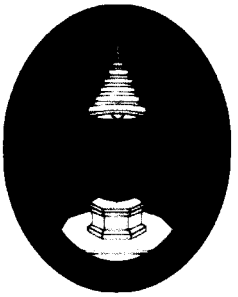
- 8 2559

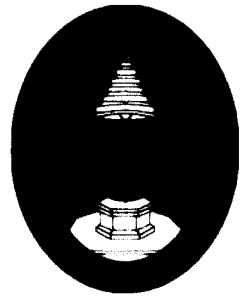


การแยกแบคทีเรียจากป่าชายเลนเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli*

Isolation of Bacteria from Mangrove to Inhibit *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*

วนิดา ลาวัลย์
อุไรเร๊าะ หว่าหลำ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ แขนงวิชาจุลชีววิทยา (Microbiology)
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
2558



ใบรับรองงานวิจัย
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์

ชื่อเรื่องงานวิจัย การแยกแบคทีเรียจากป่าชายเลนเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli*

ชื่อผู้ทำงานวิจัย นางสาววนิดา ลาวัลย์
นางสาวอุไรเร๊าะ หว่าหลำ

คณะกรรมการสอบโครงการวิจัย

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์สัลมา ตอบี)

.....กรรมการสอบ
(ดร. สายใจ วัฒนแสน)

.....กรรมการสอบ
(ดร. นิศากร วิจิตสมบูรณ์)

คณะกรรมการประจำสาขาวิชารับรองแล้ว

.....
(ดร. สายใจ วัฒนแสน)
ประธานโปรแกรมวิชา

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทัศนา ศิริโชติ)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

เมื่อวันที่..... เดือน.....พ.ศ.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ชื่อเรื่อง การแยกแบคทีเรียจากป่าชายเลนเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli*

ชื่อผู้ทำวิจัย นางสาววนิดา ลาวัลย์
นางสาวอุไรเร๊าะ หว่าหลำ
อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย อาจารย์สัลมา ตอรี

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ แขนงวิชาจุลชีววิทยา
สถาบัน มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
ปีที่พิมพ์ 2558

บทคัดย่อ

การศึกษาแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลน บริเวณสวนประวัติศาสตร์ป่าเปรม อ.เมือง จ.สงขลา และบริเวณริมคลองบ้านหัวหิน อ.ละงู จ.สตูล พบว่าสามารถแยกแบคทีเรียจากดินเลนทั้งหมดจำนวน 74 ไอโซเลท แล้วทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereus* และ *E. coli* พบว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้ง *B. cereus* 18 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งได้ดีที่สุดคือ M26 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) เท่ากับ 5.35 ± 0.82 % รองลงมาคือ M63 และ M14 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 4.14 ± 0.50 % และ 3.90 ± 0.29 % ตามลำดับ แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งน้อยที่สุดคือ M23 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 1.95 ± 0.18 % และประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* พบว่ามีแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนจำนวน 24 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งได้ดีที่สุดคือ M67 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 6.29 ± 1.02 % รองลงมาคือ M.27 และ M.32 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 5.28 ± 0.12 % และ 5.24 ± 0.18 % ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งน้อยที่สุดคือ M44 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 2.90 ± 0.53 % นอกจากนี้แบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งทั้ง *B. cereus* และ *E. coli* คือ M58 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *B. cereus* เท่ากับ 3.10 ± 0.66 % และเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *E. coli* เท่ากับ 4.57 ± 0.42 % ดังนั้นจากผลการทดลองสามารถนำแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนไปศึกษาถึงคุณสมบัติและกลไกการเป็นปฏิปักษ์ของแบคทีเรียที่สามารถยับยั้ง *B. cereus* และ *E. coli* ต่อไป

คำสำคัญ: ดินเลน, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีขอขอบพระคุณ อาจารย์สัลวา ตอปี อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่ได้แนะนำให้คำปรึกษา ให้ข้อเสนอแนะ ติดตามความก้าวหน้าในการดำเนินการวิจัยจนปรับปรุงแก้ไขรายงานวิจัยฉบับนี้ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร.สุวรรณี พรหมศิริ ผอ.ศูนย์วิทยาสาสตร์

ขอขอบคุณนายปริญญา ทับเที่ยง นางสาวอาซือนะ บูเก๊ะเจ๊ะลี และนางสาวสุไวดา สัสดี เจ้าหน้าที่ประจำวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาที่ได้อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนนักศึกษาชีววิทยาที่ได้มีส่วนร่วมให้ความช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัยและให้กำลังใจในการทำวิจัยในครั้งนี้

วนิดา ลาวัลย์

ผู้เรียบเรียง

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

เลข Bib# 113604
วันที่ 30 พ ค 55
เลขเรียกหนังสือ

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	**(ก)**
บทคัดย่อ	**(ข)**
สารบัญ	**(ค)**
สารบัญตาราง	**(จ)**
สารบัญภาพ	**(ฉ)**
บทที่ 1 บทนำ	**1**
ที่มาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการทำวิจัย	2
สมมติฐาน	2
ขอบเขตการวิจัย	2
นิยามศัพท์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	**4**
ปาชายเลน	4
จุลินทรีย์ดิน	6
แบคทีเรียก่อโรค	6
กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์	8
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่ 3 วิธีการดำเนินวิจัย	**14**
อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้	14
วิธีการทดลอง	15

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 4 ผลการวิจัย 17
การแยกแบคทีเรีย 17
ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลน 17
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ 23
เอกสารอ้างอิง 24
ภาคผนวก 26
ประวัติย่อของผู้วิจัย 39

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนและเปลือกหอยแครงเซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) ของ *B. cereus* และ *L. sp.* 19

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะของแบคทีเรีย *E. coli* 7
2.2 ลักษณะของแบคทีเรีย *B. cereus* 8
4.1 ลักษณะ Clear Zone ของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนยับยั้ง *B. cereus* และ *E. coli* หลังจากบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง 24

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ป่าชายเลน (Mangrove forest) เป็นระบบนิเวศที่ประกอบไปด้วยพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์หลายชนิดดำรงชีวิตร่วมกันในสภาพแวดล้อมที่เป็นดินเลน (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2553) พบทั่วไปตามพื้นที่ชายฝั่งทะเล บริเวณปากน้ำ อ่าว ทะเลสาบและเกาะซึ่งเป็นบริเวณที่น้ำท่วมถึงของประเทศในแถบโซนร้อน เกิดจากการผสมผสานระหว่างสภาพแวดล้อมของทะเลและสภาพแวดล้อมของดิน (อุทยานวิทยาศาสตร์พระจอมเกล้า, 2556) โดยสภาพแวดล้อมทั่วไปของป่าชายเลนมีความแตกต่างจากป่าชนิดอื่น โดยเฉพาะดินในพื้นที่ป่าชายเลนมีสภาพเป็นดินเลน ซึ่งดินเหล่านี้มีความอุดมสมบูรณ์สูงจากธาตุอาหารที่ไหลมาจากแหล่งต่างๆ เช่น จากการกัดเซาะตามชายฝั่ง แหล่งน้ำ สัตว์ พืช ซากสัตว์ ซากพืช [illegible] โดยมีจุลินทรีย์เป็นผู้ย่อยสลายซากพืชและซากสัตว์ให้เน่าเปื่อย จนในที่สุดสลายเป็นธาตุอาหารและปุ๋ยสะสมเป็นแหล่งอาหารในดินเพื่อประโยชน์ต่อผู้ผลิตต่อไป ซึ่งจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเหล่านี้ ได้แก่ รา แบคทีเรีย เป็นต้น โดยเฉพาะแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบกลุ่มใหญ่เมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ในปัจจุบันปัญหาการดื้อยาของเชื้อก่อโรคและการอุบัติของโรคชนิดใหม่มีมากขึ้น ทำให้การศึกษาเพื่อคัดกรองหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสิ่งมีชีวิตได้รับความสนใจและศึกษาอย่างแพร่หลาย โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่คัดกรองได้ส่วนใหญ่มาจากพืช รา แบคทีเรีย และแอกติโนมัยซีท อย่างไรก็ตาม การคัดกรองสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกัน อาจนำไปสู่การค้นพบสารชนิดใหม่ที่มีสมบัติแตกต่างกันไป ซึ่งอาจนำไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ได้ ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ มีจำนวนชนิดของพืช สัตว์ และจุลินทรีย์มากมาย ซึ่งจัดเป็นแหล่งทรัพยากรที่สำคัญในการศึกษาคัดกรองสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสิ่งมีชีวิต (สุกัลยา อุทัยดา, 2557) โดยในชีวิตประจำวันมักจะพบแบคทีเรียทั่วไป เช่น ในอาหาร ผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ บนต้นไม้ ในอากาศ เป็นต้น ซึ่งมีทั้งให้ประโยชน์และให้โทษ เช่น *Bacillus cereus* แบคทีเรียชนิดนี้เป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย สามารถสร้างสารพิษที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารหลายชนิด ได้แก่ ฮีโมไลซิน บีแอล, นอน ฮีโมไลติก เอนเทอโรทอกซิน, ไซโตทอกซิน เค และ เอนเทอโรทอกซิน เอฟ เอ (วัชระ กสิณฤกษ์, 2551) และ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย โดยจะสร้างสาร

เอ๊กซ์ แอดอีซินส์ (X adhesins) ช่วยในการยึดเกาะให้อยู่บริเวณทางเดินปัสสาวะได้และจะสร้างสารฮีโมไลซิน (hemolysin) เพื่อทำลายเซลล์ทำให้เซลล์เม็ดเลือดและเซลล์ต่างๆ แตก (เกษร เทพแปง, 2556) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยจึงต้องการคัดแยกแบคทีเรียดินเลน เพื่อนำมาศึกษาความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereus* และ *E. coli*

1.2 วัตถุประสงค์ของการทำวิจัย

เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereuse* และ *E. coli*

1.3 สมมติฐาน

แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินเลนมีความสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereuse* และ *E. coli* ได้

1.4 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเชิงทดลองโดยศึกษาแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereuse* และ *E. coli*

ตัวแปรต้น ดินเลนที่เก็บจากป่าชายเลนสวนประวัติศาสตร์ป่าเปรม อ.เมือง จ.สงขลา และบริเวณริมคลองบ้านหัวหิน อ.ละงู จ. สตูล

ตัวแปรตาม : แบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereuse* และ *E. coli*

ตัวแปรควบคุม : อุณหภูมิ , พีเอช , ระยะเวลาการบ่ม, สภาวะในการเพาะเลี้ยง

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ ชั้น 4 มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

1.5 นิยามคำศัพท์

ป่าชายเลน (Mangrove forest) คือ ระบบนิเวศที่ประกอบไปด้วยพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ หลายชนิด ดำรงชีวิตร่วมกันในสภาพแวดล้อมที่เป็นดินเลน น้ำกร่อย และมีน้ำทะเลท่วมถึงอย่างสม่ำเสมอ ดังนั้นจึงพบป่าชายเลนปรากฏอยู่ทั่วไปตามบริเวณที่เป็นชายฝั่งทะเล ปากแม่น้ำ ทะเลสาบ และ รอบเกาะแก่งต่างๆ ในพื้นที่ชายฝั่งทะเล พันธุ์ไม้ที่มีมากและมีบทบาทสำคัญที่สุดในป่าชายเลน คือ ไม้โกงกาง ป่าชายเลนจึงมีชื่อเรียกอีกอย่างว่า ป่าโกงกาง (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2553)

ดินเลน หมายถึง ดินเลนจากป่าชายเลนบริเวณสวนประวัติศาสตร์ป่าเปรม อ.เมือง จ. สงขลา และบริเวณริมคลองบ้านหัวหิน อ.ละงู จ. สตูล เป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของ พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ดินเลนเกิดจากการสลายและผุพังของแร่หินต่างๆ และการทับถมของซากสิ่งมีชีวิตที่เน่าเปื่อยผุพัง ซึ่งเป็นผลมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์

Bacillus cereus หมายถึง เป็นแบคทีเรียติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) สร้างสปอร์ (spore forming bacteria) แบคทีเรียชนิดนี้เป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย ก่อโรคทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ มักปนเปื้อนในอาหาร เป็นแบคทีเรียที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลน

Escherichia coli หมายถึง เป็นแบคทีเรียติดสีแกรมลบ รูปร่างทรงแท่งสั้น ในกลุ่มโคลิฟอร์ม เป็นตัวชี้วัดการปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์และมนุษย์ แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียก่อโรคทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ เป็นแบคทีเรียที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลน

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ได้แบคทีเรียจากดินเลนที่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereuse* และ *E. coli*

2.เพื่อนำแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนต่อยอดในการศึกษาถึงคุณสมบัติของแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereuse* และ *E. coli*

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ป่าชายเลน (Mangrove forest) คือ ระบบนิเวศที่ประกอบไปด้วยพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ หลายชนิด ดำรงชีวิตร่วมกันในสภาพแวดล้อมที่เป็นดินเลน น้ำกร่อย และมีน้ำทะเลท่วมถึงอย่างสม่ำเสมอ ดังนั้นจึงพบป่าชายเลนปรากฏอยู่ทั่วไปตามบริเวณที่เป็นชายฝั่งทะเล ปากแม่น้ำ ทะเลสาบ และ รอบเกาะแก่งต่างๆ ในพื้นที่ชายฝั่งทะเล พันธุ์ไม้ที่มีมากและมีบทบาทสำคัญที่สุดในป่าชายเลน คือ ไม้โกงกาง ป่าชายเลนจึงมีชื่อเรียกอีกอย่างว่า ป่าโกงกาง

2.2 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของป่าชายเลน

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมของป่าชายเลน มีบทบาทสำคัญต่อการดำรงชีวิตของพืชและสัตว์ในป่าชายเลน สนิท อักษรแก้ว (2541 : 33) ได้จำแนกประเภทของปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่สำคัญของป่าชายเลนไว้ดังนี้

2.2.1ภูมิประเทศชายฝั่ง เป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อลักษณะโครงสร้างของ ป่าชายเลน [illegible] ๆ

2.2.2ภูมิอากาศ ปัจจัยภาวะแวดล้อมที่สำคัญ ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ฝน และลมมีผลต่อการดำรงชีวิตของพืชและสัตว์ในป่าชายเลน และต่อการเปลี่ยนแปลงปัจจัยทางกายภาพ อื่น ๆ โดยเฉพาะกับดินและน้ำในป่าชายเลน

2.2.3 น้ำขึ้นน้ำลง เป็นปัจจัยที่กำหนดการแบ่งเขตการขึ้นของพันธุ์ไม้หรือการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำในป่าชายเลน การเปลี่ยนแปลงความเค็มเป็นตัวจำกัดการแพร่กระจายของสิ่งมีชีวิตในป่าชายเลน โดยในช่วงน้ำขึ้น ค่าความเค็มของน้ำจะสูงขึ้น และเมื่อน้ำลงความเค็มจะลดลง นอกจากนี้เวลาขึ้นลงของน้ำทะเล ยังมีส่วนสำคัญต่อการกำหนดการกระจายของสิ่งมีชีวิตในป่าชายเลน ลักษณะโครงสร้าง หน้าที่และกิจกรรมของป่าชายเลน

2.2.4 คลื่นและกระแสน้ำ มีอิทธิพลโดยตรงต่อการแพร่กระจายของพันธุ์ไม้และการเกิดป่าชายเลนที่ใหม่ ๆ เช่น พันธุ์ไม้ในวงศ์ *Rhizophoraceae*สามารถกระจายพันธุ์โดยการให้ฝักลอยไปกับคลื่นและกระแสน้ำขึ้นไปในแหล่งต่าง ๆ บริเวณชายฝั่งได้ คลื่นและกระแสน้ำจะทำให้เกิดการตกตะกอนบริเวณชายฝั่งหรือเกิดสันทราย หาดทรายบริเวณปากอ่าว ทำให้พันธุ์ไม้ป่าชายเลนสามารถขึ้นได้และเติบโตพัฒนาเป็นป่าต่อไป

2.2.5 ความเค็มของน้ำ ความเค็มของน้ำและความเค็มของน้ำในดิน เป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโต การอดตาย และการแบ่งเขตของพันธุ์ไม้ในป่าชายเลน โดยปกติพันธุ์ไม้ในป่าชายเลนสามารถขึ้นและเจริญเติบโตได้ดี บริเวณน้ำกร่อยที่มีค่าความเค็มของน้ำระหว่าง10 – 30 %

2.2.6 ออกซิเจนละลายในน้ำ มีบทบาทสำคัญต่อการดำรงชีวิตของพืชและสัตว์ใน ป่าชายเลน โดยเฉพาะการหายใจและการสังเคราะห์แสง ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำบริเวณ ป่าชายเลนจะเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา โดยมีค่าต่ำสุดในเวลากลางคืนและสูงสุดในเวลากลางวันและมีค่าแตกต่างกันตามเขตการขึ้นอยู่ของพันธุ์ไม้และด้านนอกป่าชายเลน จากการศึกษาของ Aksernkoae et al. พบว่า บริเวณด้านนอกป่าชายเลน อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำประมาณ 4.4 มิลลิลิตร/ลิตร ซึ่งสูงกว่าในป่าชายเลนที่มีค่าระหว่าง 1.7 - 3.4 มิลลิลิตร/ลิตร โดยบริเวณภายนอกและภายในป่าชายเลนที่อยู่ติดกับทะเลมีค่าออกซิเจนละลายน้ำประมาณ 4.9 และ 2.4 มิลลิลิตร/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่บริเวณภายนอกและภายในป่าชายเลนที่ใกล้กับแผ่นดินใหญ่มีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำประมาณ 3.8 และ 2.1 มิลลิลิตร/ลิตรตามลำดับ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำแปรเปลี่ยนไปตามระยะเวลา กลางคืน กลางวัน ฤดูกาล ความอุดมสมบูรณ์ของพืชและสัตว์น้ำบริเวณป่าชายเลน

2.2.7 ดิน เป็นปัจจัยหนึ่งที่จำกัดความเจริญเติบโตและการกระจายของไม้ชายเลนดินในป่าชายเลนเกิดจากการทับถมของตะกอนที่เกิดจากการกัดเซาะชายฝั่ง แม่น้ำ หรือการพังทลายของดินบนภูเขาที่ไหลมาตามแม่น้ำ ลำน้ำ และการตกตะกอนของสารแขวนลอยในน้ำลักษณะของตะกอนดินที่ทับถมในบริเวณชายฝั่งและป่าชายเลน จึงแตกต่างกันตามลักษณะต้นกำเนิดของตะกอน เช่น ตะกอนจากแม่น้ำลำคลองจะเป็นดินโคลนละเอียด ถ้าเป็นตะกอนจากชายฝั่งจะเป็นทราย จาก การศึกษา พบว่า ลักษณะหรือสมบัติของดินทั้งทางกายภาพและเคมี จะแตกต่างกันตามเขตของพันธุ์ไม้ที่ขึ้นอยู่ในป่าชายเลนและดินที่อยู่นอกป่าชายเลนด้วย

2.2.8 ธาตุอาหาร ธาตุอาหารในป่าชายเลนมี 2 ประเภท คือ อนินทรีย์สารและอินทรีย์สาร ธาตุอาหารอนินทรีย์ที่จำเป็นในการดำรงชีวิตในป่าชายเลน ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และโซเดียม ส่วนใหญ่ป่าชายเลนจะมีธาตุอาหารประเภทนี้ในปริมาณที่มากพอ ยกเว้นไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่มีปริมาณค่อนข้างน้อย จึงเป็นตัวจำกัดความเจริญเติบโตของพืชในป่าชายเลน แหล่งที่มาของธาตุอาหารอนินทรีย์สาร คือ น้ำฝน น้ำที่ไหลผ่านแผ่นดิน ดินตะกอน น้ำทะเล และจากการผุสลายของอินทรีย์วัตถุในป่าชายเลนส่วนธาตุอาหารประเภทอินทรีย์สาร หมายถึง สารอาหารอินทรีย์ที่มีต้นกำเนิดมาจาก สิ่งมีชีวิตที่ผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ในการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ แหล่งที่มาที่สำคัญของธาตุอาหารชนิดนี้มี 2 แหล่ง แหล่งแรก คือ จากป่าชายเลน ได้แก่ แพลงค์ตอนพืช ไดอะตอม แบคทีเรีย สาหร่าย รากไม้และพืชชนิดอื่น ๆ ส่วนแหล่งที่สอง มาจากนอกป่าชายเลน ได้แก่ สารแขวนลอยที่มากับน้ำที่ไหลมาจากลำธาร ตะกอนดินจากการกัดเซาะชายฝั่งและบนภูเขา ซากพืชและซากสัตว์ที่อยู่บนชายฝั่งหรือในทะเล และชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ลมพัดมา (สนิท อักษรแก้ว.2541 : 50 อ้างอิงจาก Lugo et al.1974. The Ecology Mangrove. pp.39-64) ได้ชี้ให้เห็นว่าธาตุอาหารที่มาจากภายนอกป่าชายเลนจะมีปริมาณสูงในฤดูฝน และในฤดูนี้เองที่ธาตุอาหารจากภายนอกป่าชายเลนจะมีปริมาณมากกว่าธาตุอาหารที่ได้จากป่าชายเลน

2.3 จุลินทรีย์ดิน

สิ่งมีชีวิตในดินมี 2 ชนิดคือ พืชและสัตว์ ซึ่งมีทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ สำหรับสัตว์ที่พบในดินทั่วไปได้แก่ ไส้เดือนและแมลงต่างๆ สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในดินที่มองเห็นเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เรียกว่า จุลินทรีย์ดิน ได้แก่ แบคทีเรีย แอกติโนไมซีต เชื้อรา สาหร่าย โปรโตซัว และไวรัส

2.3.1 แบคทีเรีย เป็นพวกที่มีมากที่สุดในดิน ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ และ[illegible] ที่สำคัญคือ เป็นประโยชน์ต่อพืช แบคทีเรียหลายชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนได้ การตรึงไนโตรเจน หมายถึงเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนมาเป็นสารประกอบเพื่อใช้ประโยชน์ในตัวจุลินทรีย์เอง และต่อมาได้ปล่อยออกมาให้พืชใช้ประโยชน์ นอกจากนี้ สารเหนียวต่างๆ ที่แบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้นมายังช่วยให้อนุภาคดินเกาะกลุ่มเป็นเม็ดดินและเกิดโครงสร้างดิน

2.3.2 แอกติโนไมซีต มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายส่วนของซากพืชที่คงทน เช่น ลิกนิน จึงช่วยให้เกิดฮิวมัสในดิน แอกติโนไมซีตบางชนิดอยู่ร่วมกับรากพืชและตรึงไนโตรเจนได้เช่นเดียวกัน

2.3.3 เชื้อรา ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ในซากพืชส่วนที่สลายยาก เช่น เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เชื้อราบางชนิดอยู่ร่วมกับรากพืช แล้วแผ่เส้นใยจำนวนมากออกมาในดินเพื่อช่วยดูดน้ำและธาตุอาหารต่างๆ ให้พืชใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัส นอกจากนี้ เส้นใยของราในดินยังช่วยเกาะยึดให้อนุภาคดินเกาะกลุ่มเป็นเม็ดดินและเกิดโครงสร้างดินได้เช่นเดียวกัน

2.3.4 สาหร่าย เป็นจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์แสงได้ จึงทำหน้าที่เพิ่มสารอินทรีย์ให้ดิน[illegible] นี้ยังสามารถตรึงไนโตรเจนให้เป็นประโยชน์ต่อพืช และสังเคราะห์สารเหนียวที่ช่วยให้ดินเกาะกลุ่มเป็นเม็ดดินได้ ทำให้ดินมีโครงสร้างดีขึ้น ทำให้ดินอุ้มน้ำได้ดีขึ้น ทำให้ดินเป็นกรดน้อยลง ซากพืชและสัตว์ที่ตายแล้วจะกลายเป็นอินทรียวัตถุในดิน ดินที่มีอินทรียวัตถุสูงเป็นดินที่มีสมบัติทางเคมี ฟิสิกส์ และชีวภาพดี รวมทั้งมีความอุดมสมบูรณ์สูงด้วยเพราะอินทรียวัตถุเป็นแหล่งของธาตุไนโตรเจน และธาตุอื่นๆ สำหรับพืช โดยจะปล่อยธาตุอาหารเหล่านั้นออกมาให้พืชใช้ประโยชน์อย่างช้าๆ

2.4 แบคทีเรียก่อโรค

2.4.1 ***E. coli*** เป็นเซลล์รูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้สร้างแคปซูลได้ ให้โคโลนีเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตรในเวลา 18 ชั่วโมง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง (differential media)เช่น Mac Conkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากเฟอร์เมนแลกโทส หรือเลี้ยงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) และ Endo agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะ มีบางสายพันธุ์ที่เฟอร์เมนต์แลกโทสได้ช้า ถ้าเลี้ยงบนอาหารผสมเลือดบางสายพันธุ์เลือดแดงแบบบีต้าฮีโมไลซีส แบคทีเรียนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง (15-45 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60 นาที

6-7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน และจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย

ภาพที่ 2.2 ลักษณะของแบคทีเรีย *B. cereus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ที่มา : http://www.foodsafety.asn.au/wp-content/uploads/2013/05/B.cereus.jpg

ค้นคว้าเมื่อ [illegible]

ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรีย *B. cereus*

Domain: Bacteria

Phylum: Firmicutes

Class: Bacilli

Order: Bacillales

Family: Bacillaceae

Genus: Bacillus

Species Group: *Bacillus cereus* group

2.5 กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์การยับยั้งและการทำลายจุลินทรีย์

กระบวนการที่จุลินทรีย์ถูกยับยั้งหรือทำลายได้ เนื่องจากปัจจัยต่างๆ นั้น มีสาเหตุมาจากการทำลายที่ส่วนต่างๆของเซลล์ของจุลินทรีย์ดังนี้ คือ

2.5.1 การทำลายที่ผนังเซลล์ หรือการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ พบว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดถูกทำลายได้ด้วยเอ็นไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme) ที่พบในน้ำตา ในเลือดขาว เมือก เป็นต้น และยังพบในแบคทีเรียอีกหลายชนิด เอ็นไซม์นี้จะไปย่อยสลายโครงสร้างของผนังเซลล์ทำให้เซลล์แตก สารเคมีบางชนิดอาจไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่กำลัง

เจริญเติบโต มีผลทำให้เกิดเป็นโพรโทพลาสต์ (photoplast) ซึ่งถ้าไม่เลี้ยงไว้ในสภาพที่เหมาะสม เซลล์จะแตกได้ หรือการให้ยาเพนิซิลลินก็มีผลยับยั้งการสร้างผนังเซลล์

2.5.2 เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ยอมให้สารผ่าน (cell permeability) เยื่อหุ้มเซลล์มีสมบัติยอมให้สารอาหารผ่านเข้าสู่เซลล์ ถ้าเยื่อหุ้มเซลล์นี้ถูกทำลายจะมีผลทำให้ชะงักการเจริญเติบโตของเซลล์ และทำให้เซลล์ตายได้ สารเคมีบางอย่าง เช่น ฟีนอล สารซักฟอก สบู่ มีคุณสมบัติไปทำให้เปลี่ยนแปลงสมบัตินี้ของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้องค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์รั่วไหลออกมา

2.5.3 เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนและกรดนิวคลีอิก เซลล์ที่มีชีวิตต้องมีโปรตีน และกรดนิวคลีอิกอยู่ภายในเซลล์ในสภาพปกติหรือเป็นธรรมชาติ ถ้ามีสารเคมีหรือสภาพใดๆที่มาทำให้โปรตีนและกรดนิวคลีอิกเปลี่ยนไปจากสภาพธรรมชาติ (denature) จะมีผลทำลายเซลล์ได้ เช่น อุณหภูมิสูง สารเคมีความเข้มข้นสูงจะทำให้โปรตีนและกรดนิวคลีอิกตกตะกอน จับตัวเป็นก้อนแข็ง ซึ่งจะไม่สามารถแปรสภาพกลับเหมือนเดิมได้อีก

2.5.4 การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ เอ็นไซม์ต่างๆจำเป็นในปฏิกิริยาเคมีของกระบวนการเมแทบอลิซึมในเซลล์ ดังนั้นถ้ามีตัวยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitor) ก็จะมีผลต่อปฏิกิริยาของกระบวนการต่างๆ เช่น กระบวนการไกลโคลิซิส (glycolysis) วัฏจักรเครบส์ (Kreb's tricarboxylic acid cycle) และระบบไซโตโครม (cytochrome system) สารที่เป็นตัวยับยั้ง ได้แก่ ไซยาไนด์ ยับยั้งไซโตโครมออกซิเดส ฟลูออไรด์ ยับยั้งเอนไซม์อีนอลเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ตัวหนึ่งของไกลโคลิซิส ฯลฯ ทำให้เซลล์ขาดพลังงานที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ จนเซลล์ไม่สามารถทำหน้าที่ตามปกติต่อไปได้ เช่น รวมตัวกับหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl) ของเอ็นไซม์ในเซลล์ ทำให้โครงสร้างของเอ็นไซม์เปลี่ยนไปเอ็นไซม์จึงไม่ทำงาน นอกจากนี้ยังมีไอออนของโลหะ เช่น เงิน ทองแดง และปรอท ซึ่งจะไปรวมตัวกับหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของเอ็นไซม์หรือโปรตีน มีผลทำให้เซลล์ถูกทำลายได้

2.5.5 ป้องกันการสร้างเมแทบอไลต์ (antimetabolites) เมแทบอไลต์เป็นสารที่จะเป็นสำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ เช่น ในการสังเคราะห์กรดโฟลิก จุลินทรีย์จำเป็นต้องใช้สารกรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (p-aminobenzoic acid) ซึ่งสารนี้มีโครงสร้างคล้ายกับ ซัลฟานิลาไมด์ (sulfanilamide) ดังนั้นการใช้ซัลฟานิลาไมด์เข้าแย่งทำปฏิกิริยาแทนที่กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก ทำให้การสังเคราะห์กรดโฟลิกหยุดชะงัก ดังนั้นการใช้สารเคมีที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกันกับสารเมแทบอไลต์เพื่อไปยับยั้งเมแทบอลิซึมของเซลล์จึงช่วยทำลายจุลินทรีย์ได้

2.5.6 การยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก สารบางอย่างมีผลในการยังยั้งการสังเคราะห์ DNA และ RNA โดยสารนั้นจะไปขัดขวางการสร้างหน่วยพื้นฐานของกรดนิวคลีอิก คือ พิวรีนและพิริมิดีน และไปขัดขวางการรวมตัวของนิวคลีโอไทด์เข้าเป็นกรดนิวคลีอิก ซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมผิดปกติไป และทำให้เซลล์ถูกทำลายได้ในที่สุดฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์การยับยั้งและการทำลายจุลินทรีย์

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มณี ตันติรุ่งกิจ และคณะ (2550) ศึกษาศักยภาพในการสร้างสารชีวภาพของยีสต์ทะเล ในการศึกษาครั้งนี้จึงแยกยีสต์จากตัวอย่างตะกอนดินบริเวณนาเกลือ ป่าชายเลน และลำไส้ของสัตว์ทะเลด้วยวิธี enrichment culture ได้จำนวนทั้งสิ้น 365 ไอโซเลท จากนั้นนำมาศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไลเปส และสารต้านจุลินทรีย์โดยคัดเลือกยีสต์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสบนอาหาร Marine Agar ที่มี Tributyrin หรือ Tween 80 เป็นองค์ประกอบได้สูง มีค่าประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ไลเปส ตั้งแต่ 2 ขึ้นไป จำนวน 15 ไอโซเลท ได้แก่ ยีสต์รหัส A87-1 A87-2 A87-3 A114-1 A123-1 A128-3 A143-2 T22 T25-2 T26 T27 T58 T62-1 T128-1 และ T143-1 และเมื่อนำยีสต์มาทดสอบความสามารถในการสร้างสารต้านจุลินทรีย์โดยใช้ *Bacillus cereus, B. subtilis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus,* และ *Salmonella enteritidis* เป็นแบคทีเรียทดสอบ พบยีสต์ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ 3 ชนิด จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ รหัส A32-2 A57-1 A58-1 และ A136-1 ซึ่งผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่ายีสต์ที่แยกได้จากระบบนิเวศทะเลเหล่านี้มีศักยภาพในการสร้างสารชีวภาพ ซึ่งอาจนำไปพัฒนาเพื่อประยุกต์ใช้ในด้านเภสัชกรรม อุตสาหกรรมและการเกษตรได้

ปวีณา สุขสะอาด และคณะ (2553) ศึกษาแอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือด้วยอาหาร humic acid vitamin agar และ starch casein agar ที่ผสมเกลือและไม่ผสมเกลือได้จำนวน 455 ไอโซเลท ให้เป็นไอโซเลทที่คัดแยกได้จากอาหารที่ผสมเกลือและไม่ผสมเกลือจำนวน [illegible] ไอโซเลท ตามลำดับ จากการศึกษาชนิดของกรด diaminopimelic ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์และลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าแอคติโนมัยสีทกลุ่ม non-streptomycetes มีจำนวนมากกว่ากลุ่ม streptomycetes นำไอโซเลททั้งหมดมาตรวจสอบความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าแอคติโนมัยสีทจำนวน 50 ไอโซเลท (11 เปอร์เซ็นต์) สามารถยับยั้ง *Candida albicans* และจำนวน 239 ไอโซเลท (52 เปอร์เซ็นต์) สามารถสร้างเอนไซม์ L-asparaginase เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท HA25-07 ซึ่งมีความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA เหมือนกับ Streptomyces variabilis NBRC 12825T (100%)

จักรพงษ์ หรั่งเจริญ และคณะ (2554) ศึกษากลไกการยับยั้งแบคทีเรีย *Pythium myriotylum* สาเหตุโรครากเน่าในผักสลัดโดย *Pseudomonas* spp. สายพันธุ์ ECO 008 และ SSWC 110 และ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ EWC 065, RCO 010, RWC 021 และ SSMIX 023 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แบคทีเรียเขต รากพืชที่แยกได้จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินด้วยวิธี agar disk diffusion ส่วนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อโรค ได้แก่ ส่วนของเซลล์แบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ (cell culture) และเซลล์แบคทีเรียบริสุทธิ์ (purified cells) ในขณะที่ส่วนของเซลล์แบคทีเรียบริสุทธิ์ที่ทำให้ตายแล้ว (purified sterile cells) และส่วนของสารกรองที่ปราศจากเซลล์แบคทีเรีย (cells-free culture filtrate) ไม่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อโรค จากการศึกษาความผิดปกติของเส้นใยเชื้อ *P. myriotylum* ที่สัมผัสกับเซลล์แบคทีเรียด้วยวิธี dual culture technique บนแผ่นกระจกสไลด์ พบแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ ECO 008 ทำให้เส้นใย เชื้อ *P. myriotylum* มีการเจริญที่บิดเบี้ยวผิดรูปไปจากเดิม ในขณะที่แบคทีเรีย

Bacillus spp. สายพันธุ์ EWC 065, RCO 010, RWC 021 และ SSMIX 023 ทำให้เส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคมีการแตกแขนงอย่างผิดปกติ รวมไปถึงพบการเคลื่อนที่ของ cytoplasm ที่ผิดปกติไปจากเดิมด้วยส่งผลให้บริเวณส่วนปลายเส้นใยแตก

สุกัลยา อุทัยดา และคณะ (2557) ศึกษาไซยาโนแบคทีเรียโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Anabaena* spp. และ *Nostoc* spp. ถือเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสำคัญหลายชนิด จากการทดสอบเบื้องต้นเพื่อศึกษาการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี disk diffusion พบว่าไซยาโนแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 6 สายพันธุ์ ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ยังยั้งแบคทีเรีย และพบว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัดสารออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยเมทานอล และเอทิลอะซีเตทสามารถสกัดสารยับยั้งแบคทีเรียได้ในขณะที่สารสกัดโดยใช้โทลูอีน เฮกเซน และน้ำไม่มีสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบสำหรับการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) พบว่า *Enterobacter aerogenes* TISTR 1540 ถูกยับยั้งได้มากที่สุด โดยสารสกัดที่ได้จาก *Nostoc* sp. A3A1 -BG004 ซึ่ง ให้ค่า MIC เท่ากับ 2.08 มิลลิกรัมเซลล์แห้งต่อมิลลิลิตร รวมถึงยังสามารถยับยั้ง *Escherichia coli* TISTR 780, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 และ *Bacillus subtilis* TISTR 008 โดยให้ค่า MIC อยู่ในช่วง 4.17- 8.33 มิลลิกรัมเซลล์แห้งต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้เมื่อพิจารณาถึงค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย (MBC) พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่มีค่า MBC เท่ากับ 16.67 มิลลิกรัมเซลล์แห้งต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย [illegible] ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุด [illegible] *aureus* TISTR 885 ที่ค่า MBC เท่ากับ 8.33 มิลลิกรัมเซลล์แห้งต่อมิลลิลิตร จากการวิจัยนี้เป็นเครื่องยืนยันว่าไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc* spp. และ *Anabaena* spp. เป็นแหล่งที่สำคัญสำหรับคัดกรองยาชนิดใหม่ในอนาคต

บัวสาย เพชรสุริยวงศ์ และคณะ (2550) ศึกษาแบคทีเรียจากดินที่มีคุณสมบัติในการสร้างสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืช โดยคัดแยกแบคทีเรียได้50 ไอโซเลท จากดิน 10 ตัวอย่าง ซึ่งจากการคัดเลือกแบคทีเรียจากดินที่มีคุณสมบัติในการสร้างสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืช เบื้องต้นทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืช 12 สายพันธุ์ คือ *Acremonium* sp. TISTR 3487, *Alternaria alternate* TISTR 3435, *Alternaria* sp., Aspergillus flavus DMST 28997, *Aspergillus niger*, *Botrytis* sp., *Clamydosporium* sp., *Curvularia lunata* TISTR 3068, *Curvularia* sp., *Fuarium solani* TISTR 3436, *Fusarium poae* TISTR 3321 และ *Fusarium* sp. ผลการทดลองมีเชื้อ 6 ไอโซเลท สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืชได้อย่างน้อย 1 สายพันธุ์3 ไอโซเลท คือ B3, B4 และ B5 สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืชได้ทั้ง 12 สายพันธุ์ โดย B5 สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อรากอโรคในพืชได้ดีที่สุด เมื่อจำแนกโดยวิเคราะห์ลำดับเบสในส่วนของยีน 16S rRNA พบว่าเป็น *Bacillus amyloliquefaciens* และสภาวะที่เหมาะสมของเชื้อ *B. amyloliquefaciens* B5 ในการผลิตสารยับยั้งเชื้อ *Fuarium solani* TISTR 3436 คือ pH 5 อุณหภูมิ30 o C ที่เวลา 42ชม.

ภาวิณี ไชยรักษ์ และคณะ (2553) ศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Collectotrichum* spp. ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในหน้าวัว โดยแยกจากตัวอย่างดินและวัสดุปลูกบริเวณรากต้นหน้าวัวจากแหล่งที่มีการขยายพันธุ์และจำหน่ายในจังหวัดกาฬสินธุ์

จากนั้นนำแบคทีเรียที่แยกได้ไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราด้วยวิธี dual culture พบแบคทีเรียจำนวน 17 จาก 131 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ในช่วงร้อยละ 35 ถึงร้อยละ 54 โดยมีแบคทีเรียจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ Biot.15, Biot.76, Biot.119 และ Biot.124 ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุดคิดเป็นร้อยละ 54, 53, 51.2, และ 50.6 ตามลำดับ จากการศึกษาแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลทภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่ามีลักษณะเซลล์เป็นรูปแท่งและย้อมติดสีแกรมลบ เมื่อนำแบคทีเรียจำนวน 2 ไอโซเลท ที่ให้ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสูงสุด ได้แก่ Biot.15 และ Biot.76 ไปจำแนกชนิดโดยการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนยีน 16s อาร์ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิคพีซีอาร์และนำไปหาลำดับเบสพบว่าแบคทีเรีย Biot.15 คือ *Bacillus* sp. และแบคทีเรีย Biot.76 คือ *Burkholderia* sp.

ศิรินาถ ศรีอ่อนนวล และ นพรัตน์ มะเห (2556) ศึกษาแบคทีเรียแลกติกในปลาดุกร้า จำนวน 27 ตัวอย่าง พบว่าปลาดุกร้ามีแบคทีเรียแลกติกในช่วง 105 - 108 CFU/g เมื่อนำแบคทีเรียแลกติก จำนวน 270 ไอโซเลต ที่แยกได้จากปลาดุกร้ามาคัดเลือกเบคทีเรียที่สามารถสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียอินดิเคเตอร์จำนวน 17 สายพันธุ์ โดยวิธีการ agar well diffusion พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 186 ไอโซเลตที่สร้างสารยับยั้งแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ได้ทำการคัดเลือกเชื้อ *Enterococcus faecium* PDN-Ta10 ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ได้หลายชนิดและมีวงใสในการยับยั้งกว้างไปศึกษาสมบัติของสารยับยั้ง พบว่าสารยับยั้งที่ได้จะสูญเสียประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียอินดิเคเตอร์เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ [illegible] และสูญเสียประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียอินดิเคเตอร์จะลดลงเล็กน้อยโดยเอนไซม์คะตะเลส แสดงว่าสารยับยั้งเป็นสารโปรตีน และน่าจะเป็นสารแบคเทอริโอซิน โดยเชื้อแบคทีเรียแลกติก *Enterococcus faecium* PDN-Ta10 สามารถเติบโตและสร้างสารแบคเทอริโอซินได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และแบคเทอริโอซินที่สร้างขึ้นสามารถทนความร้อนได้ถึง 121 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 15 นาที

ปราณี พฒันพิพิธไพศาล และ ชนิดาภา นวะพิฒ (2555) ศึกษาเชื้อแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินรอบรากพืชจากแปลงเกษตรกรในเขตจังหวัดอุบลราชธานีและจังหวัดศรีสะเกษ ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ enrichment media for isolation of chitinase-producing actinomycetes (EMCA agar) สามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ จำนวน 283 ไอโซเลท นำเชื้อที่คัดแยกได้มาทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไคติเนส สามารถคัดเลือกเชื้อที่สร้างเอนไซม์ไคติเนสได้ดีจำนวน 68 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า *Sclerotium rolfsii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ cornmeal agar (CMA agar) พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีมีจำนวน 13 ไอโซเลท คือ PACCH24, PACCH42, PACCH91, PACCH101, PACCH129, PACCH133, PACCH137, PACCH140, PACCH224, PACCH225, PACCH246, PACCH247 และ PACCH277 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้มากที่สุดห้าอันดับแรกคือ PACCH277, PACCH129, PACCH225, PACCH24 และ PACCH246 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเกิดจากการที่เชื้อแอคติโนมัยสีทสร้างเอนไซม์ไคติเนสมาทำลายหรือย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคในต้น

พริกพบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ คือ PACCH24 และ PACCH225

สุภา พ่วงนิ่ม และคณะ (2557) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคพืชตระกูลกะหล่ำ ทำโดยนำแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. ไอโซเลท F3 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของผักกวางตุ้งที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ด้วยวิธี Dual culture bioassay ผลการทดลองพบว่า *Streptomyces* sp. ไอโซเลท F3 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ได้ 69.89% การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนสของเชื้อ *Streptomyces* sp. โดยเลี้ยงในอาหารเหลว IMA-2 ที่อุณหภูมิ 28±2 °C นาน 36 ชั่วโมง พบว่า*Streptomyces* sp. สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสได้สูงที่สุดในช่วง 16-24ชั่วโมง โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 1.43-1.55 unit/mg protein เมื่อทำการทดสอบผลของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคเน่าคอดินในสภาพโรงเรือน โดยแบ่งต้นผักกวางตุ้ง (อายุ 20 วันหลังย้ายปลูก) ออกเป็น 6 กลุ่ม และทำการใส่เชื้อต่างๆ ลงในดินที่ปลูกต้นกวางตุ้ง ดังนี้ 1) เชื้อ *Streptomyces* sp. 2) *Rhizoctonia* sp. 3) *Streptomyces* sp. ตามด้วยเชื้อ *Rhizoctonia* sp. 4) *Rhizoctonia* sp. ตามด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. 5) *Rhizoctonia* sp. ตามด้วยสารกำจัดเชื้อรา (เบโนมิล) และ 6)น้ำประปา (ชุดควบคุม) พบว่าการใช้เชื้อ *Streptomyces* sp. ก่อนหรือหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าคอดินได้ [illegible] ในขณะที่ผักที่ใส่ [illegible] ให้โรคเพิ่มขึ้นสูงขึ้นในวันที่ [illegible] นอกจากนี้พบว่าการใช้ *Streptomyces* sp. และการใช้สารกำจัดเชื้อรา (เบโนมิล) สามารถกระตุ้นกิจกรรม phenylalanine ammonia-lyase (ซึ่งเป็น เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค) ให้เพิ่มสูงขึ้นได้ การทดลองนี้แสดงเห็นว่า *Streptomyces* sp. ไอโซเลท F3 น่าจะมีศักยภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินได้

พรนภา โทตรี (2550) ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* ซึ่งเปนสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก พบวาเมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินบนดอยสุเทพ-ปุย จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ SEA120-4, SEA120-28, SEA120-38, OMA60-1, OMA60-7 และ OMA60-34 มาเลี้ยงในอาหาร enzyme production medium (EPM) ที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 7 วันจากนั้นทดสอบยับยั้งการเจริญเส้นใยและการงอกสปอร์ของเชื้อราด้วยวิธี agar well method โดยแบ่งน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทเป็น 2 ส่วน ได้แก่น้ำกรองเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้กรองสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทออก (non-culture filtrate; NF) และน้ำกรองเลี้ยงเชื้อที่กรองสปอร์ออก (culture filtrate; F) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม คืออาหาร EPM พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทชนิด NF ของทุกไอโซเลทให้ผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกสปอร์ของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้สูงกว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อชนิด F โดยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อชนิด NF และ F ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท OMA60-1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อรา ซึ่งเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรามีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเขย่าเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3 วันเป็นต้นไป และพบว่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เมื่อเขย่าเป็นเวลา 3 วัน มีค่าเท่ากับ 56.39 และ 51.78% ตามลำดับ ในขณะที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นของเชื้อรา *C. capsici* ได้เท่ากับ 64.40 และ 54.07% ตามลำดับ

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้

3.1.1 อุปกรณ์

1.) หม้อนึ่งความดันไอ

2.) กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope)

3.) ตู้บ่มเชื้อ

4.) เครื่องชั่งสาร

5.) สไลด์และกระจกปิดสไลด์

6.) จานเพาะเชื้อ

7.) แท่งแก้วคน

8.) ห่วงเขี่ยเชื้อ

9.) ตะเกียงแอลกอฮอร์

10.) ตะแกรงลวดหลอดทดลอง

11.) ไม้พันสำลี

12.) ช้อนตักสาร

13.) หลอดทดลองขนาด10 มิลลิลิตร

14.) ปิเปตขนาด 1, 10 มิลลิลิตร

15.) บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร

16.) กระดาษทิชชู

17.) ถุงพลาสติกและยางรัด

18.) หลอดหยด

19.) ขวดรูปชมพูขนาด 250 มิลลิลิตร

20.) กระบอกตวง

3.1.2. สารเคมี

1.) Iodine solution

2.) น้ำกลั่น

3.) Crystal violet

4.) Safranin O

5.) Ethyl alcohol 95%

6.) 0.85% NaCl

3.1.3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1.) Nutriant broth

2.) Nutriant Agar

3.1.4 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

1.) ดินจากป่าชายเลน

2.) แบคทีเรียก่อโรค จำนวน 2 ชนิด คือ *B. cereus* และ *E. coli*

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1.การเก็บตัวอย่างดินเลน

เก็บตัวอย่างดินเลน บริเวณสวนประวัติศาสตร์ป่าเปรม อ.เมือง จ.สงขลา และบริเวณริมคลองบ้านหัวหิน อ.ละงู จ. สตูล โดยสุ่มเก็บบริเวณละ 5 จุด ซึ่งแบ่งระยะห่างของแต่ละจุดให้เท่ากัน จากนั้นใช้เสียมขุดให้เป็นรูปตัววีให้มีความลึกแนวดิ่ง 6 นิ้วส่วนที่เป็นรูปตัววีนี้ทิ้งไป ใช้เสียมแซะขอบด้านหนึ่งของตัววี ให้มีความหนาประมาณ 1 นิ้ว โดยกดเสียมให้ลึกจนถึงก้นหลุม งัดดินขึ้นแล้วแบ่งดินเลนทั้งสองข้างของเสียมออก นำดินที่เหลือใส่ถุงพลาสติก (ปวีณา สุขสะอาด และคณะ, 2553)

3.2.2. การแยกแบคทีเรียจากชายเลน

นำตัวอย่างดินจากชายเลนมาชั่งให้ได้น้ำหนักเจือจางด้วย 0.85% NaCl ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน (ได้ระดับความเจือจาง 10^{-1}) จากนั้นปิเปต 1 มิลลิลิตร มาใส่หลอดที่มี 0.85 % NaCl ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ระดับความเจือจางของที่ 10^{-2} แล้วเจือจางจนถึง 10^{-4} จากนั้นใช้ปิเปตดูดที่ความเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-4} ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ปล่อยลงในจานเพาะเชื้อ แล้วเทอาหาร NA 15 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะแบคทีเรียที่มีแบคทีเรียอยู่แล้วหมุนจานเพื่อให้แบคทีเรียและอาหารผสมเข้ากันดี รอจนอาหารกลายเป็นวุ้นแข็งดีแล้วจึงคว่ำจานเพาะแบคทีเรีย แล้วนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดยทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ เมื่อแบคทีเรียเจริญ นำแต่ละโคโลนีที่มีลักษณะต่างกันมาแยกจนได้แบคทีเรียนที่บริสุทธิ์ แล้วนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2.3. ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าชายเลนในการยับยั้งแบคทีเรีย *B. cerese* และ *E. coli*

นำแบคทีเรีย *B. cerese* และ *E. coli* และแบคทีเรียที่แยกได้จากชายเลน เพาะเลี้ยงในอาหาร Nutriant broth (NB) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเจือจางด้วย 0.85% NaCl โดยเปรียบเทียบกับ McFarland No 0.5 แล้ว Swab แบคทีเรีย *B. cerese* และ *E. coli* ลงบนอาหาร NA จากนั้นนำแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่เจือจางแล้ว ปิเปตปริมาตร 30 ไมโครลิตรหยดบนอาหารข้างต้นที่ผ่านการเจาะด้วย Cork borer ขนาด 0.8 เซนติเมตร ซึ่งมีแบคทีเรีย *B. cerese* และ *E. coli* อยู่ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นนาน 48 ชั่งโมง โดยทดลองไอโซเลทละ 3 ซ้ำ แล้ววัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone ด้วย vernier caliper นำค่าที่ได้มาหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition)

ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear Zone (เซนติเมตร)

เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง = ——————————————————— × 100

ความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร)

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การแยกแบคทีเรียจากดินเลน

จากการแยกแบคทีเรียจากดินเลน บริเวณสวนประวัติศาสตร์ป่าเปรม อ.เมือง จ.สงขลา และบริเวณริมคลองบ้านหัวหิน อ.ละงู จ. สตูล โดยสุ่มเก็บบริเวณละ 5 จุด แล้วนำมาแยกแบคทีเรียด้วยวิธี pour plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 74 ไอโซเลท โดยสามารถแยกจากบริเวณสวนประวัติศาสตร์ป่าเปรมได้ 35 และบริเวณริมคลองบ้านหัวหินได้ 39 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่แยกได้จะมีลักษณะโคโลนีสีขาวใส ขนาดกลาง ขอบเรียบใส เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่พบมากที่สุดมีรูปร่างท่อนสั้น เรียงตัวเป็นสาย,เดี่ยว และคู่ ติดสีแกรมบวก (ตารางภาคผนวก ข.) แสดงให้เห็นถึงความอุดมสมบูรณ์และความหลากหลายทางชีวภาพของระบบนิเวศ บริเวณสวนประวัติศาสตร์ป่าเปรม อ.เมือง จ.สงขลา และบริเวณริมคลองบ้านหัวหิน อ.ละงู จ. สตูล เพราะแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่มีมากที่สุดในดิน และมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ

4.2 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereus* และ *E. coli*

จากการศึกษาแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนจำนวน 74 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereus* และ *E. coli* ด้วยวิธี Agar well diffusion method (Morton and Stroube, 1955) บนอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย Nutriant agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าแบคทีเรียที่แยกจากดินเลนทั้งหมดจำนวน 74 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพการยับยั้ง *B. cereus* 18 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีที่สุดคือ M26 ซึ่งมีลักษณะวงใส ดังภาพ A (ภาพที่ 4.1) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) เท่ากับ 5.35 ± 0.82 % รองลองมาคือ M63 และ M14 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 4.19 ± 0.30% และ 3.90 ± 0.29 % ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยที่สุดคือ M23 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 1.95 ± 0.18 %

มีประสิทธิภาพการยับยั้ง *E. coli* พบว่ามีแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนจำนวน 24 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีที่สุดคือ M67 ซึ่งมีลักษณะวงใส ดังภาพ B (ภาพที่ 4.1) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 6.29 ± 1.02 % รองลงมาคือ M.27 และ M.32 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 5.28 ± 0.12 % และ 5.24 ± 0.18 % ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยที่สุดคือ M44 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 2.90 ± 0.53 % และแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งทั้ง *B. cereus* และ *E. coli* คือ M58 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *B. cereus* เท่ากับ 3.10 ± 0.66 % และเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *E. coli* เท่ากับ 4.57 ± 0.42 % (ตารางที่ 4.1) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในเซลล์ได้ในปริมาณหนึ่ง หลังจากนั้นก็ขับออกจากเซลล์ เพื่อยับยั้งการ

เจริญเติบโต *B. cereus* และ *E. coli* (สุกัลยา อุทัยดา, 2557) นอกจากนี้จากรายงานวิจัยของ วีนา ชูโชติ (2556) ศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยสารสกัดหยาบของสาหร่าย *Chlorella* sp. A0505 พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A050 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 10.00 มิลลิเมตร

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนและเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) ของ *B. cereus* และ *E. coli* ด้วยวิธี Agar well diffusion method (Morton and Stroube, 1955) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutriant agar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

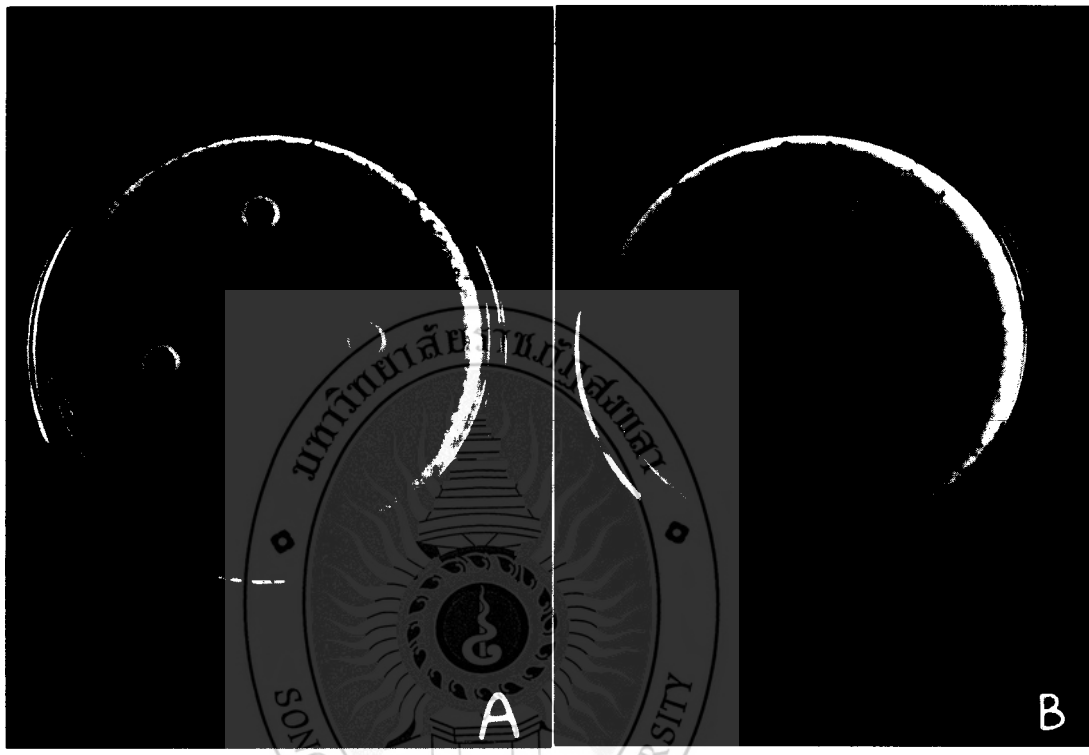
ไอโซเลท	ลักษณะสัณฐานวิทยา(ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์				%inhibition ของ *B. cereus* ± SD	%inhibition ของ *E. coli* ± SD
		รูปร่าง	การจัดเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์		
M5	สีขาวขุ่น ขอบหยัก เยิ้มเล็กน้อย ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่และเดี่ยว	บวก	-	[illegible] ± 0.31	2.71 ± 0.12
M14	สีขาวใส(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่และ[illegible]	บวก	-	[illegible]90 ± 0.29	3.00 ± 0.42
M23	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	คู่และ[illegible]	ลบ	-	[illegible]95 ± 0.18	0
M26	สีเหลือง(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	[illegible]45 ± 0.82	0
M27	สีขาวนวล ขอบเรียบ เยิ้มเล็กน้อย มันวาวน้อย นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	[illegible]09 ± 0.07	5.28 ± 0.12
M29	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	2.63 ±0.14	0
M31	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาวน้อย นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่และ[illegible]	ลบ	-	3.24 ± 0.29	0
M32	สีขาวใส ขนาดเล็ก ขอบหยัก เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่และเดี่ยว	บวก	-	[illegible]29 ± 0.11	5.24 ± 0.18
M34	สีขาวขุ่น ขอบเรียบใส (แสดงโซนยับยั้ง) ไม่มันวาว เยิ้ม นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่และเดี่ยว	บวก	-	[illegible]57 ± 0.58	0
M35	สีขาว(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่และเดี่ยว	บวก	-	[illegible]82 ± 0.07	0
M41	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่และเดี่ยว	ลบ	-	0	2.85 ± 0.31

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนและเบอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) ของ *B. cereus* และ *E. coli* ด้วยวิธี Agar well diffusion method (Morton and Stroube, 1955) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutriant Agar ที่เวลา 48 ชั่วโมง (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะสัณฐานวิทยา(ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์				%inhibition ของ *B. cereus* ± SD	%inhibition ของ *E. coli* ± SD
		รูปร่าง	การจัดเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์		
M43	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	ลบ	-	0	3.86 ±1.00
M44	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบหยัก ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	[illegible]48 ± 0.30	2.90 ± 0.53
M45	สีขาวขุ่น(ขนาดหยัก) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	0	3.24 ±0.29
M46	สีขาวใส(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	กลม	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	0	4.52 ±0.79
M47	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบหยัก เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	[illegible]6 ± 0.37	0
M48	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	0	3.66 ±0.44
M50	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบหยักแบบเส้นๆ หน้าแห้ง นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	0	4.38 ± 0.29
M51	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	0	3.00 ± 0.42
M52	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	0	3.00 ±0.20
M54	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	0	3.19 ± 0.44
M55	สีใส (ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]เดี่ยว	บวก	-	[illegible]68 ± 0.07	0

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนและเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) ของ *B. cereus* และ *E. coli* ด้วยวิธี Agar well diffusion method (Morton and Stroube, 1955) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutriant agar ที่เวลา 48 ชั่วโมง (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะสัณฐานวิทยา(ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์				%inhibition ของ *B. cereus* ± SD	%inhibition ของ *E. coli* ± SD
		รูปร่าง	การจัดเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์		
M56	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบหยัก เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]	บวก	-	0	3.43 ± 0.31
M57	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]	บวก	-	0	2.86 ± 0.58
M58	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบหยัก เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	[illegible]	บวก	-	[illegible] ± 0.66	4.57 ± 0.42
M62	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) เยิ้ม มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	[illegible]	บวก	-	[illegible] ± 0.18	4.05 ± 0.17
M63	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบหยักๆมิ,สั้นๆ ไม่มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	[illegible]	บวก	-	[illegible] ± 0.30	0
M64	สีขาวครีม(ขนาดใหญ่) ขอบหยัก เยิ้ม มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	[illegible]	บวก	-	[illegible] ± 0.07	0
M65	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่)ขอบหยัก เยิ้ม มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	[illegible]	บวก	-	0	3.67 ± 0.24
M66	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	[illegible]	สป	-	0	3.33 ± 0.07
M67	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่มาก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว ไม่นูน	ท่อนยาว	[illegible]	บวก	-	0	6.29 ± 1.02
M69	ขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้ม ไม่นูน	ท่อนสั้น	[illegible]	บวก	-	0	3.81 ± 0.35
M70	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ(ตรงกลางแห้ง) นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	[illegible]	บวก	-	0	3.52 ± 0.18



ภาพที่ 4.1 ลักษณะ Clear Zone ของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *B. cereuse* และ *E. coli* หลังจากบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

A . ลักษณะ Clear Zone ของไอโซเลท M26 สามารถยับยั้ง *B. cereuse* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 5.35 ± 0.82 %

B. ลักษณะ Clear Zone ของไอโซเลท M67 สามารถยับยั้ง *E. coli* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 6.29 ± 1.02 %

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลน บริเวณสวนประวัติศาสตร์ป่าเปรม อ.เมือง จ.สงขลา และบริเวณริมคลองบ้านหัวหิน อ.ละงู จ. สตูล โดยทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereus* และ *E. Coli* ด้วยวิธี Agar well diffusion method (Morton and Stroube, 1955) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutriant agar (NA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าแบคทีเรียที่แยกจากดินเลนเลนทั้งหมดจำนวน 74 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพการยับยั้ง *B. cereus* 18 ไอโซเลทโดยแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งได้ดีที่สุดคือ M26 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% inhibition) เท่ากับ 5.35 ± 0.82 % รองลองมาคือ M63 และ M14 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 4.19 ± 0.30 % และ 3.90 ± 0.29 % ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งน้อยที่สุดคือ M23 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง เท่ากับ 1.95 ± 0.18 % และประสิทธิภาพการยับยั้ง *E. coli* พบว่ามีแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนเป็นไอโซเลทโดยแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งได้ดีที่สุดคือ M26 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 6.29 ± 1.02 % รองลงมาคือ M27 และ M52 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 5.28 ± 0.12 % และ 5.24 ± 0.18 % ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งน้อยที่สุดคือ M44 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 2.90 ± 0.53 % นอกจากนี้แบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งทั้ง *B. cereus* และ *E. coli* คือ M58 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *B. cereus* เท่ากับ 3.10 ± 0.66 % และเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *E. Coli* เท่ากับ 4.57 ± 0.42 %

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษากลไกการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินเลนที่มีต่อเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* และ *E. coli* ให้ชัดเจน

เอกสารอ้างอิง

วีรานุช หลาง. (2554). **จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 166 หน้า.

สมศักดิ์ วงใน. (2528). **จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน.** ภาควิชาปฐพีวิทยาคณะเกษตมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สนิท อักษรแก้ว. (2541). **ป่าชายเลน นิเวศวิทยาและการจัดการ.** กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปวีณา สุขสะอาดและคณะ. 2553. **แอคติโนมัยสีทจากดินนาเกลือและการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มณี ตันติรุ่งกิจ และคณะ. (2550). **ศักยภาพในการสร้างสารชีวภาพของยีสต์ทะเล.** การประชุมวิชาการครั้งที่ 9 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

จักรพงษ์ หรั่งเจริญ และคณะ . 2554. **การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium myriotylum* โดยแบคทีเรียเขตรากพืชจากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน.** คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สุโสธร อุทัยดา และคณะ 2557. **การคัดกรองสารออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียจากไซยาโนแบคทีเรีย *Anabaena* spp. และ *Nostoc* spp.** ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

บัวสาย เพชรสุริยวงศ์ และคณะ. 2550. **การแยกและการจัดจำแนกแบคทีเรียจากดินที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา.** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพ 10140

ภาวิณี ไชยรักษ์ และคณะ. 2553. **การคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Collectotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของหน้าวัว.** คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตกาฬสินธุ์.

ศิรินาถ ศรีอ่อนนวล และ นพรัตน์ มะเห. 2556. **การคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกที่สร้างสารแบคเทอริโอซินจากปลาดุกร้า.** วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 5(2) : 1-14 (2556) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

ปราณี พฒันพิพิธไพศาล และ ชนิดาภา นวะพิฒ. 2555. **การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่มีสาเหตุจกเชื้อรา *Sclerotium Rolfsii* ด้วยเชื้อแอคติโนมยัสีท *Streptomyces hygroscopicus* PACCH24 ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนส.** วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

วัชระ กสิณฤกษ์. 2551. **การศึกษาการกระจายของยีนที่เกี่ยวข้องกับสารพิษใน *Bacillus cereus* และ *Bacillus* สปีชีส์อื่นที่แยกได้จากอาหารและการพัฒนาวิธีที่รวดเร็วในการวิเคราะห์หายีนที่เกี่ยวข้องกับสารพิษชนิดต่างๆ.** มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

เกษร เทพแปง. 2556. **มารู้จัก *E. coli* กัน.** จุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สุภา พงษ์นิม และคณะ. (2557). **ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ Streptomyces sp. ในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพืชตระกูลกะหล่ำ.** สาขาวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร.

พรนภา โทตรี. (2550). **ผลของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ผลิตเอนไซมไคติเนสตอเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก.** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว) สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วีนา ชูโชต. (2556). **ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* spp. ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค.** วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง ปี ที่ 22 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม-ธันวาคม 2556 สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

ศูนย์วิทยาศาสตร์พระราชดำริ. (2556). **ระบบนิเวศป่าชายเลน** ค้นเมื่อ [illegible] 2557, เข้าถึงได้จาก http://www.[illegible]

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2553). **ป่าชายเลน**. ค้นเมื่อ เมษายน 10, 2557, เข้าถึงได้จาก http://www.dmcr.go.th/marinecenter/mangrove

กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2553). **ระบบนิเวศป่าชายเลน**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.dmcr.go.th/marinecenter/mangrove.php

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/32/EscherichiaColi_NIAID.jpg. (ค้นเมื่อ เมษายน 10, 2557)

http://www.foodsafety.asn.au/wp-content/uploads/2013/05/B.cereus.jpg (ค้นเมื่อ เมษายน 10, 2557)

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

1 อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

สูตรอาหาร NA (nutrient agar) สำหรับใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั้ง 74 ไอโซเลท มีส่วนประกอบดังนี้

Peptic Digest of Animal Tissue	5.00	กรัม/ลิตร
สารสกัดจากเนื้อ	1.5	กรัม/ลิตร
วุ้น	15.00	กรัม/ลิตร
สารสกัดจากยีสต์	1.5	กรัม/ลิตร
NaCl	5.00	กรัม/ลิตร
pH at 25 องศาเซลเซียส	7.4 ± 0.2	

ผสมส่วนประกอบทั้งหมดด้วยน้ำกลั่น นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2 สีที่ใช้ย้อม

Gram's stain

Crytalviole

สารละลาย A

Crytalviole(85% dye)	2.0	กรัม
Ethyl alcohol 95%	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	80.0	มิลลิลิตร

ผสม A กับสารละลาย B ถ้ามีตะกอนให้กรองก่อนการใช้ และถ้ามีสีเข้มเกินไปอาจเจือจางสารละลาย A เป็น 1 ต่อ 1 ก่อ1.2. Safranin O counterstain (Stock solution)

Safranin O	2.5	กรัม
Ethyl alcohol 95%	100.0	กรัม

ถ้าจะใช้สีในการย้อมให้เจือจางเป็น 1 ต่อ 10 (Stock Safranin O 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร) ถ้ามีตะกอนให้กรองออกทุกครั้ง

3. Gram's iodine solution (Mordant)

Iodine	10	กรัม
Potassium iodine	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มิลลิลิตร
Alcohol- acetone		
Ethyalcohol 95%	250.0	มิลลิลิตร

Acetone 250.0 มิลลิลิตรผสมกับ
สารละลาย B

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าชายเลน

ไอโซเลต	ลักษณะสัณฐานวิทยา (ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์			
		รูปร่าง	การจักเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์
M1	สีขาว ขอบเรียบใส เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	สร้างสปอร์
M2	สีขาว ขอบเรียบใส (ตรงกลางผิวขรุขระ) เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	สาย	ลบ	-
M3	สีขาวใส ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	สาย	ลบ	-
M4	สีขาวใส(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M5	สีขาวขุ่น ขอบหยัก เยิ้มเล็กน้อย ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M6	สีขาวขุ่น ขอบเรียบใส ไม่เยิ้ม ไม่มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M7	สีขาว(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M8	สีเหลือง(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M9	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ตรงกลางนูน เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าชายเลน (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะสัณฐานวิทยา (ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์			
		รูปร่าง	การจัดเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์
M10	สีขาว(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบใส เยิ้มเล็กน้อย ไม่มันวาวนูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	สร้างสปอร์
M11	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M12	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบใส ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M13	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบใส ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M14	สีขาวใส(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	สาย,คู่	บวก	
M15	สีขาวใส(ขนาดกลาง) ขอบเรียบใส เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M16	สีขาว ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M17	สีขาวใส(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M18	สีขาวขุ่น ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	

ภาคผนวก ข (ต่อ)

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของ... ที่เรียที่แยกได้จากป่าชายเลน (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะสัณฐานวิทยา (ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์			
		รูปราง	การจักเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์
M19	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) เยิ้ม ม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อน...	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M20	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อน...	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M21	สีขาวขุ่น(นาดเล็ก) เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อน...	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	สร้าง...
M22	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อน...	คู่,สาย,เดี่ยว	ลบ	
M23	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อน...	สาย,คู่	ลบ	
M24	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก)ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อน...	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M25	สีขาวขุ่น ขอบเรียบใส เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อน...	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	สร้าง...
M26	สีเหลือง(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อน...	สาย,เดียว	บวก	
M27	สีขาวนวล ขอบเรียบ เยิ้มเล็กน้อย มันวาวน้อย นูนเล็กน้อย	ท่อน...	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าชายเลน (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะสัณฐานวิทยา (ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์			
		รูปร่าง	การจักเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์
M28	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่)ขอบหยัก ไม่มันวาว เยิ้ม นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M29	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M30	สีขาวขุ่น ขอบเรียบ เยิ้ม นูนเล็กน้อย มันวาว	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M31	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาวน้อย นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	ลบ	
M32	สีขาวใส ขนาดเล็ก ขอบหยัก เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สสาย	บวก	
M33	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบหยัก เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M34	สีขาวขุ่น ขอบเรียบใส ไม่มันวาว เยิ้ม นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M35	สีขาว(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	
M36	สีขาวขุ่น(นาดเล็ก) ขอบเรียบใส เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าชายเลน (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะสัณฐานวิทยา (ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์			
		รูปร่าง	การจัดเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์
M37	สีขาวขุ่น ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M38	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบใส เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M39	สีขาวขุ่น ขอบเรียบ เยิ้มน้อย มันวาวน้อย นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M40	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M41	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ท่อนสั้น	สาย,เดี่ยว	บวก	-
M42	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ทอนยาว	สาย,เดี่ยว	บวก	-
M43	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ท่อนสั้น	สาย,เดี่ยว	บวก	-
M44	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบหยัก ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ท่อนสั้น	สาย,เดี่ยว	บวก	-
M45	สีขาวขุ่น(ขนาดหยัก) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้มเล็กน้อย	ท่อนสั้น	สาย,เดี่ยว	บวก	-

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าชายเลน (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะสัณฐานวิทยา (ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์			
		รูปร่าง	การจักเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์
M46	สีขาวใส(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	กลมพวงองุ่น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M47	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบหยัก เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M48	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M49	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M50	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบหยักแบบเส้นๆ หน้าแห้ง นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M51	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M52	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M53	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M54	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าชายเลน (ต่อ)

ไอโซเลต	ลักษณะสัณฐานวิทยา (ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์			
		รูปร่าง	การจักเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์
M55	สีใส (ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M56	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบหยัก เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M57	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M58	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบหยัก เยิ้ม ไม่มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M59	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M60	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M61	สีขาวใส(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M62	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) เยิ้ม มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M63	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบหยักๆมีเส้นๆ ไม่มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าชายเลน (ต่อ)

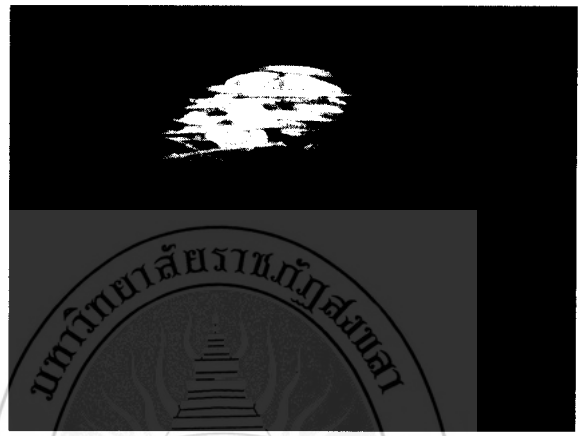
ไอโซเลต	ลักษณะสัณฐานวิทยา (ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์			
		รูปร่าง	การจัดเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์
M64	สีขาวครีม(ขนาดใหญ่) ขอบหยัก เยิ้ม มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M65	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่)ขอบหยัก เยิ้ม มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M66	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	ลบ	-
M67	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่มาก) ขอบเรียบ เยิ้ม ไม่มันวาว ไม่นูน	ท่อนยาว	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M68	สีใส(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M69	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ ไม่มันวาว เยิ้ม ไม่นูน	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M70	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบเรียบ(ตรงกลางแห้ง) นูนเล็กน้อย	ท่อนยาว	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M71	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	กลม	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M72	สีขาวขุ่น(ขนาดใหญ่) ขอบหยัก เยิ้ม ไม่มันวาว ไม่นูน	ท่อนยาว	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียที่แยกได้จากป่าชายเลน (ต่อ)

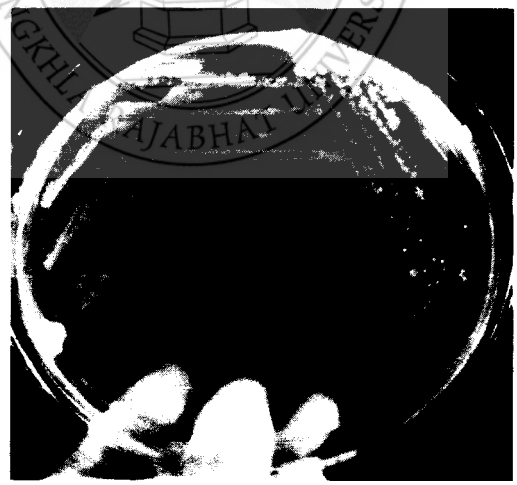
ไอโซเลต	ลักษณะสัณฐานวิทยา (ดูด้วยตาเปล่า)	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์			
		รูปร่าง	การจักเรียงตัว	แกรม	การสร้างสปอร์
M73	สีขาวขุ่น(ขนาดกลาง) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว ไม่นูน	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-
M74	สีขาวขุ่น(ขนาดเล็ก) ขอบเรียบ เยิ้ม มันวาว นูนเล็กน้อย	ท่อนสั้น	คู่,สาย,เดี่ยว	บวก	-

ภาคผนวก ค

1. ภาพโคโลนีของแบคทีเรีย *B. cereus*



2. ภาพโคโลนีของแบคทีเรีย *E. coli*



มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวนิดา ลาวัลย์
เกิดเดือนวันที่	17 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2534
ที่อยู่	321 ม.1 ต. ละงู อ. ละงู จ. สตูล 91110
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2548	จบการศึกษาระดับปฐมศึกษาชั้นปีที่ 6 จากโรงเรียนละงูพิทยาคม จังหวัดสตูล
พ.ศ. 2553	จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาชั้นปีที่ 6 จากโรงเรียนละงูพิทยาคม จังหวัดสตูล
พ.ศ. 2558	กำลังศึกษาในสาขาจุลชีววิทยาโปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จังหวัดสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวอุไรเรือะหมาหลำ
เกิดเดือนวันที่	13 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2534
ที่อยู่	25 ม. 6 ต. สะกอม อ. จะนะ จ. สงขลา 43110
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2548	จบการศึกษาระดับปฐมศึกษาชั้นปีที่ 6 จากโรงเรียนบ้านเจริญธรรมวิทยา จังหวัดสงขลา
พ.ศ. 2553	จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาชั้นปีที่ 6 จากโรงเรียนบ้านเจริญธรรมวิทยา จังหวัดสงขลา
พ.ศ. 2553	กำลังศึกษาในสาขาจุลชีววิทยา โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา จังหวัดสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY