

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



236036

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาการกระจายตัวและคัดกรองเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างสาร
ปฏิชีวนะจากสิ่งแวดล้อมทางทะเล
**Distribution and Screening of Antibiotic-Producing Actinomycetes
isolated from marine environments**

โดย

ผศ.ดร. จิตติ ท้าวไฉ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2552
คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

๖๐๐๒๔๗๐๗๔

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



236036

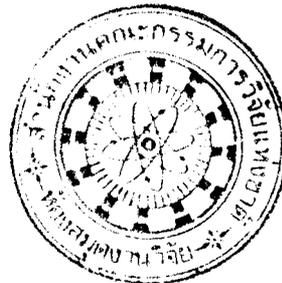
รายงานการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาการกระจายตัวและคัดกรองเชื้อแอคติโนมัยซีทส์ที่สามารถสร้างสาร
ปฏิชีวนะจากสิ่งแวดล้อมทางทะเล

**Distribution and Screening of Antibiotic-Producing Actinomycetes
isolated from marine environments**

โดย



ผศ.ดร. จิตติ ท้าว

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๒
คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2552 คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยงานดังกล่าวที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยตลอดการวิจัยในครั้งนี้

ผศ.ดร. จิตติ ท้าว

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย)	แอคติโนมัยซีทที่ส่งเสริมการเจริญของพืชและลักษณะทางอนุกรมวิธานของเชื้อเหล่านั้น
(ภาษาอังกฤษ)	Distribution and Screening of Antibiotic-Producing Actinomycetes isolated from marine environments
ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก	สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2552 คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปี 2552	จำนวนเงิน 200,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี	เดือนตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2552
ผู้ดำเนินการวิจัย	ผศ.ดร. จิตติ ท้าไว สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
โทรศัพท์	02-3298400 ต่อ 235

บทคัดย่อ

236036

เชื้อแอคติโนมัยซีท จำนวน 50 ไอโซเลต แยกจากตัวอย่างดินและตะกอนดินใต้ทะเลบริเวณจังหวัดตราด ตรัง ระยอง ประจวบคีรีขันธ์ และสุราษฎร์ธานี เชื้อแอคติโนมัยซีทเหล่านี้สามารถถูกจัดกลุ่มโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมี รวมทั้งฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เป็น 5 กลุ่ม เชื้อแอคติโนมัยซีทกลุ่มที่ 1 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces yatensis* มากที่สุดด้วยระดับความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ (%similarity) ร้อยละ 99.2 เชื้อแอคติโนมัยซีทกลุ่มที่ 2 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces lusitanus* DSM 40568^T มากที่สุดด้วยระดับความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ (%similarity) ร้อยละ 99.6 เชื้อแอคติโนมัยซีทกลุ่มที่ 3 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces olivaceus* DSM 40072^T มากที่สุดด้วยระดับความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ (%similarity) ร้อยละ 99.5 เชื้อแอคติโนมัยซีทกลุ่มที่ 4 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Micromonospora endolithica* DSM 44398^T (AJ560635) ด้วยระดับความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ (%similarity) ร้อยละ 99.1 เชื้อแอคติโนมัยซีทกลุ่มที่ 5 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *Streptomyces caesius* DSM 40419^T มากที่สุดด้วยระดับความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ (%similarity) ร้อยละ 99.8

236036

จากการศึกษาครั้งนี้ พบเชื้อที่แสดงกิจกรรมยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบจำนวน 95 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละ 95 โดยเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลตกลุ่มที่ 1 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้อย่างมีนัยสำคัญ การใช้ประโยชน์จากเชื้อแอกติโนมัยซีททางทะเลที่มีคุณสมบัติในการสร้างสารปฏิชีวนะที่แยกได้ในครั้งนี้ อย่างมีศักยภาพ ต้องการการศึกษาเพื่อพัฒนาเป็นยาปฏิชีวนะต่อไป

Abstract

Fifty actinomycete isolates were isolated from soil and sediments in Trad, Trang, Rayong, Prachokkereeekhun and Surajthani province, Thailand. These isolates could be grouped by morphological, physiological, biochemical characteristics including the antimicrobial activity into five groups. The actinomycetes in group I was close to *Streptomyces yatensis* (99.2%). Group II was close to *Streptomyces lusitanus* (99.6%). Group III was close to *Streptomyces olivaceus* (99.5%). Group IV was close to *Micromonospora endolithica* (99.1%). This group produced single spore directly on orange substrate myelia. Group V was close to *Streptomyces caesi* (99.8%). In this study, ninety five actinomycete isolates (95%) exhibited the antimicrobial activities. The actinomycetes in group I showed the significant ability to inhibit the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Potential use to these antibiotic producing marine actinomycete isolates need further study for antibiotic development.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ปัญหาที่ทำวิจัยและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	3
บทที่ 2 ทฤษฎีหรือกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	4
บทที่ 3 ระเบียบวิธีการดำเนินงานวิจัย	12
3.1 การเก็บตัวอย่าง การแยกและการคัดเลือกเชื้อ	12
3.1.1 การเก็บตัวอย่าง	12
3.1.2 การแยกเชื้อ	12
3.1.3 การเก็บรักษาเชื้อที่บริสุทธิ์	12
3.1.4 การคัดเลือกเชื้อขั้นต้น	12
3.2 การศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อ	13
3.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมี	13
3.2.2 ศึกษาคุณสมบัติทางอนุกรมวิธานเคมีของเชื้อ	13
3.2.2.1 การวิเคราะห์ผนังเซลล์	13
3.2.2.2 การวิเคราะห์ whole cell sugar	14
3.2.2.3 การวิเคราะห์ polar lipid	14
3.2.3 การวิเคราะห์ลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอในช่วง	
16S rRNA gene และการวิเคราะห์สายวิวัฒนาการ	14

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.4 การวิเคราะห์ DNA base composition	14
3.2.4.1 การแยก DNA และทำให้บริสุทธิ์	14
3.2.4.2 การวิเคราะห์	15
3.3 การทดสอบฤทธิ์ด้านการเจริญของจุลินทรีย์	15
3.3.1 ฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์	15
บทที่ 4 ผลการทดลอง	16
4.1 การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อ	16
กลุ่มที่ 1	17
กลุ่มที่ 2	21
กลุ่มที่ 3	24
กลุ่มที่ 4	26
กลุ่มที่ 5	29
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	44
เอกสารอ้างอิง	46

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงจำนวนสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อแอสคิโนมัยซีท	4
2	แสดงจำนวนของสารมีฤทธิ์ทางชีวภาพจากจุลินทรีย์ต่างๆ โดยประมาณ	7
3	สารปฏิชีวนะจากเชื้อแอสคิโนมัยซีทส์ที่หายากนอกเหนือจากสกุล <i>Streptomyces</i>	8
4	แสดงรายละเอียดลักษณะของคินตัวอย่าง และรหัสเชื้อแอสคิโนมัยซีทส์ที่แยกได้	16
5	ลักษณะการเจริญ และสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสคิโนมัยซีทบนอาหาร ISP ชนิดต่างๆ	32
6	แสดงลักษณะทางสรีระวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอสคิโนมัยซีทในแต่ละไอโซเลต	35

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลต TR5-1	18
2	แสดงตำแหน่งของเชื้อไอโซเลต TR5-1 บน phylogenetic tree (NJ method)	20
3	เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลต TD1-1	21
4	แสดงตำแหน่งของเชื้อไอโซเลต TD1-1 บน phylogenetic tree (NJ method)	23
5	เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลต TD2-1	24
6	แสดงตำแหน่งของเชื้อไอโซเลต TD2-1 บน phylogenetic tree (NJ method)	25
7	เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลต RY6-1	26
8	แสดงตำแหน่งของเชื้อไอโซเลต RY6-1 บน phylogenetic tree (NJ method)	28
9	เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลต PJ13-1	29
10	แสดงตำแหน่งของเชื้อไอโซเลต PJ13-1 บน phylogenetic tree (NJ method)	31

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ATCC = American Type Culture Collection

B. subtilis = *Bacillus subtilis*

C. albicans = *Candida albicans*

DSM = Deutsche Sammlung von Mikroorganismen

E. coli = *Escherichia coli*

EtOAc = ethyl acetate

IAA = Indole acetic acid

ISP = International *Streptomyces* Project

M. luteus = *Micrococcus luteus*

MHA = Mueller-Hinton Agar

nm = nanometer

NSA = Non-Streptomycete Actinomycetes

Ps. aeruginosa = *Pseudomonas aeruginosa*

SDA = Sabouraud Dextrose Agar

S. aureus = *Staphylococcus aureus*

TSB = Tryptic soy broth

UV = Ultraviolet

μL = microlitre