บทคัดย่อ

T 144998

การคัดแยกและการคัดกรองเชื้อแอคติโนมัยซิสที่ผลิตสารยับยั้งเชื้อราจากดินป่าชายเลน จังหวัดระนอง ทำโดยเก็บดิน 30 ตัวอย่างที่มีความลึกและความเค็มแตกต่างกัน พร้อมทั้งเก็บรักษาดินเป็น 3 แบบ คือ ดินสด ดินที่ผ่านความร้อนแห้งอุณหภูมิ 55 °C 15 นาที และอุณหภูมิ 100 °C 60 นาที สามารถพบเชื้อแอคติโนมัยซิสที่มีลักษณะโคโลนีต่างกัน ได้ทั้งหมด 168 isolates เมื่อทดสอบผลิตสารยับยั้งเชื้อราด้วยวิธี Paper disc diffusion agar method โดยใช้เชื้อยีสต์ทดสอบ *Saccharomyces cerevisiae* 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ SS 553 (a wild type) และ EC 19 (a chitin synthetase I–defective mutant) พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซิส 27 isolates แสดงผลการยับยั้ง โดย isolate PH 2 แสดงผลการยับยั้งเชื้อยีสต์ทดสอบสายพันธุ์ EC 19 ได้มากกว่าสายพันธุ์ SS 553 ที่สุด เมื่อทำการบ่งชี้ชนิดของเชื้อแอคติโนมัยซิสด้วยการศึกษาองค์ประกอบผนังเซลล์โดยวิธี TLC และลักษณะทางสัณฐานวิทยา ปรากฏว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces* sp. อาหาร Seed media และ Fermentation media ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารยับยั้ง คือ SM และ SR media ตามลำดับ คัดเลือกปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตสารยับยั้งเชื้อราโดยใช้แผนการทดลองแบบ The Plackett and Burman Designs และปรับปรุงสูตรอาหาร SR media โดยใช้ The Mixture Design พบว่า สารอาหารที่มีอิทธิพลต่อการผลิตสารยับยั้งเชื้อราคือ glucose, yeast extract และ peptone สูตรอาหารที่เหมาะสม (% w/v) คือ 0.5 glucose, 0.375 yeast extract และ 0.125 peptone ที่ระดับ pH 6.0 อุณหภูมิ 30 °C โดยใส่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 3% (v/v) สารยับยั้งเชื้อราที่ผลิตได้เป็นสารในกลุ่มhydrophobicตัวทำละลาย ethyl acetate ปลอดภัยและเหมาะสมที่สุดสำหรับใช้สกัดสารยับยั้ง เมื่อศึกษาการแยกสารยับยั้งด้วยวิธีTLC พบว่าระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมคือ dichloromethane : methanol ในอัตราส่วน 94 : 6 % v/v ในการตรวจสอบแถบแบนที่เกิดขึ้นด้วยไอของไอโอดีน การเรืองแสงUV และตรวจสอบแถบแบนสารยับยั้งเชื้อราด้วยวิธี bioautography พบว่า มีสารยับยั้งเชื้อรา 2 แถบ คือ ที่ R_f 0.35 และ 0.43 เมื่อนำสารยับยั้งที่ได้มาการยับยั้งเชื้อก่อโรค พบว่า สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืชบางชนิดได้ เช่น *Alternalia* sp., *Bipolaris* sp., *Cladosporium* sp., *Collectotichium* sp., *Drechslera* sp., *Fusarium* sp. และ *Fusarium oxysporium* นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Micrococcus luteus* และ *Staphylococcus aureus* ได้

Abstract

TE 144998

Actinomycetes were isolated and screened for antifungal activity from mangrove soil in Ranong Province. Thirty soil samples were collected at different soil depth and various salinity sites and 3 patterns of soils preserved as fresh soil, soil with heat treatment at 55 °C 15 min. and at 100 °C 60 min. One hundred and sixty eight isolates of Actinomycetes were collected with different colony morphology. Antifungal activities were determined using the paper disc diffusion agar method with two strains of yeast as test organism *Saccharomyces cerevisiae* SS553 (a wild type) and EC 19 (a chitin synthethase I-defective mutant). There were 27 strains that showed antifungal activities and one of them, strain PH 2, expressed higher activity against yeast EC 19 than SS 553 in primary screening. This strain identified as *Streptomyces* sp. according to morphology and cell wall composition. Media suitable for seed production and antifungal production by *Streptomyces* PH2 were SM and SR media, respectively. The Plackett and Burman Designs was employed to identify component in SR media that effect antifungal production. Then, the Mixture Design was used to modify media composition in order to reduce the cost of production. The factors, that effect antifungal production included glucose, yeast extract, and peptone, as determined by the Plackett and Burman Designs. The suitable compositions of these ingredients as determined by the Mixture Design were 0.5% glucose, 0.375% yeast extract, and 0.125% peptone. The pH, temperature and percent seed culture were optimized. The suitable condition was pH 6.0 at 30 °C with 3 % seed culture. Hydrophobicity of substances studied by Paper chromatography was found to be hydrophobic. Antifungal substance could be extracted by n-butanol, dichloromethane and ethyl acetate. The most suitable was ethyl acetate. Dichloromethane: methanol at the ratio of 96: 4 % v/v was found to be the best solvent for TLC. Two bands with R_f of 0.35 and 0.43 showed antifungal activity. Antifungal activity was found against plant pathogens including *Alternalia* sp., *Bipolaris* sp., *Cladosporium* sp., *Collectotichium* sp., *Drechslera* sp., *Fusarium* sp., and *Fusarium oxysporium*. It was also activity against *Micrococcus luteus* and *Staphylococcus aureus*.