



การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพจากดินต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศและการส่งเสริมการเจริญเติบโต

วิทยานิพนธ์
ของ
รัตนา เฟ็งเพราะ

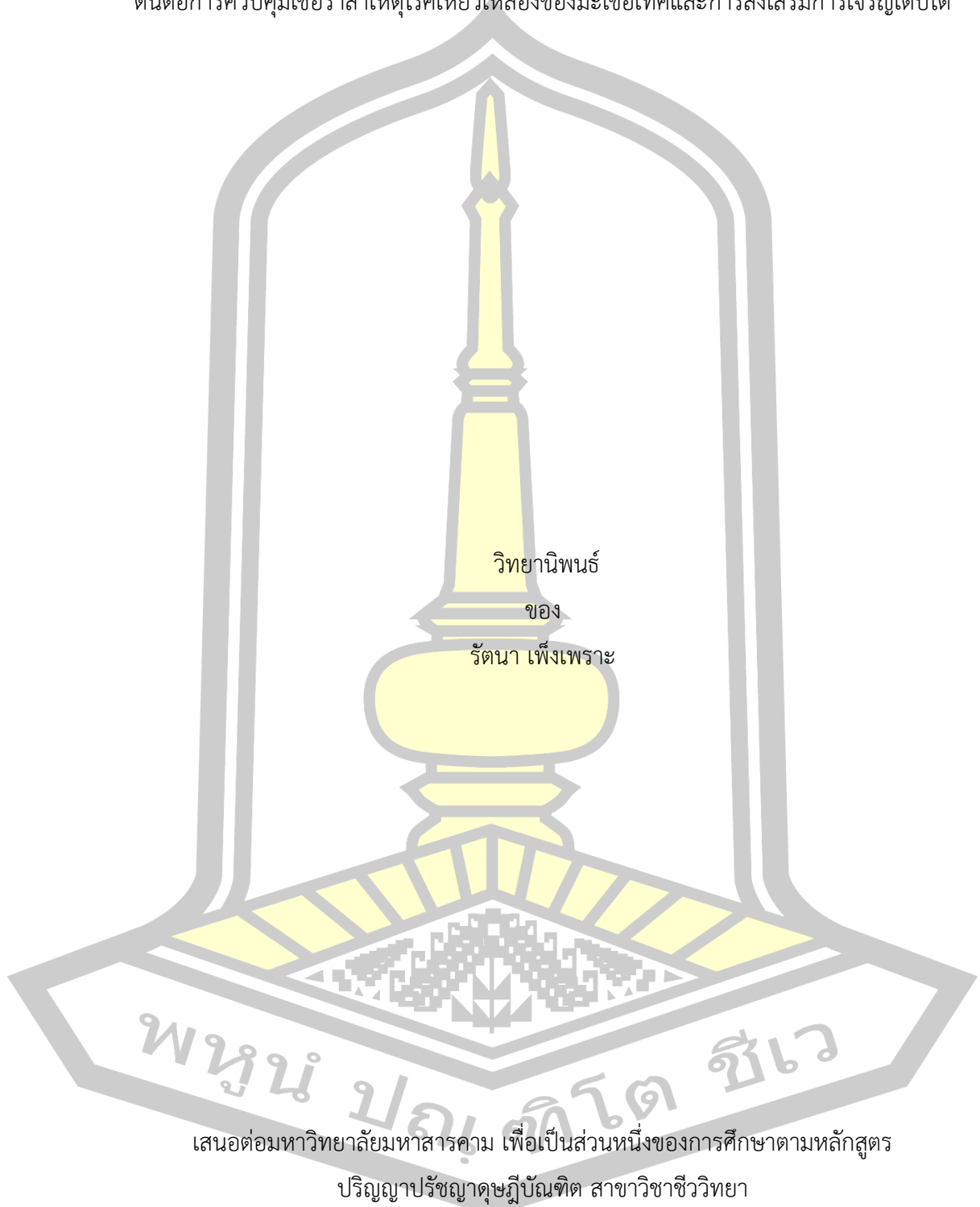
เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

มิถุนายน 2566

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพจาก
ดินต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศและการส่งเสริมการเจริญเติบโต



วิทยานิพนธ์
ของ
รัตนา เฟื่องเพราะ

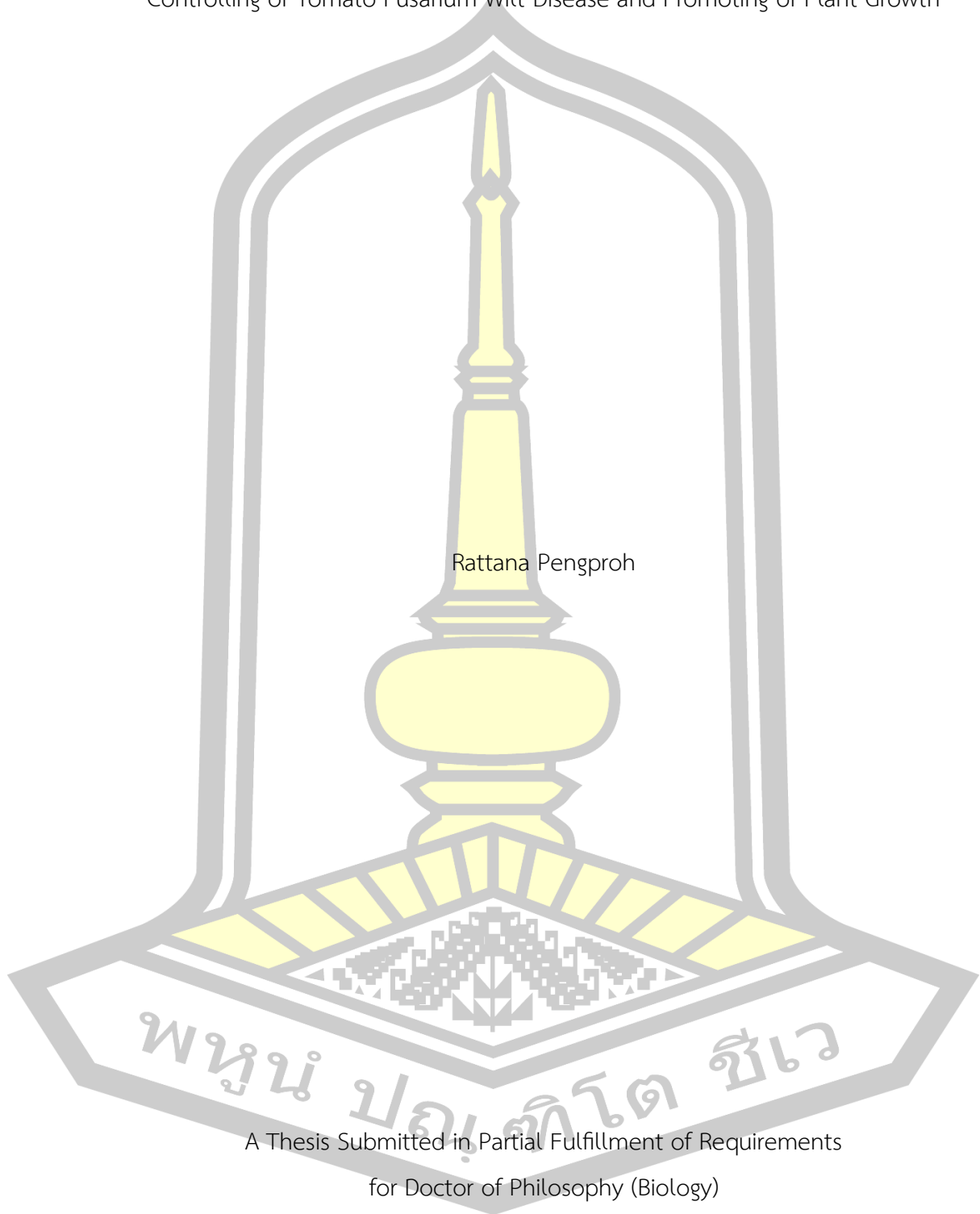
เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

มิถุนายน 2566

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Screening of Effective Antagonistic Bacillus spp. and Streptomyces spp. from Soil for
Controlling of Tomato Fusarium Wilt Disease and Promoting of Plant Growth



Rattana Pengproh

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Doctor of Philosophy (Biology)

June 2023

Copyright of Mahasarakham University



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวรัตนา เพ็งเพราะ
แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชา
ชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร. วียะดา มงคลธนารักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รศ. ดร. อภิเดช แสงดี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผศ. ดร. ประภาช กาวีชา)

กรรมการ

(รศ. ดร. ขนิษฐา สมตระกูล)

กรรมการ

(รศ. ดร. วรนนต์ นาคบรรพต)

กรรมการ

(ผศ. ดร. สุรศักดิ์ ชัยคำ)

มหาวิทยาลัยขอนแก่นให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

(ศ. ดร. ไพโรจน์ ประมวล)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

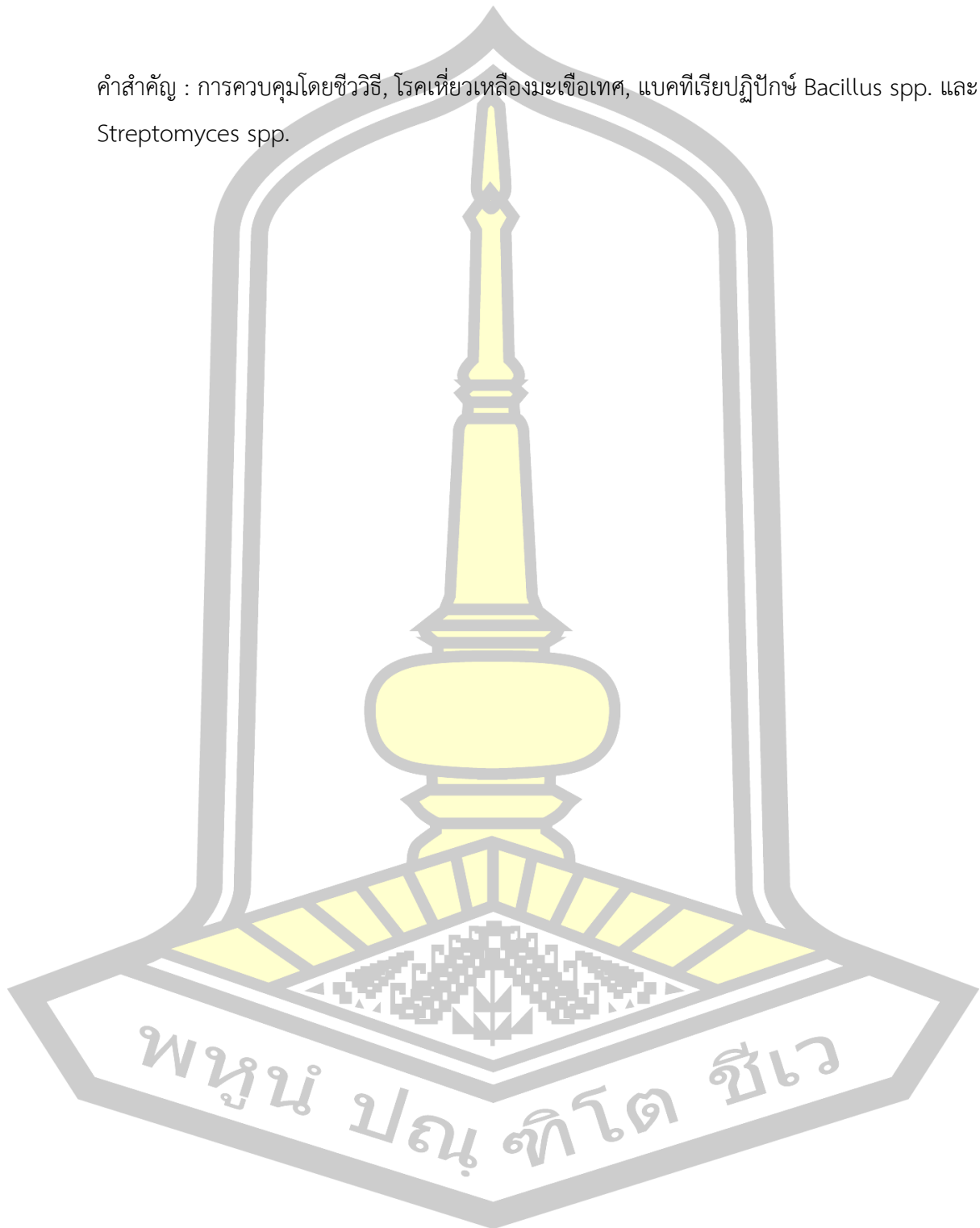
ชื่อเรื่อง	การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ที่มีประสิทธิภาพจากดินต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ และการส่งเสริมการเจริญเติบโต		
ผู้วิจัย	รัตนา เฟิงเพราะ		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. อภิเดช แสงดี ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประภาศ กาวีชา		
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต	สาขาวิชา	ชีววิทยา
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีที่พิมพ์	2566

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 11 ไอโซเลท และ *Streptomyces* จำนวน 86 ไอโซเลท ที่คัดแยกจากดินในจังหวัดบุรีรัมย์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ การทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีค่าร้อยละการยับยั้งเชื้อรา Fol มากกว่าร้อยละ 50 มีจำนวน 9 ไอโซเลท เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* จำนวน 4 ไอโซเลท (B.PNR1, B.PNR2, B.KK3 และ B.PB1) และ *Streptomyces* spp. จำนวน 5 ไอโซเลท (S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PB5) และเชื้อยังมีคุณสมบัติในการเป็น broad-spectrum โดยสามารถยับยั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้ ได้แก่ สามารถยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* 1 ไอโซเลท เชื้อรา *Foc* race1 จำนวน 10 ไอโซเลท เชื้อรา *C. gloeosporioides* 2 ไอโซเลท เชื้อรา *C. musae* 1 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* จำนวน 1 ไอโซเลท เมื่อศึกษาประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 9 ไอโซเลท ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา Fol ไอโซเลท TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการและกระถางพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองได้ดีกว่าการควบคุม โดยเฉพาะการใช้น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2, B.KK3, S.PNR29 และ S.PNR74 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในป้องกันการเกิดโรค และสามารถลดระดับความรุนแรงในการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าวสามารถผลิต extracellular enzymes (amylase, cellulase และ ligninase) ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ในสภาพห้องปฏิบัติการ และน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์

อิเล็กทรอนิกส์ นอกจากนี้เชื่อยังมีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต และการผลิตฮอร์โมน IAA ที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ และจากการศึกษาคุณสมบัติน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 9 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการงอก และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและกระถางพบว่า พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 มีแนวโน้มกระตุ้นการงอกของเมล็ด และส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้ดีที่สุด โดยเฉพาะการใช้น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 ที่ส่งเสริมให้ค่าน้ำหนักแห้งของ ลำต้น น้ำหนักแห้งของราก และค่าความยาวของลำต้นมะเขือเทศดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้เมื่อนำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 มาผลิตสารชีวภัณฑ์แบบผงพบว่า สารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ สามารถส่งเสริมการงอก และการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้ โดยเฉพาะสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ดีที่สุด สามารถลดระดับความรุนแรงของโรคได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์ทางการค้า โดยสามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ถึงร้อยละ 68 ส่วนสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* S.PNR29 สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ดีเทียบเท่ากับสารชีวภัณฑ์การค้า *Streptomyces* และเมื่อทำการระบุชนิดเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 ด้วยข้อมูลของยีน 16S rRNA และการวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมทั้งหมดของเชื้อด้วยการหาค่าดัชนีนิวคลีโอไทด์โดยเฉลี่ย (ANIb) และค่า digital DNA-DNA hybridization (dDDH) พบว่าสามารถระบุชนิดแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 ว่าเป็นเชื้อ *B. stercoris* ไอโซเลท B.PNR1 ส่วนแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* โดยเมื่อวิเคราะห์จีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท พบว่าเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท มีกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารสังเคราะห์ทางชีวภาพ เช่น สารปฏิชีวนะ และสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้นเชื้อแบคทีเรีย *B. stercoris* ไอโซเลท B.PNR1 และ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 จึงเป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถใช้ในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลือง และมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

คำสำคัญ : การควบคุมโดยชีววิธี, โรคเหี่ยวเหลืองมะเขือเทศ, แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp.



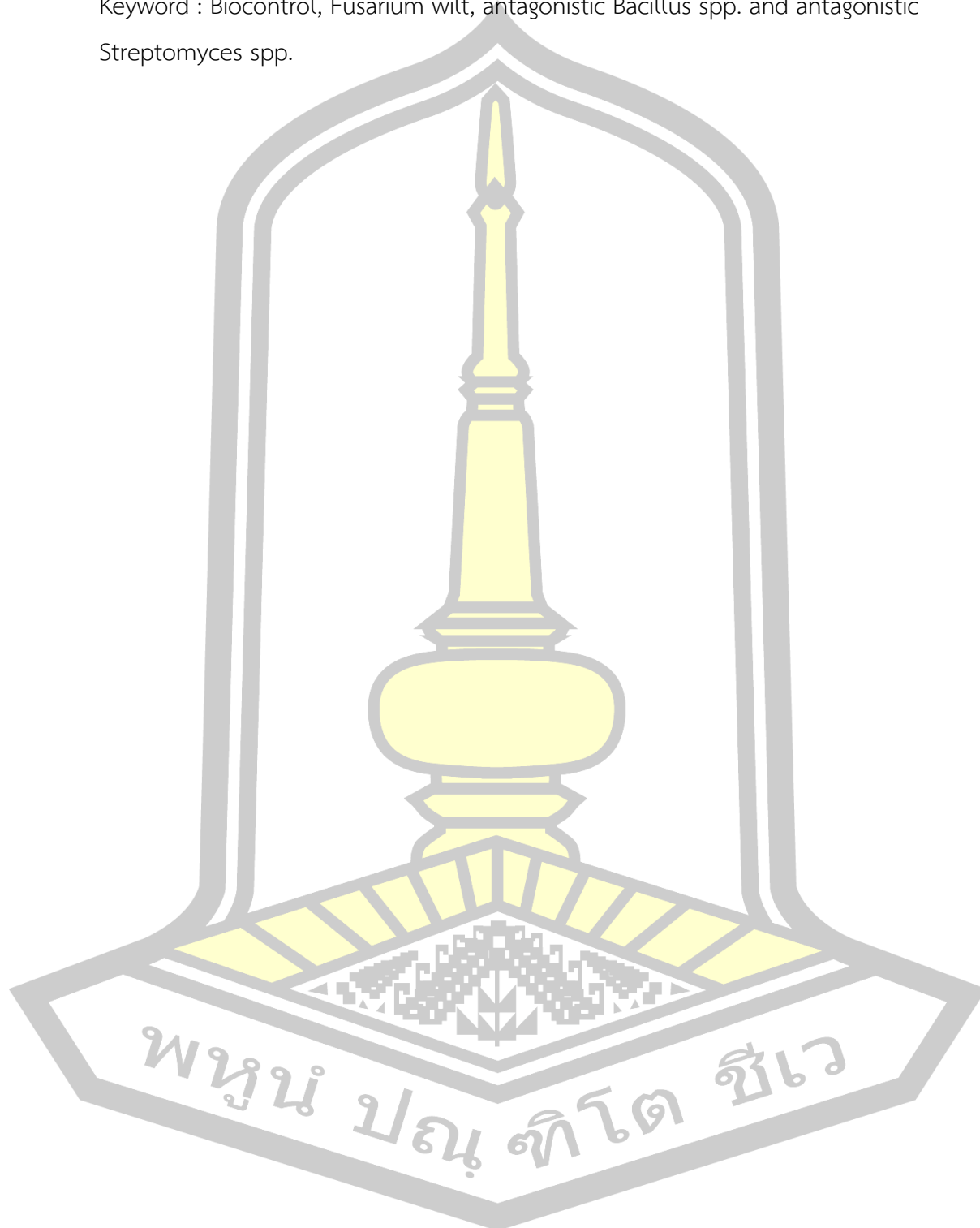
TITLE	Screening of Effective Antagonistic <i>Bacillus</i> spp. and <i>Streptomyces</i> spp. from Soil for Controlling of Tomato <i>Fusarium</i> Wilt Disease and Promoting of Plant Growth		
AUTHOR	Rattana Pengproh		
ADVISORS	Associate Professor Aphidech Sangdee , Ph.D. Assistant Professor Praphat Kawicha , Ph.D.		
DEGREE	Doctor of Philosophy	MAJOR	Biology
UNIVERSITY	Maharakham University	YEAR	2023

ABSTRACT

In this study, 11 isolates of *Bacillus* spp. and 86 isolates of *Streptomyces* spp. were isolated from soils in Buriram province, and they were then assessed for their antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fol*), the causal agent of tomato *Fusarium* wilt disease, as well as their broad-spectrum by dual culture technique and their plant growth-promoting (PGP) activity were also investigated. The results showed that only 9 isolates, 4 isolates of *Bacillus* (B.PNR1, B.PNR2, B.KK3 and B.PB1) and 5 isolates of *Streptomyces* (S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1, and S.PB5) expressed the percentage of growth inhibition more than 50%. Moreover, the antagonistic bacteria *Bacillus* and *Streptomyces* were also showed broad-spectrum activity against the other 9 isolates of *Fol*, 1 isolate of *Sclerotium rolfsii*, 10 isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* (*Foc*) race 1, 2 isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*, 1 isolate of *C. musae* and 1 isolate of phytopathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum*. *In vitro* and *in vivo* experiment, the preventative approaches gave good results and significantly in inhibiting of *Fol* in tomato plants than those of the curative approaches. Especially, culture filtrates and cell suspensions of antagonistic bacteria isolates B.PNR1, B.PNR2, B.KK3, S.PNR29, and S.PNR74 gave good ability to protect the tomato plant from the fungal pathogen by reducing the disease severity. In addition, these antagonist bacterial isolates have the activity to produce extracellular enzymes (amylase, cellulase, and ligninase) involved

in inhibiting the growth of the plant pathogenic fungi under *in vitro* condition. The culture filtrate of these bacterial isolates could disturb the fungal cell wall after electron microscope observation. In addition, antagonistic bacteria had the IAA production and the phosphate solubilization involved in tomato growth promotion. For the plant growth promoting activity, the results showed that the culture filtrates and cell suspensions of the antagonistic *Bacillus* isolates B.PNR1 and *Streptomyces* isolate S.PNR29 had the best activity to enhance the seed germination rate and promote the tomato growth under *in vitro* and *in vivo* experiments, respectively. The shoot and root dry weight, and shoot length of tomato plants treated with the culture filtrate and cell suspension of *Bacillus* isolate B.PNR1 was significantly higher than those of the control treatment. Moreover, the antagonistic *Bacillus* isolate B.PNR1 and *Streptomyces* isolate S.PNR29 were used to develop a bioproduct for controlling Fusarium wilt disease, tomato seed germination, and tomato growth. The results showed that the B.PNR1 and S.PNR29 bioproducts had the activity to control the Fusarium wilt disease, enhance the seed germination rate, and promote tomato growth. Among them, the B.PNR1 bioproduct gave the best activity with low disease severity score compared to the commercial *Bacillus* bioproduct. The disease control rates of B.PNR1 was 68%. The bioproduct from *Streptomyces* isolate S.PNR29 was able to control Fusarium wilt disease as well as commercial *Streptomyces* bioproduct. Based on the best antifungal and plant growth promoting activity, the antagonistic *Bacillus* isolates B.PNR1 and *Streptomyces* isolate S.PNR29 were identified by 16S rRNA sequencing and whole genome sequencing. The *Bacillus* isolate B.PNR1 was identified as *B. stercoris* isolate B.PNR1. The isolate S.PNR29 was identified and assigned as bacteria in the genus *Streptomyces*. In addition, the genome studies showed that the genome of *Bacillus* isolate B.PNR1 and *Streptomyces* isolate S.PNR29 contained genes related to biosynthetic gene clusters (BGCs), such as the production of antibiotics and genes related to growth-promoting properties. Therefore, the bacteria *B. stercoris* B.PNR1 and *Streptomyces* sp. isolate S.PNR29 would be used as an antagonistic bacteria against the Fusarium wilt pathogen and promoting of the growth of tomato.

Keyword : Biocontrol, Fusarium wilt, antagonistic Bacillus spp. and antagonistic Streptomyces spp.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนการศึกษาและวิจัย จากมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ปี พุทธศักราช 2562 และจากทุนรัฐบาลทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม) เพื่อศึกษาวิชาในประเทศ ปีพุทธศักราช 2563

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจากรองศาสตราจารย์ ดร. อภิเดช แสงดี และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประภาส กาวินา ประธานที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์หลักและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิยะดา มงคลธนารักษ์ ประธานกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ รองศาสตราจารย์ ดร. ชนิษฐา สมตระกูล รองศาสตราจารย์ ดร. วรพันธ์ นาคบรรพต และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรศักดิ์ ชันคำ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษา แนะนำแก้ไขปรับปรุงข้อบกพร่อง รวมทั้งให้คำแนะนำองค์ความรู้แนวทางในการศึกษาค้นคว้ามาโดยตลอด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ที่คอยให้การสนับสนุนและช่วยเหลืออย่างดีเสมอมาในลาศึกษาต่อในครั้งนี้

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธัญญ์วณิช ธัญสิริวรรณ หน่วยวิจัยเทคโนโลยีจีโนมพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร ที่ให้การสนับสนุนตัวอย่างเชื้อรา และให้การช่วยเหลือเอื้ออำนวยสถานที่ในการทำวิจัย ในครั้งนี้

ขอขอบคุณสาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนตัวอย่างเชื้อราเพื่อใช้ในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องอุปกรณ์ ภาควิชาชีววิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือทางด้านอุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่ในการดำเนินการวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจด้วยดีเสมอมา
ท้ายที่สุดผู้วิจัยขอกราบพระคุณพ่อบุญหา เพ็งเพราะ คุณแม่ประเดิม เพ็งเพราะ นายทิวากร เพ็งเพราะ รวมทั้งญาติพี่น้องทุกท่านที่คอยให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจที่ดีในการทำงานวิจัยในครั้งนี้มาโดยตลอด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ช
กิตติกรรมประกาศ.....	ญ
สารบัญ.....	ฎ
สารบัญตาราง.....	ต
สารบัญภาพ.....	ด
บทที่ 1.....	1
บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานของงานวิจัย.....	3
1.4 ความสำคัญของการวิจัย.....	3
1.5 ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
1.6 สถานที่ดำเนินงานวิจัย.....	5
1.7 ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย.....	6
1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	9
บทที่ 2.....	10
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	10
2.1 เชื้อราสาเหตุโรคพืช.....	10
2.2 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี.....	13
2.3 จุลินทรีย์ในดิน.....	14

2.4 ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในดินด้านการเกษตร	18
2.5 ลักษณะทั่วไปและความสำคัญของเชื้อ <i>Bacillus</i> spp.	21
2.7 Next generation sequencing (NGS).....	33
2.8 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	34
บทที่ 3	40
วิธีดำเนินการวิจัย	40
3.1 วัสดุและอุปกรณ์.....	40
3.2 วิธีการทดลอง.....	42
บทที่ 4	61
ผลการทดลอง	61
4.1 การเก็บตัวอย่างดินในบางเขตพื้นที่ของจังหวัดบุรีรัมย์.....	61
4.2 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดิน.....	61
4.3 การคัดแยก การทดสอบการก่อโรค และการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพืช.....	68
4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Fol</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศเบื้องต้นด้วยวิธี dual culture....	70
4.5 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum	75
4.6 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา <i>Fol</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (<i>in vitro</i>) โดยวิธี Pour plate	80
4.7 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา <i>Fol</i> ด้วยวิธีการ spore germination test.....	81
4.8 การศึกษาคุณลักษณะ และการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. เบื้องต้น.....	84
4.9 ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อเส้นใยเชื้อรา <i>Fol</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM และ TEM	88

4.10 การทดสอบคุณสมบัติเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช	91
4.11 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา <i>Fol</i> TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง	99
4.12 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ	104
4.13 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง	107
4.13 การผลิตจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปของสารชีวภัณฑ์ชนิดผง	118
4.14 การศึกษาคุณลักษณะจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> และ <i>Streptomyces</i> ที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อราโรคเหี่ยวเหลือง และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ	127
บทที่ 5	146
สรุป และอภิปรายผลการทดลอง	146
5.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. ที่มีประสิทธิภาพจากดินต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช และการส่งเสริมการเจริญเติบโตในมะเขือเทศ	147
5.2 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> spp. ที่มีประสิทธิภาพจากดินต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช และการส่งเสริมการเจริญเติบโตในมะเขือเทศ	154
5.3 ข้อเสนอแนะ	159
บรรณานุกรม	160
ประวัติผู้เขียน	184

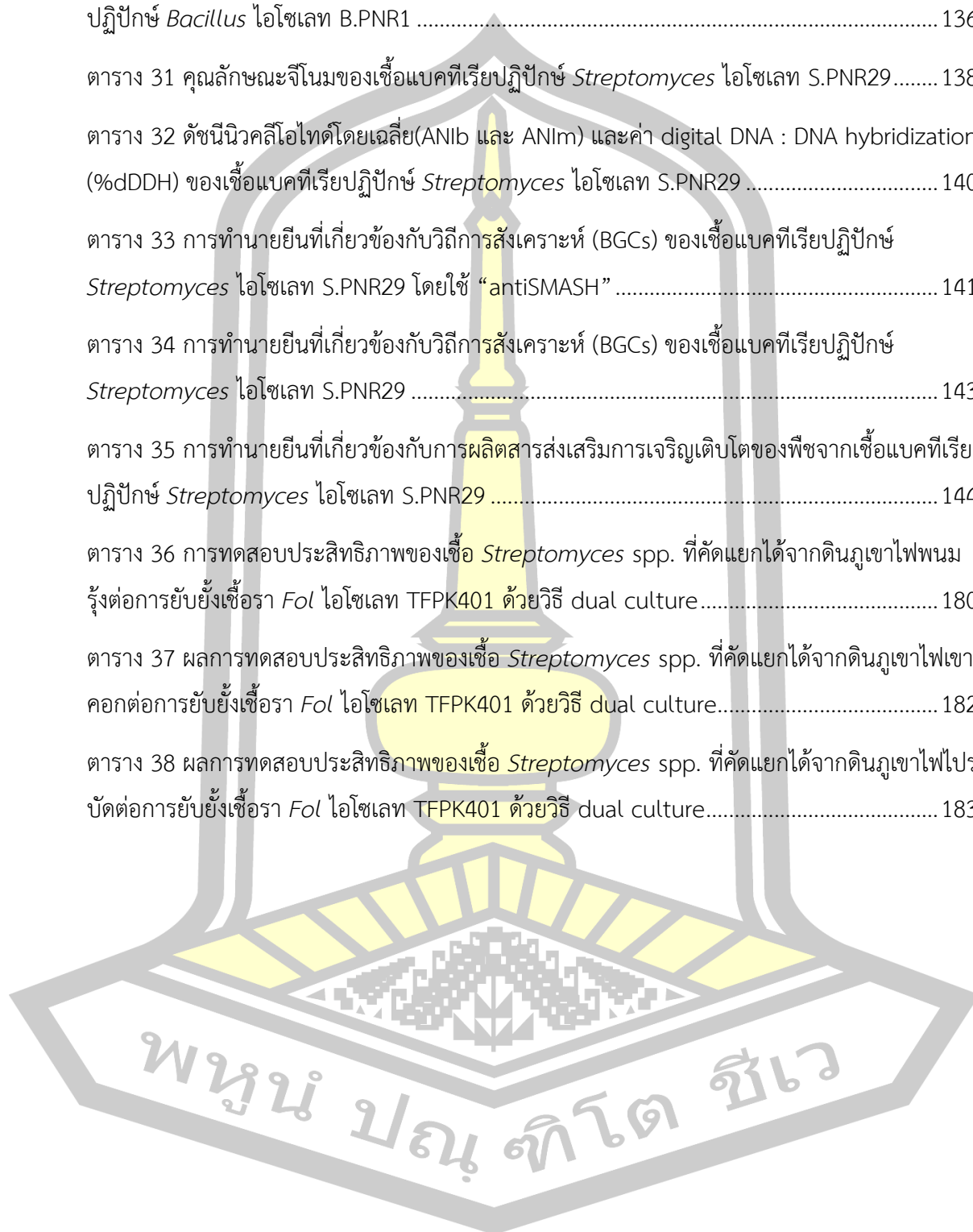


สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย	6
ตาราง 2 ความสามารถของเชื้อ <i>Bacillus</i> spp. ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช	25
ตาราง 3 สารปฏิชีวนะบางชนิดที่ผลิตจากเชื้อ <i>Streptomyces</i> spp.....	28
ตาราง 4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดที่ผลิตจากเชื้อ <i>Streptomyces</i> spp. และฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์.....	29
ตาราง 5 ประสิทธิภาพของ <i>Streptomyces</i> spp. ในการป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดต่าง ๆ.....	31
ตาราง 6 เชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟ 3 แห่งในจังหวัดบุรีรัมย์.....	63
ตาราง 7 เชื้อแบคทีเรีย <i>Streptomyces</i> spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟ 3 แห่งในจังหวัดบุรีรัมย์	67
ตาราง 8 ผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคพืช	69
ตาราง 9 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Fol</i> ในมะเขือเทศด้วยวิธี dual culture.....	72
ตาราง 10 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Fol</i> สาเหตุโรคมะเขือเทศด้วยวิธี dual culture	74
ตาราง 11 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Bacillus</i> spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Foc</i> สาเหตุโรคเหี่ยวในกล้วยด้วยวิธี dual culture	77
ตาราง 12 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Foc</i> สาเหตุโรคเหี่ยวในกล้วยด้วยวิธี dual culture.....	78
ตาราง 13 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช	79
ตาราง 14 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช	79
ตาราง 15 การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์และสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp.....	93

ตาราง 16 การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์และสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> spp.....	94
ตาราง 17 คุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. ในการผลิตฮอโมน IAA ที่เวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีการผสม L-Tryptophan ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน.....	96
ตาราง 18 คุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> spp. ในการผลิตฮอโมน IAA ในอาหาร AGMB ที่มีส่วนผสม 0.2% L-tryptophan ที่ช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน	98
ตาราง 19 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา <i>Fol</i> TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง.....	101
ตาราง 20 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย <i>Streptomyces</i> ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา <i>Fol</i> TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองมะเขือเทศในระดับกระถาง	103
ตาราง 21 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง	113
ตาราง 22 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง	115
ตาราง 23 สารชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Fol</i> TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง	123
ตาราง 24 การทดลองชุดที่ 1 ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตมะเขือเทศในระดับกระถาง	128
ตาราง 25 การทดลองชุดที่ 2 ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตมะเขือเทศในระดับกระถาง.....	129
ตาราง 26 คุณลักษณะจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> ไอโซเลท B.PNR1.....	131
ตาราง 27 ดัชนีนิวคลีโอไทด์โดยเฉลี่ย (ANIb และ ANIm) และค่า digital DNA : DNA hybridization (%dDDH) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> ไอโซเลท B.PNR1	133
ตาราง 28 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์ (BGCs) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> ไอโซเลท B.PNR1 โดยใช้ “antiSMASH”	134
ตาราง 29 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> ไอโซเลท B.PNR1.....	135

ตาราง 30 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> ไอโซเลท B.PNR1	136
ตาราง 31 คุณลักษณะจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> ไอโซเลท S.PNR29.....	138
ตาราง 32 ดัชนีนิวคลีโอไทด์โดยเฉลี่ย (ANib และ ANim) และค่า digital DNA : DNA hybridization (%dDDH) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> ไอโซเลท S.PNR29	140
ตาราง 33 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์ (BGCs) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> ไอโซเลท S.PNR29 โดยใช้ “antiSMASH”	141
ตาราง 34 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์ (BGCs) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> ไอโซเลท S.PNR29	143
ตาราง 35 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Streptomyces</i> ไอโซเลท S.PNR29	144
ตาราง 36 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Streptomyces</i> spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟพนม รุ่งต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Fol</i> ไอโซเลท TFPK401 ด้วยวิธี dual culture.....	180
ตาราง 37 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Streptomyces</i> spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟเขาคอกต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Fol</i> ไอโซเลท TFPK401 ด้วยวิธี dual culture.....	182
ตาราง 38 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Streptomyces</i> spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟปราบต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Fol</i> ไอโซเลท TFPK401 ด้วยวิธี dual culture.....	183



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะอาการของโรคเหี่ยวในมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fol</i>	13
ภาพที่ 2 กลุ่มของแบคทีเรีย และ Archaeal ที่พบในดินภูเขาไฟในช่วงเวลาแตกต่างกัน.....	17
ภาพที่ 3 พื้นที่เก็บตัวอย่างดินและลักษณะดิน.....	62
ภาพที่ 4 แผนภูมิความสัมพันธ์รูปแบบ neighbor-joining tree ที่วิเคราะห์ลำดับเบสในส่วนของยีน ITS ของเชื้อก่อโรคพืชเทียบกับเชื้อมาตรฐานที่มีรายงานมาก่อนในฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม MEGA vision11	68
ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Bacillus</i> ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 ต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Fol</i> จำนวน 10 ไอโซเลท.....	71
ภาพที่ 6 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา <i>Fol</i> ไอโซเลท TFPK401	73
ภาพที่ 7 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา <i>Fol</i> สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ.....	81
ภาพที่ 8 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา <i>Fol</i> ด้วยวิธี spore germination test.....	83
ภาพที่ 9 แผนภูมิความสัมพันธ์รูปแบบ neighbor-joining tree ที่วิเคราะห์ลำดับเบสในส่วนของยีน 16s rDNA ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. เทียบกับเชื้อมาตรฐานที่มีรายงานมาก่อนในฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม MEGA vision11	86
ภาพที่ 10 แผนภูมิความสัมพันธ์รูปแบบ neighbor-joining tree ที่วิเคราะห์ลำดับเบสในส่วนของยีน 16s rDNA ของเชื้อแบคทีเรีย <i>Streptomyces</i> spp. เทียบกับเชื้อมาตรฐานที่มีรายงานมาก่อนในฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม MEGA vision11.....	87
ภาพที่ 11 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา <i>Fol</i> TFPK401 ที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด SEM.....	89
ภาพที่ 12 ภาพตัดตามขวางของเชื้อรา <i>Fol</i> TFPK401 ที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ <i>Bacillus</i> spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด TEM	89

ภาพที่ 13 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Fol* TFPK401 ที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย
 ปฏิปักษ์ *Streptomyces* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด SEM..... 90

ภาพที่ 14 ภาพตัดตามขวางของเชื้อรา *Fol* TFPK401 ที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อ
 แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด TEM 90

ภาพที่ 15 กราฟการผลิตฮอร์โมน IAA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ในอาหารที่มีส่วนผสม L-
 tryptophan ที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เทียบกับอาหาร NB ที่ไม่มี
 ส่วนผสมของ L-tryptophan 97

ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401
 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง 100

ภาพที่ 17 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol*
 TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง..... 104

ภาพที่ 18 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus*
 spp. ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ..... 106

ภาพที่ 19 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์
Streptomyces spp. ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ..... 107

ภาพที่ 20 ชุดการทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย
 ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง..... 109

ภาพที่ 21 ชุดการทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย
 ปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง 112

ภาพที่ 22 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโต
 ของมะเขือเทศในระดับกระถาง..... 114

ภาพที่ 23 ประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการ
 เจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง 114

ภาพที่ 24 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการ
 เจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง 116

ภาพที่ 25 ประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริม
 การเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง 117

ภาพที่ 26 ลักษณะจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปของสารชีวภัณฑ์ชนิดผง 118

ภาพที่ 27 การมีชีวิตรอดของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.KK3, S.PNR29, BS ทางการค้า และ *Streptomyces* ทางการค้า ในสารชีวภัณฑ์อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน 120

ภาพที่ 28 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 ที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์ที่เก็บรักษาในระยะเวลาต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ..... 121

ภาพที่ 29 การมีชีวิตรอดของสารชีวภัณฑ์ในสภาพดินปลูกในระดับกระถาง 122

ภาพที่ 30 ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง 124

ภาพที่ 31 ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ 126

ภาพที่ 32 ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง 130

ภาพที่ 33 การระบุชนิดและการจัดจำแนกความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 132

ภาพที่ 34 การวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 เพื่อทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะและสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยใช้โปรแกรม antiSMASH และ KEGG pathway 136

ภาพที่ 35 การระบุชนิดและการจัดจำแนกความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 139

ภาพที่ 36 การวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 เพื่อทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะและสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยใช้โปรแกรม KEGG pathway 139

ภาพที่ 37 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* spp. 176

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญของโลก มีคุณค่าทางอาหารสูง ใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย ในภูมิภาคเอเชียมะเขือเทศเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญสำหรับเกษตรกร พื้นที่เพาะปลูกมะเขือเทศมีประมาณ 22 ล้านไร่ โดยมีผลผลิตประมาณปีละ 95.13 ล้านตัน (Sivakumar et al., 2018) อย่างไรก็ตามในการเพาะปลูกมะเขือเทศยังคงประสบกับปัญหาที่เกิดจากเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) ที่ทำให้มะเขือเทศเหี่ยว และส่งผลทำให้ผลผลิตของมะเขือเทศลดลงร้อยละ 10-50 และลดลงสูงถึงร้อยละ 90 (Hibar et al., 2006) เมื่อเกษตรกรประสบกับปัญหาดังกล่าวจะมีการใช้สารเคมีป้องกันหรือสารกำจัดเชื้อราในกลุ่ม benomyl, carbendazim, prochloraz, fludioxonil, bromuconazole, and azoxystrobin เป็นต้น (Al-Askar et al., 2015) แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีหรือสารกำจัดเชื้อราเพื่อป้องกันหรือควบคุมการระบาดของเชื้อราสาเหตุโรคพืชยังไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร เนื่องจากเชื้อรา Fol เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดิน และมีการอยู่รอดในเศษซากพืชข้ามฤดูได้ ทำให้การใช้สารเคมียังไม่ได้ผลดี ไม่คุ้มค่ากับค่าใช้จ่ายที่เสียไป แต่กลับทำให้ค่าใช้จ่ายในการลงทุนทำการเกษตรมากขึ้น ในขณะที่ราคาผลผลิตยังคงตกต่ำอยู่ตลอด นอกจากนี้การใช้สารเคมียังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และสุขภาพของเกษตรกรอีกด้วย (Vurukonda et al., 2018) จากปัญหาการระบาด และการเข้าทำลายของเชื้อราเพิ่มมากขึ้น จึงจำเป็นต้องหาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืช เพื่อลดความเสียหายของพืชที่เกิดจากเชื้อราอย่างมีประสิทธิภาพ มีต้นทุนต่ำ และไม่ก่อให้เกิดปัญหาต่อเนื้อหลังจากการใช้สารทดแทนการใช้สารเคมี (อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ, 2556) ในปัจจุบันการควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี (Biological control) โดยการใช้สิ่งมีชีวิตหรือเชื้อจุลินทรีย์มายับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคเพื่อไม่ให้สร้างความเสียหายต่อพืช เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เรียกว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีกลไกการยับยั้งหรือควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคพืชอยู่ 4 รูปแบบ คือ การสร้างสาร antibiosis การแข่งขัน (competition) การเป็นปรสิต (parasitism) และการชักนำให้ต้านทานต่อโรค (induced host resistance) (นิพนธ์ ทวีชัย, 2553) ซึ่งจากการศึกษารายงานการวิจัยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชนั้นจะมีการใช้จุลินทรีย์ในกลุ่มของแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากแบคทีเรียจัดเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่ และพบมากที่สุด在地 เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ แบคทีเรียกลุ่มที่มีความสำคัญและได้รับความสนใจเป็นอย่างมากคือแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สกุลนี้

นอกจากจะมีประสิทธิภาพในการควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในพืชแล้วนั้นยังมีรายงานว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้อีกด้วย (Amaresan et al., 2018; Khan et al., 2018; Sangdee et al., 2016) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) มีแหล่งอาศัยที่หลากหลาย แต่ส่วนใหญ่พบกระจายอยู่ทั่วไปอยู่ในดิน ทำให้มีความหลากหลายทางด้านชีววิทยา เช่น ลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา รวมไปถึงทำให้มีความหลากหลายในการสร้างสารทุติยภูมิเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Hamid et al., 2020; Saxena et al., 2020; Sharma & Thakur, 2020)

จังหวัดบุรีรัมย์ เป็นหนึ่งในจังหวัดที่มีภูเขาไฟมากที่สุดในประเทศไทย ได้แก่ ภูเขาไฟกระโดง ภูเขาไฟพนมรุ้ง ภูเขาไฟอังคาร ภูเขาไฟหลุบหรือภูหลุบ ภูเขาไฟไพบรัด และภูเขาไฟเขาคอก การสลายตัวของหินภูเขาไฟเป็นต้นกำเนิดของดินภูเขาไฟ ซึ่งในดินภูเขาไฟนั้นจะพบแร่ธาตุดินมากมาย และดินภูเขาไฟที่กระจายอยู่ทั่วโลกมีความหลากหลายทางชีวภาพของสภาพแวดล้อมภูเขาไฟที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อจุลินทรีย์ที่อยู่อาศัยและเจริญของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในแต่ละแห่งแตกต่างกัน ดังนั้นดินภูเขาไฟจึงอาจจะเป็นดินที่สามารถทำให้เกิดความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต และอาจจะค้นพบสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. (Hernández et al., 2020; Herrera & Cockell, 2007; Sivalingam et al., 2019) ซึ่งในประเทศไทยยังไม่เคยมีการรายงานการวิจัยถึงจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟในเขตจังหวัดบุรีรัมย์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการคัดแยก จัดจำแนก ระบุชนิดเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินในเขตจังหวัดบุรีรัมย์บางแห่งที่มีเขตพื้นที่ใกล้กับภูเขาไฟ 3 แห่ง คือ เขตพื้นที่ดินที่ใกล้กับดินภูเขาไฟพนมรุ้ง ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไพบรัด เพื่อทดสอบความเป็นปฏิกิริยาของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1. เพื่อคัดแยก จัดจำแนก และระบุชนิดเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. จากดินในพื้นที่ทำการเกษตรใกล้กับแหล่งภูเขาไฟ 3 แห่ง ในจังหวัดบุรีรัมย์ คือ เขตพื้นที่การเกษตรใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้ง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไพบรัด อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์

1.2.2. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ

1.2.3 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีคุณสมบัติต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

1.2.4 เพื่อผลิตสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ และส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

1.3.1 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินในพื้นที่ทำการเกษตรใกล้กับแหล่งภูเขาไฟ 3 แห่ง ในจังหวัดบุรีรัมย์ คือ เขตพื้นที่การเกษตรใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้ง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไปรบัต อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ

1.3.2 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินในพื้นที่ทำการเกษตรใกล้กับแหล่งภูเขาไฟ 3 แห่ง ในจังหวัดบุรีรัมย์ คือ เขตพื้นที่การเกษตรใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้ง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไปรบัต อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

1.3.3 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินในพื้นที่ทำการเกษตรใกล้กับแหล่งภูเขาไฟ 3 แห่ง ในจังหวัดบุรีรัมย์ คือ เขตพื้นที่การเกษตรใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้ง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไปรบัต อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ สามารถพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ และส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้

1.4 ความสำคัญของการวิจัย

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการเพาะปลูกพืชเศรษฐกิจที่เป็นสินค้าการเกษตรเป็นจำนวนมาก เช่น มะเขือเทศ จากการรายงานของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรในปีพุทธศักราช 2564 ประเทศไทยมีพื้นที่ในการเพาะปลูกมะเขือเทศทั้งหมด 39,050 ไร่ ได้ผลผลิต 134,084 ตัน ใช้เพื่อการบริโภค 43,760 ตัน และส่งเข้าโรงงาน 90,324 ตัน แต่ในปัจจุบันการผลิตมะเขือเทศมีปัญหาเรื่องการเข้าทำลายของโรคและแมลงศัตรูพืชมากมายเนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกได้ตลอดทั้งปี ตัวอย่างเช่น เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มของเชื้อรา *Fol* โดยเชื้อราจะทำให้ต้นกล้าเหี่ยว ขัดขวางการพัฒนาของต้นกล้า ทำให้สูญเสียผลผลิต ควบคุมยากเพราะเป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดินและเศษซากพืชได้หลายปี สร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรผู้เพาะปลูกมะเขือเทศเป็นอย่างมาก ดังนั้นเมื่อประสบกับปัญหาดังกล่าวเกษตรกรส่วนใหญ่จะเลือกใช้สารเคมีป้องกันหรือควบคุมการระบาดของเชื้อราสาเหตุโรคพืช แต่การใช้สารเคมีเป็นระยะเวลายาวนานส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และ

สุขภาพของเกษตรกรรวมไปถึงผู้บริโภคอีกด้วย ดังนั้นในปัจจุบันการใช้ชีววิธีควบคุมโรคพืช (Biological control) ซึ่งเป็นการใช้สิ่งมีชีวิตหรือเชื้อจุลินทรีย์มายับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคเพื่อไม่ให้สร้างความเสียหายต่อพืชเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เรียกว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ส่วนใหญ่ที่มีรายงานการศึกษาเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ คือ เชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรีย เช่น เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สกุลนี้มีรายงานว่าสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ โดยมีกลไกในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชที่หลากหลาย มีการเจริญที่รวดเร็ว สามารถอยู่รอดในธรรมชาติได้ดี มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง และหาได้ง่ายในธรรมชาติ นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 สกุล สามารถผลิตสารที่ใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้อีกด้วย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาการคัดแยก จัดจำแนก ระบุชนิดเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. จากดินในพื้นที่ทำการเกษตรใกล้กับเขตพื้นที่ภูเขาไฟ 3 แห่ง ในจังหวัดบุรีรัมย์ คือ ภูเขาไฟพนมรุ้ง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไปรบัต อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ เพื่อทดสอบความเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ นอกจากนั้นสามารถนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้ไปพัฒนาต่อยอดเป็นสารชีวภัณฑ์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตรได้

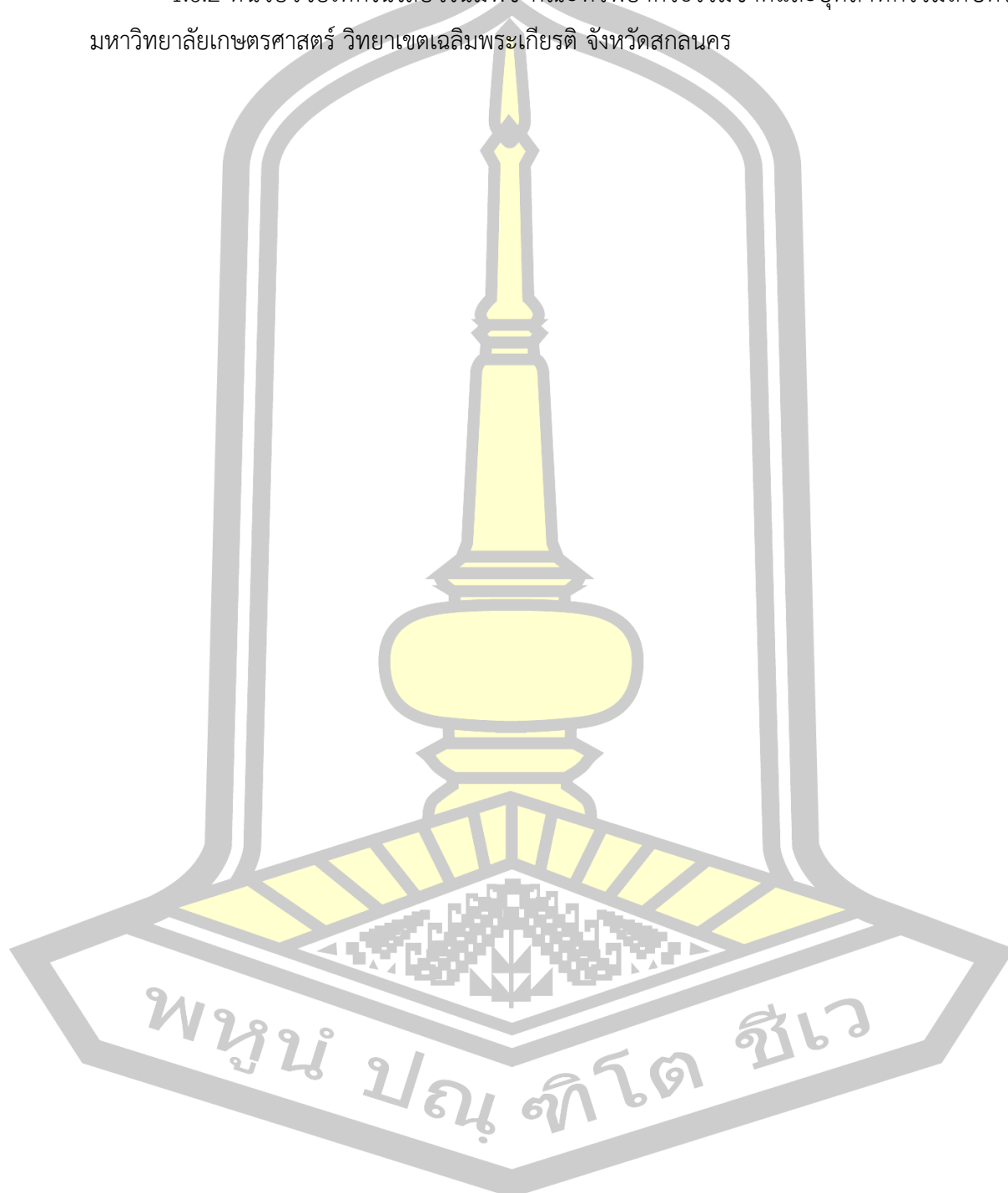
1.5 ขอบเขตของงานวิจัย

คัดแยก จัดจำแนก และระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. จากดินในพื้นที่ทำการเกษตรใกล้กับแหล่งภูเขาไฟ 3 แห่ง ในจังหวัดบุรีรัมย์ คือ เขตพื้นที่ทำการเกษตรใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้ง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไปรบัต อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาศึกษาประสิทธิภาพความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น เชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*) race 1 สาเหตุโรคเหี่ยวในกล้วย และเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืชผักผลไม้เศรษฐกิจบางชนิด นอกจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดแยกได้มาศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มมะเขือเทศ โดยการผลิตสารธรรมชาติหรือกลไกอื่นของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. นอกจากนั้นสามารถนำองค์ความรู้ที่ได้มาประยุกต์ใช้ทางด้านการเกษตร เช่น การผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ เป็นต้น

1.6 สถานที่ดำเนินงานวิจัย

1.6.1 อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (SC2) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1.6.2 หน่วยวิจัยเทคโนโลยีจีโนมพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร



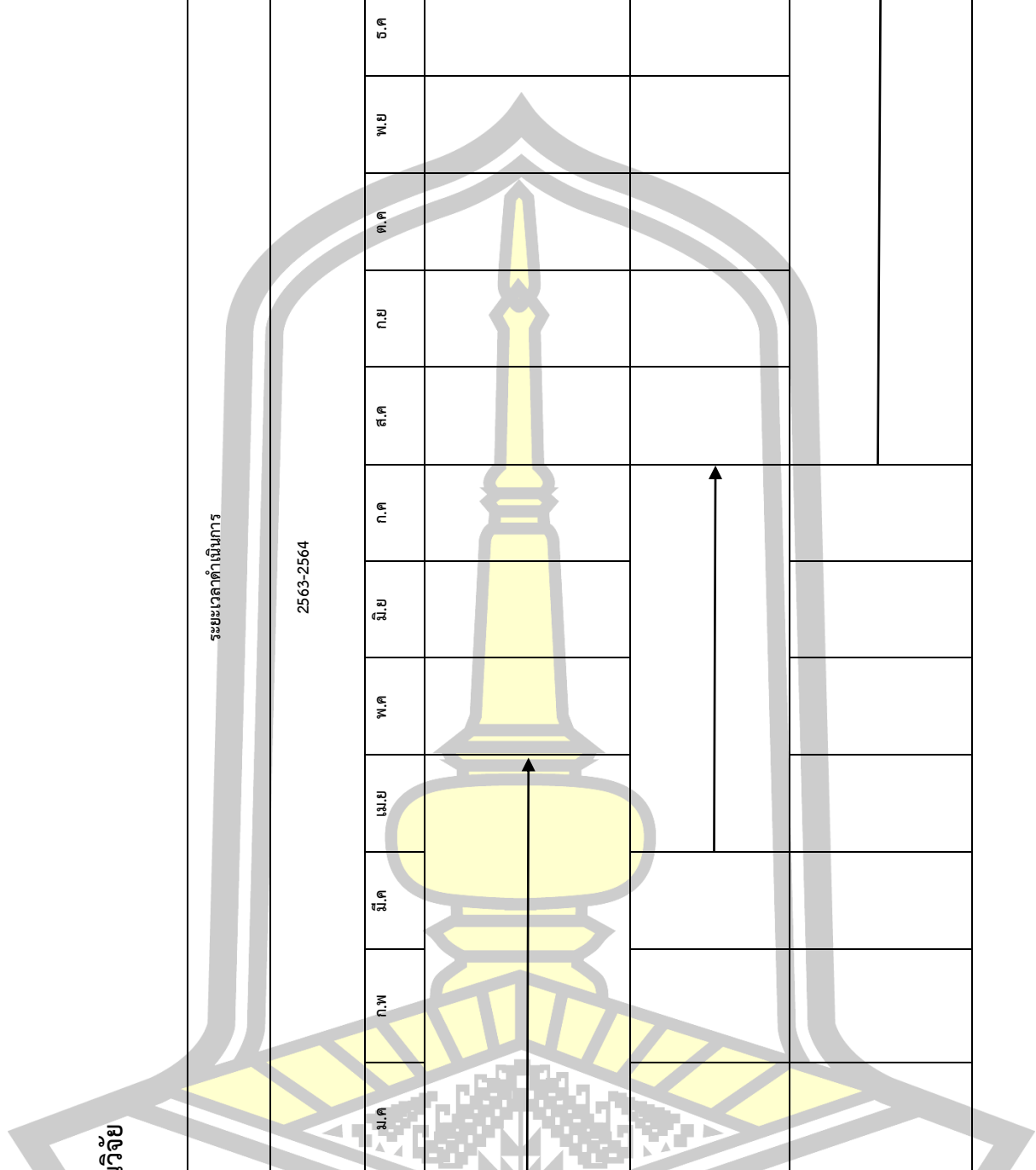
1.7 ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย

ตาราง 1 ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย

กิจกรรม	ระยะเวลาดำเนินการ																				
	2562							2563													
	ม.ย	ก.ค	ส.ค	ก.ย	ต.ค	พ.ย	ธ.ค	ม.ค	ก.พ	มี.ค	เม.ย	พ.ค	มิ.ย	ก.ค	ส.ค	ก.ย	ต.ค	พ.ย	ธ.ค		
ค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้อง																					
เก็บตัวอย่างดิน และสกัดแยกเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp.																					
เก็บตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคพืช แยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา																					

1.7 ระยะเวลาการทำเป็นงานวิจัย
 ตาราง 1 (ต่อ)

กิจกรรม	ระยะเวลาดำเนินการ												
	ม.ค	ก.พ	มี.ค	เม.ย	พ.ค	มิ.ย	ก.ค	ส.ค	ก.ย	ต.ค	พ.ย	ธ.ค	
การคัดเลือกเชื้อ <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช													
การระบุชนิดของเชื้อ <i>Bacillus</i> spp. และ <i>Streptomyces</i> spp. ที่ผ่านการคัดเลือก													
การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ปลูกควบคุมด้วยเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธีการส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน SEM และ TEM													



1.7 ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย
 ตาราง 1 (ต่อ)

กิจกรรม	ระยะเวลาดำเนินการ												
	ม.ค	ก.พ	มี.ค	เม.ย	พ.ค	มิ.ย	ก.ค	ส.ค	ก.ย	ต.ค	พ.ย	ธ.ค	
การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus spp.</i> และ <i>Streptomyces spp.</i> ต่อการส่งเสริมการงอกของเมล็ดพืชในระดับห้องปฏิบัติการและระดับเกษตรกร													
การผลิตจุลินทรีย์ป้อนไก่ในรูปแบบของสารชีวภัณฑ์ชนิดผง													
การประเมินคุณสมบัติของสารชีวภัณฑ์ชนิดผง													
จัดทำรายงานความก้าวหน้า ทุก 6 เดือน และรายงานฉบับสมบูรณ์													
จัดเตรียมต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ผลงานวิจัย													

1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.8.1 ทราบชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินในเขตพื้นที่ทำการเกษตรใกล้กับแหล่งภูเขาไฟ 3 แห่ง ในจังหวัดบุรีรัมย์ คือ ภูเขาไฟพนมรุ้ง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไทรบุรี อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

1.8.2. ได้สารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

1.8.3. สามารถนำเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้ไปประยุกต์ใช้ทางการเกษตรได้



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคพืช หมายถึงสภาวะที่ต้นพืชมีการทำงานผิดปกติจนมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ผลิ ดอก และออกผลทำให้เกิดความเสียหาย โดยเกิดจากสิ่งไม่มีชีวิตหรือที่เรียกว่า โรคไม่ติดเชื้อ เช่น การขาดธาตุอาหาร การได้รับสารพิษหรือก๊าซพิษ หรือสภาพความเป็นกรด-ด่างของดินและน้ำไม่เหมาะสม หรือเกิดจากสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กพวกจุลินทรีย์ต่าง ๆ หรือที่เรียกว่า โรคติดเชื้อ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไวรอยด์ และไฟโตพลาสมา ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้พืชเจริญเติบโตผิดปกติ และแสดงอาการของโรคต่าง ๆ ตามชนิดของสาเหตุโรคพืช โดยจะมีลักษณะแตกต่างกัน ดังนั้นจำเป็นต้องทราบอาการที่เกิดบนพืชก่อนนำไปปฏิบัติร่วมกับการควบคุมโรคโดยชีววิธีเพื่อช่วยให้ประสบผลสำเร็จมากยิ่งขึ้น (นิพนธ์ ทวีชัย, 2550)

2.1 เชื้อราสาเหตุโรคพืช

ราหรือเชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มใหญ่กลุ่มหนึ่งที่ไม่มีคลอโรพลาสต์ แต่มี glucans และ chitin เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ มีลักษณะรูปร่างเป็นเส้นยาว แตกกิ่งก้านสาขาเป็น เซลล์เดี่ยวหรือหลายเซลล์ (unicellular or multicellular filamentous branched chains) เป็นส่วนมาก มีขนาดกว้างประมาณ 0.5-100 ไมโครเมตร บางชนิดมีรูปร่างเป็นแบบอะมีบา (ameboid) มีนิวเคลียสเห็นเด่นชัด พวกที่มีผนังกันจะมีจำนวนหนึ่งนิวเคลียสหรือสองนิวเคลียสต่อหนึ่งเซลล์ ส่วนเส้นใยที่ไม่มีผนังกัน (coenocyte) จะมีนิวเคลียสมากมาย (multinucleate mycelium) มีการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (asexual) โดยการสร้างสปอร์ แบ่งเซลล์แบบ mitosis และขยายพันธุ์แบบใช้เพศ (sexual) โดยมีการแบ่งเซลล์แบบ meiosis สามารถปรับตัวให้มีชีวิตอยู่ได้ในอากาศ ดิน และน้ำ เชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืช (phytopathogenic fungi) มีมากกว่า 8,000 ชนิด บางชนิดสามารถทำให้พืชเป็นโรคได้เฉพาะบางส่วน เฉพาะชนิดพืชหรือเพียง 2-3 ชนิด แต่เชื้อบางชนิดจะสามารถทำให้พืชเป็นโรคได้โดยไม่จำกัดว่าจะเป็นที่ส่วนไหน หรือแก่พืชชนิดใด เชื้อราสาเหตุโรคส่วนมากเป็นปรสิตแบบชั่วคราวสามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือเนื้อเยื่อพืชที่ตายแล้ว (พรพิมล อธิปัญญาคม, 2551; ศศิธร วุฒิวิชัย, 2549; ศักดิ์ สุนทรสิงห์, 2537)

มะเขือเทศเป็นพืชที่นิยมปลูกกันแพร่หลายในประเทศไทย เนื่องจากผลมะเขือเทศนอกจากจะใช้บริโภคโดยประกอบเป็นอาหารชนิดต่าง ๆ แล้วยังนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตรที่สำคัญเช่น ทำน้ำซอสใช้จิ้มหรือปรุงแต่งรสอาหาร ทำเป็นน้ำมะเขือเทศใช้ดื่มแทนน้ำผลไม้ และเป็นส่วนประกอบสำคัญในการทำปลากระป๋อง ส่วนเนื้อมะเขือเทศตากแห้งก็นำมาเชื่อมกับน้ำตาลทำเป็นผลไม้กวนหรือแช่อิ่มในรูปของหวานได้ โดยมีรายงานว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยเป็นภูมิภาคหนึ่งที่มีพื้นที่เพาะปลูกมะเขือเทศเป็นจำนวนมาก โดยมีพื้นที่ปลูกประมาณ

23,438 ไร่ ซึ่งมีการปลูกตั้งแต่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ได้แก่ บึงกาฬ สกลนคร หนองคาย นครพนม มุกดาหาร ไปจนถึงภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ได้แก่ อุบลราชธานี สุรินทร์ บุรีรัมย์ และศรีสะเกษ มะเขือเทศสามารถขึ้นได้ดีกับดินแทบทุกชนิด แต่ชอบดินร่วนที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของดินในช่วง 6.0-6.8 และความชื้นของดินพอเหมาะ ต้องการแสงแดดเต็มที่ตลอดวัน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต ระหว่าง 21-24 องศาเซลเซียส การปลูกมะเขือเทศจัดเป็นอาชีพทางการเกษตรที่ให้ผลตอบแทนค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับพืชผักชนิดอื่นทั่ว ๆ ไป ส่วนใหญ่เกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะนิยมปลูกมะเขือเทศในช่วงหน้าแล้งในช่วงเดือนพฤศจิกายน หลังจากหมดฤดูการทำนา ซึ่งการปลูกแต่ละปีเกษตรกรจะสามารถเก็บผลผลิตได้ 4-5 รุ่น ไปจนถึงเดือนเมษายนก็จะสิ้นสุดฤดูการปลูกมะเขือเทศ (กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2562; วราภรณ์ บุญเกิด และคณะ, 2560; สุกัลยา เขียวขวัญ และคณะ, 2565) อย่างไรก็ตามการปลูกมะเขือเทศก็มีอุปสรรคค่อนข้างมากเช่นกัน โดยเฉพาะในด้านโรคต่าง ๆ เนื่องจากมะเขือเทศเป็นพืชที่อ่อนแอและง่ายต่อการเข้าทำลายจากโรคต่าง ๆ ได้เกือบทุกชนิด แต่โรคที่สำคัญของมะเขือเทศ คือ โรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fol* เชื้อราชนิดนี้สามารถเข้าทำลายมะเขือเทศได้ทุกระยะการเจริญเติบโต และมีผลทำให้ผลผลิตลดลง (El-Sheekh et al., 2020)

2.1.1 เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ

โรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Fol* เชื้อรา *Fusarium* ในกลุ่ม *oxysporum* เป็นเชื้อราที่ทำลายพืชได้กว้างขวางอีกตัวหนึ่ง โดยเป็น form species *lycopersici* ซึ่งทำลายมะเขือเทศโดยเฉพาะ เป็นเชื้อที่สามารถแพร่ระบาดได้ในดินเข้าสู่ต้นพืชโดยอาศัยบาดแผลบริเวณราก นอกจากนั้นเชื้อโรคยังสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ (Roncero et al., 2003) การเข้าทำลายพืชส่วนใหญ่มักจะเริ่มตั้งแต่ระยะกล้าโดยผ่านทางแผลที่รากหรือโคนระดับดิน หลังจากนั้นจะเจริญอย่างรวดเร็วไปตามท่อส่งน้ำใต้ดินทำลายเซลล์ดังกล่าวจนไม่สามารถทำการส่งลำเลียงน้ำไปเลี้ยงต้นได้ ทำให้การดูดซึมน้ำอาหารและปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายในต้นหยุดชะงัก ทำให้พืชเกิดอาการเหี่ยวและตายในที่สุด (ภาพที่ 1) สำหรับสภาพความเป็นกรดหรือด่างของดินปรากฏว่า *Fol* เจริญและเข้าทำลายพืชในดินที่เป็นกรดได้ดีกว่าดินที่เป็นด่าง ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญของเชื้ออยู่ระหว่าง 27-32 องศาเซลเซียส แต่จะไม่ก่อให้เกิดโรคกับพืชเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 18 องศาเซลเซียส (Lebsing et al., 2021; Sivakumar et al., 2018) แต่หากพืชเกิดโรคจะมีลักษณะอาการและการแพร่ระบาดดังนี้

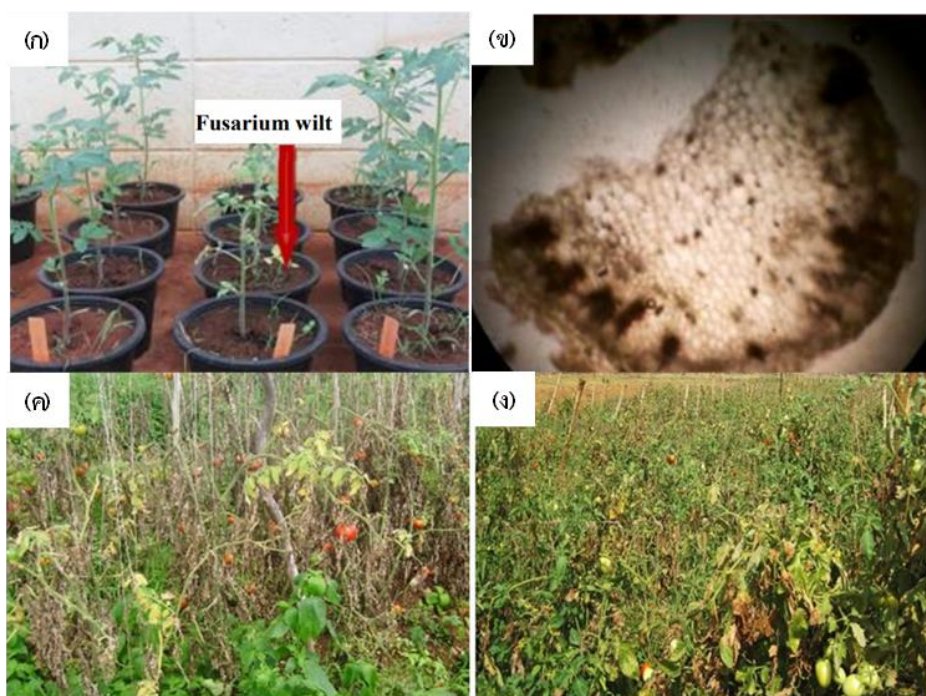
2.1.1.1 ลักษณะอาการโรค

โรคจะเกิดเป็นกับมะเขือเทศได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ในต้นกล้าอาการเริ่มแรกคือ หยุดการเจริญเติบโต ใบแก่จะตกขอบใบม้วนลงด้านใต้ เหี่ยวเฉา และตายในที่สุด ในต้นแก่ที่พ้นระยะกล้าแล้ว อาการส่วนใหญ่จะรุนแรงในระยะให้ดอก หรือขณะมีลูกจะสังเกตเห็นใบแก่ที่อยู่

ตอนล่าง ๆ ของต้นเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง โดยอาการดังกล่าวบางครั้งจะแสดงออกเพียงด้านใดด้านหนึ่งของต้น ส่วนด้านที่เหลือยังคงเจริญเติบโตเป็นปกติ ทั้งนี้เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อในระยะแรกเกิดขึ้นกับรากพืชเฉพาะซีกเดียวของต้นก่อน ต่อมาหลังจากรากที่เหลือถูกทำลายหมด อาการเหลืองจะค่อย ๆ กระจายไปยังใบอื่น ๆ ครั้งแรกจะเหี่ยวเฉพาะกลางวันที่อากาศ และแดดจัด และจะกลับตั้งตัวดังเดิมในเวลากลางคืน แต่เมื่อนานเข้าอาการเหี่ยวก็จะทวีเพิ่มมากขึ้นจนในที่สุดจะเหี่ยวอย่างถาวรต่อมาจะแห้งแล้วตายทั้งต้นในที่สุด หากถอนต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการดังกล่าวขึ้นจากดินจะเห็นบริเวณโคนต้นระดับดินหรือต่ำลงไปเล็กน้อย และรากส่วนใหญ่ถูกทำลายเป็นแผลสีน้ำตาล เปลือกหลุดล่อนเมื่อผ่าต้นออกดูจะเห็นส่วนของท่อน้ำที่อาหารถูกทำลายเกิดเป็นแผลเน่าสีน้ำตาลจากระดับดินสูงขึ้นมา 4-5 นิ้วพุดหรือมากกว่าจนตลอดทั้งต้น ในกรณีที่เป็นโรคร้ายแรงบางครั้งถ้ามะเขือเทศให้ผลแล้วลูกที่มีอยู่จะถูกเชื้อเข้าทำลายด้วยโดยจะสังเกตเห็นรอยช้ำเน่าขึ้นในส่วนที่เป็นท่อน้ำที่อาหารของผล (El-Sheekh et al., 2020; Srinivas et al., 2019)

2.1.1.2 การแพร่ระบาด เชื้อรา *Fol* อยู่ข้ามฤดูได้โดยอาศัยเกาะกินอยู่กับเศษซากพืชที่ปล่อยทิ้งไว้ตามดินปลูก และจะอยู่ได้นานตราบเท่าที่ยังมีอาหารให้กินเรื่อย ๆ การระบาดอาจเกิดขึ้นได้โดยการย้ายกล้า โดยเฉพาะกล้าที่เพาะในดินที่เคยมีเชื้ออยู่ก่อน โดยเชื้อจะปะปนอยู่กับดินที่ติดอยู่กับรากของต้นกล้า เมื่อนำไปปลูกในแปลงใหม่ก็เท่ากับนำเอาเชื้อใส่ลงในดินใหม่นั้น นอกจากนั้นเชื้ออาจติดไปกับเครื่องมือเครื่องใช้เช่น จอบ เสียม ล้อยานพาหนะ แม้กระทั่งไม้หลักที่ใช้ทำค้ำหากใช้ของเก่าก็อาจจะมีเชื้อติดไปด้วย สำหรับการเชื้อจะติดไปกับเมล็ดนั้นโรคนี้อาจมีโอกาสเป็นไปได้บ้าง นอกจากในกรณีที่เกิดขึ้นกับลูกมะเขือเทศในขณะที่ยังแก่หรือสุกแล้วเชื้ออาจเข้าไปอาศัยเกาะติดอยู่กับเมล็ดได้ หรือไม่ก็ในขณะหมักเมล็ดเพื่อเก็บไว้ทำพันธุ์อาจมีสปอร์หรือโคนิเดียปะปนติดอยู่บ้าง (Lebsing et al., 2021; Roncero et al., 2003; Srinivas et al., 2019)





ภาพที่ 1 ลักษณะอาการของโรคเหี่ยวในมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fol*

ก) ลักษณะอาการของโรคที่เกิดในระดับกระถาง

ข) โครงสร้างภายในของลำต้นมะเขือเทศที่เกิดโรค

ค-ง) ลักษณะอาการของโรคที่เกิดในระดับแปลงปลูก

ที่มา: วราภรณ์ บุญเกิด และคณะ (2560); Srinivas et al. (2019)

2.2 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

การควบคุมโรคโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณของเชื้อโรคพืชหรือลดกิจกรรมของเชื้อโรคอันจะก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ โดยอาศัยสิ่งมีชีวิตซึ่งรวมทั้งพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ ซึ่งการควบคุมโดยชีววิธีส่วนใหญ่เป็นการใช้จุลินทรีย์เป็นหลัก โดยเรียกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) หรือจุลินทรีย์ต่อต้าน (นิพนธ์ ทวีชัย, 2550) การควบคุมโรคพืชโดยการใส่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เป็นวิธีการหนึ่งในการควบคุมทางชีววิธีที่ประสบความสำเร็จในการนำไปใช้ โดยกลไกการทำงานของจุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืช ได้แก่ การเป็นปรสิต การผลิตสารปฏิชีวนะ การแก่งแย่งพื้นที่ การแก่งแย่งอาหาร การชักนำให้พืชสร้างความต้านทาน และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Kawicha & Sangdee, 2012) ซึ่งจากการศึกษา รายงานการวิจัยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชนั้นจะมีการใช้จุลินทรีย์ในกลุ่มของแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากแบคทีเรียจัดเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่และพบมากที่สุด在地 มี

กลไกการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคที่หลากหลาย มีการเจริญที่รวดเร็ว สามารถอยู่รอดในธรรมชาติได้ดี และหาง่ายในธรรมชาติเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น

2.3 จุลินทรีย์ในดิน

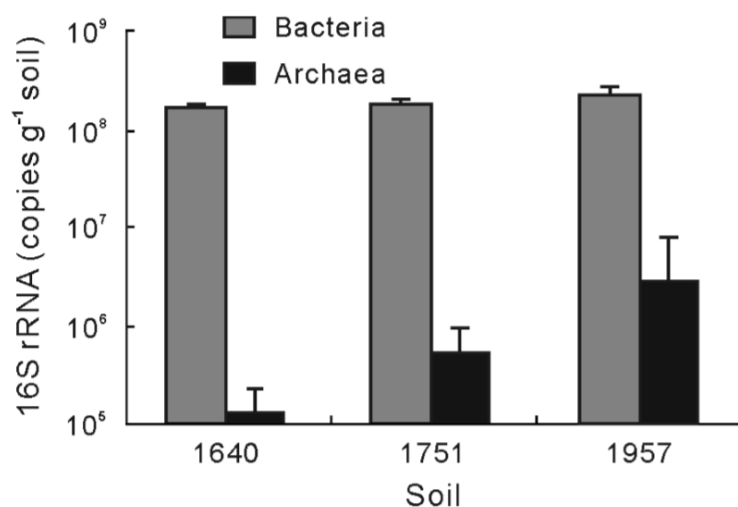
ประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่บริเวณเส้นศูนย์สูตร มีสภาพภูมิอากาศแบบร้อนชื้น ก่อให้เกิดระบบนิเวศที่มีความแตกต่างกันตามสภาพพื้นที่ ชนิดพืชพรรณที่เจริญ และวิธีการจัดการดินเพื่อการเกษตร ส่งผลให้เกิดความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์ แมลง โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ความแตกต่างกัน การทำเกษตรกรรมโดยวิธีการต่าง ๆ ในพื้นที่เกษตร เช่น การทำเกษตรแบบไถพรวน การใส่ปุ๋ยเคมีโดยไม่มีการเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดิน การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ส่งผลให้จุลินทรีย์ในดินบางชนิดที่ปรับตัวไม่ทันตายได้ แต่จุลินทรีย์บางชนิดได้รับการถ่ายทอดทางพันธุกรรมสามารถเผชิญกับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยมีการสร้างโครงสร้างพิเศษ เช่น สปอร์ ซีสต์ แคปซูล ทำให้ทนต่อความแห้งแล้ง ความร้อน สารเคมี รังสี และแรงกดดันต่าง ๆ ได้ โดยปกติดินที่มีอินทรีย์วัตถุหรือฮิวมัสสูงมักพบจุลินทรีย์ อาทิ แบคทีเรีย รา แอคติโนมัยซีท ยีสต์ และโพรโทซัว ซึ่งเป็นผู้ย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2561) ดังนั้นดินแต่ละแหล่งจะมีชนิดและปริมาณจุลินทรีย์แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับคุณภาพของดิน เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรดเป็นด่าง การถ่ายเทอากาศ การระบายน้ำ ปริมาณอินทรีย์วัตถุ และชนิดของพืชที่ปลูก เช่น ดินในทุ่งหญ้าและดินบริเวณเพาะปลูกจะมีแบคทีเรีย 10^5 - 10^6 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ขณะที่ในดินป่ามีแบคทีเรียในปริมาณสูงกว่า 10^6 - 10^7 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าร้อยละ 90 ของตัวอย่างดินพบแบคทีเรียละลายฟอสเฟตท้องถิ่นประมาณ 10^4 เซลล์ต่อกรัม โดยปริมาณจะลดลงตามลำดับในดินผิวก ปลูกถั่ว ปลูกหญ้า ธัญพืชและไม้ผล อิทธิพลของพืชอาศัยยังมีผลต่อร้อยละการเข้าอยู่อาศัยของจุลินทรีย์ สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Carrenho et al. (2007) ที่รายงานเกี่ยวกับการเข้าอาศัยของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (arbuscular mycorrhizal fungi; AMF) ในพืชต่างชนิดกัน โดยพบเชื้อรา AMF มากที่สุดในรากข้าวโพดหรือร้อยละ 50.80 ขณะที่ถั่วลิสง และข้าวฟ่างมีร้อยละการเข้าอยู่อาศัย 46.90 และ 34.50 ตามลำดับ ถึงแม้ระบบรากข้าวโพดและรากข้าวฟ่างจะมีลักษณะที่คล้ายกัน แต่การพบปริมาณของจุลินทรีย์แตกต่างกัน (กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2561) นอกจากนี้ในสภาพของดินเปรี้ยวจัดหรือเค็มจัดจะมีชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่แตกต่างจากดินทั่ว ๆ ไป เพราะต้องเป็นพวกที่ใช้ประโยชน์หรือทนต่อสมบัติของดินนั้นได้ดี จากการศึกษาของ Leungvutiviroj et al. (2010) กล่าวว่าปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในดินบริเวณปลูกหญ้าแฝกสูงกว่าดินที่ไม่ได้ปลูกหญ้าแฝก และพบแบคทีเรียย่อยเซลลูโลสอะโซโตแบคทีเรีย (azotobacter) และแบคทีเรียละลายฟอสเฟตบริเวณดินของรากหญ้าแฝก รวมทั้งพบการเข้าอยู่

อาศัยของเชื้อรา AMF ในรากหญ้าแฝก ซึ่งจะพบในดินเปรี้ยว ดินตื้นมากกว่าดินเค็ม นอกจากนั้นการพบจุลินทรีย์ในดินยังขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของดิน ดินที่มีขนาดที่ต่างกันจะพบจุลินทรีย์ในดินที่แตกต่างกันทั้งด้านบนและด้านในของดิน และมีสัดส่วนของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันด้วย โดยพบแบคทีเรียที่ต้องการอากาศและสร้างสปอร์ โดยเฉพาะกลุ่มแอกติโนมัยซีทและเชื้อราจำนวนมากในดินขนาดเม็ดดิน 1-3 มิลลิเมตร และน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 มิลลิเมตร มากกว่าขนาด 5-7 มิลลิเมตร ส่วนแบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas* spp. พบปริมาณมากในขนาดเม็ดดินน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 มิลลิเมตร มากกว่าขนาด 1-3 มิลลิเมตร ดังนั้นจะเห็นได้ว่าดินแต่ละแห่ง ดินแต่ละแหล่งที่ปลูกพืชต่างชนิดกัน และขนาดของเม็ดดินมีผลต่อการเจริญและการพบจุลินทรีย์ในดินที่แตกต่างกัน ดังนั้นจุลินทรีย์ที่พบในดินที่แตกต่างกันย่อมมีผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ แตกต่างกัน

จังหวัดบุรีรัมย์เป็นจังหวัดหนึ่งของประเทศไทยที่ตั้งอยู่บริเวณด้านใต้ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรม มีการปลูกพืชได้หลากหลาย เช่น ปลูกข้าว ปลูกพืชไร่ พืชสวนและไม้ยืนต้น เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากจังหวัดบุรีรัมย์มีสภาพพื้นที่โดยทั่วไปเป็นที่ราบสูง พื้นที่ลาดจากทิศใต้ลงไปทิศเหนือ พื้นที่มีลักษณะเป็นลูกคลื่นน้อยเป็นที่ราบขั้นบันไดช่องเขาเกิดจากภูเขาไฟระเบิดเมื่อประมาณเก้าแสนถึงหนึ่งล้านปีเศษ ทำให้จังหวัดบุรีรัมย์มีลักษณะภูมิประเทศที่สำคัญ 3 ลักษณะ ได้แก่ 1. พื้นที่สูงและภูเขาทางตอนใต้ 2. พื้นที่ลูกคลื่นลอนตื้นตอนกลางของจังหวัด และ 3. พื้นที่ราบลุ่มตอนเหนือริมฝั่งแม่น้ำมูล จากลักษณะของภูมิประเทศที่แตกต่างกันทำให้ลักษณะดินที่พบในแต่ละพื้นที่แต่ละอำเภอก็จะแตกต่างกัน ซึ่งดินที่พบในจังหวัดบุรีรัมย์นั้นสามารถจำแนกออกตามสภาพธรณีสัณฐาน และวัตถุกำเนิดได้แก่ ดินที่เกิดจากวัตถุที่เคลื่อนย้าย (transported material) ประกอบด้วยบริเวณสันดินริมแม่น้ำและที่ราบน้ำท่วมถึง ลักษณะดินทั่วไปเป็นดินร่วนปนทรายเนื้อดินละเอียด ความอุดมสมบูรณ์ปานกลางถึงค่อนข้างสูง และดินที่เกิดจากวัตถุตกค้างและหินดินดานเชิงเขา เป็นดินที่เกิดจากหินและแร่ดั้งเดิมจากการสลายตัวของหินดินดานเชิงเขาพบแถบบริเวณภูเขาไฟ และที่สูงชัน ส่วนใหญ่เป็นดินตื้นหรือลึกปานกลาง มีบางแห่งที่เกิดจากการสลายตัวของหินภูเขาไฟ (ภูเขาไฟที่พบในจังหวัดบุรีรัมย์มีทั้งหมด 6 ลูก ตั้งอยู่ใน 3 เขตอำเภอ ได้แก่ ภูเขาไฟพนมรุ้ง ภูเขาไฟอังคาร และภูเขาไฟหุบ อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟไทรบุรี และภูเขาไฟเขาคอก อำเภอประโคนชัย และภูเขาไฟกระโดง อำเภอเมือง) ลักษณะดินที่พบจากการสลายตัวของวัตถุตกค้างและหินดินดานเชิงเขา จะมีความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างสูง (สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร) ทั้งนี้เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันของภูเขาไฟเกิดจากกิจกรรมของภูเขาไฟซึ่งเกิดจากการทับถมของตะกอนดิน ทำให้ภูเขาไฟเป็นแหล่งดินที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยธาตุอาหารต่าง ๆ เช่น ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เหล็ก ทองแดง แมงกานีส สังกะสี โบรอน โมลิบดีนัม และที่สำคัญมีซิลิกา (SiO_2 หรือ H_4SiO_4) ที่ละลายน้ำได้มากกว่าร้อยละ 70 ซึ่งแร่ธาตุต่าง ๆ ล้วนแล้วแต่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต ทำให้พบ

สิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทางชีวภาพค่อนข้างสูง โดยเฉพาะความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในกลุ่มจุลินทรีย์ ซึ่งมีรายงานกล่าวไว้ว่าธรณีเคมีของหินภูเขาไฟที่แตกต่างกันสามารถมีอิทธิพลต่อความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่ยังคงอยู่บนพื้นผิวและในชั้นใต้ดินของโลกได้ จากการสำรวจความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในดินภูเขาไฟโดยส่วนใหญ่จะทำการศึกษากับมวลดินหินอัคนีเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นจากการสำรวจความหลากหลายทางชีวภาพของสภาพแวดล้อมดินภูเขาไฟที่แตกต่างกันสามารถช่วยเผยให้เห็นศักยภาพที่มีอยู่สำหรับสิ่งมีชีวิตจุลินทรีย์ยุคแรก ๆ บนโลกได้ (Herrera & Cockell, 2007) และจากรายงานการวิจัยของ Hernández et al. (2020) กล่าวว่าดินภูเขาไฟเกิดจากการทับถมกันของกลุ่มดิน ดังนั้นดินภูเขาไฟจึงอาจจะเป็นดินที่สามารถทำให้เกิดความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต และอาจจะค้นพบสิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ ๆ โดยกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีการค้นพบในดินภูเขาไฟเป็นกลุ่มแรก ๆ คือกลุ่มของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์กลุ่มแรก ๆ ที่พบในดินภูเขาไฟคือจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรีย เชื้อรา เป็นต้น แต่โดยส่วนมากแล้วมักจะพบกลุ่มแบคทีเรีย ซึ่งกลุ่มแบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่เป็นกลุ่มที่สามารถสังเคราะห์แสง ตรึงไนโตรเจนและคาร์บอนได้ รวมไปถึงแบคทีเรียในกลุ่ม Archaea และจากการวิเคราะห์หาลำดับยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียและ Archaea พบว่าแบคทีเรียในกลุ่ม Archaea ส่วนใหญ่จะพบในไฟลัม Thaumarchaeota เป็นกลุ่ม Archaea ที่สามารถพบได้ทั่วไป และไฟลัม Euryarchaeota ซึ่งเป็นกลุ่มที่หายาก ส่วนในกลุ่มแบคทีเรียนั้นจะพบในกลุ่มของไฟลัม Chloroflexi (คิดเป็นร้อยละ 37) Planctomycetes (คิดเป็นร้อยละ 18) และ Verrucomicrobia (คิดเป็นร้อยละ 10) ซึ่งจะพบในกลุ่มดินภูเขาไฟที่มีอายุน้อย ส่วนแบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria และ Acidobacteria จะพบในดินภูเขาไฟที่มีอายุมาก และจากการวิเคราะห์หาลำดับยีน 16S rRNA พบว่าจะพบกลุ่มแบคทีเรียมากกว่ากลุ่ม Archaea (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่าความหลากหลายของแบคทีเรียที่พบในดินภูเขาไฟขึ้นอยู่กับช่วงอายุของดินภูเขาไฟตั้งแต่การเกิดการปะทุของภูเขาไฟ





ภาพที่ 2 กลุ่มของแบคทีเรีย และ Archaeal ที่พบในดินภูเขาไฟที่ช่วงเวลาแตกต่างกัน
ที่มา: HernÁndez et al. (2020)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยจุลินทรีย์ที่พบในดินภูเขาไฟที่มีการนำมาศึกษาและใช้ประโยชน์มากกลุ่มหนึ่งคือจุลินทรีย์ในกลุ่มของแบคทีเรีย เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ซึ่งมีรายงานการวิจัยเกี่ยวในการนำแบคทีเรีย 2 กลุ่มนี้ที่พบในดินภูเขาไฟมาใช้ประโยชน์มากมาย อาทิเช่น การนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในมนุษย์และพืช เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสามารถผลิตสารทุติยภูมิที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ นอกจากนี้แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ยังสามารถผลิตสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและสารกระตุ้นการต้านทานต่อการเกิดโรคของพืชได้ เช่นจากรายงานวิจัยของ Cheeptham et al. (2013) ได้ทำการศึกษแบคทีเรียในกลุ่ม Actinomycetes ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟประเทศแคนาดาเพื่อใช้ในการผลิตเป็นยา โดยจากการศึกษาพบว่าสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Actinomycetes ได้ทั้งหมด 400 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพบว่าแบคทีเรียกลุ่ม Actinomycetes ร้อยละ 1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ร้อยละ 2.25 ยับยั้งเชื้อ *Acinetobacter baumannii* ร้อยละ 26.50 ยับยั้งเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ร้อยละ 10.25 ยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* ร้อยละ 2 ยับยั้งเชื้อ methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ร้อยละ 9.25 ยับยั้งเชื้อ *Mycobacterium smegmatis* ร้อยละ 6.25 ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และร้อยละ 7.25 ยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* เมื่อนำเชื้อ Actinomycetes จำนวน 82 ไอโซเลท มาวิเคราะห์หาลำดับยีน 16S rRNA พบว่า 65 ไอโซเลท จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Streptomyces* คิดเป็นร้อยละ 79.30

จำนวน 5 ไอโซเลท จัดอยู่ในสกุล *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nocardia* และ *Erwinia* คิดเป็นร้อยละ 6.10 ส่วนอีก 12 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 14.60 ไม่ปรากฏในฐานข้อมูลไลบรารี (NCBI) ทั้งนี้เชื้อเหล่านี้อาจจะเป็นสายพันธุ์ใหม่หรือไม่ เชื้อทั้ง 12 ไอโซเลท เหล่านี้จำเป็นต้องได้รับการตรวจสอบข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์หรือข้อมูลอื่นเพิ่มเติมเพื่อตรวจสอบว่าเชื้อเหล่านี้เป็นเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่หรือไม่ อย่างไรก็ตามสิ่งนี้ชี้ให้เห็นความเป็นไปได้ว่าพวกมันอาจเป็นแบคทีเรียที่ไม่ได้มีการศึกษามาก่อนหรือเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่หายาก ดังนั้นจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินภูเขาไฟนั้นมีความหลากหลายและยังสามารถนำมาใช้ในการพัฒนาต่อยอดเพื่อนำไปใช้ในการเป็นสารต้าน จุลชีพ การควบคุมศัตรูพืชหรือใช้เป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชชนิดใหม่ได้อีกด้วย

2.4 ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในดินด้านการเกษตร

จุลินทรีย์ในดินมีความหลากหลายกลุ่ม หลากหลายชนิด มีการดำเนินกิจกรรม และมีบทบาทที่แตกต่างกันในระบบนิเวศของดิน ตามชนิดของจุลินทรีย์ และสภาพแวดล้อมที่จุลินทรีย์ชนิดนั้นอาศัยอยู่ ความสัมพันธ์ทางระบบนิเวศของจุลินทรีย์ในดินบางประเภทจะเอื้ออำนวยซึ่งกันและกัน บางชนิดจะเกิดการแข่งขันซึ่งกันและกัน บางชนิดจะปลดปล่อยสารปฏิชีวนะเพื่อจำกัดการเจริญเติบโตของอีกชนิดหนึ่ง ความสัมพันธ์ทางระบบนิเวศดังกล่าวก่อให้เกิดผลมากมายทั้งทางด้านการปรับปรุงสมบัติของดิน โดยเกี่ยวข้องกับการหมุนเวียนธาตุอาหารในดินโดยเฉพาะจุลินทรีย์จะทำหน้าที่ย่อยสลายวัสดุสารอินทรีย์ต่าง ๆ (decomposition) ให้เป็นธาตุอาหารเกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารกลับมาใช้ใหม่ การเปลี่ยนรูปจากสารอินทรีย์ไปเป็นสารอนินทรีย์ (mineralization) เพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช และการแปรสภาพอินทรีย์สารหรือแร่ธาตุจากรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ (solubilization) การช่วยทำให้ดินจับตัวกันเป็นเม็ดและมีความเสถียร การมีบทบาทในการควบคุมศัตรูพืช และการผลิตสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Brady & Weil, 2002)

2.4.1 การควบคุมศัตรูพืชด้วยชีววิธี (Biocontrol)

เป็นกรรมวิธีที่นำสิ่งที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยนำเอาแมลงและสัตว์อื่น ๆ ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ ได้แก่ ตัวห้ำ ตัวเบียน และเชื้อโรค มาช่วยกำจัดแมลงศัตรูพืช วิธีการนี้เป็นวิธีการดั้งเดิมซึ่งมนุษย์มีแนวความคิดที่จะใช้สิ่งที่มีประโยชน์ในธรรมชาติมาช่วยปราบแมลงศัตรูพืชเป็นการลดการใช้ยาฆ่าแมลงซึ่งเป็นอันตรายทั้งต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม การศึกษาแนวทางการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธีเริ่มต้นเมื่อกลางปี ค.ศ. 1920 เมื่อมีการค้นพบว่าปัญหาโรคพืชสามารถลดความรุนแรงลงได้ด้วยการใช้สารอินทรีย์ใส่ลงในดินปลูก โดยมุ่งเน้นการควบคุมโรคโดยอาศัยธรรมชาติจัดการตนเอง ต่อมาอีก 20-25 ปี จึงเริ่มมีการศึกษาวิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชและไล่เดือนฝอยสาเหตุโรคพืช โดยมีผู้ให้ความสนใจและศึกษาเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากตระหนักถึง

พืชภัยของสารเคมีปราบศัตรูพืชที่ใช้กันมานาน และปัญหาโรคที่ไม่สามารถควบคุมได้โดยสิ้นเชิงหรือควบคุมได้เพียงบางส่วน ตัวอย่างเช่น โรคมดุม (crown gall) บนพืชหลายชนิดที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Agrobacterium* spp. ยังไม่สามารถป้องกันกำจัดด้วยวิธีการใด ๆ ที่คุ้มทุนกับการป้องกันกำจัดโดยชีววิธีด้วยการใช้เชื้อ *Agrobacterium radiobacter* strain K-84 (พรพรรณ อุสุวรรณ, 2550)

2.4.2 การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting)

จุลินทรีย์ในดินเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญมากในการแปรสภาพอินทรีย์วัตถุในดินให้กลายเป็นธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์แก่พืช ซึ่งจุลินทรีย์ในดินจะมีหลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย รา โปรโตซัว และสาหร่าย แต่ชนิดที่ได้รับความสนใจในการนำมาใช้ประโยชน์และพบมากที่สุด คือ แบคทีเรีย เนื่องจากเจริญได้รวดเร็วสามารถใช้คาร์บอนและไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงานได้อย่างหลากหลาย โดยจะพบแบคทีเรียจำนวนมากอาศัยอยู่ในดิน และมีปฏิสัมพันธ์กับรากพืช ซึ่งมีรายงานว่าแบคทีเรียบางชนิดมีกลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น การสร้างสารไซเดอร์โอฟอร์ (siderophore) การสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เช่น การผลิตฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน ไซโตไคนิน และกรดทริสปอริก (trisporic acid) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับกรดแอบไซซิก (abscisic acid) รวมทั้งสามารถผลิตวิตามิน B12 ไบโอดีน กรดนิโคตินิก ซึ่งเป็นสารที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตแก่พืช เช่น มีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์ การเร่งเมล็ดให้งอก การก่อกำเนิดเยื่อผลิตราก ช่วยการแบ่งเซลล์ของพืช ช่วยการออกดอก พัฒนาดอก และการเจริญของผลจนกระทั่งแก่และสุก การชะลอความแก่ของใบ เพิ่มความต้านทานต่อสภาวะไม่เหมาะสมของพืช และช่วยรักษาสมดุลของการเจริญเติบโต เป็นต้น (กรมพัฒนาที่ดิน, 2561) เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting bacteria, PGPB) โดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีหลากหลายสายพันธุ์ที่อาศัยอยู่ในดิน เช่น *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Streptomyces* และ *Variovorax* เป็นต้น (วารสาร สุธิสสา และ บุชยา วาปี, 2562)

แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหรือ PGPB หมายถึง กลุ่มแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่แยกได้จากสิ่งแวดล้อมในดิน มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในด้านต่าง ๆ โดย PGPB มักอาศัยบริเวณรอบรากพืชที่อุดมไปด้วยสารอาหารที่ปล่อยออกมาจากพืช (plant exudates) เช่น กรดอะมิโน หรือน้ำตาลหลายชนิด จึงเป็นแหล่งอาหารอันอุดมสมบูรณ์สำหรับแบคทีเรีย โดย PGPB นั้นอาจอาศัยอยู่บริเวณดินรอบ ๆ ราก (rhizosphere) บริเวณผิวดิน (rhizoplane) หรืออยู่ในเซลล์รากก็ได้ ดังนั้นจึงอาจเรียกชื่อ แบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ชื่อหนึ่งว่า Plant Growth Promoting Rhizobacteria หรือ PGPR กลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดย PGPB นั้นมีได้หลายรูปแบบ เช่น การตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) การเปลี่ยนรูปของฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่พืชดูดซึมไปใช้ได้

(phosphate solubilization) การผลิตสารไซเดอโรฟออร์ (siderophore production) การผลิตฮอร์โมนพืช (phytohormone production) และการสร้างเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าดินแต่ละแหล่งที่ปลูกพืชต่างชนิดกัน และขนาดของเม็ดดินมีผลต่อการการเจริญและการพบจุลินทรีย์ในดินที่แตกต่างกัน ดังนั้นจุลินทรีย์ที่พบในดินที่แตกต่างกันย่อมมีผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการเกษตรที่แตกต่างกัน ซึ่งจุลินทรีย์ในดินที่มีประโยชน์ต่อการเกษตร และกลุ่มที่ได้รับความสนใจในการนำมาศึกษามากที่สุดคือ จุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรีย เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. เนื่องจากแบคทีเรียสองสกุลนี้เป็นแบคทีเรียที่พบมากในดินและมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ต่อการเกษตร นอกจากนั้นในปัจจุบันทั่วโลกยังคงประสบกับปัญหาโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราเป็นจำนวนมาก โดยมีรายงานว่าเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชที่สำคัญมีมากถึง 8,000 ชนิด บางชนิดสามารถทำให้พืชเกิดโรคได้เฉพาะบางส่วน เฉพาะชนิดพืช แต่เชื้อราบางชนิดสามารถก่อให้เกิดโรคได้ทุกส่วนของพืชและก่อให้เกิดโรคกับพืชได้หลายชนิด โดยเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญที่ติด 1 ใน 10 ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Magnaporthe oryzae*, *Botrytis cinerea*, *Puccinia* spp., *Fusarium graminearum*, *F. oxysporum*, *Blumeria graminis*, *Mycosphaerella graminicola*, *Colletotrichum* spp., *Ustilago maydis*, *Melampsora lini* (Dean et al., 2012) ซึ่งจากรายงานการศึกษาเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญนั้นจะพบเชื้อราที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นจำนวนมาก เช่น เชื้อราในสกุล *Fusarium* โดยเชื้อราสกุลนี้มีรายงานว่า เป็นเชื้อราที่สร้างความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นจำนวนมาก (วราภรณ์ บุญเกิด และคณะ, 2560) ถึงแม้ว่าจะมีการใช้สารเคมีป้องกันหรือควบคุมการระบาดของเชื้อราสาเหตุโรคพืชแล้วก็ตามแต่ก็ยังไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร เนื่องจากเชื้อราส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อที่อาศัยอยู่ในดินและมีการอยู่รอดในเศษซากพืชข้ามฤดูได้ ทำให้การใช้สารเคมียังให้ผลดีไม่ได้เท่าที่ควร ไม่คุ้มทุนกับค่าใช้จ่ายที่สูญเสียไป แต่กลับทำให้เสียเงินลงทุนในการทำการเกษตรมากขึ้น ในขณะที่ราคาผลผลิตของพืชเศรษฐกิจบางชนิดยังคงตกต่ำอยู่ตลอด นอกจากนั้นการใช้สารเคมียังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของเกษตรกรอีกด้วย และจากปัญหาการระบาดและเข้าทำลายของเชื้อราเพิ่มมากขึ้นจึงจำเป็นต้องหาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชและลดความเสียหายของพืชที่เกิดจากเชื้อราอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น มีต้นทุนต่ำ และไม่ก่อให้เกิดปัญหาต่อเนื้อหลังจากการใช้สารทดแทนการใช้สารเคมี (อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ, 2556) ซึ่งในปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่หันมาใช้วิธีการควบคุมโรคพืชด้วยวิธีชีววิธี โดยเป็นการใช้สิ่งมีชีวิตหรือเชื้อจุลินทรีย์มายับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคเพื่อไม่ให้สร้างความเสียหายแก่พืช นอกจากนั้นเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ยังมีคุณสมบัติในการช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้อีกด้วย

2.5 ลักษณะทั่วไปและความสำคัญของเชื้อ *Bacillus* spp.

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. มีความหลากหลายทางลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา ซึ่งลักษณะโคโลนีของเชื้อมีความหลากหลายทั้งภายในสปีชีส์ และระหว่างสปีชีส์ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม อายุของโคโลนี อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ และจำนวนโคโลนีต่อจานอาหารที่เลี้ยงมีผลต่อขนาด เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ (Logan & Vos, 2015) *Bacillus* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) รูปร่างเป็นท่อนทรงกระบอก (rod shaped) อาจจะเป็นท่อนเดี่ยวหรือต่อกันเป็นสาย มีขนาด $0.5-2.5 \times 1.2-10$ ไมโครเมตร ซึ่งเป็นแบคทีเรียประเภท aerobic bacteria พบได้ทั่วไปในดินปลูก ปุ๋ยคอก วัสดุปลูก รากพืช และผิวใบ (Baker & Cook, 1974) ในส่วนของโครงสร้างของเซลล์ของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ประกอบด้วย เยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) และผนังเซลล์ (cell wall) ในบางสายพันธุ์เซลล์ของ *Bacillus* spp. ไม่มีชั้น outer membranes ซึ่งต่างจากแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนผนังเซลล์ประกอบไปด้วย peptidoglycan หลายชั้น anionic polymers ทำให้ผนังเซลล์มีความเหนียว บริเวณผิวหน้าของผนังเซลล์เป็นชั้นของ paracrystalline cell wall surface layers (S layers) ประกอบด้วยโปรตีน หรือ glycoprotein นอกจากนี้เชื้อ *Bacillus* spp. สามารถสร้างเอนโดสปอร์ได้ทำให้เชื้อสามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ ได้ดี เช่น ทนความร้อน ทนความแห้งแล้ง และสามารถทนต่อความเค็มสูง (Calvo et al., 2010; Layton et al., 2011; Tejera-Hernández et al., 2011) ซึ่งลักษณะรูปร่าง โครงสร้างและตำแหน่งของการสร้างเอนโดสปอร์แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เซลล์ไม่โป่งพอง สปอร์เป็นรูปวงรีหรือรูปทรงกระบอก ตำแหน่งสปอร์อยู่ตรงกลางหรือค่อนไปทางปลายเซลล์ กลุ่มที่ 2 เซลล์โป่งพอง สปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ ตำแหน่งอยู่ตรงกลางหรือปลายเซลล์ กลุ่มที่ 3 สปอร์ทำให้เซลล์โป่งออกหรือบางครั้งไม่โป่งพอง สปอร์รูปร่างกลม ตำแหน่งอยู่ปลายหรือค่อนไปทางปลายเซลล์ โดยลักษณะรูปร่างโครงสร้างและตำแหน่งของการสร้างเอนโดสปอร์สามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ได้ (Logan & Vos, 2015) และจากการศึกษาลำดับ DNA base (DNA sequence) ในแบคทีเรียสกุล *Bacillus* พบว่าลำดับเบสของ DNA มีความแปรปรวนและแตกต่างกันอย่างมาก โดยมีร้อยละของ G+C content (mol%): 32–66 (T_m) ยกตัวอย่างเช่น ในเชื้อ *B. anthracis* มีร้อยละของ G+C content เท่ากับ 33 ยังมีรายงานว่าในเชื้อ *Bacillus* spp. บางชนิดมีร้อยละของ G+C content ที่สูงกว่าความแปรปรวนของลักษณะภายในสกุล เช่นเชื้อ *B. thermocatenulatus* มีร้อยละของ G+C content เท่ากับ 69 ซึ่งปกติร้อยละของ G+C content ควรมีค่าความแปรปรวนของลักษณะในสกุลไม่ควรเกินร้อยละ 15 (Logan & Vos, 2015)

2.5.1 ความสำคัญของเชื้อ *Bacillus* spp. ด้านการควบคุมโรคพืช

เชื้อ *Bacillus* spp. มีกลไกในการควบคุมโรคพืชได้หลายวิธี ได้แก่ การแข่งขันกับเชื้อโรคพืช และการผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายชีวิต มีรายงานว่าเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ AP01 สามารถเข้าครอบครองพื้นที่ก่อนการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium roseum* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวและโคนเน่าของกล้วยไม้ และเชื้อ *Pythium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรครากเน่าของส้มโอ และมีรายงานว่าเมื่อนำเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-24 และ NSRS 89-26 คลุกเมล็ดข้าวหรือแช่เมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถลดความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* จากระดับความรุนแรงของโรคร้อยละ 94 เป็นร้อยละ 19 และร้อยละ 10 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่สำคัญ 7 ชนิด *Pyricularia oryzae*, *Cercospora oryzae*, *Thanatephorus cucumeris*, *Curvularia oryzae*, *Acrocyndrium oryzae*, *Rhynchosporium oryzae* และ *Alternaria padwickii* นอกจากนี้ยังพบว่า การทดสอบการควบคุมโรคโดยวิธีคลุกเมล็ดของเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ NSRS 89-26 ช่วยลดอัตราการเกิดโรคของเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าได้ดี ไม่มีผลกระทบต่อร้อยละการงอกและความแข็งแรงของเมล็ด ต้นกล้าเจริญเติบโตได้ดีกว่าเมล็ดที่ไม่มีคลุกเชื้อแบคทีเรีย และมีความเหมาะสมที่จะใช้ในสภาพที่มีโรคระบาดหรือมีโรคที่ติดมากับเมล็ดสูง และมีการศึกษาประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว พบว่าชีวภัณฑ์ 4 ชนิด คือ TRF สูตร A, TRF สูตร B, Larminar WP และ Agroguard Liq มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวได้ดีทั้งในสภาพเรือนทดลอง และแปลงทดลองในฤดูนาปีและนาปรัง แม้จะให้ผลไม่เท่ากับสารป้องกันกำจัดโรคพืช validacin Liq (ความเข้มข้นร้อยละ 3 validacin Liq) แต่ในด้านผลผลิตข้าวชีวภัณฑ์ TRF สูตร A, TRF สูตร B และ Larminar WP ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช validacin ซึ่งทำให้เกิดแนวทางที่จะนำสารชีวภัณฑ์ *B. subtilis* มาทดแทนสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันโรคกาบใบแห้งของข้าว นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *Bacillus* spp. หลายชนิดสามารถควบคุมเชื้อรา *F. moliforme* สาเหตุโรครากและลำต้นเน่าของอ้อยได้ *B. subtilis* NE1 และ NE2 ควบคุมเชื้อ *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ (สุมาลี เหลืองสกุล และคณะ, 2542) นอกจากนี้ Mizumoto and Shoda (2007) รายงานว่าเชื้อ *B. subtilis* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้หลายชนิดเช่น bacillomycin, iturin, mycosubtilin, bacilysin, fengymycin และ mycobacillin ขึ้นอยู่กับอาหารที่เหมาะสม ในขณะที่เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ FR-2 สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ iturin A ที่มีฤทธิ์ต่อต้านโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราในแตงกวา โรคใบไหม้และโรคกาบใบไหม้ของข้าว และมีรายงานว่าเชื้อ *B. subtilis* สามารถเข้าไปเจริญและทำลายสปอร์ของเชื้อราสนิมในพืชพวกดอกไม้ นอกจากนี้เชื้อ *B. subtilis* ยังมีความสามารถในการชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรค (induced disease

resistance) โดยการผลิตสาร toxic metabolite บางชนิดที่เป็นประโยชน์ในการชักนำหรือกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotinia sclerotium* มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* มีการผลิต hydrolytic enzyme ขึ้นมาซึ่งเป็นกลไกในการควบคุมโรค จากงานทดลองของ Manjula et al. (2004) รายงานว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* AF1 สามารถสร้าง chitinases ในการควบคุมโรคราสนิมของถั่วลิสงที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Puccinia arachidis* โดยได้ทดลองใช้รูปแบบต่าง ๆ ของเชื้อ *B. subtilis* AF1 คือ fresh cell, cell-free culture filtrate (CCF) และ β -1, 4-N-acetylglucosaminidase (NAGase) (chitinase) พบว่าทั้งสามรูปแบบมีผลในการยับยั้งการงอกของ uredospore ได้ร้อยละ 90.20, 86.40 และ 96.00 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และยังทำให้ germ tube มีความยาวลดลง โดยไปทำให้ cytoplasm มีลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ และ germ tube จะถูกย่อยสลาย และย่อยสลาย chitin ในผนังเซลล์ เมื่อนำเซลล์ของ *B. subtilis* AF1 จากระยะ log phase และ alginate formulation, CCF และ NAGase มาควบคุมโรคโดยเทคนิค detached leaf พบว่าทั้งสี่รูปแบบมีผลทำให้การเกิดของโรคราสนิมลดลง โดย fresh cell ของ *B. subtilis* AF1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมมากที่สุด รองลงมาคือ alginate formulation, NAGase และ CCF ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกัน Eldoksch et al. (2011) รายงานว่าเชื้อ *B. subtilis* สามารถลดความรุนแรงของโรคราสนิมในข้าวสาลีได้ถึงร้อยละ 57.14 เนื่องจากมีการสร้างสารปฏิชีวนะ เช่น subtilin, bacillin, bacillomycin, subtenolin, mycosubtilin, toximycin, bacitracin, xanthobacidin, iturin, subtilosin และ subsporin complex ขณะที่ Niranjan Raj et al. (2003) พบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. มีคุณสมบัติเป็น PGPR และมีคุณสมบัติในการชักนำให้ pearl millet (*Pennisetum glaucum*) เกิดความต้านทานโรคราน้ำค้าง โดยเชื้อ *Bacillus* spp. ส่งเสริมการงอกของเมล็ดพืชให้สูงขึ้น และส่งเสริมการเจริญทางด้าน vegetative growth เช่น ความสูง พื้นที่ใบ จำนวนของ tillers และส่งเสริมการเจริญทางด้าน reproductive growth เช่น เพิ่มขนาด ความยาวของผล เพิ่มน้ำหนักของผลผลิตให้สูงขึ้น แต่ไม่มีการทดลองว่ามีกลไกอย่างไรบ้าง นอกจากนี้ยังช่วยลดการเกิดโรค ซึ่งความต้านทานของโรคอาจเนื่องมาจากเชื้อ *Bacillus* spp. ทำให้พืชมีการสร้างสาร phenols เพิ่มขึ้น แต่จะลดปริมาณน้ำตาลซึ่งมีผลทำให้พืชมีความต้านทานโรคสูงขึ้น นอกจากนี้ประไพศรี และคณะ (2540) พบว่า สารชีวภาพจากแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ TISTR1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อราโรคพืชได้ สุมาลี เหลืองสกุล และคณะ (2542) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อ *B. subtilis* จากดินเพื่อควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ พบว่าเชื้อ *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ดี และสามารถคงทนอยู่ในดินได้นานหลังเก็บเกี่ยวผลผลิตเป็นเวลา 8 เดือน สำหรับความสามารถของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคพืชชนิดอื่นนั้น แสดงดังตาราง 2

2.5.2 ความสำคัญของเชื้อ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

เชื้อ *Bacillus* spp. เป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อพืชสามารถสร้างสารอาหารที่ต้นพืชต้องการเพิ่มขึ้นได้ เชื้อ *Bacillus* spp. มีกลไกที่สำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งในรูปแบบการส่งเสริมแบบทางตรงและทางอ้อม กลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในรูปแบบทางตรง คือ สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชโดยการผลิตฮอร์โมนพืชหรือสนับสนุนให้พืชหาอาหาร และดูดซึมสารอาหารจากดินผ่านกลไกต่าง ๆ ได้มากขึ้น อีกทั้งยังสามารถตรึงไนโตรเจนในชั้นบรรยากาศ กระตุ้นการสลายของฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ การสังเคราะห์สารประกอบธาตุเหล็ก การลดความเป็นพิษของโลหะหนักในพืช และการผลิตกรดอินทรีย์กรดอะมิโน (IAA) ซึ่งช่วยเพิ่มการเจริญของรากและลำต้น (จักรพงษ์ กางโสภา และ บุญมี ศิริ, 2561) ซึ่งมีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ในสกุล *Bacillus* ที่สามารถสังเคราะห์ฮอร์โมน IAA ได้ เมื่อนำเชื้อเหล่านี้ไปใส่ให้กับต้นพืชจะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้น (โชคชัย กิตติวงศวัฒนา และคณะ, 2559) ซึ่งฮอร์โมน IAA ที่เชื้อ *Bacillus* ผลิตจะอยู่ในกลุ่มของฮอร์โมนออกซิน (auxin) ทำให้เซลล์ของรากพืชเกิดการยืดยาวออกมีผลต่อการแตกรากของพืช ส่วนกลไกการสลายฟอสเฟตนั้นมีหลายกลไก เช่น เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ออกมานอกเซลล์และทำให้ pH รอบ ๆ เซลล์แบคทีเรียลดลง การเกิดอิออนบวก H^+ เพิ่มขึ้น ส่งเสริมการสะสมของ NH_4^+ ทำให้เกิดการละลายของฟอสฟอรัสเปลี่ยนแปลงรูปของฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่สามารถละลายน้ำได้ทำให้พืชสามารถนำฟอสเฟตไปใช้ได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อ *Bacillus megaterium* mj 1212 สามารถผลิต malic และ quinic acid ออกมาละลายฟอสเฟตที่ผสมในอาหารทดสอบได้ นอกจากนี้ยังพบว่า การสะสมของ NH_4^+ ภายในเซลล์ของแบคทีเรียยังเกิดขึ้นร่วมกับการปลดปล่อยโปรตอนออกมานอกเซลล์ และทำให้เกิดการละลายฟอสฟอรัสโดยไม่ต้องมีการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ออกมานอกเซลล์ของแบคทีเรีย (ยลธิดา ชนะชัย และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล, 2563) ส่วนในทางตรงกันข้ามแบคทีเรียที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืชในทางอ้อมได้โดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในพืชทั้งจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียและเชื้อรา ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการเกษตรกรรมเป็นอย่างมาก (โชคชัย กิตติวงศวัฒนา และคณะ, 2559)

พูน ปณ กิตโต ชเว

ตาราง 2 ความสามารถของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครพืช

เชื้อ <i>Bacillus</i>	เชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้ง	โรค	ที่มา
<i>Bacillus</i> spp.	<i>Stemphylium</i> spp.	gray leaf spot disease in tomato	วราภรณ์ สุทธิสา และ ปพิชญานาม แสง (2559)
<i>B. subtilis</i> B25	<i>F. oxysporum</i> <i>f.sp.cubense</i>	Fusarium wilt of banana	Tan et al., (2013)
<i>B. subtilis</i>	<i>Fusarium solani</i>	Fusarium wilt of Cucumber	อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ คณะ (2556)
<i>B. velezensis</i> LM2303	<i>F. graminearum</i>	Fusarium head blight	Chen et al., (2018)
<i>B. amyloliquefaciens</i> DA12	<i>F. asiaticum</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. proliferatum</i> and <i>F. verticillioides</i>	mycotoxigenic <i>Fusarium</i> species	Lee et al., (2017)

2.6 ลักษณะทั่วไปและความสำคัญของเชื้อ *Streptomyces* spp.

Streptomyces spp. จัดอยู่ใน class Actinobacteria อยู่ใน Order Actinomycetales ซึ่งเชื้อทั้งหมดเป็นแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก *Streptomyces* เป็นกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่มี GC content สูงมาก โดยเชื้อในกลุ่ม Actinomycetales แบ่งออกเป็น 8 กลุ่มย่อย ซึ่งเชื้อ *Streptomyces* spp. เป็นเชื้อที่อยู่ในกลุ่ม Streptomycetes มีลักษณะคล้ายเชื้อราอาศัยอยู่ทั่วไปในดินและปุ๋ยหมัก นอกจากนี้ยังพบได้ในน้ำ ละอองฝุ่น อากาศ รวมถึงในน้ำทะเล (พรพรรณ อุสุวรรณ , 2550) เชื้อ *Streptomyces* spp. เป็นแบคทีเรียพวกที่ใช้ออกซิเจน ดินสีแกรมบวก ลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื่อนั้นในระยะแรกผิวโคโลนีจะเรียบและเป็นเมือก แต่เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยที่เจริญอยู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อจะพัฒนาเป็นสปอร์ทำให้ผิวโคโลนีมีลักษณะคล้ายฝุ่นผง หรือฟ้ำกำมะหยี่ มีหลายสี เช่น สีขาว เทา แดง เหลือง น้ำเงิน เขียว และ ม่วง ซึ่งเป็นสีของสปอร์อยู่ด้านบน

ส่วนด้านล่างโคโลนีซึ่งมีเส้นใยเจริญอยู่อาหารมักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ซึ่งเกิดจากการที่เชื้อสร้างรงควัตถุเมลานิน แต่อาจพบสีอื่นเช่นเดียวกับสีของสปอร์ (อำไพทิพย์ สุขหอม, 2553) เชื้อ *Streptomyces* spp. สามารถสร้างเส้นใยที่เจริญอยู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ (aerial mycelium) และที่เจริญอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (substrate mycelium) ลักษณะเส้นใยของเชื้อเป็นแบบไม่มีผนังกัน (coenocytic hyphae) เมื่อเจริญเต็มที่เส้นใยที่เจริญอยู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อจะสร้างสายสปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่ (non motile spore) เป็นลูกโซ่มีจำนวนตั้งแต่ 3-50 สปอร์ เส้นผ่านศูนย์กลางของสปอร์เท่ากับเส้นใย คือ 0.5-2.0 ไมโครเมตร สปอร์มีหลายรูปแบบ เช่น แบบ rectus-flexibilis ซึ่งเป็นสปอร์ เส้นตรง (straight) หรือโค้งงอ (flexuous) และแบบ spiral สปอร์มีลักษณะวนเกลียว วงกลม ปลายเปิด รูปขอคดเป็นวงซ้อนกัน มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-10 ไมโครเมตร ลักษณะผิวสปอร์มี 5 แบบ คือ ผิวเป็นหนาม (spiny) ผิว เป็นขน (hairy) ผิวเป็นปุ่มปม (wart) ผิวเรียบ (smooth) และผิวย่น (rugose) ที่สำคัญเชื้อ *Streptomyces* spp. สามารถสร้างรงควัตถุได้หลายชนิด ส่วนใหญ่สร้างสารปฏิชีวนะที่ทำลายเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา สาหร่าย ไวรัส และสัตว์เซลล์เดียวได้ ซึ่งมีหลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้มากกว่าหนึ่งชนิด เช่น เชื้อ *S. griseus* สามารถผลิตสารต้านแบคทีเรีย (anti-bacterial agent) สารต้านเชื้อรา (antifungal agent) และสารพวก polyene macrolide นอกจากนี้ *Streptomyces* spp. ยังสร้างเอนไซม์คาตาเลส สามารถรีดิวส์ไนเตรทให้เป็นไนโตรที่ได้อ และสามารถสลาย อะดีนีน เอสคิวลีน เคซีน เจลาติน ไฮแซนริน แป้ง และแอลโทรซิน ปริมาณของกวานีนกับไซโตซีนมีประมาณร้อยละ 69-78 mol อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญในช่วง 25-35 องศาเซลเซียส แต่บางชนิดก็เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำหรือสูงกว่านี้ ความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง pH 6.5-8.0 ผนังเซลล์ประกอบไปด้วย LL-DAP ไม่มีกรดไมโคลิก มีน้อยชนิดที่ทำให้เกิดโทษในคนและสัตว์แต่ในบางชนิดก็สามารถก่อให้เกิดโรคในพืชได้ (Ceylan et al., 2008; Sahin & Ugur, 2003)

2.6.1 ความสำคัญของเชื้อ *Streptomyces* spp.

Streptomyces มีรายงานว่ามีความสัมพันธ์ในการสร้างควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช และสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยเชื้อสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิด (ตาราง 3) ได้แก่ สารต่อต้านแบคทีเรีย (anti-bacterial agent) เช่น ampicillin, penicillin-N ซึ่งมีโครงสร้างเป็นวงเบต้าแลคแทม (β -lactamring) ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการสร้างเปปติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์แบคทีเรีย โอลินโดมัยซิน (oleandomycin) เป็นสารพวกแมโครไลด์ (macrolide) ผลิตโดย *S. antibioticus* ซึ่งจะจับกับไรโบโซมและยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน นอกจากนี้เชื้อยังมีคุณสมบัติในการสารต่อต้านเชื้อรา (anti-fungal agent) เช่น แคนดิซิดิน (candidin) เป็นสารพวกโพลีอินแมโครไลด์ (polyene macrolide) ผลิตจากเชื้อ *S. griseus* มีฤทธิ์ต่อผนังเซลล์ของเชื้อรา สาร nystatin มี

โครงสร้างเป็น polyene มีสมบัติฆ่าเชื้อราได้หลายชนิด สาร polyoxin มีโครงสร้างเป็น nucleoside มีผลต่อการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรา สาร anthracycline นอกจากจะเป็นสารต่อต้านเชื้อราแล้วยังเป็นสารต่อต้านมะเร็งได้อีกด้วย โดยมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase II ในเชื้อราทำให้ไม่สามารถเกิดการจำลองดีเอ็นเอได้ และนอกจากสารปฏิชีวนะแล้ว *Streptomyces* spp. ยังสามารถสร้างสารต่อต้านมะเร็ง (anti-tumour agent) เช่น บลีโอมัยซิน (bleomycin) เป็นสารพวกไกลโคเปปไทด์ (glycopeptide) ผลิตโดย *S. verticillus* มีผลทำให้สายดีเอ็นเอขาด limocrocين ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ reverse transcriptase ของไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรค (ปวีณา สังข์แก้ว, 2556) และจากการเก็บรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับสารปฏิชีวนะที่สร้างจากเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จากรายงานของ Selim et al. (2021) พบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด และสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิด (ตาราง 4)

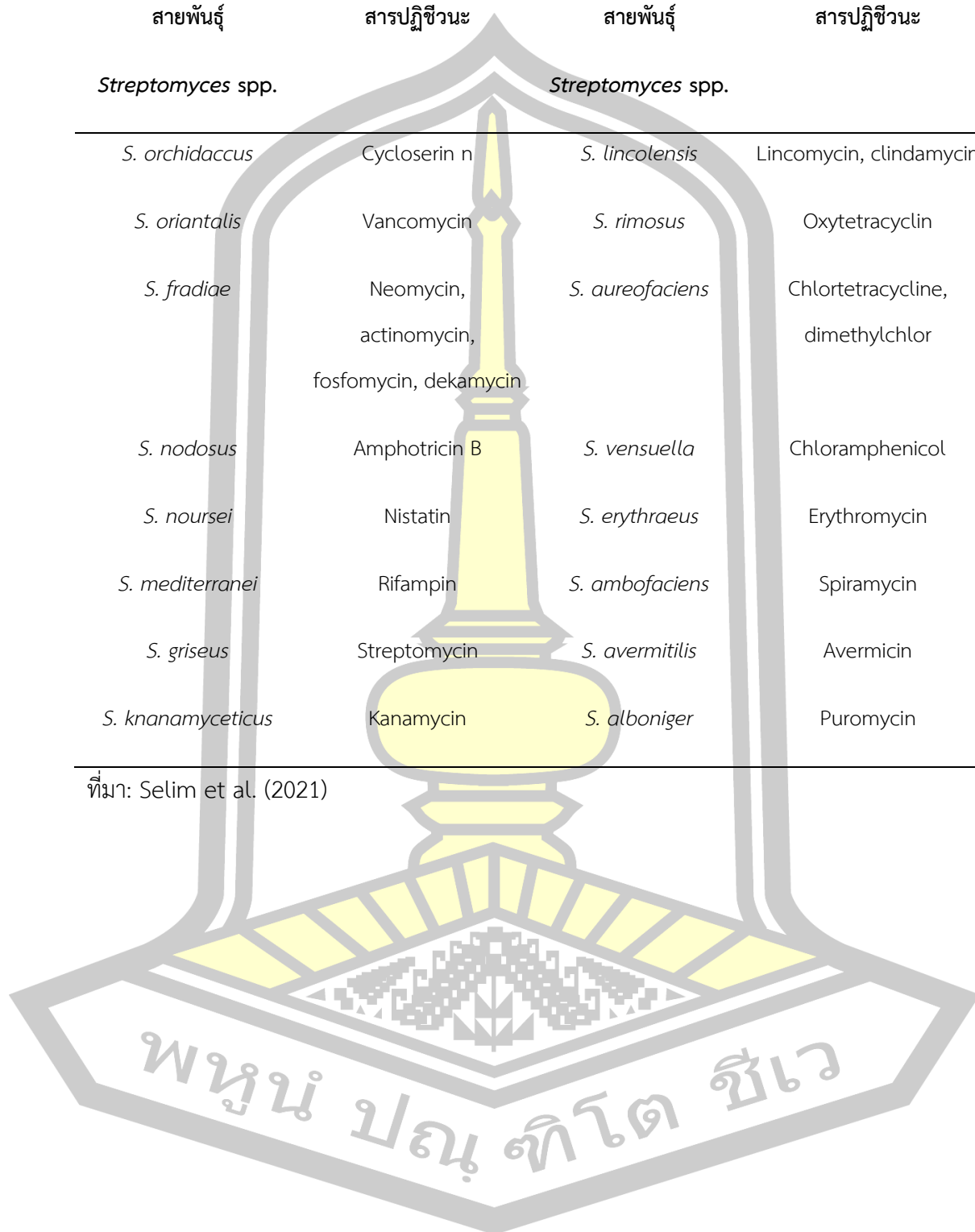
นอกจากนั้นเชื้อ *Streptomyces* spp. ยังมีกระบวนการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดยการกระตุ้นการเจริญของพืชโดยตรง เป็นกระบวนการที่ทำให้พืชสามารถนำสารที่มีประโยชน์มาใช้ได้มากขึ้น ตัวอย่างเช่น การช่วยย่อยสลายฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ กระบวนการผลิตฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น auxin, cytokinin และ gibberellin ที่เป็นฮอร์โมนส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เป็นต้น โดยการศึกษาส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นไปในกลุ่มของ auxin ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการยึดตัวของเซลล์ได้ และสามารถผลิตไซโตไคนินที่ช่วยในการนำธาตุเหล็กไปให้พืชใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น เป็นต้น (Rashad et al. 2015) และการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชทางอ้อม เชื้อ *Streptomyces* spp. ช่วยในการยับยั้งการเกิดโรคของพืชโดยการผลิตสารปฏิชีวนะ ผลิตเอนไซม์ช่วยให้พืชมีความสามารถในการทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ เช่น ความเค็ม ความเครียดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันภาวะจากโลหะหนัก เป็นต้น จะเห็นได้ว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. มีบทบาทที่สำคัญต่อกระบวนการเจริญเติบโตของพืชทั้งภายในและภายนอก (Bashan & de-Bashan, 2005)

พจนานุกรมศัพท์ชีวเว

ตาราง 3 สารปฏิชีวนะบางชนิดที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces* spp.

สายพันธุ์	สารปฏิชีวนะ	สายพันธุ์	สารปฏิชีวนะ
<i>Streptomyces</i> spp.		<i>Streptomyces</i> spp.	
<i>S. orchidaccus</i>	Cycloserin n	<i>S. lincolensis</i>	Lincomycin, clindamycin
<i>S. orientalis</i>	Vancomycin	<i>S. rimosus</i>	Oxytetracyclin
<i>S. fradiae</i>	Neomycin, actinomycin, fosfomycin, dekamycin	<i>S. aureofaciens</i>	Chlortetracycline, dimethylchlor
<i>S. nodosus</i>	Amphotricin B	<i>S. versuella</i>	Chloramphenicol
<i>S. noursei</i>	Nistatin	<i>S. erythraeus</i>	Erythromycin
<i>S. mediterranei</i>	Rifampin	<i>S. ambofaciens</i>	Spiramycin
<i>S. griseus</i>	Streptomycin	<i>S. avermitilis</i>	Avermicin
<i>S. knanamyceticus</i>	Kanamycin	<i>S. alboniger</i>	Puromycin

ที่มา: Selim et al. (2021)



ตาราง 4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces* spp. และฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

สารปฏิชีวนะ	สายพันธุ์	เชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้ง
	<i>Streptomyces</i> sp.	
Vancomycin	<i>S. orientalis</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Neomycin	<i>S. fradiae</i>	แบคทีเรียแกรมลบ
Amphotericin B	<i>S. nodosus</i>	เชื้อรา
Streptomycin	<i>S. griseus</i>	แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ
Kanamycin	<i>S. kanamyceticus</i>	แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ และโปรโตซัว
Tetracycline	<i>S. viridifaciens</i>	แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ
Lincomycin	<i>S. lincolnensis</i>	แบคทีเรีย
Chloramphenicol	<i>S. venezuelae</i>	แบคทีเรีย
Aureomycin	<i>S. aureofaciens</i>	แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ
Novobiocin	<i>S. spheroids</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Coumermycin	<i>S. rishiriensis</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Clorobiocin	<i>S. roseochromogens</i>	แบคทีเรียแกรมบวก
Rapamycin	<i>S. lincolnensis</i>	เชื้อรา

ที่มา: Selim et al. (2021)

2.6.1.1 เชื้อ *Streptomyces* spp. ด้านการควบคุมโรคพืช

มีการศึกษาการใช้เชื้อ *Streptomyces* spp. เพื่อควบคุมแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อโรคในพืช เช่นมีรายงานการใช้ *Streptomyces* spp. เพื่อควบคุมแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศ โดยมีการนำเมล็ดของมะเขือเทศเคลือบด้วยสปอร์ของ *Streptomyces* spp. ก่อนนำไปปลูกสามารถควบคุมเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด และจากการทดลองในสภาพห้องทดลองน้ำเลี้ยงเชื้อของ *S. pulcher* หรือ *S. canescens* เข้มข้นร้อยละ 80 สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Verticillium albo-atrum* และ *A. solani* สารปฏิชีวนะที่ *Streptomyces* spp. สร้างขึ้นส่วนใหญ่จะเป็นสารต่อต้านแบคทีเรีย (anti-bacterial agent) เช่น โอลินโดมัยซิน (oleandomycin) เป็นสารพวกแมคโครไลด์ (macrolide) ผลิตโดย *S. antibioticus* ซึ่งจะไปจับกับไรโบโซม และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน สาร clavams ผลิตโดย *S. clavuligerus* สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เบต้าแลคแทมเมส (β -lactamase) ที่ผลิตโดย *Staphylococci* และแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด สารสเตรปโตมัยซินผลิตโดย *S. griseus* และนีโอมัยซิน (neomycin) ผลิตโดย *S. fradiae* ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบชนิดก่อนและกลุมบางชนิด รวมทั้งแบคทีเรียแกรมบวกชนิดกลุมบางชนิด และยังมีผลต่อ *Mycobacterium tuberculosis* ด้วย นอกจากนี้สาร blasticidin S ผลิตโดย *S. griseochromogenes* มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อราและแบคทีเรียก่อโรคพืชบางชนิด โดยยับยั้งการพัฒนาเส้นใย การสังเคราะห์โปรตีน การงอกของสปอร์ และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* โดยออกฤทธิ์เหมือน organomercuric fungicide แต่มีความเป็นพิษน้อยกว่า สาร kasugamycin ผลิตโดย *S. kasugensis* และ *S. kasugaspinus* ออกฤทธิ์ต่อต้านยีสต์และเชื้อรารวมทั้ง *P. oryzae* และแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Pseudomonas* spp. โดยจะยับยั้งการพัฒนาเส้นใยของ *P. oryzae* ที่ก่อโรคในข้าว ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน แต่ไม่ปรากฏว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา สาร polyoxin ผลิตโดย *S. cacaoi* var. *asoensis* จะไปยับยั้งการสังเคราะห์ไคตินซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อรา และทำให้เซลล์เกิดการบวม นอกจากนี้ยังพบว่า *S. lydicus* WYEC108 สามารถสร้าง chitinase ซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อราได้หลายชนิด โดยสารดังกล่าวจะเข้าไปย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช และยังพบอีกว่า *S. lydicus* WYEC108 นอกจากสามารถควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราได้แล้วยังสามารถเพิ่มขยายจำนวนบริเวณรอบรากต้นถั่ว (*Pisum sativum*) ได้ดีและได้มีการนำมาผลิตในชื่อการค้า Actinovate เช่นเดียวกับ *S. griseoviridis* ที่ได้นำมาใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

หลายชนิดที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ เช่น *Alternaria* spp., *Stemphylium* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Phoma* spp., *Helminthosporium* spp. และ *Botrytis* spp. ซึ่งได้นำมาผลิตในชื่อการค้า Mycostop (ปวีณา สังข์แก้ว, 2556) และจากการรวบรวมข้อมูลงานวิจัยพบว่าเชื้อ *Stemphylium* spp. สามารถเจริญได้บริเวณรอบรากพืชทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้เชื้อยังสามารถเจริญได้บริเวณรอบรากพืช ทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชเพิ่มมากขึ้น (ตาราง 5)

ตาราง 5 ประสิทธิภาพของ *Streptomyces* spp. ในการป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดต่าง ๆ

<i>Streptomyces</i> spp.	เชื้อสาเหตุโรคพืช	โรคพืช	ที่มา
<i>Streptomyces</i> sp. MR14	<i>Fusarium moniliforme</i>	Fusarium wilt in tomato	Kaur et al. (2019)
<i>Streptomyces</i> spp.	fungual pathogens	crop diseases	Jake et al. (2019)
<i>Streptomyces</i> spp.	<i>Fusarium</i> spp.	Fusarium diseases	Bubici (2018)
<i>S. rochei</i> PTL2	<i>Rhizoctonia solani</i>	damping-off of tomato seedlings	Zamoum et al. (2017)
<i>S. griseorubens</i> E44G	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	plant diseases	Olanrewaju and Babalola (2019)
<i>S. viridodiasticus</i>	<i>Sclerotinia minor</i>	basal drop disease	Vurukonda et al. (2018)
<i>S. violaceusniger</i> G10	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> race 4	Wilt in banana	Vurukonda et al. (2018)
<i>Streptomyces</i> sp. S30	<i>Rhizoctonia solani</i>	damping-off of tomato	Vurukonda et al. (2018)
<i>Streptomyces</i> spp.	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Damping -off of Sugar beet	Vurukonda et al. (2018)

2.6.1.2 เชื้อ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

การใช้จุลินทรีย์ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเป็นแนวทางที่ได้รับความสนใจในปัจจุบันเพื่อใช้ลดต้นทุนการผลิต เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้มีความสามารถในการส่งเสริมการใช้ธาตุอาหารของพืช ช่วยส่งเสริมให้พืชมีสุขภาพที่ดี และยังสามารถปรับปรุงคุณภาพของดินให้ดีขึ้นด้วย เชื้อ *Streptomyces* เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืช ได้หลายชนิดทั้งเชื้อรา และแบคทีเรียของพืชวงศ์แตง เช่น *Didymella bryoniae*, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ฆ่าไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) ลดการเกิดโรคเหี่ยวเหี่ยวจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ ในด้านความสูง น้ำหนักต้นและรากสด รวมถึงความยาวรากที่ดีกว่า ซึ่งบทบาทและกลไกสำคัญของเชื้อ *Streptomyces* ที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ คือ สามารถผลิตฮอร์โมนพืชออกซิน (auxin) ไซโตไคนิน (cytokinin) และจิบเบอเรลลิน (gibberellins) หรือผลิตไซเดอร์โรฟอร์เพื่อจับกับธาตุเหล็ก (Fe^{3+}) ในสภาพแวดล้อมที่มีปริมาณธาตุเหล็กต่ำ และช่วยในการดูดซึมสารอาหารเสริมธาตุอาหารให้แก่พืช เช่น ตรึงไนโตรเจน ละลายฟอสเฟต และธาตุอาหารอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญของพืช หรืออาจจะยับยั้งการผลิตเอธิลีน (ethylene) ซึ่งพืชจะผลิตขึ้นในสภาวะเครียด โดยแบคทีเรียจะผลิตเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase เพื่อเปลี่ยน ACC ไปเป็นแอมโมเนีย (ammonia) และแอลฟาคีโตบิวไทเลต (α -ketobutyrate) จึงช่วยลดความเครียดของพืชได้ จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้ปัจจุบันเชื้อ *Streptomyces* spp. ได้รับความสนใจในการนำมาศึกษาและพัฒนาต่อยอดเพื่อนำไปใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดังจะเห็นได้จากรายงานการวิจัยของอัศศิริ กลางสวัสดิ์ และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล (2556) ที่ได้ทำการศึกษาวิธีการใช้ *Streptomyces*-PR87 ที่เหมาะสมต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศทั้งในระยะต้นกล้าและหลังย้ายปลูกในแปลง โดย ทำการทดลองในมะเขือเทศ 2 พันธุ์ คือพันธุ์สีดา และ Tomato 32 ในระยะต้นกล้าโดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ที่ระดับ $OD_{600} = 0.2, 1$ และ 5 และความถี่ในการใช้หยอดต้นกล้าทุก 3, 5 หรือ 7 วัน และการใช้วิธีแช่เมล็ดในสารแขวนลอยเชื้อ *Streptomyces*-PR87 นาน 24 ชั่วโมงก่อนเพาะ หรือการหยอดเชื้อทันทีภายหลังการเพาะเมล็ด พบว่าวิธีการใช้เชื้อ *Streptomyces*-PR87 ที่เหมาะสมสำหรับส่งเสริมการเจริญเติบโตในระยะต้นกล้าของมะเขือเทศ คือการเติมสารแขวนลอยเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ความเข้มข้น $OD_{600} = 1$ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร/ต้น ทุก 7 วัน เริ่มจากหยอดเมล็ดโดยไม่ต้องแช่เมล็ดกับเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ก่อนเพาะต้นกล้ามะเขือเทศทั้งสองสายพันธุ์ที่ได้รับเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ในความเข้มข้นที่เหมาะสมมีการพัฒนาของส่วนลำต้นและระบบรากได้ดีกว่าที่ไม่ได้ใช้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนแนวทางเบื้องต้นที่เหมาะสมสำหรับการใช้ *Streptomyces*-PR87 ในระยะหลังย้าย

ปลูกของมะเขือเทศ คือการพ่นสารแขวนลอยเชื้อ *Streptomyces*-PR87 ระดับ $OD_{600}=1$ ที่ส่วนใบ และรอบโคนต้นอย่างต่อเนื่อง ทุก 7 วัน จำนวน 7 ครั้งทำให้ความสูงของต้น และจำนวนใบจริงที่ 21 วันหลังย้ายปลูก จำนวนผลที่ติดในแต่ละต้นที่อายุ 55 วัน ในแถวที่มีการใช้เชื้อ *Streptomyces*-PR87 มีค่าสูงกว่าแถวที่ไม่มีการใช้เชื้อ *Streptomyces*-PR87 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2.7 Next generation sequencing (NGS)

เทคนิค Next Generation Sequencing หรือที่นิยมเรียกกันสั้น ๆ ว่า NGS ถูกพัฒนาขึ้นมาให้การหาลำดับเบสทั้งจีโนม (genome) ของสิ่งมีชีวิต เทคนิค NGS เป็นเทคนิคที่สามารถหาลำดับเบสด้วยความไวสูง (high sensitivity) ได้ในปริมาณมาก (high throughput) พร้อม ๆ กันหลายตัวอย่าง (multiplex) จากการทำหนึ่งครั้ง ทำให้เทคนิค NGS ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในงานด้านต่าง ๆ เช่น การศึกษาโรคทางพันธุกรรม (genetic diseases) การตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์ (forensic) การศึกษาทางจุลชีววิทยา (microbiology) การศึกษานามัยเจริญพันธุ์ (reproductive health)

NGS ที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่ การหาลำดับเบสของ RNA คือ transcriptome (RNA-sequencing) การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรีย metagenomic sequencing (metagenome) การหาลำดับเบสของสารพันธุกรรมทั้งหมด whole genome sequencing (WGS), การเลือกอ่านเฉพาะลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วน เช่น exome sequencing, targeted sequencing และ panel sequencing เป็นต้น (อลิษา และคณะ, 2555) ปัจจุบันมีงานวิจัยหลาย ๆ งานวิจัยที่ใช้เทคนิค NGS เพื่อศึกษาลำดับเบสทั้งหมดของจีโนมสิ่งมีชีวิต เช่น งานการวิจัยของ Earl et al. (2007) ที่ศึกษาความหลากหลายของเชื้อ *Bacillus subtilis* โดยการหาลำดับเบสจีโนมทั้งหมดของเชื้อด้วยวิธีการ microarray-based comparative genomic hybridization (M-CGH) จากการศึกษาการตรวจสอบความหลากหลายของจีโนมของเชื้อ 17 สายพันธุ์ของเชื้อ *B. subtilis* ที่ไม่ก่อโรคโดยการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อด้วยการใช้ยีน *Bsu168* พบว่า เชื้อมีความผันแปรและหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งยีนที่ศึกษาเป็นตำแหน่งยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตยาปฏิชีวนะ การสังเคราะห์ผนังเซลล์ การสร้างสปอร์ และการงอก ความหลากหลายในยีนเหล่านี้อาจสะท้อนถึงความสามารถของสิ่งมีชีวิตในการอยู่รอดในสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติที่หลากหลาย และจากรายงานวิจัยของ Kaewkla et al. (2022) ที่ศึกษานุกรมวิธานของเชื้อ endophytic actinobacteria 2 สายพันธุ์ คือ SBTS01^T และ W18L9^T ที่แยกได้จากกาบใบและเนื้อเยื่อใบของข้าวหอมมะลิ (*Oryza sativa* KDML105) ที่ปลูกในนาข้าวในจังหวัดร้อยเอ็ด ประเทศไทย จากรายงานการวิจัยพบว่าเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* เมื่อทำการศึกษาเชื้อด้วยข้อมูลของยีน 16S rRNA พบว่าเชื้อสายพันธุ์ SBTS01^T มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อ *S. rochei* NRRLB-2410 T (99.00%) และ *S.*

naganishii NRRLISP-5282 T (99.00%) ส่วนเชื้อสายพันธุ์ W18L9^T มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อ *S. shenzhenensis* DSM 42034^T (99.70%) และจากการวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อสายพันธุ์ SBTS01^T เทียบกับเชื้อ *S. corchorusii* DSM 40340^T พบว่ามีค่า dDDH, ANIb และ ANIm ของจีโนมร้อยละ 54.10, 92.60 และ 94.30 ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันจากการวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อสายพันธุ์ W18L9^T พบว่าเชื้อมีค่า dDDH, ANIb และ ANIm ใกล้ชิดกับเชื้อ *S. shenzhenensis* DSM 42034^T ร้อยละ 72.50, 95.10 และ 97.00 จากการวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อมีค่า dDDH, ANIb และ ANIm น้อยกว่าเกณฑ์ที่กำหนดเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน ดังนั้นเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์จึงถูกระบุชนิดใหม่ โดยเชื้อสายพันธุ์ SBTS01^T คือ *S. spinosus* (= NRRL B-65636 T = TBRC 15052T) และสายพันธุ์ W18L9^T คือ *S. shenzhenensis* subsp. *oryzicola* (= NRRL B-65635 T = TBRC 15051T) นอกจากนี้เมื่อทำการศึกษากำหนดยีนของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์พบว่า เชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์มียีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช และสามารถผลิตสารที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ เช่น ยีนในกลุ่ม terpene, type 1, 2 and 3 polyketide synthase, Nonribosomal peptide synthetase และ lanthipeptides นอกจากนี้ยังพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจน ACC deaminase การผลิต siderophore และการปรับตัวที่เกี่ยวข้องกับความเครียดได้

2.8 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พจนาน ตระกูลสุจริตน์ (2540) ศึกษาการแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างดิน 115 ตัวอย่างที่เก็บรวบรวมจาก 8 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือด้วยวิธี dilution plate ได้จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด 803 ไอโซเลท นำมาทดสอบเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* บนอาหาร PDA มีจำนวน 77 ไอโซเลทที่เกิดบริเวณยับยั้งกับเชื้อรา ทดสอบเปรียบเทียบความสามารถของแบคทีเรียที่คัดเลือกไว้บนอาหาร PDA และ CAM เมื่อแบคทีเรียมีอายุ 24 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่าจำนวนแบคทีเรียที่เกิดบริเวณยับยั้งลดจาก 77 เหลือ 35 ไอโซเลท ค่าเฉลี่ยการยับยั้งบนอาหาร PDA (0.46 เซนติเมตร) มีมากกว่าบนอาหาร CAM (0.37 เซนติเมตร) อายุแบคทีเรียที่ให้ค่าเฉลี่ยการยับยั้งสูงสุดคือ 48 ชั่วโมง (0.50 เซนติเมตร) รองมาคือ 24 ชั่วโมง (0.38 เซนติเมตร) และ 36 ชั่วโมง (0.36 เซนติเมตร) ตามลำดับ ลักษณะแบคทีเรียที่คัดเลือกไว้ส่วนใหญ่เป็นแกรมบวก มีโคโลนี 2 ลักษณะคือ โคโลนีสีขาวขุ่น ผิวด้านและขาวครีม ผิวมัน ขอบไม่เรียบ พบการสร้างสปอร์ภายในเซลล์ ไม่เรืองแสง UV และทนสภาพอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ได้เหมือนกับลักษณะของ *Bacillus subtilis* ที่นำมาเป็นตัวอย่างตรวจสอบ การทดลองในเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าการรดดินด้วย bacterial

suspension ก่อนปลูกให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้น (46.16 เซนติเมตร) มากกว่า มีจำนวนปมเฉลี่ย (46.46) ระดับการเกิดปม (2.0) และดัชนีการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย (ร้อยละ 49.87) น้อยกว่า ชุดแรกรากกล้าใน bacterial suspension 20 ชั่วโมง ก่อนปลูก และพบอาการของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อราเพียงเล็กน้อยซึ่งไม่สามารถวัดระดับความรุนแรงของโรคได้ แบคทีเรียที่น่าจะนำไปศึกษาเพิ่มเติมคือ SKTB 1 55-03 และ UBM 1 55-06 ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยความสูงต้นปานกลาง (49.50 และ 43.94 เซนติเมตร) มีค่าเฉลี่ยจำนวนปมค่อนข้างน้อย (39.4 และ 37.8) และมีระดับการเกิดปมไม่รุนแรงมาก (2.0 และ 1.9) ตามลำดับ

เวียงคำ จันทวงศ์ และคณะ (2550) ศึกษาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces-15* และ *Trichoderma harzianum* ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวในมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง จากการศึกษาเมื่อใช้เชื้อปฏิปักษ์ *Streptomyces-15* ที่เลี้ยงใน peat moss และ *T. harzianum* ที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่างหนึ่งทั้งใส่เดี่ยวและใส่ร่วมกัน ปริมาณเชื้อละ 10 มิลลิลิตร/กระถาง เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี copper oxychloride เมื่อทดสอบครบ 4 สัปดาห์ พบว่าเชื้อ *T. harzianum* ลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวเหี่ยวของมะเขือเทศได้ดีกว่า *Streptomyces-15* และการใช้เชื้อปฏิปักษ์ทั้งสองร่วมกันมีแนวโน้มว่ามีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้เพียงแบบเดี่ยว ๆ แต่การใช้เชื้อปฏิปักษ์ไม่พบว่ามีผลต่อน้ำหนักต้นสดของมะเขือเทศในช่วงที่ทดสอบ

อุไรวรรณ จันทร์เหล่าหลวง (2551) ได้ศึกษาการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะสำหรับยับยั้งการเจริญของ *Fusarium* spp. ซึ่งก่อโรคหลังการเก็บเกี่ยวในกล้วย จากการรายงานการวิจัยได้ทำการคัดเลือกเชื้อ *Fusarium* spp. จากก้านกล้วยที่ใบมีลักษณะเหี่ยวเหลือง แลได้ยืนยันว่าเป็นเชื้อนี้โดย การตรวจสอบลักษณะโคโลนีและสัณฐานวิทยา เปรียบเทียบกับเชื้ออ้างอิง และสามารถแยกแอคติโนมัยซีทได้ 43 ไอโซเลท จากดินแหล่งต่าง ๆ ภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยเลี้ยงในอาหาร sodium caseinate agar และบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง นำเชื้อที่แยกได้ทั้งหมดมาคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อรา และพบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีท 19 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้ โดยการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทร่วมกับ *Fusarium* sp. ในอาหาร PDA อย่างไรก็ตาม เชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท Ac39 สามารถสร้างบริเวณยับยั้งได้สูงที่สุดคือ มีรัศมีของโคโลนี *Fusarium* spp. เท่ากับ 2.3 เซนติเมตร โดยวัดจากขอบของ mycelium disc จนถึงขอบของ mycelium ที่ถูกยับยั้ง เชื้อไอโซเลท Ac 39 ได้ยืนยันว่าเป็นสกุล *Streptomyces* ซึ่งมีโคโลนีสีดำ และสปอร์ชูเป็นเส้นสายตรงโดยเปรียบเทียบกับเชื้ออ้างอิง นอกจากนั้นได้ทำการผลิตสารปฏิชีวนะที่ยับยั้งเชื้อราโดยเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลท Ac 39 บนอาหาร GSM บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ส่วนของน้ำใส่จาก

อาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งเป็นสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อราที่ได้นำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *Fusarium* spp. ด้วยวิธี Poisoned Food Technique โดยผสมน้ำใส่ 5 มิลลิลิตร ในอาหาร PDA พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ อย่างไรก็ตามควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อปรับปรุงผลผลิตที่สูงและการนำไปประยุกต์ใช้

นริศรา จำปา และคณะ (2560) ศึกษาผลของปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าร่วมกับเชื้อ *Bacillus subtilis* ต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งการเกิดโรคทางดินในกล้ามะเขือเทศ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าจาก *S. rolfsii* และ *R. solani* ในห้องปฏิบัติการโดยตรวจวัดการเจริญของเชื้อราโรคพืชเทียบกับตัวควบคุมเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. rolfsii* และ *R. solani* ได้ร้อยละ 56.33 และ 63.33 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม การทดลองที่ 2 การศึกษาปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย *B. subtilis* (BS) ต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งการเกิดโรคโคนเน่าในกล้ามะเขือเทศ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 12 ซ้ำ และ 6 ตัวรับการทดลอง ซึ่งผลทดลองแสดงให้เห็นว่าตัวควบคุมและตัวที่ใส่ปุ๋ยเคลือบด้วย BS ต้นมะเขือเทศมีความสูง น้ำหนักสดต้น ราก และความยาวรากสูงกว่าในตัวที่ใส่เชื้อ *S. rolfsii* และ *R. solani* ร่วมด้วย โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าเคลือบด้วย BS มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคโคนเน่าที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S. rolfsii* และ *R. solani* ในมะเขือเทศในระยะกล้า

อานัติ ขัตติยะ และคณะ (2561) ศึกษาการคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* ในการควบคุมโรคและเป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อใช้ในฟาร์มข้าวอินทรีย์ โดยทำการคัดเลือกเชื้อที่แยกได้จากดินจำนวน 3 ไอโซเลท คือ BS3, BA3 และ BL3 จากบริเวณแปลงข้าวอินทรีย์เพื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติในการเป็นปุ๋ยชีวภาพ เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และคุณสมบัติทางเคมีพบว่าเชื้อ *Bacillus* spp. เชื้อดังกล่าวถูกนำไปตรวจสอบคุณสมบัติในการผลิตสารปฏิชีวนะ การผลิต Indole acetic acid และการตรึงไนโตรเจน พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท BA3 สามารถผลิต Indole acetic acid และไอโซเลท BS3 สามารถตรึงไนโตรเจน และผลิตสารปฏิชีวนะได้ในระดับสูง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียไปทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ผลการทดสอบพบว่าเชื้อไอโซเลท BS3 มีผลต่อการเจริญของข้าวโดยทำให้ข้าวมีร้อยละการงอกของเมล็ดที่ดี และให้ผลผลิตต่อกระถางสูงกว่าชุดควบคุมที่ใช้น้ำเปล่า และปุ๋ยเคมี

นันทศักดิ์ เกตุสุวรรณ และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล (2562) การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมโรคเหี่ยวสเคลอโรเตียม และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ ระยะ 1 เดือน หลังย้ายปลูก โดยเก็บเก็บรวบรวมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคเหี่ยวสเคลอโรเตียมจากตัวอย่างพืชเป็นโรค และจากตัวอย่างดินในแปลงปลูกมะเขือเทศ พริก เมล่อน แตงโม ถั่วเขียว ถั่วพุ่ม แก่นตะวัน และดาวเรือง เห็ดฟางได้รวม 20 ไอโซเลท พบว่ามีลักษณะการ

เจริญของเส้นใยเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ได้หลายลักษณะ คัดเลือกตัวแทนของเชื้อรา *S. rolfsii* 5 ไอโซเลต จากมะเขือเทศ (Sc-TOKKU01), เมล่อน (ScMeKKU01), แก่นตะวัน (Sc-JaKKU01, Sc-JaKKU01) และถั่วพุ่ม (Sc-LeKKU01) มาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces-PR87*, *Bacillus* spp. (*Bacillus subtilis-PRKKU.1*, *Bacillus-B.K.*, *Bacillus-NTS3*, *Bacillus-MS4*, *Bacillus-029.*, *Bacillus-032* และ *Bacillus-033*) และ *Serratia marcescens* พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* ได้อย่างชัดเจนในทุกไอโซเลตที่ทดสอบด้วยกรรมวิธี Dual culture bioassay โดย *B. subtilis-PRKKU.1*, *Bacillus-B.K.*, *Bacillus-NTS3*, *Bacillus-B.MS4* และ *Bacillus-B.032* และเชื้อ *Bacillus-033* มีร้อยละการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ที่ระดับ 45-67.95% รองลงมาคือ *Bacillus-029* ที่ยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* ทุกไอโซเลตได้ 3030.772-55.64% ส่วนเชื้อ *Streptomyces-PR87* และ *S. marcescens* ยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ 3 ใน 5 ไอโซเลตของเชื้อ *S. rolfsii* ที่ทดสอบ เส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ตรงบริเวณที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีความผิดปกติลักษณะต่าง ๆ และลดความมีชีวิตของเมล็ดสเคลอโรเตียมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการประเมินการควบคุมโรคเหี่ยวสเคลอโรเตียมในโรงเรือนปลูกพืชทดลองพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus-MS4*, *Bacillus-NTS3* และ *Bacillus-B.K.* ลดการเกิดโรคเหี่ยวสเคลอโรเตียมของมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังช่วยลดการเกิดโรคใบจุดแบคทีเรีย จากเชื้อ *Xanthomonas* spp. ที่เกิดขึ้นในสภาพธรรมชาติได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย เชื้อ *Bacillus* ทั้ง 3 ไอโซเลตมีการสร้าง 3-indole-acetic acid (IAA) ที่เกี่ยวข้องกับบทบาทการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ได้ในระดับ 5.65-13.56 ไมโครกรัมต่อ/มิลลิลิตร จึงมีศักยภาพสูงในการนำไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ควบคุมโรคเหี่ยวสเคลอโรเตียมและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศต่อไป

รัฐสิทธิ์ แซ่ลี และพรหมมาศ คุณหาญจัน (2563) ศึกษาแบคทีเรียเอนโดไฟต์สายพันธุ์ที่แยกได้จากมะเขือเทศ (SuRW02, SuRW01 และ LbRW03) และสายพันธุ์ที่แยกได้จากข้าว (Su2S217, SuR317, BaS417 และ BaR917) ควบคุมเชื้อราโรคพืช เช่น *F. oxysporum*, *C. capsici*, *Pythium* sp. และ *Pyricularia* sp. โดยการทดสอบความเป็นปฏิปักษ์ด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วม ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียเอนโดไฟต์ทุกไอโซเลตยังมีชีวิตรอด และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้เช่น ไอโซเลท LbRW03, SuRW01 และ SuRW02 สามารถยับยั้ง *F. oxysporum.*, *Pyricularia* sp. และ *C. capsici* ได้มากกว่าร้อยละ 50 ในขณะที่ไอโซเลทที่แยกได้จากข้าวมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชแบบจำเพาะเจาะจง ยกเว้น SuR317 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Pyricularia* sp., *C. capsici*, *Pythium* และ *F. oxysporum* จากนั้นเมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน 16s rRNA ของแบคทีเรียเอนโดไฟต์ไอโซเลท BaR917 และ SuRw02 ที่มี

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคร้าวและมะเขือเทศ ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด คือ *Bacillus* sp. และ *Sphingobacterium* sp. ตามลำดับ

Anitha และ Rabeeth (2009) ศึกษาความสามารถของสารชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces griseus* ต่อการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ สารชีวภัณฑ์ *S. griseus* ที่มีผง tacl เป็นองค์ประกอบที่มีหรือไม่มีโคตินเป็นส่วนผสม หลังจากผลิตชีวภัณฑ์แล้วแล้วอายุการเก็บรักษาของเชื้อเมื่อเก็บรักษาไว้ 105 วัน ที่อุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส เชื้อจะมีความเข้มข้น 122×10^7 และ 118×10^7 cfu/g และเมื่อนำไปศึกษาการควบคุมเชื้อรา *Fol* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าสารชีวภัณฑ์จากเชื้อ *S. griseus* สูตรต่าง ๆ มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fol* ในสภาพเรือนทดลอง โดยในการทดสอบด้วยนำรากต้นกล้าของมะเขือเทศมาแช่ด้วยสารชีวภัณฑ์สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ดีกว่าแกมแซ่มลิต

Sriyapai et al. (2015) ทำการศึกษาศักยภาพด้านชีวภาพของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินป่าชายเลน เพื่อคัดเลือกเชื้อที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์และการผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคพืชทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียในภาคเกษตรกรรม จากผลการทดลองสามารถคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยซีทได้จำนวน 90 สายพันธุ์ โดยเชื้อแอกติโนมัยซีท จำนวน 14 สายพันธุ์ (คิดเป็นร้อยละ 15.50), 14 สายพันธุ์ (คิดเป็นร้อยละ 15.50), 18 สายพันธุ์ (คิดเป็นร้อยละ 20.00) และ 2 สายพันธุ์ (คิดเป็นร้อยละ 2.20) แสดงศักยภาพในการผลิตเอนไซม์โปรตีนเนส ไซแลนเนส ซีเอ็มซีเอส และอวาเซลเลส ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทจำนวน 10 ไอโซเลท (คิดเป็นร้อยละ 11.10) สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคพืชได้ ผลการระบุชนิดโดยใช้ลำดับเบสของยีนในช่วง 16S rDNA พบเชื้อแอกติโนมัยซีทจำนวน 9 สายพันธุ์ เป็นสกุล *Streptomyces* และอีกจำนวน 1 สายพันธุ์ เป็นสกุล *Micromonospora* สรุปได้ว่า เชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากป่าชายเลนนี้เป็นเชื้อที่มีศักยภาพในการผลิตเอนไซม์และการผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคพืชทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวในเรื่องคุณสมบัติของเอนไซม์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะเป็นประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ต่อไป

Abbasi et al. (2019) ศึกษาเชื้อ *Streptomyces* ที่ชักนำให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 ในมะเขือเทศผ่านกลไกระดับโมเลกุลต่าง ๆ แบคทีเรียบริเวณรอบรากพืช (PGPR) เป็นทางเลือกทางธรรมชาติที่สามารถใช้ทดแทนสารเคมีฆ่าเชื้อราในการในสภาพเรือนทดลอง โดยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืชต่อความเครียดที่เกิดขึ้นทางชีวภาพ ในงานวิจัยได้ทำการศึกษาเชื้อ *Streptomyces* จำนวน 126 ไอโซเลท ที่คัดแยกจากดินรอบรากพืชในพื้นที่ปลูกผัก 13 แห่ง ในอิหร่าน จากการทดลองพบว่าเชื้อ *Streptomyces* มีคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Fol* race 3 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งจากการทดลองสามารถคัดเลือกเชื้อได้ 6 ไอโซเลท

ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และคุณสมบัติการเป็นปฏิชีวนะที่ดีที่สุด เมื่อนำไปทดสอบเปรียบเทียบกับสารเคมีฆ่าเชื้อรา carbendazim ในสภาพเรือนทดลองพบว่า เชื้อทั้ง 6 ไอโซเลทสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ดีเทียบเท่าสารเคมี carbendazim เชื้อสายพันธุ์ IC10 และ Y28 สามารถเพิ่มความยาวลำต้น และน้ำหนักสดและแห้งลำต้นได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อศึกษาลักษณะฟีโนไทป์และการจัดลำดับยีน 16S rRNA แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ IC10 และ Y28 มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับ *S. enissocaesilis* และ *S. rochei* ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อไปศึกษาความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคด้วยการชักนำการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระประเภทเอนไซม์ (induce antioxidant enzymes) และ ระบบชักนำการต้านทาน (ISR) ซึ่งกิจกรรมที่เพิ่มขึ้นของ catalase (CAT) ในพืชเมื่อถูกกระตุ้นด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ เช่นเดียวกันกับการเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยา peroxidase (POX) ในพืชที่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ Y28 สามารถชักนำต่อการต้านทานโดยเฉพาะต่อเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ



บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 กลุ่มตัวอย่าง

3.1.1.1 กลุ่มตัวอย่างดิน ทำการเก็บตัวอย่างดินจากบริเวณพื้นที่ทำการเกษตรแบบอินทรีย์ ในเขตพื้นที่ใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้ง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไทรบุรี อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์

3.1.1.2 กลุ่มตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคพืช งานวิจัยนี้ยังได้รับการสนับสนุนเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) 10 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท TFPK101, TFPK102, TFPK103, TFPK201, TFPK202, TFPK301, TFPK401, TFPK501, TFPK502 และ TFPK503 เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวในกล้วย *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) race1 จำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท TKS2-3, NRS1-3, PCK2-2, NK2-1, KPS1-3, PLS4-1, PT4-3, SK5-1, NP4-2 และ SB2-5 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประภาส กาวีชา คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร ได้รับการสนับสนุนตัวอย่างเชื้อ *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรครากและลำต้นเน่าของมะเขือเทศ และเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเขียวในมะเขือเทศจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนันต์ วงเจริญ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการตัดแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากผลไม้ 3 ชนิด คือ กล้วย ฝรั่ง และมะม่วง จากเขตพื้นที่ตลาดสด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

3.1.2 เครื่องแก้ว

3.1.2.1 จานเพาะเลี้ยงเชื้อพลาสติก (pastic petri dish)

3.1.2.2 ปีกเกอร์ (beaker)

3.1.2.3 หลอดฝาเกลียว (test tube)

3.1.2.4 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)

3.1.2.5 กระบอกตวง (cylinder)

3.1.2.6 แท่งแก้วคนสาร

3.1.2.7 แท่งแก้วรูปตัว L (spreader)

3.1.2.8 กรวยกรอง

3.1.2.9 ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture bottle)

3.1.2.10 แผ่นสไลด์และกระจกปิดแผ่นสไลด์

3.1.2.11 แท่งแก้วสามเหลี่ยม

3.1.3 เครื่องมือ

3.1.3.1 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.1.3.2 ไมโครปิเปตทิวสีเหลือง (Yellow Tips)

3.1.3.3 ไมโครปิเปตทิวสีน้ำเงิน (Blue Tips)

3.1.3.4 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Air Flow)

3.1.3.5 ถังมือยาง

3.1.3.6 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

3.1.3.7 ตู้อบฆ่าเชื้อความร้อนสูง (Hot Air Oven)

3.1.3.8 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.1.3.9 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Mixer water bath)

3.1.3.10 เครื่องชั่ง (Analytical Balance)

3.1.3.11 เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)

3.1.3.12 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.3.13 เข็มฉีดยา

3.1.3.14 หัวกรองแบคทีเรียขนาด 0.2 ไมโครเมตร

3.1.3.15 ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.1.3.16 เข็มเขี่ยเชื้อปลายแหลมรูปตัว L

3.1.3.17 Cork borer

3.1.3.18 อะลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium Foil)

3.1.3.19 ที่วางหลอดทดลอง (Rack)

3.1.3.20 ถังพลาสติกใส 12x18 นิ้ว

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.1.4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)

3.1.4.2 Agar

3.1.4.3 Arginine

3.1.4.4 di-potassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4)

3.1.4.5 Sodium chloride (NaCl)

3.1.4.6 Magnesium sulfate.7-hydrate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)

- 3.1.4.7 Iron (II) sulfate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 3.1.4.8 Copper sulfate-5-hydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- 3.1.4.9 Zinc sulfate. 7-hydrate ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 3.1.4.10 Manganese sulfate ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
- 3.1.4.11 70 % ethyl alcohol
- 3.1.4.12 95% ethyl alcohol
- 3.1.4.13 0.1 N Hydrochloric acid (HCl)
- 3.1.4.14 0.1 N Sodium hydroxide (NaOH)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเก็บตัวอย่างดินในบางเขตพื้นที่ของจังหวัดบุรีรัมย์

เก็บตัวอย่างดินจากบริเวณพื้นที่ทำการเกษตรในเขตพื้นที่ใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้ง อำเภอเฉลิมพระเกียรติ ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไทรบัต อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ โดยทำการขุดดินลึกลงไปประมาณ 10 เซนติเมตร จากนั้นเก็บตัวอย่างดินใส่ถุงนำมาผึ่งลมให้แห้งเป็นเวลา 2-3 วัน บันทึกลักษณะทางกายภาพของดินแล้วนำตัวอย่างดินมาร้อน และวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยการนำตัวอย่างดินผสมกับน้ำ DI (deionized water) ในอัตราส่วน 1:2 (w/v) เขย่า 30 นาทีแรก หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้อีก 30 นาที นำไปวัด pH ของดินด้วยเครื่อง pH meter ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) บันทึกผลการทดลอง และจากนั้นจึงจะนำตัวอย่างไปคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ต่อไป

3.2.2 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

ในการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากดินนั้นจะแบ่งการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ออกเป็น 2 วิธี คือ วิธีคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสกุล *Bacillus* และวิธีคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสกุล *Streptomyces* โดยมีวิธีการคัดแยกดังนี้

3.2.2.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ดัดแปลงตามวิธีการของ Watterson et al. (2014) ทำการชั่งตัวอย่างดินมา 1 กรัม ละลายตัวอย่างดินด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 99 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปเจือจางครั้งละ 10 เท่า (10-serial dilution) แล้วนำไปเกลี่ยเชื้อ (spread plate) บนผิวหน้าอาหาร nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการคัดแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และนำเชื้อแต่ละไอโซเลตไปศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาเบื้องต้น โดยการศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยการย้อมสีแกรม และสีเอนโดสปอร์ บันทึกผลการทดลอง และเก็บตัวอย่างเชื้อเพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชต่อไป

3.2.2.2 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียสกุล *Streptomyces* ทำการชั่งตัวอย่างดินมา 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 99 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะ เขย่า 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเจือจางครั้งละ 10 เท่า (10-serial dilution) แล้วนำไปเกลี่ยเชื้อ (spread plate) บนผิวหน้าอาหาร Half strength potato dextrose agar (HPDA) และอาหาร Arginine-glycerol mineral salt agar (AGMA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน จากนั้นทำการคัดแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ (Sangdee et al., 2016) และ นำเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชต่อไป

3.2.3 การคัดแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจบางชนิด

3.2.3.1 ในการคัดแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชนั้นจะทำการคัดแยกเชื้อราจากผลไม้ ทั้งหมด 3 ชนิด คือ กล้วยหอมทอง มะม่วง และฝรั่ง ในเขตพื้นที่ตลาดสด อำเภอเมือง จังหวัด มหาสารคาม โดยจะทำการเก็บตัวอย่างผลไม้ที่เกิดโรคมารับทำการคัดแยกเชื้อราบนอาหาร Water Agar (WA) จากนั้นตัดชิ้นส่วนบริเวณที่เป็นโรคและบริเวณที่ไม่เป็นโรคให้มีขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร นำไปฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวรอบนอกด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ร้อยละ 5 เป็น เวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ปลอด เชื้อ แล้วนำชิ้นส่วนพืชไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ WA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-7 วัน จนเส้นใย เจริญออกมา หลังจากนั้นทำการเขี่ยเชื้อบริเวณปลายเส้นใยมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อให้ได้ เชื้อราบริสุทธิ์ โดยทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-10 วัน แล้วนำไปศึกษาลักษณะทาง สัณฐานวิทยาและความสามารถในการก่อโรคต่อไป (Kawicha et al., 2020)

3.2.3.2 การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคพืชตาม หลักการของ Koch's postulates โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราที่คัดแยกได้บนอาหาร PDA จนเชื้อรา สร้างโคนิเดีย แล้วเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารที่มีเชื้อราเจริญอยู่จากนั้นใช้เข็ม เขี่ยชุดสปอร์ของเชื้อรา และปรับความเข้มข้นสปอร์ให้ได้ 10^6 - 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการ ดูดสารแขวนลอยสปอร์ 20 ไมโครลิตร หยดลงบนผิวพืชแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น และทำการบันทึกผลการทดลอง

3.2.3.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยการทำ Slide culture โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ต่อ 1 จานเพาะเชื้อ เพื่อใช้ทำ slide culture โดยใช้ใบมีดโกนที่ผ่านการฆ่าเชื้อตัดอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้เป็นรูปลูกเต๋า จากนั้นใช้ เข็มเขี่ยปลายงอที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เขี่ยเอาอาหารมาวางลงบนสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำเข็มเขี่ย ปลายงอที่ผ่านการฆ่าเชื้อเขี่ยเอาเส้นใยเชื้อรามาเพียงเล็กน้อยแตะบนขอบอาหาร PDA ทั้ง 4 ด้าน แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ เทน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงไปให้ชุ่มบนกระดาษชำระ บ่มทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดย

หยดสี lectophenol cotton blue ลงบนแผ่นสไลด์ประมาณ 1 หยด จากนั้นใช้ปากคีบคีบกระจกปิดสไลด์ที่มีเส้นใยเจริญอยู่มาวางลงบนแผ่นสไลด์ที่มีสีอยู่ จากนั้นนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า ทำการบันทึกผลลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2.3.4 การระบุชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน ITS โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชแต่ละไอโซเลทบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเติม 1 ml ของ PBS buffer นำตัวอย่างใส่โกร่งเติมไนโตรเจนเหลวทำการบดตัวอย่างให้ละเอียด นำตัวอย่างใส่หลอด microcentrifuge tube จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัด (vivantis, Malaysia) ทำการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยเทคนิค gel electrophoresis โดยใช้ agarose gel ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 ทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยเทคนิค gel electrophoresis บน agarose gel ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และนำผลิตภัณฑ์ PCR ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) โดยใช้บริการจาก Macroger Service Center Advancing through Genomics ประเทศสาธารณรัฐเกาหลี นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปตรวจสอบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีรายงานไว้ในฐานข้อมูล GenBank จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยใช้โปรแกรม MEGA vision11

3.2.4 การคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเบื้องต้น และการทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (*in vitro*) โดยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วมกัน (dual culture technique)

ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเบื้องต้นด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วมกัน โดยจะแบ่งการทดสอบการยับยั้งเชื้อราออกเป็น 2 กลุ่ม คือ การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศเบื้องต้น หลังจากนั้นทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Fol* ได้ดีที่สุดและมีค่าร้อยละการยับยั้งมากกว่าร้อยละ 50 ขึ้นไปมาทำการทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum โดยการทดสอบกับเชื้อรา *Foc* 10 ไอโซเลท เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* 1 ไอโซเลท เชื้อราสาเหตุโรคพืชในผลไม้ 3 ชนิด และทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดยมีวิธีการทดสอบดังต่อไปนี้

3.2.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศเบื้องต้นโดยวิธีการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน

3.2.4.1.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ที่คัดแยกได้บนอาหาร NA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ลูปเปียเชื้อมา 1 ลูป นำไปจุดให้มีขนาด 5 มิลลิเมตร บนอาหาร PDA ที่มีเชื้อราสาเหตุโรคพืชเจริญอยู่บริเวณส่วนกลางของอาหาร ทำทั้งหมด 2 จุด จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน บันทึกผลการทดลองโดยการวัดขนาดความยาวของเส้นใยจากส่วนกลางเส้นใยไปถึงส่วนปลายของเส้นใยเปรียบเทียบกับความยาวของเส้นใยชุดควบคุม จากนั้นคำนวณหาร้อยละการยับยั้งการเจริญ (Percent Inhibition of Radial Growth :PIRG) ตามวิธีการของ Nielsen et al. (1998) บันทึกผลการทดลอง และในการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

$$\text{ร้อยละการยับยั้งการเจริญ (\%PIRG)} = [(R-R1)/R] \times 100$$

R = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราโรคพืชในชุดควบคุม

R1= ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราโรคพืชในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับเชื้อ *Bacillus* spp.

3.2.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ โดยในการทดสอบเบื้องต้นจะทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวเหลืองรุนแรงที่สุดในมะเขือเทศ ซึ่งมีวิธีการทดสอบดังนี้

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* spp. บนอาหาร HPDA เป็นเวลา 7-14 วัน จากนั้นนำเชื้อไปขีด (streak plate) ลงบนผิวหน้าอาหาร PDA ครึ่งหนึ่งของจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาด 6 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขึ้นส่วนปลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เลี้ยงอยู่ในอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน นำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่มีเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่เลี้ยงไว้เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ประเมินศักยภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. แต่ละไอโซเลทต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 โดยคำนวณหาร้อยละการยับยั้งการเจริญ (Percent Inhibition of Radial Growth :PIRG) ตามวิธีการของ Chaiham et al. (2020) บันทึกผลการทดลอง และในการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

$$\text{ร้อยละการยับยั้งการเจริญ (%PIRG)} = [(R-R1)/R] \times 100$$

R = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในชุดควบคุม

R1= ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในงานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* spp.

นอกจากนั้นทำการเปรียบเทียบร้อยละการยับยั้งของจุลินทรีย์ต่อต้านโดยให้เป็นระดับคะแนนตามวิธีการของ พรพรรณ อู่สุวรรณ (2550) ดังนี้

4 = > 75 PIRG (Very high antagonistic activity)

3 = 61-75 PIRG (High antagonistic activity)

2 = 51-60 PIRG (Moderate antagonistic activity)

1 = < 50 PIRG (Low antagonistic activity)

0 = 0 PIRG (Non activity)

จากนั้นบันทึกผลการทดลอง และในการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

หลังจากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศเบื้องต้นแล้ว จากนั้นจึงทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ได้ดีที่สุดและมีค่าร้อยละการยับยั้งที่มากกว่าร้อยละ 50 มาทำการทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum กับเชื้อรา *Foc* 10 ไอโซเลท เชื้อรา *S. rolfsii* 1 ไอโซเลท เชื้อราสาเหตุโรคพืชในผลไม้ 3 ชนิด และทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ด้วยวิธี Dual culture ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น และทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกไปใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2.5 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ (*in vitro*) ด้วยวิธี Pour plate

ในการทดลองจะทำการเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. บนอาหาร NA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ลูปเขี่ยเชื้อ *Bacillus* spp. ไปเลี้ยงในอาหาร NB ที่อุณหภูมิห้องในสภาวะเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร HPDA 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาด 6 มิลลิเมตร เจาะบริเวณส่วนปลายของเส้นใยของเชื้อ *Streptomyces*

spp. แล้วนำไปเลี้ยงในอาหาร AGMB ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการกรองเอาเฉพาะในส่วนของน้ำเลี้ยงของเชื้อด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร นำน้ำเลี้ยงเชื้อไปผสมกับอาหาร PDA ในอัตราส่วน 1:10 เทอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นใช้ cork borer ขนาด 6 มิลลิเมตร เจาะบริเวณส่วนปลายของเชื้อรา *Fol* ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ไปเลี้ยงในอาหาร PDA ที่มีส่วนน้ำเลี้ยงของเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ประเมินประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยคำนวณค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญ (PIRG) โดยวิเคราะห์ผลตามวิธีการของ Li et al. (2015) และ Kumar et al. (2007) ในการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกผลการทดลอง

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

$$\text{ร้อยละการยับยั้งการเจริญ (\%PIRG)} = [(R-R1)/R] \times 100$$

R = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในชุดควบคุม

R1= ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในจานอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

3.2.6 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (*in vitro*) ด้วยวิธี spore germination test

ในการทดลองจะนำน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่ได้จากข้อ 3.2.5 มาผสมกับอาหาร PDA ในอัตราส่วน 1:10 เทอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่มีความเข้มข้นของสปอร์ $10^6 - 10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร มา 100 ไมโครลิตร เกลี่ยลงบนผิวหน้าอาหาร PDA ที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการนับจำนวนของสปอร์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำ) จากนั้นประเมินประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. แต่ละไอโซเลตต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา โดยคำนวณค่าร้อยละการยับยั้งการงอกของสปอร์ตามวิธีการของ Kgositi et al. (2022) และ Shin et al. (2017) บันทึกผลการทดลอง และในการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

$$\% \text{ การยับยั้งการงอกของสปอร์} = [(A-B)/A] \times 100$$

A คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่งอกในชุดควบคุม

B คือ ค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่งอกในชุดทดสอบ

3.2.7 การศึกษาคุณลักษณะ และการจัดจำแนกเบื้องต้นของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชมาทำการศึกษาลักษณะและการจัดจำแนกเบื้องต้นของเชื้อ โดยนำตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาทำการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และการจัดจำแนกหรือระบุชนิดด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA

3.2.7.1 การศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

Bacillus spp. และ *Streptomyces* spp.

นำเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. มาเลี้ยงในอาหาร NA และ HPDA จากนั้นนำเชื้อ *Bacillus* spp. ไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 วัน และเชื้อ *Streptomyces* spp. ไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-14 วัน บันทึกผลการทดลอง เช่น ลักษณะโคโลนี สีของโคโลนี การย้อมสีแกรมและแอนโดสปอร์สำหรับศึกษาโครงสร้างเชื้อ *Bacillus* spp. การย้อมสี lactophenol cotton blue และการส่องกล้องจุลทรรศน์ SEM สำหรับศึกษาโครงสร้างและสปอร์ของเชื้อ *Streptomyces* spp. บันทึกผลการทดลอง

3.2.7.2 การจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่ผ่านการคัดเลือกด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA

3.2.7.2.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย และการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp.

การเตรียมเชื้อ และการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทำได้โดยการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. บนอาหาร NA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติม 1 มิลลิลิตร ของ PBS buffer แล้วใช้ลูปดูดเชื้อเบา ๆ จากนั้นดูดเชื้อมา 500 ไมโครลิตร เติมนลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม 1% SDS 25 ไมโครลิตร และ 0.2 N NaOH 10 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 1 เท่าของ phenol ตั้งไว้ 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 25 นาที แล้วดูดเอาเฉพาะส่วนใส (supernatant) ใส่ในหลอดใหม่ เติม Chloroform: Isoamyl (อัตราส่วน 24: 1) ปริมาตร 1 เท่า นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000

รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เติม 3M Sodium acetate, pH 5.4 ในอัตราส่วน 1 ส่วน 10 และเติมเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2.5 เท่า แล้วพลิกหลอดไปมา 20 ครั้ง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นล้างตะกอนโดยเติมเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติม elution buffer 100 ไมโครลิตร ทำการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยเทคนิค gel electrophoresis บน agarose gel ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีการ PCR ต่อไป

การเตรียมเชื้อและการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *Streptomyces* spp. ทำได้โดยการเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* spp. แต่ละไอโซเลตบนอาหาร HPDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเติม 1 มิลลิลิตร ของ PBS buffer นำตัวอย่างใส่โกร่งเติมไนโตรเจนเหลวแล้วทำการบดตัวอย่าง นำตัวอย่างใส่หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัด (Vivantis, Malaysia) ทำการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยเทคนิค gel electrophoresis บน agarose gel ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีการ PCR ต่อไป

3.2.7.2.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของยีน 16S rDNA ของเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR)

นำชิ้นส่วนดีเอ็นเอของเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณในส่วนของไรโบโซมอลดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA ด้วยเทคนิค PCR โดยการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนตัวอย่างดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ fD1 (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) และ rP2 (ACGGCTACCTTGTTACGACTT) จากนั้นนำตัวอย่างดีเอ็นเอมาเติม 1X PCR master mix นำไปเข้าเครื่อง Thermal cycle ที่สภาวะ 94 องศาเซลเซียส 5 นาที จำนวน 1 รอบ 57 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวน 1 รอบ 72 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวน 1 รอบ 94 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวน 29 รอบ 50 องศาเซลเซียส 30 วินาที จำนวน 29 รอบ 72 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวน 29 รอบ และ 72 องศาเซลเซียส 10 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้นนำตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี gel electrophoresis บน 1% agarose gel ใน 1X TBE buffer ภายใต้กระแสไฟ 100 โวลต์ 30 นาที และนำผลิตภัณฑ์ PCR ไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (sequence) โดยใช้บริการจาก Macroger Service Center Advancing through Genomics ประเทศสาธารณรัฐเกาหลี นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไปตรวจสอบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีรายงานไว้ในฐานข้อมูล GenBank จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยใช้โปรแกรม MEGA vision11

3.2.8 การศึกษาผลของน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเส้นใยเชื้อรา *Fol* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM และ TEM

นำตัวอย่างเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวเหลืองรุนแรงที่สุดในมะเขือเทศมาทำการเลี้ยงในอาหาร PDB ที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ในอัตราส่วน 1:10 เลี้ยงในสภาวะเขย่าเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการกรองเก็บตัวอย่างเส้นใยของเชื้อรา ล้างตัวอย่างด้วย PBS buffer 3 ครั้ง ๆ 5 นาที จากนั้นจึงนำไปศึกษาลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน 2 ชนิด คือ SEM และ TEM โดยในการศึกษาลักษณะโครงสร้างของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมีขั้นตอนการศึกษาดังต่อไปนี้

3.2.8.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM

นำเชื้อรามามาฟิกส์ด้วย 6% glutaraldehyde ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างตัวอย่าง 3 ครั้งด้วย 0.02M phosphate buffers และฟิกส์ต่อด้วย 2% osmium tetroxide ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น dehydrated ด้วยชุด ethanol อย่างช้า โดยในแต่ละครั้งจะใช้เวลา 5 นาที จากนั้นทำให้ตัวอย่างแห้งโดยใช้ตู้ดูดความชื้นแล้วนำตัวอย่างไปเคลือบด้วยทอง (gold palladium) ในเครื่อง Nanotech sputter coater (Bautista-Baños et al., 2012) จากนั้นนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM วิเคราะห์ผลและบันทึกผลการทดลอง

3.2.8.2 การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด TEM

นำเชื้อรามามาฟิกส์ด้วย 6% glutaraldehyde ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างตัวอย่าง 3 ครั้งด้วย 0.02M phosphate buffers และฟิกส์ต่อด้วย 2% osmium tetroxide ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น dehydrated ด้วยชุด acetone ความเข้มข้น 20, 40, 60,80,100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ขั้นตอนละ 15 นาที จากนั้นเติมด้วย pure Epon812 2 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที ฟังตัวอย่างใน embedding flat mold ใส่ชื่อตัวอย่าง หยอด pure Epon812 จนเต็ม อบตัวอย่างที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในตู้อบลมร้อน จากนั้นตัดตัวอย่างในบล็อกเรซินด้วยเครื่อง Ultramicrotome และมิตแก้วหนา 1 ไมโครเมตร ตัดตัวอย่างบนแผ่นสไลด์ด้วยความร้อนไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส ย้อมสี toluidine blue เพื่อเลือกบริเวณที่ต้องการตัด จากนั้นตัดตัวอย่างในบล็อกเรซินด้วยเครื่อง Ultramicrotome และมิตเพชรหนา 60-100 นาโนเมตร ตัดตัวอย่างบนแผ่นตาข่ายทองแดง (copper grid) ขนาด 3.05 มิลลิเมตร จับตัวอย่างให้แห้งสนิท จากนั้นย้อมตัวอย่างบนกริดด้วย Uranyl acetate ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้ง จับตัวอย่างให้แห้ง แล้วย้อมต่อด้วย Lead citrate ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้งจับให้แห้ง

สนิท แล้วนำไปถ่ายภาพตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์ TEM ยี่ห้อ FEI รุ่น tecnai G2 20 ที่ 120 KeV บันทึกผลการทดลอง

3.2.9 การศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp.

ต่อการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

- การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์การย่อยแป้ง

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. บนอาหาร starch agar จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน ขณะที่เชื้อ *Streptomyces* spp. ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร starch agar บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดทำการหยดสารละลายไอโอดีนลงในจานเพาะเชื้อจนท่วม ถ้ามีการไฮโดรไลซ์แป้งจะเกิดโซนใสรอบโคโลนีของเชื้อเนื่องจากแป้งบริเวณนั้นถูกไฮโดรไลซ์หมดไปแสดงผลเป็นบวก ส่วนเชื้อที่ไม่สามารถไฮโดรไลซ์แป้งรอบ ๆ โคโลนีจะมีสีน้ำเงินเช่นเดียวกับชุดควบคุม จากนั้นทำการวัดขนาดความกว้างของโซนใสตามวิธีการของ Smibert and Krieg (1994) และ Kawicha et al. (2020) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์การย่อยเซลลูโลส

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. บนอาหาร Carboxymethylcellulose (CMC) จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน ขณะที่เชื้อ *Streptomyces* spp. ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร CMC บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดทำการย้อมสีโดยการเท 0.2% congo red จนท่วมทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบกำหนดทำการเทสีทิ้ง แล้วล้างสีออกด้วย 1 M NaCl เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการวัดขนาดความกว้างของโซนใสตามวิธีการของ Smibert and Krieg (1994) และ Suarez-Moreno et al. (2019) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์การย่อยลิกนิน

ทำการเพาะเลี้ยง *Bacillus* spp. บนอาหาร lignin agar จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน ขณะที่เชื้อ *Streptomyces* spp. ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร lignin agar บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดตรวจสอบการย่อยลิกนิน โดยสังเกตโซนใสรอบ ๆ โคโลนีที่เชื้อเจริญอยู่ จากนั้นทำการวัดขนาดความกว้างของโซนใสวิธีการของ Hooda et al. (2015) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์การละลายฟอสเฟต

ทำการเพาะเลี้ยง *Bacillus* spp. บนอาหาร Pikovskaya's agar จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน ขณะที่เชื้อ *Streptomyces* spp. ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร Pikovskaya's agar บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นตรวจสอบกิจกรรมการละลายฟอสเฟตตามวิธีการของ Pikovskaya, (1948) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- การทดสอบการผลิตสารไซเดอโรฟอร์ (Siderophores)

ทำการเพาะเลี้ยง *Bacillus* spp. บนอาหาร NA จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน ขณะที่เชื้อ *Streptomyces* spp. ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร HPDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-14 วัน จากนั้นนำอาหาร CAS (Schwyn & Neilands, 1987) มาเทบดตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที ซึ่งหากบริเวณที่เชื้อเจริญอยู่มีการเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีม่วงหรือสีฟ้าเป็นสีส้มแสดงว่าเชื้อมีความสามารถในการผลิตสารไซเดอโรฟอร์ได้ให้แสดงผลเป็นบวก หากไม่มีการเปลี่ยนสีให้แสดงผลเป็นลบ (Perez-Miranda, 2007) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- การทดสอบการผลิตฮอร์โมน Indole-3-acetic acid (IAA)

การทดสอบการผลิตฮอร์โมน IAA ของเชื้อ *Bacillus* spp.

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ในการผลิตฮอร์โมน IAA จะทำการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในอาหาร NB ที่มีความเข้มข้นของ L-tryptophan ในระดับ 1, 3 และ 5 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที (วรรณทกาญจน์ เอียดเหตุ, 2561) เก็บตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อมาวัดปริมาณ IAA โดยในการวิเคราะห์หาปริมาณ IAA จะทำการนำส่วนใสที่ได้มา 1 มิลลิลิตรผสมกับ 2 มิลลิลิตรของ Salkowsik reagent (0.5M FeCl₃ 1 มิลลิลิตร ผสมกับ 35% HClO₄ 50 ml) บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) โดยนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดอินโดลแอซิดิก (IAA) จากนั้นนำเชื้อแต่ละไอโซเลทที่สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ในอาหารที่มีส่วนผสมของ L-tryptophan ที่ดีที่สุดมาศึกษาระยะเวลา (24, 48 และ 72 ชั่วโมง) ที่เชื้อสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้สูงที่สุดเปรียบเทียบกับอาหาร NB ที่ไม่มีส่วนผสมของ L-tryptophan ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกผลการทดลอง และนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดสอบการผลิตฮอร์โมน IAA ของเชื้อ *Streptomyces* spp.

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการผลิตฮอร์โมน IAA โดยทำการเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* spp. ในอาหาร HPDA เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร เจาะโคโลนีของเชื้อมาเลี้ยงในอาหาร Half strength Potato dextrose broth (HPDB) และอาหาร HPDB ที่เติม 0.2% w/v Tryptophan ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ที่มีฝาปิดขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสมาวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมน IAA โดยในการวิเคราะห์หาปริมาณ IAA จะทำการนำส่วนใสที่ได้มา 1 มิลลิลิตรผสมกับ 2 มิลลิลิตรของ Salkowsik reagent (0.5M FeCl₃ 1 ml ผสมกับ 35% HClO₄ 50 ml) (Eric & Yves, 1995) บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) โดยนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดอินโดลแอซิดิก (IAA) (Kawicha et al., 2020) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกผลการทดลอง และนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2.10 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง

ในการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ จะทำการทดสอบโดยใช้ในส่วนของน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. สามารถเตรียมได้ดังนี้

3.2.10.1 การเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Bacillus* spp. เพื่อใช้ในการทดสอบ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. ในอาหาร NA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร NB ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างโดยการนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แยกเก็บน้ำเลี้ยงเชื้อ กรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร ในส่วนของตะกอนเซลล์จะทำการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2-3 ครั้ง ละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อหรือสารละลาย PBS buffer วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD=0.2) หรือเซลล์มีค่าความเข้มข้น 10⁷-10⁸ cfu/ml (นับทึบค เกตุสุขวงศ์ และ

เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล, 2562) จากนั้นนำตัวอย่างไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2.10.2 การเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Streptomyces* spp. เพื่อใช้ในการทดสอบ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* spp. บนอาหาร HPDA จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-14 วัน ใช้ cork borer เจาะโคโลนีของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 5 ชิ้น นำมาใส่ลงในอาหาร AGMB Broth 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อเก็บในส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อและเส้นใยของเชื้อ จากนั้นนำน้ำเลี้ยงเชื้อไปทำการกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร ในส่วนของตะกอนเซลล์จะทำการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2-3 ครั้ง ปั่นเส้นใยให้ละเอียด ละลายตัวอย่างเส้นใยด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อหรือสารละลาย PBS buffer วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD=1) หรือเซลล์มีค่าความเข้มข้น 10^7 - 10^8 cfu/ml (อัศศิริ กลางสวัสดิ์ และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล, 2556) จากนั้นนำตัวอย่างไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2.10.3 การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 นำเมล็ดมะเขือเทศมาทำการล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง จากนั้นทำความสะอาดเมล็ดโดยการแช่ในเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (1% sodium hypochlorite) เป็นเวลา 4 นาที นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 1 นาที จากนั้นจึงนำเมล็ดมะเขือเทศที่ผ่านการฟอกฆ่าแล้วไปใช้ในการทดสอบต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง จะทำการทดสอบโดยใช้ในส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. โดยจะแบ่งการทดสอบออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยต่อการป้องกันการเกิดโรค (Disease protection) และกลุ่มที่ 2 คือ การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยต่อการควบคุมการเกิดโรค (Disease control) โดยในแต่ละกลุ่มการทดลองมีวิธีการดังต่อไปนี้

กลุ่มการทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการป้องกันการเกิดโรค (Disease protection) ทำการเพาะต้นกล้ามะเขือเทศสีดาทิพย์ 3 ให้มีอายุ 21 วัน บนวัสดุปลูก จากนั้นทำการย้ายต้นกล้ามะเขือเทศไปปลูกในถุงเพาะชำขนาด 3×6 นิ้ว ที่บรรจุดินผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ดินปลูกผสมดินดำในอัตราส่วน 1:1) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที โดยผ่านการฆ่าเชื้อ 2 รอบ จากนั้นเมื่อต้นกล้ามะเขือเทศอายุครบ 30 วัน ทำการสับ

รากมะเขือเทศ 4 ด้าน จากนั้นทำการรดด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ลงบริเวณรากของต้นมะเขือเทศปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อต้นต่อถุงปลูก เมื่อเวลาผ่านไป 2 วัน นำสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ของเชื้อรา *Fol* TFPK401 ที่มีความเข้มข้น 1×10^6 cfu/ml รดลงบริเวณรอบรากต้นมะเขือเทศปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อต้นต่อถุง จากนั้นเมื่อเวลาผ่านไปทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน จะทำการรดด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ลงบริเวณรอบรากต้นมะเขือเทศปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อต้นต่อถุง นอกเหนือจากวันเวลาดังกล่าวให้รดด้วยน้ำทุกวันในปริมาณที่เท่ากัน จนกระทั่งครบ 35 วัน ทำการให้คะแนนการเกิดโรค โดยให้ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศดังนี้ ระดับ 1 = ไม่เกิดโรค ระดับ 2 = ใบแสดงอาการน้อยกว่าร้อยละ 25 (< 25 %) ระดับ 3 = ใบแสดงอาการร้อยละ 26-50 (26-50 %) ระดับ 4 = ใบแสดงอาการร้อยละ 51-75 (51-75 %) และระดับ 5 = ใบแสดงอาการร้อยละ 76-100 (76-100 %) (Marlatt et al., 1996) จากนั้นทำการตัดชิ้นส่วนบริเวณ ลำต้นและรากมะเขือเทศเพื่อดูลักษณะอาการของรอยโรคผ่านทางท่อลำเลี้ยงของต้นมะเขือเทศ โดยในการทดสอบจะทำการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลการทดลอง

กลุ่มการทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการป้องกันการเกิดโรค (Disease control) ทำการเพาะต้นกล้ามะเขือเทศสีดาทิพย์ 3 ให้มีอายุ 21 วัน บนวัสดุปลูก จากนั้นทำการย้ายต้นกล้ามะเขือเทศไปปลูกในถุงเพาะชำขนาด 3x6 นิ้ว ที่บรรจุดินผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ดินปลูกผสมดินดำในอัตราส่วน 1:1) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที โดยผ่านการฆ่าเชื้อ 2 รอบ จากนั้นเมื่อต้นกล้ามะเขือเทศอายุครบ 30 วัน ทำการสับรากมะเขือเทศ 4 ด้าน จากนั้นนำสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ของเชื้อรา *Fol* TFPK401 ที่มีความเข้มข้น 1×10^6 cfu/ml รดลงบริเวณรอบรากต้นมะเขือเทศปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อต้นต่อถุง เมื่อเวลาผ่านไป 2 วัน ทำการรดด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ลงบริเวณรากของต้นมะเขือเทศปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อต้นต่อถุงปลูก จากนั้นเมื่อเวลาผ่านไปทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน จะทำการรดด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ลงบริเวณรอบรากต้นมะเขือเทศปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อต้นต่อถุง นอกเหนือจากวันเวลาดังกล่าวให้รดด้วยน้ำทุกวันในปริมาณที่เท่ากัน จนกระทั่งครบ 35 วัน ทำการให้คะแนนการเกิดโรค โดยให้ระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศดังนี้ ระดับ 1 = ไม่เกิดโรค ระดับ 2 = ใบแสดงอาการน้อยกว่าร้อยละ 25 (< 25 %) ระดับ 3 = ใบแสดงอาการร้อยละ 26-50 (26-50 %) ระดับ 4 = ใบแสดงอาการร้อยละ 51-75 (51-75 %) และระดับ 5 = ใบแสดงอาการร้อยละ 76-100 (76-100 %) (Marlatt et al., 1996) จากนั้นทำการตัดชิ้นส่วนบริเวณลำต้น

และรากมะเขือเทศเพื่อดูลักษณะอาการของรอยโรคผ่านทางท่อลำเลียงของต้นมะเขือเทศ โดยในการทดสอบจะทำการทดลองแบบ RCBD จำนวน 5 ซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.2.11 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ

นำเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อจากข้อ 3.2.10.3 แล้วมาแช่ในน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยเชื้อที่เตรียมไว้ตั้งที่กล่าวมาแล้วข้างต้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมงในที่มืด เมื่อครบเวลาที่กำหนดคืบเมล็ดมะเขือเทศใส่ลงในกล่องปลอดเชื้อ โดยใส่เมล็ดมะเขือเทศจำนวน 10 เมล็ดต่อกล่องปลูก จากนั้นรดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อกล่อง เพาะไว้ในอุณหภูมิตั้งเป็นเวลาก่อน 10 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดทำการบันทึกผลการทดลองโดยการวัดขนาดความยาวของลำต้น ราก ชั่งน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของลำต้นและรากของต้นกล้ามะเขือเทศ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.2.12 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

การทดสอบประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ในการทดสอบจะแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ 1) นำเมล็ดมะเขือเทศสีดาทิพย์ 3 ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาทำการแช่ด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในที่มืด จากนั้นจึงนำเมล็ดมะเขือเทศไปปลูกในถาดหลุม แล้วทำการรดด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยทุก 7 วัน (7, 14, 21 และ 28 วัน) เมื่อครบ 35 วันทำการเก็บผลการทดลอง 2) การเพาะต้นกล้ามะเขือเทศบนวัสดุปลูกให้มีอายุ 21 วัน จากนั้นนำต้นกล้ามะเขือเทศไปปลูกลงในถาดปลูกที่มีขนาด 3x6 นิ้ว ที่บรรจุดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่แล้ว เมื่อต้นกล้าอายุครบ 30 วัน ทำการรดด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อถาด โดยจะทำการรดทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน เมื่อครบ 35 วัน เก็บผลการทดลอง บันทึกผลการทดลองโดยการประเมินผลการวิเคราะห์น้ำหนักสด-น้ำหนักแห้งของลำต้น-ราก และความยาวของลำต้น-ราก นำมาเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2.13 การผลิตจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปของสารชีวภัณฑ์ชนิดผง

ในการผลิตชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. จะคัดเลือกเชื้อจากคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์และแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับกระถาง จากนั้นทำการเตรียมตัวอย่างหัวเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. โดยจะทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

ปฏิบัติการ *Bacillus* spp. ในอาหาร NA เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ในอาหาร HPDA เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียโดยการเติม PBS buffer และทำการล้างตะกอนเซลล์ด้วย PBS buffer 2-3 ครั้ง (บุษราคัม และคณะ, 2560) จากนั้นนำตัวอย่างเซลล์แขวนลอยของเชื้อไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงให้ได้ความเข้มข้นของที่เซลล์ที่ต้องการ จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยที่เตรียมไว้ปริมาตร 400 มิลลิตรไปผสมกับทัลคัม (talc) 1,000 กรัม ในสภาวะเขย่า จากนั้นเติมสาร calcium carbonate 15 กรัมและสาร carboxymethyl cellulose 10 กรัม ลงไป ผสมการให้เข้ากัน แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (Anitha & Rabeeth, 2009; Siripornvisal et al., 2021) จากนั้นนำตัวอย่างชีวภัณฑ์มาทำการบดให้ละเอียด ทำการเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำสารชีวภัณฑ์ที่ได้ไปทำการทดสอบคุณสมบัติดังต่อไปนี้

3.2.13.1 การประเมินคุณสมบัติความเป็นกรด-ด่าง (pH) นำสารชีวภัณฑ์ชนิดผงมา 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 99 มิลลิตร แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter) โดยทำการวัด 3 ครั้ง นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย บันทึกผลการทดลอง

3.2.13.2 การทดสอบการมีชีวิตรอดของสารชีวภัณฑ์ในสภาพอุณหภูมิต่าง ๆ ที่เก็บรักษาสารชีวภัณฑ์ ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อในสารชีวภัณฑ์ทันทีที่ผลิตได้ด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงสำหรับชีวภัณฑ์ *Bacillus* และเลี้ยงบนอาหาร HPDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน สำหรับชีวภัณฑ์ *Streptomyces* จากนั้นจึงทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ โดยจะทำการตรวจนับทุก ๆ 1 เดือน จนกระทั่งครบ 6 เดือน หลังจากเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นหาค่าเฉลี่ย บันทึกผลการทดลอง และนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2.13.3 การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ หลังจากที่ทำการศึกษาการมีชีวิตรอดของสารชีวภัณฑ์ในทุกเดือน จะทำการเก็บตัวอย่างเชื้อมาทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ ด้วยวิธี dual culture ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จากนั้นทำการเก็บผลการทดลองและนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2.13.4 การทดสอบการมีชีวิตรอดของสารชีวภัณฑ์ในสภาพดินปลูกในระดับกระถาง โดยในการทดสอบจะนำตัวอย่างสารละลายชีวภัณฑ์ไปทำการรดบริเวณรอบรากของต้นมะเขือเทศ ปริมาตร 10 มิลลิตรต่อต้น ซึ่งใน 1 ทริทเมนต์จะทำการทดสอบ 5 ซ้ำ เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที ทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากของต้นมะเขือเทศ 3 จุด (0 วัน) โดยในการทดลองจะทำการเก็บตัวอย่างดินทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน จากนั้นนำตัวอย่างดินที่ได้มา 5 กรัมละลายใน

0.85% NaCl ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ในสภาวะเขย่า 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ทำการต้มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที สำหรับชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus* และต้มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นาที สำหรับชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces* จากนั้นนำตัวอย่างไปทำการเจือจางเชื้อ (10-serial dilution) แล้วนำไปเกลี่ยเชื้อ (spread plate) บนผิวหน้าอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สำหรับชีวภัณฑ์ *Bacillus* และนำไปเกลี่ยเชื้อบนอาหาร HPDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน สำหรับชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ หาค่าเฉลี่ย บันทึกผลการทดลอง และนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2.13.5 การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง นำสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงของเชื้อแบคทีเรียปฏิบั้กซ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. มาทำการละลายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ จากนั้นแบ่งการทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง โดยจะแบ่งการทดสอบออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง กลุ่มที่ 1 คือ การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียปฏิบั้กซ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการป้องกันการเกิดโรค (Disease protection) และกลุ่มที่ 2 คือ การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ชนิดผงของเชื้อแบคทีเรียปฏิบั้กซ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการควบคุมการเกิดโรค (Disease control) เหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศเปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์ทางการค้า 2 ชนิดคือ สารชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ทางการค้า และสารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* sp. ทางการค้า โดยขั้นตอนการทดลองจะทำตามการทดลองดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นในหัวข้อ 3.2.10

3.2.13.6 การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ นำสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงของเชื้อแบคทีเรียปฏิบั้กซ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. มาทำการละลายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นในหัวข้อ 3.2.11 จากนั้นทำการบันทึกผลการทดลองโดยการวัดความยาวของลำต้น ราก และชั่งน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของลำต้น ราก จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.2.12.7 การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

นำสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงของเชื้อแบคทีเรียปฏิบั้กซ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. มาทำการละลายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ

จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นในหัวข้อ 3.2.12 จากนั้นทำการเก็บผลการทดลอง บันทึกผลการทดสอบโดยการประเมินผลการการวิเคราะห์หาน้ำหนักสด-น้ำหนักแห้งของลำต้น-ราก และความยาวของลำต้น-ราก นำมาเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2.14 การศึกษาคุณลักษณะจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* และ *Streptomyces* ที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุดในการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

3.2.14.1 การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

ทำการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของเชื้อแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ด้วย Illumina platform โดยใช้เทคนิค Next Generation Sequencing (NGS) ซึ่งในการศึกษาข้อมูลจีโนมจะทำการสกัดตัวอย่างดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียด้วยชุดสกัด (Vivantis, Malaysia) ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยวิธี gel electrophoresis โดยใช้ agarose gel ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ใช้กระแสไฟ 100 โวลต์ นาน 20 นาที ส่งดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ไปยังบริษัท Macroger Service Center Advancing through Genomics ประเทศสาธารณรัฐเกาหลี เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนม ทำการตรวจสอบคุณสมบัตินิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมด้วยวิธี novo assembly ตรวจสอบจีโนมที่ประกอบขึ้นโดยใช้ self-mapping และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม BUSCO

3.2.14.2 การศึกษา genome annotation โดย National Center for Biotechnology Information (NCBI) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปศึกษา circular genome ของเชื้อด้วยโปรแกรม PATRIC (<https://www.patricbrc.org/>) (version 3.6.9)

3.2.14.3 การทำนายยีน (genome mining) ทำการวิเคราะห์ยีนต่าง ๆ ในแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ โดยการตรวจสอบหา biosynthesis cluster gene (BGCs) ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารปฏิชีวนะและสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยใช้โปรแกรม antiSMASH (version 6.0) (<https://antismash.secondarymetabolites.org>) และใช้โปรแกรม KEGG บนเว็บไซต์ RAST (<https://rast.nmpdr.org/rast.cgi/>) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปตรวจสอบการทำงานของยีนด้วยฐานข้อมูล Uniprot (<https://www.uniprot.org/blast>) บันทึกผลการทดลอง

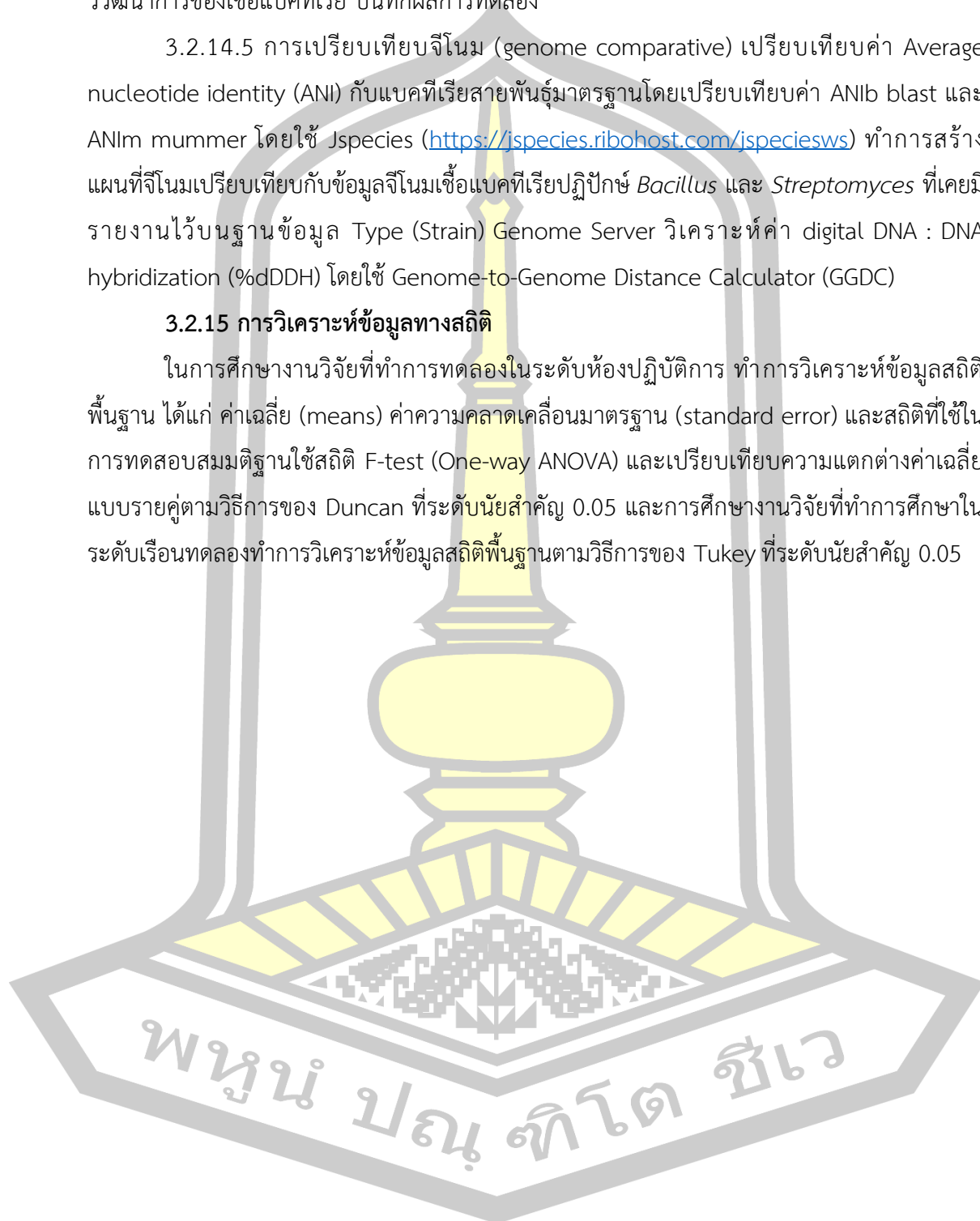
3.2.14.4 การระบุชนิดและการแยกสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียด้วยยีน ในการระบุชนิดหรือสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จะระบุโดยใช้ยีน *gyrB* ส่วนเชื้อ *Streptomyces* จะใช้ยีนทั้งหมดจำนวน 5 ยีน คือ *atpD*, *gyrB*, *recA*, *rpoB*, and *trpB* นำข้อมูลของยีนที่ได้ไปทำการ

เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank จากนั้นสร้าง phylogenetic tree เพื่อศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของเชื้อแบคทีเรีย บันทึกผลการทดลอง

3.2.14.5 การเปรียบเทียบจีโนม (genome comparative) เปรียบเทียบค่า Average nucleotide identity (ANI) กับแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานโดยเปรียบเทียบค่า ANIb blast และ ANIm mummer โดยใช้ Jspecies (<https://jspecies.ribohost.com/jspeciesws>) ทำการสร้างแผนที่จีโนมเปรียบเทียบกับข้อมูลจีโนมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* และ *Streptomyces* ที่เคยมีรายงานไว้บนฐานข้อมูล Type (Strain) Genome Server วิเคราะห์ค่า digital DNA : DNA hybridization (%dDDH) โดยใช้ Genome-to-Genome Distance Calculator (GGDC)

3.2.15 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการศึกษางานวิจัยที่ทำการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ ทำการวิเคราะห์ข้อมูลสถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (means) ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error) และสถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐานใช้สถิติ F-test (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยแบบรายคู่ตามวิธีการของ Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และในการศึกษางานวิจัยที่ทำการศึกษาในระดับเรือนทดลองทำการวิเคราะห์ข้อมูลสถิติพื้นฐานตามวิธีการของ Tukey ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การเก็บตัวอย่างดินในบางเขตพื้นที่ของจังหวัดบุรีรัมย์

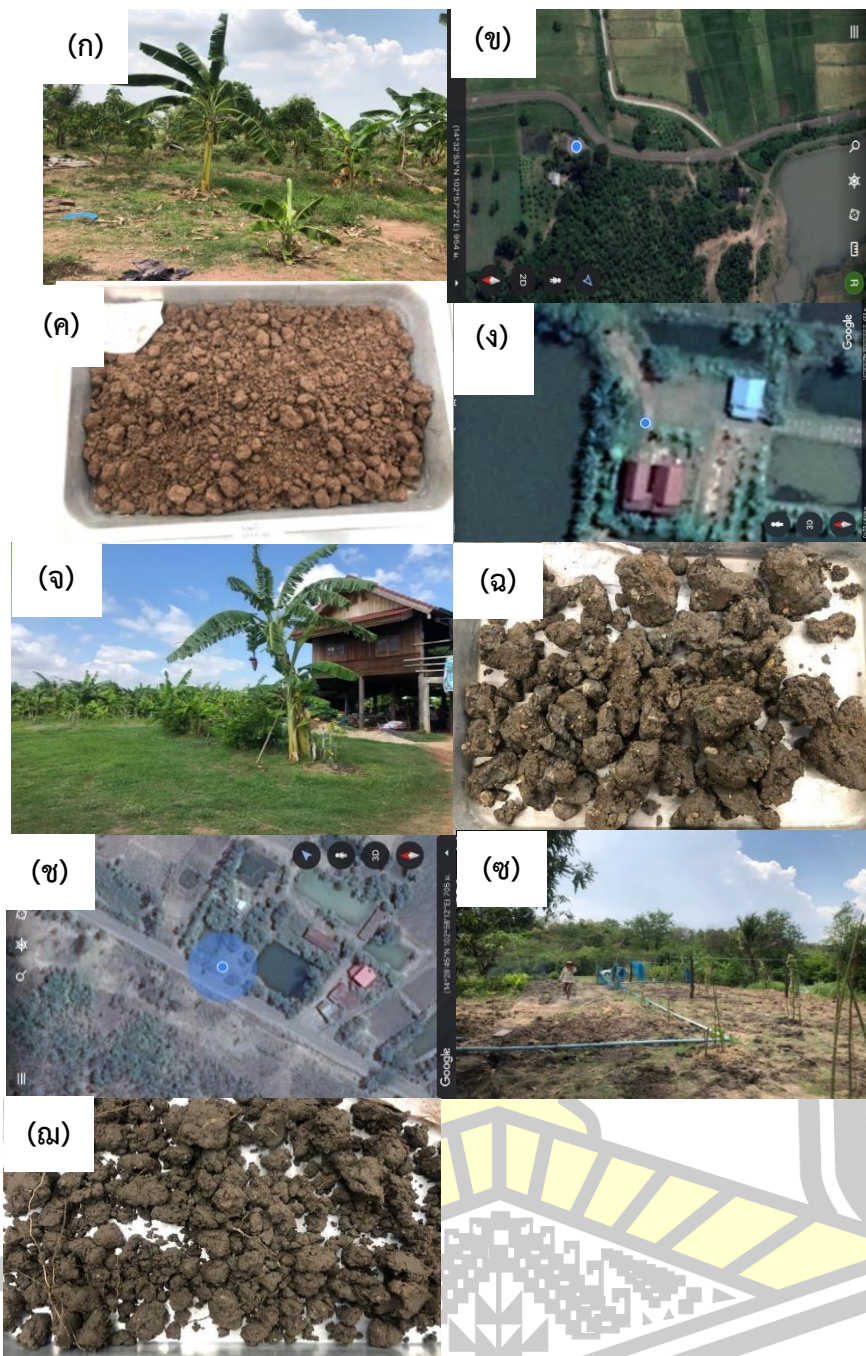
จากการเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่การเกษตรใกล้กับดินภูเขาไฟ 3 แห่ง ในจังหวัดบุรีรัมย์ คือ ภูเขาไฟพนมรุ้ง ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไพบรัด พบว่าตัวอย่างดินที่อยู่บริเวณใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้ง (สัญลักษณ์ตัวอย่างดินแทนด้วยอักษร PNR) มีลักษณะเป็นดินร่วน ดินมีสีน้ำตาลเข้มถึงน้ำตาลแดง (ภาพที่ 3 ก) ตัวอย่างดินที่อยู่บริเวณใกล้กับภูเขาไฟเขาคอก (สัญลักษณ์ตัวอย่างดินแทนด้วยอักษร KK) ดินมีลักษณะเป็นก้อนแข็งลักษณะคล้ายดินเหนียว มีสีเทาอำมน้ำตาลแดง (ภาพที่ 3 ข) และตัวอย่างดินที่อยู่บริเวณใกล้กับภูเขาไฟไพบรัด (สัญลักษณ์ตัวอย่างดินแทนด้วยอักษร PB) ดินมีลักษณะเป็นดินเหนียวมีลักษณะก้อนแข็ง มีสีดำอมเทา (ภาพที่ 3 ค) และจากการนำตัวอย่างดินทั้ง 3 ตัวอย่างไปวัดค่า pH ด้วยเครื่องวัด pH meter พบว่า ตัวอย่างดิน PNR, KK และ PB มีค่า pH เฉลี่ยประมาณ 7.61, 7.84 และ 8.08 ตามลำดับ

4.2 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดิน

4.2.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากดิน

จากการคัดแยกเชื้อ *Bacillus* spp. จากดินบริเวณที่ทำการเกษตรอินทรีย์ใกล้กับดินภูเขาไฟ 3 แห่ง คือ ภูเขาไฟพนมรุ้ง ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไพบรัด พบว่าสามารถแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ได้ทั้งหมด 11 ไอโซเลท โดยคัดแยกได้จากดินใกล้ภูเขาไฟพนมรุ้ง 5 ไอโซเลท คือ B.PNR1, B.PNR2, B.PNR3, B.PNR4 และ B.PNR5 คัดแยกได้จากดินใกล้ภูเขาไฟเขาคอก 5 ไอโซเลท คือ B.KK1, B.KK3, B.KK4, B.KK5 และ B.KK6 และคัดแยกได้จากดินใกล้ภูเขาไฟไพบรัด 1 ไอโซเลท คือ B.PB1 (ตาราง 6) และจากการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่คัดแยกได้ด้วยการย้อมสีแกรม และการย้อมสีเอนโดสปอร์พบว่าเชื้อทั้ง 11 ไอโซเลท มีลักษณะเป็นท่อน จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก และสามารถสร้างเอนโดสปอร์ได้ (ภาคผนวก ก)

พญ. ปณ. ทิ. โต ชี. เว



ภาพที่ 3 พื้นที่เก็บตัวอย่างดินและลักษณะดิน

ก-ค) พื้นที่เก็บตัวอย่างดินและลักษณะดินใกล้แหล่งภูเขาไฟพนมรุ้ง

ง-ฉ) พื้นที่เก็บตัวอย่างดินและลักษณะดินใกล้แหล่งภูเขาไฟเขาคอก

ช-ณ) พื้นที่เก็บตัวอย่างดินและลักษณะดินใกล้แหล่งภูเขาไฟไปรบัด

ตาราง 6 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟ 3 แห่งในจังหวัดบุรีรัมย์

แหล่งของตัวอย่าง	ไอโซเลท	รหัสชื่อแบคทีเรีย
ดินภูเขาไฟพนมรุ้ง	5	B.PNR1, B.PNR2, B.PNR3, B.PNR4 และ B.PNR5
ดินภูเขาไฟเขาคอก	5	B.KK1, B.KK3, B.KK4, B.KK5 และ B.KK6
ดินภูเขาไฟไทรบัต	1	B.PB1
รวม	11	

4.2.2 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. จากดิน

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. จากดินบริเวณที่ทำการเกษตรอินทรีย์ ใกล้กับดินภูเขาไฟ 3 แห่ง คือ ภูเขาไฟพนมรุ้ง ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟไทรบัต พบว่าจากการจัดกลุ่มของเชื้อตามลักษณะสีของโคโลนีสามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* spp. ได้ทั้งหมด 86 ไอโซเลท โดยแยกได้จากดินใกล้ภูเขาไฟพนมรุ้งได้ 49 ไอโซเลท จากดินใกล้ภูเขาไฟเขาคอก 24 ไอโซเลท และจากดินใกล้ภูเขาไฟไทรบัต 13 ไอโซเลท (ตาราง 7) จากการศึกษาลักษณะการเจริญ สีโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้แต่ละแหล่งสามารถจัดกลุ่มตามลักษณะการเจริญ สีของโคโลนี และลักษณะสีของเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) ได้ดังนี้

4.2.2.1 ลักษณะการเจริญและสีโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินใกล้ภูเขาไฟพนมรุ้ง เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ส่วนใหญ่สร้างเส้นใยชูอากาศ และผิวโคโลนีมีลักษณะเป็นฝุ่นผงคล้ายแป้ง คล้ายขนแกะ หรือฝ้ายกำมะหยี่ นอกจากนั้นสีโคโลนีและสีของเส้นใยชูอากาศของเชื้อแต่ละไอโซเลทมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปซึ่งจากการคัดแยกเชื้อสามารถจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ตามลักษณะสีของโคโลนีและสีของเส้นใยอากาศได้ทั้งหมด 18 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 โคโลนีมีลักษณะเล็กมีสีเหลือง ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR1, S.PNR18, S.PNR31, S.PNR38 และ S.PNR45

กลุ่มที่ 2 ด้านหน้าโคลนีสีขาวอมเทา ด้านหลังมีสีเขียวเข้มมาถึงสีดำ สร้างเส้นใยอากาศสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR2, S.PNR4, S.PNR63 และ S.PNR76

กลุ่มที่ 3 โคลนีสีเหลืองสร้างเส้นใยอากาศสีเทา ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR3 และ S.PNR25

กลุ่มที่ 4 โคลนีสีลักษณะคล้ายกำมะหยี่มีสีขาวอมเทา ขอบโคลนีสีเหลืองอมน้ำตาล ด้านหลังโคลนีสีเหลืองเข้มจนถึงสีน้ำตาล สร้างเส้นใยอากาศสีเขียวอมเทา ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR5

กลุ่มที่ 5 โคลนีสีน้ำตาลแดงถึงสีดำ ด้านหลังโคลนีสีชมพูอมแดงขอบโคลนีสีเหลือง สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR6, S.PNR9, S.PNR26, S.PNR44 และ S.PNR75

กลุ่มที่ 6 โคลนีสีลักษณะคล้ายกำมะหยี่มีสีเหลืองอ่อนถึงสีน้ำตาลอ่อน สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR7, S.PNR12, S.PNR13, S.PNR29, S.PNR30 และ S.PNR40

กลุ่มที่ 7 โคลนีสีดำ สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทา ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR11 และ S.PNR16

กลุ่มที่ 8 โคลนีสีขาวอมเหลืองอ่อน สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR15, S.PNR60, S.PNR64, S.PNR68, S.PNR69 และ S.PNR74

กลุ่มที่ 9 โคลนีสีขนาดเล็กด้านหน้าโคลนีสีเหลืองอ่อนด้านหลังมีสีชมพูดำ สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR19

กลุ่มที่ 10 โคลนีสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR20, S.PNR21, S.PNR31 และ S.PNR78

กลุ่มที่ 11 โคลนีสีลักษณะกระจายตัวมีสีขาวอมเหลืองอ่อน สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR23 และ S.PNR67

กลุ่มที่ 12 โคลนีสีเหลืองอมส้ม สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR34 และ S.PNR41

กลุ่มที่ 13 โคลนีสีเหลืองเข้มอมส้ม สร้างเส้นใยอากาศสีขาวโอลด์โรส ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR66

กลุ่มที่ 14 โคลนีสีชมพูขอบโคลนีสีขาว สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียวเข้ม ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR72

กลุ่มที่ 15 โคลนีสีขนาดใหญ่เจริญแบบกระจายตัวมีสีขาวอมสีเหลืองอ่อน สร้างเส้นใยอากาศสีขาวจนถึงสีดำเป็นเมือก ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR27

กลุ่มที่ 16 โคลนีสีโอลด์โรส ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR35 และ S.PNR37

กลุ่มที่ 17 โคโลนีสีโอลด์โรส ปลายขอบโคโลนีมีการแตกแขนง ยังไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR56

กลุ่มที่ 18 โคโลนีสีเหลืองอ่อน สร้างเส้นใยอากาศสีขาวโอลด์โรส ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR61

4.2.2.2 ลักษณะการเจริญและสีโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินใกล้ภูเขาไฟเขาคอก เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ส่วนใหญ่สร้างเส้นใยชูอากาศและผิวโคโลนีมีลักษณะเป็นฝุ่นผงคล้ายแป้ง หรือคล้ายขนแกะ หรือกำมะหยี่ ส่วนสีของโคโลนีและสีของเส้นใยชูอากาศของเชื้อแต่ละไอโซเลทมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งจากการคัดแยกเชื้อสามารถจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ตามลักษณะสีของโคโลนีและสีของเส้นใยอากาศได้ทั้งหมด 13 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 โคโลนีสีชมพูแดงขอบโคโลนีสีขาวเหลือง สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.KK1, S.KK4, S.KK31.1 และ S.KK31.2

กลุ่มที่ 2 โคโลนีสีเหลืองอ่อนขอบโคโลนีสีขาว สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.KK2

กลุ่มที่ 3 โคโลนีสีชมพูแดงขอบโคโลนีสีขาวเหลือง สร้างเส้นใยอากาศสีเขียวอมเทา ได้แก่ ไอโซเลท S.KK9

กลุ่มที่ 4 โคโลนีสีเหลืองอ่อนจนถึงสีชมพูแดงขอบโคโลนีสีขาวเหลือง สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.KK18 และ S.KK29

กลุ่มที่ 5 โคโลนีมีขนาดเล็กมีสีเหลืองอ่อน ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ได้แก่ ไอโซเลท S.KK10, S.KK16, S.KK17, S.KK23 และ S.KK32

กลุ่มที่ 6 โคโลนีสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.KK13, S.KK21 และ S.KK28

กลุ่มที่ 7 โคโลนีสีเหลืองอมน้ำตาลแดง สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.KK14

กลุ่มที่ 8 โคโลนีมีขนาดเล็กสีเหลือง ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ได้แก่ ไอโซเลท S.KK19

กลุ่มที่ 9 โคโลนีสีเหลืองอมน้ำตาลขอบโคโลนีสีขาว สร้างเส้นใยอากาศสีเขียวอมเทา ได้แก่ ไอโซเลท S.KK20

กลุ่มที่ 10 โคโลนีสีเหลืองถึงสีเขียวขี้ม้า สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.KK22

กลุ่มที่ 11 โคโลนีมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่สีชมพูแดง ขอบโคโลนีสีขาวเหลือง สร้างเส้นใยอากาศสีขาวโอลด์โรส ได้แก่ ไอโซเลท S.KK31 และ S.KK33

กลุ่มที่ 12 โคโลนีคล้ายดอกไม้มีสีเหลืองเข้ม ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ได้แก่ ไอโซเลท S.KK34

กลุ่มที่ 13 โคโลนีสีขาวครีมคล้ายดอกไม้ม ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ได้แก่ ไอโซเลท S.KK35

4.2.2.3 ลักษณะการเจริญและสีโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินใกล้ภูเขาไฟไปรบัต เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ส่วนใหญ่สร้างเส้นใยชูอากาศ และผิวโคโลนีมีลักษณะเป็นฝุ่นผงคล้ายแป้ง หรือคล้ายขนแกะ หรือกำมะหยี่ ส่วนสีของโคโลนีและสีของเส้นใยชูอากาศของเชื้อแต่ละไอโซเลทมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปซึ่งจากการคัดแยกเชื้อสามารถจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ตามลักษณะสีของโคโลนีและสีของเส้นใยอากาศได้ทั้งหมด 8 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 โคโลนีสีโอลด์โรส ด้านหลังโคโลนีมีสีเหลืองอ่อน สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทา ได้แก่ ไอโซเลท S.PB1

กลุ่มที่ 2 โคโลนีมีขนาดเล็กสีขาวขุ่น ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ได้แก่ ไอโซเลท S.PB2, S.PB3 และ S.PB4

กลุ่มที่ 3 โคโลนีสีขาวถึงเหลืองอ่อนขอบโคโลนีสีขาว สร้างเส้นใยอากาศสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PB5, S.PB9 และ S.PB11

กลุ่มที่ 4 โคโลนีสีขาวอมเทา สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงเขียวอ่อน ได้แก่ ไอโซเลท S.PB6

กลุ่มที่ 5 โคโลนีสีเหลืองอมเทา สร้างเส้นใยอากาศสีเขียว ได้แก่ ไอโซเลท S.PB7

กลุ่มที่ 6 โคโลนีสีน้ำตาลหรือสีโอลด์โรส ด้านหลังโคโลนีมีสีชมพูแดงขอบโคโลนีสีเหลืองอ่อน สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทา ได้แก่ ไอโซเลท S.PB8

กลุ่มที่ 7 โคโลนีสีครีมอมส้ม ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ได้แก่ ไอโซเลท S.PB10

กลุ่มที่ 8 โคโลนีสีเหลืองอมน้ำตาล ลักษณะคล้ายดอกไม้ม มีการสร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาเล็กน้อย ได้แก่ ไอโซเลท S.PB13 และ S.PB15

พหุบัณฑิต ชีวะ

ตาราง 7 เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟ 3 แห่งในจังหวัดบุรีรัมย์

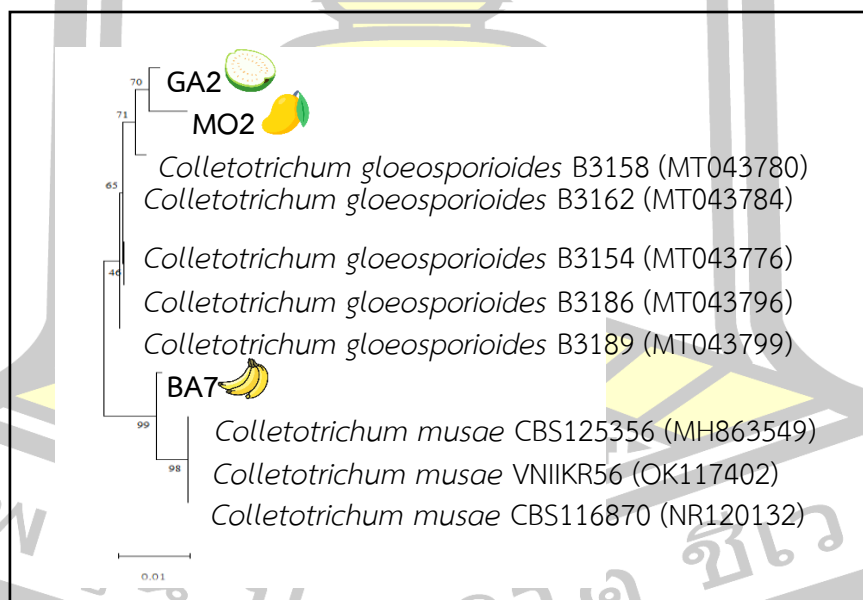
แหล่งของตัวอย่าง	ไอโซเลท	รหัสไอโซเลท
ดินภูเขาไฟพนมรุ้ง	49	S.PNR1, S.PNR2, S.PNR3, S.PNR4, S.PNR5, S.PNR6, S.PNR7, S.PNR9, S.PNR11, S.PNR12, S.PNR13, S.PNR15, S.PNR16, S.PNR18, S.PNR19, S.PNR20, S.PNR21, S.PNR23, S.PNR25, S.PNR26, S.PNR27, S.PNR29, S.PNR30, S.PNR31, S.PNR33, S.PNR34, S.PNR35, S.PNR37, S.PNR38, S.PNR40, S.PNR41, S.PNR44, S.PNR45, S.PNR47, S.PNR56, S.PNR60, S.PNR61, S.PNR63, S.PNR64, S.PNR66, S.PNR67, S.PNR68, S.PNR69, S.PNR72, S.PNR73, S.PNR74, S.PNR75, S.PNR76 และ S.PNR78
ดินภูเขาไฟเขาคอก	24	S.KK1, S.KK2, S.KK4, S.KK9, S.KK10, S.KK13, S.KK14, S.KK16, S.KK17, S.KK18, S.KK19, S.KK20, S.KK21, S.KK22, S.KK23, S.KK28, S.KK29, S.KK30.1, S.KK30.2, S.KK31, S.KK32, S.KK33, S.KK34 และ S.KK35
ดินภูเขาไฟไปรบัด	13	S.PB1, S.PB2, S.PB3, S.PB4, S.PB5, S.PB6, S.PB7, S.PB8, S.PB9, S.PB10, S.PB11, S.PB13 และ S.PB13
รวม		86

พญัน ปณ ทิโต ชิว

4.3 การคัดแยก การทดสอบการก่อโรค และการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพืช

การแยกเชื้อราสาเหตุโรคและการทดสอบการก่อโรค

จากการคัดแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชในผลไม้ 3 ชนิด คือ กล้วย ฝรั่ง และมะม่วง พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อราสาเหตุโรคในกล้วยได้ 4 ไอโซเลท (BA6, BA 7, BA 8 และ BA 9) เชื้อมีลักษณะโคโลนีและโคนิตีดยคล้ายกับเชื้อรา *Colletotrichum musae* ฝรั่ง 8 ไอโซเลท (GA 1, GA 2, GA 3, GA 4, GA 5, GA 6, GA 7 และ GA 8) มีลักษณะโคโลนีและโคนิตีดยคล้ายเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และมะม่วง 2 ไอโซเลท (MO 1 และ MO2) มีลักษณะโคโลนีและโคนิตีดยคล้ายเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งเมื่อนำเชื้อที่คัดแยกไปทำการทดสอบการก่อโรคตามหลักการ Koch's postulates พบว่าเชื้อราที่สามารถก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุดในกล้วย ฝรั่ง และมะม่วง คือ เชื้อราไอโซเลท BA7, GA2 และ MO2 ตามลำดับ (ตาราง 8) และเมื่อทำการศึกษาการจัดจำแนกเชื้อราจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ BA7, GA2 และ MO2 ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน ITS พบว่าเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท จัดอยู่ในสกุล *Colletotrichum* โดยเชื้อราไอโซเลท BA7 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน ITS คล้ายกับเชื้อรา *C. musae* (99.65%) และเชื้อรา ไอโซเลท GA2 และ MO2 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน ITS คล้ายกับเชื้อรา *C. gloeosporioides* (99.74% และ 99.13%) ตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 แผนภูมิความสัมพันธ์รูปแบบ neighbor-joining tree ที่วิเคราะห์ลำดับเบสในส่วนของยีน ITS ของเชื้อก่อโรคพืชเทียบกับเชื้อมาตรฐานที่มีรายงานมาก่อนในฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม MEGA vision11

ตาราง 8 ผลการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ไอโซเลต	ผลการทดสอบ
BA6	+
BA7	+++
BA8	++
BA9	++
GA1	+
GA2	+++
GA3	+
GA4	+
GA5	+
GA6	+
GA7	++
GA8	++
MO1	++
MO2	+++

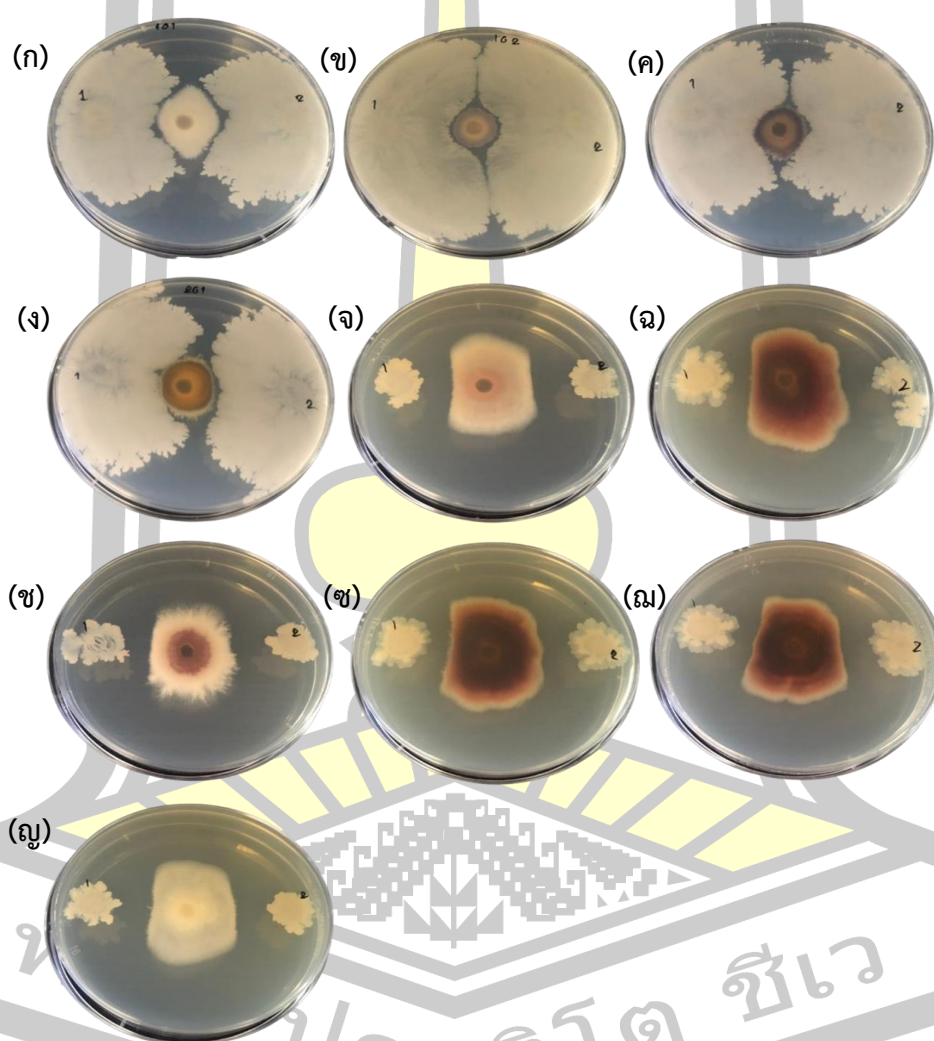
หมายเหตุ -, +, ++ and +++ แสดงถึงความสามารถในการก่อโรคในพืชทดสอบ โดยความสามารถในการก่อโรคแสดงตามค่าดังนี้ - ไม่ก่อโรค, + ก่อโรคน้อยที่สุด, ++ ก่อโรคปานกลาง และ +++ ก่อโรครุนแรงมากที่สุด

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศเบื้องต้นด้วยวิธี dual culture

4.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ จากการทดสอบพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 11 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ มีประสิทธิภาพและค่าร้อยละในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* แตกต่างกัน ซึ่งผลจากค่าร้อยละการยับยั้งและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ได้ดีที่สุด (59.00 ± 2.00) รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR2 (42.00 ± 0.00), B.KK1 (29.00 ± 2.00), B.PNR3 (22.00 ± 1.73), B.PNR4 (21.00 ± 1.00), B.KK6 (20.00 ± 2.00), B.KK5 (5.00 ± 4.00), B.PNR5 (8.00 ± 2.65), B.PB1 (4.00 ± 1.73), B.KK4 (2.67 ± 2.19) และ B.KK3 (0.67 ± 0.33) ตามลำดับ (ตารางที่ 9) และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 11 ไอโซเลท มาทดสอบกับเชื้อรา *Fol* อีก 9 ไอโซเลท (TFPK101, 102, 103, 201, 202, 301, 501, 502 และ 503) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ได้ทั้ง 9 ไอโซเลท และมีค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ทั้ง 9 ไอโซเลท มากกว่าร้อยละ 50 รองลงมาคือเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR2 (ตาราง 9 ภาพที่ 5)

4.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ จากการนำเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. จำนวน 86 ไอโซเลท ที่มาทดสอบประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* จำนวน 86 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* แตกต่างกัน โดยจากการวิเคราะห์ผลจากค่าร้อยละการยับยั้ง การจัดระดับกิจกรรมการต้านทาน (ภาพที่ 6 และภาคผนวก ข) สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ได้ทั้งหมดจำนวน 4 ไอโซเลท ที่มีค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มากกว่าร้อยละ 50 ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74 และ S.KK1 และเมื่อได้ทำการนำเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท และเชื้อ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PB5 ที่เป็นตัวแทนของกลุ่มตัวอย่างที่คัดแยกได้จากดินในเขตพื้นที่เขาไพบรัตน์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* อีก 9 ไอโซเลท (TFPK101, 102, 103, 201, 202, 301, 501, 502

และ 503) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ทั้ง 9 ไอโซเลท แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราตามค่าร้อยละการยับยั้งที่มากกว่าร้อยละ 50 พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ได้มากที่สุด 7 ไอโซเลท รองลงมาคือไอโซเลท S.PNR30, S.PNR74 และ S.KK1 ตามลำดับ (ตาราง 10)



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* จำนวน 10 ไอโซเลท

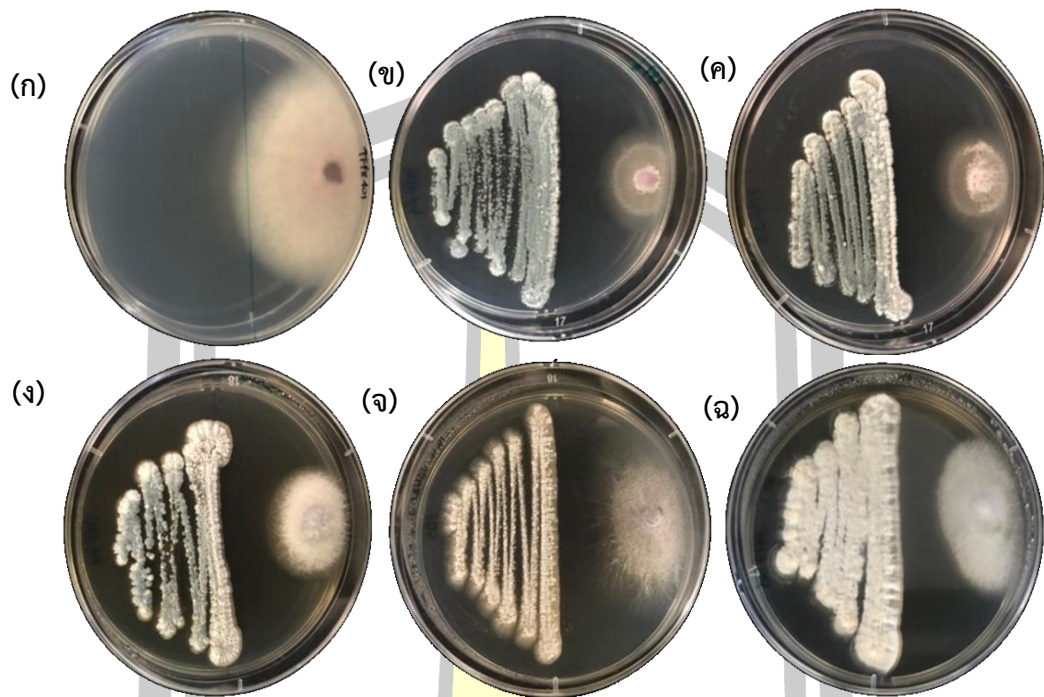
ก) TFPK101, ข) TFPK102, ค) TFPK103, ง) TFPK201, จ) TFPK202, ฉ) TFPK301, ช) TFPK401, ซ)

TFPK501, ฅ) TFPK502 และ ญ) TFPK503

ตาราง 9 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ในเนื้อเชื้อด้วยวิธี dual culture

ไอโซล	ร้อยละการยับยั้ง									
	TFPK101	TFPK102	TFPK103	TFPK201	TFPK202	TFPK301	TFPK401	TFPK501	TFPK502	TFPK503
B.PNR1	71.13±1.03 ^A	72.04±2.15 ^A	73.47±2.04 ^A	68.04±1.03 ^A	59.78±2.88 ^A	61.76±1.70 ^A	59.00±2.00 ^A	58.09±0.95 ^A	65.10±1.89 ^A	56.18±1.95 ^A
B.PNR2	64.95±2.73 ^A	72.04±2.15 ^A	69.39±1.77 ^A	65.98±1.78 ^A	48.92±2.88 ^B	49.02±0.98 ^B	42.00±0.00 ^B	45.71±1.65 ^B	52.83±2.49 ^B	46.07±3.89 ^B
B.PNR3	2.06±1.03 ^C	3.23±1.86 ^C	11.22±3.06 ^{CDE}	18.56±2.73 ^{BC}	6.52±1.09 ^{DE}	11.76±1.70 ^{EEG}	22.00±1.73 ^D	1.91±0.95 ^F	14.15±1.89 ^{CD}	1.50±0.75 ^{DE}
B.PNR4	4.12±1.79 ^C	6.45±1.86 ^C	3.06±1.02 ^{DE}	4.12±1.79 ^D	3.25±1.09 ^E	8.82±0.00 ^G	21.00±1.00 ^D	3.81±1.90 ^{EF}	16.98±1.89 ^C	3.37±1.12 ^E
B.PNR5	3.09±2.06 ^C	3.23±1.86 ^C	11.22±3.06 ^{CDE}	16.02±1.39 ^{BC}	4.35±2.18 ^E	0.98±0.98 ^H	5.00±4.00 ^{EF}	11.43±1.65 ^{CD}	11.32±1.89 ^{CD}	5.99±3.57 ^{CDE}
B.KK1	7.12±1.79 ^C	18.27±2.85 ^B	26.53±5.30 ^B	14.43±2.06 ^{BC}	11.96±1.88 ^D	38.24±3.39 ^C	29.00±2.00 ^C	17.14±3.29 ^C	15.09±1.63 ^{CD}	13.48±2.97 ^{CD}
B.KK3	6.19±1.03 ^C	12.09±4.93 ^{BC}	6.46±3.35 ^{DE}	17.52±2.73 ^{BC}	8.69±3.26 ^{DE}	17.65±0.00 ^F	0.67±0.33 ^F	16.19±2.52 ^C	15.09±1.63 ^{CD}	13.48±2.25 ^{CD}
B.KK4	6.19±2.73 ^C	9.68±3.22 ^{BC}	16.32±5.10 ^C	20.62±2.73 ^B	13.05±1.09 ^{CD}	24.51±2.59 ^D	2.67±2.19 ^{EF}	18.10±1.90 ^C	14.15±2.49 ^{CD}	14.61±5.94 ^C
B.KK5	5.84±3.96 ^C	10.75±4.68 ^{BC}	6.12±1.02 ^{DE}	11.34±3.72 ^{CD}	6.52±1.09 ^{DE}	15.69±3.54 ^{EF}	8.00±2.65 ^E	11.43±2.86 ^{CD}	11.32±1.89 ^{CD}	6.74±1.12 ^{CDE}
B.KK6	16.49±4.72 ^B	7.53±2.84 ^C	12.24±1.02 ^{CD}	6.19±1.03 ^{DE}	18.48±1.88 ^C	10.78±0.98 ^{FG}	20.00±2.00 ^D	16.19±0.95 ^C	14.15±0.94 ^{CD}	6.73±1.12 ^{CDE}
B.PB1	6.19±1.03 ^C	10.75±2.15 ^{BC}	2.04±0.00 ^F	11.34±2.06 ^{CD}	3.25±1.09 ^F	0.98±0.98 ^H	4.00±1.73 ^{EF}	8.57±2.86 ^{DE}	9.43±0.00 ^D	4.50±1.12 ^{DE}

หมายเหตุ A,B,C,D,E, F, G and H ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแถวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 6 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401

ก) เชื้อราควบคุม (control)

ข) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 ยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401

ค) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR30 ยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401

ง) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR74 ยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401

จ) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.KK1 ยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401

ฉ) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PB5 ยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401

พหุ ม ประถมศึกษา

ตาราง 10 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคมะเขือเทศด้วยวิธี dual culture

ร้อยละการยับยั้ง

ไอโซเลท	TFPK101	TFPK102	TFPK103	TFPK201	TFPK202	TFPK301	TFPK401	TFPK501	TFPK502	TFPK503
S.PNR29	44.79±2.76 ^A	56.13±1.02 ^A	49.54±1.84 ^A	54.35±1.88 ^A	40.82±1.02 ^{AB}	60.44±0.00 ^A	55.36±3.89 ^B	58.33±1.60 ^A	53.69±1.05 ^A	52.63±1.82 ^A
S.PNR30	42.71±1.04 ^A	44.90±0.00 ^B	43.11±2.43 ^B	52.18±2.88 ^A	38.78±0.00 ^B	56.04±1.10 ^A	58.93±2.36 ^B	63.89±3.21 ^A	46.32±1.82 ^A	42.11±1.05 ^C
S.PNR74	46.88±0.00 ^A	47.96±1.77 ^B	45.87±0.92 ^{AB}	54.35±0.00 ^A	41.84±0.00 ^A	59.34±1.10 ^A	56.25±0.89 ^B	59.26±0.93 ^A	48.43±2.11 ^A	46.32±0.00 ^B
S.KK1	13.55±2.08 ^C	29.60±3.53 ^C	41.28±2.43 ^B	26.10±2.17 ^B	22.46±1.02 ^C	18.67±2.91 ^{B,de}	68.75±0.89 ^A	28.71±1.85 ^B	24.22±3.65 ^B	18.95±1.05 ^D
S.PB5	26.04±1.04 ^B	22.46±2.69 ^D	22.01±0.92 ^C	8.71±0.00 ^C	3.07±1.02 ^D	4.39±1.90 ^C	23.21±0.89 ^C	28.71±0.93 ^B	16.85±2.78 ^B	8.43±1.82 ^F

หมายเหตุ ^{A,B,C,D,E and F} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.5 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum

4.5.1 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 11 ไอโซเลท ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) race1 จำนวน 10 ไอโซเลท พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 11 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Foc ได้ แต่มีประสิทธิผลและร้อยละในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Foc แตกต่างกัน จากการวิเคราะห์ข้อมูลจากค่าร้อยละการยับยั้งพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Foc ทั้ง 10 ไอโซเลท ได้ดีที่สุด (ตาราง 11) ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 9 ไอโซเลท พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อรา Foc ทั้ง 10 ไอโซเลทได้แต่มีค่าร้อยละการยับยั้งที่น้อยกว่าร้อยละ 50 แต่จากการวิเคราะห์ข้อมูลก็พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* บางไอโซเลท เช่น B.KK6 มีค่าร้อยละการยับยั้งเชื้อรา Foc ไอโซเลท SB2-5 ได้มากถึงร้อยละ 36.95 ± 2.17 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดสอบและชุดควบคุม นอกจากนั้นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 และ B.KK1 มีร้อยละการยับยั้งเชื้อรา Foc ไอโซเลท SK5-1 ได้มากถึงร้อยละ 43.44 ± 2.46 และ 38.52 ± 2.84 ตามลำดับ (ตาราง 11)

จากนั้นเมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2, B.KK1, B.KK3, B.KK6 และ B.PB1 ไปทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum เพิ่มเติมโดยการทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุโรครากและลำต้นเน่าของมะเขือเทศ เชื้อรา *C. musae* ไอโซเลท BA7 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในกล้วย เชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท GA2 และ MO2 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในฝรั่งและมะม่วง และการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเฉาในมะเขือเทศพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 สามารถยับยั้งเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลท และแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ รองลงมาคือไอโซเลท B.KK1, B.KK6, B.PB1 และ B.KK3 ตามลำดับ (ตาราง 13)

4.5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp.

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* จำนวน 86 ไอโซเลท ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Foc ไอโซเลท TKS2-3 ด้วยวิธี dual culture จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ที่มีค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Foc ไอโซเลท TKS2-3 มากกว่าร้อยละ 50 พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ได้ทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ S.PNR29 (62.16 ± 1.56), S.PNR30 (53.15 ± 0.90) และ S.PNR74

(54.95 ± 0.90) นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ตามตัวอย่างกลุ่มของแหล่งที่คัดแยกได้พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.KK1, SPB5 และ S.PB11 ที่คัดแยกได้จากแหล่งใกล้ดินภูเขาไฟเขาคอก และใกล้ภูเขาไฟไปรบัตมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Foc* ไอโซเลท TKS2-3 มากที่สุด โดยมีค่าร้อยละการยับยั้ง 45.95 ± 1.56 , 23.42 ± 1.80 และ 24.32 ± 1.56 ตามลำดับ จากนั้นเมื่อนำเชื้อ *Streptomyces* จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PB5 ไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Foc* ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวในกล้วย จำนวน 9 ไอโซเลท พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Foc* ทั้ง 9 ไอโซเลท แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งจะแตกต่างกัน จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 และ S.PNR30 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Foc* ได้มากที่สุดและมีค่าร้อยละการยับยั้งมากกว่าร้อยละ 50 รองลงมาคือรองลงมาคือ S.KK1, S.PNR74 และ S.PB5 ตามลำดับ (ตาราง 12) และจากการนำเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PB5 ไปทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum เพิ่มเติมโดยการทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S. rolfsii* เชื้อรา *C. musae* ไอโซเลท BA7 เชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท GA2 และ MO2 และการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวในมะเขือเทศ จากการทดสอบพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* และเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 4 ไอโซเลทได้ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* เชื้อรา *C. musae* ไอโซเลท BA7 เชื้อรา *C. gloeosporioides* ไอโซเลท GA2 และ MO2 และมีค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญมากกว่าร้อยละ 50 คือเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR30, S.PNR74 และ S.KK1 รองลงมาคือ S.PNR29 และ S.PB5 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.KK1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ดีที่สุดในรองลงมาคือ S.PB5, S.PNR29, S.PNR30 และ S.PNR74 ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ และการทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* และมีคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum ที่ดีที่สุดคือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2, B.KK1, B.KK3, B.KK6 และ B.PB1 และเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PB5 ดังนั้นในงานวิจัยจึงนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ดังกล่าวไปทำการวิจัยและทดสอบในขั้นตอนต่อไป

ตาราง 11 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Foc* สาเหตุโรคเหี่ยวในกล้วยด้วยวิธี dual culture

ไอโซเลท	ร้อยละการยับยั้ง									
	TKS2-3	NRS1-3	PCK2-2	NK2-1	KPS1-3	PLS4-1	PT4-3	SK5-1	NP4-2	SB2-5
PNR1	66.67±0.88 ^A	64.46±1.65 ^A	62.40±1.99 ^A	62.03±0.93 ^A	55.68±1.97 ^A	52.67±4.72 ^A	66.42±1.29 ^A	68.03±2.46 ^A	64.80±1.60 ^A	65.21±1.09 ^A
PNR2	67.54±1.75 ^A	68.59±1.65 ^A	58.64±1.99 ^A	62.03±1.85 ^A	51.13±1.13 ^A	55.35±4.72 ^A	58.20±1.49 ^B	63.93±0.82 ^A	64.80±3.49 ^A	64.13±1.88 ^A
PNR3	17.54±3.51 ^{CD}	0.55±0.28 ^C	3.76±0.75 ^{CD}	0.00±0.00 ^E	0.38±0.38 ^B	14.28±1.54 ^C	5.22±0.75 ^{DEF}	2.18±2.19 ^{DE}	1.33±1.33 ^F	47.83±1.88 ^B
PNR4	7.89±3.03 ^E	4.14±0.83 ^{BC}	6.76±0.75 ^C	0.00±0.00 ^E	4.16±2.30 ^B	5.35±3.22 ^D	9.70±1.98 ^D	2.73±1.97 ^{DE}	12.80±0.80 ^{BC}	21.74±4.98 ^D
PNR5	5.26±3.05 ^{EF}	4.13±1.65 ^{BC}	5.26±1.30 ^{CD}	1.85±0.93 ^E	1.51±1.52 ^B	2.67±0.89 ^D	5.97±2.24 ^{DE}	1.64±0.00 ^{DE}	9.60±1.60 ^{CD}	18.48±1.88 ^{DE}
KK1	21.93±0.88 ^{BC}	8.27±6.24 ^B	18.04±4.19 ^B	21.29±3.70 ^B	1.51±1.52 ^B	25.00±3.09 ^B	31.34±3.95 ^C	38.52±2.84 ^B	17.60±5.77 ^B	23.91±1.09 ^D
KK3	11.75±2.07 ^{DE}	1.38±0.99 ^C	5.26±0.00 ^{CD}	9.26±4.04 ^{CD}	5.30±3.30 ^B	1.48±1.07 ^D	5.97±0.00 ^{DE}	43.44±2.46 ^B	2.40±0.80 ^{DE}	18.48±1.88 ^{DE}
KK4	9.65±0.88 ^F	1.66±0.83 ^{BC}	5.26±2.25 ^{CD}	14.81±0.93 ^C	5.68±1.13 ^B	3.57±1.55 ^D	3.98±2.37 ^{DEF}	16.39±1.42 ^C	2.66±1.92 ^{DE}	18.48±3.26 ^{DE}
KK5	7.89±0.00 ^F	0.27±0.28 ^C	4.51±0.75 ^{CD}	3.70±1.85 ^{DE}	0.00±0.00 ^B	1.48±1.07 ^D	3.73±1.29 ^F	13.11±0.82 ^C	2.66±1.33 ^{DE}	17.39±1.09 ^{DE}
KK6	25.44±0.88 ^B	8.26±0.00 ^B	16.54±2.60 ^B	25.92±2.45 ^B	4.16±3.61 ^B	27.68±2.68 ^B	29.10±0.75 ^C	7.38±2.96 ^D	18.40±2.40 ^B	36.95±2.17 ^C
PB1	5.26±2.63 ^{EF}	5.79±1.43 ^{BC}	2.25±0.75 ^{CD}	1.85±1.85 ^E	3.03±1.52 ^B	0.29±0.29 ^D	1.74±1.08 ^{EF}	4.10±1.42 ^{DE}	12.80±0.80 ^{BC}	11.23±5.69 ^F

หมายเหตุ: ^{A,B,C,D,E and F} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในผลของเชื้อแบคทีเรียที่มีต่อเชื้อรา ($P < 0.05$)

ตาราง 12 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Foc* สาเหตุโรคเหี่ยวในกล้วยด้วยวิธี dual culture

ไอโซเลต	ร้อยละการยับยั้ง									
	TKS2-3	NRS1-3	PCK2-2	NK2-1	KPS1-3	PLS4-1	PT4-3	SK5-1	NP4-2	SB2-5
S.PNR29	62.16±1.56 ^A	57.02±2.18 ^A	64.82±1.85 ^A	62.39±0.92 ^B	52.25±1.80 ^B	59.09±1.58 ^A	58.96±3.32 ^B	60.91±2.40 ^A	69.23±2.13 ^B	60.00±1.05 ^B
S.PNR30	53.15±0.90 ^B	54.54±0.83 ^A	68.52±1.85 ^A	70.64±0.92 ^A	60.36±2.38 ^A	59.09±1.58 ^A	65.22±1.26 ^A	63.64±2.41 ^A	76.33±1.18 ^A	66.32±2.78 ^A
S.PNR74	54.95±0.90 ^B	52.89±1.43 ^A	49.99±2.83 ^B	44.95±0.00 ^D	34.24±2.38 ^C	43.63±1.82 ^B	49.28±0.72 ^C	30.91±2.40 ^B	57.39±1.02 ^C	35.79±1.05 ^D
S.KK1	45.95±1.56 ^C	57.85±3.79 ^A	66.66±1.85 ^A	57.80±0.90 ^C	58.56±0.90 ^A	57.23±3.28 ^A	61.59±0.72 ^{AB}	59.09±1.57 ^A	73.37±1.02 ^A	56.84±1.05 ^B
S.PB5	23.42±1.80 ^D	41.33±0.83 ^B	50.62±0.62 ^B	45.87±2.64 ^D	28.83±0.90 ^C	40.91±0.91 ^B	42.75±1.45 ^D	33.64±2.40 ^B	49.11±0.59 ^D	44.21±1.05 ^C

หมายเหตุ ^{A,B,C,D,E and F} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตาราง 13 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณช์ *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช

ไอโซเลท	ร้อยละการยับยั้ง				Zone of inhibition (mm)
	<i>S. rolfsii</i>	BA7	GA2	MO2	<i>R. solanacearum</i>
B.PNR1	56.30±1.48 ^A	65.15±2.73 ^A	57.81±1.35 ^A	43.48±1.74 ^A	23.67×23.00
B.PNR2	55.56±1.28 ^A	56.06±1.50 ^B	50.00±0.78 ^B	38.26±1.74 ^{AB}	27.67×27.00
B.KK1	0.00±0.00 ^B	53.03±2.73 ^{BC}	35.16±2.07 ^C	36.52±2.30 ^{AB}	0.00
B.KK3	0.00±0.00 ^B	0.00±0.00 ^D	1.56±2.71 ^D	3.48±3.01 ^C	0.00
B.KK6	0.00±0.00 ^B	45.46±4.73 ^C	35.16±2.07 ^C	32.17±1.50 ^B	0.00
B.PB1	0.00±0.00 ^B	2.27±0.00 ^D	6.25±0.00 ^D	2.61±2.30 ^C	0.00

หมายเหตุ ^{A, B, C and D} ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตาราง 14 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณช์ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช

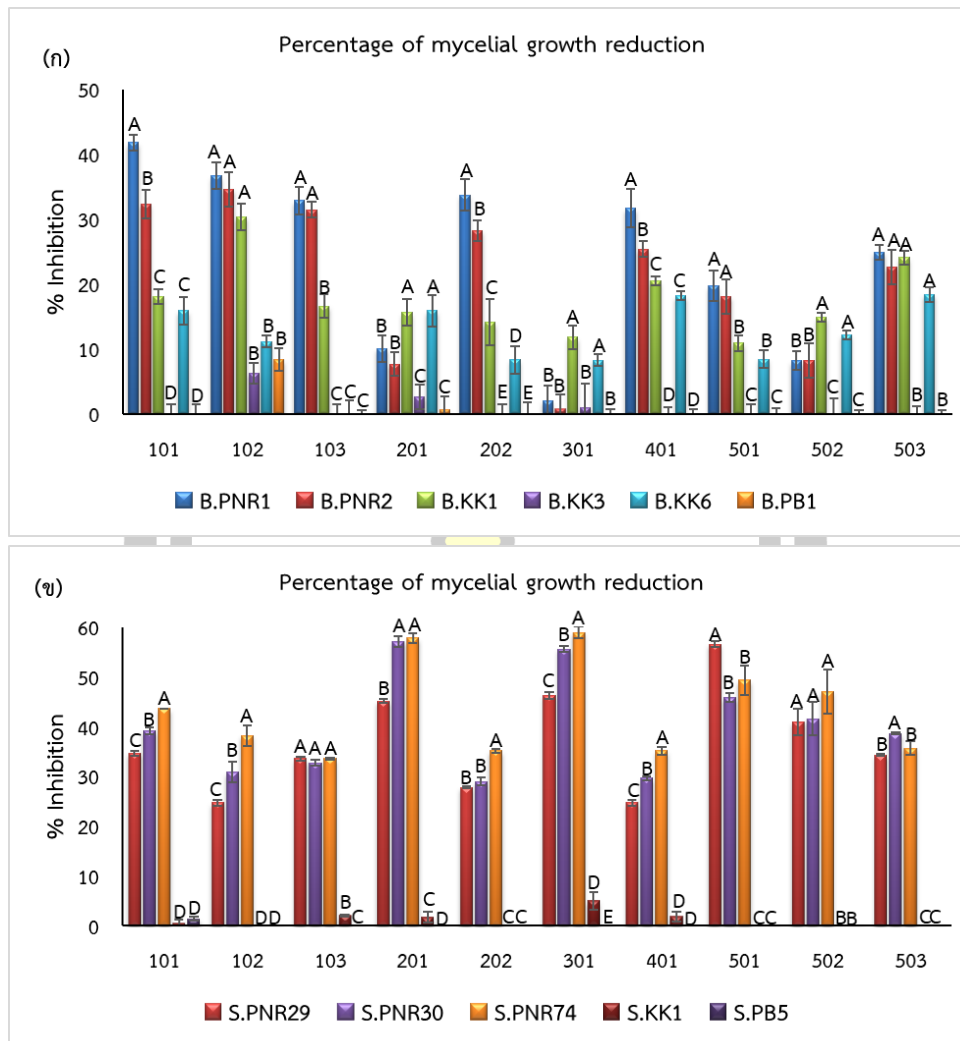
Isolate	ร้อยละการยับยั้ง				Zone of inhibition (mm)
	<i>S. rolfsii</i>	BA7	GA2	MO2	<i>R. solanacearum</i>
S.PNR29	30.73±3.19 ^C	87.50±0.00 ^A	87.10±1.29 ^A	80.67±2.22 ^B	8.80×8.60
S.PNR30	54.63±0.85 ^B	87.96±0.46 ^A	83.23±0.65 ^{AB}	86.55±0.84 ^A	8.40×8.40
S.PNR74	61.95±0.84 ^A	87.50±0.80 ^A	80.65±0.00 ^B	84.87±1.45 ^A	8.20×8.00
S.KK1	59.51±1.76 ^B	88.43±0.46 ^A	70.97±2.23 ^C	67.23±1.45 ^C	11.80×11.80
S.PB5	8.78±1.29 ^D	62.96±1.23 ^B	48.39±1.71 ^D	23.53±0.84 ^D	10.60×9.80

หมายเหตุ ^{A, B, C and D} ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.6 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (*in vitro*) โดยวิธี Pour plate

การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2, B.KK1, B.KK3, B.KK6 และ B.PB1 ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Fol* จำนวน 10 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Fol* ทั้ง 10 ไอโซเลท ได้แตกต่างกัน โดยจากการทดสอบพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2 และ B.KK1 สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Fol* ได้ทั้ง 10 ไอโซเลท รองลงมาคือ น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท B.KK6, B.KK3 และ B.PB1 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Fol* ได้ 9, 3 และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ข้อมูลร้อยละการยับยั้งพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท มีร้อยละการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราน้อยกว่าร้อยละ 50 หรือมีอัตราร้อยละการยับยั้งอยู่ในช่วง $0.72 \pm 0.96 - 41.79 \pm 1.05$ (ภาพที่ 7 ก)

การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PB5 ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Fol* จำนวน 10 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30 และ S.PNR74 สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Fol* ได้ทั้ง 10 ไอโซเลท รองลงมาคือ น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.KK1 และ S.PB5 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Fol* ได้ 5 และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท มีอัตราร้อยละการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Fol* ทั้ง 10 ไอโซเลท อยู่ในช่วงร้อยละ $0.52 \pm 0.66 - 58.95 \pm 1.11$ ซึ่งประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Fol* ได้และมีค่าร้อยละการยับยั้งที่มากกว่าร้อยละ 50 คือ น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.PNP30 และ S.PNR74 สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK201 และ TFPK301 โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งร้อยละ 57.19 ± 1.09 , 55.58 ± 0.63 , 57.79 ± 1.04 และ 58.95 ± 1.11 ตามลำดับ และน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK501 โดยมีค่าร้อยละการยับยั้ง 56.57 ± 0.54 (ภาพที่ 7 ข)



ภาพที่ 7 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ

ก) ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fol* และ

ข) ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fol*

4.7 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp.

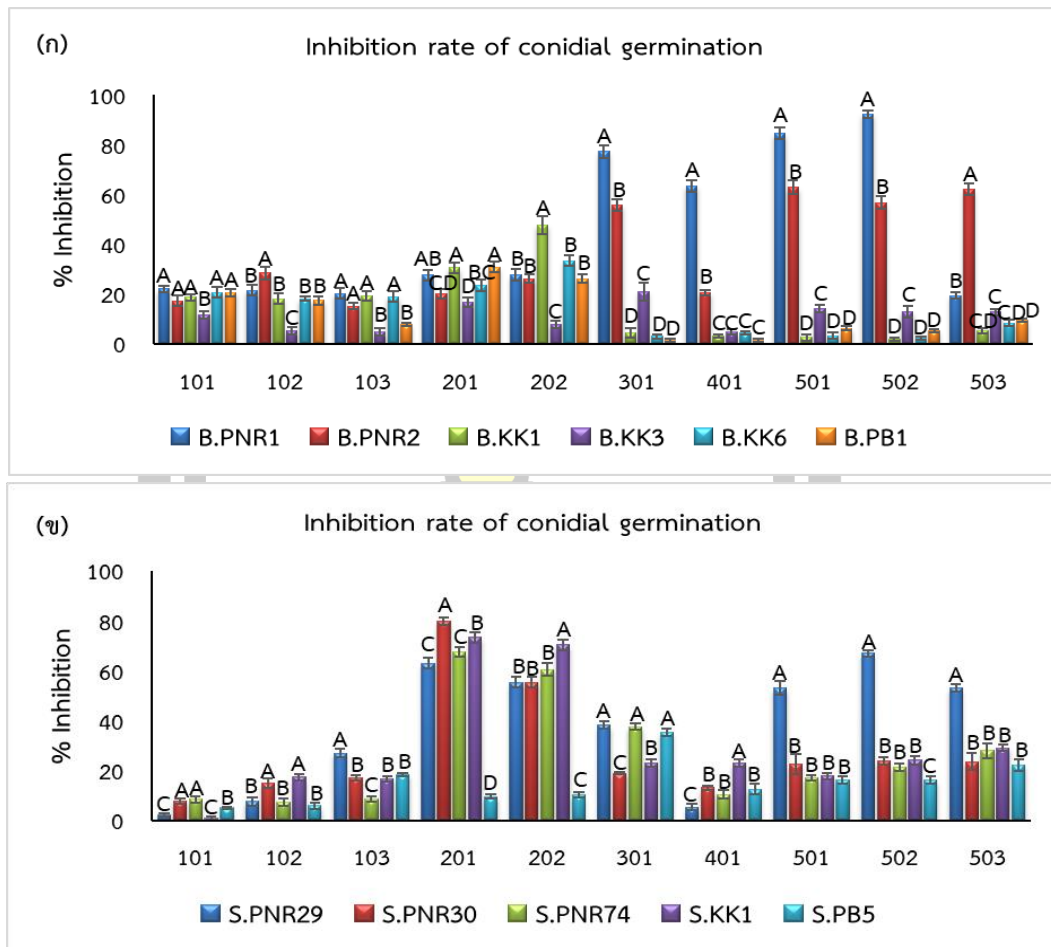
ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ด้วยวิธีการ spore germination test

การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2, B.KK1, B.KK3, B.KK6 และ B.PB1 ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* จำนวน 10 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ทั้ง 10 ไอโซเลทได้แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกสปอร์แตกต่างกัน และจากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท มีอัตราร้อยละการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ทั้ง 10 ไอโซเลท อยู่ในช่วงร้อยละ

1.36±0.68-92.31±1.46 ซึ่งน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ได้มากที่สุด และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 มีค่าร้อยละการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK301, 501 และ 502 มากกว่าน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยิ่งไปกว่านั้นน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 (เชื้อราที่ก่อโรครุนแรงที่สุดในมะเขือเทศ) ได้ดีที่สุด โดยมีค่าร้อยละการยับยั้ง 63.51±2.92 (ภาพที่ 8 ก)

การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PB5 ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* จำนวน 10 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ทั้ง 10 ไอโซเลทได้แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราแตกต่างกัน มีอัตราการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ทั้ง 10 ไอโซเลท อยู่ในช่วงร้อยละ 1.01±0.68-79.86±1.49 และจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ได้มากที่สุดคือ น้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 สามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ได้มากที่สุด 5 ไอโซเลท ได้แก่ไอโซเลท TFPK201, 201, 501, 502 และ 503 รองลงมาคือ น้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR30, S.PNR74 และ S.KK1 โดยสามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ได้ 2 ไอโซเลท ได้แก่ไอโซเลท TFPK201 และ TFPK202 ส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PB5 พบว่าสามารถยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ได้ทั้ง 10 ไอโซเลท แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราน้อยกว่าร้อยละ 50 (ภาพที่ 8 ข)

พหุ ประสิทธิภาพ



ภาพที่ 8 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* ด้วยวิธี spore germination test
 ก) ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol* และ
 ข) ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Fol*

พหุบัณฑิต ชีวะ

4.8 การศึกษาคุณลักษณะ และการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. เบื้องต้น

4.8.1 คุณลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกของแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

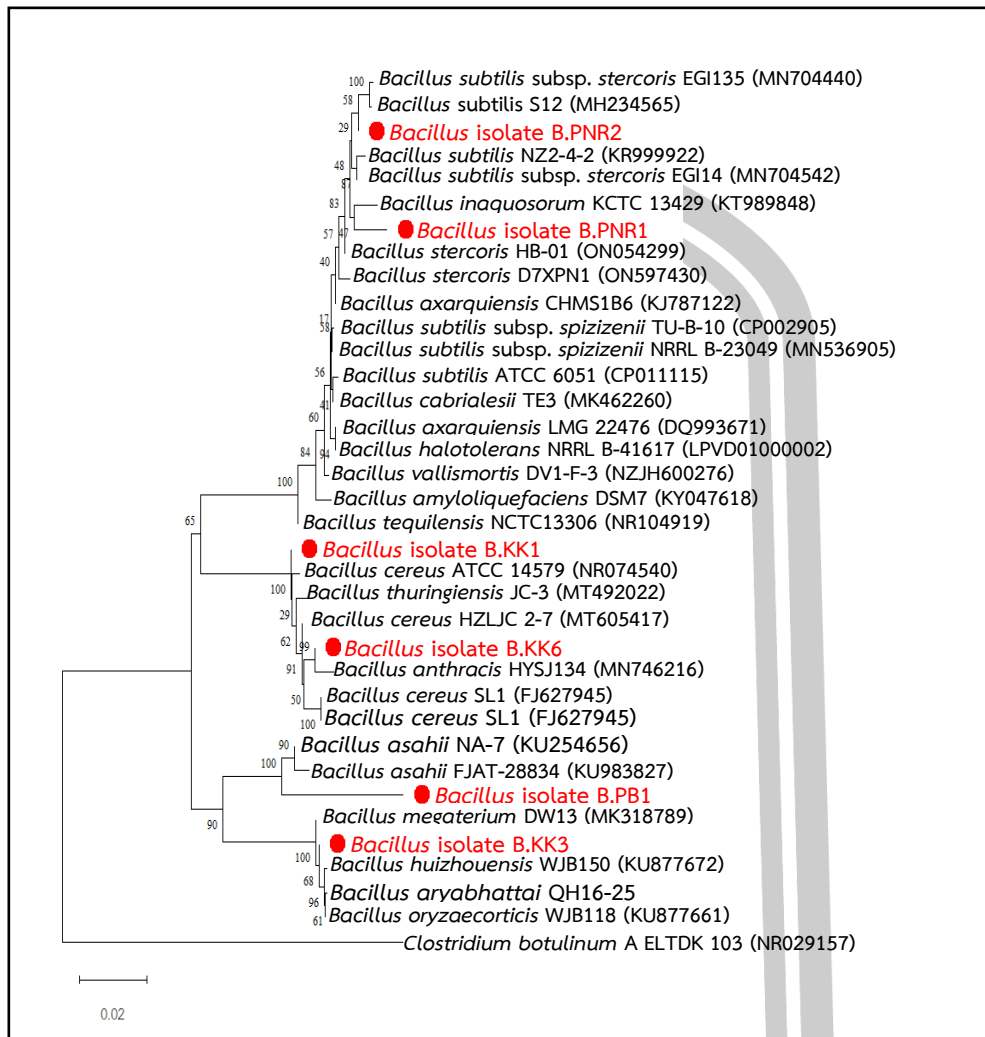
การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Bacillus* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการย้อมสีแกรม และการย้อมสีเอนโดสปอร์ พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลทจัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถสร้างเอนโดสปอร์ได้ แต่ลักษณะของเซลล์และเอนโดสปอร์มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป โดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 เซลล์มีลักษณะเป็นท่อนสั้นต่อกันเป็นสายโซ่ สร้างเอนโดสปอร์รูปร่างรีหรือทรงกระบอก สปอร์มีขนาดเล็กอยู่ตรงกลางเซลล์ ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.KK1, B.KK3, B.KK6 และ B.PB1 เซลล์มีลักษณะเป็นท่อนขนาดใหญ่ สร้างเอนโดสปอร์รูปร่างรีคล้ายเม็ดข้าวสาร สปอร์อยู่ตรงกลางหรือค่อนข้างปลายของเซลล์ (ภาคผนวก ก)

และจากการนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 6 ไอโซเลทที่ผ่านการคัดเลือกมาทำการจัดจำแนกด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA และหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท จัดเป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* โดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*, *B. subtilis* subsp. *spizizenii*, *B. subtilis* subsp. *stercoris* and *B. stercoris* มากที่สุด มีค่าร้อยละความเหมือน 96.48, 96.48, 96.42 และ 96.42 ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR2 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* subsp. *stercoris*, *B. subtilis*, *B. axarquiensis* และ *B. inaquosorum* มากที่สุดมีค่าร้อยละความเหมือน 99.23, 99.23, 99.23 และ 99.16 ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK1 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus*, *B. anthracis* และ *B. thuringiensis* มากที่สุด มีค่าร้อยละความเหมือน 98.08, 98.08 และ 98.08 ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. aryabhattai* และ *B. megaterium* มากที่สุด มีค่าร้อยละความเหมือน 97.70 และ 97.70 ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK6 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. thuringiensis*, *B. cereus* และ *B. anthracis* มากที่สุด มีค่าร้อยละความเหมือน 98.24, 98.17 และ 98.17 ตามลำดับ และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PB1 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. asahii* มากที่สุด มีค่าร้อยละความเหมือน 91.35 ซึ่งจากการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท ด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA และจัดจำแนกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจึงระบุได้ว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK1 และ B.KK6 จัดอยู่ในกลุ่มของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (ภาพที่ 9) จึงไม่นำมาใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป

4.8.2 คุณลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกของแบคทีเรีย *Streptomyces* spp.

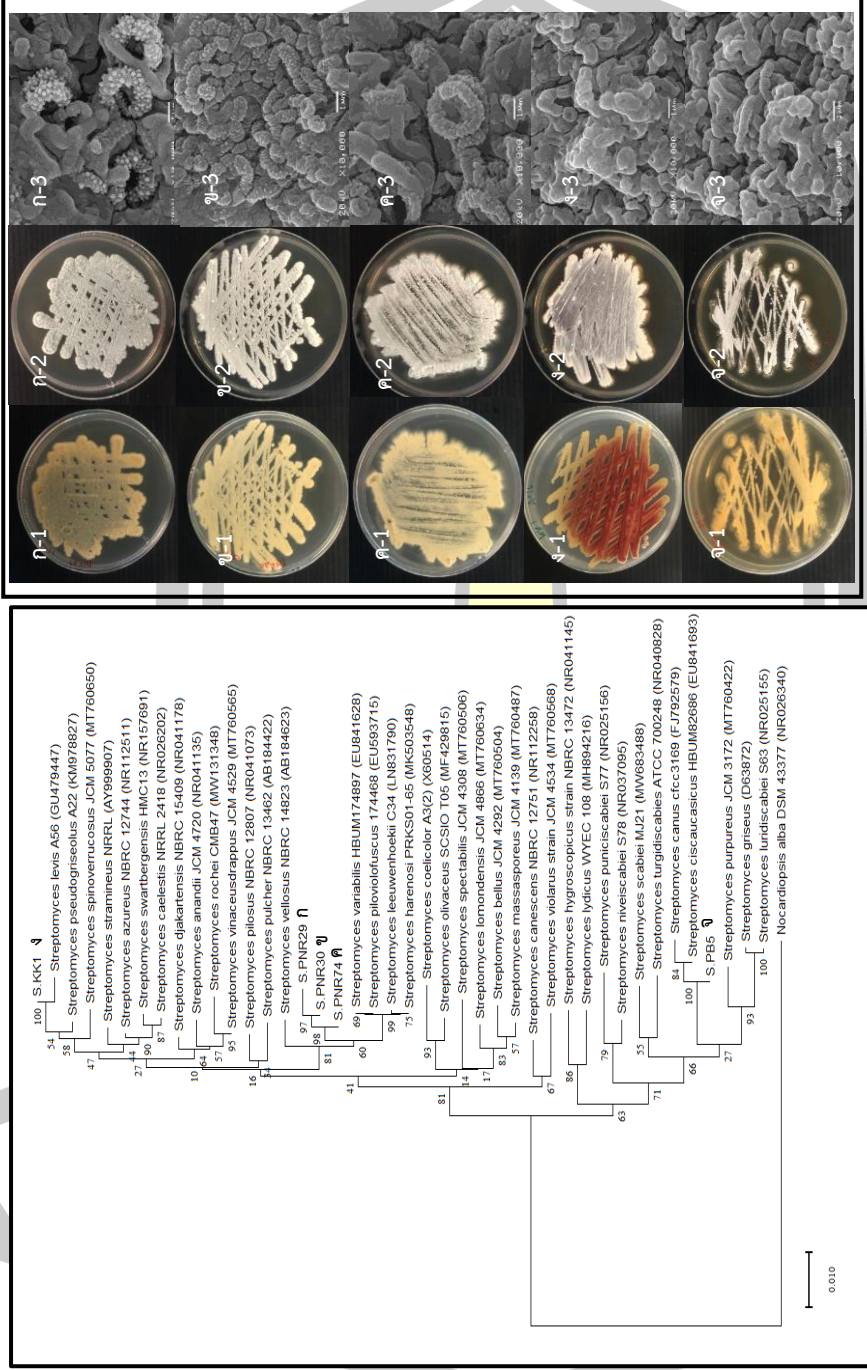
การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ HPDA และการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 และ S.PNR30 โคโลนีมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่มีสีเหลืองอ่อนถึงสีน้ำตาลอ่อน สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงสีเขียว เมื่อนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30 และ S.PNR74 สร้างสายสปอร์แบบเวียนเกลียว (spiral) ผิวมีลักษณะเป็นหนาม (spiny) (ภาพที่ 10 ก, ข และ ค) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.KK1 โคโลนีสีชมพูแดงขอบโคโลนีสีขาวเหลือง สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเทาถึงเขียว เมื่อนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM พบว่าเชื้อสร้างสายสปอร์แบบเส้นตรง (rectiflexibile) ผิวเรียบ (smooth) (ภาพที่ 10 ง) ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PB5 โคโลนีสีขาวถึงเหลืองอ่อนขอบโคโลนีสีขาว สร้างเส้นใยอากาศสีเขียว เมื่อนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM พบว่าเชื้อสร้างสายสปอร์แบบเส้นตรง (rectiflexibile) ผิวเรียบ (smooth) (ภาพที่ 10 จ)

และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท มาวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลท จัดเป็นแบคทีเรียในสกุล *Streptomyces* ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30 และ S.PNR74 พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *S. leeuwenhoekii*, *S. variabilis* และ *S. piloviolofuscus* มากที่สุด โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR29 มีค่าร้อยละความเหมือน 97.90, 97.82, 97.82 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR30 มีค่าร้อยละความเหมือน 99.39, 99.39 และ 99.39 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR74 มีค่าร้อยละความเหมือน 99.26, 99.26 และ 99.26 ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.KK1 และ S.PB5 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย *S. levis* (98.99%) และ *S. canus* (99.36%) ตามลำดับ



ภาพที่ 9 แผนภูมิความสัมพันธ์รูปแบบ neighbor-joining tree ที่วิเคราะห์ลำดับเบสในส่วนของยีน 16s rDNA ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เทียบกับข้อมูลมาตรฐานที่มีรายงานมาก่อนในฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม MEGA vision11

พหุบัณฑิต ชีวะ



ภาพที่ 10 แผนภูมิความสัมพันธ์รูปแบบ neighbor-joining tree ที่วิเคราะห์ลำดับเบสในส่วนของยีน 16s rDNA ของเชื้อแบคทีเรีย Streptomyces spp. เทียบกับข้อมูลฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม MEGA vision11

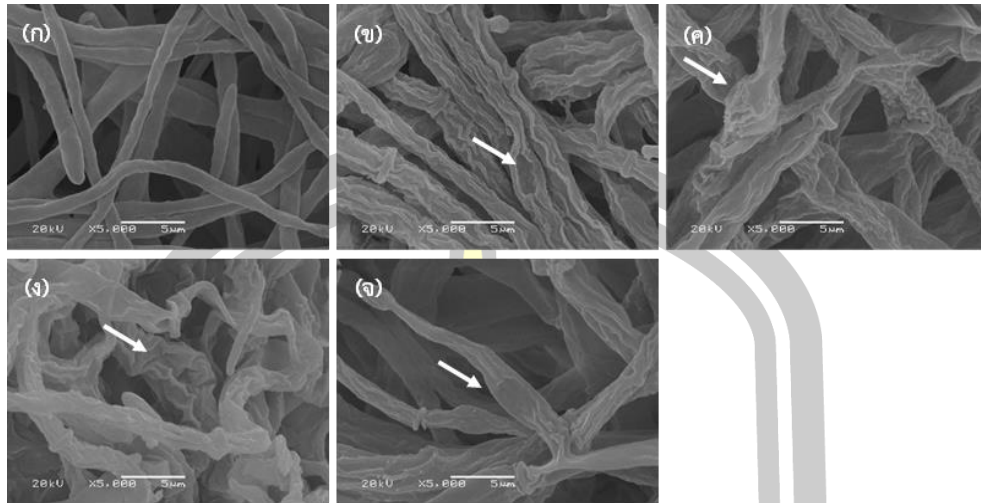
4.9 ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อเส้นใยเชื้อรา *Fol* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ SEM และ TEM

4.9.1 น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ต่อเส้นใยเชื้อรา *Fol* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM และ TEM

จากการทดสอบผลของน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ B.PNR1, B.PNR2, B.KK3 และ B.PB1 ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM และ TEM พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ส่งผลทำให้โครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรา *Fol* TFPK401 ผิดปกติ เช่น เซลล์มีลักษณะขรุขระ เทียบกัน (ภาพที่ 11 ข-จ) โป่งพองไม่เท่ากัน (ภาพที่ 11 ค) ผนังเส้นใยมีการยุบตัวลงเป็นร่อง (ภาพที่ 11 ข และ จ) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 11 ก) ส่วนการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด TEM พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท มีผลทำให้ผนังเซลล์เยื่อหุ้มเซลล์ และนิวเคลียสของเชื้อรา *Fol* TFPK401 มีลักษณะผิดปกติ เช่น ผนังเซลล์และนิวเคลียสถูกทำลายทำให้เกิดการเสียหาย และเยื่อหุ้มเซลล์หลุดตัวแยกออกจากผนังเซลล์ชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 12)

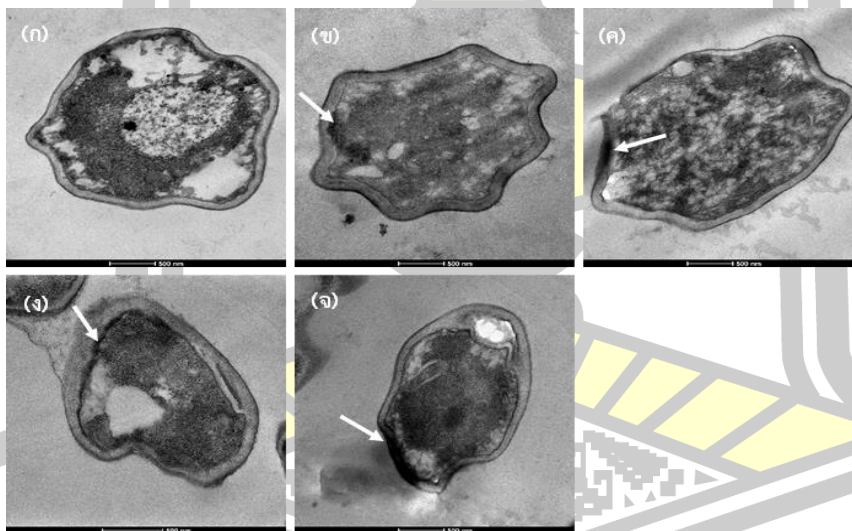
4.9.2 น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ต่อเส้นใยเชื้อรา *Fol* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM และ TEM

จากการทดสอบผลของน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ได้แก่ S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PB5 ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM และ TEM พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ส่งผลทำให้โครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรา *Fol* TFPK401 ผิดปกติ เช่น ผนังเซลล์ขรุขระ การบวมที่ผิดปกติ และผนังเส้นใยมีการยุบตัวลงเป็นร่อง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 13) ส่วนการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด TEM พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท มีผลทำให้เยื่อหุ้ม และนิวเคลียสภายในเซลล์ของเชื้อรา *Fol* TFPK401 ผิดปกติ เช่น ผนังเซลล์และนิวเคลียสถูกทำลายทำให้เกิดการเสียหาย และเยื่อหุ้มเซลล์หลุดตัวแยกออกจากผนังเซลล์ชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 14)



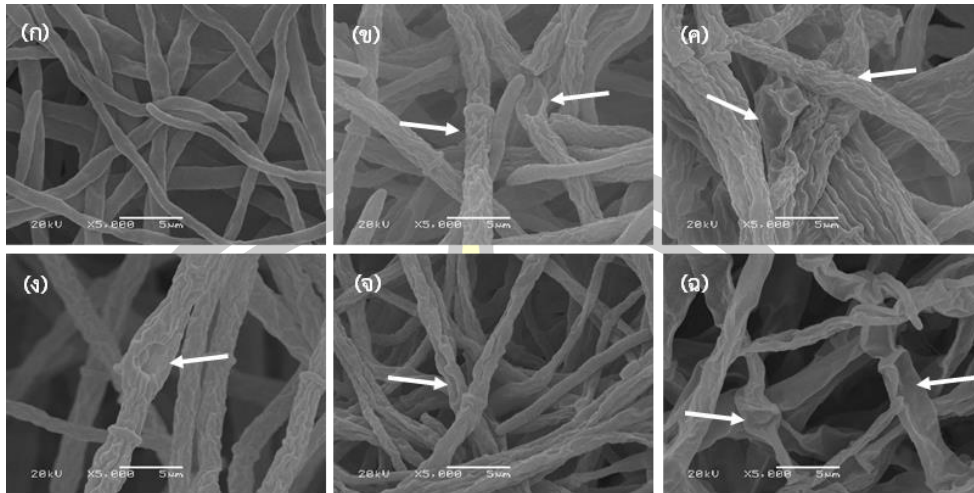
ภาพที่ 11 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Fol* TFPK401 ที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด SEM

ก) ชุดควบคุม ข) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1 ค) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR2 ง) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.KK3 และ จ) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PB1



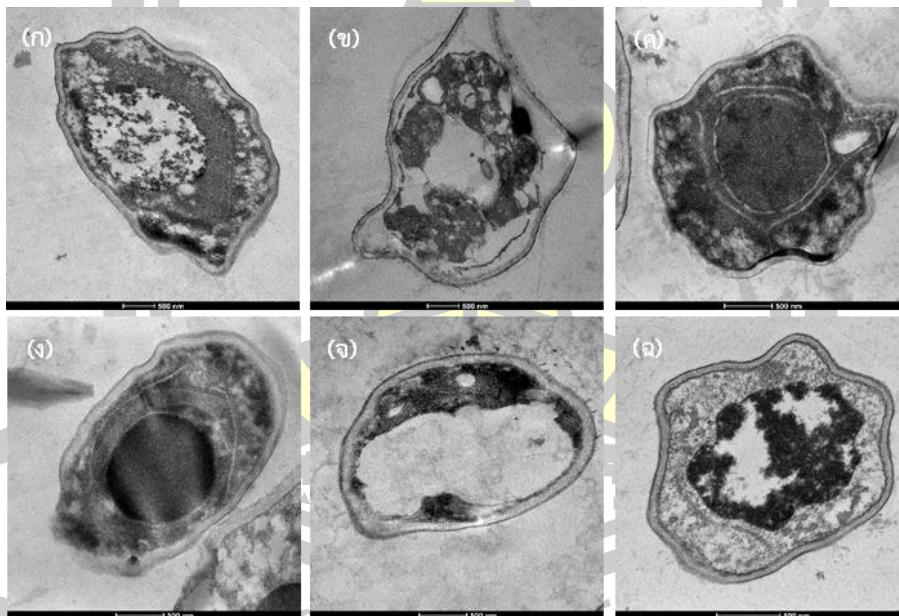
ภาพที่ 12 ภาพตัดตามขวางของเชื้อรา *Fol* TFPK401 ที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด TEM

ก) ชุดควบคุม ข) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1 ค) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR2 ง) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.KK3 และ จ) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PB1



ภาพที่ 13 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Fol* TFPK401 ที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด SEM

ก) ชุดควบคุม ข) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.PNR29 ค) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.PNR30 ง) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.PNR74 จ) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.KK1 และ ฉ) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.PB5



ภาพที่ 14 ภาพตัดตามขวางของเชื้อรา *Fol* TFPK401 ที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ผสมน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด TEM

ก) ชุดควบคุม ข) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.PNR29 ค) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.PNR30 ง) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.PNR74 จ) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.KK1 และ ฉ) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.PB5

4.10 การทดสอบคุณสมบัติเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

4.10.1 การทดสอบคุณสมบัติเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยการทดสอบกิจกรรมเอนไซม์การย่อยแป้ง การย่อยเซลลูโลส และการย่อยลิกนิน ผลการทดสอบแสดงดังต่อไปนี้

- การย่อยแป้ง จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* 6 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ในการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* และ *Streptomyces* สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยแป้งได้ โดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท ทำให้เกิดวงใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง $6.78 \pm 0.19 - 24.66 \pm 1.15$ มิลลิเมตร จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2, B.KK1, B.KK3 และ B.KK6 สามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งได้ไม่แตกต่างกัน แต่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งแตกต่างจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PB1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 15) และจากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ในการย่อยแป้งพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยแป้งได้ โดยทำให้เกิดวงใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง $19.34 \pm 0.88 - 33.33 \pm 0.84$ มิลลิเมตร จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PB5 สามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งได้ดีที่สุดรองลงมาคือ ไอโซเลท S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PNR29 ตามลำดับ (ตาราง 16)

- การย่อยเซลลูโลส จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* 6 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ในการผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยเซลลูโลสพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* และ *Streptomyces* สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยเซลลูโลสได้ โดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท ทำให้เกิดวงใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง $4.33 \pm 0.67 - 16.67 \pm 0.67$ มิลลิเมตร จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.KK3 สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยเซลลูโลสได้ดีที่สุดรองลงมาคือ B.PNR2, B.KK1, B.KK6 และ B.PB1 ตามลำดับ (ตาราง 15) และจากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ในการย่อยเซลลูโลสพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยเซลลูโลสได้ โดยทำให้เกิดวงใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง $10.56 \pm 0.59 - 30.55 \pm 0.78$ มิลลิเมตร และจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.KK1 สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยเซลลูโลสได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ไอโซเลท S.PB5, S.PNR29, S.PNR30 และ S.PNR74 ตามลำดับ (ตาราง 16)

- การย่อยลิกนิน จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* 6 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ในการผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยลิกนินพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2, B.KK1, B.KK3 และ B.KK6 สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยลิกนินได้ ยกเว้นเชื้อแบคทีเรียแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PB1 ที่พบว่าไม่สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยลิกนินได้ จากการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางความกว้างของวงใสพบว่ามีเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง 9.22 ± 0.84 - 18.67 ± 1.20 มิลลิเมตร และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2 และ B.KK6 สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยลิกนินได้ดีที่สุดรองลงมาคือ B.KK1, B.KK3 และ B.PB1 ตามลำดับ (ตาราง 15) และจากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ในการผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยลิกนินพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยลิกนินได้ โดยทำให้เกิดวงใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง 16.33 ± 1.02 - 22.13 ± 1.28 มิลลิเมตร และจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR74, S.PNR30 และ S.KK1 สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยลิกนินได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ไอโซเลท S.PNR29 และ S.PB5 ตามลำดับ (ตาราง16)

4.10.2 การทดสอบคุณสมบัติเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการเป็นเชื้อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยการทดสอบกิจกรรมเอนไซม์การย่อยฟอสเฟต การผลิตสารไซโตโรพอร์ และการผลิตฮอร์โมน IAA ผลการทดสอบแสดงดังต่อไปนี้

- การย่อยฟอสเฟต จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* 6 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ในการผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยฟอสเฟตพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ที่สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยฟอสเฟตได้มีเพียง 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า ประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยฟอสเฟตของเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท ไม่แตกต่างกัน โดยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางความกว้างของวงใสมีเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง 9.33 ± 0.67 - 9.56 ± 1.39 มิลลิเมตร (ตาราง 15) และจากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ในการผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยฟอสเฟตพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยฟอสเฟตได้ โดยทำให้เกิดวงใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง 15.00 ± 0.19 - 25.89 ± 0.40 มิลลิเมตร และจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR30 สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยฟอสเฟตได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ไอโซเลท S.PNR29, S.PB5, S.PNR74 และ S.KK1 ตามลำดับ (ตาราง 16)

- การผลิตสารไซเดอโรฟอร์ จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* 6 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ในการผลิตสารไซเดอโรฟอร์พบว่า เชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ไม่สามารถผลิตสารไซเดอโรฟอร์ได้ในสภาวะที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ (ตาราง 15 และตารางที่ 16)

ตาราง 15 การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์และสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชของเชื้อแบคทีเรีย ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp.

ไอโซเลท	การย่อยสลายสาร				
	แป้ง (mm)	เซลลูโลส (mm)	ลิกนิน (mm)	พอสเฟต (mm)	ไซเดอโรฟอร์ (mm)
B.PNR1	23.78±2.22 ^A	16.67±0.67 ^A	17.44±2.01 ^A	9.56±1.39 ^A	-
B.PNR2	23.34±1.16 ^A	13.00±1.86 ^B	18.67±1.20 ^A	9.33±0.67 ^A	-
B.KK1	22.45±3.24 ^A	9.67±0.88 ^C	13.78±0.69 ^B	0.00±0.00 ^B	-
B.KK3	22.78±0.84 ^A	14.67±0.67 ^{AB}	9.22±0.84 ^C	0.00±0.00 ^B	-
B.KK6	24.66±1.15 ^A	7.43±1.64 ^D	17.99±2.52 ^A	0.00±0.00 ^B	-
B.PB1	6.78±0.19 ^B	4.33±0.67 ^E	0.00±0.00 ^D	0.00±0.00 ^B	-

หมายเหตุ ^{A, B, C, D และ E} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

พหุ ประถมศึกษา

ตาราง 16 การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์และสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชของเชื้อแบคทีเรีย
ปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp.

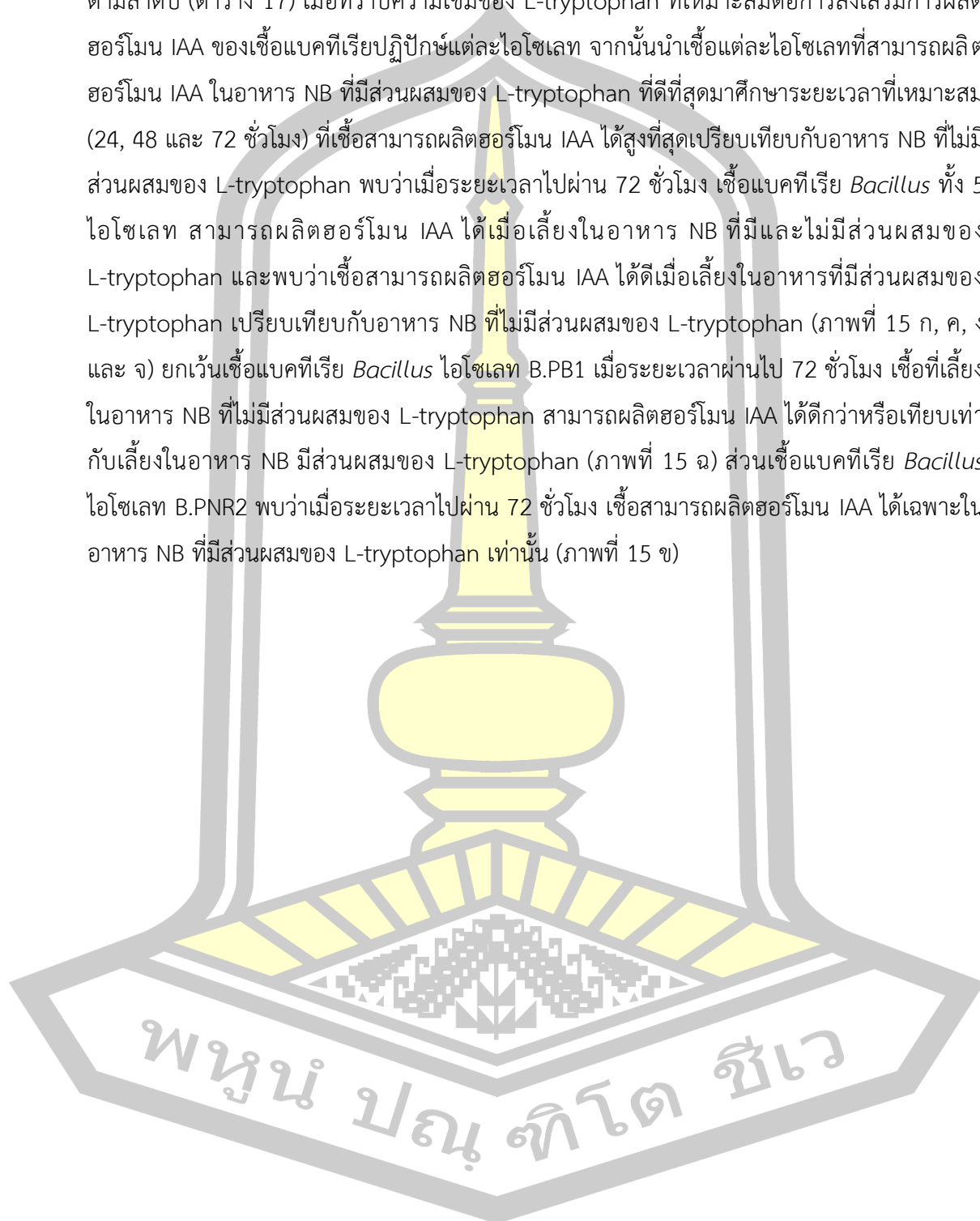
Isolate	การย่อยสลายสาร				
	แป้ง	เซลลูโลส	ลิกนิน	ฟอสเฟต	ไซเตอโรฟอร์
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
S.PNR29	19.34±0.88 ^D	19.56±0.59 ^C	17.11±0.78 ^B	22.56±0.29 ^B	-
S.PNR30	24.33±0.51 ^B	12.78±0.11 ^D	20.00±0.84 ^A	25.89±0.40 ^A	-
S.PNR74	23.78±0.39 ^{BC}	10.56±0.59 ^E	22.13±1.28 ^A	16.22±0.11 ^C	-
S.KK1	22.11±0.29 ^C	30.55±0.78 ^A	21.89±0.73 ^A	15.00±0.19 ^D	-
S.PB5	33.33±0.84 ^A	22.00±0.77 ^B	16.33±1.02 ^B	16.89±0.73 ^C	-

หมายเหตุ ^{A, B, C, D และ E} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

- การทดสอบการผลิตฮอร์โมน Indole-3-acetic acid (IAA) จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* และเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* แสดงผลการทดสอบดังต่อไปนี้

- การทดสอบการผลิตฮอร์โมน IAA จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท ในอาหาร NB ที่มีส่วนผสมของ L-tryptophan ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 1, 3 และ 5 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ และการผลิตฮอร์โมน IAA ขึ้นอยู่กับปริมาณของ L-tryptophan ที่ผสมในอาหาร NB ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PB1 สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหาร NB ที่มีส่วนผสมของ 1 กรัม L-tryptophan โดยสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ 0.48 ± 0.01 และ 0.88 ± 0.06 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหาร NB ที่มีส่วนผสมของ 3 กรัม L-tryptophan โดยสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ 1.34 ± 0.04 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR2, B.KK1 และ B.KK6 สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหาร NB ที่มีส่วนผสมของ 5 กรัม L-tryptophan โดย

สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ 0.73 ± 0.07 , 1.70 ± 0.13 และ 1.95 ± 0.10 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ตามลำดับ (ตาราง 17) เมื่อทราบความเข้มข้นของ L-tryptophan ที่เหมาะสมต่อการส่งเสริมการผลิตฮอร์โมน IAA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อแต่ละไอโซเลทที่สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ในอาหาร NB ที่มีส่วนผสมของ L-tryptophan ที่ดีที่สุดมาศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสม (24, 48 และ 72 ชั่วโมง) ที่เชื้อสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้สูงที่สุดเปรียบเทียบกับอาหาร NB ที่ไม่มีส่วนผสมของ L-tryptophan พบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้เมื่อเลี้ยงในอาหาร NB ที่มีและไม่มีส่วนผสมของ L-tryptophan และพบว่าเชื้อสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีส่วนผสมของ L-tryptophan เปรียบเทียบกับอาหาร NB ที่ไม่มีส่วนผสมของ L-tryptophan (ภาพที่ 15 ก, ค, ง และ จ) ยกเว้นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PB1 เมื่อระยะเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง เชื้อที่เลี้ยงในอาหาร NB ที่ไม่มีส่วนผสมของ L-tryptophan สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ดีกว่าหรือเทียบเท่ากับเลี้ยงในอาหาร NB มีส่วนผสมของ L-tryptophan (ภาพที่ 15 ฉ) ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR2 พบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง เชื้อสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้เฉพาะในอาหาร NB ที่มีส่วนผสมของ L-tryptophan เท่านั้น (ภาพที่ 15 ข)

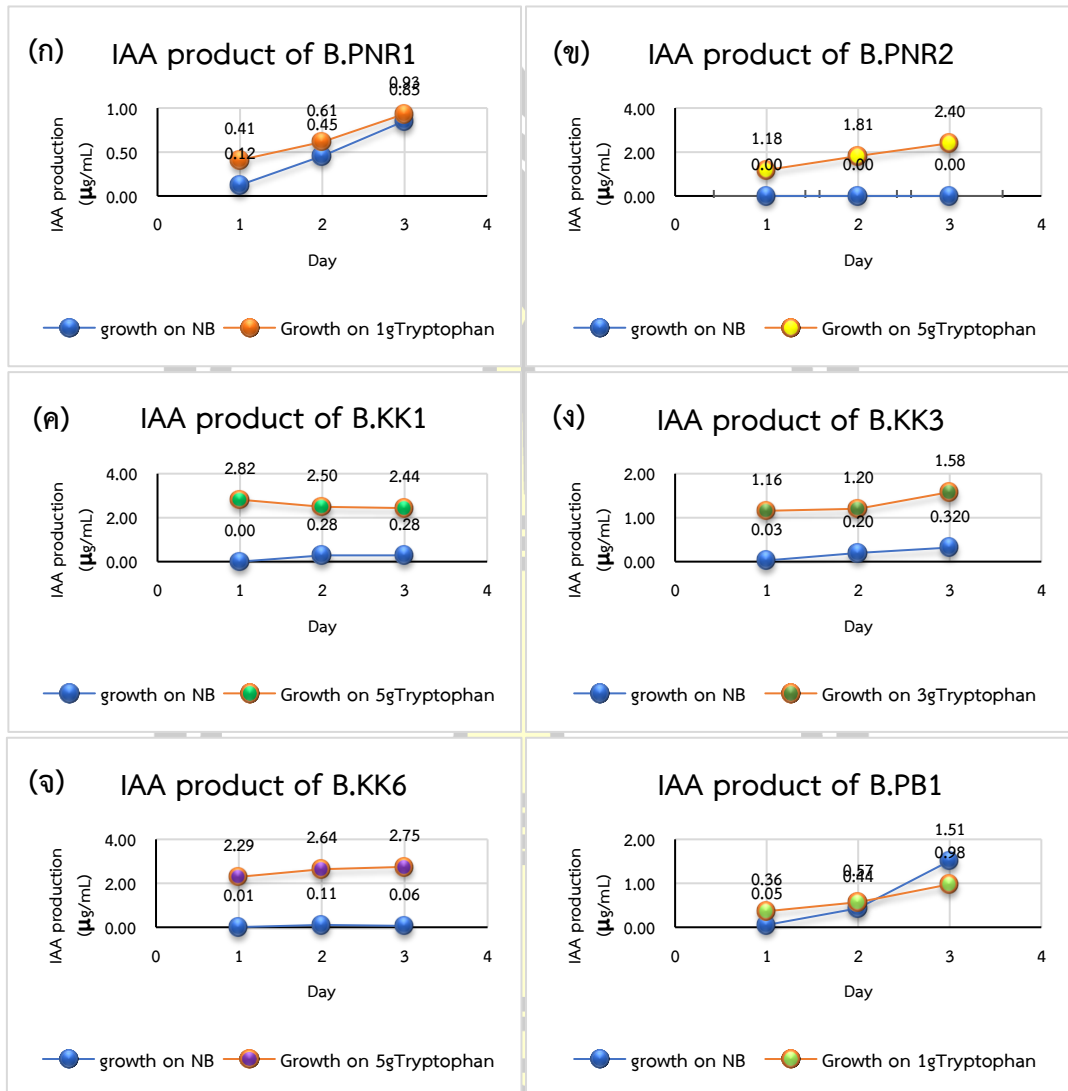


ตาราง 17 คุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียปฏิบั้กษ *Bacillus* spp. ในการผลิตฮอร์โมน IAA ที่เวลา 24 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีการผสม L-Tryptophan ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

ไอโซเลข	การผลิตฮอร์โมน IAA ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ในอาหาร NB		
	1g Tryptophan	3g Tryptophan	5g Tryptophan
B.PNR1	0.48 ± 0.01 ^{CD,a}	0.28 ± 0.06 ^{D,ab}	0.09 ± 0.06 ^{C,b}
B.PNR2	0.31 ± 0.01 ^{D,c}	0.49 ± 0.05 ^{CD,b}	0.73 ± 0.07 ^{B,a}
B.KK1	0.64 ± 0.07 ^{C,b}	0.72 ± 0.14 ^{BC, b}	1.70 ± 0.13 ^{A,a}
B.KK3	0.91 ± 0.04 ^{A,b}	1.34 ± 0.04 ^{A,a}	0.51 ± 0.041 ^{B,c}
B.KK6	0.68 ± 0.10 ^{BC,b}	0.94 ± 0.12 ^{B,b}	1.95 ± 0.10 ^{A,a}
B.PB1	0.88 ± 0.06 ^{AB,a}	0.69 ± 0.02 ^{BC,b}	0.24 ± 0.05 ^{C,c}

หมายเหตุ A, B, C และ D ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

หมายเหตุ ^{a,b} และ ^c ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวนอนเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 15 กราฟการผลิตฮอร์โมน IAA ของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* ในอาหารที่มีส่วนผสม L-tryptophan ที่แตกต่างกัน เป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เทียบกับอาหาร NB ที่ไม่มีส่วนผสมของ L-tryptophan

ก) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 ข) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR2 ค) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK1 ง) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 จ) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK6 และ ฉ) เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PB1

- การทดสอบการผลิตฮอร์โมน IAA จากการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ในการผลิตฮอร์โมน IAA ในอาหาร AGMB ที่มีส่วนผสมของ L-tryptophan 0.2% ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน 7, 14 และ 21 วัน พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* 5 ไอโซเลท สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ตั้งแต่วันที่ 7 แต่ประสิทธิภาพในการผลิต

ฮอริโมนแตกต่างกัน และเมื่อระยะเวลาผ่านไปความสามารถในการผลิตฮอริโมน IAA ของเชื้อแต่ละไอโซเลทก็จะแตกต่างกัน ซึ่งจากการทดสอบจะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74 และ S.PB5 ส่วนใหญ่มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันคือเมื่อระยะเวลาผ่านไป 21 วัน เชื้อสามารถผลิตฮอริโมน IAA ได้เพิ่มสูงขึ้น ยกเว้นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท S.KK1 ที่สามารถผลิตฮอริโมน IAA ได้ดีที่สุดในเมื่อเลี้ยงในอาหาร AGMB ที่มีส่วนผสมของ L-tryptophan 0.2% ที่ระยะเวลา 14 วัน แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป 21 วัน ความสามารถในการผลิตฮอริโมน IAA จะลดลง และจากผลการทดสอบจะพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท S.PB5 สามารถผลิตฮอริโมน IAA ได้สูงที่สุดและแตกต่างจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ทั้ง 4 ไอโซเลท อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 18)

ตาราง 18 คุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ในการผลิตฮอริโมน IAA ในอาหาร AGMB ที่มีส่วนผสม 0.2% L-tryptophan ที่ช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน

ไอโซเลท	การผลิตฮอริโมน IAA ($\mu\text{g/ml}$) ในอาหาร AGMB		
	tryp 0.2% 7day	tryp 0.2% 14day	tryp 0.2% 21day
S.PNR29	0.089 \pm 0.04 ^{C,b}	2.818 \pm 0.08 ^{C,a}	2.969 \pm 0.05 ^{BC,a}
S.PNR30	0.080 \pm 0.05 ^{C,c}	0.533 \pm 0.031 ^{E,b}	1.716 \pm 0.04 ^{C,a}
S.PNR74	0.062 \pm 0.03 ^{C,c}	1.307 \pm 0.094 ^{D,b}	1.707 \pm 0.04 ^{C,a}
S.KK1	0.516 \pm 0.09 ^{B,c}	5.102 \pm 0.06 ^{B,a}	3.964 \pm 0.06 ^{B,b}
S.PB5	5.733 \pm 0.13 ^{A,c}	40.871 \pm 0.24 ^{A,b}	88.756 \pm 1.29 ^{A,a}

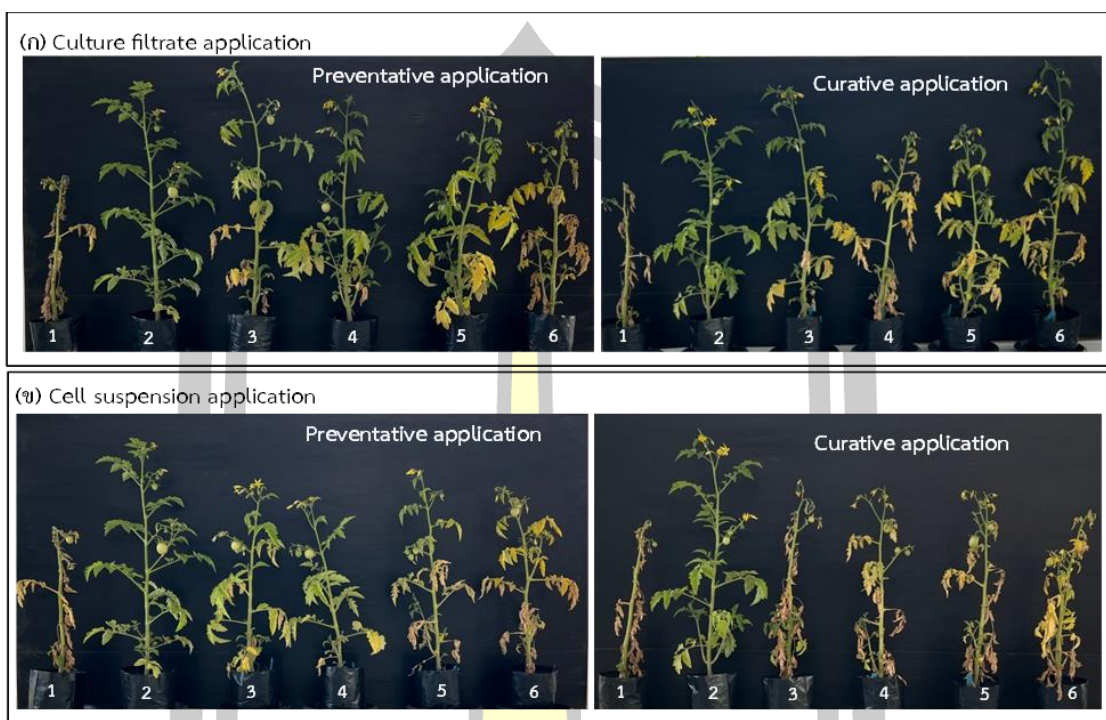
หมายเหตุ ^{A, B, C, D และ E} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

หมายเหตุ ^{a,b, และ c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวนอนเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.11 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง

4.11.1 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง

จากการทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* 4 ไอโซเลท ต่อการป้องกัน (preventative application) และควบคุม (curative application) เชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า การใช้น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* จำนวน 4 ไอโซเลท ในชุด preventative application สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ดีกว่า curative application (ตาราง 19 และภาพที่ 16) โดยในการใช้น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถทำให้ระดับความรุนแรงของโรคลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อพิจารณาระดับความรุนแรงของการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อก่อโรคพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการลดระดับความรุนแรงของโรค รองลงมาคือเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 และ B.PB1 ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของโรค (DSS) อยู่ในช่วง 2.40-3.60 ค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) อยู่ในช่วงร้อยละ 48-72 และค่าการควบคุมโรค (DC) อยู่ในช่วงร้อยละ 28-52 (ตาราง 19 และภาพที่ 16 ก) ในส่วนของการทดสอบเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ต่อการป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถทำให้ระดับความรุนแรงของโรคลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของโรค (DSS) ค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) และค่าการควบคุมโรค (DC) พบว่าผลการทดสอบเป็นไปในทิศทางเดียวกับการใช้น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* ต่อการป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ โดยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 ที่มีศักยภาพสูงที่สุดในการลดระดับความรุนแรงของโรค รองลงมาคือเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 และ B.PB1 มีค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของโรค (DSS) อยู่ในช่วง 2.40-3.40 ค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) อยู่ในช่วงร้อยละ 48-68 และค่าการควบคุมโรค (DC) อยู่ในช่วงร้อยละ 32-52 ตามลำดับ (ตาราง 19 และภาพที่ 16 ข)



ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง

ก) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401

ข) เซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 โดยหมายเลข 1 คือ ชุดควบคุม positive, 2 คือ ชุดควบคุม negative, 3 คือ B.PNR1, 4 คือ B.PNR2, 5 คือ B.KK3 และ 6 คือ B.PB1



ตาราง 19 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดบการะถาง
 เชลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย

ชุดการทดสอบ	preventative application					curative application					preventative application					curative application				
	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)		
Control A	1.00±0.00 ^D	0	100	1.00±0.00 ^D	0	100	1.00±0.00 ^D	0	100	1.00±0.00 ^D	0	100	1.00±0.00 ^B	0	100	1.00±0.00 ^B	0	100		
Control B	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0		
B.PNR1	2.40±0.40 ^C	48	52	2.60±0.25 ^C	52	48	2.60±0.25 ^{CD}	52	48	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0		
B.PNR2	2.40±0.25 ^C	48	52	4.00±0.45 ^B	80	20	2.40±0.25 ^D	48	52	4.80±0.20 ^A	96	4	4.80±0.20 ^A	96	4	4.80±0.20 ^A	96	4		
B.KK3	3.00±0.00 ^{BC}	60	40	3.60±0.40 ^{BC}	72	28	3.00±0.00 ^{BC}	60	40	4.80±0.20 ^A	96	4	4.80±0.20 ^A	96	4	4.80±0.20 ^A	96	4		
B.PB1	3.60±0.25 ^B	72	28	3.60±0.51 ^{BC}	72	28	3.40±0.25 ^B	68	32	4.80±0.20 ^A	96	4	4.80±0.20 ^A	96	4	4.80±0.20 ^A	96	4		
C.V (%)	19.80			23.68			24.40			11.17										
P-value	*			*			*			*			*			*				

หมายเหตุ: ^{A, B, C, D} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05), ¹ หมายถึง Disease severity score, ² หมายถึง Disease index (%), ³ หมายถึง Disease control (%)

4.11.2 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. ต่อการป้องกัน และควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง

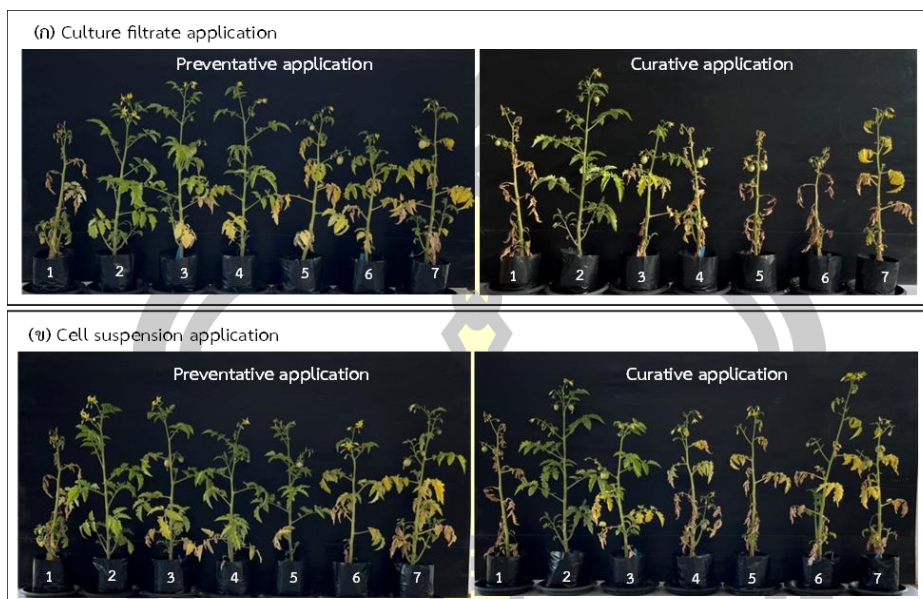
จากการทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* 5 ไอโซเลท ต่อการป้องกัน (preventative application) และควบคุม (curative application) เชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่าการใช้น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ในชุด preventative application สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ดีกว่า curative application (ตาราง 20) โดยในการใช้น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถทำให้ระดับความรุนแรงของโรคลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อพิจารณาระดับความรุนแรงของการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อก่อโรคพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 และ S.PNR74 มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการลดระดับความรุนแรงของโรค รองลงมาคือเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR30, S.KK1 และ S.PB5 ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของโรค (DSS) อยู่ในช่วง 3.00-4.80 ค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) อยู่ในช่วงร้อยละ 60-96 และค่าการควบคุมโรค (DC) อยู่ในช่วงร้อยละ 4-40 (ตาราง 20 และภาพที่ 17 ก) ในส่วนของการทดสอบเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ต่อการป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถทำให้ระดับความรุนแรงของโรคลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของโรค (DSS) ค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) และค่าการควบคุมโรค (DC) พบว่าเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท มีผลต่อการป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของโรค (DSS) อยู่ในช่วง 3.00-4.00 ค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) อยู่ในช่วงร้อยละ 60-80 และค่าการควบคุมโรค (DC) อยู่ในช่วงร้อยละ 20-40 ตามลำดับ (ตาราง 20 และภาพที่ 17 ข)

พูน ปณ ทิโต ชีเว

ตาราง 20 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรครอยเนืองมะเขือเทศในระดับโรงปลูก
นำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

ชุดการทดลอง	นำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย					preventative application					curative application				
	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)	DSS ¹ (1-5)	DI ² (%)	DC ³ (%)
ControlA	1.00±0.00 ^D	0	100	1.00±0.00 ^C	0	100	1.00±0.00 ^C	0	100	1.00±0.00 ^C	0	100	1.00±0.00 ^B	0	100
ControlB	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0
S.PNR29	3.00±0.32 ^C	60	40	4.60±0.25 ^B	92	8	3.00±0.32 ^B	60	40	4.60±0.40 ^A	92	8	4.60±0.40 ^A	92	8
S.PNR30	3.60±0.51 ^{BC}	72	28	5.00±0.00 ^A	100	0	3.20±0.58 ^B	64	36	4.80±0.20 ^A	96	4	4.80±0.20 ^A	96	4
S.PNR74	3.40±0.40 ^C	68	32	5.00±0.00 ^A	100	0	3.00±0.32 ^B	60	40	5.00±0.00 ^A	100	0	5.00±0.00 ^A	100	0
S.KK1	4.40±0.25 ^{AB}	88	12	5.00±0.20 ^A	100	0	4.00±0.32 ^{AB}	80	20	4.40±0.25 ^A	88	12	4.40±0.25 ^A	88	12
SPB5	4.80±0.20 ^A	96	4	4.80±0.00 ^{AB}	96	4	3.60±0.60 ^B	72	28	4.80±0.20 ^A	96	4	4.80±0.20 ^A	96	4
C.V (%)	18.49			6.15			25.95			10.95					
P-value	*			*			*			*			*		

หมายเหตุ ^{A, B, and C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05), ¹ หมายถึง Disease severity score, ² หมายถึง Disease index (%), ³ หมายถึง Disease control (%)



ภาพที่ 17 ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง

ก) น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401

ข) เซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401

โดยหมายเลข 1 คือ ชุดควบคุม positive, 2 คือ ชุดควบคุม negative, 3 คือ S.PNR29, 4 คือ S.PNR30, 5 คือ S.PNR74, 6 คือ S.KK1 และ 7 คือ S.PB5

4.12 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า น้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ส่งผลต่อการงอกเมล็ดของมะเขือเทศไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ยกเว้นน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR2 ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการงอกของมะเขือเทศ (ภาพที่ 18 ก) และเมื่อวิเคราะห์ผลของความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักแห้งลำต้นและน้ำหนักแห้งรากพบว่า น้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ส่งเสริมให้ลำต้นของมะเขือเทศยาวกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1 สามารถส่งเสริมให้ลำต้นของมะเขือเทศยาวที่สุด รองลงมาคือน้ำเลี้ยงเชื้อไอโซเลท B.PNR2, B.KK3 และ B.PB1 ตามลำดับ ในส่วนของความยาวรากพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซ

เลท B.PNR1 สามารถส่งเสริมความยาวรากของมะเขือเทศที่เทียบเท่ากับชุดควบคุม และแตกต่างจากชุดทดสอบของน้ำเลี้ยงเชื้อไอโซเลท B.PNR2, B.KK3 และ B.PB1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 18 ข) และจากการวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักแห้งของลำต้นและรากพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ส่งผลต่อน้ำหนักแห้งลำต้นและรากมะเขือเทศไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพที่ 18 ค) ในส่วนของเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ เมื่อวิเคราะห์ผลของความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักแห้งลำต้นและน้ำหนักแห้งรากพบว่า เซลล์แขวนลอยจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1 ส่งผลต่อความยาวลำต้น ความยาวราก และน้ำหนักแห้งลำต้นดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือเซลล์แขวนลอยจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR2 ที่ส่งผลต่อความยาวรากดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าเซลล์แขวนลอยจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บางไอโซเลทส่งผลให้ความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักแห้งของลำต้นและรากน้อยกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 18 ง-จ)

และจากการทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* 3 ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30 และ S.KK1 ส่งผลต่อการงอกเมล็ดมะเขือเทศได้ดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทดสอบน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า น้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ส่งผลต่อการงอกไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพที่ 19 ก) จากการทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ เมื่อวิเคราะห์ผลของความยาวลำต้นและความยาวรากพบว่า น้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ส่งเสริมให้ความยาวลำต้น และความยาวรากของมะเขือเทศยาวกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 19 ข) และจากการวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักแห้งของลำต้นและรากพบว่า น้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 และ S.PB5 ส่งผลให้น้ำหนักแห้งของลำต้นและรากดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า น้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR74 ส่งผลทำให้น้ำหนักแห้งของลำต้นและรากมะเขือเทศน้อยกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 19 ค) ในส่วนของเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ เมื่อวิเคราะห์ผลของความยาวลำต้นมะเขือเทศพบว่า เซลล์แขวนลอย

ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* 4 ไอโซเลท ได้แก่ S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74 และ S.KK1 ส่งผลให้ความยาวลำต้นมะเขือเทศดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PB5 ให้ผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพที่ 19 ง) ในส่วนของความยาวรากเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30, S.KK1 และ S.PB5 ส่งผลให้ความยาวรากดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR74 ให้ผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพที่ 41 ง) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนของน้ำหนักแห้งลำต้นและน้ำหนักแห้งรากพบว่า เซลล์แขวนลอยจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR30 และ S.PNR74 ส่งผลต่อความน้ำหนักแห้งของรากมะเขือเทศดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของน้ำหนักแห้งลำต้นมะเขือเทศพบว่า เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ส่งผลต่อน้ำหนักแห้งลำต้นมะเขือเทศไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพที่ 19 จ)

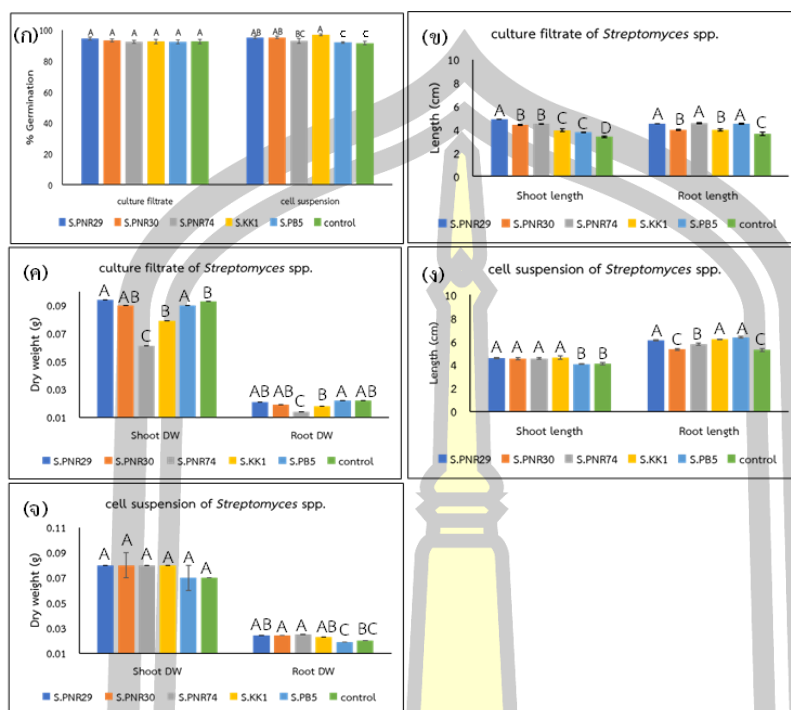


ภาพที่ 18 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ

ก) ร้อยละการงอกเมล็ดของมะเขือเทศ ข-ค) ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

Bacillus spp. ที่ส่งผลต่อความยาวและน้ำหนักแห้งของมะเขือเทศ และ ง-จ) ประสิทธิภาพเซลล์

แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่ส่งผลต่อความยาวและน้ำหนักแห้งของมะเขือเทศ



ภาพที่ 19 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

Streptomyces spp. ต่อการส่งเสริมการงอกของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ

ก) ร้อยละการงอกเมล็ดของมะเขือเทศ ข-ค) ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

Streptomyces spp. ที่ส่งผลต่อความยาวและน้ำหนักแห้งของมะเขือเทศ และ ง-จ) ประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ที่ส่งผลต่อความยาวและน้ำหนักแห้งของมะเขือเทศ

4.13 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

ในการทดสอบจะแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ

1) นำเมล็ดมะเขือเทศมาทำการแช่ด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำเมล็ดมะเขือเทศไปปลูกในถาดหลุม แล้วทำการรดด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยทุก ๆ 7 วัน (7, 14, 21 และ 28 วัน) เมื่อครบ 35 วัน ทำการเก็บผลการทดลอง

2) การเพาะต้นกล้ามะเขือเทศบนวัสดุปลูกให้มีอายุ 21 วัน จากนั้นนำต้นกล้ามะเขือเทศไปปลูกลงในถาดปลูกที่มีขนาด 3x6 นิ้ว ที่บรรจุดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่แล้ว เมื่อต้นกล้าอายุครบ 30 วัน ทำการรดด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ

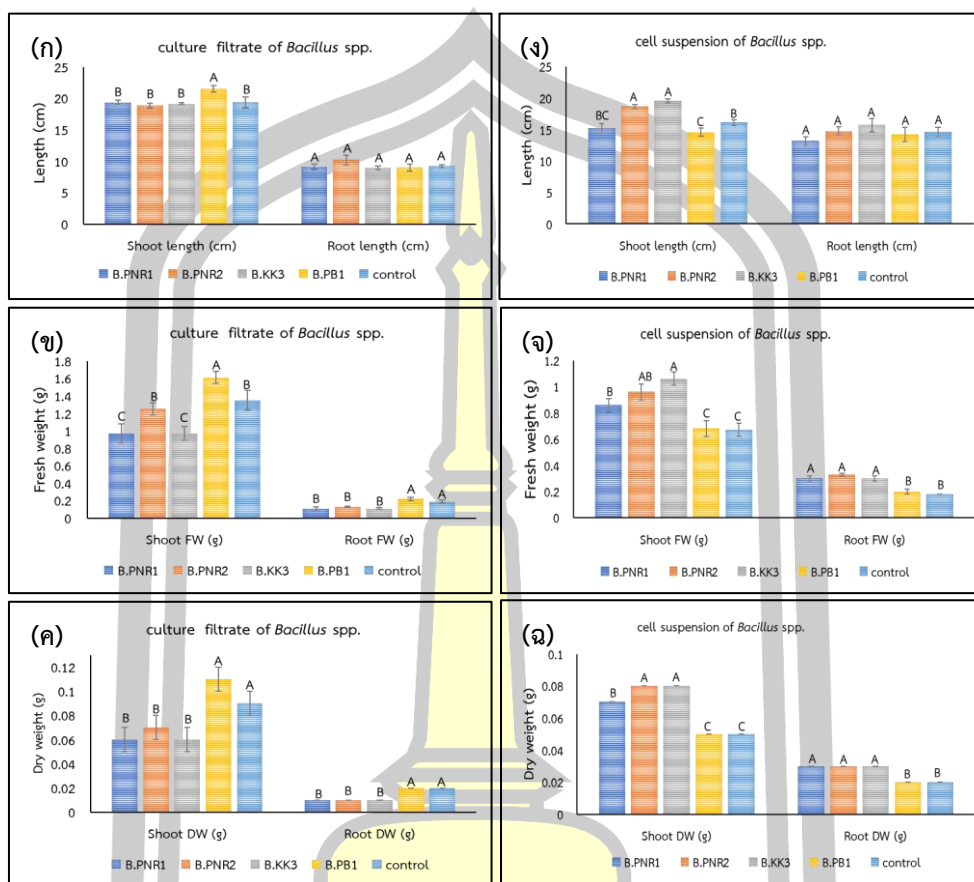
Streptomyces spp. ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อถุง โดยจะทำการรดทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน เมื่อครบ 35 วัน ทำการเก็บผลการทดลอง โดยผลการทดสอบแสดงดังต่อไปนี้

4.13.1 ชุดการทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

จากการทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* 4 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PB1 ส่งผลต่อความยาว และน้ำหนักสดลำต้นมะเขือเทศดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนช่อกิ่ง ราก และน้ำหนักแห้งรากพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PB1 ส่งผลต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรากของมะเขือเทศไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แต่น้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2 และ B.KK3 ส่งผลต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรากของมะเขือเทศน้อยกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของความยาวรากพบว่าน้ำเลี้ยงจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลท ให้ผลไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 20 ก-ค)

จากการทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* 4 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.PNR2 และ B.KK3 สามารถส่งเสริมให้น้ำหนักสดลำต้น น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งลำต้น และน้ำหนักแห้งรากมะเขือเทศได้ดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนของความยาวลำต้นมะเขือเทศพบว่า เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR2 และ B.KK3 สามารถส่งเสริมให้ลำต้นของมะเขือเทศยาวกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของความยาวรากพบว่าเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ให้ผลไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 20 ง-ฉ)

พหุ ประถมศึกษา



ภาพที่ 20 ชุดการทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง ก-ค) ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง และ ง-ฉ) ประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

จากการทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PB5 สามารถส่งเสริมความยาวลำต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งลำต้นของมะเขือเทศได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม รองลงมาคือ น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74 และ S.KK1 ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่า เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PB5, S.PNR29, S.PNR30 และ S.PNR74 สามารถส่งเสริมความยาวลำต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งลำต้นของมะเขือเทศได้ดีกว่า และแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของน้ำหนักสดรากจากการวิเคราะห์

ข้อมูลพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR30 และ S.PB5 สามารถส่งเสริมน้ำหนักสดของรากมะเขือเทศได้ดีที่สุดและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือ S.PNR29, S.PNR74 และ S.KK1 ตามลำดับ นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักแห้งรากของมะเขือเทศพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30 และ S.PB5 สามารถส่งเสริมน้ำหนักแห้งรากของมะเขือเทศได้ดีที่สุดและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของความยาวรากพบว่าให้ผลไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 21 ก-ค)

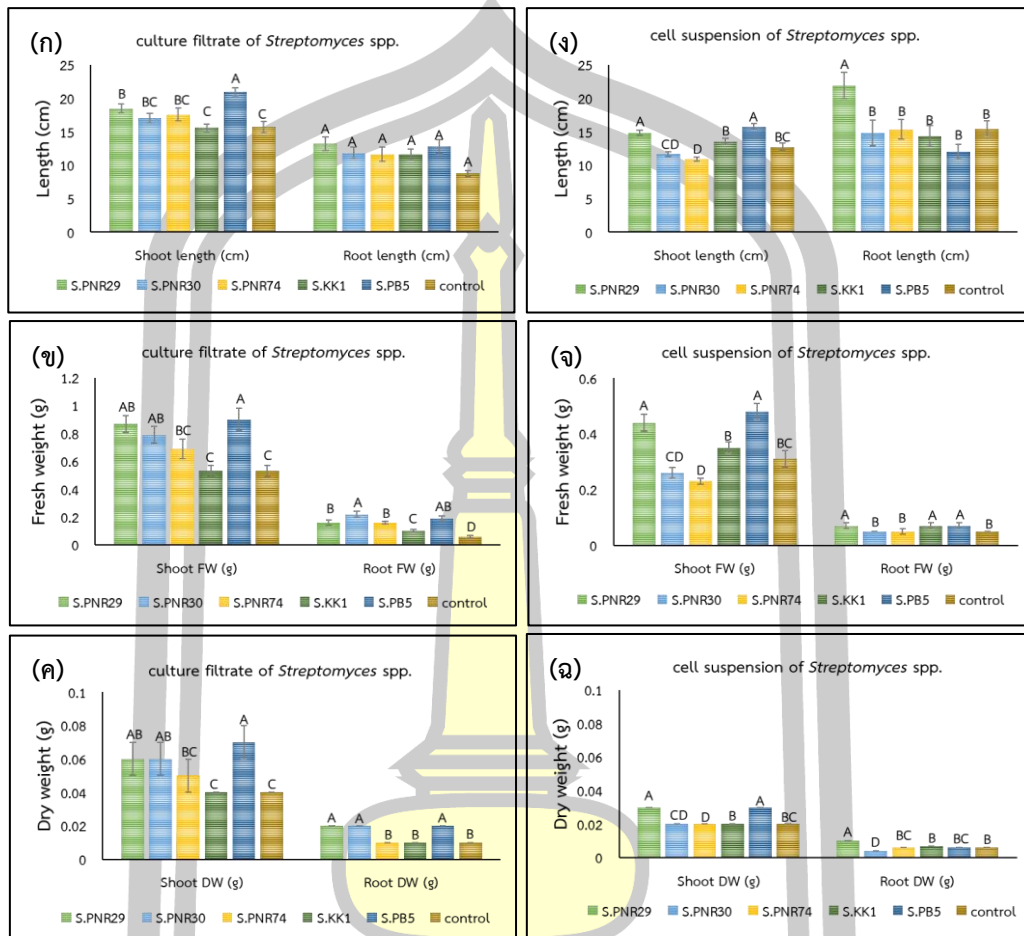
จากการทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR29 สามารถส่งเสริมความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสดลำต้น น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งลำต้น และน้ำหนักแห้งรากได้ดีที่สุดและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักแห้งลำต้นของมะเขือเทศพบว่า เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PB5 สามารถส่งเสริมน้ำหนักแห้งลำต้นของมะเขือเทศได้ดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 21 ง-ฉ)

4.13.2 ชุดการทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

จากการทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* 4 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า น้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถส่งเสริมความยาวทั้งหมดและความยาวลำต้นมะเขือเทศได้ดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ น้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถส่งเสริมน้ำหนักแห้งรากของมะเขือเทศได้ โดยเฉพาะน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท B.PNR1 ที่สามารถส่งเสริมน้ำหนักแห้งรากของมะเขือเทศได้ดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จากการวิเคราะห์ข้อมูลความยาวลำต้น ความยาวราก และความยาวทั้งหมดของมะเขือเทศพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ให้ผลไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตาราง 21 และ ภาพที่ 22) และจากการทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* 4 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถส่งเสริมความยาวลำต้นมะเขือเทศได้ดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ส่งผลต่อความยาวราก ความยาวทั้งหมด น้ำหนักสดลำต้นและราก น้ำหนักแห้งลำต้นและรากไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตาราง 21 และ ภาพที่ 23)

จากการทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า น้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ส่งผลความยาวทั้งหมด ความยาวลำต้นและราก น้ำหนักสดลำต้นและราก น้ำหนักแห้งลำต้นและรากของมะเขือเทศไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แต่น้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* บางไอโซเลท เช่น S.PNR74 ที่ส่งผลให้ความยาวทั้งหมด น้ำหนักแห้งทั้งหมดของต้นมะเขือเทศน้อยกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ น้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR30, S.PNR74 และ S.PB5 ส่งผลให้น้ำหนักแห้งรากของมะเขือเทศน้อยกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 22 และ ภาพที่ 24) และจากการทดสอบและการวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* 5 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท ส่งผลต่อความยาวทั้งหมด ความยาวลำต้นและราก น้ำหนักสดลำต้นและราก น้ำหนักแห้งลำต้นและรากของมะเขือเทศไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 22 และ ภาพที่ 25)





ภาพที่ 21 ชุดการทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง ก-ค) ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง และ ง-ฉ) ประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

พหุบัณฑิต ชีวะ

ตาราง 21 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดดับการถาก

ชุดทดลอง	ความยาวทั้งหมด (cm)	ความยาวลำต้น (cm)	ความยาวราก (cm)	น้ำหนักแห้งทั้งหมด (g)	น้ำหนักแห้งลำต้น (g)	น้ำหนักแห้งราก (g)
น้ำเลี้ยงเชื้อ						
B.PNR1	87.82±2.64 ^A	55.80±1.07 ^A	32.02±2.06 ^A	7.56±0.58 ^{AB}	5.44±0.17 ^{AB}	1.69±0.35 ^A
B.PNR2	85.90±3.39 ^A	52.90±1.27 ^A	33.00±2.30 ^A	6.97±0.32 ^B	5.06±0.40 ^B	1.16±0.07 ^{AB}
B.KK3	88.10±2.92 ^A	54.20±1.93 ^A	33.90±1.44 ^A	7.43±0.32 ^{AB}	5.62±0.26 ^{AB}	1.28±0.19 ^{AB}
B.PB1	81.10±2.41 ^A	51.30±2.15 ^A	29.80±1.72 ^A	8.52±0.35 ^A	5.99±0.33 ^A	1.49±0.08 ^{AB}
control	87.38±1.74 ^A	52.64±2.23 ^A	34.74±1.87 ^A	5.53±0.17 ^C	4.21±0.16 ^C	1.05±0.12 ^B
เซลล์แขวนลอย						
B.PNR1	89.06±1.77 ^A	53.44±2.41 ^{AB}	35.62±1.46 ^A	5.68±0.33 ^A	4.23±0.22 ^A	0.99±0.10 ^A
B.PNR2	92.64±2.81 ^A	57.04±2.24 ^{AB}	35.60±1.72 ^A	5.61±0.16 ^A	3.84±0.12 ^A	1.10±0.11 ^A
B.KK3	91.60±2.77 ^A	58.50±2.01 ^{AB}	33.10±1.36 ^A	5.70±0.37 ^A	4.19±0.42 ^A	1.08±0.11 ^A
B.PB1	94.80±3.49 ^A	60.00±2.16 ^A	34.80±2.66 ^A	5.52±0.49 ^A	3.83±0.27 ^A	1.09±0.17 ^A
control	97.38±1.74 ^A	52.64±2.33 ^C	34.74±1.87 ^A	5.53±0.17 ^A	4.21±0.16 ^A	1.05±0.12 ^A

หมายเหตุ ^{A, B, และ C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 22 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณช์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

ก-ข) ชุดควบคุม ค-ง) น้ำเลี้ยงเชื้อ B.PNR1 จ-ฉ) น้ำเลี้ยงเชื้อ B.PNR2 ช-ซ) น้ำเลี้ยงเชื้อ B.KK3 และ ณ-ญ) น้ำเลี้ยงเชื้อ B.PB1



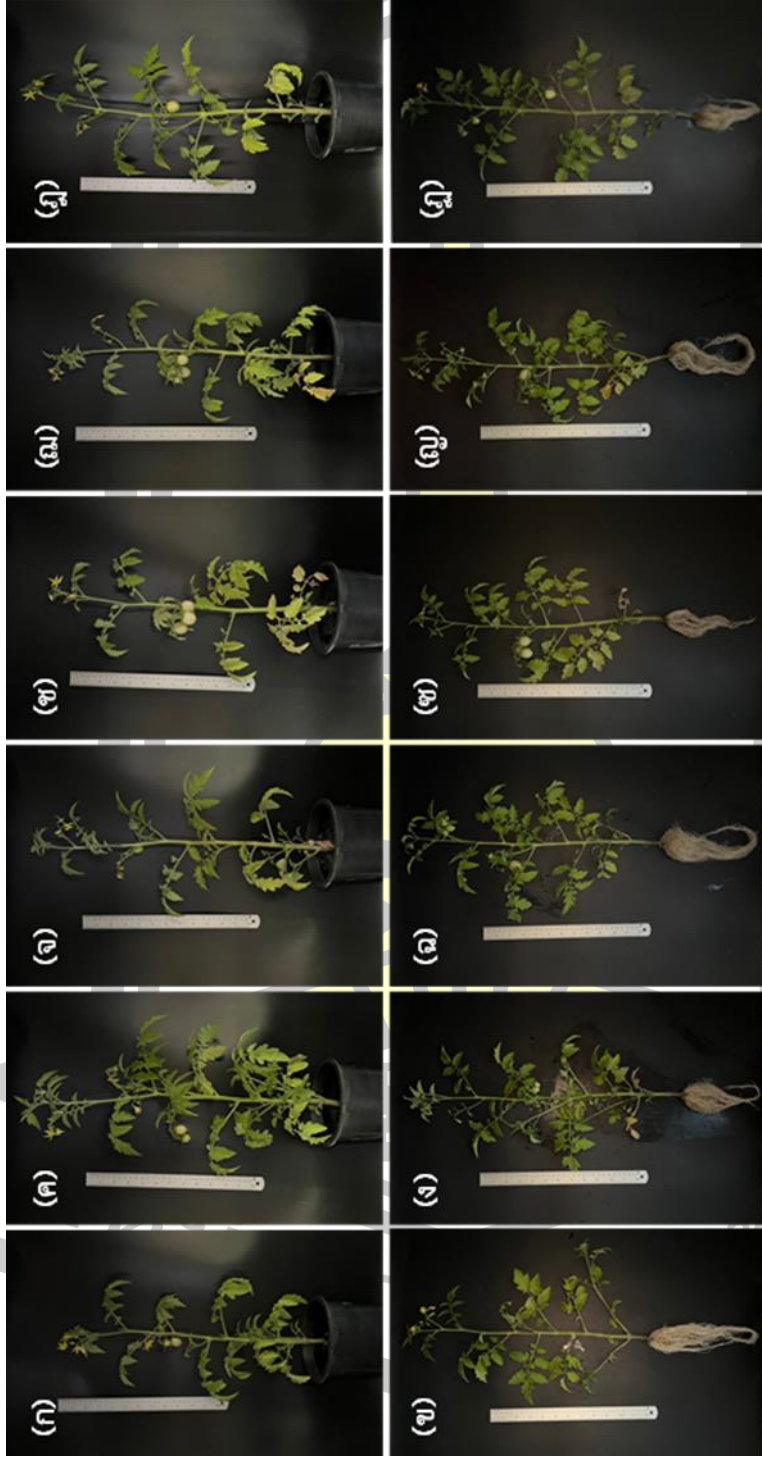
ภาพที่ 23 ประสิทธิภาพเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณช์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

ก-ข) ชุดควบคุม ค-ง) เซลล์แขวนลอยเชื้อ B.PNR1 จ-ฉ) เซลล์แขวนลอยเชื้อ B.PNR2 ช-ซ) เซลล์แขวนลอยเชื้อ B.KK3 และ ณ-ญ) เซลล์แขวนลอยเชื้อ B.PB1

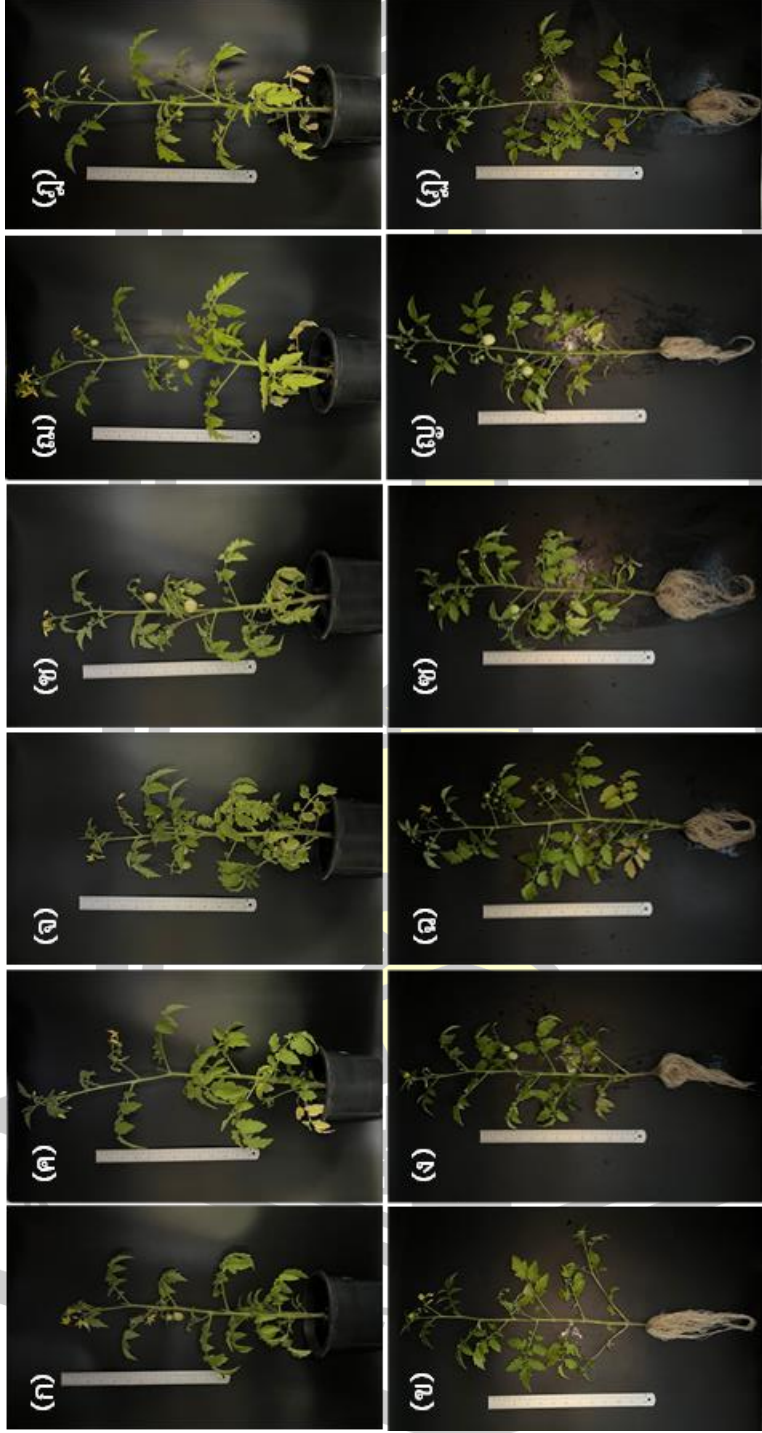
ตาราง 22 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดัปลาน

ชุดทดลอง	ความยาวทั้งหมด (cm)	ความยาวลำต้น (cm)	ความยาวราก (cm)	น้ำหนักแห้งทั้งหมด (g)	น้ำหนักแห้งลำต้น (g)	น้ำหนักแห้งราก (g)
น้ำเลี้ยงเชื้อ						
S.PNR29	80.40±2.58 ^{AB}	52.60±1.81 ^{AB}	27.80±1.93 ^A	4.55±0.51 ^{BC}	3.50±0.42 ^{AB}	0.85±0.10 ^{AB}
S.PNR30	80.20±1.59 ^{AB}	50.80±1.02 ^{AB}	29.40±1.44 ^A	4.76±0.47 ^{BC}	3.56±0.46 ^{AB}	0.76±0.10 ^B
S.PNR74	73.90±4.39 ^B	46.30±2.58 ^B	26.60±1.97 ^A	4.12±0.39 ^C	2.95±0.33 ^B	0.70±0.12 ^B
S.KK1	83.00±0.35 ^A	51.60±1.18 ^{AB}	31.40±1.17 ^A	6.04±0.25 ^A	4.15±0.20 ^A	1.12±0.10 ^A
S.PB5	84.70±4.82 ^A	55.10±3.27 ^A	29.60±2.69 ^A	5.58±0.25 ^{AB}	4.24±0.31 ^A	0.81±0.04 ^B
control	83.44±2.65 ^A	50.60±2.13 ^{AB}	32.84±2.43 ^A	5.45±0.20 ^{AB}	3.84±0.23 ^{AB}	1.10±0.10 ^A
เซลล์แขวนลอย						
S.PNR29	83.10±3.39 ^A	53.50±1.72 ^A	29.60±2.09 ^A	5.43±0.47 ^A	4.12±0.29 ^A	0.79±0.11 ^A
S.PNR30	84.70±3.47 ^A	51.90±2.36 ^A	32.80±2.45 ^A	4.76±0.14 ^A	3.54±0.16 ^A	0.92±0.05 ^A
S.PNR74	83.00±3.13 ^A	51.00±1.38 ^A	32.00±2.17 ^A	5.22±0.32 ^A	3.88±0.24 ^A	0.91±0.10 ^A
S.KK1	77.60±2.54 ^A	49.80±1.83 ^A	27.80±1.20 ^A	5.52±0.73 ^A	4.14±0.62 ^A	0.92±0.13 ^A
S.PB5	84.20±4.36 ^A	53.20±1.77 ^A	31.00±2.86 ^A	5.54±0.47 ^A	4.20±0.20 ^A	1.08±0.21 ^A
control	83.44±2.65 ^A	50.60±2.13 ^A	32.84±2.43 ^A	5.45±0.19 ^A	3.84±0.03 ^A	1.10±0.10 ^A

หมายเหตุ ^{A, B, และ C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 24 ประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดบการถาก
ก-ข) ชุดควบคุม ค-ง) น้ำเลี้ยงเชื้อ S.PNR29 จ-ฉ) น้ำเลี้ยงเชื้อ S.PNR30 ช-ช) น้ำเลี้ยงเชื้อ S.PNR74 ฉ-ญ) น้ำเลี้ยงเชื้อ S.KK1 และ ฎ-ฑ) น้ำเลี้ยงเชื้อ S.PB5



ภาพที่ 25 ประสิทธิภาพเซลล์แวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Streptomyces* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับการะถาง

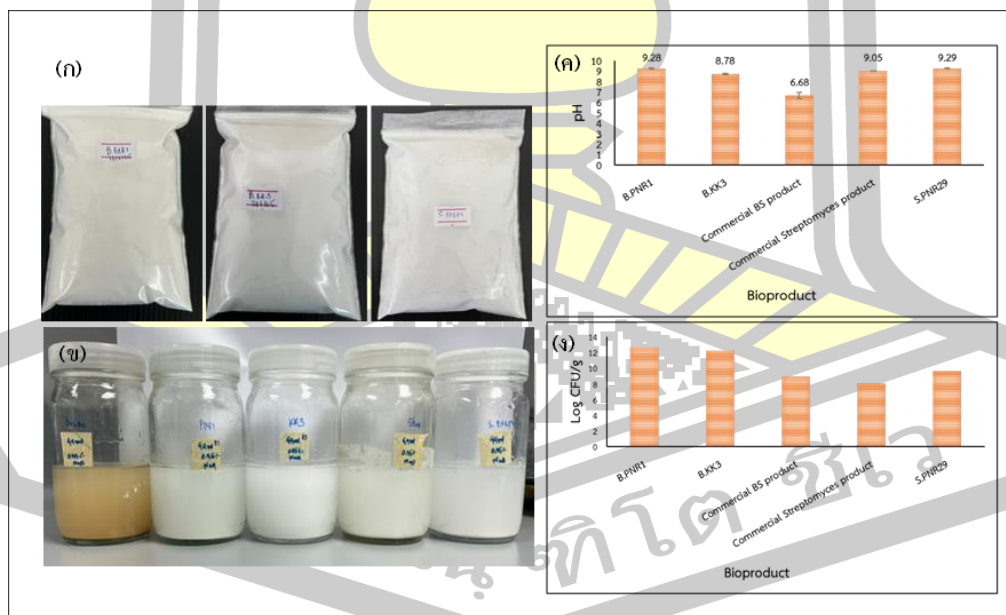
ก-ข) ชุดควบคุม ค-ง) เซลล์แวนลอยเชื้อ S.PNR29 จ-ฉ) เซลล์แวนลอยเชื้อ S.PNR30 ช-ซ) เซลล์แวนลอยเชื้อ S.PNR74 ฉ-ญ) เซลล์แวนลอยเชื้อ S.KK1 และ ฎ-ฏ) เซลล์แวนลอยเชื้อ S.PB5

4.13 การผลิตจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปของสารชีวภัณฑ์ชนิดผง

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จำนวน 2 ไอโซเลท และ *Streptomyces* spp. จำนวน 1 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศมาผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ และประเมินคุณสมบัติต่าง ๆ ของสารชีวภัณฑ์ที่ผลดังต่อไปนี้

4.13.1 คุณลักษณะจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปของสารชีวภัณฑ์ชนิดผง

จากการนำสารชีวภัณฑ์มาทำการละลายน้ำ วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และการตรวจนับจำนวนเชื้อเพื่อตรวจสอบการรอดชีวิตของเชื้อพบว่า สารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 มีลักษณะเป็นผงสีขาว สามารถละลายน้ำได้ดี (ภาพที่ 26 ก-ข) สารชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1 และ B.KK3 จะมีค่า pH อยู่ในช่วง 8.78-9.28 เมื่อเปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์ทางการค้า *Bacillus subtilis* (BS) พบว่าสารชีวภัณฑ์ทางการค้า BS มีค่า pH อยู่ในช่วง 6.68 ส่วนสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR29 จะมีค่า pH อยู่ในช่วง 9.29 28 เมื่อเปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์ทางการค้า *Streptomyces* sp. พบว่าสารชีวภัณฑ์ทางการค้า *Streptomyces* sp. จะมีค่า pH อยู่ในช่วง 9.05 (ภาพที่ 26 ค) และเมื่อทำการตรวจนับจำนวนเชื้อพบว่า สารชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.KK3, S.PNR29, BS ทางการค้า และ *Streptomyces* ทางการค้า มีจำนวนเชื้อเฉลี่ย 4.38×10^{12} , 1.65×10^{12} , 4.63×10^9 , 8.60×10^8 และ 1.04×10^8 CFU/g ตามลำดับ (ภาพที่ 26 ง)



ภาพที่ 26 ลักษณะจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปของสารชีวภัณฑ์ชนิดผง

ก-ข) ลักษณะผงของสารชีวภัณฑ์และการละลายน้ำ ค) ค่าความเป็นกรด-ด่างของชีวภัณฑ์ และ ง) จำนวนอัตราการมีชีวิตรอดของสารชีวภัณฑ์

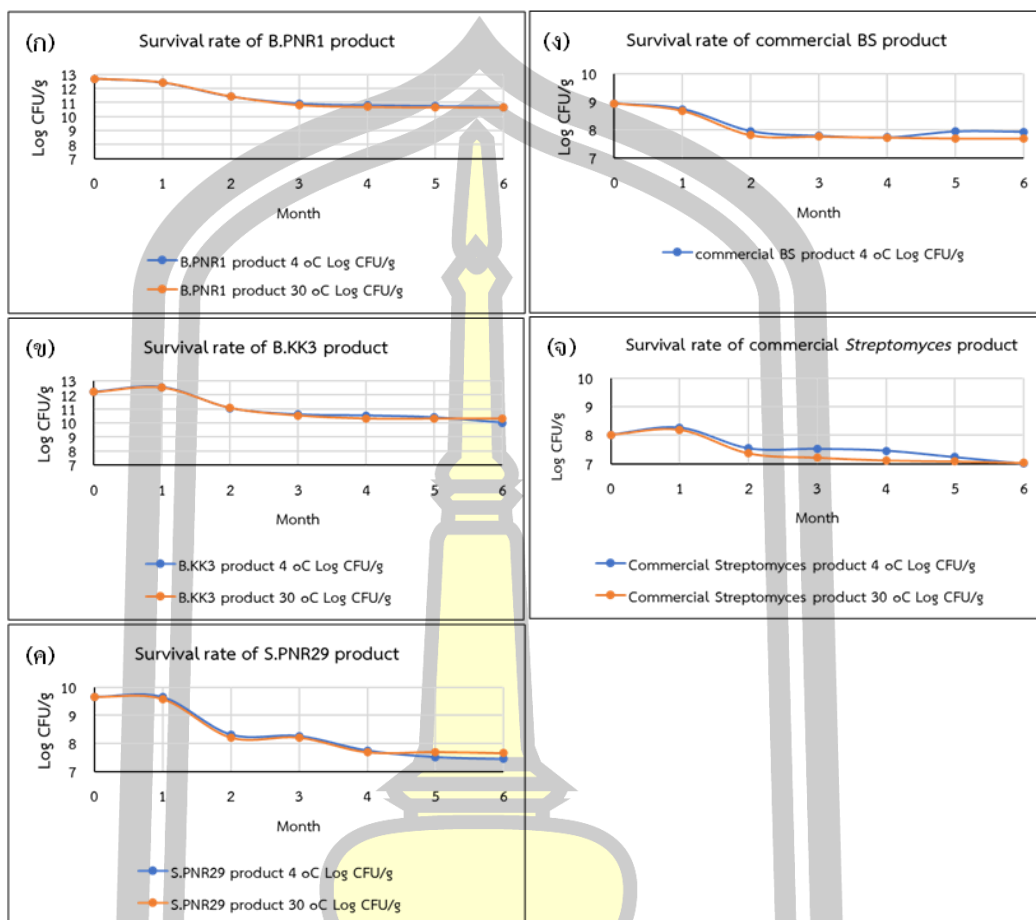
4.13.2 การมีชีวิตรอดของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารชีวภัณฑ์

จากการนำสารชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.KK3, S.PNR29, BS ทางการค้า และ *Streptomyces* ทางการค้า มาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส แล้วทำการสูมนับจำนวนจุลินทรีย์จากในตัวอย่างทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บสารชีวภัณฑ์ 4 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียไม่แตกต่างกัน แต่ระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บสารชีวภัณฑ์มีผลต่ออัตราการรอดชีวิต โดยจากการศึกษาพบว่า สารชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.KK3, S.PNR29, BS ทางการค้า และ *Streptomyces* ทางการค้า จะมีอัตราการรอดชีวิตลดลงในเดือนที่ 1 และ เดือนที่ 2 และเริ่มมีอัตราการรอดชีวิตที่คงที่ในเดือนที่ 3-6 เป็นต้นไป (ภาพที่ 27)

4.13.3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 ที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์

จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 ที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อแบคทีเรีย B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศเมื่อวิเคราะห์ผลจากค่าร้อยละการยับยั้งพบว่า เชื้อแบคทีเรีย B.PNR1 และ S.PNR29 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* TFPK401 และมีค่าร้อยละการยับยั้งที่มากกว่าร้อยละ 50 ในเดือนที่ 1-4 แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป 5-6 เดือน ค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* TFPK401 เริ่มลดลงและมีค่าร้อยละการยับยั้งน้อยกว่าร้อยละ 50 ในส่วนเชื้อ B.KK3 ที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* TFPK401 ได้ แต่ค่าร้อยละการยับยั้งมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 50 และค่าร้อยละการยับยั้งลดลงเรื่อย ๆ เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษายาวนานขึ้น (ภาพที่ 28)

พูน ปณ ทิโต ชีเว



ภาพที่ 27 การมีชีวิตรอดของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.KK3, S.PNR29, BS ทางการค้า และ *Streptomyces* ทางการค้า ในสารชีวภัณฑ์อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน

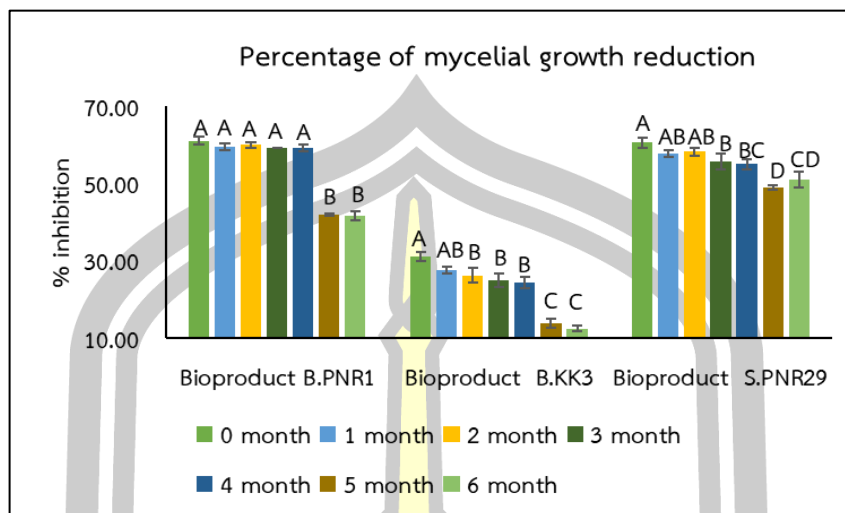
ก) อัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1

ข) อัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.KK3

ค) อัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR29

ง) อัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ BS ทางการค้า

จ) อัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. ทางการค้า

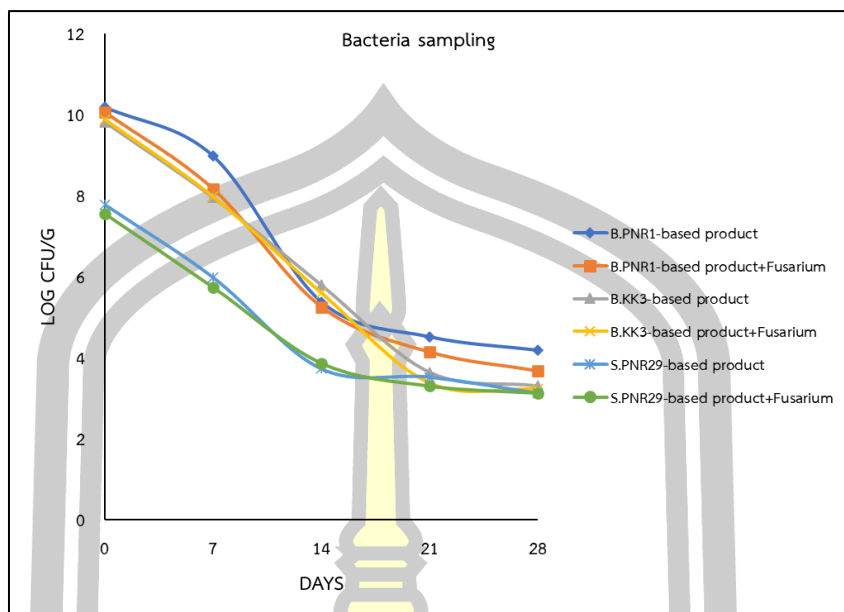


ภาพที่ 28 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียโอโวลเทท B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 ที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์ที่เก็บรักษาในระยะเวลาต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ

4.13.4 การทดสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในสารชีวภัณฑ์ในสภาพดินปลูกในระดับกระถาง

เมื่อนำสารชีวภัณฑ์ B.PNR1, B.KK3 ที่มีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 1×10^{12} cfu/g และสารชีวภัณฑ์ S.PNR29 ที่มีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 1×10^9 cfu/g รดลงในดินปลูกที่ปลูกมะเขือเทศ และรดลงในดินปลูกมะเขือเทศที่มีเชื้อรา *Fol* TFPK401 หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างดินที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน นำมาหาอัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์ด้วยวิธี dilution spread plate พบว่าสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรีย B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 มีอัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์ลดลงหลังจากที่ทำการรดชีวภัณฑ์ลงในต้นมะเขือเทศที่มีหรือไม่มีเชื้อรา *Fol* TFPK401 และอัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 28 วัน และจากการวิเคราะห์ข้อมูลอัตราการรอดชีวิตของสารชีวภัณฑ์ที่ใช้ในการรดต้นมะเขือเทศที่มีหรือไม่มีเชื้อรา *Fol* TFPK401 พบว่าอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 29)

พูน ปณ ทิโต ชเว



ภาพที่ 29 การมีชีวิตรอดของสารชีวภัณฑ์ในสภาพดินปลูกในระดับกระถาง

4.13.5 การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง

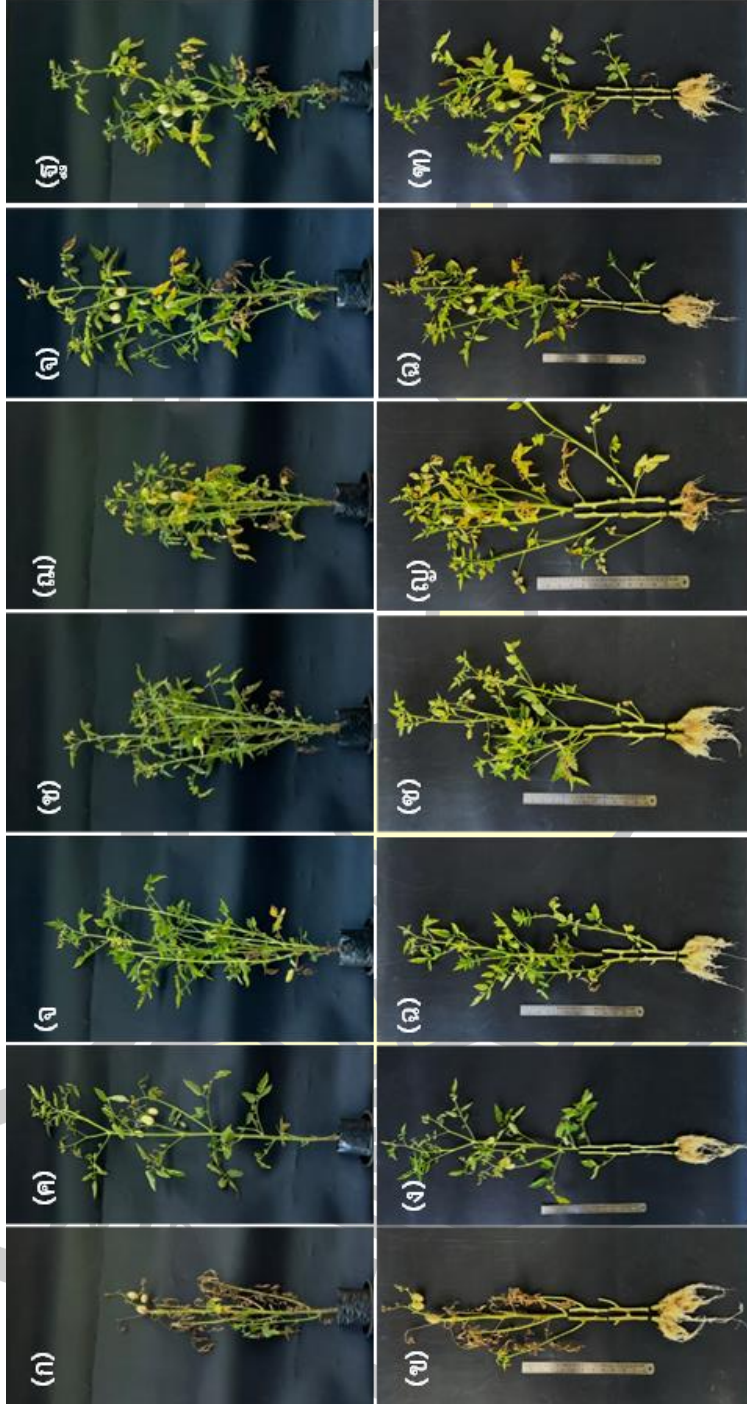
จากการนำสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 มาทำการทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถางเทียบกับสารชีวภัณฑ์ BS ทางการค้า และ *Streptomyces* sp. ทางการค้าพบว่า สารชีวภัณฑ์ที่สามารถลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เป็น negative (control A) และ positive (control B) คือ สารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะ B.PNR1 รองลงมาคือ B.KK3, สารชีวภัณฑ์ BS ทางการค้า, สารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* sp. ทางการค้า และ S.PNR29 ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของโรค (DSS) อยู่ในช่วง 1.60 ± 0.25 - 3.60 ± 0.25 ค่าดัชนีการเกิดโรค (DI) อยู่ในช่วงร้อยละ 32-72 และค่าการควบคุมโรค (DC) อยู่ในช่วงร้อยละ 28-68 (ตาราง 23 และภาพที่ 30)

ตาราง 23 สารชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศใน
ระดับกระถาง

ชุดทดสอบ	ชีวภัณฑ์		
	การป้องกันการเกิดโรค		
	DSS* (1-5)	DI (%)	DC (%)
Control A	1.00±0.00 ^E	0	100
Control B	5.00±0.00 ^A	100	0
B.PNR1 (10 ¹⁰)	1.60±0.25 ^D	32	68
B.KK3 (10 ⁹)	1.80±0.20 ^D	36	64
S.PNR29 (10 ⁷)	3.60±0.25 ^B	72	28
Commercial BS (10 ⁹) product	2.80±0.20 ^C	56	44
commercial <i>Streptomyces</i> (10 ⁷) product	3.20±0.20 ^{BC}	64	36

หมายเหตุ ^{A, B, และ C} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05), ¹หมายถึง Disease severity score, ²หมายถึง Disease index (%), ³หมายถึง Disease control (%)

ศูนย์ ปณ. ที. โตะ ชี. เว



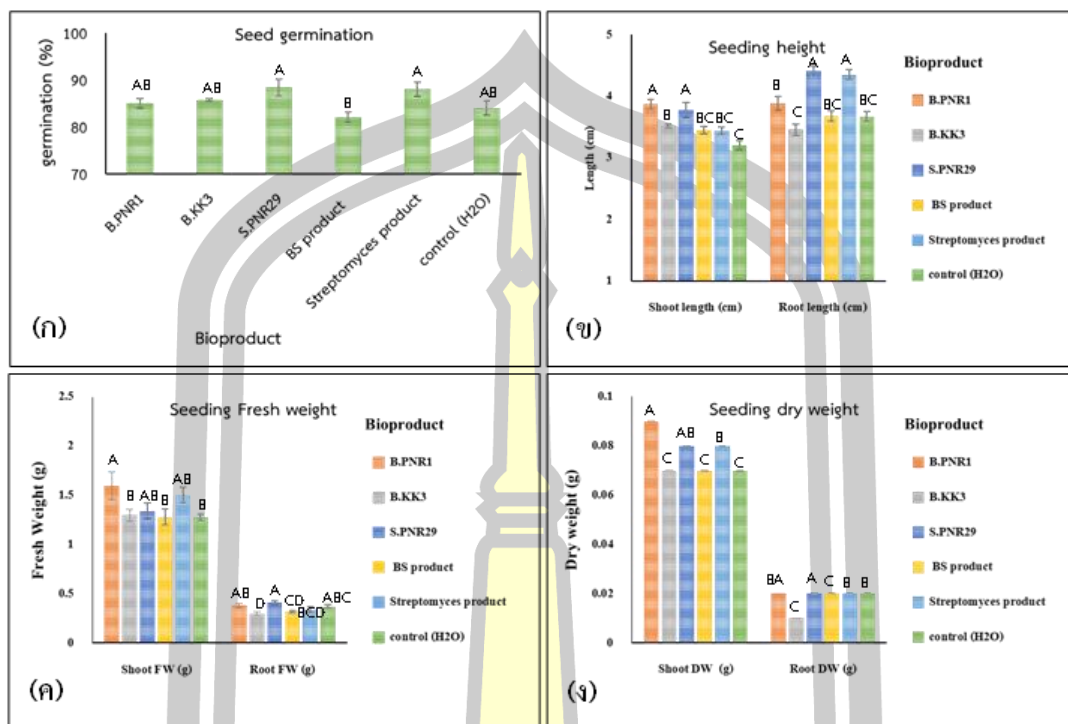
ภาพที่ 30 ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรครากเน่าเหี่ยวของมะเขือเทศในระดัดบกระถาง

ก-ข) Positive control ค-ง) Negative control จ-ฉ) สารชีวภัณฑ์ B.PNR1 ซ-ช) สารชีวภัณฑ์ B.KK3 ฉ-ญ) สารชีวภัณฑ์ S.PNR29 ฎ-ฎ) สารชีวภัณฑ์ BS ทางการค้า และ ฐ-ฑ) สารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ทางการค้า

4.13.6 การทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการนำสารชีวภัณฑ์ในรูปแบบผงของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 มาทำการทดสอบประสิทธิภาพการส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการเทียบกับสารชีวภัณฑ์ทางการค้าพบว่า สารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรีย B.PNR1, B.KK3, S.PNR29 สารชีวภัณฑ์ BS ทางการค้า และสารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ทางการค้าส่งผลต่อการงอกเมล็ดของมะเขือเทศไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และจากการวิเคราะห์ข้อมูลร้อยละการงอกพบว่า สารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ S.PNR29 และสารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ทางการค้าสามารถส่งเสริมการงอกเมล็ดของมะเขือเทศได้ดีที่สุดและแตกต่างจากสารชีวภัณฑ์ BS ทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 31 ก) ในการวิเคราะห์ข้อมูลความยาวลำต้นและรากมะเขือเทศพบว่า สารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ B.PNR1, B.KK3 และ S.PNR29 สามารถส่งเสริมให้ลำต้นมะเขือเทศยาวกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้สารชีวภัณฑ์จาก S.PNR29 สามารถส่งเสริมความยาวรากของมะเขือเทศได้ดีเทียบเท่ากับสารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ทางการค้า และแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 31 ข) ในการวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักสดลำต้นและรากมะเขือเทศพบว่าสารชีวภัณฑ์จาก B.PNR1 สามารถส่งเสริมน้ำหนักลำต้นของมะเขือเทศดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าน้ำหนักสดรากพบว่าสารชีวภัณฑ์บางชนิดส่งผลให้น้ำหนักสดรากน้อยกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพที่ 31 ค) และในการวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักแห้งลำต้นและรากมะเขือเทศพบว่า สารชีวภัณฑ์จาก B.PNR1, S.PNR29 และ *Streptomyces* ทางการค้าสามารถส่งเสริมให้น้ำหนักแห้งลำต้นมะเขือเทศดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยิ่งไปกว่านั้นสารชีวภัณฑ์จาก S.PNR29 สามารถส่งเสริมน้ำหนักแห้งรากของมะเขือเทศดีกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 31 ง)

พูน ปณ ทิโต ชีเว



ภาพที่ 31 ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ

ก) ร้อยละการงอกเมล็ดของมะเขือเทศ ข) ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ที่ส่งผลต่อความยาวลำต้นและความยาวรากมะเขือเทศ ค) ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ที่ส่งผลต่อน้ำหนักสดลำต้นและรากมะเขือเทศ และ ง) ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ที่ส่งผลต่อน้ำหนักแห้งลำต้นและรากมะเขือเทศ

4.13.7 ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถาง

จากการนำเมล็ดมะเขือเทศมาทำการแช่ด้วยด้วยสารละลายชีวภัณฑ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนทำการปลูก และทำการรดด้วยสารละลายชีวภัณฑ์ทุก 7 วัน พบว่า สารละลายชีวภัณฑ์แต่ละชนิดส่งผลต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศแตกต่างกัน โดยจากการทดสอบพบว่า สารชีวภัณฑ์จาก B.PNR1 สามารถส่งเสริมความยาวลำต้น ความยาวราก ความยาวทั้งหมด น้ำหนักแห้งลำต้นและราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมด ได้ดีที่สุดในและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือ สารชีวภัณฑ์จาก *Streptomyces* ทางการค้า สารชีวภัณฑ์ BS ทางการค้า สารชีวภัณฑ์จาก S.PNR29 และสารชีวภัณฑ์จาก B.KK3 ตามลำดับ (ตาราง 24) และจากการนำสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์

ไปทำการทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศในระดับกระถางพบว่า สารชีวภัณฑ์จากจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ แต่ประสิทธิภาพแตกต่างกัน โดยจากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า สารชีวภัณฑ์จาก B.PNR1, S.PNR29 และ *Streptomyces* ทางการค้า สามารถส่งเสริมให้น้ำหนักแห้งลำต้น น้ำหนักแห้งราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดของต้นมะเขือเทศดีกว่าสารชีวภัณฑ์จาก B.KK3 และ สารชีวภัณฑ์ BS ทางการค้า และแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลในส่วนของความยาวต้นมะเขือเทศพบว่า สารชีวภัณฑ์จาก B.PNR1, B.KK3, S.PNR29 และสารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ทางการค้า สามารถส่งเสริมให้ลำต้นของมะเขือเทศยาวกว่าสารชีวภัณฑ์ BS ทางการค้าและชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนั้นสารชีวภัณฑ์จาก S.PNR29 และ สารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ทางการค้า สามารถส่งเสริมให้ความยาวทั้งหมดของต้นมะเขือเทศยาวกว่าและแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 25 และภาพที่ 32)

4.14 การศึกษาคุณลักษณะจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* และ *Streptomyces* ที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อราโรคเหี่ยวเหลือง และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

4.14.1 การระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 โดยการศึกษาข้อมูลจีโนมของเชื้อด้วยวิธี Next Generation sequencing (NGS) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 มีขนาดของจีโนม 4,161,238 คู่เบส (bp) มีจำนวน 8 contigs มีร้อยละของกัวนีนและไซโตซีน (GC content) เท่ากับ 43.83 (ตาราง 26) และเมื่อทำการวิเคราะห์การหาค่าดัชนีนิวคลีโอไทด์โดยเฉลี่ย (ANIb และ ANIm) ค่า digital DNA : DNA hybridization (%dDDH) การเปรียบเทียบข้อมูลจีโนมกับฐานข้อมูล Type (Strain) Genome Server และการศึกษาลำดับยีน *gyrB* เพื่อสร้างแผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus stercoris* D7XPN1 (ตาราง 27 และภาพที่ 33) และจากการวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 เพื่อทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะและสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วยโปรแกรม antiSMASH และ KEGG pathway พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1 มียีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น fengycin, bacillaene, bacilysin, subtilosin A และ surfactin (ตาราง 28, 29 และภาพที่ 34) นอกจากนั้นเชื้อยังมียีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารที่ใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร bacillibactin และยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตฮอร์โมนออกซิน เป็นต้น (ตาราง 30)

ตาราง 24 การทดลองชุดที่ 1 ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตระยะเชื้อเห็ดในระดับโรงเพาะ

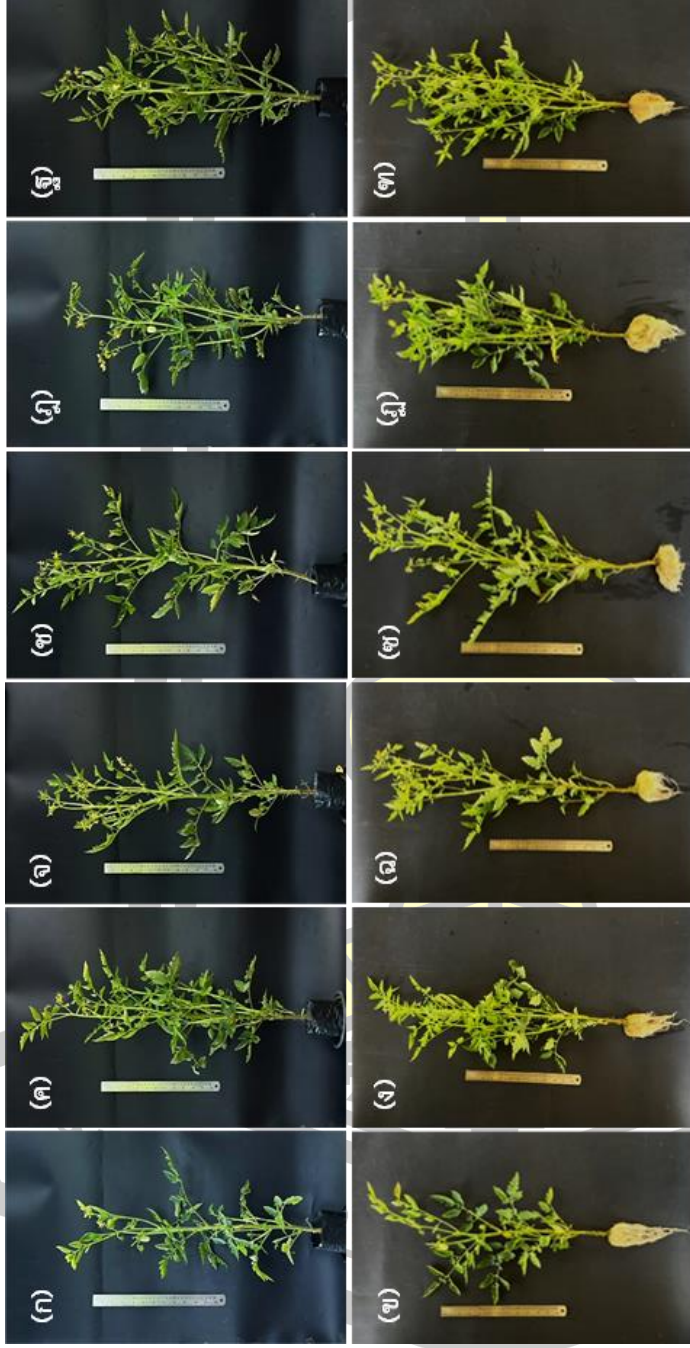
ชุดทดลอง	ความยาวทั้งหมด (cm)	ความยาวลำต้น (cm)	ความยาวราก (cm)	น้ำหนักแห้งทั้งหมด (g)	น้ำหนักแห้งลำต้น (g)	น้ำหนักแห้งราก (g)
B.PNR1 product	44.08±0.66 ^B	19.78±0.59 ^A	24.31±0.31 ^B	0.41±0.12 ^{AB}	0.34±0.02 ^{AB}	0.08±0.00 ^{AB}
B.KK3 product	41.59±0.67 ^C	19.68±0.64 ^A	21.92±0.30 ^D	0.19±0.02 ^D	0.14±0.01 ^D	0.04±0.00 ^C
S.PNR29 product	46.64±0.56 ^A	20.43±0.36 ^A	26.21±0.33 ^A	0.35±0.03 ^{BC}	0.27±0.02 ^C	0.08±0.01 ^A
commercial BS product	44.17±0.41 ^B	20.90±0.28 ^A	23.27±0.49 ^C	0.37±0.04 ^B	0.29±0.03 ^{BC}	0.08±0.01 ^A
commercial <i>Streptomyces</i> product	42.77±0.78 ^{BC}	17.32±0.52 ^B	25.45±0.35 ^A	0.47±0.02 ^A	0.38±0.02 ^A	0.09±0.00 ^A
control	39.09±0.74 ^D	17.24±0.36 ^B	21.85±0.34 ^D	0.30±0.02 ^C	0.24±0.02 ^C	0.06±0.01 ^B

หมายเหตุ ^{A, B, C และ D} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตาราง 25 การทดลองชุดที่ 2 ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในกระถาง

ชุดทดสอบ	ความยาวทั้งหมด (cm)	ความยาวลำต้น (cm)	ความยาวราก (cm)	น้ำหนักแห้งทั้งหมด (g)	น้ำหนักแห้งลำต้น (g)	น้ำหนักแห้งราก (g)
B.PNR1 product	95.50±1.34 ^B	77.25±0.88 ^A	18.25±1.70 ^{BC}	14.39±0.45 ^{AB}	12.33±0.48 ^A	2.06±0.35 ^B
B.KK3 product	94.38±1.76 ^B	77.13±3.82 ^A	17.25±2.42 ^C	12.14±0.20 ^C	10.27±0.60 ^B	1.86±0.24 ^{BC}
S.PNR29 product	103.93±1.40 ^A	83.30±0.94 ^A	20.63±1.05 ^{ABC}	13.77±1.01 ^B	11.74±0.68 ^A	2.04±0.41 ^B
commercial BS product	85.98±1.70 ^C	69.10±1.58 ^B	16.88±0.24 ^C	10.28±0.20 ^D	8.98±0.26 ^C	1.30±0.90 ^{BC}
commercial Strep. product	105.58±2.48 ^A	82.83±1.09 ^S	22.75±1.59 ^{AB}	15.66±0.58 ^A	12.63±0.43 ^A	3.03±0.32 ^A
control	92.25±0.78 ^B	68.13±2.44 ^B	24.13±1.80 ^A	8.72±0.24 ^E	7.06±0.21 ^D	1.12±0.07 ^C

หมายเหตุ ^{A, B, C และ D} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



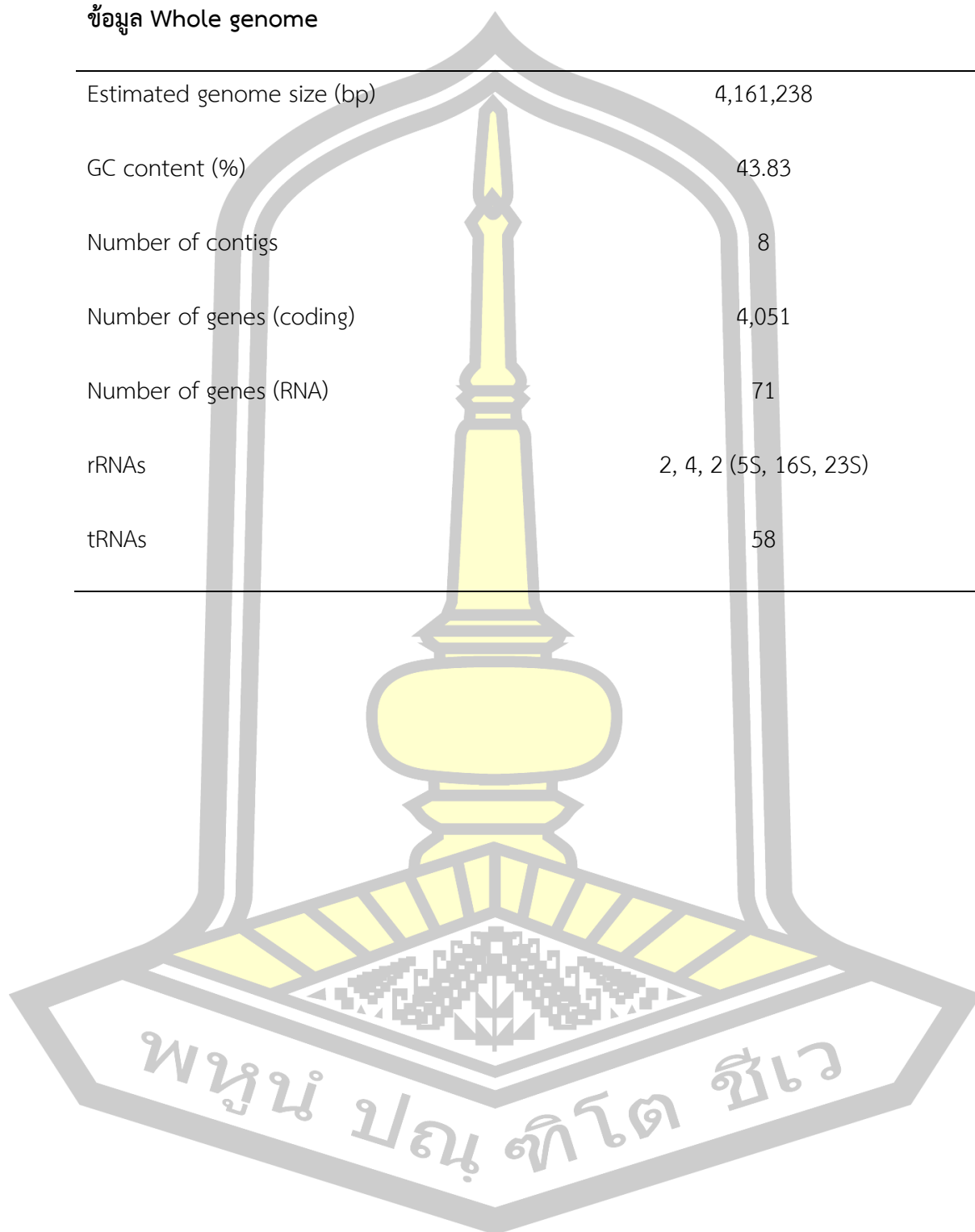
ภาพที่ 32 ประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดบการฉาง

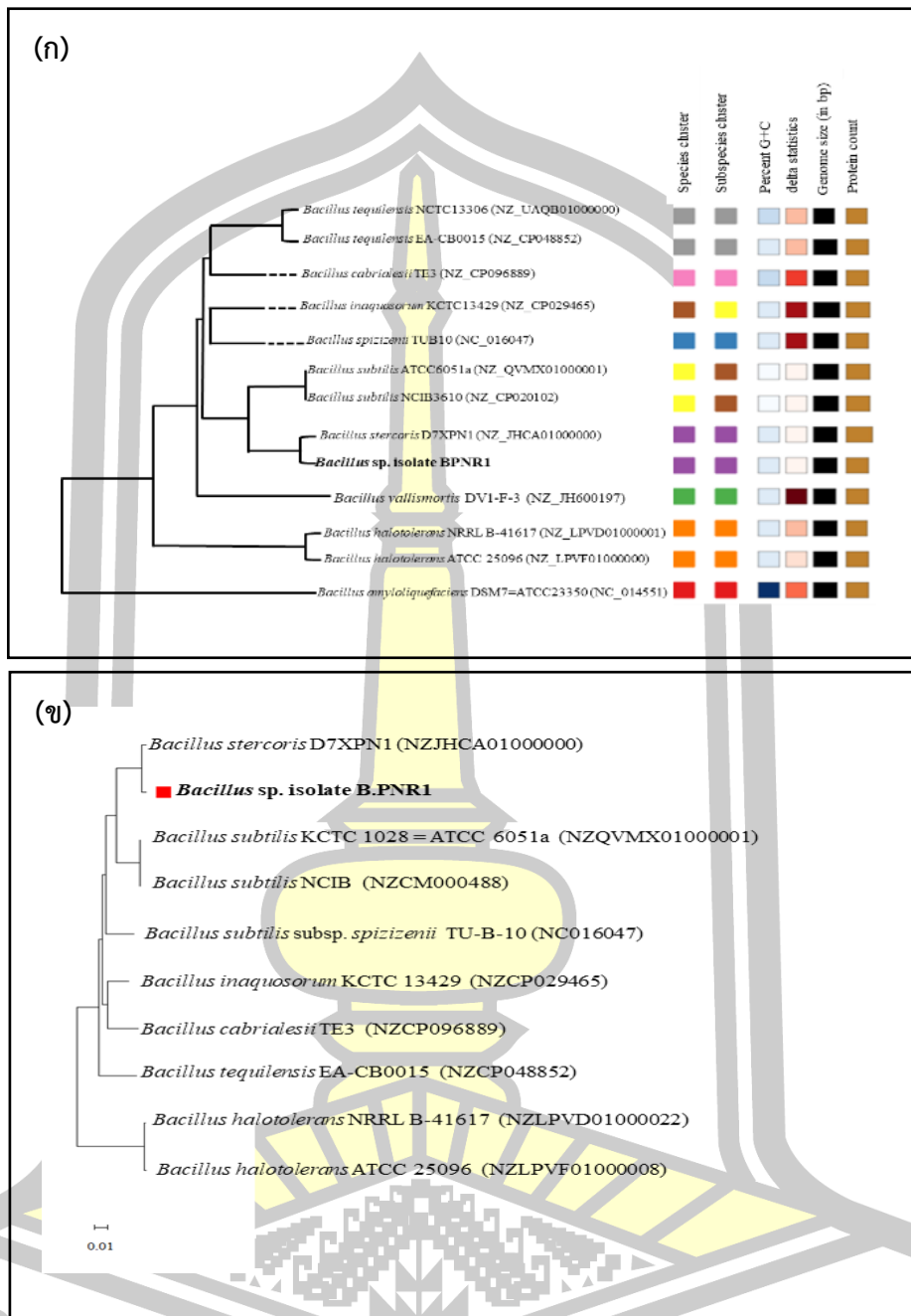
ก-ข) Positive control (ค-ง) สารชีวภัณฑ์ B.PNR1 จ-ฉ) สารชีวภัณฑ์ B.KK3 ช-ศ) สารชีวภัณฑ์ S.PNR29 ฉ-ฎ) สารชีวภัณฑ์ BS ทางการค้า และ ฐ-ช) สารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ทางการค้า

ตาราง 26 คุณลักษณะจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิกาย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1

ข้อมูล Whole genome

Estimated genome size (bp)	4,161,238
GC content (%)	43.83
Number of contigs	8
Number of genes (coding)	4,051
Number of genes (RNA)	71
rRNAs	2, 4, 2 (5S, 16S, 23S)
tRNAs	58





ภาพที่ 33 การระบุชนิดและการจัดจำแนกความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ Bacillus ไโอโซเลท B.PNR1

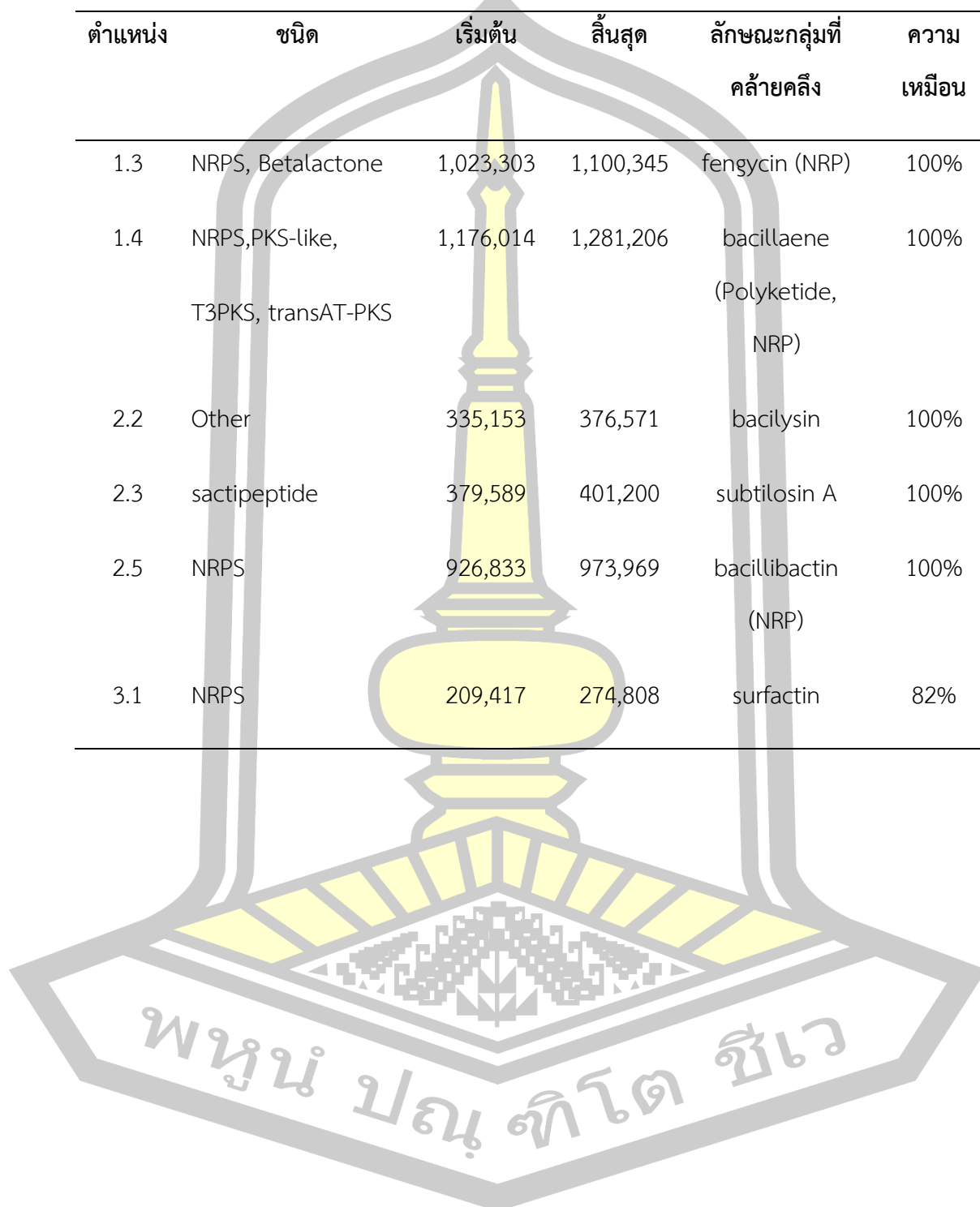
ก) แผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ของเชื้อโดยใช้ Type (Strain) Genome Server และ ข) แผนภูมิต้นไม้ของเชื้อโดยการศึกษาลำดับยีน *gyrB*

ตาราง 27 ดัชนีนิวคลีโอไทด์โดยเฉลี่ย (ANIb และ ANIm) และค่า digital DNA : DNA hybridization (%dDDH) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิบััษ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1

จีโนม	จีโนมอ้างอิง	ANIb	ANIm	dDDH
B.PNR1	<i>B. stercoris</i> D7XPN1	98.41	*	87.80 (ct=85.3 - 90%)
	<i>B. subtilis</i> KCTC 1028= ATCC6051a	95.17	*	62.40 (ct=59.5 - 65.2%)
	<i>B. subtilis</i> NCIB 3610	95.18	*	62.60 (ct=59.7 - 65.4%)
	<i>B. subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> TU-B-10	92.27	*	48.70 (ct=46.1 - 51.3%)
	<i>B. inaquosorum</i> KCTC 13429	92.29	*	48.60 (ct= 46 - 51.2%)
	<i>B. cabrialesii</i> TE3	91.94	*	46.90 (ct= 44.3 - 49.5%)
	<i>B. tequilensis</i> EA-CB0015	90.89	*	44.10 (ct=41.5 - 46.6%)
	<i>B. tequilensis</i> NCTC13306	90.57	*	38.90 (ct=36.4 - 41.4%)

ตาราง 28 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์ (BGCs) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 โดยใช้ “antiSMASH”

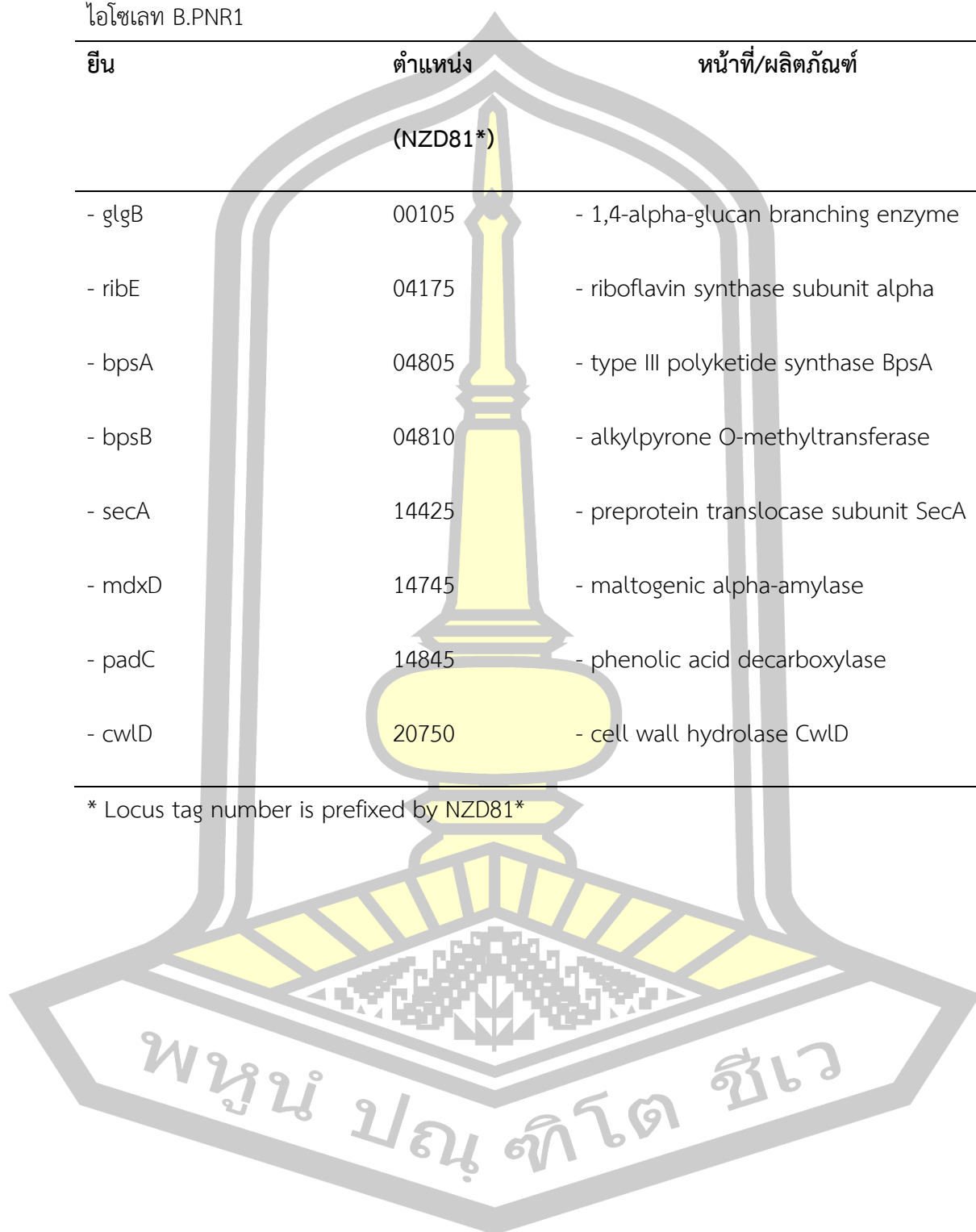
ตำแหน่ง	ชนิด	เริ่มต้น	สิ้นสุด	ลักษณะกลุ่มที่คล้ายคลึง	ความเหมือน
1.3	NRPS, Betalactone	1,023,303	1,100,345	fengycin (NRP)	100%
1.4	NRPS,PKS-like, T3PKS, transAT-PKS	1,176,014	1,281,206	bacillaene (Polyketide, NRP)	100%
2.2	Other	335,153	376,571	bacilysin	100%
2.3	sactipeptide	379,589	401,200	subtilosin A	100%
2.5	NRPS	926,833	973,969	bacillibactin (NRP)	100%
3.1	NRPS	209,417	274,808	surfactin	82%

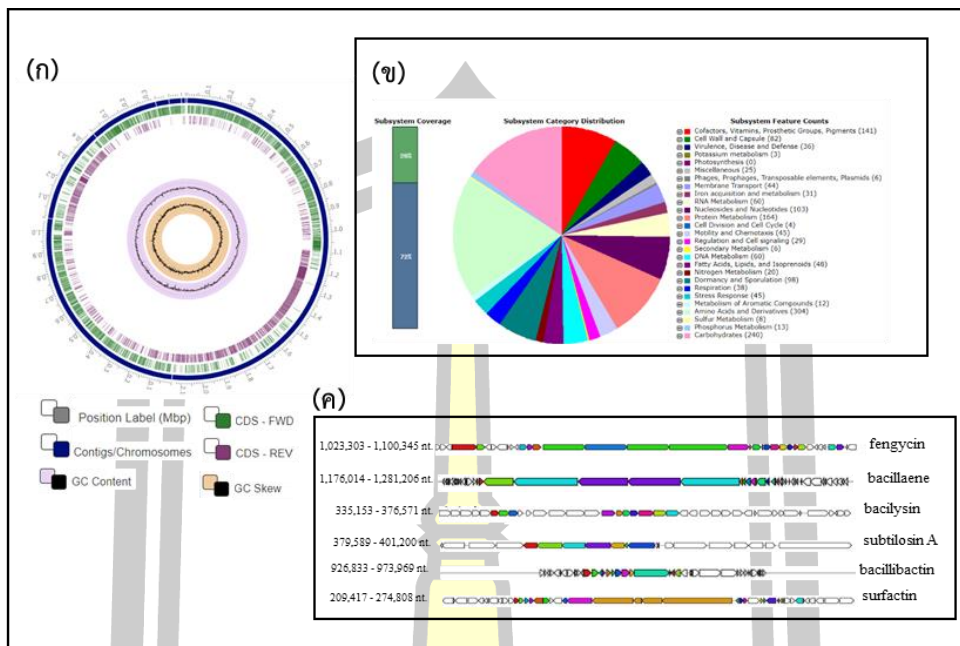


ตาราง 29 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไโอโซเลท B.PNR1

ยีน	ตำแหน่ง (NZD81*)	หน้าที่/ผลิตภัณฑ์
- glgB	00105	- 1,4-alpha-glucan branching enzyme
- ribE	04175	- riboflavin synthase subunit alpha
- bpsA	04805	- type III polyketide synthase BpsA
- bpsB	04810	- alkylpyrone O-methyltransferase
- secA	14425	- preprotein translocase subunit SecA
- mdxD	14745	- maltogenic alpha-amylase
- padC	14845	- phenolic acid decarboxylase
- cwID	20750	- cell wall hydrolase CwID

* Locus tag number is prefixed by NZD81*





ภาพที่ 34 การวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 เพื่อทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะและสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยใช้โปรแกรม antiSMASH และ KEGG pathway

ตาราง 30 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1

ยีน	ตำแหน่ง (NZD81*)	หน้าที่/ผลิตภัณฑ์	กระบวนการ
- trpD	04480	- anthranilate phosphoribosyltransferase	
- trpB	04495	- tryptophan synthase subunit beta	Auxin biosynthesis
- trpA	04500	- tryptophan synthase subunit alpha	
- dhbC	16155	- isochorismate synthase DhbC	
- dhbF	16170	- siderophore biosynthesis non-ribosomal peptide synthetase DhbF	Bacillibactin Siderophore

* Locus tag number is prefixed by NZD81*

ตาราง 30 (ต่อ)

ยีน	ตำแหน่ง	หน้าที่/ผลิตภัณฑ์	กระบวนการ
(NZD81*)			
- walK	11685	- cell wall metabolism sensor histidine kinase Walk	
- efeU	12885	- MBL fold metallo-hydrolase (Zn-dependent hydrolase YycJ/WaU)	Iron acquisition and metabolism
- efeM	12890	- ferrous ion permease EfeU	
- efeB	12895	- iron uptake system lipoprotein EfeM - iron uptake transporter (Ferrous iron transport peroxidase EfeB)	
- ureB	13715	- urease subunit beta	
- ureC	13720	- urease subunit alpha	
- ureA	13710	- urease subunit gamma	Urea decomposition
- nasD	18075	- NADPH-nitrite reductase	Nitrogen Metabolism
- nirD	18080	- nitrite reductase small subunit NirD	

* Locus tag number is prefixed by NZD81*

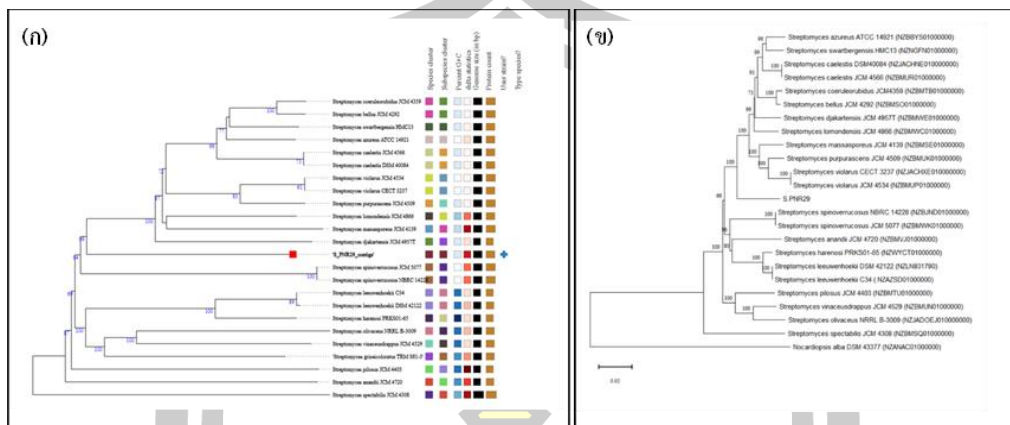
4.14.2 การระบุชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 โดยการศึกษาลำดับจีโนมของเชื้อด้วยวิธี Next Generation sequencing (NGS) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 มีขนาดของจีโนม 9,246,610 คู่เบส (bp) มีจำนวน 45 contigs มีร้อยละของกัวนีนและไซโตซีน (GC content) เท่ากับ 70.99 (ตาราง 31) และเมื่อทำการวิเคราะห์ลำดับเบสของจีโนมพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับเชื้อ *S. djakartensis*, *S. massasporeous*, *S. lomondensis*, *S. purpurascens*, *S. violarius*, *S. caelestis*, *S. azureus*, *S. swartbergensis*, *S. Bellus* และ *S. coeruleorubidus* (ภาพที่ 35) และจากการวิเคราะห์ค่า ANIb, ANIm และ dDDH ของจีโนมเชื้อแบคทีเรีย S.PNR29 เทียบกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่มีในฐานข้อมูล

TYGS พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 มีค่า ANIb, ANIm และ dDDH ใกล้ชิดกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน *S. swartbergensis* HMC13, *S. azureus* ATCC 14921, *S. bellus* JCM 4292 และ *S. caelestis* DSM40084 มากที่สุด โดยค่าดัชนีนิวคลีโอไทด์เฉลี่ยและค่า dDDH ของเชื้ออยู่ในช่วง 83.99-84.12%, 87.69-87.79% และ 30.20-30.70% ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ดังกล่าวมีค่าต่ำกว่าค่า cut off ที่ใช้ในการจัดจำแนกเชื้อในกลุ่มโพรคาริโอต (ตาราง 32) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 อาจเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* สปีชีส์ใหม่ และจากการวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 เพื่อทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะและสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยจากการศึกษาข้อมูลด้วยโปรแกรม antiSMASH และ KEGG pathway พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S.PNR29 มียีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น oligomycin และ germicidin นอกจากนี้ยังพบกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารในกลุ่ม polyketide และ terpenes เช่น กลุ่มยีน NRPS ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร albaflavenone และ tyrobetaine ตามลำดับ (ตาราง 33, 34 และ ภาพที่ 36) นอกจากนี้เชื้อยังมียีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารที่ใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ carbohydrate digesting enzyme (Chitinase C) ยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร siderophore (desferrioxamine B / desferrioxamine E) และยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC) เป็นต้น (ตาราง 35)

ตาราง 31 คุณลักษณะจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29

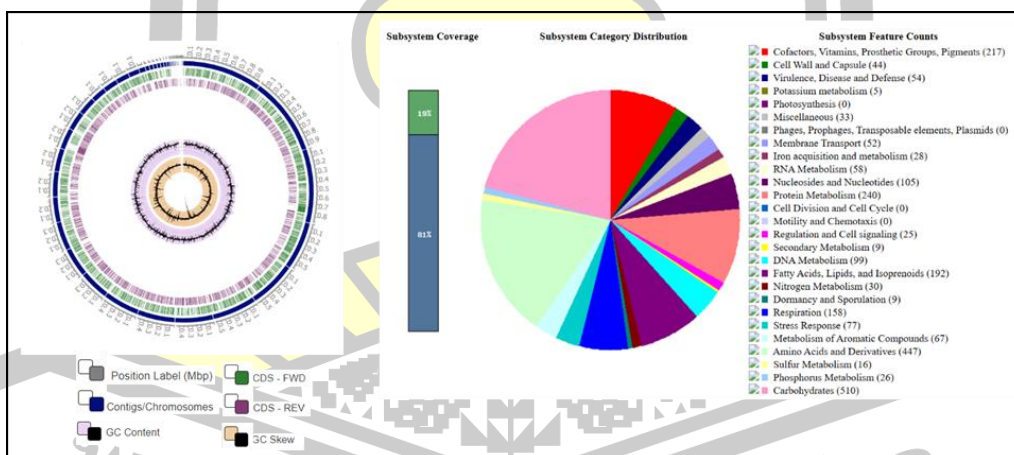
ข้อมูล Whole genome

Estimated genome size (bp)	9,246,610
GC content (%)	70.99
Number of contigs	45
Number of genes (coding)	7,900
Number of genes (RNA)	81
rRNAs	5, 2, 2 (5S, 16S, 23S)
tRNAs	69



ภาพที่ 35 การระบุชนิดและการจัดจำแนกความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29

ก) แผนภูมิต้นไม้ (phylogenetic tree) ของเชื้อโดยใช้ Type (Strain) Genome Server และ ข) แผนภูมิต้นไม้ของเชื้อโดยการศึกษา multi locus sequence analysis (MLSA)



ภาพที่ 36 การวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 เพื่อทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะและสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยใช้โปรแกรม KEGG pathway

ตาราง 32 ดัชนีนิวคลีโอไทด์โดยเฉลี่ย (ANIb และ ANIm) และค่า digital DNA : DNA hybridization (%dDDH) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29

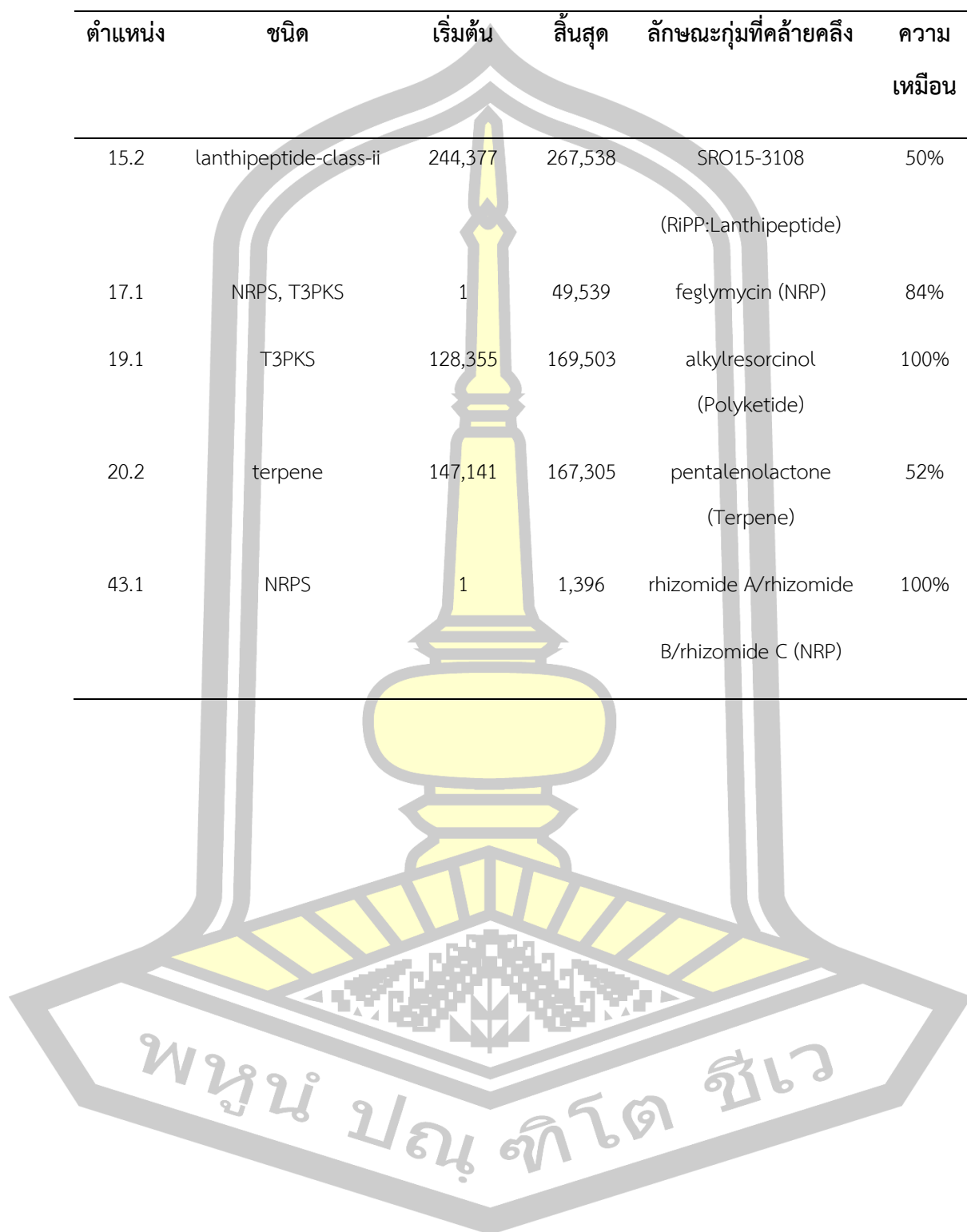
จีโนม	จีโนมอ้างอิง	ANIb	ANIm	dDDH
S. PNR29	<i>S. harenosi</i> PRKS01-65	82.72	87.50	29.40 (ct=27.00 – 31.90%)
	<i>S. leeuwenhoekii</i> C34	82.65	87.53	29.50 (ct=27.10 – 32.00%)
	<i>S. leeuwenhoekii</i> DSM 42122	82.65	87.53	29.50 (ct=27.10 - 32%)
	<i>S. coeruleorubidus</i> JCM 4359T	83.98	87.65	30.00 (ct=27.60 - 32.50%)
	<i>S. azureus</i> ATCC 14921	84.09	87.73	30.20 (ct=27.80 - 32.7%)
	<i>S.s swartbergensis</i> HMC13	84.12	87.79	30.70 (ct=28.30 - 33.2%)
	<i>S. caelestis</i> DSM40084	83.99	87.69	30.20 (ct=27.80 - 32.7%)
	<i>S. caelestis</i> JCM 4566	83.98	87.69	30.10 (ct=27.70 - 32.6%)
	<i>S. djakartensis</i> JCM 4957T	83.18	87.49	29.50 (ct=27.10 - 32%)
	<i>S. bellus</i> JCM 4292	84.06	87.69	30.10 (ct=27.70 - 32.6%)
	<i>S. massaporeus</i> JCM 4139	83.15	87.24	29.20 (ct=26.80 - 31.7%)
	<i>S. lomondensis</i> JCM 4866	83.98	87.83	30.20 (ct=27.80 - 32.7%)
	<i>S. purpurascens</i> JCM 4509	83.78	87.52	29.70 (ct=27.30 - 32.2%)
	<i>S. violarius</i> CECT 3237	83.70	87.52	29.80 (ct=27.40 - 32.3%)
	<i>S. violarius</i> JCM 4534	83.71	87.52	29.80 (ct=27.40 - 32.3%)

ตาราง 33 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์ (BGCs) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 โดยใช้ “antiSMASH”

ตำแหน่ง	ชนิด	เริ่มต้น	สิ้นสุด	ลักษณะกลุ่มที่คล้ายคลึง	ความเหมือน
2.1	NRPS	52,774	101,134	SCO-2138 (RIPP)	42%
2.3	ectoine	828,066	838,464	ectoine (other)	100%
3.3	terpene	567,456	588,541	albaflavenone (Terpene)	100%
3.4	T1PKS, T2PKS	677,833	874,323	oligomycin (Polyketide)	88%
5.2	PKS-like, NRPS	522,429	555,624	tyrobetaine (NRP)	80%
6.3	siderophore	268,803	280,575	desferrioxamin B/desferrioxamine E (other)	83%
7.1	terpene	65,048	87,219	geosmin (Terpene)	100%
8.3	RiPPlike, lanthipeptideclass- iii	194,400	221,688	informatipeptin (RiPP:Lanthipeptide)	100%
9.2	T3PKS	371,730	412,914	germicidin (other)	100%
10.1	terpene	334,619	353,171	hopene (Terpene)	61%
12.1	melanin	62,438	72,803	melanin (other)	57%

ตาราง 33 (ต่อ)

ตำแหน่ง	ชนิด	เริ่มต้น	สิ้นสุด	ลักษณะกลุ่มที่คล้ายคลึง	ความเหมือน
15.2	lanthipeptide-class-ii	244,377	267,538	SRO15-3108 (RiPP:Lanthipeptide)	50%
17.1	NRPS, T3PKS	1	49,539	feglymycin (NRP)	84%
19.1	T3PKS	128,355	169,503	alkylresorcinol (Polyketide)	100%
20.2	terpene	147,141	167,305	pentalenolactone (Terpene)	52%
43.1	NRPS	1	1,396	rhizomide A/rhizomide B/rhizomide C (NRP)	100%



ตาราง 34 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์ (BGCs) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลต S.PNR29

ยีน	ตำแหน่ง (NW895*)	หน้าที่/ผลิตภัณฑ์
-	12335	-Polyketide chain length factor WhiE-CLF
-	12310	-Polyketide hydroxylase WhiE VIII
-	12340	-Polyketide beta-ketoacyl synthase WhiE-KS
-	12320	-Polyketide cyclase WhiE VII
-	12345	-Polyketide cyclase WhiE II
-	25965, 26480, 28295,	-Chitinase
-	28305, 33405, 22400,	
-	14830	
-	28710, 12485, 16175	-Alpha-amylase
-	02860, 12590, 15390	-Glucoamylase
-	28720, 12475	-1,4-alpha-glucan (glycogen) branching enzyme, GH-13-type

* Locus tag number is prefixed by NW895*

ตาราง 35 การทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากเชื้อแบคทีเรีย
 ปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29

ยีน	ตำแหน่ง (NZD81*)	หน้าที่/ผลิตภัณฑ์	กระบวนการ
-	18485	-Putative Desferrioxamine E transporter	
-	18490	-Hypothetical protein associated with desferrioxamine E biosynthesis	siderophore biosynthesis
<i>desA</i>	18495		
<i>desB</i>	18500	-Desferrioxamine E biosynthesis protein	
<i>desC</i>	18505		
<i>desD</i>	18510		
<i>ideR/dtxR</i>	03465	-Iron-dependent repressor	
-	06125	-Heme oxygenase	Iron acquisition and metabolism
<i>efeB</i>	37705, 06110	-Ferrous iron transport peroxidase	
<i>efeU</i>	37710, 06105	-Ferrous iron transport permease	
<i>efeO</i>	06115	-Ferrous iron transport periplasmic protein	

* Locus tag number is prefixed by NW895*

ตาราง 35 (ต่อ)

ยีน	ตำแหน่ง (NZD81*)	หน้าที่/ผลิตภัณฑ์	กระบวนการ
<i>ipdC</i>	25465	-Indole-3-pyruvate decarboxylase	
<i>trpA</i>	07235	-Tryptophan synthase alpha chain	
<i>trpD</i>	06690	-Anthranilate	Auxin
<i>trpB</i>	07230	phosphoribosyltransferase	biosynthesis
-	19965	-Tryptophan synthase beta chain -Monoamine oxidase	
<i>ureD</i>	35490		
<i>ureF</i>	35500	-Urease accessory protein	
<i>ureG</i>	35495		Urea
<i>ureB</i>	35510	-Urease beta subunit	decomposition
<i>ureA</i>	35515	-Urease gamma subunit	
<i>ureC</i>	35505	-Urease alpha subunit	
-	21320	-Siderophore biosynthesis diaminobutyrate--2-oxoglutarate aminotransferase	DAP (1,3- diaminopropane)
-	07410, 18495	-Siderophore biosynthesis L-2,4- diaminobutyrate decarboxylase	production

บทที่ 5

สรุป และอภิปรายผลการทดลอง

โรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ส่งผลกระทบต่อการเพาะปลูกมะเขือเทศเป็นอย่างมาก ทำให้สูญเสียผลผลิตของมะเขือเทศสูงถึงร้อยละ 90 (Hibar et al., 2006) ในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมา มีการนำสารเคมีมาใช้ในการควบคุมหรือป้องกันพืชผลจากจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพมากในการป้องกันพืชผล แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารเคมีที่เพิ่มขึ้นอาจจะทำให้เกิดผลเสียได้ เช่น การพัฒนาความต้านทานของเชื้อโรค เป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (Anitha & Rabeeth, 2009; El-Sheekh et al., 2020; Fravel et al., 2005) ดังนั้นจึงมีรายงานการศึกษาการใช้สารควบคุมทางชีวภาพจากแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อช่วยลดการเกิดโรคและลดความเสียหายที่เกิดจากการใช้สารเคมี ซึ่งแบคทีเรียปฏิปักษ์ เช่น *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* และ *Streptomyces* spp. มีรายงานว่าสามารถควบคุมโรค Fusarium wilt ของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Fol* ได้ (Anitha & Rabeeth, 2009; Bubici, 2018; Kawicha et al., 2020) โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีกลไกการควบคุมทางชีวภาพที่แตกต่างกัน เช่น การแข่งขันของสารอาหาร การผลิตยาปฏิชีวนะหรือสารทุติยภูมิ เช่น เอนไซม์ไฮโดรไลติกนอกเซลล์ และการชักนำการต่อต้านของพืชมีส่วนเกี่ยวข้องในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ (Das et al., 2008; Kamal & Sharma, 2014; Naureen et al., 2009; Oktay & Kemal, 2010) ซึ่งในปัจจุบันแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. เป็นแบคทีเรียที่มีรายงานการศึกษาและได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในการใช้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น เชื้อรา *Fusarium* ที่ก่อให้เกิดโรค Fusarium wilt ในพืชต่าง ๆ (Al-Askar et al., 2015; Anitha & Rabeeth, 2009; Anusha et al., 2019; Kamal & Sharma, 2014)

โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. จากดินบริเวณพื้นที่ทำการเกษตรในเขตพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ที่อยู่ใกล้กับแหล่งดินภูเขาไฟ 3 แห่ง ได้แก่ ภูเขาไฟพนมรุ้ง ภูเขาไฟเขาคอก และภูเขาไฟปลายบัด เพื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fol* รวมทั้งการทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum การส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ การผลิตสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. และการศึกษาข้อมูลจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุดในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช และส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

5.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพจากดินต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช และการส่งเสริมการเจริญเติบโตในมะเขือเทศ

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จากดินบริเวณพื้นที่ทำการเกษตรในเขตพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ที่อยู่ใกล้กับภูเขาไฟ 3 แห่ง ได้แก่ คือ ภูเขาไฟพนมรุ้ง ดินภูเขาไฟเขาคอก และดินภูเขาไฟปลายบัดพบว่า สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ได้ทั้งหมด 11 ไอโซเลท โดยคัดแยกได้จากแหล่งดินที่อยู่ในเขตพื้นที่ใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้งและภูเขาไฟเขาคอกมากที่สุด จำนวน 5 และ 5 ไอโซเลท รองลงมาคือ สามารถคัดแยกเชื้อได้จากแหล่งดินในเขตพื้นที่ใกล้กับภูเขาไฟไปรบัด จำนวน 1 ไอโซเลท ตามลำดับ จากการที่สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียแต่ละแหล่งดินได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และความอุดมสมบูรณ์ของดินที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นดินภูเขาไฟจึงเป็นดินที่สามารถทำให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ (Hernández et al., 2020; Herrera & Cockell, 2007) เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ที่คัดแยกได้มาทำการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการย้อมสีแกรม และการสร้างเอนโดสปอร์ ยืนยันได้ว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 11 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียแกรมบวก และสามารถสร้างเอนโดสปอร์ที่มีลักษณะคล้ายเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Logan et al. (2000) ที่ทำการศึกษาด้านเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างดิน 6 ตัวอย่าง จากประเทศออสเตรเลีย ที่เก็บรวบรวมในช่วงฤดูร้อนในปี ค.ศ. 1996–1997 บริเวณตอนใต้ของหมู่เกาะ Sandwich และทางตอนเหนือของหมู่เกาะ Candlemas เป็นภูเขาไฟที่ยังปะทุอยู่พบว่า สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ได้ และบางสายพันธุ์จัดเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ เช่น *Bacillus fumarioli* sp. nov. และต่อมาในปี 2002 และ 2004 ได้มีการรายงานเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* สายพันธุ์ใหม่เพิ่มเติมคือ *Bacillus shackletonii* sp. nov. และ *Bacillus luciferensis* sp. nov. (Logan et al., 2002; Logan et al., 2004)

จากนั้นเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* จำนวน 11 ไอโซเลท มาทำการทดสอบประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ การทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศแสดงให้เห็นว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 11 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Fol* มากที่สุดและมีค่าร้อยละการยับยั้งมากกว่าร้อยละ 50 ขึ้นไปคือ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 รองลงมาคือ B.KK1, B.KK6, B.KK3 และ B.PB1 และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท ไปทำการทดสอบคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum โดยการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* จำนวน 1 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของมะเขือเทศ ยับยั้งเชื้อรา *Foc* จำนวน 10 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวในกล้วย ยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides*

จำนวน 2 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรกคโนสในมะม่วงและฝรั่ง ยับยั้งเชื้อรา *C. musae* จำนวน 1 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรกคโนสในผลกล้วย และทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* จำนวน 1 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหี่ยวในมะเขือเทศ แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท มีคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 ที่สามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้ ซึ่งปฏิปักษ์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* เกิดจากการผลิตเอนไซม์ amylase, cellulase และ ligninase ซึ่งเป็น extracellular enzymes ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยการย่อยสาร polysaccharide ที่เป็นองค์ประกอบผนังเซลล์ของเชื้อรา (Haddoudi et al., 2021; Khan et al., 2018; Shahid et al., 2021; Singh et al., 2008; You et al., 2021) นอกจากนี้มีรายงานของ Choub (2021) ที่รายงานว่าสารสกัดหยาบของเอนไซม์ เช่น chitinase, protease, and 1,3-glucanase จากเชื้อแบคทีเรีย *B. velezensis* CE 100 สามารถย่อยสารที่เป็นองค์ประกอบผนังเซลล์ของเชื้อราทำให้สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ และจากการรายงานของ Ali et al. (2020) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. siamensis* S3 และ *B. tequilensis* S5 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pestalotiopsis versicolor* XJ27 ได้ ซึ่งกลไกหรือปฏิปักษ์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ยืนยันได้โดยการศึกษาลักษณะโครงสร้างของเชื้อราที่ถูกทดสอบการยับยั้งการเจริญด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM และ TEM ซึ่งจากการศึกษาโครงสร้างเซลล์ของเชื้อ *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ที่ถูกยับยั้งด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* พบว่าผนังเซลล์ของเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 มีลักษณะขรุขระ เซลล์บวมไม่เท่ากัน ผนังเซลล์ยุบ เยื่อหุ้มเซลล์ยุบ และเยื่อหุ้มนิวเคลียสเสียหาย ส่งผลทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อราเสียหาย ออร์แกเนลล์ภายในเซลล์ และไซโทพลาซึมรั่วไหลออกมานอกเซลล์ส่งผลทำให้เชื้อราตาย สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Sha et al. (2020) ที่พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. pumilus* S9 และ *B. amyloliquefaciens* S170 สามารถทำให้เชื้อรา *Magnaporthe oryzae* P131 มีลักษณะผิดปกติไม่เป็นระเบียบ มีฤทธิ์ในการยับยั้งผนังเซลล์ ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา และกระตุ้นให้ออร์แกเนลล์ภายในเซลล์ของเชื้อราเสียหาย ส่งผลทำให้เซลล์ตาย

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้งหมด 6 ไอโซเลท ได้แก่ B.PNR1, B.PNR2, B.KK1, B.KK3, B.KK6 และ B.PB1 มาศึกษาคุณลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา การจัดจำแนกเบื้องต้นด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA และการทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชชี้ชัดว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท จัดเป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ B.PNR1,

B.PNR2, B.KK3 และ B.PB1 ที่จัดอยู่ในกลุ่มหรือมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ทางการเกษตร ส่วนเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท B.KK1 และ B.KK6 จัดอยู่ในกลุ่มหรือมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคคือ เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* (Bottone, 2010) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลท มาทำการศึกษาคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยการทดสอบกิจกรรมเอนไซม์การย่อยแป้ง การย่อยเซลลูโลส การย่อยลิกนิน การละลายฟอสเฟต การผลิตสารไซโตโครฟอร และการผลิตฮอร์โมน IAA แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท ไม่สามารถผลิตสารไซโตโครฟอรได้ แต่สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยแป้ง ย่อยเซลลูโลส ย่อยลิกนิน และละลายฟอสเฟตได้ แต่ประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยสารแตกต่างกัน โดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ PNR2 สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยแป้ง ย่อยเซลลูโลส ย่อยลิกนิน และการละลายฟอสเฟตได้ รองลงมาคือเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.KK1, B.KK3 และ B.KK6 สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยแป้ง ย่อยเซลลูโลส และย่อยลิกนินได้ แต่ไม่สามารถละลายฟอสเฟตได้ ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PB1 พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยแป้ง และย่อยเซลลูโลสได้ แต่ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ในการย่อยลิกนินและฟอสเฟตได้ ในส่วนของการศึกษาการผลิตฮอร์โมน IAA ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลท แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลท สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ในอาหารที่มีส่วนผสมของความเข้มข้นของ tryptophan ที่แตกต่างกันสอดคล้องกับงานวิจัยของวรรณทกาญจน์ เอียดเหตุ และคณะ (2561) อย่างไรก็ตามเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บางชนิดสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีส่วนผสมของ tryptophan เช่น ไอโซเลท B.PNR1, B.KK1, B.KK3, B.KK6 และ B.PB1 และจากการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นความสามารถในการผลิตฮอร์โมน IAA ก็จะเพิ่มขึ้น ดังนั้นจากการทดสอบคุณสมบัติดังกล่าวมาข้างต้นของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 6 ไอโซเลท ชี้ชัดว่าเชื้อมีคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลาย ๆ งานวิจัยที่รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. มีคุณสมบัติในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ และเชื้อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น เชื้อ *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis* และ *B. tequilensis* มีรายงานว่าสามารถผลิตฮอร์โมน IAA สามารถผลิต extracellular enzymes (cellulase, lipase, and protease) และสารปฏิชีวนะ (surfactins, iturins, fengycins, macrolactins, bacillomycin-D) ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Aloo et al., 2019; Shahid et al., 2021)

จากนั้นเมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ B.PNR1, B.PNR2, B.KK3 และ B.PB1 มาทดสอบประสิทธิภาพต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถาง พบว่าการใช้น้ำ

เลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้ดีกว่าการควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fol* TFPK401 โดยในการใช้น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท สามารถทำให้ระดับความรุนแรงของโรคลดลงได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และจากการศึกษาพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1 และ B.PNR2 สามารถป้องกันการเกิดโรคและลดระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวเหลืองในต้นมะเขือเทศได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ไอโซเลท B.KK3 และ B.PB1 ตามลำดับ ซึ่งความสามารถในการป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในต้นมะเขือเทศที่แตกต่างกันของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ขึ้นอยู่กับไอโซเลทที่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ จำนวนของสารทุติยภูมิและ/หรือการผลิตเอนไซม์ที่หลั่งออกมาใช้ในการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา (Balderas-Ruiz et al., 2021; Shafi et al., 2017; Yoshida et al., 2001) โดย Ramirez et al. (2021) รายงานว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ hentriacontane และ 2,4-di-tert-butylphenol ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* MH778713 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* ที่เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ โดยสามารถลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวของพืชลงได้จากร้อยละ 96 ถึงร้อยละ 12 เป็นต้น นอกจากนี้มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถผลิต cyclic lipopeptides หรือ polyketides เพื่อใช้ในการต่อต้านต่อเชื้อราก่อโรค (Andric et al., 2020)

สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* จำนวน 4 ไอโซเลท ต่อการส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและระดับกระถางแสดงให้เห็นว่า น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* มีผลต่อการส่งเสริมและยับยั้งการงอกเมล็ดของมะเขือเทศในระดับห้องปฏิบัติการ โดยจากการศึกษาพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR1, B.KK3 และ B.PB1 มีแนวโน้มที่กระตุ้นการงอกของเมล็ดมะเขือเทศได้ดี ในขณะที่น้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท B.PNR2 ลดอัตราการงอกของเมล็ดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งการงอกของเมล็ดพืชนั้นมีผลจากปัจจัยหลายอย่างโดยเฉพาะผลจากฮอร์โมนพืช ได้แก่ กรดแอบไซซิก (ABA) เอทิลีน (ET) จิบเบอเรลลิน (GB) ออกซิน (IAA) และไซโตไคนิน (Miransari & Smith, 2014) ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าในการใช้น้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยจากแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 4 ไอโซเลท ส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระยะต้นกล้าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้ดีและส่งผลต่อพารามิเตอร์การเจริญเติบโตที่ประเมิน เช่น ความยาวลำต้นและราก น้ำหนักแห้งของลำต้นและรากมะเขือเทศ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งพารามิเตอร์ของการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญอาจเกิดจากการผลิตฮอร์โมน IAA หรือกิจกรรมการละลายฟอสเฟตของเชื้อจุลินทรีย์ (Kang et al., 2015; Zhao et al., 2020) โดยฮอร์โมน IAA มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มการ

เจริญเติบโตของพืชโดยการเพิ่มการงอกของเมล็ด การยึดตัวของราก และน้ำหนักแห้งของราก (El-Tarabily et al., 2009; Khamna et al., 2010) และกิจกรรมการละลายอนินทรีย์ฟอสเฟตมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช (Hamdali et al., 2008) ซึ่งกลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยแบคทีเรียสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งทางตรง และทางอ้อม โดยกลไกทางตรง เช่น การสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การเพิ่มการละลายของสารประกอบฟอสเฟตที่อยู่ในดิน การผลิตแอมโมเนีย การผลิตฮอร์โมน IAA เป็นต้น ส่วนทางอ้อม คือ การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชทั้งกลุ่มแบคทีเรีย และฟังไจ ดังนั้นคุณสมบัติในการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกันส่งผลต่อพารามิเตอร์ของการเจริญเติบโตของพืชที่แตกต่างกัน (Buachard et al., 2022; Kittiwongwattana et al., 2016)

จากการศึกษางานวิจัยดังกล่าวมาแล้วข้างต้นแสดงให้เห็นผลลัพธ์ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 ที่คัดแยกได้แสดงกิจกรรมที่เป็นปฏิปักษ์และ PGP ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ และที่สำคัญจากการศึกษาวิจัยพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 เมื่อทำการศึกษการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าเชื้อมีความสามารถในยับยั้งการเจริญของเชื้อราน้อยกว่าเชื้อ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 แต่หากเมื่อนำเชื้อ *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 ไปทำการทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ และส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางกลับพบว่าเชื้อ *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้ดีเทียบเท่ากับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อนำเชื้อ *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 ไปทำการทดสอบการป้องกันการเกิดโรคและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางเชื้ออาจสามารถเจริญอยู่บริเวณรอบ ๆ รากพืช และสามารถสร้างฮอร์โมนพืช สร้างธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น การช่วยตรึงไนโตรเจน ช่วยย่อยฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ทำให้พืชสามารถนำไปใช้ได้มากขึ้น (ธิดารัตน์ แก้วคำ, 2560) นอกจากนั้นเชื้ออาจมีการเจริญแบบแข่งขันระหว่างเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น มีการแข่งขันต่อที่อยู่อาศัย แหล่งอาหาร จำพวกคาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน สารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อราส่งผลให้เชื้อโรคลดลงและไม่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ (Juan et al., 2016)

และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท คือ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ *Bacillus* ไอโซเลท B.KK3 มาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ชนิดผงเพื่อใช้ในการป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองและส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตในมะเขือเทศเปรียบเทียบกับชุดควบคุมชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ทางการค้า แสดงให้เห็นว่าสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 และ B.KK3 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลือง ส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดในการ

ทดสอบสารชีวภัณฑ์พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 สามารถแสดงกิจกรรมที่เป็นปฏิปักษ์และ PGP มะเขือเทศได้ดีที่สุด และจากการทดสอบอัตราการรอดชีวิต และการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์ทุก ๆ 1 เป็นระยะเวลา 6 เดือน ในสภาพอุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียสพบว่า อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของเชื้อไม่แตกต่างกัน แต่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จะเริ่มลดจำนวนลงหลังจากระยะเวลาการเก็บรักษาผงชีวภัณฑ์ผ่านไป 3-4 เดือน สอดคล้องกับงานวิจัยของ ดาราวดี วงษ์ชาติ (2558) และ Buachard et al. (2022) และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 ไปทำการระบุชนิดด้วยการวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมทั้งหมด การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *gyrB* และการทำนายกลุ่มยีนสังเคราะห์ทางชีวภาพ (BGCs) พบว่า ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *gyrB* บ่งชี้ว่าเชื้อ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับเชื้อ *Bacillus stercoris* D7XPN1 และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลจีโนมของเชื้อจากลำดับนิวคลีโอไทด์ ANIb และ dDDH ที่เท่ากับร้อยละ 98.41 และ 87.80 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในช่วงค่าที่ใช้ในการกำหนดสปีชีส์ของสิ่งมีชีวิตในกลุ่มโพรแคริโอต ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ไอโซเลท B.PNR1 จัดเป็นเชื้อ *Bacillus stercoris* (Chun et al., 2018; Meier-Kolthoff et al., 2013; Richter & Rossello'-Mo'ra, 2009)

ในการศึกษาการทำนายกลุ่มยีนสังเคราะห์ทางชีวภาพ (BGCs) ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะและสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในจีโนมของเชื้อ *Bacillus stercoris* ไอโซเลท B.PNR1 โดยใช้โปรแกรม antiSMASH ผลการวิจัยระบุว่าเชื้อ *B. stercoris* ไอโซเลท B.PNR1 ประกอบด้วยกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะมากมาย เช่น กลุ่มยีน nonribosomal peptide synthetase (NRPS)/polyketide synthase (PKS) โดยกลุ่มยีน NRPS เป็นกลุ่มที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่เหมือน fengycin, bacillibactin และ surfactin ได้ร้อยละ 100, 100 และ 82 ตามลำดับ มีกลุ่มของยีน polyketide T3PKS เป็นกลุ่มที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่เหมือน bacillaene ร้อยละ 100 และกลุ่มยีน sactipeptide ที่สามารถผลิตสารเหมือน subtilosin A ร้อยละ 100 นอกจากนี้ยังพบกลุ่มของอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร bacilysin โดยกลุ่มของยีน NRPS/PKS ที่ผลิตโดยเชื้อ *Bacillus* มีบทบาทสำคัญในกิจกรรมส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและต้านจุลชีพ ต่อต้านแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อโรค Wu et al. (2018) รายงานว่าเชื้อ *Bacillus* sp. GFP-2 ที่แยกได้จากปลาฉลามกบ (*Chiloscyllium plagiosum*) สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้โดยการกระตุ้นให้เกิดการสร้างกลุ่มของสารทุติยภูมิและแบคทีริโอซิน เช่น difficidin, bacillibactin, bacilysin, surfactin, butirosin, macrolactin, bacillaene, fengycin และ lanthipeptide ส่วน Xu et al. (2022) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* YB-15 ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากของข้าวสาลีสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิด

โรคกอเน่า (*Fusarium crown rot*) ที่เกิดจากเชื้อรา *F. pseudograminearum* ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยเชื้อสามารถผลิตสารต้านจุลชีพหลายชนิด เช่น bacillaene, fengycin, bacillibactin, surfactin, subtilosinA, bacilysin และ paenibacterin การผลิตเอนไซม์ไฮโดรไลติก (β -1,3-กลูคาเนส อะไมเลส โปรตีเอส และเซลลูเลส) ขณะที่ Chen et al. (2018) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. velezensis* LM2303 มีถิ่นสำหรับการผลิตสาร fengycin B, iturin A และ surfactin A ที่ใช้ในการต่อต้านเชื้อรา *F. graminearum* ได้ และ Li et al. (2021) รายงานว่าเชื้อ *B. subtilis* R31 มีกลุ่มยีนที่ผลิตสาร lantipeptide ที่ใช้ในการต่อต้านเชื้อรา *Foc* ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *B. stercoris* ไอโซเลท B.PNR1 มีกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารกลุ่ม Lantipeptides ที่มีการยอมรับว่าเป็นสารต้านจุลชีพที่มีศักยภาพต่อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหลายชนิด และมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ สำหรับการศึกษาการทำนายยีนที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในจีโนมของเชื้อ *B. stercoris* ไอโซเลท B.PNR1 แสดงให้เห็นว่าเชื้อประกอบด้วยกลุ่มยีนหลายกลุ่ม เช่น กลุ่มยีนของการผลิต auxin, bacillibactin siderophore, iron acquisition and metabolism, urea decomposition, nitrogen metabolism, nitrogen fixation, phosphate solubilization และการผลิตสาร phytohormone ในกรณีของ *Bacillus* spp. พบว่าการตรึงไนโตรเจน และการละลายฟอสเฟตมีบทบาทสำคัญโดยตรงในการดูดซึมสารอาหาร และส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชได้แตกต่างกัน (Miljakovic et al., 2020) หลักฐานดังกล่าวนี้เป็นข้อมูลสนับสนุนให้เห็นว่าเชื้อ *B. stercoris* ไอโซเลท B.PNR1 มีกิจกรรมที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในระดับกระถางได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Olanrewaju et al. (2021) ซึ่งรายงานว่จีโนมของเชื้อ *B. subtilis* A1, *B. velezensis* A3 และ *B. subtilis* A29 มียีนที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น การผลิตฮอร์โมนการเจริญเติบโต การผลิตสารระเหย (VOCs) การผลิต siderophore ไนโตรเจน เมแทบอลิซึมของฟอสฟอรัสและกำมะถัน และจากการรายงานของ Haddoudi et al. (2021) พบว่าเชื้อ *B. cereus*, *B. mojavensis*, *B. velezensis*, *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* มีกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการต้านเชื้อราสาเหตุโรคของพืชได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. stercoris* ไอโซเลท B.PNR1 มีคุณสมบัติในการผลิตสารควบคุมทางชีวภาพ (BCA) และแสดงผลการควบคุมทางชีวภาพที่มีนัยสำคัญต่อเชื้อรา *Fol* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ โดยการผลิตเอนไซม์ไฮโดรไลติก (เอนไซม์อะไมโลไลติก เซลลูโลไลติก และลิโคโนไลติก) และสารประกอบต้านจุลชีพเป็นกลไกหลักในการต่อสู้กับเชื้อราที่ก่อโรคพืช ส่วนการผลิตฮอร์โมน IAA และการละลายฟอสเฟตมีหน้าที่ในการเหนี่ยวนำอัตราการงอกของเมล็ดพืชและส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ

5.2 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพจากดินต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช และการส่งเสริมการเจริญเติบโตในมะเขือเทศ

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. จากดินบริเวณพื้นที่ทำการเกษตรในเขตพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ที่อยู่ใกล้กับภูเขาไฟ 3 แห่ง ได้แก่ ภูเขาไฟพนมรุ้ง ดินภูเขาไฟเขาคอก และดินภูเขาไฟปลายบัดพบว่า สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ได้ทั้งหมด 86 ไอโซเลท โดยสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ได้มากที่สุดจากแหล่งดินที่อยู่ในเขตพื้นที่ใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้งจำนวน 49 ไอโซเลท รองลงมาคือคัดแยกได้จากแหล่งดินที่อยู่ในเขตพื้นที่ใกล้กับภูเขาไฟเขาคอกจำนวน 24 ไอโซเลท และแยกได้จากจากแหล่งดินที่อยู่ในเขตพื้นที่ใกล้กับภูเขาไฟปลายบัดจำนวน 13 ไอโซเลท ตามลำดับ ซึ่งปริมาณเชื้อที่แยกได้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. คือ สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บริเวณแหล่งดินใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้งได้มากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างดินที่อยู่บริเวณใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้ง มีลักษณะเป็นดินร่วน ดินมีสีน้ำตาลเข้มถึงน้ำตาลแดง ส่วนตัวอย่างดินที่อยู่บริเวณใกล้กับภูเขาไฟเขาคอก และตัวอย่างดินที่อยู่บริเวณใกล้กับภูเขาไฟไพบรัด ดินมีลักษณะเป็นก้อนแข็งลักษณะคล้ายดินเหนียว มีสีเทาดำอมน้ำตาลแดงและสีเทาดำ ซึ่งจากการรายงานตัวอย่างดินของกรมพัฒนาที่ดินรายงานว่าตัวอย่างแหล่งดินที่อยู่ใกล้กับเขตพื้นที่ภูเขาไฟพนมรุ้งจัดอยู่ในชุดดินที่ 28 ชื่อชุดดินชัยบาดาล ซึ่งมีลักษณะคล้ายชุดดินบุรีรัมย์ ส่วนตัวอย่างดินในเขตพื้นที่ภูเขาไฟเขาคอก และดินภูเขาไฟปลายบัดจัดอยู่ในชุดดินที่ 1 ชื่อชุดดินบุรีรัมย์ที่มีลักษณะคล้ายกับชุดดินวัฒนา โดยลักษณะและสมบัติชุดดินที่ 1 จะเป็นดินลึก เนื้อดินเป็นดินเหนียวตลอด สีดินเป็นสีเทาเข้มหรือสีน้ำตาลปนเทาเข้ม มีจุดประสีน้ำตาลปนแดงเข้ม ในฤดูแล้งจะมีรอยแตกกระแหงกว้างและลึกและมีรอยไหลในหน้าตัดดิน ปฏิกริยาดินเป็นกรดปานกลางถึงเป็นกลาง (pH 6.0-7.0) ในดินบนและปานกลางถึงเป็นด่างปานกลาง (pH 7.0-8.0) ในดินล่าง มีอินทรีย์วัตถุต่ำ ส่วนชุดดินที่ 28 ลักษณะและสมบัติดิน เป็นดินลึกปานกลาง พบชั้นหินผุที่ระดับความลึก 50-100 เซนติเมตร ดินบนเป็นดินเหนียวหรือดินเหนียวปนทรายแป้ง สีเทาเข้มมากหรือสีน้ำตาลปนเทาเข้มมากปฏิกริยาดินเป็นกรดเล็กน้อยถึงเป็นด่างปานกลาง (pH 6.5-8.0) ดินล่างเป็นดินเหนียวหรือดินเหนียวปนทรายแป้ง สีน้ำตาลปนเทาเข้ม สีน้ำตาลเข้มหรือสีน้ำตาล ปฏิกริยาดินเป็นกรดเล็กน้อยถึงเป็นด่างปานกลาง (pH 6.5-8.0) ดินชั้นล่างจะพบรอยไหลเป็นมัน เมื่อดินเปียกและแห้งสลับกัน ดินล่างบางบริเวณอาจพบเม็ดปูนสะสมโดยปกติเมื่อดินแห้ง หน้าดินจะแตกกระแหงเป็นร่องลึก มีอินทรีย์วัตถุต่ำ-ปานกลาง (สำนักสำรวจและวิจัยทรัพยากรดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553) ดังนั้นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้งจะมีความหลากหลายของเชื้อมากกว่าเชื้อที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินใกล้กับภูเขาไฟเขาคอกและภูเขาไฟไพบรัด และจากการศึกษาพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* บางไอโซเลทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินใกล้กับภูเขาไฟพนมรุ้งมีลักษณะที่

คล้ายคลึงกับเชื้อที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินใกล้กับภูเขาไฟเขาคอกและภูเขาไฟไพบรบัด ซึ่งเมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. มาจัดกลุ่มตามลักษณะสีของโคโลนี และการสร้างเส้นใยอากาศพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินใกล้กับภูเขาไฟทั้ง 3 แห่ง โคโลนีส่วนใหญ่จะมีสีขาวหรือสีเหลือง เช่น สีขาวอมเทา สีขาวครีม สีเหลืองอ่อน เหลืองเข้ม เหลืองอมส้ม สีเหลืองอมน้ำตาล สีเหลืองอมเขียว และบางไอโซเลทจะมีโคโลนีสีน้ำตาล สีชมพูแดง สีโอลด์โรส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yoke-Kqueen et al. (2015) ที่ทำการคัดแยก และจัดจำแนกเชื้อในกลุ่มแอกติโนมัยซีทในดินภูเขาไฟจากเกาะไอลแลนด์ที่รายงานว่าเชื้อในกลุ่มแอกติโนมัยซีทส่วนใหญ่ที่คัดแยกได้จะมีโคโลนีสีขาวหรือเหลือง บางไอโซเลทจะมีสีแดง สีส้ม เป็นต้น และจากการทดลองพบว่าเชื้อที่คัดแยกส่วนใหญ่จะสร้างเส้นใยอากาศที่มีสีเขียว แต่บางไอโซเลทไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ

จากนั้นเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. จำนวน 86 ไอโซเลท มาทำการทดสอบประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ได้ แต่มีประสิทธิภาพ และระดับกิจกรรมการต้านเชื้อแตกต่างกัน และเมื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีค่าร้อยละการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 มากกว่าร้อยละ 50 และคัดเลือกเชื้อที่เป็นตัวแทนกลุ่มของดินพบว่า สามารถคัดเลือกเชื้อได้ทั้งหมดจำนวน 5 ไอโซเลท (คิดเป็นร้อยละ 5.81) ได้แก่ ไอโซเลท S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PB5 และจากการศึกษาพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท มีคุณสมบัติการเป็น broad-spectrum โดยสามารถยับยั้งเชื้อรา *Fol* จำนวน 9 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ ยับยั้งเชื้อรา *S. rolfii* จำนวน 1 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของมะเขือเทศ ยับยั้งเชื้อรา *Foc* จำนวน 10 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวในกล้วย ยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 2 ไอโซเลท เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงและฝรั่ง ยับยั้งเชื้อรา *C. musae* จำนวน 1 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในผลกล้วย และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* จำนวน 1 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวเขียวในมะเขือเทศได้ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถผลิต extracellular enzyme ได้ เช่น เอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส และลิกนินเนส โดยเอนไซม์เหล่านี้จะช่วยในการควบคุมการเจริญเส้นใยของเชื้อรา โดยทำหน้าที่ย่อยสลายโพลีแซคคาไรด์ของผนังเซลล์ของเชื้อรา (Lynd et al., 2002; Shrivastava et al., 2017) ซึ่งกลไกหรือปฏิกิริยาการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* ยืนยันได้โดยการศึกษาลักษณะโครงสร้างของเชื้อราที่ถูกทดสอบการยับยั้งการเจริญด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด SEM และ TEM โดยน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท

TFPK401 มีลักษณะขรุขระ เซลล์บวมผิดปกติ ผนังเซลล์ยวบ เยื่อหุ้มเซลล์ยวบลง และเกิดการสลายตัวของเยื่อหุ้มนิวเคลียส และเส้นใยโครมาติน ส่งผลทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อราเสียหาย ออร์แกเนลล์ภายในเซลล์และไซโทพลาซึมรั่วไหลออกมานอกเซลล์ และส่งผลทำให้เซลล์ตายได้ในที่สุด สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Al-Askar et al. (2015) ที่พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของ *S. griseorubens* E44G สามารถทำให้เส้นใยของเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อสังเกตลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด SEM และ TEM เช่น ผนังเซลล์ของเชื้อราถูกทำลาย ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์โคติเนสที่ไปย่อยโคตินที่เป็นองค์ประกอบผนังเซลล์ของเชื้อราทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อราถูกทำลายส่งผลให้เชื้อราตายได้ จากข้อมูลดังที่กล่าวมาสามารถยืนยันได้ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* มีกลไกต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศได้

ในการศึกษาประสิทธิภาพน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ได้ทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ S.PNR29, S.PNR30, S.PNR74, S.KK1 และ S.PB5 ต่อการป้องกันและควบคุมเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับกระถางจากการวิเคราะห์ค่าดัชนีการเกิดโรค และอัตราการควบคุมโรคบ่งชี้ว่าน้ำเลี้ยงเชื้อและเซลล์แขวนลอยของเชื้อมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fol* TFPK401 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศได้ โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 มีความสามารถในการปกป้องต้นมะเขือเทศจากเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคได้มากที่สุด โดยมีระดับคะแนนความรุนแรงของโรคต่ำ ดัชนีการเกิดโรคต่ำที่สุด และอัตราการควบคุมโรคสูงสุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุมต่าง ๆ ซึ่งระดับการยับยั้งโรคที่แตกต่างกันในต้นมะเขือเทศอาจเนื่องมาจากเชื้อปฏิปักษ์ที่แตกต่างกัน ปริมาณของสารทุติยภูมิและ/หรือเอนไซม์ที่ย่อยสลายผนังเซลล์ที่หลั่งออกมาแตกต่างกัน และเซลล์แขวนลอยหรือน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* ต้องมีการผลิตสารทุติยภูมิและ/หรือยาปฏิชีวนะในเวลาที่เหมาะสมและในระดับสูงเพียงพอที่จะควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคได้ (Chaiarn et al., 2020) กลไกในการควบคุมเชื้อราก่อโรคนี้อาจเกิดจากความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ เช่น อะไมเลส เซลลูเลส และลิกนินเนส ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายองค์ประกอบผนังเซลล์ของเชื้อรา สอดคล้องกับงานวิจัยของ Al-Askar et al. (2015); Kawicha et al. (2023); Shrivastava et al. (2017) และ Zou et al. (2021) ที่รายงานว่าเอนไซม์อะไมเลส โคติเนส เซลลูเลส โปรตีเอส ยูรีเอส และเจลาติเนส ที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces* สามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรคได้ นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำเลี้ยงและเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถส่งเสริมการงอก และการเจริญเติบโตของมะเขือเทศทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและระดับกระถางได้ เมื่อประเมินจากค่าความยาวลำต้น-ราก และน้ำหนักแห้งลำต้น-รากของมะเขือเทศที่น่าสนใจคือ เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีแนวโน้มที่จะสามารถเพิ่มร้อยละการงอกเมล็ดของมะเขือ

เทศได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการวิเคราะห์ข้อมูลพารามิเตอร์ที่ใช้วัดการเจริญเติบโตของมะเขือเทศชุดที่ทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์กับชุดควบคุมแตกต่างกันอาจเกิดจากการผลิตฮอร์โมน IAA และกิจกรรมการละลายฟอสเฟต เป็นที่ทราบกันว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ใช้กิจกรรมเหล่านี้เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Newitt et al., 2019) โดยฮอร์โมน IAA มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Passari et al., 2015) นอกจากนี้การที่เชื้อมีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตได้ส่งผลให้พืชสามารถดูดซับฟอสเฟตที่ละลายน้ำไปใช้ในการพัฒนาและการเจริญเติบโตได้โดยตรง (Ludueña et al., 2018)

และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 ที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุดในการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศมาพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ชนิดผงที่มีตัลคัม calcium carbonate และ carboxymethyl cellulose เป็นส่วนประกอบเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองในมะเขือเทศ ส่งเสริมการงอก และการเจริญเติบโตของมะเขือเทศแสดงให้เห็นว่า สารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวเหลือง ส่งเสริมการงอก และการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำ) และสารชีวภัณฑ์ *Streptomyces* ทางการค้า และเมื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บสารชีวภัณฑ์ 4 องศาเซลเซียส และ 30 องศาเซลเซียส ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่แยกได้จากสารชีวภัณฑ์ไม่แตกต่างกัน แต่ระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บสารชีวภัณฑ์มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตสอดคล้องกับงานวิจัยของ Anitha and Rabeeth (2009) ที่พบว่าสารชีวภัณฑ์ชนิดผงที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces griseus* ที่มีส่วนผสมของตัลคัม calcium carbonate และ carboxymethyl cellulose สามารถควบคุมเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในระดับเรือนทดลองได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารชีวภัณฑ์ที่เก็บไว้ที่ช่วงอุณหภูมิ 4 และ 30 องศาเซลเซียส สามารถคงสภาพอัตราการรอดชีวิตของเชื้อได้นาน 105 วัน โดยเชื้อมีความเข้มข้น 1.22×10^9 , 1.18×10^9 cfu/g นอกจากนี้ยังพบว่าสารชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากเซลล์และน้ำเลี้ยงของเชื้อ *S. griseus* ยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *Foc* race 4 สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของกล้วยในระดับเรือนทดลองได้อีกด้วย (Zacky & Ting, 2015) และจากการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 มาทำการจัดจำแนกและระบุชนิดด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA ข้อมูล MLSA และข้อมูลของจีโนมทั้งหมดเทียบกับฐานข้อมูลพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับเชื้อ *S. djakartensis*, *S. massasporeous*, *S. lomondensis*, *S. purpurascens*, *S. violarus*, *S. caelestis*, *S. azureus*, *S. swartbergensis*, *S. bellus* และ *S. coeruleorubidus* มากที่สุด และเมื่อทำการวิเคราะห์ค่า ANIb, ANIm และ dDDH ของจีโนมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces*

ไอโซเลท S.PNR29 เทียบกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐานที่มีในฐานข้อมูล TYGS แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 มีค่า ANIb, ANIm และ dDDH ใกล้ชิดกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน *S. swartbergensis* HMC13, *S. azureus* ATCC 14921, *S. bellus* JCM 4292 และ *S. caelestis* DSM40084 มากที่สุด โดยค่าดัชนีนิวคลีโอไทด์เฉลี่ยและค่า dDDH ของเชื้ออยู่ในช่วง 83.99-84.12%, 87.69-87.79% และ 30.20-30.70% ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงค่าที่ต่ำกว่าค่า cut off ที่ใช้ในการจัดจำแนกเชื้อในกลุ่มโปรแคริโอต (Chun et al., 2018; Meier-Kolthoff et al., 2013; Richter & Rossello'-Mo'ra, 2009) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 อาจเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* สปีชีส์ใหม่ แต่อย่างไรก็ตามในการรายงานเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* สายพันธุ์ใหม่ จำเป็นต้องวิเคราะห์ข้อมูลทางเคมีและ fatty acid methyl ester (FAMES) รวมด้วย ดังนั้นจากการศึกษา งานวิจัยนี้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* ไอโซเลท S.PNR29 ถูกกำหนดให้เป็นเชื้อ *Streptomyces* sp. S.PNR29

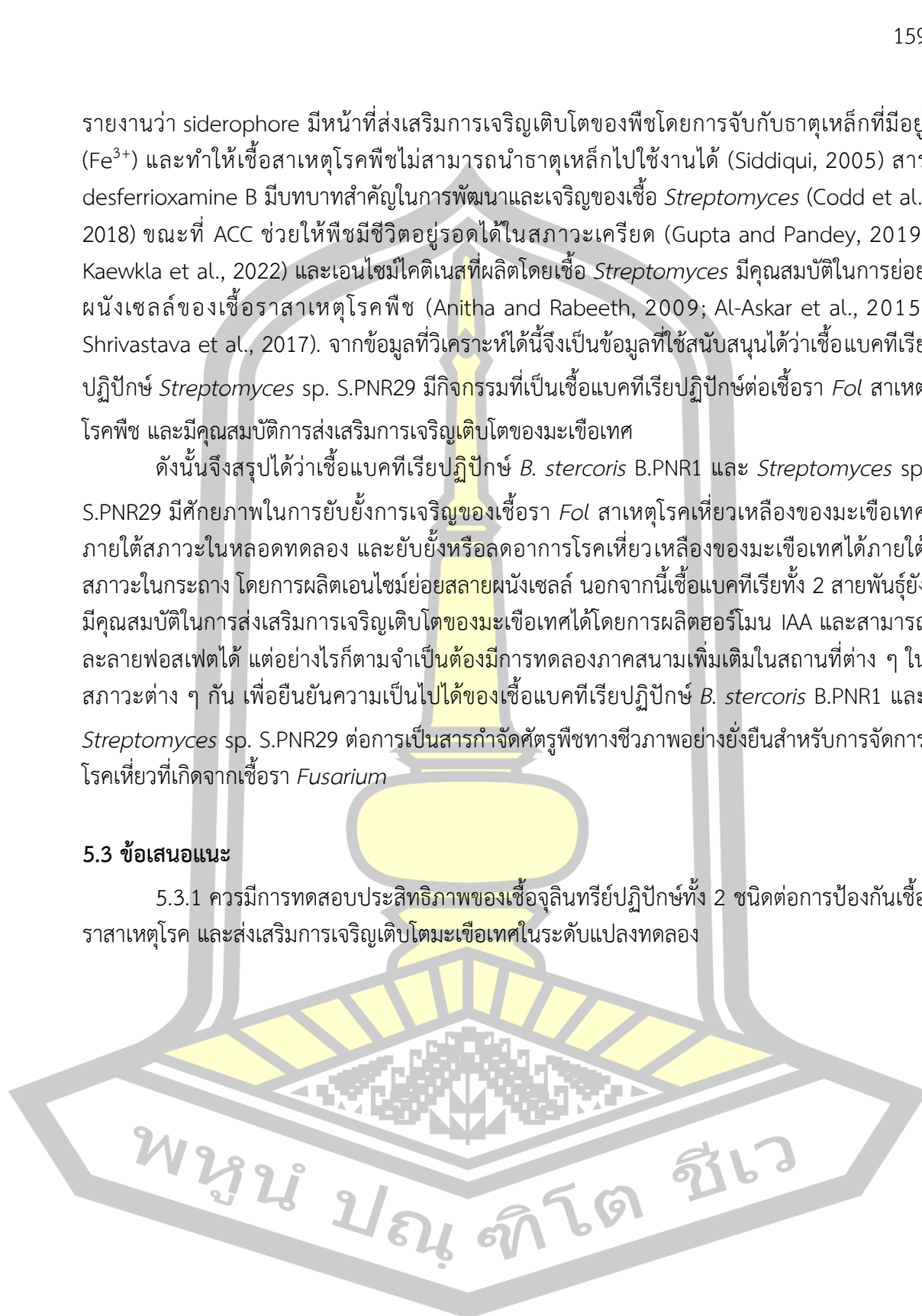
และในการศึกษาการทำนายกลุ่มยีนสังเคราะห์ทางชีวภาพ (BGCs) ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะ และสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในจีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. S.PNR29 โดยใช้โปรแกรม antiSMASH ผลการวิจัยระบุว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. S.PNR29 ประกอบด้วยกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารปฏิชีวนะมากมาย เช่น กลุ่ม polyketide T1PKS และกลุ่ม T2PKS สำหรับผลิตสาร oligomycin และกลุ่ม T3PKS สำหรับผลิตสาร alkylresorcinol โดยมีรายงานว่าสารโพลีคีไทด์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Streptomyces* สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไส้เดือนฝอยได้ ซึ่งจากการรายงานการวิจัยของ Chakraborty et al. (2020) พบว่าสารปฏิชีวนะ oligomycin ชนิด B และ F ที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces* สามารถยับยั้งเชื้อรา *Magnaporthe oryzae* *Triticum* (MoT) สาเหตุโรคใบไหม้ของข้าวสาลีได้ โดยโพลีคีไทด์เป็นกลุ่มของสารทุติยภูมิที่มีความหลากหลายในโครงสร้างและหน้าที่ทำให้โพลีคีไทด์มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อรา ต้านมะเร็ง ต้านไวรัส ต้านภูมิคุ้มกัน ต้านคอเลสเตอรอล และต้านการอักเสบได้ ตัวอย่างสารโพลีคีไทด์ที่ผลิตขึ้นโดย *Streptomyces* ได้แก่ rapamycin, oleandomycin, actinorhodin, daunorubicin และ caprazamycin (Risidian et al., 2019) นอกจากนี้จีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. S.PNR29 ยังประกอบด้วยกลุ่มยีน terpenoid เช่น geosmin กลุ่มยีน albaflavone กลุ่มยีน hopene และกลุ่มยีน pentalenolactone โดยสารประกอบ terpenoid ใช้เป็นยาปฏิชีวนะฮอร์โมน สารปรุงแต่งรสและ/หรือกลิ่น (Takamatsu et al., 2011) นอกจากนี้จีโนมของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. S.PNR29 มีกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติการเป็นปฏิปักษ์ และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น siderophore, desferrioxamine B/desferrioxamine E, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC) และไคตินเนส (chitinase) ซึ่งมี

รายงานว่าเป็น siderophore มีหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยการจับกับธาตุเหล็กที่มีอยู่ (Fe^{3+}) และทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้งานได้ (Siddiqui, 2005) สาร desferrioxamine B มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาและเจริญของเชื้อ *Streptomyces* (Codd et al., 2018) ขณะที่ ACC ช่วยให้พืชมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาวะเครียด (Gupta and Pandey, 2019; Kaewkla et al., 2022) และเอนไซม์ไคตินเนสที่ผลิตโดยเชื้อ *Streptomyces* มีคุณสมบัติในการย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Anitha and Rabeeth, 2009; Al-Askar et al., 2015; Shrivastava et al., 2017). จากข้อมูลที่ว่าวิเคราะห์ได้นี้จึงเป็นข้อมูลที่ใช้สนับสนุนได้ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. S.PNR29 มีกิจกรรมที่เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคพืช และมีคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. stercoris* B.PNR1 และ *Streptomyces* sp. S.PNR29 มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fol* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศภายใต้สภาวะในหลอดทดลอง และยับยั้งหรือลดอาการโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศได้ภายใต้สภาวะในกระถาง โดยการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ยังมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้โดยการผลิตฮอร์โมน IAA และสามารถละลายฟอสเฟตได้ แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการทดลองภาคสนามเพิ่มเติมในสถานที่ต่าง ๆ ในสภาวะต่าง ๆ กัน เพื่อยืนยันความเป็นไปได้ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. stercoris* B.PNR1 และ *Streptomyces* sp. S.PNR29 ต่อการเป็นสารกำจัดศัตรูพืชทางชีวภาพอย่างยั่งยืนสำหรับการจัดการโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium*

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ควรมีการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิดต่อการป้องกันเชื้อราสาเหตุโรค และส่งเสริมการเจริญเติบโตมะเขือเทศในระดับแปลงทดลอง



บรรณานุกรม

- กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2561). เรื่องจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร. กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน.
- กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2562). เขตการใช้ที่ดินพืชเศรษฐกิจมะเขือเทศ.
- จักรพงษ์ กางโสภา, บุญมี ศิริ. (2561). ผลของการทำ Seed Treatment ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อความงอกและการเติบโตของผักกาดหอม. วารสารเกษตร, 34(3), 385-397.
- โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา, ดุชนิ ธนะบริพัฒน์, จำรูญ เล้าสินวัฒนา, พรหมมาศ คุณากาญจน์, นงลักษณ์ เกรินทวงศ์, จิตติ ท่าไผ่. (2559). การคัดเลือกแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากข้าว (*Oryza sativa*). วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง, 25(1), 60-74.
- นริศรา จำปา, ธงชัย มาลา, ศุภชัย อำคา, กนกกร สีนมา. (2560). ผลของปุ๋ยไนโตรเจนละลายช้าร่วมกับเชื้อ *Bacillus subtilis* ต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งการเกิดโรคทางดินในกล้วยมะเขือเทศ. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ, 20, 95-102.
- นันทศักดิ์ เกตุสว่างชัย, เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. (2562). การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมโรคเหี่ยวสเคลอโรเตียม และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ของต้นมะเขือเทศ. แก่นเกษตร, 47(4), 819-828.
- นิพนธ์ ทวีชัย. (2550). การควบคุมโรคพืชโดยวิธีธรรมชาติ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นิพนธ์ ทวีชัย. (2553). โรคพืชและการจัดการด้วยวิธีชีวภาพ. โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว.
- ปวีณา สังข์แก้ว. (2556). สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces griseus subsp. formicus* สำหรับการยับยั้งโรครากขาวของยางพารา วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- พจนนา ตระกูลสุวรรณ์. (2540). การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* และไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ของมะเขือเทศ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย.
- พรพรรณ อุสุวรรณ์. (2550). การใช้เชื้อ *Bacillus spp.* และ *Streptomyces spp.* ในการควบคุมโรคเหี่ยวราในองุ่น. ปริญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- พรพิมล อธิปัญญาคม. (2551). ราสาเหตุโรคพืชใน Class Ascomycetes และ Anamorph ในประเทศ

ไทย. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

- ยลธิดา ชนะชัย, เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. (2563). การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกซ์ในสฟริกในแนวกว้างและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช. *แก่นเกษตร*, 48(2), 333-344.
- รัฐสิทธิ์ แซ่ลี, พรหมมาศ คูหากาญจน์. (2563). ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเอนโดไฟต์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 38(4), 494-503.
- วรารณ บัญเกิด, จีรนนท์ แหยมสูงเนิน, นัฐิภรณ์ เดชบุรีรัมย์. (2560). การควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสภาพเรือนทดลอง. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55,
- วรารณ สุทธิสา, บุษยา วาปี. (2562). การคัดเลือกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวจากดินบริเวณรอบรากต้นบานไม่รู้โรยป่า (*Gomphrena celosioides* Mart.). *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 21(3), 86-94.
- เวียงคำ จันทวงศ์, อนันต์ หิรัญสาลี, วีรศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, เพชรรัตน์ ธรรมเบญจกุล. (2550). ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวเขียวของมะเขือเทศ. *แก่นเกษตร*, 35(3), 364-374.
- ศศิธร วุฒินิชย์. (2549). โรคของผักและการควบคุมโรค สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศักดิ์ สุนทรสิงห์. (2537). โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุกัลยา เขียวขวัญ, พัชรารณ ภูมิจันทิก, ฝากจิต ปาลินทร. (2565). ระบบการผลิตมะเขือเทศผลสดของเกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. *แก่นเกษตร* 50(6), 1617-1632.
- สุมาลี เหลืองสกุล, เสริมสิน ศิริวัฒนา, สมใจ ศิริโชค, ขจีนาฏ โพธิเวชกุล. (2542). การคัดเลือกแบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Fusarium oxysporum*. *วารสารวิทยาศาสตร์ มศว*, 15, 59-80.
- อภิรัชต์ สมฤทธิ์, บุษราคัม อุดมศักดิ์, ณัฐิมา โฆษิตเจริญกุล. (2556). การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวพืชตระกูลแตงที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium solani*. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- อานต์ ชัดดีสะ, ขรรค์ชัย ดันเมฆ, วีระชัย ตีรอรุณศิริ, ตะวัน ท่างสูงเนิน, สุภัค มหัทธนพรค. (2561). ศึกษาการคัดเลือกเชื้อบาซิลลัสในการควบคุมโรคและเป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อใช้ในฟาร์ม ข้าวอินทรีย์. *วารสารเกษตรพระวรุณ*, 15(1), 41-50.
- อุไรวรรณ จันทร์เหล่าหลวง. (2551). การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะสำหรับ

ยับยั้งการเจริญของ *Fusarium sp.* ซึ่งก่อโรคลงการเก็บเกี่ยวในกล้วย. ปรินญาวิทยาศาสตร์
บัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทั่วไป) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- Al-Askar, A. A., Baka, Z. A., Rashad, Y. M., Ghoneem, K. M., Abdulkhair, W. M., & Hafez, E. E., & Shabana, Y. M. (2015). Evaluation of *Streptomyces griseorubens* E44G for the biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: ultrastructural and cytochemical investigations. *Annals of Microbiology*, 65(4), 1815-1824.
- Ali, M. A., Ren, H., Ahmed, T., Luo, J., An, Q., Qi, X., & Li, B. (2020). Antifungal effects of rhizospheric *Bacillus* species against bayberry twig blight pathogen *Pestalotiopsis versicolor*. *Agronomy*, 10(11), 1-16.
- Aloo, B. N., Makumba, B. A., & Mbega, E. R. (2019). The potential of Bacilli rhizobacteria for sustainable crop production and environmental sustainability. *Microbiological Research*, 219, 26-39.
- Amareesan, N., Kumar, K., Naik, J. H., Bapatla, K. G., & Mishra, R. K. (2018). *Streptomyces* in Plant Growth Promotion. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 125-135).
- Andric, S., Meyer, T., & Ongena, M. (2020). *Bacillus* responses to plant-associated fungal and bacterial communities. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1-9.
- Anitha, A., & Rabeeth, M. (2009). Control of Fusarium Wilt of tomato by bioformulation of *Streptomyces griseus* in green house condition. *African Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(2), 9-14.
- Anusha, B. G., Gopalakrishnan, S., Naik, M. K., & Sharma, M. (2019). Evaluation of *Streptomyces* spp. and *Bacillus* spp. for biocontrol of Fusarium wilt in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 52(5-6), 417-442.
- Balderas-Ruiz, K. A., Gomez-Guerrero, C. I., Trujillo-Roldan, M. A., Valdez-Cruz, N. A., Aranda-Ocampo, S., Juarez, A. M., Leyva, E., Trujillo-Roldan, M. A., Valdez-Cruz, N. A., Aranda-Ocampo, S., Juarez, A. M., Leyva, E., Galindo, E., & Serrano-Carreon, L. (2021). *Bacillus velezensis* 83 increases productivity and quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.): Pre and postharvest assessment. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 1-11.
- Bashan, Y., & de-Bashan, L. E. (2005). Plant Growth Promoting. *Encyclopedia of soils in*

the environment, 1, 103-115.

- Bautista-Baños, S., Ramos-García, M. d. L., Hernández-López, M., Córdova-Albores, L., LópezMora, L. I., Gutiérrez-Martínez, P., & Sánchez-Domínguez, D. (2012). Use of scanning and transmission electron microscopy to identify morphological and cellular damage on phytopathogenic fungi due to natural products application *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology*, 401-405.
- Bottone, E. J. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin Microbiol Rev*, 23(2), 382-398.
- Brady, N. C., & Weil, R. R. (2002). In *The nature and properties of soils* (Vol. 54, pp. 249). Printed in the Netherlands.
- Buachard, S., Phuangphee, P., & Jamsai, N. (2022). Efficiency of Dry Formulation *Bacillus* sp. Ks5 to Plant Growth Promotion and Biological Control of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Caused Bacterial Leaf Blight Disease. *YRU Journal of Science and Technology*, 7(2), 1-9.
- Bubici, G. (2018). *Streptomyces* spp. as biocontrol agents against *Fusarium* species. *CABI Reviews*, 2018, 1-15.
- Calvo, P., Ormeño-Orrillo, E., Martínez-Romero, E., & Zúñiga, D. (2010). Characterization of *Bacillus* isolates of potato rhizosphere from andean soils of Peru and their potential PGPR characteristics. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 899-906.
- Carrenho, R., Trufem, S. F. B., Bononi, V. L. R., & Silva, E. S. (2007). The effect of different soil properties on arbuscular mycorrhizal colonization of peanuts, sorghum and maize. *Acta Botanica Brasílica*, 21(3), 723-730.
- Ceylan, O., Okmen, G., & Ugur, A. (2008). Isolation of soil *Streptomyces* as source antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria. *EurAsian Journal of Biosciences*(2), 73-82.
- Chaiharn, M., Theantana, T., & Pathom-Aree, W. (2020). Evaluation of biocontrol activities of *Streptomyces* spp. against rice blast disease fungi. *Pathogens*, 9(2).
- Chakraborty, M., Mahmud, N. U., Muzahid, A. N. M., Rabby, S. M. F., & Islam, T. (2020). Oligomycins inhibit *Magnaporthe oryzae* *Triticum* and suppress wheat blast disease. *PLoS One*, 15(8), e0233665.

- Cheeptham, N., Sadoway, T., Rule, D., Watson, K., Moote, P., Soliman, L., Azad, N., Donkor, K., & Horne, D. (2013). Cure from the cave: volcanic cave actinomycetes and their potential in drug discovery. *International Journal of Speleology*, *42*(1), 35-47.
- Choub, V., Ajuna, H. B., Won, S. J., Moon, J. H., Choi, S. I., Maung, C. E. H., Kim, C. W., & Ahn, Y. S. (2021). Antifungal activity of *Bacillus velezensis* CE 100 against anthracnose disease (*Colletotrichum gloeosporioides*) and growth promotion of walnut (*Juglans regia* L.) trees. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(19), 1-18.
- Chun, J., Oren, A., Ventosa, A. C., H, Arahall, D. R., da Costa, M. S., Rooney, A. P., Yi, H., Xu, X. W., De Meyer, S., & Trujillo, M. E. (2018). Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *68*(1), 461-466.
- Codd, R., Richardson-Sanchez, T., Telfer, T. J., & Gotsbacher, M. P. (2018). Advances in the Chemical Biology of Desferrioxamine B. *ACS Chem Biol*, *13*(1), 11-25.
- Das, I. K., Indira, S., Annapurna, A., & Prabhakar, A. S., N. (2008). Biocontrol of charcoal rot in sorghum by fluorescent pseudomonads associated with the rhizosphere. *Crop Protection*, *27*(11), 1407-1414.
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* *13*(4), 414-430.
- Earl, A. M., Losick, R., & Kolter, R. (2007). *Bacillus subtilis* genome diversity. *Journal of Bacteriology* *189*(3), 1163-1170.
- El-Sheekh, M. M., Mousa, A. S. H., & Farghl, A. A. M. (2020). Biological Control of Fusarium Wilt Disease of Tomato Plants Using Seaweed Extracts. *Arabian Journal for Science and Engineering*, *45*(6), 4557-4570.
- El-Tarabily, K. A., Nassar, A. H., Hardy, G. E., & Sivasithamparam, K. (2009). Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *Journal of Applied Microbiology*, *106*(1), 13-26.

- Eldoksch, H. A., Atteia, M. F., & Abdel – Moity, S. M. H. (2011). Management of Brown Leaf Rust, *Puccinia recondita* of Wheat Using Natural Products and Biocontrol Agents. *Journal of Biological Sciences* 4(5), 550-553.
- Eric, G., & Yves, D. (1995). A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and environmental microbiology* 61(2), 793–796.
- Fravel, D. R., Deahl, K. L., & Stommel, J. R. (2005). Compatibility of the biocontrol fungus *Fusarium oxysporum* strain CS-20 with selected fungicides. *Biological Control*, 34(2), 165-169.
- Haddoudi, I., Cabrefiga, J., Mora, I., Mhadhbi, H., Montesinos, E., & Mrabet, M. (2021). Biological control of Fusarium wilt caused by *Fusarium equiseti* in *Vicia faba* with broad spectrum antifungal plant-associated *Bacillus* spp. *Biological Control*, 160.
- Hamdali, H., Hafidi, M., Virolle, M. J., & Ouhdouch, Y. (2008). Growth promotion and protection against damping-off of wheat by two rock phosphate solubilizing actinomycetes in a P-deficient soil under greenhouse conditions. *Applied Soil Ecology*, 40(3), 510-517.
- Hamid, M. E., Reitz, T., Joseph, M. R. P., Hommel, K., Mahgoub, A., Elhassan, M. M., Buscot, F., & Tarkka, M. (2020). Diversity and geographic distribution of soil *streptomycetes* with antagonistic potential against actinomycetoma-causing *Streptomyces sudanensis* in Sudan and South Sudan. *BMC Microbiol*, 20(1), 33.
- Hernández, M., Calabi, M., Conrad, R., & Dumont, M. G. (2020). Analysis of the microbial communities in soils of different ages following volcanic eruptions. *Pedosphere*, 30(1), 126-134.
- Herrera, A., & Cockell, C. S. (2007). Exploring microbial diversity in volcanic environments: a review of methods in DNA extraction. *Microbiol Methods*, 70(1), 1-12.
- Hibar, K., Daami-Remadi, M. J.-K., H. , & Mahjoub, M. E. (2006). Temperature effect on mycelial growth and on disease incidence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Plant Pathology Journal*, 5(2), 233-238.
- Hooda, R., Bhardwaj, N. K., & Singh, P. (2015). Screening and Identification of Ligninolytic

Bacteria for the Treatment of Pulp and Paper Mill Effluent. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(9).

- Juan, H., Gerardo, R., Lilia, H., Jorge, D., Carlos, L.-C., Samira, I.-V., & Didier., P. (2016). Emerging and Established Technologies to Increase Nitrogen Use Efficiency of Cereals. *Agronomy*, 6(2).
- Kaewkla, O., Sukpanoa, S., Suriyachadkun, C., Chamroensaksi, N., Chumroenphat, T., & Franco, C. M. M. (2022). *Streptomyces spinosus* sp. nov. and *Streptomyces shenzhenensis* subsp. *oryzicola* subsp. nov. endophytic actinobacteria isolated from Jasmine rice and their genome mining for potential as antibiotic producers and plant growth promoters. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 115(7), 871-888.
- Kamal, R., & Sharma, A., K. (2014). Control of Fusarium wilt using biological agent *Streptomyces* sp.CPP-53 isolated from compost with plant growth promoting effect on tomato under greenhouse condition. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 6(6), 97-103.
- Kang, S. M., Ramalingam, R., Lee, K. E., You, Y. H., Ko, J. H., Kim, J. H., & Lee, I. J. (2015). Mechanism of plant growth promotion elicited by *Bacillus* sp. LKE15 in oriental melon. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 65(7), 637-647.
- Kawicha, P., Laopha, A., Chamnansing, W., Sopawed, W., & Wongcharone, A., & Sangdee, A. (2020). Biocontrol and plant growth-promoting properties of *Streptomyces* isolated from vermicompost soil. *Indian Phytopathology*, 73(4), 655-666.
- Kawicha, P., Nitayaros, J., Saman, P., Thaporn, S., Thanyasiriwat, T., Somtrakoon, K., Sangdee, K., & Sangdee, A. (2023). Evaluation of Soil *Streptomyces* spp. for the Biological Control of Fusarium Wilt Disease and Growth Promotion in Tomato and Banana. *Plant Pathol J*, 39(1), 108-122.
- Kawicha, P., & Sangdee, A. (2012). Plant Disease Control Using Antagonistic Microorganisms. *Journal of Science and Technology Mahasarakham University*, 32(2).
- Kgosi, V. T., Tingting, B., Ying, Z., & Liu, H. (2022). Anti-fungal analysis of *Bacillus subtilis* DL76 on conidiation, appressorium formation, growth, multiple stress response, and pathogenicity in *Magnaporthe oryzae*. *International Journal of Molecular*

Sciences, 23(10), 1-19.

- Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J. F., & Lumyong, S. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *EurAsian Journal of Biosciences*, 23-32.
- Khan, N., Martinez-Hidalgo, P., Ice, T. A., Maymon, M., Humm, E. A., Nejat, N., Sanders, E. R., Kaplan, D., & Hirsch, A. M. (2018). Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2363.
- Kittiwongwattana, C., Thanaboripat, D., Laosinwattana, C., Koohakan, P., Parinthawong, N., & Thawa, T. (2016). Isolation and screening of plant growth promoting bacteria (PGPB) from rice (*Oryza sativa*) and rhizosphere soil. *Journal of Science Ladkrabang*, 25(1), 59–74.
- Kumar, A. S., Reddy, E. N. P., Hariprasad, K. R., & Charitha, M. D. (2007). Evaluation of fungicidal resistance Among *Colletotrichum gloeosporioides* isolates causing mango anthracnose in agri export zone of andhra pradesh, India. *Plant Pathology Bulletin*, 16, 157-160.
- Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Constanza Corrales, L., & Consuelo Sánchez, L. (2011). *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *Publicación Científica Biomédica*, 9(15), 113 - 214.
- Leaungvutiviroj, C., Piriyaopin, S., Limtong, P., & Sasaki, K. (2010). Relationships between soil microorganisms and nutrient contents of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash and *Vetiveria nemoralis* (A.) Camus in some problem soils from Thailand. *Applied Soil Ecology*, 46(1), 95-102.
- Lebsing, P., Wongcharoen, A., & Saepaisan, S. (2021). Control of tomato seed disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* using fungicides and antagonistic fungi. *KHON KAEN AGRICULTURE JOURNAL*, 49(4), 956-966.
- Li, Z., Guo, B., Wan, K., Cong, M., Huang, H., & Ge, Y. (2015). Effects of bacteria-free filtrate from *Bacillus megaterium* strain L2 on the mycelium growth and spore germination of *Alternaria alternata*. *Biotechnology and Biotechnological*

Equipment, 29(6), 1062-1068.

- Logan, N. A., Lebbe, L., Hoste, B., Goris, J., Forsyth, G., Heyndrickx, M., Murray, B. L., Syme, N., Wynn-Williams, D. D., & Vos, P. D. (2000). Aerobic endospore-forming bacteria from geothermal environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 1741–1753.
- Logan, N. A., Lebbe, L., Verhelst, A., Goris, J., Forsyth, G., Rodriguez-Diaz, M., Heyndrickx, M., & De Vos, P. (2002). *Bacillus luciferensis* sp. nov., from volcanic soil on Candlemas Island, South Sandwich archipelago. *Int J Syst Evol Microbiol*, 52(Pt 6), 1985-1989.
- Logan, N. A., Lebbe, L., Verhelst, A., Goris, J., Forsyth, G., Rodriguez-Diaz, M., Heyndrickx, M., & Vos, P. D. (2004). *Bacillus shackletonii* sp. nov., from volcanic soil on Candlemas Island, South Sandwich archipelago. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(2), 373-376.
- Logan, N. A., & Vos, P. D. (2015). Bacillus. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-163.
- Ludueña, L. M., Anzuay, M. S., Angelini, J. G., McIntosh, M., Becker, A., Rupp, O., Goesmann, A., Blom, J., Fabra, A., & Taurian, T. (2018). Strain Serratia sp. S119: A potential biofertilizer for peanut and maize and a model bacterium to study phosphate solubilization mechanisms. *Applied Soil Ecology*, 126, 107-112.
- Lynd, L. R., Weimer, P. J., van Zyl, W. H., & Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev*, 66(3), 506-577, table of contents.
- Manjula, K., Kishore, G. K., & Podile, A. R. (2004). Whole cells of *Bacillus subtilis* AF 1 proved more effective than cell-free and chitinase-based formulations in biological control of citrus fruit rot and groundnut rust. *Can J Microbiol*, 50(9), 737-744.
- Marlatt, M. L., Correll, J. C., & Kaufmann, P. (1996). Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Race 3 in the United States. *Plant Disease*, 80(12), 1336-1342.
- Meier-Kolthoff, J. P., Auch, A. F., Klenk, H.-P., & Oker, M. G. (2013). Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance

- functions. *BMC Bioinformatics*, 14(60), 1471-2105.
- Miransari, M., & Smith, D. L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, 110-121.
- Mizumoto, S., & Shoda, M. (2007). Medium optimization of antifungal lipopeptide, iturin A, production by *Bacillus subtilis* in solid-state fermentation by response surface methodology. *Appl Microbiol Biotechnol*, 76(1), 101-108.
- Naureen, Z., Price, A. H., Hafeez, F. Y., & Roberts, M. R. (2009). Identification of rice blast disease-suppressing bacterial strains from the rhizosphere of rice grown in Pakistan. *Crop Protection*, 28(12), 1052-1060.
- Newitt, J. T., Prudence, S. M. M., Hutchings, M. I., & Worsley, S. F. (2019). Biocontrol of Cereal Crop Diseases Using Streptomyces. *Pathogens*, 8(2).
- Nielsen, M. N., sørensen, J., Fels, J., & Pedersen, H. C. (1998). Secondary metabolite- and endochitinase-dependent antagonism toward plant-pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere. *Applied and environmental microbiology* 64(10), 3563–3569.
- Niranjan Raj, S., Chaluvaraju, G., & Kloepper, J. (2003). Induction of Growth Promotion and Resistance Against Downy Mildew on Pearl Millet (*Pennisetum glaucum*) by Rhizobacteria. *Plant Disease*, 87(4), 380-384.
- Okta, E., & Kemal, B. (2010). Biological control of Verticillium wilt on cotton by the use of fluorescent *Pseudomonas* spp. under field conditions. *Biological Control*, 53(1), 39-45.
- Passari, A. K., Mishra, V. K., Gupta, V. K., Yadav, M. K., Saikia, R., & Singh, B. P. (2015). In Vitro and In Vivo Plant Growth Promoting Activities and DNA Fingerprinting of Antagonistic Endophytic Actinomycetes Associates with Medicinal Plants. *PLoS One*, 10(9), e0139468.
- Perez-Miranda, S., Cabirol, N., George-Tellez, R., Zamudio-Rivera, L. S., & Fernandez, F. J. (2007). O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *Journal of Microbiological Methods*, 70(1), 127-131.
- Ramirez, V., Martinez, J., Bustillos-Cristales, M. D. R., Cataneda-Antonio, D., Munive, J. A., & Baez, A. (2021). *Bacillus cereus* MH778713 elicits tomato plant protection against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Applied Microbiology*, 132(1), 470-482.

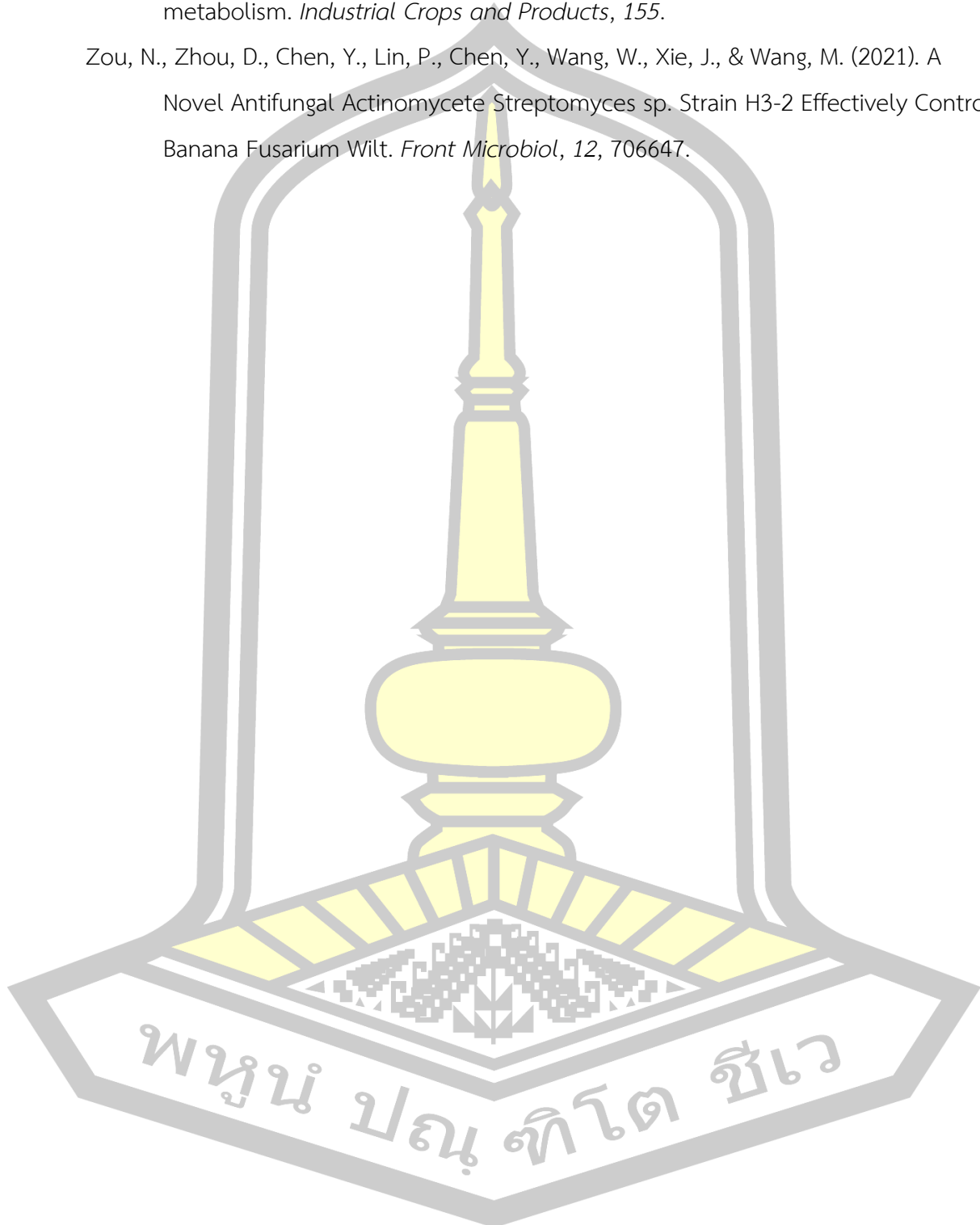
- Richter, M., & Rossello-Móra, R. (2009). Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,
- Risdian, C., Mozef, T., & Wink, J. (2019). Biosynthesis of Polyketides in *Streptomyces*. *Microorganisms*, 7(5).
- Roncero, M. I. G., Concepción Hera, M. R.-R., Fe I. García Maceira,, Marta P. Madrid, Z. C., Fernando Calero, Jesús Delgado-Jarana,, Raquel Roldán-Rodríguez, A. L. M. n.-R., Carmen Velasco, Juan Roa,, & Magdalena Martín-Urdiroz, D. C. r., Antonio Di Pietro. (2003). *Fusarium* as a model for studying virulence in soilborne plant pathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62(2), 87-98.
- Sahin, N., & Uğur, A. (2003). Investigation of the antimicrobial activity of some *Streptomyces* isolates. *Turkish Journal of Biology*(27), 79-84.
- Sangdee, A., Kornphachara, S., & Srisawat, N. (2016). *In vitro* screening of antagonistic activity of soil *Streptomyces* against plant pathogenic fungi and assessment of its characters. *Journal of Agricultural Technology*, 12(1), 173-185.
- Saxena, A. K., Kumar, M., Chakdar, H., Anuroopa, N., & Bagyaraj, D. J. (2020). *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Applied Microbiology*, 128(6), 1583-1594.
- Schwyn, B., & Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160, 47-56.
- Selim, M. S. M., Abdelhamid, S. A., & Mohamed, S. S. (2021). Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *J Genet Eng Biotechnol*, 19(1), 72.
- Sha, Y., Zeng, Q., & Sui, S. (2020). Screening and application of *Bacillus* strains isolated from nonrhizospheric rice soil for the biocontrol of rice blast. *Plant Pathology Journal*, 36(3), 231-243.
- Shafi, J., Tian, H., & Ji, M. (2017). *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 31(3), 446-459.
- Shahid, I., Han, J., Hanooq, S., Malik, K. A., Borchers, C. H., & Mehnaz, S. (2021). Profiling of metabolites of *Bacillus* spp. and their application in sustainable plant growth promotion and biocontrol. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 1-14.

- Sharma, P., & Thakur, D. (2020). Antimicrobial biosynthetic potential and diversity of culturable soil actinobacteria from forest ecosystems of Northeast India. *Sci Rep*, 10(1), 4104.
- Shin, J. H., Fu, T., Park, K. H., & Kim, K. S. (2017). The effect of fungicides on mycelial growth and conidial germination of the ginseng Root Rot Fungus, *Cylindrocarpon destructans*. *Mycobiology*, 45(3), 220-225.
- Shrivastava, P., Kumar, R., & Yandigeri, M. S. (2017). In vitro biocontrol activity of halotolerant *Streptomyces aureofaciens* K20: A potent antagonist against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Saudi J Biol Sci*, 24(1), 192-199.
- Singh, N., Pandey, P., Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2008). Biological control of root rot fungus *Macrophomina phaseolina* and growth enhancement of *Pinus roxburghii* (Sarg.) by rhizosphere competent *Bacillus subtilis* BN1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(9), 1669-1679.
- Siripornvisal, S., Lomthong, T., Srisuk, N., Tokuyama, S., & Kitpreechavanich, V. (2021). Characterization and evaluated storage viability of strain, *Bacillus velezensis* PGA106 for growth promotion and biocontrol of *Fusarium* wilt in tomato. *Chiang Mai Journal of Science* 48(1), 1-12.
- Sivakumar, T., Balabaskar, P., & Sanjeevkumar, K. (2018). Variability in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causing wilt of tomato. *International Journal of Chemical Studies*, 6(2), 3655-3659.
- Sivalingam, P., Hong, K., Pote, J., & Prabakar, K. (2019). Extreme Environment *Streptomyces*: Potential Sources for New Antibacterial and Anticancer Drug Leads? *Int J Microbiol*, 2019, 5283948.
- Srinivas, C., Nirmala Devi, D., Narasimha Murthy, K., Mohan, C. D., Lakshmeesha, T. R., Singh, B., Kalagatur, N. K., Niranjana, S. R., Hashem, A., Alqarawi, A. A., Tabassum, B., Abd Allah, E. F., & Chandra Nayaka, S. (2019). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: biology to diversity- A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1315-1324.
- Suarez-Moreno, Z. R., Vinchira-Villarraga, D. M., Vergara-Morales, D. I., Castellanos, L., Ramos, F. A., Guarnaccia, C., Degrassi, G., Venturi, V., & Moreno-Sarmiento, N. (2019). Plant-Growth Promotion and Biocontrol Properties of Three

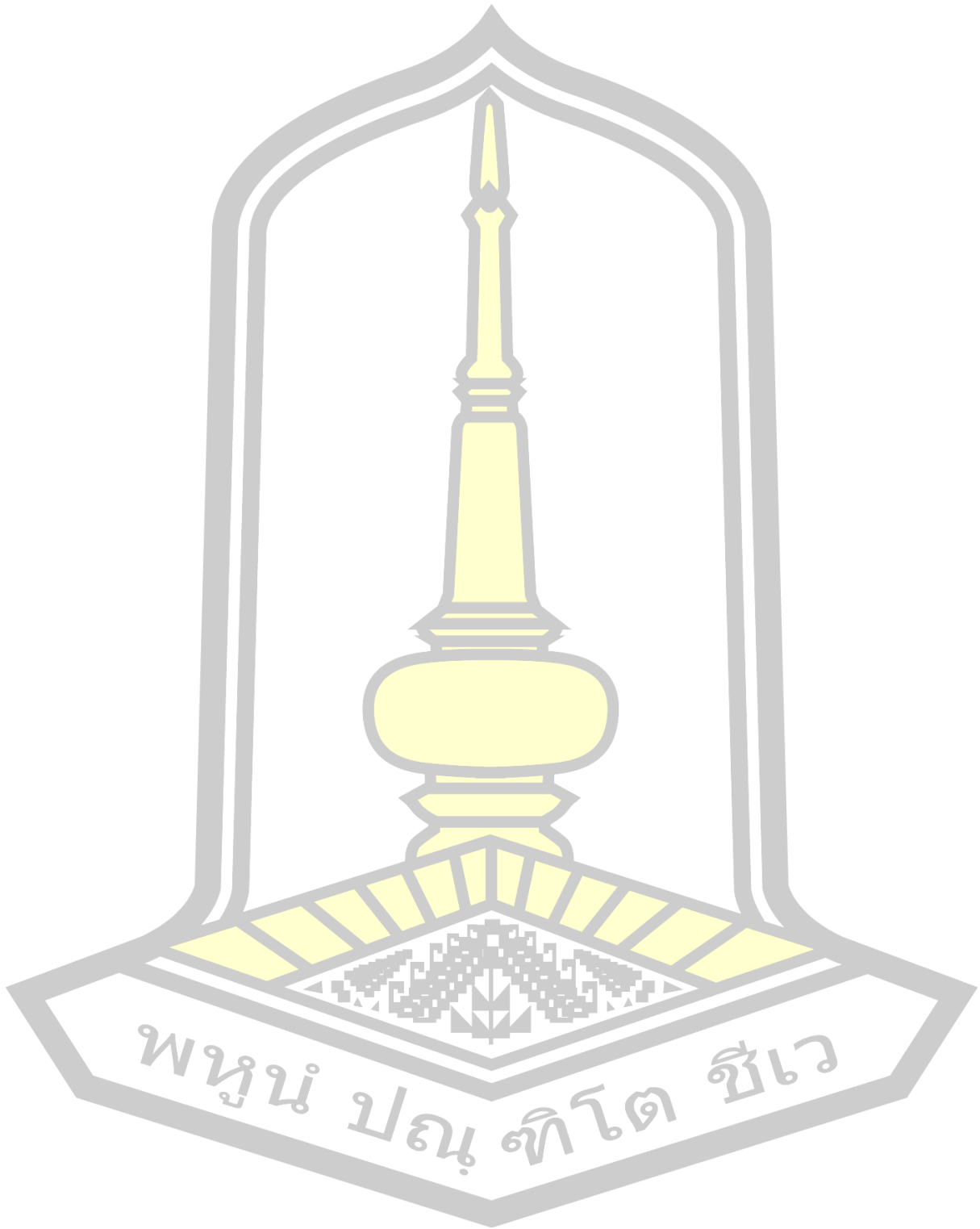
- Streptomyces* spp. Isolates to Control Bacterial Rice Pathogens. *Front Microbiol*, 10, 290.
- Takamatsu, S., Lin, X., Nara, A., Komatsu, M., Cane, D. E., & Ikeda, H. (2011). Characterization of a silent sesquiterpenoid biosynthetic pathway in *Streptomyces avermitilis* controlling epi-isozizaene albaflavenone biosynthesis and isolation of a new oxidized epi-isozizaene metabolite. *Microb Biotechnol*, 4(2), 184-191.
- Tejera-Hernández, B., Rojas-Badiay, M., & Heydrich-Pérez, M. M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138.
- Vurukonda, S., Giovanardi, D., & Stefani, E. (2018). Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. *Int J Mol Sci*, 19(4).
- Watterson, M. J., Kent, D. J., Boor, K. J., Wiedmann, M., & Martin, N. H. (2014). Evaluation of dairy powder products implicates thermophilic sporeformers as the primary organisms of interest. *J Dairy Sci*, 97(4), 2487-2497.
- Yoke-Kqueen, C., Learn-Han, L., Cheng-Yun, C. C., & Vui-Ling, C. M. W. (2015). Isolation, identification and screening of actinobacteria in volcanic soil of deception Island (the Antarctic) for antimicrobial metabolites. *Polish Polar Research*, 36(1), 67-78.
- Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K., & Shirata, A. (2001). Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. *The American Phytopathological Society*, 91(2), 181-187.
- You, W., Ge, C., Jiang, Z., Chen, M., Li, W., & Shao, Y. (2021). Screening of a broad-spectrum antagonist-*Bacillus siamensis*, and its possible mechanisms to control postharvest disease in tropical fruits. *Biological Control*, 157.
- Zacky, F. A., & Ting, A. S. Y. (2015). Biocontrol of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* tropical race 4 by formulated cells and cell-free extracts of *Streptomyces griseus* in sterile soil environment. *Biocontrol Science and Technology*, 25(6), 685-696.
- Zhao, T., Deng, X., Xiaob, Q., Hana, Y., Zhua, S., & Chena, J. (2020). IAA priming improves the germination and seedling growth in cotton (*Gossypium hirsutum*

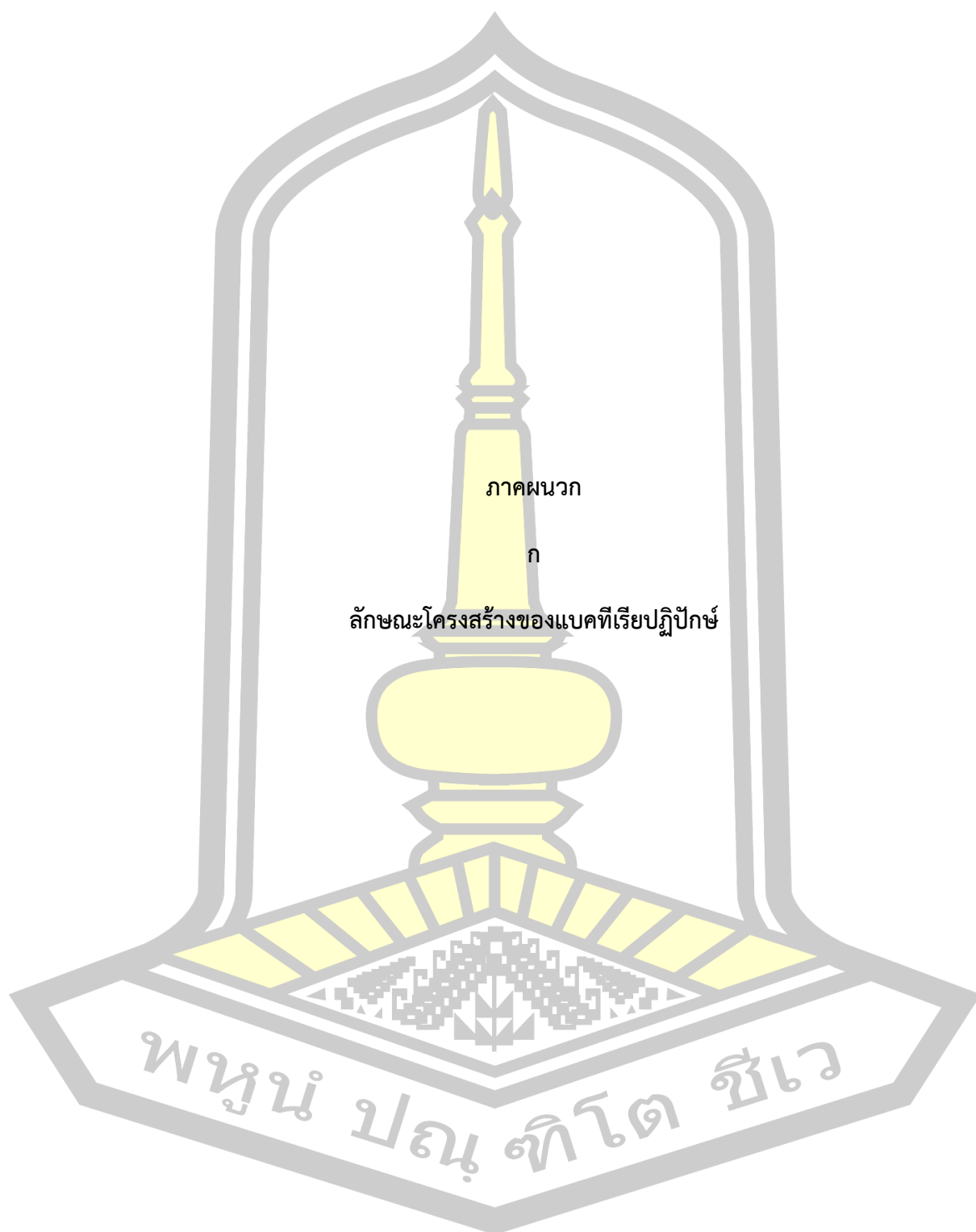
L.) via regulating the endogenous phytohormones and enhancing the sucrose metabolism. *Industrial Crops and Products*, 155.

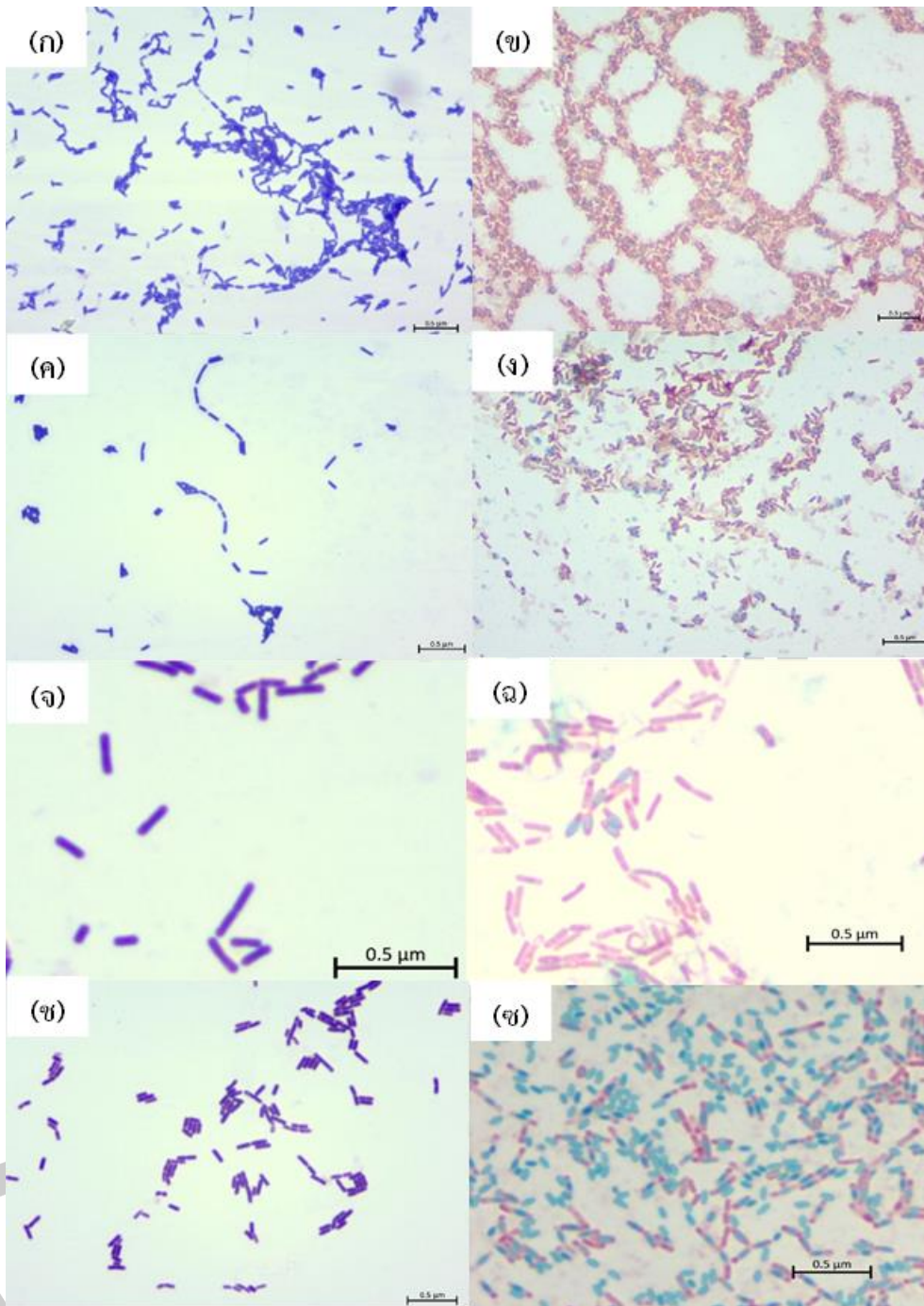
Zou, N., Zhou, D., Chen, Y., Lin, P., Chen, Y., Wang, W., Xie, J., & Wang, M. (2021). A Novel Antifungal Actinomycete *Streptomyces* sp. Strain H3-2 Effectively Controls Banana Fusarium Wilt. *Front Microbiol*, 12, 706647.



ภาคผนวก

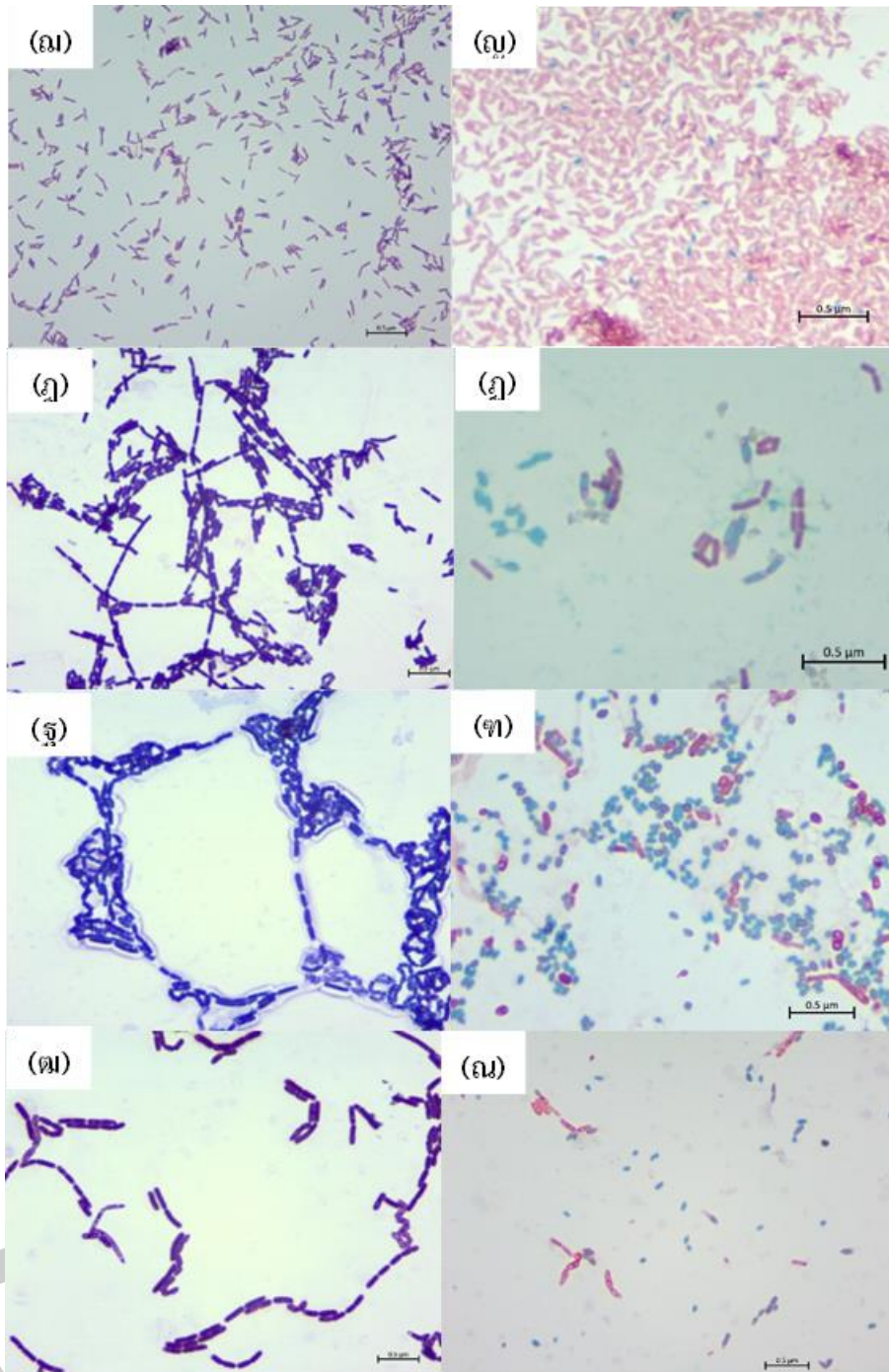




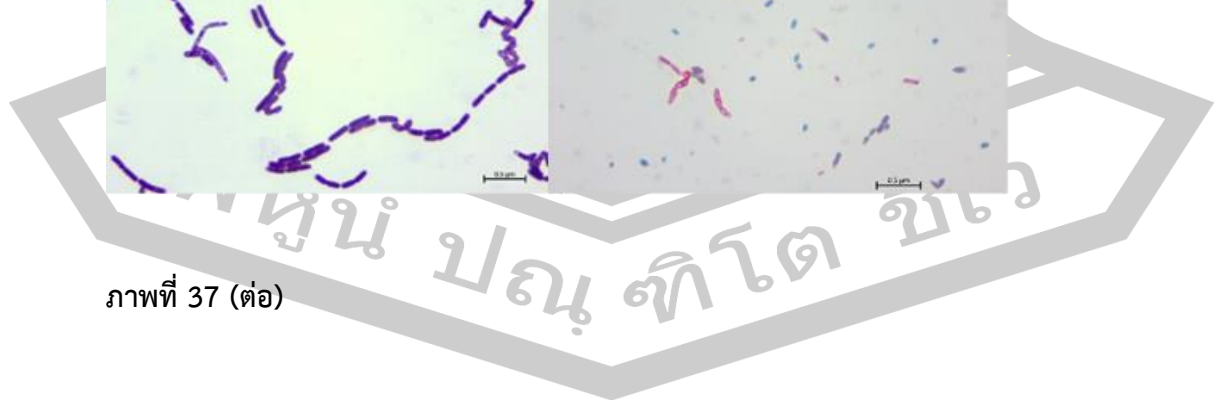


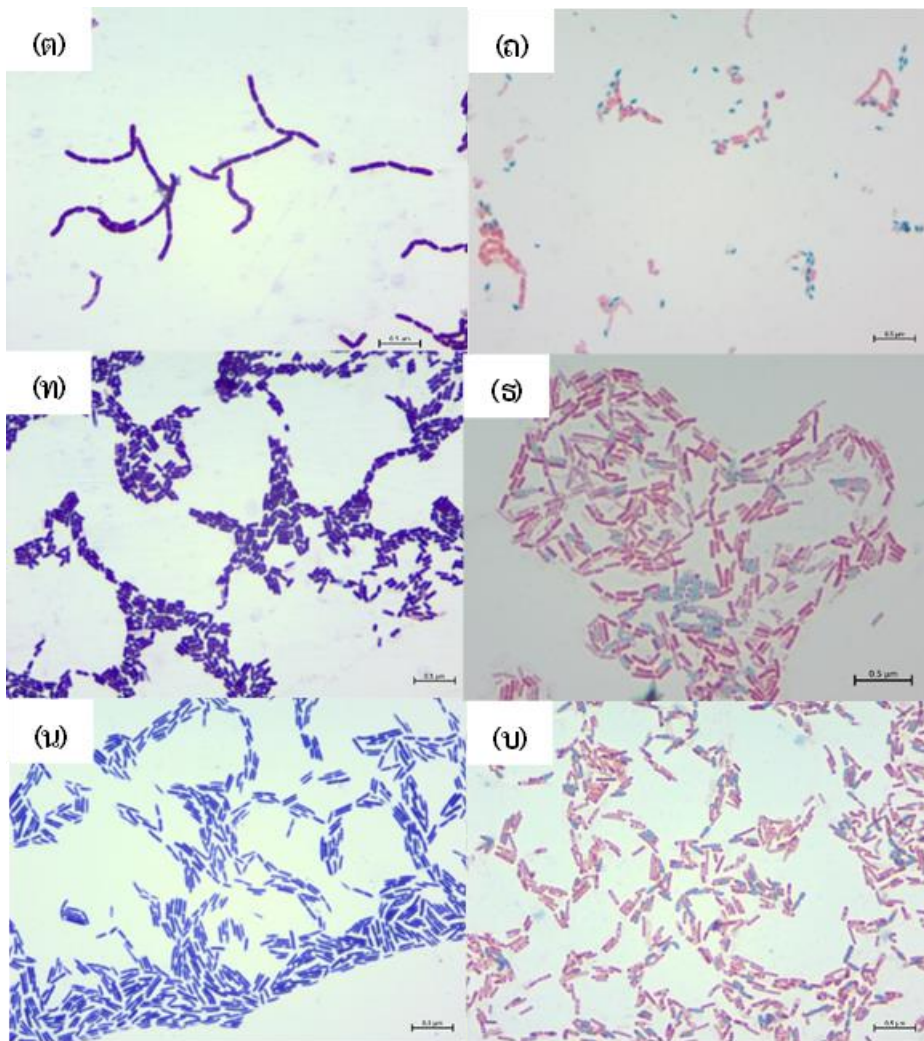
ภาพที่ 37 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* spp.

ก-ข) ลักษณะเซลล์และเอนโดสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท B.PNR1 ค-ง) ลักษณะเซลล์และเอนโดสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท B.PNR2 จ-ฉ) ลักษณะเซลล์และเอนโดสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท B.PNR3 และ ช-ซ) ลักษณะเซลล์และเอนโดสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท B.PNR4



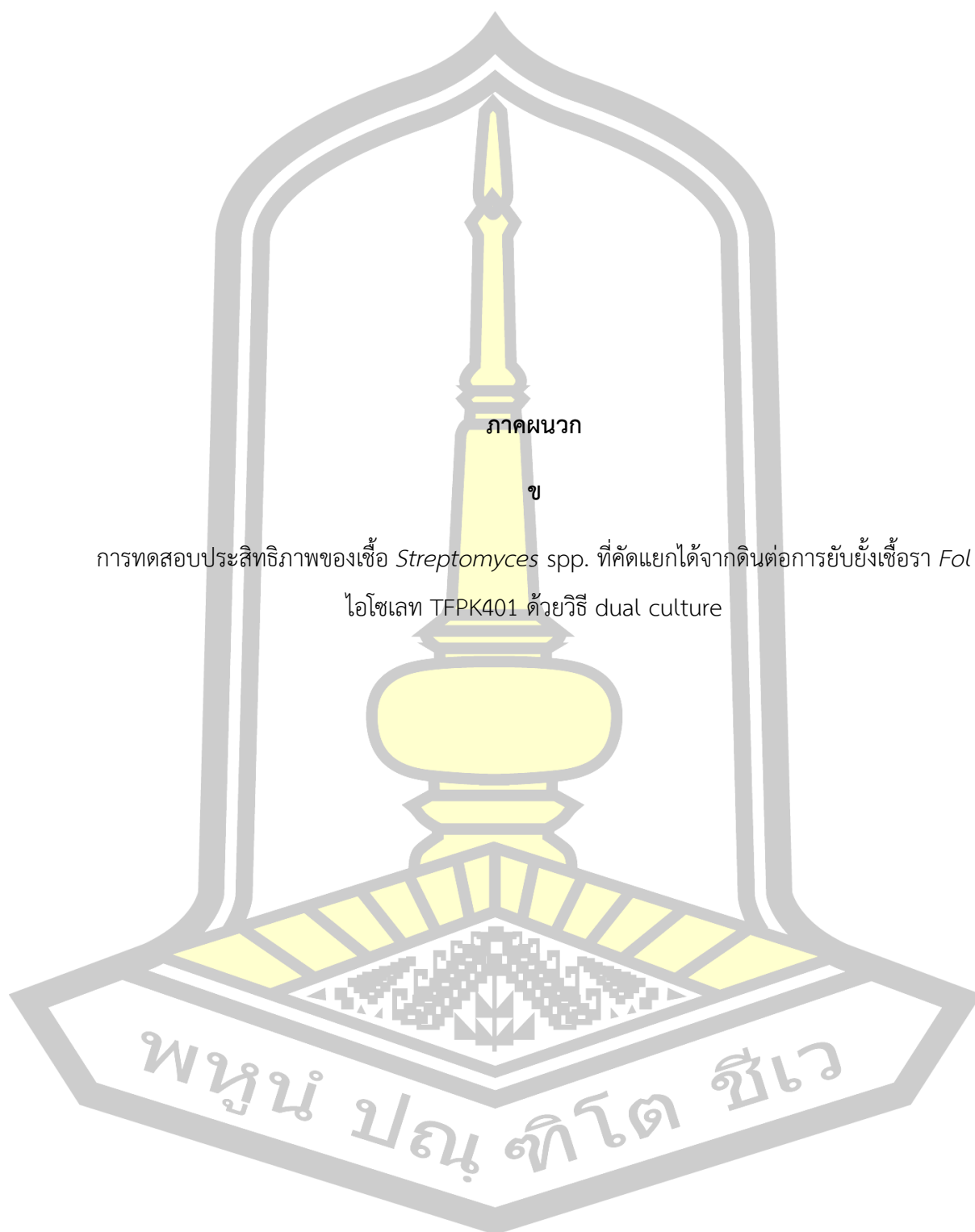
ภาพที่ 37 (ต่อ)





ภาพที่ 37 (ต่อ)





ตาราง 36 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟพนม รุ่งต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ด้วยวิธี dual culture

Isolate	ร้อยละการยับยั้ง	ระดับกิจกรรมการต้านเชื้อ
PNR 1	27.68±3.09 ^{CDEF}	1
PNR 2	27.68±2.68 ^{CDEF}	1
PNR 3	19.64±1.55 ^{GHU}	1
PNR 4	24.11±3.89 ^{DEFG}	1
PNR 5	13.39±1.78 ^{JK}	1
PNR 6	29.47±2.36 ^{CDE}	1
PNR 7	25.89±0.89 ^{DEFG}	1
PNR 9	19.64±0.00 ^{FGHU}	1
PNR 11	24.11±2.36 ^{DEFG}	1
PNR 12	18.75±0.89 ^{GHU}	1
PNR 13	22.32±2.68 ^{EFGH}	1
PNR 15	27.68±0.00 ^{CDEF}	1
PNR 16	29.47±2.36 ^{CDE}	1
PNR 18	17.86±1.78 ^{GHU}	1
PNR 19	20.53±2.36 ^{FGHI}	1
PNR 20	22.32±4.09 ^{EFGH}	1
PNR 21	17.86±1.78 ^{GHU}	1
PNR 23	27.68±1.55 ^{CDEF}	1
PNR 25	32.14±1.78 ^{CD}	1
PNR 26	20.54±4.46 ^{FGHI}	1
PNR 27	15.18±2.36 ^{HJK}	1
PNR 29	55.35±3.89 ^A	2
PNR 30	58.93±2.36 ^A	2
PNR 31	42.86±3.57 ^B	1
PNR 33	11.61±3.09 ^{JKL}	1

ตารางที่ 36 (ต่อ)

Isolate	ร้อยละการยับยั้ง	ระดับกิจกรรมการต้านเชื้อ
PNR 34	32.14±6.25 ^{CD}	1
PNR 35	9.82±2.36 ^{KL}	1
PNR 37	5.36±0.89 ^{LM}	1
PNR 38	20.54±4.46 ^{FGHI}	1
PNR 40	32.14±3.57 ^{CD}	1
PNR 41	18.75±3.57 ^{GHIJ}	1
PNR 44	13.39±1.78 ^{UK}	1
PNR 45	1.19±1.19 ^M	1
PNR 47	43.75±1.55 ^B	1
PNR 56	2.08±2.08 ^M	1
PNR 60	24.11±0.89 ^{DEFG}	1
PNR 61	22.32±3.09 ^{EFGH}	1
PNR 63	25.89±1.79 ^{DEFG}	1
PNR 64	29.47±0.89 ^{CDE}	1
PNR 66	21.43±2.36 ^{EFGHI}	1
PNR 67	18.75±0.89 ^{GHIJ}	1
PNR 68	34.82±1.78 ^C	1
PNR 69	23.21±0.89 ^{EFGH}	1
PNR 72	25.00±1.55 ^{DEFG}	1
PNR 73	25.89±0.89 ^{DEFG}	1
PNR 74	56.25±0.89 ^A	2
PNR 75	24.11±2.36 ^{DEFG}	1
PNR 76	24.11±0.89 ^{DEFG}	1
PNR 78	19.64±0.00 ^{FHIJ}	1
control	0.00 ± 0.00 ^M	0

หมายเหตุ A,B,C,D,E, F,G,H, I, J and K ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแถวเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตาราง 37 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟเขาคอกต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ด้วยวิธี dual culture

Isolate	ร้อยละการยับยั้ง	ระดับกิจกรรมการต้านเชื้อ
KK1	68.75±0.89 ^A	3
KK2	16.07±2.36 ^{GH}	1
KK4	26.79±0.89 ^{EF}	1
KK9	44.64±2.36 ^B	1
KK10	35.72±2.68 ^{CD}	1
KK13	26.79±1.77 ^{EF}	1
KK14	20.54±3.22 ^{FGH}	1
KK16	25.00±1.55 ^{EF}	1
KK17	15.18±2.36 ^H	1
KK18	20.53±0.89 ^{FGH}	1
KK19	27.68±1.55 ^{EF}	1
KK20	29.47±0.89 ^{DE}	1
KK21	25.89±1.77 ^{EF}	1
KK22	1.78±0.89 ^J	1
KK23	8.04±3.22 ^I	1
KK28	23.21± 3.22 ^{EFG}	1
KK29	15.18±2.36 ^H	1
KK30.1	25.89±4.73 ^{EF}	1
KK30.2	23.21±2.36 ^{EFG}	1
KK31	40.18±3.89 ^{BC}	1
KK32	26.79±0.89 ^{EF}	1
KK33	37.49±1.79 ^C	1
KK34	20.53±2.36 ^{FGH}	1
KK35	27.68± 1.55 ^{EF}	1
control	0.00 ± 0.00 ^J	0

หมายเหตุ ^{A,B,C,D,E, F,G,H and I} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแถวเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตาราง 38 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่คัดแยกได้จากดินภูเขาไฟ
ไปรบัดต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fol* ไอโซเลท TFPK401 ด้วยวิธี dual culture

Isolate	ร้อยละการยับยั้ง	ระดับกิจกรรมการต้านเชื้อ
PB1	2.67±0.89 ^E	1
PB2	19.64±4.09 ^{CD}	1
PB3	28.57±2.36 ^A	1
PB4	26.79±2.36 ^{ABC}	1
PB5	23.21±0.89 ^{ABCD}	1
PB6	21.43±2.36 ^{ABCD}	1
PB7	18.74±0.89 ^D	1
PB8	20.54±3.22 ^{BCD}	1
PB9	27.68±3.09 ^{AB}	1
PB10	4.46±0.89 ^E	1
PB11	25.89±2.36 ^{ABCD}	1
PB13	24.11±2.36 ^{ABCD}	1
PB15	2.38±1.95 ^E	1
control	0.00 ± 0.00 ^E	0

หมายเหตุ ^{A,B,C,D,E and F} ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในแถวเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวรัตนา เพ็งเพราะ
วันเกิด	13 พฤศจิกายน 2530
สถานที่เกิด	จังหวัดบุรีรัมย์
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	96 หมู่ 10 ตำบลจรเข้มาก อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	อาจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2553 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2556 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2566 ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปร.ด.) สาขาชีววิทยา
ทุนวิจัย	1. ทุนรัฐบาลทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม) เพื่อศึกษาวิชาในประเทศ 2. ทุนสนับสนุนการศึกษาต่อในระดับปริญญาเอก มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

พูนัน ปณฺ ทิโต ชีเว