

การยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืช โดยแบคทีเรียในสกุล

Bacillus และ *Pseudomonas*

BIOCONTROL OF PHYTOPATHOGENS BY *Bacillus* AND
Pseudomonas BACTERIA



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

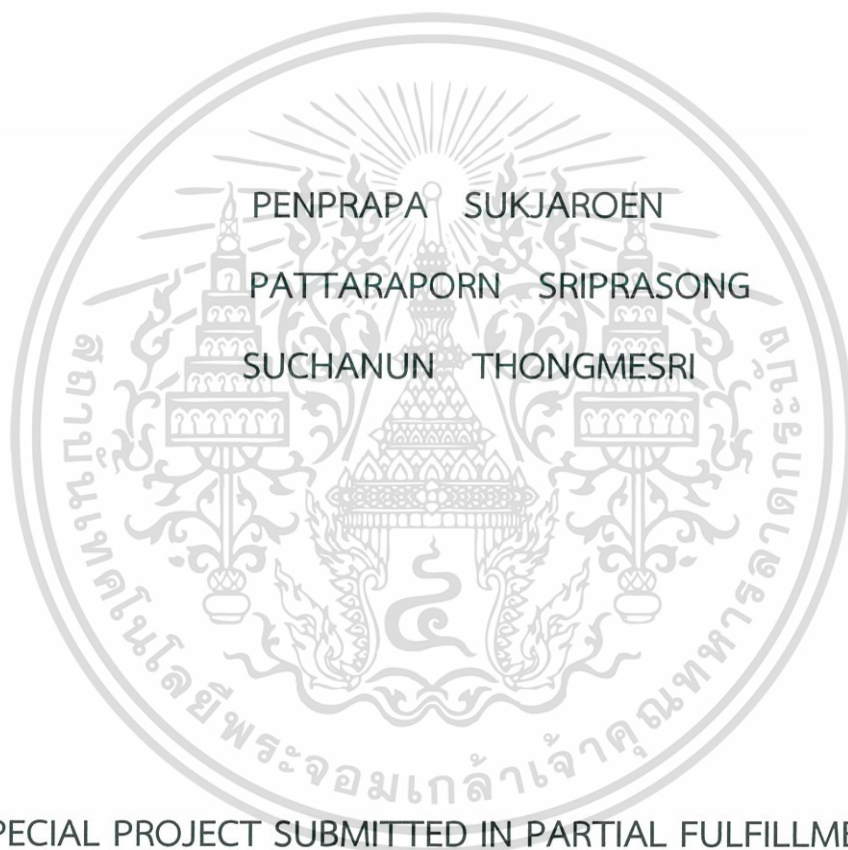
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ปีการศึกษา 2559
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BIOCONTROL OF PHYTOPATHOGENS BY *Bacillus* AND
Pseudomonas BACTERIA



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIRMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACADEMIC YEAR 2016

หัวข้อโครงการพิเศษ การยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืชโดยแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas*
 Biocontrol of Phytopathogens by *Bacillus* and *Pseudomonas* Bacteria

ชื่อนักศึกษา นางสาวเพ็ญประภา สุขเจริญ รหัสนักศึกษา 56051039
 นางสาวภัทรพร ศรีประสงค์ รหัสนักศึกษา 56051046
 นางสาวสุชานันท์ ทองมีศรี รหัสนักศึกษา 56051088

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
 ภาควิชา ชีววิทยา
 ปีการศึกษา 2559
 อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ประธานกรรมการ	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล
ผศ.ดร.วรภฤต วรนนท์กิจ กรรมการ	
ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืชโดยแบคทีเรียในสกุล <i>Bacillus</i> และ <i>Pseudomonas</i>
ชื่อนักศึกษา	นางสาวเพ็ญประภา สุขเจริญ รหัสนักศึกษา 56051039 นางสาวภัทรพร ศรีประสงค์ รหัสนักศึกษา 56051046 นางสาวสุชานันท์ ทองมีศรี รหัสนักศึกษา 56051088
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืชที่แตกต่างกันทั้ง 8 ชนิด จากจังหวัดกรุงเทพมหานคร นครปฐม และสุพรรณบุรี โดยคัดแยกลงบนอาหาร HiCrome *Bacillus* Agar (HBA) และ *Pseudomonas* Agar Base (PAB) เพื่อหาแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas* ตามลำดับ สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้จำนวน 227 ไอโซเลต และนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ก่อโรคในพืช ได้แก่ เชื้อ *Ralstonia solanacearum*, *Colletotrichum capsici*, *Fusarium oxysporum* และ *Rhizoctonia solani* โดยวิธี Dual culture พบว่า แบคทีเรียจากอาหาร HBA ที่คัดแยกได้จำนวน 97 ไอโซเลต ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ แต่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. capsici* ที่ก่อโรคในพืชได้จำนวน 9 ไอโซเลต มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* จำนวน 10 ไอโซเลต และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *R. solani* จำนวน 26 ไอโซเลต ส่วนแบคทีเรียจากอาหาร PAB ที่คัดแยกได้จำนวน 130 ไอโซเลต ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* แต่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. capsici* ที่ก่อโรคในพืชได้จำนวน 9 ไอโซเลต มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* จำนวน 8 ไอโซเลต และมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *R. solani* จำนวน 13 ไอโซเลต ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* โดยแบคทีเรียอยู่ในช่วงระหว่าง 10.00% ถึง 51.85% ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* โดยแบคทีเรียอยู่ในช่วงระหว่าง 5.88% ถึง 46.47% และ ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* โดยแบคทีเรียอยู่ในช่วงระหว่าง 14.29% ถึง 48.15% ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชได้แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียจากอาหาร HBA จำนวน 24 ไอโซเลต มีลักษณะคล้ายคลึงกับแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ได้แก่ ดิคลีแกรมบวก รูปร่างท่อนยาว สร้างสปอร์ และมีไม่ว่ากรัมใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิจกรรมของเอนไซม์อะเลสและออกซิเดสทั้งหมด ส่วนแบคทีเรียจากอาหาร PAB จำนวน 21 ไอโซเลต มีลักษณะคล้ายคลึงกับแบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas* ได้แก่ ติดสีแกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น เคลื่อนที่ได้ และมีกิจกรรมของเอนไซม์อะเลสทั้งหมด และมีแบคทีเรียจำนวน 9 ไอโซเลตที่มีลักษณะไม่ตรงกับกลุ่มของเชื้อ *Bacillus* และ *Pseudomonas*

คำสำคัญ : การยับยั้งเชื้อก่อโรคในพืช *Bacillus Pseudomonas* วิธี Dual culture



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Biocontrol of Phytopathogens by <i>Bacillus</i> and <i>Pseudomonas</i> bacteria	
Students	Miss Penprapa Sukjaroen	Student ID 56051039
	Miss Pattaraporn Sriprasong	Student ID 56051046
	Miss Suchanun Thongmesri	Student ID 56051088
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)	
Department	Biology	
Faculty	Science	
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
Academic Year	2016	
Advisor	Asst. Prof. Dr.Chokchai Kittiwongwattana	

ABSTRACT

Soil samples were collected from the rhizosphere of eight different plants grown in Bangkok, Nakhonpathom and Supanburi. HiCrome Bacillus Agar (HBA) and Pseudomonas Agar Base (PAB) were used for isolation of *Bacillus* and *Pseudomonas* bacteria, respectively. Two-hundred-and-twenty-seven isolates were obtained, and tested for inhibition of phytopathogens including *Ralstonia solanacearum*, *Colletotrichum capsici*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* using the dual culture method. All bacteria from HBA and PAB were unable to suppress growth of *R. solanacearum*. Eighteen isolates from HBA (nine isolates) and PAB (nine isolates) suppressed growth of *C. capsici*. Ten and eight isolates from HBA and PAB suppressed growth of *F. oxysporum*, respectively. Twenty-six and thirteen isolates from HBA and PAB were able to suppress growth of *R. solani*, respectively. Inhibition efficiencies of bacterial isolates against *C. capsici* ranged from 10.00% to 51.85%. Inhibition efficiencies of bacterial isolates against *F. oxysporum* ranged from 5.88% to 46.47%. Inhibition efficiencies of bacterial isolates against *R. solani* ranged from 14.29% to 48.15%. Morphological and biochemical characterization indicated that 24 isolates from HBA were Gram-stained positive, rod-shaped, spore-forming and positive for catalase and oxidase. The characterization showed that 21 isolates from PAB were Gram-stained negative, rod-shaped, motile and positive for catalase. Based on these

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

result, 24 and 21 isolates were likely members of genera *Bacillus* and *Pseudomonas*, respectively. Additionally, nine isolates did not display the characteristics of genera *Bacillus* and *Pseudomonas*.

Keyword : Inhibition of fungal and bacterial plant pathogens, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., Dual culture method



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่กรุณาให้คำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆทำให้โครงการพิเศษนี้ดำเนินงานไปได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ประธานกรรมการ และผศ.ดร.วรกฤต วรนนท์กิจ คณะกรรมการโครงการพิเศษที่กรุณาตรวจทานและสละเวลามาพิจารณาโครงการพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ สุจิตรา สุนคนธมัต ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ ทำให้โครงการพิเศษนี้ดำเนินงานผ่านไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณนักศึกษาปริญญาโท ที่คอยให้คำปรึกษาแนะนำในเรื่องของการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ และให้ความช่วยเหลือทางด้านอุปกรณ์ในการทำโครงการพิเศษ

ขอขอบพระคุณกรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์และเอื้อเพื่อเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทำการทดลองในโครงการพิเศษนี้ ทำให้การดำเนินงานผ่านไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่กรุณาอบรมสั่งสอนและให้คำแนะนำตลอดการศึกษางานทำให้โครงการพิเศษฉบับนี้เป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจ รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาคชีววิทยาประยุกต์ ที่จัดเตรียมอุปกรณ์ และสารเคมี ตลอดจนคำแนะนำในการใช้เครื่องมืออย่างถูกต้อง และนักการทุกท่านที่ช่วยเหลือและแนะนำการดำเนินงานต่างๆ ให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่กรุณาอบรมสั่งสอนและให้การสนับสนุนในทุกๆด้าน ทำให้ผู้จัดทำสามารถสำเร็จการศึกษาได้ สำหรับข้อบกพร่องต่างๆที่อาจเกิดขึ้นคณะผู้จัดทำขอน้อมรับผิดแต่เพียงผู้เดียว

นางสาวเพ็ญประภา สุขเจริญ

นางสาวภัทราพร ศรีประสงค์

นางสาวสุชานันท์ ทองมีศรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก-ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค-ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ-ช
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญรูป	ญ-ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขต	1-2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ความหมายและความสำคัญของโรคพืช	3
2.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย	3
2.2.1 เชื้อแบคทีเรีย <i>Ralstonia solanacearum</i>	3
2.2.1.1 สันฐานวิทยาและการเจริญ	3
2.2.1.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ <i>R. solanacearum</i>	4
2.3 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา	4
2.3.1 เชื้อรา <i>Colletotrichum capsici</i>	4
2.3.1.1 สันฐานวิทยาและการเจริญ	5
2.3.1.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ <i>C. capsici</i>	5
2.3.2 เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>	5
2.3.2.1 สันฐานวิทยาและการเจริญ	5
2.3.2.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ <i>F. oxysporum</i>	6
2.3.3 เชื้อรา <i>Rhizoctonia solani</i>	6
2.3.3.1 สันฐานวิทยาและการเจริญ	6
2.3.3.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ <i>R. solani</i>	6-7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	21
4.1 การตัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากดิน	21-30
4.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อ <i>R. solanacearum</i>	31
4.3 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค	32
4.3.1 การยับยั้งเชื้อรา <i>C. capsici</i>	32
4.3.2 การยับยั้งเชื้อรา <i>F. oxysporum</i>	33
4.3.3 การยับยั้งเชื้อรา <i>R. solani</i>	33-34
4.4 การทดสอบยืนยันการยับยั้งเชื้อราก่อโรค	34-37
4.5 การประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค	37
4.5.1 การยับยั้งเชื้อรา <i>C. capsici</i>	37-40
4.5.2 การยับยั้งเชื้อรา <i>F. oxysporum</i>	40-42
4.5.3 การยับยั้งเชื้อรา <i>R. solani</i>	43-45
4.6 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น และชีวเคมีบางประการ ของเชื้อที่แยกได้จากอาหาร HBA	45-47
4.7 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น สรีระวิทยา และชีวเคมีบางประการ ของเชื้อที่แยกได้จากอาหาร PAB	47-49
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	50
5.1 สรุปผลการวิจัย	50-51
5.2 ข้อเสนอแนะ	51
เอกสารอ้างอิง	52-58
ภาคผนวก	59
ภาคผนวก ก	60-61
ภาคผนวก ข	62-83
ภาคผนวก ค	84-95
ภาคผนวก ง	96-102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินทั้ง 3 จังหวัด	21-29
4.2	แสดงไอโซเลตแบคทีเรียที่ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรากล่อโรคทั้ง 3 ชนิด	35-37
4.3	แสดงผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากอาหาร HBA ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรากล่อโรคในพืชได้	46-47
4.4	แสดงผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา และชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากอาหาร PAB โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรากล่อโรคในพืชได้	48-49



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
3.1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>R. solanacearum</i> โดยเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้	16
3.2 กลุ่มควบคุมสำหรับการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>R. solanacearum</i>	17
3.3 แสดงการทดสอบฤทธิ์ระหว่างเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลต และเชื้อราก่อโรคเบื้องต้น	18
3.4 แสดงการวางเชื้อราก่อโรคที่ใช้เป็นตัวควบคุม (control)	18
3.5 แสดงการทดสอบฤทธิ์ระหว่างเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตและเชื้อราก่อโรค	18
4.1 ก. การเจริญของเชื้อ <i>R. solanacearum</i> ในชุดควบคุม ข. การเจริญของเชื้อ <i>R. solanacearum</i> เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียไอโซเลต B369 ซึ่งไม่ แสดงการยับยั้งการเจริญของ <i>R. solanacearum</i>	31
4.2 ก. การเจริญของเชื้อรา <i>C. capsici</i> ในชุดควบคุม ข. ไอโซเลต P249 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>C. capsici</i> ส่วนไอโซเลต P246, P247, P248 ไม่แสดงการยับยั้ง	32
4.3 ก. การเจริญของเชื้อรา <i>F. oxysporum</i> ในชุดควบคุม ข. ไอโซเลต B397 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>F. oxysporum</i> ส่วนไอโซเลต B394, B395, B396 ไม่แสดงการยับยั้ง	33
4.4 ก. การเจริญของเชื้อรา <i>R. solani</i> ในชุดควบคุม ข. ไอโซเลต P217 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>R. solani</i> ส่วนไอโซเลต P114, P115, P216 ไม่แสดงการยับยั้ง	34
4.5 ก. การเจริญของเชื้อรา <i>C. capsici</i> ในชุดควบคุม ข. ไอโซเลต P3119 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>C. capsici</i>	38
4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา <i>C. capsici</i> กับไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA	39
4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา <i>C. capsici</i> กับ ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB	39
4.8 ก. การเจริญของเชื้อรา <i>F. oxysporum</i> ในชุดควบคุม ข. ไอโซเลต P3116 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>F. oxysporum</i>	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา <i>F. oxysporum</i> กับไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA	41
4.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา <i>F. oxysporum</i> กับไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB	42
4.11 ก. การเจริญของเชื้อรา <i>R. solani</i> ในชุดควบคุม ข. ไอโซเลต P3112 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>R. solani</i>	43
4.12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา <i>R. solani</i> กับไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA	44
4.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา <i>R. solani</i> กับไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB	44



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคพืช หมายถึง พืชแสดงอาการเจริญเติบโตที่ผิดปกติเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ซึ่งส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในพืชพบอยู่ในดินที่หลากหลาย ส่งผลทำให้พืชที่ปลูกอยู่ในดินบริเวณนั้นมีอาการอ่อนแอ หรือตายลงในที่สุด เกษตรกรจึงไม่ได้ผลผลิตจากพืชนั้นตามที่ต้องการ การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเป็นวิธีหนึ่งที่เกษตรกรนิยมใช้ป้องกันความเสียหายจากโรคพืช แต่วิธีนี้ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้การปนเปื้อนของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์รวมทั้งสิ่งมีชีวิตอื่นๆด้วย ปัญหาอีกประการหนึ่งของการใช้สารเคมีเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคคือเป็นการแก้ไขปัญหาลงหลังจากที่พืชเริ่มแสดงอาการของโรคแล้ว และอาจไม่ทันต่อการฟื้นฟูสภาพของดินพืชให้แข็งแรงดังเดิม ทางเลือกอื่นของการป้องกันความเสียหายจากโรคพืชคือการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยวิธีการทางชีวภาพ ดังนั้นโครงการพิเศษนี้จึงได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืชโดยแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas* เพื่อเป็นจุดเริ่มต้นของแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหาโรคพืชต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas* จากดินบริเวณรากพืช
- 1.2.2 เพื่อทดสอบฤทธิ์ด้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคโดยแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas*

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

คัดแยกเชื้อในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas* ออกมาประมาณ 200 ไอโซเลต และแยกจากดิน 3 แหล่ง แหล่งละ 3 ตัวอย่าง รวม 9 ตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างดินมาจาก เขตหนองจอก กรุงเทพฯ ,อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม และ อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี ดินที่ใช้คือดินบริเวณรากพืชในพื้นที่ที่มีการเพาะปลูกพืชผักสวนครัว ได้แก่ ต้นกล้วย ไม้ สะเดา ทองหลาง น้อยหน่า มะม่วง อ้อย และมะนาว นำมาคัดแยกด้วยอาหารHiCrome *Bacillus* Agar (HBA) และ *Pseudomonas* Agar Base (PAB) เพื่อหาแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas* ตามลำดับ และนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคในพืช ได้แก่ เชื้อ *Ralstonia solanacearum*, *Colletotrichum capsici*, *Fusarium oxysporum* และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rhizoctonia solani โดยวิธี Dual culture และนำเชื้อแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้มาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเบื้องต้น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้เชื้อแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคนิพพิช

1.4.2 ทราบลักษณะเบื้องต้นทางอนุกรมวิธานของเชื้อที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความหมายและความสำคัญของโรคพืช

โรคพืช หมายถึง สภาวะที่ต้นพืชเกิดความเสียหาย มีการทำงานที่ผิดปกติ จึงส่งผลทำให้พืชเจริญเติบโตช้า สี รสชาติ และรูปร่างของผลผลิตเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม (นิพนธ์, 2553) เกษตรจึงได้มีการควบคุมเชื้อโรคพืชด้วยชีววิธี เพื่อเป็นการลดปริมาณประชากรของเชื้อโรคพืชก่อให้เกิดโรคน้อยลง ไม่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจ โดยอาศัยจุลินทรีย์ ที่เรียกว่า “จุลินทรีย์ปฏิปักษ์” (จิระเดช, 2545) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ ศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ชีวภาพและเชื้อโรคพืช และมีการใช้อย่างกว้างขวางต่อการควบคุมพืชที่สำคัญทางการค้า (Anand *et al.*, 2010) นอกจากนี้ยังเป็นการลดการใช้สารเคมีซึ่งหากเกษตรกรใช้สารเคมีที่มากเกินไปจะส่งผลกระทบต่อเกษตรกรเองซึ่งจะได้รับอันตรายจากพิษของสารเคมี เกิดการทำลายสิ่งแวดล้อมไม่ว่าจะเป็นทางน้ำ ทางอากาศ และทางบก รวมทั้งส่งผลต่อผู้บริโภค

2.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

2.2.1 เชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum*

แบคทีเรีย *R. solanacearum* จัดอยู่ในไฟลัม *Proteobacteria* เป็นแบคทีเรียในสกุล *Ralstonia* (Yabuuchi *et al.*, 1996) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อความเสียหายต่อพืชเป็นอย่างมาก ก่อให้เกิดโรคเหี่ยว (bacterial wilt) หรือ โรคเน่าสีน้ำตาล (brown rot) (Wullings *et al.*, 1998) โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศ เช่น มันฝรั่ง มะเขือเทศ กัญชง พริก เป็นต้น เมื่อเชื้อแบคทีเรียเข้าไปยังท่อลำเลียงต้นพืช ทำให้เชื้อมีความหนาแน่นของเซลล์มากขึ้นและมีการแพร่กระจายของเชื้อเกิดการแสดงออกของยีนก่อโรค เชื้อจะหลั่งสาร exopolysaccharide และเอนไซม์ pectinase พืชที่อ่อนแอจะตอบสนองต่อแบคทีเรียสูง ทำให้สามารถทำลายผนังเซลล์ของพืชได้ ส่งผลให้พืชเหี่ยว เหลืองและตายในที่สุด นอกจากนี้ *R. solanacearum* สามารถเจริญเติบโตในระบบท่อลำเลียงของพืชได้โดยไม่ก่อให้เกิดโรค (Huang and Allen, 2000 ; Zhou *et al.*, 2012)

2.2.1.1 สัณฐานวิทยาและการเจริญ

แบคทีเรีย *R. solanacearum* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง เคลื่อนที่โดยใช้

แฟลกเจลลา 1 เส้น ไม่สร้างสปอร์และแคปซูล ต้องการออกซิเจนในการเจริญ อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด 24-35 °C (นวลรัตน์, 2554)

ไม่ว่องไวต่อแสง ทั้งสีอื่น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum*

โรคเน่าสีน้ำตาลของมันฝรั่ง (brown rot of potato) พืชจะแสดงอาการใบร่วงโรย และเหลือง ต้นแคระแกร็น ลำต้นจะเกิดริ้วลายเนื่องจากเชื้อเข้าไปยังระบบท่อลำเลียงทำให้เนื้อเยื่อท่อลำเลียงเกิดสีน้ำตาลอมเทา การเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อท่อลำเลียงจะแพร่กระจายกว้างมากขึ้นไปยังเนื้อเยื่อกลางลำต้น หรือชั้น cortex บริเวณตาของหัวมันฝรั่งหรือส่วนของ stolons ที่ติดอยู่กับตา จะเป็นสีน้ำตาลอมเทาและจะมีเมือกเหนียวซึมออกมา และในที่สุดเชื้อจะปกคลุมชั้นบาง ๆ ของเนื้อเยื่อชั้นนอกและชั้น periderm ของหัวมันฝรั่งที่เหลืออยู่ใต้ดิน (Olson, 2005)

โรคเหี่ยวของมะเขือเทศ (bacterial wilt of tomato) พืชจะแสดงอาการใบร่วงและอาจจะลุกลามไปยังลำต้น เมื่อตัดขวางบริเวณโคนต้น จะพบท่อลำเลียงเป็นสีเหลือง หรือสีน้ำตาลอ่อน และเมื่อเชื้อแพร่กระจายมากขึ้นจะทำให้เนื้อเยื่อกลางลำต้น หรือชั้น cortex กลายเป็นสีน้ำตาลในกรณีที่มีภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม (Olson, 2005) แต่ถ้าสภาวะแวดล้อมเหมาะสม อุณหภูมิสูง (29-35 °C) เชื้อจะกระจายตัวอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้พืชตายในที่สุด และเมื่อตัดในส่วนลำต้นกรณีที่เกิดเชื้ออย่างรุนแรง จะเห็นของเหลวสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนมไหลออกมาจากรอยตัด แสดงถึงเชื้อแบคทีเรียจำนวนมากที่เข้าไปยังส่วนของมัดท่อลำเลียงโดยเฉพาะในส่วนของ xylem (Champoiseau and Momol, 2009)

2.3 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา

2.3.1 เชื้อรา *C. capsici*

เชื้อรา *C. capsici* จัดอยู่ในไฟลัม *Ascomycota* เป็นราในสกุล *Colletotrichum* (Butler and Bisby, 1931) ก่อให้เกิดโรคแอนแทรคโนส เป็นหนึ่งในโรคที่เกิดรุนแรงในพริก จะแสดงอาการบนใบ ลำต้นและผล (Chacko and Gokulapalan, 2014) และส่งผลกระทบต่อผลพริกสุกพันธุ์ต่างๆ เป็นจำนวนมาก (สมศิริ และ ไพโรจน์, 2527) เชื้อจะเจริญเติบโตและเข้าทำลายได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 28-30°C สามารถเจริญอยู่บนเศษซากพืชได้นานถึง 3 ปี (กัลยา, 2547) นอกจากนี้ยังเป็นโรคที่สร้างความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจที่หลากหลาย เช่น ัญพืช ถั่ว ผัก พืชยืนต้น ผลไม้ เป็นต้น (Than *et al.*, 2008) ตัวอย่างเช่น โรค brown blotch ของถั่วฝักยาว (Pring *et al.*, 1994) เชื้อจะไปทำลายเนื้อเยื่อทำให้เกิดการสลายโครงสร้างผนังเซลล์ (Saxena *et al.*, 2016) โรค leaf-spot ของถั่วเหลือง และขมิ้น (Ghosh *et al.*, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1.1 สันฐานวิทยาและการเจริญ

ลักษณะเส้นใยสีขาว ไปจนถึงเทาเข้มสลับกับสีน้ำตาลเข้ม ไม่มีผนังกัน มีการสร้าง setae มาก setae มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ conidia มีลักษณะเป็นเชลล์เดี่ยว สีครีมอ่อน หรือใส ไม่มีสี (hyaline) รูปร่างโค้งคล้ายพระจันทร์ครึ่งเสี้ยว (falcate) ไปจนถึง fusiform ลักษณะปลายข้างหนึ่งแหลมอีกข้างหนึ่งค่อนข้างมน ไม่พบการสร้างเม็ด sclerotium พบการสร้าง appressorium จำนวนมาก (ดาราวัตติ, 2558)

2.3.1.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *C. capsici*

โรคแอนแทรคโนสของพริก (anthracnose of chilli) จะแสดงอาการต่อผลพริก ทำให้ผลยุบตัวลง ผลมีรูปร่างวงกลมหรือวงรี ขอบผลจะมีจุดสีดำเป็นกลุ่มของ acervulus (กัลยา, 2547) ทำให้ผลพริกหงิกงอคล้ายกุ้งแห้ง เชื้อสามารถทำลายพริกได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ถ้าในระยะต้นกล้าจะแสดงอาการโรคเน่าคอดิน (ดาราวัตติ, 2558)

2.3.2 เชื้อรา *F. oxysporum*

เชื้อรา *F. oxysporum* จัดอยู่ในไฟลัม *Ascomycota* เป็นราในสกุล *Fusarium* (Snyder and Hansen, 1824) เป็นสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น โรคเหี่ยว (vascular wilt) ของมะเขือเทศ (Abdallah *et al.*, 2016) กล้าย (Gang *et al.*, 2013), โรคเน่าคอดิน (damping-off) และโรคโคนและรากเน่า (crown and root rots) และเชื้อสามารถกระจายตัวได้โดยวิธีต่างๆ เช่น ลม ดิน เมล็ด และพืชที่ติดเชื้อ (Leslie and Summerell, 2006) นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่ออย่างมากในมะเขือเทศที่ปลูกในพื้นที่โล่งแจ้งและที่ปลูกในพื้นที่ปิดซึ่งมีรายงานแล้วว่าเกิดขึ้นอย่างน้อย 32 ประเทศ (Abdallah *et al.*, 2016)

2.3.2.1 สันฐานวิทยาและการเจริญ

ลักษณะเส้นใยฟู อาจจะเบาบาง หรือหนาแน่น มีสีขาวจนถึงสีม่วงอ่อนเมื่อเจริญเต็มที่ (Leslie and Summerell, 2006) และสามารถสร้างสปอร์ 3 ชนิด คือไมโครโคนิเดีย (microconidia) มาโครโคนิเดีย (macroconidia) และคลาโมโคสปอร์ (chlamydospore) ไมโครโคนิเดียมีขนาดเล็ก รูปร่างกลมรี ใสไม่มีสี เชลล์เดี่ยว ส่วนมาโครโคนิเดีย สปอร์มีขนาดใหญ่กว่า รูปร่างโค้งคล้ายพระจันทร์ครึ่งเสี้ยว ใสไม่มีสี และคลาโมโคสปอร์ สปอร์สร้างขึ้นกลางเส้นใย มีผนังหนา จะหนาขึ้นในข้างใดข้างหนึ่งของเส้นใย (ปราณี, 2552) สร้างเส้นใยที่มีผนังกันแตกกิ่งก้านสาขา ส่วนใหญ่พบเชื้อได้บนผิวของพืชที่ตายจากการเข้าทำลายของราชนิดนี้ (ขจรพรรณ, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *F.oxysporum*

โรคเหี่ยวของกล้วย (Fusarium wilt of banana) เชื้อจะเข้าทางรากและรุกรานไปยังเนื้อเยื่อท่อลำเลียง (xylem) จะแสดงอาการค่อยๆเหี่ยว ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เริ่มจากขอบใบ และจะเกิดกับใบแก่ไปยังใบอ่อน ลักษณะที่แตกต่างกันของการเกิดโรคคือ การเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อท่อลำเลียงของราก ลำต้นเทียม และก้านของผล จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ในที่สุดก้านใบจะล้มพับลง และขยายไปยังใบของลำต้นเทียมจะแยกตามยาว และตายในที่สุด (Gang *et al.*, 2013)

โรคเหี่ยวของฝรั่ง (Fusarium wilt of guava) อาการใบมีสีเหลืองเล็กน้อย และงอที่บริเวณปลายกิ่ง ในระยะต่อมาจะกลายเป็นสีแดง ใบจะร่วง และเกิดการผลัดใบจนตายในที่สุด ส่วนดอกจะเหี่ยวตาย และผลจะกลายเป็นสีดำและแข็ง (Gupta *et al.*, 2010)

2.3.3 เชื้อรา *R. solani*

เชื้อรา *R. solani* จัดอยู่ในไฟลัม *Basidiomycota* เป็นราในสกุล *Rhizoctonia* (Kuhn G.J., 1858) เป็นหนึ่งในราก่อโรคที่สามารถอยู่รอดในดินได้ จึงได้มีการพัฒนาทั้งการเพาะเลี้ยงในดินและไม่เพาะเลี้ยงในดิน (Toppo and Tiwari, 2015) และยังเป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดิน (damping-off) ของถั่วเขียว, โรครากเน่า (root rot) ของถั่วเหลือง, ผักกาดฝรั่ง, โรค black scurf ของมันฝรั่ง, โรคกาบใบไหม้ (Sheath blight) ของข้าว (Muis and Quimio, 2006) และข้าวโพด (พีระวรรณ, 2546)

2.3.3.1 สันฐานวิทยาและการเจริญ

ลักษณะเส้นใยมีสีน้ำตาลอ่อน หรือสีขาว และเส้นใยจะอัดรวมกันเป็นเม็ดเรียก Sclerotia ขนาด 1.5 mm สร้างห่อหุ้มสีขาวยุติกระจายทั่วผิวหน้า (Moni *et al.*, 2016) จะสร้างหลังจากทำการบ่มเป็นเวลา 4 – 6 สัปดาห์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ 18-28 °C (Tredway and Burpee, 2001) ไม่สร้าง asexual spore เส้นใยมีผนังกัน (Ceresini, 1999)

2.3.3.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *R. solani*

โรคกาบใบไหม้ของข้าวโพด อาการจะแสดงบนส่วนต่างๆของข้าวโพด เช่น ลำต้น ใบ กาบใบ กาบฝัก และฝัก เชื้อสามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ในระยะต้นกล้าที่อ่อนแอ ทำให้ต้นกล้าเน่าหักพับล้มลง (พีระวรรณ, 2546) เชื้อจะเข้าทำลายบริเวณใบ กาบใบ และลำต้น ในระยะเริ่มแรกจะเกิดการติดเชื้อบริเวณกาบใบที่หนึ่งและสองที่อยู่บริเวณเหนือผิวดิน และ

ต่อมาจะกระจายไปยังฝักของข้าวโพดทำให้เกิดการเน่าในที่สุด ฝักข้าวโพดจะมี mycelial สีน้ำตาลอ่อนของเชื้อราเจริญ เมล็ดจะมีขนาดเล็กและมี sclerotia จุดกลมๆเล็กๆสีดำ (Singh and Shahi, 2012)

2.4 แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas*

2.4.1 แบคทีเรียในสกุล *Bacillus*

แบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีการจัดลำดับอนุกรมวิธาน (Taxonomy) ดังนี้ (Logan and Vos, 1872)

Phylum : *Firmicutes*

Class : *Bacilli*

Order : *Bacillales*

Family : *Bacillaceae*

Genus : *Bacillus*

2.4.1.1 ลักษณะทั่วไปที่สำคัญ

เชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก หรือแบคทีเรียแกรมบวก ระยะแรกของการเจริญ หรือแบคทีเรียแกรมลบ เป็นแบคทีเรียพวก aerobes หรือ facultative anaerobes แต่มีเพียงไม่กี่ชนิดที่เป็น strictly anaerobic อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25 – 40 °C มีรูปร่างแท่งตรงหรือโค้งเล็กน้อย ลักษณะเป็นเชลล์เดี่ยว เป็นคู่ สายโซ่ บางครั้งพบเป็นสายเส้นใย ขนาดเชลล์ตั้งแต่ 0.4 - 1.8 × 0.9 - 10.0 ไมโครเมตร สร้างสปอร์ภายในเชลล์หรือเอนโดสปอร์ (endospores) สปอร์เหล่านี้ทนต่อสภาวะที่รุนแรง สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาแบบ peritrichous หรือไม่ใช้แฟลกเจลลาแบบ peritrichous หรือไม่เคลื่อนที่ สร้างเอนไซม์อะไมเลสจะพบในหลายสปีชีส์และเอนไซม์ออกซิเดสให้ทั้งผลบวกหรือผลลบ

2.4.1.2 แหล่งที่พบ

แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* พบได้ตามสภาวะแวดล้อมทั่วไป เช่น ดิน หิน ฝุ่น น้ำ อาหารหรือนมพาสเจอร์ไรซ์และลำไส้ของแมลงและสัตว์ต่างๆ นอกจากนี้ยังทนต่อสภาวะ

ต่างๆ ได้ดี เช่น สภาวะไร้ออกซิเจนหรือสภาวะที่มีผู้ล่า (Hong et al., 2009) ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.3 บทบาทและความสำคัญ

การควบคุมโรคโดยชีววิธี คือการลดปริมาณเชื้อโรคหรือลดกิจกรรมของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค และควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยอาศัยสิ่งมีชีวิต เช่น พืชชั้นสูง และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (พรพรรณ, 2550) โดยใช้แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่จำนวนมากสามารถสร้างสารควบคุมทางชีวภาพ (El-Bendary *et al.*, 2016) และมีหน้าที่ส่งเสริมการเจริญของพืช (Gupta *et al.*, 2015) มีกลไกการควบคุมโรคได้แก่

1. การแข่งขัน (competition) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จะแข่งขันกับเชื้อที่ก่อโรคในพืชการแข่งขันที่พบมากที่สุด คือการนำธาตุอาหารหรือสารที่ผลิตทำให้เชื้อที่ก่อโรคพืชขาดสารอาหารไม่สามารถเจริญเข้าทำลายพืชได้ ในงานวิจัยชิ้นหนึ่งได้ศึกษา *B. cereus* UW85 ที่เปลี่ยนสารประกอบไอออนิกในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้เหมาะสมในกิจกรรมย่อยสลาย เมื่อ *B. cereus* UW85 สร้างสปอร์จะขับแคลเซียมออกมา จากนั้นจะผลิตแอมโมเนียจากกิจกรรมเมตาบอลิซึมกรดอะมิโนทำให้ pH มีค่าสูงขึ้นและมีความเป็นพิษต่อเชื้อในสกุล *Phytophthora* อีกทั้งยังลดความเข้มข้นของแมกนีเซียมไอออนในอาหาร ทำให้ไม่สามารถสร้าง zoospores ได้ (พรพรรณ, 2550)

2. การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ ในแบคทีเรียที่สร้างสปอร์จะผลิตสารปฏิชีวนะเมื่อเริ่มมีการสร้างสปอร์ เนื่องจากเป็นกลไกป้องกันตัวจากสารปฏิชีวนะที่สร้างขึ้น (พรพรรณ, 2550) ในงานวิจัยชิ้นหนึ่งแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะประเภท polypeptide เช่น polymycin, colistin และ gramicidin S เป็นต้นใช้ยับยั้งแบคทีเรีย สารปฏิชีวนะจำพวก peptide ที่สร้างโดย *Bacillus* มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แต่สารประกอบบางชนิดที่สร้างโดย *Bacillus* เช่น polymyxin, colistin และ circulin มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้สารปฏิชีวนะอย่าง bacillomycin, mycobacillin และ fungistatin มีฤทธิ์ในการยับยั้งราและยีสต์ได้ สารปฏิชีวนะที่อยู่ในสปอร์จะหลั่งขณะอยู่ในระยะงอกเพื่อทำการยับยั้งหรือสร้างสารเพื่อฆ่าคู่แข่งเพื่อให้อยู่ในสภาวะเหมาะสมต่อการงอกของสปอร์ (Katz and Demain, 1977)

3. การเป็นปรสิต (parasitism) เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สามารถเจริญใกล้เคียงหรืออาศัยในเซลล์ของเชื้อที่ก่อโรคในพืชโดยการฆ่าให้เชื้อที่ก่อโรคตาย จากการสร้างสารพิษหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่พิมพ์และเผยแพร่โดยสำนักพิมพ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เพื่อใช้ในการอ้างอิงและเผยแพร่ความรู้
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่พิมพ์และเผยแพร่โดยสำนักพิมพ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เพื่อใช้ในการอ้างอิงและเผยแพร่ความรู้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2550) ตัวอย่างใน *Bacillus* sp. BG-11 ที่คัดแยกได้จากสภาวะที่มีความเป็นด่างสูง สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase ที่สูงภายในสภาวะที่คงที่ (Bhushan, 2000) นอกจากนี้ *B. subtilis* สร้างเอนไซม์กลุ่ม glucanase เช่น β -1,3-glucanase และ β -1,6-glucanase ที่ย่อย glucan ซึ่งเป็นองค์ประกอบผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (พรพรรณ, 2550)

2.4.2 แบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas*

แบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. มีการจัดลำดับอนุกรมวิธาน (Taxonomy) ดังนี้ (Palleroni, 1894)

Phylum: *Proteobacteria*

Class: *Gammaproteobacteria*

Order: *Pseudomonadales*

Family: *Pseudomonadaceae*

Genus: *Pseudomonas*

2.4.2.1 ลักษณะทั่วไปที่สำคัญ

เชื้อแบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ และเป็นแบคทีเรียพวก aerobes อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 28-45 °C มีรูปร่างท่อนตรงหรือโค้งเล็กน้อย (ไม่เป็นเกลียว) มีขนาดเซลล์ 0.5 – 1.0 x 1.5 – 5.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่ปลายขั้วด้านหนึ่ง (polar flagella) หรือมีอย่างน้อยที่สุด 1 เส้น บางสายพันธุ์เคลื่อนที่โดยอาศัยแฟลกเจลลาด้านข้าง (lateral flagella) สร้างเอนไซม์อะมิลเลสให้ผลเป็นบวม และเอนไซม์ออกซิเดสให้ผลเป็นบวมหรือลบ สามารถสร้างรงควัตถุที่มีสีต่างๆ เช่น pyocyanin, pyorubin, pyoverdines และ chlororaphin เป็นต้น

2.4.2.2 แหล่งที่พบ

แบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas* พบได้ตามแหล่งธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ รากของต้นพืช ผิวใบ หรือแหล่งที่มีการเจือปน และพบจำนวนน้อยที่เป็นเชื้อประจำถิ่น

2.4.2.3 บทบาทและความสำคัญ

1. การส่งเสริมการเจริญของพืช มีรายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Plant growth-promoting bacteria (PGPB) มีการส่งเสริมการเจริญของพืชด้วยกลไกโดยตรงของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตฮอร์โมนพืช เช่น *P. fluorescens* SP007s สามารถผลิตและ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดเบสลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลดปล่อยฮอร์โมนพืชได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) และ gibberellins (GA_3) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด ส่งผลให้เซลล์พืชยืดยาว และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับธาตุอาหารจากดินของพืช (วิลาวรรณ และ ดุสิต, 2557)

2. การทำลายชีวิตหรือการสร้างสารภูชีวนะ (Antibiosis) โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จะผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารภูชีวนะขึ้นมา เพื่อเข้าทำลายเชื้อก่อโรคที่มีอยู่ในพืช ส่งผลให้โรคที่เกิดขึ้นในพืชลดลง (นิพนธ์, 2553) เช่น *P. fluorescens* มีการผลิตสาร β -1,3-glucanase, siderophores, salicylic acid (SA), hydrogen cyanide (HCN) และ เอนไซม์ chitinase ซึ่งมีงานวิจัยชิ้นหนึ่งบ่งบอกว่าสารเหล่านี้สามารถยับยั้งทำลายเชื้อ *R. solani* สาเหตุโรคพืชได้ (Nagarajkumar et al., 2004) และยังมีงานวิจัยอีกชิ้นหนึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescens* Pf-5 สามารถผลิตสาร pyrrolnitrin, pyoluteorin และ 2,4-diacetylphloroglucinol ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อโรคได้ (Brodhagen et al., 2004)

3. การแข่งขัน (competition) โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะเจริญเติบโตแข่งขันกับเชื้อโรคพืช จึงทำให้เชื้อไม่สามารถที่จะเจริญเติบโตจนก่อโรคได้ เช่น มีความสามารถในการหาอาหารได้ดี ส่งผลให้เชื้อโรคพืชไม่สามารถเจริญเติบโตเข้าทำลายพืชได้ พืชจึงเจริญเติบโตโดยไม่มีโรค เช่น *P. fluorescens* มีการผลิตสาร siderophores ซึ่งสารนี้จะแย่งจับธาตุเหล็กบริเวณรอบรากพืช ทำให้เชื้อก่อโรคไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ในการเจริญเติบโตเพื่อเข้าทำลายพืชได้ ทำให้มีการเจริญแข่งขันกับเชื้อราโรคพืช (นิพนธ์, 2553)

4. การชักนำให้พืชต้านทานต่อเชื้อก่อโรค (induction of resistance in plant) เป็นกลไกการสร้างสารต่างๆของพืช ซึ่งมีผลต่อการต้านทานหรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคพืช โดยการชักนำหรือกระตุ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ กลไกดังกล่าวอาจเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น *P. aeruginosa* ผลิตสารชักนำ ทำให้สามารถกระตุ้นการผลิตกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) ในต้นมะเขือเทศได้ ซึ่งมีความสำคัญต่อต้นพืช ให้มีการต้านทานต่อไส้เดือนฝอยที่ก่อให้เกิดโรคไส้เดือนฝอยรากปม ไม่สามารถเข้าทำลายรากของต้นมะเขือเทศได้ (อนุเทพ, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kejela *et al.* (2017) มีรายงานการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. จากดินบริเวณรากกาแพะร่าบัก้า โดยแยกได้ทั้งหมด 40 ไอโซเลต ด้วยอาหาร Kings B medium นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* และ *F. oxysporum* โดยวิธี Dual Culture พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* PT11 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้เท่ากับ 70% และยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* ได้เท่ากับ 72% โดยการผลิตเอนไซม์ Lytic (Chitinase และ β -1,3-glucanase) ซึ่งไปยับยั้งการเจริญของ Mycelial เชื้อรา และผลิตสาร Siderophores ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค นอกจากนี้ยังพบว่า *P. fluorescens* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Rhizoctonia solani*, *Erwinia carotovora*, *Septoria tritici*, *Thielaviopsis basicola* และ *Pythium ultimum* ได้อีกด้วย

Huang *et al.* (2011) ศึกษาการยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อ *B. pumilus* SQR-N43 ในการควบคุมโรคเน่าคอดินในแตงกวาที่เกิดจากเชื้อ *R. solani* Q1 โดยคัดแยกเชื้อ *B. pumilus* SQR-N43 บริเวณรากต้นแตงกวาและทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ด้วยวิธี Dual cultures พบว่า mycelium ของ *R. solani* Q1 ถูกยับยั้งโดย *B. pumilus* SQR-N43 แม้เส้นใยไม่ได้สัมผัสกันโดยตรงเมื่อดูจากบริเวณขอบ mycelium ในบริเวณที่เกิดการยับยั้ง พบการแตกหักของเส้นใย และเกิดการขยายตัวของ cytoplasmic vacuoles เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบการรั่วของ cytoplasm และมีกิจกรรมส่งเสริมการเจริญของพืชโดยป้องกันการติดโรคเมื่อทดสอบ *B. pumilus* SQR-N43 บริเวณรากต้นแตงกวา

Chandra *et al.* (2010) มีรายงานการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* WS-1 จากดินบริเวณรากพืชของต้นโสมอินเดีย มาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *C. capsici* โดยวิธี Dual Culture บนอาหาร Peptone Glucose Agar (PGA) โดยใช้วิธี circular (O) และ semicircular (U) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* WS-1 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *C. capsici* มีค่าเท่ากับ 53.21 และ 41.57% ตามลำดับ โดยการผลิตสาร Siderophores, Hydrogen cyanide (HCN), เอนไซม์ Proteases และ Chitinase ซึ่งส่งผลต่อการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค จึงยับยั้งการเกิดโรคของพืชได้ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อ *Alternaria alternate*, *A. longipes* และ *A. steviae* ได้อีกด้วย

Chen *et al.* (2010) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนไซม์ที่ปกป้องพืชและฮอร์โมนพืชที่ใช้ควบคุมโรคเหี่ยวฟูซาเรียมในแตงกวาโดย *B. subtilis* B579 ได้คัดแยกเชื้อแบคทีเรีย 158 ไอโซเลต เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เลต ที่ทดสอบการยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* ในเบื้องต้นด้วยวิธี dual plate assay พบว่ามี 6 ไอโซเลต

เลตที่แสดงการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรค และสายพันธุ์ *B. subtilis* B579 แสดงการเป็นปฏิปักษ์ที่ดีที่สุด รวมไปถึงแสดงการผลิตเอนไซม์ chitinase และ β -1,3-glucanase และสร้างฮอร์โมนที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญของพืชอย่างเช่น IAA นอกจากนี้แสดงการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานต่อเชื้อ *F. oxysporum* แสดงความผิดปกติของเส้นใยอย่างชัดเจน และเกิดความผิดปกติของลักษณะ conidia ที่กลายเป็นสีดำ หดตัว และเห็นเป็นรอยขวางมากขึ้น

Kumar et al. (2010) คัดแยกและศึกษาลักษณะของแบคทีเรียบริเวณรากพืชจากดินบริเวณรากพืชที่ใช้เพาะปลูกทางการเกษตรบริเวณชายฝั่ง โดยคัดแยกแบคทีเรียได้ 80 ไอโซเลตจากดินบริเวณแปลงผักที่มีความเป็นต่างและมีปริมาณสารอินทรีย์ต่ำ พบว่าเกิดการยับยั้ง *C. capsici* 35 ไอโซเลต และ *Sclerotium rolfsii* 12 ไอโซเลต และพบว่าแบคทีเรียทั้งสามพันธุ์ BS1, BL5 และ BB14 จากการระบุเชื้อโดย microbial identification system (BIOLOG) เป็น *B. subtilis*, *B. licheniformis* และ *B. pumilus* ตามลำดับ แสดงการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรคทั้งสองชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อสายพันธุ์ BS1 และ BL5 สามารถผลิตสาร siderophore ได้อีกด้วย

Aliye et al. (2008) ศึกษาการประเมินประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียบริเวณรอบรากพืชในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของต้นมันฝรั่ง โดยนำเชื้อ *Bacillus* spp. (TLI-1 และ TLI-2) และ *P. fluorescens* (PR-4-I-x และ PR3-I-x) ซึ่งมีการรายงานก่อนหน้านี้ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้ และคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากพืชต่างชนิดกันได้ทั้งหมด 500 ไอโซเลต นำมาทดสอบการยับยั้งเบื้องต้นด้วยวิธี cross inoculation และจะนำไอโซเลตที่ให้ผลเป็นบวกจะนำมาทดสอบต่อไป โดยทดสอบบนอาหาร nutrient glucose agar ยกเว้นเชื้อ *P. fluorescens* ทดสอบบนอาหาร KB-medium โดยนำเชื้อ *R. solanacearum* PPRC-Rs มา spread ลงบนอาหาร และนำแผ่นกระดาษกรองที่แช่สารละลายเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาวางไว้ตรงกลางจานอาหารที่มีเชื้อก่อโรค และวัดบริเวณยับยั้ง พบว่ามี 8 ไอโซเลต คือ *B. subtilis* PFMRI, *S. marcescens* BS-wly, *P. macerans* BS-DFS และ PF9, *B. pumilus* BC และ *P. fluorescens* PF20 ให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง >11 มม. และ *K. pneumonia* BS-JM และ BS-2ab, *Bacillus* sp. (strain TLI-1 และ TLI-2), *P. fluorescens* (strain PR-3-I-x และ PR-4-I-x) ให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง <5 มม. นำไอโซเลตที่ให้ค่าการยับยั้ง >11 มม. มาศึกษาความสามารถลดอาการเหี่ยว พบว่าเชื้อ *B. subtilis* PFMRI, *P. fluorescens* PF20, *P. macerans* BS-DFS และ PF9 สามารถลดอาการเหี่ยวได้ 74, 70, 62, และ 61% ตามลำดับหลังจาก 50 วัน และพบว่า *B. subtilis* PFMRI สามารถลดอาการของโรคได้สูงที่สุดหลังจากครบ 65 วัน ศึกษาการอยู่รอด พบว่า *B. subtilis* PFMRI, *P. fluorescens* PF20 และ *P. macerans* BS-DFS และ PF9 สามารถอยู่รอดได้มากกว่า 83% จาก 8.33%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nagarajkumar *et al.* (2004) มีรายงานการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescens* จากดินบริเวณรากข้าว โดยแยกได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลต ด้วยอาหาร King's medium B (KMB) นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *R. solani* โดยวิธี Dual Culture โดยมีการทำการทดสอบ 5 ซ้ำ พบว่าเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ PfMDU2 สามารถยับยั้งการเจริญของ *R. solani* ได้เท่ากับ 13.8 มม. สายพันธุ์ PfMDU3, PfMDU11 และ pfMDU13 สามารถยับยั้งการเจริญได้เท่ากับ 12.4, 11.6 และ 12.6 มม. ตามลำดับ โดยมีการผลิตเอนไซม์ Chitinase, β -1,3-glucanase, Siderophores, Salicylic acid (SA) และ Hydrogen cyanide (HCN) ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ mycelial ได้ ส่งผลต่อการยับยั้งการเกิดโรคของเชื้อ *R. solani*



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 อุปกรณ์

- 3.1.1 ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
- 3.1.2 ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)
- 3.1.3 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 3.1.4 หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
- 3.1.5 กล้องจุลทรรศน์
- 3.1.6 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3.1.7 เครื่องแก้วต่างๆ เช่น จานเพาะเชื้อ, หลอดทดลอง
- 3.1.8 เครื่อง Vortex
- 3.1.9 Cork Borer

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.2.1 Nutrient Agar (NA)
- 3.2.2 Potato Dextrose Agar (PDA)
- 3.2.3 HiCrome Bacillus Agar
- 3.2.4 Pseudomonas Agar Base
- 3.2.5 Semisolid medium

3.3 สารเคมี

- 3.3.1 Ethanol 70% และ Ethanol 95%
- 3.3.2 Demineralized Water
- 3.3.3 Agar
- 3.3.4 Gram's Iodine
- 3.3.5 Safranin O
- 3.3.6 Crystal Violet
- 3.3.7 Malachite Green
- 3.3.8 50% Glycerol
- 3.3.9 Hydrogen Peroxide
- 3.3.10 1% Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 จุลินทรีย์

3.4.1 *Ralstonia solanacearum*

3.4.2 *Colletotrichum capsici*

3.4.3 *Fusarium oxysporum*

3.4.4 *Rhizoctonia solani*

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเก็บตัวอย่าง การแยกเชื้อ และการคัดเลือกเชื้อ

3.5.1.1 การเก็บตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่เพาะปลูกพืชผักสวนครัว โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินที่ความลึก 0-10 เซนติเมตร จำนวน 5 จุด จุดละ 500 กรัม จากต้นพืชในจังหวัดต่างๆดังต่อไปนี้

1. ต้นทองหลาง ต้นไผ่ และต้นสะเดา จากจังหวัดกรุงเทพมหานคร
2. ต้นมะนาว ต้นมะม่วง และต้นอ้อย จากจังหวัดนครปฐม
3. ต้นกล้วย ต้นน้อยหน่า และต้นมะม่วง จากจังหวัดสุพรรณบุรี

3.5.1.2 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas*

คัดแยกเชื้อ *Bacillus* และ *Pseudomonas* โดยวิธี Spread plate method โดยชั่งตัวอย่างดิน 1 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร นำไป Vortex แล้วเจือจางเป็นลำดับจนได้ระดับความเจือจาง 10^6 ถึง 10^{-10} นำสารละลายในความเจือจางดังกล่าวปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ไป Spread plate บนอาหาร HiCrome *Bacillus* Agar (HBA; Himedia) และ *Pseudomonas* Agar Base (PAB; Oxoid) ที่เติมสาร pseudomonas c-f-c supplement ระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

3.5.1.3 การคัดเลือกเชื้อ

คัดเลือกโคโลนีที่คาดว่าจะเป็แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas* โดยเชื้อ *Bacillus* ที่เจริญบนอาหาร HBA มีลักษณะโคโลนีสีเขียวแกมเหลืองถึงสีเขียว หรือ สีฟ้ามีสีน้ำเงินตรงกลาง หรือ สีฟ้าแบน ขอบไม่เรียบ หรือ สีเหลืองเข้ม หรือ สีชมพูนูน หรือ สีเขียวอ่อนถึงสีเขียว ส่วนเชื้อ *Pseudomonas* ที่เจริญบนอาหาร PAB มีลักษณะโคโลนีสีครีม เมื่อส่องภายใต้แสง UV จะมีสีเหลือง จากนั้นแยกให้บริสุทธิ์บนอาหาร NA ด้วยวิธี Streak plate method และบ่มที่อุณหภูมิห้อง 30-37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum*

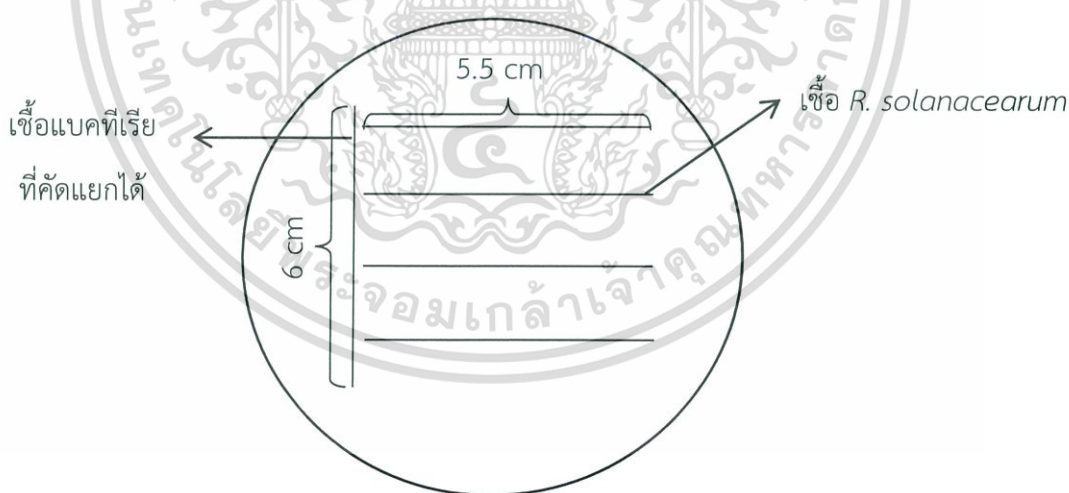
คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *R. solanacearum* โดยลากแบคทีเรียที่คัดแยกได้บนอาหาร Nutrient Agar (NA) เป็นระยะ 6 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบ 7 วัน นำเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่ก่อโรคมะขีดในแนวตั้งฉากกับรอยขีดของเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตให้ชิดมากที่สุดแต่ไม่สัมผัสกับแบคทีเรียที่ทดสอบ เป็นระยะ 5.5 เซนติเมตร (รูปที่ 3.1) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน กลุ่มควบคุม (control) คือเชื้อ *R. solanacearum* ที่ลากบนอาหาร NA ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (รูปที่ 3.2) นำเชื้อที่สามารถยับยั้งได้ในเบื้องต้นมาทดสอบไอโซเลตละ 3 ซ้ำ จากนั้นนำผลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การเจริญ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ ดังสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเจริญ} = \frac{D1}{D2} \times 100$$

โดย D1 = ระยะการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* เลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียที่คัดแยกได้

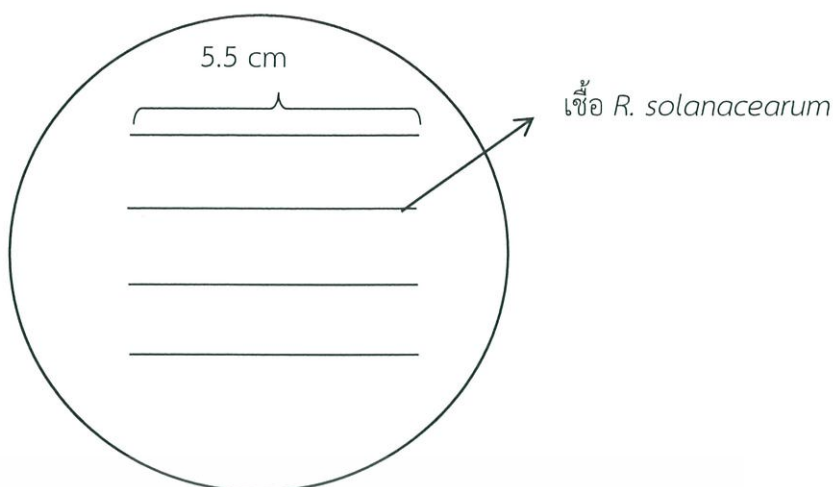
D2 = ระยะการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในชุดควบคุม

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ} = 100 - \text{เปอร์เซ็นต์การเจริญ}$$



รูปที่ 3.1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* โดยเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 กลุ่มควบคุมสำหรับการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum*

3.5.3 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืช

นำโคโลนีที่แยกได้จากอาหาร HBA และ PAB มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในเบื้องต้น โดยนำเชื้อราก่อโรคที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 4-7 วัน ได้แก่ เชื้อ *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะรูของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA วางบนอาหาร PDA จานใหม่ โดยวางไว้ตรงจุดกึ่งกลาง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตมาจุด (spot) รอบเชื้อรา 4 จุด จุดละ 1 ไอโซเลต (รูปที่ 3.3) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-6 วัน กลุ่มควบคุม (control) คือเชื้อราก่อโรคที่วางบนอาหาร PDA ที่ไม่มีเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (รูปที่ 3.4)

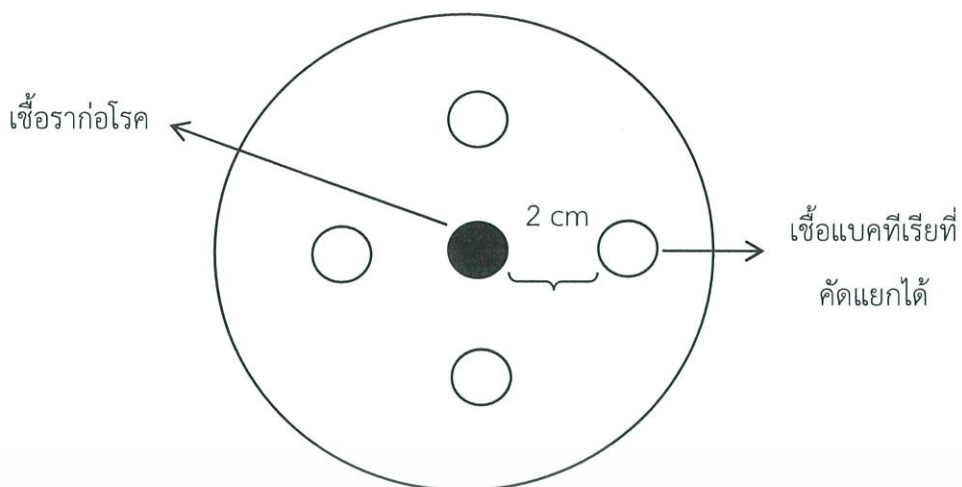
จากการคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้ในเบื้องต้น นำเชื้อราก่อโรคที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 4-7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะรูของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA วางบนอาหาร PDA จานใหม่ และนำเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตที่สามารถยับยั้งได้ในเบื้องต้นมาจุด (spot) ลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ให้มีระยะห่างจากเชื้อราเป็นระยะ 2 เซนติเมตร (รูปที่ 3.5) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-6 วัน กลุ่มควบคุม (control) โดยการวางเชื้อราอย่างเดียว (รูปที่ 3.4) ซึ่งจะทดสอบไอโซเลตละ 3 ซ้ำ จากนั้นนำผลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การเจริญ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ ดังสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเจริญ} = \frac{R1}{R2} \times 100$$

โดย $R1 =$ รัศมีโคโลนีของเชื้อราที่ร่วมเลี้ยงกับแบคทีเรีย

$R2 =$ รัศมีโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม

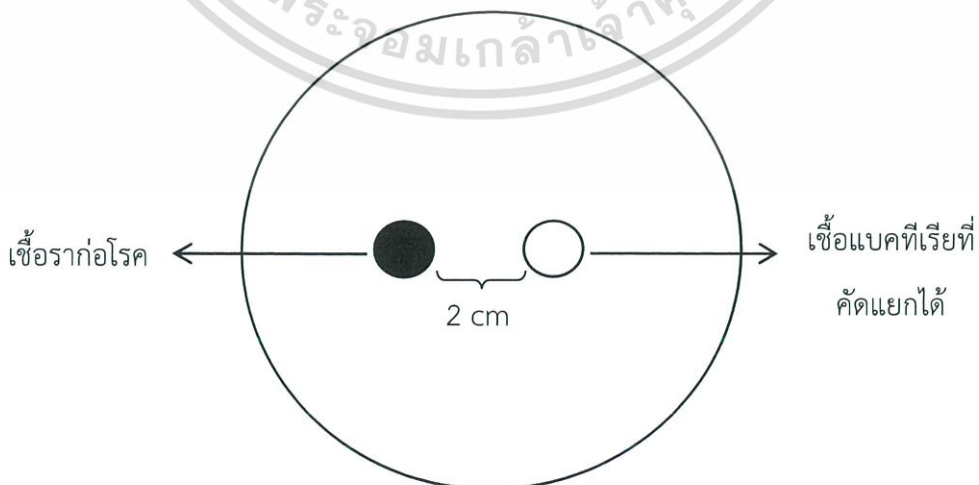
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสถาบันวิจัยและพัฒนาสุขภาพภาคใต้ ใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 แสดงการทดสอบฤทธิ์ระหว่างเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลต และเชื้อรากล่อโรคเบื้องต้น



รูปที่ 3.4 แสดงการวางเชื้อรากล่อโรคที่ใช้เป็นตัวควบคุม (control)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารที่ปรากฏมีการนำไปใช้

รูปที่ 3.5 แสดงการทดสอบฤทธิ์ระหว่างเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตและเชื้อรากล่อโรค

3.5.4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา และชีวเคมีบางประการ

3.5.4.1 การย้อมสีแกรม (Gram staining)

นำเชื้อแบคทีเรียอายุ 24-48 ชั่วโมง มา smear ลงบนสไลด์ที่สะอาด จากนั้นนำไปตรึงเชื้อ (fix) ผ่านเปลวไฟ และหยด crystal violet ให้ทั่วรอย smear ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นชะสี crystal violet ด้วยสารละลาย gram's iodine และหยดสารละลาย gram's iodine ให้ทั่วรอย smear ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที เทสารละลาย gram's iodine ทิ้ง แล้วชะด้วย alcohol 95% จนกระทั่งไม่มีสีม่วงออกมา แต่ไม่เกิน 20 วินาที แล้วล้างผ่านน้ำเบาๆ ย้อมทับด้วยการหยดสี safranin O ให้ทั่วรอย smear ทิ้งไว้เป็นเวลา 30-60 วินาที เทสีที่ล้างด้วยน้ำ แล้วซับด้วยกระดาษให้แห้ง นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 100X ลักษณะแบคทีเรียแกรมบวกจะติดสีม่วงของ crystal violet ส่วนแบคทีเรียแกรมลบจะติดสีแดงของ safranin O

3.5.4.2 การย้อมสีสปอร์ (Endospore staining)

นำเชื้อแบคทีเรียอายุ 24-48 ชั่วโมง มา smear ลงบนสไลด์ที่สะอาด จากนั้นนำไปตรึงเชื้อ (fix) ผ่านเปลวไฟ และหยด malachite green ให้ทั่วรอย smear นำไปให้ความร้อนโดยอังที่หม้อน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที ระวังอย่าให้สีย้อมแห้ง จากนั้นทิ้งสไลด์ให้เย็นแล้วล้างด้วยน้ำซับให้แห้ง แล้วหยดสี safranin O ให้ทั่วรอย smear ทิ้งไว้เป็นเวลา 30-60 วินาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำซับให้แห้ง นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 100X ลักษณะของเชื้อตัวเซลล์จะติดสีแดงของ safranin O ส่วนสปอร์จะติดสีเขียว malachite green

3.5.4.3 ศึกษาการเคลื่อนที่ของเซลล์ (Motility test)

ใช้เทคนิคการเตรียมสไลด์แบบหยดแขวน (hanging drop technique) โดยใช้ไม้จิ้มฟันตัก vasaline ให้เป็นก้อน แล้วนำไปแตะตรงมุมทั้งสี่ของกระจกปิดสไลด์ จากนั้นหยดน้ำแล้วเขี่ยเชื้อที่คัดแยกได้ลงตรงกลางกระจกปิดสไลด์ ค่อยๆ วางสไลด์แบบหุ้มทับลงบนกระจกปิดสไลด์ จากนั้นพลิกสไลด์ให้หงายขึ้นตามปกติ นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ทดสอบการเคลื่อนที่โดยเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร semisolid medium โดยนำ needle เขี่ยเชื้อที่คัดแยกได้ และถ่ายเชื้อโดยการแทงลงไป ในอาหาร semisolid medium ตรงๆ (stab) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และตรวจผลโดยเชื้อที่เคลื่อนที่ได้จะมีรอยของเชื้อที่กระจายออกตามแนวขวางจากรอย needle ที่แทงลงไป ในอาหาร

3.5.4.4 ทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส (Catalase test)

เขี่ยเชื้อลงบนสไลด์แล้วหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 3%

สังเกตการเปลี่ยนแปลง ถ้าเกิดฟองให้ผลเป็นบวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.4.5 ทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ไซโตโครมออกซิเดส (cytochrome oxidase test)

หยด 1% Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride ลงบนกระดาษกรอง จากนั้นเขี่ยเชื้อลงไป แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลง ถ้าเกิดเปลี่ยนเป็นสีม่วงภายใน 10 วินาที ให้ผลเป็นบวก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากดิน

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากพืชทั้ง 3 จังหวัด สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมดจำนวน 227 ไอโซเลต โดยแยกได้จากจังหวัดกรุงเทพมหานคร 25 ไอโซเลต แยกโดยอาหาร HBA 10 ไอโซเลต และอาหาร PAB 15 ไอโซเลต จากจังหวัดนครปฐม 69 ไอโซเลต แยกโดยอาหาร HBA 26 ไอโซเลต และอาหาร PAB 43 ไอโซเลต และจังหวัดสุพรรณบุรี 133 ไอโซเลต แยกโดยอาหาร HBA 61 ไอโซเลต และอาหาร PAB 72 ไอโซเลต แสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินทั้ง 3 จังหวัด

สถานที่เก็บตัวอย่าง	รหัสของเชื้อที่แยกได้	ลักษณะของโคโลนี
กรุงเทพมหานคร	B101	สีครีม ขนาดใหญ่ กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B102	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B103	สีครีม ขนาดใหญ่ กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B104	สีขาวขุ่น ขนาดใหญ่ กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B105	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าขุ่น
	B106	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B107	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าขุ่น
	B108	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าขุ่น
	B109	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B110	สีครีมขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P101	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P102	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P103	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P104	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P105	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ สร้างสารสีเหลืองรอบโคโลนี
	P106	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ สร้างสารเหลืองรอบโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่เก็บตัวอย่าง	รหัสของเชื้อที่แยกได้	ลักษณะของโคโลนี	
กรุงเทพมหานคร	P107	สีขาวยโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ สร้างสารเหลืองรอบโคโลนี	
	P108	สีขาวยโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
	P109	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
	P110	สีขาวยโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	
	P111	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	
	P112	สีขาวยโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	
	P113	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	
	P114	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	
	P115	สีขาวยโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
	นครปฐม	B211	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบด้าน ผิวหน้าแบน
		B212	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าขุ่น
		B213	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าด้าน
		B214	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าด้าน
		B215	สีครีมขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ สร้างสารสีขาวรอบๆโคโลนี
		B216	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
B217		สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
B218		สีครีมขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
B219		สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน	
B220		สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน	
B221		สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ สร้างสารสีขาวรอบๆโคโลนี	
B222		สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน	
B223		สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ สร้างสารสีขาวรอบๆโคโลนี	
B224		สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ สร้างสารสีขาวรอบๆโคโลนี	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเครือข่ายศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่เก็บ ตัวอย่าง	รหัสของเชื้อที่ แยกได้	ลักษณะของโคโลนี
นครปฐม	B225	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B226	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B227	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B228	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B229	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B230	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B231	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B232	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบหยาบ ผิวหน้าแบน
	B233	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B234	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B235	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B236	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ สร้างสารสีขาวรอบๆ โคโลนี ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P216	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P217	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P218	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P219	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P220	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P221	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P222	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าหยาบ
	P223	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P224	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P225	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P226	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P227	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P228	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P229	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P230	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P231	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P232	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเฉพาะที่ปรึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ขออนุญาตจากทาง
ไม่มีกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่เก็บ ตัวอย่าง	รหัสของเชื้อที่ แยกได้	ลักษณะของโคโลนี
นครปฐม	P233	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P234	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P235	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P236	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P237	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P238	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P239	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P240	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P241	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P242	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P243	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P244	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P245	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P246	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P247	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P248	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าขุ่น
	P249	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P250	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบแบน
	P251	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P252	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P253	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P254	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P255	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P256	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
P257	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
P258	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	
สุพรรณบุรี	B337	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าด้าน
	B338	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B339	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าขุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่เก็บ ตัวอย่าง	รหัสของเชื้อที่ แยกได้	ลักษณะของโคโลนี
สุพรรณบุรี	B340	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B341	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B342	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B343	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าด้าน
	B344	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B345	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B346	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B347	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B348	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B349	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B350	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B351	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B352	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าแบนด้าน
	B353	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B354	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B355	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าด้าน
	B356	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B357	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B358	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าด้าน
	B359	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B360	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	B361	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าด้าน
	B362	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าด้าน
	B363	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าแบนด้าน
	B364	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B365	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B366	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าแบน

สถานที่เก็บ ตัวอย่าง	รหัสของเชื้อที่ แยกได้	ลักษณะของโคโลนี
สุพรรณบุรี	B367	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B368	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าแบนด้าน
	B369	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B370	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B371	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B372	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B373	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B374	สีขาว ขนาดเล็ก ขรุขระ ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B375	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B376	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	B377	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าเรียบด้าน
	B378	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าแบนด้าน
	B379	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B380	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B381	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B382	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B383	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B384	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าแบนด้าน
	B385	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนมันเยิ้ม
	B386	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนมันเยิ้ม
	B387	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B388	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B389	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าแบนด้าน
	B390	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
	B391	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนด้าน
	B392	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน
B393	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบน	
B394	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนมันวาว	
B395	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนมันวาว	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่เก็บ ตัวอย่าง	รหัสของเชื้อที่ แยกได้	ลักษณะของโคโลนี
สุพรรณบุรี	B396	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนมันวาว
	B397	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนมันวาว
	P359	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนมันวาว
	P360	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้ามันวาว
	P361	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้ามันวาว
	P362	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้ามันวาว
	P363	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้ามันวาว
	P364	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P365	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P366	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P367	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P368	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P369	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P370	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P371	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P372	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P373	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P374	สีครีม ขนาดเล็ก ไม่เป็นรูปเป็นร่าง ขอบหยัก ผิวหน้าเรียบ
	P375	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P376	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบหยัก ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P377	สีครีม ขนาดเล็ก ไม่เป็นรูปเป็นร่าง ขอบหยัก ผิวหน้าแบน
	P378	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P379	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P380	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P381	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P382	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P383	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P384	สีขาวขุ่น ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P385	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นต้นการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่เก็บตัวอย่าง	รหัสของเชื้อที่แยกได้	ลักษณะของโคโลนี
สุพรรณบุรี	P386	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P387	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P388	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P389	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P390	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P391	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P392	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P393	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P394	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P395	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P396	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P397	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าแบนมันวาว
	P398	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P399	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P3100	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P3101	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P3102	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว
	P3103	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3104	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3105	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
P3106	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	
P3107	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	
P3108	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
P3109	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
P3110	สีครีม ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
P3111	สีขาวโปร่งแสง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบมันวาว	
P3112	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	
P3113	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์อื่นใด

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่เก็บ ตัวอย่าง	รหัสของเชื้อที่ แยกได้	ลักษณะของโคโลนี
สุพรรณบุรี	P3114	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3115	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3116	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3117	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3118	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3119	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3120	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3121	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3122	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3123	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3124	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3125	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3126	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3127	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3128	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
	P3129	สีขาว ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ
P3130	สีเหลือง ขนาดเล็ก กลม ขอบเรียบ ผิวหน้าเรียบ	

- หมายเหตุ : รหัส B หมายถึง แบคทีเรียที่คัดแยกโดยใช้อาหาร HBA
 รหัส P หมายถึง แบคทีเรียที่คัดแยกโดยใช้อาหาร PAB
 รหัส 1XX หมายถึง แบคทีเรียที่คัดแยกมาจากดินจังหวัดกรุงเทพมหานคร
 รหัส 2XX หมายถึง แบคทีเรียที่คัดแยกมาจากดินจังหวัดนครปฐม
 รหัส 3XXX หมายถึง แบคทีเรียที่คัดแยกมาจากดินจังหวัดสุพรรณบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA ซึ่งคาดว่าเป็นเชื้อในสกุล *Bacillus* เนื่องจากอาหาร HBA เป็น differential media ที่ดูความแตกต่างของเชื้อในสกุล *Bacillus* ด้วยวิธี chromogenic ที่ใช้ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ β -glucosidase จึงทำให้เชื้อในสกุล *Bacillus* สามารถขึ้นบนอาหารชนิดนี้ได้โดยจะปรากฏสีของโคโลนีที่แตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ เช่น เชื้อ *B. megaterium* เกิดการหมักน้ำตาล mannitol จะปรากฏโคโลนีสีเหลือง งานวิจัยชิ้นหนึ่งได้มีการคัดแยกเชื้อ *Bacillus* sp., *B. cereus* และ *B. licheniformis* ในน้ำนมดิบ พบว่าอาหาร HBA ค่อนข้างเหมาะสมในงานวิจัยนี้เนื่องจากสามารถทดสอบกิจกรรมทางชีวเคมีที่หลากหลายได้ภายในขั้นตอนเดียวเมื่อใช้อาหารชนิดนี้ เช่น ตรวจสอบการหมักน้ำตาล mannitol, กิจกรรมของเอนไซม์ β -Glucosidase และความต้านทานต่อสาร polymyxin B ของเชื้อ *B. cereus* นอกจากนี้เชื้อ *B. cereus* และ *B. licheniformis* ที่เจริญบนอาหาร HBA ยังแสดงลักษณะที่แตกต่างกันด้วย (Nemeckova et al., 2011) และงานวิจัยอีกชิ้นหนึ่งได้มีการคัดแยกเชื้อ *B. thuringiensis* จากดินที่มีความหลากหลายทางภูมิศาสตร์ โดยใช้อาหาร HBA เพื่อหาแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* เนื่องจากเป็นอาหารที่จำเพาะเจาะจงสำหรับเชื้อสกุล *Bacillus* และทุกสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตบนอาหารชนิดนี้ได้ สายพันธุ์ที่แตกต่างกันจะแสดงลักษณะโคโลนีและรูปร่างที่แตกต่างกัน (Jafari et al., 2013)

แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB คาดว่าเป็นเชื้อในสกุล *Pseudomonas* หรืออาจจะเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบอื่นๆ เนื่องจากงานวิจัยชิ้นหนึ่งได้นำเชื้อ *Pseudomonas* 15 ชนิด 85 สายพันธุ์ แบคทีเรียแกรมลบอื่นๆอีก 63 สายพันธุ์ และแบคทีเรียแกรมบวกอีก 5 สายพันธุ์ มาทดสอบการเป็น selective medium ของอาหาร 4 ชนิด ได้แก่ Grant and Holt medium (GH), *Pseudomonas* agar base with C-F-C supplement SR103 (PAB-CFC), *Pseudomonas* isolation agar (PIA) และ *Pseudomonas* selective isolation agar (PSIA) พบว่าไม่มีอาหารชนิดใดที่ทำให้เชื้อ *Pseudomonas* ทุกสายพันธุ์เจริญได้ทั้งหมด โดยอาหาร PSIA สามารถเจริญได้ 80 สายพันธุ์ และบนอาหาร PIA, PAB-CFC และ GH สามารถเจริญได้ 69, 76 และ 81 สายพันธุ์ ตามลำดับ และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบอื่นๆก็สามารถเจริญบนอาหารเหล่านี้ได้เช่นกัน โดยอาหาร PAB-CFC มีเชื้อแบคทีเรียแกรมลบอื่นๆเจริญได้มากที่สุด (Krueger and Sheikh, 1987) และงานวิจัยอีกชิ้นหนึ่งแยกหาเชื้อในสกุล *Pseudomonas* จากดินบริเวณรากของต้นหึ่งเม่นที่สามารถย่อยสลาย hydrocarbon โดยใช้อาหาร PAB และมีการเติมสารประกอบ Cetrimide, Fucidin และ Cephalosporin เพื่อเพิ่มความจำเพาะในการแยกเชื้อ *Pseudomonas* มากขึ้นและยอมให้สายพันธุ์ที่ผลิตสารสีและไม่ผลิตสารสีสามารถเจริญเติบโตได้ (Mayz et al., 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum*

ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค *R. solanacearum* กับเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ พบว่าไม่พบไอโซเลตใดที่มีคุณสมบัติดังกล่าว เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 4.1 ก และ ข) ซึ่งให้ผลตรงข้ามกับงานวิจัยที่ผ่านมา ได้มีการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินบริเวณรอบรากต้นมะเขือเทศและมันฝรั่งที่อุดมสมบูรณ์ไม่เป็นโรคได้ทั้งหมด 150 ไอโซเลต ทดสอบการยับยั้งโดยวิธี dual culture จะนำเชื้อ *R. solanacearum* มา spread ลงบนอาหาร King's B agar (KB) medium และนำกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มม. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วแช่ลงในสารละลายเชื้อปฏิปักษ์ นำไปวางไว้ตรงกลางอาหารที่มีเชื้อก่อโรค สังเกตการเกิดบริเวณยับยั้งรอบแผ่นกระดาษกรอง พบว่ามี 13 ไอโซเลตที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคโดยให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งอยู่ระหว่าง 5.4-21.5 มม. และพบว่าไอโซเลตของ *B. cereus* และ *P. putida* เกิดบริเวณการยับยั้งที่สูง มากกว่า 11 มม. (Buddenhagen and Wydra, 2013) อาจเป็นไปได้ว่าไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในการศึกษารั้งนี้เป็นสปีชีส์ที่แตกต่างกันและวิธีการทดสอบการยับยั้งบนอาหารที่แตกต่างกันโดยทดสอบบนอาหาร KB medium อาจทำให้เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินสามารถเจริญได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับอาหาร NA จึงทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้

(ก)



(ข)



รูปที่ 4.1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum*

ก. การเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในชุดควบคุม

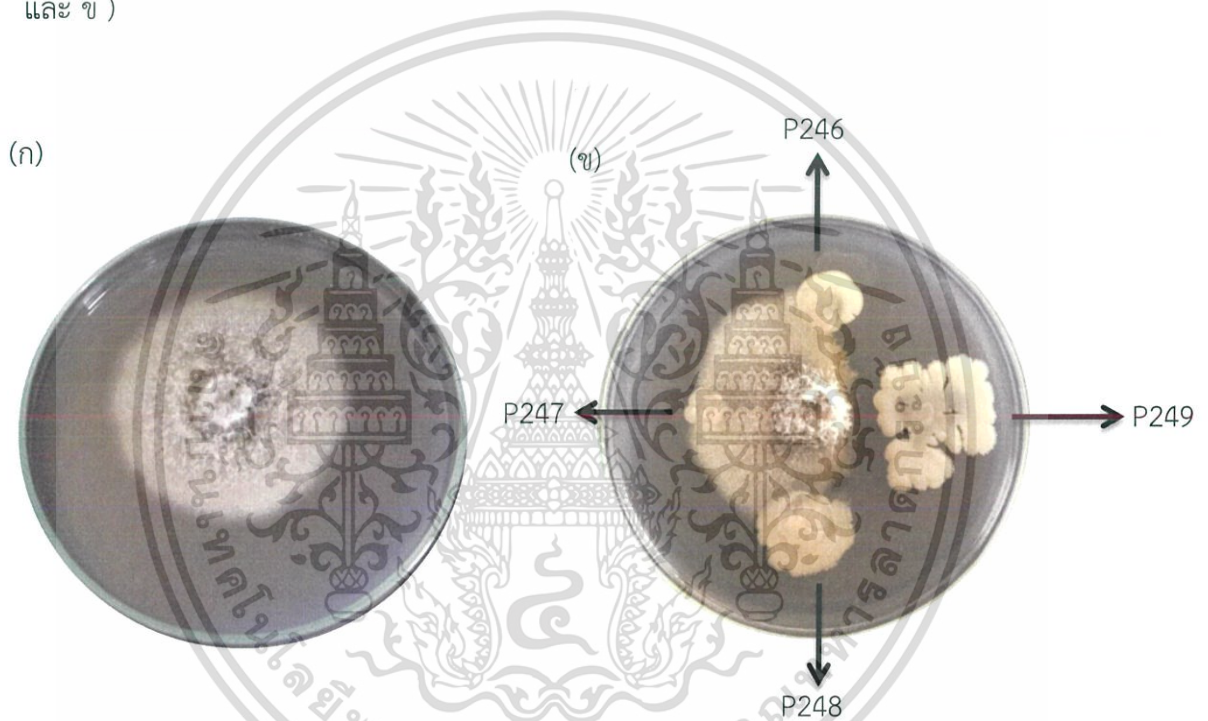
ข. การเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียไอโซเลต B369 ซึ่งไม่แสดงการยับยั้งการเจริญของ *R. solanacearum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค

4.3.1 การยับยั้งเชื้อรา *C. capsici*

ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืช จากการนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA จำนวน 97 ไอโซเลต มาทดสอบการยับยั้งเบื้องต้น พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* มีจำนวน 40 ไอโซเลต ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB จำนวน 130 ไอโซเลต ให้ผลยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* จำนวน 48 ไอโซเลต สังเกตการยับยั้งได้โดยพิจารณาจากการเกิดบริเวณยับยั้งระหว่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้กับเชื้อก่อโรค (รูปที่ 4.2 ก และ ข)



รูปที่ 4.2 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้

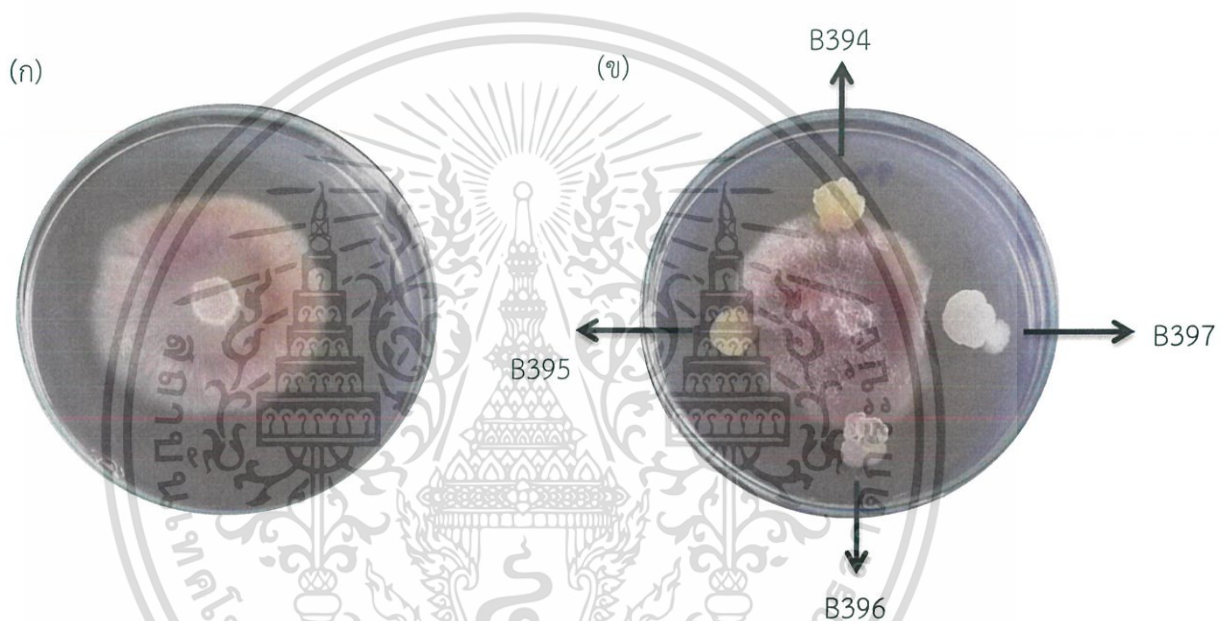
ก. การเจริญของเชื้อรา *C. capsici* ในชุดควบคุม

ข. ไอโซเลต P249 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* ส่วนไอโซเลต P246, P247, P248 ไม่แสดงการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum*

ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืช จากการนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA จำนวน 97 ไอโซเลต มาทดสอบการยับยั้งเบื้องต้น พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* มีจำนวน 20 ไอโซเลต ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB จำนวน 130 ไอโซเลต ให้ผลยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* จำนวน 23 ไอโซเลต สังเกตการยับยั้งได้โดยพิจารณาจากการเกิดบริเวณยับยั้งระหว่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้กับเชื้อก่อโรค (รูปที่ 4.3 ก และ ข)



รูปที่ 4.3 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้

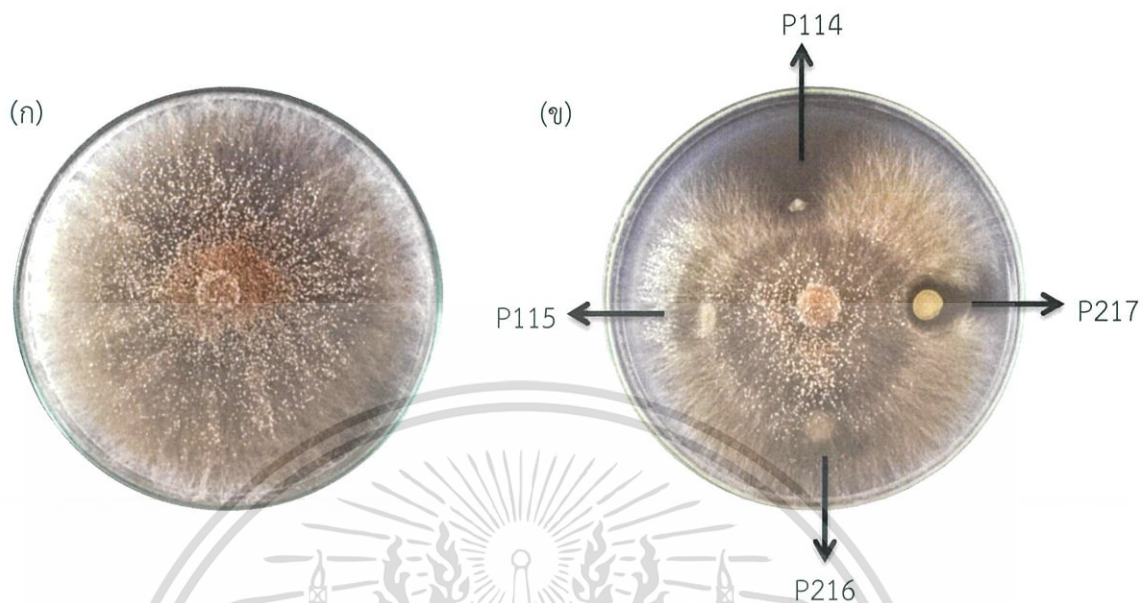
ก. การเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* ในชุดควบคุม

ข. ไอโซเลต B397 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* ส่วนไอโซเลต B394, B395, B396 ไม่แสดงการยับยั้ง

4.3.3 การยับยั้งเชื้อรา *R. solani*

ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืช จากการนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA จำนวน 97 ไอโซเลต มาทดสอบการยับยั้งเบื้องต้น พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ให้ผลยับยั้งเชื้อรา *R. solani* มีจำนวน 34 ไอโซเลต ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB จำนวน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

130 ไอโซเลต ให้ผลยับยั้งเชื้อรา *R. solani* มีจำนวน 24 ไอโซเลต สังเกตการยับยั้งได้โดยพิจารณาจากการเกิดบริเวณยับยั้งระหว่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้กับเชื้อก่อโรค (รูปที่ 4.4 ก และ ข)



รูปที่ 4.4 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้

ก. การเจริญของเชื้อรา *R. solani* ในชุดควบคุม

ข. ไอโซเลต P217 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* ส่วนไอโซเลต P114, P115, P216 ไม่แสดงการยับยั้ง

4.4 การทดสอบยืนยันการยับยั้งเชื้อราก่อโรค

ผลการทดสอบยืนยัน นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* ในเบื้องต้นได้จำนวน 40, 20 และ 34 ไอโซเลต ตามลำดับ มาทดสอบยืนยันพบว่า เชื้อแบคทีเรียที่ยังสามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* ได้มีจำนวน 9, 10 และ 26 ไอโซเลตตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ที่ยังสามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* ในเบื้องต้นได้จำนวน 48, 23 และ 24 ไอโซเลตตามลำดับ มาทดสอบการยืนยันพบว่า เชื้อแบคทีเรียที่ยังสามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* ได้มีจำนวน 9, 7 และ 13 ไอโซเลตตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) จากตารางแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของโรคพืชจำนวน 54 ไอโซเลต แบ่งเป็น 36 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้ 1 ชนิดโดยเป็นเชื้อจากอาหาร HBA และ PAB จำนวน 20 และ 16 ไอโซเลตตามลำดับ 16 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการสงวนเพื่อสิทธิพิเศษเท่านั้น มิฉะนั้นผู้ใดที่เห็นประโยชน์หรือมีข้อสงสัย
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ 2 ชนิดโดยเป็นเชื้อจากอาหาร HBA และ PAB จำนวน 11 และ 5 ไอโซเลตตามลำดับ และ 2 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้ 3 ชนิด โดยเป็นเชื้อจากอาหาร HBA และ PAB อย่างละ 1 ไอโซเลต

ตารางที่ 4.2 แสดงไอโซเลตแบคทีเรียที่ให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

ไอโซเลต	การยับยั้ง		
	<i>C. capsici</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>R. solani</i>
B102	-	-	+
B104	-	-	+
B106	+	-	-
B107	-	-	+
B108	-	+	+
B211	-	+	+
B221	-	-	+
B223	-	-	+
B224	-	+	-
B337	-	+	-
B338	-	+	-
B340	-	+	-
B341	+	+	+
B352	-	+	+
B355	+	-	-
B361	-	-	+
B362	-	-	+
B364	-	-	+
B366	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ควรตีพิมพ์ หักสั้น อัดซ้ำ ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	การยับยั้ง		
	<i>C. capsici</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>R. solani</i>
B367	-	-	+
B368	-	-	+
B369	+	-	+
B370	-	+	+
B371	+	-	+
B372	+	-	+
B374	-	-	+
B375	+	-	+
B376	-	-	+
B378	-	-	+
B379	-	-	+
B384	+	-	+
B397	-	+	+
P232	-	-	+
P233	-	-	+
P234	-	-	+
P235	-	-	+
P236	+	-	+
P237	-	-	+
P238	-	-	+
P239	-	-	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	การยับยั้ง		
	<i>C. capsici</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>R. solani</i>
P360	-	+	-
P381	+	-	-
P3112	+	-	+
P3114	-	+	-
P3115	+	+	+
P3116	-	+	-
P3118	+	-	-
P3119	+	-	+
P3122	+	+	-
P3123	+	-	-
P3124	-	+	+
P3129	-	+	-
P3130	+	-	-

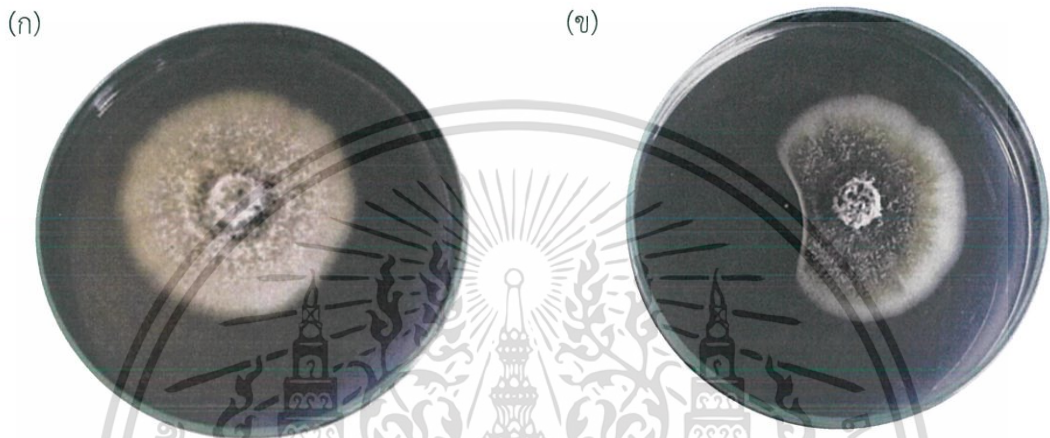
หมายเหตุ + หมายถึง แสดงผลการยับยั้ง
- หมายถึง ไม่แสดงผลการยับยั้ง

4.5 การประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค

4.5.1 การยับยั้งเชื้อรา *C. capsici*

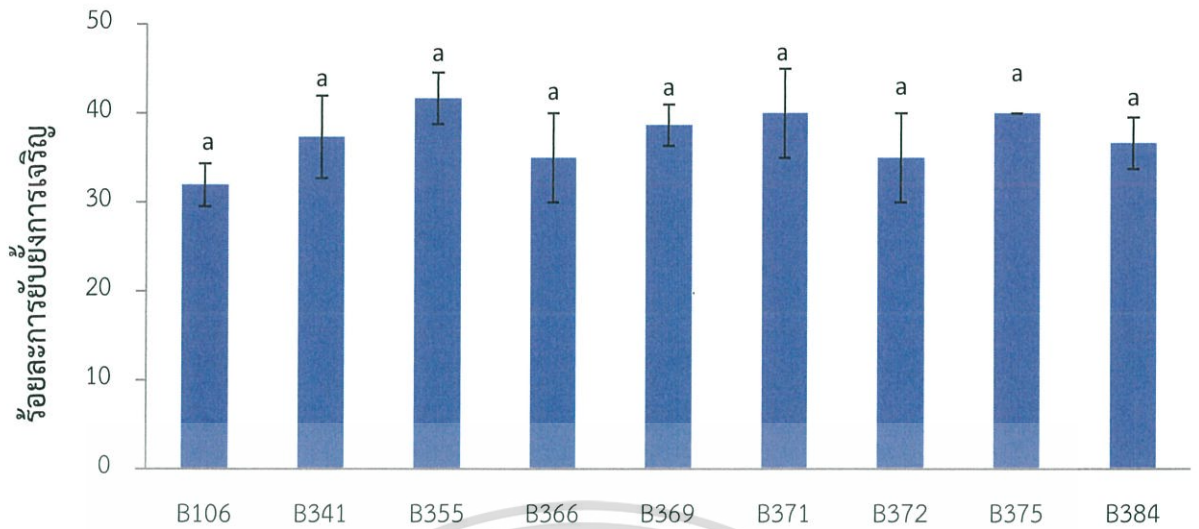
ผลการประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* นำเชื้อแบคทีเรียจำนวน 9 ไอโซเลตที่ให้ผลยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* มาวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 4.5 ก และ ข) แล้วประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งโดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง พบว่าสามารถยับยั้งอยู่ในช่วงระหว่าง 31.94% ถึง 41.67% จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ไอโซเลตที่มีค่าการยับยั้งดีไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุดคือ B355 แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับไอโซเลตแบคทีเรียตัวอื่น (รูปที่ 4.6) ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB มีจำนวน 9 ไอโซเลต สามารถยับยั้งอยู่ในช่วงระหว่าง 10.00% ถึง 51.85% จากการวิเคราะห์ทางสถิติสามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ให้ค่าการยับยั้งดีที่สุดได้แก่ P3112, P3118 และ P3119 โดยในกลุ่มนี้เชื้อที่ให้ค่าเฉลี่ยในการยับยั้งมากที่สุดคือ ไอโซเลต P3119 (รูปที่ 4.7)

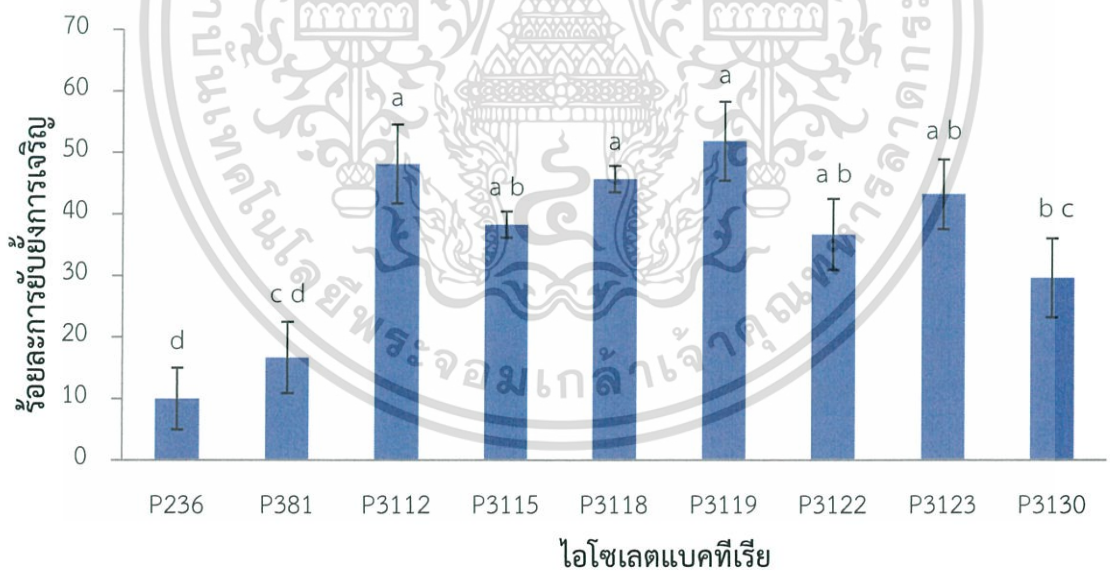


รูปที่ 4.5 ประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici* โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้
 ก. การเจริญของเชื้อรา *C. capsici* ในชุดควบคุม
 ข. ไอโซเลต P3119 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. capsici*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *C. capsici* กับ ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA



รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *C. capsici* กับ ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB

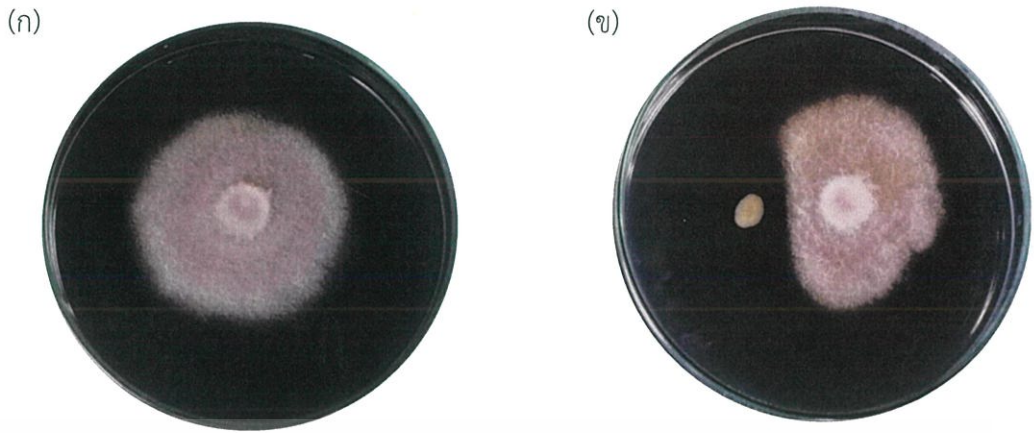
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *C. capsici* กับ ไอโซเลตแบคทีเรีย จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA ไอโซเลตแบคทีเรียที่ยับยั้งดีที่สุด คือ B355 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 41.67% งานวิจัยชิ้นหนึ่งได้คัดแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. จากใบพริก ผลพริก และดินบริเวณรอบโคนต้นพริก ได้ทั้งหมด 607 ไอโซเลต จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้ง พบว่า เชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 370 ไอโซเลตสามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici* C13 ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ระหว่าง 71.00% - 100% มา (ปฏิมาพร, 2551) จะเห็นได้ว่าค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมีค่าสูงกว่าอาจเป็นเพราะว่าไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาจากดินจากต้นไม้ที่ต่างชนิดกัน ทำให้สามารถคัดแยกเชื้อในสกุล *Bacillus* และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูงกว่า เนื่องจากดินอาจจะมีควมอุดมสมบูรณ์มากกว่า ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ไอโซเลตแบคทีเรียที่ยับยั้งดีที่สุด คือ P3119 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 51.85% งานวิจัยชิ้นหนึ่งได้มีการคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* WS-1 จากดินบริเวณรากพืชของต้นโสมอินเดีย ที่ไม่เป็นโรคและระบุสายพันธุ์โดยใช้ Microbial Type Culture Collection (MTCC) (Maity *et al.*, 2007) ทดสอบ Dual culture โดยใช้ circular (O) และ semicircular (U) method บนอาหาร peptone glucose agar (PGA) พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *C. capsici* โดย *P. aeruginosa* WS-1 มีค่าเท่ากับ 53.21 และ 41.57% ตามลำดับ (Chandra *et al.*, 2010) ซึ่งจะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองในการศึกษาครั้งนี้

4.5.2 การยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum*

ผลการประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* นำเชื้อแบคทีเรียจำนวน 20 ไอโซเลตที่ให้ผลยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* มาวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 4.8 ก และ ข) แล้วประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งโดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง พบว่าสามารถยับยั้งอยู่ในช่วงระหว่าง 5.88% ถึง 46.47% จากการวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ให้ค่าการยับยั้งดีที่สุด ได้แก่ B397 (รูปที่ 4.9) ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB มีจำนวน 23 ไอโซเลต สามารถยับยั้งอยู่ในช่วงระหว่าง 7.94% ถึง 38.10% จากการวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ให้ค่าการยับยั้งดีที่สุด ได้แก่ P360, P3114, P3115, P3116, P3124 และ P3129 โดยในกลุ่มนี้เชื้อที่ให้ค่าเฉลี่ยในการยับยั้งมากที่สุด คือ P3116 (รูปที่ 4.10)

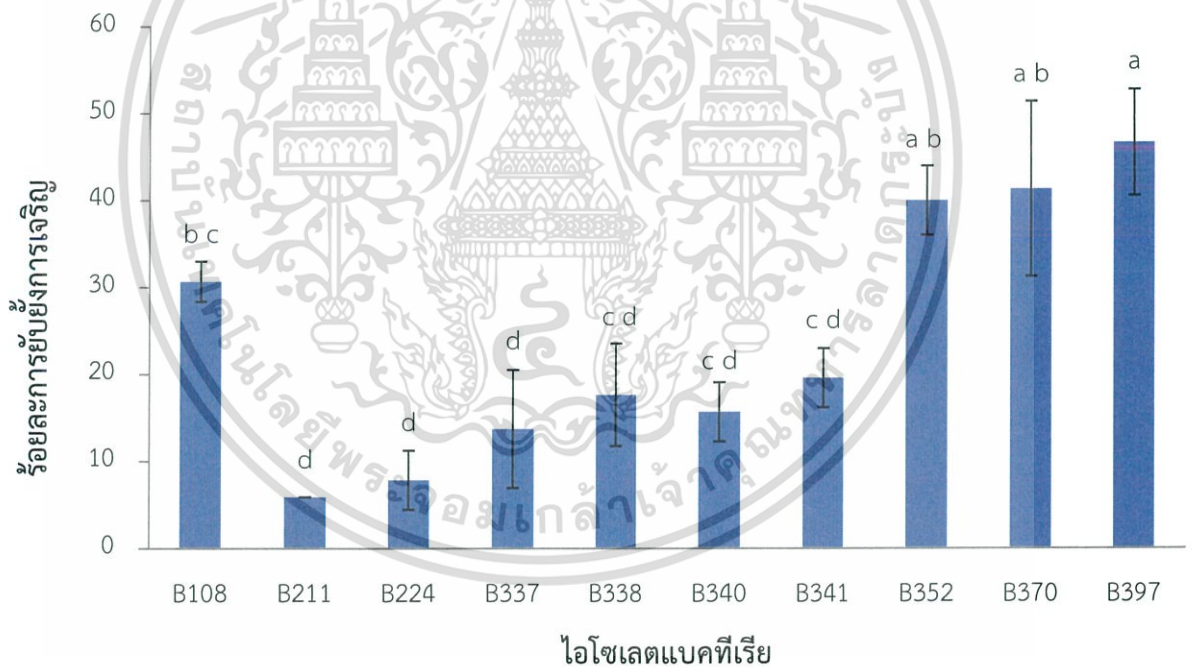
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้

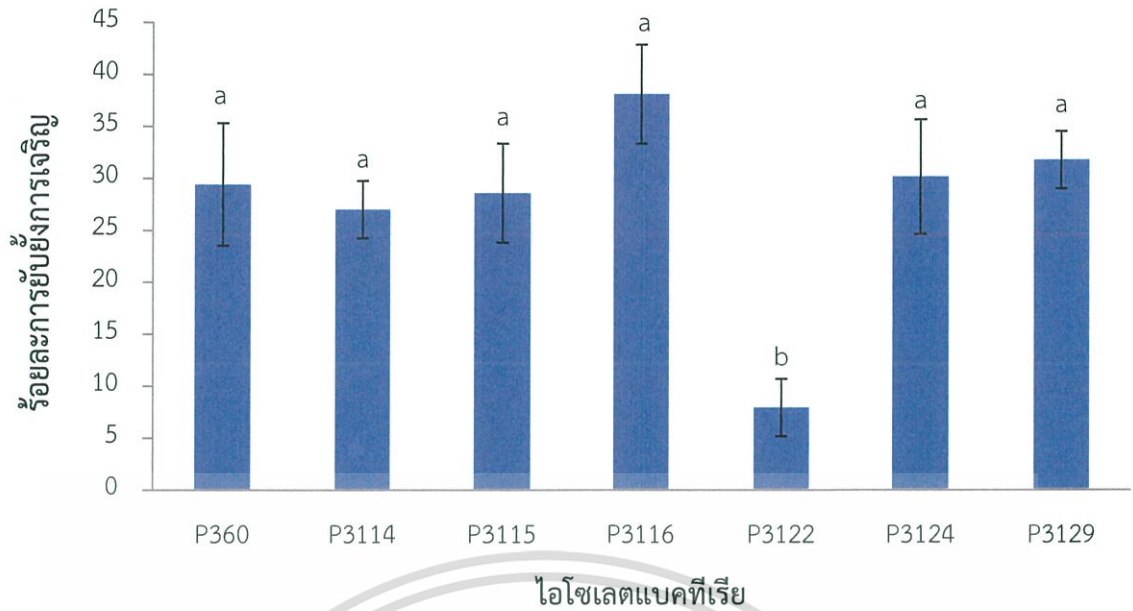
ก. การเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* ในชุดควบคุม

ข. ไอโซเลต P3116 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum*



รูปที่ 4.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *F. oxysporum* กับ ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *F. oxysporum* กับ ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB

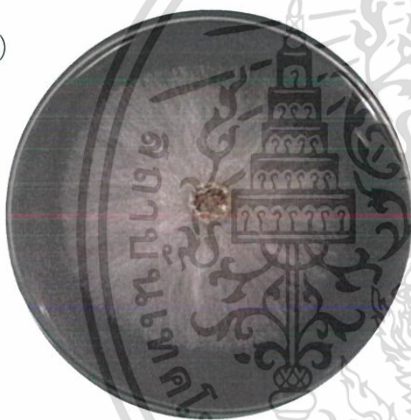
จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *F. oxysporum* กับ ไอโซเลตแบคทีเรีย จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA เป็นเชื้อที่ยับยั้งดีที่สุด คือ B397 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 46.47% งานวิจัยชิ้นหนึ่งศึกษาการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* ในต้นละหุ่ง โดยคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจำนวน 500 ไอโซเลตจากดินบริเวณรอบรากต้นละหุ่ง พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียจำนวน 42 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* โดยมีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญอยู่ระหว่าง 46.1% ถึง 68.2% และได้นำแบคทีเรียจำนวน 42 ไอโซเลตไประบุสปีชีส์โดยใช้ Rep-PCR genomic fingerprinting พบว่าเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* จำนวน 24 ไอโซเลต ส่วนที่เหลือเป็นเชื้อ *Bacillus licheniformis*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus* และ *Bacillus cereus* (Janga *et al.*, 2017) ซึ่งอาจจะมีความเป็นไปได้ว่าไอโซเลตที่คัดแยกได้ในการศึกษานี้ อาจเป็นสปีชีส์ที่ต่างจากงานวิจัยอื่นจึงทำให้ค่าร้อยละการยับยั้งการเจริญที่มีค่าสูงสุดต่ำกว่างานวิจัยที่ผ่านมา ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ไอโซเลตแบคทีเรียที่ยับยั้งดีที่สุดคือ P3116 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 38.10% งานวิจัยชิ้นหนึ่งศึกษาการยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) พบว่าเชื้อในสกุล *Pseudomonas* กลุ่มที่สร้างสารเรืองแสงจำนวน 37 ไอโซเลตสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* ที่ก่อโรคในต้นมะเขือเทศได้ และพบว่ามี 4 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้มากกว่า 45% โดยไอโซเลต P₁₆ แสดงค่าร้อยละการยับยั้งสูงที่สุดคือ 56% (Srivastava *et al.*, 2010) จะเห็นได้ว่าค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมีค่าสูงกว่าผลการทดลองในการศึกษานี้ อาจเป็นไปได้ว่าไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้เป็นเชื้อคนละชนิดกัน

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินทางปัญญาของสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 การยับยั้งเชื้อรา *R. solani*

ผลการประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *R. solani* นำเชื้อแบคทีเรียจำนวน 26 ไอโซเลตที่ให้ผลยับยั้งเชื้อรา *R. solani* มาวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 4.11 ก และ ข) แล้วประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งโดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง พบว่าสามารถยับยั้งอยู่ในช่วงระหว่าง 14.29% ถึง 48.15% การวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถแบ่งได้เป็น 12 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ให้ค่าการยับยั้งดีที่สุด ได้แก่ B102 (รูปที่ 4.12) ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB มีจำนวน 13 ไอโซเลต สามารถยับยั้งอยู่ในช่วงระหว่าง 28.40% ถึง 48.15% จากการวิเคราะห์ทางสถิติ สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ให้ค่าการยับยั้งดีที่สุด ได้แก่ P232, P233, P234, P235, P236, P237, P238, P239, P241 และ P3112 โดยในกลุ่มนี้เชื้อที่ให้ค่าเฉลี่ยในการยับยั้งมากที่สุดคือ P235 (รูปที่ 4.13)

(ก.)



(ข.)

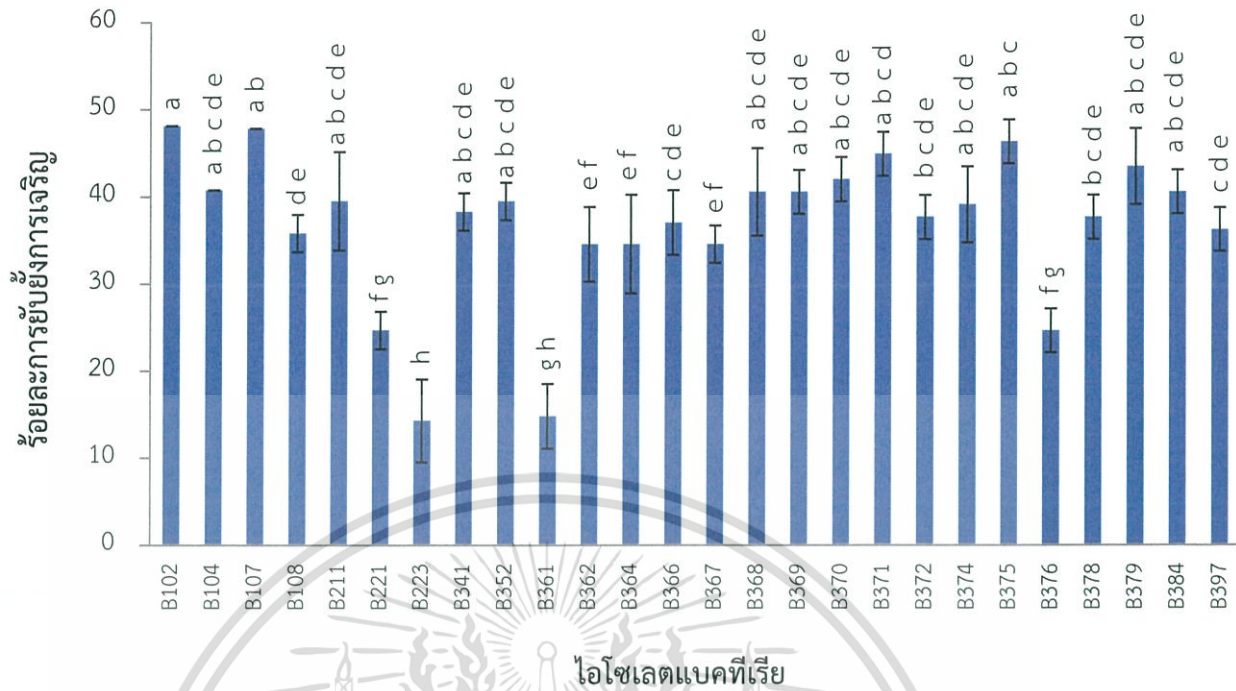


รูปที่ 4.11 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani*

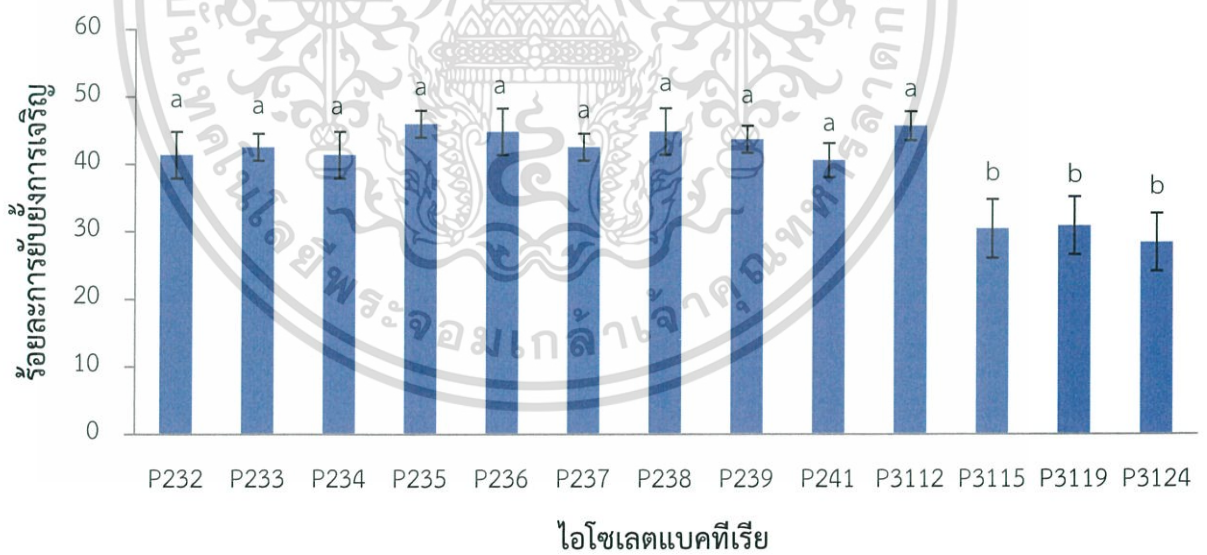
ก. การเจริญของเชื้อรา *R. solani* ในชุดควบคุม

ข. ไอโซเลต P3112 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *R. solani* กับ ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA



รูปที่ 4.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *R. solani* กับ ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *R. solani* กับ ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA เชื้อที่ยับยั้งดีที่สุด คือ B102 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 48.15% งานวิจัยชิ้นหนึ่งได้มีการศึกษาการยับยั้งโดยคัดแยกเชื้อ *R. solani* ได้จากแปลงทดลองปลูกข้าวของสถานีพัฒนาที่ดินลำพูน ตำบลศรีบัวบาน อำเภอเมือง จังหวัดลำพูน ได้จำนวน 4 ไอโซเลต คือ RSLPN-1, RSLPN-2, RSLPN-3 และ RLSPN-4 และนำมาทดสอบการยับยั้งโดยเชื้อ *B. megaterium* No.16 ทดสอบด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 4 วัน พบว่าเชื้อ *B. megaterium* No.16 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. solani* แต่ละไอโซเลตได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 41.65, 26.78, 26.08 และ 42.35% ตามลำดับ (ปิลันธนา และ ศรวิชญ์, 2558) ส่วนเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *R. solani* ได้ดีที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ คือ P235 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 48.15% งานวิจัยชิ้นหนึ่งซึ่งคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากต้นกล้าของข้าวได้จำนวน 10 ไอโซเลตและคัดแยกเชื้อ *P. fluorescens* โดยใช้อาหาร King's B medium นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *R. solani* ด้วยวิธี dual culture พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ *P. fluorescens* ทั้ง 10 ไอโซเลตมีค่าเท่ากับ 17-58% โดย *P. fluorescens* 003 ให้ค่าการยับยั้งสูงสุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับไอโซเลตอื่น (Reddy *et al.*, 2015) จะเห็นได้ว่าผลจากการทดลองค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดในการศึกษานี้มีค่าอยู่ระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของงานวิจัยที่ผ่านมา

4.6 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น และชีวเคมีบางประการของเชื้อที่แยกได้จากอาหาร HBA

นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA และยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อในพืชได้มาศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการ ได้ผลดังตารางที่ 4.3 จากตารางจะเห็นได้ว่ามีเชื้อแบคทีเรียจำนวน 26 ไอโซเลตที่ให้ผลเป็นแกรมบวก และมี 6 ไอโซเลตที่ให้ผลเป็นแกรมลบ จากการสืบค้นในหนังสือ Bergey's manual of systematic bacteriology volume three ลักษณะเฉพาะของจีแนส *Bacillus* คือ เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* หรือแบคทีเรียแกรมบวกในระยะแรกของการเจริญ เช่น *B. decolorationis* และ *B. funiculus* หรือแบคทีเรียแกรมลบเช่น *B. fordii* เป็นต้น และเชื้อในสกุล *Bacillus* ทุกสปีชีส์สามารถสร้างสปอร์แบบ endospore แต่จะมีรูปร่างที่แตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ดังนี้ Ellipsoidal, Spherical, Borne, Terminally, Sporangia swollen และ Parasporal crystals และส่วนมากจะสร้างเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือมีการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิฉะนั้นผู้ใดเห็นประโยชน์หรือเห็นคุณค่าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะตะเลส (Logan and Vos, 1972) จากผลการทดลองเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดจำนวน 32 ไอโซเลต พบว่ามี 24 ไอโซเลตที่ให้ผลเป็นแกรมบวก สร้าง endospore และสร้างเอนไซม์คะตะเลสทั้งหมด ซึ่ง คาดว่าอาจจะเป็นเชื้อในสกุล *Bacillus* ส่วนอีก 2 ไอโซเลตที่ให้ผลเป็นแกรมบวก ไม่สร้าง endospore แต่สร้างเอนไซม์คะตะเลสทั้งหมด และมี 6 ไอโซเลตที่ให้ผลเป็นแกรมลบ ไม่สร้าง endospore แต่สร้างเอนไซม์คะตะเลสทั้งหมด อาจจะไม่ใช่เชื้อในสกุล *Bacillus*

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียที่ แยกได้จากอาหาร HBA ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในพืชได้

รหัสเชื้อ	การติดสีแกรม	การสร้างสปอร์	การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส
B102	-	-	+
B104	+	+	+
B106	-	-	+
B107	-	-	+
B108	+	+	+
B211	+	+	+
B221	-	-	+
B223	-	-	+
B224	+	-	+
B337	+	+	+
B338	+	+	+
B340	+	+	+
B341	+	+	+
B352	+	+	+
B355	+	+	+
B361	+	+	+
B362	+	+	+
B364	+	-	+
B366	+	+	+
B367	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสเชื้อ	การติดสีแกรม	การสร้างสปอร์	การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส
B369	+	+	+
B370	+	+	+
B371	+	+	+
B372	+	+	+
B374	+	+	+
B375	+	+	+
B376	-	-	+
B378	+	+	+
B379	+	+	+
B384	+	+	+
B397	+	+	+

หมายเหตุ : + หมายถึง ผลการทดสอบให้ผลเป็นบวก

- หมายถึง ผลการทดสอบให้ผลเป็นลบ

4.7 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้น สรีระวิทยา และชีวเคมีบางประการของเชื้อที่แยกได้จากอาหาร PAB

นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB จำนวน 22 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในพืชได้ มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา และชีวเคมีบางประการ ได้แก่ การติดสีแกรม การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ออกซิเดส และการเคลื่อนที่ ได้ผลดังตารางที่ 4.12 จากตารางจะเห็นได้ว่ามีเชื้อแบคทีเรียจำนวน 21 ไอโซเลตที่ให้ผลเป็นแกรมลบ และมี 1 ไอโซเลตที่ให้ผลเป็นแกรมบวก จากการสืบค้นในหนังสือ Bergey's manual of systematic bacteriology volume two ลักษณะเฉพาะของจีนัส *Pseudomonas* คือเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน ส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่อยู่ปลายเซลล์ (polar flagella) และพบน้อยมากที่ไม่เคลื่อนที่ (Palleroni, 1894) แต่พบว่ามี 1 สปีชีส์ที่ไม่มีแฟลกเจลลาอย่างถาวรคือ *P.mallei* (Redfearn et al., 1966) ส่วนใหญ่การสร้างเอนไซม์ไฮโดโครมออกซิเดสจะให้ผลเป็นบวกและมีบางสปีชีส์ที่ให้ผลเป็นลบ การสร้างเอนไซม์คะตะเลสเชื้อในสกุลนี้จะสามารถสร้างได้ทั้งหมดให้ผลเป็นบวก (Palleroni, 1894) จาก

ผลการทดลองเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดจำนวน 22 ไอโซเลต พบว่ามี 21 ไอโซเลตที่ให้ผลเป็นแกรมลบ รูปร่างท่อน สามารถเคลื่อนที่ได้ และสร้างเอนไซม์คะตะเลสและออกซิเดสทั้งหมด ซึ่งคาดว่าเป็นเชื้อในสกุล *Pseudomonas* ส่วนอีก 1 ไอโซเลตที่ให้ผลเป็นแกรมบวก คาดว่าไม่ใช่เชื้อในสกุล *Pseudomonas*

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีระวิทยา และชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากอาหาร PAB โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในพืชได้

รหัสเชื้อ	การติดสีแกรม	การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส	การทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ออกซิเดส	การเคลื่อนที่
P232	-	+	+	+
P233	-	+	+	+
P234	-	+	+	+
P235	+	+	+	+
P236	-	+	+	+
P237	-	+	+	+
P238	-	+	+	+
P239	-	+	+	+
P241	-	+	+	+
P360	-	+	+	+
P381	-	+	+	+
P3112	-	+	+	+
P3114	-	+	+	+
P3115	-	+	+	+
P3116	-	+	+	+
P3118	-	+	+	+
P3119	-	+	+	+
P3122	-	+	+	+
P3123	-	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสเชื้อ	การติตสีแกรม	การทดสอบกิจกรรม ของเอนไซม์ อะตะเลส	การทดสอบ กิจกรรมของเอนไซม์ ออกซิเดส	การเคลื่อนที่
P3124	-	+	+	+
P3129	-	+	+	+
P3130	-	+	+	+

หมายเหตุ : + หมายถึง ผลการทดสอบให้ผลเป็นบวก

- หมายถึง ผลการทดสอบให้ผลเป็นลบ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากพืชที่แตกต่างกันทั้ง 8 ชนิด จากจังหวัด กรุงเทพมหานคร นครปฐม และสุพรรณบุรี ได้ทั้งหมดจำนวน 227 ไอโซเลต โดยคัดแยกจากอาหาร HBA ได้ทั้งหมดจำนวน 97 ไอโซเลต หรือคิดเป็น 42.73 % โดยแยกได้จากจังหวัดกรุงเทพมหานคร นครปฐม และสุพรรณบุรี ได้จำนวน 10, 26 และ 61 ไอโซเลต หรือคิดเป็น 10.31, 26.80 และ 62.89% ตามลำดับ และคัดแยกจากอาหาร PAB ได้ทั้งหมดจำนวน 130 ไอโซเลต หรือคิดเป็น 57.27% และแยกได้ จำนวน 15, 43 และ 72 ไอโซเลต หรือคิดเป็น 11.54, 33.07 และ 55.38% ตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญในเบื้องต้นของเชื้อก่อโรคในพืช ได้แก่ เชื้อ *R. solanacearum*, *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* โดยวิธี dual culture พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ได้ แต่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* ได้จำนวน 40, 20 และ 34 ไอโซเลต หรือคิดเป็น 41.24, 20.62 และ 35.05% ตามลำดับ และนำมาทดสอบยืนยันความสามารถของเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* ได้ พบว่ามีจำนวน 9, 10 และ 26 ไอโซเลต หรือคิดเป็น 9.28, 10.31 และ 26.80% ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB เมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งในเบื้องต้น พบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ได้ แต่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* มีจำนวน 48, 23 และ 24 ไอโซเลต คิดเป็น 36.92, 17.69 และ 18.46% ตามลำดับ และนำมาทดสอบยืนยันความสามารถ พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ยังสามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici*, *F. oxysporum* และ *R. solani* ได้ มีจำนวน 9, 7 และ 13 ไอโซเลต หรือคิดเป็น 6.92, 5.38 และ 10.00% ตามลำดับ แล้วประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค ทั้ง 3 ชนิด พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *C. capsici* อยู่ในช่วงระหว่าง 31.94% ถึง 41.67% จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ไอโซเลตที่มีค่าการยับยั้งดีที่สุดที่สุดคือ B355 แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับไอโซเลตอื่น ส่วนประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* อยู่ในช่วงระหว่าง 5.88% ถึง 46.47% จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ไอโซเลตที่มีค่าการยับยั้งดีที่สุดที่สุดคือ B397 และประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *R. solani* อยู่ในช่วงระหว่าง 14.29% ถึง 48.15% การวิเคราะห์ทางสถิติ ไอโซเลตที่ให้ค่าการยับยั้งดีที่สุด คือ B102 ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *C. capsici* อยู่ในช่วงระหว่าง 10.00% ถึง 51.85% จากการวิเคราะห์ทางสถิติไอโซเลตที่ให้ค่าการยับยั้งดีที่สุดคือ P3119 และประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* อยู่ในช่วงระหว่าง 7.94% ถึง 38.10% จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ไอโซเลตที่ให้ค่า

ไม่ต่ำกว่าครึ่งใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งที่ดีที่สุดคือ P3116 และประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *R. solani* อยู่ในช่วงระหว่าง 28.40% ถึง 48.15% จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ไอโซเลตที่ให้ค่าเฉลี่ยในการยับยั้งที่ดีที่สุดคือ P235 และนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ พบว่าแบคทีเรียจากอาหาร HBA จำนวน 24 ไอโซเลต มีลักษณะคล้ายคลึงกับแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ได้แก่ ดิตีแกรมบวก รูปร่างท่อนยาว สร้างสปอร์ และมีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสและออกซิเดสทั้งหมด ส่วนแบคทีเรียจากอาหาร PAB จำนวน 21 ไอโซเลต มีลักษณะคล้ายคลึงกับแบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas* ได้แก่ ดิตีแกรมลบ รูปร่างแท่งสั้น เคลื่อนที่ได้ และมีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสทั้งหมด และมีแบคทีเรียจำนวน 9 ไอโซเลตที่มีลักษณะไม่ตรงกับกลุ่มของเชื้อ *Bacillus* และ *Pseudomonas*

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA และ PAB ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้ โดยใช้วิธีการทางพันธุศาสตร์ เช่น การทำ Polymerase Chain Reaction (PCR) หรือวิธีการอื่นๆที่เหมาะสมต่อไป

5.2.2 ควรตรวจสอบความสามารถในการสร้างสารที่ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืช เช่น การทดสอบการผลิตสาร siderophore หรือการทดสอบการสร้างเอนไซม์ lytic ประเภทต่างๆ

5.2.3 ควรถ่ายทอดความรู้ให้แก่ภาคการเกษตรต่อไป เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ได้จริง

เอกสารอ้างอิง

กัลยา ชื่อตรง. 2547. “การคัดเลือกและการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากผิวใบและผิวผลของพริกในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp.” วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย,มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขจรพรรณ รักผล. 2555. “ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชวงศ์ Acanthaceae ต่อการยับยั้งการเจริญของราก่อโรคเหี่ยวพืชาวเรียงในมะเขือเทศ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย,มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

จิระเดช แจ่มสว่าง, ศศิธร วุฒิวนิชย์, วรณวิไล อินทนู, วิวัฒน์ เสือสะอาด, โกศล เจริญสม, อรพรรณ เกินอาษา, สมพร วงศ์วิวัฒน์ และทิพย์วดี อรรถธรรม . 2545. การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูโดยชีววิธี: เอกสารประกอบการฝึกอบรม. นครปฐม : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน คณะเกษตร คลินิกสุขภาพพืช.

ดาราวดี วงษ์ชาลี. 2558. “ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* สูตร ENCAPSULATE ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

นवलรัตน์ หนูขาว. 2554. “การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย,มหาวิทยาลัยศิลปากร.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2553. “โรคพืชและการจัดการด้วยวิธีชีวภาพ.” สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว. เล่มที่ 35 : 128-159.

ปราณี พัฒนพิพิศไพศาล. 2552. “การควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศด้วยกล้าเชื้อเอ็นโดฟัยตัสแอคติโนมัยสีท.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

ปิลันธนา ฐาปนพงษ์วรกุล และศราวิชญ์ สายมงคล. 2558. “ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No. 16 ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าวพันธุ์ กข6.” *วารสารเกษตร*. 31(3) : 301-310.

ปฐิมาพร ปลอดภัย. 2551. “การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคของพริกที่เกิดจากเชื้อราบางชนิดโดยชีววิธี.” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา,

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พรพรรณ อุสุวรรณ. 2550. “การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. และ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมโรคเชื้อราในองุ่น.” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

พีระวรรณ พัฒรวิภาส. 2546. “โรคกาบและใบไหม้ข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani*.” หน้า 260-263. ใน การประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 31. กรุงเทพฯ : ม.ป.พ.

วิลารวรรณ เชื้อบุญ และดุสิต อธิวัฒน์. 2557. “ฮอร์โมนพืชผลิตจาก *Pseudomonas fluorescens* SP007S ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าอินทรีย์.” *Thai Journal of Science and Technology*. 3(3) : 196-205.

สมศิริ แสงโชติ และไพโรจน์ จ่างพานิช. 2527. “การถ่ายทอดเชื้อรา *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler and Bisby สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริกผ่านทางเมล็ด.” *วารสารวิทยาศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์*. 18(1) : 7-13.

Abdallah, R. A. B., Mokni-Tlili, S., Nefzi, A., Jabnoun-Khiareddine, H. and Daami-Remadi, M. 2016. “Biocontrol of Fusarium wilt and growth promotion of tomato plants using endophytic bacteria isolated from *Nicotiana glauca* organs.” *Biological Control*. 97 : 80-88.

Anand, T., Chandrasekaran, A., Kuttalam, S., Senthilraja, G., and Samiyappan, R. 2010. “Integrated control of fruit rot and powdery mildew of chilli using the biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* and a chemical fungicide.” *Biological Control*. 52(1) : 1-7.

Bhushan, B. 2000. “Production and characterization of a thermostable chitinase from a new alkalophilic *Bacillus* sp. BG-11.” *Journal of applied microbiology*. 88(5) : 800-808.

Brenner, D. J., Krieg, N. R., & Staley, J. T. 2005. **Bergey’s manual of systematic bacteriology: Volume 2: The Proteobacteria.** 2nd ed. New York : Springer Dordrecht Heidelberg London New York.

Brodhagen, M., Henkels, M. D. and Loper, J. E. 2004. “Positive autoregulation and signaling properties of pyoluteorin, an antibiotic produced by the biological

control organism *Pseudomonas fluorescens* Pf-5.” *Applied and environmental microbiology*. 70(3) : 1758-1766.

Chacko, S. T. and Gokulapalan, C. 2014. In vitro study of fungicides and biocontrol agents against *Colletotrichum capsici* causing anthracnose of chilli (*Capsicum annuum* L.). *International Journal of Applied And Pure Science and Agriculture*. 1(5) : 93-98

Champoiseau, P. G. and Momol, T. M. 2008. “Bacterial wilt of tomato.” *ResearchGate*. n.d.(no date) : 1-11.

Chandra, S., Chatterje, S. and Acharya, K. 2010. “Biological control of fruit rot and die back diseases of *Capsicum annuum* with *Pseudomonas aeruginosa* WS-1.” *Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology*. 4(1) : 38-42.

Chen, F., Wang, M., Zheng, Y., Luo, J., Yang, X. and Wang, X. 2010. “Quantitative changes of plant defense enzymes and phytohormone in biocontrol of cucumber *Fusarium* wilt by *Bacillus subtilis* B579.” *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26(4) : 675-684.

El-Bendary, M. A., Hamed, H. A., and Moharam, M. E. 2016. “Potential of *Bacillus* isolates as bio-control agents against some fungal phytopathogens.” *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 5 : 173-178.

Gang, G., Bizun, W., Weihong, M., Xiaofen, L., Xiaolin, Y., Chaohua, Z., Jianhong, M. and Huicai, Z. 2013. “Biocontrol of *Fusarium* wilt of banana: Key influence factors and strategies.” *African Journal of Microbiology Research*. 7(41) : 4835-4843.

Ghosh, R., Bhadra, S. and Bandyopadhyay, M. 2016. “Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum capsici* causing leaf-spot of soybean.” *Tropical Plant Research An International Journal*. 3(3) : 481-490.

Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K. and Singh, V. 2015. “Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่บรรณาธิการได้รับจากผู้ใช้งานที่ขอสงวนสิทธิ์ในฉบับนี้ ไม่สามารถนำออกจากรายชื่อผู้ใช้งานได้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Gupta, V. K., Misra, A. K., Gaur, R. K., Jain, P. K., Gaur, D. and Saroj, S. 2010. "Current status of Fusarium wilt disease of guava (*Psidium guajava* L.) in India." *Biotechnology*. 9(2) : 176-195.
- Hong, H. A., To, E., Fakhry, S., Baccigalupi, L., Ricca, E. and Cutting, S. M. 2009. "Defining the natural habitat of *Bacillus* spore-formers." *Research in microbiology*. 160(6) : 375-379.
- Huang, Q., & Allen, C. 2000. " Polygalacturonases are required for rapid colonization and full virulence of *Ralstonia solanacearum* on tomato plants." *Physiological and molecular plant pathology*. 57(2) : 77-83.
- Huang, X., Zhang, N., Yong, X., Yang, X., and Shen, Q. 2012. "Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N43." *Microbiological Research*. 167(3) : 135-143.
- Jafari, V., Asgharzadeh, A. and khavazi, K. 2013. "Isolation and Geographical Diversity of *Bacillus thuringiensis* from Some Soils in Iran." *International Journal of Chemical, Environmental and Biological Sciences*. 1(2) : 318-322.
- Janga, M. R., Raoof, M. A. and Ulaganathan, K. 2017. "Effective biocontrol of Fusarium wilt in castor (*Ricinius communis* L.) with *Bacillus* sp. in pot experiments." *Rhizosphere*. 3(1) : (50-52).
- Katz, E., and Demain, A. L. 1977. "The peptide antibiotics of *Bacillus* : chemistry, biogenesis, and possible functions." *Bacteriological reviews*. 41(2) : 449.
- Kejela, T., Thakkar, V. R., and Patel, R. R. 2017. "A novel strain of *Pseudomonas* inhibits *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum* infections and promotes germination of Coffee." *Rhizosphere*. 4(1) : 9-15.
- Krueger, C. L. and Sheikh, W. 1987. "A new selective medium for isolating *Pseudomonas* spp. from water." *Applied and environmental microbiology*. 53(4) : 895-897.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kumar, K., Amaesan, N., Bhagat, S., Madhuri, K. and Srivastava, R. C. 2011. "Isolation and characterization of rhizobacteria associated with coastal agricultural ecosystem of rhizosphere soils of cultivated vegetable crops." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 27(7) : 1625-1632.

Kurabachew, H. and Wydra, K. 2013. "Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their potential as bioprotectant against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*." *Biological Control*. 67(1) : 75-83.

Leslie, J. F. and Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. 1st ed. Australia : Blackwell Publishing Asia.

Mayz, J., Manzi, L. and Lárez, A. 2013. "Isolation, characterization and identification of hydrocarbonoclastic *Pseudomonas* species inhabiting the rhizosphere of *Crotalaria micans* Link." *European Journal of Experimental Biology*. 3(5) : 313-321.

Moni, Z. R., Ali, M. A., Alam, M. S., Rahman, M. A., Bhuiyan, M. R., Mian, M. S., Iftekharuddaula, K. M., Latif M. A. and Khan, M. A. I. 2016. "Morphological and Genetical Variability among *Rhizoctonia solani* Isolates causing sheath blight disease of rice." *Rice Science*. 23(1) : 42-50.

Muis, A. and Quimio, A. J. 2016. "Biological control of banded leaf and sheath blight disease (*Rhizoctonia solani* Kuhn) in corn with formulated *Bacillus subtilis* BR23." *Indonesian Journal of Agricultural Science*. 7(1) : 1-7.

Nagarajkumar, M., Bhaskaran, R., and Velazhahan, R. 2004. "Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by *Pseudomonas fluorescens* in inhibition of *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen." *Microbiological Research*. 159(1) : 73-81.

Nemeckova, I., Solichova, K., Roubal, P., Uhrova, B. and Svirakova, E. 2011. "Methods for detection of *Bacillus* sp., *B. cereus*, and *B. licheniformis* in raw milk." *Czech Journal of Food Sciences*. 29(Special Issue) : S55-S60.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิฉะนั้นผู้ใดเห็นหรือใช้โดยไม่ขออนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Pring, R. J., Nash, C., Zakaria, M. and Bailey, J. A. 1995. "Infection process and host range of *Colletotrichum capsici*." *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 46 : 137-152.
- Reddy, B. P. K., Reddy, M. S., Kumar, K. V. K. and Sudini, H. 2009. "In-vitro Antagonistic effect of *Pseudomonas fluorescens* on Mycelial Growth of Rice Blast and Sheath Blight Pathogens." 624. in **Plant Growth Promotion by Rhizobacteria for Sustainable Agriculture**. India : Scientific publishers
- Saxena, A., Raghuwanshi, R., Gupta, V. K. and Singh, H. B. 2016. "Chilli anthracnose: The epidemiology and management." *Frontiers in Microbiology*. 7 : 1-18.
- Singh, A., & Shahi, J. P. 2012. "Banded leaf and sheath blight: an emerging disease of maize (*Zea mays* L)." *Maydica*. 57(3) : 215-219.
- Srivastava, R., Khalid, A., Singh, U. S. and Sharma, A. K. 2010. "Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt." *Biological control*. 53(1) : 24-31.
- Than, P. P., Prihastuti, H., Phoulivong, S., Taylor, P. W. and Hyde, K. D. 2008. "Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species." *Journal of Zhejiang University Science B*. 9(10) : 764-778.
- Toppo, S. R. and Tiwari, P. 2015. "In vitro antagonistic activity of *Pseudomonas* spp. against *Rhizoctonia solani*." *African Journal of Microbiology Research*. 9(25) : 1622-1628.
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A. and Whitman, W. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes*. 2nd ed. New York : Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Wullings, B.A., Van Beuningen, A.R., Janse, J. D., and Akkermans, A. D. L. 1998. "Detection of *Ralstonia solanacearum*, Which Causes Brown Rot of Potato, by Fluorescent In Situ Hybridization with 23S rRNA-Targeted Probes." *Applied And Environmental Microbiology*. 64(11) : 4546-4554.

Zhou, T., Chen, D., Li, C., Sun, Q., Li, L., Liu, F., Shen, Q. and Shen, B. 2012. เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 "Isolation and characterization of *Pseudomonas brassicacearum* J12 as an, ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

antagonist against *Ralstonia solanacearum* and identification of its antimicrobial components.” *Microbiological research*. 167(7) : 388-394.

Butler E.J. and Bisby. 2017. *Colletotrichum capsici*. [online]. Available :

https://en.wikipedia.org/wiki/Colletotrichum_capsici

Ceresini, P. 1999. *Rhizoctonia solani*. [online]. Available :

<https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/Rhizoctonia/Rhizoctonia.html>

Kühn, J.G. 2017. *Rhizoctonia solani*. [online]. Available :

https://en.wikipedia.org/wiki/Rhizoctonia_solani

Olson H.A. 2005. *Ralstonia solanacearum*. [online]. Available :

https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/Ralstonia/Ralstonia_solanacearum.html

Snyder, S. E. and Hansen. 2017. *Fusarium oxysporum*. [online]. Available :

https://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium_oxysporum

Tredway, L.P. and L.L. Burpee. 2001. Rhizoctonia diseases of turfgrass. [online].

Available :

<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/Rhizoctonia.aspx>.

Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H. and Nishiuchi, Y. 2017. *Ralstonia*

solanacearum. [online]. Available :

https://en.wikipedia.org/wiki/Ralstonia_solanacearum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Nutrient agar (NA)

Nutrient broth (NB)	13.00	กรัม
Agar	12.00	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นจนเป็นสารละลายที่เข้ากัน จากนั้นเทใส่ขวดปิดฝา แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันไอน้ำเป็นเวลา 15 นาที

1.2 Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato dextrose broth (PDB)	24.00	กรัม
Agar	12.00	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นจนเป็นสารละลายที่เข้ากัน จากนั้นเทใส่ขวดปิดฝา แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันไอน้ำเป็นเวลา 15 นาที

1.3 HiCrome™ Bacillus Agar

HiCrome™ Bacillus Agar	49.22	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นจนเป็นสารละลายที่เข้ากัน จากนั้นเทใส่ขวดปิดฝา แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันไอน้ำเป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 CM0559 PSEUDOMONAS AGAR BASE

Agar base CM559	24.20	กรัม
Distilled water	500	มิลลิลิตร
Glycerol	5	มิลลิลิตร
Pseudomonas C-F-C Supplement	1	ขวด

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นจนเป็นสารละลายที่เข้ากัน จากนั้นเทใส่ขวดปิดฝา แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันไอน้ำเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้เย็นลงประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส แล้วเติม Pseudomonas C-F-C Supplement 1 ขวด ผสมให้เข้ากัน

1.5 Motility Test Medium (Semisolid)

Beef extract	3.00	กรัม
Peptone	10.00	กรัม
NaCl	10.00	กรัม
Agar	4.00	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร



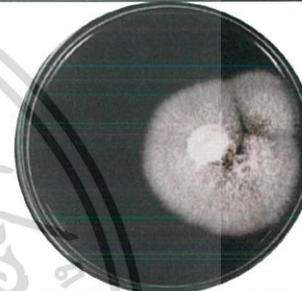


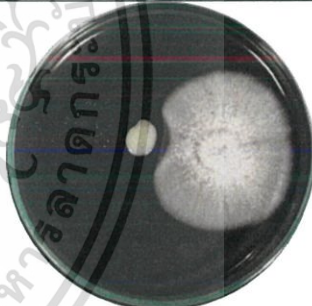


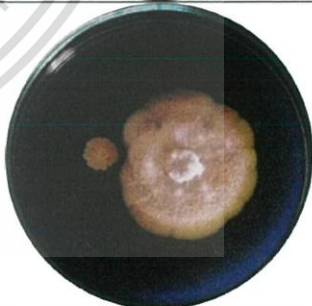


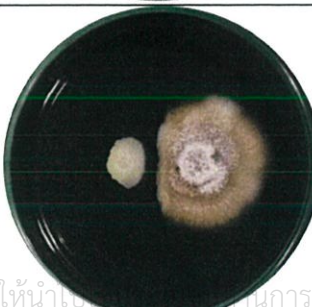
ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น ให้ความร้อนจนส่วนผสมละลาย ปิดเตาอาหาร 8 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันไอน้ำเป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

ภาพการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค

เชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA ที่สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้




Colletotrichum capsici

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
Control			
B106			
B341			
B355			








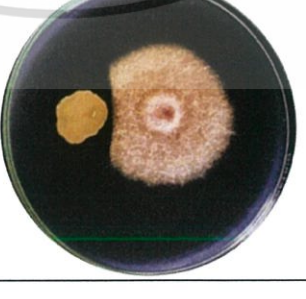
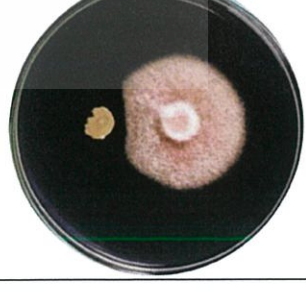
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์การใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B366			
B369			
B371			
B372			
B375			




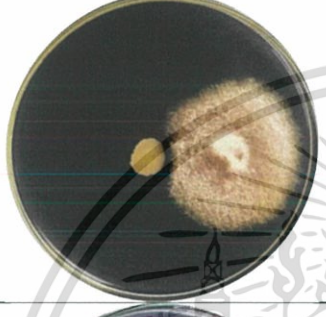

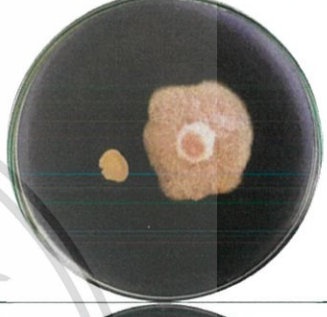







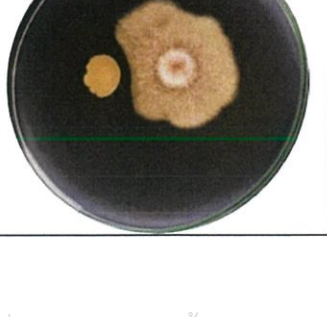

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B384			


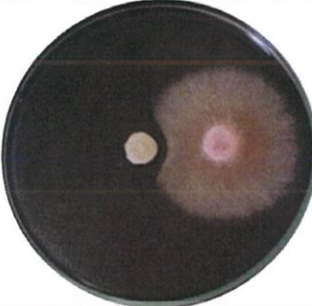
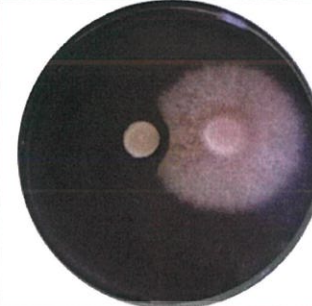


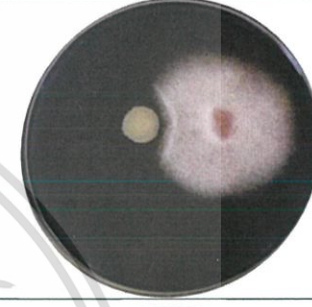


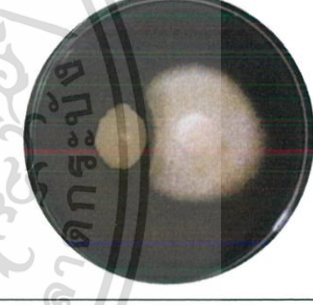
Fusarium oxysporum

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
Control			
B108			
B211			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B224			
B337			
B338			
B340			
B341			

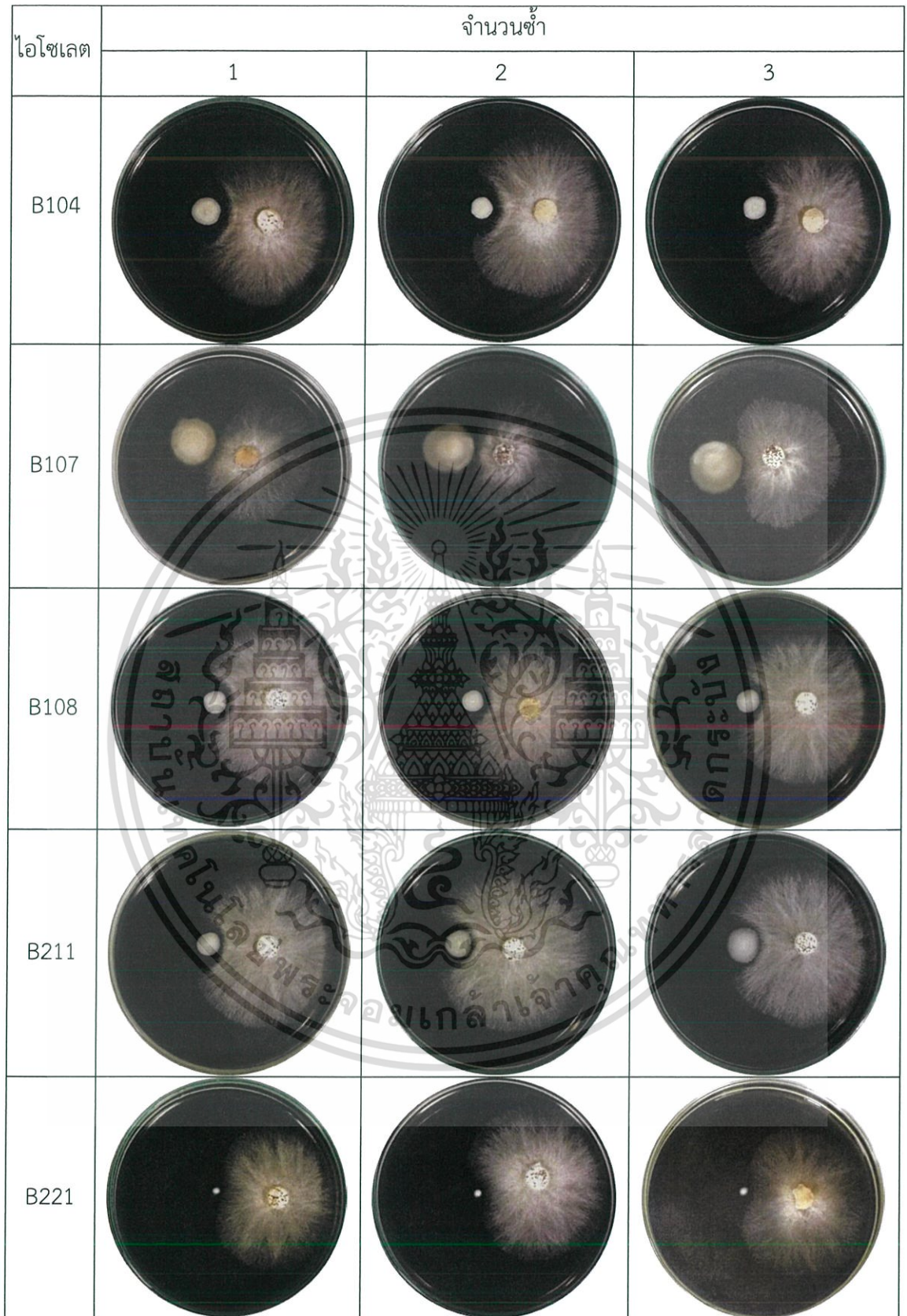
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B352			
B370			
B397			

Rhizoctonia solani

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B102			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้






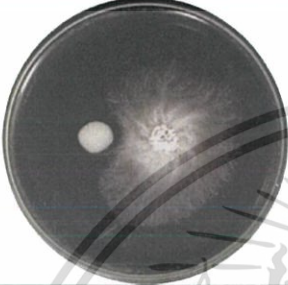

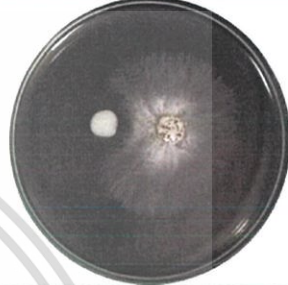



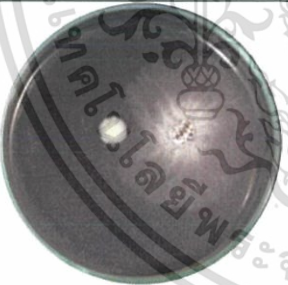


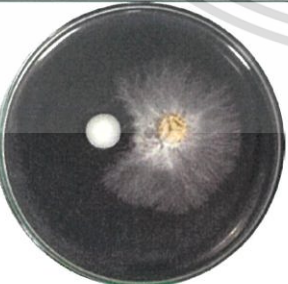


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B223			
B241			
B352			
B361			
B362			




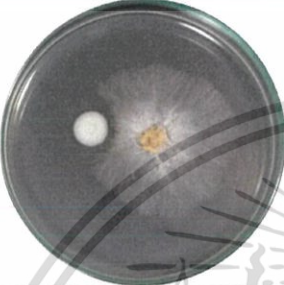

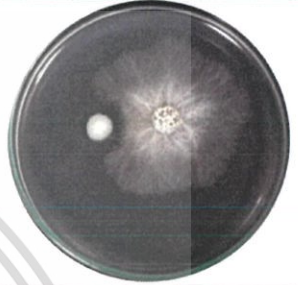


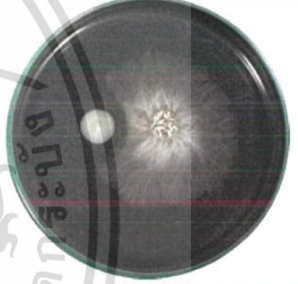



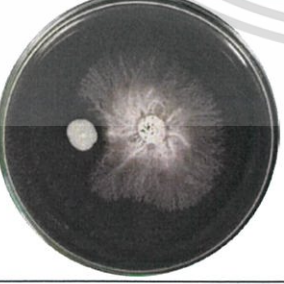
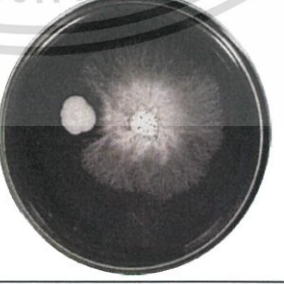
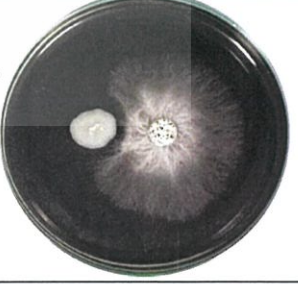
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B364			
B366			
B367			
B368			
B369			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B370			
B371			
B372			
B374			
B375			

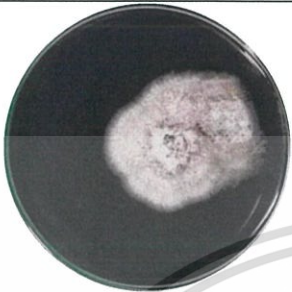

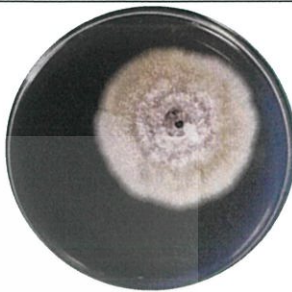


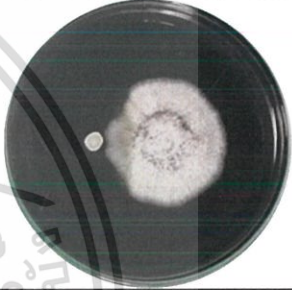


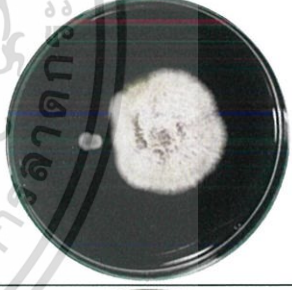



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B376			
B378			
B379			
B384			
B397			




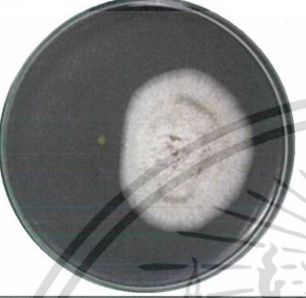
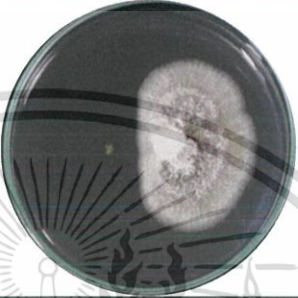
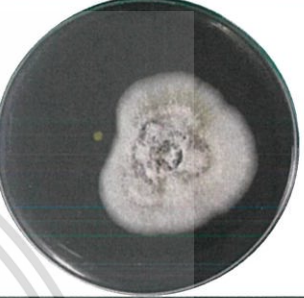





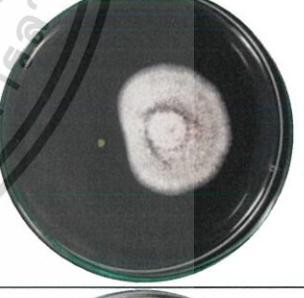



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้

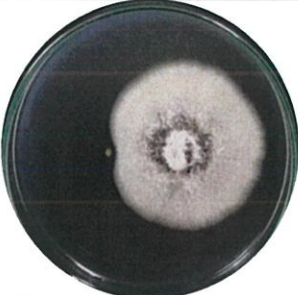
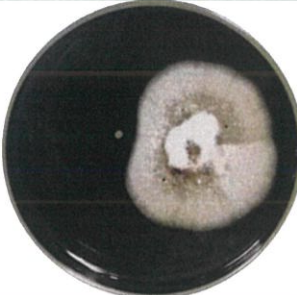
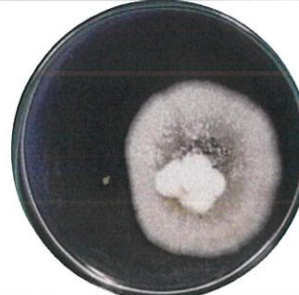
Colletotrichum capsici

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
Control			
P236			
P381			
P3112			


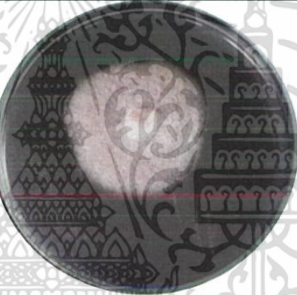
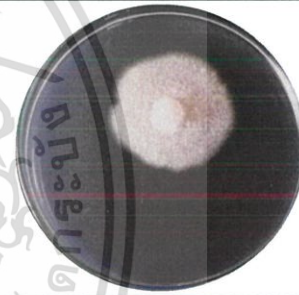
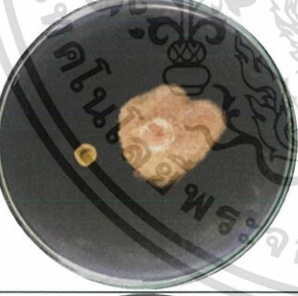



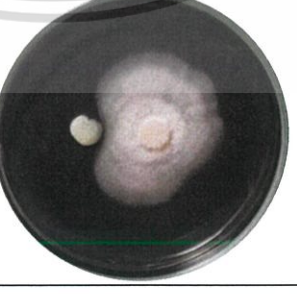

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
P3115			
P3118			
P3119			
P3122			
P3123			


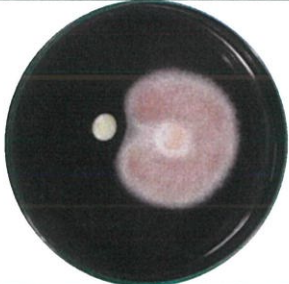

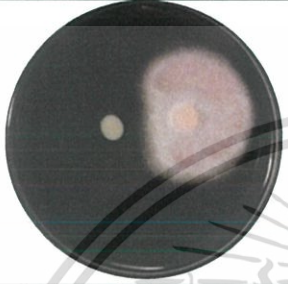
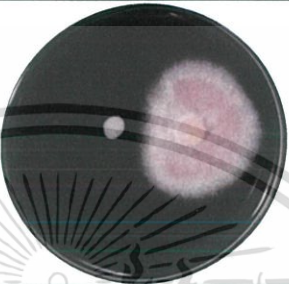



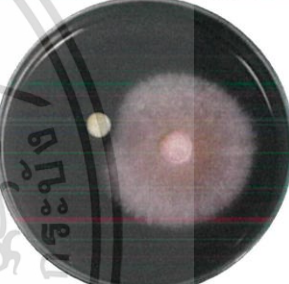


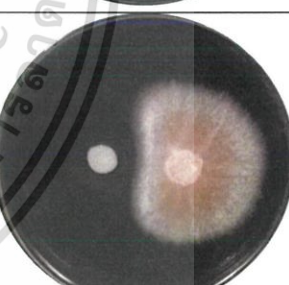
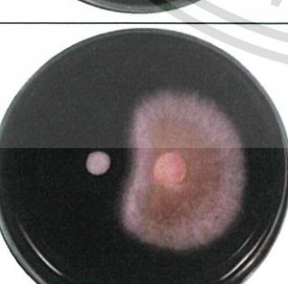
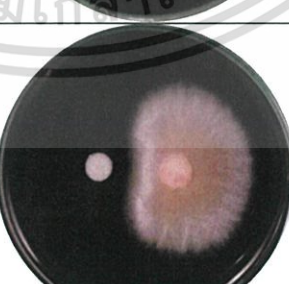
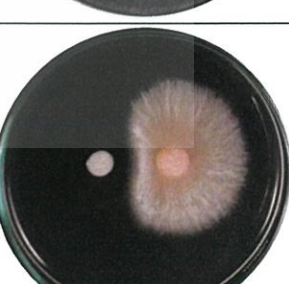
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
P3130			

Fusarium oxysporum


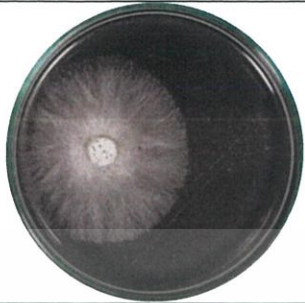
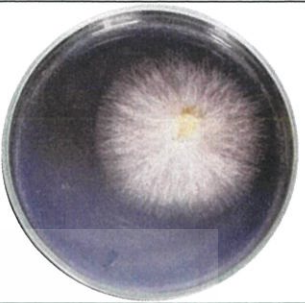
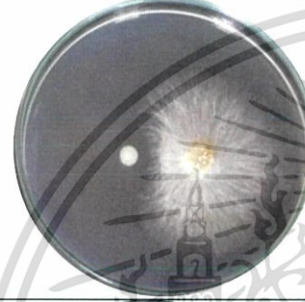
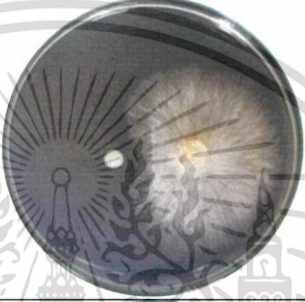
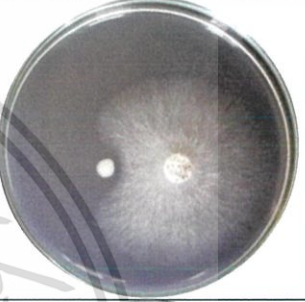






ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
Control			
P360			
P3114			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
P3115			
P3116			
P3122			
P3124			
P3129			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





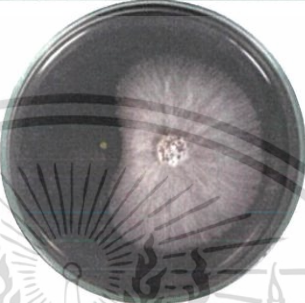



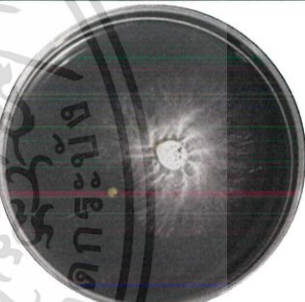


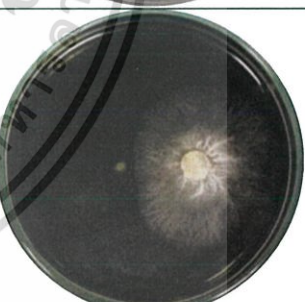
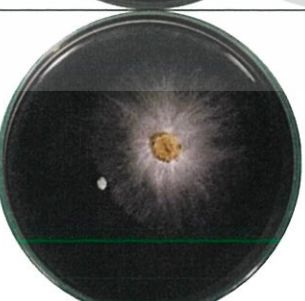
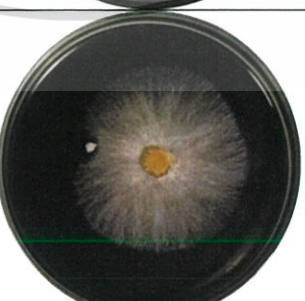
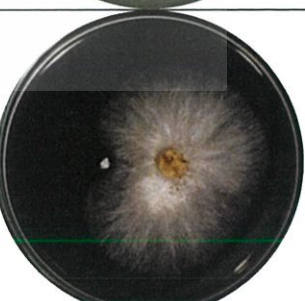
Rhizoctonia solani

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
Control			
P232			
P233			
P234			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
P235			
P236			
P237			
P238			
P239			

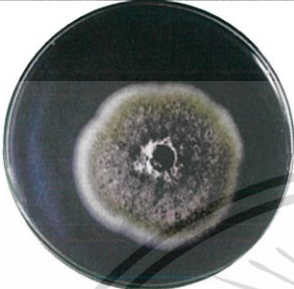
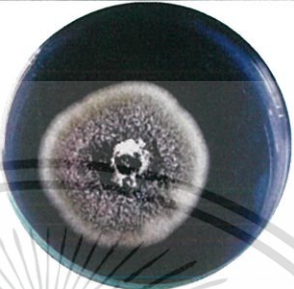
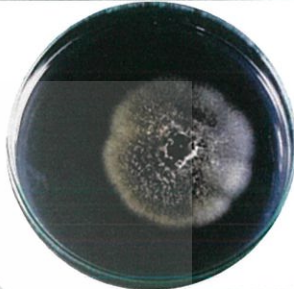


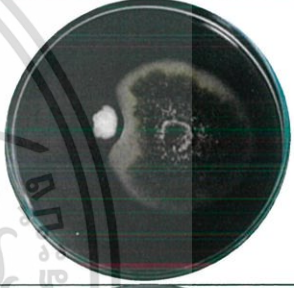





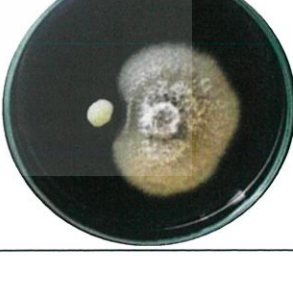
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
P241			
P3112			
P3115			
P3119			
P3124			

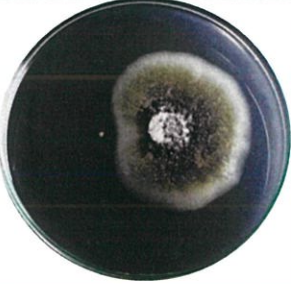
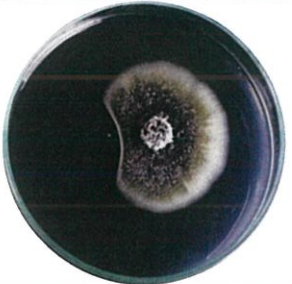

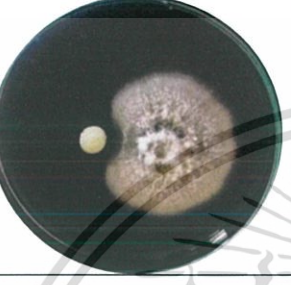
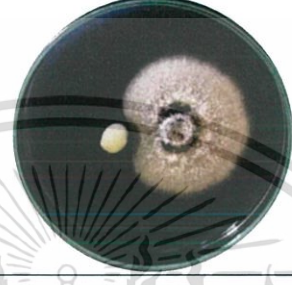

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค
ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด



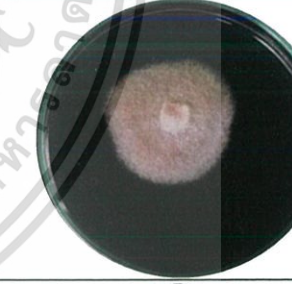
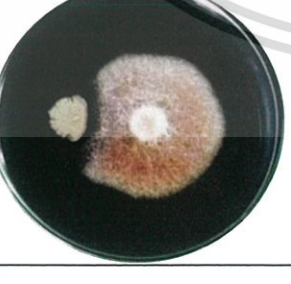
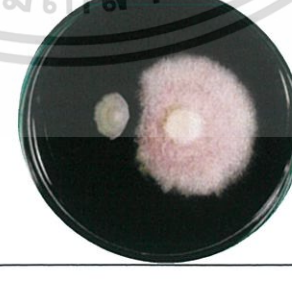

Colletotrichum capsici

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
Control			
B355			
P3112			
P3118			

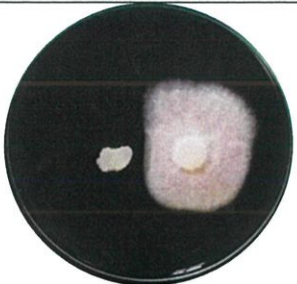
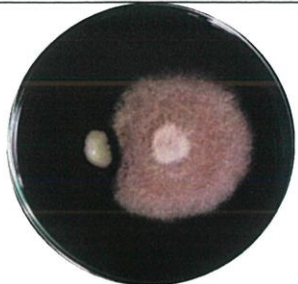
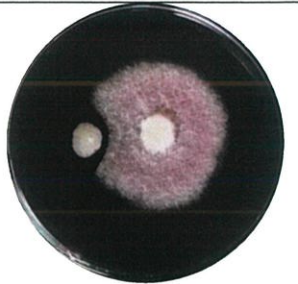


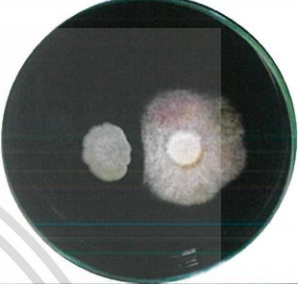





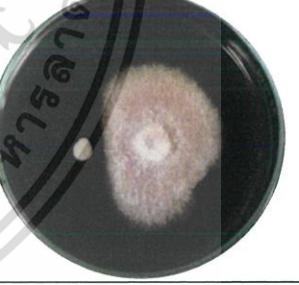
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
P3119			
B3123			

Fusarium oxysporum


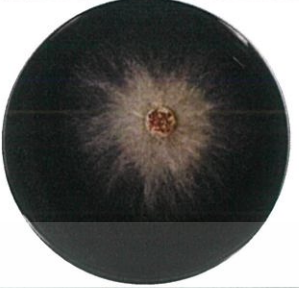
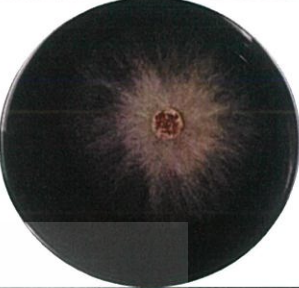
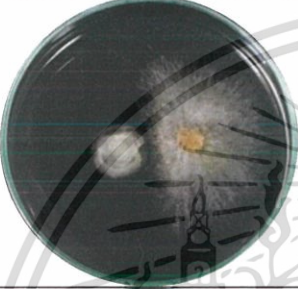

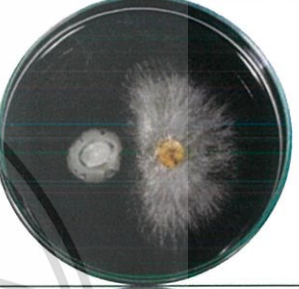


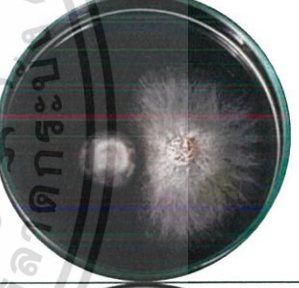


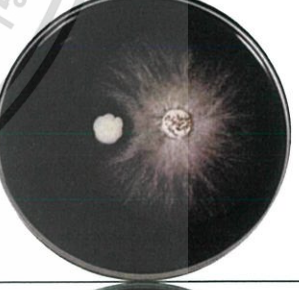

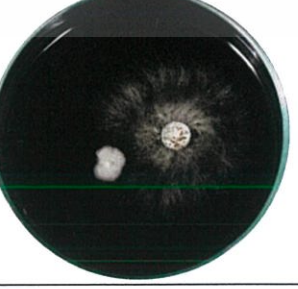

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
Control			
B352			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



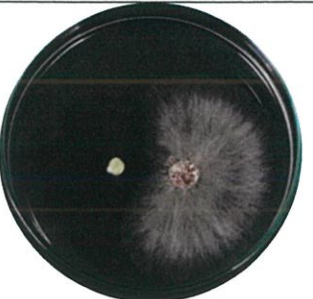
ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
B370			
B397			
P3116			
P3129			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rhizoctonia solani

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
Control			
B102			
B107			
B375			
P235			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซเลต	จำนวนซ้ำ		
	1	2	3
P3112			

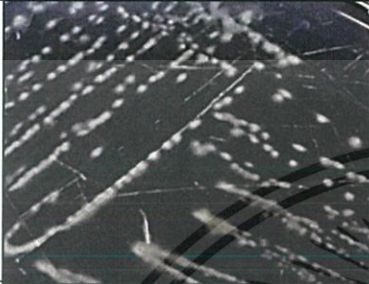
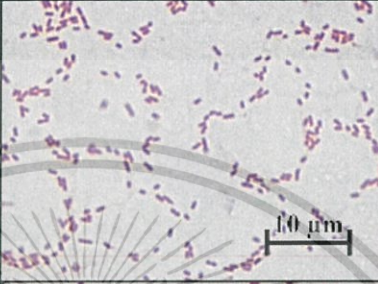
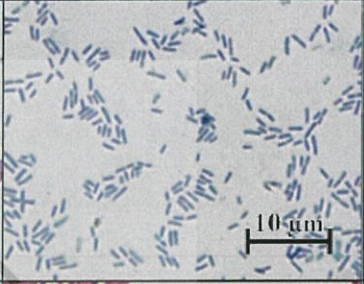


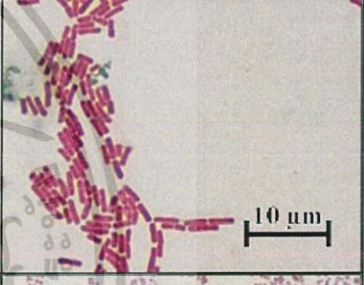

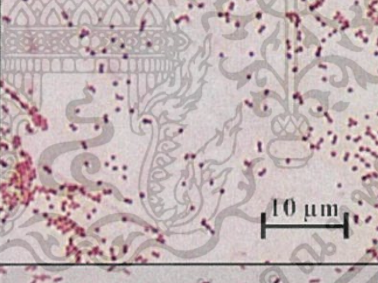
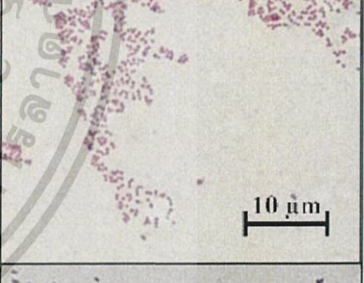
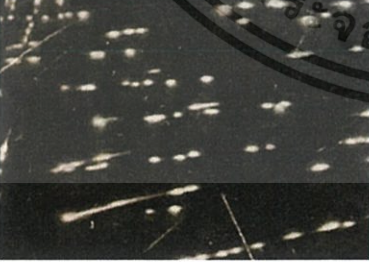




เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



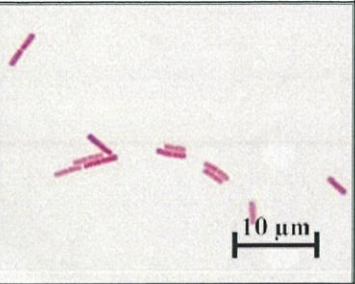

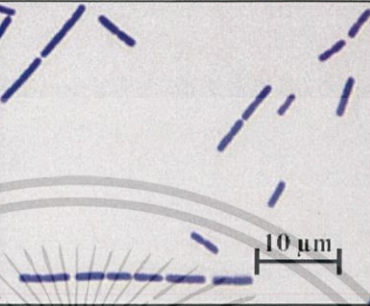
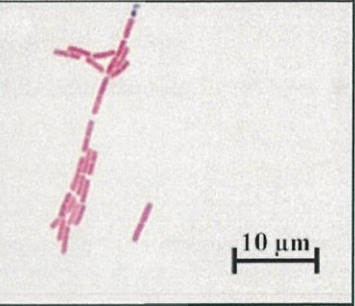


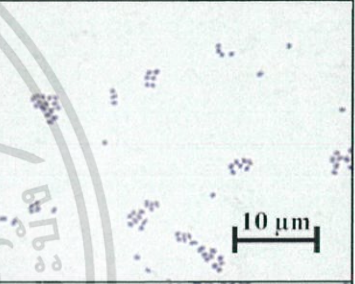


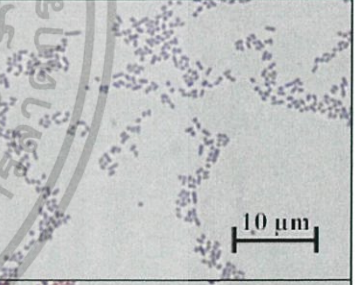

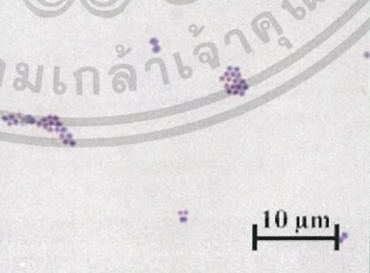
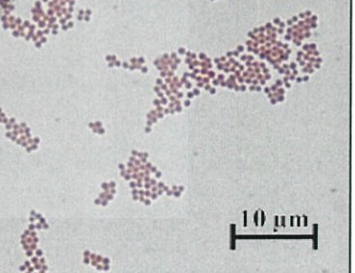
ภาคผนวก ค

ภาพลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย

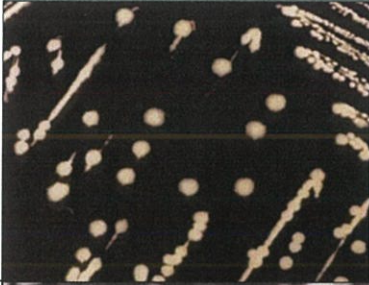
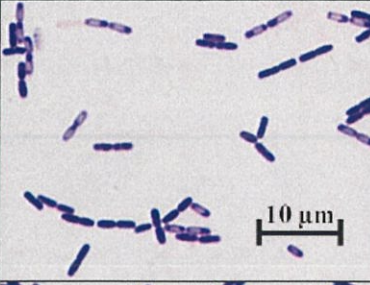
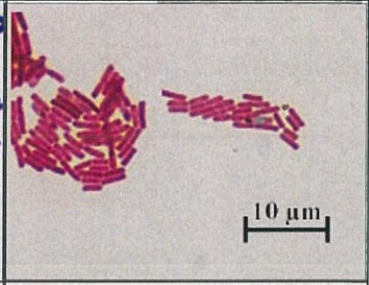

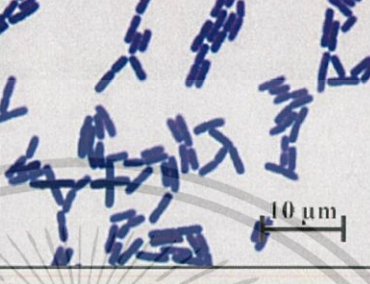
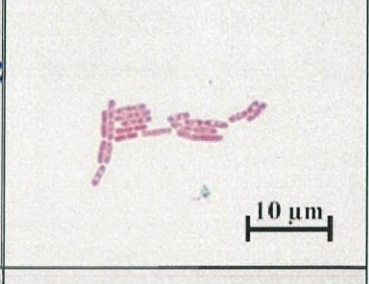

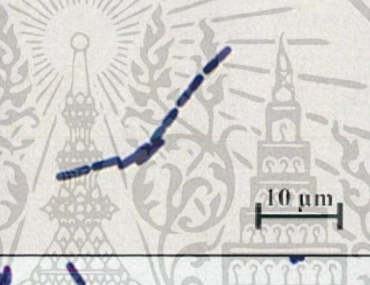
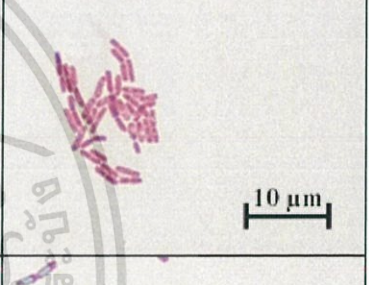
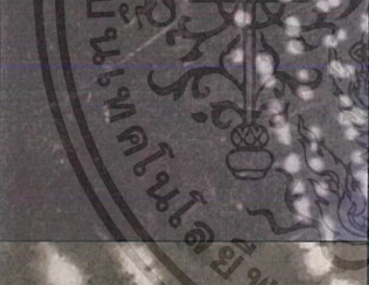
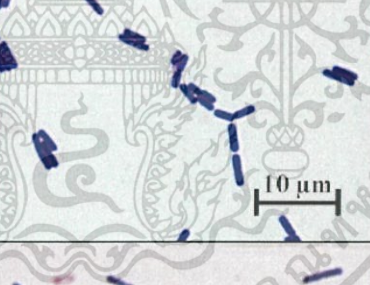
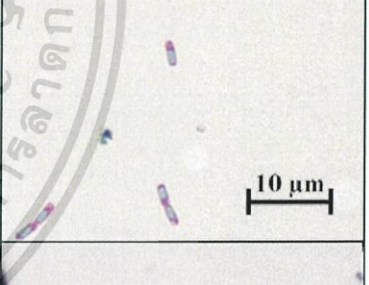
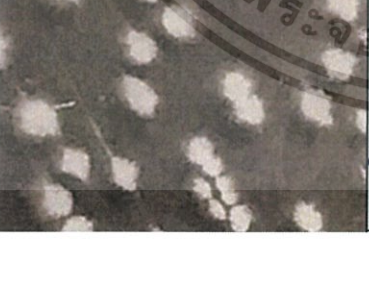
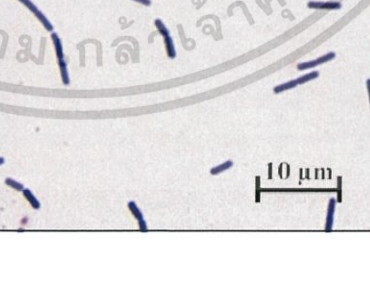
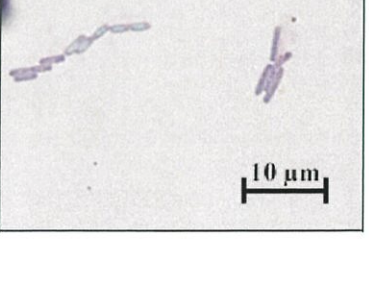
เชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร HBA ที่สามารถยับยั้งเชื้อรากล่อโรคได้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	การย้อมสปอร์
B102		 10 μm	 10 μm
B104		 10 μm	 10 μm
B106		 10 μm	 10 μm
B107		 10 μm	 10 μm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	การย้อมสปอร์
B108			
B211			
B221			
B223			
B224			


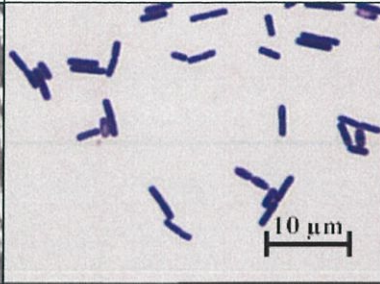


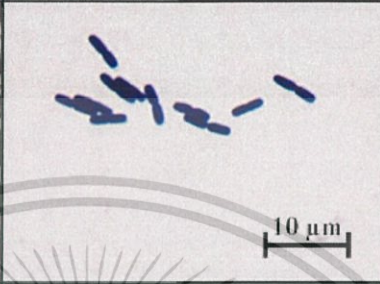
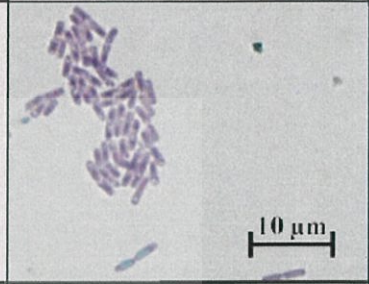

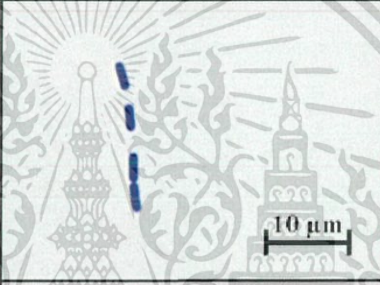
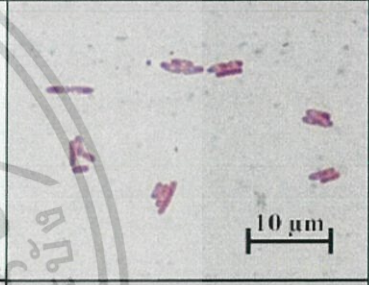

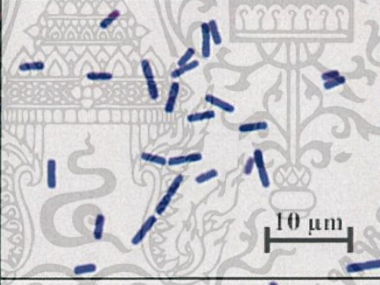
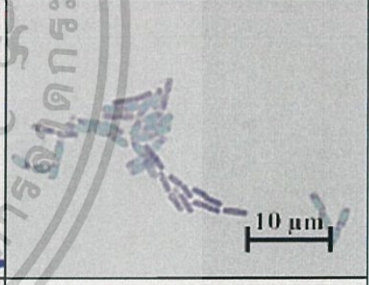

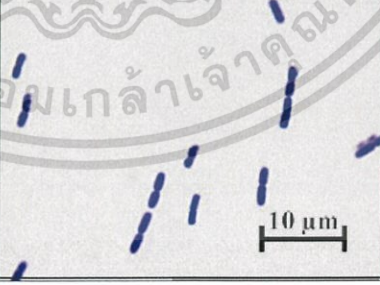
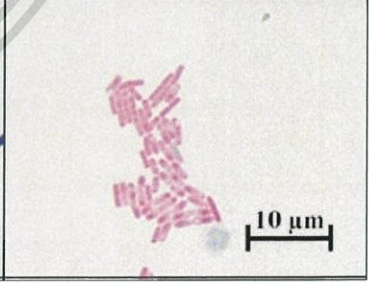
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	การย้อมสปอร์
B337			
B338			
B340			
B341			
B352			


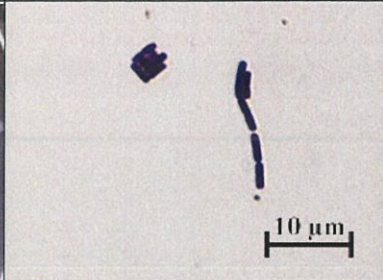

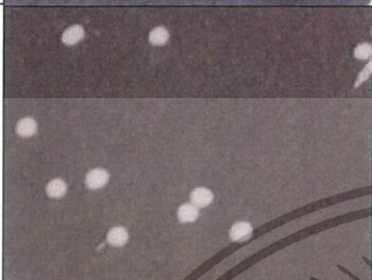
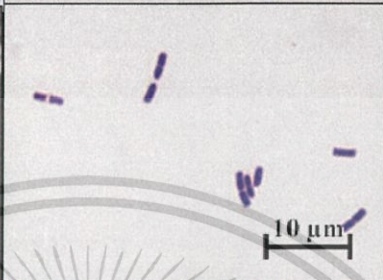
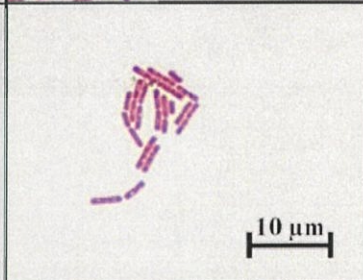

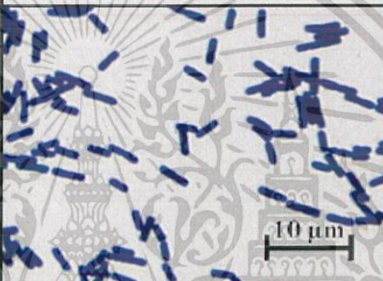


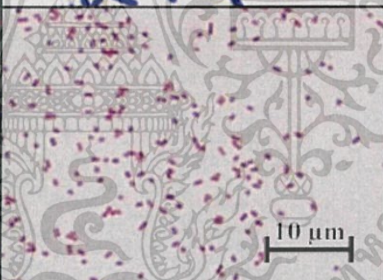
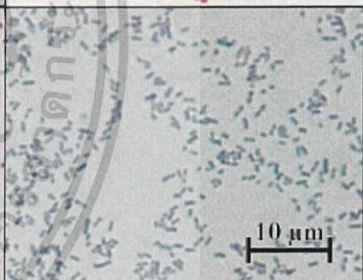
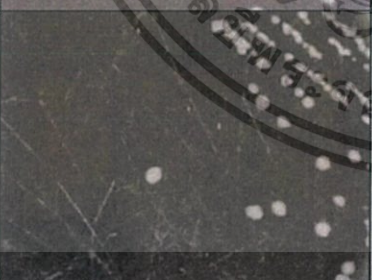
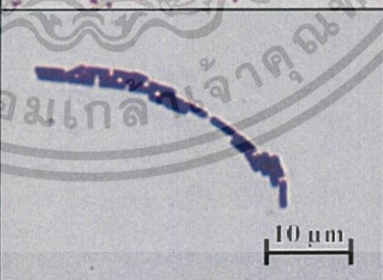
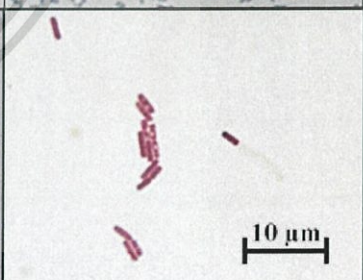
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	การย้อมสปอร์
B355			
B361			
B362			
B364			
B366			

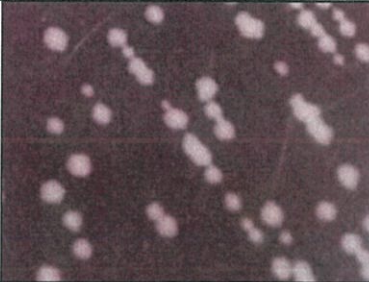
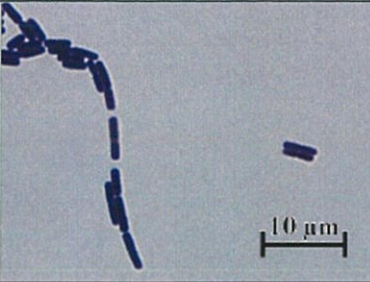
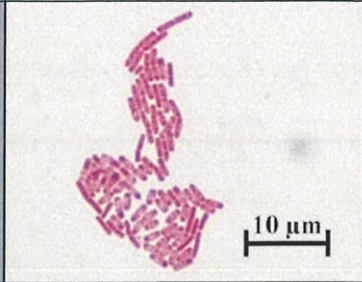
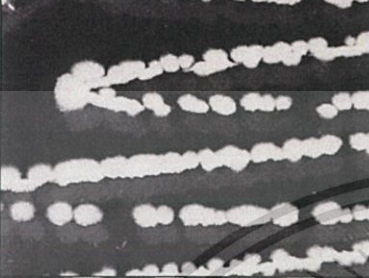
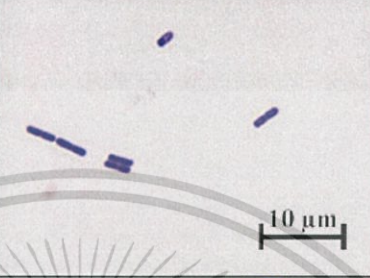
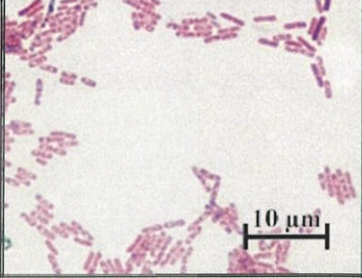



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	การย้อมสปอร์
B367			
B368			
B369			
B370			
B371			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


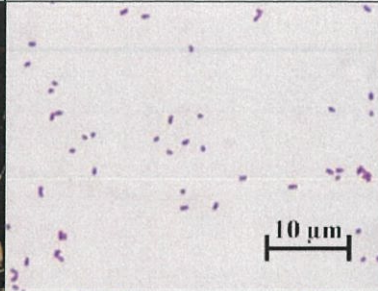
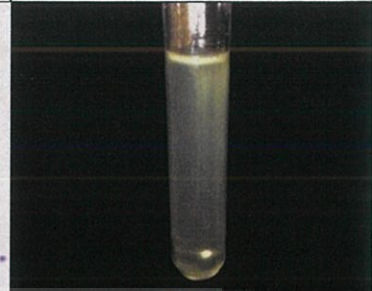

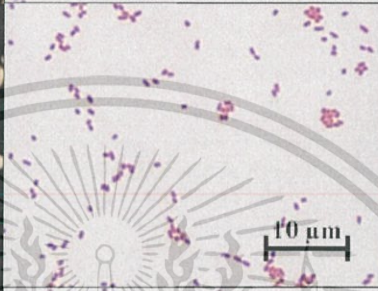



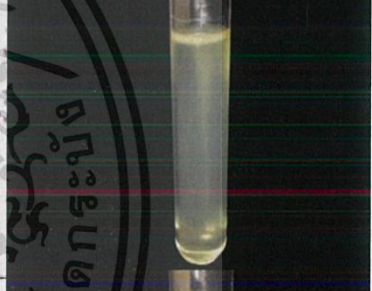

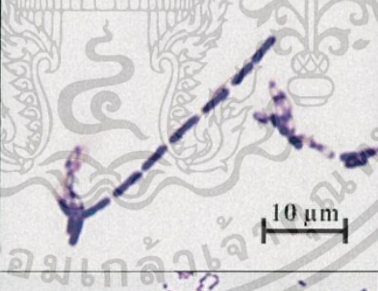

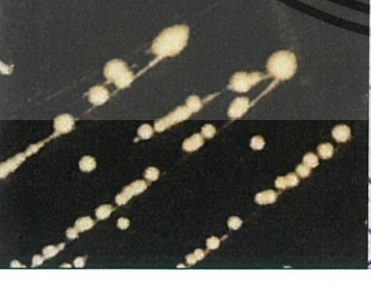
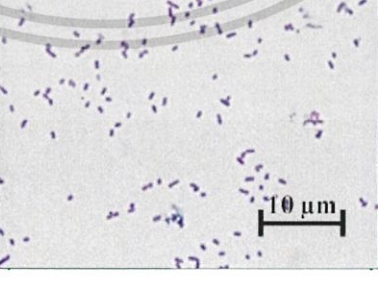
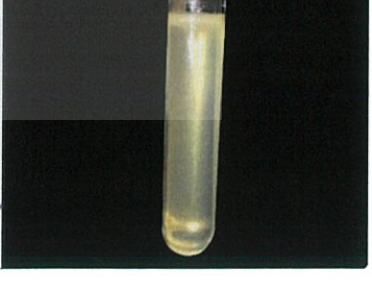
รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	การย้อมสปอร์
B372			
B374			
B375			
B376			
B378			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


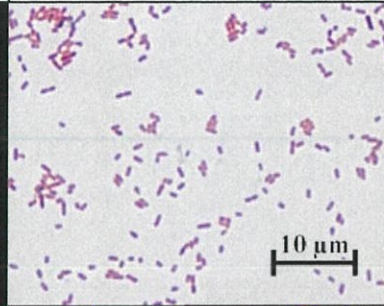

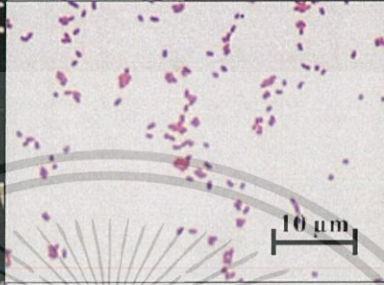










รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรม	การย้อมสปอร์
B379			
B384			
B397			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


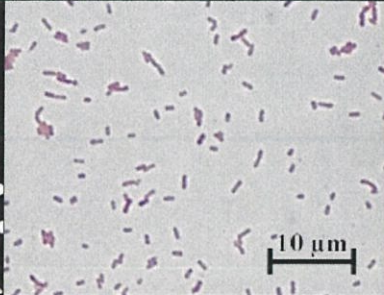
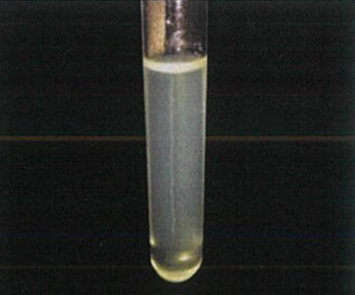
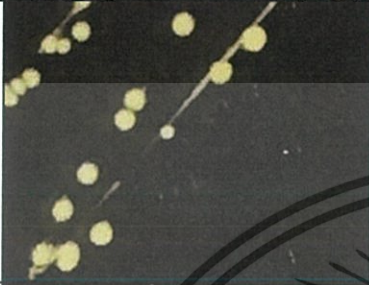
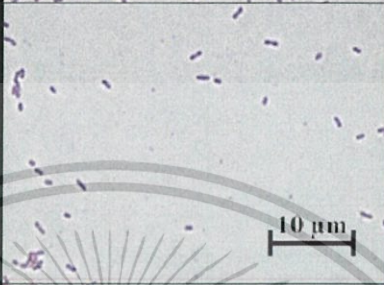






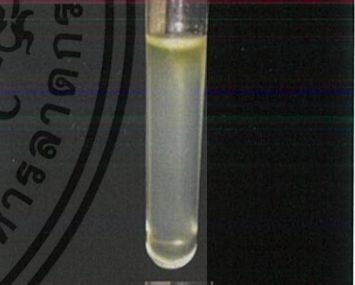


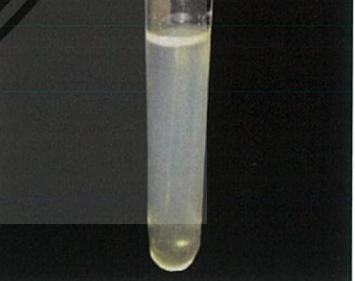
เชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ย้อมแกรม	การเคลื่อนที่
P232			
P233			
P234			
P235			
P236			

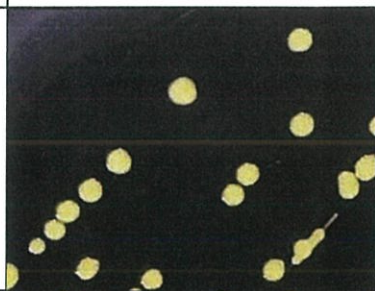
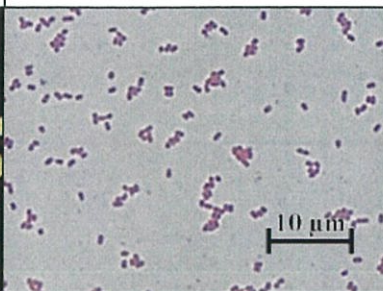
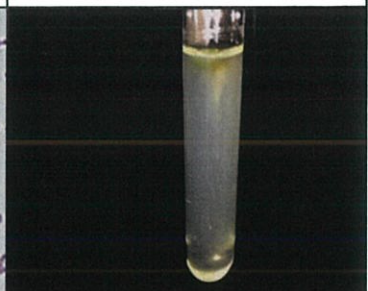
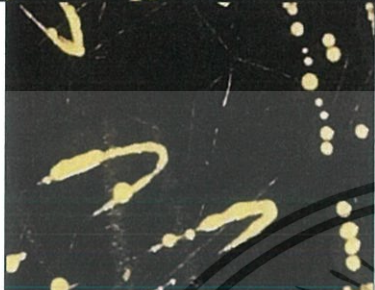
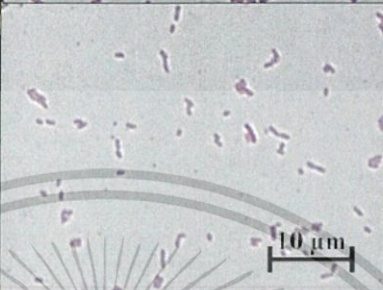
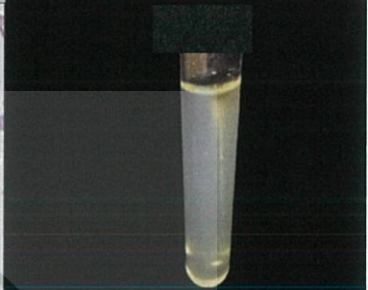

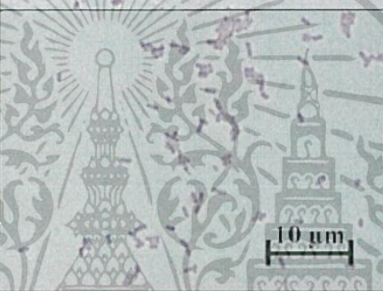


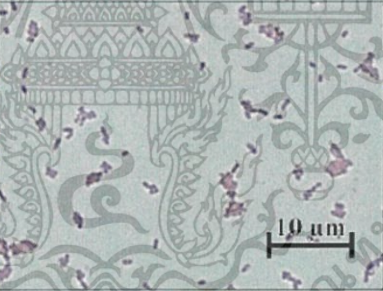
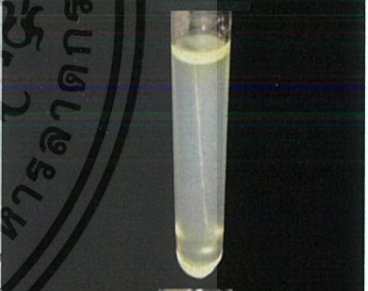

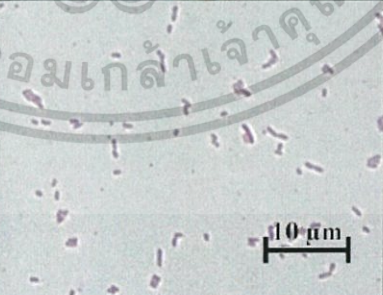
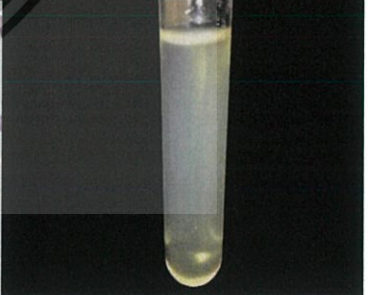
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ย้อมแกรม	การเคลื่อนที่
P237			
P238			
P239			
P341			
P360			


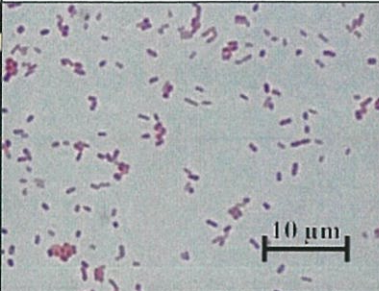
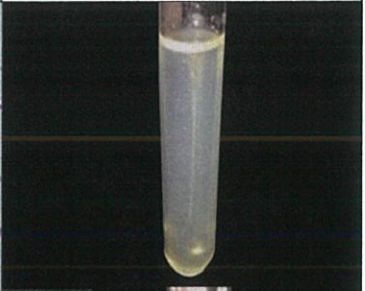

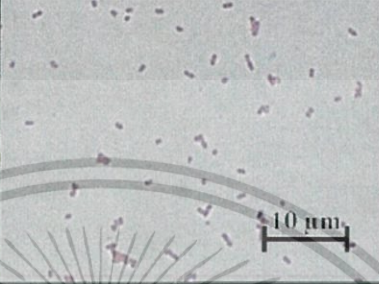

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

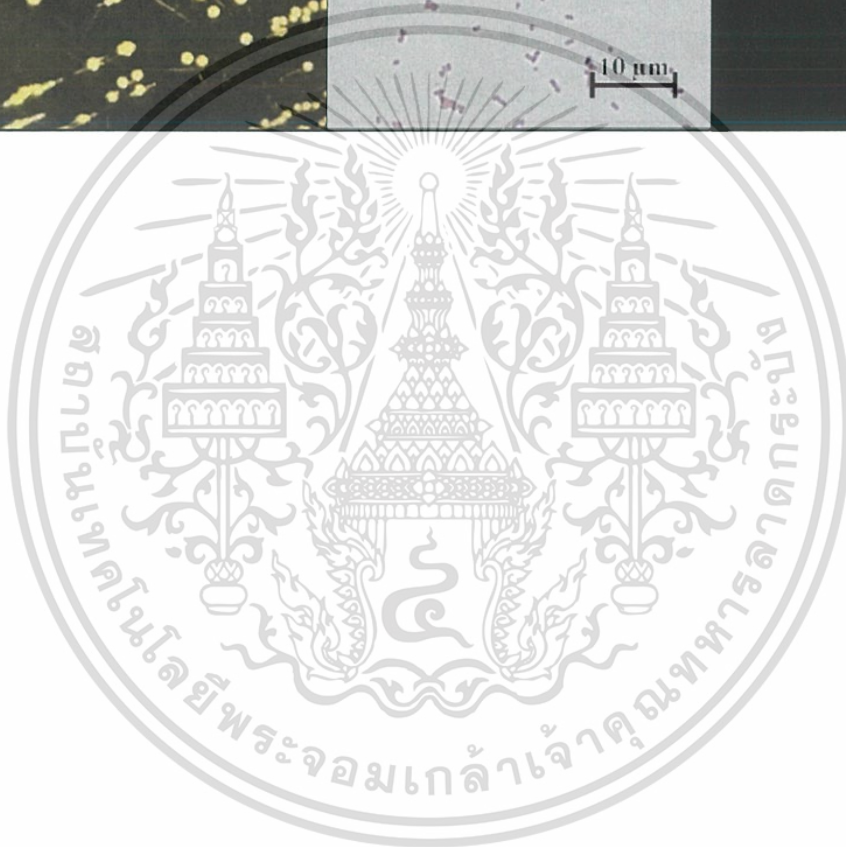
รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ย้อมแกรม	การเคลื่อนที่
P381			
P3112			
P3114			
P3115			
P3116			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ย้อมแกรม	การเคลื่อนที่
P3118			
P3119			
P3122			
P3123			
P3124			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	ย้อมแกรม	การเคลื่อนที่
P3129			
P3130			



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร BHA ที่สามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคทั้ง 3 ชนิดได้

ตารางที่ 1 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร BHA ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici* ได้

One-way ANOVA: C2 versus C1

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	8	225.4	28.2	2.04	0.099
Error	18	248.2	13.8		
Total	26	473.7			

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร BHA ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici* ได้

Grouping Information Using Tukey Method

C1	N	Mean	StDev	Grouping
3	3	41.667	2.887	A
8	3	40.000	0.000	A
6	3	40.000	5.000	A
5	3	38.667	2.309	A
2	3	37.333	4.619	A
9	3	36.667	2.887	A
7	3	35.000	5.000	A
4	3	35.000	5.000	A
1	3	31.944	2.406	A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici* ได้

One-way ANOVA: C2 versus C1

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	8	4916.5	614.6	21.58	0.000
Error	18	512.6	28.5		
Total	26	5429.0			

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. capsici* ได้

Grouping Information Using Tukey Method

C1	N	Mean	StDev	Grouping
6	3	51.852	6.415	A
3	3	48.148	6.415	A
5	3	45.679	2.138	A
8	3	43.210	5.658	A, B
4	3	38.272	2.138	A, B
7	3	36.667	5.774	A, B
9	3	29.630	6.415	B, C
2	3	16.667	5.774	C, D
1	3	10.000	5.000	D

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร BHA ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* ได้

One-way ANOVA: C2 versus C1

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	9	5814.6	646.1	23.46	0.000
Error	20	550.7	27.5		
Total	29	6365.3			

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร BHA ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* ได้

Grouping Information Using Tukey Method

C1	N	Mean	StDev	Grouping
10	3	51.852	6.110	A
9	3	45.679	10.066	A, B
8	3	44.828	4.000	A, B
1	3	44.828	2.309	B, C
7	3	43.678	3.396	C, D
5	3	42.529	5.882	C, D
6	3	42.529	3.396	C, D
4	3	41.379	6.792	D
3	3	41.379	3.396	D
2	3	40.580	0.000	D

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* ได้

One-way ANOVA: C2 versus C1

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	6	1575.4	262.6	13.83	0.000
Error	14	265.7	19.0		
Total	20	1841.1			

ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร BHA ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* ได้

Grouping Information Using Tukey Method

C1	N	Mean	StDev	Grouping
4	3	38.095	4.762	A
7	3	31.746	2.749	A
6	3	30.159	5.499	A
1	3	29.412	5.882	A
3	3	28.571	4.762	A
2	3	26.984	2.749	A
5	3	7.937	2.749	B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร BHA ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solani* ได้

One-way ANOVA: C2 versus C1

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	22	5589.8	223.6	21.14	0.000
Error	52	550.0	10.6		
Total	77	6139.8			

ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร BHA ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solani* ได้

Grouping Information Using Tukey Method

C1	N	Mean	StDev	Grouping
1	3	48.148	0.000	A
3	3	47.826	0.000	A, B
21	3	46.377	2.510	A, B, C
18	3	44.928	2.510	A, B, C, D
24	3	43.478	4.348	A, B, C, D, E
17	3	42.029	2.510	A, B, C, D, E
2	3	40.741	0.000	A, B, C, D, E
25	3	40.580	2.510	A, B, C, D, E
16	3	40.580	2.510	A, B, C, D, E
15	3	40.580	5.020	A, B, C, D, E
9	3	39.506	2.138	A, B, C, D, E
5	3	39.506	5.658	A, B, C, D, E
20	3	39.130	4.348	A, B, C, D, E
8	3	38.272	2.138	A, B, C, D, E
23	3	37.681	2.510	B, C, D, E
19	3	37.681	2.510	B, C, D, E
13	3	37.037	3.704	C, D, E

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C1	N	Mean	StDev	Grouping
26	3	36.232	2.510	C, D, E
4	3	35.802	2.138	D, E
14	3	34.568	2.138	E, F
12	3	34.568	5.658	E, F
11	3	34.568	4.277	E, F
6	3	24.691	2.138	F, G
22	3	24.638	2.510	F, G
10	3	14.815	3.704	G, H
7	3	14.286	4.762	H

ตารางที่ 11 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solani* ได้

One-way ANOVA: C2 versus C1

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	12	1361.84	113.49	11.37	0.000
Error	26	259.55	9.98		
Total	38	1621.39			

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเชื้อที่คัดแยกได้จากอาหาร PAB ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *R. solani* ได้

Grouping Information Using Tukey Method

C1	N	Mean	StDev	Grouping
4	3	45.977	1.991	A
10	3	45.679	2.138	A
7	3	44.828	3.448	A
5	3	44.828	3.448	A
8	3	43.678	1.991	A
6	3	42.529	1.991	A

C1	N	Mean	StDev	Grouping
2	3	42.529	1.991	A
1	3	41.379	3.448	A
3	3	41.379	3.448	A
9	3	40.580	2.510	A
12	3	30.864	4.277	B
11	3	30.435	4.348	B
13	3	28.395	4.277	B



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้