

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การแยกและคัดเลือกแอสกีโนมัยซีสจากดินในถ้ำน้ำลอด จังหวัดแม่ฮ่องสอน ที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของฟังไจ		
ชื่อผู้เขียน	นางสาวจิรพรรณ ใจอินผล		
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา		
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ วันชัย สนธิไชย	ประธานกรรมการ	
	รองศาสตราจารย์ ดร. สายสมร ถ้ายอง	กรรมการ	
	ดร. คำรัส ทรัพย์เย็น	กรรมการ	

บทคัดย่อ

การแยกแอสกีโนมัยซีสที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของฟังไจ โดยใช้ดินจากถ้ำน้ำลอด จ.แม่ฮ่องสอน จำนวน 32 ตัวอย่าง สามารถแยกแอสกีโนมัยซีสได้ 175 ไอโซเลท แอสกีโนมัยซีสที่แยกได้นำมาทดสอบการสร้างสารปฏิชีวนะ ด้วยวิธี paper disc diffusion แล้วคัดเลือกเชื้อที่เกิดวงใสยับยั้งเฉพาะ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ EC19 เท่านั้น ซึ่งแอสกีโนมัยซีสสายพันธุ์นี้มีการเปลี่ยนแปลงยีนที่ควบคุมการสร้างโคตินที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ จึงทำให้การสร้างผนังเซลล์ผิดปกติ แต่ไม่สามารถยับยั้งยีสต์สายพันธุ์ SS553 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ปกติได้ พบว่าแอสกีโนมัยซีสสายพันธุ์ JA122 เท่านั้นที่ให่วงใสในการยับยั้งเชื้อยีสต์ทดสอบสายพันธุ์ EC19 ขนาด 15 มม. เมื่อนำไปทดสอบหาองค์ประกอบของผนังเซลล์ด้วยวิธี Thin-layer chromatograph จะเป็นแบบ LL-diaminopimelic acid (LL-DAP) และประกอบด้วย L-asparatic acid, glutamic acid และ alamine มีการเรียงตัวของสปอร์เป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ จึงจัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* เมื่อนำไปเลี้ยงในอาหาร SUG medium เพื่อหาแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตสารปฏิชีวนะของเชื้อได้คือ 8.0% D-mannitol และ 0.1% malt

extract โดยอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมคือ 27°C และ 8.0 ตามลำดับ เพื่อจะสร้างสารปฏิชีวนะ ได้ดีที่สุดในวันที่ 8 จากการนำน้ำเลี้ยงที่ผ่านการสกัดด้วย dichloromethane มาทำ Thin-layer chromatograph เพื่อศึกษาผลการยับยั้งของสารปฏิชีวนะ โดยวิธี Bioautograph พบว่ามี 1 แถบ ที่มี R_f อยู่ในช่วง 0.50-0.73 เมื่อนำสารสกัดที่ทำให้มีความบริสุทธิ์บางส่วน ไปหาสูตรโครงสร้าง โดยใช้ GC-MS พบว่าปรากฏ 10 พีค และสารสกัดที่ได้สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ทดสอบได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ เมื่อนำแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* และ *Klebsiella pneumoniae* มาใช้เป็นเชื้อทดสอบ พบว่าสารสกัดที่ได้สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ โดยมีขนาดของวงใสเท่ากับ 21 มม. และจากการทำ MIC แบบ two fold dilution พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ทดสอบได้ที่อัตราส่วนเท่ากับ 1: 65,536 เท่า

Thesis Title	Isolation and Screening of Actinomycetes from Nam Lod Cave Soils in Mae Hong Son Province Capable of Producing Antifungal Antibiotics	
Author	Miss Jeerapun Jaiinphon	
M.S.	Biology	
Examining Committee	Associate Prof. Wanchai Sonthichai	Chairperson
	Associate Prof. Dr. Saisamorn Lumyong	Member
	Dr. Damrat Supyen	Member

Abstract

The purpose of this study was to isolation and screening of actinomycetes from Nam Lod cave soils in Mae Hong Son Province capable of producing antifungal antibiotics. One hundred and seventy five strains isolated from 32 soil samples were subjected to the test for their antibiotic activities by paper disc diffusion method. Selection of actinomycetes strains againsted only *Saccharomyces cerevisiae* strain EC19, which is a chitin synthetase I defective mutant but no antibiotics activities against, strain SS553, which is a wild type. It was found that isolate JA122 capable of producing antibiotics against only strain EC19 by monitoring the occurred inhibitory zone 15 mm. The producing strain, strain JA122, contained LL-diaminopimelic acid (LL-DAP), L-asparatic acid, glutamic acid and alamine by in cell wall using TLC method. According to the spore of this producing strain arrangement looked like long chain and this producing strain was identified to be genus *Streptomyces*. To maximize the yield of antifungal

antibiotics production, the fermentation conditions have been studied in SUG medium. The maximum production was found when 8.0% D-mannitol was used as carbon source and 0.1% malt extract as nitrogen source. Optimal temperature and pH for antibiotic production were at 27°C and at pH 8.0, respectively. Antibiotic production in synthetic medium reached the maximum on the 8th day of incubation. Extraction of fermentation broth by dichloromethane was investigated capable of producing antibiotics using bioautograph method. It was found that 1 band has R_f between 0.50-0.73 against both yeast strains. It was found that structure of partial crude extraction has 10 peaks by using GC-MS. The extract against *Staphylococcus aureus* inhibitory zone 21 mm. when using *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* and *Klebsiella pneumoniae* as test organisms. According to the study of Minimum inhibitory concentration at two fold dilution at 1: 65,536 of crude extraction inhibited both yeast strains.