีท

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแอกติโนมัยซีท โดยทั่วไปพบได้ 2 แบบ คือ

2.5.8.1 แบบหลุดของเส้นใยไมซีเลียม (Mycelium fragmentation) ในพวก *Streptomyces* spp. จะมีการสร้างเซลล์ที่มีลักษณะพิเศษตามความยาวเส้นใยอากาศโคนเดี่ยว (Aerial conidia) เกิดจากการขยายตัวของเซลล์และมีผนังหนาขึ้นเรียกว่า chlamyospore หรือ arthrospore มักพบแบบเดี่ยวๆ (Single spore) หรือต่อกันเป็นสายโซ่ (Chain)

2.5.8.2 แบบสร้างสปอร์ (Sporulation) ในพวก *Actinoplanes armenicus* สามารถสร้างสปอร์ได้ 2 แบบ คือ สปอร์แบบมีแฟลกเจลลา (Flagella) เรียกว่า zoospore ที่สามารถเคลื่อนที่ได้ และสร้างสปอร์แบบ *Streptomyces*-type คือสร้าง arthrospore บนเส้นใยอากาศในการสร้างสปอร์แบบใดนั้นมักขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่เชื้อเจริญอยู่ เชื้อ *Kitasato* spp. และ *Pilimelia* spp. มักจะพบมีการสร้างสปอร์ที่สามารถเคลื่อนที่ได้ภายใน vesicle และแบบเคลื่อนที่ไม่ได้มีลักษณะต่อกันเป็นสายโซ่ใน *Micromonospora* spp. สร้างสปอร์แบบ chlamyospore เป็นคู่ที่ตำแหน่งปลายเส้นใย บริเวณ intercalary และบริเวณ interminate

2.6 การคัดแยกแอกติโนมัยซีท

การคัดแยก actinomycetes จากตัวอย่างในสิ่งแวดล้อมที่ประสบความสำเร็จ จะต้องอาศัยความเข้าใจในพื้นที่ ลักษณะตัวอย่างดินที่มีศักยภาพ และปัจจัยแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การศึกษาก่อนหน้าแสดงให้เห็นว่าการเลือกพื้นที่ที่มีศักยภาพแตกต่างกัน เช่น บริเวณรากตัวอย่างดินเป็นกิจกรรมที่สำคัญ สำหรับการแยก actinomycetes ที่มีศักยภาพในการผลิตยาปฏิชีวนะ (Abebe, 2013)

แอกติโนมัยซีทแต่ละกลุ่มจะมีความต้องการอาหารที่แตกต่างกันไป อาหาร Actinomycete isolation agar ใช้เป็นอาหารสำหรับการคัดแยกเชื้อโดยทั่วไป ส่วนวิธีการแยกเชื้อและอาหารที่ใช้ในการแยกเชื้อเฉพาะกลุ่มจะมีความแตกต่างกันของวิธีการและส่วนประกอบของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง เช่น การคัดแยกเชื้อในสกุล *Streptomyces* ซึ่งเป็นแอกติโนมัยซีทที่สามารถใช้อาหารได้หลายชนิด ควรจะต้องมีไคติน แป้ง กลีเซอรอล อาร์จินิน แอสปาราจีน เคซีน และไนเตรท เป็นแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนเพื่อการเจริญ และจะต้องมีการเติมสารแอนติไบโอติกในอาหารเพื่อฆ่าเชื้อราในความ 22 เข้มข้น 50-100 ไมโครกรัมต่อลิตร เช่น cycloheximide หรือ nystatin และควรบ่มจานเพาะเลี้ยงไว้ นาน 14 วัน ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส การแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทที่เรียกว่าหายาก จะต้องมีการนำดินตัวอย่างไป ทำ pre-treatment ด้วยวิธีการต่างๆ (Maitra and Roy, 1960) (Strzelczyk and Leniarska, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

2.7.1 ความต้องการสารอาหารของแบคทีเรียเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541)

2.7.1.1 พลังงาน (Energy)

2.7.1.1 แหล่งพลังงานจากแสง แบคทีเรียที่ได้พลังงานจากแสง เรียกว่า phototroph

2.7.1.2 แหล่งพลังงานจากกระบวนการออกซิเดชัน (Oxidation) ของสารเคมีแบคทีเรียที่ได้พลังงานจากกระบวนการออกซิเดชัน เรียก chemotroph

2.7.1.2 แหล่งคาร์บอน (Carbon sources)

แหล่งคาร์บอนอยู่ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์และสารอินทรีย์ แบคทีเรียที่ต้องการสารอาหารในรูปของสารอินทรีย์ สามารถเปลี่ยนคาร์บอนไดออกไซด์เป็นคาร์โบไฮเดรต เรียกว่า autotroph ถ้าได้พลังงานจากแสงอาทิตย์ด้วย เรียกว่า photoautotroph ถ้าได้พลังงานจากการออกซิเดชันของสารเคมีด้วย เรียก chemoautotroph ส่วนแบคทีเรียที่ต้องการสารอาหารในรูปของสารอินทรีย์ เรียก heterotroph

2.7.1.3 แหล่งของอิเล็กตรอน (Electron sources)

แบคทีเรียต้องการอิเล็กตรอนเพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม พวกที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอิเล็กตรอน เรียก lithotroph ส่วนพวกที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งอิเล็กตรอน เรียก organotroph

2.7.1.4 แหล่งไนโตรเจน (Nitrogen sources)

แหล่งของไนโตรเจนมีทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ แหล่งที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน เพปไทด์ โปรตีน แหล่งที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น แกลูตามีน ไนเตรต หรือแอมโมเนียม

2.7.1.5 แหล่งของออกซิเจน ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส

ออกซิเจนได้มาจากหลายแหล่ง เช่น น้ำ และสารอาหาร แหล่งของซัลเฟอร์ อาจอยู่ในรูปของสารอินทรีย์ หรือสารอนินทรีย์ ซัลเฟอร์มีความจำเป็นในการสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด แหล่งของฟอสเฟตอาจอยู่ในรูปของฟอสเฟตที่เป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิก นิวคลีโอไทด์ ฟอสโฟลิปิด กรดไทโคอิก และสารอื่นๆ

2.7.1.6 ไอออนของโลหะหนัก

ไอออนของโลหะหนักมีความจำเป็นต่อการเจริญตามปกติของแบคทีเรีย เช่น K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} เป็นต้น ซึ่งบางชนิดจัดเป็น Co factor ที่สำคัญของเอนไซม์ต่างๆ

2.7.1.7 วิตามิน

แบคทีเรียต้องการวิตามินในปริมาณน้อย แต่วิตามินมีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตมาก โดยทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในปฏิกิริยาต่างๆ แบคทีเรียบางชนิดสามารถสังเคราะห์วิตามินได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียชนิดก่อโรคเป็นพวก heterotrophic

นอกจากนี้ยังเป็นยีสต์ที่สังเคราะห์วิตามิน B12 ได้เอง ซึ่งยีสต์ที่สังเคราะห์วิตามิน B12 ได้เองมีชื่อว่า Saccharomyces fragilis และยีสต์ที่สังเคราะห์วิตามิน B12 ได้เองมีชื่อว่า Hansenula fragilis นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียที่สังเคราะห์วิตามิน B12 ได้เองมีชื่อว่า Methylobacterium extorquens และยีสต์ที่สังเคราะห์วิตามิน B12 ได้เองมีชื่อว่า Hansenula fragilis นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียที่สังเคราะห์วิตามิน B12 ได้เองมีชื่อว่า Methylobacterium extorquens และยีสต์ที่สังเคราะห์วิตามิน B12 ได้เองมีชื่อว่า Hansenula fragilis

microorganism ซึ่งมีความสามารถในการสังเคราะห์อาหารจำกัดจึงต้องการอาหารซึ่งซับซ้อนขึ้น เช่น complex nitrogen compound ดังนั้นจึงมักใช้อาหารซึ่งเป็นแหล่งของโปรตีนในธรรมชาติ (Crude natural protein source) แต่ว่าแบคทีเรียไม่สามารถใช้โปรตีนนี้ได้โดยตรงแต่ต้องทำให้อยู่ในรูปซึ่งสามารถนำไปใช้ได้เสียก่อน โดยการย่อยโปรตีนเหล่านี้ด้วยกรด ต่าง หรือ เอนไซม์ต่างๆ โปรตีนซึ่งถูกย่อยแล้วนี้ (Protein hydrolysates) โดยส่วนใหญ่เรียกว่า peptone ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ง่าย และประกอบด้วย polypeptidase ตลอดจน amino acid ในปริมาณต่างๆ กันซึ่งสารเหล่านี้แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ทันที แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณ polypeptidase และ amino acid ใน peptone แต่ละชนิดและจากแต่ละบริษัทจะไม่เหมือนกัน ความต้องการอาหารชนิดต่างๆ ของพวก heterotrophic bacteria จะแตกต่างกันไป ดังนั้นจึงต้องมี peptone หลายชนิดเพื่อใช้งานต่างๆ กัน และมีสูตรของอาหารเลี้ยงเชื้อมากมาย ทั้งนี้เพื่อให้เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดหรือแต่ละกลุ่มปัจจุบันมีอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (Dehydrated media) มากมายหลายชนิดซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นานพอสมควรอีกทั้งยังสะดวกในการเตรียมอีกด้วย

2.7.2 ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อแบบธรรมดา (Basic nutrient Media)

(นงลักษณ์ และปรีชา, 2541)

2.7.2.1 Peptone

ดังได้กล่าวในตอนต้นแล้ว peptone คือโปรตีนซึ่งถูกย่อยแล้ว เป็น amino acid และ simple nitrogenous compound อาจโดยใช้กรด ต่าง หรือ เอนไซม์ คุณสมบัติของ peptone จะขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์ของคุณภาพโปรตีนที่ใช้และวิธีการย่อยโปรตีน (ด้วยกรด ต่าง หรือ เอนไซม์) การย่อยด้วยกรดหรือต่าง จะทำลายวิตามินและกรดอะมิโน บางส่วนในโปรตีนไป ซึ่งผิดกับการย่อยด้วยเอนไซม์ โปรตีนซึ่งใช้ในการผลิต peptone มีหลายชนิด เช่น Casein (โปรตีนในน้ำนม) Gelatin เนื้อ ถั่วเหลือง และ Yeast cells เป็นต้น peptone เป็นส่วนประกอบหลักใหญ่ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แบคทีเรียต้องการมากสำหรับการเจริญเติบโต

2.7.2.2 Infusion และ Extract

เป็นสารสกัดจากเซลล์ต่างๆ ทั้งจากจุลชีพ (เช่น Yeast Extract ซึ่งความเป็นจริงถือว่าเป็น peptone ชนิดหนึ่ง) เนื้อเยื่อจากพืช (เช่น Malt Extract) และจากสัตว์ (เช่น Beef Extract Brain-Heart infusion) เป็นสิ่งที่ใช้แทน peptone ก่อนที่จะมีการคิดค้นการผลิต peptone ขึ้นมาใช้งาน ซึ่งในปัจจุบันก็ยังคงใช้อยู่ ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด Infusion และ extract นี้เป็นสารสกัดซึ่งมีส่วนประกอบไม่แน่นอนและไม่ชัดเจน โดยเป็นสารผสมระหว่าง protein, polypeptide, amino acid, carbohydrate รวมถึง vitamin และ growth factor หลายชนิด

2.7.2.3 Solidifying agent

เป็นสารซึ่งใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้อาหารชนิดนั้นๆ แข็งตัว และกลายเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง สารพวกนี้ได้แก่ วุ้น (Agar), Gelatin, Silica gel และ Polyacrylic gel แต่ที่นิยมใช้มากที่สุดคือ วุ้น ซึ่งเป็น polysaccharide ที่ได้จากการสกัดสาหร่ายสีแดง (Rhodophyceae)

นอกจากนี้ยังเป็นเอกลักษณ์ที่สังเคราะห์ด้วยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงซึ่งมีความสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Cyanobacteria) ซึ่งมีความสำคัญต่อห่วงโซ่อาหารในน้ำจืดและน้ำเค็ม นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อวัฏจักรไนโตรเจนในดินและในน้ำจืดอีกด้วย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วุ้นที่ดีควรสะอาดปราศจากฝุ่นผงต่างๆ ละลายที่ 80 °C เมื่อเตรียมวุ้นความเข้มข้น 2% ในน้ำ (น้ำหนัก/ปริมาตร) แล้วทิ้งให้แข็งตัว สิ่งที่ได้ควรจะใสหรือหากขุ่นก็เพียงเล็กน้อย ส่วน solidifying agent อื่นๆ นั้นไม่ค่อยมีผู้นิยม

2.7.2.4 Indicator

ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อมักจะมี indicator 2 ประเภทคือ

2.7.2.4.1 Indicator เพื่อบอกสภาวะความเป็นกรด ต่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งได้แก่ Phenol red, Bromothymol blue, Bromocresol purple, Neutral red, Litmus, Andrade's indicator เป็นต้น

2.7.2.4.2 Indicator เพื่อบอกสภาวะ oxidation-reduction potential (Eh) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น Methylene Blue และ Resazurin เป็นต้น

2.7.2.5 เกลือ (Salt; NaCl)

ใช้เติมลงไปเพื่อปรับปริมาณ osmotic pressure ของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็น isotonic สำหรับเซลล์แบคทีเรีย หรือเพื่อปรับความเข้มข้นของเกลือของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นไปตามที่แบคทีเรียต้องการ

2.7.2.6 Dextrose

ใช้เพื่อเป็นแหล่งของ carbon และพลังงานแก่แบคทีเรีย

2.7.2.7 น้ำ

ใช้เพื่อทำให้ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ในรูปของสารละลายที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ ส่วนใหญ่จะใช้น้ำกลั่น (Distilled water)

2.7.2.8 Selective agent

เป็นสารเคมีซึ่งเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้แบคทีเรียบางชนิดเจริญได้เท่านั้น โดยแบคทีเรียชนิดอื่นๆ จะถูกยับยั้งไม่ให้เจริญ การใส่ selective agent ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีประโยชน์ในการแยกเชื้อซึ่งเป็นตัวก่อโรคออกจากเชื้อที่ไม่ก่อโรค selective agent ที่ใช้กันมีหลายชนิดได้แก่ สีย้อมบางชนิด เช่น crystal violet และ brilliant green (ใช้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียพวกแกรมบวก), sodium chloride (ใช้ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นๆ นอกเหนือจาก *Staphylococcus spp.* เนื่องจากไม่สามารถทนเกลือได้ในปริมาณสูงๆ เหมือน *Staphylococcus spp.*), sodium azide, sodium citrate, sodium tellurite, sodium lauryl sulfate, sodium selenite, iodine, phenylethanol และยาปฏิชีวนะต่างๆ เป็นต้น นอกจากนั้นการปรับความเป็นกรดหรือต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ต่ำกว่าปกติ (เช่น pH 5.6 ใน abouraud dextrose agar) หรือสูงกว่าปกติ (เช่น pH 8.8-9.0 ใน alkaline peptone water สำหรับแยกเชื้อ *Vibrio cholerae*) ก็สามารถใช้เป็น selective character ของอาหารเลี้ยงเชื้อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2.9 Reducing agent

เป็นสารเคมีซึ่งเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อช่วยส่งเสริมให้เกิดภาวะไร้ออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีขึ้น สารเหล่านี้ได้แก่ ascorbic acid, sodium thioglycolate, sodium formaldehyde sulfoxylate, thiomalic acid, sodium hydrosulfite และ cysteine เป็นต้น

2.7.2.10 เลือดใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อพวก Enriched Media

เลือดที่ใช้โดยมากมี 4 ชนิด คือ

- เลือดแกะ ซึ่งเอา fibrin ออกแล้ว (Defibrinated sheep blood) ; เป็นเลือดที่ดีที่สุดเพราะให้ hemolysis ได้ถูกต้องชัดเจน โดยเฉพาะ hemolysis ที่เกิดจาก *Streptococci spp.*

- เลือดกระต่ายซึ่งเอา fibrin ออกแล้ว คุณภาพรองจากเลือดแกะ และให้ hemolysis ได้ ถูกต้องเช่นกัน

- เลือดม้าซึ่งเอา fibrin ออกแล้ว ให้ hemolysis ไม่ถูกต้องโดยเฉพาะจาก *Streptococci* แต่มีประโยชน์ในการใช้ใส่ใน mueller hinton media เพื่อการทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพโดยใส่ในรูปของเลือดม้าที่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก (Lysed horse blood)

- เลือดคนซึ่งหมดอายุแล้วจากคลังเลือด ; เป็นเลือดที่ใช้มากที่สุดเพราะหาง่าย ราคาถูก แต่อาจมีผลเสียจาก citrate, antimicrobial agents และสารอื่นๆ ที่อยู่ในเลือด ซึ่งอาจทำให้แบคทีเรียบางชนิดไม่สามารถเจริญได้หรือให้ปฏิกิริยา hemolysis ที่ผิดจากความเป็นจริง

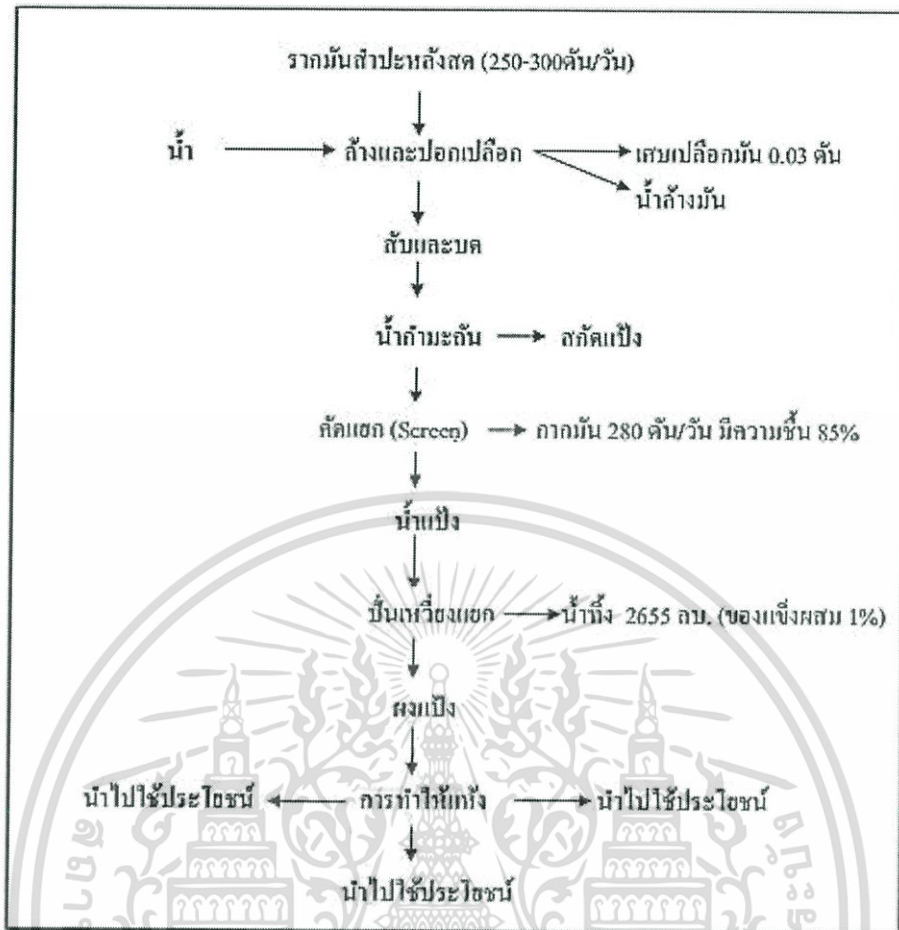
2.7.2.11 การใช้แป้งเป็นแหล่งทดแทนคาร์บอนในสูตรอาหาร

อาหารที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ เช่น Starch Casein Agar (SCA) (Kuster and Williams, 1964) และ Inorganic salts starch (ISP4) (Miyadoh *et al.*, 1983) เป็นการศึกษาความสามารถในการใช้แป้งของเชื้อแอคติโนมัยซีท หากเชื้อสามารถใช้แป้งในการเจริญได้ จะเป็นการลดต้นทุนในการผลิตในเชิงอุตสาหกรรม แทนการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นที่มีราคาค่อนข้างสูง เนื่องจากของเสียในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ก็มีแป้งเป็นองค์ประกอบ

ของเสียทางอุตสาหกรรมเกษตร เช่น ชานอ้อย รำข้าวสาลี ชังข้าวโพดและฟางข้าวสาลี เป็นแหล่งคาร์บอนที่มีปริมาณมากและราคาถูก สามารถนำมาเลี้ยงแอคติโนมัยซีทเพื่อใช้ในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสและไซลาเนสต่อไป ทั้งนี้พบว่าของเสียทางอุตสาหกรรมที่ช่วยให้มีกิจกรรมของอะไมเลสและไซลาเนสมีค่าสูงสุดในรำข้าว > ชังข้าวโพด > รำข้าวสาลี > ฟางข้าวสาลี > อ้อยตามลำดับ (Singh *et al.*, 2012)

ในการผลิตแป้งมันแต่ละครั้ง ได้กากมันสำปะหลังสูงถึงร้อยละ 10 ของน้ำหนักหัวมันสำปะหลังสด โดยกากมันสำปะหลังจะถูกนำไปใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ ทำปุ๋ยหมัก หรือใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* เพราะเป็นสารตั้งต้นที่มีราคาถูก สำหรับการผลิตเอนไซม์ glucoamylase (Venkateswaran *et.al.*, 2000) โดยคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในหัวมันสด ส่วนใหญ่คิดเป็นแป้ง 80% ของน้ำหนักแห้ง โดยแป้งมันสำปะหลังมีกระบวนการการผลิตดังนี้ (เกษม, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.20 กระบวนการผลิตแป้งมันสำหรับสกัด
ที่มา : เกษม (2555)

2.7.2.12 การใช้อาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP2) ในการเพาะเลี้ยงแอกติโนมัยซีท

อาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP2) มีสารอาหารใกล้เคียงกับ Yeast extract-Malt extract (YEME) (Klanbut, 2013) แต่ไม่มี peptone เป็นที่นิยมใช้ในงานวิจัยเนื่องจากมีราคาถูกที่สุดและมีสารอาหารเพียงพอที่เชื้อแอกติโนมัยซีทสามารถใช้ในการเจริญได้

การศึกษาการต้านจุลชีพและการผลิตเม็ดสีของแอกติโนมัยซีท สามารถนำไปใช้ในกระบวนการการผลิตอาหาร เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ยาได้ เนื่องจากมีการเจริญได้ง่ายและรวดเร็ว ต้นทุนต่ำ ไม่ขึ้นกับสภาวะอากาศ ฤดูกาลและมีความหลากหลายของสี จากการศึกษาจะใช้อาหาร Starch casein agar (SCA) ในขั้นตอนของการ screen เชื้อ และใช้อาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP2) ในการคัดแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เพื่อลดต้นทุนในการสกัดสารสีจากแอกติโนมัยซีท เพื่อใช้ในกระบวนการผลิตเครื่องสำอางต่อไป (Azimi *et.al*, 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 ลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (ดวงพร, 2537)

2.8.1 คุณสมบัติในการย่อยสลายโปรตีน

แอกติโนมายซีทแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการย่อยโปรตีนหรือสร้างเอนไซม์ในการย่อยโปรตีนได้ต่างกัน โดยในการสร้างเอนไซม์ในการย่อยโปรตีนมี 2 รูปแบบ คือ

2.8.1.1 การย่อยสลายโปรตีน (Peptonization) เมื่อเชื้อสร้างเอนไซม์นี้จะมีการย่อยโปรตีนเกิดขึ้น โดยลักษณะของอาหารจะเปลี่ยนจากสีขุ่นเป็นใส

2.8.1.2 การตกตะกอนโปรตีน (Coagulation) เชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์โคแอกกูเลส (Coagulase) ได้จะเห็นได้จากอาหารมีการรวมกลุ่มหรือตกตะกอนเป็นก้อน ไม่เหลวเหมือนเดิม

2.8.2 คุณสมบัติในการรีดิวซ์ไนเตรท (Reduction of nitrate)

เมื่อเชื้อมีการเจริญบนอาหารที่มีโพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) ก็จะทำให้เกิดการสลายตัวของไนเตรทในอาหาร การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรทสามารถทดสอบได้โดย หยดกรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid) ก่อนแล้วตามด้วยแอลฟาแนททิลลามีน (α -naphthylamine) เมื่อเกิดการรวมตัวกันระหว่างกรดซัลฟานิลิกและไนเตรทจะได้เกลือไดอะโซเนียม (Diazonium salts) จะรวมกับแนททิลลามีนจะเกิดสีแดงที่ละลายน้ำได้ (Water-soluble azo dye)

2.8.3 คุณสมบัติในการย่อยสลายแป้ง (Hydrolysis of starch)

เป็นความสามารถในการใช้แป้งของเชื้อ โดยแป้งจะประกอบไปด้วยโพลีแซคคาไรด์ 2 ชนิด คือ อะไมโลส (Amylose) และอะไมโลเพกทิน (Amylopectin) โดยในอะไมโลสมีองค์ประกอบของ D-glucose เชื่อมกันด้วยพันธะ α -1, 4-glucosidic และพันธะ α -1, 6-glucosidic เมื่อเชื้อเจริญบนอาหารและทำการย่อยแป้งจะเกิดบริเวณใส (Clear zone) ภายใต้อาหารและรอบๆ โคลนินของเชื้อ

2.8.4 คุณสมบัติในการทนความเป็นกรด-ด่าง

เชื้อบางชนิดมีความทนกรด-ด่างไม่เท่ากัน ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้ในการจำแนก ใช้จัดกลุ่มของแอกติโนมายซีทเบื้องต้นได้

2.8.5 ความสามารถในการทนเกลือ

เชื้อบางชนิดมีความทนเกลือไม่เท่ากันดังนั้นจึงสามารถบอกถึงคุณสมบัติการเจริญในสภาวะที่มีระดับเกลือต่างๆ รวมทั้งบอกถึงสถานะในการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนั้นๆ ด้วย

2.8.6 ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ

ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 พวก คือ พวกที่เจริญที่อุณหภูมิสูง (Thermophilic bacteria) พวกที่เจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic bacteria) และพวกที่เจริญที่อุณหภูมิต่ำ (Psychrophilic bacteria)

2.9 ประโยชน์ของแอกติโนมัยซีท และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

แอกติโนมัยซีทจัดเป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่ได้รับความสนใจในการศึกษา เนื่องจากแอกติโนมัยซีทสามารถสร้างสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ที่ผลิตในช่วงระยะคงที่ (Stationary phase) เป็นระยะช่วงท้ายของการเจริญ จัดเป็นสารที่ไม่จำเป็นต่อการเจริญหรือการแพร่พันธุ์ของจุลินทรีย์จึงผลิตในปริมาณน้อย แตกต่างจากสารเมตาโบไลต์ปฐมภูมิ (Primary metabolites) ซึ่งจุลินทรีย์จะผลิตในปริมาณที่มากในระยะของการเจริญ (Primary growth phase) สารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิมีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compound) มีความหลากหลายของสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิที่เซลล์สร้างขึ้นและเป็นสารเมตาโบไลต์ที่มีโครงสร้างที่มีการพัฒนาที่ซับซ้อนหลายชนิด ได้แก่ สารปฏิชีวนะต้านการเจริญเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส และสารต้านเนื้องอก เป็นต้น แอกติโนมัยซีทกระจายทั่วไปในธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน น้ำ และนอกจากนี้ยังพบแอกติโนมัยซีทบางกลุ่มที่สามารถเจริญได้ภายในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของพืช โดยจะเรียกเชื้อแอกติโนมัยซีทที่พบในเนื้อเยื่อของพืชว่า เอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีท (Endophytic Actinomycetes) (สุจรรรยา, 2556)

แอกติโนมัยซีทสามารถผลิตสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ สารสี หรือสารอื่นๆ ได้ จากข้อมูลล่าสุดพบว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่สร้างมาจากแอกติโนมัยซีท (45%) เชื้อรา (38%) และแบคทีเรียชนิดอื่น (17%) โดยจุลินทรีย์กลุ่มแอกติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดเป็นเชื้อในสกุล *Streptomyces* ซึ่งผลิตสารปฏิชีวนะได้ 70% (ประมาณ 8,000 ชนิด) ของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากแอกติโนมัยซีททั้งหมด (McCarthy and Williams, 1990) เอนไซม์ที่แอกติโนมัยซีทสามารถผลิตได้มีหลายชนิด ได้แก่ xylanase, cellulase, amylase และ chitinase เป็นต้น เอนไซม์ amylase ที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีหลายชนิดที่สามารถผลิต amylase ได้ ได้แก่ *Micromonospora*, *Nocardia* และ *Streptomyces* (Das, 1996) เอนไซม์ amylase สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ เช่น การลดความหนืดของแป้งในอุตสาหกรรมทอผ้า การเพิ่มหรือการผลิตสารให้ความหวานในอุตสาหกรรมเบียร์ หรือเครื่องดื่ม เป็นต้น ส่วนเอนไซม์ chitinase ที่มีคุณสมบัติในการย่อยไคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของรา หรือเป็นองค์ประกอบของ exoskeleton ของพวก arthropod จินัสที่สามารถผลิต chitinase ได้แก่ *Streptomyces* (Dahiya, 2006) เอนไซม์ chitinase สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ ได้เช่น นำมาทำ protoplast ของราเพื่อศึกษาองค์ประกอบของผนังเซลล์ของรา การสังเคราะห์สารต่างๆ การนำมาเป็นสารควบคุมทางชีวภาพ เช่น ใช้ควบคุมราที่ก่อโรคพืช และการนำมาย่อยสลายของเสียทางอุตสาหกรรมการแช่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาและข้อมูลทั้งหมดซึ่งผู้จัดทำเอกสารนี้ขอสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาและข้อมูลทั้งหมด ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารทะเลเป็นการเพิ่มมูลค่าของของเสียในอุตสาหกรรม เป็นต้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่
ที่ผลิตโดยแอคติโนแบคทีเรียที่มีรายงานในช่วงปี ค.ศ. 2003-2005 แสดงดังตารางดังต่อไปนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ผลิตโดยแอคติโนแบคทีเรีย

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	แอคติโนแบคทีเรีย	กิจกรรมการยับยั้ง
Abyssomicins	<i>Verrucosispora sp.</i>	Antibacterial
Aureoverticillactam	<i>Streptomyces aureoverticillatus</i>	Anticancer
Bonactin	<i>Streptomyces sp.</i>	Antibacterial; antifungal
Caprolactones	<i>Streptomyces sp.</i>	Anticancer
Chandrananimycins	<i>Actinomadura sp.</i>	Antialgal; antibacterial; anticancer; antifungal
Chinikomycins	<i>Streptomyces sp.</i>	Anticancer
Chloro-dihydroquinones	Novel actinobacteria	Antibacterial; anticancer
Diazepinomicin	<i>Micromonospora sp.</i>	Antibacterial; anticancer; anti-inflammatory
3,6-disubstituted indoles	<i>Streptomyces sp.</i>	Anticancer
Frigocyclinone	<i>Streptomyces griseus</i>	Antibacterial
Gutingimycin	<i>Streptomyces sp.</i>	Antibacterial
Helquinoline	<i>Janibacter limosus</i>	Antibacterial
Himalomycins	<i>Streptomyces sp.</i>	Antibacterial
Komodoquinone A	<i>Streptomyces sp.</i>	Neuritogenic activity
Lajollamycin	<i>Streptomyces nodosus</i>	Antibacterial
Marinomycins	<i>Marinispora</i>	Antibacterial; anticancer
Mechercharmycins	<i>Thermoactinomyces sp.</i>	Anticancer
Salinosporamide A	<i>Salinispora tropica</i>	Anticancer
Sporalides	<i>Salinispora tropica</i>	Unknown biological activity
Trioxacarcins	<i>Streptomyces sp.</i>	Antibacterial; anticancer; antimalarial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มา : Lam (2006)

Strzelczyk และ Leniarska (1985) รายงานว่าแอสคิตโนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินบริเวณรอบราก ราก และดินอิสระสามารถผลิตกลุ่มของวิตามินบีได้ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตไทอะมีน ไโรโบฟลาวิน ฟลาโวโปรตีน วิตามินบี 12 และโคเอนไซม์ เอ (Santos *et al.*, 1976) เช่น *Streptomyces olivaceus* สามารถผลิตวิตามิน B12 ได้ (Maitra and Roy, 1960)

แอสคิตโนแบคทีเรียสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ที่ใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน เช่น สารปฏิชีวนะ สารกดภูมิคุ้มกัน และสารต้านมะเร็ง เป็นต้น (Anibou *et al.*, 2008) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มเอนไซม์ที่น่าสนใจชนิดหนึ่ง คือ เอนไซม์ L-asparaginase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีการนำมาใช้รักษามะเร็งเม็ดเลือดขาวในมนุษย์เพื่อลดปริมาณกรดอะมิโน asparagine ในกระแสเลือด ทำให้เซลล์มะเร็งขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นในการสร้างโปรตีนและตายในที่สุด ส่วนเซลล์ปกติสามารถสร้าง asparagine เองได้ จึงแบ่งเซลล์ได้ตามปกติ (Goodsell, 2005) จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ รวมทั้งแอสคิตโนแบคทีเรีย และเนื่องจากในปัจจุบันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่มีปฏิกิริยาแตกต่างจากเดิม แต่ให้ผลการรักษาแบบเดียวกันนั้นยังเป็นที่ต้องการ จึงมีการค้นหาแอสคิตโนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่จากแหล่งต่างๆ มากขึ้น (ปวีณา และคณะ, 2555)

ในด้านอุตสาหกรรมได้ศึกษาของกลุ่มของเอนไซม์ที่ใช้ในการช่วยย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการย่อยสลายส่วนประกอบของพืชและสัตว์ที่ทนทานต่อการย่อยสลาย เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และไคติน ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากแอสคิตโนแบคทีเรียสำหรับผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญในทางอุตสาหกรรม เช่น การใช้แอสคิตโนแบคทีเรียสกุล *Streptomyces* ผลิตเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสลายเซลลูโลส และเอนไซม์ไฮโดรไลสสำหรับการย่อยสลายไฮโดรไลส ซึ่งเอนไซม์สามารถทำงานที่อุณหภูมิสูงเพื่อประโยชน์ในการผลิตน้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีราคาถูก (Sunna and Antranikian, 1997; Sukumaran *et al.*, 2005)

ในทางการเกษตรมีการใช้แอสคิตโนแบคทีเรียในการผลิตสารฆ่าแมลงและสารฆ่าวัชพืช เช่น การใช้แอสคิตโนแบคทีเรียสกุล *Streptomyces* ในการควบคุมศัตรูพืชและควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชที่เกิดกับรากและเมล็ด (Jeffrey *et al.*, 2007) ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยและค้นพบว่าแอสคิตโนแบคทีเรียสามารถต่อต้านเชื้อราที่ก่อโรคที่อยู่ในดิน ซึ่งการค้นพบนี้จึงอาจนำไปสู่การใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชได้ในอนาคต จากการค้นพบข้างต้นทำให้แอสคิตโนแบคทีเรียจึงเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติต่อวงการแพทย์และยา เกษตรกรรม และอุตสาหกรรม รวมถึงต่อวัฏจักรของระบบนิเวศอีกด้วย (ทนายาท และคณะ, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 การทดสอบฤทธิ์ต้านทานทางชีวภาพ

เนื่องจากเชื้อก่อโรคในปัจจุบันความต้านทานต่อยากำลังเพิ่มขึ้น และมีการค้นพบพัฒนาสายพันธุ์ที่ลดลงอย่างมาก ดังนั้นจึงมีความต้องการยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ เพื่อต่อสู้กับแบคทีเรีย สายพันธุ์ที่ทนต่อยาปฏิชีวนะที่ทำให้เกิดโรค ดังนั้นการค้นพบยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ แอคติโนแบคทีเรียซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่พบในดินจึงถูกเรียกว่าเป็นยุคในการวิจัยยาปฏิชีวนะเนื่องมาจากยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ที่มีความซับซ้อนมากเกินไปที่จะสังเคราะห์ด้วยสารเคมีเชิงซ้อนเพราะฉะนั้นแอคติโนแบคทีเรียจึงเป็นผู้ผลิตยาปฏิชีวนะที่อุดมสมบูรณ์ที่สุด จากยาปฏิชีวนะกว่า 80,000 ชนิด ที่บันทึกในฐานข้อมูลยาปฏิชีวนะ (ABL database) พบว่าได้มาจาก *Streptomyces* 45.6% และแอคติโนแบคทีเรียหายาก 16% (Sonashia and Kamat, 2011) ซึ่งมีวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ เช่น แบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียแกรมบวก และยีสต์ โดยใช้วิธี Modified cross-streak ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบเบื้องต้นที่ได้รับการพัฒนามาเพื่อช่วยในการวัดผลได้ง่ายและวินิจฉัยว่ามีฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะอยู่หรือไม่ ซึ่งพบว่าสายพันธุ์ แอคติโนแบคทีเรีย ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะได้ดีที่สุด ก็คือ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ MMA-5, *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ MMA-2 และ *Micromonospora* sp. สายพันธุ์ MMA-8 ซึ่งมีความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพแบบกว้างๆ ได้มากที่สุด (Sonashia and Kamat, 2011)

เชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* และ *Xanthomonas campestris* pv *campestris* และ ยีสต์ *Candida utilis* และรวมทั้ง พืชและเชื้อก่อโรคของมนุษย์ชนิดต่างๆ โดยการใช้วิธีทดสอบแบบ Modified cross-streak โดยขีดเชื้อแอคติโนแบคทีเรียตั้งต้นแล้วบ่มเป็นเวลา 6 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นขีดเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบตามแนวขวางแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสบ่มจนเชื้อทดสอบโตจากนั้นสังเกตขอบเขตของการยับยั้ง (Okudoh and Wallis, 2007)

2.10.1 การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเทคนิค Agar disc diffusion

การทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ โดยวิธีการ Disc diffusion เป็นเทคนิคมาตรฐานที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน และเป็นที่ยอมรับและแนะนำโดยองค์การอนามัยโลก เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถปฏิบัติได้ง่าย สะดวก ประหยัด และรวดเร็ว รวมทั้งสามารถให้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำ (Biemer, 1973)

วิธี Disc diffusion (Kirby-Bauer) เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ ไม่อาจทราบค่า MIC หรือ MLC ได้ ไม่เหมาะในการทดสอบเชื้อที่เจริญช้า และเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ หลักการทั่วไปคือ ใช้หลักการแพร่โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีในแผ่นกระดาษกรอง (Paper disc) ที่เตรียมไว้ก่อน ซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ได้กระจายเชื้อ (Spread) ในจำนวนที่เหมาะสมไว้ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสไม่มีโคโลนีเชื้อรอบๆ แผ่น disc ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแปรตามขนาดของ inhibition zone นอกจากขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบแล้วยังอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของสารสกัด ความสามารถในการละลายหรือซึ่มไปในอาหารเลี้ยงเชื้อของสารสกัด อัตราการเจริญของเชื้อ ภาวะความเป็นกรด-ด่าง และส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดจนระยะเวลาในการเพาะเชื้อ (ประสาทรพ และคณะ, 2551)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ

3.1.1 ตู้ปลอดเชื้อ (Lamina flow)	รุ่น 120 BS ยี่ห้อ Super clean, Major scientific Thailand
3.1.2 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)	รุ่น ES-315 ,ยี่ห้อ TOMY, JAPAN
3.1.3 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)	รุ่น Starter 3000 ยี่ห้อ OHAUS, USA
3.1.4 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง	รุ่น GF-800 ยี่ห้อ AND , Japan
3.1.5 เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน	ยี่ห้อ HEIDOLPH, Germany
3.1.6 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง UV-1201V (Spectrophotometer)	ยี่ห้อ SHIMADZU1
3.1.7 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	รุ่น 110 บริษัท Memmert, Germany
3.1.8 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)	รุ่น 1300 ยี่ห้อ Contherm, NewZealand
3.1.9 เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex mixer)	รุ่น Vortex-genie 2, 230v-g560e บริษัท Scientific industries, USA
3.1.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)	รุ่น Z 383 K, Germany
3.1.11 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)	รุ่น CH30 ยี่ห้อ Olympus, Japan
3.1.12 ตู้บ่มแบบเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker)	ยี่ห้อ Gallenkamp, UK
3.1.13 โถดูดความชื้น (Desiccator)	
3.1.14 เครื่องกรองสูญญากาศ	บริษัท GE Motor&industrial system รุ่น G588DX
3.1.15 เครื่องไมโครเวฟ	รุ่น R-250 sharp, Thailand
3.1.16 ตู้แช่เย็น	รุ่น SYC-120P, Sanden intercool, TH
3.1.17 ตู้แช่แข็ง - 20°C	รุ่น SF-PC697 ยี่ห้อ Panasonic, TH
3.1.18 เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary Evaporator)	ยี่ห้อ HEIDOLPH, Germany

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์

- 3.2.1 ซ้อนสแตนเลส
- 3.2.2 กระจกวัดความเป็นกรด-ด่าง
- 3.2.3 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ
- 3.2.4 ซ้อนตักสาร
- 3.2.5 ปีกเกอร์
- 3.2.6 กระจกบอกลง
- 3.2.7 ปีเปต
- 3.2.8 ลูกยาง
- 3.2.9 แท่งแก้วคนสาร
- 3.2.10 แท่งแก้วรูปตัวแอล
- 3.2.11 หลอดหยดสาร
- 3.2.12 ขวดฉีดย้ำกลั่น
- 3.2.13 หลอดทดลองและฝาปิด
- 3.2.14 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.2.15 ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
- 3.2.16 Loop
- 3.2.17 Needle
- 3.2.18 Appendorph
- 3.2.19 Centrifuge tube
- 3.2.20 Forcep
- 3.2.21 แผ่นสไลด์และกระจกปิดสไลด์
- 3.2.22 สำลีและผ้าก๊อช
- 3.2.23 มีดผ่าตัด
- 3.2.24 ขวดรูปชมพู่
- 3.2.25 Auto pipette
- 3.2.26 Tip
- 3.2.27 ขวดปรับปริมาตร
- 3.2.28 กรวยแยก
- 3.2.29 ไม้พันสำลี
- 3.2.30 Paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
- 3.2.31 Vernier caliper
- 3.2.32 กระจกชั่ง Whatman เบอร์ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.2.33 ขวดฉีตแอลกอฮอล์
- 3.2.34 ขวดดูแรน
- 3.2.35 กระดาษทิชชู
- 3.2.36 กระดาษซังสาร
- 3.2.37 กระดาษฟอยล์
- 3.2.38 ชุดกรองสุญญากาศ (Vacuum filter set)
- 3.2.39 ที่รองกรวยแยกสาร
- 3.2.40 ขาดั่ง

3.3 สารเคมี

- | | |
|--|----------------------|
| 3.3.1 วุ้น (Agar) | บริษัท Bio Agar |
| 3.3.2 แป้งที่ละลายน้ำได้ (Soluble starch) | บริษัท Srichem |
| 3.3.3 โพแทสเซียมไนเตรท
(KNO ₃) MW 101.11 g/mol | บริษัท Fluka |
| 3.3.4 โซเดียมคลอไรด์
(NaCl) MW 58.44 g/mol | บริษัท Univar |
| 3.3.5 เคซีน (Casein) | บริษัท Fluka |
| 3.3.6 แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต
(MgSO ₄ • 7H ₂ O) MW 246.4746 g/mol | บริษัท Univar |
| 3.3.7 แคลเซียมคาร์บอเนต
(CaCO ₃) MW 100.0869 g/mol | บริษัท Carlo erba |
| 3.3.8 เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต
(FeSO ₄ • 7H ₂ O) MW 278.0146 g/mol | บริษัท Fluka |
| 3.3.9 สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) | บริษัท Scharlau |
| 3.3.10 สารสกัดจากมอลต์ (Malt extract) | บริษัท Himedia |
| 3.3.11 เปปโทน (Peptone) | บริษัท Srichem |
| 3.3.12 น้ำตาลกลูโคส (Glucose)
MW 180.1559 g/mol | บริษัท Fluka |
| 3.3.13 หางนมผง (Skim milk powder) | บริษัท Himedia |
| 3.3.14 เคซีนเอนไซมอดิกไฮโดรไลเซท | บริษัท Himedia |
| 3.3.15 เจลาติน (Gelatin) | บริษัท Ajax Finechem |
| 3.3.16 ไทโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
(K ₂ HPO ₄) MW 174.18 g/mol | บริษัท Univar |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.17 แอมโมเนียมซัลเฟต บริษัท Merck
(NH₄)₂SO₄ MW 132.14 g/mol
- 3.3.18 แมงกานีสคลอไรด์เฮปตะไฮเดรต บริษัท Univar
(MnCl₂ • 4H₂O) MW 197.90 g/mol
- 3.3.19 ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต บริษัท Fluka 34
(ZnSO₄ • 7H₂O) MW 287.54 g/mol
- 3.3.20 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ บริษัท Fisher
(NaOH) MW 40 g/mol
- 3.3.21 กลีเซอรอล
(C₃H₈O₃) MW 92.0938 g/mol
- 3.3.22 เอทิล อะซิเตท
MW 88.1051 g/mol
- 3.3.23 แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์
- 3.3.24 กรดไฮโครคลอริก
- 3.3.25 สารละลายแกรมไอโอดีน
- 3.3.26 สารละลาย N, N-dimethyl-L-naphthylamine
- 3.3.27 สารละลายกรดซัลฟานิลิก
- 3.3.28 Nystatin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.3.29 สารละลายเมทิลีนบลู
- 3.3.30 สารละลายมาตรฐาน Mcfarland No.5
- 3.3.31 น้ำกลั่น

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.4.1 Starch-Casein agar (SCA)
- 3.4.2 Yeast extract-Malt extract agar (YEME agar)
- 3.4.3 Yeast extract-malt extract broth (YEME broth)
- 3.4.4 International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP medium no. 2)
- 3.4.5 Inorganic salts starch agar (ISP medium no.4)
- 3.4.6 Bouillon gelatin broth
- 3.4.7 Peptone KNO₃ broth
- 3.4.8 Peptonization and Coagulation test medium
- 3.4.9 Skim milk agar
- 3.4.10 Mueller-Hinton agar (MHA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.11 Sabourand dextrose agar (SDA)

3.4.12 Glucose yeast extract agar (GYE)

3.5 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

3.5.1 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

3.5.1.1 *Bacillus subtilis* ATCC 6633

3.5.1.2 *Escherichia coli* ATCC 25922

3.5.1.3 *Micrococcus luteus* TISTR 2374

3.5.1.4 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

3.5.1.5 *Staphylococcus aureus* TISTR 118

3.5.2 ยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบ

3.5.2.1 *Candida albicans* ATCC 90028

3.6 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.6.1 การเก็บตัวอย่างดิน (จิตติ, 2557)

เลือกจุดที่จะเก็บตัวอย่างดินจากป่าชายเลนธรรมชาติ ตำบลบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ในบริเวณที่ไม่มีขยะ หรือเศษกิ่งไม้ ทำการเก็บตัวอย่างจำนวน 10 จุด แบ่งออกเป็นป่าโกงกาง 5 จุด และป่าแสม 5 จุด ทำการขุดลึกลงจากผิวดิน 2-3 เซนติเมตรโดยแต่ละจุดเก็บตัวอย่างดินประมาณ 100 กรัม วัดความเป็นกรดต่างของดิน ณ จุดเก็บด้วย pH meter จดบันทึกค่า และลักษณะของดิน จากนั้นนำตัวอย่างดินที่เก็บมา แบ่งใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว หรือถาดสะอาด ตากทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่ร่มเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้ตัวอย่างดินแห้งสนิท

3.6.2 การเพาะเลี้ยง การแยก และการเก็บรักษาเชื้อแอคติโนมัยซีท (เกศแก้วกัลยา และคณะ, 2555)

นำตัวอย่างดินที่ตากไว้จนแห้ง มาอบด้วยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปบด จากนั้นชั่งดินมา 1 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี 0.1% tween 80 ปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer กำหนดระดับความเจือจาง 10^{-1} ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ให้ดินตกตะกอนจากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างในน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีระดับความเจือจางจนถึง 10^{-5} ด้วย 0.1% Basic Lauryl Sulfate โดยที่ 10^{-2} ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ที่ 10^{-3} ถึง 10^{-5} ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นจุดสารละลายตัวอย่างตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} มา 0.1 มิลลิลิตร มาทำการ spread plate ลงบนอาหาร SCA (Starch casein agar) (Kuster and Williams, 1964) ซึ่งเติม Nystatin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวน 2 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แล้วเช็คดูการเจริญของเชื้อที่แยกได้ทุกสัปดาห์

นำตัวอย่างเชื้อในอาหารที่ได้มาทำการแยกเชื้อเพื่อให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยว ด้วยเทคนิคการ Cross streak ลงบนอาหาร SCA (Starch casein agar) ที่เติม Nystatin ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เมื่อแยกได้โคโลนีเดี่ยวๆ แล้วทำการถ่ายเชื้อ (Subculture) ลงบนหลอดอาหารเลี้ยง SCA (Starch casein agar) ที่ไม่ใส่ยาปฏิชีวนะ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญเต็มที่เก็บไว้สำหรับทำการทดลองในขั้นต่อไป และทำการกำหนดหมายเลขไอโซเลท

3.6.3 การหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน (วสุ, 2554)

3.6.3.1 การหาน้ำหนักดิน

นำตัวอย่างดินที่ความเจือจางที่ 10^{-1} จากจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมด 10 จุด ใส่ปิเปตเจอร์ที่ทราบน้ำหนัก นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำระเหยแห้งจนหมด และดินมีน้ำหนักคงที่จากนั้นคำนวณหาน้ำหนักของดินหลังอบที่หายไป

3.6.3.2 การหาปริมาณความชื้น

ชั่งตัวอย่างดินมา 1-2 กรัม ใส่ลงในปิเปตเจอร์ที่ทราบน้ำหนัก และนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักของดินคงที่ จากนั้นนำไปคำนวณหาปริมาณความชื้นในดินตัวอย่างจากน้ำหนักที่หายไป

3.6.3.3 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

ชั่งตัวอย่างดินมาประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในปิเปตเจอร์ที่ทราบน้ำหนัก เติมน้ำกลั่นลงไปทีละน้อย โดยคนตัวอย่างไปด้วย จนกระทั่งสังเกตเห็นแผ่นฟิล์มบางๆ บริเวณผิวหน้า (ทิ้งไว้ประมาณ 30-1 ชั่วโมง) จึงทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยจะต้องทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง รายงานผลในรูปของค่าเฉลี่ยจากการวัดทั้ง 3 ครั้ง

3.6.4 การเตรียม Spore suspension (Klanbut, 2013)

เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงบนอาหารที่เพาะเลี้ยงแอสเพอร์จิลลินัมที่เจริญเต็มที่แล้วทุกไอโซเลท ลงบนอาหาร SCA (Starch casein agar) หลังจากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ ทำการขูดเอาสปอร์บริเวณผิวหน้าอาหารจนทั่ว แล้วจึงเทลงในหลอด centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้สปอร์เกิดการแตกหักออกจากกัน หลังจากนั้นนำไปกรองผ่านสำลีฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อกรองเอาส่วนของอาหารที่อาจจะติดมากับสปอร์ออกไป และนำส่วนที่กรองได้เทลงในหลอด centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตรหลอดใหม่ จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงเทส่วนใสทิ้งไป จากนั้นทำการ resuspension สปอร์ด้วยกลีเซอรอล 20% (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใน appendorph และนำสปอร์ที่ได้ไปเก็บรักษาไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำเป็น stock culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า .
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อ (Morphological and cultural characteristics)

การตรวจลักษณะการเจริญของเชื้อ ทำโดยเลี้ยงบนอาหารทดสอบ SCA (Starch casein agar) จากนั้นตรวจดูลักษณะการเจริญของเชื้อ สีของเส้นใยอาหารหรือเส้นใยอากาศ และการสร้างสีรงควัตถุที่เชื้อสร้าง โดยเทียบกับระดับสีมาตรฐาน ISCC-NBS centroid color chart (Lee *et al.*, 2014)

หลังจากศึกษาลักษณะเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศแล้ว จึงใช้เทคนิค slide culture เลี้ยงเชื้อบนอาหาร YEME (Yeast extract-Malt extract) เพื่อทำการตรวจลักษณะสปอร์และเส้นสายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีเลนส์ชนิดพิเศษและถ่ายรูปสปอร์ (เกษตรแก้วกัลยา และคณะ, 2555)

3.6.6 การตรวจสอบลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ (Biochemical and physiological characteristics) (ชลธิชา และคณะ, 2553 และคณิงกานต์, 2558)

3.6.6.1 การย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis)

เลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทบนอาหาร Inorganic salt-starch agar (ISP4) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ตรวจผลโดยเติมสารละลายแกรมไอโอดีน ลงบนอาหารที่เลี้ยงเชื้อไว้ บันทึกผลเป็น

- + เมื่อมีการย่อยสลายแป้งเกิดขึ้น จะเกิดบริเวณใสรอบๆ โคโลนีที่เชื้อขึ้น
- เมื่อไม่มีการย่อยแป้งเกิดขึ้น

3.6.6.2 การย่อยสลายและการตกตะกอนโปรตีนนม (Coagulation and Peptonization)

การย่อยโปรตีนในนม นำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาขีดลงบนอาหาร Skim milk agar จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน บันทึกผลเป็น

- + เมื่อมีการย่อยโปรตีนในนม เกิด clear zone รอบบริเวณที่ขีดเชื้อ
- เมื่อไม่มีการย่อยโปรตีนในนม ไม่เกิด clear zone รอบบริเวณที่ขีดเชื้อ

และการตกตะกอนโปรตีนนม นำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาจำนวน 1 ลูบ ลงในอาหาร Skim milk จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน บันทึกผลเป็น

- + เมื่อมีการตกตะกอนโปรตีนที่ก้นหลอด บริเวณผิวหน้าจะค่อนข้างใส ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน
- เมื่อไม่มีการตกตะกอนโปรตีนที่ก้นหลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.6.3 การย่อยสลายเจลาติน (Gelatinization)

เลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทในอาหาร Bouillon gelatin broth จากนั้นจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ตรวจสอบผลโดยการนำหลอดทดลองที่เลี้ยงเชื้อไปแช่เย็นที่ช่อง freezer เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเปรียบเทียบกับหลอดที่ไม่ได้ใส่เชื้อ (Control) บันทึกผลเป็น

- + เมื่อมีการย่อยเจลาติน จะไม่เกิดการแข็งตัว
- เมื่อไม่มีการย่อยเจลาติน

3.6.6.4 การย่อยสลายไนเตรต (Nitrate reduction)

เลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทในอาหาร Peptone nitrite broth จากนั้นจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ตรวจสอบผลโดยการเติมสารละลายกรดซัลฟานิลิก 2 หยด และสารละลาย เอ็นเอ็น-ไดเมทิล-แอล-แนฟโธลามีน 3 หยด บันทึกผลเป็น

- + เมื่อมีการย่อยไนเตรต สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูจนถึงสีแดงส้ม
- เมื่อไม่มีการย่อยไนเตรต ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

3.6.7 Spore germination (Klanbut, 2013 and Kieser *et al.*, 2000)

เลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทจำนวน 1 หลบ ใส่ลงในอาหาร Yeast extract-Malt extract (YEME) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 2 ฟลาสก์ บ่มแบบเขย่าที่ 230 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บผลทุกๆ 1 ชั่วโมง โดยการสุ่มตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นสไลด์จำนวน 1 มิลลิลิตร และทำเทคนิค wet mount นำมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูการงอกของสปอร์

3.6.8 Spore pre-germination และการ Inoculation (Klanbut, 2013)

เลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทจำนวน 1 หลบ ใส่ลงในอาหาร Yeast extract-Malt extract (YEME) 25 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร บ่มแบบเขย่าที่ 230 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง (จากการทดลองที่ 3.6.7) เมื่อครบเวลาแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วแยกส่วนใส (Supernatant) ทิ้งไป และนำตะกอนเซลล์ที่ปั่นเหวี่ยงได้มาเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย spectrophotometer ที่ 450 นาโนเมตร

คำนวณค่าความเข้มข้นของสปอร์เพื่อทราบปริมาณของสปอร์เริ่มต้นที่เท่ากัน คือ 3×10^6 pre-germinated spores (gs) ในการ inoculate ลงในอาหารเหลวต่อไป โดยคำนวณจากสูตร

$$\begin{aligned} C &= \left(\frac{OD_{450}}{0.04} \right) \times (4 \times 10^6) \text{ gs mL}^{-1} \\ &= OD_{450} \times 10^8 \text{ gs mL}^{-1} \\ V &= (3 \times 10^6 / C) \times 1000 \text{ }\mu\text{L} \end{aligned}$$

โดยแอคติโนมัยซีทแต่ละไอโซเลทจะถูกเลี้ยงในอาหาร International *Streptomyces* Project (ISP2) เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเพื่อศึกษาสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมในการเจริญ โดยให้ปริมาตรเชื้อตั้งต้นของแต่ละพลาสติกมีปริมาตรเท่ากันคือ 3×10^6 spore pre-germination และเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน คือ บ่มแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 230 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บผลการทดลองทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หาน้ำหนักเซลล์แห้งโดยกรองเซลล์แอคติโนมัยซีท 25 มิลลิลิตร ผ่านกระดาษกรอง whatman no.1 ที่ผ่านการอบฆ่าที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และชั่งกระดาษกรอง จากนั้นนำกระดาษกรองที่มีเซลล์แอคติโนมัยซีทไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักรวม และหาน้ำหนักเซลล์แห้งต่อไป

วัดการเจริญโดยการวัดค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยนำค่าน้ำหนักเซลล์แห้งในช่วง log phase มาคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate : μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time : t_d) จากสูตร

$$\begin{aligned} \text{Specific growth rate } (\mu) &= \frac{\ln\left(\frac{x_2}{x_1}\right)}{T_2 - T_1} \\ \text{Doubling time } (t_d) &= \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0.693}{\mu} \end{aligned}$$

โดยที่ X_1 = ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเริ่มต้นของช่วง log phase
 X_2 = ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงสุดท้ายของช่วง log phase
 T_1 = ชั่วโมงที่ทำการเพาะเลี้ยงเริ่มต้นของช่วง log phase
 T_2 = ชั่วโมงที่ทำการเพาะเลี้ยงสุดท้ายของช่วง log phase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.9 การศึกษาอัตราการเจริญในสภาวะที่เหมาะสมของเชื้อแอสคิตินมัยซีทในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2)

คัดเลือกเชื้อแอสคิตินมัยซีทโดยใช้ลักษณะทางชีวเคมี คือความสามารถในการย่อยแป้ง เลือกลำโพงที่สามารถย่อยแป้งได้ดีที่สุด (จากการทดลองที่ 3.6.6.1) จำนวน 1 ลำโพง จากนั้นนำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมดังนี้

การทดลองที่ 1 การเจริญที่ระดับความเป็นกรด-ด่างต่างๆ (ชลธิชา และคณะ, 2553)

เลี้ยงเชื้อแอสคิตินมัยซีทในอาหารเหลว ISP2 ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็น 7, 8, 9 และ 10 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เก็บผลการทดลองทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยการหาค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง

การทดลองที่ 2 การเจริญบนอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่างๆ (ชลธิชา และคณะ, 2553)

เลี้ยงเชื้อแอสคิตินมัยซีทในอาหารเหลว ISP2 ที่ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เก็บผลการทดลองทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยการหาค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง

การทดลองที่ 3 การเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ (ชลธิชา และคณะ, 2553)

เลี้ยงเชื้อแอสคิตินมัยซีทในอาหารเหลว ISP2 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส เก็บผลการทดลองทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยการหาค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง

3.6.10 การทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยวิธี Modified cross-streak (กรกช และคณะ, 2556)

ทำการขีดเชื้อแอสคิตินมัยซีทเป็นเส้นตรงแนวยาวจากขอบหนึ่งไปยังอีกขอบหนึ่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose yeast extract agar (GYE) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน เพื่อให้เชื้อผลิตสารทุติยภูมิ และแพร่เข้าสู่เนื้อวุ้น จากนั้นทำการทดสอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028 โดยลากเชื้อทดสอบให้ตัดกับแนวของเชื้อแอสคิตินมัยซีทแล้วบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 1 วัน ตรวจสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบ โดยวัดระยะทางจากขอบฐานของเชื้อจนถึงระยะที่เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบสามารถเจริญได้ จากการทดสอบนี้จะสามารถคัดเลือกเชื้อในเบื้องต้นที่สามารถผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.11 การทดสอบกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion (สุภลักษณ์ และคณะ, 2554)

3.6.11.1 การเตรียมหัวเชื้อและการเพาะเลี้ยงเชื้อแอสคิโนมัยซีท

ทำการ cấyเชื้อแอสคิโนมัยซีทจำนวน 1 ลูกปใส่ลงในอาหาร Yeast extract-Malt extract (YEME) บ่มไว้ในสภาวะเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นเติม 0.1% CaCO₃ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มเลี้ยงต่อไว้ในสภาวะเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

3.6.11.2 การสกัดสารทุติยภูมิจากน้ำหมักเชื้อแอสคิโนมัยซีท

นำน้ำหมักเชื้อแอสคิโนมัยซีทที่ได้จากข้อ 3.6.11.1 มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 เพื่อแยกเอาเส้นใยของเชื้อแอสคิโนมัยซีทออกจากอาหารเหลว จากนั้นนำส่วนของน้ำหมักที่ปราศจากเส้นใยมาทำการสกัด โดยใช้เอทิลอะซีเตตเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ โดยทำการเติมลงไปอัตราส่วน 1:1 (v/v) ซึ่งในส่วนบนของเอทิลอะซีเตตที่มีสารมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์จะแยกตัวออกจากส่วนของน้ำหมัก จากนั้นนำไประเหยให้แห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะทำให้ได้สารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซีเตต และนำสารสกัดที่ได้ไปทำการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ส่วนเซลล์และเส้นใยที่ติดอยู่บนกระดาษกรองนำมาทำการล้างด้วยน้ำกลั่นและเติมเมทานอลประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มต่อในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 เพื่อแยกเอาเส้นใยของเชื้อแอสคิโนมัยซีทและเมทานอลออกจากกัน นำไประเหยให้แห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ทำให้ได้สารสกัดหยาบในชั้นเมทานอลมา จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion

3.6.11.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ (ดุขฎี และคณะ, 2555)

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028 ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (Normal saline) ที่ปราศจากเชื้อ แล้วปรับให้มีความเข้มข้นเท่ากับสารละลายมาตรฐานแมคฟาแลน หมายเลข 0.5 ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ 1.0×10^8 CFU/ml

3.6.11.4 การเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบ (ชลธิชา และคณะ, 2553)

เตรียมอาหาร Mueller's hinton agar (MHA) สำหรับอาหารที่ใช้ในการทดสอบเลี้ยงแบคทีเรีย และเตรียมอาหาร Sabourand's agar (SDA) เป็นอาหารสำหรับใช้เลี้ยงเชื้อทดสอบยีสต์ โดยทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ จากนั้นเทลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร วนจานเพาะเชื้อให้อาหารกระจายทั่วแล้วทิ้งไว้ให้แห้งตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.11.5 การทดสอบฤทธิ์ด้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion (ดุชฎี และคณะ, 2555)

ใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (Sterile swab) ชุบเชื้อแขวนลอยที่เตรียมไว้ในข้อ 3.6.11.3 แล้วทา (Swab) ลงบนอาหารแข็งข้อ 3.6.11.4 ให้ทั่วด้วยวิธีปลอดเชื้อ (Aseptic technique) เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบจากข้อ 3.6.11.2 ที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นทดสอบปริมาตร 20 ไมโครลิตร และวางลงบนอาหารที่ swab เชื้อไว้แล้ว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรีย ส่วนเชื้อยีสต์บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง การทดสอบนี้อาศัยหลักการแพร่ของสาร ซึ่งสารสกัดจะแพร่ออกกระจายตัวรอบแผ่นทดสอบ หากมีสารสกัดฤทธิ์ยับยั้ง จะเกิดวงใสรอบแผ่นทดสอบ ตรวจสอบผลการทดสอบได้ด้วยการวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสจากด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งในหน่วยที่เป็นมิลลิเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน

จากการเก็บตัวอย่างดินป่าชายเลนบริเวณโรงเรียนบวรวิทย์วิทยาน ตำบลบางปะกง จังหวัด ฉะเชิงเทรา โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทั้งหมด 10 ตำแหน่ง นำมาหาสมบัติทางกายภาพบางประการ ของตัวอย่างดิน ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.3 พบว่า ปริมาณของน้ำหนักดิน (กรัม), ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง ได้ผลแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน

จุดเก็บตัวอย่างดิน	น้ำหนักดิน (g)	ปริมาณความชื้น (%)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
จุดที่ 1	0.554	50.43%	7.59
จุดที่ 2	0.683	57.90%	7.12
จุดที่ 3	0.566	52.04%	7.78
จุดที่ 4	0.742	50.22%	7.70
จุดที่ 5	0.853	49.44%	7.71
จุดที่ 6	0.597	49.12%	7.59
จุดที่ 7	0.643	50.21%	7.43
จุดที่ 8	0.671	49.07%	7.17
จุดที่ 9	0.754	51.04%	7.82
จุดที่ 10	0.592	50.63%	7.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท

จากการเก็บตัวอย่างดินป่าชายเลนบริเวณโรงเรียนบวรวิทยายน ตำบลบางปะกง จังหวัด ฉะเชิงเทรา โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทั้งหมด 10 ตำแหน่ง ดังตารางที่ 4.1 นำมาคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.2 จนได้เชื้อบริสุทธิ์จำนวน 34 ไอโซเลท แสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 หมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จำนวน 34 ไอโซเลท

จุดเก็บตัวอย่างดิน	หมายเลขไอโซเลท
จุดที่ 1	BBA 1212, BBA 2012, BBA 3612, BBA 4212, BBA 4312
จุดที่ 2	BBA 4722
จุดที่ 3	BBA 1732, BBA 4133
จุดที่ 4	BBA 643, BBA 1143
จุดที่ 5	BBA 153, BBA 853, BBA 1453, BBA 2453, BBA 4652
จุดที่ 6	BBA 362, BBA 462, BBA 1062, BBA 2962
จุดที่ 7	BBA 1872, BBA 2574
จุดที่ 8	BBA 1583, BBA 1983, BBA 2383, BBA 3983
จุดที่ 9	BBA 4893
จุดที่ 10	BBA 5103, BBA 7104, BBA 21103, BBA 22104, BBA 26105, BBA 32103, BBA 35105, BBA 40102

หมายเหตุ :
 ตัวหนังสือ คือ ตัวอักษรแรกของชื่อเล่นของสมาชิกในกลุ่ม
 ตัวเลขตัวแรก คือ ลำดับไอโซเลท
 ตัวเลขตัวที่สอง คือ จุดที่เก็บตัวอย่างดิน
 ตัวเลขสุดท้าย คือ ความเงาของสารละลายดินที่ใช้ในการ spread plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท

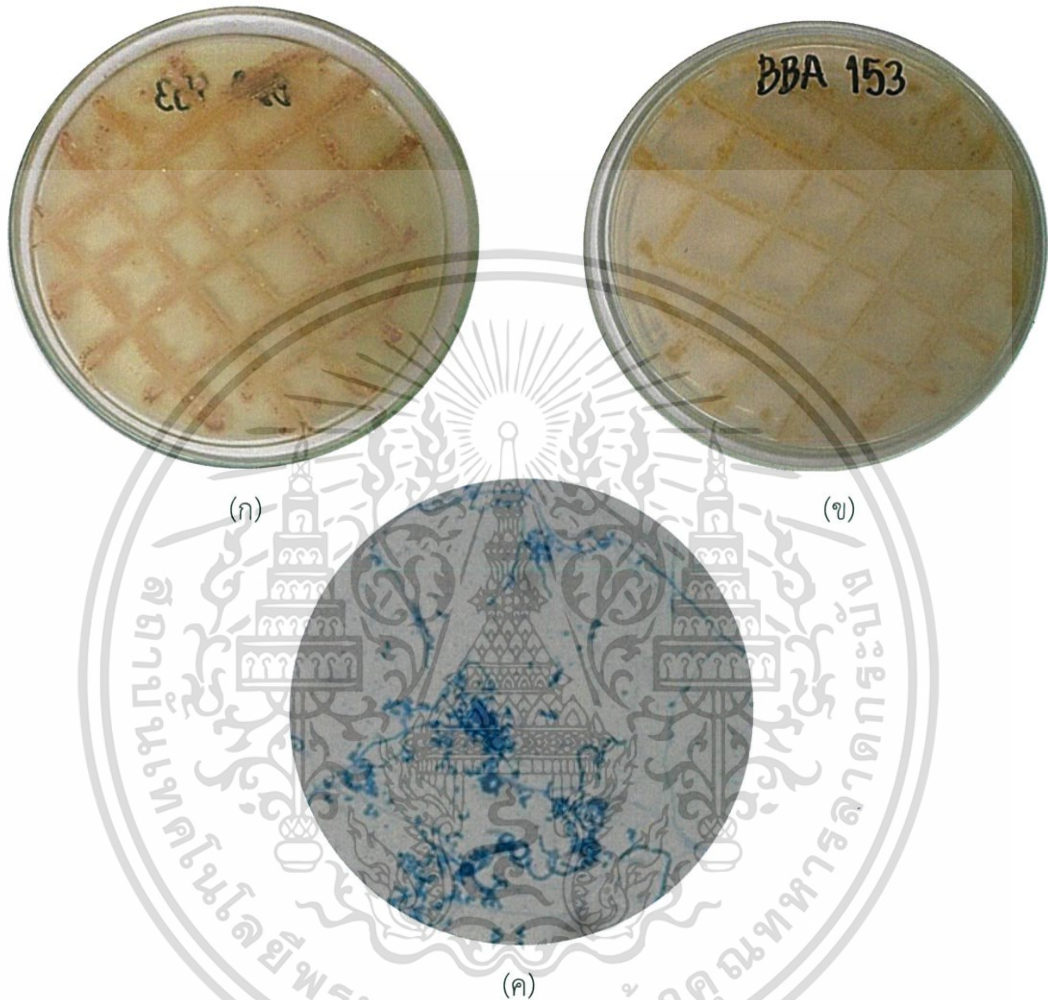
4.3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท

สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้ สีของ aerial mycelium สีของ substrate mycelium และรงควัตถุที่ละลายน้ำได้โดยเทียบกับกระดาษเทียบสีมาตรฐาน (The NBs/IBCC color system) ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.5 และทำการตรวจดูลักษณะของเส้นใยและสปอร์ของแอกติโนมัยซีท โดยวิธีการ Slide culture (ภาคผนวก ข) ซึ่งจะช่วยให้เห็นลักษณะของเส้นใยและการเรียงตัวของสปอร์ที่แท้จริงชัดเจนและสมบูรณ์ และทำการส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงพบว่า ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท BBA 153 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Dark Yellowish Pink และ substrate mycelium สี Brilliant Orange Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ สี Pale Yellow และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท BBA 153

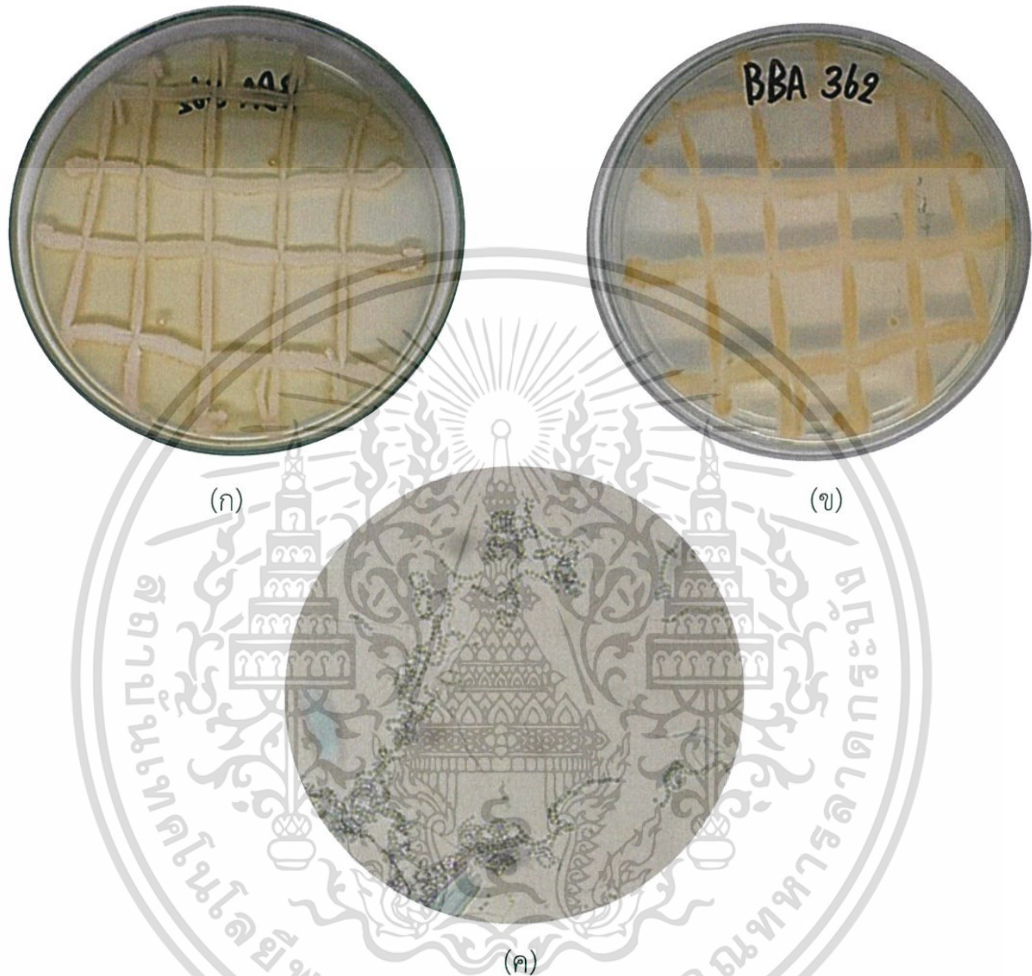
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท BBA 153 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท BBA 153 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสเพอร์จิลลินที่ไอโซเลท BBA 362 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Yellowish White และ substrate mycelium สี Light Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexbiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสเพอร์จิลลินที่ไอโซเลท BBA 362

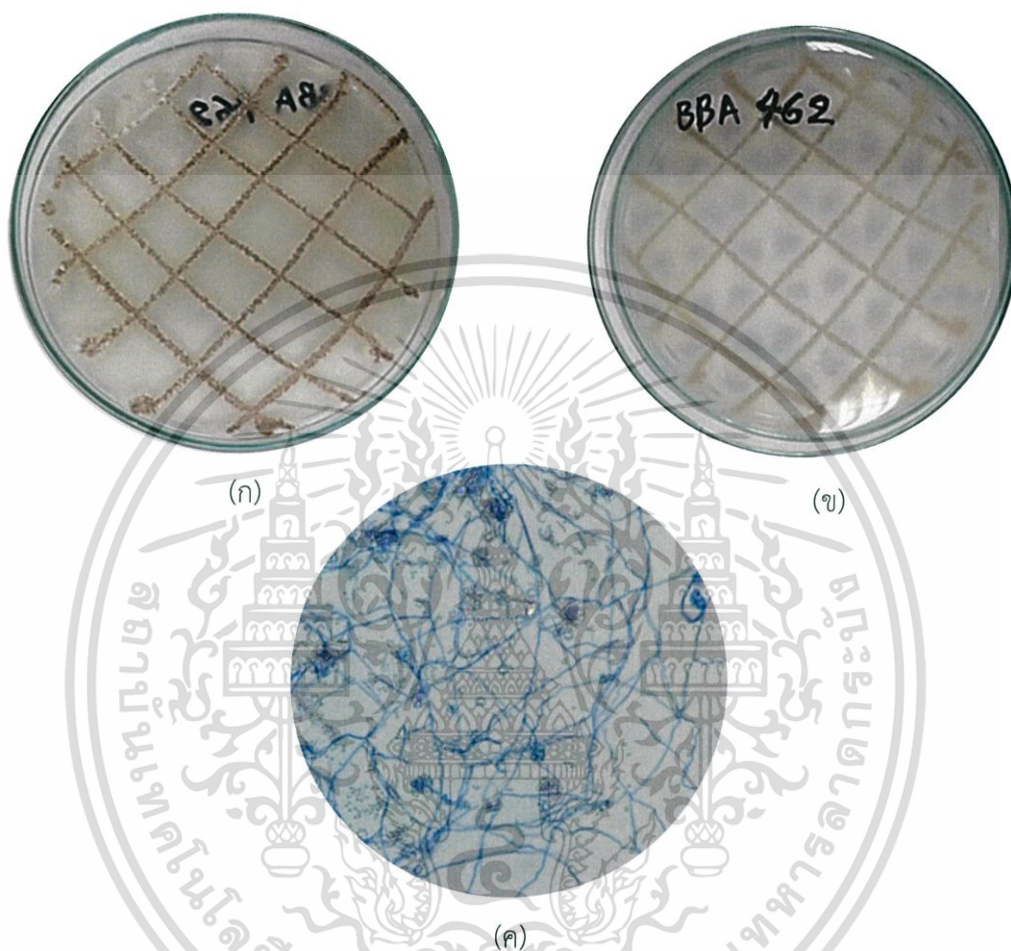
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินที่ไอโซเลท BBA 362 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินที่ไอโซเลท BBA 362 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 462 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Brown และ substrate mycelium สี Light Grayish Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Retinaculiaperti บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)

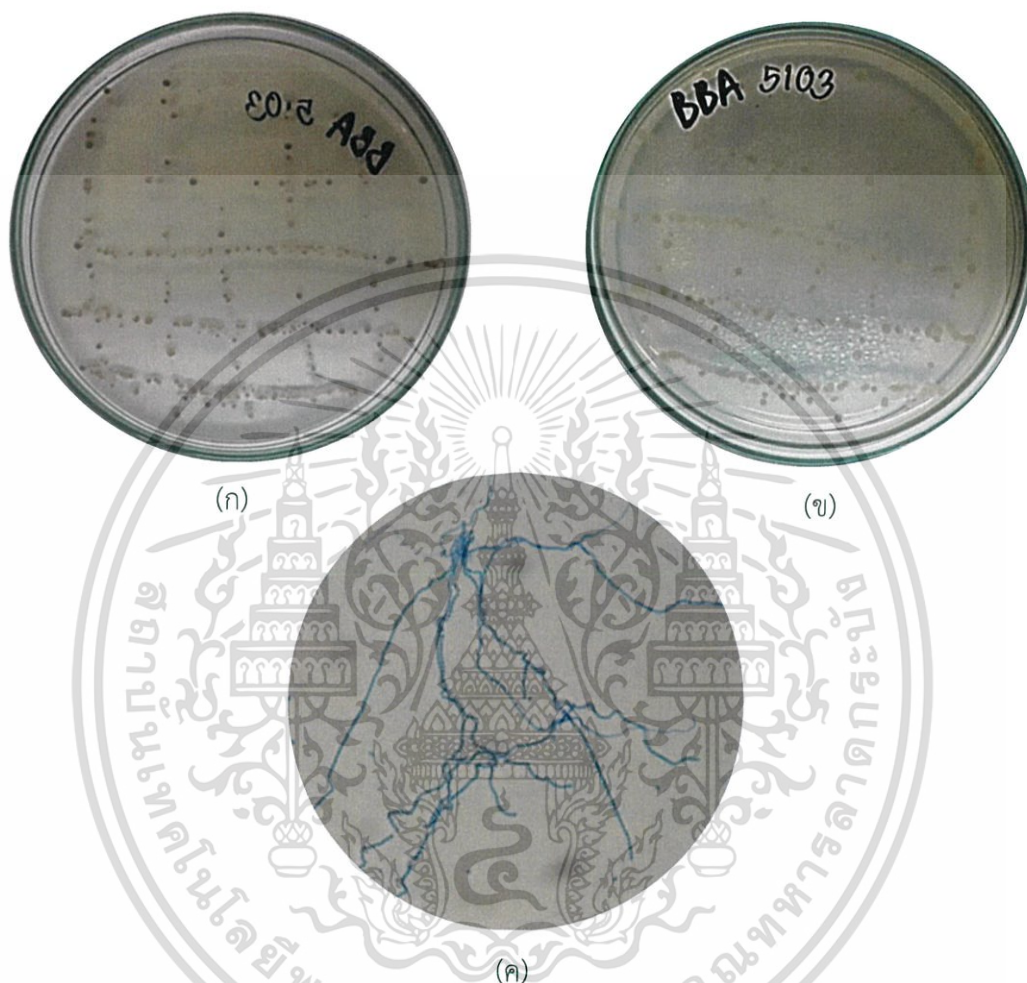


รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 462

- (ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 462 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)
- (ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 462 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 5103 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Brownish Pink และ substrate mycelium สี Grayish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาว Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 5103

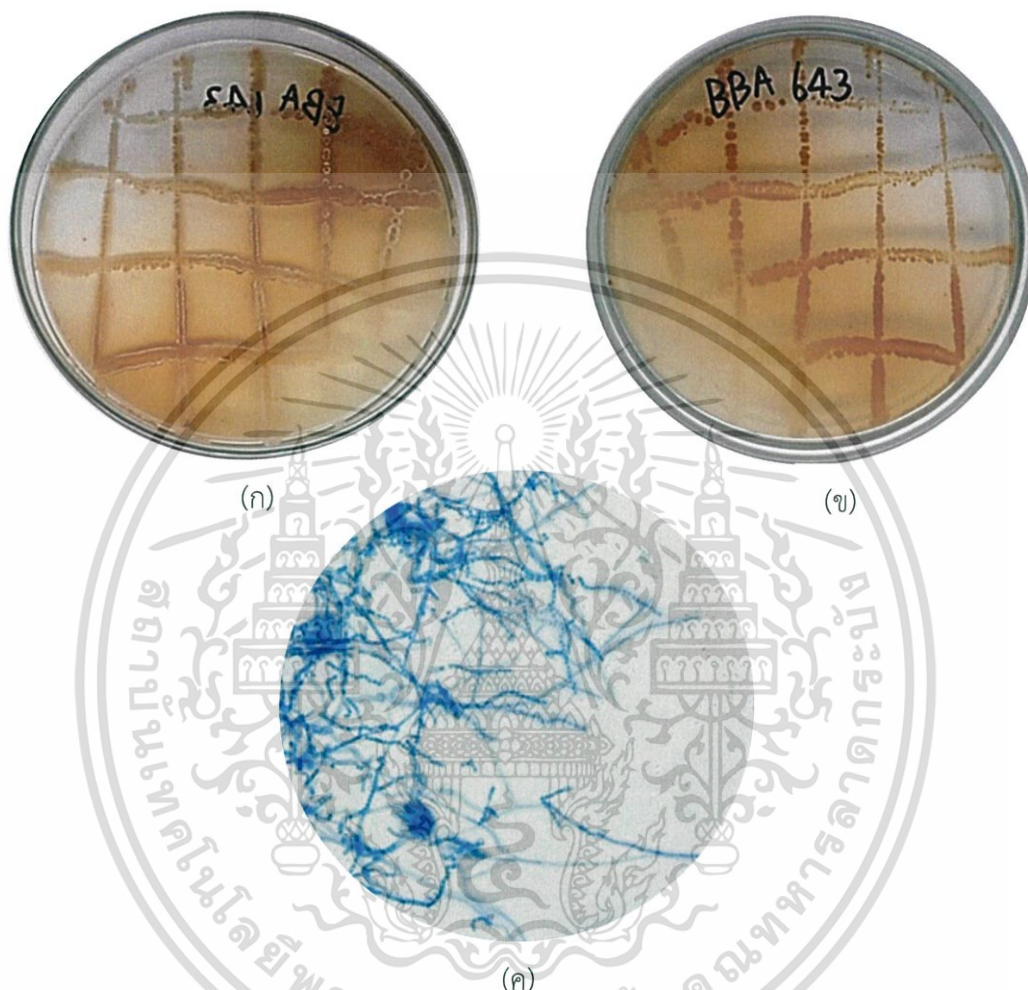
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 5103 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 5103 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสเพอร์จิลลินีที่ไอโซเลท BBA 643 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Moderate Orange Yellow และ substrate mycelium สี Dark Orange Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ สี Light Yellow และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสเพอร์จิลลินีที่ไอโซเลท BBA 643

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินีที่ไอโซเลท BBA 643 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินีที่ไอโซเลท BBA 643 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 7104 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Grayish Reddish Brown และ substrate mycelium สี Moderate Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ *Retinaculiaperti* บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 7104

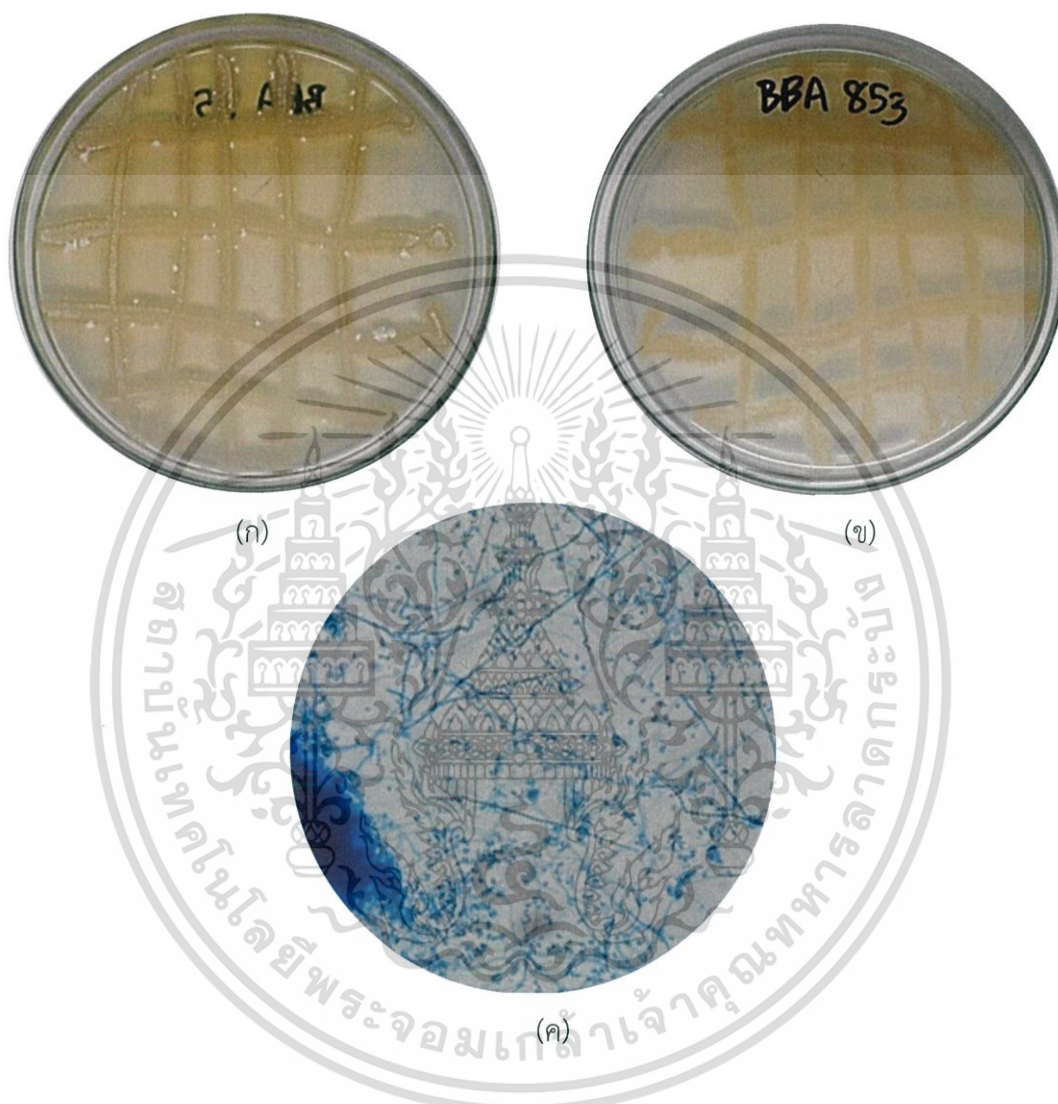
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 7104 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 7104 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 853 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Yellow และ substrate mycelium สี Brilliant Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexbiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 853

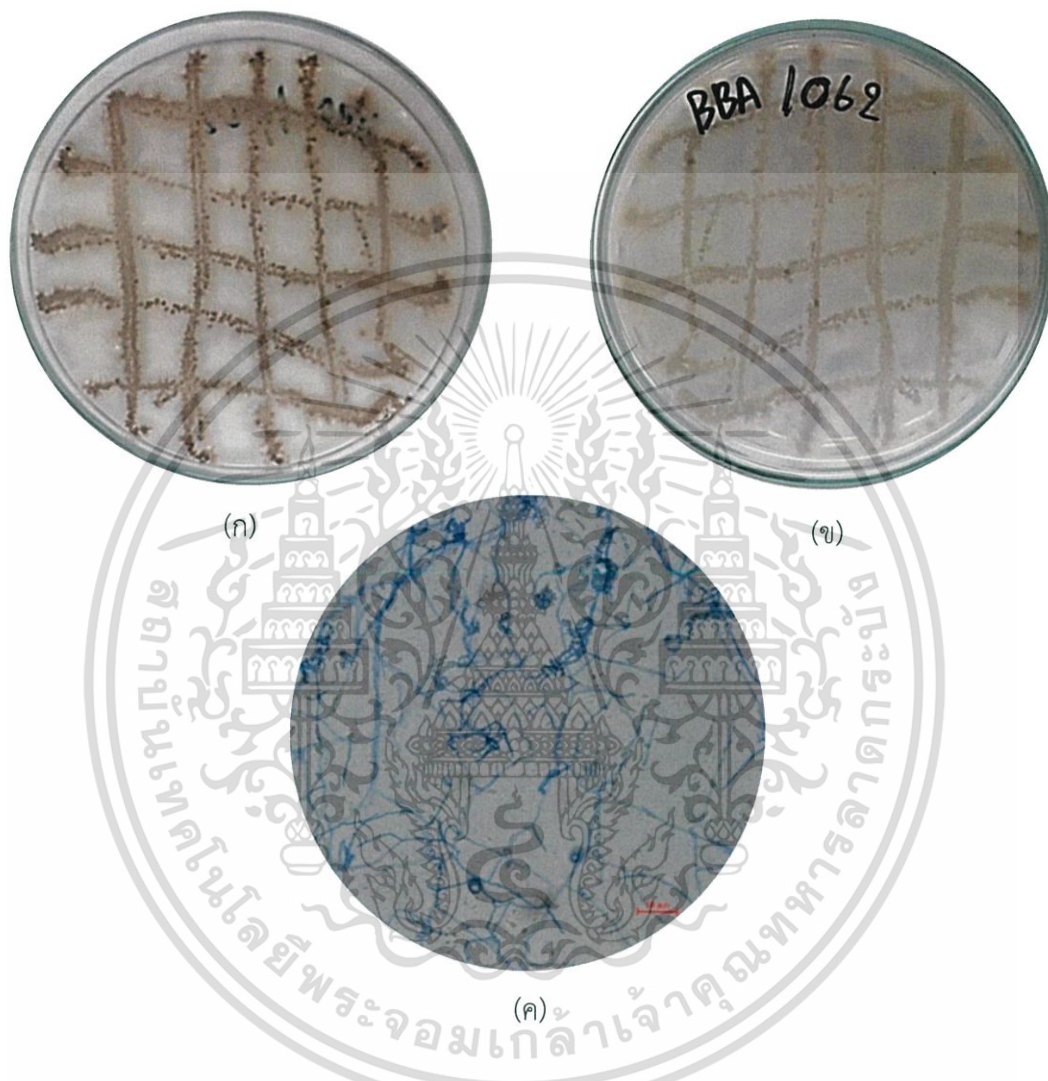
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 853 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 853 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1062 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Grayish Reddish Brown และ substrate mycelium สี Light Grayish Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1062

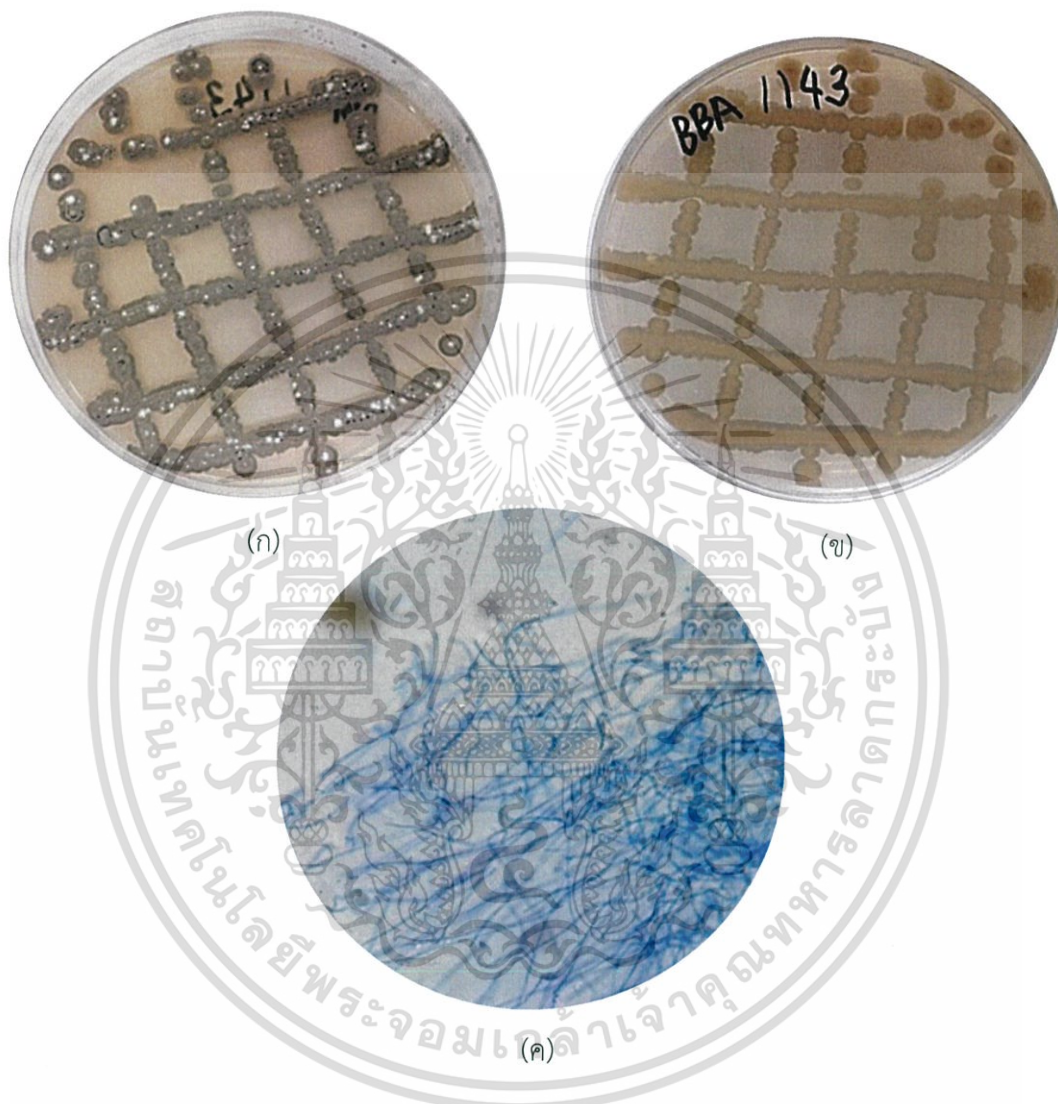
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1062 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1062 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1143 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Dark Reddish Gray และ substrate mycelium สี Grayish Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ สี Brilliant Orange Yellow และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1143

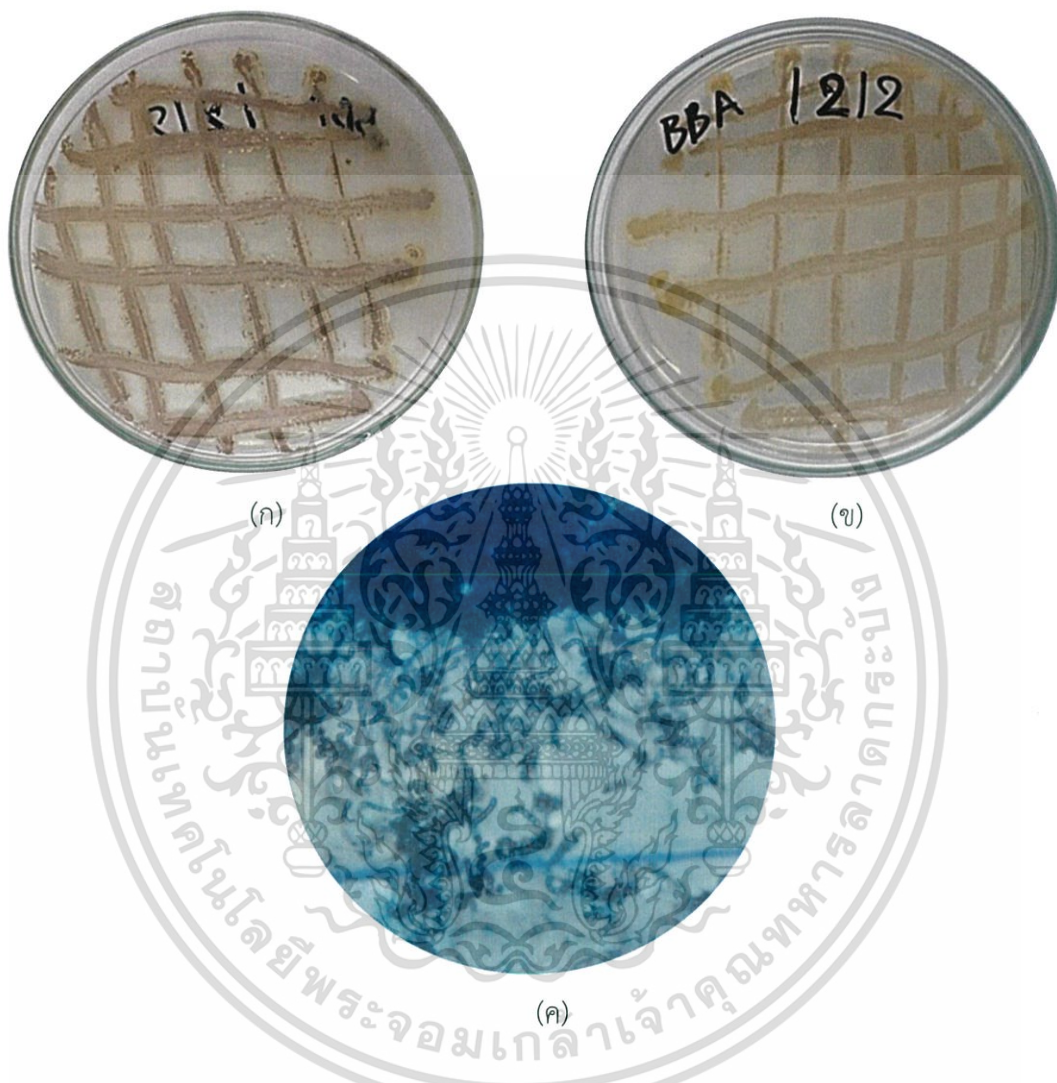
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1143 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1143 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 1212 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Reddish Gray และ substrate mycelium สี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Verticillati บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 1212

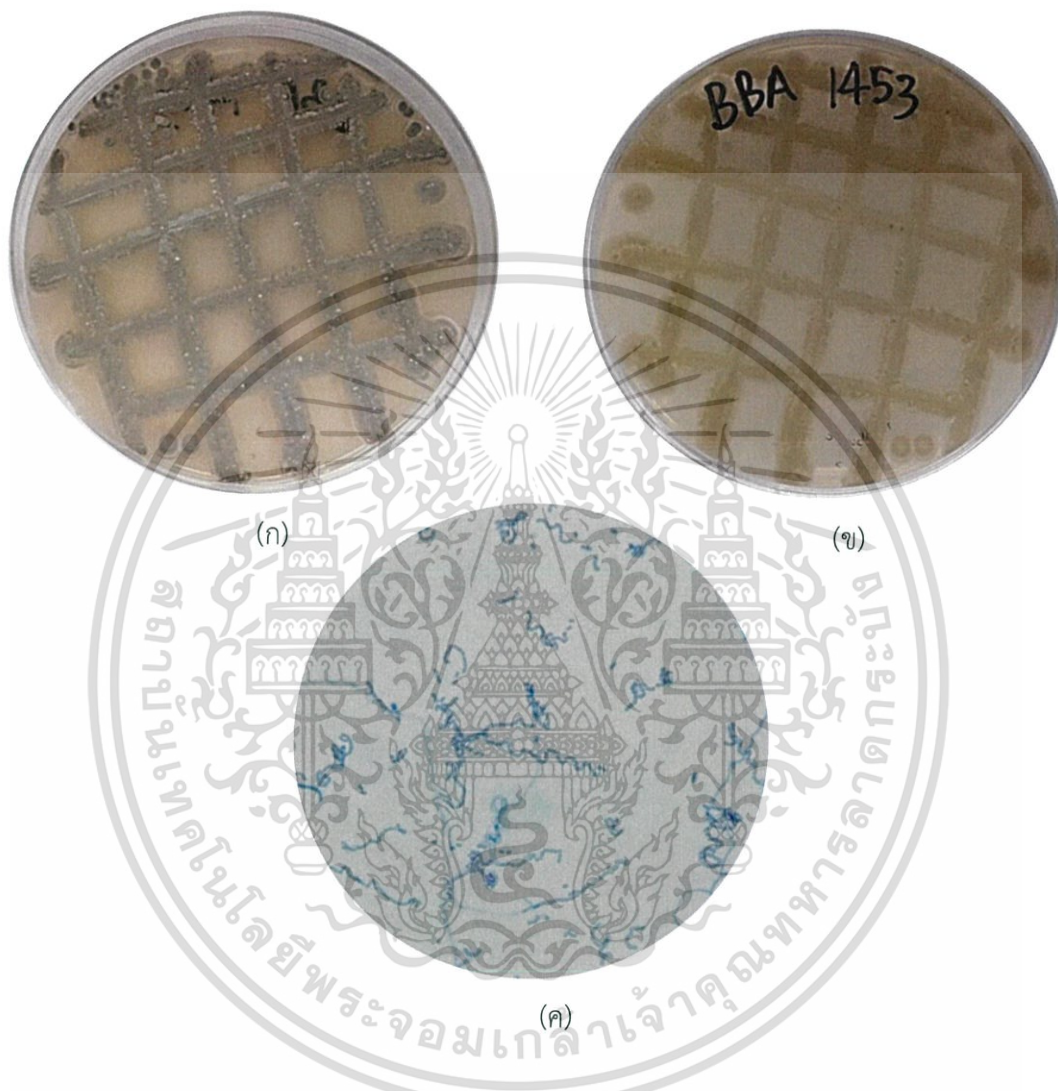
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 1212 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 1212 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1453 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Bluish Gray และ substrate mycelium สี Moderate Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1453

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1453 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1453 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1583 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Brownish Gray และ substrate mycelium สี Moderate Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1583

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1583 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1583 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโตโมยซีทไอโซเลท BBA 1732 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Brownish Pink และ substrate mycelium สี Light Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโตโมยซีทไอโซเลท BBA 1732

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโตโมยซีทไอโซเลท BBA 1732 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโตโมยซีทไอโซเลท BBA 1732 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท BBA 1872 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Dark Grayish Yellowish Brown และ substrate mycelium สี Grayish Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท BBA 1872

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท BBA 1872 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท BBA 1872 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1983 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Brownish Gray และ substrate mycelium สี Yellowish White ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Retinaculiaperti บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1983

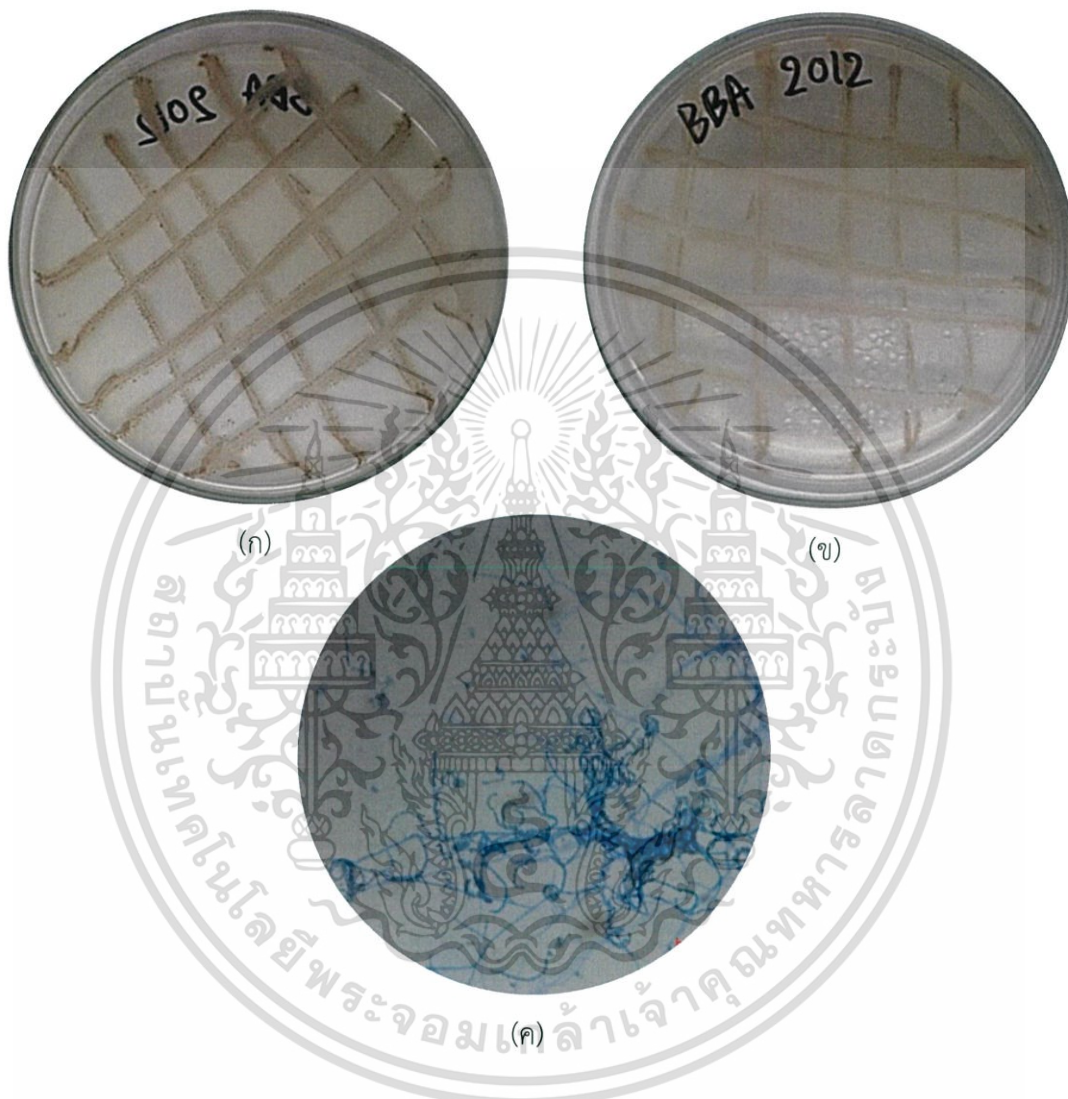
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1983 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 1983 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคดีโนไมซีที่ไอโซเลท BBA 2012 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Grayish Reddish Brown และ substrate mycelium สี Moderate Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ *Retinaculiaperti* บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคดีโนไมซีที่ไอโซเลท BBA 2012

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคดีโนไมซีที่ไอโซเลท BBA 2012 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคดีโนไมซีที่ไอโซเลท BBA 2012 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 21103 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Brownish Pink และ substrate mycelium สี Light Olive สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ สี Grayish Greenish Yellow และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 21103

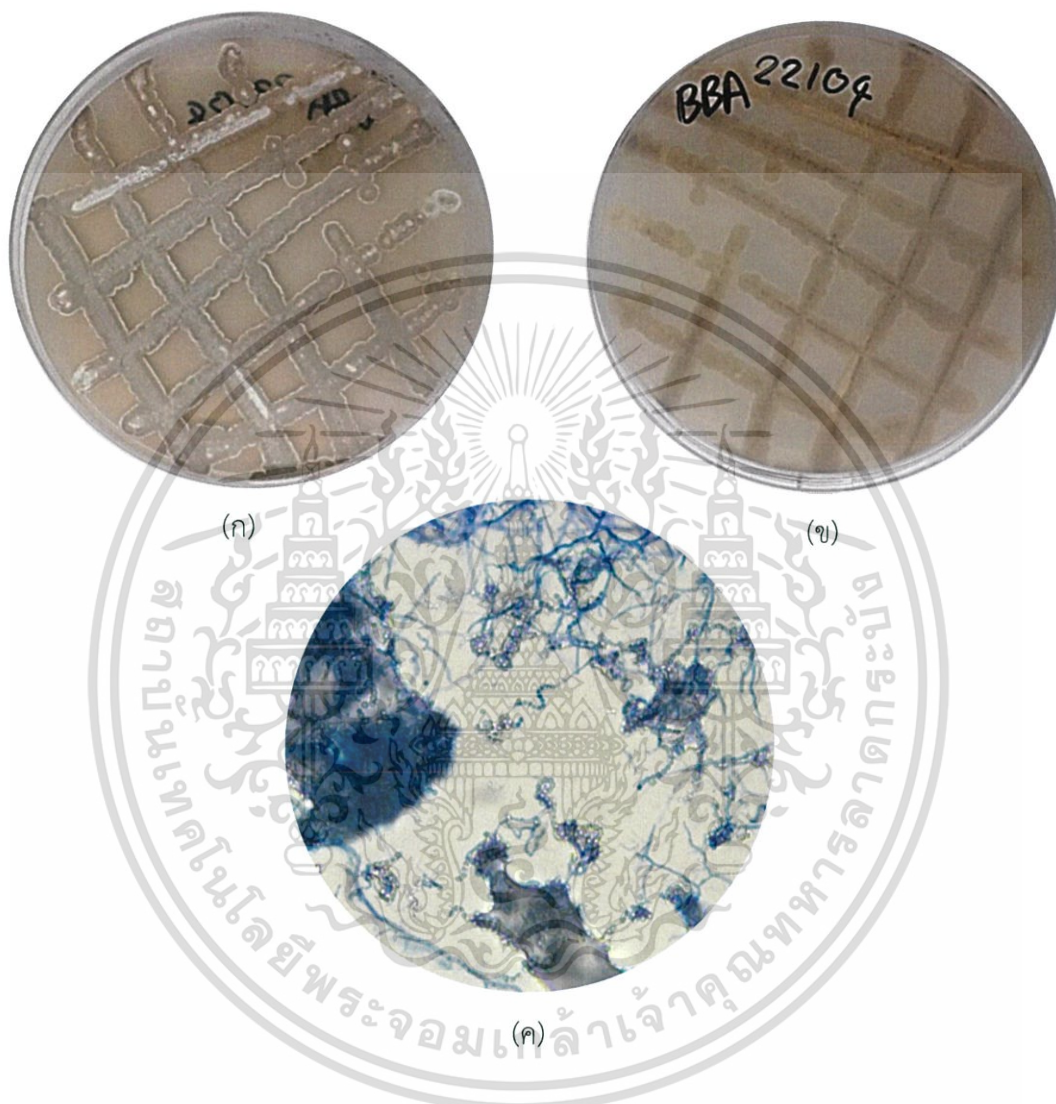
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 21103 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 21103 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 100 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 22104 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Greenish Gray และ substrate mycelium สี Moderate Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 22104

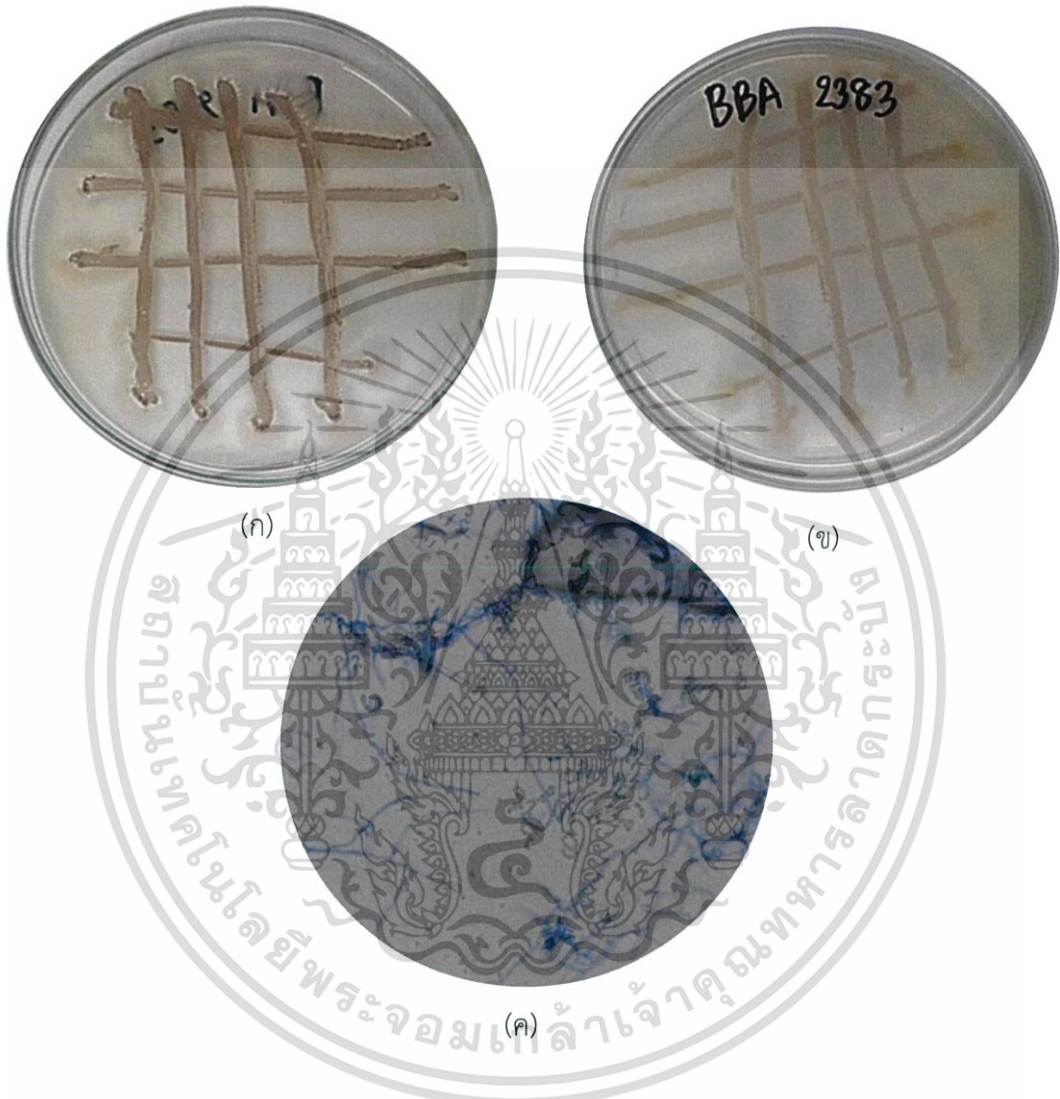
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 22104 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 22104 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 2383 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Grayish Reddish Brown และ substrate mycelium สี Light Grayish Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายสั้นแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 2383

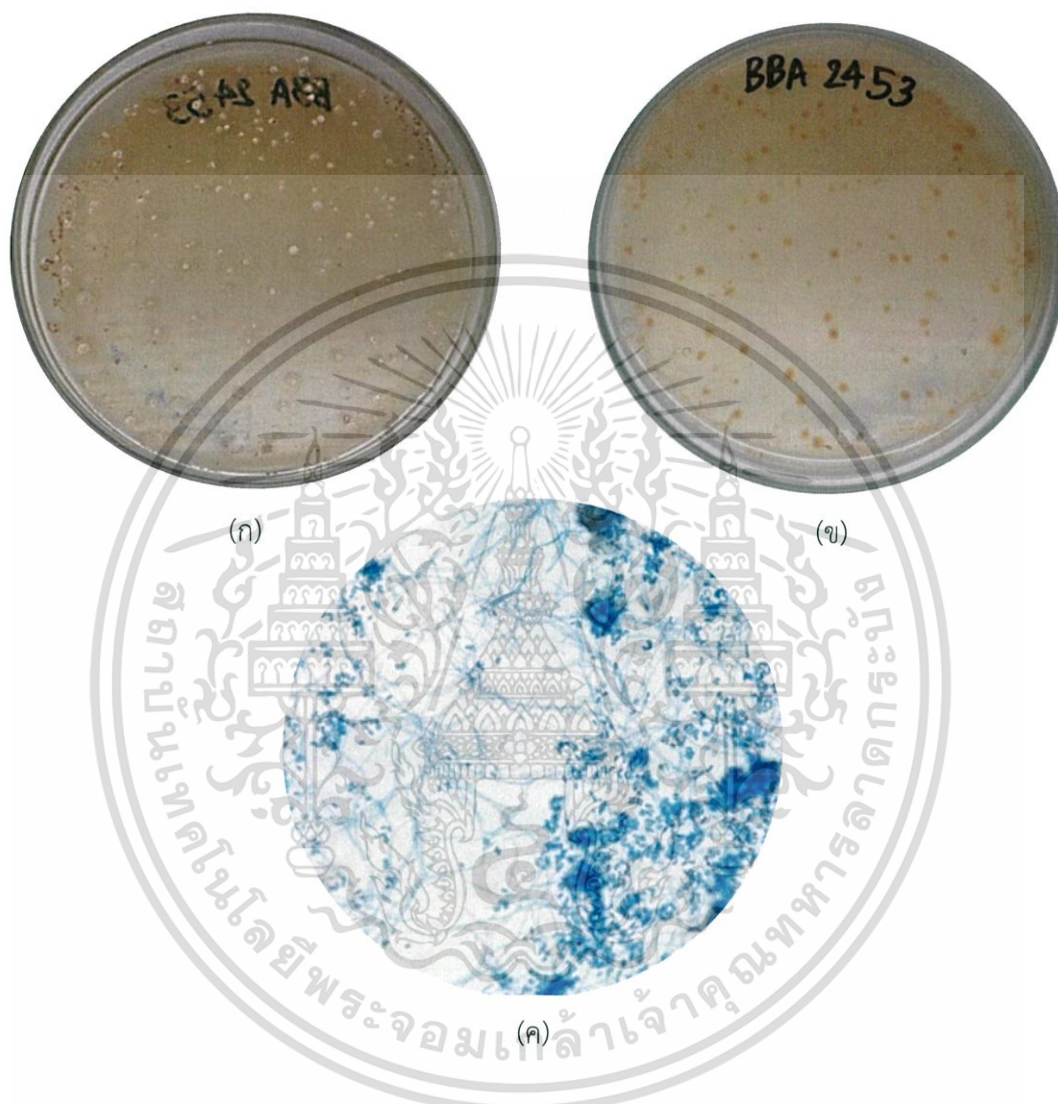
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 2383 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 2383 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BBA 2453 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Moderate Yellowish Pink และ substrate mycelium สี Light Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายสั้นแบบ Oligosporous บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BBA 2453

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BBA 2453 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BBA 2453 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 100 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 2574 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Grayish Yellowish Brown และ substrate mycelium สี Moderate Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายสั้นแบบ Oligosporous บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 2574

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 2574 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 2574 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 26105 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Grayish Yellowish Brown และ substrate mycelium สี Dark Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 26105

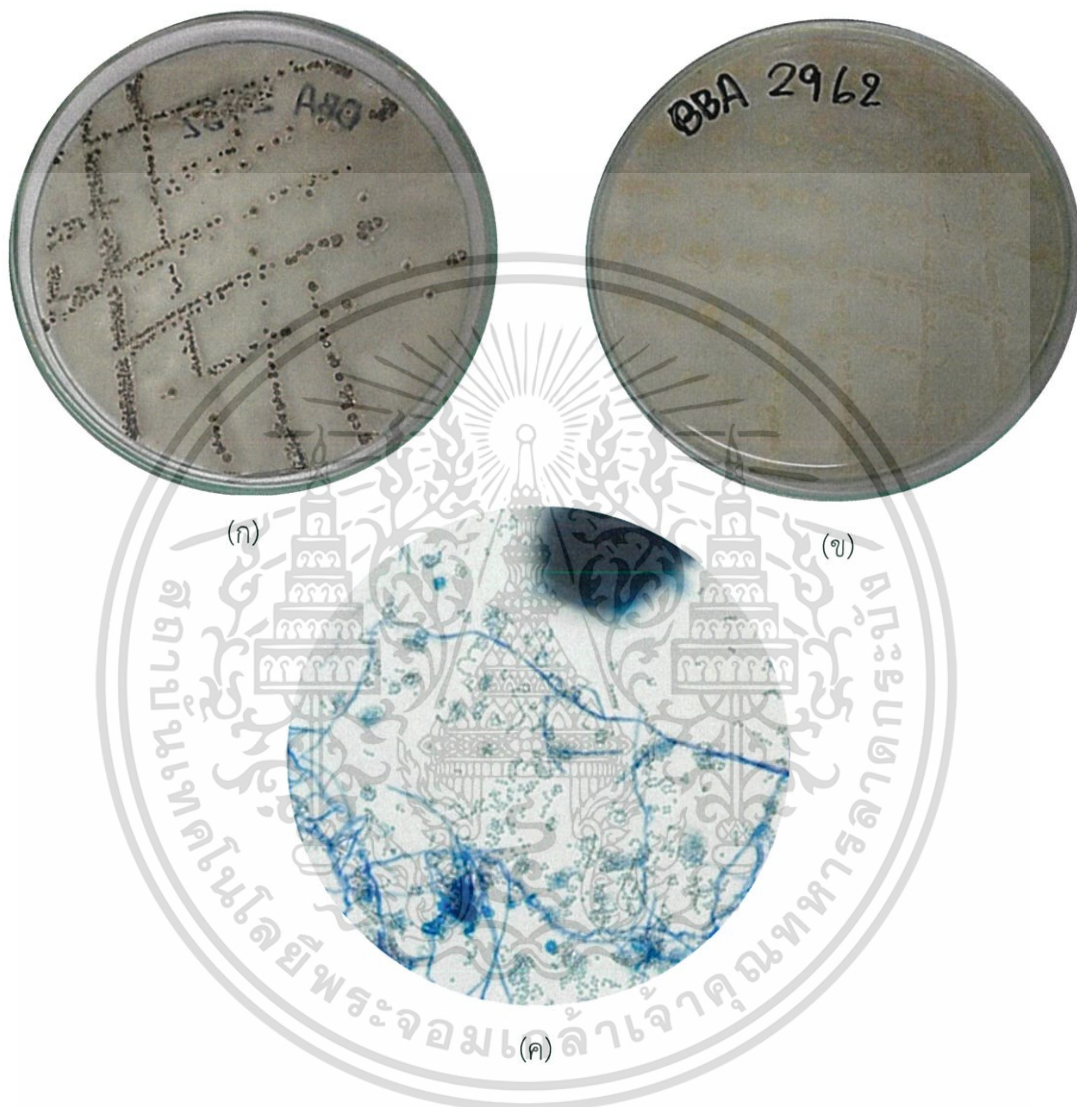
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 26105 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 26105 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 2962 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Brownish Gray และ substrate mycelium สี Moderate Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.23 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 2962

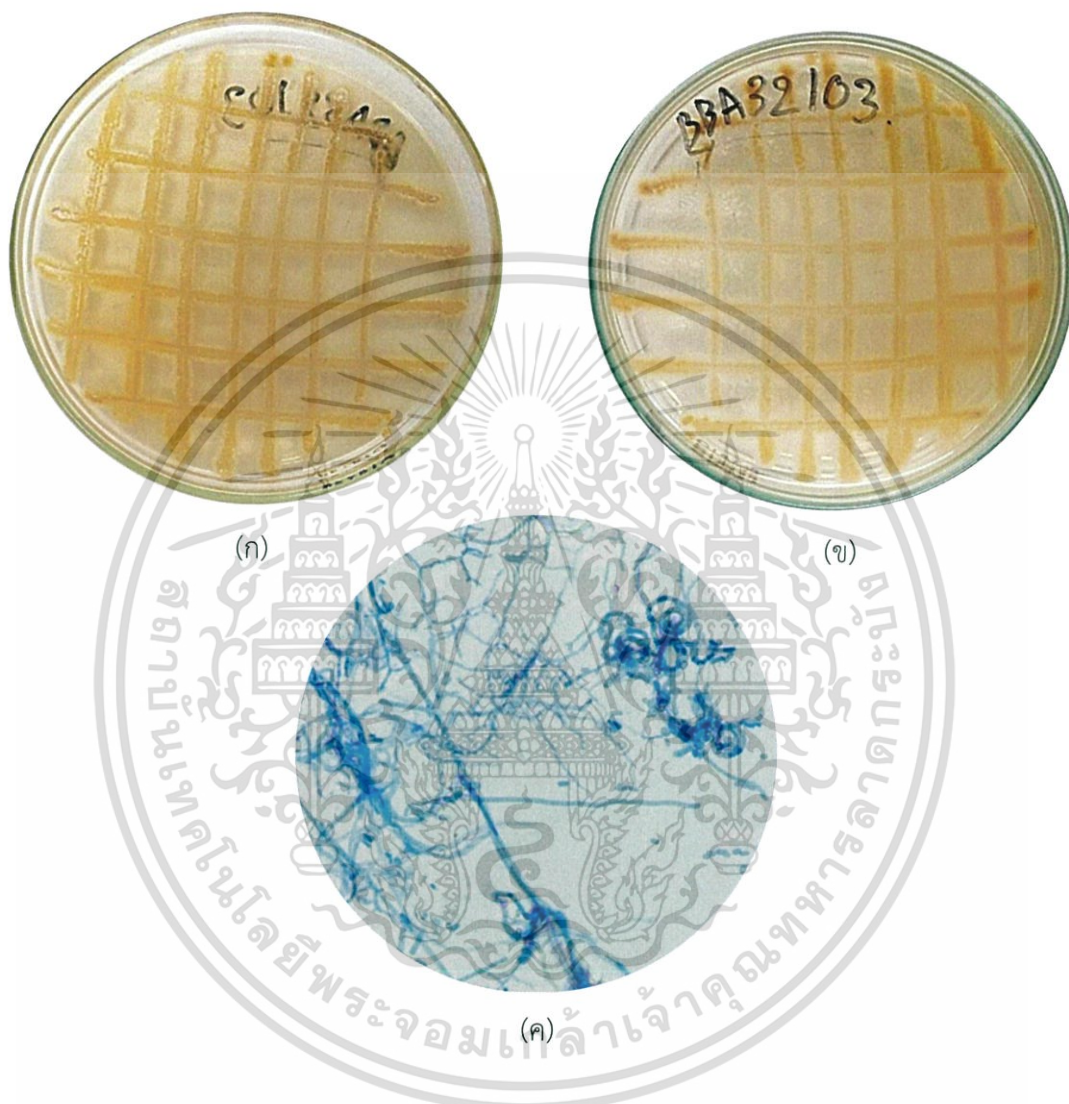
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 2962 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 2962 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 32103 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Brilliant yellow และ substrate mycelium สี Pale yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.24 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 32103

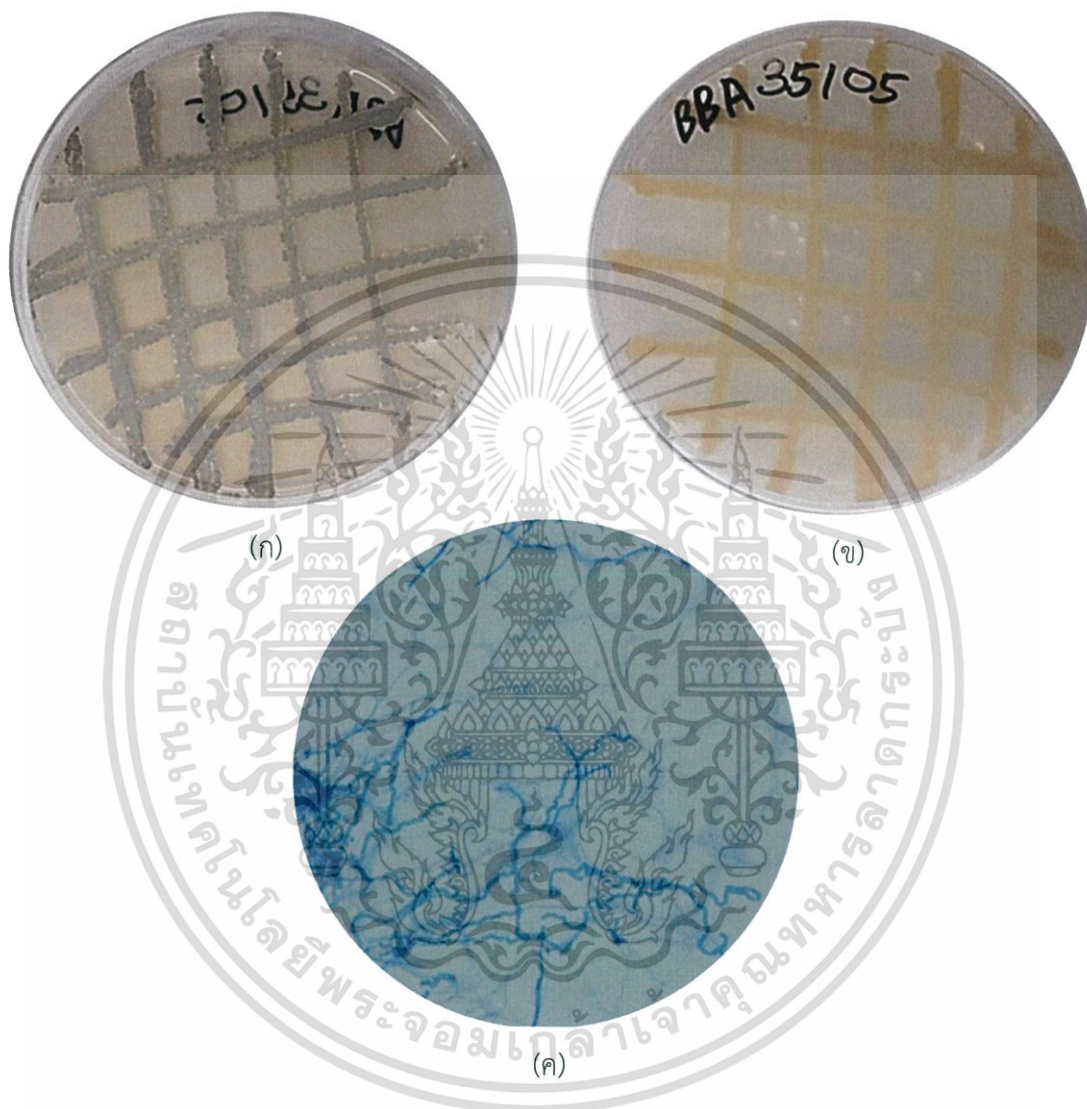
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 32103 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 32103 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสคิตินมัยซีทไอโซเลท BBA 35105 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Greenish Gray และ substrate mycelium สี Light Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.25 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสคิตินมัยซีทไอโซเลท BBA 35105

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสคิตินมัยซีทไอโซเลท BBA 35105 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสคิตินมัยซีทไอโซเลท BBA 35105 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 3612 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Pinkish Gray และ substrate mycelium สี Grayish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 3612

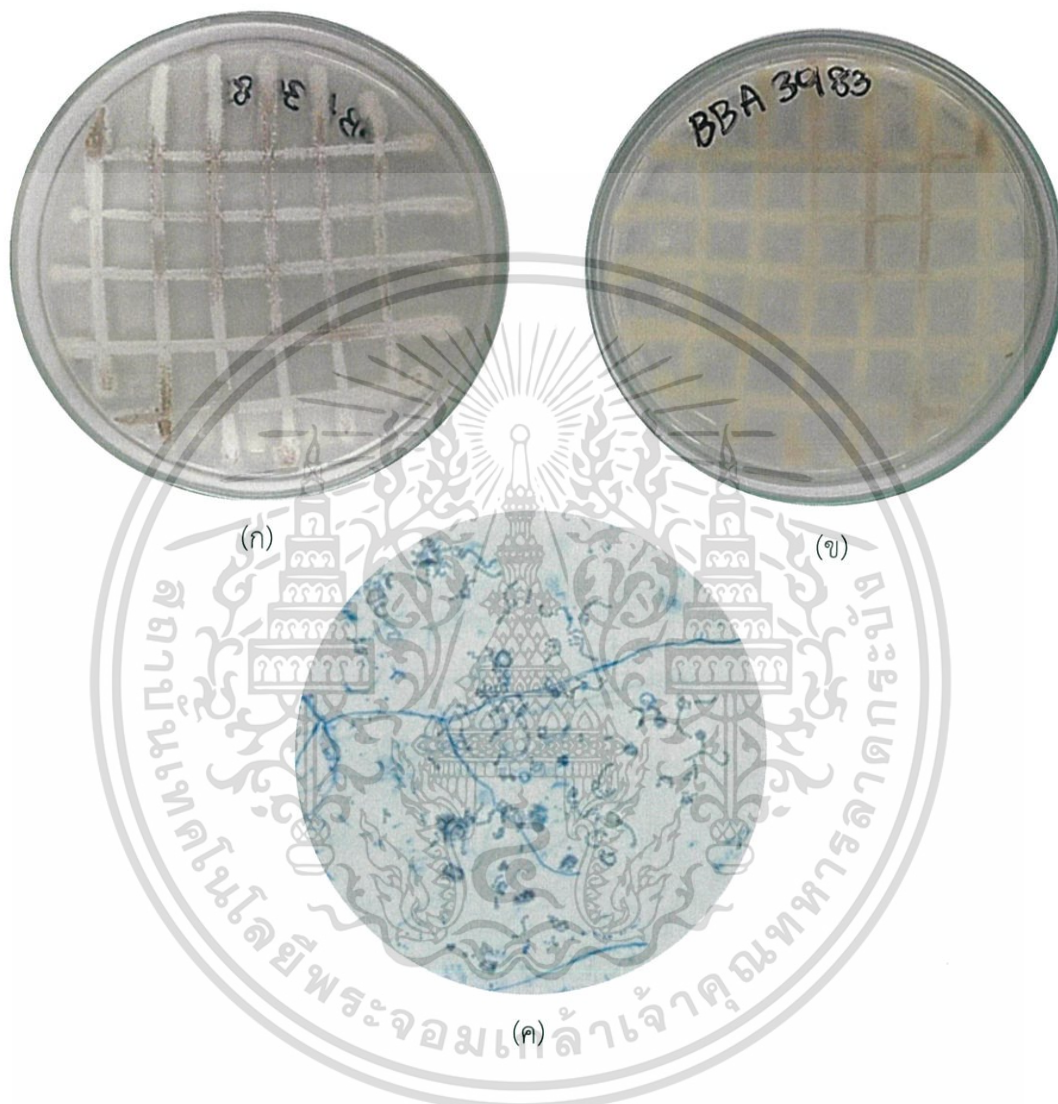
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 3612 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 3612 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 3983 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Grayish Yellowish Pink และ substrate mycelium สี Greenish White ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.27 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 3983

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 3983 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 3983 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 40102 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Grayish Yellowish Pink และ substrate mycelium สี Deep Orange ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.28 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 40102

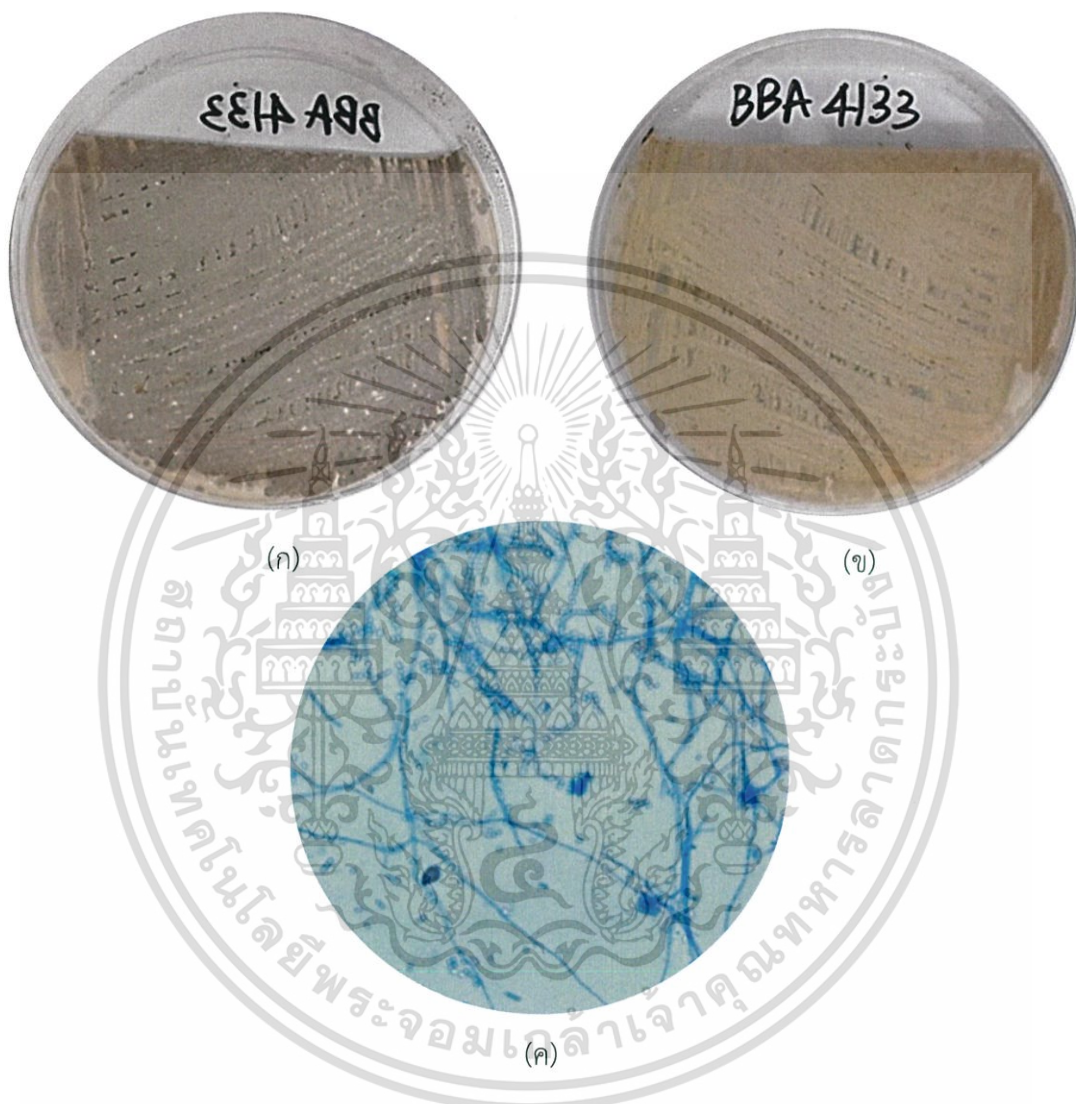
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 40102 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 40102 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4133 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Pinkish Gray และ substrate mycelium สี Grayish Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexbiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.29 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4133

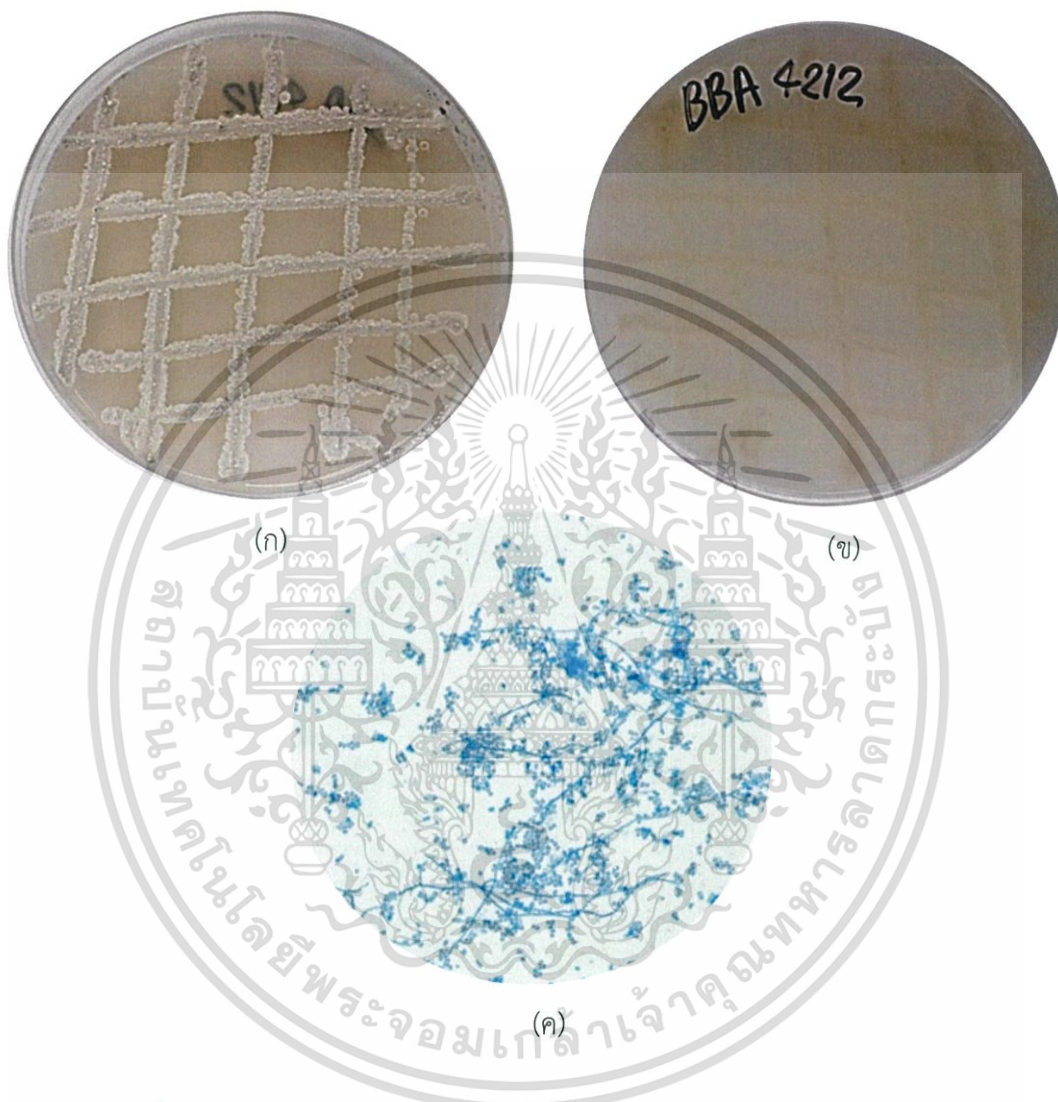
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4133 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4133 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสเพอร์จิลลินที่ไอโซเลท BBA 4212 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Yellowish White และ substrate mycelium สี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายสั้นแบบ Oligosporous บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.30 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสเพอร์จิลลินที่ไอโซเลท BBA 4212

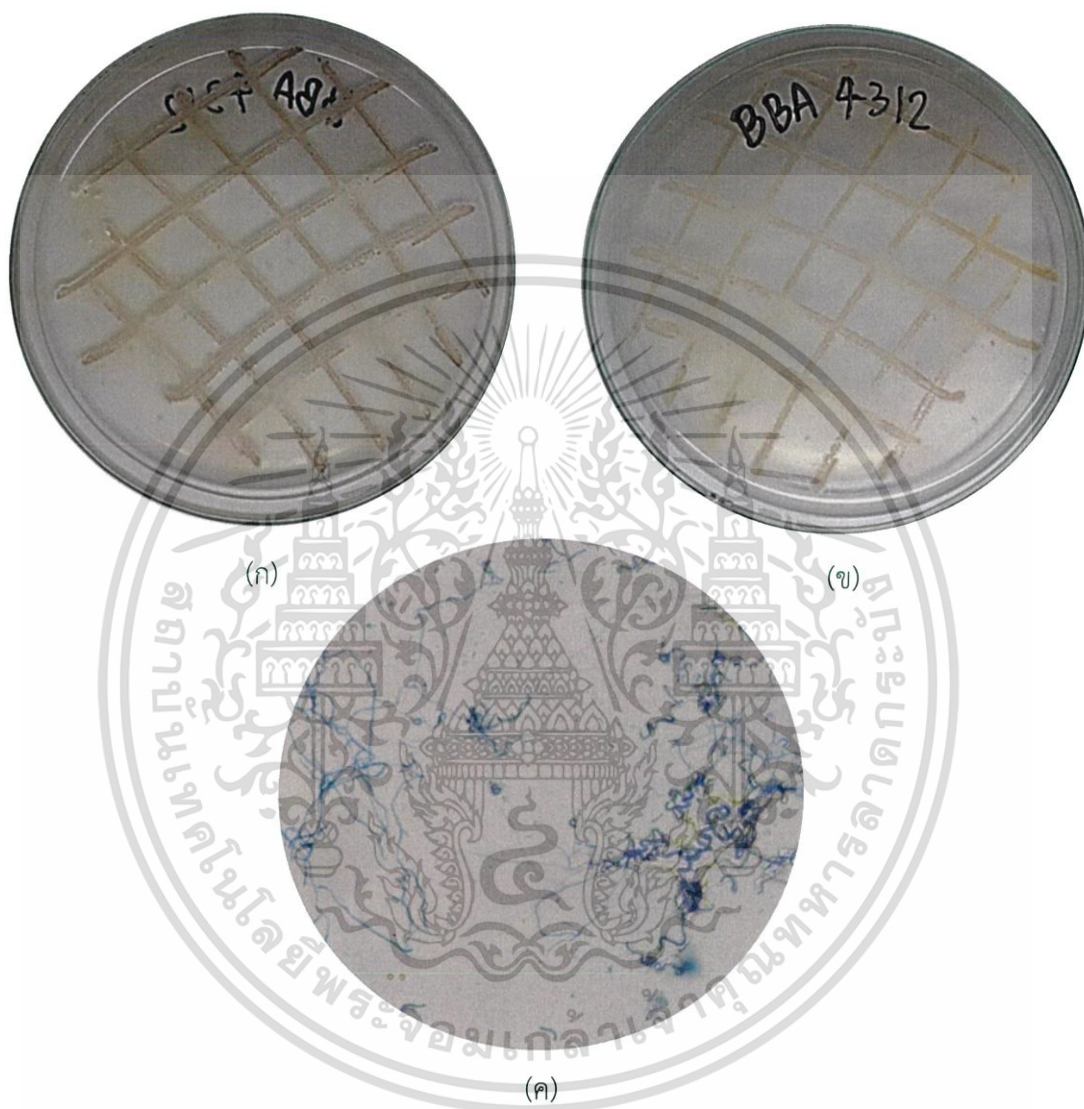
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินที่ไอโซเลท BBA 4212 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินที่ไอโซเลท BBA 4212 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 4312 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Grayish Yellowish Pink และ substrate mycelium สี Light Brown ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Spira บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.31 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 4312

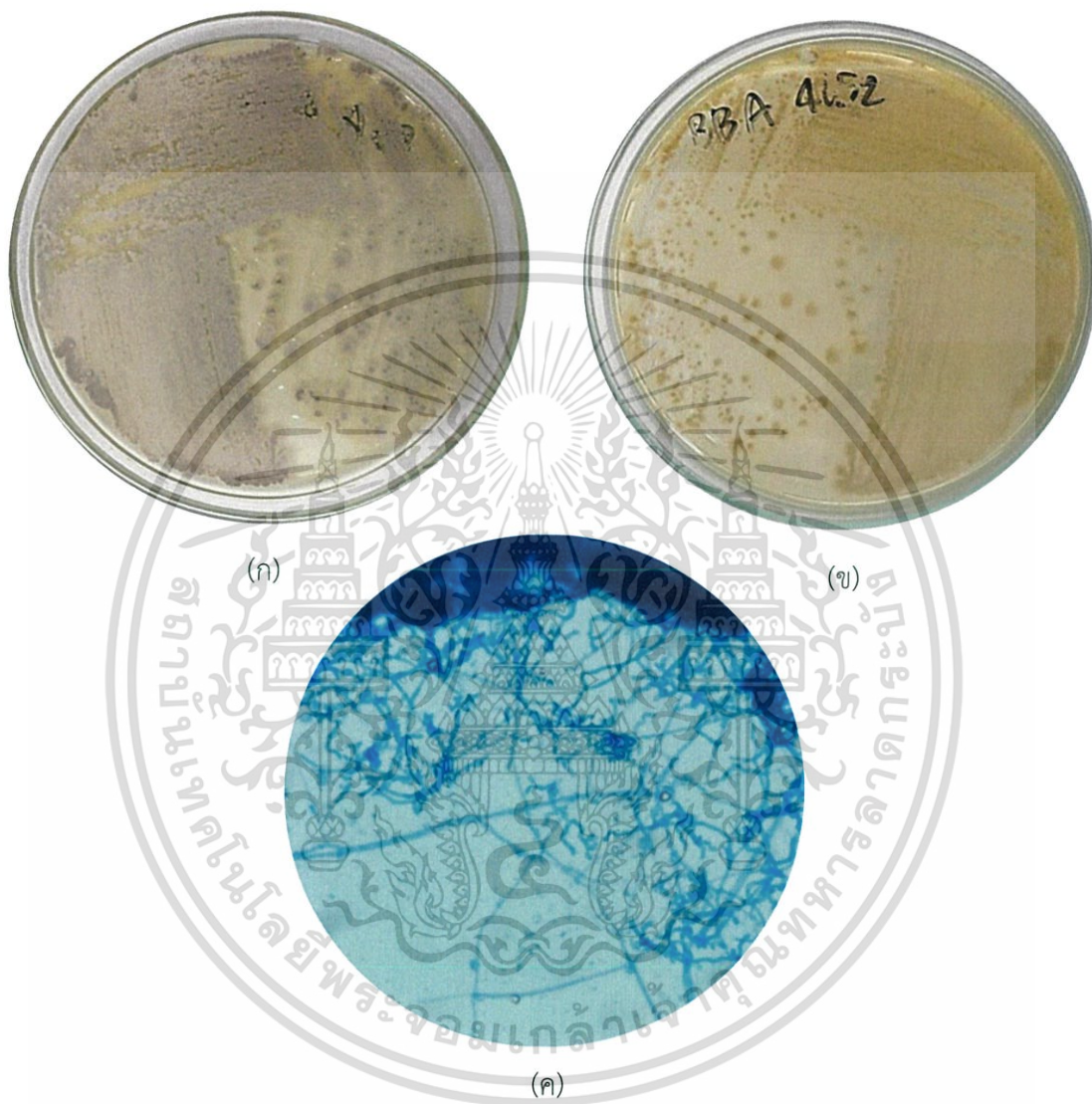
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 4312 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BBA 4312 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4652 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Reddish Gray และ substrate mycelium สี Dark greenish yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ สี Light greenish yellow และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.32 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4652

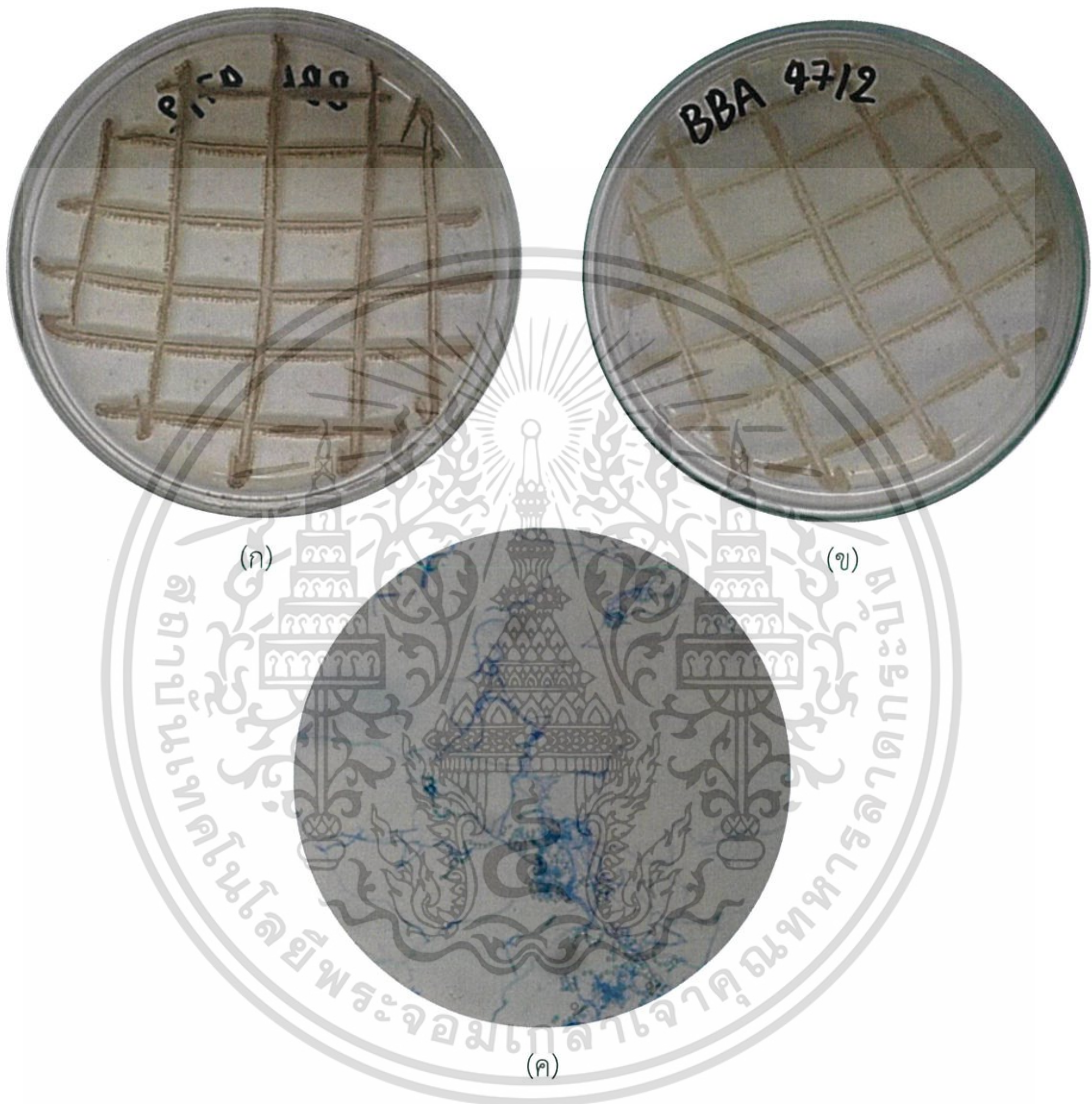
(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4652 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4652 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4722 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Light Grayish Reddish Brown และ substrate mycelium สี Light Orange Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.33 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4722

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4722 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4722 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4893 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร Starch - casein agar (SCA) สร้าง aerial mycelium สี Grayish Yellowish Brown และ substrate mycelium สี Light Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ สี Grayish Yellow และมีการสร้างสปอร์สายยาวแบบ Verticillati บนอาหาร International *Streptomyces* Project agar (ISP2)



รูปที่ 4.34 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4893

(ก) แสดงลักษณะ aerial mycelium ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4893 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ข) แสดงลักษณะ substrate mycelium ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลท BBA 4893 บนอาหาร Starch - casein agar (SCA)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอสคิตินอิมยซ์ที่จำนวน 34 ไอโซเลท

ในการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอสคิตินอิมยซ์ที่แยกได้จำนวน 34 ไอโซเลท จากตัวอย่างดินป่าชายเลน ณ อำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.6 มีการศึกษาทั้งหมด 5 การทดสอบ คือ

4.3.2.1 การทดสอบการตกตะกอนโปรตีนนมในหลอดอาหาร Skim milk 10% ถ้าหากเกิดการตกตะกอนของโปรตีนจะเกิดตะกอนในน้ำนมบริเวณก้นหลอด โดยเทียบกับชุดควบคุม

4.3.2.2 การทดสอบการย่อยโปรตีน Skim milk agar ถ้าเกิดการย่อยสลายโปรตีน จะมีการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารจากสีขาวขุ่นเป็นสีใส

4.3.2.3 การทดสอบการย่อยสลายแป้งบนอาหาร Inorganic salts-starch agar (ISP4) ทำการตรวจผลโดยเติมสารละลายแกรมไอโอดีน ลงบนอาหารที่เลี้ยงเชื้อไว้ ถ้ามีการย่อยสลายแป้งเกิดขึ้นจะเกิดบริเวณใสรอบๆ โคลนีสของเชื้อแอสคิตินอิมยซ์

4.3.2.4 การทดสอบการย่อยสลายเจลาตินในอาหาร Bouillon gelatin broth ถ้าเกิดการย่อยสลายของเจลาติน จะไม่เกิดการแข็งตัวของเจลาติน เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

4.3.2.5 การทดสอบการย่อยสลายไนเตรตในอาหาร Peptone nitrite broth ตรวจผลโดยการเติมสารละลายกรดซัลฟานิลิก และสารละลาย N,N-dimethyl-L-naphthylamine ถ้าเชื้อแอสคิตินอิมยซ์สามารถเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรต์ได้ จะเกิดการเปลี่ยนเป็นสีชมพูหรือแดงที่บริเวณผิวหน้าของอาหาร หลังจากหยดสารละลายทดสอบไป

ซึ่งจากการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จำนวน 34 ไอโซเลท จากตัวอย่างดินป่าชายเลน ณ อำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ผลการทดสอบดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท

หมายเลข ไอโซเลท	Skim milk		การย่อยสลาย	การย่อยสลาย	การย่อยสลาย
	การย่อยสลาย	การตกตะกอน	แป้ง	เจลาติน	ไนเตรท
BBA 153	+	+	+	+	+
BBA 362	-	-	+	-	-
BBA 462	+	-	+	+	+
BBA 5103	+	+	+	+	-
BBA 643	-	+	-	+	+
BBA 7104	-	+	-	-	+
BBA 853	+	-	-	-	+
BBA 1062	+	-	+	+	-
BBA 1143	+	-	-	+	-
BBA 1212	-	-	-	+	-
BBA 1453	-	+	+	-	+
BBA 1583	-	+	+	+	+
BBA 1732	+	+	-	-	-
BBA 1872	+	+	+	-	+
BBA 1983	+	+	+	-	-
BBA 2012	+	+	-	+	+
BBA 21103	-	-	+	-	-
BBA 22104	-	-	-	+	-
BBA 2383	+	+	+	-	+
BBA 2453	+	-	+	+	+
BBA 2574	+	+	-	-	+
BBA 26105	+	-	+	+	+
BBA 2962	-	-	-	-	-
BBA 32103	+	-	-	+	+
BBA 35105	+	+	+	+	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	Skim milk		การย่อยสลาย	การย่อยสลาย	การย่อยสลาย
	การย่อยสลาย	การตกตะกอน	แป้ง	เจลาติน	ไนเตรท
BBA 3612	+	+	-	-	-
BBA 3983	+	+	-	-	-
BBA 40102	-	-	-	+	-
BBA 4133	+	+	-	+	+
BBA 4212	+	-	+	+	-
BBA 4312	+	-	-	+	-
BBA 4652	-	-	-	+	+
BBA 4722	-	-	-	+	-
BBA 4893	-	+	-	-	+

หมายเหตุ :

+ หมายถึง เกิดปฏิกิริยา
- หมายถึง ไม่เกิดปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จำนวน 34 ไอโซเลท จากตัวอย่างดินป่าชายเลน ณ อำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ในตารางที่ 4.3 ได้ทำการวัดความสามารถในการย่อยสลายแป้ง โดยวัดค่าความกว้างของการเกิดเคลียร์โซน เพื่อทำการเปรียบเทียบและหาตัวแทนไอโซเลทที่มีความสามารถในการย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุดไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป และเมื่อทำการวัดค่าความกว้างของการเกิดเคลียร์โซน พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 มีความสามารถในการย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุดโดยมีขนาดเคลียร์โซนกว้างที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 22.14 มิลลิเมตร แสดงผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลทต่างๆ

หมายเลขไอโซเลท	เส้นผ่านศูนย์กลาง (มิลลิเมตร)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย
BBA 153	10.88	15.13	13.00
BBA 362	7.79	10.89	9.34
BBA 462	15.74	14.79	15.72
BBA 5103	18.98	18.31	18.62
BBA 1062	13.34	13.24	13.29
BBA 1453	22.93	21.34	22.14
BBA 1583	11.72	10.49	11.10
BBA 1872	11.24	10.10	10.67
BBA 1983	12.10	11.76	11.93
BBA 21103	20.19	19.16	19.68
BBA 2383	11.37	10.74	11.05
BBA 2453	15.59	15.26	15.43
BBA 26105	15.82	15.75	15.79
BBA 35102	14.67	15.45	15.06
BBA 4212	10.16	9.54	9.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

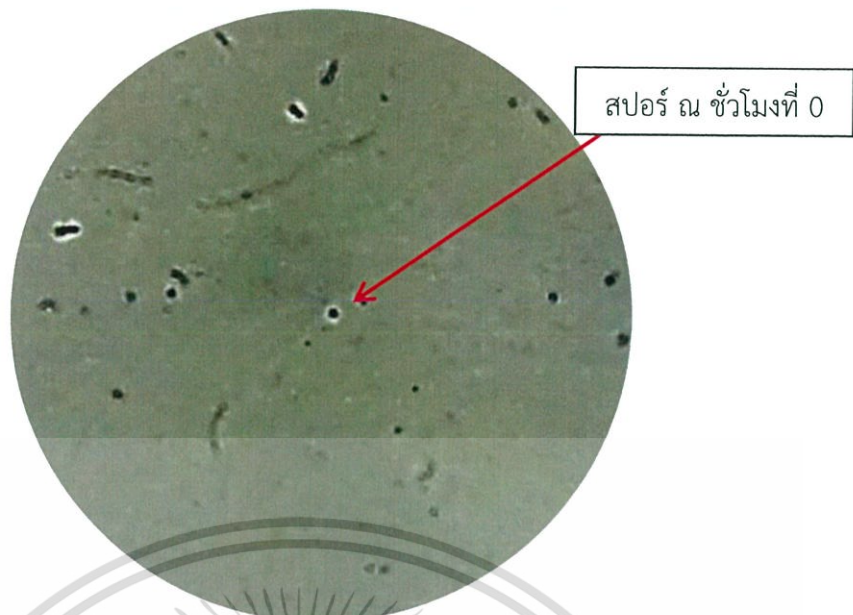


รูปที่ 4.35 ผลความสามารถการย่อยสลายแบ่งของไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่มีการย่อยสลายแบ่งได้ดีที่สุด (ขนาดเคลือบวงกว้างที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 22.14 มิลลิเมตร)

4.4 การศึกษาระยะเวลการงอกของสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 (Spore germination)

จากการศึกษาโดยการเชื้อเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่คัดเลือกจากความสามารถในการย่อยสลายแบ่งได้ดีที่สุด มาจำนวน 1 ลูบ ใส่ในอาหาร Yeast extract-Malt extract (YEME) และนำไปบ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 230 รอบต่อนาที เก็บผลทุกๆ 1 ชั่วโมง โดยการสูมตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นสไลด์จำนวน 1 มิลลิลิตร และทำเทคนิค wet mount นำมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อสังเกตการงอกของสปอร์ เมื่อทำการสังเกตการงอกของสปอร์ของแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 พบว่า เริ่มตรวจพบการงอกของสปอร์ครั้งแรกในชั่วโมงที่ 7 และสปอร์ส่วนมากตรวจพบการงอกของสปอร์ได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 8 เป็นต้นไป แสดงผลการศึกษาดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

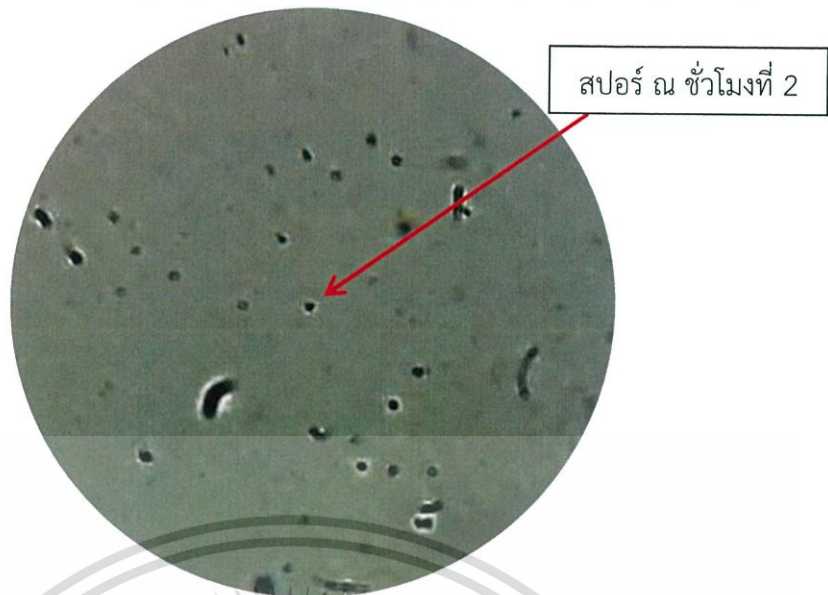


รูปที่ 4.36 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสเพอร์จิลโลสไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 0 พบว่า ไม่เกิดการงอกของสปอร์



รูปที่ 4.37 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสเพอร์จิลโลสไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 1 พบว่า ไม่เกิดการงอกของสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

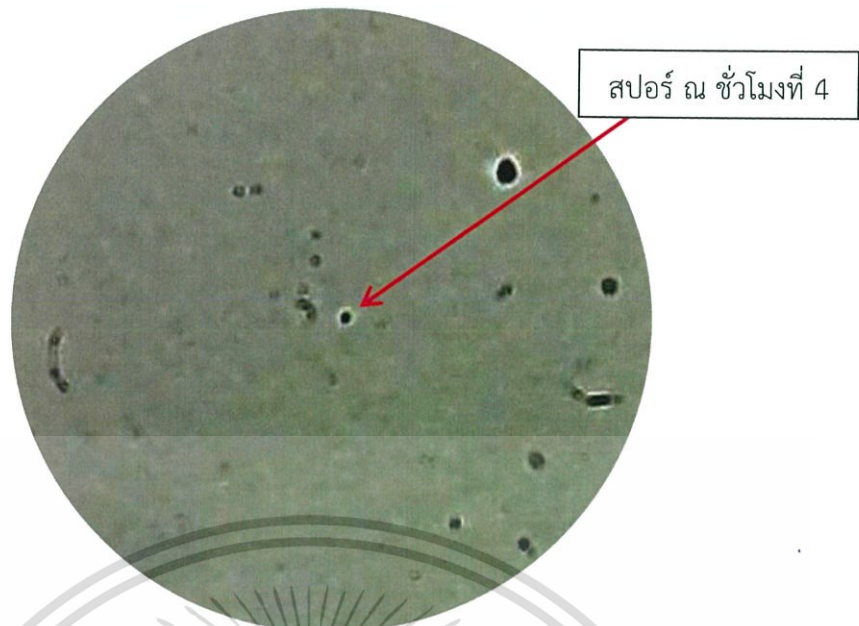


รูปที่ 4.38 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 2 พบว่า ไม่เกิดการงอกของสปอร์



รูปที่ 4.39 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 3 พบว่า ไม่เกิดการงอกของสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

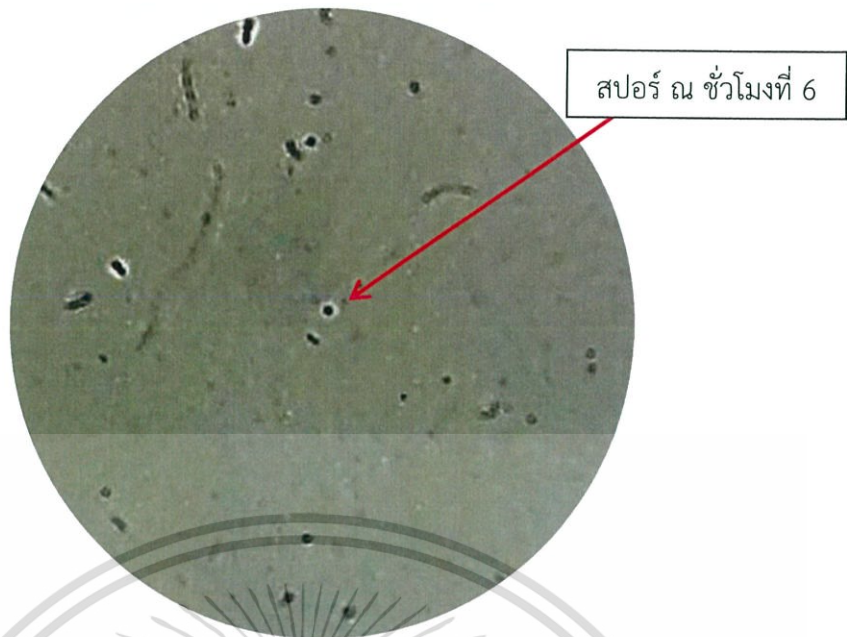


รูปที่ 4.40 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 4 พบว่า ไม่เกิดการงอกของสปอร์

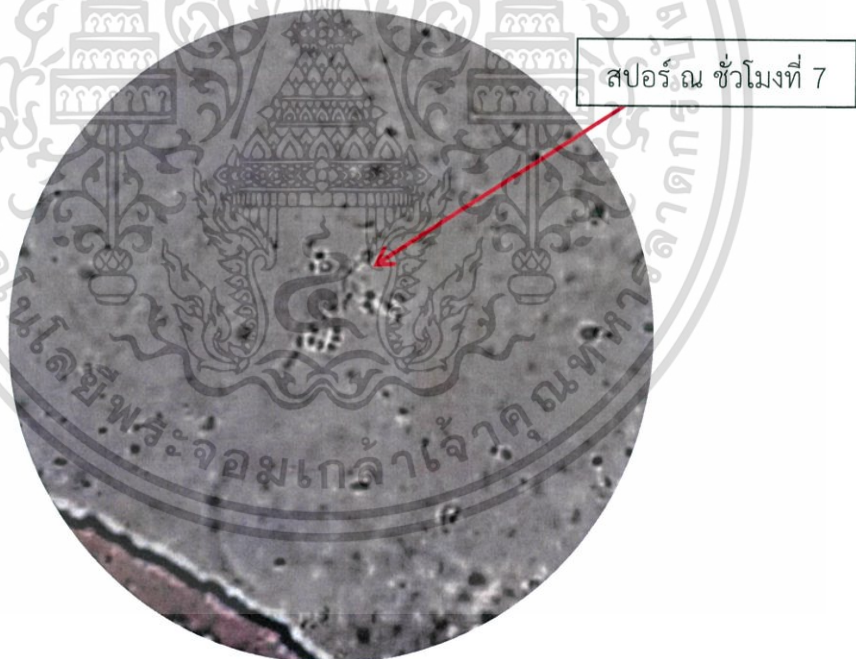


รูปที่ 4.41 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 5 พบว่า ไม่เกิดการงอกของสปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

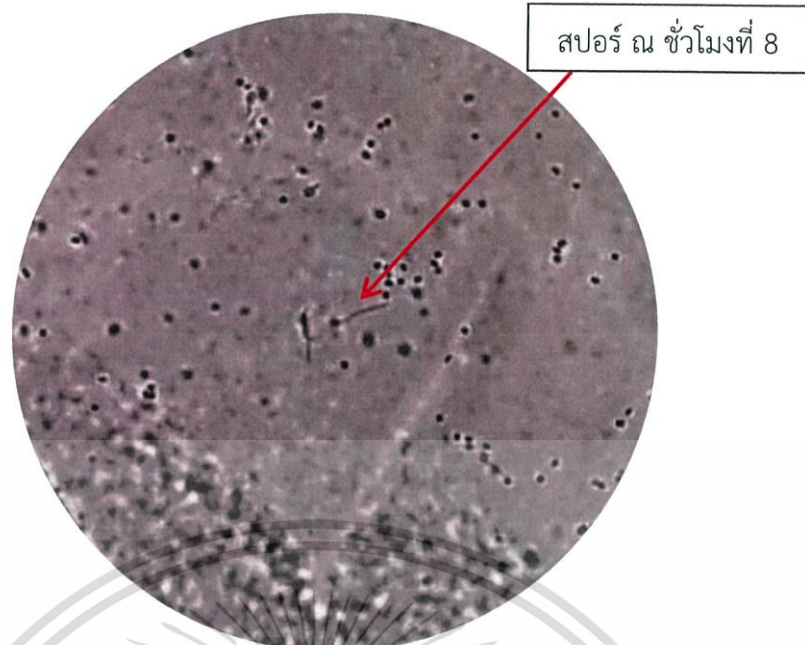


รูปที่ 4.42 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 6 พบว่า ไม่เกิดการงอกของสปอร์



รูปที่ 4.43 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 7 พบว่า สปอร์บางส่วนเริ่มงอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

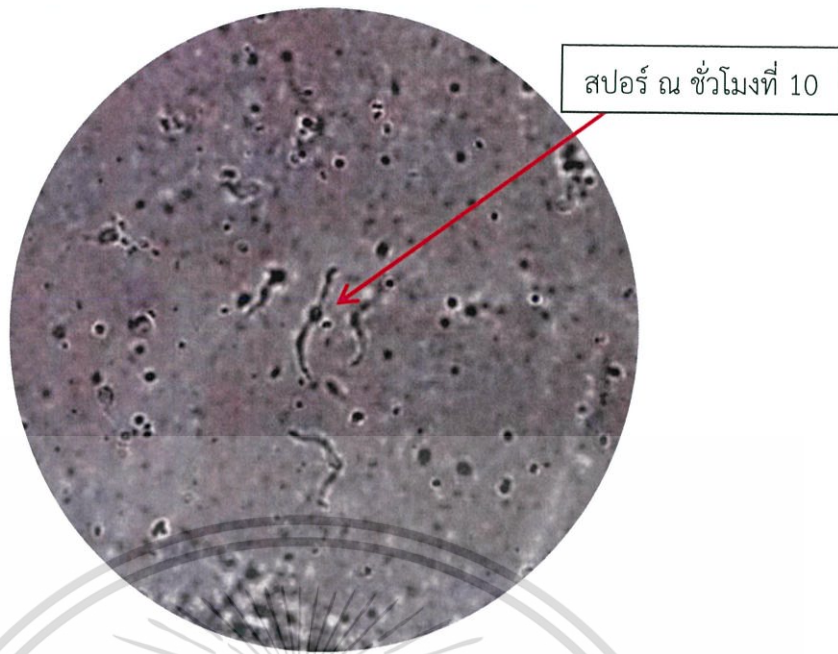


รูปที่ 4.44 การงอกของสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียชนิดบีทีไอโซเลขที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 8 พบว่า สปอร์ส่วนมากเริ่มงอก



รูปที่ 4.45 การงอกของสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียชนิดบีทีไอโซเลขที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 9 พบว่า สปอร์บางส่วนงอกยาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.46 การงอกของสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) ณ ชั่วโมงที่ 10 พบว่า สปอร์งอกยาว

จากการศึกษาการงอกของสปอร์แอกติโนมัยซีท (Spore germination) ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงแบบบ่มเขย่าความเร็วรอบ 230 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) แล้วนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงทุกๆ 1 ชั่วโมง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึง ชั่วโมงที่ 10 เพื่อนำมาใช้อ้างอิงการทำ spore pre-germination ของการทดลองที่ 4.5 ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วที่อุณหภูมิดังกล่าว สปอร์ของแอกติโนมัยซีททั่วไปจะเริ่มงอกที่ชั่วโมงที่ 8 (Allen, 1953) จากการศึกษาพบว่า เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 เริ่มตรวจพบการงอกครั้งแรกที่ชั่วโมงที่ 7 และสปอร์ส่วนมากตรวจพบการงอกได้ตั้งแต่ ชั่วโมงที่ 8 เป็นต้นไป ดังนั้น ในการทดลองที่ 4.5 จึงเลือกทำการ spore pre-germination ที่ 8 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) เพื่อทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อแอสโคดิโนมัยซีท

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุดในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) บ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 230 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 8 ชั่วโมง เพื่อให้สปอร์งอกก่อน (จากผลการศึกษาที่ 4.4) หลังจากนั้นนำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อไอโซเลทนี้ โดยการแบ่งเป็น 3 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่แตกต่างกัน คือ 7, 8, 9 และ 10

การทดลองที่ 2 ศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีความเข้มข้น NaCl ที่แตกต่างกัน คือ 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6%

การทดลองที่ 3 ศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยเพาะเลี้ยงอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 30 องศาเซลเซียส, 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส

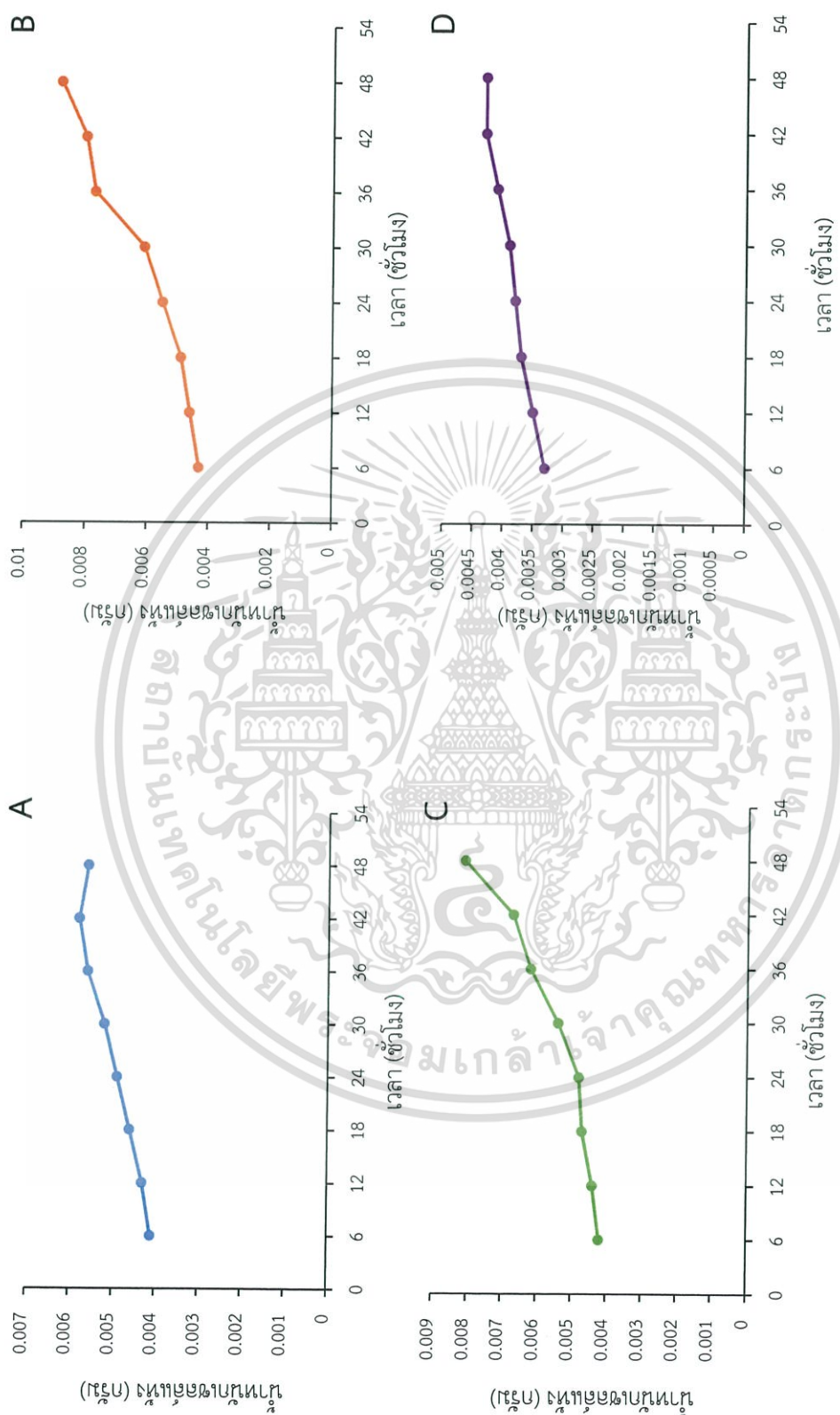
การทดลองที่ 1 ศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่แตกต่างกัน คือ 7, 8, 9 และ 10

ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ที่คำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่แตกต่างกันคือ 7, 8, 9 และ 10 พบว่า เชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว ISP2 ที่ระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) 8 มีการเจริญได้ดีที่สุด เนื่องจากมีช่วง log phase (Range of date) ที่สามารถนำมาคำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) ได้ค่ามากที่สุด และคำนวณค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ได้ค่าน้อยที่สุด แสดงผลดังตารางที่ 4.5 รูปที่ 4.47 ถึงรูปที่ 4.49

ตารางที่ 4.5 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่ระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่ต่างกัน

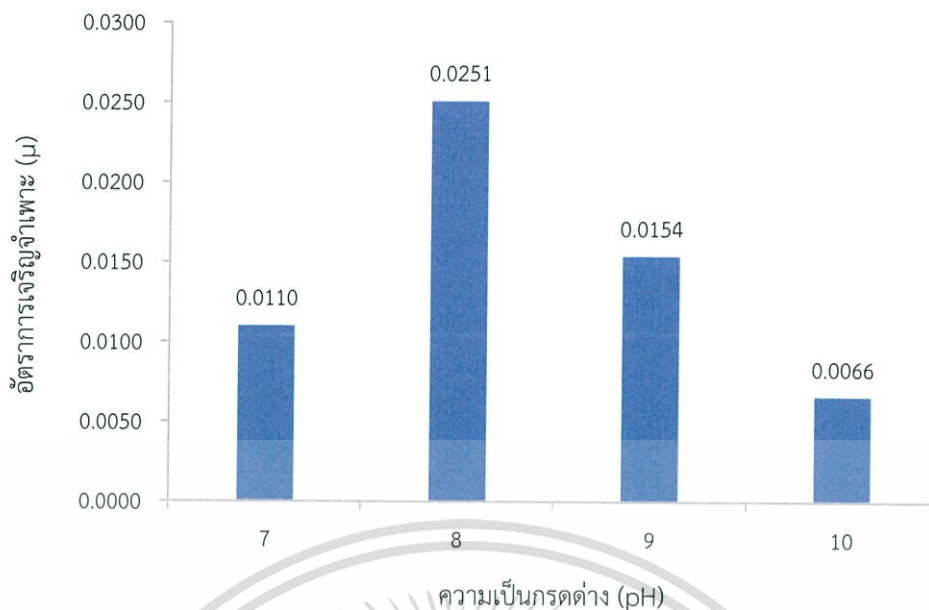
ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)	Range of date	Specific growth rate (μ) (ชั่วโมง)	Doubling time (t_d)
7	12 - 36	0.0110	63.0134
8	18 - 36	0.0251	27.6096
9	18 - 36	0.0154	45.0000
10	12 - 36	0.0066	105.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

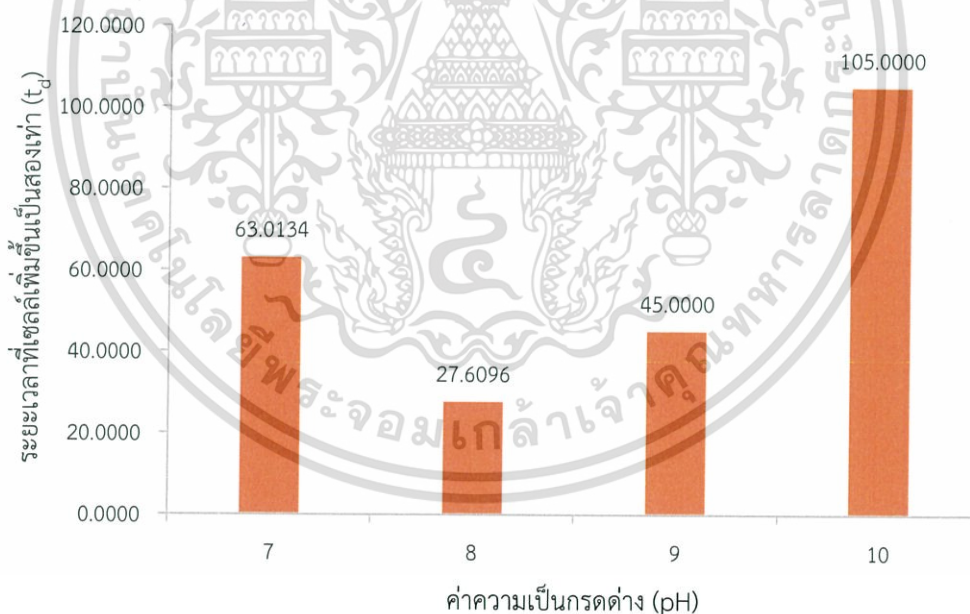


รูปที่ 4.47 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับจำนวนชั่วโมงของการทดลองที่ 1 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทีไอเอสที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International Streptomyces Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) คือ 7 (A), 8 (B), 9 (C) และ 10 (D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.48 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) ของเชื้อแอสโตโมนัสซีทโอโซเลท ที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) คือ 7, 8, 9 และ 10



รูปที่ 4.49 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอสโตโมนัสซีทโอโซเลท ที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) คือ 7, 8, 9 และ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่ 1 การศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสคิตินอมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่แตกต่างกันคือ 7, 8, 9 และ 10 โดยวิเคราะห์ผลการเจริญจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง (รูปที่ 4.47-4.49) จากนั้นนำค่าน้ำหนักเซลล์แห้งในช่วง log phase มาคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) จากตารางที่ 4.5 พบว่า เชื้อแอสคิตินอมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 สามารถเจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เป็น 8 เนื่องจากมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) สูงที่สุด เท่ากับ 0.0251 ชั่วโมง (รูปที่ 4.48) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ต่ำที่สุด เท่ากับ 27.6096 (รูปที่ 4.49) ซึ่งจากผลการทดลองได้สอดคล้องกับงานวิจัยของชลธิชา และคณะ (2553) ในหัวข้อการวิจัยเรื่อง ฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบของเชื้อแอสคิตินอมัยซีท ในส่วนของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอสคิตินอมัยซีท โดยใช้ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ในช่วง 4-9 รายงานว่า เชื้อแอสคิตินอมัยซีทที่คัดแยกได้สามารถเจริญได้ดีในค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ในช่วง 8-9



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

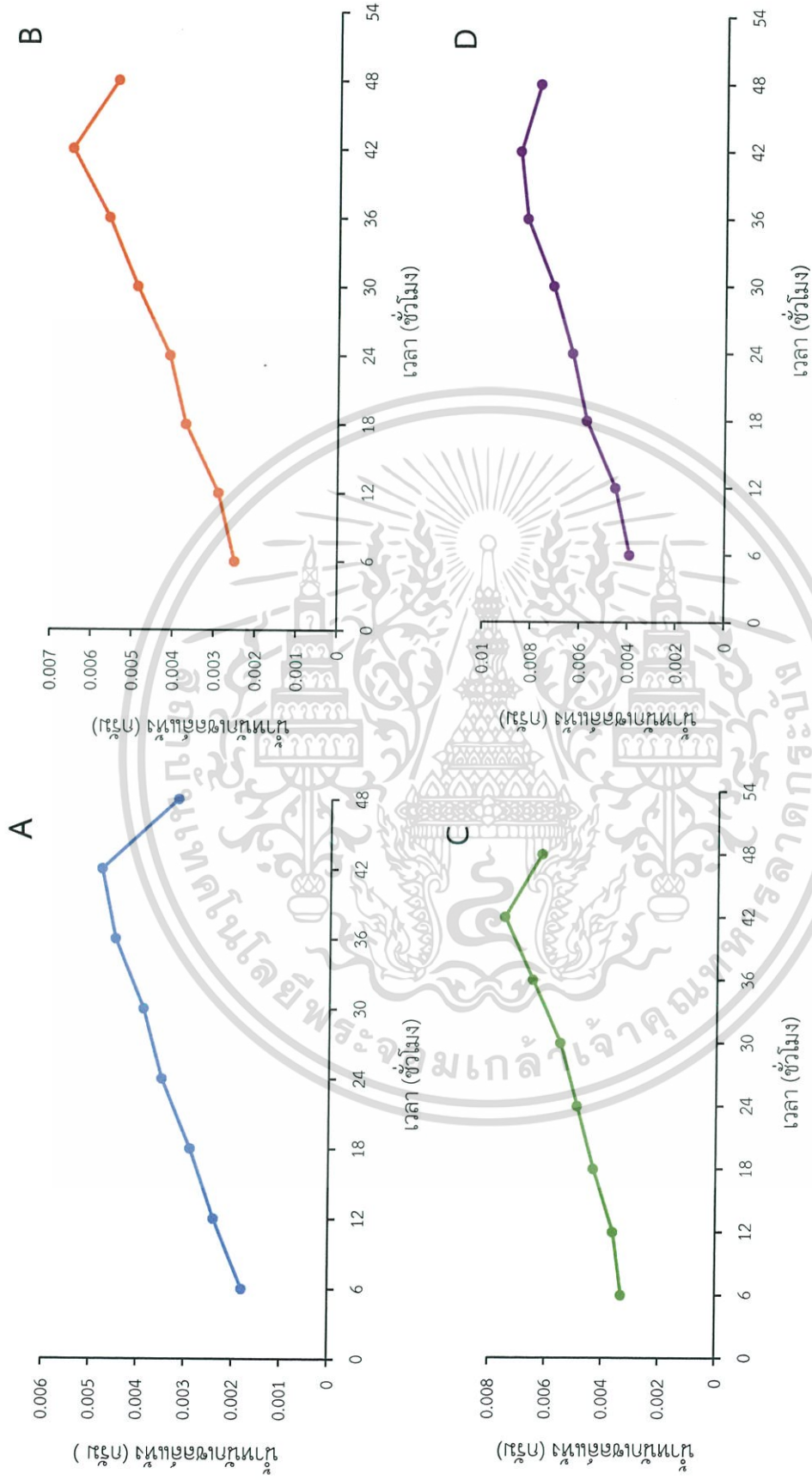
การทดลองที่ 2 ศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสคิตินมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีความเข้มข้น NaCl ที่แตกต่างกัน คือ 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6%

ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ที่คำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อแอสคิตินมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอสคิตินมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีความเข้มข้น NaCl ที่แตกต่างกัน คือ 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6% พบว่า เชื้อแอสคิตินมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 เลี้ยงในอาหารเหลว ISP2 ที่ระดับค่าความเข้มข้น 0% NaCl มีการเจริญได้ดีที่สุด เนื่องจากมีช่วง log phase (Range of date) ที่สามารถนำมาคำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) ได้ค่ามากที่สุด และค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ได้ค่าน้อยที่สุด แสดงผลดังตารางที่ 4.6 รูปที่ 4.50 ถึงรูปที่ 4.52

ตารางที่ 4.6 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอสคิตินมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่ระดับความเข้มข้น NaCl ที่ต่างกัน

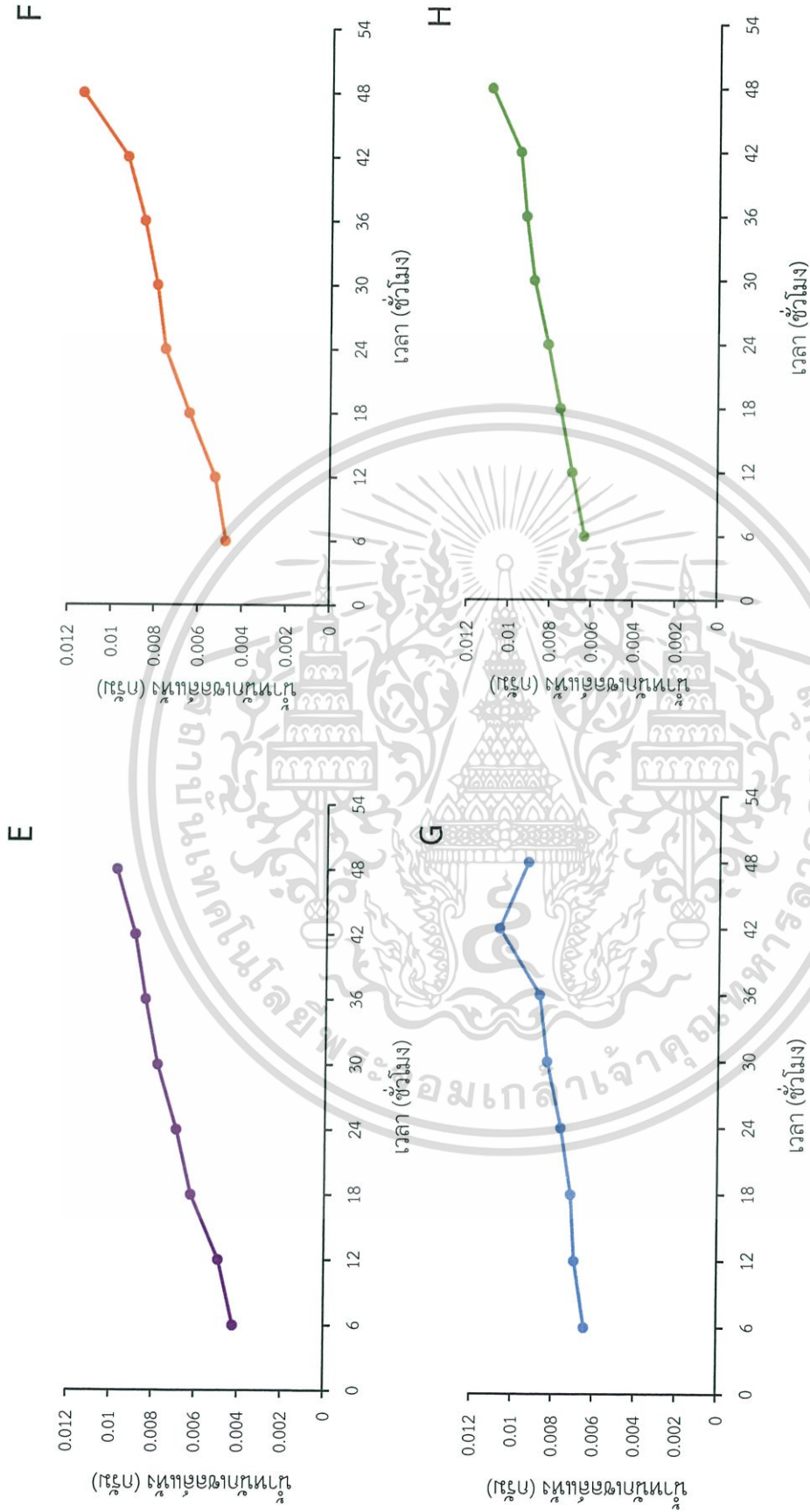
ค่าความเข้มข้น NaCl	Range of date	Specific growth rate (μ) (ชั่วโมง)	Doubling time (t_d)
0%	18 - 36	0.0244	28.4016
0.5%	12 - 30	0.0230	30.1304
1%	18 - 30	0.0205	33.8050
2%	12 - 36	0.0250	27.7200
3%	12 - 36	0.0225	30.8000
4%	12 - 36	0.0273	25.3846
5%	18 - 30	0.0130	53.3076
6%	18 - 30	0.0133	52.1052

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



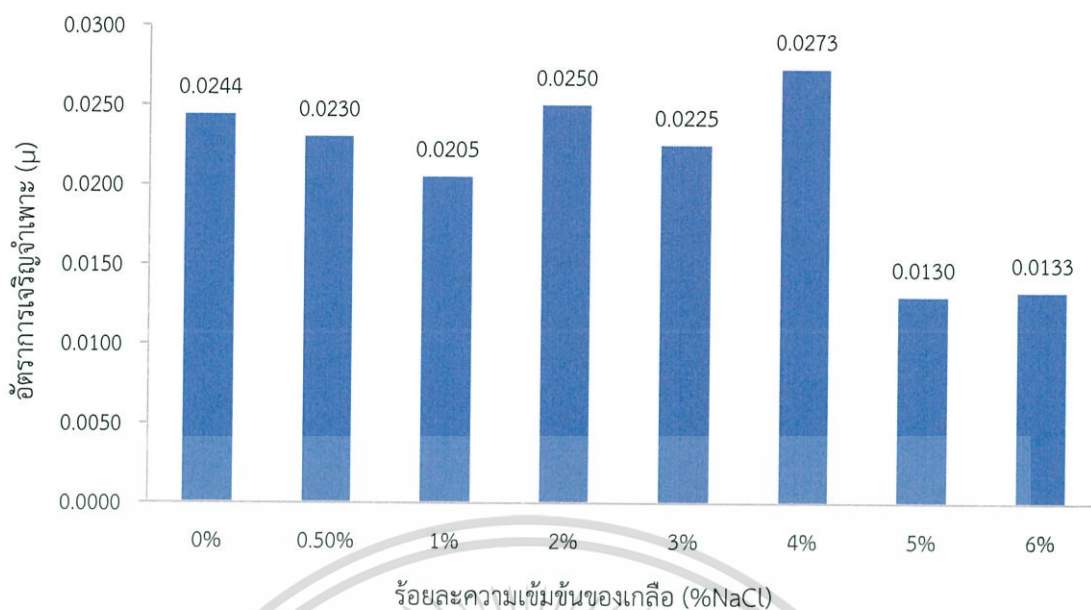
รูปที่ 4.50 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับจำนวนชั่วโมงของการทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทีไอเอสเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International Streptomyces Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเข้มข้น NaCl คือ 0% (A), 0.5% (B), 1% (C) และ 2% (D) NaCl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

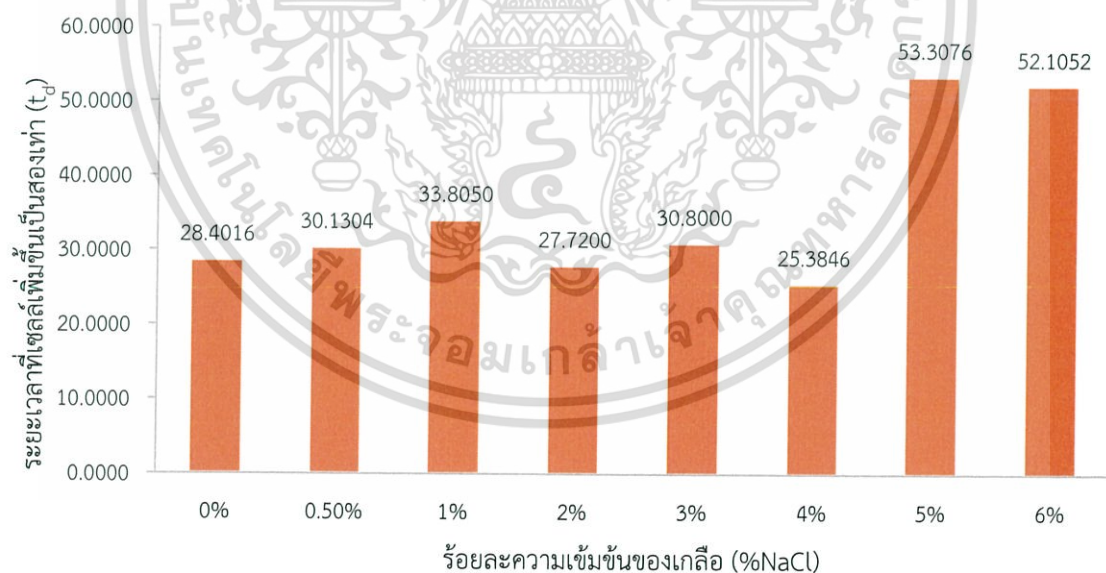


รูปที่ 4.50 (ต่อ) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับจำนวนชั่วโมงของการทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International Streptomyces Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเข้มข้น NaCl คือ 3% (E), 4% (F), 5% (G) และ 6% (H) NaCl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.51 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) ของเชื้อแอสโตโนมัยซีทีไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 2 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเข้มข้น NaCl คือ 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6%



รูปที่ 4.52 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอสโตโนมัยซีทีไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 2 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับค่าความเข้มข้น NaCl คือ 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 การศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสกีโทไมซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยปรับให้มีระดับความเข้มข้น NaCl ที่แตกต่างกัน คือ 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6% โดยวิเคราะห์ผลการเจริญจากค่าหน้าหนักเซลล์แห้ง ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง (รูปที่ 4.50-4.52) จากนั้นนำค่าหน้าหนักเซลล์แห้งในช่วง log phase มาคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) จากตารางที่ 4.6 พบว่า เชื้อแอสกีโทไมซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 สามารถเจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีค่าความเข้มข้นเป็น 4% NaCl เนื่องจากมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) สูงที่สุด เท่ากับ 0.0273 ชั่วโมง (รูปที่ 4.51) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ต่ำที่สุด เท่ากับ 25.3846 (รูปที่ 4.52) ซึ่งจากผลการทดลองได้สอดคล้องกับงานวิจัยของลักขมี (2556) ในหัวข้อการวิจัย เรื่องการคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติเชื้อแอสกีโทไมซีทที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ รายงานว่า เชื้อแอสกีโทไมซีทสกุล *Saccharothrix* สามารถเจริญในอาหารที่มีความเข้มข้นของ NaCl ระหว่าง 2-4% แต่เจริญได้สูงที่สุดที่ความเข้มข้นของ NaCl คือ 4%



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

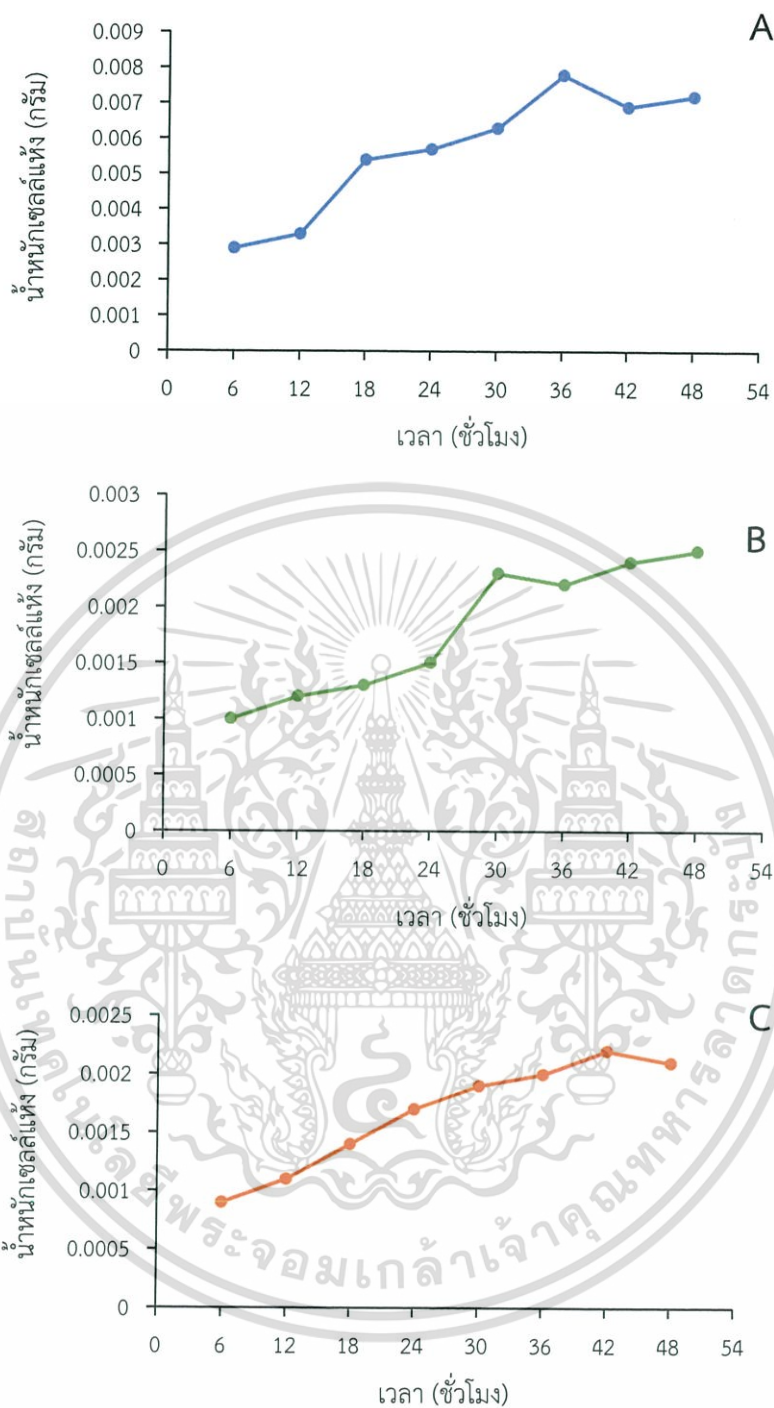
การทดลองที่ 3 ศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยเฉพาะเลี้ยงอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 30 องศาเซลเซียส, 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส

ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ที่คำนวณจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 3 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยเฉพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 30 องศาเซลเซียส, 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 เลี้ยงในอาหารเหลว ISP2 ที่เพาะเลี้ยงในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีการเจริญได้ดีที่สุด เนื่องจากมีช่วง log phase (Range of date) ที่สามารถนำมาคำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) ได้ค่ามากที่สุด และคำนวณค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ได้ค่าน้อยที่สุด แสดงผลดังตารางที่ 4.7 รูปที่ 4.53 ถึงรูปที่ 4.55

ตารางที่ 4.7 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่ระดับการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างกัน

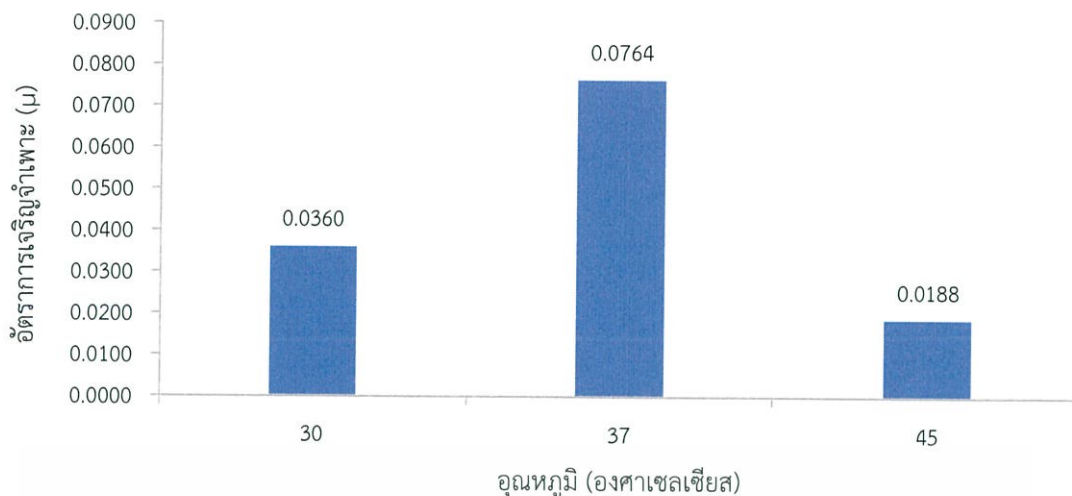
ค่าอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	Range of date	Specific growth rate (μ) (ชั่วโมง)	Doubling time (t_d)
30	12 - 30	0.0360	19.2500
37	12 - 36	0.0764	9.0701
45	18 - 42	0.0188	36.8617

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

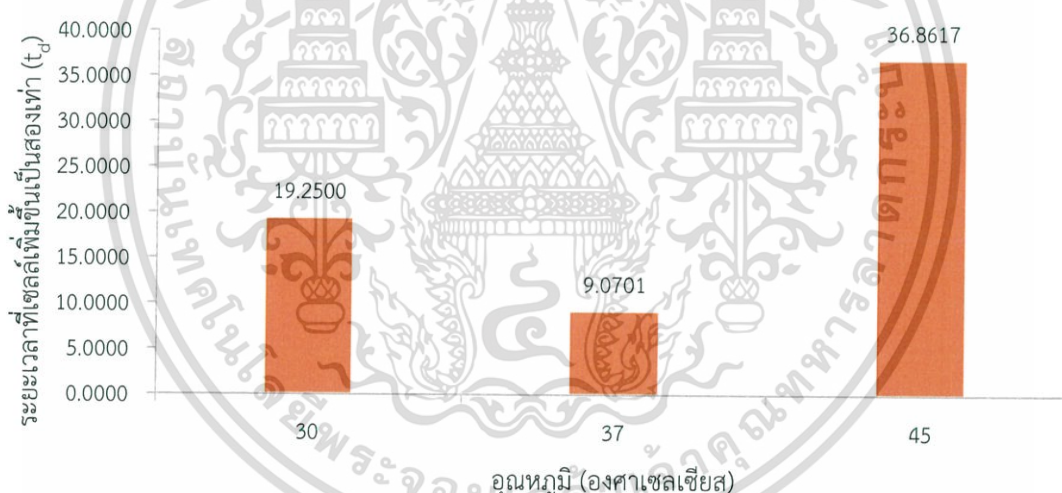


รูปที่ 4.53 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับจำนวนชั่วโมงของการทดลองที่ 3 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 (A), 37 (B) และ 45 (C) องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.54 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 3 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 30 องศาเซลเซียส, 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.55 แสดงระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 จากการทดลองที่ 3 ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 30 องศาเซลเซียส, 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 จากการศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยเฉพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 30 องศาเซลเซียส, 37 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ผลการเจริญจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง (รูปที่ 4.53-4.55) จากนั้นนำค่าน้ำหนักเซลล์แห้งในช่วง log phase มาคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) จากตารางที่ 4.7 พบว่า เชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 สามารถเจริญได้ดีที่สุดในการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) สูงที่สุด เท่ากับ 0.0764 ชั่วโมง (รูปที่ 4.54) และระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (t_d) ต่ำที่สุด เท่ากับ 9.0701 (รูปที่ 4.55) ซึ่งจากผลการทดลองได้สอดคล้องกับงานวิจัยของชลธิชา และคณะ (2553) ในหัวข้อการวิจัยเรื่อง ฤทธิ์ต้านการเจริญของจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบของเชื้อแอสคิโนมัยซีท ในส่วนของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอสคิโนมัยซีท โดยใช้อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง คือ 20, 37, 40, 45, 50 และ 55 องศาเซลเซียส รายงานว่า เชื้อแอสคิโนมัยซีทที่คัดแยกได้สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การศึกษาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

4.6.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพโดยวิธี Modified cross-streak

จากการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายแป้ง ได้ทำการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 3 ไอโซเลท ที่มีความสามารถในการย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุด 3 อันดับ ซึ่งได้แก่ ไอโซเลทที่ BBA 5103, BBA 1453 และ BBA 21103 นำมาทำการทดสอบการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATTC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028 ด้วยวิธี Modified cross-streak ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.10 พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 และ BBA 21103 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้ ดังตารางที่ 4.8 รูปที่ 4.56 ถึงรูปที่ 4.58

ตารางที่ 4.8 ผลการวัดระยะรั่นของการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีททั้ง 3 ไอโซเลท ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิด

ชนิดที่	เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	ระยะรั่น (มิลลิเมตร)					
		BBA 5103		BBA 1453		BBA 21103	
		ด้านซ้าย	ด้านขวา	ด้านซ้าย	ด้านขวา	ด้านซ้าย	ด้านขวา
C	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-
B	<i>Bacillus subtilis</i>	-	17.54	-	-	-	14.46
E	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
S	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-
M	<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	-	-
P	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATTC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028 ด้วยวิธี Modified cross-streak ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 5103 พบว่า *Bacillus subtilis* ATTC 6633 เกิดระยะร่น โดยวัดระยะได้ 17.54 มิลลิเมตร แสดงให้เห็นว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 5103 สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATTC 6633 ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.56



รูปที่ 4.56 ผลการทดสอบเบื้องต้นของการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลขที่ BBA 5103 (C) *Candida albicans* ATCC 90028 (B) *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (E) *Escherichia coli* ATCC 25922 (S) *Staphylococcus aureus* TISTR 118 (M) *Micrococcus luteus* TISTR 2374 (P) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028 ด้วยวิธี Modified cross-streak ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 พบว่าไม่เกิดระยะร่นของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิดแสดงให้เห็นว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ไม่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.57



รูปที่ 4.57 ผลการทดสอบเบื้องต้นของการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท BBA 1453 (C) *Candida albicans* ATCC 90028 (B) *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (E) *Escherichia coli* ATCC 25922 (S) *Staphylococcus aureus* TISTR 118 (M) *Micrococcus luteus* TISTR 2374 (P) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Bacillus subtilis* ATTC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028 ด้วยวิธี Modified cross-streak ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 พบว่า *Bacillus subtilis* ATTC 6633 เกิดระยะระงับ โดยวัดระยะได้ 14.46 มิลลิเมตร แสดงให้เห็นว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATTC 6633 ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4.58



รูปที่ 4.58 ผลการทดสอบเบื้องต้นของการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบของไอโซเลท BBA 21103 (C) *Candida albicans* ATCC 90028 (B) *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (E) *Escherichia coli* ATCC 25922 (S) *Staphylococcus aureus* TISTR 118 (M) *Micrococcus luteus* TISTR 2374 (P) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการนำเชื้อแอกติโนมัยซีทที่ผ่านการคัดเลือกตัวแทนจากไอโซเลททั้งหมดมาทดสอบ โดยคัดเลือกจากความสามารถในการย่อยสลายแป้ง 3 ลำดับ ที่สามารถย่อยสลายแป้งได้มากที่สุด ประกอบไปด้วย ไอโซเลทที่ BBA 5103, BBA 1453 และ BBA 21103 นำมาทดสอบการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิด ประกอบด้วยยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* ATCC 90028 แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 โดยใช้วิธี Modified cross-streak พบว่า เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 และ BBA 21103 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ซึ่งวัดระยะร่นได้ 17.54 มิลลิเมตร และ 14.46 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิดได้เลย ซึ่งจากผลการทดลองได้สอดคล้องกับงานวิจัยของดุซมิ และคณะ (2555) ในหัวข้อการวิจัยเรื่อง เชื้อแอกติโนมัยซีทบนพื้นผิวที่แยกจากต้นข้าว (*Oryza sativa* L.) และกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของเชื้อนั้น โดยนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *Pyricularia grisea*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธีการเบื้องต้นโดยการลากขีด พบว่า เชื้อแอกติโนมัยซีท AT2L-11 สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้ และเชื้อแอกติโนมัยซีท SPL-1, AT2L-12, AY1S-15, PT1S-7 และ AY1S-29 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิดได้ นอกจากนี้ การไม่เกิดการยับยั้งหรือไม่เกิดระยะร่นระหว่างเชื้อแอกติโนมัยซีทและเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ จะขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่นำมาทดสอบ เนื่องจากเชื้อแอกติโนมัยซีทบางสายพันธุ์ไม่มีความสามารถในการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ ดังนั้น เมื่อนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบจึงไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งทางชีวภาพ (Fitri *et al.*, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านทานทางชีวภาพโดยวิธี Modified cross-streak ของเชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 3 ไอโซเลท คือ BBA 5103, BBA 1453 และ BBA 21103 ได้นำเชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 3 ไอโซเลท มาทำการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion เพื่อจะทำการตรวจสอบสารสกัดจากน้ำหมักและตัวเซลล์ที่ทราบความเข้มข้น โดยนำเชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 3 ไอโซเลท มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Yeast extract-Malt extract (YEME) โดยทำการสกัดสารจากน้ำหมักด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เอทิลอะซิเตต และสกัดสารจากตัวเซลล์ด้วยเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำการทดสอบด้วยเทคนิค Agar disc diffusion ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.11 โดยใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเป็น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นทดสอบปริมาตร 20 ไมโครลิตร ซึ่งมี Negative control คือ เมทานอล และ Positive control เป็นยาปฏิชีวนะ Kanamycin ความเข้มข้น 1.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมด 6 ชนิด ประกอบด้วย ยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* ATCC 90028 แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 แล้วทำการตรวจผล พบว่า สารสกัดหยาบจากน้ำหมักของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 และ BBA 21103 สามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 โดยวัดวงใสของระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากน้ำหมัก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ 7.50 มิลลิเมตรและ 6.97 มิลลิเมตร ตามลำดับ และระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ 11.59 มิลลิเมตร และ 12.04 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและตัวเซลล์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิดได้ ดังตารางที่ 4.9 รูปที่ 4.59 ถึงรูปที่ 4.76

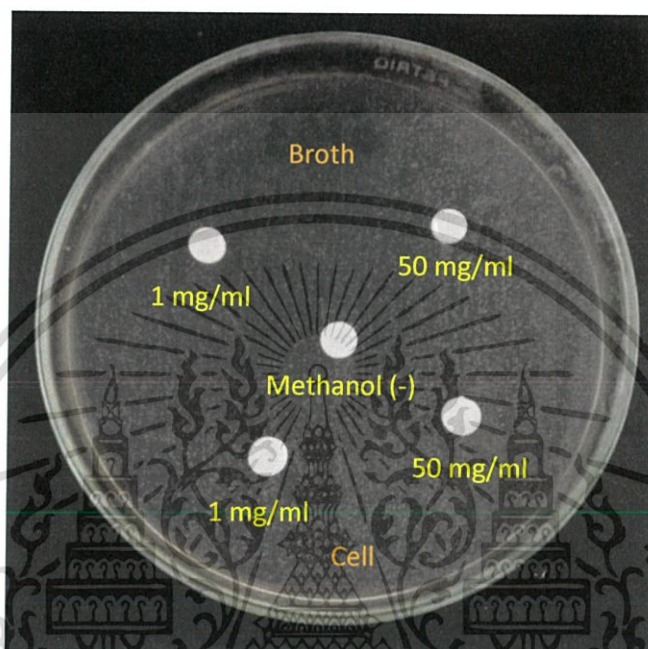
ตารางที่ 4.9 ผลการวัดวงใส (Inhibition zone) จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ที่ได้จากเชื้อแอสคิโนมัยซีทั้ง 3 ไอโซเลท ในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disc diffusion

ไอโซเลท	จุลินทรีย์ทดสอบ	สารสกัดหยาบ จากน้ำหมัก (มิลลิเมตร)		สารสกัดหยาบ จากตัวเซลล์ (มิลลิเมตร)	
		50 mg/ml	1 mg/ml	50 mg/ml	1 mg/ml
BBA 5103	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-
	<i>Bacillus subtilis</i>	11.59	7.50	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
	<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
BBA 1453	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-
	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
	<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
BBA 21103	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-
	<i>Bacillus subtilis</i>	12.04	6.97	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
	<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-

หมายเหตุ : ผลการทดสอบรวมเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นทดสอบ (แผ่นทดสอบมีขนาด 6 มิลลิเมตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

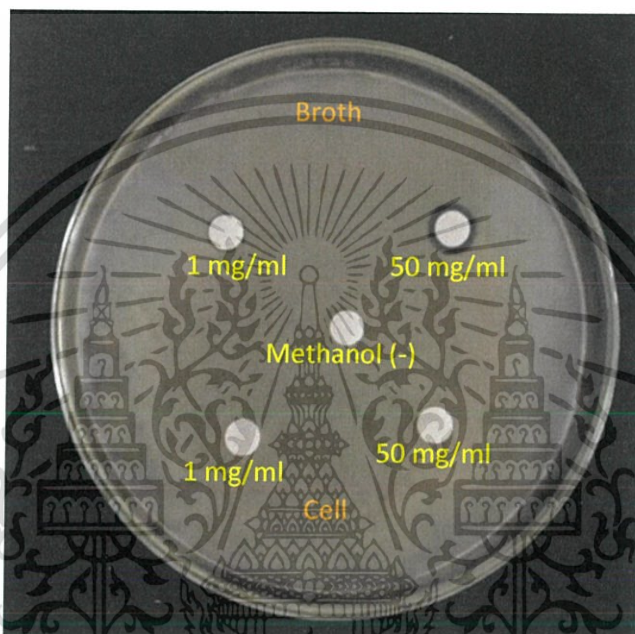
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคติโนมายซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Candida albicans* ATCC 90028 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Candida albicans* ATCC 90028 ดังแสดงในรูปที่ 4.59



รูปที่ 4.59 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Candida albicans* ATCC 90028 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคติโนมายซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

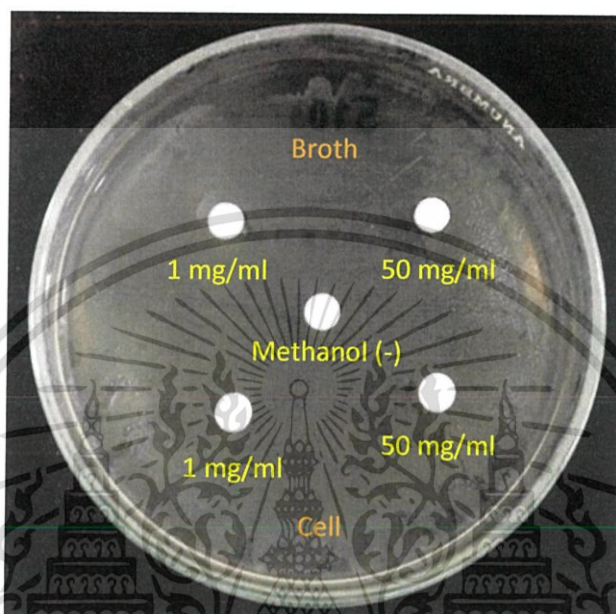
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคดีโนไมซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Bacillus subtilis* ATTC 6633 พบว่า เกิดวงใส (Clear zone) โดยสารสกัดหยาบจากน้ำหมักที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 7.50 มิลลิเมตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 11.59 มิลลิเมตรดังนั้น เชื้อแอสโคดีโนไมซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 จึงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATTC 6633 ดังแสดงในรูปที่ 4.60



รูปที่ 4.60 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคดีโนไมซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

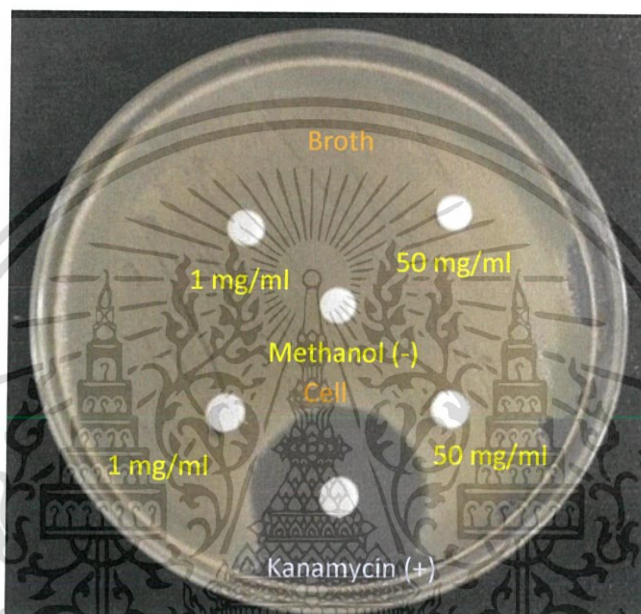
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสคิตโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Escherichia coli* ATCC 25922 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC 25922 ดังแสดงในรูปที่ 4.61



รูปที่ 4.61 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC 25922 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสคิตโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

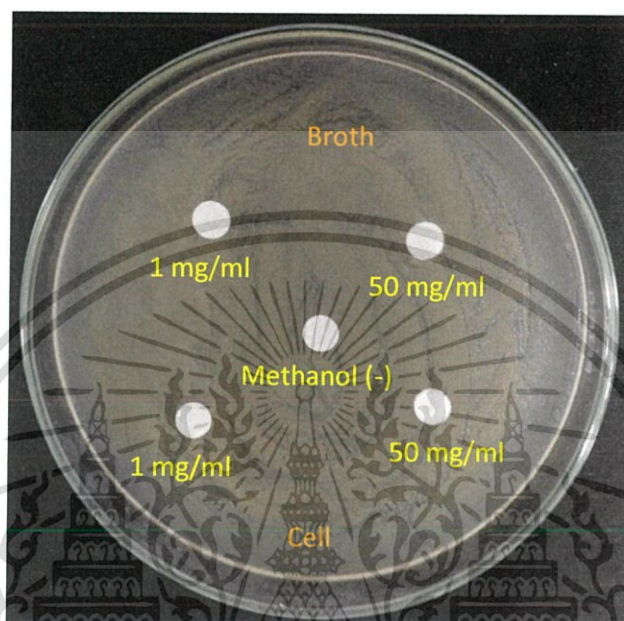
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 เมื่อเปรียบเทียบกับ Positive control คือยาปฏิชีวนะ Kanamycin ความเข้มข้น 1.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งวัดระยะเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 28.95 มิลลิเมตร ดังแสดงในรูปที่ 4.62



รูปที่ 4.62 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

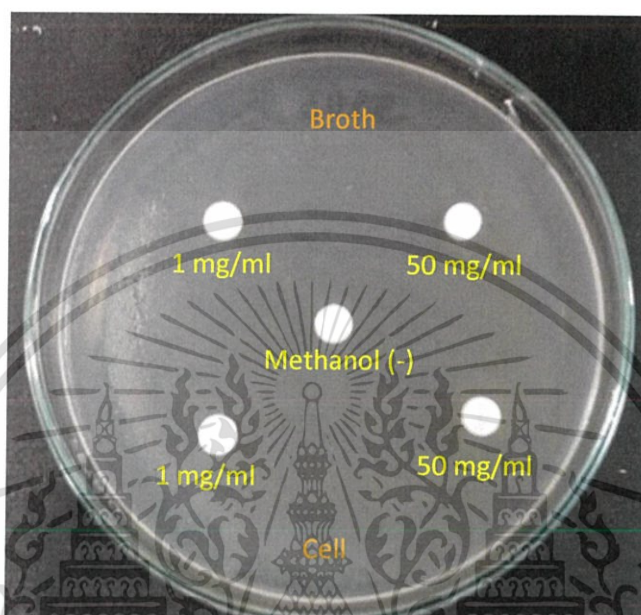
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ดังแสดงในรูปที่ 4.63



รูปที่ 4.63 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

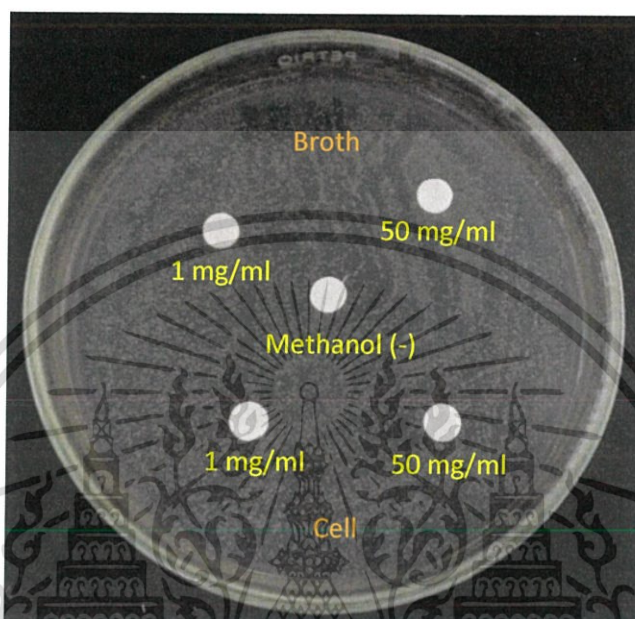
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสคิตินอิมยชีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ดังแสดงในรูปที่ 4.64



รูปที่ 4.64 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสคิตินอิมยชีทไอโซเลทที่ BBA 5103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

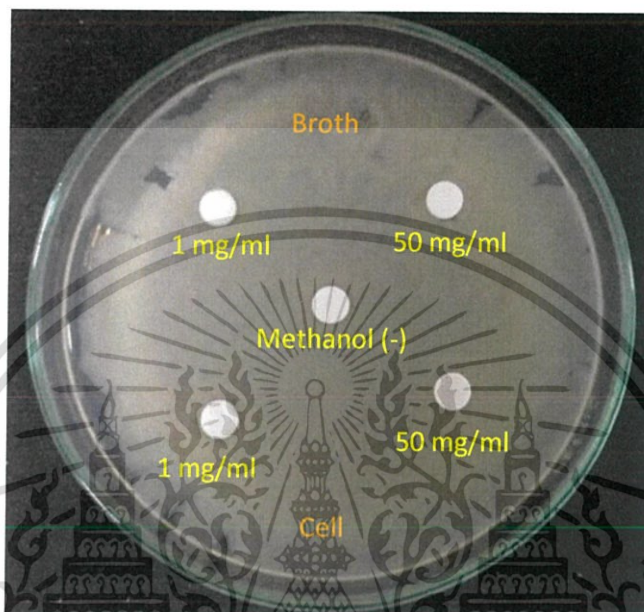
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Candida albicans* ATCC 90028 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Candida albicans* ATCC 90028 ดังแสดงในรูปที่ 4.65



รูปที่ 4.65 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Candida albicans* ATCC 90028 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

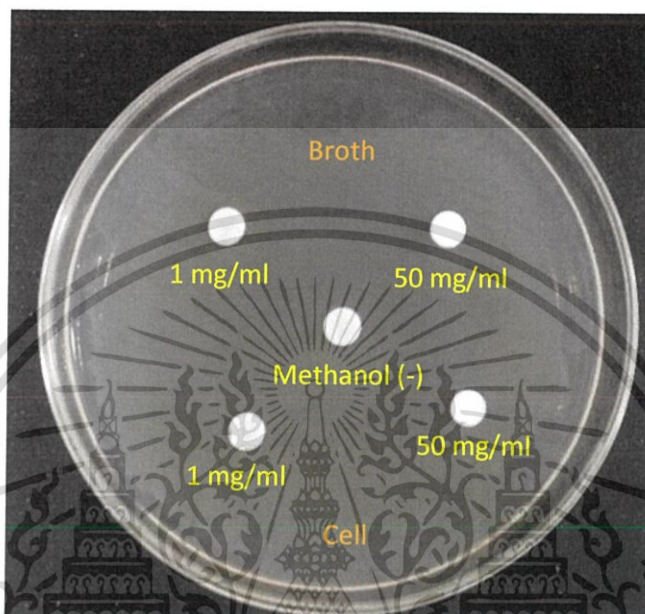
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 1453 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Bacillus subtilis* ATTC 6633 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATTC 6633 ดังแสดงในรูปที่ 4.66



รูปที่ 4.66 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATTC 6633 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

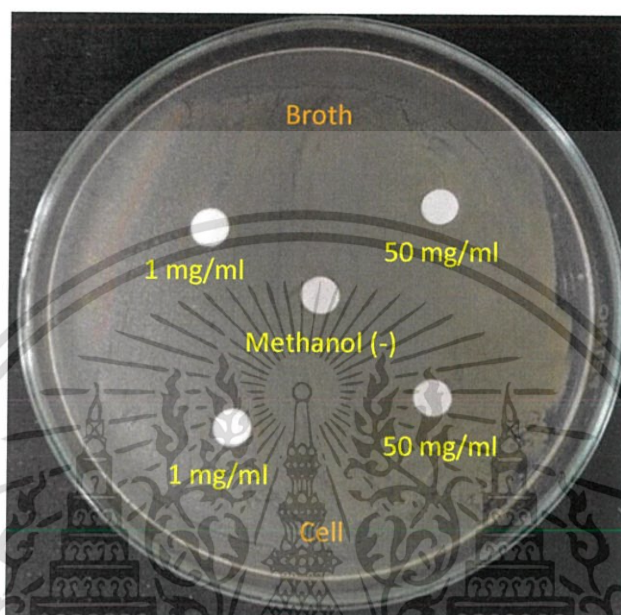
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอกติโนไมซีไทโอโซเลขที่ BBA 1453 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Escherichia coli* ATCC 25922 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC 25922 ดังแสดงในรูปที่ 4.67



รูปที่ 4.67 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC 25922 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอกติโนไมซีไทโอโซเลขที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

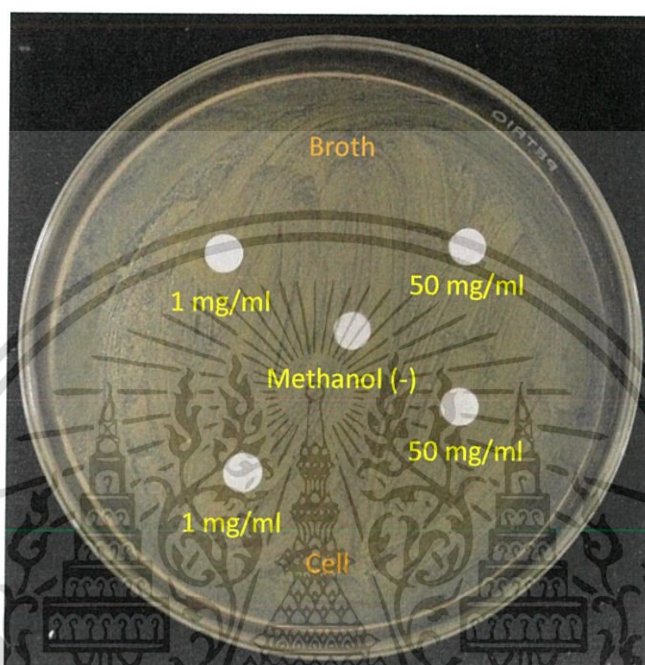
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 1453 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ดังแสดงในรูปที่ 4.68



รูปที่ 4.68 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

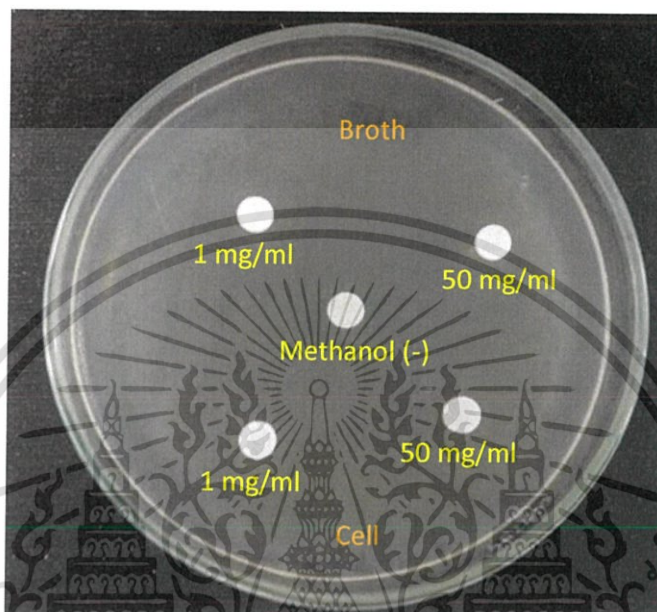
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ดังแสดงในรูปที่ 4.69



รูปที่ 4.69 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

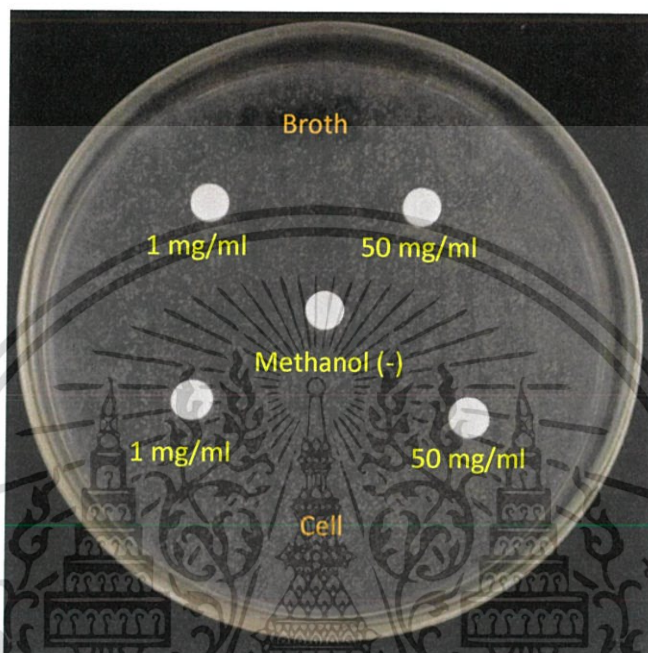
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสคิตินอิมยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ดังแสดงในรูปที่ 4.70



รูปที่ 4.70 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสคิตินอิมยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

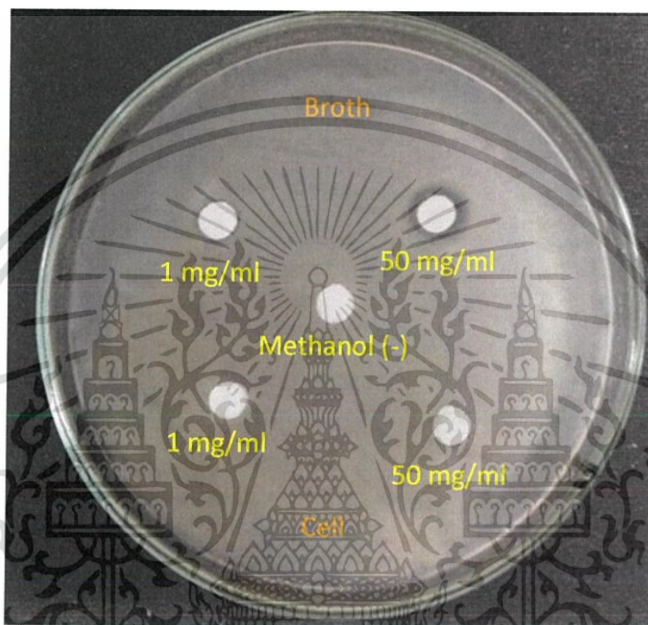
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Candida albicans* ATCC 90028 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Candida albicans* ATCC 90028 ดังแสดงในรูปที่ 4.71



รูปที่ 4.71 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Candida albicans* ATCC 90028 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

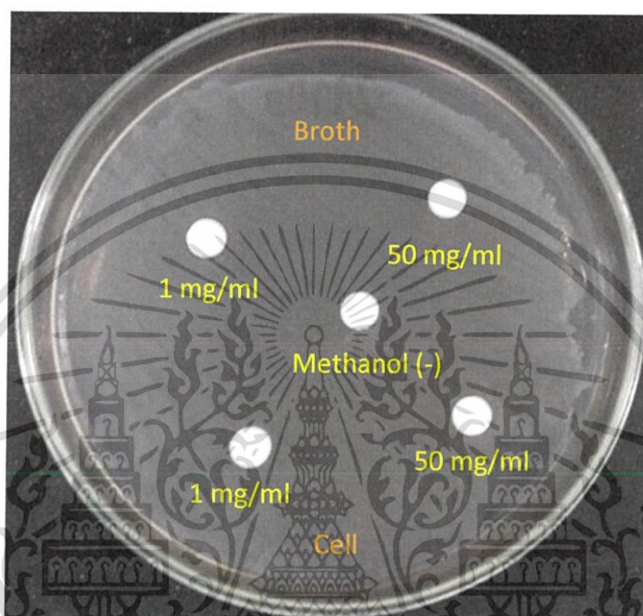
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 พบว่า เกิดวงใส (Clear zone) โดยสารสกัดหยาบจากน้ำหมักที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 6.97 มิลลิเมตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วัดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 12.04 มิลลิเมตร ดังนั้น เชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 จึงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ดังแสดงในรูปที่ 4.72



รูปที่ 4.72 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

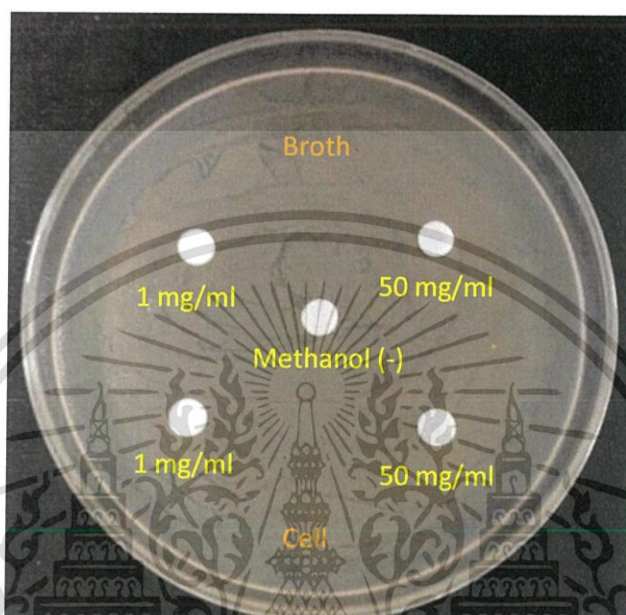
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 21103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Escherichia coli* ATCC 25922 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC 25922 ดังแสดงในรูปที่ 4.73



รูปที่ 4.73 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC 25922 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

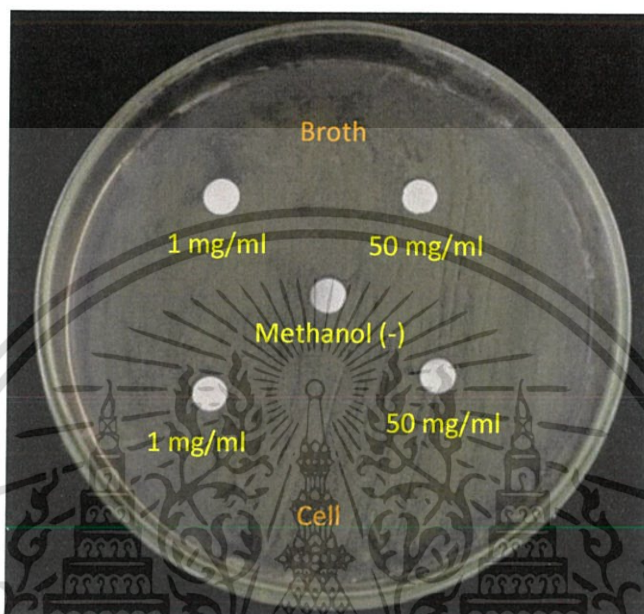
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ดังแสดงในรูปที่ 4.74



รูปที่ 4.74 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

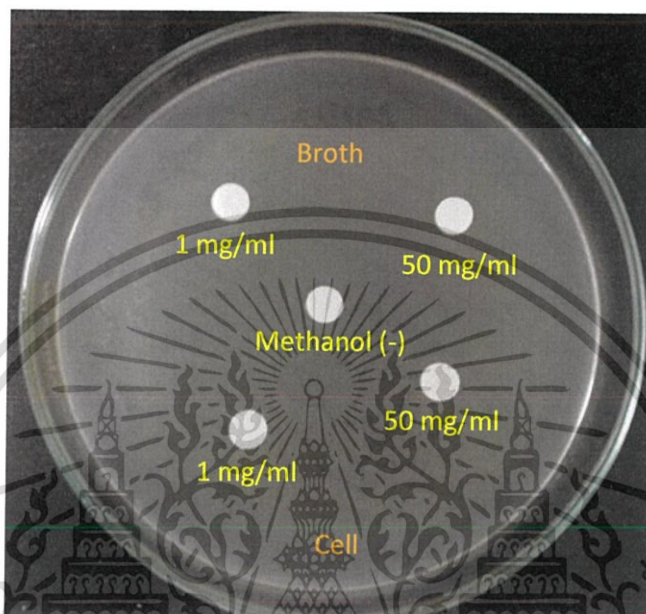
จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ดังแสดงในรูปที่ 4.75



รูปที่ 4.75 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอสกีโตไมซีทไอโซเลทที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านทานทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 21103 ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 พบว่า ไม่เกิดวงใส (Clear zone) โดยไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ดังแสดงในรูปที่ 4.76



รูปที่ 4.76 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 จากสารสกัดหยาบจากน้ำหมักและสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขที่ BBA 21103 ด้วยวิธี agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธี Modified cross-streak ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103, BBA 1453 และ BBA 21103 กับ จุลินทรีย์ทดสอบ 6 ชนิด ประกอบด้วย ยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* ATCC 90028 แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ได้ผลดังตารางที่ 4.8 และจากนั้นนำเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103, BBA 1453 และ BBA 21103 นี้มาทำการทดสอบการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยนำเชื้อแอคติโนมัยซีททั้ง 3 ไอโซเลท มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Yeast extract-Malt extract (YEME) เพื่อให้ได้สารสกัดจากน้ำหมักและตัวเซลล์ โดยทำการสกัดสารจากน้ำหมักด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เอทิลอะซิเตต และสกัดสารจากตัวเซลล์ด้วยเมทานอล จากนั้นได้ทำการทดสอบด้วยเทคนิค Agar disc diffusion โดยตรวจผลจากการเกิดวงใส (Clear zone) จากผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 4.9 พบว่า มีเชื้อแอคติโนมัยซีททั้งหมด 2 ไอโซเลท มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ คือ มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ซึ่งได้แก่ ไอโซเลทที่ BBA 5103 โดยสารสกัดหยาบจากน้ำหมักที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ 11.59 มิลลิเมตร และในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ 7.50 มิลลิเมตร และไอโซเลทที่ BBA 21103 โดยสารสกัดหยาบจากน้ำหมักที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ 12.04 มิลลิเมตร และในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ 6.97 มิลลิเมตร ส่วนไอโซเลทที่ BBA 1453 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้เลย ซึ่งจากผลการทดลองได้สอดคล้องกับงานวิจัยของเศศแก้วกัลยา และคณะ (2555) ในหัวข้อการวิจัยเรื่อง การคัดกรองและการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ โดยนำเชื้อแอคติโนมัยซีทมาทำการศึกษาการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pyricularia grisea* ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท NR9-14 สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้ และจากผลการทดลองของการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอคติโนมัยซีทโดยสารสกัดหยาบจากน้ำหมักหรือสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตต และสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์หรือสารสกัดหยาบในชั้นเมทานอล ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Krishnaraj และ Mathivanan (2009) ในหัวข้องานวิจัยเรื่อง ศักยภาพของสารต้านทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากดินตะกอนทะเล อ่าว Bengal ประเทศอินเดีย ที่นำมาศึกษาการผลิตสารที่มีฤทธิ์การยับยั้งทางชีวภาพทั้งภายในเซลล์ (Intracellular) และภายนอกเซลล์ (Extracellular) พบว่า สารสกัดหยาบจากน้ำหมักของแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้ สามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์การยับยั้งทางชีวภาพ ที่ยับยั้งเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus ได้ แต่สารสกัดยับยั้งจากตัวเซลล์ไม่ผลิตสารที่มีฤทธิ์การยับยั้งทางชีวภาพที่ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ นอกจากนี้ การศึกษาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีท โดยการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารได้หลายชนิด โดยตัวทำละลายแต่ละชนิดทำปฏิกิริยาต่างกัน ดังนั้น การศึกษาจะขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่นำมาใช้ในการสกัดนั้น เหมาะสมกับเชื้อแอคติโนมัยซีทมากน้อยเพียงใด (Kumar *et al.*, 2012)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาและทำการคัดแยกเชื้อแอสโคดิโนไมซีทจากดินป่าชายเลนบริเวณโรงเรียนบวรวิทยายน อำเภอบางปะกง ตำบลบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา สามารถคัดแยกเชื้อแอสโคดิโนไมซีทได้ทั้งหมดจำนวน 34 ไอโซเลทจากการเก็บตัวอย่างดินป่าชายเลนจำนวน 10 จุด ที่มีน้ำหนักดินเฉลี่ย 0.6655 กรัม ปริมาณความชื้นเฉลี่ยร้อยละ 51.01 และค่าความเป็นกรดต่างตั้งแต่ 7.12-7.82 และจากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอสโคดิโนไมซีทบนอาหาร Starch casein agar พบว่า เชื้อแอสโคดิโนไมซีทสามารถเจริญและสร้างสปอร์ได้ดีเฉลี่ยอยู่ที่ 5-12 วัน โดยเชื้อแอสโคดิโนไมซีทมีการสร้างเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) และเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) จากนั้นได้ทำการแบ่งกลุ่มของแอสโคดิโนไมซีทออกเป็น 11 กลุ่ม โดยแบ่งตามสีของ aerial mycelium เมื่อเทียบกับระบบสี NBS/ISCC ได้ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีทที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Yellowish Pink มีสมาชิกทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 153, BBA 2453, BBA 3983, BBA 40102 และ BBA 4312

กลุ่มที่ 2 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีทที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Yellow มีสมาชิกทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 362, BBA 853, BBA 32103 และ BBA 4212

กลุ่มที่ 3 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีทที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Brown มีสมาชิกทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 462, BBA 1583, BBA 1983 และ BBA 2962

กลุ่มที่ 4 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีทที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Brownish Pink มีสมาชิกทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 5103, BBA 1732 และ BBA 21103

กลุ่มที่ 5 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีทที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Reddish Brown มีสมาชิกทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 7104, BBA 1062, BBA 2012, BBA 2383 และ BBA 4722

กลุ่มที่ 6 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีทที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Orange Yellow มีสมาชิกทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 643

กลุ่มที่ 7 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีทที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Red มีสมาชิกทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 1143, BBA 1212 และ BBA 4652

กลุ่มที่ 8 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีทที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Blue มีสมาชิกทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 1453

กลุ่มที่ 9 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีทที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Yellowish Brown มีสมาชิกทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 1872, BBA 2574, BBA 26105 และ BBA 4893

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 10 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Green มีสมาชิกทั้งหมด 2 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 22104 และ BBA 35105

กลุ่มที่ 11 กลุ่มแอสโคดิโนไมซีที่สร้างเส้นใยอากาศ สี Pink มีสมาชิกทั้งหมด 2 ไอโซเลท ได้แก่ BBA 3612 และ BBA 4133

นำแอสโคดิโนไมซีทั้ง 34 ไอโซเลทมาตรวจสอบลักษณะทางชีวเคมีโดยทดสอบการตกตะกอน โปรตีน, การย่อยสลายโปรตีน, การย่อยสลายแป้ง, การย่อยสลายเจลาติน และการย่อยสลายไนเตรต พบว่า ร้อยละ 61.76 สามารถย่อยสลายโปรตีนในนมได้ ร้อยละ 50 สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ ร้อยละ 47.05 สามารถย่อยสลายแป้งได้ ร้อยละ 58.82 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และร้อยละ 50 สามารถย่อยสลายไนเตรตได้ จากนั้นทำการคัดเลือกเชื้อแอสโคดิโนไมซีจำนวน 1 ไอโซเลท จากความสามารถในการย่อยสลายแป้ง (ไอโซเลทที่เกิดวงเคลย์โซนกว้างมากที่สุด) คือ เชื้อแอสโคดิโนไมซี ไอโซเลทที่ BBA 1453 นำมาทำการศึกษาอัตราการเจริญในสภาวะที่เหมาะสมของเชื้อแอสโคดิโนไมซี ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยมีความเป็นกรด-ด่าง (pH), ความเข้มข้นของเกลือ (%NaCl) และอุณหภูมิ ที่แตกต่างกัน ผลปรากฏว่า

การทดลองที่ 1 การเจริญของเชื้อแอสโคดิโนไมซีไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยมีระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่แตกต่างกัน คือ 7, 8, 9 และ 10 พบว่า เชื้อแอสโคดิโนไมซีไอโซเลทที่ BBA 1453 มีแนวโน้มในการเจริญได้ดีที่สุดที่ pH 8 โดยมีค่าอัตราเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) ที่มากที่สุด คือ 0.0251 ชั่วโมง และ มีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) น้อยที่สุด คือ 27.6096

การทดลองที่ 2 การเจริญของเชื้อแอสโคดิโนไมซีไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยมีระดับความเข้มข้นของเกลือ (%NaCl) ที่แตกต่างกัน คือ 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% และ 6% พบว่า เชื้อแอสโคดิโนไมซีไอโซเลทที่ BBA 1453 มีแนวโน้มในการเจริญได้ดีที่สุดที่ 4% NaCl โดยมีค่าอัตราเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) ที่มากที่สุด คือ 0.0273 ชั่วโมง และ มีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) น้อยที่สุด คือ 25.3846

การทดลองที่ 3 การเจริญของเชื้อแอสโคดิโนไมซีไอโซเลทที่ BBA 1453 ในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) โดยมีระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อแอสโคดิโนไมซีไอโซเลทที่ BBA 1453 มีแนวโน้มในการเจริญได้ดีที่สุดที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีค่าอัตราเจริญจำเพาะ (Specific growth rate: μ) ที่มากที่สุด คือ 0.0764 ชั่วโมง และ มีค่าระยะเวลาที่เซลล์เพิ่มจำนวนเป็นสองเท่า (Doubling time: t_d) น้อยที่สุด คือ 9.0701

จากการศึกษาการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยเทคนิค Modified cross-streak และ Agar disc diffusion โดยมีเชื้อแอสกีโนมัยซีทจำนวน 3 ไอโซเลท ซึ่งคัดเลือกจากความสามารถในการย่อยสลายแป้งได้ดีที่สุดสามอันดับ ได้แก่ ไอโซเลทที่ BBA 5103, BBA 1453 และ BBA 21103 พบว่า เชื้อแอสกีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 และ BBA 21103 สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 25922 ส่วนเชื้อแอสกีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 ชนิดได้เลย โดยจากการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ด้วยเทคนิค Agar disc diffusion สารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตตของเชื้อแอสกีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 5103 และ BBA 21103 สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 25922 ได้ ซึ่งทางสารสกัดหยาบจากเซลล์ในชั้นเมทานอลนั้น ไม่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่ยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 25922 ได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ป่าชายเลนอำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา เป็นแหล่งธรรมชาติที่ค้นพบแอสกีโนมัยซีทที่มีความหลากหลาย แต่ก็ควรที่จะมีการศึกษาดินป่าชายเลนในพื้นที่ที่แตกต่างกันอีก เพื่อที่จะสามารถค้นพบแอสกีโนมัยซีทที่มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น

5.2.2 จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเชื้อแอสกีโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BBA 1453 สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดคือ International *Streptomyces* Project (ISP2) และอาหาร Inorganic salts starch (ISP4) และมีแนวโน้มว่าจะเจริญได้ดีในอาหารเหลว Inorganic salts starch (ISP4) ได้ดีกว่า สังเกตได้จากการ cross streak และการ subculture ลงในอาหารเอียง ดังนั้น ควรจะศึกษาเชื้อแอสกีโนมัยซีทที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มี starch soluble เป็นแหล่งคาร์บอน เนื่องจาก starch soluble มีราคาถูก สามารถลดต้นทุนการผลิตในเชิงอุตสาหกรรมได้

5.2.3 จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแอสกีโนมัยซีทนั้น ในชั่วโมงที่ 48 จะมีตะกอนเซลล์มากขึ้น ทำให้มีมวลน้ำหนักเซลล์เพิ่มขึ้น ดังนั้นควรกรองเซลล์ด้วยความระมัดระวังเพื่อป้องกันค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่คลาดเคลื่อนไปจากความจริง

5.2.4 ในการทดสอบสารยับยั้งทางชีวภาพ มีการทดสอบกับแบคทีเรียและยีสต์เท่านั้น ดังนั้นควรทดสอบกับราและจุลินทรีย์ที่ดื้อยา เพื่อเป็นการศึกษาความสามารถในการยับยั้งทางชีวภาพที่ครอบคลุมมากยิ่งขึ้นด้วย

5.2.5 หากมีโอกาสในการทำงานวิจัยในอนาคต จะต้องศึกษาการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยเทคนิค Modified cross-streak และ Agar disc diffusion ทุกๆ ไอโซเลทก่อน จึงจะไปทดสอบทางชีวเคมี และจึงทดสอบความสามารถในการย่อยสลายแป้งในภายหลัง เพื่อนำมาทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแอสกีโนมัยซีทไอโซเลทนั้นๆ เพื่อที่จะได้ศึกษาแอสกีโนมัยซีทที่มีความสำคัญในเชิงอุตสาหกรรมที่ลดต้นทุนโดยใช้แป้งทดแทนแหล่งคาร์บอนได้ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กิ่งจันทร์ มะลิซ้อน. 2555. “ความหลากหลายของแอคติโนแบคทีเรียในดิน.” รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.
- กรกช ชมหวาน, เขมจินันท์ เทิดทูนการค้า และจิตาภา มหาผลเจริญ. 2556. “การคัดแยกแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนไมซีตและสกุลบาซิลลัสจากดินบริเวณรอบรากต้นข้าวที่ผลิตฮอร์โมนพืชอินโดลอะซิติกแอซิด.” ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เกตแก้วกัลยา วงษ์สวัสดิ์, ปพิชญา กาศวิบูลย์ และสุพิชา แสงสว่าง. 2555. “การคัดกรองและการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนไมซีตที่แยกจากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่.” ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- เกษม ประดิษฐ์วัฒนกิจ. 2555. “การพัฒนาต้นแบบระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังด้วยเทคโนโลยีดีสซาร์จทางไฟฟ้า.” ปรินญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- คณิงกานต์ กลั่นบุศย์. 2558. เอกสารประกอบวิชาปฏิบัติการสรีรวิทยาของจุลินทรีย์. คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- งามนิจ นนทโส. 2537. การแยกเชื้อสเตรปโตไมซีตจากดิน. มหาวิทยาลัยขอนแก่น คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา.
- จิตติ ท่าไ. 2550. “การแยกและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของเชื้อแอคติโนไมซีตที่แยกได้จากดิน.” โครงการทุนวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จิตติ ท่าไ. 2557. แอคติโนแบคทีเรีย. กรุงเทพฯ : แอนแอนเตอร์คอร์ปอเรชัน.
- ชลธิชา ลักษณะวงศ์, ภัทรพงศ์ รติโกติน และวงศกร พงศ์โสภิตานันท์. 2553. “ฤทธิ์ด้านการเจริญของจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบของเชื้อแอคติโนไมซีต.” ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ดวงพร คันธโชติ. 2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พรีนติ้งเฮาส์.
- ดุขฎี พูลสวัสดิ์, อีระพัฒน์ นครพันธ์ และปัทมาภรณ์ ศรีสุนทร. 2555. “เชื้อแอคติโนไมซีตบนพื้นผิวที่แยกจากต้นข้าว (*Oryza sativa* L.)” ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ทายาท ศรียาภัย, พิชากค์ ศรียาภัย, กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์, อรินทม งามนิยม และวิรงรอง ดวงใจ. 2558. “ศักยภาพด้านชีวภาพของเชื้อแอคติโนไมซีตจากดินป่าชายเลนจังหวัดสตูล.” *วารสารวนศาสตร์*. 34(2) : 51-61.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2550. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. อาหารเลี้ยงเชื้อและการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นวลรัตน์ หนูขาว. 2554. “การแยกและคัดเลือกแอกติโนมัยสปีทที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- บงกชวรรณ สุตะพรรณพินิจ. 2550. การตรวจพิสูจน์เชื้อราก่อโรคทางห้องปฏิบัติการ. โครงการส่งเสริมงานแต่งตำรา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- บุญชอบ สุทมนัสวงษ์. 2555. ทรัพยากรป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา. [Online]. Available : <http://www.dmcr.go.th/attachment/download/download.php?WP=q3EZMT1CM500hJatrTgjWz00qmEZZJ1CM500hJatrTDo7o3Q>.
- ประสาทร บิริสุทธิเพ็ชร, พิทย กัญญาบุตร และสาธิต พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. “การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ.” หน้า 91-101. ในการประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มช. ครั้งที่ 9 สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้. ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ปวีณา สุขสะอาด, กรรณิการ์ ดวงมาลย์, ชัยวัฒน์ กิตติกุล, กันทิมาณี ประเดิมวงศ์ และวสุ ปฐมอารีย์. 2555. “แอกติโนมัยสปีทจากดินนาเกลือและการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.” ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50. กรุงเทพฯ : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มานิตา คำแจ่ม. 2556. “การแยกและคัดกรองแอกติโนมัยซิสต์ที่มีความสามารถในการผลิตไซโตโรพอร์จากดินตะกอนป่าชายเลนบางแห่งของไทย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ยุวดี มหาศักดิ์สิริ. 2546. “การแยกแอกติโนมัยสปีทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะจากดินรังกปลวกในประเทศไทย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ. 2551. การทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพ. หน้า 2-4. [Online]. Available : <http://www.hospital.tu.ac/LABWEBSITE/Work%20Instruction/WI%20-%202410%20-%20009.pdf>
- รัตนภรณ์ ศรีวิบูลย์. 2548. “การเก็บรวบรวมและตรวจหา Actinomycetes จากดินป่าชายเลนที่สามารถสร้างสารยับยั้งจุลชีพ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา.
- ลักขมี ศุกระกาญจนะ. 2556. “การคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติเชื้อแอกติโนมัยสปีทที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วิวัฒน์ หันบุญญิตติ และเอกภพ สกฤติจกกาญจน์. 2549. “การตรวจสอบลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกจากป่าชายเลน.” ปรินญาณิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- วสุ ปฐมอารีย์. 2554. ปฏิบัติการแอกติโนมัยซีทเบื้องต้น. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สุจรรยา ฉายแสง. 2556. “การแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอกติโนมัยซีทจากข้าวและกระชาย : สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ การต้านอนุมูลอิสระและการต้านเซลล์มะเร็ง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน. 2554. ดินป่าชายเลนในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน
- สุนัดดา โยมญาติ. 2016. *Streptomyces*. [Online]. Available : <http://biology.ipst.ac.th/?p=3044>.
- สนธิ อักษรแก้ว. 2541. ป่าชายเลน นิเวศวิทยาและการจัดการ. กรุงเทพฯ : ภาควิชาวนวัฒนวิทยา คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สนธิ อักษรแก้ว. 2542. ป่าชายเลน นิเวศวิทยาและการจัดการ พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุภลักษณ์ พานโชติ, ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ และปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง. 2554. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลหมาก. เชียงราย : มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- สายสมร ล้ายอง. 2547. เอกสารประกอบการสอนวิชาแอกติโนมัยซีท. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- หทัยทิพย์ กล้าณรงค์. 2557. แหล่งเรียนรู้ธรรมชาติพิพิธภัณฑฯ นิเวศป่าชายเลนบางปะกง. [Online]. Available : http://hataitipstory.blogspot.com/2014/01/blog-post_15.html
- Allen, M.B. 1953. “Thermophilic aerobic spore forming bacteria.” *Bacteriol Rev.* 17(2) : 125-173.
- Anibou, M., A. Chait, A. Ziad, M. Taourirt, Y. Ouhdouch and A. Benherref. 2008. “Actinomycetes from Moroccan habitats: isolation and screening for cytotoxic activities.” *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24 : 2019-2025.
- Arai, T. 1975. Culture media for Actinomycetes. The society for Actinomycetes Japan. Japan : Asakura Publishing.
- Benson, B., Harriot-Sims. 2005. *Frankia Physiology*. [Online]. Available : <http://web.uconn.edu/mcbstaff/benson/Frankia/FrankiaPhysiology.htm#>
- Benson, D.R. and Silvester, W.B. 1993. “Actinomycete Symbionts of Actinorhizal Plants.” *American Society for Microbiology.* 57(2) : 293-319.
- Biemer, J.J., M.D. 1973. “Antimicrobial Susceptibility Testing by the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method.” *Annals Of Clinical Laboratory Science.* 3(2) : 135-140.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Chaudhary, H.S., Yadav, J., Shrivastava, A.R., Singh, S., Singh A.K. and Natrajan Gopalan, N. 2013. "Antibacterial activity of actinomycetes isolated from different soil samples of Sheopur (A city of central India)." *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 4(2) : 118-123.
- Coyne MS. 1999. *Soil microbiology : an exploratory approach*. 1st edn. Dclmar, New York.
- Dahiya, N., Tawari, R. and Sigh, G.H. 2006. "Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review." *Appl Microbiol Biotechnol*. 71 : 773-782.
- Das, K.D. 1996. *Introductory soil science*. Kalyani Publishers. India : New Delhi.
- Fitri, L. and Bustam, M. Betty. 2010. "Screening of antimicrobial producing strains isolated from the soil of grassland rhizosphere in Pocut Meurah Intan Forest Park, Seulawah, Aceh Besar." *Biodiversitas*. 11 : 129-132.
- Georg, L.K., 2017. *Mycology – Chapter Two Actinomycetes*. Psi Phi: Microbiology and Immunology [Online]. Available : <http://www.microbiologybook.org/mycology/nocardia.jpg>
- Goodsell, D. S. 2005. "The molecular perspective: L-asparaginase." *The Oncologist*. 10 : 238-239.
- Hayakawa, M., Ishizawa, K. and Nonomura, H. 1988. "Distribution of rare actinomycetes in Japanese soil." *Journal of fermentation Technology*. 66 : 367-373.
- HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. 2015. A-516, Swastik Disha Business Park, Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India.
- Hong, K., Gao, A.H., Xie, Q.Y., Gao, H., Zhuang, L., Lin, H.P., Yu, H.P., Li, J., Yao, X.S., Goodfellow, M. and Ruan, J.S. 2009. "Actinomycetes for Marine Drug Discovery Isolated from Mangrove Soils and Plants in China." *Marine Drugs*. 7 : 495-496.
- James J. Biemer, M.D. 1973. *Antimicrobial susceptibility testing by the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method*. *Annals of clinical laboratory science*. 3(2). Institute for clinical science.
- Jeffrey, L. S. H, A. M. Sahilah, R. Son and S. Tosiah. 2007. "Isolation and screening of actinomycetes from Malaysian soil for their enzymatic and antimicrobial activities." *J. Trop. Agric. and Fd. Sc*. 35 : 159-164.
- Jeffery, N., Gasser R.B., Steer P.A. and Noormohammadi A.H. 2007. "Classification of *Mycoplasma synoviae* strains using single-strand conformation polymorphism and high-resolution melting-curve analysis of the *vlhA* gene single-copy region." *Microbiology*. 153 : 2679-2688.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Khanungkan Klanbut. 2013. "The role of phospholipids in the growth and development of *Streptomyces*." Ph.D in Microbiology (SIPBS). University of Strathclyde, Glasgow, UK., 50-51.
- Kieser T, Bibb MJ, Buttner MJ, Chater KF and Hopwood DA. 2000. **Growth and preservation of *Streptomyces***. Practical *Streptomyces* Genetics, pp. 49–54. The John Innes Foundation, Norwich.
- Kumar, V., Bharti, A., Gusain, O. and Bisht, G.S. 2011. "Scanning electron microscopy of *Streptomyces* without use of any chemical fixatives." *Wiley Periodicals, Inc.* 33(6) : 446-449.
- Küster, E. and Williams, S.T. 1964. "Selection of media for isolation of *streptomyces*." *Nature*. 202 : 928-929.
- Lam, K.S. 2006. "Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes." *Curr. Opin. Microbiol.* 9 : 245-251.
- Learn-Han Lee, Nurullhudda Zainal, Adzzie-Shazleen Azman, Shu-Kee Eng, Bey-Hing Goh, Wai-Fong Yin, Nurul-Syakima Ab Mutalib and Kok-Gan Chan. 2014. "Diversity and Antimicrobial Activities of Actinobacteria Isolated from Tropical Mangrove Sediments in Malaysia." *Scientific World Journal*. 1-14.
- Maitra, P.K. and Roy, S.C. 1960. "Trace elements and the synthesis of vitamin B12 by *Streptomyces olivaceus*." *Biochem. J*, 75 : 483-487.
- Martin A. 1961. **Introduction to Soil Microbiology**. New York : John Wiley & Sons.
- McCarthy, J.A. and Williams, T.S. 1990. **Methods for studying the ecology of actinomycetes**. In R Grigorova and JR Norris (Eds.) *Method in Microbiology*, pp. 535. London : Academic Press Limited.
- Miyadoh, S. 1997. **Atlas of Actinomycetes**. The Society for Actinomycetes Japan. Asakura Publishing Co., Ltd., Japan.
- M. Krishnaraj and N. Mathivanan. 2009. "Antimicrobial potential of marine actinomycetes isolated from the bay of Bengal." *Biocontrol and Microbial Metabolites Lab*. 7(3).
- Molinski, T.F., D.S. Dalisay, S.L. Lievens and J.P. Saludes. 2009. "Drug development from marine natural products." *Nat Rev Drug Discov*. 8 : 69-85.
- Mundie, D.A. 1995. **The NBS/ISCC Color System/David A. Mundie** Pittsburgh, PA: Polymath Systems 535.6 dc-20. [Online]. Available : <http://tx4.us/nbs-isc.html>.
- Nolan, M., Sikorski, J., Jando, M., Lucas S., Lapidus A., Rio, T.G.D. and Peter, H. 2010. "Complete genome sequence of *Streptosporangium roseum* type strain (NI 9100T)." *Standards in Genomic Sciences*. 2(1) : 29-37.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Nurfathiah Abdul Malek, Ahmed Jalal Khan Chowdhury, Zarina Zainuddin and Zaima Azira Zainal Abidin. 2014. "Selective Isolation of Actinomycetes from Mangrove Forest of Pahang, Malaysia." *Journal of International Conference on Agriculture, Biology and Environmental Sciences*. 14 : 9-13.
- Okudoh, V.I and Wallis, F.M. 2007. "Antimicrobial activity of rare actinomycetes isolated from natural habitats in KwaZulu-Natal, South Africa." *S. Afr. J. Sci.* 103 : 216-222.
- Pachaiyappan Saravana Kumar, John Poonga Preetam Raj, Veeramuthu Duraipandiyan and Savarimuthu Ignacimuthu. 2012. "Antibacterial activity of some actinomycetes from Tamil Nadu, India." *Asian Pac J Trop Biomed*. 2(12) : 936-943.
- Pereira, S.V. and Kamat N.M. 2011. "Antimicrobial Screening of Actinobacteria using a Modified Cross-Streak Method." *Indian J Pharm Sci*. 73(2) : 223-228.
- Renu Singh, Vishal Kapoor and Vijay Kumar. 2012. "Utilization of Agro-industrial Wastes for the Simultaneous Production of Amylase and Xylanase by Thermophilic Actinomycetes." *Braz J Microbiol*. 43(4) : 1545-1552.
- Ruan, J.S. 1994. "Rapid isolation and identification of actinomycetes in UNESCO Southeast Asia Regional Training Workshop" Rapid Method in microbiology and Biotechnology. *Dept of microbiology*.
- Saba Azimi, Majid Basei Salehi and Nima Bahador. 2015. "Isolation and Identification of *Streptomyces ramulosus* from Soil and Determination of Antimicrobial Property of its Pigment." *Mod Med Lab*. 1 : 36 - 41.
- Santos, P.S., Abad, E.J., Pagueia, A.G. and Lat, B.S. 1976. "Vitamin B12 and antibiotics of actinomycetes isolated by a selective method from soil samples." *Philips J. Res.*, 103 : 208-220.
- Shinji Miyadoh, Takashi Shomura, Tatsuoito and Taro Niida. 1983. "*Streptomyces sulfonofaciens* sp. nov." *International Journal Of Systematic Bacteriology*. 321-324.
- Sonashia Velho-Pereira and N.M. Kamat. 2011. "Antimicrobial Screening of Actinobacteria using a Modified Cross-Streak Method." *Indian J Pharm Sci*. 73(2) : 223-228.
- Srivibool , R. and Sukchotiratana, M. 2006. "Bioperspective of actinomycetes isolates from coastal soils: A new source of antimicrobial producers." *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 28(3) : 493-499.
- Strzelczyk, E. and Leniarska, U. 1985. "Production of B-group vitamins by mycorrhizal fungi and actinomycetes isolated from the root zone of pine (*Pinus sylvestris* L.)." *Pl. Soil*, 86 : 387-394.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sukumaran, R. K., R. R. Singhanian and A. Pandey. 2005. "Microbial cellulases production, applications and challenges." *J. Sci. Ind. Res.* 64(11) : 832-844.
- Sunna, A. and G. Antranikian. 1997. "Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria." *Crit. Rev. Biotechnol.* 17 : 39-67.
- Thawai, C., Tanasupawat, S. and Kudo, T. 2008. "*Micromonospora pattaloongensis* sp. nov., Isolated from a Thai Mangrove Forest." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 58 : 1516-1521.
- V.I. Okudoh and F.M. Wallis. 2007. "Antimicrobial activity of rare actinomycetes isolated from natural habitats in KwaZulu-Natal, South Africa." *South African Journal of Science.* 103(5-6) : 216-222.
- V. Venkateswaran, D. Purushothaman, M. Senthil Kumar and S. Rajeswari. 2000. "Soil *Streptomyces* - A Potential Source of the Industrial Enzyme, Glucoamylase." *Tropical Agricultural Research.* 12 : 344-351.
- Williams, P. G. 2009. "Panning for chemical gold: marine bacteria as a source of new therapeutics." *Trends Biotechnol.* 27(1) : 45-52.
- Yassin, A.F., Galinski, E.A., Wohlfarth, A., Jahnke, K.D., Schaal, K.P. and Trüper, H.G. 1993. "A new actinomycete species *Nocardiopsis lucentensis* sp. nov." *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43(2) : 266-271.
- Yi Jiang, Qinyuan Li, Xiu Chen and Chenglin Jiang. 2016. "Isolation and Cultivation Methods of Actinobacteria." *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications.* Dr.Dharumadurai Dhanasekaran (Ed.), InTech, DOI : 10.5772/61457.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด เตรียมโดยใช้น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร อาหารจะถูกนึ่งฆ่าเชื้อ โดยใช้ความดันไอน้ำร้อน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1. Starch – Casein agar (SCA) (Küster & Williams, 1964)

Soluble starch	10.0	กรัม
KNO ₃	2.0	กรัม
Casein	0.3	กรัม
MgSO ₄ • 7H ₂ O	0.05	กรัม
CaCO ₃	0.02	กรัม
FeSO ₄ • 7H ₂ O	0.01	กรัม
NaCl	2.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.0 – 7.2		

2. Skim milk agar (HiMedia laboratories Pvt. Ltd. A-5 1 6, Swastik Disha Bussiness park, Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India)

Skim milk powder	28.0	กรัม
Casein enzymatic hydrolysate	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.0 – 7.2		

3. Skim milk 10% (วิพัฒน์ และเอกภพ, 2549)

Skim milk powder	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Bouillon gelatin broth (Arai, 1975)

Peptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
KNO ₃	5.0	กรัม
Gelatin	150.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.0 – 7.2		

5. Peptone KNO₃ broth (Arai, 1975)

Peptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
KNO ₃	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.0 – 7.2		

6. ISP medium no.4 (Inorganic salt-starch agar : HiMedia laboratories Pvt. Ltd.A-516, Swastik Disha Bussiness park, Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India)

Soluble starch	10.0	กรัม
K ₂ HPO ₄	1.0	กรัม
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.0	กรัม
MgSO ₄ • 7H ₂ O	1.0	กรัม
CaCO ₃	2.0	กรัม
NaCl	1.0	กรัม
Trace salt solution	1.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.0 – 7.4		

Trace salt solution

FeSO ₄ • 7H ₂ O	0.1	กรัม
MnCl ₂ • 4H ₂ O	0.1	กรัม
ZnSO ₄ • 7H ₂ O	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. Yeast extract – Malt extract (YEME) (Klanbut, 2013)

Malt extract	10.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Glucose	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.3		

8. International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP2) (Atlas, 1993)

Malt extract	10.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Glucose	4.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.3		

9. Sabouraud Dextrose Agar (SDA : HiMedia laboratories Pvt. Ltd. A-5 16, Swastik Disha Bussiness park, Via Vadhani Ind. Est., LBS Marg, Mumbai-400086, India)

Dextrose	40.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 5.4 – 5.8		

10. Potato Dextrose Agar (PDA)

ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง

มันฝรั่ง	200	กรัม
เดกซ์ไทรอส	20	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
อาหารสำเร็จรูป		
PDB	24	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
----------	-------	-----------

11. Muller Hinton Agar (MHA)

Beef Extract	2.00	กรัม
Acid Hydrolysate of Casein	17.50	กรัม
Starch	1.50	กรัม
Agar	17.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.2 – 7.4		

12. Nutrient Agar (NA)

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

13. Glucose Yeast Extract Agar (GYEA)

Glucose	10	กรัม
Yeast Extract	10	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อบนแผ่นสไลด์ (Slide culture)
และการ Mount ด้วยสี Methylene blue
(บงกชวรรณ, 2550)

การศึกษาลักษณะเส้นใยของแอสคิโนมัยซีท นิยมใช้เทคนิค silde culture ในการศึกษา เนื่องจากเส้นใยจะไม่แตกหักทำให้สปอร์ไม่หลุดออกจากเส้นใย ซึ่งจะทำให้เราเห็นเส้นใยที่สมบูรณ์ได้ และส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยเทคนิค wet mount ย้อมสีด้วย methylene blue เพื่อดูโครงสร้างของเส้นใยได้ง่ายขึ้น โดยเทคนิค slide culture ทำได้โดย

1. นำสำลี คัตเดิลบัด 2 อัน สไลด์ และกระจกปิดสไลด์ ใส่ลงในเพลท นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว
2. เทอาหาร YEME สูงประมาณ 2 มม. ทิ้งให้แข็ง
3. ใช้มีดผ่าตัดจุ่มแอลกอฮอล์ 95% เผาไฟเพื่อฆ่าเชื้อ กรีดอาหารเลี้ยงเชื้อออกเป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัสให้มีขนาดประมาณ 1x1 มิลลิเมตร.
4. วางลงอาหารที่ตัดแล้วบนแผ่นสไลด์ที่วางอยู่ในเพลทที่ฆ่าเชื้อแล้ว
5. เชียเชื้อแอสคิโนมัยซีทวางทั้ง 4 มุมของวงอาหาร และวางกระจกปิดสไลด์ที่ฆ่าเชื้อแล้วปิดทับไป
6. ดูดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว ใส่ที่สำลี ทำการปิดฝาเพลทและพันเพลทด้วยพาราฟิล์ม
7. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำกระจกปิดสไลด์ มาย้อมด้วยสี methylene blue และส่องใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารละลาย McFarland standard No. 0.5

(โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ, 2555)

สารละลาย McFarland standard No. 0.5 ถูกนำมาใช้ในการเปรียบเทียบความขุ่นมาตรฐานของการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบสำหรับทดสอบกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อซึ่งสารละลาย McFarland standard No. 0.5 สามารถเทียบเท่าได้กับจำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ 1.0×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร (ซึ่งเทียบเท่ากับการปรับระดับความขุ่นให้มีค่าอยู่ในช่วง 0.08 ถึง 0.1 โดยทำการวัดที่ความยาวคลื่น 624 นาโนเมตร)

ส่วนประกอบของสารละลาย McFarland standard No. 0.5

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

ขั้นตอนการเตรียม

1. เปิดกรดซัลฟิวริก 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรที่น้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร
2. ชั่งสารแบเรียมคลอไรด์ 1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. นำสารละลายจากข้อ 1 ปริมาตร 99.5 มิลลิลิตร และสารละลายในข้อ 2 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร มาผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำสารละลาย McFarland standard No. 0.5 ที่ได้มาบรรจุใส่หลอดฝาเกลียวปิดสนิทกันการระเหย แล้วนำไปเก็บในที่มืดที่มีอุณหภูมิ 2–30 องศาเซลเซียส
4. ก่อนใช้งานต้องเขย่าสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน รวมทั้งตรวจสอบความขุ่นทุกเดือนโดยสารดังกล่าวนี้มีอายุการใช้งานประมาณ 6 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ภาพถ่ายสถานที่เก็บตัวอย่างดิน

จุดเก็บตัวอย่างดิน 10 ตำแหน่ง จากโรงเรียนบวรวิทยายน ตำบลบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา



รูปที่ 1 (ง) แสดงถึงสภาพแวดล้อมของบริเวณจุดเก็บตัวอย่าง
 (1) จุดเก็บตัวอย่างจุดที่ 1-5 เป็นดินจากป่าโกงกาง
 (2) จุดเก็บตัวอย่างที่ 6-10 เป็นดินจากป่าแสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1



2



3



4



5

รูปที่ 2 (ง) แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดิน จุดที่ 1-5 อยู่ในบริเวณป่าโกงกาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



6



7



8



9



10

รูปที่ 3 (ง) แสดงถึงจุดเก็บตัวอย่างดิน จุดที่ 6-10 อยู่ในบริเวณป่าแสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การคำนวณหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่างดิน (ดัดแปลงมาจาก AOAC, 1990)

วิธีการคำนวณน้ำหนักดิน

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักบีกเกอร์และสารแขวนลอยของดินที่มีความเจือจางที่ 10^{-1} (กรัม) ก่อนอบ

$$\text{น้ำหนักบีกเกอร์และดินก่อนอบ} = \text{น้ำหนักบีกเกอร์ (กรัม)} + \text{น้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่มีความเจือจางที่ } 10^{-1} \text{ ก่อนอบ (กรัม)}$$

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักดินที่ใช้ในการแยกเชื้อ (กรัม)

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณน้ำหนักดิน (กรัม)} &= \text{น้ำหนักสารแขวนลอยของดินและบีกเกอร์ก่อนอบ (กรัม)} \\ &\quad - \text{น้ำหนักสารแขวนลอยของดินและบีกเกอร์หลังอบ (กรัม)} \end{aligned}$$

วิธีการคำนวณหาปริมาณความชื้นในดิน

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักดินหลังอบ (กรัม)

$$\text{น้ำหนักดินหลังอบ (กรัม)} = \text{น้ำหนักดินและบีกเกอร์หลังอบ (กรัม)} + \text{น้ำหนักบีกเกอร์ก่อนอบ (กรัม)}$$

คำนวณหาปริมาณความชื้นในดิน (%)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

ตารางที่ 1 (ฉ) ปริมาตรของน้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจาง 10^{-1}

จุดเก็บตัวอย่างดิน	น้ำหนักปีกเกอร์ (g)	น้ำหนักสารแขวนลอย ของดินที่ความเจือจาง 10^{-1} ก่อนอบ (g)	น้ำหนักปีกเกอร์กับน้ำหนัก สารแขวนลอยของดินที่ ความเจือจาง 10^{-1} ก่อนอบ (g)	น้ำหนักปีกเกอร์กับน้ำหนัก สารแขวนลอยของดินที่ ความเจือจาง 10^{-1} หลังอบ (g)	น้ำหนักสารแขวนลอย ของดินที่ความเจือจาง 10^{-1} หลังอบ (g)
จุดที่ 1	44.681	8.732	53.413	52.859	0.554
จุดที่ 2	48.133	8.514	56.647	55.964	0.683
จุดที่ 3	41.052	7.963	49.015	48.449	0.566
จุดที่ 4	42.625	7.845	50.470	49.728	0.742
จุดที่ 5	42.738	8.124	50.862	50.009	0.853
จุดที่ 6	43.036	9.002	52.038	51.441	0.597
จุดที่ 7	43.944	8.445	52.389	51.746	0.643
จุดที่ 8	48.203	7.759	55.962	55.291	0.671
จุดที่ 9	43.665	8.263	51.928	51.174	0.754
จุดที่ 10	45.457	9.102	54.559	53.967	0.592

ตารางที่ 2 (ฉ) ปริมาณความชื้นในตัวอย่างดินจากน้ำหนักของดินที่หายไป หลังจากนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักดินคงที่

จุดเก็บตัวอย่างดิน	น้ำหนักเปียกเกอร์ (g)	น้ำหนักดินก่อนอบ (g)	น้ำหนักดิน และเปียกเกอร์ หลังอบ (g)	น้ำหนักดินหลังอบ (g)	น้ำหนักของน้ำ (g)	ปริมาณความชื้น (%)
จุดที่ 1	46.533	1.854	47.217	0.919	0.935	50.43 %
จุดที่ 2	42.681	1.643	43.397	0.815	0.828	57.90 %
จุดที่ 3	43.401	1.787	44.136	0.857	0.930	52.04 %
จุดที่ 4	48.188	1.575	48.932	0.784	0.791	50.22 %
จุดที่ 5	50.002	1.705	50.697	0.862	0.843	49.44 %
จุดที่ 6	46.956	1.653	47.683	0.841	0.812	49.12 %
จุดที่ 7	45.804	1.661	46.515	0.827	0.834	50.21 %
จุดที่ 8	40.298	1.453	41.026	0.740	0.713	49.07 %
จุดที่ 9	41.575	1.687	42.102	0.826	0.861	51.04 %
จุดที่ 10	43.303	1.760	43.842	0.869	0.891	50.63 %

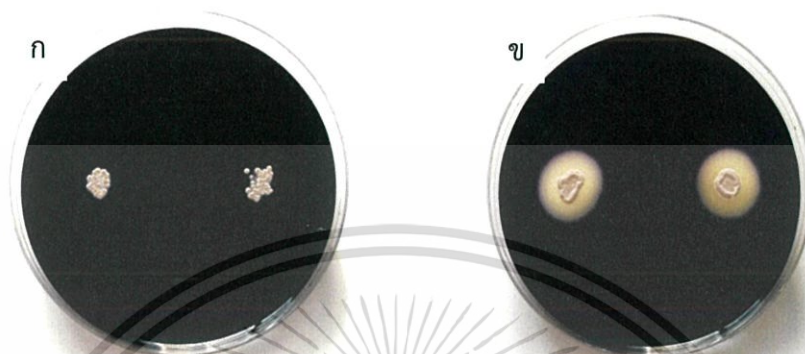
ตารางที่ 3 (ฉ) ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างดิน

จุดเก็บตัวอย่างดิน	น้ำหนักดิน (g)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
จุดที่ 1	2.003	7.62	7.60	7.55	7.59
จุดที่ 2	1.998	7.14	7.12	7.11	7.12
จุดที่ 3	2.103	7.77	7.78	7.79	7.78
จุดที่ 4	2.028	7.71	7.70	7.69	7.70
จุดที่ 5	2.039	7.70	7.72	7.72	7.71
จุดที่ 6	2.145	7.58	7.61	7.60	7.59
จุดที่ 7	2.051	7.42	7.43	7.44	7.43
จุดที่ 8	2.117	6.85	6.82	7.83	7.17
จุดที่ 9	2.069	7.80	7.82	7.83	7.82
จุดที่ 10	2.116	7.35	7.34	7.32	7.34

ภาคผนวก ข

ภาพแสดงตัวอย่างผลการทดสอบลักษณะทางชีวเคมี

1. การย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis)



รูปที่ 1 (ข) ผลการทดสอบการย่อยสลายแป้งในอาหาร Inorganic salt-starch agar (ISP4)

- (ก) แสดงผล - ไม่เกิดการย่อยสลายแป้ง
- (ข) แสดงผล + เกิดการย่อยสลายแป้ง

2. การย่อยสลายและการตกตะกอนโปรตีนนม (Peptonization and Coagulation)

2.1 การย่อยสลายโปรตีนนม (Peptonization)

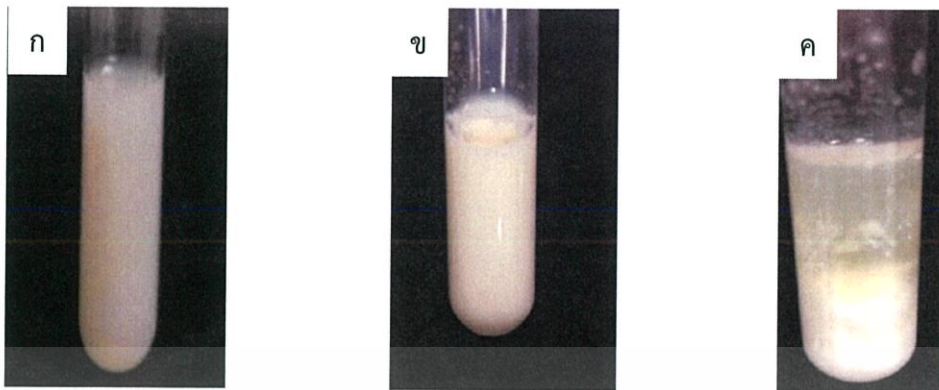


รูปที่ 2 (ข) ผลการทดสอบการย่อยสลายโปรตีนนมในอาหาร Skim milk agar

- (ก) แสดงผล - ไม่เกิดการย่อยโปรตีนนม
- (ข) แสดงผล + เกิดการการย่อยโปรตีนนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การตกตะกอนโปรตีนนม (Coagulation)



รูปที่ 3 (ข) ผลการทดสอบการตกตะกอนโปรตีนนมในอาหาร Skim milk

- (ก) ชุดควบคุมการทดสอบ
- (ข) แสดงผล - ไม่เกิดการตกตะกอนโปรตีนที่บริเวณก้นหลอด
- (ค) แสดงผล + เกิดการตกตะกอนโปรตีนที่บริเวณก้นหลอด

3. การย่อยสลายเจลาติน (Gelatinization)

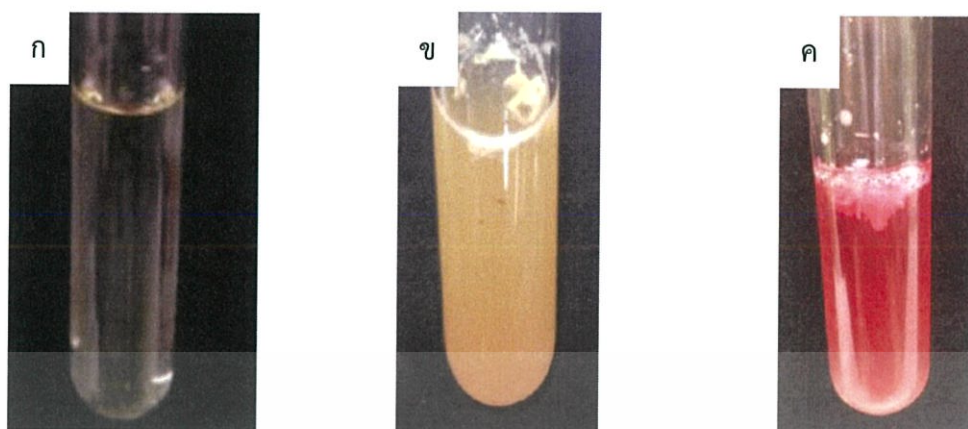


รูปที่ 4 (ข) ผลการทดสอบการย่อยสลายเจลาตินในอาหาร Bouillon gelatin broth

- (ก) ชุดควบคุมการทดสอบ
- (ข) แสดงผล - ไม่เกิดการย่อยสลายเจลาติน
- (ค) แสดงผล + เกิดการย่อยสลายเจลาติน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การย่อยสลายไนเตรต (Nitrate reduction)



รูปที่ 5 (ข) ผลการทดสอบการย่อยสลายไนเตรตในอาหาร Peptone nitrite broth

- (ก) ชุดควบคุมการทดสอบ
- (ข) แสดงผล - ไม่เกิดการย่อยสลายไนเตรต
- (ค) แสดงผล + เกิดการย่อยสลายไนเตรต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ

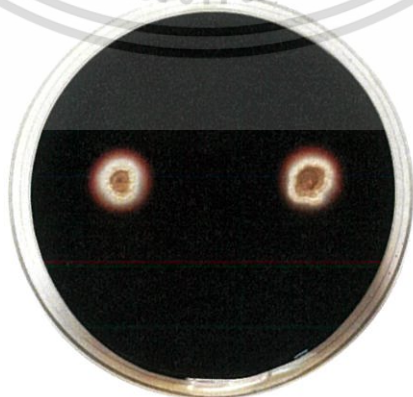
ผลการทดสอบชีวเคมี (ความสามารถในการย่อยสลายแป้ง)



รูปที่ 1 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 153 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 10.88 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 15.13 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 13.00 มิลลิเมตร

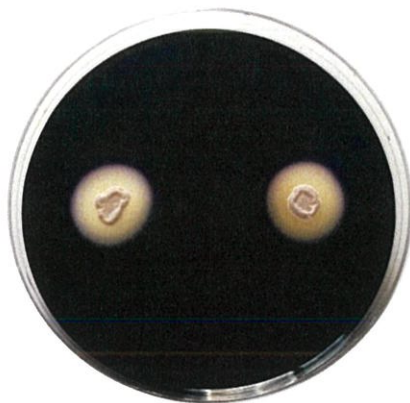


รูปที่ 2 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 362 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 7.79 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 10.89 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 9.34 มิลลิเมตร

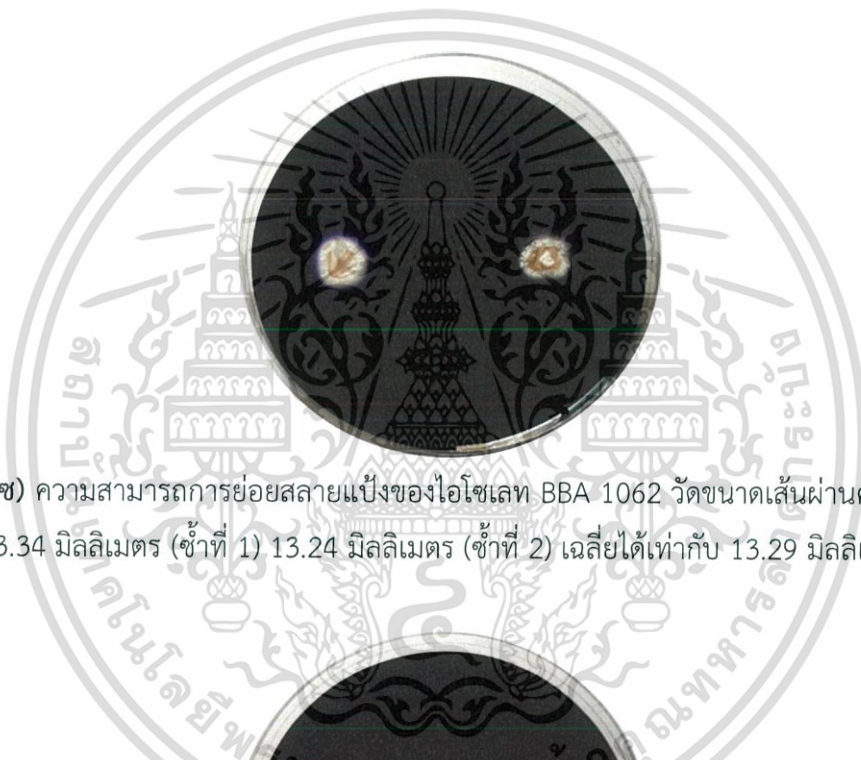


รูปที่ 3 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 462 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 15.74 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 14.79 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 15.72 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 (ช) ความสามารถในการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 5103 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 18.98 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 18.31 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 18.62 มิลลิเมตร

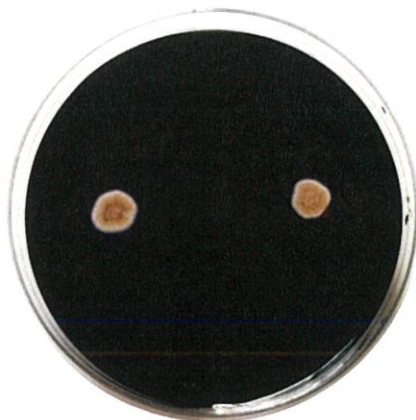


รูปที่ 5 (ช) ความสามารถในการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 1062 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 13.34 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 13.24 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 13.29 มิลลิเมตร



รูปที่ 6 (ช) ความสามารถในการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 1583 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 11.72 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 10.49 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 11.10 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 1872 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 11.24 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 10.10 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 10.67 มิลลิเมตร

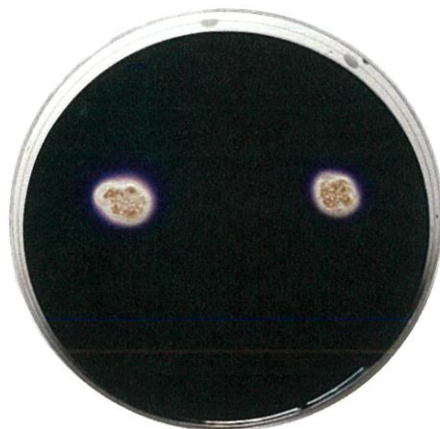


รูปที่ 8 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 1983 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 12.10 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 11.76 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 11.93 มิลลิเมตร

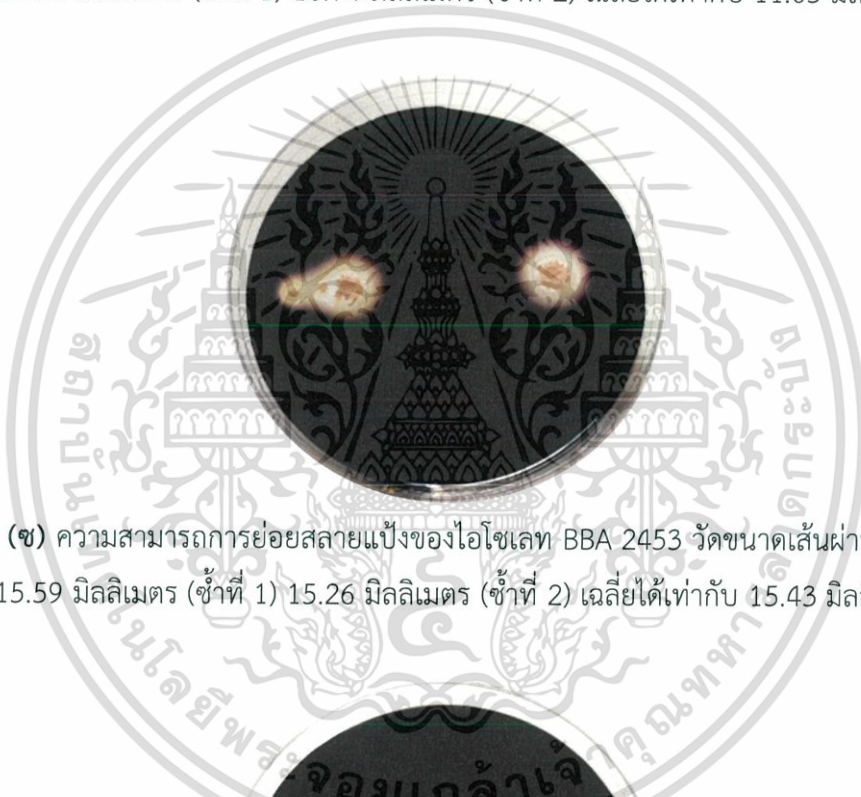


รูปที่ 9 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 21103 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 20.19 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 19.16 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 19.68 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 2383 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง
ได้ 11.37 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 10.74 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 11.05 มิลลิเมตร

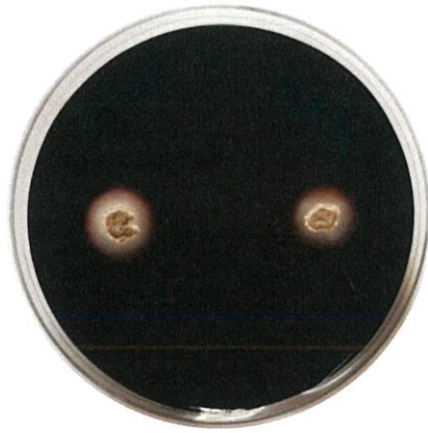


รูปที่ 11 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 2453 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง
ได้ 15.59 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 15.26 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 15.43 มิลลิเมตร



รูปที่ 12 (ซ) ความสามารถการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 26105 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง
ได้ 15.82 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 15.75 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 15.79 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 13 (ซ) ความสามารถในการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 35102 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง
ได้ 14.67 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 15.45 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 15.06 มิลลิเมตร



รูปที่ 14 (ซ) ความสามารถในการย่อยสลายแป้งของไอโซเลท BBA 4212 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง
ได้ 10.16 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 1) 9.54 มิลลิเมตร (ซ้ำที่ 2) เฉลี่ยได้เท่ากับ 9.85 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฅ

ตารางที่ 1 (ฅ) ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม) จากการเจริญของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลทที่ BBA 1453 ในการเพาะเลี้ยงลงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) ที่มีระดับ pH ที่แตกต่างกัน

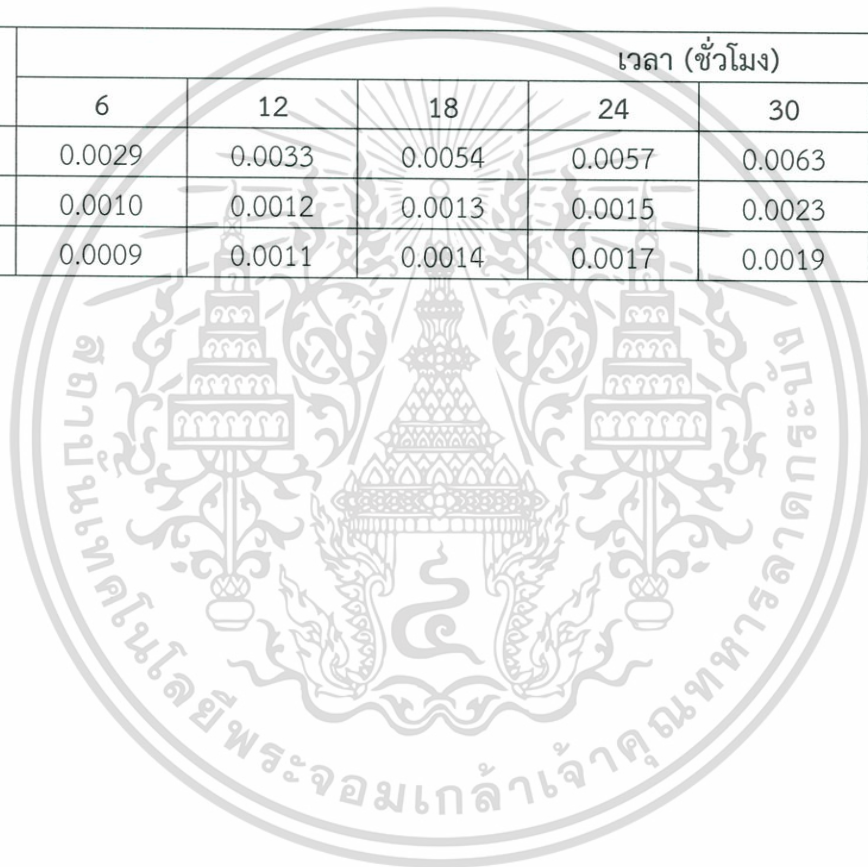
pH	เวลา (ชั่วโมง)							
	6	12	18	24	30	36	42	48
7	0.0041	0.0043	0.0046	0.0049	0.0052	0.0056	0.0058	0.0056
8	0.0043	0.0046	0.0049	0.0055	0.0061	0.0077	0.0080	0.0088
9	0.0042	0.0044	0.0047	0.0048	0.0054	0.0062	0.0067	0.0081
10	0.0033	0.0035	0.0037	0.0038	0.0039	0.0041	0.0043	0.0043

ตารางที่ 2 (ณ) คำนวณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม) จากการเจริญของเชื้อแอสคิตินิมัยซีทีไอโซเลทที่ BBA 1453 ในการเพาะเลี้ยงลงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) ที่มีระดับความเข้มข้นของ NaCl (%) ที่แตกต่างกัน

% NaCl	เวลา (ชั่วโมง)							
	6	12	18	24	30	36	42	48
0	0.0018	0.0024	0.0029	0.0035	0.0039	0.0045	0.0048	0.0032
0.5	0.0025	0.0029	0.0037	0.0041	0.0049	0.0056	0.0065	0.0054
1	0.0033	0.0036	0.0043	0.0049	0.0055	0.0065	0.0075	0.0062
2	0.0039	0.0045	0.0057	0.0063	0.0071	0.0082	0.0085	0.0077
3	0.0042	0.0049	0.0062	0.0069	0.0078	0.0084	0.0089	0.0098
4	0.0047	0.0052	0.0064	0.0075	0.0079	0.0085	0.0093	0.0114
5	0.0064	0.0069	0.0071	0.0076	0.0083	0.0087	0.0107	0.0093
6	0.0063	0.0069	0.0075	0.0081	0.0088	0.0092	0.0095	0.0109

ตารางที่ 3 (ณ) คำนวณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม) จากการเจริญของเชื้อแอสคิตินิมัยซีทไอโซเลทที่ BBA 1453 ในการเพาะเลี้ยงลงในอาหารเหลว International *Streptomyces* Project (ISP2) ที่มีระดับอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)							
	6	12	18	24	30	36	42	48
30	0.0029	0.0033	0.0054	0.0057	0.0063	0.0078	0.0069	0.0072
37	0.0010	0.0012	0.0013	0.0015	0.0023	0.0022	0.0024	0.0025
45	0.0009	0.0011	0.0014	0.0017	0.0019	0.0020	0.0022	0.0021

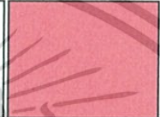
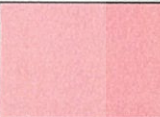








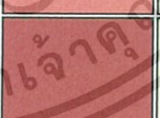
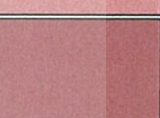
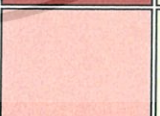
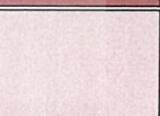
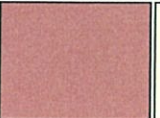
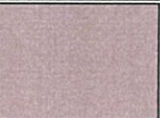
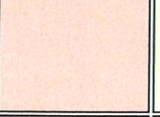

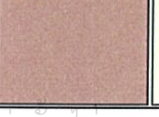
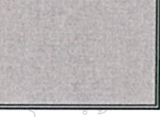


ภาคผนวก ญ


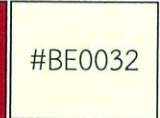

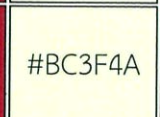

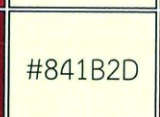
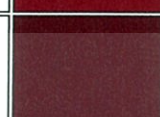
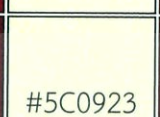







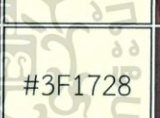


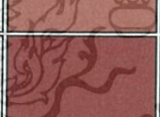
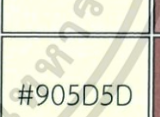
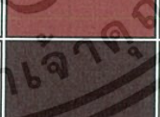




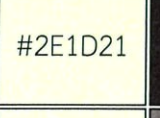
ตารางเทียบกระดาษสีมาตรฐาน (The NBS/IBCC Color System)

(Mundie, 1995)

ตารางที่ 1 (ญ) แสดงกระดาษสีมาตรฐาน (The NBS/IBCC Color System)

Abbreviation, number, color	Munsell (chart span) centroid	Mundie RGB	Mundie Swatch	convert from Munsell	Foster Swatch
Pink					
v.Pk 1 Vivid Pink	(9RP-1R,1-4R) 1R8/13 OUT	#FF7E93		#FFB5BA	
s.Pk 2 Strong Pink	(9RP-1R,1-4R) 1.2R6.9/8.2	#FD7B7C		#EA9399	
deep Pk 3 Deep Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.1R6/11.1	#F3545E		#E4717A	
l.Pk 4 Light Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.6R8.5/4	#FFBCAD		#F9CCCA	
m.Pk 5 Moderate Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.8R7.2/5.3	#EE9086		#DEA5A4	
d.Pk 6 Dark Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.7R5.9/6.1	#C76864		#C08081	
p.Pk 7 Pale Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.0R8.7/2.1	#FFCBBB		#EAD8D7	
gy.Pk 8 Grayish Pink	(9RP-1R,1R-6R) 2.6R7.2/2.3	#CF9B8F		#C4AEAD	
pkWhite 9 Pinkish White	(1-9R,9R-1YR,1-7YR) 5.8R9/0.8	#F9DBC8		#EAE3E1	
pkGy 10 Pinkish Gray	(1-9R,9R-1YR,1-7YR) 9.8R7.4/1	#C8A696		#C1B6B3	

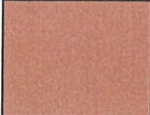
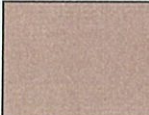


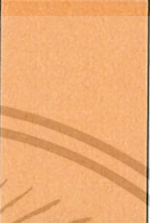







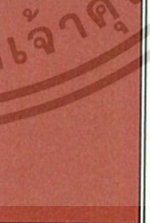

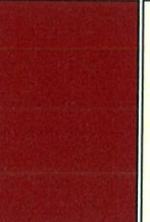

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปตีพิมพ์หรือเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Red					
v.R 11 Vivid Red	(1-9R) 5R3.9/15.4 OUT	#C10020		#BE0032	
s.R 12 Strong Red	(1-7R) 4R4.4/12.1	#BF2233		#BC3F4A	
deep R 13 Deep Red	(1-9R) 5.1R2.8/10.1	#7B001C		#841B2D	
v.deep R 14 Very Deep Red	(1-9R) 6.5R1.7/8.4	#4F0014		#5C0923	
m.R 15 Moderate Red	(1-7R) 3.8R4.4/9.1	#AB343A		#AB4E52	
d.R 16 Dark Red	(1-9R) 4.0R2.8/6.8	#681C23		#722F37	
v.d.R 17 Very Dark Red	(1-6R) 2R1.2/4.8	#320A18		#3F1728	
l.gy.R 18 Light Grayish Red	(1-8R) 5.3R5.9/3.5	#B17267		#AD8884	
gy.R 19 Grayish Red	(1-8R) 4R4.4/4.8	#8C4743		#905D5D	
d.gy.R 20 Dark Grayish Red	(1-6R) 2.9R2.7/2.1	#482A2A		#543D3F	
Blackish R 21 Blackish Red	(1-6R) 3.9R0.8/1.7 OUT	#1F0E11		#2E1D21	
rGy 22 Reddish Gray	(1-9R,9R-1YR,1-2YR) 7R5.4/1.3	#8B6C62		#8F817F	
d.rGy 23 Dark Reddish Gray	(1-9R,9R-1YR) 6R3.4/1	#523C36		#5C504F	

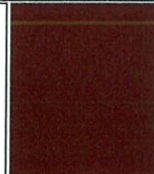

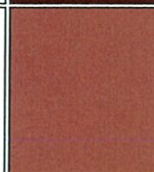


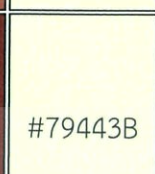












เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

rBlack 24 Reddish Black	(1-9R,9R-1YR) 2R0.9/0.9 OUT	#1E1112		#282022	
Yellowish Pink					
v.yPk 25 Vivid Yellowish Pink	(4-9R,9R-1YR,1-2YR) 8R8/13 OUT	#FF845C		#FFB7A5	
s.yPk 26 Strong Yellowish Pink	(4-9R,9R-1YR,1-2YR) 8.4R7/9.5	#FF7A5C		#F99379	
deep yPk 27 Deep Yellowish Pink	(4-7R) 5.5R5.8/12.1	#F64A46		#E66761	
l.yPk 28 Light Yellowish Pink	(6-9R,9R-1YR,1-7YR) 1.9YR8.2/4.6	#FFB28B		#F4C2C2	
m.yPk 29 Moderate Yellowish Pink	(6-9R,9R-1YR,1-7YR) 0.7YR7.2/4.9	#EE9374		#D9A6A9	
d.yPk 30 Dark Yellowish Pink	(6-8R) 7R6/6.1	#CC6C5C		#C48379	
p.yPk 31 Pale Yellowish Pink	(6-9R,9R-1YR,1-8YR) 4.2YR8.6/2.2	#FFC8A8		#ECD5C5	
gy.yPk 32 Grayish Yellowish Pink	(6-9R,9R-1YR,1-5YR) 1.3YR7.2/2.4	#D39B85		#C7ADA3	



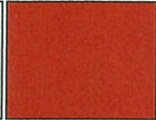
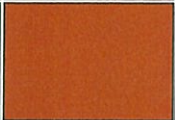

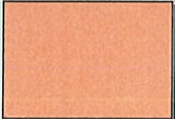
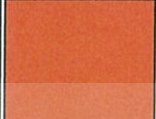
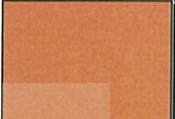

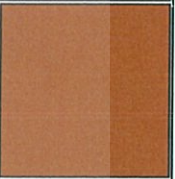






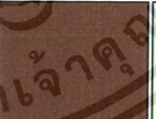

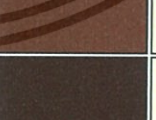

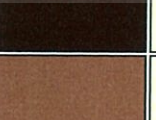
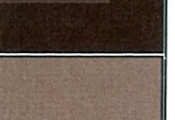
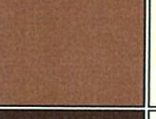
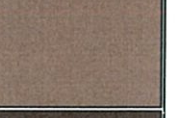
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Brownish Pink					
brPk 33 Brownish Pink	(5-8YR) 7YR7.1/2.3	#CD9A7B		#C2AC99	
Reddish Orange					
v.rO 34 Vivid Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.8R5.4/14.5	#F13A13		#E25822	
s.rO 35 Strong Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.3R5.4/12.2	#FFB961 see #70		#D9603B	
deep rO 36 Deep Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.2R3.9/12.1	#A91D11		#AA381E	
m.rO 37 Moderate Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.3R5.5/9.2	#D35339		#CB6D51	
d.rO 38 Dark Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.3R4/9.1	#9B2F1F		#9E4732	
gy.rO 39 Grayish Reddish Orange	(8-9R,9R-1YR,1-3YR) 0.4YR5.4/6.2	#B85D43		#B4745E	
Reddish Brown					
s.rBr 40 Strong Reddish Brown	(9R-1YR,1-2YR) 0.3YR3.1/9.9	#7F180D		#882D17	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

deep rBr 41 Deep Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-2YR) 1.6YR1.5/8.3	#490005		#56070C	
l.rBr 42 Light Reddish Brown	(8-9R,9R-1YR,1-3YR) 0.5YR5.5/4.1	#AA6651		#A87C6D	
m.rBr 43 Moderate Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-3YR) 9R3.4/5.2	#712F26		#79443B	
d.rBr 44 Dark Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-3YR) 9.6R1.3/3.6	#321011		#3E1D1E	
l.gy.rBr 45 Light Grayish Reddish Brown	(1-5YR) 2.9YR5.4/2.3	#966A57		#977F73	
gy.rBr 46 Grayish Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-3YR) 9R3.4/2.4	#5E3830		#674C47	
d.gy.rBr 47 Dark Grayish Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-3YR) 9R2/2	#371F1C		#43302E	
Orange					
v.O 48 Vivid Orange	(2-7YR) 4.1YR6.5/15 OUT	#FF6800		#F38400	
brill.O 49 Brilliant Orange	(2-7YR) 4YR9/12 OUT	#FFB841		#FD943F	

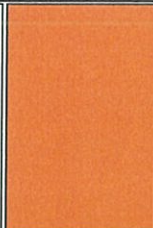

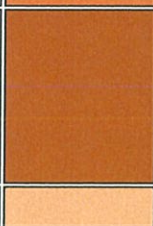
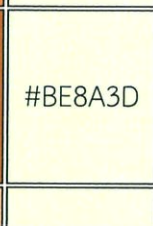







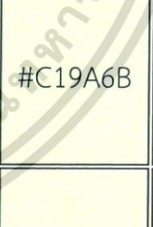

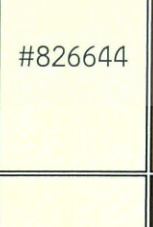
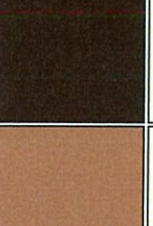
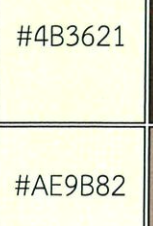


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

s.O 50 Strong Orange	(2-7YR) 4.3YR6.5/12.2	#FF6F1A		#ED872D	
deep O 51 Deep Orange	(2-7YR) 4.1YR5.1/11.3	#C34D0A		#BE6516	
l.O 52 Light Orange	(2-7YR) 4.8YR7.8/7.2	#FFA161		#FAB57F	
m.O 53 Moderate Orange	(2-7YR) 4.6YR6.5/8.2	#E8793E		#D99058	
Brownish Orange					
brO 54 Brownish Orange	(2-7YR) 4.1YR5/8	#B15124		#AE6938	
Brown					
s.Br 55 Strong Brown	(2-8YR) 4.6YR3.5/7.6	#753313		#80461B	
deep Br 56 Deep Brown	(2-8YR) 5.6YR2.4/5.2	#4D220E		#593319	
l.Br 57 Light Brown	(3-8YR) 5.4YR5.4/4.8	#A86540		#A67B5B	
m.Br 58 Moderate Brown	(3-8YR) 5.6YR3.5/3.9	#673923		#6F4E37	
d.Br 59 Dark Brown	(3-8YR) 5.3YR1.6/3.4	#35170C		#422518	
l.gy.Br 60 Light Grayish Brown	(5-8YR) 6.4YR5.4/2.2	#946B54		#958070	
gy.Br 61 Grayish Brown	(3-8YR) 5.5YR3.5/1.8	#5A3D30		#635147	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้เฉพาะในแวดวงวิชาการเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเห็นประโยชน์ใช้ประโยชน์ทางวิชาการ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

d.gy.Br 62 Dark Grayish Brown	(3-8YR) 5.5YR2/1.5	#32221A		#3E322C	
l.brGy 63 Light Brownish Gray	(2-8YR,8YR-1Y,1-4Y) 7YR5.4/1.2	#8B6D5C		#8E8279	
brGy 64 Brownish Gray	(1-8YR,8YR-1Y,1-4Y) 5.65R3.4/0.9	#503D33		#5B504F	
brBlack 65 Brownish Black	(1-8YR,8YR-1Y,1-4Y) 7.8YR0.6/0.9 OUT	#140F0B		#28201C	
Orange Yellow					
v.OY 66 Vivid Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 8.6YR7.3/15.2 OUT	#FF8E00		#F6A600	
brill.OY 67 Brilliant Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 0.1Y8.1/10.5 OUT	#FFB02E		#FFC14F	
s.OY 68 Strong Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 9.1YR7.1/11.6	#FF8E0D		#EAA221	
deep OY 69 Deep Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 8.6YR6/12.1 OUT	#D76E00		#C98500	
l.OY 70 Light Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 9.4YR8.3/6.8	#FFB961 see #35		#FBC97F	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

m.OY 71 Moderate Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 8.7YR7.2/8.3	#F7943C		#E3A857	
d.OY 72 Dark Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 9.3YR6/7.9	#C37629		#BE8A3D	
p.OY 73 Pale Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 9.2YR8.7/4.4	#FFCA86		#FAD6A5	
Yellowish Brown					
s.yBr 74 Strong Yellowish Brown	(7-8YR,8YR-1Y) 8.8YR4.6/8.5	#95500C		#996515	
deep yBr 75 Deep Yellowish Brown	(8YR-1Y) 8.8YR3.1/5	#593315		#654522	
l.yBr 76 Light Yellowish Brown	(7-8YR,8YR-1Y) 8.7YR6.5/5	#BB8B54		#C19A6B	
m.yBr 77 Moderate Yellowish Brown	(8YR-1Y) 9.5YR4.4/3.9	#7D512D		#826644	
d.yBr 78 Dark Yellowish Brown	(8YR-1Y) 9.4YR2.3/3.3	#3F2512		#4B3621	
l.gy.yBr 79 Light Grayish	(8YR-1Y) 9.7YR6.4/2.5	#B48764		#AE9B82	

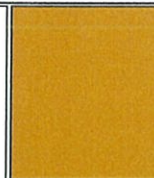

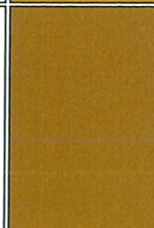
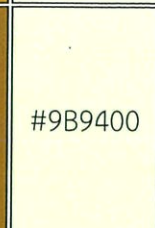
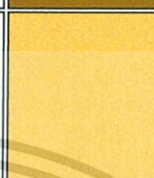


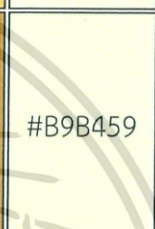

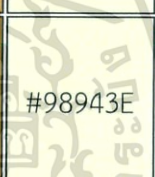



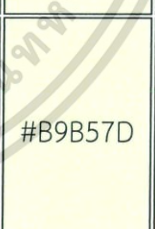
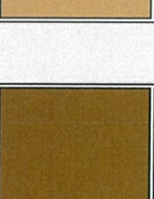

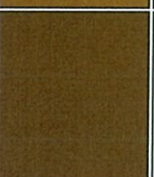

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yellowish Brown					
gy.yBr 80 Grayish Yellowish Brown	(8YR-1Y) 9.5YR4.6/2.1	#785840		#7E6D5A	
d.gy.yBr 81 Dark Grayish Yellowish Brown	(8YR-1Y) 8.8YR2.5/1.6	#3D2B1F		#483C32	
Yellow					
v.Y 82 Vivid Yellow	(1-7Y) 3.3Y8/14.3 OUT	#FFB300		#F3C300	
brill.Y 83 Brilliant Yellow	(1-7Y) 4.4Y8.7/8.9	#FFCF40		#FADA5E	
s.Y 84 Strong Yellow	(1-7Y) 3.7Y7.2/9.3	#E59E1F		#D4AF37	
deep Y 85 Deep Yellow	(1-7Y) 3.7Y5.9/9.1	#B57900		#AF8D13	
l.Y 86 Light Yellow	(1-7Y) 4.3Y8.8/6.8	#FFD35F		#F8DE7E	
m.Y 87 Moderate Yellow	(1-7Y) 3.8Y7.1/6.5	#D79D41		#C9AE5D	
d.Y 88 Dark Yellow	(1-7Y) 3.9Y6/6.4	#B07D2B		#AB9144	
p.Y 89 Pale Yellow	(1-7Y) 4.7Y9/3.8	#FFDB8B		#F3E5AB	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

gy.Y 90 Grayish Yellow	(1-9Y) 4.4Y7.2/3.8	#CEA262		#C2B280	
d.gy.Y 91 Dark Grayish Yellow	(1-7Y) 3.8Y5.9/4	#A47C45		#A18F60	
yWhite 92 Yellowish White	(7-8YR,8YR-1Y,1-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 4.5Y9.2/1.2	#FFE2B7		#F0EAD6	
yGy 93 Yellowish Gray	(7-8YR,8YR-1Y,1-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 3.8Y7.4/1.4	#CAA885		#BFB8A5	
Olive Brown					
l.OlBr 94 Light Olive Brown	(1-4Y) 2.1Y4.9/7.9	#945D0B		#967117	
m.OlBr 95 Moderate Olive Brown	(1-4Y) 2.7Y3.6/5.5	#64400F		#6C541E	
d.OlBr 96 Dark Olive Brown	(1-4Y) 2Y1.9/2.2	#302112		#3B3121	
Greenish Yellow					
v.gY 97 Vivid Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.1Y8.2/12 OUT	#F4C800		#DCD300	
brill.gY 98 Brilliant Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.8Y8.8/9.5	#FFDC33		#E9E450	


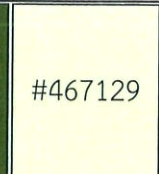

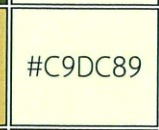
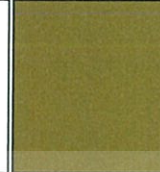
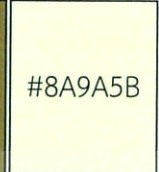






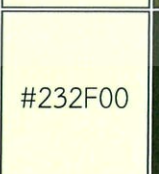


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

s.gY 99 Strong Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.2Y7.2/9.2	#CCA817		#BEB72E	
d.gY 100 Deep Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.2Y5.9/9.2 OUT	#9F8200		#9B9400	
l.gY 101 Light Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.8Y8.9/7	#FFDE5A		#EAE679	
m.gY 102 Moderate Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.5Y7.1/6.5	#C4A43D		#B9B459	
d.gY 103 Dark Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.4Y5.9/6.3	#9B8127		#98943E	
p.gY 104 Pale Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.5Y9/4.2	#FFDF84		#EBE8A4	
gy.gY 105 Grayish Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9Y7.2/3.9	#C4A55F		#B9B57D	
Olive					
l.Ol 106 Light Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 8.2Y5.1/5.6	#846A20		#867E36	
m.Ol 107 Moderate Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 7.6Y3.8/5.4	#5E490F		#665D1E	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

d.Ol 108 Dark Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 8.9Y2.4/3.1	#362C12		#403D21	
l.gy.Ol 109 Light Grayish Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 7.85Y5.5/2.5	#8B734B		#8C8767	
gy.Ol 110 Grayish Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 8Y3.6/2	#52442C		#5B5842	
d.gyOl 111 Dark Grayish Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 9.7Y2/1.8	#2B2517		#363527	
l.OlGy 112 Light Olive Gray	(4-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 6.9Y5.5/1.3	#887359		#8A8776	
OlGy 113 Olive Gray	(4-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 8.1Y3.5/0.9	#4D4234		#57554C	
OlBlack 114 Olive Black	(4-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 9Y1.1/0.9	#121910		#25241D	
Yellow Green					
v.YG 115 Vivid Yellow Green not vivid yellowish green see #129	(2-8GY) 5.4GY6.8/11.2 OUT	#93AA00		#8DB600	
brill.YG 116 Brilliant Yellow Green	(2-8GY) 4.9GY8.2/9.1	#CED23A		#BDDA57	
s.YG 117 Strong Yellow Green	(2-8GY) 5.4GY6/8.7	#7F8F18		#7E9F2E	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

deep YG 118 Deep Yellow Green	(2-8GY) 7.4GY4.2/7.1	#425E17		#467129	
l.YG 119 Light Yellow Green	(2-8GY) 5GY8.4/5.6	#DCD36A		#C9DC89	
m.YG 120 Moderate Yellow Green	(2-8GY) 4.8GY6/5	#8B8940		#8A9A5B	
p.YG 121 Pale Yellow Green not pale yellowish green	(9Y-2GY,2-8GY) 3.4GY8.7/2.4	#F0D698		#DADFB7	
gy.YG 122 Grayish Yellow Green not grayish yellowish green	(9Y-2GY,2-8GY) 4.4GY6/2.3	#90845B		#8F9779	
Olive Green					
s.OLG 123 Strong Olive Green	(2-8GY) 4GY3/11 OUT	#0A4500		#404F00	
deep OLG 124 Deep Olive Green	(2-8GY) 4GY1.5/11 OUT	#142300		#232F00	
m.OLG 125 Moderate Olive Green	(2-8GY) 5.7GY3.6/4.8	#434B1B		#4A5D23	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

d.OLG 126 Dark Olive Green	(2-8GY) 8GY2.2/3.6	#232C16		#2B3D26	
gy.OLG 127 Grayish Olive Green	(2-8GY) 4.6GY3.5/2	#48442D		#515744	
d.gy.OLG 128 Dark Grayish Olive Green	(2-8GY) 5.4GY2/1.8	#27261A		#31362B	
Yellowish Green					
v.yG 129 Vivid Yellowish Green see #115	(8GY-3G) 1.1G5.9/11.2	#379931		#27A64C	
brill.yG 130 Brilliant Yellowish Green	(8GY-3G) 0.3G7.7/8.6	#8CCB5E		#83D37D	
s.yG 131 Strong Yellowish Green	(8GY-3G) 0.4G5.4/8.7	#478430		#44944A	
deep yG 132 Deep Yellowish Green	(8GY-3G) 0.9G3.5/9 OUT	#00541F		#00622D	
v.deepyG 133 Very Deep Yellowish Green	(8GY-3G) 10GY1.5/11 OUT	#002800		#003118	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

v.l.yG 134 Very Light Yellowish Green	(8GY-3G) 0.2G8.6/4.6	#C6DF90		#B6E5AF	
l.yG 135 Light Yellowish Green	(8GY-3G) 0.7G7.4/5.2	#007BA7 see #167 #170		#93C592	
m.yG 136 Moderate Yellowish Green	(8GY-3G) 0.5G5.5/4.8	#657F4B		#679267	
d.yG 137 Dark Yellowish Green	(8GY-3G) 0.6G3.5/5	#304B26		#355E3B	
v.d.yG 138 Very Dark Yellowish Green	(8GY-3G) 0.3G1.8/4.3	#132712		#173620	
Green					
v.G 139 Vivid Green	(3-9G) 3.2G4.9/11.1 OUT	#007D34		#008856	
brill.G 140 Brilliant Green	(3-9G) 6.2G6.5/8.3	#47A76A		#3EB489	
s.G 141 Strong Green	(3-9G) 5.8G4.4/8.7 OUT	#006B3C		#007959	
deep G 142 Deep Green	(3-9G) 5.1G3/8.1 OUT	#004524		#00543D	
v.l.G 143 Very Light Green	(3-9G) 6.5G7.8/4.9	#98C793		#8ED1B2	

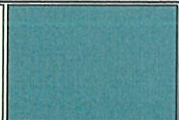
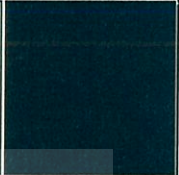



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

l.G 144 Light Green	(3-9G) 6G6.4/5.1	#719B6E		#6AAB8E	
m.G 145 Moderate Green	(3-9G) 6.3G4.5/5.1	#386646		#3B7861	
d.G 146 Dark Green	(3-9G) 6.6G2.8/4.6	#203A27		#1B4D3E	
v.d.G 147 Very Dark Green	(3-9G) 8G1.8/3	#16251C		#1C352D	
v.p.G 148 Very Pale Green	(8GY-3G,3-9G) 7.3G8.8/1.9	#D8DEBA		#C7E6D7	
p.G 149 Pale Green	(8GY-3G,3-9G,9G-10BG) 7.6G6.4/1.7	#8D917A		#8DA399	
gy.G 150 Grayish Green	(8GY-3G,3-9G,9G-10BG) 8.8G4.5/1.8	#575E4E		#5E716A	
d.gy.G 151 Dark Grayish Green not dark greenish yellowish green or dark grayish yellowish green	(8GY-3G,3-9G,9G-10BG) 1BG2.9/1.8	#313830		#3A4B47	
blackish G 152 Blackish Green	(8GY-3G,3-9G,9G-10BG) 10G1/1.4	#141613		#1A2421	

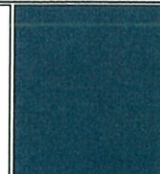



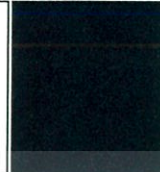






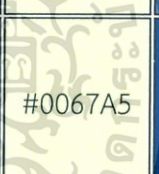

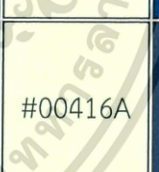

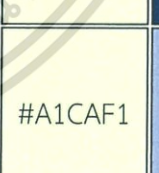
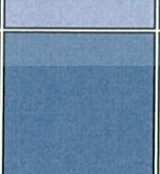
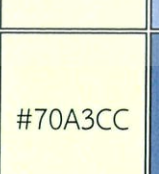
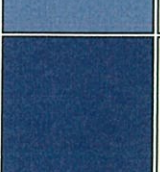
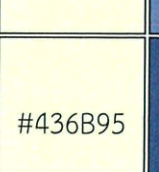
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

gWhite 153 Greenish White	(4GY-8GY,8GY- 3G,3G-9G,9G-10BG) 10G9.2/0.8	#F5E6CB		#DFE8E8	
l.gGy 154 Light Greenish Gray	(4GY-8GY,8GY- 3G,3G-9G,9G-10BG) 3G7.5/0.9	#BAAF96		#B2BEB5	
gGy 155 Greenish Gray	(4GY-8GY,8GY- 3G,3G-9G,9G-10BG) 7.5G5.5/1	#7A7666		#7D8984	
d.gGy 156 Dark Greenish Gray	(4GY-8GY,8GY- 3G,3G-9G,9G-10BG) 1.5BG3.5/0.9	#45433B		#4E5755	
gBlack 157 Greenish Black	(4GY-8GY,8GY- 3G,3G-9G,9G-10BG) 8.7G1/0.7	#181513		#1E2321	
Bluish Green					
v.bG 158 Vivid Bluish Green	(9G-10BG) 5BG5/13 OUT	#00836E		#008882	
brill.bG 159 Brilliant Bluish Green	(9G-10BG) 2.9BG6/9.6 OUT	#009B76		#00A693	
s.bG 160 Strong Bluish Green	(9G-10BG) 4.6BG4.5/8.5 OUT	#006D5B		#007A74	
deep bG 161 Deep Bluish Green	(9G-10BG) 2.8BG2.4/8.3 OUT	#00382B		#00443F	
v.l.bG 162 Very Light Bluish Green	(9G-10BG) 4.4BG8.3/4.6	#A0D6B4		#96DED1	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

l.bG 163 Light Bluish Green	(9G-10BG) 4.6BG6.5/4.9	#669E85		#66ADA4	
m.bG 164 Moderate Bluish Green	(9G-10BG) 4.6BG4.5/5	#2F6556		#317873	
d.bG 165 Dark Bluish Green	(9G-10BG) 4.9BG2.7/5 OUT	#013A33		#004B49	
v.d.bG 166 Very Dark Bluish Green	(9G-10BG) 3.6BG1.2/4 OUT	#001D18		#002A29	
Greenish Blue					
v.gB 167 Vivid Greenish Blue	(10BG-9B) 5B5/13 OUT see #170 #176	#007BA7 see #135 #170		#0085A1	
brill.gB 168 Brilliant Greenish Blue	(10BG-9B) 4.6B5.9/7.7	#2A8D9C		#239EBA	
s.gB 169 Strong Greenish Blue	(10BG-9B) 4.9B4.5/8.4 OUT	#00677E		#007791	
deep gB 170 Deep Greenish Blue	(10BG-9B) 5B5/13 OUT see #167 #176 same as #167; guess 5B2/9	#007BA7 see #135 #167		#2E8495	
v.l.gB 171 Very Light Greenish Blue	(10BG-9B) 4B8/4	#A3C6C0		#9CD1DC	
l.gB 172 Light Greenish Blue	(10BG-9B) 4.5B6.5/5.4	#649A9E		#66AABC	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

m.gB 173 Moderate Greenish Blue	(10BG-9B) 4.7B4.5/5.2	#30626B		#367588	
d.gB 174 Dark Greenish Blue	(10BG-9B) 3.7B2.7/5 OUT	#003841		#004958	
v.d.gB 175 Very Dark Greenish Blue	(10BG-9B) 5B1.5/3.6 OUT	#022027		#002E3B	
Blue					
v.B 176 Vivid Blue, ultramarine	(9B-5PB,5-7PB) 5B5/14 OUT see #167 #170	#007CAD		#00A1C2	
brill.B 177 Brilliant Blue, celestial blue	(9B-5PB,5-7PB) 1.6PB5.9/9.4	#4285B4		#4997D0	
s.B 178 Strong Blue, bright blue	(9B-5PB,5-7PB) 2.9PB4.1/10.4 OUT	#00538A		#0067A5	
deep B 179 Deep Blue, royal blue	(9B-5PB,5-7PB) 2.8PB2.5/7.9 OUT	#002F55		#00416A	
v.l.B 180 Very Light Blue, baby blue	(9B-5PB,5-7PB) 2.7PB7.9/6	#A6BDD7		#A1CAF1	
l.B 181 Light Blue, sky blue	(9B-5PB,5-7PB) 1.6PB6.4/6.9	#6C92AF		#70A3CC	
m.B 182 Moderate Blue,	(9B-5PB,5-7PB) 3PB4.3/6.8	#395778		#436B95	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cerulean blue					
d.B 183 Dark Blue, navy blue	(9B-5PB,5-7PB) 2.2PB1.7/5.5 OUT	#002137		#00304E	
v.p.B 184 Very Pale Blue, cloud blue	(10BG-9B,9B-5PB,5- 9PB) 1.5PB8.3/3.3	#C1CACA		#BCD4E6	
p.B 185 Pale Blue, alice blue	(10BG-9B,9B-5PB,5- 9PB) 0.6PB6.5/2.6	#919192		#91A3B0	
gy.B 186 Grayish Blue, slate blue	(10BG-9B,9B-5PB,5- 9PB) 0.2PB4.2/3	#4A545C		#536878	
d.gy.B 187 Dark Grayish Blue	(10BG-9B,9B-5PB,5- 9PB) 9.2B2.7/2	#2C3337		#36454F	
blackish B 188 Blackish Blue	(10BG-9B,9B-5PB,5- 9PB) 9.8B1.3/1.5	#161A1E		#202830	
bWhite 189 Bluish White	(10BG-9B,9B-5PB,5- 9PB) 9.2B9.1/1.2	#F9DFCF		#E9E9ED	
l.bGy 190 Light Bluish Gray	(10BG-9B,9B-5PB,5- 9PB) 8.2B7.5/1	#BEADA1		#B4BCC0	
bGy 191 Bluish Gray	(10BG-9B,9B-5PB,5- 9PB) 8.9B5.5/0.9	#7D746D		#81878B	
d.bGy 192 Dark Bluish Gray	(10BG-9B,9B-5PB,5- 9PB) 0.3PB3.6/1.1	#464544		#51585E	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bBlack 193 Bluish Black	(10BG-9B,9B-5PB,5-9PB) 9.6B1.1/0.8	#151719		#202428	
Purplish Blue					
v.pB 194 Vivid Purplish Blue not very purplish blue	(7-9PB) 7.8PB2/12.5	#20155E		#30267A	
brill.pB 195 Brilliant Purplish Blue	(7-9PB) 7.3PB5.1/9	#62639B		#6C79B8	
s.pB 196 Strong Purplish Blue	(7-9PB) 8PB4/10.9	#474389		#545AA7	
deep pB 197 Deep Purplish Blue	(7-9PB) 7.8PB1.5/8	#1A153F		#272458	
v.l.pB 198 Very Light Purplish Blue	(7-9PB) 7.4PB7.6/5.2	#BAACC7		#B3BCE2	
l.pB 199 Light Purplish Blue	(7-9PB) 7.3PB6/6.5	#837DA2		#8791BF	
m.pB 200 Moderate Purplish Blue	(7-9PB) 7.9PB3.5/6.5	#423C63		#4E5180	
d.pB 201 Dark Purplish Blue	(7-9PB) 8PB1.3/4.3	#1A162A		#252440	
v.p.pB 202 Very Pale Purplish Blue	(5-9PB) 7PB8/3.7	#CBBAC5		#C0C8E1	
p.pB 203 Pale Purplish Blue	(5-9PB) 7PB6/3.9	#8A7F8E		#8C92AC	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

gy.pB 204 Grayish Purplish Blue	(5-9PB) 6.9PB3.4/3.8	#413D51		#4C516D	
Violet					
v.V 205 Vivid Violet	(9PB-3P) 2P5/14	#884BAE		#9065CA	
brill.V 206 Brilliant Violet	(9PB-3P) 9.9PB5.1/9.4	#755D9A		#7E73B8	
s.V 207 Strong Violet	(9PB-3P) 0.2P3.7/10.1	#53377A		#604E97	
deep V 208 Deep Violet	(9PB-3P) 1.1P1.2/8.6	#240935		#32174D	
v.l.V 209 Very Light Violet	(9PB-3P) 2P8.5/7 OUT	#EEBEF1		#DCD0FF	
l.V 210 Light Violet	(9PB-3P) 0.5P5.6/7.1	#876C99		#8C82B6	
m.V 211 Moderate Violet	(9PB-3P) 1.4P3.6/7	#543964		#604E81	
d.V 212 Dark Violet	(9PB-3P) 1.4P1.3/4.9	#22132B		#2F2140	
v.p.V 213 Very Pale Violet	(9PB-3P) 9.7PB7.9/3.7	#D8B1BF		#C4C3DD	
p.V 214 Pale Violet	(9PB-3P) 1.3P6/4	#957B8D		#9690AB	
gy.V 215 Grayish Violet	(9PB-3P) 1.2P3.3/3.9	#46394B		#554C69	
Purple					

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

v.P 216 Vivid Purple	(3-9P) 6P4.5/14.0	#943391		#9A4EAE	
brill.P 217 Brilliant Purple	(3-9P) 6P7/11	#DD80CC		#D399E6	
s.P 218 Strong Purple	(3-9P) 6.5P4.3/9.2	#803E75		#875692	
deep P 219 Deep Purple	(3-9P) 6.3P2.7/9.1	#531A50		#602F6B	
v.deep P 220 Very Deep Purple	(3-9P) 5P1.5/8	#320B35		#401A4C	
v.l.P 221 Very Light Purple	(3-9P) 6.5P7.8/5.1	#E3A9BE		#D5BADB	
l.P 222 Light Purple	(3-9P) 6.2P6.5/6.5	#BA7FA2		#B695C0	
m.P 223 Moderate Purple	(3-9P) 6.6P4.5/7.1	#7F4870		#86608E	
d.P 224 Dark Purple	(3-9P) 6.3P2.8/4.9	#472A3F		#563C5C	
v.d.P 225 Very Dark Purple	(3-9P) 6.9P1/4.5	#230D21		#301934	
v.p.P 226 Very Pale Purple	(9PB-3P,3-9P) 5.5P8.2/3.2	#E6BBC1		#D6CADD	
p.P 227 Pale Purple	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP,9RP-1R) 7.9P6.4/3.1	#AE848B		#AA98A9	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

gy.P 228 Grayish Purple	(9PB-3P,3-9P,9P- 3RP,3-9RP,9RP-1R) 8.1P4.5/2.7	#72525C		#796878	
d.gy.P 229 Dark Grayish Purple	(9PB-3P,3-9P,9P- 3RP,3-9RP,9RP-1R) 0.5RP2.8/2	#452D35		#50404D	
blackish P 230 Blackish Purple	(9PB-3P,3-9P,9P- 3RP,3-9RP,9RP-1R) 0.8RP0.9/1.6 OUT	#1D1018		#291E29	
pWhite 231 Purplish White	(9PB-3P,3-9P,9P- 3RP,3-9RP) 2.5RP9/0.8	#FADBC8		#E8E3E5	
l.pGy 232 Light Purplish Gray	(9PB-3P,3-9P,9P- 3RP,3-9RP) 0.3RP7.5/1.1	#C8A99E		#BFB9BD	
pGy 233 Purplish Gray	(9PB-3P,3-9P,9P- 3RP,3-9RP,9RP-1R) 1RP5.5/0.9	#88706B		#8B8589	
d.pGy 234 Dark Purplish Gray	(9PB-3P,3-9P,9P- 3RP,3-9RP,9RP-1R) 1RP3.6/1	#564042		#5D555B	
pBlack 235 Purplish Black	(9PB-3P,3-9P,9P- 3RP,3-9RP,9RP-1R) 9.54P0.9/0.6 OUT	#1B1116		#242124	
Reddish Purple					
v.rP 236 Vivid Reddish Purple	(9P-3RP) 1RP3/14 OUT	#7E0059		#870074	
s.rP 237 Strong	(9P-3RP) 1.3RP4.4/10.2	#9A366B		#9E4F88	

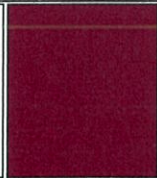

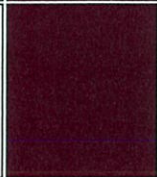










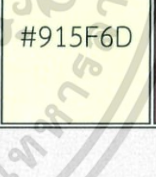

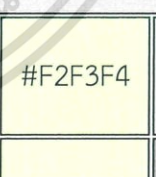
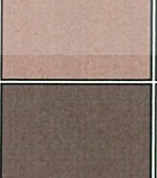
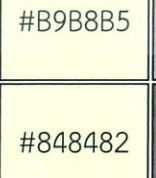

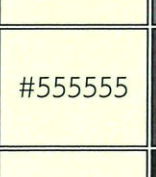

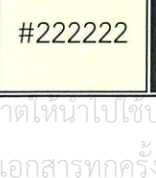


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reddish Purple					
deep rP 238 Deep Reddish Purple	(9P-3RP) 1RP2.8/9.5	#641349		#702963	
v.deeprP 239 Very Deep Reddish Purple	(9P-3RP) 0.9RP1.9/8.9	#470736		#54194E	
l.rP 240 Light Reddish Purple	(9P-3RP) 0.7RP6/6.9	#BB6C8A		#B784A7	
m.rP 241 Moderate Reddish Purple	(9P-3RP) 0.8RP4.5/7	#8C4566		#915C83	
d.rP 242 Dark Reddish Purple	(9P-3RP) 1.3RP2.8/4.8	#4F273A		#5D3954	
v.d.rP 243 Very Dark Reddish Purple	(9P-3RP) 1.5RP1/4.8	#270A1F		#341731	
p.rP 244 Pale Reddish Purple	(9P-3RP) 1.3RP6/4.2	#AC7580		#AA8A9E	
gy.rP 245 Grayish Reddish Purple	(9P-3RP) 1RP4.5/4.2	#7D4D5D		#836479	
Purplish Pink					

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

brill.pPk 246 Brilliant Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 6RP8.5/11 OUT	#FF97BB		#FFC8D6	
s.pPk 247 Strong Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 5.6RP6.8/9	#F6768E		#E68FAC	
deep pPk 248 Deep Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 4.4RP6/12.2	#EB5284		#DE6FA1	
l.pPk 249 Light Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 4.6RP8/5.5	#FFA8AF		#EFBBCC	
m.pPk 250 Moderate Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 4.6RP6.8/6.7	#E28090		#D597AE	
d.pPk 251 Dark Purplish Pink	(3-9RP) 6.4RP5.9/7	#C76574		#C17E91	
p.pPk 252 Pale Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 3.7RP8.4/3.3	#FDBDBA		#E8CCD7	
gy.pPk 253 Grayish Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 3.7RP7/3.5	#CC9293		#C3A6B1	
Purplish Red					
v.pR 254 Vivid Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.6RP4.9/13.6	#D5265B		#CE4676	
s.pR 255 Strong Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.3RP4.4/11.4	#B32851		#B3446C	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปตีพิมพ์หรือเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

deep pR 256 Deep Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.3RP2.6/10.1	#6F0035		#78184A	
v.deeppR 257 Very Deep Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 6.8RP1.7/8	#470027		#54133B	
m.pR 258 Moderate Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.1RP4.5/9	#A73853		#A8516E	
d.pR 259 Dark Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.1RP2.7/6	#5B1E31		#673147	
v.d.pR 260 Very Dark Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 6.6RP0.9/4.8 OUT	#28071A		#38152C	
l.gy.pR 261 Light Grayish Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.8RP5.9/4.2	#B27070		#AF868E	
gy.pR 262 Grayish Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7RP4.5/5.1	#8C4852		#915F6D	
Neutral					
White 263 White	(all) 2.5PB9.5/0.2	#FFC9D7		#F2F3F4	
l.Gy 264 Light Gray	(all) 6.7Y7.4/0.2	#C2A894		#B9B8B5	
med.Gy 265 Medium Gray	(all) 3.3GY5.4/0.1	#817066		#848482	
d.Gy 266 Dark Gray	(all) 2.5PB3.5/0	#49423D		#555555	
Black 267 Black	(all) 2.5PB0.8/0 OUT	#131313		#222222	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 (ก) ลักษณะสีฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท

กลุ่มที่	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร SCA	สีเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีรงควัตถุที่ละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
1 (Yellowish Pink)	BBA 153	ดี	Dark Yellowish Pink #C48379	Brilliant Orange Yellow #FFC14F	Pale Yellow #F3E5AB	สปอร์สายยาว
	BBA 2453	ดี	Moderate Yellowish Pink #EE9374	Light Brown #A86540	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายสั้น
	BBA 3983	ดี	Grayish Yellowish Pink #C7ADA3	Greenish White #F5E6CB	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 40102	ดี	Grayish Yellowish Pink #C7ADA3	Deep Orange #C34D0A	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 4312	ดี	Grayish Yellowish Pink #D39B85	Light Brown #A67B5B	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว

ตารางที่ 1 (ฎ) ลักษณะพื้นฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท (ต่อ)

กลุ่มที่	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร SCA	สีเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สร้างควัตถุที่ละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
2 (Yellow)	BBA 362	๗๘	Yellowish White #F0EAD6	Light Yellow #FFD35F	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 853	๗๘	Light Yellow #F8DE7E	Brilliant Yellow #FADA5E	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 32103	๗๘	Brilliant Yellow #FADA5E	Pale Yellow #FFDB8B	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 4212	๗๘	Yellowish White #F0EAD6	Pale Yellow #F3E5AB	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายสั้น
3 (Brown)	BBA 462	๗๘	Light Brown #A67B5B	Light Grayish Brown #958070	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 1583	๗๘	Light Brownish Gray #8B6D5C	Moderate Yellow #D79D41	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 1983	๗๘	Light Brownish Gray #8B6D5C	Yellowish White #FFE2B7	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 2962	๗๘	Light Brownish Gray #8B6D5C	Moderate Yellow #C9AE5D	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว

ตารางที่ 1 (ฎ) ลักษณะสีฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท (ต่อ)

กลุ่มที่	หมายเลขไอโซเลท	เจริญบนอาหาร SCA	สีเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีรงควัตถุที่ละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
4 (Brownish Pink)	BBA 5103	๑	Brownish Pink #C2AC99	Grayish Yellow #C2B280	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 1732	๑	Brownish Pink #C2AC99	Light Yellowish Brown #C19A6B	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 21103	๑	Brownish Pink #C2AC99	Light Olive #846A20	Grayish Greenish Yellow #B9B57D	สปอร์สายยาว
5 (Reddish Brown)	BBA 7104	๑	Light Grayish Reddish Brown #977F73	Moderate Yellowish Brown #826644	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 1062	๑	Light Grayish Reddish Brown #966A57	Light Grayish Brown #958070	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 2012	๑	Light Grayish Reddish Brown #966A57	Moderate Brown #6F4E37	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 2383	๑	Grayish Reddish Brown #674C47	Light Grayish Brown #958070	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายสั้น

ตารางที่ 1 (ฎ) ลักษณะสีฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท (ต่อ)

กลุ่มที่	หมายเลขไอโซเลท	เจริญบนอาหาร SCA	สีเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีรงควัตถุที่ละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
5 (Reddish Brown) (ต่อ)	BBA 4722	ด	Light Grayish Reddish Brown #966A57	Light Orange Yellow #FFB961	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
6 (Orange Yellow)	BBA 643	ด	Moderate Orange Yellow #E3A857	Dark Orange Yellow #BE8A3D	Light Yellow #FFD35F	สปอร์สายยาว
7 (Red)	BBA 1143	ด	Dark Reddish Gray #523C36	Grayish Yellow #CEA262	Brilliant Orange Yellow #FFC14F	สปอร์สายยาว
	BBA 1212	ด	Reddish Gray #8B6C62	Pale Yellow #FFDB8B	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 4652	ด	Reddish Gray #8F817F	Dark Greenish Yellow #98943E	Light Greenish Yellow #EAE679	สปอร์สายยาว
8 (Blue)	BBA 1453	ด	Light Bluish Gray #BEADA1	Moderate Yellow #C9AE5D	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
9 (Yellowish Brown)	BBA 1872	ด	Dark Grayish Yellowish Brown #3D2B1F	Grayish Yellowish Brown #483C32	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว

ตารางที่ 1 (ฎ) ลักษณะสีฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทจำนวน 34 ไอโซเลท (ต่อ)

กลุ่มที่	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร SCA	สีเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีรงควัตถุที่ละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
9 (Yellowish Brown) (ต่อ)	BBA 2574	ด	Light Grayish Yellowish Brown #AE9B82	Moderate Yellow #D79D41	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายสั้น
	BBA 26105	ด	Grayish Yellowish Brown #AE9B82	Dark Yellowish Brown #4B3621	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 4893	ด	Grayish Yellowish Brown #785840	Light Yellow #FFD35F	Grayish Yellow #CEA262	สปอร์สายยาว
10 (Green)	BBA 22104	ด	Light Greenish Gray #BAAF96	Moderate Brown #6F4E37	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 35105	ด	Greenish Gray #7A7666	Light Yellow #FFD35F	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
11 (Pink)	BBA 3612	ด	Pinkish Gray #C8A696	Grayish Yellow #CEA262	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว
	BBA 4133	ด	Pinkish Gray #C8A696	Grayish Greenish Yellow #C4A55F	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	สปอร์สายยาว

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล นางสาวณัชชา บุญลือกุลธร
 อีเมลล์ marchboing03@gmail.com
 ประวัติการศึกษา
 2552 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนนาวิวุฒิ ราชบุรี
 2555 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสตรีนนทบุรี นนทบุรี
 2560 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 กรุงเทพมหานคร



ชื่อ-นามสกุล นางสาวฐวิภาญจน์ จีรวงศ์วัฒน์นะ
 อีเมลล์ lunae.imim@gmail.com
 ประวัติการศึกษา
 2555 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนลาซาล กรุงเทพมหานคร
 2560 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 กรุงเทพมหานคร



ชื่อ-นามสกุล นางสาวธมลวรรณ อิศถงคาร
 อีเมลล์ tam_my_band@hotmail.com
 ประวัติการศึกษา
 2555 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเรณูนครวิทยานุกูล นครพนม
 2560 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 กรุงเทพมหานคร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้