การปรับปรุงสายพันธุ์ *Streptomyces kanamyceticus* K1 โดยวิธีกลายพันธุ์ เพื่อเพิ่มผลผลิตคานามัยซิน

นาย ศรสดมภ์ ขัติยะวรา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2539

ISBN 974-634-240-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I20503799

STRAIN IMPROVEMENT OF *Streptomyces kanamyceticus* K1 BY MUTATION TO INCREASE KANAMYCIN PRODUCTION

Mr. Sornsadom Kattiyavara

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1996

ISBN 974-634-240-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การปรับปรุงสายพันธุ์ *Streptomyces kanamyceticus* K1 โดยวิธีกลายพันธุ์ เพื่อเพิ่มผลผลิตคานามัยซิน
โดย	นาย ศรสดมภ์ ขัติยะวรา
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุรีนา ชวนิชย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีนา ชวนิชย์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ วีระวุฒิ มหามนตรี)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ศรสดมภ์ ขัติยะวรา : การปรับปรุงสายพันธุ์ Streptomyces kanamyceticus K1 โดยวิธีกลายพันธุ์ เพื่อเพิ่มผลผลิตคานามัยซิน (STRAIN IMPROVEMENT OF Streptomyces kanamyceticus K1 BY MUTATION TO INCREASE KANAMYCIN PRODUCTION) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สุรีนา ชวนิชย์, 115 หน้า. ISBN 974-634-240-1

การปรับปรุงสายพันธุ์ Streptomyces kanamyceticus K1 ซึ่งสามารถสังเคราะห์คานามัยซินได้ 13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการทำการกลายพันธุ์อย่างต่อเนื่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต (UV) 2 รอบ และ NTG 2 รอบ พบว่าได้สายพันธุ์กลาย 2 สายพันธุ์ คือ UUNNK1 และ UUNNK25 ที่สามารถสังเคราะห์คานามัยซินได้เพิ่มขึ้นเป็น 160 และ 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งคิดเป็น 12.3 และ 11.5 เท่าของสายพันธุ์ตั้งต้น ตามลำดับ และมีสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงแตกต่างไปจากสายพันธุ์ตั้งต้นอย่างเห็นได้ชัด

ในการเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อสังเคราะห์คานามัยซินจากสายพันธุ์ K1, UUNNK1 และ UUNNK25 แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อสังเคราะห์คานามัยซิน คือ แป้ง ส่วนกลูโคส กาแลคโตส มอลโตส และ กากน้ำตาล สามารถนำไปสังเคราะห์คานามัยซินได้ปริมาณเล็กน้อย แต่แลคโตสไม่เหมาะสมในการนำไปใช้สังเคราะห์คานามัยซิน และการเพาะเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณคานามัยซินมากกว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต ศรสดมภ์ ขัติยะวรา

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา สุรีนา ชวนิชย์

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

C526189 : MAJOR MICROBIOLOGY
KEY WORD: Streptomyces kanamyceticus / KANAMYCIN / STRAIN IMPROVEMENT / MUTATION

SORNSADOM KATTIYAVARA : STRAIN IMPROVEMENT OF Streptomyces kanamyceticus K1 BY MUTATION TO INCREASE KANAMYCIN PRODUCTION. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SURINA CHAVANICH, Ph.D.115 pp. ISBN 974-634-240-1

Strain improvement of Streptomyces kanamyceticus K1, a strain capable to produced 13 µg/ml of kanamycin, was studied by mutating with UV 2 steps, then followed with NTG 2 steps. Two mutant strains UUNNK1 and UUNNK25 were the best mutants selected, produced maximal yields of 160 and 150 µg/ml of kanamycin which were 12.3 and 11.5 folds higher than that produced by K1, respectively. Furthermore, morphology of the mutant strains were obviously different from the parent strain.

In cultivation for kanamycin production from K1, UUNNK1 and UUNNK25, Starch was the suitable carbon source for the kanamycin production Glucose, galactose, maltose and molasses gave low production yield. Lactose were not suitable for the production. In addition, cultivation these strains at 30°C, gave higher kanamycin production yield than at 25°C.

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ลุล่วงไป ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ของ รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีนา ชวนิชย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้คำแนะนำ แนวความคิด และกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นจึง ขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณประธานกรรมการ และคณะกรรมการทุกท่านที่กรุณาตรวจสอบและ แก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ Laboratory of Applied Microbiology, Kyushu University, Japan ที่ กรุณามอบ *Streptomyces kanamyceticus* K1 ที่ใช้เป็นเชื้อสายพันธุ์ตั้งต้นในการทดลองนี้

ขอขอบพระคุณ คุณวีระ ศิลปสุวรรณชัย ที่ช่วยสอน และแนะนำการวิเคราะห์ปริมาณ คานามัยซินด้วยวิธีการทางจุลชีววิทยา

ขอขอบพระคุณ คุณสุนันท์ รังษีกาญจน์ส่อง ที่ช่วยให้คำแนะนำ และช่วยวิเคราะห์ ปริมาณคานามัยซินด้วยเครื่อง HPLC

ขอขอบพระคุณ คุณรุจิพร ประทีปเสน ที่ช่วยให้คำแนะนำ และช่วยถ่ายภาพเส้นใยเชื้อ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัย

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ตลอดจน พี่ ๆ น้อง ๆ และเพื่อน ๆ ทุกคน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจ เป็นอย่างดี ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จ

ขอขอบคุณคุณกุลธิรา สู่สุข และคุณนิติพงษ์ จิระวรานันท์ ที่คอยช่วยตรวจตัวสะกด และทำสไลด์ประกอบการบรรยาย ตามลำดับ

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่ ที่ช่วยสนับสนุน และเป็นกำลังใจ อย่างดีเสมอมา จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ซ

สารบัญรูป ..... ญ

บทที่

1. บทนำ 1
2. อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย 26
3. ผลการวิจัย 39
4. สรุป และวิจารณ์ผลการวิจัย 89

รายการอ้างอิง 98

ภาคผนวก 105

ประวัติผู้เขียน 115

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. เปรียบเทียบความกว้างบริเวณยับยั้งต่อการเจริญของเชื้อทดสอบ รอบอาหารวุ้นเคพีเอ็ม เอ ที่เพาะเลี้ยง *S. kanamyceticus* K1 ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน..... 39
2. เปรียบเทียบ น้ำหนักเส้นใยแห้ง และ ปริมาณคานามัยซิน ในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี ที่เพาะเลี้ยง *S. kanamyceticus* K1 ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน 41
3. อัตราการรอดชีวิตของ *S. kanamyceticus* K1 เมื่อถูกฉายแสงอัลตราไวโอเลตด้วยระยะเวลาต่าง ๆ 43
4. อัตราการรอดชีวิตของ *S. kanamyceticus* K1 เมื่อทำถูกชักนำด้วย NTG ที่ปริมาณความเข้มข้นต่าง ๆ กันใน 0.05 โมลาร์ ทริสมาลีอิค บัฟเฟอร์ pH 9.0 ... 45
5. เปรียบเทียบ ความกว้างบริเวณยับยั้งการเจริญต่อเชื้อทดสอบ รอบอาหารวุ้นเคพีเอ็มเอ ของสายพันธุ์ตั้งต้น K1 กับสายพันธุ์กลายที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 1 รอบ เพื่อการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิ 48
6. เปรียบเทียบปริมาณคานามัยซินในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ของสายพันธุ์ตั้งต้น K1 กับ สายพันธุ์กลาย ที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 1 รอบ เพื่อการคัดเลือกขั้นทุติยภูมิ 49
7. การทดสอบความเสถียรในการสังเคราะห์คานามัยซินของสายพันธุ์กลาย ที่ได้จากการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 1 รอบ 50
8. เปรียบเทียบ ความกว้างบริเวณยับยั้งต่อเชื้อทดสอบรอบอาหารวุ้น เคพีเอ็มเอ ของ สายพันธุ์ตั้งต้น UK9-15 และ UK12-12 กับสายพันธุ์กลาย ที่ได้จากการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบ เพื่อคัดเลือกขั้นปฐมภูมิ 52
9. เปรียบเทียบปริมาณคานามัยซินในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ของสายพันธุ์ตั้งต้น UK9-15 และ UK12-12 กับสายพันธุ์กลายที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบ เพื่อการคัดเลือกขั้นทุติยภูมิ 53
10. การทดสอบความเสถียรในการสังเคราะห์คานามัยซิน ของสายพันธุ์กลายที่ได้จากการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบ 54

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

11. เปรียบเทียบความกว้างบริเวณยับยั้งต่อเชื้อทดสอบรอบอาหารวุ้น เคพีเอ็มเอ ของสายพันธุ์ตั้งต้น UUK2-5, UUK3-36 กับสายพันธุ์กลายที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบ และชักนำด้วย NTG 1 รอบ เพื่อการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิ 56
12. เปรียบเทียบ ปริมาณคานามัยซินในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ของสายพันธุ์ตั้งต้น UUK2-5, UUK3-36 กับสายพันธุ์กลาย ที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบและชักนำด้วย NTG 1 รอบ เพื่อการคัดเลือกขั้นทุติยภูมิ 57
13. การทดสอบความเสถียรในการสังเคราะห์คานามัยซินของสายพันธุ์กลาย ที่ได้จากการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบและชักนำด้วย NTG 1 รอบ 58
14. เปรียบเทียบความกว้างบริเวณยับยั้งต่อเชื้อทดสอบรอบอาหารวุ้น เคพีเอ็มเอ ของสายพันธุ์ตั้งต้น UUNK15 กับสายพันธุ์กลายที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบ และชักนำด้วย NTG 2 รอบ เพื่อการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิ 60
15. เปรียบเทียบปริมาณคานามัยซินในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ของสายพันธุ์ตั้งต้น UUNK15 กับสายพันธุ์กลายที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบ และชักนำด้วย NTG 2 รอบ เพื่อการคัดเลือกขั้นทุติยภูมิ 61
16. การทดสอบความเสถียรสายพันธุ์กลาย ที่ได้จากการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบ และชักนำด้วย NTG 2 รอบ 62
17. เปรียบเทียบ น้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ตั้งต้น K1 และสายพันธุ์กลาย UUNNK1, UUNNK25 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 79
18. เปรียบเทียบ น้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ตั้งต้น K1 และสายพันธุ์กลาย UUNNK1, UUNNK25 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 81

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. โครงสร้างโมเลกุลคานามัยซิน 3
2. ตัวอย่างการแทนที่ดีเอ็นเอเบสด้วยดีเอ็นเอเบสในกลุ่มเดียวกัน 11
3. ตัวอย่างการแทนที่ดีเอ็นเอเบสด้วยดีเอ็นเอเบสต่างกลุ่มกัน 12
4. คุณสมบัติการแทนที่ดีเอ็นเอเบสของ 5-โบรโมยูราซิล 14
5. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วย กรดไนตริก 15
6. การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง กัวนีน และ EMS ได้ 7-เอทธิลกัวนีน 16
7. การเกิดไทมีน ไดเมอร์ โดยการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 17
8. การซ่อมแซมสายดีเอ็นเอ 3 ขบวนการ 19
9. โครงสร้างโมเลกุลของ NTG 20
10. โครงสร้างโมเลกุลของดีเอ็นเบส เมื่อทำปฏิกิริยากับ NTG 21
11. การเพาะเลี้ยง *S. kanamyceticus* บนอาหารวุ้น เคพีเอ็มเอ เพื่อสังเคราะห์คานามัยซิน 30
12. การวัดการสังเคราะห์คานามัยซินด้วยวิธีทางจุลชีววิทยาของ *S. kanamyceticus* เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น เคพีเอ็มเอ 32
13. การวัดปริมาณคานามัยซินด้วยวิธีทางจุลชีววิทยาของ *S. kanamyceticus* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี 33
14. กราฟแสดง ความกว้างบริเวณยับยั้งการเจริญต่อเชื้อทดสอบ รอบอาหารวุ้น เคพีเอ็มเอ ที่เพาะเลี้ยง *S. kanamyceticus* K1 ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน 40
15. กราฟแสดง น้ำหนักเส้นใยแห้งและปริมาณคานามัยซินในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี ที่เพาะเลี้ยง *S. kanamyceticus* K1 ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน 42
16. กราฟแสดงอัตราการรอดชีวิตของ *S. kanamyceticus* K1 เมื่อถูกฉายแสงอัลตราไวโอเลตด้วยระยะเวลาต่าง ๆ 44
17. กราฟแสดงอัตราการรอดชีวิตของ *S. kanamyceticus* K1 เมื่อถูกชักนำด้วย NTG ที่ปริมาณความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ใน 0.05 โมลาร์ ทริสมาลีอิค บัฟเฟอร์ pH 9.0 .. 46

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

18. ภาพแสดง ขั้นตอนของการทำการกลายพันธุ์จากสายพันธุ์ตั้งต้น K1 จนได้สายพันธุ์กลาย UUNNK1 และ UUNNK25 63
19. แผนภูมิของปริมาณคานามัยซินที่สังเคราะห์ได้จาก *S. kanamyceticus* สายพันธุ์ตั้งต้น และสายพันธุ์กลาย 64
20. ลักษณะโครมาโตแกรมของ คานามัยซิน เอ ซัลเฟต ปริมาณ 1500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 65
21. ลักษณะโครมาโตแกรมของ คานามัยซิน เอ ซัลเฟต ปริมาณ 512 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 65
22. ลักษณะโครมาโตแกรมของ คานามัยซิน เอ ซัลเฟต ปริมาณ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 66
23. ลักษณะโครมาโตแกรมของปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ตั้งต้น K1 66
24. ลักษณะโครมาโตแกรมของ ปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์กลาย UUNNK1 66
25. ลักษณะโครมาโตแกรมของ ปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์กลาย UUNNK25 .. 66
26. กราฟแสดง น้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ตั้งต้น K1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบีที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ กัน 69
27. กราฟแสดง น้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์กลาย UUNNK1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ กัน 70
28. กราฟแสดง น้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์กลาย UUNNK25 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ กัน 71
29. กราฟแสดง น้ำหนักเส้นใยแห้งของสายพันธุ์ตั้งต้น K1 และสายพันธุ์กลาย UUNNK1, UUNNK25 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ กัน 72

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

30. กราฟแสดง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ กันที่เพาะเลี้ยงสายพันธุ์ตั้งต้น K1 และสายพันธุ์กลาย UUNNK1, UUNNK25 73
31. กราฟแสดง ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ กันที่เพาะเลี้ยงสายพันธุ์ตั้งต้น K1 และสายพันธุ์กลาย UUNNK1, UUNNK25 74
32. กราฟแสดง ปริมาณคานามัยซินในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ กัน ที่เพาะเลี้ยงสายพันธุ์ตั้งต้น K1 และสายพันธุ์กลาย UUNNK1, UUNNK25 75
33. กราฟเปรียบเทียบ น้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ตั้งต้น K1 และสายพันธุ์กลาย UUNNK1, UUNNK25 ในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ซึ่งบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 78
34. กราฟเปรียบเทียบ น้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ตั้งต้น K1 และสายพันธุ์กลาย UUNNK1, UUNNK25 ในอาหารเหลว เคพีเอ็มบี ซึ่งบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 80
35. ลักษณะการเจริญของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์ตั้งต้น K1 บนอาหารวุ้นเอ็มเอส 83
36. ลักษณะการเจริญของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์กลาย UUNNK1 บนอาหารวุ้นเอ็มเอส 83
37. ลักษณะการเจริญของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์กลาย UUNNK25 บนอาหารวุ้นเอ็มเอส 83
38. ลักษณะโคโลนีของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์ตั้งต้น K1 กำลังขยาย 9 เท่า 84

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

39. ลักษณะโคโลนีของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์กลาย UUNNK1 กำลังขยาย 6.7 เท่า 84
40. ลักษณะโคโลนีของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์กลาย UUNNK25 กำลังขยาย 6.7 เท่า 84
41. ลักษณะเส้นใย และสปอร์ของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์ตั้งต้น K1 กำลังขยาย 1,000 เท่า 85
42. ลักษณะเส้นใย และสปอร์ของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์กลาย UUNNK1 กำลังขยาย 1,000 เท่า 85
43. ลักษณะเส้นใย และสปอร์ของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์กลาย UUNNK25 กำลังขยาย 1,000 เท่า 85
44. ลักษณะเส้นใย และสปอร์ของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์ตั้งต้น K1 กำลังขยาย 10,000 เท่า 86
45. ลักษณะเส้นใย และสปอร์ของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์กลาย UUNNK1 กำลังขยาย 10,000 เท่า 86
46. ลักษณะเส้นใย และสปอร์ของ *S. kanamyceticus* สายพันธุ์กลาย UUNNK25 กำลังขยาย 10,000 เท่า 87
47. การลำดับขั้นตอนการกลายพันธุ์ *S. kanamyceticus* K1 ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต และ NTG จนได้สายพันธุ์กลาย UUNNK1 และ UUNNK25 90
48. กราฟมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมด เมื่อวัดปริมาณด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริค 111
49. กราฟมาตรฐานคานามัยซิน เอ ซัลเฟต โดยวิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา 112
50. กราฟมาตรฐานคานามัยซิน เอ ซัลเฟต โดยเครื่อง HPLC 113