

แอกติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา  
*Fusarium oxysporum* ก่อโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MANGROVE SOIL  
ACTINOBACTERIA TO CONTROL CELERY YELLOW WILT  
CAUSED BY *FUSARIUM OXYSPORUM*



ชญาณิศา แก้วจรัส

ศรินทร์ทิพย์ บุญน่วม

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานที่ถูกต้องเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ปีการศึกษา 2566  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MANGROVE SOIL  
ACTINOBACTERIA TO CONTROL CELERY YELLOW WILT  
CAUSED BY *FUSARIUM OXYSPORUM*



CHAYANISA KAEWCHARUS

SARINTIP BUNNUAM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACADEMIC YEAR 2023

หัวข้อโครงการพิเศษ แอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ก่อโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย

Antifungal activity of mangrove soil Actinobacteria to control celery yellow wilt caused by *Fusarium oxysporum*

นักศึกษาผู้จัดทำ นางสาวชญานิศา แก้วจรัส รหัสนักศึกษา 63050457

นางสาวศรินทร์ทิพย์ บุญน่วม รหัสนักศึกษา 63050522




ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2566

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2566

อาจารย์ผู้ควบคุมโครงการพิเศษ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.จิตติ ท่าไฉ่ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.สุทธีจิต ศรีวัชรกุล กรรมการ	
ผศ.ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ แอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ก่อโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย

นักศึกษาผู้จัดทำ นางสาวชญานิศา แก้วจรัส รหัสนักศึกษา 63050457

นางสาวศรินทร์ทิพย์ บุญน่วม รหัสนักศึกษา 63050522

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2566

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์

### บทคัดย่อ

แอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนจำนวน 45 ไอโซเลท นำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่ายด้วยวิธี Dual culture และศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุดจำนวน 4 อันดับ และจากการศึกษา พบว่าไอโซเลท SF05070 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* สูงที่สุด คือ 61.08 เปอร์เซ็นต์ นำไอโซเลท SF05070 มาทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ในต้นขึ้นฉ่าย พบว่าไอโซเลท SF05070 มีส่วนช่วยในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* โดยมีดัชนีการเกิดโรคลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา นอกจากนี้ในการวัดการเจริญเติบโตของต้นขึ้นฉ่ายยังพบว่าไอโซเลท SF05070 มีส่วนช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นขึ้นฉ่ายได้ทั้งความสูงของลำต้น, ความยาวราก, จำนวนใบที่เพิ่มขึ้นและน้ำหนักของต้นขึ้นฉ่าย ในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA ของแอคติโนมัยสีทที่มีประสิทธิภาพ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SF05070 มีค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ ( $A_{260}/A_{280}$ ) เท่ากับ 1.76 มีค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอ 148.2 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และพบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของไอโซเลท SF05070 มีค่าความใกล้เคียงกับเชื้อ *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004<sup>T</sup> (AB249954) 99.92 เปอร์เซ็นต์

**คำสำคัญ :** แอคติโนมัยสีท, ป่าชายเลน, *Fusarium oxysporum*, โรคเหี่ยวเหลือง, การยับยั้ง, เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Title</b>	Antifungal activity of mangrove soil Actinobacteria to control celery yellow wilt caused by <i>Fusarium oxysporum</i>
<b>Students</b>	Miss Chayanisa Kaewcharus Student ID 63050457 Miss Sarintip Bunnuaam Student ID 63050522
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
<b>Department</b>	Biology
<b>School</b>	Science
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
<b>Academic Year</b>	2023
<b>Advisor</b>	Asst.Prof.Dr. Khanungkan Klanbut

### Abstract

Forty-five isolates of mangrove soil actinobacteria were studied for their morphological characteristics on The International Streptomyces Project medium No. 2 (ISP-2). All actinobacterial isolates were tested for their ability to inhibit *Fusarium oxysporum*, a fungus that causes celery yellow wilt disease using dual culture method. It was found that isolate SF05070 had the highest ability to inhibit *F. oxysporum*, at 61.08% with a reduced disease incidence index compared with the treatment of fungicide chemicals. In addition, in measuring the growth of celery plants, it was found that the isolate SF05070 was able to promote the growth of celery plants in terms of stem height, root length, increased number of leaves and plant weight. In the study of the 16S rRNA gene region's nucleotide sequence, SF05070 was found to have a DNA quantity of 148.2 nanograms per microliter and a DNA purity value ( $A_{260}/A_{280}$ ) of 1.76. It was found that isolate SF05070 identified 99.92 percent of its nucleotide sequence with *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004<sup>T</sup>(AB249954)

**Keywords** : Actinomycetes, Mangrove, *Fusarium oxysporum*, Fusarium wilt, แอกส Antifungal, 16S rRNA สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากความกรุณาและความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่ได้ให้แนวคิด คำปรึกษาในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนได้ตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์ในการจัดทำเล่มโครงการพิเศษ ตั้งแต่เริ่มดำเนินการจนกระทั่งดำเนินการเสร็จสิ้นสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.จิตติ ท้าวไผ่ ประธานกรรมการ และ ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการ ที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจทานแก้ไขปริญญาณิพนธ์ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น อีกทั้งสละเวลาเข้าร่วมการสอบปริญญาณิพนธ์ รวมถึงนักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมอุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนการเข้าใช้ห้องปฏิบัติการ และขอขอบพระคุณคุณแม่บ้านที่คอยช่วยทำความสะอาดและช่วยกำจัดขยะในห้องปฏิบัติการทุกวัน

ขอขอบพระคุณสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการนำเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย มาใช้ในการทดลองสำหรับโครงการพิเศษฉบับนี้

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณบิดาและมารดาของข้าพเจ้าที่ให้ความช่วยเหลือในการจัดทำโรงเรียนทดสอบและให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านเสมอมา ขอขอบคุณคู่โปรเจกต์ที่คอยเป็นกำลังใจให้กัน เป็นเพื่อนคู่คิดในการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ และทำงานอย่างเต็มที่เพื่อให้โครงการพิเศษฉบับนี้สมบูรณ์ ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมในงานวิจัยจนประสบความสำเร็จไปได้ด้วยดี ทั้งบุคคลที่กล่าวถึงและไม่ได้กล่าวถึง ผู้วิจัยมีความซาบซึ้งใจเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณทุกท่านด้วยความจริงใจ

ชญาณิสสา แก้วจรัส

ศรินทร์ทิพย์ บุญน่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ป่าชายเลน.....	4
2.1.1 ดินป่าชายเลน.....	5
2.2 แอคติโนมัยสีท.....	6
2.2.1 ลักษณะการสร้างโคโลนี.....	7
2.2.2 ลักษณะการสร้างเส้นใยแอกติโนมัยสีท.....	8
2.2.3 การสร้างสปอร์ของแอกติโนมัยสีท.....	9
2.3 แหล่งที่อยู่ของแอกติโนมัยสีท.....	14
2.3.1 แอกติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลน.....	15
2.3.2 สเตรปโตมัยสีท ( <i>Streptomyces</i> ).....	15
2.3.3 <i>Streptomyces</i> สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและเป็น Biological control..	16
2.4 การจัดจำแนกแอกติโนมัยสีท โดยเทคนิคทางโมเลกุล 16S rDNA sequencing.....	18
2.5 ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแอกติโนมัยสีท (Phylogenetic relationship).....	18
2.6 บทบาทและความสำคัญของแอกติโนมัยสีท.....	19
2.7 ขึ้นฉ่าย.....	20
2.8 โรคในต้นขึ้นฉ่าย.....	21
2.8.1 โรคเหี่ยวเหลือง.....	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการเรียนการสอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2 โรคเหี่ยวเหลืองในขึ้นฉ่าย.....	22
2.9 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> .....	23
2.10 การส่งเสริมการเจริญเติบโตของแอกติโนมัยสีทในพืช (Plant growth-promoting : PGP).....	24
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	25
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย .....</b>	<b>30</b>
3.1 เครื่องมือ .....	30
3.2 อุปกรณ์ .....	30
3.3 สารเคมี .....	32
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ .....	33
3.5 เชื้อทดสอบจากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร .....	33
3.6 การเพาะเลี้ยงแอกติโนมัยสีท .....	33
3.7 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยสีท .....	34
3.8 การศึกษาความสามารถของแอกติโนมัยสีทในการยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> .....	34
3.8.1 การทดสอบความสามารถของแอกติโนมัยสีทจากป่าชายเลน ด้วยวิธี Dual culture .....	34
3.9 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย .....	35
3.9.1 การเตรียมดินในการเพาะปลูก .....	35
3.9.2 การเตรียมน้ำเลี้ยงสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยสีท .....	35
3.9.3 การเตรียมน้ำเลี้ยงสปอร์เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> .....	35
3.9.4 การเตรียมสารละลายเคมีกำจัดเชื้อรา .....	36
3.9.5 การวางแผนการทดลอง .....	36
3.10 การศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของพืชจากแอกติโนมัยสีทในเรือนทดลอง (Plant growth promoting) .....	37
3.10.1 การทดสอบความสามารถในส่งเสริมการเจริญ .....	37
3.10.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ .....	37
3.11 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA ของเชื้อแอกติโนมัยสีทที่มีประสิทธิภาพ .....	38
3.11.1 การสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี Colony PCR และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ .....	38
3.11.2 การตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ .....	38
3.11.3 การทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ .....	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.11.4 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอของ 16S rRNA genes และการสร้างสายวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) (Rattanakavil et al., 2020).....	39
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล .....</b>	<b>40</b>
4.1 เชื้อแอสคิโนมัยซีที่ใช้ในการศึกษา.....	40
4.2 ความสามารถของแอสคิโนมัยซีในการยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในขึ้นฉ่าย (Antimicrobial activities).....	40
4.2.1. ความสามารถของแอสคิโนมัยซีจากป่าชายเลน โดยวิธี Dual culture.....	40
4.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอสคิโนมัยซีที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> .....	52
4.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย .....	58
4.4.1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา <i>F. oxysporum</i> ของแอสคิโนมัยซี.....	58
4.5 การศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของพืชจากแอสคิโนมัยซี.....	62
4.6 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16s rRNA ของแอสคิโนมัยซีที่มีประสิทธิภาพ.....	65
4.6.1 การสกัดดีเอ็นเอ โดยวิธี Colony PCR และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ.....	66
4.6.2 การตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอและการทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์.....	66
4.6.3 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอของ 16S rRNA genes และการสร้างสายวิวัฒนาการ (Phylogenetic trees).....	67
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....</b>	<b>71</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	71-73
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	73
เอกสารอ้างอิง.....	74-84
ภาคผนวก.....	85
ภาคผนวก ก.....	86-87
ภาคผนวก ข.....	88-96
ภาคผนวก ค.....	98
ภาคผนวก ง.....	98-103
ภาคผนวก จ.....	114-113
ภาคผนวก ฉ.....	116-115
ภาคผนวก ช.....	118-117
เอกสารนี้เป็นเอกสารทสวงนไวสำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นุญขาดเนาไปไซประโยชน์ดานการค้า	
ภาคผนวก ซ.....	118

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารปฏิชีวนะที่ผลิตจากสเตรปโตมัยซีทสปีชีส์ต่าง ๆ (species) .....	16
4.1 ลำดับความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา <i>F. oxysporum</i> จากสูงสุดไปต่ำสุดจำนวน 45 ไอโซเลท โดยวิธี Dual culture .....	43-45
4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลน จำนวน 4 ไอโซเลท บนอาหาร ISP2 เป็นระยะเวลา 7-14 วัน.....	53
4.3 แสดงค่าดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นง่ายเป็นระยะเวลา 21 วัน.....	58
4.4 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับการจับกลุ่มการเกิดโรค.....	60
4.5 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ One Way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในการ เจริญเติบโต 21 วัน .....	63
4.6 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA ของแอคติโนมัยซีท.....	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 วัฏจักรชีวิตของแอสกีโนมัยสิท	7
2.2 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีของเชื้อแอสกีโนมัยสิท	8
2.3 โครงสร้างของเส้นใยอากาศของแอสกีโนมัยสิท	9
2.4 รูปร่างและลักษณะของสปอร์	10
2.5 ลักษณะสปอร์ในรูปแบบต่างๆ ที่พบในแอสกีโนมัยสิท	11
2.6 การสร้างสปอร์เดี่ยวและสายสั้น	12
2.7 การสร้างสปอร์สายยาว	13
2.8 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนเส้นใยอาหาร	14
2.9 ลักษณะอาการโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย	23
2.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ <i>Fusarium oxysporum</i>	24
3.1 รูปแสดงตัวอย่างการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>	35
4.1 เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> จากกรมอารักขาพืช	41
4.2 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญ <i>F. oxysporum</i> ของเชื้อแอสกีโนมัยสิทที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลน จำนวน 45 ไอโซเลท	46-50
4.3 กราฟแสดงผลการยับยั้ง (%PIRG) เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> ของแอสกีโนมัยสิทจากดินป่าชายเลนที่มี ผลการยับยั้งสูงสุด 4 อันดับ	51
4.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> บนอาหาร ISP2 ของเชื้อแอสกีโนมัยสิทจากดินป่าชายเลนที่มีผลการยับยั้งสูงสุด 4 อันดับ	52
4.5 ลักษณะของเชื้อแอสกีโนมัยสิทไอโซเลท SF05070	54
4.6 ลักษณะของเชื้อแอสกีโนมัยสิทไอโซเลท SF01370	55
4.7 ลักษณะของเชื้อแอสกีโนมัยสิทไอโซเลท SF14370	56
4.8 ลักษณะของเชื้อแอสกีโนมัยสิทไอโซเลท SF13570	57
4.9 ค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย	59
4.10 ลักษณะอาการของโรคในต้นขึ้นฉ่าย เมื่ออายุ 21 วัน	61
4.11 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบความสูงลำต้นเฉลี่ย, ความยาวรากเฉลี่ย และความสูงของต้นและรากเฉลี่ย (ชม.)	63

เอกสาร 4.12 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบจำนวนใบเฉลี่ย (ใบ) ระหว่างนั้น ไม่อนุญาตให้ทำไปใช้ประโยชน์ได้ 64  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.13 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบน้ำหนักของต้นและรากเฉลี่ย (กรัม)..... 64

4.14 ลักษณะของต้นขึ้นง่ายต่อการส่งเสริมการเจริญของแอคติโนมัยซีท ไอโซเลท SF05070..... 65

4.15 ผลการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070 ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส..... 66

4.16 แสดงแผนภูมิตายวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยใช้วิธี Neighbour - joining (NJ) ค่า Bootstrap 1000 replicates ของแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070..... 68

4.17 แสดงแผนภูมิตายวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยใช้วิธี Maximum-likelihood (ML) ค่า Bootstrap 1000 replicates ของแอคติโนมัยซีทไอโซเลทSF05070.....69



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แอกติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวก จัดอยู่ในคลาส (class) Actinobacteria ที่มีลักษณะพื้นฐานวิทยาที่หลากหลายโดยส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายเชื้อรา สร้างเส้นใย 2 ชนิด เส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) โคโลนีมีลักษณะคล้ายแผ่นหนังอ่อนนุ่ม ร่วน และเจริญฝังแน่นลงในเนื้ออาหาร ระยะเริ่มแรกเส้นใยเหนือผิวอาหารมีสีขาวและเปลี่ยนเป็นสีต่างๆ เมื่อเริ่มมีการสร้างสปอร์ (สุจรรรยา, 2556) ในปัจจุบันแอกติโนมัยซีทเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญหลายด้าน เช่น ทางด้านการแพทย์ และ เกษษศาสตร์ เนื่องจากสามารถผลิตสาร Secondary metabolite เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ สารปฏิชีวนะกว่า 10,000 ชนิดที่รู้จัก ผลิตโดยจุลินทรีย์ สัดส่วน 2 ใน 3 ผลิตโดยจุลินทรีย์ในกลุ่มแอกติโนมัยซีท และ 74 เปอร์เซ็นต์ มาจากแอกติโนมัยซีทสกุล *Streptomyces* (Miyadoh, 1993) ซึ่งสามารถยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มอื่นได้ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ที่ก่อโรคได้ ที่สำคัญคือ แอกติโนมัยซีทยังมีบทบาทในการสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth promoting Rhizobacteria : PGPR) ความสามารถในการย่อยสลายขององค์ประกอบของอินทรีย์วัตถุโดยเฉพาะพืชและสัตว์ สามารถย่อยสลายสารโมเลกุลขนาดใหญ่ ได้แก่ กรดอินทรีย์ น้ำตาล แป้ง ไขมัน และ โปรตีน (อภิญา และ คณะ, 2566) ทั้งนี้ยังมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตในรูปที่พืชนำไปใช้ได้ เช่น *Streptomyces griseus* ที่แยกได้จากดินที่เป็นกรดในการละลายฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ (Hamdili et al., 2008)

*Fusarium oxysporum* จัดอยู่ในคลาส (class) Hyphomycetes เป็นเชื้อราที่ปนเปื้อนอยู่ในดิน ลักษณะเส้นใยเริ่มแรกมีสีขาว เมื่อเจริญเต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีม่วงหนาเป็นกระจุกแน่นตรงกลาง สปอร์ลักษณะรูปโคงค์พระจันทร์เสี้ยว มีการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า คอนิเดีย รากเป็นส่วนแรกของพืชที่ติดเชื้อโดยการงอกไมซีเลียมเข้าทางบาดแผลหรือรอยแยกที่รากแขนง จะเกิดการกีดขวางและมีผลกระทบต่อการลำเลียงน้ำของพืชทำให้น้ำไม่สามารถเคลื่อนสู่ด้านบน อาการของโรคเริ่มจากใบเหลือง ใบและกิ่งก้านเริ่มเหี่ยว ใบร่วง เซลล์ตามขอบใบตาย รากเจริญออกทางด้านข้างและเน่าในภายหลัง และต้นตายในที่สุด (วณัทธิรา, 2559)

จีนฉ่าย (Chinese Celery) ชื่อวิทยาศาสตร์ (*Aquium graveolens* L. vat. Dulce Pers.) เป็นพืชสมุนไพร ลำต้นห่อหุ้มไปด้วยโคนก้านใบ จะมีสีเขียวอ่อน ใบมีลักษณะกลมรีเว้าลึกเป็นแฉก ขอบใบมีรอยไม่ทั่วกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หยัก นิยมนำมาประกอบอาหารหรือนำไปผัดเพื่อดับคาว (ชลิตา และเสาวลักษณ์, 2561) และขึ้นฉ่ายยังเป็นพืชที่งานพัฒนาและส่งเสริมผักมูลนิธิโครงการหลวงเริ่มนำมาส่งเสริมเกษตรกรในพื้นที่ของมูลนิธิโครงการหลวง เพื่อส่งขายให้กับ บริษัท เอ็มเค เรสโตรองค์ กรุ๊ป จำกัด (มหาชน) แต่เมื่อเวลาผ่านไปเพียง 1 ปี กลับพบว่าการระบาดของโรคเหี่ยวเหลืองของขึ้นฉ่าย ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะ การเจริญเติบโต และพบการระบาดของโรคตลอดทั้งปี โดยลักษณะอาการของโรคขึ้นฉ่ายหลังจากถูกเชื้อเข้าทำลายส่วนที่เป็นสีเขียวของพืชจะหายไปหมดเกิดอาการเหลืองซีดจางซึ่งเป็นที่มาของชื่อโรคเหี่ยวเหลืองหากเป็นในขณะที่ยังเป็นต้นอ่อนอายุรุนแรงทำให้ตายทั้งต้น ส่วนใบต้นแก่หรือโตเต็มที่อาการที่แสดงออกนอกจากเหลืองซีดก็คือต้นแคระแกร็น ชะงักหยุดการเจริญ และโคนบริเวณที่ติดกับพื้นดินจะถูกทำลายเน่าเสียเป็นสีดำหรือสีน้ำตาล (กาญจนา และคณะ, 2562)

ดังนั้นในการศึกษาโครงการครั้งนี้จึงได้คัดเลือกคุณสมบัติของแอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนของงานวิจัย บูรพาและภุรินทร์, 2565 และแอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนของงานวิจัย เบญจมาศ และอภิชญา, 2565 เพื่อนำมาทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแอคติโนมัยสีทในขึ้นฉ่าย และทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาลักษณะพื้นฐานของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินป่าชายเลน
- 2) เพื่อศึกษาความสามารถของแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลนในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่ายด้วยวิธี Dual culture
- 3) เพื่อศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่ายจากแอคติโนมัยสีทที่มีประสิทธิภาพสูงสุด
- 4) เพื่อศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตในต้นขึ้นฉ่ายจากแอคติโนมัยสีทที่มีประสิทธิภาพสูงสุด
- 5) เพื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA เพื่อระบุสกุลของแอคติโนมัยสีทที่มีประสิทธิภาพ

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 1) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลน ทั้งหมด 4 สถานีที่ได้แก่ ศูนย์การเรียนรู้สวนอุทยานปราณบุรี, ศูนย์ศึกษาการเรียนรู้และพัฒนาทรัพยากรป่าชายไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลนที่ 2 จังหวัดสมุทรสาคร, สะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน และศูนย์การเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลน สิรินาถราชินี

- 2) ศึกษาความสามารถของแอสโคไมซีตที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลนในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย ด้วยวิธี Dual culture
- 3) ศึกษาการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่ายจากแอสโคไมซีตที่มีประสิทธิภาพสูงสุด
- 4) ศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตในต้นขึ้นฉ่ายจากแอสโคไมซีตที่มีประสิทธิภาพสูงสุด
- 5) ศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA เพื่อระบุสกุลของแอสโคไมซีตที่มีประสิทธิภาพ

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สามารถระบุลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอสโคไมซีตที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลน
- 2) แอสโคไมซีตที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลนสามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย ด้วยวิธี Dual culture
- 3) แอสโคไมซีตที่มีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย
- 4) แอสโคไมซีตที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตในต้นขึ้นฉ่าย
- 5) สามารถศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA เพื่อระบุสกุลของแอสโคไมซีตที่มีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ป่าชายเลน

ป่าชายเลน (Mangroves) หรือ ป่าโกงกาง (intertidal forest) เป็นระบบนิเวศที่มีการกระจายพันธุ์อย่างกว้างขวาง อยู่ในแนวเชื่อมต่อ (ecotone) ระหว่างผืนแผ่นดินกับพื้นน้ำทะเล จะพบป่าชายเลนอยู่ทั่วไปตามบริเวณที่เป็นชายฝั่งทะเล ปากแม่น้ำ ทะเลสาบ และรอบเกาะต่าง ๆ ในพื้นที่ชายฝั่งทะเลเป็นระบบที่นำเอาทรัพยากรน้ำ ดิน และแร่ธาตุต่างๆ จากบกและทะเลเกิดการทับถมและพัฒนาให้เป็นแหล่งทรัพยากรที่มีความหลากหลายทางชีวภาพและคุณค่าสูง (กรมทรัพยากรทางทะเล, 2556; สถาบันวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน, 2562) ประกอบไปด้วยพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์หลากหลายชนิดดำรงชีวิตร่วมกันในสภาพแวดล้อมที่เป็นดินเลน น้ำกร่อย และมีน้ำท่วมถึงอย่างสม่ำเสมอ พันธุ์ไม้ที่สำคัญที่สุดในป่าชายเลนคือ ไม้สกุลโกงกาง (*Rhizophora*) ป่าชายเลนประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิต สิ่งไม่มีชีวิต ประกอบไปด้วย พวกธาตุอาหาร เกลือแร่ น้ำ ซากพืชซากสัตว์ รวมไปถึงสภาพภูมิอากาศ เช่น อุณหภูมิ แสง ปริมาณฝน ความชื้น และสิ่งมีชีวิต ประกอบด้วยผู้ผลิต ผู้บริโภค และผู้ย่อยสลาย ผู้ผลิต คือ สิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์แสงเองได้ ได้แก่ พืชพันธุ์ไม้ต่างๆ ในป่าชายเลน รวมถึง ไคอะตอม แพลงก์ตอนพืช และสาหร่าย ผู้บริโภค คือ สิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้จำเป็นต้องพึ่งพาอาศัยพวกอื่น ได้แก่ พวกสัตว์หน้าดินขนาดเล็ก เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ ปู ไส้เดือนทะเล และสัตว์น้ำชนิดอื่น ๆ เช่น ปลา กุ้ง ปู รวมไปถึง นก สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งบางชนิดเป็นพวกกินอินทรีย์สารบางชนิดเป็นพวกกินพืช บางชนิดเป็นพวกกินสัตว์และบางชนิดเป็นพวกที่กินทั้งพืชและสัตว์ ผู้ย่อยสลาย คือ พวกจุลินทรีย์ที่ช่วยในการทำลายหรือย่อยสลายซากพืชและซากสัตว์ให้เน่าเปื่อย ผุพัง ในที่สุดจะสลายตัวเป็นธาตุอาหารและปุ๋ย สะสมเป็นแหล่งอาหารในดินเพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ผลิต ได้แก่ รา แบคทีเรีย ในป่าชายเลนผู้ย่อยสลายยังรวมถึง ปู และหอยบางชนิดด้วย (กรมทรัพยากรทางทะเล, 2556) ป่าชายเลนทำหน้าที่ปกป้องและรักษาเสถียรภาพของพื้นที่ชายฝั่งและหล่อเลี้ยงชายฝั่งด้วยสารอาหาร ระบบนิเวศเหล่านี้มีลักษณะเด่น คือการกักน้ำทะเลท่วมตามน้ำขึ้นน้ำลง (Thatoi *et al.*, 2013) เป็นปัจจัยสำคัญในการกำหนดการแบ่งเขตการขึ้นอยู่ของพันธุ์ไม้หรือสัตว์น้ำในป่าชายเลน และความแตกต่างของน้ำขึ้นน้ำลงยังมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มในบริเวณป่าชายเลน ในขณะที่น้ำทะเลขึ้นค่าปริมาณความเค็มของน้ำห่างจากชายฝั่งจะสูงขึ้น เมื่อน้ำทะเลลดค่าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณความเค็มของน้ำจะลดลงด้วย (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556; กรมทรัพยากรทางทะเล, 2556). ริเรื่องรอง รัตนวิไลสกุล (2553) ได้กล่าวไว้ว่าป่าชายเลนเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีคุณค่า ทั้งทางด้านสิ่งแวดล้อม ด้านความเป็นอยู่ และด้านเศรษฐกิจ มีความสำคัญต่อมนุษย์หลากหลายรูปแบบทั้งประโยชน์ทางตรง เช่น เป็นแหล่งอาหาร แหล่งสมุนไพรรักษาโรค ปัจจัยการดำเนินชีวิต ไม่ว่าจะเป็นการใช้ไม้จากป่าชายเลนในการสร้างที่อยู่อาศัย และยังเป็นแหล่งเชื้อเพลิงหรือแหล่งพลังงาน ป่าชายเลนยังมีประโยชน์ทางอ้อม เช่น การอนุรักษ์พื้นที่ชายฝั่งทะเลและการช่วยปรับสมดุลของระบบนิเวศระหว่างสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมบริเวณชายฝั่งทะเล ไม่ว่าจะเป็นการรักษาสมดุลของหญ้าทะเลและปะการัง กล่าวคือป่าชายเลนจะทำหน้าที่รักษาสมดุลของแร่ธาตุ ธาตุอาหาร และความอุดมสมบูรณ์ของน้ำทะเลชายฝั่ง และยังช่วยป้องกันการกัดเซาะและการพังทลายของชายฝั่งทะเลอีกด้วย

### 2.1.1 ดินป่าชายเลน

ดิน (Soils) หมายถึง วัตถุ หรือ เทหวัตถุ ที่เกิดตามธรรมชาติเกิดจากการสลายตัวของหินแร่ผสมกับอินทรีย์วัตถุหรือซากพืชซากสัตว์ รวมเข้ากับน้ำและอากาศ หรือกล่าวอีกได้ว่า ดิน เป็นผลผลิตที่เกิดจากปัจจัยของสภาพภูมิอากาศ สิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิตต่อวัตถุต้นกำเนิดดินในสภาพที่ใดที่หนึ่งในช่วงระยะเวลาใดเวลาหนึ่ง ดินเป็นปัจจัยสำคัญที่มีส่วนจำกัดต่อการเจริญเติบโตและกระจายพันธุ์ไม้ในป่าชายเลน ในด้านการอยู่ของพันธุ์ไม้ในป่าชายเลนพบว่าลักษณะของดินป่าชายเลนทางด้านกายภาพและด้านเคมีมีความแตกต่างกันตามเขตการขึ้นอยู่ของพันธุ์ไม้และแตกต่างจากดินด้านนอกป่าชายเลน ดินป่าชายเลนเป็นดินที่มีการพัฒนาน้อยจัดอยู่ในชั้นดินที่เกิดใหม่ หรือ Entisol soil ชั้นย่อย Aquents เนื่องจากดินมีน้ำขังตลอดเวลาเป็นดินใหม่ที่อายุน้อยมีการสะสมวัตถุต่าง ๆ มากกว่าการเคลื่อนย้าย การสูญเสียดิน หรือการเปลี่ยนแปลง มักพบชั้นดินหลักส่วนใหญ่เพียง 2 ชั้น ประกอบด้วยดินชั้น A เป็นดินชั้นบน และชั้น G เป็นชั้นหินและแร่ที่ยังไม่สลายตัวอยู่ชั้นล่าง เนื้อดินส่วนใหญ่เป็นดินเหนียว ดินเหนียวปนทราย ดินร่วนปนเหนียว ดินร่วนและซากสิ่งมีชีวิต ที่มีอนุภาคละเอียดและมีกลิ่นของซากพืชซากสัตว์ บางตำแหน่งมีกลิ่นกำมะถันและกลิ่นเปรี้ยวของกรด ส่วนใหญ่มีสภาพเป็นกรดอ่อนหรือเป็นกลาง เมื่อพิจารณาธาตุอาหารหลักในดิน ได้แก่ ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส โดยปริมาณไนโตรเจนมีค่อนข้างสูงแต่ไม่เพียงพอต่อพืชในป่าชายเลน และทางตรงกันข้ามปริมาณฟอสฟอรัสมีค่อนข้างต่ำเนื่องจากอิทธิพลของน้ำขังน้ำล้น จะมีการเคลื่อนย้ายของอินทรีย์สารออกจากระบบ เป็นต้น (เกสรี่, 2543 ; สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน, ม.ป.ป)

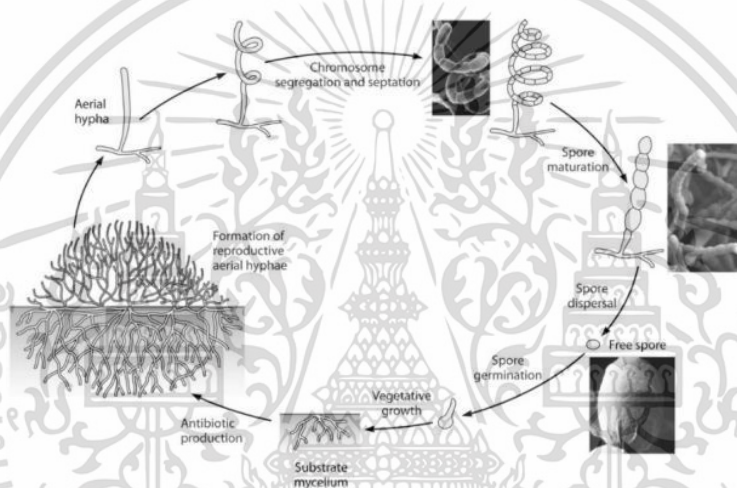
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 แอคติโนมัยสีท

แอกติโนมัยสีทเป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกจัดอยู่ในคลาส (Class) *Actinobacteria* สับคลาส (Subclass) *Actinobacteridae* และอันดับ (order) *Actinomycetales* (Miyadoh, 1997) ประกอบด้วย 8 วงศ์ (Family) ได้แก่ *Actinomycetaceae*, *Mycrobacteriaceae*, *Frankiaceae*, *Actinoplanaceae*, *Dermatophilaceae*, *Nocardiaceae*, *Streptomycetaceae* และ *Micromonosporaceae* (Kalakoutsii and Agre, 1976) คำว่า“Actino-”(aktis) มีรากศัพท์มาจากภาษากรีกโบราณ แปลว่า รังสี (ray) ในเชิงชีววิทยาให้ความหมายในเชิงคำว่า รัศมี (radial) เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้มีโคโลนีรูปร่างกลม และมีลักษณะเป็นแฉกคล้ายรัศมี ในสมัยก่อนนักจุลชีววิทยาจึงเรียกว่า “Ray fungi” เนื่องจากมีการสร้างเส้นใยลักษณะคล้ายราและโคโลนีมีลักษณะเป็นแฉก (อารี, 2562) แอกติโนมัยสีทมักพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ อากาศ ทะเลทราย สัตว์ คน พืช และสิ่งปฏิกูลหรือของเสียต่าง ๆ แหล่งที่พบมาก ได้แก่พื้นที่ ที่มีการสะสมของสารอินทรีย์ เช่น ดินเพาะปลูก วัตถุเน่าเปื่อย โคลนในตะกอนแม่น้ำลำคลอง ใต้แม่น้ำ ใต้ทะเล ดินบริเวณน้ำพุร้อน หรือป่าชายเลน แอกติโนมัยสีทจะพบมากบริเวณชั้นบนและลดลงในบริเวณชั้นดินที่ลึกลง (ลลิตา, 2554) เชื้อแอกติโนมัยสีทที่พบการกระจายตัวในธรรมชาติโดยส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อในกลุ่ม *Streptomyces* พบมากถึง 70-90% (ชาญวิทย์, 2546) ของแอกติโนมัยสีททั้งหมด นอกเหนือจากสกุล *Streptomyces* มีปริมาณน้อยจึงจัดแอกติโนมัยสีทอื่น ๆ เป็นแอกติโนมัยสีทที่พบได้ยาก ได้แก่ สกุล *Micromonospora*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Microtetraspora*, *Microbiospora*, *Streptosporangium*, *Dectylosporangium* และ *Actinoplanes* เป็นต้น (Hayakawa et al., 1988) ดังนั้นจะสามารถพบแอกติโนมัยสีทได้ทั่วไป โดยมีปัจจัยที่ส่งผลต่อการควบคุมปริมาณของแอกติโนมัยสีทคือ สภาพแวดล้อม ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ความเป็นกรดเป็นด่าง ระดับความชื้น อุณหภูมิ และฤดูกาลของพืชอาศัย (วัลย์ภรณ์, 2564)

แอกติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถสร้างเส้นใยคล้ายรา มีลักษณะเฉพาะคือสร้างเส้นใย (hyphae) ได้ทั้งเส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) หรืออาจพบเฉพาะเส้นใยใต้ผิวอาหารได้ ในจีโนมของแอกติโนมัยสีทมีปริมาณโมลร้อยละของเบสกวานีนกับไซโตซีน (G+C) ประมาณ 55-78 โมลเปอร์เซ็นต์ (คณิงกานต์, 2565) ขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกทั่วไปมีปริมาณโมลร้อยละของเบสกวานีนกับไซโตซีน (G+C) ต่ำกว่า 55 โมลเปอร์เซ็นต์ เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เช่น *Bacillus*, *Clostridium*, *Staphylococcus* และ *Streptococcus* (Glazer and Nikaido, 1994) ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่แบบสงวนเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งหากนำไปใช้

อีกทั้งพบว่าส่วนมากสร้างรงควัตถุสีต่าง ๆ ได้ เช่น สีขาว เทา เขียว เหลือง ส้ม แดง น้ำตาล ชมพู ม่วง และดำ จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ยกเว้นบางชนิดไม่ต้องหรือต้องการออกซิเจนในปริมาณเล็กน้อย นอกจากนี้แอคติโนมัยซีทส่วนมากยังสามารถรอดชีวิตในสภาพอุณหภูมิสูง (สุจิตกัลยา, 2560) และวัฏจักรชีวิตแอคติโนมัยซีท (ดังรูปที่ 2.1) วัฏจักรชีวิตจะเริ่มต้นจากการสร้างเส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) เพื่อใช้สารอาหารในการเจริญเติบโต และภายหลังจะมีการสร้างเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) เพื่อใช้ในการสืบพันธุ์ หรือใช้ในกรณีขาดน้ำ ขาดอาหาร และการสะสมสารอาหารในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (ศิริรัตน์, 2552)



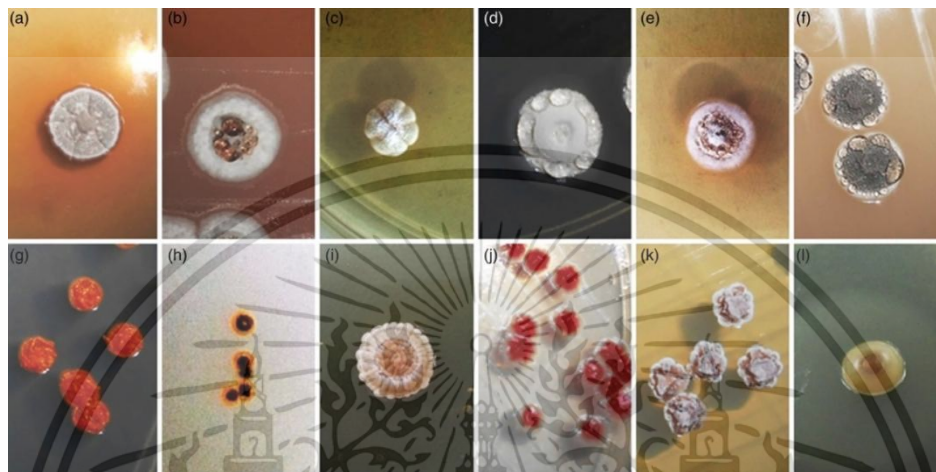
รูปที่ 2.1 วัฏจักรชีวิตของแอคติโนมัยซีท

ที่มา : Essaid and Parul, 2016

## 2.2.1 ลักษณะการสร้างโคโลนี

โคโลนีของแอคติโนมัยซีทเกิดจากการรวมตัวของเส้นใย (mycelium) ที่หนาแน่น มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนี เช่น การสร้างเส้นใย การสร้างสปอร์ บางสายพันธุ์ไม่สร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) ได้แก่ *Micromonospora* และ *Actinoplanes* (Hubert et al., 1967) ลักษณะของโคโลนีแอคติโนมัยซีทยังมีความแตกต่างจากแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ คือมีลักษณะทึบแสง เส้นใยเหนือผิวอาหารแห้ง และเมื่อมองด้วยตาเปล่าจะมีลักษณะเป็นผง สามารถสังเกตได้ชัดหรือที่พื้นผิวโคโลนีอาจเรียบคล้ายหนังสัตว์ เป็นรอยข่น เป็นเส้นใยสั้น ๆ คล้ายกำมะหยี่ โดยโครงสร้างหลักของโคโลนีขึ้นอยู่กับเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) เมื่อเส้นใยถูกจำกัดให้มีเส้นใยที่ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สั้นลง โคลนินจะมีลักษณะฟูหรือเรียบแบน ลักษณะโคลนินอาจมีการยกตัวขึ้น (raised) แบนราบ (flat) หรืออาจจะอ่อนนุ่มและเหนียว ไปจนถึงแข็ง ผิวหน้าของโคลนินอาจมีลักษณะเรียบ ขรุขระ นูน เป็นเม็ดเล็ก หรือเป็นเกล็ด ขนาดโคลนินขึ้นอยู่กับสปีชีส์ อายุ สภาพแวดล้อม และสภาวะการเจริญเติบโต ตั้งแต่เส้นผ่านศูนย์กลางระดับมิลลิเมตรไปจนถึงเซนติเมตร (ศิริรัตน์, 2552)



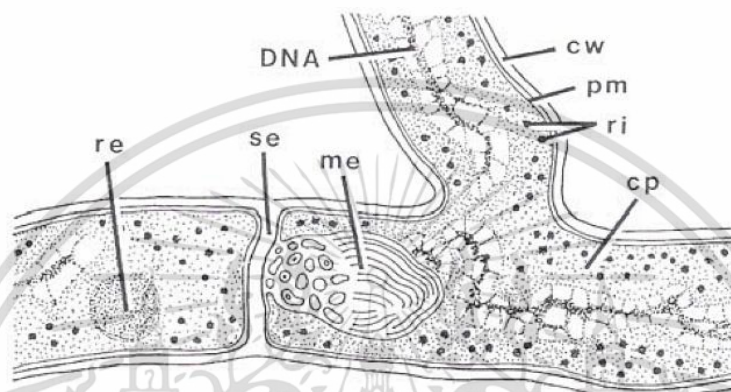
รูปที่ 2.2 ตัวอย่างลักษณะโคลนินของเชื้อแอสเพอริลลัสนินดูลานซิส

ที่มา : Zaima *et al.*, 2015

### 2.2.2 ลักษณะการสร้างเส้นใยแอสเพอริลลัสนินดูลานซิส

แอสเพอริลลัสนินดูลานซิสมีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายรา มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 0.5-1.5 ไมโครเมตร (Asma and Shamsul, 2017) (รูปที่ 2.3) ส่วนใหญ่แอสเพอริลลัสนินดูลานซิสมีการสร้างเส้นใย 2 ชนิด คือ เส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) หรือพบเฉพาะเส้นใยใต้ผิวอาหาร (Lechevalier and Pine, 1974) เส้นใยอาหารเป็นเส้นใยที่สร้างขึ้นในช่วง Vegetative cell เจริญอยู่ในอาหาร โดยมีลักษณะรูปร่างที่แตกต่างกัน ช่วงแรกจะมีสีของเส้นใยสีขาวขุ่นหรือสีครีมเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แดง ชมพู เขียว ส้ม หรือน้ำตาล และเมื่อส่วนของเส้นใยอาหารเจริญขึ้นด้านบนสัมผัสกับอากาศจะเกิดการแบ่งตัว (Subdivision) เพื่อจะเจริญต่อเป็นเซลล์ที่พัฒนาขึ้นไปเป็นสปอร์ และเส้นใยอากาศ เป็นเส้นใยที่สร้างขึ้นด้านบนอาหาร โดยเจริญถัดมาจากการแตกแขนงของเส้นใยอาหาร พบมากในแอสเพอริลลัสนินดูลานซิส โดยเฉพาะสกุล *Stretomyces* โดยลักษณะของเส้นใยอากาศจะแตกต่างกันไปตามชนิดของแอสเพอริลลัสนินดูลานซิส ส่วนผสมของอาหาร และสภาวะในการเลี้ยงเชื้อ การเจริญของเส้นใย

อากาศจากเริ่มจากการแตกหน่อ (Sprout) หรือ การเจริญออกทางด้านปลายสามารถแตกแขนง(Branching) ออกไปได้ เส้นใยจะเจริญปกคลุมทั้งโคโลนิจะสังเกตเห็นด้วยตาจะมีลักษณะคล้ายฝุ่นชอล์กอยู่บนหน้าอาหาร และเส้นใยอากาศจะมีลักษณะเส้นใยที่บางกว่าเส้นใยอาหาร (จามจรี, 2555; บรูพา, 2565) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอาหาร ชนิดของแอคติโนมัยสีท และสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดค่า ความชื้น แหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน เป็นต้น



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของเส้นใยอากาศของแอคติโนมัยสีท cp (ไซโตพลาสซึม), pm (ชั้นผนังพลาสมา), cw (ผนังเซลล์), me (มีโทโซม), se (ผนังกั้นเซลล์), ri (ไรโบโซม), DNA (บริเวณที่มีสารพันธุกรรม), re (บริเวณแหล่งพลังงาน)

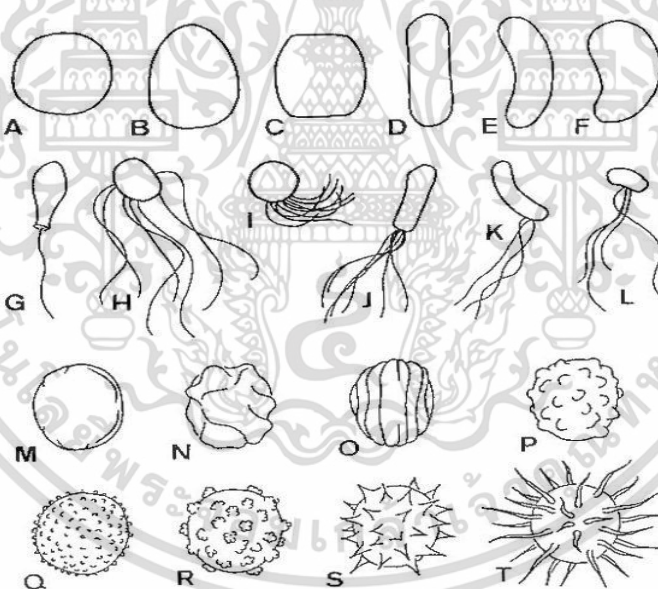
ที่มา : ศิริรัตน์, 2552; Vobis, 1997

### 2.2.3 การสร้างสปอร์ของแอคติโนมัยสีท

แอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่สืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ การจัดเรียงตัวของสปอร์มีหลากหลายรูปแบบ เช่น มีรูปร่างเป็นสปอร์เดี่ยว สปอร์คู่ หรือสปอร์ที่ต่อเป็นสายยาวโดยไม่มีสิ่งห่อหุ้ม เรียกว่า โคนิเดีย (Conidia) อยู่บนเส้นใยอากาศ หรือบางสกุลสร้างสปอร์ภายในโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายถุงหุ้มสปอร์ เรียกว่า สปอร์แรงเจียม (Sporangium) มีลักษณะหลายรูปแบบ เช่น ทรงกลม (Spherical sporangium), รูปแท่งคล้ายนิ้วมือ (Finger-link sporangium) และ รูปร่างไม่แน่นอน (Irregular sporangium) (อารี, 2562)

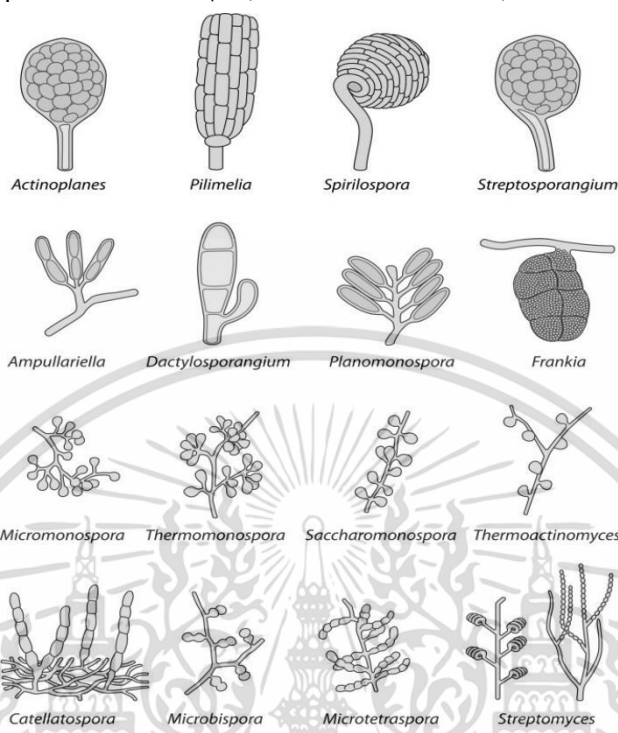
การสร้างสปอร์ของแอคติโนมัยสีทอาจเกิดขึ้นเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นเส้นสายสั้นๆ แต่ในบางชนิดมีการสร้างเส้นสายยาวๆ (สุจรรยา, 2556) ลักษณะของสปอร์มีบทบาทสำคัญในการบ่งบอกชนิดของสายพันธุ์ สปอร์ที่เกิดขึ้นเดี่ยวๆหรือเป็นสายโซ่สั้นๆ โดยทั่วไปจะมีความหนาแน่นมากกว่าเส้นใย ในขณะที่สปอร์ที่เป็นสายโซ่ยาวๆ จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับเส้นใย โดยสปอร์มีความหนาประมาณ 1-2 ไมโครเมตร และมี

รูปร่างหรือผิวสปอร์ที่แตกต่างกัน (รูปที่ 2.3) (Li *et al.*, 2016) แอคติโนมัยซีทแต่ละสกุลจะสร้างสปอร์ที่แตกต่างกัน เช่น สกุล *Micromonospora*, *Salinispora*, *Thermomonospora*, *Saccharomonospora* และ *Promicromonospora* จะสร้างสปอร์ที่แยกออกจากกันได้ บางชนิดมีการสร้างสปอร์แบบสายสั้นๆ (Oligosporous) ส่วนใหญ่มีจำนวน 7-20 สปอร์ต่อสาย ได้แก่ *Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Pseudonocardia*, *Streptovercillium*, *Microtetraspora* และ *Sporichthya* สปอร์สายสั้นเกิดจากการแตกหน่อด้านข้างเส้นใยอากาศ (Barka, 2016; Tamura *et al.*, 1986) บางชนิดมีการสร้างสปอร์สายยาวๆ (Polysporous) มีจำนวนมากถึง 100 สปอร์ต่อสาย ได้แก่ *Streptomyces*, *Nocardioides*, *Kitasatospora*, *Streptovercillium*, *Actinosynnema* และ *Nocardia spp* การสร้างสปอร์สายยาวเรียกว่า Arthrospores คือ สปอร์ที่เกิดจากเส้นใยที่หลุดออกมาและกลายเป็นสปอร์ ในทางตรงข้ามสกุล *Frankia* สร้างสปอร์ภายในโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นถุงหุ้มสปอร์เรียก Sporangium (รูปที่ 2.4) (Barka, 2016; Cross *at al.*, 1970) มักสร้างสปอร์เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญแต่เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญ เช่น สารอาหารมีเพียงพอ อุณหภูมิ ไล่ความชื้นที่เหมาะสม สปอร์จะงอกและเจริญเป็นเส้นใย (อารี, 2562)



รูปที่ 2.4 รูปร่างและลักษณะของผิวสปอร์ (A)lobose รูปกลม, (B) ovoid รูปไข่, (C) doliform รูปแท่งสั้นอ้วน, (D) rod- shaped รูปแท่ง, (E) allantoid รูปแท่งโค้ง, (F) reniform รูปไต. ประเภทแฟลกเจลลา: (G) monopolar monotrichous แฟลกเจลลา 1 อันปลายเซลล์, (H) peritrichous แฟลกเจลลารอบเซลล์, (I) polytrichous แฟลกเจลลาหลายอัน, (J) monopolar polytrichous ,lophotrichous แฟลกเจลลาหลายอันที่ปลายขั้วเซลล์, (K) subpolar polytrichous แฟลกเจลลาหลายอันใกล้ขั้วเซลล์, (L) lateral polytrichous แฟลกเจลลาหลายอันข้างเซลล์. ผิวสปอร์ (M) smooth ผิวเรียบ, (N) irregular rugose ผิวเอกร้านเป็นเอกร้านทงวนไวสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหี่ยวขุ่น, (O) parallel rugose ผิวเหี่ยวขุ่นขนาน, (P) warty ผิวเป็นตุ่มใหญ่, (Q) verrucose ผิวเป็นตุ่มเล็ก, (R) Verrucose ผิวเป็นตุ่มคล้ายดอก, (S) spiny ผิวมีหนาม, (T), hairy ผิวมีขน. ที่มา : Li *et al.*, 2016

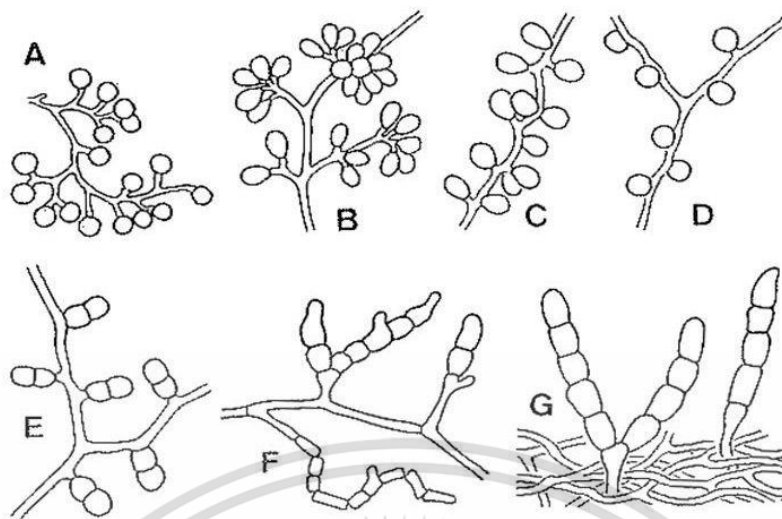


รูปที่ 2.5 ลักษณะสปอร์ในรูปแบบต่างๆ ที่พบในแอคติโนมัยซีตา

ที่มา : Barka *et al.*, 2016

- กลุ่มที่สร้างสปอร์เดี่ยว (Single spore) การสร้างสปอร์ในลักษณะนี้เรียกว่า monosporous สามารถพบได้หลายสกุลของแอคติโนมัยซีตา เป็นการสร้างสปอร์บนเส้นใยอาหาร สปอร์เจริญบนก้านชูขนาดสั้น การสร้างสปอร์เริ่มจากการ โป่งพองจากนั้นมีการสร้างผนังกั้นและสร้างผนังสปอร์ เชื้อสกุล *Thermomonospora* จะสร้างสปอร์เดี่ยวบนเส้นใยอากาศ ปลายเส้นใยจะมีหรือไม่มีการแตกกิ่งของก้านชูสปอร์ และในส่วนของสกุลอื่นที่มีการสร้างสปอร์เดี่ยว ได้แก่ *Saccharomonosora* จะสร้างสปอร์เดี่ยวรูปไข่ที่ปลายเส้นใยอาหาร ก้านชูสปอร์ไม่แตกกิ่ง (รูปที่ 2.6) (นวลรัตน์, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

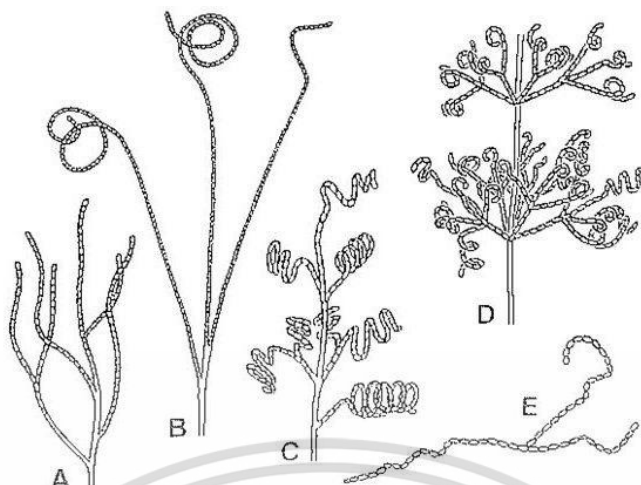


รูปที่ 2.6 การสร้างสปอร์เดี่ยวและสายสั้น (A) *Micromonospora*, (B) *Thermomonospora*, (C) *Saccharomonospora*, (D) *Thermoactinomyces Disporous*, (E) *Microbispora Oligosporous*, (F) *Nocardia brevicatena*, (G) *Catellatospora*

ที่มา: Li et al., 2016

- กลุ่มที่สร้างสปอร์เป็นสาย (Chain) การสร้างในลักษณะแบบสายเกิดจากเส้นใยมีการแบ่งผนังเซลล์เป็นส่วนๆ ตามขวาง และในแต่ละส่วนสามารถพัฒนาเป็นสปอร์ได้ การสร้างสปอร์ของแอคติโนมัยซีทส่วนมากเป็นลักษณะนี้ สามารถแบ่งกลุ่มได้โดยการพิจารณาถึงความยาวของสายสปอร์อากาศหรือจำนวนสปอร์คือ สปอร์คู่ (Bisporous) สปอร์สายสั้น (Oligosporous) และสายยาว (Polysporous) (รูปที่ 2.7) (จามจุรี และคณะ, 2555) ลักษณะสปอร์เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะมีหลายรูปร่างเป็นสปอร์สายสั้นๆ สายแบบตรง และจากการรายงานของ Krasil'nikov (1981) กล่าวว่าบางกรณีพบสายของสปอร์จะเกิดการบิดตัวขดเป็นเกลียวได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

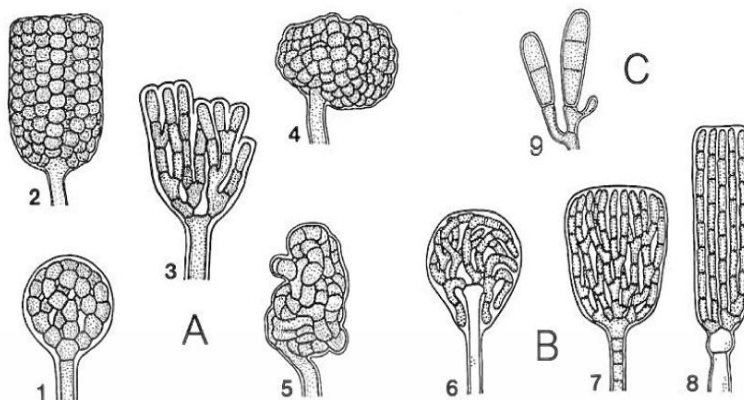


รูปที่ 2.7 การสร้างสปอร์สายยาว long chains. (A) Rectiflexibiles type, (B) Retinaculiaperti type, (C) Spira type, (D) Verticillati type (Hutter, 1967). Nocardiosis: (E) fragmenting branched aerial hyphae.

ที่มา : Li *et al.*, 2016

- กลุ่มที่สร้างสปอร์ในอับสปอร์ (Sporangia) มีหลายสกุลที่สร้างในอับสปอร์ สามารถแบ่งกลุ่มการสร้างสปอร์ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนเส้นใยอาหารและกลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนเส้นใยอากาศ กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนเส้นใยอาหาร เช่น สกุล *Actinoplanes* อับสปอร์รูปร่างทรงกลมหรือเกือบกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 5-15 ไมโครเมตร โดยสปอร์จะต่อกันเป็นสายและแตกแขนงออกเป็นเส้นในสปอร์หลายเส้นขดกันเป็นก้อนอยู่ภายในผนังลูกห่อหุ้มไว้พบว่าสกุล *Ampullariella* สร้างอับสปอร์บนเส้นใยอาหารได้หลายรูปแบบ เช่น ทรงกลม ทรงกระบอกแบบเป็นพู เป็นต้น (ศิริรัตน์, 2552) กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนเส้นใยอากาศ เช่น สกุล *Dectylosporangium* สปอร์มีรูปร่างทรงกระบอกคล้ายนิ้วมือ มีขนาดประมาณ 1x5 ไมโครเมตร ในอับสปอร์มีสปอร์อยู่ 2-5 สปอร์ ในแต่ละแถวมีก้านชูอับสปอร์สั้นๆ (ชัญญาภา, 2557) และ สกุล *Planomonospora* อับสปอร์เป็นทรงกระบอก สปอร์ด้านในมีหนึ่งสปอร์ (Vobis, 1986) รูปร่างของอับสปอร์กุ่มนี้มีตั้งแต่รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รูปไข่ รูปรี รูปประฆัง รูปกลม รูปทรงกระบอกหรือรูปร่างคล้ายลูกแพร์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนเส้นใยอาหาร A. อับสปอร์ของสกุล *Actinoplanes* และ *Ampullariella* 1. ทรงกลม 2. ทรงกระบอก 3. เป็นพู 4. กิ่งทรงกลม 5. ไม่เป็นรูปทรง B. อับสปอร์ของสกุล *Pilimelia* 6. ทรงรี 7. รูปประหมัง 8. ทรงกระบอก C. อับสปอร์ของสกุล *Dactylosporangium* 9. รูปทรงกระบอก

ที่มา : ศิริรัตน์, 2552; Vobis, 1997

### 2.3 แหล่งที่อยู่ของแอกติโนมัยสีท

แอกติโนมัยสีทมีการแพร่กระจายอย่างมากตามพื้นที่ในธรรมชาติ ได้แก่ ดิน น้ำจืด น้ำทะเล และอากาศ (Barka *et al.*, 2016) บางกลุ่มอาศัยอยู่ในดินรอบรากพืช (Rhizosphere) (Lixin *et al.*, 2024) และยังพบเข้าไปอาศัยภายในช่องว่างระหว่างเซลล์เนื้อเยื่อพืช เรียกว่า เอนโดไฟต์ (Endophytes) (Gary, 2003; Masand *et al.*, 2015) โดยเฉพาะดินจัดเป็นแหล่งที่อยู่ของแอกติโนมัยสีทมากที่สุด เป็นสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิด พบว่าในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ 1 กรัม ที่มีความเป็นกรดและมีปริมาณอินทรีย์ในดินสามารถพบแอกติโนมัยสีทประมาณ  $10^5$ – $10^8$  เซลล์ ถ้าดินมีสภาพแห้งแล้งและเป็นด่างจะพบแอกติโนมัยสีทในสัดส่วนค่อนข้างสูง อาจพบได้สูงถึง 95 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในดินแหล่งนั้น และแอกติโนมัยสีทที่พบในดินส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Streptomyces* จะเป็นกลุ่มที่มีการกระจายตัวและความหนาแน่นมากที่สุด (วาสนา และคณะ, 2561) เชื้อเหล่านี้มีชีวิตรอยู่ได้โดยการย่อยสลาย และดูดซึมสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในดินเป็นแหล่งอาหารเพื่อใช้ในการเจริญต่อไป (Miyadoh, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.1 แอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลน

ป่าชายเลนเป็นป่าที่มีน้ำขึ้นน้ำลงถือเป็นระบบนิเวศทางทะเลพิเศษที่มีสภาพแวดล้อมเป็นเอกลักษณ์ เช่น ความชื้นและความเค็มสูง (Bin *et al.*, 2016) ดินป่าชายเลนเป็นอีกแหล่งที่พบแอคติโนมัยสีทที่มีความหลากหลายสูง สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีเกลือสูง จากข้อมูลของ Ara (2013) กล่าวว่าป่าชายเลนก่อให้เกิดสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มภายใต้อิทธิพลของกระแสน้ำ และระบบนิเวศของป่าชายเลนยังมีความหลากหลายทางโภชนาการสูง เนื่องจากอุดมไปด้วยอินทรีย์วัตถุ ไนโตรเจน และกำมะถันสูง ซึ่งแอคติโนมัยสีทสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ (zaima *et al.*, 2015) แอคติโนมัยสีทในระบบนิเวศป่าชายเลนมีการกระจายอยู่ที่ไรโซสเฟียร์ (Rhizosphere) เป็นจำนวนมาก และพบแบบเอนโดไฟต์ (Endophytes) บนลำต้นและใบของป่าชายเลนค่อนข้างน้อย โดยจำนวนต่าง ๆ นั้นขึ้นอยู่กับประเภทของป่าชายเลนด้วย (Yuliana *et al.*, 2017) ทั้งนี้แอคติโนมัยสีทที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถผลิตยาปฏิชีวนะได้ สารประกอบยาปฏิชีวนะ เบต้า-แลคโตนที่ไม่อ้อมตัวจาก *Streptomyces griseobrunneus* แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพเป็นวงกว้าง และ *Streptomyces* สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้อีกด้วย แอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนเป็นแหล่งที่ผลิตเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติสูงกว่าเชื้อสายพันธุ์อื่น เช่น มีความสามารถในการทนร้อน และมีความเสถียรสูงในสภาวะที่เป็นด่าง เป็นต้น ป่าชายเลนยังเป็นอีกแหล่งที่มีความสำคัญในการค้นพบแอคติโนมัยสีทชนิดใหม่ๆ ที่สามารถก่อให้เกิดประโยชน์ในอุตสาหกรรมได้ (บรรพพา และภุรินทร์, 2565)

### 2.3.2 สเตรปโตมัยสีท (Streptomyces)

*Streptomyces* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะคล้ายเชื้อรา อาศัยอยู่ในดิน ปุ๋ยหมัก นอกจากนี้ยังพบได้ในน้ำ ละอองฝุ่นในอากาศ รวมถึงน้ำทะเล สามารถสร้างเส้นใยเหนือผิวอาหาร (aerial mycelium) และเส้นใยใต้ผิวอาหาร (substrate mycelium) ลักษณะเส้นใยของเชื้อเป็นแบบไม่มีผนังกัน (coenocytic hyphae) เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่เส้นใยเหนือผิวอาหาร จะเปลี่ยนเป็นสปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่ (non motile spores) เรียงตัวเป็นเส้นสายลูกโซ่ตั้งแต่จำนวน 3-50 สปอร์ เส้นผ่าศูนย์กลางสปอร์เท่ากับเส้นใย 0.5-2.0 ไมครอน เป็นแบคทีเรีย aerobes ลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อในระยะแรกพื้นผิวโคโลนีเรียบ เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยเหนือผิวอาหารจะมีการพัฒนาไปเป็นสปอร์ ทำให้พื้นผิวโคโลนีมีลักษณะคล้ายฝุ่นผง ขนแกะ หรือกำมะหยี่ สร้างรควัตถุได้หลากหลายชนิด โคนส่วนใหญ่สร้างสารปฏิชีวนะที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส และสัตว์เซลล์เดียวได้ และยังพบได้หลายสายพันธุ์ที่มีความสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้มากกว่าหนึ่งชนิด สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม อุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-35 องศาเซลเซียส และบางชนิด (species) เป็นแบคทีเรีย psychrophilic และ thermophilic pH ที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 6.5-8.0 ผนังเซลล์มีองค์ประกอบหลักคือ LL-diaminopimelic acid (LL-DAP) และ glycine (รัตนกรณ, 2548 ; Williams *et al.*, 1989)

### 2.3.3 *Streptomyces* สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและเป็น Biological control

*Streptomyces* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์สูง เนื่องจากมีความสามารถในการสร้างสาร Secondary metabolites หรือ bioactive compound ได้หลากหลายชนิด (Hu *et al.*, 2000) ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งในลักษณะ fungicide และ bacteriocides ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านต่าง ๆ ได้แก่

#### 1. ด้านการแพทย์

ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคในมนุษย์และสัตว์มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ได้มาจากสายพันธุ์แอคติโนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากสกุล *Streptomyces* ส่วนที่เหลือจากนี้คัดแยกได้จากแอคติโนแบคทีเรีย (Azman *et al.*, 2017) โดยสารปฏิชีวนะที่ *Streptomyces* ผลิตมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

ตารางที่ 1 สารปฏิชีวนะที่ผลิตจากสเตรปโตมัยซิสทีสปีชีส์ต่าง ๆ (species) (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

สารปฏิชีวนะ	สปีชีส์	จุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้ง
Amphotericin B	<i>S. nodosus</i>	เชื้อรา
Chloramphenicol	<i>S. venezuelae</i>	แบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และ ไวรัส
Erythromycin	<i>S. erythraeus</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Kanamycin	<i>S. kanamyceticus</i>	แบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และ โปรโตซัว
Neomycin	<i>S. fradiae</i>	โศซัว
Oleandomycin	<i>S. antibioticus</i>	แบคทีเรียแกรมลบ
Streptomycin	<i>S. griseus</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Tetracycline	<i>S. Viridifaciens</i>	แบคทีเรียแกรมบวก และ แกรมลบ
		แบคทีเรียแกรมบวก และ แกรมลบ

Banlangnak *et al.* (2008) แยกเชื้อแอคติโนมัยซิสได้ 71 ไอโซเลต โดยทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*) ที่มีการดื้อยา พบว่าเชื้อจำนวน 11 ไอโซเลต สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ในวิธี Streak plate มีเพียง 2 ไอโซเลทเท่านั้นที่สามารถยับยั้งเชื้อดื้อยาได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ และทำการคัดเลือกมาจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ F29, G7, H6 และ M11 นำมาเลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อทำให้มีการผลิตสารปฏิชีวนะ แล้วจึงนำไปทำการสกัดหยาบโดยใช้ ethyl acetate แล้วทดสอบโดยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จาก ไอโซเลท F29 ให้ค่า MIC เท่ากับ 0.125, 32, 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

## 2. ด้านการเกษตร

*Streptomyces* มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมโรคพืช สามารถยับยั้งการงอกของเส้นใยและสปอร์เชื้อราก่อโรคพืชได้ บางสายพันธุ์เจริญได้อย่างรวดเร็ว ทนทาน มีการสร้างสปอร์ สามารถยึดครองพื้นที่ และแย่งใช้แหล่งคาร์บอนหรือเหล็กจากเชื้อที่มีสาเหตุของการก่อโรคพืชได้ และ *Streptomyces* ยังมีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบของอินทรีย์วัตถุ โดยเฉพาะพืชและสัตว์ สามารถย่อยสลายสารโมเลกุลขนาดใหญ่ ได้แก่ กรดอินทรีย์ น้ำตาล แป้ง ไขมัน และ โปรตีน (อภิญา และ คณะ, 2566) ทั้งนี้ยังมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตในรูปที่พืชนำไปใช้ได้ เช่น *streptomyces griseus* ที่แยกได้จากดินที่เป็นกรดในทะเลทรายฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ (Hamdili et al., 2008)

Abd-Allah (2001) ศึกษาประสิทธิภาพของ *S. plicatus* ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุของโรคพืช โดยมีการแยกเชื้อจากดินได้จำนวน 372 ไอโซเลท ทำการคัดเลือกเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไคตินเนส พบว่าเชื้อ *S. plicatus* เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารไคติน ซูโครส และ แคลเซียม เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ การยืดตัวของ germ tube และการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, *Alternaria alternate* และ *Verticillium alboatum* เชื้อของสาเหตุการก่อโรคเหี่ยว stem canker และ โรคเหี่ยว *Verticillium* ของมะเขือเทศได้

## 3. ด้านอุตสาหกรรม

*Streptomyces* ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางว่าเป็นสิ่งมีชีวิตที่สำคัญในอุตสาหกรรม และมีความสามารถผลิตสารทุติยภูมิตัวใหม่ ๆ ที่มีความซับซ้อนที่แตกต่างกัน อีกทั้งยังเป็นผู้ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์นำมาใช้งานได้หลากหลายทางอุตสาหกรรม เช่น การย่อยสลายสารวัฏดุคิบ โรงงานผงซักฟอก โรงงานฟอกหนัง การฟอกหนังโดยใช้เอนไซม์ต่าง ๆ เช่น chitinase, cellulase, amylase, protease, xylanase, lipases, asparaginase, และ pectinases เป็นต้น สารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติหลายชนิดที่ผลิตจากจุลินทรีย์ล้วนแล้วแต่เป็นแหล่งที่สำคัญต่ออุตสาหกรรมที่ใช้กันในปัจจุบัน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยสารเหล่านี้มีผลสำคัญต่อสุขภาพ คุณค่าทางอาหาร และทางเศรษฐกิจของประเทศ (จันทร์จรัส และ คณะ, 2559 : Nawani et al., 2013)

Lumyong et al. (1996) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากดิน ได้ทั้งหมดจำนวน 81 ไอโซเลต นำไปทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส พบว่ามีเพียง 54 ไอโซเลตที่เจริญบนอาหาร chitin agar หลังจากนั้นทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ในอาหารเหลวที่ ball-milled chitin 1% ซึ่ง chitinase activity ตรวจวัดจากปริมาณ N-acetylglicosamine ที่ถูกปล่อยออกจากการใช้ swollen chitin 1% เป็นสับสเตรท บนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรวจพบ chitinase activit สูงที่สุด เมื่อทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาพบว่าเป็น *Streptomyces* sp. CS10

## 2.4 การจัดจำแนกแอคติโนมัยสีท โดยเทคนิคทางโมเลกุล 16S rDNA sequencing

DNA sequencing analysis คือ การตรวจหาการเรียงตัวของลำดับเบส เป็นการพิสูจน์ความแตกต่างของดีเอ็นเอโดยตรง โดยการเปรียบเทียบการเรียงตัวของเบสทั้งสี่ชนิด (A G C T) ที่เป็นส่วนประกอบของดีเอ็นเอ ผลที่ได้จากการทำ DNA sequence สามารถบอกได้ถึงการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากการเกิด transversion transition silent หรือ selected ของยีน และยังใช้เป็นเครื่องวัดระดับ nucleotide base การใช้เทคนิค DNA sequencing analysis ได้ถูกนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์ รวมทั้งการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic relationship) (สุจรรรยา, 2556)

## 2.5 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของแอคติโนมัยสีท (Phylogenetic relationship)

ปัจจุบันได้มีความก้าวหน้าทางเทคนิคชีวโมเลกุล มาช่วยในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิต และพบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทมีความสัมพันธ์กับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Micrococcus* และ *Arthrobacter* และในแผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ยังไม่สามารถแยกแอคติโนมัยสีทออกจากกิ่งของแบคทีเรียได้ ด้วยเหตุนี้การศึกษาหาความสัมพันธ์โดยใช้เทคนิค 16S rRNA sequence จึงมีความสำคัญอย่างสูงที่นำมาใช้ในการจัดหมวดหมู่ของแบคทีเรียและแอคติโนมัยสีท (สุจรรรยา, 2556) ในการจัดจำแนกเชิงวิวัฒนาการเป็นการจัดกลุ่มสิ่งมีชีวิตเนื่องจากมีลักษณะต่าง ๆ คล้ายคลึงกันนั้นที่เกิดจากการสืบทอดบรรพบุรุษร่วมเดียวกัน แสดงให้เห็นความเป็นเครือญาติในการค้นหาลำดับหรือไฟโลเจนี (phylogeny) ที่แท้จริงของสิ่งมีชีวิตแต่ละกลุ่มทำได้โดยการหาความสัมพันธ์เชิงไฟโลเจเนติกส์ เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(phylogenetic relationship) ผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) มีความสำคัญต่อการศึกษาชีววิทยาในด้านต่าง ๆ เช่น วิวัฒนาการและอนุกรมวิธาน

เทคนิคทาง Molecular Phylogenetic เป็นเครื่องมือหนึ่งที่มีความสำคัญมากต่อการศึกษาทางชีววิทยาของหลากหลายสาขาในปัจจุบัน โดยเป็นการอาศัยองค์ความรู้สมัยใหม่ด้านวิวัฒนาการและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตร่วมกับการใช้ข้อมูลทางชีววิทยาเชิงโมเลกุล เช่น ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายดีเอ็นเอ หรือลำดับกรดอะมิโนของสายโปรตีน เพื่อใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ที่จะนำไปสู่ความเข้าใจในด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตนั้น ตลอดจนนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาค้นคว้าและวิจัย เทคนิคนี้ยังถูกใช้ในการตรวจสอบพิสูจน์เอกลักษณ์พันธุกรรมเฉพาะของสิ่งมีชีวิต ทำให้ทราบถึงแหล่งที่มาและความสัมพันธ์กับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ โดยการนำข้อมูลของสิ่งมีชีวิตที่มีอยู่ในปัจจุบันเพื่อศึกษาย้อนกลับไปหาที่มาและความสัมพันธ์ที่เคยมีอยู่ในอดีต (สายใจ, 2562) ในการวิเคราะห์แผนภูมิต้นไม้มีความสำคัญในการจัดกลุ่ม และศึกษาความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด โดยพิจารณาถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต และการมีบรรพบุรุษร่วมกัน และได้นำความรู้แผนใหม่ทางชีววิทยาและวิทยาศาสตร์สาขาอื่น ๆ เข้ามาประกอบด้วย ซึ่งเป็นระบบที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน ซึ่งหลักฐานที่นำมาประกอบการจัดกลุ่มมีหลายอย่าง ได้แก่ ลักษณะสัณฐานวิทยา ภายภาคศาสตร์ และกระบวนการทางสรีรวิทยา รวมถึงองค์ประกอบทางชีวเคมี แต่ในปัจจุบันนิยมใช้ความคล้ายคลึงของลำดับเบสบนสาย DNA เนื่องจากให้ความถูกต้อง แม่นยำสูง โดยจะนำเสนอความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในรูปแบบแผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) นักระบบวิทยามีความนิยมแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต โดยวิธีการแสดงแผนภูมิการแตกกิ่งก้านสาขา ที่เรียกว่า แผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ประกอบด้วยส่วนที่เป็นกิ่ง (branches) และส่วนที่เป็นปม (nodes) มีบริเวณที่เป็นกิ่งภายใน (internal branches) ซึ่งจะเป็กิ่งที่เชื่อมต่อกับกิ่งอื่นที่ปมภายใน (internal nodes) และมีบริเวณที่เป็นกิ่งริมด้านนอก (peripheral branches) ซึ่งจะเป็กิ่งที่เชื่อมระหว่างปมภายในกับปมปลาย (terminal nodes) หรือ ยอด (tips) ซึ่งเป็นตำแหน่งของชนิดของสิ่งมีชีวิต นิยมเรียกว่า แทกซา (taxa) (เบญจวรรณ, 2555)

## 2.6 บทบาทและความสำคัญของแอคติโนมัยสีท

ปัจจุบันมีการวิจัยและใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืชเพื่อลดการใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัด ซึ่งเชื้อแอคติโนมัยสีทเป็นแบคทีเรียมีเรียกลุ่มหนึ่งที่เข้ามามีบทบาทต่อการเกษตร เช่นเดียวกัน โดยถูกนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการควบคุมโรคระบาดของพืชหรือเรียกโดยทั่วไปว่าการควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี แอคติโนมัยสีทมีความสามารถในการผลิตสารต่อต้านเชื้อราและสารต้านแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ได้หลากหลาย ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีกทั้งยังทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์สาร และมีการสร้างสารเมตาบอไลต์หรือ เอนไซม์ต่างๆ เช่น เอนไซม์ไซลานเนส, เซลลูเลส, อะไมเลส และไลติเนส เป็นต้น (Mohan and Charya 2012) แอคติโนมัยสียที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะหรือเอนไซม์ต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชได้นั้นมักพบได้ในดินที่บริเวณรอบรากพืช โดยกลไกที่แอคติโนมัยสียใช้ในการอารักขาพืชนั้นมีหลายวิธีทั้งทางตรงและทางอ้อม อาทิ การที่แอคติโนมัยสียสามารถย่อยสลายอินทรีย์สารให้อยู่ในรูปที่พร้อมใช้งานสำหรับพืชจะช่วยให้พืชได้รับสารอาหารที่เพียงพอต่อการแตกยอด การยึดของลำต้น ผงซิลิกาที่มีความแข็งแรงทำให้ยากต่อการเข้าติดเชื้อของเชื้อก่อโรค พืชเกิดความต้านทานต่อโรคที่หลากหลายและมีความคงทนต่อสิ่งแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ และส่งผลให้เกิดการยึดครองพื้นที่ทำให้เชื้อราก่อโรคต่างๆ ไม่สามารถเจริญขึ้นมาได้ และจุดเด่นสำคัญของแอคติโนมัยสียนั้นคือการสารทุติยภูมิซึ่งออกฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์อื่นๆ เช่นเดียวกับ ยาปฏิชีวนะ ดังนั้นเมื่อสารที่แอคติโนมัยสียผลิตขึ้นนี้แพร่ลงสู่ดินจะช่วยยับยั้งการงอกของสปอร์และเส้นใยเชื้อราได้เป็นอย่างดี (D'Angelico, de Souza et al. 2016)

Lazzarini et al., 2000) นอกจากนี้มีการใช้แอคติโนมัยสียในการควบคุมเชื้อก่อโรคในพืช เช่น แอคติโนมัยสียจากดินนาข้าวจังหวัดปทุมธานีที่ออกฤทธิ์ยับยั้งโรคกาบใบแห้งจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* DOAC 2666 (กิ่งมณี และ อรอนงค์, 2565) จากการรายงานวิจัยของฟ้าไพลิน ไชยวรรณ และ อรพรรณ นัตถศิริรุ่ง (2013) พบว่าการนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการเกษตรโดยเฉพาะในระยะการเพาะต้นกล้าของพืชหลายชนิด มีส่วนช่วยส่งเสริมให้รากของต้นกล้าและลำต้นของพืชแข็งแรงมากขึ้นทำให้ได้ผลผลิตที่เยอะขึ้น และยังมีส่วนช่วยให้ต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิตเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้จุลินทรีย์หลายชนิดยังสามารถนำไปขยายผลและประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงและบำรุงดินทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ เพื่อช่วยให้พืชได้รับอาหารอย่างเต็มที่ทำให้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งยังช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีทำให้ต้นทุนในการทำเกษตรลดลง ลดการใช้ยาฆ่าแมลง ส่งผลให้ปริมาณสารพิษปนเปื้อนในผลผลิตและสารพิษที่อาจปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมลดลง

## 2.7 ขึ้นฉ่าย

ขึ้นฉ่าย (Chinese Celery) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Apium graveolens* var. *secalinum* อยู่ในวงศ์ Apiaceae เป็นพืชล้มลุกมีอายุ 1–2 ปี สูง 40–60 เซนติเมตร มีใบประกอบแบบขนนก ออกด้านตรงข้าม ใบมีสีเขียวอมเขียวเข้มถึงเขียวอ่อนตามอายุของต้น ใบย่อยเป็นรูปรีหักขอบใบหยัก ก้านใบยาวแผ่ออกเป็นกาบ ดอกช่อสีขาว เป็นช่อดอกแบบซี่ร่ม (compound umbels) ผลมีขนาดเล็กมากเป็นสีน้ำตาล (กาญจนา, 2564) ไม่ว่าจะกินสดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2562) เป็นพืชสมุนไพรที่มีมาตั้งแต่โบราณ มีประโยชน์สรรพคุณทางยาที่หลากหลาย นำมาใช้ในการประกอบอาหาร เนื่องจากขึ้นง่ายเป็นผักและสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมนิยมนำมาใช้ปรุงอาหารที่ต้องการกำจัดกลิ่นคาวหรือใช้ในการเพิ่มความหอมให้กับน้ำซุปร เพราะในขึ้นง่ายมีสารจำพวกน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ โมโนนิน (Limonene), ซีลีนิน (Selinene), ฟทาไลด์ (Phthalides) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นหอมเฉพาะตัว โดยขึ้นง่ายสามารถนำมาประกอบอาหารได้หลากหลายเมนู เช่น ผักเต้าหู้ขึ้นง่าย กระเพราหมูผัดขึ้นง่าย ปลาผัดขึ้นง่าย เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ในการช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยยับยั้งการเกิดมะเร็ง เนื่องจาก ช่วยบำรุงสมอง ช่วยบำรุงกระดูกและฟัน เป็นต้น ในส่วนของเมล็ดขึ้นง่ายสามารถสกัดด้วย Petroleum ether ได้สารที่ช่วยทำให้น้ำมันไม่มีกลิ่นเหม็นหืนและน้ำมันขึ้นง่ายยังสามารถใช้ในการแต่งกลิ่นเครื่องสำอาง ขาทาผิว ครีม และสบู่ได้ (ชลิตา และ เสาวลักษณ์, 2561)

ขึ้นง่ายเป็นผักชนิดหนึ่งที่ปลูกได้ยากกว่าผักชนิดอื่น ๆ เนื่องมาจากการปลูกขึ้นง่ายลงดินมีปัญหาโรคพืช ซึ่งโรคจะอยู่ในดินเป็นระยะเวลา 1 ปี ทำให้ไม่สามารถปลูกลงดินซ้ำที่เดิมได้ จำเป็นต้องทิ้งระยะเวลาไว้ 1 ปี ถึงจะปลูกซ้ำลงดินเดิมได้ ประเทศไทยเป็นประเทศที่ร้อนการปลูกขึ้นง่ายจึงต้องการอุณหภูมิที่เย็นเพื่อให้ผักเจริญเติบโตได้ดีที่ แปลงปลูกต้องมีความชุ่มชื้นเพื่อให้มีความสามารถในการทนต่อสภาพอากาศร้อน ถ้าดินแห้งจะทำให้รากหรือใบของต้นขึ้นง่ายแห้งตายได้ง่าย และขึ้นง่ายยังเป็นผักที่ถูกแมลงศัตรูพืชที่มากัดกินใบต้นอ่อนได้ง่าย จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ราคาขึ้นง่ายค่อนข้างสูง (ธีรศาสตร์, 2561) ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มีการผลิตขึ้นง่ายหลายแหล่งกระจายในจังหวัดต่าง ๆ โดยเกษตรกรส่วนใหญ่มักใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชและโรคพืชเป็นหลักเป็นผลให้มีสารเคมีตกค้างในผลผลิตและในสิ่งแวดล้อมเป็นจำนวนมากขึ้น ทำให้ขึ้นง่ายไม่ปลอดภัยต่อสุขภาพของผู้บริโภค เกิดภาวะเจ็บป่วยในผู้บริโภคมากขึ้น (กุศล และ คณะ, 2554)

## 2.8 โรคในต้นขึ้นง่าย

โรคที่พบทั่วไปของขึ้นง่าย ได้แก่ โรคใบจุดไหม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* โรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Septoria apii* แต่โรคที่สำคัญของขึ้นง่ายในประเทศไทย ได้แก่ โรคต้นเหลือง โคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และโรคใบจุดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. โดยงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นไปที่โรคเหี่ยวเหลืองจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

### 2.8.1 โรคเหี่ยวเหลือง

ปัญหาการระบาดของเชื้อ *Fusarium* spp. ส่งผลกระทบต่อรุนแรงและสร้างความเสียหายแก่ผลผลิตอย่างกว้างขวาง เชื้อรานี้เป็น soil borne fungi สร้างความเสียหายแก่ ผัก ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่

หลายชนิด เช่น กล้วย กาแฟ มะเขือเทศ โดยเข้าทำลายพืชบริเวณที่อยู่เหนือดิน และลำต้น ทำให้เกิดโรคทางระบบท่อลำเลียงของพืช ส่งผลให้เกิดโรคเน่าหัวเน่า และรากพืช เชื้อราสามารถแพร่กระจายได้ทุกพื้นที่ทั่วโลก ทั้งในเขตอบอุ่น เขตร้อน เขตหนาว โดยเฉพาะดินในเขตร้อนและเรือนกระจก โดยสายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุของโรคแต่ละชนิดจะมีชนิดที่แตกต่างกัน (วารุณี, จารุ และ ยาสมี, 2566) เช่น แดงกวาและแตงร้านเกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* มะเขือเทศเกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* แคนตาลูปเกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *melonis* และพริกเกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* พักทองและสควอชท์เกิดจากเชื้อ *F. solani* f.sp. *cucurbitae* เป็นต้น โดยเชื้อเข้าทำลายทุกระยะการเจริญเติบโต ในระยะต้นกล้ามีลักษณะอาการคล้ายกันคือ ทำให้ต้นกล้าหักพับล้มและแห้งตาย (dumping off) ต้นโตจะมีอาการเหลือง เหี่ยวเฉาแห้งตายทั้งต้น อีกทั้งเชื้อยังเข้าทำลายส่วนโคนและเชื้อราจะเจริญเข้าไปภายในท่อน้ำ (xylem) โดยอาการของโรคจะค่อย ๆ รุนแรงขึ้น ใบเหี่ยว เนื้อใบที่เหี่ยวจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองและเหี่ยวถาวรจนตายทั้งต้น เมื่อผ่าลำต้นจะเห็นเชื้อรา *Fusarium* กระจุกตัวในท่อน้ำลำเลียงน้ำ (สิวาพร, 2562)

## 2.8.2 โรคเหี่ยวเหลืองในขึ้นฉ่าย

ลักษณะอาการของโรค อาการที่พืชแสดงออกหลังถูกเชื้อเข้าทำลายในส่วนที่เป็นสีเขียวของพืชจะเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองซีดจางซึ่งเป็นที่มาของโรคเหี่ยวเหลือง ในกรณีที่เป็นต้นอ่อนจะมีอาการรุนแรงส่งผลให้ตายทั้งต้น ต้นแก่หรือต้นโตเต็มที่ อาการที่แสดงออกนอกจากสีเหลืองซีดคือมีอาการต้นแคระแกร็นชะงักหยุดการเจริญเติบโต แต่ไม่ถึงกับตายดังเช่นต้นอ่อน ต้นแก่จะมีกิ่งเปราะหักง่าย และมักมีรสขม เมื่อถอนต้นขึ้นฉ่ายขึ้นมาจะพบว่าส่วนของราก และ โคนบริเวณที่ติดกับพื้นดินจะถูกทำลายเน่าเสียเป็นสีดำ หรือสีน้ำตาล เมื่อผ่าต้นตามยาวจะพบอาการเน่าเช่นเดียวกับภายในต้น ในบางครั้งจะกินลูกกลมสูงถึงใบและเส้นใบ โดยส่วนที่เน่าเสียจะมีสีเหลืองหรือสีแดง แล้วแต่ความรุนแรงของต้นนั้น

สาเหตุของโรค เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* โดยเชื้อราชนิดนี้จะอาศัยอยู่ในดิน ได้นานหลายปีเมื่อเกษตรกรปลูกพืชซ้ำลงดินอีกครั้งจะเกิดโรคติดต่อซ้ำทำให้ผลผลิตลดน้อยลง และยังพบว่าโรคเหี่ยวเหลืองที่เกิดขึ้นมีการสร้างสปอร์รูปโคงหรือรูปพระจันทร์เสี้ยว เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นได้ตามบริเวณเนื้อเยื่อของพืชที่ตาย และเชื้อยังคงมีชีวิตอยู่เพื่อระบาดและแพร่กระจายต่อไป

การเข้าทำลาย *Fusarium oxysporum* เป็นเชื้อที่สามารถแพร่ระบาดในดินเข้าสู่ต้นพืชโดยอาศัยบาดแผลบริเวณรากจากการงอกของหลอดสปอร์หรือไมซีเรียมเข้าทางบาดแผล รอยแยกที่รากแขนง หรือรากขนอ่อนเข้าไปเจริญเติบโตในท่อน้ำลำเลียงน้ำ ก่อให้เกิดการอุดตันทำให้พืชไม่สามารถลำเลียงน้ำ อาหารขึ้นไปเลี้ยงต้นได้ตามปกติ ทำให้พืชแคระแกร็น ชะงักและเหลืองในที่สุด ตั้งแต่สปอร์เริ่มเข้าไปในพืชจนแสดงอาการจะใช้เวลาประมาณ 20 วัน *Fusarium oxysporum* สามารถเจริญเติบโตได้ดี ที่อุณหภูมิที่ 20-32 องศาเซลเซียส (ชลิตา และ เสาวลักษณ์, 2561; ถำของ, 2556; Tamilselvi et al., 2016) จะแพร่ระบาด

ได้ดีในสภาพดินที่มีการระบายน้ำไม่ดี แปลงของพืชมีน้ำขัง ดินมีความกรด (ศิวาพร, 2562) โดยเฉพาะในดินเขตร้อนและในเรือนกระจกพบได้จำนวนมาก โดยอาการของโรคพืชแต่ละชนิดจะมีลักษณะอาการแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยขึ้นอยู่กับชนิดและระยะเวลาในการเจริญเติบโตของพืช (ฉัทธีรา, 2559)



รูปที่ 2.9 ลักษณะอาการโรคเหี่ยวเหลืองในขี้นฉ่าย

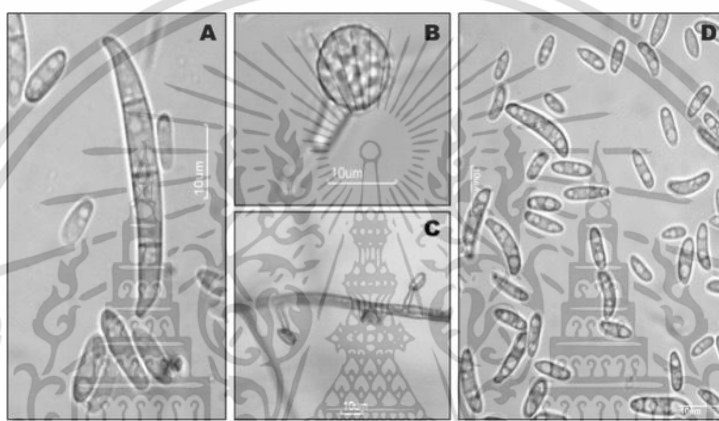
ที่มา : กาญจนา, 2562

## 2.9 ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

*F. oxysporum* จัดอยู่ในประเภทรา ใน Phylum Ascomycota subdivision Deuteromycotina, class Hyphomycetes, order Tuberculariales, family Tuberculariaceae, Genus *Fusarium* เรียกอีกชื่อได้ว่า ราถุง (Sac Fungi) (Alexopoulos *et al.*, 1996) เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ระยะการสร้างเส้นใยโคโคโคนีมีสีขาวและเปลี่ยนเป็นสีม่วงอ่อนจนถึงม่วงเข้มเมื่อ เจริญเติบโตเต็มที่ เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าก้านชูสปอร์ (conidiophore) มีลักษณะสีเขียหรือใส (hyaline) เส้นใยมีลักษณะสั้น มีการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า โคนิเดียม (conidia) โดยมีสปอร์ทั้ง 3 รูปแบบ ที่เกี่ยวข้องกับการเข้าทำลายของโรค ได้แก่ คลาไมโดสปอร์ (Chlamydospore) แมคโครคอนิเดียม (Macroconidia) และไมโครคอนิเดียม (Microconidia) ดังรูปที่ 2.10 (ศิวาพร, 2562; Agrios, 1998) มีลักษณะดังนี้

- คลาไมโดสปอร์ (Chlamydospore) สปอร์มีลักษณะรูปร่างกลม มีสีน้ำตาล ประกอบด้วย 1-2 เซลล์ มีผนังหนาเพื่อเพิ่มความคงทนต่อสภาพแวดล้อมภายนอกที่เปลี่ยนไป และสามารถงอกเป็นเอกซาร์ทีเส้นใยใหม่ได้เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจึงอยู่รอดในดิน ส่งผลให้เกิดการระบาดของโรคข้ามฤดูได้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ำหมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แมโครโคนิเดีย (Macroconidia) สปอร์มีขนาดใหญ่ มีลักษณะคล้ายลำเรือ บริเวณด้านปลายทั้งสองข้างเรียวยาวโค้งงอคล้ายตะขอ ผนังบางใส ประกอบด้วย 3-5 เซลล์ มักพบบริเวณผิวพืชที่ตายแล้ว
- ไมโครโคนิเดีย (Microconidia) สปอร์มีขนาดเล็ก รูปรางกลมรีหรือทรงกระบอก ผนังบาง ประกอบด้วย 1-2 เซลล์ พบได้ทุกระยะการเจริญของ *F. oxysporum* และยังพบในท่อน้ำที่อาหารของพืชด้วย (Watanabe, 2010)



รูปที่ 2.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Fusarium oxysporum* (A) microconidia (B) macroconidia (C) microconidia (D) a single, terminal chlamydo-spore

ที่มา : Callaghan *et al.*, 2016

## 2.10 การส่งเสริมการเจริญเติบโตของแอกติโนมัยสีทในพืช (Plant growth-promoting : PGP)

ปัจจุบันมีการใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืชและส่งเสริมการเจริญของพืชอย่างกว้างขวางเพื่อลดการใช้สารเคมีในอุตสาหกรรม ซึ่งแอกติโนมัยสีทเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในดิน มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศของดิน และการเกษตร เนื่องจากเป็นผู้ย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ในดินและยังเป็นแหล่งผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่สำคัญ รวมถึงสามารถส่งเสริมการเจริญของพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม แอกติโนมัยสีทยังสามารถผลิตสารต้านเชื้อราและสารต้านแบคทีเรีย อีกทั้งยังสร้างสารเมตาบอไลต์หรือเอมไซม์ต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ เช่น เอมไซม์ไฮโดรเลส เซลลูเลส อะไมเลส และไคตินเนส เป็นต้น โดยการส่งเสริมการเจริญของพืชมีหลายรูปแบบ เช่น การเพิ่มการละลายของสารประกอบฟอสฟอรัสที่ในดินเพื่อให้พืชสามารถดูดซับและนำไปใช้ต่อการเจริญของพืช หรือการผลิตสารทุติยภูมิที่ช่วยในการยับยั้งไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การงอกของสปอร์และเส้นใยเชื้อราได้ (เกษมิกา และคณะ, 2561; อภิญญา, 2566) งานวิจัย Amarja and Aarti (2020) *Streptomyces* ANSPA ที่แยกได้จากดินรอบรากทับทิมในหมู่บ้าน Kanheri Sarap ประเทศอินเดีย จากการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rRNA พบว่าจัดเป็นชนิดของ *Streptomyces malachitospinus* เชื้อดังกล่าวแสดงศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia bataticola* ที่ก่อโรคโคนเน่าในต้นถั่วเหลืองได้ เมื่อทดสอบในกระถางพบว่าการใช้เชื้อ *Streptomyces malachitospinus* สามารถควบคุมการติดเชื้อในต้นถั่วเหลืองได้ โดยเห็นได้ชัดจากทุกการเจริญเติบโตของพืชวิธีนี้สามารถควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้สารเคมี Carbendazim นอกจากนี้การใช้เชื้อ *Streptomyces malachitospinus* กับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ติดเชื้อยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย และเชื้อ *Streptomyces malachitospinus* สามารถย่อยสลายเซลล์ลูโลส ไคติน เจลาติน และแป้ง นอกจากนี้ยังเจริญได้ในสภาวะกรดถึงด่าง และทนต่อเกลือโซเดียมคลอไรด์ แคลเซียมคาร์บอเนต แคลเซียมซัลเฟต และแคลเซียมคลอไรด์ในระดับความเข้มข้นปานกลาง

## 2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กาญจนา (2562) ศึกษาการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวจากเชื้อราฟูซาริยาของขึ้นฉ่ายอย่างมีประสิทธิภาพในพื้นที่โครงการหลวง การคัดเลือกพันธุ์ทนทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราฟูซาริยาของขึ้นฉ่าย 5 สายพันธุ์ โดยกำหนดความรุนแรงของโรค disease severity index (DSI) พบว่า พันธุ์ราชฤกษ์ และพันธุ์โพธิ์ทอง ประเมินอยู่ในระดับรุนแรง ภายหลังจากการปลูกเชื้อ 28 วัน การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 8 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium* sp.สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในขึ้นฉ่าย พบว่าเชื้อรา 3 ไอโซเลท ได้แก่ *T. harzianum*, *T. asperellum* (002) และ *T. Asperellum* (004) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium* ได้ร้อยละ 100 ในระยะเวลา 3 วัน เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* sub sp. *Plantarum* (SOL-G3), *B. amyloliquefaciens* (G10), *B. amyloliquefaciens* (B15) และ *B. subtilis/amyloliquefaciens* (BK33) มีอัตราการยับยั้งที่ร้อยละ 43.32, 40, 40 และ 38.88 ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อ *Streptomyces* sp. มีการยับยั้งร้อยละ 30 เมื่ออายุ 7 วัน

สาธิต และ วิเชียร (2559) ทำการคัดเลือกและการผลิตแอคติโนมัยสีทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคเหี่ยว *Fusarium oxysporum* และส่งเสริมการเติบโตของคะน้า เชื้อแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ B2 จากเชื้อที่ทดสอบ 7 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคเหี่ยว *Fusarium oxysporum* บนจานเพาะเลี้ยงเชื้อได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 77 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสายพันธุ์ B2 มีความสามารถในการผลิต Indole-3-acetic acid (IAA) และซิเคอร์โรฟอรซึ่งเป็นการส่งเสริมการเจริญของพืชเมื่อทดสอบการควบคุมการเกิด

เมื่อกำหนดได้ พืชอื่น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปรงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งหากนำไปใช้

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* และส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นคะน้าระดับกระถางพบว่าเชื้อสายพันธุ์ B2 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แอคติโนมัยสิทสายพันธุ์ B2 เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง (solid state fermentation) พบว่าเชื้อสายพันธุ์ B2 สามารถเจริญได้ดีที่สุด โดยมีปริมาณเซลล์  $2.0 \times 10^9$  CFU/กรัมสับเตรต โดยไม่จำเป็นสาร การศึกษาลำดับเบสของยีน 16S rRNA (1198 คู่เบส) พบว่าสายพันธุ์ B2 มีความใกล้เคียงที่สุด (99.38 %) กับเชื้อ *Streptomyces glubosus*

ประภัสสร และ เพชรรัตน์ (2559) ศึกษาการถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ของเชื้อราฟูซาริยาเรียมสาเหตุของโรคดอกฝักดาบของข้าวและประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา *Streptomyces*-PR15 และ *Streptomyces*-PR87 ในการควบคุมโรคจากเชื้อราฟูซาริยาเรียมของพืชเศรษฐกิจ ที่ได้จากเมล็ดพันธุ์ข้าว ข้าวโพด เมล่อน ถั่ว พุ่ม และใบส้ม โดยวิธี dual culture bioassay พบว่าจาก ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าว 7 สายพันธุ์ (กข.6, กข.51, ขาวดอกมะลิ 105, พิษณุโลก 2, ปทุมธานี 1, ชัยนาท 1, และไรซ์เบอร์รี่) พบเชื้อราสาเหตุโรค 5 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium* spp., *Alteraria padwickil*, *Bipolaria oryzae*, *Curvularia lunata* และ *Rhizoctonia oryzae* ซึ่งข้าวไรซ์เบอร์รี่พบเชื้อรา *Fusarium* spp. มากที่สุด จากการทดสอบ dual culture bioassay เชื้อแบคทีเรียปฏิบัคษ์ *Streptomyces*-PR15 และ *Streptomyces*-PR87 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้ทั้ง 27 ไอโซเลต ในระดับ 40-60% เชื้อ *Streptomyces*-PR15 และ *Streptomyces*-PR87 ทำให้เส้นใยของเชื้อรา *Fusarium* spp. แตกหักหรือบวมพอง

ศรีสกุล (2553) ทำการแยกและคัดกรองเชื้อเอ็นโดไฟติกแอคติโนมัยสิทที่สามารถสร้างสารต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบและการประยุกต์ใช้ โดยแยกเชื้อเอ็นโดไฟติกแอคติโนมัยสิทจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด โดยวิธี surface sterilized ได้ 52 ไอโซเลต นำมาทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus cereus* ATCC6633, *Candida albicans* ATCC90028, *Escherichia coli* ATCC10536, *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Alternaria porri*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae*, *Curvularia* sp., *Drechslera* sp., *Exserohilum* sp., *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* sp. และ *Sclerotium rolfsii* พบว่ามีเพียง 16 ไอโซเลทเท่านั้นที่สามารถต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ โดยไอโซเลท TL-19 สามารถยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด จากการศึกษาสัญญาณวิทยภาพยีนได้กลิ่นจุลทรรศน์ของเชื้อ T1-19 พบก้านชูสปอร์เป็นสายเดี่ยวสร้างสปอร์รูปไข่ผิวเรียบต่อกันเป็นสายยาวโค้ง เมื่อนำมาศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA พบว่าเชื้อ TL-19 จัดอยู่ในยีน *Streptomyces* และจากการทำ phylogenetic tree ของ 16S rDNA พบว่าเชื้อ TL-19 มีความใกล้เคียงกับ *Streptomyces caviscabies* ATCC 51928<sup>T</sup> และ *Streptomyces setonii* ATCC 25497<sup>T</sup> ถึง 99% และจากการศึกษา chemotaxonomy พบว่า whole cell hydrolysates ของเชื้อ TL-19 มี 2,6 diaminopimelic acid (DAP) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิด LL-DAP จึงสรุปได้ว่า *Streptomyces* sp. TL-19 เป็นเชื้อที่แยกได้จากใบรางจืดมีฤทธิ์ด้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

วิไลลักษณ์ และ สมเกียรติ (2559) ศึกษาผลของแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากดินรอบรากพริกต่อการยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum capsici*, *Curvularia lunata* และ *Fusarium solani* นำมาเพาะบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และ McBeth Scale Agar (MBS) ด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 10 วัน พบว่า แอคติโนมัยซีทสามารถยับยั้งการเจริญของ *C. capsici* ได้ดีบนอาหาร PDA คือ ไอโซเลต CS2 และ CS4 (78.92 % และ 78.61 % ตามลำดับ) ส่วนอาหาร MBS คือ ไอโซเลต CS2 และ CS5 (64.54 % และ 63.63 % ตามลำดับ) ไอโซเลตที่ยับยั้งการเจริญของ *C. lunata* ได้ดีบนอาหาร PDA และ MBS คือ ไอโซเลต CS2 (78.84 % และ 72.81 % ตามลำดับ) ไอโซเลต CS2 CS3 และ CS5 ยับยั้งการเจริญของ *F. Solani* ได้ดีบนอาหาร PDA (70.79 %, 69.09 % และ 69.09 % ตามลำดับ) ในขณะที่บนอาหาร MBS ไอโซเลต CS2 และ CS3 สามารถยับยั้งการเจริญของ *F. Solani* ได้ดีที่สุด (64.35 % และ 62.80 % ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบบนอาหารต่างชนิดกัน พบว่าแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชทั้ง 3 สายพันธุ์ บนอาหาร PDA ได้ดีกว่าอาหาร MBS ดังนั้นแอคติโนมัยซีท ไอโซเลต CS2 CS3 CS4 และ CS5 มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชทางการเกษตร

นรารวรรณ และคณะ (2554) ทำการคัดแยกแอคติโนมัยซีทจากดินนาข้าวและความสามารถในการยับยั้งราก่อโรคข้าว คัดแยกแอคติโนมัยซีทจำนวน 247 ไอโซเลต จากดินนาข้าวจำนวน 35 ตัวอย่าง จาก 16 จังหวัดในประเทศไทย นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชนิดของ diaminopimelic ในเซลล์ที่ถูกย่อยพบว่า 198 ไอโซเลต จัดอยู่ในกลุ่ม *Streptomyces* และ 49 ไอโซเลต จัดอยู่ในกลุ่ม *non-streptomyces* นำไอโซเลตที่คัดแยกได้ทั้งหมด มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งราก่อโรคข้าว 3 ชนิด ได้แก่ *Fusarium moniliforme*, *Helminthosporium oryzae* และ *Rhizoctonia solani* บนอาหาร potato dextrose agar ด้วยวิธี dual culture พบว่าไอโซเลต RF 16-12 มีสามารถยับยั้งราก่อโรคข้าวทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด นำมาทดสอบผลต่อการงอกของเมล็ดข้าวในสถานะที่มีและไม่มี *F. moniliforme* โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้น เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย SPSS ตามวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการใช้สปอร์แขวนลอยไอโซเลต RF 16-12 มีผลควบคุมการเจริญของ *F. moniliforme* ในเมล็ดข้าวและไม่มีผลยับยั้งการงอกของรากและยอดข้าว เมื่อศึกษาลำดับเบสของยีน 16S TRNA พบว่าไอโซเลต RF 16-12 มีความคล้ายคลึงกับ *Streptomyces yogyakartaensis* NBRC 100779<sup>T</sup> ที่ 99.86%

Yao et al., (2020) ทำการประเมินศักยภาพการควบคุมทางชีวภาพสำหรับโรคเหี่ยวเหลืองพุ่มชาเขียวของขึ้นฉ่าย โดยแบคทีเรียที่ย่อยสลายกรดแลคติกและเป็นเชื้อปฏิปักษ์ ทำการศึกษาเชื้อแบคทีเรีย AB2 และ AB78 เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *ไม่ทราบว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้*

*apii* (Foa) อัตราการยับยั้งอยู่ที่  $42 \pm 3.46\%$  และ  $50 \pm 0\%$  ตามลำดับ และเชื้อ PdB5-1 มีความสามารถในการย่อยสลายกรดแกลลิกได้รวดเร็ว ซึ่งเป็น (Allelochemica) ที่สำคัญในชั้นน้ำ เริ่มย่อยสลายได้ที่ 10 ชั่วโมงหลังจากการเติมเชื้อ PdB5-1 สามารถย่อยกรดแกลลิก 250 ppm และสารประกอบฟีนอลิก 8% ในสารละลายสกัดน้ำในรากชั้นน้ำ (RWE) ภายใน 20 ชั่วโมง นอกจากนี้การใช้เชื้อ PdB5-1 ยังช่วยลดยับยั้งของกรดแกลลิกหรือRWEต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดชั้นน้ำ จากการทดลองในโรงเรือน ส่วนผสมของเชื้อแบคทีเรีย AB2, AB78 และ PdB5-1 แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่สม่ำเสมอในการลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวเหลืองที่เกิดจากเชื้อราฟูซาริอิมในชั้นน้ำลดลง 30%-90% ในการทดลองทุกแผนการทดลอง เมื่อนำมารวมกัน AB2, AB78 และ PdB5-1 มีศักยภาพสูงที่จะพัฒนาเป็นสารควบคุมทางชีวภาพได้

Phuong *et al.*, (2018) ศึกษาการประเมินศักยภาพในการควบคุมชีวภาพของแอคติโนมัยซีทที่พบใน สารอินทรีย์ต่างๆ เพื่อต่อต้านเชื้อรา *Fusarium verticillioides* ซึ่งเป็นเชื้อราก่อโรคพืชและสร้างสารพิษฟิวโมนิซิน ผลการทดลองพบว่าดินที่ได้รับการผสมสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. verticillioides* ได้สูงกว่าดินทั่วไป สารอินทรีย์เหล่านี้ยังยับยั้งการสร้างสปอร์และรงควัตถุของเชื้อราได้ โดยจุลินทรีย์ที่เติมลงในดินที่ผสมด้วยสารอินทรีย์สามารถลดการสร้างสารพิษฟิวโมนิซินได้สูง โดยลดลง 68.7% และ 92.5% สำหรับ FB1 และ FB2 ตามลำดับ นอกจากนี้แอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากสารอินทรีย์เหล่านี้ จัดอยู่ในกลุ่ม *Streptomyces* และมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา ผลการทดลองพบว่าสารที่ถูกขับออกจากเชื้อกลุ่ม *Streptomyces* สามารถการเจริญเติบโตของเชื้อราได้มากกว่า 60% เมื่อนำเชื้อกลุ่ม *Streptomyces* และเชื้อรามาทดสอบด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อกลุ่ม *Streptomyces* ส่วนใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและสารพิษฟิวโมนิซินได้อย่างดี เช่น สายพันธุ์ AV01, AV02 และ AV03 โดยปริมาณของ FB1 และ FB2 ลดลงมาก สูงถึง 87.5% และ 98.2% ตามลำดับ ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าเชื้อกลุ่ม *Streptomyces* มีแนวโน้มที่จะใช้เป็นสารชีวภัณฑ์ในการลดการปนเปื้อนของสารพิษฟิวโรนินพิษไร่และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืชเหล่านี้ Subramaniam *et al.*, (2011) ทำการประเมินประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากปุ๋ยหมักมูล สัตว์ผสมสมุนไพร เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium wilt* ในถั่ว คัดแยกได้ 137 ไอโซเลท ที่ยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum f.sp. ciceri* ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคเหี่ยวในถั่ว โดยใช้วิธี dual culture คัดเลือกมา 5 ไอโซเลท (CAI-24, CAI-121, CAI-127, KAI-32 และ KAI-90) ทดสอบการผลิตสารซิเดโรฟออร์, เซลลูเลส, โปรตีนเอส, กรดไฮโดรไซยานิก และ กรดอินโดลอะซิติก นอกจากนี้ยังทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia bataticola* สาเหตุของโรครากเน่าแห้งในถั่วและข้าวฟ่าง พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีททั้ง 5 ไอโซเลท ผลิตสารซิเดโรฟออร์ และกรดไฮโดรไซยานิก 4 ไอโซเลท ผลิตกรดอินโดลอะซิติก (ยกเว้น KAI-90), KAI-32 และ KAI-90 ผลิตเซลลูเลส, CAI-24 และ CAI-127 ผลิตโปรตีนเอส จากการทดสอบเบื้องต้นพบว่าเชื้อ CAI-24 KAI-90 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

32 และ KAI-90 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia bataticola* ในถั่ว ในขณะที่เชื้อ KAI-32 และ KAI-90 ยับยั้งได้ในข้าวฟ่าง ต่อมานำมาทดสอบประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคเหี่ยวในเรือนกระจกและแปลงนา พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 45-76% และ 4-19% ตามลำดับ และทำการวิเคราะห์หีน 16S rDNA ทั้ง 5 ไอโซเลต พบว่าจัดอยู่ในสปีชีส์ *Streptomyces tsusimaensis*, *Streptomyces caviscabies*, *Streptomyces setonii*, *Streptomyces africanus* และ *Streptomyces* sp. ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 เครื่องมือ

- 3.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น ME104E METTLOR TOLEDO
- 3.1.2 ตู้บ่มเชื้อ (incubator) รุ่น BINDER CONTROL E2
- 3.1.3 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) ยี่ห้อ V4-T
- 3.1.4 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น BINDER FD11
- 3.1.5 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Compound light microscope) ยี่ห้อ Nikon
- 3.1.6 เครื่องไมโครเวฟ (Microwave) ยี่ห้อ SHARP รุ่น R-22
- 3.1.7 ตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ SANDEN INTERCOOL
- 3.1.8 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น SevenCompact S220
- 3.1.9 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) รุ่น Orbit™ 1900 High Capacity Lab
- 3.1.10 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) รุ่น HV-25/50/85/110
- 3.1.11 เครื่อง Gel Electrophoresis System รุ่น Owl™ EasyCast™ B2 Mini Gel
- 3.1.12 เครื่องให้กำเนิดแสงแยกเจล รุ่น LED UltraSlim® Illuminator
- 3.1.13 เครื่อง NanoDrop Spectrophotometer รุ่น NanoDrop™ Lite

#### 3.2 อุปกรณ์

3.2.1 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.2.2 ขวดดูแรน (Duran) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.4 หลอดทดลอง (Test tube)

3.2.6 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)

3.2.7 กระจกปิดสไลด์ (Microscope slide)

3.2.8 กระจกสไลด์ (Microscope glass)

3.2.9 กระบอบทวง (Cylinder)

3.2.10 ฝ้ายกรองไนลอน (Nylon filter)

3.2.11 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)

3.2.12 ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.2.13 เข็มเขี่ยเชื้อปลายแหลม (Needle)

3.2.14 ช้อนตักสาร (Spatular)

3.2.15 ที่วางหลอดทดลอง (Test tube rack)

3.2.16 แท่งแก้วคนสาร (Glass stirring)

3.2.17 สำลี (Cotton)

3.2.18 ปากคีบ (Forceps)

3.2.19 หลอดหยดสาร (Dropper tube)

3.2.20 กระดาษฟลอยด์ (foil)

3.2.21 ขวดฉีดน้ำกลั่น

3.2.22 พาราฟิล์ม

3.2.23 เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper)

3.2.24 Cork borer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.25 Centrifuge tube

3.2.26 Collection tube

3.2.27 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 200 ไมโครลิตร

3.2.28 ทิป (Tip)

### 3.3 สารเคมี

3.3.1 น้ำตาลกลูโคส (Glucose)

3.3.2 ยีสต์สกัด (Yeast extract)

3.3.3 มอลต์สกัด (Malt extract)

3.3.4 ฐัน (Agar)

3.3.5 Dextrose

3.3.6 น้ำกลั่น (Distilled water)

3.3.7 กลีเซอรอล (Glycerol)

3.3.8 Lactophenol cotton blue

3.3.9 Methylene blue

3.3.10 แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

3.3.11 Master mix (Bioneer)

3.3.12 ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA marker) ขนาด 10000 bp

3.3.13 ไพรมเมอร์ (Primer) 9F (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG -3')

3.3.14 ไพรมเมอร์ (Primer) 1541R (5'- AAGGAGGTGATCCAGCCGCA -3')

3.3.15 0.8% Agarose gel ใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.16 TE buffer pH 8.0 ML060-100 ML (ยี่ห้อ HIMEDIA)
- 3.3.17 1X TAE (Tris-Acetate-EDTA) buffer
- 3.3.18 0.5X TBE (Tris-Borate-EDTA) buffer
- 3.3.19 6X DNA Loading Dye (ยี่ห้อ Thermo Scientific, USA)
- 3.3.20 SYBR® Safe DNA gel stain (ยี่ห้อ Invitrogen, USA)
- 3.3.21 Molecular Biology Grade ML024-100ML (ยี่ห้อ HIMEDIA)
- 3.3.22 FADF buffer
- 3.3.23 Washing buffer solution
- 3.3.24 Elution buffer
- 3.3.22 ชุด FavorPrep™ GEL/PCR Purification Mini Kit

#### 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.4.1 International Streptomyces project no.2 (ISP2)
- 3.4.2 Potato dextrose agar (PDA)

#### 3.5 เชื้อทดสอบจากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

- 3.5.1 *Fusarium oxysporum*

#### 3.6 การเพาะเลี้ยงแอคติโนมัยซีท

เจียเชื้อแอคติโนมัยซีทจากป่าชายเลนที่ถูกเก็บรักษาใน 20% สารละลายกลีเซอรอล (w/v) ที่อุณหภูมิ -20°C ลงบนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกลือ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 7-14 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีท (บุรพา, 2565)

เมื่อไรก็ตามที่สังเกตเห็นสิ่งมีชีวิตที่เริ่มเติบโตบนอาหารและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.7 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีท

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากป้าชายเลนบนอาหาร International *Streptomyces* project no.2 (ISP2) ทำการสังเกตลักษณะรูปร่างโคโลนี การสร้างสีของเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) เส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) และสีของสปอร์ เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน The ISCC-NBS system (Kelly, 1964; Rattanakavil and Klanbut, 2019) และดูการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยเทคนิค Slide culture (เพ็ญกวี และคณะ, 2564)

### 3.8 การศึกษาความสามารถของแอคติโนมัยสีทในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

#### 3.8.1 การทดสอบความสามารถของแอคติโนมัยสีทจากดินนาข้าว ด้วยวิธี Dual culture

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราทดสอบ *Fusarium oxysporum* ที่ก่อโรคเหี่ยวเหลืองในขึ้นฉ่าย โดยนำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาลงบนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกลือ (ดัดแปลงจาก Sirinut, 2010) ทำการ Streak ห่างจากขอบเพลท 2.5 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นใช้ Cork borer เจาะเชื้อราทดสอบ เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วางตรงข้ามกับรอยของเชื้อแอคติโนมัยสีท จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำมาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเชื้อราและคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (PIRG%) ดังสมการเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (วาสนา, 2562)

$$\text{PIRG (\%)} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

โดยที่ R1 คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของ *Fusarium oxysporum* เพลทควบคุม

R2 คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลาง *Fusarium oxysporum* เพลททดลอง

โดยการประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งจากค่า PIRG ดังนี้

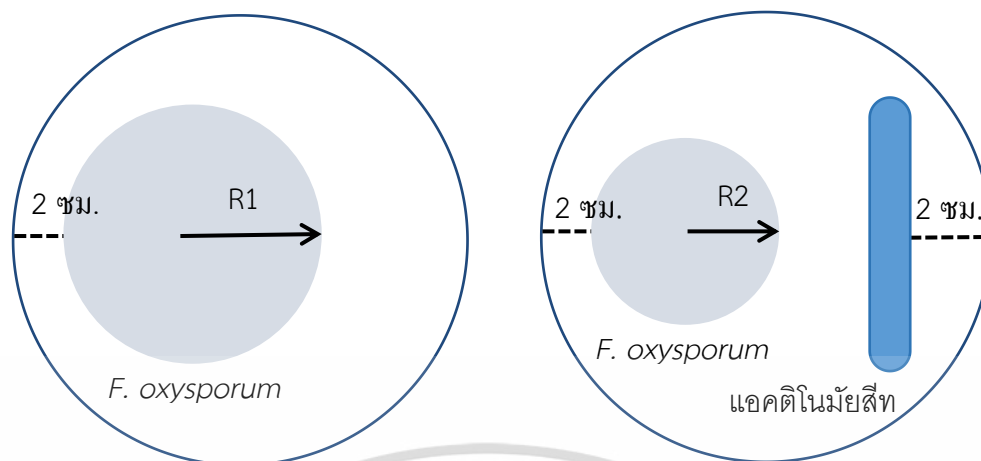
≥ 75 เปอร์เซนต์ มีประสิทธิภาพการยับยั้งสูงมาก

61-74 เปอร์เซนต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับสูง

51-60 เปอร์เซนต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับปานกลาง

≤ 50 เปอร์เซนต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 รูปแสดงตัวอย่างการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

### 3.9 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย

#### 3.9.1 การเตรียมดินในการเพาะปลูก

การทดสอบการยับยั้งจะคัดเลือกแอกติโนมัยสืทที่มีความสามารถในการยับยั้งในระดับสูงมากหรือมีการยับยั้งสูงที่สุด 1 ไอโซเลตเพื่อนำไปศึกษาต่อ จากนั้นเตรียมวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ ดิน : ปุ๋ยหมัก : แกลบ อัตราส่วน 5 : 1 : 1 ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (หฤษฎ์, 2561) จากนั้นบรรจุดินที่เตรียมเอาไว้แล้วโรยเมล็ดพันธุ์จาก EverydayPlant ที่ถูกแช่ในน้ำอุ่นเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ปริมาณ 1/2 ช้อนชา ลงในกระถางดินที่เตรียมไว้

#### 3.9.2 การเตรียมน้ำเลี้ยงสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยสืท

นำเชื้อแอกติโนมัยสืทบนอาหาร ISP2 agar มาเจาะขึ้นวุ้นด้วย cork borer ที่มีเชื้อเจริญอยู่ 1 ชิ้น ใส่ลงในอาหารเหลว ISP2 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 110 rpm บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดแล้วแยกส่วนของเซลล์ออกจากน้ำเลี้ยงด้วย Nylon cloth โดยรดลงบนโคนต้นขึ้นฉ่ายปริมาตร 20 มิลลิลิตร (ดัดแปลงจาก จันทรจักรีส และคณะ, 2560)

#### 3.9.3 การเตรียมน้ำเลี้ยงสปอร์เชื้อรา *Fusarium oxysporum*

นำเชื้อรา *Fusarium oxysporum* บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เมาเลี้ยงในอาหาร PDB (Potato dextrose broth) ในพลาสติก 250 ml ปริมาตร 100 ml ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 60 rpm เป็นเวลา 7-14 วันจากนั้นทำการแยกเส้นใยเชื้อราออก ด้วย Nylon cloth ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อให้ได้ stock ของสปอร์เชื้อรา (Purwati et al., 2007) จากนั้นนับจำนวนเซลล์โดยใช้ haemocytometer ปรับความเข้มข้นให้ได้เท่ากับ  $10^6$  CFU/ml (มธุรส และคณะ, 2561) โดยรดลงบนโคนต้นขึ้นฉายปริมาณ 20 มิลลิลิตร

### 3.9.4 การเตรียมสารละลายเคมีกำจัดเชื้อรา

ชื่อทางการค้า เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ ควิโตซีน 6% + อีไทรไดอะโซล 24% อัตราการใช้ 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร นำสารละลายที่ได้มารดที่โคนต้นขึ้นฉาย ปริมาณต้นละ 20 มิลลิลิตร (กาญจนาและคณะ, 2562)

### 3.9.5 การวางแผนการทดลอง

การวางแผนการทดลอง Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ทรีทเมนต์ โดยแต่ละกลุ่มทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

ทรีทเมนต์ที่ 1 ชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อรา (Control)

ทรีทเมนต์ที่ 2 รดสปอร์ของเชื้อราก่อโรค *Fusarium oxysporum*. เพียงอย่างเดียว

ทรีทเมนต์ที่ 3 รดสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทเพียงอย่างเดียว

ทรีทเมนต์ที่ 4 รดสปอร์ของเชื้อราก่อโรค *Fusarium oxysporum* และรดสารเคมีกำจัดเชื้อรา

เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์

ทรีทเมนต์ที่ 5 รดสปอร์ของเชื้อราก่อโรค *Fusarium oxysporum* และรดสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท

การบันทึกผล

สังเกตลักษณะอาการของขึ้นฉายและประเมินความรุนแรงของโรคทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 21 วัน โดยกำหนดความรุนแรงของโรค Disease severity index (DSI) เป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับที่ 1 คือ ไม่แสดงอาการ

ระดับที่ 2 คือ สีใบเหลืองซีด

ระดับที่ 3 คือ สีใบเหลืองซีด และเหี่ยว

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับที่ 4 คือ สีใบเหลืองเหี่ยวมาก

ระดับที่ 5 คือ สีใบเหลืองจนถึงน้ำตาล และต้นตาย

นำผลทดลองที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยเพื่อจัดกลุ่มการเกิดโรค โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ (กาญจนา และคณะ, 2562)

กลุ่มที่ 1 Non-pathogenic (DSI = 1) คือ ไม่ก่อให้เกิดโรค

กลุ่มที่ 2 Low virulent (DSI < 3.50) คือ เกิดโรคในระดับต่ำ

กลุ่มที่ 3 Moderate virulent (DSI = 3.50 – 4.50) คือ เกิดโรคในระดับปานกลาง

กลุ่มที่ 4 High virulent (DSI > 4.50) คือ เกิดโรคในระดับที่รุนแรง

### 3.10 การศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของพืชจากแอคติโนมัยซีทในเรือนทดลอง (Plant growth promoting)

#### 3.10.1 การทดสอบความสามารถในส่งเสริมการเจริญ

ในการทดสอบความสามารถการส่งเสริมการเจริญจะบันทึกผลการเจริญด้านความสูงของลำต้น, จำนวนใบ ทุกๆ 7 วัน คือวันที่ 7, 14, 21 และในวันสุดท้ายจะทำการวัดการเจริญทั้งหมด ได้แก่ ความสูงของลำต้น, ความสูงของลำต้นและราก, ความยาวราก, จำนวนใบ, น้ำหนักของต้นและราก และเปรียบเทียบกับผลการเจริญกับกลุ่มทดลองชุดควบคุม (ปวีณา, 2563)

#### 3.10.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองในขั้นตอนการทดสอบการส่งเสริมการเจริญจะนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.11 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA ของเชื้อแอสคิโนมัยสิสที่มีประสิทธิภาพ

#### 3.11.1 การสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี Colony PCR และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

นำเชื้อแอสคิโนมัยสิสที่คัดเลือกจากผลความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *Fusarium oxysporum* จำนวน 5 ไอโซเลทมาเลี้ยงบนอาหาร ISP2 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน หรือสังเกตเมื่อโคโลนีเริ่มเจริญ ทำการใช้ไม้จิ้มฟันเขี่ยโคโลนีลงใน TE buffer ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ขนาด 1.5 มิลลิเมตร ทำการผสมโดยการบด จากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ 9F (5'GAGTTTGATCITIGCTCAG3') และ 1541R (5'AAGGAGGTGATCCAGCC3') จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยาในเครื่อง DNA Thermal Cycler (T100™ Thermal Cycler) โดยช่วงเริ่มต้นของกระบวนการ (Pre-Denaturation) ใช้อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 3 นาที ขั้นตอน Denaturation ใช้อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 1 นาที ขั้นตอน Annealing ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 1 นาที ขั้นตอน Extension ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 2 นาที ส่วนในช่วงท้ายของกระบวนการ (Final extension) ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 3 นาที (Rattanakevil *et al.*, 2020)

#### 3.11.2 การตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ

ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยวิธี Gel electrophoresis โดยเติม 0.5x TBE buffer ปริมาตร 15 มิลลิตร และเติมอะกาโรส (agarose) 0.15 กรัม ลงในขวดแก้วคลายเกลียว ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟเพื่อละลายอะกาโรสเป็นเวลา 20 วินาที ตั้งทิ้งไว้ให้อุ่นแล้วเติม SYBR® Safe DNA gel stain (Imvirogen, USA) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร จากนั้นเทลงในถาด (tray) และปักหวี (comb) ลงไปในเจล ตั้งทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวในที่มีดประมาณ 30 นาที นำเจลออกจากถาดแล้ววางลงในเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) เติม 1x TAE buffer จนท่วมเจล เตรียมตัวอย่างโดยนำ 6x Loading dye ปริมาตร 2 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นพาราฟิล์ม และนำตัวอย่างปริมาตร 2 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและโหลด (Load) ตัวอย่างลงในแต่ละช่อง (well) โดยเว้นช่องที่ 1 ไว้สำหรับใส่ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA marker) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปรันเจล (run gel) ด้วยเครื่อง Owl™ EasyCast™ B2 Mini Gel Electrophoresis Systems ที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ตรวจสอบผลโดยสังเกตแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UltraSlime® LED illuminator

#### 3.11.3 การทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์

นำ PCR product ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอมาทำให้บริสุทธิ์ โดยใช้ชุด FavorPrep™ GEL/PCR Purification Mini Kit เติมสารละลาย FADF buffer ปริมาตร 5 เท่าของ PCR product ในหลอดไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครเซนตริฟิวด์ ผสมให้เข้ากัน นำสารละลายผสมเติมลงใน FADF column ที่อยู่ใน Collection tube นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,350 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที เทส่วนใสใน Collection tube ทิ้ง และเติม Washing biuffer solution ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ลงใน FADF column นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,350 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที เทส่วนใสใน Collection tube ทิ้ง นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นย้าย FADF column ลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์อันใหม่ บ่ม Elution buffer ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และนำมาชะดีเอ็นเอโดยหยดลงใน FADF column ปริมาตร 40 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,350 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารละลายดีเอ็นเอที่ได้จากการชะด้วยเครื่อง Nanodrop™ Lite Spectrophotometer (Thermo Scientific, USA) โดยวัดค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอโดยใช้ค่า  $A_{260}/A_{280}$  วัดความเข้มข้นของปริมาณดีเอ็นเอ (โดยต้องมีความเข้มข้นมากกว่า 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) นำดีเอ็นเอที่ได้ส่งวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์

### 3.11.4 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอของ 16S rRNA genes และการสร้างสายวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) (Rattanakavil et al., 2020)

นำ PCR product ที่บริสุทธิ์แล้วส่งไปทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท U2Bio (Thailand) Co., Ltd. โดยโปรแกรมที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ 800R (5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3'), 518F (5'-CCAGCAGCCGCGGTAATACG-3') และ 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จะถูกเรียบเรียงด้วยโปรแกรม BioEdit Sequence Alignment Editor จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบความใกล้เคียง (similarity) กับสายพันธุ์อื่น ๆ โดยใช้ฐานข้อมูลใน EzBioCloud เพื่อสร้างแผนภูมิสายวิวัฒนาการแบบ Neighbour-joining และ Maximum-likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) (Kumar et al, 2016) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ด้วย Kimura two-parameter (Kimura, 1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 เชื้อแอสคิโนมัยสีที่ที่ใช้ในการศึกษา

จากการเก็บตัวอย่างดินป่าชายเลน บริเวณสะพานรักษ์ทะเลบางขุนเทียน และศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี จากงานวิจัยแอสคิโนมัยสีจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองขึ้นฉ่าย และการส่งเสริมการเจริญ โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทั้งหมด 10 จุด เป็นจำนวน 34 ไอโซเลต (บุรพาและภูรินทร์, 2565) และได้ทำการเก็บตัวอย่างดินจากป่าชายเลนของศูนย์การศึกษาการเรียนรู้และพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 จังหวัดสมุทรสาคร และวนอุทยานปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จากงานวิจัยแอสคิโนมัยสีจากดินป่าชายเลน การส่งเสริมการเจริญเติบโตและมีฤทธิ์ยับยั้งโรคเหี่ยวเหลือง โดยเก็บตัวอย่างดินทั้งหมด 10 จุด เป็นจำนวน 11 ไอโซเลต (เบญจมาศและอภิษฐา, 2565) รวมทั้งทั้งหมดมีจำนวนแอสคิโนมัยสี 45 ไอโซเลต

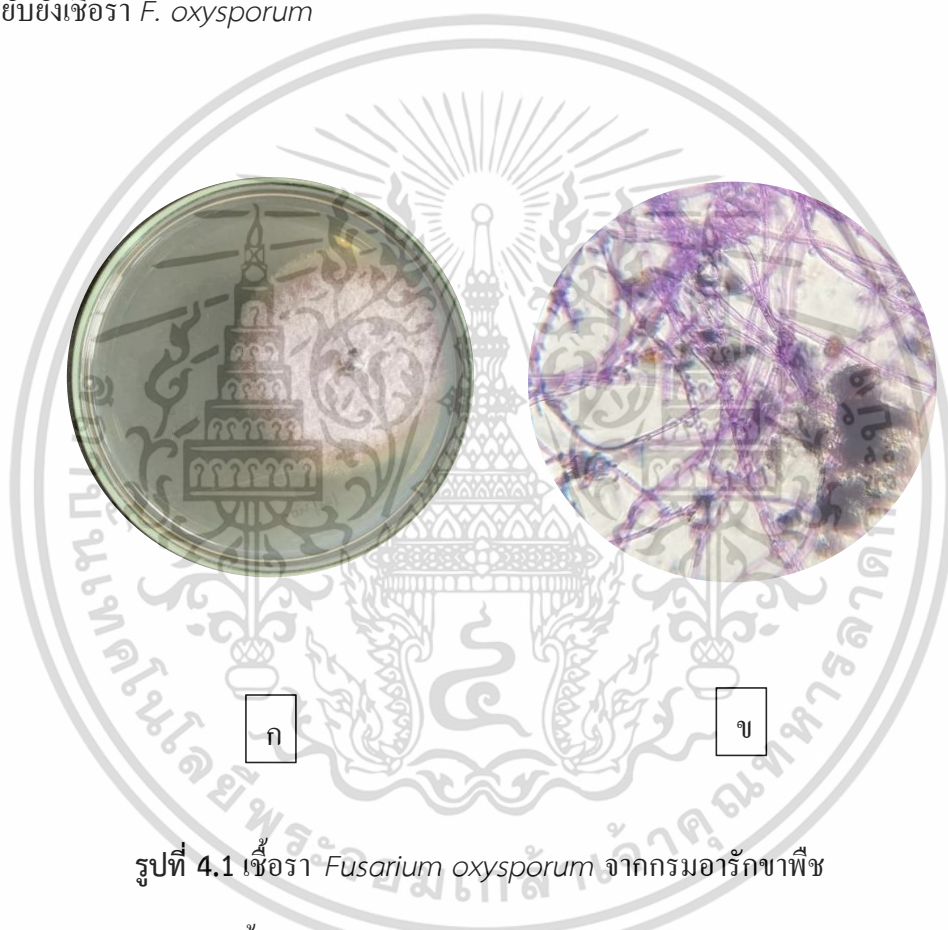
#### 4.2 ความสามารถของแอสคิโนมัยสีในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในขึ้นฉ่าย (Antimicrobial activities)

##### 4.2.1. ความสามารถของแอสคิโนมัยสีจากป่าชายเลน โดยวิธี Dual culture

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ที่มีอายุ 5 วัน ดังรูปที่ 4.1 การยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของเชื้อแอสคิโนมัยสีจากดินป่าชายเลน จำนวน 45 ไอโซเลต ด้วยวิธี Dual culture พบว่ามีเชื้อแอสคิโนมัยสีที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ในระดับต่ำ คือน้อยกว่าหรือเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมด 45 ไอโซเลต โดยเรียงลำดับความสามารถในการยับยั้งจากสูงที่ไปต่ำสุดได้ดังนี้ (ตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2) ได้แก่ SF05070, SF01370, SF14370, SF13500, SF02770, SS03310 , SF02870, SF03870 , SF02070, SF00970, BT00310, SF00670, SF12900, SF08000, SF03670, SF00270, PC00200, SF14800, SF08500, SF11870, PC01770, PC00870, PC00970, PC02770, SS00710, SF14900, SS03210, PC00600, SF07070, BT00410, SF05670, SF02270, PC01670, SS02210, SF03270, SF05970, BT00510, SF13000, SF06270, SF03070, SF07270, SF03970, SF08100, SF11770, SF00470 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%PIRG) เท่ากับ 67.08%, 63.43%, 52.32%, 61.20%, 51.47%, 48.16%, 47.48%, 43.43%, 48.11%, 47.27%, 47.04%, 46.27%,

เมื่อย่างแรกเห็นทีไรก็กลัวว่าตัวเองจะโดนโกง แต่พอได้เจอแบบนี้ก็มั่นใจขึ้นเยอะเลย

44.61%, 42.58%, 40.48%, 39.56%, 37.25%, 35.43%, 33.51%, 33.14%, 32.89%, 32.25%, 31.75%, 30.22%, 29.58%, 29.34%, 29.08%, 28.69%, 28.35%, 27.87%, 27.84%, 27.84%, 27.20% , 26.53%, 26.26%, 25.96%, 25.15%, 24.82%, 24.70%, 24.04%, 23.72%, 22.30%, 22.05%, 21.52%, 20.67%, 12.09% ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราสูงสุด 4 อันดับ คือ ไอโซเลต SF05070, SF01370, SF14370, SF13500 ดังรูปที่ 4.3 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของทายาท, 2558 ที่พบว่า เชื้อแอกติโนมัยสีทจากป่าชายเลนจังหวัดสตูล ไอโซเลต MBG6, MGH1, MGH2, MGH8 มีประสิทธิภาพมากในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum*



รูปที่ 4.1 เชื้อรา *Fusarium oxysporum* จากกรมอารักขาพืช

ก) โคลนีเชื้อ *Fusarium oxysporum* บนอาหาร ISP2 อายุ 5 วัน

ข) การย้อมสีดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

$$\text{PIRG (\%)} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

โดย R1 คือ ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา *F. oxysporum* เพลทควบคุม

R2 คือ ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา *F. oxysporum* เพลททดลอง

คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของไอโซเลตที่มีการยับยั้งสูงสุดจากดินป่าชายเลน

โดย ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเพลท Control 52.08 มิลลิเมตร

ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเพลท SF05070 13.00 มิลลิเมตร

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ไอโซเลต SF05070

$$\begin{aligned} \text{PIRG (\%)} &= \frac{52.08 - 17.145}{52.08} \times 100 \\ &= 67.08\% \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ลำดับความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* จากสูงสุดไปต่ำสุดจำนวน 45 ไอโซเลท โดยวิธี Dual culture

ลำดับที่	ไอโซเลท	เส้นผ่านศูนย์กลาง (R2) (มิลลิเมตร)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%PIRG)	ระดับประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา <i>F. oxysporum</i>
1	SF05070	17.145	67.08%	ระดับสูง
2	SF01370	18.045	63.43%	ระดับสูง
3	SF14370	24.26	53.41%	ระดับปานกลาง
4	SF13500	24.28	53.38%	ระดับปานกลาง
5	SF02770	26.22	49.54%	ระดับต่ำ
6	SS03310	26.63	48.86%	ระดับต่ำ
7	SF02870	27.35	47.48%	ระดับต่ำ
8	SF03870	27.36	47.46%	ระดับต่ำ
9	SF02070	27.42	47.35%	ระดับต่ำ
10	SF00970	27.46	47.27%	ระดับต่ำ
11	BT00310	27.58	47.04%	ระดับต่ำ
12	SF00670	27.978	46.27%	ระดับต่ำ
13	SF12900	28.45	44.61%	ระดับต่ำ
14	SF08000	29.90	42.58%	ระดับต่ำ
15	SF03670	30.995	40.48%	ระดับต่ำ
16	SF00270	31.475	39.56%	ระดับต่ำ
17	PC00200	32.265	37.25%	ระดับต่ำ

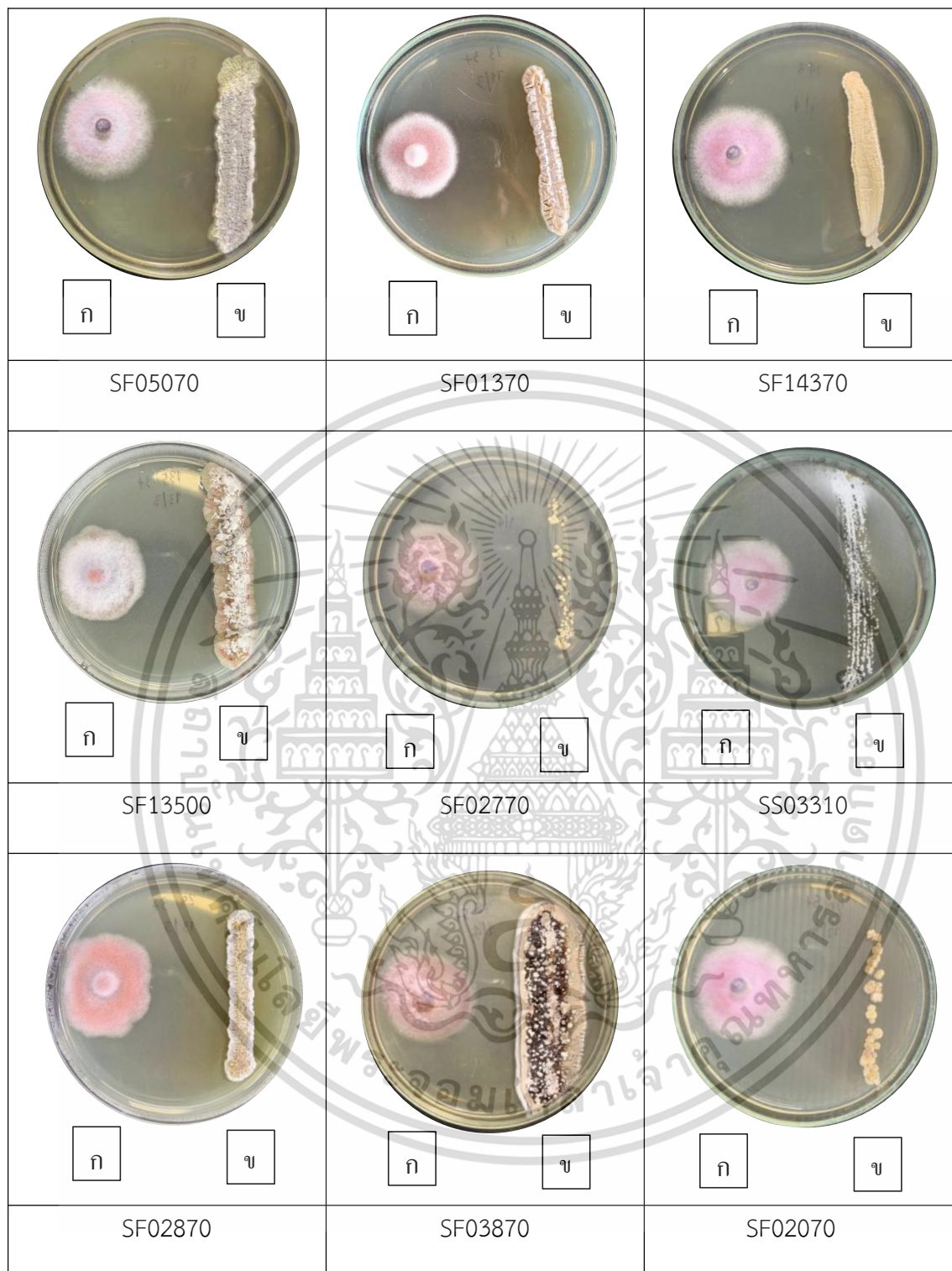
18	SF14800	33.89	35.43%	ระดับต่ำ
19	SF08500	34.625	33.51%	ระดับต่ำ
20	SF11870	34.82	33.14%	ระดับต่ำ
21	PC01770	34.95	32.89%	ระดับต่ำ
22	PC00870	35.28	32.25%	ระดับต่ำ
23	PC00970	35.54	31.75%	ระดับต่ำ
24	PC02770	36.34	30.22%	ระดับต่ำ
25	SS00710	36.46	29.99%	ระดับต่ำ
26	SF14900	36.50	29.91%	ระดับต่ำ
27	SS03210	36.935	29.08%	ระดับต่ำ
28	PC00600	37.135	28.69%	ระดับต่ำ
29	SF07070	37.105	28.35%	ระดับต่ำ
30	BT00410	37.36	27.87%	ระดับต่ำ
31	SF05670	37.50	27.84%	ระดับต่ำ
32	SF02270	36.825	27.20%	ระดับต่ำ
33	PC01670	38.26	26.53%	ระดับต่ำ
34	SS02210	38.405	26.26%	ระดับต่ำ
35	SF03270	38.56	25.96%	ระดับต่ำ
36	SF05970	38.98	25.15%	ระดับต่ำ
37	BT00510	39.15	24.82%	ระดับต่ำ
38	SF13000	39.215	24.70%	ระดับต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นไว้สำหรับการใช้ประกอบการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้เพื่อการค้า  
 ไม่สามารถแก้ไขใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

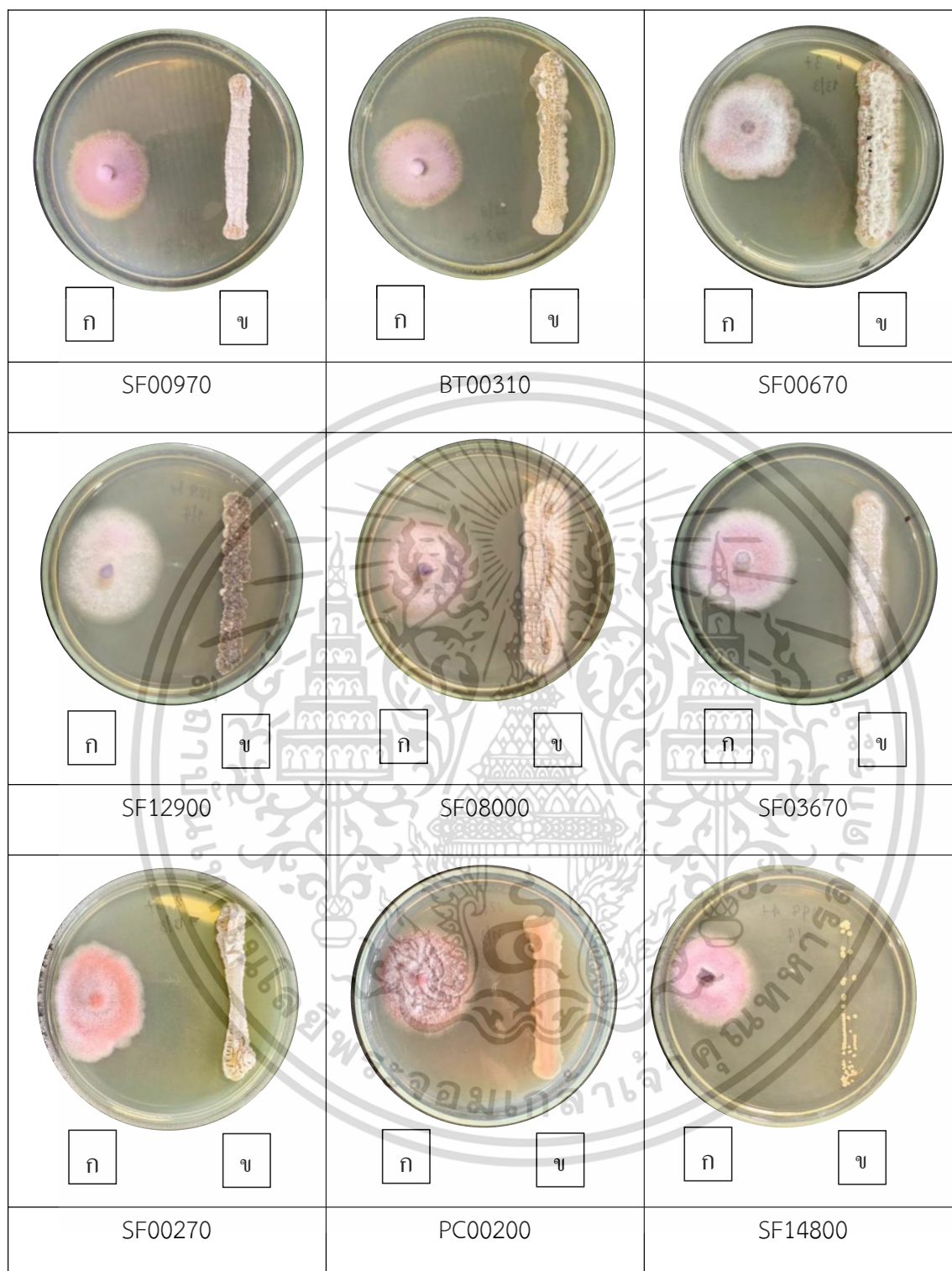
39	SF06270	39.38	24.04%	ระดับต่ำ
40	SF03070	39.55	23.72%	ระดับต่ำ
41	SF07270	40.30	22.30%	ระดับต่ำ
42	SF03970	40.435	22.05%	ระดับต่ำ
43	SF08100	40.715	21.52%	ระดับต่ำ
44	SF1170	41.315	20.67%	ระดับต่ำ
45	SF00470	55.78	12.09%	ระดับต่ำ

หมายเหตุ : Control plate (R1) = 52.08 มิลลิเมตร

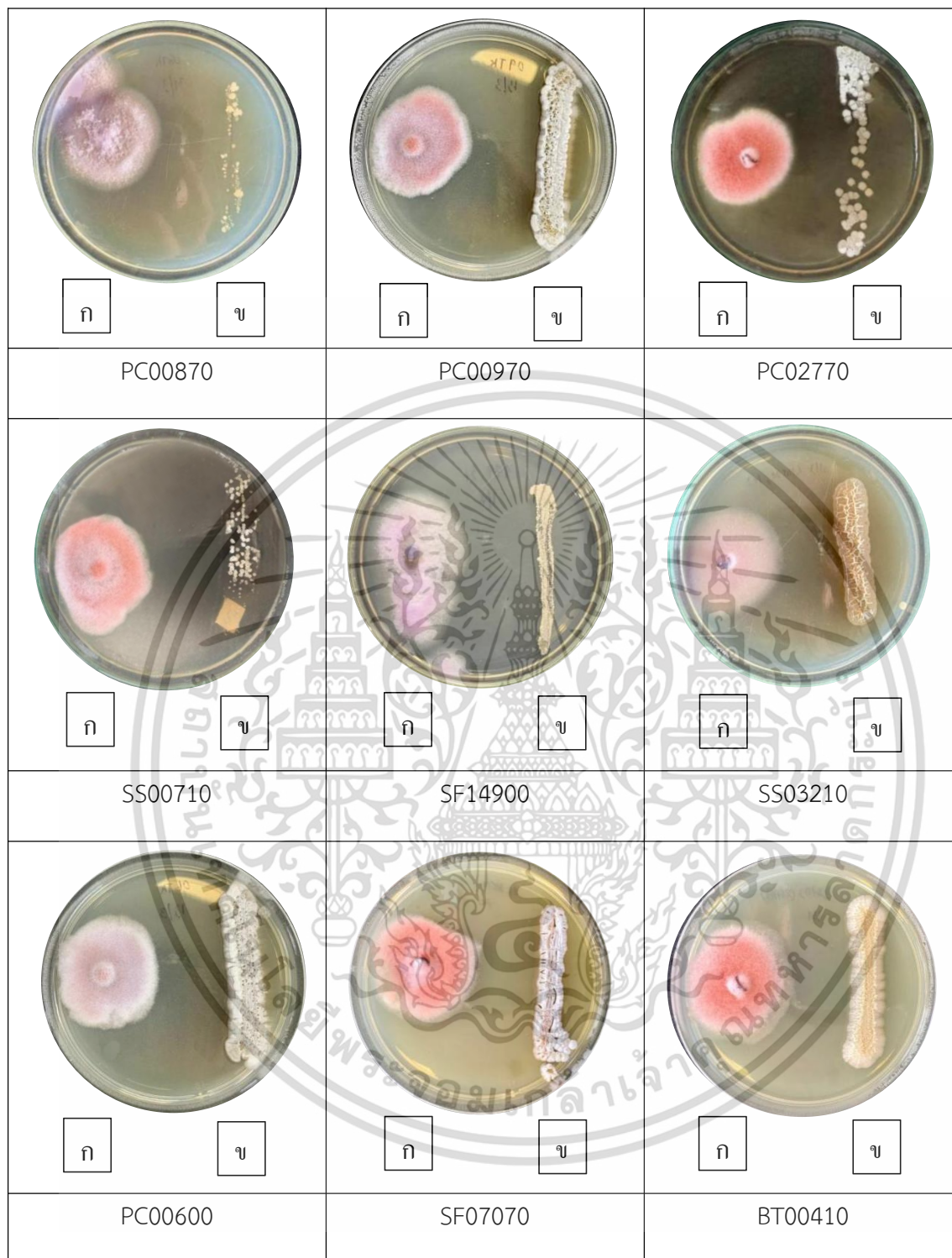
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



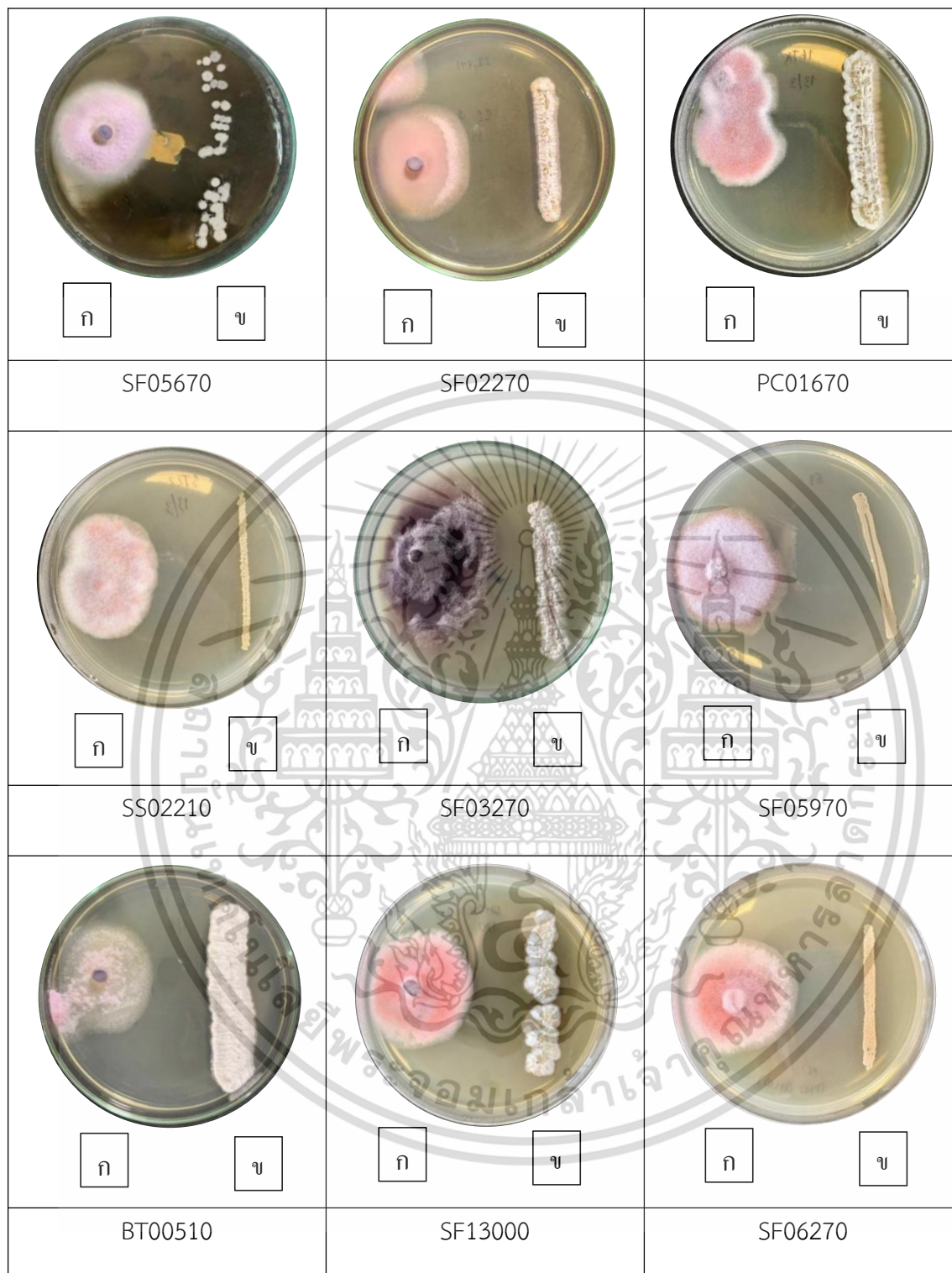
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



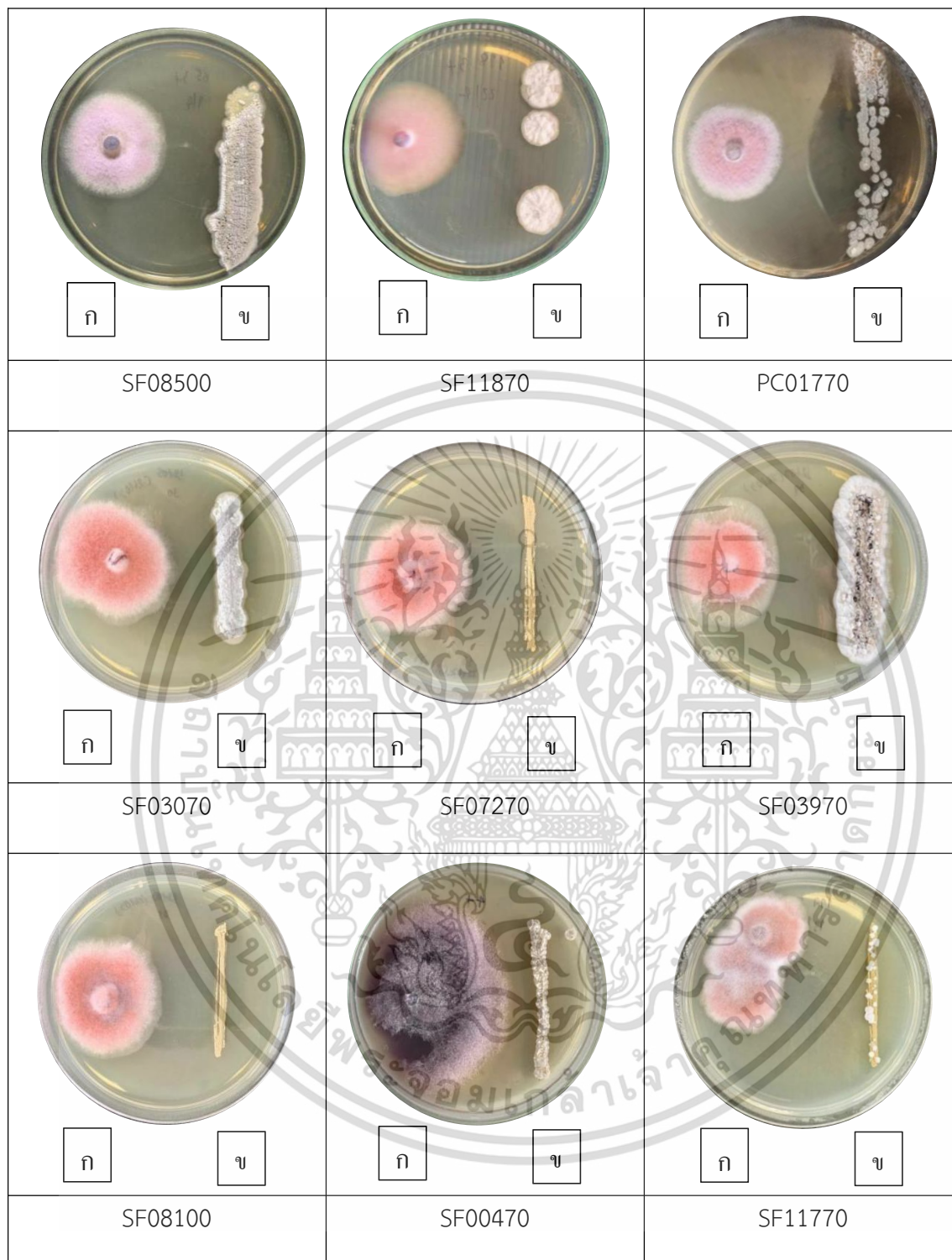
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



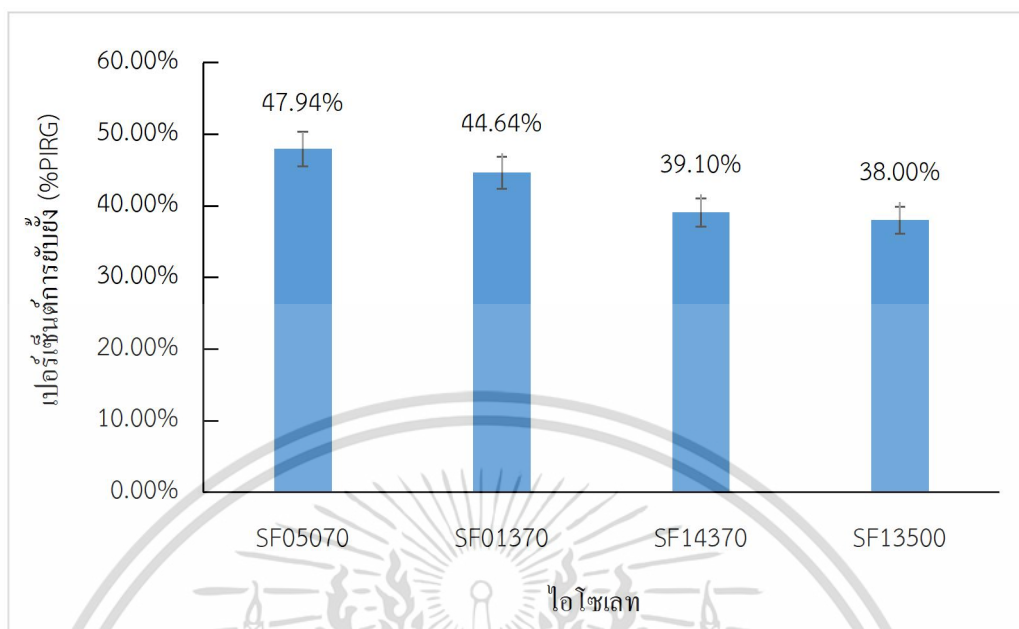
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญ *F. oxysporum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลน จำนวน 45 ไอโซเลท

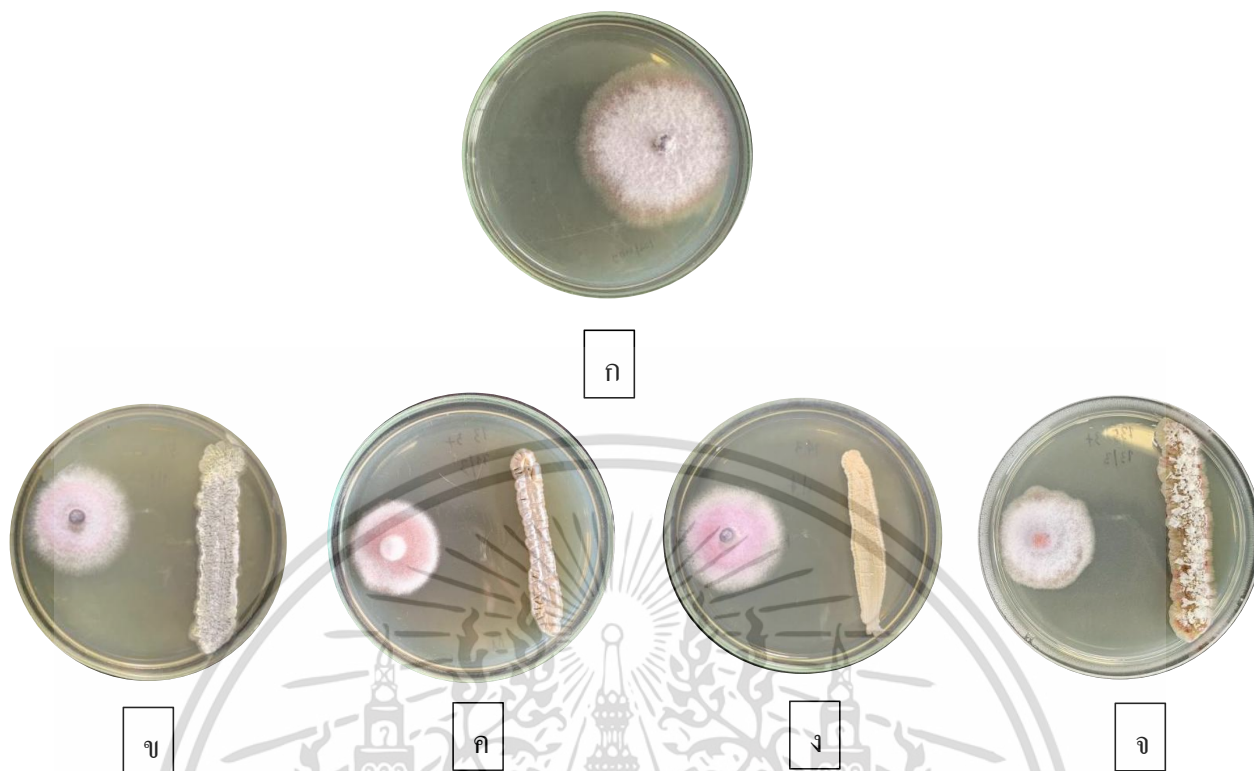
หมายเหตุ : (ก) ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *F. oxysporum*

เอกสารนี้เป็น (ข) ลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยซีทแต่ละไอโซเลท กรุณาให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงผลการยับยั้ง (%PIRG) เชื้อรา *Fusarium oxysporum* ของแอคติโนมัยซีทจากดินป่าชายเลนที่มีผลการยับยั้งสูงที่สุด 4 อันดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* บนอาหาร ISP2 ของเชื้อแอคติโนมัยสีท จากดินป่าชายเลนที่มีผลการยับยั้งสูงสุด 4 อันดับ โดย (ก) Control (ข) SF05070 (ค) SF01370 (ง) SF14370 (จ) SF13500

#### 4.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

ลักษณะสัณฐานวิทยาแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลนจำนวน 45 ไอโซเลทจากงานวิจัยของบูรพาและภุรินทร์ (2565) และงานวิจัยของเบญจมาศและอภิชนา (2565) ถูกเพาะเลี้ยงบนอาหาร International *Streptomyces* Project Medium No.2 (ISP2) ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 1.5% w/v บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน เนื่องจากอยู่ในช่วงที่แอคติโนมัยสีทมีการสร้างเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) เส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) รังควัตถุที่ละลายน้ำและมีการสร้างสปอร์ ซึ่งจะทำการสังเกตสีที่ปรากฏขึ้นบนอาหาร โดยทำการเทียบสีกับกระดาศสีมาตรฐาน ISCC-NBS System (Kelly, 1964) และตรวจดูลักษณะของเส้นใยและสปอร์โดยเลี้ยงแอคติโนมัยสีทด้วยเทคนิค Slide culture จากนั้นทำการย้อมสีเส้นใยด้วย Lactophenol cotton blue ส่องดูลักษณะเส้นใยและสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า และเปรียบเทียบเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการยับยั้งสูงสุด 4 อันดับ ที่ถูกเพาะเลี้ยงบนอาหาร International *Streptomyces* Project Medium No.2 (ISP2) ที่ไม่เติมเกลือ ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SF05070 มาทำการศึกษาความสามารถในการ

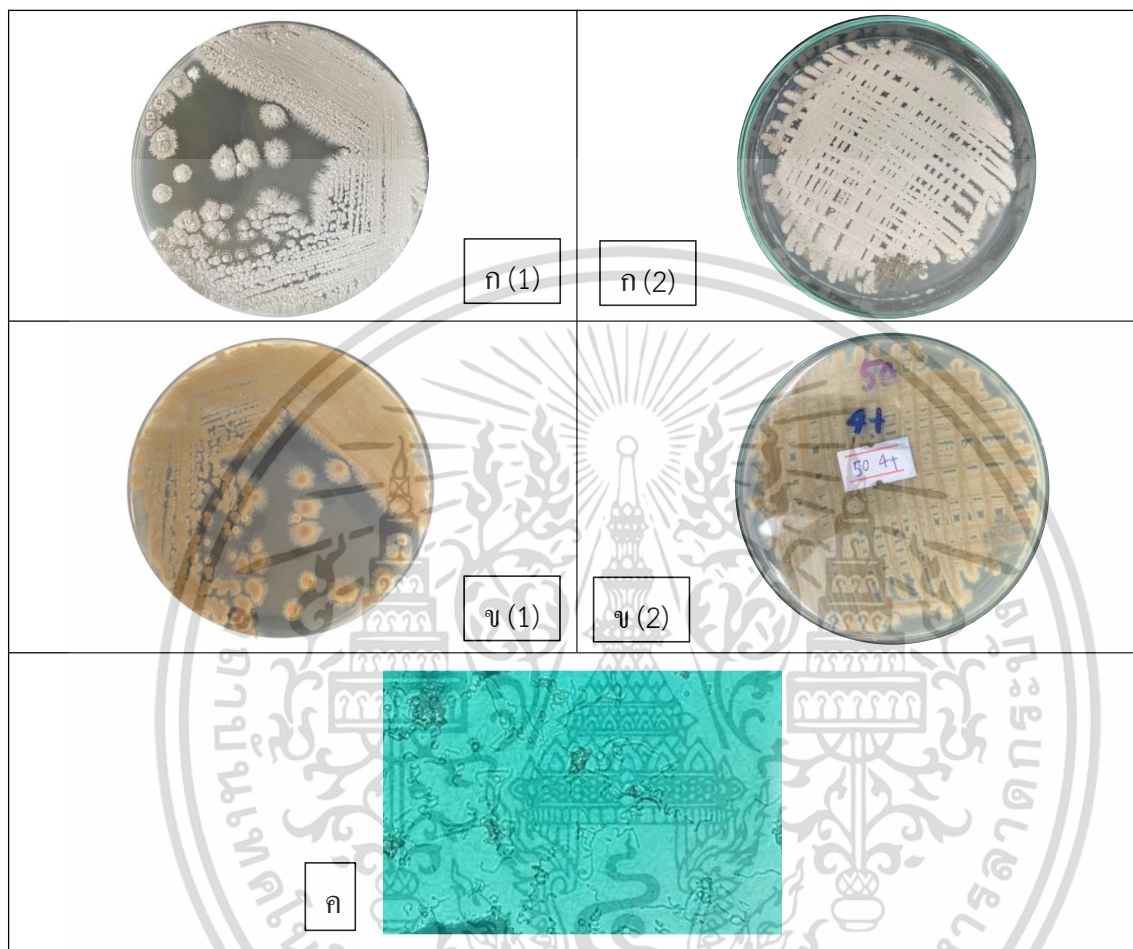
ยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ในสภาวะโรงเรือน เนื่องจากสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร ISP ที่ไม่เติมเกลือได้ ต้มมาก ดังรูปที่ 4.5 และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ด้วยวิธี Dual culture ได้ในระดับที่สูงที่สุด ส่วนอีก 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท SF01370, SF14370, SF13570 มีความสามารถในการเจริญรอรลงมาจากแอคติโนมัยสีท ไอโซเลท SF05070 และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* อยู่ในระดับสูง และระดับปานกลาง ดังรูปที่ 4.6, 4.7 และ 4.8

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลนจำนวน 4 ไอโซเลท บนอาหาร ISP2 เป็นระยะเวลา 7-14 วัน

ไอโซเลท	Aerial mycelium	Substrate mycelium	Soluble pigment	ลักษณะสปอร์
SF05070	Light greenish gray	Dark grayish yellow	-	Spiral
SF01370	Light olive gray to white	Light yellow	-	Spiral
SF014370	White	Light Yellow	-	Verticillati
SF013570	Light Olive Gray to White	Moderate yellow	-	Retinaculiaperti

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1 เชื้อแอสเพอร์จิลไฮโฟลุม SF05070 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ในช่วงสี Light greenish gray โคลนินด้านล่างสี Dark grayish yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ และการจัดเรียงของสปอร์มีลักษณะ Spiral



รูปที่ 4.5 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลไฮโฟลุม SF05070 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 ที่เติมเกล็ดและไม่เติมเกล็ด อายุ 7-14 วัน

ก (1) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass) บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 1.5% w/v (บุรพาและภูรินทร์, 2565)

ก (2) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass) บนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกล็ด

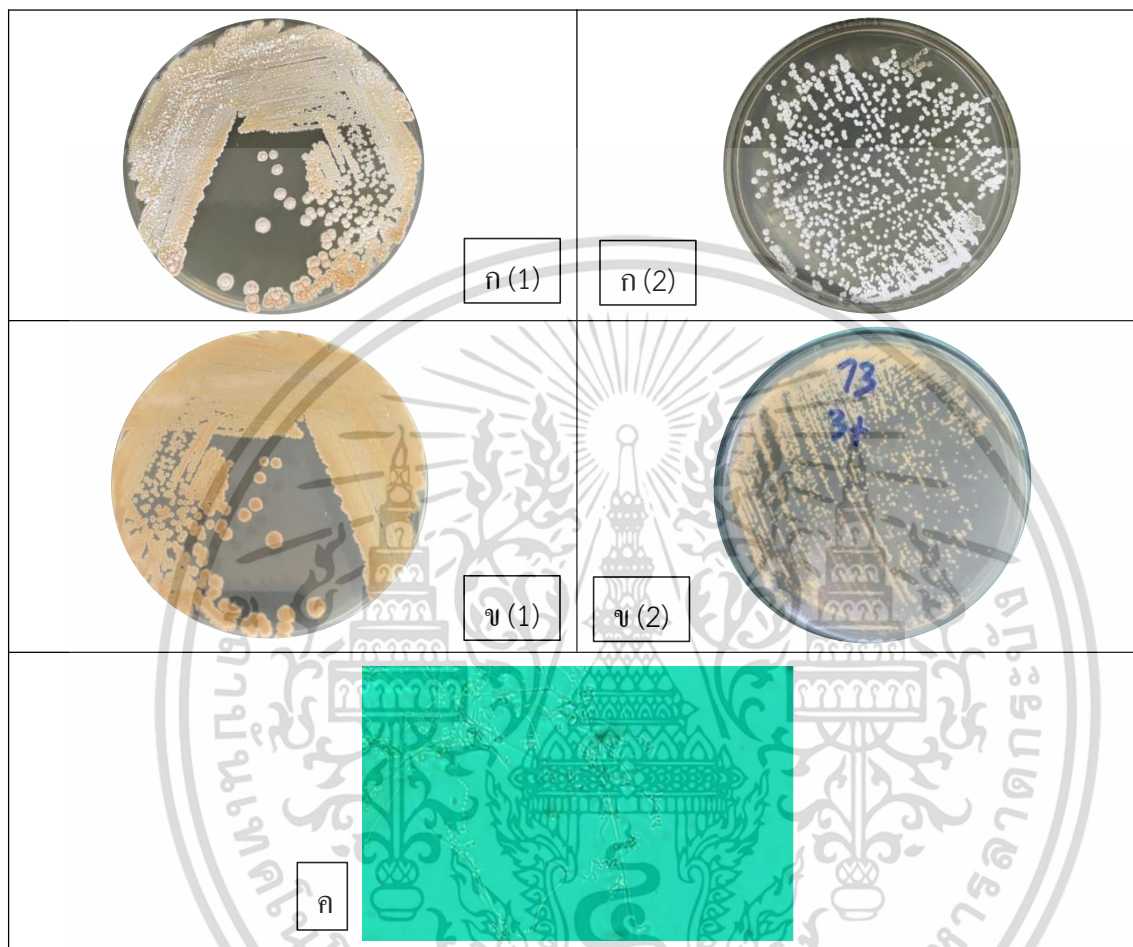
ข (1) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนินด้านล่าง (Reverse colony) บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 1.5% w/v (บุรพาและภูรินทร์, 2565)

ข (2) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนินด้านล่าง (Reverse colony) บนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกล็ด

ค แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) (บุรพาและภูรินทร์, 2565)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 เชื้อแอสเพอร์จิลไอโซเลต SF01370 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light olive gray to white โคลนินด้านล่างสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ และการจัดเรียงของสปอร์มีลักษณะ Spiral



รูปที่ 4.6 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลไอโซเลต SF01370 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 อายุ 7-14 วัน

ก (1) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass) บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 1.5% w/v (บุรพาและภุรินทร์, 2565)

ก (2) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass) บนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกล็ด

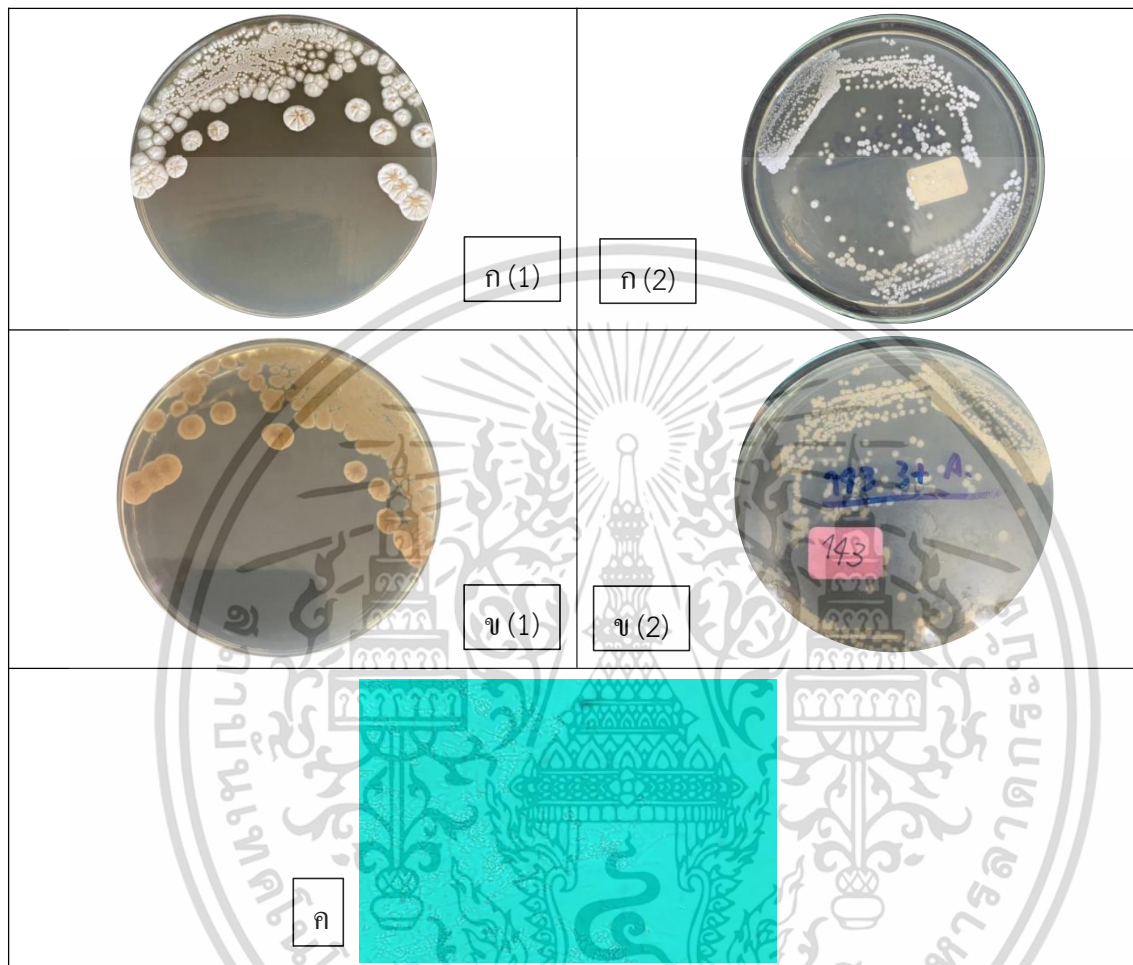
ข (1) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนินด้านล่าง (Reverse colony) บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 1.5% w/v (บุรพาและภุรินทร์, 2565)

ข (2) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนินด้านล่าง (Reverse colony) บนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกล็ด

ค แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) (บุรพาและภุรินทร์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3 เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF14370 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ในช่วงสี white โคลนிட้านล่างสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ และการจัดเรียงของสปอร์มีลักษณะ Verticillati



รูปที่ 4.7 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF014370 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 อายุ 7-14 วัน

ก (1) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass) บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 1.5% w/v (บุรพาและภุรินทร์, 2565)

ก (2) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass) บนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกล็ด

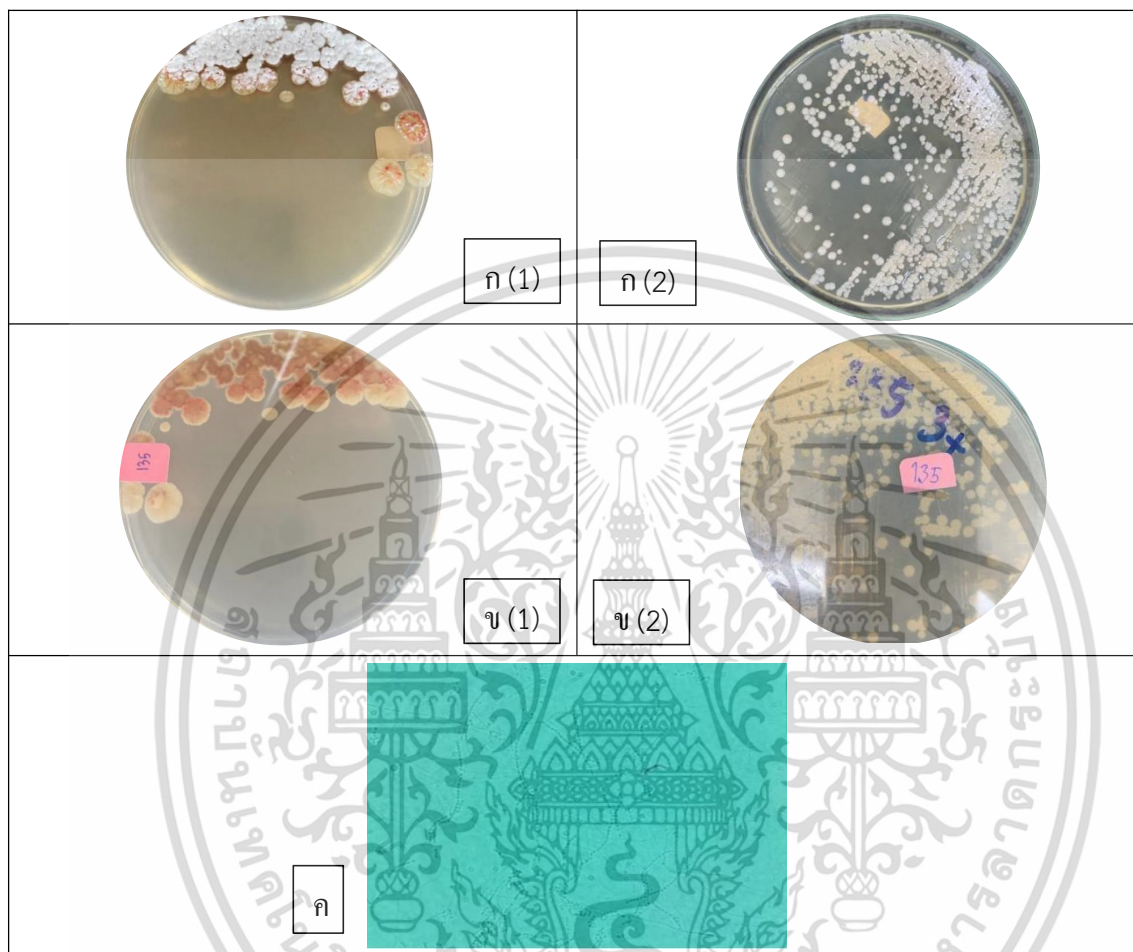
ข (1) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนிட้านล่าง (Reverse colony) บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 1.5% w/v (บุรพาและภุรินทร์, 2565)

ข (2) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนிட้านล่าง (Reverse colony) บนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกล็ด

ค แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) (บุรพาและภุรินทร์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4 เชื้อแอสเพอร์จิลไฮสเลท SF13570 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ในช่วงสี light olive gray to white โคลนிட้านล่างสี Moderate yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ และการจัดเรียงของสปอร์มีลักษณะ Retinaculiaperti



รูปที่ 4.8 ลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลไฮสเลท SF13570 ที่เจริญบนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 อายุ 7-14 วัน

ก (1) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass) บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 1.5% w/v (บุรพาและภูรินทร์, 2565)

ก (2) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass) บนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกล็ด

ข (1) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนียด้านล่าง (Reverse colony) บนอาหาร ISP2 ที่เติมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 1.5% w/v (บุรพาและภูรินทร์, 2565)

ข (2) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนียด้านล่าง (Reverse colony) บนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกล็ด

ค แสดงลักษณะเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยาย 1000 เท่า) (บุรพาและภูรินทร์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย

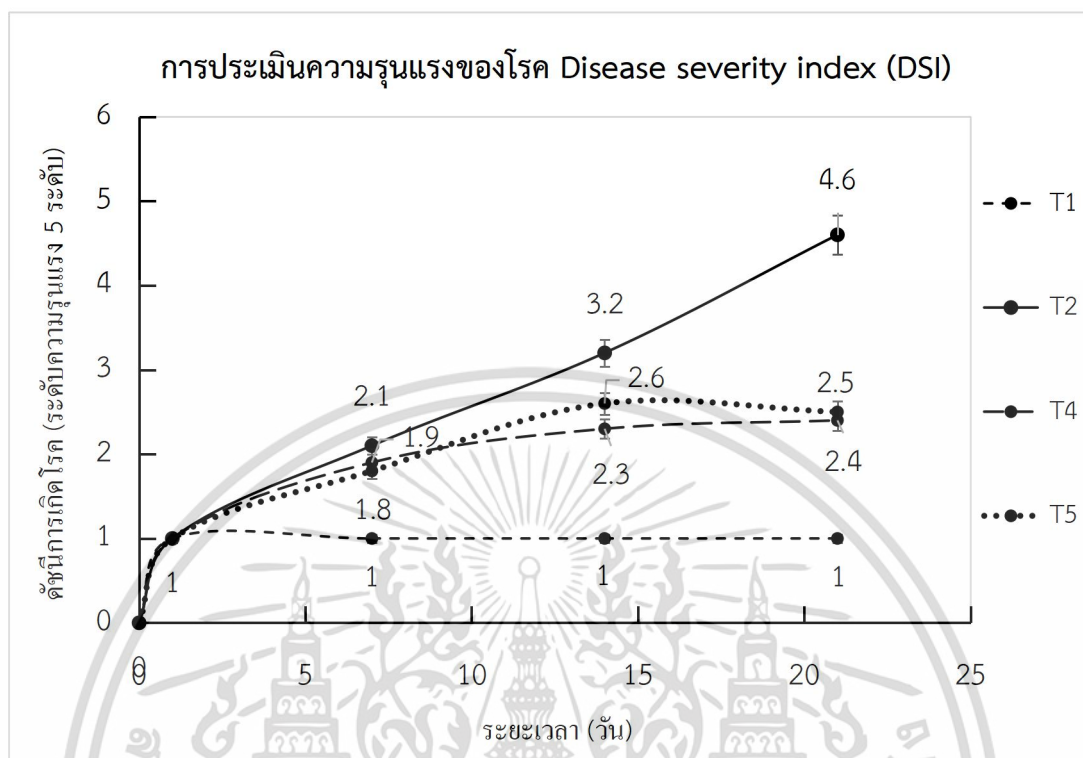
##### 4.4.1 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ของแอคติโนมัยซีท

จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* ของแอคติโนมัยซีทด้วยวิธี Dual culture พบว่าแอคติโนมัยซีทจากดินป่าชายเลนไอโซเลท SF05070 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุด คือ 47.94% เมื่อนำมายับยั้งเชื้อราทดสอบ *F. oxysporum* พบว่าทริทเมนต์ที่ 1 (T1 Control) มีดัชนีการเกิดโรคเท่ากับระดับที่ 1 คือไม่แสดงอาการของโรค ทริทเมนต์ที่ 2 (T2 *F. oxysporum*) ดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับระดับ 2.1, 3.2 และ 4.6 ทริทเมนต์ที่ 4 (T4 *F. oxysporum* และสารเคมีกำจัดเชื้อราเทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์) ดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ ระดับ 1.9, 2.3 และ 2.4 อาจเป็นเพราะ ทริทเมนต์ที่ 5 (T4 เชื้อรา *F. oxysporum* และแอคติโนมัยซีท) ดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ ระดับ 1.8, 2.6 และ 2.5 จากทริทเมนต์ที่ 4 ในวันที่ 14, 21 ค่าดัชนีการก่อโรคของทริทเมนต์ที่ 4 ที่มีการทรีทด้วยสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อรา *F. oxysporum* มีค่าความรุนแรงของโรคที่ต่ำกว่าซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของกาจนา และคณะ, 2562 พบว่าสารเคมีกำจัดเชื้อรามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* เท่ากับ 45.55 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้เนื่องจาก เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ เป็นสารป้องกันและกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราได้ ซึ่งสารเคมีประกอบด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช 2 ชนิด ที่เสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน ใช้ป้องกันกำจัดโรคโคนเน่า โรคเน่าคอดิน โรคเหี่ยว ฯลฯ โดยเฉพาะเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางดิน (โสดัส, 2561) และในส่วนของทริทเมนต์ที่ 5 ที่มีการทรีทด้วยแอคติโนมัยซีทและเชื้อราสาเหตุโรคพืชให้ค่าความรุนแรงของโรคที่ต่ำกว่าในวันที่ 7 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่มีความสามารถในการยับยั้งเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ (กาจนา และคณะ, 2562) ซึ่งอาจเป็นผลจากแอคติโนมัยซีทดินชายฝั่งทะเลมีสามารถในการผลิตสารชีวภาพเพื่อยับยั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ได้ (Attmarad et al., 2012)

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย เป็นระยะเวลา 21

ทริทเมนต์	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21
T1	1.00±0 <sup>a</sup>	1.00±0 <sup>a</sup>	1.00±0 <sup>a</sup>
T2	2.11±0.60 <sup>b</sup>	3.22±0.67 <sup>c</sup>	4.56±0.53 <sup>c</sup>
T4	1.89±0.60 <sup>b</sup>	2.33±0.5 <sup>b</sup>	2.44±0.53 <sup>b</sup>
T5	1.78±0.67 <sup>b</sup>	2.56±0.52 <sup>b</sup>	2.56±0.52 <sup>b</sup>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นถ่าย โดย T1) Control, T2) เชื้อรา *F. oxysporum*, T4) สารเคมีกำจัดเชื้อราเทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ และเชื้อรา *F. oxysporum*, T5) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070 และเชื้อรา *F. oxysporum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของระดับการจัดกลุ่มการเกิดโรค โดยสามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่ม

ระยะเวลา (วัน)	T1)	T2)	T3)	T4)	T5)
วันที่ 7	กลุ่มที่ 1  (Non-pathogenic)	กลุ่มที่ 2  (Low virulent)	กลุ่มที่ 1  (Non-pathogenic)	กลุ่มที่ 2  (Low virulent)	กลุ่มที่ 2  (Low virulent)
วันที่ 14	กลุ่มที่ 1  (Non-pathogenic)	กลุ่มที่ 2  (Low virulent)	กลุ่มที่ 1  (Non-pathogenic)	กลุ่มที่ 2  (Low virulent)	กลุ่มที่ 2  (Low virulent)
วันที่ 21	กลุ่มที่ 1  (Non-pathogenic)	กลุ่มที่ 4  (High virulent)	กลุ่มที่ 1  (Non-pathogenic)	กลุ่มที่ 2  (Low virulent)	กลุ่มที่ 2  (Low virulent)

หมายเหตุ : กลุ่มที่ 1 Non-pathogenic (DSI = 1), กลุ่มที่ 2 Low virulent (DSI < 3.50), กลุ่มที่ 3 Moderate virulent (DSI = 3.50 – 4.50), กลุ่มที่ 4 High virulent (DSI > 4.50) โดย T1) Control, T2) เชื้อรา *F. oxysporum*, T4) สารเคมีกำจัดเชื้อราเทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ และเชื้อรา *F. oxysporum*, T5) แอคติโนมัยสิทไอโซเลต SF05070 และเชื้อรา *F. oxysporum*

จากการทำการทดลองปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* ในวันที่ 21 พบว่าทริทเมนต์ที่ 1 (Control) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 (Non-pathogenic) คือ ไม่แสดงอาการของโรคลักษณะของต้นขึ้นฉายอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ ไม่มีใบเหี่ยวเหลือง ทริทเมนต์ที่ 2 (เชื้อรา *F. oxysporum*) ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 4 (High virulent) ต้นขึ้นฉายมีลักษณะเหี่ยวเหลืองสีน้ำตาลไปจนถึงมีต้นตายเกิดขึ้น เป็นผลจากการเจริญของเชื้อราสาเหตุทำให้พืชมีลักษณะอาการสีคล้ำทั้งต้น หรืออาจมีสีน้ำตาลแดง สีน้ำตาล จนถึงสีดำ ซึ่งเชื้อราสาเหตุจะเจริญอย่างรวดเร็ว ทำให้พืชเน่า เหี่ยวเฉา หรือตายในที่สุด (Cram, 2003; Landis, 2013) ทริทเมนต์ที่ 4 สารเคมีกำจัดเชื้อรา เทร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ และเชื้อรา *F. oxysporum*) และ ทริทเมนต์ที่ 5 (เชื้อรา *F. oxysporum* และแอคติโนมัยสิทไอโซเลต SF05070) ให้ลักษณะก่อนอาการของโรคที่คล้ายกันและจัดให้อยู่ในกลุ่มการก่อโรคลักษณะที่ 2 (Low virulent) คือมีลักษณะใบเหี่ยวเหลืองเล็กน้อย ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของกานา, 2562 พบว่าสารเคมีกำจัดเชื้อรา เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 60.66% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราของแอกติโนมัยสิตและสารเคมีกำจัดเชื้อรามีความใกล้เคียงกัน และในทริทเมนต์ที่ 5 (เชื้อรา *F. oxysporum* และแอกติโนมัยสิตไอโซเลท SF0570) ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของสาธิตและวิเชียร, 2559 พบว่าแอกติโนมัยสิตไอโซเลท B2, DP85 และ DP56 ให้ผลเปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นคะน้าเท่ากับ 90%, 80% และ 40% ตามลำดับ



รูปที่ 4.10 ลักษณะอาการของโรคในต้นขึ้นฉ่าย เมื่ออายุ 21 วัน

(ก) T1) Control

(ข) T2) เชื้อรา *F. oxysporum*

(ค) T4) สารเคมีกำจัดเชื้อรา เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ และเชื้อรา *F. oxysporum*

(ง) T5) แอกติโนมัยสิต ไอโซเลท SF0570 และเชื้อรา *F. oxysporum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
แม้ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.5 การศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของพืชจากแอคติโนมัยสีทในโรงเรือน

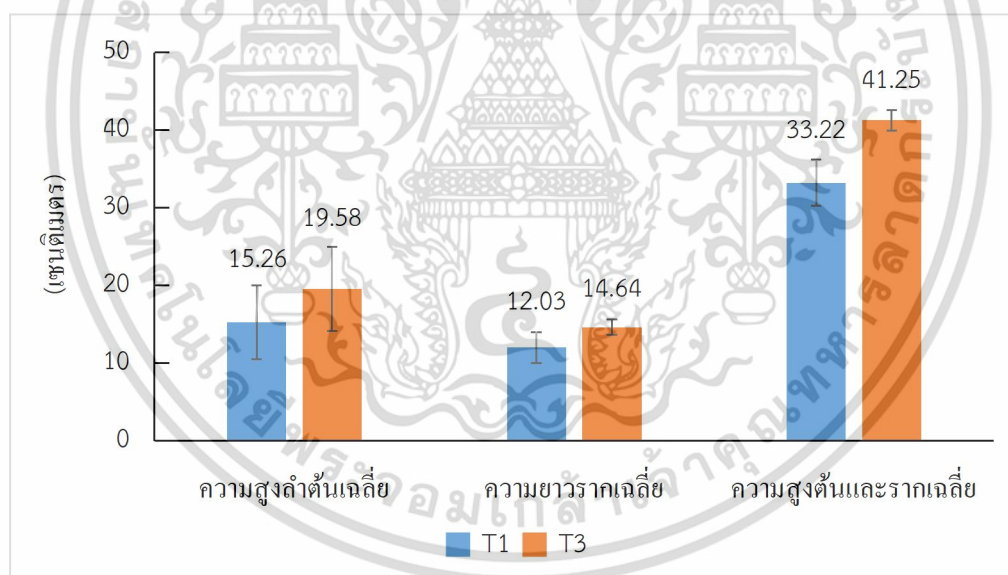
จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ด้วยวิธี Dual culture พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีท ไอโซเลท SF05070 มีประสิทธิภาพการยับยั้งสูงที่สุดจึงได้นำมาศึกษาการส่งเสริมการเจริญของต้นขึ้นฉ่าย ต่อ โดยจะบันทึกผลการทดลองวันที่ 7, 14 และวันที่ 21 พบว่าความสูงของลำต้นเฉลี่ยในทริทเมนต์ที่ 1 (Control) และทริทเมนต์ที่ 3 (แอคติโนมัยสีท) มีค่าเท่ากับ 15.26 และ 19.58 เซนติเมตร และการวัดจำนวนใบมีค่าเท่ากับ 13 และ 17 ในวันที่ 21 ได้มีการวัดความยาวรากเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 12.03 และ 14.64 เซนติเมตร การวัดความสูงของต้นและรากเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 33.22 และ 41.25 เซนติเมตร และการวัดน้ำหนักของต้นและรากมีค่าเท่ากับ 4.05 และ 5.59 กรัม จากผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าความสูงลำต้น, จำนวนใบ, ความยาวราก, ความสูงของต้นและรากและน้ำหนัก ในการเปรียบเทียบ ทริทเมนต์ที่ 3 (แอคติโนมัยสีทไอโซเลท SF05070) กับทริทเมนต์ที่ 1 (Control) พบว่าทริทเมนต์ที่ 3 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญอย่างเห็นได้ชัด (ดังตารางที่ 4.5) ดังนั้นแอคติโนมัยสีทสามารถที่จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของขึ้นฉ่ายในด้านความสูงของลำต้น, ความยาวราก, จำนวนใบ และน้ำหนัก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhiyan, 2020 พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท Sm4-1986 สามารถส่งเสริมการเจริญของความสูงและเมื่อเปรียบเทียบกับ ทริทเมนต์ Control ซึ่งให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปวีณา, 2563 รายงานว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลท RS5A07 และ RS4A07 มีความสามารถละลายสารฟอสเฟตและสร้าง IAA ได้สูง และเมื่อได้นำเชื้อทั้งสองไอโซเลทนี้ไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญในต้นข้าว พบว่ามีผลความสูงของต้นและความยาวรากที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ One Way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในการส่งเสริมเจริญในวันที่ 21 วัน

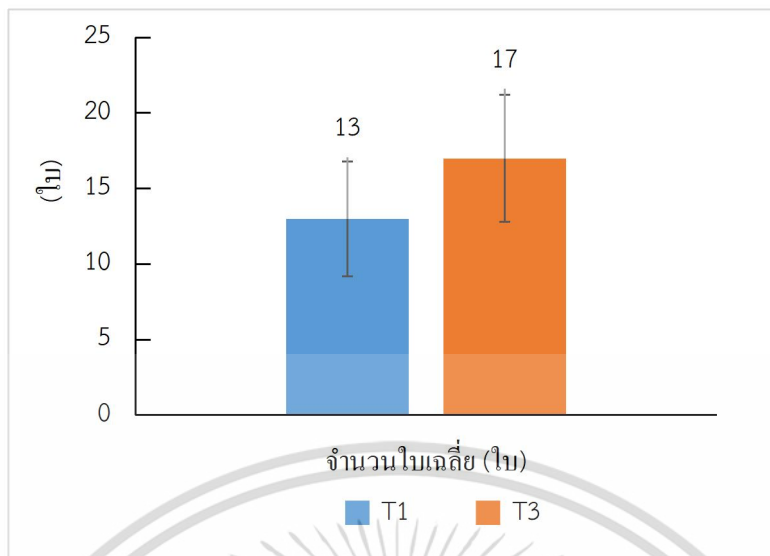
Treatment	บันทึกผลทุกๆ 7 วัน (วันที่ 7, 14 และวันที่ 21)		บันทึกผลวันที่ 21		
	ความสูงต้นเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	ความสูงของต้นและรากเฉลี่ย (ซม.)	น้ำหนักของต้นและรากเฉลี่ย (กรัม)
T1	15.26±4.70 <sup>a</sup>	13±3.80 <sup>a</sup>	12.03±1.97 <sup>a</sup>	33.22±3.00 <sup>a</sup>	4.05±1.62 <sup>a</sup>
T3	19.58±5.39 <sup>b</sup>	17±4.19 <sup>b</sup>	14.64±1.01 <sup>b</sup>	41.25±1.33 <sup>b</sup>	5.59±0.87 <sup>b</sup>

หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070

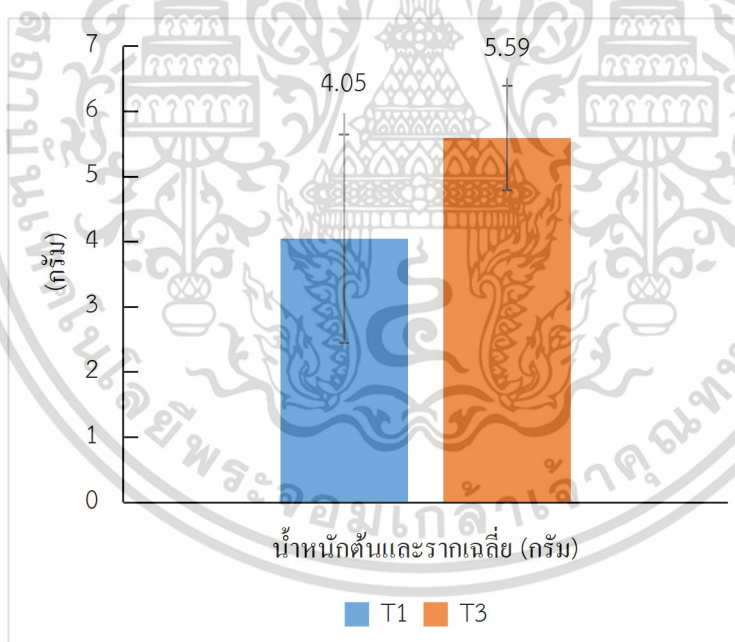


รูปที่ 4.11 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบความสูงลำต้นเฉลี่ย, ความยาวรากเฉลี่ย และความสูงต้นและรากเฉลี่ย (ซม.) โดยที่วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ One Way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยที่ T1) Control, T3) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบจำนวนใบเฉลี่ย (ใบ) โดยที่วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ One Way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยที่ T1) Control, T3) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบค่าน้ำหนักต้นและรากเฉลี่ย (กรัม) โดยที่วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ One Way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยที่ T1) Control, T3) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Treatment	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21
T1			
T3			

รูปที่ 4.14 ลักษณะของต้นขึ้นฉ่ายต่อการส่งเสริมการเจริญของแอคติโนมัยซีท ไอโซเลท SF05070 โดย (T1) Control, (T3) แอคติโนมัยซีท ไอโซเลท SF05070

อย่างไรก็ตามในการทดสอบการส่งเสริมการเจริญและยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* เป็นการทดสอบได้สถานะโรงเรือนแบบระบบปิด ทำให้ไม่มีอากาศถ่ายเทและมีอากาศร้อนขึ้นซึ่งไม่เหมาะสมกับสถานะของต้นขึ้นฉ่ายต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการยับยั้งเชื้อรา เช่น ใบที่เหลืองซีดอาจเกิดจากความร้อนภายในโรงเรือน ในการทดลองครั้งต่อไปควรที่จะทดลองภายใต้สถานะโรงเรือนที่มีประสิทธิภาพและมีสถานะที่เหมาะสมต่อต้นขึ้นฉ่าย เพื่อให้ได้การทดลองที่น่าเชื่อถือ แม่นยำ และมีคุณภาพต่อไป

#### 4.6 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16s rRNA ของแอคติโนมัยซีทที่มีประสิทธิภาพ

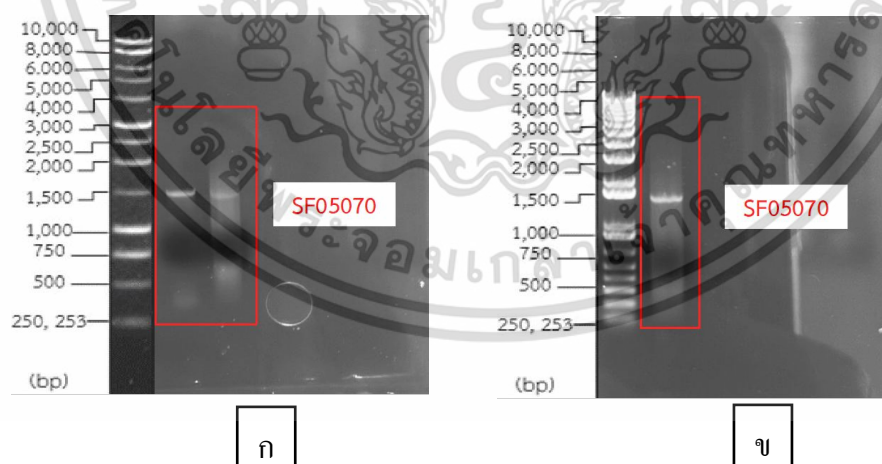
จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่ายของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากดินป่าชายเลน จำนวน 45 ไอโซเลท พบว่าแอคติโนมัยซีท ไอโซเลท SF05070 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ได้สูงที่สุด ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งคือ 62.86 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงนำไอโซเลท SF05070 มาวิเคราะห์หา ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอในช่วงยีน 16S rRNA

#### 4.6.1 การสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี Colony PCR และการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

นำเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05070 มาวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอในช่วงยีน 16S rRNA โดยนำเชื้อมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Colony PCR ซึ่งช่วงยีน 16S rRNA จะถูกเพิ่มลำดับนิวคลีโอไทด์ผ่านการใส่ไพรเมอร์ 2 สาย คือ 9F (5'GAGTTTGATCITIGCTCAG3') และ 1541R (5'AAGGAGGTGATCCAGCC3') จากนั้นทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้เครื่อง T100™ Thermal cycler (Bio-Rad, USA)

#### 4.6.2 การตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอและการทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์

ผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) ที่ได้ถูกนำไปตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (Gel electrophoresis) ด้วยเครื่อง Owl™ EasyCast™ B2 Mini Gel Electrophoresis Systems ที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที และสังเกตแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UltraSlim® LED Illuminator จากนั้นนำไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุด FavorPrep™ GEL/PCR Purification Mini Kit เมื่อนำมาวัดค่าความบริสุทธิ์ ( $A_{260}/A_{280}$ ) และค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอ (นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) โดยใช้เครื่อง NanoDrop™ Lite Spectrophotometer (Thermo Scientific, USA) พบว่าค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ ( $A_{260}/A_{280}$ ) เท่ากับ 1.76 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสม โดยค่าที่เหมาะสมควรอยู่ที่ประมาณ 1.8 หรือไม่น้อยกว่า 1.7 และไม่มากกว่า 2.0 และค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอคือ 148.2 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร



รูปที่ 4.15 ผลการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05070 ด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

(ก) ผลการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอก่อนทำให้บริสุทธิ์

เอกสาร (ข) ผลการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอหลังทำให้บริสุทธิ์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

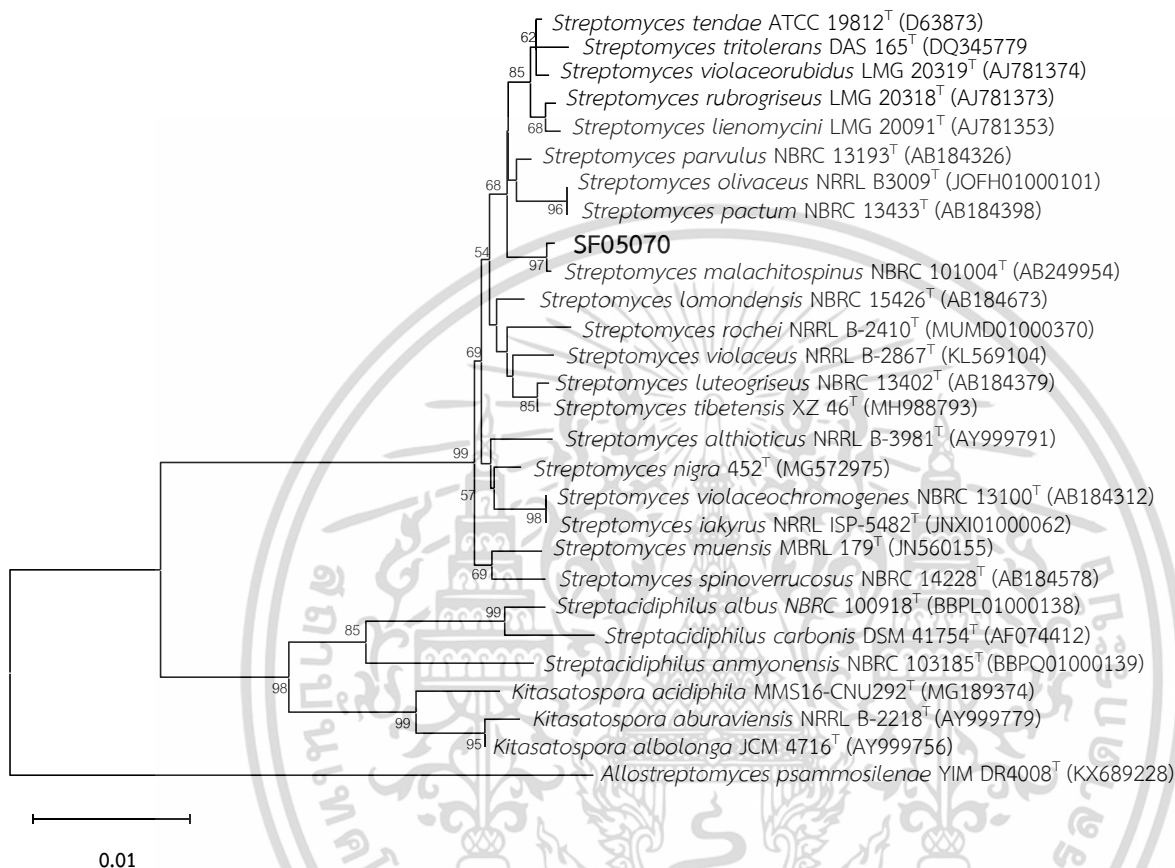
#### 4.6.3 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอของ 16S rRNA genes และการสร้างสายวิวัฒนาการ (Phylogenetic trees)

จากการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอในช่วงยีน 16S rRNA โดยบริษัท U2Bio (Thailand) Co., Ltd. ผ่านการใช้ไพรเมอร์ 3 สาย คือ 800R (5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3'), 518F (5'-CCAGCAGCCGCGTAATACG-3') และ 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') มีลำดับเบส 1,474 bp เมื่อนำผลการวิเคราะห์มาเรียบเรียงผ่านโปรแกรม BioEdit Sequence Alignment Editor และเปรียบเทียบค่าความใกล้เคียงกับสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้ฐานข้อมูล EzBioCloud พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแอสคิโนมัยซีไทโอโซเลท SF05070 มีค่าความใกล้เคียงกับเชื้อ *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004<sup>T</sup> (AB249954) 99.92 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำมาสร้างแผนภูมิสายวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) แบบ Neighbour-joining และ Maximum-likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11.0.13 (MEGA11) (Kumar *et al*, 2016) โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ด้วย Kimura's two-parameter method (Kimura, 1980) โดยมีค่าความเชื่อมั่นสูงสุด (Bootstrap) เท่ากับ 1,000 เท่า

ตารางที่ 4.6 ตารางการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA ของแอสคิโนมัยซีไทโอโซเลท

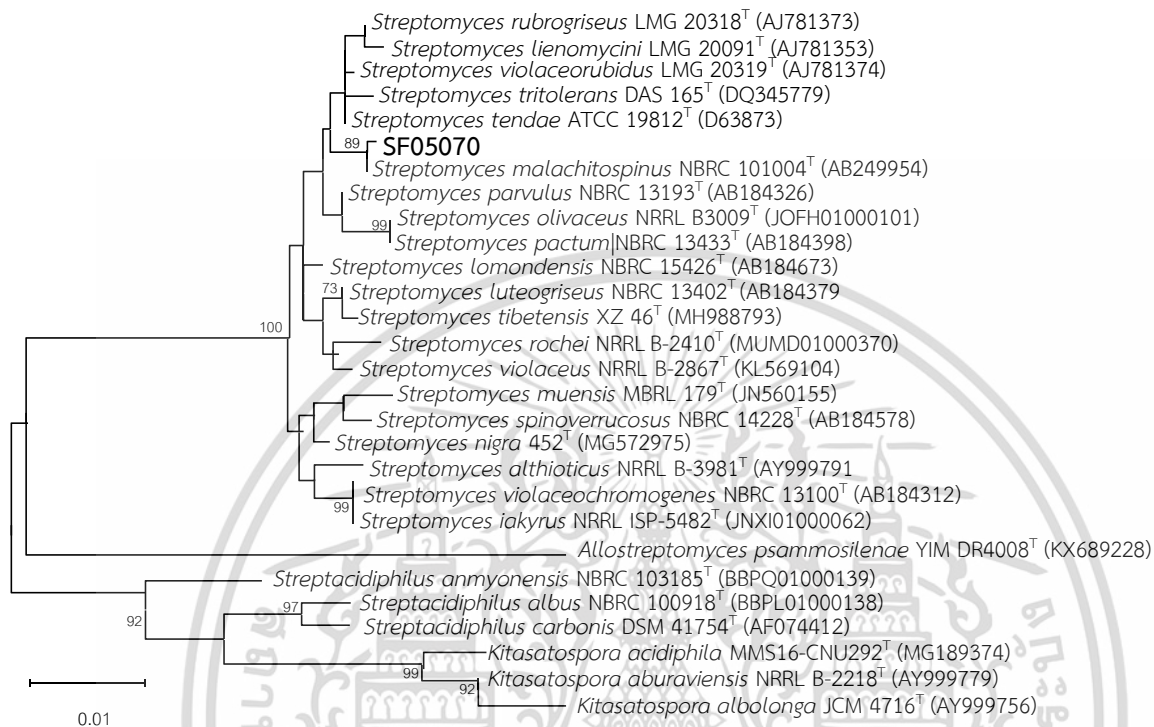
Isolate no.	Nearest strain	Type strain	% Similarity	Length (bp)	Accession no.
SF05070	<i>Streptomyces malachitospinus</i>	NBRC 101004 <sup>T</sup>	99.92	1,474 bp	AB249954

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 แสดงแผนภูมิต้นไม้วิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยใช้วิธี Neighbour - joining (NJ) ค่า Bootstrap 1000 replicates ของแอกติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.17 แสดงแผนภูมิตายวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยใช้วิธี Maximum-likelihood (ML) ค่า Bootstrap 1000 replicates ของแอกติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการงานวิจัยของลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA ของแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05070 พบว่าแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SF05070 มีค่าความใกล้เคียงกับเชื้อ *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004<sup>T</sup> (AB249954) 99.92 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Amarja and Aarti, 2018 รายงานไว้ว่า แอกติโนมัยสีทจากดินรอบรากต้นทับทิมไอโซเลท ANSP4 ที่ได้ทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่าเชื้อแอกติโนมัยสีทมีค่าความใกล้เคียงกับเชื้อ *Streptomyces malachitospinus* ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia bataticola* ให้ผลเคลียร์โซนเท่ากับ 7 มิลลิเมตร และยังสามารถที่จะส่งเสริมการเจริญในการงอกเมล็ดและความยาวรากของเมล็ดถั่วเหลืองได้ถึง 99% และ 5 - 14 ซม. ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Amarja and Aarti, 2020 ส่งเสริมการเจริญของต้นถั่วเขียวในด้านของความสูงลำต้นเมื่อเปรียบเทียบกับทริตเมนต์ควบคุมพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญและยังได้ทำการศึกษาสถานะการเจริญพบว่า พบว่าแอกติโนมัยสีท *Streptomyces malachitospinus* สามารถเจริญได้ในสภาวะ 2.5% และ 5% NaCl, CaCO<sub>3</sub> ที่ pH 7 - 10 และศึกษาความสามารถในการผลิตสารต่างๆ อาทิ เช่น การสร้างสารที่สามารถย่อยเซลลูโลส (Cellulose), ไคติน (Chitin), เจลาติน (Gelatin), แป้ง (starch) และเคซีน (Casein) ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษานี้ได้นำเชื้อแอสคิโทไมซีตจากดินป่าชายเลนทั้งหมด 45 ไอโซเลท มาศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ด้วยวิธี Dual culture กับแอสคิโทไมซีตจำนวน 45 ไอโซเลท ได้แก่ SF05070, SF01370, SF14370, SF13500, SF02770, SS03310, SF02870, SF03870, SF02070, SF00970, BT00310, SF00670, SF12900, SF08000, SF03670, SF00270, PC00200, SF14800, SF08500, SF11870, PC01770, PC00870, PC00970, PC02770, SS00710, SF14900, SS03210, PC00600, SF07070, BT00410, SF05670, SF02270, PC01670, SS02210, SF03270, SF05970, BT00510, SF13000, SF06270, SF03070, SF07270, SF03970, SF08100, SF00470, SF11770 พบว่าความสามารถการยับยั้งเชื้อราสูงสุด 4 อันดับ คือ ไอโซเลท SF05070, SF01370, SF14370, SF13500 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 47.94%, 44.64%, 39.10%, 38% ตามลำดับ จากนั้นได้นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกลือ โดยศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) สีของเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) สีของรงควัตถุที่ละลายน้ำ และสีของสปอร์ รวมถึงศึกษาลักษณะของเส้นใยและการสร้างสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยเทคนิค Slide culture พบว่ามีลักษณะสัณฐานได้ดังนี้

1. ไอโซเลท SF05070 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light greenish gray โคลิโคนด้านล่างสี Dark grayish yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ และการจัดเรียงของสปอร์มีลักษณะ Spiral
2. ไอโซเลท SF01370 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี Light olive gray to white โคลิโคนด้านล่างสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ และการจัดเรียงของสปอร์มีลักษณะ Spiral
3. ไอโซเลท SF14370 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี white โคลิโคนด้านล่างสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ และการจัดเรียงของสปอร์มีลักษณะ Verticillati
4. ไอโซเลท SF13500 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี light olive gray to white โคลิโคนด้านล่างสี Moderate yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ และการจัดเรียงของสปอร์มีลักษณะ Retinaculiaperti

จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* ของแอสคิโทไมซีตด้วยวิธี Dual culture พบว่าแอสคิโทไมซีตไอโซเลท SF05070 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุดและจากศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเชื้อแอสคิโทไมซีตไอโซเลท SF05070 สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร ISP2 ที่ไม่เติมเกลือ จึงได้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำมาศึกษาการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ในต้นขึ้นฉ่ายที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในสถานะโรงเรือน พบว่าแอคติโนมัยสิทมีส่วนช่วยในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ จากทริทเมนต์ที่ 1 (T1 Control) คำนีการเกิดโรคเท่ากับ 1 คือไม่แสดงอาการของโรค จัดให้อยู่ในกลุ่มที่ 1 (Non-pathogenic) ทริทเมนต์ที่ 2 (T2 เชื้อรา *F. oxysporum*) คำนีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ ระดับ 2.1, 3.2 และ 4.6 จัดอยู่ในกลุ่มที่ 3 (Moderate virulent) ทริทเมนต์ที่ 4 (T4 เชื้อรา *F. oxysporum* และสารเคมีกำจัดเชื้อรา เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์) คำนีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ ระดับ 1.9, 2.3 และ 2.4 จัดอยู่ในกลุ่มที่ 2 (Low virulent) ทริทเมนต์ที่ 5 (T4 เชื้อรา *F. oxysporum* และแอคติโนมัยสิท) คำนีการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ ระดับ 1.8, 2.6 และ 2.5 จัดอยู่ในกลุ่มที่ 2 (Low virulent) ดังนั้นความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ที่เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวเหลืองได้ใกล้เคียงกับสารเคมีกำจัดเชื้อรา เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์

จากการศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของแอคติโนมัยสิทในต้นขึ้นฉ่ายจะบันทึกผลการทดลองวันที่ 7, 14 และวันที่ 21 พบว่าความสูงของลำต้นเฉลี่ยในทริทเมนต์ที่ 1 มีค่าเท่ากับ 15.26 และ 19.58 เซนติเมตร และการวัดจำนวนใบมีค่าเท่ากับ 13 และ 17 ใบ ในวันที่ 21 ได้มีการวัดความยาวรากเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 12.03 และ 14.64 เซนติเมตร การวัดความสูงของต้นและรากเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 33.22 และ 41.25 เซนติเมตร และการวัดน้ำหนักของต้นและรากมีค่าเท่ากับ 4.05 และ 5.59 กรัม ตามลำดับ ด้วยการใช้วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ One Way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% การเปรียบเทียบทริทเมนต์ที่ 3 (Actinomycetes SF05070) กับทริทเมนต์ที่ 1 (Control) พบว่าทริทเมนต์ที่ 3 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นแอคติโนมัยสิทสามารถที่จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของขึ้นฉ่ายในด้านความสูงของลำต้น, ความยาวราก, จำนวนใบ และน้ำหนัก

จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA ของแอคติโนมัยสิทที่มีประสิทธิภาพไอโซเลท SF05070 เมื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Colony PCR และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เครื่อง T100™ Thermal cycler (Bio-Rad, USA) จากนั้นตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (Gel electrophoresis) ด้วยเครื่อง Owl™ EasyCast™ B2 Mini Gel Electrophoresis Systems สังเกตแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UltraSlim® LED Illuminator และนำไปทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุด FavorPrep™ GEL/PCR Purification Mini Kit เมื่อนำมาวัดค่าความบริสุทธิ์ ( $A_{260}/A_{280}$ ) และค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยใช้เครื่อง NanoDrop™ Lite Spectrophotometer (Thermo Scientific, USA) พบว่าค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ ( $A_{260}/A_{280}$ ) เท่ากับ 1.76 และค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอ คือ 148.2 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เมื่อนำผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอในช่วงยีน 16S rRNA ที่ได้จากบริษัท U2Bio (Thailand) Co., Ltd. มาเรียบเรียงผ่านโปรแกรม BioEdit Sequence Alignment Editor และเปรียบเทียบค่าความใกล้เคียงไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้ฐานข้อมูล EzBioCloud พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแอกติโนมัยสิทไอโซเลท SF05070 มีค่าความใกล้เคียงกับเชื้อ *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004<sup>T</sup> (AB249954) 99.92 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนเบสเท่า 1,474 bp

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้งและส่งเสริมการเจริญในต้นขึ้นฉ่ายควรรักษาภาวะในโรงเรือนร่วมกับการศึกษาสภาพภายนอกโรงเรือน เนื่องจากยังคงมีเกษตรกรบางส่วนที่ไม่ได้ทำการเพาะปลูกขึ้นฉ่ายในสภาพโรงเรือน เพื่อให้การนำแอกติโนมัยสิทนี้ไปใช้ประโยชน์ได้จริง และเพื่อให้งานวิจัยนี้สามารถแก้ปัญหาได้ครอบคลุมทุกสถานะ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 2556. คู่มือความรู้เรื่องป่าชายเลน. บริษัท พลอยมีเดีย จำกัด, กรุงเทพฯ.
- กาญจนา วิชิตตระกูลถาวร. 2562. การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวจากเชื้อราฟูซาเรียมของขึ้นฉ่ายอย่างมีประสิทธิภาพในพื้นที่โครงการหลวง. แผนงานศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง.
- กิงมณี นิสสัยดี และ อรอนงค์ ไกรวงษา. 2565. แอคติโนมัยสีทจากดินนาข้าวจังหวัดปทุมธานี การส่งเสริมการเจริญเติบโตและฤทธิ์ ยับยั้ง โรคกาบใบแห้งจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* DOAC2666. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- กุศล ถมมา ปราณี วรนครสุดาทิพย์ วัชรพร ศรีสว่างวงศ์ และ ศุภชัย อติชาติ. 2554. การทดสอบเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตผักปลอดภัยในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3.
- เกณิกา สิพันธ์, นันหนา สีสุข และ วรรณิการ์ ดวงมาลย์. 2561. การส่งเสริมการเจริญพืชและ กิจกรรมการยับยั้งเชื้อราโดยแอคติโนมัยสีทจากป่าพรุคันธุลี. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เกสรี รักษุมคง. 2543. การศึกษาโครงสร้างป่าชายเลนเพื่อการอนุรักษ์และฟื้นฟูระบบนิเวศทะเลสาบสงขลา บริเวณบ้านอ่าวทึง อำเภอเวียง จังหวัดสงขลา. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อมคณิงานต์ กลั่นบุศย์. 2565. บทปฏิบัติการที่ 7 การทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการของเชื้อแอคติโนมัยสีท. สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. คุณสมบัติทางชีวภาพวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- จันทร์จรัส วัฒนะ โชติและคณะ. 2560. สภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์จากเชื้อ *Streptomyces parvulus* ที่แยกได้จากดินตะกอนป่าชายเลน. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลมหาวิทยาลัยบูรพา
- จามจรี เกตุบัวขาว และคณะ 2555. การคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากมูลสัตว์เพื่อใช้ในการย่อยสลายวัสดุทางการเกษตรเบื้องต้น. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- ชลิตา เวารัมย์ และ เสาวลักษณ์ ครุฑประโคน. 2561. การพัฒนาสูตรน้ำหมักจากดีป्लीสาบเสือและน้อยหน่าที่เหมาะสมในการปลูกขึ้นฉ่ายในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบกะละมัง. หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์.
- ชัญฎากาญจน์ สิงห์โตทอง. 2557. การแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากพืชบางชนิดในมหาวิทยาลัยศิลปากรและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชาญวิทย์ สุริยจักรกุล. 2546. เชื้อแอกติโนมัยสีทที่หายากในดินจากพื้นที่สงวนชีวมณฑลสะแกกราชและไร  
สุวรรณ จังหวัดนครราชสีมาประเทศไทย. สาขาจุลชีววิทยามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โชตัส. (2561). สารกำจัดโรคพืช: เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์. สืบค้น ธันวาคม 2561, จาก  
<http://www.sotus.co.th>

ทายาท ศรียากัย, พิชากัก ศรียากัย, กัญจ์ ศิลป์ประสิทธิ์, อรินทม์ งามนิยม และวิรงรอง ดวงใจ. 2558.  
ศักยภาพด้านชีวภาพของเชื้อแอกติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนจังหวัดสตูล. คณะวิทยาศาสตร์.  
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. วารสารวนศาสตร์ 34(2): 51-61

ชัยวัฒน์ เขียวคำ, พิชญ์นันท์ กังแฮ, วิภา หอมหวาน, วันวิสาข์ ปันศักดิ์. 2559. ผลของแบคทีเรียต่อการ  
ละลายฟอสเฟตและประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA โดยคัดแยกจากดินบริเวณรากข้าวในพื้นที่  
นาในเขตภาคเหนือตอนบน. การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่14. 1-2 พฤศจิกายน  
2559. มหาวิทยาลัยนเรศวร. พิษณุโลก. หน้า 8-13.

ธีรศาสตร์ คณาศรี. 2561. ชุดระบบควบคุมอุณหภูมิน้ำสำหรับการปลูกผักขึ้นฉ่ายไฮโดรโปนิคส์.

คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด.

นรารวรรณ ปันงาม, อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนตและ กรรณิการ์ ดวงมาลัย. 2559. แอกติโนมัยสีทจากดินนาและ  
ความสามารถในการยับยั้งราก่อโรคข้าว. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัย  
เกษตรศาสตร์.

นวลรัตน์ หนูขาว. 2554. การแยกและคัดเลือกแอกติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Ralstonia*  
*solanacearum* ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชา  
เทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

บรูพา บางศิริ และ ภูรินท์ ภูมินาถ. 2565. แอกติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia*  
*solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศและการส่งเสริมการเจริญเติบโต. ภาควิชาชีววิทยา  
คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เบญจวรรณ คำราพิช. 2555. การจัดจำแนก และศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเชื้อแบคทีเรียในดิน  
อ้อยแปลงปลูก และต้นอ้อยจากขูดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา  
เทคโนโลยีชีวภาพสำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ปภัสสร สิการักษ์ และ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2559. การถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ของเชื้อราฟิวซา  
เรียมสาเหตุโรคยอดฝักดาบของข้าวและศักยภาพของเชื้อ *Sireptomycetes-PR15* และ  
*Streptomycetes-PR87* ในการควบคุมโรคจากเชื้อฟิวซาเรียมของพืชเศรษฐกิจ. สาขาโรคพืชวิทยา  
ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปวีณา สุขสอาด. 2563. ความสามารถในการสร้างสารส่งเสริมการเจริญของพืชแอกติโนมัยส์ที่รอบรากพืช  
ในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล  
สุวรรณภูมิศูนย์พระนครศรีอยุธยา.

ปานมุก วัชรปิยะโสภณ และ ประพันธ์ ไตรยสุทธิ. ความหลากหลายทางพันธุกรรม และ  
ความสัมพันธ์ทางไฟโลเจเนติกของไซยาโนแบคทีเรียในน้ำพุร้อน. ภาควิชาชีววิทยา. คณะ  
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ปัญญา พิฆานูวัตร. 2564. การศึกษาประสิทธิภาพของแอกติโนแบคทีเรียในการควบคุมโรคและการ  
ส่งเสริมการเจริญของมะนาว. วิทยาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยนเรศวร

เพ็ญกวี ไครตทิพย์, ภัทรพร พุ่มวิเชียรและสุกัญญา ปิ่นจาละ. 2564. โครงการพิเศษ เรื่อง คุณสมบัติการ  
ยับยั้งโรคในข้าวและส่งเสริมการเจริญจากแอกติโนมัยส์จากดินนาข้าว. วิทยาสตรบัณฑิต สาขา  
จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภัทชนาวรรณ ฉันทรัตนโยธิน. 2557. การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายฟอสเฟต  
จากรากพืชของข้าวหอมมะลิแดง. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

มธุรส ชัยหาญและคณะ. 2560. การควบคุมชีวภาพจากแอกติโนมัยส์ที่แยกได้จากบริเวณรกรากพืชในการ  
ยับยั้งเชื้อราก่อโรคใบไหม้ในข้าวสายพันธุ์เศรษฐกิจของไทย. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

มูจรินทร์ บุญเสริฐ. 2561. การกำจัดก๊าซไฮโดรเจนไซยาไนด์และไฮโดรเจนซัลไฟด์ ด้วยฟิซฟิล์มไบโอส  
คริปเบอร์แบบคู่. สาขาวิชามลพิษสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

รังปริญา คำหนองยาง. 2562. การคัดแยกและศึกษาคูสมบัติแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อการ เจริญเติบโต  
ของพืช. สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์. มหาวิทยาลัยนเรศวร.

รัตนภรณ์ ศรีวิบูลย์. 2548. แอกติโนมัยส์. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี.

เรืองรอง รัตนวิไลสกุล. 2553. ศึกษาการอยู่ร่วมกันของคนกับป่าชายเลนและภูมิปัญญาการใช้ ทรัพยากร  
เพื่อประโยชน์ทางเศรษฐกิจของคนในชุมชนยี่สาร จังหวัดสมุทรสงคราม. วารสารวิชาการและวิจัย  
มทร. พระนคร, 4(1), มีนาคม, หน้า 102-114

ลลิตา วังเงิน. 2554. การคัดกรองและพิสูจน์แอกติโนมัยส์ที่หายากที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ. สาขาวิชา  
เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยศิลปกร.

ลำยอง ศรีปชา. 2556. ข่าวยุทธศาสตร์และเตือนภัยการระบาดของศัตรูพืช สำนักงานเกษตรจังหวัดตราด ลดต้นทุน  
และปลอดภัยหากเกษตรกรใช้การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน กลุ่มอารักขาพืช สำนักงานเกษตร  
จังหวัดตราด. ฉบับที่ 3/2.

ลิลิตี กาวีตะ, มาลี ณ นคร, ศรีสม สุวรรณวงศ์ และ สุรียา ตันติวิวัฒน์. 2549. สรีรวิทยาของพืช. พิมพ์ครั้งที่

ไม่ว่ากร. 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัฒน์ธีรา สมารักษ์. 2559. การพัฒนาพืชสมุนไพรท้องถิ่นในจังหวัดจันทบุรีเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในพืช. คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา.

วลัยภรณ์ พรหมแก้ว. 2564. ฤทธิ์ต้านจุลชีพของแอคติโนมัยสีทชอบกรดที่แยกได้จากดินกรดในจังหวัดพัทลุง สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยทักษิณ.

วาสนา เนียมแสวง, เมธาวิ แซ่อึ้ง และหัสยา สระหงษ์ทอง. 2561. การคัดแยกแอคติโนมัยสีทในดินที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Curvularia* sp. งานประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 10. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.

วาสนา เนียมแสวง. 2561. จุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคเมล็ดค่างในข้าว. สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.

วิไลลักษณ์ โกมพันธ์ และ สมเกียรติ ทับทิม. 2559. ผลของแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกจากดินรอบรากพริกต่อการยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum capsici*, *Curvularia lunata* และ *Fusarium solani*. สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์.

ศิริรัตน์ ทองอ่อน. 2551. การคัดกรองการกักขยับที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งจากแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากทะเล. วิทยาศาสตร์บัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศิริรัตน์ ทองอ่อน. 2552. การคัดกรองสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งจากแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากทะเล สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศิวาพร แก้วฟูคำ. 2562. การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโรคเหี่ยวเหลือง (*Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae*) ในมะระ (*Momordica charantia* L.) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

สาธิต วงศ์บุชาศิลป์ และวิเชียร กิจปรีชาวนิช. 2559. การคัดเลือกและการผลิตแอคติโนมัยสีทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคเหี่ยว *Fusarium oxysporum* และส่งเสริมการเติบโตของคะน้า. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

สายใจ ชื่นสุข. 2562. คู่มือวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในปลูสดัวด้วยไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ. กลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีและความหลากหลายทางชีวภาพปลูสดัวสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปลูสดัวกรมปลูสดัว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สาวิตร ตระกูลนำเลื่อมใส, อัมพันธ์ชญาณ์ มงคลชัยฤกษ์, จินดาวรรณ สิริันทวินดิ, อภิชาติ ใจอารีย์, จันท์ แรม. 2565. นวัตกรรมการใช้ประโยชน์จากชีวมวลและสารชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียทนเค็มสายพันธุ์คัดเลือกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการปลูกพืชผักแบบเกษตรอินทรีย์. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุจรรยา ฉายแสง. 2556. การแยกเชื้อเอมโคไฟติกแอคติโนมัยสีทจากข่าและกระชายสมบัตินการ ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์การต้านอนุมูลอิสระและการต้านเซลล์มะเร็ง. สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร.   
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุจิตกัลยา มฤครัฐอินแปลง. 2560. การคัดแยกและคุณสมบัติบางประการของแอคติโนแบคทีเรียที่มีผลต่อการเสื่อมสภาพทางชีววิทยาของโบราณสถานในอุทยานประวัติศาสตร์สุโขทัย. วารสารวิจัยและพัฒนาวิไลขอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์. ฉบับที่ 1/109.

หฤษฎ์ นิ่มรักษา. 2561. การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพสำหรับควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช. วารสารวิจัยรามคำแหง (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) ปีที่ 21

อภิญา บุญเจียน วิทวัส แจ่มเอี่ยม โยธิน ดีไชสง และ มารุต ตั้งวัฒนาชูลีพร. 2566. การผลิตเอนไซม์และฤทธิ์ต้านเชื้อราของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces cavourensis* BUU135. วารสารเกษตร. 39(2): 117 - 127 (2566)

อารีย์ ฤทธิบุรณ์. 2562. จุลชีววิทยาทั่วไป. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Agrios, G.N. 1988. Plant pathology. New York. Academic Press. Ahemad, M., & Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. Journal of King Saud University Science, 26(1), 1-20.

Alexopoulos, C.J., C.W. Mims, and M. Blackwell. 1996. Introductory Mycology. Fourth Edition. John Wiley & Sons Inc., New York.

Amarja S. Khendkar and Aarti R. Deshpande. 2018. Isolation and screening of *Streptomyces* for biocontrol potential against *Rhizoctonia bataticola* infection of soybean. Indian Journal of Applied Microbiology.

Amarja S. Khendkar and Aarti R. Deshpande. 2020. *STREPTOMYCES* ANSP4 : AN ANTAGONIST OF *RHIZOCTONIA BATATICOLA* AND A PLANT GROWTH PROMOTER OF SOYBEAN, Department of Microbiology, Shankarlal Khandelwal College, Akola (Maharashtra), India.

Anasuya Priyadarshini, Sameer Kumar Singdevsachan, Subodh Kumar Tripath, Yugal Kishore Mohanta, Jayanta. Kumar Patra and Bijay Kumar Sethi. 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 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Asma Absar Bhatti, Shamsul Haq, Rouf Ahmad Bhagwan. 2017. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis* 111 (2017), 458-467.

Attimarad, L. S., N. G. Ediga, A. A. Karigar, R. Karadi, N. Chandrashekhar and C. Shivanna. 2012. Screening, isolation and purification of antibacterial agents from marine actinomycetes. *Int. curr. pharm. j.* 1 (12): 394-402.

Azman, A.S., Othman, L., Fang, C.M., Chan, K.G., Goh, B.H. and Lee, L.H. 2017. *Actinobacterial, Anticancer and Neuroprotective Activities of Rare Actinobacteria from Mangrove Forest Soils.* *Indian J Microbiol.* 57(2): 177-187.

Barka, E.A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J.P., Klenk, H.P., Clement, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G.P. 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1),1-43.

Bianco P, Kuznetsov SA, Riminucci M, Gehron Robey P. 2006. *Methods Enzymol.* 419: 117–14.

Bin Gong, Shuang Chen, Wenwen Lana, Yanmin Huang and Xiangcheng Zhuc. 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.

Carrillo-Castañeda, G., Juárez Muños, J., peralta-vidua, J., Gomez, E., J Tiemann, K., Duarte-Gardea, M., & Gardea-Torresdey, J. 2002. Alfalfa growth promotion by bacteria grown under iron limiting conditions. *Advances in Environmental Research* ADV ENVIRONRES, 6:391-399. Cross, T.1970. The diversity of bacterial spores. *J. Appl. Bacteriol.*, 33: 95-112.

Cram, M.M. (2003). Damping-off. *Tree Plant Notes*, 50, 1-5. *Plant Pathology*.

Dângelo, R. A., de Souza, D. J., Mendes, T. D., Couceiro Jda, C., & Lucia, T. M. (2016). Actinomycetes inhibit filamentous fungi from the cuticle of *Acromyrmex* leafcutterants. *J Basic Microbiol*, 56(3), 229-237. doi:10.1002/jobm.201500593

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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Essaid Ait Barka, a Parul Vatsa, a Lisa Sanchez, a Nathalie Gaveau-Vaillant, a Cedric Jacquard, a Hans-Peter Klenk, b Christophe Clément, a Yder Ouhdouch, c Gilles P. van Wezeld. 2016. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Review* 80 (1), 2-3.

Gary A. Strobel. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection* 5: 535–544.

Glazer, A. N., and Nikaido, H. 1994. *Microbial Biotechnology*. W. H. Freeman. USA.

Goodfellow, M., Williams, S. T. and Mordarski, M. 1998. *Actinomycetes in biotechnology*. London. Academic Press.

Hamdali, H., Hafidi, M, Virolle, M.-, & Ouhdouch, Y. (2008). Rock phosphatesolubilizing actinomycetes: screening for plant growth-promoting activities. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 2565-2575. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 2565, 2575

Hamdali, H.; Bouizgarne. B.; Hafidi. M.; Lebrihi. A.; Virolle. M.J.; Ouhdouch Y. 2008. Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines. *Applied Soil Ecology* 38: 12-19.

Hayakawa, M., K. Ishizawa & H. Nonomura 1988. Distribution of rare actinomycetes in Japanese soils. *J.Ferment.Technol.*, 66: 367-373

Hubert A. Lechevalier and Mary P. Lechevalier. 1967. *BIOLOGY OF ACTINOMYCETES*. Institute of Microbiology, Rutgers-The State UnifJersity, New Brunswick, New Jersey.

I. Ara, M. A. Bakir, W. N. Hozzein, and T. Kudo. 2013. Population, morphological and chemotaxonomical characterization of diverse rareactinomycetes in the mangrove and medicinal plant rizhosphere, African. *Journal of Microbiological Research*, vol 7, pp. 1480-1488.

Johnston AE, Steen I. 2002. *Understanding phosphorus and its use in agriculture*. Brussels: European Fertilizer Manufacturers Association.

Kalakoutskii, L. V. and Agre, N. S. 1976. Comparative aspects of development and differentiationin actinomycetes. *Bacteriological Review* 40(2), 469-524.

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

- Keovorlajak & P. Phitsanoukane & P. Xomphouthilath & K. S. Phapmixay & S. Vilavong & E. C. Y. Liew & G. S. Duckitt & L. W. Burgess. 2016. First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. niveum in the Lao PDR. Plant Pathology Society 11:9.
- Krasil'nikov, N. A. 1981. Ray fungi, higher forms, Vol.I: Biology and Classification, Amerind, New Delhil.
- Lazzarini, A., Cavaletti, L., Toppo, L. G. and Marinelli, F. 2000. Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics, Antonie van Leeuwenhoek. 78: 399-405.
- Lechevalier, H.A. and Pine L. 1974. The Actinomycetes. Handbook of Microbiology, Cleveland: 194-211.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. 2016. Chapter 3: morphological identification of actinobacteria, in Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications. eds D. Dhanasekaran and Y. Jiang (InTech).
- Lixin Tian, Yu Yanga, Youhong Songa, Baili Feng. 2024. Rehydration under extreme drought conditions affected rhizosphere microorganisms more than bulk soil in broomcorn millet farmland. Agricultural Water Management 295.
- Mahmoud, A.L.E. and Abd-Alla, M.H. 2001. Siderophores Production by some microorganisms and their effect on Bradyrhizobium Mung Bean Symbiosis. International Journal of Agriculture and Biology 3: 157-162.
- Masand, M., Jose, P., Menghani, E., & Jebakumar, S. 2015. Continuing hunt for endophytic actinomycetes as a source of novel biologically active metabolites. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 31: 1863-1875.
- Miyadoh Shinji. 1993. Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: A producing microorganism approach, Actinomycetologica7: 100-106.
- Miyadoh, Shinji. 1997. Atlas of Actinomycetes. The Society for Actinomycetes Japan. Japan.
- Mohan, G., & Charya, S. M. A. (2012). Enzymatic activity of fresh water in Actinomycetes. International Research Journal of Pharmacy, 3, 193-197.
- Nawani, N., Aigle, B., Mandal, A., Bodas, M., Ghorbel, S., & Prakash, D. (2013). Actinomycetes: role in biotechnology and medicine. BioMed research international, 2013, 687190-687190.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Oyedoh, O. P., Yang, W., Dhanasekaran, D., Santoyo, G., Glick, B. R., & Babalola, O. 2023. Sustainable agriculture: Rare actinomycetes to the rescue. *Agronomy*, 13(3), 666.
- Phuong-Anh Nguyen, Caroline Strub, Noel Durand, Pascaline Alter, Angélique Fontana, Sabine Schorr-Galindo. 2018. Biocontrol of *Fusarium verticillioides* using organic amendments and their actinomycete isolates. *Biological Control* 118 (2018) 55-64.
- Prasanna A, Deepa V, Murthy PB, Deecaraman M, Sridhar R, Dhandapani P. 2011. Insoluble phosphate solubilization by bacterial strains isolated from rice rhizosphere soils from southern India. *Int J Soil Sci.* 6: 134-41.
- Raja, P., Uma, S. and Govindarajan, K. 2006. Impact of inoculants consortium on rice root exudates, biological nitrogen fixation and plant growth. *Journal Biology Sciences* 6: 815-823.
- Rattanakavil, T. & Klanbut, K. 2019. Actinomycetes from Rice Field Soil, Nakonsawan and Their Antimicrobial Activity. In The 31st Annual Meeting of the Thai Society 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 partial fulfillment of the requirement for The Degree of Master of Science in biotechnology Department of biology faculty of science King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.
- 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.
- Sellstedt, A., & Richau, K. 2013. Sellstedt A, Richau KH. Aspects of nitrogen fixing Actinobacteria, in particular freeliving and symbiotic Frankia. *FEMS Microbiol Lett* 342: 179-186. *FEMS microbiology letters*, 342.
- Sirinut Duangsook. 2010. Screening of antagonistic bacteria for controlling fungal contamination on Para rubber sheet. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science in Microbiology Prince of Songkla University.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism plant signaling. *FEMS Microbiol Rev.* 31: 425–448.
- Subramaniam Gopalakrishnan. Suresh Pande, Mamta Sharma, Pagidi Humayun, Bandru Keerthi Kiran. Dasyam Sandeep, Meesala Sree Vidya, Kanala Deepthi, Om Rupela. 2011. Evaluation of actinomycete isolates obtained from herbal vermicompost for the biological control of *Fusarium* wilt of chickpea. *Crop Protection* 30 (2011) 1070-1078.
- Sun, H. Q., Lu, X. M., & Gao, P. J. 2011. The Exploration of the Antibacterial Mechanism of FE (3+) against Bacteria. *Brazilian journal of microbiology: publication of the Brazilian Society for Microbiology*, 42(1), 410-414.
- Tamilselvi, N. A., Pugalendhi, L. & Raguchander, T. 2016. Exploiting cucurbitaceous species as rootstocks for management of *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum*) in bitter melon. *Australian Journal of Crop Science*, 10(10), 1460-1465.
- Tamura, T., Nakagaito, Y. Nishii, T., Hasegawa, T., Stackebrandt, E., & Yokota, A. 1986. A new genus of the Order Actinomycetales, *Couchioplanes* gen. nov., with description of *Couchioplanes caeruleus* Horan and Brodsky 1986 comb. nov. And *Couchioplanes caeruleus* subsp. *azureus* subsp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 44; 193-203.
- Tao, G.-C., Tian, S.-J., Cai, M.-Y., & Xie, G.-H. 2008. Phosphate Solubilizing and Mineralizing Abilities of Bacteria Isolated from Soils. Project supported by the Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, the Ministry of Education of the P.R. China. *Pedosphere*, 18(4), 515
- Tsavkelova, E., Cherdynstseva, T., Netrusov, A., 2005. Auxin production by bacteria associated with orchid roots. *Mikrobiologiya* 74, 46-53.
- Tsavkelova, E.A., Klimova, S.Y., Cherdynstseva, T.A., Netrusov, A.I. 2006. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Appl. Biochem. Micro.* 42, 117-126.
- Vobis, G. 1986. Spore development in sporangia-forming actinomycetes. In: Szabo, G., Biro, S. and Goodfellow, M. (eds.) *Biological, Biochemical and Biomedical aspects of Actinomycetes*. Akademiai Kiado, Budapest. 443-452.
- Vobis, G. 1997. Morphology of Actinomycetes. In *Atlas of Actinomycetes*. (Miyado, S., ed.). p. 180-191. The Society for Actinomycetes Japan. Japan.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E. 2018. Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. International journal of molecular sciences, 19(4), 952.
- Watanabe, T. 2010. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. CRC press. Yuliana retnowatl, Langk sembiring, Sukarti moeljopawiro, Tjut sugandawaty djohan, Endand sutariningsih soetarto. 2017. Diversity of antibiotic producing Actinomycetes in mangrove forest of Torosiaje, Gorontalo, Indonesia. Biodiversitas Vol.18, No. 3, 1453-1461.
- Williams, S. T., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. 1989. Bergey's manual of systematic bacteriology. vol. 4. The williams and wilkins company: baltimore.
- Yao-Te Liu, I-Chih Yang, Nai-Chun Lin. 2020. Evaluation of biocontrol potential for Fusarium yellows of celery by antagonistic and gallic acid-degrading bacteria. Mological Coetrol 146 (2020)
- Zaima Azira Zainal Abidin, Nurfathiah Abdul Malek, Zarina Zainuddin & Ahmed Jalal Khan Chowdhury. 2015. Selective isolation and antagonistic activity of actinomycetes from mangrove forest of Pahang, Malaysia. Frontiers in Life Science, 2016 Vol. 9, No. 1, 24-31.
- Zhiyan Zhu, Zhihong Tian and Jianxiang Li. 2020. A *Streptomyces morookaensis* strain promotes plant growth and suppresses Fusarium wilt of banana. Tropical



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

## สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. International *Streptomyces* Project no.2

Glucose	4.0	g
Yeast extract	4.0	g
Malt extract	10.0	g
Agar	20.0	g
Distilled water	1.0	L
pH 7.0-7.3		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. International *Streptomyces* Project no.2 สภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5%

Glucose	4.0	g
Yeast extract	4.0	g
Malt extract	10.0	g
Sodium chloride	20.0	g
Agar	20.0	g
Distilled water	1.0	L
pH 7.0-7.3		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato dextrose agar	24.0	g
Agar	18.0	g
Distilled water	1.0	L
pH	5.0-5.3	

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

## ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลน 45 ไอโซเลท


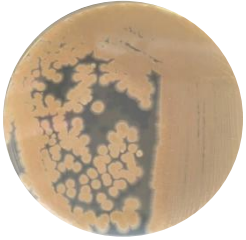
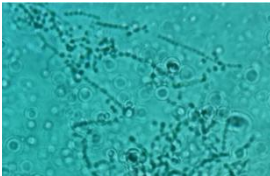

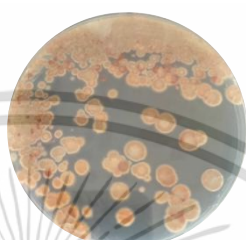




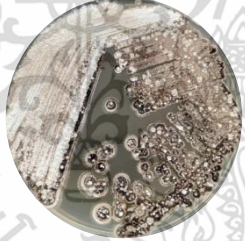
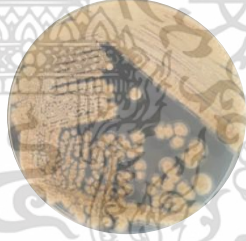



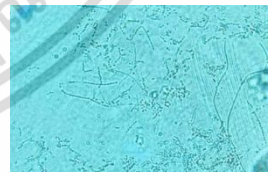
ตารางที่ 1 ลักษณะโคโลนีเดี่ยวของแอกติโนมัยสีทจำนวน 45 ไอโซเลท บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 สภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.5% ระยะเวลา 7-14 วัน (บุรพาและภุรินทร์, 2565) (เบญจมาศและอภิขญา, 2565)

ไอโซเลท	เส้นใยอากาศและสปอร์	โคโลนีด้านล่าง	เส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง
SF00270			
SF00470			
SF00670			
SF00970			



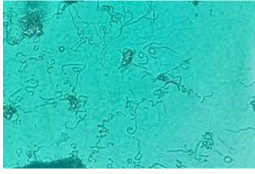

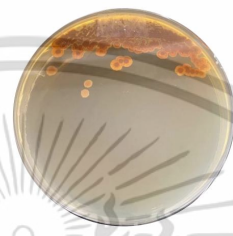










เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SF01370			
SF02070			
SF02270			
SF02770			
SF02870			

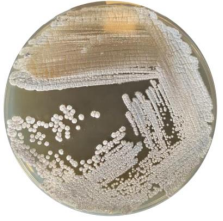

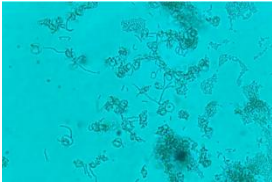
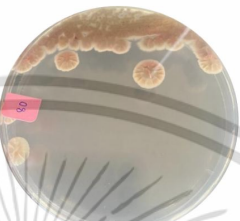
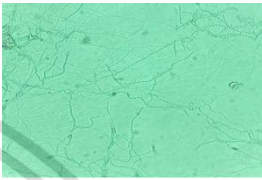







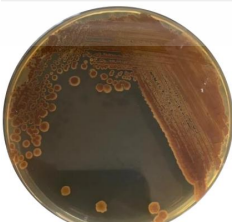
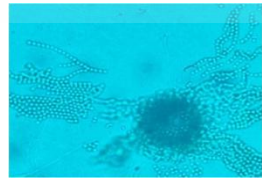
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SF03070			
SF03270			
SF03670			
SF03870			
SF03970			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SF05070			
SF05670			
SF05970			
SF06270			
SF07070			

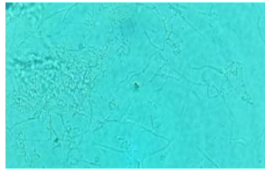





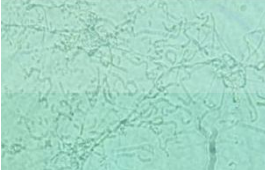
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SF07270			
SF08000			
SF08170			
SF08570			
SF11770			



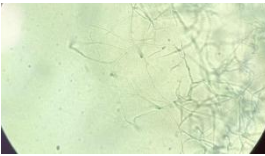

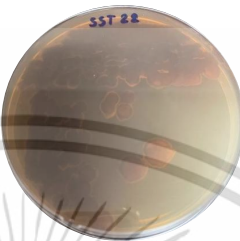
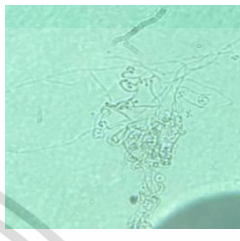








เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SF11870			
SF12970			
SF13070			
SF13570			
SF14370			



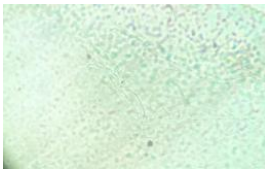

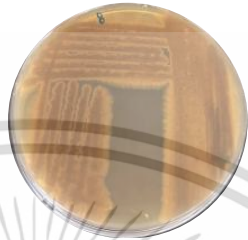
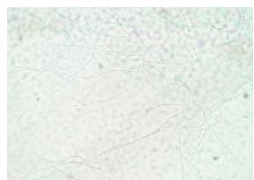




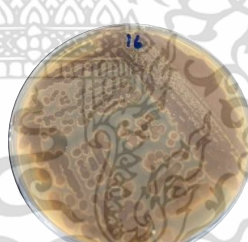

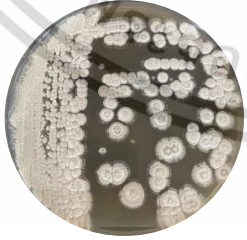
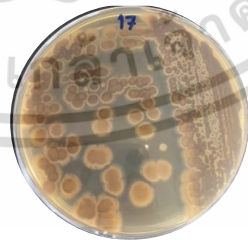
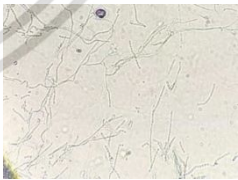


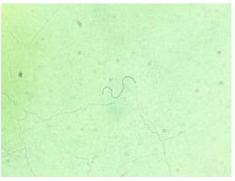
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SF14870			
SF14970			
BT00410			
BT00510			
BT00310			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SS00710			
SS02210			
SS03210			
SS03310			
PC00200			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PC00600			
PC00870			
PC00970			
PC01670			
PC01770			
PC02770			

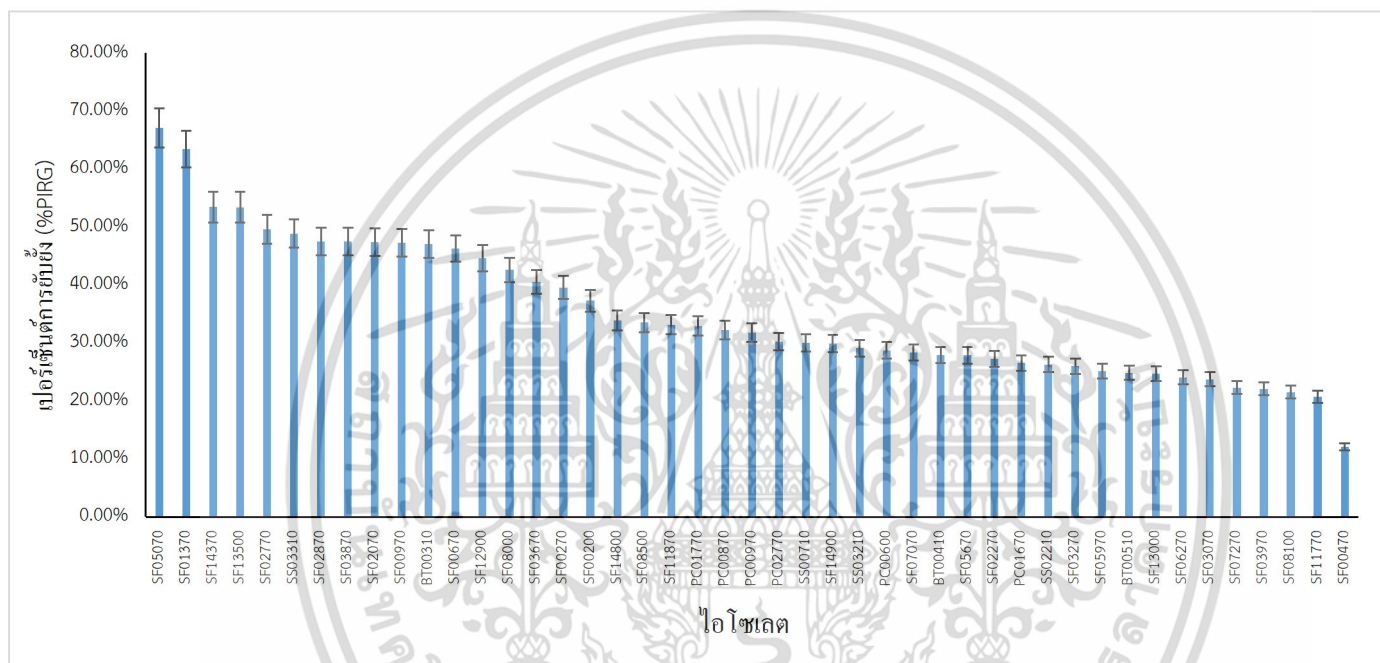
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแอกติโนมัยสีทดินป่าชายเลนต่อ

*Fusarium oxysporum* ด้วยวิธี Dual culture

รูปที่ 1 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถของแอกติโนมัยสีทจำนวน 45 ไอโซเลตในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* โดยวิธี Dual culture



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

การทดสอบความสามารถการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ในต้นขึ้นฉ่าย

Replication	T1)	T2)	T4)	T5)
Rep 1	1	2	2	2
	1	3	2	1
	1	2	3	1
Rep 2	1	2	1	2
	1	1	1	3
	1	2	2	1
Rep 3	1	2	2	2
	1	3	2	2
	1	3	2	2
เฉลี่ย	1	2.1	1.8	1.7

ตารางที่ 1 แสดงค่าดัชนีการก่อโรคของเชื้อรา *F. oxysporum* ในวันที่ 7 ทั้งหมด 3 ซ้ำ จากการทดสอบ 3 กระจ่าง/1 ซ้ำ โดยที่ T1) Control, T2) เชื้อรา *F. oxysporum*, T4) สารเคมีกำจัดเชื้อรา เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ และเชื้อรา *F. oxysporum*, T5) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070 และเชื้อรา *F. oxysporum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ One Way ANOVA จากโปรแกรม IBM SPSS Statistics การวิเคราะห์ที่เปรียบเทียบแบบ CRD วิธี Duncan และวิธี turkey HSD จำนวน 3 ซ้ำ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าดัชนีการก่อโรคการก่อโรคของต้นขึ้นถ่ายในวันที่ 7

**ANOVA**

DSIday7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.306	3	2.102	7.206	<.001
Within Groups	9.333	32	.292		
Total	15.639	35			

**DSIday7**

Subset for alpha = 0.05

	treatment	N	1	2
Tukey HSD <sup>a</sup>	T1	9	1.0000	
	T5	9		1.7778
	T4	9		1.8889
	T2	9		2.1111
	Sig.			1.000
Duncan <sup>a</sup>	T1	9	1.0000	
	T5	9		1.7778
	T4	9		1.8889
	T2	9		2.1111
	Sig.			1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

รูปที่ 1 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าดัชนีการก่อโรคของต้นขึ้นถ่ายในวันที่ 7

จากรูปที่ 1 พบว่าค่าดัชนีการก่อโรคของต้นขึ้นถ่ายในวันที่ 7 ทรีทเมนต์ T1, T2, T4 และ T5 ทำให้มีค่าดัชนีแตกต่างกัน 2 กลุ่ม และอยู่ในกลุ่มเดียวกันคือ ทรีทเมนต์ T2, T4 และทรีทเมนต์ T5 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Replication	T1)	T2)	T4)	T5)
Rep 1	1	3	2	2
	1	4	3	3
	1	3	3	2
Rep 2	1	3	2	3
	1	4	2	2
	1	2	2	2
Rep 3	1	3	2	3
	1	4	2	3
	1	3	3	3
เฉลี่ย	1	3.2	2.3	2.5

ตารางที่ 2 แสดงค่าดัชนีการก่อโรคของเชื้อรา *F. oxysporum* ในวันที่ 14 ทั้งหมด 3 ซ้ำ จากการทดสอบ 3 กระจก/1 ซ้ำ โดยที่ T1) Control, T2) เชื้อรา *F. oxysporum*, T4) สารเคมีกำจัดเชื้อรา เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ และเชื้อรา *F. oxysporum*, T5) แอคติโนมัยซีท ไอโซเลท SF05070 และเชื้อรา *F. oxysporum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าดัชนีการก่อโรคของต้นขึ้นฉ่ายในวันที่ 14

**ANOVA**

DSIday14

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23.444	3	7.815	32.152	<.001
Within Groups	7.778	32	.243		
Total	31.222	35			

**DSIday14**

Subset for alpha = 0.05

treatment	N	1	2	3
Tukey HSD <sup>a</sup>				
T1	9	1.0000		
T4	9		2.3333	
T5	9		2.5556	
T2	9			3.2222
Sig.		1.000	.775	1.000
Duncan <sup>a</sup>				
T1	9	1.0000		
T4	9		2.3333	
T5	9		2.5556	
T2	9			3.2222
Sig.		1.000	.346	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

รูปที่ 2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าดัชนีการก่อโรคของต้นขึ้นฉ่ายในวันที่ 14

จากรูปที่ 2 พบว่าค่าดัชนีการก่อโรคของต้นขึ้นฉ่ายในวันที่ 14 ทรีทเมนต์ T1, T2, T4 และ T5 ทำให้มีค่าดัชนีแตกต่างกัน 3 กลุ่ม และอยู่ในกลุ่มเดียวกันคือ ทรีทเมนต์ T4 และทรีทเมนต์ T5 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Replication	T1)	T2)	T4)	T5)
Rep 1	1	4	3	3
	1	4	2	3
	1	5	2	2
Rep 2	1	5	2	3
	1	5	3	2
	1	4	3	3
Rep 3	1	5	2	2
	1	5	3	3
	1	4	2	2
เฉลี่ย	1	4.5	2.4	2.5

ตารางที่ 3 แสดงค่าดัชนีการก่อโรคของเชื้อรา *F. oxysporum* ในวันที่ 21 ทั้งหมด 3 ซ้ำ จากการทดสอบ 3 กระถาง/1 ซ้ำ โดยที่ T1) Control, T2) เชื้อรา *F. oxysporum*, T4) สารเคมีกำจัดเชื้อรา เทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ และเชื้อรา *F. oxysporum*, T5) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070 และเชื้อรา *F. oxysporum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าดัชนีการก่อโรคของต้นขึ้นฉ่ายในวันที่ 21

**ANOVA**

DSIday21

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	57.639	3	19.213	92.222	<.001
Within Groups	6.667	32	.208		
Total	64.306	35			

**DSIday21**

Subset for alpha = 0.05

treatment	N	1	2	3
Tukey HSD <sup>a</sup>				
T1	9	1.0000		
T4	9		2.4444	
T5	9		2.5556	
T2	9			4.5556
Sig.		1.000	.955	1.000
Duncan <sup>a</sup>				
T1	9	1.0000		
T4	9		2.4444	
T5	9		2.5556	
T2	9			4.5556
Sig.		1.000	.609	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

### รูปที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าดัชนีการก่อโรคของต้นขึ้นฉ่ายในวันที่ 21

จากรูปที่ 3 พบว่าค่าดัชนีการก่อโรคของต้นขึ้นฉ่ายในวันที่ 21 ทรีทเมนต์ T1, T2, T4 และ T5 ทำให้มีค่าดัชนีแตกต่างกัน 3 กลุ่ม และอยู่ในกลุ่มเดียวกันคือ ทรีทเมนต์ T4 และทรีทเมนต์ T5 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ

## การทดสอบความสามารถในการส่งเสริมความเจริญของแอคติโนมัยซีทในต้นขึ้นฉ่าย

ตารางที่ 1 ตารางแสดงผลของความสูงของลำต้น (ซม.) ในวันที่ 7

Replication	T1	T3
Rep 1	12.76	14.58
	11.48	14.34
	12.78	15.64
Rep 2	10.54	14.26
	9.74	14.94
	12.22	14.92
Rep 3	13.49	13.34
	14.28	15.16
	12.08	13.24
เฉลี่ย	12.15	14.49

หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ตารางแสดงผลของความสูงของลำต้น (ซม.) ในวันที่ 14

Replication	T1	T3
Rep 1	14.66	20.24
	15.24	17.28
	14.34	15.34
Rep 2	12.64	16.58
	10.34	18.58
	10.34	15.68
Rep 3	14.46	19.48
	10.28	16.46
	9.72	19.14
เฉลี่ย	12.44	17.64

หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยสิทไอโซเลท SF05070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ตารางแสดงผลของความสูงของลำต้น (ซม.) ในวันที่ 21

Replication	T1	T3
Rep 1	19.66	27.98
	22.36	25.28
	24.52	26.18
Rep 2	22.18	26.14
	24.24	25.68
	19.36	28.34
Rep 3	17.28	25.76
	19.42	28.69
	21.74	25.48
เฉลี่ย	21.19	26.61

หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยสิทไอโซเลท SF05070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ One Way ANOVA จากโปรแกรม IBM SPSS Statistics การวิเคราะห์ที่เปรียบเทียบแบบ CRD วิธี Duncan และวิธี turkey HSD จำนวน 3 ซ้ำ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างความสูงลำต้น (ซม.) ของต้นขึ้นฉายในวันที่ 7,14 และวันที่ 21

ANOVA					
stem	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	251.683	1	251.683	9.793	.003
Within Groups	1336.366	52	25.699		
Total	1588.049	53			

รูปที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติความแตกต่างความสูงต้นของต้นขึ้นฉายในวันที่ 7, 14 และวันที่ 21 จากรูปที่ 4 พบว่าค่าความสูงลำต้นของต้นขึ้นฉายที่ทรีทเมนต์ที่ 1 และทรีทเมนต์ที่ 3 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4 ตารางแสดงผลของจำนวนใบ (ใบ) ในวันที่ 7

Replication	T1	T3
Rep 1	12	12
	9	10
	10	11
Rep 2	8	13
	5	15
	6	15
Rep 3	8	16
	12	14
	12	12
เฉลี่ย	9	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ตารางแสดงผลของจำนวนใบ (ใบ) ในวันที่ 14

Replication	T1	T3
Rep 1	16	18
	14	15
	11	16
Rep 2	14	13
	10	15
	12	13
Rep 3	9	17
	13	18
	12	15
เฉลี่ย	12	16

หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ตารางแสดงผลของจำนวนใบ (ใบ) ในวันที่ 21

Replication	T1	T3
Rep 1	18	19
	16	21
	16	24
Rep 2	17	18
	17	19
	13	21
Rep 3	14	26
	18	24
	20	23
เฉลี่ย	16	22

หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยซีทไอโซเลท SF05070

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างจำนวนใบ (ใบ) ของต้นขึ้นถ่ายในวันที่ 7,14 และวันที่ 21

**ANOVA**

Leaves	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	228.167	1	228.167	13.947	<.001
Within Groups	850.667	52	16.359		
Total	1078.833	53			

รูปที่ 5 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนใบต้นขึ้นถ่ายในวันที่ 7,14 และวันที่ 21

จากรูปที่ 5 พบว่าจำนวนใบของต้นขึ้นถ่ายในวันที่ 7, 14 และวันที่ 21 ทรีทเมนต์ T1 และทรีทเมนต์ T3 ทำ

ให้จำนวนใบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ตารางแสดงผลของความยาวราก (ซม.) ในวันที่ 21

Replication	T1	T3
Rep 1	13.36	14.26
	14.18	16.24
	10.40	15.28
Rep 2	11.86	13.62
	10.42	13.88
	9.02	15.26
Rep 3	10.82	14.08
	14.50	13.38
	13.72	15.76
เฉลี่ย	12.03	14.64

หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยสิทไอโซเลท SF05070

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของความยาวราก (ซม.) ของต้นขึ้นฉายในวันที่ 21

ANOVA					
root	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30.628	1	30.628	12.431	.003
Within Groups	39.422	16	2.464		
Total	70.051	17			

รูปที่ 6 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของความยาวรากต้นขึ้นฉายใน 21

จากรูปที่ 6 พบว่าความยาวรากของต้นขึ้นฉายในวันที่ 21 ทรีทเมนต์ T1 และทรีทเมนต์ T3 ทำให้ความยาว

รากมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ตารางแสดงผลของความสูงลำต้นและราก (ซม.) ในวันที่ 21

Replication	T1	T3
Rep 1	33.02	42.24
	36.54	41.52
	34.92	41.46
Rep 2	34.04	39.76
	34.66	79.56
	28.38	43.60
Rep 3	28.10	39.84
	33.92	42.04
	35.46	41.24
เฉลี่ย	33.22	41.25

หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยสิทไอโซเลท SF05070

ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของความสูงของต้นและราก (ซม.) ของต้นขึ้นฉายในวันที่ 21

ANOVA					
StemRoot	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	699.629	1	699.629	8.152	.011
Within Groups	1373.087	16	85.818		
Total	2072.716	17			

รูปที่ 7 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของความสูงต้นและรากของต้นขึ้นฉายใน 21

จากรูปที่ 7 พบว่าความสูงต้นและรากของต้นขึ้นฉายในวันที่ 21 ทรีทเมนต์ T1 และทรีทเมนต์ T3 ทำให้  
 เอกสารนี้เป็นเอกสารทสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่หรือนำไปใช้  
 ใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นแต่มีเหตุอันสมควร และต้องขออนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ตารางแสดงผลของน้ำหนักต้นและราก (กรัม) ในวันที่ 21

Replication	T1	T3
Rep 1	4.5751	6.5842
	6.3411	5.3246
	2.6153	4.2684
Rep 2	3.6715	6.2376
	1.9267	5.7834
	5.7321	6.2468
Rep 3	2.3654	6.3879
	3.4752	5.2437
	5.7861	4.2876
เฉลี่ย	4.05	5.59

หมายเหตุ : T1) Control, T3) แอคติโนมัยสิทไอโซเลท SF05070







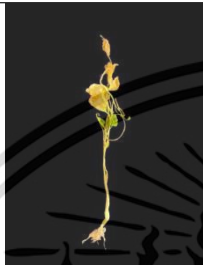

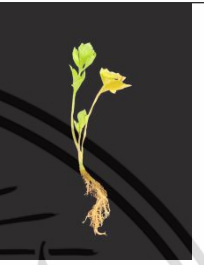



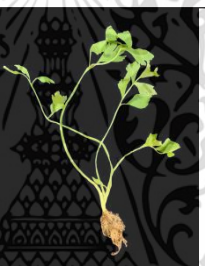


ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของความสูงของต้นและราก (ซม.) ของต้นขึ้นฉายในวันที่ 21

#### ANOVA

weight	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.696	1	10.696	6.248	.024
Within Groups	27.393	16	1.712		
Total	38.089	17			

รูปที่ 8 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของน้ำหนักต้นขึ้นฉายใน 21

จากรูปที่ 8 พบว่าน้ำหนักของต้นขึ้นฉายในวันที่ 21 ทริทเมนต์ T1 และทริทเมนต์ T3 ทำให้น้ำหนักต้น  
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ขึ้นฉายมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่	T1	T2	T3	T4	T5
7					
14					
21					

รูปที่ 9 ลักษณะของต้นขึ้นฉ่ายของทั้ง 5 ทรีทเมนต์ต่อการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* และการส่งเสริมการเจริญของต้นขึ้นฉ่าย

หมายเหตุ : T1) Control, T2) เชื้อรา *F. oxysporum*, T5) แอคติโนมัยสิทไอโซเลท SF05070, T4) สารเคมีกำจัดเชื้อราเทอร์ราคลอร์ ซุปเปอร์-เอ็กซ์ และเชื้อรา *F. oxysporum*, T5) แอคติโนมัยสิทไอโซเลท SF05070 และเชื้อรา *F. oxysporum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ฉ

## โรงเรือนทดสอบและการปลูกขึ้นฉ่าย



รูปที่ 1 โรงเรือนทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

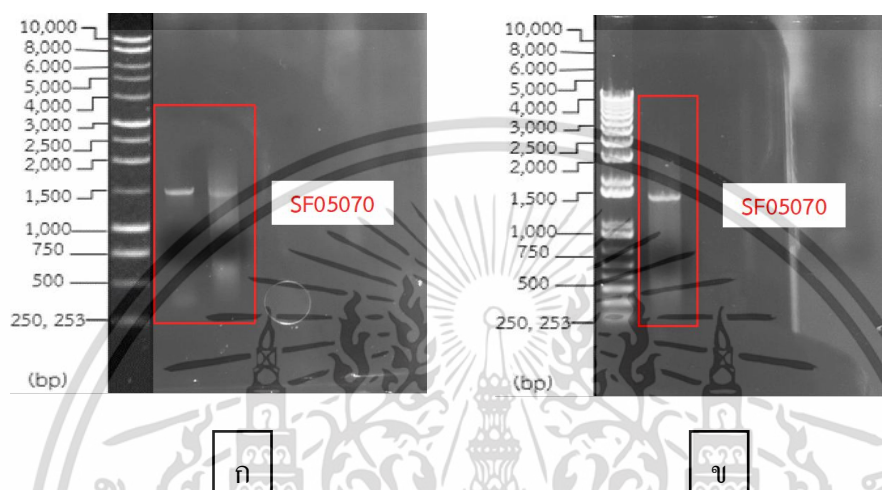


รูปที่ 2 การปลุกต้นจิ้นฉ่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA ของแอกติโนมัยสีทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ไอโซเลต SF05070



รูปที่ 1 แสดงผลการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยชุด FavorPrep™ GEL/PCR Purification Mini Kit ของเชื้อแอกติโนมัยสีท ไอโซเลต SF05070

- ก) ผลการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอก่อนการทำบริสุทธิ์ ด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสบน 0.5% บนอะกาโรสเจล
- ข) ผลการตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอหลังการทำบริสุทธิ์ ด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสบน 0.5% บนอะกาโรสเจล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 แสดงค่าความบริสุทธิ์และความเข้มข้นของดีเอ็นเอของเชื้อแอกติโนมัยลีทไอโซเลท SF05070



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ซ

### ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแอกติโนมัยสีท ไอโซเลท SF05070

จากการผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอช่วงยีน 16S ของไอโซเลท SF05070 (1,474 bp) พบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อแอกติโนมัยสีท *Streptomyces malachitospinus* NBRC 101004<sup>T</sup> (AB249954) ด้วยระดับความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ (%similarity) เท่ากับ 99.92 เปอร์เซ็นต์ โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อดังนี้

CGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGATGAACCACTTCGGTGGGGATTAGT  
GGCGAACGGGTGAGTAACACGCTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAAGCCCTGGAAACGGGGTCTA  
ATACCGGATACTGAACCTTACAGGCATCTGTGAGGGTCGAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCG  
GCCTATCAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGAC  
CGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATG  
GGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAACCTCTTTCAGCAG  
GGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT  
ACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCGGTT  
GTGAAAGCCCGGGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGACGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATC  
GGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTG  
GGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGC  
CGTAAACGGTGGGCACTAGGTGTGGGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGAGCTAACGCATTAAGTGC  
CCCGCCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGCGG  
AGCATGTGGCTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACCCGGAACGGCCAG  
AGATGGTCGCCCCCTTGTGGTCCGGTGTACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTACGCTCGTGTCTGTGAGATGT  
TGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCCGTGTGCCAGCAGGCCCTTGTGGTGCTGGGGAC  
TCACGGGAGACCGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGT  
CTTGGGCTGCACACGTGCTACAATGGCCGGTACAATGAGCTGCGATACCGCAAGGTGGAGCGAATCTCA  
AAAAGCCGGTCTCAGTTCGGAT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ 24 มิถุนายน พ.ศ. 2567

ข้าพเจ้า นางสาว ชญาณิศา แก้วจรัส รหัสนักศึกษา 63050457  
นางสาว ศรีนทร์ทิพย์ บุญน่วม รหัสนักศึกษา 63050522

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาคชีววิทยา ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย แอคติโนมัยสีทจากดินป่าชายเลนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum*  
ก่อโรคเหี่ยวเหลืองในต้นขึ้นฉ่าย

ชื่อภาษาอังกฤษ Antifungal activity of mangrove soil Actinobacteria to control celery  
yellow wilt caused by *Fusarium oxysporum*

ปีการศึกษา 2566

เป็นผลงานวิจัยที่ได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่น ได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว  
และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษฉบับ  
สมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักษราวirus 4.74%

ลงชื่อ.....ชญาณิศา แก้วจรัส.....

ลงชื่อ.....ศรีนทร์ทิพย์ บุญน่วม.....

(นางสาว ชญาณิศา แก้วจรัส)

(นางสาว ศรีนทร์ทิพย์ บุญน่วม)

นักศึกษา

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษศึกษาของ  
นักศึกษาข้างต้น แล้วขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์จึงลงชื่อไว้เป็น  
หลักฐาน

ลงชื่อ.....Khomykan Klanbut.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปเผยแพร่ใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
(ผศ.ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์)  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้วิจัย



นางสาวชญาณิศา แก้วจรัส รหัสนักศึกษา 63050457

ที่อยู่ 321/1 ถ.เลียบบคลองมอญ แขวงทับยาว เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ

Email : Chayanisa7744@gmail.com

โทร : 094-553-0180



นางสาวศรินทร์ทิพย์ บุญนวม รหัสนักศึกษา 63050522

ที่อยู่ 231/1 หมู่ 11 ตำบลบางแก้ว อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา 24000

Email : Sarintip230145@gmail.com

โทร : 087-705-6508

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้