

การศึกษาศักยภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีทในการเป็นจุลินทรีย์
ปฏิปักษ์ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในเมล็ดมะเขือเทศ

CAPABILITY STUDY OF ACTINOMYCETES USING AS
BIOLOGICAL CONTROL AGENT TO INHIBIT PLANT
PATHOGEN, *RALSTONIA SOLANACEARUM*, IN TOMATO SEED.



สหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงแก้ไขเอกสารฉบับนี้
ปีการศึกษา 2566

CAPABILITY STUDY OF ACTINOMYCETES USING AS
BIOLOGICAL CONTROL AGENT TO INHIBIT PLANT
PATHOGEN, *RALSTONIA SOLANACEARUM*, IN TOMATO SEED.



A COOPERATIVE EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDRUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2023

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อสหกิจศึกษา

การศึกษาศักยภาพของเชื้อแอคติโนมัยไซต์ในการเป็นจุลินทรีย์
ปฏิปักษ์ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในเมล็ดมะเขือเทศ
Capability study of actinomycetes using as biological
control agent to inhibit plant pathogen, *Ralstonia
solanacearum*, in tomato seed

ชื่อนักศึกษา

นางสาวอรยา อ่อนน้อม รหัสนักศึกษา 63050530
นางสาวอินทรีรา เขยมาน รหัสนักศึกษา 63050536

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา

ชีววิทยา

ปีการศึกษา

2566

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ดร. ต้นติมา กำลิ่ง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้
สหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยา
อุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2566

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร. ต้นติมา กำลิ่ง ประธานกรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	
รศ.ดร. มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ กรรมการ	
ผศ.ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อสหกิจศึกษา	การศึกษาศักยภาพของเชื้อแอกติโนมัยสปีทในการเป็นจุลินทรีย์		
	ปฏิปักษ์ยับยั้งเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> ในเมล็ดมะเขือเทศ		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวอรยา อ่อนน้อม	รหัสนักศึกษา	63050530
	นางสาวอินทรีรา เขยมาน	รหัสนักศึกษา	63050536
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2566		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์		
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. ตันติมา กำลิ่ง		

บทคัดย่อ

การศึกษาศักยภาพของเชื้อแอกติโนมัยสปีทจำนวน 15 ไอโซเลท จากดินนาข้าวอินทรีย์จังหวัดสุพรรณบุรี 11 ไอโซเลท ได้แก่ SPB1011, SPB2048, SPB2063, SPB2064, SPB2072, SPB2086, SPB1092, SPB1097, SPB1100 และ SPB1101 จากดินนาข้าวจังหวัดปทุมธานีจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ PTR31, PTR36, PTR38 และ PTR40 นำมาศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยานอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP2) และคัดเลือกแอกติโนมัยสปีทที่ต้านการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉียมะเขือเทศเบื้องต้นโดยใช้วิธี Agar plug diffusion จำนวน 15 ไอโซเลท พบว่าไอโซเลท SPB1097 มีความสามารถในการยับยั้งสูงที่สุดที่ 90.9% จึงนำมาทดสอบประสิทธิภาพของสารในการกระตุ้นการงอกของเมล็ดมะเขือเทศทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ มะเขือเทศพันธุ์ พวงชมพู, มะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ และมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ทางสถิติ ด้วยวิธี One way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% เมล็ดมะเขือเทศทั้งสามสายพันธุ์มีการกระตุ้นการงอกได้ดีที่สุดคือ กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดมะเขือเทศแช่ในสารแขวนลอยสปอร์แอกติโนมัยสปีท โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสายพันธุ์พวงชมพู 100% สายพันธุ์ลูกท้อ และสายพันธุ์สีดาทิพย์ 4 มีเปอร์เซ็นต์การงอก 97.67% และในการควบคุมเชื้อ *R. solanacearum* พบว่า สารละลายคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ มีส่วนช่วยในการควบคุมเชื้อก่อโรค ในมะเขือเทศสายพันธุ์ลูกท้อ และสายพันธุ์สีดาทิพย์ 4

คำสำคัญ : แอกติโนมัยสปีท, ฤทธิ์การส่งเสริมการเจริญ, ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อก่อโรค, *Ralstonia solanacearum*, คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Capability study of actinomycetes using as biological control agent to inhibit plant pathogen, <i>Ralstonia solanacearum</i> , in tomato seed
Students	Miss Oraya Onnom Student ID 63050530 Miss Inthira Choeiman Student ID 63050536
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2023
Advisor	Asst.Prof.Dr. Khanugkhan Klanbut
Co-advisor	Dr. Tantima Kamlung

Abstract

The study of actinomycetes 15 isolates which isolated from organic rice paddy soils, Suphan Buri province 15 isolates: SPB1011, SPB2048, SPB2063, SPB2064, SPB2072, SPB2086, SPB1092, SPB1097, SPB1100 and SPB1101. Pathum Thani province 4 isolates: PTR31, PTR36, PTR38 and PTR40. Morphological characteristics were studied on the International Streptomyces Project medium No.2 (ISP-2). The selection of actinomycetes that resist the growth of *Ralstonia solanacearum* causative agent of tomato wilt by agar plug diffusion technique was performed. Found that isolates SPB1097 had the highest percentage of radial inhibition at 90.9%, therefore, it was used to test the effectiveness of substances in stimulating the germination of seeds of all 3 varieties of tomatoes which are Pink vine tomato, Plum tomato and Seedatip 4 tomato. Statistical percentage with One way ANOVA method at 95% confidence found the best method is the 3rd process which was tomato seeds soaked in an actinomycetes spore suspension. The result of germination percentage found Pink vine tomato had the best result at 100%, Plum tomato and Seedatip 4 tomato had germination percentage at 97.67%. In controlling *R. solanacearum*, it was found that copper hydroxide solution contributes to control pathogens in Peach tomato strains and Seedatip 4 tomato strains.

Keywords : actinomycetes, plant growth promotion, Inhibitory pathogens, *Ralstonia solanacearum*, copper hydroxide

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

หัวข้อสหกิจศึกษาเล่มนี้ที่ได้รับมอบหมายเป็นการศึกษาค้นคว้างานวิจัยเรื่อง การศึกษาศักยภาพของเชื้อแอคติโนมัยสปีทในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในเมล็ดมะเขือเทศ สามารถดำเนินการจนกระทั่งประสบความสำเร็จไปได้อย่างสมบูรณ์ ด้วยความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน ในด้านการสนับสนุน ให้คำปรึกษา และแนะแนวทางในระหว่างศึกษาและค้นคว้าตลอดจนแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องต่างๆ ทั้งนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ดร. ตันติมา กำลิ่ง นักวิจัยอาวุโส ที่ให้โอกาสในการทำสหกิจ สำหรับศึกษาหาความรู้ที่ ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และคอยให้คำปรึกษาด้านการวางแผนการทำงาน ชี้แนะแนวทางการปรับปรุงข้อบกพร่องในการทดลอง รวมถึงเทคนิคในการนำเสนอที่ดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่ปรึกษา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) ที่ช่วยอำนวยความสะดวกด้านการติดต่อประสานงาน และให้คำแนะนำช่วยเหลือ ตรวจสอบแก้ไข และปรับปรุงรายงานการวิจัยจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธานกรรมการ อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) ที่ให้คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไข และสละเวลาเข้าร่วมการสอบโครงงานสหกิจ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยนักวิจัย ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในถังหมัก (วว.) ที่ได้ให้คำแนะนำ ความรู้เทคนิคทางด้านจุลชีววิทยา ข้อเสนอแนะตลอดการทดลอง ช่วยแก้ไข ตรวจสอบ ชี้แนะข้อบกพร่องและแนะนำ ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และช่วยแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการปฏิบัติงาน

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัว เพื่อน พี่ น้องรวมถึงบุคคลที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการทดลองในครั้งนี้ที่คอยให้กำลังใจและสนับสนุนตลอดการฝึกสหกิจจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยมีความซาบซึ้งในความกรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าวถึงและไม่ได้กล่าวถึงได้มีส่วนช่วยเหลือในการสนับสนุนให้กำลังใจด้วยดีตลอดมา จึงกราบขอบพระคุณทุกท่านด้วยความจริงใจ

อรยา อ่อนน้อม

อินทรีา เขมมาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ฤๅษีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 แอคติโนไมยสีท	4
2.2 ลักษณะสัณฐานของเชื้อแอคติโนไมยสีท	5
2.2.1 แหล่งที่อยู่อาศัยของแอคติโนไมยสีท	5
2.2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีระวิทยา	5
2.2.3 ลักษณะโครงสร้างเส้นใย	5
2.2.4 ลักษณะสายสปอร์	6
2.2.5 ลักษณะโคโลนี	7
2.2.6 การสร้างเซลล์วิบพันธุ์ของแอคติโนไมยสีท	8
2.4 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	8
2.5 การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช	9
2.5.1 การผลิตฮอร์โมนพืช (Indole-3-acetic acid: IAA)	9
2.5.2 การผลิตแอมโมเนีย (Ammonia)	9
2.5.3 การละลายสารประกอบฟอสเฟต (Phosphate solubilization)	9
2.5.4 การผลิตสารซิดอโรเฟออร์ (Siderophores)	9
2.6 มะเขือเทศ	9
2.7 จุลินทรีย์ก่อโรคในมะเขือเทศ	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.1	โรคเหี่ยวเหี่ยวในมะเขือเทศ.....	11
2.7.1.1	ลักษณะทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย <i>Ralstonia solanacearum</i>	12
2.7.2	โรคใบจุดมะเขือเทศ	12
2.7.3	โรคใบไหม้	13
2.8	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
บทที่ 3	วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	16
3.1	เครื่องมือ	16
3.2	อุปกรณ์.....	16
3.3	สารเคมี	17
3.4	อาหารเลี้ยงเชื้อ	17
3.5	เชื้อทดสอบ	18
3.6	การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยสีท	18
3.7	ขั้นตอนการแยกเชื้อสาเหตุโรคพืช.....	18
3.7.1	การคัดแยกเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> จากหัวมันฝรั่ง.....	18
3.7.2	ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อก่อโรค.....	19
3.8	การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i>	19
3.8.1	การศึกษาการวัดการเจริญของ <i>Ralstonia solanacearum</i>	19
3.8.2	การศึกษาความเข้มข้นของ <i>Ralstonia solanacearum</i> ที่ 10^8 (CFU/ml)....	19
3.9	การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคในระยะเมล็ดของมะเขือเทศ.....	20
3.9.1	การทดสอบความสามารถของเชื้อก่อโรคในเมล็ดมะเขือเทศ.....	20
3.9.2	ขั้นตอนการคัดแยกเชื้อก่อโรคจากเมล็ดมะเขือเทศและตรวจสอบลักษณะ สัณฐานวิทยาของเชื้อ	20
3.10	ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ (Antimicrobial activities)	20
3.10.1	การคัดเลือกแอกติโนมัยสีทต้านการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศเบื้องต้นโดยใช้วิธี Agar plug diffusion.....	20
3.11	การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ด	21
3.12	การวิเคราะห์ทางสถิติ	22
บทที่ 4	ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	23
4.1	การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยสีท.....	23
4.1.1	การเปรียบเทียบสีมาตรฐาน the ISCC-NBS System กับสีของเส้นใยอากาศ สี เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ของสปอร์ สีของเส้นใยอาหาร รงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และลักษณะสปอร์ของแอ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้ง คัดโนมัยสีท แปลงเม็ดหมกและต้องล้างถึงถึงแก้วของหลอดสารทุกครั้งที่มีกรบไป 24	

4.2	การแยกเชื้อสาเหตุโรคพืช.....	41
4.3	การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i>	42
4.4	ผลการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคในระยะเมล็ดของมะเขือเทศ.....	42
4.5	ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ (Antimicrobial activities)	43
4.5.1	การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทด้านการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศเบื้องต้นโดยใช้วิธี Agar plug diffusion.....	43
4.6	การศึกษาประสิทธิภาพของสารในการกระตุ้นการงอกเมล็ดมะเขือเทศ.....	45
บทที่ 5	สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	49
5.1	สรุปผลการวิจัย.....	49
5.2	ข้อเสนอแนะ	52
5.2.1	เชื้อแอคติโนมัยสีทที่ได้จากดินนาข้าวอินทรีย์จังหวัดสุพรรณบุรี และดินนาข้าว จังหวัดปทุมธานี มีความหลากหลายที่จึงเหมาะแก่การนำไปศึกษาวิจัยต่อในอนาคต.....	52
5.2.2	นำแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SPB1097 ไปศึกษาต่อยอดโดยการทดสอบกับต้นพืช ด้วยการเพาะเลี้ยงในโรงเรือน.....	52
5.2.3	นำเชื้อแอคติโนมัยสีทไปศึกษาการจัดจำแนกของเชื้อแอคติโนมัยสีท และนำไปทำผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร.....	52
	เอกสารอ้างอิง	53
	ภาคผนวก	59
	ภาคผนวก ก.....	60
	ภาคผนวก ข.....	62
	ภาคผนวก ค.....	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยสีทจำนวน 15 ไอโซเลท บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 7 - 14 วัน.....	39
ตารางที่ 4.2 ลักษณะโคโลนีของแอกติโนมัยสีทจำนวน 15 ไอโซเลท	40
ตารางที่ 4.3 ความสามารถของแอกติโนมัยสีท 15 ไอโซเลทในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย <i>Ralstonia solanacearum</i> โดยวิธี Agar plug diffusion.....	44
ตารางที่ 4.4 ผลการรอกของเมล็ดมะเขือเทศสายพันธุ์พวงชมพู	45
ตารางที่ 4.5 ผลการรอกของเมล็ดมะเขือเทศสายพันธุ์ลูกท้อ.....	ผิดพลาด! ไม่ได้กำหนดบู๊กมาร์ก
ตารางที่ 4.6 ผลการรอกของเมล็ดมะเขือเทศสายพันธุ์สีดาทิพย์ 4	ผิดพลาด! ไม่ได้กำหนดบู๊กมาร์ก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 2.1 ลักษณะของสปอร์ในสกุล <i>Streptomyces</i>	7
รูปที่ 2.2 การเข้าทำลายโดยแบคทีเรียก่อโรค <i>Ralstonia solanacearum</i>	11
รูปที่ 2.3 อาการของโรคจุดแบคทีเรียบนใบและผล.....	13
รูปที่ 2.4 วงจรโรคใบไหม้ระยะแรกที่เกิดจากเชื้อ <i>Alternaria solani</i> ในมะเขือเทศ.....	14
รูปที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB1011 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	24
รูปที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB2048 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	25
รูปที่ 4.3 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB2063 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	26
รูปที่ 4.4 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB2064 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	27
รูปที่ 4.5 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB2072 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	28
รูปที่ 4.6 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB2073 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	29
รูปที่ 4.7 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB2086 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	30
รูปที่ 4.8 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB1092 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	31
รูปที่ 4.9 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB1097 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	32
รูปที่ 4.10 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB1100 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	33
รูปที่ 4.11 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท SPB1101 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	34
รูปที่ 4.12 ลักษณะของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ไอโซเลท PTR31 ที่เจริญบน International <i>Streptomyces</i> Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน.....	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.13 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท PTR36 ที่เจริญบน International
Streptomyces Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน..... 36

รูปที่ 4.14 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท PTR38 ที่เจริญบน International
Streptomyces Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน..... 37

รูปที่ 4.15 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท PTR40 ที่เจริญบน International *Streptomyces*
 Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน..... 38

รูปที่ 4.16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Ralstonia Solanacearum*..... 41

รูปที่ 4.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความชุ่มของเซลล์แขวนลอยกับเวลา และแสดง
 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์กับเวลา 42

รูปที่ 4.18 อาการเน่าปลายรากของมะเขือเทศสายพันธุ์ต่างๆ 43

รูปที่ 4.19 กราฟแสดงฤทธิ์ของแอกติโนมัยสีทในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย *R. solanacearum*
 45



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
<i>R. solanacearum</i>	เชื้อแบคทีเรีย <i>Ralstonia solanacearum</i>
TZC	อาหารเลี้ยงเชื้อ Triphenyl tetrazolium chloride (TZC) (เติม 2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride)
TTC	อาหารเลี้ยงเชื้อ Triphenyl tetrazolium chloride (TTC) (ที่ไม่เติม 2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride)
ISP2	International <i>Streptomyces</i> Project medium No.2



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะเขือเทศ (ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Lycopersicon esculentum* Mill) อยู่ในวงศ์ *Solanaceae* เป็นพืชล้มลุกในตระกูลพริก มะเขือ ติดผลเป็นพวงหรือช่อยาว ผลเล็ก เปลือกบางเนื้อหนา แน่น กรอบ และมีเมล็ดน้อย ผลดิบจะมีสีเขียว และเมื่อสุกจะเปลี่ยนเป็นสีต่างๆขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (ณัฐกฤตา และคณะ, 2562) และยังมีคุณค่าทางอาหาร มะเขือเทศผลหนึ่งจะมีวิตามินเอราว 1 ใน 3 ของวิตามินเอที่ร่างกายต้องการในหนึ่งวัน (รัชนิ และริณู, 2558) นอกจากนี้มะเขือเทศยังมี วิตามินซี 17% วิตามินเค 8% โปแตสเซียม 5% ฟอสฟอรัส 3% แมกนีเซียม 3% และแร่ธาตุอื่นๆ อีกหลายชนิด (USDA Nutrient database, 2023) มะเขือเทศเป็นพืชที่นิยมปลูกกันอย่างมาก และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและอุตสาหกรรม จากสถิติการปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยประมาณปีละ 40,000 ไร่ มีผลผลิตประมาณ 140,000 ตันต่อปี ภายในประเทศไทยมะเขือเทศได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ มะเขือเทศส่งโรงงานอุตสาหกรรม ปีละ 95,000 ตัน และมะเขือเทศบริโภค ปีละ 42,000 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) มีมะเขือเทศหลากหลายสายพันธุ์ที่นิยม อย่างเช่น มะเขือเทศลูกท้อผลใหญ่ และมะเขือเทศสีดา นิยมนำไปผ่านกระบวนการแปรรูปไปเป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดมะเขือเทศ ซอสมะเขือเทศ น้ำมะเขือเทศ นอกจากนี้ยังมีมะเขือเทศเซอร์รี่ ที่นิยมนำมารับประทานผลสด ล้วนแล้วแต่มีสรรพคุณทางด้านโภชนาการมากมาย (อรรถพล และคณะ, 2557) เนื่องจากมีสารไลโคปีน (Lycopene) ซึ่งไลโคปีน คือ สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ที่จะช่วยลดความเสี่ยงที่จะเป็นโรคต่างๆ (Zhang และ Stommel, 2000)

ในการผลิตมะเขือเทศ เกษตรกรส่วนใหญ่ ทำการผลิตในสภาพแปลงแบบเปิด ทำให้มีข้อจำกัดในเรื่องสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อุณหภูมิ โดยทั่วไปมะเขือเทศเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 22 ถึง 26 องศาเซลเซียส (Sato *et al.*, 2000) แต่ในบางฤดูจะมีอุณหภูมิที่ต่างไป โดยเฉพาะฤดูร้อนอุณหภูมิที่สูงขึ้น โดยอุณหภูมิจะสูงสุดในเดือนเมษายน ซึ่งสามารถมีอุณหภูมิสูงกว่า 35-38 องศาเซลเซียส (กรุง, 2545) เนื่องจากสภาพอากาศที่ไม่เอื้ออำนวย การปลูกมะเขือเทศนอกฤดู ทำให้ความมีชีวิตของละอองเกสรเพศผู้ของมะเขือเทศลดลง ส่งผลให้การติดผลลดลง ซึ่งจำนวนผลเป็นองค์ประกอบสำคัญของน้ำหนักผลผลิต (Sato *et al.*, 2002) แต่ความต้องการของตลาดมะเขือเทศมีอยู่ตลอดทั้งปี อาจส่งผลให้มะเขือเทศมีปริมาณไม่เพียงพอ ต่อความต้องการของตลาด การปลูกมะเขือเทศภายในโรงเรือนถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่ทำให้เกษตรกรสามารถควบคุมปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช (Ro *et al.*, 2021) และอาจจะสามารถควบคุมปัญหาต่างๆที่อาจจะตามมา เช่น โรคทางดินหลายชนิด ได้แก่ โรคใบจุด, โรคใบไหม้, โรคเหี่ยวเขียว โดยเฉพาะโรคเหี่ยวเขียว (bacterial wilt) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* จัดอยู่ในวงศ์ *Solanaceae* และอยู่ในสกุล *Solanum* เช่น มะเขือยาว (*Solanum melongena*), มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) และมะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*)

เป็นต้น (Petruzzello, M., 2022) เป็นโรคที่มีการระบาดในเกือบทุกพื้นที่ที่มีการปลูกมะเขือเทศในเขตอบอุ่นและกึ่งร้อน โดยเชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายมะเขือเทศได้ทุกระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต เมื่อเชื้อเข้าสู่รากพืชทางบาดแผล และช่องทางเปิดธรรมชาติแล้ว พืชจะเกิดอาการเหี่ยวเฉียวยภายใน 3 – 4 วัน (Wang and Lin, 2005) เมื่อพบการระบาด เกษตรกรมักจะใช้สารเคมีในการกำจัด เป็นวิธีที่ง่าย สามารถหาซื้อได้สะดวก เป็นวิธีที่เห็นผลเร็วที่สุดเพื่อให้ได้ผลผลิตทางการเกษตรเพิ่มขึ้น และเป็นไปตามความต้องการตลาด (Office of Agricultural Economics, 2012) แต่สารเคมีที่ใช่มักมีผลเสีย หากใช้อย่างไม่ถูกต้อง และถูกวิธี อาจเป็นอันตรายต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค และยังคงค้างในสิ่งแวดล้อมได้อีก แต่ในปัจจุบันผู้คนหันมาใช้ Biological control agents เป็นการใช้อินทรีย์มาควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช (จิระเดช, 2546) เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อการนำไปใช้ และยังคงปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นต้องเลือกใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganisms) เพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในพืช

แอกติโนมัยสีทจัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก เป็นจุลินทรีย์ที่พบมากในดินหรือในตัวพืช มีลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายเชื้อรา สามารถสร้างสปอร์ได้ มีช่วงอายุยาวนานกว่าแบคทีเรีย (กุสุมา และคณะ, 2560) ส่วนขนาดของเส้นใยมีขนาดเล็กกว่ารา มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.0 ไมโครเมตร (กุสุมา และคณะ, 2559) เชื้อกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกแบคทีเรียกินซาก (saprophyte) ที่มีความสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์สาร สามารถย่อยสลายเคราติน ไคติน เซลลูโลส และแป้ง และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญที่ผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อรา เป็นสารต่อต้านมะเร็ง สารกดระบบภูมิคุ้มกันสารฆ่าแมลง (Goodfellow *et al.*, 1988) แบคทีเรียหลายชนิดในกลุ่ม แอกติโนมัยสีทมีความสามารถในการสร้างสารแอนติไบโอติก ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด (สุจรรยา, 2556) ด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยสีท และนำมาทำการศึกษาศักยภาพในการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวเฉียวยในมะเขือเทศ

2.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดเลือก และศึกษาความสามารถของแอกติโนมัยสีทที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในกระบวนการเจริญของเมล็ดมะเขือเทศ

2.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยสีทที่คัดแยกได้จากดินนาข้าวจังหวัดสุพรรณบุรี และดินนาข้าวอินทรีย์จังหวัดปทุมธานี
2. คัดแยก และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* และทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสาร ความรู้แน่นในการก่อโรคพืช การศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ศึกษาผลของแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคต่อการงอกของเมล็ดมะเขือเทศในกระบวนการเจริญของเมล็ดมะเขือเทศ
4. ศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยสีท

2.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถระบุลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีทในแต่ละ Isolate ได้
2. ได้แอคติโนมัยสีทที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในกระบวนการเจริญของเมล็ดมะเขือเทศ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แอคติโนมัยสีท

แอกติโนมัยสีท (actinomycete) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่มีปริมาณเบสกวานีน (G) และเบสไซโตซีน (C) สูงใน DNA มากกว่า 55% จัดอยู่ในอันดับ (Order) *Actinomycetales* 8 วงศ์ (Family) ได้แก่ *Actinomycetaceae*, *Frankiaceae*, *Actinoplanaceae*, *Dermatophilaceae*, *Nocardiaceae*, *Mycobactericidal*, *Streptomycetaceae* และ *Micromonosporaceae* (Kalakoutskii & Agre, 1976) โดยส่วนใหญ่เป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ เชื้อนี้มีลักษณะทางสัณฐานทางวิทยาที่หลากหลาย มีตั้งแต่เป็นทรงกลม ท่อน และเป็นเส้นสายคล้ายเชือก แต่ไม่จัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มเชือก โดยเส้นใยมีการแตกแขนงและมีการแตกหักของเส้นใยเพื่อสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ หรือการสร้างสปอร์บนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศ (aerial mycelium) ซึ่งเป็นลักษณะที่พบในเชื้อแอกติโนมัยสีทเป็นส่วนใหญ่ เชื้อกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกแบคทีเรียกินซาก (saprophyte) ที่มีความสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์สาร สามารถย่อยสลายเคราติน ไคติน เซลลูโลส และแป้ง แต่บางชนิดก่อให้เกิดความสัมพันธ์พึ่งพากับพืชและสัตว์ (Goodfellow & Williams, 1983) และเป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญที่ผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น สารปฏิชีวนะต่อต้านแบคทีเรีย เชื้อรา เป็นสารต่อต้านมะเร็ง สารก่ดระบบภูมิคุ้มกัน สารฆ่าแมลง และสารปราบวัชพืช เป็นต้น

เชื้อแอกติโนมัยสีทในดินส่วนใหญ่ เป็นเชื้อในกลุ่มของสกุล *Streptomyces* ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีการกระจายตัว และความหนาแน่นมากที่สุด เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจะสร้างเส้นใยอาหารที่แตกกิ่งก้าน อาจเป็นท่อนฝังลงในเนื้อวุ้น และสร้างเส้นใยอากาศที่ประกอบด้วยสายสปอร์รูปแบบต่างๆ ถ้าจำนวนสปอร์มากพอจะเป็นสายสปอร์เป็นแบบเส้นตรง (*Rectiflexibile*) รูปลูบ (*Rectinaculiperti*) หรือ บิดเป็นเกลียว (*Spiral*) บางสายพันธุ์อาจมีลักษณะโคโลนีเป็นแบบแผนกระจาย (*discrete*) คล้ายไลเคน ผิวกโคโลนีมีลักษณะเรียบหรือขรุขระ มีหลายสี ได้แก่ ขาว เทา แดง เหลือง เขียว น้ำเงิน และม่วง ซึ่งเป็นสีของสปอร์ที่อยู่ด้านบน ส่วนเส้นใยอาหารที่ด้านล่างของโคโลนีมักมีสีน้ำตาลเป็นส่วนใหญ่ แต่ก็อาจพบสีอื่นๆ เช่นเดียวกับสีสปอร์ได้ ในการเจริญระยะแรก โคโลนีจะมีผิวเรียบ ต่อมาจะพัฒนาเส้นใยอากาศจนปรากฏเป็นกลุ่มก้อนคล้ายแป้งหรือ กำมะหยี่ สกุลที่มีการศึกษาทางพันธุศาสตร์มากที่สุดคือ *Streptomyces* ซึ่งพบว่ามีโครงสร้าง 6 ของโครโมโซมเป็นเส้นตรง และมีขนาดของจีโนมประมาณ 7.8-8.0 เมกะเบส ซึ่งประกอบเบสกวานีน และไซโทซีนในอัตราที่สูง ประมาณ 70-74 % (Williams, 1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ลักษณะพื้นฐานของเชื้อแอสโคไมซีต

2.2.1 แหล่งที่อยู่อาศัยของแอสโคไมซีต

แอสโคไมซีต ส่วนใหญ่มักพบในดิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของจุลินทรีย์ในดิน และโดยทั่วไปจะมีจำนวนมากกว่า 1 ล้านตัวต่อดิน 1 กรัม แอสโคไมซีตในดินเป็นแหล่งของไฮโซเลตที่อุดมสมบูรณ์มากที่สุด ซึ่งรวมถึงหลายชนิดที่ผลิตยาปฏิชีวนะและสารเมตาบอไลต์ที่มีประโยชน์อื่นๆ ดังนั้นดินจึงเป็นที่อยู่อาศัยที่มีการศึกษามากที่สุด แอสโคไมซีตในดินมีการศึกษาจำนวนมากเกี่ยวข้องกับการจัดจำแนกเชื้อที่แยกได้เป็นหลัก มีการแยกออกไปมากกว่า 20 สกุล โดยมี *Streptomyces* spp. จำนวนมากที่สุด (Goodfellow and Williams, 1983)

2.2.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา

แอสโคไมซีตจัดเป็นแบคทีเรียซึ่งปกติเซลล์จะติดสีแกรมบวก แต่ถ้าหากมีอายุมาก อาจผันแปรได้ แอสโคไมซีตมีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายเชื้อราแต่มีขนาดเล็กกว่า คือมีขนาดประมาณ 0.5 - 1.5 ไมโครเมตร แอสโคไมซีตส่วนใหญ่มีการสร้างเส้นใย 2 ชนิด คือเส้นใยที่ยึดเกาะกับอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยที่ยื่นไปในอากาศ (aerial mycelium) ใน *Streptomyces* spp. เส้นใยอาหารมีลักษณะต่างจากเส้นใยอากาศอย่างชัดเจน คือเส้นใยอากาศจะมีลักษณะของเส้นใยที่บางกว่าเส้นใยอาหาร เส้นใยที่ยื่นไปในอากาศมักจะมีสีเข้ม ที่ผนังหุ้มชั้นนอกปรากฏเป็นสีเทาเมื่อมีการสะท้อนแสง มีการแตกสาขา (branching) น้อยกว่าเส้นใยที่ยึดเกาะกับซับสเตรทและลักษณะของเส้นใยที่ยื่นไปในอากาศส่วนใหญ่จะไม่มีการเจริญแบบแทงลงไปใ้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการสร้างสปอร์และมีการแตกหักเป็นท่อน ๆ (fragmentation) ของเส้นใยและผนังของเส้นใยมีคุณสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic)

2.2.3 ลักษณะโครงสร้างเส้นใย

แอสโคไมซีตสามารถสร้างเส้นใย 2 ชนิดคือ เส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) เป็นเส้นใยที่เจริญเติบโตผ่านตัวกลางหรือบนผิวในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีหน้าที่ดูดซึมสารอาหาร โดยเส้นใยจะมีความหนาประมาณ 0.4 ถึง 1.2 ไมโครเมตร โดยปกติจะมีผนังกันและยึดยาวออกส่วนปลายเส้นใย และสามารถแตกกิ่งแขนงได้ (Qinyuan *et al.*, 2016) องค์ประกอบภายในเซลล์ของเส้นใย เช่นเดียวกันกับองค์ประกอบในเซลล์โพรคาริโอตทั่วไป คือ มีไซโทพลาสซึมที่มี fibrillar DNA มี ribosome และโครงสร้างขนาดเล็กภายในเซลล์หลายชนิด โดยเฉพาะโครงสร้างสะสมอาหาร เช่น โพลีฟอสเฟต ลิปิด หรือสารโพลีแซคคาไรด์ (สุจรรยา, 2556)

เส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) เป็นเส้นใยที่เจริญถัดจากการแตกแขนงของเส้นใยอาหาร บางครั้งพบว่าการแยกเส้นใยทั้ง 2 ชนิดทำได้ยาก สามารถสังเกตผ่านการส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ซึ่งจะมีลักษณะเรียวยาว หรือโปร่งแสงในพื้นหลังมืด เส้นใยอากาศจะมีลักษณะหยาบและพบการหักเหของแสง โดยทั่วไปจะพบว่าเส้นใยอากาศมีลักษณะโครงสร้างเป็นปลอกหุ้มเส้นใย ยกเว้นสกุล *Pseudonocardia* และ *Amycolata* (Warwick *et al.*, 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

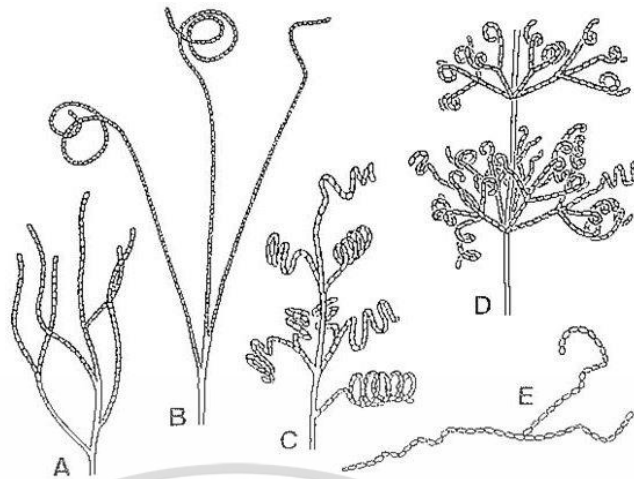
2.2.4 ลักษณะสายสปอร์

แอกติโนมัยสีทสามารถสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า conidiospore หรือ conidia และสปอร์ที่อยู่ในถุงห่อหุ้ม sporangium ที่เรียกว่า sporangiospore เส้นใยเหนือผิวอาหารมีการเจริญแตกกิ่งก้านยึดเกาะกันไปมา ทำให้เห็นโคโลนีมีลักษณะคล้ายแผ่นหนังและเจริญฝังแน่นลงในเนื้ออาหาร ส่วนโคโลนีที่มีลักษณะอ่อนนุ่มและร่วนเกิดจากเส้นใยแตกหัก โดยสายสปอร์เรียงตัวในลักษณะที่แตกต่างกันไป เช่น สายตรงกลีวยอยู่บนก้านชูสปอร์ (conidiophore) หรือโค้งงอ เป็นต้น ซึ่งรูปร่างของสปอร์ช่วยในการระบุและจัดจำแนกแอกติโนมัยสีท (พงศัรวี, 2558)

ลักษณะสปอร์ของสกุลต่างๆ :

- *Micromonospora, Salinispora, Thermomonospora, Saccharomonospora* และ *Promicromonospora* : สปอร์ไม่ได้เชื่อมต่อกันเป็นโซ่ แต่มีอยู่แยกกัน
- *Microbispora* : สร้างสปอร์เป็นคู่ตามยาว ซึ่งหมายความว่าสปอร์สองตัวเชื่อมต่อกันตามยาว
- *Actinomadura, Saccharopolyspora, Sporichthya* และ *Nocardia* spp. บางชนิด : สกุลเหล่านี้มีสายสปอร์สั้น แสดงว่าสปอร์เชื่อมต่อกันเป็นสายโซ่ที่ค่อนข้างเล็ก
- สายพินธุ์ *Frankia* : ผลิต sporangia ซึ่งโดยพื้นฐานแล้วเป็นถุงสปอร์ sporangia มีสปอร์หลายตัวภายในโครงสร้างเดียว
- *Streptomyces, Nocardioides, Kitasatospora, Streptoverticillium* และ *Nocardia* spp. บางชนิด : ผลิตสปอร์เป็นสายยาวมาก โดยบางชนิดมีสปอร์มากถึง 100 สปอร์ในสายโซ่เดียว ภายในสกุล *Streptomyces* สายสปอร์สามารถแสดงลักษณะต่าง ๆ ดังนี้:
 Rectiflexibiles : สายโซ่สปอร์ในลักษณะตรงหรือโค้งงอเล็กน้อยอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม
 Retinaculiaperti : สายโซ่จะเป็นห่วง (hooks) แบบห่วงเปิด แบบสั้นหรือม้วนเป็นวงกลม ประมาณ 1-3 วง
 Spira : สายโซ่แบบเกลียว แบ่งออกเป็น 2 ชนิด แบบเปิดเกลียวยาวและขยายออก และแบบปิดเกลียวอัดกันแน่น
 Verticillati: สายโซ่ถูกจัดเรียงเป็นวงหรือกระจุก และมีการแตกกิ่ง
 ลักษณะเฉพาะของสปอร์มีความสำคัญต่อการจำแนกอนุกรมวิธานและการจำแนกประเภทแอกติโนมัยสีทที่แตกต่างกัน (Barka *et al.*, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 ลักษณะของสปอร์ในสกุล *Streptomyces* (Qinyuan et al., 2016)

(A) *Rectiflexibiles* type, (B) *Retinaculiaperti* type, (C) *Spira* type, (D) *Verticillati* type

(E) fragmenting branched aerial hyphae ของ *Nocardiopsis*

2.2.5 ลักษณะโคโลนี

โคโลนีของแอคติโนมัยซีทเกิดจากการรวมกันของกลุ่มเส้นใย โคโลนีของแอคติโนมัยซีทต่างจากโคโลนีของแบคทีเรียเนื่องจากโคโลนีของแบคทีเรียเกิดจากเซลล์เดี่ยวหรือกลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะเหมือนกัน แต่โคโลนีของแอคติโนมัยซีทเกิดจากการรวมกันของเส้นใยเป็นกลุ่มเส้นใยที่มีความหนาแน่น การเจริญของโคโลนีเริ่มจากการที่หัวเชื้อเจริญในปริมาณที่พอเหมาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อหัวเชื้อ อาจมาจากสปอร์เดี่ยว อับสปอร์ ส่วนที่แตกหักของเส้นใยหรือจากส่วนของโคโลนีที่มีอายุมาก และจะพัฒนาเป็นเส้นใยอาหารเมื่อเส้นใยอาหารเจริญเต็มที่ในแนวตั้งทางผ่านอาหารขึ้นมาเป็นเส้นใยอากาศและจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนี เช่นสร้างสปอร์เส้นใยจะเริ่มแบ่งตัวเริ่มจากการสร้างผนังกันภายใน โดยทั่วไปเส้นใยมีผนังกันชั้นเดียวเพื่อความคงตัวและสร้างเป็นเส้นใยแข็ง ความแตกต่างของเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศจึงนำมาใช้เป็นหลักในการแยกชนิดของโคโลนี เช่น *Streptomyces* มีทั้งเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศเป็นโครงสร้างหลักของโคโลนี แต่ใน *Micromonospora* และ *Actinoplanes* ไม่มีเส้นใยอากาศ นอกจากนี้ยังพบว่า *Sporichthya* จะมีวงจรชีวิตที่สมบูรณ์เมื่อมีการสร้างเส้นใยอากาศ

โคโลนีของแอคติโนมัยซีทอาจฟู (Raised) หรือเรียบแบน (Flat) บางครั้งปกคลุมด้วยชั้นมีลักษณะคล้ายหนัง (Leather) ลักษณะอาจมีตั้งแต่นุ่มมากเหนียวจนถึงแข็งมาก จะพบสีของโคโลนี เช่น ขาว เหลือง ส้ม ชมพู แดง ม่วงฟ้า เขียว น้ำตาล และดำ พื้นผิวของโคโลนีมีลักษณะเรียบ (Smooth) นูน (Ridged) ขรุขระ (Rough) เป็นรอยย่น (Wrinkled) เป็นเม็ดเล็ก (Granular) เป็นผง (Powder) หรือเป็นเกล็ด (Squamous) ขนาดของโคโลนีขึ้นอยู่กับ สปีชีส์ อายุ และสภาวะในการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแอกติโนมัยสีท

โดยทั่วไปพบได้ 2 แบบ คือ แบบ mycelium fragmentation และแบบ sporulation ในพวก *Streptomyces* sp. จะมีการสร้างเซลล์ที่มีลักษณะพิเศษตามความยาว aerial conidia เกิดจากการขยายตัวของเซลล์และมีผนังหนาขึ้นเรียกว่าคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) หรือ อาร์โทรสปอร์ (arthrospore) มักพบแบบเดี่ยว ๆ (single spore) หรือต่อกันเป็นสายโซ่ (chain) ในพวก actinoplanes arthrospore สามารถสร้างสปอร์ได้ 2 แบบ คือ สปอร์แบบมีแฟลกเจลลา (flagella) เรียกว่า ซูสปอร์ (zoospore) ที่สามารถเคลื่อนที่ได้และสร้างสปอร์แบบ *Streptomyces* type คือสร้างอาร์โทรสปอร์ (arthrospore) บนแอเรียลไมซีเลียม (aerial mycelium) ในการสร้าง สปอร์แบบนี้มักขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่เชื้อเจริญอยู่ เชื้อ *Kitasatoa* spp. และ *Pilima* spp. มักพบในสปอร์ที่มีการเคลื่อนที่ได้ภายใน vesicle และแบบเคลื่อนที่ไม่ได้มีลักษณะต่อกันเป็นสายโซ่ ใน *Micromonospora* spp. สร้างสปอร์แบบคลาไมโดสปอร์ เป็นคู่ที่ตำแหน่งปลายเส้นใยบริเวณ อินเทอร์มินเนต (interminate) ลักษณะการสร้างสปอร์ของแอกติโนมัยสีทสามารถแบ่งออกได้ 2 แบบคือ

1. การสร้างที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ (endogenous formation) เป็นสปอร์ที่มีคุณสมบัติ ทน ความร้อนได้ดี อยู่ภายในไซโตพลาซึม (cytoplasm) ของเส้นใยเดิม (parent hyphae) พบในพวกแอกติโนมัยสีทที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic actinomycetes) เช่น *Thermoactinomyces* sp. และ *Actinobifida* sp.
2. การสร้างที่เกิดขึ้นภายนอกเซลล์ (exogenous formation) แอกติโนมัยสีทส่วนใหญ่ สร้างสปอร์แบบเกิดภายนอกเซลล์ (exogenous) โดยเฉพาะ *Streptomyces* spp.

2.4 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

แอกติโนมัยสีทสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ยาปฏิชีวนะต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และยาด้านไวรัสที่สำคัญทางการแพทย์ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพส่วนใหญ่ถูกสร้างขึ้นโดยแอกติโนมัยสีท สกุล *Streptomyces* หลายชนิด ได้แก่ penicillin-N และ ampicillin มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเพปติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (Goodfellow et al., 1988) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สร้างโดยจุลินทรีย์ ที่มีสารต่อต้านจุลชีพประมาณ 8,000 ชนิด มาจาก *Streptomyces* 45.6% แอกติโนมัยสีทสายพันธุ์หายาก 16% จากเชื้อรา 21.5% และจากแบคทีเรียอื่นๆอีก 16.9% (Lazzarini et al., 2000) จากการศึกษา *Streptomyces* ที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช พบว่า *Streptoverticillium albireticculi* มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อราก่อโรคที่อยู่ในดิน เช่น *Zhizoctonia solani*, *Phytophthora cinnamomi* และ *Fusarium oxysporum* เป็นต้น (Park et al., 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

2.5.1 การผลิตฮอร์โมนพืช (Indole-3-acetic acid: IAA)

Indole-3-acetic acid (IAA) เป็นสารที่พืชสร้างขึ้นเอง (ลิลลี่ และคณะ, 2549) ผลิตในเมล็ดพืชและใบอ่อนของพืช IAA ในจุลินทรีย์ มีอิทธิพลต่อพืชอย่างมาก มีส่วนช่วยในการปรับปรุงการดูดซึมธาตุอาหารให้แก่รากพืช ทำให้รากยาว และมีการเพิ่มจำนวนของขนราก มากขึ้น (Panigraha *et al.*, 2020) ดังนั้นแบคทีเรียที่สามารถผลิตฮอร์โมนให้แก่พืชได้ จึงมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช

2.5.2 การผลิตแอมโมเนีย (Ammonia)

แอมโมเนีย (NH_4^+) เป็นธาตุไนโตรเจนรูปแบบหนึ่ง ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักของพืช พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดี โดยแหล่งของแอมโมเนียในดิน มาจากการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ โดยจุลินทรีย์ที่มีสถานะอยู่ร่วมกับพืชบางชนิด (Symbiotic nitrogen fixation) หรือกลุ่มที่อยู่อย่างอิสระในดิน (non-Symbiotic nitrogen fixation) (พรเทพ และคณะ, 2561)

2.5.3 การละลายสารประกอบฟอสเฟต (Phosphate solubilization)

แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Phosphate solubilization bacteria ; PSB) มีบทบาทสำคัญในการช่วยเพิ่มปริมาณธาตุอาหารฟอสฟอรัสให้กับพืช และยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วยการสร้างกรดอินทรีย์ และฮอร์โมนบางชนิด และแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับพืช (ทัย และ อภิญญา, 2565) ซึ่งฟอสฟอรัสในดินส่วนใหญ่อยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์ และอนินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำ การที่แบคทีเรียสามารถไฮโดรไลซ์สารประกอบฟอสฟอรัส ให้อยู่ในรูปฟอสเฟตที่สามารถละลายน้ำได้ ทำให้พืชสามารถดูดซึมเพื่อไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตได้ (Kalayu, 2019)

2.5.4 การผลิตสารซิดอร์โรเฟอร์ (Siderophores)

ธาตุเหล็กเป็นธาตุที่มีความสำคัญสำหรับกิจกรรมเมแทบอลิซึม และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แต่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำต่ำ จุลินทรีย์จึงนำไปใช้ได้ยาก ซิดอร์โรเฟอร์เป็นสารที่มีความจำเพาะต่อเฟอริกไอออน ทำหน้าที่เป็น สารคีเลเตอร์ (Chelator) ผลิตได้จากจุลินทรีย์บางชนิด เป็นส่วนช่วยนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ในสถานะแควดล่อมที่ขาดแคลนธาตุเหล็ก ทำให้สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อได้ดี (มานิตา และ วสุ, 2557)

2.6 มะเขือเทศ

มะเขือเทศ เป็นพืชล้มลุกในตระกูลพริก มะเขือ ติดผลเป็นพวงหรือช่อยาว ผลเล็ก เปลือกบาง เนื้อหนา แน่น กรอบ และมีเมล็ดน้อย ผลดิบจะมีสีเขียว และเมื่อสุกจะเปลี่ยนเป็นสีต่างๆขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (ณัฐกฤตา และคณะ, 2562) มะเขือเทศเป็นพืชที่นิยมปลูกกันอย่างมาก และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและอุตสาหกรรม จากสถิติการปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยประมาณปีละ 40,000 ไร่ มี

ผลผลิตประมาณ 140,000 ตันต่อปี ภายในประเทศไทยมะเขือเทศได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ มะเขือเทศสีม่วงและมะเขือเทศสีส้ม สำหรับการส่งออกเพื่อการค้า มีมูลค่าประมาณปีละ 95,000 ตัน และมะเขือเทศบริโภคปีละ 42,000 ตัน (สำนักงานมะเขือเทศและพริกไทย กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์) มะเขือเทศเป็นพืชที่นิยมปลูกกันอย่างมาก และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและอุตสาหกรรม จากสถิติการปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยประมาณปีละ 40,000 ไร่ มีผลผลิตประมาณ 140,000 ตันต่อปี ภายในประเทศไทยมะเขือเทศได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ มะเขือเทศสีม่วงและมะเขือเทศสีส้ม สำหรับการส่งออกเพื่อการค้า มีมูลค่าประมาณปีละ 95,000 ตัน และมะเขือเทศบริโภคปีละ 42,000 ตัน (สำนักงานมะเขือเทศและพริกไทย กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์) มะเขือเทศเป็นพืชที่นิยมปลูกกันอย่างมาก และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและอุตสาหกรรม จากสถิติการปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยประมาณปีละ 40,000 ไร่ มีผลผลิตประมาณ 140,000 ตันต่อปี ภายในประเทศไทยมะเขือเทศได้แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ มะเขือเทศสีม่วงและมะเขือเทศสีส้ม สำหรับการส่งออกเพื่อการค้า มีมูลค่าประมาณปีละ 95,000 ตัน และมะเขือเทศบริโภคปีละ 42,000 ตัน (สำนักงานมะเขือเทศและพริกไทย กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์)

เศรษฐกิจการเกษตร, 2565) โดยทั่วไปมะเขือเทศเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 22 - 26 องศาเซลเซียส (Sato *et al.*, 2000) แต่ในบางฤดูจะมีอุณหภูมิที่ต่างไป โดยเฉพาะฤดูร้อนอุณหภูมิที่สูงขึ้น โดยอุณหภูมิจะสูงสุดในเดือนเมษายน ซึ่งสามารถมีอุณหภูมิสูงกว่า 35 - 38 องศาเซลเซียส (กรุง, 2545) มะเขือเทศนั้นปลูกได้ในดินแทบทุกชนิด แต่ดินที่เหมาะสมที่สุดคือ ดินร่วน ที่มีอินทรีย์วัตถุสูง และเป็นดินที่ระบายน้ำได้ดี มีความชื้นมนดินที่เหมาะสม และยังต้องการแสงแดดเต็มที่ตลอดทั้งวัน (แคทริญา, 2560)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะเขือเทศ

ชื่อสามัญ : Tomato

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Lycopersicon esculentum* Mill

วงศ์ : *Solanaceae*

เมล็ด รูปค่อนข้างกลมแบนสีน้ำตาลอ่อน หรือแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ขนาดประมาณ 0.2 - 0.5 เซนติเมตร มีขนสั้น ๆ โดยรอบมีเป็นจำนวนมาก

ราก มะเขือเทศมีระบบราก เป็นแบบรากแก้ว มีรากแขนงเจริญไปตามแนวนอน ประมาณ 60 เซนติเมตร สามารถเจริญในแนวตั้งได้ลึก ประมาณ 100 - 120 เซนติเมตร และมีรากทั่ว ๆ ลำต้นที่สัมผัสกับผิวดิน

ใบ เป็นใบประกอบ ออกสลับกัน มีขนาดไม่เท่ากัน เช่น ใบเล็กเรียวยาว ใบกลมใหญ่ ปลายใบแหลม และขอบใบเป็นหยักลึกคล้ายฟันเลื่อย เป็นต้น มีขนอ่อน ๆ บริเวณซอกใบ ก้านใบมีความยาวประมาณ 3 - 5 เซนติเมตร ใบย่อยมีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยม ขนาดประมาณ 5 - 9 เซนติเมตร แผ่นใบขรุขระเล็กน้อย มีขนนุ่มปกคลุมสีเขียวเข้ม

ลำต้น มีลำต้นตั้งตรง ลักษณะเป็นไม้พุ่มเตี้ยกิ่งเลื้อย มีความสูงประมาณ 50 - 150 เซนติเมตร มีลักษณะสีเขียว มีขนนุ่มปกคลุม และมีเมือกเหนียว

ดอก ลักษณะเป็นช่อบนลำต้น ระหว่างช่อดอกมีกลีบเลี้ยงสีเขียวประมาณ 5 - 10 กลีบ มีกลีบดอก 5 กลีบ สีเหลือง รูปร่างลักษณะคล้ายดอก เชื่อมติดกันที่บริเวณโคน เมื่อดอกบานกลีบเลี้ยง และกลีบดอกจะโค้งออก ชั้นแรกกลีบเลี้ยงจะสั้นกว่ากลีบดอก แต่จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อมีเกสรตัวผู้ 5 อัน ประกอบด้วยอับเรณูใหญ่ และก้านอับเรณูสั้น อยู่รอบเกสรตัวเมีย

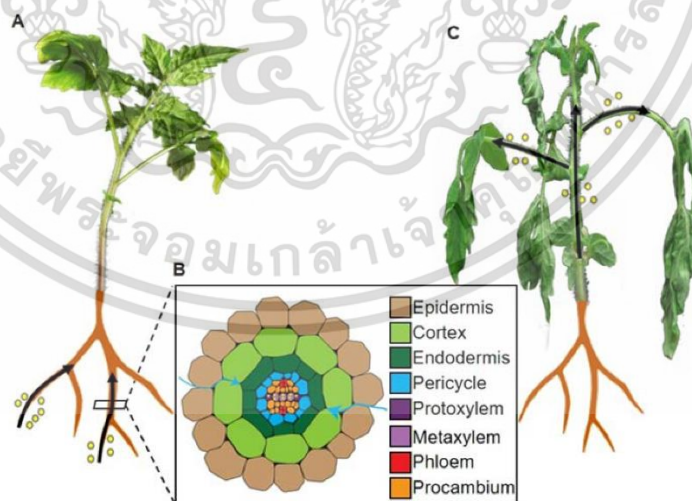
ผล เป็นผลเดี่ยว รูปทรงของรูปผล มีตั้งแต่รูปทรงกลม จนถึง ทรงรี มีขนาดรูปร่าง ต่างกันไปตามสายพันธุ์ ซึ่งผลจะมีขนาดประมาณ 3 - 10 เซนติเมตร สีของผลจะขึ้นอยู่กับเมล็ดสี 2 ชนิด คือ ไลโคปีน (Lycopene) ซึ่งทำให้เกิดสีแดง และแคโรทีน (Carotene) ทำให้เกิดสีเหลือง แดง ส้ม และสีน้ำตาลอ่อน เนื้อภายในฉ่ำด้วยน้ำ มีรสเปรี้ยว ภายในมีเมล็ดเรียงตัวเป็นช่อง ๆ และมีเมือกวนห่อหุ้มเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 จุลินทรีย์ก่อโรคในมะเขือเทศ

2.7.1 โรคเหี่ยวเหี่ยวในมะเขือเทศ

โรคเหี่ยวเหี่ยว (bacterial wilt) เกิดจากแบคทีเรียก่อโรคในดิน *Ralstonia Solanacearum* ชื่อเดิม *Pseudomonas solanacearum* พบระบาดในเขตอบอุ่นและเขตร้อน ระบาดมากในเขตร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 30-35 องศาเซลเซียส และดินมีความชื้นสูง เป็นโรคร้ายแรงในตระกูล *Solanaceae* ได้แก่ มะเขือเทศ มันฝรั่ง พริกไทย ชิง มะเขือยาว (Mamphogoro *et al.*, 2020) เกิดจากเชื้อก่อโรค *R. solanacearum* โดยเข้าสู่พืชผ่านทางบาดแผลปลายราก และจุดที่เกิดรากแขนงเป็นจุดทำลาย จากนั้นเข้าไปผ่านเยื่อหุ้มราก (root cortex) และเข้าไปถึงระบบภายใน (Digonnet *et al.*, 2012) ดังแสดงในรูปที่ การติดเชื้อจะแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว (Turner *et al.*, 2009) แบคทีเรียจะเพิ่มจำนวนอย่างหนาแน่นในท่อลำเลียงน้ำ (xylem) และผลิตสาร exopolysaccharides (EPSs) จำนวนมาก ส่งผลให้การไหลของน้ำลดลง นำไปสู่การเหี่ยวเฉาของพืช (Genin และ Denny, 2012) พืชที่ติดเชื้อจะมีใบเหลือง แคระแกรน เหี่ยวเฉา และบ่อยครั้งตายอย่างรวดเร็ว อาการยังรวมถึงผิวใบสีน้ำตาล (Yahiaoui *et al.*, 2016) พืชที่มีอายุมากกว่าจะเหี่ยวเฉาก่อนใบอ่อนที่สุดหรือเหี่ยวเฉาและแคระแกรนด้านเดียวและในที่สุดพืชก็เหี่ยวเฉาอย่างถาวร (Mandal *et al.*, 2014) อุณหภูมิและความชื้นในดินส่งผลต่อการอยู่รอดของ *R. solanacearum* ในพืชหลายชนิด (ศาสนาอิสลาม และโตโยต้า พืชที่ติดเชื้อจะถึงจุดสิ้นสุดด้วยการตายของพืช (Hikichi *et al.*, 2017) โรคเหี่ยวเหี่ยวเป็นโรคที่ทำลายล้างและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากที่สุด (Wu *et al.*, 2023) นำมาสู่การสูญเสียผลผลิตประมาณ 26% ของการผลิตผลไม้สดและการสูญเสียผลผลิตอาจบรรลุมากถึง 91% ภายใต้อุบัติการณ์ของโรคร้ายแรง (Artal *et al.*, 2013)



รูปที่ 2.2 การเข้าทำลายโดยแบคทีเรียก่อโรค *Ralstonia solanacearum* (Xue *et al.*, 2020)

(A) ระยะแรก แบคทีเรียเข้าไปในรากผ่านบาดแผล (B) ระยะที่สองของการเข้าทำลาย แบคทีเรียจะขยายตัวอย่างหนาแน่นในช่องว่างระหว่างเซลล์ (ลูกศรสีน้ำเงิน) และทำให้เกิดพลาสมิเดซิสของเซลล์ผิวหนึ่งไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั้นนอก (C) ในชั้นตอนสุดท้ายของการเข้าทำลายของแบคทีเรีย เคลื่อนที่ไปทั่วผ่านท่อลำเลียงน้ำ (Xylem) ทำให้เกิดการอุดตันของระบบท่อและแสดงอาการเหี่ยว การเคลื่อนไหวของแบคทีเรียจะแสดงเป็นลูกศรสีดำ

2.7.1.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*

แบคทีเรีย *R. solanacearum* หรือ *Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith จัดอยู่ใน Kingdom: *Prokaryotae*, Class: *Bacteria*, Order: *Pseudomonadales*, Family: *Pseudomonadaceae*, Genus: *Ralstonia* (Cook, 1994) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เซลล์ย้อมติดสีแดง (gram-negative) รูปร่างแท่ง (rod-shaped) ท่อนสั้น (short) หัวท้ายมน ขนาด $0.5 - 0.7 \times 1.5 - 2.0$ ไมโครเมตร (Razia *et al.*, 2021) สามารถเคลื่อนที่โดยหาง แบบ polar flagella 1 – 4 เส้นติดอยู่ที่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ (ณัฐธิดา และคณะ, 2555) เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ก่อโรครุนแรง (virulent) บนอาหาร Triphenyl tetrazolium chloride agar (TZC) จะพบโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียมีลักษณะกลมรี สีขาวขุ่น ขอบ ไม่นั่นอน ตรงกลางมีจุดสีชมพูอ่อนถึงแดง ในขณะที่สายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรครุนแรง (virulent) จะมีลักษณะ กลม ขอบเรียบสีแดงเข้ม และมีขอบใสแคบ (ชลิดา และคณะ, 2547)

2.7.2 โรคใบจุดมะเขือเทศ

โรคใบจุดมะเขือเทศ (Bacterial leaf spot) สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Xanthomonas* 4 สายพันธุ์ (Potnis *et al.*, 2015) โดย *X. perforans* เป็นสายพันธุ์ที่พบมากที่สุด ในมะเขือเทศฟลอริดา โรคใบจุดที่มะเขือเทศมีลักษณะเป็นรอยเนื้อตายบนใบ ลำต้น กลีบดอก ดอก และผล (Jones *et al.*, 1991) ในช่วงเริ่มแรกของการพัฒนาอาการ รอยโรคที่มีน้ำเป็นวงกลมจะปรากฏขึ้น ซึ่งต่อมาจะแห้งและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเป็นสีดำ โดยมีลักษณะเปียกถึงมันเยิ้ม (Vallad *et al.*, 2004) บางครั้งอาจมีรัศมีอยู่รอบๆ ส่งผลให้เกิดเนื้อร้ายอย่างกว้างขวางและมีลักษณะที่ไม่สมบูรณ์ รอยโรคอาจมีลักษณะเปียกน้ำ เช่น มีฝนตกและมีน้ำค้าง ในกรณีของ *X. perforans* รอยโรคบนใบมักจะปรากฏเป็นรูปวงเมื่อสภาพแวดล้อมเอื้อต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว (Stall *et al.*, 2009) รอยโรคที่เกิดจาก *X. gardneri* มีลักษณะเป็นน้ำเปียกโชก บนผลไม้ รอยโรคจะมีลักษณะยกขึ้นและเป็นสะเก็ด *Xanthomonas euvesicatoria* และ *X. vesicatoria* มีความเกี่ยวข้องกับรอยโรคผลไม้ เป็นเวลาหลายปี แบคทีเรียอาจปรากฏขึ้นในทุกพื้นที่ที่ปลูกมะเขือเทศ มักพบในบริเวณที่อบอุ่นและชื้นและในเรือนกระจก โรคนี้มีลักษณะเป็นปื้นกลมเล็กๆ เปียกน้ำ ซึ่งมีทั้งสีน้ำตาลเข้มและสีดำ โดยมีรัศมีสีเหลืองเป็นตัวเลือกบนใบ โรคจุดที่เกิดจากแบคทีเรียอาจก่อให้เกิดต้นไม้ตายได้และอาจส่งผลให้ต้นมะเขือเทศไม่สามารถขายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(A)

(B)

รูปที่ 2.3 อาการของโรคจุดแบคทีเรียบนใบและผล (Potnis *et al.*, 2015)

อาการจุดแบคทีเรียบนใบ (A) และผล (B) ของมะเขือเทศ บนใบพบรอยโรคสีน้ำตาลเข้มถึงดำ และมีรอยไหม้เป็นเนื้อตาย รอยโรครุกรณะรุนแรงพบได้บนใบมะเขือเทศที่ติดเชื้อ *Xanthomonas perforans* มีรอยตกสะเก็ดและรอยนูนบนผล

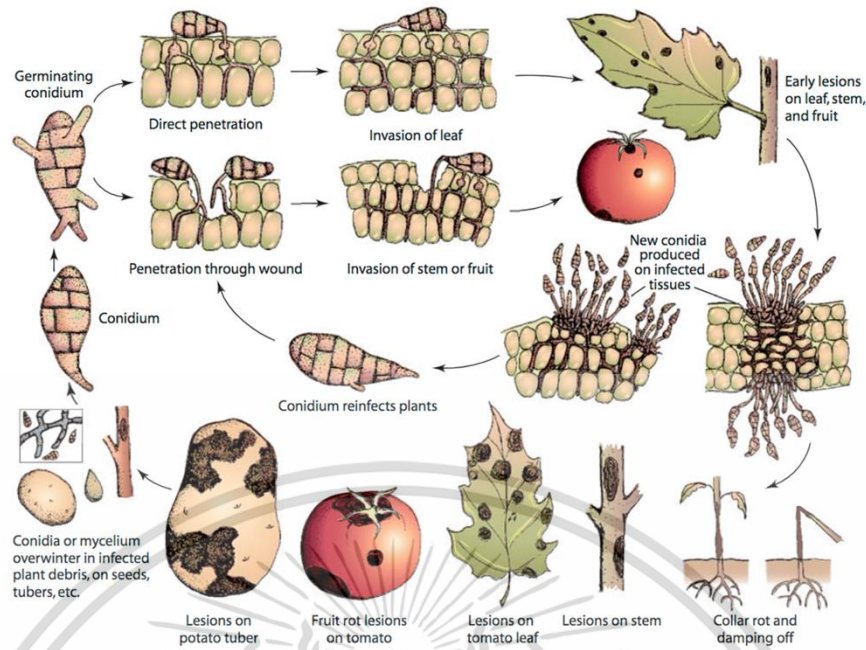
2.7.3 โรคใบไหม้

โรคใบไหม้ในระยะเริ่มแรกในมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria solani* เป็นหนึ่งในโรคที่ร้ายแรงที่สุดของมะเขือเทศ ซึ่งนำไปสู่ความสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างหนักถึง 70–80% ของผลผลิต (Adhikari *et al.*, 2017) อาการของโรค *A. solani* ปรากฏในใบ (โรคใบไหม้หรือโรคใบไหม้ระยะแรก) ลำต้น (คอเน่าหรือรอยโรคลำต้น) และผล (ผลไม่เน่า) ของต้นมะเขือเทศ (Barksdale and Stoner, 1977) โรคใบไหม้เป็นระยะที่สำคัญที่สุดของโรค มีลักษณะเป็นรอยโรคสีเข้ม เล็ก เนื้อตาย รวมตัวกัน และมีศูนย์กลางร่วมกัน ทำให้มีลักษณะคล้ายเป่าหมายบนพื้นผิวใบ รอยโรคล้อมรอบด้วยวงแหวนสีเหลือง (Sherf & MacNab, 1986) โรคนี้ปรากฏครั้งแรกบนใบที่มีอายุต่ำกว่าและเลื่อนขึ้นไปเมื่อต้นโตเต็มที่ (Rotem, 1994) ใบแก่จะอ่อนแอกว่าใบอ่อน เมื่อโรคดำเนินไป การผลัดใบอย่างหนักจะเกิดขึ้น ทำให้อัตราการหายใจเพิ่มขึ้นและอัตราการสังเคราะห์แสงลดลง การร่วงหล่นยังทำให้ผลไม้โดนแสงแดด ทำให้เกิดผิวไหม้แดด สิ่งนี้นำไปสู่คุณภาพผลไม้ที่ไม่ดีและการสูญเสียผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ (Foolad *et al.*, 2008)

Collar rot มีลักษณะเฉพาะคือรอยโรคสีเข้มและบวมบนก้าน ซึ่งต่อมาจะขยายตัวจนกลายเป็นรอยโรคคล้ายเลนส์และมีวงแหวนศูนย์กลางคล้ายกับบนใบ รอยโรคที่ระดับพื้นดินจะพันรอบลำต้นของต้นอ่อน ทำลายระบบหลอดเลือดและสร้าง "collars" (Foolad *et al.*, 2008) คอเน่ายังทำหน้าที่เป็นแหล่งของหัวเชื้อด้วย

การติดเชือบนผลไม้ทำให้เกิดแผลสีเข้ม บวม เป็นหนังและเป็นสีม่วงที่ปลายก้าน รอยโรคเหล่านี้จะขยายจนมีขนาดใหญ่และขยายลึกเข้าไปในเนื้อผลไม้ ผลไม้ที่ติดเชื้อส่วนใหญ่จะร่วงก่อนเวลาอันควร และผลไม้ที่โตเต็มที่ก็ไม่มีขายในตลาด (Chaerani & Voorrips, 2006)

เอกสารนี้เผยแพร่โดยกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์ เพื่อประโยชน์ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 วงจรโรคใบไหม้ระยะแรกที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria solani* ในมะเขือเทศ (Agrios, 2005)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Actinomycetes ได้รับความสนใจอย่างมากในการเกษตรในฐานะสารควบคุมทางชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ *Streptomyces* เป็นแบคทีเรียในดินที่เป็นประโยชน์ต่อพืช และถือเป็นตัวเลือกที่มีแนวโน้มว่าจะรวมไว้ในปุ๋ยชีวภาพ ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น การตรึงไนโตรเจน การละลายฟอสฟอรัส และการผลิตไฟโตฮอร์โมน (Gopalakrishnan *et al.*, 2011)

(Zheng *et al.*, 2019) ได้รายงานว่า *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ FJAT-31547 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียในมะเขือเทศได้สูง ซึ่งบ่งชี้ว่าอาจเป็นสารควบคุมทางชีวภาพที่สำคัญในการป้องกันโรคที่เกิดจากดินในมะเขือเทศ

ในปี ค.ศ. 1896 มีการอธิบายสาเหตุ เชื้อโรคสามารถติดเชื้อพืชได้มากกว่า 450 ชนิดใน 54 ตระกูลและทำลายล้างมะเขือเทศโดยเฉพาะ ซึ่งนำไปสู่การสูญเสียทางการเกษตรครั้งใหญ่ในเขตร้อนและเขตอุณหภูมิอบอุ่น (Wicker *et al.*, 2007) จนถึงขณะนี้ยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการจัดการสำหรับโรคนี้ (Namisy *et al.*, 2019)

Actinomycete สายพันธุ์ LD120^T ถูกแยกออกจากมอส ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเคมี ร่วมกับการวิเคราะห์ทางสรีรวิทยาชี้ให้เห็นว่าสายพันธุ์ LD120^T อยู่ในสกุล *Streptomyces* จากการวิเคราะห์อนุกรมวิธาน polyphasic แนะนำว่าสายพันธุ์ LD120^T แสดงถึงสายพันธุ์ใหม่ของสกุล *Streptomyces* ซึ่งชื่อ *S. physcomitrii* sp. nov. นอกจากนี้กิจกรรมต้านเชื้อแบคทีเรียของสายเอกสาร์นี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ LD120^T กับ *R. solanacearum* ในการทดลองและในต้นพืชได้รับการประเมินโดยชี้ให้เห็นว่ามีศักยภาพในการควบคุมแบคทีเรียเหี่ยวในมะเขือเทศ (Zhuang *et al.*, 2020)

การแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินบริเวณรอบรากของต้นมะเขือเทศในแปลงปลูกของสถานีเกษตรหลวงอินทนนท์และศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง สามารถแยกเชื้อได้จำนวน 126 ไอโซเลท เมื่อคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉียวของมะเขือเทศ ด้วยวิธี dual culture พบแอคติโนมัยซีทที่เป็นปฏิปักษ์ จำนวน 17 ไอโซเลท โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค คือ ไอโซเลท T- 11 ซึ่งมีความกว้างบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 16.50 มิลลิเมตร (อรอุมา และ เบญจวรรณ, 2559)

แอคติโนมัยซีทถูกแยกออกจากดินรอบรากมะเขือเทศ เชื้อทั้งหมดถูกคัดกรองความสามารถในการต่อต้าน *F. oxysporum* และ *R. solanacearum* โดยใช้วิธี Agar well method โดยสายพันธุ์ FJAT-31547 นี้มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและแบคทีเรียมากที่สุด และการทดลองในโรงเรือนสามารถลดอาการการเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศลดลง 80.59% สำหรับโรคเหี่ยวจากรา และ 76.92% สำหรับโรคเหี่ยวของแบคทีเรีย (Zheng *et al.*, 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ

2.4.1	กล้องจุลทรรศน์	Nikon, Japan
2.4.2	กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบสเตอริโอ	National, USA
2.4.3	เครื่องกวนสารละลายให้ความร้อน	Velp Scientifica, Italy
2.4.4	เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง	Mettler Toledo, Switzerland
2.4.5	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	Mettler Toledo, Switzerland
2.4.6	เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)	Rotina, UK
2.4.7	เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH Meter)	Horiba, Japan
2.4.8	เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer)	Ika, USA
2.4.9	เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)	Buchi Labortechnik, Switzerland
2.4.10	เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	Thermo Fisher Scientific, Finland
2.4.11	ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)	Bosstach, Australia
2.4.12	ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)	Genlab, UK
2.4.13	หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)	Tomy, USA

3.2 อุปกรณ์

3.2.1	กระจกปิดสไลด์	D.A.T. Scientific Co.,Ltd., Thailand
3.2.2	กระจกสไลด์	Sail Brand, China
3.2.3	กระดาษกรอง What Man No.1	Cytiva, China
3.2.4	กระบอกตวง ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร	Kartell, Italy
3.2.5	กรวยแยก (Separatory Funnel)	Pyrex®, France
3.2.6	ขวดบรรจุอาหาร 250, 500, 1000 มิลลิลิตร	Simax, Czech Republic
3.2.7	ขวดรูปชมพู่ 250 และ 1000 มิลลิลิตร	Simax, Czech Republic
3.2.8	จานเพาะเลี้ยง	Hycon, Thailand
3.2.9	บีกเกอร์ ขนาด 250, 1000 และ 2000 มิลลิลิตร	Simax, Czech Republic
3.2.10	มีดผ่าตัด	Paramount, India
3.2.11	ไม้พันสำลี	Longmed, Thailand
3.2.12	Forceps	Mira, Thailand
3.2.13	Microcentrifuge Tubes	Kirgen, China

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมี

3.3.1	Agar	Trade Mark, Thailand
3.3.2	Alcohol 70% และ Alcohol 95%	The Liquor Distillery Organization, Thailand
3.3.3	Cefotaxime	Claraxim, Thailand
3.3.4	Copper hydroxide	Funguran-OH, Thailand
3.3.5	Crystal violet	M&P IMPEX, Thailand
3.3.6	Decolorize	M&P IMPEX, Thailand
3.3.7	Dimethyl Sulfoxide	RCI Labscan, Thailand
3.3.8	Ethyl acetate	RCI Labscan, Thailand
3.3.9	Glucose	Univar, New Zealand
3.3.10	Glycerol	Kemaus, Australia
3.3.11	Gram Iodine	M&P IMPEX, Thailand
3.3.12	Immersion oil	Olympus, Japan
3.3.13	Lactophenol cotton blue	Himedia, India
3.3.14	Malt extract	BD, France
3.3.15	Methanol	J.T-Baker, Malaysia
3.3.16	Peptone	Himedia, India
3.3.17	Safranin O	M&P IMPEX, Thailand
3.3.18	Sodium chloride (NaCl)	Supelco, Germany
3.3.19	Sodium hypochlorite (NaClO)	Supelco, Germany
3.3.20	Sodium hydroxide (NaOH)	Supelco, Germany
3.3.21	2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride	SIGMA-ALDRICH, Austria
3.3.22	Yeast extract	KLBD, Thailand

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.4.1 International *Streptomyces* Project No.2 (ISP2)
- 3.4.2 Nutrient agar (NA)
- 3.4.3 Tetra zolium chloride (TZC)
- 3.4.4 Triphenyl tetrazolium chloride (TTC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 เชื้อทดสอบ

3.5.1 Actinomycetes แยกเชื้อจากดินนาข้าวจำนวน 15 ไอโซเลต

3.5.1.1 ดินนาข้าวอินทรีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 11 ไอโซเลต (สมัญญา และ อนุธิดา, 2565)

3.5.1.2 ดินนาข้าว จังหวัดปทุมธานี จำนวน 4 ไอโซเลต (กิ่งมณี และอรอนงค์, 2565)

3.5.2 *Ralstonia solanacearum*

3.5.3 *Bacillus subtilis* ได้รับอนุเคราะห์จาก วว.

3.6 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยสีท

ตรวจสอบลักษณะการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยสีทจาก 2 แหล่งที่คัดแยกได้จากดินนาข้าวอินทรีย์จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 11 ไอโซเลต (สมัญญา และอนุธิดา, 2565) และดินนาข้าว จังหวัดปทุมธานี จำนวน 4 ไอโซเลต (กิ่งมณี และอรอนงค์, 2565) นำไป Cross Streak ลงบนอาหาร International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) บ่มจนเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 7 – 14 วัน ตรวจสอบลักษณะและบันทึก ลักษณะสีของโคโลนี (colonial morphology) สีเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) สีเส้นใยใต้อาหาร (Substrate mycelium) ลักษณะสปอร์ (Spore chain) และสีรงควัตถุ (Melanoid pigments) ที่ละลายน้ำเทียบกับกระดาศสีมาตรฐาน the ISCC-NBS System (Kelly, 1964) และดูลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยวิธี slide culture โดยตัดอาหาร ISP2 agar ให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมมี ขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร นำมาวางบนแผ่นสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และใช้เข็มเขี่ยเชื้อแอกติโนมัยสีทมาแตะไว้บริเวณด้านข้าง ทั้งสี่ด้านของชิ้นอาหาร ปิดทับด้วยแผ่นกระจกสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ วางแผ่นสไลด์ไว้ในจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีสำลีเปียกด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อให้มีความชื้น บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน หรือจนกว่าเชื้อจะมีการสร้างสปอร์ นำแผ่นกระจกสไลด์ที่มีสปอร์ย้อมด้วย Lactophenol cotton blue (Prakash & Bhargava, 2016)

3.7 ขั้นตอนการแยกเชื้อสาเหตุโรคพืช

3.7.1 การคัดแยกเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากหัวมันฝรั่ง

นำหัวมันฝรั่งที่มีลักษณะอาการเข้าเป็นสีน้ำตาล ล้างคราบดินบนมันฝรั่งให้สะอาด จากนั้นผ่าหัวมันฝรั่ง โดยสังเกตบริเวณท่อลำเลียงของมันฝรั่งที่เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล จากนั้นใช้ใบมีดผ่าตัดทำการตัดชิ้นส่วนบริเวณท่อลำเลียง แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Triphenyl tetrazolium chloride broth (TTC) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Mohamed *et al.*, 2019) จากนั้นทำการแยกเชื้อจนบริสุทธิ์ นำตัวอย่าง มา Cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tetra zolium chloride agar (TZC) บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง ตรวจสอบและบันทึก ลักษณะโคโลนีที่ขึ้นบนผิวหน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตีพิมพ์ลงนิตยสาร และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งทุกกรณีไป

จัดเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรง (virulent strain) และ โคโลนีสีแดงเข้ม ไม่มีสารเมือก รอบๆ โคโลนี จัดเป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรง (avirulent strain) (Kelman, 1954) คัดเลือกโคโลนีที่จัดเป็นสายพันธุ์ก่อโรครุนแรงแยกเชื้อจนบริสุทธิ์และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.7.2 ศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของเชื้อก่อโรค

นำโคโลนีที่มีลักษณะ ในข้อ 3.7.1 มาย้อมสีด้วยวิธี Gram stain จากนั้นนำไปศึกษาลักษณะพื้นฐาน วิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยลักษณะใต้กล้องของเชื้อ *R. solanacearum* เซลล์ย้อมติดสีแดง (gram-negative) รูปร่างแท่ง (rod-shaped) ท่อนสั้น (short) ขนาด $0.5 - 0.7 \times 1.5 - 2.0$ ไมโครเมตร (Razia *et al.*, 2021) นำเชื้อที่ได้เก็บรักษาใน 20% Glycerol ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บเป็นหัวเชื้อตั้งต้น ใช้ทดสอบในการทดลองต่อไป

3.8 การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

3.8.1 การศึกษาการวัดการเจริญของ *Ralstonia solanacearum*

นำเชื้อ *R. solanacearum* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC agar อายุ 48 ชั่วโมง ใช้หว่านเชื้อและโคโลนีมาใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TTC broth ปริมาตร 25 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณเชื้อโดยการเทหัวเชื้อ (Inoculum) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TTC broth ปริมาตร 450 มิลลิลิตร (หัวเชื้อเริ่มต้นคิดเป็น 5%) นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที วัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และนับจำนวนเซลล์ด้วย Haemocytometer ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0, 2, 16 ทุก 2 ชั่วโมงจนครบระยะเวลา 48 ชั่วโมง (Chen *et al.*, 2016) นำไปสร้างกราฟการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum*

3.8.2 การศึกษาความเข้มข้นของ *Ralstonia solanacearum* ที่ 10^8 (CFU/ml)

เชื้อเชื้อ *R. solanacearum* เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TTC broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตรนำไปบ่มในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ปรับความขุ่นให้ได้ค่าดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.3 (Singh *et al.*, 2018) ทำ serials dilution จนถึง 10^{-7} ปิเปิดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10^{-4} 10^{-5} 10^{-6} และ 10^{-7} ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC agar ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร Spread plate จนผิวหน้าอาหารแห้ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี และนำไปคำนวณหาค่า CFU/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9 การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคในระยะเมล็ดของมะเขือเทศ

3.9.1 การทดสอบความสามารถของเชื้อก่อโรคในเมล็ดมะเขือเทศ

นำเชื้อ *R. solanacearum* ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วจาก ข้อ 3.7.2 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TTC broth ปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำไปบ่มในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นเชื้อเท่ากับ 10^8 (CFU/ml) จากนั้นนำเมล็ดมะเขือเทศทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ , เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์พวงชมพู และเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 สายพันธุ์ละ 15 เมล็ด จำนวน 3 ซ้ำ แช่ในสารแขวนลอยเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ แต่ละสายพันธุ์มาเรียงบนกระดาษทิชชู รดด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้ชุ่ม (Hossain *et al.*, 2021) ตรวจสอบโดยวัดเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเป็นระยะเวลา 7 วัน (Billah *et al.*, 2020) ดังสมการ

$$\text{อัตราการงอก (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดงอกใน 7 วัน}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

3.9.2 ขั้นตอนการคัดแยกเชื้อก่อโรคจากเมล็ดมะเขือเทศและตรวจสอบลักษณะสัณฐาน

วิทยาของเชื้อ

นำเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่ไม่งอก จากข้อที่ 3.9.1 มาบดให้ละเอียดด้วยโกร่ง นำไปละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ แยกเชื้อโดยใช้วิธีการ Spread plate บนอาหาร TZC agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมา Cross streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง จนได้เชื้อบริสุทธิ์ สังเกตลักษณะโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารว่าจัดเป็นสายพันธุ์ก่อโรครุนแรง และย้อมสีด้วยวิธี Gram stain นำไปศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.10 ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ (Antimicrobial activities)

3.10.1 การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทด้านการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศเบื้องต้นโดยใช้วิธี Agar plug diffusion

การเตรียมเชื้อแอคติโนมัยสีท เพื่อทดสอบการสร้างสารปฏิชีวนะ ใช้ห้วงเขี่ยเชื้อ (loop) และเชื้อแอคติโนมัยสีทที่บริสุทธิ์แล้วใช้วิธี Simple streak บนอาหาร ISP2 agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *R. solanacearum* นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบละลายผสมกับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ วัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่าดูดกลืนแสง (Optical density, OD) เท่ากับ 0.3 ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์ประมาณเท่ากับ 1.0×10^8 (CFU/ml) (Singh *et al.*, 2018) จากนั้นใช้ไม้พินสำลีที่ปราศจากเชื้อ (Sterile) ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

swab) ชุบสารแขวนลอยเชื้อที่เตรียมไว้ แล้ว Swab ลงบนอาหาร NA ให้ทั่วด้วยวิธีปลอดเชื้อ (Aseptic technique) ตั้งทิ้งไว้จนหน้าอาหารแห้ง จากนั้นใช้คอร์กเบอร์ (Cork borer) ขนาดเบอร์ 5 มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อโดยการจุ่มแอลกอฮอล์แล้วลนไฟ รอจนแห้งเหล็กเย็น จึงใช้เจาะเชื้อ แอคติโนมัยสีทบนอาหาร ISP2 และใช้เข็ม (needle) จิ้มเชื้อมาวางบนอาหาร NA ที่ Swab เชื้อทดสอบไว้ แล้ว โดยวางหันด้านวุ้นลงข้างล่าง นำจานอาหารบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ตรวจสอบผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส ที่เกิดบริเวณการยับยั้ง (Clear zone) รอบๆ ขึ้นวุ้นแอคติโนมัยสีท และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (Mahadtanapuk *et al.*, 2007) ตามสมการ

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

R1

โดยที่ R1 คือ รัศมีของชุดควบคุม และ R2 คือ รัศมีของเชื้อทดสอบ

3.11 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ด

เลี้ยง *R. solanacearum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยเชื้อมาเลี้ยงในอาหาร TTC broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นเชื้อเท่ากับ 10⁸ (CFU/ml)

นำแอคติโนมัยสีท ไอโซเลท SPB1097 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด จากการทดสอบด้วยวิธีการ Agar plug diffusion โดยเตรียมเชื้อให้อยู่ในรูปสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทใน ISP2 broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่เติมยาปฏิชีวนะ Cefotaxime 100 มิลลิกรัม บ่มในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จนมีการเจริญของเส้นใยและสปอร์อย่างเต็มที่ และนับจำนวนสปอร์ด้วย Haemocytometer ปรับให้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทมีความเข้มข้น 10⁷ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (นราวรรณ และคณะ. 2554)

เตรียมสารละลายคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ โดยชั่งสาร 0.15 กรัม ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เลี้ยง *Bacillus subtilis* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Malt extract (YM) บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยเชื้อมาเลี้ยงในอาหาร ปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปบ่มในสภาวะเขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นเชื้อเท่ากับ 10⁸ (CFU/ml)

ทำการเตรียมเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆ โดยการล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ตามด้วยฆ่าเชื้อที่พื้นผิวเมล็ดมะเขือเทศด้วย 1% โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 30 วินาที และล้างผ่านน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 4-5 ครั้ง เอกสารนี้ (Suresh *et al.*, 2022) แช่เมล็ดมะเขือเทศด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 24 ชั่วโมง นำเมล็ดมาทดสอบการไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระตุ้นการงอกด้วยวิธี moisture paper (นราวรรณ และคณะ. 2554) หลังจากนั้นย้ายเมล็ดมะเขือเทศ ไปเรียงใส่ในกล่อง แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองแรก ทดสอบการส่งเสริม การเจริญ ชุดการทดลองที่สอง การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยว โดยแต่ละการทดลอง ทำการทดลอง ซ้ำ 3 ซ้ำ โดยใช้ (เมล็ดมะเขือเทศ 45 เมล็ดต่อการทดลอง) รายละเอียดดังนี้ :

การส่งเสริมการเจริญ

กรรมวิธีที่ 1 : เมล็ดมะเขือเทศ + น้ำกลั่น (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 : เมล็ดมะเขือเทศ + เชื้อแอสคิตินิมัยสีท ไอโซเลท SPB1097

กรรมวิธีที่ 3 : เมล็ดมะเขือเทศ + เชื้อรา *Bacillus subtilis*

กรรมวิธีที่ 4 : เมล็ดมะเขือเทศ + คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์

การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยว

กรรมวิธีที่ 5 : เมล็ดมะเขือเทศ + เชื้อ *R. solanacearum*

กรรมวิธีที่ 6 : เมล็ดมะเขือเทศ + เชื้อ *R. solanacearum* + คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 7 : เมล็ดมะเขือเทศ + เชื้อ *R. solanacearum* + เชื้อแอสคิตินิมัยสีท

กรรมวิธีที่ 8 : เมล็ดมะเขือเทศ + เชื้อแอสคิตินิมัยสีท + เชื้อ *R. solanacearum*

กรรมวิธีที่ 9 : เมล็ดมะเขือเทศ + เชื้อ *R. solanacearum* + เชื้อรา *Bacillus subtilis*

แต่ละสภาวะการทดลอง แซ่เมล็ดมะเขือเทศ 15 เมล็ดให้เท่ากัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปวาง ไว้ในกล่องที่มีกระดาษทิชชู กล่องละ 15 เมล็ด ทั้งหมด 3 ซ้ำ ในแต่ละกรรมวิธีนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ตรวจสอบผลโดยการวัดความยาวราก วัดความยาวลำต้น และวัดเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด (Billah *et al.*, 2020) ดังสมการ

$$\text{อัตราการงอก (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดงอกใน 7 วัน}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

3.12 การวิเคราะห์ทางสถิติ

เก็บข้อมูลและทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (One-Way ANOVA) โดยวิธี Duncan, s New Multiple Range Test (DMRT หรือ DUNCAN) ที่ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยใช้โปรแกรม Statistics Package for Social Sciences (SPSS)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสโคไมซีต

นำเชื้อแอสโคไมซีตจาก 2 แหล่งที่คัดแยกได้จากดินนาข้าวอินทรีย์จังหวัดสุพรรณบุรี จำนวน 11 ไอโซเลต (สมัญญา และอนุธิดา, 2565) และดินนาข้าว จังหวัดปทุมธานี จำนวน 4 ไอโซเลต (กิ่งมณี และอรอนงค์, 2565) นำไป Cross Streak ลงบนอาหาร International Streptomyces Project 2 (ISP2) บ่มจนเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 7 – 14 วัน สังเกต ลักษณะของโคโลนี (colonial morphology) สีเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) สีเส้นใยใต้อาหาร (Substrate mycelium) สีสปอร์ และสีรงควัตถุที่ละลายน้ำ เทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน the ISCC-NBS System (Kelly, 1964) และดูลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยวิธี Slide culture ดังวิธีการทดลองที่ 3.6 ผลการศึกษาพบว่า รูปที่ และตารางที่ 4.1 – 4.2 ทั้ง 15 ไอโซเลต พบมีการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass) แบ่งออกเป็น 9 กลุ่มสี ได้แก่ White to Black, White to Olive black, White to Olive gray, White to Light olive gray, White to Medium gray, White to Light gray, White to Grayish brown, White to Deep yellowish brown, White to Dark olive มีการสร้างสีโคโลนีด้านล่างเพลท (Reverse colony) แบ่งออกเป็น 6 กลุ่มสี ได้แก่ Dark orange yellow, Moderate orange yellow, Moderate yellow, Strong yellow, Light orange yellow, Moderate Olive Brown พบการสร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ 4 ไอโซเลต ได้แก่สี Deep yellow, Light yellow, Moderate yellow และพบการสร้างสปอร์ทั้ง 4 รูปแบบ คือ Rectiflexibile chains, Retinaculiaperti chains, Verticillati chains, Spiral chains

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1 การเปรียบเทียบสีมาตรฐาน the ISCC-NBS System กับสีของเส้นใยอากาศ สีของสปอร์ สีของเส้นใยอาหาร รงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และลักษณะสปอร์ของแอกติโนมัยสีท

ไอโซเลท SPB1011 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Black โคลินี้ ด้านล่างสี Dark orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายสี Deep yellow การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Rectiflexible chains



รูปที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SPB1011

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

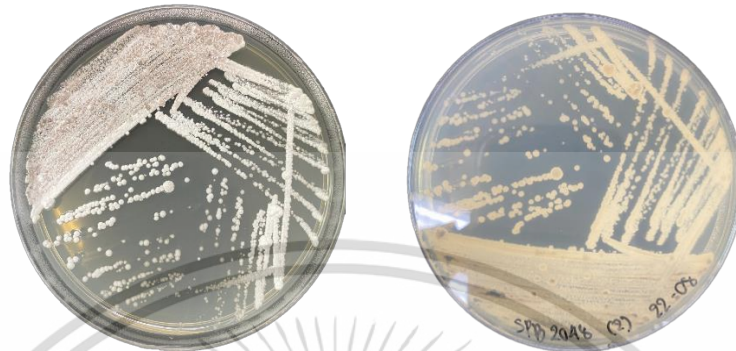
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลินด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา

และ อนุธิตา, 2565) สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SPB2048 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Black โคลนிட้านล่างสี Moderate orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains



ก

ข



ค

รูปที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อแอสคิโนไมซีทไอโซเลท SPB2048

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา

และ อนุชิตา, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต SPB2063 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Olive black โคลินี้ ด้านล่างสี Moderate yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light yellow การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Rectiflexible chains



รูปที่ 4.3 ลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลต SPB2063

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลินี้ด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา

และ อนุชิตา, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต SPB2064 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Olive black โคลนிட้านล่างสี Moderate yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light yellow การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains



รูปที่ 4.4 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลต SPB2064

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนிட้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา และ อนุธิตา, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SPB2072 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Olive gray สีโคลนนี้ ด้านล่างสี Moderate yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Retinaculiaperti chains



รูปที่ 4.5 ลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB2072

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

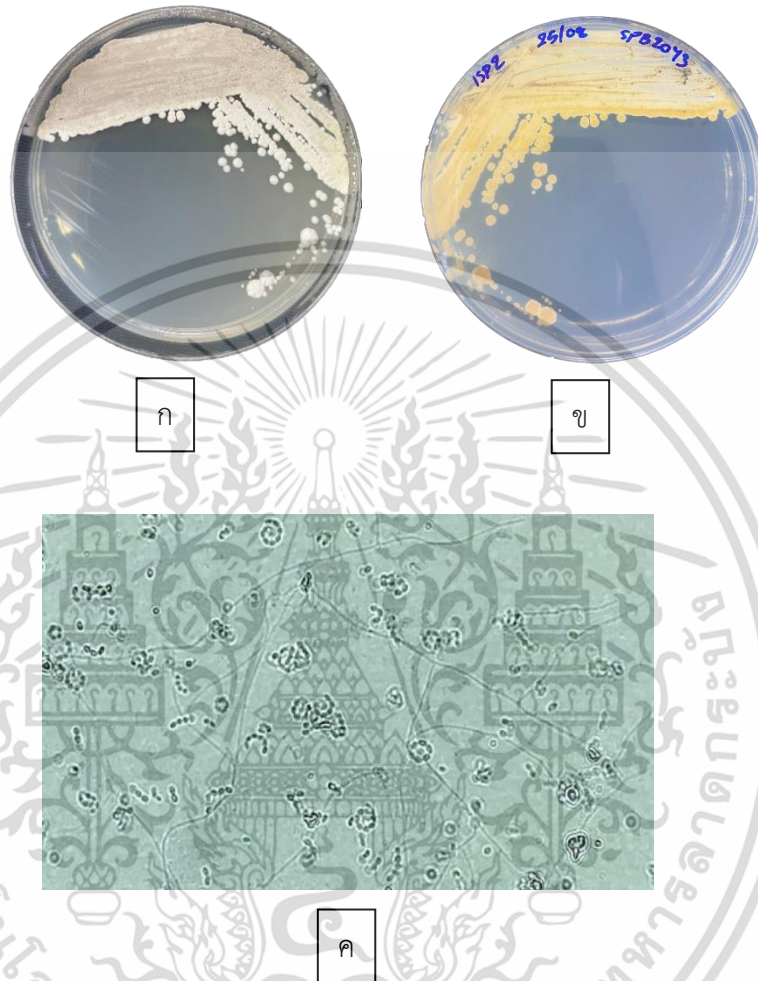
(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา

และ อนุชิตา, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SPB2073 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light olive gray สีโคโลนีด้านล่างสี Strong yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์แบบ Verticillati chains



รูปที่ 4.6 ลักษณะของเชื้อแอสคิโนไมซีตาไอโซเลท SPB2073

ที่เจริญบน International Streptomyces Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

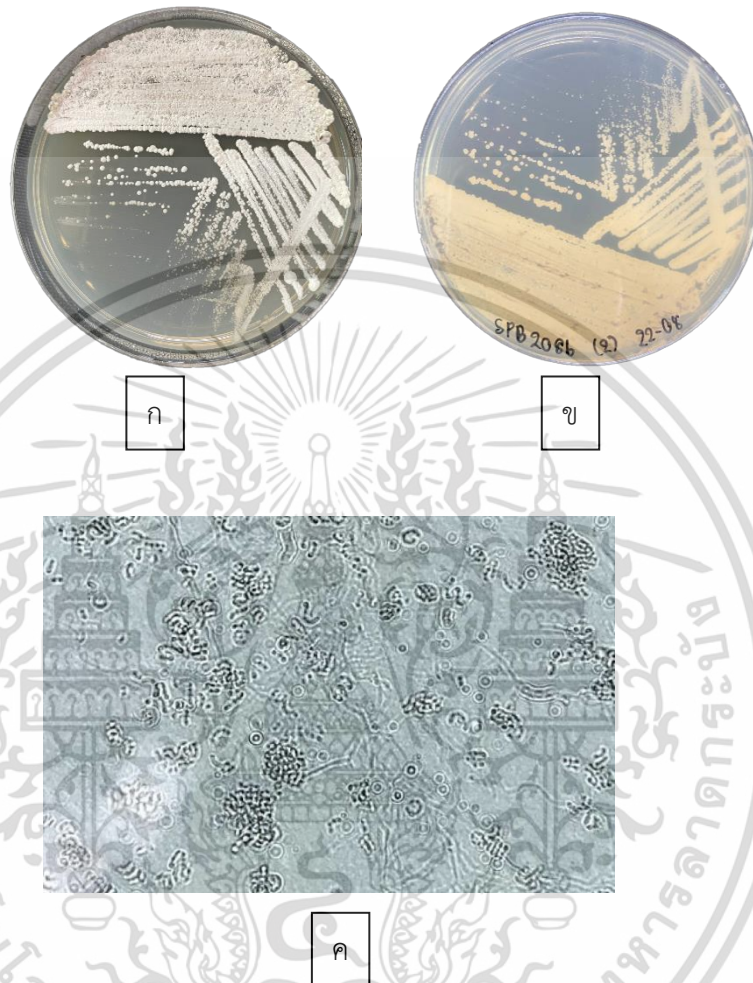
(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา

และ อนุธิตา, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SPB2086 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Black สีโคโลนีด้านล่าง สี Moderate orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Moderate yellow การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains



รูปที่ 4.7 ลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SPB2086

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

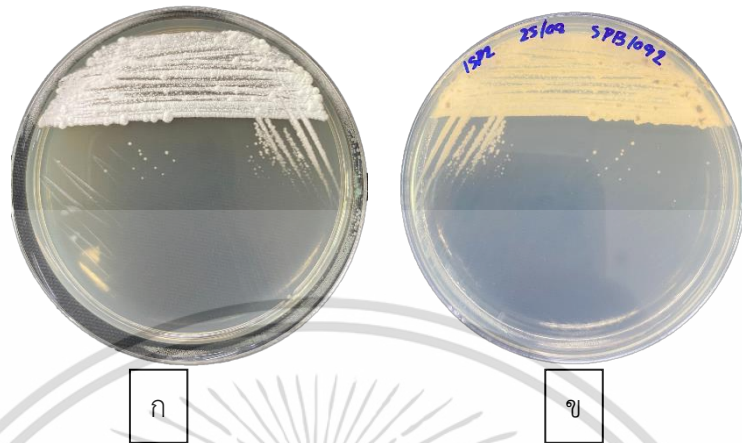
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา และ อนุธิดา, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SPB1092 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Medium gray สีโคโลนีด้านล่างสี Light orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains



รูปที่ 4.8 ลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SPB1092

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

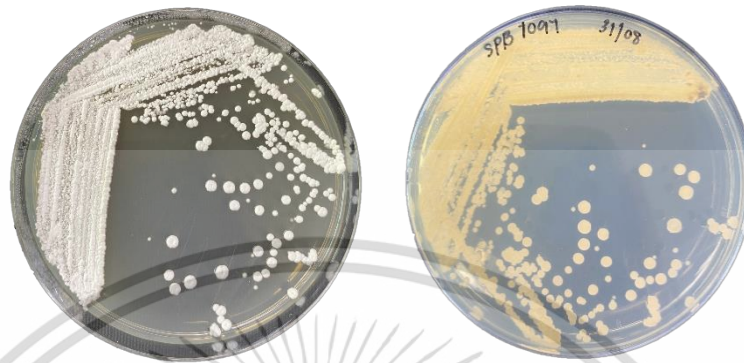
(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา

และ อนุธิดา, 2565)

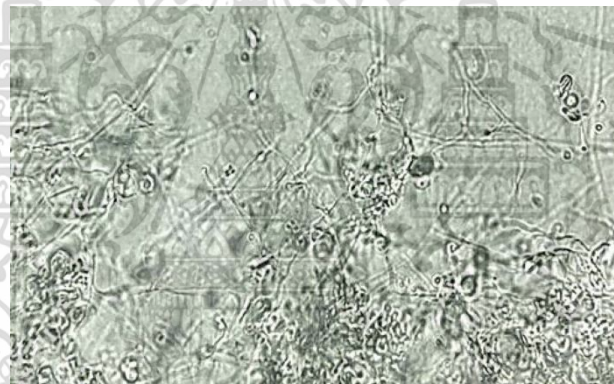
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SPB1097 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Medium gray สีโคโลนีด้านล่างสี Light orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Rectiflexible chains



ก

ข



ค

รูปที่ 4.9 ลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท SPB1097

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา

และ อนุธิตา, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SPB1100 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light gray สีโคลนนี้ด้านล่างสี Light orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Retinaculiaperti chains



ก

ข



ค

รูปที่ 4.10 ลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท SPB1100

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

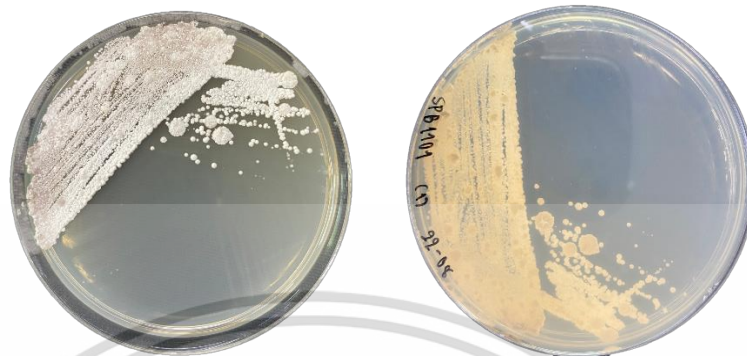
(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา

และ อนุชิตา, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SPB1101 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Black สีโคโลนีด้านล่าง
สี Moderate yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Spiral chains



ก

ข



ค

รูปที่ 4.11 ลักษณะของเชื้อแอสโตโมยีสท์ไอโซเลท SPB1101

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

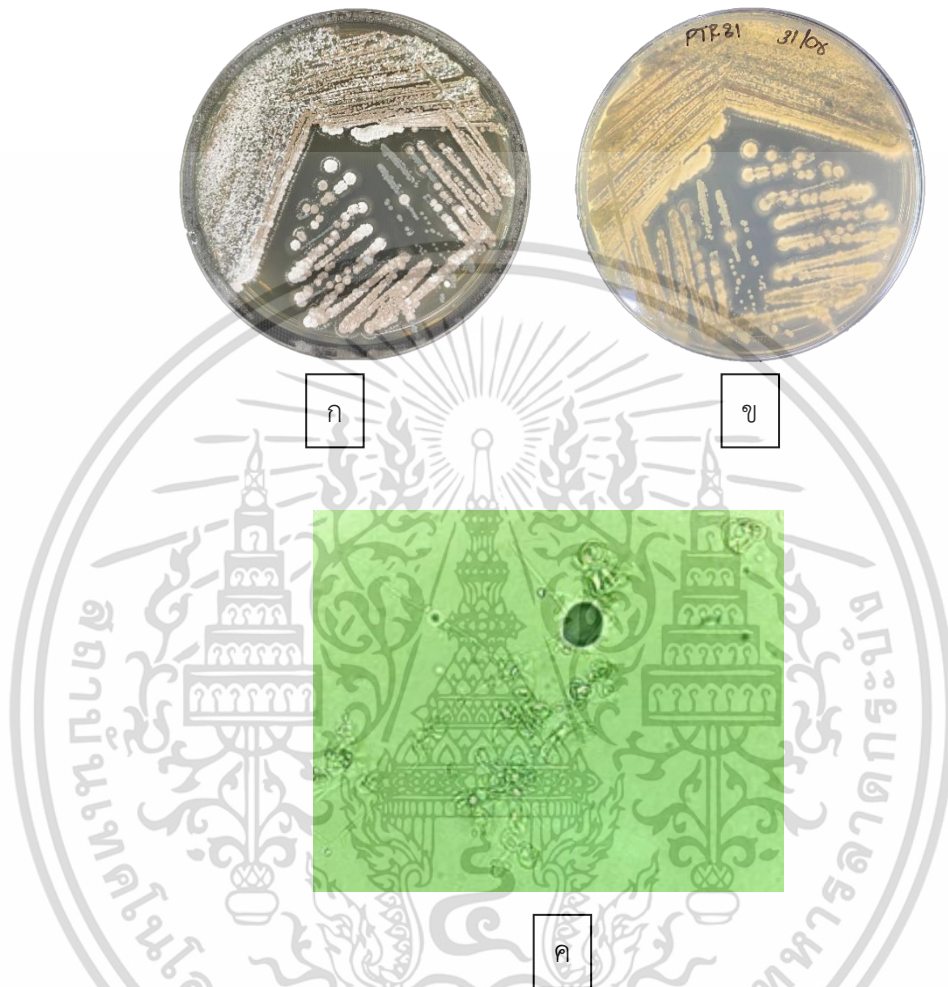
(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคโลนีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (สมัญญา

และ อนุธิตา, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท PTR31 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Grayish olive โคลินี้ด้านล่างสี Moderate Olive Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Spiral chains



รูปที่ 4.12 ลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลท PTR31

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

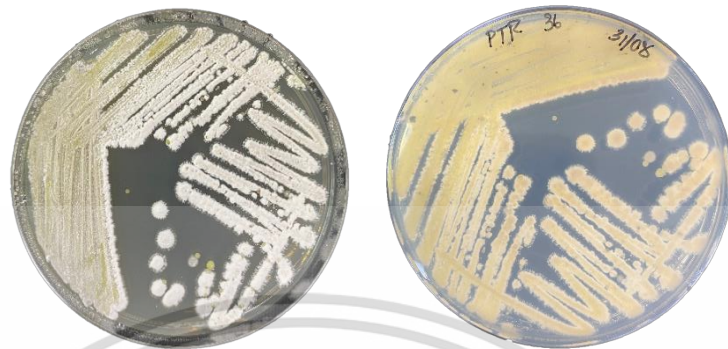
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลินด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (กิ่งมณี และ อรอนงค์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท PTR36 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Deep yellowish brown โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Spiral chains



ก

ข

ค

รูปที่ 4.13 ลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท PTR36

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

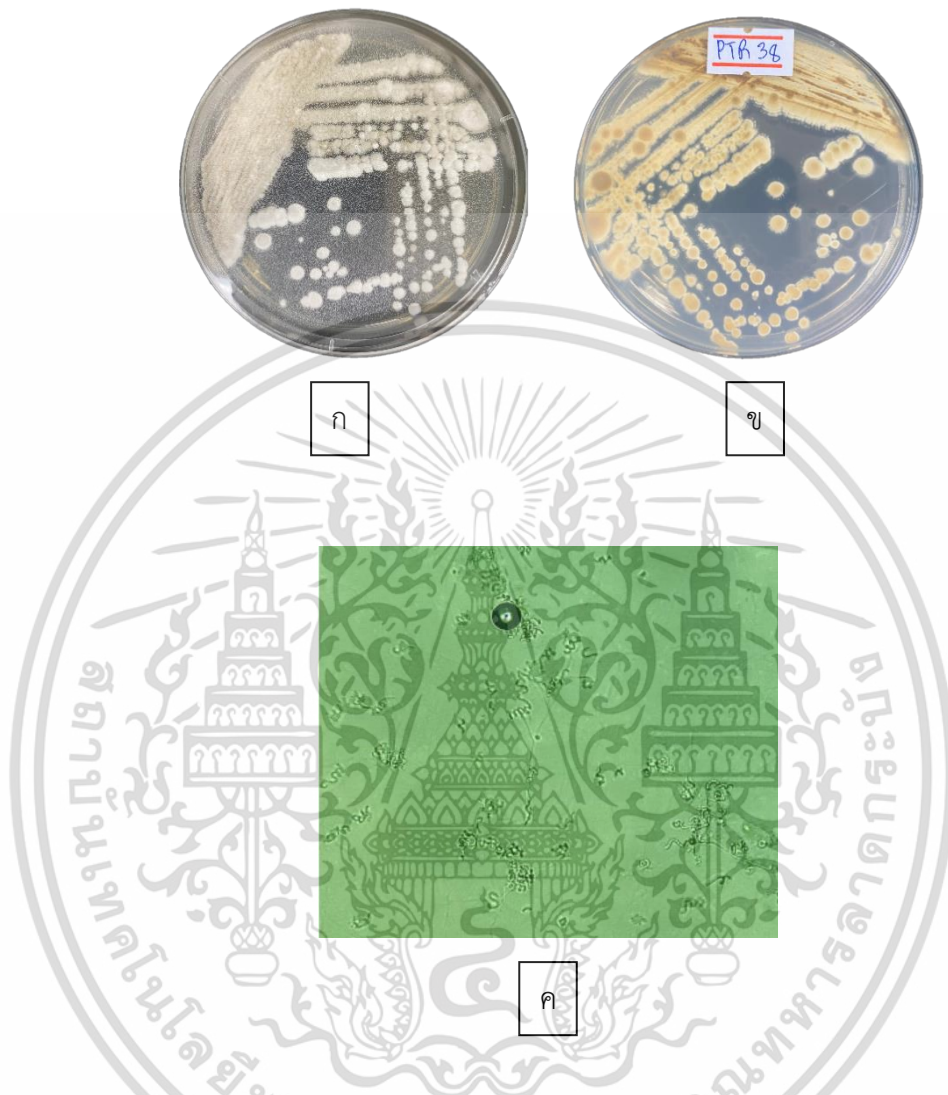
(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (กิ่งมณี และ อรอนงค์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท PTR38 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Dark olive โคลินี้
 ด้านล่างสี Moderate Olive Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Spiral
 chains



รูปที่ 4.14 ลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท PTR38

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลินีด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 1000 เท่า (กิ่งมณี และ
 อรอนงค์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท PTR40 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to olive black โคลนด้านล่าง สี Strong Yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains



รูปที่ 4.15 ลักษณะของเชื้อแอสโตโมยีสท์ไอโซเลท PTR40

ที่เจริญบน International *Streptomyces* Project 2 (ISP2) ระยะ 7-14 วัน

(ก) แสดงลักษณะการสร้างเส้นใยอากาศและสปอร์ (Aerial spore mass)

(ข) แสดงลักษณะการสร้างโคลนด้านล่าง (Reverse colony)

(ค) แสดงเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า (กิ่งมณี และ

อรอนงค์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยสีห์จำนวน 15 ไอโซเลต บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 7 - 14 วัน

หมายเลขไอโซเลต	Aerial spore mass	Reverse Colony	สีรงควัตถุละลายน้ำ	ลักษณะสปอร์
SPB1011	White to Black	Dark orange yellow	Deep yellow	Rectiflexibile chains
SPB2048	White to Black	Moderate orange yellow	-	Verticillati chains
SPB2063	White to Olive black	Moderate yellow	Light yellow	Rectiflexibile chains
SPB2064	White to Olive black	Moderate yellow	Light yellow	Verticillati chains
SPB2072	White to Olive gray	Moderate yellow	-	Retinaculiaperti chains
SPB2073	White to Light olive gray	Strong yellow	-	Verticillati chains
SPB2086	White to Black	Moderate orange yellow	Moderate yellow	Verticillati chains
SPB1092	White to Medium gray	Light orange yellow	-	Verticillati chains
SPB1097	White to Medium gray	Light orange yellow	-	Retinaculiaperti chains
SPB1100	White to Light gray	Light orange yellow	-	Retinaculiaperti chains
SPB1101	White to Black	Moderate yellow	-	Spiral chains
PTR31	White to Grayish brown	Moderate Olive Brown	-	Spiral chains
PTR36	White to Deep yellowish brown	Strong Yellow	-	Spiral chains
PTR38	White to Dark olive	Moderate Olive Brown	-	Spiral chains
PTR40	White to Olive black	Strong Yellow	-	Verticillati chains

ตารางที่ 4.2 ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทจำนวน 15 ไอโซเลต

SPB1011	SPB2048	SPB2063	SPB2064
			
SPB2072	SPB2073	SPB2086	SPB2092
			
SPB2097	SPB1100	SPB1101	PTR31
			
PTR36	PTR38	PTR40	
			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การแยกเชื้อสาเหตุโรคพืช

4.2.1 ผลการคัดแยกเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากหัวมันฝรั่ง

จากการทดลองการแยกเชื้อ *Ralstonia Solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉียว ในหัวมันฝรั่งที่แสดงอาการซ้ำ ทำการผ่าหัวมันฝรั่งพบการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล จึงได้นำชิ้นส่วนที่แสดงลักษณะอาการดังกล่าวใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TTC broth บ่มในสภาวะเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมา cross streak บนอาหาร TZC agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากบ่มครบ 48 ชั่วโมง พบลักษณะโคโลนีที่ขึ้นบนผิวหน้าอาหาร คือ โคโลนีมีสีชาวยิ้มชุ่น ตรงกลางมีสีชมพูอ่อน (ดังรูปที่ 4.16) ซึ่งตรงกับการแสดงลักษณะของเชื้อบนอาหาร TZC agar ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Kelman (1954) ลักษณะโคโลนีที่ขึ้นบนผิวหน้าอาหารซึ่งมี 2 ประเภท คือ โคโลนีมีสีชาวยิ้มชุ่น ตรงกลางโคโลนีมีสีชมพูอ่อน มีเมือกสีขาวรอบๆ โคโลนี จัดเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรง (virulent strain) และ โคโลนีสีแดงเข้ม ไม่มีสารเมือก รอบๆโคโลนี จัดเป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคไม่รุนแรง (avirulent strain)

4.2.2 ผลการศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของเชื้อก่อโรค

จากนั้นนำโคโลนีที่ได้ย้อมสีแกรมแบคทีเรีย ส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ พบแบคทีเรียย้อมติดสี Safanin O (gram-negative) รูปร่างแท่ง (rod-shaped) ท่อนสั้น (short) ขนาด 0.52×1.50 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้างสปอร์



รูปที่ 4.16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Ralstonia Solanacearum*

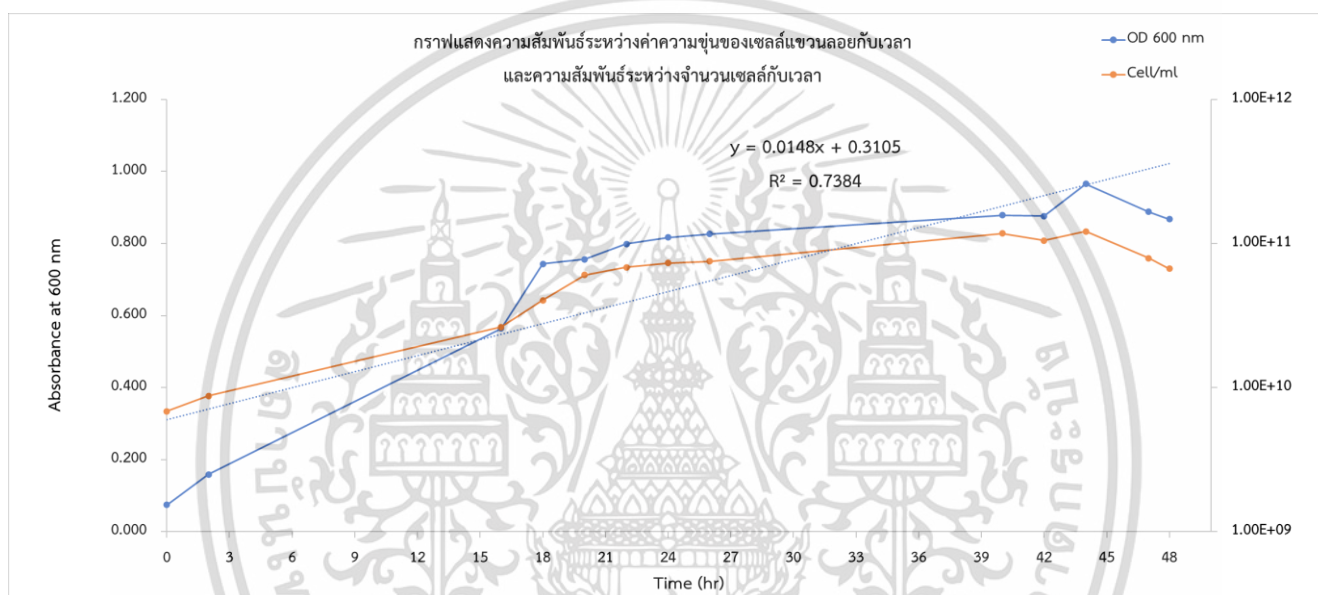
- ก). ลักษณะของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรง (virulent strain) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC agar ระยะเวลา 2 วัน
- ข). ลักษณะของเชื้อ *R. solanacearum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

4.3.1 ผลการศึกษาการวัดการเจริญของ *Ralstonia solanacearum*

จากการศึกษาการวัดการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* พบว่าเชื้อเข้าสู่ช่วง log phase ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 16 - 26 และเริ่มเข้าสู่ช่วง stationary phase ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 27 - 42 ทำให้กราฟในช่วงนี้ค่อนข้างคงที่ และเชื้อเริ่มเข้าสู่ช่วง death phase ตั้งแต่หลังชั่วโมงที่ 44 เมื่อไปหาค่าอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ มีค่าเท่ากับ 0.015 มีอัตราการเจริญของเชื้ออยู่ที่ 46.8 ชั่วโมง และค่า Productivity มีค่าเท่ากับ 0.7933 OD/h ซึ่งทำให้มีค่าการเจริญเติบโตสูงสุดอยู่ที่ชั่วโมงที่ 20 วัดค่าความขุ่นได้ 0.7563 พบปริมาณเชื้อ 6.04×10^{10} Cell/ml



รูปที่ 4.17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความขุ่นของเซลล์แขวนลอยกับเวลาและแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์กับเวลา

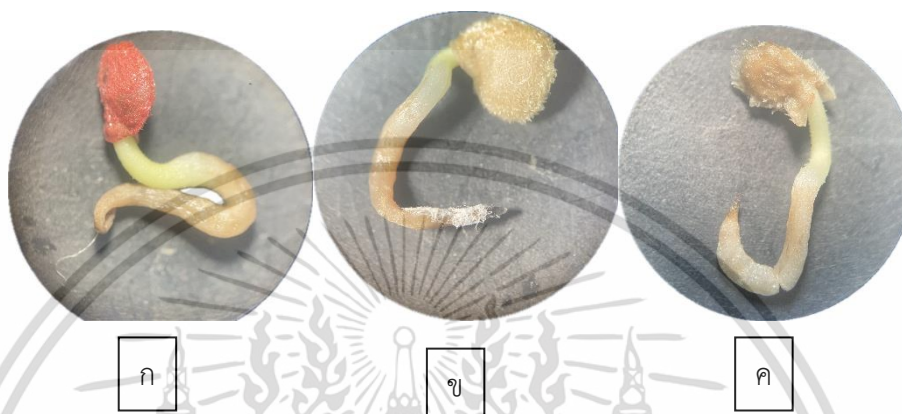
4.3.2 ผลการศึกษาหาความขุ่นของ *Ralstonia solanacearum* ที่ 10^8 (CFU/ml)

จากการศึกษาหาความขุ่นของ *R. solanacearum* วัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 600 นาโนเมตร ที่ 0.3 พบว่าที่ระดับความเจือจาง 10^{-4} และ 10^{-5} ไม่สามารถนับจำนวนโคโลนีได้ แต่ที่ระดับความเจือจาง 10^{-6} นับโคโลนีเฉลี่ยได้ 62.67 จึงนำไปคำนวณ พบว่า มีค่า 6.3×10^8 (CFU/ml)

4.4 ผลการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคในระยะเมล็ดของมะเขือเทศ

จากทดสอบความสามารถในการก่อโรคในเมล็ดมะเขือเทศทั้งสามสายพันธุ์ โดยการวัดอัตราการงอกของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่า เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์พวงชมพู, เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ และเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 มีอัตราการงอกของเมล็ด 91.11%, 66.67% และ 73.33% ตามลำดับ จึงได้ทำการแยกเชื้อจากเมล็ดที่ไม่งอก พบว่าทั้งสามสายพันธุ์พบเชื้อ *R. solanacearum* จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เมล็ดทั้งสายพันธุ์ไม่งอก และเมล็ดที่งอกพบว่าที่ปลายรากมีการเน่าสีน้ำตาล

(ดังรูปที่ 4.18) ซึ่งเป็นลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อที่อาจจะส่งผลอาการเหี่ยวในอนาคต ตามรายงานของ (Singh et al., 2018) การก่อโรคของ *R. solanacearum* ในต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 6 ถึง 7 วัน ภายใน 48 ชั่วโมงของการแช่รากเป็นการสาธิตความรุนแรงในระยะแรกของการเจริญเติบโตของพืช การเกิดโรคในต้นกล้าโดยการแช่รากมีความสำคัญมากกว่าการตัดใบเนื่องจากเชื้อโรคเข้าสู่พืชผ่านรากของมันมากกว่าการติดเชื้อตามธรรมชาติ



รูปที่ 4.18 อาการเน่าปลายรากของมะเขือเทศสายพันธุ์ต่างๆ

- ก). พวงชมพู
- ข). ลูกท้อ
- ค). สีดาทิพย์ 4

4.5 ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ (Antimicrobial activities)

4.5.1 การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทด้านการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศเบื้องต้นโดยใช้วิธี Agar plug diffusion

การตรวจคัดกรองเบื้องต้นสำหรับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของแอคติโนมัยสีท จำนวน 15 ไอโซเลต ทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศ *R. solanacearum* พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* (ภาคผนวก ค) มีทั้งหมด 3 ไอโซเลต ได้แก่ SPB2048, SPB1097 และ SPB1100 ซึ่งไอโซเลต SPB1097 สามารถยับยั้งได้สูงสุด 90.9% เมื่อเทียบกับ *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็น Positive control จากงานวิจัย (Aeny et al., 2018) ได้คัดแยกแอคติโนมัยสีทจากดินรอบรากต้นสับปะรด ทั้งหมด 45 ไอโซเลต ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี agar plug diffusion สามารถยับยั้งเชื้อ *Dickeya zeae* (bacterial stalk rot of maize) ได้ทั้งหมด 34 ไอโซเลต มี 14 ไอโซเลตที่มีโซนยับยั้งมากกว่าชุดควบคุม (ยาปฏิชีวนะ chloramphenicol) ซึ่งวิธี agar plug diffusion เป็นวิธีการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า แพร่กระจายของข้อมูลนี้ใช้เพื่อเน้นความเป็นปรปักษ์กันระหว่างจุลินทรีย์ และขั้นตอนจะคล้ายกับไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนที่ใช้ในวิธีการ Agar disc diffusion โดยเกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงวุ้นโดยให้ความสนใจกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม และสามารถให้ผลลัพธ์ที่รวดเร็วของสารต้านจุลชีพ (Balouiri *et al.*, 2016)

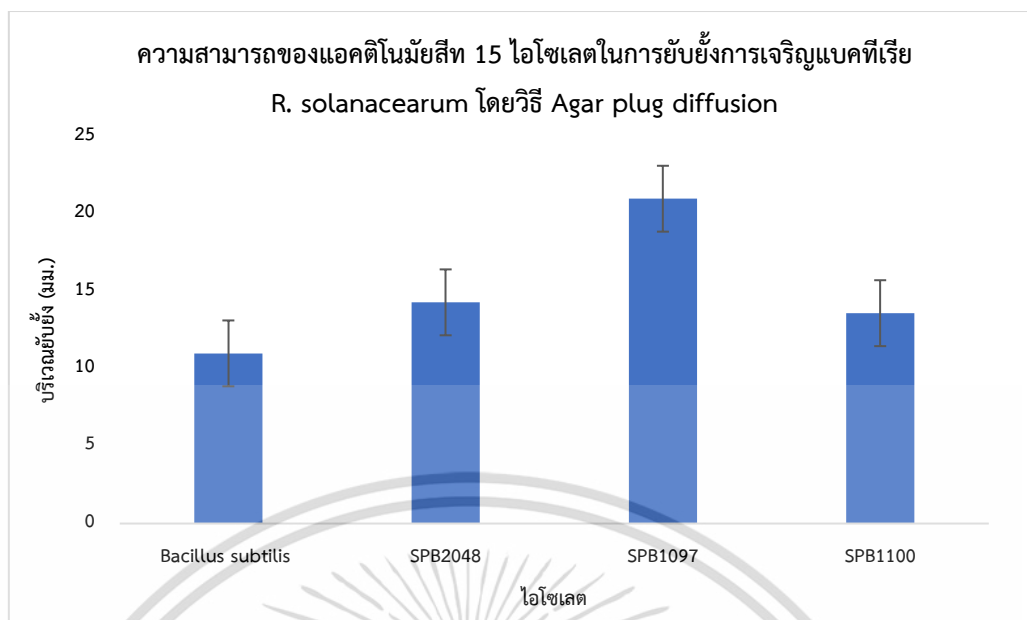
ตารางที่ 4.3 ความสามารถของแอกติโนมัยสีท 15 ไอโซเลตในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย

R. solanacearum โดยวิธี Agar plug diffusion

ไอโซเลต	รัศมีการยับยั้งบนอาหารทดสอบ (R2) (มิลลิเมตร)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)
<i>Bacillus subtilis</i> (Control)	11	-
SPB1011	-	-
SPB2048	14.3	30.3
SPB2063	-	-
SPB2064	-	-
SPB2072	-	-
SPB2073	-	-
SPB2086	-	-
SPB1092	-	-
SPB1097	21	90.9
SPB1100	13.6	24.2
SPB1101	-	-
PTR31	-	-
PTR36	-	-
PTR38	-	-
PTR40	-	-

หมายเหตุ: เครื่องหมาย (-) หมายถึงไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 กราฟแสดงฤทธิ์ของแอคติโนมัยสีทในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย *R. solanacearum*

4.6 การศึกษาประสิทธิภาพของสารในการกระตุ้นการงอกเมล็ดมะเขือเทศ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนมัยสีทในการกระตุ้นการงอก โดยทำการคัดเลือกแอคติโนมัยสีทไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดจากผลการทดสอบที่ 4.5 มาทำการทดสอบ ได้แก่ ไอโซเลท SPB1097 เตรียมเชื้อไอโซเลท ที่มีปริมาณสปอร์ 1.71×10^7 สปอร์/มิลลิลิตร เตรียมสารแขวนลอยเชื้อ *R. solanacearum* ความเข้มข้น 1.0×10^8 (CFU/ml) เตรียมสารแขวนลอยเชื้อ *Bacillus subtilis* ความเข้มข้น 1.0×10^8 (CFU/ml) และเตรียมสารละลายคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ แบ่งการทดลองเป็น 9 กรรมวิธี ตามวิธีการทดลองที่ 3.12

ตารางที่ 4.4 ผลการงอกของเมล็ดมะเขือเทศสายพันธุ์พวงชมพู

พวงชมพู	กรรมวิธี	ความยาวราก (mm)	ความยาวลำต้น (mm)	เปอร์เซ็นต์การงอก (%)
การส่งเสริมการเจริญ	1	2.25 ± 0.02^{ab}	3.61 ± 0.53^a	97.78 ± 0.57^{ab}
	2	2.64 ± 0.24^a	3.84 ± 0.35^a	100.0 ± 0.00^a
	3	0.28 ± 0.04^d	2.34 ± 0.48^{bc}	86.67 ± 1.73^{abcd}
	4	1.75 ± 0.52^b	3.64 ± 0.06^a	77.78 ± 1.52^{cd}
การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค	5	2.06 ± 0.32^b	3.13 ± 0.18^{ab}	91.11 ± 1.52^{ab}
	6	0.43 ± 0.04^d	0.76 ± 0.16^d	75.56 ± 1.52^d
	7	2.13 ± 0.25^{ab}	3.50 ± 0.32^a	84.44 ± 0.57^{bcd}
	8	2.16 ± 0.17^{ab}	3.61 ± 0.54^a	86.67 ± 0.00^{abcd}
	9	0.96 ± 0.04^c	1.51 ± 0.26^{cd}	84.44 ± 0.57^{bcd}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการงอกของเมล็ดมะเขือเทศสายพันธุ์ลูกท้อ

ลูกท้อ	กรรมวิธี	ความยาวราก (mm)	ความยาวลำต้น (mm)	เปอร์เซ็นต์การงอก (%)
การส่งเสริม การเจริญ	1	2.70 ± 0.38 ^a	3.79 ± 0.22 ^a	95.56 ± 0.57 ^{ab}
	2	2.77 ± 0.32 ^a	3.81 ± 0.16 ^a	97.67 ± 0.57 ^a
	3	0.44 ± 0.04 ^c	2.12 ± 0.83 ^b	75.56 ± 3.05 ^{bcd}
	4	1.89 ± 1.30 ^{ab}	3.74 ± 1.07 ^a	91.11 ± 1.52 ^{abc}
การยับยั้งเชื้อ สาเหตุโรค	5	1.29 ± 0.31 ^{bc}	0.50 ± 0.00 ^c	66.67 ± 2.00 ^c
	6	0.64 ± 0.08 ^c	2.91 ± 0.34 ^{ab}	88.89 ± 1.52 ^{abc}
	7	2.53 ± 0.32 ^a	3.67 ± 0.08 ^a	71.11 ± 1.15 ^{cd}
	8	2.56 ± 0.33 ^a	3.77 ± 0.20 ^a	77.78 ± 1.52 ^{abcd}
	9	0.42 ± 0.16 ^c	1.50 ± 0.09 ^c	73.33 ± 2.00 ^{abc}

ตารางที่ 4.6 ผลการงอกของเมล็ดมะเขือเทศสายพันธุ์สีดาทิพย์ 4

สีดาทิพย์ 4	กรรมวิธี	ความยาวราก (mm)	ความยาวลำ ต้น (mm)	เปอร์เซ็นต์การงอก (%)
การส่งเสริม การเจริญ	1	1.25 ± 0.36 ^{abc}	2.37 ± 0.44 ^b	88.89 ± 0.57 ^{ab}
	2	1.61 ± 0.38 ^{ab}	2.40 ± 0.46 ^b	97.67 ± 0.57 ^a
	3	0.40 ± 0.14 ^c	1.16 ± 0.27 ^c	51.11 ± 1.52 ^e
	4	1.14 ± 0.06 ^a	2.92 ± 0.12 ^b	82.22 ± 0.57 ^{bc}
การยับยั้งเชื้อ สาเหตุโรค	5	0.68 ± 0.05 ^{cd}	0.67 ± 0.67 ^c	73.33 ± 1.00 ^{cd}
	6	0.58 ± 0.15 ^{cd}	2.32 ± 0.40 ^b	82.22 ± 0.57 ^{bcd}
	7	1.19 ± 0.30 ^a	2.34 ± 0.31 ^b	68.89 ± 0.57 ^d
	8	1.21 ± 0.31 ^{abc}	2.43 ± 0.35 ^b	80.00 ± 0.00 ^{bcd}
	9	0.91 ± 0.14 ^{bcd}	4.93 ± 0.49 ^a	31.11 ± 0.57 ^f

จากผลการทดลองการศึกษาประสิทธิภาพของสารในการกระตุ้นการงอกเมล็ดมะเขือเทศ โดยวัดความยาวราก ความยาวลำต้น และการงอกของเมล็ดโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ ซึ่งการทดลองแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ การส่งเสริมการเจริญ และการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี One way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% พบว่า สายพันธุ์พวงชมพู ในชุดทดลองเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า การส่งเสริมการเจริญ กรรมวิธีที่ 2 ให้เปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 100% ซึ่งเป็นการใส่เชื้อแอคติโนมัยสีท

รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 1, 3 และ 4 โดยให้เปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 97.78%, 86.67% และ 77.78% ทั้งนี้ในชุดการส่งเสริมการเจริญมี กรรมวิธีที่ 1 เป็นชุด control ซึ่งเมื่อนำกรรมวิธีที่ 1 และ 2 ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ชุดการทดลองการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค ในสายพันธุ์พวงชมพู พบว่า ในกรรมวิธีที่ 5 เป็นการใส่เชื้อ *R. solanacearum* ลงในเมล็ดพันธุ์ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การงอก 91.11% โดยในชุดการทดลองนี้ได้เติมสารคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ ซึ่งเป็นสารเคมีที่ใช้ในท้องตลาด พบว่าการเติมสารเคมี (control) ลงไปหลังใส่เชื้อ *R. solanacearum* ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 75.56% จากนั้นจึงได้ทำการทดสอบใส่เชื้อแอกติโนมัยสีก่อน (กรรมวิธีที่ 8) และหลัง (กรรมวิธีที่ 7) ใส่เชื้อ *R. solanacearum* พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอก 86.67% และ 84.44% ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสารเคมี (control) จะเห็นได้ว่า ชุดการทดลองการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคของสายพันธุ์พวงชมพู ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อาจจะเป็นเพราะสายพันธุ์พวงชมพู เป็นสายพันธุ์ที่พัฒนา จึงทำให้การเข้าทำลายของเชื้อไม่ส่งผลต่อเมล็ดพันธุ์ ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 4.4

จากตารางที่ 4.5 สายพันธุ์ลูกท้อ จากชุดการทดลองการส่งเสริมการเจริญ พบว่าในสายพันธุ์ลูกท้อ ในกรรมวิธีที่ 2 ให้ผลที่ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 97.67% โดยเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ 1 (control) และ 4 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 95.56% 91.11% ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และในกรรมวิธีที่ 3 ให้เปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 75.56% ซึ่งเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ 1 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ชุดการทดลองการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคของสายพันธุ์ลูกท้อ ในกรรมวิธีที่ 5 หลังใส่เชื้อ *R. solanacearum* พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 66.67% ซึ่งลงอย่างเห็นได้ชัด จากนั้นจึงใส่สารเคมี (control) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอก 88.89% และในกรรมวิธีที่ 9 เป็นการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* มีเปอร์เซ็นต์การงอก 73.33% แสดงให้เห็นว่าสารเคมีมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค จึงได้ทดสอบใส่เชื้อแอกติโนมัยสีก่อน (กรรมวิธีที่ 8) และหลัง (กรรมวิธีที่ 7) ใส่เชื้อ *R. solanacearum* พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอก 77.78% และ 71.11% แสดงว่าสารเคมีหรือคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ได้ดีกว่าการใส่แอกติโนมัยสีก่อนและหลังใส่เชื้อ *R. solanacearum* จึงได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

จากตารางที่ 4.6 สายพันธุ์สีดาทิพย์ 4 ชุดการทดลองการส่งเสริมการเจริญพบว่า ในกรรมวิธีที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด 97.67% เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ 1 (control) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 88.89% ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ชุดการทดลองการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคของสายพันธุ์สีดาทิพย์ 4 เมื่อเราใส่เชื้อ *R. solanacearum* เข้าไป (กรรมวิธีที่ 5) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด 73.33% เมื่อใส่สารเคมี (control) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ 82.22% และในกรรมวิธีที่ 9 เป็นการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* มีเปอร์เซ็นต์การงอก 31.11% แสดงให้เห็นว่าชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis*

ไม่มีส่วนช่วยในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค จึงได้ทดสอบใส่เชื้อแอกติโนมัยสีก่อน (กรรมวิธีที่ 8) และ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลัง (กรรมวิธีที่ 7) ใส่เชื้อ *R. solanacearum* พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอก 80.00% และ 68.89% จึงได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า การใช้สารเคมีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

สรุปได้ว่า เมล็ดมะเขือเทศทั้งสามสายพันธุ์มีการส่งเสริมการเจริญได้ดีที่สุด คือ แอคติโนมัยซีท ซึ่งมีส่วนช่วยในการส่งเสริมการเจริญของต้นพืช ทั้งนี้งานวิจัยของ สมัญญา และอนุชิตา (2565) ที่ได้ทำการทดสอบการส่งเสริมการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินนาข้าวจังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลท SPB1097 สามารถผลิตกรดอินโดลอะซิติก (Indole acetic acid (IAA) production) ผลิตแอมโมเนีย (Ammonia production) และสร้างสารซีเดอโรเฟอร์ (Siderophore) ซึ่งสารดังกล่าว เป็นสารคล้ายฮอร์โมนพืชช่วยเพิ่มปริมาณราก เพิ่มการดูดน้ำและปุ๋ย ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตให้กับพืช โดยช่วยตรึงไนโตรเจน ช่วยละลายฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่มีอยู่ในดิน และเพิ่มการนำธาตุเหล็กเข้าเซลล์พืช โดยการแย่งจับธาตุเหล็กบริเวณรอบรากพืช ทำให้เชื้อราโรคพืชไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ได้ (Glick *et al.*, 1999) ส่วนในการการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยว พบว่ามีเพียงสายพันธุ์พวงชมพู ที่เป็นสายพันธุ์ที่พัฒนา จึงทำให้การเข้าทำลายของเชื้อไม่ส่งผลต่อเมล็ดพันธุ์ ในขณะที่อีกสองสายพันธุ์คือ สายพันธุ์ลูกท้อและสีดาทิพย์ 4 พบว่าสารละลายคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ มีส่วนช่วยในการควบคุม เชื้อ *R. solanacearum* ได้ดีการใช้แอคติโนมัยซีทควบคุม ดังสอดคล้องในงานวิจัย (Han *et al.*, 2011) คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเหี่ยวเฉาได้ 62.5% ทำให้ทั้งสองสายพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 88.89% และ 82.22% ตามลำดับ ซึ่งหากใช้แอคติโนมัยซีทในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อ *R. solanacearum* จะได้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดมะเขือเทศมากกว่าการควบคุม และจะเห็นได้ว่าการผลิตเมล็ดพันธุ์ก็มีส่วนช่วยในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราได้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแอกติดโนมัยสีท ทั้งหมด 15 ไอโซเลท ที่ได้จากดินนาข้าวอินทรีย์จังหวัดสุพรรณบุรีจำนวน 11 ไอโซเลท ได้แก่ SPB1011, SPB2048, SPB2063, SPB2064, SPB2072, SPB2086, SPB1092, SPB1097, SPB1100 และ SPB1101 จากดินนาข้าวจังหวัดปทุมธานีจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ PTR31, PTR36, PTR38 และ PTR40 ศึกษาลักษณะโคโลนี (colonial morphology) สีเส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) สีเส้นใยใต้อาหาร (Substrate mycelium) ลักษณะสปอร์ (Spore chain) และสีรงควัตถุ (Melanoid pigments) ที่ละลายน้ำ เทียบกับกระดาศสีมาตรฐาน the ISCC-NBS System (Kelly, 1964) และดูลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งจากผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาปรากฏผล ดังนี้

ไอโซเลท SPB1011 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Black โคโลนีด้านล่างสี Dark orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายสี Deep yellow การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Rectiflexibile chains

ไอโซเลท SPB2048 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Black โคโลนีด้านล่างสี Moderate orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains

ไอโซเลท SPB2063 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Olive black โคโลนีด้านล่างสี Moderate yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light yellow การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Rectiflexibile chains

ไอโซเลท SPB2064 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Olive black โคโลนีด้านล่างสี Moderate yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light yellow การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains

ไอโซเลท SPB2072 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Olive gray สีโคโลนีด้านล่างสี Moderate yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Retinaculiaperti chains

ไอโซเลท SPB2073 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light olive gray สีโคโลนีด้านล่างสี Strong yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์แบบ Verticillati chains

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลท SPB2086 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Black สีโคลนนี้ ด้านล่างสี Moderate orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Moderate yellow การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains

ไอโซเลท SPB1092 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Medium gray สีโคลนนี้ด้านล่างสี Light orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains

ไอโซเลท SPB1097 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Medium gray สีโคลนนี้ด้านล่างสี Light orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Rectiflexibile chains

ไอโซเลท SPB1100 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Light gray สีโคลนนี้ด้านล่างสี Light orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Retinaculiaperti chains

ไอโซเลท SPB1101 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Black สีโคลนนี้ด้านล่างสี Moderate yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Spiral chains

ไอโซเลท PTR31 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Grayish olive โคลนนี้ด้านล่างสี Moderate Olive Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Spiral chains

ไอโซเลท PTR36 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Deep yellowish brown โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Spiral chains

ไอโซเลท PTR38 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to Dark olive โคลนนี้ด้านล่างสี Moderate Olive Brown ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Spiral chains

ไอโซเลท PTR40 สร้างเส้นใยอากาศและสปอร์อยู่ในช่วงสี White to olive black โคลนนี้ด้านล่างสี Strong Yellow ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ การจัดเรียงตัวของสปอร์เป็นแบบ Verticillati chains

จากผลการทดลองการแยกเชื้อ *Ralstonia Solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉียว ในหัวมันฝรั่งที่แสดงอาการซ้ำ พบว่าลักษณะโคลนที่ขึ้นบนผิวหน้าอาหาร โคลนนี้มีสีขาวเยิ้มชุ่ม ตรงกลางมีสีชมพูอ่อน จัดเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรง (virulent strain) พบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ *R. solanacearum* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (gram-negative) รูปร่างแท่ง (rod-shaped) ท่อนสั้น

(short) ขนาด 0.52 x 1.50 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้างสปอร์
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งมอบให้เพื่อการใช้งานเฉพาะเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาการวัดการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* พบว่าเชื้อมีอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะ มีค่าเท่ากับ 0.015 มีอัตราการเจริญของเชื้ออยู่ที่ 46.8 ชั่วโมง และค่า Productivity มีค่าเท่ากับ 0.7933 OD/h ซึ่งทำให้มีค่าการเจริญเติบโตสูงสุดอยู่ที่ชั่วโมงที่ 20 วัดค่าความขุ่นได้ 0.7563 พบปริมาณเชื้อ 6.04×10^{10} Cell/ml

จากผลการศึกษาหาความขุ่นของ *R. solanacearum* ที่ 10^8 (CFU/ml) พบว่าการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ 600 นาโนเมตรที่ 0.3 พบว่าสามารถปรับความขุ่นของเซลล์ให้อยู่ใน 10^8 ได้ ทั้งนี้จากการทดลองสามารถพบจำนวนเชื้อ *R. solanacearum* 6.3×10^8 (CFU/ml)

จากผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคในเมล็ดมะเขือเทศทั้งสามสายพันธุ์ โดยการวัดอัตราการงอกของเมล็ดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ พบว่า เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์พวงชมพู, เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ และเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 4 มีอัตราการงอกของเมล็ด 91.11%, 66.67% และ 73.33% ตามลำดับ จึงได้ทำการแยกเชื้อจากเมล็ดที่ไม่งอก พบว่าทั้งสามสายพันธุ์พบเชื้อ *R. solanacearum*

จากผลการทดลองนำเชื้อแอกติโนมัยสีท มาทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศเบื้องต้น ด้วยวิธี Agar plug diffusion พบว่า ไอโซเลท SPB1097 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้สูงที่สุด 90.9% และนำมาศึกษาประสิทธิภาพของสารในการกระตุ้นการงอกเมล็ดมะเขือเทศ ทั้ง 3 สายพันธุ์โดยวิเคราะห์จากความยาวของราก และลำต้น โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ทางสถิติ ด้วยวิธี One way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% เชื้อแอกติโนมัยสีทช่วยส่งเสริมการเจริญได้สูงที่สุด ที่มะเขือเทศสายพันธุ์พวงชมพู เปอร์เซ็นต์การงอก เท่ากับ 100% สายพันธุ์สีดาทิพย์ 4 และสายพันธุ์ลูกท้อ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่เท่ากัน คือ 97.67% เมื่อเปรียบเทียบกับแอกติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อก่อโรค เชื้อ *R. solanacearum* ในมะเขือเทศสายพันธุ์พวงชมพูมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด เท่ากับ 86.67% รองลงมาคือสายพันธุ์ลูกท้อ เปอร์เซ็นต์การงอก เท่ากับ 80.00% และสายพันธุ์สีดาทิพย์ 4 มีเปอร์เซ็นต์การงอกน้อยที่สุด เท่ากับ 77.78% แอกติโนมัยสีทมีฤทธิ์ในการส่งเสริมการเจริญของเมล็ดมะเขือเทศ และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวในมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญ

จากการนำเชื้อแอกติโนมัยสีท มาทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคเหี่ยวเหี่ยวมะเขือเทศเบื้องต้น ด้วยวิธี Agar plug diffusion พบว่า ไอโซเลท SPB1097 สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้สูงที่สุด 90.9% และนำมาศึกษาประสิทธิภาพของสารในการกระตุ้นการงอกเมล็ดมะเขือเทศ ทั้ง 3 สายพันธุ์โดยวิเคราะห์จากความยาวของราก ความยาวลำต้น และการงอกของเมล็ด โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ทางสถิติ ด้วยวิธี One way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% ว่า เมล็ดมะเขือเทศทั้งสามสายพันธุ์มีการส่งเสริมการเจริญได้ดีที่สุด คือ แอกติโนมัยสีท จากงานวิจัยของ สมัญญา และอนุชิตา (2565) ที่ได้ทำการทดสอบการส่งเสริมการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยสีทจากดินนาข้าวจังหวัด

เอกสารนี้สุพรรณบุรี พบว่า เชื้อแอกติโนมัยสีท ไอโซเลท SPB1097 สามารถผลิตกรดอินโดลอะซิติก (Indole) ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

acetic acid (IAA) production) ผลิตแอมโมเนีย (Ammonia production) และสร้างสารซิดอโรเฟอร์ (Siderophore) ส่วนในการการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยว พบว่ามีเพียงสายพันธุ์พวงชมพูที่เป็นสายพันธุ์ที่พัฒนา จึงทำให้การเข้าทดลองของเชื้อไม่ส่งผลต่อเมล็ดพันธุ์ ในขณะที่อีกสองสายพันธุ์คือ สายพันธุ์ลูกท้อและสีดาทิพย์ 4 พบว่าสารละลายคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ มีส่วนช่วยในการควบคุม เชื้อ *R. solanacearum* ได้ดีการใช้แอกติโนมัยสีทควบคุม ดังสอดคล้องในงานวิจัย (Han et al., 2011) คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเหี่ยวเหี่ยวได้ 62.5% ทำให้ทั้งสองสายพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การงอกอยู่ที่ 88.89% และ 82.22% ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 5.2.1 เชื้อแอกติโนมัยสีทที่ได้จากดินนาข้าวอินทรีย์จังหวัดสุพรรณบุรี และดินนาข้าวจังหวัดปทุมธานี มีความหลากหลายที่จึ่งเหมาะแก่การนำไปศึกษาวิจัยต่อในอนาคต
- 5.2.2 นำแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SPB1097 ไปศึกษาต่อยอดโดยการทดสอบกับต้นพืชด้วยการเพาะเลี้ยงในโรงเรือน
- 5.2.3 นำเชื้อแอกติโนมัยสีทไปศึกษาการจัดจำแนกของเชื้อแอกติโนมัยสีท และนำไปทำผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กึ่งมณี นิสสัยดี และ อรอนงค์ ไกรวงษา. 2565. แอคติโนมัยสีทจากดินนาข้าวจังหวัดปทุมธานี การส่งเสริมการเจริญเติบโตและฤทธิ์ยับยั้งโรคกาบใบแห้งจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* DOAC 2666 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- คณิงกานต์ กลั่นบุศย์. 2565. บทปฏิบัติการที่ 8 การคัดกรองคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของพืชจากแบคทีเรียแอคติโนมัยสีท วิชาแบคทีเรียวิทยา. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- ฉัตรศิริทร์ นุชสมัย, ณีฎตราพร พรายศรี และ วรณา ขึ้นสว่าง. 2562. การคัดแยกแอคติโนมัยสีทที่ออกฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพจากดินนาข้าวอินทรีย์ จังหวัดปทุมธานี. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- ทัย กาบบัว และ อภิญญา ไชยรา. 2565. การคัดเลือกและประสิทธิภาพของแบคทีเรียละลายฟอสเฟสจากดินในพื้นที่ปลูกข้าว จังหวัดศรีสะเกษ. PPRU Science Journal. 19: 72-83.
- นรารวรรณ ปั่นงาม, อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต และ กรรณิการ์ ดวงมาลย์. (2554). แอคติโนมัยสีทจากดินนาและความสามารถในการยับยั้งราก่อโรคข้าว. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49. (หน้า 234-241). สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- พงศ์ระวี นิ่มน้อย (2558). แอคติโนมัยสีท. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- พรเทพ แซ่มซ้อย, ทอมทอง ดรณสนธยา และ วิทยา จินดาหลวง. 2561. ผลของสภาวะความชื้นดินต่อการตรึงแอมโมเนียมในดินที่มีแร่ธาตุแตกต่างกัน. วารสารแก่นเกษตร 46. 1: 294-300
- รัชนิ ศิริยาน, เสาวณี เขตสกุล, จิรภา ออสติน, วีรยุทธ ดัดตนรัมย์, รุ่งนภา ทองเคิ่ง และ ณีฎฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2564. การคัดเลือกสายพันธุ์มะเขือเทศต้านทานโรคเหี่ยวเหี่ยว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 52 ฉบับที่ 1 (พิเศษ). (หน้า 309-312).
- สมัญญา โพธิ์หลักทรัพย์ และ อนุธิดา กุ่ยสาคร 2565. แอคติโนมัยสีทจากดินนาข้าวอินทรีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี การส่งเสริมการเจริญเติบโตและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราก่อโรค *Rhizoctonia solani* DOAC 2666 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- Artal, R. B., Gopalakrishnan, C., & Thippeswamy, B. (2013). An efficient inoculation method to screen tomato, brinjal and chilli entries for bacterial wilt resistance. *Pest Management in Horticultural Ecosystems*, 18, 70-73.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Adhikari, P., Oh, Y., & Panthee, D. R. (2017). Current Status of Early Blight Resistance in Tomato: An Update. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), 2019. <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/10/2019>
- Aeny, T. N., Prasetyo, J. H. H., Suharjo, R., Dirmawati, S. R., Efri, E., & Niswati, A. (2018). Short Communication: Isolation and identification of actinomycetes potential as the antagonist of *Dickeya zeae* pineapple soft rot in Lampung, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. Elsevier.
- Artal, R. B., Gopalakrishnan, C., & Thippeswamy, B. (2013). An efficient inoculation method to screen tomato, brinjal and chilli entries for bacterial wilt resistance. *Pest Management in Horticultural Ecosystems*, 18, 70-73.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H. P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 80(1), 1-43. <https://doi.org/10.1128/mnbr.00019-15>
- Balachandar, R., Karmegam, N., Saravanan, M., Subbaiya, R., & Gurumoorthy, P. (2018). Synthesis of bioactive compounds from vermicast isolated actinomycetes species and its antimicrobial activity against human pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 121, 155-165.
- Billah, M., Sajib, S. A., Roy, N. C., Rashid, M. M., Reza, M. A., Hasan, M. M., & Talukder, M. R. (2020). Effects of DBD air plasma treatment on the enhancement of black gram (*Vigna mungo* L.) seed germination and growth. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 681, 108253. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108253>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Chaerani, R., & Voorrips, R. E. (2006). Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance. *Journal of general plant pathology*, 72, 335-347.

- Chen, J., Yu, Y., Li, S., & Ding, W. (2016). Resveratrol and Coumarin: Novel Agricultural Antibacterial Agent against *Ralstonia solanacearum* In Vitro and In Vivo. *Molecules*, 21(11).
- Digonnet, C., Martinez, Y., Denancé, N., Chasseray, M., Dabos, P., Ranocha, P., Marco, Y., Jauneau, A., & Goffner, D. (2012). Deciphering the route of *Ralstonia solanacearum* colonization in *Arabidopsis thaliana* roots during a compatible interaction: focus at the plant cell wall. *Planta*, 236(5), 1419-1431.
<https://doi.org/10.1007/s00425-012-1694-y>
- Foolad, M. R., Merk, H. L., & Ashrafi, H. (2008). Genetics, genomics and breeding of late blight and early blight resistance in tomato. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 27(2), 75-107.
- Goodfellow, M., & Williams, S. T. (1983). ECOLOGY OF ACTINOMYCETES. *Annual Review of Microbiology*, 37(1), 189-216.
<https://doi.org/10.1146/annurev.mi.37.100183.001201>
- Gopalakrishnan, S., Pande, S., Sharma, M., Humayun, P., Kiran, B. K., Sandeep, D., Vidya, M. S., Deepthi, K., & Rupela, O. (2011). Evaluation of actinomycete isolates obtained from herbal vermicompost for the biological control of *Fusarium* wilt of chickpea. *Crop Protection*, 30(8), 1070-1078.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.03.006>
- Han, Y.-K., Han, K.-S., Lee, S.-C., & Kim, S. (2011). Control of Bacterial Wilt of Tomato using Copper Hydroxide. *The Korean Journal of Pesticide Science*, 15.
- Hossain, M. F., Billah, M., Ali, M. R., Parvez, M. S. A., Zaoti, Z. F., Hasan, S. M. Z., Hasan, M. F., Dutta, A. K., Khalekuzzaman, M., Islam, M. A., & Sikdar, B. (2021). Molecular identification and biological control of *Ralstonia solanacearum* from wilt of papaya by natural compounds and *Bacillus subtilis*: An integrated experimental and computational study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 6972-6986. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.069>
- Kalakoutskii, L. V., & Agre, N. S. (1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriological Reviews*, 40(2), 469-524.
<https://doi.org/10.1128/br.40.2.469-524.1976>
- Mahadthanapuk, S., Sanguansermisri, M., Cutler, R. W., Sardud, V., & Anuntalabhochai, S. (2007). Control of Anthracnose Caused by *Colletotrichum musae* on *Curcuma alismatifolia* Gagnep. Using Antagonistic *Bacillus* spp. *American*

Journal of Agricultural and Biological Sciences, 2(2).

<https://doi.org/10.3844/ajabssp.2007.54.61>

- Mamphogoro, T. P., Babalola, O. O., & Aiyegoro, O. A. (2020). Sustainable management strategies for bacterial wilt of sweet peppers (*Capsicum annuum*) and other Solanaceous crops. *Journal of Applied Microbiology*, 129(3), 496-508. <https://doi.org/10.1111/jam.14653>
- Mohamed, A. A., Behiry, S. I., Younes, H. A., Ashmawy, N. A., Salem, M. Z. M., Márquez-Molina, O., & Barbabosa-Pilego, A. (2019). Antibacterial activity of three essential oils and some monoterpenes against *Ralstonia solanacearum* phylotype II isolated from potato. *Microbial Pathogenesis*, 135, 103604. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103604>
- Namisy, A., Chen, J.-R., Prohens, J., Metwally, E., Elmahrouk, M., & Rakha, M. (2019). Screening Cultivated Eggplant and Wild Relatives for Resistance to Bacterial Wilt (*Ralstonia solanacearum*). *Agriculture*, 9(7), 157. <https://www.mdpi.com/2077-0472/9/7/157>
- Potnis, N., Timilsina, S., Strayer, A., Shantharaj, D., Barak, J. D., Paret, M. L., Vallad, G. E., & Jones, J. B. (2015). Bacterial spot of tomato and pepper: diverse *Xanthomonas* species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge. *Molecular Plant Pathology*, 16(9), 907-920. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/mpp.12244>
- Prakash, P. Y., & Bhargava, K. (2016). A modified micro chamber agar spot slide culture technique for microscopic examination of filamentous fungi. *Journal of Microbiological Methods*, 123, 126-129. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.02.015>
- Qinyuan, L., Xiu, C., Yi, J., & Chenglin, J. (2016). Morphological Identification of Actinobacteria. In D. Dharumadurai & J. Yi (Eds.), *Actinobacteria* (pp. Ch. 3). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/61461>
- Razia, S., Chowdhury, M. S., Aminuzzaman, F. M., Sultana, N., & Islam, M. (2021). Morphological, Pathological, Biochemical and Molecular Characterization of *Ralstonia solanacearum* Isolates in Bangladesh. *American Journal of Molecular Biology*, 11, 142-164. <https://doi.org/10.4236/ajmb.2021.114012>

Rotem, J. (1994). *The genus Alternaria: biology, epidemiology, and pathogenicity*. American Phytopathological Society.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งมอบให้เพื่อการใช้งานเท่านั้น เมื่อผู้ยืมเห็นหน้าแบบฉบับนี้ให้รีบแจ้งการคัดค้าน
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นผู้ยืมเห็นหน้าแบบฉบับนี้ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sherf, A. F., & MacNab, A. A. (1986). *Vegetable diseases and their control*. John Wiley & Sons.
- Singh, N., Phukan, T., Sharma, P. L., Kabyashree, K., Barman, A., Kumar, R., Sonti, R. V., Genin, S., & Ray, S. K. (2018). An Innovative Root Inoculation Method to Study *Ralstonia solanacearum* Pathogenicity in Tomato Seedlings. *Phytopathology*®, 108(4), 436-442. <https://doi.org/10.1094/phyto-08-17-0291-r>
- Stall, R. E., Jones, J. B., & Minsavage, G. V. (2009). Durability of Resistance in Tomato and Pepper to Xanthomonads Causing Bacterial Spot. *Annual Review of Phytopathology*, 47(1), 265-284. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081752>
- Suresh, P., Shanmugaiah, V., Rajagopal, R., Muthusamy, K., & Ramamoorthy, V. (2022). *Pseudomonas fluorescens* VSMKU3054 mediated induced systemic resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 119, 101836.
- Turner, M., Jauneau, A., Genin, S. p., Tavella, M.-J., Vaillau, F., Gentzbittel, L., & Jardinaud, M.-F. o. (2009). Dissection of Bacterial Wilt on *Medicago truncatula* Revealed Two Type III Secretion System Effectors Acting on Root Infection Process and Disease Development. *Plant Physiology*, 150(4), 1713-1722. <https://doi.org/10.1104/pp.109.141523>
- Waksman SA. 1961. The Actinomycetes, classification, identification and description of Genera and species. Baitimare: The Williams and Wilkins Company. 2: 61-292
- Warwick, S., Bowen, T., McVeigh, H., & Embley, T. M. (1994). A phylogenetic analysis of the family Pseudonocardiaceae and the genera *Actinokineospora* and *Saccharothrix* with 16S rRNA sequences and a proposal to combine the genera *Amycolata* and *Pseudonocardia* in an emended genus *Pseudonocardia*. *Int J Syst Bacteriol*, 44(2), 293-299. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-2-293>
- Wicker, E., Grassart, L., Coranson-Beaudu, R., Mian, D., Guilbaud, C., Fegan, M., & Prior, P. (2007). *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential. *Appl Environ Microbiol*, 73(21), 6790-6801. <https://doi.org/10.1128/aem.00841-07>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Wu, S. X., Gao, F. Y., Zhang, R. P., Su, H., Yao, H. Y., Fan, X. L., & Li, Y. Y. (2023). Research progress in biological control of tomato bacterial wilt. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 34(9), 2585-2592. <https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.202309.028> (番茄青枯病生物防治的研究进展.)
- Xue, H., Lozano-Durán, R., & Macho, A. P. (2020). Insights into the Root Invasion by the Plant Pathogenic Bacterium *Ralstonia solanacearum*. *Plants*, 9(4), 516. <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/4/516>
- Zakharova, O. S., Zenova, G. M., and Zvyagintsev, D. G. 2001. Some Approaches to The Selective Isolation of Actinomycetes of the Genus *Actinomadura* from Soil. *Microbiology* 72, 110-113
- Zheng, X., Wang, J., Chen, Z., Zhang, H., Wang, Z., Zhu, Y., & Liu, B. (2019). A *Streptomyces* sp. strain: Isolation, identification, and potential as a biocontrol agent against soilborne diseases of tomato plants. *Biological Control*, 136, 104004. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104004>
- Zhuang, X., Gao, C., Peng, C., Wang, Z., Zhao, J., Shen, Y., & Liu, C. (2020). Characterization of a Novel Endophytic Actinomycete, *Streptomyces physcomitrii* sp. nov., and Its Biocontrol Potential Against *Ralstonia solanacearum* on Tomato. *Microorganisms*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8122025>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. International Streptomyces Project 2 (ISP2)

Glucose	4.0	g
Yeast extract	4.0	g
Malt extract	10.0	g
Agar	20.0	g
Distilled water	1	L
pH 7.0-7.3		

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Nutrient Agar (NA)

Peptone	5.0	g
Yeast extract	3.0	g
Sodium chloride (NaCl)	5.0	g
Agar	18.0	g
Distilled water	1	L
pH 7.0-7.3		

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. Tetra zolium chloride agar (TTC)

Peptone	11.0	g
Glucose	10.0	g
Agar	18.0	g
Distilled water	1	L

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Tetra zolium chloride agar (TZC)

Peptone	11.0	g
Glucose	10.0	g
Agar	18.0	g
Distilled water	1	L

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

Tetra zolium chloride (stock solution)	1	ml
--	---	----

(stock solution)

2,3,5 triphenyl Tetrazolium chloride	50	mg
Distilled water	5	mL



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

Reagent and Buffer

1. Tween 20

Tween 20	1	mL
10X TBS	10	mL
Distilled water	90	mL

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Glycerol 20%

Glycerol	20	ml
Distilled water	80	mL

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. ยาปฏิชีวนะ Cefotaxime 100 ppm

Cefotaxime	0.1	mg
Distilled water	10	mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

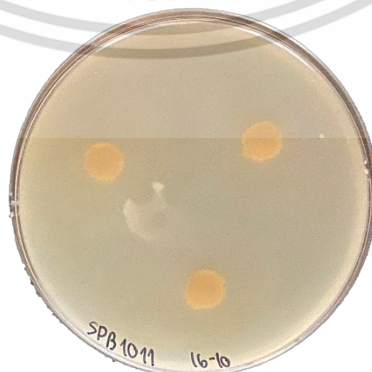
การทดสอบความสามารถแอกติโนมัยสีทด้านการเจริญของ
เชื้อ *R. solanacearum* โดยใช้วิธี Agar plug diffusion



รูปที่ 1 แสดงลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* บนอาหาร Nutrient agar (NA) ของเพลทควบคุม (negative control)



รูปที่ 2 แสดงลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* บนอาหาร Nutrient agar (NA) ของเพลทควบคุม (positive control)



รูปที่ 3 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลท SPB1011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการขงนเพื่อการค้าเท่านั้น เมื่อผู้ยู่ที่เห็นาเองจะระเอนหันการค้ำ
ไม่ว่าการจะขงนเอกสารนี้ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB2048



รูปที่ 5 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB2063



รูปที่ 6 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB2064

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB2072



รูปที่ 8 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB2073



รูปที่ 9 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB2086

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB2092

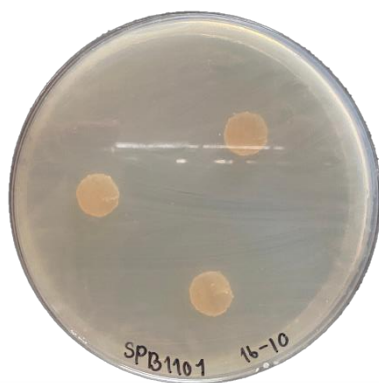


รูปที่ 11 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB2097



รูปที่ 12 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB1100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 13 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท SPB1101



รูปที่ 14 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท PTR31



รูปที่ 15 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท PTR36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 16 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท PTR38



รูปที่ 17 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย *R. solanacearum* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท PTR40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงการงานสหกิจศึกษา

วันที่ 13 เดือน มีนาคม พ.ศ 2567

ข้าพเจ้า นางสาวอรยา อ่อนน้อม รหัสประจำตัว 63050530
นางสาวอินทิรา เขยมาน รหัสประจำตัว 63050536

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรอง
ว่า โครงการงานสหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การศึกษาศักยภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีท ในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ยับยั้ง
เชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในเมล็ดมะเขือเทศ

ชื่อภาษาอังกฤษ Capability study of actinomycetes using as biological control
agent to inhibit plant pathogen, *Ralstonia solanacearum*, in
tomato seed.

ปีการศึกษา 2566

เป็นผลงานวิจัยที่ได้คัดลอก หรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่น และได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อน
เรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่ม
โครงการงานสหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ 4.88 %

ลงชื่อ.....อรยา อ่อนน้อม.....

(นางสาวอรยา อ่อนน้อม)

นักศึกษา

ลงชื่อ.....อินทิรา เขยมาน.....

(นางสาวอินทิรา เขยมาน)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการงานสหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงการ
สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหา
สมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....Khomykhan Klanbut.....

(ผศ.ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้