

การใช้ประโยชน์จาก endophytic bacteria ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เพื่อ
ลดการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp.

APPLICATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA AS SEED COATING
FOR FUSARIUM DISEASE REDUCTION IN TOMATO



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AG-M-065-278

การใช้ประโยชน์จาก endophytic bacteria ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เพื่อ
ลดการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp.

**APPLICATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA AS SEED COATING
FOR FUSARIUM DISEASE REDUCTION IN TOMATO**



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AG-M-065-278

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้ประโยชน์จาก endophytic bacteria ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เพื่อลดการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.
ชื่อนักศึกษา	นางสาว ปาณิศา ประสม
รหัสนักศึกษา	59604013
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขา	เกษตรศาสตร์
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. พรหมมาศ คุณหาภาณูจน์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร. พงณา สีขาว

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ทำการแยกและคัดเลือก endophytic bacteria โดยแยกจากส่วนต่างๆ ได้แก่ ราก ลำต้น และใบ ของต้นมะเขือเทศที่มีความสมบูรณ์แข็งแรง จากนั้นคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติเด่นทางด้านการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืช หรือสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืช นำมาเคลือบเมล็ดพันธุ์เพื่อการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. และส่งเสริมการเจริญเติบโตมะเขือเทศ

ในการแยก endophytic bacteria สามารถแยกได้จำนวน 43 ไอโซเลท จากการศึกษา ลักษณะเบื้องต้นพบว่าส่วนใหญ่เป็นแกรมบวก เมื่อนำไปทดสอบกับต้นกล้ามะเขือเทศพบว่าไม่ส่งผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโตของพืช นอกจากนี้ในบางไอโซเลทยังพบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ ต่อมานำ endophytic bacteria ทั้ง 43 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ ด้วยวิธี dual culture test พบว่ามี 25 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าว และมีเพียง 3 ไอโซเลท ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ SuRW02 SuRW01 และ LbRW03 โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 71.94, 68.33 และ 68.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองจึงได้ทำการคัดเลือก endophytic bacteria ไอโซเลท SuRW02 มาใช้ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* สูง และยังมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้ามะเขือเทศอีกด้วย

จากนั้นได้นำมาทดสอบความสามารถในการลดการเกิดโรค พบว่าการใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria (SuRW02) สามารถลดการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคได้ ทั้งในห้องปฏิบัติการ ระยะต้นกล้า และในสภาพแปลงปลูก เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ และสามารถลดได้ใกล้เคียงกับเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเคมีແຫຼ່ງ โดยในการทดสอบเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในห้องปฏิบัติการสามารถลดการเกิดโรคได้ 34.75 เปอร์เซ็นต์ ในระยะต้นกล้าสามารถลดการเกิดโรคได้ 34.09 เปอร์เซ็นต์ และในสภาพแปลงปลูกสามารถลดการเกิดโรคได้ 37.5 เปอร์เซ็นต์ และลดความรุนแรงของโรค จากระดับ 2 เป็น 0.37 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคมีแคปแทนที่มีความรุนแรงของโรคที่ระดับ 0.25 นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศได้อีกด้วย

ในการศึกษาถึงระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เคลือบเป็นระยะเวลา 4 เดือน ในด้านคุณภาพเมล็ดพันธุ์ พบว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ในแต่ละกรรมวิธีไม่ส่งผลกระทบต่อความชื้นของเมล็ดพันธุ์ นอกจากนี้ยังพบว่า เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria สามารถรักษาความงอกของเมล็ดพันธุ์ได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ โดยหลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 94 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ และเมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 91.5 และ 92.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ในส่วนของปริมาณ endophytic bacteria บนเมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria มีปริมาณลดลงเรื่อยๆ จาก 5.15 เป็น 2.54 logcfu/กรัม เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน ซึ่งจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าหากเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน อาจทำให้ประสิทธิภาพของการควบคุมโรคของเมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria ลดลง

Thesis Title	Application of endophytic bacteria as seed coating for Fusarium wilt disease reduction in tomato.
Student	Miss Panisa Prasom
Student ID	59604013
Degree	Master of Science
Program	Agriculture
Year	2018
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Prommart Koohakan
Co- advisor	Dr. Potjana Sikhao

Abstract

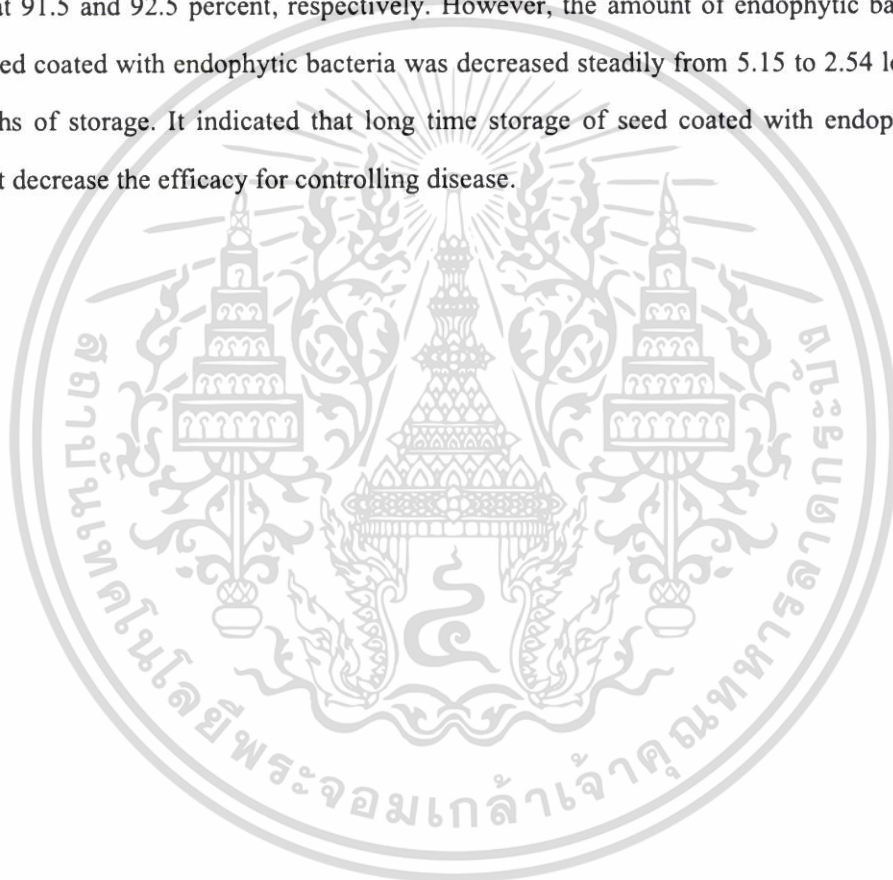
In this study, endophytic bacteria were isolated from root, stem and leaf of healthy tomato, then they were screened for potential isolate based on their antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* and ability to promote plant growth. Consequently, the selected isolate was used for seed coating to reduce Fusarium wilt disease.

The result showed that 43 isolates of endophytic bacteria isolated from this experiment were gram-positive bacteria. Initially effects of endophytic bacteria on the growth of tomato seedlings were tested. The results showed that most endophytic bacteria did not affect the growth of tomato seedlings and some isolates could promote the growth of tomato seedling. Subsequently, the selected isolates were tested on the antagonistic activity against *F. oxysporum* by dual culture technique. It was found that 25 isolates were antagonistic activity on the pathogen significantly compared with control. Among of these, only three isolates showed the ability to inhibit the pathogen growth more than 60 percent, namely SuRW02, SuRW01 and LbRW03, with the highest inhibition percentage of 71.94, 68.33 and 68.19 percent, respectively. From this result, SuRW02 was selected for seed coating, because it had the highest ability to inhibit the growth of *F. oxysporum* and also had the ability to promote the growth of tomato seedlings.

Testing on tomato seed coated with endophytic bacteria (SuRW02) found that this method could reduce disease incidence and disease severity both in laboratory and filed conditions. Disease reduction by bacterial seed coating was similar to seed coated with captan. In laboratory and seedling stage conditions, it could reduce disease incidence at 34.75 and 34.09 percent, respectively. In field condition, it could reduce disease incidence at 37.5 percent and disease

severity from level 2 to 0.37 compared with uncoated seed, while the seed coated with captan was level 0.25. In addition, seed coated with endophytic bacteria could promote the growth of tomato plants significantly.

Study on storage time of seed coated with endophytic bacteria, coated seed could be kept for at 4 months, without any detrimental effect on seed quality such as seed moisture content. In addition, seed coated with endophytic bacteria could maintain seed germination higher than other treatment. After 4 months of storage, seed coated with endophytic bacteria had a germination rate at 94 percent, while uncoated seed and seed coated without endophytic bacteria had a germination rate at 91.5 and 92.5 percent, respectively. However, the amount of endophytic bacteria content on seed coated with endophytic bacteria was decreased steadily from 5.15 to 2.54 log cfu / g at 4 months of storage. It indicated that long time storage of seed coated with endophytic bacteria might decrease the efficacy for controlling disease.



กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. พรหมมาศ กุหากาญจน์ ที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไขปัญหาและข้อบกพร่องต่างๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จลงอย่างเรียบร้อยสมบูรณ์ และขอขอบคุณ ดร.พจนนา สีขาว ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย และให้คำปรึกษาที่ดีเสมอมา

ขอขอบคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้อง สำหรับการอบรมสั่งสอนเป็นคนดี ให้ทุนทรัพย์ในการศึกษาเล่าเรียนจนจบปริญญา และเป็นกำลังใจที่สำคัญคอยให้คำปรึกษาตลอดมา

ขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง รศ.ดร.ถนิมนันต์ เจนอักษร รศ.ดร.นवल พรรณงาม ยี่สุน และ ผศ.ดร.นงลักษณ์ เกรินทวงศ์ ที่มอบความรู้อบรมสั่งสอนตั้งแต่ระดับปริญญาตรีตลอดจนจบการศึกษาระดับปริญญาโท

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ โรคพืชที่คอยอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์สำหรับการทดลอง

ขอขอบคุณเพื่อนๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นางสาวทักษพร ช้างม่วง ที่ร่วมทุกข์ร่วมสุขในการทำงานทุกครั้ง และนายนคร บุญน้อย ที่คอยช่วยเหลือในการทำงานเสมอมา ขอขอบพระคุณอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณ น้องๆ นักศึกษาปริญญาตรีทุกคนที่ช่วยเป็นเรี่ยวแรงในการทดลองทำให้การทดลองเสร็จสิ้นไปได้ด้วยดี

นางสาว ปาณิสรา ประสม

19 กรกฎาคม 2561

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญรูป.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน.....	23
3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง.....	25
3.1.1 การแยกเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp. สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและการทดสอบโรค.....	25
3.1.2 การแยกและคัดเลือก endophytic bacteria ที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของมะเขือเทศ.....	26
3.1.3 การคัดเลือก endophytic bacteria ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อโรค.....	26
3.1.4 การเตรียม endophytic bacteria	27
3.2 การทดสอบการเคลือบเมล็ดพันธุ์ต่อความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria และคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ.....	27
3.2.1 การเคลือบเมล็ดพันธุ์.....	27
3.2.2 การตรวจนับปริมาณ endophytic bacteria บนเมล็ดพันธุ์หลังจากการเคลือบ.....	28
3.2.3 การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์.....	28
3.3 การตรวจสอบความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria และคุณภาพเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา.....	29
3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเมล็ดเคลือบ endophytic bacteria ในการควบคุมโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ.....	29
3.5 การทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคของเมล็ดเคลือบ endophytic bacteria ในระยะต้นกล้า.....	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.6 การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหรือช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ในสภาพแปลงปลูก.....	30
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	31
4.1 เชื้อสาเหตุโรคและความสามารถในการก่อโรค.....	31
4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ endophytic bacteria และผลต่อการเจริญเติบโต ของต้นกล้ามะเขือเทศ.....	32
4.3 ประสิทธิภาพของ endophytic bacteria ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ.....	39
4.4 ความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria และคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ระหว่างการเก็บ รักษา.....	44
4.5 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค และส่งเสริมการเจริญเติบโตของเมล็ดเคลือบด้วย endophytic bacteria ในห้องปฏิบัติการ.....	45
4.6 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของเมล็ดเคลือบ endophytic bacteria ในระยะต้น กล้า.....	48
4.7 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค หรือช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ในสภาพ แปลงปลูก.....	48
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง.....	51
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	55
บรรณานุกรม.....	57
ภาคผนวก.....	63
ประวัติผู้เขียน.....	85

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ endophytic bacteria ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อต้นมะเขือเทศ... 33
4.2	ผลของ endophytic bacteria ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ..... 37
4.3	ประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของ endophytic bacteria จำนวน 43 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> 40
4.4	ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบด้วยกรรมวิธีต่างๆ หลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน..... 44
4.5	ความงอกของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบด้วยกรรมวิธีต่างๆหลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน..... 44
4.6	ความสามารถในการควบคุมโรค และการเจริญเติบโตของเมล็ดเคลือบด้วย endophytic bacteria ในห้องปฏิบัติการ..... 45
4.7	การเจริญเติบโต และอัตราการเกิดโรคเหี่ยวจากเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp. ในมะเขือเทศระยะต้นกล้า..... 47
4.8	ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยกรรมวิธีต่างๆ ต่ออัตราการเกิดโรค และความรุนแรงของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp. ในสภาพแปลงปลูก..... 48
4.9	ผลการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยกรรมวิธีต่างๆต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพผลผลิตของมะเขือเทศ..... 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลำต้นมะเขือเทศ.....	3
2.2	ใบของมะเขือเทศ.....	4
2.3	ดอกของมะเขือเทศ.....	4
2.4	ผลของมะเขือเทศ.....	5
2.5	เมล็ดของมะเขือเทศ.....	5
2.6	รากของมะเขือเทศ.....	5
2.7	ลักษณะเมล็ดหัวหอมที่ผ่านการเคลือบ.....	17
3.1	รูปแบบการทดสอบด้วยวิธี dual culture test.....	27
4.1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>	31
4.2	อาการเหี่ยวของต้นกล้ามะเขือเทศหลังจากการปลูกเชื้อ 7 วัน.....	31
4.3	ลักษณะสัณฐานวิทยาของ endophytic bacteria ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อต้นมะเขือเทศ.....	35
4.4	ผลการทดสอบ Dual-culture ของ endophytic bacteria จำนวน 7 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> ได้มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์.....	40
4.5	เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศก่อนเคลือบและหลังเคลือบ.....	42
4.6	ปริมาณแบคทีเรียที่เคลือบบนเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศตลอดการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน.....	43
4.7	ความยาวของต้นกล้ามะเขือเทศที่อายุ 7 วัน.....	46
4.8	ความสูงของต้นกล้ามะเขือเทศที่อายุ 14 วัน.....	47
4.9	อาการเหี่ยวของต้นกล้ามะเขือเทศหลังจากการปลูกโรค 14 วัน.....	49
4.10	ปริมาณ endophytic bacteria ในต้นมะเขือเทศที่ใช้เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria เมื่อสิ้นสุดการทดลอง.....	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill) เป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่นิยมอย่างมาก เนื่องจากมีคุณค่าทางสารอาหารมากมาย เช่น สารไลโคพีน ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และวิตามินต่างๆ ที่ร่างกายต้องการ จึงทำให้ได้รับความนิยมนำมาบริโภคหลากหลายรูปแบบทั้งแบบผลสด การปรุงสุกรวมทั้งการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการการบริโภคผลสด ซึ่งในการบริโภคมะเขือเทศในลักษณะรับประทานสดนั้นจะต้องมีความปลอดภัย ปราศจากสารเคมีตกค้าง โดยในการผลิตพืชผักที่ปราศจากสารเคมีนั้นต้องเริ่มตั้งแต่การเลือกเมล็ดพันธุ์ที่มีความสมบูรณ์ ที่สำคัญต้องปราศจากโรค ซึ่งในการปลูกมะเขือเทศพบปัญหาที่สำคัญคือโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. โดยโรคดังกล่าวสามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะ และเชื่อดังกล่าวสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ (วัชรา และคณะ, 2557) ดังนั้นการควบคุมโรคตั้งแต่เมล็ดพันธุ์จึงเป็นสิ่งสำคัญเนื่องจากโรคที่ติดมากับเมล็ดอาจเข้าทำลายพืชในระยะเพาะกล้าได้ สร้างความเสียหายต่อผลผลิตซึ่งหากเชื้อโรคเข้าทำลายพืชแล้วจะส่งผลให้ผลผลิตลดลงได้ (พิศาล, 2530) ปัจจุบันมีการพัฒนาการผลิตเมล็ดพันธุ์ด้วยเทคโนโลยีการเคลือบเมล็ด (seed coating) ขึ้นเพื่อเป็นการเพิ่มคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ และยังสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้ยาวนานขึ้น โดยการเคลือบเมล็ดจะเป็นการหุ้มเมล็ดด้วยฟิล์มบางๆ ลักษณะเมล็ดไม่มีการเปลี่ยนแปลง สารที่ใช้สำหรับเคลือบเมล็ดจะประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์ต่อพืช เช่น สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช ฮอร์โมนส่งเสริมการเจริญเติบโต รวมถึงธาตุอาหารต่างๆ ร่วมกับสารยึดเกาะที่จะเป็นตัวประสานสารออกฤทธิ์ให้ติดแน่นกับเมล็ด โดยสารเคลือบที่ใช้จะต้องไม่ส่งผลกระทบต่อเมล็ดพันธุ์ ทั้งยังสามารถเพิ่มสารออกฤทธิ์ต่างๆ ได้เช่นกัน (ภาณี และคณะ, 2540; ภาณี และ คณะ, 2541; จักรพงษ์ และบุญมี, 2557; สุริยา และบุญมี, 2554) แต่เดิมการเคลือบเมล็ดเพื่อป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคจะใช้การเคลือบด้วยสารเคมีเป็นส่วนใหญ่ ต่อมาได้มีการพัฒนาการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธีอื่นๆ เพื่อลดการใช้สารเคมี ซึ่งการใช้เชื้อจุลินทรีย์เคลือบเมล็ดแทนสารเคมีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความนิยม ปัจจุบันได้มีการศึกษาการนำเชื้อจุลินทรีย์มาเคลือบเมล็ดกันมากขึ้น โดยพบว่าการใช้จุลินทรีย์ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์สามารถลดการเกิดโรคได้ มีรายงานว่า การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วย *Pseudomonas fluorescent* สามารถลดการเกิดโรค Charcoal rot ที่เกิดจากเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ในถั่วลิสงได้ โดยสามารถลดอาการของโรคได้มากถึง 61-70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้เชื่อดังกล่าวยังสามารถเพิ่มผลผลิตของถั่วลิสงได้ (Shweta et al., 2008) งานวิจัยของ Kaewkham et al. (2016) ที่ได้ศึกษาการควบคุมเชื้อรา *Didymella bryoniae* สาเหตุโรค gummy stem blight ในเมล็ดพันธุ์แตงกวาด้วยการใช้เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* พบว่าสามารถลดการเกิดโรคระยะต้นกล้าได้ประมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนักผู้ใดเห็นาเบ้ขอประะโยชนต่านการค้ำ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20 เปอร์เซ็นต์ และยังมีรายงานของ Elad *et al.*, 1982 ที่รายงานว่า การเคลือบเมล็ดพืชด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถลดการเกิดโรคที่เกิดจาก *Rhizoctonia solani* ได้ถึง 83 เปอร์เซ็นต์ ในการปลูกภายในโรงเรือน และ เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโดยความรุนแรงของโรคลดลง 47-60 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองในสภาพแปลงปลูก ซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้ pentachloronitrobenzene เช่นเดียวกับรายงานของ สุพจน์ และคณะ (2554) ที่รายงานว่า การเคลือบเมล็ดข้าวโพดด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 สามารถลดการเกิดโรคใบขีดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (Aaa) ที่ปนเปื้อนในเมล็ดพันธุ์และในสภาพแปลงปลูกข้าวโพดได้ โดยสามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 68.31 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการนำ endophytic bacteria ที่แยกได้จากต้นมะเขือเทศที่สมบูรณ์แข็งแรง และผ่านการคัดเลือกแล้วว่า มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค *Fusarium* sp. ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อของมะเขือเทศ มาเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เพื่อเป็นแนวทางในการช่วยเพิ่มคุณภาพของเมล็ดพันธุ์และเป็นการป้องกันกำจัดโรคในระยะต้นกล้า สำหรับใช้เป็นแนวทางในการผลิตพืชปลอดภัยในอนาคต

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อคัดเลือก endophytic bacteria ที่เป็นประโยชน์จากมะเขือเทศ
- 1.2.2 เพื่อเพิ่มคุณภาพเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศจากการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria
- 1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเมล็ดเคลือบ endophytic bacteria ในการลดการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp.

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* sp. รวมทั้งพัฒนาสูตรที่เหมาะสมในการเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ที่ไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ตลอดจนความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria ที่ส่งผลในการควบคุมโรค เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ผลิตผักปลอดภัยในอนาคต ตลอดจนนำผลงานวิจัยเผยแพร่ในวารสารวิชาการ

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. มะเขือเทศ (ศุภลักษณ์, 2537; มณีจันทร์ 2538; อรสา และคณะ, 2540)

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Lycopersicon esculentum* Mill.

ชื่อวงศ์: Solanaceae

ชื่อสามัญ: Tomato

มะเขือเทศจัดเป็นพืชผักที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของโลก ในประเทศไทยปลูกมากบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมะเขือเทศที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่มีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้เหมาะสมกับการปลูกในประเทศเขตอบอุ่น จึงทำให้ปลูกได้ผลผลิตสูงในฤดูหนาว ในฤดูร้อนและฤดูฝนมักเกิดปัญหาด้านโรคแมลงรบกวน ทำให้ผลผลิตลดลง

มะเขือเทศเป็นพืชที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหาร โดยมีปริมาณวิตามินซีเท่ากับครึ่งหนึ่งของส้มโอหนึ่งผล มะเขือเทศผลหนึ่งจะมีวิตามินเอราว 1 ใน 3 ของวิตามินเอที่ร่างกายต้องการในหนึ่งวัน นอกจากนี้มะเขือเทศยังมีโปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียมและ แร่ธาตุอื่นๆอีกหลายชนิด (กฤติยา 2547)

1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ฉวีวรรณ, 2549 และ เต็ม, 2544)

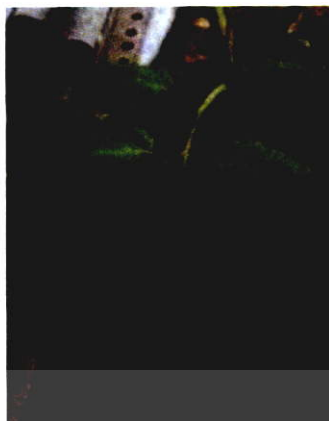
ลำต้น ตั้งตรง สีเขียว ทรงพุ่ม มีขนปกคลุม (ภาพที่ 2.1)



ภาพที่ 2.1 ลำต้นมะเขือเทศ

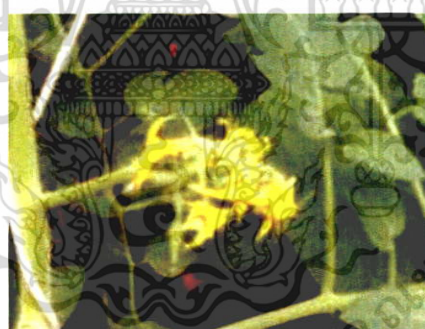
ใบ เป็นใบประกอบแบบสลับ ใบย่อยหลายรูปแบบทั้งใบเรียวยาวเล็ก กลมใหญ่ ปลายใบแหลม ใบกว้าง 2-5 เซนติเมตร ยาว 3-10 เซนติเมตร ก้านใบยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร ขอบใบหยักลึก รูปสามเหลี่ยม ขอบใบหยัก แผ่นใบจรูระเล็กน้อย มีขนอ่อนปกคลุม (ภาพที่ 2.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



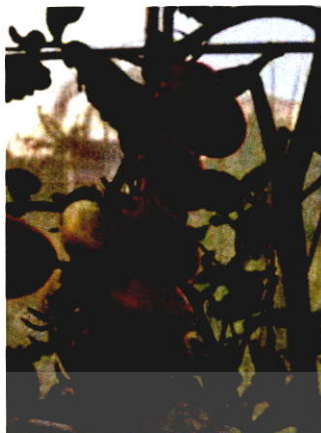
ภาพที่ 2.2 ใบของมะเขือเทศ

ดอก มีลักษณะเป็นช่อ ออกที่บริเวณซอกใบ มีขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร กลีบดอกมีสีเหลืองเชื่อมติดกันเป็นรูปกรวย (corolla tube) ส่วนปลายกลีบจะแยกจากกัน (corolla lobe) เป็นแฉก 5-6 แฉก เป็นดอกสมบูรณ์เพศประกอบด้วยเกสรตัวผู้ ที่ประกอบด้วยอับล่องเกสรตัวผู้ 5-10 อัน และเกสรตัวเมียที่ประกอบด้วยรังไข่ และ ก้านชูเกสรตัวเมียติดอยู่ภายในหลอดดอก กลีบเลี้ยง (sepal) สีเขียวประมาณ 5-6 กลีบ ก้านดอกยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร (ภาพที่ 2.3)



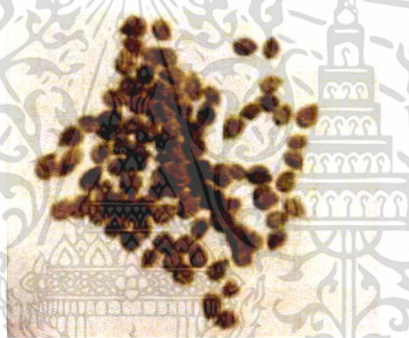
ภาพที่ 2.3 ดอกของมะเขือเทศ

ผล มีลักษณะเป็นผลเดี่ยว ขนาดเล็กประมาณ 3 เซนติเมตรจนถึงใหญ่ประมาณ 10 เซนติเมตร มีรูปร่างและสีหลากหลาย ทั้งกลม และ กลมรี เปลือกบางเป็นมัน ผลดิบจะมีสีเขียว หรือเขียวอมเทา เมื่อสุกจะมีการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง สีส้ม หรือสีแดง มีเมล็ดจำนวนมาก เนื้อภายในน้ำ มีรสเปรี้ยว ภายในมีเมล็ดเรียงตัวเป็นช่อง ๆ และมีเมือกหุ้มเมล็ด ภายใน 1 ผลมีประมาณ 250 เมล็ด (ภาพที่ 2.4)



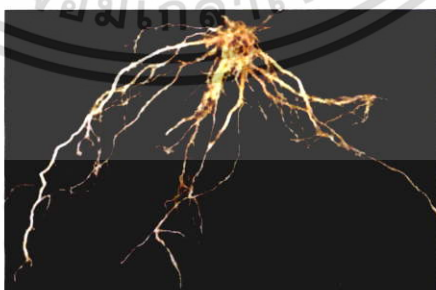
ภาพที่ 2.4 ผลของมะเขือเทศ

เมล็ด มีลักษณะแบน รูปไข่ สีเหลือง และขนาดเล็กประมาณ 0.2-0.5 เซนติเมตร มีขนสั้นปกคลุม (ภาพที่ 2.5)



ภาพที่ 2.5 เมล็ดของมะเขือเทศ

ราก มะเขือเทศมีระบบรากเป็นแบบรากแก้ว มีรากแขนงสามารถเจริญไปตามแนวนอน และแนวตั้งได้ และยังมีลักษณะพิเศษคือสามารถเกิดรากได้ตามลำต้นที่สัมผัสกับผิวดิน (ภาพที่ 2.6)



ภาพที่ 2.6 รากของมะเขือเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ลักษณะการเจริญเติบโต

ลักษณะการเจริญเติบโตของมะเขือเทศมี 3 แบบ

แบบเลื้อย (indeterminate type) ต้นมะเขือเทศจะมีทรงต้นโปร่ง ไม่เป็นพุ่ม จะเจริญสูงขึ้นเรื่อยๆอย่างไม่สิ้นสุด เมื่อมีสภาพแวดล้อมเหมาะสม ลำต้นอาจจะสูงหรือยาวกว่า 10 เมตร ต้องมีการขึ้นค้าง มีแขนงใกล้เคียงกับลำต้น มีการเจริญของช่อดอกสลับกับการเจริญของใบ ทุกๆ 2-3 ใบ ช่อดอกแรกเกิดระหว่างข้อที่ 8 และ 9 ช่อดอกต่อมาจะเกิดขึ้นทุกๆ 3 ข้อ และมีแขนงย่อยอีกไม่สิ้นสุด ระยะเวลาเก็บเกี่ยวยาวนาน เหมาะสำหรับการปลูกในโรงเรือน

แบบพุ่ม (determinate type) ต้นมะเขือเทศจะมีลำต้นตั้งตรง มีกิ่งแขนงหลายๆแขนงเกิดตามข้อบนลำต้นด้านล่าง และอาจมีแขนงย่อยได้อีก เมื่อคายยอดมีการเกิดช่อดอกแล้วจะต้นมะเขือเทศจะหยุดการเจริญเติบโต ช่อดอกจะเกิดระหว่างข้อทุกข้อในเวลาใกล้เคียงกัน ระยะเวลาเก็บเกี่ยวสั้น

แบบกึ่งเลื้อย (semi-determinate type) จะมีการเจริญคล้ายกับแบบพุ่มแต่จะมีลำต้นสูงกว่า มีการเจริญของช่อดอกสลับกับการเจริญของใบทุกๆ 1-2 ใบ เมื่อคายยอดเกิดช่อดอกแล้ว จะมีแขนงเกิดที่ข้อใต้ช่อดอกเติบโตไปเรื่อยๆ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวยาวนานกว่าแบบพุ่ม

1.3 สภาพภูมิอากาศและฤดูปลูกที่เหมาะสม

มะเขือเทศสามารถเจริญเติบโตทางด้านลำต้น ใบ และออกดอกได้ดีตลอดทั้งปี แต่การติดผลต้องการสภาพอากาศค่อนข้างเย็น ซึ่งอุณหภูมิกลางวันที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิกลางคืนประมาณ 16-20 องศาเซลเซียส ในสภาพภูมิอากาศที่มีฝนและความชื้นสูงจะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการระบาดของโรคทางใบ และระบบรากอย่างรุนแรง ดังนั้นฤดูปลูกที่เหมาะสมที่สุดจึงอยู่ในช่วงฤดูหนาว ซึ่งนอกจากสภาพอากาศจะเหมาะสมต่อการติดผลทำให้ได้ผลผลิตสูง และยังมีศัตรูพืชรบกวนน้อย ทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการปลูกในฤดูอื่น

1.4 พันธุ์มะเขือเทศ

ในประเทศไทยนิยมปลูก 2 ประเภทตามการใช้ประโยชน์คือ มะเขือเทศบริโภคสด และมะเขือเทศส่งโรงงานอุตสาหกรรม

1. พันธุ์มะเขือเทศที่ไว้รับประทานสด มีทั้งแบบผลเล็กและผลใหญ่ แต่แบบผลเล็กนิยมพันธุ์สีชมพู มากกว่าสีแดง ส่วนแบบผลโตมักมีทรงผลกลม คล้ายแอปเปิ้ล ผลเมื่อสุกจะมีสีแดงเข้ม เนื้อหนาแข็ง เปลือกไม่เหนียว มีจำนวนช่องภายในผลมากและไม่กลวง มีพันธุ์ที่นิยมปลูกกันได้แก่ พันธุ์มานาปาล พันธุ์ฟลอราเดล พันธุ์มาร์โกลบ พันธุ์ตีดา มก. พันธุ์มาสเตอร์เบอร์ 2 พันธุ์คาลิปโซ

2. พันธุ์มะเขือเทศที่ปลูกเพื่อส่งโรงงานอุตสาหกรรม จะมีคุณสมบัติคล้ายๆกัน คือ เป็นพันธุ์ที่ผลสุกพร้อมกันเป็นส่วนใหญ่ เวลาเก็บเกี่ยวขั้วผลหลุดง่าย มีเนื้อมากน้ำน้อย เมื่อผลสุกมีสีแดงเข้มทั้งผล ใต้กลางผลสั้นเล็ก และไม่แข็ง เปลือกหนา เหนียว เพื่อจะให้ขนส่งได้ในระยะทางไกลๆ และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากเก็บเกี่ยวแล้วสามารถเก็บ ไว้ได้นานโดยไม่เน่าเสียได้ง่าย มีอยู่หลายพันธุ์ด้วยกัน ได้แก่ พันธุ์วีเอฟ 135-1-2 พันธุ์โรมา พันธุ์คาร์เจ พันธุ์เฟซเซทเตอร์ 502 พันธุ์วีเอฟ 145 ปี 7879

1.5 การปลูกระยะเชือกเทศ

การเตรียมดิน

การปลูกระยะเชือกเทศจำเป็นต้องขร่งแปลงคล้ายกับการปลูกพืชผักทั่วไป แต่ก่อนนั้นจำเป็นต้องเตรียมดิน และกำจัดวัชพืชก่อน ด้วยการไถพรวนดินรอบแรกที่ได้ลึกประมาณ 20-30 ซม. พร้อมกำจัดวัชพืช และตากดินนาน 10-15 วัน จากนั้น ไถพรวนดินรอบ 2 อีกครั้ง และตากดินนาน 5-7 วัน โดยก่อนไถรอบ 2 ให้หว่านโรยด้วยปุ๋ยคอก อัตรา 3-5 ตันต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อตากดินรอบ 2 ครบตามวันแล้วจึงไถขร่งเตรียมปลูก โดยในการปลูกแถวเดี่ยว ทำการไถขร่งกว้าง 70-80 เซนติเมตร และในการปลูกแถวคู่ ทำการไถขร่งกว้าง 100-120 เซนติเมตรโดยขร่งสูงประมาณ 30 เซนติเมตร หากพื้นที่เป็นดินเปรี้ยวในการเตรียมดินควรหว่านด้วยปูนขาว อัตรา 100-300 กิโลกรัมต่อไร่ ร่วมกับการหว่านปุ๋ยคอกทุกครั้ง

การปลูกทำได้ 2 วิธี

1. เพาะกล้าแล้วย้ายปลูก

การเพาะกล้าสามารถทำได้ 3 วิธีดังนี้

1.1 การเพาะในกระบะเพาะ วิธีนี้นิยมใช้ในกรณีที่ต้องการต้นกล้าจำนวนไม่มากนัก สามารถเพาะได้ค้เนื่องจากใช้ดินจำนวนน้อย กระบะเพาะที่ใช้ควรมีขนาด 45x50 เซนติเมตร ลึกไม่เกิน 10 เซนติเมตร มีรูระบายน้ำได้ ในการเพาะวัสดุเพาะที่ใช้จะใช้ดิน ผสมปุ๋ยคอก และทรายหรือแกลบ ในอัตรา 3:1:1 คลุกให้เข้ากัน ใส่ลงในกระบะเพาะ ปรับหน้าดินให้เรียบ แล้วโรยเมล็ดเป็นแถวโดยการใช้ไม้ทาบให้เป็นร่องเล็กๆ ระยะห่าง 5-7 เซนติเมตร แล้วกลบบางๆ รดน้ำให้ชุ่ม เมื่อต้นกล้าอายุ 15 วัน หรือมีใบแท้ 2 ใบ ทำการแยกปลูกลงในถุงปลูกขนาด 4x6 นิ้ว จนกระทั่งต้นกล้าสูง 30 เซนติเมตร หรือมีอายุ 30-40 วัน จึงทำการย้ายลงแปลงปลูก

1.2 การเพาะกล้าในแปลงเพาะ นิยมใช้ในกรณีที่ต้องการต้นกล้าจำนวนมาก โดยแปลงจะมีขนาดกว้าง 1 เมตร ความยาวขึ้นอยู่กับพื้นที่และความต้องการต้นกล้า ระยะทางเดิน 50 เซนติเมตร ผสมดินด้วยปุ๋ยคอกและทรายในอัตรา 3:1 ทำการเพาะโดยโรยเมล็ดเป็นแถวห่างกัน 10 เซนติเมตร เมื่อต้นกล้าอายุ 25 วัน หรือมีใบจริง 2-3 ใบ สามารถย้ายลงแปลงปลูกได้ แปลงเพาะควรมีผ้า หรือตาข่ายกันลม แดด และฝน ที่จะทำอันตรายต่อต้นกล้า โดยเปิดผ้ารับแสงแดดในช่วงเช้าถึงช่วงเวลา 9 โมงเช้า และอีกครั้งในช่วง 4 โมงเย็น

1.3 การเพาะในถาดเพาะกล้า เป็นวิธีที่สะดวก มีการพัฒนาจากการเพาะในกระบะเพาะ โดยจะเพาะในถาดที่มีลักษณะเป็นหลุมหลายๆหลุม ใส่วัสดุปลูกลงในหลุมของถาด หยอดเมล็ดลงในแต่ละหลุม จากนั้นทำการกลบ และรดน้ำ หลังจากต้นกล้าอายุประมาณ 20 วัน จึงทำการย้ายลง

เอกสารนี้เผยแพร่โดยกรมส่งเสริมการเกษตร เพื่อให้บริการแก่เกษตรกรและผู้สนใจทั่วไปโดยไม่คิดค่าใช้จ่าย
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แปลงปลูก โดยใช้มือบีบด้านล่างของหลุมต้นกล้าจะหลุดออกมาพร้อมดินปลูก วิธีการนี้จะทำให้รากของต้นกล้าถูกกระทบกระเทือนน้อยที่สุด

2. หยอดเมล็ดลงแปลงปลูกโดยตรง

การหยอดเมล็ดลงแปลงปลูกโดยตรงทำได้โดยไถพรวน และปรับระดับดินให้เสมอกันจากนั้นยกแปลงสูงประมาณ 30 เซนติเมตร กว้าง 100 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยรองพื้นในก้นหลุม ในการปลูกควรมีระยะห่างระหว่างต้นประมาณ 50 เซนติเมตร ถ้าใช้ระยะปลูกแคบจะได้ผลผลิตต่อพื้นที่มากขึ้น แต่การควบคุมโรคและการปฏิบัติงานอื่น จะยุ่งยากขึ้นด้วย ในฤดูแล้งควรปลูกถี่ ส่วนในฤดูฝนควรใช้ระยะปลูกห่าง เนื่องจากมะเขือเทศเจริญเติบโตดี มีทรงพุ่มสูงใหญ่กว่าฤดูอื่นๆ

1.6 การปฏิบัติดูแลรักษา

การคลุมแปลงปลูกด้วยฟางหรือหญ้าแห้ง เพื่อรักษาความชื้นของดินและเป็นการป้องกันการชะล้างผิวหน้าดินเมื่อฝนตกหรือให้น้ำ นอกจากนี้ยังช่วยลดเปอร์เซ็นต์ผลเน่าและการระบาดของโรคทางใบ ซึ่งจะช่วยให้ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้นประมาณ 20-40 เปอร์เซ็นต์ แต่ฟางมักจะมีเชื้อราสเคอโรเตียมติดมาด้วย ทำให้เกิดโรคเหี่ยวต้นแห้งตายไป การคลุมฟางจึงควรคลุมให้ห่างโคนต้น เพื่อให้โคนต้นมีความชื้นสูงเกินไป หรือคลุมหน้าดินด้วยพลาสติกสีดำเพื่อรักษาความชื้นของดิน

การกำจัดวัชพืช ใช้สารเคมีชื่อ เมตรีบูซิน หรือชื่อการค้าว่า เซงคอร์ อัตรา 80 - 120 กรัม (เนื้อสารบริสุทธิ์) หรือ 115-170 กรัม สารเซงคอร์ 70 เปอร์เซ็นต์ ต่อพื้นที่ปลูก 1 ไร่ ฉีดหลังจากย้ายกล้า ขณะที่ดินมีความชื้นอยู่ จะสามารถควบคุมวัชพืชใบแคบและใบกว้างบางชนิดได้ แต่ถ้ามีการพรวนดิน พุนโคนหลังจากใส่ปุ๋ยที่อายุ 20 และ 40 วัน ก็ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีควบคุมวัชพืช

การใส่ปุ๋ย

1. ปุ๋ยรองพื้น ใช้ปุ๋ย 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ รองก้นหลุมพร้อมกับปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมัก 2,000 กิโลกรัมต่อไร่ และโบแรกซ์ 4 กิโลกรัมต่อไร่
2. ปุ๋ยแต่งหน้าที่อายุ 7-10 วัน หลังจากย้ายปลูก ใช้ปุ๋ย 46-0-0 หรือ 21-0-0 อัตรา 10 หรือ 20 กิโลกรัมต่อไร่ ถ้าเปลี่ยนแปลงปลูกที่เคยปลูกผักกินใบ เช่น ผักชี มาก่อน ควรใช้ปุ๋ย 13-13-21 แทน
3. ปุ๋ยแต่งหน้าที่อายุ 21-25 วัน หลังจากย้ายปลูก ใช้ปุ๋ย 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่
4. ปุ๋ยแต่งหน้าที่อายุ 40 วัน หลังจากย้ายปลูก ใช้ปุ๋ย 13-13-21 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่
5. ปุ๋ยแต่งหน้าที่อายุ 60 วัน หลังจากย้ายปลูก ใช้ปุ๋ยชนิดและอัตราเดียวกับครั้งที่ 4 แต่ถ้าสภาพต้นมะเขือเทศค่อนข้างโทรมมีผลน้อยก็ไม่จำเป็นต้องใส่ปุ๋ยครั้งที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสภาพอากาศที่ไม่เหมาะสม เช่น ร้อนเกินไปหรือมีฝนตกบ่อย ทำให้ต้นมะเขือเทศไม่ค่อยสมบูรณ์ หรือมีอาการเหี่ยวใบ อาจช่วยได้โดยการฉีดพ่นปุ๋ยทางใบสูตรต่างๆ ตามระยะการเจริญเติบโต เช่น ในระยะยังไม่ออกดอกอาจใช้ปุ๋ยใบสูตรเสมอ เช่น 25 - 25 - 25 ส่วนในระยะออกดอกแล้วควรใช้ปุ๋ยใบที่มีฟอสฟอรัส และ โปแตสเซียมสูง เช่น 10 - 23 - 20 หรือ 10 - 30 - 20 เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีปุ๋ยใบที่มีธาตุอาหารรอง หลายชนิดอยู่ด้วย เช่น แมงกานีส เหล็ก สังกะสี โบรอน จะช่วยให้ต้นมะเขือเทศสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

การให้น้ำ

ระยะที่มะเขือเทศต้องการน้ำมากที่สุดคือ ช่วงแรกของการเติบโตและช่วงที่ผลกำลังขยายขนาด (ประมาณ 35-50 วัน หลังจากย้ายกล้า) สำหรับช่วงที่กำลังติดผล (20 -35 วัน) ไม่ต้องการน้ำมากนัก แต่ต้องการการพรวนดิน เพื่อให้รากเจริญเติบโตลงไปได้ลึก และรากกระจายทางด้านข้างได้สะดวก

การปักค้ำ

การปักค้ำมีความจำเป็นมากเมื่อปลูกมะเขือเทศในฤดูฝน หรือ ปลูกด้วยพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตแบบเลื้อย การปักค้ำแบบค้ำเดี่ยวหรือแบบกระโจม จะช่วยให้ผลผลิตของมะเขือเทศสูงขึ้นกว่าการไม่ปักค้ำ 20 เปอร์เซ็นต์ และทำให้การฉีดยาป้องกันศัตรูพืช การเก็บเกี่ยว และการปฏิบัติงานอื่นๆ ในแปลงสะดวกขึ้น นอกจากปักค้ำแล้วต้องหมั่นผูกต้นมะเขือเทศติดกับค้ำด้วย มิฉะนั้นแขนงที่เกิดใหม่จะเจริญเติบโตทอดไปกับดินทำให้ผลเน่าเสียหายได้

การเก็บเกี่ยวผลสด

เริ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เมื่ออายุประมาณ 55 วัน หลังจากย้ายกล้า โดยเก็บผลที่เริ่มเปลี่ยนสี เพื่อหลีกเลี่ยงผลแตกและผลสุกเกินไป

การเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ปลูกฤดูต่อไป

สามารถทำได้เมื่อพันธุ์ที่ปลูกไม่ใช่พันธุ์ลูกผสม การเก็บเมล็ดพันธุ์ควรเลือกเก็บเมล็ดจากแปลงที่ปลูกในฤดูหนาวเท่านั้น และเลือกเก็บจากต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง มีลักษณะผลตามที่ตลาดต้องการ จึงจะได้เมล็ดที่สมบูรณ์แข็งแรง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูง การผลิตเมล็ดพันธุ์สามารถทำได้ง่าย โดยเก็บเกี่ยวผลที่สุกแดงผ่าขวางผล บีบเมล็ดออก หมักทิ้งไว้ในภาชนะพลาสติก 24-36 ชั่วโมง นำไปล้างน้ำหลายๆครั้ง เมล็ดที่คั่งจะจมลง เมล็ดที่ไม่สมบูรณ์จะลอย ปล่อยให้ไหลออกไป เมื่อเมล็ดสะอาดดีแล้วนำไปผึ่งแดดบนตะแกรง 2-3 วัน จนเมล็ดแห้งสนิทจึงบรรจุเมล็ดในถุงพลาสติกหนา หรือ ในกระป๋องที่ปิดสนิท แล้วนำไปเก็บไว้ในที่เย็น ซึ่งโดยวิธีการเช่นนี้สามารถเก็บเมล็ดได้นาน อย่างน้อย 2-3 ปี

2. โรคที่สำคัญของมะเขือเทศ (ศุภลักษณ์,2537; มณีฉัตร 2538; อรสา และคณะ,2540)

2.1 โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. (*Fusarium wilt*) (ชวาลา ,2531 และ Nirmaladevi *et al*, 2016)

ในการปลูกมะเขือเทศมีโรคที่สำคัญโรคหนึ่งคือโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* sp. ซึ่งโรคดังกล่าวสามารถระบาดแพร่หลายและทำความเสียหายให้กับการปลูกมะเขือเทศทั่วไป ในเกือบทุกท้องถิ่นที่มีการปลูกโดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อีสาน) และบางจังหวัดทางภาคเหนือของประเทศ ซึ่งโรคนี้อาจเกิดได้ทุกระยะของต้นมะเขือเทศตั้งแต่ระยะต้นกล้า จนถึงการเก็บเกี่ยว

สาเหตุโรค

-เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Kingdom: Fungi

Phylum: Ascomycota

Class: Deuteromycetes

Order: Monilales

Family: Tuberculariaceae

Genus: *Fusarium*

Species: *oxysporum*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* จะมีลักษณะเส้นใยสีอ่อน โดยจะมีตั้งแต่สีขาวจนถึงสีชมพู บางครั้งอาจมีสีม่วง มีการสร้างสปอร์ 3 ชนิด ได้แก่ macroconidia, microconidia และ chlamydospores โดย macroconidia จะมีลักษณะเรียวยาวคล้ายเสี้ยวพระจันทร์ มีผนังกันสปอร์ 3-5 เส้น เกิดบน conidiophores หรือ sporodochia microconidia มีลักษณะเป็นรูปไข่ เกิดบน phialides โดยปกติจะไม่มีเส้นกันสปอร์หรือมีเพียง 1 เส้น และ chlamydospores มีลักษณะทั้งผิวเรียบ และขรุขระ มักจะเกิดแบบเดี่ยว เป็นคู่หรือเป็นห่วงโซ่ ซึ่งเชื้อ *F. oxysporum* มีความหลากหลายทางสัณฐานวิทยา

เชื้อราดังกล่าวสามารถอยู่ข้ามฤดูในดิน และเศษซากพืชที่ตายแล้วเป็นเวลายาวนาน ด้วยการสร้างเส้นใย รวมถึง asexual spore ทั้ง 3 แบบ (microconidia macroconidia และ chlamydospore) ในการก่อโรคเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมเชื้อโรคจะมีการงอกเส้นใย ผ่าน รากของพืช เข้าทางรอยแตกที่เกิดจากรากแขนง รวมทั้งบาดแผล จากนั้นขยายพันธุ์เข้าสู่บริเวณท่อลำเลียง

อาการโรค

โรคจะเกิดเป็นกับมะเขือเทศได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ในต้นกล้าอาการเริ่มแรกคือ หยุดการเจริญเติบโต ใบแก่จะตก ขอบใบม้วนลงด้านใต้ เหี่ยวเฉา และตายในที่สุด ในต้นแก่ที่พ้นระยะกล้าแล้ว อาการส่วนใหญ่จะรุนแรงในระยะให้ดอก หรือขณะมีลูกจะสังเกตเห็นใบแก่ที่อยู่ตอนล่างๆ ของต้นเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง โดยอาการดังกล่าวบางครั้งจะแสดงออกเพียงด้านใดด้านหนึ่งของต้น ส่วนด้านที่เหลือยังคงเจริญเติบโตเป็นปกติ ทั้งนี้เนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อในระยะแรกเกิดขึ้นกับรากพืชเฉพาะซีกเดียวของต้นก่อน ต่อมาหลังจากรากที่เหลือถูกทำลายหมด อาการเหลืองจะค่อยๆ กระจายไปยังใบอื่นๆ ครั้งแรกจะเหี่ยวเฉพาะกลางวันแต่อากาศร้อน และแดดจัด และจะกลับตั้งตัวดั้งเดิมในเวลากลางคืน แต่เมื่อนานเข้าอาการเหี่ยวก็จะทวีเพิ่มมากขึ้นจนในที่สุดจะเหี่ยวอย่างถาวร ต่อมาจะแห้งแล้วตายทั้งต้นในที่สุด หากถอนต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการดังกล่าวขึ้นจากดินจะเห็นบริเวณโคนต้นระดับดินหรือต่ำลงไปเล็กน้อย และรากส่วนใหญ่ถูกทำลายเป็นแผลสีน้ำตาล เปลือกหลุดล่อน เมื่อผ่าต้นออกจะเห็นส่วนของท่อลำเลียงถูกทำลายเกิดเป็นแผลเน่าสีน้ำตาล จากระดับดินสูงขึ้นมา 4-5 นิ้วฟุต หรือมากกว่าจนตลอดทั้งต้นในกรณีที่เป็นรุนแรง บางครั้งถ้ามะเขือเทศติดผลแล้วลูกที่มีอยู่จะถูกเชื้อเข้าทำลายด้วย โดยจะสังเกตจากรอยช้ำในส่วนที่เป็นท่อน้ำท่ออาหารของผล

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเกิดโรคและการแพร่ระบาดของโรค

โรคนี้จะเกิดในสภาพที่มีอุณหภูมิของดินระหว่าง 24-30 องศาเซลเซียส และจะไม่เกิดเมื่อมีอุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ชอบความชื้นของดินที่พอเหมาะ ไม่แห้งและไม่แฉะเกินไป เนื่องจากการคายน้ำดีจะทำให้แพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว (ศักดิ์, 2537) นอกจากนี้ดินที่มีสภาพเป็นกรดทำให้การเกิดโรคมักด้วยเช่นกัน ซึ่งในแปลงที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีมากๆ จะเพิ่มความเป็นกรดให้แก่อินดินเนื่องจากการสูญเสียอินทรีย์วัตถุในดิน (Cook and Baker, 1983)

การระบาดของโรคเกิดขึ้นได้โดยการย้ายกล้า โดยเฉพาะกล้าที่เพาะในดินที่เคยมีเชื้ออยู่ก่อน โดยเชื้อจะปะปนอยู่กับดินที่ติดอยู่กับรากของต้นกล้า เมื่อนำไปปลูกในแปลงใหม่ส่วนของเชื้อก่อโรคก็จะไปขยายพันธุ์อยู่ในดินแปลงนั้น นอกจากนั้นเชื้ออาจจะติดไปกับเครื่องมือเครื่องใช้ เช่น จอบ เสียม แม้กระทั่งไม้ใช้ทำค้ำหากใช้ของเก่าก็อาจจะมีเชื้อติดไปด้วย นอกจากนี้ในกรณีที่โรคเกิดขึ้นกับลูกมะเขือเทศในขณะที่แก่หรือสุกแล้วเชื้ออาจเข้าไปอาศัยเกาะติดอยู่กับเมล็ดได้หรือไม่ก็ในขณะหมักเมล็ดเพื่อเก็บไว้ทำพันธุ์อาจมีสปอร์ปะปนอยู่

การป้องกันกำจัด

1. ในการกำจัดเช่น captan คลุกเมล็ดก่อนปลูก
2. เพาะกล้าในดินที่ใหม่สะอาดหรือฆ่าเชื้อแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. หลีกเลี่ยงการปลูกมะเขือเทศลงในดินที่เคยเกิดโรค
4. ปลูกพืชหมุนเวียน
5. ระวังเชื้อโรคอาจติดไปกับอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำการเกษตร
5. ปลูกมะเขือเทศในดินที่เป็นค้างเล็กน้อยจะปลอดภัยกว่าในดินกรด

2.2 โรคโคนเน่า หรือโรคราเมล็ดผักกาด (Sclerotium wilt) (อรสา และคณะ, 2540)

สาเหตุโรค

- เชื้อรา *Sclerotium rolfsii*

อาการโรค

มะเขือเทศที่เป็นโรคนี้จะแสดงอาการเหี่ยวเฉา โดยอาการเหี่ยวเฉาจะค่อยเป็นค่อยไป ไม่รวดเร็ว เหมือนการเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ท้ายสุดก็จะตายโดยไม่แสดงอาการใบเหลืองหรือใบแห้ง โคนต้นระดับดินจะมีขุยสีขาวซึ่งเป็นส่วนของใยของเชื้อราปกคลุมอยู่บางครั้งจะมีเม็ดแข็งสีน้ำตาลขนาดเท่ากับเมล็ดผักกาดติดอยู่กับขุยสีขาวนี้ โรคนี้นอกจากจะเกิดกับลำต้นแล้วยังอาจเข้าทำลายผลมะเขือเทศที่อยู่ติดดินได้ด้วย ผลที่เป็นโรคจะเริ่มมีอาการเป็นจุดสีเหลืองแล้วขยายออกทำให้ผิวของผลเหี่ยว เมื่อเป็นโรครุนแรงจะทำให้ผลเน่า และอาจมีเส้นใยของเชื้อราขึ้นปกคลุมอยู่สำหรับต้นอ่อนหรือต้นกล้าหากเกิดโรคขึ้นมักจะรุนแรง ทำให้เกิดการตายอย่างรวดเร็วทำให้ต้นหักพับและแห้งตายคล้าย damping-off

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

สภาพอุณหภูมิและความชื้นสูงเหมาะสมในการเจริญและการเข้าทำลายพืชของเชื้อราชนิดนี้ และเชื้อราชนิดนี้เจริญได้ดีในดินที่มีสภาพเป็นกรดเล็กน้อย

การป้องกันกำจัด

1. หมั่นเอาใจใส่ดูแลรักษาความสะอาดแปลงปลูก
2. เก็บทำลายผล ต้น หรือส่วนของพืชที่แสดงอาการโรคโดยการนำไปเผาไฟหรือฝังดินลึกๆ 3-4 ฟุต เป็นการป้องกันไม่ให้มีการสร้าง sclerotia ขึ้น
3. ควรยกแปลงปลูกเป็นร่องสูงเพื่อไม่ให้มีน้ำแช่ขัง
4. การรักษาสภาพของดินให้เป็นค้าง โดยการเติมปุ๋ยขาวลงในดินพอประมาณ อาจช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อลงได้

2.3 โรคใบจุดวง (Early blight) (มณีฉัตร, 2538)

สาเหตุโรค

-เชื้อรา *Alternaria solani*

อาการ

โรคนี้อาจเกิดขึ้นกับมะเขือเทศได้ทุกระยะ โดยจะเกิดกับใบแก่ส่วนล่างสุดก่อน แผลจะเป็นสีน้ำตาล กลม มีวงแหวนซ้อนกัน ซึ่งอาจจะมีแผลเดียวหรือหลายแผล จนกระทั่งใบที่เป็นแผลมีสีเหลืองแห้ง และร่วงทำให้ไม่มีใบ

สภาพที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

เมื่อมะเขือเทศขาดแมกนีเซียมจะทำให้โรคนี้อาการรุนแรง อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุจะอยู่ระหว่าง 24-29 องศาเซลเซียส

การป้องกันกำจัด

1. แช่เมล็ดในน้ำร้อน 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที
2. ระวังแผลเช่นเดียวกับโรค Bacterial canker
3. ฉีดสารเคมีแปลงกล้า
4. ฉีดมะเขือเทศในแปลงปลูกด้วยยา maneb, zineb, ziram, captan หรือ Dyrene
5. ใช้ maneb ฉีด อัตรา 2-3 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ฉีดทุก 5-10 วัน เริ่มฉีดหลังย้ายปลูก ประมาณ 30 วัน หรือเริ่มติดผลข้อแรก
6. ใช้พันธุ์ต้านทาน

โรครากไหม้สีเขียว (Leaf mold) (ศุภลักษณ์, 2537)

สาเหตุโรค

-เชื้อรา *Cladosporium fulvum*

อาการ

ในระยะแรกจะเป็นจุดสีเขียวอ่อน หรือเหลืองด้านบนของใบ ด้านหลังจะมีราสีเขียวหรือม่วง ต่อจากนั้นเนื้อเยื่อที่เป็นแผลจะตายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลปนเหลืองและตายในที่สุด

สภาพที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

การงอกของสปอร์จะเกิดขึ้นในบรรยากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์

ขึ้นไป อุณหภูมิที่พอเหมาะสำหรับการเจริญเติบโตจะอยู่ระหว่าง 21-25 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การป้องกันกำจัด

1. ใช้พันธุ์ต้านทาน
2. ใช้สารเคมีป้องกันกำจัด เช่น mancocep หรือ bennomyl

2.4 โรคใบจุดสีเทา (Gray leaf spot) (สกุลลักษณะ, 2537)

สาเหตุโรค

-เชื้อรา *Stemphylium solani*, *Stemphylium floridanum*

อาการ

อาการในระยะเริ่มแรกแผลจะเป็นจุดเล็กๆ สีน้ำตาลปนดำบุ่มลึกลงไปจะเกิดกับใบแก่ซึ่งอยู่ด้านล่างสุด เมื่อแผลขยายใหญ่ขึ้นจะมีสีเทาปนน้ำตาล และรูปร่างไม่แน่นอน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 1/8 นิ้ว มีลักษณะโปร่งใสเมื่อแผลแห้งจะแตก ถ้าเป็นมากใบจะร่วง โรคนี้มักเกิดกับยอดอ่อน

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการเกิดโรค

โรคมักเกิดในสภาพที่มีอุณหภูมิและความชื้นสูงและระบวมมากในพืชที่ติดผลมากหรือขาดธาตุอาหารอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเข้าทำลายคือ 24-26 องศาเซลเซียส

การป้องกันกำจัด

1. ใช้พันธุ์ต้านทาน
2. ปฏิบัติเช่นเดียวกับโรคใบจุดวง

2.5 โรครากำมะหยี่สีเทา (Cercospora leaf mold) (สกุลลักษณะ, 2537)

สาเหตุโรค

-เชื้อรา *Cercospora fuligena*

อาการ

อาการเริ่มแสดงที่ใบแก่ด้านล่างก่อน แล้วจึงลามขึ้นไปยังใบที่อยู่ด้านบน อาการในระยะแรก จะแสดงอาการจุดสีเหลืองด้านล่างและขยายออก ใต้ใบบริเวณแผลจะมีส่วนของเชื้อราขึ้น เมื่อระบวมรุนแรงมากขึ้น ใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และแห้งตายไปในที่สุด อาการของโรคนี้จะแตกต่างกับโรครากำมะหยี่สีเขียวคือ เชื้อราที่อยู่ใต้ใบจะมีสีเทาเข้มจนถึงสีดำ เส้นใยของเชื้อรา

จะไม่เกาะกันแน่น พบการระบาดและทำความเสียหายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมากกว่าแหล่งอื่น โดยเฉพาะที่จังหวัดขอนแก่น

การป้องกันกำจัด

1. พ่นยา mancozeb หรือ benomyl

2.6 โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (Bacterial wilt) (สกุลลักษณะ, 2537 และ มณีฉัตร 2538)

สาเหตุโรค

-เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*

อาการโรค

อาการโดยทั่วไปที่จะสังเกตเห็นได้หลังจากที่ถูกเชื้อเข้าทำลายคือ พืชเหี่ยวเฉา หยุดการเจริญเติบโต ใบตกและตายอย่างรวดเร็ว โรคจะเกิดขึ้นได้ทุกระยะการเจริญเติบโต แต่ในต้นอ่อนจะรุนแรงและตายเร็วกว่าต้นที่โตเต็มที่หรือแก่แล้ว ในกรณีที่สิ่งแวดล้อมเหมาะสม ต้นพืชอ่อนแอฟืชอาจจะเหี่ยวทั้งต้นแล้วตายอย่างรวดเร็วภายในเวลาเพียง 2-3 วัน หลังจากเริ่มสังเกตเห็นอาการครั้งแรก ระยะแรกที่สังเกตเห็นพืชแสดงอาการเหี่ยวอย่างรวดเร็ว หากถอนขึ้นมาผ่าส่วนที่เป็นลำต้นออกดูแล้วปล่อยทิ้งไว้สักครู่ จะเห็นส่วนของท่อน้ำท่ออาหารมีเมือกเหนียวของแบคทีเรียสีขาวขุ่น (ooze) ซึมออกมาที่รอยตัดอย่างชัดเจน หรือนำต้นมะเขือเทศที่ตัดตามขวางไปจุ่มแช่ลงในน้ำใสสะอาดที่บรรจุอยู่ในขวดหรือแก้วใส ทิ้งไว้สักครู่ประมาณ 5-10 นาที จะเห็นเมือกของแบคทีเรียสีขาวขุ่นไหลซึมออกมาเป็นสายในน้ำ

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคและการแพร่ระบาดของโรค

แบคทีเรียชนิดนี้เป็นเชื้อที่ไวต่อความเป็นด่าง ชาติไนโตรเจน อุณหภูมิและความชื้นของดินสูง จะเจริญและเข้าทำลายพืชได้ดีในดินที่มี pH ระดับกลาง ประมาณ 6.8 ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 15-38 องศาเซลเซียส แต่จะดีที่สุดระหว่าง 30-35 องศาเซลเซียส โรคจะรุนแรงในดินที่ขาดธาตุโปแตสเซียม หรือมีไนโตรเจนน้อย และในดินที่มีความชื้นในดินสูง

การเข้าสู่พืชส่วนใหญ่จะเข้าทางแผลที่ราก โดยเฉพาะต้นกล้าที่ถูกถอนจากแปลงเพาะเพื่อนำไปปลูกในแปลงใหญ่ แผลของรากที่ขาดจะเป็นช่องทางที่ทำให้เชื้อเข้าไปภายในต้นได้ง่ายและเร็วขึ้น นอกจากนั้นก็อาจเป็นแผลที่เกิดจากแมลง หรือสัตว์บางชนิดเช่นไส้เดือนฝอย หรือแผลที่เกิดจากการใส่ปุ๋ยพรวนดิน กำจัดวัชพืชเหล่านี้ล้วนเป็นช่องทางให้เกิดโรคได้ง่ายทั้งสิ้น หลังจากเชื้อเข้าไปในพืชแล้วก็จะเข้าไปอาศัยอยู่ในท่อลำเลียง และเจริญอย่างรวดเร็ว

การป้องกันกำจัด

1. งดปลูกพืชลงในดินที่เคยเป็นโรคอย่างน้อย 6 ปี
2. ควรเพาะกล้าในดินที่ปราศจากเชื้อโรค
3. เลือกใช้เมล็ดพันธุ์ที่สะอาดปราศจากเชื้อ หากไม่แน่ใจก็ให้นำเชื้อที่อาจติดมากับเมล็ดเสียก่อนโดยจุ่มแช่น้ำอุ่น 49-50 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที
4. ขุดร่องเพื่อไม่ให้มีน้ำขัง และการระบายน้ำดี
5. อย่าให้ดินขาดปุ๋ยโดยเฉพาะไนโตรเจน
6. ปรับสภาพดินให้เป็นด่าง หรือเป็นด่างเล็กน้อย โดยการเติมปูนขาวหรือปุ๋ยอินทรีย์ลงไปดินมากๆ เพื่อไม่ให้มีสภาพเหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ
7. ฉีดสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงที่อาจมากัดทำลายต้นและรากมะเขือเทศ หลีกเลี่ยงการปลูกมะเขือเทศในดินที่มีไส้เดือนฝอยระบาด
8. ปลูกมะเขือเทศโดยใช้พันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรค

2.7 โรคใบหงิกเหลือง (Yellow leaf curl) (อรสา และคณะ,2540)

สาเหตุโรค

-เชื้อไวรัส Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)

อาการ

อาการของโรคนี้ที่เห็นได้ชัดเจน ได้แก่ อาการยอดเหี่ยวเป็นคลื่น ขนาดในเล็ก สีของใบเป็นสีเขียวอ่อนหรือสี เหลือง ถ้าหากระบาดรุนแรงยอดจะเกาะกับเป็นกระจุก ต้นที่เป็นโรครุนแรง ดอกจะร่วงทำให้ผลผลิตลดลง ในประเทศไทยยังไม่สามารถยืนยันเชื้อสาเหตุได้ แต่จากการศึกษาหลายแห่งพบว่า เชื้อแพร่ระบาดจากต้นหนึ่งไปยังต้นอื่นๆได้โดยแมลงหิวขาเป็นพาหะ การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุจะเริ่มตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนกระทั่งอายุ 45 วัน ต้นอ่อนที่ไ้รับเชื้อจะเกิดผลเสียหายมากกว่าต้นที่อายุมากแล้ว

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

โรคนี้จัดเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสที่สำคัญที่สุด สามารถพบการระบาดได้ตลอดปี โดยเฉพาะฤดูร้อนและฤดูฝน โรคนี้จะระบาดอย่างรุนแรง ส่งผลทำให้ผลผลิตต่ำมากจนถึงไม่ไ้ผลผลิตเลย

การป้องกัน

โรคนี้อมีแมลงหิวข้าวเป็นพาหะ ดังนั้นการป้องกันที่จะให้ได้ผลดีก็คือ การป้องกันแมลงหิวข้าว ควรใช้สารเคมีประเภทดูดซึมก่อนการเพาะและก่อนการปลูก และฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดจนกระทั่งติดดอกข้อที่ 3

3. การเคลือบเมล็ดพันธุ์ (film coating)

การเคลือบเป็นเทคโนโลยีที่มีการพัฒนาขึ้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งมีการพัฒนามาจากอุตสาหกรรมการผลิตยา โดยจะหุ้มเมล็ดด้วยวัสดุลักษณะเป็นสารเหนียว ในลักษณะเป็นฟิล์มบางๆ ร่วมกับสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติต่างๆ เช่นสารช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ธาตุอาหาร สารบ่งบอกเอกลักษณ์ อย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งเมล็ด รูปร่างของเมล็ดจะไม่มีเปลี่ยนแปลง (Sharma *et al.*, 2015) (ภาพที่ 2.7) รวมทั้งสารป้องกันกำจัดแมลง (Kaufman, 1991) สารเหล่านี้จะยึดติดไปกับเมล็ดไม่ให้หลุดร่วง ทำให้ลดปริมาณการใช้สารเคมีให้น้อยลง ทั้งยังสามารถลดขั้นตอนการเตรียมเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกได้ (Hanssan *et al.*, 1990) โดยวัตถุประสงค์ในการเคลือบนั้นจะขึ้นอยู่กับนำไปใช้ประโยชน์



ภาพที่ 2.7 ลักษณะเมล็ดหัวหอมที่ผ่านการเคลือบ. (Taylor *et al.* 2000)

3.1 องค์ประกอบของสารเคลือบเมล็ดพันธุ์

3.1.1 สารออกฤทธิ์

ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ สารออกฤทธิ์เป็นส่วนที่สำคัญ โดยสารออกฤทธิ์ที่ใช้จะขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการเคลือบ เช่น การเคลือบเพื่อต้องการส่งเสริมการเจริญเติบโต สารออกฤทธิ์ที่ใช้จะเป็นสารจำพวกธาตุอาหาร ฮอโมนพืช หรือสารเร่งการเจริญเติบโต การเคลือบเพื่อป้องกันโรค สารออกฤทธิ์ที่ใช้จะเป็นสารเคมีป้องกันเชื้อโรค และแมลง และการเคลือบเพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์ สารออกฤทธิ์ที่ใช้จะเป็นสารที่สร้างเอกลักษณ์แก่เมล็ดพันธุ์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเฉพาะสารเคมีฆ่าเชื้อราเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีการนำมาใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากคุณสมบัติที่สามารถป้องกันเมล็ดจากเชื้อราในโรงเก็บ และเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ (Sharma *et al.*, 2015)

3.1.2 สารยึดเกาะ

สารยึดเกาะเป็นสารที่ทำหน้าที่เป็นส่วนผสมให้สารออกฤทธิ์ยึดติดไปกับเมล็ดพันธุ์ไม่หลุดร่วงระหว่างการเคลื่อนย้าย ซึ่งหากมีการหลุดร่วงจะทำให้ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ลดลง นอกจากนี้สารเคลือบยังหน้าที่ในการห่อหุ้มเมล็ดพันธุ์ ป้องกันความชื้นจากภายนอกไม่ให้เข้าสู่เมล็ด ซึ่งเป็นสาเหตุให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพระหว่างเก็บรักษา (Pamuk, 2004) วิธีการดังกล่าวจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้ยาวนานขึ้น โดยชนิดของสารยึดเกาะได้แก่ starch, pregelatinized starch, gelatin, sugar, acacia, tragacanth, polyvinylpyrrolidone (PVP หรือ Kollidon), methylcellulose (MC), sodium carboxymethylcellulose, ethylcellulose, hydroxypopolymethyl cellulose (HPMC), polyacrylamides, polyvinylloxazolidones, polyethylene glycol, precinol (เพียกริง, 2530) ซึ่งสารยึดเกาะแต่ละชนิดจะมีความยืดหยุ่น และความสามารถในการยึดเกาะกับเมล็ดที่แตกต่างกัน ทำให้มีการซึมผ่านของน้ำและความชื้นต่างกันด้วย ดังนั้นการเลือกใช้จะต้องคำนึงถึงความเหมาะสมด้วย จากรายงานดังกล่าวจะเห็นได้ว่าสารเคลือบแต่ละชนิดมีผลต่อประสิทธิภาพของเมล็ดแตกต่างกันไป ต้องเลือกใช้ให้เหมาะสม จากการงานวิจัยของ Kumar *et al.* (2007) ที่ศึกษาผลของ polymers ต่างๆ ในการเคลือบเมล็ดถั่วเหลืองได้แก่ gum acacia, gum tragacanth, rosin, ethyl cellulose, hydroxy ethyl cellulose, polyethyl methacrylate, methyl cellulose, polyethylene glycol, polyvinyl chloride, polyvinyl acetate, polyvinyl pyrrolidone, Agrimer VA 6, the clay bentonite และ thiram 75 DS ต่อคุณภาพเมล็ดในการเก็บรักษา พบว่าเมล็ดที่มีการเคลือบด้วย polymers ต่างๆ มีผลต่อการเก็บรักษาเมล็ดในโรงเก็บ โดยเมล็ดที่มีการเคลือบจะมีการเสื่อมคุณภาพช้าลงหลังจากการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 6 เดือนเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่มีการเคลือบ (control) ทั้งยังสามารถป้องกันการเข้าทำลายจากเชื้อราในโรงเก็บได้ดีกว่า control นอกจากนี้จากผลการทดลอง Polymers ที่มีประสิทธิภาพที่สุดได้แก่ polyethyl methacrylate, polyvinyl acetate และ polyvinyl pyrrolidone

3.1.3 ตัวทำลาย

ตัวทำลายที่ใช้ในการเคลือบเมล็ดนั้นจะมีลักษณะเป็นของเหลวที่ระเหยได้ โดยจะทำหน้าที่ละลายสารยึดเกาะที่เป็นของแข็งหรือมีความหนืดสูงให้เป็นเนื้อเดียวกัน และทำให้เกิดการกระจายตัวกับสารออกฤทธิ์และสารเติมแต่งอื่นๆ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่พาสารเหล่านี้ไปยังผิวของเมล็ดพันธุ์ที่จะเคลือบ (ปราโมทย์, 2534 และ พงนา, 2559) โดยตัวทำลายที่ดีควรจะต้องมีความสามารถละลายหรือทำให้พอลิเมอร์และส่วนประกอบอื่นๆ เกิดการกระจายตัวในสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ได้ ไม่มีความหนืดมากเกินไป ควรเป็นสารที่มีอัตราการทำให้แห้งเร็ว และไม่เกิดเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มลภาวะเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่ น้ำ, ethanol, methanol, isopropanol, chloroform, acetone, methyl ethyl ketone และ methyl chloride (ปราโมทย์, 2534)

3.1.4 พลาสติกไซเซออร์

เป็นสารที่เติมลงในสารเคลือบเพื่อให้ฟิล์มที่ได้มีความอ่อนตัว ยืดหยุ่นดี มีความทนทานสูง และมีการยึดเกาะกับสารอื่นได้ดี (ปราโมทย์, 2534 และพจนานา, 2559) โดยพลาสติกไซเซออร์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดจะต้องมีลักษณะคล้ายกับโครงสร้างของพอลิเมอร์ที่มีการปรับสภาพ ดังเช่น พอลิเมอร์ในกลุ่ม water-soluble cellulose ethers ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลในสัดส่วนมาก สารที่มีหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล เช่น polyols (glycerol, propylene glycol และ polyethylene glycols) จะเป็นพลาสติกไซเซออร์ที่ดีที่สุดในกลุ่มนี้ ในทางตรงกันข้ามสารกลุ่ม organic esters โดยเฉพาะอย่างยิ่ง citric acid และ phthalic acids จะเป็นพลาสติกไซเซออร์ที่แย่ที่สุดให้กับพอลิเมอร์กลุ่ม cellulose ethers ที่มีขั้วน้อยกว่า ซึ่งได้แก่ cellulose acetate phthalate และ hydroxypropylmethylcellulose phthalate (พจนานา, 2559)

3.1.5 สี

สีจะใช้ในการช่วยให้เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบมีความสวยงามเป็นเอกลักษณ์ และสามารถบ่งบอกความแตกต่างของเมล็ดพันธุ์ เพื่อสำหรับจะนำไปใช้เพาะปลูกไม่ควรนำไปบริโภคหรือเลี้ยงสัตว์ สีที่ใช้ควรเป็น pigments หรือ insoluble dyes ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ เพราะทำให้ได้เมล็ดพันธุ์ที่มีสีไม่สม่ำเสมอ (พิสิทธิ และ ภารุณี, 2535 และพจนานา, 2559)

3.1.6 สารเติมแต่ง

จะเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารทอหุ้ม และเพิ่มความเนียน (opaquant extenders) ซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ที่มีผงละเอียดมาก ใช้เพื่อช่วยลดปริมาณของสี แต่จะใช้เมื่อไม่ต้องการให้ฟิล์มโปร่งแสงเท่านั้น สารทอหุ้มและเพิ่มความเนียนที่นิยมใช้กันมากที่สุด คือ titanium dioxide เนื่องจากทำให้สีสะท้อนเป็นเงาสวย นอกนั้นก็ยังมีสารอีกหลายๆชนิด เช่น silicate (talcum, aluminum silicate), carbonate (magnesium carbonate), sulfate (calcium sulfate), oxides (magnesium oxide) และ hydroxide (aluminium hydroxide) (พิสิทธิ และ ภารุณี, 2535; ปราโมทย์, 2534; พจนานา, 2559)

3.2 วิธีการเคลือบเมล็ด

ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์นั้นจะมี 2 วิธีการ คือการเคลือบตามลักษณะของการปล่อยสารเคลือบของเครื่องพ่น ได้แก่ เครื่องเคลือบเมล็ดระบบงานหมุน และเครื่องเคลือบเมล็ดระบบการฉีดพ่น โดยมีกระบวนการคือในระบบงานหมุนจะเป็นการเคลือบเมล็ดโดยเติมสารเหนียวลงในเครื่องงานหมุน และความเร็วในการหมุนเป็นส่วนช่วยในการทำให้สารเคลือบเคลือบเมล็ดอย่างสม่ำเสมอ ในระบบการฉีด

เอกสารนี้... และเคลือบลงบนเมล็ดที่กึ่งอยู่... ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายในเครื่องทำให้สารเคลือบเคลือบเมล็ดอย่างสม่ำเสมอ และรูปร่างเมล็ดจะไม่เปลี่ยนแปลงหลังจากการเคลือบ (Kaufman, 1991; Sharma *et al.*, 2015)

4. การเคลือบเมล็ดด้วยจุลินทรีย์เพื่อลดการเกิดโรคพืชโรค

ในช่วงแรกการเคลือบเมล็ดจะนิยมใช้สารเคมีในการเคลือบเพื่อป้องกันกำจัดเชื้อก่อโรค รวมถึงศัตรูโรงเก็บ ต่อมามีการหันมาใช้วิธีทางชีวภาพ (จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์) แทนเพิ่มมากขึ้นเพื่อลดการใช้สารเคมี โดยเริ่มจากช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโต ช่วยในการตรึงไนโตรเจน ดูดซึมธาตุอาหาร ต่อมาการใช้เชื้อจุลินทรีย์เพื่อป้องกันกำจัดโรคเพิ่มขึ้น (Lewis and Papavizas, 1987; Praveen *et al.*, 2012; Nyoki and Ndakidem, 2014) มีงานวิจัยพบว่าการใช้จุลินทรีย์ในการเคลือบสามารถลดการเกิดโรคได้ จากรายงานของ Hu *et al.* (2011) พบว่าเมล็ดที่ทำการเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อ *Bacillus subtilis* Tu-100 มีประสิทธิภาพในการลดโรคที่เกิดจากเชื้อ *Sclerotinia sclerotiorum* เห็นได้จากน้ำหนักแห้ง ดัชนีการเกิดโรค อัตราการเกิดโรค และผลผลิต เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการเคลือบเมล็ด และการเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียว และการเคลือบเมล็ดด้วย *Pseudomonas fluorescent* สามารถลดการเกิดโรค Charcoal rot ที่เกิดจากเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ในถั่วลิสงได้ โดยสามารถลดอาการของโรคได้มากถึง 61-70 เปอร์เซ็นต์ ที่ 30-105 วันหลังจากปลูก นอกจากนี้เชื่อดังกล่าวยังสามารถเพิ่มผลผลิตของถั่วลิสงก็ได้ (Shweta *et al.*, 2008) จากรายงานของ Kaewkham *et al.* (2016) ที่ได้ศึกษาการเคลือบเมล็ดพันธุ์แตงกวาร่วมกับ *Bacillus subtilis* QST713 เพื่อควบคุมเชื้อรา *Didymella bryoniae* สาเหตุโรค gummy stem blight (GSB) ในเมล็ดพันธุ์แตงกวา พบว่า การควบคุมโรคในระยะต้นกล้า การใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบร่วมกับ *B. subtilis* ที่ปริมาณ 1×10^5 และ 1×10^7 cfu มีระดับความรุนแรงของการเกิดโรคเพียง 25% และ 23% ตามลำดับ ซึ่งดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดไม่ได้เคลือบ ซึ่งมีระดับความรุนแรงการเกิดโรคสูงถึง 47% นอกจากนี้ยังพบว่า การเคลือบเมล็ดด้วยเชื่อดังกล่าวสามารถทำให้เมล็ดมีความงอก ความยาวต้น ความยาวราก ดีกว่าเมล็ดไม่เคลือบ ซึ่งยังมีงานวิจัยหลายๆฉบับที่มีรายงานสอดคล้องกัน ได้แก่ การเคลือบเมล็ดแตงด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* เพื่อป้องกันโรคยางไหลที่เกิดจากเชื้อ *Botryosphaeria rhodina* การเคลือบเมล็ดหัวหอมด้วยเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* เพื่อป้องกันโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อ *Pythium ultimum* เป็นต้น (กุศล และพิศาล, 2555; O'Callaghan *et al.*, 2006) แต่เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิต อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาอาจส่งผลต่อการมีชีวิตรอดของเชื้อจุลินทรีย์ และประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่เคลือบบนเมล็ดพันธุ์ จากรายงานของ วรณวิไล และคณะ (2554) พบว่าการเคลือบเมล็ดค่น้ำด้วยเชื้อรา *Gliocladium virens* เพื่อลดโรคเน่าคอดินจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum* พบว่าในกรรมวิธีที่เคลือบด้วยเชื้อรา *G. virens* ที่ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 190 วัน และเก็บที่อุณหภูมิห้อง 130 วัน สามารถควบคุมโรคเน่าคอดิน ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้ดีเท่ากับการใช้สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

metalaxyl เช่นเดียวกับรายงานของ O'Callaghan *et al.* (2006) ที่รายงานว่าเมล็ดหัวหอมที่เคลือบด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* F113 สามารถเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 70 วัน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จำนวนของเชื้อแบคทีเรียจะลดลงอย่างรวดเร็ว

5. การใช้เชื้อแบคทีเรียในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp.

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่มีการศึกษาในการนำมาใช้ในการควบคุมโรคต่างๆมากมาย รวมทั้งโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. ซึ่งมีหลายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้ โดยจากรายงานของ Larkin *et al.* (1998) ได้ทำการศึกษาการใช้แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* และ *Burkholderia cepacia* ควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. ในระยะต้นกล้า ผลการทดลองพบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 30 ถึง 65 เปอร์เซ็นต์ Chandel *et al.* (2010) รายงานว่า *Brevibacillus brevis* ลดการเกิดโรคมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ได้นอกจากนี้ Nandhini *et al.* (2012) ยังได้ทำการทดสอบการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ด้วย endophytic bacteria ที่แยกจากราก ลำต้น ใบ และ ผล จากการทดสอบพบว่า endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพเป็นเชื้อปฏิบัตินี้ได้แก่ *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* และ *Citrobacter* ซึ่ง Nandhini *et al.* (2012) และ Patel *et al.* (2012) ได้รายงานเกี่ยวกับกลไกของ endophytic bacteria ที่ทำการศึกษาในการควบคุม *Fusarium oxysporum* ในมะเขือเทศไว้ว่า เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้จะมีการสังเคราะห์สาร allelochemicals ต่างๆ ที่มีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา และอาจมีการสร้างเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยผนังเซลล์เชื้อราเช่น chitinase และ β -1,3-glucanase, laminarinase, protease และ lipase เป็นต้น (Compant *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถผลิตสารเมแทบอลิโตอย่างเช่น hydrogen cyanide ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราอีกด้วย (Cazorla *et al.*, 2007 และ Liu *et al.*, 2007) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Bibi *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2013 ที่ได้รายงานว่า endophytic bacteria หลายชนิด ได้แก่ *Bacillus*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter* และ *Serratia* สามารถผลิตสารดังกล่าวเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ ซึ่ง endophytic bacteria เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชโดยไม่ส่งผลเสียต่อพืช ในบางสายพันธุ์ยังพบว่าสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืชได้อีกด้วย (Bacon and White, 2000; Hundley, 2005)

6. การใช้เชื้อแบคทีเรียในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชของแบคทีเรียนั้นพบว่าแบคทีเรียมีการช่วยเพิ่มธาตุอาหารพืช และ ผลิตฮอร์โมนพืช ในการการเพิ่มธาตุอาหารพืช พบว่าแบคทีเรียบางชนิดสามารถช่วยเพิ่มธาตุอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตได้ เช่น ไนโตรเจนที่ธาตุอาหารที่สำคัญอย่างมากในการเจริญเติบโต โดยแบคทีเรียจะช่วยเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนให้เป็นสารประกอบในรูปของแอมโมเนียและไนเตรท ทำให้พืชสามารถนำไปใช้ได้ (Herrera *et al.*, 2016) นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียบาง

ชนิดสามารถช่วยย่อยฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์แก่พืชได้ ทำให้ต้นกล้าสามารถนำไปใช้ได้มากขึ้น โดยนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช กระบวนการส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก ของการเจริญเติบโตของต้นกล้า และช่วยกระตุ้นช่วย การออกดอก การติดผล (Mehnaz *et al.*, 2010 และ Tank and Saraf, 2009) ในการผลิตฮอร์โมนพืชพบว่าแบคทีเรียที่สามารถผลิตฮอร์โมนให้แก่พืชได้จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจาก ฮอร์โมนหลายชนิดจะเป็นประโยชน์ในการขยายขนาดของเซลล์ การยึดตัวของเซลล์ และการกระตุ้นการเกิดรากของต้นกล้า เช่นการผลิต phytohormones ที่มีบทบาทต่อกลุ่มของฮอร์โมน Auxins ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) (Shahab *et al.*, 2009 และ Abdallah, 2016) นอกจากนี้ยังพบการผลิตฮอร์โมนชนิดอื่นๆ อีก เช่น Cytokinin, Ethylene, Gibberelin และ 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase เป็นต้น (Noel *et al.*, 1996)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

อุปกรณ์

1. เครื่องเคลือบเมล็ดแบบจานหมุน
2. ตู้เพาะเมล็ด
3. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
4. ตู้เขี่ยเชื้อ
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง
6. เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer)
7. เครื่องชั่ง
8. เครื่องวัดค่าของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolved Solids; TDS)
9. กถ้องจุลทรรศน์
10. ชุดตะเกียงและแอลกอฮอล์
11. เข็มเขี่ยเชื้อ
12. ไมโครปิเปต
13. ปิเปตทิป
14. โหลดูดความชื้น
15. จานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 90 มิลลิเมตร
16. Haemocytometer
17. หลอดทดลอง
19. บีกเกอร์
20. กระจกเพาะเมล็ด
21. ถังปลูก
22. ถังพลาสติก
23. ดินปลูก
24. ถาดเพาะ
25. ฟิทมอส
26. กระดาษ
27. ไมโครเวฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารอื่นๆ

1. Potato dextrose agar (PDA)
2. Nutrient agar (NA)
3. Nutrient broth (NB)
4. สารเคลือบเมล็ดพันธุ์
5. glycerol

พืชที่ใช้ทดสอบ

1. มะเขือเทศเชอร์รี่



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการดำเนินงานวิจัย

การเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศด้วย endophytic bacteria เพื่อลดการเกิดโรคจากเชื้อ *Fusarium* sp. ประกอบด้วย 6 ขั้นตอน ได้แก่

- 3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง
- 3.2 การทดสอบความเหมาะสมของสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ ต่อความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria และคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ
- 3.3 การตรวจสอบความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria และคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ระหว่างการเก็บรักษา
- 3.4 การทดสอบความสามารถในการควบคุมโรค และส่งเสริมการเจริญเติบโตของเมล็ดเคลือบ endophytic bacteria ในห้องปฏิบัติการ
- 3.5 การทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคของเมล็ดเคลือบ endophytic bacteria ในระยะต้นกล้า
- 3.6 การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหรือช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตในสภาพแปลงปลูก

3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 การแยกเชื้อรา *Fusarium* sp. สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและการทดสอบโรค

การแยกเชื้อรา *Fusarium* sp. สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศจากต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการโรคเหี่ยว ด้วยวิธี Tissue transplanting technique จนได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นทำการตรวจสอบทางลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจัดจำแนกเชื้อ

การทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *Fusarium* sp. ทำโดย นำเชื้อที่แยกได้มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อที่ความเข้มข้น 1×10^6 spore/ml การทดสอบนำต้นกล้ามะเขือเทศที่มีอายุ 3 สัปดาห์ มาทำแผลโดยการตัดราก และจุ่มลงในสารแขวนลอยสปอร์ที่เตรียมไว้เป็นเวลา 20 นาที ข้ายปลูกลงในกระถาง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีจุ่มในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ (control) จากนั้นประเมินความรุนแรงของโรค สัปดาห์ที่ 2 หลังจากการปลูกเชื้อโดยให้คะแนน 0-3 คะแนน (0 = ไม่แสดงอาการของโรค 1= พืชแสดงอาการเหี่ยวชั่วคราว/เฉพาะเวลากลางวัน (temporary wilt) 2= พืชแสดงอาการเหี่ยวถาวร (permanent wilt) 3= ต้นมะเขือเทศตาย) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Marlatt *et al.* (1996) เลือกสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงมากที่สุดมาใช้ในการทดลองต่อไป วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) วิธีการละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 การแยกและคัดเลือก endophytic bacteria ที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของมะเขือเทศ

ทำการแยก endophytic bacteria จากมะเขือเทศที่มีความแข็งแรง โดยแยกจากราก ลำต้น กิ่ง และแขนงใบ โดยการนำส่วนต่างๆ ของพืชมาฆ่าเชื้อบริเวณผิวโดยการใส่ ethyl alcohol 70 เปอร์เซ็นต์ 30 วินาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ตามด้วยแช่ Clorox 10 เปอร์เซ็นต์ 2 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้ออีกครั้ง และซับด้วยกระดาษซับที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปตรวจสอบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวภายนอกชิ้นส่วนพืช เพื่อยืนยันว่าเชื้อที่แยกได้ เป็น endophytic bacteria จากภายในเนื้อเยื่อพืชจริง และส่วนที่สองนำมาแยก endophytic bacteria โดยบดด้วยโกร่งแล้วนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่ 10^{-1} - 10^{-4} และนำสารแขวนลอยแต่ละความเข้มข้นไปเพาะเชื้อด้วยวิธี pour plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Nutrient agar (NA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อมีโคโลนีเกิดขึ้นทำการย้ายโคโลนีเดี่ยวแต่ละโคโลนี ลงบนอาหาร NA ด้วยการ streak plate เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

การคัดเลือก endophytic bacteria ทำโดยเลี้ยง endophytic bacteria ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) นำไปเขย่าด้วยเครื่อง rotary shaker เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนที่เป็น pellet มาใช้ในการทดสอบ โดยปรับความเข้มข้นให้เท่ากับความขุ่นของสารละลาย Mcfaland เบอร์ 0.5 หลังจากนั้นนำสารแขวนลอยแบคทีเรียใส่ลงในกระถางที่เพาะต้นกล้ามะเขือเทศที่มีอายุ 3 วัน ด้วยพีทมอสที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว วางแผนการทดสอบแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ทำการตรวจนับต้นกล้าที่รอดชีวิตที่ระยะเวลา 7 วัน พร้อมทั้งเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงของลำต้น น้ำหนักรวม น้ำหนักราก จำนวนใบ แล้วนำมาคำนวณหาค่าดัชนีการเจริญเติบโตของต้นกล้า seedling vigor index (svi) ดังสูตร

$$svi = \text{ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การงอก} \times \text{ค่าเฉลี่ยน้ำหนักรวมต่อต้น}$$

ค่า svi ที่รีดเมนต์

$$\% svi = \frac{\text{ค่า svi ที่รีดเมนต์}}{\text{ค่า svi ชุดควบคุม}} \times 100$$

3.1.3 การคัดเลือก endophytic bacteria ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อโรค

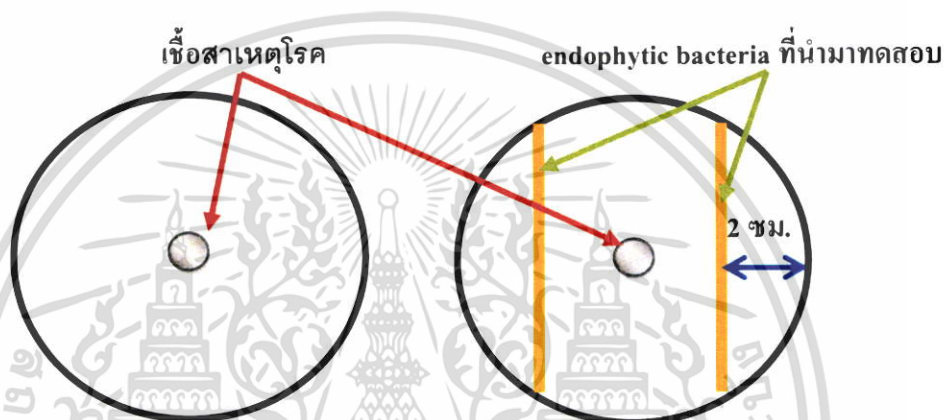
การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค ทำโดยเลี้ยงเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ในส่วนของ endophytic bacteria ทำการเลี้ยงบนอาหาร NA ทำการทดสอบด้วยวิธี dual culture test โดยเจาะชิ้นวุ้นที่มีเชื้อก่อโรค วางบริเวณกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จากนั้นขีด endophytic bacteria บริเวณด้านบน ด้านซ้าย และด้านขวา ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร ดังภาพที่ 3.1 บ่มที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบขนาดของโคโลนีเชื้อก่อโรคเมื่อกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการขีดเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางแผนการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth inhibition = GI) โดยใช้สูตร

$$GI = \frac{C-T}{C} \times 100$$

C = ขนาดโคโลนีของเชื้อราในจานอาหารควบคุม (control)

T = ขนาดโคโลนีของเชื้อราในจานอาหารทดสอบ



ภาพที่ 3.1 รูปแบบการทดสอบด้วยวิธี dual culture test

หลังจากได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดแล้วทำการตรวจคุณสมบัติเบื้องต้นของ endophytic bacteria เพื่อแบ่งกลุ่มเชื้อ และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.1.4 การเตรียม endophytic bacteria

การเตรียมชีวมวล endophytic bacteria ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ นำ endophytic bacteria ที่จากการทดสอบในข้อ 1.2 มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมาตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างตะกอนน้ำกลั่น และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2 การทดสอบการเคลือบเมล็ดพันธุ์ต่อความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria และคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ

3.2.1 การเคลือบเมล็ดพันธุ์

ในการเตรียมสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ สารยึดเกาะที่ทำหน้าที่เป็นกาวที่ใช้ทดสอบจะเป็นสารเคลือบสำเร็จรูป ในการทดลองนี้จะใช้ endophytic bacteria เป็นสารออกฤทธิ์ผสมกับสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคลือบก่อนทำการเคลือบ โดยใช้สารเคลือบที่ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ที่ปริมาณเซลล์แบคทีเรีย 1×10^8 cfu/เมล็ดพันธุ์ 65 กรัม โดยขั้นตอนในการเคลือบเมล็ดพันธุ์จะนำเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศมาทำความสะอาดด้วย sodium hypochlorite 0.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 รอบ ฟึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ และนำสารเคลือบที่มีส่วนผสมของเซลล์แบคทีเรียมาเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยเครื่องเคลือบเมล็ดพันธุ์ระบบจานหมุน จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบมาลดความชื้นให้อยู่ในระดับเดิมโดยการฟึ่งไว้ในที่ร่ม แล้วเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในส่วนของการเคลือบด้วยสารเคมีจะใช้สารเคมีแคปแทนผสมกับสารเคลือบที่ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้จะมีกรรมวิธีคือ เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และเมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคมีแคปแทน

3.2.2 การตรวจนับปริมาณ endophytic bacteria บนเมล็ดพันธุ์หลังจากการเคลือบ

ทำการสุ่มเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบแล้วจากข้อ 3.2.1 ตรวจนับ endophytic bacteria บริเวณเมล็ดพันธุ์ โดยนำมาเขย่าด้วยเครื่อง vortex ในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำน้ำที่ได้มานับจำนวนเชื้อด้วยวิธี serial dilution plating technique ด้วยอาหาร NA วางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ เปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ผ่านการเคลือบ และเมล็ดพันธุ์เคลือบโดยไม่ใส่ endophytic bacteria

3.2.3 การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์จากข้อ 3.2.1 มาตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ โดยสุ่มเมล็ดแต่ละกรรมวิธีมาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ดังนี้ ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ ความงอกของเมล็ดพันธุ์ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1) ความชื้นของเมล็ดพันธุ์

สุ่มเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเคลือบแล้ว 3-5 กรัม มาวัดความชื้นด้วยวิธีมาตรฐาน โดยการอบด้วยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ± 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นดังสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \left(\frac{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ} - \text{น้ำหนักเมล็ดหลังอบ}}{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ}} \right) \times 100$$

2) ความงอกของเมล็ดพันธุ์

สุ่มเมล็ดพันธุ์ จำนวน 100 เมล็ด มาตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ โดยใช้กระดาษเพาะด้วยวิธี top of paper ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจนับต้นกล้าที่งอกปกติหลังจากการเพาะเมล็ดพันธุ์ 5 และ 14 วัน แล้วนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกดังสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอก} = \left(\frac{\text{จำนวนต้นปกติที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \right) \times 100$$

3.3 การตรวจสอบความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria และคุณภาพเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศระหว่างการเก็บรักษา

นำเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาตรวจนับ endophytic bacteria ในช่วงเวลาต่างๆในการเก็บรักษา ได้แก่ 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน ตามวิธีในข้อ 3.2.2 และตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์เช่นเดียวกับข้อ 3.2.3

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเมล็ดเชื้อรา endophytic bacteria ในการควบคุมโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบในห้องปฏิบัติการทำโดยเลี้ยงเชื้อรา *Fusarium* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำเชื้อดังกล่าวมาเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ ที่ความเข้มข้น 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ต่อมานำเมล็ดพันธุ์แช่ลงในสารแขวนลอยเชื้อก่อโรคเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเพาะด้วยวิธี top of paper วางแผนการทดลองแบบ split plot in CRD กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด ประกอบด้วย main plot ได้แก่ กลุ่มการทดลองที่ปลูกเชื้อ และไม่ปลูกเชื้อ

sub plot ได้แก่ ชนิดของเมล็ดพันธุ์

กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ

กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดพันธุ์เคลือบไมใช่ endophytic bacteria

กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดพันธุ์เคลือบ endophytic bacteria

กรรมวิธีที่ 4 เมล็ดพันธุ์การค้าเคลือบด้วยสารเคมี

ตรวจนับเมล็ดที่มีการงอกปกติหลังจากเพาะเมล็ดพันธุ์ 5 วัน และ 14 วัน คำนวณเปอร์เซ็นต์การงอก วัดการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยวัดความยาวต้น ความยาวราก คำนวณดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า (seedling vigour index: svi) ดังสูตร

$$svi = [\text{ความยาวของลำต้น (มิลลิเมตร)} \times \text{ความยาวราก}] \times \text{การอยู่รอด}(\%)$$

3.5 การทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคของเมล็ดเชื้อรา endophytic bacteria ในระยะต้นกล้า

การทดสอบในระยะต้นกล้าโดยนำสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *Fusarium* sp. ที่ความเข้มข้น 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร คลุกลงในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ อัตราส่วนเชื้อก่อโรค 1 มิลลิลิตรต่อ ดิน 10 กรัม (คัดแปลงจากวิธีของ อนันต์, 2557) และทำการปลูกเมล็ดเคลือบ+แบคทีเรีย เมล็ดเคลือบ และเมล็ดไม่เคลือบ รวมทั้งเมล็ดที่เคลือบด้วยสารเคมีลงในถาดเพาะที่มีพีทมอสที่ปลูกเชื้อโรค วางแผนการ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการวิจัยเท่านั้น เมื่อผู้ใดได้เห็นว่าใบโฆษณาชวนเชื่อ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดลองแบบ split plot in CRD เช่นเดียวกับข้อ 3.4 ทำการตรวจนับต้นกล้าปกติหลังจากการเพาะ 5 และ 14 วัน คำนวณเปอร์เซ็นต์การงอก วัดการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยวัด ความสูง จำนวนใบ น้ำหนักต้น น้ำหนักราก และคำนวณความแข็งแรงของต้นกล้า (บุญมี และคณะ, 2554)

3.6 การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหรือช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตในสภาพแปลงปลูก

ในการทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงปลูกแบ่งออกเป็น 8 กรรมวิธี เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.4 ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ

กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดพันธุ์เคลือบไมใช่ endophytic bacteria

กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดพันธุ์เคลือบ endophytic bacteria

กรรมวิธีที่ 4 เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคมี

กรรมวิธีที่ 5 เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ+เชื้อรา *Fusarium* sp.

กรรมวิธีที่ 6 เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคมี+เชื้อรา *Fusarium* sp.

กรรมวิธีที่ 7 เมล็ดพันธุ์เคลือบไมใช่ endophytic bacteria+เชื้อรา *Fusarium* sp.

กรรมวิธีที่ 8 เมล็ดพันธุ์เคลือบ endophytic bacteria+เชื้อรา *Fusarium* sp.

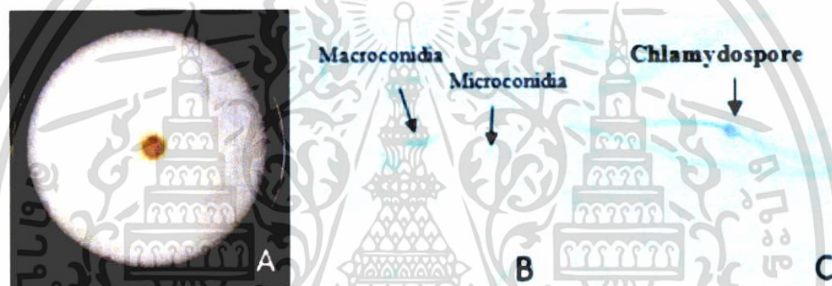
เพาะเมล็ดพันธุ์ในแต่ละกรรมวิธีในถาดเพาะเมล็ดโดยใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูก เมื่อต้นกล้าต้นกล้ามีอายุ 21 วัน ย้ายต้นกล้าลงปลูกในถุงปลูกที่มีการทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค *Fusarium* sp. ในอัตราส่วนสารแขวนลอยเชื้อรา *Fusarium* sp. ความเข้มข้น 10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต่อวัสดุปลูก 1 กิโลกรัม ทำการทดลองละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น จากนั้นวัดการเกิดโรคทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 28 วัน และวัดการเจริญเติบโตของมะเขือเทศหลังจากการย้ายปลูก 25 วัน โดยวัดความสูง และเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น และเก็บข้อมูลต่อทุกๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 100 วัน เก็บเกี่ยวผลผลิตหลังจากติดผล 60 วัน ตรวจวัดน้ำหนักต้น น้ำหนักผลผลิตต่อต้น และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ จากนั้นทำการตรวจนับ endophytic bacteria ภายในต้นมะเขือเทศตามวิธีการในข้อ 3.1.2

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1. เชื้อสาเหตุโรคและความสามารถในการก่อโรค

จากการแยกเชื้อสาเหตุโรคจากต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการโรคเหี่ยว พบเชื้อราที่มีลักษณะโคโลนีสีขาว มีการสร้างเม็ดสี สีชมพูถึงสีม่วง บริเวณใต้จานอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบเส้นใยสีใส มีผนังกัน และมีการสร้างสปอร์ 3 ชนิด ได้แก่ chlamyospore microconidia และ macroconidia (ภาพที่ 4.1) ซึ่งจากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเกี่ยวกับรายละเอียดของเชื้อรา (consal description) พบว่าเป็นลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ที่สอดคล้องกับรายงานของ



ภาพที่ 4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (A = colony บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน B = microconidia และ macroconidia C = chlamyospore)

ในส่วนของคุณสมบัติในการก่อโรคพบว่า เมื่อทำการปลูกเชื้อดังกล่าวลงบนต้นมะเขือเทศ ทำให้ต้นแสดงลักษณะอาการเหี่ยวเฉา และตายในที่สุด และเมื่อผ่าลำต้นพบสีน้ำตาลบริเวณท่อน้ำเลี้ยง หลังจากการปลูกเชื้อ 7 วัน (ภาพที่ 4.2) โดยมีความรุนแรงของโรคอยู่ที่ 2.4 คะแนน และมีอัตราการเกิดโรคที่ 80 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4.2 อาการเหี่ยวของต้นกล้ามะเขือเทศหลังจากการปลูกเชื้อ 7 วัน (A = กรรมวิธีควบคุม B = กรรมวิธีปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* C = ลักษณะท่อน้ำเลี้ยงที่มีสีน้ำตาล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ endophytic bacteria และผลต่อการเจริญเติบโตของ ต้นกล้วยมะเขือเทศ

จากการแยก endophytic bacteria จากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ (ราก ใบ และลำต้น) ของต้นมะเขือเทศที่มีความแข็งแรง สามารถแยกได้ทั้งหมด 43 ไอโซเลท มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่หลากหลาย จากการทดสอบ gram stain พบว่าเป็นแกรมบวกจำนวน 34 ไอโซเลท ได้แก่ LaRW01, LaRW02, LaRW03, LaRY01, LaKY01, LaKY02, LaKY03, LaKW01, LaKW02, LaLY01, LaLY02, LaLY03, LaTY01, LaTO01, SuLW01, SuLW02, SuLW03, SuLW04, SuLY01, SuLY02, SuLY03, SuLO01, SuRW01, SuRW02, SuRW03, SuRW04, SuRY01, SuRY02, SuRY03, SuRB01, SuRB01, SuKY01, LbTW01, LbLW01, LbRW01, LbRW02, และ LbRW03 เป็นแกรมลบ 9 ไอโซเลท ได้แก่ LaRW02, LaLW01, LaLW02, LaLW03, LaTY02, LaTW01, SuRY03, SuTW01 และ LbLW02 (ตารางที่ 4.1)

ในกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวกพบลักษณะดังนี้

ลักษณะสีของโคโลนี พบโคโลนีสีขาว จำนวน 5 ไอโซเลท สีขาวขุ่นจำนวน 8 ไอโซเลท สีเหลืองจำนวน 7 ไอโซเลท สีเหลืองใสจำนวน 9 ไอโซเลท สีส้มจำนวน 2 ไอโซเลท และสีไข่จำนวน 1 ไอโซเลท

ลักษณะรูปร่างโคโลนี พบรูปร่างกลมจำนวน 25 ไอโซเลท และรูปร่างไม่แน่นอน จำนวน 9 ไอโซเลท

ลักษณะขอบโคโลนี พบขอบแบบ entire จำนวน 23 ไอโซเลท ขอบแบบ erose จำนวน 6 ไอโซเลท และขอบแบบ undulate จำนวน 5 ไอโซเลท

ลักษณะผิวโคโลนี พบผิวเมือกจำนวน 21 ไอโซเลท ผิวเรียบจำนวน 6 ไอโซเลท และผิวขรุขระจำนวน 7 ไอโซเลท

ลักษณะรูปร่างเซลล์ พบรูปร่างแบบ bacillus จำนวน 26 ไอโซเลท รูปร่างแบบ coccus จำนวน 4 ไอโซเลท รูปร่างแบบ coccobacilli จำนวน 4 ไอโซเลท

ในกลุ่มของแบคทีเรียแกรมลบพบลักษณะดังนี้

ลักษณะสีของโคโลนี พบโคโลนีสีขาว จำนวน 5 ไอโซเลท สีขาวขุ่นจำนวน 1 ไอโซเลท สีเหลืองจำนวน 2 ไอโซเลท และสีเหลืองใสจำนวน 1 ไอโซเลท

ลักษณะรูปร่างโคโลนี พบรูปร่างกลมจำนวน 7 ไอโซเลท และรูปร่างไม่แน่นอน จำนวน 2 ไอโซเลท

ลักษณะขอบโคโลนี พบขอบแบบ entire จำนวน 7 ไอโซเลท และขอบแบบ erose จำนวน 2 ไอโซเลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะผิวโคโลนี พบผิวเมือกจำนวน 6 ไอโซเลท ผิวเรียบจำนวน 2 ไอโซเลท และผิวขรุขระจำนวน 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.3)

ลักษณะรูปร่างเซลล์ พบรูปร่างแบบ bacillus จำนวน 1 ไอโซเลท รูปร่างแบบ coccus จำนวน 7 ไอโซเลท รูปร่างแบบ coccobacilli จำนวน 1 ไอโซเลท

ตารางที่ 4.1 .ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ endophytic bacteria ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อต้นมะเขือเทศ

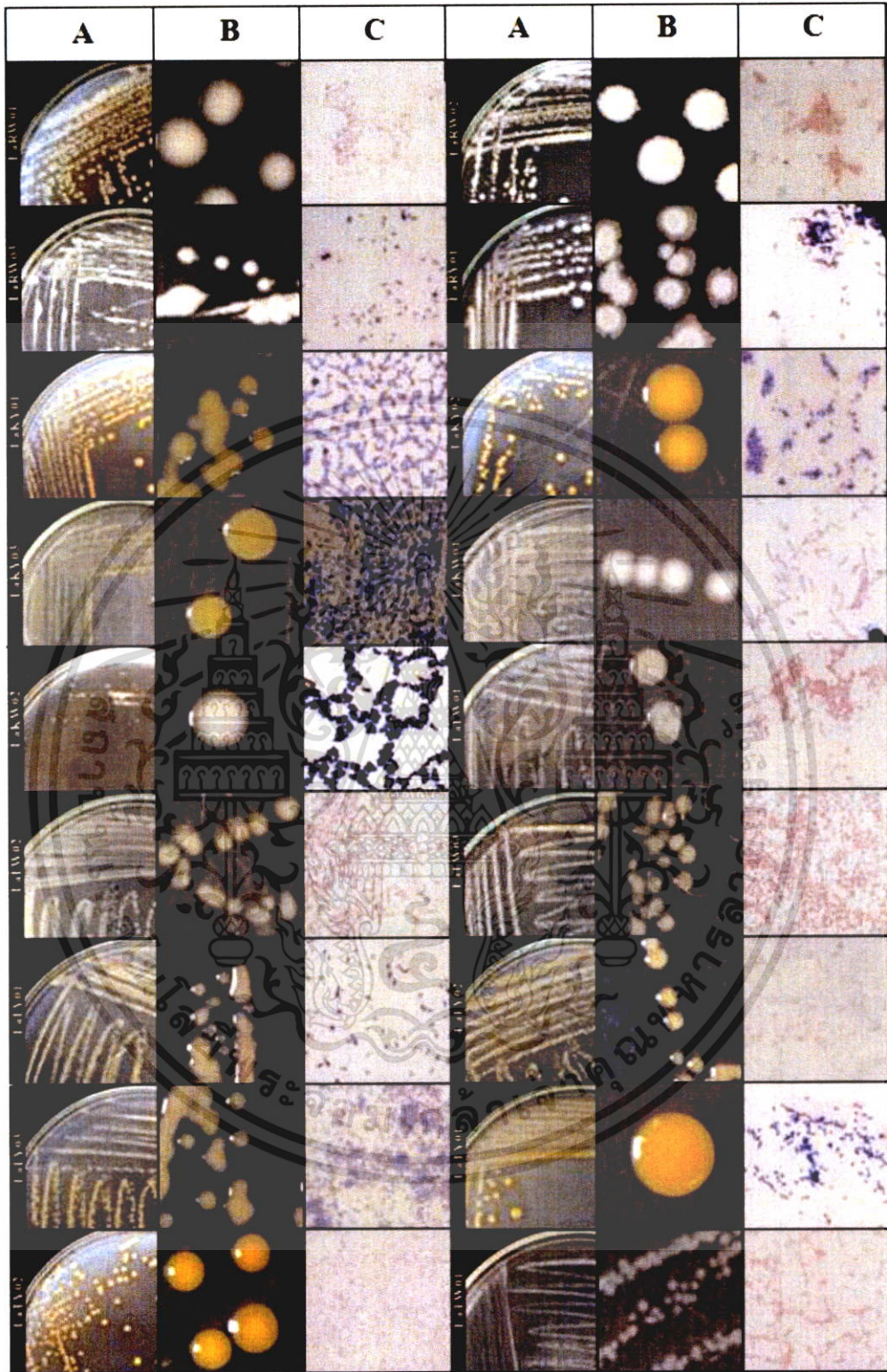
ไอโซเลท	โคโลนี				3%KOH test	Gram staining	รูปร่างเซลล์
	สี	รูปร่าง โคโลนี	ขอบ โคโลนี	ผิว			
LaRW01	ขาว	กลม	entire	เมือก	+	+	coccus
LaRW02	เหลือง	กลม	erose	เรียบ	-	-	coccus
LaRW03	ขาว	ไม่แน่นอน	undulate	เรียบ	+	+	bacillus
LaRY01	ขาว	กลม	erose	ขรุขระ	+	+	bacillus
LaKY01	เหลือง	ไม่แน่นอน	entire	เมือก	+	+	bacillus
LaKY02	เหลือง	กลม	entire	เมือก	+	+	coccobacilli
LaKY03	เหลืองใส	กลม	entire	เมือก	+	+	coccobacilli
LaKW01	ขาว	กลม	entire	เมือก	+	+	coccobacilli
LaKW02	ขาว	กลม	entire	เมือก	+	+	coccus
LaLW01	ขาว	กลม	entire	ขรุขระ	-	-	coccus
LaLW02	ขาว	กลม	entire	เมือก	-	-	coccus
LaLW03	ขาว	กลม	entire	เมือก	-	-	bacillus
LaLY01	เหลืองใส	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus
LaLY02	เหลืองใส	กลม	entire	เมือก	+	+	coccus
LaLY03	เหลืองใส	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus
LaTY01	เหลือง	กลม	entire	เมือก	+	+	coccus
LaTY02	เหลือง	กลม	entire	เมือก	-	-	coccus
LaTW01	ขาว	กลม	entire	เมือก	-	-	coccus
LaTO01	ส้ม	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus
SuLW01	เหลือง	กลม	erose	เมือก	+	+	bacillus
SuLW02	เหลืองใส	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ endophytic bacteria ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อต้นมะเขือเทศ

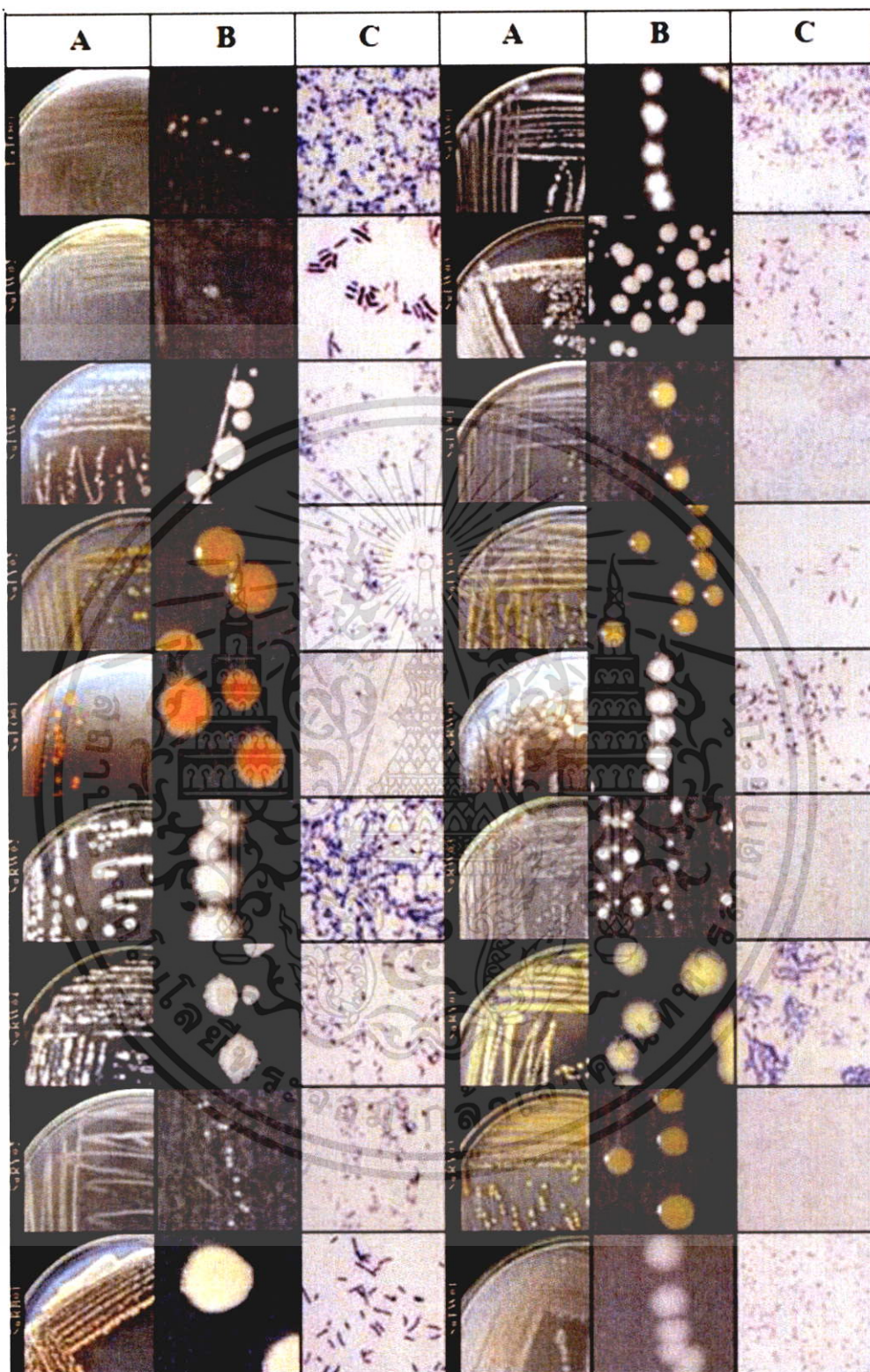
ไอโซเลท	โคโลนี				3%KOH test	Gram staining	รูปร่างเซลล์
	สี	รูปร่าง โคโลนี	ขอบ โคโลนี	ผิว			
SuLW03	เหลือง	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus
SuLW04	เหลือง	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus
SuLW03	เหลือง	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus
SuLW04	เหลือง	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus
SuLY03	เหลืองใส	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus
SuLO01	ส้ม	กลม	entire	เรียบ	+	+	bacillus
SuRW01	ขาวขุ่น	กลม	undulate	ขรุขระ	+	+	bacillus
SuRW02	ขาวขุ่น	ไม่แน่นอน	undulate	ขรุขระ	+	+	bacillus
SuRW03	ขาวขุ่น	กลม	entire	เมือก	+	+	coccobacilli
SuRW04	ขาว	ไม่แน่นอน	undulate	ขรุขระ	+	+	bacillus
SuRY01	เหลืองใส	กลม	entire	เมือก	+	+	bacillus
SuRY02	เหลืองใส	กลม	entire	เรียบ	+	+	bacillus
SuRY03	เหลืองใส	กลม	entire	เมือก	-	-	coccus
SuRB01	เนื้อ	กลม	undulate	เรียบ	+	+	bacillus
SuTW01	ขาว	ไม่แน่นอน	entire	เมือก	-	-	coccobacilli
SuKY01	เหลืองใส	ไม่แน่นอน	entire	เมือก	+	+	bacillus
LbTW01	ขาวขุ่น	ไม่แน่นอน	erose	ขรุขระ	+	+	bacillus
LbLW01	ขาวขุ่น	ไม่แน่นอน	erose	ขรุขระ	+	+	bacillus
LbLW02	ขาวขุ่น	ไม่แน่นอน	erose	เรียบ	-	-	coccus
LbRW01	ขาวขุ่น	ไม่แน่นอน	erose	เรียบ	+	+	bacillus
LbRW02	ขาวขุ่น	ไม่แน่นอน	erose	ขรุขระ	+	+	bacillus
LbRW03	ขาวขุ่น	กลม	entire	เรียบ	+	+	bacillus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



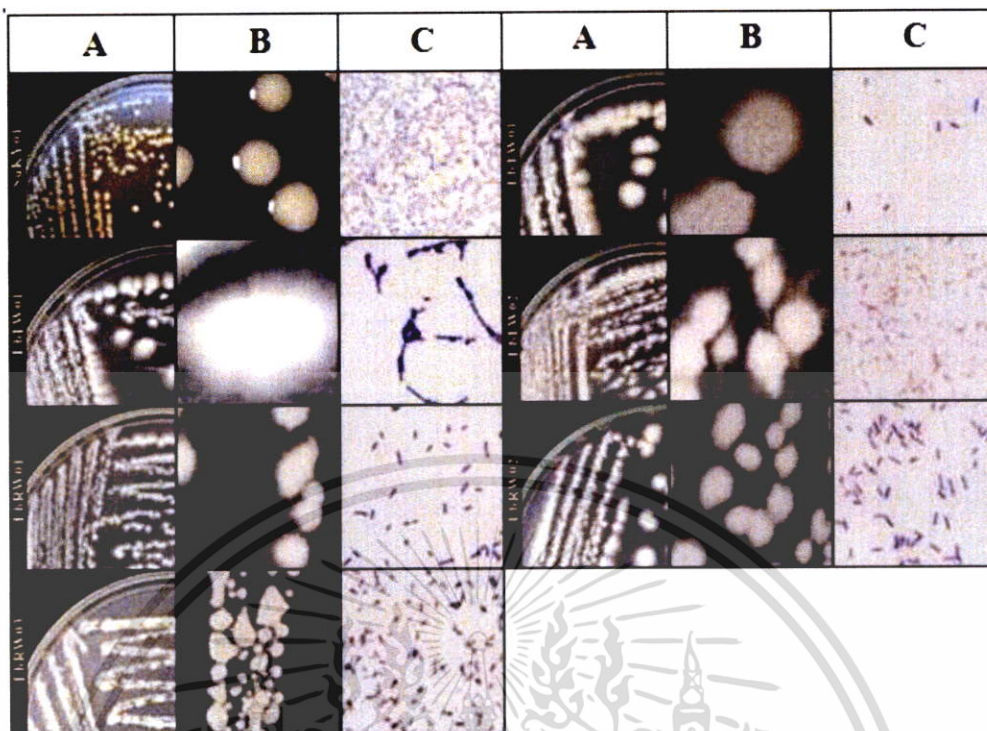
ภาพที่ 4.3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของ endophytic bacteria ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อต้นมะเขือเทศ (A=โคโลนีบนอาหาร NA, B =ลักษณะโคโลนีที่กำลังขยาย 6.7 เท่า และ C =การย้อมแกรมที่กำลังขยาย 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 (ต่อ)

ในการทดสอบผลต่อการเจริญเติบโต และความแข็งแรงของต้นกล้ามะเขือเทศ พบว่าเชื้อ endophytic bacteria ส่วนใหญ่ไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ นอกจากนี้ยังพบว่ามี endophytic bacteria จำนวน 18 ไอโซเลท สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของต้นกล้าได้ประมาณ 120 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ SuRY01, LaTO01, SuLY03, SuTW01, LaRW01, LaTY02, SuRY02, LaLY02, LaLW02, LaTY01, LbLW02, LbRW02, SuKY01, SuRW04, SuRB01, SuLW01, LaKY03 และ SuRW02 ซึ่งมี %svi เท่ากับ 139.72, 138.10, 134.64, 130.24, 129.09, 128.63, 127.71, 127.02, 126.09, 125.40, 122.63, 122.40, 121.01, 120.78, 120.78, 120.55, 119.63 และ 119.39 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ผลของ endophytic bacteria ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ

ไอโซเลท	การรอดชีวิต (%)	จำนวนใบ	ความสูง (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)			%svi
				ราก	ต้น	ทั้งหมด	
Control	100a	2.00a	6.30ab	0.089cd	0.452f	0.541ghij	100.00
LaRW01	100a	1.95a	6.00 ab	0.136a	0.562bcd	0.698cbd	129.09
LaRW02	95ab	1.90a	5.37ab	0.095c	0.470ef	0.565ghij	99.16
LaRW03	95ab	2.00a	6.50ab	0.119ab	0.436 f	0.555ghij	97.41
LaRY01	100a	1.90a	5.50ab	0.073def	0.466ef	0.537ghij	99.30
LaKY01	100a	1.95a	5.50ab	0.073def	0.518de	0.591fgh	109.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ) ผลของ endophytic bacteria ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ

ไอโซเลท	การรอดชีวิต (%)	จำนวนใบ	ความสูง (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)			%svi
				ราก	ต้น	ทั้งหมด	
LaKY02	100a	1.90a	5.37ab	0.071def	0.437f	0.508j	93.99
LaKY03	100a	2.00a	5.62ab	0.086cdef	0.561bcd	0.647def	119.63
LaKW01	100a	1.90a	6.00ab	0.095c	0.465ef	0.560ghij	103.46
LaKW02	85c	1.90a	5.87ab	0.067f	0.437f	0.505j	79.30
LaLW01	100a	1.95a	5.87ab	0.121ab	0.443f	0.565ghij	104.38
LaLW02	100a	1.95a	5.50ab	0.120ab	0.562bcd	0.682cd	126.09
LaLW03	100a	1.90a	6.12ab	0.124ab	0.4675ef	0.591fgh	109.23
LaLY01	100a	1.90a	5.75ab	0.086cdef	0.436f	0.522ij	96.53
LaLY02	100a	2.00a	5.50ab	0.126ab	0.561bcd	0.687cd	127.02
LaLY03	100a	1.90a	5.25ab	0.095c	0.4385f	0.533hji	98.61
LaTY01	100a	2.00a	5.62ab	0.116b	0.562bcd	0.678cd	125.40
LaTY02	100a	1.95a	5.87ab	0.118ab	0.578bc	0.696cbd	128.63
LaTW01	100a	1.95a	6.12ab	0.069ef	0.428f	0.497j	91.91
LaTO01	100a	2.00	6.00ab	0.115b	0.632a	0.747ab	138.10
SuLW01	100a	1.95	6.37 ab	0.116b	0.536cd	0.652de	120.55
SuLW02	100a	1.95	5.87 ab	0.071def	0.441f	0.512j	94.68
SuLW03	100a	2.00	5.75 ab	0.121ab	0.476ef	0.597efg	110.39
SuLW04	100a	2.00	5.75 ab	0.0675f	0.477ef	0.545ghij	100.69
SuLY01	100a	1.85	6.00ab	0.079 cdef	0.4725ef	0.551 ghij	101.84
SuLY02	100a	1.95	6.00ab	0.086cdef	0.442f	0.528ij	97.69
SuLY03	100a	1.90	6.00ab	0.123ab	0.606ab	0.728abc	134.64
SuLO01	100a	2.00	6.37ab	0.0905c	0.466ef	0.561 ghij	103.69
SuRW01	95ab	2.00	5.75ab	0.068ef	0.442f	0.511j	89.73
SuRW02	100a	1.90	5.37ab	0.128ab	0.518de	0.646def	119.39
SuRW03	95ab	2.00	6.37ab	0.0685ef	0.437cd	0.506j	88.85
SuRW04	100a	2.00	6.00ab	0.115b	0.538cd	0.653de	120.78
SuRW03	95ab	2.00	6.37ab	0.0685ef	0.437cd	0.506j	88.85
SuRW04	100a	2.00	6.00ab	0.115b	0.538cd	0.653de	120.78
SuRY01	100a	1.95	6.25ab	0.126ab	0.630a	0.756a	139.72
SuRY02	100a	2.00	6.87a	0.086cdef	0.605ab	0.691cbd	127.71
SuRY03	100a	2.00	6.62ab	0.118ab	0.466ef	0.583ghi	107.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับงานวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ) ผลของ endophytic bacteria ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ

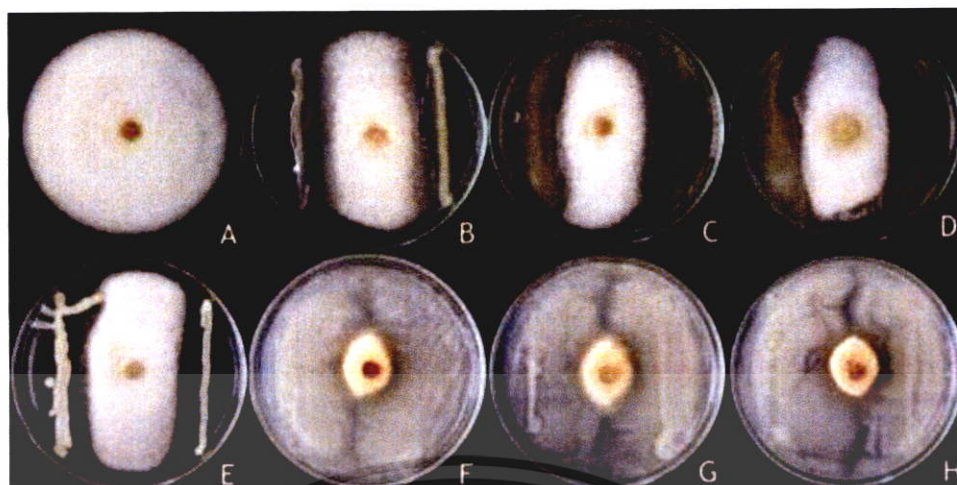
ไอโซเลข	การรอดชีวิต (%)	จำนวนใบ	ความสูง (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม)			%svi
				ราก	ต้น	ทั้งหมด	
SuRB01	100a	1.95	6.12ab	0.116b	0.537cd	0.653de	120.78
SuTW01	100a	1.90	6.12ab	0.128ab	0.577bc	0.705abcd	130.24
SuKY01	100a	2.00	6.62ab	0.118ab	0.537cd	0.655de	121.01
LbTW01	100a	1.90	5.75ab	0.069ef	0.441f	0.510j	94.22
LbLW01	90bc	1.95	5.75ab	0.086cde	0.475ef	0.562 ghij	93.53
LbLW02	100a	1.90	5.75ab	0.126ab	0.537cd	0.663d	122.63
LbRW01	100a	1.85	5.7ab	0.071def	0.436f	0.507j	93.76
LbRW02	100a	1.95	5.87ab	0.086cdef	0.576bc	0.662d	122.40
LbRW03	100a	1.95	5.87ab	0.065ef	0.443f	0.512j	94.68
F-test	* ^{1/}	ns	*	*	*	*	-
C.V. (%)	3.83	4.68	13.45	11.06	6.61	6.08	-

^{1/}ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ * = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple range test (DMRT)

4.3 ประสิทธิภาพของ endophytic bacteria ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Fusarium*

oxysporum สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* พบว่ามี endophytic bacteria จำนวน 25 ไอโซเลข ได้แก่ LaRW01, LaRW02, LaRW03, LaRY01, LaKW02, LaLW01, LaLW02, LaLW03, LaLY01, LaLY02, LaTW01, LaTO01, SuLW02, SuLW03, SuLY02, SuLY03, SuRW01, SuRW02, SuRW03, SuRY01, SuRB01, SuTW01, LbTW01, LbLW01, LbLW02, LbRW01, LbRW02, และ LbRW03 ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าวได้โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 4.3) โดยมี 7 ไอโซเลข ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ LaLW03, LaLY01, SuLW03, LaRY01, SuRW01, SuRW02, และ LbRW03 ซึ่งไอโซเลขที่ดีที่สุดได้แก่ SuRW02 SuRW01 และ LbRW03 ที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งที่ 71.94, 68.33 และ 68.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 ผลการทดสอบ Dual-culture ของ endophytic bacteria จำนวน 7 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ได้มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ (A= กรรมวิธีควบคุม, B= LaRY01, C=LaLW03, D=LaLY01, E= SuLW03, F= SuRW01, G= SuRW02, H= LbRW03)

ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของ endophytic bacteria จำนวน 43 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

ไอโซเลท	การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>	
	ขนาดโคโลนี (ซม.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ
control	9.00	0.00k ^{1/}
LaRW01	7.00	22.22 defg
LaRW02	6.95	22.78defg
LaRW03	6.42	28.61cd
LaRY01	5.71	36.53b
LaKY01	8.77	2.50jk
LaKY02	8.95	0.00k
LaKY03	8.93	0.00k
LaKW01	8.75	2.72jk
LaKW02	8.23	8.47ij
LaLW01	7.62	15.28ghi
LaLW02	8.03	10.69hi
LaLW03	6.26	30.42bc
LaLY01	6.25	30.47bc
LaLY02	7.53	16.25fgh

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) ประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของ endophytic bacteria จำนวน 43 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

ไอโซเลท	การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>	
	ขนาดโคโลนี (ซม.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ
LaLY03	7.50	16.67fgh
LaTY01	8.92	0.00k
LaTY02	8.87	0.00k
LaTW01	6.56	27.08cde
LaTO01	7.35	18.33fg
SuLW01	8.97	0.00k
SuLW02	7.15	20.56 efg
SuLW03	6.16	31.53bc
SuLW04	8.92	0.00k
SuLY01	8.87	0.00k
SuLY02	7.10	21.06efg
SuLY03	6.90	23.33def
SuLO01	9.00	0.00k
SuRW01	2.85	68.33a
SuRW02	2.52	71.94a
SuRW03	8.08	10.14hi
SuRW04	9.00	0.00k
SuRY01	7.00	22.22 defg
SuRY02	9.00	0.00k
SuRY03	8.76	0.00k
SuRB01	7.57	15.83fgh
SuTW01	6.98	22.36 defg
SuKY01	9.00	0.00k
LbTW01	7.12	20.83 efg
LbLW01	7.28	19.028fg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) ประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของ endophytic bacteria จำนวน 43 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

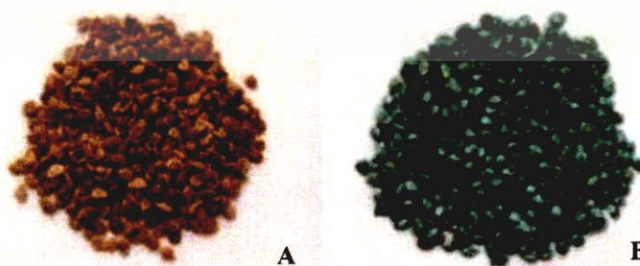
ไอโซเลท	การเจริญยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>	
	ขนาดโคโลนี (ซม.)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ
LbLW02	6.97	22.50 defg
LbRW01	7.12	20.83 efg
LbRW02	7.15	20.56 efg
LbRW03	2.86	68.19a
F-test	* ^{1/}	*
C.V. (%)	15.39	25.75

^{1/}ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ * = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ซึ่งจากผลการทดลองที่ผ่านมาจึงได้ทำการเลือก endophytic bacteria ไอโซเลท SuRW02 ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุด และยังสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตไปใช้ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ในการทดลองต่อไป

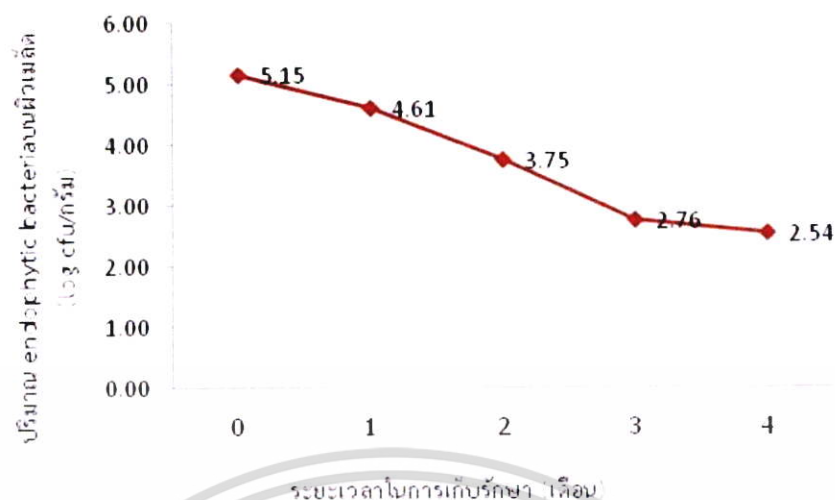
4.4 ความมีชีวิตรอดของ endophytic bacteria และคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ระหว่างการเก็บรักษา

หลังจากการเคลือบเมล็ดพันธุ์พบว่า สารเคลือบที่ทำการเคลือบเมล็ดมีความสม่ำเสมอทั่วทั้งเมล็ด (ภาพที่ 4.5) เมื่อตรวจสอบปริมาณ endophytic bacteria พบว่ามีปริมาณ endophytic bacteria อยู่ที่ 5.15 log cfu/กรัม การตรวจนับตลอดการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียลดลงเรื่อยๆ โดยมีปริมาณแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในแต่ละเดือนเท่ากับ 4.61 3.75 2.75 และ 2.54 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6)



ภาพที่ 4.5 เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศก่อนเคลือบและหลังเคลือบ (A=เมล็ดพันธุ์ก่อนเคลือบ และ B=เมล็ดพันธุ์หลังเคลือบ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 ปริมาณแบคทีเรียที่เคลือบบนเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศตลอดการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน

ในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือนพบว่า ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ และเมล็ดพันธุ์เคลือบในแต่ละกรรมวิธี เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงในเดือนที่ 2 แต่หลังจากการเก็บรักษาเดือนที่ 4 ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria และสารเคมีแคปแทน ไม่ส่งผลต่อความชื้นของเมล็ดพันธุ์ หลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน (ตารางที่ 4.4) ในส่วนของความงอกของเมล็ดพันธุ์พบว่า หลังจากการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในเดือนที่ 3 ความงอกของเมล็ดพันธุ์เริ่มมีการเปลี่ยนแปลง เมื่อสิ้นสุดการทดลองเดือนที่ 4 พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเคมีแคปแทน เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว และ เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ โดยมีความงอกที่ 93.5, 92.5, 91.25 และ 89.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.4 ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบด้วยกรรมวิธีต่างๆ หลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน

กรรมวิธี	ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ (%)				
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
NCS ^{1/}	6.56	7.78	7.88b	7.66b	7.96a
CS	6.60	7.86	8.073ab	8.10ab	8.17a
CS+B	7.18	7.62	8.32a	8.34a	8.39a
CS+C	7.44	8.08	8.33 a	8.44a	8.51a
F-test	ns ^{2/}	ns	*	*	ns
C.V. (%)	8.71	17.92	8.55	4.71	9.83

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน

^{2/} ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 4.5 ความงอกของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านและไม่ผ่านการเคลือบด้วยกรรมวิธีต่างๆ หลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน

กรรมวิธี	ความงอกของเมล็ดพันธุ์ (%)				
	เดือนที่ 0	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4
NCS ^{1/}	96.75	97.00	95.25	91.50b	89.50c
CS	97.00	96.75	94.75	92.25ab	91.25bc
CS+B	97.75	97.50	96.50	94.00a	93.75a
CS+C	98.50	97.50	95.25	93.25ab	92.50ab
F-test	ns ^{2/}	ns	ns	*	*
C.V. (%)	1.21	1.83	1.39	1.37	1.51

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน

^{2/} ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค และส่งเสริมการเจริญเติบโตของเมล็ดเคลือบด้วย endophytic bacteria ในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรค พบว่าการใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria สามารถลดการเกิดโรคได้ เช่นเดียวกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคมี แคปแทน ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ และเคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ 65.5 และ 69.75 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ และเคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ 30.75 และ 43.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6)

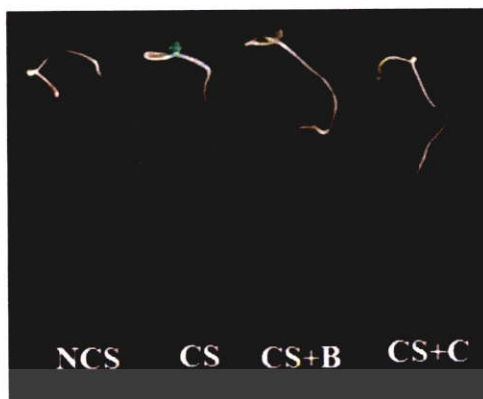
ในการตรวจสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโต พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria ในกรรมวิธีปลูกเชื้อก่อโรค มีความยาวต้น และความยาวราก และมี %svi สูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ แสดงให้เห็นว่าสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ (ภาพที่ 4.7)

ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการควบคุมโรค และการเจริญเติบโตของเมล็ดเคลือบด้วย endophytic bacteria ในห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี		ความยาวต้น (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)	การรอดชีวิต (%)	%svi
ปลูกเชื้อโรค	NCS ^{1/}	1.54cd	1.01b	30.75b	100.00
	CS	2.33b	1.26b	43.50b	153.48
	CS+B	3.79a	2.29a	65.50a	178.82
	CS+C	2.30b	1.10b	69.75a	155.96
F-test		*	*	*	-
C.V.(%)		24.36	25.59	25.25	-
ไม่ปลูกเชื้อโรค	NCS ^{1/}	3.63b	2.35b	97.00	100.00
	CS	3.83b	2.68ab	96.75	112.78
	CS+B	5.33a	3.06a	97.50	151.20
	CS+C	4.15a	2.47b	97.50	118.95
F-test		* ^{2/}	*	ns	-
C.V. (%)		15.68	19.09	1.21	-

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน

^{2/} ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 4.7 ความยาวของต้นกล้ามะเขือเทศที่อายุ 7 วัน (NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน)

4.6 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของเมล็ดเคลือบ endophytic bacteria ในระยะต้นกล้า

จากการศึกษาผลของเมล็ดพันธุ์เคลือบ endophytic bacteria ในการควบคุมโรคในกลุ่มการทดลองที่มีการปลูกเชื้อโรคพบว่าการใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria สามารถลดอัตราการเกิดโรคได้ 34.09 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ (ตารางที่ 4.7) นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria มีความสูง น้ำหนักต้น และ %svi แตกต่างจากกรรมวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.8)

ในกลุ่มการทดลองที่ไม่มีการปลูกเชื้อก่อโรคพบว่าการใช้ เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria มีความสูง น้ำหนักต้น สูงที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ แต่ไม่แตกต่างกับการใช้เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว และเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเคมีแคปแทน นอกจากนี้ยังพบว่าในการใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบทั้ง 3 แบบ มี %svi สูงกว่าการใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ (ตารางที่ 4.7)ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นมะเขือเทศในระยะต้นกล้าได้

ตารางที่ 4.7 การเจริญเติบโต และอัตราการเกิดโรคเหี่ยวจากเชื้อรา *Fusarium* sp. ในมะเขือเทศระยะต้นกล้า

กรรมวิธี		ความสูง (ซม.)	น้ำหนักต้น (กรัม)	จำนวนใบ	การเกิดโรค (%)	%svi
ปลูกเชื้อโรค	NCS ^{1/}	5.89b	0.096b	2.00	42.86	100.00
	CS	5.84b	0.11b	2.20	29.42	114.58
	CS+B	7.32a	0.13a	2.40	8.77	135.41
	CS+C	6.37b	0.10b	2.60	7.84	104.16
F-test		*	*	ns	-	-
C.V. (%)		14.72	3.32	31.28	-	-
ไม่ปลูกเชื้อโรค	NCS	9.58b	0.19b	2.60	-	100.00
	CS	11.58b	0.27ab	2.80	-	142.10
	CS+B	13.43a	0.32a	3.10	-	168.42
	CS+C	12.05ab	0.27ab	2.90	-	142.10
F-test		* ²	*	ns	-	-
C.V. (%)		19.83	33.33	23.24	-	-

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน

^{2/} ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

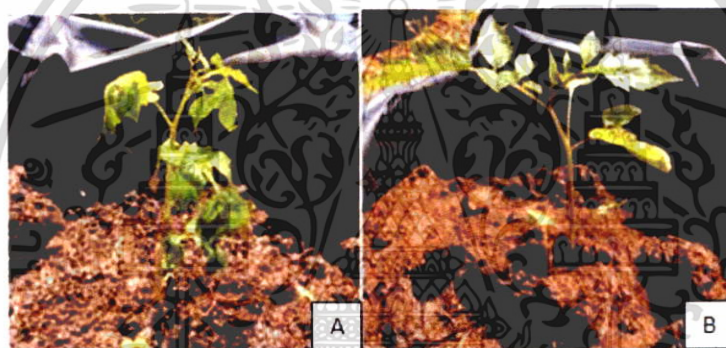


ภาพที่ 4.8 ความสูงของต้นกล้ามะเขือเทศที่อายุ 14 วัน (NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค หรือช่วยส่งเสริมเสริมการเจริญเติบโต ในสภาพแปลงปลูก

หลังจากปลูกเชื้อก่อโรคเป็นเวลา 14 วัน พบว่าต้นมะเขือเทศเริ่มแสดงอาการเหี่ยว (ภาพที่ 4.9) เมื่อทำการตรวจสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพบว่า กรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria สามารถลดอัตราการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ และเคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว โดยในกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ และเคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียวมีอัตราการเกิดโรค 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ และความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 2 และ 1.25 ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเคมีแคปแทนมีอัตราการเกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรคเพียง 37.5 และ 25 เปอร์เซ็นต์ และ 0.37 และ 0.25 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8)



ภาพที่ 4.9 อาการเหี่ยวของต้นกล้ามะเขือเทศหลังจากการปลูกโรค 14 วัน (A) และต้นกล้ามะเขือเทศที่อาการปกติ (B)

ตารางที่ 4.8 ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยกรรมวิธีต่างๆ ต่ออัตราการเกิดโรค และความรุนแรงของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. ในสภาพแปลงปลูก

กรรมวิธี	อัตราการเกิดโรค	ความรุนแรงของโรค
NCS ^{1/}	75.00	2.00a ^{1/}
CS	50.00	1.25ab
CS+B	37.50	0.37b
CS+C	25.00	0.25b
F-test	-	* ^{2/}
C.V. (%)	-	44.33

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน

^{2/} ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's

Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโต พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เคลือบด้วย endophytic bacteria มีความสูงของต้น และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำแตกต่างจากกรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของน้ำหนักต้น เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักผลผลิตต่อต้น ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ในกลุ่มการทดลองที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรค พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเคมีแคปแทน การเจริญเติบโต (ความสูง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น) น้ำหนักผลผลิตต่อต้น และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ สูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบและเคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 4.9) เมื่อทำการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียในบริเวณส่วนต่างๆของต้นมะเขือเทศหลังการทดลอง และตรวจนับจำนวน endophytic bacteria ที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาตรงกับไอโซเลทที่ทำการเคลือบเมล็ดพันธุ์ พบ endophytic bacteria ที่มีลักษณะดังกล่าว ในบริเวณ ลำต้น ราก และใบ โดยพบบริเวณรากมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ใบ และลำต้น โดยมีปริมาณแบคทีเรียคือ 4.36, 3.75 และ 3.71 log cfu/กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 4.10)

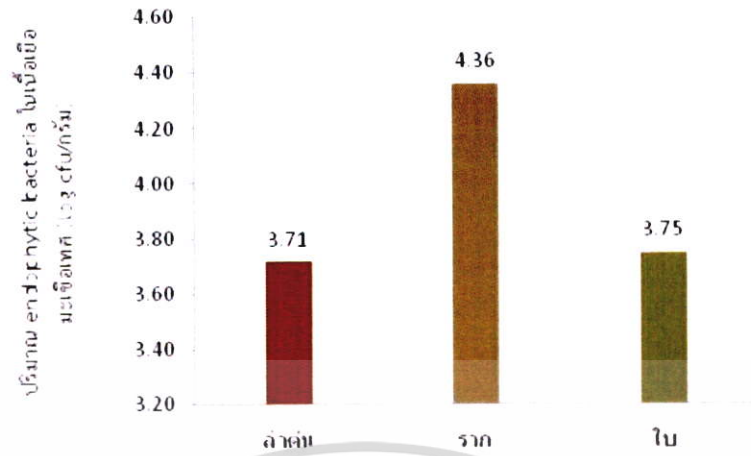
ตารางที่ 4.9 ผลการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยกรรมวิธีต่างๆต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณภาพผลผลิตของมะเขือเทศ

กรรมวิธี	ความสูง (ซม.)	น้ำหนักต้น (กรัม)	เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (มม.)	น้ำหนักผลผลิตต่อต้น (กรัม)	ของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°brix)	
ไม่ปลูกเชื้อโรค	NCS ^{1/}	119.375b	134.25	4.10	366.98	5.67b
	CS	114.875b	146.50	3.70	399.11	5.45b
	CS+B	153.00a	182.75	4.33	357.72	6.95a
	CS+C	117.75b	138.00	4.51	403.16	5.57b
F-test	*	ns	ns	ns	*	
C.V.(%)	14.46	22.56	21.54	32.61	15.27	
ปลูกเชื้อโรค	NCS ^{1/}	57.75c	116.50	1.79c	42.96c	5.23b
	CS	75.87b	124.00	2.84bc	163.17b	5.61b
	CS+B	128.12a	139.75	4.45a	407.85a	5.95a
	CS+C	115.00ab	128.75	4.10ab	355.78a	5.85ab
F-test	* ^{2/}	ns	*	*	*	
C.V.(%)	49.97	20.72	41.59	42.21	12.75	

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน

^{2/} ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ, * = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 ปริมาณ endophytic bacteria ในต้นมะเขือเทศที่ใช้เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria เมื่อสิ้นสุดการทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการปลูกมะเขือเทศโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. คือโรคที่สำคัญโรคหนึ่ง โดยโรคนี้สามารถเข้าทำลายต้นมะเขือเทศได้ทุกระยะ ตั้งแต่ระยะต้นกล้า จนถึงระยะเก็บเกี่ยวสร้างความเสียหายเป็นอย่างมาก ในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการของโรคเหี่ยว โดยเชื้อที่ได้คือ เชื้อรา *F. oxysporum* ที่มีลักษณะสอดคล้องกับรายงานของ Nirmaladevi *et al.* (2016) ที่ได้รายงานว่า เชื้อรา *Fusarium oxysporum* จะมีลักษณะเส้นใยสีอ่อน โดยจะมีตั้งแต่สีขาวจนถึงสีชมพู บางครั้งอาจมีสีม่วง มีการสร้างสปอร์ 3 ชนิด ได้แก่ macroconidia, microconidia และ chlamydospores โดย macroconidia จะมีลักษณะเรียวยาวคล้ายเส้นใยพระจันทร์ มีผนังกันสปอร์ 3-5 เส้น microconidia มีลักษณะเป็นรูปไข่ โดยปกติจะไม่มีผนังกันสปอร์หรือมีเพียง 1 เส้น และ chlamydospores มีลักษณะทั้งผิวเรียบ และขรุขระ มักจะเกิดแบบเดี่ยว เป็นคู่หรือเป็นห่วงโซ่ และเมื่อทำการทดสอบความสามารถในการทดสอบโรคพบอาการเหี่ยว และท่อลำเลียงน้ำเป็นสีน้ำตาลเช่นเดียวกับรายงานของ Abdallah *et al.* (2016)

การแยก endophytic bacteria จากเนื้อเยื่อ ลำต้น ราก และใบ ของต้นมะเขือเทศที่มีความแข็งแรง พบว่าสามารถแยกได้ทั้งหมดจำนวน 43 ไอโซเลท หลังจากตรวจสอบ gram stain พบว่ามีจำนวนแกรมบวก 34 ไอโซเลท และ แกรมลบ 9 ไอโซเลท เมื่อนำ endophytic bacteria ทั้งหมดที่แยกได้ไปทดสอบกับต้นกล้ามะเขือเทศพบว่า ไม่ส่งผลอันตรายต่อต้นกล้ามะเขือเทศ ซึ่ง Bacon และ White (2000) และ Hundley. (2005) ได้อธิบายเกี่ยวกับ endophytic bacteria ไว้ว่าเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชโดยไม่ส่งผลกระทบต่อพืช ในบางสายพันธุ์ยังพบว่าสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืชได้อีกด้วย ซึ่งในการศึกษานี้ยังพบว่า ในบางไอโซเลทสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่ต้นกล้ามะเขือเทศโดยพบว่ามี endophytic bacteria จำนวน 18 ไอโซเลท จากจำนวน 43 ไอโซเลท ได้แก่ SuRY01, LaTO01, SuLY03, SuTW01, LaRW01, LaTY02, SuRY02, LaLY02, LaLW02, LaTY01, LbLW02, LbRW02, SuKY01, SuRW04, SuRB01, SuLW01, LaKY03 และ SuRW02 ที่มี %svi ในช่วง 119-139 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับรายงานของ Khan *et al.* (2014) ที่ได้รายงานว่าต้นมะเขือเทศที่มีการปลูก endophytic bacteria สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ โดยสามารถเพิ่มความยาวราก ปริมาณคลอโรฟิลล์ ความสูง และน้ำหนักรากได้ นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Kaewkham *et al.* (2016) ที่พบว่าการใช้เมล็ดพันธุ์แต่งกวาเคลือบร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่ปริมาณ 1×10^7 cfu สามารถทำให้เมล็ดมีความงอก ความยาวต้น ความยาวราก ดีมากกว่าเมล็ดไม่เคลือบ ซึ่งจากรายงานของ Abdallah *et al.* (2016) พบว่า endophytic bacteria สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศได้ โดยจากการตรวจสอบพบว่าเชื้อดังกล่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถสร้างสารกระตุ้นการเติบโตของพืช ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) โดยสารดังกล่าวจะ ช่วยกระตุ้นการยึดตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ (Shahab *et al.*, 2009) ส่งผลให้พืชเจริญได้ดี นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตฮอร์โมนชนิดอื่นๆได้ เช่น Cytokinin, Ethylene, Gibberelin และ 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase เป็นต้น (Noel *et al.*, 1996) โดย Glick (2012) และริคาร์ตัน (2560) ได้รายงานว่าการนอกจากการผลิตฮอร์โมนพืชแล้วยังมีกลไกอื่นๆอีก ได้แก่ การตรึงไนโตรเจน การละลายธาตุอาหารพืช การสร้างซีเดอโรฟออร์ (siderophore) การสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช การสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งเชื้อราโรคพืช ทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี

ในการศึกษาการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. ในมะเขือเทศครั้งนี้พบว่า มี endophytic bacteria 25 ไอโซเลท จาก 43 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* ในการทดสอบด้วยวิธี dual culture test มีจำนวน 3 ไอโซเลท ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ SuRW02, SuRW01 และ LbRW03 โดยเปอร์เซ็นต์ยับยั้งที่ 71.94, 68.33 และ 68.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีงานวิจัยหลายฉบับที่ศึกษาเรื่องการนำ endophytic bacteria มาใช้ในการควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Monda, 2002; Akköprü และ Demir, 2005; Moretti *et al.*, 2008) เช่นเดียวกับในการศึกษาครั้งนี้ นอกจากนี้ยังพบว่า endophytic bacteria มีกลไกในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* คือ กลไกการสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiosis) สังกัดจากการพบบริเวณยับยั้ง (clear zone) ระหว่างเชื้อสาเหตุโรคและ endophytic bacteria และกลไกการแข่งขัน (Competition) สังกัดได้จากการที่ endophytic bacteria สามารถเจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างรวดเร็วทำให้เชื้อรา *F. oxysporum* ไม่สามารถเจริญต่อไปได้ จากรายงานวิจัยของ Nandhini *et al* (2012) และ Patel *et al.* (2012) ที่ใช้ endophytic bacteria ที่แยกได้จากมะเขือเทศในการควบคุม *F. oxysporum* พบว่าเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้มีการสังเคราะห์สาร allelochemicals ต่างๆ ที่มีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรค และอาจมีการสร้าง chitinase และ β -1,3-glucanase ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยผนังเซลล์เชื้อรา ซึ่งงานวิจัยของ Bibi *et al.* (2012) และ Wang *et al.* (2013) ได้รายงานว่ามี endophytic bacteria หลายชนิด ได้แก่ *Bacillus*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter* และ *Serratia* สามารถผลิตสารดังกล่าวเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่พบว่า endophytic bacteria สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Sclerotium rolfsii*, *Colletotrichum capsici*, *Pythium* sp. และ *Verticillium dahlia* (Nejad and Johnson. 2000; Amaresan *et al.*, 2012 and Nandhini *et al.*, 2012)

การศึกษาในครั้งนี้ได้คัดเลือก endophytic bacteria ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* สูงที่สุด และ มีความสามารถในการช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต คือ ไอโซเลท SuRW02 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* 71.94 เปอร์เซ็นต์ และสามารถส่งเสริมการเจริญได้ 119 เปอร์เซ็นต์ มาใช้ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ โดยการเคลือบเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งงานวิจัยเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น มิใช่เอกสารที่เผยแพร่สู่สาธารณะ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคโนโลยีที่มีการพัฒนาขึ้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเมล็ดพันธุ์ การนำ endophytic bacteria มาเคลือบเมล็ดจะช่วยให้แบคทีเรียยึดติดกับเมล็ด โดยไม่หลุดระหว่างการเคลื่อนย้าย ซึ่งหลังจากการทดลองเก็บรักษามะเขือเทศเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเคลือบด้วย SuRW02 เป็นเวลา 4 เดือน พบว่ายังคงรักษาระดับของแบคทีเรียไว้ได้ระดับหนึ่ง แต่ปริมาณแบคทีเรียลดลงเรื่อยๆ จาก 4.61 เป็น 2.54 log cfu/กรัม ซึ่งเป็นผลมาจากการเคลือบเมล็ดนั้นส่วนประกอบของสารเคลือบไม่มีสารอาหารที่เพียงพอต่อความต้องการชีวิตของแบคทีเรีย ส่งผลให้ปริมาณของแบคทีเรียลดลง (ชิดารัตน์, 2560) อย่างไรก็ตามการคงให้ปริมาณความมีชีวิตโรคแบคทีเรียมีมากกว่านี้ อาจต้องใช้วิธีการพอกแทนการเคลือบ และอาจเสริมสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียลงไปด้วย ในด้านคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ หลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน การเคลือบเมล็ดด้วยกรรมวิธีต่างๆ ไม่ส่งผลทางด้านลบต่อความชื้นของเมล็ดพันธุ์ ในส่วนของความงอกของเมล็ดพันธุ์เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงในเดือนที่ 3 พบว่าในเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านเคลือบด้วย SuRW02 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ สอดคล้องกับรายงานของ O'Callaghan *et al.* (2006) ที่ได้ทำการเคลือบเมล็ดพันธุ์หัวหอมด้วย *Pseudomonas fluorescens* F113 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 70 วัน พบว่าเมล็ดพันธุ์ยังคงมีความงอกที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งเป็นการยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ได้

ในการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในห้องปฏิบัติการ ในระยะต้นกล้า และสภาพแปลงปลูกพบว่า การใช้เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria สามารถลดการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคได้เช่นเดียวกับการเคลือบด้วยสารเคมีแคบแทน จากรายงานของ Wang *et al.* (2013) ได้รายงานว่า endophytic bacteria สามารถลดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* sp. ของมะเขือเทศได้อย่างน้อย 75% โดย endophytic bacteria สามารถยับยั้งเชื้อโรคทางอ้อม โดยจะทำการการส่งเสริมการเจริญเติบโตให้พืชมีความแข็งแรง ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้ ซึ่งเมื่อพิจารณาผลการทดลองพบว่าการใช้เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria มีการเจริญเติบโตที่สูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เป็นไปได้ว่าการที่ต้นพืชแข็งแรงจะช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อได้นอกจากนี้ ชิดารัตน์ (2560) ยังได้อธิบายไว้ว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์จะสามารถช่วยลดการเกิดโรคได้ โดยจะช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคก่อนและหลังการงอกของเมล็ดพันธุ์ จากกลไกต่างๆที่เชื้อปฏิปักษ์สร้างขึ้นเช่น การสร้างสารปฏิชีวนะ การสร้างสารเมแทบอลิต์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา การสร้างเอนไซม์ต่าง การแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรค รวมทั้งเหนี่ยวนำความต้านทานในพืช เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยหลายๆ ฉบับที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เมล็ดเคลือบจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมโรค โดยพบว่าการใช้จุลินทรีย์ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์สามารถลดการเกิดได้ โดยมี รายงานของ Hu *et al.* (2011) ได้ทำการทดลองโดยปลูกเมล็ดผักกาดใน 2 พื้นที่ในประเทศจีนที่ได้รับผลกระทบจากเชื้อ *Sclerotinia sclerotiorum* พบว่าเมล็ดที่ทำการเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อ *Bacillus subtilis* Tu-100 มีประสิทธิภาพในการลดโรคที่เกิดจากเชื้อ

Sclerotinia sclerotiorum เห็นได้จากน้ำหนักแห้ง ดัชนีการเกิดโรค อัตราการเกิดโรค และผลผลิต เมื่อเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการศึกษาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการเคลือบเมล็ด และการเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียว รายงานวิจัยของ Elad *et al.*, 1982 ได้ระบุว่า การใช้เมล็ดฝ้ายเคลือบด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถลดการเกิดโรคที่เกิดจาก *Rhizoctonia solani* ได้ถึง 83 เปอร์เซ็นต์ ในการปลูกภายในโรงเรือน และยังมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในสภาพแปลงปลูก โดยความรุนแรงของโรคลดลง 47-60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างจากการใช้ pentachloronitrobenzene นอกจากนี้รายงานของ สุพจน์ และคณะ (2554) ยังรายงานว่า การเคลือบเมล็ดข้าวโพดด้วยเชื้อ *Bacillus amyloliquifaciens* KPS46 สามารถลดการเกิดโรคใบขีดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (Aaa) ที่ปนเปื้อนในเมล็ดพันธุ์ และในสภาพแปลงปลูกข้าวโพดได้ โดยสามารถลดการเกิดโรคถึง 68.31 เปอร์เซ็นต์ และยังมีรายงานว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *Pseudomonas fluorescens* สามารถลดการเกิดโรค Charcoal rot ที่เกิดจากเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ในถั่วลิสงได้ โดยสามารถลดอาการของโรคได้มากถึง 61-70 เปอร์เซ็นต์ ที่ 30-105 วันหลังจากปลูก นอกจากนี้เชื่อดังกล่าวยังสามารถเพิ่มผลผลิตของถั่วลิสงได้ (Shweta *et al.*, 2008) งานวิจัยของ Kaewkham *et al.* (2016) ที่ได้ศึกษาการควบคุมเชื้อรา *Didymella bryoniae* สาเหตุโรค gummy stem blight ในเมล็ดพันธุ์แตงกวาด้วยการใช้เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* พบว่าการเคลือบด้วยปริมาณเชื้อแบคทีเรีย 1×10^5 และ 1×10^7 cfu สามารถลดการเกิดโรกระยะต้นกล้าได้ โดยพบว่า มีระดับความรุนแรงของโรคเพียง 25 เปอร์เซ็นต์ และ 23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เมล็ดไม่ได้เคลือบมีระดับความรุนแรงการเกิดโรคสูงถึง 47 เปอร์เซ็นต์ และรายงานของ วรณวิไล และคณะ (2554) พบว่าการเคลือบเมล็ดค่น้ำด้วยเชื้อรา *Gliocladium virens* ที่ความเข้มข้น 10^7 สปอร์/มิลลิลิตร เพื่อลดโรคเน่าคอดินจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum* เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 190 วัน สามารถควบคุมโรคเน่าคอดิน ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้ดีเท่ากับการใช้สารเคมี metalaxyl ซึ่งนอกจากนี้ยังมีงานวิจัยหลายๆที่ได้ผลเช่นเดียวกัน ได้แก่ การเคลือบเมล็ดแตงด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* เพื่อป้องกันโรคน้ำไหลที่เกิดจากเชื้อ *Botryosphaeria rhodina* การเคลือบเมล็ดหัวหอมด้วยเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* เพื่อป้องกันโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อ *Pythium ultimum* เป็นต้น (กุศลและพิศาล, 2555; O'Callaghan *et al.*, 2006)

บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการแยก endophytic bacteria จากราก ลำต้น และใบ ของต้นมะเขือเทศที่แข็งแรง พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของต้นกล้ามะเขือเทศ ในบางไอโซเลทสามารถส่งเสริมการเจริญของต้นกล้ามะเขือเทศได้ เมื่อนำ endophytic bacteria มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ พบว่าจากจำนวน endophytic bacteria 43 ไอโซเลท มี 3 ไอโซเลท ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ SuRW02, SuRW01 และ LbRW03 ในการทดลองครั้งนี้ endophytic bacteria มีกลไกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* 2 แบบ คือ การสร้างสารปฏิชีวนะ และกลไกการแข่งขัน หลังสิ้นสุดการทดสอบได้ทำการคัดเลือก endophytic bacteria ไอโซเลท SuRW02 มาใช้ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ต่อไป

ในการทดสอบความสามารถในการลดการเกิดโรคพบว่า ในการทดลองในห้องปฏิบัติการ ในระยะต้นกล้า และในสภาพแปลงปลูก พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria สามารถลดการเกิดโรคได้มีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับ เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยสารเคมีแคปแทน แต่แตกต่างกันมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ นอกจากนี้ยังพบว่า เมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศได้อีกด้วย

หลังจากการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์เป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่า endophytic bacteria ที่เคลือบบนเมล็ดพันธุ์มีปริมาณลดลงเรื่อย ในทุกๆเดือน ดังนั้นไม่ควรเก็บไว้เป็นระยะเวลานาน ในส่วนคุณภาพเมล็ดพันธุ์การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วย endophytic bacteria ไม่ส่งผลกระทบต่อความชื้นของเมล็ดพันธุ์ และยังมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เมื่อทำการเก็บรักษามาแล้ว 4 เดือน

ดังนั้นจากผลการทดลองเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย endophytic bacteria สามารถช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ และยังสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นมะเขือเทศได้อีกด้วย แต่ในการนำมาใช้ไม่ควรเก็บรักษาเป็นระยะเวลายาวนาน เนื่องจากปริมาณแบคทีเรียที่ทำการเคลือบมีปริมาณลดลง ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรค และส่งเสริมการเจริญเติบโต

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อเนื่องจากงานวิจัยที่รายงานไว้ในวิทยานิพนธ์ครั้งนี้อย่างน้อย 2 เรื่องคือ

1. ศึกษาวิธีการเคลื่อนเมล็ดพันธุ์ที่สามารถคงระดับจำนวนประชากร endophytic bacteria ให้สามารถเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้น
2. ศึกษาวิธีการนำ endophytic bacteria ไปใช้ประโยชน์ในการเพิ่มคุณภาพเมล็ดพันธุ์โดยวิธีการอื่นๆ ที่มีประสิทธิภาพ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- กฤติยา ไชยนอก. 2547. มะเขือเทศกับไลโคพีน. จุลสารข้อมูลพืชและสมุนไพร 21(3).
- กิตติวรรณ กล้ารอด และ บุญมี ศิริ 2557. การเปรียบเทียบชนิดของพอลิเมอร์ต่อการเคลือบเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศลูกผสม. แก่นเกษตร 42(ฉบับพิเศษ 1): 53-60.
- กุศล ถมมา และ พิศาล ศิริธร. 2558. ผลของแบคทีเรียปฏิบัณ *Bacillus subtilis* B006 ในการเคลือบเมล็ด เพื่อควบคุมเชื้อรา *Botryosphaeria rhodina* สาเหตุโรคน้ำไหลของแดง. วารสาร แก่นเกษตร 40: 53-60
- จักรพงษ์ กางโสภา บุญมี ศิริ และ อนันต์ วงเจริญ. 2557. ผลของการพอกเมล็ดร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อราต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ยาสูบเวอร์จิเนีย. การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ครั้งที่ 15 ณ วิทยาลัยการปกครองท้องถิ่น มหาวิทยาลัยขอนแก่น 594-602.
- ฉวีวรรณ สุกจิตร์. 2560. การเก็บข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตมะเขือเทศราชินี ในงานทดลองวิจัยของส่วนการใช้น้ำชลประทาน. วารสารข่าวเกษตรชลประทาน: 1-29.
- ชวาลา บุณศิริ. 2531. โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง
- เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. กรุงเทพฯ
- ธิดารัตน์ แก้วคำ. 2560. การยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช. วารสารแก่นเกษตร 45(1):197-208
- บุญมี ศิริ, ชินานาตย์ ไกรนารถ, นงนุช แสงหิน และพจนา สีขาว. 2554. ผลของการกระตุ้นการออกด้วย PEG6000 ร่วมกับสารเคมีชนิดต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศลูกผสม. วารสารแก่นเกษตร 39(พิเศษ):104-111.
- ปราโมทย์ ทิพย์ดวงตา. 2534. ยาเม็ดเคลือบฟิล์ม. ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- พจนา สีขาว. 2559. การเคลือบเมล็ดเพื่อป้องกันการปลอมแปลงเมล็ดพันธุ์. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 34 (3): 157-163
- พิศาล ศิริธร 2530. โรคของเมล็ดพันธุ์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- พิสิทธ์ สุทธิอารมณ และ ภารุณี ถนอมเกียรติ. 2535. Tablet Coating. แผนกวิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.
- เพ็ชรกิจ แดงประเสริฐ. 2530. ยาเม็ด. ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ภาณี ทองพำนัก, วุฒิชัย ทองคอนแอ, ประภาส ประสิทธิ์สูงเนิน, กนิษฐา สังคะหะ และญาณี มั่นอัน. 2540. การเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์พืช และการใช้ประโยชน์. รายงานผลการวิจัยประจำปี ทุนอุดหนุนวิจัยปี 2540. ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาฯ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม. 38 น.
- ภาณี ทองพำนัก, วุฒิชัย ทองคอนแอ, ประภาส ประสิทธิ์สูงเนิน, กนิษฐา สังคะหะ, ญาณี มั่นอัน และนันทนา ชื่นอ้อม. 2541. การเคลือบเมล็ดพันธุ์พืช. รายงานการสัมมนาเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ.
- มณีฉัตร นิกกรพันธุ์. 2538. มะเขือเทศ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 98 น.
- วรรณวิไล อินทนูจิระเดช แจ่มสว่างภาณี ทองพำนัก และ วุฒิชัย ทองคอนแอ (2554). การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Gliocladium virens* ที่เคลือบเมล็ดผักคะน้าในการป้องกันโรคเน่าระดับดินของต้นกล้า. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 39. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- วัชรานา นาทา วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์และ สุชีลา เตชะวงศ์เสถียร. 2557. ประเมินสายพันธุ์มะเขือเทศรับประทานสดผลใหญ่ต่อโรคเหี่ยวเหลืองจากเชื้อ *Fusarium wilt (Fusarium oxysporum f.sp. lycopersicirace)*. วารสารแก่นเกษตร 42 (ฉบับพิเศษ 3): 829-834.
- ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 69 น.
- ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรสุภัททษณ์ ฮอกระวัด. 2537. โรคผักตระกูลพริกและมะเขือเทศ. ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 249 น.
- สุพจน์ กาเซ็ม พรนภา คำกองแก้ว วราภรณ์ บุญเกิด และสุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2554. ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ชนิดใหม่สำหรับการรักษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการปรับใช้ในแปลงเพื่อควบคุมโรคใบขีดของข้าวโพดหวาน. ใน การประชุมวิชาการข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 35 ณ โรงแรมมารวย การ์เด้น กรุงเทพฯ. 198-205.
- สุรียา ทรายู และบุญมี สิริ. 2557. ผลของการพอกเมล็ด ร่วมกับแมกนีเซียมซัลเฟตและโพแทสเซียมคลอไรด์ ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ยาสูบ. ใน การประชุมทางวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11. 399-408.
- อรสา ดิสถาพร ธงชัย สภาพรศักดิ์ และจิราภา จอมไธสง. 2540. การปลูกมะเขือเทศ. เอกสารคำแนะนำ กรมส่งเสริมการเกษตร. 35 น.
- อนันต์ วงเจริญ. 2557. การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว (*Oryza sativa L.*) ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งราสาเหตุโรคข้าว. วารสารแก่นเกษตร. 42: 385-396.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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.
- Akköprü, A. and Demir, S., 2005. Biological control of Fusarium wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria. *Journal Phytopathology* 153: 544–550.
- Amasesan, N., Jayakumar, V., Kumar, K., and Thajuddin, N. (2012). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria and their effect on tomato (*Lycopersicon esculentum*) and chilli (*Capsicum annum*) seedling growth. *Annals of Microbiology* 62(2): 805-810.
- Bibi, F., Yasir, M., Song, G.C., Lee, S.Y. and Chung, Y.R., 2012. Diversity and characterization of endophytic bacteria associated with tidal flat plants and their antagonistic effects on Oomycetous plant pathogens. *Plant Pathology Journal* 28: 20–31.
- Bacon, C.W. and White, J.F. (2000). *Microbial Endophytes*, Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- Cazorla, F.M., D. Romero., A. Perez-Garcia., B.J.J. Lugtenberg., A. Vicente, and G. Bloemberg. 2007. Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizoplane displaying biocontrol activity. *J. Appl. Microbiol.* 103: 1950-1959
- Chandel, S., Allan, E. J., and Woodward, S. 2010. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on tomato by *Brevibacillus brevis*. *Journal of Phytopathology* 158(78):470-478.
- Compant, S., B. Duffy, and J. Nowak. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principle, mechanisms of action, and future prospects. *Appl Environ Microb.* 71: 4951-4959.
- Cook, R.J. and R.F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. *An. Phytopathol. Soc., St. Paul, Minnesota.* 539
- Elad, Y., Kalfon, A., and Chet, I. 1982. Control of *Rhizoctonia solani* in cotton by seed-coating with *Trichoderma* spp. spores. *Plant and Soil* 66(2): 279-281.
- Glick, B.R. 2012. *Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications.* Scientifica.16p.
- Hanssan, Z.A., Young, S.D., Hepburn, C. and Arizal, R. 1990. An evaluation of urea rubber matrices as slow-release fertilisers. *Fertilizer Research* 22: 63-70.

- Herrera, J.M., G. Rubio., L. Levy., J.A. Delgado., C.A. Lucho-Constantino., S. Islas-Valdez, and D. Pellet. 2016. Emerging and established technologies to increase nitrogen use efficiency of cereals. *Agronomy* 6(25): 1-19.
- Hu, X., Roberts, D. P., Maul, J. E., Emche, S. E., Liao, X., Guo, X., and Liu, S. 2011. Formulations of the endophytic bacterium *Bacillus subtilis* Tu-100 suppress *Sclerotinia sclerotiorum* on oilseed rape and improve plant vigor in field trials conducted at separate locations. *Canadian Journal of Microbiology* 57(7): 539-546.
- Hundley NJ. 2005. Structure Elucidation of bioactive compounds isolated from endophytes of *alstonia scholaris* and *acmena graveolens*. MS thesis. Univ. of Brigham Young : 99 p.
- Khan, A. L., Waqas, M., Kang, S. M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., and Lee, I. J. 2014. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *Journal of Microbiology* 52(8), 689-695.
- Kaewkham, T., R.K. Hynes, and B. Siri. 2016. The effect of accelerated seed ageing on cucumber germination following seed treatment with fungicides and microbial biocontrol agents for managing gummy stem blight by *Didymella bryoniae*. *Biocontrol Science and Technology* 26(8): 1048-1061.
- Kaufman, G. 1991. Seed coating: a tool for stand establishment; a stimulus to seed quality. *HortTechnology* 1(1): 98-102.
- Kumar, J., Nisar, K., Arun Kumar, M. B., Walia, S., Shakil, N. A., Prasad, R., and Parmar, B. S. 2007. Development of polymeric seed coats for seed quality enhancement of soybean (*Glycine max*). *Indian Journal of Agricultural Science*. 77(11): 738-743.
- Larkin, R. P., and Fravel, D. R. 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Disease* 82:1022-1028.
- Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. 1987. Application of *Trichoderma* and *Gliocladium* in alginate pellets for control of *Rhizoctonia* damping-off. *Plant Pathology* 36: 438-446.
- Liu, H., Y. He., H. Jiang., H. Peng., X. Huang., X. Zhang., L.S. Thomashow, and Y. Xu. 2007. Characterization of a phenazineproducing strain *Pseudomonas chlororaphis* GP72 with broadspectrum antifungal activity from green pepper rhizosphere. *Curr. Microbiol.* 54: 302-306.
- Marlatt, M.L., Correll, J.C., Kaufmann, P. and Cooper, P.E. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race3 in the United States. *Plant Disease*. 80 (12):1336-1342.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Mehnaz, S., D.N. Baig, and G. Lazarovits. 2010. Genetic and phenotypic diversity of plant growth promoting rhizobacteria isolated from sugarcane plants growing in Pakistan. *Journal Microbiology Biology* 20: 1614-1623
- Monda, E.O. 2002. Biological control of Fusarium wilt of tomato. *Journal of Tropical Microbiology* 1: 74–78.
- Moretti, M., Gilardi, G., Gullino, M.L., Garibaldi, A., 2008. Biological control potential of *Achromobacter xylosoxydans* for suppressing Fusarium wilt of tomato. *Int. Journal Botany* 4, 369–375.
- Nandhini, S., Sendhilvel, V., and Babu, S. 2012. Endophytic bacteria from tomato and their efficacy against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, the wilt pathogen. *Journal of Biopesticides* 5(2): 178.
- Nirmaladevi, D., Venkataramana, M., Srivastava, R. K., Uppalapati, S. R., Gupta, V. K., Yli-Mattila, T., and Chandra, N. S. 2016. Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Scientific reports* 6: 21367.
- Nejad, P., and Johnson, P. A. 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. *Biological control* 18(3): 208-21
- Noel, T.C., Sheng, C., Yost, C.K., Pharis, R.P., and Hynes, M.F., 1996. *Rhizobium leguminosarum* as a plant growth promoting rhizobacterium: direct growth promotion of canola and lettuce. *Canadian Journal of Microbiology* 42: 279-283.
- Nyoki, D. and Ndakidem, P.A. 2014. Effects of *Bradyrhizobium japonicum* inoculation and supplementation with phosphorus on macronutrients uptake in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *American Journal of Plant Science* 5(4): 442-451.
- O'Callaghan, M., Swaminathan, J. Lottmann., D. Wright, and T.A. Jackson. 2006. Seed coating with biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113. *NZ Plant Prot.* 59: 80-85.
- Patel, H.A., Patel, R.K., Khristi, S.K., Parikh, K., Rajendran, G., 2012. Isolation and characterization of bacterial endophytes from *Lycopersicon esculentum* plant and their plant growth promoting characteristics. *Nepal Journal of Biotechnology* 2: 37–52.
- Praveen, K.G., Desai, S., Amalraj, E.L.D., Mir Hassan Ahmed, S.K. and Reddy, G. 2012. Plant growth promoting *Pseudomonas* spp. from diverse agro-ecosystems of India for *Sorghum bicolor* L. *Journal Biofert Biopest.* 7: 1-8.

- Pamuk, S.G. 2004. Controlling water dynamic in Scots pine (*Pinus sylvertris* L.) seed before and during seedling emergence. Doctoral Thesis. Department of Silviculture, Swedish University of Agriculture Sciences, Uppsala, SWEDEN :1-29.
- Tank, N., and Saraf, M. 2009. Enhancement of plant growth and decontamination of nickel-spiked soil using PGPR. *J. Basic Microbiol.* 49: 195-204.
- Taylor, A. G., Eckenrode, C. J., and Straub, R. W. 2001. Seed coating technologies and treatments for onion: challenges and progress. *HortScience* 36(2): 199-205.
- Tu, L., He, Y., Shan, C., and Wu, Z. 2016. Preparation of microencapsulated *Bacillus subtilis* SL-13 seed coating agents and their effects on the growth of cotton seedlings. *BioMed Research International*: 1-8.
- Shahab, S., Nuzhat, A. and Nasreen, S.K. 2009. Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PSBs. *African Journal of. Agricultural Research* 4: 1312-1316.
- Sharma, K., Singh, U., Sharma, P., Kumar, A., and Sharma, L. 2015. Seed treatments for sustainable agriculture-A review. *Journal of Applied and Natural Science* 7(1): 521-539.
- Shweta, B., Maheshwari, D. K., Dubey, R. C., Arora, D. S., Bajpai, V. K., and Kang, S. C. 2008. Beneficial effects of *fluorescent pseudomonads* on seed germination, growth promotion, and suppression of charcoal rot in groundnut (*Arachis hypogea* L.). *Journal Microbiol Biotechnol* 18: 1578-1583.
- Wang, S., Wang, W., Jin, Z., Du, B., Ding, Y., Ni, T., and Jiao, F., 2013. Screening and diversity of plant growth promoting endophytic bacteria from peanut. *African Journal of Microbiology Research* 7 :875–884.

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สูตรอาหาร Water agar (WA)

วุ้น	17	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

2. สูตรอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
วุ้น	10	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

3. สูตรอาหาร Nutrient agar (NA)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
วุ้น	17	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

5. สูตรอาหาร Nutrient broth (NB)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของ endophytic bacteria ต่อ ความสูง จำนวนใบ และการรอดชีวิตของต้นกล้ามะเขือเทศ

	ความสูง (เซนติเมตร)					จำนวนใบ					การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)				
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย
control	6	7	5.5	6.7	6.3	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
LaRW01	5	5.5	7	6.5	6	2	1.8	2	2	1.95	100	100	100	100	100
LaRW02	5.5	6	5.5	4.5	5.375	1.8	1.8	2	2	1.9	100	80	100	100	95
LaRW03	6	7.5	6	6.5	6.5	2	2	2	2	2	100	100	80	100	95
LaRY01	4	6	7	5	5.5	2	1.8	1.8	2	1.9	100	100	100	100	100
LaKY01	4.5	5	6	6.5	5.5	1.8	2	2	2	1.95	100	100	100	100	100
LaKY02	6	6	4.5	5	5.375	2	1.6	2	2	1.9	100	100	100	100	100
LaKY03	6	5	6	5.5	5.625	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
LaKW01	5	6	7	6	6	2	2	1.8	1.8	1.9	100	100	100	100	100
LaKW02	6	5	7	5.5	5.875	1.8	1.8	2	2	1.9	80	80	80	100	85
LaLW01	6	6	5.5	6	5.875	1.8	2	2	2	1.95	100	100	100	100	100
LaLW02	6	7	5	4	5.5	1.8	2	2	2	1.95	100	100	100	100	100
LaLW03	6	6.5	6	6	6.125	1.6	2	2	2	1.9	100	100	100	100	100
LaLY01	6.5	4.5	5.5	6.5	5.75	1.8	1.8	2	2	1.9	100	100	100	100	100
LaLY02	4.5	5.5	5	7	5.5	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของ endophytic bacteria ต่อ ความสูง จำนวนใบ และการรอดชีวิตของต้นกล้ามะเขือเทศ (ต่อ)

	ความสูง (เซนติเมตร)					จำนวนใบ					การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)				
	ซ้้า1	ซ้้า2	ซ้้า3	ซ้้า4	เฉลี่ย	ซ้้า1	ซ้้า2	ซ้้า3	ซ้้า4	เฉลี่ย	ซ้้า1	ซ้้า2	ซ้้า3	ซ้้า4	เฉลี่ย
LaLY03	6	4	5	6	5.25	1.8	1.8	2	2	1.9	100	100	100	100	100
LaTY01	6	5.5	6	5	5.625	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
LaTY02	6	5.5	5	7	5.875	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
LaTW01	5.5	7	5.5	6.5	6.125	1.8	2	2	2	1.95	100	100	100	100	100
LaTO01	6	6.5	5.5	6	6	1.8	2	2	2	1.95	100	100	100	100	100
SuLW01	7	7	6	5.5	6.375	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
SuLW02	7	6	5	5.5	5.875	2	2	1.8	2	1.95	100	100	100	100	100
SuLW03	5.5	6	5.5	6	5.75	1.8	2	2	2	1.95	100	100	100	100	100
SuLW04	6	5.5	6	5.5	5.75	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
SuLY01	7	5	6	6	6	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
SuLY02	6.5	6	5	6.5	6	1.8	1.8	1.8	2	1.85	100	100	100	100	100
SuLY03	5.5	5.5	6	7	6	2	2	2	1.8	1.95	100	100	100	100	100
SuLO01	6	7	6	6.5	6.375	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
SuRW01	5	6	5	7	5.75	2	2	2	2	2	80	100	100	100	95

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลของ endophytic bacteria ต่อ ความสูง จำนวนใบ และการรอดชีวิตของต้นกล้ามะเขือเทศ (ต่อ)

	ความสูง (เซนติเมตร)					จำนวนใบ					การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์)				
	ซ้้า1	ซ้้า2	ซ้้า3	ซ้้า4	เฉลี่ย	ซ้้า1	ซ้้า2	ซ้้า3	ซ้้า4	เฉลี่ย	ซ้้า1	ซ้้า2	ซ้้า3	ซ้้า4	เฉลี่ย
SuRW03	6.5	7	6.5	5.5	6.375	2	2	2	2	2	100	100	100	80	95
SuRW04	7.5	6	5.5	5	6	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
SuRY01	7	6.5	5.5	6	6.25	1.8	2	2	2	1.95	100	100	100	100	100
SuRY02	8	6	7	6.5	6.875	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
SuRY03	7	6	6	7.5	6.625	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
SuRB01	6.5	7	4	7	6.125	2	1.8	2	2	1.95	100	100	100	100	100
SuTW01	7	6	5.5	6	6.125	1.8	2	1.8	2	1.9	100	100	100	100	100
SuKY01	5	8	6.5	7	6.625	2	2	2	2	2	100	100	100	100	100
LbTW01	6.5	6	5.5	5	5.75	1.8	2	1.8	2	1.9	100	100	100	100	100
LbLW01	7	4.5	5	6.5	5.75	1.8	2	2	2	1.95	80	80	100	100	90
LbLW02	6	6	5.5	5.5	5.75	1.8	2	1.8	2	1.9	100	100	100	100	100
LbRW01	5	5.5	6.5	6	5.75	1.8	1.8	2	1.8	1.85	100	100	100	100	100
LbRW02	6	6.5	5.5	5.5	5.875	2	1.8	2	2	1.95	100	100	100	100	100
LbRW03	5.5	6	5.5	6.5	5.875	2	1.8	2	2	1.95	100	100	100	100	100

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลของ endophytic bacteria ต่อ น้ำหนักราก น้ำหนักต้น น้ำหนักรวม และ %svi ของต้นกล้ามะเขือเทศ

ไอโซเลท	น้ำหนักราก (กรัม)					น้ำหนักต้น (กรัม)					น้ำหนักรวม(กรัม)					%svi
	ซ้า1	ซ้า2	ซ้า3	ซ้า4	เฉลี่ย	ซ้า1	ซ้า2	ซ้า3	ซ้า4	เฉลี่ย	ซ้า1	ซ้า2	ซ้า3	ซ้า4	เฉลี่ย	
control	0.495	0.41	0.455	0.45	0.4525	0.095	0.09	0.095	0.075	0.08875	0.59	0.5	0.55	0.525	0.54125	100
LaRW01	0.545	0.55	0.605	0.55	0.5625	0.125	0.145	0.135	0.14	0.13625	0.67	0.695	0.74	0.69	0.69875	129.0993
LaRW02	0.465	0.47	0.475	0.47	0.47	0.095	0.115	0.065	0.105	0.095	0.56	0.585	0.54	0.575	0.565	99.16859
LaRW03	0.42	0.415	0.455	0.455	0.43625	0.12	0.115	0.125	0.115	0.11875	0.54	0.53	0.58	0.57	0.555	97.41339
LaRY01	0.465	0.465	0.465	0.47	0.46625	0.06	0.075	0.07	0.08	0.07125	0.525	0.54	0.535	0.55	0.5375	99.30716
LaKY01	0.515	0.545	0.5	0.515	0.51875	0.07	0.065	0.08	0.075	0.0725	0.585	0.61	0.58	0.59	0.59125	109.2379
LaKY02	0.41	0.445	0.43	0.465	0.4375	0.065	0.08	0.07	0.07	0.07125	0.475	0.525	0.5	0.535	0.50875	93.99538
LaKY03	0.55	0.57	0.61	0.515	0.56125	0.095	0.085	0.08	0.085	0.08625	0.645	0.655	0.69	0.6	0.6475	119.6305
LaKW01	0.455	0.465	0.48	0.46	0.465	0.095	0.09	0.1	0.095	0.095	0.55	0.555	0.58	0.555	0.56	103.4642
LaKW02	0.42	0.415	0.455	0.46	0.4375	0.075	0.065	0.075	0.055	0.0675	0.495	0.48	0.53	0.515	0.505	79.30716
LaLW01	0.425	0.445	0.45	0.455	0.44375	0.125	0.12	0.115	0.125	0.12125	0.55	0.565	0.565	0.58	0.565	104.388
LaLW02	0.56	0.55	0.66	0.48	0.5625	0.1	0.135	0.13	0.115	0.12	0.66	0.685	0.79	0.595	0.6825	126.097
LaLW03	0.46	0.465	0.47	0.475	0.4675	0.12	0.125	0.14	0.11	0.12375	0.58	0.59	0.61	0.585	0.59125	109.2379
LaLY01	0.435	0.44	0.44	0.43	0.43625	0.085	0.105	0.075	0.08	0.08625	0.52	0.545	0.515	0.51	0.5225	96.5358
LaLY02	0.525	0.625	0.58	0.515	0.56125	0.125	0.16	0.125	0.095	0.12625	0.65	0.785	0.705	0.61	0.6875	127.0208

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลของ endophytic bacteria ต่อ น้ำหนักราก น้ำหนักต้น น้ำหนักรวม และ %svi ของต้นกล้ามะเขือเทศ (ต่อ)

ไอโซเลท	น้ำหนักราก (กรัม)					น้ำหนักต้น (กรัม)					น้ำหนักรวม(กรัม)					%svi
	ซ้า1	ซ้า2	ซ้า3	ซ้า4	เฉลี่ย	ซ้า1	ซ้า2	ซ้า3	ซ้า4	เฉลี่ย	ซ้า1	ซ้า2	ซ้า3	ซ้า4	เฉลี่ย	
LaLY03	0.465	0.41	0.42	0.46	0.43875	0.095	0.065	0.105	0.115	0.095	0.56	0.475	0.525	0.575	0.53375	98.61432
LaTY01	0.565	0.555	0.57	0.56	0.5625	0.115	0.125	0.105	0.12	0.11625	0.68	0.68	0.675	0.68	0.67875	125.4042
LaTY02	0.585	0.56	0.59	0.58	0.57875	0.115	0.125	0.11	0.12	0.1175	0.7	0.685	0.7	0.7	0.69625	128.6374
LaTW01	0.44	0.415	0.43	0.43	0.42875	0.065	0.07	0.06	0.08	0.06875	0.505	0.485	0.49	0.51	0.4975	91.91686
LaTO01	0.64	0.64	0.59	0.66	0.6325	0.115	0.12	0.115	0.11	0.115	0.755	0.76	0.705	0.77	0.7475	138.1062
SuLW01	0.505	0.6	0.485	0.555	0.53625	0.115	0.11	0.125	0.115	0.11625	0.62	0.71	0.61	0.67	0.6525	120.5543
SuLW02	0.46	0.425	0.46	0.42	0.44125	0.07	0.06	0.08	0.075	0.07125	0.53	0.485	0.54	0.495	0.5125	94.68822
SuLW03	0.45	0.43	0.45	0.575	0.47625	0.115	0.09	0.13	0.15	0.12125	0.565	0.52	0.58	0.725	0.5975	110.3926
SuLW04	0.475	0.48	0.48	0.475	0.4775	0.065	0.07	0.075	0.06	0.0675	0.54	0.55	0.555	0.535	0.545	100.6928
SuLY01	0.46	0.465	0.495	0.47	0.4725	0.08	0.075	0.09	0.07	0.07875	0.54	0.54	0.585	0.54	0.55125	101.8476
SuLY02	0.43	0.465	0.45	0.425	0.4425	0.085	0.085	0.09	0.085	0.08625	0.515	0.55	0.54	0.51	0.52875	97.69053
SuLY03	0.6	0.585	0.58	0.66	0.60625	0.12	0.13	0.12	0.12	0.1225	0.72	0.715	0.7	0.78	0.72875	134.642
SuLO01	0.48	0.47	0.465	0.45	0.46625	0.095	0.09	0.105	0.09	0.095	0.575	0.56	0.57	0.54	0.56125	103.6952
SuRW01	0.425	0.42	0.45	0.475	0.4425	0.06	0.09	0.05	0.075	0.06875	0.485	0.51	0.5	0.55	0.51125	89.73441
SuRW02	0.525	0.505	0.525	0.52	0.51875	0.12	0.125	0.13	0.135	0.1275	0.645	0.63	0.655	0.655	0.64625	119.3995

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลของ endophytic bacteria ต่อ น้ำหนักราก น้ำหนักต้น น้ำหนักรวม และ %svi ของต้นกล้ามะเขือเทศ (ต่อ)

ไอโซเลข	น้ำหนักราก (กรัม)					น้ำหนักต้น (กรัม)					น้ำหนักรวม(กรัม)					%svi
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย	
SuRW03	0.44	0.45	0.435	0.425	0.4375	0.07	0.07	0.065	0.07	0.06875	0.51	0.52	0.5	0.495	0.50625	88.85681
SuRW04	0.55	0.56	0.53	0.515	0.53875	0.135	0.115	0.115	0.095	0.115	0.685	0.675	0.645	0.61	0.65375	120.7852
SuRY01	0.505	0.695	0.66	0.66	0.63	0.13	0.115	0.125	0.135	0.12625	0.635	0.81	0.785	0.795	0.75625	139.7229
SuRY02	0.65	0.505	0.64	0.625	0.605	0.08	0.09	0.085	0.09	0.08625	0.73	0.595	0.725	0.715	0.69125	127.7136
SuRY03	0.44	0.465	0.465	0.495	0.46625	0.115	0.11	0.125	0.12	0.1175	0.555	0.575	0.59	0.615	0.58375	107.8522
SuRB01	0.49	0.535	0.515	0.61	0.5375	0.11	0.12	0.12	0.115	0.11625	0.6	0.655	0.635	0.725	0.65375	120.7852
SuTW01	0.6	0.555	0.575	0.58	0.5775	0.125	0.15	0.115	0.12	0.1275	0.725	0.705	0.69	0.7	0.705	130.254
SuKY01	0.545	0.55	0.455	0.6	0.5375	0.12	0.12	0.115	0.115	0.1175	0.665	0.67	0.57	0.715	0.655	121.0162
LbTW01	0.42	0.465	0.465	0.415	0.44125	0.065	0.06	0.075	0.075	0.06875	0.485	0.525	0.54	0.49	0.51	94.22633
LbLW01	0.445	0.485	0.49	0.48	0.475	0.09	0.08	0.09	0.09	0.0875	0.535	0.565	0.58	0.57	0.5625	93.53349
LbLW02	0.505	0.555	0.54	0.55	0.5375	0.115	0.13	0.135	0.125	0.12625	0.62	0.685	0.675	0.675	0.66375	122.6328
LbRW01	0.445	0.425	0.45	0.425	0.43625	0.07	0.105	0.06	0.05	0.07125	0.515	0.53	0.51	0.475	0.5075	93.76443
LbRW02	0.575	0.59	0.56	0.58	0.57625	0.085	0.08	0.105	0.075	0.08625	0.66	0.67	0.665	0.655	0.6625	122.4018
LbRW03	0.425	0.465	0.46	0.425	0.44375	0.07	0.065	0.065	0.075	0.06875	0.495	0.53	0.525	0.5	0.5125	94.68822

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลของการทดสอบความสามารถของ endophytic bacteria ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

ไอโซเลท	ขนาดของโคโลนี					เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>				
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ค่าเฉลี่ย	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ค่าเฉลี่ย
control	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0
LaRW01	7.4	7	6.5	7.1	7	17.77	22.22	27.77	21.11	22.22
LaRW02	6.6	7.25	6.8	7.15	6.95	26.66	19.44	24.44	20.55	22.77
LaRW03	6.05	6.65	6.75	6.25	6.425	32.77	26.11	25	30.55	28.61
LaRY01	5.75	5.1	6.25	5.75	5.7125	36.11	43.33	30.55	36.11	36.52
LaKY01	9	8.8	8.9	8.4	8.775	0	2.22	1.11	6.66	2.5
LaKY02	9	9	9	8.8	8.95	0	0	0	2.22	0.55
LaKY03	8.75	9	9	9	8.9375	2.77	0	0	0	0.694
LaKW01	8.75	8.5	8.75	9	8.75	2.77	5.55	2.77	0	2.77
LaKW02	6.75	8.5	8.7	9	8.2375	25	5.55	3.33	0	8.47
LaLW01	8.8	7.35	7.1	7.25	7.625	2.22	18.33	21.11	19.44	15.27
LaLW02	8.25	7.25	8.4	8.25	8.0375	8.33	19.44	6.66	8.33	10.69
LaLW03	5.9	6.75	5.8	6.6	6.2625	34.44	25	35.55	26.66	30.41
LaLY01	5.8	6.23	6.75	6.25	6.2575	35.55	30.77	25	30.55	30.47
LaLY02	7.05	7.6	7.6	7.9	7.5375	21.66	15.55	15.55	12.22	16.25

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลของการทดสอบความสามารถของ endophytic bacteria ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ (ต่อ)

ไอโซเลท	ขนาดของโคโลนี					เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>				
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ค่าเฉลี่ย	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ค่าเฉลี่ย
LaLY03	7.5	8.25	7.45	6.8	7.5	16.66	8.33	17.22	24.44	16.66
LaTY01	9	9	9	8.7	8.925	0	0	0	3.33	0.83
LaTY02	9	9	8.8	8.7	8.875	0	0	2.22	3.33	1.38
LaTW01	6.75	5.8	6.7	7	6.5625	25	35.55	25.55	22.22	27.08
LaTO01	7	7.25	7.6	7.55	7.35	22.22	19.44	15.55	16.11	18.33
SuLW01	9	8.9	9	9	8.975	0	1.11	0	0	0.27
SuLW02	7.2	6.6	6.8	8	7.15	20	26.66	24.44	11.11	20.55
SuLW03	6.5	6.5	5.4	6.25	6.1625	27.78	27.77	40	30.55	31.52
SuLW04	9	8.8	9	8.9	8.925	0	2.22	0	1.11	0.83
SuLY01	9	9	8.8	8.7	8.875	0	0	2.22	3.33	1.38
SuLY02	7	7.25	7	7.17	7.105	22.22	19.44	22.22	20.33	21.05
SuLY03	7.1	6.75	6.75	7	6.9	21.11	25	25	22.22	23.33
SuLO01	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0
SuRW01	2.8	2.4	2.15	4.05	2.85	68.88	73.33	76.11	55	68.33
SuRW02	2.8	2.25	2.65	2.4	2.525	68.88	75	70.55	73.33	71.94

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลของการทดสอบความสามารถของ endophytic bacteria ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ (ต่อ)

ไอโซเลท	ขนาดของโคโลนี					เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i>				
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ค่าเฉลี่ย	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ค่าเฉลี่ย
SuRW03	7.4	8	8.25	8.7	8.0875	17.77	11.11	8.33	3.33	10.13
SuRW04	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0
SuRY01	7.25	6.65	7	7.1	7	19.44	26.11	22.22	21.11	22.22
SuRY02	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0
SuRY03	9	8.25	9	8.8	8.7625	0	8.33	0	2.22	2.63
SuRB01	6.25	7.25	8.8	8	7.575	30.55	19.44	2.22	11.11	15.83
SuTW01	7	6.7	7.15	7.1	6.9875	22.22	25.55	20.55	21.11	22.36
SuKY01	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0
LbTW01	7.3	6.85	7.35	7	7.125	18.88	23.88	18.33	22.22	20.83
LbLW01	7.75	7.25	7.15	7	7.2875	13.88	19.44	20.55	22.22	19.02
LbLW02	7	6.9	6.9	7.1	6.975	22.22	23.33	23.33	21.11	22.5
LbRW01	7.25	7.15	6.9	7.2	7.125	19.44	20.55	23.33	20	20.83
LbRW02	7.25	7.1	7.25	7	7.15	19.44	21.11	19.44	22.22	20.55
LbRW03	2.75	3.15	2.95	2.6	2.8625	69.44	65	67.22	71.11	68.19

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน

เดือน	กรรมวิธี	ความงอกของเมล็ดพันธุ์ (เปอร์เซ็นต์)					ความชื้นของเมล็ดพันธุ์(เปอร์เซ็นต์)				
		ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย
0	NCS ^{1/}	98	96	96	98	97	7.32	6.03	6.30	6.58	6.56
	CS	98	96	96	97	96.75	7.39	6.03	7.37	5.63	6.60
	CS+B	98	97	97	98	97.5	7.27	7.30	7.23	7.92	7.18
	CS+C	99	98	95	98	97.5	7.66	7.47	7.39	7.25	7.44
1	NCS ^{1/}	95	90	95	90	92.5	8.82	9.42	6.00	6.87	7.78
	CS	97	96	95	95	95.75	7.05	7.77	7.56	9.04	7.86
	CS+B	97	98	100	98	98.25	6.42	7.09	9.34	7.61	7.62
	CS+C	99	98	96	98	97.75	6.55	6.74	10.15	8.88	8.08
2	NCS ^{1/}	95	94	92	95	94	7.36	7.07	8.33	8.76	7.88
	CS	96	94	98	96	96	8.01	8.03	7.93	8.30	8.07
	CS+B	100	99	98	98	98.75	8.07	9.23	9.11	6.88	8.32
	CS+C	97	95	95	94	95.25	8.01	8.10	8.30	8.64	8.33

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน,

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลของการเคลือบเมล็ดพันธุ์ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน (ต่อ)

เดือน	กรรมวิธี	ความงอกของเมล็ดพันธุ์ (เปอร์เซ็นต์)					ความชื้นของเมล็ดพันธุ์(เปอร์เซ็นต์)				
		ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	เฉลี่ย
3	NCS ^{1/}	92	90	90	89	92	7.45	8.48	6.87	7.85	7.66
	CS	90	92	92	90	90	8.54	7.86	8.12	7.89	8.10
	CS+B	95	95	98	95	95	8.43	8.30	8.31	8.31	8.34
	CS+C	92	92	94	94	92	8.54	8.30	8.30	8.62	8.44
4	NCS ^{1/}	90	89	90	89	90	7.02	9.77	7.95	7.10	7.96
	CS	92	92	91	90	92	7.88	8.88	7.90	8.03	8.17
	CS+B	97	93	95	96	97	8.46	8.36	8.25	8.48	8.39
	CS+C	92	93	93	92	92	8.18	8.00	8.05	9.82	8.51

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน,

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลของเมล็ดพันธุ์เคลือบต่อความยาวรากของต้นกล้ามะเขือเทศในการทดลองให้ห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	ความยาวราก (เซนติเมตร)										เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 6	ซ้ำที่ 7	ซ้ำที่ 8	ซ้ำที่ 9	ซ้ำที่ 10	
NCS ^{1/}	3	2	2	2.4	3.2	2.3	2.7	2	1.7	2.2	2.35
CS	2.8	2	3	3	3	2	2	2	4	3	2.68
CS+B	3.2	3.2	2.8	3.3	3.5	2.6	2.3	3	3.2	3.5	3.06
CS+C	2.5	2	2	3	2	3	3	3.2	2	2	2.47
FNCS	1.5	1	0.6	1.2	1	0.7	1	0.6	1.2	1.3	1.01
FCS	1	1	1.5	1	1.5	1.5	2	1.5	0.8	0.8	1.26
FCS+B	2	1.5	2.3	3	2	2.5	2.3	2.5	2.5	2.3	2.29
FCS+C	1.8	1	1.1	1	0.5	1.2	1.3	1	1.3	0.8	1.1

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน, FNCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria +การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลของเมล็ดพันธุ์เคลือบต่อความยาวต้นของต้นกล้ามะเขือเทศในการทดลองให้ห้องปฏิบัติการ (ต่อ)

กรรมวิธี	ความยาวต้น (เซนติเมตร)										เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 6	ซ้ำที่ 7	ซ้ำที่ 8	ซ้ำที่ 9	ซ้ำที่ 10	
NCS ^{1/}	4	3	2.5	4	5.2	3.5	4.7	4	2.7	2.7	3.63
CS	3.8	4	4	3.5	4	3	2.5	3.5	4.5	5.5	3.83
CS+B	5.2	5.8	5	5.2	4.8	5.5	5.1	5.5	5.5	5.7	5.33
CS+C	4.5	4.5	4.5	3.5	4.5	4.5	4	4	3.5	4	4.15
FNCS	2.1	1.5	1.5	2.1	2	2	2	1.2	0.5	0.5	1.54
FCS	1.8	2.1	4	2.2	2.7	2.4	2.2	2.4	1.7	1.8	2.33
FCS+B	4.3	3	3.5	5.6	3.5	4	3.3	4	3.5	3.2	3.79
FCS+C	2.4	2.2	2.1	2.3	1.9	2.3	2.5	2.8	2.5	2	2.3

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน, FNCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria +การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลของเมล็ดพันธุ์เคลือบต่อน้ำหนักของต้นกล้ามะเขือเทศในการทดลองระยะต้นกล้า

กรรมวิธี	น้ำหนักต้นกล้า (กรัม)										เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 6	ซ้ำที่ 7	ซ้ำที่ 8	ซ้ำที่ 9	ซ้ำที่ 10	
NCS ^{1/}	0.17	0.2	0.34	0.25	0.22	0.19	0.17	0.15	0.11	0.16	0.196
CS	0.18	0.3	0.22	0.21	0.32	0.37	0.39	0.22	0.29	0.28	0.278
CS+B	0.2	0.43	0.33	0.38	0.26	0.5	0.39	0.3	0.23	0.2	0.322
CS+C	0.56	0.21	0.35	0.24	0.21	0.24	0.2	0.23	0.24	0.22	0.27
FNCS	0.07	0.12	0.15	0.07	0.08	0.14	0.05	0.09	0.08	0.11	0.096
FCS	0.1	0.15	0.08	0.15	0.08	0.09	0.08	0.11	0.1	0.12	0.106
FCS+B	0.14	0.19	0.1	0.12	0.12	0.18	0.15	0.08	0.18	0.09	0.135
FCS+C	0.16	0.05	0.08	0.12	0.05	0.16	0.08	0.09	0.15	0.06	0.1

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน, FNCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria +การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลของเมล็ดพันธุ์เคลือบต่อความสูงของต้นกล้ามะเขือเทศในการทดลองระยะต้นกล้า

กรรมวิธี	ความสูงต้นกล้า(เซนติเมตร)										เฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 6	ซ้ำที่ 7	ซ้ำที่ 8	ซ้ำที่ 9	ซ้ำที่ 10	
NCS ^{1/}	9	10.2	13.2	10.3	10	11	9	8.2	5.9	9	9.58
CS	9.3	10.9	9.8	10.3	13	14.7	14.9	12	12.9	12.7	12.05
CS+B	10.5	17.3	10.7	14.3	12.5	18.5	14.4	13.6	13	9.5	13.43
CS+C	17.8	12	13	10.5	10	10.2	9.8	11	10.9	10.6	11.58
FNCS	6.3	5.7	6	6.8	5.5	5.8	6.4	5.4	5	6	5.89
FCS	6.3	6	5	5.9	5.6	5.8	5.8	5.9	6	6.1	5.84
FCS+B	6.6	9.3	6	6.8	7	9	8	5.6	8.9	6	7.32
FCS+C	8	5.8	5.9	6	6	7.3	5.6	5.8	8.3	5	6.37

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน, FNCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria +การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลของเมล็ดพันธุ์เคลือบต่อจำนวนใบของต้นกล้ามะเขือเทศในการทดลองระยะต้นกล้า

กรรมวิธี	จำนวนใบ										เฉลี่ย
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	ซ้ำ 7	ซ้ำ 8	ซ้ำ 9	ซ้ำ 10	
NCS ^{1/}	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2.6
CS	3	3	2	2	3	3	3	3	3	3	2.8
CS+B	2	4	3	4	3	4	4	3	2	2	3.1
CS+C	4	3	4	3	2	3	2	3	3	2	2.9
FNCS	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
FCS	2	2	2	2	2	2	2	3	2	3	2.2
FCS+B	3	3	2	2	2	3	2	2	3	2	2.4
FCS+C	2	2	2	2	6	3	2	2	3	2	2.6

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน, FNCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria +การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลของเมล็ดพันธุ์เคลือบต่อน้ำหนัก และเส้นผ่าศูนย์กลางของต้นมะเขือเทศในการทดลองในสภาพแปลงปลูก

กรรมวิธี	น้ำหนักต้น (กรัม)					เส้นผ่าศูนย์กลางของต้นมะเขือเทศ (มิลลิเมตร)								
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	เฉลี่ย	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	ซ้ำ 7	ซ้ำ 8	เฉลี่ย
NCS ^{1/}	120	113	165	139	134.25	3.98	5.73	3.66	4.14	4.29	3.18	3.82	3.98	4.10
CS	154	163	116	153	146.5	4.29	4.45	0.79	4.77	3.18	4.45	3.66	3.98	3.70
CS+B	204	168	243	116	182.75	4.77	4.14	4.77	3.66	4.45	3.50	4.77	4.61	4.33
CS+C	176	114	134	128	138	5.25	3.98	4.29	5.57	3.18	5.57	4.45	3.82	4.51
FNCS	83	112	111	120	106.5	3.98	3.50	3.50	3.343	0	0	0	0	1.79
FCS	142	143	140	129	138.5	3.50	3.50	4.29	3.98	3.50	3.98	0	0	2.84
FCS+B	148	120	134	157	139.75	5.09	4.45	4.61	4.29	4.77	4.45	4.45	3.50	4.45
FCS+C	85	194	104	132	128.75	3.98	3.02	5.09	4.29	4.29	3.82	3.50	4.77	4.10

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน, FNCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria +การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*

ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลของเมล็ดพันธุ์เกลือต่อความสูงของต้นมะเขือเทศในการทดลองในสภาพแปลงปลูก

กรรมวิธี	น้ำหนักผลผลิตต่อต้น (กรัม)								
	ต้น1	ต้น2	ต้น3	ต้น4	ต้น5	ต้น6	ต้น7	ต้น8	เฉลี่ย
NCS ^{1/}	134	123	135	110	123	100	130	100	119.375
CS	106	110	110	143	105	125	100	120	114.875
CS+B	160	162	170	140	145	155	145	147	153
CS+C	135	145	83	134	85	90	120	150	117.75
FNCS	120	137	95	110	0	0	0	0	57.75
FCS	134	126	137	0	100	110	0	0	75.875
FCS+B	135	130	125	124	140	134	137	100	128.125
FCS+C	85	95	135	110	138	132	80	145	115

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เกลือ, CS = เมล็ดพันธุ์เกลือด้วยสารเกลือเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เกลือด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เกลือด้วย สารเคมีแคปแทน, FNCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เกลือ+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS = เมล็ดพันธุ์เกลือด้วยสารเกลือเพียงอย่างเดียว+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+B = เมล็ดพันธุ์เกลือด้วย endophytic bacteria +การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+C = เมล็ดพันธุ์เกลือด้วย สารเคมีแคปแทน+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*

ตารางภาคผนวกที่ 12 ผลของเมล็ดพันธุ์เคลือบต่อน้ำหนักผลผลิตต่อต้นในการทดลองในสภาพแปลงปลูก

กรรมวิธี	น้ำหนักผลผลิตต่อต้น (กรัม)								
	ต้น1	ต้น2	ต้น3	ต้น4	ต้น5	ต้น6	ต้น7	ต้น8	เฉลี่ย
NCS ^{1/}	215	518.16	398.96	383.4	286.74	307.06	446.18	380.36	366.9825
CS	480	521.42	238	467.84	379.52	407.36	497.2	201.56	399.1125
CS+B	258.16	292.76	51.1	392.96	340.9	385.84	541.28	598.8	357.725
CS+C	383.4	537.2	505.42	221.52	421.68	339.2	392.22	424.68	403.165
FNCS	121.02	84.56	138.12	0	0	0	0	0	42.9625
FCS	118.76	352.44	92.42	263.22	297.7	180.82	0	0	163.17
FCS+B	345.48	371.1	461.54	253.62	485.24	432.62	405.92	507	407.815
FCS+C	411.38	292	340.8	360.42	134.1	505.26	476.3	326	355.7825

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน, FNCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria +การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*

ตารางภาคผนวกที่ 13 ผลของเมล็ดพันธุ์เคลือบต่อค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้ของผลผลิตมะเขือเทศในการทดลองในสภาพแปลงปลูก

กรรมวิธี	ค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°brix)																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	เฉลี่ย
NCS ^{1/}	7	5	8	6	5	5	6	7	7	5	5	6	5	4	8	6	5	4	4	5	6	5.66
CS	5	6	6	6	6	5	6	5	6	6	6	6	5	6	4.5	5	6	5	4	5	5	5.45
CS+B	6	7	7	7	6	6	6	6	7	7	9	7	7	6	8	9	7.5	7	7	6.5	7	6.95
CS+C	5	4	5	7	5	5	6	5	5	6	5	5	6	5	6	6	6	7	6	7	5	5.57
FNCS	4	6	4	5	5	6	6	5	6	5	5	5	5	6	5	7	6	5	4	5	5	5.23
FCS	6	6	5	5	6	5	6	5.5	5	7	6	5	5	5.5	6	5	7	6	5	6	5	5.61
FCS+B	7	5	6	6	5	5	6	6	6	5	5	6	6	6	6	6	6	7	6	7	7	5.95
FCS+C	6	5	7	7	5	6	6	5	6	5	4	6	7	6	6	6	6	5	7	6	6	5.85

^{1/} NCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ, CS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว, CS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria และ CS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน, FNCS = เมล็ดพันธุ์ไม่เคลือบ+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+B = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย endophytic bacteria +การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*, FCS+C = เมล็ดพันธุ์เคลือบด้วย สารเคมีแคปแทน+การปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum*

ภาคผนวก ข.
ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

Prasom, P., Sikhao, P., and Koohakan, P. 2017. *In Vitro* Study of Endophytic Bacteria Isolated from Tomato Plant against *Fusarium oxysporum*. International Journal of Agricultural Technology. Vol. 13(7.1): 1217-1230



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว ปาณิศา ประสม
วัน เดือน ปีเกิด	11 มกราคม 2537
ที่อยู่	42 หมู่ที่ 8 ตำบลบ้านสา อำเภอแจ้ห่ม จังหวัดลำปาง 52120
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2558 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2560 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ความชำนาญเฉพาะด้าน	1. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน 2. การเคลือบเมล็ดพันธุ์
ผลงานวิจัย	
พ.ศ. 2558	ผลงานวิจัยเรื่อง การทดสอบความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ของรา <i>Trichoderma</i> จากวัสดุรองรับ ต่อเชื้อ <i>Pythium</i> sp
พ.ศ. 2559	ผลงานวิจัยเรื่อง ผลของวัสดุรองรับอินทรีย์ในการคงระดับจำนวน ประชากรของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> sp. และประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ <i>Pythium</i> sp. ในสารละลายธาตุอาหารของระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน
พ.ศ. 2560	ผลงานวิจัยเรื่อง <i>In Vitro</i> Study of Endophytic Bacteria Isolated from Tomato Plant against <i>Fusarium oxysporum</i>
พ.ศ. 2559	รางวัลชมเชยการนำเสนอผลงานภาคบรรยาย สาขาพืชผักและสมุนไพร ในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 15

In Vitro Study of Endophytic Bacteria Isolated from Tomato Plant against *Fusarium oxysporum*

Panisa Prasom, Potjana Sikhao and Prommart Koohakan *

Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand.

Panisa Prasom, Potjana Sikhao and Prommart Koohakan (2017). In Vitro Study of Endophytic Bacteria Isolated from Tomato Plant against *Fusarium oxysporum*. International Journal of Agricultural Technology 13(7.1): 1217-1230.

In this study, 43 isolates of endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants against *Fusarium oxysporum*, which causes Fusarium wilt disease of tomato, was studied. Initially effects of endophytic bacteria on the growth of tomato seedlings were tested. The results showed that most endophytic bacteria did not affect the growth of tomato seedlings. Characterization by gram staining revealed that most of them were gram-positive bacteria. Subsequently they were tested on the antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* by dual culture technique. It was found that only seven isolates showed the ability to inhibit the pathogen more than 30 percent. The best isolates including SuRW02 SuRW01 and LbRW03 were highest inhibition percentage of 71.94, 68.33 and 68.19%, respectively. The potential isolates found in this study will be further study and develop for coating tomato seed which an alternative method to control Fusarium wilt disease in the future.

Keywords: endophytic bacteria, *Fusarium oxysporum*, Tomato

Introduction

Fusarium oxysporum causes Fusarium wilt in tomato is a major pathogen affecting tomato production. The symptoms of this disease include wilting, chlorosis, and stunted seedling. As a result, the plants die or got lower yields (Hussain *et al.*, 2016). Agriculturists had many controlled measures by using several methods, including cultural technique and chemical application. Especially the use of chemicals has been widely used. Although the use of chemicals is effective in controlling the disease, this method is harmful to organisms and the environment. Therefore, safe strategies would be used in the management of this disease.

Biological control has been reported as a potential for the management of several disease. It consists of a variety of antagonistic microorganisms which have activity for controlling of various plant pathogens, including Fusarium

*Corresponding Author: Prommart Koohakan; E-mail: prommart.ko@kmitl.ac.th

wilt pathogen (Larkin and Fravel., 1998). Among of that endophytic bacteria is one of the benefit microbial, which is a group of microorganisms that live in healthy plant tissue and did not negative effect on plant (Bacon and White, 2000; Hundley, 2005). Several studies of biological control by endophytic bacteria have shown that they were able to suppress the pathogen of bacterial wilt disease in tomato (Purnawati *et al.*, 2014). Also, inoculation with bacterial endophytes has been demonstrated to reduce disease symptoms caused by vascular wilt pathogens such as *Verticillium dahlia* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) (Nejad and Johnson., 2000). Nandhini *et al.* (2102) also reported that endophytic bacteria isolated from root, stem, leaves and fruits of healthy tomato plants can control *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Therefore, this research presents the results of in vitro antagonistic activity of endophytic bacteria against *Fusarium oxysporum* and useful information for alternative biological control strategy in the future.

Objectives: Isolation and screening of endophytic bacteria that has potential to control *Fusarium oxysporum*. Selection potential isolate for further study as seed bio-coating of Fusarium wilt management in the future.

Materials and methods

Isolation of Fusarium oxysporum and pathogenicity tests

Fusarium oxysporum was isolated from tomato plant exhibiting symptoms of Fusarium wilt by tissue transplanting technique. Identification was checked based on morphological characteristics.

Pathogenicity tests: Fungal pathogens were grown for 7 days on Potato dextrose agar (PDA). Then the spore suspension at concentration of 10^6 spore / ml was prepared for this test. Tomato seedlings at 3 weeks of age were test by root dip technique (cut roots and dip into the spore suspension for 20 minutes), before transplanted into planting bag, and compared with dipping in sterile distilled water (control). Disease severity was evaluated at 2 week after inoculation by 0-3 scoring which modified from Marlatt *et al.* (1996); where 0 = healthy, 1 = temporary wilt, 2 = Permanent wilt and 3= plant die. Most violent isolate was selected to be used in next experiments. The experimental design was completely randomized design (CRD) with 5 replications.

Isolation and screening of beneficial endophytic bacteria for tomato plant

Isolation of endophytic bacteria was done from root, stem and leaves of healthy tomato plants. All parts of plants were surface disinfected by soaking in

70 % ethyl alcohol for 30 sec., washed with sterile distilled water, follow by soaking in 5% sodium hypochlorite for 2 min then washed again with sterile distilled water and dried on sterile filter paper. After surface disinfected, each sample was ground by sterile mortar and prepared the suspension to 10^{-1} - 10^{-4} . Then each dilution of suspensions were cultured by pour plate technique on nutrient agar (NA) and incubated for 48 h at room temperature. Single colony occurred on the culture was move onto NA by streak plate technique to obtain pure colony. Morphological examination consists of colony shape, colony color, cell shape, and gram test by using 3%KOH and gram stain were also examined.

Screening for beneficial endophytic bacteria: All isolates obtained from healthy tomato plant was cultured in nutrient broth (NB) and incubated on rotary shaker for 48 hr. The culture was collected and centrifuged at 5000 rpm for 10 minutes to obtain the bacterial pellet and prepared to bacterial suspension which adjusted the concentration equal to 0.5 Mcfarland standard solution turbidity. A 10 ml of bacterial suspensions were added to the pots of tomato seedlings at 3 day of age grown in sterilized peat moss. The experimental design was completely randomized design (CRD) with 4 replications. After 7 days of inoculation with endophytic bacteria, the seedlings survived and the growth data was collected. The growth data including stem height, stem weight, root weight, total weight and number of leaves. Data were calculated for growth index of seedling vigor index (svi) as following formula:

$$\text{svi} = \text{Average germination percentage} \times \text{Average weight per plants}$$

$$\% \text{ svi} = \frac{\text{svi of treatment}}{\text{svi of control}} \times 100$$

In vitro antagonistic activity of endophytic bacteria against Fusarium oxysporum

Fusarium oxysporum was cultured on PDA for 7 days. Endophytic bacteria were cultured on NA for 2 days. Antagonistic activity was evaluated by using dual culture technique on petridis containing PDA medium. The agar plug of pathogen was placed at the center of culture medium and endophytic bacteria were parallel streaked on the left and right sides of the pathogen at 2 cm. length from the edge of the plate then incubated at room temperature. Control plates were streaked with sterile distilled water. Evaluation of mycelial growth inhibition when pathogen grown full in control plate. The mycelial growth inhibition rate (IR) was calculated using the formula as follow: $[(C2-C1)/ C2 \times 100]$ where C2: diameter of the pathogen colony on control plate. and C1: diameter of the pathogen colony on the antagonist plate. The experimental design was completely randomized design (CRD) with 4 replications.

Statistical analysis

The results were subjected to the analysis of variance and means were separated according to the Duncan's multiple range test at $P \leq 0.05$.

Results

Pathogen and pathogenicity

Fusarium oxysporum isolated from tomato wilt disease plants were found the mycelium is delicate white to pink and produce charmadospore microconidia and macroconidia. Macroconidia have three-septate. (Figure1). In pathogenicity tests, the tomato showed symptom of permanent wilting to dead and browning of the vascular tissues after 7 days of inoculation (Figure2). The evaluation showed that the disease severity was 2.4 and the disease incidence was 80%.

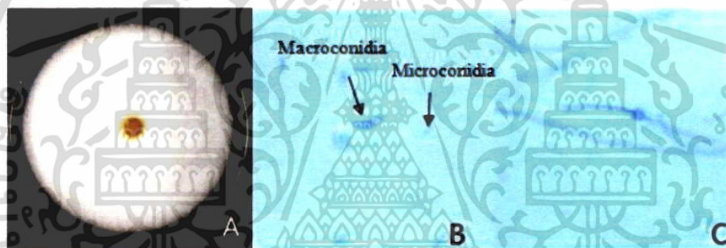


Figure 1. Morphology of *Fusarium oxysporum* (A =colony B = microconidia and macroconidia C = charmadospore)

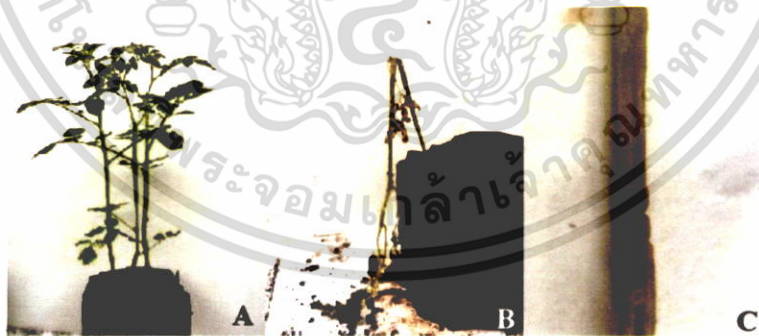


Figure 2. Symptom of wilt disease on tomato seedling at 7 days after inoculation (A =control B = inoculation with *Fusarium oxysporum* C = browning of the vascular tissues)

Morphological characteristics and effects on growth and seedling vigor of endophytic bacteria

Fourty three isolates of endophytic bacteria isolated from each part of healthy tomato plants (root leaves and stem) was found to have a variety of morphological characteristics. Most of them were gram-positive bacteria, which was divers in colony characteristic as shown detail in Table 1 and Figure3.

In addition, 43 isolates of endophytic bacteria were tested on tomato seedlings. The results showed that most endophytic bacteria did not affect the growth of tomato seedlings. Several endophytic bacteria were found that can be growth promoting and had seedling vigor more than 20 percentages when compare with control. Those isolates including LaRW01, LaKY03, LaLW02, LaLY02, LaTY01, LaTY02, LaTO01, SuLW01, SuLY03, SuRW02, SuRW04, SuRY01, SuRY02, SuRB01, SuKY01, LbTW01, LbLW02, and LbRW02. The details of data were shown in Table 2.

Table 1. Characteristic of endophytic bacteria isolated from healhy tomato plants.

Isolate	colony			3% KO H test	Gram staining	shape	
	color	shape	margin				surface
LaRW01	white	circular	entire	mucoïd	+	+	coccus
LaRW02	cloudy white	circular	erose	smooth	-	-	coccus
LaRW03	white	irregular	undulate	smooth	+	+	bacillus
LaRY01	white	circular	erose	rough	+	+	bacillus
LaKY01	yellow	irregular	entire	mucoïd	+	+	bacillus
LaKY02	yellow	circular	entire	mucoïd	+	+	coccobacilli
LaKY03	light yellow	circular	entire	mucoïd	+	+	coccobacilli
LaKW01	white	circular	entire	smooth	+	+	coccobacilli
LaKW02	white	circular	entire	mucoïd	+	+	coccus
LaLW01	white	circular	entire	rough	-	-	coccus
LaLW02	white	circular	entire	mucoïd	-	-	coccus
LaLW03	white	circular	entire	mucoïd	-	-	bacillus
LaLY01	light yellow	circular	entire	mucoïd	+	+	bacillus
LaLY02	light yellow	circular	entire	mucoïd	+	+	coccus
LaLY03	light yellow	circular	entire	mucoïd	+	+	bacillus
LaTY01	yellow	circular	entire	mucoïd	+	+	coccus
LaTY02	yellow	circular	entire	mucoïd	-	-	coccus
LaTW01	white	circular	entire	mucoïd	-	-	coccus
LaTO01	orange	circular	entire	mucoïd	+	+	bacillus
SuLW01	cloudy white	circular	erose	smooth	+	+	bacillus
SuLW02	light yellow	circular	entire	mucoïd	+	+	bacillus
SuLW03	cloudy white	circular	entire	mucoïd	+	+	bacillus
SuLW04	cloudy white	circular	entire	mucoïd	+	+	bacillus
SuLY01	light yellow	circular	entire	mucoïd	+	+	coccus
SuLY02	yellow	circular	entire	mucoïd	+	+	bacillus

Table 1. Characteristic of endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants (continue).

Isolate	colony			3%KOH test	Gram stainin g	shape	
	color	shape	margin				surface
SuLY03	light yellow	circular	entire	muroid	+	+	bacillus
SuLO01	orange	circular	entire	smooth	+	+	bacillus
SuRW01	cloudy white	circular	undulate	rough	+	+	bacillus
SuRW02	cloudy white	irregular	undulate	rough	+	+	bacillus
SuRW03	cloudy white	circular	entire	muroid	+	+	coccobacilli
SuRW04	white	irregular	undulate	rough	+	+	bacillus
SuRY01	light yellow	circular	entire	muroid	+	+	bacillus
SuRY02	light yellow	circular	entire	smooth	+	+	bacillus
SuRY03	light yellow	circular	entire	muroid	-	-	coccus
SuRB01	egg	circular	undulate	smooth	+	+	bacillus
SuTW01	white	irregular	entire	muroid	-	-	coccobacilli
SuKY01	light yellow	irregular	entire	muroid	+	+	bacillus
LbTW01	cloudy white	irregular	erose	rough	+	+	bacillus
LbLW01	cloudy white	irregular	erose	rough	+	+	bacillus
LbLW02	cloudy white	irregular	erose	smooth	-	-	coccus
LbRW01	cloudy white	irregular	erose	smooth	+	+	bacillus
LbRW02	cloudy white	irregular	erose	rough	+	+	bacillus
LbRW03	cloudy white	circular	entire	smooth	+	+	bacillus

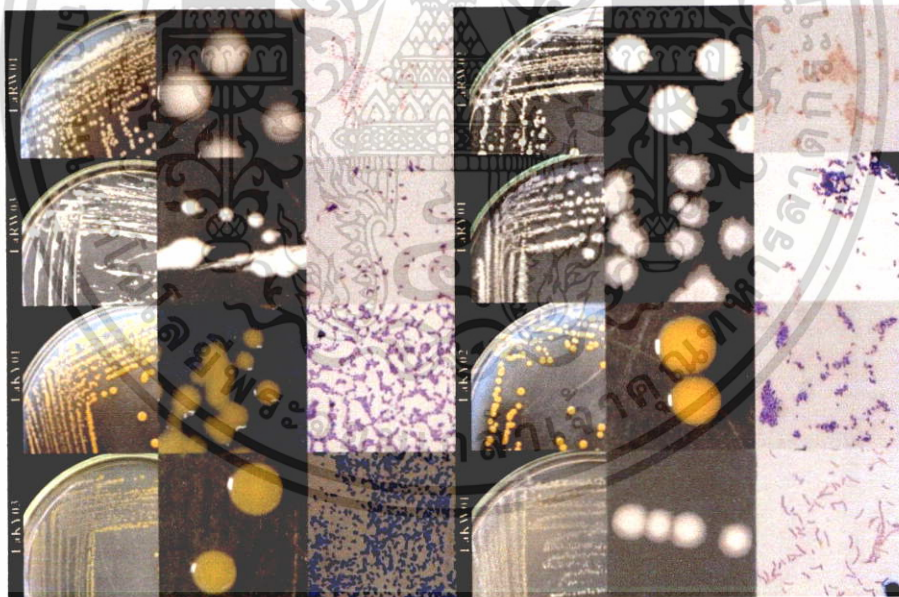


Figure 3. Morphology of endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants (colony on NA (left), colony at 6.7X and gram staining (right)).

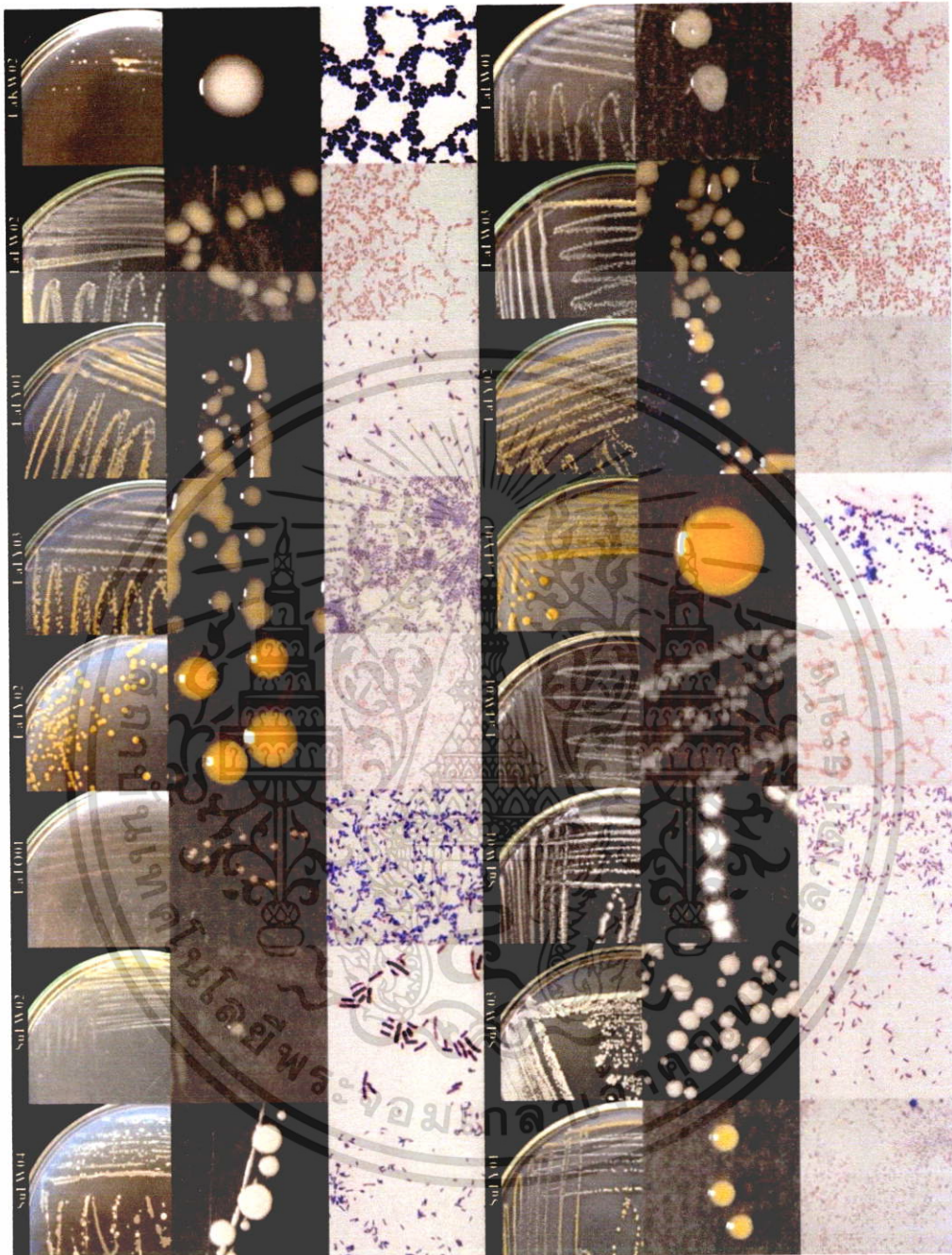


Figure 3. Morphology of endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants (colony on NA (left), colony at 6.7X and gram staining (right)). (Continue).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

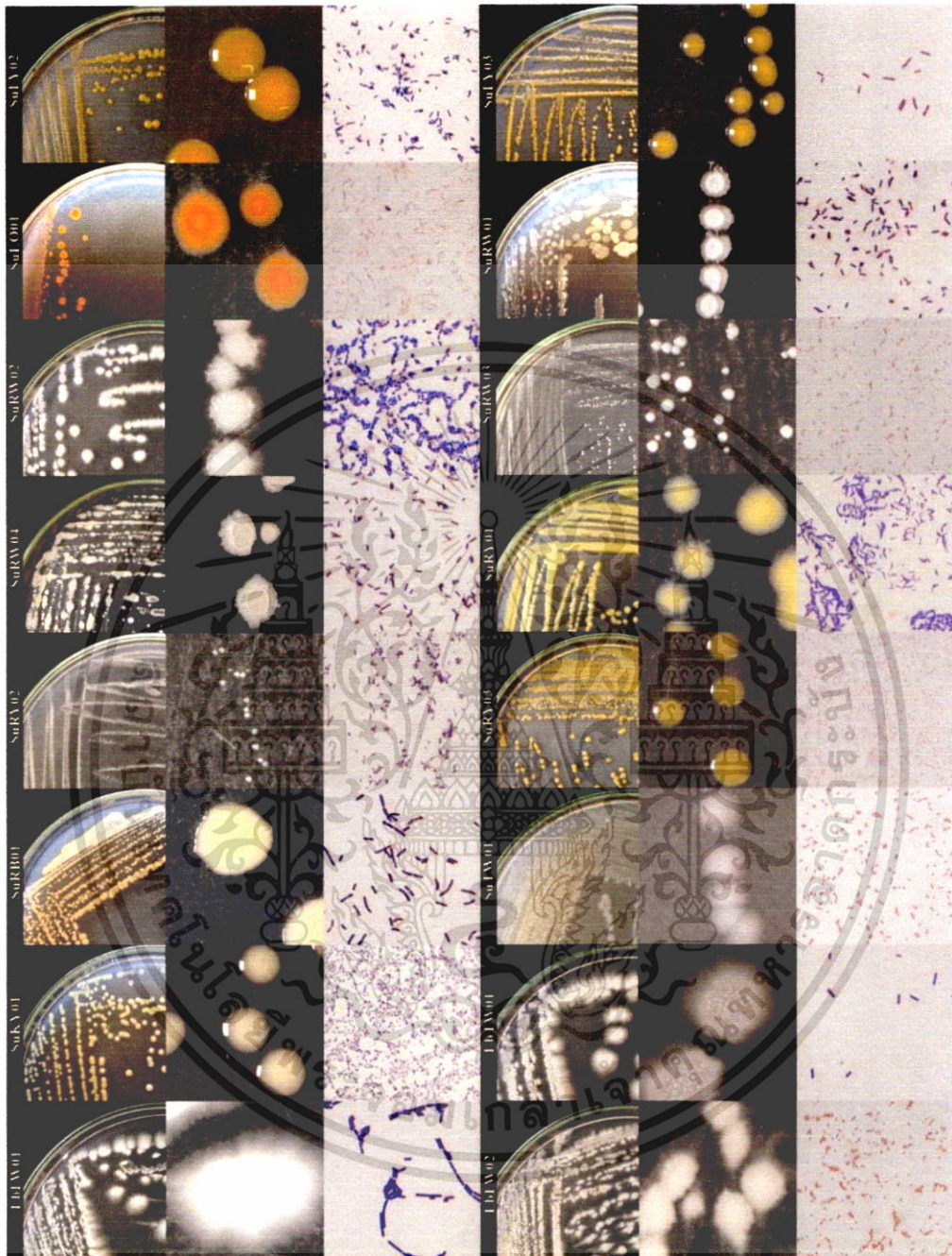


Figure 3. Morphology of endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants (colony on NA (left), colony at 6.7X and gram staining (right)). (Continue)

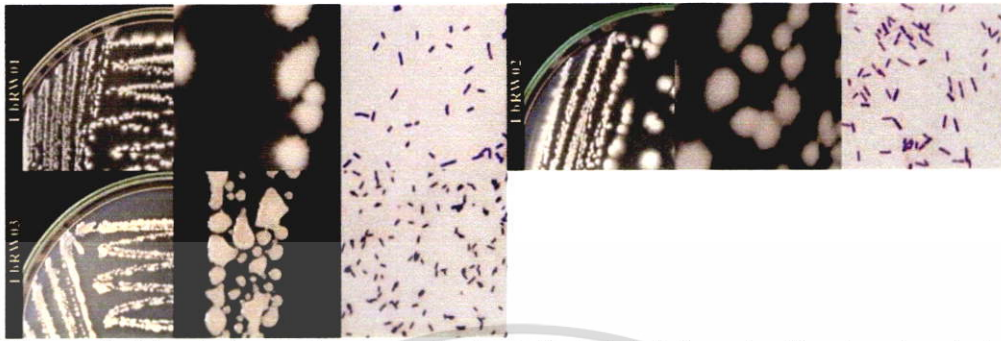


Figure 3. Morphology of endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants (colony on NA (left), colony at 6.7X and gram staining (right)). (Continue)

Table 2. Effect of endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants on the growth of tomato seedlings.

Isolates	Survival of seedling	Number of leaves	Height of shoot (cm.)	Fresh weight (g)			% svi
				root	shoot	total	
control	100a ^{1/}	2.00a	6.30ab	0.089cd	0.452f	0.541ghij	100.00
LaRW01	100a	1.95a	6.00 ab	0.136a	0.562bcd	0.698cbd	129.09
LaRW02	95ab	1.90a	5.37ab	0.095c	0.470ef	0.565ghij	99.16
LaRW03	95ab	2.00a	6.50ab	0.119ab	0.436 f	0.555ghij	97.41
LaRY01	100a	1.90a	5.50ab	0.073def	0.466ef	0.537ghij	99.30
LaKY01	100a	1.95a	5.50ab	0.073def	0.518de	0.591fgh	109.23
LaKY02	100a	1.90a	5.37ab	0.071def	0.437f	0.508j	93.99
LaKY03	100a	2.00a	5.62ab	0.086cdef	0.561bcd	0.647def	119.63
LaKW01	100a	1.90a	6.00ab	0.095c	0.465ef	0.560ghij	103.46
LaKW02	85c	1.90a	5.87ab	0.067f	0.437f	0.505j	79.30
LaLW01	100a	1.95a	5.87ab	0.121ab	0.443f	0.565ghij	104.38
LaLW02	100a	1.95a	5.50ab	0.120ab	0.562bcd	0.682cd	126.09
LaLW03	100a	1.90a	6.12ab	0.124ab	0.4675ef	0.591fgh	109.23
LaLY01	100a	1.90a	5.75ab	0.086cdef	0.436f	0.522ij	96.53
LaLY02	100a	2.00a	5.50ab	0.126ab	0.561bcd	0.687cd	127.02
LaLY03	100a	1.90a	5.25ab	0.095c	0.4385f	0.533hji	98.61
LaTY01	100a	2.00a	5.62ab	0.116b	0.562bcd	0.678cd	125.40
LaTY02	100a	1.95a	5.87ab	0.118ab	0.578bc	0.696cbd	128.63
LaTW01	100a	1.95a	6.12ab	0.069ef	0.428f	0.497j	91.91
LaTO01	100a	2.00a	6.00ab	0.115b	0.632a	0.747ab	138.10
SuLW01	100a	1.95a	6.37 ab	0.116b	0.536cd	0.652de	120.55
SuLW02	100a	1.95a	5.87 ab	0.071def	0.441f	0.512j	94.68
SuLW03	100a	2.00a	5.75 ab	0.121ab	0.476ef	0.597efg	110.39
SuLW04	100a	2.00a	5.75 ab	0.0675f	0.477ef	0.545ghij	100.69

^{1/}: Means in the same column with different letter are significant difference at P=0.05, according to Duncan's Multiple Range test.

Table 2. Effect of endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants on the growth of tomato seedlings (Continue).

Isolates	Survival of seedling	Number of leaves	Height of shoot	Fresh weight			% svi
				root	shoot	total	
SuLY01	100a	1.85a	6.00ab	0.079 cdef	0.4725ef	0.551 ghij	101.84
SuLY02	100a	1.95a	6.00ab	0.086cdef	0.442f	0.528ij	97.69
SuLY03	100a	1.90a	6.00ab	0.123ab	0.606ab	0.728abc	134.64
SuLO01	100a	2.00a	6.37ab	0.0905c	0.466ef	0.561 ghij	103.69
SuRW01	95ab	2.00a	5.75ab	0.068ef	0.442f	0.511j	89.73
SuRW02	100a	1.90a	5.37ab	0.128ab	0.518de	0.646def	119.39
SuRW03	95ab	2.00a	6.37ab	0.0685ef	0.437cd	0.506j	88.85
SuRW04	100a	2.00a	6.00ab	0.115b	0.538cd	0.653de	120.78
SuRY01	100a	1.95a	6.25ab	0.126ab	0.630a	0.756a	139.72
SuRY02	100a	2.00a	6.87a	0.086cdef	0.605ab	0.691cbd	127.71
SuRY03	100a	2.00a	6.62ab	0.118ab	0.466ef	0.583ghi	107.85
SuRB01	100a	1.95a	6.12ab	0.116b	0.537cd	0.653de	120.78
SuTW01	100a	1.90a	6.12ab	0.128ab	0.577bc	0.705abcd	130.24
SuKY01	100a	2.00a	6.62ab	0.118ab	0.537cd	0.655de	121.01
LbTW01	100a	1.90a	5.75ab	0.069ef	0.441f	0.510j	94.22
LbLW01	90bc	1.95a	5.75ab	0.086cde	0.475ef	0.562 ghij	93.53
LbLW02	100a	1.90a	5.75ab	0.126ab	0.537cd	0.663d	122.63
LbRW01	100a	1.85a	5.7ab	0.071def	0.436f	0.507j	93.76
LbRW02	100a	1.95a	5.87ab	0.086cdef	0.576bc	0.662d	122.40
LbRW03	100a	1.95a	5.87ab	0.065ef	0.443f	0.512j	94.68

^{1/}: Means in the same column with different letter are significant difference at P=0.05, according to Duncan's Multiple Range test.

Effect of endophytic bacteria against Fusarium oxysporum

The result of antagonistic activity of 43 isolates endophytic bacteria against *Fusarium oxysporum* were found that 25 isolates were significantly different compared with control. Among of these, only seven isolates showed the ability to inhibit the pathogen growth more than 30 percent, including LaLW03, LaLY01, SuLW03, LaRY01, SuRW01, SuRW02, and LbRW03 (Figuer 4). The best isolates were SuRW02 SuRW01 and LbRW03, which had the highest inhibition percentage of 71.94, 68.33 and 68.19%, respectively (Table 3).

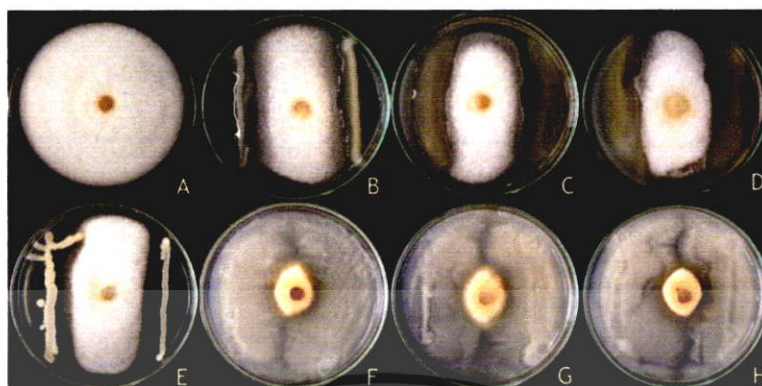


Figure 4. Dual-culture of seven isolates of endophytic bacteria that showed ability to inhibit the pathogen growth more than 30 percent (A= control, B= LaRY01, C=LaLW03, D=LaLY01, E= SuLW03, F= SuRW01, G= SuRW02, H= LbRW03)

Table 3. Antagonistic trait of 43 isolates of endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants to suppress the growth of *Fusarium oxysporum*.

Isolates	Inhibitory agiast <i>Fusarium oxysporum</i>	
	Diameter of colony (cm.)	% Growth inhibition
control	9.00	0.00k ¹⁷
LaRW01	7.00	22.22 defg
LaRW02	6.95	22.78defg
LaRW03	6.42	28.61cd
LaRY01	5.71	36.53b
LaKY01	8.77	2.50jk
LaKY02	8.95	0.00k
LaKY03	8.93	0.00k
LaKW01	8.75	2.72jk
LaKW02	8.23	8.47ij
LaLW01	7.62	15.28ghi
LaLW02	8.03	10.69hi
LaLW03	6.26	30.42bc
LaLY01	6.25	30.47bc
LaLY02	7.53	16.25fgh
LaLY03	7.50	16.67fgh
LaTY01	8.92	0.00k
LaTY02	8.87	0.00k
LaTW01	6.56	27.08cde
LaTO01	7.35	18.33fg
SuLW01	8.97	0.00k
SuLW02	7.15	20.56 efg

¹⁷: Means in the same column with different letter are significant difference at P=0.05, according to Duncan's Multiple Range test.

promote the growth and seedlings vigor. According to Khan *et al.* (2014), Tomato plants inoculated with endophytic bacteria showed significantly increased growth attributes (shoot length, chlorophyll contents, shoot, and root dry weights). In addition, this study has shown that endophytic bacteria can be inhibiting the growth of *Fusarium oxysporum*. Several researches have reported the use of endophytic bacteria for controlling many pathogens such as *Sclerotium rolfisii*, *Colletotrichum capsici*, *Pythium* sp., *Verticillium dahlia*, include *Fusarium oxysporum* causes Fusarium wilt in tomatoes. (Nejad and Johnson. 2000; Amaresan *et al.*, 2012 and Nandhini *et al.*, 2102).

This research showed that endophytic bacteria isolated from healthy tomato plants tissue are capable of promoting the growth of tomato seedlings and inhibit the growth of *Fusarium oxysporum*. The results of this study are the guideline for further study on the control of *Fusarium* sp. by biological method.

Acknowledgement

This research was supported by Geduat Research Fund from Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand.

References

- Amaresan, N., Jayakumar, V., Kumar, K., and Thajuddin, N. (2012). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria and their effect on tomato (*Lycopersicon esculentum*) and chilli (*Capsicum annum*) seedling growth. *Annals of microbiology*, 62(2), 805-810.
- Bacon, C.W. and White, J.F. (2000). *Microbial endophytes*, Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- Hussain, I., Alam, S. S., Khan, I., Shah, B., Naeem, A., Khan, N., and Shah, S. R. A. (2016). Study on the biological control of fusarium wilt of tomato. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 4(2): 525-528.
- Hundley NJ. (2005). Structure Elucidation of bioactive compounds isolated from endophytes of *alstonia scholaris* and *acmena graveolens*. MS thesis. Univ. of Brigham Young.
- Khan, A. L., Waqas, M., Kang, S. M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., and Lee, I. J. (2014). Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *Journal of Microbiology*, 52(8), 689-695.
- Larkin, R. P., and Fravel, D. R. (1998). Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant disease*, 82(9): 1022-1028.
- Marlatt, M.L., Correll, J.C., Kaufmann, P. and Cooper, P.E. (0991). Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race3 in the United States. *Plant Disease*. 0332-0331:(02) 01.
- Nandhini, S., Sendhilvel, V., and Babu, S. (2012). Endophytic bacteria from tomato and their efficacy against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, the wilt pathogen. *Journal of Biopesticides* 5(2): 178.
- Nejad, P., & Johnson, P. A. (2000). Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. *Biological control*, 18(3): 208-215.

- Nirmaladevi, D., Venkataramana, M., Srivastava, R. K., Uppalapati, S. R., Gupta, V. K., Yli-Mattila, T., and Chandra, N. S. (2016). Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Scientific reports*, 6: 21367.
- Purnawati, A., Sastrahidayat, I. R., Latief Abadi, A., and Hadiastono, T. (2014). Endophytic bacteria as biocontrol agents of tomato bacterial wilt disease. *Journal of tropical life science*. 4(1):33-36.

(Received: 22 October 2017; accepted: 25 November 2017)

