

## บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีทที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินบริเวณ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

Isolation and Selection of Bioactive Compound Producing Actinomycetes from Soil at Thaksin University, Phatthalung Campus

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท ทุนอุดหนุนการวิจัยเงินรายได้ ประจำปี 2554 จำนวนเงิน 50,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี เริ่มทำการวิจัยเมื่อ 1 สิงหาคม พ.ศ. 2554 ถึง 31 กรกฎาคม 2555

หน่วยงาน สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

รายนามคณะผู้วิจัย

- |                          |                  |
|--------------------------|------------------|
| 1) ผศ.ดร.นุกูล อินทรสังข | ที่ปรึกษาโครงการ |
| 2) ดร.ชัยสิทธิ์ นิยะสม   | หัวหน้าโครงการ   |

สถานที่ทำงาน สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง 93110

โทรศัพท์/ โทรสาร 074-693992

ในการศึกษานี้เป็นการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากตัวอย่างดินที่เก็บจากบริเวณต่างๆ 6 จุด ในมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง โดยที่มีการบำบัดตัวอย่างดินก่อนด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี ได้แก่ การใช้สารละลายโซเดียมไดคิซิลซัลเฟตและสารสกัดจากยีสต์ สารละลายฟีนอลเข้มข้นร้อยละ 1.5 และการอบตัวอย่างดินที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด คือ Starch Casien Agar, Oat Meal Aagr และ Humic Vitamin Agar ที่มีนิสตาตินและกรดนาลิดีซิกความเข้มข้น 50 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่าจำนวนแอคติโนมัยซีทที่นับได้จากตัวอย่างดินมีค่าอยู่ระหว่าง  $1 \times 10^4$ - $2.2 \times 10^5$  CFU/กรัม และได้คัดเลือกแอคติโนมัยซีทจากตัวอย่างดินทั้ง 6 จุด จำนวน 90 ไอโซเลท เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพต่อเชื้อแบคทีเรียที่เป็น clinical strains 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, Coagulase Negative Staphylococci และ *Klebsiella pneumoniae* และเชื้อแบคทีเรีย

ทดสอบที่เป็น laboratory strains 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Salmonella* sp., *Bacillus cereus*, *Klebsiella* sp. และยีสต์ 1 สายพันธุ์ คือ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยเทคนิค cross streak พบว่าแอคติโนมัยซีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้อย่างน้อย 1 ชนิด มีจำนวน 61 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 67.8 จากการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อราของแอคติโนมัยซีท ด้วยวิธี dual culture พบว่า 66 ไอโซเลท จากทั้งหมด 75 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 88 ของแอคติโนมัยซีทที่เลือกมาทดสอบ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบได้อย่างน้อย 1 ชนิด จากเชื้อราทดสอบ 4 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Cervularia* sp., *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. ซึ่งแอคติโนมัยซีทที่แยกได้สามารถจัดกลุ่มตามสีของสปอร์ สีของเส้นใยอาหารและการสร้างสารสีบนอาหาร ISP2 ได้ทั้งหมด 12 กลุ่ม ไอโซเลททั้งหมดจะเก็บรักษาไว้ที่ -80 องศาเซลเซียสเพื่อการศึกษาต่อไป

In this study, actinomycetes were isolated from soil samples collected from 6 different areas of Thaksin University, Phatthalung Campus. The soil samples were pre-treated 3 different methods including of SDS/YE, 1.5% phenol and 120 °C for 1 hr and then cultured on SCA, OMA and HVA containing 50 µg/ml of nystatin and 20 µg/ml of nalidixic acid. The total actinomycete counts were ranged from  $1 \times 10^4$  to  $2.2 \times 10^5$  CFU/CFU/g. Ninety actinomycete isolates were screened for antimicrobial activity against 6 clinical strains of bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichai coli*, Coagulase Negative Staphylococci and *Klebsiella pneumonia*), 5 laboratory strains of bacteria (*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Salmonella* sp., *Bacillus cereus*, *Klebsiella* sp.) and 1 laboratory strain of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) by cross streak method. The results showed that 61 (67.8%) actinomycete isolates exhibited the growth inhibition at least 1 of 12 tested microorganisms. Moreover, 66 (88%) from 75 selected actinomycetes showed antifungal activity against at least 1 of 4 tested fungi including of *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp. and *Colletotrichum gloeosporioides*. These actinomycete isolates could be classified into 12 groups based on morphological structure such as color of arial spores, color of substrate mycelium and pingment production on ISP2 agar. All isolates were selected and kept at -80 °C for further study.