

แอกติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉียวมะเขือเทศ และการส่งเสริมการเจริญเติบโต

ACTINOMYCETES FROM MANGROVE FOREST SOIL
AGAINST *Ralstonia solanacearum* CAUSE TOMATO
WILT DISEASE AND THEIR PLANT GROWTH
PROMOTING



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ปีการศึกษา 2565
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องยกย่องเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACTINOMYCETES FROM MANGROVE FOREST SOIL
AGAINST *Ralstonia solanacearum* CAUSE TOMATO
WILT DISEASE AND THEIR PLANT GROWTH
PROMOTING



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDRUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ **ACADEMIC YEAR 2022** ภายใต้งานวิจัยที่นำเสนอไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

แอคติโนมัยซีทจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉียวมะเขือเทศ และการส่งเสริมการเจริญเติบโต

Actinomycetes from mangrove forest soil against

Ralstonia solanacearum cause tomato wilt disease and their plant growth promoting

ชื่อนักศึกษา

นายบุรพา บางศิริ รหัสนักศึกษา 62050617

นายภูรินทร์ ภูมินาถ รหัสนักศึกษา 62050638

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา

ชีววิทยา

ปีการศึกษา

2565

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.จิตติ ท่าไผ่ ประธานกรรมการ	
ดร.นิลเนตร อัคระศิริจินดา กรรมการ	
ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	แอกติโนมัยสัทจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ และการส่งเสริมการเจริญเติบโต
ชื่อนักศึกษา	นายบุรพา บางศิริ รหัสนักศึกษา 62050617 นายภูรินทร์ ภูมินาถ รหัสนักศึกษา 62050638
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์

บทคัดย่อ

แอกติโนมัยสัทจากดินป่าชายเลนบางขุนเทียนและศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี ทั้งหมด 49 ไอโซเลท นำมาศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้นด้วยวิธี Agar plug diffusion ต่อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ พบว่ามี 29 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ นำ 10 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการยับยั้งมากที่สุด ได้แก่ SF00470, SF01370, SF03670, SF07070, SF07270, SF08000, SF08100, SF13500, SF14370 และ BT04310 มาทำการทดสอบต่อด้วยวิธี Agar disc diffusion ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ ในส่วนของผลการทดสอบการออกฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช จากทั้งหมด 10 ไอโซเลท สามารถสร้างสารชีโตโรพอร์ได้ 9 ไอโซเลท สามารถผลิตแอมโมเนียได้ ทั้ง 10 ไอโซเลท สามารถละลายฟอสเฟตได้ 3 ไอโซเลท สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกได้ทั้ง 10 ไอโซเลท และ ไม่สามารถผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ได้ทั้ง 10 ไอโซเลท

คำสำคัญ : แอกติโนมัยสัท, ป่าชายเลน, *Ralstonia solanacearum*, โรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ, ฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGP)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Actinomycetes from mangrove forest soil against <i>Ralstonia solanacearum</i> cause tomato wilt disease and their plant growth promoting
Students	Mr. Burapa Bangsiri Student ID 62050617 Mr. Poorin Phuminart Student ID 62050638
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2022
Advisor	Dr. Khanugkhan Klanbut

ABSTRACT

Forty-nine isolates of actinomycetes were isolated from mangrove forest soils at Bangkhutien and Sirinart Rajini Mangrove Ecosystem Learning Center. All isolates were preliminary screened for antimicrobial activities by agar plug diffusion method against *Ralstonia solanacearum* cause tomato wilt disease and found that twenty-nine isolates showed the inhibitory against the microorganism. The highest clear zone value from ten isolates; SF00470, SF01370, SF03670, SF07070, SF07270, SF08000, SF08100, SF13500, SF14370 and BT04310 were tested against this microorganism in second step by agar disc diffusion method. The results found that there was neither isolate could be able to inhibit the test bacteria at concentrations of 1 and 50 mg/ml. As for In vitro screening of plant growth promoting out of 10 isolates, 9 isolates produced siderophores, 10 isolates produced ammonia, 3 isolates produced soluble phosphate, 10 isolates produced indole-3-acetic acid and all isolates cannot produce hydrogen cyanide.

Keywords: actinomycetes, mangrove forest, *Ralstonia solanacearum*, tomato wilt disease, Plant growth promoting (PGP)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่านโดยเฉพาะอย่างยิ่ง อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ ระหว่างการดำเนินการค้นคว้า ตลอดจนให้ความช่วยเหลือทั้งอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง และอำนวยความสะดวกในการทดลอง ชี้แนะแนวทางในการแก้ปัญหาต่างๆ และตรวจทานแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความถูกต้อง และสมบูรณ์ในการทำโครงการพิเศษมาตลอดขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.จิตติ ท่าไผ่ ประธานกรรมการ และ ดร.นิลเนตร อัครเวศิริจินดา กรรมการ อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจทานแก้ไขปริญยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องและ สมบูรณ์ สละเวลาเข้าร่วมการสอบปริญยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการนำเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคเหี่ยวในพืชตระกูลมะเขือ มาใช้ในการทดลองสำหรับโครงการพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยเหลือทั้งอุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือ ตลอดจนการ เข้าใช้ห้องปฏิบัติการ และขอขอบพระคุณแม่บ้านประจำภาควิชาชีววิทยาทุกคนที่คอยทำความสะอาด และช่วยกำจัดขยะในห้องปฏิบัติการให้ทุกวัน ตลอดจนช่วยเปิดประตูห้องไว้ให้ตอนเช้า

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณกำลังใจต่างๆจากทั้งครอบครัวที่ได้ให้การสนับสนุนในทุกๆด้าน ขอบคุณเพื่อนๆร่วมโปรเจค แบงค์, หมีพู, พลอย, ชมพู, ชิม, แดงกวาง, เจต และเพื่อนคนอื่นๆที่ให้ความช่วยเหลือในโครงการพิเศษนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยมีความซาบซึ้งในความกรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าวถึง และไม่ได้กล่าวถึงได้มีส่วนช่วยเหลือในการสนับสนุนให้กำลังใจด้วยดีตลอดมา จึงขอกราบขอบพระคุณทุกท่านด้วยความจริงใจ

บุรพา บางศิริ
ภูรินทร์ ภูมินาถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ป่าชายเลน.....	4
2.1.1 ลักษณะดินป่าชายเลน.....	5
2.2 แอคติโนมัสีท.....	5
2.2.1 ลักษณะทั่วไปของแอคติโนมัสีท.....	5
2.2.2 ลักษณะการสร้างเส้นใย.....	6
2.2.3 การสร้างสปอร์ของแอคติโนมัสีท.....	7
2.2.4 แหล่งที่อยู่อาศัยของแอคติโนมัสีท.....	10
2.2.5 แอคติโนมัสีทจากดินป่าชายเลน.....	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 บทบาทและความสำคัญของแอกติโนมัยสีท.....	11
2.3 มะเขือเทศ.....	12
2.3.1 โรคเหี่ยวเฉียวในมะเขือเทศ.....	12
2.3.2 ลักษณะทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย <i>Ralstonia solanacearum</i>	14
2.4 การส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช.....	15
2.4.1 การผลิตกรดอินโดล-3-อะซิดิก.....	15
2.4.2 การละลายฟอสเฟต.....	15
2.4.3 การผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์.....	16
2.4.4 การผลิตแอมโมเนีย.....	16
2.4.5 การสร้างสารซีเดโรฟอร์.....	17
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	21
3.1 เครื่องมือ.....	21
3.2 อุปกรณ์.....	21
3.3 สารเคมี.....	23
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	24
3.5 เชื้อทดสอบจากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.....	24
3.6 การเก็บตัวอย่างดิน และการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยสีท.....	25
3.6.1 การเก็บตัวอย่างดิน.....	25
3.6.2 ขั้นตอนการแยกเชื้อแอกติโนมัยสีท.....	25
3.6.3 การศึกษาการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยสีทในอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project no.2 (ISP2) ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0, 1.5 และ 3.....	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.4 การเก็บรักษาเชื้อแอสคิโนมัยซีท.....	26
3.7 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา.....	26
3.8 ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ.....	26
3.8.1 การทดสอบกิจกรรมต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศเบื้องต้น โดยใช้วิธี Agar plug diffusion.....	27
3.8.2 การทดสอบกิจกรรมต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ โดยใช้วิธี Agar disc diffusion.....	28
3.9 การทดสอบคุณสมบัติและการผลิตสารส่งเสริมการเจริญในพืชของเชื้อแอสคิโนมัยซีท.....	29
3.9.1 การทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก.....	29
3.9.2 การละลายสารประกอบฟอสเฟต.....	29
3.9.3 การผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์.....	29
3.9.4 การผลิตแอมโมเนีย.....	30
3.9.5 การสร้างสารซีเดโรฟอร์.....	30
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	31
4.1 การตัดแยกเชื้อแอสคิโนมัยซีท.....	31
4.1.1 การศึกษาเชื้อแอสคิโนมัยซีทที่มีความสามารถในการเจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0, 1.5 และ 3.....	33
4.2 การศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสคิโนมัยซีท.....	36
4.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยว.....	92
4.3.1 การคัดกรองเบื้องต้นในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยว (Antimicrobial activities) โดยใช้วิธี Agar plug diffusion.....	93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การเตรียมสกัดสารสกัดหยาบ และสารทุติยภูมิ โดยใช้วิธี Agar disc diffusion.....	96
4.4 สารออกฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (In vitro screening of plant growth-promoting (PGP) actives)	98
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	101
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	101
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	102
เอกสารอ้างอิง	103
ภาคผนวก.....	114
ภาคผนวก ก.....	115
ภาคผนวก ข.....	120
ภาคผนวก ค.....	122
ภาคผนวก ช.....	125
ภาคผนวก ง.....	132
ภาคผนวก จ.....	142
ภาคผนวก ฉ.....	146
ภาคผนวก ช.....	147
ภาคผนวก ซ.....	148
ภาคผนวก ฌ.....	149
ภาคผนวก ฎ.....	150

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.1 หมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จาก บริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน 4 ไอโซเลท.....	31
ตารางที่ 4.2 หมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จาก ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี 45 ไอโซเลท.....	32
ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการเจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0, 1.5 และ 3.....	34
ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยสีทจำนวน 49 ไอโซเลท บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	37
ตารางที่ 4.5 ลักษณะโคโลนีเดี่ยวของแอกติโนมัยสีทจำนวน 49 ไอโซเลท.....	90
ตารางที่ 4.6 ความสามารถของแอกติโนมัยสีท 29 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย <i>R. solanacearum</i> โดยวิธี Agar plug diffusion.....	94
ตารางที่ 4.7 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวเซลล์ในชั้น ของเอทิลอะซิเตท โดยวิธี Agar disc diffusion.....	96
ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบสารออกฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (In vitro screening of plant growth-promoting (PGP) actives)	99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 2.1 ตัวอย่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลายของแอกติโนมัยสีท.....	6
รูปที่ 2.2 ลักษณะเส้นใยและสายสปอร์.....	7
รูปที่ 2.3 การสร้างสปอร์เดี่ยวและสปอร์สายสั้น.....	8
รูปที่ 2.4 การสร้างสปอร์สายยาว.....	9
รูปที่ 2.5 แผนผังแสดงวัฏจักรของสเตรปโตมัยสีท.....	10
รูปที่ 2.6 ต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคเหี่ยวเกิดจากเชื้อ <i>R. solanacearum</i>	13
รูปที่ 2.7 สัณฐานวิทยาของโคโลนีและการย้อมแกรมของ <i>R. solanacearum</i>	14
รูปที่ 3.1 การวางชิ้นส่วนของแอกติโนมัยสีทบนอาหาร ISP2 บนอาหาร NA ที่ทา (swab) เชื้อทดสอบแล้วโดยวิธี Agar plug diffusion.....	27
รูปที่ 4 ผลการเจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0, 1.5 และ 3 ของไอโซเลท SF106100.....	33
รูปที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00270 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	41
รูปที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00470 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	42
รูปที่ 4.3 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00670 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	43
รูปที่ 4.4 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00870 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	44
รูปที่ 4.5 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00970 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	45
รูปที่ 4.6 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF01370 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	46
รูปที่ 4.7 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF01870 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	47
รูปที่ 4.8 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02070 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.9 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF02170 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	49
รูปที่ 4.10 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF02270 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	50
รูปที่ 4.11 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF02370 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	51
รูปที่ 4.12 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF02470 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	52
รูปที่ 4.13 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF02770 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	53
รูปที่ 4.14 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF02870 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	54
รูปที่ 4.15 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF03070 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	55
รูปที่ 4.16 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF03270 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	56
รูปที่ 4.17 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF03670 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	57
รูปที่ 4.18 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF03870 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	58
รูปที่ 4.19 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF03970 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	59
รูปที่ 4.20 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF04170 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	60
รูปที่ 4.21 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF04670 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	61
รูปที่ 4.22 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF05070 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	62
รูปที่ 4.23 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินไอโซเลท SF05270 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.24 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF05570 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	64
รูปที่ 4.25 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF05670 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	65
รูปที่ 4.26 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF05970 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	66
รูปที่ 4.27 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF06270 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	67
รูปที่ 4.28 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF06570 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	68
รูปที่ 4.29 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF07070 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	69
รูปที่ 4.30 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF07270 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	70
รูปที่ 4.31 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF07470 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	71
รูปที่ 4.32 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF08000 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	72
รูปที่ 4.33 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF08100 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	73
รูปที่ 4.34 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF08500 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	74
รูปที่ 4.35 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF10600 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	75
รูปที่ 4.36 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF11070 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	76
รูปที่ 4.37 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF11670 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	77
รูปที่ 4.38 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมไอโซเลท SF11770 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.39 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF11870 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	79
รูปที่ 4.40 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF12900 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	80
รูปที่ 4.41 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF13000 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	81
รูปที่ 4.42 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF13500 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	82
รูปที่ 4.43 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14370 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	83
รูปที่ 4.44 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14800 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	84
รูปที่ 4.45 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14900 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	85
รูปที่ 4.46 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BT04310 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	86
รูปที่ 4.47 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BT00410 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	87
รูปที่ 4.48 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BT00510 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	88
รูปที่ 4.49 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BT00310 ที่เจริญบนอาหาร International <i>Streptomyces</i> Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน.....	89
รูปที่ 4.50 เชื้อแบคทีเรีย <i>Ralstonia solanacearum</i> จากกรมอารักขาพืช.....	92
รูปที่ 4.51 แอกติโนมัยสีทบางไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> โดยวิธี Agar plug diffusion.....	93
รูปที่ 4.52 กราฟแสดงฤทธิ์ของแอกติโนมัยสีทในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย <i>R. solanacearum</i>	95
รูปที่ 4.53 การทดสอบการสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย <i>R. solanacearum</i> โดยวิธี Agar disc diffusion.....	97
รูปที่ 4.54 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (PGP) บางไอโซเลท.....	99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ป่าชายเลน (Mangrove Forest) เป็นระบบนิเวศป่าทมน้ำเค็มที่พบได้ในเขตร้อน ส่วนใหญ่พบในเขตน้ำขึ้นน้ำลงของปากแม่น้ำ ลำคลอง ห้วย ทะเลสาบ บึง พื้นที่พืชพันธุ์ในป่าชายเลนเจริญเติบโต เรียกว่า “ระบบนิเวศป่าชายเลน” ป่าชายเลนครอบคลุมพื้นที่ชายฝั่งทะเลหลายล้านเฮกตาร์ทั่วโลก (Sahoo *et al.*, 2009) ดินป่าชายเลนทำให้เกิดระบบนิเวศเฉพาะสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หลากหลายชนิด ซึ่งใช้ประโยชน์ในการย่อยสลายอาหารในสิ่งแวดล้อม และการผลิตสารทุติยภูมิที่มีความสำคัญทางเภสัชกรรม มีหลายปัจจัยที่ทำให้ระบบนิเวศป่าชายเลนเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ซึ่งทำให้เกิดการปรับตัวในกระบวนการสังเคราะห์ของจุลินทรีย์ นำไปสู่การสังเคราะห์ทางชีวภาพของสารที่ไม่เหมือนใคร (Palla *et al.*, 2018) ระบบนิเวศป่าชายเลนเป็นที่อยู่อาศัยของแอคติโนมัยสีทหลายชนิด แอคติโนมัยสีทของระบบนิเวศป่าชายเลนผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 122 ชนิด โดย 73 ชนิดได้รับการระบุว่า เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ และ 49 ชนิดยังไม่ได้ระบุชนิดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Retnowati *et al.*, 2017)

แอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเส้นใย และมีปริมาณเบส G และเบส C สูงในสารพันธุกรรม เชื้อชนิดนี้แพร่กระจายอย่างกว้างขวางทั้งในระบบนิเวศในน้ำ และบนบก ทั้งระบบนิเวศตามธรรมชาติ เป็นที่ทราบกันว่าสิ่งมีชีวิตชนิดนี้มีความสามารถในการผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ยาปฏิชีวนะ สารต้านเชื้อรา สารต้านไวรัส สารต้านมะเร็ง เอนไซม์และสารประกอบอื่นๆ ที่ใช้ในภาคอุตสาหกรรม และระบบนิเวศที่มนุษย์สร้างขึ้น และมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ (Katili and Retnowati, 2017) พบอาศัยอยู่ในดิน หรือในต้นพืช หรือเป็น saprophyte อยู่บริเวณรอบรากพืช แอคติโนมัยสีทได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากแบคทีเรียเหล่านี้ผลิตยาได้หลายชนิดและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ รวมถึงยาปฏิชีวนะ สารยับยั้งเอนไซม์ และเอนไซม์ มีการระบุและตีพิมพ์สารทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่า 22,000 ชนิด (รวมถึงยาปฏิชีวนะ) ปัจจุบันมีการใช้ยาปฏิชีวนะหลายชนิดในการแพทย์และการเกษตร และสารประกอบ 100-120 ชนิด รวมถึง streptomycin, erythromycin, gentamicin, vancomycin, ivermectin เป็นต้น ผลิตโดยแอคติโนมัยสีท (Jiang *et al.*, 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะเขือเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill. อยู่ในวงศ์ Solanaceae เป็นพืชที่นิยมปลูกกันอย่างมาก และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและอุตสาหกรรม แต่เกษตรกรส่วนใหญ่ประสบปัญหาที่ทำให้ผลผลิตของมะเขือเทศลดลง ปัญหาสำคัญที่สุดคือการระบาดของโรคในมะเขือเทศที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (ขจรพรรณ, 2555) โรคสำคัญที่พบเข้าทำลายมะเขือเทศ คือ โรคเหี่ยวเหี่ยว (wilt disease) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเข้าทำลาย พืชได้มากกว่า 200 ชนิด มักจะพบปัญหาของ การระบาดของโรคเหี่ยวเหี่ยว เมื่อพบการระบาดของโรคมีการใช้สารเคมีในการป้องกัน ในการลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธีชีวภาพ (biocontrol) เป็นวิธีที่น่าสนใจมีชีวิตต่าง ๆ รวมถึงจุลินทรีย์มาใช้เพื่อควบคุมเชื้อที่มีสาเหตุก่อโรคพืช (อรอุมา และ เบญจวรรณ, 2560) มีรายงานมากมายแสดงให้เห็นว่าแอคติโนมัยสีทมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น การผลิตฮอร์โมนการเจริญเติบโตของพืช phosphate solubilization, siderophores production (Suksaard *et al.*, 2017) indole 3-acetic acid (IAA) production, Hydrogen cyanide (HCN) production (Shrivastava *et al.*, 2015) และ ammonia production (Rattanakevil, 2020) โดยการศึกษาครั้งนี้จะมุ่งเน้นไปที่การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนบริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน และ ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี เพื่อทำการศึกษาลักษณะวิทยา ศึกษาความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือการสร้างสารทุติยภูมิของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุของโรคเหี่ยวเหี่ยวในมะเขือเทศ และการส่งเสริมการเจริญเติบโต Plant Growth Promoting (PGP)

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนบริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน และ ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี
- 2) เพื่อศึกษาแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ ได้แก่ *Ralstonia solanacearum*
- 3) เพื่อศึกษาความสามารถของแอคติโนมัยสีทในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ ด้วยวิธี Agar Plug diffusion และ วิธี Agar disc diffusion
- 4) เพื่อศึกษาฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญเติบโต (Plant growth promoting)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

- 1) เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ตัดแยกได้จากดินป่าชายเลนบริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน และ ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี
- 2) เพื่อศึกษาแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในมะเขือเทศ *Ralstonia solanacearum*
- 3) เพื่อศึกษาแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในมะเขือเทศด้วยวิธี Agar Plug diffusion และวิธี Agar disc diffusion
- 4) เพื่อศึกษาฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญเติบโต Plant Growth Promoting

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สามารถตัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทและจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลน บริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน และ ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี
- 2) สามารถศึกษาความสามารถของเชื้อแอคติโนมัยสีทในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ ได้แก่ *Ralstonia solanacearum*
- 3) สามารถศึกษาแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศโดยด้วยวิธี Agar Plug diffusion และ วิธี Agar disc diffusion
- 4) สามารถศึกษาความสามารถของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโต (Plant Growth Promoting)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ป่าชายเลน

ป่าชายเลน (Mangrove Forest) เป็นระบบนิเวศที่ให้ผลผลิตสูงซึ่งประกอบด้วยพืชไม้ที่มีลักษณะเฉพาะ และตั้งอยู่ในพื้นที่ชายฝั่งเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน ป่าชายเลนสร้างสภาพแวดล้อมที่เป็นดินเค็มที่มีลักษณะเฉพาะภายใต้อิทธิพลของกระแสน้ำที่มีดินโคลนเป็นโคลนเนื่องจากน้ำท่วมเป็นระยะ ระบบนิเวศป่าชายเลนมีความหลากหลายทางโภชนาการเนื่องจากอุดมไปด้วยสารอินทรีย์ ไนโตรเจน และกำมะถัน ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ ดังนั้นจึงเชื่อว่าระบบนิเวศป่าชายเลนมีศักยภาพในการเป็นแหล่งกักเก็บใหม่สำหรับแอกติโนมัยสีทที่มีความหลากหลายสูง (Zainal Abidin *et al.*, 2015) พันธุ์ไม้ที่มีมากในป่าชายเลน คือ ไม้โกงกาง ในระบบนิเวศป่าชายเลนประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิต สิ่งไม่มีชีวิตประกอบไปด้วย พวกธาตุอาหาร เกลือแร่ น้ำ พวกซากพืช ซากสัตว์ ยังรวมไปถึงสภาพภูมิอากาศ เช่น อุณหภูมิ แสง ฝน ความชื้น เป็นต้น และ สิ่งมีชีวิต ประกอบด้วย ผู้ผลิต ผู้บริโภค และผู้ย่อยสลาย ผู้ผลิตในที่นี้หมายถึงสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์แสงเองได้ ได้แก่ พืชพันธุ์ไม้ต่างๆ ในป่าชายเลน ผู้บริโภค คือ สิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ต้องพึ่งพาอาศัยพวกอื่น ได้แก่ พวกสัตว์หน้าดินขนาดเล็ก เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ ปู ไส้เดือนทะเล และสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ เช่น ปลา กุ้ง ปู รวมไปถึง นก สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลื้อยลูกด้วยนม ซึ่งบางชนิดเป็นพวกกินอินทรีย์สารบางชนิดเป็นพวกกินพืช บางชนิดเป็นพวกกินสัตว์และบางชนิดเป็นพวกที่กินทั้งพืชและสัตว์ ส่วนประกอบของสิ่งมีชีวิตที่สำคัญในระบบนิเวศป่าชายเลนอีกอย่าง คือ ผู้ย่อยสลาย ซึ่งหมายถึง พวกจุลินทรีย์ทั้งหลายที่ช่วยในการทำลายหรือย่อยสลายซากพืชและซากสัตว์ให้เน่าเปื่อย ผุพัง จน ในที่สุดจะสลายตัวเป็นธาตุอาหารและปุ๋ย ซึ่งสะสมเป็นแหล่งอาหารในดินเพื่อเป็นประโยชน์ต่อ ผู้ผลิตต่อไป ซึ่งได้แก่ รา แบคทีเรีย ในป่าชายเลนผู้ย่อยสลายยังรวมถึง ปูและหอยบางชนิดด้วย (คลังความรู้ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556) ผลผลิตภัณฑจากธรรมชาติยังคงเป็นแหล่งยาปฏิชีวนะที่สำคัญที่สุด สารประกอบที่ได้จากทะเลมีประสิทธิภาพมากกว่าในการต่อต้านเชื้อโรคที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่มีอยู่ (Mangamuri, U. K. *et al.*, 2012) พืชในป่าชายเลน สิ่งมีชีวิตกลุ่มที่มีความสำคัญในการผลิตอาหารนั้น คือ กลุ่มของพืชในป่าชายเลนมีหลายชนิด เช่น ไม้ยืนต้น เอพิไฟท์ เถาวัลย์และสาหร่าย เป็นต้น โดยส่วนใหญ่จะเป็นพันธุ์ไม้ที่ไม่ผลัดใบและเป็นพืชที่เป็น พวกทนต่อความเค็มได้ดี ป่าชายเลนสามารถแบ่งที่อยู่อาศัย ของสัตว์ได้เป็น 6 ประเภท คือ บริเวณผิวน้ำดิน บริเวณอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในดิน บริเวณแอ่งน้ำ บริเวณร่องน้ำ บริเวณ โพรงไม้และกิ่งไม้ที่มีน้ำขัง และบริเวณพุ่มไม้และส่วนต่าง ๆ ของต้นไม้ (พิรดาว และคณะ, 2560)

2.1.1 ลักษณะดินป่าชายเลน

ในป่าชายเลน ดินเป็นปัจจัยหนึ่งที่จำกัดความเจริญเติบโตและการกระจายของพันธุ์ไม้ ดินในป่าชายเลนเกิดจากการทับถมของตะกอนที่เกิดจากการกัดเซาะชายฝั่งแม่น้ำ หรือการพังทลายของดินบนภูเขาที่ไหลมาตามแม่น้ำ ลำน้ำ และการตกตะกอนของสารแขวนลอยในน้ำลักษณะของตะกอนดินที่ทับถมในบริเวณชายฝั่งและป่าชายเลน จึงแตกต่างกันตามลักษณะต้นกำเนิดของตะกอน เช่น ตะกอนจากแม่น้ำ ลำคลองจะเป็นดินโคลนละเอียด ถ้าเป็นตะกอนจากชายฝั่งจะเป็นทราย (สนิท, 2541)

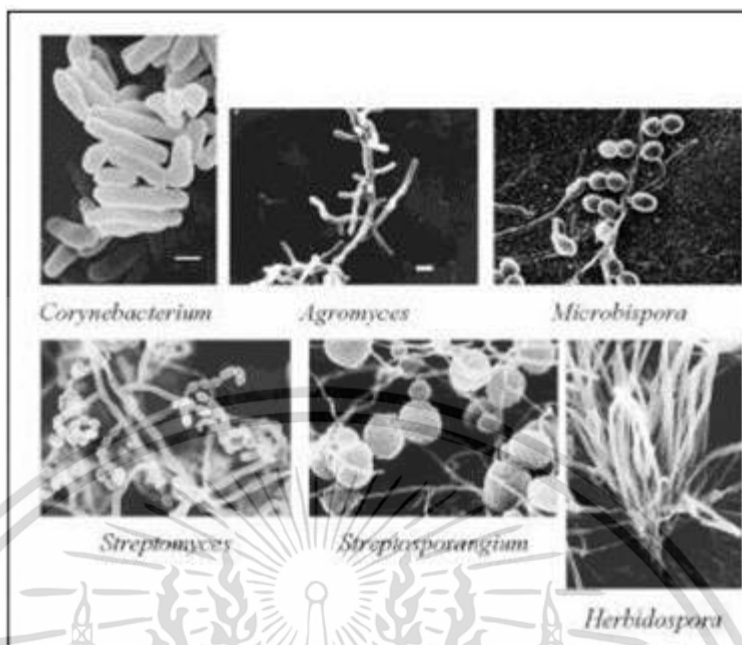
ดินป่าชายเลนมีความแตกต่างจากดินป่าชนิดอื่นๆ มาก คือ เป็นดินที่มีการระบายน้ำเลว เค็ม มีออกซิเจนต่ำ เนื้อละเอียด และมีอินทรีย์วัตถุสูงมาก ดินป่าชายเลนจะอยู่ในวัฏจักรของน้ำขึ้นและน้ำลง คือ ถูกน้ำท่วมเมื่อน้ำขึ้นและไหลรับแสงเมื่อน้ำลง ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินส่วนใหญ่มาจากการผุสลายของอินทรีย์สาร ซึ่งเป็นผลผลิตของป่าชายเลนเอง การผุสลายจะเป็นไปอย่างช้า ๆ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรดเล็กน้อยโดยจุลินทรีย์ต่าง ๆ เช่น แบคทีเรีย รา และอาจรวมถึงสาหร่ายด้วย (สรายุทธ และรุ่งสุริยา, 2554) นอกจากนี้ ยังมีส่วนในการจำกัดการเจริญเติบโตและการกระจายของพรรณไม้และสัตว์ในป่าชายเลน เช่น ไม้โกงกางใบใหญ่ จะขึ้นได้ดีในดินเลนค่อนข้างลึก ไม้แสมทะเลและไม้พังกาหัวสุ่ม สามารถขึ้นได้ดีในพื้นที่ดินเลนปนทราย เป็นต้น (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556)

2.2 แอคติโนมัยสีท

2.2.1 ลักษณะทั่วไปของแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างไม่แน่นอน ตั้งแต่ทรงกลมจนถึงรูปร่างท่อน มีรูปร่างที่แตกแขนงเป็นเส้นสาย หรือหักเป็นท่อน ส่วนใหญ่สร้างเส้นใยแตกแขนงเป็นกิ่งก้าน (รูปที่ 2.1) ส่วนใหญ่สร้างเส้นใย 2 ชนิด คือ เส้นใยอากาศ และเส้นใยอาหาร หรืออาจพบแค่เส้นใยอาหาร โดยเส้นใยอาหารจะเจริญบนผิวอาหารก่อนและแทงเส้นใยเข้าไปในอาหาร เมื่อโคโลนีเจริญขึ้น เส้นใยอากาศจะเกิดขึ้นภายหลังและยื่นไปในอากาศ เพื่อทำหน้าที่หลัก คือ สืบพันธุ์ แอคติโนมัยสีทสามารถสร้างสปอร์ได้ทั้งบนเส้นใยอากาศและเส้นใยอาหาร บางชนิดมีการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า โคนิดิโอสปอร์ ไปจนถึงสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้และอยู่ภายในถุงหุ้มสปอร์ (สุจรรยา, 2556; Lechevalier and Pine, 1974; Mendez *et al.*, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

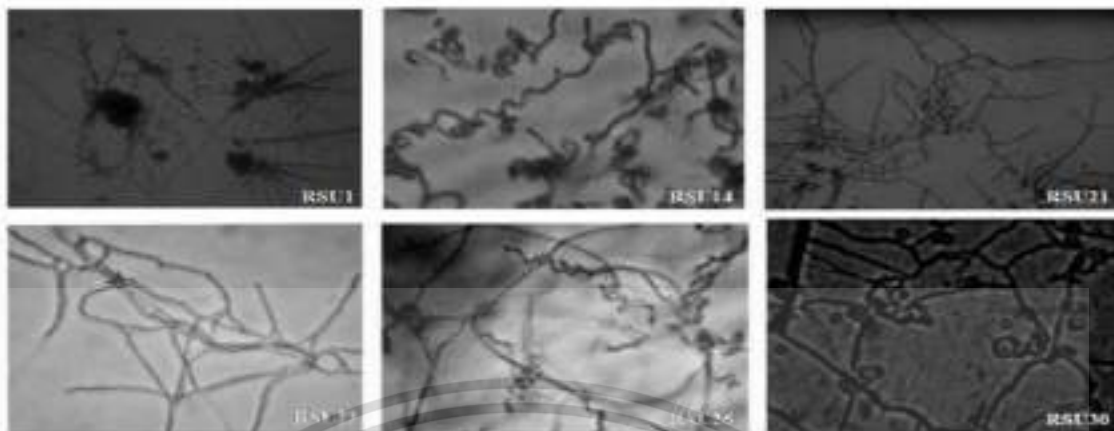


รูปที่ 2.1 ตัวอย่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลายของแอกติโนมัยซีท (Miyadoh, 1993; สุจรรยา, 2556)

2.2.2 ลักษณะการสร้างเส้นใย

แอกติโนมัยซีทมีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายเชื้อราแต่มีขนาดเล็กกว่า คือมีขนาดประมาณ 0.5 - 1.5 ไมโครเมตร แอกติโนมัยซีทส่วนใหญ่มีการสร้างเส้นใย 2 ชนิด คือเส้นใยที่ยึดเกาะกับซับสเตรท (primary (substrate) mycelium) และเส้นใยที่ยืนไปในอากาศ (secondary (aerial) mycelium) ใน *Streptomyces* spp. (รูปที่ 2.2) เส้นใยที่ยึดเกาะกับซับสเตรทมีลักษณะต่างจากเส้นใยที่ยืนไปใน อากาศอย่างชัดเจน คือเส้นใยที่ยืนไปในอากาศจะมีลักษณะของเส้นใยที่บางกว่าเส้นใยที่ยึดเกาะกับซับสเตรท เส้นใยที่ยืนไปในอากาศมักจะมีสีเข้ม ที่ผนังหุ้มชั้นนอกปรากฏเป็นสีเทาเมื่อมีการสะท้อนแสง มีการแตกสาขา (branching) น้อยกว่าเส้นใยที่ยึดเกาะกับซับสเตรทและลักษณะของเส้นใยที่ยืนไปในอากาศส่วน ใหญ่จะ ไม่มีการเจริญแบบแทงลงไปในการเลี้ยงเชื้อ มีการสร้างสปอร์และมีการแตกหักเป็นท่อนๆ (fragmentation) ของเส้นใยและผนังของเส้นใยมีคุณสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) (สุจรรยา, 2556; Miyadoh Shinji, 1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



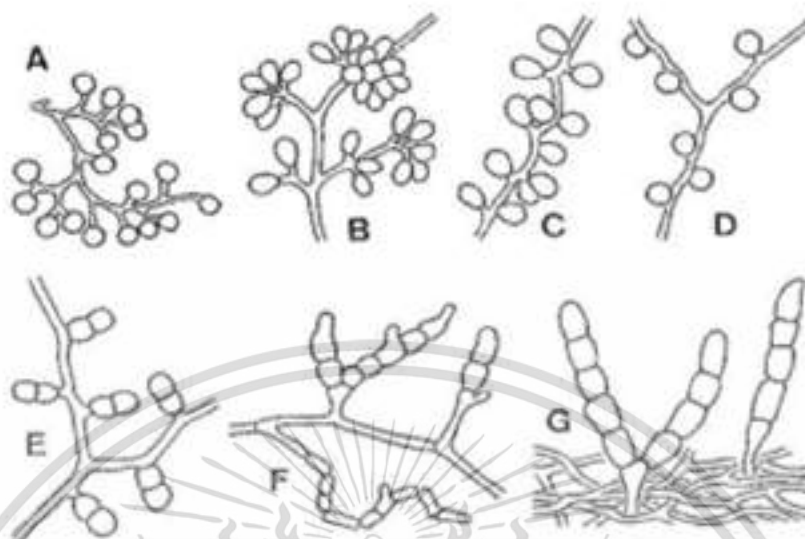
รูปที่ 2.2 ลักษณะเส้นใย และสายสปอร์ ของ *Streptomyces* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Sathya and Ushadevi, 2014)

2.2.3 การสร้างสปอร์ของแอกติโนมัยสีท

แอกติโนมัยสีทที่เจริญเติบโตถึงระยะหนึ่ง ซึ่งแตกต่างในเส้นใยอากาศ สามารถสร้างเส้นใยสืบพันธุ์ที่เรียกว่าไมซีเลียที่มีสปอร์ การสร้างสปอร์ประเภทนี้เกิดขึ้นในสกุลแอกติโนมัยสีทที่เรียส่วนใหญ่ จากการสังเกตสายสปอร์สามารถแบ่งออกได้ทางสัณฐานวิทยาตามความยาวและจำนวนสปอร์มีการสร้างสปอร์เดี่ยวสายสั้น และสปอร์สายยาว (รูป 2.3 และ รูปที่ 2.4) ความยาวสายโซ่สปอร์ของแอกติโนมัยสีท รูปร่าง ตำแหน่ง สี เป็นพื้นฐานสำคัญในการจำแนกประเภท (Li *et al.*, 2016)

การสร้างสปอร์เดี่ยว (Single spore) (รูปที่ 2.3) การสร้างสปอร์ของแอกติโนมัยสีทในลักษณะนี้จะมีชื่อเรียกว่า monosporous สามารถพบได้ในหลาย ๆ สกุลของแอกติโนมัยสีท เป็นการสร้างสปอร์บนสายใยอาหาร จะพบก้านสปอร์เจริญเติบโตอยู่ บนเส้นใยของผิวอาหารในบางครั้งจะพบว่าอาจจะมีก้านหรือก้านที่เห็นจะมีลักษณะเป็นสั้น หรือจะมีการสร้างสปอร์บนเส้นใยเหนือผิวอาหารแบบไม่แตกกิ่งก้าน (กมลพรรณ และคณะ, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

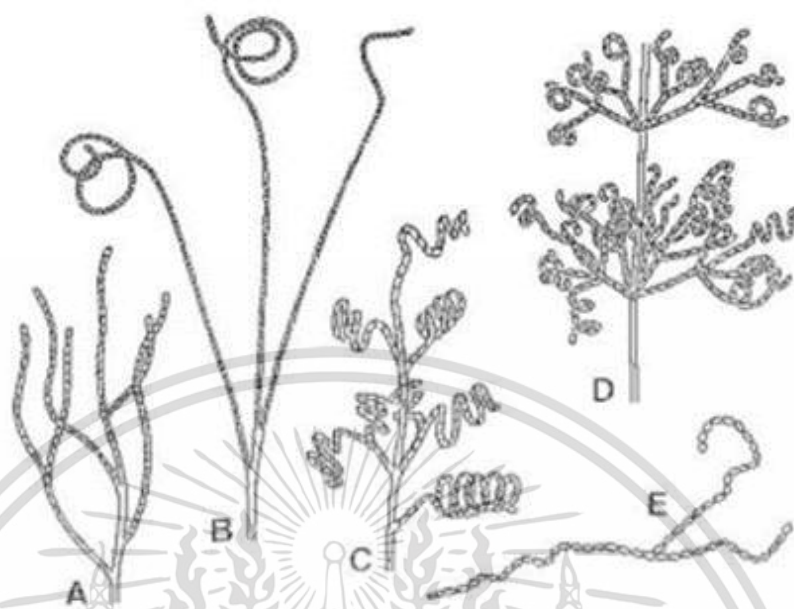


รูปที่ 2.3 การสร้างสปอร์เดี่ยวและสปอร์สายสั้น (Li *et al.*, 2016; Miyadoh *et al.*, 1997)

(A) *Micromonospora*, (B) *Thermomonospora*, (C) *Saccharomonospora*, (D) *Thermoactinomyces*. Disporous, (E) *Microbispora*. Oligosporous, (F) *Nocardia brevicatena*, (G) *Catellatospora*

การสร้างสปอร์แบบสายโซ่ยาว (Long chains) (รูปที่ 2.4) การสร้างสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสิท จะสร้างแบบสายโซ่ส่วนใหญ่ ซึ่งเกิดจากเส้นใยมีการแบ่งผนังเซลล์ออกเป็นย่อย ๆ การสร้างสปอร์แบบสายโซ่ควรดูจากจำนวนสปอร์หรือความยาวของสาย ลักษณะของสายสปอร์มีหลายลักษณะส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ หรือกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน สายสปอร์อาจมีรูปร่างหลากหลายอาจจะเป็นลักษณะสายสั้น ๆ สายสปอร์แบบตรง หรือ เส้นสายของสปอร์อาจเกิดการบิด (กมลพรรณ และคณะ, 2565; รัตนภรณ์ และคณะ, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



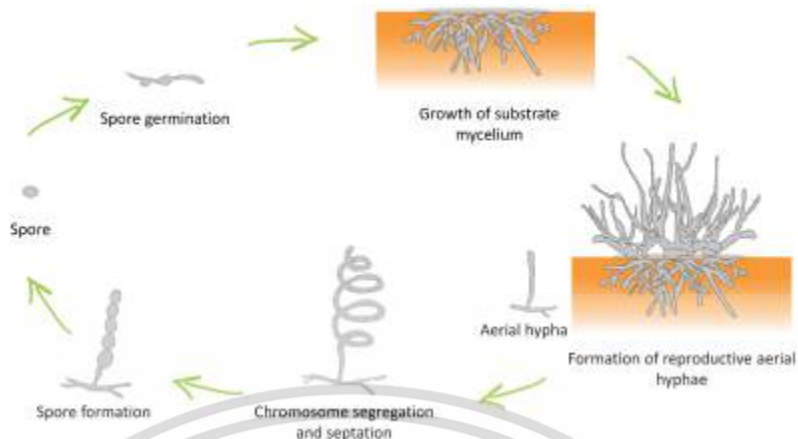
รูปที่ 2.4 การสร้างสปอร์สายยาว (Long Chains) (Li *et al.*, 2016; Miyadoh *et al.*, 1997):

(A) *Rectiflexibiles*, (B) *Retinaculiaperti*, (C) *Spira*, (D) *Verticillati*, (E) fragmenting branched aerial hyphae

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นลักษณะที่สำคัญในการระบุเชื้อแอคติโนแบคทีเรียที่แยกได้ ซึ่งใช้ในคำอธิบายแรกของสปีชีส์ของสเตรปโตมัยซิส (รูปที่ 3) ทำโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐานต่างๆ ถูกนำมาใช้ในการสังเกตทางสัณฐานวิทยาต่างๆ รวมถึงการงอกของสปอร์ การยึดตัวและการแตกแขนงของไมซีเลียมพืช การก่อตัวของไมซีเลียมในอากาศ สีของไมซีเลียมในอากาศและซบสเตรต และการผลิตเม็ดสี ถูกนำมาใช้เพื่อระบุแอคติโนแบคทีเรีย (Ranjani *et al.*, 2016)

สเตรปโตมัยซิสคือมีคุณสมบัติเด่นหลายประการที่สามารถอธิบายถึงเมแทบอลิซึมพหุதியภูมิที่ซับซ้อนได้ คุณสมบัติพิเศษอย่างหนึ่งของสเตรปโตมัยซิสคือวงจรชีวิตหลายเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาที่ซับซ้อน เมื่อสปอร์งอก พวกมันก็จะเติบโตโดยการขยายส่วนปลายและการพัฒนาของเครือข่ายของเส้นใยแตกแขนงที่เรียกว่าซบสเตรตไมซีเลียม (ระยะพืช) เริ่มต้นขึ้น เมื่ออายุมากขึ้น ไมซีเลียมหลายนิวเคลียสในอากาศจะก่อตัวขึ้น ซึ่งต่อมากจะมีการแบ่งเซลล์แบบซิงโครนัสซึ่งนำไปสู่การสร้าง monoploid ซึ่งแต่ละเซลล์จะแยกความแตกต่างออกเป็นสปอร์ที่เดี่ยว (ระยะการสร้างสปอร์ของการสืบพันธุ์) (รูปที่ 2.5) (Law *et al.*, 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 แผนผังแสดงวัฏจักรของสเตรปโตไมซีต

2.2.4 แหล่งที่อยู่อาศัยของแอกติโนมัยซีต

แอกติโนมัยซีตพบได้แพร่หลายในระบบนิเวศต่าง ๆ ทั่วโลก สามารถพบได้ในถิ่นอาศัยที่ต่างกัันทั้งในสภาพแวดล้อมปกติและสภาพแวดล้อมที่มีความรุนแรงต่าง ๆ (นฤมล และ คณະ, 2565) ทั้งในดิน ตะกอนแหล่งน้ำ ซากพืช และอากาศ (Moncheva *et al.*, 2002; Raja *et al.*, 2010) เชื้อแอกติโนมัยซีตที่พบส่วนใหญ่จะพบได้ในชั้นดินที่ลึกประมาณ 10 เซนติเมตร สามารถพบได้ในน้ำปุ๋ยหมัก หรือบริเวณรากพืช ปริมาณและชนิดของเชื้อที่พบขึ้นอยู่กับชนิด ลักษณะ ค่า pH คุณสมบัติทางกายภาพ และปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ดินที่มีลักษณะแห้ง และมีสภาพเป็นด่างจะพบเชื้อแอกติโนมัยซีตมากที่สุดต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด การกระจายตัวของแอกติโนมัยซีตหายาก (rare actinomycete) นั้นขึ้นอยู่กับชนิดของดิน ค่า pH ลักษณะของกรดฮิวมิก (humic acid) และปริมาณฮิวมัส (humus) ที่พบในดิน โดยดินที่ใช้เพาะปลูกจะพบปริมาณฮิวมัสสูง และมีค่า pH ประมาณ 6.5-7.0 ซึ่งดินลักษณะนี้พบปริมาณเชื้อมากที่สุด อุณหภูมิที่เหมาะสมส่วนใหญ่เป็นพวก mesophile อุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญ 25 – 30 องศาเซลเซียส แต่สามารถพบเชื้อนี้ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 50 – 65 องศาเซลเซียส (ลักษมี, 2556; Alexander, 1997; Hayakawa *et al.*, 1988; Cross, 1968)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 แอคติโนมัยส์จากดินป่าชายเลน

แอคติโนมัยส์ป่าชายเลนกลายเป็นจุดสนใจหลักในการค้นหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสภาพแวดล้อมที่รุนแรงสำหรับยา เป็นแหล่งสำคัญของผลิตภัณฑ์ยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ (Retnowati *et al.*, 2018) แอคติโนมัยส์ภายใต้สภาพแวดล้อมที่รุนแรง (อุณหภูมิสูง หรือต่ำมาก ค่า pH สูงหรือต่ำมาก ความเข้มข้นของเกลือสูง ฯลฯ) ได้รับความสนใจค่อนข้างน้อย สภาพแวดล้อมป่าชายเลนจึงเป็นแหล่งที่มีศักยภาพในการแยกแอคติโนมัยส์ที่สามารถผลิตยาปฏิชีวนะได้ สารประกอบยาปฏิชีวนะ-เบต้า-แลคโตนที่ไม่อิมตัวจาก *Streptomyces griseobrunneus* แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพในวงกว้าง นอกจากนี้ *Streptomyces* ยังสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้ด้วย (Sahoo and Dhal, 2009) แอคติโนมัยส์จากป่าชายเลนเป็นแหล่งเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติเหนือกว่าเชื้อชนิดอื่น เช่น ทรนความร้อน และมีความเสถียรในสภาพแวดล้อมที่เป็นด่าง เป็นต้น ป่าชายเลนยังคงเป็นแหล่งที่มีแนวโน้มที่สามารถเจอเชื้อแอคติโนมัยส์ชนิดใหม่ ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์พิเศษที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม (Swarna and Gnanadoss, 2020)

2.2.6 บทบาทและความสำคัญของแอคติโนมัยส์

แอคติโนมัยส์เป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญ ที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น ยาปฏิชีวนะต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา รวมถึงยาด้านไวรัส ที่มีความสำคัญทางการแพทย์และ ทางเภสัช นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถผลิตสารฆ่าแมลง รวมไปถึงสารต้านมะเร็ง และสารกดภูมิคุ้มกัน สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพส่วนใหญ่ถูกสร้างขึ้นโดยแอคติโนมัยส์สกุลสเตรปโตมัยส์ เช่น penicillin-N และ ampicillin ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียสเตรปโตมัยซินที่ผลิตโดย *S. griseus* และ neomycin ที่ผลิตโดย *S. fradiae* ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหลายชนิด (Goodfellow *et al.*, 1988; Lazzarini *et al.*, 2000) ฐานข้อมูลของ Antibiotic Literature Database (ABL) รายงานว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ สร้างโดยจุลินทรีย์ทั้งหมด 23,000 ชนิด พบว่ามาจากเชื้อรามากถึง 42 เปอร์เซ็นต์ สเตรปโตมัยส์ 32.1 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียอื่นๆ 10.8 เปอร์เซ็นต์ และแอคติโนมัยส์สายพันธุ์ที่หายากอีก 15.1 เปอร์เซ็นต์ (Lazzarini *et al.*, 2000) มีการใช้แอคติโนมัยส์ควบคุมเชื้อก่อโรคในพืช เช่น การใช้ *Streptomyces lydicus* WYEC108 สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสที่มีสมบัติในการต่อต้านเชื้อรา จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้ใน การควบคุมราก่อโรคพืชอย่างกว้างขวาง นอกจากเอนไซม์ไคติเนสแล้ว เชื้อชนิดนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังสามารถสร้าง สารต่อต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชชนิดที่ทำให้เกิดโรครักบราก และเมล็ดของพืช (Mahadevan and Crawford, 1997)

2.3 มะเขือเทศ

มะเขือเทศ (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Lycopersicon esculentum* Mill. อยู่ในวงศ์ Solanaceae) เป็นพืชที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหาร มะเขือเทศมีปริมาณวิตามินซีประมาณส้มโอครึ่งผล มะเขือเทศผลหนึ่งจะมีวิตามินเอ 1 ใน 3 ที่ร่างกายต้องการในหนึ่งวัน นอกจากนี้มะเขือเทศยังมี โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียมและแร่ธาตุอื่นๆ อีกหลายชนิด ความสำคัญของมะเขือเทศที่มีต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะปัจจุบันผู้ที่มีความต้องการมะเขือเทศผลเล็ก หลากหลายสายพันธุ์ ที่นอกจากมีผลผลิตที่มีคุณภาพการบริโภคที่ดีแล้วยังต้องการความหลากหลายในด้าน สีสัณอีกด้วย ทั้งนี้เพราะแต่ละสีประกอบไปด้วยสารสี (Pigments) ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น สีแดงมี สารไลโคพิน (Rein *et al.*, 2006) สีเหลืองมีสารเบต้าแคโรทีน (Zhang & Stommel, 2001) หรือสีม่วงบ่งบอกถึงการมีสารแอนโทไซยานิน (Farnham *et al.*, 2009)

มะเขือเทศสามารถเจริญเติบโตทางด้านลำต้น ใบ และออกดอกได้ดีตลอดทั้งปี แต่การติดผลของมะเขือเทศต้องการสภาพอากาศค่อนข้างเย็น อุณหภูมิกลางวันที่เหมาะสมอยู่ที่ระหว่าง 25 -30 องศาเซลเซียสอุณหภูมิกลางคืนประมาณ 16 - 20 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิกลางคืนสูงกว่า 22 องศาเซลเซียสจะทำให้มะเขือเทศไม่ติดผลหรือติดผลได้น้อยมาก ฝนและความชื้นสูงเป็นสาเหตุสำคัญทำให้โรคทางใบและทางรากระบาดรุนแรง ดังนั้นฤดูปลูกที่เหมาะสมที่สุดจึงอยู่ในช่วงฤดูหนาว (ณัฐกฤตา และคณะ, 2562)

2.3.1 โรคเหี่ยวเฉียวในมะเขือเทศ

โรคเหี่ยวเฉียว (wilt disease) (รูปที่ 2.6) เป็นปัญหาสำหรับการเพาะปลูกมะเขือเทศในเขตร้อน กึ่งร้อน และอบอุ่น โดยเชื้อมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง มีพืชอาศัยหลายชนิดทำให้เชื้อแพร่กระจายได้ดีและมีชีวิตอยู่ได้นาน ส่งผลให้การควบคุมโรคนี้ดำเนินการได้ยาก โรคเหี่ยวเฉียวทำความเสียหายต่อการผลิตมะเขือเทศในประเทศไทย 20-90 เปอร์เซ็นต์ (ณัฐญา และคณะ, 2564; Hayward, 1991) โรคเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในต้นมะเขือเทศ โรคเหี่ยวเฉียวเป็นโรคทางเดินที่สำคัญมากที่สุดโรคหนึ่งสามารถพบการระบาดในเกือบทุกพื้นที่ที่มีการปลูกมะเขือเทศในเขตอบอุ่น และกึ่งร้อน โดยเชื้อสาเหตุโรคนี้สามารถเข้าทำลายมะเขือเทศได้ทุกระยะการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตเชื้อจะเข้าสู่พืชได้ดีทางรอยแตกที่ราก (root rupture) ทุกจุดที่รากแขนงหรือรากขนก่อนแทงออกมาจากรากใหญ่ จะเกิดรอยเปิดเล็กๆ ตามธรรมชาติ เป็นช่องทางให้เชื้อเข้าสู่พืชได้ นอกจากนี้เชื้อสามารถเข้าสู่พืช โดยบาดแผลที่เกิดจากการย้ายต้นกล้า เมื่อเชื้อเข้าสู่รากพืชแล้วจะเข้าไปเจริญเติบโตในท่อลำเลียงน้ำ (xylem) และเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว โดยอาศัยอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์และภายในเซลล์พืช พร้อมทั้งผลิตสารเมือกเหนียวที่มีความหนืดสูง (slime) ซึ่งไปขัดขวางการเคลื่อนที่ของเหลวภายในท่อลำเลียง พืชจะเริ่มแสดงอาการที่ใบ และยอดจะเหี่ยวในช่วงกลางวันที่มีอากาศร้อน ใบล่างจะเหี่ยวห้อยลง ใบม้วนงอทั้ง ๆ ที่ยังเขียวอยู่ และจะพ่นในตอนกลางคืน หลังจากนั้นพืชจะเกิดการเหี่ยวแบบถาวรภายใน 2-3 วัน ถ้าเชื้อเข้าทำลายมะเขือเทศในระยะต้นกล้า อาการจะมีความรุนแรงมาก สามารถทำให้ต้นกล้าตายได้ เมื่อนำส่วนโคนของ ต้นที่เป็นโรคมารดัดดูตามขวางจะเห็นวงแหวนสีน้ำตาล หรือสีดำเป็นยางโดยรอบบริเวณท่อลำเลียง และเมื่อนำไปแช่น้ำสักครู่จะพบเมือกของเชื้อแบคทีเรีย (bacterial exudate) สีขาวขุ่นไหลออกมาจากรอยตัด (ภาวิณี, 2554; จานุกฤษณ์, 2541; Wang and Lin, 2005; ศศิธร, 2549)



ก

ข

รูปที่ 2.6 ต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคเหี่ยวเกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* (Patrice et al., 2009)

ก) อาการเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* แสดงการเหี่ยวของใบที่ปลายกิ่ง

ข) อาการเหี่ยวในต้นมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* แสดงการเหี่ยวของใบและต้นแคระแกร็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ลักษณะทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*

เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (รูปที่ 2.6) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น สามารถเคลื่อนที่ได้ (Hossain *et al.*, 2021) ชื่อเดิม *Pseudomonas solanacearum* พบระบาดในเขตอบอุ่นและเขตร้อนของโลก ระบาดมากใน เขตร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 30-35 องศาเซลเซียส และดินมีความชื้นสูง เชื้อสามารถเข้าทำลายพืชได้มากมายหลายชนิด ทั้งพืชเศรษฐกิจและวัชพืช เชื้ออาศัยอยู่ในดินและเศษซากพืชได้เป็นเวลานาน สามารถติดไปกับส่วนขยายพันธุ์และแพร่ระบาดไปกับน้ำได้เชื้อสาเหตุที่อยู่ ในดินเข้าทำลายพืชบริเวณราก โดยเข้าทางช่องเปิดธรรมชาติหรือบาดแผลที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์แมลง และไส้เดือนฝอย เป็นต้น (วนิดา, 2542) การป้องกันกำจัดโรคนี้นี้ทำได้ยากเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรครวมมีชีวิตรอดอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง พืชเศรษฐกิจหลายชนิด ที่เป็นพืชอาศัยของแบคทีเรียนี้ได้แก่ ขิง ปทุมมา พริก มันฝรั่ง พืชตระกูลมะเขือ เป็นต้น ยังไม่มี รายงานชนิดของสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรค มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขต กรรมและการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรค ซึ่งในการทดลองนี้เป็นการใช้วิธีการจัดการดินเพื่อลด ประชากรของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ก่อนปลูกขิง ร่วมกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ดินรakyat No.4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงปลูก เพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยว ของขิงและใช้เป็นคำแนะนำเพื่อถ่ายทอดให้กับเกษตรกรผู้ปลูกขิงต่อไป (ณัฐธิดา, 2552)



ก

ข

รูปที่ 2.7 สัณฐานวิทยาของโคโลนีและการย้อมแกรมของ *R. solanacearum* (Hossain *et al.*, 2021)

ก) สัณฐานวิทยาของโคโลนีของ *R. solanacearum*, ข) การย้อมแกรมของ *R. solanacearum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช (plant growth-promoting: PGP) ของแอกติโนมัยซี

2.4.1 การผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA)

กรดอินโดล-3-อะซีติก (Indole-3-acetic acid, IAA) เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน (Auxin) ซึ่ง IAA ถือเป็นออกซินที่พบมากที่สุด ในธรรมชาติ ถูกผลิตได้จากพืช และจุลินทรีย์ไม่ว่าจากเชื้อรา และแบคทีเรีย กรดอินโดลอะซีติกในพืชจะมีบทบาทสำคัญในการแบ่งเซลล์ การยืดตัว การพัฒนาผล และการชราภาพ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะมีส่วนช่วยในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตราก และมีส่วนช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุเข้าสู่ต้นข้าวอีกด้วย

แบคทีเรียหลายชนิดสามารถสังเคราะห์ IAA ได้ แบคทีเรียบางชนิดเป็นอันตรายต่อพืช ในขณะที่บางชนิดมีประโยชน์ต่อพืช มีแบคทีเรียที่ผลิต IAA ได้ เช่น *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, และ *Streptomyces* แบคทีเรียที่ผลิต IAA ได้สามารถกระตุ้นการสร้างรากขนในขณะที่ยังเพิ่มจำนวน และความยาวของรากด้านข้างและรากหลักเมื่ออยู่ในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นสูง แบคทีเรียยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากปฐมภูมิได้ รากที่ได้รับการพัฒนาจำเป็นสำหรับการดูดซึมน้ำและธาตุอาหาร และยึดต้นพืชไว้ในดิน IAA เป็นสารที่ส่งสัญญาณซึ่งกันและกันในปฏิกริยาระหว่างพืชและจุลินทรีย์ได้ประโยชน์ร่วมกัน (Duca *et al.*, 2014) แอกติโนมัยซีสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยการผลิตสารส่งเสริม เช่น กรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) ช่วยการเจริญเติบโตของรากหรือผลิตผลเพื่อปรับปรุงการดูดซึมสารอาหาร จากงานวิจัย (Khamna *et al.*, 2008) แอกติโนมัยซี 445 ไอโซเลท ที่แยกได้จากดินรอบรากของพืชสมุนไพรรวม 16 ชนิด ทำการทดสอบฤทธิ์การผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก 200 ไอโซเลท พบว่ามี 36 ไอโซเลทที่สามารถสร้างกรดอินโดล-3-อะซีติกได้

2.4.2 การละลายฟอสเฟต

ฟอสฟอรัส (Phosphorus) เป็นสารอาหารที่สำคัญในการเจริญเติบโตของพืช เป็นอันดับสองรองจากไนโตรเจน เนื่องจากสารประกอบอนินทรีย์ฟอสเฟตและออร์กาโนฟอสเฟต (ไฟเตต) เป็นสารที่ซับซ้อนและยังคงไม่สามารถใช้ได้กับพืช จุลินทรีย์ในดินสามารถปล่อยฟอสเฟตอิสระจากการยึดเกาะโดยกลไกต่างๆ รวมทั้งการทำให้เป็นกรดโดยการผลิตกรดอินทรีย์ เช่น กรดกลูโคนิก กรดซิตริก กรดซัคซินิก และกรดออกซาลิก การผลิตขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์บอน และวิธีการเผาผลาญจึงเรียกรดนี้ว่าเป็นตัวทำละลาย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสเฟต พืชสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสได้ในสองรูปแบบที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ โมโนเบสิก และ ไดบาซิก จุลินทรีย์สามารถละลายฟอสเฟตใน ดินอนินทรีย์ได้ เช่น แคลเซียมฟอสเฟต เหล็ก (III) ฟอสเฟต และ อะลูมิเนียมฟอสเฟต อย่างไรก็ตามพืชสามารถใช้ฟอสฟอรัสจากดินเฉพาะในรูปแบบอิสระเท่านั้น (คณิง กานต์, 2565; Khan *et al.*, 2009, Richardson and Simpson, 2011) จากงานวิจัย (Arusha *et al.*, 2017) ข้อมูลเกี่ยวกับแอกติโนมัยสัที่ละลายฟอสฟอรัสของสิ่งแวดล้อมทางทะเลมีอยู่น้อย จึงได้ออกแบบ การทดลองเพื่อศึกษาแอกติโนมัยสัที่ละลายฟอสฟอรัสในตะกอนของแม่น้ำ Vellar ได้คัดเลือกแอกติโนมัยสัจากตัวอย่างปุ๋ยหมักได้ทำการทดสอบการละลายฟอสเฟตบนอาหาร Pikovskaya's medium พบว่ามี 32 ตัวที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ และคัดเลือก 5 ไอโซเลท ไปศึกษาเพิ่มเติม

2.4.3 การผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์

ไฮโดรเจนไซยาไนด์สารทุติยภูมิผลิตขึ้นตามธรรมชาติโดยจุลินทรีย์ในดิน สารตั้งต้นสำหรับการผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ของจุลินทรีย์ไรโซสเฟียร์ คือกรดอะมิโนไกลซีน ซึ่งพบได้ทั่วไปในดินและสาร หลังจากราก ไฮโดรเจนไซยาไนด์รบกวนการหายใจของเซลล์ในเชื้อยูคาริโอต โดยการยับยั้งไซโตโครม คาร์บอนออกซิเดส ไนโมโตคอนเดรีย นอกจากนี้ยังจับและปิดการทำงานของโลหะโปรตีนอื่นๆ อีกหลาย ชนิด นอกจากนี้ไฮโดรเจนไซยาไนด์ยังมีความเป็นพิษในวงกว้างต่อเชื้อรา ไส้เดือนฝอย แมลง และพืช เนื่องจากความไวของกลุ่มฮีมในเซลล์ยูคาริโอตเป้าหมาย เมื่อเร็ว ๆ นี้ มีการใช้จุลินทรีย์ไรโซสเฟียร์ที่ผลิต ไฮโดรเจนไซยาไนด์เป็นสารควบคุมทางชีวภาพ *Pseudomonas* spp. ผลิตไซยาไนด์ ได้รับการพิสูจน์แล้วว่า มีประโยชน์ในการลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* (Sehrawat *et al.*, 2022) บทบาทของแอกติโนมัยสัในฐานะสารชีวภาพ หรือสารปกป้องพืชในผลผลิตทางการเกษตร สามารถปล่อยสารปฏิชีวนะ สารอินทรีย์ระเหยง่าย และ ไฮโดรเจนไซยาไนด์ สายพันธุ์แอกติโนมัยสัที่เรียบบางชนิดแสดงฤทธิ์ต่อต้าน *Fusarium oxysporum* โดยการผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ ไฮดรอกซามेट และ กรดอินโดล-3-อะซีติก (Oyedoh *et al.*, 2023)

2.4.4 การผลิตแอมโมเนีย

การสังเคราะห์ทางชีวโมเลกุลของจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องการไนโตรเจน จึงจะสามารถเจริญเติบโตได้และกระบวนการตรึงไนโตรเจนเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเปลี่ยนไนโตรเจนเป็นแอมโมเนีย แบคทีเรียบางชนิดใช้แอมโมเนียมในดินเป็นแหล่งพลังงานทำให้เกิดไนไตรต์เปลี่ยนเป็นไนเตรต และพืชก็สามารถเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปใช้ประโยชน์ได้ แบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างออกซิเจนได้เองจากไนเตรต วัฏจักรไนโตรเจนในธรรมชาติสมดุลด้วยปฏิกิริยาซึ่งเกิดโดยพืช และการย่อยสลายของแบคทีเรียเช่น *Streptomyces* สามารถรีดิวส์ไนเตรตให้เป็นไนโตรต์ได้ผลผลิตเป็นแก๊สไนโตรเจนกลับคืนสู่บรรยากาศ (รัชชา, 2565; Franche *et al.*, 2009) จาก (Nimnoi *et al.*, 2009) ได้ทำการทดสอบแอกติโนมัยสีทที่อาศัยอยู่ในพืชที่แยกได้สำหรับทดสอบการผลิตแอมโมเนีย พบว่ามี 10 ไอโซเลทที่สามารถผลิตแอมโมเนียได้ โดย *S. hainanensis* สามารถผลิตแอมโมเนียได้สูงที่สุด 60 mg/ml

2.4.5 การสร้างสารซิดิโรฟอร์

พืชไม่สามารถดูดซึมธาตุเหล็กได้โดยตรง จำเป็นที่จะต้องใส่สารที่ทำหน้าที่เป็นสารคีเลเตอร์ (Chelator) ซึ่งสารนั้นก็คือน้ำซิดิโรฟอร์ (Siderophore) เพื่อจับ Fe^{3+} และขนส่งสารนี้ภายในเซลล์แบคทีเรีย ประโยชน์ของซิดิโรฟอร์ช่วยในการดูดซึมธาตุเหล็กได้โดยตรง จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืช ประโยชน์โดยทางอ้อมคือช่วยส่งเสริมความสามารถในการยับยั้งสารก่อโรคจากพืชผ่านการกักเก็บธาตุเหล็กจากสิ่งแวดล้อม (คณิงกานต์, 2565; Schiwy and Neilands, 1987 ; Krewutak and Vogel, 2008) แอกติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่พบในดินและรวมถึงสกุลต่างๆ ที่ได้แสดงการสร้างซิดิโรฟอร์ สเตรบโตมัยซิสเป็นแอกติโนมัยสีทส่วนใหญ่ที่ผลิตไตรไฮดรอกซามาต ซิดิโรฟอร์บางชนิดที่รู้จักกันในชื่อเดสเฟอร์ริโอซามิน (Lee *et al.*, 2011; Imbert *et al.* 1995; Meiwes *et al.* 1990; Yamanaka *et al.* 2005)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โชติกา และคณะ, (2562) แยกเชื้อแอกติโนมัยสีทปลูกพืชที่มีความสามารถยับยั้งเชื้อรา *Bipolaris* sp. และ *Colletotrichum* sp. โดยเก็บดินบริเวณรอบรากพืช 3 ชนิดคือ กระจ่าง ดิปลากิ่ง และว่านหางจระเข้ จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จากการทดลองสามารถแยกแอกติโนมัยสีทได้จำนวน 23 ไอโซเลท และเมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราด้วยวิธี Dual culture พบว่า มีแอกติโนมัยสีท จำนวน 3 ไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อรา *Bipolaris* sp. ได้ และพบแอกติโนมัยสีทจำนวน 5 ไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ จากการระบุชนิดโดยการวิเคราะห์ยีนส่วน 16S rDNA ของไอโซเลท B08 และ B04 พบว่าแอกติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งได้ทั้ง 2 ไอโซเลทคือ *Streptomyces* sp. และ *Actinomadura* sp. ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นฤมล และคณะ, (2560) คัดแยกแอกติโนมัยสีทจากดินรังปลวกที่สร้างสารสีโดยคัดแยกแอกติโนมัยสีทจากดินรังปลวก พบแอกติโนมัยสีท จำนวน 97 ไอโซเลต นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อให้สร้างสารสี สกัดสี ย้อมโดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 นำมาย้อมสี เส้นใยไหมแล้วเทียบกับสีมาตรฐาน R.H.S. Standard Color Chart พบว่าแอกติโนมัยสีท 14 ไอโซเลต สามารถย้อมติดเส้นใยไหมได้ จำนวน 6 กลุ่ม สี คือกลุ่มสีชมพูบานเย็น กลุ่มสีเหลือง กลุ่มสีส้ม-โอรส กลุ่มสีส้ม กลุ่มสีม่วง กลุ่มสีแดง-ส้ม ทำการศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยสีท ที่ย้อมเส้นใยไหมที่ให้สีเข้มที่สุดจำนวน 6 ไอโซเลตคือ พบ เป็น แกรมบวก เส้นใยมีผนังกั้น มีการสร้างโคนเดี่ยวจำนวน 4-21 สปอร์บนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศ

Budhathoki and Shrestha, (2020) ได้ทำการแยกเชื้อแอกติโนมัยสีทจากดินในที่ต่าง ๆ ประเมินกิจกรรมต้านจุลินทรีย์ทำได้โดยการทดสอบขั้นแรกโดยวิธี Agar cup กับเชื้อแบคทีเรีย (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus*) กิจกรรมต่อต้านเชื้อแบคทีเรียได้รับการทดสอบกับ Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* และ Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* ไอโซเลตที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานที่มีประสิทธิภาพต่อ *Staphylococcus aureus* จากตัวอย่างดิน 15 ที่จาก 12 ที่ มีการแยกแอกติโนมัยสีทได้ 121 ไอโซเลต ในจำนวนนั้น 58 ไอโซเลต สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบอย่างน้อย 1 ตัวในการตรวจคัดกรองเบื้องต้น ผลการศึกษาค้นคว้านี้ เน้นถึงศักยภาพแอกติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง และความจำเป็นในการตรวจสอบเพิ่มเติมเพื่อให้ได้สารต้านจุลินทรีย์ชนิดใหม่จาก แอกติโนมัยสีทจากพื้นที่ต่างๆ ที่ยังไม่ได้สำรวจ

ทนายาท และคณะ, (2557) การศึกษาค้นคว้ามีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพด้านชีวภาพของเชื้อแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินป่าชายเลน เพื่อคัดเลือกเชื้อที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์และการผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคพืชในภาคเกษตรกรรม จากผลการทดลองคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยสีทได้จำนวน 90 ไอโซเลต โดยเชื้อแอกติโนมัยสีท จำนวน 10 ไอโซเลต สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคพืชได้ พบเชื้อแอกติโนมัยสีทจำนวน 9 สายพันธุ์ เป็นสกุล *Streptomyces* และอีกจำนวน 1 สายพันธุ์เป็นสกุล *Micromonospora* สรุปได้ว่า เชื้อแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากป่าชายเลนนี้เป็นเชื้อที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์ และการผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคพืชทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามการศึกษายอดในเรื่องคุณสมบัติ ของเอนไซม์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะเป็นประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ต่อไป

กรรณิการ์ และ อรินทิพย์, (2554) แยกแอกติโนมัยสีทจำนวนทั้งหมด 310 ไอโซเลต จากรากและดินรอบรากยางพาราโดยใช้อาหาร SCA ที่เติมยาปฏิชีวนะ ทำการทดสอบการสร้างซิเดโรฟออร์ของไอโซเลตทั้งหมด พบว่ามีแอกติโนมัยสีทจำนวน 110 ไอโซเลต (คิดเป็น 34.8%) สามารถสร้างซิเดโรฟออร์ได้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเมื่อ ทดสอบความสามารถของไอโซเลทที่คัดแยกได้ต่อการยับยั้ง *Corynespora cassiicola* และ *Phytophthora botryosa* ผลการทดลองพบว่ามีแอกติโนมัยสีทจำนวน 212 ไอโซเลท (คิดเป็น 68.4%) ยับยั้งการเจริญของราก่อโรคได้ทั้ง 2 ชนิด ยับยั้งราก่อโรคทั้ง 2 ชนิดได้สูงที่สุด

Gong B *et al.*, (2018) ได้คัดแยกแอกติโนมัยสีท 452 ไอโซเลทจากแหล่งต่างๆ เก้าแห่งที่เขต สวงวนป่าชายเลนทะเลมาเหว่ยในฉินโจว (มณฑลกลวงสี ประเทศจีน) แอกติโนมัยสีท 20 สายพันธุ์ (27%) แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่หลากหลายต่อสิ่งมีชีวิตที่ทำการทดสอบ 4 ชนิด รวมถึงสายพันธุ์ทางคลินิกที่ดื้อ ยา 2 สายพันธุ์ (MRSA และ VRE) ในขณะที่สเตรปโตมัยสีทบางสายพันธุ์ เช่น *S.sanyensis*, *S.viridobrunneus*, *S.tanashiensis* *S.parvus*, *S.flavotricini* และ *S.parvulus* แสดงกิจกรรมที่เป็น พิษต่อเซลล์ งานวิจัยแสดงให้เห็นว่าแอกติโนมัยสีทจากป่าชายเลนในเขตสวงวนป่าชายเลนทะเลมาเหว่ย เป็นแหล่งเก็บที่น่าสนใจสำหรับการค้นพบสารต้านแบคทีเรียและต้านเนื้องอก

Priyadarshini *et al.*, (2016) ได้คัดแยกแอกติโนมัยสีท 22 ตัวอย่างจากตัวอย่างดินต่างๆ ที่เก็บ ได้จากป่าชายเลน Bhitarkanika ตามแนวชายฝั่ง Odisha ประเทศอินเดีย เชื้อที่แยกได้เหล่านี้ถูกระบุว่า เป็น *Streptomyces* sp. จากเชื้อแอกติโนมัยสีททั้งหมด 22 สายพันธุ์ มีเพียง 4 สายพันธุ์เท่านั้น (BSA-5, BSA-10, BSA-11 และ BSA-15) ที่แสดงคุณสมบัติต้านจุลชีพที่มีนัยสำคัญในแง่ของฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในคน (*Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus brevis*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli*) เชื้อที่แยกได้ ทั้งหมดเหล่านี้แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ตีเยี่ยมในช่วง 14.0-22.0 มม. โดยเป็นบริเวณยับยั้งต่อเชื้อก่อโรคใน คนที่ศึกษาข้างต้นโดยมีฤทธิ์สูงสุดโดยเชื้อ BSA-11 ที่แยกได้ วิเคราะห์ลำดับยีน 16S rRNA การวิเคราะห์ BLAST ยืนยันว่า มีความคล้ายคลึงกันกับ *Streptomyces himastatinicus* แอกติโนมัยสีทชนิดใหม่ *Streptomyces himastatinicus* BSA-11 จาก Bhitarkanika มีความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ ทางชีวภาพที่มีศักยภาพซึ่งอาจเป็นแหล่งที่มีศักยภาพของยาต้านจุลชีพหลายอีกชนิด

ปัญหานัน, (2564) มะนาวเป็นพืชสกุลส้มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โรคที่พบในมะนาวมีสาเหตุ มาจากรา และแบคทีเรียโดยโรคแคงเกอร์เป็นโรคที่เป็นปัญหาสำคัญที่เกิดกับมะนาวมีสาเหตุมาจาก แบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (*X. axonopodis* pv. *citri*) เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้ สารประกอบคอปเปอร์ในการควบคุม กำจัดและลดการเกิดโรค ทำให้เกิดการต้านทานของเชื้อต่อ สารเคมี ที่ใช้การใช้วิธีการทางชีวภาพโดยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยเฉพาะแบคทีเรียรอบรากพืช กลุ่มของแอกติโนมัยสีท แบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมบวกอาศัยบริเวณรอบรากพืชและในพืชเป็นอีกทางเลือกที่เป็นไป ได้ในการควบคุมโรคเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีผลการนำเอาแอกติโนมัยแบคทีเรีย จำนวนทั้งหมด 22 ไอโซ เลกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลข จากห้องปฏิบัติการ MD330 มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ก่อโรคในพืชตระกูลส้ม พบว่า ไอโซเลท Bar 14 สามารถยับยั้งได้ดีที่สุด เมื่อนำน้ำเลี้ยงมาทดสอบด้วย วิธี Agar well diffusion พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อรา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *A. alternata* และ *Aspergillus* sp. และ แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *citri* 3 สายพันธุ์ ที่เป็นสาเหตุของโรคแคงเกอร์ในมะกรูด มะนาวและส้มโอ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 29.00 ± 0.00 , 26.67 ± 0.58 , 29.00 ± 0.00 , 26.67 ± 0.58 และ 24.33 ± 0.58 มิลลิเมตร ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดหยาบมาทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ

- 3.1.1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ A&D รุ่น GF-800
- 3.1.2. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น BINDER CONTROL E2
- 3.1.3. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) ยี่ห้อ FLEXLAB รุ่น BV4-04
- 3.1.4. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) 70 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ BINDER รุ่น FD115
- 3.1.5. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ WiseSpin® รุ่น CF-10
- 3.1.6. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Compound light microscope) ยี่ห้อ Nikon
- 3.1.7. เครื่องไมโครเวฟ (Microwave) ยี่ห้อ SHARP รุ่น R-222
- 3.1.8. ตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ SANDEN INTERCOOL
- 3.1.9. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex meter) ยี่ห้อ Scientific Industries SiTM รุ่น VORTEX GENIE 2
- 3.1.10. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น SevenCompact S220
- 3.1.11. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) รุ่น OrbitTM 1900 High Capacity Lab
- 3.1.12. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) รุ่น HV-25/50/85/110

3.2 อุปกรณ์

- 3.2.1. ปีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 3.2.2. ขวดคูดเรน (Duan) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
- 3.2.3. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.2.4. ปิเปตแก้ว (Measuring pipette)
- 3.2.5. หลอดทดลอง (Test tube)
- 3.2.6. จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.2.7 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
- 3.2.8 แผงแก้วรูปตัวแอล (Spreader glass)
- 3.2.9 กระจกปิดสไลด์ (Microscope slide)
- 3.2.10 กระจกสไลด์ (Microscope glass)
- 3.2.11 กระบอกลม (Cylinder)
- 3.2.12 กระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 (Filter paper Grade 1)
- 3.2.13 Centrifuge tube
- 3.2.14 Collection tube
- 3.2.15 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 200 ไมโครลิตร
- 3.2.16 ทิป (Tip)
- 3.2.17 เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper)
- 3.2.18 ลูกยาง (Rubber for pipette)
- 3.2.19 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)
- 3.2.20 ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)
- 3.2.21 เข็มเขี่ยเชื้อปลายแหลม (Needle)
- 3.2.22 ช้อนตักสาร (Spatula)
- 3.2.23 ที่วางหลอดทดลอง (Test tube rack)
- 3.2.24 ขวดแก้ว (Vial)
- 3.2.25 แผงแก้วคนสาร (Glass stirring rod)
- 3.2.26 มีดผ่าตัด (Scalpel)
- 3.2.27 สำลี (Cotton)
- 3.2.28 ไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (Cotton Swab Sterile)
- 3.2.29 ปากคีบ (Forceps)
- 3.2.30 หลอดหยดสาร (Dropper tube)
- 3.2.31 กระดาษฟรอยด์ (foil)
- 3.2.32 ขวดฉีดน้ำกลั่น
- 3.2.33 พาราฟิล์ม
- 3.2.34 กรวยแยก (Separatory funnel)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.35 เครื่องดูดความชื้น (Desiccator)

3.3 สารเคมี

3.3.1. Glucose ยี่ห้อ Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd

3.3.2. Yeast extract ยี่ห้อ JT group

3.3.3. Malt extract ยี่ห้อ CT&SCIENCE co., ltd.

3.3.4. Agar ยี่ห้อ Bioagars

3.3.5. Peptone ยี่ห้อ Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd

3.3.6. Beef extract ยี่ห้อ Univar

3.3.7. Dextrose

3.3.8. Distilled water

3.3.9. Glycerol

3.3.10. Iron (III) chloride (0.5 FeCl₃)

3.3.11. Perchloric acid (HClO₄ = 100.46) ยี่ห้อ QRëC

3.3.12. Potassium iodide (KI = 166.0028) ยี่ห้อ Carlo Erba

3.3.13. Mercury (II) iodide (Hgl₂ = 454.40) ยี่ห้อ Kemaus

3.3.14. Potassium hydroxide (KOH = 56.11) ยี่ห้อ Kemaus

3.3.15. Calcium phosphate ยี่ห้อ Himedia

3.3.16. Ammonium sulphate ยี่ห้อ Univar

3.3.17. Potassium chloride ยี่ห้อ Univar

3.3.18. Magnesium sulphate ยี่ห้อ Univar

3.3.19. Ferrous sulphate ยี่ห้อ SRL

3.3.20. Sodium chloride ยี่ห้อ Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd

3.3.21. Sodium hydroxide ยี่ห้อ Univar

3.3.22. Sodium carbonate (Na₂CO₃ = 105.9888) ยี่ห้อ Carlo Erba

3.3.23. Ferric Chloride Anhydrous ยี่ห้อ Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd

3.3.24. Picric acid (CH₂N₂O, = 229.1) ยี่ห้อ Merck Reagenzien

3.3.25. Lactophenol cotton blue

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.26. Methylene blue
- 3.3.27. Safranin
- 3.3.28. Immersion oil
- 3.3.29. Glycine a Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd
- 3.3.30. น้ำกลั่น (Distilled water)
- 3.3.31. แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- 3.3.32. เอทานอล (Ethanol)

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.4.1. Starch Casein Agar
- 3.4.2. International Streptomyces project no.2 (ISP2)
- 3.4.3. Nutrient Agar (NA)
- 3.4.4. Pikovskaya's Agar
- 3.4.5. Peptone broth
- 3.4.6. Mueller-Hinton Agar (MHA)
- 3.4.7. Chrome Azurol agar (CAZ)
- 3.4.8. International Streptomyces project no.2 (ISP2) 0.44% glycine
- 3.4.9. International Streptomyces project no.2 (ISP2) 0.2% tryptophan

3.5 เชื้อทดสอบจากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

- 3.5.1 *Ralstonia solanacearum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การเก็บตัวอย่างดิน และการคัดแยกเชื้อแอสคิโนมัยซิส

3.6.1 การเก็บตัวอย่างดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณป่าชายเลนในเขตพื้นที่สะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน (Lat 13°31'45"N; Longi 100°25'24"E) และศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี (Lat 12°23'42"N; Longi 99°58'59"E) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินมาจุดเก็บละ 10 ตัวอย่าง โดยใช้พลั่วขุดหลุมลึกระดับ 5-10 เซนติเมตร ทำการวัดค่าความเป็นกรดเบสของดิน แลอุณหภูมิโดยบันทึกตำแหน่งจุดที่เก็บ และค่าความเป็นกรดเบสที่วัดได้แต่ละจุด เก็บตัวอย่างละ 500 กรัม เก็บดินใส่ในถุงไม่ต้องรัดหนังยาง และนำตัวอย่างดินที่เก็บได้ใส่ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งแห้งเพื่อรักษาอุณหภูมิให้เย็น นำตัวอย่างมาทำการคัดแยกแบคทีเรียกลุ่มแอสคิโนมัยซิสในห้องปฏิบัติการ (คณิงานต์, 2558)

3.6.2 ขั้นตอนการแยกเชื้อแอสคิโนมัยซิส

เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 จากป่าชายเลนในเขตพื้นที่สะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน นำตัวอย่างดินมาตากทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 จากศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี ทำ 2 วิธี วิธีที่หนึ่งนำดินไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 15 นาที (Janaki *et al.*, 2016) และวิธีที่สองนำดินที่เก็บนำมาคัดแยกเชื้อโดยไม่ตากไว้ที่อุณหภูมิห้อง และไม่อบด้วยความร้อน จากนั้นนำมาบดในโกล่ง นำไปชั่ง 10 กรัม ใส่พลาสติกที่มีสารละลาย tween 80 ความเข้มข้น 0.1% (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าผสมกัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีให้ดินตกตะกอน จากนั้นเจือจางตัวอย่างจนถึงระดับ 10^{-4} ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 0.85% (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ดูดสารละลายที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-4} มา 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ย (spread) บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) (ภาคผนวก ก) 2 แบบ แบบแรกอาหารผสมน้ำทะเลจริง (อัตราส่วนน้ำกลั่นต่อน้ำทะเลจริง 1:1) แบบที่สองอาหารผสมน้ำทะเลเทียม (ความเข้มข้นร้อยละ 1.5) เติมนยาปฏิชีวนะ Nystatin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร ป่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 1-2 สัปดาห์ (เช็คราการเจริญของเชื้อที่แยกได้ทุกสัปดาห์) (ศรสวรรค์ และ สวรรส, 2561) นำตัวอย่างเชื้อที่ขึ้นที่มีลักษณะเป็นเชื้อกลุ่มแอสคิโนมัยซิส (หยาบ, เป็นผง, เนื้อสัมผัสเหมือนหนั๋ง, เส้นใยเป็นกระจุกไม่แผ่ออก) แยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยว ด้วยเทคนิคการ cross streak บนอาหาร International *Streptomyces*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Project no.2 (ISP2) (ภาคผนวก ก) บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส 7-14 วัน จนกระทั่งได้เชื้อแอสเพอร์จิลลินัมที่บริสุทธิ์ (Palla *et al.*, 2018)

3.6.3 การศึกษาการเจริญของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมในอาหาร International *Streptomyces* Project no.2 (ISP2) ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0, 1.5 และ 3

เชื้อแอสเพอร์จิลลินัมที่ลงบนอาหาร ISP2 ที่มีความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0, 1.5 และ 3 นำหนักต่อปริมาตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 7-14 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัม (ลักษมี, 2556)

3.6.4 การเก็บรักษาเชื้อแอสเพอร์จิลลินัม

แอสเพอร์จิลลินัมที่เลี้ยงไว้บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือร้อยละ 1.5 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส 7 ถึง 14 วัน จะถูกเก็บรักษาใน 20% สารละลายกลีเซอรอล (w/v) เก็บรักษาไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสเพื่อการเก็บรักษาเป็นเวลานาน (Rattanakevil, 2020; Waksman *et al.*, 1961)

3.7 การศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยา

นำเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมที่แยกได้จากข้อ 3.6.2 บนอาหาร International *Streptomyces* project no.2 (ISP2) ที่เติมเกลือร้อยละ 1.5 ทำการสังเกตลักษณะรูปร่างโคโลนี การสร้างสีของเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) เส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) และสีของสปอร์ เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน the ISCC-NBS system (Kelly, 1964; Rattanakavil and Klanbut, 2019) และ ดูการสร้างสปอร์ของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า ด้วยเทคนิค slide culture ย้อมสีเส้นใยด้วยสี lactophenol cotton blue (เพ็ญกวี และคณะ, 2564)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8 ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ (Antimicrobial activities)

3.8.1 การทดสอบกิจกรรมด้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศเบื้องต้น โดยใช้วิธี Agar plug diffusion

การเตรียมเชื้อแอกติโนมัยสีทเพื่อทดสอบการสร้างสารปฏิชีวนะใช้หว่านถ่ายเชื้อและเชื้อแอกติโนมัยสีทที่บริสุทธิ์แล้วลาก (Streak) ให้เต็มผิวหน้าอาหาร International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) และควรระมัดระวังอย่าให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้ออื่น บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ *Ralstonia solanacearum* ลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) (ภาคผนวก ก) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน (Athira and Anith, 2020) นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ปราศจากเชื้อ แล้วปรับให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลาย McFarland standard หมายเลข 0.5 (ภาคผนวก ข) ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ 1.0×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร จากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (Sterile swab) ชุบเชื้อที่แขวนลอยที่เตรียมไว้ แล้วทา (Swab) ลงบนอาหาร NA ให้ทั่วด้วยวิธีปลอดเชื้อ (Aseptic technique) ใช้คอร์กบอร์ (Cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อโดยการจุ่มแอลกอฮอล์แล้วลนไฟ รอกจนแห้งสนิทไม่ร้อนจัด จึงใช้เจาะเชื้อแอกติโนมัยสีทบนอาหาร ISP2 ที่เลี้ยงไว้ 10 วัน และใช้เข็ม (needle) จิ้มเชื้อมาวางบนอาหาร NA ที่ Swab เชื้อทดสอบไว้แล้ว โดยวางทางด้านล่างล่างข้างล่าง (รูปที่ 3.1) นำบ่มจานอาหารที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน แล้วตรวจผลการเกิดวงใสรอบขึ้นของเชื้อแอกติโนมัยสีท (คニングกานต์, 2565)



รูปที่ 3.1 การวางชิ้นส่วนของแอกติโนมัยสีทบนอาหาร ISP2 บนอาหาร NA ที่ทา (swab) เชื้อทดสอบแล้ว โดยวิธี Agar plug diffusion (คニングกานต์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8.2 การทดสอบกิจกรรมต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ โดยใช้วิธี Agar disc diffusion

การเตรียมหัวเชื้อและการสกัดสารทุติยภูมิจากน้ำหมักเชื้อแอสคิโนไมซีต เชื้อแอสคิโนไมซีตทุกไอโซเลทที่มีความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ดี นำมาเลี้ยงในอาหารเหลว ISP2 broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร บ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 14 วัน นำน้ำหมักเชื้อแอสคิโนไมซีตมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman หมายเลข 1 เพื่อแยกส่วนน้ำหมักกับเซลล์ออกจากกัน จากนั้นนำส่วนของน้ำหมักมาทำการสกัดโดยการเติมเอทิลอะซิเตท โดยเติมในอัตราส่วน 1:1 (V/V) ในกรวยแยก (Separatory funnel) ผสมสารในเข้ากัน ในกรวยแยก น้ำหมักที่ผสมกับตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทจะเห็นชั้นแยกสองส่วน นำชั้นตัวทำละลายที่มีสารประกอบสารทุติยภูมิ (ส่วนชั้นบน) รวบรวมแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยการระเหยแห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ นำสารที่ได้ใส่ในขวดแก้ว (vial) ที่ปราศจากเชื้อ นำไปเก็บไว้ในเครื่องดูดความชื้น (Desiccator) 2 คืน หรือจนกว่าเอทิลอะซิเตทระเหยไปหมด

นำเชื้อทดสอบ ได้แก่ *Ralstonia solanacearum* เลี้ยงบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง (ณัฐธิมา และคณะ, 2555) จากนั้นนำสำลีปลอดเชื้อเชียวโคลนีเชื้อมาผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ปราศจากเชื้อ แล้วปรับให้มีความชุ่มเท่ากับสารละลาย McFarland standard หมายเลข 0.5 ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ 1.0×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ โดยวิธี Agar disc diffusion โดยใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มเชื้อแขวนลอยเกลี่ย (Swab) บนอาหารแข็ง Mueller-Hinton Agar (MHA) (ภาคผนวก ก) ด้วยวิธีปราศจากเชื้อ (aseptic technique) ให้เชื้อทดสอบกระจายบนผิวอาหารอย่างสม่ำเสมอ และทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง โดยนำสารละลายของสารสกัดที่สกัดได้อยู่ในขวดแก้ว ทำการละลายสารด้วยสารละลายเมทานอล เตรียมความเข้มข้นสารสกัดให้มีความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร หยดลงบนแผ่น disc ทดสอบ 20 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นทดสอบซ้ำๆ รอให้แผ่นทดสอบแห้งสนิท จากนั้นนำแผ่นทดสอบมาวางลงบนอาหารที่ทา (swab) เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดบริเวณการยับยั้ง (Clear zone) (Rattanakevil, 2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9 การทดสอบคุณสมบัติและการผลิตสารส่งเสริมการเจริญในพืชของเชื้อแอคติโนมัยสีท (plant growth-promoting (PGP) activity)

เชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเฉียวมากที่สุด 10 ตัว นำมาทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (Indole-3-acetic production), การละลายฟอสเฟต (Phosphate solubilization), การผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ (Hydrogen cyanide production), การผลิตแอมโมเนีย (Ammonia production) และ การสร้างสารซิดิโรฟอร์ (Siderophore production)

3.9.1 การทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก Indole acetic acid (IAA) production

เชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้ในอาหาร ISP2 agar นำมาเลี้ยงในอาหาร ISP2 broth ที่เติม 0.2% tryptophan (ภาคผนวก ก) 100 มิลลิลิตรและนำไปบ่มที่ incubator shaker ที่ 180 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 10,000 รอบต่อนาที 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนใสของเหลวชั้นบน (supernatant) มาทดสอบกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA) โดยเติมสาร Salkowski's reagent (ภาคผนวก ข) ใน อัตราส่วน 2:1 ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบผลการผลิตกรดอินโดลแอซีติก โดยการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารจะปรากฏเป็นสีชมพู แสดงถึงการผลิตกรดอินโด-3-อะซีติก (IAA) (คณิงกานต์, 2565)

3.9.2 การละลายสารประกอบฟอสเฟต (Phosphate solubilization)

การทดสอบการละลายฟอสเฟตของเชื้อแอคติโนมัยสีท โดยนำเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงบนอาหาร ISP2 agar มาจุดลงบนอาหาร Pikovskaya's agar (ภาคผนวก ก) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นสังเกตการเกิด Clear zone เป็นวงรอบๆโคโลนีซึ่งบ่งบอกถึงการละลายของฟอสเฟตในอาหาร (Rattanakevil, 2020)

3.9.3 การผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ (Hydrogen cyanide (HCN) production)

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทมา Streak บนอาหาร ISP2 agar ที่เติม 0.44% glycine (ภาคผนวก ก) นำกระดาษกรอง Whatman filter paper หมายเลข 1 จุ่มสารละลาย 2% sodium carbonate ในสารละลาย 0.5% picric acid solution (ภาคผนวก ข) วางบนฝาเพลทด้านบนปิดด้วยพาราฟิล์ม บ่มที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ตรวจสอบผลการเปลี่ยนสีของกระดาษกรองเปลี่ยนเป็นสีส้มถึงสีแดง ให้ผลเป็นบวก แสดงถึงการผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Rattanakevil, 2020)

3.9.4 การผลิตแอมโมเนีย (Ammonia production)

การทดสอบการผลิตแอมโมเนีย นำเชื้อแอกติโนมัยสีทบนอาหาร ISP2 agar ลงในอาหาร Peptone water (ภาคผนวก ก) 10 มิลลิลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน หลังจากนั้นเติมสาร Nessler's reagent (ภาคผนวก ข) 0.5 มิลลิลิตร ตรวจสอบผลโดยการเปลี่ยนสีของอาหารเป็นสีน้ำตาลถึงสีเหลือง จะให้ผลทดสอบการผลิตแอมโมเนียเป็นบวก (Rattanakevil, 2020)

3.9.5 การสร้างสารซิดโรเฟอร์ (Siderophore)

ก่อนการเตรียมอาหารแข็ง Chrome Azurol S (CAS) เครื่องแก้วทั้งหมดที่ใช้เตรียมอาหาร ล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริก 6M (ภาคผนวก ข) เพื่อกำจัดแร่ธาตุต่างๆ ที่จะมารบกวนการอ่านผล แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่น

ใช้อาหาร ISP2 ที่ผสมสารละลาย Chrome Azurol S (CAS) (ภาคผนวก ก) นำเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลทที่เลี้ยงบนอาหาร ISP2 agar มาจุดหรือขีดสั้นๆลงบนอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน สังเกตจากการเปลี่ยนสีของอาหารที่เกิดขึ้น เป็นโซนใสสีเหลืองรอบๆโคโลนี ให้ผลเป็นบวก (คณิงานต์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยสีท

จากการเก็บตัวอย่างดินป่าชายเลน บริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน (Lat 13°31'45"N; Longi 100°25'24"E) วันที่ 9 ตุลาคม พ.ศ. 2565 และศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี (Lat 12°23'42"N; Longi 99°58'59"E) วันที่ 15 ธันวาคม พ.ศ. 2565 โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทั้งหมด จุดเก็บละ 10 ตำแหน่ง วัดค่าความเป็นกรดต่าง และอุณหภูมิ (ภาคผนวก ค) นำมาคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยสีท ดังวิธีการทดลองที่ 3.6.2 จนได้เชื้อแอกติโนมัยสีทบริสุทธิ์ จากบริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน จำนวน 4 ไอโซเลท และศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินีจำนวน 45 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 หมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอกติโนมัยสีทที่แยกได้จากบริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน 4 ไอโซเลท

จุดเก็บตัวอย่าง	หมายเลขไอโซเลท
จุดเก็บที่ 1	-
จุดเก็บที่ 2	BT00310
จุดเก็บที่ 3	-
จุดเก็บที่ 4	BT00410
จุดเก็บที่ 5	-
จุดเก็บที่ 6	BT00510
จุดเก็บที่ 7	-
จุดเก็บที่ 8	-
จุดเก็บที่ 9	-
จุดเก็บที่ 10	BT04310

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 หมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอกติโนมัยสัที่แยกได้จากศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชาย
 เลยสิรินาทรราชินี 45 ไอโซเลท

จุดเก็บตัวอย่าง	หมายเลขไอโซเลท
จุดเก็บที่ 1	SF00270, SF00470, SF00670, SF00870, SF00970, SF11070, SF12900
จุดเก็บที่ 2	SF01370
จุดเก็บที่ 3	SF13000
จุดเก็บที่ 4	SF01870, SF02070
จุดเก็บที่ 5	SF02170, SF02270, SF02370, SF02370
จุดเก็บที่ 6	SF02770, SF02870, SF03070, SF03270, SF11670, SF13500
จุดเก็บที่ 7	SF03670, SF03870, SF03970
จุดเก็บที่ 8	SF04170, SF04670, SF05070, SF05570, SF08000, SF08100
จุดเก็บที่ 9	SF05670, SF05970, SF06270, SF08500, SF14370, SF14800
จุดเก็บที่ 10	SF06570, SF07070, SF07270, SF07470, SF10600, SF11770, SF11870, SF14900

***หมายเหตุ: ตัวหนังสือสองตัวแรก คือ ชื่อย่อสถานที่เก็บตัวอย่าง
 ตัวเลขสามตัวแรก คือ ลำดับไอโซเลท
 ตัวเลขสองตัวสุดท้าย คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการอบดิน (* 10 คือ อบดินที่อุณหภูมิ 100
 องศาเซลเซียส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1 การศึกษาเชื้อแอกติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการเจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0, 1.5 และ 3

การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของเชื้อแอกติโนมัยสีทในอาหาร ISP2 ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0, 1.5 และ 3 ทำการตรวจผลโดยดูความเข้มข้นที่มีการเจริญดีที่สุดที่แอกติโนมัยสีทสามารถเจริญได้ (ตารางที่ 4.3)

เชื้อแอกติโนมัยสีท 49 ไอโซเลทที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลนบริเวณสะพานรัษฎาทะเลบางขุนเทียน และศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี ทำการศึกษาเชื้อแอกติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการเจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0, 1.5 และ 3 พบว่าเชื้อแอกติโนมัยสีทจะเจริญได้ดีถึงดีมากที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 1.5 และ 3 คิดเป็นร้อยละ 42.86, 91.84 และ 65.31 ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าเชื้อแอกติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนบริเวณสะพานรัษฎาทะเลบางขุนเทียน และศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือ โซเดียมคลอไรด์สามารถเจริญได้ดีถึงดีที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 1.5 และในสภาวะที่ไม่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์พบว่าเชื้อแอกติโนมัยสีทบางไอโซเลทจะเจริญได้น้อย (รูปที่ 4, ภาคผนวก ข) จากงานวิจัย (Kalimuthu *et al.*, 2022) ได้ทดสอบความทนเกลือของเชื้อแอกติโนมัยสีทจากทะเล บนอาหารที่ความเข้มข้นเกลือ 0%-10% พบว่าเชื้อเจริญได้ดีที่ความเข้มข้นเกลือ 0%-2% แต่สามารถทนเกลือได้ถึง 8% บางไอโซเลททนเกลือได้ 10% ในทำนองเดียวกันงานวิจัย (ศรสุวรรณค์ และ สวรรส, 2560) ได้ศึกษาเชื้อแอกติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลน 39 ไอโซเลท ที่มีความสามารถในการเจริญบนอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0.46, 1, 3 และ 5 ผลพบว่าเชื้อแอกติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนสามารถเจริญได้ดีถึงดีที่ความเข้มข้นเกลือ 0.46 และ 1 คิดเป็นร้อยละ 38.46 และ 33.33 ตามลำดับ



รูปที่ 4 ผลการเจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0, 1.5 และ 3 ของไอโซเลท SFF10610300 ก) อาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกลือ, ข) อาหาร ISP2 ที่เติม 1.5% NaCl, ค) อาหาร ISP2 ที่

เติม 3% NaCl
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการเจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 1.5 และ 3

หมายเลขไอโซเลท	ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)		
	0	1.5	3
SF00270	+++	+++++	++++
SF00470	++++	+++++	+++
SF00670	+++	+++	+++
SF00870	++	+++	+++
SF00970	+++	+++++	++++
SF01370	+++	+++++	++++
SF01870	+	+++++	++++
SF02070	+++++	+++	+++
SF02170	+	+++++	++++
SF02270	++++	+++++	+++++
SF02370	++	+++++	++++
SF02470	+	++++	+
SF02770	+++	+++++	+++
SF02870	+++	+++++	+++
SF03070	++++	+++++	++++
SF03270	+++	+++++	++
SF03670	+++++	+++++	+++++
SF03870	+++++	+++++	+++++
SF03970	+++++	+++++	+++++
SF04170	++	++++	+++
SF04670	+	+++++	++++
SF05070	++++	+++++	+++++
SF05270	+++	+++++	++++
SF05570	++	++++	++
SF05670	++++	++++	++++
SF05970	+++++	+++++	+++++
SF06270	+++++	+++++	+++++

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการเจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 1.5 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)		
	0	1.5	3
SF06570	+++++	+++++	++++
SF07070	++++	+++++	+++
SF07270	++++	+++++	++
SF07470	+	+++++	++++
SF08000	+++	++++	+++
SF08100	++++	+++++	++++
SF08500	+++	+++++	++
SF10600	++	++++	+++
SF11070	+	+	-
SF11670	++	++++	++++
SF11770	+++	+++++	+++++
SF11870	+++	+++++	+++
SF12900	+++	++++	++++
SF13000	++++	+++++	++++
SF13500	+++	++++	++++
SF14370	+++	+++++	++++
SF14800	++++	+++++	++++
SF14900	+++	+++++	+++++
BT04310	++++	+++++	+++++
BT00410	+++++	+++++	+++++
BT00510	+++++	+++++	+++++
BT00310	+++++	+++++	+++++

***หมายเหตุ: +++++ หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยสีทเจริญได้ดีมาก, ++++ หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยสีทเจริญได้ดี, +++ หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยสีทเจริญได้ปานกลาง, ++ หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยสีทเจริญได้น้อย, + หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยสีทเจริญได้น้อยมาก, - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยสีทเจริญไม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสโคไมซีต

จากการแยกเชื้อแอสโคไมซีตให้บริสุทธิ์บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl เป็นเวลา 7-14 วัน เพื่อตรวจสอบลักษณะการเจริญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ โดยสังเกตสีของเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial Spore Mass) และสีโคโลนีใต้เพลทอาหาร (Reverse Colony) สีของรงควัตถุที่ละลายน้ำโดยเทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (the ISCC-NBS color system) (Kelly, 1964; Rattanakavil and Klanbut, 2019) จากการสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอสโคไมซีต (ตารางที่ 4.4) และโคโลนีเดี่ยว (ตารางที่ 4.5) ทั้งหมด 49 ไอโซเลทพบว่าการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial Spore Mass) สี Light Olive Gray to White, Grayish Olive to White, White to Grayish Brown, White to Light Brownish Gray, Brownish Gray to White, White to Moderate Brown, White to Moderate Yellowish Brown, White to Deep Yellowish Brown, White to Greenish gray, White to Light yellowish pink, White to Light orange yellow และ Greenish white to White มีการสร้างโคโลนีด้านล่างเพลท (Reverse Colony) สี Strong Orange, Light Yellowish Brown, Vivid Reddish Orange, Light Olive Brown, Deep Yellowish Brown, Vivid Orange, Strong Reddish Brown, Deep Brown, Strong Yellowish Brown, Moderate Orange Yellow, Black, Dark reddish orange, Dark brown, Dark orange yellow, Brilliant orange yellow, Dark yellowish brown, Moderate yellow, Dark olive, Dark yellow, มีเพียง 16 ไอโซเลทที่สามารถสร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี Light Olive Brown ชนิดของสปอร์มีลักษณะเป็น Verticillati, Retinaculiaperti, Spiral และ Rectiflexibiles

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 49 ไอโซเลท บนอาหาร ISP2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

หมายเลข ไอโซเลท	(Aerial Spore mass)	(Reverse Colony)	สีรงควัตถุละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
SF00270	Light Olive Gray to White	Strong Orange	-	Verticillati
SF00470	Grayish Olive to White	Light Yellowish Brown	-	Spiral
SF00670	White	Vivid Reddish Orange	-	Retinaculiaperti
SF00870	White	Light Olive Brown	Light Olive Brown	Spiral
SF00970	Light Olive Gray to White	Strong Orange	-	Spiral
SF01370	Light Olive Gray to White	Strong Orange	-	Spiral
SF01870	Light Olive Gray to White	Strong Orange	-	Spiral
SF02070	White to Light Olive Gray	Light Olive Brown	-	Verticillati
SF02170	Light Olive Gray to White	Strong Orange	-	Spiral
SF02270	Brownish Gray to White	Deep Yellowish Brown	-	Rectiflexibiles
SF02370	White	Vivid Orange	-	Retinaculiaperti
SF02470	White	Strong Reddish Brown	Light Olive Brown	Verticillati
SF02770	White to Grayish Brown	Deep Brown	Light Olive Brown	Spiral
SF02870	White to Light Brownish Gray	Strong Yellowish Brown	-	Verticillati
SF03070	Brownish Gray to White	Strong Yellowish Brown	-	Rectiflexibiles

ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 49 ไอโซเลท ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	(Aerial Spore mass)	(Reverse Colony)	สีรงควัตถุละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
SF03270	White to Light Olive Gray	Deep Orange	-	Retinaculiaperti
SF03670	White to Moderate Brown	Moderate Orange Yellow	-	Spiral
SF03870	White to Moderate Yellowish Brown	Moderate Orange Yellow	-	Spiral
SF03970	White to Deep Yellowish Brown	Strong Yellowish Brown	-	Spiral
SF04170	White to Moderate Brown	Black	-	Rectiflexibiles
SF04670	Light Olive Gray to White	Strong Orange	-	Spiral
SF05070	Brownish Gray to White	Strong Yellowish Brown	-	Spiral
SF05270	Light Olive Gray to White	Strong Orange	-	Spiral
SF05570	White to Light Olive Gray	Black	Light Olive Brown	Spiral
SF05670	White to Greenish gray	Deep yellowish brown	Light olive brown	Verticillati
SF05970	Greenish gray to White	Dark reddish orange	-	Spiral
SF06270	White to Greenish gray	Dark brown	Light olive brown	Rectiflexibiles
SF06570	White to Light olive gray	Dark brown	Light olive brown	Verticillati
SF07070	White to Greenish gray	Dark orange yellow	-	Verticillati
SF07270	White to Greenish gray	Dark orange yellow	-	Verticillati

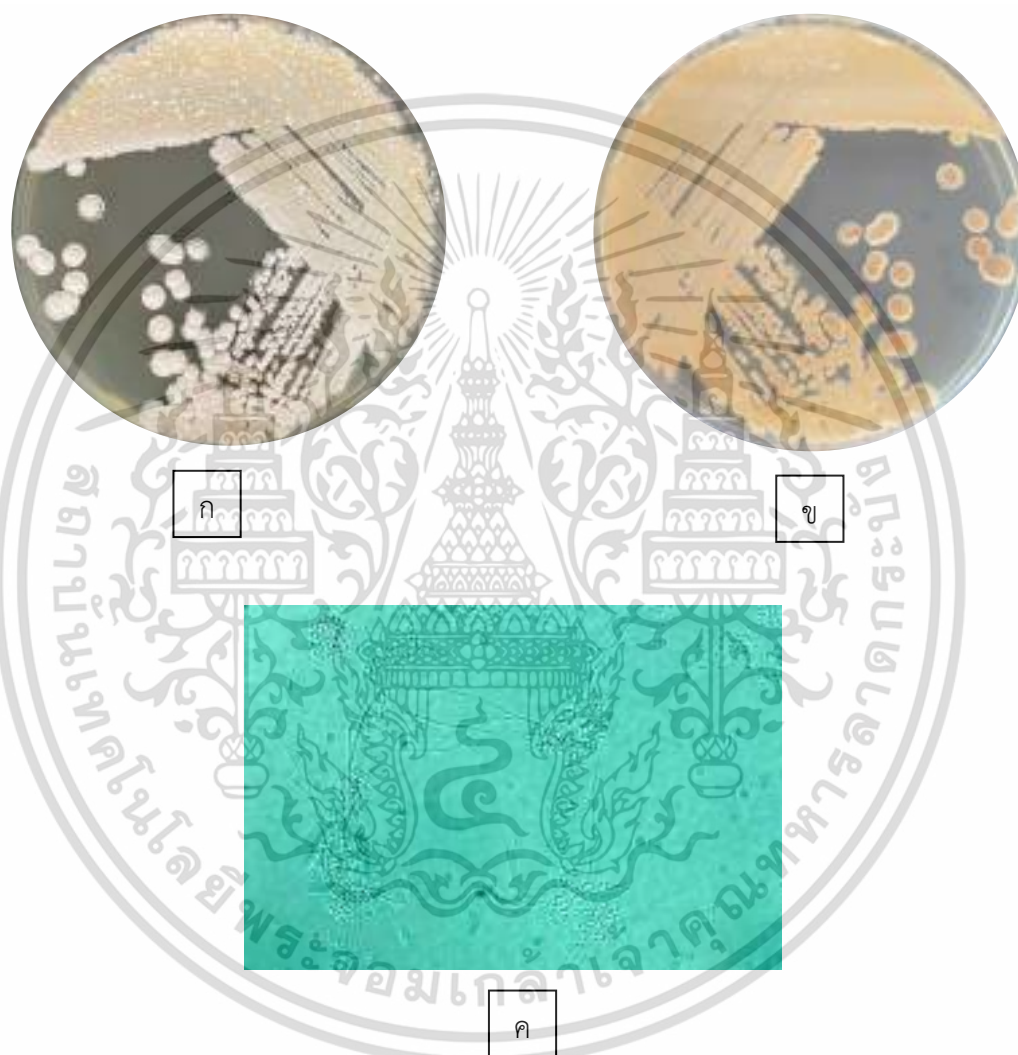
ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 49 ไอโซเลท ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	(Aerial Spore mass)	(Reverse Colony)	สีรงควัตถุละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
SF07470	White to Greenish gray	Dark orange yellow	-	Verticillati
SF08000	White to Light Olive Gray	Moderate reddish brown	-	Retinaculiaperti
SF08100	White to Greenish gray	Deep yellowish brown	Light olive brown	Verticillati
SF08500	White to Light yellowish pink	Brilliant orange yellow	-	Rectiflexibliles
SF10600	White to Greenish gray	Dark yellowish brown	Light olive brown	Spiral
SF11070	White	Moderate yellow	-	Verticillati
SF11670	White to Light orange yellow	Strong orange	-	Rectiflexibliles
SF11770	White to Greenish gray	Deep yellowish brown	Light olive brown	Rectiflexibliles
SF11870	White to Light Olive Gray	Moderate reddish brown	-	Retinaculiaperti
SF12900	White to Greenish gray	Dark olive	Light olive brown	Spiral
SF13000	White	Deep yellowish brown	Light olive brown	Rectiflexibliles
SF13500	White to Light Olive Gray	Moderate reddish brown	-	Retinaculiaperti
SF14370	White	Dark yellow	-	Verticillati
SF14800	White to Greenish gray	Deep yellowish brown	Light olive brown	Rectiflexibliles
SF14900	Greenish white to White	Strong yellowish brown	-	Retinaculiaperti

ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 49 ไอโซเลท ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	(Aerial Spore mass)	(Reverse Colony)	สีรงควัตถุละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
BT04310	White	Dark grayish yellow	-	Rectiflexibiles
BT00410	White to Greenish white	Strong yellowish brown	Light Olive Brown	Verticillati
BT00510	White to Greenish gray	Deep yellowish brown	Light Olive Brown	Verticillati
BT00310	White to Greenish white	Strong yellowish brown	Light Olive Brown	Verticillati

4.2.1 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00270 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลोनีด้านล่างสี Strong Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00270 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลอนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00470 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Grayish Olive to White โคลนிட้านล่างสี Light Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00470 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

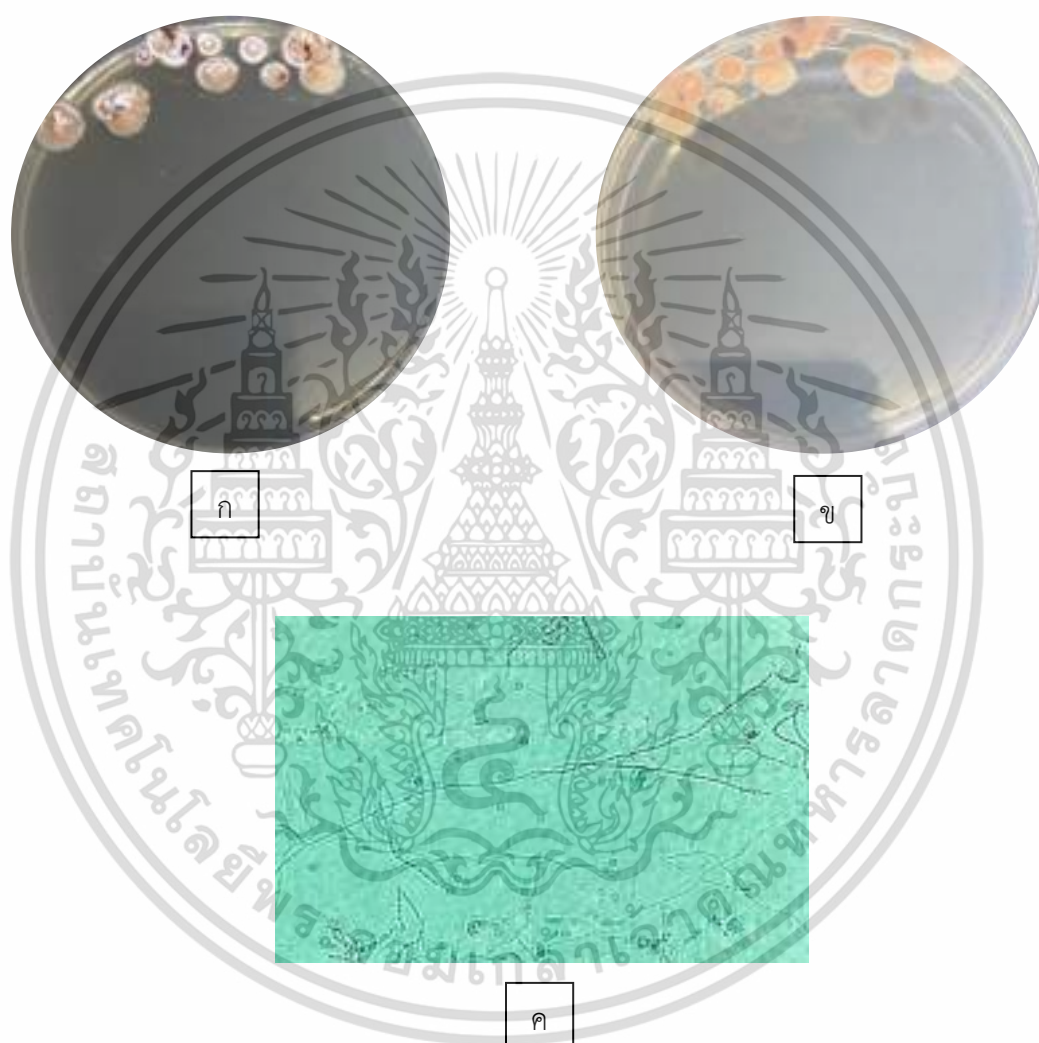
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00670 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White โคลนนี้ ด้านล่างสี Vivid Reddish Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Retinaculiaperti



รูปที่ 4.3 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00670 ที่เจริญบนอาหาร International

Streptomyces Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00870 บนอาหาร International *Streptomyces*

Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White โคลนนี้ ด้านล่างสี Dark Olive Brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Light Olive Brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.4 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00870 ที่เจริญบนอาหาร International

Streptomyces Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.5 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00970 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลोनีด้านล่างสี Strong Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.5 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF00970 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลอนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.6 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF01370 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.6 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF01370 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.7 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF01870 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.7 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF01870 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.8 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02070 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light Olive Gray โคลนนี้ด้านล่างสี Light Olive Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.8 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02070 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.9 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02170 บนอาหาร International *Streptomyces*

Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.9 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02170 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

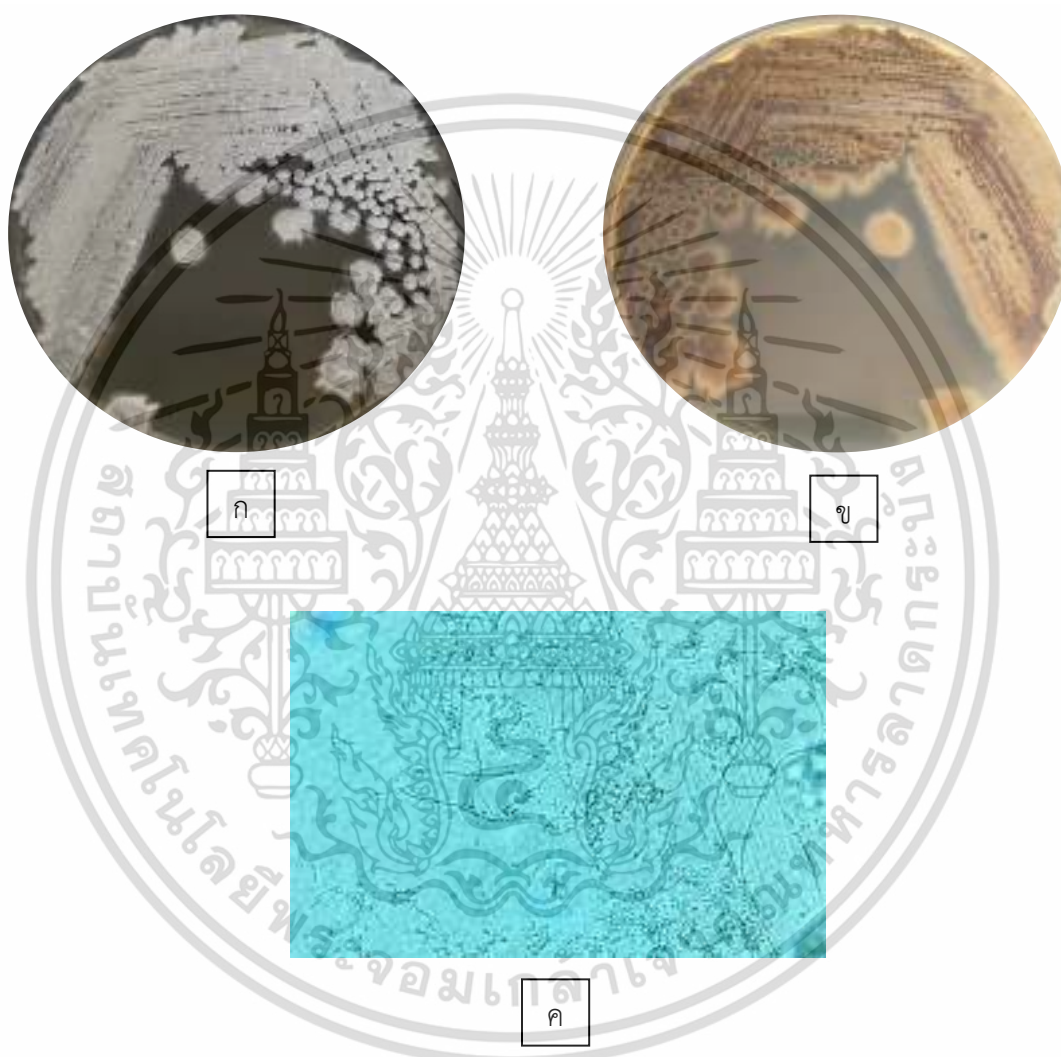
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.10 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02270 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Brownish Gray to White โคลนนี้ด้านล่างสี Deep Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.10 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02270 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.11 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02370 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White โคลินี้ด้านล่างสี Vivid Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ *Retinaculiaperti*



รูปที่ 4.11 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02370 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

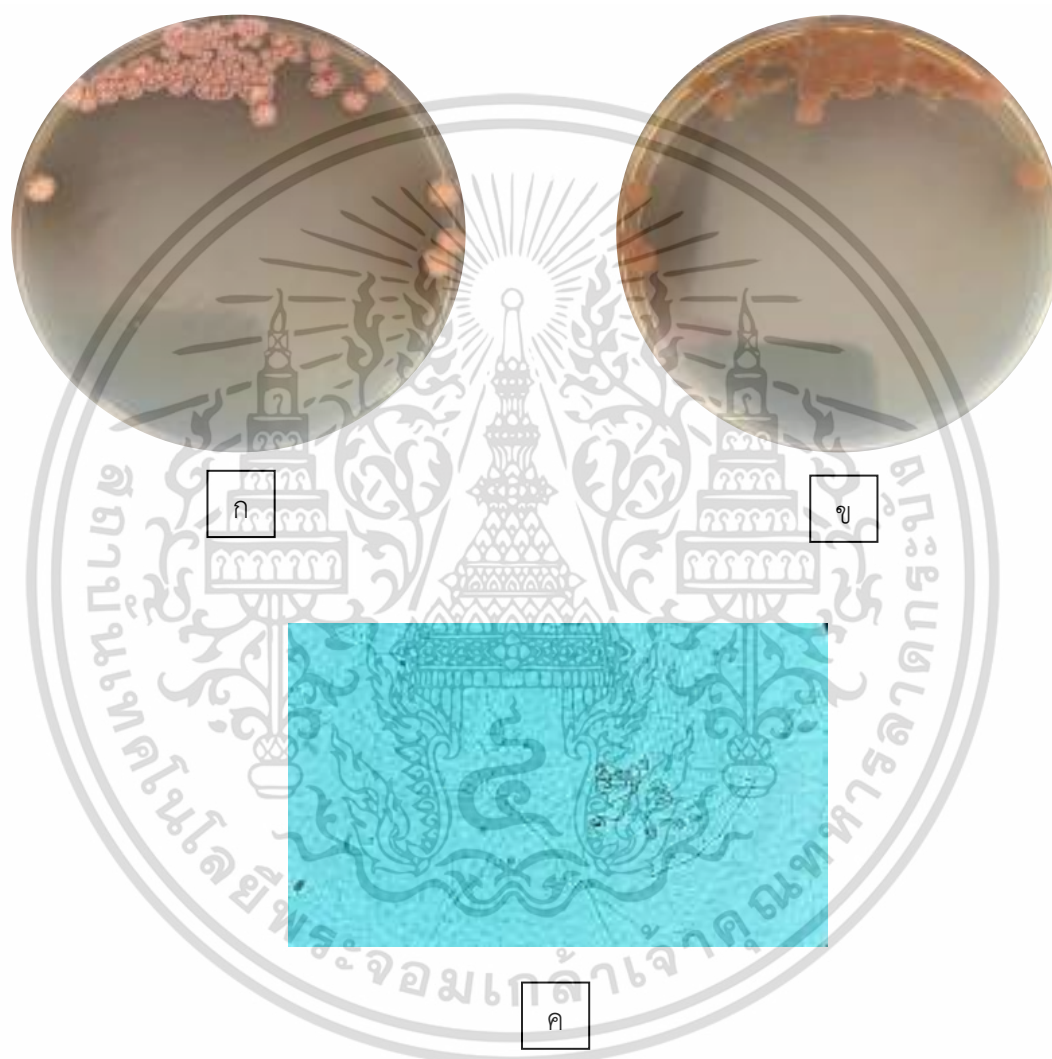
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลินด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.12 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02470 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White โคลนนี้ ด้านล่างสี Strong Reddish Brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำสี Light Olive Brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.12 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02470 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

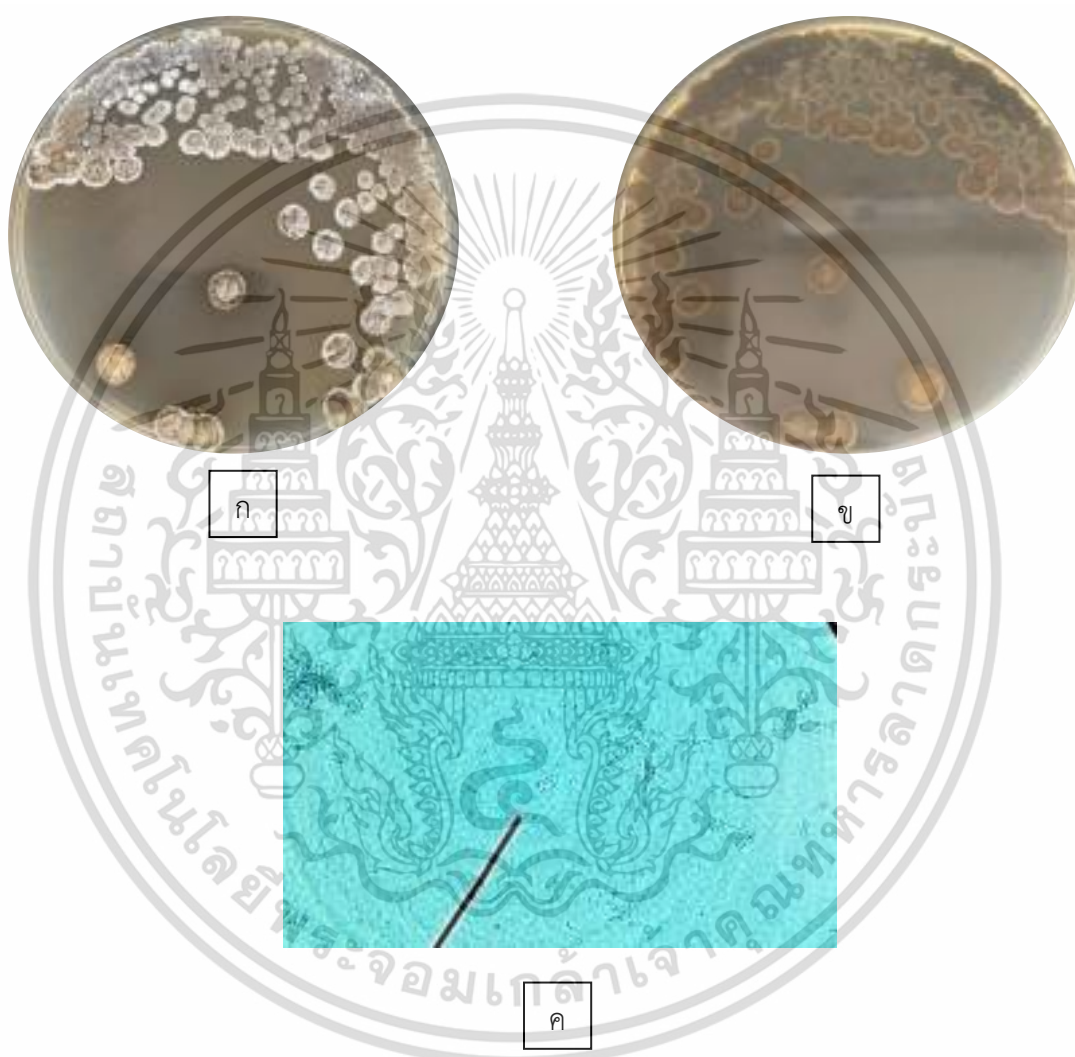
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.13 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02770 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Grayish Brown โคลนிட้านล่างสี Deep Brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำสี Light Olive Brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.13 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02770 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

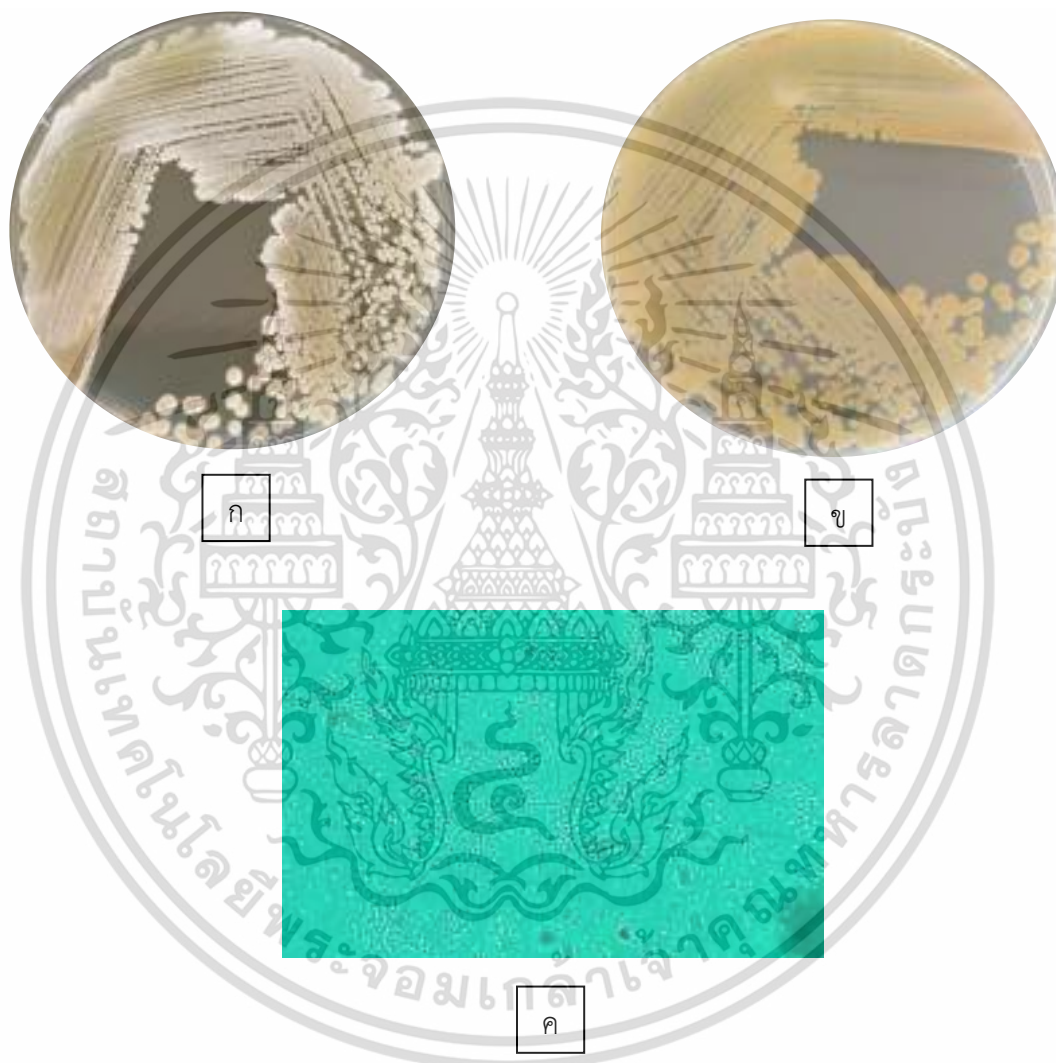
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.14 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02870 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light Brownish Gray โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.14 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF02870 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

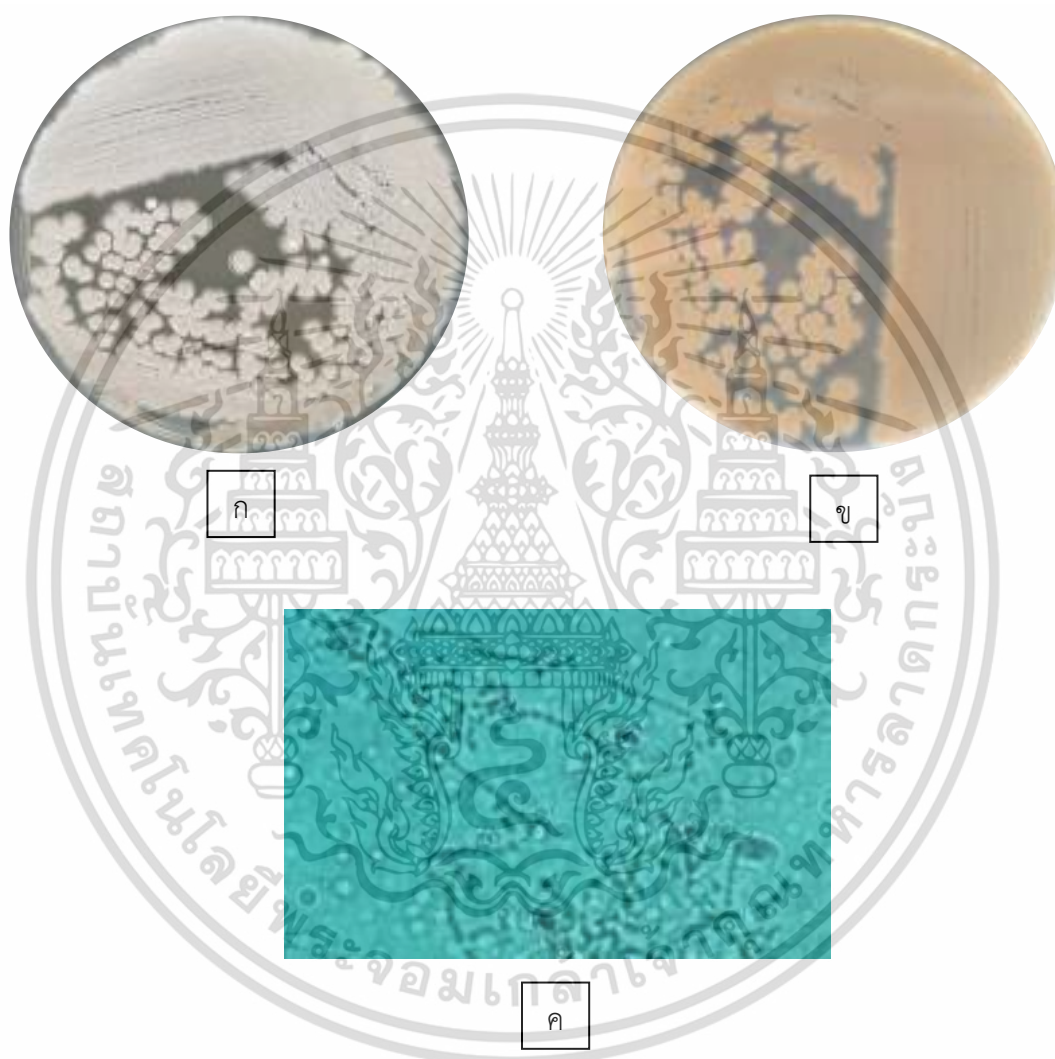
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.15 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03070 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ในช่วงสี Brownish Gray to White โคลนிட้านล่างสี Strong Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.15 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03070 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

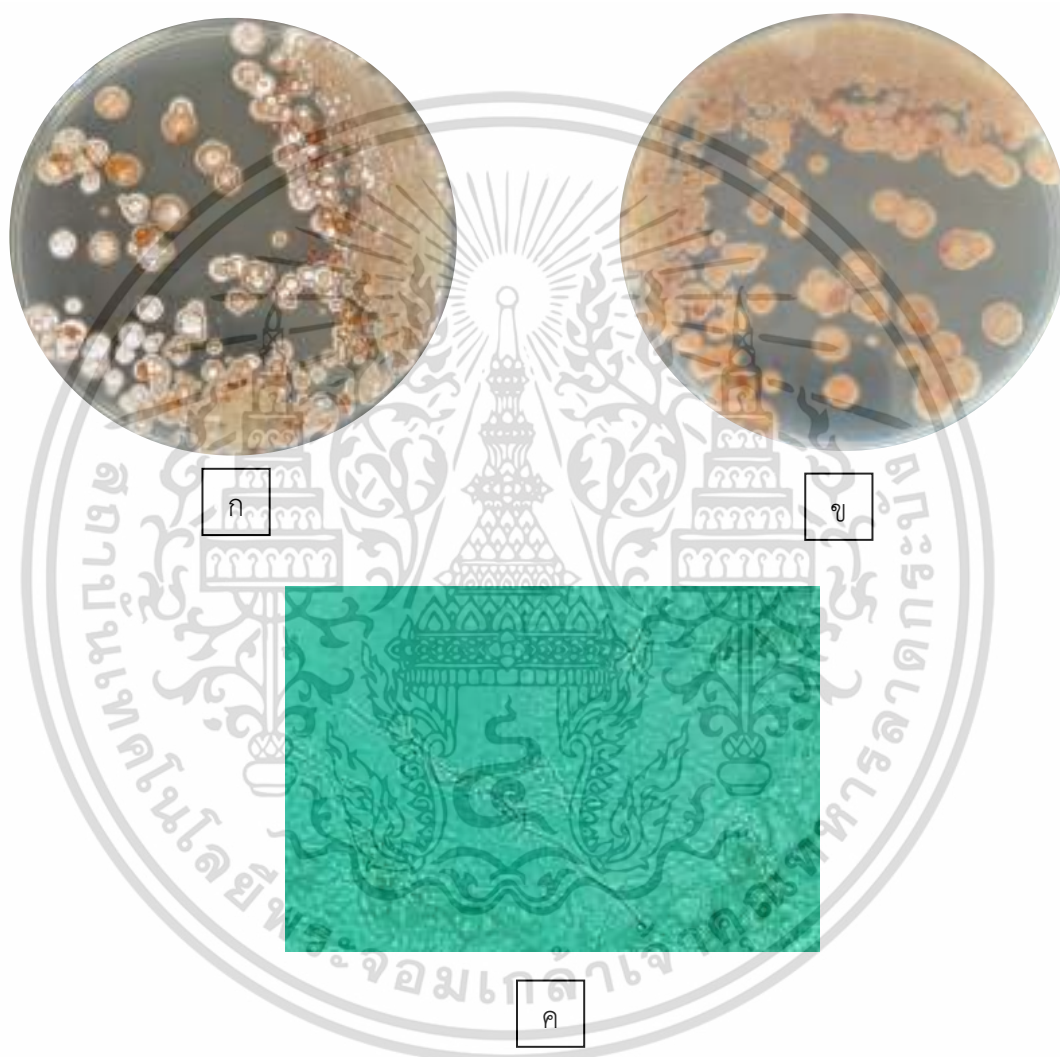
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.16 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03270 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light Olive Gray โคลนிட้านล่างสี Deep Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Retinaculiaperti



รูปที่ 4.16 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03270 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.17 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03670 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Moderate Brown โคลนிட้านล่างสี Moderate Orange Yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.17 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03670 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.18 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03870 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Moderate Yellowish Brown โคลนนี้ด้านล่างสี Moderate Orange Yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.18 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03870 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

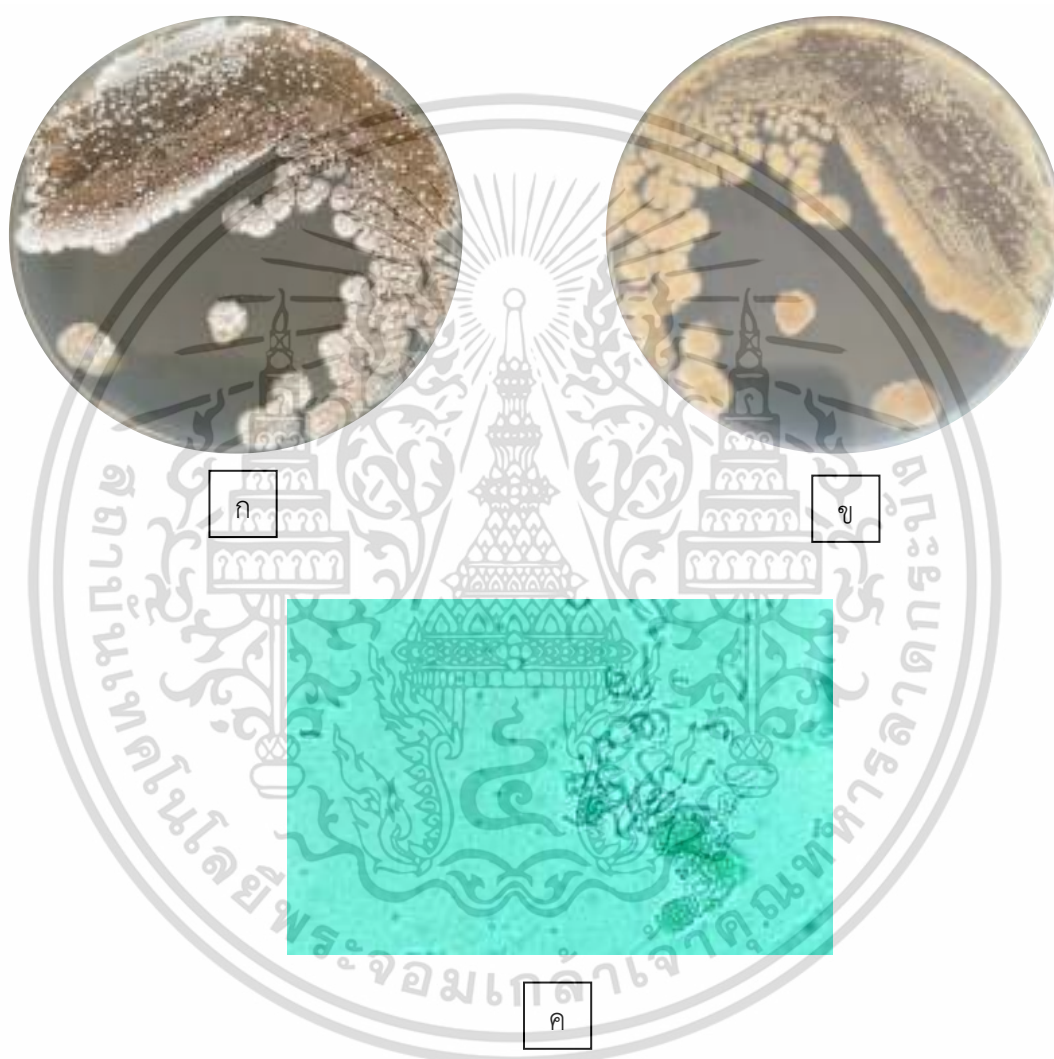
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.19 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03970 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Deep Yellowish Brown โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.19 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03970 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.20 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF04170 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Moderate Brown โคลนிட้านล่างสี Black ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.20 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF04170 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.21 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF04670 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.21 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF04670 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.22 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05070 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ในช่วงสี Brownish Gray to White โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Yellowish Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์ มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.22 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05070 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

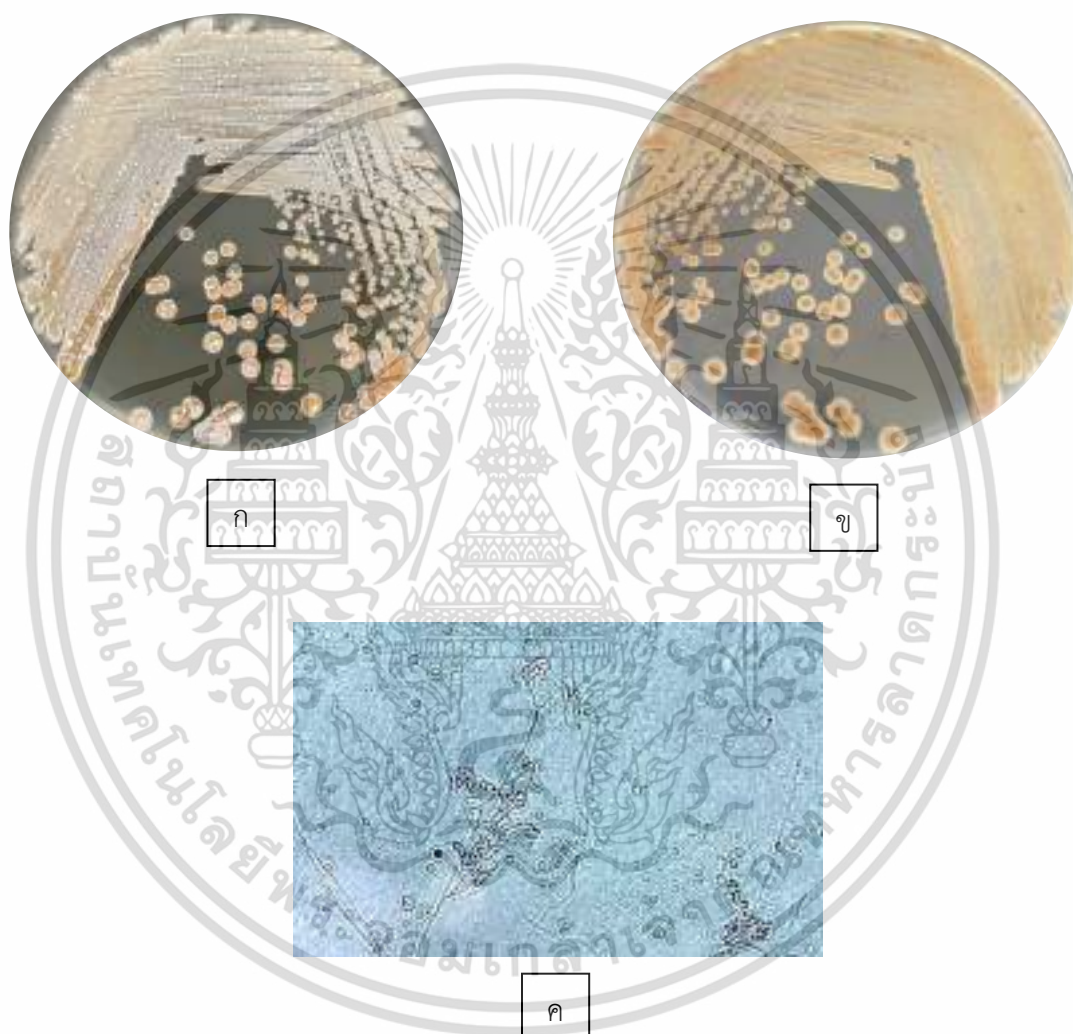
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.23 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05270 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.23 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05270 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

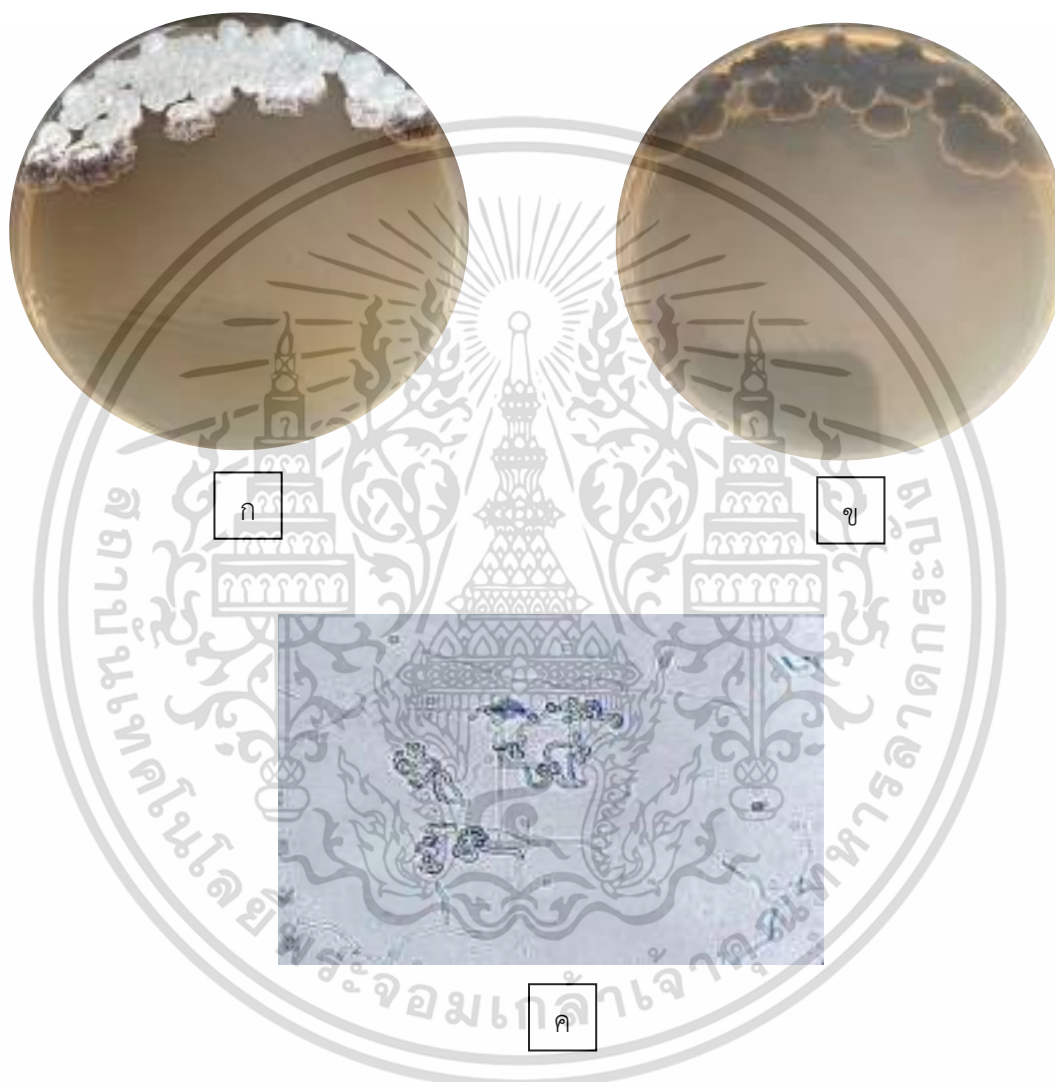
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.24 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05570 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ในช่วงสี White to Light Olive Gray โคลนிட้านล่างสี Black สร้างรงควัตถุละลายน้ำสี Light Olive Brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.24 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05570 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

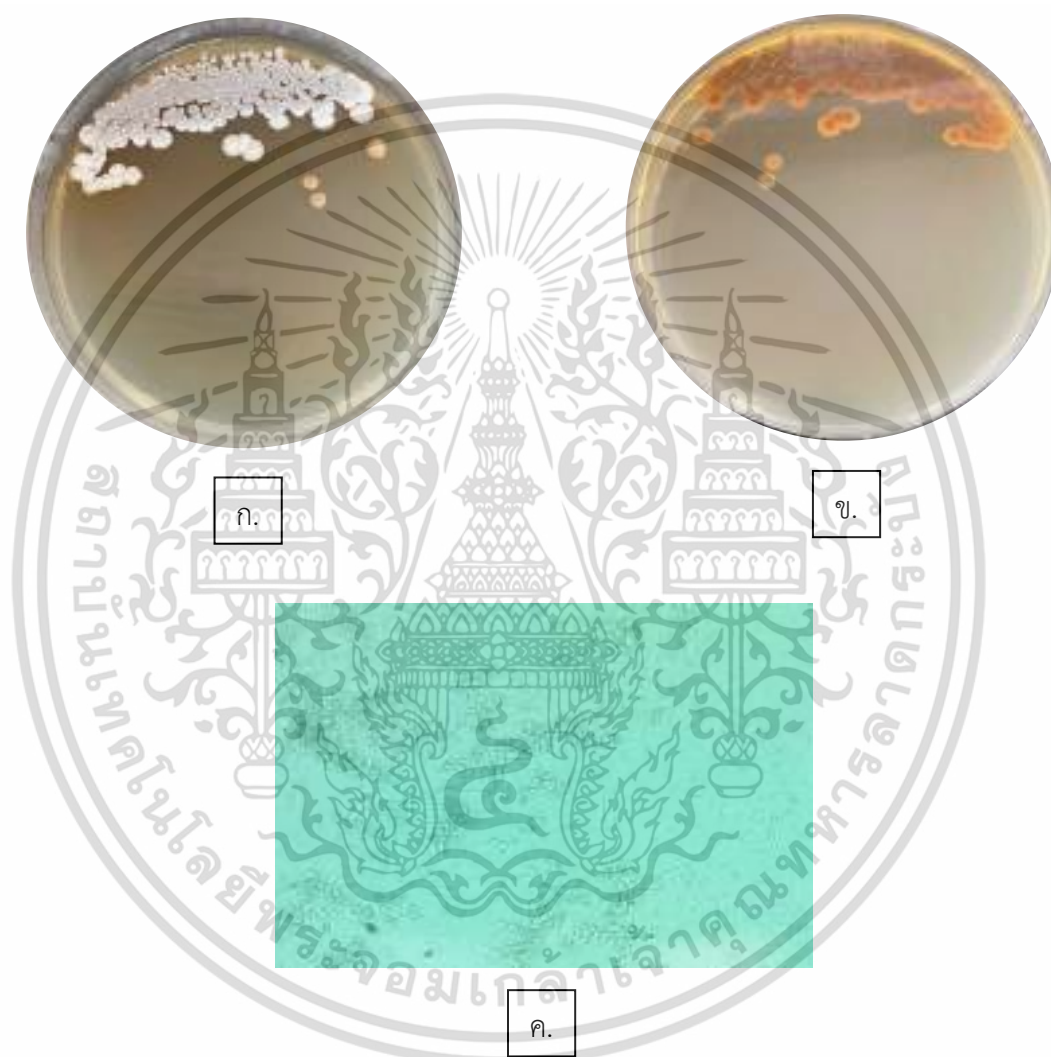
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.25 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05670 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนนี้ด้านล่างสี Deep yellowish brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำสี Light olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.25 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05670 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

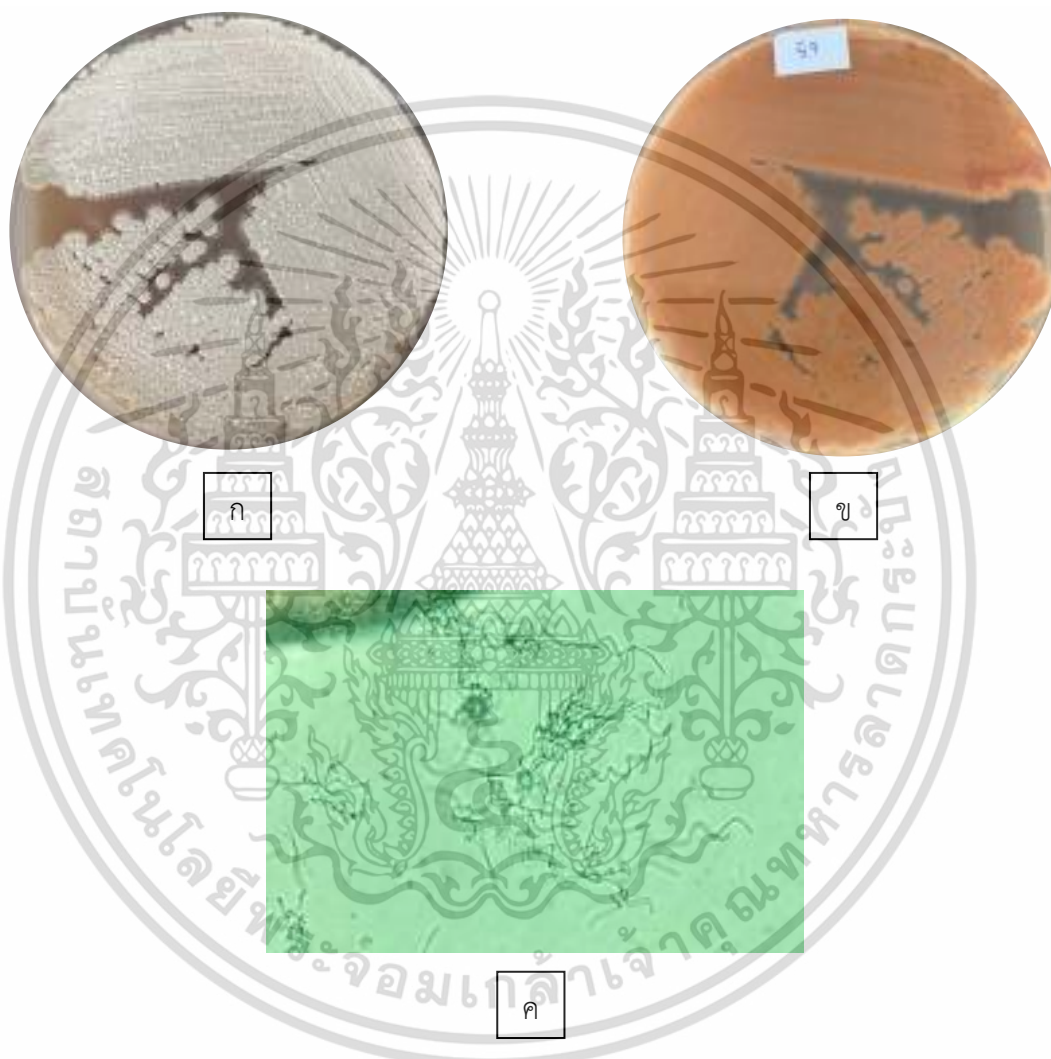
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.26 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05970 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Greenish gray to White โคลนนี้ด้านล่างสี Dark reddish orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.26 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05970 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.27 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF06270 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนนี้ด้านล่างสี Dark brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Light olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.27 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF06270 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตเห็นาไปเซประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.28 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF06570 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light olive gray โคลนินด้านล่างสี Dark brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Light olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.28 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF06570 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน
 (ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)
 (ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนินด้านล่าง (Reverse colony)
 (ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.29 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF07070 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนிட้านล่างสี Dark orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.29 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF07070 ที่เจริญบนอาหาร

International *Streptomyces* Project medium no.2 ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

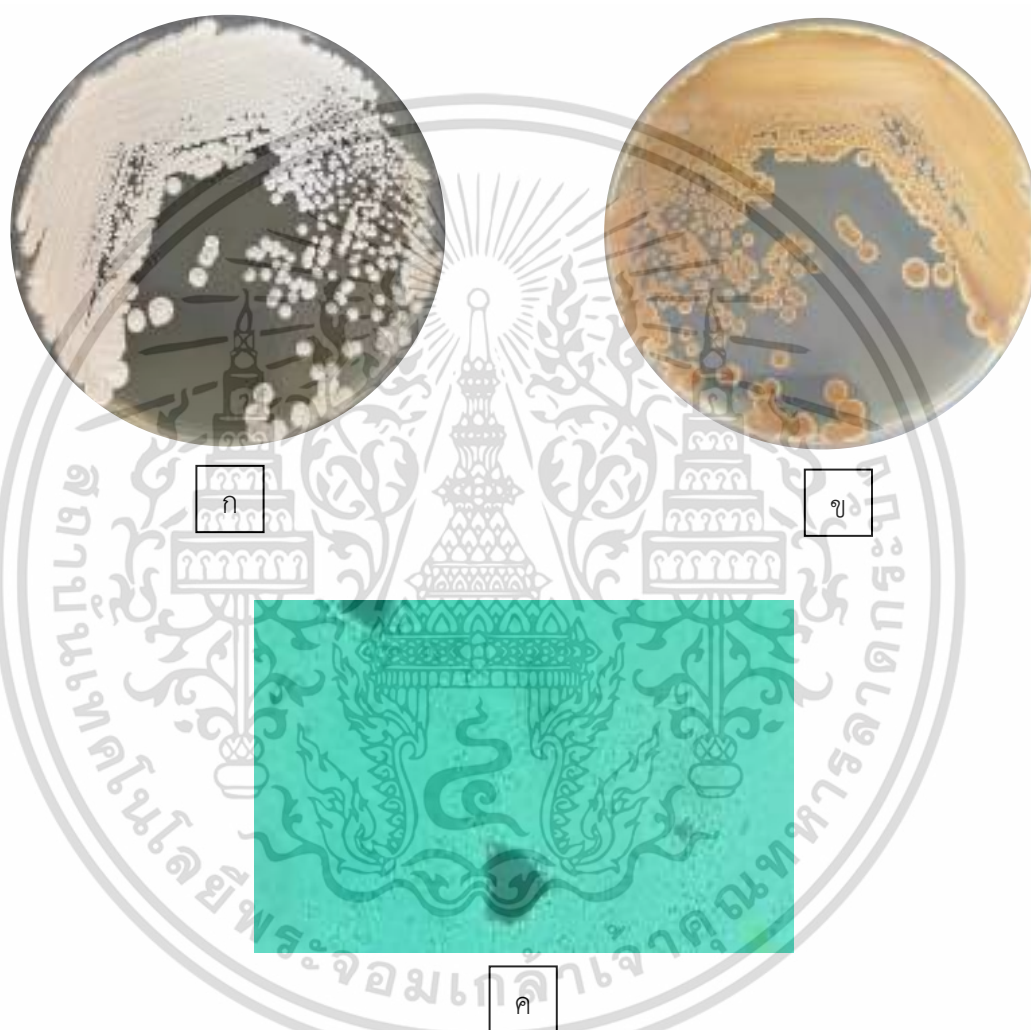
4.2.30 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF07270 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนிட้านล่างสี Dark orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.30 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF07270 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน
 (ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)
 (ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)
 (ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

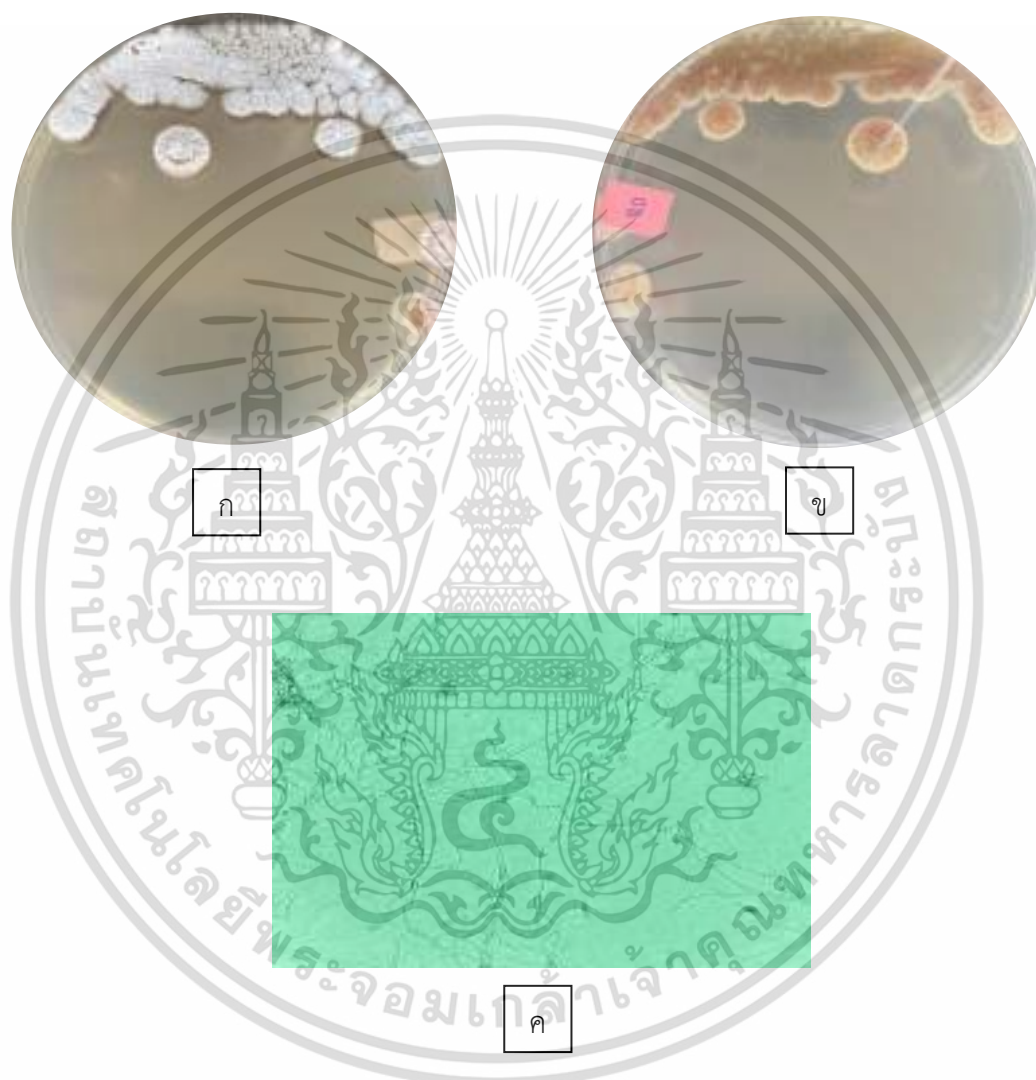
4.2.31 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF07470 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนிட้านล่างสี Dark orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.31 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF07470 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน
 (ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)
 (ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)
 (ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.32 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF08000 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลนிட้านล่างสี Moderate reddish brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Retinaculiaperti



รูปที่ 4.32 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF08000 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.33 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF08100 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนนี้ด้านล่างสี Deep yellowish brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Light olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



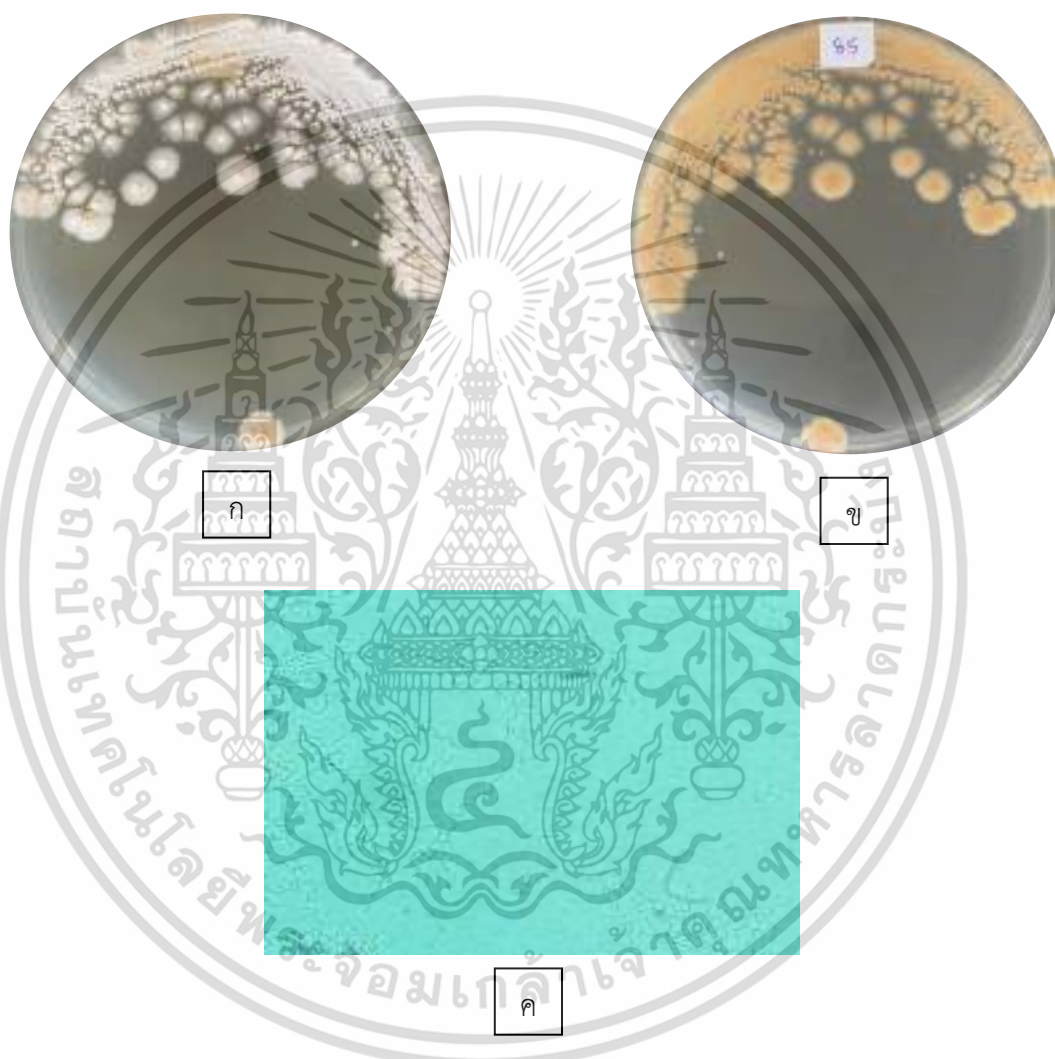
รูปที่ 4.33 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF08100 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตเห็นาไปเซประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.34 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF08500 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light yellowish pink โคลนนี้ด้านล่างสี Brilliant orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.34 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF08500 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.35 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF10600 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนிட้านล่างสี Dark yellowish brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Light olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.35 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF10600 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.36 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF11070 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White โคลินี้ด้านล่างสี Moderate yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.36 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF11070 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

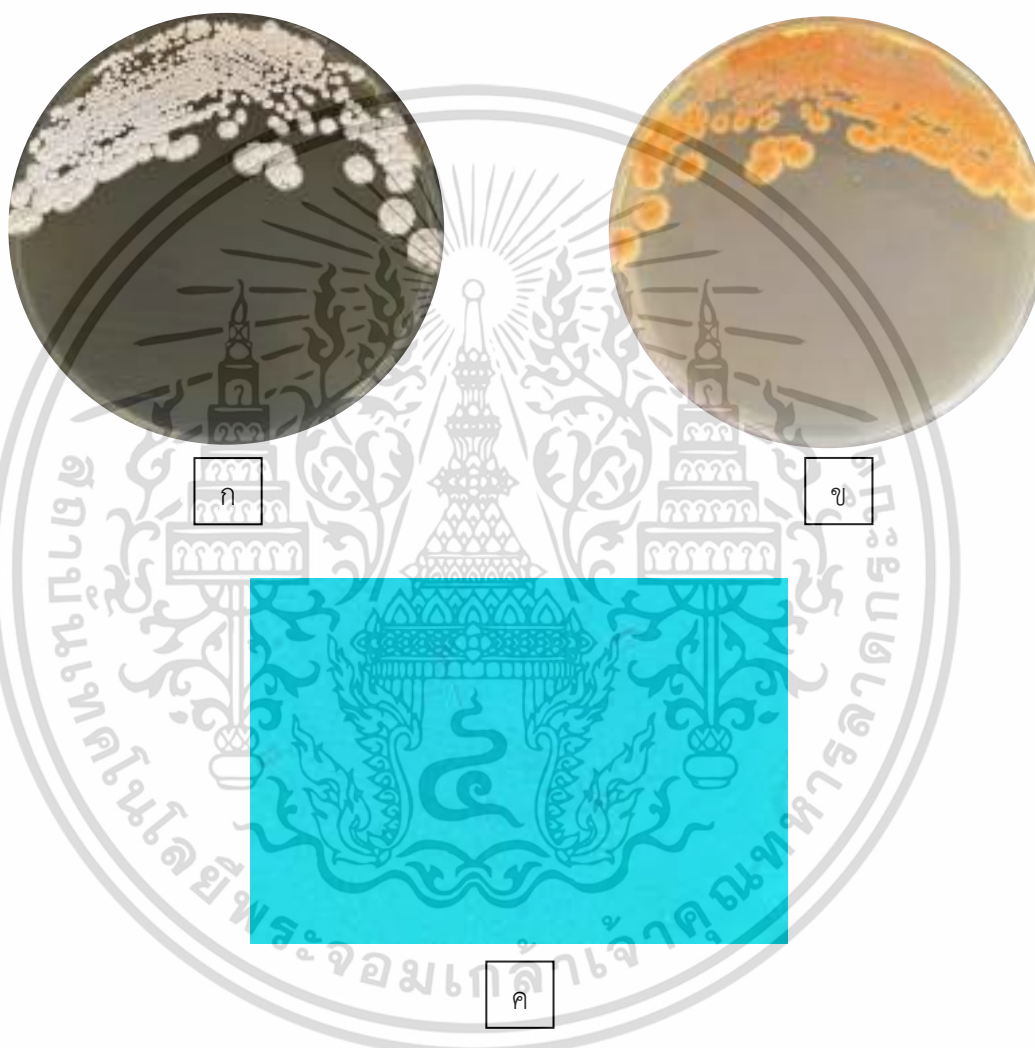
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลินด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.37 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF11670 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light orange yellow โคลนிட้านล่างสี Strong orange ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.37 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF11670 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.38 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF11770 บนอาหาร International *Streptomyces*

Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนนี้ด้านล่างสี Dark yellowish brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Light olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.38 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF11770 ที่เจริญบนอาหาร

International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

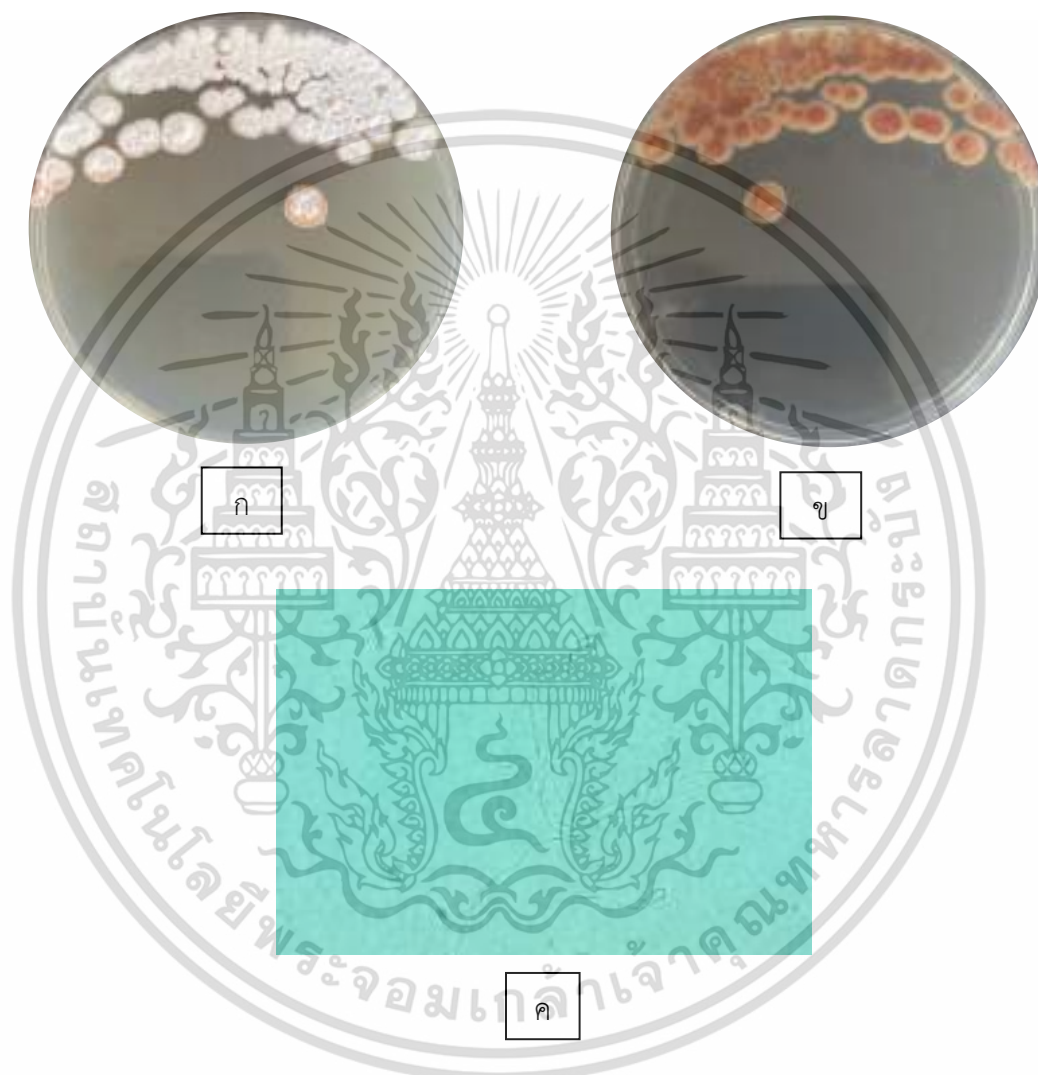
(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตเห็นาไปเซประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.39 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF11870 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลนிட้านล่างสี Moderate reddish brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Retinaculiaperti



รูปที่ 4.39 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF11870 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน
 (ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)
 (ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)
 (ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.40 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF12900 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนนี้ด้านล่างสี Dark olive สร้างรงควัตถุละลายน้ำสี Light olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Spiral



รูปที่ 4.40 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF12900 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.41 เชื้อแอสโตโนมัยซิสไฮโซเลท SF13000 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White โคลนนี้ ด้านล่างสี Deep yellowish brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Light olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.41 ลักษณะของเชื้อแอสโตโนมัยซิสไฮโซเลท SF13000 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

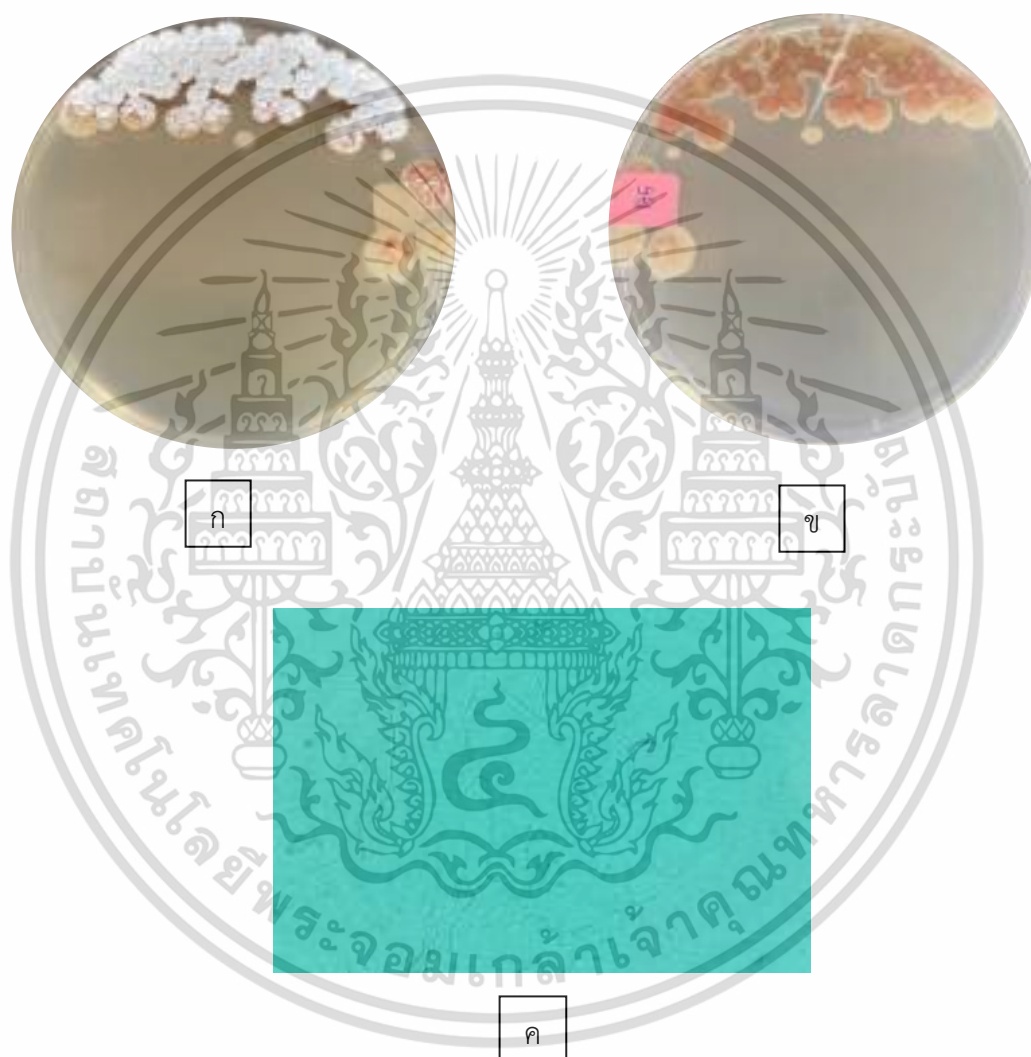
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.42 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF13500 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light Olive Gray to White โคลนிட้านล่างสี Moderate reddish brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Retinaculiaperti



รูปที่ 4.42 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF13500 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

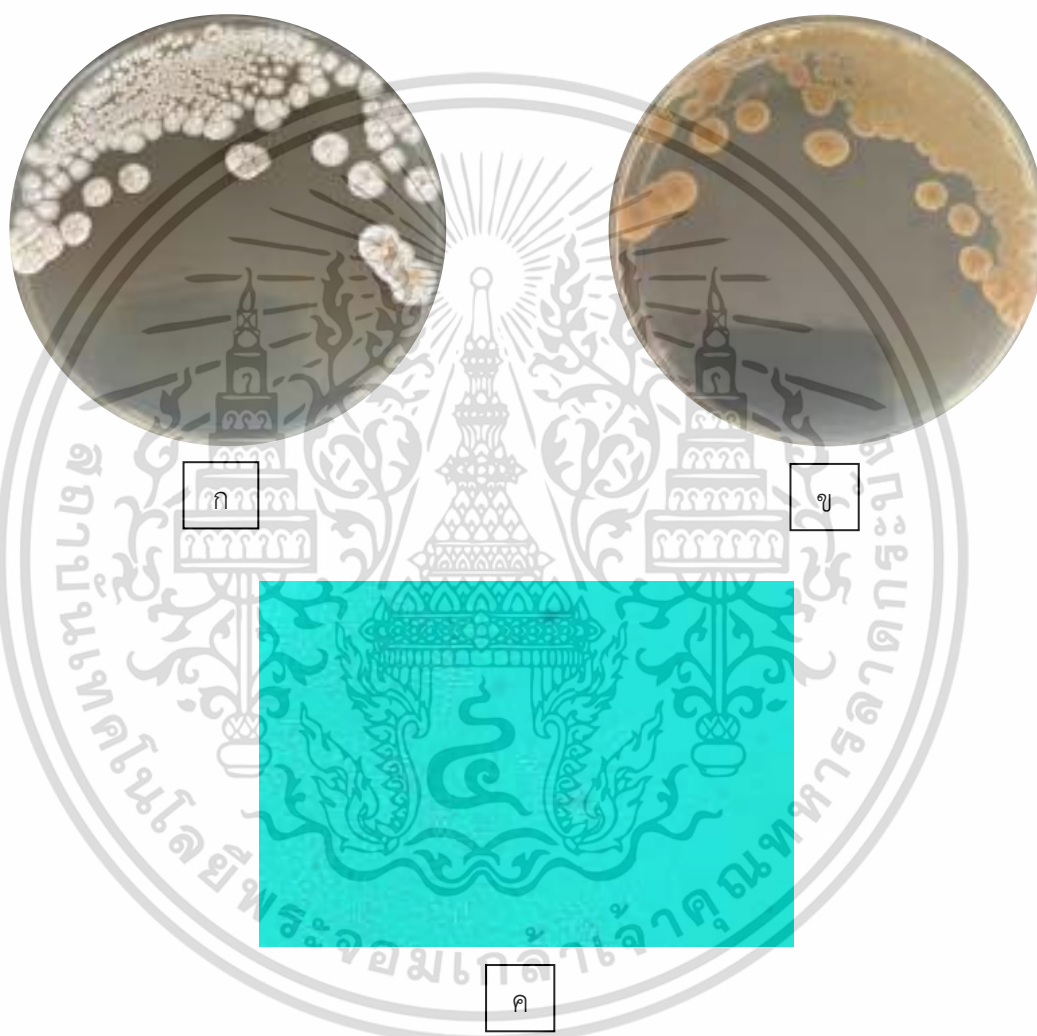
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.43 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14370 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White โคลินี้ ด้านล่างสี Dark yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.43 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14370 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลินด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.44 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14800 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนนี้ด้านล่างสี Deep yellowish brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำสี Light olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.44 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14800 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.45 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14900 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Greenish white to White โคลนிட้านล่างสี Strong yellowish brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Retinaculiaperti



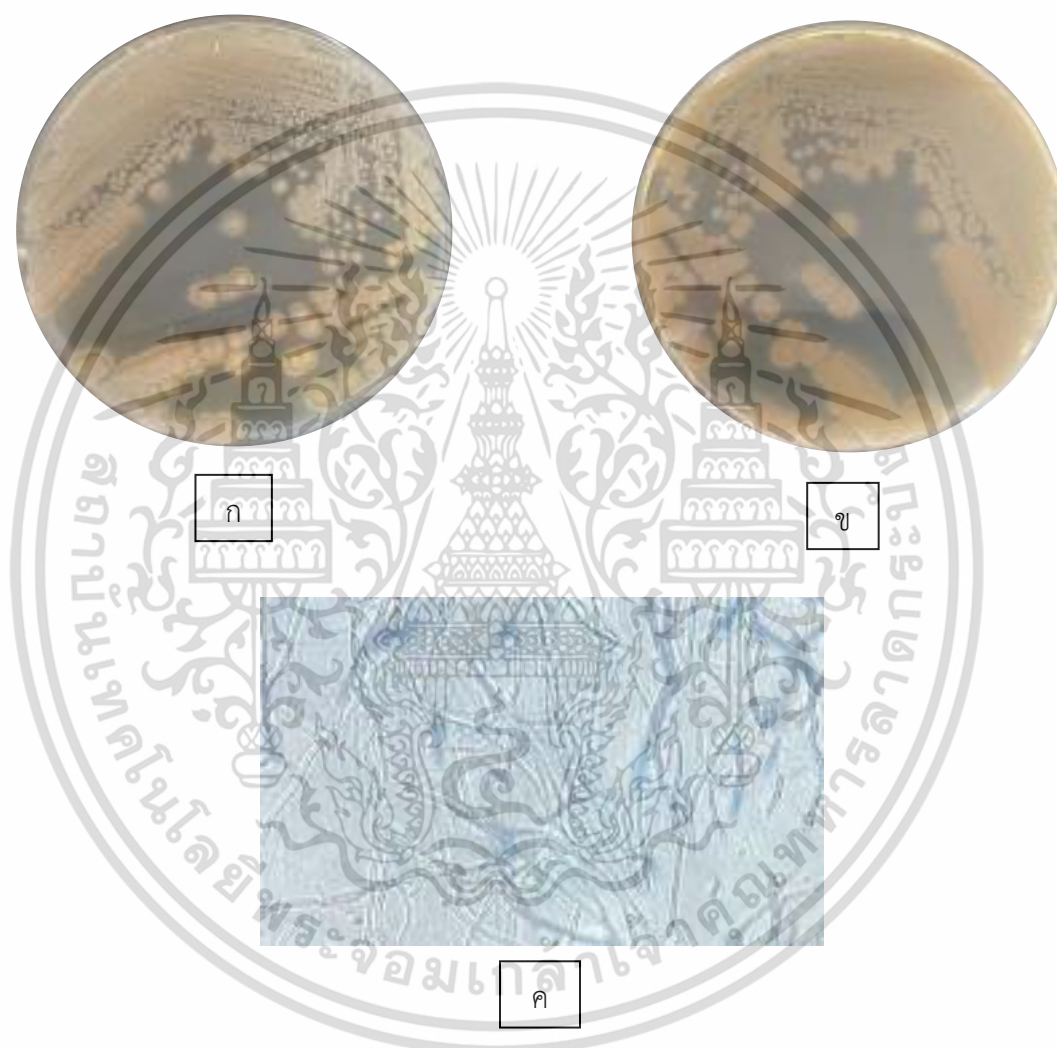
รูปที่ 4.45 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14900 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตเห็นาไปเซประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

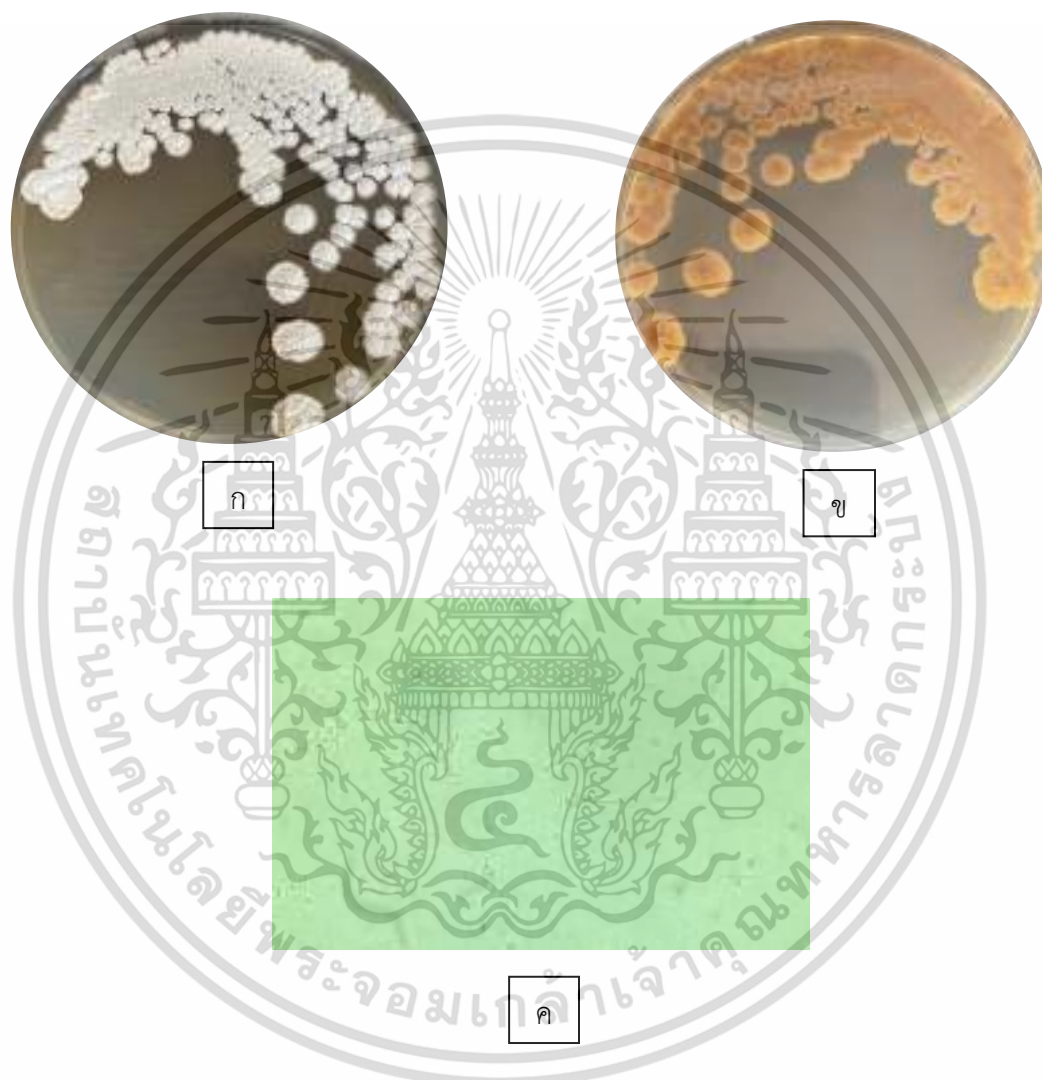
4.2.46 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BT04310 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White โคลินี้ ด้านล่างสี Dark grayish yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles



รูปที่ 4.46 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BTT4310210 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน
 (ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)
 (ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลินีด้านล่าง (Reverse colony)
 (ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.47 เชื้อแอสเพอร์จิลไฮโอไลเซส BT00410 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ในช่วงสี White to Greenish white โคลนนี้ด้านล่างสี Strong yellowish brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Light Olive Brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.47 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลไฮโอไลเซส BT00410 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนนี้ด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.48 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BT00510 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish gray โคลนนี้ด้านล่างสี Deep yellowish brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Dark olive brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.48 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BT00510 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

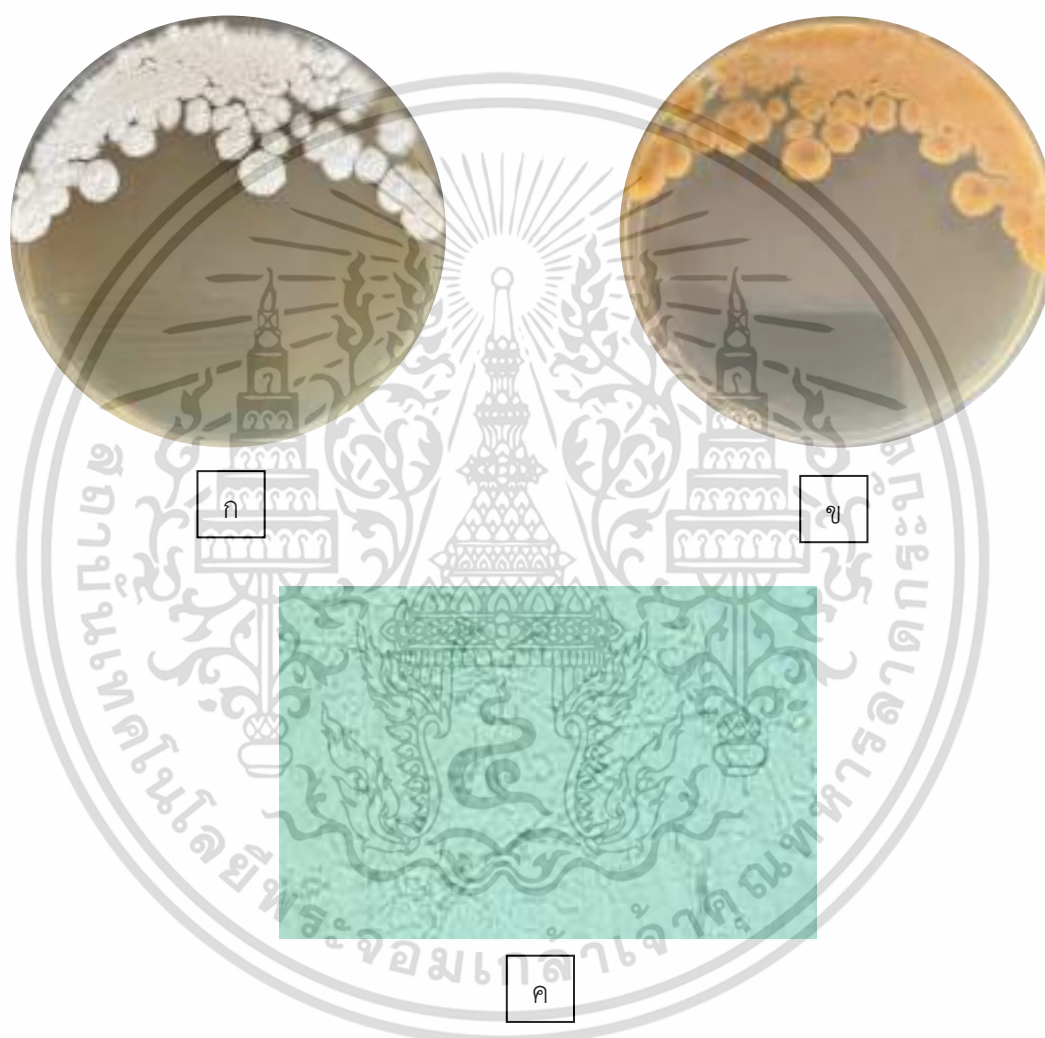
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.49 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BT00310 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Greenish white โคโลนีด้านล่างสี Strong yellowish brown สร้างรงควัตถุละลายน้ำ Light Olive Brown การจัดเรียงตัวของสปอร์มีลักษณะเป็นแบบ Verticillati



รูปที่ 4.49 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท BT00310 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ลักษณะโคโลนีเดี่ยวของแอกติโนมัยสีทจำนวน 49 ไอโซเลท บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ลักษณะโคโลนีเดี่ยวของแอสทีโนมัยสีทจำนวน 49 ไอโซเลท บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติม 1.5% NaCl ระยะเวลา 7-14 วัน (ต่อ)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยว (Antimicrobial activities)

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยว (Antimicrobial activities) โดยการนำเชื้อแอกติโนมัยสัที่ถูกรัดแยกจากดินป่าชายเลนบริเวณสะพานรัษฎะเลบางขุนเทียน และศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี จำนวน 49 ไอโซเลท บนอาหาร International *Streptomyces* medium Project 2 (ISP2) มาทำการทดสอบแอกติโนมัยสัที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ โดยทดสอบขั้นแรกโดยใช้วิธี Agar plug diffusion และทดสอบขั้นที่สองใช้วิธี Agar disc diffusion โดยเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ คือ *Ralstonia solanacearum* (รูปที่ 4.50) จากกรมอารักขาพืช



รูปที่ 4.50 เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* จากกรมอารักขาพืช

ก) โคโลนีเชื้อ *R. solanacearum* บนอาหาร NA

ข) การย้อมแกรมดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1,000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1 การทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยว (Antimicrobial activities) โดยใช้วิธี Agar plug diffusion

ตรวจคัดกรองเบื้องต้นสำหรับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของแอคติโนมัยสียที่คัดแยกได้ จำนวน 49 ไอโซเลท ในอาหาร International *Streptomyces* medium Project 2 (ISP2) ทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ *Ralstonia solanacearum* พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสียที่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* มีทั้งหมด 29 ไอโซเลท วัดบริเวณยับยั้งทางด้านซ้ายและด้านขวา (รูปที่ 4.51, รูปที่ 5.2, ตารางที่ 4.6, ภาคผนวก ง) จากงานวิจัย (Kaari *et al.*, 2022) ได้ทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ด้วยวิธี agar plug diffusion พบว่า แอคติโนมัยสีย 5 ไอโซเลทสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ ในทางเดียวกัน (Aeny *et al.*, 2018) ได้คัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสียจากดินรอบรากต้นสับปะรด ทั้งหมด 45 ไอโซเลท ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี agar plug diffusion สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ทั้งหมด 34 ไอโซเลท และมี 14 ไอโซเลท ที่ให้โซนยับยั้งมากกว่าชุดควบคุม (ยาปฏิชีวนะ chloramphenicol) ในการศึกษาปัจจุบันใช้วิธี agar plug เพื่อตรวจหากิจกรรมที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย วิธีนี้ทำให้สามารถใช้อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณน้อยมากในการเพาะเลี้ยงผลิตภัณฑ์ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และยังใช้ในการตรวจหาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของเชื้อแอคติโนมัยสียที่แยกได้จำนวนมากขึ้นเพื่อต่อต้านเชื้อโรคหลายชนิดด้วยต้นทุนการลงทุนที่น้อยลง (Silambarasan, 2012)



รูปที่ 4.51 แอคติโนมัยสียบางไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยวิธี Agar plug diffusion ก) ด้านบน ไอโซเลท SF00970 ด้านล่าง SF01370, ข) ด้านบน ไอโซเลท SF08000 ด้านล่าง SF08100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

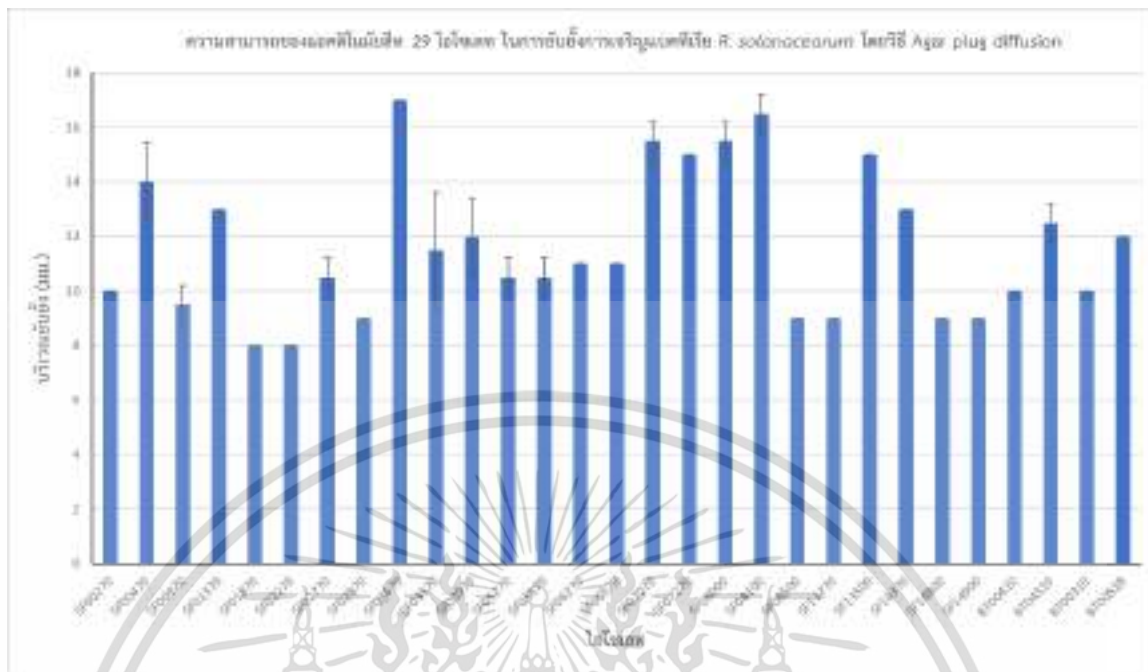
ตารางที่ 4.6 ความสามารถของแอคติโนมัยสีท 29 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย

R. solanacearum โดยวิธี Agar plug diffusion

ไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มม.)	ไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มม.)
SF00270	10	SF05970	-
SF00470	14	SF06270	11
SF00670	-	SF06570	11
SF00870	-	SF07070	15.5
SF00970	9.5	SF07270	15
SF01370	13	SF07470	-
SF01870	8	SF08000	15.5
SF02070	-	SF08100	16.5
SF02170	-	SF08500	9
SF02270	-	SF10600	-
SF02370	8	SF11070	-
SF02470	-	SF11670	-
SF02770	10.5	SF11770	9
SF02870	9	SF11870	-
SF03070	-	SF12900	-
SF03270	-	SF13000	-
SF03670	17	SF13500	15
SF03870	11.5	SF14370	13
SF03970	12	SF14800	9
SF04170	-	SF14900	9
SF04670	-	BT04310	12.5
SF05070	-	BT00410	10
SF05270	10.5	BT00510	12
SF05570	-	BT00310	10
SF05670	10.5		

หมายเหตุ: เครื่องหมาย (-) หมายถึงฤทธิ์ที่ไม่ยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.52 กราฟแสดงฤทธิ์ของแอคติโนมัยซีตในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *R. solanacearum*

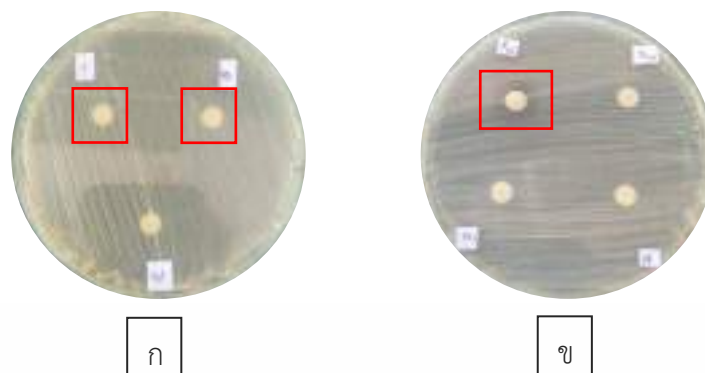
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การเตรียมสกัดสารสกัดหยาบ และสารทุติยภูมิ โดยใช้วิธี Agar disc diffusion

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เบื้องต้นด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 10 ไอโซเลทสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ จึงได้ทำการเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีผลยับยั้งมากที่สุดมาทำการสกัดสารสกัดหยาบภายนอกเซลล์ (extracellular crude extract) ผลจากสารสกัดหยาบนอกเซลล์ ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วน (ตารางที่ 4.7, ภาคผนวก จ) พบว่าสารสกัดหยาบ (crude extract) จากแอคติโนมัยสีทที่แยกได้ ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทดสอบได้ จากงานวิจัย (Silambarasan, 2012) ได้ทำการสกัดสารทุติยภูมิด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดได้แก่ เอทิลอะซิเตท เมทานอล และคลอโรฟอร์ม ผลพบว่าการสกัดด้วยคลอโรฟอร์มให้ผลการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด จากการทำ positive control ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลพบที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ (รูปที่ 4.53 (ก)) จากนั้นได้ทดสอบที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลที่ได้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ที่ 15 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.53 (ข)) จากสาเหตุข้างต้นทำให้เรารู้ได้ว่าหลังจากที่ (Hossain *et al.*, 2021) ได้ทำการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเมื่อปี 2021 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบด้วยยา streptomycin ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม ได้เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 21 มิลลิเมตร ผ่านมา 2 ปี เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคสามารถทนยาที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรได้ แสดงว่าเชื้อเกิดการดื้อยาเพิ่มขึ้น หรืออาจเกิดจากปัจจัยอื่นๆร่วมได้

การกำหนดความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เป็นเชื้อก่อโรคพืชที่แพร่กระจายอย่างกว้างขวาง บุกรุกเข้าไปในรากของพืช และเข้าไปอาศัยในท่อลำเลียงน้ำ ทำให้เกิดโรคเหี่ยวที่เรียกว่า โรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย (Tans-Kersten *et al.*, 2001) แบคทีเรียที่เพิ่มในปริมาณมาก และปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีอยู่ในท่อลำเลียงน้ำ จะมีระดับสูง ชัดขวางการลำเลียงของน้ำในต้น และพืชมักจะตายด้วยการเหี่ยวแห้ง จากนั้นแบคทีเรียกลับคืนสู่ดิน กระบวนการนี้เกิดขึ้นในช่วงเวลาตั้งแต่หลายวันจนถึงหลายสัปดาห์ ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม (Wang *et al.*, 2000) การศึกษานี้มุ่งเน้นไปที่การค้นหาเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวในต้นมะเขือเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.53 การทดสอบการสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดยวิธี Agar disc diffusion

ก) Positive control ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ข) Positive control ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.7 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวเซลล์ในชั้นของเอทิลอะซิเตท โดยวิธี Agar disc diffusion

ไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มม.)		ไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มม.)	
	50 mg/ml	1 mg/ml		50 mg/ml	1 mg/ml
SF00470	-	-	SF08000	-	-
SF01370	-	-	SF08100	-	-
SF03670	-	-	SF13500	-	-
SF07070	-	-	SF14370	-	-
SF07270	-	-	BT04310	-	-

หมายเหตุ: เครื่องหมาย (-) หมายถึงไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 สารออกฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (In vitro screening of plant growth-promoting (PGP) activities)

แอกติโนมัยสีท 10 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทดสอบมากที่สุด 10 อันดับแรก ได้รับการศึกษาการสร้างสารซิดโรเฟอร์ (Siderophore), การละลายของฟอสเฟต (Phosphate solubilization), การผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ (Hydrogen cyanide), และการผลิตกรดอินโดลอะซิติก (Indole-3-acetic acid), การผลิตแอมโมเนีย (Ammonia production) ดังแสดงในตารางที่ 4.4

การสร้างสารซิดโรเฟอร์ (รูปที่ 4.54 ก), ตารางที่ 4.8, ภาคผนวก ญ) ถูกกำหนดให้ผลเป็นบวกมีสีเหลืองรอบ ๆ บริเวณที่เชื้อเจริญ ผลการทดสอบพบว่า 9 ไอโซเลท ได้แก่ SF00470, SF01370, SF03670, SF07070, SF07270, SF08100, SF13500, SF14370, และ BT04310 ให้ผลเป็นบวก เหล็ก (Fe) เป็นหนึ่งในธาตุอาหารรองที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชและจุลินทรีย์ สายพันธุ์ทั้งหมดที่แสดงผลลัพธ์ในเชิงบวกสามารถสร้างซิดโรเฟอร์เพื่อเอาชนะข้อจำกัดของธาตุเหล็กทางโภชนาการ การดูดซึมธาตุเหล็กได้โดยตรงจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืช ประโยชน์โดยทางอ้อมคือช่วยส่งเสริมความสามารถในการยับยั้งสารก่อโรคจากพืชผ่านการกักเก็บธาตุเหล็กจากสิ่งแวดล้อม (Rattanakavil, 2020; Schiwyn and Neilands, 1987; Krewutak and Vogel, 2008)

การผลิตแอมโมเนีย (รูปที่ 4.54 ข), ตารางที่ 4.8, ภาคผนวก ฉ) ถูกกำหนดให้เป็นสีน้ำตาลหลังจากเติม Nessler's reagent ผลการทดสอบพบว่าเชื้อทั้ง 10 ไอโซเลท SF00470, SF01370, SF03670, SF07070, SF07270, SF08000, SF08100, SF13500, SF14370 และ BT04310 มีผลบวกต่อการผลิตแอมโมเนีย การผลิตแอมโมเนียช่วยเพิ่มไนโตรเจนให้กับพืช (Hayat *et al.*, 2010)

การละลายฟอสเฟต (รูปที่ 4.54 ค), ตารางที่ 4.8, ภาคผนวก ช) ถูกกำหนดให้เป็นโซนใสที่ชัดเจนรอบๆ โคลน หลังจากเพาะเลี้ยงไอโซเลทที่เลือกไว้บนอาหาร Pikovskaya's ผลการทดลองพบว่าเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF03670, SF08100 และ SF14370 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตในบริเวณดินรอบรากมีบทบาทสำคัญต่อลักษณะที่เชื่อมโยงกับธาตุอาหารฟอสเฟตจากพืช (Chen *et al.*, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติค (รูปที่ 4.54 (ง), ตารางที่ 4.8, ภาคผนวก ฉ) ถูกกำหนดดูการเปลี่ยนแปลงสีของอาหาร หลังจากเติม Salkowski's reagent จะปรากฏเป็นสีชมพูบนอาหาร ISP2 ที่เติม 0.2% tryptophan ผลการทดสอบพบว่าเชื้อทั้ง 10 ไอโซเลท SF00470, SF01370, SF03670, SF07070, SF07270, SF08000, SF08100, SF13500, SF14370 และ BT04310 มีผลบวกต่อการผลิตกรดอินโดลอะซิติค กรดอินโดลอะซิติคในพืชจะมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้างราก ความยาวของราก การแบ่งเซลล์ การยืดตัว การพัฒนาผล และการชราภาพและมีส่วนช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุเข้าสู่พืชอีกด้วย (Meena *et al.*, 2015)

การผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ (รูปที่ 4.54 (จ), ตารางที่ 4.8, ภาคผนวก ช) ถูกกำหนดให้ดูการเปลี่ยนสีของกระดาษกรองเปลี่ยนเป็นสีส้มถึงสีแดง หลังจากที่ทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร ISP2 ที่เติม 0.44% glycine ผลการทดลองพบว่าไม่มีเชื้อแอคติโนมัยซีท์ที่สามารถผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ ไฮโดรเจนไซยาไนด์จะรบกวนกระบวนการหายใจของเซลล์ในเชื้อก่อโรคที่เป็นยูคาริโอต โดยการยับยั้งไซโตโครมคาร์บอนออกซิเดสในไมโทคอนเดรีย (Thompson and Petrikovics, 2016)



รูปที่ 4.54 ผลการทดสอบสารออกฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (PGP) บางไอโซเลท

ก) การผลิตซิเดโรฟอร์, ข) การละลายฟอสเฟต, ค) การผลิตแอมโมเนีย,

ง) การผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติค, จ) การผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบสารออกฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (In vitro screening of plant growth-promoting (PGP) activities)

ไอโซเลท	IAA production	Phosphate solubilization	Hydrogen cyanide	Ammonia production	Siderophore
SF00470	+	-	-	+	+
SF01370	+	-	-	+	+
SF03670	+	+	-	+	+
SF07070	+	-	-	+	+
SF07270	+	-	-	+	+
SF08000	+	-	-	+	-
SF08100	+	+	-	+	+
SF13500	+	-	-	+	+
SF14370	+	+	-	+	+
BT04310	+	-	-	+	+

หมายเหตุ: เครื่องหมาย (+) หมายถึง สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ได้, เครื่องหมาย (-) หมายถึง ไม่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้แยกแอสโคสปอร์ 49 ไอโซเลทจากดินป่าชายเลนบริเวณป่าชายเลนในเขตพื้นที่สะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน และ ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี ศึกษาลักษณะสัณฐานของเชื้อแอสโคสปอร์ สีของเส้นใยอากาศเทียบกับกระดาษสี the ISCC-NBS colour system และสปอร์ทั้งสี่ประเภทถูกสังเกตุภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

สายพันธุ์แอสโคสปอร์ทั้งหมดได้รับการทดสอบฤทธิ์แบคทีเรียก่อโรคเหี่ยวเหี่ยว (*Ralstonia solanacearum*) เบื้องต้น โดยวิธี Agar plug diffusion ทั้งหมด 29 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ SF00270, SF00470, SF00970, SF01370, SF01870, SF02270, SF02870, SF03670, SF03870, SF03970, SF05270, SF05670, SF06270, SF06570, SF07070, SF07270, SF08000, SF08100, SF08500, SF11770, SF13500, SF14370, SF14800, SF14900, BT00410, BT043010, BT00310 และ BT00510 แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทดสอบ การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion เชื้อแอสโคสปอร์ 10 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุดจากการคัดกรองเบื้องต้น ได้แก่ SF00470, SF01370, SF03670, SF07070, SF07270, SF08000, SF08100, SF13500, SF14370 และ BT04310 มาทำการสกัดสารสกัดหยาบภายนอกเซลล์ (extracellular) พบว่าที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum*

จากการทดสอบการออกฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (In vitro screening of plant growth-promoting (PGP) activities) จาก 10 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุด พบว่าการผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติก (IAA production) สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซีติกได้ทั้ง 10 ไอโซเลท การละลายฟอสเฟต (Phosphate solubilization) มี 3 ไอโซเลทที่สามารถละลายฟอสเฟตได้คือ SF03670, SF08100 และ SF14370 การทดสอบการผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ (Hydrogen cyanide production) ไม่มีไอโซเลทที่สามารถผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์เลย การทดสอบการผลิตแอมโมเนีย (Ammonia production) สามารถผลิตแอมโมเนียได้ทั้ง 10 ไอโซเลท และการทดสอบการสร้างซิเตโรฟอรัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Siderophore) มี 9 ไอโซเลทที่สามารถสร้างซิดีโรฟอร์ได้ คือ SF00470, SF01370, SF03670, SF03970, SF07070, SF07270, SF13500, SF14370 และ BT04310

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 มีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาเรื่องตัวทำลายในการสกัดนำสารทุติยภูมิออกมาจากเชื้อแอคติโนมัยซีทให้ได้เพิ่มขึ้นเพื่อการทดสอบในขั้นต่อไป

5.2.2 การศึกษานี้สามารถค้นพบเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินป่าชายเลนในประเทศไทยมีความหลากหลาย และสามารถผลิตสารทุติยภูมิได้จึงเหมาะแก่การนำไปศึกษาวิจัยต่อไปในอนาคต

5.2.3 มีความจำเป็นที่จะต้องทราบถึงความเสียหายของโรคเหี่ยวเหี่ยวในมะเขือเทศและให้ความรู้ชาวไร่ชาวนาน ให้ทราบถึงลักษณะอาการของโรคและวิธีการป้องกันที่ถูกต้องเพื่อลดความเสียหายต่อต้นมะเขือเทศ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กมลพรรณ ภิญโญ, ชนิดา ภาพภักดี และ ณิชพัชร์ อิมใจ. 2564. แอคติโนมัยสีทจากดินนาข้าวอินทรีย์ จังหวัดปทุมธานี และนครสวรรค์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งโรคข้าว และส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- กรรริการ์ ดวงมาลัย และ อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต. 2554. การคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากรากและดินรอบรากต้นยางพาราที่สามารถยับยั้ง *Corynespora cassiicola* และ *Phytophthora botryose*. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2556). คู่มือความรู้เรื่องป่าชายเลน. บริษัท พลอยมีเดีย จำกัด, กรุงเทพฯ.
- ขจรพรรณ รักผล. 2555. ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์ Acanthaceae ต่อการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคเหี่ยวพืชาวเรียมในมะเขือเทศ, วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
- คลังความรู้ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2556. ป่าชายเลน. [online]. เข้าถึงได้จาก https://km.dmcr.go.th/c_11
- คณิงกานต์ กลั่นบุญชัย. 2558. การศึกษา Phospholipids ของแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- คณิงกานต์ กลั่นบุญชัย. 2565. บทปฏิบัติการที่ 9 แอคติโนมัยสีทและการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ วิชาแบคทีเรียวิทยา. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- คณิงกานต์ กลั่นบุญชัย. 2565. บทปฏิบัติการที่ 8 การคัดกรองคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของพืชจากแบคทีเรียแอคติโนมัยสีท วิชาแบคทีเรียวิทยา. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- จานุลักษณ์ ขนบดี. 2541. การผลิตเมล็ดพันธุ์ฝัก. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 183 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- โชติกา สรวีสูตร นีลวรรณ พงศิลป์ และ พงศ์ระวี นิ่มน้อย. 2562. การแยกแอดดีโนมัยซีทปฏิบัติเพื่อ
ยับยั้งการเจริญของ *Bipolaris* sp. และ *Colletotrichum* sp. ในการประชุมวิชาการระดับชาติ
ครั้งที่ 16. นครปฐม.
- ณัฐริมา โฆษิตเจริญกุล, ทิพวรรณ กันหาญาติ, บุรณี พัววงษ์แพทย์ และ รุ่งนภา ทองเคิ่ง. 2555. การ
จำแนกชนิดและเอกลักษณ์ทางพันธุกรรมของ Race แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่
พบในประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการ
อารักขาพืช. 2302-2309.
- ณัฐยา ศรีสวัสดิ์, กมลสิริ เพชรบุรณ์, นักรบ วงศ์บุญมา, ชัญญานุช กอรั้งงาม, มธรรดา เรืองศิริ, ชลิตา เล็ก
สมบูรณ์ และ จุลภาค คุ่นวงศ์. 2564. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ต่อลักษณะต้านทานโรคเหี่ยว
เหี่ยวในมะเขือเทศพันธุ์ปลูกด้วยวิธี Association Mapping. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 3:
259-279.
- ณัฐกฤตา คำหนู, อัญชัญ ชมภูพวง, วิวัฒน์ ดวงโฆชน์, วีระพัทธ์ กันแก้ว, นาวัน สุขเลิศ และ ศิววัฒน์ พัฒ
โนดม. 2562. การคัดเลือกสายพันธุ์มะเขือเทศผลเล็กรับประทานสด. งานวิจัยมูลนิธิโครงการ
หลวง. โครงการวิจัยที่ 3011-A112.
- ทนายท ศรียาภัย, พิชากค์ ศรียาภัย, กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์, อรินทม์ งามนิยม และ วิรงรอง ดวงใจ. 2015.
ศักยภาพด้านชีวภาพของเชื้อแอดดีโนมัยซีทจากดินป่าชายเลนจังหวัดสตูล. วารสารวนศาสตร์
34(2): 51-61
- นฤมล เกื่อนกุล. (2551). การใช้สารสีจากแอดดีโนมัยซีทในการย้อมสีเส้นใยไหมและเส้นใยฝ้าย.
รายงานการวิจัย. สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูล
สงคราม.
- นฤมล เกื่อนกุล และ ธวัชชัย สุ่มประดิษฐ์. (2555). การคัดแยกและระบุชนิดของแอดดีโนมัยซีท จากดิน
รังมดและ จอมปลวกบริเวณอุทยานแห่งชาติทุ่งแสลงหลวง จังหวัดพิษณุโลก เพื่อใช้ในการย้อมสี
เส้นใยไหม. รายงานการวิจัย. สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏ พิบูลสงคราม.
- นฤมล รุ่งเรือง, ปิยธิดา สีทา, ศศิณา จรรยา, วารินทร์ แสนมาโนช และ ทัย กาบบัว. 2565. การคัดแยก
แอดดีโนมัยซีทที่สร้างสารสีจากดินรังปลวก. มหาวิทยาลัยราชภัฏศรีสะเกษ. วารสารวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยี. 2: 63-69.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหานันท์ พิมพานุวัตร. 2564. การศึกษาประสิทธิภาพของแอคติโนแบคทีเรียในการควบคุมโรคและการส่งเสริมการเจริญของมะนาว. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยนเรศวร
 พิรดาว ดาโอะ วิจิต เรืองแป้น, นฤมล ทองมาก, จริญญาภรณ์มาสวัสดิ์, ปิยะรักษ์ ประดับเพชรรัตน์, สะอูดี
 มะประสิทธิ์, จุฑามาศ แก้วมณี และ ชูชาน มะเซ็ง. 2560. ระบบนิเวศป่าชายเลน : สิ่งแวดล้อม
 และสิ่งมีชีวิต. 987-1003. ในการประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 6. ยะลา.

ภาวิณี ท้าวเพชร. 2554. ผลของต้นตอมะเขือเทศที่มีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตมะเขือเทศสีดาใน
 สภาพทรงเรือนและแปลงปลูก. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัย
 อุบลราชธานี

มัลลิกา อีร์กุล, ปิยนันท์ ชมนาวัง, แก้วตา สุตรสุวรรณ และ ณิชพงศ์ ศรีสมุทร. 2562. การคัดเลือกแอคติ
 โนไมยสีทกลุ่มปฏิปักษ์ต่อจุลินทรีย์ก่อโรคในหน้าวัว. 1250-1264. ในการประชุมวิชาการระดับ
 นานาชาติ มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ ครั้งที่ 1. กาฬสินธุ์

รัชชา คำคง, กนกวรรณ พุ่มพุด และ กมลวรรณ สำราญ. 2564. แอคติโนไมยสีจากดินนาข้าวจังหวัด
 นครสวรรค์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งโรคข้าว และส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว. วิทยาศาสตร์บัณฑิต
 สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รัตนภรณ์ ศรีวิบูลย์, จีรวรรณ เพ็ญ และ ปรากรม ประยูรรัตน์. 2549. การแยกเชื้อและการจำแนก
 สเตรปโตไมยสีจากดินชายฝั่งของเกาะช้าง จังหวัดตราด. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 2549(11)
 2: 61-66.

ลักขมี ศุภระกาญจนะ. 2556. การคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติเชื้อแอคติโนไมยสีที่สามารถผลิต
 เอนไซม์ย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ.
 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

สรายุทธ บุญยะเวชชีวิน และรุ่งสุริยา บัวสาลี. (2554). ป่าชายเลน: นิเวศวิทยาและพรรณไม้. กรมอุทยาน
 แห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กรุงเทพมหานคร. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด
 (มหาชน)

สุจรรยา ฉายแสง. 2556. การแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนไมยสีจากข่าและกระชาย : สมบัติการยับยั้ง
 เชื้อจุลินทรีย์ การต้านอนุมูลอิสระและการต้านเซลล์มะเร็ง. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุล
 ชีววิทยา. มหาวิทยาลัยศิลปากร

สนิท อักษรแก้ว. (2541). ป่าชายเลน: นิเวศวิทยาและการจัดการ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ:

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะวนศาสตร์ ภาคชีววิทยาป่าไม้.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ศรีสุวรรณค์ อินพุ่ม และ สวรรส เลิศพัฒน์นนท์. 2560. ฟอสโฟลิปิดและฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแบคทีเรีย โนมียีสจากดินป่าชายเลนสถานตากอากาศบางปู จังหวัดสมุทรปราการ. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- ศศิธร วุฒินิชย์. 2549. โรคของผักและการควบคุมโรค. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ ไทยวัฒนา.
- อรอุมา เรืองวงศ์ และ เบญจวรรณ ใจจันทร์. 2560. การใช้แบคทีเรียโนมียีสจากดินเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉาของมะเขือเทศ. วารสารเกษตร 33(1): 49-59.
- Aeny, T. N., Prasetyo, J., Suharjo, R., Dirmawati, S. R., Efri, E., & Niswati, A. 2018. Short communication: Isolation and identification of Actinomycetes potential as the antagonist of *Dickeya Zeae* Pineapple soft rot in Lampung, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 19(6), 2052–2058.
- Akhter, M.S., Akanda, A.M., Kobayashi, K., Jain, R.K., Mandal, B., 2019. Plant virus diseases and their management in Bangladesh. *Crop Prot.* 118, 57–65.
- Al-Mamun, M.A., Akter, Z., Uddin, M.J., Ferdous, K., Hoque, K.M.F., Ferdousi, Z., Reza, M.A., 2016. Characterization and evaluation of antibacterial and antiproliferative activities of crude protein extracts isolated from the seed of *Ricinus communis* in Bangladesh. *BMC Complement. Altern. Med.* 16, 1–10.
- Al-Mamun, M.A., Husna, J., Khatun, M., Hasan, R., Kamruzzaman, M., Hoque, K.M.F., Reza, M.A., Ferdousi, Z., 2016. Assessment of antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of two vegetable species of *Amaranthus* in Bangladesh. *BMC Complement. Altern. Med.* 16, 1–11.
- Ahmad, W.A., Ahmad, W.Y.W., Zakaria, Z.A. and Yusof, N.Z. 2012. Isolation of pigment of pigmentproducing bacteria and characteristic of the extracted pigments. *Application of Bacterial Pigments as Colorant. Molecular Science.* 25-44.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. 2nd ed. New York John Wiley and Sons Inc.,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Arusha P. Nandimath, Dilip D. Karad, Shantikumar G. Gupta & Arun S. Kharat. 2017. Consortium inoculum of five thermo-tolerant phosphate solubilizing Actinomycetes for multipurpose biofertilizer preparation. *Iranian journal of Microbiology*. 9(5): 295-34.
- Athira, S., & Anith, K. N. 2020. Plant growth promotion and suppression of bacterial wilt incidence in tomato by rhizobacteria, bacterial endophytes and the root endophytic fungus *Piriformospora indica*. *Indian Phytopathology*, 73(4), 629–642.
- Beebee, DM. (2014). History of mushroom dyes and the international Fungi & fibre symposia. August 04, 2014.
- Budhathoki, S., & Shrestha, A. 2020. Screening of actinomycetes from soil for antibacterial activity. *Nepal Journal of Biotechnology*, 8(3), 102–110.
- Chen, Y.P., Rekha, P.D., Arun, A.B., Shen, F.T., Lai, W.A., Young, C.C. 2006. "Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities." *Applied Soil Ecology*. 34: 33-41.
- Cross, T. (1968). Thermophilic actinomycetes. *Journal of Applied Bacteriology*. 31: 36-53.
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C. L., Rose, D., & Glick, B. R. 2014. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106(1), 85–125.
- Farnham, M.W., P. W. Simon and J. R. Stommel. 2009. Improved Phytonutrient Content Through Plant Genetic Improvement. *Nutrition Reviews*. 57:19-26.
- Gong B, Chen S, Lan W, Huang Y, and Zhu X. 2016. Antibacterial and Antitumor Potential of Actinomycetes Isolated from Mangrove Soil in the Maowei Sea of the Southern Coast of China. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 17(4): 1339-1346.
- Hamed, A. A., Abdel-Aziz, M. S., Fadel, M., & Ghali, M. F. 2018. Antimicrobial, antidermatophytic, and cytotoxic activities from streptomyces sp. MER4 isolated from Egyptian local environment. *Bulletin of the National Research Centre*, 42(1).
- Hayakawa, M.; Ishizawa, K.; & Nonomura, H. 1988. Distribution of rare actinomycetes in Japanese soils. *Journal of Fermentation Technology* 66: 367-373.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hayat Q., Hayat S., Irfan M., Ahmad A. 2010. "Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review." *Environmental and Experimental Botany*. 68: 14-25.
- Hossain, Md. F., Billah, M., Ali, M. R., Parvez, Md. S., Zaoti, Z. F., Hasan, S. M. Z., Hasan, Md. F., Dutta, A. K., Khalekuzzaman, Md., Islam, Md. A., & Sikdar, B. 2021. Molecular identification and biological control of *Ralstonia solanacearum* from wilt of papaya by natural compounds and *Bacillus subtilis*: An integrated experimental and computational study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 6972–6986.
- Imbert M, Bechet M, Blondeau R (1995) Comparison of the main siderophores produced by some species of *Streptomyces*. *Curr Microbiol* 31:129–133
- Janaki, T, Nayak, BK and Ganesan, T. 2016. Antifungal activity of soil actinomycetes from the mangrove *Avicennia marina*. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 4(2): 05-08.
- Jiang, Y., Li, Q., Chen, X. and Jing, C. 2015. Isolation and Cultivation Methods of Actinobacteria. *Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications*; ch2: 39-57
- Kaari, M., Joseph, J., Manikkam, R., Sreenivasan, A., & Venugopal, G. (2022). Biological control of *streptomyces* sp. UT4A49 to suppress tomato bacterial wilt disease and its metabolite profiling. *Journal of King Saud University - Science*, 34(1), 101688.
- Kalimuthu, K., Kumaravel, M., Haldar, D., & Perumal, A. (2022). *Isolation and Characterization of Marine Actinomycetes – Bioprospecting for Antimicrobial, Antioxidant and Anticancer Properties*.
- Katili, A. S., and Retnowati, Y. 2017. Short communication: Isolation of actinomycetes from mangrove ecosystem in torosiaje, Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 18(2), 826–833.
- Kelly, K. L., & United States. 1964. "ISCC-NBS centroid color charts: Standard sample No.2106." *Washington: U.S. Dept. of commerce*, National Bureau of Standards.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Khamna, S., Yokota, A., & Lumyong, S. (2008). Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: Diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(4), 649–655.
- Khan, A.A., Jilani, G., Akhtar, M.S., Naqvi, SM.S. and Rasheed, M. 2009. "Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production." *Journal of Agriculture and Biological Science*. 1: 48-58.
- Krewulak, KD., and Vogel, HJ. 2008. "Structural biology of bacterial iron uptake." *Biochimica et Biophysica Acta*. 1778: 1781-1804.
- Law, J. W.-F., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.-S., Wong, S. H., Goh, B.-H., & Lee, L.-H. 2019. A review on mangrove actinobacterial diversity: The roles of Streptomyces and novel species Discovery. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, 2(1).
- Lechevalier, H.A. and Pine L. (1974). "The Actinomycetes". *Handbook of Microbiology*, Cleveland: 194-211.
- Lee, J., Postmaster, A., Soon, H. P., Keast, D., & Carson, K. C. 2011. Siderophore production by Actinomycetes isolates from two soil sites in Western Australia. *BioMetals*, 25(2), 285–296.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. 2016. Morphological identification of actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*.
- Mangamuri, U. K., Vijayalakshmi Muvva, V., Poda, S., & Kamma, S. 2012. Isolation, identification and molecular characterization of rare actinomycetes from mangrove ecosystem of Nizampatnam. *Malaysian Journal of Microbiology*.
- Meena, R.S., Meena, V.S., Meena, S.K., and Verma, J.P. 2015. "Towards the plant stress mitigate the agricultural productivity: a book review." *Journal of Cleaner Production*. 102: 552-553.
- Miyadoh S, Hamada M, Hotta K, Seino A, Vobis G, Yokota A. 1997. *Atlas of Actinomycetes*. Japan: Askura Publishing Co. Lid.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Miyadoh Shinji. 1993. "Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: A producing microorganism approach," *Actinomycetologica* 7: 100-106
- Moncheva, P., Tishkov, S., Dimitrova, N., Chipeva, V., Antonova-Nikolova, S., & Bogatzevska, N. 2002. CHARACTERISTICS OF SOIL ACTINOMYCETES FROM ANTARCTICA. *J. Cult Coll*, 3, 3-14.
- Meiwes J, Fiedler HP, Zahner H, Konetschny-Rapp S, Jung G (1990) Production of desferrioxamine E and new analogues by directed fermentation and feeding fermentation. *Appl Microbiol Biotechnol* 32(5):505–510
- Mendez, C., Alfredo F. B., Manuel B. M., and Carios H. 1985. "Role of substrate mycelium in colony development in *Streptomyces*." *Canadian Journal of Microbiology* 31, 5: 446-450.
- Nimnoi, P., Pongsilp, N., & Lumyong, S. 2009. Endophytic Actinomycetes isolated from *Aquilaria Crassna* Pierre ex Lec and screening of Plant Growth Promoters Production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(2), 193–203.
- Oyedoh, O. P., Yang, W., Dhanasekaran, D., Santoyo, G., Glick, B. R., & Babalola, O. O. 2023. Sustainable agriculture: Rare-actinomycetes to the rescue. *Agronomy*, 13(3), 666.
- Palla, M. S., Guntuku, G. S., Muthyala, M. K., Pingali, S., & Sahu, P. K. 2018. Isolation and molecular characterization of antifungal metabolite producing actinomycete from mangrove soil. *Beni- Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(2), 250-256.
- Patrice G. Champoiseau and Timur M. 2009. Bacterial Wilt of Tomato. The United States Department of Agriculture – National Research Initiative Program. 1-11.
- Priyadarshini, A., Singdevsachan, S., Tripathy, S., Mohanta, Y., Patra, J., & Sethi, B. 2016. Isolation and identification of Actinomycetes from mangrove soil and extraction of secondary metabolites for antibacterial activity. *British Biotechnology Journal*, 12(2), 1–13.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Raja, A., Prabakaran, P., Gajalakshmi, P., & Rahman, A. H. 2010. A population study of psychrophilic actinomycetes isolated from rothang hill-manali soil sample. *J. Pure Appl. Microbiol.*, 4; 847-851.
- Ranjani, A., Dhanasekaran, D., & Gopinath, P. M. 2016. An introduction to actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*.
- Rein, D., Schijlen, E., Kooistra, T., Herbers, K., Verschuren, L., Hall, R., Sonnewald, U., Bovy, A., & Kleemann, R. 2006. Transgenic flavonoid tomato intake reduces C-reactive protein in human C-reactive protein transgenic mice more than wild-type tomato. *The Journal of Nutrition*, 136(9), 2331–2337.
- Retnowati, Y., Moeljopawiro, S., Djohan, T. S., & Soetarto, E. S. 2018. Antimicrobial activities of Actinomycete isolates from rhizospheric soils in different mangrove forests of torosiaje, Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 19(6), 2196–2203.
- Retnowati, Y., Sembiring, L., Moeljopawiro, S., Djohan, T. S., & Soetarto, E. S. 2017. Diversity of antibiotic-producing actinomycetes in mangrove forest of Torosiaje, Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 18(4), 1453–1461.
- Rattanakavil, T. & Klanbut, K. 2019. Actinomycetes from Rice Field Soil, Nakonsawan and Their Antimicrobial Activity. In The 31st Annual Meeting of the Thai Socoety for Biotechnology and International Conference. Phuket.
- Rattanakavil, T. 2020. Isolation of actinomycetes for product from development to control rice blast disease and the identification of a potential strain. A thesis submitted in prartal fulfillment of the requirement for The Degree of Master of Science in biotecnchnology Department of biology faculty of science King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.
- Richardson, A.E. and Simpson, R.J. 2011. "Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus." *Plant Physiology*. 156: 989 – 996.
- Sahoo, K. and Dhal, N. K. 2009. Potential microbial diversity in mangrove ecosystem: A review. *Indian Journal of Marine Sciences*. 38: 249-256.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sathya, R. & Ushadevi, T. 2014. Isolation and screening of glucose isomerase producing marine *Streptomyces* species for fructose production. *Der Pharma Chemica*, 6(5): 215-219.
- Schwyn, B. and J. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem.* 160(1): 47-56
- Sehrawat, A., Sindhu, S. S., & Glick, B. R. 2022. Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. *Pedosphere*, 32(1), 15–38.
- Shrivastava, P., Kumar, R., Yandigeri, M., Malviya, N., & Arora, D. 2015. Isolation and characterization of *Streptomyces* with plant growth promoting potential from mangrove ecosystem. *Polish Journal of Microbiology*, 64(4), 339-349.
- Silambarasan. 2012. Antibacterial and antifungal activities of actinobacteria isolated from Rathnagiri Hills. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*.
- Suksaard, P, Pathom-aree, W and Duangmal, K. 2017. Diversity and Plant Growth Promoting Activities of Actinomycetes from Mangroves. *Journal of Science and Technology*, 44(4): 1210-1223.
- Swarna, D., & Gnanadoss, J. J. (2020). Screening and molecular characterization of actinomycetes from mangrove soil producing industrially important enzymes. *Journal of Scientific Research*, 64(02), 87–95.
- Tans-Kersten, J., Huang, H., & Allen, C. 2001. *ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on Tomato. *Journal of Bacteriology*, 183(12), 3597–3605.
- Thompson, D. E., & Petrikovics, I. 2016. Physicochemical properties, synthesis, applications, and transport. *Toxicology of Cyanides and Cyanogens*, 41–53.
- Wakman SA. 1916. The Actinomycetes, classification, identification and description of genera and species. Baltimore: The William and Wilkins Company. 2:61-292.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Wang, J.-F., Olivier, J., Thoquet, P., Mangin, B., Sauviac, L., & Grimsley, N. H. 2000. Resistance of tomato line hawaii7996 to *ralstonia solanacearum* PSS4 in Taiwan is controlled mainly by a major strain-specific locus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(1), 6–13.
- Wang, J. F and C. H. Lin. 2005. Integrated Management of Bacterial Wilt of tomatoes. Asian Vegetable Research Centre Publication 05-615.
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., De Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., Schwede, T., 2018. SWISSMODEL: Homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res.* 46, W296–W303. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>.
- Wikaningtyas, Pratiwi, Sukandar, Elin Yulinah, 2016. The antibacterial activity of selected plants towards resistant bacteria isolated from clinical specimens. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 6 (1), 16–19.
- Woese, C.R., Stackebrandt, E., Macke, T.J., Fox, G.E., 1985. A Phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. *Syst. Appl. Microbiol.* 6 (2), 143–151.
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Teng, J.L.L., Tse, H, Yuen, K.-Y., 2008. Then and now: Use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin. Microbiol. Infect.* 14 (10), 908–934.
- Yamanaka K, Oikawa H, Ogawa HO, Hosono K, Shinmachi F, Takano H, Sakuda S, Beppu T, Ueda K (2005) Desferrioxamine E produced by *Streptomyces griseus* stimulates growth and development of *Streptomyces tanashiensis*. *Microbiology* 151(Pt 9):2899–2905.
- Zainal Abidin, Z. A., Abdul Malek, N., Zainuddin, Z., & Chowdhury, A. J. 2015. Selective isolation and antagonistic activity of actinomycetes from mangrove forest of Pahang, Malaysia. *Frontiers in Life Science*, 9(1), 24–31.
- Zhang, Y., & Stommel, J. R. 2001. Development of scar and caps markers linked to the *betagene* in tomato. *Crop Science*, 41(5), 1602–1608.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Starch Casein Agar (SCA) ผสมน้ำทะเลจริง

Soluble starch	10.0	กรัม
Casein	0.3	กรัม
KNO ₃	2.0	กรัม
NaCl	2.0	กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05	กรัม
CaCO ₃	0.02	กรัม
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำทะเลจริง	500	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร
pH 7.0 – 7.2		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Starch Casein Agar (SCA) ผสมน้ำทะเลเทียม (ความเข้มข้น ร้อยละ 1.5)

Soluble starch	10.0	กรัม
Casein	1.0	กรัม
Reef salt (ยี่ห้อ AquaRaise ถุงสี่สั้ม)	15.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.0 – 7.4		

ชั่งสารตามสูตร และชั่งเกลือเทียม 15 กรัมต่อปริมาตรน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่

อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. International *Streptomyces* Project No.2 Medium (ISP2)

Glucose	4.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Malt extract	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.0 – 7.2		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. Nutrient Agar (NA)

Peptone	5.0	กรัม
Beef extract	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
pH 7.0 – 7.2		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. Pikovskaya's Agar

Yeast extract	0.5	กรัม
Dextrose	10.0	กรัม
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5.0	กรัม
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5	กรัม
KCl	0.2	กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.1	กรัม
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.0001	กรัม
MnSO ₄ ·4H ₂ O	0.0001	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.3 – 7.4		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Peptone water

Peptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.3 – 7.4		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

7. Mueller-Hinton Agar (MHA)

Beef extract	2.0	กรัม
Acid hydrolysate of casein	17.50	กรัม
Soluble starch	1.50	กรัม
Agar	18.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.2 – 7.4		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

8. International *Streptomyces* project no.2 (ISP2) ที่เติมสารละลาย Chrome Azurol S (CAS agar)

8.1 เตรียม CAS indicator solution (blue dye)

Fe III ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) solution	10.0	มิลลิลิตร
Chrom azurol S	0.06	กรัม
HDTMA	40.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	50.0	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.2 เตรียม International *Streptomyces* project no.2 (ISP2)

Glucose	4.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Malt extract	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

8.3 เตรียม CAS agar

CAS Indicator solution	10.0	มิลลิลิตร
ISP2 Agar medium	88.0	มิลลิลิตร
Glucose	2.0	มิลลิลิตร

ผสมส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน โดยเติม FeCl_3 solution ใน CAS solution อย่างช้าๆ จากนั้นจึงค่อยเติม HDTMA solution จะได้ CAS indicator solution เป็นสีน้ำเงิน ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอร้อน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

9. International *Streptomyces* project no.2 (ISP2) 0.44% glycine

Glucose	4.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Malt extract	10.0	กรัม
Agar	18.0	กรัม
Glycine	4.4	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

pH 7.0 – 7.3

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. International *Streptomyces* project no.2 (ISP2) 0.2% tryptophan

Glucose	4.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Malt extract	10.0	กรัม
Agar	18.0	กรัม
Tryptophan	2	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH 7.0 – 7.3		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

Reagent and buffer

1. Salkowski's reagent

0.5M FeCl ₃	1	มิลลิลิตร
35% HClO ₄	50	มิลลิลิตร

2. Picric acid solution

Sodium carbonate	2	กรัม
Picric acid solution	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

3. Nessler's reagent

Potassium iodide	2	กรัม
Mercury (II) iodide	3	กรัม
Potassium hydroxide	40	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

4. Tween 80

Tween 80	0.1	มิลลิลิตร
KH ₂ PO ₄	1.75	กรัม
K ₂ HPO ₄	3.5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

pH 6.8-7.0

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. NaCl 0.85%

NaCl	0.85	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. 6M Hydrochloric acid

Conc. HCl	60	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	60	มิลลิลิตร

7. McFarland standard number 0.5

1.175% w/v BaCl ₂ ·2H ₂ O	0.5	มิลลิลิตร
1% v/v Conc. H ₂ SO ₄	99.5	มิลลิลิตร

8. ยาปฏิชีวนะ Nystatin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Nystatin	0.01	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื่อน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นรอให้เย็นแล้วชั่งยาปฏิชีวนะ 0.01 กรัมลงในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

9. ยาปฏิชีวนะ Streptomycin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Streptomycin	10	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	10	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื่อน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นรอให้เย็นแล้วชั่งยาปฏิชีวนะ 10 มิลลิกรัมลงในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

เตรียมความเข้มข้นยา Streptomycin 10 µg/ml ปริมาตร 500 µl จากความเข้มข้น 100 µg/ml

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

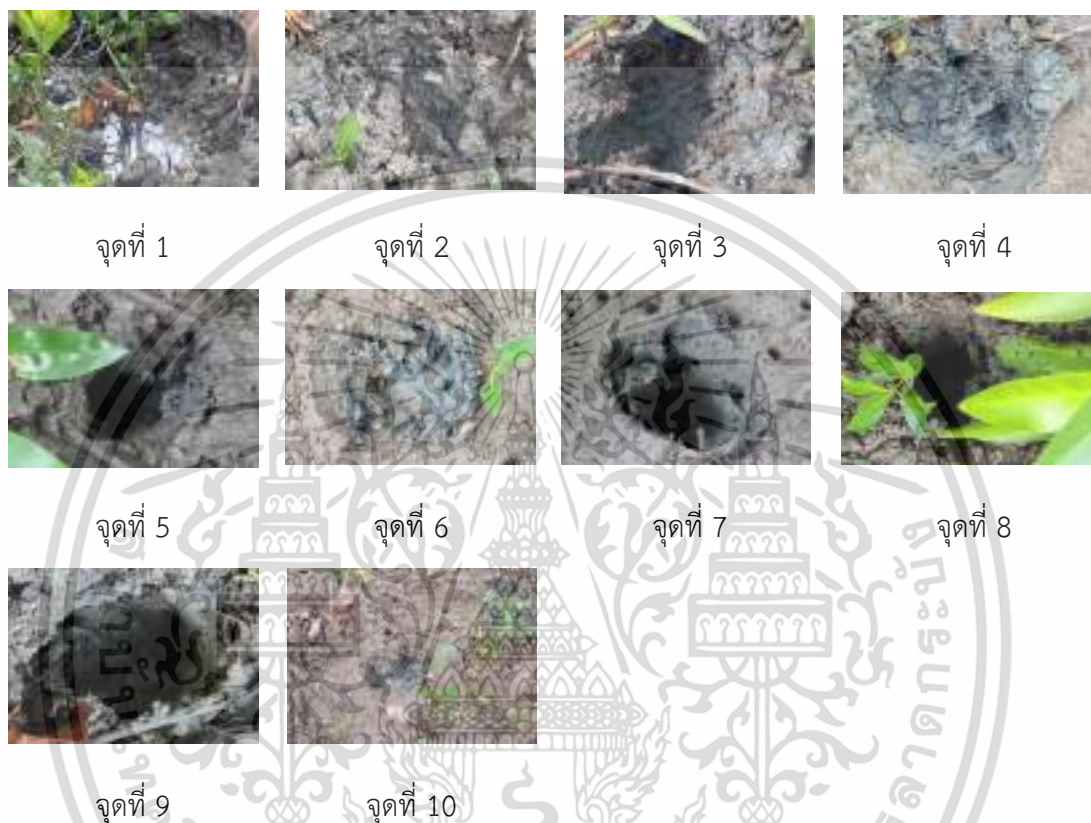
$$(100 \mu\text{g/ml}) (V_1) = (10 \mu\text{g/ml}) (500 \mu\text{l})$$

$$V_1 = 50 \mu\text{l}; \text{ หมายความว่าดูดยาความเข้มข้น } 100 \mu\text{g/ml} \text{ มา } 50 \mu\text{l} \text{ ใส่ในน้ำกลั่นอีก } 450 \mu\text{l}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ภาพถ่ายจุดเก็บตัวอย่างดิน



รูปที่ 1 จุดเก็บตัวอย่างดิน 10 จุด บริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน

ตารางที่ 1 ค่าความเป็นกรด-เบส และอุณหภูมิของตัวอย่างดินจากบริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน

จุดเก็บ	pH	อุณหภูมิ	จุดเก็บ	pH	อุณหภูมิ
1	7.5	28.9	6	7.7	27.1
2	7.4	27.8	7	7.5	26.9
3	7.5	29.3	8	7.7	27.0
4	7.4	30.2	9	7.8	28.2
5	7.3	27.1	10	7.8	28.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



จุดที่ 1



จุดที่ 2



จุดที่ 3



จุดที่ 4



จุดที่ 5



จุดที่ 6



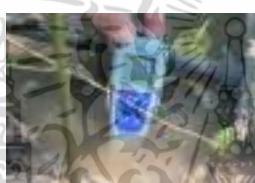
จุดที่ 7



จุดที่ 8



จุดที่ 9



จุดที่ 10

รูปที่ 2 จุดเก็บตัวอย่างดิน 10 จุด ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี

ตารางที่ 2 ค่าความเป็นกรด-เบส และอุณหภูมิของตัวอย่างดินศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี

จุดเก็บ	pH	อุณหภูมิ	จุดเก็บ	pH	อุณหภูมิ
1	7.3	25.1	6	7.3	23.0
2	7.3	24.0	7	7.2	23.9
3	7.2	24.9	8	7.0	23.6
4	7.4	24.4	9	7.2	23.1
5	7.5	24.3	10	7.1	23.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 แสดงถึงที่ตั้งสถานที่เก็บตัวอย่าง ละติจูดและลองจิจูดบริเวณสะพานรัษฎาทะเลบางขุนเทียน จังหวัดกรุงเทพมหานคร ($13^{\circ}31'45''\text{N}$ $100^{\circ}25'24''\text{E}$)



รูปที่ 4 แสดงถึงที่ตั้งสถานที่เก็บตัวอย่าง ละติจูดและลองจิจูดศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ($12^{\circ}23'42''\text{N}$ $99^{\circ}58'59''\text{E}$)
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

เชื้อแอคติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร ISP2


ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 1.5 และ 3

ตารางที่ 1 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกลือ

 SF00270	 SF00470	 SF00670	 SF00870
 SF00970	 SF01370	 SF01870	 ด้านบน SF02070 ด้านล่าง SF02370
 SF02170	 SF02270	 ด้านบน SF02470 ด้านล่าง SF02770	 SF02870
 SF03070	 ด้านบน SF03270 ด้านล่าง SF04170	 SF03670	 SF03870



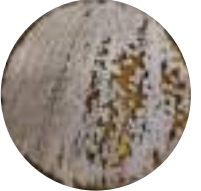
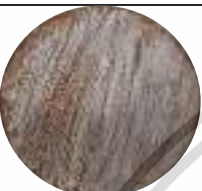


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกลือ (ต่อ)

 SF03970	 SF04670	 SF05070	 SF05270
 SF05570	 SF05670	 SF05970	 SF06270
 SF06570	 SF07070	 SF07270	 SF07470
 SF08000	 SF08100	 SF08500	 ด้านบน SF10600 ด้านล่าง SF11070
 ด้านบน SF11670 ด้านล่าง SF12900	 SF11770	 SF11870	 SF13000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 เชื้อแอกติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกลือ (ต่อ)

			
SF13500	ด้านบน SF14370 ด้านล่าง SF14800	SF14900	BT00310
			
BT00510	BT00410	BT04310	

ตารางที่ 2 เชื้อแอกติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือ 3%

			
ด้านบน SF00270 ด้านล่าง SF00470	ด้านบน SF00670 ด้านล่าง SF00870	SF00970	ด้านบน SF01370 ด้านล่าง SF01870
			
ด้านบน SF02070 ด้านล่าง SF02170	ด้านบน SF02270 ด้านล่าง SF02370	ด้านบน SF02470 ด้านล่าง SF02770	ด้านบน SF02870 ด้านล่าง SF03070
			
SF03270	SF03670	ด้านบน SF03870 ด้านล่าง SF03970	ด้านบน SF04170 ด้านล่าง SF04670

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือ 3% (ต่อ)

 SF05070	 ด้านบน SF05270 ด้านล่าง SF05570	 ด้านบน SF05670	 ด้านบน SF05970 ด้านล่าง SF06270
 ด้านล่าง SF06570	 ด้านบน SF07070 ด้านล่าง SF07270	 ด้านบน SF07470	 ด้านบน SF08000 ด้านล่าง SF08100
 ด้านบน SF08500 ด้านล่าง SF10600	 ด้านบน SF11070 ด้านล่าง SF11670	 ด้านบน SF11770 ด้านล่าง SF11870	 ด้านบน SF12900 ด้านล่าง SF13000
 ด้านบน SF13500 ด้านล่าง SF14370	 ด้านบน SF14800 ด้านล่าง SF14900		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือ 1.5%



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 เชื้อแอคติโนมัยสีทที่เจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือ 1.5% (ต่อ)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 เชื้อแอคติโนมัยสิตที่เจริญบนอาหาร ISP2 ที่เติมเกลือ 1.5% (ต่อ)



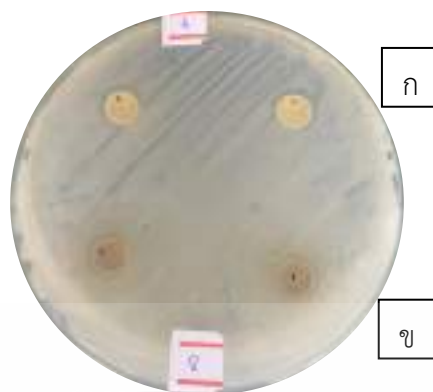
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

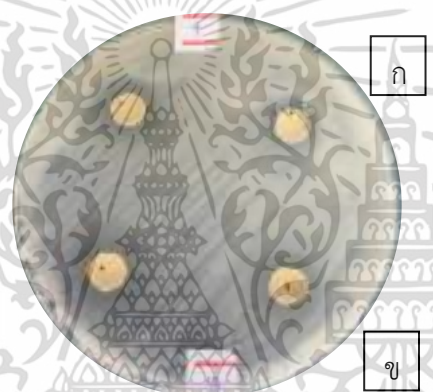
การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแอคติโนมัย
 สีสู่ต่อ *R. solanacearum* โดยวิธี Agar plug diffusion



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF00670, ข) SF00870

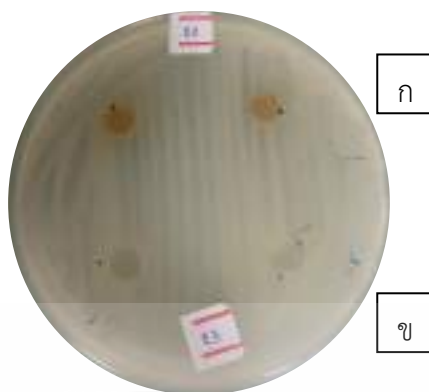


รูปที่ 4 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF00970, ข) SF01370



รูปที่ 5 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF00870, ข) SF01870

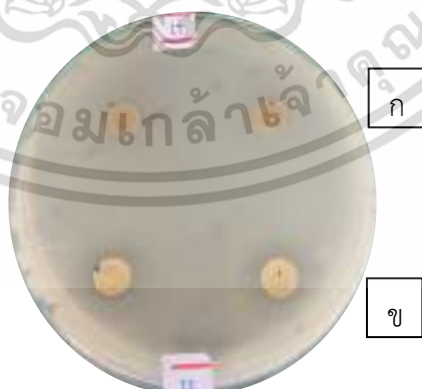
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF02070, ข) SF02370

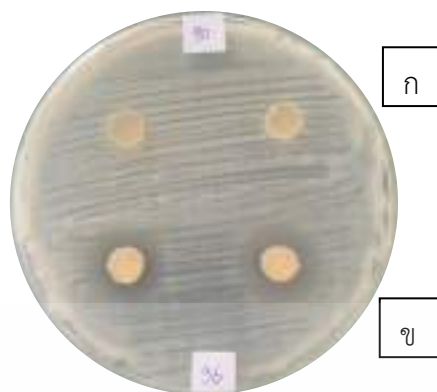


รูปที่ 7 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF02170, ข) SF02470



รูปที่ 8 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF02270, ข) SF02870

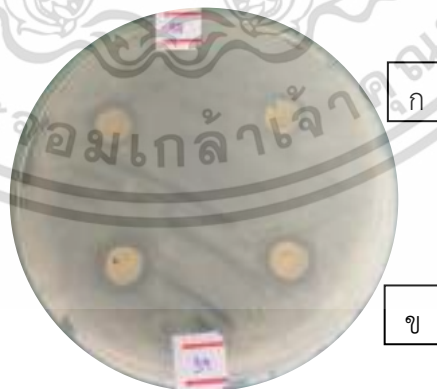
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF03070, ข) SF03670

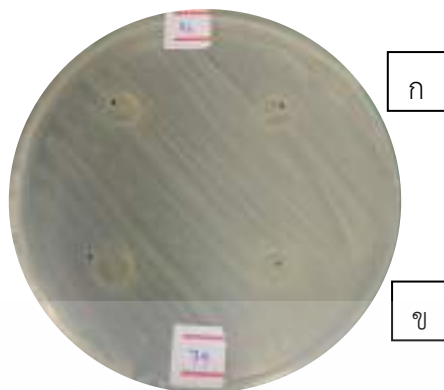


รูปที่ 10 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF03270, ข) SF04170



รูปที่ 11 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF03870, ข) SF03970

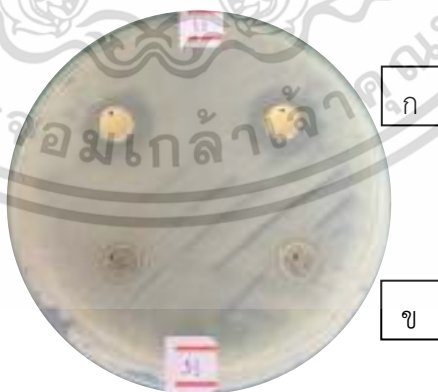
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 12 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF04670, ข) SF07470

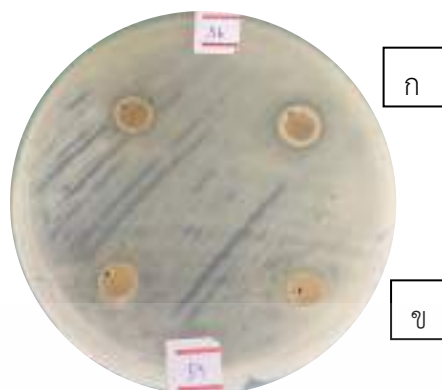


รูปที่ 13 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF05070, ข) SF05170



รูปที่ 14 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF05270, ข) SF05570

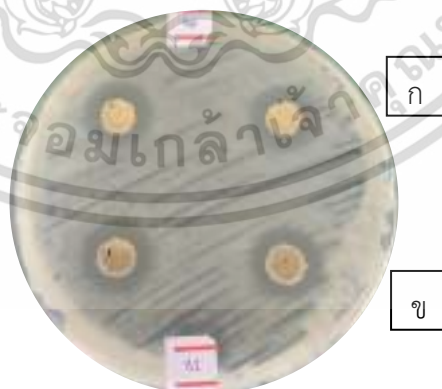
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 15 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขท ก) SF05670, ข) SF05970

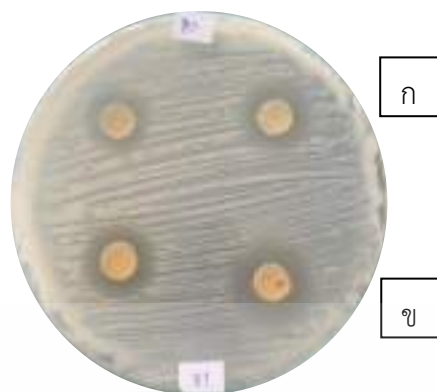


รูปที่ 16 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขท ก) SF06270, ข) SF06570

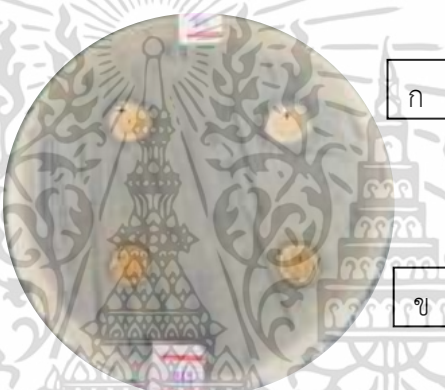


รูปที่ 17 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขท ก) SF07070, ข) SF07270

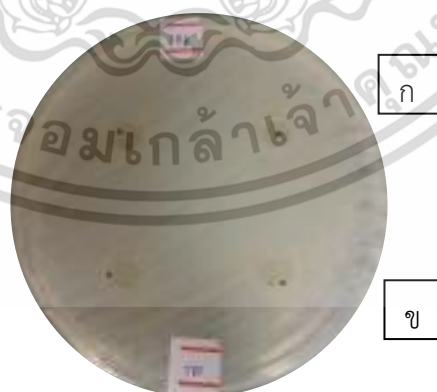
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 18 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขท ก) SF08000, ข) SF08100

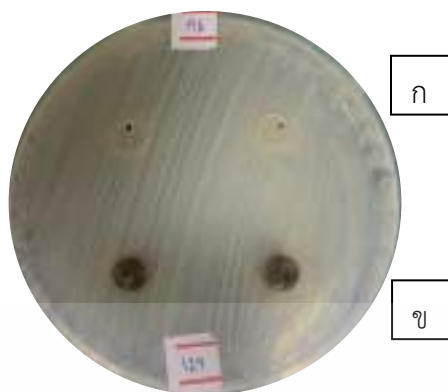


รูปที่ 19 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขท ก) SF08500, ข) SF11770



รูปที่ 20 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขท ก) SF10600, ข) SF11070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 21 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF11670, ข) SF12900

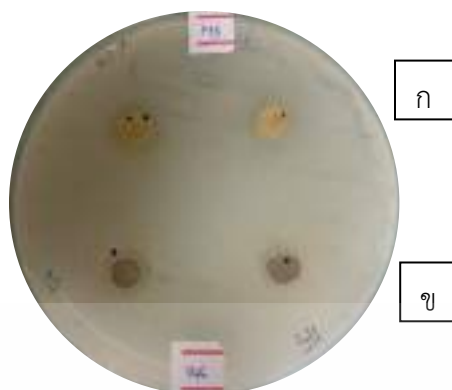


รูปที่ 22 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF11870, ข) SF13000



รูปที่ 23 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF13500

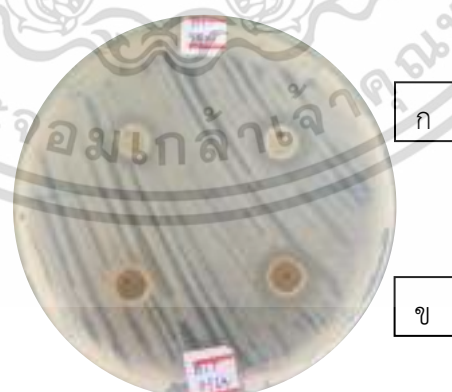
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



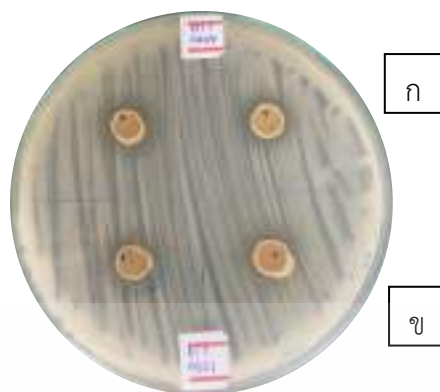
รูปที่ 24 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขท ก) SF14370, ข) SF14800



รูปที่ 25 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขท ก) SF14900



รูปที่ 26 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลขท ก) BT04310, ข) BT005610
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 27 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) BT00410, ข) BT00310

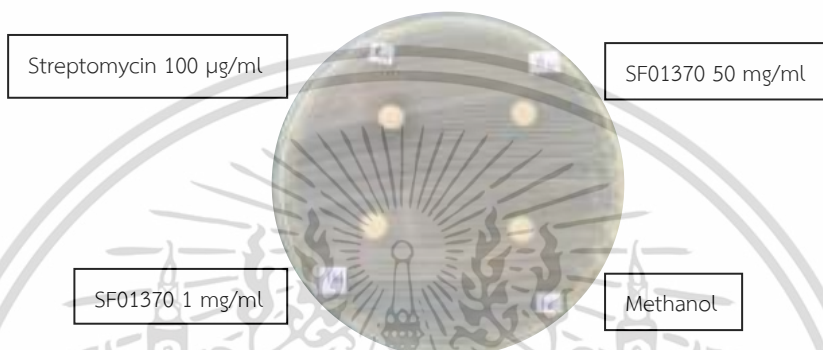


รูปที่ 28 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท ก) SF02770

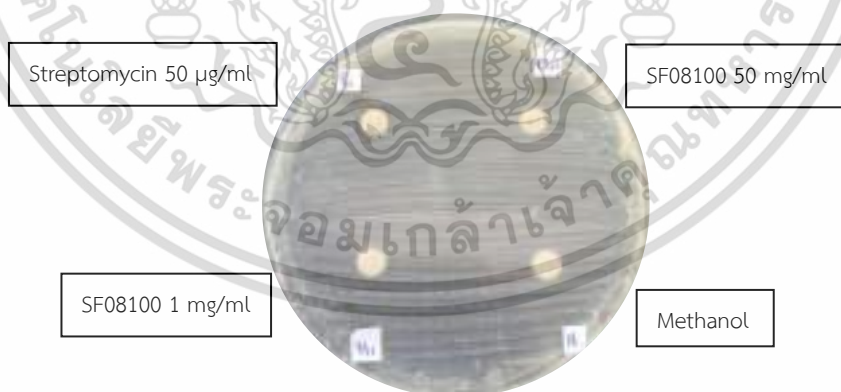
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแอกติโนมัย สีต่อ *R. solanacearum* โดยวิธี Agar disc diffusion



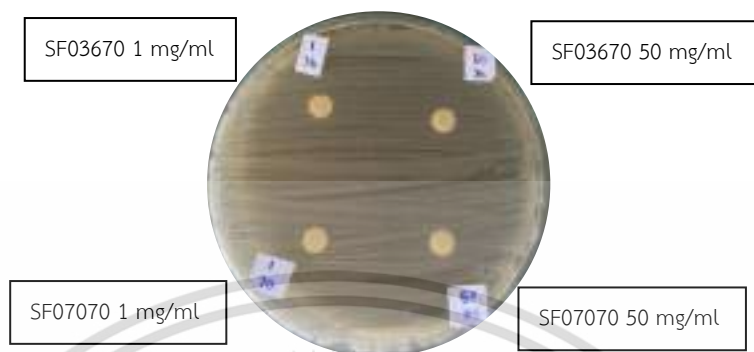
รูปที่ 1 แสดงผลการทดสอบความสามารถของไอโซเลท SF01370 ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ยา Streptomycin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Positive control) และ Methanol (Negative control) ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ *R. solanacearum* บนอาหาร Muller-Hinton Agar (MHA) ด้วยวิธี Agar disc diffusion



รูปที่ 2 แสดงผลการทดสอบความสามารถของไอโซเลท SF08100 ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ยา Streptomycin ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Positive control) และ Methanol (Negative control) ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ *R. solanacearum* บนอาหาร Muller-Hinton

Agar (MHA) ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

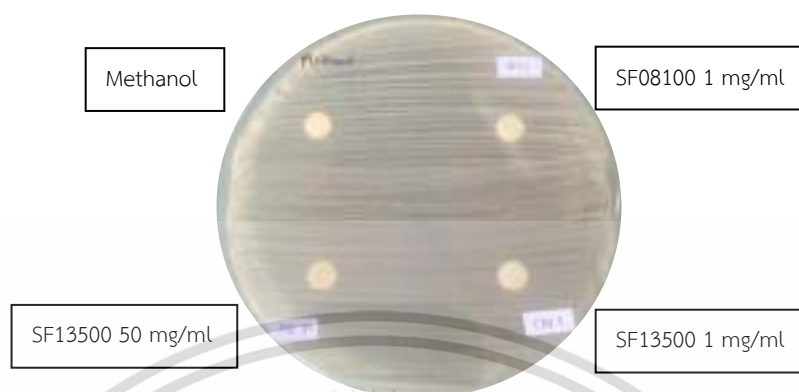


รูปที่ 3 แสดงผลการทดสอบความสามารถของไอโซเลท SF03670 ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร และ ไอโซเลท SF07070 ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งแบคทีเรีย ทดสอบ *R. solanacearum* บนอาหาร Muller-Hinton Agar (MHA) ด้วยวิธี Agar disc diffusion

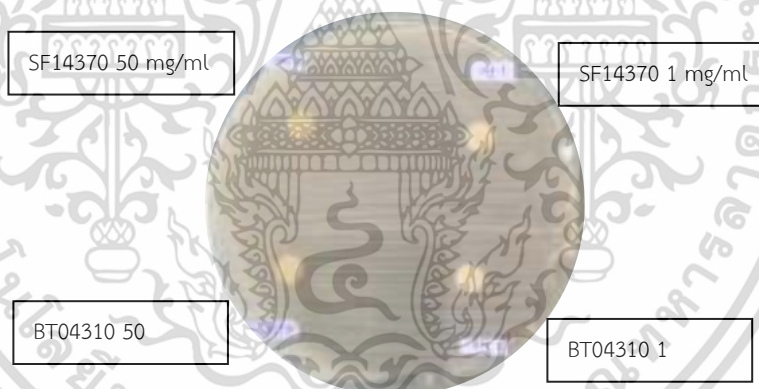


รูปที่ 4 แสดงผลการทดสอบความสามารถของไอโซเลท SF07270 ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร และ ไอโซเลท SF08000 ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งแบคทีเรีย ทดสอบ *R. solanacearum* บนอาหาร Muller-Hinton Agar (MHA) ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

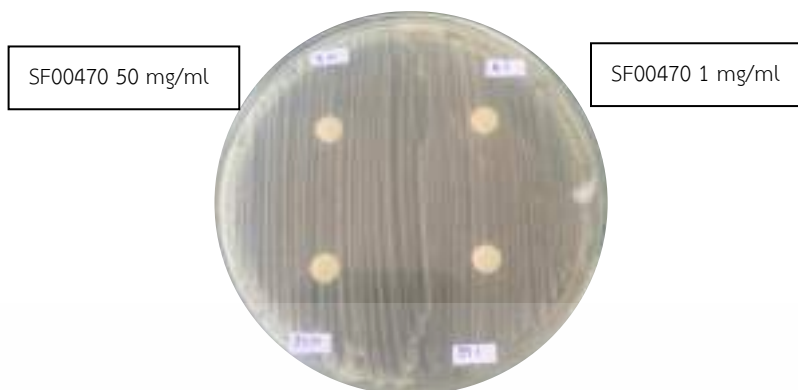


รูปที่ 5 แสดงผลการทดสอบความสามารถของไอโซเลท SF08100 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ ไอโซเลท SF13500 ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ *R. solanacearum* บนอาหาร Muller-Hinton Agar (MHA) ด้วยวิธี Agar disc diffusion



รูปที่ 6 แสดงผลการทดสอบความสามารถของไอโซเลท SF14370 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ ไอโซเลท BT04310 ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ *R. solanacearum* บนอาหาร Muller-Hinton Agar (MHA) ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




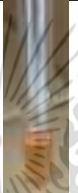

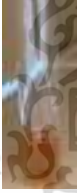

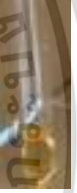

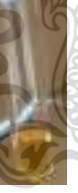
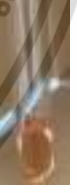

รูปที่ 6 แสดงผลการทดสอบความสามารถของไอโซเลท SF00470 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ *R. solanacearum* บนอาหาร Muller-Hinton Agar (MHA) ด้วยวิธี Agar disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การทดสอบความสามารถในการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก (Indole-3-acetic acid (IAA) production)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการสร้างกรดอินโดล-3-อะซิติก Indole-3-acetic acid (IAA) production ของเชื้อแอคติโนมัยซีททั้ง 10 ไอโซเลท หลังหยด Salkowski's reagent

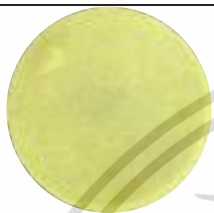









		
SF00470 (+)	SF01370 (+)	SF03670 (+)
		
SF07070 (+)	SF07270 (+)	SF08000 (+)
		
SF08100 (+)	SF13500 (+)	SF14370 (+)
		
BT04310 (+)		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การทดสอบการผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ (Hydrogen cyanide)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์ (Hydrogen cyanide) ของเชื้อแอคติโนมัยซีทีทั้ง 10 ไอโซเลท


 SF00470 (-)	 SF01370 (-)	 SF03670 (-)
 SF07070 (-)	 SF07270 (-)	 SF08000 (-)
 SF08100 (-)	 SF13500 (-)	 SF14370 (-)
 BT04310 (-)		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ

ทดสอบการละลายฟอสเฟต (Phosphate solubilization)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการละลายฟอสเฟต (Phosphate solubilization) ของเชื้อแอคติโนมัยซีท ทั้งหมด 10 ไอโซเลท บนอาหาร Pikovskaya's agar











		
SF00470 (-)	SF01370 (-)	SF03670 (+)
		
SF07070 (-)	SF07270 (-)	SF08000 (-)
		
SF08100 (+)	SF13500 (-)	SF14370 (+)
		
BT04310 (-)		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฅ

การทดสอบการผลิตแอมโมเนีย (Ammonia production)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบการผลิตแอมโมเนีย (Ammonia production) ของแอสติโนมัยสีททั้งหมด 10 ไอโซเลท


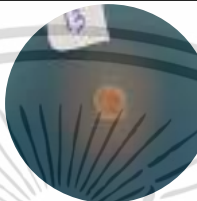
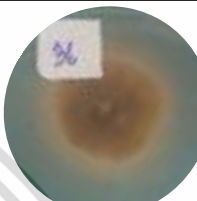







		
SF00470 (+)	SF01370 (+)	SF03670 (+)
		
SF07070 (+)	SF07270 (+)	SF08000 (+)
		
SF08100 (+)	SF13500 (+)	SF14370 (+)
		
BT04310 (+)		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ญ

การทดสอบการสร้างสารซิดิโรฟอร์ (Siderophore)

ตารางที่ 1 ผลการสร้างสารซิดิโรฟอร์ (Siderophore) ของแอคติโนมัยซีททั้งหมด 10 ไอโซเลท บนอาหาร ISP2 ที่ผสมสารละลาย Chrom azurol S (CAS)

 SF00470 (+)	 SF01370 (+)	 SF03670 (+)
 SF07070 (+)	 SF07270 (+)	 SF08000 (-)
 SF08100 (+)	 SF13500 (+)	 SF14370 (+)
 BT04310 (+)		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ 14 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นายบุรพา บางศิริ รหัสประจำตัว 62050617

นายภูรินทร์ ภูมินาถ รหัสประจำตัว 62050638

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชา ชีววิทยา
ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย แอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum*
สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ และการส่งเสริมการเจริญเติบโต

ชื่อภาษาอังกฤษ Actinomycetes from mangrove forest soil against *Ralstonia*
solanacearum cause tomato wilt disease and their plant growth
promoting

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่ได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 6.10%

ลงชื่อ... **บุรพา บางศิริ**

(นายบุรพา บางศิริ)

นักศึกษา

ลงชื่อ... **ภูรินทร์ ภูมินาถ**

(นายภูรินทร์ ภูมินาถ)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ... **Khunyingkan Klantit**

(ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้