# การคัดเลือกแบคทีเรียและราที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากของปาล์มน้ำมัน เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศและควบคุมราสาเหตุโรคพืช

# Screening of Bacteria and Fungi Isolated from Rhizosphere Soil of Oil Palm for Promoting Plant Growth and Controlling Fungal Pathogens


ชวิศา ทองรัตน์

Chavisa Thongrat


วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Plant Pathology
Prince of Songkla University

2563


ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

# การคัดเลือกแบคทีเรียและราที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากของปาล์มน้ำมัน เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศและควบคุมราสาเหตุโรคพืช

# Screening of Bacteria and Fungi Isolated from Rhizosphere Soil of Oil Palm for Promoting Plant Growth and Controlling Fungal Pathogens

**ชวิศา ทองรัตน์**
Chavisa Thongrat

**วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา**
**วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา**
**มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Plant Pathology
Prince of Songkla University
**2563**
**ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**

**ชื่อวิทยานิพนธ์** การคัดเลือกแบคทีเรียและราที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากของปาล์มน้ำมันเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศและควบคุมราสาเหตุโรคพืช
Screening of Bacteria and Fungi Isolated from Rhizosphere Soil of Oil Palm for Promoting Plant Growth and Controlling Fungal Pathogens

**ผู้เขียน** นางสาวชวิศา ทองรัตน์

**สาขาวิชา** โรคพืชวิทยา

---

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก**

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา)

**คณะกรรมการสอบ**

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สายทอง แก้วฉาย)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ สันป่าเป้า)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนัญชนก ไชยรินทร์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

.....
(ศาสตราจารย์ ดร. ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งสาง)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ .....
(นางสาวชวิศา ทองรัตน์)
นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ .....
(นางสาวชวิศา ทองรัตน์)
นักศึกษา

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้คงไม่อาจสำเร็จสมบูรณ์ขึ้นมาได้ หากปราศจากการให้ความช่วยเหลือแนะนำจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา ที่ทำให้ผู้เขียนได้หัวข้อในการทำวิทยานิพนธ์ และกรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา นอกจากนี้ยังได้ให้ข้อมูลและคำแนะนำต่าง ๆ ซึ่งเป็นประโยชน์ โดยเฉพาะการวางเค้าโครง แนวทางการเขียนเนื้อหาและบทวิเคราะห์ ตลอดจนการกำหนดกรอบเวลาในการเสนอความคืบหน้าของงาน ซึ่งถือเป็นแรงกระตุ้นให้แก่ผู้เขียนได้อย่างดี รวมไปถึงสละเวลาตรวจสอบความถูกต้องของเล่มวิทยานิพนธ์ จึงขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ไว้ ณ ที่นี้

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สายทอง แก้วฉาย ประธานกรรมการวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. อนุรักษ์ สันป่าเป้า และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนัญชนก ไชยรินทร์ กรรมการวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาชี้แนะแนวทางและคำแนะนำ ตลอดจนกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ต่าง ๆ อันผู้เขียนมิได้เอ่ยนาม ที่ได้อบรมสั่งสอนให้ความรู้ทางด้านวิชาการ และกัลยาณมิตรพี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ ทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้ตลอดมาระยะเวลาที่ศึกษาและจัดทำวิทยานิพนธ์ ไปจนถึงเจ้าหน้าที่ภาควิชาการจัดการศัตรูพืชทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวก และประสานงานในการดำเนินการทำวิทยานิพนธ์ให้ผู้เขียนตลอดมา

สุดท้ายผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่ออำพล และคุณแม่ศิริพร ทองรัตน์ ที่ท่านช่วยสนับสนุนในด้านการศึกษาแก่ผู้เขียนมาตั้งแต่วัยเยาว์ ให้ความรัก ความเข้าใจ และเป็นกำลังใจสำคัญให้ซึ่งทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ โดยหากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีประโยชน์และคุณค่าทางการศึกษาแก่ผู้ที่สนใจ ผู้เขียนขอยกความดีทั้งหมดแด่ท่านผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินันท์ พรสุริยา และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน คณาจารย์ และผู้มีพระคุณ รวมทั้งบิดา มารดาที่ได้อบรมเลี้ยงดู ให้ความรู้ ความเมตตาแก่ผู้เขียน แต่หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความบกพร่องประการใด ผู้เขียนขอน้อมรับความผิดพลาดไว้แต่เพียงผู้เดียว

ชวิศา ทองรัตน์

**ชื่อวิทยานิพนธ์** การคัดเลือกแบคทีเรียและราที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากของปาล์มน้ำมันเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศและควบคุมราสาเหตุโรคพืช
**ผู้เขียน** นางสาวชวิศา ทองรัตน์
**สาขาวิชา** โรคพืชวิทยา
**ปีการศึกษา** 2562

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้เพื่อทราบชนิดของแบคทีเรียและราในดินบริเวณรอบรากของต้นปาล์มน้ำมัน และเพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียหรือราที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรคพืช จึงได้ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างดินบริเวณรากต้นปาล์มน้ำมัน จาก 6 จังหวัดทางภาคใต้ของไทย ได้แก่ จังหวัดตรัง ปัตตานี พังงา ภูเก็ต สงขลา และสุราษฎร์ธานี เพื่อจัดจำแนกและความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดินบริเวณรากปาล์มน้ำมัน สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 280 ไอโซเลท ประกอบด้วยรา 186 ไอโซเลท แบคทีเรีย 94 ไอโซเลท จุลินทรีย์ที่พบมาก 4 อันดับแรก ได้แก่ *Bacillus* spp., *Penicillium* spp., *Streptomyces* spp. และ *Aspergillus* spp. เมื่อเปรียบเทียบความหลากหลายของจุลินทรีย์พบว่าจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีชนิดของจุลินทรีย์มากที่สุด จังหวัดภูเก็ตมีการกระจายตัวของจุลินทรีย์สม่ำเสมอที่สุด และจังหวัดพังงามีค่าดัชนีความหลากหลายสูงสุด การหาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้มีการเลือกจุลินทรีย์จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี มาใช้ในการทดสอบ เนื่องจากมีจำนวนชนิดของจุลินทรีย์มากที่สุด รวมทั้งสิ้น 95 ไอโซเลท โดยทดสอบกับเมล็ดมะเขือเทศสีดา พบจุลินทรีย์ที่ส่งผลให้มะเขือเทศมีความยาวรากและลำต้นมากกว่าในชุดควบคุม มีจำนวนทั้งสิ้น 45 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการต่อราก่อโรคพืช 5 ชนิด ได้แก่ *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* และ *Sclerotium rolfsii* ด้วยวิธี dual culture plate ได้ไอโซเลทที่ให้ผลดีที่สุด ได้แก่ ไอโซเลท ST4 F1, ST5 F1, ST10 F7, ST3 F2 และ ST4 F2 ซึ่งทั้ง 5 ไอโซเลท เป็นราที่จัดจำแนกอยู่ในกลุ่ม *Trichoderma* spp. การทดสอบหาคุณสมบัติจุลินทรีย์ในการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตเมล็ดมะเขือเทศพบว่า *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเตสได้ ไอโซเลท ST4 F1, ST10 F7 และ ST4 F2 สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนส และไอโซเลท ST5 F1 และ ST3 F2 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอส นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลทสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ และไอโซเลท ST5 F1, ST3 F2 และ ST4 F2 สามารถสร้างสารไซเดอร์โรฟอร์นำจุลินทรีย์ทั้ง 5 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในสภาพโรงเรือน พบว่าไอโซเลท ST4 F2 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญได้ดี ภายหลังจาก

ได้รับเชื้อทดสอบเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมินจากเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนผลผลิตต่อต้น น้ำหนักผลผลิตต่อผล น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง น้ำหนักสดของราก และสามารถยับยั้งราก่อโรคได้ แม้ว่าค่าความเขียวของใบ และความสูงของต้นมะเขือเทศ มีค่าการทดสอบไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม แต่มีแนวโน้มที่จะมากกว่า จากผลการทดสอบในแปลงทดลอง พบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. สามารถส่งผลให้ต้นพืชมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่า และสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีในชุดควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกษตรกรสามารถใช้เชื้อ *Trichoderma* spp. เพื่อเป็นทางเลือกทางหนึ่งในการลดการใช้สารเคมี และเพื่อการพัฒนาการผลิตแบบเกษตรยั่งยืนต่อไปในอนาคต

**Thesis Title** Screening of Bacteria and Fungi Isolated from Rhizosphere Soil of Oil Palm for Promoting Plant Growth and Controlling Fungal Pathogens
**Author** Miss Chavisa Thongrat
**Major Program** Plant Pathology
**Academic Year** 2019

## ABSTRACT

The purposes of this research were to identify the species of oil palm rhizosphere soil microorganisms and to screen bacteria or fungi for their plant growthpromotion ability and antagonism against plant pathogens. Therefore, soil samples from 6 southern provinces of Thailand : Trang, Pattani, Phangnga, Phuket, Songkhla and Suratthani were collected from rhizosphere of oil palm. The results indicated that 280 isolates comprising fungi 186 isolates and bacteria 94 isolates were isolated. Most common microorganisms were *Bacillus* spp., *Penicillium* spp., *Streptomyces* spp. and *Aspergillus* spp., respectively. The microorganisms from Suratthani province had the most species richness. The isolates from Phuket province had the most species evenness. and the highest species diversity was found in Phangnga province. The microorganisms from Suratthani province were selected to determine the efficiency for promoting plant growth of tomato seed. due to the highest number of microorganisms isolates at 95 isolates The total microorganisms 45 isolates consisted of fungi 25 isolates and bacteria 20 isolates had ability to promote stem and root growth of tomato seeds when compared with control treatment. Then, the 45 isolates were tested for their antagonistic efficiency against 5 isolates of plant pathogens, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* and *Sclerotium rolfsii* with dual culture plate method. The most effective antagonist isolates were ST3 F2, ST4 F1, ST4 F2, ST5 F1 and ST10 F7. All isolates were identified as *Trichoderma* spp. which could produce phosphatase enzymes. While isolates ST4 F1, ST10 F7, ST4 F2 could produce chitinase enzymes and isolates ST5 F1 and ST3 F2 could produce protease enzymes. Moreover, all isolates of *Trichoderma* spp. could produce IAA hormones. and isolates ST5 F1, ST3 F2 and ST4 F2 could produce siderophore. Five isolates of *Trichoderma* spp. were tested for plant growth-promoting

ability in tomato plant under greenhouse condition. It was found that Trichoderma sp. isolates ST4 F2 had high potential in stem diameter, canopy diameter, number of fruits, weight of each fruit, fresh and dry weight of shoot and fresh weight of root. Whereas shoot length and leaf greenness were no statistically different when compared to control but tends to be higher. Based on the test results, it was found that *Trichoderma* sp. Isolates ST4 F2 had plant growth-promoting potential and could reduce the severity of the disease. Therefore, *Trichoderma* sp. Isolates ST4 F2 can be used as an alternative way to reduce the amount of chemicals used and for the development of sustainable agricultural production in the future.

# สารบัญ


| เรื่อง | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อ | (6) |
| Abstract | (8) |
| รายการตาราง | (11) |
| รายการภาพ | (12) |
| บทที่ 1 บทนำ | |
| บทนำต้นเรื่อง | 1 |
| ตรวจเอกสาร | 3 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 14 |
| บทที่ 2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ | 15 |
| 1. การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียและรา | 15 |
| 2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียและราในดิน | 16 |
| 3. ศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่แยกได้ | 17 |
| 4. ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช | 17 |
| 5. การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการ | 18 |
| 6. การศึกษาคุณสมบัติทางด้านชีวเคมีของจุลินทรีย์ | 20 |
| 7. การทดสอบหาคุณสมบัติจุลินทรีย์ในการผลิตสารชีวโมเลกุลที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช | 21 |
| 8. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในเรือนทดลอง | 22 |
| บทที่ 3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง | 25 |
| 1. การจัดจำแนกและความหลากหลายของแบคทีเรียและรา | 25 |
| 2. ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช | 28 |
| 3. ประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการ | 34 |
| 4. คุณสมบัติของจุลินทรีย์ในการผลิตสารชีวเคมีที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช | 37 |
| 5. ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ | 40 |
| บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง | 53 |
| เอกสารอ้างอิง | 54 |
| ภาคผนวก | 65 |
| ประวัติผู้เขียน | 69 |

# รายการตาราง

**ตารางที่** **หน้า**


1 ความหลากหลายของชนิดจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากปาล์มน้ำมัน ในจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย 26-27

2 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลทต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* และ *Sclerotium rolfsii* ในสภาพห้องปฏิบัติการ 35-36

3 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการสร้างเอนไซม์ของรา *Trichoderma* sp. 39

4 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการสร้างสารชีวเคมีของรา *Trichoderma* sp. 39

5 ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ในการส่งเสริมการเจริญเติบโต ด้านความสูงของต้นมะเขือเทศหลังปลูกในระยะเวลา 30 - 60 วัน 45

6 ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านลำต้น ของมะเขือเทศหลังปลูกในระยะเวลา 30 - 60 วัน 46

7 ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ในการส่งเสริมการเจริญเติบโต ด้านความกว้างทรงพุ่มของมะเขือเทศหลังปลูกในระยะเวลา 30 - 60 วัน 48

8 ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ต่อค่าความเขียวของใบมะเขือเทศ 49

9 ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น และรากมะเขือเทศ 51

10 ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ต่อผลผลิตของมะเขือเทศ 52

# รายการภาพ

**ภาพที่** **หน้า**


1 การทดสอบการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ต่อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 18

2 การทดสอบการเป็นราปฏิปักษ์ ต่อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 20

3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียและรา 25

4 ความยาวของต้นมะเขือเทศที่งอกจากเมล็ดหลังการแช่ด้วยสารแขวนลอย แบคทีเรียและรา โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 7 วัน 29

5 ความยาวของรากมะเขือเทศที่งอกจากเมล็ดหลังการแช่ด้วยสารแขวนลอย แบคทีเรียและรา โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 7 วัน 30

6 ขนาดของต้นมะเขือเทศที่งอกจากเมล็ดหลังการแช่ด้วยสารแขวนลอย แบคทีเรียและรา โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 7 วัน 32 - 33

7 ราส่งเสริมการเจริญที่มีประสิทธิภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชทั้ง 5 ชนิด ได้ดีที่สุด 5 ลำดับแรก 37

8 การสังเคราะห์สารไซเดอโรฟอร์ ของจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริม การเจริญของเมล็ดมะเขือเทศและเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรคพืช 40

9 ต้นมะเขือเทศภายหลังการได้รับเชื้อทดสอบ 30 วัน 41

10 ต้นมะเขือเทศภายหลังการได้รับเชื้อทดสอบ 60 วัน 42

# บทที่ 1
# บทนำ

## บทนำต้นเรื่อง

บริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) คือ พื้นที่ในดินส่วนที่สัมผัสกับรากหรือบริเวณรอบ ๆ เป็นที่ทราบกันดีว่าบริเวณนี้เป็นส่วนที่มีกิจกรรมของจุลินทรีย์อยู่หนาแน่น เนื่องจากรากพืชปลดปล่อยสารอินทรีย์ที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสงและกระบวนการอื่น ๆ ภายในต้นพืชออกมาจำนวนมากบริเวณปลายรากฝอยไปสู่อนุภาคของดินในบริเวณดังกล่าว (Brimecombe *et al.*, 2007) เพราะฉะนั้นบริเวณรอบรากพืชจึงมีความหลากหลายของจุลินทรีย์สูงกว่าดินในบริเวณอื่น โดยคิดเป็นรามากกว่า 10 - 20 เท่า และแบคทีเรีย 2 - 20 เท่า (Morgan *et al*., 2005) จุลินทรีย์รอบรากต่อพืช มีความสามารถในการต่อต้านเชื้อก่อโรคโดยการแข่งขันหรือสร้างสารปฏิชีวนะ และมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย (Sorensen, 1997)

จุลินทรีย์รอบรากสามารถส่งเสริมการเจริญของพืชโดยมีกิจกรรมทั้งทางตรง และทางอ้อม ทางตรง คือ จุลินทรีย์ผลิตฮอร์โมน เช่น auxin, cytokinin หรือ ผลิตเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase ซึ่งสามารถลดปริมาณเอทิลีนในพืช (Madhaiyan *et al*., 2006) ส่วนวิธีทางอ้อม คือ จุลลินทรีย์ช่วยเพิ่มการนำเข้าของสารอาหาร ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสเฟต หรือเหล็ก และช่วยป้องกันการติดเชื้อก่อโรค โดยการผลิตสารชีวภาพที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช นอกจากนี้ยังรวมไปถึงการผลิตซิเดอร์โรฟอร์ (siderophore) และสารประกอบอื่น ๆ เพื่อช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช (Costa and Loper, 1994) ซึ่งเป็นที่ได้รับความสนใจและมีงานวิจัยออกมาจำนวนมาก

จุลินทรีย์รอบรากที่เคยมีรายงานการทดสอบประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญ ยกตัวอย่าง เช่น *Glomus mosseae* สามารถดูดซับธาตุอาหาร N, P, K และธาตุอาหารรองอื่น ๆ จากดินแล้วลำเลียงจากรากพืชเข้าสู่ลำต้นส่งผลให้พืชมีมวลชีวภาพเพิ่มขึ้น และ *Piriformospora indica* มียีนที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมธาตุฟอสฟอรัส (PiPT) ส่งผลให้พืชมีปริมาณธาตุฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น และเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีธาตุฟอสฟอรัสต่ำ (Lee and George, 2005; Wang *et al*., 2008; Yadav *et al*., 2010) หรือผลิตสารเมทาบอไลท์จำพวกวิตามิน กรดอะมิโน ฮอร์โมนพืช เช่น *Aspergillus niger* สามารถผลิตฮอร์โมนออกซินและจิบเบอเรลลิน ส่งผลให้พืชมีน้ำหนักรากและลำต้นเพิ่มขึ้นกว่า 100% (Barea *et al*., 1997; Salas-Marina *et al*., 2011) จุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค พบคุณสมบัตินี้ใน *Trichoderma* spp. ซึ่งสามารถ

ผลิตสารปฏิชีวนะมากกว่า 100 ชนิด รวมไปถึง *Chaetomium* spp. และ *Bacillus* spp. ที่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อก่อโรคในดินได้หลากหลายชนิดเช่นกัน (Tang *et al*., 2001; Soytong *et al*., 2001; Harman *et al*., 2004) หรือการป้องกันพืชจากเชื้อก่อโรคโดยแย่งชิงสารอาหารและการครอบครองที่อยู่ด้วยการผลิตซิเดอร์โรฟอร์ เช่น *Penicillium chrysogenum* (Mahmoud and Abd-Alla, 2001) หรือความสามารถในการชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโดยสร้างโปรตีนป้องกันการบุกรุกของเชื้อก่อโรค พบได้ในสายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรคของ *Fusarium oxysporum* และ *Streptomyces* spp. (He *et al*., 2002)

จากความสำคัญและความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์รอบราก งานวิจัยนี้จึงได้ทำการรวบรวมสายพันธุ์และคัดเลือกจุลินทรีย์บริเวณรอบรากปาล์มน้ำมัน เพื่อเป็นข้อมูลให้แก่ผู้ที่สนใจ และอาจทำให้ค้นพบจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตร โดยการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช และจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของพืช ซึ่งอาจยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน เพื่อเป็นทางเลือกทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ และเพื่อประโยชน์ในด้านการพัฒนาการผลิตแบบเกษตรยั่งยืนต่อไปในอนาคต

**ตรวจเอกสาร**

**จุลินทรีย์ในดิน**

ดินเป็นแหล่งที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ แบคทีเรีย รา สาหร่าย โปรโตซัว และไวรัส ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านั้นมักอาศัยอยู่ตามผิวหน้าของดิน แต่ยิ่งลึกลงไปยิ่งมีปริมาณจุลินทรีย์ลดน้อยลง และในดินที่มีอากาศถ่ายเทได้ดีจะมีจุลินทรีย์มากกว่าดินที่อากาศถ่ายเทน้อย โดยทั่วไปจุลินทรีย์ในดินมีความแตกต่างกันตามชนิดของดิน แร่ธาตุ อินทรียสารในดิน และความชื้นของดิน ฯลฯ ในปัจจัยเหล่านี้นั้นอินทรียสารหรือสารอาหารในดินมีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์เป็นอย่างยิ่ง (He *et al*., 2002) ดินที่มีอินทรียสารมากก็จะมีจุลินทรีย์มากด้วย เพราะดินที่มีอินทรียสารจำนวนมาก เป็นดินที่อุดมสมบูรณ์ และมีซากพืชซากสัตว์ที่เรียกฮิวมัสอยู่มากมาย จึงเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่จะนำไปใช้เพื่อการเจริญและทวีจำนวนต่อไป (อนุสรา จันทร์แสง และสุพจน์ กาเซ็ม, 2561)

**ชนิดของจุลินทรีย์ในดิน**

**1. แบคทีเรีย**

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดในดินทั้งชนิดและจำนวน ในดิน 1 กรัม มีแบคทีเรียได้มากถึงหนึ่งพันล้านเซลล์ มีทั้งพวกที่เป็น autotroph และ heterotroph แต่มีพวก heterotroph มากที่สุด แบคทีเรียเหล่านี้เจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย หรือมีทั้งพวกที่สร้างและไม่สร้างสปอร์ เป็นต้น (สืบศักดิ์ สนธิรัตน, 2540) แบคทีเรียในดินพบอยู่เป็นอิสระได้น้อยมาก เพราะเซลล์มักยึดเกาะกับอนุภาคของดินหรือฮิวมัสเอาไว้ แบคทีเรียบางชนิดยังสร้างเมือกมาช่วยยึดเกาะอีกด้วย การยึดระหว่างเซลล์และอนุภาคของดินเป็นการยึดเกาะด้วยประจุไฟฟ้า เช่น เซลล์แบคทีเรียมีประจุลบยึดเข้ากับอนุภาคของดินที่มีประจุบวก จึงทำให้ถูกเคลื่อนย้ายตำแหน่งเดิมได้ยากด้วย

แบคทีเรียที่พบในดินมีชนิดและปริมาณแตกต่างกันไปตามอินทรียสารในดิน เช่น ในดินที่มีการเพาะปลูกพืชมีแบคทีเรียมากกว่าในดินที่ไม่มีการเพาะปลูก เพราะดินที่มีการเพาะปลูกได้รับอินทรียสารต่าง ๆ ที่รากขับออกมามากมาย สารเหล่านี้แบคทีเรียนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญและทวีจำนวนต่อไปได้ แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบในดิน ได้แก่ สกุล *Agrobacterium, Erwinia, Pseudomonas* และ *Xanthomonas* ซึ่งมีจำนวนแตกต่างกันไปในดินแต่ละชนิด (อนุสรา จันทร์แสง และสุพจน์ กาเซ็ม, 2561)

**2. รา**

ราในดินที่พบมีหลายร้อยชนิด อาศัยอยู่บริเวณผิวหน้าดิน เพราะเจริญได้ดีในที่มีออกซิเจน ราที่พบอาจอยู่ในรูปของสปอร์หรือไมซีเลียม ส่วนจำนวนและชนิดจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง ชนิด และความลึกของดิน (สืบศักดิ์ สนธิรัตน, 2540) บางครั้ง

อาจพบไมซีเลียมอยู่รวมกับอนุภาคของสารต่าง ๆ ในดิน บางชนิดใช้ไมซีเลียมยึดเกาะกันและแทรกเข้าไปในเนื้อดิน บางชนิดเจริญข้างในหรือด้านบนของอนุภาคอินทรียสาร เป็นต้น

ราที่พบในดินมีทั้งเห็ด รา และยีสต์ เช่น *Alternaria, Aspergillus, Chaetomium, Cladosporium, Fusarium, Mucor, Penicillium, Rhizopus* และ *Trichoderma* เป็นต้น (สุดารัตน์ ดีช่วย, 2556) มีบทบาทช่วยย่อยสลายอินทรียวัตถุที่มีโมเลกุลซับซ้อน เช่น เซลลูโลส ลิกนิน และสารประกอบเพคติน ฯลฯ ผลจากการย่อยอินทรียสาร ทำให้เป็นการเพิ่มสารประกอบคาร์บอนและไนโตรเจนในดินและช่วยให้ดินมีคุณสมบัติอุ้มน้ำได้ดีขึ้น นอกจากนี้รายังเจริญได้ดีในดินที่เป็นกรด ดังนั้นกิจกรรมการย่อยสลายอินทรียวัตถุในดินที่เป็นกรดจึงเกิดโดยราเป็นสำคัญ ผลจากการย่อยสลายนี้ทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์เหมาะสำหรับการเจริญของพืช (สุดารัตน์ ดีช่วย, 2556)

มีราที่เป็นประโยชน์ด้านการแพทย์ หลายชนิดสร้างสารปฏิชีวนะ กรดอินทรีย์ และเอนไซม์ต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น สารปฏิชีวนะเพนนิซิลิน (penicillin) จากรา *Penicillium notatum* ที่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก สารไซโคลสปอริน (cyclosporin) จากราดิน *Tolypocladium inflatum* ใช้การกดภูมิคุ้มกันในร่างกาย (immune suppressant) ในการเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ เช่น ไต และหัวใจ สารแทกซอล (taxol) มีผลยับยั้งเซลล์มะเร็ง (anticancer) พบในรา *Pestalotiopsis microspora* (Strobel *et al*., 1996) นอกจากนี้ยังพบสารดังกล่าวในรากลุ่ม Coelomycetes และราชนิดอื่น ๆ ได้แก่ *Bartalinia robillardoides*, *Botryodiplodia theobromae*, *Chaetomella raphigera*, *Pestalotiopsis annonicola*, *Phoma citri, Phoma oleandri* และ *Phomopsis pomorum* เป็นต้น (Bhuvaneswari, 2005)

เนื่องจากดินเป็นที่อยู่อาศัยของราหลายชนิด รวมไปถึงราที่เป็นประโยชน์ทางด้านการเกษตร ได้แก่ *Aspergillus, Penicillium* และ sexual state ของรา *Penicillium* เช่น *Talaromyces flavus* สามารถนำมาใช้ยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด ได้แก่ *Verticillium dahliae* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือ รา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าของถั่ว (Jun *et al*., 1999) และมีรายงานว่ารา *T. flavus* สามารถยับยั้งการเจริญของรา *Rhizopus stolonifer* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคเน่าระดับดินของต้นกล้าข้าวบาร์เล่ย์ในประเทศไทย (Dethoup, 2007) *T. flavus* ยับยั้งการเจริญของรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้ม (Dethoup, 2007) *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวในพืชหลายชนิด *F. niveum* สาเหตุโรคผลเน่าของแตงโม (Tziros *et al*., 2007) *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของพริก (Montri *et al*., 2007) และ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะม่วง (Berecochea-López *et a*l., 2015) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

บทบาทสำคัญของราทางการเกษตร ได้แก่ การย่อยสลายเศษพืชและอินทรียวัตถุต่าง ๆ ให้เป็นดินที่อุดมสมบูรณ์เหมาะแก่การเพาะปลูก ราที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายซากพืช

ได้แก่ *Helicosporium*, *Volutella, Wiesneriomyces* และ *Zygosporium* ราที่มีรายงานว่าสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ได้แก่ *Chaetomium cupreum, Gilmaniella humicola, Memmaria echinobotryoides, Scytalidium lignicola, Trichoderma hamatum* และ *T. harzianum* เป็นต้น (เลขา มาโนช และจินตนา ชะนะ, 2539) ราเหล่านี้ควรได้รับการพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพซึ่งเป็นประโยชน์ทางการเกษตรต่อไปในอนาคต นอกจากราแล้ว พบว่าแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีทมีความสำคัญต่อการควบคุมโรคพืชเช่นกัน เพชรรัตน์ และอนันต์ (2547) ศึกษาคุณสมบัติของสาร secondary metabolites จากเชื้อ *Streptomyces* spp. จำนวน 5 ไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค พืช 2 ชนิด คือ *Acidovarax avenae* subsp. *citrulli* (Aac) ซึ่งทำให้เกิดโรคผลเน่าแบคทีเรีย (bacterial fruit blotch) และ *Ralstonia solacearum* (Rals) ซึ่งทำให้เกิดโรคเหี่ยวของพริก และสารปฏิชีวนะที่แบคทีเรียสเตรปโตมัยสีทจากทุกไอโซเลทผลิตขึ้นอาจมีหลายชนิดในกลุ่มของ aminoglycoside และ polyenes

Yuan และ Crawford (1995) ประเมินประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces lydicus* WYEC108 ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและเมล็ดเน่าของข้าวโพด พบว่า *S. lydicus* WYEC108 มีความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด โดยสร้างสาร extracellular antifungal metabolite ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของ oospore ของเชื้อรา *Pythium ultimum* และทำลายผนังเซลล์ของเส้นใยเชื้อราได้

Abd-Allah (2001) ประเมินประสิทธิภาพของ *S. plicatus* ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช โดยแยกเชื้อจากดินได้ 372 ไอโซเลท ทำการคัดเลือกเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไคติเนส พบว่าเชื้อ *S. plicatus* เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารไคติเนส ซูโครส และแคลเซียม เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน และพบว่า *S. plicatus* สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ การยืดตัวของ germ tube และการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici, Alternaria alternate* และ *Verticillium alboatum* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว stem canker และโรคเหี่ยว *Verticillium* ของมะเขือเทศได้

**ความสัมพันธ์ของการอาศัยอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์ในดินและพืช**

**1. จุลินทรีย์เพิ่มธาตุอาหารพืช**

จุลินทรีย์เพิ่มธาตุอาหารพืชในดิน เช่น กลุ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์โปรติเอส เพื่อย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในดิน ให้อยู่ในรูปของไนโตรเจนที่พืชนำไปใช้ได้ จุลินทรีย์ในดินที่มีบทบาทในการย่อย เช่น กลุ่ม *Arthrobacter, Aspergillus, Bacillus, Nitrobacter*, *Nitrosomonas* และ *Streptomyces* (เลขา มาโนช และจินตนา ชะนะ, 2539) นอกจากนี้จุลินทรีย์

ในดินบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนให้เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่มีประโยชน์ต่อพืชได้ จุลินทรีย์กลุ่มนี้แบ่งย่อยได้เป็น 3 ประเภท ตามลักษณะความสัมพันธ์กับพืช ได้แก่

1) แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อยู่ร่วมกับพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis $N_2$-fixing bacteria) เช่น *Rhizobium* sp. กับพืชตระกูลถั่ว

2) แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่ร่วมกับพืชแบบอิสระ ($N_2$-fixing associated bacteria) เช่น *Azospirillum* พบในพืชตระกูลหญ้า อ้อย ข้าวฟ่าง และข้าวโพด

3) แบคทีเรียที่อาศัยอยู่อย่างอิสระในดินและบริเวณรากพืช (Free-living $N_2$-fixing bacteria) เช่น *Azotobacter* และ *Beijerinckia* นอกจากแบคทีเรียแล้ว สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือ cyanobacteria จัดเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่สามารถสังเคราะห์แสงและตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ เจริญได้ดีในพื้นที่น้ำขัง เช่น ในนาข้าว

**2. จุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช**

จุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืชมี 2 กลุ่ม กลุ่มแรก คือ จุลินทรีย์แปรสภาพฟอสฟอรัส ที่สร้างกรดอินทรีย์หรือเอนไซม์ที่แปรสภาพฟอสฟอรัส หรือย่อยสารประกอบกลุ่มอินทรีย์ฟอสฟอรัส ให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ นอกจากนี้ยังสามารถย่อยสารประกอบอนินทรีย์ฟอสฟอรัส เช่น หินฟอสเฟต หรือตะกอนของสารประกอบฟอสเฟตซึ่งเกิดจากการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตอย่างต่อเนื่องแต่ถูกตรึงไว้ในดิน การใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในดินได้ จุลินทรีย์แปรสภาพฟอสฟอรัส ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Thiobacillus* sp. และราในกลุ่ม *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. (เกตน์ณนิภา วันชัย, 2556) จุลินทรีย์ช่วยเพิ่มศักยภาพในการดูดซึมธาตุอาหารพืช ได้แก่ ราไมคอร์ไรซา ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันกับรากพืชชั้นสูง โดยราได้รับอาหารจากพืช และพืชก็ได้รับประโยชน์จากราในการดูดน้ำและธาตุอาหารให้แก่พืช (เลขา มาโนช และจินตนา ชะนะ, 2539) ราไมคอร์ไรซาที่พบโดยทั่วไปมี 2 ชนิด คือ เอคโตไมคอร์ไรซา (ectomycorrhiza) ซึ่งสร้างเส้นใยอัดตัวแน่นรอบรากพืชคล้ายเป็นเปลือกรากอีกชั้นหนึ่ง และเอนโดไมคอร์ไรซา (endomycorrhiza) เป็นราที่สร้างเส้นใยแบบหลวม ๆ รอบรากพืช และบางส่วนเจริญเข้าไปในรากและสร้างเป็นโครงสร้างแตกแขนง เรียกว่า อาร์บัสคูล (arbuscule) และแบบกลมคล้ายรูปไข่เรียกว่า เวสิเคิล (vesicle) การใช้ราประเภทนี้นิยมใช้กับพืชยืนต้น เพื่อช่วยให้พืชดูดธาตุอาหารได้ง่ายขึ้น ช่วยให้ความชุ่มชื้น ช่วยควบคุมโรคพืช และลดความเป็นพิษของสารเคมีและโลหะหนักในดิน นอกจากนี้สุจิตตรา ปะนันโต และคณะ (2556) พบว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากรากข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรีสามารถละลายฟอสเฟตและผลิตกรดอินโดลอะซิติกได้ 465.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 12.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

**3. จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช**

จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินรอบราก พืช (rhizosphere) และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช โดยการสร้างสารกระตุ้นการเจริญของพืช เช่น ซิเดอร์โรฟอร์ (siderophore) ซึ่งมีสมบัติเพิ่มการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์พืช โดยการแย่งจับธาตุ เหล็กบริเวณรอบรากพืช ทำให้ราโรคพืชไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ได้ นอกจากนี้เชื้อจุลินทรีย์ยัง สามารถสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (auxins) ซึ่งกระตุ้นการยืด ตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์ และการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ สร้างเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) และ กลูคาเนส (glucanase) ย่อยเส้นใยราโรคพืช สร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านราสาเหตุโรคพืชได้ เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่มพีจีพีอาร์ (PGPR - Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ได้แก่ *Azospirillum* sp.*, Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.*, Streptomyces* sp. และ *Trichoderma* sp. เป็น ต้น โดยได้ถูกพัฒนาสำหรับใช้คลุกเมล็ดก่อนปลูก ผสมน้ำรดดิน ฉีดพ่นทางใบ และจุ่มรากกล้าก่อนย้ายปลูก (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2552)

**4. จุลินทรีย์ย่อยสลายสารพิษในดิน**

การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรค แมลงศัตรูพืช รวมทั้งวัชพืชในพื้นที่การเกษตร หากใช้ ในปริมาณสูงและไม่ถูกวิธีจะก่อให้เกิดสารพิษตกค้างทั้งในผลผลิตทางการเกษตร ตัวเกษตรกร รวมไป ถึงสิ่งแวดล้อม ในธรรมชาติมีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถปรับตัวให้ทนต่อสารเคมี และสามารถใช้ สารเคมีที่ตกค้างเพื่อเป็นแหล่งอาหารและพลังงานได้ ตัวอย่างเช่น จุลินทรีย์ย่อยสลายอาทราซีน (atrazine) ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืช มีทั้งราและแบคทีเรีย หนึ่งในจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารอาทราซีน ได้ คือ *Pseudomonas* sp. strain ADP ที่สามารถย่อยอาทราซีนให้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับ แอมโมเนีย (Patten and Glick, 2002) ปัจจุบันมีการศึกษาจุลินทรีย์เหล่านี้ในรายละเอียดทั้งด้าน พันธุกรรม และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสารพิษเพื่อนำไปถ่ายโอนให้แก่พืช และใช้ในการบำบัด ดินหรือแหล่งปนเปื้อนอาทราซีนต่อไป

**5. จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อต้านเชื้อก่อโรคกับพืชอาศัย**

ปัจจุบันมีการค้นคว้าหาวิธีการควบคุมโรคพืชใหม่ ๆ เพื่อลดปัญหาอันตรายจากการ ใช้สารเคมีทางการเกษตรที่เพิ่มขึ้น โดยส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาใช้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biocontrol) ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ยอมรับว่าใช้ได้ผลดี มีการศึกษากลไกการควบคุมโรค และระบบการ ควบคุมโรคโดยวิธีต่าง ๆ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ที่เป็นแบคทีเรีย และรา มักเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืชโดยการแก่งแย่งอาหาร การยับยั้งหรือทำลาย และการเป็นปรสิต งานวิจัยด้านการควบคุมโรคโดยชีววิธีส่วนใหญ่มักเน้นการควบคุมโรคที่ทำลายส่วนของพืชที่อยู่ใต้ดิน มากกว่าเชื้อโรคที่เข้าทำลายส่วนของพืชที่อยู่เหนือดิน ซึ่งเป็นที่ยอมรับว่าเป็นวิธีที่มีโอกาสสูงในการ นำไปเป็นกลยุทธ์ในการป้องกันกำจัดโรค เพราะใช้ได้ผลดีจนถึงขั้นทำในระดับการค้า ในธรรมชาติมี

แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืช ที่เรียกว่า เชื้อปฏิปักษ์ซึ่งมีกลไกควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคได้ 4 ลักษณะ คือ

**5.1 การแข่งขัน (competition)**

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถแข่งขันกับเชื้อโรคพืชในด้านต่าง ๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อโรคพืชไม่สามารถเจริญหรืออาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเชื้อปฏิปักษ์ พืชจะเจริญเติบโตแข็งแรง มีผลผลิตสูงขึ้น การแข่งขันที่พบมาก คือ การนำเอาธาตุอาหารหรือสารต่าง ๆ ที่มีอยู่ในดินหรือในสภาพแวดล้อมนั้นมาใช้ประโยชน์ในการเจริญ ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเจริญเข้าทำลายพืช เช่น แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* จะผลิตสาร siderophore ช่วยในการจับยึดธาตุเหล็กในธรรมชาติมาใช้ได้ดีกว่ารา *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* ทำให้รานี้ไม่สามารถทำลายรากของข้าวสาลี ช่วยให้ข้าวสาลีเจริญเป็นปกติ ให้ผลผลิตดีขึ้น และการที่รา *Trichoderma* (Pi2) สามารถลดปริมาณรา *Phytophthora* spp. ได้เนื่องมาจากการเป็นปฏิปักษ์อย่างสูงของรา *Trichoderma* (Pi2) ซึ่งไปแก่งแย่งแข่งขัน ขัดขวาง และยับยั้งการเจริญของรา *Phytophthora* spp. อีกทั้งการเจริญที่รวดเร็วกว่าจึงสามารถเจริญปกคลุมรา *Phytophthora* spp. (กัทลีวัลย์ และคณะ, 2550)

**5.2 การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis)**

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้รับความสนใจคัดเลือกมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนั้น มักเน้นคุณสมบัติการทำลายชีวิตของเชื้อโรคเป็นส่วนใหญ่ โดยเชื้อปฏิปักษ์นี้มีความสามารถในการผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคได้ เช่น สารพิษ (toxin) หรือสารปฏิชีวนะ (antibiotic) การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนี้สำเร็จเป็นครั้งแรกโดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Agrobacterium radiobacter* สายพันธุ์ K84 ผลิตสารแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ที่มีชื่อว่า agrocin 84 ไปยับยั้งหรือทำลายเชื้อ *A. tumefaciens* biotype 1 และ 2 สาเหตุโรค crown gall ของพืชได้ (Bhatt and Vyas, 2014)

**5.3 การเป็นปรสิต (parasitism)**

เป็นภาวะเบียดเบียนของสิ่งมีชีวิตหนึ่งต่อสิ่งมีชีวิตอื่น เชื้อก่อโรคพืชบางชนิดอาจมีปรสิตเข้าทำลายเซลล์ได้โดยตรง มนุษย์จึงใช้เชื้อปรสิตเหล่านี้เป็นตัวควบคุมโรคด้วยชีววิธี ปรสิตที่ทำลายราก่อโรคพืชเรียกว่า ไมคอร์พาราไซต์ (mycoparasite) บางชนิดเป็นปรสิตต่อราหลายชนิดที่ก่อโรคพืชและนำมาใช้เป็นจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช เช่น *Sphaerellopsis filum* สามารถลดการเกิดโรคราสนิม (rust fungi) ที่เกิดจากรา *Puccinia* sp., *Uromyces* sp. ไมคอร์พาราไซต์ที่มีประสิทธิภาพสูง และผลิตเป็นการค้าในรูปผงสปอร์ คือ ราในสกุล *Trichoderma* เช่น *T. lignorum* เป็นปรสิตทำลายเส้นใยรา *Rhizoctonia solani* นิยมใช้สปอร์ของ *T. lignorum* ผสมกับดินปลูกเมล็ดพืชตระกูลส้ม เพื่อป้องกันโรคให้กับต้นอ่อนในระหว่างการงอกและการเจริญเติบโต

*Trichoderma* หลายชนิด สามารถทำลายรา *R. bataticola* และ *Armillaria mellea* (บรรเจิด อินหว่าง และจิระเดช แจ่มสว่าง, 2529) รา *Trichoderma* ชนิดที่ผลิตเป็นการค้าและใช้งานแล้ว ได้แก่ *T. harzianum* และ *T. hamatum* ไมคอร์พาราไซต์ชนิดอื่น เช่น *Pythium oligandrum* และ *P. nunn* เป็นปรสิตใน *Pythium* spp. ชนิดอื่น (Intana, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่ารา *Coniothyrium minitans* และ *Sporidesmium sclerotivorum* เป็นปรสิตของรากลุ่มสร้างสเกอโรเทีย (sclerotia) หลายชนิด เช่น รา *Sclerotinia minor* และ *Sclerotium cepivorum* ที่ก่อโรคในผักกาดหอม (Scragg, 2005) กระบวนการเข้าทำลายราก่อโรคพืชของไมคอร์พาราไซต์โดยทั่วไปแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่

(1) การกระตุ้นด้วยสารเคมี (chemical stimuli) จากราก่อโรคที่สร้างขึ้นแล้วเจริญเข้าหา ซึ่งอาจเป็นสารระเหยหรือสารที่มีสมบัติละลายน้ำได้

(2) การจดจำได้ (recognition) ของตำแหน่งระหว่างเลกทิน (lectin) ของผู้ให้อาศัย (ราก่อโรคพืช) และตำแหน่งรับ (receptor) ที่เป็นคาร์ไบไฮเดรตบนผิวเซลล์ของปรสิต ทำให้เกิดปฏิสัมพันธ์จำเพาะระหว่างกัน (specific interaction)

(3) การเข้าเกาะของปรสิตบนเส้นใยของผู้ให้อาศัย และย่อยทำลายโดยเจริญพันรอบเส้นใย หรือแตะกับเส้นใยราที่ให้อาศัยและปล่อยเอนไซม์ย่อยสลาย เช่น เบตา - 1,3 - กลูคาเนส ($\beta$-1,3-glucanase) และโปรตีนเชิงซ้อนอื่น ๆ มาร่วมกันทำงาน

(4) การบุกรุกของเส้นใยปรสิตผ่านผนังเซลล์ราผู้ให้อาศัยด้วยโครงสร้างคล้ายแอพเพรสซอเรีย (appressoria-like structure) เข้าไปเจริญภายในเซลล์

**5.4 การชักนำพืชให้เกิดความต้านทานโรค (induced disease resistance)**

เชื้อจุลินทรีย์ เช่น รา หรือแบคทีเรีย โดยเฉพาะพวกที่เคยเป็นเชื้อโรค เมื่อนำมาทำให้เสียความสามารถในการทำให้เกิดโรคแล้ว สามารถชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้ (He *et al*., 2002) เช่น การเกิดกลายพันธุ์ในยีนของรา *C. magna* สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสในพืชพวกแตง ไม่ทำให้เกิดโรค แต่เชื้อเจริญอยู่ในพืช ช่วยให้พืชทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคดั้งเดิมได้ หรือในกรณีของแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* สายพันธุ์ไม่รุนแรงที่มีชีวิตอยู่ สามารถชักนำให้พืชสร้างสาร tomatine ปลดปล่อยออกมาที่บริเวณราก ทำให้มะเขือเทศต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *P. solanacearum* สายพันธุ์ดั้งเดิมได้ (Darby *et al*., 2007)

**กระบวนการกระตุ้นการเจริญเติบโตพืชโดยจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญ (Plant growth promoting organisms; PGPMs)**

การกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช เกิดขึ้นได้ 2 ทาง คือ โดยทางตรงและทางอ้อม ได้แก่

**1. กระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดยทางตรง**

**1.1 ช่วยย่อยธาตุฟอสฟอรัสในดิน** ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ ทำให้พืชสามารถนำไปใช้ได้มากขึ้น ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยทำให้พืชมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแป้ง กระบวนการถ่ายทอดพันธุกรรม การตรึงไนโตรเจน การออกดอก การออกผลและเมล็ด และการสุกของผล แต่เนื่องจากธาตุฟอสฟอรัสละลายได้ไม่ดี และมักอยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์แก่พืช พืชนำไปใช้ไม่ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับ pH ของดิน และชนิดของดิน ในดินกรดมีออกไซด์อิสระและไฮดรอกไซด์ของพวก Al และ Fe ที่ตรึงฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปของ aluminum phosphate ($AlPO_4$) และ ferric phosphate ($FePO_4$) ในสภาพดินด่างฟอสฟอรัสจะถูกตรึงโดย Ca ทำให้เกิด calcium orthophosphate ($Ca_3(PO_4)_2$) สารประกอบเหล่านี้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้น้อย จุลินทรีย์จึงมีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนรูปของธาตุอาหารต่าง ๆ ในดิน รวมทั้งมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนรูปฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (สุภาพร จันรุ่งเรือง และคณะ, 2553)

**1.2 สร้างปุ๋ยไนโตรเจนให้กับพืช** ธาตุไนโตรเจนมีความสำคัญต่อพืชมาก จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถตรึงไนโตรเจน และเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย และไนเตรท ที่เป็นประโยชน์ต่อพืช จุลินทรีย์กลุ่มนี้ผลิตเอนไซม์ไนโตรจิเนส เพื่อช่วยเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนให้เป็นสารประกอบไนโตรเจนดังกล่าว และกรดอะมิโนที่พืชนำไปใช้ได้ (Raja *et al.*, 2006)

**1.3 ผลิตฮอร์โมนพืช (phytohormones)** เช่น auxin, cytokinin และgibberelin เป็นต้น การผลิตฮอร์โมนพืชโดยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญ (Plant growth promoting bacteria; PGPB) เป็นกลไกที่สำคัญในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของพืช โดยรายงานเกี่ยวกับการผลิต phytohormones จาก PGPB ส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่บทบาทของกลุ่ม auxins ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งช่วยกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation) การแบ่งเซลล์ (cell division) และการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (cell differentiation) (Shahab *et al*., 2009; Weyens *et al*., 2009)

**1.4 ช่วยลดความเข้มข้นของเอทธิลีน (ethylene)** ในพืชเนื่องจากเอทธิลีนเป็นฮอร์โมนพืชเพียงตัวเดียวที่อยู่ในรูปแก๊ส โดยพืชสร้างขึ้นเพื่อใช้ควบคุมการเจริญเติบโตและพัฒนาการต่าง ๆ เช่น การออกดอก การสุกของผล และมีผลต่อการเหลืองและการร่วงของใบด้วย ระดับของเอทธิลีนที่ปริมาณสูงเกินไปสามารถยับยั้งการงอกและการยืดยาวของรากพืชได้ (Hardoim *et al*., 2008)

**1.5 สามารถผลิตซิเดอร์โรฟอร์ (siderophores)** ธาตุเหล็กจัดเป็นธาตุอาหารที่มีปริมาณมากบนพื้นผิวโลก แต่โดยทั่วไปธาตุเหล็กอยู่ในรูปของสารประกอบที่ละลายน้ำได้ยาก หรือไม่สามารถละลายน้ำได้เลย ความสามารถในการละลายน้ำของเหล็กมีประมาณ 10 - 18 เปอร์เซ็นต์ ที่ pH 7.4 ซึ่งปริมาณของการละลายได้นั้นไม่เพียงพอต่อการเจริญของแบคทีเรีย ดังนั้นจากความ

ต้องการเพื่อการอยู่รอด จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ภายในดินจึงต้องผลิตสารที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อธาตุเหล็กสูง ซึ่งเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (0.5-1.5 กิโลดาลตัน) (Mahmoud and Abd-Alla, 2001) ที่เรียกว่า ซิเดอร์โรฟอร์ขึ้นมา โดยนักวิทยาศาสตร์พบว่าในสภาพแวดล้อมที่ขาดธาตุเหล็ก หรือมีธาตุเหล็กในปริมาณน้อย กระตุ้นให้จุลินทรีย์เกือบทุกชนิดมีการสร้างซิเดอร์โรฟอร์มากขึ้น ในทางกลับกันการสร้างถูกยับยั้งเมื่อในสภาพแวดล้อมที่มีปริมาณของธาตุเหล็กมากขึ้น ยกเว้นในกลุ่มของแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* ซึ่งสามารถเจริญได้ในสภาพที่ไม่มีธาตุเหล็กอยู่เลย (Teaumroong and Boonkerd, 1996) *Pseudomonas putida* สามารถผลิตซิเดอร์โรฟอร์ได้ในปริมาณมาก และมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมราสาเหตุโรคพืช *F. oxysporum* ซึ่งเป็นราที่ทำให้เกิดโรคในมะเขือเทศ บางรายงานกล่าวว่าสายพันธุ์กลาย (mutant) ของแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย ไม่สามารถป้องกันโรค damping-off จากรา *Pythium* ได้ ดังนั้นสารซิเดอร์โรฟอร์นี้ ช่วยนำธาตุเหล็กไปให้พืชใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น (Mahmoud and Abd-Alla, 2001)

กลไกทั่วไปของการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์โดยโมเลกุลซิเดอร์โรฟอร์นั้น ประกอบไปด้วยขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเริ่มจากจุลินทรีย์สังเคราะห์โมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์ จากนั้นจึงแพร่ผ่านผนังเซลล์ออกไปสู่สิ่งแวดล้อม ขั้นต่อมาซิเดอร์โรฟอร์เข้าจับกับธาตุเหล็ก เมื่อโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์เข้าจับกับธาตุเหล็กแล้ว โมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์จับกับโปรตีนที่ผนังเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งทำหน้าที่เป็น receptor protein จากนั้นถูกขนย้ายผ่านเข้ามายังผนังเซลล์ โดยกระบวนการ active transport กล่าวคือ สาร ATP ที่ผนังเซลล์เป็นตัวกระตุ้นให้โปรตีนอีกชนิดหนึ่งที่มี ATP เกาะอยู่แล้วส่งผ่านพลังงานทำให้ธาตุเหล็กเข้าสู่ภายในส่วนของ cytoplasm ได้ ทั้งนี้ขึ้นกับแต่ละชนิดของซิเดอร์โรฟอร์ว่ามีความจำเพาะเจาะจงต่างกันไปกับโปรตีนต่าง ๆ ที่ผนังเซลล์ เมื่อโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์ที่จับธาตุเหล็กถูกนำผ่านเข้ามายังผนังเซลล์แล้ว ขั้นสุดท้ายคือ ธาตุเหล็กถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์โดยบริเวณโมเลกุลที่เป็น ligand ที่เชื่อมกับธาตุเหล็กถูกทำลายด้วยเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ esterase เข้าทำปฏิกิริยากับซิเดอร์โรฟอร์กลุ่ม entorebaccin หรือธาตุเหล็กอาจถูกปลดปล่อยโดยปฏิกิริยาเคมีแบบ reduction เมื่อธาตุเหล็กถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลซิเดอร์โรฟอร์แล้วส่วนที่เป็นโมเลกุลของซิเดอร์โรฟอร์เอง อาจถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปจากเดิมหรือไม่ก็ได้ แล้วจึงถูกปลดปล่อยออกสู่นอกเซลล์ไปสู่สิ่งแวดล้อมเพื่อจับกับธาตุเหล็กต่อไป (Compant *et al*., 2005) อย่างไรก็ตามพืชบางชนิดสามารถเข้าจับและปลดปล่อยโมเลกุลเชิงซ้อนของเหล็กกับซิเดอร์โรฟอร์ และนำเหล็กไปใช้ได้สารอาหารจากเหล็กเพิ่มขึ้นส่งผลให้การเจริญของพืชเพิ่มขึ้นด้วย (Bashan and de-Bashan, 2005) นอกจากนี้ยังเป็นการจำกัดปริมาณธาตุเหล็กที่เป็นประโยชน์ของเชื้อก่อโรคพืช ทำให้สามารถป้องกันการกระจาย และการขยายจำนวนของเชื้อก่อโรคพืชได้ โดยซิเดอร์โรฟอร์ไปจับกับธาตุเหล็กที่อยู่บริเวณรอบ ๆ รากพืช ส่งผลให้เกิดการขาดธาตุเหล็กของราสาเหตุโรคพืช ทำให้ราสาเหตุโรคพืชไม่สามารถแพร่พันธุ์ได้นั่นเอง แต่พืชจะไม่ได้รับผลกระทบจากการลดลงของธาตุ

เหล็กในบริเวณนั้นเพราะว่า พืชสามารถเจริญเติบโตได้ที่ความเข้มข้นของธาตุเหล็กต่ำ ๆ น้อยกว่าประมาณ 1000 เท่าของจุลินทรีย์ (Mahmoud and Abd–Alla, 2001)

**2. กระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดยทางอ้อม**

**2.1 ช่วยในการควบคุมโรคพืช** ทั้งโรคพืชที่เกิดจากราสาเหตุโรคพืช และแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช เช่น จักรพงษ์ หรั่งเจริญ และคณะ (2554) ได้ตรวจสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. myriotylum* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรครากเน่าในผักสลัดโดยใช้แบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. สายพันธุ์ ECO 008 และ SSWC 110 และ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ EWC 065, RCO 010, RWC 021 และ SSMIX 023 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แบคทีเรียเขตรากพืชที่แยกได้จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน พบว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. สายพันธุ์ ECO 008 ทำให้เส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* มีการเจริญที่บิดเบี้ยวผิดรูปไปจากเดิม ในขณะที่แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สายพันธุ์ EWC 065, RCO 010, RWC 021 และ SSMIX 023 ทำให้เส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* มีการแตกแขนงอย่างผิดปกติ รวมทั้งพบการเคลื่อนที่ของ cytoplasm ที่ผิดปกติไปจากเดิมส่งผลให้บริเวณส่วนปลายเส้นใยแตก

Domenech และคณะ (2006) การประยุกต์ใช้ *Chryseobacterium balustinum, Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis* และ *Pseudomonas fluorescens* ร่วมกันสามารถช่วยควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวและโรคเน่าคอดินในมะเขือเทศและพริกไทย โดยพบว่าการใช้เชื้อร่วมกันได้ผลดีกว่าการใช้เชื้อชนิดใดชนิดหนึ่ง นอกจากนี้ *Trichoderma harzianum* สามารถควบคุมโรคพืชต่าง ๆ ได้ โดยเฉพาะราในดิน เช่น *Pythium*, *Phytophthora* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคโคนเน่า เป็นต้น (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2552)

**2.2 ผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotic)** ที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชได้ ตัวอย่างสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดย PGPB ได้แก่ agrocin 84, agrocin 434, 2, 4-diacetylphloroglucinol, herbicolin, oomycin, phenazines, pyoluteorin และ pyrrolnitrin เป็นต้น (Bashan and de-Bashan, 2005)

**2.3 ผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของราสาเหตุโรคพืช** เช่น chitinase, laminarinase, $\beta$-1,3 - glucanase, protease และ lipase เป็นต้น (Bashan and de-Bashan, 2005; Compant *et al*., 2005)

**2.4 ผลิตสาร Antifungal metabolites** เช่น *P. fluorescens* สามารถสังเคราะห์ hydrogen cyanide ซึ่งทำให้ *Pseudomonas* สายพันธุ์นี้มีความสามารถในการต้านการเจริญของราสาเหตุโรคพืชบางชนิดได้ ตัวอย่างเช่น สามารถยับยั้ง *Thielabiopsis basicola* ซึ่งเป็นราสาเหตุโรครากเน่าดำในยาสูบได้ (Ramette *et al*., 2003) ในบางรายงานกล่าวว่า จุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์รวมทั้ง *Cladosporium werneckii*, *P. cepacia* และ *P. solanacearum* สามารถย่อยสลาย

สารประกอบ fusaric acid ได้ ซึ่งสารประกอบ fusaric acid ตัวนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความเสียหายในพืชหลังจากที่พืชถูกเข้าทำลายโดย *Fusarium* (Ramamoorthy *et al*., 2001)

**2.5 ช่วยให้พืชมีความทนทานในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ**

**2.5.1 ความเค็ม** ทำให้สภาวะแวดล้อมในดินไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ทำให้ดินมีเนื้อแน่นทึบ รากพืชชอนไชยาก แร่ธาตุบางอย่างละลายออกมาจากดินจนเป็นพิษต่อพืช ผลของความเค็มทำให้พืชขาดน้ำ พืชต่าง ๆ ปรับตัวเข้ากับสภาพความเค็มได้ต่างกัน หากพืชที่ทนไม่ได้จะแสดงลักษณะอาการต่าง ๆ ดังนี้ การเจริญเติบโตลดลง ใบสีเข้มขึ้น ใบหนาขึ้น ปลายใบไหม้ ม้วนงอ ผลผลิตลดลง และถ้าปรับตัวไม่ได้จะตายในที่สุด (วิชิตพล มีแก้ว และคณะ, 2553) แบคทีเรียทนเค็มสามารถเจริญในสภาพแวดล้อมที่มีเกลือเนื่องจากภายในเซลล์ของแบคทีเรียทนเค็มมีปริมาณความเข้มข้นของไอออนของเกลือต่ำ ($Na^+$ และ $K^+$) ดังนั้นแบคทีเรียทนเค็มจึงต้องปรับสมดุลของสารละลายภายในเซลล์กับภายนอกเซลล์ โดยการนำไอออนของเกลือ ($Na^+$ และ $K^+$) จากภายนอกเซลล์เข้ามาภายในเซลล์แล้วนำไปใช้ในกิจกรรมต่าง ๆ (ศิริลักษณ์ นามวงษ์, 2553) ส่งผลให้ไอออนของเกลือในดินลดลง สภาวะแวดล้อมในดินเหมาะสมต่อการเจริญของพืชมากขึ้น

**2.5.2 ภาวะความเครียดจากการเกิดออกซิเดชัน (oxidative stress)** โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) ซึ่งมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำลายส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์ เยื่อเมมเบรน และกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาเพอร์ออกซิเดชันของไขมัน เป็นต้น การเพิ่มขึ้นของอนุพันธ์ออกซิเจนที่เป็นพิษนั้นเป็นผลจากการเกิดความเครียด ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและปริมาณผลผลิตของพืชลดลง อย่างไรก็ตามไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นสามารถถูกกำจัดโดยเอนไซม์คะตาเลส (catalase) หรือเพอร์ออกซิเดส (peroxidase) ที่พบในเพอร์ออกซิโซมของเซลล์ใบพืช แบคทีเรียที่อยู่ร่วมกับพืชสามารถผลิตเอนไซม์คะตาเลสหรือเพอร์ออกซิเดสได้ก็สามารถช่วยพืชกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกจากเซลล์พืชได้ (นุชนาถ วุฒิประดิษฐกุล, 2554)

**2.5.3 ภาวะความเครียดจากโลหะหนัก (heavy metal stress)** โลหะหนักจัดอยู่ในจำพวกธาตุที่พืชไม่ต้องการและเป็นสารพิษซึ่งปนเปื้อนในดิน ได้แก่ ตะกั่ว (Pb) สังกะสี (Zn) นิกเกิล (Ni) และแคดเมียม (Cd) เป็นต้น จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืชส่วนใหญ่สามารถช่วยลดปริมาณโลหะหนักได้ (เก่งเจียม กิจวัฒนา และวสุ ปฐมอารีย์, 2558)

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

1. เพื่อทราบชนิดของแบคทีเรียและราในดินบริเวณรอบรากของต้นปาล์มน้ำมัน
2. เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียหรือราที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรคพืช

# บทที่ 2
# วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

## 1. การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียและรา

### 1.1 แบคทีเรียและราจากดิน

#### 1.1.1 การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บรวบรวมตัวอย่างดินบริเวณรากต้นปาล์มน้ำมันที่มีลักษณะสมบูรณ์ไม่แสดงอาการของโรคใด ๆ จากจังหวัดในภาคใต้ของไทย ได้แก่ จังหวัดตรัง ปัตตานี พังงา ภูเก็ต สงขลา และสุราษฎร์ธานี สุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากต้นปาล์มน้ำมัน ต้นละ 3 จุด จุดละ 10 กรัม ขุดลึกลงไปประมาณ 0 - 15 เซนติเมตร ผึ่งลมให้แห้งในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 1 - 2 วัน แล้วร่อนด้วยตะแกรงขนาด 250 ไมโครเมตร

#### 1.1.2 วิธีการแยกแบคทีเรียจากดิน

นำดินที่ได้มาแยกแบคทีเรียด้วยวิธี soil dilution pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (nutrient agar; Difco™) และ AIA (actinomycete isolation agar; HiMedia®) โดยการนำดินที่ต้องการแยกเชื้อมาจำนวน 5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 45 มิลลิลิตร ได้เป็นความเจือจางที่ $10^{-1}$ จากนั้นทำการเจือจางต่อในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร เขย่าให้ดินกระจายตัว ได้เป็น $10^{-2}$ ต่อจากนั้นทิ้งสารแขวนลอยของดินให้ตกตะกอน แล้วจึงใช้ไมโครปิเปตดูดมา 1 มิลลิลิตร ทำซ้ำเช่นนี้ต่อไปจนได้ดินแขวนลอยที่ความเข้มข้นที่ $10^{-5}$ นำดินแขวนลอยที่ $10^{-3}$, $10^{-4}$ และ $10^{-5}$ มา 1 มิลลิลิตร หยดไปบนจานอาหารแล้วเทอาหาร ที่มีอุณหภูมิ 44 - 46 องศาเซลเซียส แกว่งจานอาหารไป-มาเบา ๆ ทิ้งให้อาหารแข็งตัวแล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน หรือ จนกระทั่งสังเกตเห็นโคโลนีของแบคทีเรียเจริญทั้งในและบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงทำการคัดแยกแบคทีเรียให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ โดยนำมาขีด (streak) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และทำการเก็บในหลอดอาหารวุ้นเอียง (slant agar) ที่อุณหภูมิประมาณ 10 - 12 องศาเซลเซียส เป็น working culture เพื่อการศึกษาในขั้นต่อไป

#### 1.1.3 วิธีการแยกราจากดิน

นำดินที่ได้มาแยกราด้วยวิธี soil dilution pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar; HiMedia®) โดยการเจือจางดินเช่นเดียวกับข้อ 1.1.2 นำดินแขวนลอยที่ $10^{-3}$, $10^{-4}$ และ $10^{-5}$ มา 1 มิลลิลิตร หยดไปบนจานอาหารแล้วเทอาหาร ที่มีอุณหภูมิ 44 - 46 องศาเซลเซียส ลงไปแกว่งจานอาหารไป-มาเบา ๆ ทิ้งให้อาหารแข็งตัวแล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 - 7 วัน หรือ จนกระทั่งสังเกตเห็นโคโลนีของราเจริญทั้งในและบนอาหารเลี้ยงเชื้อเจริญเป็นเส้นใย ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์อีกครั้งโดยใช้วิธี hyphal tip isolation technique โดยใช้เข็มเขี่ยที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วตัดปลายเส้นใย ย้ายเชื้อวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

อีกครั้ง บ่มที่อุณหภูมิห้องประมาณ 7 วัน เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และทำการย้ายเชื้อเก็บในหลอดอาหารวุ้นเอียง (slant agar) ที่อุณหภูมิประมาณ 10 - 12 องศาเซลเซียส เป็น working culture เพื่อการศึกษาในขั้นต่อไป

**1.2 ราสาเหตุโรคพืช**

เชื้อสาเหตุโรคที่ใช้ในการทดลอง คือ เชื้อ *F. oxysporum, P. aphanidermatum, R. solani* และ *S. rolfsii* ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียและราในดิน**

นำแบคทีเรียและราทั้งหมดที่แยกได้จากตัวอย่างมาทำการจำแนกชนิดในระดับเบื้องต้นโดยใช้วิธีการต่าง ๆ ที่มีความเหมาะสมตามกลุ่มของแบคทีเรียและรา ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังนี้

**2.1 การจำแนกชนิดของแบคทีเรีย**

นำแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดมา streak ให้เป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (สีของโคโลนี ขนาดของโคโลนี ลักษณะขอบของโคโลนี และเมือกเยิ้มของโคโลนี) พร้อมทั้งตรวจสอบแกรม การจัดเรียงตัวของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และการสร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ของแบคทีเรีย

วิธีการย้อมสีแบบแกรม (gram stain) เริ่มจากทำความสะอาดสไลด์ เช็ดให้แห้งแล้วใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) จุ่มน้ำแตะลงบนสไลด์ 1 - 2 หยด จากนั้นใช้ห่วงเขี่ยเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อมาเพียงเล็กน้อย แตะเชื้อลงบนหยดน้ำ แล้วเกลี่ย (smear) โคโลนีของแบคทีเรียบนสไลด์ ทิ้งให้แห้ง จากนั้นทำการตรึง (fixing of the smear) เพื่อทำให้เซลล์แบคทีเรียติดแน่นกับสไลด์ โดยการนำสไลด์ลนผ่านเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2 - 3 ครั้ง แล้วหยดสีคริสตัลไวโอเลตให้ท่วมรอยเกลี่ย เป็นเวลา 1 นาที เทสีทิ้ง หลังจากนั้นหยดสารละลายไอโอดีนให้ท่วมรอยเกลี่ย ทิ้งไว้นาน 1 นาที หลังจากนั้นเทสารละลายไอโอดีนทิ้ง แล้วชะด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 วินาที ล้างผ่านน้ำไหลเบา ๆ หยดสีซาฟรานินให้ท่วมรอยเกลี่ย เป็นเวลา 30 วินาที เทสีทิ้ง ล้างด้วยน้ำ แล้วซับด้วยกระดาษซับ วางทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อศึกษาลักษณะการติดสีแบบแกรม รูปร่าง การเรียงตัวของแบคทีเรีย เปรียบเทียบลักษณะกับในหนังสือ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

**2.2 การจำแนกชนิดของราและแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีท**

นำอุปกรณ์เพาะเลี้ยงราบนแผ่นสไลด์ (slide culture) ซึ่งประกอบด้วยจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แท่งแก้วรูปตัว V สไลด์ และกระจกปิดสไลด์ (cover glass) มาเตรียมไว้ นำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ขนาด 1 ตารางเซนติเมตร วางบนสไลด์ที่อยู่ในชุดเพาะเลี้ยงรา ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (needle) เขี่ยราที่ต้องการวินิจฉัยมาแตะบนขอบของด้านสี่เหลี่ยมจัตุรัสของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ด้าน ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ เทน้ำกลั่นลงในจานอาหารเล็กน้อยเพื่อให้ชื้น ปิดฝาจานแล้วเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สังเกตการเจริญของเชื้อทุกวัน เมื่อราเจริญดี (อาจใช้เวลา 3 - 7 วัน) แล้วจึงทำการถอดสไลด์ เริ่มจากหยดแลคโตฟีนอล (lactophenol) บนสไลด์ที่สะอาด 1 หยด ใช้คีม (forceps) คีบกระจกปิดสไลด์จากจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อขึ้นนำไปวางปิดทับบนหยดแลคโตฟีนอล ใช้คีมคีบแผ่นสไลด์ที่เหลือในจานเพาะเชื้อโดยเขี่ยอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไป หยดแลคโตฟีนอลบนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ปิดขอบ (seal) ขอบด้วยน้ำยาทาเล็บชนิดไม่มีสี นำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบลักษณะที่สังเกตได้กับหนังสือ Compendium of Soil Fungi (Domsch *et al*., 1993) และค้นคว้าเพิ่มเติม เพื่อวินิจฉัยชนิดของรา

**3. ศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่แยกได้**

คำนวณค่าดัชนีความหลากหลาย Shannon-Wiener Diversity Index, (H′) และค่าความสม่ำเสมอ Shannon Evenness (J′) (Nolan and Callahan, 2006) ตามสูตร ดังนี้

**3.1 ค่าความหลากหลายชนิด (Shannon-Wiener Diversity Index, H′)**

$$H' = - \sum_{i-1}^{S} (Pi)(\ln Pi)$$

เมื่อ $H'$ = ดัชนีความหลากหลาย

S = จำนวนชนิด

Pi = สัดส่วนของจำนวนสิ่งมีชีวิตที่พบต่อจำนวนประชากรทั้งหมด

**3.2 ค่าความสม่ำเสมอของสิ่งมีชีวิต (Shannon Evenness, J′)**

$$J' = H'/\ln S$$

เมื่อ $H'$ = ดัชนีความหลากหลาย

S = จำนวนชนิด

**4. ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช**

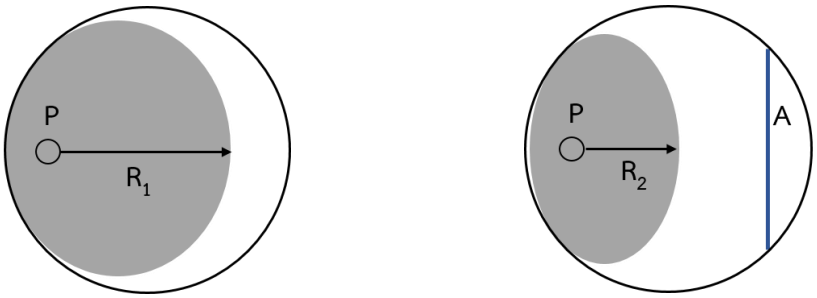
ทดสอบการสร้างฮอร์โมนส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชของจุลินทรีย์ โดยฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดมะเขือเทศที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย sodium hypochlorite (clorox ®) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที และล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ผึ่งให้หมาด 10 นาที คลุกด้วยจุลินทรีย์ที่ต้องการ

ทดสอบ โดยราใช้ความเข้มข้นเชื้อ $10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร (Hammoudi *et al*., 2012) และแบคทีเรียใช้ความเข้มข้นเชื้อประมาณ $10^8$ CFU/มิลลิลิตร (Hammoudi *et al*., 2012) วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 10 เมล็ด บันทึกผลอัตราการเจริญเติบโต (ความสูงต้น ความยาวราก และจำนวนรากแขนง) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

**5. การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการ**

**5.1 ทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งราก่อโรค**

เลี้ยงราโรคพืช ซึ่งได้แก่ *C. oryzae*, *F. oxysporum, P. aphanidermatum, R. solani* และ *S. rolfsii* บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ก่อนทำการทดสอบตามวิธีของ Kunasakdakul และ Suwitchayanon (2012) โดยเจาะเส้นใยของราดังกล่าวด้วยที่เจาะจุกคอร์ก (cork borer) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร วางบนอาหาร PDA จาน ใหม่ โดยวางให้ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร หลังจากนั้นจึงแตะโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรีย ที่เตรียมไว้ (อายุ 24 ชั่วโมง) มาขีดเป็นเส้นตรง ด้านตรงข้ามกับชิ้นวุ้นราที่วางไว้ก่อน (ภาพที่ 1) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) ที่วางเฉพาะชิ้นวุ้นรา นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 7 วัน บันทึกผลโดยวัดขนาดรัศมีของโคโลนี ราในชุดควบคุมและชุดทดสอบ แล้วนำข้อมูลที่ ได้ทั้ง 3 ซ้ำ มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth, PIRG) เพื่อแยกแบคทีเรียทดสอบที่มีคุณสมบัติที่ดีตามต้องการไว้ใช้ในการทดลองต่อไป




**ภาพที่ 1** การทดสอบการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ต่อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

A: แบคทีเรียปฏิปักษ์ P: ราสาเหตุโรคพืช

$R_1$: ความยาวรัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคในชุดควบคุม

$R_2$: ความยาวรัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคในชุดทดสอบ

**สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ** (Percent Inhibition of Radial Growth: PIRG) (Skidmore and Dickinson, 1976)

$$PIRG = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

$R_1$ = ความยาวรัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคในชุดควบคุม

$R_2$ = ความยาวรัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคในชุดทดสอบ

**โดยประเมินค่าการยับยั้งดังนี้**

> 75 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก

61 - 75 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง

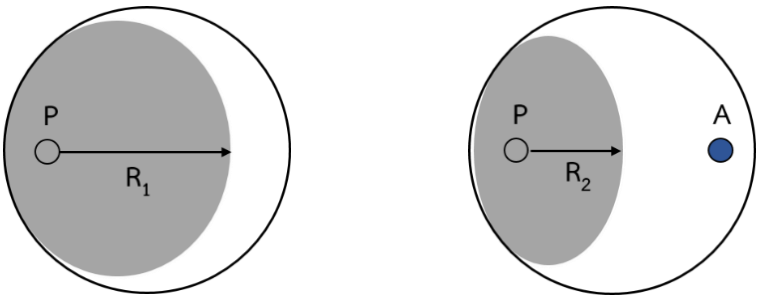
51 - 60 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง

< 50 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติและบันทึกผล

**5.2 ทดสอบประสิทธิภาพราปฏิปักษ์ในการยับยั้งราก่อโรค**

นำราปฏิปักษ์ที่ต้องการทดสอบทั้งหมดและราโรคพืช ซึ่งได้แก่ *F. oxysporum, P. aphanidermatum, R. solani* และ *S. rolfsii* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ก่อนใช้ที่ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของราทดสอบและราโรคพืชแต่ละชนิด นำมาทดสอบประสิทธิภาพ ตามวิธีของบรรเจิด อินหว่าง และจิระเดช แจ่มสว่าง (2529) โดยวางชิ้นวุ้นของราทั้ง 2 ชนิด บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในแนวตรงข้ามกันและห่างกัน 6 เซนติเมตร (ภาพที่ 2) บ่มจานเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไว้ที่อุณหภูมิห้องต่อเป็นเวลา 5 วัน ก่อนวัดความยาวรัศมีของโคโลนีของราทั้ง 2 ชนิดในจานเลี้ยงเชื้อทดสอบและจานเลี้ยงเชื้อควบคุม (ราโรคพืชเจริญโดยไม่มีราทดสอบ) โดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของราโรคพืช (percent inhibition of radial growth, PIRG) และเปอร์เซ็นต์การเจริญคลุมทับเส้นใยราโรคพืช (Percent Overgrowth of Pathogen's Mycelia, POPM)




**ภาพที่ 2** การทดสอบการเป็นราปฏิปักษ์ ต่อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

A: ราปฏิปักษ์ P: ราสาเหตุโรคพืช

$R_1$: ความยาวรัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคในชุดควบคุม

$R_2$: ความยาวรัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคในชุดทดสอบ

**สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ** (Percent Inhibition of Radial Growth: PIRG) (Skidmore and Dickinson, 1976)

$$PIRG = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

$R_1$ = ความยาวรัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคในชุดควบคุม

$R_2$ = ความยาวรัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคในชุดทดสอบ

**โดยประเมินค่าการยับยั้งดังนี้**

> 75 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก

61 - 75 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง

51 - 60 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง

< 50 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ทางสถิติและบันทึกผล

**6. การศึกษาคุณสมบัติทางด้านชีวเคมีของจุลินทรีย์**

**6.1 การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการผลิตเอนไซม์โดยสังเกตการเกิดวงใส (clear zone)**

**6.1.1 เอนไซม์เซลลูเลส** (นิชรัตน์ ศรีโสภณ และคณะ, 2558)

ทำการทดสอบบนอาหาร Carboxymethyl Cellulose (CMC) Agar (ภาคผนวก ก) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 - 7 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ จากนั้นนำมาทดสอบโดยวิธี congo red test สังเกตการเกิดวงใสปรากฏบนผิวหน้าอาหาร แล้วจึงทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบ ๆ โคโลนีของเชื้อ

**6.1.2 เอนไซม์ไคติเนส** (Seidl, 2008)

ทำการทดสอบบนอาหาร Colloidal Chitin Agar (CCA) (ภาคผนวก ก) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 - 7 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ สังเกตการเกิดวงใสปรากฏบนผิวหน้าอาหาร แล้วจึงทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส

**6.1.3 เอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส** (Chaiharn *et al*., 2008)

ทำการทดสอบบนอาหาร skim milk agar (ภาคผนวก ก) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 - 7 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ สังเกตการเกิดวงใสปรากฏบนผิวหน้าอาหาร แล้วจึงทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส

**6.1.4 ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต (Phosphate solubilization)** (Bhatt and Vyas, 2014)

นำจุลินทรีย์แต่ละไอโซเลตมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหาร Pikovskaya's agar บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 - 7 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้จะเกิดวงใสปรากฏบนผิวหน้าอาหาร แล้วจึงทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส

**7. การทดสอบหาคุณสมบัติจุลินทรีย์ในการผลิตสารชีวโมเลกุลที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช**

**7.1 วิธีการทดสอบเบื้องต้น**

**7.1.1 การทดสอบการสังเคราะห์ IAA** (Brick *et al*., 1991)

นำจุลินทรีย์ที่แยกได้มาทดสอบการสร้าง IAA บนอาหารแข็ง (PDA, NA เติม L-tryptophan 1 กรัม/ลิตร) โดยนำ bacterial และ spore suspension ปริมาตร 50 ไมโครลิตร หยดลงหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน จากนั้นหยดสารละลาย Salkowski's reagent ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 1 ชั่วโมง จะเห็น Halo zone สีชมพูส้ม รอบ ๆ โคโลนีของเชื้อที่สร้าง IAA (Shrivastava and Kumar, 2011)

**7.1.2 การทดสอบการผลิต siderophore** (Monk *et al*., 2009)

ทำได้โดยการขีดจุลินทรีย์ลงบนอาหารแข็ง chrome azurol S โดยเลี้ยงเชื้อไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้องนาน 1 - 2 วัน แล้วสังเกตการเกิดรัศมีสีส้มเหลืองบริเวณรอบ ๆ โคโลนี ทำการทดลองซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง

**8. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในเรือนทดลอง**

**8.1 การเตรียมจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ**

คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญและเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรคพืชที่ได้ผลดีที่สุด 5 ลำดับแรก ซึ่งได้แก่ ราที่จัดอยู่ในกลุ่ม *Trichoderma* spp. ทั้งหมด 5 ไอโซเลท (ST3 F2, ST4 F1, ST4 F2, ST5 F1, ST10 F7) มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ ด้านความสูงต้น เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความเข้มสีใบ ความกว้างทรงพุ่ม ที่อายุ 30 40 50 และ 60 วัน เก็บเกี่ยวผลิต 2 รอบ ที่อายุ 90 และ 110 วัน ชั่งน้ำหนักสดและแห้งของต้นและรากที่อายุ 120 วัน และประเมินการยับยั้งราก่อโรคโดยวัดค่าความรุนแรงของโรค

**8.1.1 การเตรียมราและแอคติโนมัยสีท**

เลี้ยงราที่ผ่านการคัดเลือกทุกไอโซเลทบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน หรือจนราแต่ละชนิดสร้างสปอร์ ก่อนเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ท่วมเส้นใยของราและใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมขูดสปอร์ของราโรคพืชให้หลุดเป็นสปอร์แขวนลอยในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นำสปอร์แขวนลอยที่ได้มานับปริมาณด้วย hemocytometer (Lumicyte®) และปรับความเข้มข้นให้ได้ $10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร ก่อนเก็บสปอร์แขวนลอยที่เตรียมได้ดังกล่าวไว้ใช้ในการทดลองต่อไป

**8.1.2 การเตรียมแบคทีเรีย**

นำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือกทั้งหมดมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ก่อนเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ท่วมโคโลนีของแบคทีเรียและใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมขูดเซลล์ของแบคทีเรียให้หลุดเป็นเซลล์แขวนลอยในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นำเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (spectrophotometer; Thermo Scientific™) และปรับความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียจนมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.2 (ประมาณ $10^8$ CFU/มิลลิลิตร) (อนุสรา จันทร์แสง และสุพจน์ กาเซ็ม, 2561) ก่อนเก็บเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียที่เตรียมได้ไว้ใช้ในการทดลองต่อไป

**8.1.3 การเตรียมราก่อโรค**

เตรียมราสาเหตุโรคโดยทำการเลี้ยงเชื้อบน PDA บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร เจาะเส้นใยของราสาเหตุโรคมาเลี้ยงเชื้อในขวดที่มีเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ บ่มเชื้อไว้ 7 วันที่อุณหภูมิห้องหรือจนกว่าเส้นใยเจริญเต็มเมล็ดข้าวฟ่าง (พรทิพย์ แย้มสุวรรณ, 2557)

**8.2 ทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโต**

เริ่มจากการเตรียมต้นกล้ามะเขือเทศ ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินผสมระหว่าง ดินร่วนปุ๋ยคอก แกลบดิบ แกลบเผา ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 2: 1: 1: 1: 1 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที นำเมล็ดมะเขือเทศที่แช่น้ำทิ้งไว้ข้ามคืนมาเพาะลงในถาดเพาะกล้าที่บรรจุดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อต้นกล้ามะเขือเทศมีอายุ 20 วัน จึงนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญและควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทดสอบกับต้นมะเขือเทศในระยะต้นกล้าในเรือนทดลอง การทดลองใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น ทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยมีรายละเอียดของแต่ละกรรมวิธี ดังนี้

**กรรมวิธีที่ 1** ชุดควบคุม ปลูกมะเขือเทศลงในถาดเพาะที่บรรจุดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้ออย่างเดียว

**กรรมวิธีที่ 2** ต้นมะเขือเทศในกระถางเพาะที่บรรจุดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการปลูกเชื้อสาเหตุโรคอย่างเดียว

**กรรมวิธีที่ 3** ต้นมะเขือเทศในกระถางเพาะบรรจุดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการปลูกเชื้อสาเหตุโรคและราดโคนต้นด้วยสารเคมีกำจัดรา (คาร์เบนดาซิม; คาร์เบนดาซิม 500 )

**กรรมวิธีที่ 4** ต้นมะเขือเทศในกระถางเพาะที่บรรจุดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการปลูกเชื้อสาเหตุโรคและราดโคนต้นด้วยจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญและเป็นปฏิปักษ์ไอโซเลท ST4 F1

**กรรมวิธีที่ 5** ต้นมะเขือเทศในกระถางเพาะที่บรรจุดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการปลูกเชื้อสาเหตุโรคและราดโคนต้นด้วยจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญและเป็นปฏิปักษ์ไอโซเลท ST5 F1

**กรรมวิธีที่ 6** ต้นมะเขือเทศในกระถางเพาะที่บรรจุดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการปลูกเชื้อสาเหตุโรคและราดโคนต้นด้วยจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญและเป็นปฏิปักษ์ไอโซเลท ST10 F7

**กรรมวิธีที่ 7** ต้นมะเขือเทศในกระถางเพาะที่บรรจุดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการปลูกเชื้อสาเหตุโรคและราดโคนต้นด้วยจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญและเป็นปฏิปักษ์ไอโซเลท ST3 F2

**กรรมวิธีที่ 8** ต้นมะเขือเทศในกระถางเพาะที่บรรจุดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการปลูกเชื้อสาเหตุโรคและราดโคนต้นด้วยจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญและเป็นปฏิปักษ์ไอโซเลท ST4 F2

**การประเมินการยับยั้งราก่อโรคโดยวัดค่าความรุนแรงของโรค** (ดัดแปลงจาก Sylvie *et al*., 2001)

0 หมายถึง 0 เปอร์เซ็นต์ ไม่แสดงอาการ (แผลที่โคนต้น หรือเหี่ยว)

1 หมายถึง 1 – 25 เปอร์เซ็นต์ เริ่มแสดงอาการ

2 หมายถึง 26 – 50 เปอร์เซ็นต์ แสดงอาการของโรคชัดเจน

3 หมายถึง 51 – 75 เปอร์เซ็นต์ แสดงอาการของโรครุนแรง

4 หมายถึง มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ แสดงอาการของโรครุนแรงมากหรือจนกระทั่งพืชตาย

**การประเมินการส่งเสริมการเจริญ**

1. ความสูงต้น วัดจากระดับดินปลูกจนสุดยอดเรือนพุ่ม

2. ความกว้างทรงพุ่ม วัดจากส่วนกว้างสุดของทรงพุ่มทั้ง 2 ด้าน ตามแนวเส้นผ่านศูนย์กลางแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

3. เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น วัดสูงจากผิวดิน 10 เซนติเมตร

4. น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินและราก ตัดบริเวณโคนต้นเหนือพื้นดินเพื่อแยกส่วนเหนือดิน (ใบ กิ่ง ลำต้น) ออกจากราก ล้างดินออกจากราก นำส่วนเหนือดินและส่วนรากไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง หาค่าเฉลี่ยมวลชีวภาพของต้นมะเขือเทศแต่ละกรรมวิธี

5. วัดค่าความเขียวของใบโดยใช้เครื่อง chlorophyll meter วัดจากใบที่ขยายขนาดเต็มที่แล้ว จำนวน 3 ใบ/ต้น แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

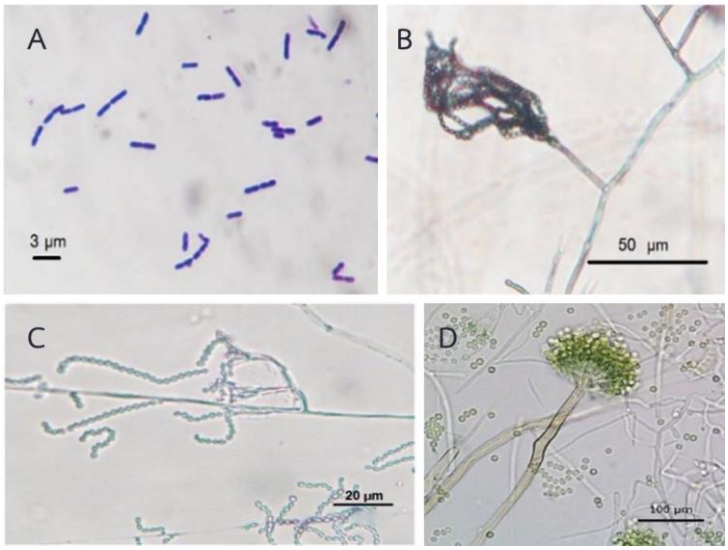
**การวิเคราะห์ผลทางสถิติ**

วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี F-test แบบ 2 ปัจจัย และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกรรมวิธีโดยวิธี Duncan’s multiple range test

# บทที่ 3
# ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

## 1. การจัดจำแนกและความหลากหลายของแบคทีเรียและรา

เมื่อนำดินรอบรากพืชจำนวน 15 ตัวอย่าง จาก 6 จังหวัด มาศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์โดยการ dilution pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ AIA, NA และ PDA สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 280 ไอโซเลท ประกอบด้วยรา 151 ไอโซเลท แบคทีเรีย 129 ไอโซเลท จุลินทรีย์ที่พบมาก 4 อันดับแรก ได้แก่ *Bacillus* spp., *Penicillium* spp., *Streptomyces* spp. และ *Aspergillus* spp. (ภาพที่ 3) เมื่อนับปริมาณจุลินทรีย์ในแต่ละจังหวัด พบว่าจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีจุลินทรีย์บริเวณรอบรากปาล์มน้ำมันมากที่สุดจำนวน 95 ไอโซเลท รองลงมา ได้แก่ จังหวัดตรัง พังงา ปัตตานี สงขลา และภูเก็ต ซึ่งแยกได้ 56, 48, 37, 30 และ 14 ไอโซเลท ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความหลากหลายของจุลินทรีย์ พบว่าจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีชนิดของจุลินทรีย์มากที่สุด โดยมีค่า species richness เท่ากับ 27 ส่วนจังหวัดภูเก็ตมีการกระจายตัวของจุลินทรีย์สม่ำเสมอที่สุด โดยมีค่า evenness เท่ากับ 0.987 และเมื่อเปรียบเทียบดัชนีความหลากหลาย พบว่าจุลินทรีย์ในดินบริเวณรากปาล์มน้ำมันในจังหวัดพังงามีค่าดัชนีความหลายหลากสูงสุด โดยมีค่า Shannon index of diversity เท่ากับ 3.033 (ตารางที่ 1)




**ภาพที่ 3** ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียและรา

A. *Bacillus* spp., B. *Penicillium* spp.,

C. *Streptomyces* spp., D. *Aspergillus* spp.

**ตารางที่ 1** ความหลากหลายของชนิดจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากปาล์มน้ำมันในจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย

| จุลินทรีย์ | การจัดจำแนก | จำนวนไอโซเลทที่พบในแต่ละจังหวัด[a/] | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | PNG | PN | PK | T | SK | ST | รวม |
| รา | *Acremonium* sp. | 3 | | | 2 | | 1 | 6 |
| | *Aspergillus flavus* | 3 | | | 2 | 1 | 3 | 9 |
| | *A. fumigatus* | 2 | | | | | 1 | 3 |
| | *A. niger* | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 13 |
| | *A. ochraceus* | 5 | | | | | 3 | 8 |
| | *A. parasiticus* | | 3 | | | | 1 | 4 |
| | *A. terreus* | | 3 | | | | | 3 |
| | *Chaetomium* spp. | 1 | | 1 | 1 | 2 | 4 | 9 |
| | *Ch. globosum* | 1 | | | | | 2 | 3 |
| | *Ch. cupreum* | | | | 2 | | 3 | 5 |
| | *Chrysosporium* spp. | | | | 1 | 2 | 1 | 4 |
| | *Cladosporium* spp. | 1 | | | 1 | 2 | 2 | 6 |
| | *Curvularia* spp. | | | | 1 | 1 | 2 | 4 |
| | *Eupenicillium* spp. | | 2 | | | | 5 | 7 |
| | *Fusarium* spp. | | | | 6 | | 3 | 9 |
| | *F. oxysporum* | 1 | | | 1 | | 2 | 4 |
| | *F. solani* | | | | 1 | | | 1 |
| | *Gliocladium* sp. | 2 | | | | | 2 | 4 |
| | *Mucor* spp. | 2 | | | 1 | | 2 | 5 |
| | *Paecilomyces* spp. | | 2 | | | | 3 | 5 |
| | *Penicillium* spp. | 2 | 3 | 1 | 9 | 3 | 11 | 29 |
| | *P. chrysogenum* | 1 | | | | 2 | | 3 |
| | *Rhizopus* spp. | 3 | 1 | 2 | | 1 | 1 | 8 |
| | *Scopulariopsis* sp. | | | | 1 | | | 1 |
| | *Talaromyces* sp. | 1 | 3 | | 2 | 2 | 5 | 13 |
| | *Trichoderma* spp. | 2 | 4 | | 1 | 3 | 10 | 20 |

**ตารางที่ 1 (ต่อ)** ความหลากหลายของชนิดจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากปาล์มน้ำมันในจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย

| จุลินทรีย์ | การจัดจำแนก | จำนวนไอโซเลทที่พบในแต่ละจังหวัด[a/] | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | PNG | PN | PK | T | SK | ST | รวม |
| **แบคทีเรีย** | *Bacillus* spp. | 4 | 4 | 2 | 8 | 2 | 11 | 31 |
| | *B. subtilis* | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 8 |
| | *B. megaterium* | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | 5 |
| | *Pseudomonas* spp. | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 5 | 12 |
| | *Serratia marcescens* | | | 1 | 1 | | 1 | 3 |
| | *Streptomyces* spp. | 4 | 3 | 2 | 5 | 2 | 6 | 22 |
| | *S. albus* | 1 | 2 | | | | | 3 |
| | *S. aureofaciens* | 2 | | | 2 | | | 4 |
| | *S. griseus* | 2 | | | 3 | 1 | | 6 |
| Total number of isolates (N) | | 48 | 37 | 14 | 56 | 30 | 95 | 280 |
| Species richness (S) | | 24 | 15 | 10 | 24 | 17 | 27 | 35 |
| Shannon evenness (*J'*) | | 0.954 | 0.959 | 0.987 | 0.892 | 0.981 | 0.899 | 0.913 |
| Shannon index of diversity (*H'*) | | 3.033 | 2.599 | 2.272 | 2.834 | 2.780 | 2.966 | 3.246 |

[a/] PNG = จังหวัดพังงา, PN= จังหวัดปัตตานี, PK= จังหวัดภูเก็ต, T= จังหวัดตรัง SK= จังหวัดสงขลา, ST= จังหวัดสุราษฎร์ธานี

จากผลการทดลองพบว่าที่จังหวัดพังงามีค่าชนิดความหลากหลายของจุลินทรีย์มากที่สุด รองลงมาคือ จังหวัดสุราษฎร์ธานี เมื่อนำมาจำแนกได้จุลินทรีย์ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาแตกต่างกัน 35 สกุล โดยแบ่งเป็นรา 62.70% แอคติโนมัยสีท 15.68% และแบคทีเรีย 21.62%

ราที่พบมากที่สุดได้แก่ *Aspergillus* spp. อาจเนื่องมาจากค่า pH ที่เหมาะสำหรับการเจริญของรากลุ่มนี้อยู่ในช่วง 5.0 - 6.5 (Passamani *et al*., 2014) ซึ่งดินจากแปลงปลูกที่เก็บตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วงนี้ ราที่พบรองลงมาคือ *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp. และ *Chaetomium* spp. ตามลำดับ ราที่พบทั้งหมดจัดเป็นราดิน ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม Ascomycota (Domsch*etal*.,1993) ซึ่งเป็นราที่มีความสำคัญและมีประสิทธิภาพในการควบคุมราสาเหตุโรคพืช โดยมีรายงานว่า *A. ustus* สามารถสังเคราะห์ออกซินและจิบเบอเรลลิน ซึ่งส่งผลให้มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของพืช และยังชักนำให้พืชเกิดการต้านทานต่อเชื้อก่อโรคได้อีกด้วย (Salas - Marina *et al*., 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าสารเมทาบอไลท์จากรา *A. niger* สามารถกระตุ้นการงอกและส่งเสริมการเจริญในกะหล่ำดอกได้ (Mondal *et al*., 2007) ส่วนราชนิดอื่น ๆ ที่พบ ได้แก่

*Trichoderma* spp. เป็นราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (จิระเดช, 2552) รา *Penicillium* ที่แยกได้จากการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนหลายสายพันธุ์ รวมทั้ง perfect state (teleomorph) ของราได้แก่ *Eupenicillium* และ *Talaromyces* ส่วนรา *Chaetomium* spp. ที่พบได้แก่ *C. cupreum* สร้าง pigment สีแดงเข้มลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีรายงานว่าราชนิดนี้สามารถใช้ควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธีได้ (เกษม สร้อยทอง, 2532a)

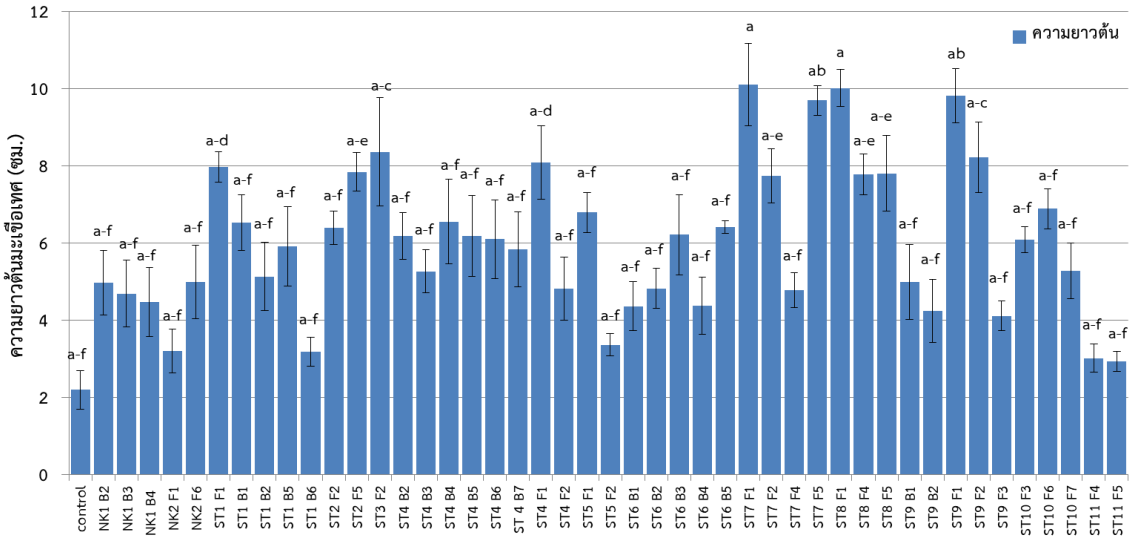
แบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มของ *Bacillus* spp. สอดคล้องกับรายงานของ Brimecombe และคณะ (2007) ที่กล่าวว่า แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่มักพบในดิน คือ *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. ซึ่ง *Bacillus* spp. สามารถเจริญในสภาวะ pH ต่าง ๆ เป็นช่วงกว้าง ตั้งแต่ pH 2 - 11 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (บัวสาย เพชรสุริยวงศ์ และคณะ, 2555) *Bacillus* spp. เป็นที่รู้จักอย่างดีในการใช้ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี เนื่องจากสามารถผลิตสารที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อก่อโรค ได้แก่ iturin A, fengycin, surfactin (Perez-Garcia *et al*., 2011) ส่วนแบคทีเรียที่พบรองลงมา คือ *Pseudomonas* spp. มีรายงานว่า สามารถเจริญครอบครองรากได้ในส่วนของ rhizoplane อีกทั้งยังมีความสามารถในการสร้างสารพวก siderophores ในการแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคได้ (Pagliaccia *et al*., 2007) ส่วนแบคทีเรียแอคติโนมัยสีทที่พบอยู่ในกลุ่มของ *Streptomyces* spp. ซึ่งสามารถเจริญได้ในดินที่มีค่า pH อยู่ในช่วงกว้าง (pH 5 - 11) เป็นแบคทีเรียที่มีรายงานถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด (Pithakkit *et al*., 2015) นอกจากนี้ *Streptomyces* ยังถูกนำไปผลิตเป็นยาปฏิชีวนะมากกว่า 60 ชนิด (Madigan *et al*., 2009)

จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้มีความคล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Zain และคณะ (2014) ซึ่งทำการแยกจุลินทรีย์จากดินรอบรากปาล์มน้ำมัน จุลินทรีย์ที่พบ ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Bacillus* spp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp. และ *Streptomyces* spp. อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์ในดินเหล่านี้มีความจำเพาะกับปาล์มน้ำมัน (Zain *et al*., 2014)

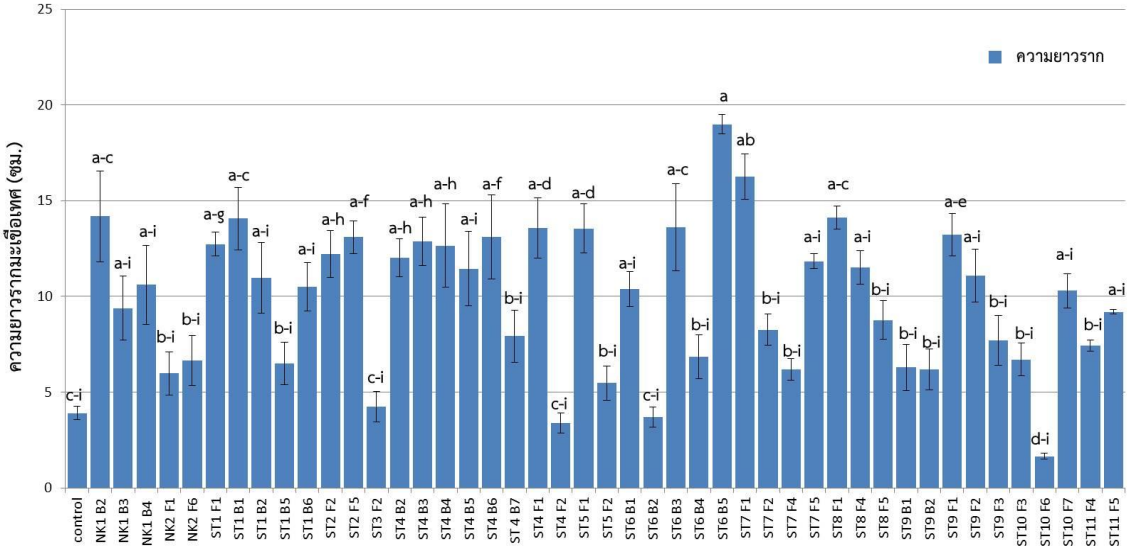
**2. ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช**

ในการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้มีการเลือกจุลินทรีย์จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี มาใช้ในการทดสอบ เนื่องจากมีจำนวนชนิดของจุลินทรีย์มากที่สุด รวมทั้งสิ้นจำนวน 95 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเมล็ดมะเขือเทศสีดา ของบริษัท เจียไต๋ จำกัด พบว่ามีจุลินทรีย์ที่ให้ผลส่งเสริมการเจริญชัดเจน กล่าวคือส่งผลให้มะเขือเทศมีความยาวลำต้น (ภาพที่ 4) และรากมากกว่าในชุดควบคุม (ภาพที่ 5) มีจำนวนทั้งสิ้น 45 ไอโซเลท แบ่งเป็นรา 25 ไอโซเลท คือ ST7 F1, ST8 F1, ST9 F1, ST4 F1, ST7 F5, ST2 F5, ST1 F1, ST5 F1, ST9 F2, ST8 F4, ST2 F2, ST8 F5, ST7 F2, ST10 F7, ST10 F3, ST3 F2,

ST7 F5, ST9 F3, NK2 F6, ST7 F4, ST11 F4, NK2 F1, ST5 F2, ST10 F6 และ ST4 F2 และแบคทีเรีย 20 ไอโซเลท ได้แก่ ST6 B5, ST1 B1, ST6 B3, ST4 B6, ST4 B4, NK1 B2, ST4 B5, ST4 B3, ST1 B2, ST4 B2, NK1 B4, ST6 B1, NK1 B3, ST4 B7, ST1 B6, ST1 B5, ST9 B1, ST6 B4, ST9 B2 และ ST6 B2



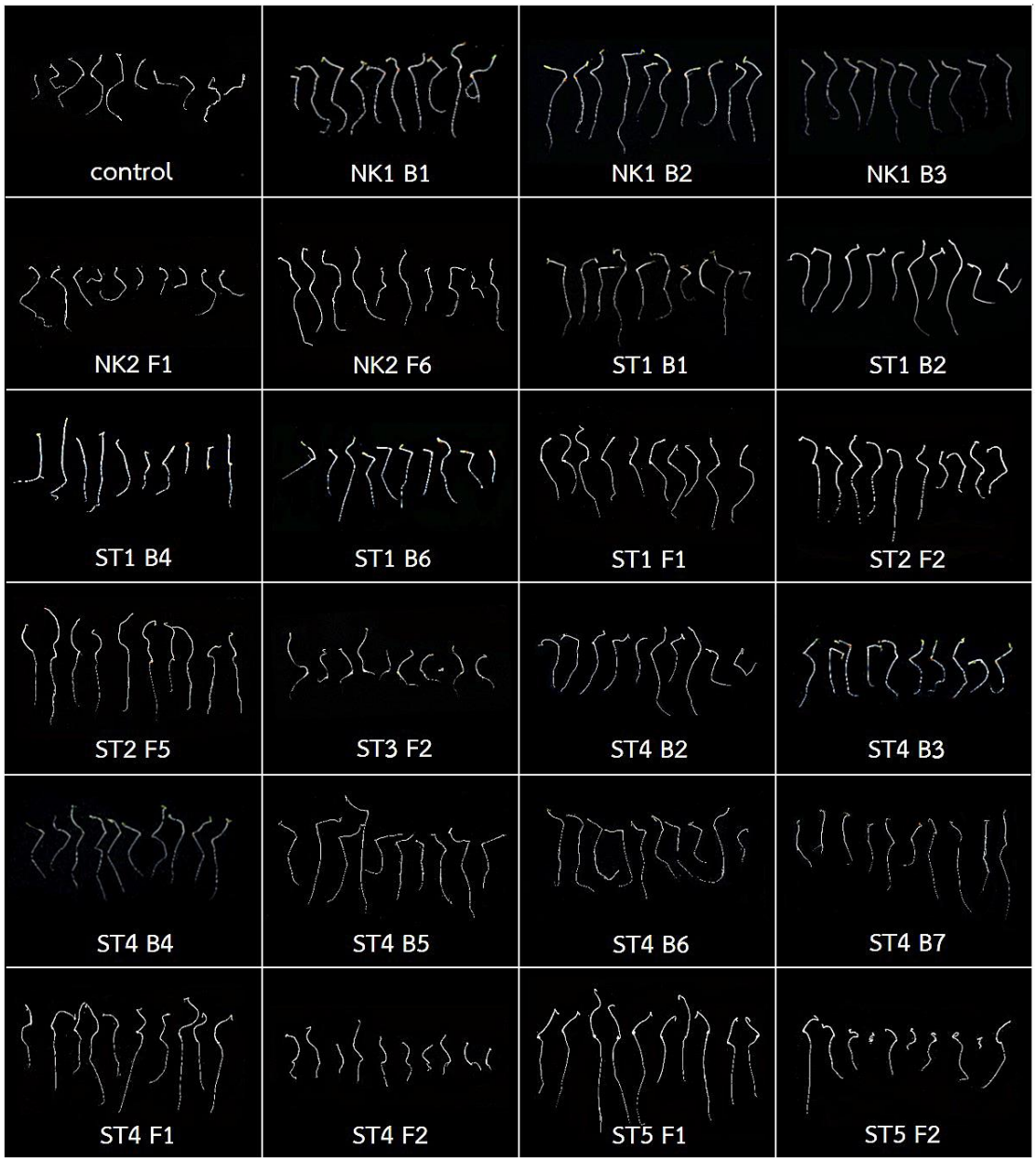

**ภาพที่ 4** ความยาวของต้นมะเขือเทศที่งอกจากเมล็ดหลังการแช่ด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียและรา โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 7 วัน



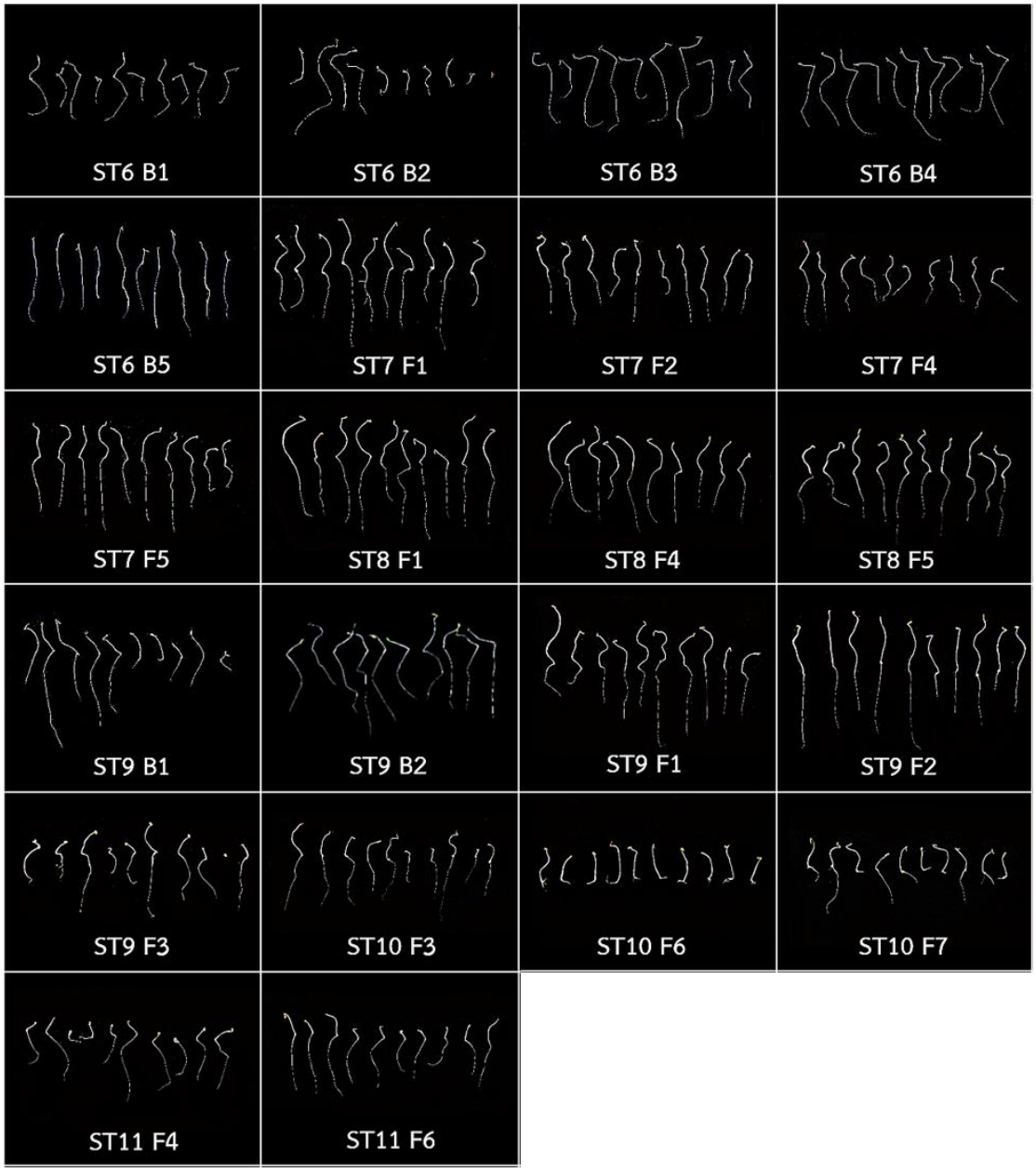

**ภาพที่ 5** ความยาวของรากมะเขือเทศที่งอกจากเมล็ดหลังการแช่ด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียและรา โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 7 วัน

แบคทีเรียและราที่ให้ผลส่งเสริมการเจริญลำต้นและรากดีที่สุด (ภาพที่ 4 และ 5) คือ *Penicillium* spp. (ST7 F2, ST7 F6, NK2 F6, NK2 F1, ST10 F6, ST8 F1, ST1 F1, ST9 F2) *Aspergillus* spp. (ST11 F4, ST9 F1) *Talaromyces* spp. (ST7 F4, ST9 F3, ST7 F1, ST2 F5) *Trichoderma* spp. (ST4 F1, ST5 F1, ST10 F7, ST3 F2, ST4 F2, ST5 F2, ST7 F5) *Fusarium* spp. (ST2 F2, ST8 F5) และ *Cladosporium* spp. (ST8 F4, ST10 F3) แบคทีเรีย *Bacillus* spp. (ST6 B5, ST1 B1, ST4 B6, NK1 B2, ST4 B3, ST4 B2, NK1 B4, ST6 B1, NK1 B3, ST9 B1, ST6 B4, ST9 B2, ST6 B2) *Paenibacillus* spp. (ST4 B4, ST4 B5, ST4 B7, ST1 B6) และ *Pseudomonas* spp. (ST6 B3, ST1 B2, ST1 B5) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Khan และคณะ (2008) รายงานว่าเชื้อรา *P. citrinum* สามารถผลิตจิบเบอริลิน (gibberellins, GA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชที่มีบทบาทหลายอย่างในการเจริญเติบโตของพืช เช่น การเจริญเติบโตของต้นอ่อน การงอกของเมล็ด การสร้างเมล็ด และอื่น ๆ ในพืช โดยการให้สารควบคุมการเจริญเติบโตพืชแก่เมล็ดพันธุ์จะช่วยกระตุ้นการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ดี สอดคล้องกับณัฐชญา สายคำวงศ์ และบุญมี ศิริ (2562) ทำการศึกษาผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์และการเจริญเติบโตของต้นกล้าของเมล็ดมะเขือเทศหลังการเก็บรักษาในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน หลังการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วย 2% GA3 + 0.5% IAA และ 2% GA3 + 0.2% IBA มีแนวโน้มทำให้ความยาวรากของต้นกล้ามะเขือเทศมากกว่าเมล็ดที่ไม่ได้เคลือบและการเคลือบเมล็ดด้วย 2% GA3 + 0.2% IBA ทำให้ความงอก ความเร็วในการงอก ความสูงต้น และความยาวรากของต้นกล้ามะเขือเทศ

ดีมากกว่าการเคลือบเมล็ดด้วยวิธีการอื่น ๆ หลังจากการเก็บรักษาในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันเป็นระยะเวลา 6 เดือนนอกจากนี้ จิราภรณ์ หาญสุริย์ และบุญมี ศิริ (2560) พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วย 4% GA + 1.5% IAA และ 4% GA + 0.1% IBA ส่งเสริมความสูงต้นและความยาวรากดีที่สุด Beneduzi และคณะ (2008) รายงานว่าการคลุกเชื้อ *Paenibacillus polymyxa* ร่วมกับเมล็ดพันธุ์ข้าวพบว่าหลังต้นข้าวงอกมีความยาวราก และความ ยาวต้นดีมากขึ้น นอกจากนี้ Junnges และ (2013) รายงานเพิ่มเติมว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *Bacillus subtilis* ทำให้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมีความงอกและการเจริญเติบโตดีมากขึ้น Ma และคณะ (2011) รายงานว่า ราหลายชนิดสามารถสร้าง IAA ได้เช่นกัน โดยเฉพาะราในสกุล *Fusarium, Aspergillus* และ *Trichoderma* เป็นต้น ซึ่งราเอนโดไฟต์ที่สร้าง IAA ที่คัดแยกจากรากของกล้วยไม้ยังส่งเสริมการเติบโตของรากและยอดของต้นถั่ว รวมถึงส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าวโพด และเพิ่มความยาวของรากของข้าวโพดได้ (Chutima and Lumyong, 2012) นอกจากนี้กานต์ จิตสุวรรณรักษ์ และ อนันต์ วงเจริญ (2560) รายงานว่าการศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวด้วยวิธี blotter test พบว่า เมล็ดที่แช่สปอร์แขวนลอย *T. harzianum* GR03, *T. ghanense* GR06 และ *D. eschscholzii* FL11 สามารถเพิ่มความยาวราก ความสูงลำต้น และดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าข้าวอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม อีกทั้งมีรายงานว่าราเอนโดไฟต์ยังมีบทบาทต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้หลายชนิด เช่น อัจฉรียา ชมเชย (2559) ทำการย้ายปลูกกล้าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อายุ 10 วัน แล้วรองก้นหลุมด้วยเชื้อราเอนโดไฟต์ *Fusarium* sp. ไอโซเลต MW-8 ทำให้มีความสูงลำต้น จำนวนต้นต่อกอ และน้ำหนักแห้งของต้นข้าวสูงที่สุด นอกจากนี้พบรา *Cladosporium* sp. MH-6 ที่แยกได้จากรากต้นแตงกวา สามารถส่งเสริมการเจริญส่วนยอดของเมล็ดข้าว Waito-C rice โดยในน้ำเลี้ยงเซลล์พบสารกลุ่มฮอร์โมน GA ได้ โดยเฉพาะฮอร์โมนชนิด GA3, GA4, GA7 และ GA19 (Waqas *et al*., 2012) อนุสรา จันทร์แสง และสุพจน์ กาเซ็ม (2561) ศึกษาคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโดยทดสอบการส่งเสริมการงอกของเมล็ดของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่ที่แยกและคัดเลือกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าวที่เก็บจากจังหวัดปทุมธานี สุพรรณบุรี และอยุธยา พบว่าการใช้แบคทีเรีย *B. cereus* N55314 และ *Serratia* sp. N43203 คลุกเมล็ดข้าวมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการงอกของเมล็ดที่ 98.89 และ 91.11 % มีความยาวราก 6.42 และ 4.77 เซนติเมตร มีความสูงต้น 4.91 และ 3.19เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณออกซิน (IAA) ที่ตรวจพบในอาหารเลี้ยงเชื้อสอดคล้องกับอัตราการเจริญเติบโตของกล้าข้าว โดยปริมาณออกซิน (IAA) ที่ *B. cereus* N55314 และ *Serratia* sp. N43203 ผลิตในอาหารเลี้ยงเชื้อคือ 0.06 และ 1.44 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม ตามลำดับ ซึ่งปริมาณ IAA ดังกล่าวมีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญของรากข้าวได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม




**ภาพที่ 6** ขนาดของต้นมะเขือเทศที่งอกจากเมล็ดหลังการแช่ด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียและรา โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 7 วัน




**ภาพที่ 6 (ต่อ)** ขนาดของต้นมะเขือเทศที่งอกจากเมล็ดหลังการแช่ด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียและรา โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 7 วัน

**3. ประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการ**

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียและราที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเมล็ดมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ จำนวนทั้งสิ้น 45 ไอโซเลท แบ่งเป็นรา 25 ไอโซเลท และแบคทีเรีย 20 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคพืช ได้แก่ *F. oxysporum*, *R. solani*, *P. aphanidermatum* และ *S. rolfsii* ด้วยวิธี dual culture plate พบว่า เชื้อส่งเสริมการเจริญที่สามารถยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* ได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ได้แก่ ไอโซเลท ST4 F1, ST5 F1, ST3 F2, ST3 F2, ST5 F2 และ ST4 F2 (ตารางที่ 2) ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solani* ได้ดี ได้แก่ ST4 F1, ST7 F5, ST5 F1, ST10 F7, ST3 F2, ST9 F3, ST5 F2, ST10 F6 และ ST4 F2 (ตารางที่ 2) ในขณะที่ ไอโซเลท ST4 F1, ST7 F5, ST5 F1, ST10 F7, ST3 F2, ST5 F2, ST10 F6 และ ST4 F2 (ตารางที่ 2) สามารถยับยั้งเชื้อ *S. rolfsii* ได้ดี และไอโซเลท ST4 F1, ST7 F5, ST5 F1, ST9 F2, ST10 F7, ST3 F2, ST9 F3, NK2 F6, ST5 F2, ST10 F6 และ ST4 F2 ยับยั้งเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้ดีที่สุด (ตารางที่ 2) เมื่อทำการวิเคราะห์เชื้อส่งเสริมการเจริญที่มีประสิทธิภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชทั้ง 5 ชนิดได้ดี ได้แก่ ไอโซเลท ST4 F1, ST5 F1, ST10 F7, ST3 F2 และ ST4 F2 (ภาพที่ 7) โดยทั้ง 5 ไอโซเลท เป็นราที่อยู่ในกลุ่ม *Trichoderma* spp. สอดคล้องกับผลการทดลองของ Geiger และคณะ (2013) ซึ่งรายงานว่า *Trichoderma* spp. มีกลไกการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายวิธี แบ่งเป็นกลไกทางตรงและทางอ้อม กลไกทางตรง เช่น การเป็นปรสิตของเชื้อสาเหตุโรคโดยใช้เส้นใยพันรัด และแทงเข้าเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคพืชแล้วปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาเพื่อสลายผนังเส้นใยก่อนแทงส่วนของเส้นใยเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อโรค ใช้อาหารจากภายในเส้นใยของเชื้อโรค ทำให้กิจกรรมด้านการเจริญของเส้นใยเชื้อโรคลดลงอย่างมาก จนเกิดความผิดปกติไม่สามารถเจริญตามปกติได้ และกลไกทางอ้อม เช่น การแข่งขันในด้านการครอบครองพื้นที่และสารอาหาร การสร้างสารปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ และเหนี่ยวนำกลไกให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช ซึ่งเป็นกลไกการต่อต้านการเกิดโรคของพืชเองและเกิดอย่างซับซ้อน (Harman *et al*., 2004) การเกิดการต้านทานของพืชอาจเกิดเฉพาะที่ หรือเกิดทั่วทั้งต้น ขึ้นอยู่กับชนิด แหล่ง และปริมาณของสิ่งกระตุ้น (Pal and Gardener, 2006) *Trichoderma* spp. สามารถกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ทั้งรา แบคทีเรีย และไวรัส (Yedidia *et al*., 1999; Harman 2006; Haggag, 2008 อ้างโดย สายทอง แก้วฉาย, 2555) ในปัจจุบันได้เริ่มมีการใช้ *Trichoderma* sp. ฉีดเข้าสู่ลำต้นหรือระบบรากพืช เพื่อจุดประสงค์ในการป้องกันโรค และรักษาพืชที่เป็นโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งในไม้ผลยืนต้น พืชที่ได้รับเชื้อโดยวิธีนี้ มีความแข็งแรงและต้านทานต่อการเกิดโรคได้คล้ายกับการฉีดวัคซีนในมนุษย์หรือสัตว์ ซึ่งกลไกเหล่านี้ทำให้รา *Trichoderma* spp. มีความโดดเด่นในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อใช้ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่นำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2552)

**ตารางที่ 2** ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลทต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของรา *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* และ *Sclerotium rolfsii* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

| ชนิดของจุลินทรีย์ | ไอโซเลท | เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค[1] (%) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | *F.* | *R. solani* | *S. rolfsii* | *P.* |
| | Control | 0.00$^{mn}$ | 0.00$^{j}$ | 0.00$^{h}$ | 0.00$^{d}$ |
| แบคทีเรีย | ST6 B5 | 38.24 $^{f-i}$ | 38.57 $^{b}$ | 40.00 $^{c-e}$ | 10.71 $^{cd}$ |
| | ST1 B1 | 33.82 $^{f-k}$ | 0.00 $^{j}$ | 12.86 $^{f-h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | ST6 B3 | 35.29 $^{f-j}$ | 3.57 $^{ij}$ | 12.86 $^{f-h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | ST4 B6 | 42.65 $^{e-h}$ | 28.57 $^{b-f}$ | 11.43 $^{f-h}$ | 29.29 $^{b-d}$ |
| | ST4 B4 | 22.06$^{j-l}$ | 0.00 $^{j}$ | 26.43 $^{e-g}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | NK1 B2 | 32.35 $^{g-k}$ | 37.86 $^{b}$ | 37.14 $^{c-e}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | ST4 B5 | 22.06 $^{j-l}$ | 0.00 $^{j}$ | 27.14 $^{e-g}$ | 21.43 $^{b-d}$ |
| | ST4 B3 | 13.24 $^{lm}$ | 34.29 $^{bc}$ | 30.00 $^{d-f}$ | 35.71 $^{b-d}$ |
| | ST1 B2 | 45.59 $^{d-g}$ | 0.00 $^{j}$ | 0.00 $^{h}$ | 64.29 $^{ab}$ |
| | ST4 B2 | 27.94 $^{i-k}$ | 14.29 $^{g-i}$ | 0.00 $^{h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | NK1 B4 | 44.12 $^{d-g}$ | 19.29 $^{e-h}$ | 0.00 $^{h}$ | 10.71 $^{cd}$ |
| | ST6 B1 | 27.94 $^{i-k}$ | 26.43 $^{b-g}$ | 0.00 $^{h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | NK1 B3 | 1.47 $^{mn}$ | 0.00 $^{j}$ | 27.14 $^{e-g}$ | 39.29 $^{b-d}$ |
| | ST4 B7 | 23.53 $^{j-l}$ | 0.00 $^{j}$ | 0.00 $^{h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | ST1 B6 | 55.88 $^{c-e}$ | 0.00 $^{j}$ | 0.00 $^{h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | ST1 B5 | 41.18 $^{f-i}$ | 15.71 $^{b-e}$ | 13.57 $^{f-h}$ | 35.00 $^{b-d}$ |
| | ST9 B1 | 38.24 $^{f-i}$ | 28.57 $^{b-f}$ | 0.00 $^{h}$ | 21.43 $^{b-d}$ |
| | ST6 B4 | 27.94 $^{i-k}$ | 35.71 $^{bc}$ | 2.14 $^{h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | ST9 B2 | 35.29 $^{f-j}$ | 20.00 $^{d-h}$ | 11.43 $^{f-h}$ | 10.71 $^{cd}$ |
| | ST6 B2 | 32.35 $^{g-k}$ | 32.14 $^{b-d}$ | 12.86 $^{f-h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| รา | ST7 F1 | 38.24 $^{f-i}$ | 0.00 $^{j}$ | 50.00 $^{b-d}$ | 10.71 $^{cd}$ |
| | ST8 F1 | 1.47 $^{mn}$ | 0.00 $^{j}$ | 23.57 $^{e-g}$ | 31.43 $^{b-d}$ |
| | ST9 F1 | 38.24 $^{f-i}$ | 26.43 $^{b-g}$ | 7.14 $^{gh}$ | 0.00 $^{d}$ |

**ตารางที่ 2 (ต่อ)** การยับยั้งของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลทต่าง ๆ ต่อรา *F. oxysporum*, *R. solani*, *P. aphanidermatum* และ *S. rolfsii* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

| ชนิดของจุลินทรีย์ | ไอโซเลท | เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค[1] (%) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | *F. oxysporum* | *R. solani* | *S. rolfsii* | *P. aphanidermatum* |
| รา | ST4 F1* | 79.41 $^{a}$ | 72.14 $^{a}$ | 77.86 $^{a}$ | 58.57 $^{ab}$ |
| | ST7 F5 | 57.35 $^{bc}$ | 70.00 $^{a}$ | 82.86 $^{a}$ | 53.57 $^{a-c}$ |
| | ST2 F5 | 27.94 $^{i-k}$ | 25.00 $^{c-h}$ | 25.00 $^{e-g}$ | 42.14 $^{b-d}$ |
| | ST1 F1 | 23.53 $^{j-l}$ | 24.29 $^{c-h}$ | 57.14 $^{bc}$ | 39.29 $^{b-d}$ |
| | ST5 F1* | 83.82 $^{a}$ | 70.71 $^{a}$ | 82.86 $^{a}$ | 61.43 $^{ab}$ |
| | ST9 F2 | 41.18 $^{f-i}$ | 26.43 $^{b-g}$ | 0.00 $^{h}$ | 53.57 $^{a-c}$ |
| | ST8 F4 | 35.29 $^{f-j}$ | 35.71 $^{bc}$ | 37.86 $^{c-e}$ | 38.57 $^{b-d}$ |
| | ST2 F2 | 23.53 $^{j-l}$ | 12.86 $^{hi}$ | 25.00 $^{e-g}$ | 10.71 $^{cd}$ |
| | ST8 F5 | 20.59 $^{kl}$ | 12.86 $^{hi}$ | 27.14 $^{e-g}$ | 21.43 $^{b-d}$ |
| | ST7 F2 | -4.41 $^{n}$ | 20.71 $^{d-h}$ | 27.86 $^{ef}$ | 42.14 $^{b-d}$ |
| | ST10 F7* | 72.06 $^{ab}$ | 68.57 $^{a}$ | 80.71 $^{a}$ | 87.86 $^{a}$ |
| | ST10 F3 | 30.88 $^{h-k}$ | 14.29 $^{g-i}$ | 16.43 $^{f-h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | ST3 F2* | 76.47 $^{a}$ | 69.29 $^{a}$ | 77.86 $^{a}$ | 61.43 $^{ab}$ |
| | ST7 F6 | 41.18 $^{f-i}$ | 27.14 $^{b-f}$ | 2.14 $^{h}$ | 41.43 $^{b-d}$ |
| | ST9 F3 | 47.06 $^{c-f}$ | 67.14 $^{a}$ | 69.29 $^{ab}$ | 53.57 $^{a-c}$ |
| | NK2 F6 | 32.35 $^{g-k}$ | 32.14 $^{b-d}$ | 0.00 $^{h}$ | 48. 57 $^{a-c}$ |
| | ST7 F4 | 27.94 $^{i-k}$ | 17.14 $^{f-h}$ | 37.86 $^{c-e}$ | 39.29 $^{b-d}$ |
| | ST11 F4 | 32.35 $^{g-k}$ | 26.43 $^{b-g}$ | 41.43 $^{c-e}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | NK2 F1 | 38.24 $^{f-i}$ | 0.00 $^{j}$ | 12.86 $^{f-h}$ | 0.00 $^{d}$ |
| | ST5 F2 | 60.29 $^{bc}$ | 73.57 $^{a}$ | 88.57 $^{a}$ | 53.57 $^{a-c}$ |
| | ST10 F6 | 60.29 $^{bc}$ | 67.14 $^{a}$ | 79.29 $^{a}$ | 57.14 $^{ab}$ |
| | ST4 F2* | 83.82 $^{a}$ | 72.14 $^{a}$ | 88.57 $^{a}$ | 58.57 $^{ab}$ |

[1] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

* ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 5 ชนิดได้ดี

**ภาพที่ 7** ราส่งเสริมการเจริญที่มีประสิทธิภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชทั้ง 5 ชนิด ได้ดีที่สุด 5 ลำดับแรก

**4. คุณสมบัติของจุลินทรีย์ในการผลิตสารชีวเคมีที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช**

เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเมล็ดมะเขือเทศ และมีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรคพืช ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม *Trichoderma* spp. จำนวน 5 ไอโซเลทมาทำการทดสอบหาคุณสมบัติจุลินทรีย์ในการผลิตสารชีวโมเลกุลที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชบนอาหารแข็ง ผลการทดสอบปรากฏว่า *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลทสามารถผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase) ได้ (ตารางที่ 3) ซึ่งเอนไซม์ฟอสฟาเทสเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส ที่มีอยู่ 2 ชนิด คือ อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline phosphatase) ทำงานได้ดี

ในสภาพที่เป็นด่าง และแอซิดฟอสฟาเทส (acid phosphatase) ซึ่งทำงานได้ดีในสภาพที่เป็นกรดในพื้นที่ดินกรดเขตร้อนชื้น เอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสจึงมีความสำคัญต่อความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน มีรายงานว่า *T. harzianum* สามารถสร้างเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสได้ (Souza *et al*., 2016) สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน ทำให้การใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสมีประสิทธิภาพ ช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี ส่งผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตพืชสูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลดีต่อเกษตรกร (Chen *et al*., 2011) ขณะที่ไอโซเลท ST4 F1, ST3 F2 และ ST4 F2 สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสได้ และไอโซเลท ST5 F1 และ ST3 F2 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอส ซึ่ง Agrawal และ Kotasthane (2012) กล่าวว่าไคติน เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในผนังเซลล์ของรา การที่รา *Trichoderma* spp. สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนส ซึ่งสามารถย่อยสลายไคติน จึงทำให้มีคุณสมบัติในยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากราได้ จึงจัดเป็นกลไกสำคัญในการควบคุมโรคพืชของรา *Trichoderma* spp. สอดคล้องกับการทดลองของ Tokimoto (1982) Sivan และ Chet (1986) และ Kubicek และคณะ (2001) (อ้างโดย พรทิพย์ แย้มสุวรรณ, 2557) ที่รายงานว่าผนังเซลล์ของราโครงสร้างหลักส่วนใหญ่เป็นไคติน กลูแคน และโปรตีน การที่ *Trichoderma* spp. มีกลไกการปรสิตต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช และผลิตเอนไซม์ไคติเนสและโปรติเอสที่สามารถย่อยสลายองค์ประกอบเหล่านี้ ช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของกลไกหลักในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลทสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ ซึ่งการเจริญเติบโตของพืชมีผลโดยตรงมาจากปริมาณของฮอร์โมนโดยเฉพาะ indole --3acetic acid (IAA) และ gibberellins ($GA_3$) ซึ่งมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันกับปริมาณ endogenous IAA และ gibberellic acidภายในต้นพืชโดยส่งผลให้เซลล์พืชยืดยาวและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับธาตุอาหารจากดินของพืช (Buensanteai *et al*., (2008สอดคล้องกับผลการทดลองของ Gravel และคณะ (2007) รายงานว่า *T. atroviride* ผลิตฮอร์โมน indole--3acetic acid (IAA) ภายในหลอดทดลองภายใต้การเติม L - tryptophan นอกจากนี้ Contreras - Cornejo และคณะ (2009) รายงานว่า *T. virens* และ *T. atroviride* สามารถสังเคราะห์ IAA หรืออนุพันธ์บางส่วนในการเพิ่มรากด้านข้างในพืช *Arabidopsis*ได้ สำหรับการทดสอบการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ (siderophore) ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างได้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตร โดยสารไซเดอโรฟอร์มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชและส่งเสริมการเจริญของพืช จะมีส่วนช่วยในการลดการเจริญหรือลดเมแทบอลิซึมของจุสินทรีย์ก่อโรคที่ไม่สามารถผลิตสารชนิดนี้ได้ โดยการไปแย่งจับเหล็กกับจุลินทรีย์ก่อโรค ส่งผลให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถเจริญได้ เนื่องจากขาดแคลนเหล็กซึ่งเป็นแร่ธาตุที่สำคัญในการเจริญ จากการทดสอบพบว่าไอโซเลท ST5 F1, ST3 F2 และ ST4 F2 (ตารางที่ 4) สามารถสร้างสารชนิดนี้ได้ สังเกตจากการเปลี่ยนสีของอาหารแข็งจากสีเขียวอมฟ้า เป็นสี

แดงอมชมพู (ภาพที่ 8)

**ตารางที่ 3** ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการสร้างเอนไซม์ของรา *Trichoderma* sp.

| ไอโซเลท | เอนไซม์ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | เซลลูเลส | ไคติเนส | อัลคาไลน์โปรติเอส | ฟอสฟาเทส |
| ST4 F1 | - | + | - | + |
| ST5 F1 | - | - | + | + |
| ST10 F7 | - | - | - | + |
| ST3 F2 | - | + | + | + |
| ST4 F2 | - | + | - | + |

+ มีการสร้างเอนไซม์

- ไม่มีการสร้างเอนไซม์

**ตารางที่ 4** ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการสร้างสารชีวเคมีของรา *Trichoderma* sp.

| ไอโซเลท | สารชีวเคมี | |
|---|---|---|
| | IAA | ไซเดอโรฟอร์ |
| ST4 F1 | + | - |
| ST5 F1 | + | + |
| ST10 F7 | + | - |
| ST3 F2 | + | + |
| ST4 F2 | + | + |

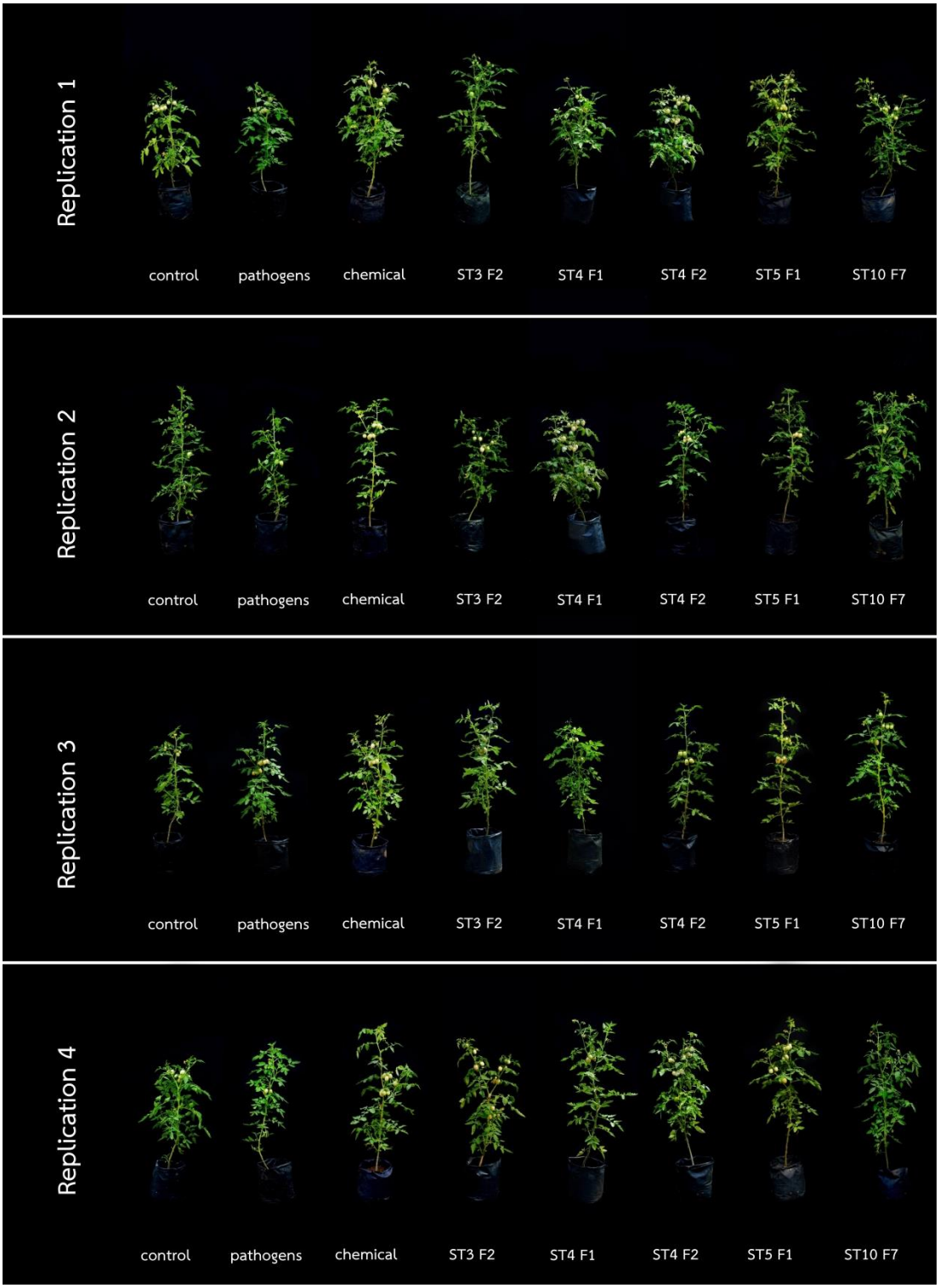
+ มีการสร้างสารชีวเคมี

- ไม่มีการสร้างสารชีวเคมี

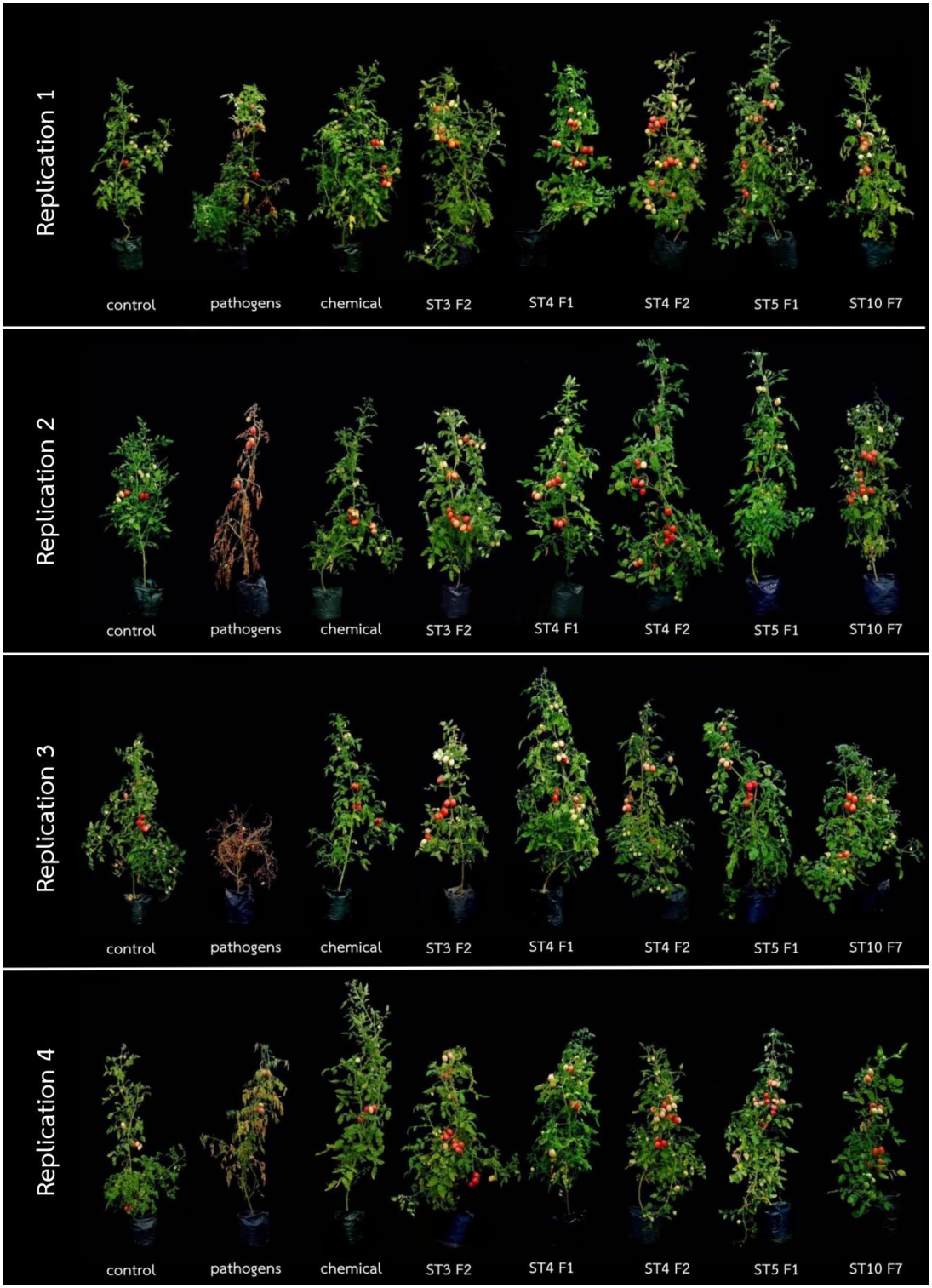
**ภาพที่ 8** การสังเคราะห์สารไซเดอโรฟอร์ ของจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของเมล็ดมะเขือเทศและเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรคพืช

**5. ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ**

รา *Trichoderma* spp. สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศและเป็นปฏิปักษ์แก่เชื้อก่อโรคพืชได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีในชุดควบคุม ด้านความสูงต้น เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความเข้มสีใบ ความกว้างทรงพุ่ม ที่อายุ 30 40 50 และ 60 วัน (ภาพที่ 9 และ 10) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้




**ภาพที่ 9** ต้นมะเขือเทศภายหลังการได้รับเชื้อทดสอบ 30 วัน




**ภาพที่ 10** ต้นมะเขือเทศภายหลังการได้รับเชื้อทดสอบ 60 วัน

**5.1 ความสูงต้น**

ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นมะเขือเทศภายหลังจากได้รับเชื้อรา (ตารางที่ 5) พบว่าเมื่อได้รับเชื้อราเป็นเวลา 30 วัน กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี เชื้อก่อโรค ST4 F2, ST3 F2, ST4 F1, ST5 F1 และ ST10 F1 มีค่าความสูงของต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ความสูงของต้นกล้ามีค่าน้อยที่สุดในกรรมวิธีควบคุมมีค่าเท่ากับ 91.28 เซนติเมตร ต้นมะเขือเทศอายุ 40 วันหลังจากได้รับเชื้อทดสอบทุกกรรมวิธีมีค่าความสูงของต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นกรรมวิธีควบคุมมีความสูงน้อยที่สุด คือ 90.65 เซนติเมตร ความสูงของมะเขือเทศอายุ 50 วัน หลังจากได้รับเชื้อ พบว่าไอโซเลท ST4 F2, ST5 F1, ST4 F1, ST3 F2 กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี และเชื้อไอโซเลท ST10 F7 มีความสูงไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ 123.98, 120.84 116.65, 115.73, 114.43 และ 112.65 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีความสูงน้อยที่สุด คือ กรรมวิธีที่มีเชื้อก่อโรคเพียงอย่างเดียว 103.66 เซนติเมตร ภายหลังจากได้รับเชื้อเป็นเวลา 60 วัน พบว่าเชื้อ ST3 F2, ST4 F1, ST4 F2, ST5 F1 มีความสูงไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีในชุดควบคุม ในขณะที่กรรมวิธีที่มีเชื้อก่อโรคเพียงอย่างเดียวมีความสูงเฉลี่ย 112.04 เซนติเมตร ซึ่งเป็นค่าที่น้อยที่สุด แม้ผลการทดลองในด้านความสูงต้นกรรมวิธีที่มีการใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติอย่างชัดเจนกับชุดควบคุม แต่มีแนวโน้มที่มีความสูงมากกว่า จึงกล่าวได้ว่าราในกลุ่ม *Trichoderma* spp. มีส่วนช่วยให้ต้นมะเขือเทศมีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงเพิ่มขึ้น โดยทุกกรรมวิธีที่ได้รับเชื้อให้ความสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้รา *Trichoderma* spp. สอดคล้องกับงานวิจัยของ Saewlee และคณะ (2016) รายงานว่าการใส่ *Trichoderma* spp. ร่วมกับวัสดุปลูกมีผลทำให้ความสูงของต้นกล้ากาแฟอาราบิก้าที่อายุ 8 เดือน เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้วัสดุปลูกเพียงอย่างเดียว โดยทำให้ต้นกล้ากาแฟมีความสูงเพิ่มขึ้นจากระหว่าง 22.0 - 28.5 เป็น 24.5 - 35.5 เซนติเมตร หรือมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 26.7 เป็น 30.0 เซนติเมตร นอกจากนี้ *Trichoderma* spp. สายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองยังมีความสามารถในการผลิตฮอร์โมนจิบเบอร์เรลลินได้ถึง 7.5 พีพีเอ็ม ซึ่งมีส่วนช่วยในการกระตุ้นเซลล์เนื้อเยื่อลำต้นกาแฟให้มีการยืดตัวได้มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ Halifu และคณะ (2019) รายงานว่าการใส่ *Trichoderma* spp. ส่งผลให้ความสูงของต้นกล้าสนรัสเซียสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม ขณะเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ *T. harzianum* E15 และสายพันธุ์ *T. virens* ZT05 พบว่า *T. harzianum* E15 ส่งผลให้ต้นกล้าสนรัสเซียมีความสูงมากกว่าสายพันธุ์ *T. virens* ZT05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยมีความสูงประมาณ 7.5 และ 7.0 เซนติเมตรตามลำดับ นอกจากนี้ Uddin และคณะ (2016) ศึกษาความเข้มข้นของ *Trichoderma* spp. ต่อความสูงของมะเขือเทศ

โดยมีกรรมวิธีควบคุม เปรียบเทียบกับการใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. 100, 200 และ 300 กรัม/พื้นที่ 1 ตารางเมตร พบว่าความสูงของมะเขือเทศมีค่าสูงสุดเมื่อใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. 100 กรัม/พื้นที่ 1 ตารางเมตร มีความสูง 123.8 เซนติเมตร ขณะที่กรรมวิธีชุดควบคุมไม่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ความสูงของมะเขือเทศมีค่าเท่ากับ 109 เซนติเมตร ขณะเดียวกัน Mahato และคณะ (2018) รายงานว่าการใส่ *Trichoderma* spp.ส่งผลให้ความสูงของข้าวสาลีสูงกว่ากรรมวิธีชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ) *Trichoderma* spp. เท่ากับ 69.03 และ 65.98 เซนติเมตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า *Trichoderma* spp. มีส่วนช่วยในการเพิ่มความสูงของต้น (Uddin *et al*., 2016)

**ตารางที่ 5** ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นมะเขือเทศหลังปลูกในระยะเวลา 30 - 60 วัน

| กรรมวิธี | ความสูงต้น (เซนติเมตร) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 30 วัน | 40 วัน | 50 วัน | 60 วัน |
| control | 91.28±4.19$^{b}$ | 90.65±8.16$^{b}$ | 105.49±12.51$^{bc}$ | 123.18±15.45$^{abc}$ |
| pathogen | 91.93±5.06$^{ab}$ | 99.88±14.44$^{a}$ | 103.66±15.29$^{c}$ | 112.04±17.13$^{c}$ |
| chemical | 95.09±6.18$^{ab}$ | 94.15±10.67$^{a}$ | 114.43±13.97$^{ab}$ | 120.67±14.46$^{bc}$ |
| ST3 F2 | 95.51±5.50$^{ab}$ | 111.11±4.33$^{a}$ | 115.73±4.17$^{ab}$ | 127.73±4.61$^{ab}$ |
| ST4 F1 | 99.02±4.11$^{ab}$ | 107.19±4.70$^{a}$ | 116.65±5.36$^{a}$ | 135.36±7.34$^{a}$ |
| ST4 F2 | 99.78±4.35$^{a}$ | 111.58±4.52$^{a}$ | 123.98±5.77$^{a}$ | 135.04±7.74$^{a}$ |
| ST5 F1 | 97.08±4.63$^{ab}$ | 106.73±3.90$^{a}$ | 120.84±4.72$^{a}$ | 133.17±6.34$^{a}$ |
| ST10 F7 | 95.25±3.11$^{ab}$ | 106.55±3.81$^{a}$ | 112.65±5.01$^{ab}$ | 120.15±11.70$^{bc}$ |
| F - test | * | ** | ** | ** |

* ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

**5.2 เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น**

จากตารางแสดงค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นของมะเขือเทศ เมื่อได้รับเชื้อราในกลุ่ม *Trichoderma* spp. (ตารางที่ 6) พบว่าภายหลังจากได้รับเชื้อเป็นเวลา 30 วัน นั้นมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่กรรมวิธีที่ได้รับเชื้อไอโซเลท ST10 F7 มีแนวโน้มว่าจะมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมากที่สุด คือ 10.93 มิลลิเมตร 40 วันหลังได้รับเชื้อ พบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางโคนต้นในทุกกรรมวิธียังคงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อต้นมะเขือเทศได้รับเชื้อเป็นเวลา 50 วัน พบว่าขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ได้รับเชื้อไอโซเลท ST4 F2, ST5 F1, ST4 F1 กรรมวิธีควบคุม ST3 F2 และกรรมวิธีที่มีเชื้อก่อโรคเพียงอย่างเดียว มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเฉลี่ยเท่ากับ 10.34, 9.78, 9.73, 9.65, 9.56 และ 9.49 มิลลิเมตร ตามลำดับ

**ตารางที่ 6** ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านลำต้นของมะเขือเทศหลังปลูกในระยะเวลา 30 - 60 วัน

| กรรมวิธี | เส้นผ่านศูนย์กลางโคนต้น (เซนติเมตร)[1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 30 วัน | 40 วัน | 50 วัน | 60 วัน |
| control | 9.81±0.61 | 8.23±0.56 | 9.65±1.12$^{ab}$ | 10.90±1.24$^{c}$ |
| pathogen | 9.45±0.78 | 8.56±1.24 | 9.49±1.37$^{ab}$ | 10.81±1.57$^{c}$ |
| chemical | 9.58±0.55 | 8.34±0.47 | 9.27±1.07$^{b}$ | 10.46±1.25$^{c}$ |
| ST3 F2 | 9.84±0.47 | 8.78±0.29 | 9.56±0.26$^{ab}$ | 10.72±0.43$^{c}$ |
| ST4 F1 | 10.06±0.74 | 8.57±0.41 | 9.73±0.32$^{ab}$ | 12.24±0.35$^{ab}$ |
| ST4 F2 | 10.36±0.70 | 9.27±0.31 | 10.34±0.20$^{a}$ | 12.71±0.15$^{a}$ |
| ST5 F1 | 10.01±0.70 | 9.12±0.36 | 9.78±0.33$^{ab}$ | 11.55±0.33$^{abc}$ |
| ST10 F7 | 10.93±0.62 | 9.68±0.40 | 9.28±0.29$^{b}$ | 11.18±1.03$^{bc}$ |
| F - test | ns | ns | * | ** |

* ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[1] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ในระยะเวลา 60 วัน หลังจากได้รับเชื้อ พบว่ากรรมวิธีที่ได้รับเชื้อไอโซเลท ST4 F2, ST4 F1 และ ST5 F1 มีลำต้นขนาดใหญ่ที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นเท่ากับ 12.71, 12.24 และ 11.55 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่าต้นมะเขือเทศที่ได้รับเชื้อในกลุ่ม *Trichoderma* spp. มีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นดีกว่าต้นกรรมวิธีที่ไม่มีเชื้อ สอดคล้องกับผลการทดลอง Ghazalibiglar และคณะ (2016) รายงานว่ารา *Trichoderma* isolate LU132 ส่งผลให้มะเขือเทศมีขนาดโคนต้นเพิ่มมากขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้รับเชื้อ นอกจากนี้ยังรายงานว่า *Trichoderma* isolate LU740 ยังสามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของรากและยอดได้อีกด้วย

**5.3 ความกว้างของทรงพุ่ม**

ความกว้างทรงพุ่มของต้นมะเขือเทศภายหลังจากที่ได้รับเชื้อในกลุ่ม *Trichoderma* spp. ไอโซเลทต่าง ๆ เมื่อมีอายุ 30 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7) เมื่อต้นมะเขือเทศมีอายุ 40 วัน พบว่าไอโซเลท ST4 F2, ST5 F1, ST10 F7, ST4 F1 และ ST3

F2 มีค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มมากที่สุดเท่ากับ 60.04, 56.34, 54.30, 54.13 และ 53.69 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี กรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่มีเชื้อก่อโรคพืชเพียงอย่างเดียวให้ค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อต้นมะเขือเทศได้รับเชื้อเป็นเวลา 50 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ได้รับเชื้อไอโซเลท ST5 F1, ST4 F2, ST4 F1 กรรมวิธีที่ใช้สารเคมี และ ST10 F7 มีความกว้างทรงพุ่มมากที่สุด เท่ากับ 61.21, 61.10, 58.92, 57.50 และ 57.01 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อผ่านไปเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่มีเชื้อ *Trichoderma* spp. มีค่าเฉลี่ยทรงพุ่มมากที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางทางสถิติ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Lalhruaitluangi และคณะ (2019) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของ *Trichoderma* spp ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส ต่อขนาดของทรงพุ่มในถั่วเหลือง ที่ระยะ 30 60 และ 90 วันหลังย้ายปลูก โดยมีกรรมวิธีที่ใส่เชื้อแตกต่างกัน ดังนี้ คือ *T. ovalisporum* (KU904456), *T. harzianum* (KU933468), *T. atroviride* (KU933472), *T. harzianum* (KU933474), *T. asperellum* (KU933475), *Hypocrea lixii* (KX0113223), Carbendazim 50 WP และชุดควบคุม ตลอดระยะการทดลอง พบว่า *T. harzianum* (KU933468) ส่งผลให้มีขนาดทรงพุ่มของถั่วเหลืองสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีชุดควบคุม และ *Trichoderma* spp. ไอโซเลทอื่น ๆ โดยที่ระยะ 30 60 และ 90 วันหลังย้ายปลูก ขนาดทรงพุ่มของถั่วเหลืองเท่ากับ 40.60 154.23 และ 317.54 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีชุดควบคุม (ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma* spp.) เท่ากับ 23.72 95.01 และ 169.32 ตารางเซนติเมตร ที่ระยะ 30 60 และ 90 วันหลังย้ายปลูกตามลำดับ นอกจากนี้ Tucci และคณะ (2010) รายงานว่ารา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ T22 ส่งผลให้มะเขือเทศมีขนาดทรงพุ่มเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น เนื่องจาก *Trichoderma* บางสายพันธุ์สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช โดยทำให้ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุไนโตรเจนของพืชเป็นไปได้ดียิ่งขึ้น (Yedidia *et al*., 2001)

**ตารางที่ 7** ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความกว้างทรงพุ่มของมะเขือเทศหลังปลูกในระยะเวลา 30 - 60 วัน

| กรรมวิธี | ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร) [1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 30 วัน | 40 วัน | 50 วัน | 60 วัน |
| control | 56.07±3.32 | 44.92±3.94$^{b}$ | 54.85±6.25$^{ab}$ | 58.56±7.47$^{bc}$ |
| pathogen | 58.03±3.92 | 49.74±7.24$^{b}$ | 51.26±7.40$^{b}$ | 51.12±7.62$^{c}$ |
| chemical | 54.76±3.58 | 46.85±6.04$^{b}$ | 57.50±7.75$^{ab}$ | 50.32±5.98$^{c}$ |
| ST3 F2 | 55.54±3.55 | 53.69±2.74$^{ab}$ | 52.83±2.46$^{b}$ | 61.88±3.72$^{ab}$ |
| ST4 F1 | 54.13±4.10 | 54.13±3.67$^{ab}$ | 58.92±3.62$^{ab}$ | 60.92±4.62$^{b}$ |
| ST4 F2 | 56.20±2.64 | 60.04±3.35$^{a}$ | 61.10±2.98$^{a}$ | 70.66±3.74$^{a}$ |
| ST5 F1 | 55.21±2.54 | 56.34±2.70$^{ab}$ | 61.21±2.60$^{a}$ | 63.98±3.08$^{ab}$ |
| ST10 F7 | 58.10±2.84 | 54.30±2.91$^{ab}$ | 57.01±3.35$^{ab}$ | 63.75±7.84$^{ab}$ |
| F - test | ns | ** | * | ** |

* ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[1] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

**5.4 ค่าความเขียวของใบ**

ความเข้มสีใบของต้นมะเขือเทศภายหลังจากที่ได้รับเชื้อในกลุ่ม *Trichoderma* spp. ไอโซเลทต่าง ๆ เมื่อมีอายุ 30 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8) มีค่าเฉลี่ยความเข้มสีใบ ระหว่าง 39.68 - 41.83 SPAD unit เมื่อต้นมะเขือเทศมีอายุ 40 วัน พบว่าไอโซเลท ST4 F2 และ ST3 F2 มีค่าเฉลี่ยความเข้มสีใบมากที่สุดเท่ากับ 47.20 และ 46.61 SPAD unit ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่มีเชื้อก่อโรคเพียงอย่างเดียวมีค่าความเข้มสีใบน้อยที่สุดเท่ากับ 40.44 SPAD unit เมื่อต้นมะเขือเทศได้รับเชื้อเป็นเวลา 50 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ได้รับเชื้อไอโซเลท ST4 F2 มีความเข้มสีใบมากที่สุด เท่ากับ 42.92 SPAD unit และไอโซเลท ST5 F1 มีค่าน้อยที่สุดเฉลี่ย 39.08 SPAD unit เมื่อต้นมะเขือเทศมีอายุ 60 วัน พบว่ากรรมวิธี ST3 F2 มีค่าเฉลี่ยความเข้มสีใบมากที่สุดเท่ากับ 48.89 SPAD unit ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ทดสอบด้วยสารเคมี และไอโซเลท ST4 F1, ST4 F2 และ ST5 F1 มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีที่ทดสอบด้วยเชื้อก่อโรคเพียงอย่างเดียวมีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 39. 55 SPAD unit สอดคล้องกับ Roslee และคณะ (2017) รายงานว่าผักกาดเขียวที่ได้รับการใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. มาส่งผลให้พืชมีการสร้างคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการใส่เชื้อ

*Trichoderma* spp. ซึ่งคลอโรฟิลล์มีบทบาทที่สำคัญในการดูดซับพลังงานจากแสงอาทิตย์และกระตุ้นปฏิกิริยาแสงในกระบวนการสังเคราะห์แสงเพิ่มมากขึ้น โดยเป็นตัวนำพลังงานแสงเปลี่ยนเป็นพลังงานเคมีมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการสร้างอาหารจากโมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำไปเป็นคาร์โบไฮเดรตคือน้ำตาลหรือแป้ง รวมทั้งการปลดปล่อยออกซิเจนออกมา (เกศกนก เชื้อบาง, 2558)

**ตารางที่ 8** ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ต่อค่าความเขียวของใบมะเขือเทศ

| กรรมวิธี | ค่าความเขียว (SPAD unit) [1] | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 30 วัน | 40 วัน | 50 วัน | 60 วัน |
| control | 39.65±1.37 | 42.34±1.38$^{bc}$ | 40.50±4.69$^{abc}$ | 43.14±4.99$^{bc}$ |
| pathogens | 41.83±1.27 | 40.44±6.33$^{c}$ | 40.10±5.77$^{abc}$ | 39.55±5.81$^{c}$ |
| chemical | 40.88±1.15 | 45.56±1.50$^{ab}$ | 39.86±4.58$^{abc}$ | 41.46±4.83$^{bc}$ |
| ST3 F2 | 40.13±1.26 | 46.61±0.72$^{a}$ | 42.75±1.13$^{ab}$ | 48.89±2.05$^{a}$ |
| ST4 F1 | 40.71±0.91 | 43.13±0.87$^{bc}$ | 39.43±0.74$^{bc}$ | 44.69±1.26$^{b}$ |
| ST4 F2 | 41.82±1.03 | 47.20±0.70$^{a}$ | 42.92±0.82$^{a}$ | 43.75±1.28$^{b}$ |
| ST5 F1 | 40.32±1.47 | 45.57±1.04$^{ab}$ | 39.08±1.10$^{c}$ | 42.43±1.25$^{bc}$ |
| ST10 F7 | 39.68±1.19 | 44.23±1.46$^{b}$ | 42.38±0.94$^{ab}$ | 43.71±3.93$^{b}$ |
| F - test | ns | ** | * | ** |

* ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
** ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์
ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
[1] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

**5.5 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและราก**

เมื่อนำราในกลุ่ม *Trichoderma* spp. ทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท ST3 F2, ST4 F1, ST4 F2, ST5 F1 และ ST10 F7 มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศพันธุ์สีดา ในโรงเรือนปลูกพืชทดลองปรากฏว่า ภายหลังจากการได้รับเชื้อไอโซเลทต่าง ๆ เป็น เวลาประมาณ 120 วัน ได้ทำการชั่งน้ำหนักสดของลำต้นเหนือดิน และส่วนราก ก่อนจะนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ผลการทดลองพบว่าในส่วนของน้ำหนักสดของต้น ไอโซเลทที่ให้ผลดีที่สุด คือ ST4 F2, ST5 F1, ST3 F2 และ ST4 F1 (ตารางที่ 9) มีค่าเฉลี่ย 433.33, 341.67, 335.83 และ 315.83 ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อไอโซเลท ST4 F2 ให้ผลน้ำหนักแห้งของต้นและน้ำหนักสดของรากดีที่สุดนอกจากนี้ยังพบว่าทุกกรรมวิธีที่มีเชื้อ *Trichoderma* spp.

ให้ผลน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นดีกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับการทดลองของ Saewlee และคณะ (2016) รายงานว่าการใส่รา *Trichoderma* spp. ร่วมกับวัสดุปลูกมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ากาแฟ โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้น ราก และใบ เท่ากับ 2.19, 4.74 และ 3.69 กรัม ตามลำดับ สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม (ไม่ใส่เชื้อรา *Trichoderma* spp.) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.97, 2.44 และ 2.50 กรัม ตามลำดับ สอดคล้องกับ Ghazalibiglar และคณะ (2016) รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* isolate LU132 ส่งผลให้มะเขือเทศมีน้ำหนักแห้งของรากและยอดเพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้รับเชื้อ Mulaw และคณะ (2010) รายงานว่า *Trichoderma* spp. มีความสามารถในการผลิตฮอร์โมนออกซินและจิบเบอเรลลิน (auxin และ gibberellin) ซึ่งเป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช นอกจากนี้ยังเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดพันธุ์พืช ช่วยในการยืดตัวของลำต้นและเร่งการแตกแขนงของระบบรากฝอยได้ดีขึ้น ตลอดจนช่วยปรับ pH ของดินให้สูงขึ้น ทำให้มีปริมาณธาตุอาหารพืชที่เป็นประโยชน์สูงกว่าการไม่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. รวมถึงความสามารถในการผลิตกรดอินทรีย์และน้ำย่อยที่สามารถแปรสภาพแร่ธาตุในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในดิน นอกจากนี้มีรายงานว่าอาจเป็นเพราะรา *Trichoderma* spp. สร้างสารไปกระตุ้นให้พืชสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตมากกว่าปกติ หรือรา *Trichoderma* spp. ไปขัดขวางหรือทำลายจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่รบกวนระบบรากของพืชทำให้ระบบรากพืชสมบูรณ์และแข็งแรงสามารถดูดซับอาหารและแร่ธาตุต่าง ๆ ในดินได้ดี (จิระเดช, 2547; Benitez *et al*., 2004; Harman *et al*., 2004) จิระเดช (2547) รายงานว่า *T. harzianum* สายพันธุ์กลายและสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถผลิต harzianic acid, harzianic acid isomer และ pentyl pyrone ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยเพิ่มน้ำหนักสดของต้นและรากแตงกวาได้ทั้งการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับโรงเรือน หรือการเพาะเมล็ดที่ปลูกในดินซึ่งปลูกหรือโรยด้วย *Trichoderma* spp. พบว่าเมล็ดงอกเร็วกว่าปกติ 2 – 3 วัน และต้นกล้ามีขนาดใหญ่โตกว่าปกติ

**ตารางที่ 9** ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและรากมะเขือเทศ

| กรรมวิธี | ต้น | | ราก | |
|---|---|---|---|---|
| | น้ำหนักสด (กรัม) | น้ำหนักแห้ง (กรัม) | น้ำหนักสด (กรัม) | น้ำหนักแห้ง (กรัม) |
| control | 268.33±22.25$^{cd}$ | 64.63±6.06$^{bc}$ | 2.53±0.15$^{c}$ | 0.34±0.07 |
| pathogens | 241.67±20.44$^{d}$ | 51.50±3.91$^{c}$ | 2.26±0.22$^{c}$ | 0.30±0.04 |
| chemical | 287.50±16.84$^{bcd}$ | 64.13±4.80$^{bc}$ | 2.61±0.15$^{bc}$ | 0.34±0.05 |
| ST3 F2 | 335.83±34.96$^{abc}$ | 69.50±4.80$^{b}$ | 3.25±0.21$^{b}$ | 0.34±0.04 |
| ST4 F1 | 315.83±32.55$^{abc}$ | 69.75±5.98$^{b}$ | 2.76±0.30$^{b}$ | 0.34±0.04 |
| ST4 F2 | 433.33±39.87$^{a}$ | 94.00±8.34$^{a}$ | 4.25±0.36$^{a}$ | 0.46±0.05 |
| ST5 F1 | 341.67±37.94$^{ab}$ | 73.38±5.90$^{b}$ | 2.65±0.18$^{c}$ | 0.34±0.08 |
| ST10 F7 | 266.67±19.59$^{bcd}$ | 68.38±3.06$^{b}$ | 2.17±0.14$^{c}$ | 0.38±0.06 |
| F - test | ** | ** | ** | ns |

** ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์
ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
[1] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

**5.6 ผลผลิต**

ผลผลิตเฉลี่ยของมะเขือเทศที่ทำการเก็บเกี่ยวรอบที่ 1 ที่อายุ 90 วัน และรอบที่ 2 อายุ 110 วัน หลังได้รับเชื้อในกลุ่ม *Trichoderma* spp. (ตารางที่ 10) พบว่ามีค่าแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาถึงจำนวนผลผลิต กรรมวิธีที่ใช้เชื้อไอโซเลท ST4 F2, ST3 F2 และ ST5 F1 มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด คือ 16.00, 12.33 และ 11.67 ผล/ต้น สำหรับน้ำหนักผลผลิต กรรมวิธีที่ให้ผลดีที่สุดคือ ไอโซเลท ST3 F2, ST4 F2, ST5 F1 และ ST4 F1 มีค่าเฉลี่ย 29.96, 28.75, 28.79 และ 27.28 กรัม/ผล ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Vinale และคณะ (2008) พบว่าราในกลุ่ม *Trichoderma* spp. ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ของผักกาดหอม มะเขือเทศ และพริกไทย โดยผลผลิตเพิ่มมากถึง 300% เมื่อเทียบกับไม่ใช้ อาจเป็นเพราะ *Trichoderma* spp. สามารถสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตต่าง ๆ หรือสร้างสารไปกระตุ้นให้พืชสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตมากกว่าปกติ หรืออีกสาเหตุหนึ่งเพราะ *Trichoderma* spp. ไปขัดขวางหรือทำลาย จุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่รบกวนระบบรากของพืช ส่งผลให้ดีทำให้ระบบรากพืชสมบูรณ์แข็งแรงสามารถดูดซับอาหารและแร่ธาตุต่าง ๆ ในดินได้ดีตามไปด้วย

(จิระเดช แจ่มสว่าง, 2547; Benitez *et al*., 2004; Harman *et al*., 2004)

**ตารางที่ 10** ประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ต่อผลผลิตของมะเขือเทศ

| กรรมวิธี | จำนวนผลผลิต (ผล/ต้น) [1] | น้ำหนักสดผลผลิต (กรัม/ผล) [1] |
|---|---|---|
| control | 9.33±2.41$^{bc}$ | 25.41±5.60$^{bcd}$ |
| pathogens | 5.50±1.68$^{c}$ | 16.25±4.86$^{d}$ |
| chemical | 7.33±1.46$^{bc}$ | 22.00±4.29$^{cd}$ |
| ST3 F2 | 12.33±1.23$^{ab}$ | 36.41±3.20$^{ab}$ |
| ST4 F1 | 10.75±1.65$^{b}$ | 31.25±4.24$^{bc}$ |
| ST4 F2 | 16.00±1.67$^{a}$ | 44.75±3.84$^{a}$ |
| ST5 F1 | 11.67±0.73$^{ab}$ | 32.50±2.48$^{abc}$ |
| ST10 F7 | 9.08±1.95$^{bc}$ | 25.00±5.43$^{bcd}$ |
| F - test | ** | ** |

** ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

[1] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

# บทที่ 4
# สรุปผลการทดลอง

เก็บรวบรวมตัวอย่างดินบริเวณรากต้นปาล์มน้ำมัน จาก 5 จังหวัดทางภาคใต้ของไทย ได้แก่ จังหวัดตรัง ปัตตานี พังงา ภูเก็ตสงขลา และสุราษฎร์ธานี เพื่อทำการคัดแยกจุลินทรีย์ในดินบริเวณรากปาล์มน้ำมัน สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 280 ไอโซเลท ประกอบด้วยรา 186 ไอโซเลท แบคทีเรีย 94 ไอโซเลท จุลินทรีย์ที่พบมาก 4 อันดับแรก ได้แก่ *Bacillus* spp., *Penicillium* spp., *Streptomyces* spp. และ *Aspergillus* spp. เมื่อเปรียบเทียบความหลากหลายของจุลินทรีย์ พบว่าจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีชนิดของจุลินทรีย์มากที่สุด จังหวัดภูเก็ตมีการกระจายตัวของจุลินทรีย์สม่ำเสมอที่สุด จังหวัดพังงามีค่าดัชนีความหลากหลายสูงสุด

คัดเลือกแบคทีเรียและราที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรคพืชในห้องปฏิบัติการได้ผลดีที่สุด 5 ลำดับ คือ ไอโซเลท ST4 F1, ST5 F1, ST10 F7, ST3 F2 และ ST4 F2 โดยทั้ง 5 ไอโซเลท เป็นราที่จัดอยู่ในกลุ่ม *Trichoderma* spp. นำมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศในสภาพโรงเรือน พบว่าไอโซเลท ST4 F2 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญได้ดี ภายหลังจากได้รับเชื้อทดสอบเป็นเวลา 60 วัน โดยประเมินจากเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนผลผลิตต่อต้น น้ำหนักผลผลิตต่อผล น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง น้ำหนักสดของราก และสามารถยับยั้งราก่อโรคได้ แม้ว่าค่าความเขียวของใบ และความสูงของต้นมะเขือเทศ มีค่าการทดสอบไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม แต่มีแนวโน้มที่จะมากกว่า แสดงให้เห็นว่าเกษตรกรสามารถใช้เชื้อ *Trichoderma* spp. เพื่อเป็นทางเลือกทางหนึ่งในการลดการใช้สารเคมี และเพื่อการพัฒนาการผลิตแบบเกษตรยั่งยืนต่อไปในอนาคต

## เอกสารอ้างอิง


กัทลีวัลย์ สุขช่วย สัญชัย พันธโชติ และจุฑารัตน์ ทิพย์ชู. 2550. การคัดเลือกและประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเกลี้ยง (*Citrus sinensis*) ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในสภาพห้องปฏิบัติการ. รายงานผลการวิจัยปีงบประมาณ 2550. สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. 13 น.

เก่ง เจียมกิจวัฒนา, และวสุ ปฐมอารีย์. 2558. การประยุกต์ใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชร่วมกับเทคโนโลยีไฟโตเอกซ์แทรคชั่นเพื่อบำบัดสารโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดิน. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว 31: 220–234.

เกศกนก เชื้อบาง. 2558. ผลกระทบของระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกันที่มีผลต่อปริมาณรงควัตถุที่ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและระยะการเติบโตด้านการสืบพันธุ์ของถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) พันธุ์เชียงใหม่ 60 และพันธุ์ สจ.5 วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร.

เกษม สร้อยทอง. 2532a. การใช้รา *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี. วารสารโรคพืช 9: 28–35.

เกษม สร้อยทอง. 2532b. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยี. พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 326 หน้า.

จักรพงษ์ หรั่งเจริญ, ถนิมนันต์ เจนอักษร และ พรหมมาศ คูหากาญจน์. 2554. การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium myriotylum* โดยแบคทีเรียเขตรากพืชจากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 16: 22–31.

จิตสุวรรณรักษ์ และ อนันต์ วงเจริญ. 2560. ประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์และสารเคมีต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคข้าว.รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 13 ปฏิรูปอารักขาพืชไทย สู่ประเทศไทย 4.0 เพื่อความมั่นคง มั่งคั่ง และยั่งยืน ณ โรงแรมเรือรัษฎา จังหวัดตรัง 21–23 พฤศจิกายน 2560 หน้า 662–674.

จิตสุวรรณรักษ์ และ อนันต์ วงเจริญ. 2560. ประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์และสารเคมีต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคข้าว.รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 13 ปฏิรูปอารักขาพืชไทย สู่ประเทศไทย 4.0 เพื่อความมั่นคง มั่งคั่ง และยั่งยืน ณ โรงแรมเรือรัษฎา จังหวัดตรัง 21–23 พฤศจิกายน 2560 หน้า 662–674.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2552. ไตรโคเดอร์มา: เชื้อราปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

จิราภรณ์ หาญสุริย์ และบุญมี ศิริ. 2560. การเปรียบเทียบชนิดและอัตราของฮอร์โมนพืชที่ใช้เคลือบเมล็ดต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์แตงกวาหลังการเร่งอายุ. วารสารแก่นเกษตร 45: 307–313.

ณัฐชญา สายคำวงศ์ และบุญมี ศิริ. 2562. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศหลังการเคลือบร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช และอายุเก็บรักษา. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 37: 165–178.

นิชรัตน์ ศรีโสภณ, เฉลิมชัย แพะคำ และ วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก. 2558. การคัดเลือกจุลินทรีย์ดินในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายผักตบชวาหมัก และเพิ่มปริมาณธาตุอาหารพืชเพื่อผลิตปุ๋ยหมักผักตบชวา. วารสารแก่นเกษตร ฉบับพิเศษ 1. 43: 367–372.

นุชนาถ วุฒิประดิษฐกุล. 2554. ภาวะเครียดจากออกซิเดชัน และระบบต้านการเกิดออกซิเดชันในพืช. วารสารวิทยาศาสตร์ มข 39: 172-181.

บรรเจิด อินหว่าง และจิระเดช แจ่มสว่าง. 2529. การควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศ (*Rhizoctonia solani* Kuehn.) โดยจุลินทรีย์จากดินกสิกรรม. *ใน* รายงานการประชุมทางวิชาการสาขาพืชครั้งที่ 24. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. น. 176–185.

บัวสาย เพชรสุริยวงศ์, นงพงา คุณจักร และอาภรณ์ วงษ์วิจารณ์. 2555. การแยกและการจัดจำแนกแบคทีเรียจากดินที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา. น. 124–131. ใน: การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50: สาขาวิทยาศาสตร์, สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

พรทิพย์ แย้มสุวรรณ. 2557. การคัดเลือกกลไกการเป็นปฏิปักษ์และการประยุกต์ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* Rifai เพื่อควบคุมโรครากขาวของยางพารา. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล และอนันต์ วงศ์เจริญ. 2547. คุณสมบัติของสาร secondary metabolites จากเชื้อ *Stretomyces* spp. ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช. การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2547. 26–27 มกราคม 2547. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เลขา มาโนช และจินตนา ชะนะ. 2539. การเก็บรวบรวมและเก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อราในดินและน้ำ. รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.

วิชิตพล มีแก้ว, ณัฐพล ขันธปราบ และ สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. 2553. การปรับตัวของพืชภายใต้สภาวะที่มีความเค็ม. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ 10: 28–37.

ศิริลักษณ์ นามวงษ์. 2553. ศักยภาพของแบคทีเรียทนเค็มและแบคทีเรียชอบเค็มปานกลางทางเทคโนโลยีชีวภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 15: 122–132.

สายทอง แก้วฉาย. 2555. การใช้ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ 4: 108–123.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2540. การจัดการโรคพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: วี.บี. บุ๊คเซนเตอร์. 141 หน้า.

สุจิตตรา ปะนันโต ภาคภูมิ ตันเตชสาธิต ศิริลักษณ์ จิตรอักษร กรรณิการ์ สัจจาพันธ์ และ รังสฤษฎ์กา วีต๊ะ. 2556. เอนโดไฟติกแบคทีเรียและผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว. วารสารแก่นเกษตร. 41: 457–468.

สุดารัตน์ ดีช่วย. 2556. เชื้อราดินและเศษซากพืชในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชเขื่อนรัชชประภา จ. สุราษฎร์ธานีและการปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรคยางพารา. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุภาพร จันรุ่งเรือง, เบญจมาส รสโสภา และ กรรณิการ์ สัจจาพันธ์. 2553. ผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต *Burkholderia* sp. สายพันธุ์ Ss01 ต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรีย์ 2. วิทยาสารกำแพงแสน 8: 1–14.

อนุสรา จันทร์แสง และสุพจน์ กาเซ็ม. 2561. กลไกที่หลากหลายของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่จากดินบริเวณรากข้าวต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 36: 33–42.

อัจฉรียา ชมเชย. 2559. ผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการงอกเมล็ดและการเจริญของต้นข้าวหอมมะลิ. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

อัจฉรียา ชมเชย. 2559. ผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการงอกเมล็ดและการเจริญของต้นข้าวหอมมะลิ. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

Abd–Allah, E. F. 2001. Streptomyces plicatus as a mode biocontrol agent. Folia Microbiol 46: 309–314.

Adhikari, T.B., Joseph, C.M., Yang, G., Phillips, D.A. and Nelson, L.M. 2001. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seedling disease of rice. Canadian Journal of Microbiology 47: 916–924.

Agrawal, T. and Kotasthane, A.S. 2012. Chitinolytic assay of indigenous Trichoderma isolates collected from different geographical locations of Chhattisgarh in Central India. Springer Plus 1: 1–10.

Bacon, C.W. and White, J.F. 2000. Microbial Endophytes. New York: Marcel Dekker Inc. pp. 3-29.

Barea, J.M., Azcon–Aguilar, C. and Azcon, R. 1997. Interactions between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil–plant systems. *In*: Gange A.C. Brown V.K. (Eds.). Multitrophic Interactions in Terrestrial Systems. Blackwell Science, Cambridge, pp. 65–77.

Bashan, Y. and de–Bashan, L.E. 2005. Plant growth–promoting *In*: Encyclopedia of Soils in the Environment. U.K. vol. 1., pp. 103–115.

Beneduzi, A., Peres, D., Vargas, L. K., Zanettini, B. M. H. and Passaglia, L. M. P. 2008. Evaluation of genetic diversity and plant growth promoting activities of nitrogen–fixing Bacilli isolated from rice fields in South Brazil. Appl. Applied Soil Ecology 39: 311–320.

Berecochea-López, A., Ragazzo-Sánchez, J.A., Allende-Molar, R., Avila-Quezada, G.D. and Calderon-Santoyo, M. 2015. Colletotrichum gloeosporioides from Mango Ataulfo: morphological, physiological, genetic and pathogenic aspects. Journal of Research in Biology 5: 1641-1647.

Bhatt, P.V. and Vyas, B.R.M. 2014. Screening and characterization of plant growth and health promoting rhizobacteria. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 3: 139–155.

Bhuvaneswari, V. 2005. Studies on fungal endophytes from some medicinal plants with special reference to taxol production by endophytic Coelomycetes. PhD Thesis, University of Madras.

Brick, J.M., Bostock, R.M., and Silverstone, S.E. 1991. Rapid in situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane. Applied and Environmental Microbiology 57: 535–538.

Brimecombe, M.J, De Leij, F.A.A.M. and Lynch, J.M. 2007. Rhizodeposition and microbial populations. *In*: The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil–plant interface (eds. Pinton, R., Varanini, Z., Nannipieri, P.). CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton. New York. pp. 73–109.

Buensanteai, N., Yuen, G.Y., Prathuangwong, S. 2008. The biocontrol bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 produces auxin, surfactin and extracellular proteins for enhanced growth of cassava plant. Thai Journal of Agricultural Science 41: 101–116.

Capuccino, J.C., and Sherman, N. 2001. *In*: Microbiology a laboratory manual, 6th edition. pp: 491–496.

Chaiharn, M., Chunhaleuchanon, S., Kozo, A. and Lumyong, S. 2008. Screening of rhizobacteria for their plant growth promoting activities: MITL Science Technology Journal 8: 18–23.

Chen, L.L., Yang, X., Raza, W., Li, J., Liu, Y., Qiu, M., Zhang, F. and Shen, Q. 2011. *Trichoderma harzianum* SQR–T037 rapidly degrades allelochemicals in rhizospheres of continuously cropped cucumbers. Appl Microbiol Biotechnol 89: 1653–1663.

Chutima, R. and Lumyong, S. 2012. Production of Indole–3–Acetic Acid by Thai Native Orchid–Associated Fungi. Symbiosis 56: 35–44.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C. and Ait Barka, E. 2005. Use of plant growth–promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanism of action, and future prospects. Apply Environmental Microbiology 71: 4951–4959.

Contreras–Cornejo, H. A., Macías–Rodríguez, L.I., Cortés–Penagos, C., and López–Bucio, J. 2009. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass

production and promotes lateral root growth through an auxin–dependent mechanism in *Arabidopsis*. Plant Physiol. 149: 1579–1592.

Costa, J.M. and Loper, J.E. 1994. Characterization of siderophore production by the biological control agent *Enterobacter cloacae*. Molecular Plant-Microbe Interactions 7: 440–448.

Darby G. Brown, Jill, K., Swanson, and Caitilyn, A. 2007. Two Host-Induced Ralstonia solanacearum Genes, acrA and dinF, Encode Multidrug Efflux Pumps and Contribute to Bacterial Wilt Virulence. Applied and Environmental Microbiology 73: 2777–2786.

Dethoup, T., Manoch, L., Visarathanonth, N., Chamsawang, C., Chawpongpang, S., To–Anun, S. and Kijjoa, A. 2007. Diversity of *Talaromyces* from soils and their effects on plant pathogenic fungi in vitro. *In*: The Proceedings of 45th Kasetsart University Annual Conference, Bangkok. 563–570.

Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M. and Chauhan, S.M. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. Microbiology Research 159: 371–394.

Domenech, J., Reddy, M.S., Kloepper, J.W., Ramos, B. and Gutierrez–Mañero J. 2006. Combined application of the biological product LS213 with Bacillus, Pseudomonas or Chryseobacterium for growth promotion and biological control of soil–borne diseases in pepper and tomato. Journal of Biological Control 51: 245–258.

Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H. 1993. Compendium of Soil Fungi. 1th Edition. IHW–Verlag, Eching.

Findlay, J.A., Bethelezi, S., Li, G. and Sevek, M. 1997. Insect toxins from an endophyte fungus from wintergreen. Journal of Natural Products 60: 1214–1215.

Geiger, J.P., Rio, B., Nicole, M. and Nandris, D. 1986. Biodegradation of *Hevea brasiliensis* wood by *Rigidoporus lignosus* and *Phellinus noxius*. European Journal of Forest Pathology 16: 147–155.

Ghazalibiglar, H., Kandula, D.R.W. and Hampton, J.G. 2016. Biological control of *Fusarium* wilt of tomato by *Trichoderma* isolates. Journal of the New Zealand Plant Protection Society 69: 57–63.

Gravel, V., Antoun, H., Tweddell, R.J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole 3 acetic acid (IAA). Soil Biol Biochem 39: 1968–1977.

Halifu, S., Deng, X., Song, X. and Song, R. 2019. Effects of two *Trichoderma* strains on plant growth, rhizosphere soil Nutrients, and fungal community of *Pinus sylvestris* var. mongolica annual seedlings.. Journal of Forestry and Forest Ecology 10: 1–17.

Hammoudi, O., Salman, M., Abuamsha, R. and Ehlers, R. 2012. Effectiveness of bacterial and fungal Isolates to control *Phoma lingam* on oilseed rape *Brassica napus*. American Journal of Plant Sciences 3: 773–779.

Hardoim, P.R., Overbeek, L.S.V. and Elsas, J.D.V. 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. Trends Microbiology 16: 463–471.

Harman, G.E. 2000. Myths and dogma of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant Disease 84: 377–393.

Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species–opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology 2: 43–56.

Hayat, R., Safdar A.S., Amara, U., Khalid, R. and Ahmed, I. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. Annals of Microbiology 60: 579–98.

He, C.Y., Hsiang, T. and Wolyn, D.J. 2002. Induction of systemic disease resistance and pathogen defence responses in *Asparagus officinalis* with nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. Plant Pathology 5: 225–230.

Hyakumachi, M. 1994. Plant growth promoting fungi from turfgrass rhizosphere with potential for disease suspension. Soil Microorganism 44: 53–68.

Intana, W. 2003. Selection and development of *Trichoderma* spp. for high glucanase, antifungal metabolites producing and plant growth promoting isolates for biological control of cucumber damping–off caused by *Pythium* spp. Ph.D. Dissertation. Kasetsart University, Bangkok. 202 pp.

Intana, W., Chamswang, C., Intanoo, W., Hongprayoon, C. and Sivasithamparam, K. 2003. Use of mutant strains for improved efficacy of *Trichoderma* for controlling cucumber damping–off. Thai Journal Agricultural Science 36: 305–318.

Jun, J.B., Jacobson, S.H. and Swisher, J.R. 1999. Application of discrete–event simulation in health care clinics: A survey. Journal of the Operational Research Society 50: 109–123.

Junges, E., Toebe, M., Santos, R.F.D., Finger, G. and Muniz, M.F.B. 2013. Effect of priming and seed–coating when associated with Bacillus subtilis in maize seeds. Revista Ciência Agronômica 44: 520–526.

Khan, S.A., Hamayun, M., Yoon, H.J.H., Kim, Y., Suh, S.J., Hwang, S.K., Lee, I.J., Choo, Y.S., Yoon, U.H., Kong, W.S., Lee, B.M. and Kim, J.G. 2008. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. BMC Microbiology 8: 1–10.

Kunasakdakul, K. and Suwitchayanon, P. 2012. Antimicrobial activities of chili and black pepper extracts on pathogens of Chinese kale. Chiang Mai University Journal of Natural Sciences 11: 135–141.

Lalhruaitluangi, C. and Sinha, B. 2019. Study on Efficacy of Native *Trichoderma* spp. against Anthracnose of Soybean in Manipur, India IOSR Journal Of Pharmacy 9: 8–13.

Lee, Y.J. and George, E. 2005. Contributions of mycorrhizal hyphae to the uptake of metal cations by cucumber plants a two levels of phosphorus supply. Plant Soil 278: 361–370.

Ma, Y., Prasad, M.N., Rajkumar, M. and Freitas, H. 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Endophytes Accelerate Phytoremediation of Metalliferous Soils". Biotechnology Advances 29: 248–258.

Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Ryu, J. and Sa, T. 2006. Regulation of ethylene levels in canola (*Brassica campestris*) by 1–aminocyclopropane–1–carboxylate deaminase containing *Methylobacterium fujisawaense*. Planta 224: 268–278.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V. and Clark, D.P. 2009. Brock Biology of Microorganism. 12th Edition. Pearson, Benjamin Cummings, Pearson Education, Inc.

Mahato, S. Bhuju, S. and Shrestha, J. 2018. Effect of *Trichoderma viride* as biofertilizer on growth and yield of wheat. Malaysian Journal of Sustainable Agricultural 2:1–5.

Mahmoud, A.L.E. and Abd–Alla, M.H. 2001. Siderophores Production by some microorganisms and their effect on Bradyrhizobium–Mung Bean Symbiosis. International Journal of Agriculture and Biology 3:157–162.

Mondal, K.K., Bhattacharya, R.C., Koundal, K.R., and Chatterjee, S.C. 2007. Transgenic Indian mustard (*Brassica juncea*) expressing tomato glucanase leads to arrested growth of *Alternaria brassicae*. Plant Cell Reports 26: 247–252.

Monk, J., Gerard, E., Young, S., Widdup, K. and O' Callaghan, M. 2009. Isolation and identification of plant growth promoting bacteria associated with tall fescue. Proceedings of the New Zealand Grassland Association 71: 211–216.

Montri, P., Taylor, P.W.J. and Mongkolporn, O. 2009. Pathotypes of Colletotrichum capsici, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. Plant Disease 93: 17–20.

Morgan, J.A.W., Bending, G.D. and White, P.J. 2005. Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany 56: 1729–1739.

Nancy, K.B., Paul, A.B., Rodrigo, R.K. and Ploper, L.D. 1992. Potential for biological control of early leaf spot of peanut using *Bacillus cereus* and chitin as foliar amendments. Biological control 2: 321–328.

Nolan, K. and Callahan, J. 2006. Beachcomber biology: The Shannon–Weiner Species Diversity Index. Pages 334–338, in Tested Studies for Laboratory Teaching, Volume 27 (M.A. O'Donnell, Editor). Proceedings of the 27th Workshop/ Conference of the association for Biology Laboratory Education (ABLE). 383 pp.

Pagliaccia, D., Ferrin, D. and Stanghellini, M.E. 2007. Chemo–biological suppression of root infecting zoosporic pathogens in recirculating hydroponic systems. Plant Soil 299: 163–179.

Pal, K.K. and Gardener, B.M. 2006. Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor 2: 1117–1142.

Passamani, F.R.F., Hernandes, T., Lopes, N.A., Bastos, S.C., Santiago, W.D., Cardoso, M.G. and Batista, L.R. 2014. Effect of Temperature, Water Activity, and pH on Growth and Production of Ochratoxin A by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* from Brazilian Grapes. Journal of Food Protection 77: 1947–1952.

Patten, C.L. and Glick, B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole–acetic acid in development of the host plant root system. Applied and Environmental Microbiology. pp. 3795–3801.

Pérez–García, A., Romero, D. and de Vicente, A. 2011. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. Current Opinion in Biotechnology 22: 187–193.

Phosri, C., Rodriguez, A., Sarders, I.R. and Jeffries, P. 2010. The role of mycorrhizas in more sustainable oil palm cultivation. Agriculture, Ecosystems and Environment 135:187–193.

Pithakkit, S., Petcharat, V., Chuenchit, S., Pornsuriya, C. and Sunpapao, A. 2015. Isolation of antagonistic actinomycetes species from rhizosphere as effective biocontrol against oil palm fungal diseases. Walailak Journal of Science and Technology 12: 481–490.

Raja, P., Uma, S. and Govindarajan, K. 2006. Impact of inoculants consortium on rice root exudates, biological nitrogen fixation and plant growth. Journal Biology Sciences 6: 815–823.

Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V. and Samiyappan, R. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. Crop Protection 20: 1–11.

Ramette, A., Moenne–Loccoz, Y. and Defago, G. 2003. Prevalence of *Fluorescent pseudomonads* producing antifungal phloroglucinols and/or hydrogen cyanide in soils naturally suppressive or conducive to tobacco black root rot. FEMS Microbiol Ecology 44: 35–43.

Raper, K.B. and Thom, C. 1949. Manual of the Penicillia. Hafner Publishing company, New York. 875 pp.

Richardson, A.E. 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. Australian Journal of Plant Physiology 28: 897–906.

Salas–Marina, M.A., Silva–Flores, M.A., Cervantes–Badillo, M.G. and Osuna, M.A. 2011. The plant growth–promoting fungus *Aspergillus ustus* promotes growth and induces resistance against different lifestyle pathogens in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Microbiology and Biotechnology 21: 686–696.

Sanderson, F.R., Pilotti C.A. and Bridge, P.D. 2000. Basidiospores: their influence on our thinking regarding a control strategy for basal stem rot. *In*: *Ganoderma* diseases of perennial crops. Flood, J. Bridge P.D., Holderness M. (eds.) CABI Publishing. UK. 113–119 pp.

Seidl, V. 2008. Chitinases of filamentous fungi: a large group of diverse proteins with multiple physiological functions. Fungal Biology 22: 36–42.

Shahab, S., Ahmed, N. and Khan, N.S. 2009. Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PSPs. African Journal of Agricultural Research 4: 1312–1316.

Shrivastava, U.P. and Kumar, A. 2011. A Simple and Rapid Plate Assay for the Screening of Indole–3–acetic Acid (IAA). Producing Microorganisms. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology 2: 120–123.

Skidmore, A. M. and C.M. Dickson. 1976. Colony interactions and hyphae interferences between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. Fungal Biology 66: 57–64.

Sorensen, J. 1997. The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. *In*: Modern Soil Microbiology van (eds. Elsas J.D., Trevors, J.T. and Wellington, E.M.H.). Marcel Dekker. New York. 21–25 pp.

Souza, A.A., Leitã o, V.O., Ramada, M.H., Mehdad, A., Georg, R.D.C., Ulhô a, C.J., and Freitas, S.M.D. 2016. *Trichoderma harzianum* produces a new thermally stable acid phosphatase, with potential for biotechnological application. PLoS ONE 11: 150–155.

Soytong, K., Kanokmadhakul, S., Kukongviriyapa, V. and Isobe, M. 2001. Application of *Chaetomium* species (Ketomium®) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article. Fungal Diversity 7: 1–15.

Strobel, G., Yang, X.S., Sears, J., Kramer, R., Sidhu, R.S. and Hess, W.M. 1996. Taxol from Pestalotiopsis microspora, an endophytic fungus of Taxus wallachiana. Microbiology 142: 435–440.

Susanto, A., Sudharto, P.S. and Purba, R.Y. 2005. Enhancing biological control of basal stem rot diseases (*Ganoderma boninense*) in oil palm plantations. Mycopathology 159: 153–157.

Sylvie, P., Clara, S., Mendiburu, F.D., Aley, P. and Liliam, G. 2001. Assessment of latent Infection frequency in progeny tubers of advanced potato clones resistant to bacterial Wilt: A new selection criterion. Potato Research 44: 359–373.

Tang, W., Yang, H. and Ryder, M. 2001. Research and application of *Trichoderma* spp. in biological control of plant pathogens. *In*: Bio–exploitation of filamentous fungi (eds. Pointing, S.B. and Hyde, K.D.). Fungal Diversity Research Series 6: 403–435.

Teaumroong, N. and Boonkerd, N. 1996. Iron element, siderophores and microbes. Suranaree Journal of Science & Technology 3: 95–100.

Tronsmo, A. 1992. Leaf and blossom epiphytes and endophytes as biological control agents of plant diseases. pp. 43–54. *In*: E.C. Tjamos, G.C. Papavizas and R.J. Cook (eds) Biological control of plant disease: Progress and challenges for the future. NATO ASI Series, Series A: Life sciences. Plenum Press, New York.

Tucci M., Ruocco, M., De Masi L., De Palma, M., and Lorito, M. 2010. The beneficial effect of *Trichoderma spp*. on tomato is modulated by the plant genotype. Molecular Plant Pathology 2: 341–54.

Tziros, G.T., Lagopodi, A. and Katina, T.K. 2007. eduction of Fusarium wilt in watermelon by Pseudomonas chlororaphis PCL1391 and P. fl uorescens WCS365. Phytopathol. Mediterr 46: 320-323.

Uddin, A.F.M.J., Ahmad, H. Hasan M.R. Mahbuba, S. and Roni, M.Z.K. 2016. Effects of *Trichoderma* spp. on growth and yield characters of BARI tomato-14. International Journal of Business, Social and Scientific Research 4: 117–122.

Wang, X., Tang, C., Guppy, C.N. and Sale, P.W.G. 2008. Phosphorus acquisition characteristics of cotton (*Gossypium hirsutum* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.) and white lupin (*Lupinus albus* L.) under P deficient conditions. Plant and Soil 312: 117–120.

Waqas, M., Khan, A.L., Kamran, M., Hamayun, M., Kang, S.M., Kim, Y.H. and Lee, I.J. 2012. Endophytic fungi produce gibberellins and indole acetic acid and promotes host–plant growth during Stress. Molecules 17: 10754–10773.

Weyens, N., der–Lelie, D.V., Taghavi, S., Newman, L. and Vangronsveld J. 2009. Exploiting plant–microbe partnerships to improve biomass production and remediation. Trends Biotechnology 27: 591–598.

Yadav, V., Kumar, M., Deep, D.K., Kumar, H., Sharma, R., Tripathi, T., Tuteja, N., Saxena, A.K. and Johri, A.K. 2010. A phosphate transporter from the root endophytic fungus *Piriformospora indica* plays a role in phosphate transport to the host plant. Journal of Biology Chemistry 285: 26532–26544.

Yedidia, I.,Srivastva, A. K., Kapulnik, Y. and Chet, I. 2001. Effect of Trichoderma harzianum on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant Soil 235: 235–242.

Yuan, W.M. and Crawford, D.L. 1995. Characterization of Streptomyces lydicus WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. Appl Environ Microbiol 61: 3119–3128.

Zain, N.M.M., Mohamad, R.B., Sijam, K. and Awang, Y. 2014. Isolation and identification of microorganisms from soil in a young oil palm plantation. Journal of Food, Agriculture & Environment 12:443–447.

# ภาคผนวก ก
# สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

**1. Nutrient agar (NA)**

| | | |
|---|---|---|
| Beef extract | 3 | กรัม |
| Peptone | 5 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| น้ำ | 1,000 | มิลลิลิตร |

ละลาย peptone และ beef extract ในน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตรให้เข้ากัน ละลายผงวุ้นในน้ำธรรมดาปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด จากนั้นนำไปผสมกับสารละลาย peptone และ beef extract คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

**2. Potato Dextrose Agar (PDA)**

| | | |
|---|---|---|
| มันฝรั่ง | 200 | กรัม |
| Dextrose | 20 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

นำมันฝรั่งที่ปอกเปลือกแล้วมาหั่นเป็นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาดประมาณ 1x1 เซนติเมตร ชั่งให้ได้ปริมาณ 200 กรัม นำมาต้มกับน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตร ประมาณ 10-15 นาที หรือจนมันฝรั่งสุก กรองเอาแต่น้ำแยกไว้ นำวุ้นมาต้มกับน้ำ 500 มิลลิลิตรที่เหลือ ต้มจนวุ้นเริ่มใส จากนั้นเติมน้ำตาล Dextrose ลงไป เทวุ้นและน้ำตาลผสมกับน้ำต้มมันฝรั่ง คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดแก้วแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

**3. Cellulose agar**

| | | |
|---|---|---|
| $(NH_4)_2SO_4$ | 2.5 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ | 0.25 | กรัม |
| NaCl | 0.1 | กรัม |
| KCl | 1.4 | กรัม |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.125 | กรัม |
| $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.0025 | กรัม |

| | | |
|---|---|---|
| $MnSO_4$ | 0.0025 | กรัม |
| Yeast extract | 1 | กรัม |
| Carboxymethyl cellulose | 5 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

ผสมอาหารตามสัดส่วนข้างต้น ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7.2 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลานาน 15 - 20 นาที

4. **Colloidal chitin agar**

| | | |
|---|---|---|
| Peptone | 10 | กรัม |
| Yeast extract | 5 | กรัม |
| NaCl | 1 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ | 1 | กรัม |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.5 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

เตรียม colloidal chitin โดยชั่ง chitin powder 20 g เติมกรด $H_2SO_4$ (conc. 50 %) 600 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ เขย่าเป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองแล้วทำการตกตะกอนด้วยน้ำเย็น โดยค่อยๆ เทสารละลายลงในน้ำเย็น จากนั้นทำการปรับ pH ด้วย 10 N NaOH จนได้ pH 7 ปล่อยให้ตกตะกอนโดยเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไป centrifuge จนได้ตะกอน เทส่วนใสทิ้งแล้วล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ตะกอนที่ได้นำมาปรับให้ได้ colloidal chitin 10 % w/v เพื่อใช้เป็น stock โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายของ colloidal chitin ในอาหารเป็น 1% w/v

**5. Skim milk agar**

| | | |
|---|---|---|
| PDA | 39 | กรัม |
| Skim milk | 10 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

เตรียม PDA ที่มีส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 1,000 มิลลิลิตร แต่เติมน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และเตรียมสารละลาย skim milk 10% นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที วางให้อาหารเย็นลง

ประมาณ 50องศาเซลเซียส แล้วเติมสารละลาย skim milk ผสมลงใน PDA ปราศจากเชื้อผสมให้เข้ากัน แล้วจึงเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

**6. Pikovskaya's agar**

| | | |
|---|---|---|
| Pikovskaya's media | 16.3 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

ผสมอาหารตามสัดส่วนข้างต้น จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลานาน 15 - 20 นาที

# ภาคผนวก ข
# สารเคมี

**1. Gram's stain**

1.1 Crystal violet

สารละลาย A

| | | |
|---|---|---|
| Crystal violet (85% dye) | 2.0 | กรัม |
| Ethyl alcohol 95% | 20 | กรัม |

ละลายสีในแอลกอฮอล์จนสีละลายหมด

สารละลาย B

| | | |
|---|---|---|
| Ammonium oxalate | 0.8 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1000 | มิลลิลิตร |

ผสมสารละลาย A และสารละลาย B ถ้ามีตะกอน กรองก่อนใช้ ถ้าสีเข้มเกินไปอาจเจือจางสารละลาย A เป็น 1:10 ก่อนผสมกับสารละลาย B

1.2 Safranin O counterstain (stock solution)

| | | |
|---|---|---|
| Safranin O | 2.5 | กรัม |
| Ethyl alcohol 95% | 100 | มิลลิลิตร |

ถ้าจะใช้สีย้อมให้เจือจางเป็น 1: 10 (stock Safranin O 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร) ถ้ามีตะกอนให้กรองก่อนใช้ทุกครั้ง

1.3 Gram's iodine solution (mordant)

| | | |
|---|---|---|
| Iodine | 1 | กรัม |
| Potassium iodine | 2 | กรัม |
| น้ำ | 1000 | มิลลิลิตร |

ละลาย Potassium iodine ในน้ำกลั่นก่อน แล้วจึงค่อย ๆ เติมผลึกของ Iodine ลงไปละลายทีละน้อยโดยคนสารละลายตลอดเวลา จากนั้นนำไปกรอง เก็บไว้ในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิท ก่อนใช้จะต้องเจือจางสารละลาย Lugol's iodine ด้วยน้ำกลั่น อัตราส่วน 1: 5

**2. Congo red 0.1%**

ละลาย Congo red 0.1 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

# ประวัติผู้เขียน

**ชื่อ สกุล** นางสาวชวิศา ทองรัตน์
**รหัสประจำตัวนักศึกษา** 5710620035

**วุฒิการศึกษา**

| วุฒิ | ชื่อสถาบัน | ปีที่สำเร็จการศึกษา |
|---|---|---|
| วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยา) | มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ | 2557 |

**ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)**

- ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ปีงบประมาณ 2559
- ทุนสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน**

ตำแหน่ง นักวิชาการส่งเสริมการเกษตรปฏิบัติการ
สถานที่ทำงาน สำนักงานเกษตรอำเภอเบตง อำเภอเบตง จังหวัดยะลา

**การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน**

ชวิศา ทองรัตน์ และ ชนินันท์ พรสุริยา. 2559. ความหลากหลายของจุลินทรีย์จากดินบริเวณรอบราก ปาล์มน้ำมัน ในภาคใต้ของประเทศไทย. วารสารแก่นเกษตร, 44 (ฉบับพิเศษ 1): 930 - 935.

ชวิศา ทองรัตน์, นพรัตน์ จันทกาญจน์, วิชุกร ช่วยชูชาติ, อัญญา หยังหลัง และ ชนินันท์ พรสุริยา. 2559. การคัดกรองแบคทีเรียและราที่เจริญรอบรากปาล์มน้ำมันเบื้องต้น เพื่อส่งเสริมการเจริญของเมล็ดมะเขือเทศ. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 3 (พิเศษ 3): 71 - 77.