สูตรสำเร็จของ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในการควบคุมโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราของถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis* (L.) Fruw.) โดยชีววิธี

Formulation of *Streptomyces philanthi* RL-1-178 for Biological Control of Yard Long Bean (*Vigna sesquipedalis* (L.) Fruw.) Fungal Leaf Diseases

ปรารถนา อัตตะมณี

Prattana Attamanee

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
2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ **สูตรสำเร็จของ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในการควบคุมโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราของถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis* (L.) Fruw.) โดยชีววิธี**

ผู้เขียน นางสาวปรารถนา อัตตะมณี

สาขาวิชา โรคพืชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.วสันณ์ เพชรรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนินันท์ พรสุริยา)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วสันณ์ เพชรรัตน์)

.....กรรมการ

(ดร.สายทอง แก้วฉาย)

.....กรรมการ

(ดร.ปฏิมาพร ปลอดภัย)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้เป็นผลจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และขอแสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

ลงชื่อ.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วสันณ์ เพชรรัตน์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....
(นางสาวปรารถนา อัตตะมณี)
นักศึกษา

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขอปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....
(นางสาวปรารถนา อัตตะมณี)
นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	สูตรสำเร็จของ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในการควบคุมโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราของถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis* (L.) Fruw.) โดยชีววิธี
ผู้เขียน	นางสาวปรารถนา อัตตะมณี
สาขาวิชา	โรคพืชวิทยา
ปีการศึกษา	2559

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบ และเตรียมสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 สำหรับควบคุมโรคทางใบที่สำคัญของถั่วฝักยาว จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae*, *Oidium* sp. และ *Cercospora cruenta* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคราสนิม โรคราแป้ง และโรคใบจุด ตามลำดับ บนใบถั่วฝักยาวได้ถึง 100 % จึงนำมาผลิตสูตรสำเร็จรูปแบบแกรนูล 2 สูตร และแบบผง 2 สูตร เมื่อประเมินผลของสูตรสำเร็จ พบว่า เหมาะสำหรับควบคุมโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราของถั่วฝักยาว มีความเป็นกรดอ่อน ความสม่ำเสมอและการกระจายตัวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ดี เมื่อตรวจนับปริมาณเชื้อในแต่ละสูตรสำเร็จ พบว่าสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 (kaolin 5 % lactose monohydrate 85 % เชื้อส่วนเส้นใยและสปอร์ 10 %) มีปริมาณเชื้อ $6.2x10^6$cfu/g ทดสอบการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่อุณหภูมิ 4 °C เก็บไว้เป็นเวลา 6 เดือน มีจำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอดในสูตรสำเร็จปริมาณสูงและค่อนข้างคงตัว (10^6cfu/g) และสารละลายของสูตรสำเร็จ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ 87.00 - 91.20 % ในสภาพห้องปฏิบัติการ

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว 3 ชนิด ในแปลงทดลอง พบว่ามีประสิทธิภาพรองลงมาจากการพ่นด้วยสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม มีระดับความรุนแรงของโรคราสนิม โรคราแป้ง และโรคจุด ต่ำสุดคือ 1.22, 0.63 และ 0.96 ตามลำดับ โดยการพ่นสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 และแบบผงสูตรที่ 1 มีระดับความรุนแรงของโรคราสนิม คือ 1.67 และ 1.78 ตามลำดับ มีระดับความรุนแรงของโรคราแป้ง คือ 0.85 และ 1.04 ตามลำดับ และมีระดับความรุนแรงของโรคใบจุด คือ 1.07 และ 1.37 ตามลำดับ ปริมาณผลผลิตของถั่วฝักยาวที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีทดลอง ให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

Thesis Title	Formulation of *Streptomyces philanthi* RL-1-178 for Biological Control of Yard Long Bean (*Vigna sesquipedalis* (L.) Fruw.) Fungal Leaf Diseases
Author	Miss Prattana Attamanee
Major Program	Plant Pathology
Academic Year	2016

ABSTRACT

The objectives of this study were to prepare and test *Streptomyces philanthi* RL-1-178 formulations for biological control of yard long bean (*Vigna sesquipedalis* Fruw.) fungal leaf diseases. Culture filtrate of *S. philanthi* RL-1-178 inhibited spore germination of leaf fungal pathogens of yard long bean (*Uromyces vignae*, *Oidium* sp. and *Cercospora cruenta*) at the rate of 100% *in vitro*. Two granule formulas and two powder formulas of *S. philanthi* RL-1-178 exhibited good formulations whith high invariability and mild acidic pH. After formulations, the products were made and kept at 4, 28 and 40°C for 6 months. Formula 1 (kaolin 5%; lactose monohydrate 85%; cell and spores 10%) contained highest viability of *S. philanthi* RL-1-178 ($6.2x10^6$ cfu/g) after storage at 4°C for 6 months, and inhibited spore germination of fungal pathogens at the rate of 87.00 – 91.20 %.

The tests under field conditions showed that formulation of *S. philanthi* RL-1-178 reduced the incidence of all leaf diseases but its efficacy was less than the fungicide carbendazim. Spraying with carbendazim reduced the incidences of rust, powdery mildew and leaf spot by1.22, 0.63 and 0.96, respectively. The reduced rust diseases when spraying with the granule formula 1 (1.67) and powder formula 1 (1.78). The reduced powdery mildew diseases when spraying with granule formula 1 (0.85) and powder formula 1 (1.04), and reduced leaf spot diseases when spraying with the granule formula 1 (1.07) and powder formula 1 (1.37). The yield of yard long beans in each experimental treatment was higher than the control (distilled water).

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วสันณ์ เพชรรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้ความรู้ ให้คำปรึกษา แก้ไขข้อบกพร่อง แนะนำให้ความสะดวกในการค้นคว้าวิจัย และการเขียนวิทยานิพนธ์ ตลอดจนช่วยตรวจสอบความถูกต้อง จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนินันท์ พรสุริยา ประธานกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์ ดร.สายทอง แก้วฉาย และดร.ปฏิมาพร ปลอดภัย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่อง ในการเขียนวิทยานิพนธ์ ทำให้วิยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และความสะดวกในการทำวิจัย

ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกๆ ท่าน ที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้ และให้คำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย รวมทั้งเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาการจัดการศัตรูพืชที่ให้บริการอย่างเต็มที่ เต็มใจ และรวดเร็วเป็นอย่างยิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ที่คอยให้ความรัก ความห่วงใย ช่วยเหลือและคอยเป็นกำลังใจให้กันเสมอมา

ขอขอบคุณ คุณปัทมพร อินสุวรรโณ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือด้านงานธุรการอย่างเต็มที่และเต็มใจ คุณศราวุธ ไกรแก้ว คุณสายฝน แซ่ตัน คุณอรอนงค์ เขียวคง คุณยาวารียะ สาเมาะ และคุณสมพงค์ บัวตุ่ม ที่ช่วยเหลือด้านงานวิจัยต่างๆ ตลอดจนกำลังใจที่มอบให้มาโดยตลอด

ท้ายสุดนี้ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ นักศึกษา สาขาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุกท่านที่ได้ร่วมศึกษา ให้ความช่วยเหลือ ร่วมฟันฝ่าอุปสรรค และเป็นกำลังใจซึ่งกันและกันมาโดยตลอด ขอมอบคุณความดี และประโยชน์ทั้งหลายที่เกิดจากการทำวิจัยในครั้งนี้ แด่ทุกท่านที่มีส่วนร่วมซึ่งทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ปรารถนา อัตตะมณี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(8)
สารบัญ	(9)
รายการตาราง	(10)
รายการตารางภาคผนวก	(11)
รายการภาพ	(16)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	4
วัตถุประสงค์	24
2 วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	25
วัสดุและอุปกรณ์	25
วิธีการทดลอง	27
3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	35
4 สรุปผลการทดลอง	61
เอกสารอ้างอิง	63
ภาคผนวก	72
ประวัติผู้เขียน	92

รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สารประกอบของสูตรสำเร็จชนิดแกรนูล	29
2	สารประกอบของสูตรสำเร็จชนิดผง	29
3	ความเป็นกรด-ด่างของสูตรสำเร็จที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ 3 เปอร์เซ็นต์	41
4	ปริมาณเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 หลังการผลิตสูตรสำเร็จ 24 ชั่วโมง	43
5	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignea, Oidium sp.* และ*Cercospora cruenta* สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว	44
6	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 บนใบของถั่วฝักยาว หลังจากพ่นสูตรสำเร็จ ต่าง ๆ เป็นเวลา 1, 4 และ 7 วัน	55
7	ระดับความรุนแรงของโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราของถั่วฝักยาว เมื่อทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178	59
8	ดัชนีการเกิดโรค และเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราของถั่วฝักยาว เมื่อทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178	60

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
1	จำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้ อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน	74
2	การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae*โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลา 6 เดือน	75
3	การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oiduum* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลา 6 เดือน	76
4	การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกันเป็นเวลา 6 เดือน	77
5	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignea* สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว	78
6	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oidium* sp. สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว	78
7	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อรา *Cercospora cruenta* สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว	78
8	วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 บนใบของถั่วฝักยาว หลังจากพ่นสูตรสำเร็จเป็นเวลา 1 วัน	79
9	วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 บนใบของถั่วฝักยาว หลังจากพ่นสูตรสำเร็จเป็นเวลา 4 วัน	79
10	วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 บนใบของถั่วฝักยาว หลังจากพ่นสูตรสำเร็จเป็นเวลา 7 วัน	79
11	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคราสนิมโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด	80
12	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคราแป้งโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด	80

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
13	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคใบจุดโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด	80
14	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อผลผลิตการควบคุมโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด	81
15	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคราสนิมโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด	81
16	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคราแป้งโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด	81
17	วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคใบจุดโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด	82
18	วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส ที่ระยะเริ่มต้น	82
19	วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียสเดือนที่ 1	82
20	วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 2	83
21	วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 3	83
22	วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 4	83
23	วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 5	84

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
24	วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 6	84
25	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน ระยะเริ่มต้น	84
26	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 1	85
27	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 2	85
28	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 3	85
29	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* ที่ RL-1-178 อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 4	86
30	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 5	86
31	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 6	86
32	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* ที่ RL-1-178 อุณหภูมิต่างกัน ระยะเริ่มต้น	87
33	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 1	87
34	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 2	87
35	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 3	88
36	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 4	88

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
37	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 5	88
38	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 6	89
39	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน ระยะเริ่มต้น	89
40	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 1	89
41	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 2	90
42	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 3	90
43	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 4	90
44	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 5	91
45	วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 6	91

รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วงจรชีวิตของเชื้อ *Streptomyces coelicolor*	7
2	โรคและเชื้อสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว 3 ชนิด	36
3	เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178	37
4	การงอกของสปอร์เชื้อรา ที่อุณหภูมิห้อง (26-28 °C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	38
5	การเจริญของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 และการงอกของสปอร์เชื้อรา สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารประกอบ (Kaolin +Lactose monohydrate) ในการทำสูตรสำเร็จ	39
6	ลักษณะสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ชนิดแบบแกรนูลและแบบผง	41
7	จำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน	47
8	ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 หลังจากการผลิต 24 ชั่งโมง ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา ที่อุณหภูมิห้อง (26-28 °C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	50
9	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 เมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็น ระยะเวลา 6 เดือน	51
10	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oiduum sp.* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 เมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน	52
11	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 เมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน	53
12	จุลสัณฐานวิทยาของสปอร์เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM) บนใบของถั่วฝักยาว หลังการพ่น 1 วัน	56
13	ต้นถั่วฝักยาวอายุ 70 วัน ที่ปลูกในแปลงทดลอง	58

บทที่ 1
บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis* (L.) Fruw.) เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญ นิยมปลูกทั่วทุกภาคของประเทศไทย ใช้บริโภคภายในประเทศ และส่งออกจำหน่ายต่างประเทศ เมื่อปี พ.ศ. 2554 มีปริมาณการส่งออกถั่วฝักยาวประมาณ 500 ตัน มูลค่าประมาณ 19 ล้านบาท (ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร, 2554) ถั่วฝักยาวเป็นผักที่มีโปรตีนสูง และมีกากใยมาก ลักษณะลำต้นเป็นเถาเลื้อย ต้องการสิ่งค้ำจุน ปลูกง่าย โตเร็ว สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี การปลูกถั่วฝักยาวยังช่วยปรับปรุงบำรุงดินให้ดีขึ้น โดยธรรมชาติแล้ว ระบบรากของพืชตระกูลถั่ว มีการตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้ในดิน นับว่าเป็นพืชที่มีประโยชน์หลายอย่าง แต่อย่างไรก็ตามเกษตรกรผู้ปลูกถั่วฝักยาว มักประสบปัญหาในการปลูกหลายๆ ด้านด้วยกัน ไม่ว่าจะเป็น ปัญหาทางด้านแมลงศัตรูพืช และปัญหาทางด้านโรคของถั่วฝักยาว ซึ่งปัญหาเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อปริมาณ และคุณภาพของถั่วฝักยาวอย่างมาก

โรคสำคัญที่พบในถั่วฝักยาว ได้แก่ โรคราสนิม (*Uromyces vignae* Barclay) โรคราแป้ง (*Oidium* sp.) และโรคใบจุด (*Cercospora cruenta* Sacc.) เป็นโรคที่พบได้บ่อยที่สุด ส่วนของต้นถั่วฝักยาวที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย คือ ใบ และฝัก โรคดังกล่าวอาจสร้างความเสียหายร้ายแรงได้บางสภาวะ หรือในขณะที่สิ่งแวดล้อมเหมาะต่อการเจริญของเชื้อ เชื้อราทั้ง 3 ชนิด สร้างสปอร์จำนวนมาก สปอร์แพร่กระจายโดยปลิวไปกับลม น้ำ หรือติดไปกับสิ่งเคลื่อนไหว แพร่ระบาด และเข้าทำลายพืชในระหว่างฤดูปลูก ซึ่งจะเกิดซ้ำๆ และติดต่อกันหลายครั้ง ส่งผลให้คุณภาพและผลผลิตของถั่วฝักยาวลดลง การป้องกันและควบคุมโรคมีหลายวิธี เช่น การทำลายแหล่งของโรค การปลูกพืชหมุนเวียนและการใช้สารเคมี ได้แก่ เบนเลท (benlate) เฟอร์แบม (ferbam) แมนโคเซ็บ (mancozeb) และคาร์เบนดาซิม (carbendazim) เป็นต้น โดยเฉพาะคาร์เบนดาซิม เป็นสารประเภทดูดซึมออกฤทธิ์กว้าง นิยมใช้ป้องกันและกำจัดเชื้อราโรคแป้ง และใบจุดในพืชผักได้ สารเคมีที่นำมาควบคุมโรคหลายชนิดถูกห้ามใช้ เช่น แคปตาโฟล (captafol) เพนตะคลอร์โรฟีนอล (pentachlophenol) และ เฟนทิน (fantin) เป็นต้น ความหลากหลายของสารออกฤทธิ์จึงลดลง เกษตรกรจึงใช้สารเคมีที่มีสารออกฤทธิ์กลุ่มเดิมๆ ถ้าใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานาน อาจทำให้เชื้อดื้อยาหรือต้านทาน ทำให้การใช้สารเคมีในอัตราตามที่ฉลากแนะนำ ซึ่งมีการวิจัยแล้วว่า ถ้าใช้ในอัตราดังกล่าวจะปลอดภัยจากสารพิษไม่เพียงพออีกต่อไป จึงจำเป็นต้องใช้ในอัตราที่สูงขึ้นและถี่มากขึ้น (ปริศนา วงค์ล้อม, 2548) การใช้สารเคมีโดยไม่คำนึงถึงผลกระทบ และความปลอดภัยอาจก่อให้เกิด

ปัญหาต่างๆ ตามมามากมาย เช่น เป็นอันตรายต่อตัวเกษตรกร และผู้บริโภค สารเคมีที่ตกค้างในผลผลิตทำลายสมดุลของระบบนิเวศ และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต และสุขภาพของมนุษย์ (คณะกรรมาธิการเกษตร และสหกรณ์สภาผู้แทนราษฎร, 2546) จึงทำให้หลายฝ่าย ตระหนักถึงอันตรายเหล่านี้ และพยายามค้นหา วิธีการใหม่ๆ มาใช้ควบคุมโรคพืชแทนการใช้สารเคมี ได้แก่ การปรับปรุงพันธุ์ให้มีความต้านทานต่อโรค และควบคุมโดยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี โดยเฉพาะการนำจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคเข้ามาควบคุม เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับความสนใจอย่างแพร่หลาย เห็นได้จากการผลิตจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดต่างๆ เชิงการค้า (Cook, 1993) จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมโรคพืช ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค เช่น ชีวภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ชนิดผงแห้ง ซึ่งได้รับการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิต จาก มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มีชื่อการค้า คือ "ยูนิกรีน ยูเอ็น-1" และ"ยูนิเซฟ" สำหรับบริษัทเอกชนที่พัฒนาการผลิตชีวภัณฑ์ด้วยตนเอง ภายใต้ชื่อการค้า "ไตรซาน" และได้ศึกษาประสิทธิภาพ สูตรสำเร็จของเชื้อรา *T. harzianum* ชนิดใหม่ 3 สูตร โดยมีประสิทธิภาพควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ได้เท่าเทียมกับสูตรสำเร็จชนิดเดิม แบบผงแห้ง (ยูนิกรีน ยูเอ็น-1) (จิระเดช แจ่มสว่าง และคณะ, 2544) การศึกษาของ Baker และ คณะ (1985) ได้ทดลองประยุกต์ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* พบว่า สามารถควบคุมโรคราสนิมของถั่วเหลืองในแปลงทดลองได้ จากการศึกษาของ Boukaew และคณะ (2013) รายงานว่า มีการใช้การควบคุมโดยชีววิธี ทดแทนการใช้สารเคมีโดยใช้เชื้อปฏิปักษ์อย่างแพร่หลายมากขึ้น โดยทดลองศึกษาการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว พบว่าเชื้อ *Streptomyces philanthi* RM-1-138, เชื้อ *B. subtilis* (Larminar®) และ *B. subtilis* (Biobest®) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ คือ 87.54, 82.87 และ 71.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเชื้อ *S. philanthi* RM-1-138 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยั้บยั้ง Boukaew และ Prasertsan (2014) ได้ทดสอบเชื้อ *S. philanthi* RM-1-138 ต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช 7 ชนิด (*Rhi. solani* PTRRC-9, *Colletotrichum gloeosporioides* NBCRSR-3, *Coll. capsici* NBCRSR-15, *Pyricularia grisea* PTRRC-18, *Ganoderma boninense* NBCRSR-26, *Fusarium fujikuroi* PTRRC-16 และ *Bipolaris oryzae* PTRRC-36) ด้วยวิธี dual culture พบว่าสามารถยับยั้งได้ถึง 82.20-89.20 เปอร์เซ็นต์ โดยสามารถยับยั้งเชื้อรา *Rhi. solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวได้มากสุดคือ 89.22 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อ *S. philanthi* RM-1-138 ผลิตสารชักนำให้เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผนังเซลล์เชื้อรา เมื่อทดลองในสภาพเรือนกระจก พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RM-1-138 และน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RM-1-138 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที) สามารถยับยั้งโรคกาบใบแห้งของข้าวได้ถึง 65.60 และ 60.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Boukaew และคณะ (2011) ได้ศึกษาถึงศักยภาพของ *Streptomyces* spp. รูปแบบเชื้อสด 3 ชนิด คือ *S. mycarofaciens* SS-2-243, *S. philanthi* RL-1-178 และ *S. philanthi* RM-1-138 ในการควบคุมเชื้อ *Scl. rolfsii* และ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรครากและโคนเน่า และโรคเหี่ยวเขียวของพริก ตามลำดับ โดยเชื้อ *S. philanthi* RM-1-138 ส่งผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดพริกและการเจริญของของต้นกล้าพริก จึงทดสอบ *S. mycarofaciens* SS-2-243, *S. philanthi* RL-1-178 เปรียบเทียบกับ *T. harzianum* และสารคาร์บอกซิน เมื่อทดสอบในสภาพแปลงทดลอง พบว่าเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 สามารถป้องกันการเข้าทำลาย ของเชื้อ *Scl. rolfsii* และ *Ral. solanacearum* ได้ถึง 58.75 เปอร์เซ็นต์ในต้นพริก ผู้วิจัยจึงได้ทดลองพัฒนาสูตรสำเร็จ (formulation) ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 ศึกษาลักษณะคุณสมบัติต่างๆ อายุการเก็บรักษา และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุของโรคถั่วฝักยาว เพื่อลดการใช้สารเคมี ก่อให้เกิดการเกษตรที่ดีและยั่งยืน

ตรวจเอกสาร

1 โรคของถั่วฝักยาว

1.1โรคราสนิม (Rust)

โรคราสนิมเกิดจากเชื้อ *Uromyces vignae* เป็นโรคของถั่วที่พบบ่อยที่สุดอีกโรคหนึ่ง โดยอาจเกิดกับถั่วฝักยาว ถั่วแขก ถั่วเหลือง ถั่วแดง และถั่วลันเตา เป็นโรคที่อาจสร้างความเสียหายร้ายแรงได้ในบางสภาวะ หรือขณะที่สิ่งแวดล้อมเหมาะสมต่อโรค โรคราสนิมเกิดขึ้นได้บนทุกส่วนของต้นถั่วที่อยู่เหนือดิน แต่พบมากที่สุดบนใบ โดยอาการเริ่มจากจุดสีเขียวซีดหรือเหลือง มีลักษณะกลมเล็กๆ ขึ้นก่อน ต่อมาบริเวณกลางแผลตัวนูนสูงขึ้น แล้วปริออกมองเห็นกลุ่มของสปอร์สีน้ำตาลแดงเกิดขึ้นเป็นจุดๆ ลักษณะเป็นผง เมื่อเกิดตุ่มแผลที่มากๆ ทำให้ใบร่วง ต้นทรุดโทรม หากโรคระบาดรุนแรงในระยะที่ถั่วฝักยาวกำลังออกฝัก และเกิดตุ่มแผลที่ฝักเป็นจำนวนมาก ทำให้ฝักไหม้ ฝักและเมล็ดในฝักเสียหายเป็นจำนวนมาก (ศศิธร วุฒิวณิชย์, 2549)

เชื้อรา *U. vignae* จัดอยู่ใน Phylum Basidiomycota พบการสร้างสปอร์ในระยะ uredinium และ telium โดย uredinium เกิดด้านบนใบมากกว่าด้านใต้ใบ สปอร์เกิดใต้ผิวใบ (epidermis) ของพืช และเมื่อแก่จะดันผิวใบให้แตกออกมา urediniospore มี 1 เซลล์ เกิดบนก้าน ผนังบางใสไม่มีสี รูปร่างส่วนใหญ่มีลักษณะแบบรูปไข่ (obovoid) และมีบางสปอร์รูปร่างค่อนข้างรี (broadly ellipsoid) ขนาด 21.25-28.75 x 18.75-22.50 ไมโครเมตร ขนาดเฉลี่ย 25.45 x 20.88 ไมโครเมตร ผนังหนาสม่ำเสมอ 1.25-1.88 ไมโครเมตร สีเหลืองทองอ่อน ผนังไม่เรียบมีหนาม (echinulate) มีจุดงอก 2 จุดต่อสปอร์ อยู่ด้านตรงข้ามกัน telium เกิดด้านบนใบมากกว่าด้านใต้ใบ มีลักษณะเป็นผงฝุ่นสีน้ำตาลดำ การเกิดเหมือน uredinium นอกจากนี้ยังเกิดใน uredinium เก่าด้วย teliospore มี 1 เซลล์ รูปร่างแบบรูปไข่ (obovoid) กลมรี (ellipsoid) จนถึงเกือบกลม ขนาด 26.25-35.00 x 23.75-27.50 ไมโครเมตร ขนาดเฉลี่ย 31.50 x 25.31 ไมโครเมตร บริเวณส่วนปลาย (apex) ยื่นออกไปเป็นติ่งใสไม่มีสี หรือมีสีน้ำตาล ผิวหนังเรียบมีจุดงอก 1 จุดต่อสปอร์อยู่บริเวณตรงกลางส่วนปลาย สปอร์เกิดบนก้าน ผนังบางใสไม่มีสี หรือแกมเหลืองเล็กน้อย ยาวได้ถึง 37.50 ไมโครเมตร (พงษ์วิภา หล่อสมบูรณ์, 2529)

การป้องกันกำจัดโรคราสนิม

กำจัดเศษวัสดุพืชรุ่นที่แล้ว วัชพืชในแปลง และบริเวณรอบๆ แปลง เพื่อไม่ให้เป็นแหล่งอาศัยอยู่ข้ามฤดู ไถพลิกกลับดินตากแดดนานๆ เว้นระยะปลูกให้เหมาะสม การปลูกถั่วฝักยาวในช่วงฤดูฝนควรทำค้างให้มีช่องว่างระหว่างแถวกว้างกว่าปกติ เพื่อให้สามารถระบายความชื้นในแปลงได้เร็ว หมั่นสำรวจแปลง เมื่อเริ่มพบต้นเป็นโรคควรรีบตัดแต่ง เก็บส่วนของพืชที่เป็นโรคนำไปเผาทำลาย ในช่วงสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค ควรใช้สารเคมีควบคุม

เชื้อรา เช่น แมนโคเซ็บ คลอโรทาโลนิล หรือ เบนโนมิล ฉีดพ่นเป็นครั้งคราวเพื่อป้องกันโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งระยะเริ่มติดฝักควรดูแลเป็นพิเศษ (ศุภลักษณ์ มณีแสง, 2551)

1.2โรคราแป้ง (Powdery mildew)

โรคราแป้ง เกิดจากเชื้อ *Oidium* sp. (*Erysiphe polygoni*) เป็นโรคที่พบได้ทั่วไป ซึ่งโดยปกติแล้วเป็นโรคที่ไม่ร้ายแรง และไม่สร้างความเสียหาย นอกจากในบางสภาวะที่สภาพแวดล้อมเหมาะสม หรือพืชที่ปลูกอ่อนแอง่ายต่อการเกิดโรค อาจกลายเป็นโรคที่ก่อให้เกิดการเสียหายรุนแรงได้ โรคราแป้งสามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของต้นถั่ว สังเกตสปอร์ของเชื้อได้ง่าย คือ เป็นผงขาว ลักษณะคล้ายแป้ง หรือฝุ่นจับเกาะติดอยู่บนส่วนของพืช โรคราแป้งไม่ทำลายเซลล์ให้ตายแล้วเกิดเป็นจุดหรือแผล อย่างเช่นโรคที่เกิดจากเชื้อราอื่นๆ เนื่องจากในการขึ้นเกาะกินพืชพวกนี้ ไม่ได้เข้าทำลายเซลล์พืชโดยตรง เชื้อราเจริญอยู่บน epidermis ของพืชแล้วส่ง haustoria เข้าไป และใช้อาหารจากเซลล์ทีละน้อย ไม่ทำให้เกิดการตายขึ้นกับเซลล์ดังกล่าวทันที แต่เมื่อนานๆ ไปก็มีผลทำให้เนื้อเยื่อซึ่งประกอบด้วยเซลล์พวกนี้ผิดปกติ เช่น ใบอาจมีขนาดเล็กลง ผิวใบเป็นคลื่น เหลืองซีด ถ้าเป็นที่ต้น กิ่ง ก้าน อาจมีผลทำให้ต้นโทรม แคระแกร็น กระทบต่อผลผลิตทั้งคุณภาพและปริมาณ ในกรณีที่เชื้อเข้าทำลายดอกหรือฝักอาจทำให้ดอกร่วงหรือฝักลีบบิดเบี้ยวเสียลักษณะ (เสมอใจ ชื่นจิตต์ และคณะ, 2549)

เชื้อรา *Oidium* sp. อยู่ใน Phylum Ascomycota จัดเป็นปรสิตกับพืชชั้นสูงโดยการสร้างเส้นใยสีขาวคล้ายผงแป้งอยู่บริเวณผิวด้านนอกของพืชอาศัย เชื้อราสร้าง haustorium สำหรับดูดอาหารจากเซลล์พืช (Barnett and Barry, 1972) เส้นใยของเชื้อรามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.60-6.90 ไมโครเมตรโคนิดิโอฟอร์ตั้งตรงมีรูปร่างทรงกระบอกหรือโค้ง ขนาด 30.00-46.20 x 5.80-6.90 ไมโครเมตร โคนิเดียมีรูปร่างทรงกระบอก หรือรูปแท่ง ขนาด 25.40-32.30 x 11.60-18.50 ไมโครเมตร (Koike and Saenz, 1998)

การป้องกันและกำจัด

การป้องกันสามารถทำได้โดยเลือกปลูกถั่วฝักยาวพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคสูง เพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค กำจัดวัชพืชในแปลง และบริเวณรอบๆ ซึ่งอาจเป็นแหล่งที่อาศัยอยู่ข้ามฤดูของเชื้อราสาเหตุโรคได้ ในช่วงที่สภาพแวดล้อมเหมาะต่อการเกิดโรค ควรใช้สารเคมีฉีดพ่น เช่น ไตรอะไดเมฟอน ไดโนแคป ไตรโฟรีน (เสมอใจ ชื่นจิตต์, 2550) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในระยะออกดอก และเริ่มติดฝักอ่อน เนื่องจากถ้าเป็นโรครุนแรงในระยะนี้ อาจไม่ได้ผลผลิต หรือผลผลิตคุณภาพต่ำ ฝักมีขนาดเล็กบิดเบี้ยว (ศุภลักษณ์ มณีแสง, 2551)

1.3โรคใบจุด (Leaf Spot)

โรคใบจุดเกิดจากเชื้อ *Cercospora cruenta* ระยะแรกปรากฏจุดสีน้ำตาลปนแดงขนาดเล็กๆ ในใบล่างที่อยู่ใกล้ดิน ระยะต่อมา แผลขยายใหญ่กลายเป็นสีเทาหรือเทาเข้ม อาการรุนแรงแผลกระจายทั่วไปบนใบ ด้านหลังใบพบเชื้อราเจริญคลุมแผลเป็นปุยสีเทาหรือเทาเข้ม ทำให้ใบไหม้แห้งกรอบ และร่วง ต้นชะงักการเจริญ ผลผลิตต่ำ (สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8, 2548)

เชื้อรา *C. cruenta* อยู่ใน Phylum Ascomycota จัดเป็นเชื้อปรสิตอย่างอ่อน (weak parasite) เข้าทำลายพืชที่อ่อนแอ และทำให้เกิดแผลตายกับพืชได้ โคโลนีมีสีน้ำตาล โคนิดิโอฟอร์มีลักษณะผอมเรียวยาว ตรงหรือโค้งเล็กน้อย ไม่แตกกิ่งก้านสาขา มีส่วนปลาย (apex) เป็นหนามยาวประมาณ 1-2 ไมโครเมตร ไม่มีสี ผิวเรียบ สปอร์มีความยาวประมาณ 60-200 ไมโครเมตร หรืออาจมีความยาวมากกว่านี้ ในแต่ละสปอร์มี 9-17 ผนังกั้น มี hilum เล็กน้อย มีสีดำเข้ม กว้างประมาณ 2.50-3.50 ไมโครเมตร (Ellis, 1971)

การป้องกันกำจัด

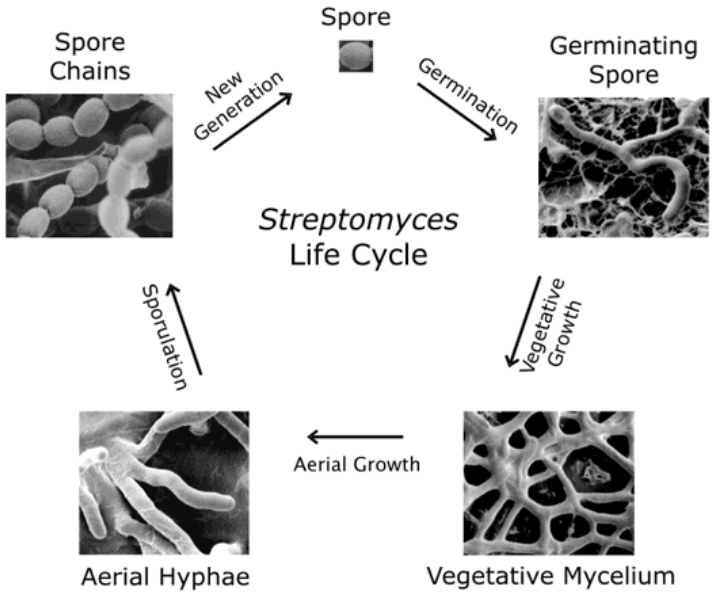
ควรเว้นระยะปลูกให้เหมาะสมเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของโรค เมื่อเริ่มพบพืชแสดงอาการโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะที่ฝนตกชุก ควรตัดแต่งบริเวณโคนต้นให้โปร่ง นำส่วนของพืชที่เป็นโรคเผาทิ้งนอกแปลง แล้วฉีดพ่นด้วยสารเคมีควบคุมเชื้อรา เช่น แมนโคเซ็บ คลอโรทาโลนิล เบนโนมิล หรือคาร์เบนดาซิม (เสมอใจ ชื่นจิตต์, 2550) เพื่อป้องกันการแพร่ระบาด กำจัดวัชพืชในแปลง และบริเวณรอบๆ อย่างสม่ำเสมอ ควรหลีกเลี่ยงการให้น้ำในระบบพ่นฝอย และการให้น้ำในตอนเย็นหรือใกล้ค่ำ (ศุภลักษณ์ มณีแสง, 2551)

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราบนใบโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์นั้นโดยศุภลักษณ์ มณีแสง (2551) ได้คัดเลือก *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว พบว่า *B. megaterium* HT-NK-460 และ *B. brevis* TZ-CP-342 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. cruenta*, *U. vignae* และ *Oidium* sp. ได้สูง 97.22-100 เปอร์เซ็นต์ จึงนำ *Bacillus* spp.ทั้ง 2 ไอโซเลท มาชักนำให้กลายพันธุ์ต้านยาปฏิชีวนะ rifampicin เพื่อใช้ติดตามจำนวนประชากรที่พ่นลงบนต้นถั่วฝักยาว ผลการทดลองพบว่า *Bacillus* spp. ทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ตั้งแต่ 35.85-65.52 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังส่งผลให้ปริมาณผลผลิตถั่วฝักยาวเพิ่มขึ้น

2 แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp.

2.1 ลักษณะของเชื้อ *Streptomyces* spp.

เชื้อ *Streptomyces* spp. เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Streptomycetaceae เป็นสกุลที่มีสมาชิกจำนวนมาก และสำคัญที่สุดในแบคทีเรียกลุ่ม Actionmycetes เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะคล้ายเชื้อรา พบมากในดินบริเวณที่มีเศษวัสดุเน่าเปื่อย อาจพบอยู่ภายในต้นพืชในลักษณะเป็นเอนโดไฟท์ (endophyte) หรือเป็นแซบโปรไฟท์ (saprophyte) อยู่บริเวณรอบรากพืช (Coombs and Franco, 2003) Kieser และคณะ (2000) รายงานว่า วงจรชีวิตของ *Streptomyces coelicolor* เริ่มต้นจากการงอกของสปอร์เดียว และสร้างเส้นใยในอาหารเลี้ยงเชื้อ (vegetative mycelium) เจริญต่อไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อมาก็จะสร้างเส้นใยในอากาศ (aerial mycelium) อยู่เหนือผิวอาหาร เส้นใยเจริญและพัฒนาเป็นสายสปอร์ สายสปอร์หลุดออกจากสายเป็นสปอร์เดี่ยว สปอร์ที่หลุดไปก็จะงอกเจริญเติบโตต่อไป (ภาพที่ 1) ลักษณะเส้นใยไม่มีผนังกั้น เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่เส้นใยอากาศจะสร้างสายสปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่ซึ่งมีรูปแบบต่างๆ ได้แก่ แบบเส้นตรง (rectiflexibile) แบบลูป (retinaculiaperti) และแบบเวียนเกลียว (spiral) ลักษณะผิวสปอร์มี 5 แบบคือ ผิวเป็นหนาม (spiny) ผิวเป็นขน (hairy) ผิวเป็นปุ่มปม (warty) ผิวเรียบ(smooth) และผิวย่น (rugose) (Tresner *et al*., 1961; Dietz and Mathews, 1971)



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของเชื้อ *Streptomyces coelicolor*

ที่มา: Kieser และคณะ (2000)

ลักษณะโคโลนีในระยะแรก ผิวของโคโลนีเรียบ เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยอากาศจะพัฒนาเป็นสปอร์ ทำให้ผิวโคโลนีมีลักษณะคล้ายแป้ง (powder) หรือกำมะหยี่ (velvet) มีหลายสี เช่น สีขาว เทา แดง เหลือง เขียว น้ำเงิน และม่วง ซึ่งเป็นสีของสปอร์ที่อยู่ด้านบน เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างรงควัตถุได้หลายชนิด ส่วนด้านล่างโคโลนีซึ่งมีเส้นใยเจริญอยู่ อาหารมักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แต่อาจพบสีอื่นเช่นเดียวกับสปอร์ *Streptomyces* spp. สร้างรงควัตถุหลายชนิด นอกจากนี้ยังผลิตสาร geosmin (trans-1,10-dimethyl decalol) มีกลิ่นคล้ายกลิ่นดิน (earth odor) *Streptomyces* spp. ใช้ออกซิเจนในการเจริญเป็นพวก chemo-organotrophic เมตาบอลิซึม เป็นแบบ oxidative สามารถรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ ย่อยอะดีนีน (adenine) เอสคูลิน (esculin) เคซีน (casein) เจลาติน (gelatin) ไฮโปแซนธีน (hypoxanthine) แป้ง และไทโรซีน (L-tyrosine) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30°C pH 6.5-8.0 ส่วนใหญ่เป็นพวก mesophile (35-37 °C) มีบางชนิดที่เป็นพวก psychrophile (12-15°C) และ thermophile (45-70 °C) เปบติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์มีส่วนประกอบหลักเป็นไดอะมิดนไพมิลิคและไกลซีน (Lechevalier and Lechevalier, 1970 อ้างถึงในไสว บัวแก้ว, 2552) ใช้คาร์บอนและไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงาน เช่น กลูโคส กลีเซอรอล และเปบโตน เป็นต้น ทนเค็มได้ที่ 3 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ของเกลือโซเดียมคลอไรด์ บางชนิดทนได้ถึง 13 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการสร้างสารปฏิชีวนะ *Streptomyces* spp. จำเป็นต้องใช้แร่ธาตุบางชนิด ได้แก่ โซเดียม แมกนีเซียม แคลเซียม และฟอสเฟต เป็นต้น (Williams *et al.,* 1989 อ้างถึงในพรพรรณ อู่สุวรรณ, 2549)

2.2 คุณสมบัติของ *Streptomyes* spp.

Streptomyes spp.เป็นแบคทีเรีย ที่ได้มีการศึกษาถึงคุณสมบัติในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ค่อนข้างมาก เนื่องจากมีคุณสมบัติหลายประการได้แก่

2.2.1 สามารถผลิตเอนไซม์

Streptoymyces spp. สามารถสร้างเอนไซม์ในกลุ่ม hydrolytic enzyme เช่น cellulase, amylase, hemicellulase, chitinase, และ glucanase เป็นต้น (Thummabenjapone and Pachinburavan, 2002) สามารถสร้างเอนไซม์จำเพาะ ทำให้สารโมเลกุลขนาดใหญ่เปลี่ยนเป็นสารโมเลกุลขนาดเล็ก และช่วยสร้างฮิวมัสในดิน เป็นประโยชน์ต่อพืช ทำให้พืชแข็งแรงและส่งเสริมความสามารถต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (สมศักดิ์ วังใน, 2528; เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล, 2545) ตัวอย่างเอนไซม์หลักที่พบ คือ chitinase และ glucanase โดย Skujins และ คณะ (1965) พบว่า *Streptomyces* spp. สามารถย่อยสลายเส้นใยของเชื้อ *Aspergillus oryzae* และ *Fusarium solani* ได้ และ glucanase (β–1, 3–glucanase) มีบทบาทในกระบวนการป้องกันตนเอง ต่อการเข้าทำลายของ

เชื้อรา และมีบทบาทในการลำเลียงสารอาหาร ส่วนที่พบในเชื้อรา มีบทบาทในกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง หรือ อวัยวะในการเจริญ และพัฒนาของเชื้อรา และยังมีบทบาทในการดูดซึม ธาตุอาหารในการดำรงชีพแบบแซบโปร์ไฟท์ และปรสิตของเชื้อรา (Noronha and Ulhoa, 2000)

จากการศึกษาของ Czoch และ Mordarski (1988) พบว่าเชื้อ *S. griaeun* และ *S. antibioticus* สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายไคตินได้เป็น chitobiose และchitotrose นอกจากนี้เอนไซม์ chitinase ที่ผลิตจากเชื้อ *Streptomyces* spp. สามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราได้หลายชนิด เช่น *F. solani*, *F. oxysporum*, *Aspergillus parasiticus* และ *Coll. gloeosporioides* เป็นต้น (Gome *et al*., 2001)

Quecine และคณะ (2008) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการสร้างสารเอนไซม์ chitinase ย่อยสลายเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยการนำเชื้อราสาเหตุโรคพืชทดสอบกับน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* spp. พบว่า *S. diastatochromogenes* สามารถสร้างสารเอนไซม์ chitinase ย่อยสลายเส้นใยเชื้อรา *Coll. sublineolum* และ *Pythium* sp.

ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล และ ชนิดาภา นวะพิฆ (2555) ได้ศึกษาและคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้จำนวน 283 ไอโซเลท และเชื้อที่สร้างเอนไซม์ chitinase ได้ดีจำนวน 68 ไอโซเลท เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Scl. rolfsii* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริก พบเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้มากที่สุด 5 อันดับแรก คือ PACCH277, PACCH129, PACCH225, PACCH24 และ PACCH246 ตามลำดับ โดยเชื้อแอคติโนมัยสีทสามารถสร้างเอนไซม์ chitinase ทำลายหรือย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคในต้นพริกได้เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ สามารถจำแนกเชื้อแอคติโนมัยสีทได้คือ *S. hygroscopicus* PACCH24 เป็นเชื้อที่มีศักยภาพสูงเหมาะสำหรับการพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์เพื่อควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริก รวมทั้งการพัฒนาร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์รูปแบบต่างๆ เพื่อประโยชน์ในการควบคุมโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืชต่อไป

Zacky และTing (2013) ได้ศึกษาเซลล์และสารสกัดจากเชื้อ *S. griseus* (St 4) ต่อการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 (FOC race 4) สาเหตุโรคเหี่ยวในต้นกล้วย เมื่อทดลองในหลอดทดลอง และวิเคราะห์ดิน แสดงให้เห็นว่า *S. griseus* (St 4) สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ที่ระดับแตกต่างกัน โดยสร้างสารต้านเชื้อรา คือ chitinase และ β-1, 3-glucanase, จึงส่งผลกระทบต่อการสลายของผนังเซลล์ และยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Li และคณะ (2015) รายงานว่าเชื้อ *S. lydicus* strain A01 สามารถผลิต natamycin และ chitinase มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *Bo. cinerea* แต่ไม่มีการตรวจพบ glucanase ในเชื้อสายพันธ์ A21 ซึ่งแยกได้จากพื้นที่สูงของทิเบตมีหิมะปกคลุมประเทศจีน และเป็นปฏิปักษ์อย่างสูงกับเชื้อรา *Bo. cinerea* แสดงวงใสอย่างชัดเจน เมื่อทดสอบบน lichen polysaccharides โดยใช้อาหารที่ผสมด้วย congo red จึงพบว่ามีการสร้าง glucanase ซึ่งเชื้อสายพันธุ์ A21 จำแนกได้คือเชื้อ *Paenibacillus polymyxa* โดยการวิเคราะห์ยีน 16SrDNA วิเคราะห์ทางเคมี และสรีรวิทยา พบมีการสร้างสาร natamycin, chitinase และ glucanases ส่งผลให้ออกฤทธ์ส่งเสริมการป้องกันเชื้อรา *Bo. cinerea* ได้

2.2.2 สามารถผลิตสารระเหย

จากการศึกษาของ Wan และคณะ (2008) พบว่าเชื้อ *S. platensis* F-1 สามารถผลิตสารระเหยและควบคุมโรคใบไหม้และต้นกล้าไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Rhi. solani* โรคใบไหม้ของ oilseed repe จากเชื้อรา *Sclerotinia sclerotiorum* และโรคผลเน่าของสตรอเบอร์รี่ ที่เกิดจากเชื้อ *Botrytis cinerea* ตัวอย่างการทดสอบการเจริญของทั้ง 3 โรคนี้ พบว่าสามารถผลิตสารระเหยได้แตกต่างกัน 16 ชนิด เมื่อเลี้ยงเชื้อ *S. platensis* F-1 ไว้ 1 สัปดาห์ บนเมล็ดข้าวสาลีที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ จัดแบ่งสารระเหยที่ผลิตได้เป็น 6 กลุ่ม คือ alcohols, esters, acids, alkanes, ketones และ alkenes โดยลักษณะของสารระเหยมีกลิ่นคล้ายดินโคลน และสร้างสารต่อต้านเชื้อรา 2 ชนิด คือ phenylethyl alcohol และ (+)-epi-bicyclesesquiphellandrene ได้จากการสร้างสารระเหยของเชื้อ *S. platensis* F-1 โดยการรมเชื้อราสาเหตุโรคด้วยสารระเหยที่ผลิตได้ แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *S. platensis* F-1 มีความสามารถในการลดการเกิดโรค และความรุนแรงของโรคทั้ง 3 ชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Li และคณะ (2012) ได้ศึกษาผลกระทบของสารระเหย *S. globisporus* JK-1 โดยเลี้ยงเชื้อไว้ 1 สัปดาห์ บนเมล็ดข้าวสาลีที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ สามารถผลิตสารระเหยยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราต่างๆ ในหลอดทดลอง สามารถยับยั้งได้ดีโดยเฉพาะเชื้อรา *Bo. cinerea* และเชื้อรา *Scler. sclerotiorum* เมื่อรมด้วยสารระเหยในชุดทดสอบที่เป็นภาชนะปิด และมีเชื้อ *S. globisporus* JK-1 โดยเลี้ยงเชื้อไว้บนเมล็ดข้าวสาลี สามารถยับยั้งการงอกและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ลดการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคบนผลมะเขือเทศได้ เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศ์ พบความผิดปกติต่อการงอกของสปอร์และการสร้าง appressoria บนผลมะเขือเทศ จากนั้นทำการทดสอบโดยรมเชื้อรา *Bo. cinerea* ในชุดทดสอบที่เป็นภาชนะปิด และมีเชื้อ *S. globisporus* JK-1 ความเข็มข้น 30, 60 และ 120 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 6 วัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อราคือ 46.0, 69.8 และ 80.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการ

รมด้วยสารระเหยของเชื้อ *S. globisporus* JK-1 มีศักยภาพในการควบคุมโรคราสีเทาของผลมะเขือเทศหลังเก็บเกี่ยวได้ดี

Boukaew และคณะ (2013) ทดสอบสารระเหยโดยเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RM-1-138 บนเมล็ดข้าวสาลีที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ เลี้ยงเป็นเวลา 7 และ 14 วัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เข้าทำลายโรคพืชได้ 4 ชนิด คือ *Rhi. solani* PTRRC-9, *Py. grisea* PTRRC-18, *Bi. oryzae* PTRRC-36 และ *F. fujikuroi* PTRRC-16 โดยการทดลองที่เลี้ยงเชื้อให้มีการสร้างสารระเหยไว้ 14 วัน สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ 52.85-100 เปอร์เซ็นต์ และระยะเวลาที่ 7 วัน สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ 17.03-89.40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อจำแนกสารระเหยที่ผลิตเชื้อได้ โดยgas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) พบสารระเหยที่ผลิตได้ 17 และ 36 ชนิด จากเชื้อ *S. philanthi* RM-1-138 ที่เลี้ยงเป็นเวลา 7 และ 14 วัน ตามลำดับ จัดกลุ่มทางเคมีได้เป็น alcohols, alkenes, aromatic hydrocarbons, sulfides, ketones, ester และ alkanes และเมื่อทดสอบสารระเหยต่อการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว บนใบข้าวในภาชนะปิด พบว่าสามารถทำลายผนังเซลล์ของเชื้อรา และยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *Rhi. solani* PTRRC-9 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Danaei และคณะ (2014) ศึกษาการสร้างสารระเหยของเชื้อ *S. griseus* ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ และการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Penicillium chrysogenum* และ *Bo. cinerea* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเลี้ยงเชื้อ *S. griseus* เป็นเวลา 1 สัปดาห์ สามารถผลิตสารระเหยได้ 20 ชนิด โดยจัดกลุ่มเป็น organic acids, alcohol, alkanes, alkenes, alkens และketones ซึ่งมีประสิทธิภาพเหมาะสำหรับใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา

Briceno และคณะ (2016) รายงานว่าสาร Chlorpyrifos (CP) คือ สารกำจัดศัตรูพืชพวก organophosphorus (OP) ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในทางการเกษตร ซึ่งมีสารพิษตกค้างในดิน น้ำ และอาหาร ส่งผลเสียต่อสุขภาพของมนุษย์ และสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นอย่างยิ่งในการเปลี่ยนแปลงการควบคุมการกำจัดศัตรูพืชอย่างถูกวิธี โดยทดสอบเชื้อ *Streptomyces* spp. จำนวน 8 สายพันธุ์ สามารถลดปริมาณ CP ได้ 32-74 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ *Streptomyces* spp. ส่วนใหญ่ช่วยเพิ่มชีวมวลได้ และพบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน เมื่อวิเคราะห์สารสกัดของเชื้อ พบว่าเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ organophosphorus hydrolase (OPH) และทดสอบโดยเลี้ยงเชื้อผสมกับ 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) สามารถลดปริมาณ CP ได้เพิ่มขึ้นเป็น 58 เปอร์เซ็นต์

2.2.3สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ

สารปฏิชีวนะเป็นสารที่ได้จากสิ่งมีชีวิต ซึ่งหมายถึงผลผลิตที่ได้จากเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง และมีผลในการทำลายหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นโดยใช้ในปริมาณที่เล็กน้อยเท่านั้น การสร้างสาร secondary metabolite ที่สำคัญของแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยซีท คือ สารปฏิชีวนะ พบว่าเชื้อมีการสร้างขึ้นในช่วงหนึ่งของการเจริญ โดยสารที่สร้างขึ้นไม่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเจริญของเซลล์ จัดเป็นสารที่มีคุณสมบัติพิเศษจำเพาะต่อเชื้อบางชนิดเท่านั้น ดังนั้นจึงพบว่ามีเชื้อเพียงบางกลุ่มเท่านั้น ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ (ไสว บัวแก้ว, 2552)

Streptomyces spp. สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้หลายชนิด ได้แก่ สารต่อต้านแบคทีเรีย (anti–bacterial agent) เช่น แอมพิซิลลิน (ampicillin), เพนิซิลลิน-เอ็น (penicillin–N) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นวงเบต้าแลคแทม (β-lactam ring) ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการสร้างเปบติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์แบคทีเรีย oleandomycin เป็นพวกแมคโครไลด์ (macrolide) ผลิตโดย *S. antibioticus* (Swan *et al.*, 1994) นอกจากเป็นสารต่อต้านเชื้อรายังเป็นสารต่อต้านมะเร็งด้วย โดยมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase II ในเชื้อรา ทำให้ไม่สามารถเกิดการจำลองดีเอ็นเอได้

Jiun-Yan และคณะ (2008) พบว่าเชื้อ *S. padanus* PMS-702 ที่แยกจากซากเห็ดที่ย่อยสลายในเกาะชินจูประเทศไต้หวัน มีความสามารถในการผลิตสาร fungichromin ซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้หลายชนิด และสามารถควบคุมโรคเน่าระดับคอดิน (damping-off) ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Rhizoctonia* sp.ของต้นกะหล่ำปลี และมะเขือเทศได้

Eerson และคณะ (2012) รายงานว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมต่างๆ และรูปร่างคล้ายกับเชื้อรา คุณสมบัติที่น่าสนใจที่สุดของ *Streptomyces* sp. คือความสามารถในการผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น สารต้านเชื้อรา (antifungals) สารต้านไวรัส (antivirals) สารต้านมะเร็ง (antitumorals) สารต้านความดันโลหิตสูง (anti-hypertensives) ต้านภูมิคุ้มกัน (immunosuppressants) และโดยเฉพาะการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotics) การผลิตสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดนั้นจะจำเพาะเจาะจงกับสายพันธุ์นั้นๆ สารทุติยภูมิเหล่านี้มีความสำคัญกับสายพันธุ์ของเชื้อ *Streptomyces* sp. เพื่อให้สามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นๆ ที่อยู่ในบริเวณเดียวกัน

Chen และคณะ (2016) ศึกษาเชื้อ *S. plicatus* B4-7 ที่แยกได้จากสวนส้ม โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora. capsici, Phy. cinnamomi, Phy. palmivora* และ *Phy. parasitica* ได้ 75 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี dual culture บนอาหาร PSA เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. plicatus* B4-7 มาทดสอบ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอก zoospore ของเชื้อ

Phy. capsici ได้ดีในหลอดทดลอง และเห็นความผิดปกติของ zoospore เมื่อส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. plicatus* B4-7 และ zoospore ของเชื้อ *Phy. capsici* ปลูกเชื้อพร้อมกันบนใบพริกหยวก พบว่าสามารถควบคุมการเกิดโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อ *S. plicatus* B4-7 สามารถสร้างสารป้องกันเชื้อราและจำแนกได้ คือ borrelidin แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *S. plicatus* B4-7 สามารถควบคุมเชื้อ *Phy. capsici* ได้ดีจึงทางเลือกในการควบคุมโดยชีววิธีอีกทางหนึ่ง

2.2.3 สามารถสร้างสปอร์

เชื้อ *Streptomyces* spp. สามารถสร้างสปอร์ จึงทำให้มีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ทำให้มีชีวิตอยู่ได้นาน และสะดวกต่อการนำไปผลิตเป็นชีวภัณฑ์ เพื่อใช้ในการควบคุมโรคพืช (ไสว บัวแก้ว, 2552)

2.2.4 สามารถแก่งแย่ง

โดยทั่วไปเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ สามารถแข่งขันกับเชื้อโรคพืชในด้านต่างๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อโรคพืชลดน้อยลงหรือไม่สามารถเจริญในบริเวณที่มีเชื้อปฏิปักษ์ การแข่งขันที่พบมากคือ การนำธาตุอาหารหรือสารต่างๆ ที่มีอยู่มาใช้ ทำให้เชื้อโรคขาดสารอาหาร ไม่สามารถเจริญเข้ามาทำลายพืชได้ หรือเจริญได้น้อย ตัวอย่างเช่น Tokala และคณะ (2002) พบว่า *S. lydicus* WYEC 108 สามารถเจริญครอบครองบริเวณรากพืชตระกูลถั่วได้ดี โดยเชื้อเจริญอาศัยอยู่และสร้างสปอร์บริเวณรากพืช สามารถดึงธาตุเหล็กมาใช้ประโยชน์ ในการดำรงชีวิตได้ดีกว่าเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช สามารถสร้างซิเดอโรฟอร์ (siderophore) ซึ่งเป็นสารกลุ่ม ligands มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีความจำเพาะเจาะจงต่อธาตุเหล็กสูง สามารถละลายได้ในน้ำ เป็นแหล่งเก็บสะสมธาตุเหล็กของสิ่งมีชีวิต จึงครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า

2.3 การควบคุมโรคพืชโดยเชื้อ *Streptomyces* spp.

El-Abyad และคณะ (1993) พบว่าจากการทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการ น้ำเลี้ยงเชื้อของ *S. pulcher* หรือ *S. canescens* เข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici, Verticillium alboatrum* และ *Alternaria solani* และเมื่อนำเมล็ดของมะเขือเทศเคลือบด้วยสปอร์ของ *Streptomyces* spp. ก่อนนำไปปลูก สามารถควบคุมเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด สารปฏิชีวนะที่ *Streptomyces* spp. สร้างส่วนใหญ่ เป็นสารต่อต้านแบคทีเรีย (anti-bacterial agent) เช่น โอลีนโดมัยซิน (oleandomycin) เป็นสารจำพวกแมคโครไลด์ ผลิตโดย *S. anyibioticus* (Swan *et al.,* 1994) Mahadeven และ Crawford (1997) พบว่า *S. lydicus* WYEC108 สามารถสร้าง chitinase ซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อราได้หลายชนิด เช่น*Pythium ultimum* และ *Rhi. solani* เป็นต้นโดยสารดังกล่าว จะเข้าไปย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช Dhanasekaran และ

คณะ (2005) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมโรค damping-off ของมะเขือเทศ ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Rhi. solani* โดยแยกเชื้อ *Streptomyces* spp. จากดินในรัฐ Cuddalore Tamil Nadu ของประเทศอินเดีย เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา พบว่าเชื้อ 6 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Rhi. solani* โดยเชื้อ *Streptomyces* DPTB113 และ *Streptomyces* DPTB10 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากที่สุด โดยให้บริเวณใสมีเส้นผ่าศูนย์กลางการยับยั้ง 17.00 และ 16.00 มิลลิเมตรตามลำดับ Sadeghi และคณะ (2006) ใช้เชื้อ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมเชื้อ *Rhi. solani* สาเหตุโรค damping–off ของ ชูการ์ บีทในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เชื้อ *Streptomyces* spp. 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท S2 และ C พบว่าเชื้อปฏิปักษ์สามารถสร้างเอนไซม์ chitinase ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ และพบวงใสในวันที่ 5 หลังจากการทดสอบ

Prabavathy และคณะ (2006) ใช้ *Streptomyces* spp. ควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวจากเชื้อ *Pyricularia grisea* และโรคกาบใบแห้งจากเชื้อ *Rhi. solani* พบว่าการใช้สารสกัดจาก *Streptomyces* sp. ไอโซเลท SPM5C-1 ความเข้มข้น 500 µg/ml ฉีดพ่นบนใบข้าว สามารถลดการเข้าทำลายของของเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ และกาบใบแห้งของข้าวได้ 76.10 และ 82.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Tan และคณะ (2006) แยกเชื้อเอนโดไฟท์จากมะเขือเทศที่ไม่เป็นโรคและเป็นโรคเหี่ยวเขียวซึ่งเกิดจากเชื้อ *Ral. solanacearum* พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* spp. จากต้นที่ไม่เกิดโรคได้มากกว่าต้นที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวเขียว

Errakhi และคณะ (2007) ใช้ *Streptomyces* spp. ที่แยกจากดินของประเทศ Morocco มาควบคุมโรค damping-off ของ ชูการ์ บีท จากเชื้อ *Scl. rolfsii* พบว่ามี *Streptomyces* spp. 10 ไอโซเลท คือ J-2, B-5, B-11,B-33, B-40, B-42, B-62, D-29, D-35 และD-75 ที่สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค และมี 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลทที่ J-2, B-11, B-5 และB-40 ที่สามารถยับยั้งการงอกของเม็ดสเคลอโรเทียมได้ Baniasadi และคณะ (2009) ใช้ *Streptomyces* spp. ควบคุมโรคดอกและลำต้นเน่าของต้นทานตะวัน จากเชื้อ *Scler. sclerotiorum* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. จำนวน 10 ไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ โดยไอโซเลท 363 มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้ดีที่สุด อีกทั้งยังส่งเสริมการเจริญของต้นทานตะวันด้วย Prapagdee และคณะ (2008) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมเชื้อรา *Coll. gloeosporioides* และ *Scl. rolfsii* โดยแยกเชื้อ *Streptomyces* spp. จากดินได้ 146 ไอโซเลท เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 2 ชนิด พบว่ามีเพียง 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Coll. gloeosporioides* และ *Scl. rolfsii* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด 83.30 และ 8.90 ตามลำดับ

Ezziyyani และคณะ (2007) ใช้เชื้อ *S. rochei* ร่วมกับเชื้อ *T. harzianum* ในการควบคุมเชื้อ *Phy. capsici* สาเหตุโรครากเน่าของพริก พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด สามารถ

ยับยั้งเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคได้ดีถึง 75 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Boukaew และคณะ (2011) พบว่าเชื้อ *Streptomyces* spp. สามารถควบคุมโรครากและต้นเน่าของต้นพริกที่เกิดจากเชื้อ *Scl. rolfsii* และโรคเหี่ยวเขียว ที่เกิดจากเชื้อ *Ral. solanacearum* ซึ่งได้จำแนกเชื้อ *Streptomyces* spp. ออกเป็น 2 ชนิดคือ *S. mycarofacien*s และ *S. philanthi* เช่นเดียวกับ ไสว บัวแก้ว (2552) พบว่า *S. mycarofaciens* และ *S. philanthi* ไอโซเลทที่ 1 และไอโซเลทที่ 2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Scl. rolfsii* และ *Ral. solanacearum* สาเหตุโรครากและโคนเน่า และโรคเหี่ยวเขียวของพริกได้ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับ *T. harzianum* และสารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน ในห้องปฏิบัติการและ เรือนทดลอง ส่วนการใช้ *S. mycarofaciens* ร่วมกับ *S. philanthi* สามารถยับยั้งโรคเหี่ยวเขียวในระยะต้นกล้าเทียบเท่ากับการใช้สารสเตรปโตมัยซินซัลเฟต และในเรือนทดลองพบว่าเชื้อ *S. philanthi* ไอโซเลทที่ 1 สามารถป้องกันเชื้อ *Scl. rolfsii* และ *Ral. solanacearum* ในต้นพริกได้ดีที่สุด

Li และคณะ (2011) รายงานว่าได้แยกเชื้อ *Streptomyces* spp. ซึ่งเป็นเชื้อที่ได้จากการปนเปื้อนในอาหารเลี้ยงเชื้อรา และสามารถใช้น้ำเลี้ยงเชื้อของ *Streptomyces globisporus* JK-1 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *Magnaporthe oryzae* รวมถึงยับยั้งการเจริญของ conidial germination และ appressorial ของเชื้อ *M. oryzae* บนใบข้าว

Hastuti และคณะ (2012) ได้ศึกษาและทดสอบความสามารถของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) สาเหตุโรคใบไหม้ของข้าวที่เกิดจาเชื้อแบคทีเรีย โดยทดสอบเชื้อ *Streptomyces* PS4-16, LBR-02 และ LSW-05 คลุกเมล็ดพันธุ์ แช่ต้นกล้า พ่นเชื้อ หรือใช่ร่วมกันทั้งสองวิธี ทดสอบในช่วงฤดูแล้ง พบว่าสามารถลดการเกิดโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่ได้ใช้วิธีการใดควบคุมโรค ได้เลือกใช้เชื้อ *Streptomyces* PS4-16 โดยคลุกเมล็ดและตามด้วยการแช่ต้นกล้า เพื่อลดการกระจายของเชื้อ ในคณะเดียวกันช่วงฤดูฝน เชื้อยังส่งเสริมให้พืชมีผลผลิตเพิ่มขึ้น เพื่อเป็นทางเลือกเพื่อลดการใช้สารเคมี จากการทดลองของ Sowndhararajan และ Kang (2012) ได้แยกเชื้อจำนวน 132 ไอโซเลท ที่แตกต่างกัน เชื้อในกลุ่ม actinomycetes 132 ไอโซเลท ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Rhi. solani* ได้ดี 52 ชนิด และเลือกเชื้อที่ยับยั้งได้ดีที่สุด คือ AM-S1 ตรวจสอบพบว่าเป็นเชื้อ *Streptomyces* sp. เหมาะสำหรับการนำไปใช้ควบคุมโรค

Kanini และคณะ (2013) จากการศึกษาระบบนิเวศที่หลากหลายของกรีก พบแบคทีเรียที่น่าสนใจคือเชื้อ *Streptomyces* sp. แยกจากดินบริเวณแหล่งที่อยู่อาศัยของชาวกรีก ทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในหลอดทดลอง พบว่า เชื้อ *Streptomyces* sp. สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดี และได้กำหนดชื่อชนิดของเชื้อคือ

Streptomyces sp. ACTA1551 และเมื่อวิเคราะห์ด้วยลำดับ 16S rDNA สถาพแวดล้อมที่เหมาะสม สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อ *Streptomyces rochei* ACTA1551 ที่มีศักยภาพในการป้องกันเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่สามารถเข้าทำลายเมล็ดของมะเขือเทศได้ดี

สุภา พ่วงนิ่ม และคณะ (2557) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคพืชตระกูลกะหล่ำ โดยเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. ไอโซเลท F3 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของผักกวางตุ้งที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ได้ 69.89 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ chitinase ของเชื้อ *Streptomyces* sp. พบว่า สามารถผลิตเอนไซม์ไคติเนสได้สูงที่สุดในช่วง 16-24 ชั่วโมง โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 1.43-1.55 unit/mg protein เมื่อทดสอบผลของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคเน่าคอดินในสภาพโรงเรือน พบว่าการใช้เชื้อ *Streptomyces* sp. ก่อนหรือหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคสามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าคอดินได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ผักที่ใส่ *Rhizoctonia* sp. พบการเกิดโรคเพิ่มขึ้นสูงที่สุดในวันที่ 4 คือ 57.14 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่าการใช้ *Streptomyces* sp. และการใช้สารกาจัดเชื้อรา (เบโนมิล) สามารถกระตุ้นกิจกรรม phenylalanine ammonia-lyase (ซึ่งเป็นเอนไซม์เกี่ยวกับความต้านทานโรค) ให้เพิ่มสูงขึ้น แสดงเห็นว่า *Streptomyces* sp. ไอโซเลท F3 น่าจะมีศักยภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินได้

Kamal และ Sharma (2014) ได้ศึกษาการควบคุมโรคเหี่ยวผลมะเขือเทศ โดยใช้เชื้อ *Streptomyces* sp. CPP-53 ที่แยกได้จากปุ๋ยหมัก และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ภายใต้สภาวะเรือนกระจก โดยตรวจเชื้อจากปุ๋ยหมักที่แตกต่างกัน 4 ชนิด สามารถแยกแบคทีเรียในกลุ่ม actinomycetes ได้จำนวน 48 ไอโซเลท และตรวจการสร้างสารในการย่อย starch ละลาย phosphate การผลิต catalase และ siderophores แบคทีเรียในกลุ่ม actinomycetes ที่แยกได้ มีศักยภาพเป็นปฏิปักษ์ ต่อเชื้อ *F. oxysporum* (โรคเหี่ยวของมะเขือเทศ) เชื้อ *Colletotrichum* (โรคแอนแทรกโนสในถั่วเหลือง) เชื้อ *Coll. capsici* (โรคแอนแทรกโนสในพริก) และเชื้อ *Helminthosporium oryzae* (โรคใบจุดสีน้ำตาลในข้าว) โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *H. oryzae*, *F. oxysporum*, *Coll. truncatum* และ *Coll. capsici* คือ 61.53 , 57.50 , 54.05 และ 50.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายในหลอดทดลอง เมื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในเรือนกระจก พบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรคให้น้อยลงได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อจำแนกเชื้อ *Streptomyces* sp. CPP.53 โดยการวิเคราะห์ 23S rDNA และการมีศักยภาพสูงของเชื้อซึ่งคล้ายคลึงกันถึง 98.00 เปอร์เซ็นต์ กับเชื้อ *S. flavofuscus*

Cheng และคณะ (2014) ได้ศึกษาการครอบครองพื้นที่ของเชื้อ *S. felleus* YJ1 และผลกระทบต่อเอนไซม์ที่ต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคของพืช Oilseed Rape โดย *S. felleus* YJ1 สามารถต่อต้านและเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Scler. sclerotiorum* สามารถป้องกันการเข้าทำลายจากเชื้อราในสภาพเรือนกระจกได้ดี โดยแสดงให้เห็นว่าเชื้อสามารถอยู่ในดิน และเจริญครอบครองพื้นที่ได้ในดินบริเวณรอบรากพืช โดยการทดสอบแช่รากพืชในเชื้อ *S. felleus* YJ1 แสดงให้เห็นว่าพืชสามารถดำเนินชีวิตอยู่ได้บนต้นพืช โดยอาศัยอยู่เริ่มจากบริเวณราก ลำต้นและใบ เมื่อทดสอบเป็นเวลา 30 วัน ปริมาณเชื้อ *S. felleus* YJ1 มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงแรกและลดลงหลังจาก 75 วัน โดยบริเวณรอบรากมีปริมาณเชื้ออยู่ 9.80 x 10^4cfu/g ในลำต้น และรากมีเชื้ออยู่ 3.00 x 10^2 และ 7.50 x 10^2cfu/g ตามลำดับ ดังนั้นนำเชื้อ *S. felleus* YJ1 สามารถครอบครองพื้นที่ในการอาศัยได้นาน

Grahovac และคณะ (2014) ได้ทดสอบศักยภาพของเชื้อ *S. hygroscopicus* ต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคผลเน่าของแอปเปิ้ล โดยทดสอบบนผลแอปเปิ้ล บ่มไว้ 14 วัน พบว่าสามารถควบคุมเชื้อรา *Coll. acutatum* และ *Coll. gloeosporioides* ได้ 99.30 และ 99.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Toumatia และคณะ (2016) ได้ศึกษาเชื้อ *S. mutabilis* IA1 นี้ความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคและครอบครองพื้นที่ได้ดี โดยแยกได้จากดินทะเลทรายซาฮารา ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *F. culmorum* ในระยะต้นกล้าของข้าวสาลี โดยเคลือบเมล็ดด้วยเชื้อ *S. mutabilis* IA1สามารถลดการเกิดโรคได้ 64.70 เปอร์เซ็นต์ และลดความรุนแรงได้ 79.60 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า เชื้อ *S. mutabilis* IA1 ผลิตสาร IAA และ GA3 ซึ่งสามารถส่งเสริมการเจริญของต้นข้าวสาลีได้ดี

Priyal และคณะ (2014) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ โดยการคัดแยกแบคทีเรียในกลุ่ม actinomycetes จำนวน 57 สายพันธุ์ จากดินตะกอนบริเวณป่าชายเลนคัดเลือกจำนวน 6 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Rhi. solani* และ *F. oxysporum* ได้ดี โดยมีปริมาณยับยั้ง 10-22 มิลลิเมตร ไอโซเลทที่มีการยับยั้งสูงสุดได้กำหนดให้เป็น GACMPT-57 (22 มิลลิเมตร) และจำแนกได้เป็น *S. flavomacrosporus* GACMPT-57 โดยศึกษาลักษณะทางสัญฐานวิทยา และการวิเคราะห์ทาง 16S rRNA

Heng และคณะ (2015) ได้ทดสอบศักยภาพของเชื้อ *S. ambofaciens* S2 สำหรับควบคุมเชื้อ *Coll. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของผลพริกแดง โดยแยกเชื้อ *streptomyces* spp. จากดินของ MARDJ ในมาเลเซีย สามารถแยกได้ 110 ไอโซเลท คัดเลือกเชื้อมา 10 ไอโซเลท มีบริเวณยับยั้งเชื้อรา 8-16 มิลลิเมตร พบเชื้อที่มีบริเวณการยับยั้งมากที่สุดคือ 16 มิลลิเมตร โดยจำแนกได้เป็น *S. ambofaciens* S2 เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ และกล้อง

จุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) สามารถเห็นสปอร์เรียงเป็นห่วงโซ่บิดเป็นเกลียว ในการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Coll. gloeosporioides* ซึ่งเป็นการพ่นเชื้อ *S. ambofaciens* S2 บนผลพริกทำให้ไม่พบการแสดงออกของเชื้อ หรืออาการของแอนแทรคโนสบนผลพริก

Amini และคณะ (2016) ได้ศึกษาการประเมินผลของเชื้อ *Streptomyces* spp. ต่อการยับยั้งเชื่อรา *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* สาเหตุโรคเหี่ยวของถั่วเขียว พบว่า สามารถแยกเชื้อได้จำนวน 112 ไอโซเลท แต่ละไอโซเลทสามารถยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* ในหลอดทดลองได้ดี และจำแนกเชื้อที่มีประสิทธิภาพ โดยการวิเคราะห์ 16S rDNA ลักษณะทางสัญฐานวิทยา และทางชีวเคมี พบว่าคือเชื้อ *Streptomyces* spp. ประเมินสูตรสำเร็จด้วยวิธี dual culture การสร้างหรือไม่สร้างสารระเหย การผลิต siderophore, protease และ chitinase พบว่าแบคทีเรียทุกไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรคด้วย 26.00 - 44.20 เปอร์เซ็นต์ การทดลองบนอาหารเลี้ยง พบเชื้อ 5 ชนิดที่ไม่มีการสร้างสารระเหยของสารสกัดยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่มีการสร้างสารระเหย สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้ 20.20 - 33.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบในเรือนกระจก พบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* สาเหตุโรคเหี่ยวของถั่วเขียว 54 .80 เปอร์เซ็นต์ และยังช่วยส่งเสริมความสูงและน้ำหนักแห้งของพืชอย่างมีประสิทธิภาพ

เชื้อ *Streptomyces* spp. นอกจากมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ สาเหตุโรคพืชแล้ว ยังมีคุณสมบัติในการช่วยกระตุ้นการสร้างฮอร์โมน indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งส่งเสริมการเจริญของพืชได้อีกด้วย จากการศึกษาน้ำเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่แยกได้จากพืชสมุนไพรในประเทศไทย พบว่าสามารถส่งเสริมการงอก และความยาวของรากข้าวโพดและถั่วได้ โดยเมล็ดข้าวโพด และเมล็ดถั่วที่แช่ในน้ำเลี้ยง *Streptomyces* spp. มีเปอร์เซ็นต์การงอกเทียบเท่ากับเมล็ดที่แช่ใน Standard IAA แต่มีความยาวของรากมากกว่า เมล็ดที่แช่ใน Standard IAA และในน้ำกลั่น (Khamna *et al.*, 2010)

3 จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปของสารชีวภัณฑ์

การผลิตสารชีวภัณฑ์สามารถผลิตได้หลายรูปแบบ เช่น เชื้อ *Bacillus* spp. ผลิตสารชีวภัณฑ์ ได้แก่ รูปแบบแกรนูล (granule) (วานิด รอดเนียม, 2552) และเชื้อ *Streptomyces* sp. ในรูปแบบเม็ด (tablet) แบบแกรนูล (granule) และแบบผง (powder) (Sabaratnam and Traquair, 2002) โดยในแต่ละสูตรของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ตัวเดียวกันนั้น อาจมีประสิทธิภาพสูง หรือต่ำต่างกันไป จึงจำเป็นต้องศึกษาวิธีการผลิต สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ให้เหมาะสม เพื่อสะดวกต่อการใช้งานในแปลงเกษตร และใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

Brain และ Deborah (2002) นำ *S. lydicus* WYEC 108 มาผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ในชื่อการค้า Actinovate® เพื่อใช้ควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา เช่นเดียวกับ *S. griseoviridis* ซึ่งผลิตในชื่อการค้า Mycostop® และนำมาใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด ที่ติดมากับผลิตผลทางการเกษตร เช่น *Alternaria* sp., *Stemphylium* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Phoma* sp., *Helminthosporium* sp. และ *Botrytis* sp. ต่อมา Minuto และคณะ (2006) ใช้ Mycostop® ซึ่งเป็นสารชีวภัณฑ์ของ *S. griseoviridis* สายพันธุ์ K61 ในการลดเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโรคเหี่ยวจากเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici, F. oxysporum* f. sp. *radicis- lycopersici* ของมะเขือเทศและโรครากเน่าจากเชื้อ *Pyrenochaeta lycopersici* ในดิน พบว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถเพิ่มผลผลิตของมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญ

Mohamede และ Benalib (2009) ทดสอบสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces* spp.ต่อการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ *Mycosphaerella* spp. สาเหตุโรคโคนเน่าและเหี่ยวของพืช พบว่าสามารถยับยั้งอาการโรคเหี่ยวของพืชตระกูลถั่วได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือทดสอบโดยใช้ talc อย่างเดียว เช่นเดียวกับ Mohamede และ Benalib (2010) ทำการแยกเชื้อ *Streptomyces* spp. ได้จากดินบริเวณรอบรากพืชตระกูลถั่ว โดยคัดเลือกมา 1 ไอโซเลท จากทั้งหมด 80 ไอโซเลท โดยวิธี dual culture ได้ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Mycosphaerella pinodes* ได้ดี ซึ่งสูตรสำเร็จประกอบไปด้วย 3 สูตร คือ แบคทีเรียแขวนลอยของเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่มีความเข้มข้น 10^8 cfu/g ผสมกับ pectin 5 กรัม สูตรที่คลุกกับ starch 5 กรัม และสูตรที่คลุกกับ tale 5 กรัม เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชม. ทดสอบโดยการจุ่มเมล็ดถั่วลงในสปอร์ แขวนลอยของเชื้อ *M. pinodes* ที่ความเข้มข้น 3.5 x 10^6 cfu/g ก่อนจึงคลุกด้วยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces* spp. แต่ละสูตร ตรวจสอบผลในระยะต้นกล้าพบว่า สูตรของเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่คลุกกับ tale มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดถั่วได้ถึง 98.50 เปอร์เซ็นต์

Haggag และ Saleh (2012) รายงานว่า เชื้อ *S. aureofaciens* และ *Pseudomonas putida* สามารถยับยั้งเชื้อ *Coll. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสขององุ่น และเชื้อ *Bo. cinerea* สาเหตุโรคราองุ่นได้ จึงพัฒนาเชื้อปฏิปักษ์ในรูปแบบของสารชีวภัณฑ์แบบผง เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี และชุดควบคุม (น้ำกลั่น) บริเวณที่แต่งต่างกัน 3 พื้นที่ คือ Kalubia, Sharkia และ Ismailia โดยตรวจสอบการเกิดโรคบริเวณใบ กิ่งอ่อน และผลขององุ่น ทำการศึกษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสารชีวภัณฑ์ของเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสองชนิด สามารถลดการเกิดโรคราขององุ่น และโรคแอนแทรคโนสขององุ่น โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้สารเคมีและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับชุดควบคุม ส่วนสารชีวภัณฑ์ของเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และยังช่วยให้ต้นองุ่นมีผลผลิตที่เพิ่มขึ้น

Pornsuriya และ Sunpapao (2014) ศึกษาเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 โดยผสมเชื้อร่วมกับ aluminum silicate, lactose และ talcum โดยผลิตสูตรสำเร็จในรูปแบบที่แตกต่างกัน คือสูตรสำเร็จแบบแกรนูล แบบแกรนูลในแคปซูล และแบบผงเปียกน้ำ ได้ผลิตสูตรสำเร็จในรูปแบบน้ำมัน (emulsion) โดยใช้น้ำมันมะพร้าวและน้ำมันถั่วเหลืองเป็นส่วนผสม ทดสอบสูตรสำเร็จต่างๆ ในการยับยั้งเชื้อรา *Scl. rolfsii* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกในสภาพเรือนกระจก พบว่าเมื่อคลุกสูตรสำเร็จแบบผงเปียกน้ำ และการใช้เชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 สามารถควบคุมโรคได้ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ โดยเก็บรักษาทุกสูตรสำเร็จไว้ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบการมีชีวิตรอดของเชื้อมากกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และสูตรสำเร็จแบบแกรนูลในแคปซูล พบมีอายุการเก็บรักษาและปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 มากสุดเมื่อเทียบกับสูตรสำเร็จอื่น ได้ทดสอบใช้สูตรสำเร็จในแปลงทดลอง พบว่าสารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน สามารถลดเปอร์เซ็นการเกิดโรคได้ดีสุด คือ 15 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สูตรสำเร็จทั้ง 3 ชนิด (26-36 เปอร์เซ็นต์) และชุดควบคุมสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ 91 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้เชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริก โดยทดแทนการใช้สารเคมีได้

Tamreihaoa และคณะ (2016) ได้ศึกษาเชื้อ *S. corchorusii* UCR3-16 ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากต้นข้าว เชื้อ *S. corchorusii* UCR3-16 ผลิตสารต่อต้านเชื้อราสาเหตุโรคข้าวที่สำคัญ 6 ชนิด โดยมีการผลิตและแพร่กระจายของสารระเหย เชื้อ *S. corchorusii* UCR3-16 ผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น chitinase, β-1,3-glucanase, β-1,4-glucanase, lipase และ protease ซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชอีกด้วย นอกจากนี้ ยังผลิตสาร siderophore 69 เปอร์เซ็นต์ Units ผลิตแอมโมเนีย (ammonia) ให้ผลในเชิงบวกสำหรับ ACC deaminase ทำให้ต้นกล้ามีความแข็งแรงมากขึ้น ได้ผลิตสูตรสำเร็จของเชื้อ *S. corchorusii* UCR3-16 แบบผง โดยใช้ talcum และ corn starch โดยเก็บรักษาและนับปริมาณเชื้อ พบว่า สูตรสำเร็จแบบผงที่ใช้ talcum มีปริมาณเชื้อสูงกว่า สูตรสำเร็จแบบผที่ใช้ corn starch เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 6 เดือน สภาวะที่เหมาะสำหรับเก็บรักษาสูตรสำเร็จแบบผงคือ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล และได้ทำการทดสอบในแปลงทดลอง โดยใช้สูตรสำเร็จของเชื้อ *S. corchorusii* UCR3-16 แบบผง ที่มี talcum เป็นส่วนผสม พบว่าส่งผลดีต่อการเจริญของต้นข้าว โดยมีความสูง น้ำหนักของต้น น้ำหนักของราก ผลผลิตรวม และน้ำหนักของเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้น และยังสามารถช่วยลดการเกิดโรคกาบใบแห้งของข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

4. สูตรสำเร็จแบบแกรนูล

สูตรสำเร็จแบบแกรนูล มีลักษณะเป็นผงขนาดใหญ่ หรือผงที่เกาะติดเป็นก้อนเล็กๆ รูปร่างต่างๆ กัน มีขนาดประมาณ 2- 4 มิลลิเมตร สูตรสำเร็จแกรนูลมีความคงตัวดีกว่ารูปแบบผง เนื่องจากมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับอากาศน้อยกว่า อีกทั้งไม่จับตัวเป็นก้อนแข็ง เหมือนสูตรสำเร็จแบบผงเปียกน้ำได้ง่ายกว่า (อัจฉรา อุทิศวรรณกุล, 2536) และไม่ฟุ้งกระจาย ซึ่งสะดวกต่อการนำไปใช้ นอกจากนี้ขั้นตอนในการผลิตไม่ยุ่งยาก และต้นทุนในการผลิตน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรสำเร็จแบบเม็ด จึงได้รับความสนใจการพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จ แบคทีเรียปฏิปักษ์แบบแกรนูล เพื่อควบคุมโรคพืชอย่างแพร่หลาย อมรรัตน์ ชุมทอง (2547) ศึกษาพบว่าการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรีย *B. firmus* รูปแบบผงคลุกเมล็ดร่วมกับแบบแกรนูลละลายน้ำสำหรับพ่นสามารถควบคุม และยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhi. solani* ที่เป็นสาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วหรั่งได้ดี เช่น เดียวกับการใช้สารเคมี iprodione และส่งเสริมการเจริญของต้นถั่วหรั่งได้ นอกจากนี้ Wiwattanapatapee และ คณะ (2007) ได้พัฒนาแบคทีเรีย *B. megaterium* เป็นสูตรสำเร็จรูปแบบแกรนูลฟู่ สำหรับหว่านหรือพ่น ซึ่งมีส่วนประกอบของ citric acid, tartaric acid และ sodium bicarbonate พบว่าสูตรสำเร็จดังกล่าวสามารถควบคุม และยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhi. solani* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าวในสภาพเรือนทดลองได้ดี มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์อยู่รอดบนใบ และกาบใบข้าวสูง และมีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จสูงถึง 10^9 cfu/g หลังจากเก็บใช้เป็นเวลา 12 เดือน และวานิด รอดเนียม (2552) ได้พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* รูปแบบแกรนูลละลายน้ำ พบว่าสูตรที่ 1 ซึ่งประกอบด้วย Sodium alginate 12.5 เปอร์เซ็นต์ PVP (k – 30) 12.5 เปอร์เซ็นต์ lactose monohydrate 75 เปอร์เซ็นต์ และสปอร์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* LPDD 3–1 ปริมาณ 4.4×10^5 cfu/g มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับพ่นเพื่อควบคุมโรคใบจุดในผักสลัด โดยสามารถละลายน้ำได้ดี สารละลายที่ได้มีค่าความเป็นกรด–ด่างเป็นกลาง ให้ค่าความหนืดสูง (18.90 cps) มีปริมาณเชื้อที่อยู่รอดบนใบผักสลัดสูง หลังจากพ่นเป็นเวลา 10 วัน และเมื่อเก็บรักษา เป็นเวลา 6 เดือน มีจำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอดในสูตรสำเร็จในปริมาณสูง และค่อนข้างคงตัว (10^9 cfu/g) นอกจากนี้ Sabaratnam และ Traquair (2002) ได้ศึกษาการผลิตสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในรูปแบบเม็ด แบบแกรนูล และแบบผงเปียกน้ำ เก็บสูตรสำเร็จไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่าการมีชีวิตรอดของเชื้อคือ $7.3x10^2$, $7x10^3$ และ $1.2x10^5$ cfu/g ตามลำดับ เมื่อเก็บสูตรสำเร็จไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล พบการมีชีวิตรอดของเชื้อดีกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียล และ เมื่อทดสอบการควบคุมเชื้อ *Rhi. solani* สาเหตุโรค damping-off พบว่า สูตรสำหรับผงเปียกน้ำ สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยสามารถควบคุมได้ 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแบบแกรนูล และแบบเม็ดควบคุมได้ 30 เปอร์เซ็นต์ และ 22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ปวีณา สังข์แก้วและคณะ (2555) ได้ศึกษาและแยกเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่มีศักยภาพในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยวิธี soil dilution plate และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* จากเชื้อ actinomycete จำนวน 258 ไอโซเลท พบว่าเชื้อ *S. griseus* subsp. *formicus* strain: NBRC 14886 สามารถยับยั้งเชื้อราทดสอบได้ดีที่สุดโดยวิธี dual culture assay เมื่อนำมาเตรียมเป็นสูตรสำเร็จด้วยวิธี wet granulation พบว่าสูตรสาเร็จ *S. griseus* No. 3 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. microporus* ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 88.61 เปอร์เซ็นต์

5. สารประกอบสำหรับเตรียมสูตรสำเร็จ

ในการเตรียมสูตรสำเร็จเพื่อควบคุมโรคพืชนั้น นอกจากแบคทีเรียปฏิปักษ์แล้วยังประกอบด้วยสารช่วย (excipient) ซึ่งทำหน้าที่ต่างๆ กัน ได้แก่ สารเพิ่มปริมาณ (fillter หรือ diluent) สารยึดเกาะ (binder) และสารช่วยแตกกระจาย (disintegrant)

5.1 สารเพิ่มปริมาณ

สารเพิ่มปริมาณเป็นสารที่เติมลงไปในสูตรสำเร็จเพื่อเพิ่มขนาดหรือน้ำหนักของแกรนูล โดยสารเพิ่มปริมาณต้องมีคุณสมบัติสามารถเข้ากันได้กับตัวยา และสารประกอบอื่นในสูตรสำเร็จไม่ดูดความชื้น มีการไหลที่ดี และทำให้แกรนูลมีความแข็งที่เหมาะสม มีการแตกตัวที่ดี ตัวอย่างสารเพิ่มความชื้น ได้แก่ lactose, sucrose, starch, calcium carbonate, mannitol, calcium sulfate, dibasic calcium phosphate, sorbitol และmicrocrystalline cellulose เป็นต้น โดยเฉพาะ lactose เป็นสารเพิ่มปริมาณที่นิยมใช้มากที่สุดเพราะละลายน้ำได้ดี ไม่ดูดความชื้น ค่อนข้างคงตัวมีความหวานน้อยกว่าน้ำตาลตัวอื่น และมีราคาถูกเมื่อเทียบกับสารเพิ่มปริมาณชนิดอื่น lactose เป็นน้ำตาลที่ได้จากการตกผลึกน้ำนมซึ่งเหลือจากการทำเนยแข็ง มีลักษณะเป็นผงหรือก้อน โดยสูตรสำเร็จที่มี lactose เป็นส่วนประกอบ จะมีข้อดีคือ แกรนูลที่ได้จะแห้งง่ายและมีการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์เร็ว มีความชื้นระหว่าง 4-5 เปอร์เซ็นต์ (ทัดทรง ทั่วทิพย์, 2534; ปราโมทย์ ทิพย์ดวงตา, 2539)

5.2 สารยึดเกาะ

สารยึดเกาะเป็นสารที่ใส่เพื่อให้เกิดการยึดเกาะกันของสารประกอบ ทำให้เกิดการเกาะกันเป็นแกรนูลที่แข็งขึ้น มีขนาดตามต้องการ และได้แกรนูลที่สม่ำเสมอ สารยึดเกาะที่ใช้มีหลายชนิด ทั้งที่เป็นพวกน้ำตาลและสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้จากธรรมชาติเช่น starch, sucrose, acacia, getatin และtragacanth และสารที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น polyvinylpyrrolidone (PVP), methyl cellulose เป็นต้น แต่นิยมใช้มากที่สุดในปัจจุบันคือ PVP ซึ่งเป็นสารยึดเกาะที่ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา สามารถละลายในน้ำได้ (ทัดทรง ทั่วทิพย์, 2534) และตัวทำละลายอินทรีย์ เช่นแอลกอฮอล์

และคลอโรฟอร์ม และยังสามารถเติมลงในตำรับในลักษณะของผงแห้งหรือทำเป็นสารละลาย 3-15 เปอร์เซ็นต์ได้ ปริมาณที่ใช้ในตำรับอยู่ในช่วง 1-5 เปอร์เซ็นต์ มีคุณสมบัติในการเป็นสารช่วยในการแตกตัว และมักใช้เป็นตัวนำสำหรับสีที่ละลายในน้ำ (ปราโมทย์ ทิพย์ดวงตา, 2539) โดยทั่วไปการทำแกรนูลของผงยาที่ไม่ละลายน้ำควรใช้ PVP ในรูปสารละลายน้ำหรือน้ำผสมแอลกอฮอล์ ส่วนการแกรนูลยาที่ละลายน้ำควรใช้ PVP ในรูปสารละลายในแอลกอฮอล์ สาร PVP มีอิทธิพลต่อขนาดและคุณสมบัติของแกรนูลที่ได้ เมื่อใช้ความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้แกรนูลมีขนาดโตขึ้น แต่ไม่ทำให้เกิดการไหลดีขึ้น (ทัดทรง ทั่วทิพย์, 2534)

5.3 สารช่วยแตกกระจายตัว

เป็นสารช่วยให้แกรนูลเกิดการแตกตัวหรือกระจายตัวได้เวลาอันสมควร เมื่อแกรนูลสัมผัสกับสารละลายหรือน้ำ การผสมสารช่วยในการแตกตัวทำได้โดยผสมในขั้นตอนก่อนทำเป็นแกรนูล ตัวอย่างของสารที่ช่วยในการแตกตัว เช่น

starch เป็นสารที่ได้ธรรมชาติ เช่นข้าวโพด ข้าวสาลี หรือมันฝรั่ง โดยทั่วไปถ้าหากยิ่งมีปริมาณของ starch ในตำรับมาก ยิ่งทำให้มีการแตกตัวที่เร็วขึ้น แต่จะมีปัญหาตามมาคือการเกาะตัวกัน และความแข็งของแกรนูลจะลดน้อยลง

alginate เป็นสารช่วยในการแตกตัว อยู่ในกลุ่ม hydrophilic colloid substance จากสาหร่ายทะเลมีจำหน่ายในรูปของ alginic acid หรือเกลือของ alginic acid โดยเฉพาะในรูปของเกลือ sodium alginate มีคุณสมบัติในการชอบน้ำมากกว่าพวกแป้ง ปริมาณที่ใช้ในตำรับนั้นสำหรับ alginic acid จะใช้ในปริมาณ 1-5 เปอร์เซ็นต์ ส่วน sodium alginate 2.5-10 เปอร์เซ็นต์ (จักรพันธ์ ศิริธัญญาลักษณ์, 2538)

gum ใช้เป็นสารแตกตัวเนื่องจากมีความสามารถในการพองตัวในน้ำ ทำหน้าที่คล้าย pregelatinized starch สามารถแสดงถึงคุณสมบัติในการยึดเกาะที่ดีเมื่อทำให้เปียก และใช้ในตำรับ 1-10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นคุณสมบัติดังกล่าวนี้ตรงกันข้ามกับการที่ทำให้แตกตัว ดังนั้นปริมาณ gum ที่ใช้ในตำรับ ต้องเป็นปริมาณที่พอเหมาะ gum ที่ใช้เป็นสารแตกตัวมีทั้งที่ได้จากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ โดย guar gum เป็น gum ที่ได้จากธรรมชาติและนิยมใช้ในการผลิตสูตรตำรับเนื่องจากละลายน้ำได้ดี เป็นกลางสามารถใช้เป็นอาหารได้ มีขนาดอนุภาคแตกต่างกัน ไม่ไวต่อกรด-ด่าง หรือความชื้น รวมทั้งการละลายของสารในตำรับยาเม็ด แต่ gum มีข้อเสีย คือการเปลี่ยนสีจากสีขาวเป็นสีขาวนวลถึงสีน้ำตาล โดยเฉพาะในสูตรตำรับที่เป็นด่าง (จักรพันธ์ ศิริธัญญาลักษณ์, 2538)

talcum เป็นแป้งมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีขาว นิยมใช้เป็นตัวพาสำหรับลดแรงเสียดทานระหว่างผงยาหรืออนุภาคด้วยกัน และลดแรงเสียดทานระหว่างผงยากับผนังของเป้า สำหรับ

ปริมาณของทัลคัม (talcum) ที่ใช้ในตำรับขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของผงยาผสมหรือแกรนูล นอกจากนี้ ประสิทธิภาพยังขึ้นอยู่กับความละเอียดหรือปริมาณความชื้นของทัลคัม ด้วย หากทำให้อยู่ในรูปของผงละเอียดมากๆ ปริมาณที่ใช้อาจลดลงได้ (จักรพันธ์ ศิริธัญญาลักษณ์, 2538)

วัตถุประสงค์

1 เพื่อทราบประสิทธิภาพของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

2 เพื่อผลิตสูตรสำเร็จ (formulation) ของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 เพื่อให้สะดวกต่อการนำไปใช้ของเกษตรกร

3 เพื่อทราบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ และศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

บทที่ 2
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1 อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo
- กล่องชื้น (moisture chamber)
- กล้องถ่ายรูป
- เครื่องเขย่าผสม (vortex mixture)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียด (analytical balance)
- เครื่องแร่งทำแกรนูลชนิดเปียกและแห้ง (wet and dry granulator)
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)
- ตู้นึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
- ตู้บ่มเชื่อ (incubator)
- ตู้ปลอดเชื้อ (larminar air flow cabinet)
- ตู้อบเครื่องแก้ว (hot air oven)
- ไมโครปิเปต (micropipette) ปริมาตรต่าง ๆ
- ไมโครเวฟ (microwave)
- อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ฟลาสก์ บีกเกอร์ หลอดทดลอง กระบอกตวง สไลด์หลุม แผ่นสไลด์ cover slip ปิเปต ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อและอื่นๆ
- อุปกรณ์ฉีดพ่น (foggy sprayer)
- อุปกรณ์ในการแยกเชื้อ ได้แก่ ลูป เข็มเขี่ยเชื้อ มีดผ่าตัด ปากคีบ cork borer ตะเกียงแอลกอฮอล์ และอื่นๆ
- ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer)

2 วัสดุทางการเกษตร

- ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15
- เมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวพันธุ์เขียวดก
- ออสโมโคท (osmocote) สูตร 13-26-7+1.5 แมกนีเซียม

3 อาหารเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรีย

- Glucose Yeast-extract Malt-extract Agar (GYMA)
- Glucose Yeast-extract Malt-extract Broth (GYMB)
- Potato Dextrose Agar (PDA)

4 สารที่ใช้ในการทดลอง

- Kaolin
- Lactose monohydrate
- NaCl
- Polysorbate 20 (Tween 20)
- แอทธานอล 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์
- สารเคมีกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม

วิธีการทดลอง

1 เก็บตัวอย่างโรคทางใบของถั่วฝักยาว

เก็บใบถั่วฝักยาวที่เป็นโรคราสนิม (*Uromyces vignae*) และโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา (*Cercospora cruenta*) บริเวณจังหวัดสงขลา นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและซับให้แห้ง เพื่อกำจัดสปอร์ที่สร้างในธรรมชาติ จากนั้นนำไปบ่มในกล่องชื้น (moisture chamber) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนโรคราแป้ง (*Oidium* sp.) นำใบที่เป็นโรคมาล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซับให้แห้ง และวางในกล่องพลาสติกใสแห้งโดยไม่ต้องให้ความชื้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากสภาพอากาศชื้นไม่เหมาะต่อการเจริญของราแป้ง สปอร์ที่สร้างขึ้นมาใหม่จะมีอายุเท่ากันสำหรับการทดสอบ

ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้

2 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในการยับยั้งการการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

2.1 เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรค

เก็บสปอร์แขวนลอย โรคราสนิม โรคราแป้ง และโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา ของใบถั่วฝักยาว หลังบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยตรวจดูใบของถั่วฝักยาวบริเวณที่เป็นแผลแสดงอาการของโรคภายใต้กล้องสเตอริโอ ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะบริเวณสปอร์เชื้อสาเหตุโรค และนำสปอร์มาใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำสปอร์แขวนลอยของทั้ง 3 โรค มานับจำนวนด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ และปรับความเข้มข้นเป็น 1 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร

2.2 เตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178

นำเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ขีด (streak) บนอาหาร GYMA หลังบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ใช้ลูปแตะเชื้อจำนวน 2 ลูป ลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว GYMB ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน ถ่ายกล้าเชื้อ 5% v/v ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว GYMB ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบ 7 วัน ใช้ไมโครปิเปตขนาด 1,000 ไมโครลิตร ดูดน้ำเลี้ยง *S. philanthi* RL-1-178 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ย้ายลงในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที เพื่อแยกเซลล์ปฏิปักษ์ของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ออกจากน้ำเลี้ยงเชื้อ นำส่วนใสกรองด้วย

กระดาษกรอง (millipore filter) ซึ่งมีรูขนาด 0.45 ไมโครเมตร กรองอีกครั้งเพื่อแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ตกค้างในน้ำเลี้ยงเชื้อส่วนใสออกให้หมด

2.3 ทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคถั่วฝักยาว

หยดสปอร์แขวนลอยเชื้อราสาเหตุโรคที่มีความเข้มข้น 1 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ปริมาตร 40 ไมโครลิตร (ศุภลักษณ์ มณีแสง, 2551) ลงบนสไลด์หลุม (depression slide) ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิห้อง (26 – 28°C) ทดสอบทุกเชื้อสาเหตุ นับการงอกของสปอร์ 12 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์โดยสุ่มนับสปอร์เชื้อราจำนวน 100 สปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์จากสูตร (Mukherjee *et al*., 1996)

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ = 100 - [A/B] x 100

A = เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์กรรมวิธีทดสอบ

B = เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์กรรมวิธีควบคุม

เกณฑ์การงอก คือ germ tube ที่งอกมีความยาวเกินครึ่งหนึ่งของความกว้างสปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกภาพ

3 ผลิตสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178

3.1 การศึกษาผลของสารประกอบในการทำสูตรสำเร็จ

ศึกษาผลของสารประกอบในการทำสูตรสำเร็จต่อการเจริญของเชื้อปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 และการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

ผลของสารประกอบต่อเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178

เลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ที่มีความเข้มข้นของ kaolin และ lactose monohydrate ซึ่งเป็นสารประกอบการทำสูตรสำเร็จ 1 เปอร์เซ็นต์ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ทดสอบผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178

ผลของสารประกอบต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

เตรียมสารแขวนลอยของสารประกอบการทำสูตรสำเร็จที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรคพืช (โรคราสนิม, โรคราแป้งและโรคใบจุด) ปริมาตร 40 ไมโครลิตร บนสไลด์หลุมผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิห้อง (26 – 28°C) ทดสอบทุกเชื้อสาเหตุ นับการงอกของสปอร์ 12 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง

และตรวจสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์โดยสุ่มนับสปอร์เชื้อราจำนวน 100 สปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เช่นเดียวกับข้อ 2.3

3.2 การผลิตสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178

3.2.1 แบบชนิดแกรนูล

เมื่อนำเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 มาผลิตเป็นสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลด้วยวิธี wet granulation โดยนำเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 มาผสมให้เข้ากับ kaolin และ lactose monohydrate (ตารางที่ 1) ด้วยเครื่องผสม จากนั้นเติม deionized water ผสมลงไปตามลำดับ นำส่วนที่ได้มาผ่านเครื่องแร่งเบอร์ 12 ให้ส่วนผสมออกมาเป็นแบบแกรนูล เก็บไว้ในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อสูตรสำเร็จแห้งแล้วจึงวัดความชื้นและนำไปร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 12 เพื่อให้ได้ขนาดของแกรนูลเท่ากัน นำสูตรที่ได้ไปประเมินคุณสมบัติในขั้นตอนต่อไป

3.2.2 แบบชนิดผง

นำเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ผสมให้เข้ากับ Kaolin และ lactose monohydrate (ตารางที่ 2) ด้วยเครื่องผสม นำสูตรที่ได้ไปร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 16 ประเมินคุณสมบัติต่อไป

ตารางที่ 1 สารประกอบของสูตรสำเร็จชนิดแกรนูล

สารประกอบ	สูตรสำเร็จชนิดแกรนูล	
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2
เชื้อส่วนที่เป็นเส้นใยและสปอร์	10 g	10 g
Kaolin	5 g	10 g
Lactose monohydrate	85 g	80 g
Deionized water	25 ml	25 ml

ที่มา : ดัดแปลงจาก Sabaranam และTraquair (2002)

ตารางที่ 2 สารประกอบของสูตรสำเร็จชนิดผง

สารประกอบ	สูตรสำเร็จชนิดผง	
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2
เชื้อส่วนที่เป็นเส้นใยและสปอร์	10 g	10 g
Kaolin	5 g	10 g
Lactose monohydrate	85 g	80 g

ที่มา : ดัดแปลงจาก Sabaranam และTraquair (2002)

4 การประเมินผลสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178

4.1 ทดสอบความเป็นกรด – ด่าง (pH)

นำสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร (แบบแกรนูลสูตรที่ 1, แกรนูลสูตรที่ 2, แบบผงสูตรที่ 1 และแบบผงสูตรที่ 2) เตรียมสูตรปริมาณ 1 กรัม ผสมในน้ำกลั่นปริมาตร 99 มิลลิลิตร และนำสูตรสำเร็จแต่ละสูตรปริมาณ 3 กรัม ผสมในน้ำกลั่นปริมาตร 97 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter) โดยวัด 5 ครั้ง แล้วจึงหาค่าเฉลี่ย (วานิด รอดเนียม, 2552)

4.2 การทดสอบความสม่ำเสมอและการกระจายตัวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จ

สูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร (แบบแกรนูลสูตรที่ 1, แกรนูลสูตรที่ 2, แบบผงสูตรที่ 1 และแบบผงสูตรที่ 2) ตรวจนับปริมาณเชื้อด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ไว้เป็นเวลา 7 วัน จึงนับโคโลนีของเชื้อ โดยสุ่มสูตรสำเร็จแต่ละสูตรที่บรรจุไว้ในกล่องพลาสติกแบ่งเป็นบริเวณที่ใช้สุ่มสำรวจจำนวน 5 จุดๆ ละ 1 กรัม ทดสอบความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ยจำนวนจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จนั้นๆ

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อราโรคทางใบของถั่วฝักยาว

เตรียมสารแขวนลอยของสูตรสำเร็จที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 40 ไมโครลิตรและสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรคพืช (โรคราสนิม โรคราแป้ง และโรคใบจุด) ปริมาตร 40 ไมโครลิตร บนสไลด์หลุม ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิห้อง (26 - 28°C) ทดสอบทุกเชื้อสาเหตุ นับการงอกของสปอร์ที่ 24 ชั่วโมง และตรวจสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์โดยสุ่มนับสปอร์เชื้อราจำนวน 100 สปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เช่นเดียวกับข้อ 2.3

4.4การทดสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จในสภาพอุณหภูมิต่างๆ

ตรวจนับปริมาณเชื้อในสูตรสำเร็จทันทีที่ผลิตได้ ด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ไว้เป็นเวลา 7 วัน จึงนับโคโลนีของเชื้อ และตรวจนับทุกเดือนหลังจากเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล สภาพห้อง (26 – 28 องศาเซลเซียล) และในตู้อบอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 6 เดือน ทำการทดสอบ 4 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย

4.5การทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 6 เดือน

4.5.1 เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรค

เตรียมสปอร์แขวนลอย โรคราสนิม โรคราแป้ง และโรคใบจุดเซอร์คอสปอรา ของใบถั่วฝักยาว หลังจากนำไปบ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยตรวจดูใบของถั่วฝักยาวบริเวณที่เป็นแผลแสดงอาการของโรคภายใต้กล้องสเตอริโอ ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะบริเวณสปอร์เชื้อสาเหตุโรค และนำสปอร์มาใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำสปอร์แขวนลอยของทั้ง 3 โรค มานับจำนวนด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer) และปรับความเข้มข้นเป็น 1 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร

4.5.2 เตรียมน้ำแขวนลอยจากสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178

เตรียมสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส ละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้มีความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเตรียมเป็นสารแขวนลอยทดสอบบนไสด์หลุมต่อไป

4.5.3 ทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคถั่วฝักยาว

หยดสปอร์แขวนลอยเชื้อราสาเหตุโรคที่มีความเข้มข้น 1 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และน้ำแขวนลอยของ *S. philanthi* RL-1-178 ลงบนสไลด์หลุม ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิห้อง (26 – 28°C) ทดสอบทุกเชื้อสาเหตุ นับการงอกของสปอร์ 12 และ 24 ชั่วโมง และตรวจสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์โดยสุ่มนับสปอร์เชื้อราจำนวน 100 สปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เช่นเดียวกับข้อ 2.3 โดยทดสอบกับสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน

5 ทดสอบการติดใบของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 บนใบของต้นถั่วฝักยาว

เตรียมสูตรสำเร็จแบบแกรนูลและแบบผงที่ได้มา นำมาละลายน้ำให้มีความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ โดยผสมสูตรสำเร็จ *S. philanthi* RL-1-178 จำนวน 3 กรัมต่อน้ำ 97 มิลลิลิตร เพิ่มประสิทธิภาพการจับใบโดยเติมสารจับใบ (Tween 20) 0.04 เปอร์เซ็นต์ (ศุภลักษณ์ มณีแสง, 2551) พ่นลงบนใบถั่วฝักยาวที่มีอายุครบ 3 สัปดาห์ ซึ่งเป็นระยะก่อนการเข้าทำลายของสาเหตุโรคทางใบ โดยใช้แบคทีเรียแขวนลอยหรือสารแขวนลอยของสูตรสำเร็จแบบแกรนูลและแบบผงปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น พ่นลงบนต้นถั่วฝักยาวให้ทั่วทุกใบ โดยเลือกสุ่มใบถั่วฝักยาวน้ำหนัก 1 กรัม ตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร เขย่าเพื่อให้เชื้อที่ติดบนใบชะล้างลงในน้ำกลั่น และตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ที่ติดอยู่บนใบ

ถั่วฝักยาว โดยวิธี dilution spread plate หลังจากฉีดพ่น 1, 4 และ 7 วัน โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

หลังจากนั้นนำสูตรสำเร็จแบบแกรนูลและแบบผงที่เหมาะสมและดีที่สุดเพียงอย่างละ 1 สูตร พร้อมด้วยใบของถั่วฝักยาวที่ฉีดพ่นด้วยสูตรนั้นๆ มาศึกษาทางจุลสัณฐานวิทยาของสปอร์เชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM)

6 ทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

6.1 เตรียมต้นถั่วฝักยาว

เตรียมหลุมปลูกโดยให้ระยะห่างระหว่างแถว 1 เมตร ระหว่างหลุมต่อหลุม 0.5 เมตร หลุมลึกประมาณ 5-6 นิ้ว พรวนดินผสมปุ๋ยคอก นำเมล็ดถั่วฝักยาวพันธุ์เขียวดกปลูกลงดิน หลุมปลูกละ 4 เมล็ด เมื่อถั่วฝักยาวอายุครบ 7 วัน หลังการปลูก ถอนแยกให้เหลือ 2 ต้น/หลุมปลูก ปักค้าง และใส่ปุ๋ยเคมี 15-15-15 ประมาณหลุมปลูกละ 1 ช้อนชา เมื่อต้นถั่วอายุ 15 วัน และ 30 วัน ใส่ปุ๋ยออสโมโคท (osmocote) สูตร 13-26-7+1.5 แมกนีเซียม 1 ช้อนโต๊ะ

6.2 เตรียมสารแขวนลอยของสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178

เตรียมสูตรสำเร็จแบบแกรนูลและแบบผงที่ได้มา นำมาละลายน้ำให้มีความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ โดยผสมสูตรสำเร็จ *S. philanthi* RL-1-178 จำนวน 3 กรัมต่อน้ำ 97 มิลลิลิตรเพื่อใช้ทดสอบต่อไป เพิ่มประสิทธิภาพการจับใบด้วยการเติมสารจับใบ (Tween 20) 0.04 เปอร์เซ็นต์

6.3 เตรียมแบคทีเรียแขวนลอย

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 เลี้ยงเพิ่มปริมาณในจานอาหาร GYMA โดยใช้ลูปแตะเชื้อแล้วนำมาขีดลงบนอาหารให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 5 วัน เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ใช้ลูปขูดผิวหน้าของโคโลนี เทใส่บีกเกอร์ วัดความเข้มข้นด้วย McFarland Standard เบอร์ 0.5 ปรับความเข้มข้นให้ได้ 1.5×10^8 cfu/ml เพิ่มประสิทธิภาพการจับใบโดยเติมสารจับใบ (Tween 20) 0.04 เปอร์เซ็นต์

6.4 เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรค

เตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิด เพื่อการปลูกเชื้อเนื่องจากเชื้อ *C. cruenta* ไม่สร้างสปอร์หรือสร้างสปอร์ได้น้อยในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนเชื้อ *U. vignae* และเชื้อ *Oidium* sp. ไม่สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ จึงกระทำโดยเก็บใบถั่วฝักยาวที่แสดงอาการเป็นราสนิม ราแป้ง และโรคใบจุด จากแปลงเกษตรกรในจังหวัดสงขลา นำมาล้างเอาสปอร์เชื้อสาเหตุ

โรคพ่นบนใบของถั่วฝักยาวที่ปลูกเตรียมไว้จำนวน 10 ต้น เพื่อให้มีเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 โรค เตรียมไว้ทดสอบ จากนั้นเมื่อใช้ทดสอบ จึงเก็บสปอร์แขวนลอย โรคราสนิม โรคราแป้ง และโรคใบจุดของใบถั่วฝักยาว หลังจากนำไปบ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะบริเวณสปอร์เชื้อสาเหตุโรค และนำสปอร์มาใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มานับจำนวนสปอร์แขวนลอยของทั้ง 3 โรค ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ และปรับความเข้มข้นเป็น 1 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร เพิ่มประสิทธิภาพการจับใบด้วยการเติมสารจับใบ (Tween 20) 0.04 เปอร์เซ็นต์

6.5 ทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

พ่นแบคทีเรียแขวนลอย และสารแขวนลอยของสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 และแบบผงสูตรที่ 1 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร/ต้น ลงบนต้นถั่วฝักยาวเมื่อต้นถั่วฝักยาวมีอายุครบ 3 สัปดาห์ โดยใช้แบคทีเรียแขวนลอยหรือสารแขวนลอยของสูตรสำเร็จแบบแกรนูลและแบบผงให้ทั่วทุกใบ พ่นซ้ำทุกๆ 7 วัน จนต้นถั่วฝักยาวอายุครบ 70 วัน จึงหยุดพ่น วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วย 10 ต้น ในแต่ละกรรมวิธีพ่นด้วย

กรรมวิธีที่ 1 พ่นด้วยสารแขวนลอยสูตรสำเร็จแบบแกรนูล

กรรมวิธีที่ 2 พ่นด้วยสารแขวนลอยสูตรสำเร็จแบบผง

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยน้ำแบคทีเรียแขวนลอย *S. philanthi* RL-1-178

กรรมวิธีที่ 4 พ่นด้วยสารคาร์เบนดาซิมที่ระดับความเข้มข้น 2,000 μgml^{-1}

กรรมวิธีที่ 5 พ่นด้วยน้ำกลั่น

6.6 การปลูกเชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

เมื่อต้นถั่วฝักยาวมีอายุครบ 6 สัปดาห์และไม่พบการเกิดโรคทางใบตามธรรมชาติ จึงนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อสาเหตุโรคทางใบทั้ง 3 โรคที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 1 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 30 มิลลิลิตร/ต้น พ่นลงบนต้นถั่วฝักยาวให้ทั่วทุกใบ

6.7 การประเมินผลการทดสอบ

ประเมินความรุนแรงของโรคหลังพ่นแบคทีเรียแขวนลอย และสารแขวนลอยของสูตรสำเร็จทุก 7 วัน และประเมินโรคซ้ำทุกๆ 7 วัน จนต้นถั่วฝักยาวอายุครบ 70 วัน ทำการประเมินโรคด้วยวิธี descriptive area (ปริศนา วงค์ล้อม, 2548) รวมทั้ง 3 โรค กับส่วนใบทั้งต้น โดยมีระดับคะแนน 0-5 ดังนี้

0 = ไม่เกิดโรค

1 = เกิดโรค 0-20 % ของพื้นที่ใบ

2 = เกิดโรค 21-40% ของพื้นที่ใบ

3 = เกิดโรค 42-60 % ของพื้นที่ใบ

4 = เกิดโรค 61-80 % ของพื้นที่ใบ มีสีเหลืองและร่วง ประมาณ 25 % ของปริมาณใบทั้งหมด

5 = เกิดโรค 80-100 % ของพื้นที่ใบ มีสีเหลืองและร่วง ประมาณ 50 % ของปริมาณใบทั้งหมด

นำคะแนนความรุนแรงของโรคมาคำนวณค่าทางสถิติ

นำคะแนนความรุนแรงของโรคมาคำนวนดัชนีการเกิดโรค และเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค (สืบศักดิ์ สนธิรัตน, 2540) จากสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left[\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้น} \times \text{ระดับการเกิดโรคสูงสุด}} \right]$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค} = \left[\frac{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีทดสอบ} \times 100}{\text{ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุม}} \right]$$

บทที่ 3

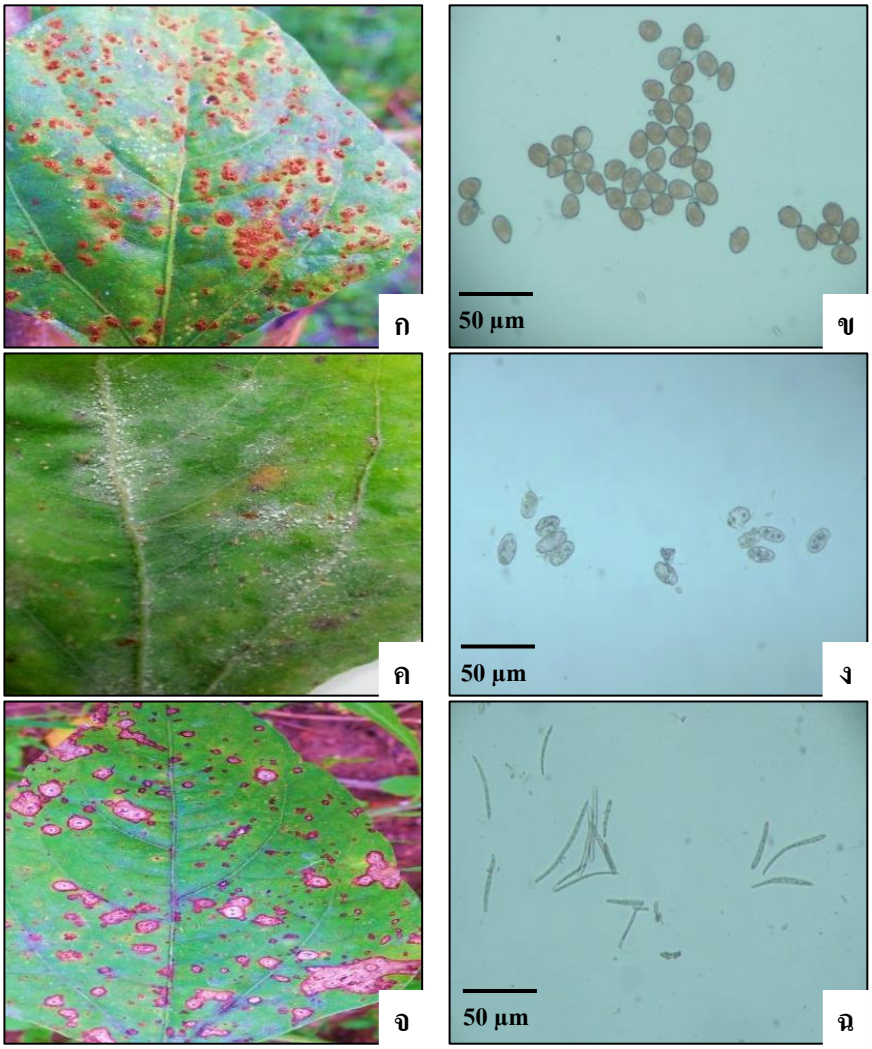
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1 ตัวอย่างโรคทางใบของถั่วฝักยาวและเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178

เก็บใบถั่วฝักยาวบริเวณจังหวัดสงขลา ที่เป็นโรคราสนิม โรคราแป้ง และโรคใบจุด โดยโรคราสนิมมีลักษณะอาการเป็นตุ่มนูนขนาดเล็ก สีเหลืองซีด ตรงกลางตุ่มพบมีแผลแตกมีผงสีสนิมเกาะอยู่เป็นกลุ่ม อยู่บนทุกส่วนของต้นถั่วที่อยู่เหนือดิน พบมากบริเวณบนใบ โดยเฉพาะใบแก่ ซึ่งเมื่อมีอาการรุนแรงจะพบจุดสนิมจำนวนมาก ลุกลามจากส่วนใบล่างๆ สู่ส่วนบนของต้น มักจะเริ่มพบเมื่อต้นถั่วฝักยาวอยู่ในระยะออกดอก ส่วนบนใบที่เป็นมาก แผลเป็นสีสนิมเข้ม ใบจะเหลืองและร่วงหล่นไป พบอยู่ทุกๆแหล่งที่มีการปลูกถั่วฝักยาว เมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศ์ พบมีลักษณะสปอร์ รูปร่างกลมรี สีน้ำตาลแดง ขนาดเฉลี่ย 21.50-26.75 ไมโครเมตร เกิดจากเชื้อ *U. vignae* (ภาพที่ 2 ก, ข)

โรคราแป้งลักษณะอาการ เป็นผงสีขาวทั้งด้านบนใบและใต้ใบ พบได้ทุกส่วนของต้นถั่วผักยาว พบมากจากบริเวณใบล่าง อาการริ่มแรกพบผงสีขาวเป็นหย่อมๆ แล้วขยายใหญ่จนเต็มใบ เมื่ออาการรุนแรงผงสีขาวจะหนาแน่นมองเห็นได้ชัดเจน เมื่อเอามือไปรูปหรือสัมพัส ผงสีขาวจะหลุดติดมือออกมา ลักษณะใบจะแห้งตาย พบมากจากบริเวณโคนต้นและใบล่าง แล้วจึงลุกลามขึ้นด้านบนส่วนต่างๆ ของต้น เมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศ์ พบมีลักษณะสปอร์รูปทรงรี สีขาวใส ขนาดเฉลี่ย 19.25-27.30 ไมโครเมตร เกิดจากเชื้อ *Oidium* sp. (ภาพที่ 2 ค, ง)

โรคใบจุดเซอร์คอสปอราลักษณะอาการ บนใบถั่วฝักยาวพบแผลแห้งเป็นวงกลมหรือเกือบกลม ระยะแรกปรากฏจุดสีน้ำตาลปนแดงขนาดเล็ก ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้น กลายเป็นสีเทาเข้ม ตรงกลางแผลพบมีจุดดำเล็กๆ อยู่ในบริเวณแผล จุดสีดำเล็กๆจะอยู่เป็นกระจุก และเรียงเป็นวงกลมซ้อนกันเป็นชั้นๆ มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เมื่ออาการรุนแรงเนื้อเยื่อใบถั่วฝักยาวขาดทะลุ มักเกิดกับใบแก่ที่อยู่บริเวณล่างๆ และพบมากในระยะที่เก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว เมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบมีลักษณะสปอร์ผอมเรียวยาวตรงหรือโค้งเล็กน้อย มีผนังกั้นสีเทา-เทาเข้ม ขนาดความยาวเฉลี่ย 48.90-66.75 ไมโครเมตร เกิดจากเชื้อ *C. cruenta* (ภาพที่ 2 จ, ฉ)



ภาพที่ 2 โรคและเชื้อสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว 3 ชนิด

ก. โรคราสนิม

ข. เชื้อรา *Uromyces vignae*

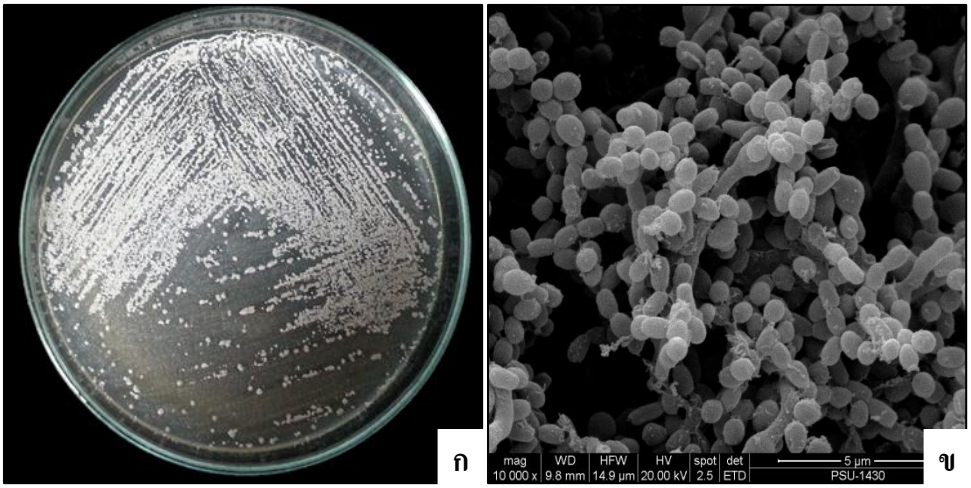
ค. โรคราแป้ง

ง. เชื้อรา *Oidium* sp.

จ. โรคใบจุดเซอร์คอสปอรา

ฉ. เชื้อรา *Cercospora cruenta*

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 มีลักษณะโคโลนีสีขาวกึ่งเทา เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สร้างสปอร์รูปร่างกลมรีเรียงต่อกันเป็นสาย ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้ จังหวัดสงขลา (ภาพที่ 3)

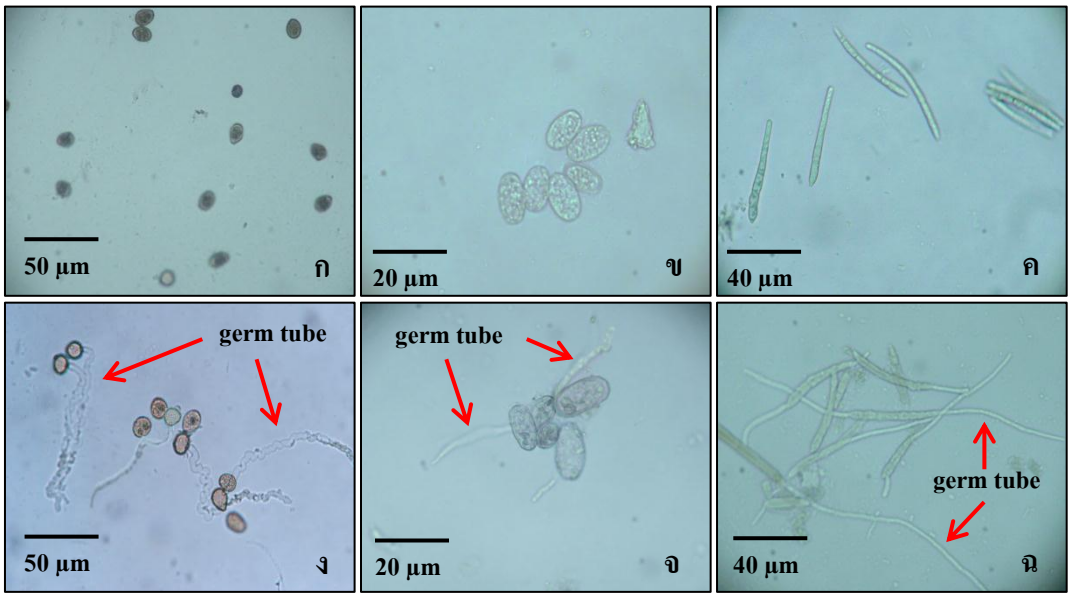


ภาพที่ 3 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178
ก. โคโลนีบนอาหาร GYMA เมื่ออายุ 7 วัน
ข. สปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM)

2 ประสิทธิภาพของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

ประสิทธิภาพของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาวทั้ง 3 ชนิด บนสไลด์หลุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อนับการงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า พบว่า เชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และ *C. cruenta* ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในกรรมวิธีควบคุมนั้น สปอร์ของเชื้อรางอกตามปกติ (ภาพที่ 4) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Li และคณะ (2011) รายงานว่าได้แยกเชื้อ *Streptomyces* spp. ซึ่งเป็นเชื้อที่ได้จากการปนเปื้อนในอาหารเลี้ยงเชื้อราและสามารถใช้น้ำเลี้ยงเชื้อของ *S. globisporus* JK-1 ยับยั้งการเจริญของเส้นใย การงอกของ conidia และ appressoria ของเชื้อ *Magnaporthe oryzae* บนใบข้าวได้ เช่นเดียวกับ Zacky และคณะ (2013) รายงานว่าเชื้อ *S. griseus* (St 4) สามารถสร้างเอนไซม์ chitinase และ β-1,3-glucanase ส่งผลกระทบต่อการสลายของผนังเซลล์ และยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

race 4 (FOC race 4) สาเหตุโรคเหี่ยวในต้นกล้วยได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเชื้อ *Streptomyces* sp. ยังสามารถสร้างสารระเหย ยับยั้งการงอกและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Bo. cinerea* และเชื้อรา *Scler. sclerotiorum* จึงสามารถลดการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคบนผลมะเขือเทศได้ (Li *et al.*, 2012)



ภาพที่ 4 การงอกของสปอร์เชื้อรา ที่อุณหภูมิห้อง (26-28 °C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ก. *Uromyces vignae* ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178

ข. *Oidium* sp. ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178

ค. *Cercospora cruenta* ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178

ง. *Uromyces vignae* ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

จ. *Oidium* sp. ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

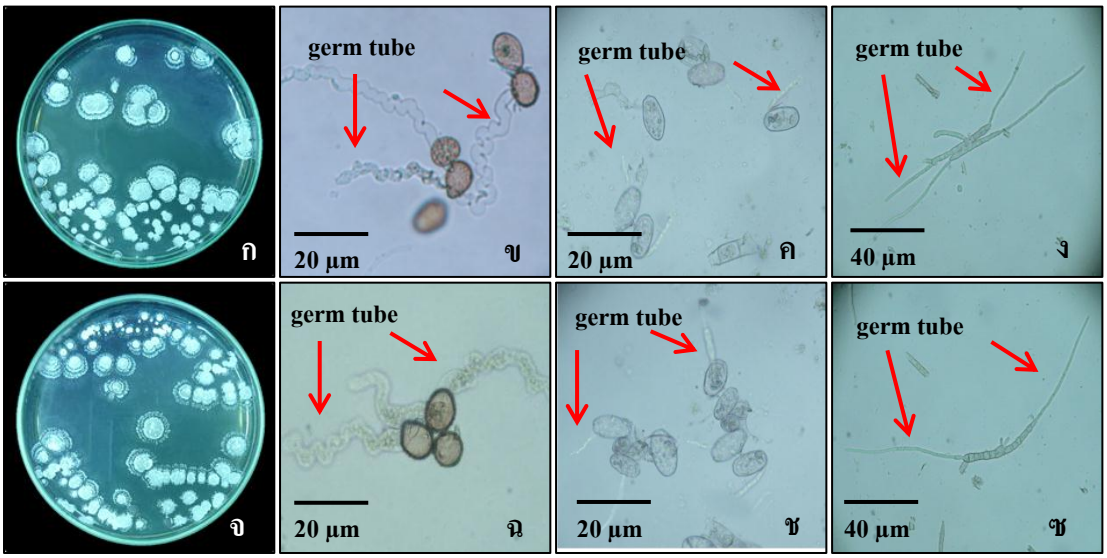
ฉ. *Cercospora cruenta* ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

3 ผลิตสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178

3.1 การศึกษาผลของสารประกอบในการทำสูตรสำเร็จ

เมื่อทดสอบผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อ พบว่าจำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญบนอาหารชุดควบคุมและเมื่อนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อราโรคทางใบของถั่วฝักยาวทั้ง 3 ชนิด คือ เชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และ *C. cruenta* ผสมสารแขวนลอยของสารประกอบการทำสูตรสำเร็จที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

ตรวจการงอกของสปอร์เชื้อราทั้ง 3 ชนิด พบว่าการงอกของสปอร์เชื้อราไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าสารประกอบที่ใช้สำหรับทำสูตรสำเร็จทุกชนิดไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 และไม่มีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และ *C. cruenta* (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 การเจริญของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 และการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาวบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารประกอบ (kaolin+lactose monohydrate) ในการทำสูตรสำเร็จ

ก. เชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 เลี้ยงเชื้อบนอาหารที่ผสมสารประกอบ

ข. เชื้อ *Uromyces vignae* ในน้ำที่ผสมสารประกอบ

ค. เชื้อ *Oidium sp.* ในน้ำที่ผสมสารประกอบ

ง. เชื้อ *Cercospora cruenta* ในน้ำที่ผสมสารประกอบ

จ. เชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 เลี้ยงเชื้อบนอาหารที่ไม่ผสมสารประกอบ

ฉ. เชื้อ *Uromyces vignae* ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ช. เชื้อ *Oidium sp.* ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ซ. เชื้อ *Cercospora cruenta* ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

3.2 การผลิตสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178

3.2.1แบบชนิดแกรนูล

เมื่อนำเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 มาผลิตเป็นสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลด้วยวิธี wet granulation โดยนำเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 มาผสมให้เข้ากับ kaolin และ lactose monohydrate ด้วยเครื่องผสม จากนั้นเติม deionized water ผสมลงไปตามลำดับ อัตราส่วนตามตารางที่ 1 พบว่าสามารถผลิตสูตรสำเร็จได้ 2 สูตร โดยมีขนาด 2-4 มิลลิเมตร โดยแต่สูตรมีลักษณะเป็นแกรนูลสีเทาขนาดเท่ากัน (ภาพที่ 6 ก, ข)

3.2.2แบบชนิดผง

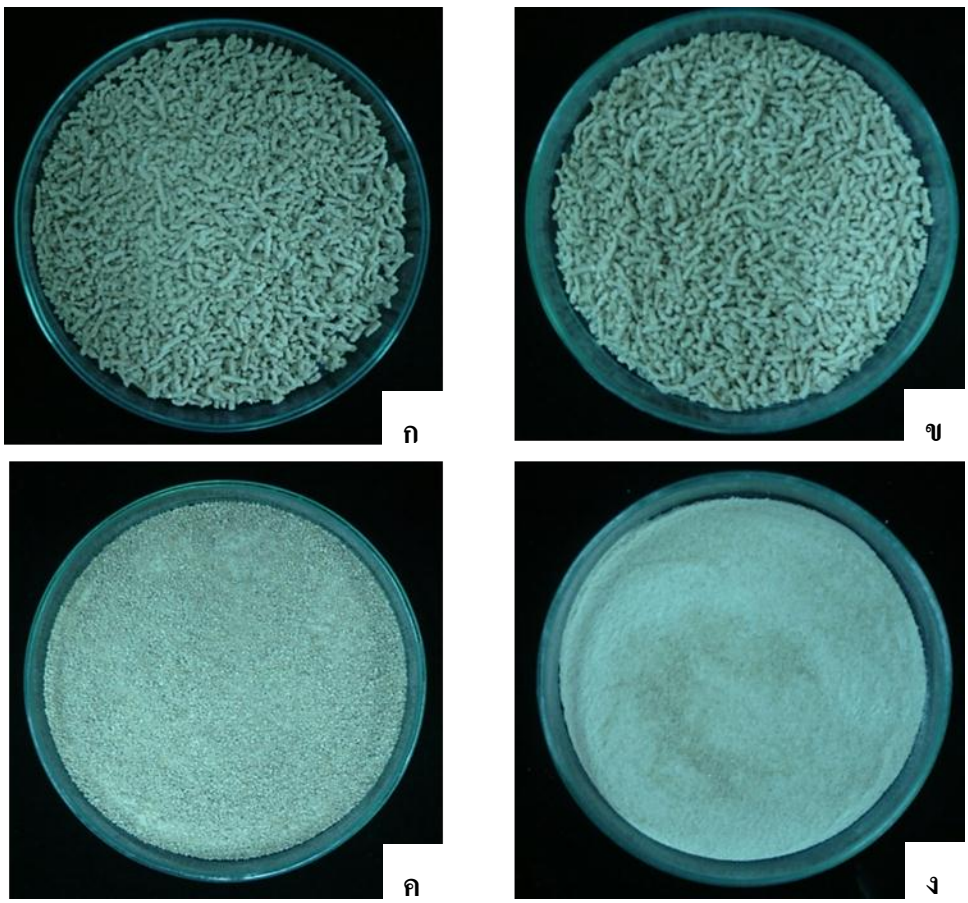
เมื่อนำเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 มาผลิตเป็นสูตรสำเร็จชนิดผงผสมให้เข้ากับ kaolin และ lactose monohydrate ด้วยเครื่องผสม อัตราส่วนตามตารางที่ 2 พบว่าสามารถผลิตสูตรสำเร็จได้ 2 สูตร โดยแต่ละสูตรมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีเทา-ครีม (ภาพที่ 6 ค, ง)

สูตรสำเร็จแบบแกรนูลที่ผลิตได้ทั้ง 2 สูตร มีลักษณะเช่นเดียวกันกับ วานิด รอดเนียม (2552) ได้ผลิตสูตรสำเร็จแบบแกรนูลของเชื้อ *B. subtilis* LPDD 3-1 ด้วยวิธี wet granulation มีลักษณะแบบแกรนูลสีขาวครีม พบสปอร์ของแบคทีเรียอยู่บนผิวแกรนูลกระจายทั่วพื้นผิว รูปแบบคงที ไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและสีของแกนูล และปวีณา สังข์แก้ว (2556) ได้ผลิตสูตรสำเร็จแบบแกรนูลของเชื้อ *S. griseus* subsp. *formicus* มีลักษณะแบบแกรนูลสีขาวครีม และผลิตสูตรสำเร็จแบบผง มีลักษณะแบบผงละเอียดสีเทาครีม เช่นเดียวกับการผลิตสูตรสำเร็จของ *S. philanthi* RL-1-178 คือมีลักษณะเป็นผงละเอียดทั่วบริเวณ สีเทาครีม

4 ประเมินสูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178

4.1 ความเป็นกรด – ด่าง (pH)

เมื่อทดสอบความเป็นกรด – ด่าง (pH) ของสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร (แบบแกรนูลและแบบผง) พบว่าแต่ละสูตรมีค่าเป็นกรดอ่อนโดยระดับความเข้มข้นที่ 3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) สูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ 1 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) โดยสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 2 และแบบผงสูตรที่ 2 สีส่วนผสมของ kaolin มากกว่าสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 และแบบผงสูตรที่ 1 อาจเนื่องด้วยสารประกอบที่แตกต่างกันในแต่ละสูตร โดยเฉพาะการมีสารประกอบ kaolin เพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้มีค่าความเป็นกรดอ่อนกว่า



ภาพที่ 6 ลักษณะสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ชนิดแบบแกรนูลและแบบผง

ก. สูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1 ประกอบด้วย เชื้อส่วนที่เป็นเส้นใยและสปอร์ kaolin และ lactose monohydrate อัตราส่วน 10:5:85 เปอร์เซ็นต์

ข. สูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 2 ประกอบด้วย เชื้อส่วนที่เป็นเส้นใยและสปอร์ kaolin และ lactose monohydrate อัตราส่วน 10:10:80 เปอร์เซ็นต์

ค. สูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 ประกอบด้วย เชื้อส่วนที่เป็นเส้นใยและสปอร์ kaolin และ lactose monohydrate อัตราส่วน 10:5:85 เปอร์เซ็นต์

ง. สูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 2 ประกอบด้วย เชื้อส่วนที่เป็นเส้นใยและสปอร์ kaolin และ lactose monohydrate อัตราส่วน 10:10:80 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ความเป็นกรด-ด่างของสูตรสำเร็จที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ 3 เปอร์เซ็นต์

สูตรสำเร็จ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง[1/]	
	1 เปอร์เซ็นต์	3 เปอร์เซ็นต์
สูตรแบบแกรนูลสูตรที่ 1	6.22 ± 0.01	6.48 ± 0.02
สูตรแบบแกรนูลสูตรที่ 2	6.58 ± 0.01	6.73 ± 0.01
สูตรแบบผงสูตรที่ 1	6.25± 0.02	6.48 ± 0.01
สูตรแบบผงสูตรที่ 2	6.63± 0.02	6.78 ± 0.02
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	6.76±0.004	6.76±0.004

[1/] ค่าเฉลี่ยความเป็นกรด-ด่างของสูตรสำเร็จ 4 สูตร เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

4.2 ความสม่ำเสมอและการกระจายตัวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จ

เมื่อนำสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร คือสูตรแบบแกรนูล 2 สูตร และสูตรแบบผง 2 สูตรมาตรวจนับปริมาณเชื้อด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA พบว่า สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์มากกว่าสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 2 แบบผงสูตรที่ 1 และ 2 คือ 6.20×10^6, 5.22×10^6, 2.71×10^6 และ 1.21×10^6 cfu/g ตามลำดับ พบความสม่ำเสมอและการกระจายตัวของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ดีในแต่ละสูตรสำเร็จ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติของปริมาณเชื้อที่สุ่มสำรวจจำนวน 5 จุด ในแต่ละสูตรสำเร็จ (ตารางที่ 4) เนื่องจากสูตรสำเร็จแบบแกรนูลมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับอากาศน้อย และไม่ฟุ้งกระจาย จึงเป็นสูตรที่มีความคงตัวของจุลินทรีย์ดี มีปริมาณคงอยู่ในสูตรมากกว่าสูตรสำเร็จแบบผง สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของสูตรสำเร็จ (อัจฉรา อุทิศวรรณกุล, 2536) สูตรสำเร็จแบบแกรนูล โดยมี kaolin เป็นสารประกอบที่ช่วยยึดเกาะให้คงรูป เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรแกรนูลมี lactose monohydrate เป็นสารประกอบ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารให้กับเชื้อได้เจริญและมีชีวิตรอดได้ สูตรสำเร็จแบบผง มีช่องว่างในอากาศเยอะกว่า ฟุ้งกระจายติดภาชนะที่ใช้วางผึ่งให้แห้ง และระหว่างขั้นตอนการบดให้ละเอียด ทำให้การเจริญของเชื้อมีปริมาณน้อยกว่า แตกต่างกับสูตรสำเร็จแบบแกรนูล ซึ่งไม่ฟุ้งกระจาย สะดวกต่อการนำไปใช้ได้ง่าย สอดคล้องกับวานิด รอดเนียม (2552) กล่าวว่าการที่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์อยู่ในสูตรสำเร็จแบบแกรนูล เชื้อสามารถจับอยู่ได้ทั้งบริเวณผิวภายนอกและอยู่ภายในแกรนูล ซึ่งเชื้อที่อยู่ภายในแกรนูลสามารถช่วยป้องกันไม่ให้ถูกรบกวนจากสภาพแวดล้อมภายนอก จึงทำให้ในสูตรสำเร็จ มีปริมาณเชื้ออยู่ได้ดี

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 หลังการผลิตสูตรสำเร็จ 24 ชั่วโมง

จุดที่	ปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในแต่ละสูตรสำเร็จ (x10^6 cfu/กรัม)[1/]			
	สูตรสำเร็จชนิดแกรนูล		สูตรสำเร็จชนิดผง	
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2
1	6.28±0.05a[2/]	5.30±0.35a	2.80±0.27a	1.10±0.24a
2	6.10±0.08a	5.00±0.44a	2.73±0.26a	1.16±0.20a
3	6.28±0.10a	5.33±0.28a	2.66±0.28a	1.33±0.15a
4	6.20±0.08a	5.48±0.10a	2.62±0.28a	1.23±0.22a
5	6.13±0.19a	4.98±0.26a	2.75±0.27a	1.25±0.19a
เฉลี่ย	6.20±0.02	5.22±0.15	2.71±0.18	1.21±0.03
F-test	ns	ns	ns	ns
C.V.(%)	0.42	1.53	1.41	1.01

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

[1/]ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในแต่ละสูตรสำเร็จ ทั้ง 4 สูตร เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

4.3 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราโรคทางใบของถั่วฝักยาว

เมื่อตรวจสอบการงอกของสปอร์เชื้อรา และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ พบว่าสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตรสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oidium* sp. สาเหตุโรคราแป้งและเชื้อรา *C. cruenta* สาเหตุโรคใบจุดเซอร์คอสปอราได้ไม่แตกต่างทางสถิติ โดยสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตรมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Oidium* sp. และเชื้อรา *C. cruenta* อยู่ในช่วง 86.00-87.00 เปอร์เซ็นต์ และ 86.75-88.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *U. vignae* สาเหตุโรคราสนิม พบว่า สูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1, 2 ชนิดผงสูตรที่ 1 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *U. vignae* ได้ไม่แตกต่างทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 90.50-91.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae* *Oidium* sp. และ *Cercospora cruenta* สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

สูตรสำเร็จ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา[1/]		
	Uromyces vignae	*Oidium* sp.	*Cercospora cruenta*
ชนิดแกรนูลสูตรที่1	91.5±0.58a[2/]	87.00±0.82a	88.25±0.50a
ชนิดแกรนูลสูตรที่2	90.75±0.50a	86.00±0.58a	87.75±0.50a
ชนิดผงสูตรที่ 1	90.50±0.58a	86.75±0.96a	87.75±1.26a
ชนิดผงสูตรที่ 2	88.50±1.29b	86.50±0.58a	86.75±1.89a
ชุดควบคุม(น้ำกลั่น)	0.00±0.00c	0.00±0.00b	0.00±0.00b
F-test	*	*	*
C.V.(%)	3.60	3.35	5.32

* = แตกต่างทางสถิติที่ $P < 0.05$

[1/]ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว 3 โรค หลังจากทำการทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ โดยคำนวณจาก

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ = 100 - [A/B] x 100

A = เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์กรรมวิธีทดสอบ

B = เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์กรรมวิธีควบคุม

[2/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

4.4การมีชีวิตรอดของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จในสภาพอุณหภูมิต่างๆ

เมื่อเตรียมและผลิตสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์แบบแกรนูลและแบบผงเสร็จแล้ว จึงบรรจุใส่ภาชนะพลาสติกใสที่มีฝาปิด และวางเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส หลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 1 เดือน สังเกตุการเปลี่ยนแปลงของสูตรสำเร็จแต่ละสูตร ตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ที่มีชีวิตรอด และทำการทดสอบต่อไปทุกๆ เดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน ด้วยวิธี dilution spread plate ผลการทดสอบพบว่า ลักษณะของสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตรเหมือนเดิมทั้งรูปร่างและสี จำนวนประชากรของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 มีชีวิตรอดในทุกสูตรสำเร็จ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ค่อนข้างมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วง 1-3 เดือน และลดลงอย่างต่อเนื่อง ในช่วงเดือนที่ 4-6 ส่วนสูตรสำเร็จที่เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พบมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นในช่วง 1-2 เดือน ปริมาณเชื้อลดลงในช่วงเดือนที่ 3 อย่างต่อเนื่องทุกเดือน ส่วนสูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1 พบว่ามีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นในช่วงเดือนที่ 2 และปริมาณเชื้อมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง ในช่วง 3-6 เดือน และตรวจนับปริมาณเชื้อของแต่ละสูตรสำเร็จเมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าในทุกสูตรสำเร็จมีปริมาณของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ลดลงอย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่ในช่วงเดือนที่ 1 เป็นต้นไป (ภาพที่ 7)

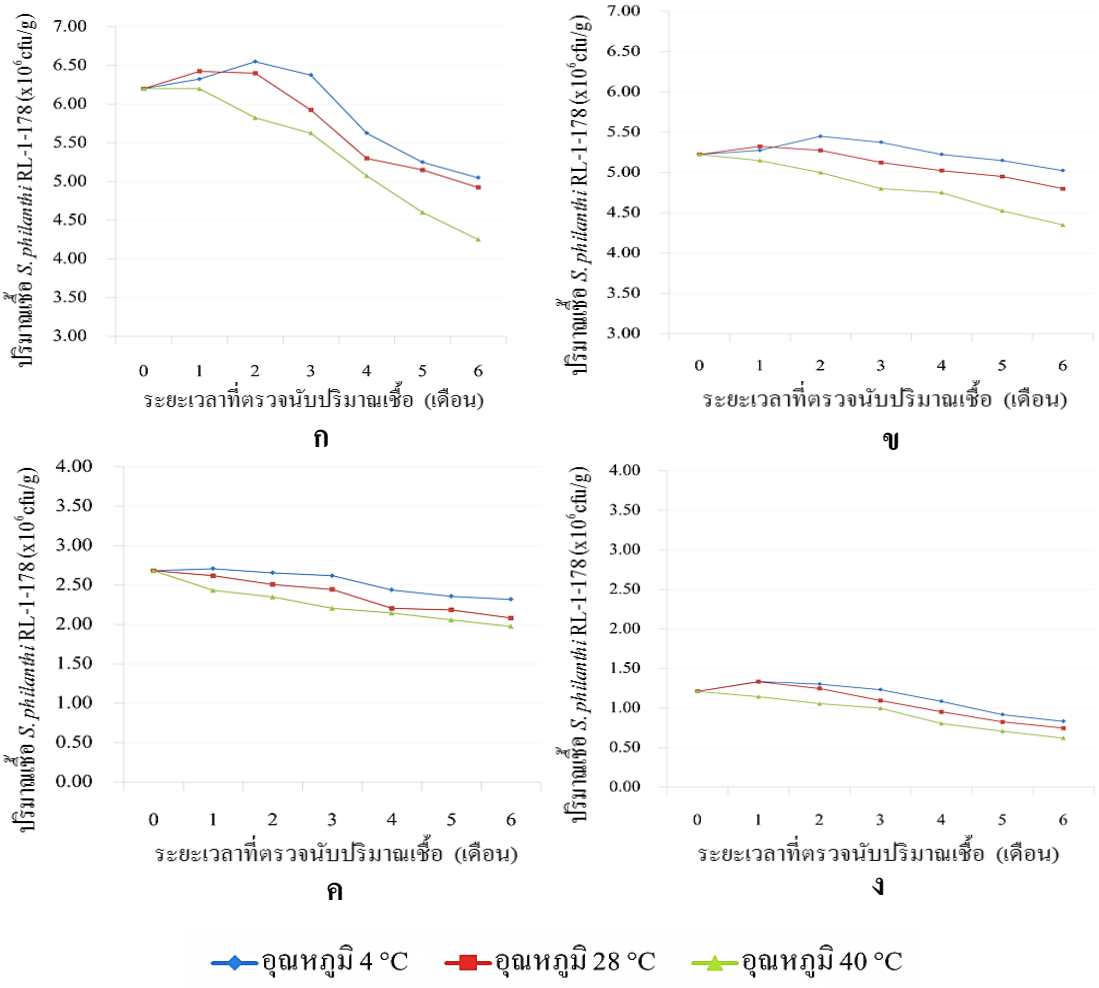
จากการทดสอบการมีชีวิตรอดของ *S. philanthi* RL-1-178 ในแต่ละสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตรเมื่อเก็บไว้ที่ อุณหภูมิ 4, องศาเซลเซียส พบการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มากกว่า สูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 28 และ 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นควรเก็บรักษาสูตรสำเร็จไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้ดี เช่นเดียวกับ Sabaratnam และ Traquair (2002) ได้ศึกษาการผลิตสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในรูปแบบเม็ด แบบแกรนูลและแบบผงเปียกน้ำ เก็บสูตรสำเร็จไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่าเชื้อมีชีวิตรอด $7.3x10^{2}$, $7x10^{3}$และ $1.2x10^{5}$cfu/g ตามลำดับ ในขณะที่การเก็บสูตรสำเร็จที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การมีชีวิตรอดของเชื้อดีกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับรายงานของ ปวีณา สังข์แก้ว (2556) ได้ศึกษาโดยเก็บรักษาสูตรสำเร็จของเชื้อ *S. griseus* subsp. *formicus* ในอุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า สูตรสำเร็จที่เก็บไว้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษานานกว่าอุณหภูมิห้อง โดยมีปริมาณของเชื้อมากกว่าและประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคดีกว่า เช่นเดียวกับ Haggag และ Abdall (2011) ได้ผลิตสูตรสำเร็จแบบผงของเชื้อ *S. aureofaciens* เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน สามารถมีชีวิตรอดของเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เทียบเท่ากับปริมาณเชื้อที่ผลิตได้ในครั้งแรก (0 วัน) เมื่อทดสอบการพ่นสูตรสำเร็จ (*S. aureofaciens*) บนผลมะม่วง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 18 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบการมีชีวิตรอดอยู่ของเชื้อ และสามารถลดเปอร์เซ็นการเกิดโรคแอนแทรคโนสซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อ *Coll. gloeosporioides* บนผลมะม่วงได้ ดีกว่าการใช้สารเคมีและชุดควบคุม

Pornsuriya และ Sunpapao (2014) ได้ผลิตสูตรสำเร็จแบบแกรนูล แบบแกรนูลในแคปซูล แบบผงเปียกน้ำ และแบบน้ำมัน (emulsion) โดยเก็บรักษาทุกสูตรสำเร็จไว้ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบการมีชีวิตรอดของเชื้อมากกว่าการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เนื่องด้วยการเก็บสูตรสำเร็จไว้ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมที่ต่ำและไม่มีความชื้นส่งผลให้ลดกิจกรรม metabolic ของสปอร์เชื้อแบคทีเรีย เป็นการที่เชื้อแบคทีเรียพักการเจริญ และลดปริมาณการใช้อาหารที่อยู่ในสูตรสำเร็จ จึงทำให้เชื้อที่อยู่ในสูตรสำเร็จมีอุณหภูมที่ต่ำพบมีชีวิตรอดปริมาณมากและยาวนานกว่าเชื้อที่อยู่ในสูตรสำเร็จมีอุณหภูมิสูง

4.5ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 6 เดือน

ทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *U. vignae* สาเหตุโรคราสนิมโดยสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าน้ำแขวนลอยของสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดี คือ สูตรสำเร็จชนิดแกรนูลมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 52.50 ถึง 92.25 เปอร์เซ็นต์ และสูตรสำเร็จชนิดผงมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 48.00 ถึง 91.00 เปอร์เซ็นต์ โดยสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 และ 28 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ ค่อนข้างคงที่ในช่วงเริ่มต้น-เดือนที่ 3 และลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วงเดือนที่ 4-6 ส่วนสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เดือนแรก โดยสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 1 เดือน พบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคมากที่สุด คือ 92.25 เปอร์เซ็นต์ และสูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 1 เดือน พบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์มากที่สุด คือ 91.00 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8 และ ภาพที่ 9)



ภาพที่ 7 จำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน

ก. สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1

ข. สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 2

ค. สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1

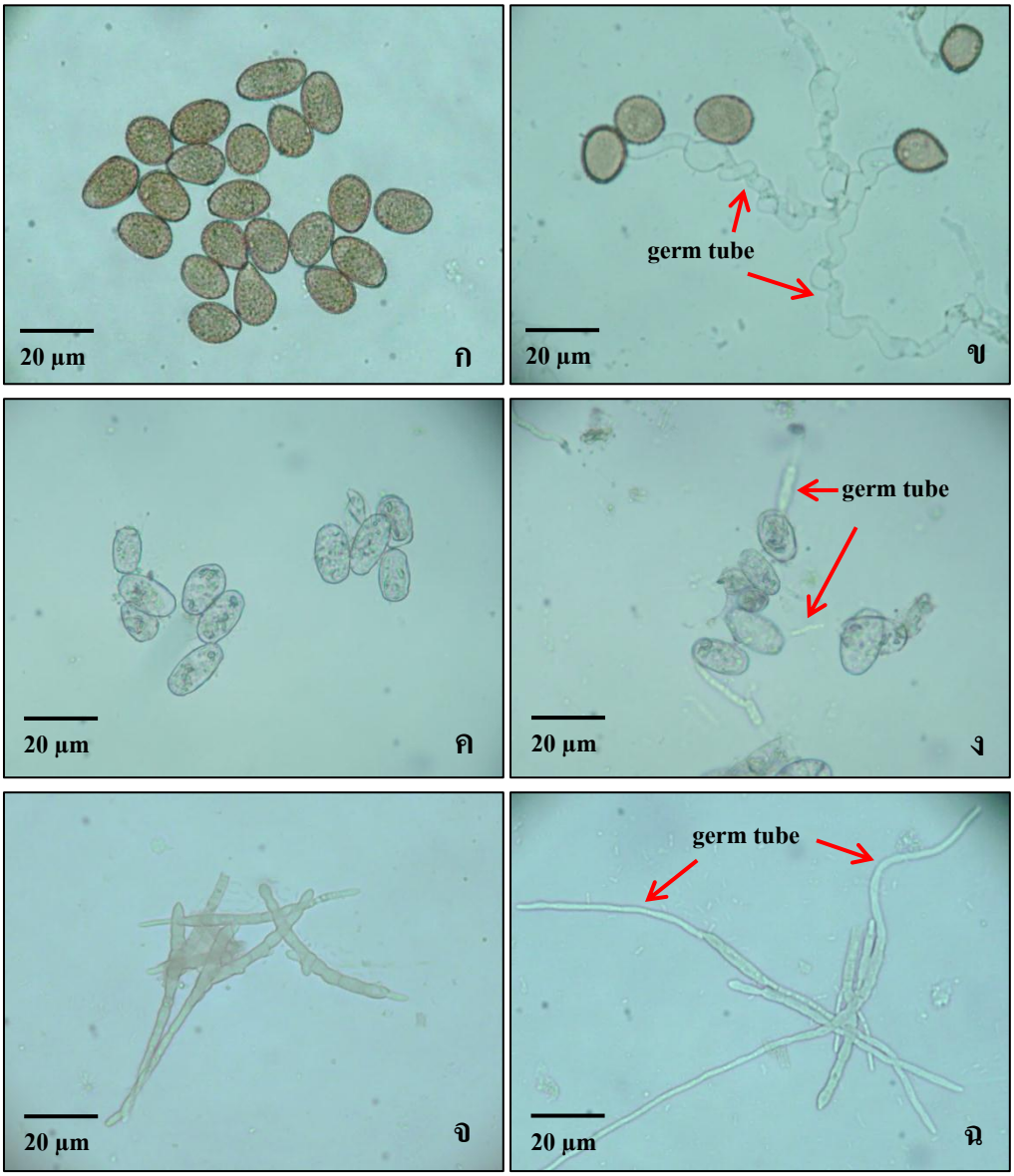
ง. สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 2

เมื่อทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oidium* sp. สาเหตุโรคราแป้งโดยสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าน้ำแขวนลอยของสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดี คือ สูตรสำเร็จชนิดแกรนูลมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 50.50 - 87.25 เปอร์เซ็นต์ และสูตรสำเร็จชนิดผงมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 44.75 - 86.75 เปอร์เซ็นต์ โดยสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 และ 28 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ ค่อนข้างคงที่ในช่วงเริ่มต้น-เดือนที่ 3 และลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วงเดือนที่ 4-6 ส่วนสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เดือนแรก โดยสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 1 และ 2 เดือน พบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์มากที่สุด คือ 87.25 เปอร์เซ็นต์ และสูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาเริ่มต้น หลังจากผลิตสูตรสำเร็จเสร็จสิ้นแล้ว พบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์มากที่สุด คือ 86.75 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8 และ ภาพที่ 10)

เมื่อทดสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *C. cruenta* โดยสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าน้ำแขวนลอยของสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ดี คือ สูตรสำเร็จชนิดแกรนูลมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 50.50 -88.50 เปอร์เซ็นต์ และสูตรสำเร็จชนิดผงมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 45.25 -87.75 เปอร์เซ็นต์ โดยสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 และ 28 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ ค่อนข้างคงที่ในช่วงเริ่มต้น-เดือนที่ 2 และลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วงเดือนที่ 4-6 ส่วนสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่เดือนแรก โดยสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในระยะเวลา 1 เดือน พบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์มากที่สุด คือ 88.50 เปอร์เซ็นต์ และสูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาเริ่มต้น.หลังจากผลิตสูตรสำเร็จเสร็จสิ้น พบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์มากสุด คือ 87.75 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 8 และ ภาพที่ 11)

จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และ *C. cruenta* โดยสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซียส มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ทั้ง 3 เชื้อได้ดีกว่าสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร ที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 28 และ 40 องศาเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน สอดคล้องกับการทดลองของ Sabaratnam และ Traquair (2002) ได้ศึกษาการผลิตสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces* sp. ในรูปแบบเม็ด แบบแกรนูลและแบบผงเปียก

น้ำ เก็บสูตรสำเร็จไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่าสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เชื้อ *Streptomyces* sp. มีชีวิตรอดและมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Rhi. solani* สาเหตุโรค damping-off ได้สูงกว่าสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส และได้ศึกษาสูตรสำเร็จในรูปแบบเม็ด แบบแกรนูลและแบบผง พบว่าสูตรสำเร็จแบบผงสามารถควบคุมเชื้อ *Rhi. solani* ได้ดีที่สุด โดยสามารถควบคุมได้ 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแบบแกรนูลและแบบเม็ดสามารถควบคุมได้ 30 และ 22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับการทดลองในครั้งนี้ คือสูตรสำเร็จแบบแกรนูลมีปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 มากที่สุดและมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และ *C. cruenta* สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาวได้สูงกว่าสูตรสำเร็จ *S. philanthi* RL-1-178 แบบผงทั้ง 2 สูตร อาจเนื่องจากในสูตรสำเร็จแบบแกรนูล มีส่วนผสมของ lactose monohydrate ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดี และเป็นแหล่งอาหารให้กับเชื้อ พบปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 อยู่รอดมากกว่าสูตรสำเร็จแบบผง จึงทำให้สูตรสำเร็จแบบแกรนูลของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 สามารถการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคได้ดี



ภาพที่ 8 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 หลังจากการผลิต 24 ชั่งโมง ต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา ที่อุณหภูมิห้อง (26-28 °C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ก. เชื้อรา *Uromyces vignae* ในน้ำแขวนลอยของสูตรสำเร็จ

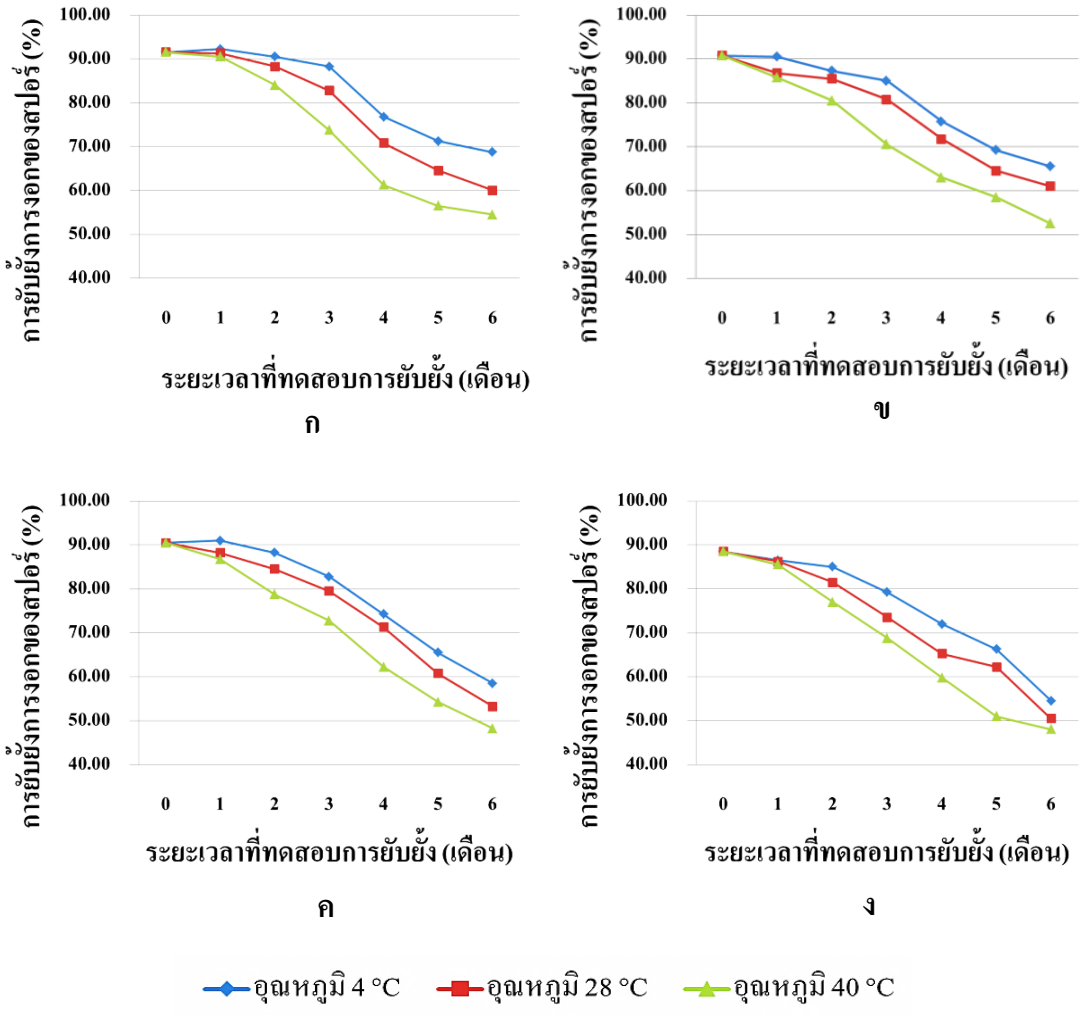
ข. เชื้อรา *Uromyces vignae* ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

ค. เชื้อรา *Oidium* sp. ในน้ำแขวนลอยของสูตรสำเร็จ

ง. เชื้อรา *Oidium* sp. ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

จ. เชื้อรา *Cercospora cruenta* ในน้ำแขวนลอยของสูตรสำเร็จ

ฉ. เชื้อรา *Cercospora cruenta* ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ



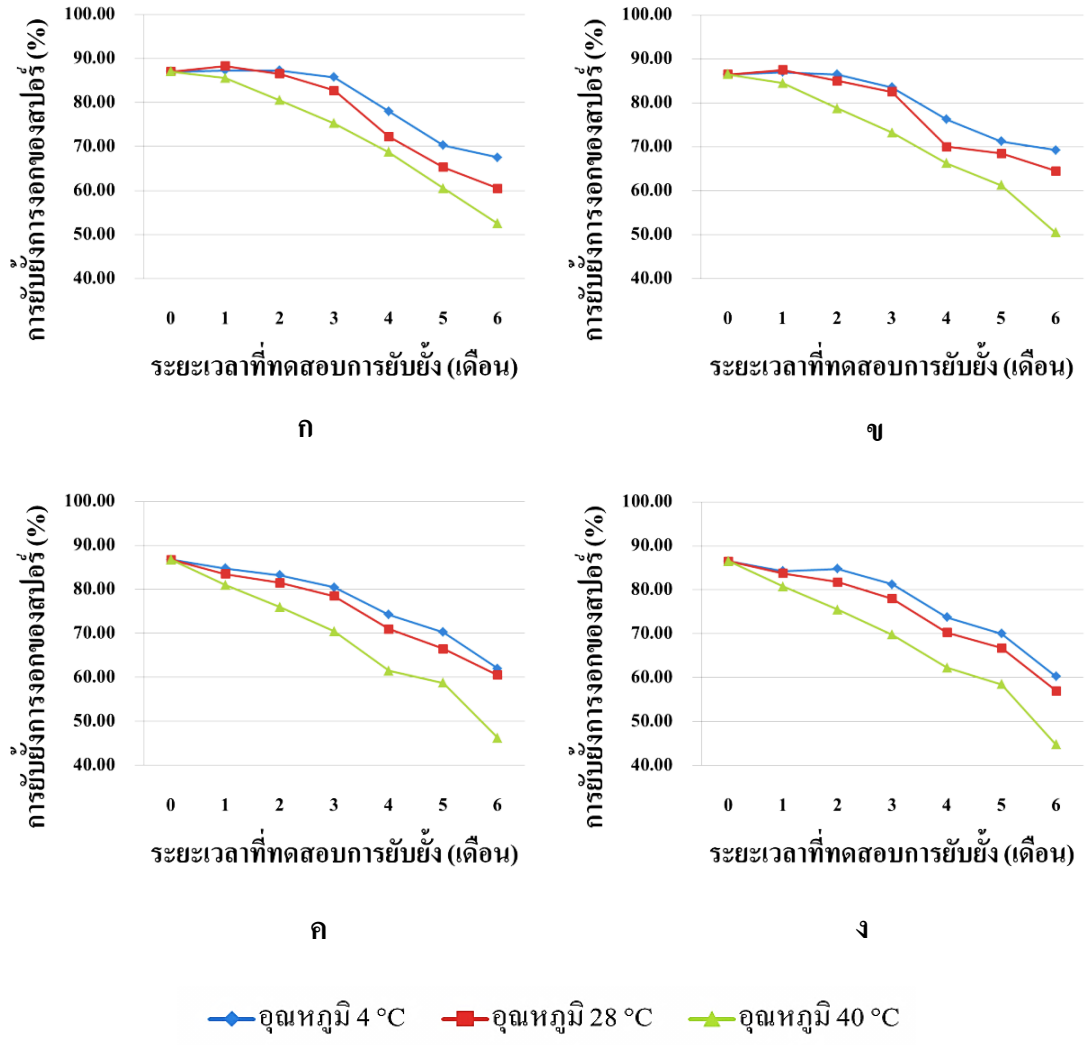
ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 เมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน

ก. สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1

ข. สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 2

ค. สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1

ง. สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 2



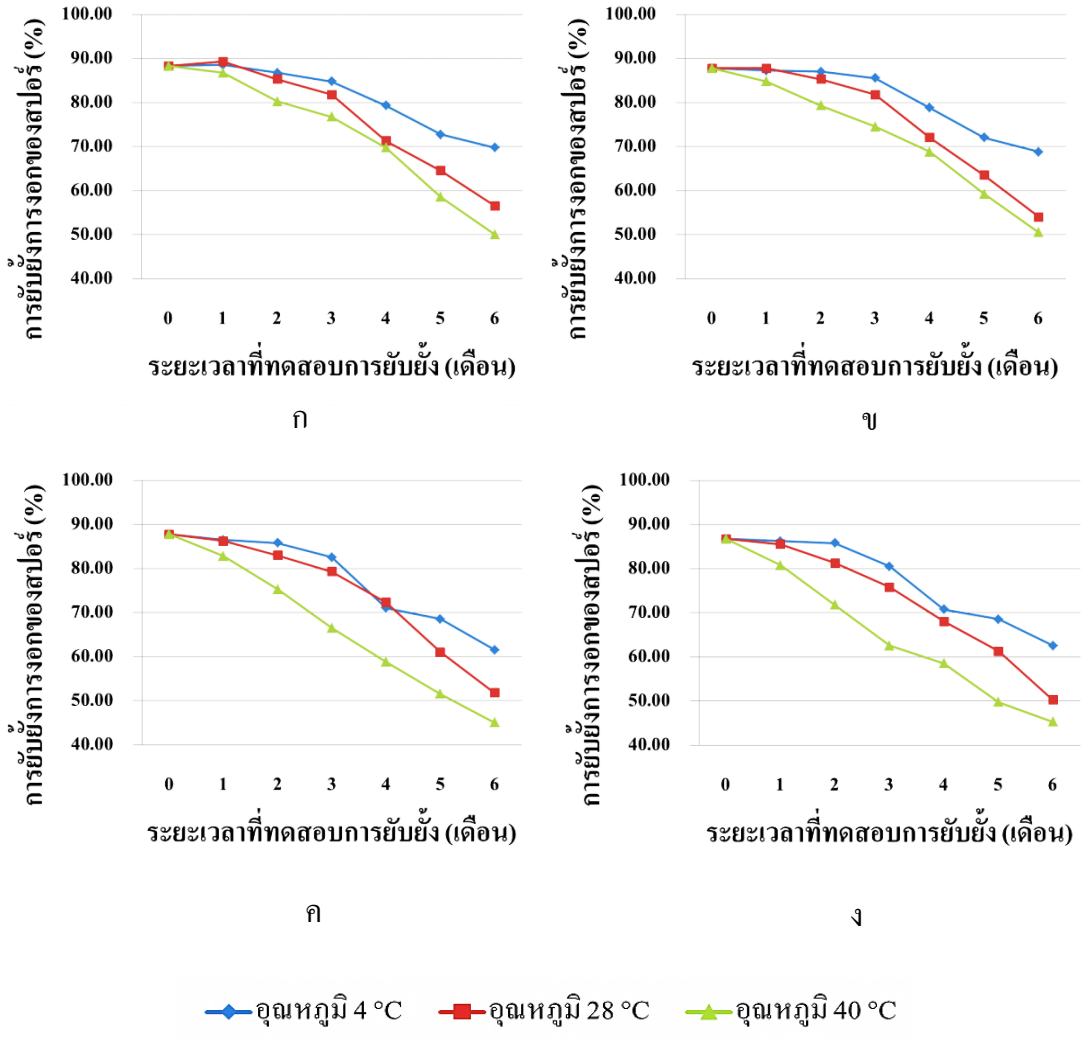
ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oiduum* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 เมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน

ก. สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1

ข. สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 2

ค. สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1

ง. สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 2



ภาพที่ 11 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 เมื่อเก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน

ก. สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1

ข. สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 2

ค. สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1

ง. สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 2

5 การติดใบของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 บนใบของต้นถั่วฝักยาว

นำสูตรสำเร็จแบบแกรนูลและแบบผงที่ได้มาละลายน้ำให้มีความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และตรวจนับปริมาณเชื้อที่ติดอยู่บนใบถั่วฝักยาว หลังการพ่นเป็นเวลา 1, 4 และ 7 วัน โดยวิธี dilution spread plate จากการทดสอบพบว่าสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร สามารถฉีดพ่นได้ง่าย ไม่อุดตันหัวฉีด เมื่อพ่นสูตรสำเร็จบนใบถั่วฝักยาวที่ระยะเวลา 7 วัน พบมีปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 อยู่ในช่วง 0.46 – 0.72 x 10^5 cfu/g ติดกระจายตัวอยู่ทั่วบริเวณผิวของใบถั่วฝักยาว โดยใบถั่วฝักยาวที่พ่นด้วยสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1 มีปริมาณของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับใบถั่วฝักยาวที่พ่นด้วยสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 2 และสูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 และเมื่อพ่นสูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 บนใบถั่วฝักยาว พบสูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 อยู่บนใบถั่วฝักยาวมากที่สุด หลังจากพ่นสูตรสำเร็จเป็นเวลา 1 และ 4 วัน คือ 6.73 x 10^5และ 4.68 x 10^5 cfu/g ในระยะแรกพบเชื้อปริมาณมากในทั้ง 4 สูตรที่ทดสอบ โดยสูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1 มีปริมาณเชื้อมากกว่าสูตรอื่นๆ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีปริมาณลดลงในวันที่ 4 และ 7 วันหลังการพ่นสูตรสำเร็จต่างๆ อาจเนื่องด้วยสูตรสำเร็จแบบผง เมื่อละลายน้ำทำเป็นแบคทีเรียแขวนลอย ทำให้ปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 กระจายได้ดีกว่าสูตรสำเร็จแบบแกรนูล และเนื่องจากสูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1 มีปริมาณของ kaolin มากกว่าสูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 2 ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยในการยึดเกาะได้ดี จึงทำให้ใบถั่วที่พ่นด้วยสูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1 มีปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 สูงกว่าสูตรสำเร็จอื่นๆ (ตารางที่ 6) สอดคล้องกับการศึกษาของอมรรัตน์ ชุมทอง (2547) พบว่าเมื่อฉีดพ่นสูตรสำเร็จที่มีสารยึดเกาะเป็นส่วนประกอบในปริมาณมาก ยังคงมีแบคทีเรีย *Bacillus firmus* อยู่รอดบนใบและก้านของใบถั่วหรั่งถึง 2.2 x 10^6 และ 3.3 x 10^6 cfu/g ตามลำดับ

เมื่อนำส่วนใบของถั่วฝักยาวที่พ่นด้วยสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 และสูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1 มาศึกษาทางจุลสัณฐานวิทยาของสปอร์เชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 ติดกระจายตัวอยู่ทั่วบริเวณผิวของใบถั่วฝักยาว (ภาพที่ 12)

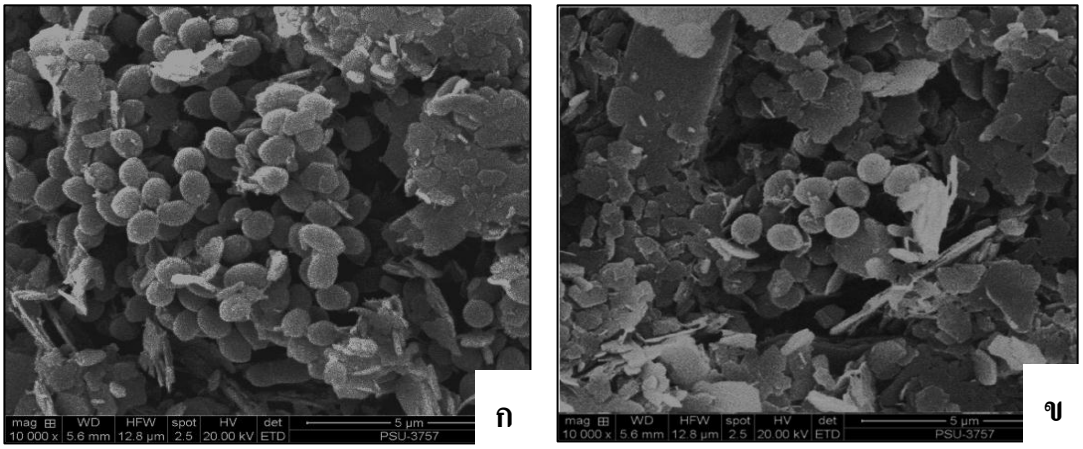
ตารางที่ 6 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 บนใบของถั่วฝักยาว หลังจากพ่นสูตรสำเร็จต่างๆ เป็นเวลา 1, 4 และ 7 วัน

สูตรสำเร็จ	ปริมาณเชื้อของสูตรสำเร็จ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 (x 10^5 cfu/g)[1/]		
	หลังพ่น 1 วัน	หลังพ่น 4 วัน	หลังพ่น 7 วัน
ชนิดแกรนูลสูตรที่ 1 (1.5 กรัมในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	5.03 ± 0.62c[2/]	3.73 ± 0.22b	0.72 ± 0.11a
ชนิดแกรนูลสูตรที่ 2 (1.5 กรัมในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	4.70± 0.42c	2.68 ± 0.13c	0.57 ± 0.09ab
ชนิดผงสูตรที่ 1 (1.5 กรัมในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	6.73 ± 0.10a	4.68 ± 0.15a	0.69 ± 0.03a
ชนิดผงสูตรที่ 2 (1.5 กรัมในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	6.10 ± 0.08b	4.10 ± 0.29b	0.46 ± 0.16b
ชุดควบคุม(น้ำกลั่น) (50 มล./ต้น)	0.00 ±0.00d	00.00 ±0.00d	00.00 ±0.00c
F-test	*	*	*
C.V.(%)	1.45	0.94	0.47

* = แตกต่างทางสถิติที่ $P < 0.05$

[1/] ค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรของ *S. philanthi* RL-1-178 หลังจากพ่นสูตรสำเร็จต่าง ๆ เป็นเวลา 1, 4 และ 7 วัน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test



ภาพที่ 12 จุลสัณฐานวิทยาของสปอร์เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด บนใบของถั่วฝักยาว หลังการพ่น 1 วัน

ก. เชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1

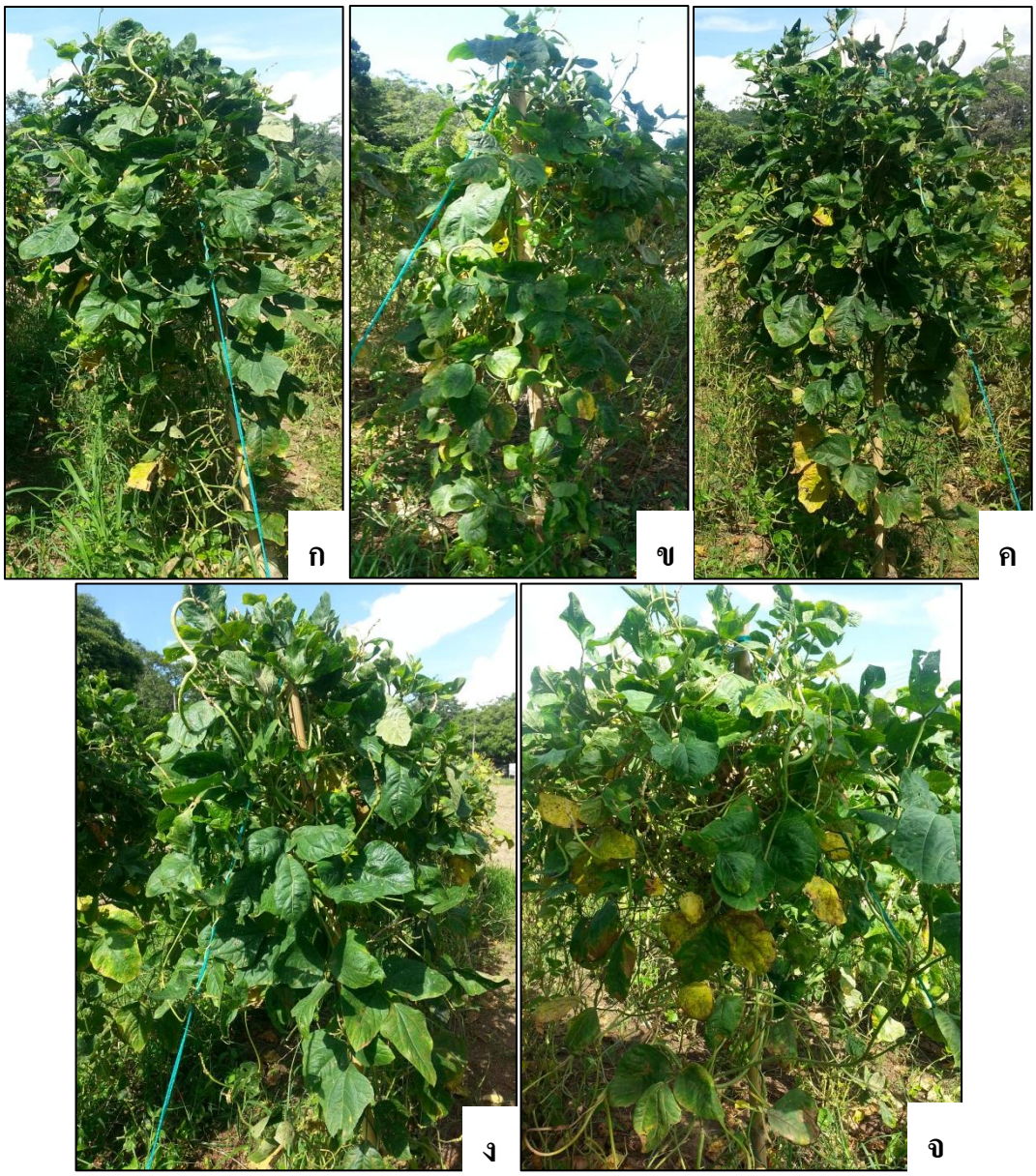
ข. เชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1

6 ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 โดยสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1 และน้ำแบคทีเรียแขวนลอย *S. philanthi* RL-1-178 เปรียบเทียบกับการพ่นด้วยสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม และชุดควบคุม (น้ำกลั่น) ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว 3 ชนิด คือ เชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และเชื้อ *C. cruenta* พบว่าในกรรมวิธีพ่นด้วยสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม มีระดับความรุนแรงของโรคราสนิม โรคราแป้ง และโรคจุด ต่ำสุดคือ 1.22, 0.63 และ 0.96 ตามลำดับ การพ่นสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 และสูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1 มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคราสนิมรองลงมาจากการใช้สารเคมี โดยระดับความรุนแรงของโรคราสนิม คือ 1.67 และ 1.78 ตามลำดับ ดัชนีการเกิดโรคคือ 33.33 และ 35.56 ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค คือ 50.54 และ 47.25 ตามลำดับ การพ่นสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคราแป้งรองลงมาจากการใช้สารเคมี โดยระดับความรุนแรงของโรคราแป้ง ดัชนีการเกิดโรค และเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคคือ 0.85, 17.04 และ 64.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการพ่นสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบจุดไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา โดยระดับความรุนแรงของโรคใบจุด ดัชนีการเกิดโรค และเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคคือ 1.07,

21.48 และ 65.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีมีประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จต่อการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม (ภาพที่ 13) (ตารางที่ 7 และตารางที่ 8)

ปริมาณผลผลิตของถั่วฝักยาวที่ได้ในแต่ละกรรมวิธีทดลองนั้น พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม ให้ปริมาณผลผลิต คือ 2,965 กก./ไร่ การพ่นด้วยสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 สูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1 และน้ำแบคทีเรียแขวนลอย *S. philanthi* RL-1-178 ให้ปริมาณผลผลิต คือ 2,869, 2,816 และ 2,752 กก./ไร่ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุม คือ 2,528 กก./ไร่ แสดงให้เห็นว่าการพ่นด้วยสูตรสำเร็จ *S. philanthi* RL-1-178 ลงบนต้นถั่วฝักยาวก่อนพืชแสดงอาการเป็นโรคส่งผลให้ผลผลิตของถั่วฝักยาวมีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามผลผลิตในทุกกรรมวิธีทดลอง ยังไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม แต่กรณีที่เกษตรกรปลูกถั่วฝักยาวในแปลงเดิมซ้ำๆ อาจเป็นแหล่งสะสมของโรคและเกิดการระบาดที่รุนแรงของโรคได้ จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่นำไปใช้เพื่อป้องกันและควบคุมโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราของถั่วฝักยาวได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Haggag และ Saleh (2012) ได้รายงานว่า เชื้อ *Streptomyces aureofaciens* และ *Pseudomonas putida* 1 สามารถยับยั้งเชื้อ *Botrytis cinerea* สาเหตุโรคราสีเทาขององุ่น และเชื้อ *Coll. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสขององุ่นได้ จึงพัฒนาเชื้อปฏิปักษ์ในรูปแบบของสารชีวภัณฑ์แบบผงเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี และชุดควบคุม (น้ำกลั่น) บริเวณที่แตกต่างกัน 3 พื้นที่ คือ Kalubia, Sharkia และ Ismailia โดยตรวจสอบการเกิดโรคบริเวณใบ กิ่งอ่อน และผลขององุ่น ทำการศึกษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าสารชีวภัณฑ์ของเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสองชนิด สามารถลดการเกิดโรคราสีเทาขององุ่น และโรคแอนแทรคโนสขององุ่น โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้สารเคมีและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม ส่วนสารชีวภัณฑ์ของเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และยังช่วยให้ต้นองุ่นมีผลผลิตที่เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 13 ต้นถั่วฝักยาวอายุ 70 วัน ที่ปลูกในแปลงทดลอง

ก. พ่นด้วยสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1

ข. พ่นด้วยสูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1

ค. พ่นด้วยน้ำแบคทีเรียแขวนลอย *S. philanthi* RL-1-178

ง. พ่นด้วยสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม

จ. พ่นด้วยชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

ตารางที่ 7 ระดับความรุนแรงของโรคทางใบของถั่วฝักยาว เมื่อทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178

กรรมวิธีทดสอบ	ระดับความรุนแรงของโรค			
	โรคราสนิม[1/]	โรคราแป้ง[1/]	โรคใบจุด[2/]	ผลผลิต (กก./ไร่)
สูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1 (1.5 กรัมในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	1.67±0.11b[2/]	0.85±0.06b	1.07±0.06ab	2,869a
สูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 (1.5 กรัมในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	1.78±0.11b	1.04±0.13c	1.37±0.23bc	2,816a
เซลล์แขวนลอยของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 (1.5 มล.ในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	2.04±0.06c	1.15±0.06c	1.59±0.06c	2,752a
สารเคมีกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม 2000 μgml^{-1} (50 มล./ต้น)	1.22±0.11a	0.63±0.06a	0.96±0.17a	2,965a
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น) (50 มล./ต้น)	3.37±0.17d	2.41±0.06d	3.15±0.36d	2,528a
F-test	*	*	*	ns
C.V.(%)	0.78	0.51	1.40	6.82

* = แตกต่างทางสถิติที่ $P < 0.05$, ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

[1/]ประเมินโรคเมื่อต้นถั่วฝักยาวมีอายุ 70 วัน,[2/]ประเมินโรคเมื่อต้นถั่วฝักยาวมีอายุ 80 วัน

[2/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

ตารางที่ 8 ดัชนีการเกิดโรค และเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคทางใบของถั่วฝักยาว เมื่อทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178

กรรมวิธีทดสอบ	โรคราสนิม[1/]		โรคราแป้ง[1/]		โรคใบจุด[2/]	
	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค
สูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1 (1.5 กรัมในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	33.33±2.22b[2/]	50.54	17.04±1.28b	64.65	21.48±1.28ab	65.90
สูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 (1.5 กรัมในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	35.56±2.22b	47.25	20.74±2.57c	56.97	27.41±4.63bc	56.50
เซลล์แขวนลอยของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 (1.5 มล.ในน้ำ 48.5 มล./ต้น)	40.74±1.28c	39.55	22.96±1.28c	52.36	31.85±1.28c	49.44
สารเคมีกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม 2000 μgml^{-1} (50 มล./ต้น)	24.44±2.22a	63.73	12.59±1.28a	73.87	19.26±3.39a	69.43
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น) (50 มล./ต้น)	67.41±3.39a	0.00	48.15±1.28d	0.00	62.96±7.14d	0.00
F-test	*		*		*	
C.V. (%)	15.78	-	10.80	-	27.84	-

* = แตกต่างทางสถิติที่ $P < 0.05$

[1/]ประเมินโรคเมื่อต้นถั่วฝักยาวมีอายุ 70 วัน

[2/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

โรคทางของใบถั่วฝักยาวบริเวณจังหวัด สงขลา ที่เป็นโรคราสนิม ราแป้ง และใบจุดเซอร์คอสปอรา เกิดจากเชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และ *C. cruenta* ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้ จังหวัดสงขลา ทดสอบน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae*, *Oidium* sp. และ *Cercospora cruenta* ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์

สารประกอบในการทำสูตรสำเร็จ ไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 และการงอกของสปอร์เชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และ *C. cruenta* สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว ผลิตสูตรสำเร็จได้ 4 ชนิด คือสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 สูตรสำเร็จชนิดผงสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 โดยแต่ละสูตรมีลักษณะเป็นแกรนูลสีเทา ขนาดเท่ากัน

สูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร มีค่าเป็นกรดอ่อน พบจำนวนเชื้อมีชีวิตรอดในสูตรสำเร็จแต่ละสูตรได้ดีโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 86.00 - 91.5 เปอร์เซ็นต์ สูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 มีปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์มากสุดคือ 6.20 x 10^6cfu/g มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และ *C. cruenta* ได้ดีที่สุดคือ 91.50, 87.00 และ 88.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยลักษณะของสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตรไม่เปลี่ยนแปลงรูปร่างและสี เมื่อระยะเวลา 6 เดือน ปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 มีชีวิตรอดในทุกสูตรสำเร็จ ค่อนข้างคงที่ที่ 10^6 cfu/g และในการเก็บสูตรสำเร็จไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้ออยู่รอดและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคสูงกว่าสูตรสำเร็จที่เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 28 และ 40 องศาเซลเซียสสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตร สามารถฉีดพ่นได้ง่าย ไม่อุดตันหัวฉีด และมีชีวิตรอดได้แต่ไม่เพิ่มปริมาณบนใบถั่วฝักยาว โดยหลังจากพ่นสูตรสำเร็จทั้ง 4 สูตรเป็นเวลา 7 วัน มีปริมาณเชื้อ *S. philanthi* RL-1-178 อยู่ในช่วง 0.46 – 0.72 x 10^5 cfu/g ติดกระจายตัวอยู่ทั่วบริเวณผิวของใบถั่วฝักยาว

ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว 3 ชนิด คือ เชื้อรา *U. vignae*, *Oidium* sp. และเชื้อ *C. cruenta* ในแปลงทดลอง พบว่าในกรรมวิธีพ่นด้วยสารกำจัดเชื้อราคาร์เบนดาซิม มีระดับความรุนแรงของโรคราสนิม โรคราแป้ง และโรคจุด ต่ำสุดคือ 1.22, 0.63 และ 0.96 ตามลำดับ การพ่นสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 และสูตรสำเร็จแบบผงสูตรที่ 1 มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคราสนิมรองลงมา

จากการใช้สารเคมี โดยมีระดับความรุนแรงของโรคคือ 1.67 และ 1.78 ตามลำดับ การพ่นสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคราแป้งรองลงมาจากการใช้สารเคมี โดยมีระดับความรุนแรงของโรคคือ 0.85 และการพ่นสูตรสำเร็จแบบแกรนูลสูตรที่ 1 มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบจุดไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา โดยมีระดับความรุนแรงของโรคใบจุด คือ 1.07

เอกสารอ้างอิง

คณะกรรมาธิการเกษตรและสหกรณ์สภาผู้แทนราษฎร. 2546. สารพิษตกค้างในผัก. หน้า 195. เอกสารสรุปผลการสัมมนา เรื่องแนวทางการควบคุมและการใช้สารเคมีภัณฑ์เกษตรในไม้ผลและพืชผัก. ณ จ. นครศรีธรรมราช จ. ชัยภูมิ จ. ราชบุรี จ. ลำพูน และ จ.กำแพงเพชร.

จักรพันธ์ ศิริธัญญาลักษณ์. 2538. ยาเม็ด การผลิตวิจัยและพัฒนา. ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จิระเดช แจ่มสว่าง วรรณวิไล อินทนู และ ถวัลย์ คุ้มช้าง. 2544. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สูตรสำเร็จต่าง ๆ ในการควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2544 ครั้งที่ 39 (สาขาพืช) วันที่ 5 - 7 กุมภาพันธ์ 2544. หน้า 236-242.

ทัดทรง ทั่วทิพย์. 2534. ยาเม็ด. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮา.

ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล และ ชนิดาภา นวะพิฒ. 2555. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ด้วยเชื้อแอคติโนมัยสีท *Streptomyces hygroscopicus* PACCH24 ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนส. ว. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 14 : 1-22.

ปราโมทย์ ทิพย์ดวงตา. 2539. ยาเม็ด. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ปริศนา วงค์ล้อม. 2548. การใช้พืชสมุนไพร และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ B012-022 ควบคุมโรคราเขียว (*Trichoderma harzianum* Rifai.) ในเห็ดหูหนู และผลของกานพลู (*Eugenia aromatic* Ktze.) ต่อการควบคุมโรคทางใบของถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis* Fruw.). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปวีณา สังข์แก้ว เสมอใจ ชื่นจิตต์ และ วสันณ์ เพชรรัตน์. 2555. การคัดเลือกและเตรียมสูตรสำเร็จเชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* เพื่อควบคุมเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพารา. ว. วิทย์. กษ. 43 : 21-24.

ปวีณา สังข์แก้ว. 2556. สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* สำหรับการยับยั้งโรครากขาวของยางพารา วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พงษ์วิภา หล่อสมบูรณ์. 2529. ราสนิมในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรพรรณ อู่สุวรรณ. 2549. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมโรคเชื้อราในองุ่น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยสุรนารี.

เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล. 2545. *Streptomyces* อีกมิติหนึ่งของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. ว. แก่นเกษตร 30 : 20-27.

วานิด รอดเนียม. 2552. การคัดเลือกและพัฒนาสูตรสำเร็จเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Alternaria* spp.ในผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) ที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2549. โรคของผักและการควบคุมโรค. กรุงเทพ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภลักษณ์ มณีแสง. 2551. การคัดเลือก *Bacillus* spp. สำหรับใช้ควบคุมโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราของถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis* Fruw.) โดยชีววิธี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร. 2554. ถั่วฝักยาวพันธุ์ใหม่ พิจิตร 84-3. น.ส.พ. กสิกร. 37-40.

สมศักดิ์ วังใน. 2528. จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ.

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8. 2548. คู่มือโรคและแมลงศัตรูผักโครงการเกษตรเชิงพาณิชย์. สงขลา : บริษัทมาสเตอร์พืชแอนด์โครเซท์ จำกัด.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน์. 2540. การจัดการโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ.

สุภา พ่วงนิ่ม ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ อภิรดี อุทัยรัตนกิจ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย และ จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล. 2557. ประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพืชตระกูลกะหล่ำ. ว. วิทย์. กษ. 45 : 309-312.

เสมอใจ ชื่นจิตต์ จิราพร เพชรรัตน์ วสันณ์ เพชรรัตน์ อัจฉรา เพ็งหนู พรศิลป์ จันทวีเมือง วราพร ไชยมา สิริลักษณ์ สีหะนันท์ ภัทรพร สรรพนุเคราะห์ และชฎาภรณ์ คงแก้วศรี. 2549. การใช้ประโยชน์ของแมลงศัตรูธรรมชาติ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และจุลินทรีย์ที่มีประสิทธภาพเพื่อนำไปใช้ในการผลิตถั่วฝักยาวที่ดีและเหมาะสม (GAP). ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติภาคใต้. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เสมอใจ ชื่นจิตต์. 2550. โรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ. คู่มือการสอน คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์.

ไสว บัวแก้ว. 2552. ประเมินการใช้ *Streptomyces* spp. สำหรับควบคุมโรคราเมล็ดผัดกาดและโรคเหี่ยวของพริกขี้หนูโดยชีววิธี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อมรรัตน์ ชุมทอง. 2547. การคัดเลือกและพัฒนาสูตรตำรับของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง (*Vigna subterranean* (L.)Verdc.)ที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* Kuhn. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อัจฉรา อุทิศวรรณกุล. 2536. รูปแบบเภสัชภัณฑ์. กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Amini, J., Agapoor, Z. and Ashengroph M. 2016. Evaluation of *Streptomyces* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for the management of chickpea wilt. J. Plant Prot. 56 : 257-264.

Baker, C.J., Stavely, J.R. and Mock, N. 1985. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field condition. Plant Dis. 69 : 770-772.

Baniasadi, F., Bonjar, G.H.S., Baghizadeh, A., Karimi, N. A., Jorjandi, M., Aghighi, S. and Farokhi, P. R. 2009. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum*, causal agent of sunflower head and stem rot disease, by use of soil borne actinomycetes isolates. Agric. Biol. Sci. 4 : 146-151.

Barnett, L.H. and Barry, B. B. 1972. Descriptions and Illustration of Genera. Minneapolis, Minn : Burgess Pub.

Boukaew, S., Chuenchit, S. and Petcharat, V. 2011. Evaluation of *Streptomyces* spp. for biological control of *Sclerotium* root and stem rot and *Ralstonia* wilt of chili pepper. Bio Control 56 : 365-374.

Boukaew, S., Klinmanee, C. and Prasertsan, P. 2013. Potential for the integration of biological and chemical control of sheath blight disease caused by *Rhizoctonia solani* on rice. World J. Micro. Biot. 29 : 1885-1893.

Boukaew, S., Plubrukam, A. and Prasertsan, P. 2013. Effect of volatile substances from *Streptomyces philanthi* RM-1-138 on growth of *Rhizoctonia solani* on rice leaf. Biol. Control. 58 : 471-482.

Boukaew, S. and Prasertsan, P. 2014. Suppression of rice sheath blight disease using a heat stable culture filtrate from *Streptomyces philanthi* RM-1-138. J.Crop Protection 61 : 1-10.

Brian, B.M.G. and Deborah, R.F. 2002. Biological control of plant pathogens : research, commercialization and application in the USA. [Online] Available from http://www.apsnet.org/ online/feature /biocontrol/links.html. (18/11/2008)

Briceno, G., Schalchli, H., Mutis, A., Benimeli, C.S., Palma, G. Tortella, G.R. and Diez, C. 2016. Use of pure and mixed culture of diazinon-degrading *Streptomyces toremove* other organophosphorus pesticides. Int. Biodet. Biodeg. 114 : 193-201.

Chen, Y.Y., Chen, P.C. and Tsay, T.T. 2016. The biocontrol efficacy and antibiotic activity of *Streptomyces plicatus* on the oomycete *Phytophthora capsici*. Biol. Control 98 : 34-42.

Cheng, G., Liu, F., Huang, Y., Yang, H., Yao, J., Shen, H. and Xu, J. 2014. Colonization of *Streptomyces felleus* YJ1 and its effects on disease resistant-related enzymes of oilseed rape. J. Agri. Scie. 6 : 26-33.

Cook, R.J. 1993. The role of biological control in pest management in the 21st century. p. 1020 *In* : R.D. Lumsden and J.L. Vaughn. (eds.). American Chemical Society Conference Proceedings Series. Pest Management Biologically Based Technologies.

Coombs, J.T. and Franco, C.M.M. 2003. Isolation and identification of actinobacteria from surface sterilized wheat roots. Appl. Environ. Microbiol. 69 : 5603-5608.

Czoch, W.P. and Mordarski M. 1988. Actinomycete enzymes, pp. 219-283. *In* M. Goodfellow, S.T. Williams and M. Mordarski, eds. Actinomycetes in Biotechnology. San Diego : Academic Prees.

Danaei, M., Baghizadeh, A., Pourseyedi, S., Amini J. and Yaghoobi, M. M. 2014. Biological control of plant fungal diseases using volatile substances of *Streptomyces griseus*. J. Exper. Biol. 4 : 334-339.

Dhanasekaran, D., Sivamani, P., Panneerselvam, A., Thajuddin, N., Rajakumer, G. and Selvamani, S. 2005. Biological control of tomato seedling damping-off with *Streptomyces* sp. Plant Pathol. 4 : 91-95.

Dietz, A. and Mathews, J. 1971. Classification of *Streptomyces* spore surfaces into five groups. Appl. Microbiol. 21 : 527-533.

El-Abyad, M.S., EI-Abyad, M.A., EI-Shanshoury, A.R. and EI-Sabbagh, S.M. 1993. Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp. Plant Soil 149 : 185-195.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hypomycetes. Aberystwyth : Cambrian News.

Emerson, R., Reis, I., Martins, M.K., Lcio, J. and Magali, J. 2012. Antibiotics produced by *Streptomyces*. Braz. J. infect. dis. 16 : 466-471.

Errakhi, R., Bouteau, F., Lebrihi, A. and Barakate, M. 2007. Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). World J. Micro. Biot. 23 : 1503-1509.

Ezziyyani, M., Requena, M.E., Egea-Gilabert, C. and Candela, M.E. 2007. Biological control of phytophthora root rot of pepper using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in combination. Phytopath. 155 : 342-349.

Gomes, R.C., Semedo, L.T.A.S., Soares, R.M.A., Alviano, C.S., Linhares, L.F. and Coelho, R.R.R. 2001. Purification of a thermostableendo chitinase from *Streptomyces* RC1071 isolated from a Cerrado soil and its antagonism against phytopathogenic fungi. J. Appl. Microbiol. 90 : 653-661.

Grahovac, J., Grahovac M., Dodi, J., Baji, B. and Bala, J. 2014. Optimization of cultivation medium for enhanced production of antifungal metabolites by *Streptomyces hygroscopicus*. Crop Prot. 65 : 143-152.

Haggag, W.M. and Abdall, A.M. 2011. Foliar application of *Streptomyces aureofaciens* improve protection in mango against post-harvest anthracnose and enhances fruit yield. J. Sci. Research. 63 : 139-149.

Haggag, W.M. and Saleh, M.A.E. 2012. Application and formulations of *Streptomyces aureofaciens* and *Pseudomonas putida* for management of grape anthracnose and grey mould diseases. J. Sci. Research. 91 : 174-183.

Hastuti, R.D., Lestari, Y., Saraswati, R., Suwanto, R. and Chaerani. 2012. Capability of *Streptomyces* spp. in controlling bacterial leaf blight disease in rice plants. Agri. Biol. Sci. 7 : 217-223.

Heng, J.L.S., Shah, U.K., Rahman, N.A.A., Shaari, K. and Hamzah, H. 2015. *Streptomyces ambofaciens* S2-A potential biological control agent for *Colletotrichum gleosporioides* the causal agent for anthracnose in red chilli fruits. J. Plant. Pathol. Micro. Doi : 10.4172/2157-7471. S1-006.

Jiun-Yan, W., H. Jenn-Wen, S. Hsin-Der, L., Wei-Chen and Yung-Chuan, L. 2008. Optimization of cultivation conditions for fungichromin production from *Streptomyces padanus* PMS-702. J. Chinese Inst. Chem. Engineers. 39 : 67-73.

Kamal, R. and Sharma, A.K. 2014. Control of Fusarium wilt using biological agent *Streptomyces* sp. CPP-53 isolated from compost with plant growth promoting effect on tomato under greenhouse condition. J. Microbiol. Antimicrob. 6 : 67-103.

Kanini, G.S., Katsifas, E.A., Savvides, A.L. and Karagouni, A.D. 2013. *Streptomyces rochei* ACTA1551, an indigenous Greek isolate studied as a potential biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici.* Bio. Med. Rese. Inter. Doi :10.1155/2013/387230.

Khamna, S, Yokota, A., Peberdy, J.F. and Lumyong, S. 2010. Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. J. BioSci. 4 : 23-32.

Kieser, T., Bibb, M.J., Buttner, M.J., Chater, K.F. ang Hopwood, D.A., 2000. Practical *Streptomyces* Genetics. Norwich, UK: John Innes Foundation.

Koike, T.S. and Saenz, S.G. 1998. First report of powdery mildew, caused by an *Oidium* sp. in California. Plant Dis. 82 : 128.

Li, J., Liu, W., Luo, L., Dong, D., Liu, T., Zhang, T., Lu, C., Liu, D., Zhang, D. and Wua, H. 2015. Expression of *Paenibacillus polymyxa* b-1,3-1,4-glucanase in *Streptomyces lydicus* A01 improves its biocontrol effect against *Botrytis cinerea*. Biol. Control 90 : 141–147.

Li, Q., Jiang, Y., Ning, P., Zheng, L., Huang, J., Li, G., Jiang, D. and Hsiang, T. 2011. Suppression of *Magnaporthe oryzae* by culture filtrates of *Streptomyces globisporus* JK-1. Canada Biol. Control 58 : 139-148.

Li, Q., Ning, P., Zheng, L., Huang, J., Li, G. and Hsiang, T. 2011. Fumigant activity of volatiles of *Streptomyces globisporus* JK-1 against *Penicillium italicum* on *Citrus microcarpa*. Post. Biol. Tech. 58: 157-165.

Li, Q., Ning, P., Zheng, L., Huang, J., Li, G. and Hsiang, T. 2012. Effects of volatile substances of *Streptomyces globisporus* JK-1 on control of *Botrytis cinerea* on tomato fruit. Biol. Control. 61 : 113-120.

Mahadevan, B. and Crawford, D.L. 1997. Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC108. Enz. Micro. Tech. 20 : 489- 493.

Minuto, A., Spadaro, D., Garibaldi, A. and Gullino, M.L. 2006. Control of soilborne pathogens of tomato using a commercial formulation of *Streptomyces griseoviridis* and solarization. Crop Prot. 25 : 468-475.

Mohamede, B. and Benalib, S. 2009. Formulation of *Streptomyces* antagonist with inert and organic charges against *Mycosphaerll*a foot rot and blight. Sci. Tech. 31 : 33-38.

Mohamede, B. and Benalib, S. 2010. The talc formulation of *Streptomyces* antagonist against *Mycosphaerella* foot rot in pea (*Pisum sativum* l.) seedlings. Archives Phyt. Plant Prot. 43 : 438-445.

Mukherjee, P.K., Saha, B.P., Pal, M. and Das, J. 1996. Antifungal activities of the leaf extract of *Cassia tora* Linn. (Fam. Leguminosae). Phytother. Res. 10 : 521 - 522.

Noronha, E.F. and Ulhoa, C.J. 2000. Characterization of a 29-KDa β-1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum*. Fed. Eur. Microbiol. Soc. 183 : 119-123.

Pornsuriya, C. and Sunpapao, A. 2014. Formulations of *Streptomyces philanthi* RL-1-178 biocontrol agent against *Sclerotium* root and stem rot of chili pepper (*Capsicum annuum* L.). Philippine Agri. Scie. 97 : 273-279.

Prabavathy, V.R., Mathivanan, N. and Murugesan, K. 2006. Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolite produced by *Streptomyces* sp. PM5. Biol. Control. 39 : 313-319.

Prapagdee, B., Kuekulvong, C. and Mongkolsuk, S. 2008. Antifungal potential of extracellular metabolite produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. Biol. Sci. 4 : 330-337.

Priya1, E., Thenmozhi1, R., Nagasathya, A., Kumar, D.P., Thajuddin, N. and Muralitharan, G. 2014. Antagonistic potential of *Streptomyces flavomacrosporus* GACMPT-57 against plant pathogens. J. Micro. Biot. Res. 4 : 68-73.

Quecine, M.C., Araujo, W.L., Marcon, J., Gai, C.S., Azevedo, J.L. and Pizzirani-Kleiner, A.A 2008. Chitinolytic activity of endophytic *Streptomyces* and potential for biocontrol. Appl. Microbiol. 47 : 486–491.

Sabaratnam, S. and Traquair, J.A. 2002. Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of *Rhizoctonia* damping-off in tomato transplants. Biol. Control 23 : 245-253.

Sadeghi, A., Hessan, A.R., Askari, H., Aghighi, S. and Bonjar, G.H.S. 2006. Biological control potential of two *Streptomyces* isolates on *Rhizoctonia solani*, the causal agent of damping-off of sugar beet. Biol. Sci. 9 : 904-910.

Skujins, J.J., Potgieter, H.J. and Alexander, M. 1965. Dissolution of fungal cell walls by *Streptomyces* chitinase and β-1,3-glucanase. Arch. Biochem. Biophys. 11 : 358-364.

Sowndhararajan, K. and Kang, S. C. 2012. *In vitro* antagonistic potential of *Streptomyces* sp. AM-S1 against plant and human pathogens. J. Agri. Chem. Envi. 1 : 41-47.

Swan, D.G., Rodriguez, A.M., Vilches, C., Mendez, C. and Salas, J.A. 1994. Characterisation of a *Streptomyces antibioticus* gene encoding a type I polyketide synthase which has an unusual coding sequence. Mol. Gen. Genet. 242 : 358-362.

Tamreihaoa, K., Ningthoujama, D. S. and Nimaichanda, S. 2016. Biocontrol and plant growth promoting activities of a *Streptomyces corchorusii* strain UCR3-16 and preparation of powder formulation forapplication as biofertilizer agents for rice plant. Microbiol. Research 192 : 260-270.

Tan, H.M., Cao, L.X., He, Z.F., Su, G.J., Lin, B. and Zhou, S.N. 2006. Isolation of endophytic actinomycetes from different cultivars of tomato and their activities against *Ralstonia solanacearum*. Micro. Biot. 22 : 1275-1280.

Thummabenjapone, P. and Pachinburavan, A. 2002. *Streptomyces* potential biological control agent for bacterial fruit blotch and gummy stem blight disease of cucurbits. The First International Conferences on Tropical and Subtropical Plant Diseases. November 5-8. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand. pp. 6-8.

Tokala, R.K., Strap, J.L., Jung, C.M., Crawford, D. L., Salove, M. H., Deobald, L. A., Bailey, J. F. and Morra, M. J. 2002. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). Appl. Environ. Microbiol. 68 : 2161-2171.

Toumatia, O., Compant, S., Yekkour A., Goudjal Y., Sabaoua, N., Mathieud, F., Sessitsch, A. and Zitouni, A. 2016. Biocontrol and plant growth promoting properties of *Streptomyces mutabilis* strain IA1 isolated from a Saharan soil on wheat seedlings and visualization of its niches of colonization. South African J. 105 : 234-239.

Tresner, H.D., Davies, M.C. and Backus, E.J. 1961. Electron microscopy of *Streptomyces* spore morphology and its role in species differentiation. Bacteriol. 81 : 70-80.

Wan, M., Li, G., Zhang, J., Jiang, D. and Huang, H. 2008. Effect of volatile substances of *Streptomyces platensis* F-1 on control of plant fungal diseases. Biol. Control 46 : 552-559.

Wiwattanapatapee, R., Chumthong, A., Pengnoo, A. and Kanjanamaneesathian, M. 2007. Effervescent fast-disintegrating bacterial formulation for biological control of rice sheath blight. J. Control Rel. 119 : 229-235.

Zacky, F.A. and Ting, A.S.Y. 2013. Investigating the bioactivity of cells and cell-free extracts of *Streptomyces griseus* towards *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. Biol. Control 66 : 204-208.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Glucose yeast extract malt extract agar (GYMA) ประกอบด้วย

Yeast extract	4	กรัม
Malt extract	10	กรัม
Glucose	4	กรัม
Agar	14	กรัม
Distilled water	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร ต้ม จนส่วนผสมกับวุ้นละลายในน้ำผสมให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

2. Glucose yeast extract malt extract Broth (GYMB) ประกอบด้วย

Yeast extract	4	กรัม
Malt extract	10	กรัม
Glucose	4	กรัม
Distilled water	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที

3. Potato dextrose agar (PDA)

Potato	200	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

นำมันฝรั่งที่ปอกเปลือกแล้วล้างน้ำให้สะอาด ตัดออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ สี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จนมันฝรั่งสุก จึงนำมากรองด้วยผ้าขาวบางเอาเนื้อมันฝรั่งออก ต้ม และคนจนน้ำตาล dextrose ละลาย จึงนำส่วนผสมน้ำกับวุ้นละลายในน้ำ 500 มิลลิลิตรใส่ขวดหรือหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

ภาคผนวก ข

ตารางภาคผนวกที่ 1 จำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน

สูตรสำเร็จ	ปริมาณเชื้อในสูตรสำเร็จ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 เดือน (x 10^6 cfu/g) [1/]						
	เริ่มต้น	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 4 °C	6.20±1.28a[2/]	6.33±0.71a	6.55±0.44a	6.38±0.62a	5.63±1.02a	5.25±0.48a	5.05±0.40a
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 28 °C	6.20±1.28a	6.43±0.42a	6.40±0.43a	5.93±0.38ab	5.30±0.35ab	5.15±0.59a	4.93±0.61a
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 40 °C	6.20±1.28a	6.20±1.09a	5.83±0.90b	5.63±1.05bc	5.08±0.88ab	4.60±0.76b	4.25±0.53b
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 4 °C	5.23±0.15a	5.28±0.32b	5.45±0.38bc	5.38±0.25bcd	5.23±0.05ab	5.15±0.13a	5.03±0.21a
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 28 °C	5.23±0.15a	5.33±0.28b	5.28±0.10c	5.13±0.15cd	5.03±0.13ab	4.95±0.25ab	4.80±0.16b
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 40 °C	5.23±0.15a	5.15±0.10b	5.00±0.16c	4.80±0.22d	4.75±0.31b	4.53±0.36b	4.35±0.31c
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 4 °C	2.68±0.18b	2.71±0.11c	2.66±0.28d	2.62±0.15e	2.44±0.19c	2.36±0.13c	2.32±0.10c
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 28 °C	2.68±0.18b	2.62±0.07c	2.51±0.10d	2.45±0.10e	2.21±0.08c	2.19±0.11c	2.08±0.10c
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 40 °C	2.68±0.18b	2.43±0.14c	2.35±0.11d	2.21±0.08e	2.15±0.06c	2.06±0.05c	1.98±0.06c
ชนิดผง (สูตรที่ 2) เก็บที่ 4 °C	1.21±0.03c	1.34±0.08d	1.30±0.08e	1.23±0.06f	1.08±0.07d	0.92±0.14d	0.83±0.08d
ชนิดผง (สูตรที่ 2) เก็บที่ 28 °C	1.21±0.03c	1.33±0.17d	1.25±0.13e	1.23±0.07f	0.95±0.12d	0.83±0.08d	0.75±0.07d
ชนิดผง(สูตรที่ 2) เก็บที่ 40 °C	1.21±1.28c	1.14±0.03d	1.06±0.07e	1.23±0.08f	0.81±0.11d	0.71±0.07d	0.62±0.07d
C.V. (%)	1.35	0.88	0.73	0.81	0.88	0.72	0.61

[1/]ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อในสูตรสำเร็จ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

ตารางภาคผนวกที่ 2 การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลา 6 เดือน

สูตรสำเร็จ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae*[1/]						
	เริ่มต้น	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 4 °C	91.50±0.58a[2/]	92.25±0.50a	90.50±1.29a	88.25±0.50a	76.75±2.75a	71.25±1.50a	68.75±2.99a
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 28 °C	91.50±0.58a	91.25±0.50a	88.25±0.96b	82.75±0.96bc	70.75±2.22c	64.50±2.65bc	60.00±1.63b
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 40 °C	91.50±0.58a	90.50±0.58a	84.00±1.41d	73.75±1.50e	61.25±2.22ef	56.50±1.73fg	54.50±4.65cd
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 4 °C	90.75±0.50a	90.50±0.58a	87.25±0.96bc	85.00±0.82b	75.75±2.22a	69.25±2.99a	65.50±2.38a
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 28 °C	90.75±0.50a	86.75±0.96bc	85.50±1.29cd	80.75±1.50cd	71.75±1.26bc	64.50±1.73bc	61.00±3.37b
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 40 °C	90.75±0.50a	85.75±0.50c	80.50±1.29ef	70.50±1.91fg	63.00±1.41de	58.50±1.91ef	52.50±2.08d
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 4 °C	90.50±0.58a	91.00±0.82a	88.25±0.50b	82.75±0.96bc	74.25±1.26ab	65.50±1.29b	58.50±3.42bc
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 28 °C	90.50±0.58a	88.25±1.50b	84.50±1.29d	79.50±2.89cd	71.25±1.50c	60.75±1.50de	53.25±2.75d
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 40 °C	90.50±0.58a	86.75±2.22bc	78.75±2.50fg	72.75±4.11ef	62.25±0.50ef	54.25±1.71h	48.25±2.36e
ชนิดผง (สูตรที่ 2) เก็บที่ 4 °C	88.50±1.29b	86.50±1.91bc	85.00±0.82d	79.25±2.22cd	72.00±0.82bc	66.25±1.89b	54.50±3.42cd
ชนิดผง (สูตรที่ 2) เก็บที่ 28 °C	88.50±1.29b	86.25±1.50c	81.50±1.73e	73.50±3.11ef	65.25±2.06d	62.25±0.50cd	50.50±2.38de
ชนิดผง(สูตรที่ 2) เก็บที่ 40 °C	88.50±1.29b	85.50±1.29c	77.00±1.83g	68.75±2.22g	59.75±2.06f	51.00±2.45i	48.00±2.45e
ชุดควบคุม	0.00±0.00c	0.00±0.00d	0.00±0.00h	0.00±0.00h	0.00±0.00g	0.00±0.00j	0.00±0.00f
C.V. (%)	1.48	2.25	2.61	3.98	3.33	3.56	5.41

[1/]ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignae* หลังจากการทดสอบ 24 ชั่วโมง เฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

ตารางภาคผนวกที่ 3 การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oiduum* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลา 6 เดือน

สูตรสำเร็จ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oiduum* sp.[1/]						
	เริ่มต้น	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 4 °C	87.00±0.82a[2/]	87.25±1.26ab	87.25±0.96a	85.75±0.96a	78.00±2.16a	70.25±1.26a	67.50±2.08ab
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 28 °C	87.00±0.82a	88.25±0.50a	86.50±1.29a	82.75±1.71bc	72.25±1.71cd	65.25±2.06c	60.50±1.91de
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 40 °C	87.00±0.82a	85.50±0.58bc	80.50±1.29cd	75.25±1.50f	68.75±1.89e	60.50±1.91d	52.50±2.08f
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 4 °C	86.50±0.58a	87.00±0.82ab	86.50±0.58a	83.50±2.38ab	76.25±1.50ab	71.25±1.50a	69.25±2.22a
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 28 °C	86.50±0.58a	87.50±0.58a	85.00±1.41ab	82.50±0.58bc	70.00±1.63de	68.50±2.38ab	64.50±2.65bc
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 40 °C	86.50±0.58a	84.50±0.58cd	78.75±2.50d	73.25±0.96f	66.25±1.71f	61.25±0.96d	50.50±4.12f
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 4 °C	86.75±0.96a	84.75±1.71cd	83.25±1.89bc	80.50±1.91cd	74.25±1.26bc	70.25±2.06a	62.00±1.41cd
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 28 °C	86.75±0.96a	83.50±1.00d	81.50±1.73c	78.50±2.38de	71.00±1.15de	66.50±3.00bc	60.50±2.65de
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 40 °C	86.75±0.96a	81.00±1.83e	76.00±2.94e	70.50±1.91g	61.50±1.00g	58.75±2.75d	46.25±2.06g
ชนิดผง (สูตรที่ 2) เก็บที่ 4 °C	86.50±0.58a	84.25±2.06cd	84.75±1.26ab	81.25±1.50bc	73.75±1.50c	70.00±2.16a	60.25±2.63de
ชนิดผง (สูตรที่ 2) เก็บที่ 28 °C	86.50±0.58a	83.75±0.96cd	81.75±1.26c	78.00±1.83e	70.25±2.36de	66.75±2.75bc	57.00±2.94e
ชนิดผง(สูตรที่ 2) เก็บที่ 40 °C	86.50±0.58a	80.75±1.50e	75.50±3.32e	69.75±1.71g	62.25±1.71g	58.50±1.73d	44.75±0.96g
ชุดควบคุม	0.00±0.00b	0.00±0.00f	0.00±0.00f	0.00±0.00h	0.00±0.00h	0.00±0.00e	0.00±0.00h
C.V. (%)	1.38	1.21	3.46	3.13	3.09	3.93	4.49

[1/]ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oiduum* sp. หลังจากการทดสอบ 24 ชั่วโมง เฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

ตารางภาคผนวกที่ 4 การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกันเป็นเวลา 6 เดือน

สูตรสำเร็จ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Cercospora cruenta*[1/]						
	เริ่มต้น	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 4 °C	88.25±0.50a[2/]	88.50±0.58ab	86.75±1.50a	84.75±0.50a	79.25±2.22a	72.75±0.96a	69.75±1.71a
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 28 °C	88.25±0.50a	89.25±0.50a	85.25±1.50ab	81.75±1.26b	71.25±1.50bc	64.50±1.73c	56.50±3.42c
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 1) เก็บที่ 40 °C	88.25±0.50a	86.75±1.50bcd	80.25±2.36d	76.75±2.36d	69.75±1.71bcd	58.50±1.73e	50.00±2.94e
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 4 °C	87.75±0.50a	87.25±0.96bcd	87.00±1.15a	85.50±0.58a	78.75±2.99a	72.00±2.16a	68.75±2.99a
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 28 °C	87.75±0.50a	87.75±0.50abc	85.25±1.26ab	81.75±0.96b	72.00±1.41b	63.50±2.38cd	54.00±3.65cd
ชนิดแกรนูล (สูตรที่ 2) เก็บที่ 40 °C	87.75±0.50a	84.75±1.26e	79.25±1.89d	74.50±1.73d	68.75±0.96cd	59.25±1.50e	50.50±4.12de
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 4 °C	87.75±1.26a	86.50±1.29cde	85.75±0.96a	82.50±1.00b	71.00±1.15bcd	68.50±1.29b	61.50±1.73b
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 28 °C	87.75±1.26a	86.25±1.26cde	83.00±1.41bc	79.25±2.22c	72.25±1.71b	61.00±1.83de	51.75±1.26de
ชนิดผง (สูตรที่ 1) เก็บที่ 40 °C	87.75±1.26a	82.75±1.89f	75.25±1.50e	66.50±1.91e	58.75±2.99e	51.50±2.52f	45.00±1.41f
ชนิดผง (สูตรที่ 2) เก็บที่ 4 °C	86.75±1.89a	86.25±1.50cde	85.75±2.22a	80.50±1.91bc	70.75±2.22bcd	68.50±1.29b	62.50±1.91b
ชนิดผง (สูตรที่ 2) เก็บที่ 28 °C	86.75±1.89a	85.50±1.29de	81.25±1.50cd	75.75±2.22d	68.00±2.16d	61.25±1.50de	50.25±2.06de
ชนิดผง(สูตรที่ 2) เก็บที่ 40 °C	86.75±1.89a	80.75±1.50g	71.75±1.26f	62.50±1.00f	58.50±2.65e	49.75±2.63f	45.25±0.96f
ชุดควบคุม	0.00±0.00b	0.00±0.00h	0.00±0.00g	0.00±0.00g	0.00±0.00f	0.00±0.00g	0.00±0.00g
C.V. (%)	2.19	2.30	2.95	2.96	3.83	3.44	4.71

[1/]ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Cercospora cruenta* หลังจากการทดสอบ 24 ชั่วโมง เฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan’s Mutiple Range Tes

ภาคผนวก ค

ตารางภาคผนวกที่ 5 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อรา *Uromyces vignea* สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	26120	6530	12638.710
Error	15	7.750	0.517	*
Total	20	130529		

C.V. 3.60 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 6 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อรา *Oidium* sp. สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	24047.800	6011.950	13359.889
Error	15	6.750	0.450	*
Total	20	120243		

C.V. 3.35 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 7 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อรา *Cercospora cruenta* สาเหตุโรคทางใบของถั่วฝักยาว

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	24574.800	6143.700	5420.912
Error	15	17	1.133	*
Total	20	122872		

C.V. 5.32 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 8 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 บนใบของถั่วฝักยาว หลังจากพ่นสูตรสำเร็จเป็นเวลา 1 วัน

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	112.303	28.076	242.730
Error	15	1.735	0.116	*
Total	20	520.84		

C.V. 1.45 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 9 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 บนใบของถั่วฝักยาว หลังจากพ่นสูตรสำเร็จเป็นเวลา 4 วัน

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	54.563	13.640	391.600
Error	15	0.523	0.034	*
Total	20	239.31		

C.V. 0.94 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 10 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 บนใบของถั่วฝักยาว หลังจากพ่นสูตรสำเร็จเป็นเวลา 7 วัน

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	1.349	0.337	35.820
Error	15	0.141	0.009	*
Total	20	6.214		

C.V. 0.47 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 11 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคราสนิมโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	7.928	1.982	140.706
Error	10	0.141	0.0141	*
Total	15	68.993		

C.V. 0.78 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 12 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคราแป้งโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	5.753	1.438	222.878
Error	10	0.064	0.006	*
Total	15	27.949		

C.V. 0.51 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 13 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคใบจุดโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	9.400	2.350	53.483
Error	10	0.439	0.043	*
Total	15	49.725		

C.V. 1.40 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 14 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อผลผลิตการควบคุมโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	3.156	0.789	0.751
Error	10	10.493	1.049	*
Total	15	1150.740		

C.V. 6.82 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 15 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคราสนิมโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	9.400	2.350	53.483
Error	10	0.439	0.043	*
Total	15	49.725		

C.V. 15.78 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 16 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคราแป้งโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	2319.369	579.842	220.599
Error	10	26.284	2.628	*
Total	15	11200.089		

C.V. 10.80 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 17 วิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ต่อการควบคุมโรคใบจุดโรคทางใบของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อราในแปลงทดลองเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสด

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	4	3753.224	938.306	53.801
Error	10	174.403	17.440	*
Total	15	19861.205		

C.V. 27.84 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 18 วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส ที่ระยะเริ่มต้น

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	11	189.067	17.188	40.823
Error	36	15.157	0.421	*
Total	48	907.642		

C.V. 1.35 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 19 วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 1

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	11	196.008	17.819	100.863
Error	36	6.360	0.177	*
Total	48	915.928		

C.V. 0.88 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 20 วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 2

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	11	200.561	18.233	146.674
Error	36	4.475	0.124	*
Total	48	898.613		

C.V. 0.73 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 21 วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 3

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	11	187.959	17.087	112.555
Error	36	5.465	0.152	*
Total	48	833.416		

C.V. 0.81 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 22 วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 4

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	11	164.682	14.971	84.520
Error	36	6.377	0.177	*
Total	48	721.325		

C.V. 0.88 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 23 วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 5

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	11	154.751	14.068	118.011
Error	36	4.292	0.119	*
Total	48	657.627		

C.V. 0.72 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 24 วิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนประชากรของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ในสูตรสำเร็จ เก็บไว้ภายใต้อุณหภูมิ 4, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เดือนที่ 6

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	11	145.443	13.222	155.430
Error	36	3.062	0.085	*
Total	48	604.160		

C.V. 0.61 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 25 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน ระยะเริ่มต้น

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	30174.808	2514.567	4217.984
Error	39	23.250	0.596	*
Total	52	391587		

C.V. 1.48 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 26 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 1

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	29148.808	2429.067	1779.035
Error	39	53.250	1.365	*
Total	52	375741		

C.V. 2.25 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 27 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 2

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	26955.231	2246.269	1216.729
Error	39	72	1.846	*
Total	52	341526		

C.V. 2.61 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 28 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 3

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	24208.308	2017.359	471.120
Error	39	167	4.282	*
Total	52	294808		

C.V. 3.98 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 29 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 4

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	19000.808	1583.401	525.554
Error	39	117.500	3.013	*
Total	52	228034		

C.V. 3.33 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 30 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 5

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	15836.731	1319.728	385.538
Error	39	133.500	3.423	*
Total	52	186518		

C.V. 3.56 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 31 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Uromyces vignae* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 6

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	13602.577	1133.548	143.417
Error	39	308.250	7.904	*
Total	52	154207		

C.V. 5.41 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 32 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน ระยะเริ่มต้น

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	27748.731	2312.394	4453.5
Error	39	20.250	0.519	*
Total	52	360729		

C.V. 1.38 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 33 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 1

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	26830.577	2235.881	1599.989
Error	39	54.500	1.397	*
Total	52	345754		

C.V. 1.21 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 34 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 2

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	25698.077	2141.506	658.925
Error	39	126.750	3.250	*
Total	52	325721		

C.V. 3.46 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 35 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 3

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	23937.192	1994.766	751.651
Error	39	103.500	2.654	*
Total	52	296786		

C.V. 3.31 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 36 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 4

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	19436.923	1619.744	625.446
Error	39	101	2.590	*
Total	52	238978		

C.V. 3.09 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 37 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 5

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	16901.269	1408.439	336.472
Error	39	163.250	4.186	*
Total	52	208003		

C.V. 3.93 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 38 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Oidium* sp. โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 6

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	15178	1264.833	231.589
Error	39	213	5.462	*
Total	52	164228		

C.V. 4.49 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 39 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน ระยะเริ่มต้น

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	28364.308	2363.692	1807.529
Error	39	51	1.308	*
Total	52	368616		

C.V. 2.19 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 40 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 1

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	27570.769	2297.564	1607.265
Error	39	55.750	1.429	*
Total	52	355485		

C.V. 2.30 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 41 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 2

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	25989.808	2165.817	923.135
Error	39	91.500	2.346	*
Total	52	325522		

C.V. 2.95 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 42 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 3

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	24464.577	2038.715	859.566
Error	39	92.500	2.372	*
Total	52	291826		

C.V. 2.96 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 43 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 4

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	19803.923	1650.327	415.244
Error	39	155	3.974	*
Total	52	236550		

C.V. 3.83 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 44 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 5

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	16806.231	1400.519	436.962
Error	39	125	3.205	*
Total	52	190470		

C.V. 3.44 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 45 วิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ *Cercospora cruenta* โดยสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces philanthi* RL-1-178 ที่อุณหภูมิต่างกัน เดือนที่ 6

Source	df	Sum of Squares	Mean Square	F
Treatment	12	14480.923	1206.744	201.339
Error	39	233.750	5.994	*
Total	52	151091		

C.V. 4.71 %

* แตกต่างทางสถิติที่ P < 0.05

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวปรารถนา อัตตะมณี

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5410620046

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2552

ทุนการศึกษา

สถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ปรารถนา อัตตะมณี วสันณ์ เพชรรัตน์ และเสมอใจ ชื่นจิตต. 2557. ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces philanthi* ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราของใบ ถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis* Fruw.) โดยชีววิธี. ว. พืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1 : 72-76.