บทที่ 4
ผลการทดลอง

1. การแยกและเก็บรวบรวมแอคติโนมัยซีสจากดิน และวัสดุที่ใช้สำหรับปลูกปทุมมา

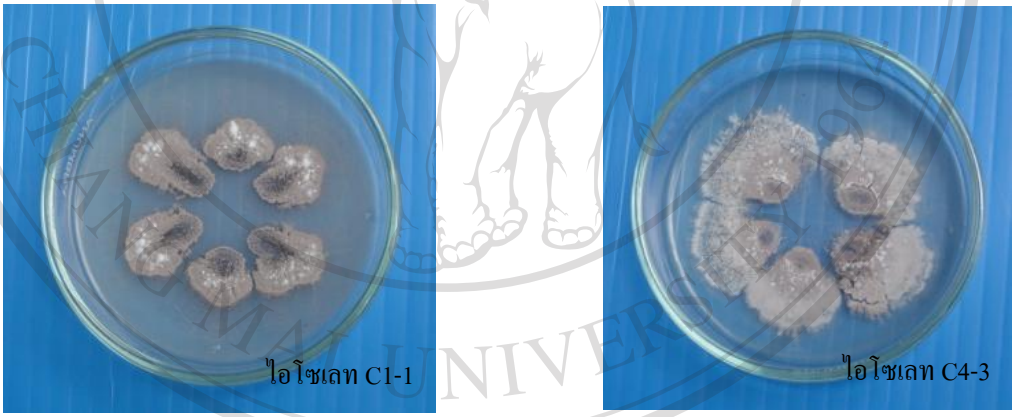
จากการเก็บรวบรวมดินบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย และวัสดุที่ใช้ปลูกปทุมมา มาทำการแยกแอคติโนมัยซีส พบว่าสามารถแยกแอคติโนมัยซีสได้ทั้งสิ้น 88 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) โดย 60 ไอโซเลท แยกได้จากดินบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย และ 28 ไอโซเลท แยกได้จากวัสดุที่ใช้ปลูก ซึ่งวัสดุปลูกปทุมมาปีที่ 4 สามารถแยกแอคติโนมัยซีสได้จำนวนไอโซเลทมากที่สุด คือ 15 ไอโซเลท รองลงมาคือ วัสดุปลูกปทุมมาปีที่ 3, 1 และ 2 สามารถแยกแอคติโนมัยซีสได้จำนวน 7, 3 และ 3 ไอโซเลท ตามลำดับ ซึ่งในการแยกแอคติโนมัยซีสบนอาหาร Soil extract agar ต้องใช้เวลาอย่างน้อย 10 วัน จึงจะสังเกตพบการเจริญของแอคติโนมัยซีสบนผิวหน้าอาหาร ซึ่งมีลักษณะของโคโลนีคล้ายผงแป้ง (ภาพที่ 12) จากนั้นจึงทำการคัดเลือกแอคติโนมัยซีสที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร Starch Casein Agar เพื่อให้ได้แอคติโนมัยซีสที่บริสุทธิ์ (ภาพที่ 13)

ตารางที่ 1 แอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากดินบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ- ปุย และวัสดุที่ใช้สำหรับปลูกปทุมมา

แหล่งที่มา	จำนวนไอโซเลท	ชื่อไอโซเลท
ดินบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ- ปุย	60	S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S19, S20, S21, S22, S23, S24, S25, S26, S27, S28, S29, S30, S31, S32, S33, S34, S35, S36, S37, S38, S39, S40, S51, S52, S53, S54, S55, S56, S57, S58, S59, S60
วัสดุที่ใช้สำหรับปลูกปทุมมา	28	C1-1, C1-2, C1-3, C2-1, C2-2, C2-3, C3-1, C3-2, C3-3, C3-4, C3-5, C3-6, C3-7, C4-1, C4-2, C4-3, C4-4, C4-5, C4-6, C4-7, C4-8, C4-9, C4-10, C4-11, C4-12, C4-13, C4-14, C4-15

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 12 การแยกแอคติโนมัยซีสโดยวิธี Streak Plate Technique มาเลี้ยงบนอาหาร Soil Extract Agar



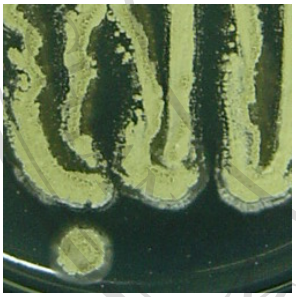
ภาพที่ 13 ลักษณะการเจริญของแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C1-1 และ C4-3 ที่แยกได้จากวัสดุปลูกปทุมมา บนอาหาร Starch Casein Agar

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

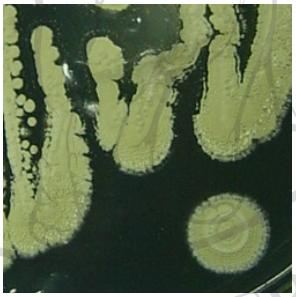
2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกชนิดของแอคติโนมัยซีส

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยซีส 88 ไอโซเลท ที่สามารถแยกได้จากดินบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพ-ปุย และวัสดุที่ใช้ปลูกปทุมมา พบว่า แอคติโนมัยซีสแต่ละไอโซเลทมีลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Starch Agar (YSA) ต่างกัน สามารถใช้ในการแบ่งกลุ่มของแอคติโนมัยซีสได้ โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ แอคติโนมัยซีสที่มีลักษณะของโคโลนีนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหาร ผิวขรุขระคล้ายฟองน้ำ รอบโคโลนีแบ่งออกเป็นชั้นๆ ซึ่งได้แก่ ไอโซเลท C1-1, C1-2, C4-2, S1, S11, S22, S36, S40 และ S60

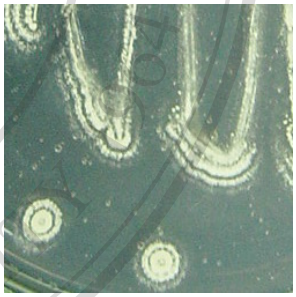
กลุ่มที่ 2 ได้แก่ แอคติโนมัยซีสที่มีลักษณะของโคโลนีนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหาร ผิวหน้าคล้ายผงแป้ง รอบโคโลนีแบ่งออกเป็นชั้นๆ ซึ่งได้แก่ ไอโซเลท C3-1, C3-2, C3-4, C4-3, C4-6, C4-7, C4-11, C4-12, S3, S4, S5, S6, S9, S12, S13, S17, S23, S28, S30, S38, S42, S43, S46, S48, S49, S52, S56 และ S57 กลุ่มที่ 3 ได้แก่ แอคติโนมัยซีสที่มีลักษณะของโคโลนีนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหาร โดยเฉพาะกลางโคโลนี รอบโคโลนีซ้อนกันเป็นชั้น และชั้นสุดท้ายจะมีลักษณะคล้ายผงแป้ง ได้แก่ ไอโซเลท C1-3, C2-3, C3-5, C3-7, C4-1, C4-4, C4-9, C4-15, S2, S8, S10, S16, S55 และ S59 กลุ่มที่ 4 ได้แก่ แอคติโนมัยซีสที่มีลักษณะของโคโลนีตรงกลางนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหารชัดเจน ขอบโคโลนีไม่เรียบมีลักษณะแตกแขนง ได้แก่ ไอโซเลท C3-3, C4-10, C4-13, S7, S14, S26, S32, S34, S39, S51 และ S58 กลุ่มที่ 5 ได้แก่ แอคติโนมัยซีสที่มีลักษณะของโคโลนีนูนขึ้นจากผิวหน้าอาหาร รอบโคโลนีแบ่งเป็นชั้น ขนาดของโคโลนีค่อนข้างเล็ก ซึ่งได้แก่ ไอโซเลท C2-1, C2-2, C3-6, C4-5, C4-8, C4-14, S15, S18, S19, S20, S21, S24, S25, S27, S29, S31, S33, S35, S37, S41, S43, S44, S45, S47, S5O, S53 และ S54 (ภาพที่ 14)



กลุ่มที่ 1

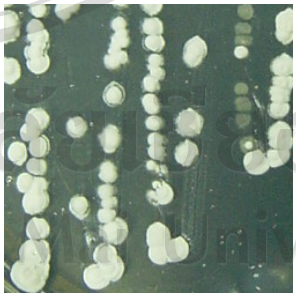


กลุ่มที่ 2



กลุ่มที่ 3

กลุ่มที่ 4



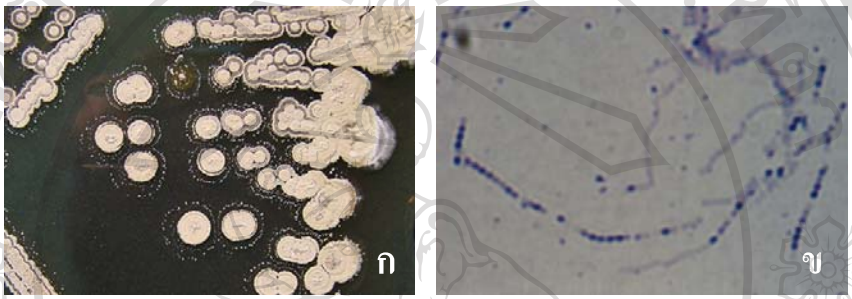
กลุ่มที่ 5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 14 ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยซีสกลุ่มต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Starch Agar

เมื่อตรวจดูลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยซีสทั้งสิ้น 88 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 พบว่าโคโลนีมีขนาดใหญ่สีเหลืองเข้ม ผิวหน้าย่นเป็นจีบ บางครั้งมีลักษณะย่นคล้ายเป็นวง

ซ้อนอยู่อีกชั้นหนึ่ง aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวครีมแบนติดอาหาร ไม่ฟูขึ้น (ภาพที่ 15 ก) และเมื่อลักษณะสัณฐานภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สามารถจัดจำแนกแอคติโนมัยซีสได้เป็นสกุล หรือ Genus *Streptomyces* ซึ่งมีลักษณะดังนี้ มีการสร้างสปอร์ต่อเรียงกันเป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ มีลักษณะของสายตรง บิดเป็นเกลียวคล้ายสปริง (spirales type) หรือแบบ rectiflexibles type (ภาพที่ 15 ข)



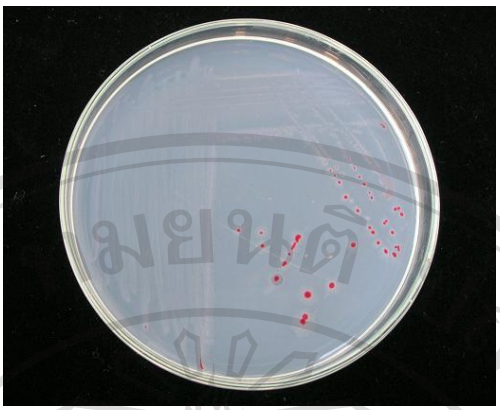
ภาพที่ 15 ลักษณะแอคติโนมัยซีสไอโซเลท S59 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม *Streptomycetes*
ก: ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาร IMA-2
ข: ลักษณะสปอร์ที่เรียงตัวแบบ rectiflexibiles type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

3. การแยกเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากหัวพันธุ์ปทุมมาและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยว

จากการแยกเชื้อโรคเหี่ยวของปทุมมาสายพันธุ์เชียงใหม่สีชมพู ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* บนอาหาร Tetrazolium Chloride Medium (TZC) พบเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีสีแดง บริเวณขอบโคโลนีมีเมือกสีขาวขุ่นล้อมรอบ (ภาพที่ 16) ซึ่งจากลักษณะโคโลนีที่สามารถแยกได้จากหัวพันธุ์ของปทุมมาที่เป็นโรค พบว่า มีลักษณะที่ตรงกับลักษณะของเชื้อ *R. solanacearum* ที่เป็นสายพันธุ์ก่อโรครุนแรง (virulent strain)

จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวกับปทุมมาพันธุ์เชียงใหม่สีชมพูทั้งในหัวพันธุ์และต้นปทุมมา พบว่าหลังจากทำการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* ลงบนหัวพันธุ์และต้นปทุมมา ได้ 25 วัน สามารถก่อให้เกิดโรคเหี่ยวในหัวพันธุ์ และต้นปทุมมาได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 16 ลักษณะโคโลนีของเชื้อก่อโรคเหี่ยวบนอาหาร Tetrazolium Chloride Medium ที่แยกได้จากหัวพันธุ์ปทุมมา

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการนำแอคติโนมัยซีสที่แยกบริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 88 ไอโซเลท มาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ด้วยวิธี dual culture พบว่าแอคติโนมัยซีส จำนวน 18 ไอโซเลท สามารถทำการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้ ซึ่งแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้ดีที่สุด โดยสามารถวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสได้ 2.6 เซนติเมตร รองลงมาคือ ไอโซเลท C4-10 และ S22 ซึ่งสามารถวัดขนาดวงใสได้ 1.8 เซนติเมตร เท่ากัน (ตารางที่ 2 และภาพที่ 17)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีส 7 ไอโซเลท ที่แยกได้จากวัสดุปลูก และ 11 ไอโซเลท จากดินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวปทุมมา

แหล่งที่มา	ไอโซเลท	เส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส[1] (เซนติเมตร)
วัสดุปลูกปทุมมา	C2-1	1.0
	C3-1	1.0
	C3-6	1.4
	C4-3	1.0
	C4-8	2.6*
	C4-10	1.8*
	C4-11	1.4
ดินจากอุทยานแห่งชาติ ดอยสุเทพ-ปุย	S6	1.0
	S7	1.4
	S9	1.0
	S13	1.2
	S20	1.0
	S22	1.8*
	S23	1.2
	S29	1.0
	S44	1.4
	S48	1.0
	S59	1.2

* ไอโซเลทที่แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง ซึ่งได้นำไปศึกษาต่อ

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 17 ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ของแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆ

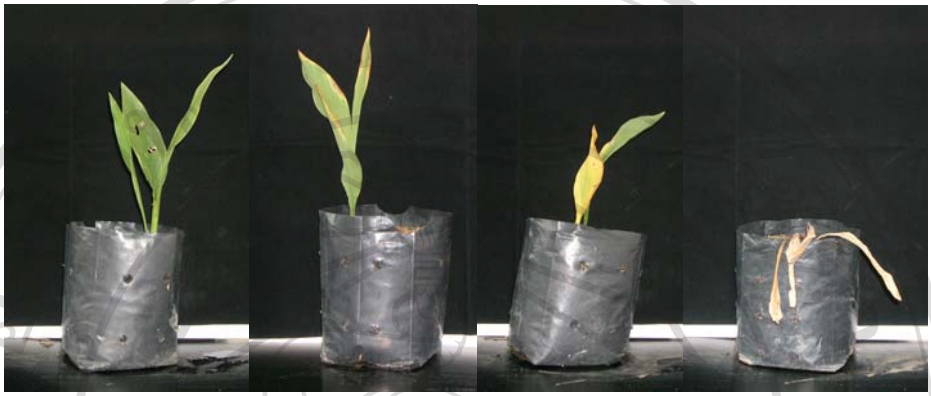
ภาพบนซ้าย : ไอโซเลท C4-8; ภาพบนขวา : C4-10, C4-11; ภาพล่าง : S22

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสที่คัดเลือกได้ 3 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในสภาพเรือนปลูก

จากการทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีสในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* หลังจากการเพาะเชื้อลงบนหัวพันธุ์ ต้นปทุมมาอายุ 2 สัปดาห์ และ 3 เดือน พบว่าปทุมมาที่ราดด้วยเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวแล้วราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 และ C4-10 ลงบนหัวพันธุ์ สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ดีกว่าชุดที่ราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลท S22 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 18 และตารางที่ 3) ซึ่งในชุดทดลองเมื่อต้นปทุมมาอายุ 2 สัปดาห์ และ 3 เดือน ที่ราดด้วยเชื้อสาเหตุโรคและราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆ ให้ผลการทดลองใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 19 และ 20 ; ตารางที่ 4 และ 5) โดยชุดทดลองที่ราดด้วยแอคติโนมัยซีส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไอโซเลท C4-8, C4-10 และ S22 ให้ผลเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวเฉลี่ย 0, 22.23 และ 97.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



A B C D

ภาพที่ 18 ต้นปทุมมาที่ราดด้วยเชื้อสาเหตุและแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆ หลังปลูกหัวพันธุ์

A: ราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8; B: ราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-10; C: ราดด้วยแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท S22; D: ชุดควบคุม โดยวัดผลเมื่อปทุมมาอายุ 12 สัปดาห์

A B C D

ภาพที่ 19 ต้นปทุมมาที่ราดด้วยเชื้อสาเหตุและแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆ เมื่อต้นปทุมมาอายุ 2 สัปดาห์

A: ราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8; B: ราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-10; C: ราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลท S22; D: ชุดควบคุม โดยวัดผลเมื่อปทุมมาอายุ 12 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

A B C D

ภาพที่ 20 ต้นปทุมมาที่ราดด้วยเชื้อสาเหตุและแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆ เมื่อต้นปทุมมาอายุ 3 เดือน

A: ราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8; B: ราดด้วยแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท C4-10; C: ราดด้วยแอคติโนมัยซีสไอโซเลท S22; D: ชุดควบคุม โดยวัดผลเมื่อปทุมมาอายุ 12 สัปดาห์

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลการราดแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆ และเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในปทุมมา หลังจากปลูกหัวพันธุ์

บันทึกผล สัปดาห์ที่	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยว[1]			
	ราดด้วยเชื้อสาเหตุโรคและราดสปอร์แอคติโนมัยซีสไอโซเลท			
	C4-8	C4-10	S22	ชุดควบคุมไม่ใส่แอคติโนมัยซีส
2	0	0	0	0
4	0	0	0	0
6	0	0	0	33.34
8	0	0	0	66.67
10	0	0	66.67	91.67
12	0	33.34	100	91.67

[1] วางแผนการทดลองแบบ RCBD ในชุดการทดสอบมี 4 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบผลการราดแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆ และเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในปทุมมา ลงบนปทุมมาอายุ 2 สัปดาห์

บันทึกผล สัปดาห์ที่	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยว[1]			
	ราดด้วยเชื้อสาเหตุโรคและราดสปอร์แอคติโนมัยซีสไอโซเลท			
	C4-8	C4-10	S22	ชุดควบคุมไม่ใส่แอคติโนมัยซีส
2	0	0	0	0
4	0	0	0	0
6	0	0	0	33.34
8	0	0	0	58.33
10	0	0	33.34	91.67
12	0	0	66.67	100

[1] วางแผนการทดลองแบบ RCBD ในชุดการทดสอบมี 4 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบผลการราดแอคติโนมัยซีสไอโซเลทต่างๆ และเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในปทุมมา ลงบนปทุมมาอายุ 3 เดือน

บันทึกผล สัปดาห์ที่	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยว[1]			
	ราดด้วยเชื้อสาเหตุโรคและราดสปอร์แอคติโนมัยซีสไอโซเลท			
	C4-8	C4-10	S22	ชุดควบคุมไม่ใส่แอคติโนมัยซีส
2	0	0	0	0
4	0	0	0	33.34
6	0	0	0	66.67
8	0	0	66.67	91.67
10	0	33.34	100	100
12	0	33.34	100	100

[1] วางแผนการทดลองแบบ RCBD ในชุดการทดสอบมี 4 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. การผลิตแอคติโนมัยซีสในรูปของชีวภัณฑ์

การผลิตแอคติโนมัยซีสเพื่อนำไปใช้ในแปลงปลูก ทำโดยการนำแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* มาผลิตให้อยู่ในรูปเม็ด (ภาพที่ 21) ทำการทดสอบความมีชีวิตรอดของแอคติโนมัยซีส ภายหลังจากการผลิตในรูปเม็ด โดยมีการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกัน 2 ระดับ คือ 4 และ 26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งทำการตรวจสอบความมีชีวิตรอดของแอคติโนมัยซีสทุกๆ สัปดาห์

การเลือกใช้สารผสมในการทำชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดของแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8

ในการเคลือบผิวและทำให้แข็งตัวเป็นเม็ดของแอคติโนมัยซีส ด้วยสารละลาย calcium chloride ($CaCl_2$) และ calcium gluconate (Ca- gluconate) เพื่อผลิตเป็นชีวภัณฑ์ สารละลายทั้งสองสามารถทำให้เกิดชีวภัณฑ์ของเชื้อรูปวงรี สีเทาอ่อน ขนาดเฉลี่ย4 ถึง 6 มิลลิเมตร โดยเม็ดหัวเชื้อมีความเข้มข้นของสปอร์ 3.1×10^{-6} ถึง 6.3×10^{-6} cfu ต่อกรัม

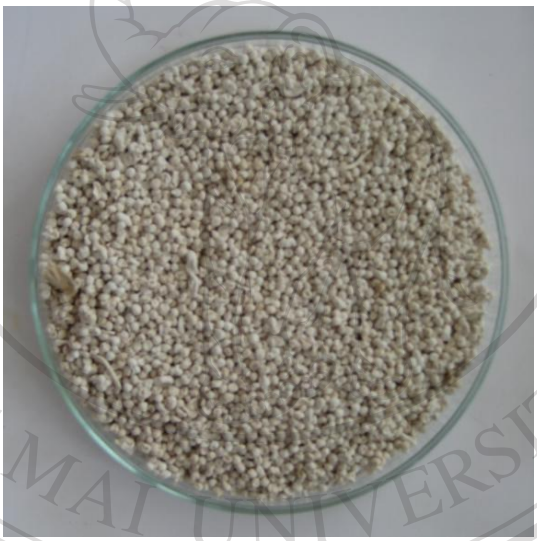
ความมีชีวิตรอดของแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 ภายหลังการแปรรูป

จากการตรวจสอบการมีชีวิตรอดภายหลังการเก็บแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 12 สัปดาห์ พบว่านับจำนวนโคโลนีของแอคติโนมัยซีสได้ 6.3×10^{5} cfu ต่อกรัม ในชีวภัณฑ์ที่เคลือบด้วย $CaCl_2$ และ 1.8×10^{5} cfu ต่อกรัม ในชีวภัณฑ์ที่เคลือบด้วย Ca-gluconate คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดได้ 85 และ 81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การเก็บภายใต้อุณหภูมิ 26°C นั้นเหลือจำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอดเพียง 2.5×10^{5} cfu ต่อกรัม ในชีวภัณฑ์ที่เคลือบด้วย$CaCl_2$ และ 4.7×10^{4} cfu ต่อกรัม ในชีวภัณฑ์ที่เคลือบด้วย Ca-gluconate คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดได้ 79 และ 77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6 และ 7) โดยพบว่าเชื้อสามารถมีชีวิตรอดได้เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการเก็บภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์

ภายหลังการเก็บชีวภัณฑ์ที่เคลือบด้วย $CaCl_2$ ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 8 สัปดาห์ พบว่าเชื้อสามารถมีชีวิตรอดลดลงเหลือน้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (6.3×10^{4} cfu ต่อกรัม) และภายใต้อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 5 สัปดาห์ (2.5×10^{5} cfu ต่อกรัม) ซึ่งจะเห็นได้ว่าจำนวนการรอดชีวิตของเชื้อที่เคลือบด้วย Ca- gluconate จะลดลงต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ภายหลัง 6 สัปดาห์ ในทั้งสองสภาพการเก็บรักษา (ภาพที่ 22 และ 23) โดยภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เหลือ 1×10^{5} cfu ต่อกรัม และอุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เหลือ 1.5×10^{4} cfu ต่อกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อเปรียบเทียบการใช้สารที่เคลือบและทำให้แข็งเป็นเม็ดทั้งสองชนิด พบว่าการเคลือบด้วย $CaCl_2$ ที่เก็บทั้งภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 26 องศาเซลเซียส มีชีวิตรอดสูงกว่าการเคลือบด้วย Ca- gluconate โดยภายหลังการเก็บรักษาเม็ดหัวเชื้อทั้งสองชนิดภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 8 สัปดาห์ พบว่าจำนวนการรอดชีวิตไม่ต่างกัน (6.3×10^4cfu ต่อกรัม) แต่ต่างกันเมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 24 และ 25)



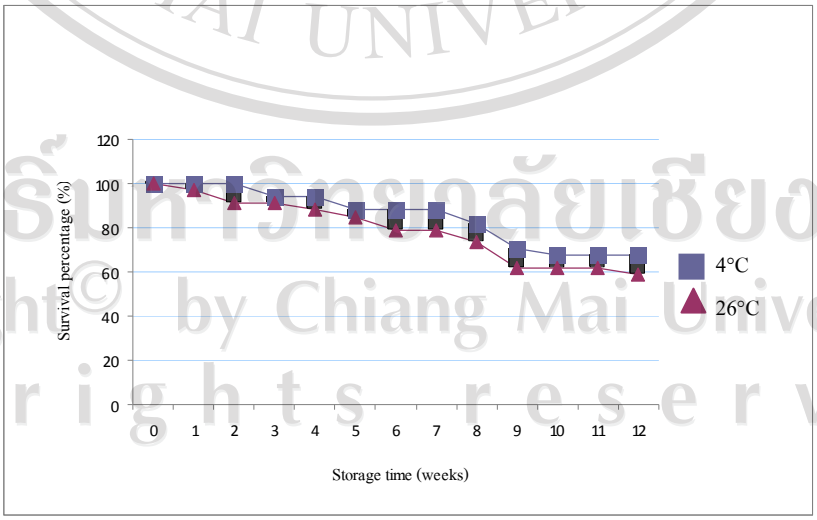
ภาพที่ 21 ลักษณะชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดของแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 (*Streptomyces* sp.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 เคลือบด้วย calcium chloride ที่อุณหภูมิ 4 และ 26 องศาเซลเซียส

Time (weeks)	เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอด[1]	
	4°C	26°C
0	100	100
1	100	97
2	100	91
3	94	91
4	94	88
5	88	85
6	88	79
7	88	79
8	82	74
9	71	62
10	68	62
11	68	62
12	68	59
Average	85	79

[1] ความมีชีวิตรอด (%) = colony forming unit/initial colony forming unit ×100



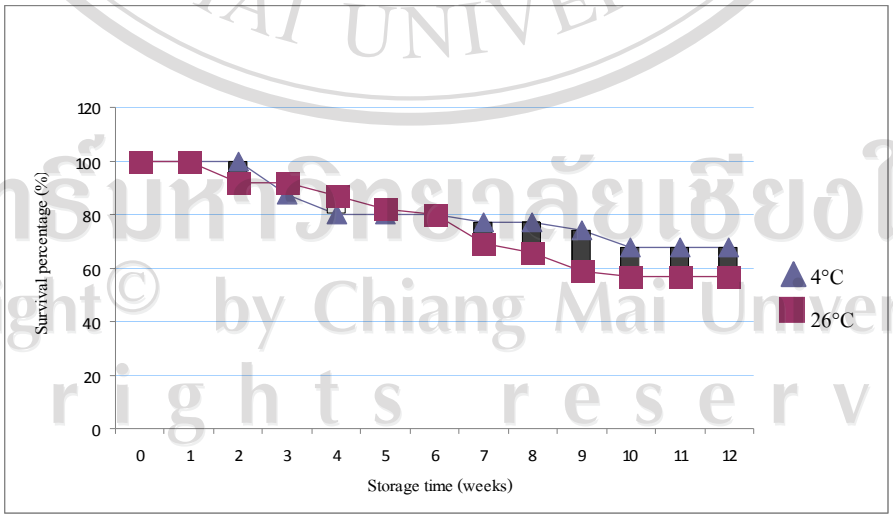
ภาพที่ 22 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 เคลือบด้วย calcium chloride เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 26 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 เคลือบด้วย calcium gluconate เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 26 องศาเซลเซียส

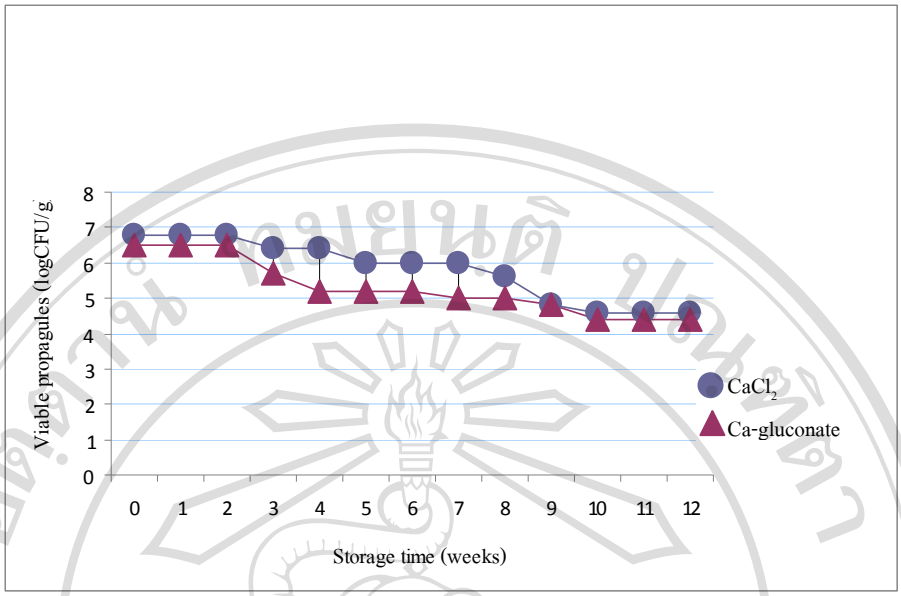
Time (weeks)	เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอด[1]	
	4°C	26°C
0	100	100
1	100	100
2	100	92
3	88	92
4	80	87
5	80	82
6	80	80
7	77	69
8	77	66
9	74	59
10	68	57
11	68	57
12	68	57
Average	81	77

[1] ความมีชีวิตรอด (%) = colony forming unit/initial colony forming unit ×100

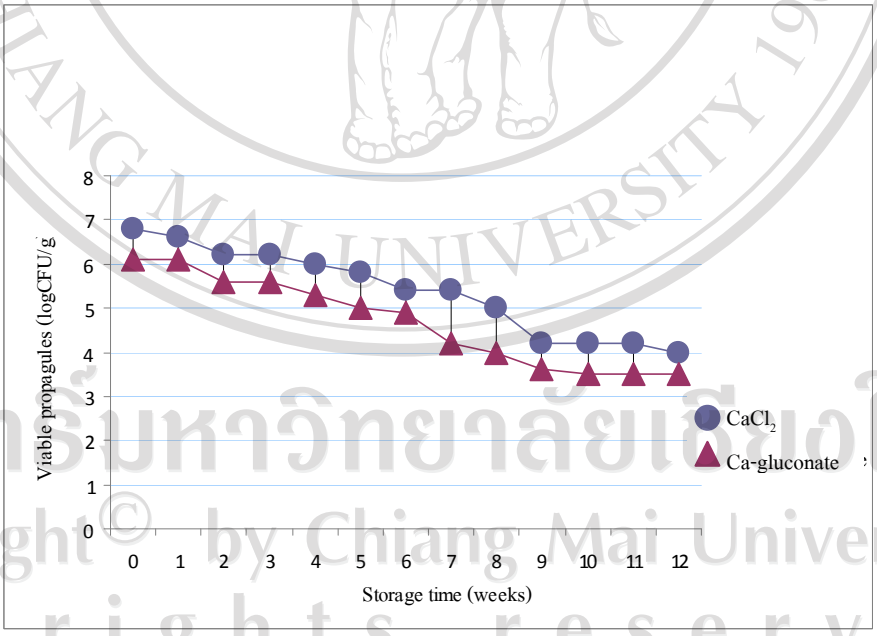


ภาพที่ 23 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C4-8 เคลือบด้วย calcium gluconate เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 26 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 24 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท C4-8 เคลือบด้วย calcium chloride และ calcium gluconate เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

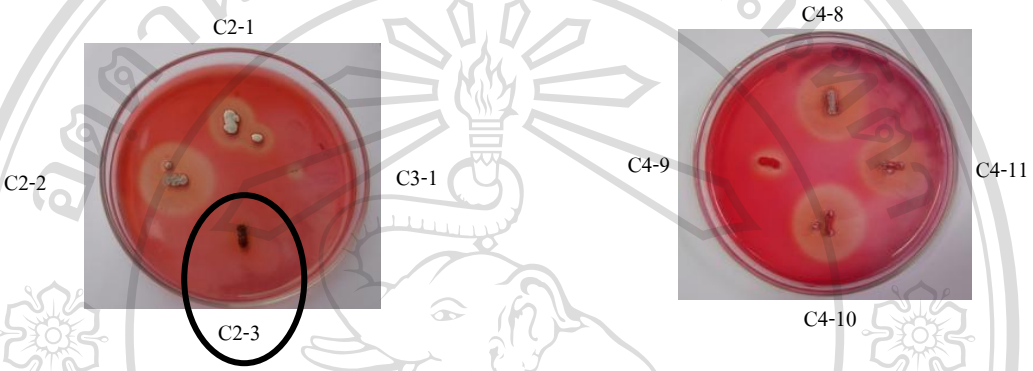


ภาพที่ 25 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของแอคติโนมัยซีส ไอโซเลท C4-8 เคลือบด้วย calcium chloride และ calcium gluconate เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

จากการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของแอคติโนมัยซีส พบว่าแอคติโนมัยซีสทุกไอโซเลทสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยสังเกตจากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส ยกเว้นไอโซเลท C2-3 ที่ไม่พบวงใสรอบโคโลนี (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 การเกิดวงใสจากการย่อยเซลลูโลสโดยเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากแอคติโนมัยซีสไอโซเลท C2-1, C2-2, C3-1, C4-8, C4-9, C4-10 และ C4-11

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved