

หัวข้อวิจัย	ความหลากหลายทางชีวภาพของแอกติโนมัยซิสที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินป่าชายเลน ตำบลกำพวน อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง
ผู้ดำเนินงานวิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐบดี วิริยาวัฒน์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรชาติ สินวรรณ
หน่วยงาน	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต
ปี พ.ศ.	2560

### บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและจัดจำแนกแอกติโนมัยซิสที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากดินป่าชายเลน ในตำบลกำพวน อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากแอกติโนมัยซิสที่คัดแยกได้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค โดยลงพื้นที่สุ่มเก็บตัวอย่างดินในป่าชายเลน จำนวน 70 ตัวอย่าง แล้วนำมาคัดแยกแอกติโนมัยซิสด้วยอาหาร Humic acid vitamin agar Starch casein agar และ Yeast malt agar ศึกษาลักษณะโคโลนี การติดสีแกรม รูปร่าง และลักษณะเซลล์ ผลการศึกษาพบว่าคัดแยกแอกติโนมัยซิสได้ทั้งหมด 39 ไอโซเลต เมื่อนำไอโซเลตทั้งหมดมาตรวจสอบความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า แอกติโนมัยซิส 31 ไอโซเลตสามารถยับยั้ง *Candida albicans* แอกติโนมัยซิส 16 ไอโซเลตสามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA ของแอกติโนมัยซิสที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค พบว่า แอกติโนมัยซิสที่แยกได้ มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA เหมือนกับ *Streptomyces griseus* (100%) *Streptomyces albus* (100%) *Streptomyces avermitilis* (99%) *Streptomyces* sp. (100%) *Streptomyces aminophilus* (99%) และ *Microbispora rosea* (100%)

<b>Research Title</b>	Biodiversity of Bioactive- Compounds Producing Actinomycetes isolated from Mangrove Forest Soils in Kamphuan subdistrict, Amphoe Suk Samran, Ranong Province
<b>Resaercher</b>	Assistant Professor Nuttabodee Viriyawattana, Ph.D. Assistant Professor Surachat Sinworn, Ph.D.
<b>Organization</b>	Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University
<b>Year</b>	2016

### **Abstract**

The purpose of this research is to isolate and classify the actinomycetes that produce bioactive compounds from mangrove soil in Kamphun District, Suk Samran District, Ranong Province. Study on the biological activity of the crude extracts from actinomycetes isolated for inhibition of pathogenic microorganisms. Soil samples in mangrove forests were randomly collected in 70 samples for screening of actinomycetes on humic acid vitamins agar, starch casein agar and yeast malt agar to study colony appearance, cell shape and cell morphology. The results indicated that A total of 39 actinomycetes were isolated. When all isolates were examined for their ability to produce bioactive compounds. The study showed that Actinomycetes 16 isolates can inhibit *Candida albicans*, 31 actinomycetes act as inhibitors. *Staphylococcus aureus*. When studying the sequences of 16S rRNA of actinomycetes that could produce bioactive compounds, the pathogenic microorganisms found isolated atherosclerotic activity. *Streptomyces griseus* (100%) *Streptomyces albus* (100%) *Streptomyces avermitilis* (99%) *Streptomyces* sp. (100%) *Streptomyces aminophilus* (99%) and *Microbispora rosea* (100%).

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความร่วมมือและความอนุเคราะห์จากหลายฝ่ายในคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสวนดุสิตที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้ และงานวิจัยนี้จะเกิดขึ้นไม่ได้เลย หากไม่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ในปีงบประมาณ 2559 ซึ่งเล็งเห็นความสำคัญของการวิจัยนี้ ทางคณะผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่ง

ประโยชน์อันเนื่องมาจากงานวิจัยฉบับนี้จะพึงมีเพียงใด ขอมอบแต่บิดา มารดา และคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้เมตตาอบรมสั่งสอนให้มีความรู้จนถึงปัจจุบัน

คณะผู้วิจัย

2560

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
<b>บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>5</b>
ป่าชายเลน	3
ระบบนิเวศป่าชายเลน (Mangrove ecosystem)	3
กำเนิดของป่าชายเลน	3
การกระจายพื้นที่ป่าชายเลนของโลก	4
การกระจายของพื้นที่ป่าชายเลนในประเทศไทย	4
สถานภาพป่าชายเลนในประเทศไทย	7
แอกติโนมัยซิส (Actinomycetes)	7
สัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยซิส	9
การสร้างโคโลนี	9
ลักษณะของโคโลนี	10
ลักษณะโดยทั่วไปของโคโลนีแอกติโนมัยซิส	10
โครงสร้างภายในเส้นใย	10
การสร้างสปอร์	11
การจัดจำแนกแอกติโนมัยซิส	16

กรอบแนวคิดในการวิจัย	20
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง	21
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย</b>	<b>23</b>
การคัดเลือกและจัดจำแนกแอคติโนมัยซิสที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินป่าชายเลน	23
การคัดเลือกแอคติโนมัยซิสขั้นต้น	23
การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	23
การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหยาบ	24
การจัดจำแนกแอคติโนมัยซิสที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	24
นำข้อมูลมาวิเคราะห์และสรุปผลการศึกษา	25
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย</b>	<b>26</b>
พื้นที่ศึกษาป่าชายเลน บริเวณตำบลกำพวน อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง	26
ผลการคัดเลือกแอคติโนมัยซิสในเบื้องต้นด้วยอาหาร Humic acid vitamin agar Starch casein agar และ Yeast malt agar	28
ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหยาบจากเชื้อแอคติโนมัยซิส	30
การจัดจำแนกแอคติโนมัยซิสที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	35
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ</b>	<b>44</b>
สรุปผลการวิจัย	44
อภิปรายผลการวิจัย	46
ข้อเสนอแนะ	47
<b>ผลผลิต</b>	<b>48</b>
<b>รายงานการเงิน</b>	<b>49</b>
<b>บรรณานุกรม</b>	<b>50</b>
<b>ประวัติผู้วิจัย</b>	<b>55</b>

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ข้อมูลพื้นที่ป่าชายเลนของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2522-2547 (หน่วย: ตารางกิโลเมตร)	6
2.2	ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดผนังเซลล์และน้ำตาลในผนังเซลล์ของ แอสคิโทไมซีต	16
2.3	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ผลิตโดยแอสคิโทไมซีตที่เรีย	19
4.1	ค่า Inhibition zone และ Inhibition index ของแอสคิโทไมซีตกับ <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25932	33
4.2	ค่า Inhibition zone และ Inhibition index ของแอสคิโทไมซีตกับ <i>Candida albicans</i> ATCC 90028	34
4.3	ระดับของค่า Inhibition index ของแอสคิโทไมซีตที่แยกจากดิน ต่อจุลินทรีย์ทดสอบ	35

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอกติโนมัยซิสบนอาหารแข็ง	9
2.2	การสร้างสปอร์เดี่ยว	11
2.3	ลักษณะสปอร์เป็นสาย	12
2.4	การสร้างสปอร์แบบเป็นสายยาวของ <i>Streptomyces</i>	13
2.5	รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนอาหาร	14
2.6	รูปทรงของอับสปอร์	15
4.1	บริเวณพื้นที่เก็บตัวอย่างดินในป่าชายเลน ตำบลกำพวน จังหวัดระนอง	27
4.2	ตัวอย่างดินที่นำมาศึกษา	28
4.3	โคโลนีของแอกติโนมัยซิสบนอาหาร Humic acid vitamin agar	29
4.4	โคโลนีของแอกติโนมัยซิสบนอาหาร Starch casein agar	29
4.5	โคโลนีของแอกติโนมัยซิสบนอาหาร Yeast malt agar	30
4.6	การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหยาบจากเชื้อแอกติโนมัยซิส	31
4.7	ผลการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ	37
4.8	โคโลนีของ <i>Streptomyces griseus</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	37
4.9	ลักษณะเซลล์ของ <i>Streptomyces griseus</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	38
4.10	โคโลนีของ <i>Streptomyces albus</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	38
4.11	ลักษณะเซลล์ของ <i>Streptomyces albus</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	39
4.12	โคโลนีของ <i>Streptomyces avermitilis</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	39
4.13	ลักษณะเซลล์ของ <i>Streptomyces avermitilis</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	40
4.14	โคโลนีของ <i>Streptomyces</i> sp. ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	40
4.15	ลักษณะเซลล์ของ <i>Streptomyces</i> sp. ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	41
4.16	โคโลนีของ <i>Streptomyces aminophilus</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	41
4.17	ลักษณะเซลล์ของ <i>Streptomyces aminophilus</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	42
4.18	โคโลนีของ <i>Microbispora rosea</i> ที่เลี้ยงบนอาหาร SP-2	42
4.19	ลักษณะเซลล์ของ <i>Microbispora rosea</i>	43