

50401209: สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คำสำคัญ: แอคติโนมัยสีท, ฤทธิ์ต้านจุลชีพ, รากหน่อไม้ฝรั่ง, *Micromonospora*

ลลิตา วังเงิน : การคัดกรองและการพิสูจน์เอกลักษณ์แอคติโนมัยสีทหายากที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อ.ดร.บุษยา อภิชัยเสถียรโชติ , รองศาสตราจารย์ ดร. สมบูรณ์ ธนาสุภวัฒน์ และ ภาญ.รองศาสตราจารย์ ดร.ชุตินา ลิมมัทวาทิรดี. 115 หน้า.

ทำการคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินรอบรากและจากรากหน่อไม้ฝรั่งจากแปลงเกษตรอินทรีย์ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์และเพชรบุรีได้จำนวน 25 สายพันธุ์ มาทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ขึ้นต้น พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ 10 สายพันธุ์ (40%) ส่วนที่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ 8 สายพันธุ์ (32%) ไม่ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้ 7 สายพันธุ์ (28%) และไม่สามารถยับยั้งยีสต์ได้เลย ทำการคัดเลือกแอคติโนมัยสีท 14 สายพันธุ์ซึ่งมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีมาทำการศึกษาลักษณะทางพีโนไทป์พบว่า 13 สายพันธุ์ จัดอยู่ในสกุล *Micromonospora* และ 1 สายพันธุ์จัดอยู่ในสกุล *Microbispora* แล้วจึงทำการคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิดมาจำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ PKB32-7-12, PKB32-7-22, PKB32-13-13 และ PKB32-19 ซึ่งจัดอยู่ในสกุล *Micromonospora* และ PKB32-24 ซึ่งจัดอยู่ในสกุล *Microbispora* เพื่อทำการศึกษาลักษณะทางพีโนไทป์ต่อไป นอกจากนี้ได้คัดเลือกสายพันธุ์ PKB32-7-22 และ PKB32-24 เพื่อศึกษาลักษณะทางเคมีไทป์และจีโนมไทป์เฉพาะสองสายพันธุ์ เนื่องจากมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียหลายชนิด พบว่าทั้งสองสายพันธุ์มี *meso*-diaminopimelic acid เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ สายพันธุ์ PKB32-7-22 มีกรดไขมันชนิด iso-C<sub>15:0</sub> (21.2%), iso-C<sub>16:0</sub> (23.1%) และ anteiso-C<sub>17:0</sub> (10.3%) และเมนาควิโนนชนิด MK-9H<sub>4</sub> และ MK-9H<sub>8</sub> เป็นองค์ประกอบหลัก สรุปว่าสายพันธุ์ PKB32-7-22 มีความใกล้เคียงกับ *M. chersimia* DSM 44151<sup>T</sup>, *M. inositol* DSM 43819<sup>T</sup> และ *M. endolithica* DSM 44398<sup>T</sup> เป็น 99 % ของลำดับเบสในช่วง 16S rRNA gene ซึ่งจัดเป็นสปีชีส์ใหม่ของ *Micromonospora* ส่วนสายพันธุ์ของ PKB32-24 มีเมนาควิโนนชนิด MK-9H<sub>0</sub> และ MK-9H<sub>2</sub> เป็นองค์ประกอบหลัก พบว่ามีความใกล้เคียงกับ *Mb. corallina* DSM 44682<sup>T</sup> และ *Mb. rosea* subsp. *rosea* DSM 43839<sup>T</sup> เป็น 98 % ของลำดับเบสในช่วง 16S rRNA gene จัดเป็นสปีชีส์ใหม่ของสกุล *Microbispora* นอกจากนี้พบว่าสารสกัดหยาบจากไคคลอโรมีเทนของสายพันธุ์ PKB32-24 สามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้ที่ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ดิสก์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ      บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร      ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

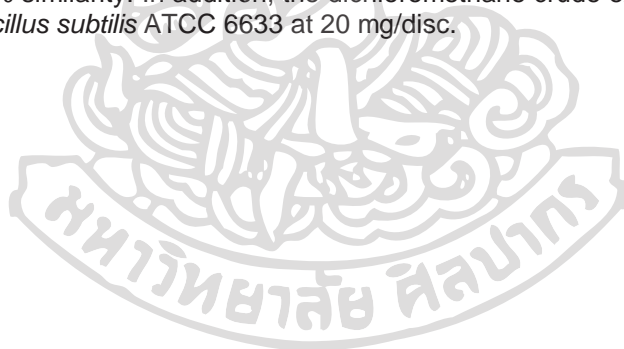
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. ....2. .... 3. ....

50401209: MAJOR : (BIOTECHNOLOGY)

KEY WORD: ACTINOMYCETES/ ANTIMICROBIAL ACTIVITY/ ASPARAGUS ROOT/  
*MICROMONOSPORA*

LALIDA VACHANGKEN : SCREENING AND IDENTIFICATION OF RARE ACTINOMYCETES FOR BIOLOGICAL ACTIVITY. THESIS ADVISORS: BUSAYA APICHAISATAIENCHOTE, Ph.D., ASSOC. PROF. SOMBOON TANASUPAWAT, Ph.D, AND ASSOC. PROF. CHUTIMA LIMMATVAPIRAT, Ph.D., 115 pp.

Twenty-five actinomycete strains were isolated from soil around asparagus root and from asparagus root of healthy plants grown in organic farm from Prachuabkhirikhan and Phetchaburi provinces. On primary screening for antimicrobial activities, 10 strains (40%) showed the activities against Gram-positive bacteria and 8 strains (32%) inhibited Gram-positive and Gram-negative bacteria. Sevens strains showed no activities against Gram-positive and Gram-negative bacteria including yeast strain. Fourteen potent strains were selected for their phenotypic characterization. Thirteen strains were belonged to the genus *Micromonospora* and one strain was *Microbispora*. PKB32-7-12, PKB32-7-22, PKB32-13-13 and PKB32-19 identified as *Micromonospora* and PKB32-24 identified as *Microbispora* were selected for further phenotypic characterization. Strains PKB32-7-22 and PKB32-24 were selected for chemotaxonomic and genotypic characterization based on their antibacterial activities. Both strains contained meso-diaminopemelic acid in cell wall. Strains PKB32-7-22 contained iso-C<sub>15:0</sub> (21.2%), iso-C<sub>16:0</sub> (23.1%) and anteiso-C<sub>17:0</sub> (10.3%) as major cellular fatty acids and MK-9H<sub>4</sub> and MK-9H<sub>8</sub> as major menaquinones. Phylogenetic analysis using 16S rRNA gene sequences showed that strain PKB32-7-22 was a novel species of the genus *Micromonospora* which was closely related to *M.chersinia* DSM 44151<sup>T</sup>, *M. inositola* DSM 43819<sup>T</sup> and *M. endolithica* DSM 44398<sup>T</sup> with 99% similarity. Strain PKB32-24 contained MK-9H<sub>0</sub> and MK-9H<sub>2</sub> as major menaquinones. Phylogenetic analysis using 16S rRNA gene sequences showed that strain PKB32-24 was a novel species of the genus *Microbispora* which was closely related *Mb. corallina* DSM 44682<sup>T</sup> and *Mb. rosea* subsp. *rosea* DSM 43839<sup>T</sup> with 98% similarity. In addition, the dichloromethane crude extract of strain PKB32-24 inhibited *Bacillus subtilis* ATCC 6633 at 20 mg/disc.



---

Department of Biotechnology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2011

Student's signature .....

Thesis Advisors' signature 1. .... 2. .... 3. ....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือจาก อ.ดร. บุษยา อภิชัยเสถียร โชติ  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รศ. ดร. สมบูรณ์ ธนาสุวัฒน์ และ ญ. รศ. ดร. ชุติมา ลิ้มมัท  
วาริทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยเหลือในด้านต่างๆ พร้อม  
ทั้งแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ญ.พศ.ดร. สุนีย์ เตชะอาภรณ์กุล ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการ  
และ ดร.สุชาดา จรุงเรือง โชค ซึ่งกรุณารับเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิในการตรวจสอบวิทยานิพนธ์  
นี้

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้อำนวยความสะดวกและความช่วยเหลือในด้านต่างๆ

ท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งสำหรับบิดา มารดา น้อง และครอบครัว  
ผู้วิชัย ที่คอยให้กำลังใจ ให้การและสนับสนุนในทุกด้านเป็นอย่างดีมาโดยตลอด

